

## Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

**Влияние мутаций каталитического домена интегразы ВИЧ-1 на ее каталитическую и ДНК-связывающую активности**

**Шадрина Ольга Алексеевна**

Студент

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет  
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: oashadrina92@gmail.com

Интеграза — один из основных ферментов вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1), катализирует встраивание ДНК-копии вируса в клеточную ДНК. Интеграза обладает двумя активностями, первая из них — реакция 3'-процессинга — заключается в отщеплении динуклеотида GrT с 3'-конца каждой цепи ДНК вируса. Вторая — реакция переноса цепи — заключается во встраивании процессированной вирусной кДНК в ДНК клетки-хозяина. Реакции 3'-процессинга и переноса цепи могут быть воспроизведены *in vitro* с использованием рекомбинантной интегразы и синтетических ДНК-дуплексов, соответствующих концевым последовательностям вирусной кДНК.

Интеграза ВИЧ-1 - необходимый для репликации вируса фермент, не имеющий гомологов в клетке, поэтому она является привлекательной мишенью для создания ингибиторов ВИЧ-инфекции. К настоящему времени первое поколение ингибиторов интегразы ВИЧ-1 (ралтегравир (RAL) и элвитегравир (EVG)) допущено к терапевтическому применению. Эти препараты являются ингибиторами переноса цепи и действуют по одному механизму, препятствуя взаимодействию интегразы с клеточной ДНК. Однако показано, что благодаря мутациям в гене интегразы вирус быстро приобретает устойчивость к RAL и EVG. Наличие низкого генетического барьера устойчивости к ингибиторам переноса цепи первого поколения привело к разработке ингибиторов второго поколения, МК-2048 и долутегавира, с активностью против RAL- и EVG-устойчивых штаммов вируса. В ходе их клинических испытаний был также обнаружен ряд новых, еще не охарактеризованных мутаций, расположенных в каталитическом домене интегразы и приводящих к устойчивости вируса.

Цель настоящей работы — охарактеризовать влияние мутаций каталитического домена интегразы, вызывающих устойчивость к ингибиторам первого и второго поколения, на активность интегразы из вирусов подтипов А и В. Эти подтипы являются одними из основных подтипов ВИЧ-1, причем подтип А, наиболее распространенный на территории России, остается мало изученным. В ходе работы проведен сайт-направленный мутагенез ряда аминокислотных остатков каталитического домена интегразы ВИЧ-1 подтипов А и В. Успешность проведения мутагенеза подтверждена секвенированием. Выделены и охарактеризованы белки с первичными и вторичными мутациями, исследованы ДНК-связывающая и каталитическая активности мутантных ферментов. Обнаружены аминокислотные остатки, замена которых приводит к полной или частичной инактивации интегразы: уменьшение эффективности связывания субстрата, 3' процессинга и реакции переноса цепи. Проведено сравнение влияния одних и тех же мутаций на интегразу ВИЧ-1 разных подтипов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 11-04-01586.