

## Resumen

Las plantas están emergiendo como una alternativa atractiva a los sistemas convencionales de producción heteróloga, como bacterias, cultivos celulares de mamíferos, levaduras u hongos, para la síntesis de productos de alto valor, como metabolitos secundarios y proteínas. La demanda de estos productos a menudo se ve limitada por la capacidad de producción y los costos asociados. Sin embargo, utilizar las plantas como plataformas de producción ofrece ventajas en términos de accesibilidad económica, sostenibilidad, escalabilidad y la ausencia de patógenos humanos y de animales, lo que las convierte en una opción cada vez más atractiva. A pesar de las limitaciones en la capacidad de carga, la expresión génica transitoria utilizando vectores virales proporciona un método eficiente y reproducible para la producción de proteínas recombinantes en plantas, a diferencia de la transformación estable, que requiere más mano de obra y tiempo. Los vectores derivados del virus del mosaico del tabaco (TMV), particularmente aquellos en los que el gen de la proteína de la cubierta viral (CP) se reemplaza principalmente por el gen de interés, son clásicos en la biotecnología vegetal y se utilizan con frecuencia para la producción a gran escala de proteínas recombinantes. En este trabajo, nuestro primer objetivo fue optimizar un vector de TMV para mejorar la producción. La fusión traduccional del extremo amino-terminal de la CP del TMV con la proteína recombinante de interés mostró un aumento en la acumulación de la proteína verde fluorescente, interferón alfa-2a y un nanobody contra la proteína Spike del SARS-CoV-2 en hojas de *Nicotiana benthamiana*. La inserción de un sitio de clivaje específico, basado en las proteasas de inclusión nuclear (NIaPro) de dos potyvirus, junto con la expresión de las proteasas correspondientes, además de la producción de la proteína recombinante madura, aumentó aún más la acumulación de las proteínas recombinantes mencionadas anteriormente. En segundo lugar, nuestro objetivo fue establecer estrategias para producir proteínas

recombinantes de interés industrial y farmacéutico en *N. benthamiana* utilizando un vector de TMV. Logramos producir grandes cantidades de una xilanas termofílica, activa en condiciones extremas de temperatura y pH alcalino, en *N. benthamiana* utilizando un vector de TMV. La enzima que se acumuló rápidamente en los tejidos de la planta se dirigió al apoplasto, lo que facilitó enormemente la purificación y evitó cualquier efecto adverso en el crecimiento de la planta. Se demostró que esta enzima producida en planta es útil para la producción de xilooligosacáridos probióticos. También produjimos grandes cantidades de una glucosa oxidasa (GOX) modificada en hojas de *N. benthamiana* utilizando un vector de TMV. La GOX producida en planta, que también se purificó fácilmente a partir de fluidos apoplásticos, exhibió potentes propiedades antimicrobianas contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.