



Reverse vaccinology

Che cosa è la reverse vaccinology?

La *reverse vaccinology*, sviluppata verso la fine degli anni '90 da Rino Rappuoli, Global Head of Vaccines Research di Novartis, è una tecnica innovativa per lo sviluppo di nuovi vaccini tramite il sequenziamento del genoma dei patogeni. L'approccio basato sul genoma, iniziato con la collaborazione con Craig Venter, ha permesso lo sviluppo di vaccini impossibili da sviluppare con le tecnologie classiche e ha favorito lo sviluppo di tutti i vaccini. Questa tecnologia è diventata oggi lo standard di riferimento.

Qual è la differenza con l'approccio tradizionale di sviluppo dei vaccini?

I vaccini fanno in modo che il sistema immunitario impari a riconoscere e a combattere l'agente patogeno prima che essa possa causare la malattia. A grandi linee si possono identificare due modi di creare i vaccini. L'approccio classico, quello sviluppato da Louis Pasteur alla fine del XIX secolo, richiede di isolare un batterio o un virus responsabile della malattia, inattivarlo e poi iniettarlo al paziente per conferirgli l'immunità senza sviluppare la malattia associata. Negli ultimi cinquanta anni circa, gli scienziati hanno investito molto sul miglioramento di questa tecnica per sviluppare vaccini. In genere la prassi richiede di cercare molecole uniche dal punto di vista biologico (come proteine, e catene di zuccheri conosciute come polisaccaridi) espresse sulla superficie degli agenti patogeni scelti, e utilizzarle in preparazioni purificate e ricombinate di questi "antigeni" come ingredienti attivi dei vaccini. Il processo appena descritto non è facile, né di rapida esecuzione. I vaccinologi hanno prima identificato antige-

ni unici per l'agente patogeno – o responsabili di malattie – hanno isolato queste molecole, scoperto le loro funzioni biologiche, identificato il loro codice genetico e clonato i geni che producono le proteine codificate. Sfortunatamente, questo processo richiede spesso dei tempi abbastanza lunghi sia per l'analisi biochimica di complesse e, allo stesso tempo, delicate biomolecole, sia per individuare il loro ruolo nella biologia patogena.

La *reverse vaccinology* aggira queste lunghe fasi iniziali stravolgendo completamente il processo. I vaccinologi estraggono interi genomi di batteri dell'antigene scelto e, grazie a sofisticati algoritmi al computer, riescono ad individuare un numero di antigeni maggiore di diversi ordini di grandezza rispetto all'approccio tradizionale; solo dopo aver identificato gli antigeni, sulla base delle loro sequenze di DNA, che viene iniziato lo studio del ruolo biologico di ciascuna proteina.

Che cosa comporta la reverse vaccinology?

I vaccinologi iniziano la loro ricerca di antigeni candidati sequenziando l'intero genoma di un agente patogeno ritenuto idoneo allo scopo. Successivamente le migliaia di geni codificati in tutta la sequenza di DNA sono sottoposti ad un'analisi sofisticatissima al computer che identifica le proteine che potrebbero essere utilizzate nel vaccino. Questo tipo di analisi è in grado di scartare le proteine innocue, per esempio quelle coinvolte nei processi metabolici, e di concentrarsi sulle proteine secrete o espresse sulla superficie esterna del microbo, cioè quelle più facilmente riconoscibili dal sistema immunitario. Generalmente questo processo porta all'identificazione



di poche centinaia di geni interessanti ai fini della ricerca. Questi geni vengono poi rapidamente clonati al fine di produrre le proteine da essi codificate, poi tali proteine sono a loro volta esaminate in provetta o in modelli animali per verificare la loro capacità di suscitare una risposta immunologica. Tramite questo screening si riesce a isolare una dozzina circa di antigeni candidati da sottoporre a ulteriore analisi che, potenzialmente, potrebbero essere determinanti per lo sviluppo del vaccino.

Quali sono i vantaggi portati da questo approccio?

Innanzitutto, la possibilità di contrastare gli agenti patogeni che non hanno risposto positivamente all'approccio vaccinologico tradizionale e, in seconda battuta, la velocità di esecuzione. Ci può volere quasi un decennio per individuare gli antigeni appropriati per un vaccino utilizzando la metodologia tradizionale; con la *reverse vaccinology* si può impiegare circa un terzo del tempo per passare dalla fase di sequenziamento del genoma che porta ad isolare una manciata di antigeni validi. Un altro importante vantaggio riguarda i risultati, di gran lunga migliori: la *reverse vaccinology* produce più antigeni validi per lo sviluppo del vaccino di quelli prodotti utilizzando la metodologia tradizionale. Rino Rappuoli ha sviluppato questa tecnica durante gli studi per sviluppare un vaccino contro il sierotipo B di *Neisseria meningitidis* (anche noto come "Men B"), il batterio che provoca quasi la metà delle infezioni da meningite meningococcica a livello globale e che ha messo a dura prova i vaccinologi di tutto il mondo. Cinquanta anni di studi su questo batterio erano

riusciti ad identificare solo una dozzina di proteine sulla sua superficie, che potevano essere utili per lo sviluppo di un vaccino; fino al 1995, quando Rino Rappuoli ha chiesto l'intervento del famoso esperto di biologia molecolare Craig Venter per sequenziare l'intero genoma del batterio. Nel giro di 18 mesi Rappuoli aveva in suo possesso almeno 90 antigeni da studiare per un potenziale vaccino contro Men B. Per concludere, le informazioni genomiche possono portare i vaccinologi a sviluppare vaccini più efficaci. Molte delle proteine sulla superficie esterna degli agenti patogeni sono estremamente variabili: hanno un potere di adattamento e di trasformazione tale da permettere loro di risultare "invisibili" al sistema immunitario. L'informazione genomica può aiutare i vaccinologi a focalizzare i propri studi su quegli antigeni che subiscono meno variazioni nell'evoluzione da un ceppo all'altro.

In quali campi è stata utilizzata la *reverse vaccinology*?

La *reverse vaccinology* è una tecnica utilizzata da Novartis Vaccines and Diagnostics per identificare un vaccino candidato a contrastare il sottotipo B di *N. meningitidis*. Questo vaccino è il primo e anche il migliore esempio dell'utilizzo del genoma per sviluppare un nuovo farmaco, il primo ad essere sviluppato tramite l'approccio genomico. Attualmente, tale vaccino è in fase III di sviluppo clinico. Questa strategia ha inoltre aiutato la scoperta di un possibile vaccino per lo *Streptococcus* di Gruppo B, la causa maggiore di sepsi neonatale e meningite nei paesi industrializzati. Questo prodotto entrerà in fase clinica nei prossimi mesi.