

Frente. Celda Dev. Biol., 04 de noviembre de 2021

Sec. Epidogenómica y epigenética

Volumen 9 - 2021 <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.789427>

La Contribución Crítico de Pseudouridina a las vacunas COVID-19 de mRNA COVID-19

 [Pedro Morais](#)¹ *  [Hironori Adachi](#)² *

- ¹ Abutagética ProQR, Leiden, Países Bajos
- ² Departamento de Bioquímica y Biofísica, Centro de Biología RNA, University of Rochester Medical Center, Rochester, NY, Estados Unidos

La actual pandemia COVID-19 es una fuente masiva de trastornos globales, habiendo llevado hasta ahora a doscientos cincuenta millones de casos COVID-19 y casi cinco millones de muertes en todo el mundo. Se reconoció al principio que sólo una vacuna eficaz podía llevar a una salida a la pandemia, y por lo tanto la carrera por la vacuna COVID-19 comenzó inmediatamente, impulsada por la disponibilidad de los datos de secuencia viral. Dos nuevas plataformas de vacunas, basadas en la tecnología mRNA, fueron desarrolladas en 2020 por Pfizer-BioNTech y Moderna Therapeutics (comirnaty y spikevax, respectivamente), y fueron las primeras que presentaron eficacias superiores al 90%. Ambos consistieron en N1-metil-pantostilidina-modificado mRNA codificado por mRNA que codificaban la proteína SARS-COVID-19 Spike y se entregaron con una formulación de nanopartícula lípida (LNP). Debido a que el problema de la entrega de ácidos ribonucleicos se conocía desde hacía décadas, el éxito de los LNPs fue rápidamente aclamado por muchos como el héroe no cantado de las vacunas COVID-19 mRNA. Sin embargo, los resultados de la eficacia del ensayo clínico de la vacuna Curevac mRNA (CVnCoV) sugirieron que el sistema de administración no era la única clave del éxito. CVnCoV consistió en un ARNm no modificado (codificando la misma proteína de pico que las vacunas Moderna y Pfizer-BioNTech mRNA) y fue formulado con la misma LNP que la vacuna Pfizer-BioNTech (Acuitas ALC-0315). Sin embargo, su eficacia fue de sólo el 48%. Esta sorprendente diferencia de eficacia podría atribuirse a la presencia de una modificación crítica del ARN (N1-metil-pseudouridina) en las vacunas Pfizer-BioNTech y Modernas mRNA (pero no en CVnCoV). Aquí destacamos las características de la N1-metil-pseudouridina y sus contribuciones a las vacunas contra el ARNm.

Introducción

Cuando la pandemia COVID-19 golpeó a principios de 2020, había una necesidad urgente de generar vacunas COVID-19. En ese momento, el consenso en el campo médico era que una vacuna segura y eficaz necesitaría al menos 12 o 18 meses para ser desarrollada ([Thorp, 2020](#)). Algunos incluso argumentaron que tal línea de tiempo era muy optimista ya que tendría que ser probado en animales primero durante una fase exploratoria y preclínica, y luego en tres fases de ensayos clínicos diferentes para determinar la eficacia y la seguridad en última instancia. Por último, un candidato a vacunal tendría que pasar por la revisión regulatoria, la aprobación y la fabricación a una escala sin precedentes ([Kis et al., 2020](#)) con estrictos controles de calidad.

Para producir vacunas eficaces y acortar su tiempo de producción, parecía necesario desarrollar nuevas estrategias/tecnologías de vacunas. Una de las nuevas tecnologías emergentes, las vacunas contra el ARNm ([Pascolo, 2004](#); [Probst et al., 2007](#)), llamó la atención enormemente y proporcionó una gran esperanza. Esta tecnología hizo posible un rápido ritmo de descubrimiento y fabricación, características críticas que podrían ser plenamente utilizadas en un entorno biotecnológica y farmacéutico ([Jackson et al., 2020](#)).

A diferencia de la producción de, por ejemplo, virus atenuados o inactivados, la producción de vacunas contra el ARNm puede tardar sólo días o semanas en completarse ([Pascolo, 2021](#)). Puede lograrse mediante la transcripción *in vitro* del ARNm, donde prácticamente cualquier secuencia de ARNm se puede producir a partir de una plantilla de ADN ([Krieg y Melton, 1984](#); [Melton et al., 1984](#)). Además, una vacuna contra el ARNm proporcionaría a la célula las instrucciones directas para expresar una proteína inmunogénica de interés *a través* de la traducción citoplasmática. De hecho, se demostró hace 3 décadas que un ARNm podía ser entregado directamente, *a través* de inyección, a las células musculares

del ratón para su traducción (Wolff et al., 1990). Sin embargo, al igual que con otras modalidades terapéuticas basadas en ácidos nucleicos, varios obstáculos de administración de la terapia del ARNm habían retrasado la aparición de esta tecnología. Por ejemplo, una molécula de ARN puede ser degradada por RNases o atrapada por endosomas antes de llegar al sitio de acción (Wadhwa et al., 2020). Además, la columna trastorna de fósforo cargada negativamente de un ARN hace difícil cruzar las membranas biológicas (Dowdy, 2017).

La solución a este enigma era utilizar una cáscara de nanopartículas de lípidos (LNPs) para proteger el ARN hasta que llegara al sitio de acción. Esto no está muy lejos de lo que se propuso hace décadas, cuando se probaron lípidos como vehículos para entregar el ARN a las células de los mamíferos (Dimitriadis, 1978; Ostro et al., 1978; Malone et al., 1989). Recientemente, se desarrollaron y utilizaron nuevas generaciones de LNPs para entregar patisiran, un fármaco basado en ARNi aprobado en 2018, que generó optimismo para la entrega de terapias de ARN (Hoy, 2018). De hecho, con la aprobación de patisiran, existía la creciente creencia de que los LNP podían convertirse en tecnologías facilitadoras para múltiples modalidades de ARN (Adachi et al., 2021). Este fue un logro importante y un avance científico, y, de hecho, las vacunas actuales de ARNm se entregan con LNP que se preparan mezclando cuatro lípidos en presencia de etanol en condiciones muy específicas (Jeffs et al., 2005; Buschmann et al., 2021). Los LNP también fueron críticos para la entrega exitosa de vacunas contra ARNm mediante inyección intramuscular. Se cree que, si bien las células musculares no son muy eficientes en la traducción del ARNm que codifica la proteína Spike, los LNP finalmente llevan su carga a los ganglios linfáticos y son internalizados por células dendríticas. La proteína Spike se sintetiza en estas células desde la plantilla de ARNm y se muestra a otras células del sistema inmunitario (células T y B) para desencadenar la respuesta inmunitaria (Ruffell, 2021). Sin formulaciones de LNP, el éxito de las vacunas contra el ARNm no habría sido posible.

Aparte del problema de parto discutido anteriormente, el ARNm terapéutico tenía al menos dos grandes desafíos adicionales: 1) el ARNm transcrito *in vitro* (IVT) sería propenso a la degradación de nucleasa cuando se inyecta en animales, y 2) el ARNm IVT también conduciría a una inmunogenia innata similar a lo que ocurriría cuando se infecta por un patógeno (Martinon et al., 1993; Hoerr et al., 2000). La respuesta a estos problemas vino de una conocida modificación de ARN, pseudouridina, que se puede utilizar para reemplazar la uridina en el ARNm IVT. Se demuestra que puede mejorar la estabilidad del ARN y, mientras tanto, disminuir la respuesta inmune anti-ARN (Karikó et al., 2008). Este efecto - tal vez se asocia, al menos en parte, con el hecho de que es un nucleótido modificado natural con propiedades químicas únicas y que también está muy abundante y naturalmente extendida en prácticamente todos los ARN de todas las células (Song et al., 2020).

Tanto las vacunas Pfizer-BioNTech y Moderna Therapeutics COVID-19 encoding mRNA de panza (ambos con más del 90% de eficacia contra los síntomas COVID-19) contienen modificaciones de la vacuna antiaranguis (Nance y Meier, 2021).

En contraste, otro candidato a la vacuna COVID-19 mRNA (desarrollado por Curevac NV), que se basa en un ARNm sin modificar (a-falta) que codifica el mismo pico COVID-19 y utiliza los mismos LNPs que la vacuna Pfizer-BioNTech (Buschmann et al., 2021), no cumplió con las expectativas (Baker y Dolgin, 2021). Los resultados de las pruebas de ensayo clínico revelaron finalmente sólo el 48% de la eficacia contra la enfermedad sintomática (Kremsner et al., 2021) para la vacuna contra ARNm no modificada, lo que sugiere que la tecnología modificada y el uso de LNP fueron factores críticos de éxito para la validación de la plataforma de mRNA (Dolgin, 2021a). En esta mini-exensión, destacaremos las principales características de esta modificación del ARN y una versión químicamente evolucionada de la misma que contribuyen al éxito de las vacunas COVID-19 mRNA y el control de la pandemia.

Es un Abundante Abundante Naturalmente Ocurriendo Nucleotida modificada encontrada en muchos tipos de ARN

Fue la primera ribonucleotida modificada descubierta hace 7 décadas (Cohn y Volkin, 1951; Davis y Allen, 1957), y se ha encontrado en tRNA, rRNA, snRNA, mRNA, y otros tipos de ARN (Carlile et al., 2014; Lovejoy et al., 2014; Schwartz et al., 2014). Se deriva de la uridina a través de una reacción de isomerización específica de base llamada pseudouridación (Figura 1), en la que la nucleobase gira 180° alrededor del eje N3-C6, resultando en el cambio de la unión nucleobase-azúcar (de N1-C1 o enlace a C5-C1 - Bond). El enlace C-C resultante permite que la nucleobase rote más libremente (Adachi et al., 2021). Además, puede proporcionar un donante de bonos de hidrógeno adicional (en el N1H) en la ranura principal, manteniendo el donante de bonos de hidrógeno y el aceptador (lo mismo que en su uridina original) en la cara Watson-Crick. Mientras que los cambios parecen sutiles (de hecho, puede basar-parir con adenosina tal como lo hace la uridina), puede alterar la estructura del ARN de una manera

relativamente significativa, principalmente mejorando la empareja de base, la apilación de base, y contribuyendo a hacer la columna más rígida (a través de una red de interacciones de unión de hidrógeno) (Davis, 1995; Charette y Gray, 2000; Newby y Greenbaum, 2001, 2002a, 2002b). Como tal, la pseudouridación del ARN generalmente estabiliza el ARN. Por lo tanto, no es sorprendente que la presencia de esta modificación de ARN confiera distintas propiedades biofísicas y bioquímicas al ARN. Por ejemplo, favorece una conformación de C3 en el ARN (Kierzek et al., 2014; Westhof, 2019). Además, parece que "aumenta la protección del ARN contra las nucleasas". Un estudio de Naylor et al. mostró que los dinucleótidos que contenían , eran más resistentes a la degradación del veneno de serpiente y fosfodiesteras del bazo, que las contrapartes que contienen U (Naylor et al., 1965).

FIGURA 1

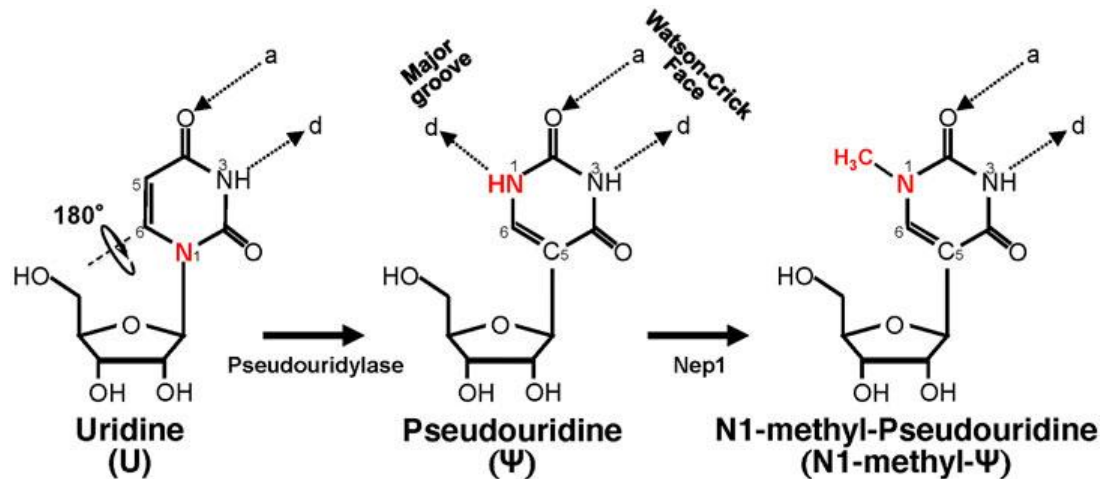


FIGURA 1. Representación esquemática de la isomerización en U-a y de metilación N1 adicional. Es un isómero rotacional de uridina, en el que el enlace glicosídico N-C se sustituye por el enlace C-C. La reacción de isomerización también crea un donante de bonos de hidrógeno adicional (-NH). - puede metilarse aún más en la posición N1 por Nep1 (un N1 específico de la metiltransferasa) para generar N-metil-. d, donante de bonos de hidrógeno; un aceptador de bonos de hidrógeno.

La pseudouridación se puede catalizar por enzimas de proteínas independientes (pseudouridilases) o por grandes complejos de ARN-Proteínas llamados snoRNPs de caja H/ACA, donde los componentes del ARN sirven como guías para la pseudouridación directa específica del sitio (Morais et al., 2021). Dado que es altamente conservado y conocido por realizar funciones esenciales en la célula, varias enfermedades conocidas se asocian con defectos en la pseudouridación del ARN. Además, debido a que la pseudouridación parece ser irreversible, por lo general se excreta del cuerpo. Así, esta modificación del ARN ha llamado la atención como biomarcador potencial para la enfermedad de Alzheimer y ciertos tipos de cáncer (Morais et al., 2021).

Puede ser incorporado a las transcripciones de ARN *a través de* la transcripción *in vitro*, donde la UTP se sustituye por el PTP (Padilla, 2002; Chen et al., 2010; Pardi et al., 2013). Se informó que las transcripciones modificadas, la codificación de cuatro factores de transcripción (KLF4, c-MYC, OCT4, y SOX2), se utilizaron con éxito para reprogramar células humanas a pluripotencia con gran eficiencia (Warren et al., 2010). Este estudio histórico indicó la importancia de esta modificación del ARN en las tecnologías de la plataforma mRNA.

Puede truco el sistema inmunitario

Al entrar en las células, el ARNm IVT no modificado se vuelve intrínsecamente inmunogénico (Weissman et al., 2000). Durante muchos años, este desafío ralentizó el desarrollo de terapias de ARNm, especialmente estrategias de reemplazo de ARNm. Por ejemplo, se ha demostrado que cuando se trata con ARNm IVT sin modificaciones, las células dendríticas promueven una respuesta de células T (Weissman et al., 2000). La activación de los receptores similares a los pecar (LR), concretamente TLR3 (miembro de la familia TLRs), que pueden reconocer el ARN viral de doble cadena, es uno de los mecanismos detrás de esta inducción de la respuesta inmune (Karikó et al., 2004). En otro trabajo, se sugirió que el ARN de una sola cadena también podría inducir una respuesta inmunitaria en las células. Los autores de ese trabajo demostraron que el ARN de una sola cadena rica en uridina derivado del VIH podría estimular, *mediante* el reconocimiento de TLR7 y TLR8, células dendríticas para producir citocinas (Heil, 2004). Más tarde, se sugirió además que TLR7 podría reconocer las repeticiones de uracilo en las

proximidades del ARN ([Diebold et al., 2006](#)). Para abordar este problema, Karikó et al. llegaron con una solución brillante. Descubrieron que la incorporación de la uridina, como reemplazo de la uridina, en el ARNm IVT podría suprimir este mecanismo de respuesta inmune ([Karikó et al., 2005](#)). Este descubrimiento reveló otra faceta crítica de A. e insinuó por primera vez que la modificación del ARN podría ser necesaria para establecer el ARNm como una novedosa modalidad terapéutica. Sin embargo, en el momento de este hallazgo, algunos argumentaron que la inmunoterapéutica de ARNm sin modificaciones sería un mejor enfoque que el ARNm modificado, ya que el ARN mismo actuaría como adyvant ([Ishii y Akira, 2005](#)).

En un estudio de seguimiento publicado en 2008, Karikó et al. propuso que la inclusión de la AM era el paso crucial para que el ARNm madurara como herramienta terapéutica, tanto en las terapias de reemplazo de genes como en la vacunación contra el ARNm ([Karikó et al., 2008](#)). Confirmaron que el ARNm sin modificaciones, en comparación con el ARNm modificado de la enfermedad, era más inmunogénico en ratones. Sin embargo, Karikó et al. también sugirieron que si bien el ARNm modificado podría ser preferible para las vacunas contra el ARNm, eventualmente requeriría la coadministración de un adyval como lipopolisacárido o un oligocimulador inmunoestimulante. En este sentido, parece que los PLN desempeñaron este papel inmunoadyven como portadores y adyvals para las vacunas COVID-19 mRNA aprobadas ([Alfagih et al., 2020](#)).

Otra obra del laboratorio Karikó/Weissman sugirió que el ARNm modificado podría ser más resistente a la degradación mediada por RNasa L ([Anderson et al., 2011](#)). Esto podría lograrse limitando la activación de la sintetasa de 2o-5o-oligoadenylate, una enzima importante en la respuesta antiviral innata que generalmente se activa por ARN de doble cadena. Debido a que RNase L es un ribonucleasa de 2o-5o-oligoadenyla, la capacidad del ARNm pseudouridilizado para limitar la actividad de la sintetasa de 2o-5o-oligoadenylate podría proporcionar una ventaja a ARNm modificado sobre ARNm no modificado ([Anderson et al., 2011](#)).

- tiene un impacto en la traducción de proteínas

Debido al impacto de la estructura del ARN, la estabilidad y las propiedades químicas en general, no es sorprendente que esta modificación del ARN también afecte la traducción de ARNm en proteína eucariotas. Por ejemplo, un trabajo temprano reveló los inusuales eventos de decodificación proporcionados por el tRNA anticodon mitocondrial. El anticodon pseudouridilado podría efectivamente leer codones alternativos que de otra manera serían mal reconocidos durante la traducción en mitocondrias si los anticodon no fueran pseudouritilados ([Tomita, 1999](#)). Otro estudio sugirió que el aumento de la translatabilidad del ARNm modificado, que se observó anteriormente ([Karikó et al., 2008](#)), se debió al hecho de que el mRNA no modificado es más propenso a activar, *a través de* la unión, una proteína quinasa (PKR) dependiente del ARN que el mRNA modificado. Este PKR es responsable de la fosforilación de un factor de iniciación de la traducción 2-alfa (eIF-2) y en última instancia reduce la eficiencia de la traducción ([Anderson et al., 2010](#)).

También impacta detener la decodificación de codón. El laboratorio Yu mostró que las mutaciones disparatadas, que crean codones de terminación prematura (PTC), podrían ser suprimidas por la pseudouridación específica del sitio de la uridina de los PTCs (UAG, UGA y UAA) dirigidos por ARN guías de caja artificial H/ACA ([Karjolic y Yu, 2011](#); [Morais et al., 2020](#)). La identidad de los aminoácidos incorporados en los PTC pseudouridados se determinó en la levadura por inmunoprecipitación y espectrometría de masa: predominantemente fenilalanina/tirosina en los codones de la VGA y la terñón/senorina en los codones A y .AG. Más tarde se descubrió que este novedoso mecanismo de codificación podría ocurrir debido a un inusual esquema de emparejamiento de base de coco-anticodón en el centro de decodificación ribosomal ([Fernández et al., 2013](#)).

Más recientemente, se informó que también es capaz de modular la translatabilidad o decodificación de codón de sentido ([Eyler et al., 2019](#)). Utilizando un sistema de traducción *de Escherichia coli* o células humanas (células renales embrionarias humanas), los autores demostraron que "podría alterar, en pequeña medida, cómo los ribosomas o los codones interactúan con los TRN-cognatos y casi conatos, lo que conduce a la sustitución de aminoácidos. Se sugirió que este mecanismo de sustitución de aminoácidos podría ser una fuente valiosa para la adaptación en condiciones de estrés, como las tensiones oxidativas y de temperatura.

N1-Methylated. Se comporta mejor que .

Desde el hallazgo de que la modificación de la marca podría permitir al ARNm resistir las respuestas inmunitarias intrínsecas ([Karikó et al., 2005](#)), se llevó a cabo una búsqueda de derivados que podría haber mejorado las propiedades. El grupo de amina (NH) en la posición N1, que proporciona un donante de bonos de hidrógeno adicional (creado después de la pseudouridación) ([Figura 1](#)), llamó especialmente la atención. Una N1 modificada es N1-metil-metil-, una modificación natural que se encuentra en 18S rRNA ([Marca y otros, 1978](#)) y TRNA en muchos organismos ([Boccaletto et al., 2018](#)). Esta metilación N1- se cataliza por N1-especido y metiltransferasa Nep1 que se encuentra en arquea y eucariotas ([Wurm et al., 2010](#)) ([Figura 1](#)). Potencialmente N1-metil-o podría estar más extendido de lo que se reporta en el ARN humano, dado que los métodos estándar de detección (-sig) actual, que se basan en el uso de la modificación CMC seguida de extensión de primer ([Morais et al., 2021](#)), pueden no ser capaces de distinguir N1-metil-a de ([Svitkin et al., 2017](#)). Posiblemente, por lo tanto, algunos de los más identificados hasta ahora ([Schwartz et al., 2014](#)) podrían ser en realidad N1-metilados.

Con el fin de comprender las funciones biológicas de N1-metil-o, Parr et al. realizaron estudios biofísicos en los que esta modificación se comparó con la . y la uridina. Midieron la temperatura de fusión de dúplex sintéticos complementarios de ARN en los que algunas uridinas fueron reemplazadas por " o N1-metil-" ([Parr et al., 2020](#)). Tanto los dúplex modificados de T_m como los dúplex modificados de metil--otrometro y N1- tenían valores T_m más altos (y similares) que los dúplex de uridina-control, lo que indica una mayor estabilidad proporcionada por un mayor apareamiento de bases, como se sugiere en estudios previos realizados con el . ([Westhof, 2019](#)). Sin embargo, contiene un grupo de donantes de bonos de hidrógeno adicionales (N1H) que contribuye a un carácter base universal, es decir, no sólo puede emparejar A sino también oscilar base-pareja con G, U o C en el contexto de un dúplex ([Kierzek et al., 2014](#)). Por otro lado, N1-metil-o tiene un grupo metilo en su lugar en la posición N1- ([Figura 1](#)), eliminando así el donante de bonos de hidrógeno adicional. En consecuencia, N1-metil-o sólo puede utilizar su cara de Watson-Crick a base-pare con otro nucleósido, evitando así que se espaje con otros nucleótidos (G, U y C). Sin embargo, y N1-metilo todavía comparten una característica común crítica, el enlace C5-C1, que permite la rotación entre la nucleobase y las moderas de azúcar y probablemente contribuye a mejorar la base de la base, la apilamiento de bases y la estabilidad dúplex ([Westhof, 2019](#)). Es concebible que el N1-metilado, que tiene una mayor afinidad para el emparejamiento con A (similar a la de A y es menos probable que active PKR, sería más eficiente para la traducción en comparación con la uridina. Por otro lado, N1-metil-o sigue siendo fiel en la codificación (más uridina que la uridina que en el maridaje) durante la traducción. Por último, N1-metil-o, que es estructuralmente similar a ", probablemente también permitiría al ARNm evadir la respuesta inmune.

De hecho, se ha informado que N1-metil-o disminuyó la actividad de los sensores inmunes innatos ([Andries et al., 2015](#)) y que N1-metil-o realizó bien (e incluso mejor) en la mejora de la capacidad traslacional y la reducción de la citotoxicidad del ARNm modificado cuando se probó en varias líneas celulares humanas, células humanas primarias y en animales (introducción intranegomal e intramuscular en ratones) ([Andries et al., 2015](#)). Algunos de los hallazgos fueron corroborados posteriormente por científicos de Moderna Therapeutics ([Nelson et al., 2020](#)). Además, otro estudio de Svitkin et al. confirmó el efecto de N1-metil-o en los sensores inmunológicos innatos y demostró que N1-metil-o aumentó la pausa ribosoma y, por lo tanto, cambiar la dinámica de la traducción modificada de ARNm aumentando el reclutamiento o carga de ribosomas ([Svitkin et al., 2017](#)). Debido a su eficacia, se propuso que N1-metil-o (solo o en combinación con 5-metilciidina) fuera un nuevo punto de referencia en las modificaciones de ARN para las terapias de ARN ([Andries et al., 2015](#)).

N1-Methyl-E se utiliza en Covid-19 mRNA Vaccines

En 2017, durante el desarrollo de la vacuna contra el ARNm contra el virus del Zika, se utilizó N1-metil-o se incorporó a dos vacunas similares de ARNm que codificaban proteínas superficiales del virus del Zika. El ARNm modificado, encapsulado en los LNPs, fue diseñado y probado para proteger contra el virus del Zika en células humanas, ratones y primates no humanos ([Pardi et al., 2017](#); [Richner et al., 2017](#)). Al año siguiente, se obtuvo un mayor éxito con vacunas de ARNm modificadas con N1-metil---- modificado contra el VIH-1, el virus del Zika y la gripe, logrando una respuesta sostenida de anticuerpos en un entorno preclínico ([Pardi et al., 2018](#)). Un ejemplo similar se presentó contra el virus del ébola en conejillos de indias ([Meyer et al., 2018](#)). Estos estudios enfatizó además la importancia de la tecnología de la plataforma de la vacuna contra el ARNm, ya que podría proporcionar una forma confiable de lograr la síntesis sostenida y rápida de la proteína antigénica para desencadenar la respuesta inmune deseada de una manera segura.

En 2020, Pfizer-BioNTech añadió N1-metil-o a su candidato a la vacuna COVID-19 mRNA (comirnaty o BNT162b2) codificando para la proteína S transmembrana de larga duración. La secuencia completa de esta vacuna de ARNm incluye el 5-UTR, la secuencia de codificación de la proteína de pico con dos

colones de parada contiguos, y el 3oUTR (Nance y Meier, 2021). N1-metil-o fue sustituido por todas las uridinas a lo largo de la secuencia mRNA, incluyendo las uridinas en los dos colones de parada. Además, también se introdujeron dos mutaciones de aminoácidos, K986P y V987P (lysine 986 y valine 987 fueron modificadas a prolina). Estas mutaciones ayudan a generar la conformación previa a la fusión de la proteína de pico que es más óptima como un antígeno ya que se parece más a la proteína viral real con la que los anticuerpos interactuarán (Pallesen et al., 2017; Wrapp et al., 2020). En un estudio anterior de la infección por MERS-CoV, se encontró que los dos prolines estabilizarían la conformación pre-fusión del antígeno de pico MERS-CoV (Pallesen et al., 2017). Los anticuerpos generados contra esta conformación bloquearían la fusión del virus y la proteína hósca (CD26), ofreciendo así una solución ideal para el desarrollo de vacunas MERS-enfermos. Este conocimiento se incorporó al desarrollo de la vacuna COVID-19 mRNA (Pfizer-BioNTech y Moderna) y vacunas no ARN, así como de vacunas J&J y Novavax (Kyriakidis et al., 2021).

La transcripción *masiva in vitro* produjo una gran cantidad de ARNm de píldora de pájaros SARS modificado N1-metil--modificado. Esta vacuna fue la primera vacuna de ARNm totalmente aprobada contra COVID-19 después de mostrar un buen perfil de seguridad y una protección del 95% contra la enfermedad tras un régimen de dos dosis (inyección intramuscular) (Polack et al., 2020; Mullard, 2021).

La vacuna Moderna Therapeutics COVID-19 (spikevax, o mRNA-1273), también codificada para la conformación previa a la fusión de la proteína de pico (Corbett et al., 2020), fue la segunda vacuna mRNA para obtener EAU (uso de aprobación de emergencia) para COVID-19. Spikevax también se preparó sustituyendo totalmente las uridinas por N1-metil-o a través de la transcripción *in vitro* (Corbett et al., 2020). La secuencia de codificación de proteínas de punta termina con tres colones de parada N1-metil-seuduridados y está flanqueada por un 5oUTR y un 3-UTR. Se demostró que esta vacuna prevenía la enfermedad COVID-19, incluyendo enfermedad grave, con una eficacia del 94% (Baden et al., 2021).

Vale la pena señalar que aunque el ARNm de ambas vacunas aprobadas está completamente modificado (los Us son completamente sustituidos por N1-metil-s), es probable que tenga alta fidelidad de codificación, dado que N1-metil-o se combina sólo con A (a diferencia de A, que puede, hasta cierto punto, oscilar pareja con diferentes nucleosidos). Además, se colocan colones de dos y tres paradas contiguos en los ARNs de Pfizer y Moderna, respectivamente. Tales arreglos garantizan que no se haga una lectura de los codones de parada modificados (a pesar de que un solo codón de parada permitiría, hasta cierto punto, leer) (Karijolich y Yu, 2011; Fernández et al., 2013). Además, el N1-metil-o aumenta la eficiencia de la traducción, lo que permite dosis relativamente bajas.

Modificado vs. Vacunas COVID-19 mRNA no modificadas conducen a diferentes resultados

La inmunogenicidad intrínseca del ARNm no modificado se consideró una vez una ventaja potencial para su uso en las vacunas (Ishii y Akira, 2005), ya que codificaría el antígeno y serviría concomitantemente como adyuvante mientras se permite una dosis baja. De hecho, el candidato de la vacuna COVID-19 mRNA no modificado en ensayos clínicos en estadio tardío (CVnCoV, desarrollado por Curevac) tuvo una dosis máxima de 12 g. Sin embargo, los recientes resultados del ensayo clínico de la vacuna CVnCoV mostraron sólo el 48% de la eficacia contra cualquier gravedad de la enfermedad (Kremsner et al., 2021).

A la luz de estos resultados, algunos argumentaron que esto podría deberse a una dosis que era demasiado baja para obtener una respuesta inmune robusta contra la enfermedad [las dosis más altas de la vacuna no modificada de ARNm parecen ser intolerables para los pacientes (Dolgin, 2021a; Cohen, 2021)]. De acuerdo con este argumento, las vacunas Pfizer-BioNTech y ARNm de Moderna, que muestran una tasa de protección alta del 95% contra COVID-19, vienen con una dosis mucho mayor, en comparación, 30 y 100 g de ARNm modificado cada inyección, respectivamente (Pascolo, 2021). Aunque las dosis más bajas (50 y 25 g) de ARNm modificadas por Moderna-1273 todavía pueden provocar una respuesta inmune significativa (Chu et al., 2021; Mateus et al., 2021), siguen siendo mucho más altas que las dosis de la vacuna CVnCoV no modificada con mRNA. Curiosamente, sin embargo, Pfizer-BioNTech acaba de anunciar que su vacuna con comirnaty, administrada con dos inyecciones de 10 g cada una, es segura y eficaz en niños de 5 a 11 años (Pfizer, 2021). Hay cierta especulación en torno a la posibilidad de que, aunque diseñado para niños, esta dosis sea comparable a la dosis de la vacuna CVnCoV no modificada de ARN; por lo tanto, no sería la dosis baja la que hizo que la vacuna de ARNm no modificada fuera relativamente ineficaz. Esta hipótesis justifica un estudio más agrupado.

Cabe señalar también que la vacuna contra el ARNm de CVnCoV no modificada también utilizó una formulación de LNP, a saber, Acuitas ALC-0315, un sistema de entrega idéntico al utilizado en la vacuna Pfizer-BioNTech modificado mRNA (Buschmann et al., 2021). Si bien Curevac atribuyó la menor eficacia de CVnCoV al gran número de variantes que circulan durante los ensayos clínicos, esta

afirmación ha sido impugnada por la alta protección de la vacuna Pfizer-BioNTech mRNA contra las variantes alfa, beta y delta (92, 75 y 83% respectivamente) ([Abu-Raddad et al., 2021](#) ; [Sheikh et al., 2021](#)). Dados estos resultados experimentales y de ensayos clínicos, se podría argumentar que las modificaciones de ARN son quizás contribuyentes críticos al éxito de la tecnología de plataformas de vacunas mRNA ([Dolgin, 2021a](#)) ([Figura 2](#)).

FIGURA 2

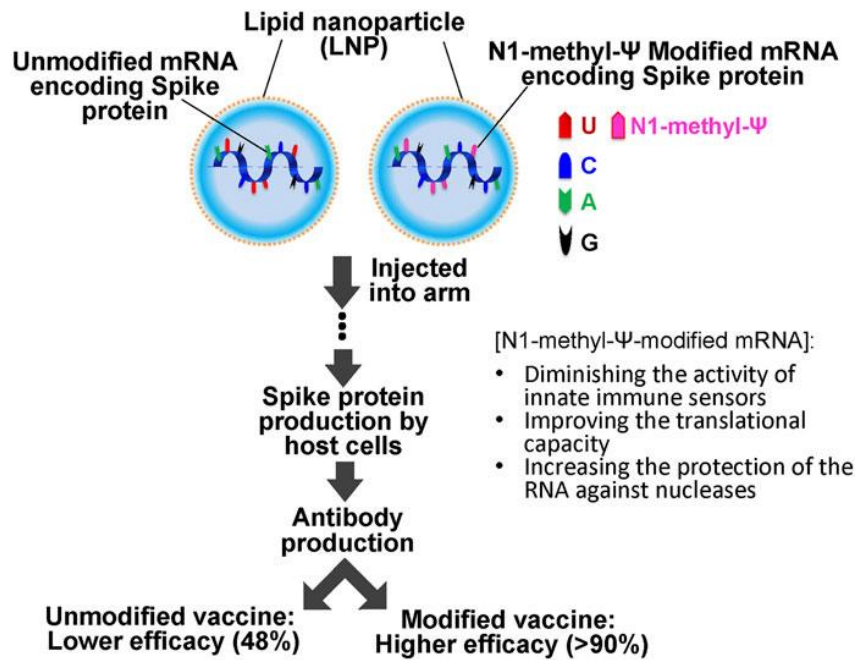


FIGURA 2. Esquemáticas de la vacunación SARS-COVID 19 mRNA. La vacuna consiste en ARNm no modificado o N-metil-a-modificado (codificando la proteína de pico SARS-COVID-19) y nanopartículas lipídicas (LNPs). Se inyecta en el músculo de la parte superior del brazo para crear una respuesta inmune. El ARNm modificado de N-metilo-a-modificado presenta una mayor eficacia (más del 90% de la eficacia contra los síntomas COVID-19) en comparación con las vacunas de ARNm no modificadas (menor del 50%).

La segunda generación de la vacuna COVID-19 (CV2CoV), actualmente en desarrollo preclínico ([Roth et al., 2021](#)), sigue siendo un ARNm no modificado químicamente, que codifica la proteína de pico de longitud completa y está encapsulada con LNPs. En comparación con la primera generación de la vacuna Curevac COVID-19 de mRNA no modificada, la vacuna de ARNm de segunda generación no modificada consiste en secuencias de codificación y no codificación (5' y 3' UTRs) que han sido diseñadas para aumentar la eficiencia de la traducción y la producción de proteínas de antígenos. En un estudio publicado antes de la pandemia, los científicos de Curevac (y Acuitas) presentaron datos que sugieren que el uso de ARNm no modificado podría ser compensado por la intensa ingeniería de la secuencia del ARNm para mejorar la expresión de proteínas (eritropoietina) en ratones y animales grandes ([Thess et al., 2015](#)). Optimizaron los codones en el marco de lectura abierta y así mejoraron la estabilidad y la traducción de la transcripción no modificada. Cabe destacar que tanto las vacunas Pfizer-BioNTech como Moderna mRNA ya están optimizadas por el cónción/secuencia.

Es posible que la segunda generación de la vacuna COVID-19 mRNA de Curevac, CV2CoV, que ya ha mostrado un aumento de los niveles de anticuerpos neutralizantes en ratas ([Roth et al., 2021](#)), mejore el perfil de seguridad y protección. Se espera que los resultados del ensayo clínico lleguen en 2022. Mientras tanto, otra vacuna de ARNm sin modificaciones (ARCoV), desarrollada por Walvax Biotechnology y Suzhou Abogen Biosciences, se encuentra actualmente en desarrollo clínico ([Dolgin, 2021b](#)). Además, Sanofi, una compañía farmacéutica francesa, que recientemente adquirió una plataforma tecnológica de ARNm de mRNA no modificada de Translate Bio, ahora una empresa de Sanofi, anunció recientemente la interrupción de sus ensayos clínicos de fase 1 y 2 de su vacuna Sanofi-Translate Bio sin modificaciones COVID-19 mRNA para centrar sus esfuerzos en su vacuna contra la gripe, que se basa en el ARN modificado ([Sanofi, 2021](#)). Curevac también ha retirado recientemente CVnCoV del proceso de aprobación regulatorio para centrar sus esfuerzos en su desarrollo clínico de la vacuna CV2CoV de segunda generación. Además, la compañía afirmó que acelerará el desarrollo de construcciones modificadas de vacunas contra ARNm, en colaboración con GlaxoSmithKline, una compañía farmacéutica ([Curevac, 2021](#)).

El ARNm no modificado se está utilizando en ensayos clínicos no COVID-19, particularmente para el desarrollo de nuevos tratamientos contra el cáncer. Se ha sugerido que el desafío asociado con la activación de una respuesta inmune contra las células cancerosas podría superarse mejor con el uso de ARNm no modificado (con su actividad adyuvante más fuerte) para la codificación de proteínas generalmente presentes en las células cancerosas, pero no en células sanas, con el fin de convertir un tumor de resfriado en un tumor caliente de manera más efectiva ([Ruffell, 2021](#)). De hecho, BioNTech acaba de anunciar el uso de ARNm sin modificaciones encapsulado en una formulación de parto lipoplex, siguiendo este concepto, para el tratamiento de pacientes con cáncer colorrectal en ensayos de fase dos ([BioNTech, 2021](#)).

Independientemente de ello, está claro que las modificaciones del ARN, como el N1-metil--o posterior, ya han hecho una contribución tremenda y oportuna para generar vacunas COVID-19 mRNA altamente efectivas. La vacuna contra el ARNm de Pfizer-BioNTech pasó de los ensayos de primera en humanos a la autorización de uso de emergencia en sólo 8 meses ([Dolgin, 2021b](#)).

Si bien las mutaciones en COVID-19 están llevando a nuevas variantes que plantean desafíos crecientes y que requieren un mayor estudio de la eficacia de las vacunas actualmente aprobadas, no hay duda de que los desarrollos en biología y química de la modificación de ARN más común durante las últimas dos décadas han resultado ser un cambio de juego en la definición de cómo poner fin a esta pandemia.

Aportaciones de autor

Conceptualización, PM y Y-TY; escritura: preparación de borrador original, PM, y Y-TY; escritura: revisión y edición, PM, HA y Y-TY; adquisición de fondos, PM y Y-TY. Todos los autores han leído y accedieron a la versión publicada del manuscrito.

Financiación

La investigación realizada en el laboratorio Yu fue financiada por los Institutos Nacionales de Salud de EE.UU., el número de subvenciones GM138387 (activa hasta julio de 2024) y CA2411 (activa hasta julio de 2021), y la Fundación de Fibrosis Cística, otorgando CFF YU20G0 (activa hasta abril de 2022). ProQR Therapeutics y la Cystic Fibrosis Foundation (YU20G0) financian la investigación realizada por PM.

Conflicto de intereses

El autor PM es Director Científico (Teafora de la pseudouridación) de ProQR Therapeutics.

El resto de los autores declaran que la investigación se llevó a cabo en ausencia de relaciones comerciales o financieras que pudieran interpretarse como un potencial conflicto de intereses.

Nota de la Editorial

Todas las reclamaciones expresadas en este artículo son únicamente las de los autores y no representan necesariamente las de sus organizaciones afiliadas, o las del editor, los editores y los revisores. Cualquier producto que pueda ser evaluado en este artículo, o la reclamación que pueda hacer su fabricante, no está garantizado o respaldado por el editor.

Reconocimientos

Agradecemos a los miembros del laboratorio Yu por discusiones persianas. La PM quiere agradecer a Marta Mosquera el útil intercambio de ideas durante la conceptualización del manuscrito.

Referencias

Abu-Raddad, L. J., Chemaitelly, H., y Butt, A. A. (2021). Eficacia de la vacuna BNT162b2 Covid-19 contra las Variantes B.1.1.7 y B.1.351. *N. Engl. J. - Med.* 385(2).62o 187o9. doi:10.1056/NEJMc2104974

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Adachi, H., Hengesbach, M., Yu, Y.-T., y Morais, P. (2021). Del ARN antisense a la modificación del ARN: Potencial terapéutico de las tecnologías basadas en el ARN. *Biomedicines* 9, 550. doi:10.3390/biomedicines9090

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Alfagih, yo. M., Aldosari, B., AlQuadeib, B., Almurshedi, A., y Alfagih, M. M. (2020). Nanopículas como Adyants y Nanodelivery Systems para vacunas basadas en mRNA. *Farmacéutica* 13, 45. doi:10.3390/pharmaceutics13010045

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Anderson, B. R., Muramatsu, H., Jha, B. K., Silverman, R. H., Weissman, D., y Kariko, K. (2011). Modificaciones de Nucleoside en ARN Livación Activación de 2'-5'-oligoadenylate Synthetase e Incrementar la resistencia a Cleavage por RNase L. *Ácidos Nucleicos Res.* 39, 9329-9338. doi:10.1093/nar/gkr586

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Anderson, B. R., Muramatsu, H., Nallagatla, S. R., Bevilacqua, P. C., Sansing, L. H., Weissman, D., et al. (2010). Incorporación de Pseudouridina en mRNA mejora la traducción por Dimining PKR Activación. *Ácidos Nucleicos Res.* 38, 5884-5892. doi:10.1093/nar/gkq347

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Andries, O., Mc Cafferty, S., De Smedt, S. C., Weiss, R., Sanders, N. N, y Kitada, T. (2015). N1-metilpseudouridine-incorporated mRNA Outperforms Pseudouridine-Incorporated mRNA mediante la Expresión de la proteína mejorada y la inmunogenicidad reducida en las líneas y los rajos de células mamíferos. *J. Liberación Controlada* 217, 337-344. doi:10.1016/j.jconrel.2015.08.051

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Baden, L. R., El Sahly, H. M., Essink, B., Kotloff, K., Frey, S., Novak, R., et al. (2021). Eficacia y seguridad de la vacuna mRNA-1273 SARS-CoV-2. *N. Engl. J. - Med.* 384, 403-416. doi:10.1056/NEJMoa2035389

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Baker, N., y Dolgin, E. (2021). Coronapod: CureVac decepaza en COVID Vaccine Trial. *Naturaleza*. doi:10.1038/d41586-021-01694-5

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

BioNTech (2021). BioNTech expande la Cartera de Oncología Clínica con el primer paciente Dosificado en Fase 2 Ensayo de inmunoterapia individualizada basada en el ARNm BNT122 en pacientes con cáncer colorrectal. Disponible en: <https://investors.biontech.de/news-releases/news-release-details/biontech-expands-clinical-oncology-portfolio-first-patientdos> (Accessed 1 de octubre de 2021).

[Búsqueda de Google](#)

Boccalletto, P., Machnicka, M. A., Purta, E., Pi-tkowski, P., Bagisski, B., Wirecki, T. K., y otros. (2018). MODOMICS: una base de datos de Caminos de modificación de ARN. Actualización de 2017. *Ácidos Nucleicos Res.* 46, D303-D307. doi:10.1093/nar/gkx1030

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Brand, R. C., Klootwijk, J., Planta, R. J., y Maden, B. E. H. (1978). Biosíntesis de un Nucleotida hipermodificado en *Saccharomyces Carlsbergensis* 17S y HeLa-Cell 18S Ribosomal Ribonucleic Acid. *Biochem. J.* 169, 710-717. doi:10.1042/bj1690071

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Buschmann, M. D., Carrasco, M. J., Alishetty, S., Paige, M., Alameh, M. G., y Weissman, D. (2021). Sistemas de entrega de nanomateriales para vacunas mRNA. *Vaccines* 9, 65. doi:10.3390/vaccines909010065

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Carlile, T. M., Rojas-Duran, M. F., Zinshteyn, B., Shin, H., Bartoli, K. M., y Gilbert, W. V. (2014). Pseudouridine Profiling Reveals Regulated mRNA Pseudouridylation in Yeast and Human Cells. *Nature* 515, 143-146. doi:10.1038/nature13802

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Charette, M., y Gray, M. W. (2000). Pseudouridine en el ARN: qué, dónde, cómo y por qué. *IUBMB Life (Unión Internacional Biochem. Mol. Biol. Vida)* 49, 341-351. doi:10.1080/152165400410182

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Chen, C., Zhao, X., Kierzek, R., y Yu, Y.T. (2010). Un ARN flexible Espina dorso dentro de la Tract de polipirimidina es requerido para U2AF 65 Encuadernación y pre-mRNA Splicing *En Vivo*. *Mol. Cel. Biol.* 30, 4108-4119. doi:10.1128/MCB.00531-10

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Chu, L., McPhee, R., Huang, W., Bennett, H., Pajon, R., Nestorova, B., et al. (2021). Informe preliminar de un ensayo de fase 2 controlado aleatorio de la seguridad e inmunogenicidad de mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vacuna. *Vaccine* 39, 2791-2799. doi:10.1016/j.vaccine.2021.02.007

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Cohen, J. (2021). Lo que se erruró con CureVacs Altamente Anticipada Nueva Vacuna de AMM para COVID-19. *Ciencia*. doi:10.1126/science.abk0458

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Cohn, W. E., y Volkin, E. (1951). Nucleoside-5o-Phosphatos de Ácido cinbonáucico. *Naturaleza* 167, 483o 484. doi:10.1038/167483a0

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Corbett, K. S., Edwards, D. K., Leist, S. R., Abiona, O. M., Boyoglu-Barnum, S., Gillespie, R. A., et al. (2020). Diseño de vacunas SARS-CoVV-2 MRNA Habiado por Prototype Pathogen Preparación. *Naturaleza* 586, 567o571. doi:10.1038/s41586-020-2622-0

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Curevac (2021). CureVac para cambiar el enfoque de COVID-19 Vaccine Development a la tecnología de ARNA de segunda generación. Disponible en: <https://www.curevac.com/en/2021/10/12/curevac-to-shift-focus-of-covid-19-vaccine-development-to-second-generation-mrna-technology/>(Accessed October 12, 2021).

[Búsqueda de Google](#)

Davis, D. R. (1995). Estabilización de ARN apilando por Pseudouridine. *Nucl. Acids Res.* 23, 5020-5026. doi:10.1093/nar/23/23.24.5020

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Davis, F. F., y Allen, F. W. (1957). Ácidos ribónicos de la levadura que contiene un Quinto Nucleotido. *J. Biol. Chem.* 227, 907-915. doi:10.1016/S0021-9258(18)70770-9

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Diebold, S. S., Massacrier, C., Akira, S., Paturel, C., Morel, Y., y Reis e Sousa, C. (2006). Los agonistas de ácido nucleicos para el receptor de peonadas 7 son definidos por la presencia de Uridine Ribonucleotides. *Eur. J. Immunol.* 36, 3256-3267. doi:10.1002/eji.200636617

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Dimitriadis, G. J. (1978). Traducción de Rabbit Globin mRNA Introducido por los liposomes en los linfocitos de ratón. *Naturaleza* 274, 923-924. doi:10.1038/274923a0

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Dolgin, E. (2021a). CureVac COVID Vaccine Let-Down Spotlights mRNA Design Challenges. *Naturaleza* 594, 483. doi:10.1038/d41586-021-01661-0

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Dolgin, E. (2021b). La historia enredada de las vacunas de mRNA. *Naturaleza* 597, 318-324. doi:10.1038/d41586-021-02483-w

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Dowdy, S. F. (2017). Superar las barreras celulares para la Terapéutica del ARN. *Nat. Biotechnol.* 35, 222-229. doi:10.1038/nbt.3802

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Eyler, D. E., Franco, M. K., Batool, Z., Wu, M. Z., Dubuke, M. L., Dobosz-Bartoszek, M., et al. (2019). Pseudouridinilación de la secuencia de secuencias de revestimiento mRNA Traducción de Alteristas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 116, 23068-23074. doi:10.1073/pnas.1821754116

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Fernández, yo. S., Ng, C. L., Kelley, A. C., Wu, G., Yu, Y.T. y Ramakrishnan, V. (2013). Insólito aparcamiento de la base durante la decodificación de una parada de codon por el Ribosome. *Naturaleza* 500, 107o110. doi:10.1038/natura12302

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Heil, F., Hemmi, H., Hochrein, H., Ampenberger, F., Kirschning, C., Akira, S., et al. (2004). Reconocimiento específico de especies de ARN de un solo-atrapado *a través* de Receptor 7 y 8 similares a pecar. *Ciencia* 303, 1526-1529. doi:10.1126/science.1093620

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Hoerr, I., Obst, R., Rammensee, H.G., y Jung, G. (2000). *En Vivo* la aplicación de ARN Lígaros a la inducción de linfocitos T y Anticuerpos T Citos Específicas. *Eur. J. Immunol.* 30, 1o7. doi:10.1002/1521-4141(200001)30:1-1:aid-immu1-3.0.co;2-

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Hoy, S. M. (2018). Patisiran: Primera aprobación global. *Drogas* 78, 1625-1631. doi:10.1007/s40265-018-0983-6

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Ishii, K. J., y Akira, S. (2005). TLR Ignores ARN metilado. *Inmunidad* 23, 111-113. doi:10.1016/j.immuni.2005.08.003

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Jackson, N. A. C., Kester, K. E., Casimiro, D., Gurunathan, S., y DeRosa, F. (2020). La promesa de Vacunaciones de ARNm: a Biotech and Industrial Perspective. *npj Vaccin.* 5, 11. doi:10.1038/s41541-020-0159-8

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Jeffs, L. B., Palmer, L. R., Ambegia, E. G., Giesbrecht, C., Ewanick, S. y MacLachlan, I. (2005). Un método escalable, libre de extrusión para la encapsulación liposómica eficiente del ADN Plasmid. *Pharm. Res.* 22, 362-372. doi:10.1007/s11095-004-1873-z

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Karijolic, J., y Yu, Y.-T. (2011). Convertir tonterías en Sense Codons por Pseudouridación objetivo. *Naturaleza* 474, 395-398. doi:10.1038/nature10165

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Karikó, K., Buckstein, M., Ni, H., y Weissman, D. (2005). Supresión del ARN Reconocimiento por Receptores similares al Pecado: El impacto de la modificación de nucleosido y el origen evolutivo del ARN. *Immuni* 23, 165-175. doi:10.1016/j.immuni.2005.06.008

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Karikó, K., Muramatsu, H., Welsh, F. A., Ludwig, J., Kato, H., Akira, S., et al. (2008). Incorporación de la Pseudouridina en los rendimientos de los ARNles yiels superiores nonimmunógenos con mayor capacidad traslacional y estabilidad biológica. *Mol. Ther.* 16, 1833-1840. doi:10.1038/mt.2008.200

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Karikó, K., Ni, H., Capodici, J., Lamphier, M., y Weissman, D. (2004). mRNA es un ligando endógeno para el receptor similar al pecar 3. *J. Biol. Chem.* 279, 12542-12550. doi:10.1074/jbc.M310175200

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Kierzek, E., Malgowska, M., Lisowiec, J., Turner, D. H., Gdaniec, Z., y Kierzek, R. (2014). La contribución de Pseudouridina a las capacidades y estructura de los ARN. *Ácidos Nucleicos Res.* 42, 3492-3501. doi:10.1093/nar/gkt1330

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Kis, Z., Kontoravdi, C., Shattock, R., y Shah, N. (2020). Recursos, Escalas de Producción y Tiempo requeridos para la Producción de Vaccines de ARN para la Demanda Pandémica Global. *Vaccines* 9, 3. doi:10.3390/vaccines9010003

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Kremsner, P. G., Guerrero, R. A. A., Arana, E., Aroca Martínez, G. J., Bonten, M. J. M., Chandler, R., et al. (2021). Efficacy and Safety of the CVnCoV SARS-CoV-2 mRNA Vaccine Candidato: Results from Herald, a Phase 2b/3, Randomed, Observer-Blinded, Placebo-Contrrollado Clinical Trial en Diez Países de Europa y América Latina. *SSRN J.* doi:10.2139/ssrn.3911826

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Krieg, P. A. y Melton, D. A. (1984). ARNs de mensajería funcional se Producen por SP6in Vitrotranscripción de CNNAs Clones. *Nucl. Acids Res.* 12, 7057-7070. doi:10.1093/nar/12.18.7057

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Kyriakidis, N. C., López-Cortés, A., González, E. V., Grimaldos, A. B., y Prado, E. O. (2021). SARS-CoV-2 Vaccines Strategies: a Comprehensive Review of Phase 3 Candidates. *npj Vaccin.* 6, 28. doi:10.1038/s41541-021-00292-w

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Lovejoy, A. F., Riordan, D. P., y Brown, P. O. (2014). Cartógrafo Transcrime-Wide de Pseudouridiness: Sintreosidad Modificar los ARNnos específicos en *S. cerevisiae*. *PLoS ONE* 9, e110799. doi:10.1371/journal.pone.0110799

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Malone, R. W., Felgner, P. L., y Verma, yo. M. (1989). Cationic Liposome-Mediated RNA Transfección. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86, 6077-6081. doi:10.1073/pnas.86.16.6077

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Martinon, F., Krishnan, S., Lenzen, G., Magné, R., Gomard, E., Guillet, J.-G., et al. (1993). Inducción de la citotóxina linchocsin T específica de virus Vivo por ARNm Tramposo de Liposome. *Eur. J. Immunol.* 23, 1719-1722. doi:10.1002/eji.1830230749

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Mateus, J., Dan, J. M., Zhang, Z., Rydyznski Moderbacher, C., Lammers, M., Goodwin, B., et al. (2021). MRNA de dosis baja-1273 COVID-19 Vaccine genera memoria duradera mejorada por células Tactivas Cross-Reactivas. *Ciencia* 374, eabj9853. doi:10.1126/science.abj9853

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Melton, D. A., Krieg, P. A., Rebagliati, M. R., Maniatis, T., Zinn, K., y Green, M. R. (1984). Vitrosíntesis eficiente de Probesos de ARN y Hibridación del ARN biológicamente activo de Plasmids Contiene un Promotor de Bacteriophage SP6. *Nucl. Acids Res.* 12, 7035-7056. doi:10.1093/nar/12.18.7035

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Meyer, M., Huang, E., Yuzhakov, O., Ramanathan, P., Ciaramella, G., y Bukreyev, A. (2018). Vacunas modificadas de mRNA-Based Elicit Robust Immune Responses y Proteja Guinea Pigs de la enfermedad del virus del ébola. *J. Infectado. Des des.* 217, 451o.455. doi:10.1093/infdis/jix592

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Morais, P., Adachi, H., Chen, J. L., y Yu, Y.-T. (2021). Mecanismos y Aplicaciones Clínicas de Pseudouridiación del ARN en *Epitranscriptomics Technologies*. Editores S. Jurga, y J. Barciszewski (Cham: Springer International Publishing), 505-526. doi:10.1007/978-3-030-71612-7-19-19

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Morais, P., Adachi, H., y Yu, Y.T. (2020). Supresión de las mutaciones sin sentido por las nuevas tecnologías emergentes. *IJMS* 21, 4394. doi:10.3390/ijms21124394

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Mullard, A. (2021). La vacuna COVID-19 de Pfizer asegura la primera aprobación completa de la FDA. *Nat. Rev. Drogas Discov.* 20, 728. doi:10.1038/d41573-021-00156-x

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Nance, K. D. y Meier, J. L. (2021). Modificaciones en una emergencia: el papel de la N1-Methylpseudouridine en COVID-19 Vaccines. *ACS Cent. Sci.* 7, 748-756. doi:10.1021/acscentsci.1c00197

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Naylor, R., Ho, N. W. Y., y Gilham, P. T. (1965). Modificaciones químicas selectivas de Uridina y Pseudouridina en Polinucleótidos y su efecto sobre las características de la cinta y fosfodiesteras. *J. - Sí. Chem. Soc.* 87, 4209-4210. doi:10.1021/ja01096a050

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Nelson, J., Sorensen, E. W., Mintri, S., Rabideau, A. E., Zheng, W., Besin, G., et al. (2020). Impacto de la química mRNA y el proceso de fabricación en la activación inmune innata. *Sci. Adv.* 6, eaaz6893. doi:10.1126/sciadv.aaz6893

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Newby, M. I., y Greenbaum, N. L. (2001). Una modificación de la pseudouridina conservada en Eukaryotic U2 snRNA Induce un cambio en la arquitectura de la sucursal. *ARN* 7, 833-845. doi:10.1017/S1355838201002308

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Newby, M. I., y Greenbaum, N. L. (2002a). Investigación de los efectos de Overhauser entre Pseudouridines y Water Protons en ARN Helices. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99, 12697-12702. doi:10.1073/pnas.202477199

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Newby, M. I., y Greenbaum, N. L. (2002b). Escultura de la rama esmeralomamal Motif de Reconocimiento de Sitio por una Pseudouridina Conservada. *Nat. - Struct. Biol.* 9, 958-965. doi:10.1038/nsb873

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Ostro, M. J., Giacomoni, D., Lavelle, D., Paxton, W., y Dray, S. (1978). Evidencia para la traducción de Conejo Globin mRNA después de la inserción litomediada en una línea de células humanas. *Naturaleza* 274, 921-923. doi:10.1038/274921a0

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Padilla, R. (2002). A Y639F/H784A T7 RNA Polimerasa Doble Mutant Displays Superiores Propiedades para ARNs de síntesis con NTP no canónicos. *Ácidos Nucleicos Res.* 30, 138e.138. doi:10.1093/nar/gnf138

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Pallesen, J., Wang, N., Corbett, K. S., Wrapp, D., Kirchdoerfer, R. N, Turner, H. L., y otros. (2017). Inmunogenicidad y Estructuras de un Rationally Prefusión Diseñada MERS-CoV Spike Antigen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 114, E7348-E7357. doi:10.1073/pnas.1707304114

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Pardi, N., Hogan, M. J., Naradikian, M. S., Parkhouse, K., Cain, D. W., Jones, L., y otros. (2018). Vacunaciones MRNA modificadas en nucleoside Induce Potent T Follicular Helper y Germinal center B Cell Responses. *J. Expe. - Med.* 215, 1571-1588. doi:10.1084/jem.20171450

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Pardi, N., Hogan, M. J., Pelc, R. S., Muramatsu, H., Andersen, H., DeMaso, C. R., et al. (2017). Protección contra el virus del Zika por una vacuna única de bajo dosis de mRNA inactiva. *Naturaleza* 543, 248-251. doi:10.1038/nature21428

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Pardi, N., Muramatsu, H., Weissman, D., y Karikó, K. (2013). *En Vitro* Transcripción de ARN largo Contiene Nucleosidos Modificados, en *Métodos de Modulación de ARN y Metabolismo Celidologa en Biología Molecular*. Editor P. M. Rabinovich (Totowa, NJ:), 29o42. doi:10.1007/978-1-62703-260-5-2

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Parr, C. J. C., Wada, S., Kotake, K., Kameda, S., Matsuura, S., Sakashita, S., et al. (2020). N1-Metilpseudouridintitución Enhances the Performance of Synthetic mRNA Switches in Cells. *Ácidos Nucleicos Res.* 48, e35 doi:10.1093/nar/gkaa070

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Pascolo, S. (2004). Messenger RNA-Based Vaccines. *Experto Opin. Biol. Ther.* 4, 1285o 1294. doi:10.1517/14712598.4.8.1285

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Pascolo, S. (2021). Sintética Messenger RNA-Based Vaccines: de Scorn a Hype. *Virus* 13, 270. doi:10.3390/v13020270

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Pfizer (2021). Pfizer y BioNTech anuncian resultados positivos de Pivotal Juicio por Vacuna COVID-19 en Niños 5 a 11 años. Disponible en: <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer-and-biontech-announce-positive-topline-results> (Accessed 30 de septiembre, 2021)

[Búsqueda de Google](#)

Polack, F. P., Thomas, S. J., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., et al. (2020). Seguridad y eficacia de la Vacuna Covid-19 de BNT162b2 mRNA Covid-19. *N. Engl. J. - Med.* 383, 2603-2615. doi:10.1056/NEJMoa2034577

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Probst, J., Weide, B., Scheel, B., Pichler, B. J., Hoerr, I., Rammensee, H.-G., et al. (2007). Setoma celular espontáneo de ARN mensajero exógeno *En Vivo* Is Nucleic Acid específico, Saturable e Ion Dependence. *Gene Ther.* 14, 1175-111180. doi:10.1038/sj.gt.3302964

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Richner, J. M., Himansu, S., Dowd, K. R., Butero, S. L., Salazar, V., Fox, J. M., et al. (2017). Vacunaciones modificadas de ARNm Proteger contra la infección por el virus del zika. *Celda* 168, 1114-1155 doi:10.1016/j.cell.2017.02.017

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Roth, N., Schon, J., Hoffmann, D., Thran, M., Thess, A., Mueller, S. O., y otros. (2021). CV2CoV, un candidato mejorado de la vacuna SARS-CoVV-2 basado en el ARNm, apoya la expresión de proteínas más altas y la mejora de la inmunogenicidad en las ratas. *Inmunología*. doi:10.1101/2021.05.13.443734

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Ruffell, D. (2021). El futuro en una molécula de ARN: de Vacunaciones de ARN a Terapéutica - una entrevista con Drew Weissman. *FEBS Lett.* 595, 2305o2309. doi:10.1002/1873-3468.14190

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Sanofi (2021). Sanofi: Comunicados de prensa, martes 28 de septiembre de 2021. Disponible en: https://www.sanofi.com/media-room/press-releases/2021/2021-09-28_08-00-00_2304069 (Accessed 30 de septiembre de 2021).

[Búsqueda de Google](#)

Schwartz, S., Bernstein, D. A., Mumbach, M. R., Jovanovic, M., Herbst, R. H., León-Ricardo, B. X., y otros. (2014). La cartografía de ancho de los delitos revela una amplia dosis de pseudourilado de ncRNA y ARNm. *Celda* 159, 148-162. doi:10.1016/j.cell.2014.08.028

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Sheikh, A., McMenamin, J., Taylort, B., y Robertson, C. (2021). SARS-CoV-2 Delta VOC en Escocia: Demografía, Riesgo de Admisión Hospitalaria y Eficacia de la Vacuna. *Lancet* 397(10293), 2461-2462. doi:10.1016/S0140-6736(21)01358-1

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Song, B., Tang, Y., Wei, Z., Liu, G., Su, J., Meng, J., et al. (2020). PIANO: Un servidor web para identificación y anotación funcional de Pseudouridine para la identificación y la anotación funcional. *Frente. Genet.* 11, 88. doi:10.3389/fgene.2020.00088

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Svitkin, Y. V., Cheng, Y. M., Chakraborty, T., Presnyak, V., John, M., y Sonenberg, N. (2017). N1-metil-pseudouridine en mRNA mejora la traducción a través de mecanismos independientes eIF2 dependientes e Incremento de Ribosome Densidad. *Ácidos Nucleicos Res.* 45, 6023-6036. doi:10.1093/nar/gkx135

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Tess, A., Grund, S., Mui, B. L. Hope, M. J., Baumhof, P., Fotin-Mleczek, M., et al. (2015). MRNA de la que sequencia sin nucleoside químico Modificación Actoable una terapia de proteínas eficaz en animales grandes. *Mol. Ther.* 23, 1456-1464. doi:10.1038/mt.2015.103

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Thorp, H. H. (2020). Haznos un favor. *Ciencia* 367, 1169. doi:10.1126/science.abb6502

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Tomita, K. (1999). La Presencia de la Pseudouridina en Anticodon Alters the Genetic Code: a Possible Mechanism for Assignment of the AAA Lysine Codon as Asparagine in Echinoderm Mitochondria. *Ácidos Nucleicos Res.* 27, 1683-1689. doi:10.1093/nar/27.7.1683

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Wadhwa, A., Aljabbari, A., Lokras, A., Foged, C., y Thakur, A. (2020). Oportunidades y Desafíos en la Entrega de Vacunas con ARNR. *Farmacéutica* 12, 102. doi:10.3390/pharmaceutics12020102

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Warren, L., Manos, P. D., Ahfeldt, T., Loh, Y.-H., Li, H., Lau, F., et al. (2010). Reprogramación altamente eficiente de Pluripotencia y Diferenciación dirigida de células humanas con ARNm modificado sintético. *Célula de mancha de celda* 7, 618o630. doi:10.1016/j.stem.2010.08.012

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Weissman, D., Ni, H., Scales, D., Dude, A., Capodici, J., McGibney, K., et al. (2000). HIV Gag mRNA Transfección de células drománticas (DC) entrega antígeno codificado a MHC Class I y II Mopilles, Causa DC Maturation e introduce un potente humano en la respuesta inmune primaria de la vacuna. *J. Immunol.* 165, 4710-4717. doi:10.4049/jimmunol.165.8.4710

[CrossRef Full Text](#) - [Google Scholar](#)

Westhof, E. (2019). Pseudouridinas o cómo dibujar en diferencias de energía débiles. *Biochem. Res Biofísica. - Commun.* 520, 702-704, doi:10.1016/j.bbrc.2019.10.009

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Wolff, J. A., Malone, R. W., Williams, P., Chong, W., Acsadi, G., Jani, A., et al. (1990). Transferencia directa de genes al músculo del ratón *en Vivo*. *Ciencia* 247, 1465-1468. doi:10.1126/ciencia.1690918

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K. S., Goldsmith, J. A., Hsieh, C.-L., Abiona, O., et al. (2020). Cryo-EM Estructura de la espiga 2019-nCoV en la conformidad de la prefusión. *Ciencia* 367, 1260-1263. doi:10.1126/science.abb2507

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Wurm, J. P., Meyer, B., Bahr, U., Held, M., Frolow, O., Kotter, P., et al. (2010). El Ribosome Assembly Factor Nep1 Responsable del Síndrome de Bowen-Conradi es una Pseudouridine-N1-especido de la metiltransferasa. *Ácidos Nucleicos Res.* 38, 2387-2398. doi:10.1093/nar/gkp1189

[PubMed Abstract](#) . [CrossRef Full Text](#) . [Google Scholar](#)

Palabras clave: COVID-19, SARS-CoV-2, mRNA, vacunas, modificación de ARN, pseudouridina, N1-metil-pseudouridina, nanopartículas lipídicas

Citación: Morais P, Adachi H y Yu Y-T (2021) La Contribución Crítico de Pseudouridine a mRNA COVID-19 Vaccines. *Frente. Celda Dev. Biol.* 9:789427. doi: 10.3389/fcell.2021.789427

Recibido: 04 Octubre 2021; Aceptado: 22 de octubre de 2021;
Publicado: 04 Noviembre 2021.

Editado por:

[Chengqi Yi](#), Universidad de Pekín, China

Revisado por:

[Jean-Paul Desaulniers](#), Ontario Tech University, Canadá

[Jia Sheng](#), Universidad de Albany, Estados Unidos

Derechos de autor 2021 Morais, Adachi y Yu. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la [Licencia de Atribución Creative Commons \(CC BY\)](#). El uso, distribución o reproducción en otros foros está permitido, siempre que se acrediten al autor original (s) y al propietario de los derechos de autor (s) y que se cite la publicación original en esta revista, de acuerdo con la práctica académica aceptada. No se permite el uso, la distribución o la reproducción que no cumplan estos términos.

*Correspondencia: Pedro Morais, [PMorais.proqr.com](#) ; Yi-Tao Yu, [YiTao-Yu-URMC.Rochester.edu](#)

Descargo de responsabilidad: Todas las afirmaciones expresadas en este artículo son únicamente las de los autores y no representan necesariamente las de sus organizaciones afiliadas, o las del editor, los editores y los revisores. Cualquier producto que pueda ser evaluado en este artículo o reclamación que pueda hacer su fabricante no está garantizado o respaldado por el editor.

