



# Vectores virales para la producción de vacunas en plantas

<b>Apellidos, nombre</b>	Carmelo López del Rincón <sup>1</sup> (clopez@upvnet.upv.es) María Ferriol Molina <sup>2</sup> (mafermo@upvnet.upv.es)
<b>Departamento</b>	<sup>1</sup> Departamento de Biotecnología <sup>2</sup> Departamento de Ecosistemas Agroforestales
<b>Centro</b>	Universitat Politècnica de València



## 1 Resumen de las ideas clave

En este artículo veremos cómo expresar en plantas un antígeno de interés (epítopo de un patógeno) mediante el empleo de un vector viral, para el desarrollo de vacunas humanas o animales.

La presentación de epítopos en plantas constituye una estrategia prometedora para el desarrollo de vacunas por las siguientes razones: (i) la proteína de cubierta del virus vegetal actúa como soporte para la exposición de los epítopos deseados al sistema inmune de una manera abundante y organizada, y (ii) los virus de las plantas no son infecciosos para los humanos y animales, lo que reduce el riesgo de seguridad asociado con su despliegue y escalabilidad.

## 2 Introducción

El uso de plantas para la producción de vacunas constituye una alternativa atractiva a los sistemas tradicionales de producción de vacunas, debido a que resultan más baratas, seguras y fáciles de administrar. Algunas ventajas de los sistemas de expresión vegetal son la ausencia de contaminación con patógenos humanos y animales y la producción de grandes cantidades de vacuna, que incluso podría usarse como vacuna comestible en frutas y hortalizas, a bajo coste, eliminando la necesidad de extracción y purificación, lo que supondría una importante ventaja para satisfacer las grandes demandas de los países en vías de desarrollo.

Existen dos sistemas para expresar las vacunas en la planta; una es la transformación genética estable y la otra es la expresión transitoria usando virus de plantas (Sainsbury y col., 2005). Este artículo docente está centrado en la segunda estrategia, y más concretamente, en la presentación de epítopos fusionados a la proteína de cubierta del virus vegetal.

## 3 Objetivos

Una vez que el alumno lea con detenimiento este documento, será capaz de:

- Entender cómo expresar proteínas inmunogénicas completas en el interior del citoplasma de las células vegetales.

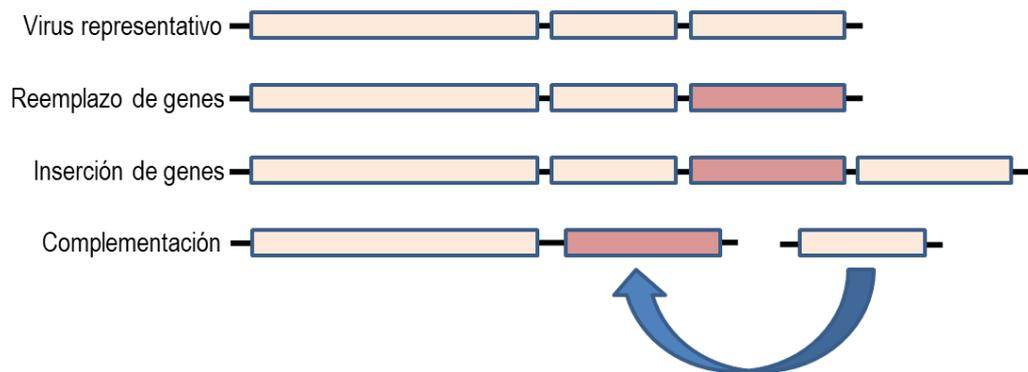
- Entender cómo expresar péptidos antigénicos fusionados a la proteína de cubierta del virus.

## 4 Desarrollo

Para la expresión péptidos inmunogénicos empleando vectores virales existen dos estrategias.

### 4.1 Expresión de proteínas completas

Para expresar proteínas completas en el interior del citoplasma de las células vegetales a través de vectores virales se pueden emplear diferentes estrategias: "**reemplazo de genes**", "**inserción de genes**" y "**complementación**" (Figura 1) (Gleba y col., 2007). Estas estrategias de expresión de proteínas se describen en el artículo docente titulado "**Desarrollo de vectores virales para la expresión de proteínas recombinantes en plantas**".

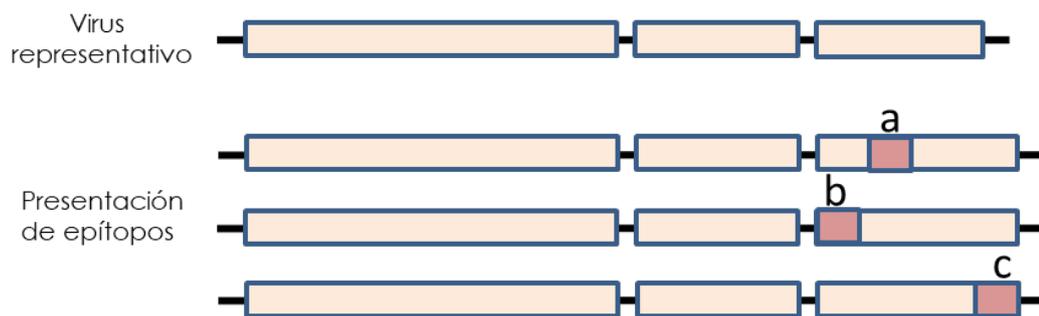


**Figura 1.** Comparación de las estrategias empleadas para expresar proteínas inmunogénicas completas en el interior del citoplasma a partir de diferentes virus. Los rectángulos rosas representan los genes foráneos y los marrones representan los genes virales. Esquema adaptado de Scholthof y col. (1996).

Este enfoque facilita la acumulación de las proteínas en cantidades superiores al 10% de las proteínas solubles totales, durante un corto periodo de tiempo, y las proteínas sintetizadas podrían estimular la respuesta inmune humoral y celular.

## 4.2 Presentación de epítomos

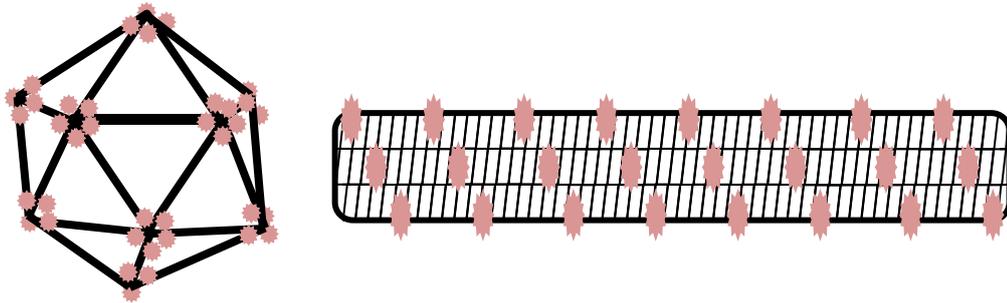
Esta estrategia consiste en la expresión de pequeños péptidos mediante el sistema de "**presentación de epítomos**" fusionados a una proteína viral, generalmente, a la proteína de cubierta del virus (Figura 2).



**Figura 2.** Estrategia de presentación de epítomos. La fusión tradicional de la secuencia que codifica el epítomo (rectángulos rosas) al gen que codifica la proteína de cubierta del virus puede realizarse: a) en el interior del gen; b) en el extremo 5'-terminal; o c) en el extremo 3'-terminal. Los rectángulos marrones representan los genes virales. Esquema adaptado de Scholthof y col. (1996).

La presentación de epítomos en las partículas virales se emplea para la producción de antígenos y el desarrollo de vacunas contra diversas enfermedades humanas o animales. Esta estrategia consiste en la expresión de pequeños péptidos fusionados a la proteína de la cubierta viral, de manera que se proyecten en la superficie de los viriones completos (Figura 3).

La fusión interna de los péptidos (Figura 2a) requiere que la modificación no interfiera con las funciones normales de la proteína viral. Alternativamente, la fusión puede realizarse en los extremos 5' o 3' terminales del gen que codifica la proteína de cubierta (Figura 2b y c). Tanto las partes N como las C-terminales de las proteínas de cubierta de muchos virus están expuestas en la superficie de las partículas víricas haciéndolas muy inmunógenicas (Li y col., 2014).



**Figura 3.** Representación esquemática de la presentación de epítopos (discos rosas) sobre la superficie de un virus con forma isométrica (Virus del mosaico del caupí, CPMV) y de un virus con forma de varilla (virus del mosaico del tabaco, TMV). Esquema adaptado de Scholthof y col. (1996).

La fusión de un péptido grande en la superficie puede afectar al montaje de la cápsida o al movimiento del virus quimérico a través de los plasmodesmos, pudiendo provocar una baja acumulación y un retraso en la infección sistémica. Además del tamaño, la composición de aminoácidos y punto isoeléctrico de los péptidos fusionados también afectan el movimiento de célula a célula y al movimiento a larga distancia de estos virus quiméricos.

El éxito de estas estrategias depende de un conocimiento detallado a nivel molecular del genoma viral y a nivel de la estructura del virión. Actualmente, se han desarrollado ya numerosos virus de plantas como sistemas de presentación de epítopos y se han utilizado para expresar una amplia gama de antígenos de patógenos humanos y animales, tanto en virus filamentosos como icosaédricos. El virus más ampliamente usado es el del mosaico del tabaco (*Tobacco mosaic virus*, TMV), debido al alto número de copias de la proteína de cubierta en una partícula viral y a la alta capacidad de acumularse en los tejidos vegetales, lo que conlleva la obtención de grandes cantidades de epítopo. El virus puede inocularse a un gran número de plantas y se pueden purificar grandes cantidades de virus utilizando procedimientos de extracción sencillos, a partir de plantas donde se ha desencadenado la infección viral sistémica dos semanas después de la inoculación. Además, las partículas resultantes son estables y su repetición regular facilita la inducción de fuertes respuestas inmunes celulares y humorales.

La presentación de epítopos es mucho más eficaz activando la respuesta inmunitaria humoral y celular de animales y humanos que la utilización de proteínas enteras. Los péptidos



recombinantes suelen ser inestables y poseen una actividad antigénica débil. Sin embargo, su unión a un soporte de alto peso molecular como es la proteína de cubierta del virus y la presentación del epítipo del patógeno en la superficie le aporta estabilidad e inmunogenicidad. El péptido expuesto en la superficie puede ser fácilmente reconocido por el sistema inmune de mamíferos y servir como vehículos para producir anticuerpos específicos.

## 5 Cierre

La utilización de virus de plantas como plataforma para la presentación de epítipos utilizados en medicina y veterinaria para la preparación de vacunas es una de las aplicaciones más prometedora de la bioingeniería

Las principales ventajas de los virus vegetales para este fin son la posibilidad de producir grandes cantidades de péptidos baratos y seguros, debido a su no infectividad y no toxicidad para las células animales y humanas por la ausencia de patógenos comunes entre los seres humanos y las plantas.

## 6 Bibliografía

### 6.1 Referencias de fuentes electrónicas:

Gleba, Y., Klimyuk, V. y Marillonnet, S. (2007). Viral vectors for the expression of proteins in plants. *CURRENT OPINION IN BIOTECHNOLOGY* 18, 134-141.

Sainsbury, F., Cañizares, M.C. y Lomonossoff, P. (2010). *Cowpea mosaic Virus*: the plant virus-based biotechnology workhorse. *ANNUAL REVIEW OF PHYTOPATHOLOGY* 48, 437-55.

Scholthof, H. B., Scholthof, K. B. y Jackson, A. O. (1996). Plant virus gene vectors for transient expression of foreign proteins in plants. *ANNUAL REVIEW OF PHYTOPATHOLOGY* 34, 299-323.

Li, C., Yamagishia, N., Kaidob, M. y Yoshikawa, N. (2014). Presentation of epitope sequences from foreign viruses on the surface of apple latent spherical virus particles. *VIRUS RESEARCH* 19, 118-126.