



Universidad Nacional
Autónoma de México



Instituto de Biotecnología
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

4
Aniversario

Simposio

**"Medicina molecular: presente y futuro en el Departamento
de Medicina Molecular y Bioprocesos"**

Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos

Resúmenes

Miércoles 7 de septiembre 2022

Evento realizado en el marco del 40 aniversario del IBT UNAM

“Historia del grupo de bioquímica estructural de iBT, de enzima alostéricas al estudio de los daños por radiación con perspectivas metodológicas y mecanísticas”

Dr. Enrique Rudiño Piñera

El área de especialidad, y donde se ha enfocado el desarrollo académico de nuestro Grupo de Investigación en sus 13 años de existencia es la Biología Estructural, con énfasis en la Bioquímica Estructural. En este sentido, hemos abordado como temas centrales la descripción y comprensión del funcionamiento a nivel atómico, tanto catalítico como en su caso alostérico, de distintas proteínas, utilizando para esto un acercamiento multidisciplinario, en el cual el conocimiento de la estructura 3D es importante pero no suficiente. Desde los años 80 del siglo pasado surgió la idea de que la descripción 3D de una proteína era fundamental para comprender el mecanismo catalítico y sus implicaciones en sistemas enzimáticos. Si bien, se presentaron varios casos con resultados funcionales, existen multitud de ejemplos en que la mera descripción 3D fue insuficiente para describir cabalmente el proceso enzimático, y más aún cuando esta descripción 3D se basó solamente en datos de difracción de rayos X de cristales, es decir, la razón principal de estos fracasos se debe al uso de una sola técnica durante el proceso descriptivo. Por esta razón, en el Grupo de Bioquímica Estructural del IBT, utilizamos un enfoque integrativo de diversas técnicas con el fin de conjuntar información sobre el comportamiento enzimático y de otras proteínas a distintos niveles, incluso a nivel subatómico. El uso de técnicas de Biología Molecular, Microbiología, Purificación y Química de Proteínas, Cristalografía, Difracción de Rayos X, RMN, microPIXE, EPR, DLS, Calorimetría, Fluorescencia, RMN, Microscopía Electrónica, Espectroscopia UV-Visible, RAMAN, CD, SAXS, entre otros, es común dentro del grupo, generando resultados detallados en diversos sistemas proteicos, sobre todo en aquellos donde la presencia de centros metálicos es una característica funcional o estructural. En una primera etapa en el desarrollo del quehacer del grupo, este tipo de aproximación se utilizó en enzimas con Fe y/o Cu (lacasas y peroxidasas), sin embargo, este enfoque se ha y seguirá siendo ampliado en concordancia con el desarrollo de los proyectos del grupo, tanto en metaloenzimas como en otro tipo de enzimas. El desarrollo del grupo ha dado lugar a una expansión de las líneas de investigación y como resultado de esto actualmente se estudia la función y características de inhibidores de proteasas; las relaciones estructurales entre venenos y anticuerpos; las características estructurales que confieren resistencia a altas dosis de radiación ionizante a ciertos microorganismos; las características estructurales de enzimas que confieren resistencia frente a antibióticos a microorganismos resistentes; las características prolongan la vida útil de cristales

proteicos con el fin de disminuir los daños intrínsecos de la exposición a rayos X; los determinantes estructurales que confieren la característica de biofluorescencia a varias proteínas similares a la proteína verde fluorescente; los mecanismos de transporte de metales en microorganismos y el estudio estructural de las proteínas que les permiten a varias especies el sobrevivir en hábitats altamente contaminados o extremos. Todos estos enfoques tienen un eje en común, el estudio y consolidación de la Bioquímica Estructural como un área directriz de aproximaciones modernas para resolver problemas desde básicos hasta aplicados en ciencias bioquímicas. El desarrollo de esta área de Bioquímica Estructural nos ha permitido alcanzar un reconocimiento local e internacional, con un amplio número de estudiantes de posgrado y siendo a la fecha uno de los grupos latinoamericanos con más estructuras cristalográficas determinadas y depositadas en el PDB.

De la inmunología básica a la inmunología menos básica

Yvonne Rosenstein

Mi encuentro con la inmunología ocurrió en el doctorado, al demostrar que una micotoxina producida por *Fusarium sporotrichoides*, un hongo que crece en los cereales mal almacenados y que causó la muerte de numerosos soldados rusos durante la segunda guerra mundial era un potente inmunosupresor. Los resultados eran impresionantes: la T-2 toxina abatía totalmente la respuesta inmune adaptativa T-dependiente. La T-2 toxina se perfiló por un par de años como un potencial inmunosupresor con utilidad clínica, pero por su gran toxicidad a nivel de riñones, intestino y sistema nervioso la descartaron rápidamente de cualquier uso clínico.

Más adelante, en el grupo del Dr. Burakoff, tuve la fortuna de contribuir a la identificación de varios pares de receptores/ligandos centrales para la activación de los linfocitos T (CD4/MHC II; CD8/MHC I; CD2/LFA3), antes de toparme con otra molécula co-receptora, CD43. Como las anteriores, esta abundante sialomucina participa en las interacciones célula-célula. Identifiqué el primer ligando (ICAM-1) de esta molécula para la cual hoy día ya se han identificado ya más de seis ligandos. A esta multiplicidad de ligandos corresponde también el carácter multifuncional de CD43. Además de demostrar que el dominio intracelular de CD43 es indispensable para generar una gran diversidad de señales que inciden sobre la locomoción, la migración, la activación y proliferación celular, nuestro grupo ha contribuido de manera importante a caracterizar las diversas vías de señalización en las que participa CD43.

A lo largo de los años y utilizando CD43 como una molécula modelo, los intereses de nuestro grupo han ido transitando hacia aspectos menos básicos de la inmunología. Dado que CD43 es reconocido por diversas moléculas propias de agentes patógenos, evaluamos las consecuencias funcionales de estas interacciones. CD43 ha sido involucrado en el desarrollo de la tuberculosis, y de la endocarditis asociada a *S. gordonii*. Demostramos *in vitro* que la interacción de CD43 con dos chaperonas de *M. tuberculosis* (Cpn60.2 y DnaK), o bien con la adhesina Hsa de *S. gordonii* induce la producción de varias citocinas asociadas a la contención/resolución de la infección por estos patógenos. Actualmente nos encontramos descifrando los resultados de experimentos realizados *in vivo* para valorar la participación multifuncional de CD43 en la contención de la infección por *M. tuberculosis*.

De ser una molécula exclusivamente leucocitaria, CD43 es ahora considerada como una molécula de mal pronóstico en múltiples tipos de cáncer. Apartándonos de la inmunología, demostramos que en tumores no-hematopoyéticos como el cáncer de células no pequeñas de pulmón (NSCLC), CD43 incide sobre varios sellos propios de las células tumorales como son la capacidad de remodelar el microambiente tumoral, favoreciendo la angiogénesis y promover la proliferación mediante la inhibición de la vía de HIPPO.

Finalmente, pero no menos importante, una parte del trabajo de nuestro grupo se ha centrado en la búsqueda y caracterización de pequeños péptidos de defensa con capacidades inmunomoduladoras y antimicrobianas. Disponemos de una biblioteca de péptidos que han mostrado tener múltiples efectos sobre la respuesta inmune *in vitro* e *in vivo*, con diferentes modelos de inflamación, resaltando el potencial uso clínico de este tipo de moléculas.

A lo largo de mi plática, resaltaré algunos de estos puntos.

Consortio de Neuroinmunobiología

Leonor Pérez Martínez & Gustavo Pedraza

“En busca de nuevos tratamientos y blancos terapéuticos para viejos males”

Nuestra investigación se centra en la creciente acumulación de evidencias experimentales que indican que la inflamación es la causa de diversas patologías en el humano. Nuestro grupo aborda esta problemática desde un punto de vista multidisciplinario al conjugar las áreas de las neurociencias e inmunología con el fin de definir los mecanismos moleculares mediante los cuales la inflamación propicia la aparición de enfermedades crónico-degenerativas como la diabetes tipo 2, la enfermedad de Alzheimer, y la enterocolitis. También estudiamos cómo una inflamación materna en etapa gestacional resultante de proceso infeccioso induce cambios en el neurodesarrollo y en el comportamiento (autismo, depresión, esquizofrenia) en la descendencia adulta. De igual manera, estudiamos los mecanismos moleculares que *Mycobacterium tuberculosis* mediante los cuales promueve un ambiente antiinflamatorio para asegurar su sobrevivencia y un proceso infeccioso exitoso. Para abordar estas preguntas realizamos investigación intra- e interdisciplinaria usando diferentes modelos que recapitulan las patologías que estudiamos.

Dada la relevancia clínica de la inflamación, para nuestro grupo es prioritario aplicar el conocimiento generado a través de nuestra investigación básica, para desarrollar nuevas estrategias encaminadas a contrarrestar la inflamación y/o los procesos neurodegenerativos. Así, hemos caracterizado un extracto estandarizado de *Malva parviflora* con actividad antiinflamatoria que al ser administrado al modelo de la EA disminuye la deposición de placas β -amiloide y retrasa el deterioro cognitivo. Adicionalmente y de acuerdo con su actividad antiinflamatoria, encontramos que *Malva parviflora* tiene efectos profilácticos y terapéuticos sobre el metabolismo de la glucosa y los lípidos, en animales alimentados con una dieta alta en grasa y animales obesos, respectivamente. Hemos identificado compuestos únicos (escopoletina, ácido oleanólico y daucosterol) presentes en el extracto de *Malva parviflora*. Actualmente, realizamos experimentos de dinámica molecular para el diseño racional de un fármaco como una estrategia para prevenir el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas. Para esta línea de investigación establecimos una colaboración con los Dres. Alejandro Zamilpa y Jaime Tortoriello del Centro de Investigación Biomédica del Sur (CIBIS) del IMSS. Recientemente, se nos otorgó el título de patente No. 377931 Extracto hidroalcohólico de *Malva parviflora* y su uso para prevenir y/o tratar síntomas asociados a trastornos neurológicos crónico- degenerativos.

Estudios preclínicos indican que la estimulación social y cognitiva retrasan el desarrollo de demencia y otras enfermedades neurodegenerativas (autismo, infarto cerebral, demencia). En nuestro grupo hemos demostrado que un paradigma de ambiente enriquecido (condiciones habitacionales que promueven una estimulación sensorial, visual, cognitiva, social y motora, donde es importante mantener un componente de complejidad y novedad) restablece el balance energético en animales obesos que ya presentaban el síndrome metabólico. Esto a través de disminuir la inflamación asociada a la obesidad. Nuestros resultados proponen al ambiente enriquecido como una estrategia terapéutica no invasiva para restablecer la homeostasis metabólica en individuos obesos.

Adicionalmente, congruente con que la expresión del alelo Nlrp1b1 confiere un fenotipo de obeso metabólicamente sano en ratones, hemos identificado variantes de un solo nucleótido del gen humano de NLRP1 asociados a marcadores cardioprotectores en pacientes con obesidad.

Actualmente, en colaboración con el INMEGEN, buscamos la incidencia de esta variante alélica en la población mexicana.

El acelerado incremento en la prevalencia de la obesidad infantil debe ser una preocupación prioritaria para la sociedad, especialmente por su asociación con el desarrollo de enfermedades como la diabetes tipo 2, el cáncer y enfermedades neurodegenerativas. Nuestro grupo en colaboración con el IMSS y el Instituto de Salud Pública, identificó que la obesidad en niños mexicanos de 8 a 10 años de edad que provienen de familias disfuncionales, conlleva a una reducción en la longitud de sus telómeros. De manera interesante, observamos que la actividad física ejerce un efecto protector en la longitud de los telómeros en niños obesos. Durante este estudio nuestro grupo optimizó una prueba no invasiva y fácil de realizar para medir la longitud de telómeros. Esta prueba de fácil ejecución y de bajo costo constituye una medida preventiva hacia un futuro más saludable para nuestra sociedad.

Finalmente, presentaremos nuestras perspectivas de estudio con base en los resultados que hemos obtenido.

“El veneno de los alacranes: recuento histórico personal”

Dr. Lourival Possani

En agosto completé 48 años de actividades como investigador y profesor de la UNAM.

Durante este tiempo veo por lo menos tres etapas distintas de las actividades desarrolladas en mi laboratorio, gracias a la inestimable ayuda y contribución de mis estudiantes y gracias a fructíferas colaboraciones con investigadores de 16 países diferentes.

La primera etapa se caracterizó por un extenso trabajo dedicado a la caracterización de componentes tóxicos de las especies de alacranes peligrosos de México, habiendo empezado con una donación del Instituto Butantan de Brasil que permitió incursionar en los aspectos bioquímicos del veneno de *Tityus serrulatus* (alacrán brasileño), utilizado como modelo para la purificación y determinación de la estructura química de la toxina “gama” de este veneno, con la colaboración importante del Dr. Alejandro Alagón. Las estrategias desarrolladas permitieron estudiar las seis especies de alacranes peligrosos de México, todos del género *Centruroides*, que permitieron la identificación de una docena de péptidos tóxicos de estos venenos. Una vez determinada la estructura química de estas toxinas nos dedicamos durante los primeros 20 años de mi trabajo en la UNAM a sintetizar fragmentos de los péptidos tóxicos con la intención de desarrollar una vacuna sintética en contra de los alacranes Mexicanos, que afectan en promedio a trescientos mil personas anualmente en México. Este trabajo contó con la inestimable colaboración de la Dra. Georgina Gurrola Briones, asociada a mi grupo.

El hecho de que la posible vacuna sintética no diera los frutos esperados, por la falta de afinidad de los anticuerpos que reconocían a las toxinas del veneno y en parte también debido a que la incidencia del piquete exige la presencia inmediata de anticuerpos específicos, cambiamos los esfuerzos dedicados a la vacuna por un mejor conocimiento de la estructura genómica de los componentes de las glándulas de veneno, gracias a la ayuda y colaboración del grupo del Dr. Francisco Bolívar. Este trabajo constituye una segunda etapa importante de mi trabajo en la UNAM, totalmente desarrollado aquí en Cuernavaca, en el entonces llamado Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Se clonaron y secuenciaron los primeros genes que codifican para los varios componentes del veneno de los alacranes. La participación del Dr. Baltazar Becerril fue fundamental en esta etapa. La expresión heteróloga de estos genes permitió la obtención de inmunógenos capaces de generar un antiveneno eficiente en ratones, conejos y caballos. En esta etapa también contamos con la ayuda del Prof. Enzo Wanke y Dra. Rita Restano Cassulini

para ayudar en el conocimiento fino del mecanismo de acción de las toxinas que afectan canales iónicos de sodio. En esta etapa tuvimos el apoyo de los Laboratorios Silanes y su subsidiaria la compañía Instituto Bioclón S.A. de C.V.

La tercera etapa del trabajo comprende los estudios de otros componentes NO TÓXICOS del veneno de los alacranes, con la caracterización de algunos componentes de especies de alacranes no peligrosos al humano. Se han encontrado y descritos muchos componentes que funcionan como anti-insecticidas, inmunomodulares, antibióticos pépticos y enzimas diversas. También permitió incursionar en el conocimiento de componentes no proteicos, como haber encontrado precursores de componentes heterocíclicos, verdaderos antibióticos que controlan bacterias importantes como el *Mycobacterium tuberculosis*. Con la disponibilidad de nuevos equipos que permitían el conocimiento rápido de los componentes del veneno por medio de tanscriptomas y proteomas de la glándula de veneno y de los venenos de los alacranes, nuestro grupo dio un salto cuántico en el conocimiento de los componentes del veneno de los mismos. Este trabajo continua en este momento con la participación importante de la Dra. Jimena Cid-Urbe.

Finalmente, una actividad relacionada se debe a la colaboración que mi grupo tiene con el Dr. Baltazar Becerril y Dra. Lidia Riaño y sus estudiantes en el desarrollo de un nuevo tipo de antiveneno basado en la producción heteróloga de fragmentos de anticuerpos de origen humano que protegen en contra de las toxinas de la mayoría de las especies peligrosas de alacrán de México.

“El antiveneno contra la picadura de alacrán en México. De la producción en caballos a los reactores biológicos”

Grupo del Dr. Baltazar Becerril

En el mundo, la población mexicana es una de las más afectadas por las picaduras de alacrán (alacranismo) con una media de 300,000 accidentes por año. Los síntomas de envenenamiento son provocados por las toxinas letales de los venenos y que afectan a los canales de sodio dependientes de voltaje. La unión de las toxinas a los canales provoca una afectación funcional de las células nerviosas, lo cual resulta en un bloqueo de los impulsos nerviosos y eventualmente la muerte.

El objetivo central de la investigación de nuestro grupo es la generación de 4-5 fragmentos de anticuerpos recombinantes (producidos en bacterias o levaduras) en formato de cadena sencilla, que sean capaces de neutralizar los venenos de las 21 especies de alacranes ponzoñosos de México. Estos fragmentos de anticuerpo están constituidos por los dominios variables de las cadenas pesada y ligera de las inmunoglobulinas y unidos por un péptido conector. Por sus siglas en inglés (scFv, single chain fragment variable), se les conoce como anticuerpos de cadena sencilla (o única).

Las tecnologías del ADN recombinante, el despliegue en fagos y la ingeniería de anticuerpos, han hecho posible generar y madurar *in vitro* la afinidad por su blanco de fragmentos de anticuerpos, los cuales tienen la potencialidad de tornarse en nuevos agentes terapéuticos. Varios de ellos, se encuentran en diferentes fases clínicas y algunos ya cuentan con la aprobación de la FDA. Si bien los antivenenos producidos en caballos, son eficientes en términos terapéuticos, éstos siguen siendo una mezcla compleja de anticuerpos que reconocen a todos los componentes de los venenos usados para su producción, incluidas las toxinas presentes en los mismos. Los anticuerpos producidos por la hiperinmunización de los caballos en general son de buena afinidad, pero susceptible de ser mejorada. El contar con alternativas que permitan desarrollar antivenenos de última generación que sean eficientes y seguros es muy importante. Algunos aspectos clave para la eficiencia de los antivenenos recombinantes y que se abordan en nuestra investigación, son su completa caracterización a nivel molecular, su reactividad cruzada, su estabilidad y su afinidad por las toxinas entre otros, por lo que, al cumplirse con esos parámetros, estos nuevos antivenenos se consideran como una alternativa prometedora para que en su momento puedan sustituir a los actuales.

A partir de un repertorio de scFvs desplegados en la superficie de virus bacterianos de tipo filamentoso y puesto en contacto con las principales toxinas de los venenos en forma consecutiva (rondas de tamizado), ha sido posible identificar aquellos que son específicos. La maduración *in vitro* de su afinidad por las toxinas a través de evolución dirigida y diversas estrategias de mutagénesis y sus respectivas rondas de tamizado, ha permitido obtener scFvs neutralizantes de las principales toxinas presentes en los venenos. El parámetro principal que determina el potencial terapéutico de los scFvs es una alta afinidad por las toxinas, la cual se determina mediante un sensor de interacciones moleculares en tiempo real donde las cinéticas de asociación y disociación permiten asignar las respectivas constantes de afinidad. En estrecha colaboración con el grupo del Dr. Lourival Possani, a través de la

caracterización de los venenos en su grupo, hemos aprendido que, dependiendo de la complejidad de los venenos, (número de toxinas médicamente importantes), uno o más de estos scFvs son capaces de neutralizar todo el veneno. Hemos optimizado dos scFvs (LR y 10FG2; patentes concedidas) que son capaces de neutralizar, usando ratones, a los venenos de 7 de las 21 especies consideradas médicamente importantes en México y una de ellas también en USA.

Por otro lado, hemos estado generando nuevos scFvs tanto de origen humano como de ratón, dirigidos contra otro grupo de toxinas y que junto con LR y 10FG2, nos están permitiendo neutralizar de manera preliminar otros 6 venenos. Estos nuevos scFvs y otros que se sigan generando, nos permitirán hacer una selección de los 4-5 más optimizados y así implementar la formulación de un antiveneno que sea capaz de neutralizar a todos los venenos de los alacranes ponzoñosos de México. Estos esfuerzos representan un avance muy importante para la modernización de la producción del antiveneno contra la picadura de alacrán en México, en donde entre otras cosas, se estaría evitando el empleo de animales (alacranes, caballos o ratones).

Una ventaja adicional y relacionada con el reducido tamaño molecular del formato scFv comparado con el formato vigente ($F(ab)_2$; tan solo un 25% de este último), y en función de su alta afinidad hacia las toxinas, será posible aplicar una menor cantidad de proteína para lograr una neutralización total de los venenos. Por otro lado, este nuevo antiveneno tendría un mínimo carácter inmunogénico. Además, tendría una distribución más rápida en el cuerpo y una completa eliminación de las toxinas ligadas a los scFvs vía renal. Hemos demostrado esta prueba de concepto en ratones y próximamente en borregos de aproximadamente 50 Kg (este último en colaboración con el Dr. Alejandro Alagón). Finalmente, su producción en reactores biológicos (fermentadores) controlados electrónicamente garantiza un antiveneno más homogéneo en cuanto al número de componentes (de características conocidas) y en la cantidad requerida de cada uno de ellos, lo que permite que se mantenga la misma calidad entre los lotes de producción. La preparación de un lote de este antiveneno que ayude a implementar los ensayos preclínicos, podrá dar continuidad a los ensayos clínicos y así lograr que el antiveneno finalmente pudiera llegar al mercado.

Consideramos que la experiencia acumulada con esta tecnología permitirá abordar en el futuro, cualquier proyecto que tenga que ver con el desarrollo de anticuerpos terapéuticos de cualquier fuente (humana o animal, inmune o no inmune) con propiedades de afinidad mejoradas con respecto a los generados por el propio sistema inmune.

“Tres lustros y medio en el DMMB, entre síntesis química y expresión heteróloga de neurotoxinas, así como sus implicaciones en ciencia básica y aplicada”

Laboratorio 13, Herlinda Clement, Iván Arenas y Gerardo Corzo.

En 1997, como posdoctorante, en el “Suntory Institute for Bioorganic Research” en Osaka, Japón, comencé una labor multidisciplinaria en la búsqueda de neurotoxinas (Ntx) insecticidas provenientes del veneno de arañas; esto, bajo la tutela de los Dres. Pierre Escoubas y Terumi Nakajima. Estando en el ambiente académico de las neurotoxinas llegué a conocer los trabajos de los Dres. Alejandro Alagón, Baltazar Becerril y Lourival Possani, quienes en aquel tiempo (2000) amablemente me invitaron a lo que sería la primera gemación del Instituto de Biotecnología a un centro dedicado al estudio de “venenos y antivenenos”. Desafortunadamente, o afortunadamente, no se dio esta expansión por lo que, en el 2004, logré ser “repatriado” al país y colaborar como investigador asociado en el grupo del Dr. Possani. Posteriormente, en el año 2012 organizamos el consorcio de “venenos y antivenenos” junto con los Dres. Alagón y Becerril dentro del **DMMB**. La labor académica en investigación de nuestro grupo, con el apoyo de estudiantes y de los Dres. Herlinda Clement e Iván Arenas, así como de los integrantes del consorcio, se ha centrado, entre otras actividades, a la **síntesis química y expresión heteróloga de neurotoxinas y sus implicaciones en ciencia básica y aplicada**. Un ejemplo interesante de nuestro trabajo ha sido la identificación de neurotoxinas que afectan el sitio-4, de unión, en el canal de sodio dependiente de voltaje (Nav) en insectos (homólogo al de mamíferos). Esta investigación también identificó una convergencia de neurotoxinas, de arácnidos, con estructuras primarias, y terciarias, diferentes hacia sitios de unión similares en el Nav. Con respecto a la expresión heteróloga de neurotoxinas hemos abordado la expresión de varias de estas, las cuales son importantes en el envenenamiento por animales ponzoñosos; 1) Arañas como son la Ntx Magi4, 2) Alacranes, CsslI y otras; 3) Elápidos, ScNtx, LcNtx y PLA_{2S}; 4) Vipéridos, PLA_{2S}, metalo-proteasas, serino-proteasas, crotoxina B. El fin de la expresión de estas Ntxs/enzimas ha sido utilizarlas como inmunógenos, o como complementos, en la inmunización de animales para el desarrollo de antivenenos. Algunas de ellas tendrían una potencial aplicación en la elaboración de antisueros. Sin embargo, un problema durante la expresión de las neurotoxinas provenientes de animales ponzoñosos es su gran cantidad de residuos de cys, los cuales son importantes para formar puentes disulfuro, que a su vez permiten darles el andamiaje correcto, y así adquirir su mejor estructura y actividad biológica. Así que, una pequeña porción del tiempo de nuestra investigación también se ha dedicado a tratar de descifrar los residuos de aminoácidos implicados en favorecer el plegamiento de estas proteínas.

En resumen, la integración de estas líneas de investigación en la segunda mitad de los 40 años de existencia del centro/instituto en biotecnología han generado publicaciones nacionales e internacionales de interés (varias citas), así como formación de recursos humanos (varios graduados). Las líneas de investigación aquí presentadas son un tema interesante tanto en el área básica y aplicada de antivenenos, así como sus posibles **implicaciones**, en el área de identificación, diseño y distribución de nuevos compuestos farmacéuticos.

“Desarrollo y mejoramiento de antivenenos 1994-2022”

Dr. Alejandro Alagón Cano

Mi investigación en venenos comenzó en noviembre de 1974 en el laboratorio del Dr. Lourival Possani con la purificación de la toxina principal del veneno del alacrán brasileño *Tityus serrulatus*; para su caracterización Lourival consiguió que fuera a la Rockefeller University al tiempo que tuve la suerte de purificar y caracterizar los alergenicos del veneno de avispa, en el laboratorio de Te Piao King, donde aprendí la poca inmunología que conozco. Y, ¡de ahí pal real!, con un intermedio estudiando la ruta secretoria de *Entamoeba histolytica*, sin dejar de estudiar alguno que otro veneno.

1994 fue el año en que empecé una colaboración con una empresa productora de antivenenos, el Instituto Bioclon, si bien, en 1977, desarrollé un antiveneno anti-Heloderma en borregas con ayuda del Instituto Nacional de Higiene (ahora BIRMEX) que se ha utilizado en dos pacientes. La colaboración con el Instituto Bioclon comenzó poco a poco; cuando nuestro nivel de confianza, el de Bioclon y el mío, se afianzó, firmamos varios convenios de colaboración entre la UNAM y Bioclon de 1996 a 2010. Fue una época muy productiva en la mejoramos dos antivenenos y desarrollamos otros seis (dos aceptados por la FDA). En 2010, terminó la colaboración con Bioclon y empezamos otras con las empresas Veteria e Inosan en la que desarrollamos ocho antivenenos, tanto de uso veterinario como humano, con énfasis para los envenenamientos por alacranes en el norte de África y el Medio Oriente y serpientes de la misma región, así como para las serpientes de África Subsahariana y Europa.

El desarrollo y mejoramiento de antivenenos forzosamente necesita conocer los venenos. Afortunadamente hay varios laboratorios en el mundo que están muy activos haciéndolo al igual que nosotros. La plataforma biotecnológica para fabricar antivenenos -F(ab')₂s de caballo- en México está muy establecida, y es muy robusta, eficaz y de altísima seguridad. La caracterización de venenos víboras y elápidos mexicanos con mis entusiastas y brillantes estudiantes permite prever una mejor cobertura de los antivenenos para la enorme diversidad de serpientes de México.

Actualmente, estamos estableciendo una colaboración entre el IBt, Inosan, el CONACyT y BIRMEX para que el desabasto de antivenenos que ocurre nuestro país se resuelva lo más pronto posible.

En mi presentación hablaré de lo anterior y haré una descripción de las etapas y operaciones unitarias para obtener antivenenos F(ab')₂ a partir de plasma hiperinmunes de caballos.

"Escalando entre proteínas, virus, células y biorreactores hasta la planta de manufactura y la cama del paciente: 31 años del grupo de ingeniería de bioprocesos y nanobiotecnología"

Laura Palomares y Tonatiuh Ramírez

En noviembre de 1990 Tonatiuh Ramírez se incorporó al IBt con el propósito de crear un nuevo grupo de investigación sobre aspectos de bioingeniería del cultivo de células de eucariotes superiores, con el propósito fundamental de producir glicoproteínas recombinantes de interés médico y farmacéutico. Posteriormente Laura Palomares se incorporó al grupo como investigadora, para finalmente constituirnos como consorcio de investigación en el año 2012.

En esta presentación, haremos un recorrido histórico de los modelos biológicos de investigación que principalmente hemos empleado en las últimas tres décadas y los problemas que como grupo de ingeniería hemos abordado con el fin de darles soluciones. Los sistemas de estudio de nuestro consorcio incluyen al sistema células de insecto-baculovirus para la producción de proteínas virales multiméricas (PVM o partículas pseudo-virales) de rotavirus y virus adenoasociado. En esta área hemos realizado contribuciones fundamentales en el entendimiento de los mecanismos y procesos involucrados en el ensamblaje in vitro e in vivo de tan complejas moléculas y además hemos establecido novedosos y eficientes bioprocesos, incluyendo aspectos de cultivo, purificación y medición, para la producción de PVM. Asimismo, tenemos una amplia experiencia a nivel industrial en la producción comercial de PVM, en particular, con el antígeno de superficie del virus de la Hepatitis B para la producción de proteínas recombinantes. En los últimos años, hemos orientado la experiencia de nuestro consorcio a la producción de PVM por células de insecto –baculovirus para la generación de nuevos nanomateriales mediante la funcionalización selectiva de las partículas generadas. Los demás temas de nuestro trabajo versan sobre la fragilidad celular, diseño de biorreactores y bioprocesos, muerte celular programada y glicosilación de proteínas recombinantes. Todos estos aspectos son de especial relevancia para el desarrollo de bioprocesos con utilidad para la producción de proteínas recombinantes de uso terapéutico y profiláctico. Asimismo, hemos sido iniciadores en el país de la aplicación de métodos computacionales modernos en el control y escalamiento (ascendente y descendente) de bioprocesos. En esta área, hemos realizado un trabajo sin precedentes en cuanto a la respuesta celular a gradientes ambientales presentes en reactores industriales. Este trabajo ha incluido desde el análisis de respuestas transcripcionales hasta el perfil de glicosilación de proteínas. Además, hemos propuesto estrategias de ingeniería celular para contender con estos problemas.

Nuestro trabajo ha trascendido muy particularmente del ámbito académico al industrial a través de nuestra amplia labor de asesoramiento y participación en empresas e instituciones, tanto nacionales como extranjeras. Entre tales empresas e instituciones destacan el Instituto Butantan, Sao Paulo, Brasil, Secretaría de Salud del Gobierno Federal, Secretaría de Desarrollo Ambiental del Gobierno del Estado de Morelos, Alimentaria Delphi, Birmex, Biozoo, Fundación Clínica Médica Sur, Grupo Proquifin, Liomont, Protein Sciences, Boheringer Ingelheim, Senosiain y Probiomed, entre otras. Esta labor ha dado diversos frutos como el desarrollo de nuevos productos y procesos biotecnológicos en las áreas de alimentos, farmacéutica y ambiental, así como en la elaboración del Reglamento de la Ley General de Salud de Productos Biotecnológicos. Es de destacarse la participación del Dr. Ramírez durante sus estancias

sabáticas como director científico de Probiomed S.A. de C.V., primer empresa nacional que incursiona en el campo de la biotecnología moderna, desarrollando y llevando al mercado por primera vez en México proteínas recombinantes terapéuticas humanas. Asimismo, el Dr. Ramírez ha participado activamente en la transferencia de tecnología desarrollada en el Instituto de Biotecnología a Probiomed. Asimismo, Laura Palomares fue directora de Desarrollo de Bioprocesos en Protein Sciences Corporation, empresa que desarrolló la primera vacuna recombinante contra influenza humana. El consorcio participó en la transferencia de tecnología a México y el registro de la vacuna a nuestro país.