

**BT7481-1 Laboratorio de Técnicas Modernas en Biotecnología  
Semestre Otoño 2011**

**Detalle del programa Etapa 1.  
Clonación del gen cel5A de *Pseudoalteromonas haloplanktis* en un vector  
de expresión (8 semanas).**

**Actividades**

- **23/3: sesión 1**
  - Extracción del DNA plasmidial que contiene el gen cel5A. Análisis electroforético.
  - PCR para amplificar el gen de celulasa, usando partidores que agregan una secuencia de corte para enzimas de restricción (dejar en marcha).
  - Preparación y esterilización de medios de cultivo.
  
- **30/3: sesión 2**
  - Purificación del DNA amplificado (cel5A) mediante electroforesis en gel de agarosa y extracción de la banda correspondiente.
  - Ligación de cel5A al vector pGEMT-easy (dejar reacción en marcha por 12 -16 h).
  
- **6/4: sesión 3**
  - PCR de colonias para comprobar el clonamiento en pGEMTeasy
  - Cultivo over night de un clon positivo para extraer el DNA plasmidial en el siguiente laboratorio.
  
- **13/4: sesión 4**
  - Miniprep de DNA plasmidial y corte con enzimas de restricción.
  
- **20/4: sesión 5**
  - Purificación del fragmento a clonar, mediante electroforesis en gel de agarosa.
  
- **27/4 sesión 6**
  - Ligación al vector pET22 previamente digerido con las enzimas de restricción necesarias.
  
- **4/5: sesión 7**
  - Transformación de bacterias E. coli BL21(DE3) con el producto de la ligación. Dejar incubando las placas durante la noche.

- **11/5: sesión 8**
  - Ensayo de actividad celulasa en placas.
- **25/5:**
  - **Entrega informe**