



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de fin de Carrera titulado:

DISEÑO *IN SILICO* DE UNA VACUNA MULTIEPÍTOPO DIRIGIDA CONTRA LAS PROTEÍNAS DE SUPERFICIE DEL MONKEYPOX VIRUS.

Realizado por:

Jhoan Sebastián Rivera Orellana

Director del proyecto:

Ing. Andrés Herrera Yela, MSc.

Como requisito para la obtención del título de:

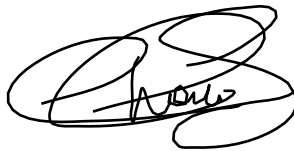
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Quito, agosto de 2024

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, Jhoan Sebastián Rivera Orellana, ecuatoriano/a, con Cédula de ciudadanía N° 1750708701, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido presentado anteriormente para ningún grado o calificación profesional, y se basa en las referencias bibliográficas descritas en este documento.

A través de esta declaración, cedo los derechos de propiedad intelectual a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido en la Ley de Propiedad Intelectual, reglamento y normativa institucional vigente.



Jhoan Sebastián Rivera Orellana

C.I.: 1750708701

DECLARACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.



Firmado electrónicamente por:
**MANUEL ANDRES
HERRERA YELA**

Ing. Andrés Herrera Yela, MSc.

LOS PROFESORES INFORMANTES:

JORGE PATRICIO ESPINOSA ESPINOSA

JAIME DAVID ACOSTA ESPAÑA

Después de revisar el trabajo presentado lo han calificado como apto para su defensa
oral ante el tribunal examinador.

JORGE PATRICIO
ESPINOSA
ESPINOSA

Digitally signed by JORGE
PATRICIO ESPINOSA ESPINOSA
Date: 2024.10.17 17:28:50
-05'00'



Firmado electrónicamente por:
JAIME DAVID ACOSTA
ESPANA

Ing. Jorge Espinosa Espinosa, MSc.

MD. Jaime Acosta España, MSc.

Quito, 28 de agosto de 2024

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.



Jhoan Sebastián Rivera Orellana

C.I.: 1750708701

Dedicatoria

A Dios, por ser mi mayor inspiración y guía constante en mi carrera. Su sabiduría y amor han iluminado mi camino y me han dado la fortaleza para superar los desafíos.

A mis padres, cuyo esfuerzo incansable, empuje, exigencia y apoyo incondicional han sido el pilar sobre el que me he sostenido en los momentos más difíciles. Gracias por estar a mi lado cuando todo parecía oscuro y por levantarme cuando estaba a punto de rendirme. Sin su amor y dedicación, este logro no hubiera sido posible.

Agradecimientos

Este estudio se fundamenta en los metadatos de 100 genomas de MPXV a nivel global, disponibles en GISAID, con los códigos de acceso incluidos en el Anexo 1.

Quisiera expresar mi agradecimiento a todos los colaboradores que hicieron posible este trabajo: los autores de las secuencias, los laboratorios que proporcionaron las muestras, y los laboratorios que enviaron las secuencias genéticas. Su esfuerzo en generar, documentar y compartir estos datos a través de la iniciativa GISAID ha sido esencial para la realización de esta investigación.

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a la Universidad Internacional SEK por brindarme la oportunidad de formarme en un ambiente académico enriquecedor y desafiante. La calidad educativa y el espíritu de excelencia de esta institución han sido fundamentales en mi desarrollo profesional.

Un agradecimiento especial a mis profesores, quienes han compartido generosamente sus conocimientos y experiencias, y han contribuido significativamente a mi crecimiento académico. En particular, deseo reconocer y agradecer profundamente a mi tutor de tesis, Andrés Herrera, por impartir no solo sus conocimientos, sino también, lo más valioso, su tiempo y paciencia para guiarme a lo largo de este proceso. Su orientación y apoyo han sido invaluable.

Asimismo, me gustaría agradecer a Andrés López-Cortés por ser una parte crucial de mi crecimiento profesional en el área de investigación. Su influencia ha sido fundamental para descubrir y fortalecer mi vocación, y su apoyo ha sido clave en mi desarrollo en este campo.

Diseño *in silico* de una vacuna multiepitopo dirigida contra las proteínas de superficie del Monkeypox virus

Sebastián Rivera-Orellana^{1,2}, Andrés Herrera-Yela^{1,3}, Jorge Espinosa-Espinosa¹

¹ Health Sciences Faculty, Universidad Internacional SEK (UISEK), Quito, 170120, Ecuador; jhoan.rivera@uisek.edu.ec; manuel.herrera@uisek.edu.ec

² Cancer Research Group (CRG), Faculty of Medicine, Universidad de Las Américas, Quito, Ecuador

³ Research Group of Emerging and Neglected Diseases, Ecoepidemiology and Biodiversity, Health Sciences Faculty, Universidad Internacional SEK (UISEK), Quito 170120, Ecuador; manuel.herrera@uisek.edu.ec

Resumen

El virus del Monkeypox (MPXV) es un patógeno zoonótico estrechamente relacionado con el virus de la viruela, que puede causar brotes epidémicos graves en humanos con una mortalidad significativa. Dada su capacidad para propagarse rápidamente y su potencial de generar brotes epidémicos, el desarrollo de estrategias efectivas de vacunación es crucial. Este estudio representa un avance innovador en el diseño de vacunas, utilizando herramientas bioinformáticas avanzadas para identificar epítomos específicos que pueden activar de manera eficaz las células T helper (HTL) a través de complejos MHC-II.

En este estudio, se llevó a cabo la identificación de epítomos del virus del Monkeypox capaces de activar células T helper (HTL) a través del MHC-II. Se comenzó analizando 50,040 secuencias virales, de las cuales se filtraron y seleccionaron los epítomos más óptimos, reduciéndolos a 13 epítomos finales con mayor afinidad para las moléculas MHC-II. Estos epítomos seleccionados se integraron en una vacuna multi-epítomo, añadiendo secuencias espaciadoras y adyuvantes para mejorar la respuesta inmunitaria. Luego, se realizó el modelado 3D de la vacuna para predecir la estructura y evaluar su estabilidad. Las simulaciones de dinámica molecular ayudaron a refinar el modelo y asegurar su estabilidad estructural. Los resultados indicaron que los epítomos seleccionados tienen alta afinidad por las moléculas MHC-II, y el modelado 3D de la vacuna mostró que la estructura diseñada es estable. Las simulaciones sugieren que la vacuna multi-epítomo es capaz de inducir respuestas inmunitarias robustas, destacando su potencial como una estrategia efectiva para la inmunización contra el virus del Monkeypox.

La vacuna resultante no solo ha demostrado inducir respuestas inmunitarias robustas y de memoria en modelos computacionales, sino que también ha sido validada mediante modelado 3D, destacando por su estructura molecular estable y la óptima exposición de los epítomos. Además, el análisis detallado de cobertura poblacional subraya su potencial para ofrecer una protección global significativa, convirtiéndola

en una herramienta esencial para combatir epidemias de Monkeypox y promoviendo la salud pública a escala mundial.

Palabras clave: MPXV, Vacunología inversa, *In silico*, HTL (Linfocitos T helper), MHC II (Complejo mayor de histocompatibilidad clase II).

Abstract

The monkeypox virus (MPXV) is a zoonotic pathogen closely related to the smallpox virus, capable of causing severe epidemic outbreaks in humans with significant mortality. Given its ability to spread rapidly and its potential to generate epidemic outbreaks, the development of effective vaccination strategies is crucial. This study represents an innovative advancement in vaccine design, utilizing advanced bioinformatics tools to identify specific epitopes that can effectively activate helper T cells (HTL) through MHC-II complexes.

In this study, epitopes of the monkeypox virus capable of activating helper T cells (HTL) through MHC-II were identified. The process began with the analysis of 50,040 viral sequences, from which the most optimal epitopes were filtered and selected, narrowing them down to 13 final epitopes with the highest affinity for MHC-II molecules. These selected epitopes were integrated into a multi-epitope vaccine, adding spacer sequences and adjuvants to enhance the immune response. Subsequently, 3D modeling of the vaccine was performed to predict its structure and assess its stability. Molecular dynamics simulations helped refine the model and ensure its structural stability. The results indicated that the selected epitopes have high affinity for MHC-II molecules, and the 3D modeling of the vaccine showed that the designed structure is stable. The simulations suggest that the multi-epitope vaccine is capable of inducing robust immune responses, highlighting its potential as an effective strategy for immunization against the monkeypox virus.

The resulting vaccine has not only demonstrated the ability to induce robust and memory immune responses in computational models but has also been validated through 3D modeling, standing out for its stable molecular structure and optimal epitope exposure. Additionally, the detailed population coverage analysis underscores its potential to offer significant global protection, making it an essential tool to combat monkeypox epidemics and promote public health on a global scale.

Keywords: MPXV, Reverse vaccinology, *In silico*, HTL (Helper T Lymphocytes), MHC II (Major Histocompatibility Complex class II).