



FILAS Spa
Finanziaria Laziale di Sviluppo
Via Alessandro Farnese, 3 - 00192 Roma

**FORMULARIO PER LA PARTECIPAZIONE AL BANDO PUBBLICO PER
PROGETTI DI RICERCA INDUSTRIALE E/O SVILUPPO SPERIMENTALE**

TIPOLOGIA SOGGETTO RICHIEDENTE

Impresa singola Si No

Consorzio Si No

**N° imprese costituenti il
consorzio**

**Associazione temporanea di
Impresa** Si No

N° imprese costituenti l'ATI 2

Nel caso di associazione temporanea di impresa (ATI) il punto 1 deve essere compilato per ogni impresa partecipante. Nel caso di consorzio il punto 1 deve essere compilato sia per lo stesso consorzio che per ogni impresa facente parte del consorzio.

1 Dati sul soggetto richiedente

Ragione sociale Okairòs S.r.l.
Forma giuridica Società a responsabilità limitata unipersonale
Data di costituzione 04/10/2005
Partita IVA 05205491219
Codice Fiscale 05205491219
Indirizzo sede legale Via Comunale Margherita 482 **CAP** 80145
Comune Napoli **Prov. (sigla)** NA **Paese** Italia
Telefono +39 06 97246470 **Fax** +39 06 97849266
Sito Web www.okairos.it **E-mail** lacatena@okairos.it
Indirizzo sede operativa Via dei Castelli Romani 22
Comune Pomezia 00040 **Prov. (sigla)** RM
INAIL Codice ditta 18098714/41
Sede INAIL Roma e Napoli
PAT Posizione Assicurativa territoriale ROMA: 92466329
INPS matricola azienda 5126532646-05
Sede INPS Roma e Napoli
Capo Progetto Prof. Riccardo Cortese

Dati economici	2005	2006	2007
Fatturato	0	48.810	1.458.406
Reddito operativo	1.632	55	67.715
Utile netto/Perdita netto	1.632	55	24.315

Dati patrimoniali	2005	2006	2007
Immobilizzazioni nette	1.758	946.801	95.343
Totale attivo patrimoniale	9.029	1.015.420	494.820
Debiti bancari	0	0	1.216
Patrimonio Netto	8.368	8.313	32.628
Debiti a m/l termine	0	0	0
Debiti a breve termine	625	1.005.791	444.932
Capitale sociale	10.000	10.000	10.000
N° Dipendenti	0	1	10

Procedure concorsuali Si No

1 Indicare con esattezza la denominazione o ragione sociale quale risulta dall'atto costitutivo o dal certificato di iscrizione alla C.C.I.A.A.

2 Da rilevare dal bilancio 2005, dal bilancio 2006 e dal bilancio 2007

1 Dati sul soggetto richiedente

Ragione sociale Technology Development for Africa
Forma giuridica Società a Responsabilità Limitata
Data di costituzione 24/06/2005
Partita IVA 08575691004
Codice Fiscale 08575691004
Indirizzo sede legale Via della Ricerca Scientifica snc **CAP** 00133
Comune Roma **Prov. (sigla)** RM **Paese** Italia
Telefono +39 06 72594897 **Fax** +39 06 72594916
Sito Web **E-mail** tda2005@libero.it
Indirizzo sede operativa Via della Ricerca Scientifica snc
Comune Roma **Prov. (sigla)** RM
INAIL Codice ditta X
Sede INAIL X
PAT Posizione Assicurativa territoriale X
INPS matricola azienda X
Sede INPS X
Capo Progetto Dr. Giorgio Mancino

Dati economici	2005	2006	2007
Fatturato	4.896	98.191	28.537
Reddito operativo	44	3.523	342
Utile netto/Perdita netto	13	2.585	300

Dati patrimoniali	2005	2006	2007
Immobilizzazioni nette	6.160	4.620	3.080
Totale attivo patrimoniale	19.748	70.359	36.578
Debiti bancari	0	0	0
Patrimonio Netto	10.412	12.997	13.297
Debiti a m/l termine	0	0	0
Debiti a breve termine	9.066	57.362	23.281
Capitale sociale	10.400	10.400	10.400
N° Dipendenti	0	0	0

Procedure concorsuali Si No

1 Indicare con esattezza la denominazione o ragione sociale quale risulta dall'atto costitutivo o dal certificato di iscrizione alla C.C.I.A.A.

2 Da rilevare dal bilancio 2005, dal bilancio 2006 e dal bilancio 2007

2**Dati sull'Organismo di Ricerca cofirmatario**

Denominazione	Università degli Studi di Roma "Tor Vergata" – Dipartimento di Biologia		
Forma giuridica	Ente di Diritto Pubblico		
Partita IVA	02133971008		
Codice Fiscale	02133971008		
Indirizzo sede legale	Via Orazio Raimondo	CAP	00173
Comune	Roma	Prov. (sigla)	RM Paese Italia
Telefono	+39 06 72594391	Fax	+39 06 2023500
Sito Web	http://www.uniroma2.it/	E-mail	Marcello.Brancato@uniroma2.it
Indirizzo sede operativa	Via della Ricerca Scientifica - 00133 - Roma		
N° Dipendenti / personale strutturato	134		
Responsabile scientifico	Prof. Vittorio Colizzi		

2**Dati sull'Organismo di Ricerca cofirmatario**

Denominazione	Istituto Neurobiologia e medicina molecolare, CNR		
Forma giuridica	Ente Pubblico di Ricerca		
Partita IVA	02118311006		
Codice Fiscale	80054330586		
Indirizzo sede legale	Via del Fosso di Fiorano, 64	CAP	00143
Comune	Roma	Prov. (sigla)	RM Paese Italia
Telefono	06 501703048	Fax	06 501703313
Sito Web	http://www.cnr.it/istituti/DatiGenerali.html?cds=059		E-mail segreteria@inmm.cnr.it
Indirizzo sede operativa	Area di Ricerca di Tor Vergata di Via del Fosso del Cavaliere, 100		
N° Dipendenti / personale strutturato	96		
Responsabile scientifico	Dr.ssa Francesca Mariani		

2**Dati sull'Organismo di Ricerca cofirmatario**

Denominazione	Università Cattolica del Sacro Cuore
Forma giuridica	Ente di Diritto Pubblico
Partita IVA	02133120150
Codice Fiscale	02133120150
Indirizzo sede legale	Largo A. Gemelli, 1 CAP 20123
Comune	MILANO Prov. (sigla) MI Paese ITALIA
Telefono	06-30155272 Fax 06-30156803
Sito Web	www.rm.unicatt.it E-mail fmariotti@rm.unicatt.it
Indirizzo sede operativa	Largo F. Vito, 1 00168 Roma
N° Dipendenti / personale strutturato	5818
Responsabile scientifico	PROF. GIOVANNI DELOGU

3**Dati sulla G. I. (se presente)**

Ragione sociale	Sigma-tau Industrie Farmaceutiche Riunite S.p.A.
Forma giuridica	Società per azioni (socio unico)
Partita IVA	00885531004
Codice Fiscale	00410650584
Indirizzo sede legale	Viale Shakespeare, 47 CAP 00144
Comune	Roma Prov. (sigla) RM Paese Italia
Telefono	+39 06 5926443 Fax +39 06 5926600
Sito Web	www.sigma-tau.it E-mail Nicola.Gargano@Sigma-tau.it
Indirizzo sede operativa	Via Pontina Km 30,400 - 00040 Pomezia (RM) Italia
N° Dipendenti	2500

4**Settori di sviluppo del progetto****Settore prevalente**

- Farmaceutico
- Dispositivi medici
- Agroalimentare per la salute
- Biotecnologie
- ICT per la biomedicina ed i servizi sanitari
- Nanoscienze e nanotecnologie per la salute

Settori secondari

- Farmaceutico
- Dispositivi medici
- Agroalimentare per la salute
- Biotecnologie
- ICT per la biomedicina ed i servizi sanitari
- Nanoscienze e nanotecnologie per la salute

Titolo del progetto

Sviluppo di un nuovo vaccino contro la tubercolosi

Eventuale acronimo

TBVACCINE

Durata del progetto

2 anni

Ricerca industriale Sviluppo sperimentale

5.1 Descrizione del soggetto richiedente

(max 15.000 caratteri)

DESCRIZIONE Okairòs

- Attività sviluppate dall'azienda

Okairòs è una azienda biofarmaceutica, dedicata allo sviluppo di vaccini profilattici e terapeutici contro malattie infettive croniche con cure mediche non soddisfacenti e per cui l'approccio convenzionale basato sull'induzione di anticorpi si è rivelato inefficace. La strategia è basata sull'induzione di una risposta protettiva di cellule T mediante l'uso di vettori Adenovirus di proprietà, che non sono neutralizzati dagli anticorpi presenti nella popolazione umana e sono finora tra i più potenti vettori per vaccini genetici in primati ed esseri umani.

Il programma di sviluppo di Okairòs è basato su due Piattaforme Tecnologiche:

(1) Nuovi vettori Adenovirus. I vettori Adenovirus sono i vettori di scelta per la somministrazione di vaccini genetici, dato che possiedono molte proprietà desiderabili : i) capacità di infettare cellule che si replicano, così come cellule che non si replicano ii) ampio tropismo di tessuto iii) facilità di propagazione in colture cellulari ad alto titolo iv) processo di manifattura poco costoso.

Ancora più importante, il confronto con altri vettori (poxvirus MVA ed ALVAC, VEE, DNA nudo) ha chiaramente mostrato che i vettori adenovirali sono il più potente sistema di somministrazione per sviluppare una risposta immune mediata da cellule T contro gli antigeni codificati.

Il maggior ostacolo allo sviluppo dei vettori Adenovirus di tipo 5 (Ad5), i più comunemente usati per applicazioni vacciniche, è l'alta frequenza nella popolazione umana di una pre-esistente immunità contro i ceppi di Adenovirus più comuni. Per superare questo ostacolo, i ricercatori Okairòs hanno costruito un gran numero di nuovi Adenovirus derivati dallo scimpanzè, che non sono inattivati dai sieri umani e sono efficientemente prodotti in linee cellulari approvate dalle agenzie regolatorie (ad es. 293, PerC6®). Inoltre, questi vettori hanno alta potenza immunologica, confrontabile con quella di Ad5 umano (sia in roditori che in primati non umani).

I vettori derivati dallo scimpanzè rappresentano la collezione di vettori Adenovirus più ampia al mondo e permettono molteplici combinazioni di sierotipi non cross-reagenti che possono essere usate in regimi prime/boost eterologhi per vari vaccini.

La Piattaforma di vettori Adenovirus è al centro delle attività di Okairòs e ha già portato allo sviluppo di 3 prodotti candidati: PlaMavax, un vaccino profilattico per la Malaria; PerCvax e TerCvax, per la profilassi ed il trattamento dell'infezione da parte del virus dell'Epatite C (HCV).

Recentemente Okairòs ha ottenuto l'approvazione da parte delle agenzie regolatorie per saggiare i vaccini candidati per Malaria ed HCV in studi di Fase I di sicurezza ed immunogenicità.

(2) Linea cellulare Procell-9. Okairòs ha un nuovo programma che ha come obiettivo lo sviluppo di una linea cellulare di proprietà, per la manifattura di vaccini genetici e altre sostenze biologiche.

Con il continuo aumento dello sviluppo e dell'uso di nuovi vaccini ricombinanti e di proteine terapeutiche, la manifattura dei biofarmaceutici sta fronteggiando nuovi requisiti, come uno stringente profilo di sicurezza, richieste di alti volumi e di bassi costi di produzione.

La tecnologia Procell-9 è stata concepita per venire incontro a tutti questi requisiti, mantenendo la facilità e la flessibilità delle operazioni. Procell-9 è una linea umana di origine neuronale immortalata, che può supportare la crescita efficiente dei vettori Adenovirus di Okairòs. Procell-9 si replica indefinitivamente e può essere coltivata in sospensione in terreni privi di siero, in quantità adatte per la manifattura su larga scala.

- Progetti di ricerca già sviluppati e risultati conseguiti

Vaccino per la Malaria. Il primo candidato vaccino di Okairòs è un vaccino per la Malaria, che si sta testando per la sicurezza e l'immunogenicità in Fase I in Gran Bretagna, in collaborazione con il gruppo guidato dal Prof. Adrian Hill all'Università di Oxford.

Il vaccino candidato per la Malaria di Okairòs – PlaMavax – è basato su vettori Adenovirus che portano l'antigene di fusione ME-TRAP (malaria epitopes-thrombospondin related adhesion protein). Si è visto che l'epitopo ME di ME-TRAP contiene l'epitopo immunodominante delle cellule B della proteina circumsporozoita che è un bersaglio degli anticorpi protettivi. Inoltre è stato dimostrato che la proteina di adesione correlata alla trombospondina dello stadio epatico induce risposte di cellule T potenti e durevoli.

Vaccino per HCV. Il candidato vaccino per HCV di Okairòs è basato su vettori Adenovirus che codificano per la regione Non-Strutturale (NS) di HCV lunga circa 2000 aminoacidi, che contiene un gran numero di epitopi di cellule T e ha un alto grado di conservazione tra le varianti virali (circa l'80% di omologia con i vari differenti sottotipi che appartengono ai sei maggiori genotipi). I vettori Adenovirus che esprimono la regione NS inducono risposte di cellule T CD4 e CD8 estremamente potenti in roditori e primati.

Recentemente, i ricercatori Okairòs hanno condotto una vaccinazione "proof of concept" ed un esperimento di challenge eterologo in scimpanzè. Negli animali vaccinati sono state indotte risposte di cellule T ad HCV potenti, ampie e di lunga durata e il vaccino proteggeva dalla malattia acuta e cronica indotta dal challenge con una alta dose di un ceppo di HCV eterologo. Negli scimpanzè vaccinati avveniva una rapida diminuzione del virus in circolo come risultato della massiva espansione dei linfociti T specifici per HCV indotti dal vaccino che cross-reagivano con gli epitopi del vaccino e del virus.

Queste scoperte indicano che il candidato vaccino Okairòs dovrebbe proteggere gli esseri umani da HCV prima di tutto riducendo la replicazione virale durante l'insorgenza dell'infezione e successivamente eradicando il virus, prevenendo quindi la formazione dell'epatite cronica.

Okairòs ha ottenuto l'approvazione da parte delle agenzie regolatorie per saggiare il vaccino profilattico per HCV – PerCvax – in studi di Fase I di sicurezza ed immunogenicità, che sono in procinto di iniziare.

- Attuale presenza in reti di impresa

Okairòs partecipa ad un progetto europeo del 6° programma quadro, che comprende numerose imprese e centri di ricerca. Il progetto è LSHB-CT-2007-037435, Acronimo Hepacivac, titolo "New preventative and therapeutic Hepatitis C vaccines: from pre-clinical to phase 1"

- Certificazioni possedute

Okairòs ha ottenuto la certificazione di SME dall'organismo europeo EMEA.

DESCRIZIONE TDA

Il 24/06/2005 si è costituita la TDA SRL per atto Notaio Gilberto di Cave in Roma, con capitale sociale di Euro 10.400 assunto dai tredici soci in parti uguali. Nella stessa data le parti hanno provveduto a versare presso la Cassa di Risparmio di Firenze – sede di Roma - il 25% del capitale sociale pari ad Euro 2.600. TDA ha beneficiato della diretta sponsorizzazione dell'Università degli Studi di Tor Vergata da cui è nata come spin-off, grazie in parte al contributo finanziario (20.000 Euro) ottenuto dalla Provincia di Roma tramite uno specifico bando.

"Technology Development for Africa" TDA srl nasce con lo scopo di identificare i processi di innovazione più promettenti (brevetti, metodologie, prototipi, reagenti, strumenti, etc.) che possono essere trasferiti nei paesi africani. Per questo trasferimento è necessario conoscere i bisogni locali, la cultura e le competenze del posto dove effettuare il trasferimento, l'establishment politico-istituzionale, e le condizioni di mercato. L'idea di impresa si basa quindi sulla valorizzazione delle risorse umane italiane ed africane, sviluppatesi in un ambiente innovativo (università e CNR) e con una forte capacità di trasferimento.

Sviluppo della domanda e andamento dei mercati in cui opera la società

- analisi del fabbisogno di innovazione ed identificazione delle aree tecnologiche suscettibili di miglioramento
- individuazione competenze tecnico/scientifiche necessarie, strutturazione tempi, modalità e costi per il trasferimento tecnologico e l'introduzione dell'innovazione nell'impresa
- fornitura e organizzazione dati, informazioni e riferimenti per l'approfondimento di particolari tematiche di interesse dell'azienda
- analisi, studio, progettazione e gestione di progetti di ricerca applicata, finanziati o cofinanziati in sede comunitaria, nazionale e regionale, per soggetti terzi o per lo sviluppo del know-how
- supporto per l'accesso ai finanziamenti nazionali ed internazionali e cura di tutte le fasi del progetto
- realizzazione di progetti di ricerca e di approfondimento su specifiche tematiche
- monitoraggio e organizzazione seminari sulle aree tecnologiche di maggiore interesse e sulla base di specifiche richieste da parte dei committenti
- organizzazione di incontri e tavoli di lavoro su tematiche di interesse trasversale finalizzati allo scambio di informazioni e all'avviamento di progetti di ricerca, nazionali ed internazionali, multi-partners fra soggetti non concorrenti
- trasferimento di tecnologia attraverso lo scambio di know-how e soluzioni di prodotto e/o di processo fra realtà tecnologicamente non comunicanti
- attività di cooperazione internazionale e di trasferimento di competenze nei paesi in via di Sviluppo

La società al momento attuale:

- fornisce consulenza e servizi per la progettazione, esecuzione, collaudo, verifiche di conformità e assistenza di impianti e processi tecnologici e di laboratori di analisi e ricerca, con assistenza nelle procedure di certificazione, qualità e GLP; sicurezza, di prevenzione e protezione (Yaoundé, Camerun; Abidjan, Costa d'Avorio, Ougadougou, Burkina Faso; Diffa, Niger).
- svolge studi di fattibilità, indagini finalizzate, formulazione di piani di sviluppo, progettazione interventi di recupero di strutture da avviare ad attività di produzione e servizio (Laboratorio di culture vegetali di Yaoundé, Camerun, e impianto farmaceutico.vacinciale ad Abidjan, Costa d'Avorio);
- fornire supporto e consulenza a favore di enti e aziende pubbliche e private e in particolare di Piccole e Medie Imprese, nella realizzazione e gestione di progetti di ricerca, innovazione e formazione (Okairòs e Sigma-tau)
- realizza attività di comunicazione integrata compresa l'organizzazione e la gestione di congressi, convegni, conferenze, eventi sociali ed espositivi a livello nazionale ed internazionale (Parco Scientifico di Tor Vergata);

Andamento delle Attività

In questi primi 3 anni di attività le principali istituzioni con cui TDA ha operato sono:

- Istituto Superiore di Sanità (Italia): nel settore di commercializzazione di reagenti, strumenti e materiali scientifici in Camerun con relativo trasferimento e assistenza tecnica sul posto;
- Institute of Human Virology (Baltimora), per la produzione di peptidi sintetici necessari alla costruzione di un prototipo vaccinale per la prevenzione della trasmissione materno-infantile dell'AIDS;
- Centro "Chantal Biya" (Youndè, Cameroun) per la messa a punto di laboratori scientifici, incluso lo studio di fattibilità per un laboratorio di culture vegetali di piante medicinali africane;
- Parco Scientifico dell'Università degli Studi di Roma "Tor Vergata" per attività di promozione internazionale e pianificazione di attività di servizio e costruzione di partenariato per la realizzazione di progetti specifici attinenti al proprio oggetto sociale.

TDA srl, in qualità di start-up nata da ambiente accademico, per lo svolgimento delle azioni di trasferimento tecnologico in campo biomedico nel continente africano, ha partecipato e sponsorizzato azioni formative al fine di formare, individuare e selezionare competenze locali ad alta specializzazione, per il coordinamento e la realizzazione dei progetti societari. Il Master "Trasferimento tecnologico in biomedicina nei paesi emergenti ed in via di sviluppo", svolto presso l'Università di Roma Tor Vergata ha consentito a TDA l'avvio di questo importante processo di organizzazione e strutturazione.

TDA in relazione al suo oggetto sociale ed alla sua mission, nonché al mercato/scenario in cui opera, sta sviluppando una serie di collaborazioni nell'ambito di progetti finanziati, nei quali la società viene commissionata dai titolari del finanziamento per lo svolgimento di specifiche attività di ricerca e formazione e per la fornitura di beni destinati all'avvio di attività di laboratorio e di formazione nei Paesi in via di sviluppo. La società lavora pertanto in parte su commissione e in parte come soggetto titolare di iniziative e progetti su cui investe, ed in a parte come partner di iniziative specifiche a termine o di programmi di sviluppo pluriennali.

Attraverso la partecipazione a convegni, seminari e giornate internazionali a favore dei paesi in via di sviluppo, TDA presenta e promuove la sua attività, beneficiando della diretta sponsorizzazione dell'Università degli Studi di Tor Vergata da cui è nata come spin-off, grazie in parte al contributo della Provincia di Roma. Accanto alle iniziative basali, quali costruzione di un sito web, divulgazione attraverso materiale informativo (brochure, pubblicazioni etc..) TDA sta investendo molto (su attività promozionali svolte a livello internazionale ed in particolare presso gli Enti Governativi dei paesi africani, verso i quali è svolta dai rappresentanti della società un'assidua azione diplomatica e programmatica sul posto, per la presentazione della mission societaria e delle competenze.

Attualmente, TDA, in collaborazione con due industrie farmaceutiche italiane (Roma e Bologna) che hanno stabilimenti di produzione in Africa (Sudan, Tunisia e Costa d'Avorio) si sta occupando di identificare nuove formulazioni di farmaci antiretrovirali "generici" per il mercato africano. La società sta inoltre lavorando inoltre alla proposta di un progetto avente come finalità la realizzazione di un sistema di Gestione, controllo e distribuzione del farmaco con aumento dei benefici / costi nei paesi in via di sviluppo all'interno di strutture ospedaliere, attraverso un'opera di informatizzazione.

Un Accordo di Co-sviluppo è attualmente in preparazione con il Centro Sanitario "Ulcera di Buruli" dei Padri Cappuccini d'Abidjan, in Costa D'Avorio e con l'Istituto Pasteur d'Abidjan per lo sviluppo di un sistema rapido sierologico per determinare l'infezione da M. ulcerans.

- Attuale presenza in reti di impresa: Attualmente TDA non è presente in reti di impresa.

- Certificazioni possedute: Attualmente TDA non possiede certificazioni.

5.2 Descrizione della struttura organizzativa del soggetto richiedente

(max 10.000 caratteri)

STRUTTURA ORGANIZZATIVA Okairòs

- Struttura organizzativa con particolare riferimento a quella relativa al settore R&S

La struttura organizzativa di Okairòs S.r.l. è così composta:

- Prof. Riccardo Cortese, Presidente e Amministratore Delegato
- Dr. Alfredo Nicosia, Direttore Scientifico
- Dr.ssa Antonella Folgori, Immunologia
- Dr. Stefano Colloca, Sviluppo Vettori

- Dr.ssa Cinzia Traboni, Project Management
- Dr.ssa Rosa Margherita Lacatena, Grant Management

- Profilo professionale del Capo Progetto

Prof. Riccardo Cortese, Presidente e Amministratore Delegato di Okairòs S.r.l.

Carriera Professionale

- 1967 – 1969: Research Assistant
Laboratoire de Biochimie Générale et Comparée, Collège de France, Parigi, Francia
- 1976 - 1979: Staff Scientist
Laboratory of Molecular Biology, MRC, Cambridge, Gran Bretagna
- 1979 - 1984: Group Leader
European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg, Germania
- 1984 - 1990: Senior Scientist; Programme Coordinator
European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg, Germania
- 2000 - 2006: Vice Presidente Merck Research Laboratories
Direttore Scientifico e Amministrativo
Istituto di Ricerche di Biologia Molecolare P. Angeletti, Pomezia

Carriera Accademica

- 1969 - 1976: Assistente di Chimica Biologica
Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Napoli
- 1980- 2006 Professore Ordinario di Biologia Molecolare
Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Napoli

Riconoscimenti Professionali ed Accademici

- Premio Borgia 1991 - per la ricerca innovativa nel campo dell'espressione genica
- Primo presidente della Federazione Italiana Scienze della Vita (FISV)
- Fondatore e primo presidente di Progen (Consorzio interuniversitario per la promozione dell'eccellenza scientifica)
- Coordinatore della Commissione Nazionale per il Post-Genoma Umano, Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica
- Membro della Commissione per la Ricerca sulle Cellule Staminali, Ministero della Salute
- Presidente del Consiglio Scientifico: Istituto di Genetica e Biofisica del Consiglio Nazionale delle Ricerche
- Membro: Council of the European Molecular Biology Organization
- Membro del Consiglio Scientifico: Ospedale S.Raffaele, Milano
- Membro del Consiglio Scientifico: Università Campus Bio-Medico, Roma
- Membro del Consiglio Scientifico: Italian College of Applied Molecular Medicine, Firenze
- Presidente del Comitato: progetto di Ingegneria genetica del Consiglio Nazionale delle Ricerche
- Membro straniero dell' Academie des Sciences, Francia
- Membro del Consiglio: Scuola Europea di Medicina Molecolare, Milano
- Membro del Consiglio Scientifico della European School of Molecular medicine (SEMM)

- Nominato dalla apposita Commissione Internazionale nella terna dei candidati alla Presidenza del Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR)

STRUTTURA ORGANIZZATIVA TDA

La struttura organizzativa di TDA S.r.l. è così composta:

- Prof. Vittorio Colizzi, Presidente del C.d.A
 - Dr. Giorgio Mancino, Amministratore Delegato e Responsabile Scientifico
 - Dr. Stefano Maiolo, Consigliere delegato e Responsabile Amministrazione e Finanze
 - Dr. Alessandro Padova, Sviluppo farmaceutico
 - Dr. Martin Sanou Sobze, Progetti Paesi in Via di Sviluppo
 - Dr. Giovanni Auricchio, Project and Grant Management
- Profilo professionale del Responsabile Progetto TDA

Dr. Giorgio Mancino Amministratore Delegato e responsabile Scientifico di TDA S.r.l.

Carriera Professionale

- 1991: Visiting scientist,
Laboratory of Virology, Royal London Hospital
University of London, London UK
- 1993: Ph.D Fellow at the Laboratory of Immunology, Dept. Biology, University
Rome "Tor Vergata", Rome Italy
- 1995: PhD Fellow at the Laboratory of Clinical Immunology, Department of Pediatrics,
Jagellonian University Medical College, Cracow, Poland
- 1997-1998: Fellowship researcher ,at Laboratory Infectious Disease, Dept. Public Health,
grant by "Istituto Superiore di Sanità" - AIDS funds
- 1999 - 2000: Researcher at Laboratory Infectious Disease, Dept. Public Health,
University of Rome "Tor Vergata"
- 2000-ongoing Head of Immunopathology Unit – Research Centre, San Pietro Hospital,
Fatebenefratelli, Rome, Italy
- 2002-ongoing Professor of Immunology at the University of Roma 3
- 2003-ongoing Visiting Professor at UNESCO Interdisciplinary Chair, University of Rome
"Tor Vergata"
- 2008 Chief Executive Officer of Thecnology Development for Africa S.r.l. co

From 1991 to ongoing participate to more than 30 national and international research projects on infectious diseases, immunology, neuroimmunology, monitoring of patients during therapy, clinical trials.

5.3 Descrizione delle competenze nel settore specifico del soggetto richiedente

(max 10.000 caratteri)

COMPETENZE Okairòs

- Know-how aziendale nel settore specifico del progetto

Okairòs ha una competenza unica e globalmente riconosciuta in vaccini genetici. L'azienda è dedicata allo sviluppo di vaccini profilattici e terapeutici contro malattie infettive croniche per cui l'approccio convenzionale

basato sull'induzione di anticorpi si è rivelato inefficace. La strategia è basata sull'induzione di una risposta protettiva di cellule T mediante l'uso di vettori Adenovirus di proprietà, che non sono neutralizzati dagli anticorpi presenti nella popolazione umana e sono finora tra i più potenti vettori per vaccini genetici in primati ed esseri umani.

Tuttavia, la maggior parte della popolazione umana è stata infettata da Adenovirus e ha anticorpi che inattivano i più comuni ceppi di Adenovirus umani. Questa immunità pre-esistente è un grosso ostacolo che diminuisce fortemente la potenza immunologica dei vettori Adenovirus umani. La soluzione Okairòs al problema della pre-esistente immunità è stata di sviluppare un sistema di vettori basato su Adenovirus isolati dagli scimpanzé. Gli Adenovirus di scimpanzé sono di particolare interesse per varie ragioni. Sono fortemente correlati agli Adenovirus umani, evidenziando un alto grado di omologia del DNA (80-95%) e struttura genomica simile. Inoltre, la prevalenza di anticorpi capaci di neutralizzare gli Adenovirus di scimpanzé è molto bassa o assente nella popolazione umana.

Okairòs ha ottenuto l'approvazione da parte delle agenzie regolatorie per saggiare vaccini candidati per Malaria ed HCV - basati sulla tecnologia degli Adenovirus di scimpanzé – in studi di Fase I.

- Competenze specifiche del Capo Progetto

Il Prof. Cortese ha competenze specifiche nel campo della Biochimica, della Biologia Molecolare, dell'Immunologia, dei Vaccini.

In particolare, studi fondamentali sono stati effettuati su:

- Mutagenesi
- Regolazione della trascrizione del tRNA
- Clonaggio e trascrizione di geni codificanti per proteine fegato-specifiche
- Librerie di peptidi su fago
- Virus dell'Epatite C
- Vettori Adenovirus
- Nuovi farmaci antivirali (Epatite C, HIV)
- Vaccini: Epatite C, Malaria

Il Prof. Cortese è stato il Fondatore ed il Primo Direttore del programma di Espressione Genica presso il Laboratorio Europeo di Biologia Molecolare (EMBL), Heidelberg; il Fondatore ed il Direttore Scientifico di IRBM (Istituto di Ricerche di Biologia Molecolare, Merck). Ha coordinato ricerche che hanno portato allo sviluppo di nuovi farmaci antivirali e di vaccini, che sono a vari stadi di sviluppo. Ha pubblicato nei principali giornali scientifici, come Nature, Science e Cell, su una serie di argomenti di immunologia, medicina molecolare e scoperta di farmaci.

Inoltre, è stato eletto membro di varie associazioni scientifiche, tra cui: Academie Française, Academia Europea, EMBO.

- Brevetti inerenti il settore specifico del progetto

Okairòs ha presentato varie applicazioni per brevetti nel settore specifico del progetto:

- Emilio A Emini, David C Kaslow, Andrew J Bett, John W Shiver, Alfredo Nicosia, Armin Lahm, Alessandra Luzzago, Riccardo Cortese, Stefano Colloca. Merck & Co. Inc. Hepatitis C Virus Vaccine. WO03/031588 A2. 17 April 2003.
- Agostino Cirillo, Stefano Colloca, Bruno Bruni Ercole, Annalisa Meola, Alfredo Nicosia, Elisabetta Sporeno. IRBM P. Angeletti S.P:A.. WO2005/071093 A2. 4 August 2005.
- Armin Lahm, Stefano Colloca, Antonella Folgori, Alfredo Nicosia. S.P:A.. Hepatitis C Virus Nucleic Acid Vaccine. WO2006/133911 A2. 21 December 2006.

COMPETENZE TDA

- Know-how aziendale nel settore specifico del progetto

TDA ha una competenza specifica nello sviluppo di progetti di ricerca, nel settore dell'innovazione e del trasferimento tecnologico nell'ambito del settore biomedico e clinico diagnostico. L'azienda effettua studi, progetta ed eroga servizi e consulenze in materia di ricerca bio-medica, diagnostica clinica, sviluppo di nuovi metodi d'indagine diagnostica e clinica. Inoltre, realizza attività finalizzate al trasferimento tecnologico, attraverso l'individuazione di processi o prodotti innovativi derivati dalla ricerca (universitaria o industriale), da applicare in nuovi contesti produttivi, nazionali e internazionali, nell'ambito dei settori individuati, effettua ricerche finalizzate, di processo e tecnologiche, eseguite anche con l'ausilio di impianti pilota e semi-industriali, svolge studi di fattibilità, indagini finalizzate, formulazione di piani di sviluppo, progettazione interventi di recupero di strutture da avviare ad attività relative alla ricerca, allo sviluppo di farmaci, alla diagnostica clinica.

Alcuni dei progetti recentemente sviluppati sono:

- CIRCB Yaoundè - Camerun - Supporto per lo start-up del laboratorio di ricerca e di diagnostica clinica
- IHV Baltimore - USA - Sviluppo e produzione di peptidi e reagenti biologici per il progetto HIV-vaccine joint-

programme

- CIRBA Abjdian - Ivory Coast - Fornitura di reagenti, materiali ed attrezzature per lo start-up del progetto HIV Unesco "Family First Africa"
- CIRCB Yaoundè – Camerun University Tor Vergata - Italia - Partnership nel progetto "Feasibility study for the development of cell lines from African plants for medical use, adopting updated technologies for culture", finanziato dall'Istituto per il Commercio Estero, Italia
- CERBA Ouagadougou – Burkina Faso - Fornitura di reagenti, attrezzature e materiali per lo start-up del progetto di ricerca HIV Unesco "Family First Africa"
- CIAAT Yaoundè – Camerun - Studio di fattibilità per lo start up di "High Technology Italian-African Hospital"

- Competenze specifiche del Capo Progetto

Il Dr.Mancino ha competenze specifiche nel campo dell'Immunologia e delle Malattie Infettive

In particolare, studi fondamentali sono stati effettuati su:

- interazione ospite parassita in corso di infezione tubercolare e da HIV
- Risposta immune innata nel neonato e nel bambino

Inoltre, ha competenze nella gestione di progetti di ricerca applicata e ricerca clinica, nell'analisi ed identificazione delle aree tecnologiche suscettibili di miglioramento, nell'individuazione degli schemi di controllo della qualità di processo e della gestione dei metodi analitici, nel supporto per i percorsi di certificazione e accreditamento riferiti a norme cogenti o volontarie, nazionali o internazionali (UNI EN ISO) e nella realizzazione di progetti e consulenze per l'applicazione delle GLP/GMP nel settore farmaceutico e accreditamenti EMEA, FDA

6.1 Caratteristiche del soggetto cofirmatario

(max 15.000 caratteri)

DESCRIZIONE Tor Vergata

- Organizzazione e principali linee di attività sviluppate

L'Università di Roma "Tor Vergata" è stata istituita nel 1980 a Roma. Attualmente è composta da 6 facoltà (Giurisprudenza, Economia, Lettere, Ingegneria, Medicina e Chirurgia, Scienza matematiche, Fisiche e Naturali), 22 Dipartimenti, e numerosi centri Interdipartimentali e di Servizio. Accoglie 40.000 studenti, suddivisi in Corsi di Laurea triennale e Corsi di Laurea biennali o magistrali, Master di 1° e 2° livello, Scuole di Specializzazione e Scuole di Perfezionamento, Dottorati di Ricerca. Il corpo docente è di circa 1.600 professori (ricercatori, professori associati e professori ordinari) mentre il personale tecnico-amministrativo è di circa 1000 unità.

Le attività del progetto si svolgeranno all' interno del Dipartimento di biologia.

- Know-how scientifico dell'unità di ricerca coinvolta

Il laboratorio di Immunologia e Patologia, diretto dal Prof. V. Colizzi, comprende 1 Professore Associato (Prof. Maurizio Mattei), tre Ricercatori di ruolo (Prof. M. Fraziano, Prof. C. Montesano, Prof. A. Cabibbo), 2 post doc assegnista di ricerca (dr.ssa M.B. Santucci), e 4 dottorande (dr.ssa E. Greco, dr.ssa C. Palombi, Dr.ssa B. Dettori, Dr.ssa S. Vitale). Il laboratorio si occupa da diversi anni di nuovi approcci vaccinali anti-HIV ed anti-MTB, in particolare mirati allo sviluppo di un BCG ricombinante per antigeni virali e/o di M. tuberculosis. Gli approcci sperimentali utilizzati comprendono i classici approcci di biologia cellulare e molecolare con le relative strumentazioni (citofluorimetro, fluorimetro, luminometro, counter, microscopia confocale). Il laboratorio è equipaggiato con una stanza a contenimento patogeni di classe II.

Il Laboratorio di Virologia e Biotecnologie Vegetali, diretto dal Prof. Luca Santi, comprende 1 dottoranda (Dott.ssa Conti) e due tesisti (Dott. Grasso e Dott. Siligato). Il laboratorio si occupa dell' espressione di proteine ricombinanti in vari sistemi vegetali utilizzando sia strategie di espressione cromosomica stabile che di espressione virale transiente. Di particolare interesse e' l'utilizzo di particelle virali vegetali per l' esposizione di epitopi con finalita' vaccinali.

Il Centro di Servizi Interdipartimentale, Stazione per la Tecnologia Animale (STA), diretta dal Prof. M. Mattei, comprende: 1 Veterinario (Dr.ssa M. Guttinger Brugnola), 2 post doc assegniste di ricerca (dr.ssa R. Cicconi e G. Palmieri), 1 post doc (Dr.ssa C. Focaccetti), 1 Tecnico di Laboratorio con laurea di II livello (Dr.ssa R. Bernardini), 5 operatori tecnici di stabulario. Il laboratorio, oltre ad effettuare servizio di mantenimento di colonie murine OGM, si occupa dello sviluppo di modelli animali nella ricerca oncologica, sviluppo di vaccini, infezioni sperimentali (M. tuberculosis, HIV, influenza, GBS) tossicologia preliminare, produzione di anticorpi poli e monoclonali, modelli di studio in oftalmologia (rigenerazione della cornea da cellule staminali autologhe,) sviluppo di apparati medici, applicazione della telemetria per studi sul funzionamento dell'apparato cardio-respiratorio. Il Centro dispone di 3 cappe a flusso laminare, microscopi ottici e invertiti, 1 Citofluorimetro, 1 Emocitometro, 2 apparecchi per valutazioni biochimico-cliniche, 1 apparato per elettroforesi in automatico, 1 HPLC, 2 lettori ELISA, apparato Kodak per immagini in vivo, 3 centrifughe e congelatori. Sperimentazioni con agenti infettivi di classe 3 vengono effettuati in un isolatore tipo Trexler.

- Pubblicazioni dell'unità di ricerca nel settore specifico negli ultimi 5 anni ed eventuali brevetti

1. Colizzi V, de Oliveira T, Roberts RJ. Libya should stop denying scientific evidence on HIV. *Nature*. 2007;448:992.

2 Pedersen JZ, De Maria F., Turella P., Federici G., Mattei M, Fabrini R., Dawood KF., Massimi M., Caccuri AM., Ricci G. Glutathione transferases sequester toxin dinitrosyl-iron complexes in cells. A protection mechanism against excess nitric oxide. *J. Biol. Chem.* Mar 2; 282(9): 6364-71, 2007.

3. de Oliveira T, Pybus OG, Rambaut A, Salemi M, Cassol S, Ciccozzi M, Rezza G, Gattinara GC, D'Arrigo R, Amicosante M, Perrin L, Colizzi V, Perno CF; Benghazi Study Group. Molecular epidemiology: HIV-1 and HCV sequences from Libyan outbreak. *Nature*. 2006; 444: 836-7.

4. Santi L, Giritch A, Roy CJ, Marillonnet S, Klimyuk V, Gleba Y, Webb R, Arntzen CJ, Mason HS. Protection conferred by recombinant *Yersinia pestis* antigens produced by a rapid and highly scalable plant expression system. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:861-6.

5. Garg SK, Volpe E, Palmieri G, Mattei M, Galati D, Martino A, Piccioni MS, Valente E, Bonanno E, De Vito P, Baldini PM, Spagnoli LG, Colizzi V, Fraziano M. Sphingosine 1-phosphate induces antimicrobial activity both in vitro and in vivo. *J Infect Dis*. 2004;189:2129-38.

Brevetti

1. Method for identification of antigenic peptides and relative usage for the formulation of a specific HIV-1 vaccine procedure for vaccine preparation based on identification of aminoacid sequences in HIV antigens showing similarity with protein sequences of human organism. Patent N. RM 2004 A000066, deposited 9/2/2004.

2. Immunoregulator compounds, Patent US 2005/0009757 A1 by Fraziano M, Colizzi V, et al.

3. PCT No. PCT/IT2008/000474 del 16 luglio 2008; Inventori: Fraziano M., De Spirito M., Greco E., Quintiliani G.; titolo: "Asymmetric liposomes and uses in medical fields thereof".

DESCRIZIONE Istituto Neurobiologia e Medicina Molecolare, Roma, Consiglio Nazionale delle Ricerche:

- Organizzazione e principali linee di attività sviluppate

Nasce nel 2000 per accorpamento di due istituti CNR e diventa operativo nel Luglio 2002. L'istituto conta 57 ricercatori, 51 tecnici e amministrativi, e personale in formazione, con oltre 218 pubblicazioni (articoli ISI) tra il 2005 e il 2007.

L'attività viene svolta in 3 sezioni:

1. Neurobiologia,
2. Medicina Molecolare,
3. Genetica e Fisiopatologia Molecolare.

Dotazione finanziaria ordinaria 2008: € 252.660,00

- Know-how scientifico dell'unità di ricerca coinvolta

La Sezione di Medicina Molecolare è articolata in sei reparti, ed è attualmente impegnata in in diversi progetti che ricoprono una vasta area, dalla ricerca di base alla ricerca clinica.

La dott.ssa Mariani afferisce a questa sezione, ed è responsabile del Laboratorio di Malattie Infettive, e del Modulo TB all'interno della Sezione.

Nel laboratorio di malattie infettive dallo studio del singolo gene micobatterico, la ricerca è approdata all'analisi della più complessa interazione ospite-patogeno, prendendo in esame la cellula fagocitica umana, responsabile della prima barriera di difesa dall'infezione, il macrofago monocita-derivato, e la sua interazione con il MTB intracellulare. Negli ultimi anni la ricerca si è concentrata sull'analisi dell'interazione ospite-patogeno intracellulare, dal punto di vista della espressione genica di entrambe gli agenti, nel corso dell'infezione.

- Pubblicazioni dell'unità di ricerca nel settore specifico negli ultimi 5 anni ed eventuali brevetti

1) Mariani F. Cappelli G. Riccardi G. and V. Colizzi. 2000. Mycobacterium tuberculosis H37Rv comparative gene-expression analysis in synthetic medium and human macrophages. *Gene* 253: 281-291

2) Fraziano M., Colizzi V., and F. Mariani. Mycobacterium tuberculosis and human macrophage: the bacillus with environmental-sensing. *Folia Biologica (Praha)*. 2000. 46: 127-130

3) Cappelli G., P., Volpe, A., Sanduzzi, A., Sacchi, V., Colizzi, and F., Mariani. Human macrophage-IFN- γ decreases gene expression but not replication of Mycobacterium tuberculosis: analysis of the host-pathogen reciprocal influence on transcription. A comparison between H37Rv and CMT97 strains infections. 2001. *Infection and Immunity* 69:7262-70.

4) M. D'Orazio M., S., Folcarelli, F., Mariani, V., Colizzi, G., Rotilio and A., Battistoni. 2001. Lipid modification of the Cu,Zn superoxide dismutase from Mycobacterium tuberculosis. *Biochem. J.* 2001 Oct 1;359(Pt 1):17-22.

5) Ciccone R., Mariani F., Cavone A., Persichini T., Venturini G., Ongini N., Colizzi V., and Colasanti M. Inhibitory effect of NO-releasing Ciprofloxacin (NCX 976) on Mycobacterium tuberculosis survival. 2003. *Antimic. Agents Chemot.* 47: 2299-2302.

6) G. Cappelli, E. Volpe, M. Grassi, B. Liseo, V. Colizzi and F. Mariani. Profiling of Mycobacterium tuberculosis gene expression changes during human macrophages infection: up-regulation of the alternative sigma factor G, of a group of transcriptional regulators and of proteins with no known function. 2006. *Res. Microbiol.* 157: 445-455.

7) E. Volpe, G. Cappelli, M. Grassi, L. Serafino, V. Colizzi and F. Mariani. Gene expression profiling of MTB-infected macrophages reveals persistence-related transcripts for host adaptation. 2006. *Immunology* 118(4):449-60. (e-pub ahead of print 12 May 2006)

8) M. Grassi, M.L. Bocchino, A. Marruchella, E. Volpe, C. Saltini, V. Colizzi and F. Mariani. Transcriptional profile of the immune response in the lungs of patients with active tuberculosis. 2006. *Clin. Immunol.* 121: 100-107

9) Martino A, Volpe E, Auricchio G, Izzi V, Poccia F, Mariani F, Colizzi V, Baldini

PM. Sphingosine 1-phosphate interferes on the differentiation of human monocytes into competent dendritic cells. *Scand J Immunol.* 2007. 65(1):84-91.

Brevetti

Domanda di Brevetto N° RM2003 A000411, il 29/8/2003. Deposito Domanda Brevetto Internazionale (PCT) in data 25 Agosto 2004, N° PCT/IT04/000471.

Titolo: "Uso di sequenze geniche specifiche di M. tuberculosis e corrispondenti proteine per la diagnosi e la prevenzione di infezione tubercolare"

Titolari: Consiglio Nazionale delle Ricerche

Inventori: F. MARIANI, G. CAPPELLI, V. COLIZZI.

Domanda di Brevetto N° RM 2005 A 000544 del 4/11/2005

Titolo: Uso di peptidi marcatori di sopravvivenza di M.tuberculosis per la diagnosi e la prevenzione di infezione tubercolare e relativo kit diagnostico.

Titolari: Consiglio Nazionale delle Ricerche, Università Tor Vergata

Inventori: F. Mariani, C. Saltini, V.Colizzi, G. Cappelli, M. Grassi, M. Amicosante.

Domanda di Brevetto depositata all'Ufficio Brevetti Italiani e Marchi N° RM2006 A 000080 il 17/2/2006 (Rif.: CNR 1708 VACCINO TBC)

Titolo: Peptidi antigenici per la diagnostica e la vaccinazione anti-tubercolare

Titolari: Università di Roma "Tor Vergata"-Consiglio Nazionale delle Ricerche

Inventori: M.AMICOSANTE, L. BAASSI, G. CAPPELLI, V. COLIZZI, R. EL AOUAD, F. MARIANI, K. SADKI, C.SALTINI, F. SEGHROUCHNI.

DESCRIZIONE Università Cattolica del Sacro Cuore

- Organizzazione e principali linee di attività sviluppate

L'Istituto di Microbiologia dell'Università Cattolica del Sacro Cuore (di seguito UCSC), è da anni impegnato nella ricerca di base ed applicata allo studio delle infezioni da Mycobacterium tuberculosis. Nel corso degli anni gli studi hanno interessato aspetti legati allo sviluppo di nuovi, più rapidi e specifici strumenti di diagnosi di tubercolosi (TB), sia diretta che indiretta; alla caratterizzazione di meccanismi di patogenicità microbica; allo studio del ruolo delle proteine PE e PE_PGRS e della proteina HBHA. Tali studi sono stati possibili grazie alla possibilità di utilizzare il modello di TB murina. Presso l'UCSC è presente un laboratorio di biosicurezza di classe III, uno stabulario e un apparato per l'infezione aerogenica dei topi. La disponibilità di tali attrezzature ha permesso di mettere a punto un modello per la valutazione di nuovi vaccini sperimentali contro la TB. Il modello prevede l'utilizzo di topi C57Bl/6, che dopo essere stati vaccinati con il vaccino di controllo BCG, considerato il gold standard, e gli altri vaccini sperimentali, vengono infettati per via

aerogenica con un ceppo virulento di Mtb. L'attività protettiva viene quindi misurata a 4 e 8 settimane dopo l'infezione mediante determinazione della carica batterica nel polmone e nella milza, e la valutazione del danno tissutale a livello del parenchima polmonare. Il Prof. Giovanni Delogu, responsabile scientifico dell'Unità UCSC ha una esperienza nel settore da oltre dieci anni, maturata prima in qualità di Post doctoral fellow presso la Food and Drug Administration di Bethesda, e quindi consolidata anche in qualità di principal investigator a Roma.

Nel complesso le attività di ricerca presenti presso l'UCSC mirano a sviluppare nuovi strumenti di profilassi e di terapia contro le infezioni da Mtb, attraverso la comprensione dei processi biologici e patogenetici che fanno di Mtb uno dei più importanti patogeni per l'uomo e gli animali.

• Know-how scientifico dell'unità di ricerca coinvolta

Nel corso degli ultimi anni presso l'UCSC sono stati sviluppati diversi nuovi vaccini sperimentali contro la TB (vaccini a DNA, vaccini a subunità proteiche, BCG ricombinanti, vaccini basati sull'utilizzo di sistemi di delivery che prevedono l'utilizzo di Escherichia coli ingegnerizzati, etc). Tali vaccini sono stati saggiati come indicato in precedenza ed i risultati ottenuti sono stati in parte pubblicati su riviste internazionali come indicato di seguito. Presso l'UCSC sono disponibili dei costrutti che codificano per uno o più antigeni di Mtb che si sono dimostrati protettivi quando somministrati come vaccini a DNA o vaccini a sub unità.

• Pubblicazioni dell'unità di ricerca nel settore specifico negli ultimi 5 anni ed eventuali brevetti

1) Sali M., Clarizio S., Pusceddu C., Zumbo A., Pecorini G., Rocca S., Zanetti S., Delogu G., Fadda G. (2008) Evaluation of the anti-tuberculosis activity generated by different multigene DNA vaccine constructs. *Microbes and Infection*; 10(6):605-12.

2) Brun P., Zumbo A., Castagliuolo I., Delogu G., Manfrin F., Sali M., Fadda G., Grillot-Courvalin C., Palù G., Manganelli R. (2008) Intranasal delivery of DNA encoding antigens of Mycobacterium tuberculosis by non-pathogenic invasive Escherichia coli. *Vaccine*. 2008 Apr 7;26(16):1934-41.

3) Cascioferro A., Delogu G., Colone M., Sali M., Stringaro A., Arancia G., Fadda G., Palù G., Manganelli R. (2007) PE is a functional domain responsible for protein translocation and localization on mycobacterial cell wall. *Mol Microbiol*. 2007 Dec;66(6):1536-47.

4) Delogu G., Sanguinetti M., Bua A., Pusceddu C., Zanetti S., Brennan MJ. and Fadda G. (2006) PE_PGRS proteins are differentially expressed by M. tuberculosis in host tissues. *Microbes and Infection* Jul;8(8):2061-7.

5) Dheenadhayalan V., Delogu G., Sanguinetti M., Fadda G., Brennan M.J. (2006) Variable expression patterns of M. tuberculosis PE_PGRS genes: evidence that PE_PGRS16 and PE_PGRS26 are inversely regulated in vivo. *J Bacteriol*. 2006 May;188(10):3721-5.

J Bacteriol. 2006 May;188(10):3721-5.

6) Delogu G., Sanguinetti M., Posteraro B., Rocca S., Zanetti S., Fadda G. (2006) The hbhA gene of M. tuberculosis is specifically upregulated in the lung but not in the spleen of aerogenically infected mice. *Infection and Immunity*, Vol. 74 (5) 3006-3011.

6.2 Responsabile Scientifico

(max 5.000 caratteri)

DESCRIZIONE Tor Vergata

• Sintetico profilo professionale e competenze specifiche nel settore del progetto con relative pubblicazioni e/o brevetti

1 Pedersen JZ, De Maria F., Turella P., Federici G., Mattei M, Fabrini R., Dawood KF., Massimi M., Caccuri AM., Ricci G. Glutathione transferases sequester toxin dinitrosyl-iron complexes in cells. A protection mechanism against excess nitric oxide. *J. Biol. Chem.* Mar 2; 282(9): 6364-71, 2007.

2. Santi L, Giritch A, Roy CJ, Marillonnet S, Klimyuk V, Gleba Y, Webb R, Arntzen CJ, Mason HS. Protection conferred by recombinant Yersinia pestis antigens produced by a rapid and highly scalable plant expression system. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:861-6.

3. Garg SK, Volpe E, Palmieri G, Mattei M, Galati D, Martino A, Piccioni MS, Valente E, Bonanno E, De Vito P, Baldini PM, Spagnoli LG, Colizzi V, Fraziano M. Sphingosine 1-phosphate induces antimicrobial activity both in vitro and in vivo. *J Infect Dis*. 2004;189:2129-38.

Brevetti:

1. Method for identification of antigenic peptides and relative usage for the formulation of a specific HIV-1 vaccine procedure for vaccine preparation based on identification of aminoacid sequences in HIV antigens showing similarity with protein sequences of human organism. Patent N. RM 2004 A000066, deposited 9/2/2004.

2. Immunoregulator compounds, Patent US 2005/0009757 A1 by Fraziano M, Colizzi V, et al.

3. PCT No. PCT/IT2008/000474 del 16 luglio 2008; Inventori: Fraziano M., et al.; titolo: "Asymmetric liposomes and uses in medical fields thereof".

DESCRIZIONE Istituto Neurobiologia e Medicina Molecolare, Roma, Consiglio Nazionale delle Ricerche:

• Sintetico profilo professionale e competenze specifiche nel settore del progetto con relative pubblicazioni e/o brevetti

Dr.ssa Francesca Mariani. Data e luogo di nascita: 28/5/1959 - Roma
Responsabile di Progetto e Capo Laboratorio – Istituto Neurobiologia e Medicina Molecolare, CNR, Roma (Italia)

L'attività di ricerca della Dr.ssa Mariani inizia nel 1990 al Centro Ricerche Sclavo, a Siena, sotto la direzione del Dr. Rino Rappuoli, con la tesi sperimentale in Scienze Biologiche. Dal 2001 dirige il Laboratorio di Malattie infettive dell'attuale INMM.

Pubblicazioni e brevetti selezionati:

1. Martino A, Volpe E, Auricchio G, Izzi V, Poccia F, Mariani F, Colizzi V, Baldini PM. Sphingosine 1-phosphate interferes on the differentiation of human monocytes into competent dendritic cells. *Scand J Immunol.* 2007. 65(1):84-91.

2. F. Seghrouchni, S. Contini, R. Markova, R. Drenska, K. Sadki¹, L. Baassi, Y. Todorova, V. Terzieva, M. Bocchino, G. Cappelli, A. M. Altieri, M. G. Alma, F. Mariani, V. Colizzi, R. El Aouad, C. Saltini, M. Amicosante. Design of immunogenic multiepitopic M. tuberculosis peptides from gene expressed in in vitro models of mycobacterial macrophage infection. (submitted)

3. Domanda di Brevetto N° RM2006 A 000080 il 17/2/2006 (Rif.: CNR 1708 VACCINO TBC)

Titolo: Peptidi antigenici per la diagnostica e la vaccinazione anti-tubercolare

Titolari: Univ. Tor Vergata-CNR

Inventori: M. AMICOSANTE, L. BAASSI, G. CAPPELLI, V. COLIZZI, R. EL AOUAD, F. MARIANI, K. SADKI, C. SALTINI, F. SEGHRUCHNI.

DESCRIZIONE Università Cattolica del Sacro Cuore

- Sintetico profilo professionale e competenze specifiche nel settore del progetto con relative pubblicazioni e/o brevetti

Prof. Giovanni Delogu. Data e luogo di nascita: 28/8/1969 - Sassari
Professore Associato, Istituto di Microbiologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

Interessi Scientifici

- Caratterizzazione molecolare ed immunologica di antigeni e fattori di virulenza dei micobatteri.
- Caratterizzazione di antigeni micobatterici e loro valutazione come candidati vaccini.
- Sviluppo di nuovi vaccini contro la TB e loro valutazione nel modello preclinico murino;
- Studio a livello genetico dei determinanti di virulenza dei meccanismi di patogenicità microbica.
- Studio e caratterizzazione della famiglia di proteine PE_PGRS di M. tuberculosis;
- Studio e caratterizzazione della proteina HBHA di M. tuberculosis;
- Sviluppo di saggi per la valutazione in vitro di agenti antimicrobici.

Pubblicazioni selezionate:

1) Sali M., Clarizio S., Pusceddu C., Zumbo A., Pecorini G., Rocca S., Zanetti S., Delogu G., Fadda G. (2008) Evaluation of the anti-tuberculosis activity generated by different multigene DNA vaccine constructs. *Microbes and Infection*; 10(6):605-12.

2) Brun P., Zumbo A., Castagliuolo I., Delogu G., Manfrin F., Sali M., Fadda G., Grillot-Courvalin C., Palù G., Manganelli R. (2008) Intranasal delivery of DNA encoding antigens of Mycobacterium tuberculosis by non-pathogenic invasive Escherichia coli. *Vaccine.* 2008 Apr 7;26(16):1934-41.

6.3 Rapporti di cooperazione scientifica

(max 10.000 caratteri)

DESCRIZIONE Tor Vergata

- Grado di coinvolgimento in reti di cooperazione scientifica nazionali e/o internazionali

L'Università di Roma Tor Vergata, ed in particolare il Dipartimento di Biologia e la Stazione a Tecnologia Animale sono inserite in molte reti di ricerca e sviluppo industriali, sia nazionali che internazionali. In particolare, nel Dipartimento di Biologia è attiva la cattedra di Biotecnologia dell'UNESCO diretta dal Prof. Vittorio Colizzi, il quale coordina anche il Programma di ricerca, formazione e assistenza tecnica in Africa dell'UNESCO "Families First Africa". Inoltre, l'Università di Tor Vergata (coordinatore prof. Colizzi) è membro dell'Istituto Italiano per l'Africa e l'Oriente (IsIAO), ente di diritto pubblico del Ministero degli Esteri, e di "Synergies Africaines contre le Sida et les souffrances", associazione delle "First Ladies" di 22 paesi africani. Il Dipartimento di Biologia collabora con l'Istituto Nazionale Malattie Infettive "L. Spallanzani" di cui il Prof. Vittorio Colizzi è anche Presidente del Consiglio di Indirizzo e Verifica. Infine, il Dipartimento di Biologia è detentore di contratti e finanziamenti dell'Unione Europea, dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, dell'Istituto Superiore di Sanità, del Ministero dell'Università e della Ricerca (Prin 2008), tutti nel settore dello sviluppo di vaccini. Nell'ambito della tubercolosi e/o HIV, numerose sono le collaborazioni scientifiche che il laboratorio di Immunologia e Patologia ha attivato nel corso degli anni con istituzioni scientifiche nazionali (tra queste: Università degli Studi di Roma "La Sapienza", Università degli Studi di Palermo, Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma) ed internazionali (tra queste: Prof. R. Roberts, New England Biolabs, Ipswich,

Massachusetts, USA; Prof. M. Malkovsky, Department of Medical Microbiology and Immunology, University of Wisconsin; Prof. M. Zembala, Department of Clinical Immunology and Transplantation, Jagiellonian University Medical College, Cracow, Poland; Prof. C.D. Pauza, Institute of Human Virology, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, United States; Prof. D.B. Young, Center for Molecular Microbiology and Infection, Imperial College, London, UK; Prof. P.S. Bisen, Institute of Biotechnology and Allied Sciences, Seedling Academy of Design, Technology and Management, Jagatpura, Jaipur, India; Prof. F. Okajima, Institute for Molecular and Cellular Regulation, Gunma University, Japan) e che si sono tradotte nella partecipazione a numerosi progetti nazionali e internazionali finanziati e nella pubblicazione di lavori su riviste scientifiche internazionali ad alto impact factor.

- Rapporti di collaborazione preesistenti tra soggetto cofirmatario e soggetto richiedente

Okairos e il Dipartimento di Biologia hanno siglato nel luglio 2007 un accordo di collaborazione nel settore dello sviluppo vaccinale, ed in particolare del vaccino contro la Tuberculosis, che ha permesso di strutturare un "Joint Lab" tra Okairos ed il Laboratorio di Immunologia e Patologia Molecolare del Dipartimento coordinato dal Prof. Colizzi. Questo laboratorio verrà potenziato nell'ambito del presente progetto, integrandolo con il laboratorio di Biotecnologia vegetale del Dr. Luca Santi, anch'esso operativo presso il Dipartimento di Biologia.

Da moltissimi anni è operativa la collaborazione tra il Dipartimento di Biologia (Prof. Colizzi) ed il gruppo della Dr. Francesca Mariani del CNR, così come si evince dalle numerose pubblicazioni scientifiche e brevetti prodotti nel settore della Tuberculosis. Così come è ben collaudata la collaborazione con l'Università Cattolica del Sacro Cuore (Prof. Fraziano) nel settore della Tuberculosis (Progetto PRIN 2008)

Infine, ma non per importanza, è la collaborazione esistente con la Sigma-tau, il cui gruppo di ricerca ex-Kenton (spin off della Sigma-tau creato al momento della divisione dell'IRBM alla Merks ed molto recentemente riassorbito in Sigma-tau) collabora da tempo nello sviluppo di vaccini.

DESCRIZIONE Istituto Neurobiologia e Medicina Molecolare, Roma, Consiglio Nazionale delle Ricerche:

- Grado di coinvolgimento in reti di cooperazione scientifica nazionali e/o internazionali

Negli ultimi dieci anni l'INMM ha partecipato, come Laboratorio di malattie infettive, a diversi progetti nazionali e internazionali, quali il Progetto Finalizzato BIOTECNOLOGIE_CNR: "Identificazione geni di Mycobacterium tuberculosis maggiormente espressi in corso di infezione, e loro utilizzo nella costruzione di un vaccino a DNA". Triennio 1997-1999. (Coordinatrice scientifica); il Progetto di Ricerca Finalizzata dal titolo: "Modelli per lo sviluppo di vaccini contro il virus dell'epatite C ed il micobatterio della tubercolosi" (Coordinatore Dr. Giuseppe Ippolito, INMI L.Spallanzani), approvato dal Ministero della Sanità per il 1999-2000; il Progetto FIRB Post-Genomica: Identification of Mycobacterium tuberculosis in-vivo expressed antigens, and their employment for a therapeutic vaccine against TB. 2001-2004 (Coordinatore Prof. V.Colizzi); il Progetto Finalizzato Vaccini per il Terzo Millennio: U.O.02 Identificazione di clusters di geni espressi in vivo da Mycobacterium tuberculosis e costruzione di un vettore a DNA e di un BCG ricombinante multigenico., 1% Ministero Salute. 2003- 2004 (Coordinatrice Dott. P. Mastrantonio, ISS); il Progetto Finalizzato Ministero Salute 1%: Epidemiologia e farmaco-resistenza di tubercolosi in gruppi socialmente svantaggiati (senza dimora e immigrati), Approvato in Ottobre 2003 (Coordinatore Dott. Luigi Toma, IRCCS S.Gallicano); Il progetto PRIN 2007, prot. 2007ECX29E, dal titolo: Farmaco-resistenza di Mycobacterium tuberculosis: aspetti molecolari e farmaco-dinamici; La dott.ssa Mariani è stata Responsabile scientifica del Progetto collocato nell'ambito del Programma di collaborazione scientifica e tecnologica tra l'Italia e il Marocco per il 2007. Progetti di particolare rilevanza. Titolo del Progetto: "Monitoraggio e analisi in vivo dei ceppi clinici di Mycobacterium tuberculosis farmaco-resistenti e studio dei meccanismi innati ed adattativi di immunità anti-tubercolare. Studio strategico per la costruzione di un vaccino terapeutico anti-tubercolare di tipo "regionale", che coinvolge anche l'INMI L.Spallanzani; e Responsabile scientifica del Progetto: "A study of the MTB transcriptional profile in humans", finanziato dall'NIAID, National Institute of Health, Bethesda, Maryland, USA, 2004. L'INMM ha inoltre un progetto di collaborazione con il "Centro Chantal Biya", in Cameroun per la prevenzione e il trattamento dell'AIDS e la TB, per la ricerca di peptidi immunogenici e/o protettivi per la TB (Dott.ssa G. Cappelli).

- Rapporti di collaborazione preesistenti tra soggetto cofirmatario e soggetto richiedente

Da moltissimi anni è operativa la collaborazione tra il Dipartimento di Biologia (Prof. Colizzi) ed il gruppo della Dr. Francesca Mariani del CNR, così come si evince dalle numerose pubblicazioni scientifiche e brevetti prodotti nel settore della Tuberculosis. Nell'ambito di tale collaborazione la Dott.ssa Mariani partecipa all'accordo di collaborazione nel settore dello sviluppo vaccinale, ed in particolare del vaccino contro la Tuberculosis, che ha permesso di strutturare un "Joint Lab" tra Okairos ed il Laboratorio di Immunologia e Patologia Molecolare del Dipartimento coordinato dal Prof. Colizzi e siglato nel luglio 2007. Con l'UCSC è in corso una collaborazione per lo studio del potere protettivo di alcuni BCG ricombinanti prodotti dall'INMM, per i quali si sta completando uno studio di immunogenicità in collaborazione con la NSTA del Dipartimento di Biologia dell'Università Tor Vergata.

DESCRIZIONE UCSC

- Grado di coinvolgimento in reti di cooperazione scientifica nazionali e/o internazionali

L'UCSC ed il responsabile scientifico Giovanni Delogu sono inseriti in numerosi progetti di ricerca nazionale ed internazionali e collaborano attivamente con numerosi colleghi ed istituzioni italiane e straniere. In particolare, nell'ambito del progetto INNOVAC, finanziato dalla Comunità Europea nell'ambito del progetti FP6 per gli anni 2007-2009, compito dell'UCSC è quello di concorrere alla sviluppo di nuovi vaccini contro la TB, ma anche quello di valutare i nuovi vaccini sperimentali che vengono sviluppati dai vari partner utilizzando diverse piattaforme tecnologiche. I collaboratori nel progetto INNOVAC sono Royal Holloway and Bedford New College, London, UK; Cobra Biomanufacturing plc, UK; Nano S Biotechnologies GmbH, Vienna; Università di Padova; Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine, Hamburg, Germany; Vabiotech, Hanoi, Vietnam.

Nell'ambito dei progetti relativi al FP7 è stato finanziato il progetto NOVSEC-TB, che ha come obiettivo la caratterizzazione dei meccanismi di secrezione di M. tuberculosis con particolare riferimenti ai sistemi ESX1-5. I collaboratori nel presente progetto sono: Institut Pasteur, Parigi, Francia; VU Medical Centre, Netherlands; Università di Pisa; Veterinary Laboratory Agency, UK; Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Svizzera; Università di Padova; MRC Durban, Sud Africa.

Sempre nell'ambito di progetti inerenti la TB, l'UCSC collabora inoltre attivamente con l'Università di Roma Tor Vergata, l'Università di Sassari, l'Istituto Superiore di Sanità

- Rapporti di collaborazione preesistenti tra soggetto cofirmatario e soggetto richiedente

6.4 Caratteristiche della Grande Impresa (se presente)

(max 8.000 caratteri)

Profilo aziendale e linee di attività relative al progetto:

Sigma-tau è uno dei più importanti gruppi farmaceutici italiani con un eccellente ruolo anche in campo internazionale. Con 2.500 dipendenti e un fatturato di 670 milioni di euro (2006), Sigma-tau è un sistema imprenditoriale che presidia tutte le aree terapeutiche di rilevante importanza clinica e che ha come obiettivo principale la qualità della vita dell'uomo e la sua salute. Gli ingenti investimenti in ricerca, pari al 16% del fatturato, rappresentano il fulcro dell'impresa e permettono la presenza nei più avanzati settori tenendo vivi i collegamenti con istituzioni scientifiche di livello mondiale e portando avanti programmi di ricerca originali e innovativi.

Cardiovascolare, metabolismo, oncologia, immunologia, sistema nervoso centrale e periferico rappresentano le principali aree di ricerca dell'azienda, articolate in 47 distinti progetti che vengono svolti nei seguenti centri: Centro di ricerche Sigma-tau (Pomezia, RM); Kenton S.r.l. (RM); Istituto di Ricerca Prassis (MI); Tecnogen S.p.A. (CE); sigma-tau Research Inc. (USA).

Sigma-tau ha di recente collaborato con una azienda cinese avviando un progetto finalizzato alla registrazione mondiale di un farmaco per la terapia della malaria e mettendo a disposizione il proprio know-how di sviluppo industriale per consentire la commercializzazione del farmaco in tutti i Paesi dove la malattia è endemica e miete ancora milioni di vittime.

Nel settore delle biotecnologie immunologiche le attività di ricerca Kenton hanno portato alla realizzazione di una piattaforma tecnologica per l'identificazione e la produzione di antigeni ricombinanti di agenti infettivi con possibilità di impiego nella diagnostica in vitro e in applicazioni terapeutiche (vaccini), due settori di notevole interesse accademico e industriale. La tecnologia di base è stata messa a punto utilizzando come modello di agente infettivo *Toxoplasma gondii*, un parassita endocellulare causa di importanti patologie nei soggetti immunocompromessi e nei bambini con infezione congenita.

Numerosi sono i vantaggi che la tecnologia Kenton offre rispetto alle tecnologie convenzionali e, in particolare:

- riduzione del tempo necessario all'identificazione degli antigeni;
- basso costo di produzione;
- esecuzione di tutti i processi in condizioni minime di bio-sicurezza;
- comparabile o migliorata performance dei saggi diagnostici;
- sviluppo di vaccini a DNA con elevato profilo di bio-sicurezza.

L'identificazione degli antigeni di *Toxoplasma* ha permesso di effettuare uno studio dettagliato della risposta immunitaria umana all'infezione del patogeno e di sviluppare i seguenti modelli di vaccinazione profilattica contro le infezioni da microrganismi intracellulari:

1. Vaccini a DNA con combinazioni di antigeni. Le regioni antigeniche dotate di maggiore immunogenicità nell'uomo sono state usate in combinazione, sotto forma di DNA plasmidico, per immunizzare per via

intramuscolare topi di laboratorio. Gli animali vaccinati sono stati infettati con il parassita per via orale e successivamente analizzati per la formazione di cisti parassitarie cerebrali. Gli animali vaccinati presentavano una riduzione del numero di parassiti pari al 60-85% rispetto al controllo, indicando un'ottima efficacia del protocollo di immunizzazione.

2. Vaccini a DNA con antigeni chimerici. Il protocollo di immunizzazione è stato implementato utilizzando il DNA plasmidico codificante per antigeni multipli assemblati in prodotti ricombinanti chimerici. Gli animali vaccinati presentavano una riduzione del numero di cisti cerebrali del 95% rispetto al controllo.

3. Vaccini con adenovirus ricombinanti. Per aumentare ulteriormente l'efficacia dei vaccini a DNA, gli antigeni chimerici sono stati clonati in adenovirus ricombinanti "replication- incompetent", cioè in grado di infettare le cellule bersaglio senza dare origine a progenie virali. I virus ricombinanti sono stati prodotti su piccola scala e impiegati con successo per infettare cellule umane.

La piattaforma tecnologica sviluppata con Toxoplasma è stata applicata ad altri due agenti patogeni causa di malattie per le quali diagnosi e terapia sono ancora inadeguate o insufficienti: Streptococcus pneumoniae (principale agente eziologico della polmonite) e Citomegalovirus umano. Anche in questo caso, l'impiego della tecnologia Kenton ha permesso di identificare un ampio repertorio di antigeni utilizzabili in campo diagnostico e terapeutico.

Modalità di coinvolgimento nel progetto in relazione agli obiettivi da raggiungere:

Il coinvolgimento di Sigma-tau sarà di fondamentale importanza per avere una visione industriale e produttiva del progetto e per poter sfruttare il know-how e le piattaforme tecnologiche sviluppate dalla società Kenton S.r.l. Rappresentando la Grande Impresa, partner dell'ATI per attività di servizi e di prodotti, Sigma-tau sarà coinvolta nelle fasi di ricerca e sviluppo del progetto, disponendo inoltre della necessaria esperienza per assistere l'ATI nella produzione dei prototipi vaccinali in condizioni di "Good Laboratory Practice" (GLP) e "Good Manufacturing Practice" (GMP).

Nello specifico progetto del vaccino tubercolare, Sigma-tau parteciperà con le seguenti modalità:

- Mettendo a disposizione il know-how di biologia molecolare e le piattaforme tecnologiche sviluppate dalla società Kenton srl del Gruppo Sigma-tau;
- Partecipando con la consulenza e la collaborazione scientifica di risorse umane ex-Kenton;
- Finanziando il progetto di sviluppo del vaccino tubercolare con una somma complessiva pari a Euro 100.000.

Grado di integrazione e complementarità tra G.I. e i soggetti firmatari in relazione al progetto:

Il progetto offre l'opportunità di integrare competenze e tecnologie di Istituzioni pubbliche e private per lo sviluppo di vaccini di nuova generazione. In tale contesto, la disponibilità del Dipartimento di Biologia dell'Università Tor Vergata ad ospitare gruppi di ricerca di aziende private, quali Sigma-tau e Okairos, permetterà la condivisione di know-how e tecnologie per un razionale sviluppo dei prodotti vaccinali. Una stretta interazione tra i gruppi di ricerca del campus universitario con Aziende ospedaliere (Istituto Nazionale di malattie infettive "L. Spallanzani"; Policlinico Tor Vergata) permetterà inoltre l'arruolamento dei pazienti per le successive fasi di sviluppo clinico.

Nello specifico progetto del vaccino tubercolare, Sigma-tau sarà coinvolta nelle fasi di ingegnerizzazione e produzione degli antigeni ricombinanti micobatterici, con la collaborazione dell'Università Tor Vergata per gli studi di immunogenicità nell'uomo e di Okairos per la produzione dei corrispondenti vettori virali. Un laboratorio di biologia molecolare e biochimica sarà attrezzato presso il Dipartimento di Biologia di Tor Vergata, sotto la direzione di Sigma-tau, costituendo un servizio comune per lo svolgimento del progetto. La presenza di Sigma-tau assicurerà inoltre un adeguato sviluppo delle fasi regolatorie e di quelle relative alla produzione di lotti clinici dei prototipi vaccinali in condizioni GLP e GMP.

7.1 Descrizione del progetto

(max 25.000 caratteri)

- Valenza innovativa con riferimento alla novità e all'originalità delle conoscenze acquisibili

La Tuberculosis (TB), prodotta dall'infezione del batterio *Mycobacterium tuberculosis*, è una delle più drammatiche patologie nei Paesi in via di sviluppo (PVS). È responsabile di circa due milioni di morti ogni anno e la sua incidenza è prevalentemente dovuta a ceppi resistenti a molti farmaci e alla pandemia da HIV. Per ora, il solo vaccino anti-TB disponibile è rappresentato da *Mycobacterium bovis* BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*), con circa 100 milioni di dosi somministrate ogni anno. Questo vaccino è efficace contro le forme infantili di TB, che generalmente si sviluppano entro due anni dall'infezione. Sfortunatamente, BCG dimostra efficacia variabile contro la forma polmonare di TB negli adulti, che nella maggior parte dei casi risulta dalla riattivazione di una infezione latente di TB e che è la forma prevalente di TB nel mondo. L'interferenza di micobatteri ambientali e variazioni genetiche possono spiegare l'efficacia variabile di BCG, ma sembra che abbiano un ruolo anche altri fattori, come lo stato nutrizionale e il declino della memoria immune. Negli ultimi anni sono stati osservati ceppi resistenti a due farmaci (ceppi MDR-TB) e più recentemente è stata identificata l'insorgenza di ceppi di *M. Tuberculosis* resistenti a due o più farmaci (XDR-TB, Extensively Drug Resistant strain). I ceppi XDR-TB hanno evidenziato tassi di mortalità più alti. Dato che 1/3 della popolazione mondiale è infettata con *M. Tuberculosis* senza segni di malattia e che 8 milioni di nuovi casi di TB attiva e 1.5 milioni di morti sono registrati ogni anno, si comprende perché TB è un'emergenza mondiale. Lo sviluppo di un vaccino contro TB fornirebbe uno strumento inestimabile per combattere TB non solo nei PVS ma anche in Europa ed in Italia (specialmente nelle regioni ad alto flusso migratorio) dove la tubercolosi farmaco-resistente sta creando problemi di trattamento non indifferenti.

- Risultati attesi rispetto allo stato dell'arte e allo sviluppo del settore di appartenenza

Lo scopo del Progetto di ricerca è lo sviluppo di strategie innovative per la vaccinazione contro TB.

In particolare, gli specifici obiettivi sono:

- 1) Identificazione di geni candidati per un vaccino contro la Tuberculosis
- 2) Sviluppo di vettori Adenovirus che codificano per antigeni della Tuberculosis
- 3) Sviluppo di adiuvanti liposomali
- 4) Studi in vivo nei topi
- 5) Impiego di piante geneticamente modificate e di virus vegetali per la produzione di vaccini ricombinanti contro la Tuberculosis

- Specifiche attività dei soggetti attuatori

Istituto Neurobiologia e Medicina Molecolare, CNR (Francesca Mariani) : Identificazione di geni candidati per una vaccino contro la Tuberculosis

Il Laboratorio di Malattie Infettive dell'INMM-CNR si occupa da anni di Tuberculosis. La linea di ricerca si è concentrata sull'analisi dell'interazione ospite-patogeno, nel corso dell'infezione, dal punto di vista della espressione genica da parte del patogeno intracellulare e del macrofago dell'ospite. Obiettivo principale di tale studio è stata l'individuazione dei geni di *M.tuberculosis* la cui espressione in vivo potesse essere associata:

- a. ad una attiva replicazione intracellulare del micobatterio stesso
- b. all'induzione di una efficace risposta immunitaria da parte dell'ospite, il cui possibile ruolo protettivo andrà successivamente studiato in modelli animali.

L'analisi è stata effettuata con la tecnica dei macroarrays (contenenti l'intero genoma di *M.tuberculosis*) e con RT-PCR quantitativa in real time (q-rt RT-PCR). L'espressione dell'intero genoma di *M.tuberculosis* è stata analizzata su RNA totale, retro-trascritto in cDNA, estratto da *M.tuberculosis* H37Rv (ceppo di laboratorio, collezione ATCC N° 27294) coltivato in terreno sintetico Sauton's (crescita extra-cellulare) e recuperato dopo sette giorni di infezione di macrofagi umani differenziati da monociti di colture primarie (crescita intracellulare).

Nel confronto tra il profilo di espressione genica di *M.tuberculosis* extra- ed intra-cellulare sono stati considerati significativamente modulati (cioè indotti, repressi o conservati) quei geni la cui differenza di espressione nei due ambienti di crescita fosse = 1.9. Il gruppo dei circa 900 geni risultati modulati è stato sottoposto ad analisi statistica. In seguito a tale analisi statistica sono risultati significativamente modulati da *M.tuberculosis*, in corso di infezione di macrofagi umani vs terreno sintetico, 329 geni, di cui 240 indotti, 31 repressi e 58 conservati nelle due condizioni di crescita.

L'espressione dei geni che sono stati identificati in macrofagi umani infettati con *M.tuberculosis*, è stata confermata in macrofagi alveolari (AM) da Lavaggi Bronco-Alveolari (BAL) di pazienti TB a vari stadi della

malattia sempre con tecnica di macroarrays. Tali geni, associati alle replicazione intra-cellulare di *M.tuberculosis*, costituiscono dei buoni candidati per la messa a punto di un vaccino a DNA contro la Tuberculosis.

Per verificare se l'espressione in macrofagi umani di tali geni micobatterici possa essere, in corso di infezione naturale, responsabile del priming di cellule T helper CD4+, abbiamo selezionato un gruppo di 30 proteine, tra quelle risultate modulate in vivo, in base alle loro caratteristiche di immunogenicità per cellule T CD4+ (ProPred software).

Tale predizione in silico ci ha fornito le sequenze di circa 100 peptidi immunogenici, 52 dei quali sono risultati specie-specifici per il Complesso tubercolare (*M.tuberculosis*, *M.bovis*, *M.africanum*).

La risposta delle cellule mononucleate di sangue periferico a proteine e peptidi di *M. tuberculosis* è stata correlata alla diagnosi di infezione latente o di recente contatto con pazienti TB utilizzando la tecnica dell'ELISPOT per il rilevamento delle cellule produttrici IFN-gamma. Un altro test IGRA (Interferon Gamma Release Assay) è rappresentato dal Quantiferon, un test su sangue intero oggi impiegato nella routine ospedaliera.

Il test è stato effettuato su quattro popolazioni di soggetti: a. pazienti con TB polmonare di primo accertamento; b. contatti sani, esposti alla TB, PPD positivi; c. controlli negativi, Quantiferon negativi, vaccinati con BCG; d. controlli negativi, Quantiferon negativi, non vaccinati con BCG.

Con un primo gruppo di esperimenti abbiamo identificato 8 proteine di *M.tuberculosis* riconosciute specificamente da soggetti del gruppo a. e b., che costituiscono degli ottimi candidati per la messa a punto di un nuovo vaccino a DNA anti-tubercolare (in corso di Brevetto). Contemporaneamente l'Unità di ricerca INMM-CNR proseguirà nello studio del riconoscimento delle altre proteine di MTB modulate in vivo, aumentando il numero dei soggetti testati, specialmente per quanto riguarda il gruppo dei contatti sani, esposti alla TB, il cui riconoscimento di specifici antigeni micobatterici può plausibilmente essere associato alla protezione dalla malattia.

Okairòs (Riccardo Cortese) : Vettori Adenovirali

L'approccio classico per la produzione di vaccini è basato su proteine ricombinanti capaci di sviluppare anticorpi neutralizzanti che prevengono l'infezione delle cellule bersaglio. Tuttavia, nei casi in cui il patogeno infettante è in grado di mutare i determinanti antigenici di neutralizzazione, le risposte di cellule B non sono efficaci. Questo è particolarmente vero per quei microorganismi che hanno una rapida cinetica di infezione delle cellule bersaglio, e richiedono che siano mantenuti alti titoli di anticorpi neutralizzanti per ottenere protezione di lunga durata. In questi casi, una risposta immune protettiva dovrebbe includere un forte componente di immunità cellulare, cellule T helper CD4 per una risposta umorale aumentata e più sostenuta e cellule T citotossiche CD8 capaci di eliminare le cellule infettate.

I vaccini genetici sviluppano risposte CD4 significative e sono efficienti induttori di cellule T CD8 rispetto ai vaccini basati su peptidi, dato che gli antigeni sono espressi in modo endogeno dalle cellule trasdotte dal vaccino, risultando in una presentazione sulle cellule MHC1 più efficiente.

Okairòs svilupperà una Piattaforma tecnologica basata su vettori Adenovirali difettivi per la replicazione, da usare da soli o in combinazione, in regimi di immunizzazione prime/boost, in modo da sviluppare uno spettro completo di risposte immuni di cellule B e T.

I vettori Adenovirus sono i vettori di scelta per la somministrazione di vaccini genetici, dato che possiedono molte proprietà desiderabili : i) capacità di infettare cellule che si replicano, così come cellule che non si replicano ii) ampio tropismo iii) facilità di propagazione in colture cellulari ad alto titolo iv) processo di manifattura poco costoso.

La maggior parte della popolazione umana è stata infettata da Adenovirus e ha anticorpi che inattivano i più comuni ceppi di Adenovirus umani. Questa immunità pre-esistente è un grosso ostacolo che diminuisce fortemente la potenza immunologica dei vettori Adenovirus umani.

La soluzione Okairòs al problema della pre-esistente immunità è stata di sviluppare un sistema di vettori basato su Adenovirus isolati dagli scimpanzè. Gli Adenovirus di scimpanzè sono fortemente correlati agli Adenovirus umani, evidenziando un alto grado di omologia del DNA (80-95%) e struttura genomica simile. Inoltre, la prevalenza di anticorpi capaci di neutralizzare gli Adenovirus di scimpanzè è molto bassa o assente nella popolazione umana.

I ricercatori Okairòs hanno isolato un gran numero di ceppi di Adenovirus dagli scimpanzè (più di 2000) e li hanno selezionati per varie proprietà, come la produttività, la sieroprevalenza e la potenza immunologica. I risultati di questa intensiva selezione hanno portato all'identificazione di diversi sierotipi di Adenovirus di scimpanzè, da cui sono stati costruiti vettori virali difettivi per la replicazione con le seguenti proprietà:

- alta produttività in linee cellulari di packaging approvate dalle agenzie regolatorie (ad es. 293, PerC6®)
- buone proprietà biochimiche compatibili con processi di purificazione su larga scala
- bassa o nessuna sieroprevalenza di anticorpi neutralizzanti nella popolazione umana
- alta potenza immunologica (comparabile ad Ad5 umano), saggiata sia in roditori che in primati non umani.

Recentemente Okairòs ha ottenuto l'approvazione da parte delle agenzie regolatorie per saggiare vaccini candidati per Malaria ed HCV - basati sulla tecnologia degli Adenovirus di scimpanzè – in studi di Fase I di sicurezza ed immunogenicità.

L'allume viene usato nella pratica vaccinale da più di 60 anni ed è al momento l'adjuvante più largamente usato nei vaccini. Tuttavia, esso soffre di alcune limitazioni quali tossicità, sbilanciamento della risposta immune verso un profilo di tipo T helper 2 ed una conseguente scarsa capacità di indurre una risposta di tipo T helper 1 (Vaccine. 2007; 25:3752-3762; Immunol Cell Biol. 2004; 82: 488-96), unanimemente considerata protettiva nei confronti della tubercolosi (Annu Rev Immunol 2001; 19:93-129). Un nuovo approccio strategico per il miglioramento della risposta immunitaria antigene specifica è di veicolare lipidi coinvolti nell'attivazione dei meccanismi di processazione/presentazione antigenica (acido fosfatidico, sfingomieline, acido lisofosfatidico, acido arachidonico o fosfatidilinositolo 3-fosfato) (Nat. cell. Biol. 2003; 5: 793-802) in associazione con vaccini vivi o vaccini ricombinanti esprimenti antigeni associati alla virulenza con lo scopo di potenziare la capacità di processazione e presentazione antigenica delle cellule presentanti l'antigene (APC) (Biochem. Biophys. Res. Commun., 2007; 361: 687-93). In questo contesto, è noto che una importante limitazione del BCG (l'unico vaccino attualmente in uso contro la tubercolosi) è quella di interferire con i "pathway" molecolari responsabili dell'attività di processazione/presentazione antigenica (Cell. 1999; 97:435-47; Vaccine. 2004;22:3848-57.). Allo scopo di potenziare tale attività da parte delle APC e per fornire segnali di allerta che possano favorire l'instaurarsi di un corretto microambiente proinfiammatorio, all'interno del Dipartimento di Biologia dell'Università di Roma "Tor Vergata" sono stati ideati e realizzati dei liposomi asimmetrici caratterizzati dalla presenza di fosfolipidi diversi nei due foglietti del doppio strato della membrana lipidica" (brevetto Fraziano M. et al. No. PCT/IT2008/000474). Questi liposomi vengono preparati assemblando sequenzialmente i due monostrati, preparati indipendentemente in due differenti fasi di emulsione, su una unica fase acquosa e consentono di esprimere diversi fosfolipidi (ad es. fosfatidilcolina) e ligandi microbici di recettori Toll extracellulari (TLR-4) sulla superficie esterna o secondi messaggeri lipidici (ad es. acido fosfatidico, sfingomieline, acido lisofosfatidico, acido arachidonico o fosfatidilinositolo 3-fosfato) e ligandi microbici di recettori Toll intracellulari (TLR-3 e TLR-9) sulla superficie interna del liposoma. L'attività sperimentale prevederà la produzione ed analisi di differenti preparazioni liposomali, caratterizzate dalla presenza di differenti ligandi microbici sulla superficie interna o esterna del liposoma e differenti fosfolipidi sulla superficie interna. Le molecole che verranno utilizzate per fornire segnali di allarme al sistema immunitario saranno il lipide A (LPS detossificato e ligando del TLR4), espresso sulla superficie esterna, e sequenze oligonucleotidiche non metilate di tipo CpG o poli I:C (ligandi rispettivamente del TLR-9 e TLR-3), sulla superficie interna.

Lo studio verrà articolato in quattro fasi. La prima fase consisterà nella preparazione e caratterizzazione biofisica delle preparazioni liposomali (distribuzione delle dimensioni, morfologia, asimmetria del doppio strato) e verrà analizzata attraverso misure di Light scattering, microscopia confocale e fluorimetria. La seconda fase consisterà nell'analisi dei meccanismi di processazione/presentazione antigenica in fagociti mononucleati infettati con BCG e sarà valutata in termini di maturazione fagolisosomale e transito dei micobatteri nei compartimenti MIIC attraverso studi in microscopia confocale. La terza fase consisterà nell'analisi delle diverse preparazioni liposomali di fornire segnali di allerta per cellule fagocitiche mononucleate e cellule dendritiche immature e sarà valutata in termini di risposta proinfiammatoria attraverso il monitoraggio del rilascio nel supernatante di coltura di diverse citochine/chemiochine (IL-1beta, IL-6, IL-8, IL-12, TNF-alfa, MIP-1alfa, MCP-1, IP-10, RANTES, IL-15, IL-23), e di maturazione di cellule dendritiche immature attraverso l'analisi fenotipica di diversi marcatori di membrana (CD25, CD40, CD80, CD83, CD86, CCR7, HLA-DR, HLA-ABC). La quarta fase prevede l'analisi della capacità delle diverse preparazioni liposomali di attivare in vitro una risposta antigene specifica di tipo T helper-1, T helper-2 e/o T helper-17. Le preparazioni liposomali verranno anche analizzate in vivo, allo scopo di valutarne l'efficacia, in collaborazione con l'unità UCSC in esperimenti di protezione in un modello di vaccinazione murina antitubercolare insieme a BCG o a nuovi vaccini ricombinanti adenovirali.

Università degli Studi di Roma "Tor Vergata" – Dipartimento di Biologia (Prof. Luca Santi) : Impiego di piante geneticamente modificate e di virus vegetali per la produzione di vaccini ricombinanti contro la Tubercolosi

Nel corso degli ultimi venti anni le conoscenze nel campo delle biotecnologie vegetali hanno reso possibile l'utilizzazione delle piante anche per la produzione di molecole complesse ad alto valore aggiunto (anticorpi, antigeni, emoderivati, enzimi). Il sistema pianta "biofabbrica" per produrre molecole di interesse biofarmaceutico (per uso umano e veterinario) rappresenta un'alternativa efficace, biologicamente sicura ed economicamente vantaggiosa rispetto ai sistemi di produzione convenzionali (batteri, lieviti, cellule di mammifero) finora adottati dall'industria farmaceutica.

I migliori candidati fra gli antigeni di Mycobacterium tuberculosis espressi dal sistema adenovirale e valutati tramite studi preclinici, saranno prodotti in pianta seguendo due principali strategie. Singole proteine complete, o chimere di più proteine di M. tuberculosis saranno in una prima fase espresse stabilmente in tabacco, purificate e somministrate oralmente per uno studio di protezione utilizzando il modello di TB murino; successivamente gli stessi antigeni saranno espressi stabilmente in patata da utilizzare direttamente come vaccino edibile. Questa strategia è di particolare interesse per applicazioni veterinarie in considerazione dell'emergenza sanitaria costituita dalla TB bovina. L'immunizzazione mucosale tramite materiale edibile consente la produzione su larga scala di un vaccino ricombinante che non necessita di purificazione ma che a seguito di minimo processamento può essere utilizzato come additivo alimentare ai comuni mangimi. La seconda strategia consiste nell'esposizione sulla superficie di un virione vegetale di singoli epitopi B e T individuati con epitope mapping dagli antigeni candidati di M. tuberculosis. Frammenti di DNA codificanti gli epitopi saranno inseriti in frame alla porzione codificante la coat protein virale. I vaccini a peptidi sono una classe particolare di vaccini a sub-unità che sfruttano le proprietà immunogeniche di porzioni dell'antigene definite epitopi. In questo caso i virus ricombinanti sono purificati

per esclusione molecolare e direttamente somministrati come formulazione vaccinale.

Università Cattolica del Sacro Cuore (Giovanni Delogu) : Sviluppo di vettori adenovirali e studi in vivo

Nella presente proposta intendiamo sviluppare dei vettori adenovirali che esprimono combinazioni di antigeni di *M. tuberculosis* che hanno già fornito livelli di protezione equivalenti a quelli indotti da BCG quando somministrati come vaccini a DNA (1-3). Le due combinazioni di multigeni più promettenti, che esprimono il poliantigene Ag85B-Esat6 ed un pentapolipetide, verranno clonati ed espressi nel sistema adenovirale. I vettori adenovirali che esprimono i due polipeptidi di *M. tuberculosis* (AdTB2X e AdTB5X) verranno utilizzati per immunizzare i topi seguendo strategie di immunizzazione simili a quelle attese per gli studi di fase clinica. In definitiva si provvederà a fare un priming con BCG ed un boosting con gli Adenovirus, sebbene l'attività protettiva dei vaccini adenovirali verrà valutata anche singolarmente. Intendiamo inoltre valutare l'utilizzo di nuovi ed altamente innovativi adiuvanti di natura liposomica (Unità Tor Vergata), i quali potranno essere somministrati in combinazione con BCG o con i vettori virali. Un approccio simile verrà utilizzato per valutare in strategie prime-boosting dei ceppi di BCG ricombinante sviluppati dall'Unità INMM-CNR.

Per poter entrare in studi clinici sull'uomo un nuovo vaccino contro la TB dovrebbe dimostrare di essere efficace in appropriati modelli animali. Nel caso della TB sono quattro i modelli animali che vengono utilizzati per la valutazione dei nuovi vaccini (topo, cavia, coniglio, e primati non umani). L'assenza di correlati della risposta immunitaria protettiva ed il complesso meccanismo di patogenicità dell'infezione da *M. tuberculosis* non aiutano una semplice traslazione dei risultati ottenuti nel modello animale all'uomo. Ad esempio, l'attività protettiva di un ceppo di BCG in due diverse specie di scimmie ha dato risultati completamente differenti. Il modello di TB murino è stato ampiamente utilizzato per valutare l'efficacia di nuovi vaccini contro la TB (4). Sebbene i topi non sviluppino necrosi caseosa o cavitazione, e siano relativamente resistenti all'infezione da *M. tuberculosis*, i dati ottenuti nel corso degli ultimi anni indicano che i vaccini che hanno dato buoni risultati nel topo hanno confermato la loro attività in altri modelli animali. Il modello murino presenta inoltre altri importanti vantaggi: è relativamente economico, consente di ottenere risultati affidabili in tempi ragionevoli ed abbiamo la possibilità di utilizzare strumenti immunologici per caratterizzare la risposta immunitaria indotta dai vaccini.

Nel nostro modello i topi C57Bl/6 vengono immunizzati con il vaccino di controllo BCG (gold standard), iniettando s.c. 5×10^5 CFU/topo 10 settimane prima dell'infezione. Dopo tale periodo i topi sono infettati con un ceppo di *M. tuberculosis* virulento per via aerogenica utilizzando l'apparecchio Glas-Col. L'attività protettiva viene valutata a 28 e 70 giorni dopo l'infezione, determinando la carica batterica nel polmone e nella milza nei topi immunizzati ed in quelli di controllo non immunizzati. L'analisi istopatologica sul tessuto polmonare raccolto nei tempi sopraindicati contribuirà a definire la capacità dei vaccini di ridurre il danno tissutale associato all'infezione e quindi a completare la valutazione del vaccino. La valutazione dei vaccini comprenderà inoltre un test di sopravvivenza in cui i topi verranno infettati con una dose più elevata di *M. tuberculosis* e verrà monitorata la sopravvivenza nei topi immunizzati rispetto ai topi di controllo.

Al termine della sperimentazione i vaccini in grado di indurre livelli di protezione equivalenti o superiori a quelli indotti da BCG potranno essere considerati come candidati vaccini per l'uomo ed essere inseriti in studi clinici.

Intendiamo inoltre valutare strategie di vaccinazione che possano trovare applicazione anche in campo veterinario. Come noto la TB bovina rappresenta un problema di sanità pubblica ed è responsabile di importanti danni economici, poiché i capi che risultano positivi al test della tubercolosi devono essere abbattuti. Nel presente progetto di ricerca l'Unità Tor Vergata svilupperà dei vaccini edibili che esprimono i multigeni di *M. tuberculosis* sopraindicati. Tali vaccini edibili verranno somministrati mediante alimentazione ai topi C57Bl/6 sia in regime di priming che di prime-boosting a seguito di priming con BCG. I topi verranno quindi infettati per via aerogenica con *Mycobacterium bovis*, agente eziologico della TB nei mammiferi, e l'attività protettiva determinata come indicato in precedenza per l'infezione con *M. tuberculosis*.

TDA (Dr. Giorgio Mancino)

TDA ha lo scopo di:

- identificare ceppi di *M. tuberculosis* farmaco resistenti, sia in Africa (Camerun, Costa d'Avorio), che in Europa dell'Est (Bulgaria). I ceppi saranno trasferiti a Roma per le analisi molecolari e la ricerca di nuovi antigeni legati alla farmaco-resistenza;
- identificare comunità locali in Costa d'Avorio e Camerun ad alta incidenza di tubercolosi clinica e di tubercolosi latente allo scopo di preparare lo studio di fase 2. In particolare, saranno informate le autorità sanitarie di questo progetto, saranno coinvolti nell'identificazioni delle popolazioni ad alta incidenza di tubercolosi, con l'obiettivo di ottenere tutte le autorizzazioni (Comitato Etico Nazionale, Ministero della Sanità, etc.) per lo svolgimento di sperimentazioni cliniche. Si fa presente che queste processi richiede almeno 2 anni di tempo e quindi le attività proposte potranno permettere al progetto di accorciare i tempi di sviluppo del vaccino. L'obiettivo proposto non è eseguire la sperimentazione clinica ma preparare il campo ad una futura sperimentazione clinica di fase 2 che dovrà dimostrare l'efficacia del vaccino;
- favorire la formazione di ricercatori africani della Costa d'Avorio e del Camerun allo sviluppo ed alla ricerca clinica del vaccino antitubercolare, per facilitare l'eventuale sperimentazione che dovrà essere eseguita.

Sigma-tau (Dr. Nicola Gargano)

Il Dr. Nicola Gargano svolgerà attività consulenziale per il trasferimento tecnologico di processi di identificazione degli antigeni micobatterici, e della loro produzione in batteri e cellule di mammifero utilizzando vari vettori. Terrà inoltre informata l'azienda dell'andamento del progetto e dei progressi svolti, al fine di identificare il momento migliore per passare il progetto ad una fase di sviluppo precompetitivo di interesse Sigma-tau.

7.2 Potenzialità del mercato di riferimento

(max 10.000 caratteri)

- Pervasività dell'innovazione proposta sul mercato di riferimento

La scoperta di nuovi biomarker per la diagnosi e la messa a punto di vaccini per le malattie infettive è di fondamentale importanza per lo sviluppo di nuovi test diagnostici e vaccini con migliori caratteristiche. In particolare l'Organizzazione Mondiale della Sanità ne sottolinea la necessità per la Tuberculosis, che è una malattia molto contagiosa, grave, debilitante e che affligge milioni di persone a livello globale (circa un terzo dell'intera popolazione mondiale). Se la malattia non viene adeguatamente trattata è spesso letale. La TB rappresenta una piaga in molti paesi in via di sviluppo, e, recentemente, la comparsa di nuovi ceppi resistenti ai farmaci l'ha riproposta come una minaccia alla salute pubblica anche in paesi in cui le cure mediche avevano tenuto la malattia sotto controllo.

L'intervento medico sulla TB non è semplice, persino nei paesi sviluppati in cui è presente una infrastruttura di sanità pubblica moderna e consolidata. I regimi di trattamento terapeutico durano dai sei ai nove mesi, e episodi di intervento irregolare o in disaccordo con le linee guida danno luogo all'insorgenza di ceppi di M.tuberculosis resistenti a diversi farmaci (MDR-TB), o addirittura alla maggioranza di essi (XDR-TB). Ciò significa che tale pandemia rischia di divenire, nel prossimo futuro, ancora meno controllabile a livello mondiale.

La Fondazione Aeras (www.aeras.org, Global Vaccine Foundation) ha in cantiere ben sei vaccini candidati per la TB, ancora in Fase I. Diversi di tali vaccini sono basati su antigeni micobatterici identificati in terreni di coltura e successivamente studiati nell'uomo. La portata innovativa del presente progetto consiste nel disporre di un gruppo di antigeni micobatterici associati alla sopravvivenza intra-cellulare del patogeno, cioè identificati in corso di infezione di macrofagi umani.

Uno studio della BIO Ventures for Global Health (BVGH) dimostra che nuovi vaccini per prevenire la Tuberculosis rappresentano un'ottima opportunità di investimento industriale data l'esistenza di un mercato globale potenziale che va dai 450 milioni a circa un miliardo di Dollari. Il rapporto afferma la domanda globale di vaccini anti-tubercolari, i profili dei prodotti necessari per andare incontro a tale domanda, il potenziale ritorno in termini di investimento industriale ed i percorsi necessari per ottenere vaccini sicuri ed efficienti da fornire ai paesi in via di sviluppo.

- Potenzialità di trasferimento tecnologico dei risultati

Il mercato dei vaccini anti-TB è sufficiente per attrarre attori esperti e nuovi soggetti.

Il picco di mercato stimato annuale per i vaccini TB potrebbe raggiungere 1 miliardo di dollari a seconda del vaccino disponibile: 450 milioni di dollari per un sostituto più efficace dell'attuale BCG (a 50 milioni di dosi/anno), 750 milioni di dollari per un vaccino booster, e approssimativamente 1 miliardo di dollari per una strategia di vaccinazione che usi in combinazione entrambe i vaccini.

Il ritorno economico positivo è principalmente dovuto dalle economie dei paesi in via di sviluppo e dei paesi emergenti.

L'impatto sanitario globale di un vaccino per la TB giustifica un consistente investimento del settore pubblico. Bisogna tenere presente che, ad esempio, in Asia e nell'Africa sub-sahariana, due regioni che mostrano la maggiore incidenza della malattia, un vaccino anti-TB potrebbe ridurre la mortalità del 62%, salvando milioni di vite (Tuberculosis Vaccines: The Case for Investment. A Report Prepared by BIO Ventures for Global Health, October 2006, www.bvgh.org).

7.3 Validazione e diffusione dei risultati

(max 10.000 caratteri)

- Modalità di validazione dei risultati e brevettabilità

L'obiettivo principale del progetto di ricerca è lo sviluppo di vaccini innovativi ed efficaci per la Tuberculosis. I risultati ottenuti saranno validati in vitro (test ELISpot, etc.) ed in vivo, nel modello di Tuberculosis murino. Un vaccino che risulti immunogenico per la Tuberculosis – soprattutto per la forma che colpisce gli adulti – è brevettabile e costituirebbe uno strumento fondamentale contro una malattia responsabile di circa due milioni di morti ogni anno.

Nel progetto sono ottenibili altri risultati che possono essere brevettati:

- l'identificazione di candidati per un vaccino contro la Tuberculosis
- lo sviluppo di adiuvanti liposomali
- l'impiego di piante geneticamente modificate e di virus vegetali per la produzione di

vaccini ricombinanti contro la Tuberculosis

In particolare, riguardo all'impiego di piante per la produzione di vaccini, è importante sottolineare che nel corso degli ultimi venti anni le conoscenze nel campo delle biotecnologie vegetali hanno reso possibile l'utilizzazione delle piante anche per la produzione di molecole complesse ad alto valore aggiunto (anticorpi, antigeni, emoderivati, enzimi). Il sistema pianta "biofabbrica" per produrre molecole di interesse biofarmaceutico (per uso umano e veterinario) rappresenta un'alternativa efficace, biologicamente sicura ed economicamente vantaggiosa rispetto ai sistemi di produzione convenzionali (batteri, lieviti, cellule di mammifero) finora adottati dall'industria farmaceutica.

Tale sistema sarebbe particolarmente innovativo e avrebbe numerosi vantaggi, ad esempio potrebbe consentire di somministrare il farmaco o il vaccino direttamente per via orale, come un comune alimento, eliminando le fasi di estrazione, purificazione, conservazione (catena del freddo), somministrazione per via parenterale ed i rischi ad esse associati.

• Modalità di diffusione dei risultati

Le modalità di diffusione dei risultati saranno differenti, in dipendenza dei risultati ottenuti.

Per quanto riguarda i risultati applicabili e sfruttabili economicamente, i diritti di proprietà intellettuale saranno gestiti secondo un accordo siglato dai partecipanti.

A livello di conoscenza di base, sarà preparato un piano per la divulgazione, che includerà meetings, comunicati stampa e pubblicazioni.

Saranno accuratamente pianificate e messe in atto strategie di diffusione, dato l'alto impatto medico, sociale, economico e industriale dei risultati della ricerca. Saranno identificati i bersagli della divulgazione, come:

- divulgatori secondari (educatori, giornalisti, fondazioni nazionali ed internazionali, associazioni scientifiche, organizzazioni non governative)
- legislatori e responsabili delle norme regolatorie (ministri della salute, associazioni mediche, agenzie di protezione della salute nazionali e internazionali)
- operatori sanitari
- altri gruppi industriali.

• Modalità di definizione della proprietà intellettuale tra i soggetti attuatori

Per quanto riguarda la proprietà intellettuale, i partecipanti manterranno il possesso dei prodotti e dei risultati precedenti.

I diritti di proprietà intellettuale sui risultati applicabili e sfruttabili economicamente ottenuti nel corso del progetto saranno gestiti secondo un accordo siglato dai partecipanti, che potrebbe proseguire anche dopo la fine di questo progetto, per assicurare un corretto sfruttamento dei risultati.

L'accordo definirà:

- a) l'organizzazione interna del network, i processi decisionali e la gestione
- b) la distribuzione dei contributi finanziari
- c) accordi specifici riguardo i diritti di proprietà intellettuale, considerando i diritti di proprietà intellettuale pre-esistente e quelli che emergeranno durante il progetto.

Se necessario, i partecipanti istituiranno un "Comitato per i diritti di proprietà intellettuale e lo sfruttamento commerciale dei risultati", composto da specialisti nel campo designati dai partecipanti. Il comitato sarà presieduto dal Capo Progetto e fornirà:

- consigli, expertise e supporto riguardo alla valutazione e alla protezione dei risultati ottenuti nel corso del progetto
- consigli su leggi e regolazioni sulla proprietà intellettuale
- consigli, expertise e supporto per lo sviluppo di una efficace strategia per lo sfruttamento commerciale dei risultati, in stretta collaborazione con i partecipanti

La gestione del progetto, e quindi anche le decisioni riguardo alla proprietà intellettuale (accordo tra i partecipanti; eventuale comitato), sarà effettuata dal Comitato Direttivo, composto dal Prof. Riccardo Cortese (Capo Progetto), dal Dr. Alfredo Nicosia (Direttore Scientifico Okairòs), dal Prof. Giorgio Mancino (TDA), dal Prof. Vittorio Colizzi (Tor Vergata) e da un rappresentante della Grande Impresa (sigma-tau).

7.4 Tempistica e struttura organizzativa del progetto

(max 10.000 caratteri)

Il Progetto è strutturato a rete con 3 strutture periferiche (CNR Tor Vergata, Università Tor Vergata, Università Cattolica del Sacro Cuore) ed una centrale accademica-industriale, costituita dal Vaccine Joint Laboratory (VJL) creato un anno fa con un accordo tra Università e Okairòs e TDA. TDA rappresenta il polo Africano con connessioni con 3 paesi (Burkina faso, Costa d'Avorio e Camerun). La Sigma-tau rappresenta la grande impresa che fornisce alcune conoscenze tecnologiche tramite il suo personale, in attesa che il prodotto possa divenire industrializzabile.

Le fasi del Progetto sono le seguenti:

Fase 1:

- Potenziamento del VJL tramite aumento del personale, di strumenti, di reagenti, di protocolli;
- Identificazione e collezione di nuovi ceppi di micobatterici in Africa ed Est Europa (TDA)
- Selezione di geni micobatterici di cui già si conoscono preliminarmente le proprietà antigeniche (CNR, UCSC)
- Trasferimento tecnologico per l'identificazione di nuovi antigeni (Sigma-tau) e di adenovirus (Okairos)

Fase 2:

- Costruzione di nuovi vettori esprimenti antigeni di micobatterici (Okairos, CNR, UCSC)
- Preparazione e caratterizzazione biofisica delle diverse preparazioni liposomali (UTV);
- Preparazione di prodotti ricombinanti vegetali e di virus like particle (UTV)

Fase 3: - Valutazione delle migliori preparazioni liposomali in termini di presentazione antigenica e caratterizzazione molecolare degli antigeni prodotti in pianta (UTV)

- Preparazione dei vaccini e I ciclo di immunizzazione dei singoli vaccini sperimentali (UCSC);

Fase 4:

- Valutazione delle caratteristiche proinfiammatorie delle diverse preparazioni liposomali e vegetali ricombinanti (UTV);
- Valutazione attività protettiva nel modello murino di TB in esperimenti short-term (28gg) post-infezione (CFU/organ ed istopatologia) dei vaccini prodotti alla fase 2 (UCSC);
- identificazione di nuovi antigeni micobatterici ex vivo e validazione in silico delle proprietà immunogeniche (CNR-UTV)

Fase 5:

- Analisi in vitro della risposta immunologica antigene specifica indotta dalle diverse preparazioni liposomali e vegetali ricombinanti (UTV);
- Analisi dei risultati sull'attività dei vaccini e definizione delle combinazioni di strategie prime-boosting (UCSC);

Fase 6:

- Valutazione in vivo delle diverse preparazioni liposomali e vegetali ricombinanti in modelli murini di protezione di vaccinazione antitubercolare (UTV);
- Inizio Immunizzazione con prime boosting (UCSC);

Fase 7:

- ottimizzazione nella produzione delle migliori preparazioni liposomali e vegetali ricombinanti (UTV);
- Valutazione attività protettiva dei vaccini nel modello murino di TB strategie prime-boosting short-term (UCSC);

Fase 8:

- Analisi della stabilità delle migliori preparazioni liposomali, identificazione delle migliori procedure di preparazione e conservazione e ottimizzazione del "downstream processing" degli antigeni espressi in pianta (UTV);
- Valutazione attività protettiva vaccini nel modello murino di TB long-term e sopravvivenza (UCSC);

Fasi	Anno 2009				Anno 2010				Anno				Anno			
	Trimestre				Trimestre				Trimestre				Trimestre			
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
identificazione nuovi antigeni MTB	■			■	■											
nuovi vettori, liposomo e ricombinanti vegetali						■	■									
migliori liposomo e I fase immunizzazioni							■									
valutazione attività protettiva e nuovi antigeni TB				■	■											
analisi dei primi risultati in vitro e in vivo					■											

valutazione in vivo di adiuvanti e protezione															
ottimizzazione adiuvanti e valutazione modello prime-boosting															
stabilità adiuvanti e attività protettiva															

7.5 Obiettivi economici del progetto

(max 10.000 caratteri)

- Proiezioni economiche relative all'innovazione proposta per il triennio successivo alla sua conclusione

Nel triennio successivo alla conclusione del progetto, ottenuto un vaccino efficace contro la Tuberculosis, si prevedono nuovi investimenti. Infatti, una volta dimostrato che il vaccino è immunogenico ed efficace nei topi, si proseguirà negli studi preclinici e clinici, per verificare la sicurezza e l'efficacia negli esseri umani.

- Ricadute socio-economiche: nuovi investimenti, nuova occupazione, eventuale creazione di newco e/o spin off

La tubercolosi rappresenta ancora oggi una delle principali malattie infettive dell'uomo causata da singolo agente patogeno ed è responsabile di circa due milioni di decessi ogni anno. La rapida diffusione della tubercolosi nel mondo, in questi ultimi decenni, è da attribuire soprattutto all'insorgenza di ceppi multiresistenti di *M. tuberculosis* e all'epidemia da HIV. Calcoli approssimativi indicano che circa un terzo della popolazione mondiale è infettata e che la tubercolosi uccide circa 2 milioni di persone per anno. Si stima, inoltre, che sono circa 8 milioni i nuovi casi di malattia ogni anno. In questo contesto, la tubercolosi è più di una semplice malattia poiché tende a colpire principalmente le persone giovani durante gli anni produttivi della propria vita, bloccando l'intera comunità in un ciclo di malattia-povertà. I costi della comunità europea correlati alla tubercolosi sono circa 2.1 miliardi di euro l'anno.

Oggi, l'unico vaccino disponibile contro la tubercolosi è il BCG con circa cento milioni di dosi somministrate ogni anno. Tuttavia, nonostante questo vaccino, nei bambini, protegga dalla tubercolosi miliare e dalla meningite tubercolare, l'immunità che esso è in grado di indurre diminuisce con l'età e non è in grado di proteggere dalla tubercolosi polmonare nell'adulto.

Lo sviluppo di un vaccino efficace per la tubercolosi avrebbe quindi delle ricadute socio-economiche enormi, sia dal punto di vista della salute pubblica che di nuovi investimenti e nuova occupazione.

- Previsioni di stabilizzazione del personale di nuova assunzione impiegato nel progetto

Le previsioni di stabilizzazione del personale di nuova assunzione impiegato nel progetto sono ottime. Infatti, lo sviluppo del vaccino indurrebbe nuovi investimenti e la nuova occupazione che ne deriverebbe riguarderebbe in primo luogo il personale che si è formato durante il progetto.

- Eventuale incremento della spesa in R&S rispetto a quella relativa all'anno precedente l'inizio del progetto

La spesa in R&S avrebbe sicuramente un incremento rispetto all'anno precedente l'inizio del progetto. Come detto precedentemente, una volta dimostrato che il vaccino è immunogenico ed efficace nei topi, si proseguirà negli studi preclinici e clinici, per verificare la sicurezza e l'efficacia negli esseri umani. Tali studi hanno alti costi di sviluppo e necessitano di personale esperto.

	I anno dopo la conclusione del progetto	II anno dopo la conclusione del progetto	III anno dopo la conclusione del progetto
Fatturato incrementale	10,00	30,00	50,00
Costi di gestione incrementali	10,00	20,00	25,00
Margine Operativo	0,00	10,00	25,00

8 Dettaglio costo del progetto

8.1 Ricerca Industriale

8.1.1 Personale dipendente, anche di nuova assunzione, qualificato in attività di R&S

Nominativi personale dipendente	Qualifica	Costo orario unitario (euro)	N° ore	Tot. costo (euro)
TOTALE				0,00

Inserire solo personale di ricerca qualificato nella misura in cui sarà impiegato nel progetto di ricerca; nel caso in cui sia di nuova assunzione inserire il profilo professionale

A supporto di tale tabella fornire:

- copia dell'ultima busta paga

Il costo orario standard ritenuto ammissibile e congruente deriva dal seguente schema di calcolo:

- dipendenti: retribuzione mensile lorda X 1,65 (coefficiente che tiene conto degli altri costi a carico dell'impresa) diviso 168 ore standard mensili;
- collaboratori: retribuzione mensile lorda X 1,17 (coefficiente che tiene conto degli altri costi a carico dell'impresa) diviso 168 ore standard mensili.

8.1.2 Nuovo personale assunto con contratto di formazione e lavoro

Qualifica/Profilo professionale	Costo orario unitario (euro)	N° ore	Tot. costo (euro)
Ricercatore junior	9,00	4.032,00	36.288,00
Ricercatore junior	9,00	4.032,00	36.288,00
Ricercatore junior	9,00	4.032,00	36.288,00
Ricercatore junior	9,00	4.032,00	36.288,00
Tecnico	9,00	4.032,00	36.288,00
Tecnico	9,00	4.032,00	36.288,00
Tecnico	9,00	4.032,00	36.288,00
TOTALE			254.016,00

Al momento della domanda non è indispensabile che sia già individuato il nominativo del nuovo personale ma è necessario definire il profilo professionale dell'elemento/i che si prevede di inserire in azienda.

L'incidenza di tale voce di costo deve essere pari ad almeno il 10% del valore complessivo del progetto.

8.1.3 Strumentazioni e attrezzature

Descrizione del bene da acquisire	Costo del bene (euro)	Quota di ammortamento	N° mesi di utilizzo	Costo imputabile al progetto (euro)
Abiprism	45.000,00	20,00	24,00	18.000,00

Centrifuga refrigerata	5.000,00	20,00	24,00	2.000,00
Bagno termico per colture	10.000,00	20,00	24,00	4.000,00
Washer ELISA	10.000,00	20,00	24,00	4.000,00
Gabbie ventilate	22.000,00	20,00	24,00	8.800,00
Fluorimetro a micropiastre	25.000,00	20,00	24,00	10.000,00
Frigorifero -80°C	30.000,00	20,00	24,00	12.000,00
Elispot reader	25.000,00	20,00	24,00	10.000,00
Centrifughe da banco	16.000,00	20,00	24,00	6.400,00
Strumento Glas-Col per infezioni modelli animali	15.000,00	20,00	24,00	6.000,00
Sistema acquisizione immagini	8.000,00	20,00	24,00	3.200,00
TOTALE				84.400,00

Descrizione del bene da acquisire	Costo del bene (euro)	Maxicanone (euro)	Importo canone mensile (euro)	N° mesi di utilizzo	Costo imputabile al progetto (euro)
TOTALE					0,00

In tale voce sono ammissibili beni di nuova acquisizione la cui data di acquisto è posteriore alla data di presentazione della domanda.

La quota imputabile al progetto va calcolata nel seguente modo:

- Macchinari ed attrezzature per acquisto diretto: quote di ammortamento mensile dei mezzi impiegati x mesi di utilizzo dalla data di acquisto alla data di fine progetto (Es: costo del bene*xx%/12*n° mesi di utilizzo nel progetto);
- Beni in leasing :maxicanone più sommatoria delle rate mensili di leasing x i mesi di utilizzo dalla data di perfezionamento del contratto alla data di fine progetto (l'importo ammissibile non può superare il valore originario del bene acquisito)

8.1.4 Servizi utilizzati ai fini all'attività di ricerca

Descrizione dei servizi per tipologia	Costo (euro)
Produzione vettori GMP e test di sicurezza	180.000,00
TOTALE	180.000,00

Sono ammissibili i servizi utilizzati esclusivamente ai fini dell'attività di ricerca, tra cui le competenze tecniche, le consulenze specialistiche e i brevetti acquisiti e/o ottenuti in licenza.

8.1.5 Attività di ricerca svolta dai soggetti cofirmatari

Tipologia della spesa	Descrizione dell'attività svolta	Costo (euro)
Personale	Ricerca nuovi antigeni MTB, produzione adiuvanti liposomali e validazione con test immunologici	130.000,00
Strumentazioni e attrezzature	Attrezzature per modelli in vivo e biologia molecolare	70.000,00

Servizi inerenti lo sviluppo del progetto	Sintesi peptidi	55.000,00
Materiali di consumo	Reagenti per biologia cellulare e molecolare	105.000,00
Reagenti per immunologia	Anticorpi monoclonali e kit	40.000,00
TOTALE	400.000,00	

L'incidenza di tale voce di costo deve essere pari ad almeno il 25% del valore complessivo del progetto.

8.1.6 Attività di ricerca svolta dalla G.I.7 (se presente)

Descrizione dei servizi per tipologia	Costo (euro)
Costo personale	50.000,00
Attività sperimentale (reagenti, materiale di consumo)	100.000,00
TOTALE	150.000,00

L'incidenza di tale voce di costo non può essere superiore al 25% del valore complessivo del progetto.

8.1.7 Materiali di consumo

Descrizione dei servizi per tipologia	Costo (euro)
Materiale per biologia molecolare (reagenti per RT-PCR quantitativa, enzimi, reagenti per sequenziamento)	90.000,00
Materiale per colture cellulari e microbiologia (terreni, sieri, reagenti)	90.000,00
Materiale per sperimentazione in vivo	70.000,00
Plastiche e materiale a perdere per colture e biologia molecolare	45.000,00
Anticorpi monoclonali	35.000,00
Kite Elisa ed Elispot	50.000,00
Test Quantiferon e test in vitro per saggi immunologici	50.000,00
TOTALE	430.000,00

Sono ammissibili i costi per l'acquisto dei materiali di consumo funzionali ai progetti di ricerca.

8.1.8 Spese generali

Spese generali	Costo (euro)
Spese generali gestione progetto	100.000,00

Sono ammissibili spese generali pari al 65% dei costi del personale impiegato nei progetti nel limite massimo del 20% del valore complessivo del progetto.

8.2 Sviluppo sperimentale

8.2.1 Personale dipendente, anche di nuova assunzione, qualificato in attività di R&S

Nominativi personale dipendente	Qualifica	Costo orario unitario (euro)	N° ore	Tot. costo (euro)
TOTALE				0,00

Inserire solo personale di ricerca qualificato nella misura in cui sarà impiegato nel progetto di ricerca; nel caso in cui sia di nuova assunzione inserire il profilo professionale

A supporto di tale tabella fornire:

- copia dell'ultima busta paga

Il costo orario standard ritenuto ammissibile e congruente deriva dal seguente schema di calcolo:

- dipendenti: retribuzione mensile lorda X 1,65 (coefficiente che tiene conto degli altri costi a carico dell'impresa) diviso 168 ore standard mensili;
- collaboratori: retribuzione mensile lorda X 1,17 (coefficiente che tiene conto degli altri costi a carico dell'impresa) diviso 168 ore standard mensili.

8.2.2 Nuovo personale assunto con contratto di formazione e lavoro

Qualifica/Profilo professionale	Costo orario unitario (euro)	N° ore	Tot. costo (euro)
TOTALE			0,00

Al momento della domanda non è indispensabile che sia già individuato il nominativo del nuovo personale ma è necessario definire il profilo professionale dell'elemento/i che si prevede di inserire in azienda.

L'incidenza di tale voce di costo deve essere pari ad almeno il 10% del valore complessivo del progetto.

8.2.3 Strumentazioni e attrezzature

Descrizione del bene da acquisire	Costo del bene (euro)	Quota di ammortamento	N° mesi di utilizzo	Costo imputabile al progetto (euro)
TOTALE				0,00

Descrizione del bene da acquisire	Costo del bene (euro)	Maxicanone (euro)	Importo canone mensile (euro)	N° mesi di utilizzo	Costo imputabile al progetto (euro)
TOTALE					0,00

In tale voce sono ammissibili beni di nuova acquisizione la cui data di acquisto è posteriore alla data di presentazione della domanda.

La quota imputabile al progetto va calcolata nel seguente modo:

- Macchinari ed attrezzature per acquisto diretto: quote di ammortamento mensile dei mezzi impiegati x mesi di utilizzo dalla data di acquisto alla data di fine progetto (Es: costo del bene*xx%/12*n° mesi d utilizzo nel progetto);
- Beni in leasing :maxicanone più sommatoria delle rate mensili di leasing x i mesi di utilizzo dalla data di perfezionamento del contratto alla data di fine progetto (l'importo ammissibile non può superare il valore originario del bene acquisito)

8.2.4 Servizi utilizzati ai fini all'attività di ricerca

Descrizione dei servizi per tipologia	Costo (euro)
TOTALE	0,00

Sono ammissibili i servizi utilizzati esclusivamente ai fini dell'attività di ricerca, tra cui le competenze tecniche, le consulenze specialistiche e i brevetti acquisiti e/o ottenuti in licenza.

8.2.5 Attività di ricerca svolta dai soggetti cofirmatari

Tipologia della spesa	Descrizione dell'attività svolta	Costo (euro)
TOTALE	0,00	

L'incidenza di tale voce di costo deve essere pari ad almeno il 25% del valore complessivo del progetto.

8.2.6 Attività di ricerca svolta dalla G.I.7 (se presente)

Descrizione dei servizi per tipologia	Costo (euro)
TOTALE	0,00

L'incidenza di tale voce di costo non può essere superiore al 25% del valore complessivo del progetto.

8.2.7 Materiali di consumo

Descrizione dei servizi per tipologia	Costo (euro)
TOTALE	0,00

Sono ammissibili i costi per l'acquisto dei materiali di consumo funzionali ai progetti di ricerca.

8.2.8 Spese generali

Spese generali	Costo (euro)
----------------	--------------

Sono ammissibili spese generali pari al 65% dei costi del personale impiegato nei progetti nel limite massimo del 20% del valore complessivo del progetto.

	Ricerca Industriale	Sviluppo Sperimentale
Tipologia di spese	Costo (euro)	Costo (euro)
Personale dipendente, anche di nuova assunzione, qualificato in attività di R&S	0,00	0,00
Nuovo personale laureato assunto con contratto di formazione e lavoro	254.016,00	0,00
Strumentazioni e attrezzature	84.400,00	0,00
Servizi utilizzati per la ricerca	180.000,00	0,00
Prestazioni soggetto cofirmatario	400.000,00	0,00
Prestazioni Grande Impresa (se presente)	150.000,00	0,00
Materiali di consumo	430.000,00	0,00
Spese generali	100.000,00	0,00
TOTALE	1.598.416,00	0,00
Agevolazione richiesta	959.000,00	

Al presente formulario dovrà essere allegata, in formato elettronico, la seguente documentazione.

1) Documentazione relativa al soggetto richiedente:

- copia degli ultimi due bilanci approvati o documentazione equivalente (Se trattasi di associazione temporanea di impresa o consorzio neocostituito devono essere forniti da ogni impresa partecipante);
- copia del DURC (Documento Unico di Regolarità Contributiva) emesso da meno di 30 giorni rispetto alla data di presentazione della domanda (in caso di ATI tale documento deve essere prodotto dal soggetto mandatario). Qualora tale documento non sia ancora disponibile alla data di chiusura del presente Bando, deve essere prodotta, in sostituzione, l'attestazione della richiesta del citato documento con il relativo C.I.P. (Codice Identificativo Pratica);
- copia del Certificato CCIAA integrato con il fallimentare con data di emissione non anteriore a tre mesi (Se trattasi di associazione temporanea di impresa lo stesso dovrà essere fornito da ogni impresa partecipante). Laddove l'agevolazione richiesta superi l'importo di € 154.937,07, tale documento dovrà contenere altresì l'attestazione Antimafia, di cui al combinato disposto degli articoli 6 e 9 del DPR n.252/98;
- copia dell'Atto costitutivo e dello Statuto e dell'ultimo Verbale dell'Assemblea straordinaria per eventuali modifiche (Se trattasi di associazione temporanea di impresa devono essere forniti da ogni impresa partecipante);
- CV del Capo Progetto comprensivo delle pubblicazioni effettuate;
- eventuali altri allegati che il soggetto richiedente ritiene utili.

2) Documentazione relativa all'Organismo di Ricerca cofirmatario:

- CV del Responsabile Scientifico comprensivo delle pubblicazioni effettuate;
- copia dello Statuto e dell'ultimo Verbale dell'Assemblea straordinaria per eventuali modifiche;
- copia degli ultimi due bilanci approvati o documentazione equivalente (Se tenuto);
- eventuali altri allegati che il soggetto cofirmatario ritiene utili.