

Изучение взаимодействия интегразы ВИЧ-1 с ДНК-субстратом в присутствии фактора транскрипции LEDGF.

***Прокофьев Олег Николаевич, Агапкина Юлия Юрьевна,
Королев Сергей Павлович, Смолов Максим Александрович***
Химический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия
E-mail: Kollega_best@mail.ru

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1) поражает иммунную систему человека и вызывает СПИД. Важным этапом развития вируса является интеграция вирусной ДНК в клеточную. Этот процесс состоит из двух реакций – 3'-концевого процессинга (отщепление динуклеотида GT с 3'-конца вирусной ДНК) и встраивания процессированной ДНК в геном человека. Обе реакции катализируются одним вирусным ферментом – интегразой. Точная структура интегразы не определена. Знание структуры фермента облегчит создание ингибиторов, способных полностью прекратить развитие вируса. Строение и функционирование интегразы изучают *in vitro* на ДНК- дуплексах, имитирующих концевые последовательности вирусной ДНК.

В клетке интеграна действует в комплексе с клеточными и вирусными белками. Было найдено, что клеточный фактор транскрипции p75/LEDGF взаимодействует с интегразой в ходе ее функционирования. Было решено исследовать взаимодействие интегразы с модельным ДНК-субстратом в присутствии p75/LEDGF.

Изучалась кинетика 3'-процессинга 21-звенного и 40-звенного субстратов интегразой в присутствии p75/LEDGF. Кинетическая кривая процессинга 40-звенного субстрата отличалась от процессинга 21-звенного отсутствием начальной S-образной фазы, увеличением скорости, а так же эффективности переноса цепи. На основе этих результатов и данных о структуре комплекса интеграна-LEDGF, был сделан вывод, что в составе этого комплекса облегчается формирование продуктивного комплекса интеграна-ДНК.

Контакты интегразы с ДНК в присутствии LEDGF изучали методом афинной модификации. Использовались аналоги ДНК-субстратов интегразы, содержащие альдегидную или йодацетамидную группировку в 2'-положениях рибозы в различных нуклеотидах. Ковалентные комплексы белка и ДНК образуются при взаимодействии альдегидной группировки с аминогруппами остатков лизина и йодацетамидной группировки с тиоловой группой остатков цистеина. Для всех положений модификаций наблюдалось образование конъюгатов с интегразой и с LEDGF.

Работа поддержана грантами РФФИ 05-04-48743_a, РФФИ-НЦНИ 04-04-22000_a, МНТЦ 3197р.