



RELAZIONE ILLUSTRATIVA SULL'UTILIZZO DELL'EROGAZIONE LIBERALE

RU Responsabili: prof.ssa Sara Epis

UO Responsabile: Dipartimento di Bioscienze

Nome progetto: Erogazione liberale per le attività di ricerca sul Coronavirus

Codice identificativo Progetto: LIB_VT20_COVID_19_SEPIS

Attività di ricerca svolta nell'ambito del progetto:

Premessa

I protozoi del genere *Leishmania* si distinguono per la loro propensione ad essere fagocitati dalle cellule coinvolte nella presentazione dell'antigene (i.e. macrofagi o cellule dendritiche), rappresentando quindi dei veicoli vaccinali ideali. In particolare, i protozoi della specie *Leishmania tarentolae* si distinguono per la loro facile manipolabilità, non patogenicità per i mammiferi, rappresentando quindi un innovativo sistema per l'espressione e per la veicolazione di antigeni.

Considerando che l'attuale conoscenza del tipo di risposta immunitaria indotta da *L. tarentolae* è piuttosto limitata rispetto alle specie patogene, ma altrettanto importante da investigare quando si studia un veicolo vaccinale, sono stati condotti saggi di co-incubazione con cellule dendritiche derivate da monociti umani. Inoltre, l'erogazione liberale è stata utilizzata per lo sviluppo di una nuova piattaforma basata sull'utilizzo del microorganismo *L. tarentolae* per l'espressione di proteine ricombinanti. Gli antigeni / vaccini candidati presi in esame erano costituiti dal microorganismo *L. tarentolae* ingegnerizzato per la produzione di una proteina di SARS-CoV-2, sia in forma secreta, sia come antigene esposto in superficie dal microorganismo stesso.

Attività di ricerca

La realizzazione del progetto ha previsto la messa a punto di un test sierologico e la valutazione della risposta anticorpale diretta contro l'antigene Receptor Binding Domain (RBD) del virus SARS-CoV-2, mediante l'analisi di sieri umani. Parte delle analisi è stata affidata a Vismederi SRL, azienda leader nel settore, riconosciuta a livello internazionale per la validazione di test sierologici e per lo sviluppo e l'applicazione di saggi volti alla valutazione della risposta immunitaria agli antigeni vaccinali.

Parallelamente, nei laboratori del Dip. Bioscienze sono stati condotti esperimenti di co-incubazione tra il protozoo *L. tarentolae* e cellule dendritiche derivate da monociti umani, al fine di analizzare la risposta immunitaria in vitro.

Infine, nell'ultimo anno, in collaborazione con colleghi del Dip. Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale (UNIMI) è stato sviluppato un test rapido multiplex basato su un microarray di antigeni di cinque varianti del SARS-CoV-2 immobilizzati su un biosensore riflettometrico. A questo scopo, è stata utilizzata anche la proteina RBD prodotta nel sistema *L. tarentolae*.

L'erogazione liberale ha finanziato la pubblicazione di 4 articoli scientifici su riviste internazionali:

i) Varotto-Boccazzi I, Manenti A, Dapporto F, Gourlay LJ, Bisaglia B, Gabrieli P, Forneris F, Faravelli S, Bollati V, Rubolini D, Zuccotti G, Montomoli E, Epis S, Bandi C. Epidemic Preparedness-*Leishmania tarentolae* as an Easy-to-Handle Tool to Produce Antigens for



Viral Diagnosis: Application to COVID-19. *Front Microbiol.* 2021 Dec 13;12:736530. doi: 10.3389/fmicb.2021.736530.

Università degli Studi di Milano - Via Festa del Perdono, 7 - 20122 Milano, Italy

Tel. +39 02 5032 5032 - PEC: unimi@postecert.it - www.unimi.it

ii) Varotto-Boccazzi I et al. *Leishmania tarentolae* as an Antigen Delivery Platform: Dendritic Cell Maturation after Infection with a Clone Engineered to Express the SARS-CoV-2 Spike Protein. *Vaccines* (Basel). 2022 May 19;10(5):803. doi: 10.3390/vaccines10050803;

iii) Epis S et al. Efficacy of mucosal vaccination using a protozoan parasite as a vehicle for antigen delivery: IgG and neutralizing response after rectal administration of LeCoVax-2, a candidate vaccine against COVID-19. *Pharmacol Res.* 2022 Dec;186:106546. doi: 10.1016/j.phrs.2022.106546

iv) Carzaniga T, Casiraghi L, Nava G, Zanchetta G, Inzani T, Chiari M, Bollati V, Epis S, Bandi C, Lai A, Zehender G, Bellini T, Buscaglia M. Serum antibody fingerprinting of SARS-CoV-2 variants in infected and vaccinated subjects by label-free microarray biosensor. *Front Immunol.* 2024 Feb 27;15:1323406. doi: 10.3389/fimmu.2024.1323406.

Infine, i risultati ottenuti sono stati presentati durante il congresso internazionale sullo studio della *Leishmania* e delle leishmaniosi "WorldLeish 7".

Firma del Responsabile¹

¹ Si consiglia, per maggior visibilità, di utilizzare la firma digitale in formato PADES (con estensione "_signed.pdf"); si fa presente che le firme effettuate direttamente su cellulare o tablet non sono considerate valide.