

# Il nascondiglio di HIV

di **Donato Ramani**

Dove si nasconde il genoma del virus HIV, dopo essere entrato nella cellula? Lo ha scoperto un gruppo di ricercatori dell'ICGEB di Trieste. E il racconto di questo percorso di ricerca offre spunti originali per affrontare in classe la biologia cellulare e molecolare con un aggancio all'attualità.



Hashim Ali, Bruna Marini e Marina Lusic, dell'équipe del professor Mauro Giacca

**G**li hanno dato la caccia grazie a tecniche raffinate, un gran lavoro e una buona dose di intuito. A guidarli una massima che si è rivelata azzeccata: “A volte, le cose sono più semplici di come immagineremmo”. Così, i ricercatori del gruppo di medicina molecolare guidato da Mauro Giacca all'ICGEB (Centro internazionale per l'ingegneria genetica e le biotecnologie) di Trieste sono riusciti ad arrivare a un risultato molto importante nella ricerca su HIV, il virus

responsabile dell'AIDS: l'hanno stanato: hanno cioè capito dove nasconde il suo genoma all'interno del nucleo della cellula. Si tratta di un traguardo senza precedenti – premiato con una pubblicazione sulla rivista scientifica Nature – che da un lato apre nuove prospettive di ricerca, dall'altro mette in luce, ancora una volta, l'estrema efficienza con la quale il parassita ottimizza il processo di infezione, eclissandosi in un posto tanto banale quanto scaltro: proprio dietro la porta attraverso cui è entrato.

### I "POSTI CALDI" PREFERITI DA HIV

È Bruna Marini, biologa e prima autrice di questo lavoro, a raccontare i dettagli della scoperta: «Quando il virus HIV infetta un linfocita T, cellula del sistema immunitario che rappresenta il suo bersaglio, il suo primo compito è raggiungere il nucleo della cellula stessa, dov'è contenuto il materiale genetico. Qui il genoma virale, che è a RNA, viene trascritto in DNA e integrato nei cromosomi dell'ospite». In questo modo diventa impossibile estirparlo, essendo ormai parte integrante del DNA cellulare. Dalla sua nuova posizione, inoltre, il genoma virale può cominciare a sovrintendere alla produzione di nuovi virus che, usciti dalla cellula, continueranno a infettare l'organismo. I ricercatori si sono chiesti a lungo se, in questo processo, il genoma virale finisse per inserirsi in zone particolari e specifiche del genoma ospite. «In effetti sì, lo fa: preferisce zone che chiamiamo hot spots» spiega Marini. «Se andiamo a cercare il genoma virale in una cellula infettata, lo troveremo proprio in questi "posti caldi". Il problema è che, finora, non si riusciva a capire cosa avessero di speciale questi posti: non si trovavano elementi che li accomunassero, né ragioni particolari perché dovessero essere preferiti dal virus.» Ci si concentrava sulle caratteristiche di queste sequenze di DNA, sulla loro possibile funzione, ma, racconta Marini, non era quello il modo giusto per venire a capo del problema.

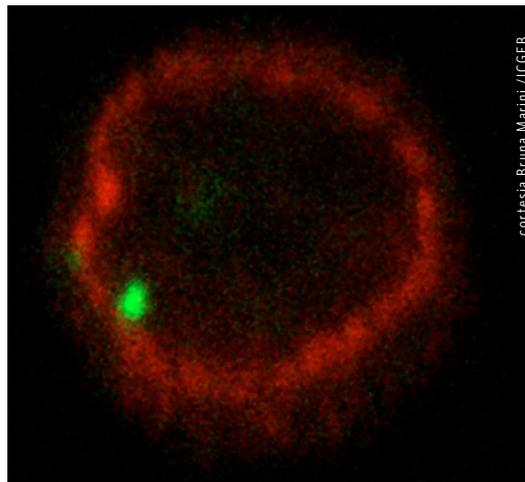
### UNA SOLUZIONE SEMPLICE E FUNZIONALE

«A volte, nella ricerca ci si ostina su cose complicate perdendo di vista le spiegazioni più semplici.

Il genoma di HIV, una volta entrato attraverso i pori nucleari – veri e propri canali che attraversano la membrana del nucleo e servono per lo scambio di materiali con il citoplasma cellulare – si piazza, banalmente, nel primo posto disponibile. Ovvero, quello più vicino al poro stesso.» La metafora che i ricercatori del gruppo di Giacca utilizzano per spiegare il comportamento del virus è quella dell'ingresso al cinema, a film già iniziato: appena entrati in sala tendiamo a occupare le prime sedie disponibili. Conferma Marini: «Il genoma virale si comporta allo stesso modo.

I cromosomi nel nucleo occupano posizioni precise, in un'architettura definita. Gli hot spots nei quali si inserisce il DNA di HIV non sono altro che le parti di cromosoma più vicine ai pori di ingresso. Per il virus è una strategia semplice e funzionale». Se il suo genoma dovesse permanere a lungo nel nucleo, infatti, rischierebbe di essere danneggiato o di attivare meccanismi di risposta all'infezione. Nascondendosi subito, proprio dietro al cancello

di ingresso, le possibilità di essere scoperto e annientato diminuiscono drasticamente. Ma non è tutto: «La posizione scelta dal virus è favorevole anche per una seconda ragione. Una volta integrato, sullo stampo del DNA virale vengono prodotte moltissime copie di RNA, dalle quali avranno origine tutte le componenti del virus, che si trasferiscono nel citoplasma per cominciare il processo di produzione di nuove particelle infettive. Stare vicino all'uscita dal nucleo rende il loro viaggio molto più agevole».



cortesia Bruna Marini / ICGEB

La sezione di un nucleo di linfocita T umano infettato con HIV. In verde è marcato il genoma virale, e in rosso i pori nucleari che appaiono come un anello corrispondente alla membrana nucleare

### LA RICERCA, PASSO PER PASSO

Per arrivare a queste informazioni, Marini e colleghi hanno proceduto utilizzando una tecnica di analisi chiamata FISH (Fluorescent in situ hybridization), che permette di visualizzare la localizzazione di particolari sequenze di DNA sui cromosomi, grazie a "sonde" marcate con molecole fluorescenti. «Per prima cosa – spiega in dettaglio la ricercatrice – abbiamo spezzettato in provetta un genoma virale e ad ogni frammento abbiamo "legato" una molecola fluorescente che funziona come una bandierina di segnalazione. Così abbiamo creato quelle che in gergo sono chiamate sonde.» Il passo successivo è stata la preparazione delle cellule infettate dal virus, provenienti da sangue di pazienti, sulle quali condurre l'analisi. Tra i trattamenti, c'è un processo di riscaldamento che porta all'apertura della doppia elica dei cromosomi, così che quando questi vengono messi in contatto con le sonde – che sono a singolo filamento – si ha l'appaiamento di eventuali sequenze complementari. «In pratica, se nei cromosomi si è integrato del genoma virale, le sonde lo riconoscono in maniera specifica e vi si legano.» Infine, le cellule trattate e depositate su un vetrino sono state osservate grazie a un microscopio confocale a fluorescenza, che

permette di visualizzare in maniera molto precisa strutture intracellulari: «Le sonde legate al DNA virale integrato nei cromosomi, rese visibili grazie alle molecole fluorescenti, si potevano ammirare come dei pallini verdi» spiega Marini. «La cosa interessante è che tutti questi pallini erano in corrispondenza dei pori nucleari.» Ecco svelato il mistero.

#### UN LAVORO LUNGO E IMPEGNATIVO

Spiegare una ricerca conclusa con successo fa apparire tutto come un procedimento lineare e di ridotta complessità. Cosa che, evidentemente, non è. L'intera procedura ha richiesto una quantità elevatissima di esperimenti e più di 4 anni di lavoro. Conferma Marini: «Il processo sembra abbastanza facile, ma è invece delicatissimo, occorre porre un'attenzione incredibile in ogni parte, soprattutto per non alterare in alcun modo le strutture cellulari. In ogni passaggio qualcosa può andare storto e il risultato si vede solo alla fine. Questo significa che, se si è fatto un errore, emerge troppo tardi e si buttano via dieci giorni di lavoro. Quante volte abbiamo ripetuto l'esperimento? Ho perso il conto, comunque tantissime.»

#### DALLA RICERCA DI BASE ALLE POSSIBILI APPLICAZIONI

Quali potranno essere le possibili ripercussioni di questa ricerca? Spiega Marini: «Questa è una scoperta di base, che non ci dà armi dirette contro il virus. Ma certamente più cose si sanno sul suo funzionamento, sul suo cammino nella cellula e sulla sua riproduzione, maggiori



credit: la Bruna Marini / ICGEB

Un microscopio confocale

saranno le possibilità di sbarrargli la strada, con possibili terapie mirate». Per esempio, nell'ambito di questa stessa ricerca, gli studiosi hanno scoperto che anche la struttura del poro nucleare – che è composta da molecole chiamate nucleoporine – aiuta in qualche modo l'azione del virus: infatti, modificandola, HIV si riproduce in maniera meno efficace: «Questo fa pensare che ci sia un qualche tipo di contatto tra il virus e le strutture del poro. I particolari non li conosciamo, ed è troppo presto per fare previsioni, ma in uno scenario futuro, studiare un modo per bloccare questa interazione potrebbe essere una via da percorrere per lo sviluppo di un nuovo approccio terapeutico. In queste ricerche si ragiona a piccoli passi. Ognuno di essi, però, è fondamentale per arrivare a un risultato più grande». ●

#### PER APPROFONDIRE

- B. Marini *et al.*, *Nuclear architecture dictates HIV-1 integration site selection*, in *Nature*, 2 marzo 2015.
- D. Ramani, *Al lavoro con cuori e molecole. Intervista a Mauro Giacca*, in *Linx Magazine*, n.15, aprile 2013, p. 4. [link.pearson.it/C7597EB7](http://link.pearson.it/C7597EB7)
- Le analisi cromosomiche, materiale didattico di CusMiBio. [link.pearson.it/EB19E96D](http://link.pearson.it/EB19E96D)

#### Donato Ramani

è giornalista e project manager del Master in comunicazione della scienza Franco Pratico della SISSA di Trieste.

Si occupa di formazione in comunicazione scientifica e scrive per diverse testate di scienza e non solo.

