

Inicio enero 2016 – Finalización diciembre 2017

Título: Desarrollo de un sistema para transformar genomas virales de dsDNA en plásmidos bacterianos

Director: Mariano N. Belaich

Integrantes: CERRUDO, Carolina; GARAVAGLIA, Matias; PARSZA, Cintia; NUGNES, María Victoria; SIMONIN, Jorge Alejandro

Centro o Instituto: Instituto de Microbiología Básica y Aplicada

Resumen: Para el estudio y aplicación biotecnológica de los virus es importante contar con estrategias moleculares que permitan manipular sus genomas mediante ingeniería genética. En particular, en virus como el causante del Herpes, algunos retrovirus, los adenovirus y adeno-asociados o los baculovirus, entre otros, se han convertido sus genomas en plásmidos bacterianos para así facilitar estudios básicos funcionales pero por sobre todo, para explotar diferentes aplicaciones biotecnológicas que incluyen la expresión de proteínas recombinantes y la terapia génica. En general, cada uno de estos procedimientos ha sido llevado a cabo sin el uso de sistemas generados para tales fines, mostrando que el diseño y desarrollo de un kit que facilite la construcción de plásmidos a partir de genomas virales sería una tecnología bienvenida dentro de la biotecnología. En vistas de ello, en esta solicitud se propone desarrollar una herramienta de edición genómica basada en la nucleasa CRISPR/Cas9, dirigida a convertir genomas virales en plásmidos de *Escherichia coli* para facilitar su estudio y aplicación posteriores. Para la evaluación de la herramienta se trabajará con baculovirus, patógenos que infectan insectos. Sus genomas son moléculas de dsDNA que contienen entre 80 y 180 genes según la especie, los cuales mediante su expresión diferencial determinan la constitución de dos fenotipos a lo largo de un ciclo de multiplicación. Estas entidades se emplean como agentes de control biológico de plagas agrícolas. Pero también, dado que sus genomas son infectivos per se, que son fácilmente multiplicados en cultivos de células, que se reconocen como entidades bioseguras para el ser humano, y que soportan la inserción de secuencias heterólogas, entre otras ventajas, han sido exitosamente manipulados para transformarlos en excelentes sistemas de expresión de proteínas recombinantes, o postulados como vectores aptos para terapia génica y formulación de vacunas en mamíferos. Lo llamativo del caso, salvo para el uso bioinsecticida, es que la gran cantidad de aplicaciones tecnológicas derivan de una única especie viral (AcMNPV) habiendo caracterizadas alrededor de 100 a lo largo del planeta, muchas de ellas autóctonas de Sudamérica. Por tales motivos, en esta solicitud se propone desarrollar un sistema que permitirá mediante la transferencia horizontal de un genoma aislado de baculovirus en *Escherichia coli*, convertirlo en un mega-plásmido (bácmido) con potencial de vector de clonado molecular. Vale aclararse que el éxito del virus AcMNPV es que fue transformado en bácmido hace 20 años sin las tecnologías de edición genómicas hoy disponibles.