

Изучение роли ATM, ATR, DNA-РК - представителей РИКК киназ - в репликации ВИЧ-1

Научный руководитель – Анисенко Андрей Николаевич

Нефедова Анастасия Андреевна

Студент (специалист)

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

E-mail: nastyanefyodova555@gmail.com

Несмотря на большой прогресс в изучении репликации ВИЧ-1, такой этап жизненного цикла ВИЧ-1, как постинтеграционная репарация повреждений ДНК, изучен слабо. Известно, что повреждения ДНК, образующиеся в результате интеграции ДНК ВИЧ-1 в геном клетки-хозяина [1], устраняются при участии клеточных систем репарации. Ранее в нашей лаборатории было показано, что ДНК-зависимая протеинкиназа (DNA-РК) играет ключевую роль в запуске постинтеграционной репарации [3]. Для эффективной репарации необходимы все компоненты этого комплекса: гетеродимер Ku70/Ku80, непосредственно взаимодействующий с интегразой ВИЧ-1, а также каталитическая субъединица (DNA-РКcs), фосфорилирующая активность которой необходима для передачи сигнала к репарационным системам.

DNA-РКcs и гомологичные киназы ATM и ATR относятся к семейству РИКК-киназ и играют ключевую роль в клеточном ответе на повреждения ДНК. Мы решили проверить, могут ли ATM и ATR участвовать в репликации ВИЧ-1.

Изучение проводилось с помощью вектора на основе ВИЧ-1, содержащим природный вариант интегразы (ВИЧ-1_wt), и его формой с мутантной интегразой, не взаимодействующей с Ku70 (ВИЧ-1_mut) и не способный эффективно инициировать постинтеграционную репарацию.

Используя специфичные ингибиторы киназной активности выбранных киназ, нам удалось определить, что наряду с DNA-РКcs для эффективного завершения начальных этапов репликации ВИЧ-1 необходим ATM, но не ATR. Важно отметить, что в случае ВИЧ-1_mut мы не наблюдали ингибирующего эффекта, что указывает на участие ATM и DNA-РКcs в репликации ВИЧ-1 на этапе постинтеграционной репарации. Кроме того, с помощью модифицированного Alu-специфичного ПЦР [2], позволяющего измерять уровень постинтеграционной репарации, были получены характеристики эффективности репарации при ингибировании ATM, ATR и DNA-РКcs. Также в эксперименте time-of-drug-addition определены кинетические характеристики активации ATM и DNA-РКcs. Нами установлено, что активация этих киназ происходит одновременно и запускается в момент появления первых интегрированных форм провируса (8-12 часов после инфицирования). С учетом того, что первые репарированные формы появляются с существенной задержкой во времени после интеграции, можно предположить, что DNA-РКcs и ATM лишь инициируют постинтеграционную репарацию, а дальнейшие процессы репарации требуют привлечения дополнительных факторов.

Источники и литература

- 1) Агапкина Ю.Ю., Приказчикова Т.А., Смоллов М.А., Готтих М.Б. Структура и функции интегразы ВИЧ-1 // Успехи биологической химии. 2005. № 45. С. 87-122.

- 2) Andrey N. Anisenko, Ekaterina S. Knyazhanskaya, Maria G. Isaguliants, Marina B. Gottikh. A qPCR assay for measuring the post-integrational DNA repair in HIV-1 replication // Journal of Virological Methods. 2018.
- 3) Knyazhanskaya E. & Anisenko A., Shadrina O., Kalinina A., Zatsepin T., Zalevsky A., Mazurov D., Gottikh M.B. NHEJ pathway is involved in post-integrational DNA repair due to Ku70 binding to HIV-1 integrase // Retrovirology. 2019. № 16. C.1-17.