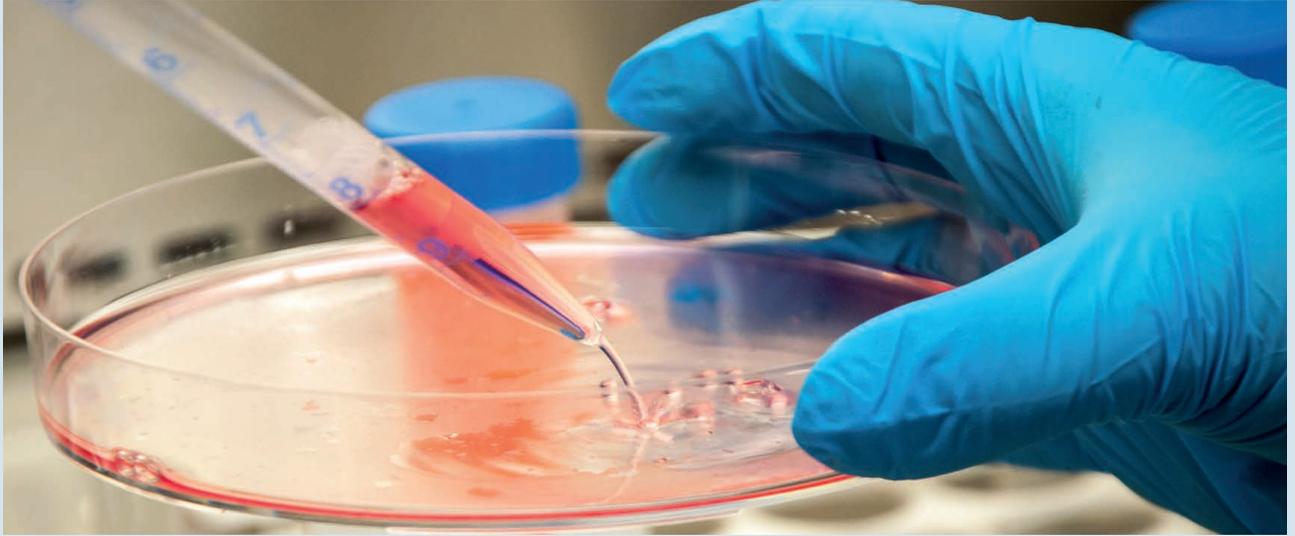


## BIOTECNOLOGÍA



# Construyen una biblioteca de nanoanticuerpos de llamas contra la COVID-19

Se trata del primer reservorio elaborado en la Argentina y que contiene información sobre los anticuerpos que producen estos camélidos frente al SARS-CoV-2. Con la información obtenida de la biblioteca se podrán obtener nanoanticuerpos con la capacidad de inhibir la infección viral provocada por el coronavirus-2. Fue lograda gracias al trabajo de investigadores del INTA y del Instituto Milstein junto con consorcios nacionales e internacionales.

POR CECILIE ESPERBENT  
FOTOS: INTA CASTELAR

Identificado como una de las maquinarias biológicas más refinadas que existen, el sistema inmunológico del ser humano es la principal barrera de defensa frente al ataque de un microorganismo –bacteria, parásito o virus–. Sin embargo, este sofisticado escudo natural no siempre responde a tiempo. De hecho, frente al SARS-CoV-2 está en desventaja debido a que mientras el virus puede hacer hasta 100.000 copias de sí mismo en 24 horas, el sistema inmune tarda entre 15 y 21 días en proteger al cuerpo de la enfermedad.

Para ayudarlo, un equipo de investigadores –integrado por especialistas del INTA y del Instituto de Ciencia y Tecnolo-

gía “Dr. César Milstein”, en colaboración con el Instituto Nacional para la Salud (NIH), de los Estados Unidos y el Consejo Nacional de Investigación de Canadá (NRCC)– construyó la primera biblioteca de nanoanticuerpos de llamas o VHH, un reservorio genético que permitirá seleccionar los anticuerpos que generan estos camélidos cuando son expuestos al SARS-CoV-2 y que poseen la capacidad de neutralizar la infección viral.

“Gracias a un gran equipo, integrado por Itatí Ibañez, Florencia Pavan e investigadores de INCUINTA, pudimos construir la biblioteca de los VHH en solo 10 días”, afirmó eufórica Viviana Parreño, coordinadora científica de INCUINTA del

INTA, y agregó: “Para nosotros esto es una hazaña, que nos llena de orgullo y demuestra lo importante que es el trabajo interinstitucional”.

El tratamiento con nanoanticuerpos de llamas es una de las alternativas más prometedoras para enfrentar la pandemia. Para producir los nanoanticuerpos, los investigadores inmunizaron a Spike –nombre de la llama– con la proteína que forma la corona del SARS-CoV-2; luego de cuatro dosis de vacunas, extrajeron una muestra de sangre y, de allí, los linfocitos circulantes. A partir de esas células se purificó el ARN –ácido ribonucleico– mensajero, que contiene información de los anticuerpos que elabora el camélido.

“Podimos construir la biblioteca de los VHH en solo 10 días”  
(V. Parreño).



“Toda esa información codificada sirve para armar un gran archivo de genes que se usará para seleccionar los nanoanticuerpos que están dirigidos contra el antígeno de interés”, indicó Itatí Ibañez –viróloga molecular del Instituto Milstein-CONICET y especialista en la construcción de este tipo de bibliotecas–.

Con la información codificada en los genes VHH se pueden obtener anticuerpos monoclonales que servirán para inhibir una infección viral o como reactivos dentro de un método diagnóstico para detectar el virus. En general, estos nanoanticuerpos se utilizan para el diagnóstico de una enfermedad, entre otras aplicaciones.

“Buscamos los VHH que puedan neutralizar la infección causada por el SARS-CoV-2”, expresó Marina Bok –investigadora de INCUINTA y una de las especialistas que trabaja en el armado de la biblioteca– y agregó: “Esos *nanobodies* servirán como fármaco preventivo o terapéutico. Nuestro objetivo es que

sirvan para una terapia de inmunidad pasiva complementaria a la vacunación”.

#### Una aguja en un pajar

Encontrar e identificar un gen en un genoma es una tarea compleja y, muchas veces, se asocia con un objetivo muy difícil de cumplir. Sin embargo, las librerías génicas están diseñadas para guardar y ordenar grandes volúmenes de información sobre el material genético de interés.

De acuerdo con Bok, los nanoanticuerpos son moléculas muy pequeñas y para poder producirlos es necesario obtener todo el repertorio de genes que codifican para los anticuerpos que la llama posee, a ese repertorio se lo conoce como biblioteca de genes. “De ese gran ‘archivo’ se seleccionan los *nanobodies* específicos que neutralizan al virus”, señaló.

En este sentido, Ibañez agregó que “la biblioteca de genes debe representar lo mejor posible el repertorio de anticuer-

“Buscamos los VHH que puedan neutralizar la infección causada por el SARS-CoV-2”  
(M. Bok).

pos que posee una llama, inmunizada con el antígeno de interés, para mejorar las chances de encontrar aquellos con las propiedades deseadas”.

Por esto, es importante que la biblioteca tenga un buen tamaño y una alta variabilidad. De este modo, “nos aseguramos que la información que contiene sea de buena calidad”, afirmó Ibañez quien advirtió que el procedimiento para la generación de una biblioteca implica varios pasos y puede llevar varias semanas (el tiempo depende de los reactivos disponibles y de los problemas técnicos que puedan surgir).

### Cómo construir una librería de genes

Para construir la biblioteca de nanoanticuerpos de llamas, el equipo de investigadores utilizó bacterias (*E. coli*) que se infectan con un virus (fago *helper*).

Durante este proceso, los fagos se enfrentan al antígeno (en este caso proteínas del virus SARS-CoV-2) y se seleccionan los que lo reconocen. Luego, se infectan nuevas bacterias con los fagos que reconocieron las proteínas del virus. Este procedimiento se repite tres veces seguidas para aumentar las chances de encontrar nanoanticuerpos específicos.

Finalmente, se seleccionan las bacterias que contienen el gen del nanoanticuerpo que neutraliza la proteína del SARS-CoV-2, se las multiplica en placas con medio de crecimiento y se seleccionan las colonias de bacterias que poseen los distintos genes que codifican para distintos nanoanticuerpos.



“La biblioteca de genes debe representar lo mejor posible el repertorio de anticuerpos que posee una llama”  
(I. Ibañez).



### Cómo ayudarán los VHH al sistema inmunológico

Ahora mismo, científicos de todo el mundo trabajan en el laboratorio día y noche en busca de estrategias que ayuden a luchar y combatir al coronavirus-2.

En términos generales, los virus no son fáciles de combatir. Esto se debe, sobre todo, a su naturaleza: están constituidos por genes que contienen ácidos nucleicos que forman moléculas largas de ADN o ARN, rodeadas de proteínas. El SARS-CoV-2 está integrado por una única molécula de ARN (ácido ribonucleico), es de cadena simple y de polaridad positiva.

Básicamente, cada molécula de virus posee las instrucciones necesarias para replicarse a sí misma. De este modo, al infectar una célula, la usa para multiplicarse y propagarse rápidamente. Durante este proceso, las células se deterioran y eso provoca la enfermedad. A par, el sistema inmunológico se activa y se pone en funcionamiento para identificar al intruso y neutralizarlo.

Cada virus posee una “huella” característica, llamada antígeno, que permite distinguirlo de otros. Así, le sirve al sistema inmunológico que busca, mediante los anticuerpos, cualquier cosa que contenga ese antígeno para destruir al virus o neutralizarlo. Todo este proceso se desarrolla en dos semanas aproximadamente, mientras que el virus puede hacer hasta 100.000 copias de sí mismo en solo 24 horas.

Por esto, la implementación de un tratamiento con nanoanticuerpos de llamas (VHH) es una alternativa prometedora para enfrentar la pandemia. Si bien no evitan la enfermedad, pueden minimizar los efectos.

Por su pequeñez y capacidad de escabullirse, los VHH reconocen la parte interna del virus y pueden neutralizarlo. De este modo, se detiene la infección.

La implementación de un tratamiento con nanoanticuerpos de llamas (VHH) es una alternativa prometedora para enfrentar la pandemia.

Sin embargo, más allá de la inmunización del animal, para obtener los fragmentos de VHH es necesario realizar un biopaneó. Con esta técnica, “se pueden identificar los nanoanticuerpos deseados que servirán para desarrollar un tratamiento preventivo”, sumó Ibañez.

Con la biblioteca armada y con varios clones seleccionados capaces de reconocer y unirse a la proteína Spike del co-

ronavirus-2, el equipo de investigadoras avanza con el análisis de la secuencia que está realizando Andrea Puebla, del servicio de secuenciación del INTA, y paralelamente comienza la expresión y purificación de los potenciales candidatos para luego realizar las pruebas *in vitro* que servirán para caracterizar funcionalmente a los nanoanticuerpos.

Asimismo, Parreño afirmó que “junto con Elsa Baumeister –del Servicio de Virología Respiratorias del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI) de la ANLIS-Malbrán– esperamos realizar pronto los ensayos de neutralización *in vitro* del virus”.

“Anhelamos contar con uno o varios anticuerpos monoclonales, de fácil producción y purificación, que serían una herramienta clave para el tratamiento de pacientes en estado avanzado y/o con enfermedades de base”, insistió Parreño.

La sinergia lograda entre las instituciones y los investigadores hace que se pueda tener una respuesta excepcionalmente rápida frente a esta situación de emergencia. “Este no es el trabajo de un solo investigador, sino que es el resultado de la articulación, el compromiso y la labor en equipo de Itatí Ibañez, Marina Bok, Florencia Pavan, Juan Pablo Malito, Gisela Marcoppido, Diego Franco y Laura López –apoyo fundamental en limpieza y en esterilizado–; Andrés Wigdorovitz, Celina Vega y Laura Crispino –apoyo en compras y en logística–”, resaltó.

**Más información:** Viviana Parreño [parreno.viviana@inta.gov.ar](mailto:parreno.viviana@inta.gov.ar); Marina Bok [bok.marina@inta.gov.ar](mailto:bok.marina@inta.gov.ar); Itatí Ibañez [loreitati@gmail.com](mailto:loreitati@gmail.com)