Problema di Splicing

Un paziente di 8 anni presenta distrofia muscolare progressiva. L'analisi genetica rivela una mutazione nel gene della distrofina che causa uno **splicing aberrante**.

Dati del Problema:

Sequenza normale del pre-mRNA (regione critica):

Esone 50: ...CAGGTAAGT...

Introne 50: GTAAGTATCC...TTTTTCAG

Esone 51: CGGCTACAA...

Mutazione identificata:

- Posizione: +1 dell'introne 50 (primo nucleotide dopo l'esone 50)
- Cambiamento: G→A (GT→AT nel sito donor)

1. **Spiega il meccanismo molecolare** che causa questo difetto di splicing
2. **Analizza le conseguenze** sui livelli di mRNA e proteina

Problema di Traduzione

Caso di Studio

Un laboratorio sta investigando la sintesi di una proteina di membrana virale. Durante l'analisi di varianti resistenti agli antivirali, sono stati identificati diversi mutanti con alterazioni nella produzione proteica.

Sequenza mRNA normale:

5' - GCCAAGGAGGAUAUGCGCUUCCAGAUCGAUUUGAAAUAG - 3'

Mutanti isolati:

Mutante A: Sostituzione della sequenza Shine-Dalgarno AAGGAGGA → CCGCGCCG

Mutante B: Mutazione AUG → GUG (codone di inizio alternativo)

Mutante C: Delezione di 1 nucleotide (A) dopo il 3° codone

Mutante D: Mutazione del codone di stop UAG → UAC (tirosina)

Mutante E: Mutazione nel gene che codifica per il fattore di iniziazione IF2 (reso non funzionale)

Mutante F: Inserzione di 6 nucleotidi (GGGCCC) dopo il 5° codone

Condizioni sperimentali:

Esperimento 1: Traduzione in vitro con sistema batterico completo **Esperimento 2:** Traduzione in presenza di **streptomicina** (interferisce con il binding del tRNA al sito A)

Domande:

1. Quali mutanti produrranno proteine di lunghezza normale nell'esperimento 1?
2. Nel mutante C, determina la sequenza aminoacidica della proteina risultante e spiega l'effetto
3. Quale mutante mostrerà una proteina più lunga del normale?
4. Nell'esperimento 2 (streptomicina), quale fase sarà principalmente colpita e quale mutante sarà più resistente?

Problema di Regolazione Genica

Un laboratorio studia quattro ceppi di *E. coli* modificati per la produzione industriale di enzimi. I batteri sono testati in diversi terreni per valutare l'efficienza della regolazione degli operoni lac e trp.

Terreni di coltura:

Terreno A: glucosio + triptofano **Terreno B:** lattosio + triptofano

Terreno C: lattosio senza triptofano **Terreno D:** glucosio senza triptofano **Terreno**

E: lattosio + glucosio + triptofano

Ceppi batterici:

Ceppo WT: Wild-type normale

Ceppo mutante α : Repressore LacI costitutivamente attivo (non può legare allolattosio)

Ceppo mutante β : Repressore TrpR non funzionale (non può legare l'operatore trp)

Ceppo mutante γ : CAP-cAMP sempre attivo (non è influenzato dai livelli di glucosio)

Ceppo mutante δ : Doppio mutante: LacI costitutivo + TrpR non funzionale

Domande:

1. **Nel terreno B, quali ceppi possono produrre β -galattosidasi?**
2. **Nel terreno D, quale ceppo sprecherà più energia producendo enzimi inutili?**
3. **Nel terreno C, quale ceppo avrà la crescita più veloce?**
4. **Nel terreno E, il ceppo WT quale zucchero userà per primo?**
5. **Quale ceppo mostrerà i livelli più alti di enzimi trp nel terreno A?**

Problema di PCR

Stai amplificando un gene Y che codifica per una proteasi da un ceppo batterico termofilo, il frammento target è di 1200 bp; dopo elettroforesi su **gel di agarosio ottieni queste bande nel tuo campione**

- Banda principale intensa a ~600 bp
 - Banda secondaria a ~1200 bp (molto debole)
 - Banda forte a ~300 bp
 - Smearing tra 200-500 bp
 - Banda aspecifica a ~1800 bp
1. **cosa indica ciascuna banda e quali sono le possibili cause?**
 2. **La banda a 600 bp è probabilmente dovuta a quale fenomeno? Come lo confermeresti?**
 3. **Proponi una strategia completa per ottimizzare la PCR e ottenere specificamente il prodotto a 1200 bp**
 4. **Come modifichereesti la composizione della reazione per ridurre i prodotti aspecifici?**