

Problemas PCR II

Usted trabaja en un laboratorio donde se caracterizan genes de organismos o patógenos virales relacionados, con los objetivos de estudiar la función de sus productos proteicos, y de desarrollar herramientas que permitan una identificación rápida, simple y sensible. En su caso particular, le han encomendado el estudio del gen *p74* de la familia de virus de insectos *baculoviridae*. En especial, usted intentará aumentar el número de secuencias conocidas del gen, sobre todo respecto de baculovirus autóctonos, y deberá desarrollar un *Kit* que le permita identificar en forma certera la presencia de un virus en particular sobre muestras de campo (insectos fenotípicamente infectados).

De la búsqueda de secuencias publicadas, usted encontró las siguientes, con las cuales realizó un alineamiento múltiple para analizar las zonas conservadas a lo largo de la evolución.

```

SlMNPV      -----TATAAT
SlO MNPV    -----TATAAT
AcMNPV      AATAAAAAAGTATTGTTATAATAAATGTAAATGTATTGCTATAATATAATCTAATAAATAT
BMNPV      -----
CfMNPV      -----
OpMNPV      -----
LdMNPV      -----
XnGV        -----

SlMNPV      ---ACAAGAATTAACTCTCTAATTATGAGCGCGCACGTAAATCTCCGACTCTGC
SlO MNPV    TTTACAC-AATTAAGTCTTTATTGACGAGATGAGCGTGTCTGTAATTTCTCCGACTCTAC
AcMNPV      TTCAATTATATATTGTTGTTATTTTAAG-TCCTATATAACATGCGGTTTAAACAGCCG
BMNPV      -----CGTTGTTAATTTAAG-TCATATATAACATGCGGTTTAAACAGCCG
CfMNPV      -----CTCGGTTATAATAAG-CGACA---AACATGCGGTTGCTCACTGCCG
OpMNPV      -----ACAACAACGATTGAAAATAAG-CAACA---AA-ATGCGCGTGTGACCGCGG
LdMNPV      -----ATTTCTGTCCAT-GGTTCCGCGAGATGCGCGCTCTGACTAGCG
XnGV        -----GTTTATTGTTGATCCAAGTAAGATAATGCGGCTACCCACGGCTC
                *          **

SlMNPV      AGGATCTGTAAACGCCCAAAAGTATGCGTACCATCAGTACATGTTGCGATTTCATCCCC
SlO MNPV    AAGATTTGCTAGACGCCCAAAAGTATGCGTACCATCAGTACATGTTGCGATTTCATCCCC
AcMNPV      TCGATTTAACTAATGCCAGTAGGTATGCCATACATATGCATCGTCTCGAGTTTATTTCGA
BMNPV      TCGATTTAACTAATGCCAGTAGATATGCCATACATATGCATCGTCTCGAGTTTATTTCGA
CfMNPV      TCGACCTTACGAACGCGAGCCGTTACGCGGCGCACATGCACCGGCTCGAGTTTCATCGGCC
OpMNPV      TAGATCTGACCAACGCGAGCCGTTACGCGGCGCACATGCACAGGCTCGAGTTTATTAAAC
LdMNPV      TCGACTTGATGAACGCGAGCAATACGCTTCGCACATGCACCGGCTCGCCTTTATACCCC
XnGV        AAGATATGATCTCGTGTGACGAGTTTCGTAATGAACCGTGGCAGGTTACACATGATCAGGG
                * * * * *

SlMNPV      GATGGCGCCGTCGCTTTCCTCACATATTGATCAATTACAGATCCGCGCCGCGGGCA---
SlO MNPV    GATGGCGCCGTCGCTTTCCTCACATATTGATCAATTACAGATCCGCGCCGCGGGCA---
AcMNPV      GATGGCGCACAGGTTTCCGCATATACTAATCGACTACACGCTGCGTCCCGCGTCAAGTG
BMNPV      GATGGCGCACTAGGTTTCCGCATATACTGATCGACTACACGTTGCGTCCCGCGTCAAGTG
CfMNPV      GATGGCGCGAGCGACTGCCGCACATCCTTATCGATTACACGCTGCGGCCGCGTCGAGCG
OpMNPV      GTTGGCGCGAGCGGCTGCCGCACATTCTCATCGATTACACGCTGCGGCCGCGTCCAGCG
LdMNPV      GCTGGCGCAGCAAGATGCCGCACGCTTGTAGATTACGAGATCCGCGCGCGGACGA---
XnGV        ACTGGCGCACTCGTTTCCAAACATTTTATCAACTACAACATTAGGTACGCCACCCG--
                * * * * *

SlMNPV      ACGAAGACTTTTACGTTCCGAGAAAAATCAGAGAC---GGCGCCGTGTTGCTCGACATAA
SlO MNPV    ACGAGGACTTTTACGTTCCGCGAAAAATCAGAGAC---AGCGCCGTGTTGCTAGACATAA
AcMNPV      ACGACGATTATTATGTGCCGCCGAAATTGGCCGAC---AAAGCGCTGGCCGTCAAACCTGG
BMNPV      ACGACGATTATTATGTGCCGCCGAAATTGGCCGAC---AGAGCGCTGGCCGTCAAACCTGA
CfMNPV      AAGATGATTACTACGTGCCGCTAAGTGCAGC---CGCGCGCTTGCAGTCAAGCTGG
OpMNPV      ACGACGACTATTACGTACCGCCCACTTGCAGCAAT---CGCGCGCTGGCGGTGAAGCTGG
LdMNPV      ACGACGACTTCTACGTGCCGCCGAACTGGCCGAC---CGAGCGGTGCCACCAAGGTCTG
XnGV        -CCAAGATTTTACGTACCCCGTCGCTGTTAAACAACAAGCCGTAATAGTCGAATCG
                * * * * *

SlMNPV      AGTTTAGCAAACGCGGATGCGAGAGTATGCTCTGCTATCCGTTTCGCGAGACGGGTCCCA
SlO MNPV    AGTTTAGCAAACGCGGTTGCGAGAGTATGCTCTGCTATCCGTTTCGCGAGACGGGCCCCA
AcMNPV      CTTTCAGCAAAGCGGGGTGTGAAAGCATGAGCTGCTATCCGTTTCACGAAACCGGCGTCG
BMNPV      CTTTCAGCAAAGCGGGGTGTGAAAGCATGAGCTGCTATCCGTTTCACGAAACCGGAGTCTG
CfMNPV      CATTTAGTCGCGAGGCTGCGACAGCATGAGTTGTTACCCTTTCCACGAAACGGGCGTTG
OpMNPV      CGTTTAGCCGACGCGGCTGCGACAGCATGAGCTGCTTTCCTTTACGAGACGGGCGTCTG
LdMNPV      CGTTTAGCCGCGGGTGTGAGAGCATGCTGCTATCCCGTTACCGAGACGGGCGCCG
XnGV        ACTTTAGTAAACAAGGTTGCGAAGCATGCTCTGTTATCCGTTACGGCCACAGGGGTTA
                * * * * *

SlMNPV      TTTCTAGAAACACGCGGTT---TGGCTATACACAAACCGCGGACACGCCGAGGCGTACG
SlO MNPV    TTTCTAGAAACACACCGGTT---TGGCTACACGCAACCGCGGACACGCCGAGGCGTACG
AcMNPV      TGTCCAACACGACGCGGTT---CATGTACACGACACCTCCGAGACTAGCGTGGGTTACG
BMNPV      TGTCCAACACGACACCGGTT---CATGTACACGACACCTCAGAGACTAGAGTGGGTTACG

```

```

CfMNPV      TATCCAACCAAAACCGAGTT---CGCGTACACGCAAACTTCGGAACACGCGTCGCGTACT
OpMNPV      TGTCAGGCCAAACGCCGTT---TGCGTACACGACGACGTCGGAACCTAGCGTGGCGTACG
LdMNPV      TGGACGCGAGCACGGCCAC---CGGCTACACCCAGACGTCGGAGACGGCCGTCGAGTACG
XnGV        TAGATGTCGACTCGCCGATAGGCGGCTACACCAAAACGGCCAATACGAGCGTCGACTATA
          *          *          *          *          *          *          *
SlMNPV      CGCAGCCGGCATGTTACCATCTCGATCGGTGCGGCGCGATGCGCGAGGGGGAAGAGAACA
SlOmNPV     CCCAGCCGGCGTGTACCATCTCGATCGGTGCGGCGGCTATGCGCGAAGGCGAAGAGGACA
AcMNPV      CGCAGCCCGCGTGTACCATCTGGACAGGGCGGCGGCCATGCGTGAAGGCGCCGAAACCC
BMNPV      CGCAGCCAGCGTGTACCATTTGGACAGGGCGGCGGCCATGCGTGAAGGCGCCGAAAATA
CfMNPV      CGCAACCCGCGTGTATCACTGGACCGCGCGGCCGCTATGCGCGAGGGCGCCGAGAACG
OpMNPV      CGCAGCCCGCGTGTACCATCTGGACCGCGCGGCCGCGCATGCGCGAGGGCGCCGAAAACG
LdMNPV      CCCAGCCCGCGTGTACCATCTGGACAGGGCGGCGCGACGCGCGAGGGCGCCGAGAACG
XnGV        ATCAGCCGCGTGTCTTAACCTGGACCGTGCCTTGGCTCGTAGGGAGGGCG-----
          *          *          *          *          *          *          *
SlMNPV      GGGTGAATCGGTGAGTTGCGGTACACGGACAACGAACGGTGCATCATGATGGACACGT
SlOmNPV     CGGTCCAGTCCGTCGAGTTGCGGTACACTGAAACGAACGGTGCATCATGATGGACACAT
AcMNPV      AAGTTCAGTCTGCCGAGTTTAGATACACGCTCGACACAACATGCATCTTAGTGGACTCGC
BMNPV      AAGTTCAGTCTGCCGAGTTTAGATACACGCGCCGACAACAGATGCATCTTGGTGGACTCGC
CfMNPV      AAGTGCAGTCCGCCGAGTTTACGTACACGCCCAACACCAATGCGTGTGTTGGTCGATTCTA
OpMNPV      AGGTGCAGTCCGCCGAGTTTACGTACACGCCCAACACCAATGTGTGTTGGTCGACTCCA
LdMNPV      AGGTGCAGGCGCCGAGTTGCGGTACACGGACGCGCGCAAGTGCATCATGTCGACACGC
XnGV        AACTGCAATCGGTGCAACGCGATACACAACAACGATCAATGTATTATGGTCGATAGCT
          *          *          *          *          *          *          *
SlMNPV      ACTCTAAAATGTATCTAAATTCGCCGTACCTACGCACCGACGAGCATCTGATCAAAGGTA
SlOmNPV     ACTCTAAAATGTATCTAAATTCCTCGTATCAACGCACCGACGAGCATCTGATCAAAGGCA
AcMNPV      TGTCCAAATGTACTTTAACAGCCCATACTTGCGCACCGAAGAACACACGATCATGGGCG
BMNPV      TGTCCAAATGTACTTTAACAGCCCATACTTGCGCACCGAAGAACACACGATCATGGGCG
CfMNPV     CGTCGAAAATGTACTTTAACAGCCCCCTACCTGCGCACCGAGGAGCACACCATCATGGGCG
OpMNPV     CTCTCAAATGTACTTTCAACAGCCCCCTACCTGCGCACCGAGGAACACACCATCATGGGCG
LdMNPV     TCCTCAAGATGTATTTCAACACGCCGTACCTGCGCACCGACGAGCACACCGTTTCAGGGCG
XnGV        TCACAAAATGTATACACACACCCATACATGCGGACCGAGAATCGAAGTCGACAGGCA
          *          *          *          *          *          *          *
SlMNPV      TCGACGACGTGCCCGGTTTCAATGTCGAATACGGATCGGATCCTCATTTTCCCGAAAAGT
SlOmNPV     TCGACGACGTGCCCGGTTTCAACGTGCAATGCGGATCGGATCCTCATTTCCCTGAAAAAT
AcMNPV      TGAACGCGATGTCGCGGCTTTTAAAGTTCGCGCCGATCCCGACCCCTTGTTCCTCGAACGCT
BMNPV      TGGACGATGTGCCGGCTTTTAAAGTTCGCGCCGATCCCGATCCTTGTTCCTCGAACGCT
CfMNPV      TAGACGACGTGCCCGCGTTCAACGTGCGGCCCCGACCCGACCCGCTGTTTCCCGAGCGGT
OpMNPV      TGGACGACGTGCCCGCGTTTCAACGTGCGGCCCCGACCCGACCCGCTGTTCCAGAGCGCT
LdMNPV      TGGACGACGTGCCCGCGTTTCAACGTGACGCCCCGAGACGGGCGCC---TTCCTCGAAATGT
XnGV        TAGACGACGTGCCAGGTTTCGACACTAGATTAAGCGACAACCCAGTGTTCCTCGACAAAG
          *          *          *          *          *          *          *
SlMNPV      TTAAAGGCAGTTTAAACGAAGCGTATTGTGCGCGATTTCGGTCGCGAGATGATGAACG---
SlOmNPV     TTAAAGGCTCATTTCAACGCGGCGTATTGCGCGCGATTTCGGTCGCGAAATGATGAACG---
AcMNPV      TTAAAGCGCAATTCAACGAAGCCTACTGTGACGATTTCGCGAGAGAGCTATTCAACG---
BMNPV      TTAAAGGCGAATTCAACGAAGCCTACTGTGACGATTTCGGCAGAAATCTATTCAACG---
CfMNPV      TCAAAGGCGAATTCAACGAGGCGTACTGCGACGCTTTGGCCGCGATCTCATGAACG---
OpMNPV      TTAAGGCGAGTTCAACGAGGCGTACTGCGCGCGCTTCGGGCGCGACCTCATTAACG---
LdMNPV      TCGCGCGCGAGTTTCAACGAGGCGTACTGTGCGCGGTTTCGGGCGCTCGCTCATCAACG---
XnGV        TGGATGGGTTATTAAATTCGCTTATTGTGCTGCTTTCGGTAGGGATGTTGTGAACGCA
          *          *          *          *          *          *          *
SlMNPV      -----GAACATGTCTGATCCGATGGTGGGAAAGCATGATCGGTTTCGTAC
SlOmNPV     -----GAACGTGTCTGGTCAGATGGTGGGAGAGCATGATCGGTTTCGTGC
AcMNPV      -----GCGGTTGTTCGTTTAGATGGTGGGAATCGCTCATCGGATTCGTGC
BMNPV      -----GCGGCTGTTCGTTTAGATGGTGGGAATCGCTCGTCGGATTTCGTGC
CfMNPV      -----GCGGCTGCTCGTTTCGTTGGTGGGAGTCGCTGATCGGCTTCGTGC
OpMNPV      -----GCGGCTGCTCGTTTCGCTGGTGGGAGTCGCTCATCGGCTTTGTGC
LdMNPV      -----GCGGCTGCTCCATGCAATGGTGGGAGAGCCTGATCGGCTTCGTGC
XnGV        ATTCTAGCTCGGCCAGTGGCTGCGCCCAAGCGTGGTACGAAATGTTGGTGGGTTTGTTC
          *          *          *          *          *          *          *
SlMNPV      TCGGCGACACGATTTACATCACGCTTAAGTTGCTGCTCAACAATGTTTTAGCGAACTAC
SlOmNPV     TCGGCGACACGATCTACATCACGCTCAAGCTGCTCGTGAACAATGTTTTAGCGAACTTC
AcMNPV      TGGGCGACACGATCTTTGTCACTTTCAAAATGCTGGCCAACAACATTTTAGCGAACTGC
BMNPV      TGGGCGACACGATCTTTGTCACTTTCAAAATGCTGGCCAACAACGTTTTAGCGAATTGC
CfMNPV      TGGGCGACACAATTTATGTGACGTTTAAATGATGGCTAACAACATATTTTCGGAACGTC
OpMNPV      TGGGCGACACCATCTACGTGACCTTTAAATGTTGGCCAACAACATTTTTCGGAGCTGC
LdMNPV      TCGGCGACACCATCTACGTGACCTTCAAACTGCTCGCCAACAACGTTTCAGCGAGCTGC
XnGV        TGGGCGACTCGGTGTACGCTTCTTTCAAAATGCTGGCAACAGGCGTTGTGCGCGACATGG
          *          *          *          *          *          *          *
SlMNPV      GCAACTTTGACTATAGACGGCGTCCGAAATGCTGCCACCGCGGCCCAAGTCGACTCGG
SlOmNPV     GCAACTTTGACTATAGACGGCGTCCGAAATGCTGCCAGCGCGGCCCAAGTCGACTCGG
AcMNPV      GCGATTTTGTATTACAAAGCGCCTTCCAGCATACTACCGCCACGACCAACGTTGACTCCA
BMNPV      GCAATTTTGTATTACAGAGCGCCTTCCAGCATACTACCGCCACGACCAACGTTGACTCCA
CfMNPV      GCGATTTTGTATTACAGGCGCCTTCCAGCATACTACCGCCACGACCAACGTTGACTCCA
OpMNPV      GCGACTTTGATTACGCGCGCGCTGCGCGCTCTTGC CGCGCGCGCGCGCGCGGACTCGA
LdMNPV      GCAACTACGATTACGCGCGCGCCTGCGCTCTGCTGCCGACAAAGCGAGCGTGGAGGGCG
XnGV        CGTCCCAATTTACGATAGACCGTCTAGTATTTTACCACAACCACCGCCTGCGGGTA
          *          *          *          *          *          *          *
SlMNPV      CTCGCGTTCTAGACGAATGGAGAAACGTGCGCGATCCGGCCGTAGACGTTGATTTTGA

```

```

SlOMNPV      CCCGCGTCCTAGACGAATGGAGAAACGTGCGCGATCCCACCGTCGACGTCGACTTTGAGA
AcMNPV      ACGCAATACTAGCGCAATGGCGCAGCGTGCGCGATAACGCCACAGACTTGGAAATTTGAAA
BMNPV      ACGCAATATTAGCGCAATGGCGCAGCGTGCGCGATACCACTACAGACTTGGAAATTTGAAA
CfMNPV      ACGCGGTTTTGGGCCAATGGCGCGCTGTGCGTGATCGTGCAGTAGATTGGAACTTTGAAA
OpMNPV      ACGCCGTGCTGGCCCAATGGCGCGCGCTGCGCGACCGCGCCGTTGATTGGGATTTTGAAA
LdMNPV      CGAGCGTGCTCGCCCGCTGGCGCTCCGTGCGCGACCCGCGCGCCGACTTCGACTTTGAGC
XnGV      GGACGATGCTGGACGAATGGTTGGCGGCTAGAGACGATCGTTTCGACGACGATTTGAGA
              *  *  *      *  *  *      *  *  *      *  *  *      *  *  *
SlMNPV      ATAAATTTT-----CAACTTTCAAGTCTATATCCGAACCTGG-----ACATTAC----
SlOMNPV      ATAAATTTT-----CAACTTTTAAATCGATATCCGAACCTG-----ACATTAC----
AcMNPV      AACTTTTTTA-----ACAAAAATCCAACACTAAACGATTG-----GCATGAT----
BMNPV      AACTTTTTTA-----CCAAAAGGCCAACACTAAACGATTG-----GCATGAT----
CfMNPV      AGCAGTTTT-----CGGAGGCGCCGACGCTGCAACAGCTCG-----GCCTGCTA---
OpMNPV      OpMNPV      AACTTTTTT-----CGGAAGCGCCGACTTTGCAGCAGCTCG-----GCATG-----
LdMNPV      GCTCCTTCC-----TCGAGTTTCGCACGCTGGCCGATCTGC-----GCAT-----
XnGV      GACGATTGTATAACGCACGACGATTACGGTGATATGGCGCCTGGTACCACGCTTGTTTACG
              **          *          *          *          *
SlMNPV      ----GCAAAA-----CGTTCGACTCGTGTACAAAGCCGAAGTGG----
SlOMNPV      ----GCAAAA-----CGTTCGGCTCGTGTACAAAGCCGAAACGG----
AcMNPV      ----CGTCAA-----CGGGTCGCCGTCAGATCAGTACACGG----
BMNPV      ----TGTCGA-----CGGGTCGCCGTCAGATCAGTACACGG----
CfMNPV      ----GCCGACAA-----CGGCGGGCTGATGCAGCTTTCGCTACACGG----
OpMNPV      --GACGCCAA-----CGGCGTGCTAATGCAATTGTCGTACACCG----
LdMNPV      ----GACGCCAA-----CGACGCGCGACCAAACCTCGTCTACACGG----
XnGV      AAGCTGAAAAAGGTTACTCATATCGACCGTCGTCGTCGTGATGATACTAAACGGTCGT
              **          *          *          *
SlMNPV      -----GCTACACGCGCGA-----ACAGTTGCCCGCGTCAAA---
SlOMNPV      -----GCTATACGCGCGA-----ACAGTTGCCCGCTTCAAA---
AcMNPV      -----CCGAAACCGGCTTT-----ACTAAACTCCGATCGCA---
BMNPV      -----CCGAAACCGGCTTT-----ACTAAACTCCGATCACA---
CfMNPV      -----CCGAAACTGGGTTT-----GCCAAAACGCCCATTTGCG---
OpMNPV      -----CCGAAACCGGCTTC-----ACCAAACCTCCCATTTGCG---
LdMNPV      -----CCGAGAGCGGGTTC-----GCGACGGTCGCGCTCGCG---
XnGV      TGTGAGGCAAAATAAATTTCTGCGCGACTGGCCATGTTGAACGGTCGTGAGCGTCGCGAAA
              *  *  *      *  *  *      *  *  *
SlMNPV      ----GTTTGCCTCGCGCTATCGAATCGGC--GACA-----AGACCGGTGATCGAAAAA
SlOMNPV      ----GTTTGCCTCGCGCTATCGAATCGGCATCGCCA-----ACTGCGGCGTCAGGATCG
AcMNPV      ----TACAATTACCGCGGTAACGAACGTG-----CAC-----GTGTCGAACATTTTCGAGG
BMNPV      ----TACAATTACCGCGGTACCGAACGTG--TAC-----ATGTCGAACATTTTGAGG
CfMNPV      ----TACTCGGCGCGCGTAACACCGCGCG--C-----CGTCCGTGACTTTGGCG
OpMNPV      ----TACTCGGCGCGAGGCGCGGTCCGCG--T-----GGCGCGCAATCGCGCG
LdMNPV      ----CGCGACTTGA-AGTTTCGCGCGCGC--ACG-----GCGCGCGCGCGCGCGC
XnGV      ACATTACAAAGTCAAAGATTCTGTCTCACTGATAACCCGTTGAACGTGTGAGAAGTGATAG
              *
SlMNPV      GTTTTAA--TCGCGACTACGACGACGACGAGTTGGACGCAATCATTGCG-AGTTTCTTC
SlOMNPV      ATCGAAAAAGTTCGCGACGATTCGCGACGCGAATTGGAGACGATCATTGCGCAGTTTCTG-
AcMNPV      --CGTTCAATCAGCGACCAAGACTTGGAGTCAATTATAACATCGTTTTTG-
BMNPV      --CGTTCGA--CCGTTCAATCAGCGACCAAGATTGGAGTCAATTATAACAAAGTTTGTG-
CfMNPV      CGCCCGG--TCGCCAGCTCAACGACGAAGAGCTCGAAGCGATAATCGCCTCGTTTTTG-
OpMNPV      --CCGGCAATGAGCGACGACGACCTGGAGGCAATCGTCGCCTCGTTCCTT-
LdMNPV      TTCTCGG--CCGCGGC--CGAGGCGAGCTGGACGCCATCATTTTCGCAATTCCTG-
XnGV      CGGACGTTAATAATTTTAGTAATGACGAAAACCTAGATTCCATGATTATAGACTTCTTG-
              **          *  *  *      *  *  *      *  *  *
SlMNPV      GAAGACCACGCCATGTTATTCGGCATCTTTACCGATATGGGATTGGAAGCGCTAATGAGC
SlOMNPV      GAACATCACGCCCTGTTATTTCGGCATCTTTACCGATATGGGTTTCGAGGCGCTATTGAGC
AcMNPV      GAAGATTACGCGCTCGTTTTTCGGTATTGCTACGGACATTGGCTTTGATATGCTAATGTCC
BMNPV      GAAGATTACGCGATCATTTTCGGTATTGCTACGGACGCTGGCTTTGAGATGCTAATGTCC
CfMNPV      GAAGAATACTCGCTCGTTGTTTGGCATCGCGACCGATATTGGATTGACATGTTGTTGACA
OpMNPV      GAAGAGTACGCGCTCGTGTGTTGGCATCGCCACCGACATTGGGTTTCGACATGCTCCTGACG
LdMNPV      GAGGACCACTCGCTCGTGTGGGCATCTCACCAGCTTGGCGTTCGACGCTCTGCTCGAC
XnGV      GAAGATCACGCGTTTATAATTGGCATCCTCACCGACCTAGGTTTAAATATTTAGAGTCG
              ** *  *  *      *  *  *      *  *  *
SlMNPV      AATTTCAAATCAATGTTGAAAAAATCAACACGACACTTTTGCCAAAATTGCGCGCTATA
SlOMNPV      AATTTTAAATCAATGTTGAAAAAGATCAACACGACACTTTTGCCAAAGTTGCGCTCGATC
AcMNPV      GGGTTTAAAAGCATGTTGAAAAAATTAACACTTCTCTCATTCCGGCCATGAAACACATG
BMNPV      GGGTTTAAAAGCATGTTGAAAAAATTAACACTACTCTCATTCCGGCCTTGAAACGCATG
CfMNPV      GCATTCAAAACAATGCTTAAAAAATTAACACAGCCCTCATCCGCGCCCTCAAACGTATG
OpMNPV      GCGTTTAAAAGCATGCTCAAAAAAATTAACACGGCGCTGATTCCGGCGCTCAAACGCATG
LdMNPV      CAGTTCAAGGCGTGCTCAAGAAAAATGAGACGCAATTGATACCCGCGCTCAAACGCGCG
XnGV      CAATTAATAAATGTTGAAAGAGATTAGTAGTCAACTGTTGCCTATATTGCGCAATCTA
              ** *  *  *      *  *  *      *  *  *
SlMNPV      CTACTGTCGACGACGAGCCGGGTAGCGCCGATTTTTGTGCTACGTTTACAAGGGAGCC

```

```

SlOMNPV      CTGCTGTCGACGACGAGCCGGGTGAGCGCTCGATTCTTGTGCTACGTGTACAAGGGAGCC
AcMNPV       TTGCTTAGCACGACTCGGCGCGTGACCGTGCGCATGTTGGGAGAGACTTACAAAGCCGCG
BMNPV        TTGGTTAGCACGACTCGGCGCGTGACCGCGCGCATCTTGGGAGAGACTTACAAAGCCGCG
CfMNPV       CTGGTGAGCACCTCGCAGCGCTGACGGTGCGCCTTTTGGGCGAAACATACAAGGCGGCG
OpMNPV       CTGGTGGGCACGTGCGCAGCGCTACGGTGCGGCTGCTGGGCGAAACGTACAAGGCGGCG
LdMNPV       CTCCTCTCCACGTCCAAGCGCGTCACCTCCAAAATGCTCGGCGAGACCTTCAAGGCGGCC
XnGV         CTGTTGAGTGGTGGTAGAACGTTTACAAATCGTTTGGCCGACAGGTGTACAAGCTATA
          *  *                *  *                *  *                *  *  *  *

SlMNPV       GTGATCAACATGATGTCTCGTCTCGCCATCAAGACGGTGACGGCTATGGCGAAGGCACTG
SlOMNPV      GTGATCAACATGATGTCTCGCTCTCGCAATCAAAACGGTGACGGCTTGGCGAAGGCTCTG
AcMNPV       TTAGTGCACTCGCTCAACGTGATCGCCATCAAAACGCTGACCGTGACTGCCAAAGCGTTA
BMNPV       ATAGTGCACTCGTTCAACGCGATTGCCATCAAAACGCTGACCACGACTGCCAAAGCGTTA
CfMNPV       ATAGTGCACTCCATGAACAGGATTGCCATCAAAACGCTCACCACGGCGGCCAAGGCGCTA
OpMNPV       CTGGTGCACTCCATGAACAGGATTGCCATCAAAACGCTCACCACGGCGGCTAAGGCGCTG
LdMNPV       ATGGTGCAACAGTTCAATCGGATCGCCATCAAAACGCTGTCGACGGTGGCCAAAGGCGATG
XnGV        GTTATCAATACAGTTTACCACACTGATTAGAACCGTTGCCCTAGTGTCAAAAATGATG
          *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

SlMNPV       ACTCGGATGGCAATTCAAGCGCTCGTCCGTGATCGGTATAGTATTGATCGCGATGACTCTT
SlOMNPV      ACTCGATATGGCGATCATGGCGTCTGCTCGTATCGGTATAGTTTGTGATCGCGATGACTCTT
AcMNPV       ACTCGAATCGCTATCCAAGCCAGCTCCATTGTGCGCATCGTGCTCATTTATTGACGCTG
BMNPV       ACTCGAATTGCTATCAAGGCCAGCTCCGTCATCGGCATTGTGCTCATTTATTGACGCTG
CfMNPV       ACGCGCATTTGCTATCAAGGCCAGTTCCGTTGGTGGGCATTGTGCTCATCTTGTTTTACACTG
OpMNPV       ACGCGCTCGCCATCAAGGCCAGCTCTGTAGTGGGCATTGTGCTCATTTATTACGCTG
LdMNPV       ACCAAGATCGGCATCAAGGCCGCTCCGTTGGTGGGCATCGTGCTCATCTGATCAGCATC
XnGV        TTCCGCGCCTTAAAAATGGCCATGTGCGGTGATAAACGTCGTTCTCCTGTTCTCGACTCTA
          *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

SlMNPV       GTCGATCTACTGCTAATGTTCTGGGATCCGTTTCGGTTACAACAACATGTTTCCGCGAGAA
SlOMNPV      GTCGATCTATTGCTAATGTTCTGGGACCCGTTTCGGTTACAACAACATGTTTCCGCGTGAA
AcMNPV       GCAGATTTGGTTTTGGCGCTATGGGACCCGTTTCGGTTACAACAACATGTTTCCGCGCGAG
BMNPV       GCAGATTTGGTTTTGGCGCTATGGGACCCGTTTCGGTTACAACAACATGTTTCCGCGCGAG
CfMNPV       GCGGATTTGGTTTTGGCGCTGTGGGACCCATTTCGGTTACAGTAACATGTTTCCGCGCGAG
OpMNPV       GCGGATTTGGTTGGCGCTGTGGGACCCCTTTGGGTACAACAACATGTTTCCGCGCGAG
LdMNPV       GCGGACCTGGTGCTGGCGCTGTGGGACCCCTTCGGCTACAACAACATGTTTCCGCGCTCC
XnGV        GTCGATTTCTGCTCATGATTGGGACCCGTACGGTTACAATAATATGTTTCTCCTCGCGGT
          *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

SlMNPV       TTTCCCGACGATCTGGTCGATTCTGTTCTGATGTCGTACTATGAATCCATGGGCGAAGGC
SlOMNPV      TTTCCCGACGATCTGGTCGACTCGTTTCTGATCTCGTACTACGAATCAATAGGCGAGGGG
AcMNPV       TTTCCCGACGACATGTGCGGCACGTTCTCTGACTGCGTACTTTGAGAGTTTCGACAACACC
BMNPV       TTTCCCGACGACATGTGCGGCACGTTCTCTGACTGCATACTTTGAAAGTTTAGACAACACC
CfMNPV       TTTCCCGACGACCTGTGCGGCACGTTTCTGACCGCCTATTTTGAAACGCTGGACGCCAAC
OpMNPV       TTTCCCGACGATTTGTGCGGCACGTTCTTAACCGCCTACTTTGAAACGCTGGACTCGAAC
LdMNPV       TTTCCCGAGGACATGTGCGGCTCCTTCTGCGCGGCTATTTCCAGTCCATGGGCGAGA--
XnGV        TATCTGACGACCTGTCAAACGCTTTTCTGGGTTGTTGTACGAAAGTGTCCGATATCGAG
          *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

SlMNPV       A---GCAGAGACATGATAGAGTTTGAACCGATGTTTGTGGCGA-----CATG---
SlOMNPV      A---GCAGAGACATGATCGAGTTTGAACCAATATTTTTCGGCGA-----CATG---
AcMNPV       ACGTCCAGAGAAATCATAGAGTTTATGCCCGAGTTCTTTTCGGA-----AATG---
BMNPV       ACGTCTAGAGAAATCATAGAGTTTATGCCCGAATTCTTTTCGGA-----TATG---
CfMNPV       AGCTCGCGCGAAATAATCGAGTTTTCGCCGAGTTTTCGGA-----CGTA---
OpMNPV       ACTTCCCGCGAAATATTGAGTTTTCGCCGAGTTTTCGCGA-----CATT---
LdMNPV       ----CGCGGACATGATCGAAATGCTGCCCGAGTACTTTGACGA-----CCTG---
XnGV        A---ACCGGACCTCATAGTAGTGCAGCCGGAATGTTTGGGAGTACGTTAACATAACT
          *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

SlMNPV       -----GTCGAAGACATGGACGAA--TACCAAC--TCGACTCGATGCTCTAC
SlOMNPV      -----GTCGAAG--CATGGACGAGGTATCAAC--TCGACTCGATACTGTTT
AcMNPV       -----GTCGAAA--CGGACGATGACGCCACGTTTGAATCTCTATTTCAT
BMNPV       -----GTCGAAA--CGGACGATAAAGCTACGTTTGAATCTCTATTTCAT
CfMNPV       -----GTAGAAA--CTGACGATGACGCCACGTTCCAGTCTCTGTTTCAC
OpMNPV       -----GTAGAAA--CGGACGACGACGCCACGTTCCAGTCTGCTATTCCAT
LdMNPV       -----ATCGAGG--AGGACGACTCGGCCGTGTCGAATCGTCTGCTGCAC
XnGV        TATCCGCGCCAGCGCCGTTGAACAAAGAGAACTGGACACAATGTCTCTATCGACCATAAAC
          *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

SlMNPV       ATATGGGAATACTTGAACGGTTTAGAAGTCAATTCGGACGGACAAGTGTGCTCTGGGAA
SlOMNPV      ATATGGGAGTACTTGGACAGTCTCGAAGTAAATTCGGACGGGCAACTGTTGCTTGGGAG
AcMNPV       TTATTAGATTATGTGGCATCTTTAGAAGTTAATTCGACGGCCAAATGTTAAACTTGGAG
BMNPV       TTATTAAATTATGTACATCTTTAGAAGTTAATTCGACGGCCAAATGTTAAATTTGGAT
CfMNPV       TTGCTCGACTACGTGGCCGCGCTCGAGGTGAACCTGGACGGACAAATGCTGCACCTTACC
OpMNPV       TTGCTCGATTATGTGGCCGCGCTCGAGGTGAACCTGGACGGGCGAGTGTGGCGTTGGAC
LdMNPV       ATACTCGACTACGTCTCCGAGCTGGAGGTCAACTCCAACGGACAGCTTCTGAGTTGAAC
XnGV        GCTATAATATATATAGATAGTCTAGAAGTAAACAGCAACGGTCAAAATAAGCTGG--
          *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

SlMNPV       GAGGACGAGCCCGTGTCCGATTTTACGAGATCACGCTCGTGGGCGCGGCTCTCGCTTCG
SlOMNPV      GAGGACGAGCCCGTGTCCGACTTTGACGACATCACGCTCGTGGGCGCGGCTCTCGCTTCG
AcMNPV       GAGGGTGATGAAATTGAGGATTTTACGAATCTACTTTGGTGGGGCAAGCGTTAGCCACT

```

```

BMNPV      GAGGGTGATAAAATTGAGGATTTTGACGAATCTACTTTGGTGGGAAAGCGTTAGCCACT
CfMNPV     GAAAGCAATGCAATCGAGGATTTTGACGAGGCCACGCTCGTGGGCCAGGCGCTGGCCAGC
OpMNPV     GAAAGTGACGAGATCAAAGATTTTCGACGAGGCCACGCTCGTGGGCCAAGCGCTGGCCAGC
LdMNPV     GAGGGCGAGCCGATCGAGGACTTCGACGAGCTCACGCTGCTCGGCTCCGCGCTCGCCTCC
XnGV       GAAGCGACCCCTTGACCGATATAGATTTGGAGAGCGTGATTCTGCTGGATTGCGCGCC
          **      *      *      *      *      *      *      *      *      *
SlMNPV     AGCGCCATGTACACGCGCGCCGAGTTTCACGCGTACACCGAACGACACAATCGGATCATG
SlOmNPV    AGCGCCATGTACACGCGCGCCGAGTTTATCCGTACACCGAACGCGCACAAATCGAATCATG
AcMNPV     AGCTCGCTATACACTCGCATGGAGTTTATGCAGTACACGTTTAGGCAAAACACACTATTG
BMNPV      AGCTCGCTATACACTCGCATGGAGTTTATGCAGTACACGTTTAGGCAAAACACAATATTG
CfMNPV     AGTTCGCTGTACACGCGCCTCGAGTTTATGCAGTACACGTTTAGACAGAATACGTTGTTG
OpMNPV     AGCTCGCTGTACACAGCTCTCGAGTTTATGCAATACACTTACAGGCAAAACACGTTGTTG
LdMNPV     AGCGCCATGTACACGAAATTGGATTTCTTAAATACACGCGCGCCACACCGCGCGCTC
XnGV       AAC-CGTAATTATCAATACTTTAAATGGTTCATGACTCGTCACAATAAAATCTGTTGAA
          *      *      *      *      *      *      *      *      *
          *      *      *      *      *      *      *      *      *

SlMNPV     GCCAACTCTGAACGAAATTGCACACCGCTAGTCGATCAGAT-----TCTAACGTTTCT
SlOmNPV    ACAAACCTCTGAACGAAACCGCACACCGTTGGTCGATCAGAT-----TCTAACGTTTCT
AcMNPV     TCTA----TGAACAAAGAAACACAAT--TTAATCAAAT-----AATCATGGGTTT
BMNPV      TCTA----TGAACAAAGAAACACAAT--TTAATCAAAT-----AATAATGGGTTT
CfMNPV     GAAA----TGAATAAAATTAACAACAGAT--TTAATGGAGC-----GATAGCAAGTTT
OpMNPV     GCAA----TGAACAAAGAAACACAAGT--TGAATGGGGT-----GATAGCGGGTTT
LdMNPV     GAGC----CCGCCGCGCGCCCGCGCGCC--TCTATCTGGC-----GTGCTGTGGGC
XnGV       CCCATCACCGCTCGTTGTAAACTCTAAATACCTTGGCGGGTTCGTATTACTGGTGGGTGG

SlMNPV     GCTTTTGGTATGCGCTGGAATCGCGT----GGATCTCCGCGCGCGGT----CCCGTCATG
SlOmNPV    GCTTTTGGC-TGCGCCGGAATCGCGT----GGATCGCGCGCGGC-----CCCGTCATG
AcMNPV     ATTTGCAACAAACACAATTTGGCGGTTTACAGCATTGTTTATACACAGAACTCATATT
BMNPV      GTTTGCAACAAACACAATTTGGCGGTTTACAGCATTGTTTATACACAAACAACTCATATT
CfMNPV     ATTTTAAACAGGTACAGCAGTCGCTCTTGGCGGCTTCATGTTGCACAAAAGCTTACATT
OpMNPV     ATTTTGAACAAATACAGCGGTGGCCCTTGGCGGCTTTATGCGCACAAGGAACCTACGTT
LdMNPV     GTTGGCCGGGCTGGTCGCGTACGTGATCGCGCGGAGCCGACGAGGCCGCGCCCGCGG
XnGV       GATGGTGGCCGCTACAAAATGTGAATCGTAAAGCTTAGAACCACTCAACTGGTGGC
          *      *      *      *      *

SlMNPV     T---CCAGTCT-CGTGATAATCTTTTACTTATGATAGTTTCAAAT-GATCAATGCTC
SlOmNPV    T---CCAGTCTTCGTATATAATCTTTTACTCATGATAGTTTAAACT-AATCAACGCTC
AcMNPV     T---TTTATATTTTCGTAATCTTCCTAATGATCAGATTTTATTACAT-AATCAAAGAAT
BMNPV      T---TTTATATTTTCGTAATCTTCCTAATGATTACATTTTATTACAT-AGTCAAAGAAT
CfMNPV     T---TTTGTGTATTTTGCAATATTCCTAATGCTCGCACTATCTATTT-AGTCAAAGAGC
OpMNPV     T---TTTGTGTATTTTGCAATATTTTGTGCTGCTGCTTTTATTACTT-GGTCAAAGAGC
LdMNPV     CGCCTCCACCACGCTCGCTCGCTCTCGATCCGGGCCGAGGAGGATCTGACGCGTCGACA
XnGV       GTTTTCAGTGTTATTTTACTCTTAATCATATCGGAATATGGCTTAT-AATGACAGAGT
          *      *      *      *      *

SlMNPV     CGTTCATGTATTTTGTGGGAATGCAACGGTTCGACGCGGTGATCCGCT--GC-TCTGGT
SlOmNPV    CGTTCATGTATTTTATGGAATGCAACGGTTCGCGCCGCGCGATCCGC-----TTTGGT
AcMNPV     CGTACGAATATTATAAAACAATTGATTGTTATTTTAA-----
BMNPV      CGTACGGATATTATAAAACAATTGATTGTTATTTTAA-----
CfMNPV     CGTACGAGTACTTTAAACGATCGACTTGCTTTTAA-----
OpMNPV     CGTACGAGTATTTCAAACCGTCGATTGCTGTTTGA-----
LdMNPV     CGCCAGCGTGCTTTTCGTGATTTTCTCTTGATTGTTGTGTACACCGTGATGG-TCGAGT
XnGV       CTCTCAAGTATTACATGACGCTGTACACCACAAAACGCTGCTGCGCCAGAAAGAAAC
          *      *      *      *      *

SlMNPV     ACATAAATTATTAA-----
SlOmNPV    ACATAAATTACTGA-----
AcMNPV     -----
BMNPV      -----
CfMNPV     -----
OpMNPV     -----
LdMNPV     CGGTGAGCTACTATCTGAGGCTGCACCGAGAGGCCGACGCTCACGGCCAGCCCTCTGT
XnGV       TGGCACAAAACAAACCGTTAGTGTAACAAAATTAA-----

SlMNPV     -----
SlOmNPV    -----
AcMNPV     -----
BMNPV      -----
CfMNPV     -----
OpMNPV     -----
LdMNPV     GGTATCAAAATCTGGACACCTGA
XnGV       -----

```

Nota: El ATG marcado en negrita y recuadrado es una indicación para el problema número 3) y no es el codón de inicio, que está indicado en una caja negra. Hay 60 nucleótidos por bloque.

1)

- a) Diseñar un par de *primers* universales que le permitan obtener por PCR un fragmento interno del ORF *p74* de cualquier baculovirus (cuanto más grande mejor). Introduzca en cada extremo un sitio de reconocimiento para una endonucleasa de restricción diferente.
- b) Plantee como haría la reacción de PCR, mencionando los reactivos con sus concentraciones, y el perfil de ciclado óptimo (al menos según el conocimiento teórico). Indique también los controles que utilizaría y como verificaría que sus *primers* funcionan sobre cualquier DNA genómico de baculovirus.
- c) Plantee la estrategia de clonado y secuenciación de los fragmentos amplificados en el plásmido pZErO.

2) Gracias al diseño anterior, usted pudo obtener fragmentos correspondientes al gen *p74* de todos los aislamientos de baculovirus estudiados, algunos aún no caracterizados. Esto le sirvió como molde para el desarrollo de sondas que le posibilitaron el acceso a gran parte de la secuencia de dichos genes. Ahora su intención es lograr una metodología que le permita tipificar las distintas variantes virales.

- a) Diseñar el mínimo número de *primers* que le permitan mediante PCR identificar con certeza a cada uno de los patógenos virales (AcMNPV, BmMNPV, SIMNPV, SloMNPV, XnGV, CfMNPV, OpMNPV, LdMNPV).
- b) Plantee como haría la reacción de PCR, mencionando los reactivos con sus concentraciones, y el perfil de ciclado óptimo (al menos según el conocimiento teórico). Recuerde que la mejor situación sería aquella donde la identificación se realiza en una sola reacción.
- c) Indique los controles adecuados que introduciría para corroborar que su diseño es altamente específico y sensible.