

CONVOCATORIA 2015 Vigencia: 1/04/17 al 31/03/19	PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO
Título: Generación de una plataforma biotecnológica para el diseño y producción in vitro de anticuerpos y proteínas recombinantes	
Resoluciones de aprobación: 566/17 y 367/18	
Línea/s de Investigación: Producción de anticuerpos recombinantes.	
Director de Proyecto: Cristián Andrés Quintero	
Dirección de correo electrónico: cquintero@fcm.uncu.edu.ar o caquintero32@hotmail.com	
Integrantes del Equipo de Investigación:	
Gabriela Recalde – Co-directora	
Franck Perez - Investigador	
Nerina Guzmán - Becaria estudiante	
Cesia Salafia - Becaria estudiante	
Sofía Dinamarca - Becaria estudiante	
Carrera/s UMaza a la/s que está asociado el Proyecto: Farmacia y Bioquímica	
Unidad/es Académica/s UMaza: Facultad de Farmacia y Bioquímica	

• **DESARROLLO DEL PROYECTO**

RESUMEN

El crecimiento tecnológico y la ampliación exponencial de la investigación en biología molecular y celular, inmunología, oncología, bioquímica, farmacología, etc. hacen imprescindible el desarrollo en paralelo de herramientas de trabajo. Este desarrollo no sólo se trata de la generación de nuevas herramientas, sino también de la facilitación y el mayor acceso a las mismas. Dos grandes clases de productos utilizados en laboratorios de investigación, análisis y diagnóstico, son anticuerpos y enzimas.

La creación de esta "plataforma biotecnológica para el diseño y producción in vitro de anticuerpos y proteínas recombinantes" tiene como objetivo proveer de insumos esenciales a los laboratorios de investigación, análisis y/o diagnóstico en diversas áreas relacionadas con la salud, como biología celular y molecular, inmunología, medicina clínica, bioquímica, farmacología, entre otras.

Este proyecto involucra la introducción de tecnología innovadora, no disponible actualmente en nuestro país, que permite la producción de anticuerpos mediante técnicas puramente in vitro.

Este es un emprendimiento único en el país, sumamente necesario para acompañar la evolución de la ciencia, la medicina y la industria en general.

Se producirán principalmente:

- Anticuerpos producidos mediante metodología in vitro, dirigidos específicamente a epítopes de proteínas, marcadores de organelas, anti proteínas específicas en su forma salvaje, mutaciones asociadas a patologías, etc.
- Anticuerpos producidos por las vías clásicas, a partir de hibridomas o de inyección del antígeno y purificación del suero animal. Estos serán un complemento de los anticuerpos recombinantes.
- Enzimas recombinantes, con actividades variadas, desde ADN polimerasas, ADN ligasas, quinasas, etc.
- Proteínas recombinantes salvajes o portadoras de mutaciones específicas, con dominios delecionados, fusionadas a etiquetas reporteras, etc.

Para el área de producción y purificación de anticuerpos in vitro, se cuenta con el

asesoramiento externo del Dr. Franck Perez, Instituto Curie, Paris, a cargo de la dirección científica de la "PLATEFORME DES PROTÉINES ET ANTICORPS RECOMBINANTS", y del Dr Ahmed El Marjou y la Dra. Sandrine Moutel, a cargo de la dirección técnica de la misma plataforma. Dicha plataforma está en pleno funcionamiento actualmente y abastece de sus productos a todo el Instituto Curie, el mayor instituto de investigación de cáncer en Europa, como también a otros institutos de Paris y Francia en general.

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Tanto anticuerpos como enzimas son dos grandes herramientas de trabajo cotidiano en cualquier laboratorio, tanto de diagnóstico, análisis e investigación. Son importantes también en diversas áreas industriales, aunque con diferentes requerimientos de cantidad y calidad.

Existe un vacío industrial en nuestro país alrededor de la producción de este tipo de productos. Las empresas encargadas de su comercialización en Argentina son sólo importadoras o sucursales de venta, sin producción propia.

Por otro lado, la producción y purificación de proteínas específicas y la generación de líneas celulares transgénicas estables son servicios prestados también por empresas radicadas en el exterior. La solución más frecuente es la producción de la proteína de interés o la generación de la línea celular que la sobreexpresa en el mismo laboratorio demandante del servicio. Esto tiene aparejado un problema de recursos y de tiempo.

Proponemos realizar estos servicios, a bajos costos, menores tiempos de producción, alta calidad y reproducibilidad, ya que serán preparados por personal altamente capacitado, con técnicas puestas a punto, y nutridos por el contacto directo entre el demandante y el prestador.

Para la purificación de anticuerpos, proponemos una novedosa tecnología que permite obtener anticuerpos de excelente calidad, en cortos tiempos y bajos costos. Esta técnica es in vitro, y permite además fusionar el anticuerpo con el fragmento cristalizante (Fc) perteneciente a cualquier especie rápidamente. Sumado a esto, la posibilidad de generar los anticuerpos en experimentos sin animales, hace de ésta, la técnica más promisoría del momento para la obtención de anticuerpos, no sólo en el área de investigación sino también en el área de la

medicina, siguiendo la tendencia mundial del uso de anticuerpos en forma de vacunas o medicamentos para combatir una amplia gama de enfermedades.

RESULTADOS ESPERADOS

Corto plazo:

Creación de la plataforma de producción de anticuerpos y proteínas recombinantes.

Inicio de las actividades con la producción de anticuerpos de uso generalizado en laboratorios de investigación:

Anti Tag (c-myc, HA, GFP, etc.)

Anti marcadores subcelulares (Golgi, lisosomales, membrana plasmática, etc.) ligados a hibridomas accesibles en la actualidad, por ejemplo Lamp1, TfR, VSVG, COPI, etc.

Producción de proteínas recombinantes de uso generalizado en laboratorios de investigación.

Puesta a punto de distintos sistemas de expresión:

Procariotas *Escherichia coli*, levaduras *Pichia pastoris*

Inicio de las actividades de expresión y purificación con DNA polimerasas y DNA ligasas.

Creación de una colección de vectores plasmídicos para expresión en sistemas eucariotas y procariotas, tanto para sobreexpresión y estudio y/o posterior purificación (diferentes tag tales como GFP, c-myc, HA, His6, GST, etc.)

Mediano plazo

Extensión de los alcances de la plataforma

Anticuerpos

Producción de anticuerpos monoclonales, policlonales y recombinantes, generados para reconocer específicamente a proteínas que concentren la mayor demanda de institutos y laboratorios de la región.

Ampliación de las organelas blanco reconocidas por diferentes anticuerpos específicos.

Proteínas

Ampliación de la gama de enzimas recombinantes producidas, con énfasis en las de mayor uso en laboratorios de investigación y diagnóstico bioquímico.

Colaboración en la purificación de proteínas según la necesidad de los distintos grupos de investigación de institutos de Mendoza

Ampliación de los huéspedes utilizados para la producción de proteínas: Células de insectos; Báculo virus; células de mamíferos: HeLa, CHO, etc.

Largo plazo

Purificación de proteínas y anticuerpos en base a las necesidades de laboratorios de la región Cuyo, como así también, de distintos centros de investigación del resto país. Incorporación de la producción de anticuerpos y proteínas necesarias para el desarrollo de kits diagnósticos utilizados en salud humana y animal.

Diseño, desarrollo y producción de anticuerpos y proteínas para uso en la medicina clínica, abriendo una nueva línea de estudio, en estrecha colaboración con laboratorios de inmunología y el Hospital Universitario, de la UNCuyo, Mendoza, que aporte a la farmacogenómica y al diagnóstico de alta complejidad.