

I Giornata di informazione e comunicazione progetti di COOPERAZIONE INTERREGIONALE e TRANSNAZIONALE

**Nuove molecole ad attività antimicrobica, anticancro ed
antivirale: soluzioni alternative a fronte di tre tra le principali
emergenze socio-sanitarie**

AAA:SAFE SOS

UNIBAS Matera 03 febbraio 2023

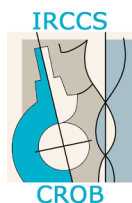


AAA:SAFE SOS

PARTNER

Partner Capofila

Università degli Studi della Basilicata - **Referente prof.ssa Patrizia Falabella**



Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico - Centro di Riferimento Oncologico di Basilicata - **Referente dr. Rocco Galasso**

Università degli Studi di Catania - **Referente prof.ssa Daria Nicolosi**



Università di Giessen-Germania- **Referente prof. Andreas Vilcinskas**

Università di Ioannina - Grecia - **Referente prof.ssa Maria Eleni Lekka**



Università di Novi Sad – Serbia- Referente **prof. Zeljko Popovic**

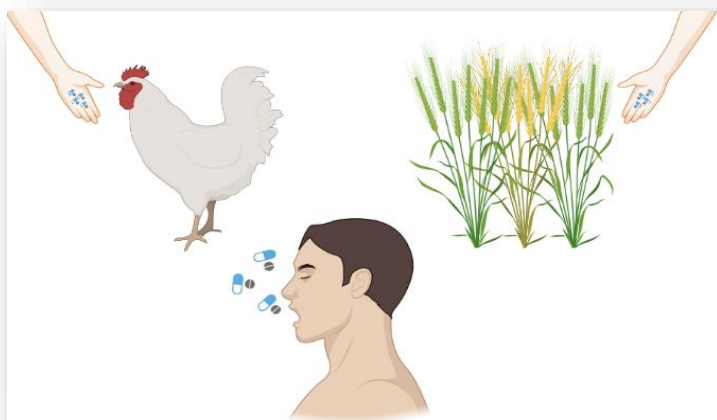


Regione Basilicata Dipartimento Salute e Politiche della Persona

AAA:SAFE SOS

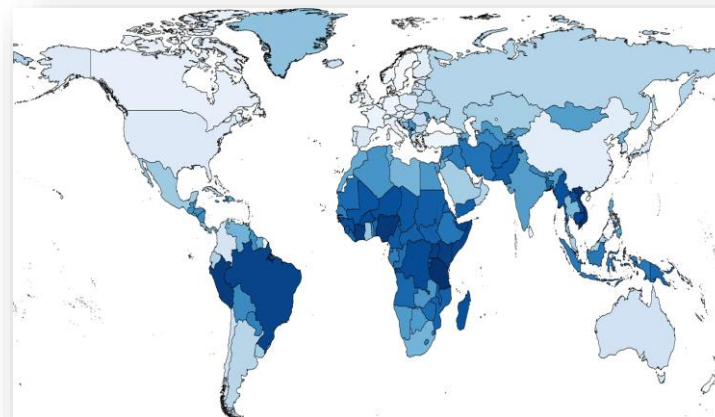
Resistenza Antimicrobica (AMR)

Antibiotic Resistance



Created in Biorender.com

L'uso prolungato e indiscriminato di antibiotici ha consentito lo sviluppo di microrganismi resistenti



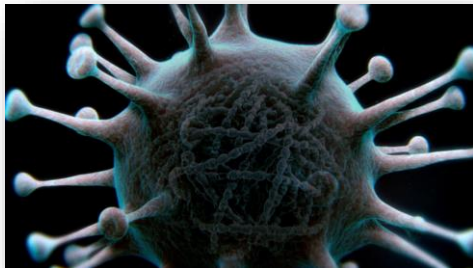
Hendriksen *et al.* 2019. Nature Comm, 10: 1–12

La resistenza antimicrobica è responsabile di 700.000 morti all'anno e si prevede di causare fino a 10 Milioni di morti all'anno entro il 2050



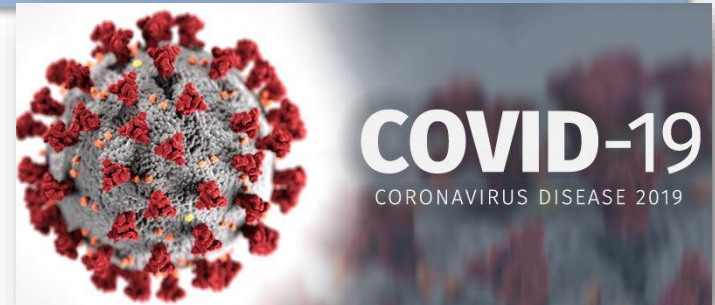
Resistenza Antimicrobica (AMR)

Resistenza Antivirale



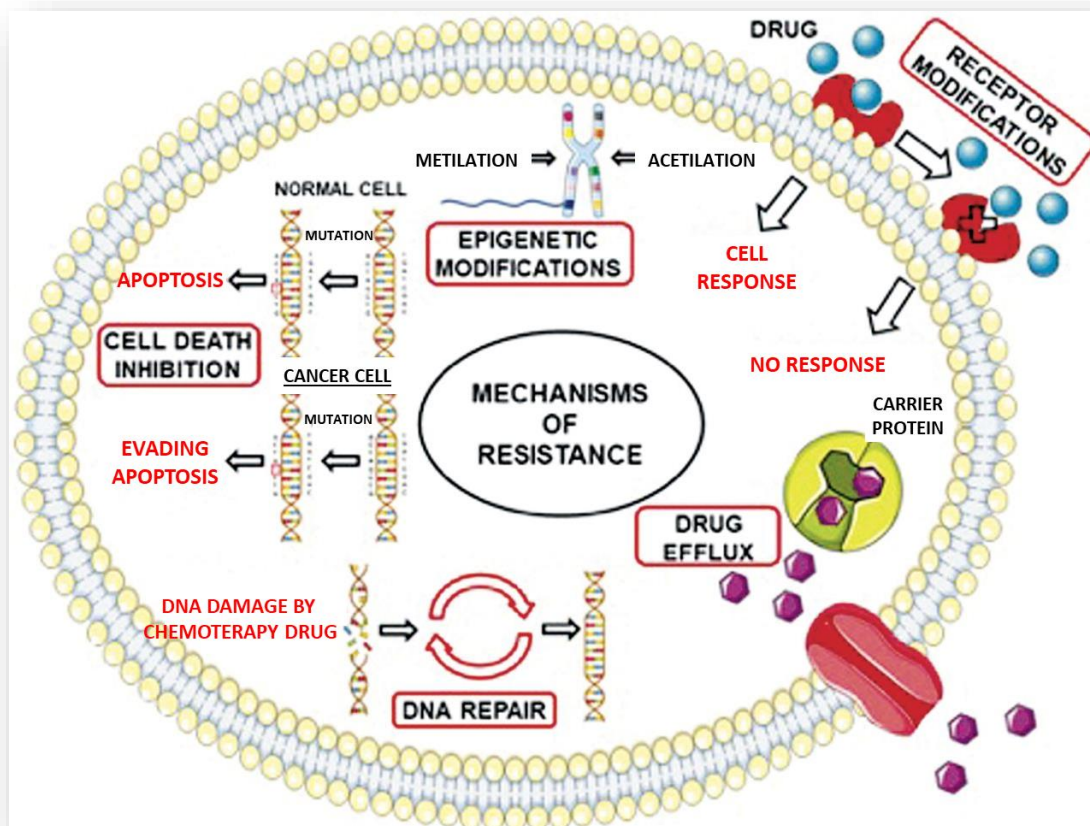
A causa di una elevata mutabilità costitutiva, i virus possono incrementare il bacino di infezione, diventando pericolosi anche per altre specie, incluso l'uomo.

- Ospite completamente sprovvisto di difese immunitarie specifiche
- Mancanza di vaccini specifici





Aspecificità e resistenza a farmaci chemioterapici

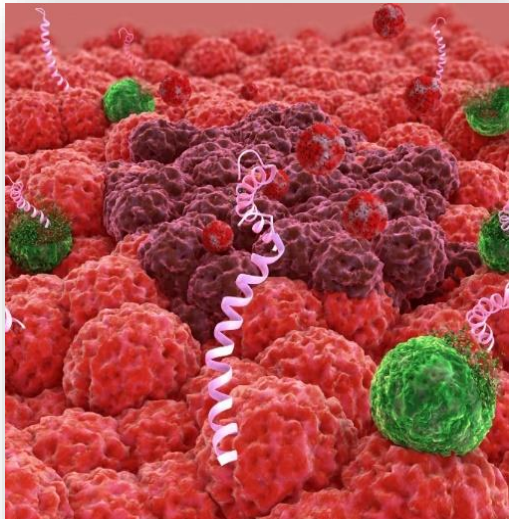


Effetti collaterali
causati da danni
alle cellule e tessuti
sani durante la
somministrazione
di chemioterapici
antitumorali e alla
resistenza a tale
terapia



Peptidi Antimicrobici (AMP)

Gli AMP sono una classe di composti biologicamente attivi prodotti da tutti gli organismi viventi. Sono componenti evolutivamente conservati della risposta immunitaria innata, la difesa di prima linea contro gli attacchi microbici negli eucarioti, o prodotti come strategia di competizione nei procarioti per limitare la crescita di altri microrganismi



Perchè gli AMP e gli ACP?

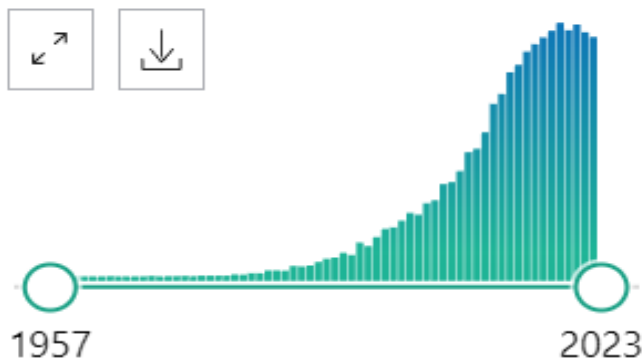
Gli AMP sono in grado di superare la resistenza antimicrobica e hanno un'azione ad ampio spettro con bassa tossicità per l'ospite.

Gli ACP (Anticancer Peptides) possono superare la resistenza ai chemioterapici con meccanismo d'azione mirato.

Hollmann *et al.* 2018, Font Chem, 6:204;
Moretta *et al.* 2021, Front Cell Infect Microbiol. 11:668632

AMP

RESULTS BY YEAR



STUDIES ON A BACTERICIDAL AGENT EXTRACTED FROM A SOIL BACILLUS

I. PREPARATION OF THE AGENT. ITS ACTIVITY IN VITRO

By KENNETH J. DUBOS, Ph.D.

(From the Hospital of The Rockefeller Institute for Medical Research)

(Received for publication, April 17, 1939)

Microorganisms perform a vast number of biochemical reactions, many of which are not known to occur in the animal and plant kingdoms (1). On the basis of present knowledge it is conceivable that one may find in nature microbial species endowed with catalysts capable of activating almost any type of biochemical reaction. During the past few years, this point of view has found its application in the isolation of soil microorganisms which selectively attack certain substances of interest to the biochemist (2) and to the immunologist (3-8). It may be recalled in particular that soluble polysaccharides, extracted from several bacterial pathogens, have been found to be decomposed by certain microbial species, although the same substances are resistant to the action of all known enzymes of animal and plant origin.

It appeared possible that there also exist in nature microorganisms capable of attacking not only isolated soluble components of other bacterial cells, but also the intact living cells themselves. Actually we have isolated from soil a spore-bearing bacillus which attacks and lyses the living cells of several species of Gram-positive microorganisms. The present paper describes the isolation of this new soil bacillus, and the preparation, properties, and activity of the soluble agent by means of which it attacks and lyses the living cells of the susceptible, Gram-positive species.

EXPERIMENTAL

Isolation of a Spore-bearing Bacillus Capable of Lysing the Living Cells of Gram-Positive Microorganisms.—The method employed for the discovery of microorganisms capable of attacking certain definite organic compounds has already been described (2, 3). It is based on the assumption that all organic matter added to the soil eventually undergoes decomposition through the agency of microorganisms. In the present case, it was hoped

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>



Dubos, 1939. J Experim Med

Scoperti per la prima volta
nel 1939

Applicazioni



Medicina:

trattamento infezioni
chirurgiche, dentali e in
oftalmologia



Mercato alimentare:
sostituto dei conservanti



Allevamenti e Acquacoltura

migliorare la
produzione

Agricoltura:

controllo dei fitopatogeni



Huan et al., 2020. Front Microbiol. 11:582779



Peptidi Antimicrobici

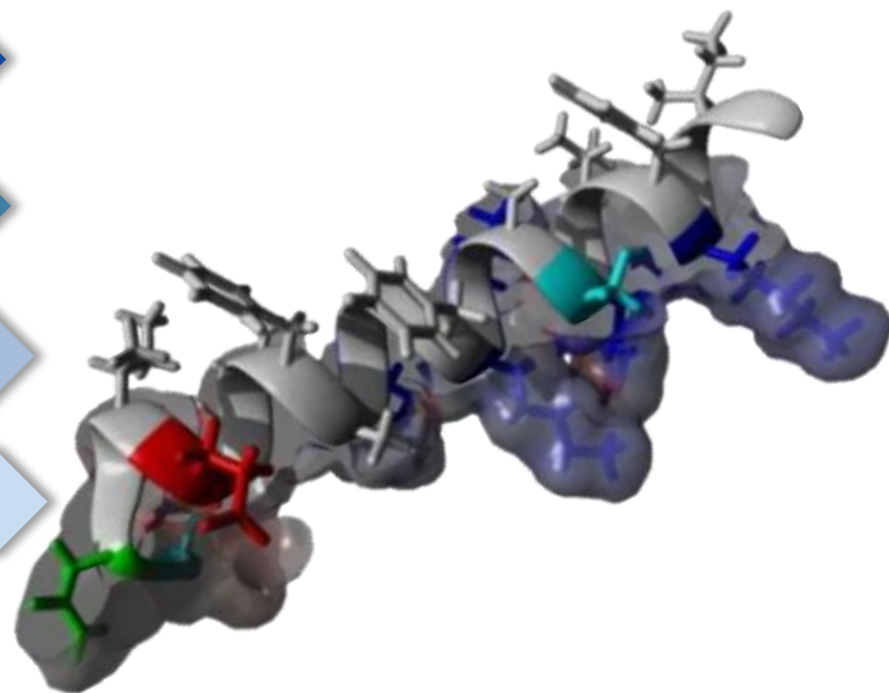
AMPs condividono alcune caratteristiche comuni:

12-50 aminoacidi

Carichi positivamente
(più comuni)

Struttura anfipatica

Carichi negativamente
(meno comuni)



Moretta *et al.* 2021, Front Cell Infect Microbiol. 11:668632

Meccanismo di Azione Antibatterico degli AMP

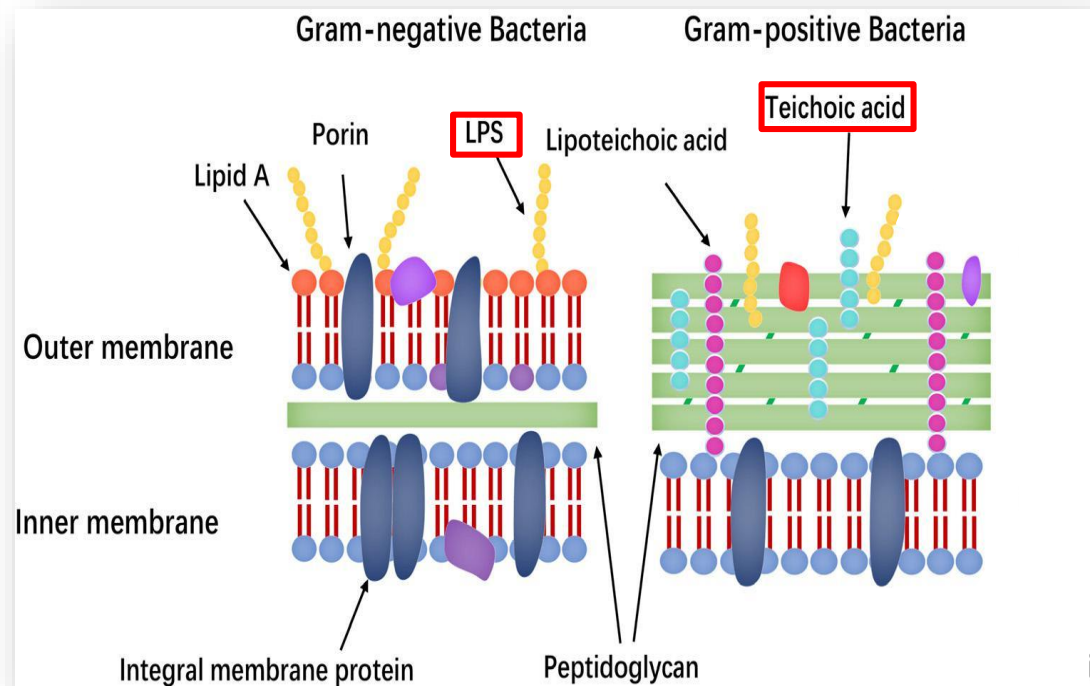


Membranolitico:

destabilizzano la membrana batterica causandone l'alterazione e il «fast killing»

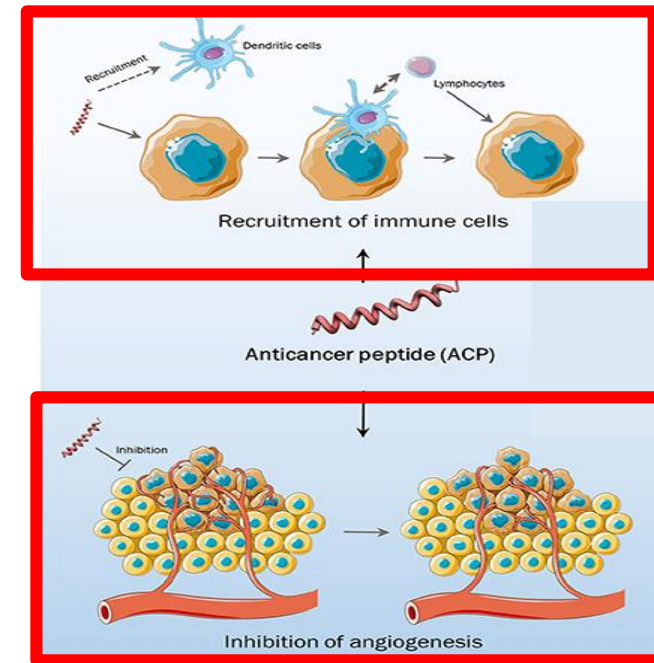
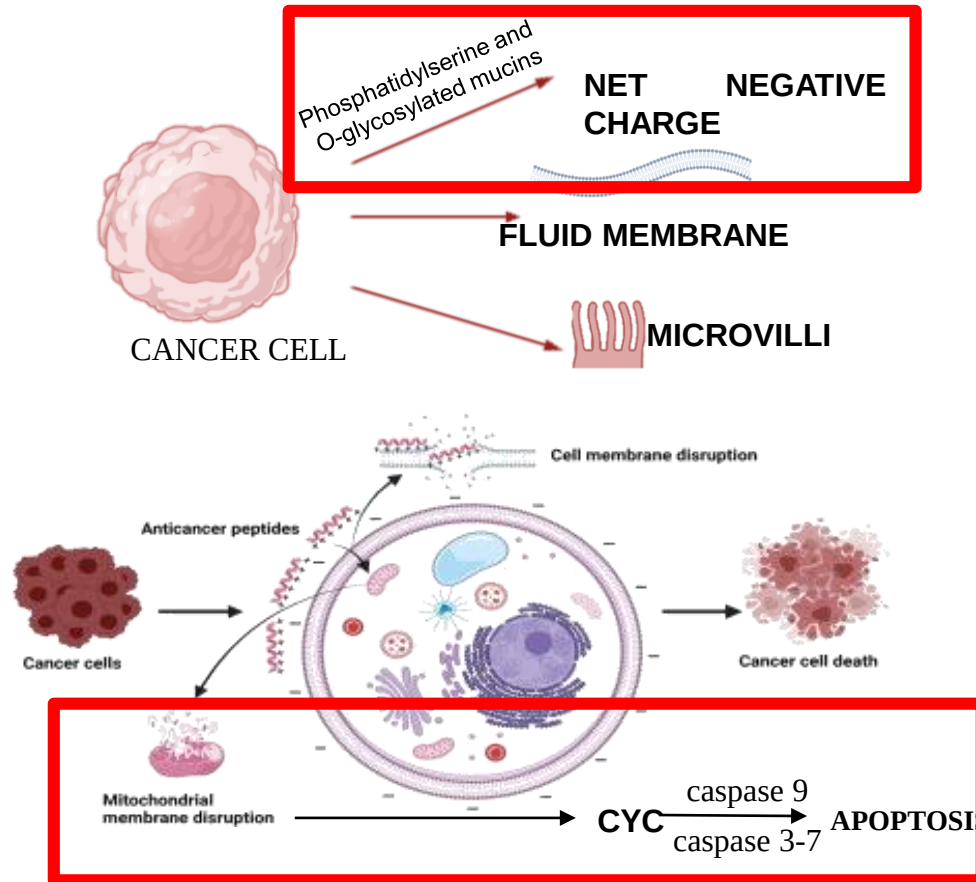
Non-membranolitico:

sono in grado di attraversare la membrana senza danneggiarla, destabilizzando alcune funzioni cellulari



Huan *et al.*, 2020. Front Microbiol. 11:582779

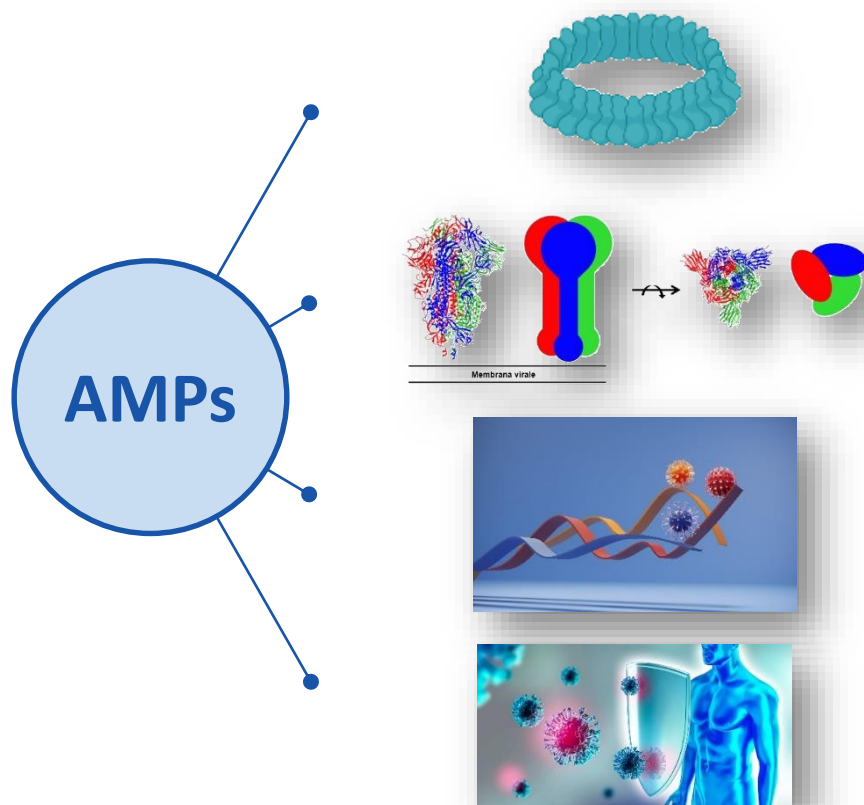
Meccanismo di Azione dei Peptidi Anticancro (ACP)



Felicio *et al.*, 2017. Front Chem, 5:5
Papo and Shai, 2005. Cell Mol Life Scie, 62.



Meccanismo Antivirale degli AMP



**FORMAZIONE DI PORI A
LIVELLO DEL CAPSIDE VIRALE**

**BLOCCO DEL LEGAME DEL
VIRUS CON L'EPARAN SOLFATO**

**BLOCCO DI MECCANISMI DI
REPLICAZIONE**

**STIMOLAZIONE DELLA
RISPOSTA IMMUNITARIA
DELL'OSPITE**

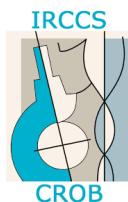
Hsieh e Hartshorn, 2016. *Pharmaceuticals*. 9:53; Ding *et al.*, 2009. *J. Innate Immun*, 1:413–420. Penberthy *et al.*, 2011. *Cell Mol Life Sci*. 68:2231–42.; Bergman *et al.*, 2007. *Curr HIV Res*, 5:410–415. Ahmed *et al.*, 2019. *Viruses*, 1:E704.

AAA SAFE-SOS

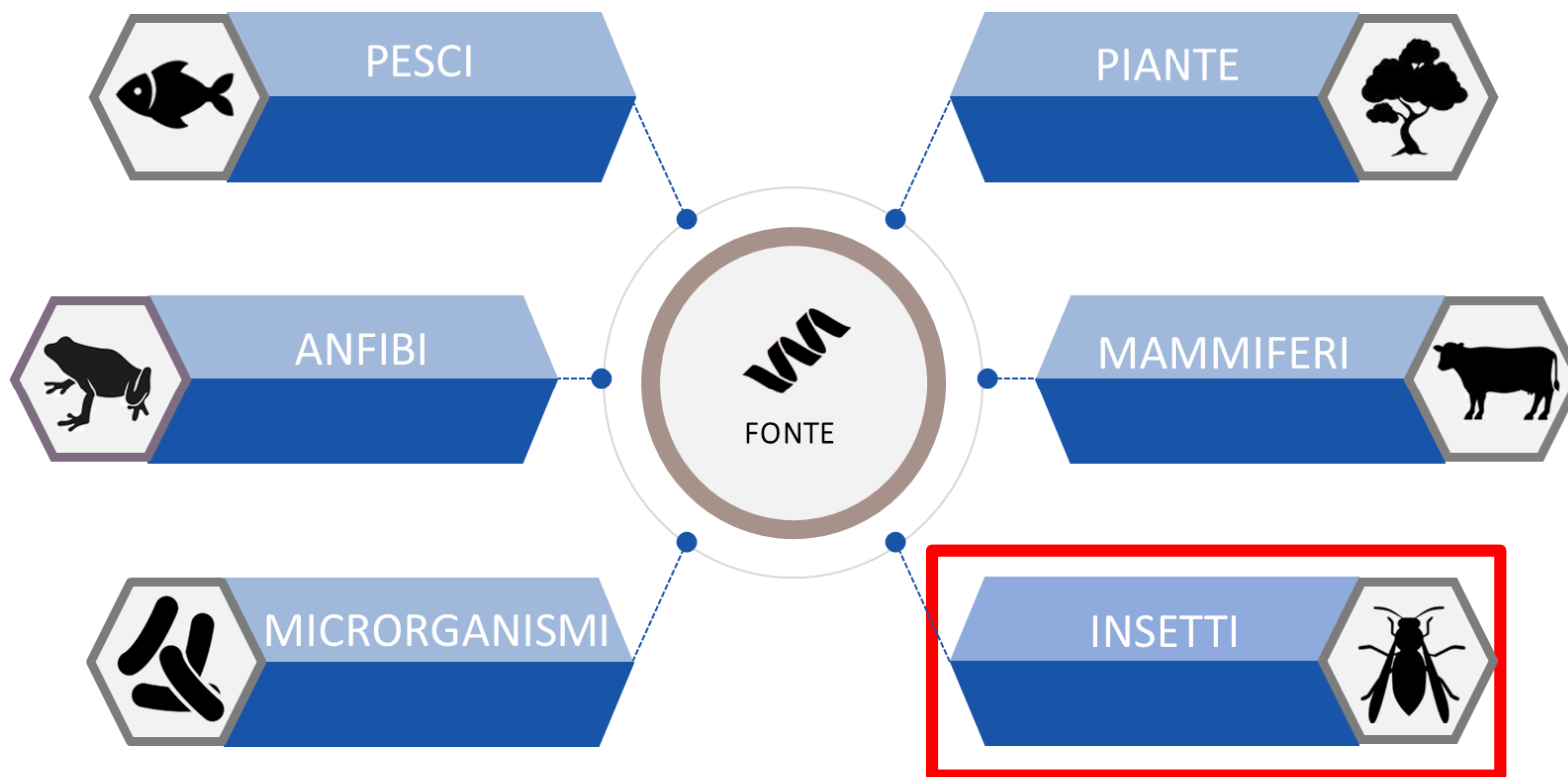
Nuove molecole ad attività antimicrobica, anticancro ed antivirale: soluzioni alternative a fronte di tre tra le principali emergenze socio-sanitarie

❖ AMP come nuove molecole ad attività antimicrobica, anticancro ed antivirale

❖ Fonte innovativa



Fonti di AMP

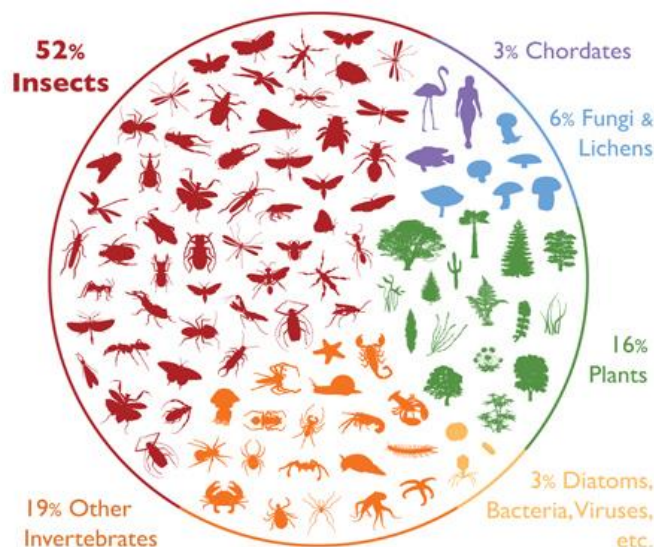


Huan *et al.*, 2020. Front Microbiol. 11:582779

Insetti e biomimetica



Gruppo eterogeneo di organismi con il più elevato livello di **BIODIVERSITA'**



Fonte innovativa ed inesauribile di **MOLECOLE UTILI (R&D)**

Didham *et al.*, 2015. Insect Conser Diversity, 8:1-2

IL PROGETTO: AAA SAFE-SOS

- ❖ Approccio «*Omico, in Silico e in Vitro*» per l'identificazione e caratterizzazione funzionale di AMP derivati da insetti come una nuova categoria di farmaci sicuri ed efficaci, come soluzione terapeutica innovativa per la protezione della salute umana.
- ❖ Uso di AMP come molecole alternative o in sinergia con antibiotici, chemioterapici, antivirali e antifungini convenzionali.



IL PROGETTO: AAA SAFE-SOS



Black Soldier Fly
Hermetia illucens
(Diptera: Stratiomyidae)

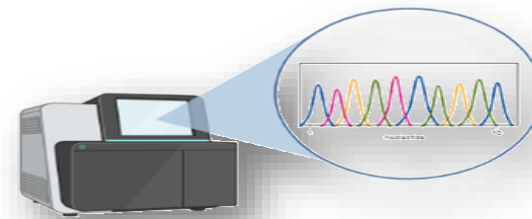
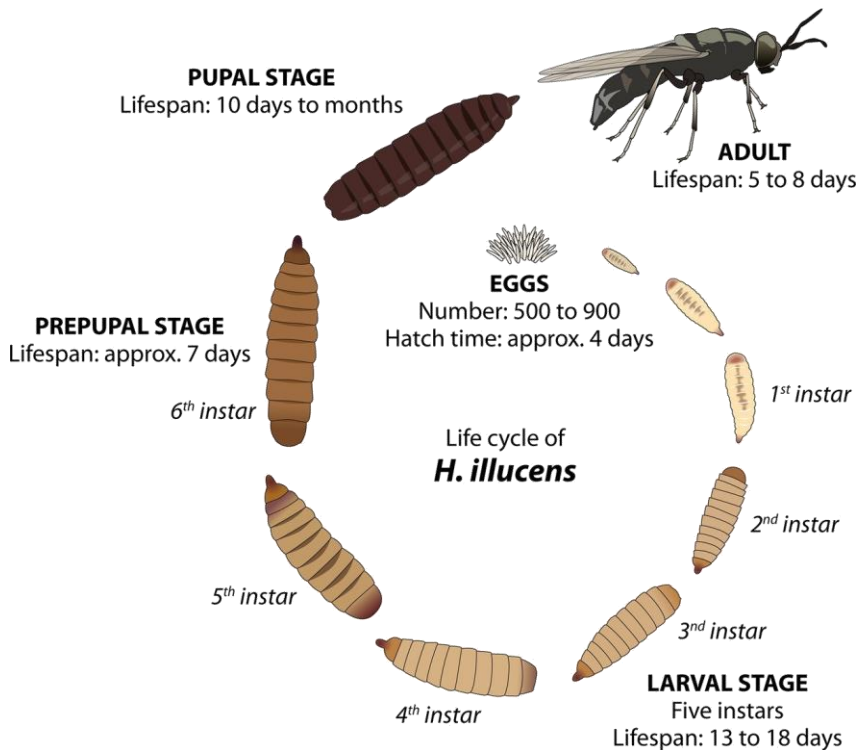
Red Palm Weevil
Rhynchophorus ferrugineus
(Coleoptera: Curculionidea)



Cosa è stato fatto

Allevamento di *Hermetia illucens*

Riannotazione del trascrittoma



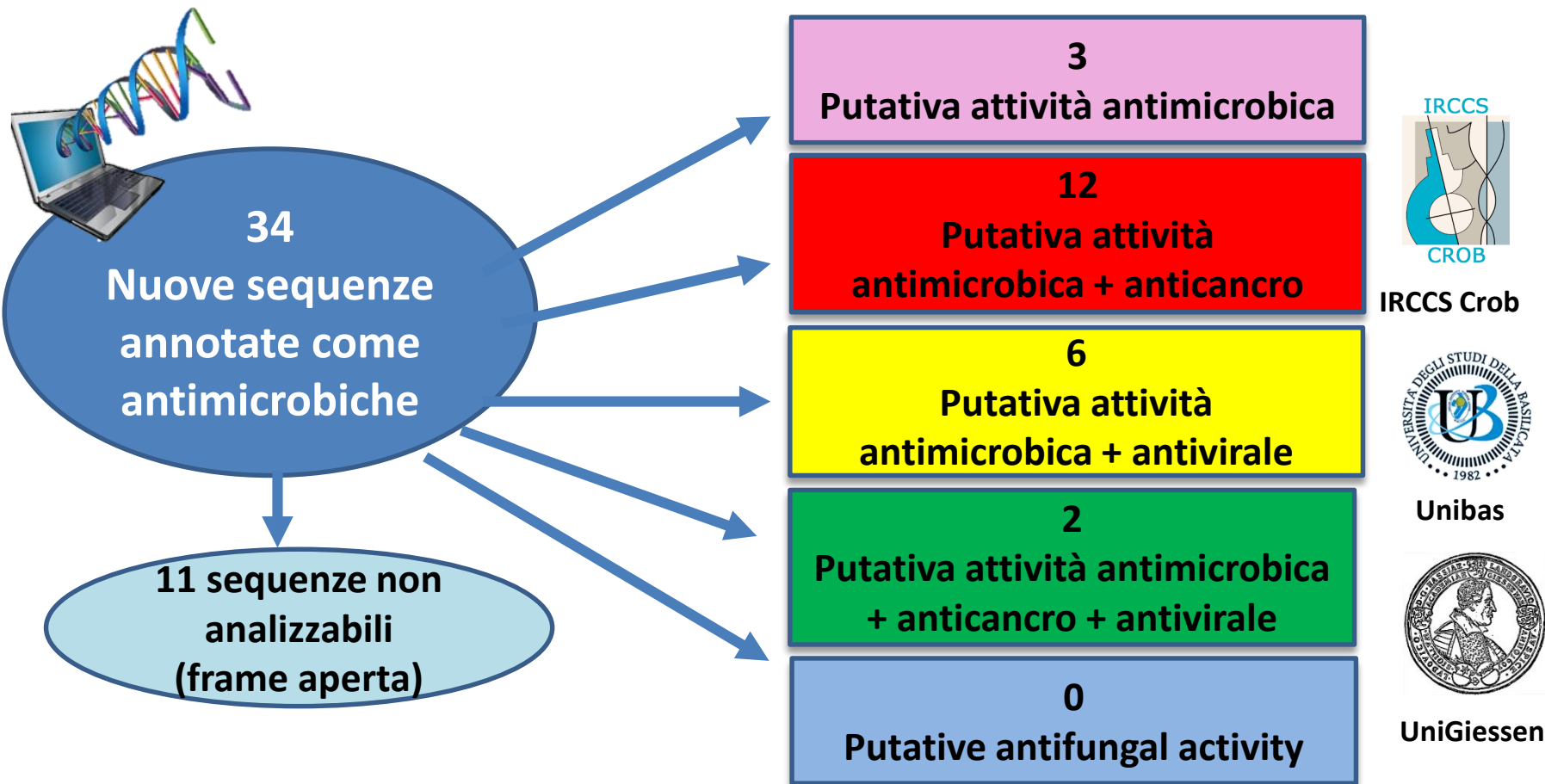
Unibas



UniGiessen

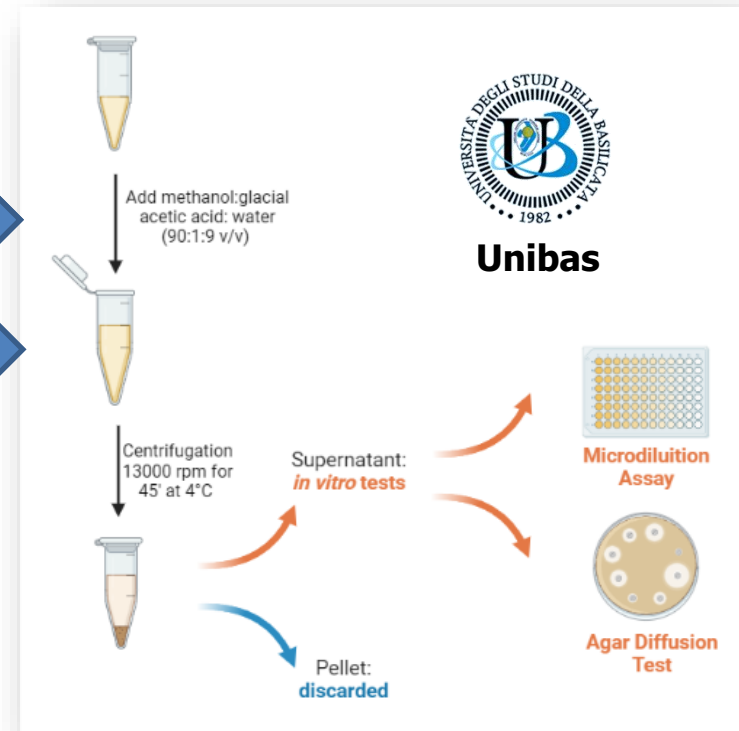
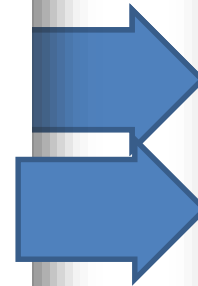
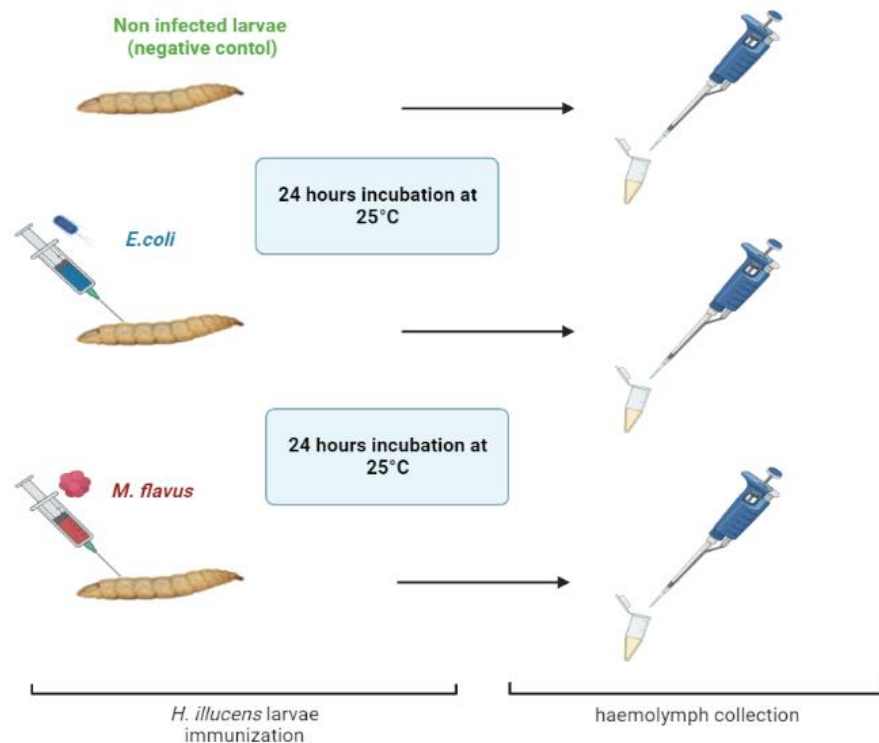
Cosa è stato fatto

Analisi bioinformatiche dei nuovi AMPs



Cosa è stato fatto

Infezione di larve di *H. illucens* con batteri gram+ e gram- ed estrazione della componente peptidica



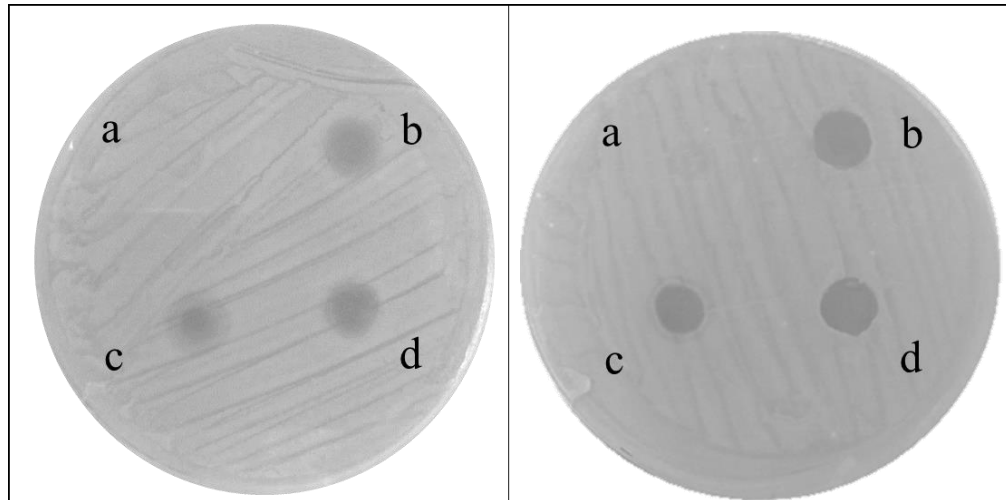
Cosa è stato fatto

Agar diffusion test



Unibas

E. coli
Gram -



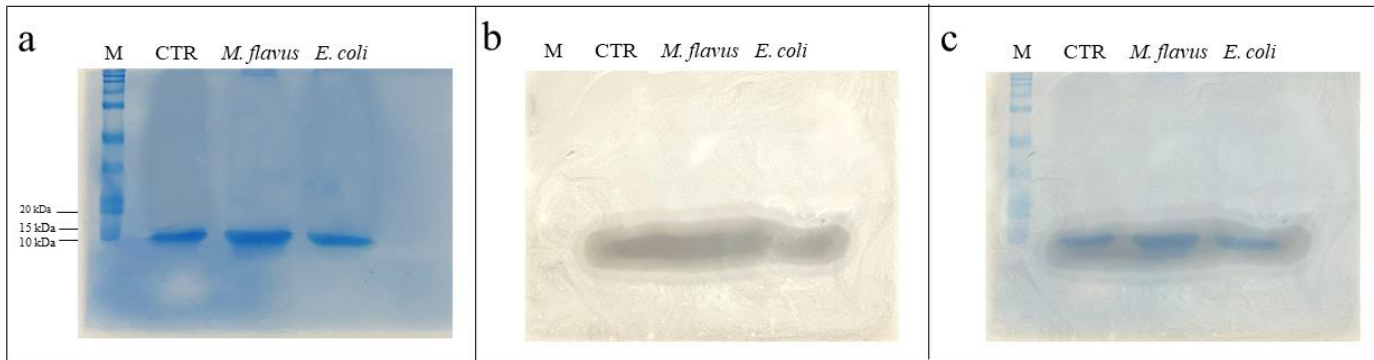
M. flavus
Gram +

- a) H₂O, controllo negativo
- b) frazione peptidica da larve infettate con *E. coli*
- c) frazione peptidica da larve controllo
- d) frazione peptidica da larve infettate con *M. flavus*

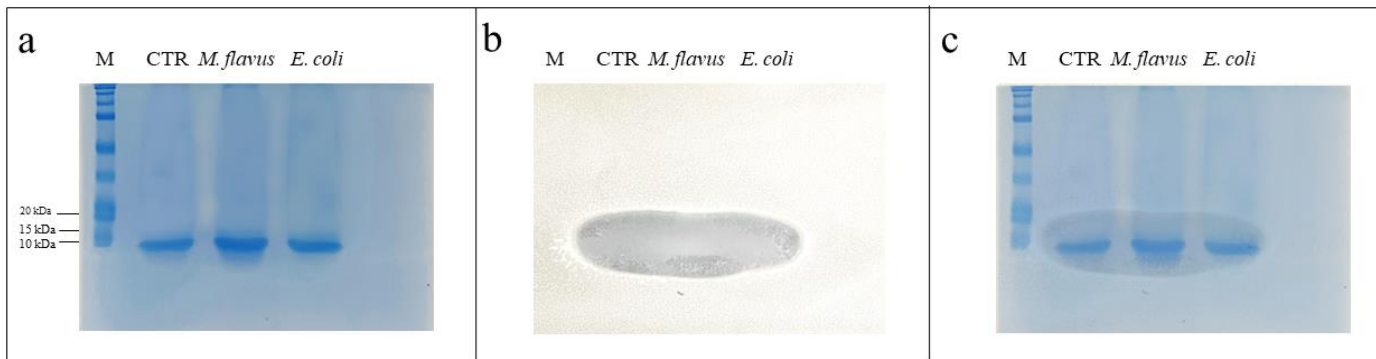
Cosa è stato fatto

Autobiografia

E. coli



M. flavus



- a) SDS-PAGE
- b) Autobiografia
- c) Sovrapposizione delle precedenti immagini



Unibas



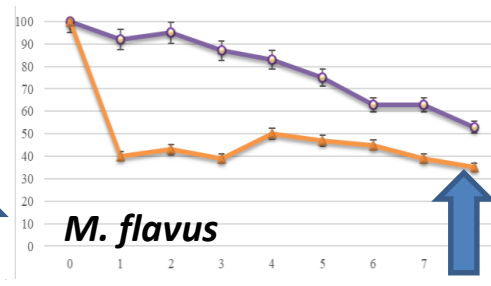
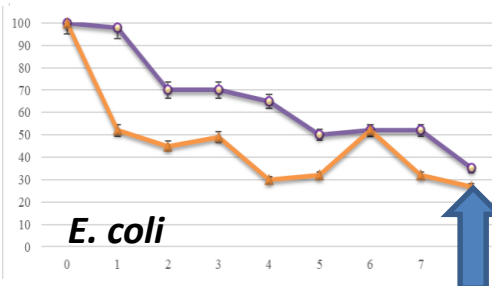
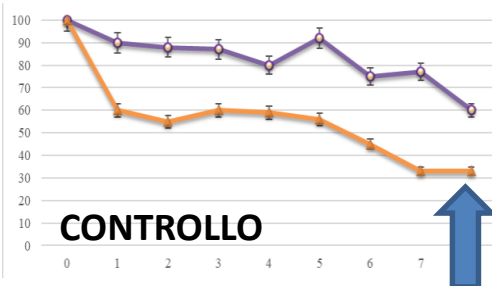
IRCCS Crob

Cosa è stato fatto

Saggi di proliferazione cellulare

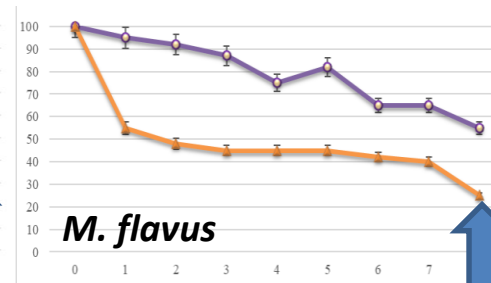
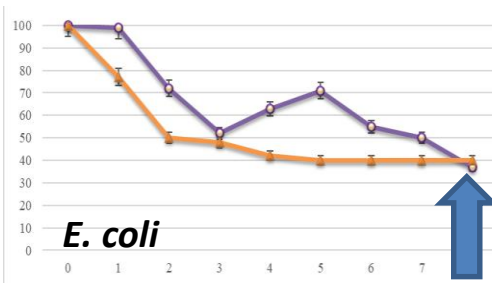
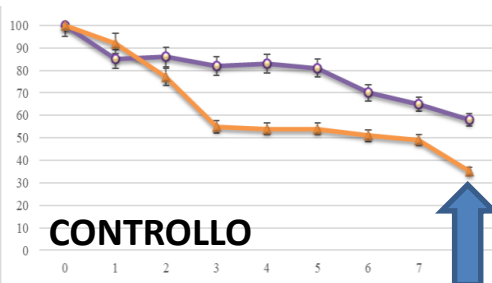
- HT-29 (adenocarcinoma coloretale)
- HCT-116 (carcinoma coloretale)

HT-29

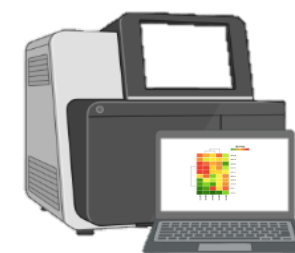


Emolinfa totale
Frazione peptidica

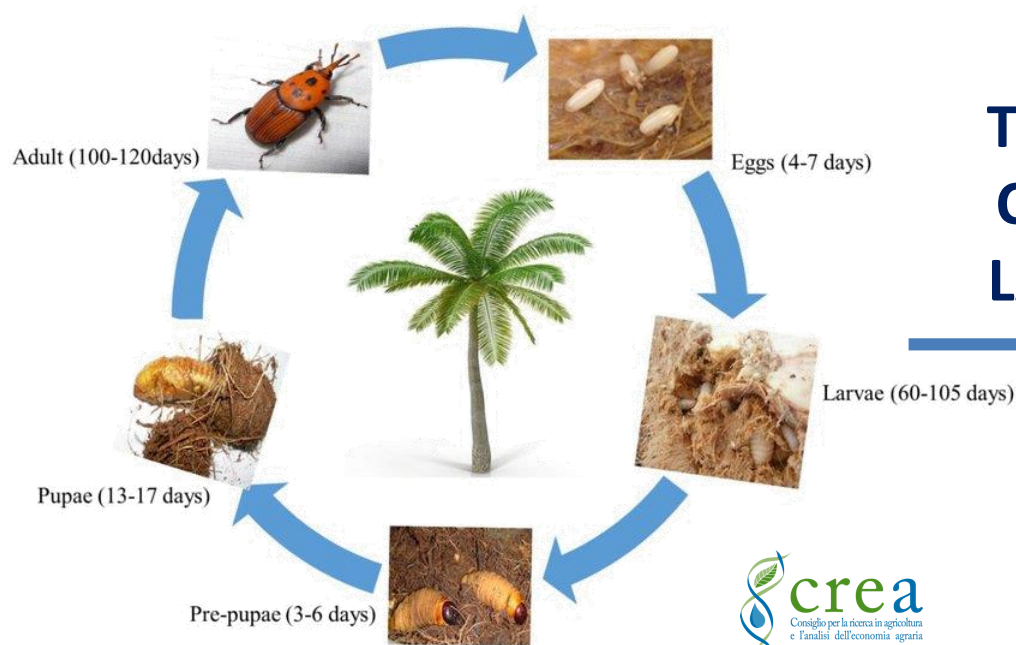
HCT-116



Diluizioni seriali da 1:6400 (1) to 1:50 (8)



TRASCRIPTOMA COMBINATO DI LARVE E ADULTI



Cosa è stato fatto

Nuovo allevamento di *Rhynchophorus ferrugineus* e selezione degli esemplari per la costruzione *de novo* del trascrittoma

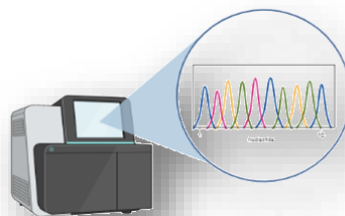
Cosa è stato fatto

Costruzione *de novo* del trascrittoma combinato di larve e adulti di *R. ferrugineus*



RNA

cDNA



Costruzione *de novo* del trascrittoma combinato

Annotazione funzionale del trascrittoma combinato

127.867 contigs



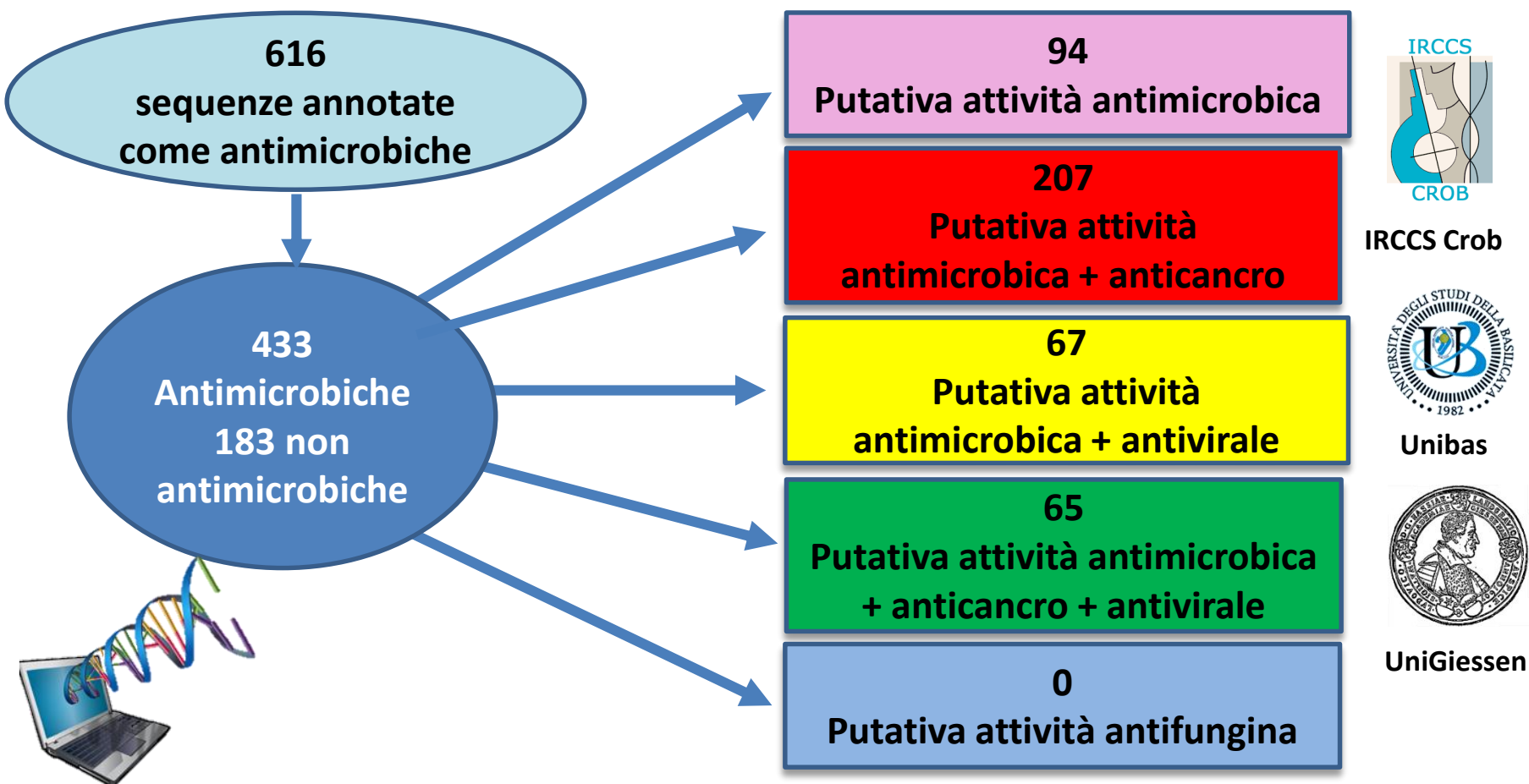
Unibas



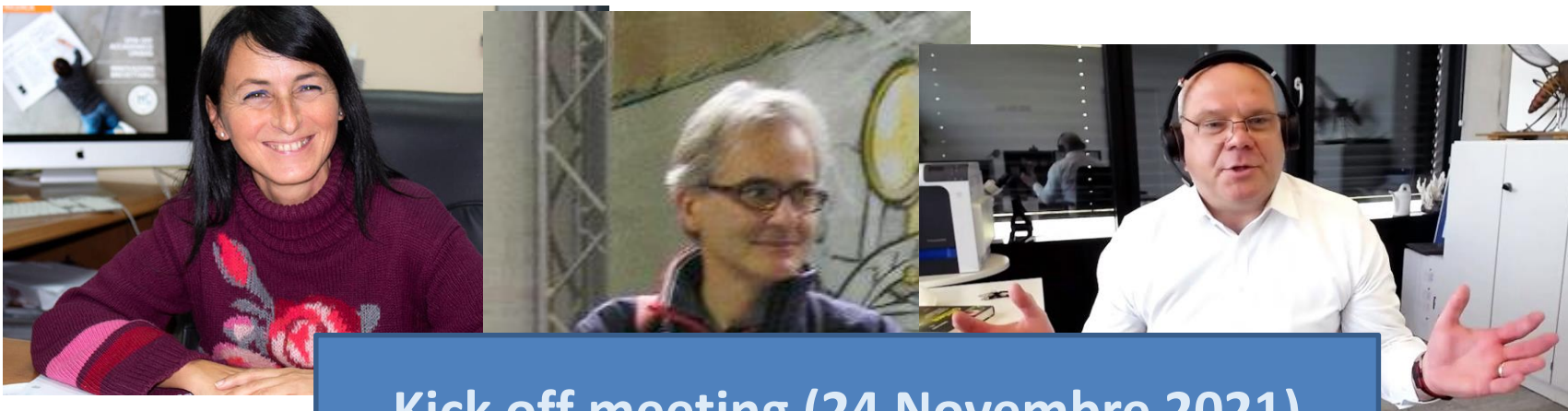
UniGiessen

Cosa è stato fatto

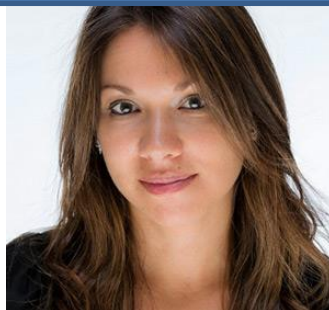
Analisi bioinformatiche dei nuovi AMPs



Coordinamento e divulgazione dei risultati



Kick off meeting (24 Novembre 2021)



Coordinamento e divulgazione dei risultati

Incontri in videoconferenza per monitorare l'andamento delle attività, condividere protocolli e risultati:

- 28 gennaio 2022
- 21 marzo 2022
- 10 maggio 2022
- 5 luglio 2022
- 14 settembre 2022
- 24 novembre 2022
- 16 gennaio 2023



Coordinamento e divulgazione dei risultati

1st semestre

Meeting:

- 28 gennaio 2022
- 21 marzo 2022
- 10 maggio 2022



**Condivisione protocolli allevamento
H. illucens e *R. ferrugineus***



**Condivisione protocolli per annotazione
trascrittoma di *H. illucens***



Pianificazione attività

2^o semestre

Meeting:

- 5 luglio 2022
- 14 settembre 2022
- 24 novembre 2022



**Condivisione risultati annotazione
trascrittoma di *R. ferrugineus* e
analisi bioinformatiche**



Coordinamento e divulgazione dei risultati

2° semestre

Meeting:

- 5 luglio 2022
- 14 settembre 2022
- 24 novembre 2022



Condivisione protocolli estrazione emolinfa da larve di *H. illucens* e risultati analisi antimicrobiche



Condivisione protocolli e risultati analisi anticancro su emolinfa estratta da larve di *H. illucens*



Pianificazione attività

Coordinamento e divulgazione dei risultati

Creazione di un
sito web
(<https://www.aaa.safesos.com>)



Publicazio ni

MINI-REVIEW ARTICLE

Tools in the Era of Multidrug Resistance in Bacteria: Applications for New Antimicrobial Peptides Discovery

Antonio Moretta^{1,#}, Carmen Scieuzo^{1,2,#}, Rosanna Salvia^{1,2,#,*}, Željko D. Popović^{3,4}, Alessandro Sgambato^{5,6} and Patrizia Falabella^{1,2,*}

¹Department of Sciences, University of Basilicata, Via dell'Ateneo Lucano 10, 85100, Potenza, Italy; ²Spinoff XFlies s.r.l, University of Basilicata, Via dell'Ateneo Lucano 10, 85100, Potenza, Italy; ³Department of Biology and Ecology, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 2, 21000 Novi Sad, Serbia; ⁴GenoLab, Molecular Diagnostic Laboratory, Kaposovska 7, 21000 Novi Sad, Serbia; ⁵Department of Translational Medicine and Surgery, Università Cattolica del Sacro Cuore, Rome, Italy; ⁶Centro di Riferimento Oncologico della Basilicata (IRCCS-CROB), Rionero in Vulture, Italy

Abstract: Antimicrobial peptides (AMPs) are small molecules belonging to innate immunity that act against

ARTICLE HISTORY

Received: April 04, 2022
Accepted: June 14, 2022

DOI:
10.2174/1381612828666220817163335



Article

In vitro evaluation of the antibacterial activity of the peptide fractions extracted from the hemolymph of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae)

1
2
3
4

Attività in Corso e Future

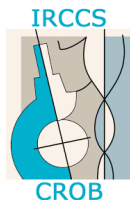
Incontri in presenza con i partner



Produzione ricombinante e/o sintesi chimica e purificazione di 3 peptidi antimicrobici di *H. illucens*



Unibas



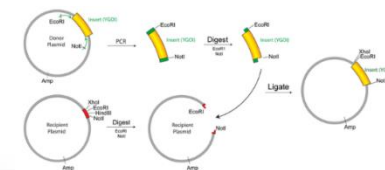
IRCCS Crob



Uni Novi Sad



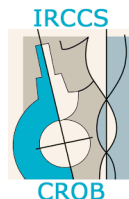
Uni Ioannina



Caratterizzazione funzionale *in vitro* dell'attività antibatterica, antivirale e antitumorale degli AMP di *H. illucens* prodotti



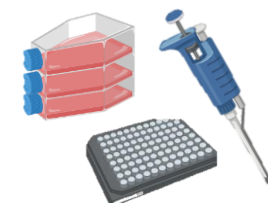
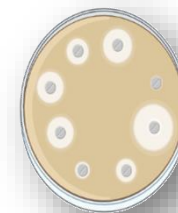
Unibas



IRCCS Crob



Università di Catania

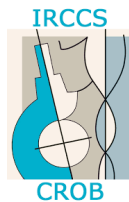


Attività in Corso e Future

Rianalisi delle sequenze presenti nel trascrittoma di
larve e adulti di *R. ferrugineus*



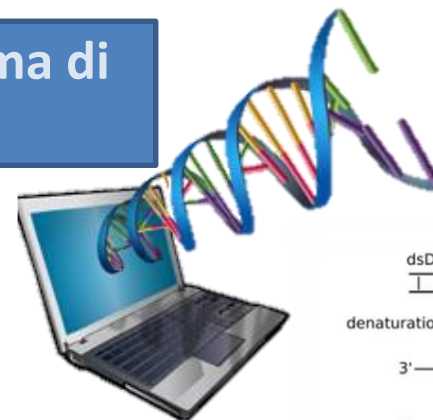
Unibas



IRCCS Crob



UniGiessen



qPCR di 5 AMPs di larve di *R. ferrugineus*
stimolate e non



Unibas

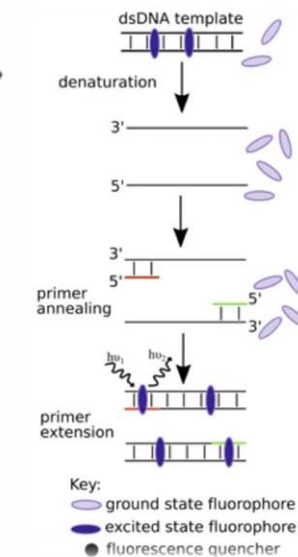


Uni Novi Sad

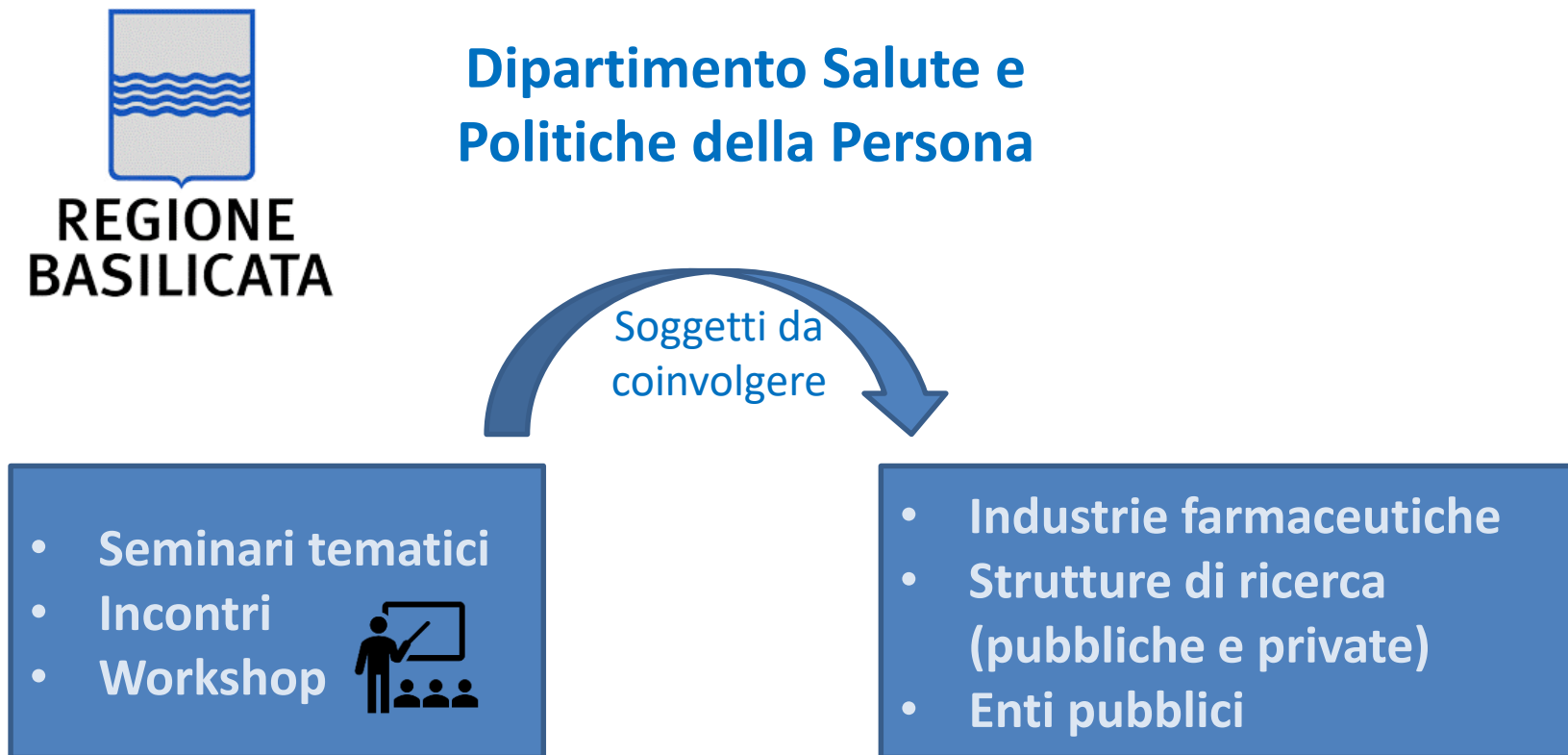


Università
di Catania

Uni Catania



Attività future di divulgazione



AAA SAFE-SOS

Grazie per l'attenzione



Unibas

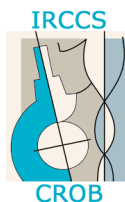


Uni Novi Sad



Università
di Catania

Uni Catania



IRCCS Crob



UniGiessen



UNIVERSITY
of IOANNINA

Uni Ioannina



**REGIONE
BASILICATA**