

*Importanti risultati nella lotta contro l'HIV grazie alla tecnologia gene editing messa a punto da un gruppo di ricercatori USA guidati dal prof. Kamel Khalili della Temple University di Philadelphia e in Italia dal prof. Pasquale Ferrante dell'Università degli Studi di Milano. Ottenuto il blocco della replicazione virale ancora prima che essa diventi produttiva. Lo studio è stato pubblicato nei giorni scorsi dalla rivista "Scientific Reports"*



Milano, 6 ottobre 2016 – Da più di tre decenni, in seguito alla scoperta del virus HIV-1, l'AIDS rappresenta un gravissimo problema di salute pubblica, che coinvolge più di 35 milioni di persone nel mondo.

Le attuali terapie antiretrovirali, pur essendo clinicamente efficaci, non sono in grado di eliminare l'infezione da HIV-1, sia per l'elevata variabilità genomica del virus che a causa della sua persistenza all'interno di diversi reservoir cellulari. Per questo motivo le ricerche in questo ambito si sono orientate verso lo sviluppo di nuove strategie che permettano di eradicare il DNA provirale che si integra durante la replicazione dell'HIV stabilmente nel genoma delle cellule infettate.

Il gruppo di ricerca del Department of Neuroscience della Temple University di Philadelphia, guidato dal prof. Kamel Khalili, in collaborazione con il prof. Pasquale Ferrante del Dipartimento di Scienze Biomediche, Chirurgiche ed Odontoiatriche dell'Università degli Studi di Milano, ha sfruttato la tecnologia Cas9/guide RNA (gRNA) per separare specificamente il genoma di HIV-1 dalle cellule infettate persistentemente, sopprimendo così l'espressione genica e la replicazione virale nelle cellule della microglia, nei promonociti e nelle cellule T. In questo modo il prof. Khalili, lavorando su cellule infette provenienti da pazienti HIV positivi, ha dimostrato la possibilità di eradicare il genoma del virus dalle cellule infette.

Nello studio recentemente pubblicato su *Gene Therapy* (2016, 23: 690-695) è stata adottata una versione modificata della tecnologia, denominata saCas9: l'endonucleasi Cas9, insieme a diverse gRNAs è stata utilizzata per rimuovere segmenti clinicamente importanti del progenoma di HIV-1, ossia le sequenze comprese tra l'estremità LTR al 5' e il gene Gag.

Il sistema saCas9/gRNA è stato veicolato grazie ad un vettore ricombinante adenovirale, iniettato nella coda di topi transgenici ed il risultato ottenuto è stato soddisfacente, dal momento che si è ottenuta

l'asportazione delle 978 paia di basi di HIV-1, che rappresentavano il target genomico prescelto, in tutti i tessuti murini analizzati: milza, fegato, cuore, polmoni, reni e linfociti circolanti. In questo modo, per la prima volta, è stato dimostrato che è possibile togliere in vivo il genoma provirale di HIV-1, mediante il sistema CRISPR/Cas9 veicolato da un vettore adenovirale, in grado di raggiungere tutti i distretti corporei infetti.

In pratica i ricercatori Khalili e Ferrante, attraverso una specifica tecnologia, cercano di eliminare il genoma del virus HIV-1 dalle cellule infettate, sopprimendo così la replicazione virale nei luoghi in cui il virus si nasconde anche quando non è identificabile nel sangue (le già citate cellule della microglia, promonociti e cellule T del sangue). Nei topi, grazie ad un adenovirus che ha portato le informazioni, si sono eliminate le basi chiave del patrimonio genetico per la replicazione del virus.

### **I nuovi risultati degli studi Khalili-Ferrante pubblicati dalla rivista "Scientific Reports"**

Il prof. Kamel Khalili ha illustrato oggi i nuovi risultati raggiunti dal suo gruppo di ricercatori dei quali fa parte anche la dott.ssa Ramona Bella, dottoranda di Medicina Molecolare e Traslazionale presso l'Università degli Studi di Milano. Il team che in Italia conta sul lavoro del prof. Ferrante ha raggiunto nuovi considerevoli risultati nella lotta contro l'infezione da HIV-1.

La tecnologia gene editing, basata sull'attività del complesso molecolare CRISPR/Cas9, già messa a punto per l'asportazione del genoma del virus HIV-1 dall'ospite, è stata ulteriormente migliorata, permettendo lo sviluppo di una strategia che induca l'attivazione dell'enzima Cas9 solo in concomitanza con le prime fasi della replicazione virale. Questo è stato possibile facendo in modo che sia una proteina del virus stesso, la proteina Tat, a promuovere l'esclusione del genoma virale, attivando l'intervento di Cas9.

La conseguenza di questa innovazione è il blocco della replicazione virale, ancora prima che essa diventi produttiva, oltre alla diminuzione dei possibili effetti collaterali, dovuti all'espressione continua di Cas9.

Il prof. Pasquale Ferrante del Dipartimento di Scienze Biomediche, Chirurgiche ed Odontoiatriche dell'Università degli Studi di Milano e Direttore Scientifico dell'Istituto Clinico Città Studi ha sottolineato che: "I risultati di questi studi, a differenza di altre terapie che riducono o bloccano la replicazione senza però eliminare il virus, mirano all'eradicazione dell'HIV. Ciò comporterà una diminuzione dei costi per le terapie a fronte di esiti sicuramente positivi nella cura dei pazienti. Va ricordato che questi risultati sono stati resi possibili dopo i fondamentali studi realizzati da diversi ricercatori tra il 2007 e il 2012 che hanno portato all'utilizzo mirato di Cas9, le cosiddette forbici molecolari".

"Nel prossimo futuro – evidenzia il prof. Ferrante – continueremo la ricerca per perfezionare i risultati al fine di ottenere l'autorizzazione della FDA per iniziare il percorso verso la sperimentazione sull'uomo che speriamo possa essere avviata tra pochi anni. Ricordo infine, che questo convegno è stato reso possibile grazie all'intervento dell'Istituto Clinico Città Studi, ospedale che dedica forte attenzione alla ricerca in diverse aree mediche".

La giornata è organizzata nell'ambito del progetto "L'Istituto Clinico Città Studi per la scienza".

*fonte: ufficio stampa*