



ENFOQUE INMUNOINFORMÁTICO PARA PREDECIR EPÍTOPOS EN LAS PROTEÍNAS HN Y F DE Rubulavirus porcino

Luis I. Siañez-Estrada, José F. Rivera-Benítez, Nora H. Rosas-Murrieta, Julio Reyes-Leyva, Gerardo Santos-López y Irma Herrera-Camacho. BUAP. necro_crow@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

El Rubulavirus porcino (RVP) también llamado virus de La Piedad Michoacán (LPMV), es el agente etiológico de la enfermedad del ojo azul en cerdos. Esta enfermedad causa signos neurológicos, respiratorios y reproductivos, los cuales pueden estar acompañados de opacidad corneal. La enfermedad del ojo azul genera pérdidas económicas causadas por la alta tasa de mortalidad de neonatos y la infertilidad en los adultos (Cuevas et al., 2015; Zimmerman et al., 2019).

Por lo cual es importante generar un método de control y prevención de la enfermedad. Una de las estrategias posibles es producir proteínas presentes en la envoltura del virus y emplearlas como posibles vacunas. El RVP posee dos glicoproteínas insertadas en su envoltura: La hemaglutinina-neuraminidasa (HN) y la proteína de fusión (F), las cuales tienen como función el reconocimiento del receptor sobre la célula hospedera (HN) y la fusión de las membranas celular y viral para que la célula pueda ser infectada. Estas proteínas son candidatos para desarrollar un método de prevención (Cerriteño et al. 2016). El desarrollo de posibles vacunas en la actualidad es auxiliado por el uso de la inmunoinformática, la cual permite evaluar antígenos in silico, determinando la posibilidad de inducir diversas respuestas en el sistema inmune sin necesidad de expresar la proteína. La evaluación de las proteínas de RVP empleando estas metodologías podría fortalecer la selección y diseño de futuros antígenos contra RVP.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se cultivo RVP en células Vero. Se obtuvo y se clono el marco de lectura del gen F. Se realizó un análisis bioinformático de las características fisicoquímicas de las proteínas HN y F. Así como se realizó una primera aproximación de antigenicidad con el servidor VaxiJen v2.0. Se procedió a realizar una predicción de Determinantes antigénicos de Linfocitos B, empleando el servidor Bepipred-1.0. Cada predicción se analizó con los algoritmos de Chou-Fasman, superficie de Emini, Antigenicidad de Kolaskar y Hidrofilicidad de Parker. Se realizó un modelado por homología de secuencias de la estructura de las proteínas F y HN de RVP mediante PHYRE2 y se empleó para predecir las determinantes antigénicas de linfocitos B discontinuas. A su vez se realizó la predicción de determinantes reconocidas por linfocitos T citotóxicos. Por últimos se realizó un análisis de acoplamiento molecular de las determinantes antigénicas de linfocitos T citotóxicos con el complejo MHCI para determinar la energía de unión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La secuencia de aminoácidos de la proteína F de PAC1 tiene una identidad del 97.78 al 99.26% con otras secuencias F de RVP y se agrupa junto con la cepa de referencia LPMV/1984 (Figura 1), con la que tiene una identidad del 99.26% (4 mutaciones).

BIBLIOGRAFÍA

- Cerriteño-Sánchez JL, Santos-López G, Rosas-Murrieta NH, Reyes-Leyva J, Cuevas-Romero S, Herrera-Camacho I. 2016. Production of an enzymatically active and immunogenic form of ectodomain of Porcine rubulavirus hemagglutinin-neuraminidase in the yeast *Pichia pastoris*. *Journal of Biotechnology*. 223:52-61.
- Cuevas-Romero JS, Blomström A-L, Berg M. 2015. Molecular and epidemiological studies of Porcine rubulavirus infection - an overview. *Infect Ecol Epidemiol*. 5.
- Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J. Paramyxoviruses: Diseases of Swine 2019.

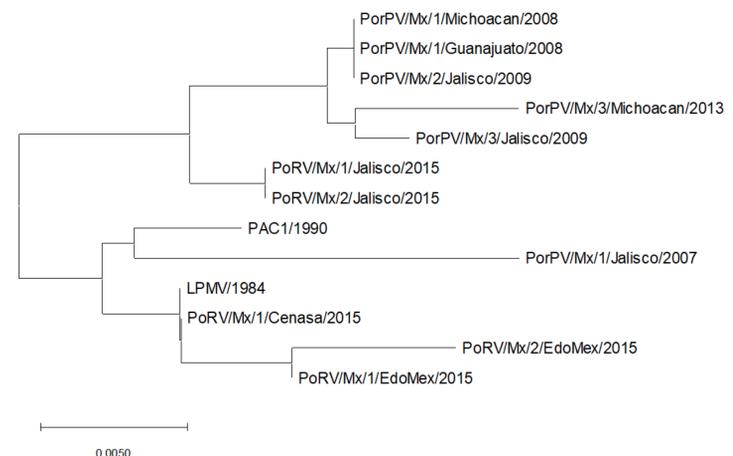


Figura 1. Árbol filogenético basado en las secuencias de aminoácidos de la proteína F de PAC1 y otras cepas de RVP.

Se predijeron 8 epítomos lineales únicos, con 5 residuos o más, para la proteína F (cepa LPMV), mientras que se predijeron 16 epítomos lineales para la proteína HN (cepa LPMV). Para la proteína F, tres epítomos estaban por encima del umbral de 1.0, con una conservación superior a 80% (LASPDQS; PQLTNPAL y NRTYGPPAYVPPDNIIQS). Para la proteína HN, solo un epítomo estuvo por encima del nivel umbral de 1.0, con una conservación del 80% (PQFSQRAAASY).

Se obtuvieron veintinueve epítomos citotóxicos para la proteína F y 34 para la proteína HN. Se predijo que dieciséis péptidos para la proteína F y veintidós para la proteína HN son inmunogénicos ya que presentan un valor de inmunogenicidad positivo. Se analizó la energía de unión del péptido con MHCI y en la Tabla 1 se muestra las energías de unión.

Tabla 1. Energías de unión de epítomos MHCI predichos y seleccionados para el alelo SLA-01*04:01 usando Autodock Vina

Proteína	Secuencia de péptido	Energía de unión (kcal/mol)
Proteína F	AQATAAVAL	-7.0
	TMSHILCPF	-5.8
	KVQLDTLTF	-6.6
	VMGDKFIRY	-6.3
Proteína HN	FMLTFDHTL	-7.3
	QMLLNDRPY	-6.4
	ALGPSHWCY	-7.3
	EINQFFTPY	-6.8
	FSQRAAASY	-7.8

CONCLUSIÓN

En el trabajo fue posible obtener y secuenciar el ORF de la proteína F cepa PAC1 de Rubulavirus porcino. El análisis de determinantes antigénicos de la proteína F y HN muestran que en la proteína F son más conservados que los de HN. Esto permite pensar que los epítomos de la proteína F pueden ser básicamente los mismos en todas las cepas de RVP. Los análisis de inmunoinformática son de gran utilidad para el diseño de nuevas vacunas debido a su precisión.