

Trabajo domiciliario N°1

Clonado recombinogénico

Los virus con genomas de cccdsDNA son muy atractivos desde un punto de vista biotecnológico, dado que pueden ser transformados en plásmidos bacterianos y a partir de allí, manipulados para la producción de conocimiento o utilizados como plataforma tecnológica para la generación de bienes y servicios. Entre ellos, destacan tres familias virales: *Papillomaviridae*, *Polyomaviridae* y *Baculoviridae*.

Teniendo en consideración el propósito anterior, le solicitan que proponga un plan de trabajo factible de ser realizado y que contemple los siguientes puntos:

- Convertir el genoma de un papilomavirus infectivo de humanos en un plásmido de *Escherichia coli* (y que a su vez sea del tipo *Destination* para Sistema Gateway) mediante metodología *Lambda Red*, con la potencialidad de poder eliminar *in vitro* o *in vivo* el replicón procariota junto a los genes de proteína de cápside (L1 y L2), pero no al casete Gateway (el cual debe permitir la expresión de proteínas en células de mamíferos).

- Utilizar el sistema Gateway y como plásmido *Destination* al genoma modificado del papilomavirus, introduciendo en este: **a)** un gen indicador (*Green Flourescent Protein*); y **b)** un operón que codifique las proteínas de cápside L1 y L2. Evaluar la regeneración de virus a partir de estas construcciones.