



Come aiutare il sistema immunitario a combattere HIV

Percorso ASL BC29

*M. Basile, T. Loreti, F. Marchesi,
G. Marchetti, G. Ponziani, E. Tesoriere*

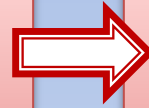
Cosa succede al sistema immunitario quando si contrae l'HIV?

L'HIV è un nemico particolarmente subdolo perché è in grado di:

entrare, riprodursi e rimanere nascosto nelle cellule che dovrebbero difenderci

indebolire il sistema immunitario

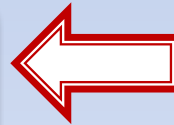
A causa dell'infezione da HIV, il sistema immunitario è soggetto a **iperattivazione**.



Per questo motivo il sistema immunitario ha un ulteriore malfunzionamento.



Per difendersi, il sistema immunitario tenta di ridurre l'iperattivazione.



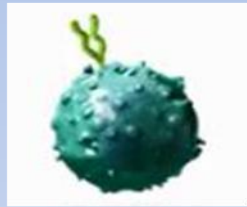
Freni molecolari (detti anche immunocheckpoints)

FRENI MOLECOLARI (IMMUNOCHECKPOINTS)

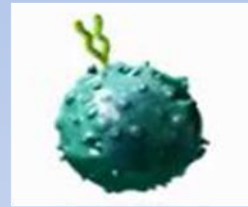
Recettori



Ligandi



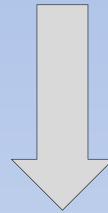
Linfocita T attivo
in fase di attacco



Linfocita T
dormiente



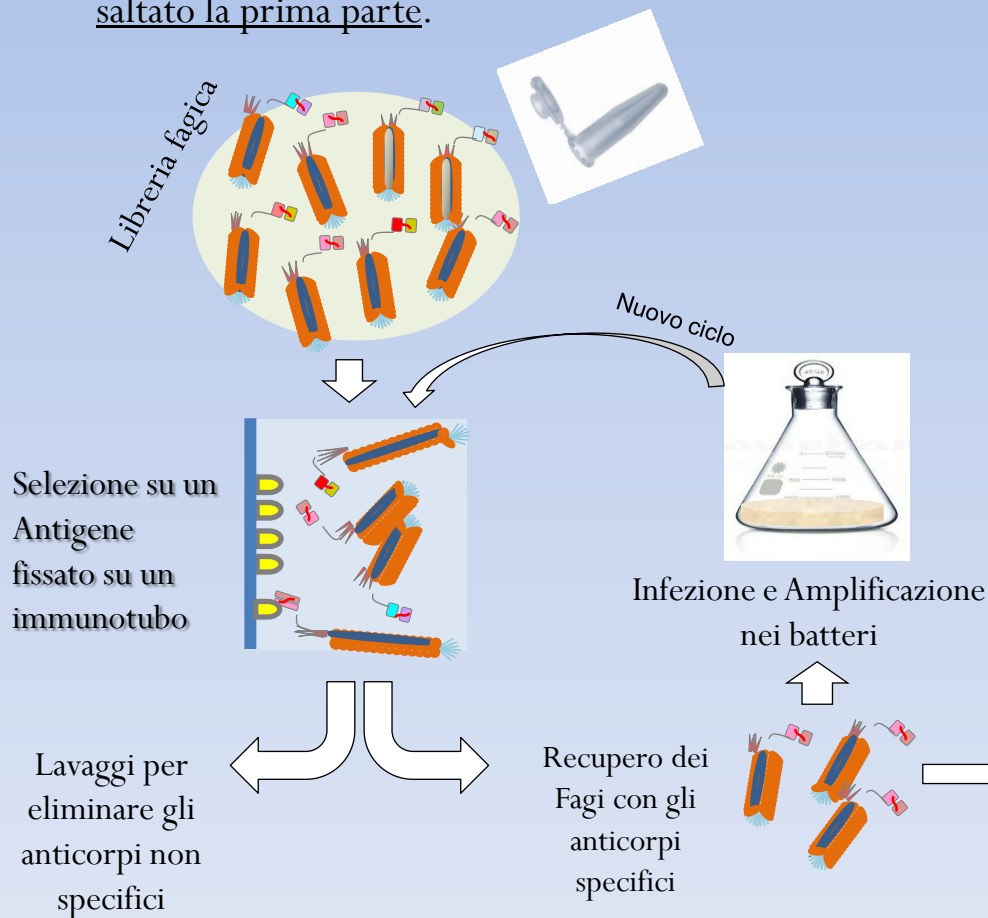
Obiettivo: aiutare il sistema immunitario a combattere l'HIV



**Creando un
anticorpo
capace di risvegliare
il sistema immunitario dormiente**

CICLO DI SELEZIONE PER ISOLARE UN ANTICORPO UMANO DA UNA LIBRERIA ANTICORPALE FAGICA

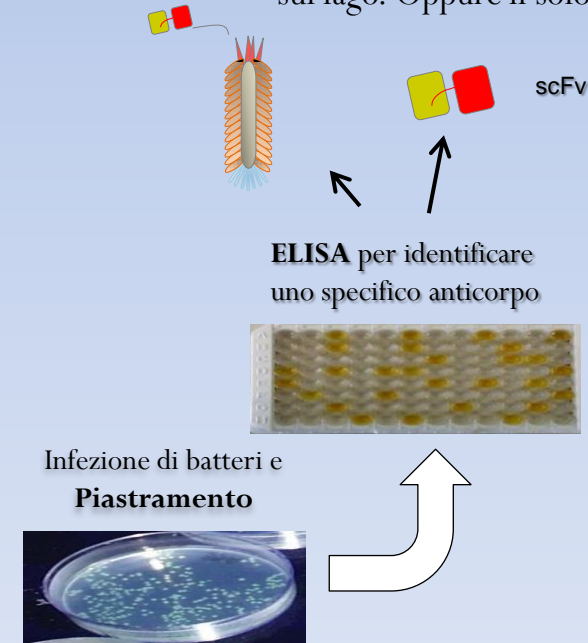
Una **selezione completa** di anticorpi richiede due settimane circa, pertanto per problemi di tempo abbiamo saltato la prima parte.

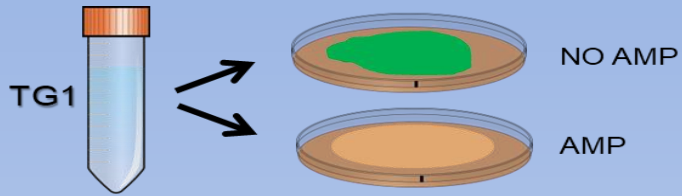


COSA ABBIAMO FATTO:

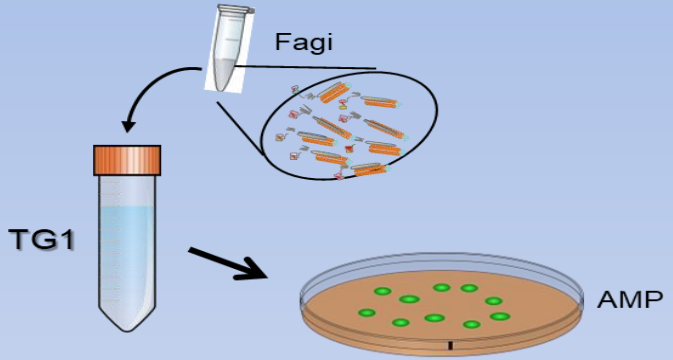
In questa esercitazione ci siamo concentrati sull'ultima parte

E' possibile far produrre scFv esposto sul fago. Oppure il solo scFv.

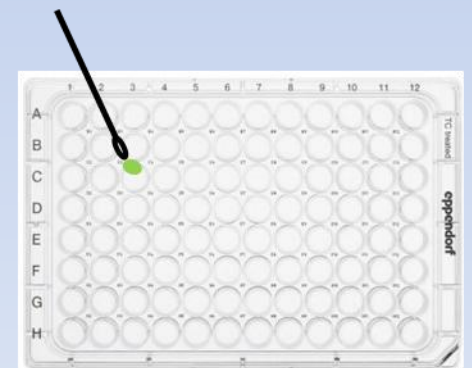
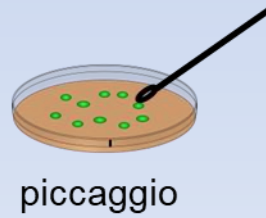
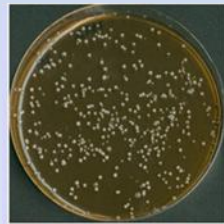
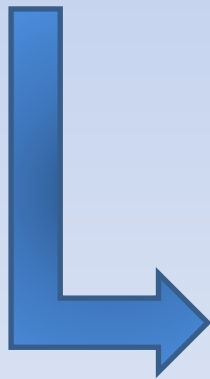




Batteri TG1 no resistenza ad AMP.



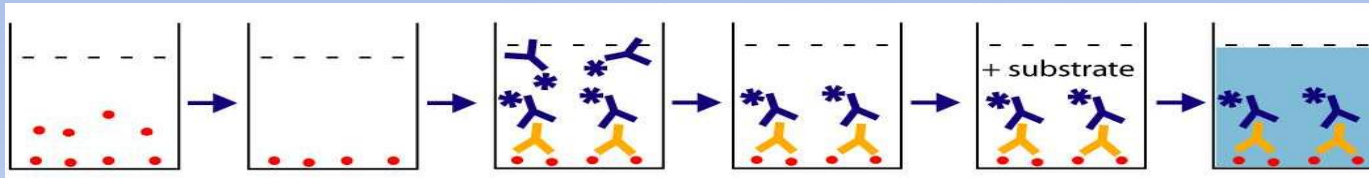
TG1 infettato da fago
acquista resistenza ad AMP.



Semina del clone batterico

ELISA (ENZYME LINKED IMMUNOSORBED ASSAY)

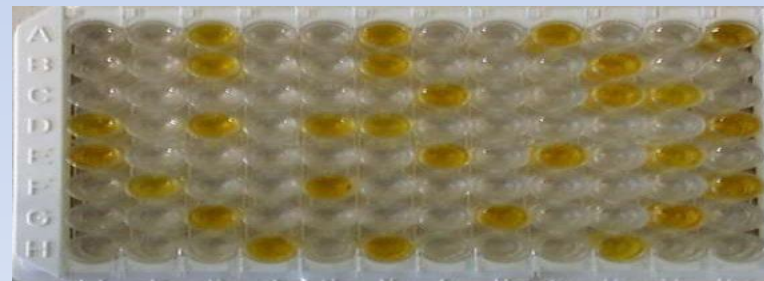
Permette di determinare se in un campione sono presenti anticorpi contro l'antigene immobilizzato



L'antigene purificato viene fatto **assorbire alla piastra**

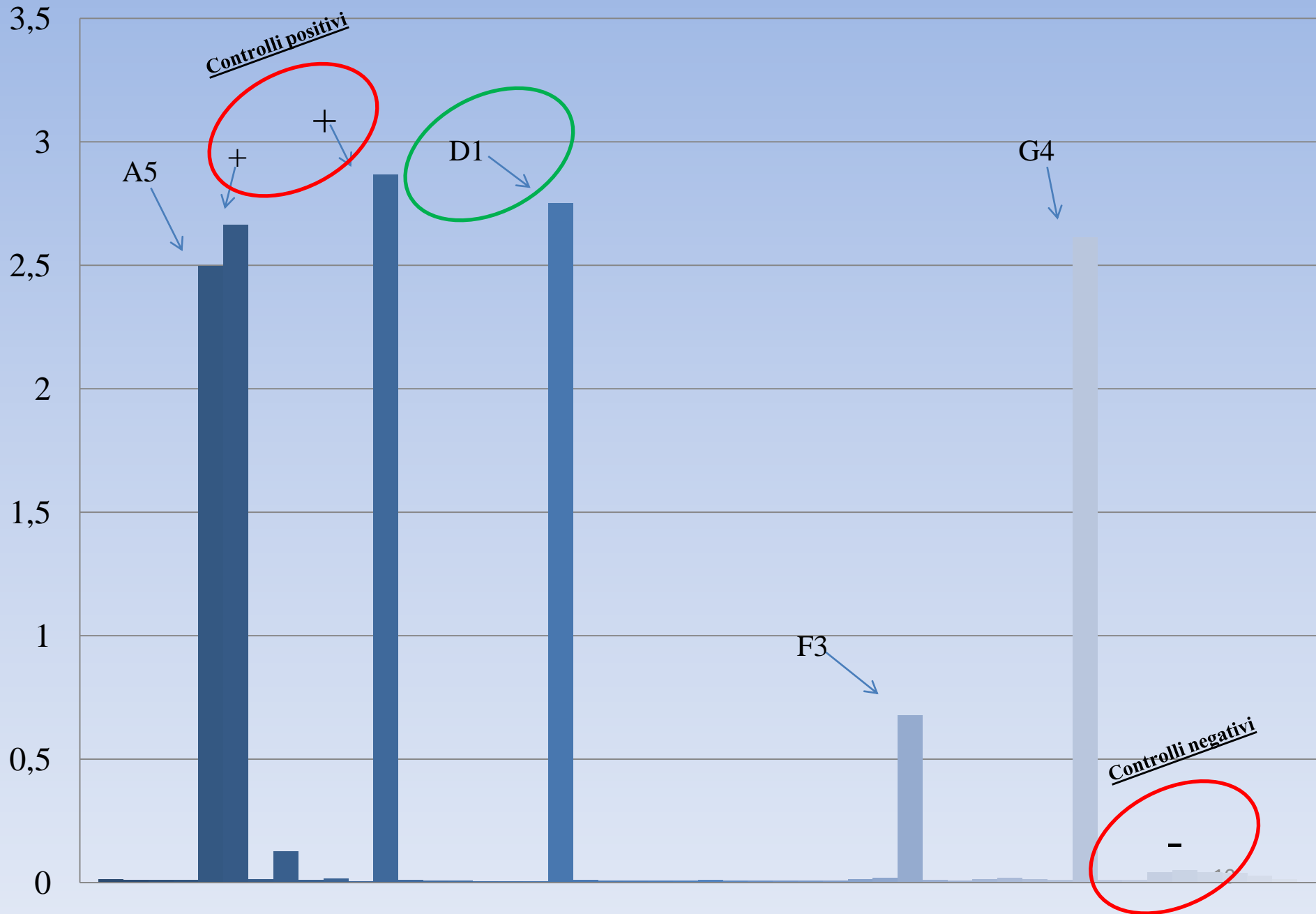
si aggiunge la mix contenente il complesso immune scFv/ anticorpo antitag/ anticorpo perossidato. Tutto il complesso immune è guidato dal scFv sull'antigene della piastra, quelli che non si legano vengono eliminati con i lavaggi.

Si aggiunge il substrato colorimetrico. La presenza della **perossidasi**, legata agli anticorpi fa sì che il substrato incolore diventi blu.



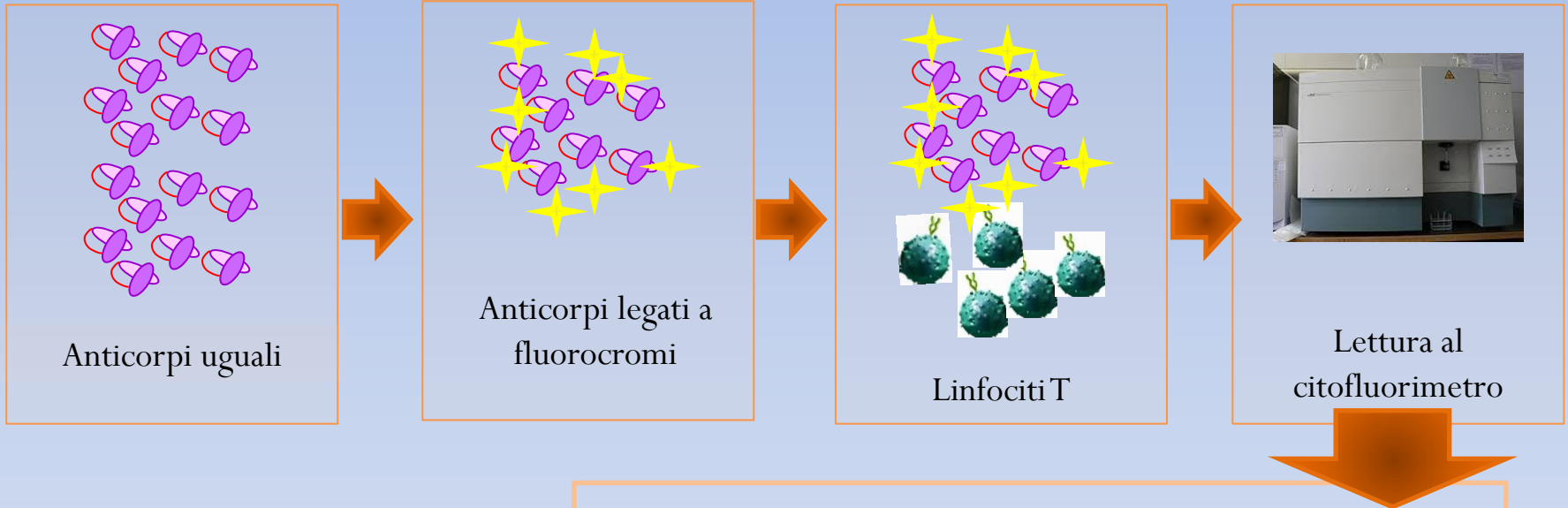
poi la neutralizzazione con acido solforico lo converte nel color giallo.

Risultati saggio ELISA

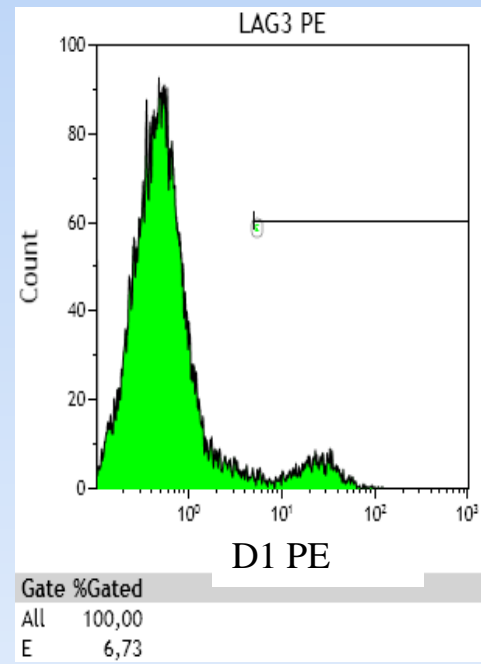
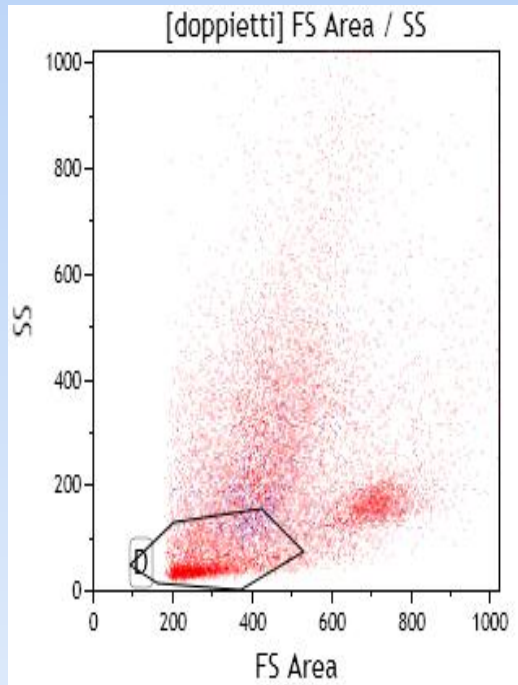
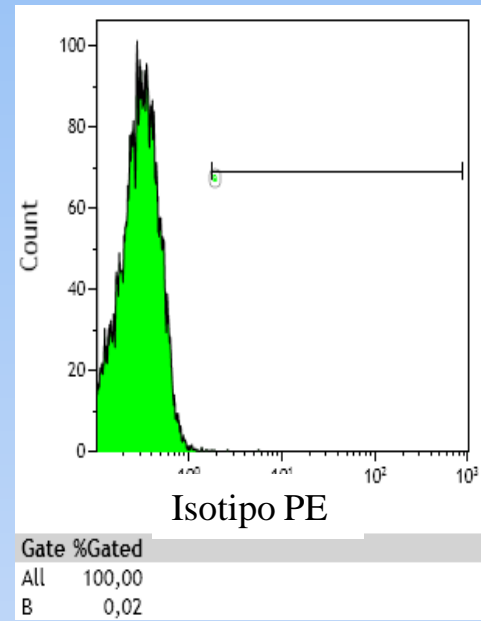
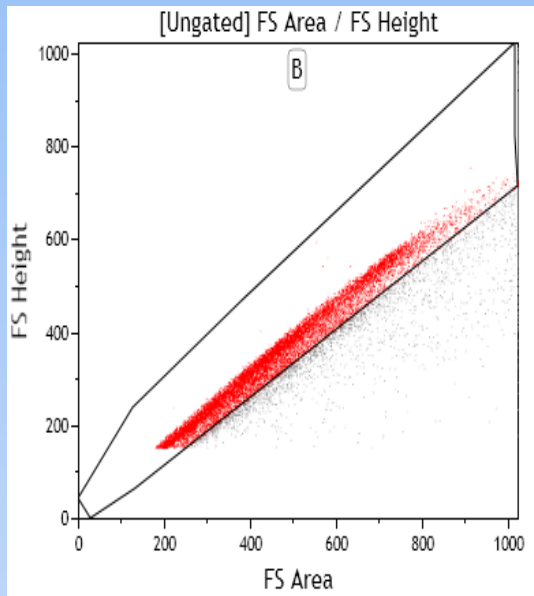


ANALISI CITOFLUORIMETRICA

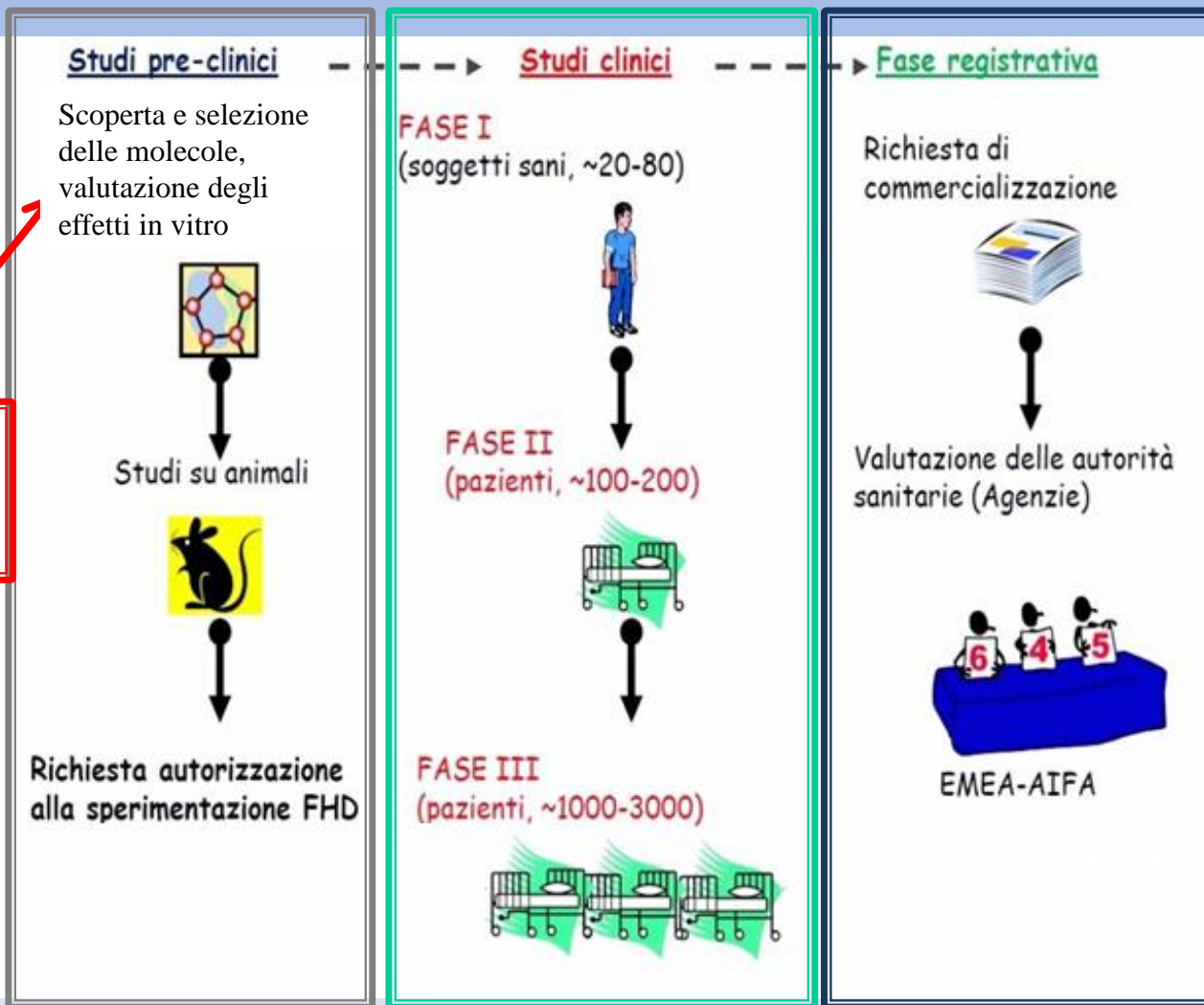
E' uno strumento di laboratorio che permette un'analisi veloce ed automatica di popolazioni cellulari in sospensione, tipo le cellule del sangue, misurandone le caratteristiche tipo volume, granulosita' e fluorescenza. Dopo aver coniugato il nostro anticorpo ad un fluorocromo siamo in grado di vedere se si lega ad una particolare popolazione cellulare.



Con questa tecnica riesco a capire se il mio anticorpo è in grado di legarsi al recettore Lag3 del linfocita T.



COME SI ARRIVA AD UN NUOVO FARMACO?



**NOI
SIAMO
QUI**

Sono necessari in media **più di 12 anni e più di 1 miliardo di euro** per condurre tutte le ricerche che permettano la commercializzazione di un nuovo medicinale.

GRAZIE...

