

ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	3
1.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>Bixa orellana</i>	3
1.2 DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA DE <i>Bixa orellana</i>	4
1.3 ISOPRENOIDES.....	4
1.4 LA 1-DESOXI-D-XILULOSA-5-FOSFATO SINTASA.....	5
1.5 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	9
1.5.1 QUIEN INVENTA LA TÉCNICA DE PCR.....	9
1.5.2 DEFINICIÓN DE PCR.....	9
1.5.3 CONCEPTOS BÁSICOS DE PCR (Reactivos y función).....	9
1.5.4 FUNDAMENTO DE PCR.....	11
1.6 CONCEPTOS BÁSICOS DE CLONACIÓN.....	13
1.7 VECTOR BÁSICO DE CLONACIÓN.....	15
2.1 JUSTIFICACIÓN.....	17
2.2 OBJETIVO GENERAL.....	18
2.2.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	18
2.3 HIPÓTESIS.....	19
2.4 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1 MATERIAL VEGETAL.....	22
3.2 CRECIMIENTO DE PLANTULAS DE <i>Bixa orellana</i>	22
3.2.1 ASEPSIA DE SEMILLAS DE <i>Bixa orellana</i>	22
3.2.2 PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO.....	23
3.2.3 SIEMBRA DE SEMILLAS DE <i>Bixa orellana</i>	24
3.3 AISLAMIENTO DE ADN GENÓMICO.....	24
3.3.1 PREPARACIÓN DEL GEL DE AGAROSA PARA ELECTROFORESIS.....	26
3.3.2 CUANTIFICACIÓN DE ADN GENÓMICO.....	27
3.4 ESTANDARIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE PCR.....	29
3.4.1 DISEÑO DE CEBADORES.....	29

3.4.2 CONDICIONES DE PCR.	30
3.5 SELECCIÓN Y AISLAMIENTO DE FRAGMENTOS AMPLIFICADOS EN LA PCR.	37
3.6 REAMPLIFICACIÓN DE FRAGMENTOS SELECCIONADOS POR PCR. .	38
3.7. CLONACIÓN DE FRAGMENTOS PROBABLES DEL GEN DE LA DXS. 38	
3.7.1 PURIFICACIÓN DE PRODUCTOS DE PCR.	38
3.7.2 COMPLETANDO EXTREMOS DE LOS FRAGMENTOS DE ADN DE LA PCR.	40
3.7.3 LIGACIÓN DEL INSERTO AL VECTOR DE CLONACIÓN.	40
3.7.4 TRANSFORMACIÓN.	41
3.8 MINI Y MIDI-EXTRACCIONES DE ADN PLASMÍDICO.	42
3.8.1 PREPARACIÓN DE MEDIO LB LÍQUIDO.	42
3.8.2 MINI-EXTACCIÓN DE ADN PLASMÍDICO.	43
3.8.3 MIDI-EXTRACCIÓN DE ADN PLASMÍDICO.	44
3.9 DIGESTIONES DEL ADN PLASMÍDICO.	46
3.10 SECUENCIACIÓN DE FRAGMENTOS CLONADOS.	47
3.10.1 CUANTIFICACIÓN DE ADN PLASMÍDICO.	47
3.10.2 SECUENCIACIÓN DE FRAGMENTOS PROBABLES DE LA DXS. .	48
3.11 ANÁLISIS DE SECUENCIAS.	49
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	50
4.1 OBTENCIÓN DE PLANTULAS DE <i>Bixa orellana</i>	50
4.2 AISLAMIENTO DE ADN GENÓMICO.	51
4.2.1 EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO.	51
4.2.2 CUANTIFICACIÓN DE ADN GENÓMICO.	51
4.3 DISEÑO DE CEBADORES.	52
4.4 ESTANDARIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE PCR.	53
4.4.1 CONDICIONES DE PCR.	53
4.4.2 REAMPLIFICACIÓN DE PCR.	66
4.5 CLONACIÓN DE FRAGMENTOS PROBABLES DEL GEN DE LA DXS. .	67
4.5.1 TRANSFORMACIÓN.	67
4.5.2 MINI-EXTRACCIONES DE ADN PLASMÍDICOS.	69
4.5.3 MIDI-EXTRACCIONES DE ADN PLASMÍDICOS.	69
4.5.4 DIGESTIONES DE ADN PLASMÍDICOS	70
4.6 SECUENCIACIÓN DE FRAGMENTOS CLONADOS.	72
4.6.1 CUANTIFICACIÓN DE ADN PLASMÍDICO.	72

4.6.2 SECUENCIACIÓN DE FRAGMENTOS PROBABLES DEL GEN DE LA DXS..... 72

4.7 ANÁLISIS DE SECUENCIAS..... 75

4.8 CONCLUSIONES..... 80

APENDICE..... 81

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 82