

Los nanoanticuerpos: pequeños anticuerpos para la medicina del siglo XXI

Los nanoanticuerpos son pequeñas proteínas encontradas en la familia de los camélidos (e.g. camellos, llamas y alpacas). Estas proteínas de un tamaño diez veces menor al de un anticuerpo convencional tienen la capacidad de unirse a antígenos. Su reducido tamaño, solubilidad, alta especificidad, estabilidad, resistencia a altas temperaturas, y bajo costo de producción, los hacen una alternativa altamente atractiva en comparación con los anticuerpos convencionales para combatir diversas enfermedades. En la actualidad, se está investigando su potencial tanto en diagnóstico como en tratamiento de enfermedades, incluyendo su capacidad para neutralizar al virus del SARS-CoV-2, causante de la enfermedad COVID-19.

Palabras clave: COVID-19, nanobody®, proteínas, SARS-CoV-2, tratamiento.

SANDY GISELLE REYES SOLIAN¹, VIRGINIA AURORA HERRERA VALENCIA¹, CARLOS PUCH HAU², FRAY MARTIN BAAS ESPINOLA¹ Y SANTY PERAZA ECHEVERRIA¹

¹Unidad de Biotecnología, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. Calle 43 No. 130 x 32 y 34, Chuburná de Hidalgo, C.P. 97205, Mérida, Yucatán, México.

²Tecnológico Nacional de México Campus Instituto tecnológico Superior de Valladolid, Carretera Valladolid-Tizimín, km 3.5, C.P. 97780, Valladolid, Yucatán, México.

santype@cicy.mx

El término nanoanticuerpo (nanobody®, en inglés) se refiere a un pequeño dominio proteico derivado de anticuerpos que se producen en especies de la familia de los camélidos, como camellos, dromedarios, llamas y alpacas (Figura 1). A partir de la mitad del año 2000, los nanoanticuerpos han recibido mucha atención en las áreas de diagnóstico y tratamiento de enfermedades humanas, ya que tienen la capacidad de unirse a antígenos, que son moléculas extrañas para el organismo y que inducen una respuesta inmunitaria, provocando la producción de anticuerpos (Hultberg *et al.* 2011). En comparación con los anticuerpos convencionales utilizados en medicina, cuyo tamaño es de 150 kilodaltones (kDa), los nanoanticuerpos son diez veces más pequeños, con un tamaño de aproximadamente 15 kDa (Jovčevska y Muyldermans 2020). Sus dimensiones son de aproximadamente 4 nm de largo x 2.5 nm de ancho x 3 nm de alto (nm=nanómetro, la millonésima parte de un milímetro). La región del nanoanticuerpo que reconoce al epítipo (parte de un antígeno reconocida por un anticuerpo), se llama parátipo, y es similar a la de un anticuerpo convencional, con tres protuberancias en forma de dedos, llamadas regiones de determinación complementaria (CDRs, por sus siglas en inglés). Sin embargo, hay que destacar que, en el caso de los nanoanticuerpos, el tercer dedo (CDR3) es considerablemente más largo

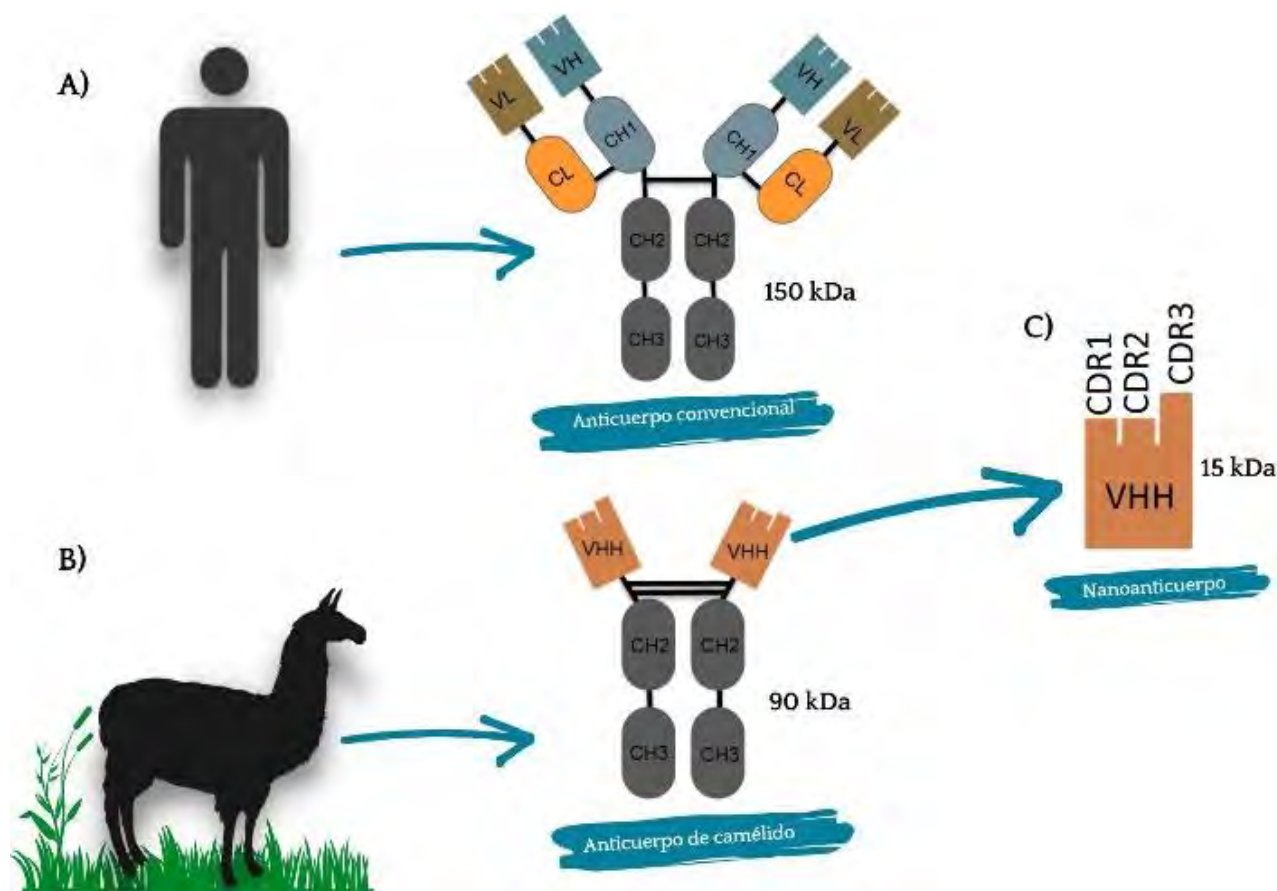


Figura 1. Anticuerpo de humano, de camélido y nanoanticuerpo. **A)** Anticuerpo humano con cadenas pesadas (CH1, CH2 y CH3) y ligeras (CL) con dos dominios variables (VL y VH) de reconocimiento al antígeno. **B)** Anticuerpo de camélido con un solo dominio variable de reconocimiento (VHH) al antígeno. **C)** VHH o nanoanticuerpo y sus regiones de determinación complementaria (CDR1, CDR2 y CDR3). (Ilustración elaborada por Sandy Giselle Reyes Solian).

(Figura 1C), lo que les permite alcanzar regiones cóncavas más profundas del epítipo que quedan fuera del alcance del dedo CDR3 de un anticuerpo convencional. Otra ventaja de los nanoanticuerpos con respecto a los anticuerpos utilizados en la medicina actual, es que, debido a su pequeño tamaño, tienen una mayor capacidad de penetración para llegar a sus blancos, además de que presentan una región altamente hidrofílica, lo que les brinda una excelente solubilidad (Jin *et al.* 2023).

En cuanto a su estabilidad, mientras que los anticuerpos convencionales soportan temperaturas de entre 4 a -80°C y empiezan a desnaturalizarse a partir de pH 6 (Ma *et al.*, 2020), los nanoanticuerpos pueden resistir un amplio rango de temperaturas (-20°C a 80°C), tolerar ambientes con niveles de pH ácidos a alcalinos (3.0 a 9.0) y presiones elevadas (500-750 MPa). Esto los hace muy estables con posibilidad de

administrarse a través de diversas vías, como oral, nasal, intravenosa, ocular, entre otras. Por otro lado, los nanoanticuerpos presentan una muy baja inmunogenicidad (respuesta inmune contra el mismo organismo) en comparación con los anticuerpos monoclonales. Además, se pueden diseñar en diferentes formatos, ya sea como monoméricos, multiméricos o fusionados con otras proteínas o dominios efector. Esta capacidad de modificación amplía su espectro de aplicaciones terapéuticas. En la Figura 2 se ilustran diferentes formatos de nanoanticuerpos. Un video de la compañía Sanofi ilustra esta tecnología en el siguiente enlace: <https://bit.ly/3t0XZrT>. Una característica destacable de los nanoanticuerpos es que pueden producirse en microorganismos como bacterias, levaduras e inclusive microalgas, reduciendo costos de producción en comparación con los anticuerpos monoclonales producidos en células de

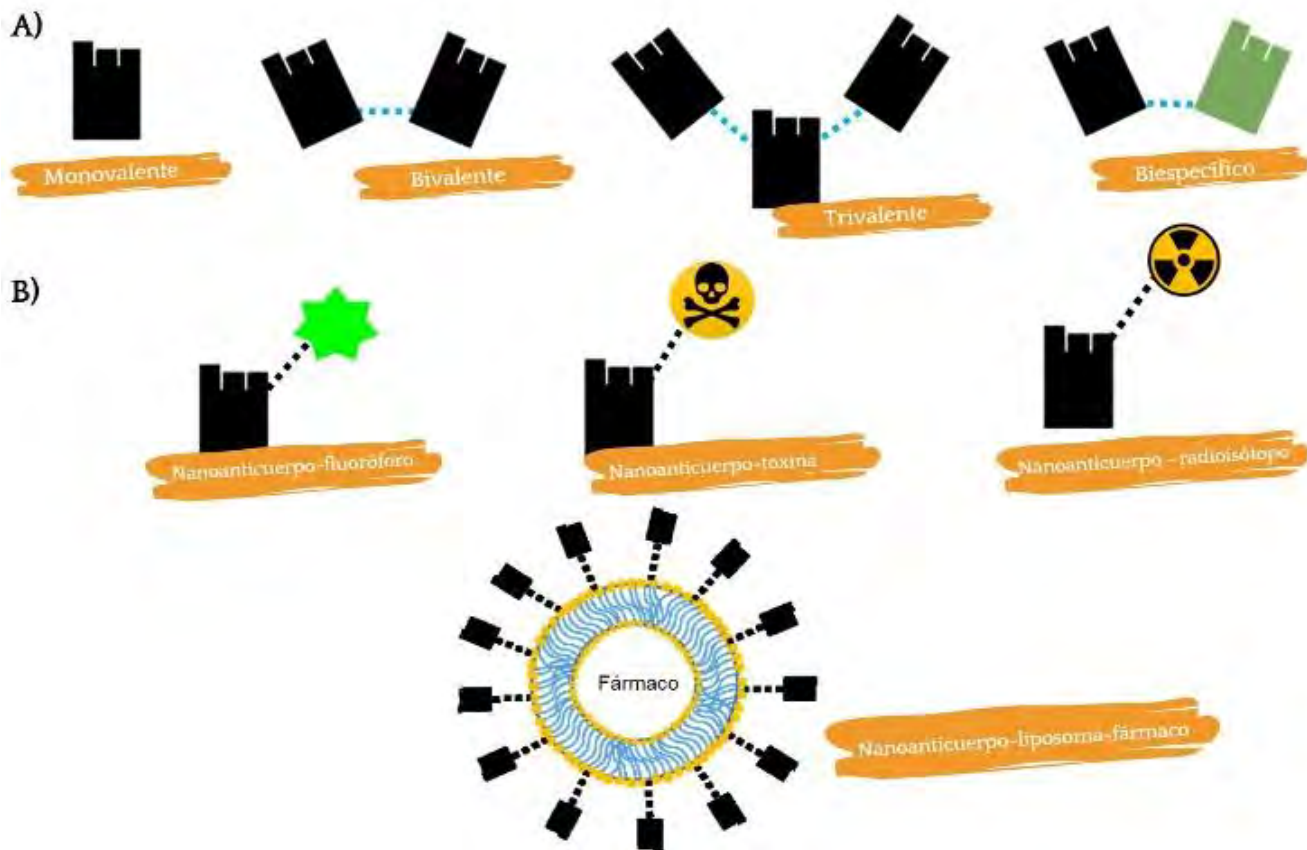


Figura 2. A) Diferentes configuraciones en los que se pueden ensamblar los nanoanticuerpos. B) Ejemplos de la fusión de nanoanticuerpos con otras moléculas. (Ilustración elaborada por Sandy Giselle Reyes Solian).

mamíferos altamente costosas (Khodabakhsh *et al.* 2018; Jovčevska y Muyldermans 2020). Todas estas características, posicionan a los nanoanticuerpos como herramientas muy versátiles y de bajo costo de producción para la medicina moderna del siglo XXI. Varios tipos de nanoanticuerpos ya están disponibles en el mercado para fines de investigación, como los conjugados utilizados en microscopía de fluorescencia (<https://bit.ly/3OIRROz>). Recientemente, se lanzó al mercado el primer nanoanticuerpo para tratar un trastorno de la sangre conocido como Púrpura Trombocitopénica Trombótica (PTT) (<https://bit.ly/3SglCIy>). La lista de biofármacos basados en tecnología de nanoanticuerpos en fases clínicas continúa creciendo (Wang *et al.* 2022), y en los próximos años veremos nuevos lanzamientos de nanoanticuerpos para tratar diversas enfermedades de manera más efectiva y a un menor costo.

Los nanoanticuerpos tienen un gran potencial en la lucha contra el cáncer. En la inmunoterapia, aunque ya se utilizan anticuerpos monoclonales para

atacar células cancerígenas, estos pueden provocar una alta inmunogenicidad y reacciones secundarias en el paciente (Yang y Shah 2020). Los nanoanticuerpos por su parte, tienen muy baja inmunogenicidad y su pequeño tamaño les permite atacar tumores en áreas de difícil acceso (Jovčevska y Muyldermans 2020). Además, se pueden diseñar nanoanticuerpos con la capacidad de unirse y dañar de forma específica a células cancerígenas, como es el caso del ^{213}Bi -2Rs15d, unido a un isótopo de bismuto ^{213}Bi contra el cáncer de ovario, que se encuentra en fase preclínica (Dekempeneer *et al.* 2020). Otra aplicación de los nanoanticuerpos es el diagnóstico, acoplados a un radionúclido o molécula fluorescente penetran más eficientemente en los tumores para unirse al antígeno tumoral y permiten un mejor diagnóstico por imágenes (Steeland *et al.* 2016; Yang y Shah 2020).

Los nanoanticuerpos también son una alternativa prometedora en la lucha contra agentes patógenos, ya que pueden prevenir la unión de bacterias a las cé-

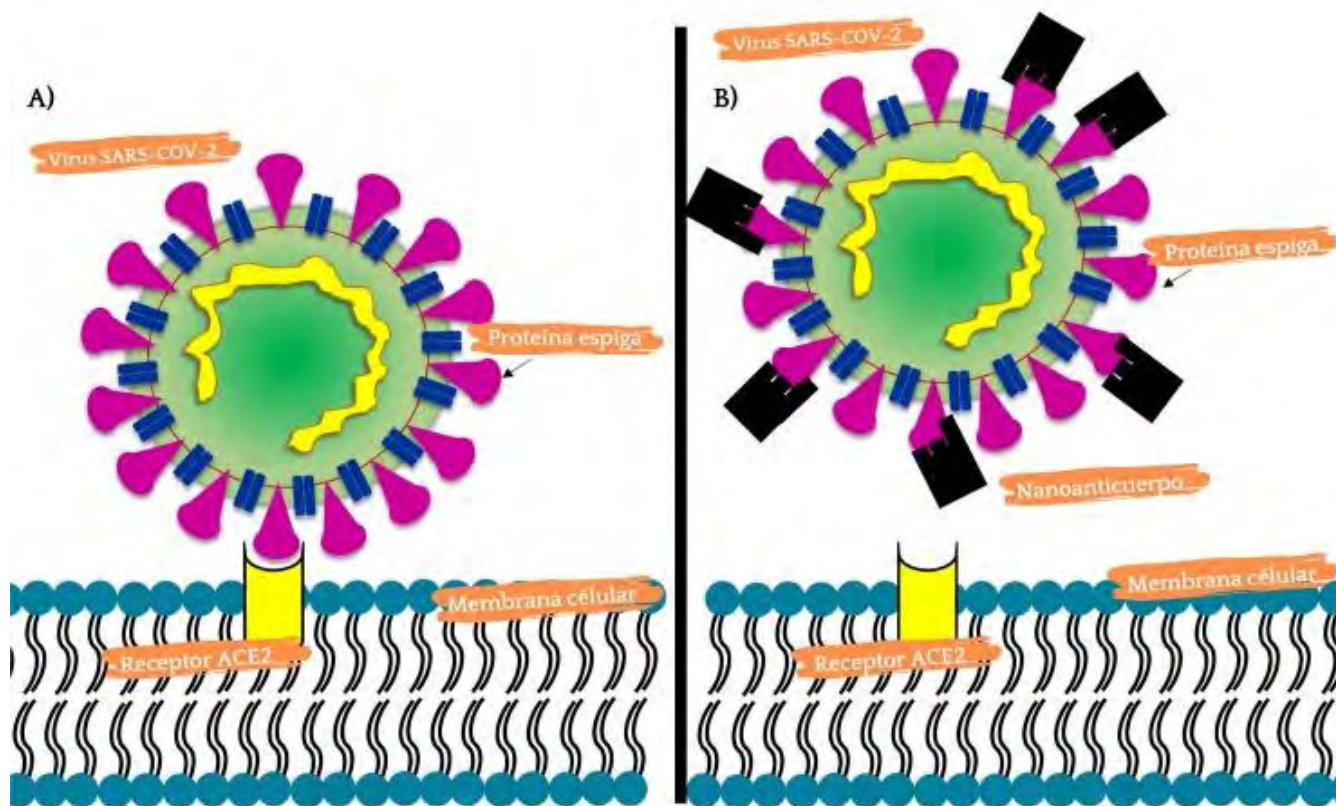


Figura 3. Interacción del virus SARS-CoV-2 con el receptor de ACE2 de una célula humana y su bloqueo, mediado por un nanoanticuerpo. A) Unión del virus SARS-CoV-2 y el receptor ACE2 de la célula humana. B) La neutralización de la proteína espiga del virus, con un nanoanticuerpo, impide la entrada del virus a la célula y el desarrollo de la enfermedad. (Ilustración elaborada por Sandy Giselle Reyes Solian).

lulas huésped y neutralizar las toxinas liberadas por los agentes infecciosos. Se ha demostrado su efectividad en cepas patógenas de *Escherichia coli* que causan diarrea grave (Amcheslavsky *et al.* 2021), y también se investiga como alternativa contra protozoos como *Trypanosoma brucei* y hongos que causan infecciones en niños con cáncer (Baral *et al.* 2006; DICYT 2022).

Además, se han realizado investigaciones sobre nanoanticuerpos dirigidos contra varios tipos de virus, como por ejemplo el retrovirus porcino, que causa infecciones durante los trasplantes de órganos en humanos, y el virus H5N1, una cepa altamente patógena de la gripe aviar (Dekker *et al.* 2003; Hultberg *et al.* 2011). También se han explorado diversas aplicaciones terapéuticas experimentales de los nanoanticuerpos para combatir virus como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el de la hepatitis B, el de la influenza, el de la rabia, el virus respiratorio sincitial, el poliovirus y el rotavirus, entre otros (Vanlandschoot *et al.* 2011). En el caso de la

reciente pandemia causada por el virus del SARS-CoV-2, los nanoanticuerpos se presentan como una herramienta complementaria a las vacunas, especialmente para personas inmunocomprometidas que no responden bien a la vacunación o para aquellos que presentan síntomas moderados, con el fin de reducir el riesgo de hospitalización (Chen *et al.* 2021). Uno de los nanoanticuerpos que ha demostrado mayor eficiencia para neutralizar al SARS-CoV-2 es el mNb6-tri (trivalente) que se une con alta especificidad a la proteína espiga del virus, bloqueando su interacción con las células humanas y evitando su entrada a éstas (Figura 3). Además, el mNb6-tri es capaz de inhibir al virus incluso después de procesos de liofilización, aerosolización y tratamientos térmicos intensos, lo que sugiere diversas opciones de administración y almacenamiento (Schoof *et al.* 2020).

En resumen, la tecnología de nanoanticuerpos tiene un enorme potencial en el campo de la medicina. Sus características únicas de pequeño tamaño,

alta afinidad y versatilidad, los convierten en herramientas prometedoras para el diagnóstico, tratamiento e investigación de enfermedades. Además, el desarrollo y la producción de nanoanticuerpos ofrecen la esperanza de abordar enfermedades que actualmente carecen de tratamientos efectivos. En última instancia, se espera que los nanoanticuerpos desempeñen un papel fundamental en la mejora de la salud humana y en la lucha contra las enfermedades que aquejan a la humanidad.

Referencias

- Amcheslavsky A., Wallace A.L., Ejemel M., Li Q., McMahon C.T., Stoppato M., Giuntini S., Schiller Z.A., Pondish J.R., Toomey J.R., Schneider R.M., Meisinger J., Heukers R., Kruse A.C., Barry E.M., Pierce B.G., Klempner M.S., Cavacini L.A. y Wang Y. 2021. Anti-CfaE nanobodies provide broad cross-protection against major pathogenic enterotoxigenic *Escherichia coli* strains, with implications for vaccine design. *Scientific Reports* 11: 1–15. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81895-0>
- Baral T.N., Magez S., Stijlemans B., Conrath K., Vanhollebeke B., Pays E., Muyldermans S. y De Baetselier P. 2006. Experimental therapy of African trypanosomiasis with a nanobody-conjugated human trypanolytic factor. *Nature Medicine* 12: 580–584. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm1395>
- Chen F., Liu Z. y Jiang F. 2021. Prospects of neutralizing nanobodies against SARS-CoV-2. *Frontiers in Immunology* 12: 690742. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.690742>
- Dekempeneer Y., Caveliers V., Ooms M., Maertens D., Gysemans M., Lahoutte T., Xavier C., Lecocq Q., Maes K., Covens P., Miller B.W., Bruchertseifer F., Morgenstern A., Cardinaels T. y D'Huyvetter M. 2020. Therapeutic efficacy of ²¹³Bi-labeled sdAbs in a preclinical model of ovarian cancer. *Molecular Pharmaceutics* 17: (9). DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.0c00580>
- Dekker S., Toussaint W., Panayotou G., de Wit T., Visser P., Grosveld F. y Drabek D. 2003. Intracellularly expressed single-domain antibody against p15 matrix protein prevents the production of porcine retroviruses. *Journal of Virology* 77: 12132–12139. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.77.22.12132-12139.2003>
- DICYT [Agencia Iberoamericana para la Difusión de la Ciencia y la Tecnología]. 2022. Nanoanticuerpos para combatir las infecciones por hongos que sufren los niños con cáncer. <https://bit.ly/3vY0rzP> (consultado: 15 Junio 2023).
- Hultberg A., Temperton N.J., Rosseels V., Koenders M., Gonzalez-Pajuelo M., Schepens B., Ibañez L.I., Vanlandschoot P., Schillemans J., Saunders M., Weiss R.A., Saelens X., Melero J.A., Verrips C.T., Van Gucht S. y de Haard H.J. 2011. Llama-derived single domain antibodies to build multivalent, super potent and broadened neutralizing anti-viral molecules. *PLoS One* 6: e17665. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017665>
- Jin B., Odongo S., Radwanska M. y Magez S. 2023. Nanobodies: A Review of Generation, Diagnostics and Therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences* 24: 5994. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24065994>
- Jovčevska I. y Muyldermans S. 2020. The therapeutic potential of nanobodies. *BioDrugs: clinical immunotherapeutics, biopharmaceuticals and gene therapy* 34: 11–26. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40259-019-00392-z>
- Khodabakhsh F., Behdani M., Rami A. y Kazemi-Lomedasht F. 2018. Single-Domain Antibodies or Nanobodies: A Class of Next-Generation Antibodies. *International Reviews of Immunology* 37: 316–322. DOI: <https://doi.org/10.1080/08830185.2018.1526932>
- Ma H., Ó'Fágáin C. y O'Kennedy R. 2020. Antibody stability: a key to performance - analysis, influences and improvement. *Biochimie* 177, 213–225. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.08.019>
- Schoof M., Faust B., Saunders R.A., Sangwan S., Rezelj V., Hoppe N., Boone M., Billesbølle C.B., Puchades C., Azumaya C.M., Kratochvil H.T., Zimanyi M., Deshpande I., Liang J., Dickinson S., Nguyen H.C., Chio C.M., Merz G.E., Thompson M.C. y Manglik A. 2020. An

ultra-potent synthetic nanobody neutralizes SARS-CoV-2 by stabilizing inactive spike. *Science* 370: 6523. DOI:

<https://doi.org/10.1126/science.abe3255>

Steeland S., Vandenbroucke R.E. y Libert C. 2016.

Nanobodies as therapeutics: big opportunities for small antibodies. *Drug Discovery Today* 21: 1076–1113. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.04.003>

Vanlandschoot P., Stortelers C., Beirnaert E., Ibañez L.I., Schepens B., Depla E. y Saelens X. 2011. Nanobodies®: New ammunition to battle

viruses. *Antiviral Research* 92: 389–407. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.09.002>

Wang B., Huang B., Pan Q., Guo Y., Qi G., Ding Y., Gao H., Zhang J., Wu X. y Fang L. 2022.

Development of functional anti-Gn nanobodies specific for SFTSV based on next-generation sequencing and proteomics. *Protein Science* 31: e4461. DOI: <https://doi.org/10.1002/pro.4461>

Yang E.Y. y Shah K. 2020. Nanobodies: Next Generation of Cancer Diagnostics and Therapeutics. *Frontiers in Oncology* 10: 1182. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01182>

Desde el Herbario CICY, 16: 62-67 (28-marzo-2024), es una publicación semanal editada por el Herbario CICY del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., con oficinas en Calle 43 x 32 y 34 No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, C.P. 97205, Mérida, Yucatán, México. Tel. 52 (999) 942-8330 Ext. 110, www.cicy.mx/Sitios/Desde_Herbario/, webmas@cicy.mx. Editores responsables: Rodrigo Duno de Stefano, Patricia Rivera Pérez y Lilia Lorena Can Itzá. Reserva de Derechos al Título Exclusivo No. 04-2016-041413195700-203, otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor, ISSN: 2395-8790. Responsable de la publicación: José Fernely Aguilar Cruz, Calle 43 x 32 y 34 No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, C.P. 97205, Mérida, Yucatán, México. Fecha de última modificación: 28 de marzo de 2024. Las opiniones expuestas por los autores no necesariamente expresan la postura del editor de la publicación. De la misma manera, la responsabilidad sobre la veracidad y la precisión de los contenidos, le corresponde total mente a los autores de los ensayos.