AyTBUAP 7(26): MS 1-10
Basulto-Moctezuma *et al.*, 2022

http://doi.org/10.5281/zenodo.6423631

https://eoi.citefactor.org/10.11235/BUAP.07.26.01

Material suplementario

Diseño de un plásmido capaz de expresar la β-fructosidasa (invertasa) en una biofábrica de origen bacteriano

Regina Basulto-Moctezuma[1] iD, Jorayma Reyes-Mendez[1] iD, Daniela Villegas-Moncayo[1] iD, Alma Cuellar-Sánchez[1] iD, Irma Cruz-Solís[1] iD, Carlos Eduardo Gómez-Sánchez[1], América Rivera-Urbalejo[2] iD, Laura Abisaí Pazos-Rojas[1,2] iD

[1]Tecnológico de Monterrey, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Atlixcáyotl 5718, Reserva Territorial Atlixcáyotl, 72453 Puebla, México. [2]Facultad de Estomatología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Calle 31 Poniente #1304, Col. Los Volcanes, Puebla, México.

*Email autor corresponsal: laura.pazos@tec.mx; laura.pazos@isu.edu.mx

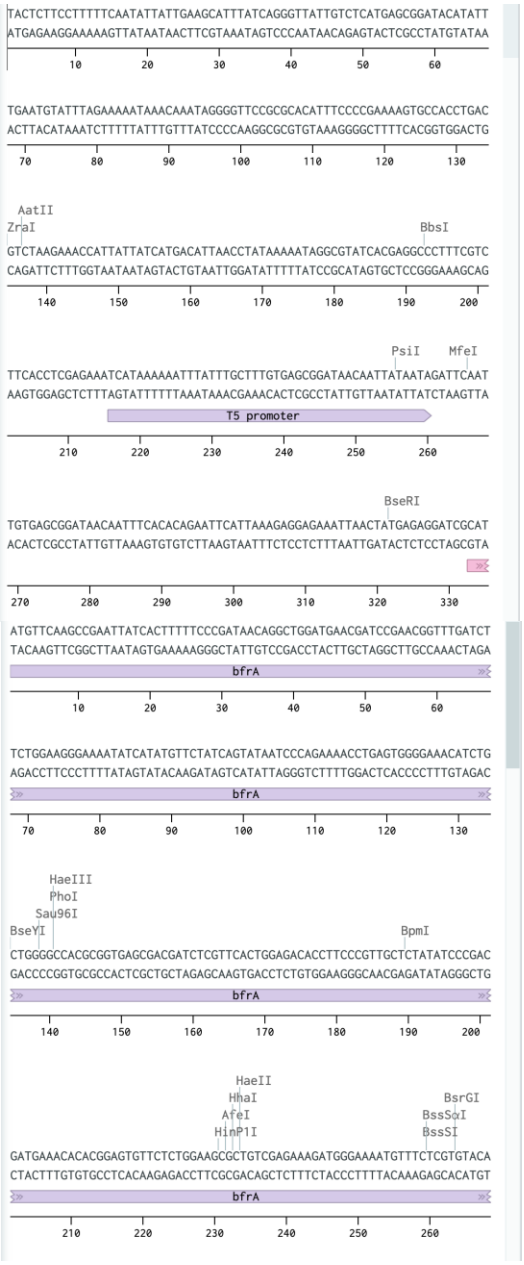
Recibido: 23 noviembre 2021. **Aceptado:** 28 marzo 2022

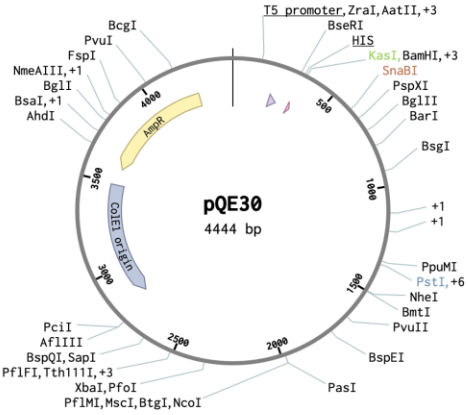
Ver en la página siguiente

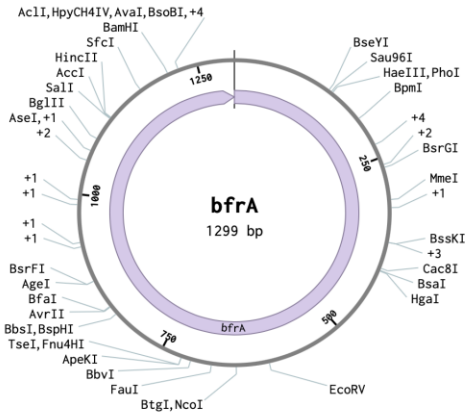
Material suplementario 1

Descripción detallada del proceso de construcción del vector pQE30-hPolB + *brfA* + GFP

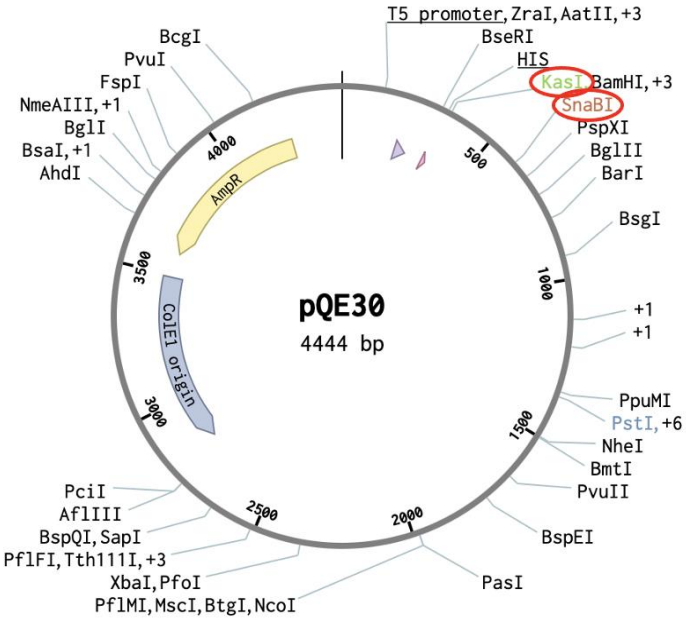
1. Dentro de la herramienta Benchling descargar la secuencia codificante del plásmido (pQE30) y gen de interés (*bfrA*)



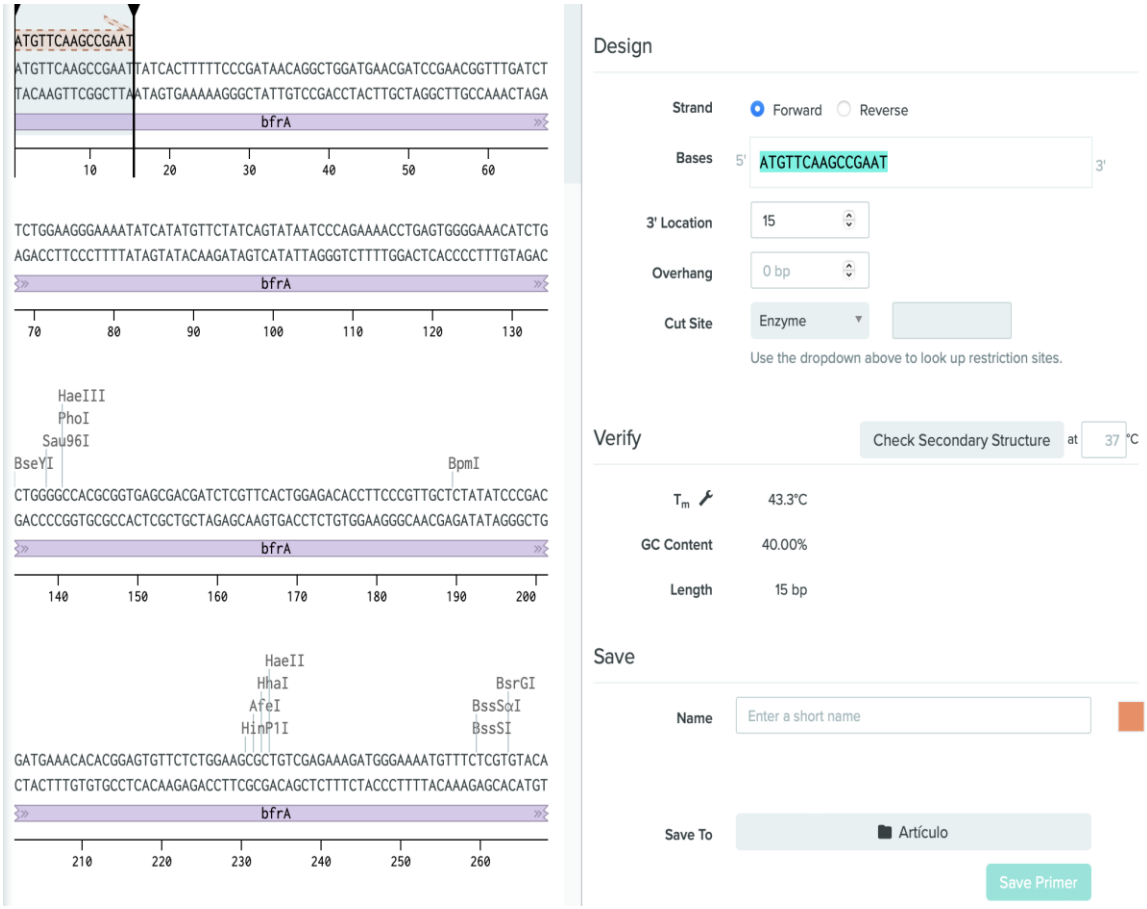




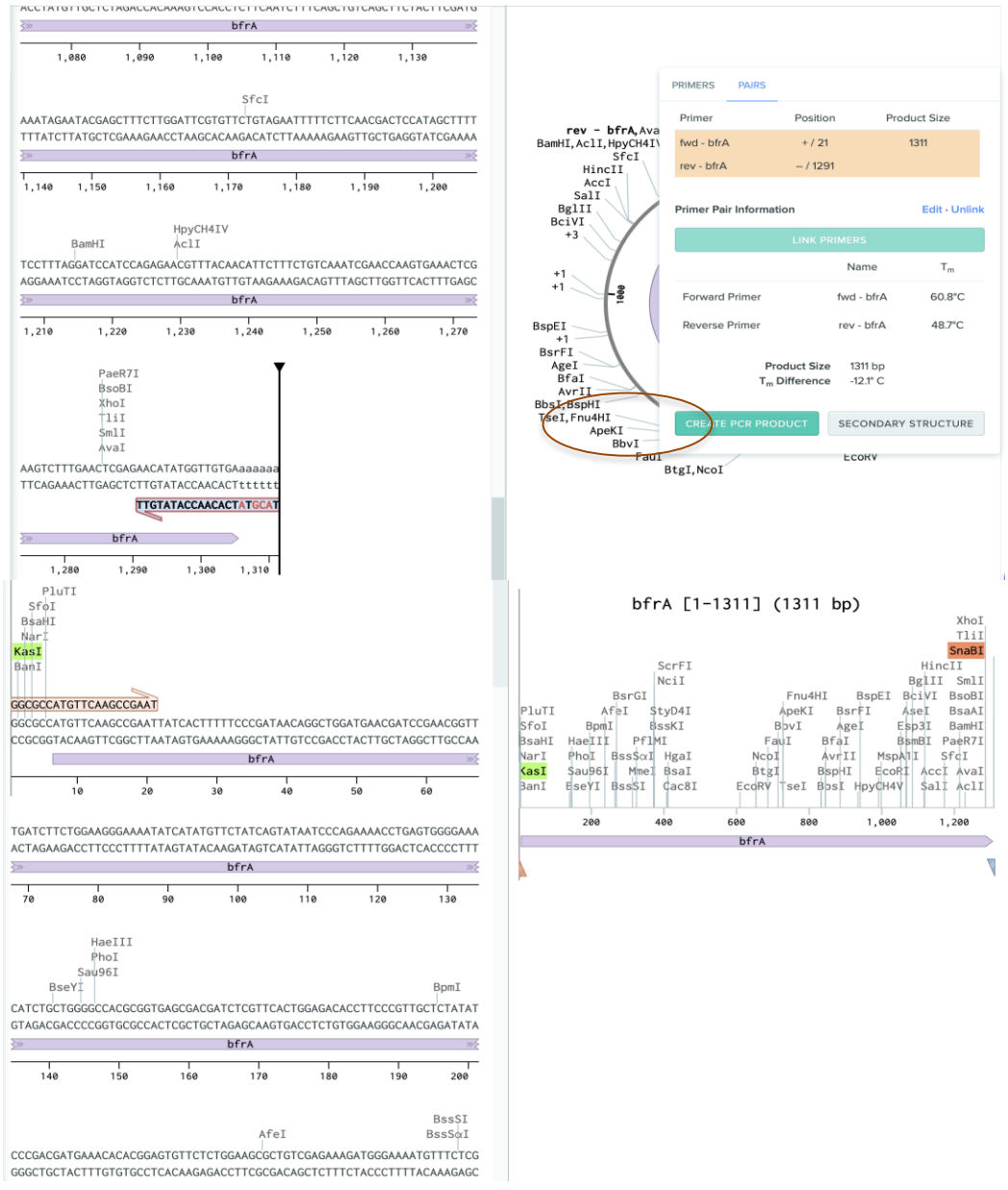
2. Seleccionar las enzimas de restricción con las que se va a linearizar el vector (KasI y SnaBI)



3. Diseñar los oligonucleótidos con los que se amplificará el gen de interés, considerando características como el contenido de GC, Tm y los pares de bases que deben agregarse antes de la secuencia de la enzima de restricción (KasI, SnaBI) que se agregará cada oligonucleótido

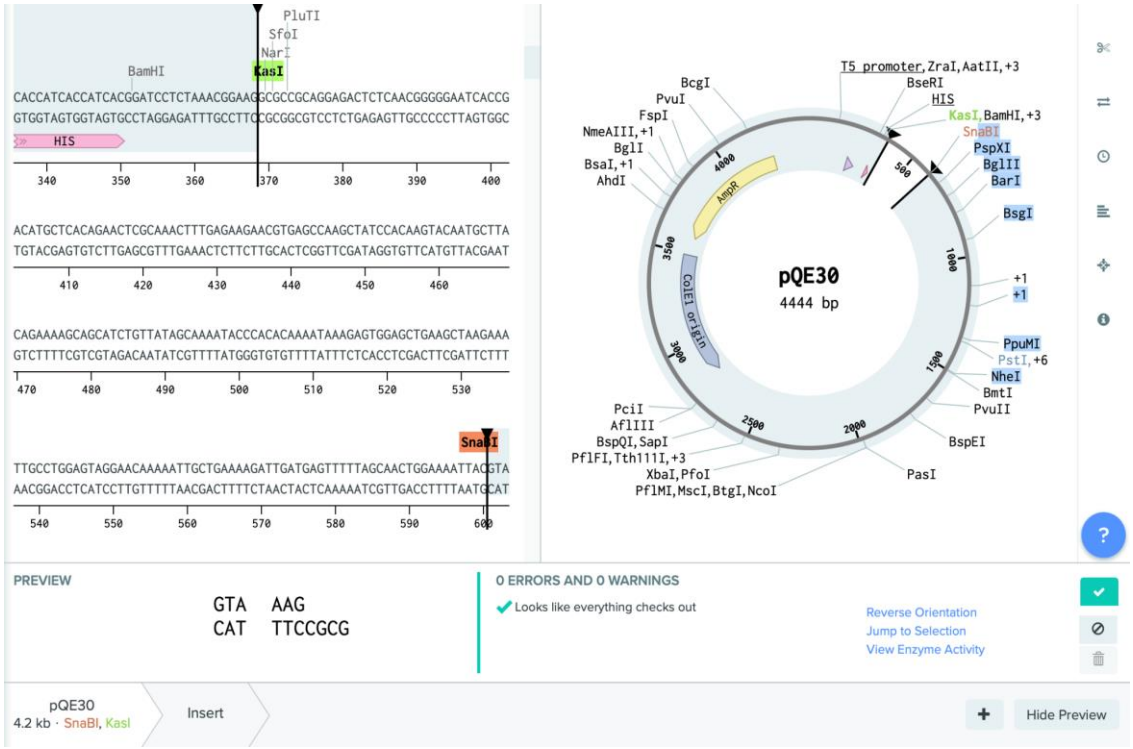


4. Una vez que se diseñan los oligonucleótidos, se obtiene el producto de PCR

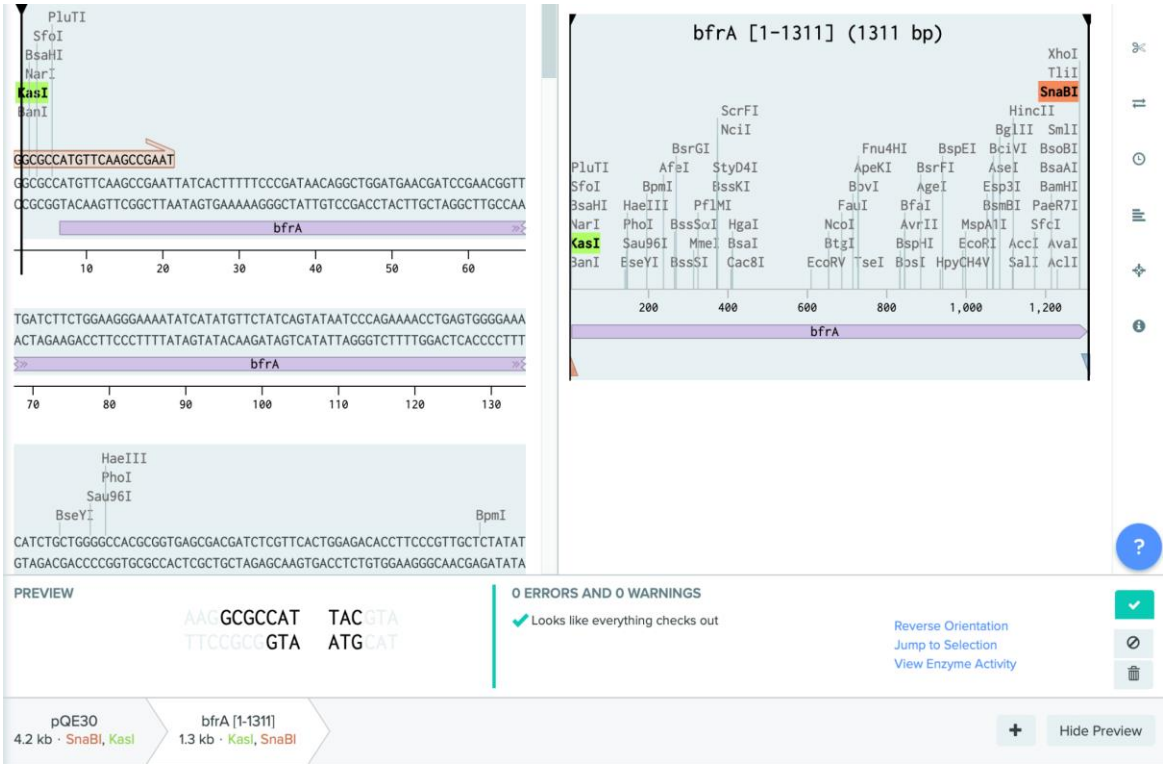


5. Realizar la ligación del vector con el producto de PCR del gen de interés (gen *bfrA*) usando la opción "*assembly wizard"* dentro de Benchling.

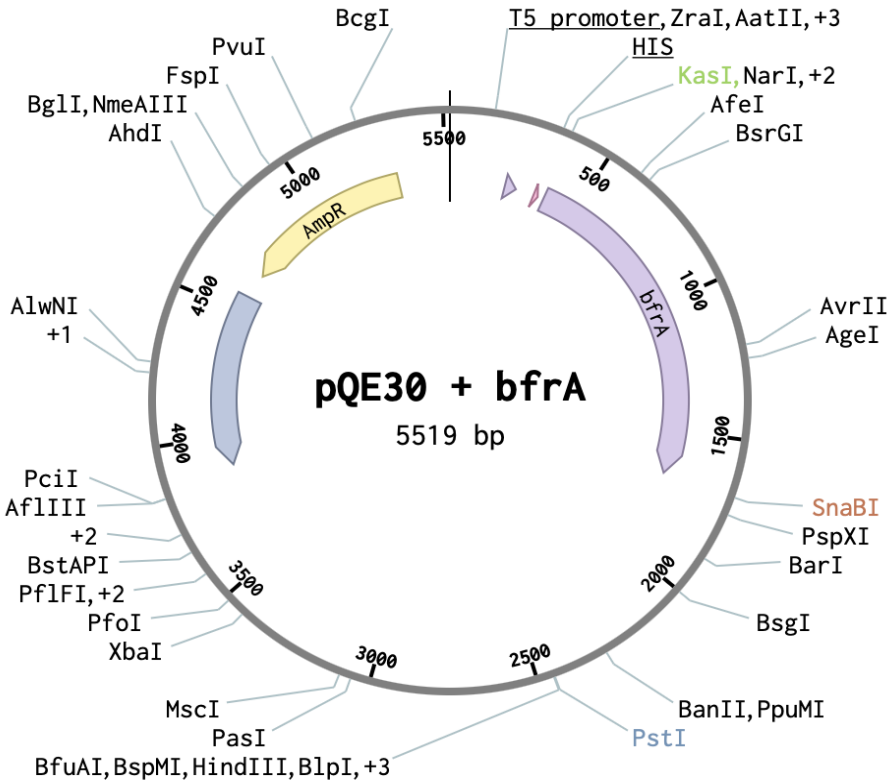
a) Para lograr de manera exitosa la ligación se debe seleccionar el vector desde la primera enzima de restricción (KasI), hasta la segunda enzima de restricción(SnaBI)



b) Después de seleccionar el sitio donde se ligará el gen de interés dentro del vector, se debe seleccionar el producto de PCR del gen de interés, nuevamente desde la primera enzima de restricción KasI hasta la segunda enzima de restricción SnaBI



6. Finalmente, de selecciona la opción de ensamblar y se obtiene el vector recombinante con el gen de interés



Material suplementario 2

Secuencia completa del Vector recombinante "pQE30-hPolB + *brfA* + GFP"

Promotor T5
His
bfrA
GFP
Cloranfenicol
Ampicilina

TACTCTTCCTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTC
TCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAAACAAAT
AGGGGTTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGCCACCTGACGTCTAA
GAAACCATTATTATCATGACATTAACCTATAAAAATAGGCGTATCA
CGAGGCCCTTTCGTCTTCACCTCGAGAAATCATAAAAAATTTATTTG
CTTTGTGAGCGGATAACAATTATAATAGATTCAATTGTGAGCGGAT
AACAATTTCACACAGAATTCATTAAAGAGGAGAAATTAACTATGAG
AGGATCGCATCACCATCACCATCACGGATCCTCTAAACGGAAGGCG
CCATGTTCAAGCCGAATTATCACTTTTTCCCGATAACAGGCTGGATG
AACGATCCGAACGGTTTGATCTTCTGGAAGGGAAAATATCATATGT
TCTATCAGTATAATCCCAGAAAACCTGAGTGGGGAAACATCTGCTG
GGGCCACGCGGTGAGCGACGATCTCGTTCACTGGAGACACCTTCCC
GTTGCTCTATATCCCGACGATGAAACACACGGAGTGTTCTCTGGAA
GCGCTGTCGAGAAAGATGGGAAAATGTTTCTCGTGTACACCTACTA
CCGCGATCCGACACACAACAAAGGAGAAAAAGAAACCCAGTGTGT
GGCTATGAGTGAAAACGGATTGGATTTCGTAAAGTACGATGGAAAC
CCGGTCATATCTAAACCCCCAGAGGAAGGGACGCACGCCTTCAGAG
ACCCGAAGGTGAACAGAAGCAACGGTGAGTGGCGAATGGTACTGG
GATCTGGTAAAGATGAGAAGATTGGAAGAGTGCTTCTCTATACCTC
AGATGACCTTTTTCACTGGAAGTACGAGGGTGTGATCTTCGAAGAT
GAAACCACAAAAGAAATAGAGTGTCCCGATCTTGTGAGAATTGGA
GAGAAAGATATCCTCATATACTCGATAACGAGTACAAACAGCGTTC
TGTTTTCCATGGGAGAGTTAAAGGAAGGAAAACTGAATGTCGAAA
AGCGGGGGCTTCTCGATCACGGAACGGATTTCTACGCTGCTCAAAC
TTTCTTTGGAACAGACAGAGTTGTAGTTATCGGATGGCTTCAAAGC
TGGTTGAGAACAGGGCTTTACCCGACAAAACGAGAAGGATGGAAC
GGTGTCATGAGTCTTCCTAGGGAGCTGTATGTAGAAAACAACGAGT
TGAAGGTGAAACCGGTGGATGAACTCTTGGCTCTCAGAAAGAGAA
AGGTTTTCGAAACTGCAAAGTCCGGAACATTTCTGCTGGATGTCAA
GGAAAACAGTTATGAAATTGTGTGTGAATTCAGCGGAGAAATCGA
ACTTCGAATGGGAAATGAATCTGAAGAAGTGGTGATAACGAAGAG
TCGAGACGAATTAATCGTGGATACAACGAGATCTGGTGTTTCAGGT
GGAGAAGTTAGAAAGTCGACAGTCGAAGATGAAGCTACAAATAGA
ATACGAGCTTTCTTGGATTCGTGTTCTGTAGAATTTTTCTTCAACGA

CTCCATAGCTTTTTCCTTTAGGATCCATCCAGAGAACGTTTACAACA
TTCTTTCTGTCAAATCGAACCAAGTGAAACTCGAAGTCTTTGAACTC
GAGAACATATGGTTGTGATACGTAATGTCGAAGGGCGAGGAGCTGT
TCACCGGCGTCGTCCCGATCCTGGTCGAGCTGGACGGTGACGTCAA
CGGCCACAAGTTCTCCGTCTCCGGCGAGGGTGAGGGCGACGCCACC
TACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGTAAGCTGC
CGGTCCCGTGGCCGACCCTGGTCACCACCCTGACCTACGGCGTCCA
GTGCTTCTCCCGCTACCCGGACCACATGAAGCGCCACGACTTCTTC
AAGTCCGCCATGCCGGAGGGTTACGTCCAGGAGCGCACCATCTCCT
TCAAGGACGACGGTAACTACAAGACGCGTGCCGAGGTCAAGTTCG
AGGGCGACACCCTGGTCAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTT
CAAGGAGGACGGTAACATCCTGGGCCACAAGCTGGAGTACAACTA
CAACTCCCACAACGTCTACATCACCGCGGACAAGCAGAAGAACGG
CATCAAGGCCAACTTCAAGACCCGCCACAACATCGAGGACGGTGG
CGTCCAGCTAGCCGACCACTACCAGCAGAACACCCCGATCGGCGAC
GGCCCGGTCCTGCTGCCGGACAACCACTACCTGTCCACCCAGTCCG
CCCTGTCCAAGGACCCGAACGAGAAGCGCGACCACATGGTCCTGCT
GGAGTTCGTCACCGCCGCCGGCATCACCCACGGCATGGACGAGCTG
TACAAGTAG
CTGCAGCCAAGCTTAATTAGCTGAGCTTGGACTCCTGTTGATAGAT
CCAGTAATGACCTCAGAACTCCATCTGGATTTGTTCAGAACGCTCG
GTTGCCGCCGGGCGTTTTTTATTGGTGAGAATCCAAGCTAGCTTGGC
GAGATTTTCAGGAGCTAAGGAAGCTAAAATGGAGAAAAAAATCAC
TGGATATACCACCGTTGATATATCCCAATGGCATCGTAAAGAACAT
TTTGAGGCATTTCAGTCAGTTGCTCAATGTACCTATAACCAGACCGT
TCAGCTGGATATTACGGCCTTTTTAAAGACCGTAAAGAAAAATAAG
CACAAGTTTTATCCGGCCTTTATTCACATTCTTGCCCGCCTGATGAA
TGCTCATCCGGAATTTCGTATGGCAATGAAAGACGGTGAGCTGGTG
ATATGGGATAGTGTTCACCCTTGTTACACCGTTTTCCATGAGCAAAC
TGAAACGTTTTCATCGCTCTGGAGTGAATACCACGACGATTTCCGG
CAGTTTCTACACATATATTCGCAAGATGTGGCGTGTTACGGTGAAA
ACCTGGCCTATTTCCCTAAAGGGTTTATTGAGAATATGTTTTTCGTC
TCAGCCAATCCCTGGGTGAGTTTCACCAGTTTTGATTTAAACGTGGC
CAATATGGACAACTTCTTCGCCCCCGTTTTCACCATGGGCAAATATT
ATACGCAAGGCGACAAGGTGCTGATGCCGCTGGCGATTCAGGTTCA
TCATGCCGTTTGTGATGGCTTCCATGTCGGCAGAATGCTTAATGAAT
TACAACAGTACTGCGATGAGTGGCAGGGCGGGGCGTAATTTTTTTA
AGGCAGTTATTGGTGCCCTTAAACGCCTGGGGTAATGACTCTCTAG
CTTGAGGCATCAAATAAAACGAAAGGCTCAGTCGAAAGACTGGGC
CTTTCGTTTTATCTGTTGTTTGTCGGTGAACGCTCTCCTGAGTAGGA
CAAATCCGCCCTCTAGAGCTGCCTCGCGCGTTTCGGTGATGACGGT
GAAAACCTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTCACAGCTTGTC
TGTAAGCGGATGCCGGGAGCAGACAAGCCCGTCAGGGCGCGTCAG
CGGGTGTTGGCGGGTGTCGGGGCGCAGCCATGACCCAGTCACGTAG
CGATAGCGGAGTGTATACTGGCTTAACTATGCGGCATCAGAGCAGA
TTGTACTGAGAGTGCACCATATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATG

CGTAAGGAGAAAATACCGCATCAGGCGCTCTTCCGCTTCCTCGCTC
ACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAG
CTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAA
CGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGA
ACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCC
CCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCG
AAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGC
TCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCT
GTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCAC
GCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTCGCTCCAAGCTGGG
CTGTGTGCACGAACCCCCCGTTCAGCCCGACCGCTGCGCCTTATCC
GGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGC
CACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATG
TAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTA
CACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTT
ACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCA
CCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGC
AGAAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGT
CTGACGCTCAGTGGAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCAT
GAGATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAAAAA
TGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCTG
ACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTG
TCTATTTCGTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAA
CTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGAT
ACCGCGAGACCCACGCTCACCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAAC
CAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTAT
CCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAG
TAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAG
GCATCGTGGTGTCACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTCAGCTCC
GGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCCATGTTGTGCA
AAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCTCCGATCGTTGTCAGAAGTAA
GTTGGCCGCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATT
CTCTTACTGTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAG
TACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTT
GCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGCAG
AACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAA
CTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCAC
TCGTGCACCCAACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTCACCAGCGTTT
CTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAAGGGA
ATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCA