



VALIDACION DE LA PRODUCCION DE NECROTOXINAS RECOMBINANTES DE *Loxosceles spp* PARA LA OBTENCION DEL FABOTERAPICO ANTILOXOSCELICO Reclusmyn®.

Raúl Soria O.^{1,3}, Hilda Vázquez^{1,3}, Angélica Meneses-Acosta³, Alejandro Alagón², Jorge F. Paniagua¹. Laboratorios Silanes¹. Instituto de Biotecnología-UNAM². Facultad de Farmacia-UAEM³. Amores 1304 Col. Del Valle, CP 03100 México D.F. Tel: (52) 55 5488 3700. jpaniagu@silanes.com.mx.

Bioproceso, Loxosceles, necrotoxinas recombinantes.

Introducción. La enfermedad ocasionada por picaduras de arañas del género *Loxosceles* se conoce como *Loxoscelismo*. Este puede presentarse bajo dos formas clínicas: *Loxoscelismo* cutáneo y la más grave, el *Loxoscelismo* cutáneo-visceral o sistémico. En el veneno se han identificado componentes tóxicos y con actividad enzimática de esfingomielinasa D (SMD)⁽¹⁾. Además, se han descrito diversos tratamientos para combatir el loxoscelismo entre los que se incluye el uso de antisueros equinos⁽²⁾. La producción de antisueros heterólogos presenta limitaciones debido a la dificultad para obtener el veneno necesario de las arañas además de que se requiere una infraestructura adecuada para el almacenamiento, manejo y reproducción de especímenes. Por tanto, Laboratorios Silanes en colaboración con el Instituto de Biotecnología de la UNAM, han generado y caracterizado cuatro isótopos de toxinas recombinantes de tres especies de arañas *Loxosceles*, las cuales han demostrado presentar amplias ventajas frente a las toxinas naturales⁽³⁾. Sin embargo, la utilización de proteínas recombinantes para uso humano o como insumo para la producción de otros biológicos debe cumplir con los lineamientos establecidos por las diferentes agencias regulatorias nacionales e internacionales para asegurar la identidad, potencia, calidad y pureza del producto a través de un proceso controlado y consistente. Por ello, en este trabajo se presenta la validación de la producción de necrotoxinas recombinantes de *Loxosceles boneti*, *Loxosceles laeta* y *Loxosceles reclusa* para la obtención del fabotérapico antiloxoscelico Reclusmyn basada en la regulación sanitaria vigente a nivel nacional e internacional.

Metodología. La validación consistió en generar la evidencia documentada de cada una de las etapas del bioproceso para asegurar su reproducibilidad y la calidad de las necrotoxinas recombinantes. Dicha documentación incluyó procedimientos de operación, directivas de manufactura, especificaciones de materia prima, producto en proceso y producto terminado así como los estudios de estabilidad.

Resultados y discusión. Se logró la validación del bioproceso de producción de necrotoxinas recombinantes de *Loxosceles ssp* en diferentes etapas en las que destacan la validación de los bancos celulares, la expansión y producción de las necrotoxinas y finalmente la purificación de las necrotoxinas recombinantes.

1. *Validación del Banco Celular Maestro y del Banco Celular de Trabajo.*- Se evaluaron la identidad, pureza y compatibilidad de los bancos celulares de los cuales se demostró una estabilidad mayor a 24 meses para el Banco celular maestro y mayor a 12 meses del Banco Celular de Trabajo.
2. *Producción, expansión del organismo recombinante y expresión de la toxina.*- Se verificó la reproducibilidad y consistencia del proceso de producción de necrotoxinas, mediante el desarrollo de controles de proceso para asegurar la calidad de las necrotoxinas de *Loxosceles*. Figura 1.

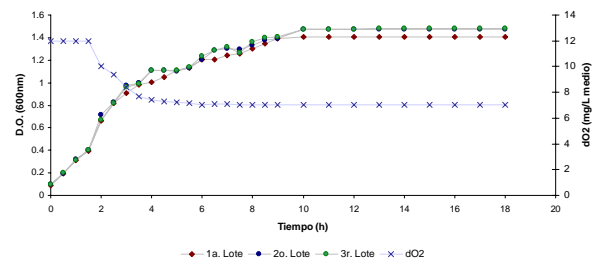


Fig. No. 1. Evaluación del proceso de expansión y expresión.

3. *Cosecha y purificación de necrotoxinas recombinantes.*- Se demostró que el proceso de recobro y purificación genera productos que cumplen con los requerimientos de calidad preestablecidos, además de operar dentro de un proceso controlado.

Conclusiones. El proceso de validación demostró que el proceso de producción genera necrotoxinas recombinantes que cumplen con los requerimientos de calidad preestablecidos, además de que el proceso de producción opera bajo controles de proceso que garantizan su reproducibilidad y consistencia.

Bibliografía.

1. Ramos, R.H. & I.R. Vázquez. 2000, Aracnismo ocasionado por especies del genero *Loxosceles*, dentro del apartado de Urgencias Medico-Quirúrgicas, Revista educativa para la Salud.
2. Ramos- Cerrillo. B., Olvera, A., Odell, G.V., Zamudio, F., Paniagua-Solis, J., Alagón, A. & R. Stock. 2004 Genetic an enzymatic characterization of sphingomyelinase D isoforms from the North American fiddleback spiders *Loxosceles boneti* and *Loxosceles reclusa*. Toxicon 44.
3. U.S. Food and Drug Administration, 1996, Guidance for Industry: For the Submission of Chemistry, Manufacturing and control Information for a Therapeutic Recombinant DNA-Derived Product or a Monoclonal Antibody Product for in vivo use. U.S. FDA Rockville.