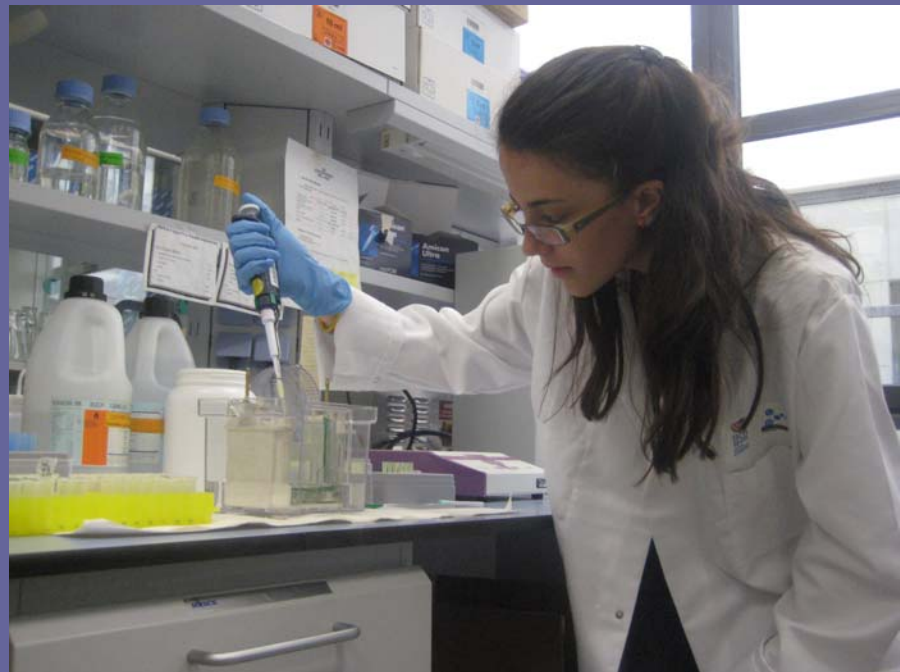


Seguiment de la grip A i expressió de gens específics GFP i FBP11 com a model d'estudi en el laboratori

Maria García
Novembre 2009



Aspectes a tractar:

1. Objectius
2. Seguiment de la pandèmia de la grip A (H1N1)
3. Estructura molecular del virus
4. Part experimental:
 - Objectius
 - Transformació i creixement dels bacteris transformats
 - Proves d'expressió
5. Resultats i conclusions:
 - Gel d'electroforesi
 - Fotos de les mostres després de les proves d'expressió fetes en el transil·luminador, amb llum UV.

Objectius

El treball consta de dues parts:

- Primera part: seguiment de la pandèmia de la grip A (H1N1).
- Segona part: part experimental amb els protocols de laboratori i els resultats.

L'estudi realitzat als laboratoris del Parc Científic sobre l'expressió de gens específics ens ha servit de model per veure com es poden obtenir proteïnes específiques.

- La tècnica emprada és similar a la que s'utilitzaria per fer un interferó concret (agent antiviral emprat en altres infeccions).
- També es podria trobar una proteïna específica de tipus anticòs per detectar la presència del virus.

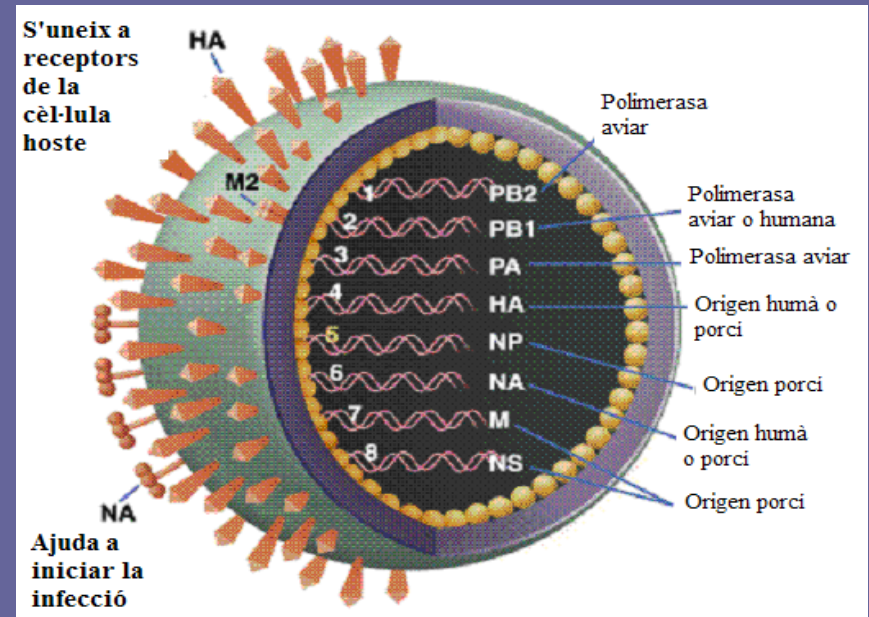
Seguiment de la pandèmia de la grip A (H1N1)

- L'OMS ha declarat el nivell d'alerta 6 (pandèmia) per a la grip A.
- S'ha caracteritzat amb precisió el virus causant de la grip A.
- La lletra A designa la família dels virus de la grip humana i de la d'alguns animals com porcs i aus i les lletres H i N (Hemaglutinines i Neuraminidases) corresponen a les proteïnes.
- S'ha comercialitzat la vacuna per al virus H1N1.
- Encara que el virus responsable de la grip sigui nou, ens trobem en una situació equiparable a la de la grip estacional. En la fase actual, el que cal fer és evitar els contagis.

Estructura molecular del virus

Genoma integrat per vuit cadenes simples que codifiquen deu proteïnes.
Els segments de RNA principals associats a proteïnes són:

- **Nucleoproteïna (NP):** responsable de l'estructura helicoïdal i les polimerases que contenen el complex enzimàtic viral encarregat de la replicació i transcripció del vRNA.
- **Hemaglutinina (HA):** reconeixement i unió del virus a les nostres cèl·lules del sistema respiratori.
- **Neuraminidasa (NA):** ajuda al virus a deixar la cèl·lula envaïda.
- **Antigens majors de superfície:**
 - Proteïna matriu (M1): confereix estabilitat a la partícula viral.
 - Proteïna M2: regulació del pH, funció necessària per a la decapsidació del virus i important diana de antivírics.



Part experimental

Objectius:

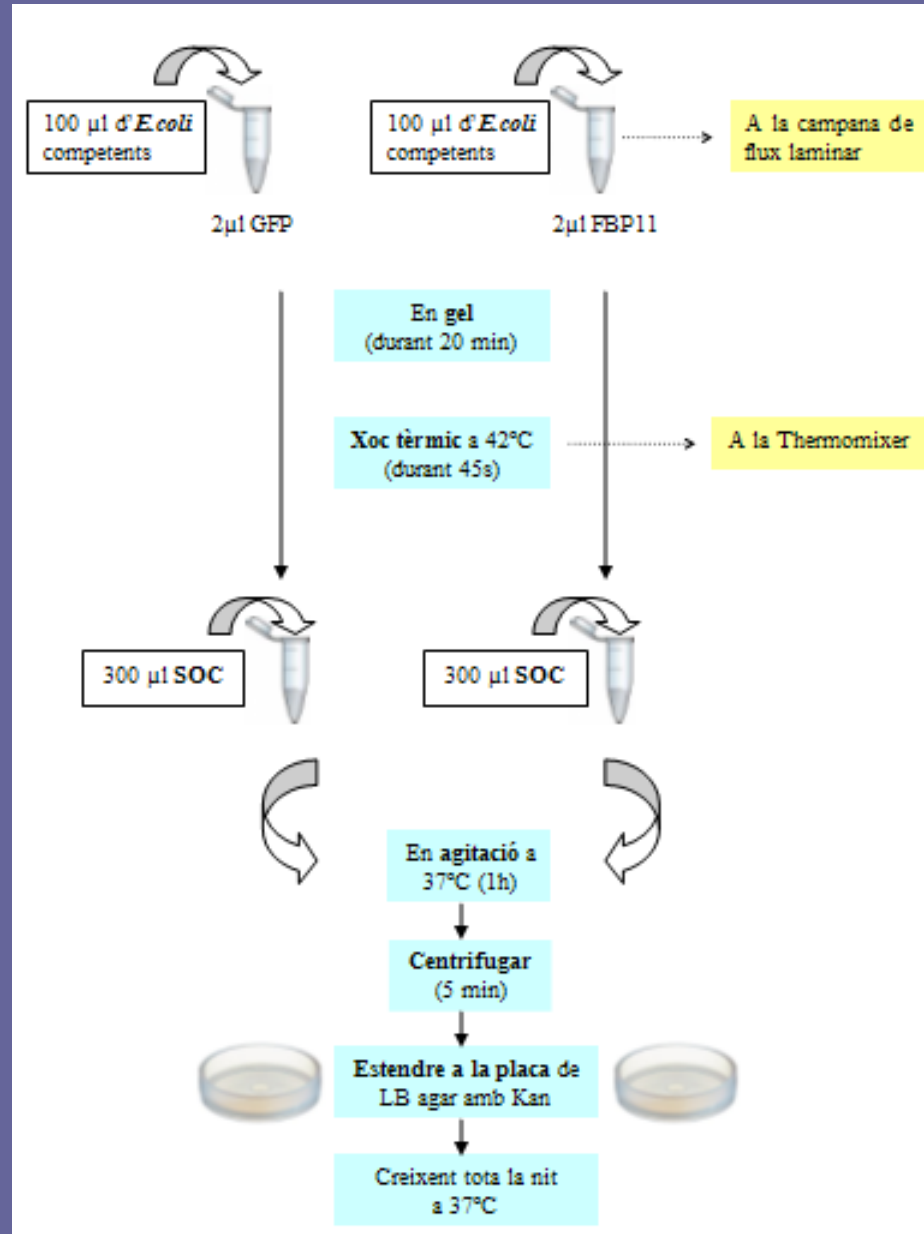
- Aïllar una proteïna i esbrinar les condicions d'expressió òptimes d'aquesta, variant la temperatura i la concentració d'IPTG*.
Les proteïnes que vam utilitzar son la GFP* i l'FBP11.*

***IPTG**: isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside

***GFP**: Proteïna verda fluorescent

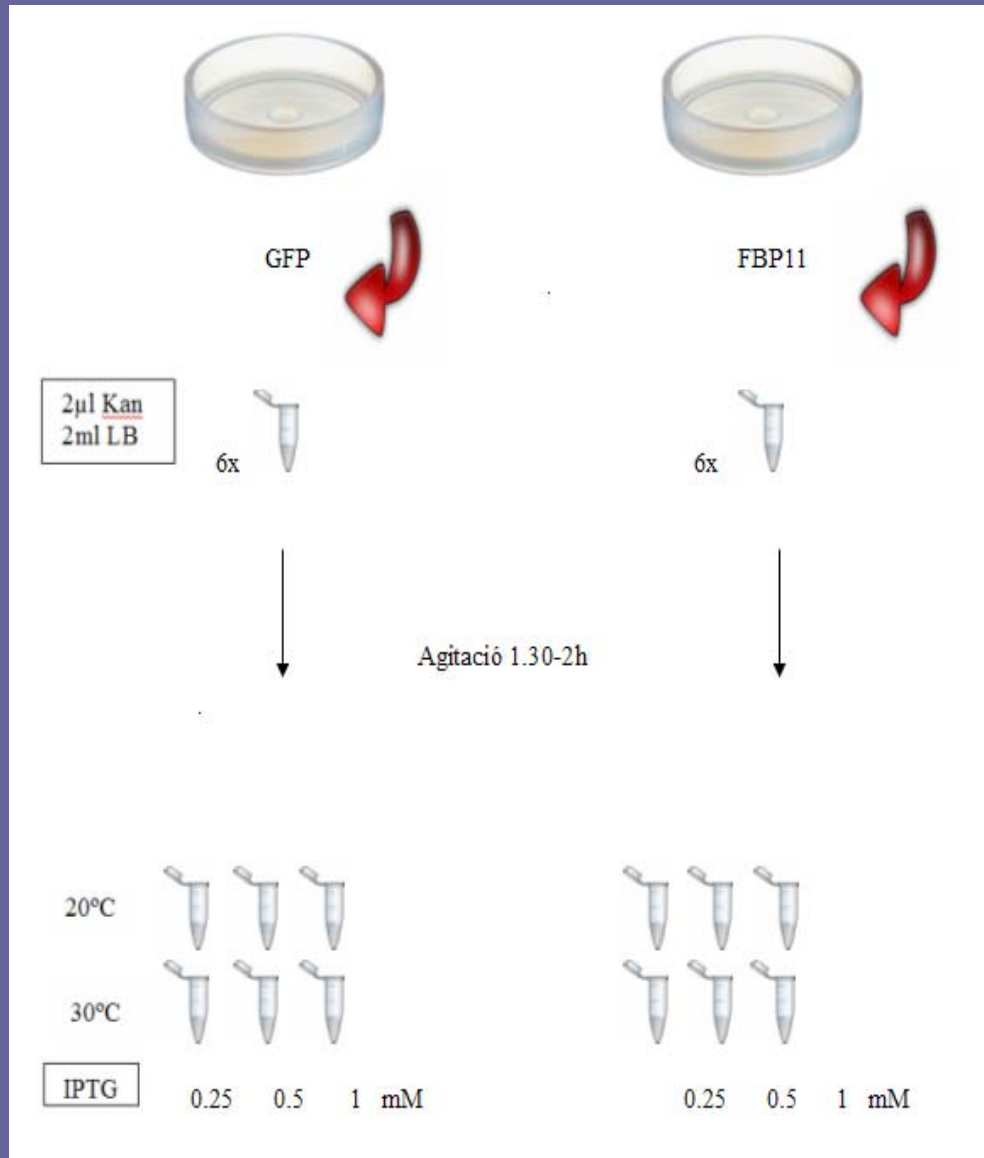
***FBP11**: Formin binding protein 11

Transformació i creixement



*SOC: Super Optimal broth with Catabolite repression

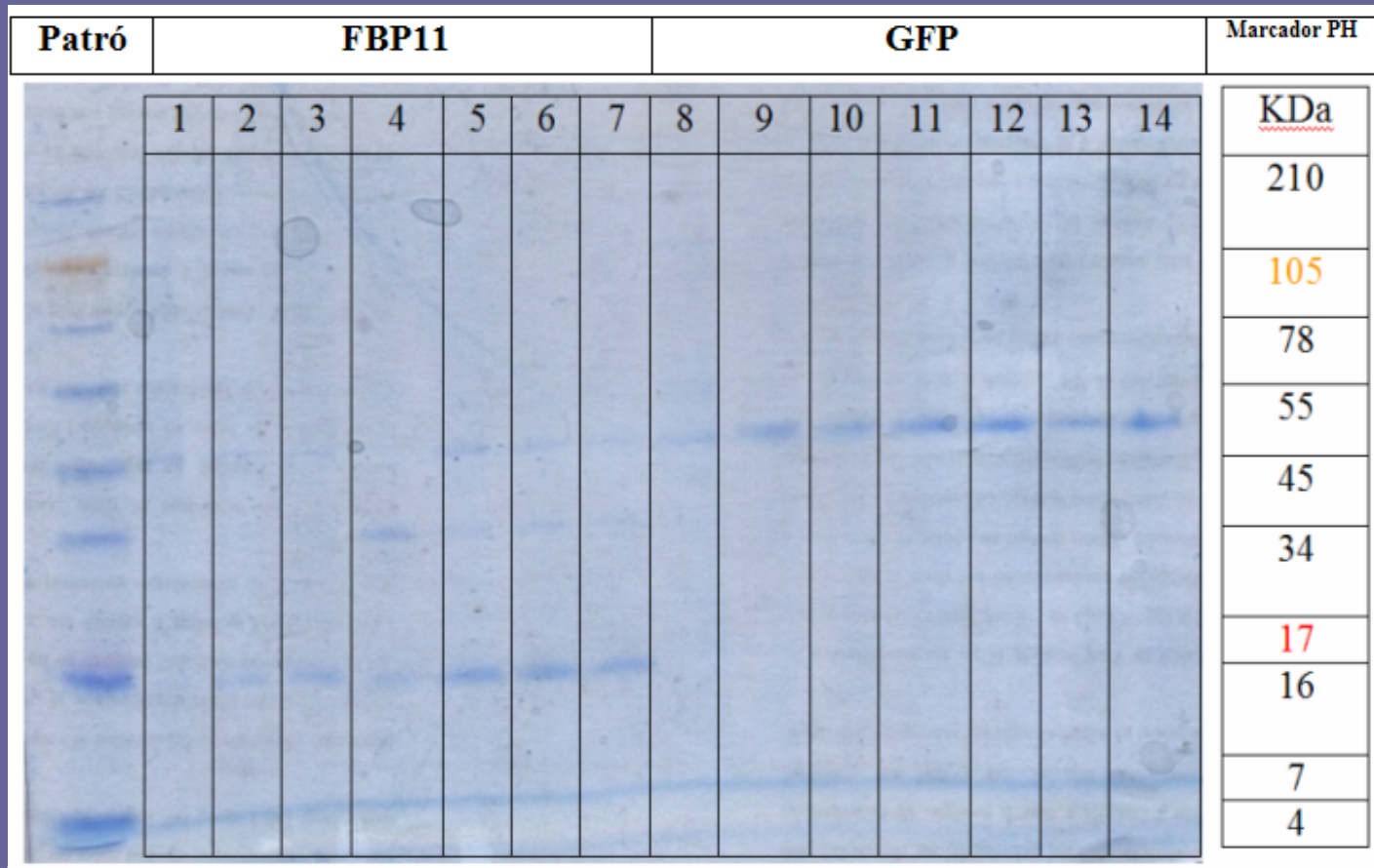
Proves d'expressió:



- Prepararem 3 Eppendorf a una mateixa temperatura i d'una mateixa proteïna però amb concentracions d'IPTG diferents: a 0.25, 0.5 i 1 mM.

Finalment obtindrem 12 tubs que deixarem tota la nit 6 a 20°C i altres 6 a 30°C.

Resultats i conclusions: Gel d'electroforesi



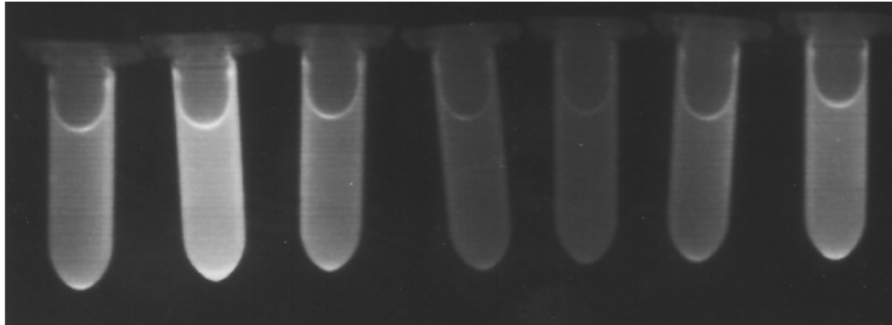
Podem determinar:

- El pes molecular de les proteïnes expressades. Segons la posició que ocupin al gel i prenent com a referència el marcador.
- Quina de les mostres ha expressat més, segons la intensitat del color.

Fotos de les mostres després de les proves d'expressió fetes en el transil·luminador, amb llum UV.

FBP11 Proves d'expressió

1247736620 - 001 User 16 July 2009 11:30:24 B=0 W=225 G=1.00 I=0.360s



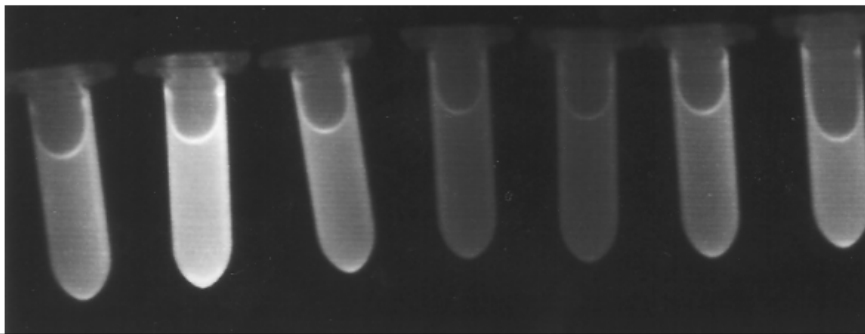
Mostres	1	2	3	4	5	6	7
Concentració IPTG (mM)	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25	Control
Temperatura (°C)	20	20	20	30	30	30	30

FBP11

Tenen una mica de fluorescència potser per alguna molècula del bacteri amb la capacitat d'emetre llum quan l'exposes a llum UV o degut a que s'hagi contaminat.

GFP Proves d'expressió

1247736453 - 001 User 16 July 2009 11:27:42 B=0 W=225 G=1.00 I=0.280s



Mostres	8	9	10	11	12	13	14
Concentració IPTG (mM)	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25	Control
Temperatura (°C)	20	20	20	30	30	30	30

GFP

En totes les condicions expressen una mica. La mostra 9 és la que apareix més il·luminada. Aquestes són les condicions per a una expressió òptima.

Per tant caldria repetir l'experiència per detectar errors.

Conclusions

- L'estudi realitzat als laboratoris del Parc Científic sobre l'expressió de gens específics, en el nostre cas, GFP i FBP11 ens ha servit de model per veure com es poden obtenir proteïnes específiques.
- La síntesi i aïllament d'interferons en el laboratori ens permetria utilitzar-los com a medicaments antivirals.
- Es podria trobar una proteïna específica de tipus anticòs per detectar la presència del virus, és a dir com a test de detecció del virus H1N1.