IL DIRETTORE GENERALE

DISPOSIZIONE N. 46

DI DATA: 07/03/2024

OGGETTO: Progetto Impact of SARS-CoV-2 variants on genome integrity and their involvement in inflammation and neuropathogenesis . Accordo di collaborazione tra ICGEB e Area Science Park. Adozione e sottoscrizione.

☐Pubblicazione ai sensi dell'art. 23 c.1 del D.Lgs. 33/2013

Visto riservato alla Sezione Amministrazione e Personale

☑ non comporta impegno di spesa

☐ impegno

☐ accertamento

IL DIRETTORE GENERALE

RICHIAMATA la deliberazione del Consiglio di Amministrazione di data 28 febbraio 2023, n. 21, con la quale, ratificando la determinazione della Presidente del 22 febbraio 2023, n. 3, si autorizzava la presentazione della proposta progettuale "*2023_012 Study of non-structural viral determinants of sars-cov-2 pathogenesis involved in the imbalanced inflammatory response to infection*" a valere sul bando R.I.Pr.E.I. dell'Istituto Superiore di Sanità (di seguito "ISS");

PRESO ATTO che:

- in data 24 febbraio 2023 l'International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (di seguito "ICGEB") ha presentato domanda di finanziamento della suddetta proposta progettuale con il seguente titolo definitivo "*Impact of SARS-CoV-2 variants on genome integrity and their involvement in inflammation and neuropathogenesis*";
- il progetto è stato successivamente ammesso al finanziamento dall'ISS, formalizzato attraverso la stipulazione di apposita convenzione tra ISS e ICGEB e avviato in data 1° gennaio 2024;
- il suddetto progetto ha una durata di 24 (ventiquattro) mesi e prevede un finanziamento complessivo di euro 396.000,00;

ATTESO che:

- la citata Convenzione tra ISS e ICGEB prevede che quest'ultimo debba svolgere l'attività di coordinamento del progetto in qualità di Capofila rispetto alle Unità Operative partecipanti, che a loro volta debbono impegnarsi a realizzare, sotto la diretta supervisione del Capofila, le attività di competenza indicate nel progetto, attenendosi alle tempistiche previste;
- nell'ambito del suddetto progetto, Area Science Park figura come Unità Operativa alla quale afferiscono specifiche attività e uno specifico *budget* pari a euro 97.900,00;

RITENUTO, pertanto, necessario procedere alla stipula di un accordo di collaborazione di ricerca tra ICGEB, in qualità di Capofila, e Area Science Park, in qualità di Unità Operativa, che regolamenti i rispettivi impegni in relazione allo svolgimento delle attività progettuali e al contributo scientifico e intellettuale di Area Science Park in particolare;

ATTESO che con la citata deliberazione del Consiglio di Amministrazione di data 28 febbraio 2023, n. 21, si dava atto che tutti gli atti necessari o utili alla presentazione dell'istanza progettuale e conseguenti alla sua eventuale approvazione sarebbero stati adottati e sottoscritti dal Direttore Generale;

PRESA VISIONE del testo dell'accordo predisposto da ICGEB e allegato alla presente disposizione per farne parte integrante e sostanziale;

RITENUTO di adottare il testo del suddetto accordo e di determinarsi alla sua sottoscrizione, riservandosi la facoltà di apportare eventuali modifiche marginali in sede di sottoscrizione;

RITENUTO, altresì, di designare quale referente dell'attuazione dell'accordo per Area Science Park, come previsto dall'art. 8, co. 8, del medesimo, la dott.ssa Giuditta De Lorenzo, Ricercatrice assegnata all'Istituto Ricerca per l'Innovazione Tecnologica, Struttura Ricerca e Innovazione;

DATO ATTO che l'importo relativo al budget di competenza di Area Science Park sarà accertato con successivo e separato provvedimento del Direttore competente;

DISPONE

- di adottare il testo dell'accordo di collaborazione di ricerca con ICGEB, avente a oggetto lo svolgimento delle attività del progetto "*Impact of SARS-CoV-2 variants on genome integrity and their involvement in inflammation and neuropathogenesis*", allegato alla presente disposizione per farne parte integrante e sostanziale, e di determinarsi alla sua sottoscrizione;
- di designare quale referente dell'attuazione dell'accordo per Area Science Park la dott.ssa Giuditta De Lorenzo, Ricercatrice assegnata all'Istituto Ricerca per l'Innovazione Tecnologica, Struttura Ricerca e Innovazione.

IL DIRETTORE GENERALE

dott.ssa Anna Sirica

Anna Sirica
07.03.2024
12:59:41
GMT+01:00

ELENCO ALLEGATI:
Accordo di collaborazione di ricerca con ICGEB avente a oggetto lo svolgimento delle attività del progetto "*Impact of SARS-CoV-2 variants on genome integrity and their involvement in inflammation and neuropathogenesis*"

Accordo di collaborazione di ricerca

Il presente Accordo di Collaborazione per la Ricerca (l'"Accordo") è stipulato tra **International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology**, AREA Science Park, Padriciano 99, 34149 Trieste, Italia (di seguito "ICGEB") debitamente rappresentato ai fini del presente Accordo dal suo Direttore Generale, dottor Lawrence Banks

E

Area di Ricerca Scientifica e Tecnologica di Trieste – Area Science Park, Padriciano 99, 34149 Trieste, Italia (di seguito "AREA SCIENCE PARK") debitamente rappresentata ai fini del presente Accordo dal Direttore Generale, dott.ssa Anna Sirica

Collettivamente denominate le "Parti"

PREMESSO CHE

AREA SCIENCE PARK:

- è un Ente Pubblico Nazionale di Ricerca, vigilato dal Ministero dell'Università e della Ricerca, che in base al proprio Statuto favorisce e promuove l'innovazione, lo sviluppo della ricerca scientifica e tecnologica e il trasferimento dei suoi risultati al mercato, lo sviluppo del sistema economico basato sulla ricerca scientifica e tecnologica e sull'innovazione e supporta i processi di creazione di nuove imprese innovative, tenuto conto degli obiettivi strategici fissati a livello nazionale ed europeo e delle linee di indirizzo del Ministero vigilante;
- nel perseguimento delle proprie finalità istituzionali, promuove e svolge attività di ricerca scientifica e tecnologica fondamentale e applicata, di trasferimento di conoscenze e tecnologie, di diffusione dell'innovazione verso il tessuto produttivo, di formazione e di promozione in campo industriale; promuove lo sviluppo del proprio Parco scientifico e tecnologico; realizza progetti per lo sviluppo della competitività delle imprese e dei territori basato sull'innovazione; sperimenta, migliora e diffonde le proprie metodologie operative, promuove il miglioramento dei servizi e delle infrastrutture; definisce, progetta e gestisce piattaforme scientifiche e tecnologiche; instaura relazioni internazionali, specialmente con le limitrofe regioni europee e con i Paesi in via di sviluppo e collabora con istituzioni pubbliche locali, regionali, nazionali, internazionali e con soggetti privati;

ICGEB è un'organizzazione intergovernativa avente una sede in Italia e il cui Statuto è stato ratificato dall'Italia con la legge 103/1986, avente l'obiettivo primario, di promuovere la ricerca, lo sviluppo e la formazione, compreso il trasferimento tecnologico all'industria, nel campo della genetica molecolare e della biotecnologia nei Paesi Membri;

AREA SCIENCE PARK e ICGEB collaborano a vario titolo da lungo tempo;

ICGEB ha presentato il progetto "Impact of SARS-CoV-2 variants on genome integrity and their involvement in inflammation and neuropathogenesis" (di seguito il "Progetto") a valere sul bando RIPrEI;

nel suddetto progetto AREA SCIENCE PARK viene identificata come Unità Operativa alla quale afferiscono specifiche attività e uno specifico budget;

il succitato Progetto è stato ammesso al finanziamento dall'Istituto Superiore di Sanità (di seguito "ISS") e formalizzato attraverso apposita convenzione tra ICGEB e ISS (di seguito "Allegato I").

Tutto ciò premesso, le Parti convengono quanto segue:

1. Campo di applicazione dell'Accordo

1.1. Nell'ambito del presente Accordo, AREA SCIENCE PARK si configura come Unità Operativa del Progetto e si impegna a fornire il contributo scientifico e intellettuale come dettagliato nella descrizione tecnica del Progetto (Allegato II). Gli allegati I e II costituiscono parte integrante del presente Accordo.

1.2 Con la sottoscrizione del presente Accordo, ciascuna Parte dà atto di essere a conoscenza che l'altra Parte può essere coinvolta in ricerche simili, attraverso la partecipazione di altri ricercatori per conto proprio e di terzi, con potenziale sovrapposizione tecnologica. Niente di quanto contenuto nel presente Accordo potrà limitare la libertà di una Parte di impegnarsi in qualsiasi altra ricerca e/o attività progettuale che ritenga opportuna.

2. Data di entrata in vigore e durata

2.1 Il presente Accordo entra in vigore a partire dal 01/01/2024 e rimarrà in vigore a tutti gli effetti fino al termine del Progetto e delle attività di rendicontazione ad esso connesse (di seguito "Termine").

2.2. Le Parti avranno la possibilità di negoziare una proroga della durata secondo termini reciprocamente accettabili. Tale opzione potrà essere esercitata di comune accordo tra le Parti a mezzo scambio di PEC.

3. Garanzie

3.1 Le Parti si danno espressa manleva reciproca per i propri funzionari, dipendenti e collaboratori a vario titolo da qualsiasi pretesa, richiesta o causa di azione di qualsiasi tipo, incluse, senza limitazione, quelle derivanti da lesioni o morte di persone o danni alla proprietà causati da, o derivanti dall'utilizzo dei risultati del Progetto.

3.2 AREA SCIENCE PARK non fornisce alcuna garanzia espressa o implicita di commerciabilità o idoneità per uno scopo particolare, o che l'uso dei risultati delle attività effettuate dal proprio personale all'interno del Progetto di ricerca non violi alcun brevetto, diritto d'autore, marchio o altri diritti di proprietà. ICGEB è responsabile della ricerca e dello sviluppo e dell'uso commerciale del Prodotto finale.

4. Consultazione e Relazioni

4.1 Durante la durata del presente Accordo, i ricercatori coinvolti nel progetto e identificati dalle Parti manterranno una attiva comunicazione e potranno consultarsi informalmente a vicenda, di persona, telefonicamente o tramite corrispondenza elettronica, e tali consultazioni saranno mantenute riservate. Il personale di AREA SCIENCE PARK e di ICGEB tiene traccia scritta di tali consultazioni informali.

4.2 AREA SCIENCE PARK attua la propria parte del Progetto come individuata all'Allegato II e fornisce a ICGEB le Relazioni Scientifiche e Rendicontazioni finanziarie in tempo utile per gli adempimenti di cui all'art. 6 dell'Allegato I e comunque con un anticipo minimo di 15gg rispetto alle scadenze riportate nell'Allegato1.

5. Informazioni riservate

5.1 Le Parti convengono che ICGEB e AREA avranno obblighi di riservatezza e non utilizzo rispetto a tutte le informazioni divulgate reciprocamente in qualsiasi forma e contrassegnate come riservate (le "Informazioni riservate"), a meno che tali Informazioni:

a. siano di pubblico dominio in quanto già utilizzate e/o pubblicate al momento della loro ricezione da parte della Parte ricevente o diventino successivamente di pubblico dominio; o
b. siano state già in suo possesso prima della loro ricezione da parte della Parte ricevente o siano state sviluppate indipendentemente dalle Informazioni ricevute dalla Parte divulgante; o
c. siano state ottenute dalla Parte ricevente da una terza parte avente un valido diritto di divulgare tali Informazioni e tale terza parte non abbia un obbligo di riservatezza nei confronti della Parte divulgante; o
d. ne sia stata richiesta la divulgazione ai sensi di legge o regolamento o di qualsiasi agenzia governativa, tribunale o organo amministrativo.

5.2 Tutte le Informazioni riservate rivelate da una delle Parti all'altra, su richiesta, dovranno essere tempestivamente restituite e/o cancellate.

6. Supporto economico

6.1 ICGEB si impegna a riconoscere ad AREA SCIENCE PARK il rimborso delle spese sostenute da AREA SCIENCE PARK stessa per l'esecuzione del Progetto, in linea con quanto stabilito dalle regole di rendicontazione ed esplicitato agli articoli 6, 7 e 8 dell'Allegato I. Tale contributo sarà erogato da ICGEB, subordinatamente al ricevimento dei ratei da parte dell'ISS secondo lo schema di cui all'art. 5 dell'Allegato I.

6.2 In particolare, il budget massimo previsto per le attività di progetto è di euro 97.900,00 (novantasettemilanovecento/00).

Il pagamento verrà effettuato tramite bonifico bancario sul seguente conto bancario intestato a Area di Ricerca Scientifica e Tecnologica di Trieste – Area Science Park:

Nome della banca: B.N.L. S.p.A. Agenzia 7300 Piazza Ponterosso- Trieste

IBAN: IT 29 N 01005 02200 000000218050

BIC/SWIFT: BNLIITRRTSX

7. Diritti di proprietà intellettuale

7.1 Ciascuna Parte manterrà la proprietà e il controllo delle tecnologie, del *know-how* e della proprietà intellettuale sviluppati prima della firma dell'Accordo (di seguito "*Background know-how*")

7.2 Eventuali invenzioni o scoperte sviluppate durante il presente Accordo grazie ai contributi di entrambe

le Parti saranno considerate invenzioni congiunte ("Invenzioni Congiunte"). Le invenzioni congiunte saranno disciplinate da ulteriori accordi di gestione da negoziare caso per caso tenendo conto dei contributi e degli interessi delle Parti.

7.3 Ciascuna Parte divulgherà all'altra Parte eventuali invenzioni o scoperte risultanti dalle attività svolte durante la durata e nell'ambito del presente Accordo il prima possibile dopo il concepimento.

7.3 Le Parti convengono che l'attribuzione del diritto d'autore di qualsiasi articolo risultante dalle attività svolte durante il Progetto e nell'ambito del presente Accordo dovrà seguire i più elevati standard accademici.

7.4 Per quanto non previsto nel presente Accordo in materia di Proprietà intellettuale troverà applicazione l'art. 10 dell'Allegato I.

8. Disposizioni generali

8.1 Accordo: il presente Accordo regola l'intesa tra le Parti in merito al Progetto e sostituisce tutte le comunicazioni, negoziazioni, impegni e scritti precedenti alla data del presente atto convenzionale relativi all'oggetto del presente Accordo, se non esplicitamente menzionato.

8.2 Forza maggiore: Nessuna delle Parti sarà ritenuta inadempiente né responsabile per il ritardo nell'esecuzione o per la mancata esecuzione di uno qualsiasi dei suoi obblighi ai sensi del presente Accordo se tale ritardo o inadempimento deriva da eventi, circostanze o cause al di fuori del suo ragionevole controllo (denominato "Forza maggiore"). La Parte colpita dalla Forza Maggiore, durante quest'ultima, sarà liberata dai suoi obblighi ai sensi del presente Accordo, a condizione che la Parte che invoca la Forza Maggiore ne informi tempestivamente l'altra Parte. In caso di Forza Maggiore, le Parti si consulteranno immediatamente tra loro al fine di trovare una soluzione equa e faranno tutto il possibile per ridurre al minimo le conseguenze di tale Forza Maggiore.

8.3 Risoluzione: Il presente accordo potrà essere risolto in ogni momento qualora uno dei contraenti dichiari l'impossibilità, per causa a quest'ultimo non imputabile, di proseguire la collaborazione.

8.4 Le Sezioni 3, 5, 7, 8.4, 8.7, 8.10 sopravvivranno al venir meno del presente Accordo per qualsiasi causa intervenuta.

8.5 Modifiche: salvo quanto diversamente previsto espressamente nel presente documento, nessuna modifica, emendamento o integrazione al presente Accordo sarà efficace per qualsiasi scopo se non per iscritto e firmato dalle Parti contraenti.

8.6 Cessione dell'Accordo: il presente Accordo non può essere ceduto da nessuna delle Parti senza il previo consenso scritto dell'altra Parte e qualsiasi tentativo di cessione senza il rispetto di questa disposizione è da ritenersi nullo.

8.7 Uso del nome: ciascuna delle Parti utilizzerà il nome dell'altra Parte in comunicati stampa o qualsiasi altra dichiarazione scritta solamente per gli scopi del Progetto. Per ogni altro utilizzo verrà richiesto il consenso scritto dell'altra Parte.

8.8 Avvisi: qualsiasi comunicazione richiesta dal presente Accordo dovrà essere data tramite e-mail o posta prioritaria, con ricevuta di ritorno, indirizzata nel caso di ICGEB a:

International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB)
Marianna Saccà
Padriciano 99
34149 Trieste – Italia
marianna.sacca@icgeb.org

o nel caso di AREA SCIENCE PARK a:

Area di Ricerca Scientifica e Tecnologica di Trieste – Area Science Park
Giuditta De Lorenzo
Padriciano 99
34149 Trieste – Italia
giuditta.delorenzo@areasciencepark.it

o ad altri indirizzi che verranno forniti di volta in volta in conformità con i termini della presente disposizione di avviso.

8.9 Risoluzione delle controversie: qualsiasi disputa, controversia o reclamo derivante da, o relativo al presente Accordo e qualsiasi successiva modifica del presente Accordo, inclusi, a titolo esemplificativo, la sua formazione, validità, effetto vincolante, interpretazione, esecuzione, violazione o risoluzione, nonché le pretese extracontrattuali, saranno risolte mediante negoziazione tra i Legali Rappresentanti delle Parti.

Se, e nella misura in cui, qualsiasi controversia o reclamo non è stato risolto ai sensi della negoziazione entro 90 giorni dall'inizio della negoziazione, essa, previa presentazione di una richiesta di arbitrato da parte di una delle Parti, sarà deferita e infine determinata mediante arbitrato in conformità con le Regole di arbitrato accelerato dell'OMPI se coinvolgono diritti di proprietà intellettuale o in conformità con la Commissione delle Nazioni Unite per il diritto commerciale internazionale (UNCITRAL) in tutti gli altri casi. La sede dell'arbitrato sarà Trieste. La lingua da utilizzare nel procedimento arbitrale sarà l'italiano.

8.10 Privilegi e immunità: nulla nel o relativo al presente Accordo sarà considerato una rinuncia a qualsiasi privilegio e immunità dell'ICGEB come previsto dalla Legge n.66/2022.

8.11 Legge applicabile: il presente accordo e ogni documento o altro accordo a esso relativo sono disciplinati dai principi generali del diritto con esclusione di ogni singolo ordinamento giuridico nazionale.

8.12 Disposizioni non valide: se una disposizione del presente accordo dovesse diventare nulla, non valida o inefficace, ciò non pregiudicherà le restanti disposizioni dell'Accordo. Le Parti sostituiranno la disposizione con una nuova disposizione valida avente lo stesso scopo e significato.

8.13 Norme di rinvio: per quanto non previsto in tale accordo si rimanda al quanto contenuto nell'accordo tra ICGEB e ISS e alle regole di progetto (Allegato I).

Il presente accordo viene stipulato in italiano in due serie originali. Un set originale rimane rispettivamente con ICGEB e AREA SCIENCE PARK. Le firme elettroniche o le immagini PDF delle sottoscrizioni saranno trattate come firme originali.

Per
L'International Centre
for Genetic Engineering and Biotechnology

_____
Dr. Lawrence Banks
Direttore generale

Per
AREA SCIENCE PARK

_____
Dott.ssa Anna Sirica
Direttore Generale

ALLEGATO I

Convenzione tra ICGEB e ISS

Convenzione per la regolamentazione dello svolgimento del progetto

"Impact of SARS-CoV-2 variants on genome integrity and their involvement in inflammation and neuropathogenesis" - RIPREI2023_7c8ae10d783c

tra

L'Istituto Superiore di Sanità, di seguito denominato "ISS" - codice fiscale 80211730587 con sede in Roma, Viale Regina Elena 299, cap 00161 legalmente rappresentato per la stipula del presente atto dal Commissario straordinario Prof. Rocco Bellantone

e

l'**International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology**, di seguito denominato "Ente" - codice fiscale 90031700322 con sede in Area Science Park, Padriciano 99, Trieste cap. 34149, ai fini del presente atto legalmente rappresentata dal Direttore Generale, Dr. Lawrence Banks

di seguito congiuntamente denominate "le Parti"

PREMESSO che:

- l'ISS è coordinatore del progetto: "Rete Italiana per la sorveglianza virologica, il monitoraggio immunologico, la formazione e la ricerca in preparazione alla gestione delle Emergenze Infettive - R.I.Pr.E.I", mirato a coniugare le attività di monitoraggio e ricerca in preparazione alla gestione delle emergenze pandemiche;
- nell'ambito della componente ricerca del suddetto progetto, l'ISS ha indetto un bando di ricerca competitivo (scaduto in data 25 febbraio 2023), accessibile a tutti i ricercatori che operano presso Università, Enti Pubblici di Ricerca, Enti del SSN, Sanità Militare, per il finanziamento di progetti di ricerca nelle seguenti aree:
  1. caratterizzazione fenotipica delle varianti di SARS-CoV-2;
  2. messa a punto di modelli di infezione in vitro e in vivo;
  3. studio di interazione virus-ospite e meccanismi di patogenicità.
- nella seduta del 18 luglio 2023, il Comitato di Coordinamento Scientifico (CCS) del Progetto R.I.Pr.E.I., ha approvato le graduatorie finali e l'attribuzione del finanziamento della prima edizione del Bando di Ricerca R.I.Pr.E.I.;
- la proposta progettuale "Impact of SARS-CoV-2 variants on genome integrity and their involvement in inflammation and neuropathogenesis" - RIPREI2023_7c8ae10d783c", presentata da International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB) si è utilmente collocata nella specifica graduatoria "progetti ordinari/full project", ed è stata ammessa a finanziamento per un importo complessivo di € 396.000,00;

- le Parti, con la sottoscrizione della presente convenzione, intendono regolamentare le modalità di svolgimento del progetto suindicato;

TUTTO QUANTO SOPRA PREMESSO

Articolo 1 - Oggetto

La presente Convenzione disciplina i rapporti tra le Parti per la realizzazione del progetto codice RIPREI2023_7c8ae10d783c dal titolo "Impact of SARS-CoV-2 variants on genome integrity and their involvement in inflammation and neuropathogenesis".
Nel caso in cui il progetto preveda la partecipazione di Unità Operative, l'Ente svolge attività di coordinatore del progetto in qualità di Capofila e le unità operative devono impegnarsi a realizzare, sotto la diretta supervisione dell'Ente-Capofila, le attività di competenza indicate nel Progetto, attenendosi alle tempistiche previste.
Costituisce parte integrante della presente convenzione, quale oggetto della stessa, il progetto di ricerca.

Articolo 2 – Principal Investigator

Il principal investigator della ricerca è individuato nella persona del dott. Alessandro Marcello

Articolo 3 – Durata

Il progetto ha la durata di 24 mesi a partire dal 01/01/2024 che rappresenta la data di inizio delle attività del progetto, secondo quanto previsto dal Bando.
La presente convenzione va restituita firmata digitalmente dal legale rappresentate dell'ente, diviene efficace dalla data di sottoscrizione dell'ultimo firmatario e la sua validità termina con la conclusione del progetto.
Ove l'Ente, nel corso dello svolgimento delle attività progettuali, riscontri oggettive criticità di natura tecnica che determinino un ritardo della tempistica inizialmente prevista nel cronoprogramma, può concordare con l'ISS una sola richiesta di proroga per un massimo di 6 mesi, e solo a seguito di formale, motivata e documentata richiesta firmata digitalmente dal principal investigator e dal legale rappresentante.
Conseguentemente la validità della convenzione si estenderà fino alla fine del progetto prorogato.
L'eventuale richiesta di proroga dovrà pervenire all'ISS entro almeno 90 giorni prima della scadenza del progetto.

Articolo 4 – Adempimenti: Codice Unico di Progetto

Il codice CUP richiesto dall'Ente è F13C23001560005 e viene utilizzato al fine di procedere alla liquidazione delle richieste di pagamento emesse nelle modalità indicate al successivo articolo 5. In caso di irregolarità del dato CUP non sarà possibile procedere alla liquidazione delle richieste di pagamento emesse nelle modalità indicate al successivo articolo 5.
Nel caso in cui il progetto preveda la partecipazione di Unità Operative, l'Ente-Capofila entro e non oltre 20 giorni dall'inizio del progetto e pena la decadenza dal finanziamento, è tenuto a trasmettere -con nota sottoscritta digitalmente dal proprio rappresentante legale e dal principal investigator- le dichiarazioni contenenti l'accettazione dei termini della presente convenzione da parte delle unità operative e dei relativi responsabili di unità operativa nonché i CUP "derivati" richiesti dalle unità operative per la quota di finanziamento loro spettante.

Articolo 5 – Risorse finanziarie

Il finanziamento concesso per la realizzazione del progetto è pari ad € 396.000,00 (trecentonovantaseimila/00); l'erogazione dei fondi avverrà secondo il seguente schema:

- 30% al momento della comunicazione dell'inizio dell'attività di ricerca, da parte del principal investigator;
- 50%, dopo l'invio, al 12° mese dall'inizio delle attività progettuali, della relazione scientifica relativa lo stato di attuazione della ricerca, previa approvazione da parte del Comitato di Coordinamento Scientifico;
- 20% a titolo di saldo, dopo l'invio, al termine della convenzione, della relazione scientifica finale e della rendicontazione finanziaria, previa approvazione da parte del Comitato di Coordinamento Scientifico.

I pagamenti saranno effettuati previa emissione di fattura da parte dell'Ente. Le fatture dovranno riportare i seguenti dati:

- Codice Unico di Progetto (CUP)
- Denominazione Ente: Istituto Superiore di Sanità
- Codice univoco ufficio: **0QULCB**
- Codice fiscale: 80211730587
- Descrizione: Bando RIPREI – "……titolo progetto……" - *(indicare se anticipo, rateo intermedio, saldo)*.

Nel caso l'Ente svolga le attività di progetto attraverso Unità Operative il medesimo Ente opererà i trasferimenti previsti alle proprie Unità.
I suddetti trasferimenti, avendo natura contributiva, sono da intendersi fuori dal campo di applicazione dell'Imposta sul Valore Aggiunto (IVA), ai sensi dell'art. 4 del D.P.R. 26/1/72 n. 633.
Le parti si impegnano all'osservanza delle disposizioni inerenti alla tracciabilità dei flussi finanziari di cui all'art. 3 della Legge 13 agosto 2010 n. 136 e successive modifiche e integrazioni e nel caso di ICGEB delle Convenzioni internazionali vigenti in materia.

Articolo 6 - Rendicontazioni e Relazione Scientifiche

Allo scadere dei 12 mesi dall'inizio dell'attività della ricerca, e comunque non oltre i trenta (30) giorni da tale termine, l'Ente trasmette all'ISS la relazione scientifica intermedia sullo stato di attuazione della ricerca. La stessa viene sottoposta all'approvazione del Comitato di Coordinamento Scientifico.

Fatta salva l'eventuale concessione di proroga della durata delle attività progettuali, allo scadere dei 24 mesi dall'inizio dell'attività di ricerca, e comunque non oltre i trenta (30) giorni da tale termine, l'Ente trasmette all'ISS la relazione finale (scientifica e finanziaria) sullo stato di attuazione della ricerca. La stessa viene sottoposta all'approvazione del Comitato di Coordinamento Scientifico.

Per l'erogazione del saldo al termine del progetto, l'Ente dovrà inviare all'ISS, unitamente alla relazione finale relativa al proprio programma, una rendicontazione economica rappresentata dall'elenco analitico delle spese effettivamente sostenute, rispettando le voci di spesa indicate nel piano economico del progetto e le percentuali previste dal Bando (redatta secondo *l'Allegato 1 rendicontazione finanziaria)*. Le spese rendicontate dovranno essere effettivamente liquidate alla data di scadenza della presente convenzione.

I rapporti tecnici e il rendiconto finanziario devono essere inviati all'indirizzo di posta certificata del CORI: cori@pec.iss.it .

L'ISS può richiedere in qualsiasi momento di conoscere lo stato di avanzamento del progetto. L'Ente si impegna a fornire, in caso di richiesta da parte dell'ISS, la documentazione comprovante tutte le spese sostenute.

L'eventuale quota di contributo non utilizzato risultante dalla rendicontazione finanziaria presentata dovrà essere restituito all'ISS.

Nel caso in cui il progetto preveda la partecipazione di Unità Operative, le relazioni e le rendicontazioni richieste per l'erogazione del contributo debbono contenere anche la descrizione delle attività e delle spese delle singole unità operative in modo da rappresentare il regolare svolgimento del progetto per la parte di competenza.

Articolo 7 – Spese ammissibili

Ai fini della rendicontazione finanziaria, sono da considerarsi ammissibili le seguenti spese:

- **personale:** (solo nel caso dei progetti ordinari); il costo totale eleggibile, relativamente ai contratti di lavoro stipulati per lo svolgimento della ricerca (Researcher's contracts), non deve essere superiore al 60% del finanziamento richiesto e non può, comunque, eccedere i 40.000,00 euro/anno per ricercatore (è fatta salva la possibilità dell'ente di appartenenza del principal investigator di erogare compensi superiori a quanto sopra indicato con proprie risorse e non a carico del finanziamento della presente convenzione). Sono ammesse borse di studio per giovani ricercatori con età inferiore ai 33 anni, in possesso del titolo di dottorato da non più di 3 anni, ovvero della specializzazione da non più di 2 anni. Tale borsa di borsa di studio biennale non potrà superare i 25.000,00 euro/anno;

- **materiale di consumo di laboratorio;**
- **missioni:** non possono superare il 5% del budget, e devono essere finalizzate esclusivamente alla partecipazione ad eventi per presentare lavori relativi al progetto, o a mobilità necessaria alla realizzazione del progetto. Le missioni dovranno comunque essere riferite solo al personale dichiarato nell'UO, e per le necessità strettamente legate all'esecuzione del progetto. Potrà partecipare alle missioni legate ad eventuali convegni unicamente chi presenta un prodotto della ricerca.
- **pubblicazioni:** non possono superare il 5% del budget; in ciascuna pubblicazione deve essere fatta espressa menzione del finanziamento R.I.Pr.E.I.;
- **spedizioni di materiali;**
- **attività di divulgazione e formazione attiva** (stampa materiale divulgativo del progetto, spese per erogazione di crediti ECM, sviluppo di pagine web): la spesa non deve superare il 10% del budget; qualora lo sviluppo fosse affidato a soggetti esterni all'ISS tale spesa è consentita solo se l'intera piattaforma (incluse quindi eventuali basi dati) rimanga in esclusivo possesso dell'ISS al termine dei due anni di finanziamento;
- **manutenzione di siti web**: non deve superare il 10% del budget;
- **acquisto di materiale informatico**: esclusivamente per l'acquisto di software specifici per la realizzazione del progetto;
- **subcontratti per svolgimento di servizi** che non possono essere svolti dall'Ente e/o dalle unità operative dell'Ente-Capofila: la spesa non può eccedere il 10% del finanziamento previsto per ogni singola unità operativa e gli stessi non possono riguardare attività specifiche di ricerca ma unicamente svolgimento di servizi;
- **overhead:** non deve superare il 10% del finanziamento complessivo.

Non sono ammesse le spese per:

- personale (nel caso di progetti pilota);
- dottorati;
- spese per catering;
- acquisti di strumentazioni e apparecchiature;
- acquisti di mobili di ufficio;
- subcontratti o trasferimenti esterni.

Articolo 8 – Variazioni

Il piano finanziario del progetto è vincolante relativamente al solo totale del finanziamento assegnato, e al riparto iniziale, anche relativamente ai piani economici delle unità operative; mentre ha valore meramente indicativo per quanto riguarda la ripartizione tra le voci di costo e le motivazioni a giustificazione di tali costi, nel rispetto dei massimali percentuali declinati di cui al precedente art. 7, come da Bando.

Le quote percentuali relative alle varie voci di costo previste dal Bando, che l'Ente si impegna a rispettare, saranno calcolate a consuntivo sulle spese rendicontate al netto di eventuali economie riscontrate sul finanziamento assegnato, e sulle sole spese eleggibili.
La distribuzione delle somme tra le diverse voci di costo nell'ambito di ogni singola unità operativa, è consentita sotto la responsabilità dell'Ente-Capofila che ha presentato il progetto e che dovrà verificare il rispetto delle percentuali previste dal bando
Non necessitano di autorizzazione le rimodulazioni all'interno del budget riconosciuto a ciascuna Unità Operativa e ad invarianza dell'importo complessivo ivi previsto; di tale rimodulazione si dovrà in ogni caso dare evidenza al momento della presentazione della rendicontazione finale.

Articolo 9- Riservatezza

L'Ente si impegna ad osservare la massima riservatezza a non divulgare né utilizzare, per alcuno scopo diverso da quello necessario se non per lo svolgimento delle attività previste, le informazioni di carattere scientifico e tecnico prodotte nell'ambito della presente Convenzione.

Articolo 10 - Risultati della ricerca

La proprietà degli studi, dei prodotti e delle metodologie sviluppati nell'ambito del progetto è regolamentata dalla normativa vigente in materia, salvo particolari accordi stipulati tra le parti firmatarie del presente atto.
Nel caso in cui il contraente intenda trasferire ad altri soggetti qualsiasi diritto, anche parziale, relativo alla ricerca in questione, ai risultati della stessa o ad eventuali brevetti derivati deve darne preventiva comunicazione all' ISS.
Le pubblicazioni e le diffusioni, cui potranno dare luogo i risultati delle attività, dovranno recare l'indicazione che il lavoro è stato svolto nell'ambito del finanziamento R.I.Pr.E.I.

Articolo 11 - Trattamento dei dati personali

Le parti si impegnano reciprocamente ad osservare la normativa a tutela dei dati personali, nel rispetto del Regolamento (UE) 2016/679 "Regolamento generale sulla protezione dei dati" (di seguito anche "GDPR") e del decreto legislativo n. 196/2003 e ss.mm.ii., al fine di trattare lecitamente, con correttezza e trasparenza, ai sensi dell'art. 5 del GDPR., i dati personali di terzi il cui utilizzo è necessario per l'esecuzione delle attività previste dal presente Accordo e adottando tutte le misure di sicurezza tecniche e organizzative necessarie, al fine di garantire un livello di sicurezza, anche informatica, adeguato al rischio per i diritti e le libertà degli interessati.
Ciascuna Parte riconosce ed accetta che i dati personali relativi all'altra Parte, nonché i dati personali (es. nominativi, indirizzo, ecc.) di propri dipendenti/collaboratori, coinvolti nelle attività di cui al presente accordo, saranno trattati dall'altra Parte in qualità di Titolare

autonomo del trattamento dei dati personali per finalità strettamente funzionali alla instaurazione e all'esecuzione dell'accordo stesso.

Articolo 12 – Recesso

Ad ognuna delle Parti del presente accordo, ai sensi dell'art.1373 c.c., è attribuita la facoltà di recedere e tale facoltà può essere esercitata finché l'accordo stesso non abbia avuto un principio di esecuzione.

Art. 13 - Risoluzione

Il presente accordo potrà essere risolto in ogni momento qualora uno dei contraenti dichiari l'impossibilità, per causa a quest'ultimo non imputabile, di proseguire la collaborazione.

Art. 14 - Modifiche della convenzione

Ogni modifica al presente Accordo necessita della forma scritta e della firma dei legali rappresentanti delle Parti.

Art. 15 - Risoluzione delle controversie e foro competente

Le Parti concordano di definire amichevolmente qualsiasi controversia che possa nascere dalla interpretazione o esecuzione della presente convenzione.
Nel caso in cui non sia possibile raggiungere in questo modo un accordo bonario, le Parti dichiarano, in via esclusiva, di volerlo risolvere tramite arbitrato.

Art. 16 - Oneri fiscali

Il presente atto sarà registrato solo in caso d'uso, a cura e spese della parte richiedente.
L'imposta di bollo è assolta in modalità virtuale ad esclusiva cura dell'ISS (autorizzazione. n. 99718/2016 dell'Agenzia delle Entrate – D.R. Lazio).

Art. 17 - Norme di rinvio

Per quanto non previsto dal presente Accordo si applicano le disposizioni di legge.
Il presente atto si compone di 17 articoli e viene sottoscritto con firma digitale ai sensi del "Codice dell'Amministrazione Digitale".
Niente di ciò che è contenuto nel presente contratto potrà essere considerato come un'implicita rinuncia ai privilegi e alle immunità di cui gode l'Ente, in virtu` della legge 19 maggio 20022 n.66.

Istituto Superiore di Sanità
Il legale rappresentante
Prof. Rocco Bellantone

Per l'Ente
Il legale rappresentante
Dr. Lawrence Banks

Il presente atto è sottoscritto per presa visione
il principal investigator – Dott. Alessandro Marcello



ALLEGATO II

Project code: RIPREI2023_7c8ae10d783c

Principal investigator: Alessandro Marcello

Summary

Title	Impact of SARS-CoV-2 variants on genome integrity and their involvement in inflammation and neuropathogenesis	
Research area	Studio di interazione virus-ospite e meccanismi di patogenicit	
Project type	Progetto ordinario	
Number of operative units	3	
Affiliation	Alessandro Marcello, PhDHead, Laboratory of Molecular VirologyInternational Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB)Padriciano, 9934149 Trieste, ITALYtel: +39 040 375 7384 (office) 7385 (lab)fax: +39 040 226555 http://www.icgeb.org/molecular-virology.htmlEmail: marcello@icgeb.org	
Datetime of creation	31/01/2023 10:20:14	
Datetime of last changes	24/02/2023 07:32:31	
Datetime of submission	24/02/2023 07:34:02	
Keywords	Keyword 1	SARS-CoV-2 or other Corona viruses
	Keyword 2	Virus virulence and pathogenicity
	Keyword 3	Neuropathogenesis of viruses
Abstract of research	Background	An imbalanced inflammatory response plays a key role in the pathogenesis of Covid-19, where multiple inflammatory pathways lead to hyperinflammation and a cytokine storm, resulting in acute respiratory syndrome, multi-organ failure, with long-term effects known as Long COVID. We have recently reported that SARS-CoV-2 infection compromises genome integrity by causing virus-induced DNA damage (VIDD) through Orf6 and NSP13, and by inhibiting DNA repair through the Nucleocapsid (N) protein(1). This leads to activation of proinflammatory pathways and virus-induced senescence (VIS) with autocrine/paracrine activity. Recent variants of concern (VoCs), including currently circulating Omicron BA.2 and BA.5 sub-lineages, have shown recurrent substitutions in Orf6, N and NSP13, and enhanced expression of Orf6 and N including the production of a novel subgenomic RNA encoding a truncated form of N. The effect of these changes on virus-induced DD and senescence in the context of inflammation and both acute and chronic pathogenesis remain poorly characterized. With this proposal, we plan to determine the impact

		of SARS-CoV-2 VoCs on VIDD and VIS, particularly focusing on their implication in paracrine neuroinflammation. We will explore a novel in vivo model of virus-associated neuropathy accompanied by long-term neurological consequences and investigate telomeric antisense oligos and senotherapeutics endowed with antiviral activity as a novel therapeutic approach for neuropathogenesis.
	Objectives	We plan to investigate along the following lines of research:- We demonstrated that ancestral SARS-CoV-2 induces VIDD, pro-inflammatory pathways, and VIS, through CHK1 degradation (Orf6/NSP13), and by interfering with 53BP1 recruitment (N) to the sites of damage(1). We will extend the approach to assess the impact of SARS-CoV-2 VoCs on this pathway.- Cells infected with the ancestral virus exhibited dNTP shortage(1), which induce DD at telomeres(2). We will therefore study DDR activation and VIDD accumulation at telomers. We will test telomeric antisense oligonucleotides (tASOs), able to reduce DDR at telomeres(3,4), for their capacity to counteract VIS and inflammation in vitro and in vivo.- Neurological sequelae of COVID-19 is associated with brain aging(5). Our unpublished data indicate that glial cells rather than neurons are preferentially infected, with a cGas-dependent increase of cytokines and chemokines. Whether VIDD is implicated in these events is unknown. Therefore, we plan to investigate the role of VIDD in the context of neuropathogenesis.- In addition to tASOs, alternative therapeutic options will be considered, also in combination. VIS can be treated with senolytic drugs(6,7). Intriguingly, some of these drugs and similar ones (i.e. 25-hydroxysterol)(8) were found to be antiviral by our team, thus potentiating the treatment. Hence, we aim to target VIS and virus replication to alleviate long-term consequences of infection in a model of neuropathogenesis.
	Design	- Assessment of DDR activation, inflammation and cellular senescence in the context of Omicron sublineages. The effects of individual viral products (Orf6/NSP13/N) will be tested by reverse genetics using biochemical approaches, supported by in silico structure prediction (Alphafold2) and advanced homology detection techniques (FoldSeek).- Setup of in vitro human induced pluripotent stem cells (hiPSCs)-derived astrocytes and neurons, ex vivo rat cortical cells and in vivo novel rat models of infection. For all the mentioned models we will study replication kinetics and the molecular mechanisms behind DDR, inflammation/senescence and pathophysiological consequences.- Single cell transcriptomics in rat cortical neurons. Transcriptome analysis is expected to show an activation of genes and pathways that are differentially modulated and associated with neurological response with different VoCs. Therefore, an accurate characterization of the single-cell response, through simultaneous mapping of host-cell and viral transcriptomes will be performed.- Test of Senotherapeutics in the above-mentioned models with a double readout of virus replication and virus-induced senescence. Supernatant transfer experiments are used to study the paracrine activity using the same markers. Optimal combinations of drugs will be tested in rats infected with SARS-CoV-2 measuring viral and senescence parameters. We will also test tASOs in the context of virus-induced DD in the models outlined above.
	Expected results	OVoCs mutations in Orf6/NSP13/N are expected to alter their impact on DDR activation and DD accumulation and influence

		viral-host protein interactome.Our preliminary data suggest that SARS-CoV-2 infection triggers DDR at telomers, which in turn accelerate cellular senescence and inflammation. Therefore, the use of tASO, could be beneficial in reducing VIS and inflammation both in cultured cells and in vivo models.Our unpublished data, obtained in rat cortical cultures, suggest that the ancestral SARS-CoV-2 may directly infect astrocytes. We therefore expect that infection triggers DD, SASP and a paracrine degenerative effect in surrounding neurons. Such a virus-activated glia could in turn trigger a long-term sequela of neuroinflammation, reminiscent of neurodegenerative diseases(9). In this perspective, we will explore the virus-induced neuropathology of most recent VoCs.We expect that the administration of senolytics in combination with tASOs or other drugs along the pathways under study (i.e. cGAS inhibitors) would inhibit viral replication and reduce both the autocrine and paracrine activity of virus-induced SASP in brain tissue.This project will reinforce the Pathogen Readiness Platform (PRP@CERIC), established to facilitate access of scientists to pathogen research (including SARS-CoV-2) with the implementation of protocols for virological experimentation.	
Budget	Year 1	Consumables	100000
		Fellowship	69000
		Travel	3500
		Publications	0
		Other costs	6000
		Indirect costs	17850
		Subtotal	196350
	Year 2	Consumables	83000
		Fellowship	69000
		Travel	8500
		Publications	11000
		Other costs	10000
		Indirect costs	18150
		Subtotal	199650
	Total	396000	
Purpose	The post-acute COVID-19 syndrome is a collection of prolonged symptoms, in large part of neurological nature, developed following a SARS-CoV-2 infection. The physiological mechanism underlying it remains unknown, with repercussions on the medical treatment capacity. Following our recent publication, we aim to go deeper into the endocrine and		

	paracrine consequences of SARS-CoV-2-mediated DNA damage, cell cycle arrest, cellular senescence, accumulation of proinflammatory factors and consequent neuropathogenesis in acute and post-acute phase. We will unravel how senescence-associated secretory phenotypes can cause a micro-environmental impact on neuronal cells, modify functionality of the bystander cells and lead to loss of neuronal activity, which contributes to the brain dysfunction often reported after SARS-CoV-2 infection. These pathways can be targeted by different classes of inhibitors: tASOs, senotherapeutics and cGAS inhibitors, which would be considered in a proof of principle approach. Noteworthy, while Omicron sublineages showed attenuated virulence compared to the previous VoCs, they reached a much larger population. To understand the impact of this human host adaptation remains an urgent task, not limited to the acute pathogenesis but also the long-term neurological outcomes. Our investigation will be therefore performed in the contexts of viral evolution, dissecting how mutations now fixated in the Omicron genome affects the virus-induced DNA damage and senescence.
Background	Severe COVID-19 is characterized by the inefficient suppression of early stages of infection followed by an exacerbated response once the virus has proliferated, resulting in hyperinflammation and cytokine storm, acute respiratory syndrome, tissue damage, multi-organ failure, with long-term effects known as Long COVID. Viral dysregulation of inflammatory response occurs at different stages. We showed that ancestral SARS-CoV-2 causes DNA damage (virus-induced DD, VIDD) in the infected cells and induces alteration in the DNA damage response (DDR), followed by activation of pro-inflammatory pathways and cellular senescence(1). Cellular senescence is a stress-induced cellular state leading to terminal cell-cycle arrest and the acquisition of a senescence-associated secretory phenotype (SASP) characterized by the secretion of pro-inflammatory cytokines and other factors leading to aging and tissue injury(10). Pre-existing senescent cells in the elderly, virus-induced senescence in infected cells (VIS, autocrine) and SASP-induced secondary senescent cells (paracrine) play a key role in COVID-19(7).We identified three viral proteins responsible for this effect: Orf6, NSP13 and N. Each of them is involved in an independent mode of action: degradation of CHK1 by blocking nuclear translocation (Orf6) and by autophagy (NSP13) and interfering with 53BP1 recruitment (N)(1). SARS-CoV-2 evolution and host adaptation led to the emergence of several variants of concern (VoCs) currently dominated by B.1.1.529 (Omicron) and following sub lineages. Omicron acquired multiple mutations and, while the impact of Spike substitutions has been heavily studied, there is an important knowledge gap about the phenotypic changes of the other proteins. With regards to Orf6/NSP13/N, some substitution are suggested to alter protein's function, such as Orf6 D61L disrupting the interaction with the nuclear pore complex(11), implicated in DD stimulation, or generate novel subgenomic mRNA (sgmRNA) and truncated forms of the protein(12), as in the case of N double substitution R203K/G204R. Many other mutations have been poorly investigated so far. In this proposal we will address how viral evolution affected the capacity of the virus to induce DNA damage and cellular senescence.Ancestral SARS-CoV-2 has been widely detected in the brains of patients who died of COVID-19 and mounting evidence suggests it could directly infect cortical cells, ultimately leading to brain tissue damage(13,14). However, a causal link between SARS-CoV-2 infection and defects in the central nervous system, although evoked, is still missing. Moreover, human iPSC-derived neural progenitor cells (hNPCs) have been shown to be permissive to SARS-CoV-2 infection due to the expression of ACE2 and proteases necessary for virus entry(15,16). SARS-CoV-2 infection of hiPSC-derived astrocytes entails a pro-inflammatory immune response and a decreased expression of transporters and neurotransmitters, neuronal dysfunction and cell death(17). In this proposal, we will aim to evaluate the impact of virus-induced DD and paracrine SASP production in the context of neuropathology.VIS has been recognized as an important driver and therapeutic target in COVID-19(6,18). Senolytic drugs with antiviral properties provide the basis for a therapeutic approach for both autocrine (in infected cells) and paracrine VIS (in uninfected cells). Indeed, early elimination of senescent cells and viruses would be expected to attenuate disease propagation and severity, and long-term consequences. Importantly, recent SARS-CoV-2 variants elicited a stronger SASP compared to the ancestral strain(6). In this proposal, we will test the antiviral properties of selected senotherapeutics in combination with inhibitors of telomeric damage and of inflammation.

Plan of Investigation	Study design	We first aim to assess modulation of DDR, inflammatory pathways and cellular senescence by Omicron variants of concern BA.1/BA.2/BA.5 (OVoCs) in human cultured cells. Following our previous work, we will dissect the role of OVoCs' Orf6, NSP13 and N viral proteins in disregulating DDR and inducing DNA damage. We will investigate their mechanism of action targeting 53BP1, CHK1 and RRM2. We will evaluate the effect of the mutations by ectopic expression and recombinant viruses. With the aim to get a better insight into the molecular mechanisms behind virus-induced DD accumulation, we plan to identify host protein interactors of Orf6/NSP13/N by proteomic approaches. Investigation of the structural determinant of the viral protein role in altering DDR will be supported by the DPCfam algorithm(19), an unsupervised protein family classification, with the aim to identify homologous relationships. Prediction on functional and interactive residues will be validated by generation of recombinant proteins, both in transient expression and with recombinant viruses. We have recently demonstrated that cells infected with the ancestral virus displayed reduced dNTP levels, causing replication defects and DD induction. However, whether SARS-CoV-2 broke the host DNA preferentially at specific sites still remains elusive. We will map at nucleotide resolution the position and recurrence of DNA double-strand breaks (DSBs), generated upon infection, using Breaks Labeling In Situ and Sequencing (BLISS)(20). Moreover, since dNTP shortage is also responsible for DD accumulating at telomeres(2), we plan to characterize DDR activation at these specific genomic loci upon infection. In this perspective, we will test the impact of telomeric DDR inhibition by tASO administration in cultured cells and in animal models, as already described(3,4).We will explore VIDD, inflammation and VIS by OVoCs in the context of neuropathogenesis. Preliminary data from rat cortical cells showed that astrocytes are more permissive than neurons to the ancestral virus (collaboration with SISSA). We observed a marked cGAS-dependent pro-inflammatory response leading to inefficient neuronal electrophysiological activity measured with microelectrode arrays (MEA). We will check VIDD activation, induction of SASP and inflammation in glial cells and the paracrine degenerative effect on neurons by MEA and with markers of neuronal damage (i.e. Nfl and Tau). We will focus on the cGAS pathway and on proinflammatory markers also by single-cell transcriptomic analysis during infection with VoCs.Activation of astrocytes is indispensable for viral clearance but can also contribute to long-term neurological damage. Human iPSC-derived astrocytes (SISSA) wil be used to study VIDD and to dissect the pathways involved in the exacerbated proinflammatory response. We will further investigate the impact on astrocytes stimulation/interaction of the mutations present on the viral proteins Orf6, NSP13 and N of Omicron sublinages and the molecular bases behind VIDD. To date, rats have not been used frequently as SARS-CoV-2 models, although surveillance studies demonstrated infection and antibody response in rats from urban environments(21–23). Several VoCs showed efficient viral replication, humoral and innate immune response and viral transmission. The S1 subunit of SARS-CoV-2 induced a neuroinflammatory response and behavioral sequelae(24). We are planning to follow up the ex-vivo and in vitro studies by setting up a rat model of virus-induced neuropathy characterizing at immunopathological level the viral tropism and the molecular pathways involved in VIS and VIDD. We will study the cGAS/STING axis triggered by VIDD through fragmented DNA in infected glia and the consequent neurotoxicity. Markers of DD and downstream signaling will be explored by histopathological analysis. We

		previously described and patented the antiviral properties of oxysterols against SARS-CoV-2(8). Senolysis induced by 25-hydroxicholesterol (25-OHC) has been described recently both in vitro and in vivo(25), prompting its characterization in the context of VIS. Navitoclax, fisetin, and dasatinib/quercetin (D+Q) combination demonstrated significant cytotoxic activity in infected hNEpC showing VIS leaving non-infected cells unaffected(6). Treatment with D+Q resulted in attenuated disease severity in animal models. Furthermore, two randomized clinical trials that included quercetin met their clinical endpoint(26). Quercetin has antiviral potential(27). Finally, targeting of the cGAS-STING axis, which we showed to be activated in the nucleus of infected cells and critical for the pro-inflammatory phenotype of rat cortex, with the H-151 inhibitor had a SASP-suppressing effect(28). Despite a number of reports on the benefit of senotherapeutics in the course of severe COVID-19, little is known on their activity in the context of virus evolution and long COVID.
	Data collection and analysis	The study will focus on comparison between ancestral viruses and Omicron sub lineages BA.1/BA.2/BA.5, that recapitulate the relevant mutations in the protein of interest. Virus propagation and infection of all the suggested models will be performed at BSL3 level.VIDD, VIS and inflammation will be initially studied in cultured cells (Huh7, Calu-3, hNEpC) by immunoblot, immunofluorescence (i.e. gH2AX, 53BP1 and CHK1) and through senescence-associated ß-galactosidase (SA-ß-gal) assays(1). Proinflammatory cytokine and SASP expression will be analyzed by RT-qPCR and immunoassays. Telomeric damage will be studied by immunostaining for DDR markers (i.e. gH2AX, 53BP1) followed by fluorescence in-situ hybridization (FISH) with telomeric probes. The effects of infection on telomere length will be addressed by telomeric restriction fragment (TRF) assay. Comet-assay will be used to address the direct effect on DD accumulation. Impact of infection on DNA replication will be studied by monitoring DNA architecture through psoralen cross-linking and electron microscopy. BLISS(20) will be used to map DSBs at nucleotide resolution. To test the effects of OVoCs on the cellular pathways mentioned above, Orf6/NSP13/N will be transiently expressed in both unperturbed and damaged (ionizing radiation) conditions, followed by already described analysis focusing on the CHK1, RRM2 and 53BP1 function. In addition, to test the impact of Orf6/NSP13/N on specific DNA repair pathways, we will express the viral products in well-established cellular systems(29), which allows monitoring the kinetics of repair of a specific inducible DSB by either live-imaging, flow-cytometry or qPCR.To identify potential host proteins that could interact with the selected Omicron proteins, we will perform immunoprecipitation followed by mass-spectrometry and gene ontology terms enrichment analysis. The candidate host interactors will be functionally validated by siRNAs knock-down experiments. The interactome and mechanistic studies will be supported by in silico structure prediction (AlphaFold2). Accuracy in the prediction of structural mutations effects on the viral proteins will be boosted with advanced homology detection techniques and FoldSeek high-throughput search for structural similarity. Moreover, Orf6, NSP13 and N mutated versions will be generated by a reverse-genetic system for SARS-CoV-2 and used to validate the characterization of the virus-cell crosstalk.Viral neurotropism will be studied by infecting human iPSC (provided by SISSA) induced to differentiate into either neurons or astrocytes. We will evaluate the impact of Omicron variants on VIDD, VIS and inflammation in these

		systems with the above-mentioned approaches.Primary cultures of brain cortical neurons will be obtained by enzymatic and mechanical dissociation from P0 newborn Wistar rats and prepared as already described(30). Rats will be sacrificed by rapid decapitation, and all efforts will be made to minimize suffering.Kinetics of infection and VIDD will be studied on hiPSC derived astrocytes and neurons, as well as on ex vivo rat cortical cell cultures. Downstream signaling, VIS and immunomodulatory signatures, will be addressed using a well established set of technical tools including immunoblot, immunofluorescence, and RNA expression. Single cell sequencing will be performed on infected and mock infected rat cortical cells aiming to identify the cell types involved in the infection and their transcriptional program.Male Wistar rats will be intranasally infected with SARS-CoV-2 variants. According to published studies and together with our previous ex vivo data, exploiting the rat as a novel animal model of SARS-CoV-2 infection might be suitable to study the consequences of virus-induced DD/inflammation in the brain. Animals will be daily monitored to record clinicopathological and behavioral changes. At different timepoints post-infection samples of blood, lungs and brain tissues will be collected to investigate immunological response, distribution of the infection and histopathological features in the CNS and lungs, virological and molecular studies of the tissues will be also performed formarkers of DDR and downstream signaling, biomarkers of neuronal damage and senescence. In vitro antiviral assays will be conducted as previously described (8,31,32). Essentially, cells, including rat cortical cells or hiPSC, will be infected with SARS-CoV-2 and treated with drugs at various dilutions. Virus yields will be measured by plaque reduction assays, RT PCR and IF. For multiple tests, time-of-addition, combination and synergistic activity studies a high content imaging system based on the Operetta imaging station and Columbus image processing, already optimized, will be exploited(33,34). Parameters such as EC50, CC50 and SI will be computed as described. In vivo testing will be conducted for the most effective combinations.
	Limitations of the study	Non replicative reverse genetics entails the limit to single round infection experiments, such as in vitro and ex vivo models(35). Investigation of recombinant viruses in vivo would require replicative reverse genetics and can be considered only after approval of the pending regulamentation (see Ethical issues). The in vivo approach is strictly dependent on the possibility of infecting animals with SARS-CoV-2. The ICGEB runs a BSL3 with limited capacity for in vivo testing (space constraints limit the number of animals that could be tested). Although a new BSL3 is under construction as part of the AREA Science Park Pathogen Readiness Platform (PRP@CERIC) financed by the PNRR, we are facturing in possible delays in the implementation of this part of the project. Unresolvable issues that will put at risk the objectives will be mitigated by an already established collaboration with Matteo Iannacone at UniSR, co-author of the original study(1). A robust animal model for SARS-CoV-2 neuroinflammation amenable to genetic analysis is not available yet and building one is unfeasible for the current project. K18 hACE2 transgenic mice infected intranasally have a severe clinical course and show signs of neuroinvasion, but also atypical neuronal infection possibly due to overexpression of the receptor. Aereosol infection, that better mimics natural infection, didn't show signs of infection in the brain(36). It is possible that since more recent variants of SARS-CoV-2 are able to infect mice without hACE2 expression novel models will become available.

		Golden hamsters, which show a milder disease more similar to what happens in humans, maintain a sustained inflammatory pathology that extends well beyond clearance of the primary infection(37). In this unique report they observed that persistent inflammation in olfactory tissues of SARS-CoV-2–infected hamsters is accompanied by a change in behavior suggesting that chronic nasal and olfactory bulb inflammation may drive neurodegeneration and structural changes, consistent with long COVID symptoms. In our experience rat cortical tissue ex vivo is susceptible to SARS-CoV-2 infection with the ancestral strain. While no rat models have been published for COVID-19 to date, SARS-CoV-2 infection has been reported in domestic and wild animals, as well as in laboratory strains, we will therefore attempt to follow up the ex vivo studies using an in vivo rat model, with a contingency plan consisting in the Golden Syrian hamsters.The landscape of SARS-CoV-2 variants in circulation is rapidly evolving, posing an important challenge in the capacity to perform the study with the most recent variant in circulation. Our approach will be focused on the progenitors of the most relevant Omicron sublineages (BA.1/BA.2/BA.5), which nicely recapitulate the mutations observed in the proteins of interest and are then maintained in the most recent sublineages. Although, we will keep monitoring the newly emerging variants with high potential of spreading, with the aim to detect relevant mutations to be included in the ongoing studies for rapid characterization.
	Ethical issues	Research carried out within this project adheres to fundamental ethics principles: Declaration of Helsinki, Charter of Fundamental Rights of the EU, European Code of Conduct for Research Integrity. Objectives, methodologies and impact of the project do not present major ethical issues, as it does not foresee the use of human embryos, human data/treatment, substances or processes that may cause harm to the environment, animals or plants.These aspects have ethical dimension:-Use of human cells available commercially or from collaborators under Material Transfer Agreement.-Animal procedures will be in accordance with the Italian Animal Welfare Act and approved by the Local Veterinary Service, the ICGEB Ethics Committee board, and the National Ministry of Health under Directive 2010/63/EU.-This study will use pathogens classified as hazardous Level 3 and therefore handled in BSL3 facilities authorized for the manipulation of human pathogens available at ICGEB.-Dual-use research of concern (DURC) is under discussion and generation of infectious clones with gain of function potential will be performed only after risk assessment and formal approval by the Safety Committee of the ICGEB (hosting the BSL3 laboratory), and of the ISS according to national and international regulations. As a contingency plan, the project foresees the use of non-infectious viral replicons consisting in single-round replicative SARS-CoV-2 (disabled for infectivity), which pose no risk of spread(35
	Dissemination strategy	A Communication, Dissemination & Exploitation Plan will be designed and periodically reviewed, with the team leaders and relevant offices:- ICGEB Fundraising, Technology Transfer and Innovation office and Communications, Public Information & Outreach office;- AREA Communication office;- CNR “Unit Ufficio Stampa”It will address dissemination of scientific results for further internal and/or collaborative research, engagement with industry, and project communication. The scientific community will be targeted with the usual activities (conferences and open-access research articles in Q1 journals). Regular meetings with Tech

		Transfer offices will explore exploitation of results (see IP paragraph).The researchers will be involved in the outreach activities of each institution to carefully inform the public on the main intents of the project and its final achievements, trough in person activities (European Researchers' Night, Trieste Next, Science & the City) and communication of research results through institutional websites and social media (i.e. Twitter, LinkedIn, Facebook) and popular science magazines.The plan will also consider confidentiality aspects to implement measures aimed at avoiding the access of third parties to confidential information (publications, press articles, information technologies to be used). The partners shall treat by default as confidential any project information until a decision is made on its public release.
	Intellectual property	The OUs will manage the intellectual property (IP) in line with their IP policies. As a general rule, partners will make necessary Background IP available to the project for the implementation period; Foreground IP will be owned by the OU which developed it, or jointly owned based on the inventive contribution of each researcher. IP protection and management will be integrated and coordinated by the Lead Applicant. ICGEB can count on the Fundraising, Technology Transfer and Innovation office (FTI), which promotes research valorisation and tech-transfer to industry, working with the support of a Patent Law firm, the PatLib Center and the Market Development Office of Area Science Park. FTI manages ICGEB's IP and offers IP audit of research labs, patentability assessment, market analysis, assistance in preparation of patent applications, as well as promotion of partnerships with industry, and training on IPRs and entrepreneurship. FTI is part of national and European networks of TT professionals such as Netval, ASTP and the EC-JRC-TTO Circle. FTI will monitor project developments through periodical meetings with the Coordinating PI (every 6 months) aimed at ensuring the prompt identification of potential research results and the definition of the best strategies for IP protection, management, and exploitation, as well as support in the dissemination of protected and unprotected knowledge under the principle of "as open as possible as closed as necessary".
Budget detailed justification for each operative unit	UO1 – ICGEBConsumables: reagents for: molecular biology, biochemistry, cell biology, cost of animals, cost of facilities, BSL3 running costs. Fellowships: 36 person/month Arturo Falaschi international postdoctoral fellowship (www.icgeb.org/activities/fellowship/).Travel: travels for meetings and travels for project meetings and joint experiments.Publications: Open access international publications in the Q1.Other costs: dissemination of research results, software acquisition, cost of shipment of reagents, sub-contract with SISSA for the generation of iPS cells.Indirect costs: 10%UO2 - AREAConsumables: general lab disposables, cell culture media and reagents, reagents for reverse genetics (synthetic genes synthesis, yeast culture, transfection reagents, cell culture reagents, NGS sequencing), material for DNA cloning procedures (enzymes, DNA purification kits, sanger sequencing), reagents for single cells next generation sequencing.Fellowships: NATravel: travels for meetings and travels for project meetings and joint experiments.Publications: Open access international publications in the Q1.Other costs: dissemination of research results, software acquisition, cost of shipment of reagentsIndirect costs: 10%UO3 - CNRConsumables: general lab disposables; cell culture media and reagents; antibodies; laboratory kits and chemicals; oligonucleotides; Fellowships: postdoctoral fellowshipTravel: travels for meetings and travels for project meetings and joint experiments.Publications: Open access international publications in the Q1.Other costs: costs for subcontractors and reagent/sample shipmentIndirect costs: 10%	
Expertise and	OU1: The ICGEB is an intergovernmental organization with the mandate of fostering	

scientific excellence for each operative unit	research, capacity building and technology transfer in life sciences (www.icgeb.org). Alessandro Marcello leads the Laboratory of Molecular Virology, focussing on viru-host interactions and antiviral drug discovery. Diagnosis and surveillance activities focus particularly on the development of point-of-care low-cost devices and full-genome sequencing pipelines. Essential team members include Dr Tea Carletti, research associate with expertise in molecular virology and Dr Pamela Martinez-Orellana, a postdoctoral veterinary scientist with extensive experience working with respiratory viruses in vivo. The group also coordinates the activities of the BSL3.UO2: Giuditta De Lorenzo is a virologist at AREA Science Park (www.areasciencepark.it) with expertise in phenotypic characterisation and pathogenicity of SARS-CoV-2 VoCs matured at the Centre for Virus Research (UK). As part of the G2P-UK consortium, she contributed to study the fitness of Spike mutations(38), the immune evasive role of the Orf6/Orf9/Spike viral proteins(39–41) and the phenotypic changes in Omicron BA.1 Spike related to fusogenicity and virulence(42,43). In AREA she collaborates with the Laboratory of Genomics and Epigenomics (LAGE) and with the Laboratory of Data Engineering (LADE) that manage the computational infrastructure ORFEO (Open Research Facility for Epigenomics and Other).OU3: Fabrizio d'Adda di Fagagna is a PI at Istituto di Genetica Molecolare (IGM) of the CNR, specialized on the role of DDR in aging and cancer. He discovered a novel class of ncRNAs required for the activation of DDR in the context of brain aging and in neurodegenerative pathologies(3,4,44–46). Ubaldo Gioia is a co-PI at IGM-CNR working on RNA metabolism(47–51). He contributed to understanding the molecular mechanisms underlying VIDD accumulation, VIS and inflammation caused by SARS-CoV-2(1). IGM-CNR is one of the leading institutions in basic biomedical research in Italy. It is strongly connected to The FIRC Institute of Molecular Oncology (IFOM), a non-profit Centre of Excellence for Research. Facilities available through IFOM include high-throughput and single cell sequencing, super resolution imaging, stem cell culture and animal house units.
Other funds	The work in ICGEB related to SARS-CoV-2 is supported by grants from SNAM Foundation, Generali SpA, Beneficentia Stiftung, CARIPLO (INNATE-CoV) and the #FarmaCovid crowdfunding initiative.The SARS-CoV-2 work in Area Science Park is framed inside the Pathogen Readiness Platform (PRP@CERIC) financed by the PNRR. Giuditta De Lorenzo is supported by the PNRR - Young Researcher SoE fellowship (SOE_0000024) and was awarded a Marie Sklodowska-Curie individual fellowship (HORIZON-MSCA-2022-PF-01) (101105720).The CNR team is supported by: MIUR PRIN 2017 (2017NWEXEP) "RNA and genome stability"; MIUR PRIN 2020 (2020CXFL4T) "Interplay between genotoxic and mechanical stress in neurodegeneration"; PE8 Enlarged Partnership 8 – Age-It; CN3 "Gene Therapy and therapy based on RNA Technology" Spoke 6 "RNA Drug Development".
References	1.Gioia U, et al. SARS-CoV-2 infection induces DNA damage, through CHK1 degradation and impaired 53BP1 recruitment, and cellular senescence. Nat Cell Biol. In press2.Gupta A, Sharma S, et al. Telomere Length Homeostasis Responds to Changes in Intracellular dNTP Pools. Genetics. April 2013;193(4):1095–105.3.Aguado J, Sola-Carvajal A, et al. Inhibition of DNA damage response at telomeres improves the detrimental phenotypes of Hutchinson–Gilford Progeria Syndrome. Nat Commun. November 2019;10(1):4990.4. Rossiello F, Aguado J, et al. DNA damage response inhibition at dysfunctional telomeres by modulation of telomeric DNA damage response RNAs. Nat Commun. February 2017;8(1):13980.5.Mavrikaki M, Lee JD, Solomon IH, Slack FJ. Severe COVID-19 is associated with molecular signatures of aging in the human brain. Nat Aging. December 2022;2(12):1130–7.6.Lee S, Yu Y, Trimpert J, Benthani, et al. Virus-induced senescence is a driver and therapeutic target in COVID-19. Nature. November 2021;599(7884):283–9.7. Schmitt CA, Tchkonia T, Niedernhofer LJ, Robbins PD, Kirkland JL, Lee S. COVID-19 and cellular senescence. Nat Rev Immunol. October 2022;1–13.8.Marcello A, Civra A, Milan Bonotto R, et al. The cholesterol metabolite 27-hydroxycholesterol inhibits SARS-CoV-2 and is markedly decreased in COVID-19 patients. Redox Biol. September 2020;36:101682.9. Kong D, Park KH, Kim DH, Kim NG, et al. Cortical-blood vessel assembloids exhibit Alzheimer's disease phenotypes by activating glia after SARS-CoV-2 infection. Cell Death Discov. January 2023;9(1):1–13.10.Di Micco R, Krizhanovsky V, Baker D, d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. Nat Rev Mol Cell Biol. February 2021;22(2):75–95.11.Kehrer T, Cupic A, Ye C, Yildiz S, Bouhhadou M, Crossland NA, et al. Impact of SARS-CoV-2 ORF6 and its variant

polymorphisms on host responses and viral pathogenesis. bioRxiv. November 2022;2022.10.18.512708.12.Mears HV, Young GR, Sanderson T, et al. Emergence of new subgenomic mRNAs in SARS-CoV-2. bioRxiv; 2022: 13.Solomon T. Neurological infection with SARS-CoV-2 — the story so far. Nat Rev Neurol. February 2021;17(2):65–6.14. Andrews MG, Mukhtar T, Eze UC, et al. Tropism of SARS-CoV-2 for human cortical astrocytes. Proc Natl Acad Sci. July 2022;119(30):e2122236119.15.Ramani A, Mller L, et al. SARS-CoV-2 targets neurons of 3D human brain organoids. EMBO J. October 2020;39(20):e106230.16.Zhang BZ, Chu H, Han S, et al. SARS-CoV-2 infects human neural progenitor cells and brain organoids. Cell Res. October 2020;30(10):928–31.17.Kong W, Montano M, Corley MJ, et al. Neuropilin-1 Mediates SARS-CoV-2 Infection of Astrocytes in Brain Organoids, Inducing Inflammation Leading to Dysfunction and Death of Neurons. mBio. 31 October 2022;13(6):e0230822.18.Evangelou K, Veroutis D, Paschalaki K, et al. Pulmonary infection by SARS-CoV-2 induces senescence accompanied by an inflammatory phenotype in severe COVID-19: possible implications for viral mutagenesis. Eur Respir J. August 2022 19.Russo ET, Barone F, Bateman A, Cozzini S, Punta M, Laio A. DPCfam: Unsupervised protein family classification by Density Peak Clustering of large sequence datasets. PLOS Comput Biol. October 2022;18(10):e1010610.20.Yan WX, Mirzazadeh R, Garnerone S, et al. BLISS is a versatile and quantitative method for genome-wide profiling of DNA double-strand breaks. Nat Commun. May 2017;8(1):15058.21.Colombo VC, Sluydts V, Marin J, Vanden Broecke B, et al. SARS-CoV-2 surveillance in Norway rats (Rattus norvegicus) from Antwerp sewer system, Belgium. Transbound Emerg Dis. 2022;69(5):3016–21.22.Wang Y, Lenoch J, Kohler D, DeLiberto TJ, Tang C, Li T, et al. SARS-CoV-2 exposure in Norway rats (Rattus norvegicus) from New York City. bioRxiv; 2022. p. 2022.11.18.517156. 23. Fisher AM, Airey G, Liu Y, Gemmell M, et al. The Ecology of Viruses in Urban Rodents with a Focus on SARS-CoV-2. bioRxiv; 2023. p. 2023.01.07.523115. 24.Frank MG, Nguyen KH, Ball JB, et al. SARS-CoV-2 spike S1 subunit induces neuroinflammatory, microglial and behavioral sickness responses: Evidence of PAMP-like properties. Brain Behav Immun. February 2022;100:267–77.25.Limbad C, Doi R, McGirr J, et al. Senolysis induced by 25-hydroxycholesterol targets CRYAB in multiple cell types. iScience. February 2022;25(2). https://www.cell.com/iscience/abstract/S2589-0042(22)00118-326.Di Pierro F, Derosa G, Maffioli P, Bertuccioli A, Togni S, Riva A, et al. Possible Therapeutic Effects of Adjuvant Quercetin Supplementation Against Early-Stage COVID-19 Infection: A Prospective, Randomized, Controlled, and Open-Label Study. Int J Gen Med. 2021;14:2359–66.27. Petrillo AD, Orr G, Fais A, Fantini MC. Quercetin and its derivates as antiviral potentials: A comprehensive review. Phytother Res. January 2022;36(1):266.28.Domizio JD, Gulen MF, Saidoune F, Thacker VV, Yatim A, Sharma K, et al. The cGAS–STING pathway drives type I IFN immunopathology in COVID-19. Nature. March 2022;603(7899):145–51.29.Gunn A, Stark JM. I-SceI-Based Assays to Examine Distinct Repair Outcomes of Mammalian Chromosomal Double Strand Breaks. In: Bjergbæk L, curatore. DNA Repair Protocols. Totowa, NJ: Humana Press; 2012. p. 379–91. (Methods in Molecular Biology). 30.Ichikawa M, Muramoto K, Kobayashi K, Kawahara M, Kuroda Y. Formation and maturation of synapses in primary cultures of rat cerebral cortical cells: an electron microscopic study. Neurosci Res. February 1993;16(2):95–103.31.Licastro D et al. Isolation and Full-Length Genome Characterization of SARS-CoV-2 from COVID-19 Cases in Northern Italy. J Virol. May 2020;94(11). 32.Rajasekharan S et al. Inhibitors of Protein Glycosylation Are Active against the Coronavirus Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus SARS-CoV-2. Viruses. April 2021;13(5). 33.Milani M, Donalisio M, Bonotto RM, et al. Combined in silico and in vitro approaches identified the antipsychotic drug lurasidone and the antiviral drug elbasvir as SARS-CoV2 and HCoV-OC43 inhibitors. Antiviral Res. May 2021;189:105055.34. Bonotto RM, et al. Virucidal Activity of the Pyridobenzothiazolone Derivative HeE1-17Y against Enveloped RNA Viruses. Viruses. May 2022;14(6). 35.Zhang X, Liu Y, Liu J, et al. A trans-complementation system for SARS-CoV-2 recapitulates authentic viral replication without virulence. Cell. April 2021;184(8):2229-2238.e13.36.Fumagalli V, Rav M, Marotta D, et al. Administration of aerosolized SARS-CoV-2 to K18-hACE2 mice uncouples respiratory infection from fatal neuroinvasion. Sci Immunol. January 2022;7(67):eabl9929.37.Frere JJ, Serafini RA, Pryce KD, et al. SARS-CoV-2 infection in hamsters and humans results in lasting and unique systemic perturbations after recovery. Sci Transl Med. June 2022;14(664):eabq3059.38.Zhou J, Peacock TP, Brown JC, Goldhill DH, Elrefaey AME, Penrice-Randal R, et al. Mutations that adapt SARS-CoV-2 to mink or ferret do not increase fitness in the human airway. Cell Rep. February 2022;38(6):110344.39.Reuschl AK, Thorne

LG, Whelan MVX, Mesner D, et al. Enhanced innate immune suppression by SARS-CoV-2 Omicron subvariants BA.4 and BA.5. bioRxiv; 2022. p. 2022.07.12.499603. https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.07.12.499603v140.Bouhaddou M, Reuschl AK, Polacco BJ, Thorne LG, Ummadi MR, Ye C, et al. Global landscape of the host response to SARS-CoV-2 variants reveals viral evolutionary trajectories. bioRxiv; 2022 [. p.
2022.10.19.512927.
https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.10.19.512927v141.Lista MJ, Winstone H, Wilson HD, Dyer A, Pickering S, Galao RP, et al. The P681H Mutation in the Spike Glycoprotein of the Alpha Variant of SARS-CoV-2 Escapes IFITM Restriction and Is Necessary for Type I Interferon Resistance. J Virol. December 2022;96(23):e0125022.42. Willett BJ, Grove J, MacLean OA, Wilkie C, De Lorenzo G, Furnon W, et al. SARS-CoV-2 Omicron is an immune escape variant with an altered cell entry pathway. Nat Microbiol. July 2022;7(8):1161–79.43.Peacock TP, Brown JC, Zhou J, Thakur N, et al. The altered entry pathway and antigenic distance of the SARS-CoV-2 Omicron variant map to separate domains of spike protein. bioRxiv; 2022.p. 2021.12.31.474653. 44.Francia S, Michelini F, Saxena A, Tang D, de Hoon M, Anelli V, et al. Site-specific DICER and DROSHA RNA products control the DNA-damage response. Nature. August 2012;488(7410):231–5.45.
Michelini F, Pitchiaya S, Vitelli V, Sharma S, Gioia U, Pessina F, et al. Damage-induced lncRNAs control the DNA damage response through interaction with DDRNAs at individual double-strand breaks. Nat Cell Biol. December 2017;19(12):1400–11.46.Pessina F, Giavazzi F, Yin Y, Gioia U, Vitelli V, Galbiati A, et al. Functional transcription promoters at DNA double-strand breaks mediate RNA-driven phase separation of damage-response factors.
Nat Cell Biol. October 2019;21(10):1286–99.47.Gioia U, Laneve P, Dlakic M, et al. Functional Characterization of XendoU, the Endoribonuclease Involved in Small Nucleolar RNA Biosynthesis *. J Biol Chem. May 2005;280(19):18996–9002.48.Laneve P, Gioia U, Andriotto A, et al. A minicircuitry involving REST and CREB controls miR-9-2 expression during human neuronal differentiation. Nucleic Acids Res. November 2010;38(20):6895–905.
49.Bevilacqua V, Gioia U, Di Carlo V, Tortorelli AF, Colombo T, Bozzoni I, et al. Identification of linc-NeD125, a novel long non coding RNA that hosts miR-125b-1 and negatively controls proliferation of human neuroblastoma cells. RNA Biol. December 2015;12(12):1323–37.50. Gioia U, Di Carlo V, et al. Mir-23a and mir-125b regulate neural stem/progenitor cell proliferation by targeting Musashi1. RNA Biol. September 2014;11(9):1105–12.51.Laneve P, Di Marcotullio L, Gioia U, et al. The interplay between microRNAs and the neurotrophin receptor tropomyosin-related kinase C controls proliferation of human neuroblastoma cells. Proc Natl Acad Sci. May 2007;104(19):7957–62.

Time schedule	This a project of 2 years (24 months)-Personal recruitment (OU1/3). Months 1-2-Generation of stocks of viruses and acquisition reagents (OU1/2/3). Months 1-2.-Analysis of VIDD, VIS and inflammation in infected samples (OU1/2/3). Months 1-6 -Characterization of infection of hiPSCs-derived astrocytes, study of autocrine/paracrine SASP (OU1/3) Month 5-6.-Single cell transcriptomics analysis (OU1/2) Months 6-10-Definition of VIS/SASP in infected ex vivo rat cortical cells (OU1/2/3). Months 6-12-Analysis of VIDD, VIS and inflammation in cells expressing individual Omicron proteins (OU2/3) Months 4-9-Evaluation of virus-host protein interactome through biochemical approaches. (OU1/2) Months 7-13-Infection and study of virus-induced DD by BLISS and electron microscopy (OU1/3) Months 8-14-In silico prediction studies (OU2) Months 9-10-Generation of recombinant viruses (OU2) Months 11-14-Analysis impact of recombinant viruses on DDR, DD, VIS and inflammation (OU1/2/3) Months 14-16-Infection of animals and virological/neuropathogenic parameters of outcome (OU1/2/3) Months 13-24-Study of VIDD at telomeres upon SARS-CoV-2 infection (OU1-3) Months 12-18-tASO administration and evaluation of their impact on DDR, DD, VIS and inflammation in infected samples (OU1/2/3) Months 12-18-Antiviral activity on senotherapeutics, combination with tASOs and cGAS inhibitors (OU1/2/3) Months 15-24

Budget

Unità Operativa 2

Tipologia	**ANNO 1**	**ANNO 2**	**Descrizione**
Materiali di Consumo	40.000 €	38.000 €	reagenti per genetica inversa (sintesi di geni sintetici, coltura di lievito, reagenti di trasfezione, reagenti per coltura cellulare, sequenziamento ngs), materiale per procedure di clonazione del DNA (enzimi, kit di purificazione del DNA, sequenziamento sanger), reagenti per NGS singole cellule
Personale	-	-	
Viaggi	1.500 €	3.500 €	Viaggi per conferenze
Pubblicazioni	-	3.000 €	
Altri Costi Diretti	-	3.000 €	
Subtotale	41.500 €	47.500 €	
Costi Indiretti	4.150 €	4.750 €	
Totale	97.900 €		