

Identificación de once candidatos vacunales potenciales contra la malaria por medio de la Bioinformática

Raúl Isea*

Instituto de Estudios Avanzados IDEA. Valle de Sartenejas, Hoyo de la Puerta, Baruta 1080. Venezuela.

email: risea@idea.gob.ve

En este trabajo se propusieron once candidatos vacunales potenciales contra el *Plasmodium falciparum*, causante de la muerte de entre 2 y 3 millones de personas cada año. Los candidatos vacunales se seleccionaron mediante una búsqueda de fragmentos del genoma de *P. falciparum* que presentaban una clara evidencia antigénica y que, a su vez, están expresadas en cuatro estadios del ciclo de vida del parásito: esporozoito, merozoito, trofozoito y gametocito. Los candidatos finales, elegidos *in silico* con ayuda de las herramientas de la Bioinformática, son aquellos fragmentos ya secuenciados y contenidos en la base de datos PlasmoDB. Los identificadores de los candidatos son: PFC0975c, PFE0660c, PF08_0071, PF10_0084, PFI0180w, MAL13P1.56, PF14_0192, PF13_0141, PF14_0425, PF13_0322 y PF14_0598.

Palabras clave: Mapeo de epitopos, *Plasmodium falciparum*, malaria, bioinformática.

Introducción

La malaria o paludismo es una enfermedad tropical, causada por un parásito del género *Plasmodium*, a través de la picadura de un mosquito infectado (*Anopheles gambiae*), que causa entre 2 y 3 millones de muertes anualmente y la mitad son niños menores de cinco años.

Hasta ahora se conocen cuatro cepas diferentes que afectan a la especie humana: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae*. De todas ellas, *P. falciparum* es la más virulenta, de 500 a 800 millones de casos anuales en el mundo. Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), durante el año 2007 la malaria afectó a 21 países, con una población total de unos 880 millones de personas. De ellas, 236 millones habitan en zonas endémicas, mientras que otros 276 millones viven en áreas de riesgo de transmisión (1).

En el caso de la República Bolivariana de Venezuela, el riesgo de contagio afecta el 29% de la población, según datos suministrados por la OPS (1). Además, hay que tener en cuenta que de los 916 000 km² que constituye la superficie total de Venezuela, 430.000 km² son terreno selvático, ideal para la propagación de mosquitos contaminados.

En 1998, la Organización Mundial de la Salud, bajo el lema *Hacer retroceder la malaria para el 2015* (2), auspició una campaña a escala mundial para avanzar en su erradicación. La misma fue financiada con un fondo de 3 000 millones de dólares que fueron insuficientes, si lo comparamos con los gastos médicos y pérdidas económicas que dicha enfermedad causa sólo en África (unos 30 000 millones de dólares). En este sentido, la Organización de las Naciones Unidas ha manifestado que se requerirían otros 3 000 millones de dólares para el 2010 para cumplir los objetivos del plan de erradicación propuesto hace una década (3).

Las esperanzas de combatir dicho flagelo están puestas en la vacuna, conocida con el nombre RTS,S/AS02, elegida entre un total de 17 que son ensayadas. Esta ha demostrado ser segura y, a su vez, produjo una disminución del número de episodios clínicos en un 30%, según datos del ensayo realizado en Mozambique en 2 022 voluntarios, en edades comprendidas entre 1 a 4 años, con un período de protección que asciende a 45 meses (4).

La producción a escala masiva se encuentra en su última fase, gracias al esfuerzo mancomunado del Institut de Recherche en Science de la Santé, Kumasi Centre for Collaborative Research & School of Medical Sciences Kumasi, Kintampo Health Research Centre, Kenya Medical Research Institute, KEMRI Wellcome Collaborative Research Programme, University of North Carolina Project, Centro de Investigaçao em Saude de Manhiça, Ifakara Health Research Development Centre, National Institute for Medical Research, Albert Schweitzer Hospital - MRU, y GlaxoSmithKline, quienes recibieron también apoyo económico de la Fundación Bill Gates a través de Path Malaria Vaccine Initiative.

Esta vacuna posee dos componentes denominados RTS y S, que se obtuvieron por recombinación del gen que codifica para la proteína circunsporozoítica del *P. falciparum*, derivada de una sección de la región C-terminal, a través de la cual se une al extremo amínico del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (4).

El coadyuvante que se empleó fue denominado AS02 y consiste en una mezcla de aceite con agua, donde está el monofosforil lípido A (conocido por sus siglas en inglés, MPL) más un derivado no tóxico de la saponina purificada por HPLC, obtenida de la corteza del árbol *Quillaja Saponaria* Molina, denominado QS21. Dicho coadyuvante ayuda a desencadenar la respuesta celular de los linfocitos T (4). Sin embargo, mientras no se logre obtener una vacuna, hay que continuar desarrollando otras

* Doctor en Ciencias Químicas. Investigador del Instituto de Estudios Avanzados-IDEA.

alternativas más eficientes que permitan, entre otras cosas, aumentar el período de protección por más de 45 meses.

Las drogas antimaláricas son medicamentos básicamente derivados de la quinolona (*i.e.*, cloroquina, quinina, y mefloquina aunque además está decir que existen otras más como por ejemplo, las derivadas de la artemisinina), las cuales parecen actuar en la ruta de degradación de la hemoglobina al unirse con la ferriprotoporfirina IX (5); los compuestos derivados de cloroquina que parecen actuar destoxificando el grupo hemo; los antifolatos, como son las sulfamidas que inhiben la acción de la dihidropteroato sintasa (del inglés, *Dihydropteroate synthetase*), y por último, la pirimetamina que bloquea una enzima responsable de la regeneración del cofactor en estado reducido. Estos tratamientos no han sido eficaces, porque las proteínas blanco donde actúan estas drogas han generado resistencia, así como hipersensibilidad a dichos medicamentos durante su tratamiento profiláctico (6).

En paralelo, gracias a los avances que aporta la biología molecular a través de la genómica, así como los datos experimentales generados por la proteómica, se han logrado identificar aquellas proteínas que se expresan en cuatro estadios del parásito, es decir, el esporozoito, merozoito, trofozoito y gametocito (7). Por ello, el objetivo de este trabajo fue la selección de candidatos vacunales potenciales a partir de una búsqueda completa en todo el genoma *P. falciparum* (8). Bajo el criterio de que deben ser antigénicos y expresados en los cuatro estadios del ciclo de vida del parásito. Esta última condición impuesta fue con el objetivo de obtener una mayor efectividad, a pesar de que no existe todavía ninguna evidencia experimental de su necesidad.

Metodología

En primer lugar, se identificaron aquellas secuencias antigénicas que están presentes en el genoma del *P. falciparum* (8, 9). Con vistas a que dicho genoma posee muchas secuencias anotadas como hipotéticas se detectó el carácter antigénico empleando los algoritmos publicados por Kolaskar y Tongaonkar (10), así como los predichos por accesibilidad (11). Junto a esto se realizó también una búsqueda bibliográfica de todos aquellos trabajos que están disponibles en PubMed (12), donde se manifiesta un carácter antigénico a partir de la evidencia experimental. Dichas consultas se realizaron empleando las duplas: 'drug AND plasmodium', 'plasmodium AND antigenicity', entre otras combinaciones. Por otra parte, se emplearon los resultados obtenidos del proteoma del *P. falciparum* (7), ya que nos permitió identificar los cambios en la expresión de las proteínas durante las distintas fases en el ciclo del vida del parásito, es decir, aquellas que se expresan en sus estadios: esporozoito, merozoito, trofozoito y gametocito.

Por último, se realizó la intersección de aquellas proteínas presentes en los cuatro estadios --indicados anteriormente--

con aquellos que presentaron evidencia antigénica experimental. Dicha selección se validó a partir de la búsqueda de un consenso de similitud con otras secuencias, empleando para ello el programa mpiBlast, según la metodología descrita en el trabajo que se publicó el año pasado (13). Más aún, se verificó dicha similitud con ayuda de las bases de datos OrthoMCL (14), que permitió identificar secuencias ortólogas, entre la gama posible de resultados obtenidos por el programa mpiBlast (13). Dichos candidatos vacunales debieron estar ubicados en la región externa de la membrana celular, y para ello se empleó el programa TMHMM2 que permitió predecirlos (15).

Resultados y Discusión

El genoma de la cepa *Plasmodium falciparum* 3D7 (taxonomía ID 36329) fue secuenciado en el 2002 (8). El mismo es de 23,26 Mb y está compuesto por 14 cromosomas lineales, unidos en cada extremo a secuencias teloméricas, cuyos cromosomas oscilan entre 0,75 Mb (157 genes en el cromosoma 1) y 3,5 Mb (771 genes en el cromosoma 14). Esta información está disponible a través de la base de datos PlasmoDB (16), de acceso gratuito a través de la página web: <http://plasmodb.org>. En dicha base de datos existen 5 373 genes, 10 999 proteínas, 78 pseudogenes y 73 genes ARN. En paralelo, el resultado obtenido de la búsqueda bibliográfica de todos aquellos trabajos en los que se manifestara un carácter antigénico generó una lista de 22 543 entradas, que una vez depurada condujo a una lista de 515 potenciales proteínas candidatas.

Actualmente se está diseñando una base de datos con toda esta información a la que se puede acceder desde Internet. Sin embargo, la principal limitación de este método es que la mitad de las proteínas en dicho genoma son hipotéticas, y por tanto no se pudieron tener en cuenta en el presente estudio. Para evitar este sesgo en la información es necesario determinar las propiedades antigénicas de todas las regiones de unión al complejo mayor de histocompatibilidad de las proteínas que están presentes en el genoma de *P. falciparum*. Sin embargo, el alto número de falsos positivos generados por los programas de predicción es muy elevado y curiosamente no coincide con los datos obtenidos por los métodos experimentales.

A modo de ejemplo, se muestra en la Tabla 1 la predicción de epítomos de todas aquellas secuencias que están presentes en el cromosoma 1 del genoma de *P. falciparum*, formado por 643 292 nucleótidos de los cuales 143 son proteínas, según la metodología descrita por Kolaskar y Tongaonkar (10), así como los predichos por accesibilidad (11). La intersección de esta información con la que se obtuvo de la literatura científica, en donde se han empleado secuencias antigénicas, nos permitió agrupar todos los epítomos correspondientes a cada cromosoma. En la Tabla 1 se muestran aquellos epítomos generados de acuerdo con los métodos de predicción (10, 11), así como los publicados en revistas científicas.

Tabla 1. Epítomos predichos por el método de accesibilidad (11), por Kolaskar y Tongaonkar (10).

Predichos por accesibilidad	Predichos por Kolaskar y Tongaonkar	Citados en la literatura científica
KNVKEKNP	FHAYSWIFSQ	DDEHVEEPTVA
FDDEEKRNEN	FLKVLCSKRGVLP IIGILYIILN	DDEHVEEPTVADDEHVEEPTVA
VNRYRYSNN	SSGVQFTDR	DVVGYYIMHGISTINKEMK
INKRKYDSL	GETLPVNPY	EENVEENV
EKLQKTYSQYKV	NPIVWSQVFGFLPFEK	EENVEENVEENV
DMPKEAYESK	TFTLESP	EENVEENVEENVEENV
KNWYRQK	AIPHISEFNPLIVDKVLF	EENVEENVEENVEENVEENV
EMKKRAQKPKKKKSR	KQTYSQYKQYD	EENVEHDA
VEPQQEEP	WTQCIKLI	EENVEHDAEENVEENV
LEKQKY	QKYLNL	EENVEHDAEENVEHDA
ESVKENEEEH	RLTVLNQI	EENVEHDAEENVEHDAEENVEENV
NYYPYQRS	SNQIQYSCR	MQLTWDEIMDINKRK
IDKKRWYNKYG	GWLCCGG	SLRWIFKHVAKTHLK
QYQKER	EETVQTVQEQ	TVAAEHVEEPTVAEE
HLKSSKSAKLLQRTQANKQE	DILPSLRAS	EENV
KTLKKRAQS	INYYDT	
KRNDKAKKYDT	KDGVYLDH	
KEMKNQENNV	DEDLFDL	
NVEEYDEEN	EETASDVQQT	

En la Tabla 2 se agruparon los resultados de los epítomos detectados por métodos experimentales en clusters, es decir, los epítomos se clasificaron de acuerdo con su composición aminoacídica y según sus propiedades fisicoquímicas. Sorprende el pequeño número de clusters que están presentes en los cromosomas, pero hay que tener presente que en el proceso de análisis se descartaron aquellos epítomos que se repetían, como ocurrió en las secuencias identificadas como PFA0110w, PFA0140c, PFA0225w, PFA0280w, PFA0350c, PFA0625w, PFA0665w. La secuencia proteica NKND está presente en PFA0665w, PFA0625w, PFA0350c y PFA0280w. El resto de los epítomos son: TDVNRYSNN, YEAIPHIS, EENVEHDA, EENVEENV, entre otros.

Tabla 2. Epítomos detectados por métodos experimentales presentes en el cromosoma 1 agrupados en clusters.

Cl	Epítomos
1	EENVEENV, EENVEHDA, EENVEENVEENVEENVEENVEENVEENVEENV
2	IKND, NKND
3	TDVNRYSNNYEAIPHIS

Cl: representa el clúster que agrupan los epítomos obtenidos en las proteínas antigénicas.

Al reexaminar los resultados que se muestran en la Tabla 2 se deduce que los anticuerpos dirigidos contra este antígeno que corresponde a la secuencia de aminoácidos repetitiva EENV (expresada a nivel de la superficie globular), es un factor importante en la producción de anticuerpos durante la infección de la malaria. Sin embargo, dicho patrón no pudo predecirse con los programas de Bioinformática y se requieren mayores esfuerzos en biología computacional para poder reproducir este resultado y aplicarlo posteriormente a otras cepas.

En la Tabla 3 se han recogido todas aquellas proteínas presentes en el genoma de *P. falciparum* que se expresan

en cada uno de los cuatro estadios del parásito: esporozoito, merozoito, trofozoito y gametocito (7). En dicha Tabla solo se indica el identificador (ID) designado en la base de datos PlasmoDB (16). El siguiente paso consistió en comparar los resultados obtenidos de las proteínas presentes en las Tablas 2 y 3, de lo que se pueden deducir aquellas que puedan ser consideradas como candidatos vacunales, las cuales muestran su carácter antigénico y a su vez están condicionadas a su expresión en los cuatro estadios del ciclo de vida del parásito. Más aún, en dichos candidatos se examinó su similitud con otras secuencias derivadas de los resultados obtenidos de mpiBlast (13) y OrthoMCL (14) que deben estar ubicados en la región externa de la membrana, de acuerdo con los resultados derivados del programa TMHMM2 (15).

Tras aplicar el procedimiento descrito, se obtienen 11 candidatos vacunales potenciales que son antigénicos, se expresan en cuatro de los estadios del ciclo de vida del parásito; están ubicados en la parte externa de la membrana y a su vez son similares con otras secuencias proteicas. Por todo ello, los candidatos obtenidos son aquellos cuyos identificadores en la base de datos PlasmoDB corresponden a: PFC0975c, PFE0660c, PF08_0071, PF10_0084, PFI0180w, MAL13P1.56, PF14_0192, PF13_0141, PF14_0425, PF13_0322, y PF14_0598 (16). (Tabla 4). Se debe destacar la importancia de un trabajo interdisciplinario que permita encontrar soluciones contra esta enfermedad que afecta gravemente a la salud pública. Este es el ejemplo que nos ofrecen los diversos centros que participan en la fase II de la vacuna experimental RTS, S/AS02. En este sentido, nos alegraría el fomento de iniciativas internacionales como, por ejemplo, el caso de WISDOM (abreviatura de las siglas en inglés que significa: "Wide In-Silico Docking Of Malaria") para la búsqueda de nuevas soluciones contra la malaria (9).

Conclusiones

El presente trabajo ha puesto de manifiesto la necesidad de emplear datos obtenidos de los trabajos experimentales a la

Tabla 3. ID representa el número de acceso de las proteínas de acuerdo con la nomenclatura asignada en el PlasmoDB (16).

ID	ID	ID	ID	ID	ID
MAL13P1.270	MAL13P1.283	MAL13P1.308	PF08_0019	MAL13P1.308	PF10_0079
MAL13P1.323	MAL13P1.333	PFA0400c	PF08_0063	PFA0400c	PF10_0153
MAL6P1.160	MAL6P1.189	MAL6P1.232	PF11_0098	MAL6P1.232	PF11_0331
MAL6P1.244	MAL6P1.248	MAL6P1.249	PF11_0158	MAL6P1.249	PF13_0014
MAL6P1.254	MAL6P1.48	MAL6P1.91	PF11_0208	MAL6P1.91	PF13_0070
MAL7P1.147	MAL7P1.81	MAL8P1.103	PF11_0272	MAL8P1.103	PF13_0233
MAL8P1.113	MAL8P1.125	MAL8P1.17	PF11_0352	MAL8P1.17	PF13_0305
MAL8P1.69	MAL8P1.72	MAL8P1.83	PF13_0065	MAL8P1.83	PF13_0328
PF13_0316	PF14_0655	PF14_0261	PF13_0262	PF10_0063	PF11_0096
PF14_0083	PF14_0192	PF14_0344	PF14_0407	PF10_0081	PF11_0111
PF14_0315	PfM18AAP	PFB0260w	PF11_0183	PFB0260w	PF08_0034
PF14_0368	PF14_0324	PF07_0033	PF11_0270	PF07_0033	PF10_0155
PF14_0443	PF14_0391	PF07_0088	PF11_0351	PF07_0112	PF10_0268
PF14_0510	PF14_0448	PF14_0486	PF13_0033	PF08_0054	PF11_0043
PF14_0627	PF14_0517	PF14_0615	PF13_0079	PF08_0075	PF11_0062
PFC0275w	PFC0285c	PFC0400w	PF08_0113	PFC0400w	PF10_0213
PFC0350c	PFC0735w	PFC0920w	PF10_0068	PFC0920w	PF10_0320
PFC0900w	PFD0665c	PFD0095c	PF10_0115	PFD0095c	PF11_0061
PFD1060w	PFD0305c	PFE0585c	PF10_0210	PFE0585c	PF11_0069
PFE0165w	PFE0225w	PFE0255w	PF11_0065	PFE0255w	PF11_0250
PFE0810c	PFE0865c	PFE0870w	PF10_0272	PFE0870w	PF11_0098
PFE1120w	PFE1195w	PFE1370w	PF11_0055	PFE1370w	PF11_0175
PFI0645w	PFI0875w	PFI0930c	PF13_0179	PFI0930c	PF14_0174
PF11105w	PF11475w	PF11525w	PF13_0304	PF11525w	PF14_0246
PFL0590c	PFL0670c	PFL1070c	PFI1570c	PFL1070c	PF08_0034
PFL1390w	PFL1425w	PFL1550w	PFB0445c	PFL1550w	PF08_0074
PFL1725w	PFL2215w	PFL0310c	PF07_0054	PFL0310c	PF10_0041
PFC0975c	PFE0660c	PF08_0071	PF10_0084	PFI0180w	MAL13P1.56
PF14_0192	PF13_0141	PF14_0425	PF13_0322	PF14_0598	

Tabla 4. ID representa el número de acceso de las proteínas de acuerdo con la nomenclatura asignada en el PlasmoDB (16).

ID	Localización	Cromosoma	Grupo Ortológico	Alias
PFC0975c	925315 .. 925830	3	OG1.2_93	CPR3, PfCyP19, MAL3P7.25
PFE0660c	569180 .. 569917	5	OG1.2_4961	MAL5P1.133
PF08_0071	709349 .. 709945	8	OG1.2_236	FeSOD, PfSOD1
PF10_0084	360625 .. 362480	10	OG1.2_138	
PFI0180w	175540 .. 177440	13	OG1.2_153	
MAL13P1.56	501992 .. 505249	13	OG1.2_5282	
PF14_0192	822418 .. 824197	14	OG1.2_190	
PF13_0141	1040792 .. 1042657	13	OG1.2_359	PfLDH
PF14_0425	1843984 .. 1845894	14	OG1.2_436	
PF13_0322	2431676 .. 2435257	13	OG1.2_1397	fIN
PF14_0598	2558487 .. 2560920	14	OG1.2_104	GAPDH

ID de cada uno de los candidatos vacunales son: PFC0975c = peptidil prolil cis-trans isomerasa (del inglés, *peptidyl-prolyl cis-trans isomerase*); PFE0660c = Purina-nucleosido Fosforilasa (del inglés, *purine nucleotide phosphorylase*); PF10_0084 = cadena beta tubulina (del inglés, *tubulin beta chain*); PFI0180w = alfa tubulina (del inglés, *alpha tubulin*); MAL13P1.56 = familia m1 de las aminopeptidasa (del inglés, *m1-family aminopeptidase*); PF14_0192 = glutatión reductasa (del inglés, *glutathione reductase*); PF13_0141 = L-deshidrogenasa láctica (del inglés, *L-lactate dehydrogenase*); PF14_0425 = fructosa-bisfosfato aldolasa (del inglés, *fructose-bisphosphate aldolase*); PF13_0322 = falcilisina (del inglés, *falcilysin*); PF14_0598 = Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (del inglés, *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*).

hora de seleccionar candidatos vacunales potenciales contra el *P. falciparum*. De ellos, se ha extraído una lista 515 proteínas posibles. Cuando se añade la condición de que dichos candidatos deben expresarse en los cuatros estadios del parásito, y a su vez debe presentar similitud funcional con otras secuencias ortólogas obtenidas con la ayuda de la base de datos OrthoMCL, el número se reduce drásticamente a las once seleccionadas. Sólo resta confirmar la aplicabilidad de este análisis a través de la implementación de métodos

experimentales como, por ejemplo, amplificar las secuencias a través del uso de PCR, para que posteriormente sean clonadas, expresadas y purificadas como proteína recombinante, para su posterior ensayo experimental, el cual requiere de una batería de métodos ómicos que permitan comprender el papel de cada uno de los candidatos vacunales encontrados. Finalmente, se debería considerar en próximos estudios todas aquellas proteínas que puedan interferir en la ruta metabólica del parásito, pero que a su vez no esté presente

en el huésped. Este último requisito intenta garantizar la no toxicidad en el anfitrión, aunque dicha afirmación aún no este fundamentada con evidencia experimental.

Agradecimientos

Quiero agradecer a mi mentor y maestro Ángel Vegas por sus observaciones y comentarios hechos al trabajo. Nuestro reconocimiento al Instituto de Estudios Avanzados IDEA y a la VII Comisión Mixta Cuba-Venezuela por el financiamiento del proyecto para la implementación de una plataforma computacional en Bioinformática. En paralelo, destacar el apoyo computacional a través del proyecto de la Unión Europea EELA-2 («*E-science grid facility for Europe and Latin America*»), bajo el contrato No. 223797 del séptimo Programa Marco de Investigación en infraestructuras computacionales de la Comisión Europea. A las distintas iniciativas internacionales entre las que puedo destacar la Red Latinoamericana de Información Científico Técnico en Vacunas, la Red Suramericana e Iberoamericana de Bioinformática, la Red Iberoamericana de Tecnologías Convergentes NBIC en Salud, el Instituto Intercientífico de Paleopatología y Derechos Genoculturales. Asimismo, a la Cámara Venezolana de Fabricantes de Cerveza (CAVEFACE) por su apoyo inicial con el financiamiento de este tipo de proyectos *in silico* a través del Fondo ProSalud. Finalmente, dedico este trabajo a la labor científica del Dr. Johan Hoebeke por sus aportes en el área fisicoquímica aplicada en proteínas.

Referencias

1. Organización Panamericana de la Salud. Population Living in Malaria-Endemic Areas in the Americas 1994–2007. Disponible en: <http://www.paho.org/English/AD/DPC/CD/mal-americas-2007.pdf> . [Consultado: 19 Junio de 2008].
2. Nabarro DN, Tayler EM. The roll back malaria campaign. *Science* 1998;280:2067-8.
3. UNICEF. El Paludismo. Disponible en: http://www.unicef.org/spanish/health/index_malaria.html [Consultado: 29 de septiembre de 2009].
4. Sacarlal J, Aide P, Aponte JJ, Renom M, Leach A, Mandomando I, et al. Long-Term Safety and Efficacy of the RTS,S/AS02A. *Malaria Vaccine in Mozambican Children*. *J Infect Dis* 2009; 200:329-36.
5. Loria P, Miller S, Foley M, Tilley L. Inhibition of the peroxidative degradation of haem as the basis of action of chloroquine and other quinoline antimalarials. *Biochem J* 1999; 339: 363-70.
6. Astro-Sancho J, Munguia-Ramírez M, Avila-Agüero M. Malaria: una actualización. *Acta Méd Costarric* 2002; 44:107-12.
7. Prieto JH, Koncarevic S, Park SK, Yates JR, Becker K. Large-Scale Differential Proteome Analysis in *Plasmodium falciparum* under Drug Treatment. *PLoS ONE* 2008; 3(12):e4098. doi:10.1371/journal.pone.0004098.
8. Gardner MJ, Hall N, Fung E, White O, Berriman M, Hyman RW, et al. Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Nature* 2002; 419: 498-511.
9. Kasam V, Salzemann J, Botha M, Dacosta A, Degliesposti G, Isea R, et al. WISDOM-II: Screening against multiple targets implicated in malaria using computational grid infrastructures. *Malaria J* 2009;8:88. doi:10.1186/1475-2875-8-88.
10. Kolaskar AS, Tongaonkar P. A semi-empirical method for prediction of antigenic determinants on protein antigens. *FEBS Lett* 1990; 276:172-4.
11. Emini EA, Hughes JV, Perlow DS, Boger J. Induction of hepatitis A virus-neutralizing antibody by a virus-specific synthetic peptide. *J Virol* 1985; 55:836-9.
12. Wheeler DL, Barrett T, Benson DA, Bryant SH, Canese K, Chetvernin V, et al. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Res* 2006; 34:D173-D180.
13. Aparicio G, Blanco F, Blanquer I, Bonavides C, Chaves JL, Embid M, et al. Developing Biomedical Applications in the framework of EELA. In: Udoh E, Wang FZ, eds. *Handbook of Research on Grid Technologies and Utility Computing: Concepts for Managing Large-Scale Applications*. Hersey: Editorial IGI Global; 2009. p. 206-18.
14. Chiu JC, Lee EK, Egan MG, Sarkar IN, Coruzzi GM, DeSalle R. Ortholog ID automation of genome-scale ortholog identification within a parsimony framework. *Bioinformatics* 2006; 22:699-707.
15. Moller S, Croning MDR, Apweiler R. Evaluation of methods for the prediction of membrane spanning regions. *Bioinformatics* 2001;17:646-53.
16. Aurrecochea C, Brestelli J, Brunk BP, Dommer J, Fischer S, Gajria B, et al. PlasmoDB: a functional genomic database for malaria parasites. *Nucleic Acids Res* 2009;37:D539-43.

Identification of 11 potential malaria vaccine candidates using Bioinformatics

Abstract

In this paper, we suggested eleven protein targets to be used as possible vaccines against *Plasmodium falciparum* causative agent of almost two to three million deaths per year. A comprehensive analysis of protein target have been selected from the small experimental fragment of antigen in the *P. falciparum* genome, all of them common to the four stages of the parasite life cycle (i.e., sporozoites, merozoites, trophozoites and gametocytes). The potential vaccine candidates should be analyzed in silico technique using various bioinformatics tools. Finally, the possible protein target according to PlasmoDB gene ID are PFC0975c, PFE0660c, PF08_0071, PF10_0084, PFI0180w, MAL13P1.56, PF14_0192, PF13_0141, PF14_0425, PF13_0322, y PF14_0598.

Keywords: Epitope Mapping, *Plasmodium falciparum*, Malaria, Bioinformatics.

Recibido: Marzo de 2010

Aceptado: Junio de 2010