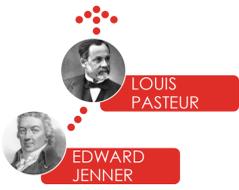




BIOLOGÍA ESTRUCTURAL Y COMPUTACIONAL EN EL DISEÑO DE VACUNAS

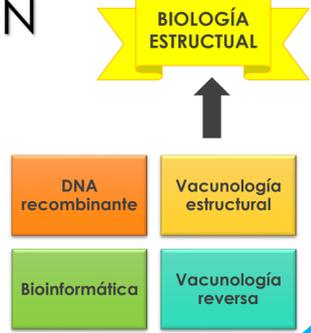
INTRODUCCIÓN

VACUNACIÓN



TIPOS de VACUNAS

- VIVAS / ATENUADAS
- MUERTAS / INACTIVADAS
- SUBUNIDADES PROTEICAS
- CONJUGADAS
- ÁCIDOS NUCLEICOS



OBJETIVOS

- Revisión bibliográfica
 - Bases
 - Herramientas
 - Situación actual
 - Nuevos métodos
- Contexto del Cólera
 - Aportaciones
 - Resultados obtenidos

MATERIAL Y MÉTODOS



VACUNOLOGÍA INVERSA

- Descubrimiento de nuevos inmunógenos a partir de bases de datos genómicas
- Ahorro de tiempo
- Resuelve las limitaciones de los métodos tradicionales

VACUNOLOGÍA ESTRUCTURAL

- Optimización y diseño racional de antígenos a partir de la información estructural disponible
- Caracterización de epítomos
- Herramienta → Biología estructural

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

"EPI TOPE MAPPING"

- Obtiene información sobre las regiones exactas de un determinado antígeno que son reconocidas y con las que interactúan los anticuerpos

BIOINFORMÁTICA

- Gran cantidad de información biológica que debe ser procesada y almacenada
- Predicción de estructuras biológicas macromoleculares

- Focaliza la respuesta inmune
- Mejora la inmunidad
- Evita epítomos indeseables
- Reducción de costes
- Antígenos con alta variabilidad secuencial
- Homogeneidad y estabilidad
- Optimizar la presentación de epítomos

RMN

- Capaz de resolver estructuras 3D en solución
- Análisis de producción y control de calidad
- RMNc

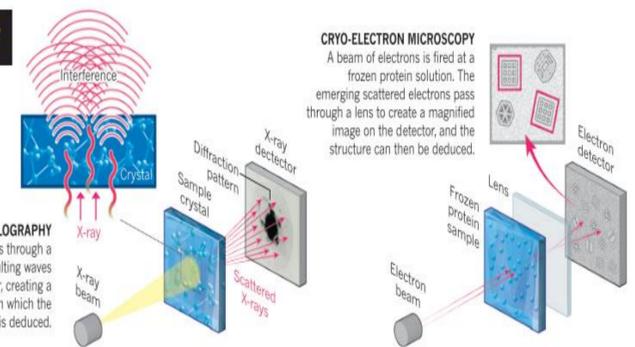
RMNc

- Cuantificar biomoléculas de elevada complejidad
- No requiere la destrucción o transformación de la muestra
- ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{31}P y ^{19}F
- Descomposición de la señal
- Separación de los componentes estudiados en el espectro final

CRISTALOGRAFÍA RAYOS-X vs. CRIOMICROSCOPIA ELECTRÓNICA

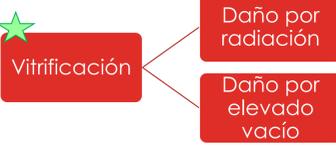
STRUCTURE SOLVERS

X-ray crystallography has long been the dominant method for deducing high-resolution protein structures, but cryo-electron microscopy is catching up.



X-RAY CRYSTALLOGRAPHY
X-rays scatter as they pass through a crystallized protein; the resulting waves interfere with each other, creating a diffraction pattern from which the position of atoms is deduced.

CRYO-ELECTRON MICROSCOPY
A beam of electrons is fired at a frozen protein solution. The emerging scattered electrons pass through a lens to create a magnified image on the detector, and the structure can then be deduced.



Cristalografía de rayos-X

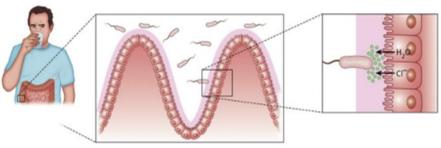
Cristalización de la muestra
Grandes cantidades de muestra

CrioME

Congelación de la muestra
Pequeñas cantidades de muestra

CÓLERA

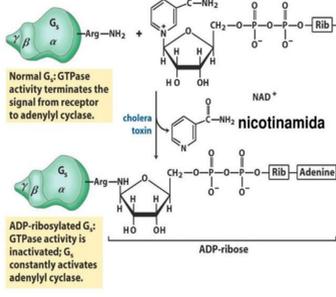
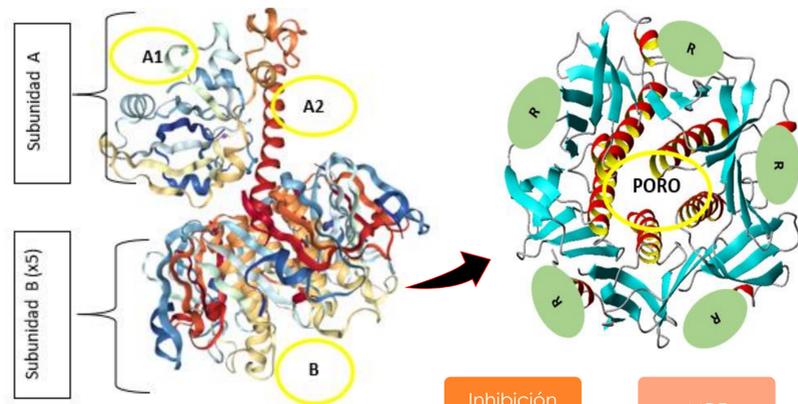
- Enfermedad diarreica aguda causada por el bacilo *Vibrio cholerae*
- Ingestión de agua y/o alimentos contaminados
- Transmisión persona a persona por mala higiene
- Cursa en forma de brotes (O1 y O139)



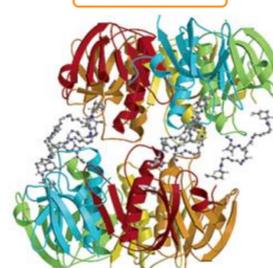
MECANISMO DE ACCIÓN

- Ensamblaje**
 - Síntesis de las subunidades A y B en el citosol
 - Translocación al espacio periplásmico → ensamblaje
- Secreción**
 - Proteínas de secreción extracelular (Eps)
 - Proteínas del sistema SEC (Gsp)
- Lumen intestinal**
 - Pentámero B reconoce al receptor GM-1
 - Endocitosis de la subunidad A
- Citoplasma del enterocito**
 - Disociación de la subunidad A
 - ADP-ribosilación de proteína Gs por el dominio A1

ESTRUCTURA HOLOTOXINA HETEROHEXAMÉRICA (AB₅)



ANTAGONISTA

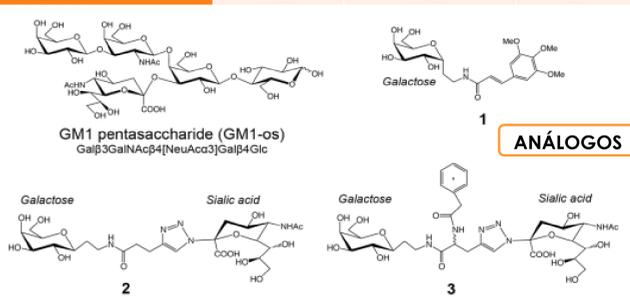


Intervenciones, tratamiento y profilaxis actual

- Suministro de agua potable y saneamiento
- Antibióticos
- Terapias de rehidratación
- Vacunas orales:

	Sanchol	Euvichol	Dukoral	Vaxchora
Serogrupos	O1 y O139	O1 y O139	O1	O1
N.º dosis	2	2	2	1

BLOQUEO	ET-CTB + 1	cCTB / ET-CTB + 2	pLTB + 3
Interacciones con los sitios de unión al receptor	2 de 5	TODOS	TODOS
Unión de Gal al "bolsillo profundo"	EFICAZ	EFICAZ	EFICAZ
Unión con el verdadero receptor	IMPEDIDA	IMPEDIDA	IMPEDIDA
Dimerización	NO	NO	SÍ



CONCLUSIONES

- El cólera es una de las enfermedades infecciosas con mayor repercusión en el tercer mundo
- El desarrollo de nuevas vacunas requiere de disciplinas avanzadas como la vacunología inversa y estructural
- Es necesario realizar avances en el campo de la bioinformática
- La biología estructural usa herramientas como la RMN o la cristalografía de rayos-X
- Auge de la criomicroscopía electrónica

BIBLIOGRAFÍA

Algunas de las citas más relevantes son...

- Liljeros L, Malito E, Ferlenghi I, Bottomley MJ. Structural and Computational Biology in the Design of Immunogenic Vaccine Antigens. *J Immunol Res.* 2015;2015.
- Criado MT, Sánchez S, Fernández CM. Vacunología clásica y nuevas tecnologías en el diseño de vacunas. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26(9):564-72.
- Garrido R, Vélez H, Vélez V. Resonancia magnética nuclear: Nuevas aplicaciones en la cuantificación y la evaluación de intermediarios de vacunas basadas en polisacáridos. *Vaccinomanitor.* 2013;22(1):35-42.
- Calloway E. The revolution will not be crystallized: A new method sweeps through structural biology. *Nature.* 2015 Sep 9;525(7568):172-4.
- Fan E, O'Neil CJ, Mitchell DD, Robien MA, Zhang Z, Pickens JC, et al. Structural biology and structure-based inhibitor design of cholera toxin and heatlabile enterotoxin. *Int J Med Microbiol.* 2004;294(4):217-23.
- Heggelund JE, Mackenzie A, Martinsen T, Heim JB, Cheshev P, Bernardi A, et al. Towards new cholera prophylactics and treatment: Crystal structures of bacterial enterotoxins in complex with GM1 mimics. *Sci Rep.* 2017;7(1):2326- 2326.