

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I: Producción de combustibles a partir de algas.....	1
1. Marco General	1
2. Descripción de las macroalgas	3
2.1. Componentes de las macroalgas	4
3. Carbohidratos hidrolizables de las algas pardas.....	6
4. El polímero de alginato y sus enzimas degradadoras.....	7
5. Producción de combustibles a partir de macroalgas	9
6. El género <i>Saccharomyces</i>	12
7. Establecimiento de una ruta metabólica degradativa de alginato	13
Capítulo II: Ingeniería metabólica en <i>S. cerevisiae</i>	16
1. Diseño de una ruta heteróloga degradativa de alginato de sodio	16
2. Búsqueda de transportadores de ácidos urónicos.....	17
3. Metodología.....	22
3.1. Construcción de Módulos de expresión mediante DNA Assembly OE-PCR.....	22
3.2. Construcción de Cluster mediante Gibson Assembly.	26
4. Resultados y Discusión	27
4.1. Módulos de Expresión	27
4.2. Cluster de transformación	36
Capítulo III: Obtención y análisis funcional de la cepa recombinante.....	41
1. Metodología.....	41
1.1. Transformación genética.....	41
1.2. Cultivo de la cepa recombinante.....	42
2. Resultados y Discusión	43
2.1. Transformación genética.....	43
2.2. Cultivo de la cepa recombinante.....	45
Capítulo IV: Molecular Docking de transportadores de ácidos urónicos	50
1. Introducción.....	50
1.1. Modelación de proteínas	50
1.2. Modelamiento de proteínas por homología.....	50
1.3. Estrategia de modelación.....	51
2. Metodología in silico.....	52
3. Resultados y Discusión	54

Capítulo V: Construcción de vectores episomales y Análisis enzimáticos de la ruta.....	66
1. Metodología.....	66
1.1. Construcción de vectores de expresión en <i>S. cerevisiae</i>	66
1.2. Condiciones de crecimiento.....	67
1.3. Análisis de las enzimas presentes en Sc47	67
1.4. Electroforesis en SDS-PAGE	68
1.5. Ensayos enzimáticos	68
2. Resultados y Discusiones	69
2.1. Vectores Episomales	69
2.2. Electroforesis de proteínas	69
2.3. Actividad enzimática de las fracciones	73
Conclusiones.....	77
Bibliografía.....	78
Anexos	89
A. Tabla de partidores	A
B. Protocolos.....	B
B.1. Extracción de DNAg.....	B
B.2. Extracción de ARN	B
B.3. PCR KOD Hotstart Kit y OE-PCR	B
B.4. PCR Phusion Kit	B
B.5. Extracción DNA plasmidial.....	B
B.6. Extracción Gel agarose	B
B.7. Preparación de células electrocompetentes <i>E. coli</i> (DH5-alfa y Top10)	B
B.8. Transformación de células electrocompetentes <i>E. coli</i>	B
C. Tabla de construcción de módulos.....	C
D. Cepas de levaduras	D
E. Cepas de <i>E. coli</i>	E
F. Tabla herramientas de modelamiento estructural y proteínas y Docking Molecular .	F
G. Tabla de Molecular Docking	G
H. Tabla de purificación enzimática.....	H
I. Resultados de secuenciación.....	I