



Instituto Nacional de  
Producción de Biológicos

**Alternativas recombinantes para el complemento o reemplazo  
del uso de veneno en la fabricación de antivenenos aracnídicos.**



**ANLIS  
MALBRÁN**

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE LABORATORIOS  
E INSTITUTOS DE SALUD "DR. CARLOS G. MALBRÁN"



**Ministerio  
de Salud**  
República Argentina

Río de Janeiro, 13-15 de mayo de 2025, Brasil.

## ► I+D+i en medicamentos inmunoterapéuticos

Plataforma de producción  
de antivenenos

Innovación en Antígenos  
Mejoras en proceso  
Nuevos productos



## ► Innovación en Antígenos

Innovación en  
antígenos

*Loxosceles laeta*  
*Tityus carrilloi*

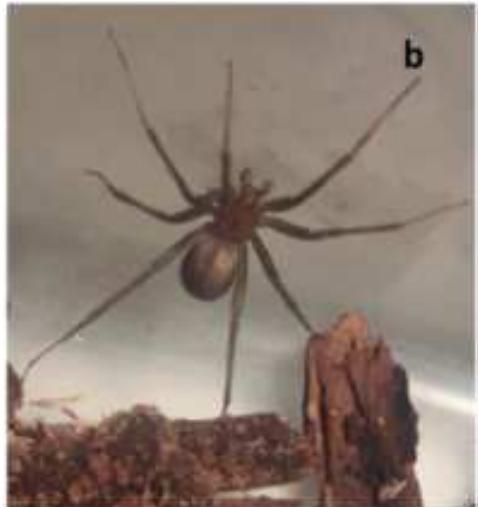


**Cuello de botella productivo:**

- Reproducción en cautiverio
- Captura de ejemplares
- Rendimientos por ordeñe
- Riesgos
- Complejidad (inmunodominancia)



## ► ***Loxosceles laeta*: la araña del rincón**



### **Electroestimulación:**

50 µg de veneno en gotas de 0,15 – 0,45 µl por araña

### **Composición del veneno:**

Varios tipos de toxinas:

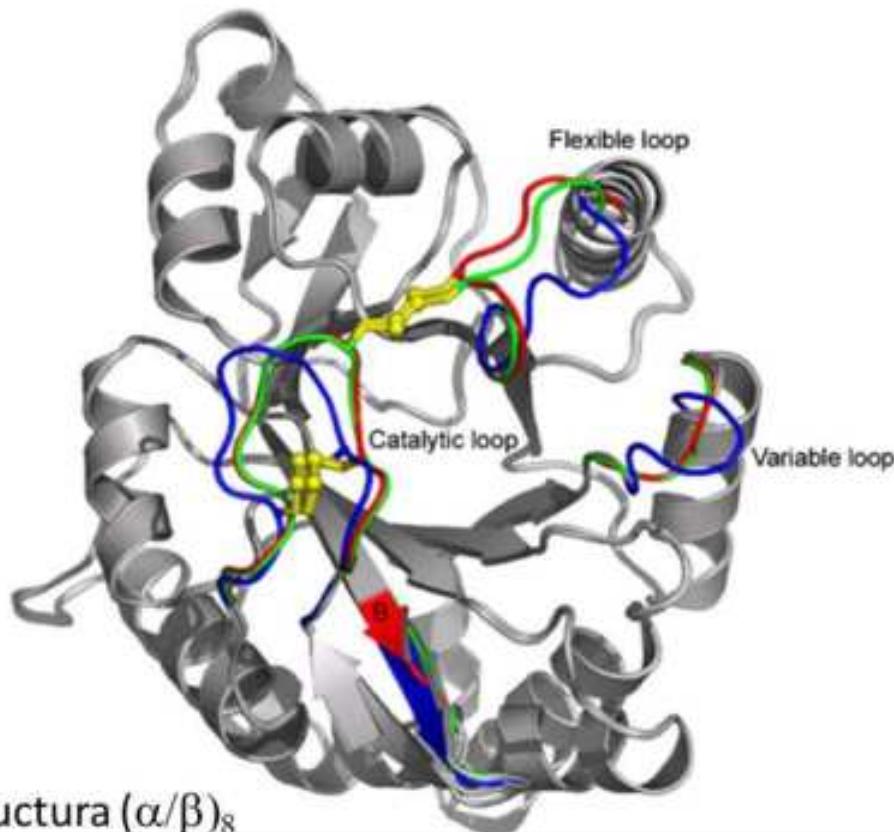
- Metaloproteasas
- Fosfolipasas
- Hialuronidasas
- Péptidos inhibidores (ICK)
- Serino proteasas, etc



## Esfingomielinasa / Fosfolipasa D (SmaseD)

20 – 30 % de las proteínas del veneno.

Principal responsable de cuadros graves.



### Clasificación estructural

SmaseD	<b>Clase 1</b> (1 pte S-S)	Sitio activo más expuesto
	<b>Clase 2a</b>	Hidroliza esfingomielina
	<b>Clase 2b</b>	Poco activa sobre esfingomielina



## ▶ Propuesta innovadora INPB – NANBIOTEC (FFyB): Producción de

## Clase 1:

Solo descritas en *L. laeta*.

## Dos grupos

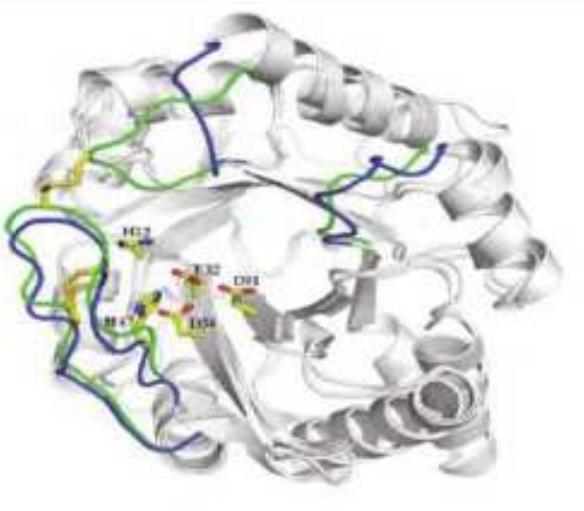
L1, H17, LPLD1

LI2, H13, LPLD2

Secuencia → Clonado → Baculovirus → Infección → Biofábricas → Purificación → Inmunógeno



## ► Etapa 1: expresión SmaseD de Clase 1 con actividad



SmaseD (*Loxosceles laeta*)

Expresada con actividad biológica (17 µg/DMN)



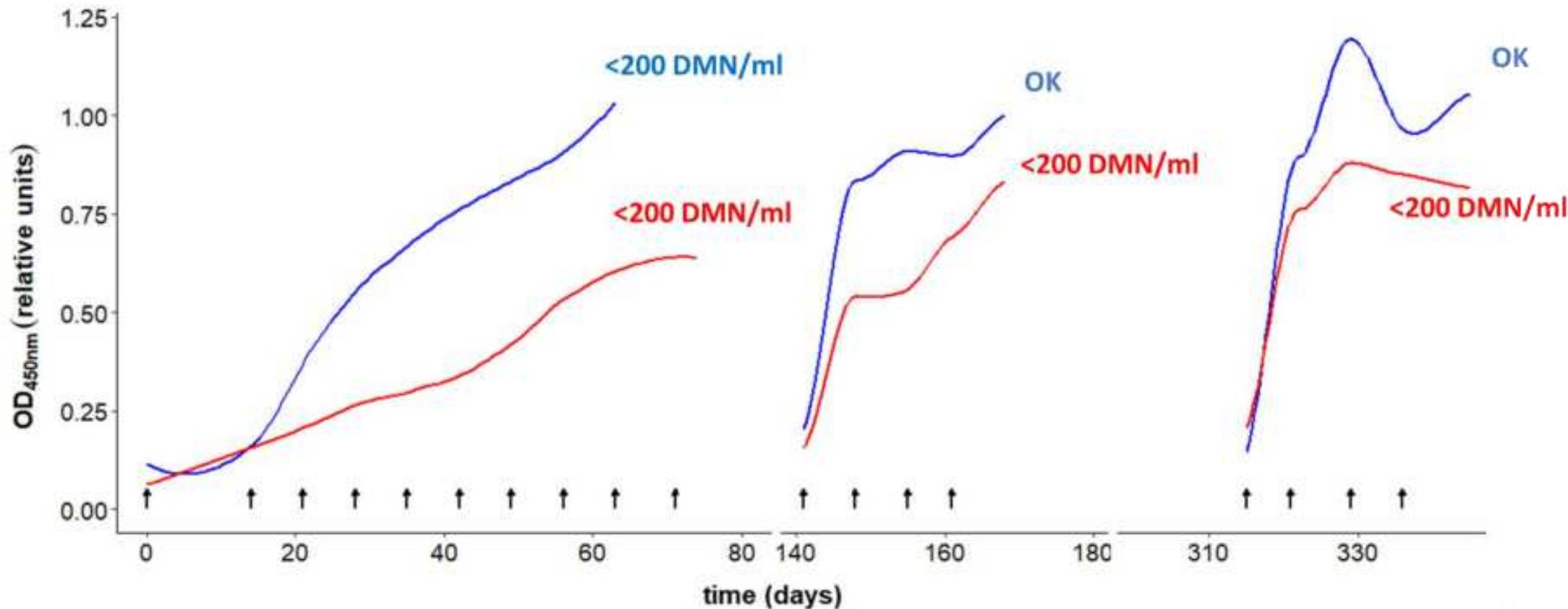
## ► Etapa 2: expresión SmaseD de Clase 1 SIN actividad



rSmaseD wt      rSmaseD mut



## ► Etapa 2: Inmunización equina



Neutralización de rSmseD wt por suero de caballos, 3 ciclos de inmunización



## ► Etapa 2: Producción de lotes piloto de F(ab)'2

Granel de API desarrollo	Conc. Proteínas	Potencia mínima
Azul 1er ciclo	43 g/100 ml	No cumple
Azul 2do ciclo	64 g/100ml	Cumple
Azul 3er ciclo	42 g/100 ml	Cumple
Rojo 2do ciclo	33 g/100 ml	No cumple
Rojo 3er ciclo	56 g/100 ml	Cumple



## ▶ Limitaciones: la neutralización del veneno

**Veneno vs anti-SmaseD mut**



**Hemorragia**



**Dermonecrosis**

**SmaseD wt vs anti-SmaseD mut**



**Etapa 3: Expresión de SmaseD de 2do grupo de Clase I**

## ► Veneno de *Tityus carrilloi*



### Veneno con acción neurotóxica

#### SISTEMA NERVIOSO SIMPÁTICO Y PARASIMPÁTICO



#### Enzimas

Metaloproteasas  
Fosfolipasas  
Hyaluronidasas  
Serin proteasas



#### NEUROTOXINAS

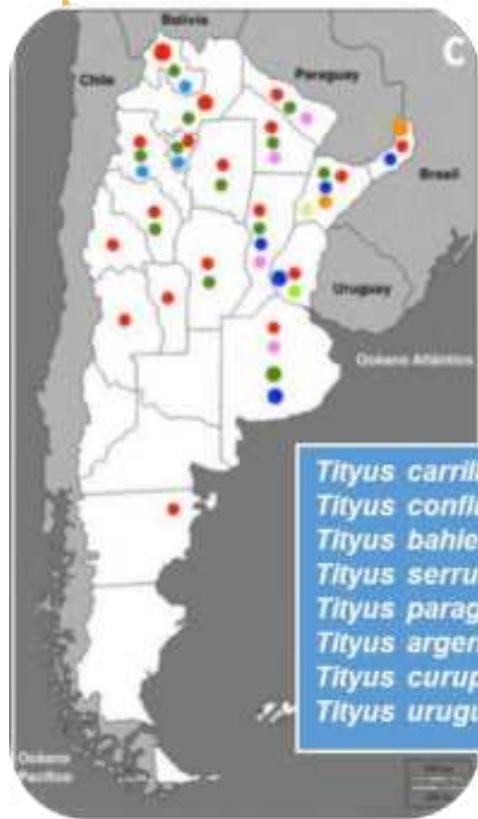
Polipéptidos de 30 a 70 aminoácidos

Tóxicas para:

- ▶ Mamíferos
- ▶ Insectos
- ▶ Mamíferos e insectos



## *Tityus carrilloi*



**Veneno poco estudiado**

## *Tityus serrulatus*

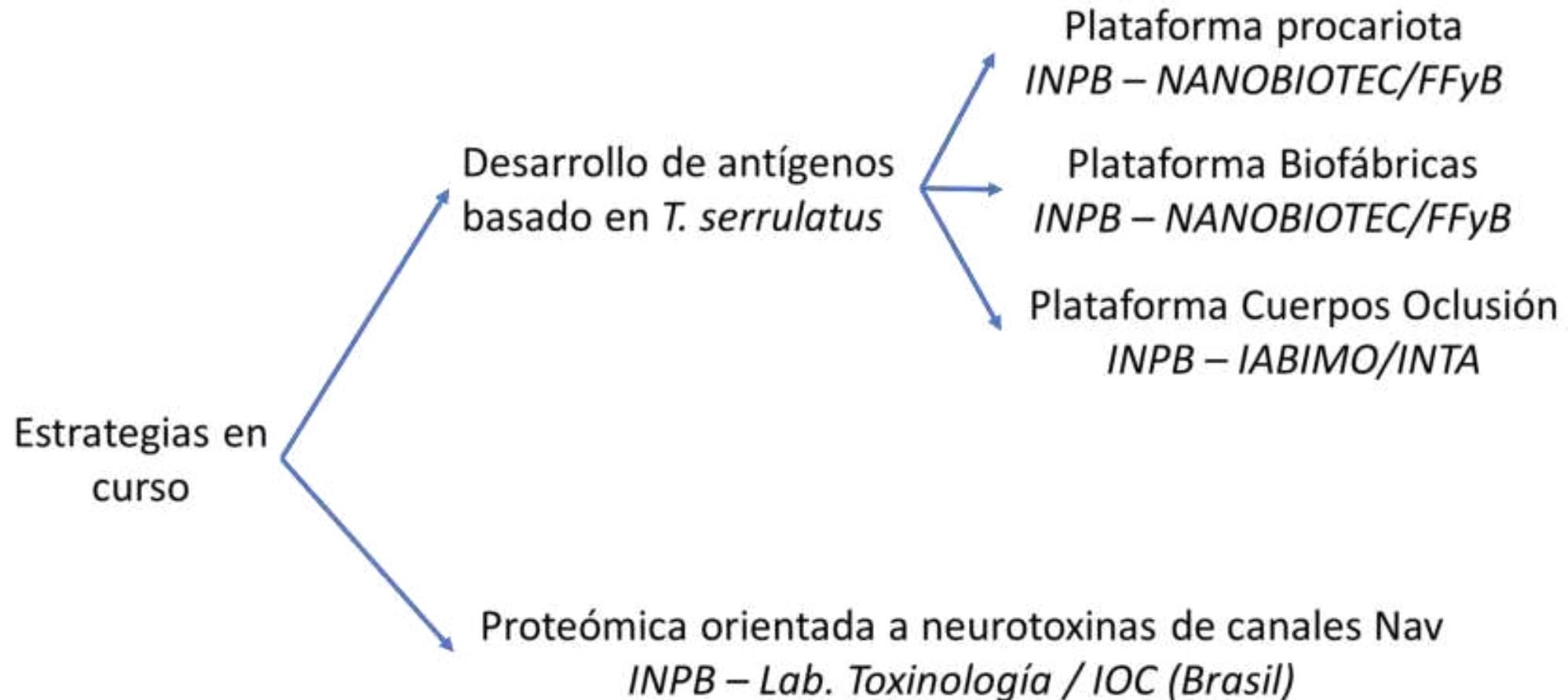


**Veneno muy estudiado**

Antes de 1990's Argentina utilizaba **Soro Antiaracnídico** del Instituto Butantán, producido con veneno de *T. serrulatus*.



## ► Estrategias al presente



## ► Plataforma procariotas

### Neurotoxinas canales Nav en *T. serrulatus*



Toxicidad en mamíferos



No tiene toxicidad en  
mamíferos



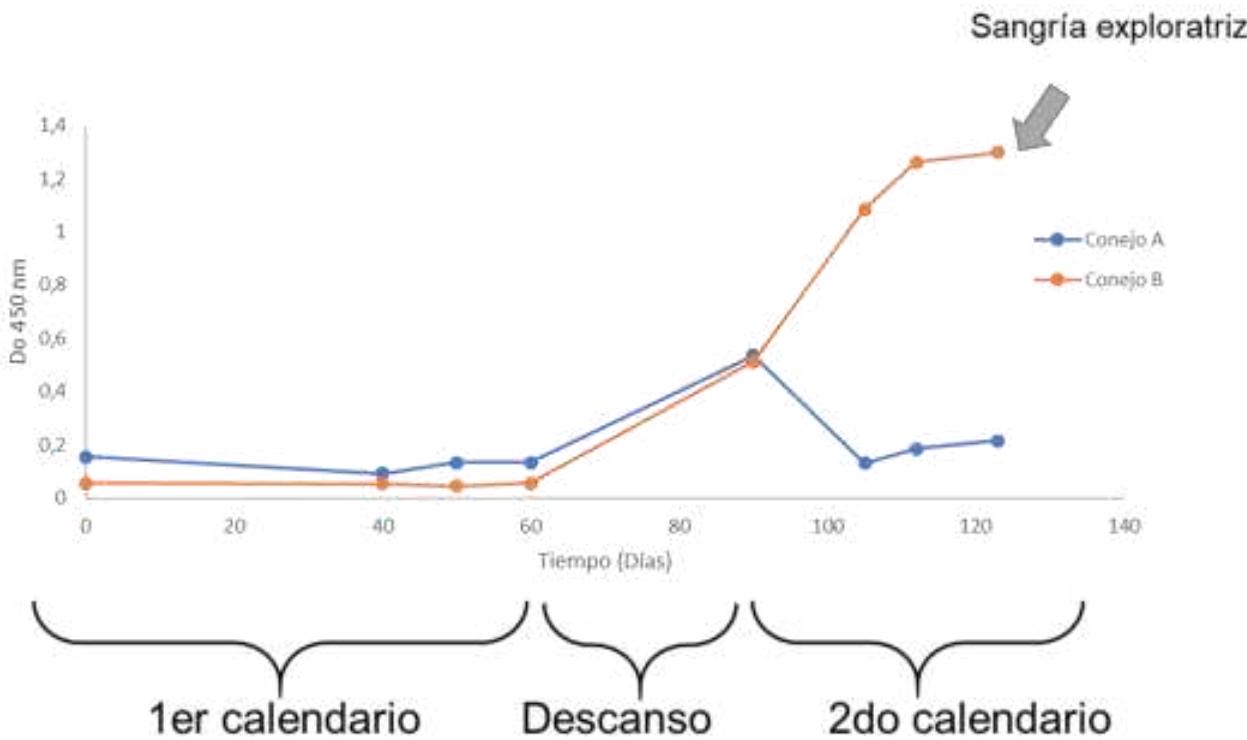
Toxicidad en mamíferos

Suero de animales inmunizados con esta  
neutraliza la actividad de las otras dos



## ► Expresamos TsNTxP

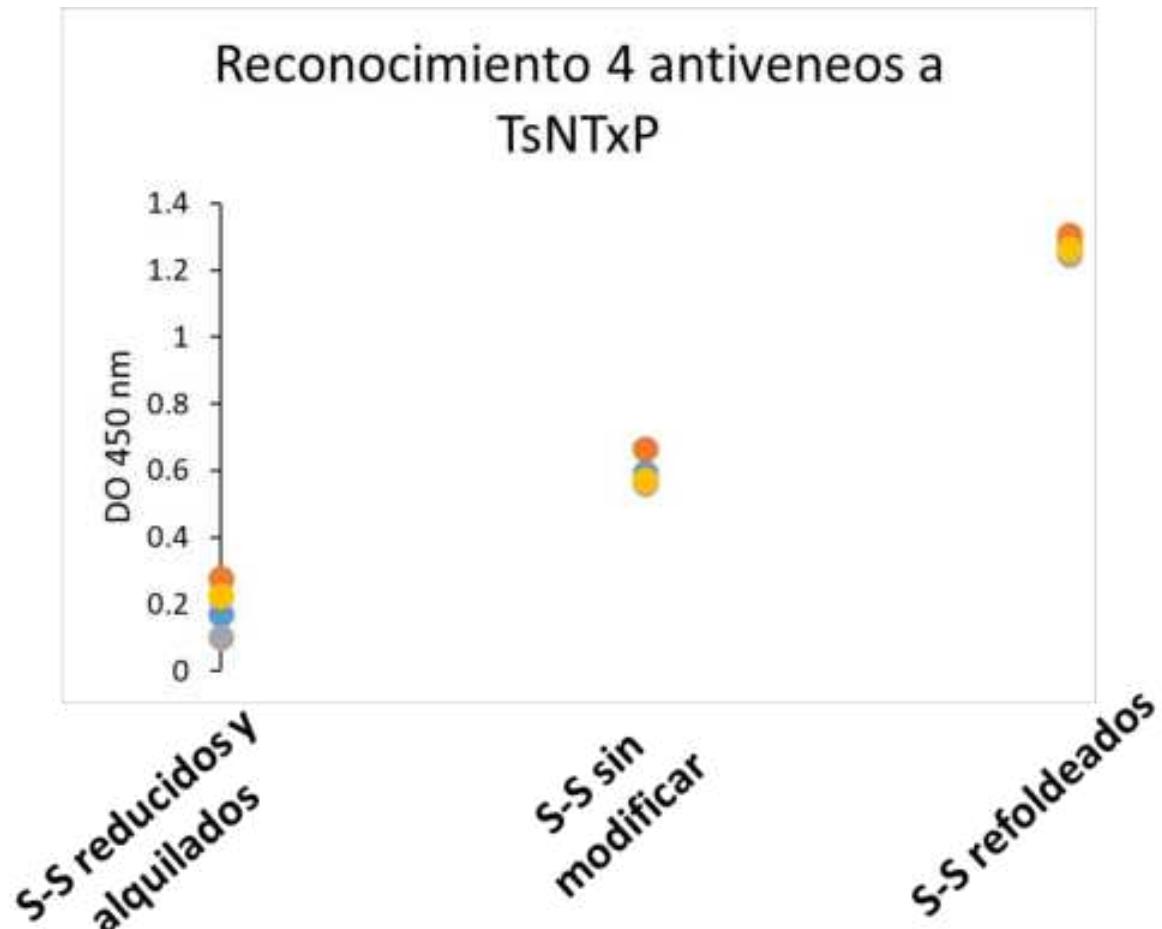
Inmunizamos dos conejos, dos ciclos, uno solo tuvo alta respuesta



**Resultado:** No hubo protección



## ► Toxina compleja, 4 puentes disulfuro, difícil conformación para el heterómero productivo



**En proceso:** introducir paso de “refoldeo” durante la producción de antígeno



# MUCHAS GRACIAS !!!

Dr. José Christian Dokmetjian – Director INPB

