

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Влияние мутаций лекарственной устойчивости на каталитическую активность интегразы ВИЧ-1 и ее чувствительность к ингибиторам переноса цепи

Шадрина Ольга Алексеевна

Студент

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

E-mail: oashadrina92@gmail.com

Одним из основных ферментов в жизненном цикле вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) является вирусная интеграна, которая катализирует 3'-процессинг вирусной ДНК и ее встраивание в ДНК клетки хозяина (реакцию переноса цепи). Интеграна - привлекательная мишень для создания ингибиторов ВИЧ-инфекции. К настоящему времени первое поколение ингибиторов интегразы ВИЧ-1 (ралтегравир и элвитегравир) допущено к терапевтическому применению. Эти препараты являются ингибиторами переноса цепи и действуют по одному механизму, препятствуя взаимодействию интегразы с клеточной ДНК. У пациентов и на культуре тканей показан ряд мутаций в гене интегразы, приводящих к возникновению устойчивости вируса к ралтегравиру и элвитегравиру. В ходе клинических испытаний ингибитора интегразы второго поколения – долутегравира – были также обнаружены новые мутации, уменьшающие восприимчивость вируса к этому препарату.

На основе анализа литературных данных нами были отобраны несколько аминокислотных замен в каталитическом домене интегразы, вызывающих наибольшую устойчивость вируса к ингибиторам переноса цепи: G118R, E138K, G140S, Q148K. Целью работы было сравнить влияние этих мутаций на активность интегразы из подтипов А и В ВИЧ-1. ВИЧ-1 подтипа В доминирует в США и Западной Европе и его интеграна является хорошо изученной; в литературе есть данные по влиянию ряда аминокислотных замен на ее активность. Для интегразы вируса подтипа А таких данных нет и нам было важно их получить, поскольку этот подтип ВИЧ-1 наиболее распространен на территории России и стран СНГ.

В ходе работы был проведен сайт-направленный мутагенез указанных аминокислотных остатков в каталитических доменах интеграз ВИЧ-1 подтипов А и В. Выделено 14 белков с одной или двумя заменами, исследованы каталитические свойства всех мутантных ферментов, протестировано влияние мутаций на восприимчивость ферментов к ралтегравиру, элвитегравиру и новому ингибитору переноса цепи XZ-259. Обнаружены аминокислотные остатки, замена которых приводит к полной или частичной инактивации интегразы, показаны вторичные мутации, частично восстанавливающие ее активность в реакциях 3'-процессинга и переноса цепи. Оказалось, что интеграна подтипа А с этими мутациями более чувствительна ко всем протестированным ингибиторам, чем подтипа В. Показано разное влияние замены G118R на активность ферментов из разных подтипов в реакции переноса цепи. Остальные замены оказывали одинаковое влияние на активность интеграз подтипов А и В ВИЧ-1.