

Biochemical and immunological analysis of surface proteins and their use as potential components of a multivalent anti-Staphylococcus aureus vaccine

Capofila:

Pietro Speziale, Università di Pavia, Pavia

Partner:

Maurizio Cianfriglia, Istituto Superiore di Sanità, Roma
Elisabet Josefsson, Università di Gothenburg, Svezia

Contributo:

€ 292.000 per 3 anni

Breve presentazione:

Il progetto si propone di sperimentare un vaccino contro il batterio patogeno *S. aureus*, a partire da proteine di superficie o secrete dal microrganismo. Ogni proteina verrà prodotta per via ricombinante, purificata e caratterizzata nelle sue proprietà biochimiche e biofisiche. Si determinerà quindi la valenza immunogenica di ogni antigene in topi BALB/c o la presenza di IgG immuni in sieri di soggetti umani con un trascorso infettivo.

L'aumento della resistenza degli stafilococchi alla meticillina (MRSA) e la comparsa di isolati clinici insensibili al trattamento con la vancomicina, pongono come urgente la messa a punto di nuove strategie per combattere le infezioni da *S. aureus*. In assenza di antidoti di nuova generazione, la via privilegiata per contrastare la virulenza di *S. aureus* è rappresentata dalla ricerca di un efficace vaccino. L'obiettivo primario del progetto è perciò rivolto al clonaggio genico di proteine espresse sulla superficie della cellula stafilococcica o secrete nel medium colturale, alla loro caratterizzazione biochimica e immunologia e alla selezione degli antigeni più appropriati per la formulazione di un vaccino multivalente da sperimentare in modelli animali d'infezione. Ci si propone anche di valutare l'azione protettiva di anticorpi monoclonali di topo o umani prodotti per via ricombinante in esperimenti d'immunizzazione passiva.

I geni per ogni proteina verranno amplificati mediante PCR e il materiale ottenuto introdotto in plasmidi di espressione per generare proteine fuse con tag di His6/GST. Le proteine, purificate mediante una combine di cromatografie per affinità e a scambio ionico, saranno caratterizzate nelle proprietà di legame in ELISA, Western blot e spettroscopia CD. La localizzazione degli antigeni sulla cellula batterica verrà determinata mediante FACS, mentre il potenziale protettivo dei corrispondenti anticorpi sarà verificato con saggi di fagocitosi in vitro e con l'esame degli effetti sulla crescita e il killing batterico in modelli animali d'infezione. La strategia per esaminare l'azione vaccinale di singoli antigeni o loro combine prevede l'immunizzazione di topi e la valutazione della loro sopravvivenza a seguito di "challenge" con dosi letali di batteri. L'azione profilattica di anticorpi monoclonali murini o ricombinanti umani verrà valutata con esperimenti d'immunizzazione passiva.

Produzione di proteine ricombinanti di *S. aureus* e loro frammenti biologicamente funzionali e loro caratterizzazione biochimica e biofisica. -Valutazione della valenza immunogenica delle proteine ottenute per clonaggio genico -Esame dell'azione protettiva degli anticorpi in saggi di opsonofagocitosi in vitro e in vivo. -Determinazione del ruolo delle singole proteine come fattori di virulenza -Sperimentazione del valore vaccinogeno di singoli antigeni o di loro combine attraverso la messa a punto di modelli d'infezione dove gli animali immunizzati e "sfidati" con dosi letali di cellule stafilococciche vengano valutati per la loro resistenza alla morte per sepsi. -Generazione di anticorpi monoclonali murini o ricombinanti umani e sperimentazione della loro efficacia in esperimenti d'immunoprofilassi.