

Diseño *in silico* de una vacuna comestible contra el SARS-CoV-2 (Covid-19)

Juan Manuel Martínez-Villalobos^a, Daniel Misael Garza-García^a, José María Viader-Salvadó^a, Martha Guerrero-Olazarán^a, Juan A. Gallegos-López^{a*}

^aUniversidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Instituto de Biotecnología, Pedro de Alba s/n, San Nicolás de los Garza, N.L., México.

*Autor de correspondencia: juan.gallegoslp@uanl.edu.mx

Palabras clave: SARS-CoV-2, *Agrobacterium tumefaciens*, *Solanum lycopersicum*, epítopo, vacuna, inmunoinformática

Introducción

El SARS-CoV-2 pertenece la familia *Coronaviridae* y al género *Betacoronavirus*. Se transmite a humanos a través de las vías respiratorias y digestivas causando la enfermedad de COVID-19 que puede ser fatal. Actualmente, existen alrededor del mundo diversas vacunas en distintas fases clínicas, sin embargo, no existe hasta ahora una vacuna aprobado contra el SARS-CoV-2¹⁻². Por lo anterior, la glicoproteína S es un blanco idóneo para el desarrollo de una vacuna. La inmunoinformática es un enfoque que permite predecir mediante bioinformática epítopos en secuencias de proteínas de microorganismos patógenos, sin tener que cultivarlos en el laboratorio. Además, permite el diseño de vacunas con mayores probabilidades de éxito. Así mismo, para la producción heteróloga de epítopos, las plantas son un sistema de expresión atractivo debido a su seguridad, alta producción, bajo costo y escalabilidad. A partir de la identificación de epítopos en la secuencia de la glicoproteína S se diseñó una proteína de fusión (PF) multi-epítopo con características de vacuna, la cual se optimizó y se clonó *in silico* en el vector de expresión pBI121 de *Agrobacterium tumefaciens* para expresarse en *Solanum lycopersicum*.

Metodología

La secuencia aminoacídica de la gpS del SARS-CoV-2 se extrajo del Banco Genes del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI, por sus siglas en inglés). Se realizó la predicción de topología de la gpS del SARS-CoV-2 utilizando el servidor CCTOP. La secuencia aminoacídica de la glicoproteína se analizó mediante las herramientas de predicción de epítopos de células β de la Base de Datos Epítipo Inmune (IEDB, por sus siglas en inglés) con los análisis de inmunogenicidad, antigenicidad, hidrofiliicidad, accesibilidad, giro β y flexibilidad. A partir de la identificación de epítopos candidatos se diseñó una PF multi-epítopo, uniendo los epítopos, con enlazadores helicoidales de cuatro repeticiones de la secuencia EAAAK. Posteriormente, se evaluaron las propiedades fisicoquímicas, la alergenicidad y se predijo la estructura secundaria y terciaria de la PF. Luego, la secuencia nucleotídica se optimizó con codones preferenciales de *S. lycopersicum*. Además, se agregó el sitio de restricción *BamHI*, la secuencia Kozak y el codón de inicio al extremo 5' y la secuencia SEKDEL, el codón de paro TAA y el sitio de restricción *SacI*, al extremo 3' de la secuencia nucleotídica. Finalmente, se clonó *in silico* en el plásmido binario pBI121 de *A. tumefaciens*, río abajo del promotor 35S CaMV.

Resultados y discusión

La secuencia de la PF mostró 6 epítopos candidatos a vacuna de la gpS del SARS-CoV-2, unidos mediante enlazadores helicoidales. Este tipo de enlazadores controlan mejor la distancia y la interferencia entre dominios de las proteínas de fusión (Figura 1). La PF se consideró no alergénica, lo que indica que es poco probable que la vacuna induzca alergia. Así mismo, no mostró similitud con proteínas humanas, esto sugiere que es poco probable que la vacuna induzca una reacción cruzada. Adicionalmente, se obtuvo el nuevo vector llamado pBI121-PF de 15,478 pb, portador de la secuencia nucleotídica que codifica para la PF, y optimizada para mejorar su expresión en *S. lycopersicum*.



Fig. 1. Estructura tridimensional del modelo de la PF visualizada con Swiss-Pdb Viwer.

Conclusiones

En este estudio se diseñó *in silico* una PF multi-epítopo con características de vacuna para expresarse en la planta de tomate y con el potencial de estimular una respuesta inmunológica contra el SARS-CoV-2. Serán necesarios ensayos adicionales *in vitro* e *in vivo* para verificar la eficacia y seguridad de la vacuna.

Referencias

1. Walls, A.C; Park, Y.J; Tortorci, M.A; Wall, A; Wall, A; McGuire, A.T; Veesler, D. 2020, Cell 181:281-292.
2. Yan, R.; Zang, Y; Li, Y; Xia, L; Guo, Y; Zhou, Q. Science. 2020, 367, 1444-1448