

## Trabajo Domiciliario N°2

### Métodos de amplificación de ácidos nucleicos y Aplicación de RNAs no codificantes

Usted y su equipo de trabajo se encuentran manipulando el genoma de un papilomavirus con el fin de establecer una plataforma para la generación de conocimientos y tecnologías. En particular, hasta el momento han logrado transformar al genoma del virus en un plásmido de *Escherichia coli*, aportándole a su vez secuencias útiles para el clonado recombinogénico. De este modo, han generado un sistema a partir del cual es posible producir variantes virales que asistan al desarrollo de nuevos productos biotecnológicos, o que funcionen como modelos en la investigación básica. En esta nueva etapa, ya logrado con éxito lo anterior, les solicitan que diseñen dos métodos de amplificación de ácidos nucleicos con fines diagnósticos. El objetivo es contar con una herramienta cuantitativa que le permita valorar la cantidad de genoma viral en las etapas de producción de viriones a partir del genoma modificado; y por otro lado, también desean tener un sistema preliminar que sirva de base para el desarrollo de un POCT (*Point Of Care Testing*) para papilomavirus con fines comerciales.

Teniendo en consideración los propósitos anteriores, les solicitan que propongan planes de trabajo factibles de ser realizados y que contemplen los siguientes puntos:

- Desarrollar una *Real Time* PCR para el genoma del papilomavirus modificado que replica como plásmido en *E. coli*. Para ello, considerar una variante con química SyBrGreen y otra basada en sondas.
- Desarrollar las bases de un POCT para papilomavirus.

Dada la experiencia de su equipo de trabajo en el manejo del virus, su jefe ha decidido abrir una nueva línea de investigación dentro del laboratorio, la cual tiene como objetivo el diseño de nuevas terapias contra el virus estudiado. Para llevar a cabo este objetivo, su jefe les solicita diseñar y desarrollar métodos de silenciamiento génico basados en RNAs no codificantes contra el virus del papilomavirus estudiado.

Teniendo en cuenta esta nueva propuesta, se les encarga:

- Desarrollar las bases de un tratamiento *in vitro* contra el papilomavirus basado en Ribozimas *hammerhead*.
- Desarrollar las bases de un tratamiento *in vitro* contra el papilomavirus basado en RNA de interferencia (siRNA y miRNA).