**Взаимодействие интегразы ВИЧ-1 с белком VBP1  
 и его роль в жизненном цикле вируса**

***Сибирцев А.М.***

*Студент, 6 курс специалитета*

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

*химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: sibircev01@gmail.com*

Новым и перспективным подходом к созданию препаратов антиретровирусной терапии 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 и 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 экспрессии вирусных генов [3].

К белку VBP1 была подобрана миРНК и оценено, как влияет изменение его внутриклеточной концентрации 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. Оказалось, что снижение внутриклеточной концентрации VBP1 подавляет репликацию вируса. В условиях нормальной концентрации белка VBP1 и нокдауна также были определены количества тотальной, интегрированной и репарированной вирусной ДНК, что позволило определить, что изменение количества исследумого белка в клетке влияет на стадию постинтеграционной репарации вируса.

Было исследовано связывание рекомбинантного белка VBP1, содержащего на N-конце GST-таг, c полноразмерной интегразой, содержащей His6-таг на N-конце, либо ее делеционных мутантов для определения участка связывания с исследуемым белком со стороны интегразы, для того, чтобы в дальнейшем получить вирус, содержащий мутантную интегразу, неспособную взаимодействовать с VBP1. Для этого воспользовались методом соосаждения указанных белков на Ni-NTA-агарозе или глутатион-агарозе с последующей детекцией белков вестерн-блоттингом. В результате было обнаружено, что в связывании VBP1 принимают участие остатки 51-160 каталитического домена интегразы. Поскольку вирус, содержащий мутации в указанном участке будет нежизнеспособен, мы решили определить участок связывания интегразы в соcтаве VBP1.

Методом сайт-направленного мутагенеза были получены векторы для экспрессии делеционных мутантов VBP1 с GST-тагом на N-конце для определения участка связывания с интегразой со стороны исследуемого белка. Наработку делеционных мутантов вели в условиях аналогичных выделению полноразмерного белка VBP1.

*Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова, регистрационный номер 121031300037-7.*

**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.