

# 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

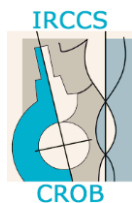


## AAA:SAFE SOS

## 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 Vilcinskis**

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



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



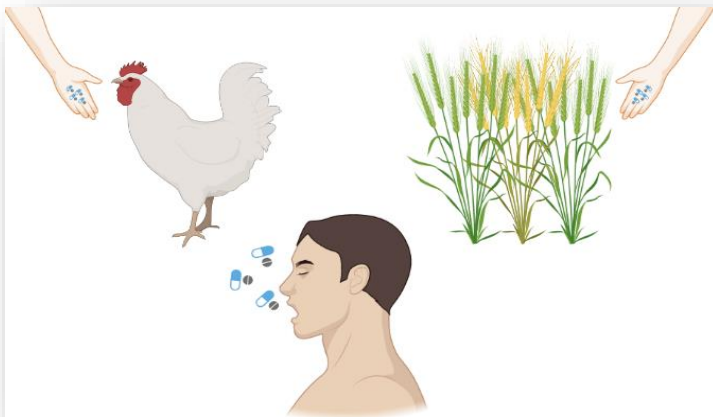
REGIONE  
BASILICATA

Regione Basilicata Dipartimento Salute e Politiche della Persona

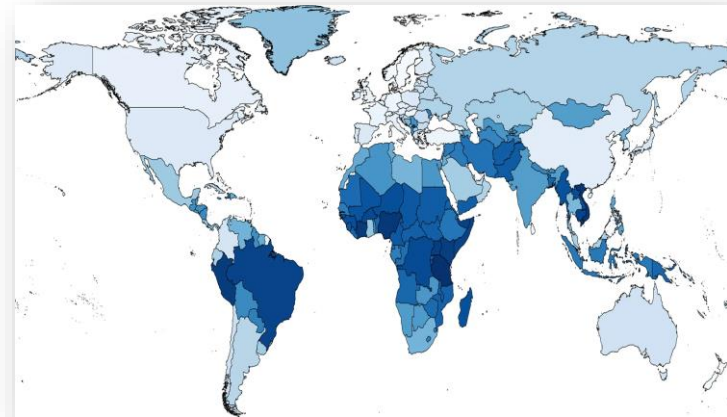
## AAA:SAFE SOS

# Resistenza Antimicrobica (AMR)

## Antibiotico Resistenza



Created in Biorender.com



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

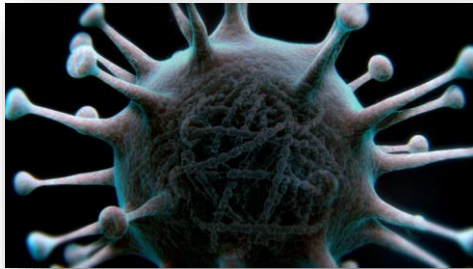
L'uso prolungato e indiscriminato di antibiotici ha consentito lo sviluppo di microrganismi resistenti

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)

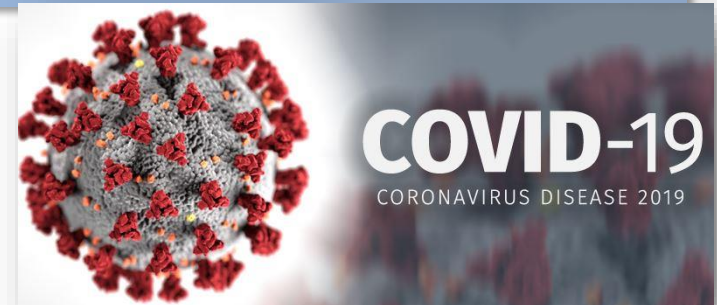


## Resistenza Antivirale



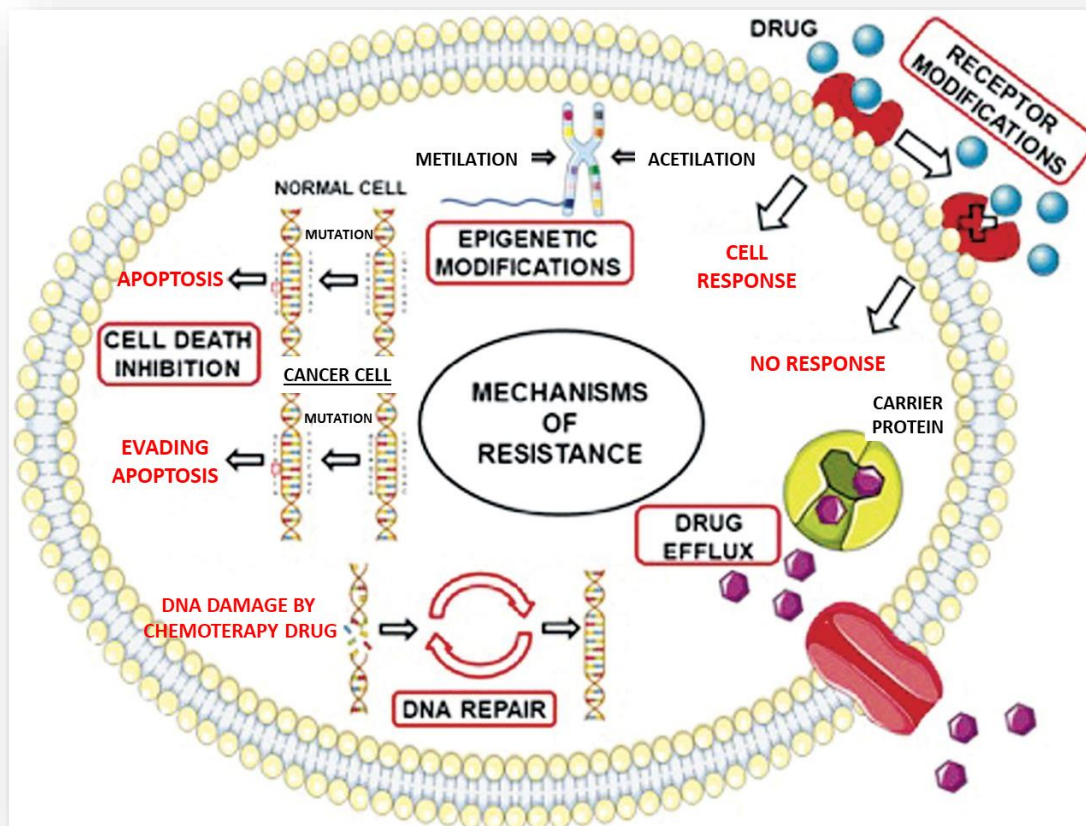
A causa di una elevata mutabilità costitutiva, i virus possono incrementare il bacino di infezione, diventando pericolosi anche per altre specie, incluso l'uomo.

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





# Aspecificità e resistenza a farmaci chemioterapici

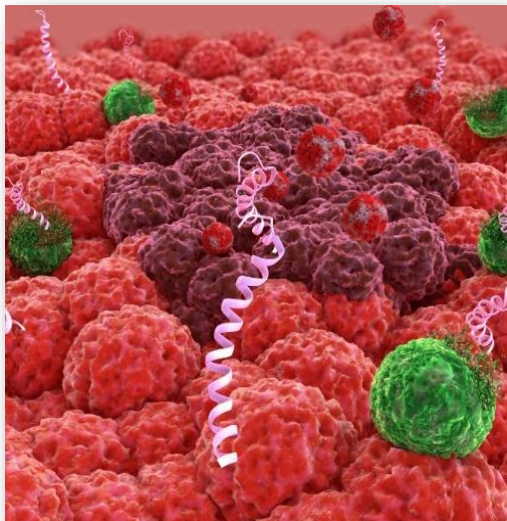


Effetti collaterali causati da danni alle cellule e tessuti sani durante la somministrazione di chemioterapici antitumorali e alla resistenza a tale terapia



# 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?

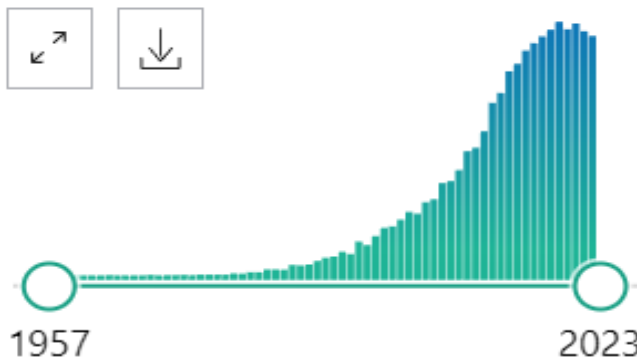
Gli AMP sono in grado di superare la resistenza antimicrobica e hanno un'azione ad ampio spettro con bassa tossicità per l'ospite.

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 Sporulating 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

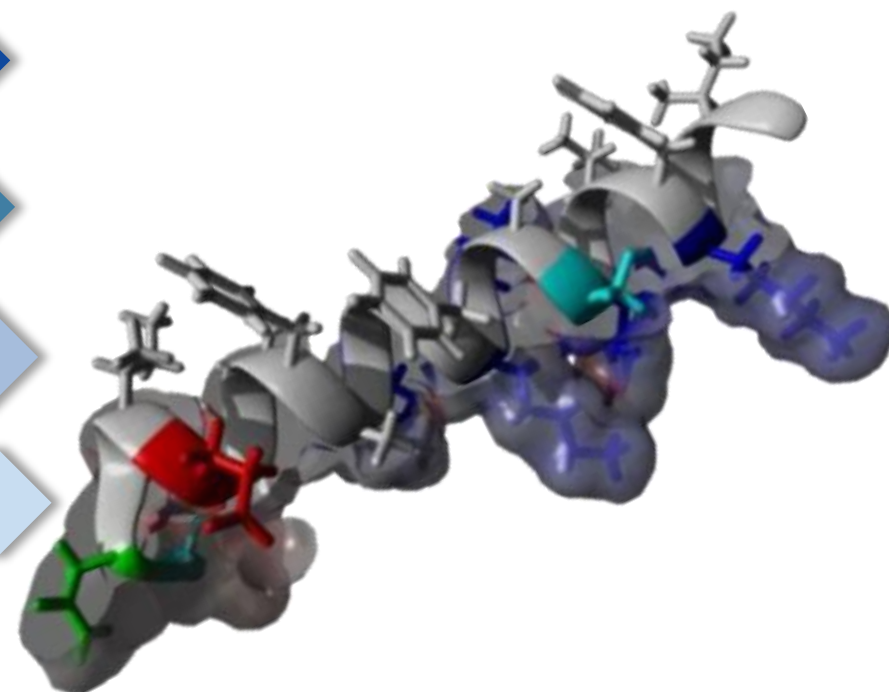
AMPs condividono alcune caratteristiche comuni:

12-50 aminoacidi

Carichi positivamente  
(più comuni)

Struttura anfipatica

Carichi negativamente  
(meno comuni)



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

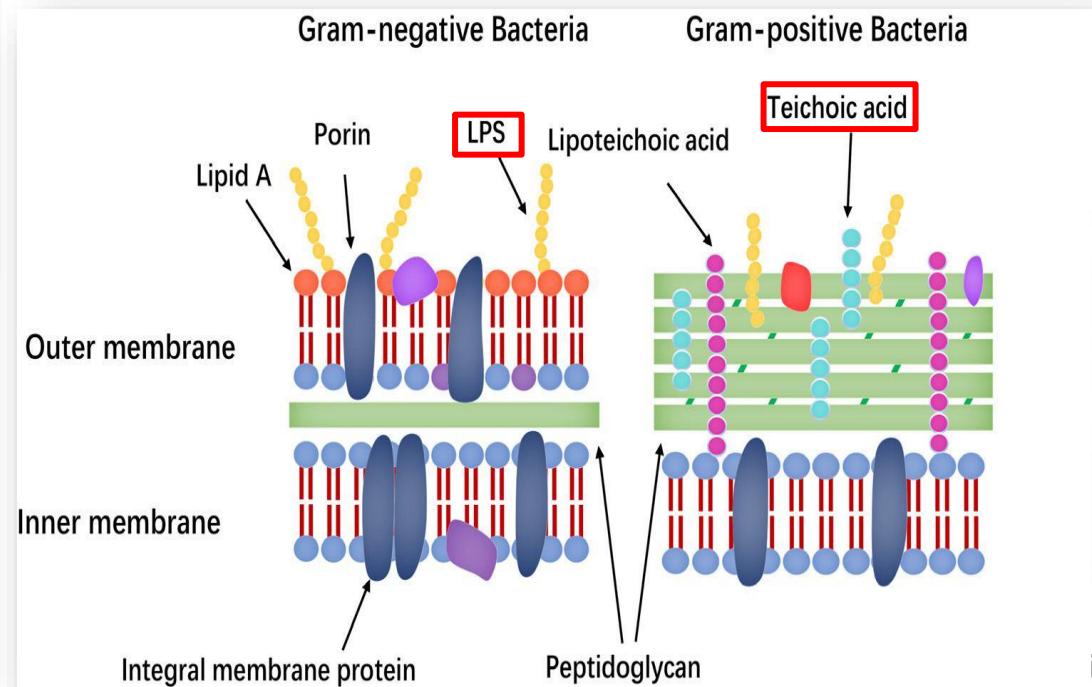


# Meccanismo di Azione Antibatterico degli AMP



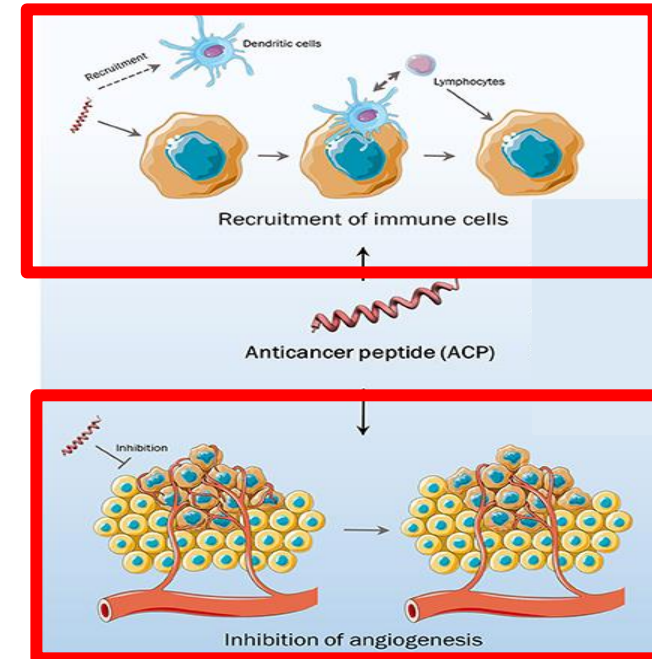
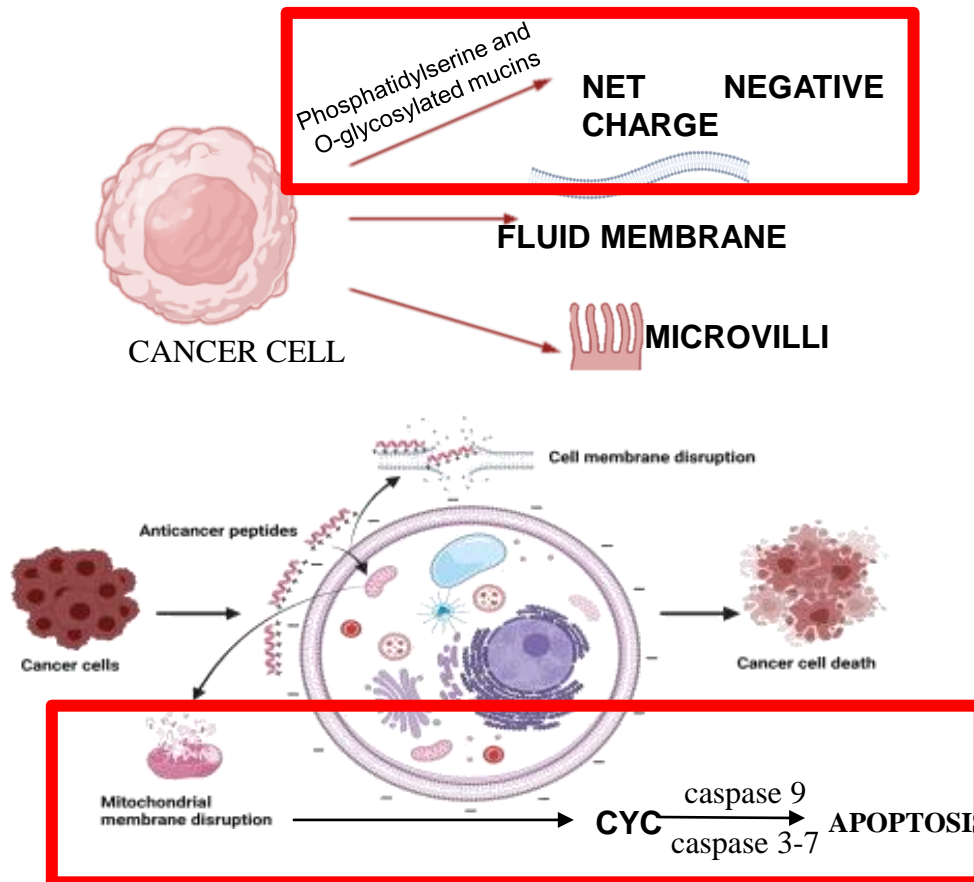
**Membranolitico:**  
destabilizzano la membrana batterica causandone l'alterazione e il «fast killing»

**Non-membranolitico:**  
sono in grado di attraversare la membrana senza danneggiarla, destabilizzando alcune funzioni cellulari



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

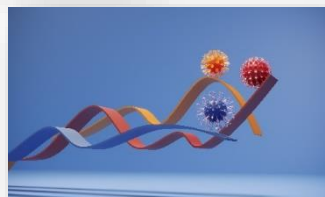
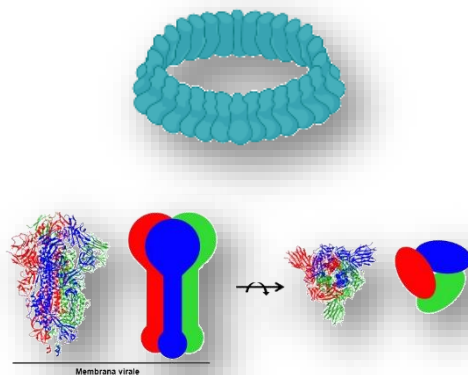
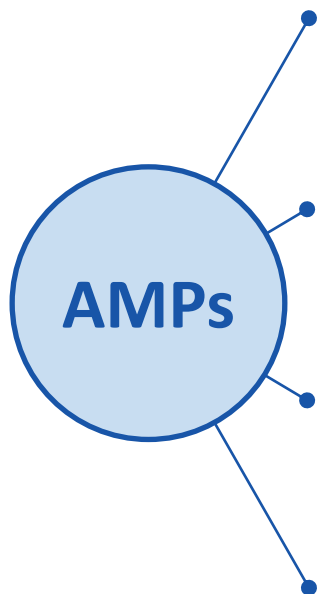
# Meccanismo di Azione dei Peptidi Anticancro (ACP)



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

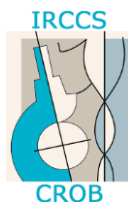
Hsieh e Hartshorn, 2016. *Pharmaceuticals*. 9:53; Ding *et al.*, 2009. *J. Innate Immun*, 1:413–420. Penberthy *et al.*, 2011. *Cell Mol Life Sci*. 68:2231-42.; Bergman *et al.*, 2007. *Curr HIV Res*, 5:410–415. Ahmed *et al.*, 2019. *Viruses*, 1:E704.

# 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



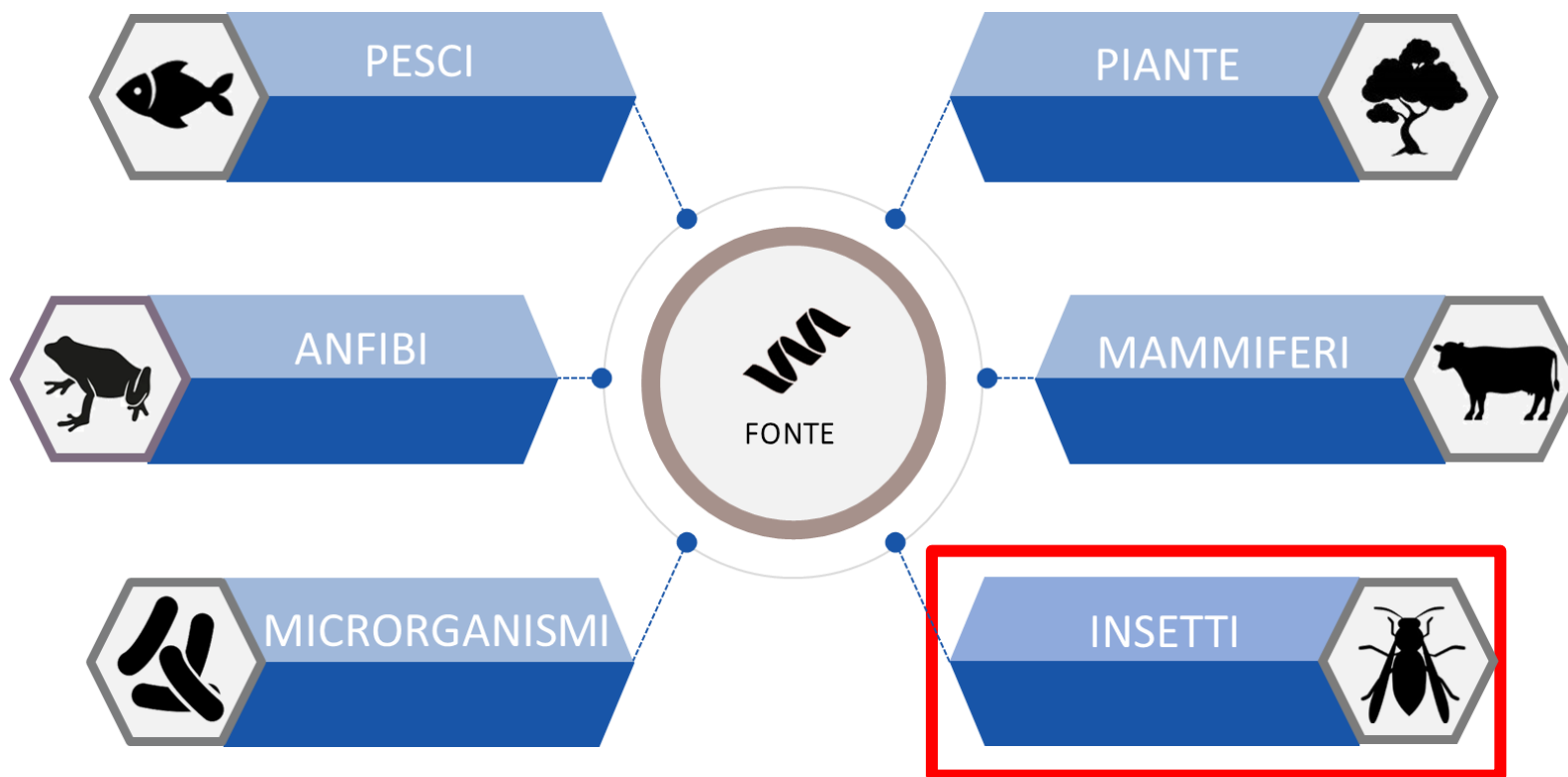
Università  
di Catania



UNIVERSITY  
of IOANNINA



# Fonti di AMP

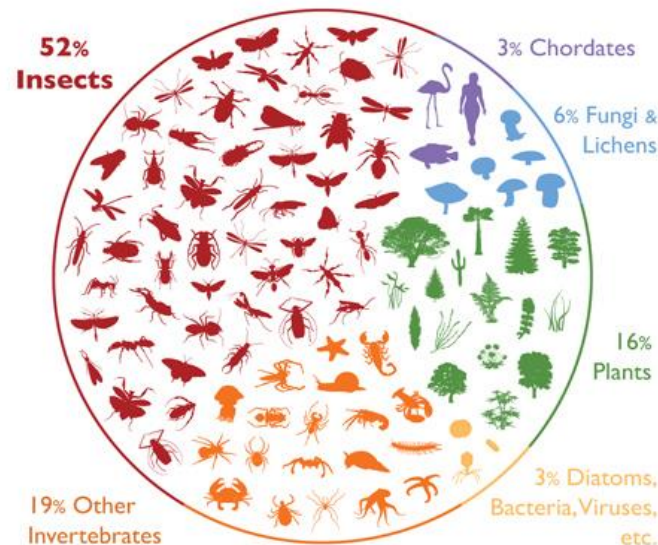


Huan *et al.*, 2020. *Front Microbiol.* 11:582779

# Insetti e biomimetica



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

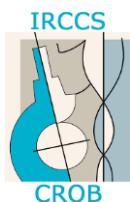


Fonte innovativa ed inesauribile di **MOLECOLE UTILI (R&D)**

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)

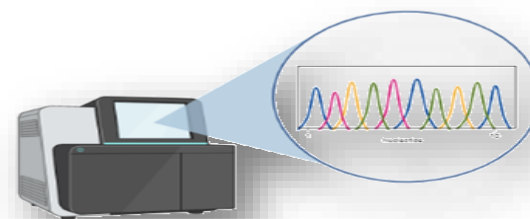
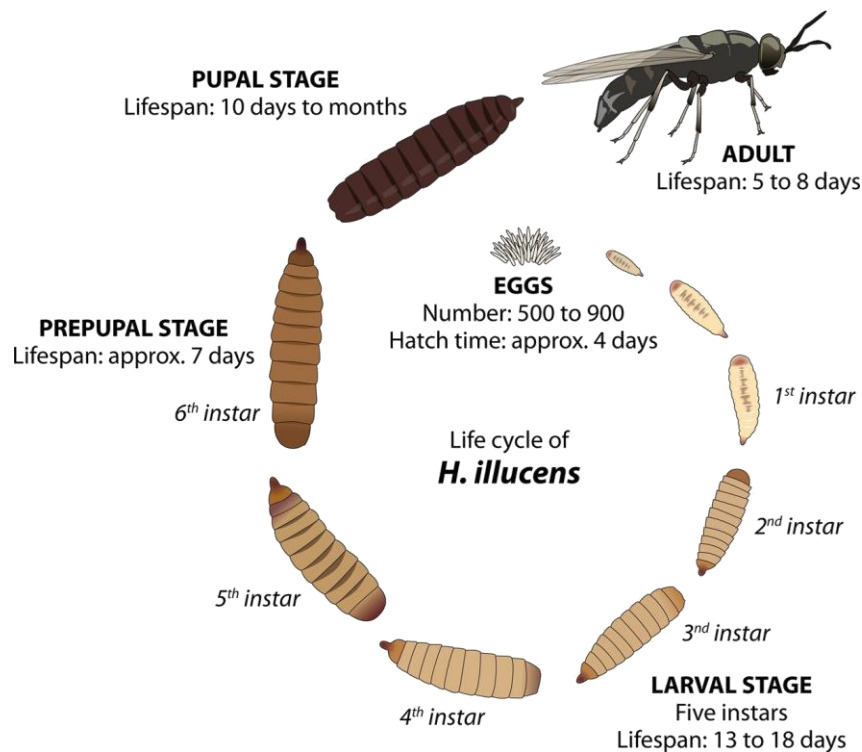




# Cosa è stato fatto

## Allevamento di *Hermetia illucens*

## Riannotazione del trascrittoma



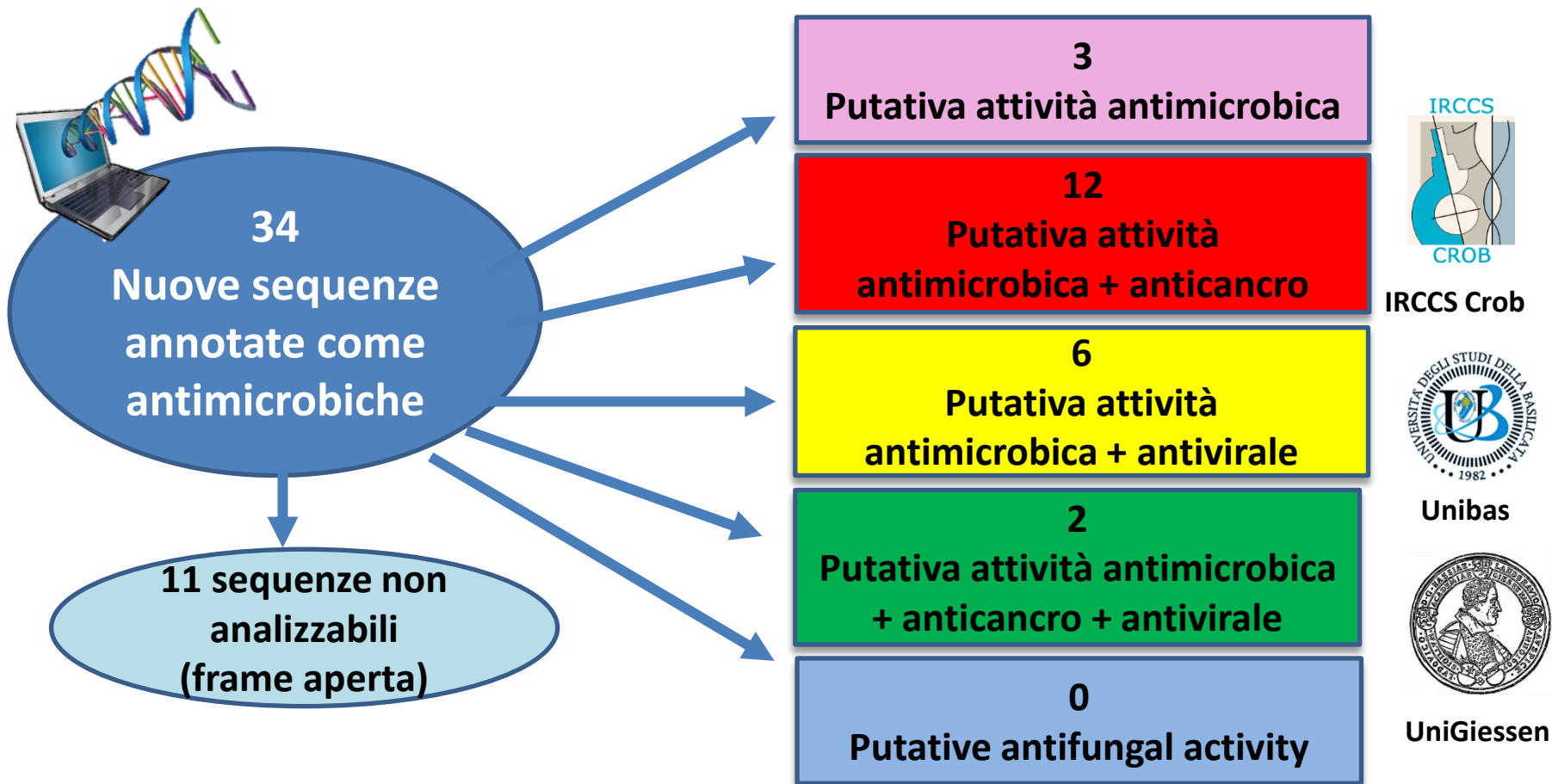
Unibas



UniGiessen

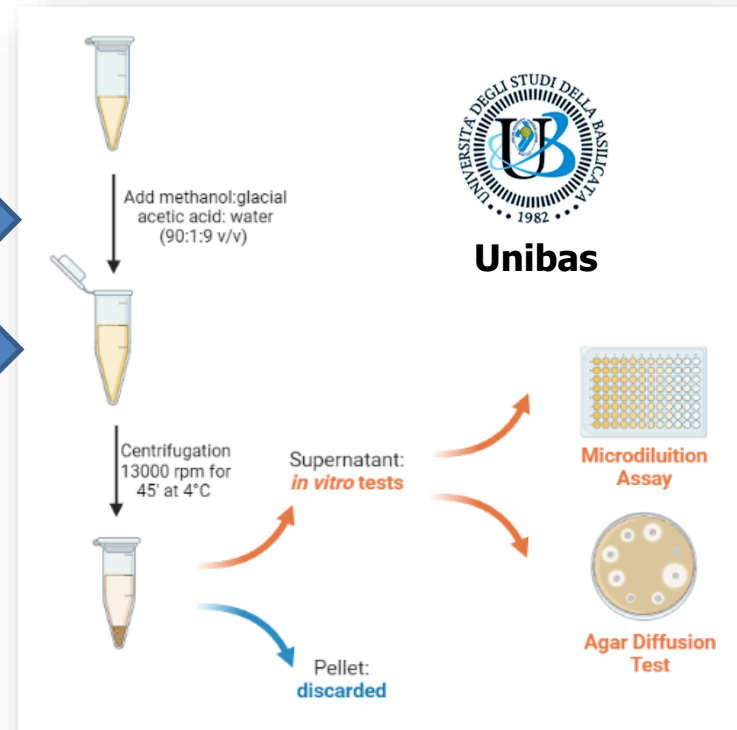
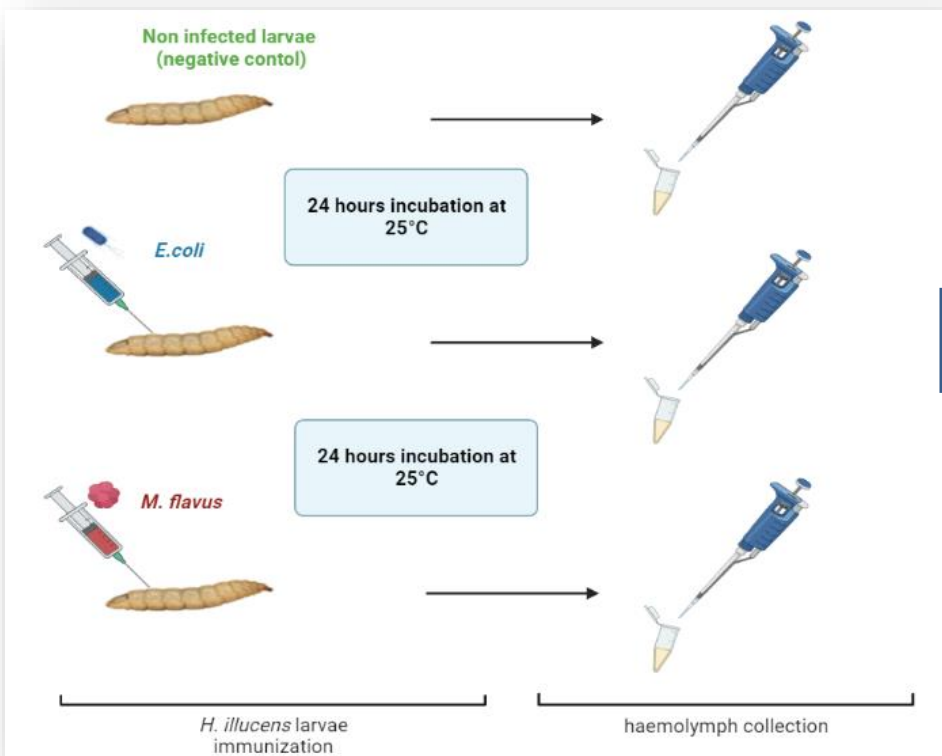
# Cosa è stato fatto

## 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



Unibas

# Cosa è stato fatto

Agar diffusion test

Autobiografia

*E. coli*

*M. flavus*

**ATTIVITA'  
ANTIMICROBICA  
DA PARTE DI TUTTI I  
CAMPIONI TESTATI  
(emolinfa da larve  
controllo, stimulate  
con *E. coli*, stimulate  
con *M. flavus*)**



Unibas

# Cosa è stato fatto

## Saggi di proliferazione cellulare

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

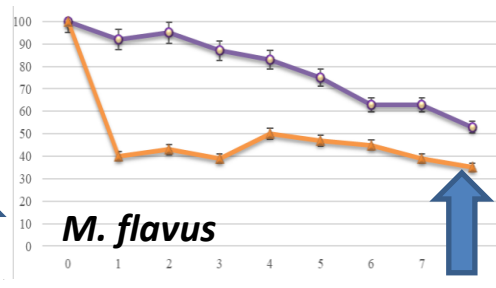
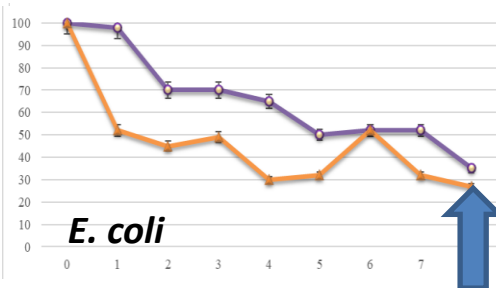
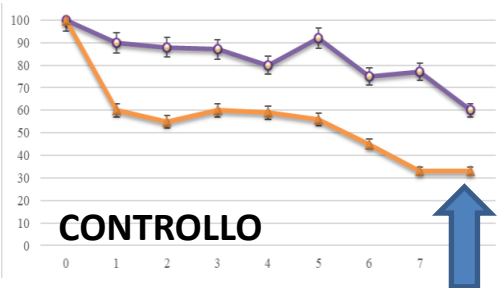


Unibas



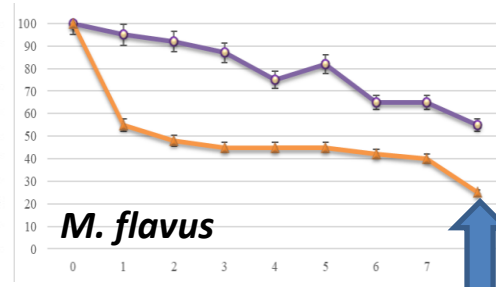
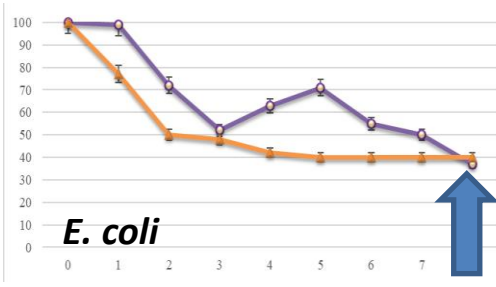
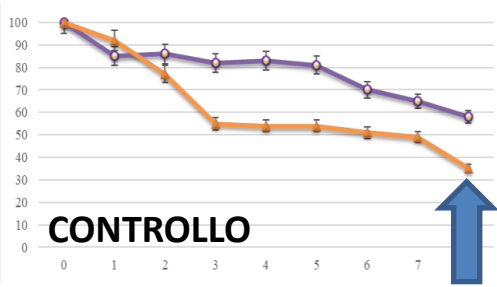
IRCCS Crob

### HT-29



Emolinfatale  
Frazione peptidica

### HCT-116



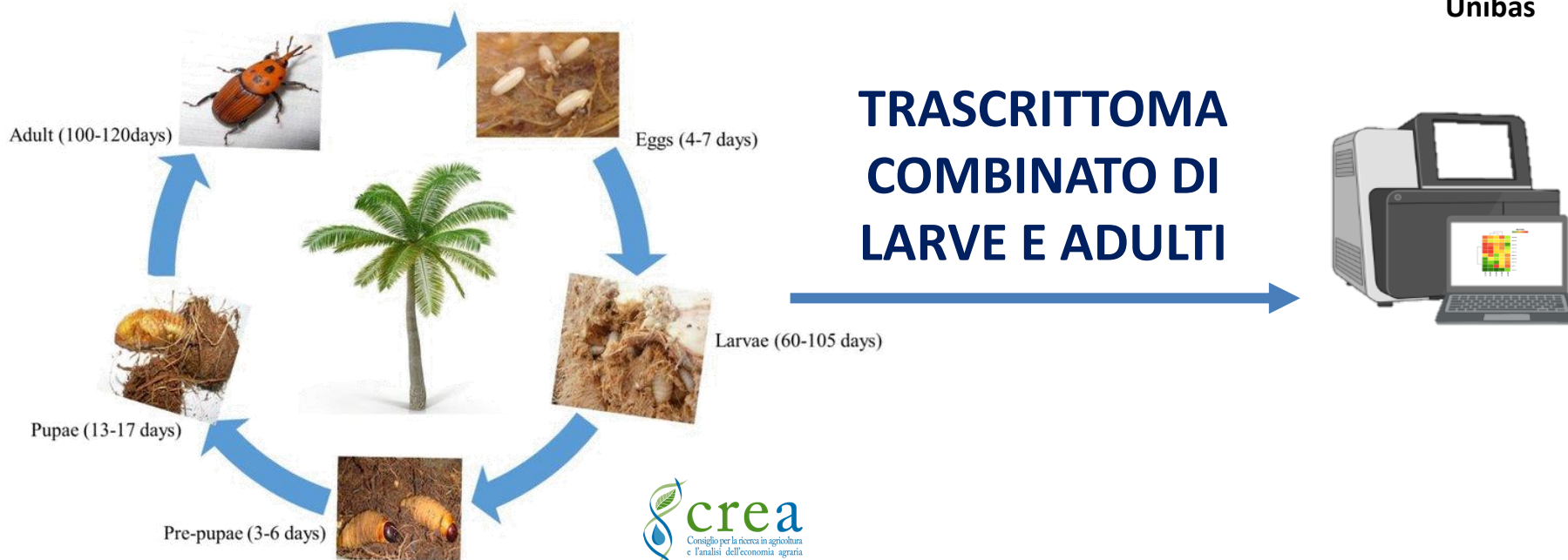
Diluizioni seriali da 1:6400 (1) to 1:50 (8)

# Cosa è stato fatto

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

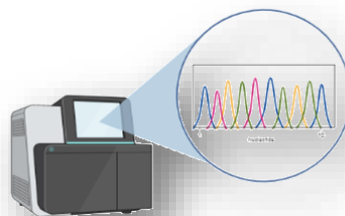
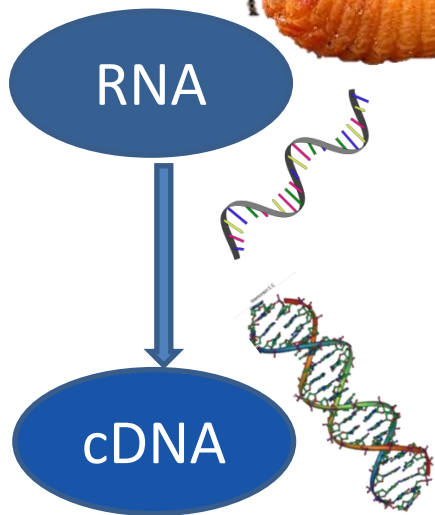


Unibas



# Cosa è stato fatto

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



Costruzione *de novo* del trascrittoma combinato



Annotazione funzionale del trascrittoma combinato



127.867 contigs



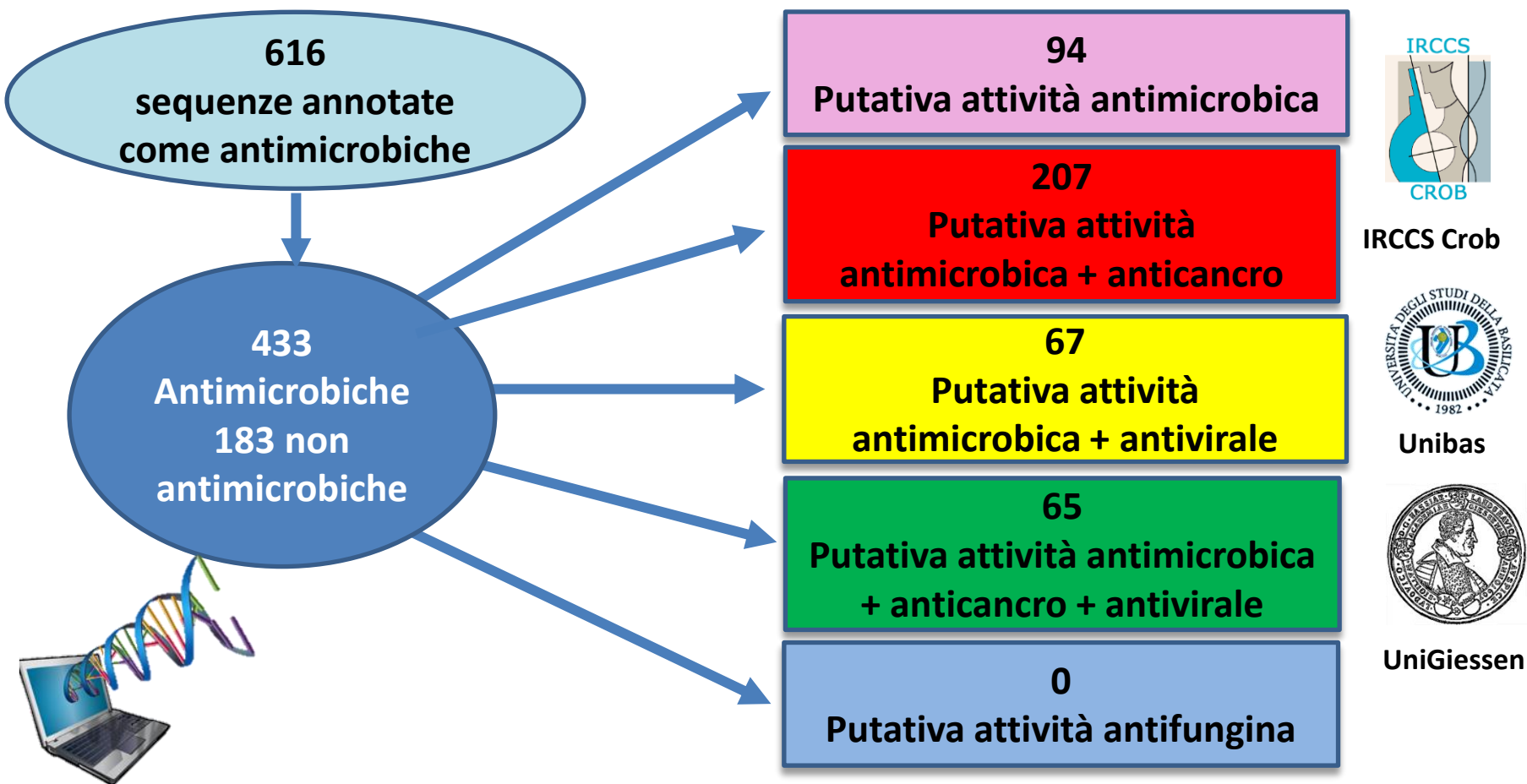
Unibas



UniGiessen

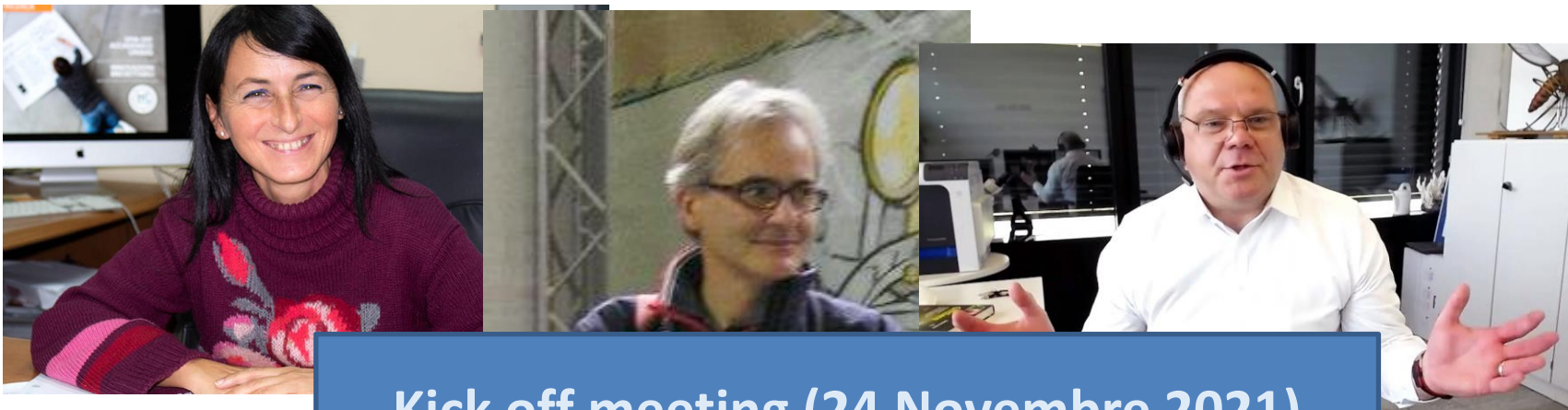
# Cosa è stato fatto

# 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

## 1<sup>st</sup> 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<sup>o</sup> 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>)

AAA: SAFE SOS

Home page Menu

Benvenuti sul sito del progetto AAA: SAFE SOS!

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

Visualizza mappa più grande

Via dell'Ateneo  
Lucano, 10, 85100...

Sileo S.r.l.

Università degli Studi

Via dei Mille

La presente proposta progettuale propone l'impiego di peptidi antimicrobici derivati da insetti come nuova categoria di farmaci sicuri ed efficaci, tali da offrire, per le loro peculiari caratteristiche, soluzioni terapeutiche innovative per la salvaguardia della salute umana.

# Publicazioni

## MINI-REVIEW ARTICLE

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

Antonio Moretta<sup>1,#</sup>, Carmen Scieuzo<sup>1,2,#</sup>, Rosanna Salvia<sup>1,2,#,\*</sup>, Željko D. Popović<sup>3,4</sup>, Alessandro Sgambato<sup>5,6</sup> and Patrizia Falabella<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Sciences, University of Basilicata, Via dell'Ateneo Lucano 10, 85100, Potenza, Italy; <sup>2</sup>Spinoff XFlies s.r.l, University of Basilicata, Via dell'Ateneo Lucano 10, 85100, Potenza, Italy; <sup>3</sup>Department of Biology and Ecology, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 2, 21000 Novi Sad, Serbia; <sup>4</sup>GenoLab, Molecular Diagnostic Laboratory, Kosovska 7, 21000 Novi Sad, Serbia; <sup>5</sup>Department of Translational Medicine and Surgery, Università Cattolica del Sacro Cuore, Rome, Italy; <sup>6</sup>Centro 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

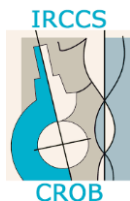
# Attività in Corso e Future

Incontri in presenza con i partner

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



Unibas



IRCCS Crob

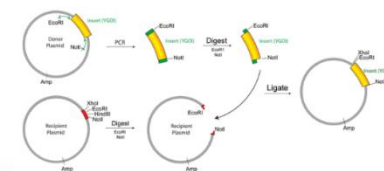


Uni Novi Sad



UNIVERSITY  
of IOANNINA

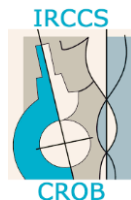
Uni Ioannina



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



Unibas

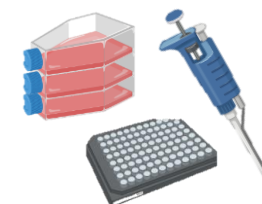
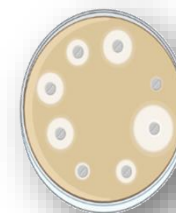


IRCCS Crob



Università  
di Catania

Uni Catania

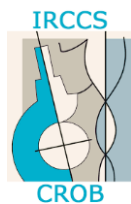


# Attività in Corso e Future

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



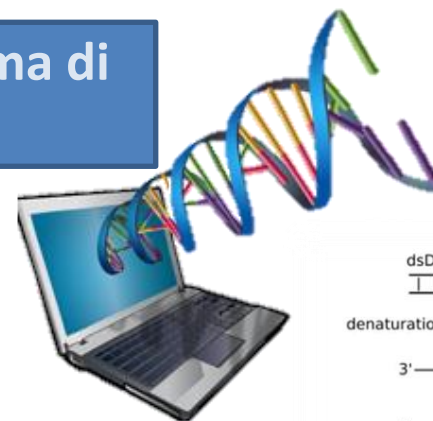
Unibas



IRCCS Crob



UniGiessen



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



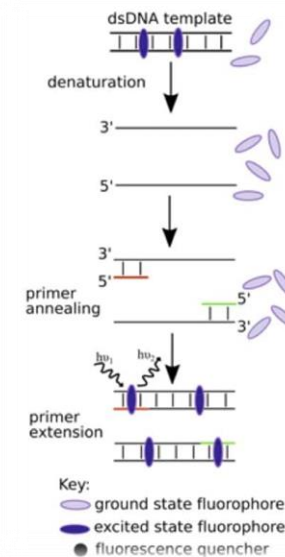
Unibas



Uni Novi Sad

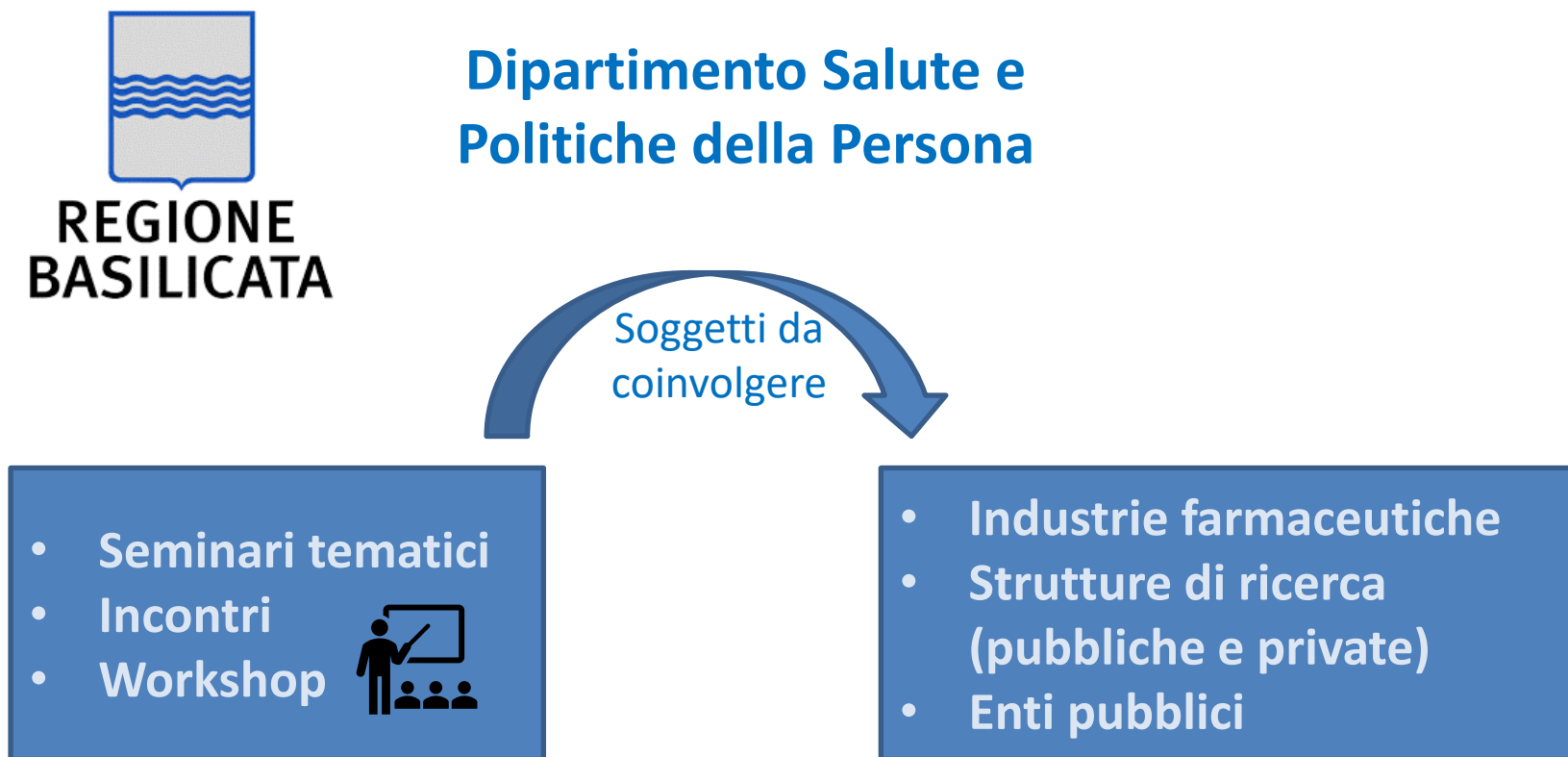


Università di Catania  
Uni Catania





# Attività future di divulgazione



## AAA SAFE-SOS

*Grazie per l'attenzione*



**Unibas**

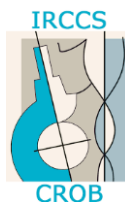


**Uni Novi Sad**



**Uni Catania**

Università  
di Catania



**IRCCS Crob**



**UniGiessen**



**Uni Ioannina**

UNIVERSITY  
of IOANNINA



**REGIONE  
BASILICATA**