

## ÍNDICE

1. RESUMEN.....	Pág.5
2. INTRODUCCIÓN.....	Pág.7
3. MARCO TEÓRICO.....	Pág.9
3.1. La sacarosa en las plantas.....	Pág.9
3.2. Tipos de transportadores de sacarosa.....	Pág.10
3.3. Funcionamiento de los transportadores SUT.....	Pág.10
3.4. Regulación de los transportadores SUT.....	Pág.11
4. HIPÓTESIS.....	Pág.14
5. OBJETIVOS.....	Pág.14
5.1. Objetivo general.....	Pág.14
5.2. Objetivos específicos.....	Pág.15
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	Pág.16
6.1. Generación de mutantes.....	Pág.16
6.2. Proceso Clonación USER.....	Pág.18
6.2.1. PCR.....	Pág.18
6.2.1.1. PCR en donde solo hay que cambiar el vector.....	Pág.21
6.2.1.2. PCR en donde hay que introducir la mutación y cambiar el vector...Pág.22	
6.2.2. Purificación y extracción de fragmentos de PCR.....	Pág.24
6.2.2.1. Electroforesis en gel de agarosa.....	Pág.24
6.2.2.2. Protocolo de extracción de DNA en gel.....	Pág.26
6.2.3. Reacción USER.....	Pág.27
6.2.4. Transformación por el método de golpe de calor.....	Pág.29
6.2.5. Colony PCR.....	Pág.30
6.2.6. Amplificación de colonias.....	Pág.31
6.2.6.1. Protocolo de extracción del plasmido del medio LB líquido.....	Pág.31
6.2.7. Ensayo de restricción.....	Pág.32
6.2.8. Secuenciación.....	Pág.33
6.3. Generación de cRNA mediante transcripción in vitro.....	Pág.33
6.3.1. Linealización de plásmido.....	Pág.33

6.3.2 Transcripción in vitro.....	Pág.34
6.3.3 Purificación RNA.....	Pág.35
6.3.4 Gel de RNA.....	Pág.35
6.3.5 Electroforesis RNA.....	Pág.36
7. RESULTADOS.....	Pág.37
7.1 Generación de mutantes mediante el método de PCR.....	Pág.37
7.1.1 Ejemplo PCR II.....	Pág.37
7.1.2 Ejemplo PCR IXa, IXb y IXc.....	Pág.41
7.2 Generación de cRNA mediante transcripción in vitro.....	Pág.45
7.2.1 Ejemplo StSUT1 (wild-type).....	Pág.45
8. DISCUSIÓN.....	Pág.48
9. CONCLUSIÓN.....	Pág.51
10. REFERENCIAS.....	Pág.52