

## Resumen

Las enfermedades infecciosas de los animales causadas por agentes patógenos afectan a la salud animal, a la seguridad alimentaria y pueden transmitirse a los humanos. La vacunación es el método más rentable y sostenible para el control de infecciones. Las vacunas de ARN mensajero inducen respuestas inmunitarias fuertes y duraderas, manteniendo ciclos de fabricación rápidos y genéricos. Presentan ventajas sobre las vacunas de ADN como el bajo riesgo de mutagénesis por inserción en el genoma y la expresión transitoria de los antígenos en el organismo. Se ha aprobado el uso de vacunas de ARN mensajero contra la enfermedad por coronavirus, lo que ha validado aún más la plataforma. Se requiere el diseño y la optimización de la secuencia que expresa el ARNm para evitar su degradación, así como sistemas de administración que permitan su traducción eficiente. En el presente trabajo se evaluaron las bases moleculares para el diseño de vacunas de ARN mensajero con aplicación en veterinaria. La secuencia para la expresión del ARN mensajero se definió diseñando una unidad transcripcional de 3743 pares de bases que incluía los elementos estructurales básicos. Las condiciones de la transcripción *in vitro* se estandarizaron y se logró obtener 0,5 µg/µL de ARN mensajero a partir de una plantilla lineal de ADN. El ARN mensajero se transfectó en las líneas celulares HEK293A y HCT116 con los reactivos polietilenimina y lipofectamina para la expresión del antígeno y la evaluación de la viabilidad celular, que indicó que la lipofectamina brinda mejores resultados de transfección. En conclusión, las vacunas de ARN mensajero son una tecnología eficaz y segura, capaz de ser desarrollada rápidamente para prevenir, controlar y finalmente erradicar las enfermedades infecciosas de los animales.

*Palabras clave:* ARN mensajero, transcripción *in vitro*, enfermedades infecciosas, transfección, viabilidad celular

## Abstract

Infectious animal diseases caused by pathogens affect animal health, food safety and can be transmitted to humans. Vaccination is the most cost-effective and sustainable method of infection control. Messenger RNA vaccines induce strong and durable immune responses while maintaining rapid and generic manufacturing cycles. They have advantages over DNA vaccines such as low risk of mutagenesis by insertion into the genome and transient expression of antigens in the body. Messenger RNA vaccines have been approved for use against coronavirus disease, further validating the platform. Design and optimization of the sequence expressing the mRNA to prevent its degradation is required, as well as delivery systems that allow its efficient translation. In the present work, the molecular basis for the design of messenger RNA vaccines with veterinary application was evaluated. The sequence for messenger RNA expression was defined by designing a 3743 base pair transcriptional unit that included the basic structural elements. The *in vitro* transcription conditions were standardized and 0.5 µg/µL of messenger RNA was obtained from a linear DNA template. The messenger RNA was transfected into HEK293A and HCT116 cell lines with polyethyleneimine and lipofectamine reagents for antigen expression and cell viability assessment, which indicated that lipofectamine gives better transfection results. In conclusion, messenger RNA vaccines are an effective and safe technology capable of being rapidly developed to prevent, control and ultimately eradicate infectious diseases in animals.

*Key words:* messenger RNA, *in vitro* transcription, infectious diseases, transfection, cell viability