



## FRAGMENTOS DE ANTICUERPOS RECOMBINANTES DE TIBURÓN CON ACTIVIDAD NEUTRALIZANTE DEL VENENO DEL ALACRÁN *Tityus serrulatus*

Elia Reza<sup>a,b</sup>, Diego Montoya<sup>a</sup>, Eduardo Morales<sup>a</sup> y Alexei Licea<sup>a\*</sup> <sup>a</sup>Laboratorio de Inmunología Molecular y Biotoxinas, Departamento de Biotecnología Marina C.I.C.E.S.E., Km. 107 Carretera Tijuana – Ensenada, 22860 Ensenada, Baja California, México <sup>b</sup> Centro de Biociencias, Área de Biotecnología, Universidad Autónoma de Chiapas, Instalaciones de la Facultad de Ciencias Químicas, Carretera a Puerto Madero Km 2.0, 30700 Tapachula, Chiapas, México. \* alicea@cicese.mx

Palabras clave: Anticuerpos neutralizantes, alacranismo, fragmentos vNAR.

**Introducción.** El envenenamiento por arácnido más importante alrededor el mundo, es la picadura de alacrán (1) por la incidencia y alta severidad de envenenamientos en humanos, calculándose que 2.1 billones de la población está en riesgo a nivel mundial, pero solo más de 1.2 millones son picadas por alacranes ó escorpiones anualmente, ocasionando 3250 muertes (2). A la fecha se han descrito 1500 especies y 21 familias en todo el mundo (3), perteneciendo a la familia Buthidae 49 de las 50 especies más peligrosas de alacranes, altamente toxicas, pero siendo menos de 20 letales para el hombre. Entre la especies más notables y de importancia médica de esa familia se encuentran los géneros *T. bahiensis* y *Tityus serrulatus* especies comunes y letales en América del sur, especialmente Brasil (1). Tradicionalmente, los anticuerpos neutralizantes se obtienen de caballos, los cuales son digeridos enzimáticamente obteniendo fracciones neutralizantes con un tamaño de 100 kDa. Los anticuerpos de tiburón presentan varias ventajas, no presentan cadenas ligeras, por lo que el aislamiento de la parte que reconoce y neutraliza, solo es de 15 kDa, convirtiéndolo en una molécula ideal para la neutralización de venenos.

**Metodología.** Mediante HPLC, se fraccionó el veneno del alacrán *T. serrulatus*, se colectaron fracciones de 5 minutos, las cuales fueron empleadas para aplicarlas en ratones y determinar cual de estas contenía la o las fracciones letales. Una vez identificada, se subfraccionó para identificar las proteínas responsables de la

toxicidad. Estas subfracciones fueron utilizadas para realizar una selección de regiones variables de tiburón del tipo IgNAR, las clonas aisladas fueron expresadas para determinar cual de ellas era capaz de reconocer el antígeno.

**Resultados y discusión.** Se identificaron tres subfracciones letales en los ratones, los cuales murieron 30 minutos después de la aplicación de las toxinas. Una vez realizada la selección de anticuerpos, se aislaron varias clonas capaces de reconocer a los antígenos en un formato de ELISA, en este momento se están analizando las secuencias de DNA de las clonas para identificar exactamente cuantas clonas diferentes hemos aislado, mismas que serán utilizadas para determinar cual de ellas presenta actividad neutralizante sobre las toxinas puras y sobre el veneno total.

**Conclusiones.** El repertorio inmunológico de los tiburones es suficientemente amplio como para poseer anticuerpos contra proteínas de organismos muy alejados evolutivamente, ya que se logró aislar clones productores de anticuerpos que reconocen toxinas del alacrán Sudamericano.

**Agradecimiento.** Este proyecto fue apoyado por Instituto Bioclon SA de CV.

### Bibliografía.

1. Ozkan O. S. Adiguzel S., M. Ertek., J. Lango and B. D. Hammock. 2008. Evaluation of the neutralizing capacity of *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807) antivenom against *Leiurus quinquestriatus* (Ehrenberg, 1928) venom (scorpiones: buthidae) J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis. 14: 481-496.
2. Chippaux J.P. and M. Goyffon. 2008. Review Epidemiology of scorpionism: A global appraisal. 107: 71-79.
3. Barona J., Otero R. y V. Núñez. 2004. Aspectos toxicológicos e inmunológicos del veneno del escorpión *Tityus pachyurus* Pocock de Colombia: capacidad neutralizante de antivenenos producidos en Latinoamérica. Biomédica. 24:42-49