



1 de noviembre de 2014 | Vol. 15 | Núm. 11 | ISSN 1607 - 6079

ARTÍCULO

**BANCOS DE ANTICUERPOS
RECOMBINANTES DE ORIGEN HUMANO:
UNA FUENTE IDEAL DE ANTI-VENENOS
MODERNOS CONTRA LA PICADURA DE
ALACRÁN**

*Baltazar Becerril Luján, Lidia Riaño y
Lourival Possani*

BANCOS DE ANTICUERPOS RECOMBINANTES DE ORIGEN HUMANO: UNA FUENTE IDEAL DE ANTIVENENOS MODERNOS CONTRA LA PICADURA DE ALACRÁN

Resumen

En esta contribución hacemos una reseña del trabajo de nuestro consorcio de investigación para desarrollar una plataforma tecnológica a partir de la cual se pueden obtener fragmentos de anticuerpos humanos de alta afinidad contra diversos blancos. Los componentes básicos de esta plataforma son la generación de repertorios de anticuerpos de cadena sencilla (scFv; regiones variables de la cadenas pesada y ligera), el tamizado y

“
La realización de este tipo de investigaciones deriva en una aplicación biotecnológica en el área de la salud que puede ser muy importante.
”

la maduración *in vitro* de la afinidad de los anticuerpos seleccionados. Hacemos una presentación de los conceptos fundamentales relacionados con la estructura de los anticuerpos y el formato de los mismos que trabajamos en nuestro grupo. Adicionalmente, describimos la forma en que logramos aumentar la afinidad de los anticuerpos por sus antígenos y los logros obtenidos hasta el momento en relación con la obtención de un conjunto de anticuerpos neutralizantes de las principales toxinas y los venenos de alacranes ponzoñosos de México. Comentamos sobre las perspectivas para lograr un anti-veneno recombinante de origen humano en México.

Finalmente, destacamos la importancia de contar con este tipo de plataformas para incentivar la innovación en la industria farmacéutica mexicana en su apartado de anti-venenos y en general de anticuerpos.

Palabras clave: antivenenos, evolución dirigida, despliegue en fagos, fragmentos de anticuerpos recombinantes, veneno de alacranes.

LIBRARIES OF RECOMBINANT ANTIBODIES OF HUMAN ORIGIN, AN IDEAL SOURCE OF MODERN ANTI-VENOMS AGAINST SCORPION STINGS

Abstract

In this contribution, we provide a summary of the work made by our research consortium to develop a technology platform from which to obtain antibody fragments of human origin with high affinity against various targets. The basic components of the platform are the generation of repertoires of single chain antibodies (scFv, variable regions of the heavy and light chains), the rational screening of these repertoires and the in vitro affinity maturation of the selected antibodies. We comment on the fundamental concepts related to the structure of antibodies and the antibody format we work with. Additionally, we describe how we have enhanced the affinity of antibodies for their antigens. We describe the goals so far reached in relation to obtaining of a set of neutralizing antibodies against the main toxins and venoms of poisonous scorpions of Mexico. We discuss on the prospects of producing recombinant anti-venom of human origin against Mexican scorpions. Finally, we emphasize the importance of optimizing this technological platform to foster innovation in the Mexican pharmaceutical industry in the area of anti-venoms and antibodies in general.

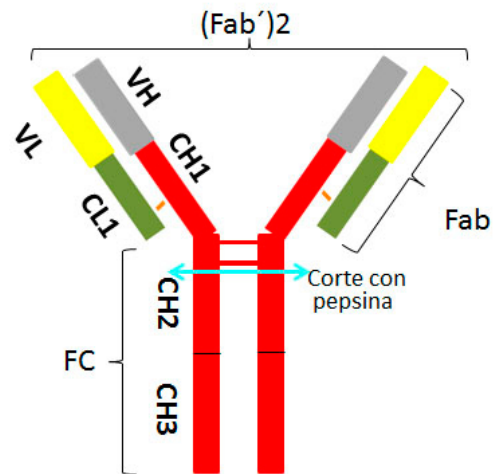
Keywords: antivenoms, directed evolution, phage display, recombinant antibody fragments, scorpion venom.

BANCOS DE ANTICUERPOS RECOMBINANTES DE ORIGEN HUMANO: UNA FUENTE IDEAL DE ANTIVENENOS MODERNOS CONTRA LA PICADURA DE ALACRÁN

Introducción

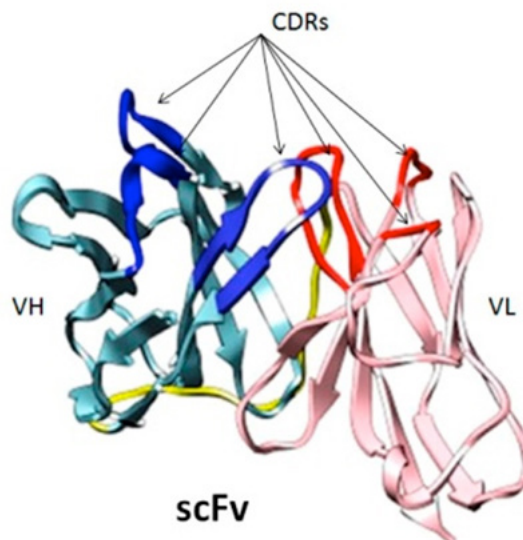
Los anticuerpos o inmunoglobulinas son proteínas que ayudan a eliminar elementos extraños que ingresan al organismo, tales como bacterias, toxinas, virus o parásitos, entre otros. En general, las moléculas que son reconocidas por los anticuerpos se denominan antígenos. Un antígeno puede tener varios sitios a los cuales se puede unir un anticuerpo. Cada uno de esos sitios es conocido como un epítipo. Un anticuerpo es una molécula de 150,000 unidades de masa molecular (daltones; abreviándose entonces como 150 kDa), la cual está formada por dos proteínas llamadas cadenas pesadas y dos cadenas ligeras simplemente por su tamaño relativo (Fig.1).

Figura 1. Anticuerpo IgG: F(ab')₂, producto de la eliminación del fragmento Fc con pepsina; Fv Fragmento variable; VH, región variable de la cadena pesada; VL, región variable de la cadena ligera; CL1 región constante de la cadena ligera; CH1-3, regiones constantes de la cadena pesada.



Anticuerpo completo tipo IgG

Figura 2. Fragmento variable de cadena sencilla (scFv). En amarillo se observa el péptido conector entre los dominios VH y VL. Se destacan las regiones determinantes de complementariedad (CDRs) que forman el sitio de reconocimiento al antígeno.

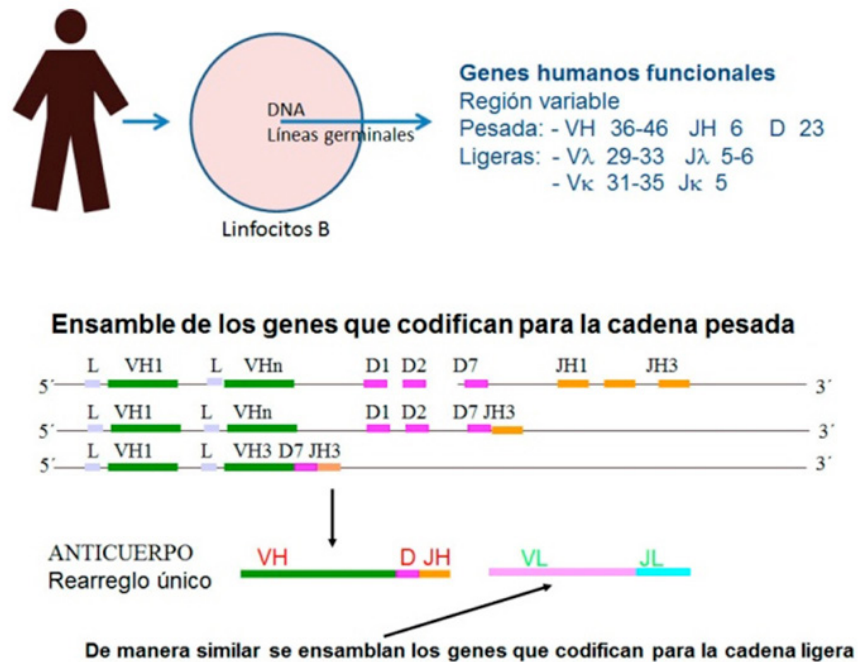


Cada cadena está conformada por al menos dos segmentos: una región variable (VH para referirse a la cadena pesada; VL para la ligera) y una región constante. La cadena ligera sólo posee un módulo constante, mientras que la cadena pesada tiene tres. Aprovechando el conocimiento de la estructura modular de los anticuerpos y sabiendo que las regiones variables son las encargadas del reconocimiento de los antígenos, en el laboratorio podemos generar anticuerpos que sólo estén conformados por el segmento variable de cada cadena

(VH+VL), unidos por un segmento conector de 15 aminoácidos (revisado en BENHAR, 2001; AZZAZY and Highsmith, 2002; BREKKE and Loset 2003). Esta estructura molecular es llamada scFv, por sus iniciales en inglés *single chain Fv*, que significa "fragmento variable de cadena única" (Fig. 2).

Tratándose de anticuerpos obtenidos en el laboratorio por técnicas de biología molecular a partir de material genético humano (Fig. 3) y usando bacterias como minúsculas "fábricas" productoras, se les denomina anticuerpos recombinantes de cadena sencilla de origen humano.

Figura 3. Fuente de inmunoglobulinas humanas. Los linfocitos B son células encargadas del ensamble de los genes que codifican para los anticuerpos. Se destaca cómo se integran los genes que codifican para el dominio variable de la cadena pesada formada por tres genes (VH, D y JH). En la parte inferior de la figura se muestra lo correspondiente a la cadena ligera, la cual sólo está constituida por dos genes (VL y JL). Como se puede apreciar, el proceso de "barajamiento" de los diferentes genes, da una combinatoria propia de cada anticuerpo y el conjunto de todas las posibles combinaciones permite generar grandes números de anticuerpos diferentes.

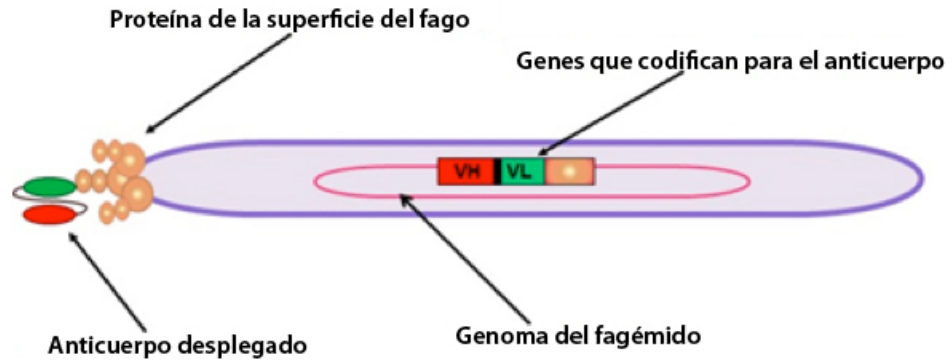


Despliegue en fagos

Cuando se logra tener una colección de todos los posibles anticuerpos presentes en el sistema inmunológico de un organismo, se dice que se trata de un banco o repertorio de anticuerpos. Para lograr implementar el equivalente de un sistema inmunológico, es necesario insertar la colección de segmentos de genes que permiten producir los scFvs en un sistema biológico. Esto posibilita preservar el banco y entonces someterlo a procesos de tamizado (escrutinio o evaluación) para aislar anticuerpos específicos que reconozcan diversos antígenos. El sistema biológico más usado para estos fines son los virus de tipo filamentoso que infectan bacterias (microscópicamente parecidos a un pedazo de varilla), denominados fagos filamentosos. Estos virus se pueden manipular de tal manera que es posible insertar en su material genético el repertorio de genes que permiten producir los scFvs sin afectar la viabilidad de los mismos (Fig.4).

El conjunto de todos estos pasos se denomina despliegue en fagos o *phage display*, como fue llamado originalmente en inglés. Cada virus llevará expuesto un sólo tipo de scFv en su superficie. En este sentido, se le podría considerar un "fago-anticuerpo" y a la colección completa de fago-anticuerpos, un banco de anticuerpos. Al estar expuestos

Figura 4. Fago filamentoso.
 En el interior del virus se encuentra la información genética del scFv (genotipo). Cuando esa información es procesada para producir el anticuerpo correspondiente (fenotipo), éste es desplegado (expuesto) fusionado a una proteína ubicada en un extremo del fago.



los scFvs en la superficie del virus y portando un elemento de reconocimiento funcional (anticuerpo de cadena sencilla), pueden unirse a su antígeno. Para aislar un anticuerpo específico, se hace interaccionar el banco con un antígeno determinado, el cual ha sido previamente pegado a las paredes internas de un tubo de plástico (Fig. 5). Todos los anticuerpos que no se unen al antígeno, son eliminados por lavados repetidos. Aquellos que interaccionaron específicamente con el antígeno, son recuperados para infectar nuevas bacterias (Fig. 5). Un tiempo después de la infección, las bacterias multiplican la fracción de fago-anticuerpos específicos los cuales son recuperados del tubo para someterlos a una nueva ronda de tamizado. La multiplicación de los fago-anticuerpos específicos, se logra con el auxilio de un fago defectivo en la replicación de su ADN (*fago helper* o *ayudador*), como se ilustra en la Fig. 5. Al final de 3-4 rondas de unión, lavado y recuperación de los fago-anticuerpos específicos, se logran identificar aquellos que se unen mejor al antígeno.

Figura 5. Descripción detallada del proceso de tamizado que permite identificar scFvs que reconocen específicamente a su antígeno.

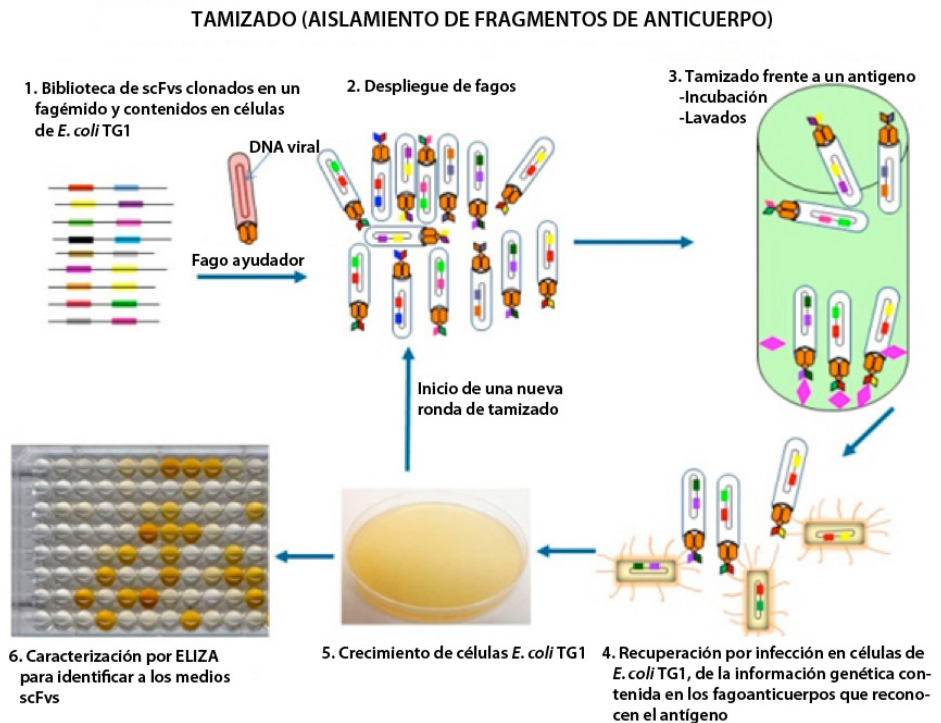
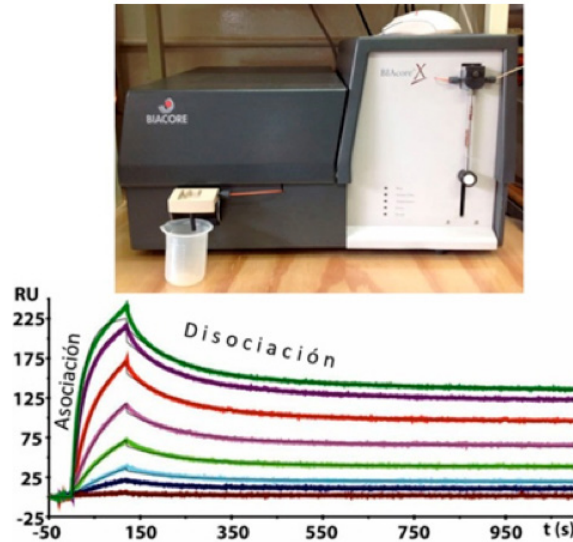


Figura 6. Determinación de la afinidad empleando el equipo llamado "Biacore", el cual permite medir en tiempo real la "fuerza" (afinidad) con la que un anticuerpo se une a su antígeno. Se usan diferentes concentraciones de un determinado scFv el cual se une a un antígeno previamente inmovilizado en una superficie sólida. Con cada concentración ensayada, se genera una curva de unión-disociación. Posteriormente se evalúan las curvas en conjunto para determinar las velocidades de unión y disociación cuyo cociente permite determinar la afinidad.



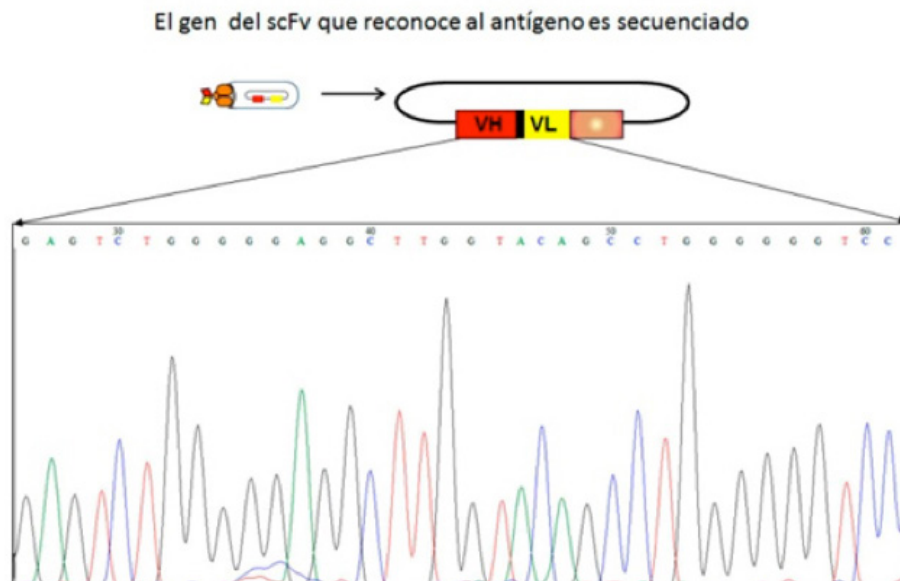
El mejor anticuerpo será aquel que después de ser evaluado por las técnicas que permiten medir la "fuerza" con la que se une a su antígeno, sea justo el que se una más "fuertemente" (Fig. 6).

La identidad del anticuerpo "ganador" se puede conocer al determinar de manera automatizada la secuencia nucleotídica del ADN (Fig. 7).

Bancos y maduración de afinidad

En nuestro laboratorio, siguiendo el procedimiento ilustrado en la Fig. 5, logramos conjuntar un repertorio de 100 millones de anticuerpos distintos. De este repertorio se han aislado anticuerpos que neutralizan venenos de alacranes peligrosos de México. Estamos por terminar de construir un banco que contendrá más de mil millones de ellos. También contamos con un repertorio de 10 millones de anticuerpos de un tipo de camello llamado llama. Los anticuerpos aislados de la manera descrita pueden ser utilizados como agentes terapéuticos (para curar enfermedades) o para ayudar en el diagnóstico de las mismas. Cuando la "fuerza" de unión del anticuerpo candidato no es satisfactoria, se puede imitar lo que ocurre en un organismo cuando es vacunado. Durante la generación de inmunidad contra algún agente extraño, el organismo modifica (muta, cambia) los anticuerpos hasta lograr que sean lo suficientemente específicos y de la fuerza necesaria para combatir al agente patógeno.

Figura 7. Secuenciación del gen que codifica para los scFvs. El ADN del fago seleccionado es purificado y sometido a procesos automatizados de secuenciación para conocer la identidad de su información genética (nucleótidos) y así poder conocer la secuencia del anticuerpo como proteína sabiendo que cada 3 nucleótidos codifican para un aminoácido.



En el laboratorio contamos con las herramientas para imitar esa modificación (mutación) de los anticuerpos y así lograr "madurarlos" (Fig. 8).

Figura 8. Evolución dirigida.
 Descripción detallada de cómo se logra incrementar la afinidad por el antígeno. El conjunto de procedimientos que permiten lograr dicha maduración se denomina ciclo de evolución dirigida y selección de los mejores anticuerpos.



Antivenenos antialacrán de última generación

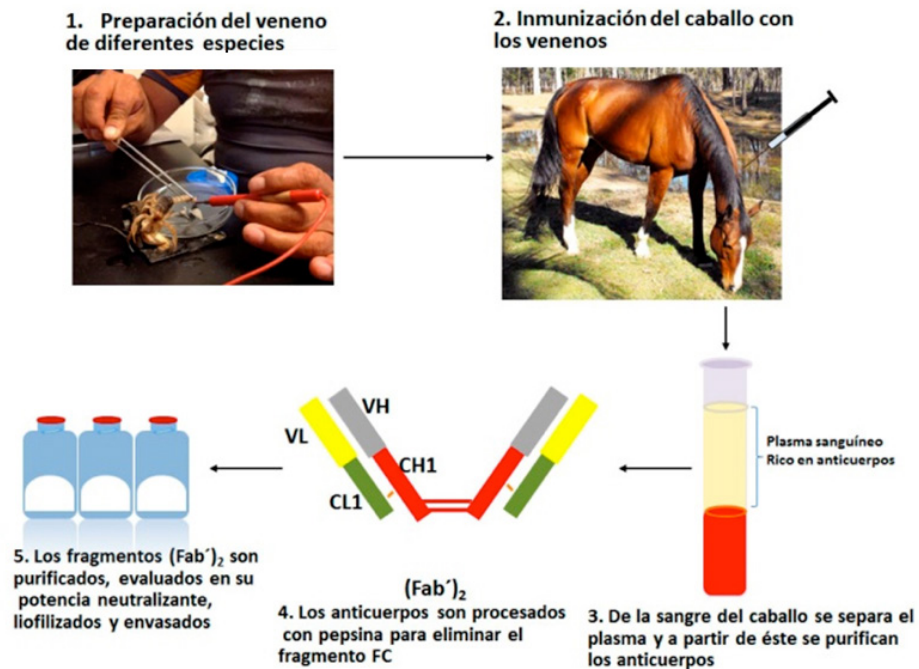
Desde hace más de 100 años, se usaban ya los antivenenos de primera generación, los cuales se producían al inmunizar caballos con extractos de veneno de alacranes. Esta generación de antivenenos no solo contenía los anticuerpos del caballo sino todas las otras proteínas del suero. Una vez separado el suero de las células de la sangre, era desecado en frío en condiciones de vacío y así aplicado a los pacientes, previa valoración de su efectividad. Esta generación de antivenenos provocaba hipersensibilidad grave en algunos de los pacientes. En esa época se asumía que ésta se debía a la presencia de las otras proteínas que no eran las inmunoglobulinas (Igs) (revisado en ESPINO-SOLIS, RIANO-UMBARILA *et al.* 2009). Ante esta situación, los laboratorios que producían los antivenenos se vieron obligados a mejorar este antiveneno, creando entonces la segunda generación. Se consideraba que si el problema era la presencia de grandes cantidades de proteínas distintas de los anticuerpos, tendría que eliminarse del suero todo lo que no fuera inmunoglobulinas. Sin embargo, a pesar de inyectar ahora las inmunoglobulinas puras, las consecuencias seguían siendo similares a las de la primera generación, lo cual exigía determinar cuál era el problema.

Considerando que el problema debía estar en las propias inmunoglobulinas, se eliminaron varios segmentos de los anticuerpos demostrando que el *fragmento cristalizante* (Fc, Fig. 1) era el causante del problema. Este esfuerzo dio lugar a la tercera generación de antivenenos (vigente en la actualidad; Fig. 9), conocida como faboterápicos, que es una mezcla de fragmentos de anticuerpos $F(ab')_2$, es decir, Igs carentes del fragmento

Fc (Fig. 1) dirigidos contra todos los componentes del veneno (incluyendo componentes no tóxicos). Para lograr la neutralización de las toxinas en los pacientes envenenados, se administra una cantidad considerable de antiveneno, lo cual implica introducir altas concentraciones de anticuerpos de caballo al humano.

En México los antivenenos que se administran en el sector salud son producidos por: 1) Instituto Bioclon S.A. de C.V. comercializado por Laboratorios Silanes con el nombre Alacramyn® Faboterápico polivalente y 2) Birmex (Laboratorios de Biológicos y Reactivos de México, S.A. de C.V. con el nombre de Faboterápico antialacrán.

Figura 9. Proceso usado en la actualidad para producir antivenenos en caballos contra la picadura de alacrán.



En resumen, los fabo-terápicos se obtienen del procesamiento de las Igs con pepsina. Esta proteína tiene la propiedad de cortar a las inmunoglobulinas en un sitio específico de tal manera que permite eliminar el fragmento Fc (Figs. 1 y 9). Al final del proceso, los fragmentos F(ab')₂ son recuperados, evaluados en su capacidad neutralizante y envasados de acuerdo con la norma oficial aplicada a este tipo de medicamentos (Fig. 9). Pensando que la terapia actual podría ser mejorada u optimizada, se decidió crear un nuevo antiveneno más específico y seguro. Este último iría dirigido exclusivamente contra las toxinas más abundantes y tóxicas de las especies más ponzoñosas de alacranes mexicanos (Fig. 10).

Los primeros esfuerzos fueron encaminados a "humanizar" los anticuerpos obtenidos de diferentes animales, especialmente de ratones. Esta generación, la cuarta, no tuvo éxito. Los antivenenos antialacrán de última (quinta) generación serían aquellos formulados con una mezcla de anticuerpos recombinantes de origen humano optimizados para neutralizar las toxinas más abundantes y tóxicas de los venenos. Este es el punto central de este artículo.

Figura 10. Algunos alacranes
 mexicanos peligrosos
 pertenecientes al género
Centruroides.



Centruroides suffusus suffusus
 Durango



Centruroides noxius
 Nayarit



Centruroides limpidus limpidus
 Morelos y Guerrero



Centruroides tecomanus
 Colima

Alacranismo: problema de salud pública

Los accidentes por picadura de alacrán son muy frecuentes a nivel mundial, por lo que son considerados un problema de salud pública (CHIPPAUX, 2012). Los venenos de estos animales contienen diversos componentes, siendo los de mayor importancia médica las toxinas que afectan la actividad de los poros moleculares o canales que permiten el paso de sodio en las células de mamíferos. Dichas toxinas son las causantes de las intoxicaciones severas y en caso extremo, la muerte (revisado en RODRIGUEZ DE LA VEGA and POSSANI 2005). La inhibición de la toxicidad mediante los antivenenos comerciales (principalmente de origen equino) se da porque son de tipo policlonal y polivalente, lo cual significa que contienen anticuerpos que reconocen diferentes determinantes antigénicos (epítopes) de las toxinas y presentan reactividad cruzada, es decir, se unen a varias toxinas similares. En la actualidad, se buscan alternativas al uso de animales para la producción de antivenenos. En nuestro caso, aquellos que funcionen contra la picadura de alacrán. La vía más prometedora en la actualidad es la tecnología del despliegue en fagos de bancos de varios orígenes, por ejemplo, de camello, llama o humano (HMILA, SAERENS *et al.* 2010; RIANO-UMBARILA, CONTRERAS-FERRAT *et al.* 2011; RIANO-UMBARILA, OLAMENDI-PORTUGAL *et al.* 2013).

El origen puede ser cualitativamente distinto: animales inmunizados o sin inmunizar. La diferencia entre ellos será la riqueza de anticuerpos específicos, siendo los inmunizados los que tendrán una mayor especificidad. En nuestro caso, por tratarse de antivenenos de origen humano, no es posible, por razones éticas, inmunizar individuos con veneno de alacrán. La forma en la que hemos logrado tener anticuerpos específicos

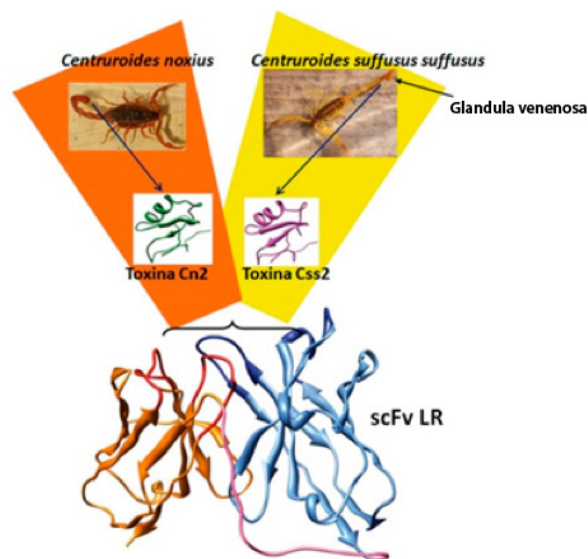
y neutralizantes ha sido imitando los mecanismos que ocurren *in vivo* para aumentar la "fuerza" de unión de los anticuerpos por medio de manipulaciones hechas en tubos de ensayo. Mediante estas manipulaciones es posible modificar los anticuerpos para que puedan unirse a las toxinas con la fuerza suficiente para neutralizar sus efectos (Fig. 8). Algunos fragmentos de anticuerpos obtenidos a través del despliegue de repertorios de animales inmunizados con veneno o madurados *in vitro* han mostrado tener la capacidad de proteger contra el efecto del veneno completo. El formato de anticuerpo más ampliamente usado es el fragmento variable de cadena sencilla (scFv). Una forma de garantizar la inocuidad de los scFvs, es que sean de origen humano (VAN DIJK and VAN DE WINKEL, 2001).

La ventaja del uso de estos fragmentos de anticuerpo es su relativa facilidad de manipulación (JUNG *et al.* 1999). Los antecedentes en los que está sustentado nuestro proyecto son el resultado de décadas de ardua investigación en el grupo del Dr. Lourival Possani. Un hallazgo fundamental fue el descubrimiento de que en el veneno de los alacranes mexicanos (Figs. 10 y 11) hay una o algunas pocas toxinas abundantes y tóxicas. Un segundo elemento sustancial fue la demostración de que era posible obtener anticuerpos de ratón puros y específicos (anticuerpos monoclonales), capaces de neutralizar el efecto de esas toxinas y del veneno completo. Con esos antecedentes, nos dimos a la tarea de evaluar nuestro banco de anticuerpos humanos. Se aislaron dos scFvs (3F y C1) que reconocen a la toxina Cn2, componente letal del veneno del alacrán más tóxico de México (*Centruroides noxius*) (RIANO-UMBARILA *et al.*, 2005). Esta pequeña toxina, constituida por 66 aminoácidos, modifica de manera altamente específica las funciones de compuerta del canal de sodio humano 1.6 (SCHIAVON, SACCO *et al.* 2006). Debido a su tamaño relativamente pequeño, las toxinas se distribuyen rápidamente a través del torrente sanguíneo llegando a sus moléculas blanco, los canales iónicos.

Estos poros moleculares permiten el paso de átomos cargados como el ión sodio (Na⁺). De las cantidades óptimas de este ión dentro y fuera de las células, depende el buen funcionamiento de las mismas. Las toxinas del veneno afectan la actividad de estos canales causando una serie de síntomas de intoxicación que pueden llegar a causar la muerte. La neutralización de las toxinas debe ocurrir en el menor tiempo posible, para evitar la defunción. El tamaño de los scFvs (Fig. 2) los coloca como idóneos para ser usados como antivenenos, ya que se difunden rápidamente hacia donde están las toxinas y las neutralizan. Mediante varios ciclos de maduración del anticuerpo original (scFv 3F) (Fig. 8) y la incorporación de una modificación específica previamente caracterizada como importante para la mejora de los anticuerpos, se logró

estos canales causando una serie de síntomas de intoxicación que pueden llegar a causar la muerte. La neutralización de las toxinas debe ocurrir en el menor tiempo posible, para evitar la defunción. El tamaño de los scFvs (Fig. 2) los coloca como idóneos para ser usados como antivenenos, ya que se difunden rápidamente hacia donde están las toxinas y las neutralizan. Mediante varios ciclos de maduración del anticuerpo original (scFv 3F) (Fig. 8) y la incorporación de una modificación específica previamente caracterizada como importante para la mejora de los anticuerpos, se logró

Figura 11. Se ilustran las estructuras moleculares de la principales toxinas presentes en el telson (glándula venenosa) de los alacranes *Centruroides noxius* y *Centruroides suffusus suffusus*. Abajo se muestra la estructura molecular del scFv LR capaz de neutralizar el veneno de ambas especies.



obtener el scFv LR. Este scFv reconoce y neutraliza las principales toxinas de los venenos de los alacranes *C. noxius* y *C. suffusus suffusus* (Cn2 y Css2 respectivamente; Fig. 11) (RIANO-UMBARILA, CONTRERAS-FERRAT *et al.* 2011).

En pruebas de neutralización, en las cuales se inyecta una gran cantidad de veneno completo en ratones, el scFv LR fue capaz de abatir los síntomas del veneno del alacrán de Durango *Centruroides suffusus suffusus*. Sin embargo, en el caso de la neutralización del veneno de *Centruroides noxius* (Nayarit) y a pesar de lograrse una sobrevivencia de entre 90% y 100%, se observaron algunos síntomas de intoxicación (RIANO-UMBARILA, CONTRERAS-FERRAT *et al.* 2011). Estos pueden deberse a la presencia de otras toxinas del veneno que tienen un alto parecido con Cn2 y a que, aunque se encuentran en menor proporción, no son neutralizadas por el scFv LR. Por esta razón se buscó generar un nuevo anticuerpo que garantizara la neutralización del veneno completo sin dejar síntomas. A partir del scFv C1 original se construyó un banco de anticuerpos modificados para neutralizar a la toxina Cn2, aislándose la variante 3H. Debido al alto grado de similitud de las toxinas del género *Centruroides*, se espera detectar reactividad cruzada de los scFvs. Esta plasticidad de los anticuerpos puede ser aprovechada para ampliar su capacidad para unirse a otras toxinas parecidas. El nuevo banco del scFv C1 modificado se puso en contacto con dos toxinas del veneno de uno de los alacranes (*Centruroides limpidus limpidus*) que causan un número importante de picaduras en los estados de Morelos, Guerrero y zonas vecinas.

Las principales toxinas de este alacrán se llaman CII1 y CII2. Después de someter ese banco a dos ciclos de modificación y evaluación (ciclos de evolución dirigida) contra la toxina CII1, se obtuvo el scFv 202F. Este anticuerpo fue capaz de neutralizar la toxina CII1 y, sorprendentemente, también a Cn2 (RIANO-UMBARILA, OLAMENDI-PORTUGAL *et al.* 2013). En resumen, se han aislado anticuerpos neutralizantes de los venenos de *Centruroides noxius* y *Centruroides suffusus suffusus* sin dejar síntomas. En cuanto al veneno de *Centruroides limpidus limpidus*, se cuenta con un avance de 90%. En el caso del veneno de alacranes del género *Tityus* (endémicos de Sudamérica), se tienen varios anticuerpos recombinantes que están siendo optimizados para neutralizar el veneno de esos alacranes.

Conclusiones

El trabajo de nuestro grupo ayudará en un futuro a contender con potenciales problemas asociados a la producción de los antivenenos antialacrán de origen equino. El contar con una fuente alternativa segura, en la que se pueda estandarizar y optimizar la producción homogénea de antivenenos con cultivos celulares crecidos en reactores controlados con sistemas automatizados, a diferencia de la dependencia de la respuesta inmune de cada caballo, es una garantía en un futuro cercano. Adicionalmente, por su bajo peso molecular, los fragmentos de anticuerpo de cadena sencilla tienen una óptima efectividad terapéutica gracias a su rápida distribución y eliminación. La rápida biodistribución y una adecuada eliminación de los complejos anticuerpo-toxina son factores determinantes para neutralizar el envenenamiento agudo por picadura de alacrán. Estas propiedades ubican a los scFvs como elementos terapéuticos idóneos en este tipo de inmuno-terapia.

El mensaje relevante de lo que se ha descrito es que con la optimización de esta plataforma tecnológica se estaría en capacidad de aislar anticuerpos específicos para millones de antígenos distintos. Actualmente, la agencia de Estados Unidos que otorga los permisos para la comercialización de fármacos y alimentos (FDA, Food and Drug Administration, equivalente a nuestra Secretaría de Salud) revela que aproximadamente el 30% de los fármacos aprobados o por aprobarse son anticuerpos. Esto habla por sí solo de la importancia actual de los anticuerpos.

En cierta forma, estaríamos hablando del siglo XXI como el siglo de los fármacos de tipo anticuerpo. Es importante destacar que en nuestro laboratorio hemos desarrollado esta plataforma tecnológica que permitirá obtener anticuerpos para los propósitos que sean requeridos, ya sea para curar o para diagnóstico de enfermedades. La realización de este tipo de investigaciones deriva en una aplicación biotecnológica en el área de la salud que puede ser muy importante. Se espera que a largo plazo se pueda contribuir a solucionar problemas relevantes de salud usando estas tecnologías, aplicándolas para combatir otras enfermedades. Además, el poder establecer contactos con la industria también resulta en un proceso de aprendizaje que fortalece a los dos sectores. A nivel mundial, algunas compañías farmacéuticas de países desarrollados son quienes lideran el desarrollo y comercialización de los medicamentos. Desarrollar anticuerpos terapéuticos en México ayudaría al progreso del país y a tener liderazgo en la industria farmacéutica moderna. ❄

Agradecimientos

CONACyT CB2010-155099-Q; DGAPAIN-201913; Instituto Bioclon P-254.

Bibliografía

- [1] AZZAZY, H. M. and W. E. Highsmith, Jr. "Phage display technology: clinical applications and recent innovations." *Clin. Biochem.* 2002, 35(6): 425-445.
- [2] BENHAR, I. "Biotechnological applications of phage and cell display." *Biotechnol. Adv.* 2001, 19(1): 1-33.
- [3] BREKKE, O. H. and G. A. Loset. "New technologies in therapeutic antibody development." *Curr. Opin. Pharmacol.* 2003, 3(5): 544-550.
- [4] CHIPPAUX, J. P. "Emerging options for the management of scorpion stings." *Drug Des Devel Ther.* 2012, 6: 165-173.
- [5] ESPINO-SOLIS, G. P., L. Riano-Umbarila, *et al.* "Antidotes against venomous animals: state of the art and perspectives." *J. Proteomics*, 2009, 72(2): 183-199.
- [6] HMILA, I., D. Saerens, *et al.* "A bispecific nanobody to provide full protection against

lethal scorpion envenoming." *FASEB J.* 2010, 24(9): 3479-3489.

- [7] JUNG, S., A. Honegger, *et al.* "Selection for improved protein stability by phage display." *J. Mol. Biol.* 1999, 294(1): 163-180.
- [8] RIAÑO-UMBARILA, L., G. Contreras-Ferrat, *et al.* "Exploiting cross-reactivity to neutralize two different scorpion venoms with one single chain antibody fragment." *J. Biol. Chem.* 2011, 286(8): 6143-6151.
- [9] RIAÑO-UMBARILA, L., T. Olamendi-Portugal, *et al.* "A novel human recombinant antibody fragment capable of neutralizing Mexican scorpion toxins." *Toxicon*, 2013, 76: 370-376.
- [10] RODRIGUEZ DE LA VEGA, R. C. and L. D. Possani. "Overview of scorpion toxins specific for Na⁺ channels and related peptides: biodiversity, structure-function relationships and evolution." *Toxicon*, 2005, 46(8): 831-844.
- [11] SCHIAVON, E., T. Sacco, *et al.* "Resurgent current and voltage sensor trapping enhanced activation by a beta-scorpion toxin solely in Nav1.6 channel. Significance in mice Purkinje neurons." *J. Biol. Chem.* 2006, 281(29): 20326-20337.
- [12] VAN DIJK, M. A. and J. G. van de Winkel. "Human antibodies as next generation therapeutics." *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2001, 5(4): 368-374