

Функциональная роль кчдДНК ВГВ в перераспределении активности АРОВЕС между ккзДНК и клеточными мишенями при хронической инфекции.

Научный руководитель – Костюшев Дмитрий Сергеевич

Пономарев Борис Максимович

Студент (специалист)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Россия

E-mail: botiska5@gmail.com

Хронический гепатит В(ХГВ) остаётся одной из ключевых глобальных проблем здравоохранения из-за персистенции ковалентно замкнутой кольцевой ДНК вируса(ккзДНК), которая функционирует как стабильный эписомальный резервуар и поддерживает длительную продукцию вирусных частиц и HBsAg[1]. По оценкам ВОЗ, более 254 млн человек хронически инфицированы вирусом гепатита В(ВГВ), и именно устойчивость ккзДНК существенно ограничивает эффективность существующей терапии[2]. Врожденный ответ гепатоцитов опирается на цитидиндезаминазы семейства АРОВЕС, индуцирующие С→Т/Г→А-дезаминирование, причём АРОВЕС3А(А3А) и АРОВЕС3В(А3В) рассматриваются как кандидаты для направленной элиминации ккзДНК, хотя их вклад в канцерогенез ставит под сомнение безопасность такой стратегии для генома хозяина.

В настоящей работе исследована роль кольцевой частично двуцепочечной ДНК ВГВ(кчдДНК) как функционального конкурентного субстрата, перераспределяющего активность А3А и А3В между вирусными и клеточными мишенями. Для контролируемой активации генов АРОВЕС/AID использовалась система CRISPRa в моделях трансфекции клеток HepG2 рекомбинантной ккзДНК и её гиперметилированным транскрипционно неактивным аналогом, а также в инфицированных ВГВ клетках HeparG-hNTCP. Снижение внутриклеточного пула кчдДНК достигалось ингибированием обратной транскриптазы ламивудином и применением коротких шпилечных РНК(кшРНК) к ВГВ, после чего происходило дезаминирование ккзДНК. Оценивали результаты методами 3D-PCR и секвенирования нового поколения. Активация А3А и А3В вызывала выраженное дезаминирование ккзДНК, причём гиперметилированная ккзДНК накапливала особенно высокую мутационную нагрузку. Уменьшение пула кчдДНК ламивудином или кшРНК дополнительно усиливало дезаминирование ккзДНК и сопровождалось гипермутацией оставшихся вирусных форм ДНК, тогда как экзогенное введение очищенной кчдДНК практически полностью подавляло дезаминирование ккзДНК, перераспределяя активность А3А на кчдДНК. Таким образом, избыточная кчдДНК ВГВ формирует механизм фоновой защиты ккзДНК за счёт конкурентного связывания АРОВЕС/AID.

При снижении уровня кчдДНК ферменты АРОВЕС смещают активность с вирусных форм ДНК на геном хозяина, иницируя внецелевое дезаминирование и потенциально канцерогенную нестабильность ДНК. В условиях активной репликации ВГВ активация А3А и А3В не приводила к значимому дезаминированию TP53, 7SK и CD63, тогда как на фоне специфических к ВГВ кшРНК отмечалось выраженное дезаминирование TP53 и 7SK. Результаты демонстрируют, что кчдДНК способствует сохранению ккзДНК, тогда как снижение кчдДНК на фоне активации цитидиндезаминаз усиливает мутационное давление как на вирусный, так и на клеточный геном.

Источники и литература

- 1) Boonstra, A., Sari, G. (2025). HBV cccDNA: The Molecular Reservoir of Hepatitis B Persistence and Challenges to Achieve Viral Eradication. *Biomolecules*, 15(1), 62.
- 2) World Health Organization. (2024). Global hepatitis report 2024: action for access in low-and middle-income countries.