

**Relazione dell'attività svolta da parte di Scylla Biotech Srl,
spin-off dell'Università di Messina**

Sin dalla sua costituzione, Scylla Biotech ha sviluppato l'utilizzo di una nuova tecnologia denominata "PROFILER", che è volta ad identificare le specifiche parti o regioni molecolari di un antigene (ad es. un antigene contenuto in un vaccino) che sono bersaglio della risposta anticorpale dopo immunizzazione. La tecnologia è volta a costruire una mappa degli epitopi riconosciuti dagli anticorpi presenti in umori contenenti anticorpi policlonali, quali il siero o le secrezioni. Tuttavia, la tecnica può essere anche utilizzata per l'identificazione di epitopi riconosciuti anche da anticorpi monoclonali. Il lavoro effettuato finora ha condotto alla messa a punto di un brevetto (**Attestato di Brevetto per Invenzione Industriale n. 0001424333**), che è stato recentemente approvato, concernente una nuova tecnologia basata, come inizialmente previsto, su una combinazione delle tecniche di phage display e next generation sequencing. Oltre a ciò sono stati pubblicati n° 7 lavori scientifici su riviste internazionali ad alto impatto che sono e saranno oltremodo utili per dimostrare il valore della tecnologia a potenziali clienti che necessitino della fornitura di servizi nel settore e per l'approvazione di futuri progetti. E' stato possibile inoltre identificare nuovi epitopi e frammenti antigenici che sono candidati promettenti per lo sviluppo di epitope-based vaccines.

La tecnica proposta presenta dei vantaggi rispetto a quelle attualmente disponibili per i seguenti motivi. In primo luogo rimane ancora relativamente difficile identificare gli epitopi riconosciuti da una mistura complessa ed eterogenea di anticorpi come quelli presenti nel siero umano, anche quando si restringa l'analisi a quelli diretti contro un singolo antigene. Infatti non sono stati fatti negli ultimi anni passi avanti nell'affrontare un problema così complesso. A quel che risulta, a tecnica proposta da Scylla Biotech rimane l'unica a coniugare un'accettabile precisione con semplicità d'uso e facilità di interpretazione. Ciò deriva dal fatto che tecnologie alternative a quella proposta da Scylla quali ad esempio l'uso di peptidi sintetici, compreso peptidi ciclici volti a riprodurre epitopi conformazionali (vedasi ad es. la tecnologia PEPperPRINT o PEPperCHIP; www.pepperprint.com), utilizzano composti sintetici che il più delle volte sono incapaci di ricostituire la conformazione degli epitopi naturali. Sebbene le librerie combinatoriali di peptidi possano essere utilizzate a questo fine (www.mimotopes.com), risulta poi

difficile riferire la reattività dei mimotopi identificati agli epitopi naturali degli antigeni. D'altra parte le tecniche di riferimento quali cristallografia a raggi X e a risonanza magnetica nucleare (<http://www.creative-biostructure.com>) non sono applicabili ad anticorpi policlonali e risultano in ogni caso di complessa esecuzione e non sempre applicabili.

Recentemente hanno destato notevole interesse metodi basati sul sequenziamento di nuova generazione (massivo e parallelo) volti a saggiare, nella sua interezza, la composizione del repertorio anticorpale umano (Boyde and Crowe, 2016). Tali metodi sono basati, ad esempio, sull'analisi dell'mRNA e delle immunoglobuline condotta su popolazioni di linfociti B isolate dal sangue periferico. Per quanto informative, queste tecniche sono di complessa esecuzione e non riescono a fornire informazioni sulla specificità di legame delle immunoglobuline identificate. Sono state allora messe a punto tecniche basate sulla coltura di singoli plasmablasti che consentono di clonare ed esprimere i rispettivi anticorpi (Kwakkenbos et al, 2016). Anche in questo caso si tratta di tecniche complesse che potrebbero essere utili per complementare, ma non per sostituire analisi del tipo di quella proposta da Scylla Biotec srl. Nel complesso, quest'ultima tecnologia rimane competitiva nel panorama del disegno razionale di nuovi vaccini (Rappuoli et al. 2016; He&Zu 2015; Liljeroos et al 2016; VanBlargan et al. 2016). Ad esempio questa tecnologia può essere impiegata in almeno 3 fasi del processo denominato di "vaccinologia inversa, versione 2", con il quale Rappuoli *et al.* (2016) riassumono la strategia oggi prevalente per lo sviluppo razionale di vaccini. In una prima fase, che prevede l'isolamento e la coltura di singoli linfociti B, vengono effettuati lo screening e la selezione e il clonaggio di anticorpi protettivi capaci di neutralizzare in vitro un'attività del patogeno connessa alla virulenza (ad esempio la capacità di un virus di replicarsi in colture cellulari). In questa fase la tecnica proposta da Scylla Biotech potrebbe risultare utile per la mappatura dell'epitopo protettivo nel contesto dell'antigene, riconosciuto da ciascun anticorpo monoclonale neutralizzante. La tecnica di Scylla Biotech risulta appropriata in questa fase per la sua rapidità, la possibilità di applicazione a un gran numero di cloni isolati di cellule B e per il fatto di utilizzare piccole quantità di anticorpo. Una volta identificati gli epitopi protettivi rilevanti, questa tecnologia è utile nell'identificare frammenti dell'antigene in grado di ricapitolare l'attività immunologica. Tali frammenti potrebbero a loro volta essere saggiati per la loro capacità di evocare risposte policlonali protettive e potrebbero rappresentare utili elementi costruttivi nel disegno razionale di nuove strutture antigeniche. Infine la tecnologia di Scylla è rapidamente e facilmente applicabile per la caratterizzazione degli anticorpi

indotti da parte di vaccini tradizionali o sperimentali e per verificare la capacità di questi ultimi di evocare risposte nei confronti degli epitopi protettivi identificati. Nel complesso, la perdurante espansione nella scoperta di nuovi anticorpi protettivi ad ampio spettro (o broadly reactive neutralizing antibodies), rende la tecnologia oggetto sempre più attuale e competitiva.

Bibliografia

1. Reverse vaccinology 2.0: Human immunology instructs vaccine antigen design.

Rappuoli R, Bottomley MJ, D'Oro U, Finco O, De Gregorio E.

J Exp Med. 2016 Apr 4;213(4):469-81. doi: 10.1084/jem.20151960.

3. Computational tools for epitope vaccine design and evaluation.

He L, Zhu J.

Curr Opin Virol. 2015 Apr;11:103-12. doi: 10.1016/j.coviro.2015.03.013.

4. Structural and Computational Biology in the Design of Immunogenic Vaccine Antigens.

Liljeroos L, Malito E, Ferlenghi I, Bottomley MJ.

J Immunol Res. 2015;2015:156241. doi: 10.1155/2015/156241.

5. Deconstructing the Antiviral Neutralizing-Antibody Response: Implications for Vaccine Development and Immunity.

VanBlargan LA, Goo L, Pierson TC.

Microbiol Mol Biol Rev. 2016 Oct 26;80(4):989-1010.

Deep sequencing and human antibody repertoire analysis.

Boyd SD, Crowe JE Jr.

Curr Opin Immunol. 2016 Jun;40:103-9. doi: 10.1016/j.coi.2016.03.008

Stable long-term cultures of self-renewing B cells and their applications.

Kwakkenbos MJ, van Helden PM, Beaumont T, Spits H.

SCYLLA BIOTECH SRL

A SPIN-OFF OF THE UNIVERSITY OF MESSINA

AL MAGNIFICO RETTORE
DELL' UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MESSINA
Piazza Pugliatti 1
98100 – MESSINA

OGGETTO: Proroga convenzione Spin-Off tra Scylla Biotech Srl e l'Università degli Studi di Messina.

Con riferimento alla convenzione stipulata tra l'Università degli Studi di Messina e la Scylla Biotech Srl in data 30 ottobre 2014 e specificatamente all'art. 2 nel quale si definisce la durata della convenzione e all'art. 3 che definisce gli obblighi dell'Università e della Società, l'utilizzo e l'uso delle infrastrutture e dei servizi offerti dal Dipartimento di Scienze Pediatriche, Ginecologiche, Microbiologiche e Biomediche,

SI CHIEDE

la proroga di ulteriori due anni secondo quanto previsto dalla medesima convenzione.

Si esplicita che la richiesta di prorogare la durata della convenzione è collegata sia alla normale attività lavorativa, ma anche dallo svolgimento del Progetto ex art.11 **“Verso il disegno razionale di nuovi vaccini mediante l'analisi “high-throughput” del repertorio anticorpale umano”** di cui Scylla Biotech Srl fa parte.

Si allega riepilogo sintetico delle attività svolte da Scylla Biotech Srl.

Distinti saluti.

Messina, 22/05/2018

In Fede
L'Amministratore Unico
Dr. Andrea Cappello



Sede Legale e Operativa:

Via Consolare Valeria snc, c/o Policlinico Universitario G. Martino, Torre Biologica, II piano.
CAP:98125 Messina - Tel: 090 2213325 - 3470627999 - E-mail: scyllabiotech@hotmail.com

C.F./P. IVA 03325220832