

Мишени DNA-РК, WRN и RAD51, негативно регулируют репликацию ВИЧ-1

Научный руководитель – Анисенко Андрей Николаевич

Кан Марина Петровна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: marinakan2205@mail.ru

Интеграция вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) является источником различных повреждений ДНК. Репарация этих повреждений необходима для эффективной репликации ВИЧ-1. Ключевую роль в этом процессе играет комплекс ДНК-зависимой протеинкиназы (DNA-РК) [3]. Подавление фосфорилирующей активности DNA-РК негативно сказывается на репликации ВИЧ-1 за счет нарушения постинтеграционной репарации [1]. Следовательно, мишени DNA-РК могут также принимать участие в постинтеграционной репарации ВИЧ-1.

Мы составили список из 66 известных мишеней DNA-РК на основании данных 58 статей. Отталкиваясь от этого списка, мы протестировали эффекты временного подавления экспрессии 10 генов из списка на трансдукцию псевдовиром на основе генома ВИЧ-1. Мы идентифицировали два негативных фактора репликации ВИЧ-1: RAD51 и WRN, -нокдаун которых приводил к 8-10 кратному увеличению продукции люциферазы, закодированной в геноме псевдовируса. Интересно, что для RAD51 этот эффект был показан ранее, а также изучен механизм его участия в репликации ВИЧ-1: RAD51 подавляет активность интегразы, снижая общий уровень интегрированных провирсов [2].

Поскольку DNA-РК может фосфорилировать WRN и это может объяснять наблюдаемые эффекты, мы изучили эффект ингибирования фосфорилирующей активности DNA-РК в клетках Нек293Т, обработанных контрольной siРНК или siWRN. Мы установили, что эффекты WRN на репликацию ВИЧ-1 не связаны с активностью DNA-РК.

Анализ литературы позволил выяснить, что WRN является позитивным регулятором транскрипции с LTR-промотора ВИЧ-1 [4]. Однако, в нашей системе транскрипция люциферазы осуществляется с CMV-промотора. При проверке трансдукции псевдовиром на основе генома ВИЧ-1, в котором люцифераза находится под LTR промотором, мы обнаружили слабое снижение продукции Luc в siWRN-обработанных клетках. Очевидно, что WRN действует по-разному на ранние и поздние этапы репликации ВИЧ-1.

Дальнейшее изучение механизма действия WRN важно для понимания того, как клеточные факторы хозяина и белки ВИЧ-1 взаимодействуют в клетках человека. Это позволит детальнее изучить жизненный цикл вируса и найти потенциальные мишени для разработки лекарств.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-74-10021.

Источники и литература

- 1) Anisenko A. N., Knyazhanskaya E. S., Isaguliants M. G., and Gottikh M. B. A qPCR assay for measuring the post-integrational DNA repair in HIV-1 replication // J. Virol. Methods, vol. 262, pp. 12–19, Dec. 2018.
- 2) Desfarges S. et al. Chromosomal integration of LTR-flanked DNA in yeast expressing HIV-1 integrase: down regulation by RAD51 // Nucleic Acids Res., vol. 34, no. 21, pp. 6215–24, 2006.

- 3) Knyazhanskaya E. et al. NHEJ pathway is involved in post-integrational DNA repair due to Ku70 binding to HIV-1 integrase // *Retrovirology*, vol. 16, no. 1, Nov. 2019.
- 4) Sharma A. et al. The werner syndrome helicase is a cofactor for HIV-1 long terminal repeat transactivation and retroviral replication // *J. Biol. Chem.*, vol. 282, no. 16, pp. 12048–12057, Apr. 2007.