

RESUMEN

La ingeniería genética ha permitido el diseño y la producción de anticuerpos recombinantes (rmAbs) en plantas. Hoy en día, los rmAbs se utilizan en el tratamiento de un amplio rango de patologías como enfermedades infecciosas, enfermedades inflamatorias y cáncer convirtiéndose en un importante grupo de biomoléculas dentro de la industria farmacéutica y biotecnológica.

Hasta la fecha de este estudio se han expresado mayoritariamente la inmunoglobulina del tipo G (IgG). Gracias al desarrollo de la ingeniería del ADN recombinante y de la ingeniería de anticuerpos, se han desarrollado y expresado formatos alternativos de rmAbs. Sin embargo, apenas existen estudios comparativos donde se demuestre si el formato de anticuerpo elegido es el idóneo en términos de rendimiento y capacidad neutralizante. Por tanto, el punto de partida del primer Capítulo de esta tesis es la realización de un estudio comparativo donde se expresan cinco formatos distintos de un mismo rmAb comercial (Infliximab) frente a la citoquina humana Tumor Necrosis Factor (TNF- α). Los resultados obtenidos en el Capítulo 1 demuestran que tanto el isotipo como la estructura del rmAb elegido influye en los niveles de rendimiento y en la capacidad neutralizante del rmAb.

La expresión de nuevos formatos de anticuerpos no solo afecta al isotipo o a la estructura del anticuerpo sino que también se puede incluir en este término la expresión individual y la expresión conjunta de distintos anticuerpos recombinantes. Partiendo de esta hipótesis, se planteó la posibilidad de co-expresar distintos anticuerpos monoclonales (cóctel oligoclonal) en plantas. En el segundo Capítulo de esta tesis se diseñaron tres rmAbs frente a la glicoproteína del Ébola. Los tres rmAbs se expresaron transitoriamente en *N. benthamiana* de manera individual mediante el establecimiento de líneas paralelas de producción y también se co-expresaron los tres rmAbs en una misma línea de producción. Los resultados obtenidos en este Capítulo demostraron que la expresión de los rmAbs de manera individual es factible. Sin embargo, cuando se co-expresan los tres rmAbs se observa una drástica disminución en la unión del anticuerpo al antígeno debido al barajado de cadena, por el cual cada cadena pesada (HC) se puede

unir con cualquier cadena ligera (LC) distinta de su acompañante, dando lugar a un anticuerpo con una baja actividad.

Con el objetivo de desarrollar un método que permita co-expresar en una misma línea de producción varios rmAbs se propuso explotar el fenómeno de la exclusión viral, característica propia de los virus. Los resultados mostrados en el Capítulo 3 demuestran que la expresión de un cóctel oligoclonal compuesto por 36 rmAbs en plantas es posible. Los datos obtenidos en este capítulo muestran que el cóctel oligoclonal es capaz de neutralizar actividades tóxicas del veneno de la serpiente *Bothrops asper* en ensayos *in vitro* e *in vivo*.

Los resultados de esta tesis confirman y avalan el uso de las plantas como plataformas de expresión de formatos alternativos de anticuerpos.