**Изучение взаимодействия интегразы ВИЧ-1 с белком VBP1**

***Сибирцев А.М.1***

*Студент, 5 курс специалитета*

*1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: sibircev01@gmail.com*

За последние три десятилетия антиретровирусная терапия привела (АТР) к значительному снижению смертности среди больных ВИЧ. Однако, с повышением доступности лекарственных препаратов, особенно в развитых странах, увеличивается распространенность устойчивых штаммов ВИЧ-1, которые встречаются даже у пациентов, которые никогда не получали АТР. Таким образом до сих пор существует потребность в поиске новых противовирусных препаратов, которые не будут или будут в меньшей степени вызывать появление резистентных штаммов ВИЧ-1. Новым и перспективным подходом к созданию таких препаратов является подавление взаимодействия вирусных белков с клеточными партнерами, необходимыми для успешной репликации вируса. Развитие устойчивости к таким препаратам маловероятно, так как последовательность белков в месте взаимодействия сильно консервативна [1].

В настоящей работе исследовано взаимодействие интегразы ВИЧ-1 белка VBP1, который был идентифицирован, как ее клеточный партнер по данным коиммунопреципитации и двухгибридного анализа [2]. Предполагается, что белок VBP1 участвует в деградации интегразы после этапа интеграции, которая необходима для успешной транскрипции вирусных генов [3].

С помощью обратной транскрипции с клеточной мРНК, последующей ПЦР и клонирования были получены векторы прокариотической и эукариотической экспрессии белка VBP1, соответственно pGEX-6p-1-GST\_VBP1 и pcDNA\_3.1\_VBP1\_3Flag, последовательности которых были подтверждены секвенированием.

Было исследовано связывание рекомбинантного белка VBP1 c полноразмерной интегразой, содержащей His6-таг на N-конце. Для этого бактериальные клетки E.coli BL21(DE3) Codon Plus/pLysS трансформировали полученным вектором pGEX-6p-1-GST\_VBP1. Экспрессию целевого белка индуцировали раствором IPTG. Способность рекомбинантного VBP1 взаимодействовать c интегразой ВИЧ-1 была исследована с помощью метода соосаждения на Ni-NTA-агарозе или глутатион-агарозе с последующей детекцией белков вестерн-блоттингом.

Кроме того, к белку VBP1 была подобрана миРНК и оценено, как влияет изменение его внутриклеточной концентрации (нокдаун или суперэкспрессия) на экспрессию репортерного белка люциферазы, находящегося под контролем CMV промотора, в клетках HEK 293T, трансфецированных VSV-G-псевдотипированным репликативно-некомпетентным вектором на основе ВИЧ-1.

*Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда
№ 22-14-00073*

**Литература**

1. Lingappa, J.R.; Lingappa, V.R.; Reed, J.C. Addressing Antiretroviral Drug Resistance with Host-Targeting Drugs—First Steps towards Developing a Host-Targeting HIV-1 Assembly Inhibitor// Viruses. 2021. Vol. 13. P. 451-470.

2. Rain, J.C.; Cribier, A.; Gérard, A.; et al. Yeast two-hybrid detection of integrase–host factor interactions// Methods. 2009. Vol. 47. P. 291-297.

3. Mousnier, A.; Kubat, N.; Massias-Simon, A.; et al. von Hippel–Lindau binding protein 1-mediated degradation of integrase affects HIV-1 gene expression at a postintegration step// Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2007. Vol. 104. P. 13615-13620.