

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
ABREVIATURAS	viii
RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1 ADN	5
2.1.1 Genes y su importancia biotecnológica.....	6
2.2 Biotecnología	7
2.2.1 Definición de biotecnología	7
2.2.2 Retos de la biotecnología para el siglo XXI.....	7
2.2.3 La biotecnología en México	7
2.3 Organismos genéticamente modificados.....	9
2.4 Ingeniería genética	11
2.5 Regulación de la transcripción génica.....	12
2.6 Promotores	14
2.6.1 Promotores constitutivos	15
2.6.2 Promotores inducibles	16
2.7 Terminador de la transcripción	17
2.8 Actina	19
2.9 Vectores.....	20
2.10 Vectores de clonación	21
2.11 Vectores de expresión	22
2.12 Chile habanero	23
2.12.1 Origen y taxonomía de <i>Capsicum chinense</i> Jacq.	23
2.12.2 Importancia económica	24
3 JUSTIFICACIÓN	26
4 OBJETIVOS	27

4.1 Objetivo general	27
Aislamiento, clonación y análisis <i>in silico</i> del ADNc de un gen de actina de <i>Capsicum chinense</i> Jacq.....	27
4.2 Objetivos específicos.....	27
5 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	28
5 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	29
5.1 Reactivos químicos	29
5.2 Material biológico	29
5.3 Equipos utilizados	30
5.4 Metodología	31
5.4.1 Cultivo <i>in vitro</i> de chile habanero	31
5.4.2 Diseño de oligonucleótidos	31
5.4.3 Generación de células competentes.....	32
5.4.4 Extracción de ADN genómico	32
5.4.5 Aislamiento de la región 5' no traducible del gen de actina	32
5.4.6 Aislamiento de ARN total.....	35
5.4.7 Síntesis de la biblioteca de ADNc.....	35
5.4.8 Amplificación del extremo 3'	35
5.4.9 Purificación de productos de PCR	36
5.4.10 Clonación de productos de PCR.....	36
5.4.11 Extracción de ADN plasmídico.....	37
5.4.12 Secuenciación.....	38
5.4.13 Análisis <i>in silico</i> las secuencias	38
6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
6.1 Aislamiento del extremo 5'	39
6.1.1 Extracción de ADN genómico	39
6.1.2 Amplificación del extremo 5'-primer PCR.....	40
6.1.3 Amplificación del extremo 5'-PCR anidado	41
6.2 Aislamiento del extremo 3'	42
6.2.1 Extracción de ARN total	42
6.2.2 Síntesis de la primera cadena del ADNc	43
6.2.3 Amplificación de extremo 3' del gen de actina.....	43

6.3 Purificación de ADN (extremo 5').....	44
6.4 Clonación de los extremos 3' y 5'	45
6.4.1 Clonación del extremo 5'	45
6.5 Extracción de ADN plasmídico (extremo 5').....	45
6.6 Clonación del extremo 3'	46
6.7 Extracción de ADN plasmídico (Extremo 3').....	47
6.8 Digestión de ADN plasmídico	48
6.9 Análisis <i>in silico</i> de secuencias	49
6.9.1 Marco abierto de lectura de Actina	49
6.9.2 Extremo 5' de actina	51
6.9.3 Exón 3' no codificante de actina	53
6.9.4 ADNc de actina	54
7 CONCLUSION	57
8 PERSPECTIVAS	58
9 BIBLIOGRAFÍA.....	59
10 ANEXOS.....	69
Anexo 10.1	69
Anexo 10.2	70
Anexo 10.3	71
Anexo 10.4	72
Anexo 10.5	73
Anexo 10.6	74