



IDENTIFICACIÓN DE EPITOPOS CONSERVADOS Y VARIABLES EN LA PROTEÍNA HSPX (RV2031C) DE DOS CEPAS DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

IDENTIFICATION OF CONSERVED AND VARIABLE EPITOPES IN THE HSPX PROTEIN (RV2031C) OF TWO STRAINS OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Víctor Paúl Velásquez Huilcapi¹, Josué Andrés Orozco Pilco²

{victor.velasquez@unach.edu.ec¹, josue.orozco@unach.edu.ec²}

Fecha de recepción: 22/10/2025 / Fecha de aceptación: 27/11/2025 / Fecha de publicación: 28/11/2025

RESUMEN: La tuberculosis continúa representando un desafío mundial en el ámbito de la salud con 1,25 millones de muertes en el año 2023, siendo la principal causa de mortalidad por un agente infeccioso incluso por encima del COVID-19. Las limitaciones en el diagnóstico temprano, resistencia a antibióticos y variabilidad genética entre cepas de *Mycobacterium tuberculosis* destacan la necesidad de identificar antígenos altamente conservados para desarrollar nuevos métodos de diagnóstico. Debido a esto, la proteína HspX (Rv2031c) aparece como un antígeno prometedor debido a su rol en la latencia y persistencia de la bacteria bajo condiciones de estrés. HspX presenta una alta inmunogenicidad al inducir respuestas fuertes de células T CD4+ y CD8+. Este estudio comparó epítomos de HspX entre la cepa H37Rv (ATCC 25618) y la CDC1551/Oshkosh, destacando su conservación y potencial para aplicaciones universales en el control de la tuberculosis latente. El objetivo principal fue detectar y contrastar epítomos conservados y variables mediante análisis *in silico*. El tipo de estudio fue cuantitativo; la metodología incluyó la obtención de secuencias FASTA de UniProt, el alineamiento con Jalview/Clustal Omega, la predicción de epítomos B con BepiPred-3.0, los epítomos T con NetMHCpan/NetMHCIIpan para alelos HLA representativos, y el mapeo estructural en PyMOL. Los resultados mostraron una identidad secuencial del 100% entre las cepas analizadas, identificando epítomos B conservados en las posiciones 5-15 aa, 80-90 aa y 130-140 aa; además se encontraron ligandos fuertes para MHC-I como: SLFPEFSEL (HLA-A02:01) y HPRSLFPEF (HLA-B07:02); para MHC-II como YGSFVRTVSLPVGAD (HLA-DRB101:01) y SELFAAFPSFAGLRP (HLA-DRB115:01). En conclusión, la conservación absoluta de epítomos en HspX indica su utilidad como un objetivo universal para vacunas de subunidades y serodiagnósticos, sugiriendo la necesidad de validación experimental y diseños adaptados al HLA para poblaciones endémicas.

¹Maestría en Diagnóstico de Laboratorio Clínico y Molecular con mención en Bioquímica Clínica, Universidad Nacional de Chimborazo, <https://orcid.org/0009-0006-4921-9603>; +593984095648.

²Carrera de Laboratorio Clínico. Docente de Maestría en Diagnóstico de Laboratorio Clínico y Molecular con mención en Bioquímica Clínica, Universidad Nacional de Chimborazo- Ecuador, <https://orcid.org/0009-0001-3614-4394>; +593968041341.

Palabras clave: Epítomos, *Mycobacterium tuberculosis*, HspX, bioinformática

ABSTRACT: Tuberculosis continues to represent a global health challenge, with 1.25 million deaths in 2023, being the leading cause of mortality from an infectious agent, even surpassing COVID-19. Limitations in early diagnosis, antibiotic resistance, and genetic variability among *Mycobacterium tuberculosis* strains underscore the need to identify highly conserved antigens for the development of new diagnostic methods. Due to this, the HspX protein (Rv2031c) emerges as a promising antigen because of its role in bacterial latency and persistence under stress conditions. HspX exhibits high immunogenicity by inducing strong CD4+ and CD8+ T-cell responses. This study compared HspX epitopes between the H37Rv (ATCC 25618) and CDC1551/Oshkosh strains, highlighting their conservation and potential for universal applications in controlling latent tuberculosis. The main objective was to detect and compare conserved and variable epitopes through *in silico* analysis. The study employed a quantitative methodology, which included obtaining FASTA sequences from UniProt, aligning them with Jalview/Clustal Omega, predicting B-cell epitopes with BepiPred-3.0, and T-cell epitopes with NetMHCpan/NetMHCIIpan for representative HLA alleles, as well as structural mapping in PyMOL. The results showed 100% sequence identity between the analyzed strains, identifying conserved B-cell epitopes at positions 5-15 aa, 80-90 aa, and 130-140 aa; additionally, strong MHC-I ligands were found, such as SLFPEFSEL (HLA-A02:01) and HPRSLFPEF (HLA-B07:02), and for MHC-II, such as YGSFVRTVSLPVGAD (HLA-DRB101:01) and SELFAAFPSFAGLRP (HLA-DRB115:01). In conclusion, the absolute conservation of HspX epitopes indicates its utility as a universal target for subunit vaccines and serodiagnostics, suggesting the need for experimental validation and HLA-adapted designs for endemic populations.

Keywords: Epitopes, *Mycobacterium tuberculosis*, HspX, bioinformatics

INTRODUCCIÓN

Mycobacterium tuberculosis, bacilo alcohol-resistente responsable de la tuberculosis, continúa siendo un desafío global en salud pública. Durante el año 2023, este patógeno provocó alrededor de 1,25 millones de muertes a nivel mundial, superando al COVID-19 y posicionándose como la primera causa de mortalidad por un agente infeccioso (1). Una de las principales limitaciones en el manejo de la tuberculosis es la dificultad para lograr un diagnóstico temprano que permita identificar de forma específica la especie bacteriana conjuntamente con sus patrones de resistencia a los fármacos de manera rápida y accesible (2).

La importancia de *Mycobacterium tuberculosis* en la salud está estrechamente ligada a su compleja variabilidad genética. Este patógeno presenta una diversidad de cepas con implicaciones clínicas cruciales. Entre las cepas de interés clínico e investigativo se encuentra la cepa H37Rv (ATCC 25618) la cual es el modelo genómico de referencia mundial, sin embargo,

estudios recientes han demostrado que su genoma contiene aproximadamente 6.4 kb adicionales con inserciones en genes PE/PPE asociados a la evasión de la respuesta inmune del huésped (3). Por otro lado, la cepa CDC1551/Oshkosh es conocida por su alta transmisibilidad, lo que la convierte en una cepa de alta preocupación en entornos sanitarios donde el riesgo de brotes es elevado, esta cepa clínica presenta una ventaja genómica crítica ya que su gen *icl2/aceA* permanece intacto (a diferencia de la cepa H37Rv, donde está truncado), codificando la enzima isocitrato liasa esencial para metabolizar ácidos grasos durante la latencia. Esta eficiencia metabólica conjuntamente con su capacidad para evadir la respuesta inmune, potencia su virulencia y persistencia(4).

La proteína HspX (también conocida como α -cristalina o Acr1) es un elemento clave en la latencia y persistencia de *Mycobacterium tuberculosis*, ya que se expresa bajo condiciones de estrés como hipoxia y exposición a óxido nítrico, facilitando la supervivencia intracelular del bacilo mediante la inhibición de vías degradativas y la acumulación de cuerpos lipídicos. Su alta inmunogenicidad ha sido estudiada en investigaciones que evidencian su capacidad para generar respuestas inmunes, especialmente en la activación de linfocitos T CD4+ y CD8+. Esto la convierte en un candidato sólido para el desarrollo de nuevas herramientas diagnósticas y vacunas (5)(6).

La caracterización de epítomos inmunodominantes en proteínas de *M. tuberculosis* es fundamental para comprender los mecanismos de reconocimiento inmune y para el desarrollo de inmunoterapias. Los epítomos conservados permiten el diseño de antígenos universales aplicables en diversas cepas, mientras que los epítomos variables pueden contribuir a explicar diferencias en la respuesta inmune entre linajes o cepas con distinta virulencia(7). Sin embargo, la mayoría de evidencia científica se ha centrado en identificar epítomos individuales sin realizar comparaciones sistemáticas entre cepas de *M. tuberculosis*.

Comprender la diversidad de epítomos de la proteína HspX es crucial para el diseño de vacunas y diagnósticos tempranos de la enfermedad, especialmente en sectores con alta incidencia de tuberculosis y diversidad de cepas. En este contexto, el análisis *in silico* de secuencias proteicas constituye una herramienta rápida y costo-efectiva para predecir regiones antigénicas evaluando su conservación evolutiva y de esta manera priorizar candidatos para estudios experimentales futuros.

Este estudio tiene como objetivo detectar y contrastar epítomos conservados y variables en la proteína HspX (Rv2031c) de dos cepas de *Mycobacterium tuberculosis*: la cepa de referencia H37Rv (ATCC 25618) y la cepa clínica CDC 1551/Oshkosh, combinando herramientas bioinformáticas y técnicas inmunológicas, con el fin de analizar su posible utilidad en el desarrollo de nuevas técnicas diagnósticas y vacunas contra *Mycobacterium tuberculosis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio tiene un enfoque descriptivo, comparativo e *in silico*. La metodología emplea un enfoque inductivo-deductivo, analizando secuencias de aminoácidos de proteínas específicas para predecir sus propiedades generales. Estas predicciones se validaron con herramientas inmunobioinformáticas. Es un estudio no experimental u observacional, ya que se analizan secuencias existentes en bases de datos públicas, sin realizar manipulaciones experimentales *in vitro* o *in vivo*.

La población de estudio estuvo constituida por la secuencia aminoacídica de la proteína de choque térmico HspX (Rv2031c) de *Mycobacterium tuberculosis*. La selección de la muestra se realizó de forma intencional, priorizando dos cepas de importancia sanitaria: la cepa H37Rv (ATCC 25618) y la cepa clínica CDC1551/Oshkosh. Estas cepas fueron seleccionadas debido a su relevancia clínica a nivel global y a que cuentan con secuencias de aminoácidos completas registradas en bases de datos biológicas. Las secuencias de aminoácidos de la proteína HspX para ambas cepas (Identificadores de Uniprot: P9WPD3 para H37Rv y Q6MDR3 para CDC 1551/Oshkosh) fueron obtenidas de la base de datos universal de proteínas UniProtKB (<https://www.uniprot.org/>) y descargadas en formato FASTA. Luego, ambas cepas se alinearon con el software Jalview, usando su versión del algoritmo Clustal Omega con los parámetros estándar (Tabla1) (8).

Para identificar epítomos que podrían activar linfocitos B, se utilizó el software BepiPred-3.0. Esta herramienta bioinformática emplea un modelo de inteligencia artificial basado en redes neuronales recurrentes, que analiza cada residuo de la proteína y calcula la probabilidad de que forme parte de un epítomo B considerando como posibles epítomos aquellos fragmentos que superaron un puntaje de 0.5(9).

La predicción de epítomos potencialmente presentados por moléculas del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC) se realizó utilizando la suite NetMHC (versión 4.0) para MHC de clase I y NetMHCII (versión 2.4) para MHC de clase II. Para NetMHCpan-4.0, se seleccionaron alelos HLA de clase I representativos de la población humana (HLA-A*02:01, HLA-B*07:02), el análisis se configuró para péptidos de 9 aminoácidos(10).

Para NetMHCIIpan-4.0, se seleccionaron alelos HLA-DR representativos (HLA-DRB1*01:01, HLA-DRB1*15:01), el análisis se configuró para péptidos de 15 aminoácidos. En ambos casos, los péptidos se consideraron fuertes ligandos (% Rank < 0.5) o débiles (% Rank < 2.0) según los umbrales recomendados por los servidores(11).

La estructura tridimensional de la proteína HspX de las cepas en estudio, obtenida del Protein Data Bank, ID: 1KSL, se utilizó como modelo de referencia. Los epítomos B y T predichos fueron mapeados sobre esta estructura utilizando el software de visualización molecular PyMOL (The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.5.4 Schrödinger, LLC). Esta visualización permitió la representación gráfica de la localización espacial de los epítomos conservados y variables.

Dado que esta investigación se basa exclusivamente en análisis *in silico* y utiliza datos de acceso público, no está sujeta a evaluación por parte de un comité de ética institucional.

Tabla 1. Herramientas bioinformáticas y parámetros utilizados.

Herramienta/Software	Parámetros
Jalview (con Clustal Omega)	Parámetros estándar: Gap open penalty = 11.0; Gap extend penalty = 0.2; Alineamiento múltiple global.
BepiPred 3.0	Umbral de probabilidad: >0.5 para epítomos positivos; basado en redes neuronales recurrentes.
NetMHCpan 4.0	Alelos: HLA-A02:01, HLA-B07:02; Longitud de péptidos: 9 aa; Umbrales: SB (%Rank <0.5), WB (%Rank <2.0)
NetMHCIIpan 4.0	Alelos: HLA-DRB101:01, HLA-DRB115:01; Longitud de péptidos: 15 aa; Umbrales: SB (%Rank <0.5), WB (%Rank <2.0)
PyMOL 2.5.4	Modelo PDB: 1KSL (trímero de HspX); Visualización: Regiones superficiales en colores (azul para B, rojo/verde para T); Superposiciones multi-epítomo.

Fuente: Elaboración propia.

Nota: SB = Strong Binder (alta afinidad); WB = Weak Binder (afinidad débil).

RESULTADOS

La comparación de las secuencias de aminoácidos de la proteína HspX (Rv2031c) obtenidas de diferentes cepas de *Mycobacterium tuberculosis*: H37Rv (ATCC 25618) y CDC1551, reveló una identidad del 100 % a lo largo de la secuencia de 144 aminoácidos. El análisis de la barra de conservación mostró un valor máximo y constante en todas las posiciones, revelando ausencia de sustituciones de residuos entre las cepas comparadas (*Figura 1*). Estos resultados sugieren que todos los posibles epítomos lineales y conformacionales derivados de HspX en estas cepas serían clasificados como conservados.

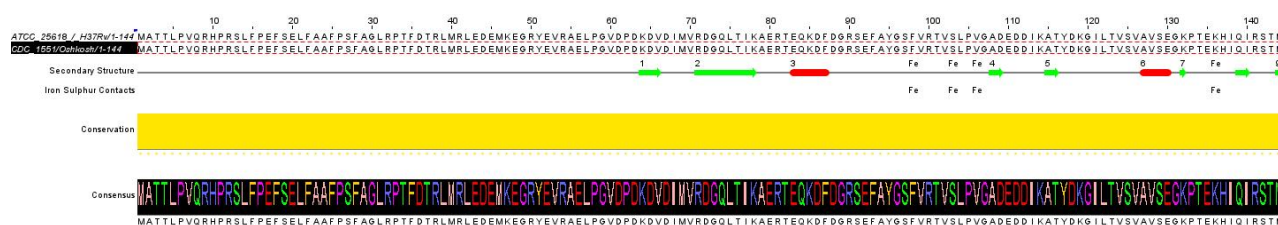


Figura 1. Alineamiento de secuencias aa de las dos cepas de *Mycobacterium tuberculosis*.

Fuente: Elaboración propia.

La predicción de epítomos lineales de células B para la proteína HspX de *Mycobacterium tuberculosis* (cepas H37Rv y CDC1551) encontró varias regiones que superan el umbral de predicción (0,1512) (Figura 2). Los epítomos más destacados se encuentran en las posiciones 5-15, 80-90 y 130-140 de la secuencia de aminoácidos, con puntuaciones máximas cercanas a 0,23. Estos valores indican la alta probabilidad de que estas regiones sean reconocidas por anticuerpos (Figura 2).

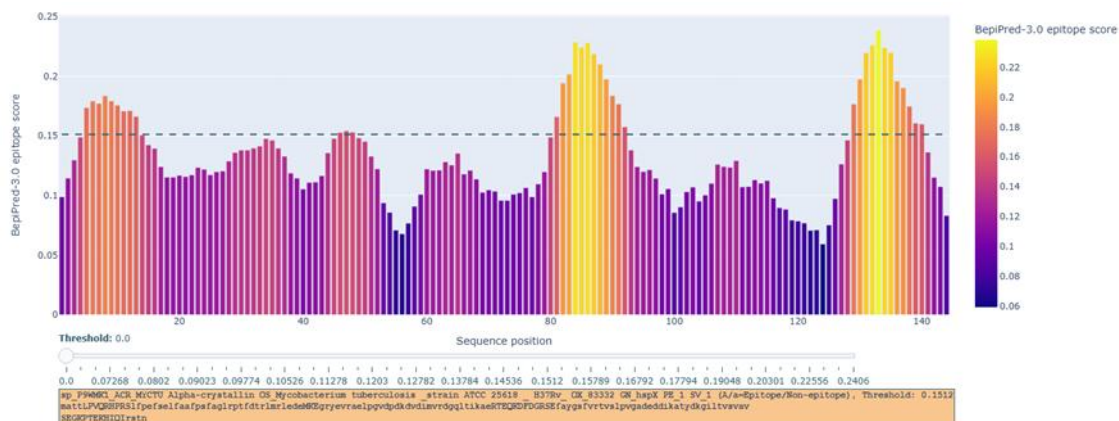


Figura 2. Predicción de epítomos lineales de células B.

Fuente: Elaboración propia.

La predicción de epítomos de unión a moléculas de MHC clase I se realizó utilizando el servidor NetMHCpan v4.1, como resultado para el alelo HLA-A*02:01, se evaluaron 136 péptidos derivados de la secuencia de HspX. De estos, se identificó un epítomo de alta afinidad (Strong Binder, SB): SLFPEFSEL, con un valor de %Rank de 0.019, indicando una fuerte capacidad de unión. Asimismo, se detectaron dos epítomos de unión débil (Weak Binders, WB): RLMRLEDEM (%Rank 1.468) y GILTVSVAV (%Rank 0.513), que podrían tener relevancia en la presentación antigénica, aunque con menor estabilidad de unión. En el caso del alelo HLA-B*07:02, se identificaron igualmente péptidos con afinidad elevada. Entre los que destacan dos epítomos clasificados como Strong Binders (SB): HPRSLFPEF (%Rank 0.021) y RPTFDTRLM (%Rank 0.156), además de cuatro epítomos categorizados como Weak Binders (WB), entre ellos VQRHPRSLF y AAFPSFAGL, ambos con %Rank menores a 2.0. Estos resultados sugieren que la proteína HspX presenta regiones con potencial inmunogénico capaces de interactuar con moléculas de clase I en diferentes contextos de restricción HLA (Tabla 2).

Tabla 2. Epítomos predichos de unión a MHC I en la proteína HspX (Rv2031c).

Alelo	Péptido	Posición	Clasificación	%Rank
HLA-A*02:01	SLFPEFSEL	13	Strong Binder	0.019
HLA-A*02:01	RLMRLEDEM	38	Weak Binder	1.468



HLA-A*02:01	GILTVSVAV	120	Weak Binder	0.513
HLA-B*07:02	HPRSLPEF	10	Strong Binder	0.021
HLA-B*07:02	RPTFDTRLM	32	Strong Binder	0.156
HLA-B*07:02	VQRHPRSLF	7	Weak Binder	1.54
HLA-B*07:02	AAFPSFAGL	23	Weak Binder	1.54
HLA-B*07:02	GSFVRTVSL	96	Weak Binder	1.579
HLA-B*07:02	FVRTVSLPV	98	Weak Binder	1.977

Fuente: Elaboración propia.

Nota: SB = Strong Binder (alta afinidad); WB = Weak Binder (afinidad débil).

El análisis inmunoinformático de la proteína HspX (Rv2031c) permitió identificar un conjunto de péptidos con alta probabilidad de unión a dos alelos comunes de HLA-DR. Los péptidos se clasificaron como ligandos de unión fuerte (Strong Binder, SB) o débil (Weak Binder, WB) según su %Rank (<1% y <5%, respectivamente). Los resultados clave para cada alelo se resumen a continuación.

Para el alelo HLA-DRB1*01:01, se identificaron 7 péptidos ligadores (*Tabla 2*). El análisis reveló dos clusters epitópicos distintos:

Cluster 1 (Posiciones 18-20): Tres péptidos consecutivos (FSELF AAFPSFAGLR, SELFAAFPSFAGLRP, ELFAAFPSFAGLRPT) fueron identificados como ligandos débiles (WB), con %Rank entre 1.93 y 4.55.

Cluster 2 (Posiciones 93-95): Un péptido débil (FAYGSFVRTVSLPVG, %Rank=1.92) y dos péptidos de unión fuerte (AYGSFVRTVSLPVGA, %Rank=0.82; YGSFVRTVSLPVGAD, %Rank=0.40) forman un hotspot de alta afinidad para este alelo.

Para el alelo HLA-DRB1*15:01, se identificó un perfil de unión más prominente, con 11 péptidos ligadores (*Tabla 3*). Destaca un cluster dominante de alta afinidad:

Cluster Central (Posiciones 16-21): Seis péptidos consecutivos mostraron capacidad de unión. Este grupo contiene un ligando de baja afinidad (PEFSELF AAFPSFAG, %Rank=3.20), seguido por cuatro ligandos de alta afinidad consecutivos (EFSELF AAFPSFAGLR, %Rank=0.92; FSELF AAFPSFAGLR, %Rank=0.46; SELFAAFPSFAGLRP, %Rank=0.32; ELFAAFPSFAGLRPT, %Rank=0.68) y concluye con otro ligando de baja afinidad (LFAAFPSFAGLRPTF, %Rank=3.93). El péptido en la posición 19 (SELFAAFPSFAGLRP) se destaca como el ligando con la mayor afinidad predicha para este alelo.

El análisis comparativo reveló que varios péptidos son reconocidos por ambos alelos, sin embargo, con diferentes niveles de afinidad. Un ejemplo notorio es el péptido SELFAAFPSFAGLRP, que se une con alta afinidad al alelo DRB115:01 (%Rank=0.32), pero con menor afinidad al alelo DRB101:01 (%Rank=1.93). No obstante, los péptidos del grupo 94-96 (AYGSFVRTVSLPVGA, YGSFVRTVSLPVGAD, GSFVRTVSLPVGADE) muestran alta afinidad por el alelo DRB101:01, mientras que para el alelo DRB115:01 se consideran ligandos de unión débil.

Tabla 3. Epítomos predichos de unión a MHC II en la proteína HspX (Rv2031c).

Alelo	Péptido	Posición	Clasificación	%Rank
DRB1_0101	FSELFAAFPSFAGLR	18	Weak Binder	2.93
DRB1_0101	SELFAAFPSFAGLRP	19	Weak Binder	1.93
DRB1_0101	ELFAAFPSFAGLRPT	20	Weak Binder	4.55
DRB1_0101	FAYGSFVRTVSLPVG	93	Weak Binder	1.92
DRB1_0101	AYGSFVRTVSLPVGA	94	Strong Binder	0.82
DRB1_0101	YGSFVRTVSLPVGAD	95	Strong Binder	0.40
DRB1_1501	PEFSELFAAFPSFAG	16	Weak Binder	3.20
DRB1_1501	EFSELFAAFPSFAGL	17	Strong Binder	0.92
DRB1_1501	FSELFAAFPSFAGLR	18	Strong Binder	0.46
DRB1_1501	SELFAAFPSFAGLRP	19	Strong Binder	0.32
DRB1_1501	ELFAAFPSFAGLRPT	20	Strong Binder	0.68
DRB1_1501	LFAAFPSFAGLRPTF	21	Weak Binder	3.93
DRB1_1501	AYGSFVRTVSLPVGA	94	Weak Binder	4.01
DRB1_1501	YGSFVRTVSLPVGAD	95	Weak Binder	2.69
DRB1_1501	GSFVRTVSLPVGADE	96	Weak Binder	4.52

Fuente: Elaboración propia.

Nota: SB = Strong Binder (alta afinidad); WB = Weak Binder (afinidad débil).

Para resaltar las zonas con mayor potencial inmunogénico, se elaboró una estructura tridimensional, dividida en tres paneles que muestran distintos aspectos de los epítomos (Figura 3). En el panel 3A se destacan las regiones con alta probabilidad de ser epítomos para células B, ubicadas en los residuos 5-15, 80-90 y 130-140 (azul). El panel 3B muestra los epítomos identificados como ligandos fuertes para moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad I

y II (rojo). Por último, el panel 3C integra todas las regiones inmunogénicas, revelando coincidencias importantes, como en los residuos 10-21, que podrían ser puntos clave capaces de desencadenar respuestas inmunes fuertes

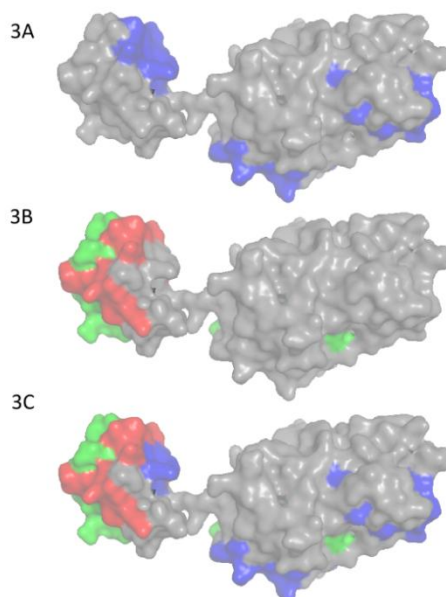


Figura 3. Representación estructural de epítomos inmunogénicos conservados en HspX.

Fuente: Elaboración propia.

Nota: A) Regiones de células B (azul, pos. 5-15, 80-90, 130-140); B) Ligandos fuertes de MHC I (rojo, pos. 10-21, 32-40) y MHC II (verde, pos. 17-34, 94-109); C) Vista combinada con superposiciones indicando puntos calientes multi-epítomo.

DISCUSIÓN

El alineamiento de las secuencias de aminoácidos de la proteína HspX (Rv2031c) de las cepas H37Rv y CDC1551 de *Mycobacterium tuberculosis* reveló una identidad total, lo que sugiere una conservación absoluta. Este hallazgo es consistente con análisis genómicos previos que demuestran que HspX es altamente conservada entre cepas de *M. tuberculosis*, dado que las proteínas asociadas a la latencia como HspX, presentan mínima variación para mantener su funcionalidad durante fases de latencia (12). La ausencia de sustituciones sugiere que las presiones evolutivas favorecen la estabilidad de esta proteína, consistente con estudios sobre epítomos de células T donde se observa hiperconservación en antígenos cruciales para la persistencia (13). Esta conservación de epítomos de la proteína HspX se traduce en una mejor utilidad para su aplicación en el desarrollo de nuevas técnicas diagnósticas. No obstante, esta uniformidad dificulta entender las diferencias en la virulencia de cada cepa(14).

El análisis con BepiPred-3.0 destacó regiones clave en las posiciones 5-15, 80-90 y 130-140, con puntuaciones mayores a 0.1512, lo que sugiere una gran probabilidad de que sean reconocidas por anticuerpos. Epítomos similares han sido reportados en construcciones de fusión que mejoran la sensibilidad diagnóstica, donde epítomos de HspX incrementan la especificidad al disminuir la reactividad cruzada con micobacterias no tuberculosas (15) (16). La similitud entre ambas cepas destaca su carácter altamente conservado, en contraste con los epítomos variables de células B presentes en antígenos de la fase replicativa, lo que explica las diferencias en la capacidad de evadir la respuesta inmunitaria (17).

Para epítomos de MHC clase I, ligandos fuertes como SLFPEFSEL (HLA-A02:01) y HPRSLFPEF (HLA-B07:02) señalan un potencial alto para activar células T CD8+. Estos péptidos corresponden a epítomos inmunodominantes en grupos con infección latente, donde secuencias de HspX inducen respuestas citotóxicas relacionadas con el control de la infección (18). Comparado con vacunas multiépitopo que incorporan HspX, este análisis confirma una alta afinidad de unión, pero el número limitado de ligandos fuertes por alelo sugiere complementariedad con otros antígenos para una mayor cobertura (19). Ligandos débiles como RLMRLEDEM podrían contribuir a respuestas subóptimas en algunas poblaciones, lo que coincide con hallazgos donde la afinidad de epítomos influye en la progresión a enfermedad activa (20).

Las predicciones de epítomos de MHC clase II muestran agrupaciones con ligandos fuertes, como SELFAAFPSFAGLRP (HLA-DRB1*15:01) y YGSFVRTVSLPVGAD (HLA-DRB1*01:01), lo cual favorece la asistencia de células T CD4+. Estos se combinan con epítomos en proteínas de fusión protectoras, en las que HspX refuerza las respuestas Th1 sesgadas contra formas latentes (21). La afinidad diferencial entre alelos es el resultado de investigaciones sobre poblaciones, en las que una mayor presencia de DRB1*15:01 se relaciona con respuestas más intensas en áreas endémicas (22). El cluster central de alta densidad indica la presencia de múltiples epítomos, lo que mejora las estrategias basadas en antígenos únicos al promover una inmunidad más duradera. La inclusión de estos epítomos múltiples en poliproteínas ha aumentado la eficacia sin comprometer la especificidad. Sin embargo, se han detectado uniones débiles poco comunes en las regiones circundantes, lo que podría indicar una posible regulación supresora (23).

El análisis de la estructura del trímero de HspX (código PDB: 1KSL) mostró que las regiones reconocidas por las células B y las moléculas que se unen al MHC se encuentran en la superficie de la proteína. Esta representación visual confirmó que estas regiones se mantienen conservadas y se ajusta a modelos tridimensionales usados en el diseño de vacunas basadas en epítomos, donde los residuos expuestos facilitan el reconocimiento por el sistema inmune (24). Las superposiciones revelan un potencial para una elicitación inmune amplia, consistente con estudios sobre el rol inmunomodulador de Acr1 en la maduración de células dendríticas (25). La utilidad diagnóstica de HspX está respaldada por su estructura, a pesar de que las simulaciones dinámicas podrían ser la razón por la cual se producen cambios conformacionales debido al estrés que altera la presentación de epítomos. La integración innovadora de visualización con predicciones pone de manifiesto la posibilidad que ofrece HspX para las inmunoterapias, lo que

sugiere el desarrollo futuro de formulaciones de nanopartículas para reproducir estructuras nativas y optimizar las respuestas a las vacunas.

CONCLUSIONES

El análisis de las secuencias de aminoácidos de la proteína HspX (Rv2031c) de las cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, CDC1551 y H37Rv, demostró que la proteína es completamente idéntica en ambas cepas; no se encontraron deleciones, inserciones o sustituciones. En este contexto se determinó que la secuencia de HspX es altamente conservada entre la cepa de referencia y la cepa clínica e hipervirulenta.

Mediante la utilización de herramientas inmunobioinformáticas se identificó epítomos inmunogénicos conservados a partir de la proteína HspX, entre los que destacan regiones inmunodominantes para linfocitos B en las posiciones 5–15, 80–90 y 130–140, ligandos fuertes para MHC-I como SLFPEFSEL (HLA-A*02:01) y HPRSLFPEF (HLA-B*07:02), y para MHC-II como YGSFVRTVSLPVGAD (HLA-DRB1*01:01) y SELFAAFPSFAGLRP (HLA-DRB1*15:01), todos estos epítomos tienen uso potencial en el desarrollo de vacunas y herramientas de diagnóstico inmunológico.

El análisis estructural de HspX (PDB: 1KSL) reveló que las regiones inmunogénicas se sitúan en áreas superficiales y accesibles de la proteína, facilitando su reconocimiento por el sistema inmune. La conservación estructural indica que la interacción con el sistema inmunológico sería similar en ambas cepas, respaldando el uso de HspX como un antígeno universal en inmunoterapias contra la tuberculosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Tuberculosis [Internet]. [citado el 2 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>
2. Singh S, Dey B, Sachdeva K, Kabra S, Chopra K, Chaudhary VK, et al. Challenges in Tuberculosis Diagnosis and Management: Recommendations of the Expert Panel. J Lab Physicians [Internet]. enero de 2015 [citado el 19 de agosto de 2025];7(1):1. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4411802/>
3. Chitale P, Lemenze AD, Fogarty EC, Shah A, Grady C, Odom-Mabey AR, et al. A comprehensive update to the Mycobacterium tuberculosis H37Rv reference genome. Nature Communications 2022 13:1 [Internet]. el 18 de noviembre de 2022 [citado el 19 de agosto de 2025];13(1):1–12. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41467-022-34853-x>
4. Antil M, Gouin SG, Gupta V. Truncation of C-Terminal Intrinsically Disordered Region of Mycobacterial Rv1915 Facilitates Production of “Difficult-to-Purify” Recombinant Drug

- Target. Front Bioeng Biotechnol [Internet]. el 29 de mayo de 2020 [citado el 19 de agosto de 2025]; 8:529574. Disponible en: www.frontiersin.org
5. Lew MH, Norazmi MN, Nordin F, Tye GJ. A novel peptide vaccination augments cytotoxic CD8+ T-cell responses against Mycobacterium tuberculosis HspX antigen. Immunobiology [Internet]. el 1 de mayo de 2022 [citado el 2 de junio de 2025];227(3). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35272134/>
 6. Alhusain F. HspX-mediated survival pathways of pathogenic mycobacteria. Saudi Med J [Internet]. el 1 de julio de 2021 [citado el 2 de junio de 2025];42(7):721–7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34187915/>
 7. Ramana J, Mehla K. Immunoinformatics and epitope prediction. Methods in Molecular Biology [Internet]. 2020 [citado el 19 de agosto de 2025]; 2131:155–71. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32162252/>
 8. Procter JB, Carstairs GM, Soares B, Mourão K, Ofoegbu TC, Barton D, et al. Alignment of Biological Sequences with Jalview. Methods Mol Biol [Internet]. 2021 [citado el 31 de agosto de 2025]; 2231:203. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7116599/>
 9. Clifford JN, Høie MH, Deleuran S, Peters B, Nielsen M, Marcatili P. BepiPred-3.0: Improved B-cell epitope prediction using protein language models. Protein Sci [Internet]. el 1 de diciembre de 2022 [citado el 5 de agosto de 2025];31(12): e4497. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9679979/>
 10. Reynisson B, Alvarez B, Paul S, Peters B, Nielsen M. NetMHCpan-4.1 and NetMHCIIpan-4.0: Improved predictions of MHC antigen presentation by concurrent motif deconvolution and integration of MS MHC eluted ligand data. Nucleic Acids Res [Internet]. 2021 [citado el 19 de agosto de 2025];48(W1): W449–54. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32406916/>
 11. Reynisson B, Barra C, Kaabinejadian S, Hildebrand WH, Peters B, Peters B, et al. Improved Prediction of MHC II Antigen Presentation through Integration and Motif Deconvolution of Mass Spectrometry MHC Eluted Ligand Data. J Proteome Res [Internet]. el 5 de junio de 2020 [citado el 19 de agosto de 2025];19(6):2304–15. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32308001/>
 12. Panda S, Morgan J, Cheng C, Saito M, Gilman RH, Ciobanu N, et al. Identification of differentially recognized T cell epitopes in the spectrum of tuberculosis infection. Nature Communications 2024 15:1 [Internet]. el 26 de enero de 2024 [citado el 29 de agosto de 2025];15(1):1–14. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41467-024-45058-9>
 13. Musvosvi M, Huang H, Wang C, Xia Q, Rozot V, Krishnan A, et al. T cell receptor repertoires associated with control and disease progression following Mycobacterium tuberculosis infection. Nature Medicine 2023 29:1 [Internet]. el 5 de enero de 2023 [citado el 29 de agosto de 2025];29(1):258–69. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41591-022-02110-9>
 14. Kumar SK, Arya S, Aggarwal A, Kapoor P, Nath A, Misra R, et al. Immune responses to Mycobacterium tuberculosis membrane-associated antigens including alpha crystallin can potentially discriminate between latent infection and active tuberculosis disease. PLoS

- One [Internet]. el 1 de enero de 2020 [citado el 29 de agosto de 2025];15(1): e0228359. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6994005/>
15. Healy EF, Goering LM, Hauser CR, King PJ. An immunomodulatory role for the Mycobacterium tuberculosis Acr protein in the formation of the tuberculous granuloma. FEBS Lett [Internet]. el 1 de enero de 2021 [citado el 29 de agosto de 2025];595(2):284–93. Disponible en: [/doi/pdf/10.1002/1873-3468.13998](https://doi.org/10.1002/1873-3468.13998)
 16. Arif S, Akhter M, Khaliq A, Nisa Z un, Khan IH, Akhtar MW. Serodiagnostic evaluation of fusion proteins from multiple antigens of Mycobacterium tuberculosis for active TB. Tuberculosis [Internet]. el 1 de marzo de 2021 [citado el 29 de agosto de 2025];127. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33561630/>
 17. Zhou F, Xu X, Cui X, Pan W. Development and Evaluation of a Fusion Polyprotein Based on HspX and Other Antigen Sequences for the Serodiagnosis of Tuberculosis. Front Immunol [Internet]. el 4 de octubre de 2021 [citado el 29 de agosto de 2025];12. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34671347/>
 18. Panda S, Morgan J, Cheng C, Saito M, Gilman RH, Ciobanu N, et al. Identification of differentially recognized T cell epitopes in the spectrum of tuberculosis infection. Nature Communications 2024 15:1 [Internet]. el 26 de enero de 2024 [citado el 29 de agosto de 2025];15(1):1–14. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41467-024-45058-9>
 19. Yun JS, Kim AR, Kim SM, Shin E, Ha SJ, Kim D, et al. In silico analysis for the development of multi-epitope vaccines against Mycobacterium tuberculosis. Front Immunol [Internet]. 2024 [citado el 29 de agosto de 2025];15. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39624097/>
 20. Musvosvi M, Huang H, Wang C, Xia Q, Rozot V, Krishnan A, et al. T cell receptor repertoires associated with control and disease progression following Mycobacterium tuberculosis infection. Nature Medicine 2023 29:1 [Internet]. el 5 de enero de 2023 [citado el 29 de agosto de 2025];29(1):258–69. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41591-022-02110-9>
 21. Kwon KW, Kang TG, Lee A, Jin SM, Lim YT, Shin SJ, et al. Protective Efficacy and Immunogenicity of Rv0351/Rv3628 Subunit Vaccine Formulated in Different Adjuvants Against Mycobacterium tuberculosis Infection. Immune Netw [Internet]. el 27 de enero de 2023 [citado el 29 de agosto de 2025];23(2). Disponible en: <https://doi.org/10.4110/in.2023.23.e16>
 22. Arif S, Akhter M, Khaliq A, Akhtar MW. Fusion peptide constructs from antigens of M. tuberculosis producing high T-cell mediated immune response. PLoS One [Internet]. el 1 de septiembre de 2022 [citado el 29 de agosto de 2025];17(9 September). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36174012/>
 23. Yun JS, Shin E, Lee YR, Lee JA, Lee H, Kim JS, et al. Immunogenicity and protective efficacy of a multi-antigenic adenovirus-based vaccine candidate against Mycobacterium tuberculosis. Front Microbiol [Internet]. el 24 de enero de 2025 [citado el 29 de agosto de 2025]; 16:1492268. Disponible en: <https://mycobrowser.epfl.ch/>
 24. Yun JS, Kim AR, Kim SM, Shin E, Ha SJ, Kim D, et al. In silico analysis for the development of multi-epitope vaccines against Mycobacterium tuberculosis. Front Immunol [Internet].

2024 [citado el 29 de agosto de 2025];15. Disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39624097/>

25. Healy EF, Goering LM, Hauser CR, King PJ. An immunomodulatory role for the Mycobacterium tuberculosis Acr protein in the formation of the tuberculous granuloma. FEBS Lett [Internet]. el 1 de enero de 2021 [citado el 29 de agosto de 2025];595(2):284–93. Disponible en: /doi/pdf/10.1002/1873-3468.13998