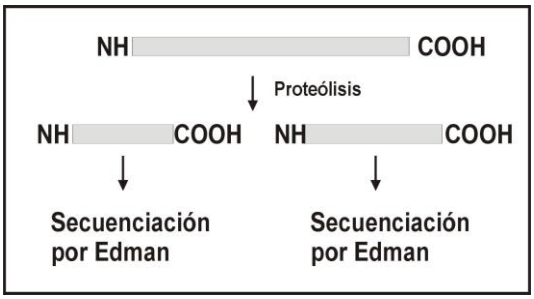
Problema PCR III

Diseño de oligos a partir de secuencias peptídicas

Usted purificó polipéptidos que le interesan de tres diferentes fuentes: **P70** de *Homo sapiens*, **P45** de un aislamiento adenoviral y **P22** de *Drosophila melanogaster.* Luego de realizar un mapa físico de dichas proteínas con tripsina, secuenció los amino terminales naturales y otros internos generados por la proteólisis.

a) A partir de ellos, y teniendo en cuenta el "*Uso de codones*" de cada especie, diseñe oligos de DNA para actuar como *primers* en reacciones de PCR.

b) Plantee cómo haría la reacción de PCR, considerando por un lado utilizar como fuente de partida mRNA, y por otro, DNA genómico.



P70 *Homo sapiens*

N terminal	MNQHELAVHKKKIEEVETWLKA
N terminal interno	CQGGGSSFRPLHKPQWFLINK
Cantidad de aminoácidos entre ambas secuencias	356

P45 adenovirus

N terminal	QVLERQPKQGGSILLITGPPGC
N terminal interno	RNQAQISFIQDIGRLPLKRHFGRL
Cantidad de aminoácidos entre ambas secuencias	78

P22 *Drosophila melanogaster*

N terminal	DSGDEAQLNGGHSAEESLGEPTQATV
N terminal interno	FRALGKILYCKRASLTELDSPRL
Cantidad de aminoácidos entre ambas secuencias	503

Homo sapiens [gbpri]: 70021 CDS's (29996437 codons)

fields: [triplet] [frequency: **per thousand**] ([number])

```
UUU 17.1(514199)  UCU 14.9(446443)  UAU 12.1(362914)  UGU 10.3(308856)
UUC 20.4(612339)  UCC 17.6(529410)  UAC 15.4(463316)  UGC 12.6(377236)
UUA  7.4(222486)  UCA 12.0(359461)  UAA  0.7( 21444)  UGA  1.2( 36946)
UUG 12.7(382061)  UCG  4.5(134428)  UAG  0.6( 17077)  UGG 13.1(391907)

CUU 13.0(389495)  CCU 17.4(521429)  CAU 10.7(320080)  CGU  4.6(138859)
CUC 19.7(590273)  CCC 20.0(600565)  CAC 15.0(451164)  CGC 10.7(321036)
CUA  7.0(210961)  CCA 16.8(504090)  CAA 12.0(360490)  CGA  6.2(187022)
CUG 40.1(1203896)  CCG  7.0(211311)  CAG 34.4(1031893)  CGG 11.6(349135)

AUU 15.8(473563)  ACU 13.0(389907)  AAU 16.7(501258)  AGU 12.0(361036)
AUC 21.1(633154)  ACC 19.1(573483)  AAC 19.2(575968)  AGC 19.5(583722)
AUA  7.3(217864)  ACA 14.9(446843)  AAA 24.0(720623)  AGA 11.7(351563)
AUG 22.2(665731)  ACG  6.2(184953)  AAG 32.2(967289)  AGG 11.7(351181)

GUU 11.0(329087)  GCU 18.6(556670)  GAU 22.0(658833)  GGU 10.8(323386)
GUC 14.6(439066)  GCC 28.3(848678)  GAC 25.5(765640)  GGC 22.6(676904)
GUA  7.0(211408)  GCA 16.0(479443)  GAA 28.9(866431)  GGA 16.4(492021)
GUG 28.6(857158)  GCG  7.6(226919)  GAG 40.0(1199989)  GGG 16.5(494444)
```

Coding GC 52.55% 1st letter GC 56.07% 2nd letter GC 42.54% 3rd letter GC 59.04%

Human adenovirus E [gbvrl]: 36 CDS's (11517 codons)

fields: [triplet] [frequency: **per thousand**] ([number])

```
UUU 13.6(   157)  UCU  7.1(    82)  UAU  7.2(    83)  UGU  4.4(    51)
UUC 23.2(   267)  UCC 18.0(   207)  UAC 25.4(   293)  UGC 14.4(   166)
UUA  3.6(    42)  UCA  4.7(    54)  UAA  1.5(    17)  UGA  1.0(    12)
UUG 11.3(   130)  UCG  9.5(   109)  UAG  0.6(     7)  UGG 13.1(   151)

CUU  9.4(   108)  CCU 10.5(   121)  CAU  7.2(    83)  CGU  5.7(    66)
CUC 22.3(   257)  CCC 34.1(   393)  CAC 17.5(   202)  CGC 34.5(   397)
CUA  5.7(    66)  CCA  7.4(    85)  CAA 10.3(   119)  CGA  5.3(    61)
CUG 42.9(   494)  CCG 15.3(   176)  CAG 34.4(   396)  CGG 12.0(   138)

AUU 11.1(   128)  ACU 10.4(   120)  AAU 12.8(   147)  AGU  8.6(    99)
AUC 24.6(   283)  ACC 35.7(   411)  AAC 30.6(   352)  AGC 20.4(   235)
AUA  4.0(    46)  ACA  6.8(    78)  AAA 14.3(   165)  AGA  8.3(    96)
AUG 26.1(   301)  ACG  9.1(   105)  AAG 22.9(   264)  AGG  7.8(    90)

GUU  8.3(    96)  GCU 12.9(   148)  GAU 15.5(   179)  GGU  9.6(   110)
GUC 15.4(   177)  GCC 40.7(   469)  GAC 34.3(   395)  GGC 24.7(   285)
GUA  5.4(    62)  GCA  7.0(    81)  GAA 16.1(   185)  GGA 12.1(   139)
GUG 33.7(   388)  GCG 18.0(   207)  GAG 44.2(   509)  GGG 15.4(   177)
```

Coding GC 58.81% 1st letter GC 58.77% 2nd letter GC 44.45% 3rd letter GC 73.20%

***Drosophila melanogaster* [gbinv]: 36074 CDS's (19327489 codons)**

fields: [triplet] [frequency: **per thousand**] ([number])

```
UUU 13.1(252740)  UCU  7.0(134343)  UAU 10.7(206741)  UGU  5.3(102924)
UUC 21.9(422749)  UCC 19.5(377489)  UAC 18.4(355094)  UGC 13.1(253595)
UUA  4.3( 83968)  UCA  7.8(150708)  UAA  0.8( 15069)  UGA  0.5(  9232)
UUG 16.0(309891)  UCG 16.8(323808)  UAG  0.6( 12153)  UGG  9.9(190387)

CUU  8.9(172102)  CCU  6.9(133995)  CAU 10.5(203589)  CGU  8.8(170016)
CUC 13.9(267858)  CCC 18.0(348444)  CAC 16.0(308852)  CGC 18.2(351382)
CUA  8.2(158245)  CCA 13.5(261743)  CAA 15.7(302660)  CGA  8.4(163120)
CUG 38.5(743831)  CCG 16.0(309034)  CAG 36.7(708353)  CGG  8.2(158905)

AUU 16.4(317183)  ACU  9.5(184215)  AAU 21.0(406195)  AGU 11.5(222444)
AUC 22.9(443353)  ACC 21.4(412759)  AAC 26.3(508886)  AGC 20.5(396880)
AUA  9.3(180640)  ACA 11.0(212648)  AAA 16.7(321930)  AGA  5.1( 98702)
AUG 23.5(453878)  ACG 14.5(280999)  AAG 39.6(766241)  AGG  6.3(121165)

GUU 10.9(210556)  GCU 14.4(278090)  GAU 27.5(531617)  GGU 13.3(256368)
GUC 13.9(267779)  GCC 33.7(651078)  GAC 24.7(477546)  GGC 26.8(517018)
GUA  6.3(122139)  GCA 12.8(246691)  GAA 20.9(404401)  GGA 17.7(342593)
GUG 27.9(538952)  GCG 14.1(272362)  GAG 42.9(829304)  GGG  4.6( 89857)
```

Coding GC 53.97% 1st letter GC 55.87% 2nd letter GC 41.51% 3rd letter GC 64.52%