

## ADN-BIOINFORMÁTICA

### 1. OBJETIVO DEL EXPERIMENTO

En esta práctica, los estudiantes explorarán la popular herramienta **BLAST bioinformatic**. En primer lugar se leerán las autorradiografías de secuenciaciones automáticas de geles. A continuación, se analizarán los datos resultantes utilizando las bases de datos disponibles al público (**BLAST**) para identificar los genes y productos genéticos.

### 2. COMPONENTES

Esta práctica contiene un total de 3 series de 4 autorradiografías de secuenciaciones automáticas de geles. Los estudiantes pueden utilizar cualquier base de datos de secuencias para llevar a cabo las actividades de esta práctica. En este protocolo se ha utilizado la base de datos ofrecida por el **Centro Nacional de Información Biotecnológica, NCBI (National Center for Biotechnology Information)**.

COMPONENTES	
Autorradiografías de secuenciaciones automáticas de geles	3 grupos de 4 autorad.

#### 2.1 Material requerido y no suministrado

- Una computadora con acceso a Internet.
- White Light Box (caja de luz blanca).

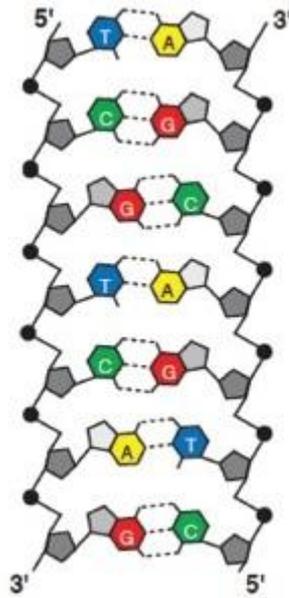
**NOTA:** Se recomienda como caja de luz blanca el sistema EDVOTEK GelVisualization Luz Blanca, ya que consideramos que es muy adecuado para esta práctica.

**NOTA:** Las autorradiografías también pueden ser colocadas en un retroproyector y ser mostradas a toda la clase.

### 3. INTRODUCCIÓN

#### **La bioinformática como piedra angular de la biología moderna**

La tecnología de secuenciación del ADN permite el análisis del ADN a nivel de nucleótidos. Los nucleótidos son los bloques de construcción de monómeros de ADN (Figura 1). Cada desoxinucleótido (dNTP) comprende tres partes básicas: un grupo fosfato, un azúcar desoxirribosa, y una base que contiene nitrógeno (adenina, citosina, guanina, o timina). El 3' grupo hidroxilo en el azúcar de un nucleótido forma un enlace covalente con el 5' grupo fosfato de su vecino. La naturaleza de esta unión resulta en cadenas muy estables con una polaridad distinta, haciendo del DNA una estructura ideal para almacenamiento de información genética.



**Figura 1:** Estructura del ADN.

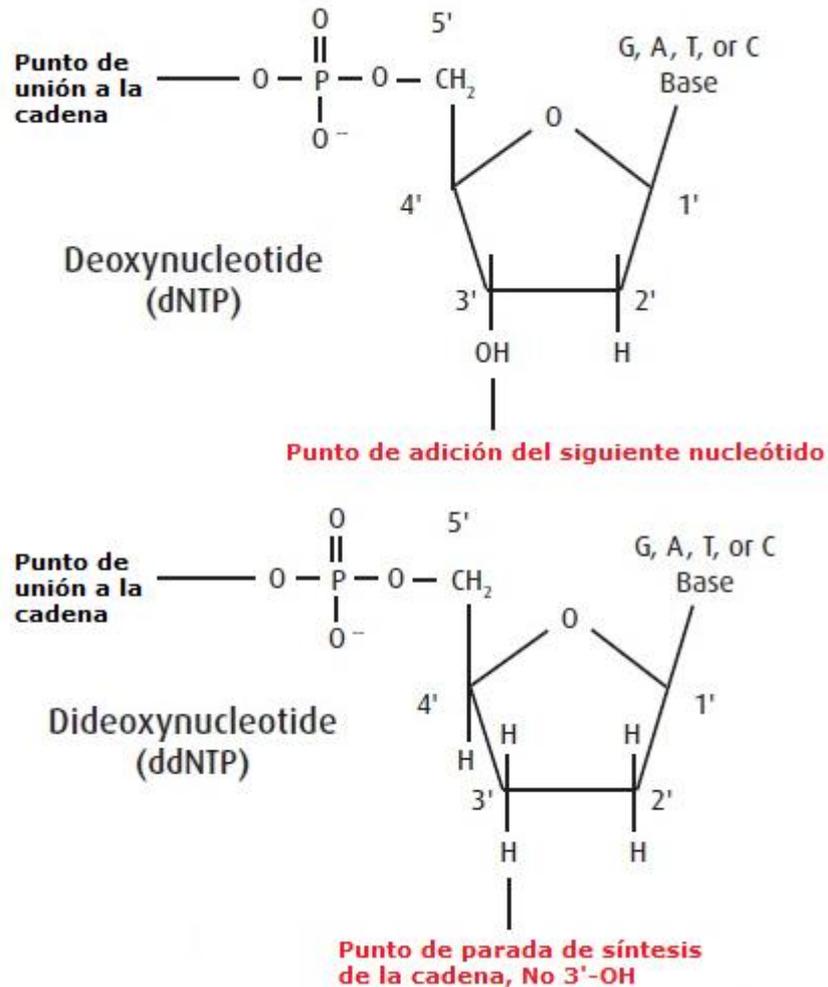
Los métodos de secuenciación automatizados de alto rendimiento han hecho que la información obtenida en la generación de secuencias sea mucho más eficiente. Por ejemplo, el genoma humano, que consta de alrededor de tres mil millones de nucleótidos, inicialmente necesitó más de una década para secuenciarlo, pero ahora se puede completar en menos de un día. Como resultado hay un gran énfasis no sólo en la generación de datos de las secuencias, sino también en almacenar y analizar estos datos. La bioinformática representa la intersección de la informática y la biología, que supone un enfoque matemático o informático que permite mejorar nuestra comprensión de los procesos biológicos. Uno de los principales objetivos en la bioinformática es el desarrollo de programas informáticos que permiten el acceso más eficiente y la gestión de grandes conjuntos de datos. Otros métodos tienen como objetivo desarrollar nuevos algoritmos (fórmulas matemáticas) y las medidas estadísticas que evalúan las relaciones entre los elementos de los grandes conjuntos de datos. Estos programas a menudo incluyen el reconocimiento de patrones, la minería de datos, aprendizaje automático y visualización.

### **El método de secuenciación del ADN de Sanger**

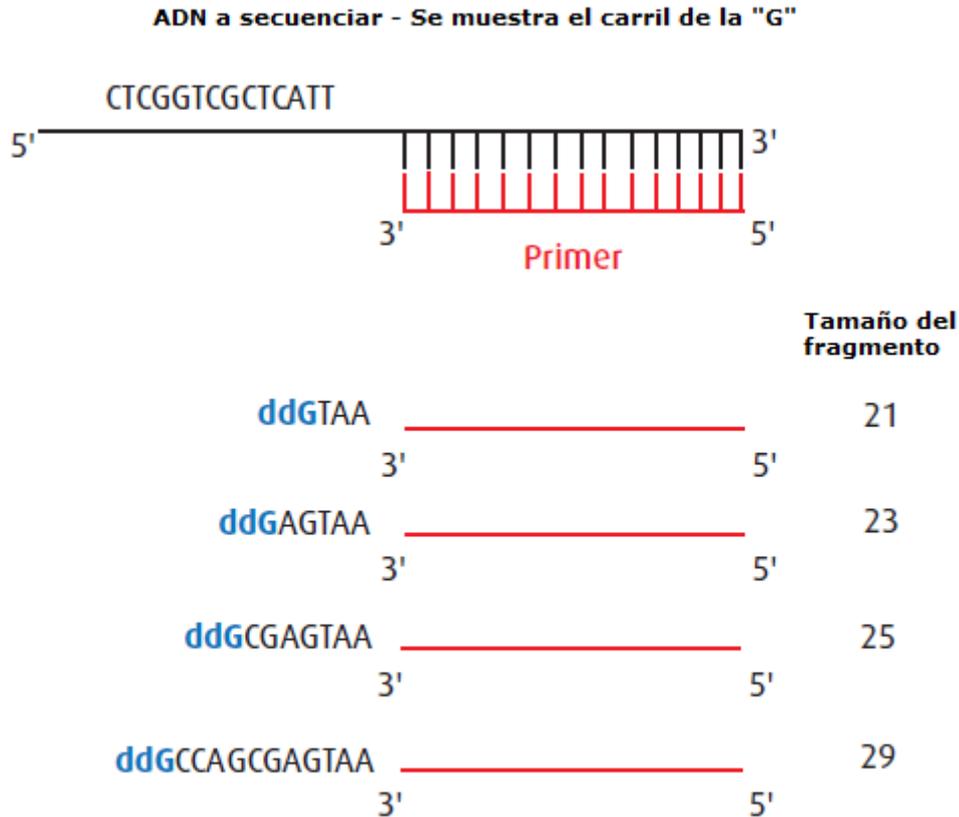
La **secuenciación de terminación de la cadena**, también llamado **secuenciación de Sanger**, permite a los investigadores generar DNA largo a partir de una secuencia diana, también conocido como la plantilla o molde ("template"). El molde de ADN se combina con un cebador de ADN, el enzima ADN polimerasa I (ADN Pol I), y una mezcla de dos tipos de nucleótidos libres, desoxinucleótidos (dNTP) y didesoxinucleótidos (ddNTPs). Es importante destacar que uno de los dNTPs a menudo está marcado con fósforo-32 radiactivo o azufre-35 para permitir la visualización de los fragmentos de ADN en las etapas posteriores del experimento. Durante la reacción de secuenciación, el ADN Pol I copia el molde de ADN mediante la adición de dNTPs al cebador para formar una cadena complementaria de ADN. De vez en cuando, la ADN Pol I en lugar de un dNTP añadirá un ddNTP en la cadena de ADN.

Este ddNTP carece de un grupo 3' hidroxilo que hace imposible a la polimerasa añadir el siguiente nucleótido (Figura 2). Como resultado de ello se termina la síntesis de la

cadena de ADN. En la **secuenciación de Sanger** se realizan cuatro reacciones enzimáticas separadas, uno para cada nucleótido. Al final de la incubación cada muestra contiene un grupo de moléculas cada uno con idénticas terminaciones 5' y 3' que terminan con la misma base de ddNTP. Sin embargo, ya que cada reacción finaliza al azar la muestra contendrá una mezcla de diferentes fragmentos de tamaño dependiendo del punto en que se incorporó el ddNTP. La figura 3 da un ejemplo de los fragmentos producidos por una reacción de ddGTP.



**Figura 2:** Estructura de los nucleótidos.



**Figura 3:** Incorporación aleatoria de ddNTPs.

Una vez que las cuatro reacciones de la **secuenciación de Sanger** se han completado, las mezclas de fragmentos pueden ser analizados por electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE). Las muestras se introducen en los pocillos de un gel de poliacrilamida y se conecta una corriente eléctrica que pasa a través del gel. Debido a que la cadena principal de azúcar-fosfato de DNA tiene una fuerte carga negativa, la corriente impulsa el ADN a través del gel hacia el electrodo positivo. A primera vista, un gel de poliacrilamida parece ser un sólido a temperatura ambiente, sin embargo, a nivel molecular el gel contiene pequeños canales a través de los cuales puede pasar el ADN. Los fragmentos pequeños de ADN pueden moverse a través de estos canales fácilmente, pero los fragmentos grandes necesitan más tiempo para atravesarlos. Debido a que las moléculas con diferentes tamaños viajan a diferentes velocidades, se separan y forman "bandas" diferenciadas dentro del gel. Esto permite a una técnica como PAGE separar fragmentos que difieren en tamaño un único nucleótido. Juntas, las cuatro reacciones de secuenciación contienen fragmentos de ADN que cubren toda la longitud de la secuencia del ADN.

Después de completar la separación electroforética, se realiza autorradiografía. El gel de poliacrilamida se coloca en contacto directo con una hoja de film de rayos x. Dado que los fragmentos de ADN se marcan radiactivamente su posición puede ser detectada como bandas oscuras en el film de rayos X (Figura 4). Como los fragmentos de ADN más pequeños migran más a través del gel la secuencia se debe leer de abajo hacia arriba. Esto proporciona una secuencia complementaria al molde de ADN original para su posterior análisis.

A	C	G	T	Tamaño del fragmento	Secuencia deducida
			T	31	T
		G	T	30	G
			T	29	T
A				28	A
A				27	A
		G		26	G
A			T	25	A
			T	24	T
		G	T	23	T
			T	22	G
	C		T	21	T
		G		20	C
				19	G

**Secuencia deducida: GCTGTTAGAATGT**

**Figura 4:** Secuenciación en gel simulada.

#### **Comparación de secuencias utilizando BLAST**

Los datos de la secuenciación de ADN tienen un valor limitado a menos que la información sea útil biológicamente, por lo que la bioinformática pasa a ser una parte crítica de la secuenciación del ADN. Después de la recogida de datos de secuencias de ADN, los biólogos moleculares suelen buscar secuencias similares en bases de datos públicas. La comparación de secuencias puede conducir a la identificación de los genes y otros patrones de secuencias conservadas. Además, la comparación de secuencias se puede utilizar para establecer relaciones funcionales, estructurales y evolutivas entre genes. Otra ventaja potencial es que la comparación de secuencias proporciona un método fiable para deducir las funciones biológicas de los genes recién secuenciados.

Una de las bases de datos más grandes y más influyentes es la **GenBank**. Esta base de datos de código abierto contiene más de un billón de secuencia de nucleótidos, son datos públicamente disponibles. Cada entrada en **GenBank** contiene una secuencia y un número de acceso único, así como la ayuda de anotaciones bibliográficas y biológicas tales como referencias de autor y datos taxonómicos. El **NCBI** supervisa y mantiene la base de datos, pero cada entrada la presenta directamente cada laboratorio de forma individual. La presentación directa ha permitido que la base de datos mantenga un rápido ritmo de crecimiento en la cantidad de datos de secuencias. Sin embargo, esto también significa que existe heterogeneidad en la calidad de las entradas, especialmente en la certeza de la identidad de cada nucleótido y en la medida de las anotaciones adjuntas. El impacto de esta incertidumbre puede variar en función de los objetivos del estudio, las propiedades físicas de la región(es) de ADN, y el método de secuenciación elegido. Para solucionar esto, **GenBank** clasifica la

información de las secuencias en base a la estrategia de secuenciación utilizada para obtener los datos.

Asociadas con esta base de datos encontramos la **Herramienta de Búsqueda de Alineaciones Locales Básicas** o **BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)**. El programa **BLAST** identifica regiones de similitud local entre la secuencia de ADN de un usuario y las secuencias en la base de datos de **GenBank**. En la terminología de **BLAST**, secuencia de entrada del usuario se conoce como la **secuencia de consulta**, las secuencias en la base de datos se conocen como **secuencias diana**, y secuencias con similitudes con la secuencia de entrada son **"hits"**. El usuario puede extraer conclusiones sobre la posible función molecular de la secuencia de consulta al mirar los "hits". Las similitudes entre secuencias sugieren homología, la existencia de una ascendencia compartida entre los genes. Además, **BLAST** se puede utilizar para identificar especies desconocidas, localizar los dominios de proteínas conocidas, y encontrar posibles localizaciones cromosómicas.

El programa **BLAST** tiene un enfoque heurístico para el problema de la búsqueda en la gigantesca base de datos de secuencias diana. Esto significa que toma atajos con el fin de hallar las secuencias que coinciden en un tiempo razonable. Estos accesos directos se basan en el supuesto de que las secuencias biológicamente similares contendrán fragmentos cortos con una coincidencia muy alta. Se analiza la base de datos entera en busca de la presencia de estos fragmentos cortos, y las secuencias que contienen estos dos fragmentos dentro de una distancia predeterminada se separan. Estas secuencias se alinean entonces con la secuencia de consulta para ver si el orden de los nucleótidos coincide más allá de los dos fragmentos. Mediante este tipo de búsqueda en la base de datos de **GenBank**, el programa **BLAST** puede obtener resultados muy rápidamente a pesar de sacrificar algo de exactitud y precisión.

Esta práctica introduce a los estudiantes a través de la bioinformática al análisis de datos de una secuenciación. Con el fin de adquirir experiencia en la búsqueda en bases de datos, los estudiantes usarán el servicio gratuito ofrecido por el **NCBI**. En la actualidad, **GenBank** comprende varias bases de datos, como las secuencias de nucleótidos **GenBank** y **EMBL** (Laboratorio Europeo de Biología Molecular), las traducciones de ADN complementario no redundantes **GenBank** (secuencias de proteínas) y la base de datos de **EST** (etiquetas de secuencia expresada). Los ejercicios planteados incluyen el uso de **BLASTN** para comparar las secuencias de nucleótidos.

#### 4. DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO

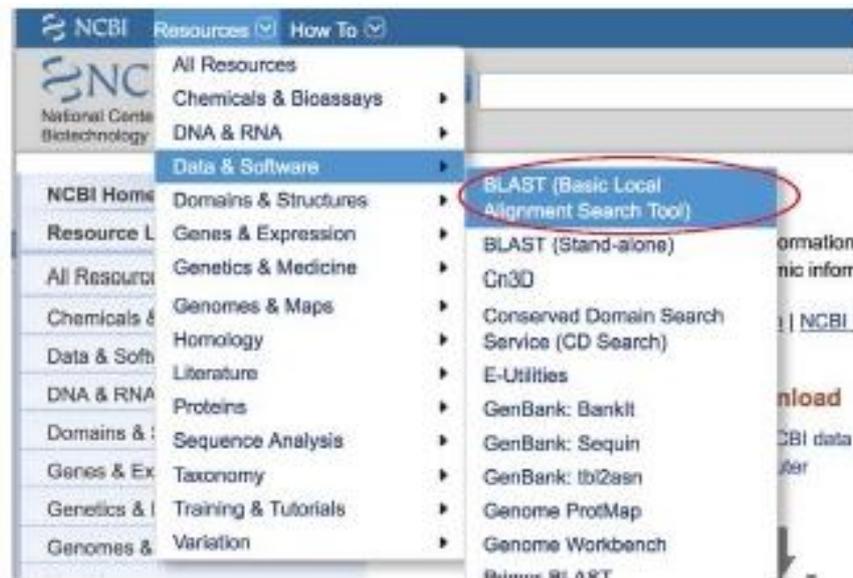
En esta práctica, los estudiantes explorarán la popular herramienta **BLAST bioinformatics**. En primer lugar se leerán las autorradiografías de secuenciaciones automáticas de geles. A continuación, se analizarán los datos resultantes utilizando las bases de datos disponibles al público (**BLAST**) para identificar los genes y productos genéticos.

#### 5. PRÁCTICA

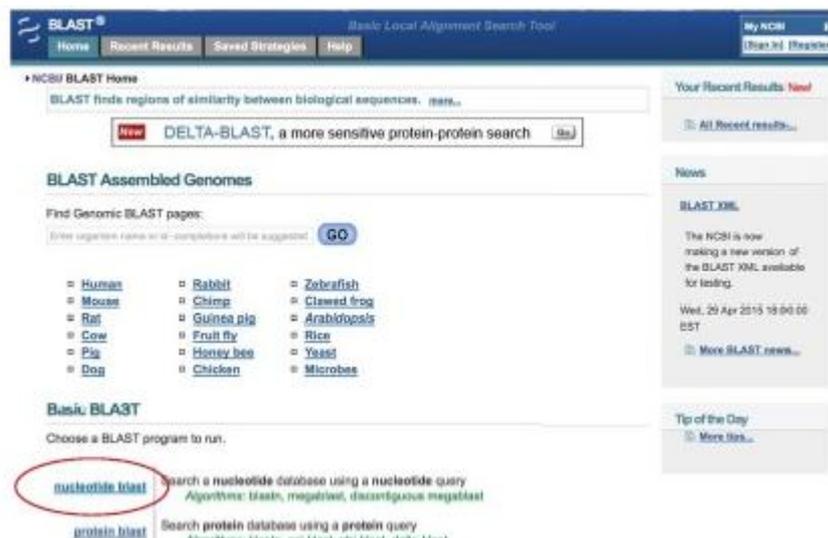
##### **A. Guía para el uso de BLASTN**

1. Escriba: [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) para iniciar sesión en la página web del NCBI.
2. En la parte superior izquierda de la pantalla, haga clic en el apartado **Resources** (Recursos) del menú desplegable.

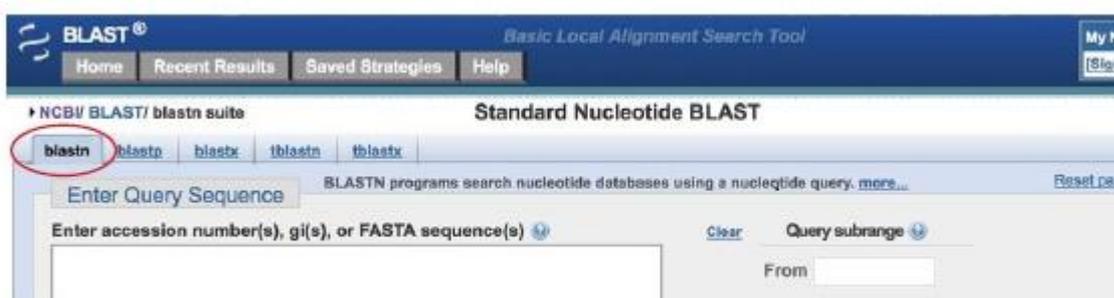
3. Haga clic en **"Data & Software"** (Datos y software), a continuación, haga clic en **"BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)"**.



4. En la nueva pantalla de inicio, seleccione **"nucleotide blast"** (Nucleótido blast), que es la opinión primera opción de la lista **"BLAST Basic"**.

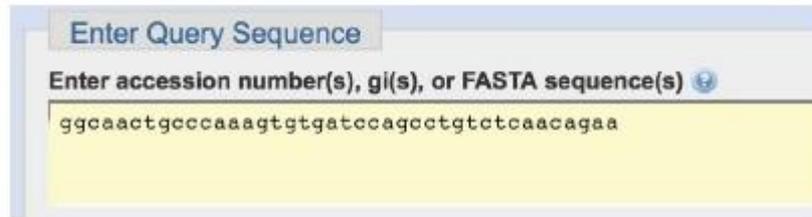


5. En la nueva pantalla asegúrese de que la pestaña seleccionada es **"BLASTN"**.

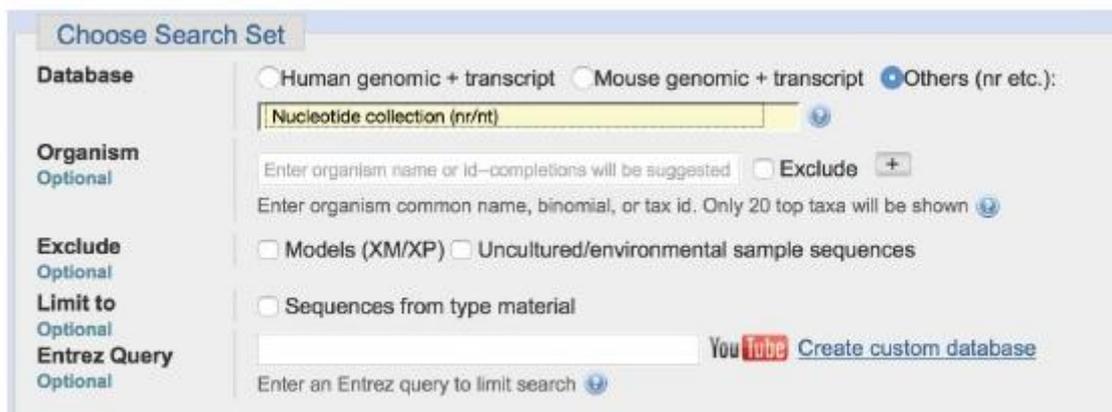


6. Introduzca la secuencia de nucleótidos en la caja grande en la sección **"Enter Query Sequence"** (Entrar secuencia a consultar); tenga cuidado al escribir la siguiente secuencia exactamente:

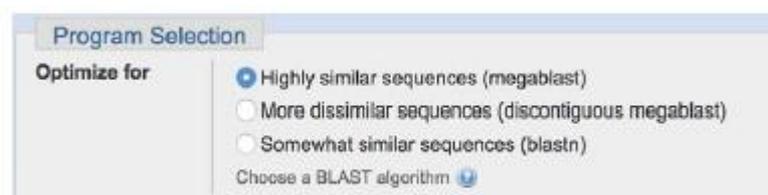
ggcaactgcccaaagtgtgatccagcctgtctcaacagaa



7. En **"Choose Search Set"** (Elija conjunto de búsqueda) asegúrese que se ha seleccionado **"Others (nr etc.)"** (Otros (nr etc.)) y que **"Nucleotide collection (nr/nt)"** (Colección de nucleótidos (nr/nt)) aparece en el menú desplegable. Las entradas restantes deben dejarse en blanco.



8. En la sección **"Program Selection"** (Selección del programa) seleccionar **"Highly similar sequences (megablast)"** (Secuencia de alta similitud (megablast)).



9. Haga clic en el cuadro de consulta azul **"BLAST"**.



10. Una vez se ha hecho click en el cuadro de búsqueda **"BLAST"**, se le asignará un ID#. Anotar este número para poder comprobar los resultados en un momento posterior.

11. Examine el informe de búsqueda **BLASTN**. El informe incluye:

- Informe Resumen de Búsqueda** muestra una visión general de los parámetros de la búsqueda **BLASTN**.



d. Sección de **Alineamiento** muestra bloques con los alineamientos de cada "hit" del programa **BLAST**. Cada bloque de los alineamientos comienza con un resumen que incluye la "**Max score**" (puntuación máxima) y el valor esperado, la identidad de la secuencia, el número de huecos en el alineamiento y la orientación de la secuencia de consulta con respecto a la secuencia sujeto.

The image shows three screenshots of BLAST alignment results. Each screenshot displays a summary table and a sequence alignment. The first two screenshots are for *Bos taurus* epidermal growth factor receptor (EGFR), mRNA, with sequence IDs ref|XM\_002696890.3| and ref|XM\_582211.7|. The third screenshot is for *Bubalus bubalis* epidermal growth factor receptor (EGFR), mRNA, with sequence ID ref|XM\_006089632.1|. Each result shows a score of 79.8 bits (40), an expect value of 2e-12, 40/40 (100%) identities, and 0/40 (0%) gaps. The alignment shows a perfect match between the query and subject sequences.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
79.8 bits(40)	2e-12	40/40(100%)	0/40(0%)	Plus/Plus

Query 1: GGC AACTGCCCAAAGTGTGATCCAGCCCTGTCTC A A C A G A A 40  
 Sbjct 711: GGC AACTGCCCAAAGTGTGATCCAGCCCTGTCTC A A C A G A A 750

12. Seleccionar una secuencia para centrarse en un análisis más profundo de la misma. Para ello, hacer clic en la barra de color en la sección **Gráfico Resumen**, o hacer clic en el nombre de la secuencia en la sección de **Descripción**, o desplazarse hacia abajo en la sección de **Alineamiento**. A continuación, hacer clic en el identificador de secuencia. Esto nos lleva a obtener información adicional acerca de la secuencia sujeto, incluyendo el nombre del gen, el género y la especie de origen, y artículos escritos sobre el gen. Después de realizar esta búsqueda, uno de los "hits" debe ser "**Bos taurus factor de crecimiento epidérmico (EGFR), ARNm**". Secuencia ID: **Ref |XM\_002696890.4|**. Si la parte superior del "hit" no coincide, volver a entrar la secuencia. Asegurarse que los parámetros de la búsqueda del **BLASTN** son los correctos.

## B. Ejercicios

### Ejercicio 1

Familiarizarse con la autorradiografía mediante la lectura de la secuencia de ADN de la muestra #1.

1. Comenzar en la flecha y leer hacia arriba el gel durante 20 nucleótidos. Escribir la secuencia de ADN. Buscar la secuencia en la base de datos del NCBI utilizando el programa **BLASTN**.

2. Comenzar en la flecha y leer hacia arriba el gel durante 30 nucleótidos. Escribir la secuencia de ADN. Buscar la secuencia en la base de datos del NCBI utilizando el programa **BLASTN**.

Algunas notas sobre la lectura de un gel de secuenciación:

- Se puede introducir la secuencia directamente en el cuadro de consulta o escribir la secuencia en un pedazo de papel y luego entrarla en el cuadro de búsqueda.
- Es muy importante que no confunda los carriles cuando lea la secuencia. El gel contiene los carriles A, C, G y T de izquierda a derecha.
- La lectura de un gel de secuenciación requiere que leer los nucleótidos en la dirección 5'→3'. Esto se puede lograr mediante la lectura hacia "arriba" del gel (a partir de la parte inferior del gel a la parte superior).
- Observe que, en general, la separación y la intensidad de la mayor parte de las bandas es bastante constante. Ignore las bandas de colores claros y elegir los sólo el más oscuros. En ocasiones, la secuencia será oscura y los cuatro carriles serán de intensidad relativamente similares. Esto se llama una compresión de la secuencia de ADN y es común cuando hay tramos de G y C. Este tipo de patrón debe ser tratado como una posición ambigua (ver nota siguiente).
- Si una banda en una posición exacta es ambigua, puede introducir una N que indica que podría ser cualquiera de las bases: A, C, G o T.

Con los resultados obtenidos de la autorradiografía #1 responder a las siguientes preguntas:

- a. ¿Los resultados obtenidos con **BLASTN** para la primera y la segunda búsqueda se parecen entre sí?
- b. ¿Cuál es el nombre de este gen?
- c. ¿A qué organismo es probable que pertenezca la secuencia de ADN de este ejercicio?

## **Ejercicio 2**

Ahora que están familiarizados con el proceso de inscripción y presentación, leer el análisis de la secuencia de ADN de la autorradiografía correspondiente a la muestra #2. Tener en cuenta que a veces es difícil juzgar la distancia y la intensidad más fuerte de la banda en cada carril y por lo tanto es necesario utilizar su mejor juicio.

1. Comience el ejercicio mediante la lectura de la secuencia de ADN de la muestra #2, aproximadamente 6 cm desde la parte inferior de la tira. Los primeros 12 nucleótidos deben ser: 5'...GGACGACGGTAT...3'.
2. Buscar la secuencia en la base de datos del NCBI utilizando el programa **BLASTN**.
3. Después de obtener los resultados del programa **BLASTN**, desplácese hacia abajo a la sección de **Alineamiento** y mirar las entradas que tienen nucleótidos que coinciden con su secuencia de consulta.

Algunas notas adicionales sobre la lectura de un gel de secuenciación y la interpretación de los resultados del **BLAST**:

- Recuerde que la secuencia de ADN siempre se introduce en la dirección 5'→3'.
- El ADN es de doble cadena y contiene una parte superior (5'→3') y otra inferior (3'→5') (a veces esto corresponde a las cadenas simples, codificante y no codificante). Cuando una secuencia de consulta se busca en la base de datos se examinan ambas cadenas de la consulta. La secuencia introducida se conoce como la **cadena positiva** y el complemento inverso de esta secuencia es conocida como la **cadena negativa**.
- Como regla general, las secuencias de nucleótidos idénticos que abarcan más de 21 pares de bases entre dos muestras indica, por lo general, que las secuencias están relacionadas o son idénticas.

Con los resultados obtenidos de la autorradiografía #2 responder a las siguientes preguntas:

- a. ¿Cuál es el nombre de este gen?
- b. ¿Cuál es la cadena simple que representa la secuencia de consulta? ¿Cuál es la cadena simple que representa la secuencia "hit"?

### **Ejercicio 3**

1. Lea la secuencia de ADN de la muestra #3. Comenzar desde la parte inferior de la banda y escribir la secuencia de ADN.
2. Buscar la secuencia en la base de datos del NCBI utilizando el programa **BLASTN**.
3. Haga clic en el número de acceso de GenBank de la secuencia hit para acceder a más información sobre la secuencia de ADN y/ gen.

Con los resultados obtenidos de la autorradiografía #3 responder a las siguientes preguntas:

- a. ¿Cuál es el nombre de este gen?
- b. ¿Cuántas pares de bases, aproximadamente, tiene este gen?

### **Ejercicio 4**

En esta sección se muestra la interacción de dos proteínas codificadas por dos genes. Las interacciones proteína-proteína desempeñan un papel fundamental en prácticamente todos los procesos en una célula viva.

Por ejemplo, las señales del exterior de una célula están mediadas en el interior de esa célula por las interacciones proteína-proteína de las moléculas de señalización. Este proceso, llamado **transducción de señales**, es muy importancia en muchos procesos biológicos tales como la división celular y la formación del citoesqueleto celular. En este ejercicio, vamos a utilizar secuencias de ADN para caracterizar dos genes humanos.

1. Lea la secuencia de ADN obtenido de la muestra #4. Comenzar desde la parte inferior de la banda y escribir alrededor de 30 pares de bases de la secuencia de ADN.
2. A continuación, suba alrededor de un tercio de la altura de la tira (~ 14 cm) y leer una parte de esta sección de la secuencia de ADN.
3. Para este ejercicio limitar la búsqueda a la base de datos de genes humanos. Para ello vaya a "**Choose Search Set**" (Elija conjunto de búsqueda) y seleccione "**Human genomic + transcript**" (Genóma humano + transcripción). Ver Guía para el uso de **BLASTN**, punto 7.
4. Buscar cada sección de la secuencia de forma individual en la base de datos del NCBI utilizando el programa **BLASTN**.
5. Una vez haya identificado el nombre de estos dos genes, realice una búsqueda general de Internet para recoger más información acerca de las dos proteínas.

Con los resultados obtenidos de la autorradiografía #4 responder a las siguientes preguntas:

- a. Este ejercicio contiene dos secuencias de ADN (desde la sección inferior y a partir de la sección central). ¿Cuáles son los nombres de los genes correspondientes a estas dos secuencias?
- b. ¿Cuáles son las funciones de las dos proteínas codificadas por estos genes?
- c. ¿Cómo interactúan estas dos proteínas en una célula viva?

## 6. RESULTADOS Y PREGUNTAS DE LA PRÁCTICA

A continuación se presentan las respuestas obtenidas mediante la realización de la búsqueda con el programa **BLASTN** de las secuencias proporcionadas en este kit partir de su publicación (2015). Debido a que la base de datos GenBank está en constante revisión, se recomienda que se realice la búsqueda de las secuencias en la base de datos de GenBank antes de realizar esta práctica con los estudiantes.

### 6.1 Resultados

#### **Ejercicio 1**

A. Las secuencias encontradas deberían ser casi idénticas para la primera y segunda búsqueda, pero los valores asociados a cada hit (puntuación máxima, la puntuación total, Valor E, etc.) serán más altos para la segunda búsqueda.

B. Factor de replicación C.

C. *Mus musculus* (Ratón doméstico).

#### **Ejercicio 2**

A. UEV y dominios del lactato/malato deshidrogenasa.

B. La secuencia de consulta representa la cadena simple positiva (la secuencia introducida). La secuencia hit representa la cadena negativa (la secuencia inversa complementaria).

#### **Ejercicio 3**

A. Rho GTPasa activadora de la proteína 5.

B. 7933 pb.

#### **Ejercicio 4**

A. La primera secuencia de ADN es la de **Bai1**. La segunda secuencia es la de **Rac1**.

B. La secuencia **Bai1** codifica **BAI1**, un inhibidor de la angiogénesis específica del cerebro. La angiogénesis implica el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos pre-existentes, es un proceso normal en el crecimiento, desarrollo y cicatrización de heridas. Sin embargo, la angiogénesis también ha demostrado ser esencial para el crecimiento y la metástasis de tumores sólidos. Con el fin de obtener el suministro de sangre para su crecimiento, las células tumorales son potentemente angiogénicas. La **BAI1** se cree que inhibe el nuevo crecimiento de las células de los vasos sanguíneos, por lo que suprime el crecimiento de los glioblastomas (tumores cerebrales malignos). La **BAI1** también se cree que funciona en la adhesión celular y transducción de señales en el cerebro. La secuencia **Rac1** codifica una pequeña GTPasa llamada **RAC1**. La **RAC1** actúa como un interruptor molecular en las vías de señalización que pueden cambiar la transducción de señales hacia dentro y fuera de una célula. La **RAC1** está activo u "ON" cuando se une a una GTP e inactiva u "OFF" cuando se une con a un PIB. La forma inactiva de **RAC1** (PIB-forma) se activa mediante el intercambio de GDP por GTP por los factores de cambio de nucleótidos de guanosina (GEFs). La inactivación de la **RAC1** se consigue mediante la activación de las proteínas GTPasa (GAP), que revierten la conformación de nuevo a la forma inactiva unida a GDP a través de la hidrólisis del GTP.

C. En una célula viva, después que la **RAC1** se activa mediante la unión de GTP, interactúa con **BAI1**. Esta interacción en la membrana citoplasmática es crucial para la función de **BAI1**, ya que se cree que participa en el crecimiento neuronal. La **BAI1** también se asocia con otros efectores derivados de las proteínas G Rho pequeñas, que se asocian con la formación de fibras y la citocinesis.

## [6.2 Preguntas](#)

Responde a las siguientes preguntas en la libreta de prácticas:

- 1. ¿Qué es una secuencia de ADN?**
- 2. ¿Qué representa cada banda en una autorradiografía?**
- 3. ¿Qué es el programa *BLAST*? ¿Por qué se le considera una herramienta bioinformática?**