



ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ



ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-296>

© КУЗНЕЦОВА А.И., АНТОНОВА А.А., МАКЕЕВА Е.А., КИМ К.В., МУНЧАК Я.М., МЕЖЕНСКАЯ Е.Н., ОРЛОВА-МОРОЗОВА Е.А., ПРОНИН А.Ю., ПРИЛИПОВ А.Г., ГАЛЗИТСКАЯ О.В., 2025

Вспомогательный белок Vpr вируса иммунодефицита человека 1-го типа (*Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*): особенности генетических вариантов вируса, циркулировавших на территории Московской области в 2019–2020 гг.Кузнецова А.И.^{1✉}, Антонова А.А.¹, Макеева Е.А.², Ким К.В.¹, Мунчак Я.М.¹, Меженская Е.Н.¹, Орлова-Морозова Е.А.³, Пронин А.Ю.³, Прилипов А.Г.¹, Галзитская О.В.^{1,4}¹Институт вирусологии им. Д.И. Иванова ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;²ФГАОУ ВО «Московский политехнический университет», 107023, г. Москва, Россия;³ГБУЗ МО «Центр профилактики и борьбы со СПИД», 140053, г. Котельники, Московская область, Россия;⁴ФБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» Российской академии наук, 142290, г. Пущино, Московская область, Россия**Резюме****Введение.** Vpr является многофункциональным вспомогательным белком ВИЧ-1, который проявляет свою активность на разных этапах жизненного цикла вируса. Олигомеризация белка является необходимым условием для проникновения Vpr в вирион и последующего его участия на ранних этапах ВИЧ-инфекции. К настоящему времени определены естественные аминокислотные замены в Vpr, ассоциированные с прогрессированием заболевания; рассматривается возможность создания средств терапии на основе Vpr.**Цель** исследования – изучение особенностей Vpr у наиболее распространенных генетических вариантов ВИЧ-1, циркулировавших на территории Московской области в 2019–2020 гг.**Материалы и методы.** Исследовали образцы ВИЧ-1, полученные от 231 пациента ГБУЗ МО «Центр профилактики и борьбы со СПИД» в период 2019–2020 гг. с разными стадиями заболевания, по схеме: экстракция провирусной ДНК, амплификация гена *vpr*, секвенирование, анализ полученных данных. Изучали консенсусные последовательности Vpr наиболее распространенных в России генетических вариантов и их пространственные структуры, вариабельность Vpr вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6 (Vpr-A6) у пациентов с разными стадиями заболевания.**Результаты.** Особенности Vpr различных генетических вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, могут влиять на формирование его олигомерных форм. Не было выявлено ни одного сайта со статистически значимыми различиями в частоте встречаемости аминокислотных замен у пациентов с разными стадиями заболевания.**Заключение.** Белки Vpr генетических вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, могут иметь различия в функциональных свойствах. Варианты Vpr-A6 имели низкую вариабельность у пациентов с разными стадиями заболевания, в связи с чем Vpr-A6 может рассматриваться как объект для создания средств терапии.**Ключевые слова:** ВИЧ-1; Vpr; суб-субтип A6; субтип B; CRF63_02A6**Для цитирования:** Кузнецова А.И., Антонова А.А., Макеева Е.А., Ким К.В., Мунчак Я.М., Меженская Е.Н., Орлова-Морозова Е.А., Пронин А.Ю., Прилипов А.Г., Галзитская О.В. Вспомогательный белок Vpr вируса иммунодефицита человека 1-го типа (*Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*): особенности генетических вариантов вируса, циркулировавших на территории Московской области в 2019–2020 гг. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(4): 324–339. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-296> EDN: <https://elibrary.ru/mfngcsm>**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 23-15-00027, <https://rscf.ru/project/23-15-00027/> (дата заключения соглашения 15.05.2023).**Благодарности.** Авторы выражают благодарность канд. биол. наук, научному сотруднику лаборатории вирусов лейкозов Алексею Владимировичу Лебедеву за помощь в графической визуализации результатов.**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**Этическое утверждение.** Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России протокол № 16 от 08.02.2019.

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-296>

Vpr, accessory protein of human immunodeficiency virus type 1 (*Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*): features of genetic variants of the virus circulating in the Moscow region in 2019–2020

Anna I. Kuznetsova^{1✉}, Anastasiia A. Antonova¹, Ekaterina A. Makeeva², Kristina V. Kim¹, Iana M. Munchak¹, Ekaterina N. Mezhenkaya¹, Elena A. Orlova-Morozova³, Alexander Yu. Pronin³, Alexey G. Prilipov¹, Oxana V. Galzitskaya^{1,4}

¹D.I. Ivanovsky Institute of Virology of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia;

²Moscow Polytechnic University, 107023, Moscow, Russia;

³Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, 140053, Kotelniki, Moscow region, Russia ;

⁴Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS, 142290, Pushchino, Moscow Region, Russia

Abstract

Introduction. Vpr is a multifunctional auxiliary HIV-1 protein. Oligomerisation is a prerequisite for the entry of Vpr into the virion and its subsequent participation in the early stages of HIV-infection. To date, natural amino acid substitutions in Vpr associated with disease progression were identified; the possibility of creating therapeutics based on Vpr is being considered.

The aim of the study is to investigate Vpr features in the most common genetic variants of HIV-1 circulating in the Moscow region in 2019–2020.

Materials and methods. HIV-1 samples obtained from 231 patients of the AIDS Prevention and Control Center in the period 2019–2020 were studied according to the scheme: proviral DNA extraction, amplification of the *vpr* gene, sequencing, and data analysis. Consensus Vpr sequences of the most common genetic variants in Russia and their spatial structures, variability of Vpr variants of HIV-1 sub-subtype A6 in patients with different stages of the disease were studied.

Results. Features of Vpr protein in different genetic variants of HIV-1 could influence the formation of their oligomeric forms. No sites with statistically significant differences in the frequency of amino acid substitutions were identified in patients with different stages of disease.

Conclusion. Vpr protein of HIV-1 genetic variants circulating in Russia may have differences in functional properties. Vpr-A6 variants had low variability in patients with different stages of the disease, and therefore Vpr-A6 can be considered as a target for the development of therapeutic agents.

Keywords: HIV-1; Vpr; sub-subtype A6; subtype B; CRF63_02A6

For citation: Kuznetsova A.I., Antonova A.A., Makeeva E.A., Kim K.V., Munchak I.A., Mezhenkaya E.N., Orlova-Morozova E.A., Pronin A.Yu., Prilipov A.G., Galzitskaya O.V. Vpr, accessory protein of human immunodeficiency virus type 1 (*Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*): features of genetic variants of the virus circulating in the Moscow region in 2019–2020. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2025; 70(4): 324–339. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-296> EDN: <https://elibrary.ru/mfgcsm>

Funding. The research was funded by the Russian Science Foundation, grant number 23-15-00027, <https://rscf.ru/project/23-15-00027/>, date of agreement 15 May 2023.

Acknowledgement. The authors are grateful to Lebedev Aleksey Vladimirovich, PhD, Researcher in Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia for assistance in graphical visualization of the results.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Ethics approval. All obtained clinical material was used with the informed consent of patients based on the permission of the Committee on Biomedical Ethics of the D.I. Ivanovsky Institute of Virology of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia (protocol no. 16 of 8 February 2019).

Введение

Вспомогательный белок Vpr вируса иммунодефицита человека 1-го типа (*Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*; ВИЧ-1) является высококонсервативным вирусным белком, состоящим из 96 аминокислотных остатков

(а.о.), массой около 14 кДа [1]. В своей структуре белок Vpr содержит три α-спирали, которые образованы участками белковой цепи с 17-го по 33-й а.о., с 38-го по 50-й а.о. и с 55-го по 77-й а.о. (рис. 1). α-Спирали левозакручены и ориентированы друг относительно друга таким образом, чтобы обеспечить взаимодействия между следующими аминокислот-

ными остатками: L20, L23, L26, A30, V31 первой α -спирали, W38, L39, L42, I46 второй α -спирали и V57, L60, I61, L64, L68, F72 третьей α -спирали. Вышеуказанная ориентация дополнительно фиксируется взаимодействиями между T19, L20, W54 с одной стороны и между H33, F34, H71, F72 с другой. Структура белка Vpr характеризуется гибкими N- и C-концевыми областями: с 1-го по 13-й а.о. и с 78-го по 96-й а.о. соответственно [2].

Ген белка Vpr экспрессируется на поздних стадиях жизненного цикла ВИЧ-1 и связывается с вирусным белком-предшественником Pr55^{Gag}, который играет важную роль в сборке и продукции вирусных частиц. Олигомеризация Vpr имеет решающее значение для распознавания Pr55^{Gag}, затем Pr55^{Gag}-Vpr-комплексы накапливаются в плазматической мембране для последующего эффективного включения в вирионы [3–5]. Таким образом, при инфицировании вирусом клетки-хозяина белок Vpr проникает в нее в составе вириона, что позволяет ему активно участвовать уже в ранних стадиях репликации вируса. Белок Vpr обладает многочисленными функциями (**рис. 2**):

- повышает процессивность и точность обратной транскрипции [6, 7];
- входит в состав прединтеграционного комплекса (вирусная ДНК, интегразы, белок Vpr и т.д.), который обеспечивает доставку вирусной ДНК из цитоплазмы в ядро для последующей интеграции в геном клетки-хозяина [6, 7];
- усиливает транскрипцию провирусной ДНК [6–8];
- вызывает убиквитин/протеасомозависимую деградацию некоторых клеточных белков, останавливая клеточный цикл в фазе G2, что способствует созданию клеточной среды, оптимальной для экспрессии генов ВИЧ-1 [7, 8];
- индуцирует ответ на повреждение ДНК, что, как предполагают, может также приводить к остановке клеточного цикла и повышению продукции цитокинов воспаления [6, 7];
- нарушает работу митохондрий, что запускает ряд процессов, которые также могут приводить к апоптозу [9];

- в макрофагах Vpr противодействует специальному клеточному белку, LAMP1, который транспортирует вирусный белок Env в лизосому [6, 10].

Vpr высвобождается продуцирующими клетками и проникает в окружающие В-лимфоциты. В В-лимфоцитах белок Vpr влияет на диверсификацию антител и обладает способностью снижать переключение классов иммуноглобулинов [11]. Отдельное внимание уделяют роли Vpr в усилении вирусной инфекции в неделящихся миелоидных клетках, макрофагах и дендритных клетках, которые позволяют формировать и поддерживать вирусный резервуар, эффективно передавая ВИЧ-1 к CD4⁺-Т-клеткам во время презентации антигена [6, 12].

Белок Vpr рассматривают как один из факторов, способствующих развитию у пациентов нейрокогнитивных ВИЧ-ассоциированных расстройств (HIV-associated neurocognitive disorders, HAND): Vpr может проникать в клетки нервной ткани, является нейротоксином, который индуцирует апоптоз, активирует вирусную репликацию в латентно инфицированных клетках; в нейронах нарушает регуляцию уровней некоторых микроРНК и соответствующих им генов, что также может вызывать нейронную дисфункцию. Более того, ген *vpr* продолжает экспрессироваться даже при успешной антиретровирусной терапии (АРТ) [13–15].

На протяжении многих лет изучают вопрос корреляции аминокислотных замен в белке Vpr с изменением его функциональных свойств [16, 17]. Определены естественные аминокислотные замены в белке Vpr ВИЧ-1, ассоциированные со степенью развития HAND у лиц, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), которые находятся на АРТ [18]. Сравнение генетического разнообразия белка Vpr вариантов ВИЧ-1 у пациентов с быстрым прогрессированием заболевания и у пациентов с долгосрочным отсутствием признаков прогрессирования заболевания в отсутствие АРТ показало, что аминокислотные замены в белке Vpr могут способствовать изменению кинетики репликации вируса и приводить к наблюдаемым различиям в прогрессировании заболевания [19]. При сравнении С-концевой области белка Vpr у вариантов ВИЧ-1

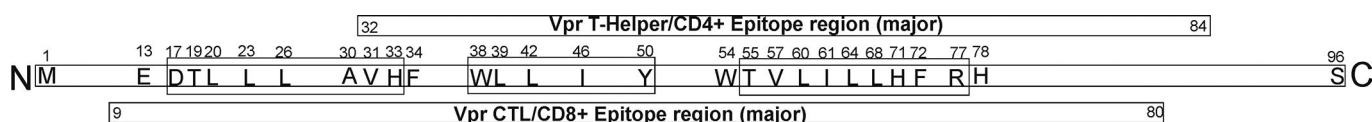
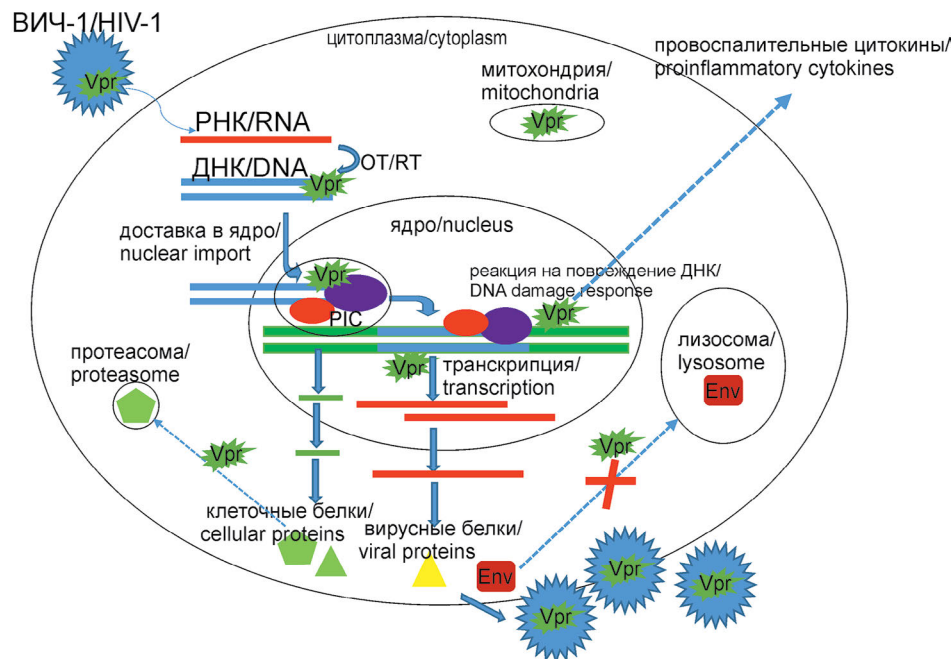


Рис. 1. Схематическое изображение первичной структуры белка Vpr.

М – метионин; Е – глутаминовая кислота; D – аспарагиновая кислота; Т – треонин; L – лейцин; А – аланин; V – валин; Н – гистидин; F – фенилаланин; I – изолейцин; Y – тирозин; W – триптофан; R – аргинин; S – серин; Vpr T-Helper/CD4⁺ Epitope region (major) – область белка Vpr, в которой преимущественно были картированы эпитопы, распознающиеся иммунной системой для последующего развития CD4⁺-Т-клеточного ответа (<https://www.hiv.lanl.gov/content/immunology/maps/helper/Vpr.html>); Vpr CTL/CD8⁺ Epitope region (major) – область белка Vpr, в которой преимущественно были картированы эпитопы, распознающиеся иммунной системой для последующего развития CD8⁺-цитотоксического Т-клеточного ответа (<https://www.hiv.lanl.gov/content/immunology/maps/ctl/Vpr.html>).

Fig. 1. Schematic representation of Vpr primary structure.

M – methionine; E – glutamic acid; D – aspartic acid; T – threonine; L – leucine; A – alanine; V – valine; H – histidine; F – phenylalanine; I – isoleucine; Y – tyrosine; W – tryptophan; R – arginine; S – serine; Vpr T-Helper/CD4⁺ Epitope region (major) – Vpr region in which predominantly the epitopes have been mapped that are recognized by the immune system for subsequent development of CD4⁺ T cell response; Vpr CTL/CD8⁺ Epitope region (major) – Vpr region in which predominantly the epitopes have been mapped that are recognized by the immune system for subsequent development of CD8⁺ cytotoxic T cell response (<https://www.hiv.lanl.gov/content/immunology/maps/ctl/Vpr.html>).

**Рис. 2.** Активности белка Vpr.

OT – обратная транскрипция; Vpr – белок Vpr; Env – белок Env; PIC – прединтеграционный комплекс.

Fig. 2. Activities of Vpr protein.

RT – reverse transcription; Vpr – Vpr protein; Env – Env protein; PIC – pre-integration complex.

субтипов В и С были определены субтип-специфичные аминокислотные замены, которые могут оказывать влияние на функциональные свойства белка [20].

Практически сразу после описания белка Vpr стали рассматривать возможности создания агентов, ингибирующих репликацию ВИЧ-1 посредством противодействия этому белку: известно большое количество попыток создания антиретровирусных средств как на основе природных, так и синтетических компонентов [17, 21]. Кроме того, белок Vpr содержит эпитопы, распознаваемые Т-клетками (<https://www.hiv.lanl.gov/content/immunology/maps/helper/Vpr.html>, <https://www.hiv.lanl.gov/content/immunology/maps/ctl/Vpr.html>), и рассматривается в качестве антиген-кандидата для создания анти-ВИЧ-вакцины [22].

Наиболее широко распространенным в России генетическим вариантом ВИЧ-1 на протяжении многих лет остается суб-субтип А6, тогда как в странах Европы, Азии и Америки циркулируют другие варианты вируса [23, 24]. Со временем сосуществование и взаимодействие ВИЧ-1 суб-субтипа А6 с менее распространенными на территории России генетическими вариантами вируса (субтипом В, циркулирующей рекомбинантной формой CRF02_AG и т.д.) привели к формированию и распространению других рекомбинантов. Недавно проведенные исследования демонстрируют постепенное увеличение с течением времени доли рекомбинантных форм в генетической структуре ВИЧ-1, циркулирующих на территории Российской Федерации, – в частности, за счет CRF63_02A6 [25]. Также в период 2022–2023 гг. на

территории России были выявлены две новые формы: CRF133_A6B и CRF157_A6C [26, 27]. Таким образом, несмотря на постепенное изменение состава циркулирующих вариантов ВИЧ-1 в России, молекулярно-эпидемиологический профиль ВИЧ-инфекции по-прежнему сохраняет свою уникальность.

Целью данной работы является изучение особенностей белка Vpr генетических вариантов ВИЧ-1, циркулировавших на территории Московской области в 2019–2020 гг.

Материалы и методы

При выполнении работы были проанализированы клинические образцы цельной крови «наивных» (ранее не получавших лечения) пациентов с ВИЧ-инфекцией ГКУЗ МО «Центр профилактики и борьбы со СПИД» (231 образец). В период 2019–2020 гг. у каждого пациента был проведен однократный забор крови в рамках реализации проекта CARE (<https://www.sageresearch.eu/>, доступ на 01.11.2024). Весь клинический материал был собран и использован в настоящем исследовании с информированного согласия пациентов и на основании одобрения Комитета по биомедицинской этике ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (протокол № 16 от 08.02.2019). Параллельно была зарегистрирована и в дальнейшем проанализирована следующая информация о пациентах: пол, возраст, фактор риска инфицирования, дата забора клинического образца, стадия заболевания, показатели вирусной нагрузки (ВН) и иммунный статус пациента (количество CD4⁺-клеток). В **табл. 1** приведены основные характеристики пациентов, вклю-

Таблица 1. Основные характеристики включенных в исследование ЛЖВ, классифицированных по стадии ВИЧ-инфекции
Table 1. Main characteristics of people living with HIV (PLWH) included in the study, classified by stage of HIV infection

Характеристики Characteristics	2-я стадия/стадия начальных проявлений Stage 2/stage of initial symptoms	3-я стадия/ субклиническая стадия Stage 3/subclinical stage	4-я стадия/стадия вторичных проявлений Stage 4/stage of secondary symptoms
Всего пациентов, абс. Total number of patients, abs.	48	82	101
Демографические показатели Demographics			
Мужчины, абс. Males, abs.	30	45	71
Женщины, абс. Females, abs.	18	37	30
Возраст, медиана лет, диапазон Age, median age, range	38 [19; 62]	38 [21; 70]	39 [24; 64]
Путь инфицирования, абс. Infection route, abs.			
Гетеро Hetero	24	59	62
ПИН IDU	6	11	36
MCM MSM	17	9	3
Неизвестно Unknown	1	3	0
Лабораторные показатели Laboratory parameters			
CD4, кл/мкл clones/ μ L	599,50 (108–2022)	474,10 (110–1658)	229,72 (8–1062)
Вирусная нагрузка Ig PHK, копий/мл Viral load log10 RNA, copies/mL	5,0 (3,4–7,0)	4,6 (3,3–6,2)	5,1 (3,1–6,4)

Примечание. ПИН – потребители инъекционных наркотиков; MCM – мужчины, практикующие секс с мужчинами.

Note. IDU – Injecting drug users; MSM – Men having sex with other men.

ченных в исследование, в зависимости от стадии ВИЧ-инфекции, согласно клиническим рекомендациям Минздрава России¹.

Выделение провирусной ДНК в составе геномной ДНК осуществляли методом высаливания [28]. Получение продуктов области генома, кодирующей ген *vpr*, проводили методом гнездовой двухраундовой полимеразной цепной реакции (ПЦР): внешние праймеры – Vif1p(GCAGGTAAGAGAGCAAGCTGAACA) и Vif1o (GTCTCCGCTTCTCCTGCCATAGGA), внутренние праймеры – Vif2p (GCTaCTCTGGAAAGGTGAAGG) и Vif2o (TACAAGGAGTCTTGGGCTGAC). Полученные ПЦР-продукты были очищены с использованием коммерческого набора для очистки ПЦР-фрагментов – Clean S-Cap («Евроген», Россия), а затем секвенированы дидезокси-методом по Сэнгеру с использованием коммерческого набора BigDye Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) и праймеров Vif2p и Vif2o. Сборку и редактирование нуклеотидных последовательностей (н.п.) гена *vpr*

на основе полученных электрофореграмм выполняли с использованием приложения SeqMan II 6.1. (DNASTAR Inc., США).

Предварительное определение генетических вариантов полученных нуклеотидных последовательностей гена *vpr* ВИЧ-1 осуществляли с применением трех специализированных программ: COMET HIV-1 (<https://comet.liv.lu/>) [29], REGA HIV-1 Subtyping Tool (Version 3.46) (<https://www.genomedetective.com/app/typingtool/hiv>) и jpHMM [30]. Затем для уточнения результатов предварительного субтипирования проводили филогенетический анализ методом максимального правдоподобия с использованием программы IQ-TREE [31]. Эталонные последовательности для проведения анализа были выгружены из международной базы данных Лос-Аламосской лаборатории, США (<https://www.hiv.lanl>, дата обращения 31.10.2024). Парное и множественное выравнивание исследуемых и эталонных нуклеотидных последовательностей осуществляли с применением модуля ClustalW, интегрированного в программный пакет AliView [32]. Модель замещения нуклеотидов была выбрана при помощи программы jModelTest v. 2.1.7 на основании информационного критерия Акаике (Akaike information criterion, AIC) [33]. Достоверность выведенных фило-

¹Минздрав РФ. Клинические рекомендации. ВИЧ-инфекция у взрослых; 2024. Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/79_2

гений оценивали с помощью бутстрэп-теста (bootstrap) и критерия приблизительного отношения правдоподобия Шимодайры–Хасегавы (SH-aLRT) с 1000 послестартовых итераций. Кластеры с поддержкой SH-aLRT > 0,9 считались достоверно установленными. Визуализацию и графическую обработку результатов филогенетического анализа осуществляли в программе iTOL (<https://itol.embl.de>) [34].

На следующем этапе исследования формировали и анализировали консенсусные последовательности белка Vpr для наиболее распространенных генетических вариантов ВИЧ-1 по результатам исследования. Для этого полученные нуклеотидные последовательности гена *vpr* были разделены на группы в зависимости от их генетического варианта. Затем нуклеотидные последовательности гена *vpr* ВИЧ-1 были переведены в аминокислотные с помощью онлайн-инструмента для трансляции, представленного на сайте (<https://www.bioinformatics.org/sms2/translate.html>). Также для каждого анализируемого генетического варианта ВИЧ-1 на основе полученных аминокислотных последовательностей с помощью инструмента Simple Consensus Maker (<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/CONSENSUS/SimpCon.html>) были сформированы общие консенсусные аминокислотные последовательности и сравнены между собой и относительно Vpr_model (последовательность белка Vpr субтипа B, анализируемого при определении его пространственной структуры [2]) с применением программы MEGA v. 10.2.2. При формировании консенсусной последовательности инсерции не учитывались; частота встречаемости, при которой аминокислота (а также стоп-кодон или делеция) в каждой позиции учитывалась в консенсусе, должна была быть больше 50%. При помощи программы IsUnstruct предсказывали расположение неструктурированных участков в консенсусных последовательностях и в Vpr_model [35]. При помощи программы AlphaFold 2 (AlphaFold Protein Structure Database) предсказывали пространственную структуру консенсусных последовательностей и Vpr_model [36].

В программе Chimera предсказанные гексамерные

структуры анализируемых последовательностей накладывали друг на друга и на Vpr_model, чтобы определить максимально похожие друг с другом структуры (<https://www.rbvi.ucsf.edu/chimera/>).

На завершающем этапе исследования изучали вариабельность белка Vpr-A6 (белок Vpr вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6) у пациентов с разными стадиями заболевания. Для этого полученные аминокислотные последовательности Vpr-A6 были сгруппированы в соответствии со стадией ВИЧ-инфекции пациента, от которого был получен образец. Ранее полученную консенсусную последовательность Vpr-A6 использовали в качестве референсной, относительно нее определяли аминокислотные замены в каждой группе пациентов, с применением программы MEGA v. 10.2.2. (www.megasoftware.net). С применением программного модуля Nonparametric Statistics из пакета Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США) выявляли сайты со статистически достоверными различиями в частоте встречаемости у пациентов с разными стадиями заболевания ($p < 0,0012$ при использовании критерия χ^2 с поправкой Бонферрони).

Результаты

При проведении попарного и множественного выравнивания и оценке качества 5 из 231 н.п. были исключены из дальнейшего анализа в связи с низким качеством или длиной нуклеотидных последовательностей (количество вырожденных букв или гар-ов (пробелов) более 1% от общей длины последовательности). В дальнейший анализ были включены 226 н.п., кодирующих ген *vpr* ВИЧ-1. Все полученные в ходе настоящего исследования нуклеотидные последовательности гена *vpr* ВИЧ-1 (226) были депонированы в международную базу данных генотипов GenBank со следующими номерами: PV059601–PV059826.

По результатам предварительного субтипирования было установлено, что два образца (0,88%, 2/226), полученные от пациентов со 2-й (1311101072) и с 3-й (1311001115) стадиями заболевания, относились к уникальным рекомбинантам (URFs) ВИЧ-1, образованным фрагментами ВИЧ-1 генетических вариантов B и G. Структуры геномов выявленных URFs_B/G представлены на **рис. 3**.

Данные последовательности были исключены из дальнейшего филогенетического анализа.

По результатам филогенетического анализа 4 (1,77%) н.п. образовали достоверный кластер (SH-aLRT > 0,9) с последовательностями ВИЧ-1 субтипа G, 16 (7,08%) н.п. образовали достоверный кластер (SH-aLRT > 0,9) с последовательностями ВИЧ-1 субтипа B и 11 (4,87%) н.п. были включены в кластер, образованный совместно нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 циркулирующих рекомбинантных форм CRF02_AG и CRF63_02A6 (**рис. 4**).

Поскольку в исследуемой области генома (*vpr*) ВИЧ-1 генетические варианты CRF02_AG и CRF63_02A6 обладают максимальным сходством, было принято решение идентифицировать их на основании совместных результатов филогенетического анализа и программы COMET HIV-1 – 10 последовательностей были отне-

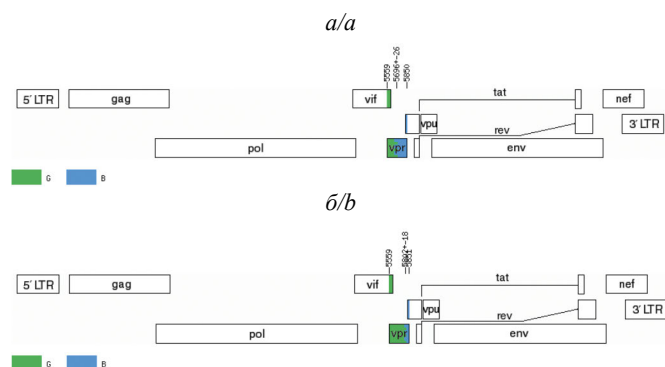


Рис. 3. Карта генома с исследуемой областью *vpr* у образцов 1311001072 (а) и 1311001115 (б).

Fig. 3. Genome map with the studied *vpr* region in samples 1311001072 (a) и 1311001115 (b).

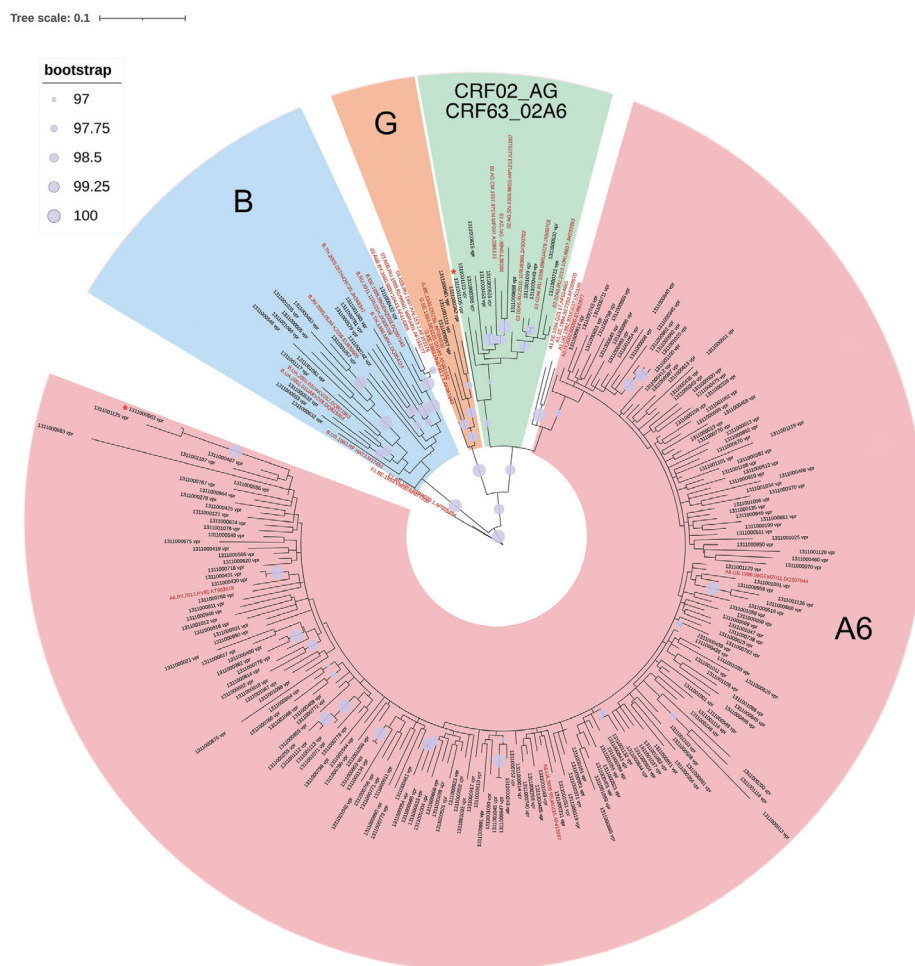


Рис. 4. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *vpr* ВИЧ-1 ($n = 254$, модель замещения нуклеотидов – TIM1 + I + G4). Референсные последовательности выделены красным цветом, исследуемые – черным. Красной звездочкой отмечены нуклеотидные последовательности, отнесенные к потенциальным уникальным рекомбинантам.

Fig. 4. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences of the HIV-1 *vpr* gene ($n = 254$, nucleotide substitution model – TIM1 + I + G4).

Nucleotide sequences classified as potential unique recombinants are marked with a red asterisk.

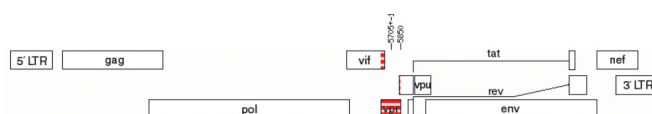


Рис. 5. Карта генома с исследуемой областью *vpr* у образца 1311001105.

Пунктиром отмечена область, образованная фрагментом ВИЧ-1 рекомбинантных форм CRF02_AG и CRF63_02A6.

Fig. 5. Genome map for the studied *vpr* region in sample 1311001105.

The dotted line indicates the region formed by the HIV-1 fragment of recombinant forms CRF02_AG and CRF63_02A6.

сены к CRF63_02A6. По результатам филогенетического анализа (из-за положения на филогенетическом древе – опосредованно от остальных) совместно с результатами программы jрHMM (для определения рекомбинантных формы вируса) было принято решение о том, что последовательность 1311001105 (на рисунке отмечена красной звездочкой) может являться потенциальным уникальным рекомбинантом (URF_CRF02/CRF63), структура его генома представлена на **рис. 5**.

Последовательность 1311000563 на основе совместных результатов филогенетического анализа и анализа в программе COMET HIV-1 была отнесена к URF_A6/B. Остальные 192 (84,96%) н.п. образовали достоверный кластер с нуклеотидными последова-

тельностью ВИЧ-1 суб-субтипа A6.

Консенсусные последовательности белка Vpr были сформированы для вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6, субтипа B и рекомбинантной формы CRF63_02A6, выявленных в ходе исследования. Консенсусная аминокислотная последовательность Vpr-A6 была сформирована на основе 192 исследуемых последовательностей, субтипа B – 16, а CRF63_02A6 – 10 соответственно. Данные генетические варианты также являются наиболее распространенными на территории Российской Федерации [24].

В исследуемых аминокислотных последовательностях Vpr-A6 были выявлены инсерции (аминокислотные вставки), делеции (пропуски аминокислот)

и стоп-кодона. Инсерции и делеции наблюдались в аминокислотных последовательностях, полученных от пациентов со всеми стадиями заболевания (табл. 2), тогда как стоп-кодона – у 6 пациентов с 3-й и 4-й стадиями заболевания.

Все сформированные консенсусные последовательности содержали 96 а.о. (рис. 6).

Первичная структура консенсусных последователь-

ностей суб-субтипа А6, субтипа В и CRF63_02А6 отличалась от Vpr_model в 17, 11 и 15-й позициях соответственно (рис. 6).

В дальнейшем для сравнения пространственных структур при проведении анализа консенсусной последовательности субтипа В анализировали вариант последовательности содержащей в 77-м положении Q, в 84-м – I, при проведении анализа

Таблица 2. Выявленные инсерции и делеции в исследуемых аминокислотных последовательностях Vpr-A6

Table 2. Identified insertions and deletions in the studied amino acid sequences Vpr-A6

Стадия заболевания Infection stage	Инсерции Insertions		Делеции Deletions	
	наименование последовательности sequence name	положение position	наименование последовательности sequence name	положение position
2-я стадия Stage 2	1311000412	ins84V85	1311000645	85
	1311000512	ins84I85	1311000738	85, 86
	1311000660	ins84I85	1311000948	85
3-я стадия Stage 3	1311000997	ins84I85	1311000121	85, 86
			1311000278	84
			1311000601	84
			1311000613	85, 86
			1311000617	85, 86
			1311000780	85, 86
	1311001126	ins84I85	1311001119	85
4-я стадия Stage 4			1311001125	85, 86
			1311000382	87, 88
			1311000599	85, 86
			1311000766	85
			1311000767	85
	1311000884	ins84P85	1311000919	85
			1311001068	85, 89
			1311001088	85, 86
			1311001089	85
			1311001093	85

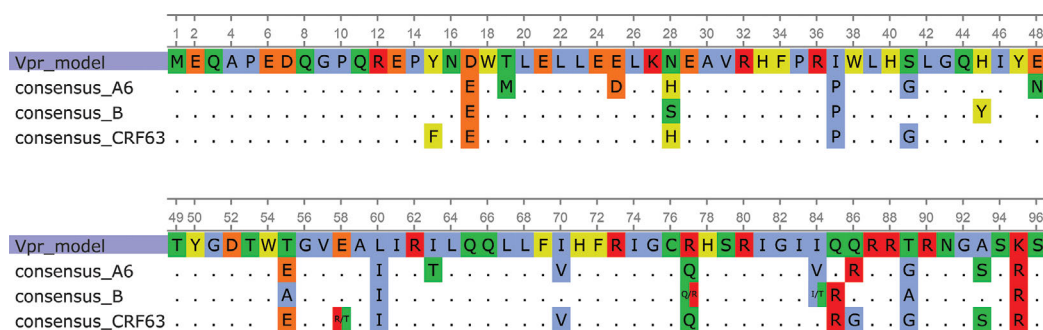


Рис. 6. Консенсусные последовательности Vpr ВИЧ-1 суб-субтипа А6, субтипа В и рекомбинантной формы CRF63_02А6, выравненные относительно Vpr_model (последовательность белка Vpr, анализируемого при определении пространственной структуры [2]).

Точками обозначены позиции аминокислотных остатков (а.о.), в которых а.о. в консенсусах соответствовали референсу. Аминокислоты классифицированы на основе полярности радикалов. Неполарные аминокислоты: G (глицин), A (аланин), V (валин), L (лейцин), I (изолейцин), P (пролин) отмечены синим цветом; полярные незаряженные аминокислоты: S (серин), T (треонин), C (цистеин), M (метионин), N (аспарагин), Q (глутамин) – зеленым; ароматические аминокислоты: F (фенилаланин), тирозин (Y), W (триптофан), гистидин (H) – желтым; отрицательно заряженные аминокислоты: аспарагиновая кислота (D) и глутаминовая кислота (E) – оранжевым; положительно заряженные аминокислоты: лизин (K), аргинин (R) – красным [37, 38].

Fig. 6. Consensus sequences of Vpr HIV-1 sub-subtype A6, B and CRF63_02A6 genetic variants aligned with the Vpr_model (sequence of the Vpr protein analyzed in determining the spatial structure [2]).

The dots indicate amino acid residues (aa) positions in which the aa in the consensus were the same as in the reference. Non-polar amino acids: G (glycine), A (alanine), V (valine), L (leucine), I (isoleucine), P (proline) – are marked in blue; Polar uncharged amino acids: S (serine), T (threonine), C (cysteine), M (methionine), N (asparagine), Q (glutamine) – green; aromatic amino acids: F (phenylalanine), Tyrosine (Y), W (tryptophan), Histidine (H) – yellow; Polar acidic, negatively charged, amino acids: aspartic acid (D) and glutamic acid (E) – orange; Polar basic, positively charged amino acids: lysine (K), arginine (R) – in red [37, 38].

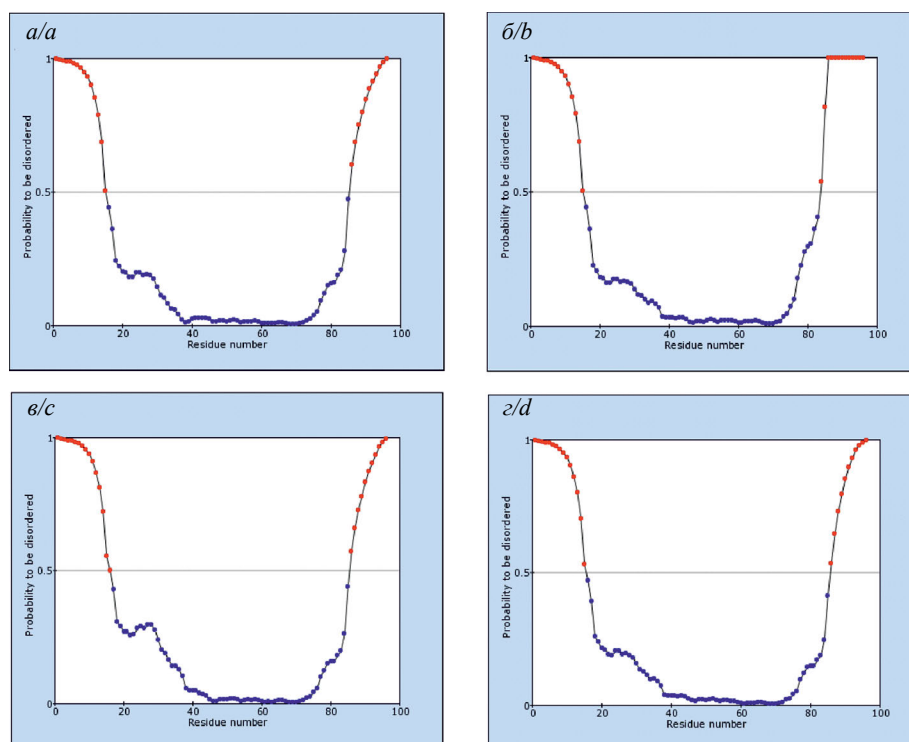


Рис. 7. Сравнение профилей неструктурированных участков для консенсусных последовательностей суб-субтипа А6, субтипа В и CRF63_02A6 и Vpr_model, предсказанные программой IsUnstruct.

a – Vpr_model: развернутые участки с 1–15 и с 86–96 а.о.; *b* – консенсус суб-субтипа А6: развернутые участки с 1–15 и с 84–96 а.о.; *c* – консенсус субтипа В: развернутые участки с 1–16 и с 86–96 а.о.; *d* – консенсус CRF63_02A6: развернутые участки с 1–15 и с 86–96 а.о.

Fig. 7. The comparison of the tertiary structure of the consensus sequences of sub-subtype A6, subtype B and CRF63_02A6 and Vpr_model, predicted by the IsUnstruct program.

a – Vpr_model: unfolded regions from 1 to 15 and from 86 to 96 aa; *b* – sub-subtype A6 consensus: unfolded regions from 1 to 15 and from 84 to 96 aa; *c* – subtype B consensus: unfolded regions from 1 to 16 and from 86 to 96 aa; *d* – CRF63_02A6 consensus: unfolded regions from 1 to 15 and from 86 to 96 aa.

консенсусной последовательности CRF63_02A6 – вариант последовательности, содержащей в 58-м положении R.

На **рис. 7** представлены предсказанные профили для неструктурированных участков для Vpr_model, консенсусных последовательностях суб-субтипа А6, субтипа В и CRF63_02A6.

На **рис. 8** представлены результаты предсказания пространственной структуры мономерных, димерных, тетрамерных и гексамерных структур, анализируемых последовательностей белка Vpr.

Результаты пространственного выравнивания (сопоставления) предсказанных гексамерных структур представлены на **рис. 9**.

При оценке вариабельности Vpr-A6 у пациентов с разными стадиями ВИЧ-инфекции было выявлено 14 замен, имеющих статистически значимые различия ($p < 0,05$) в частоте их встречаемости (**табл. 3**).

С учетом поправки Бонферрони ($p < 0,0012$) не было выявлено ни одного сайта со статистически значимыми различиями в частоте встречаемости у пациентов с разными стадиями заболевания.

Обсуждение

В настоящее время во всем мире продолжается рост генетического разнообразия ВИЧ-1, которое является

одним из препятствий для разработки эффективных средств профилактики и терапии ВИЧ-инфекции [39]. Более того, результаты исследований позволяют предположить, что разные генетические варианты ВИЧ-1 способны обуславливать различные клинические проявления и скорость прогрессирования заболевания, а также оказывать влияние на эффективность лечения [40]. Регулярно проводятся работы, посвященные изучению степени влияния отдельных вирусных белков на течение ВИЧ-инфекции [14, 41–43]. Также изучают аминокислотные замены в вирусных белках, которые могут оказывать влияние на прогрессирование ВИЧ-инфекции, отдельное внимание уделяется характерным субтип-специфичным аминокислотным заменам [18, 44, 45]. В ранее проведенных исследованиях генетического разнообразия белка Vpr наиболее широко распространенного в России суб-субтипа А6 отмечали его низкий уровень изменчивости и, в связи с этим, определяли белок Vpr как перспективную мишень для разработки средств терапии [46]. Также для белка Vpr суб-субтипа А6 вариантов вируса, циркулирующих в разных регионах России, предварительно не было отмечено наличия характерных особенностей [47]. Настоящее исследование направлено на изучение особенностей белка Vpr наиболее широко распространенных в России генетических вариантов

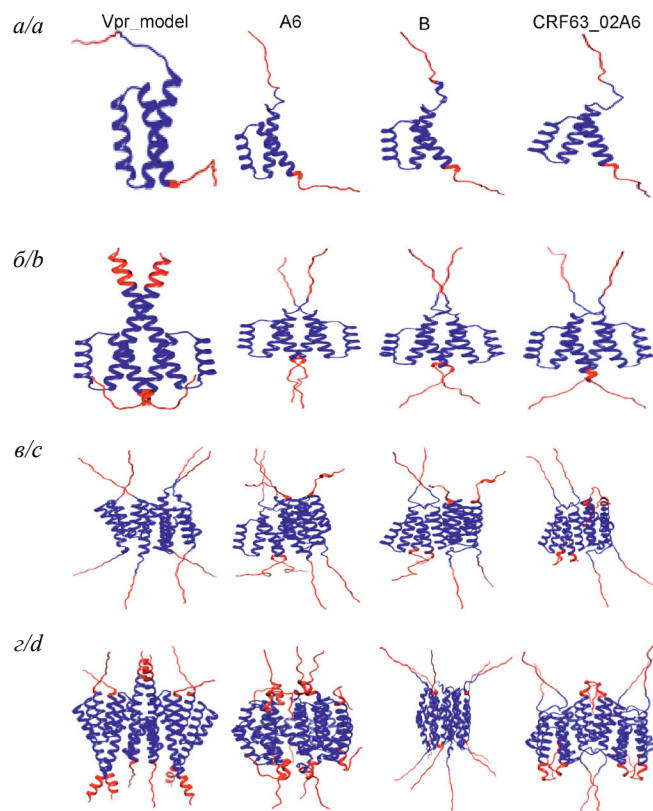


Рис. 8. Мономерные, димерные и олигомерные формы белка Vpr вариантов Vpr_model, суб-субтипа A6, субтипа B, рекомбинантной формы CRF63_02A6, предсказанные программой AlphaFold 2.

a – мономерные формы белка Vpr; *b* – димерные формы белка Vpr; *c* – тетрамерная форма белка Vpr; *d* – гексамерная форма белка Vpr.

Fig. 8. Monomeric, dimeric and oligomeric forms of Vpr protein in Vpr_model, sub-subtype A6, subtype B and CRF63_02A6 variants predicted by the AlphaFold 2 program.

a – monomeric forms of Vpr protein; *b* – dimeric forms of Vpr protein; *c* – tetrameric forms of Vpr protein; *d* – hexameric forms of Vpr protein.

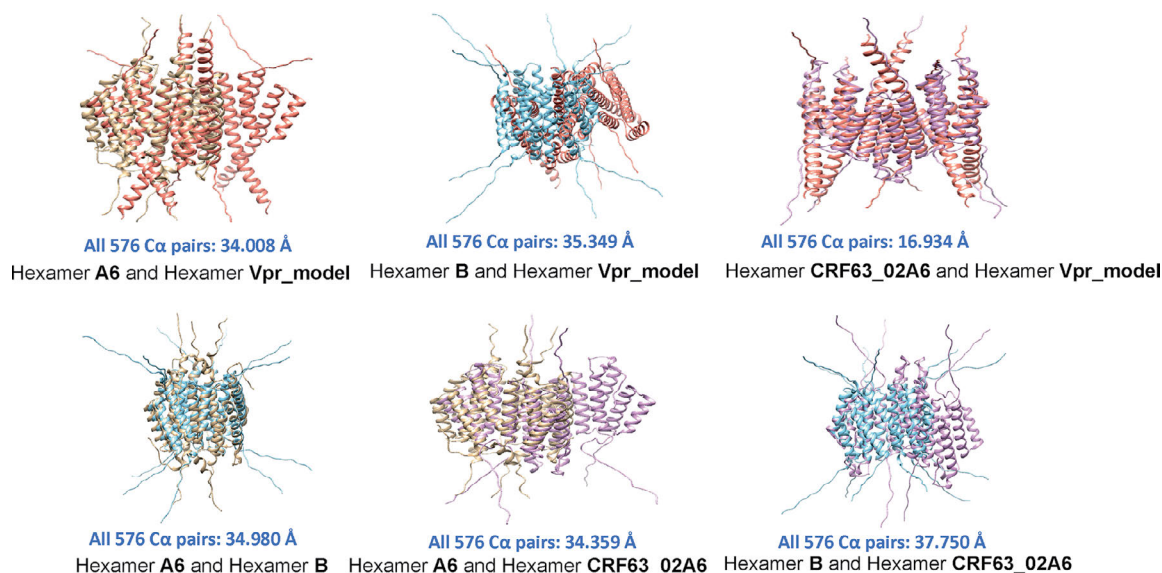


Рис. 9. Совмещение гексамерных структур Vpr.

Hexamer A6 and Hexamer Vpr_model – гексамер консенсусной последовательности белка суб-субтипа A6 и гексамер Vpr_model; Hexamer B and Hexamer Vpr_model – гексамер консенсусной последовательности белка субтипа B и гексамер Vpr_model; Hexamer CRF63_02A6 and Hexamer Vpr_model – гексамер консенсусной последовательности рекомбинантной формы CRF63_02A6 и гексамер Vpr_model; Hexamer A6 and Hexamer B – гексамер консенсусной последовательности суб-субтипа A6 и гексамер консенсусной последовательности субтипа B; Hexamer A6 and Hexamer CRF63_02A6 – гексамер консенсусной последовательности суб-субтипа A6 и гексамер консенсусной последовательности CRF63_02A6; Hexamer B and Hexamer CRF63_02A6 – гексамер консенсусной последовательности субтипа B и гексамер консенсусной последовательности CRF63_02A6; Среднеквадратичное отклонение между Ca-атомами для разных пар гексамеров показано на рисунке, которое изменяется от 16,9 Å до 37,8 Å.

Fig. 9. Alignment of Vpr hexameric structures.

Hexamer A6 and Hexamer Vpr_model – hexamer of A6 consensus sequence and hexamer Vpr_model; Hexamer B and Hexamer Vpr_model – hexamer of subtype B consensus sequence and hexamer Vpr_model; Hexamer CRF63_02A6 and Hexamer Vpr_model – hexamer of CRF63_02A6 consensus sequence and hexamer Vpr_model; Hexamer A6 and Hexamer B – hexamer of A6 consensus sequence and hexamer of subtype B consensus sequence; Hexamer A6 and Hexamer CRF63_02A6 – hexamer of A6 consensus sequence and hexamer of CRF63_02A6 consensus sequence; Hexamer B and Hexamer CRF63_02A6 – hexamer of subtype B consensus sequence and hexamer of CRF63_02A6 consensus sequence; The root mean square deviation between Ca atoms for different pairs of hexamers is shown in the figure, which varies from 16.9 Å to 37.8 Å.

Таблица 3. Аминокислотные замены Vpr-A6 со статистически значимыми различиями по частоте встречаемости в группах ЛЖВ с разными стадиями заболевания**Table 3.** Vpr-A6 amino acid substitutions with statistically significant differences in frequency of occurrence in groups of PLWH with different stages of the disease

Позиция Position	Мутация Mutation	Стадия 2 Stage 2	Стадия 3 Stage 3	Стадия 4 Stage 4	P_{2-3}	P_{2-4}	P_{3-4}
13	E13A	2	0	0	0,0465	0,0190	–
15	Y15H	6	8	23	–	–	0,0444
15	Y15F	1	5	1	–	–	0,0353
19	M19V	3	0	2	0,0143	–	–
20	L20I	0	3	0	–	–	0,0390
45	H45Q	6	6	3	–	0,0054	–
55	E55V	2	0	0	0,0465	0,0190	–
61	I61T	6	2	8	0,0107	–	–
72	F72Y	2	0	0	0,0465	0,0190	–
77	Q77H	5	4	4	–	0,0451	–
85	Q85H	1	0	7	–	–	0,0219
87	R87S	5	3	3	–	0,0194	–
93	S93T	0	3	0	–	–	0,0390
94	S94N	1	3	0	–	–	0,0390

Примечание. Значения p -value представлены для позиций с $p < 0,05$; позиции с $p \geq 0,05$ отмечены знаком «–». Достоверно значимыми считали различия с p -value с поправкой Бонферрони ($p < 0,0012$).

Note. The p -values are presented for items with $p < 0.05$; items with $p \geq 0.05$ are marked with ‘–’. Differences with p -value with Bonferroni correction ($p < 0.0012$) were considered as statistically significant.

ВИЧ-1 на примере вариантов вирусов, циркулировавших в Московской области в 2019–2020 гг., и сравнение генетической вариабельности белка Vpr-A6 у пациентов с разными стадиями заболевания.

По результатам исследования было установлено, что большинство (84,96%) нуклеотидных последовательностей *vpr* относились к ВИЧ-1 суб-субтипа A6, вторым по распространенности стал субтип B (7,08%), затем – рекомбинантная форма CRF63_02A6 (4,87%), что согласуется с результатами исследования генетического разнообразия ВИЧ-1 на территории Российской Федерации [24]. Две последовательности были идентифицированы как уникальные B/G-рекомбинантные формы, что также согласуется с ранее представленными данными о выявлении в России уникальных B/G-рекомбинантных форм [48]. Одна последовательность гена *vpr* была определена как уникальная A6/B-рекомбинантная форма, что подкрепляется данными о формировании различных рекомбинантных форм между ВИЧ-1 суб-субтипа A6 и субтипа B на территории России [49].

Шесть из 192 (3,13%) последовательностей Vpr-A6, полученные от пациентов с разными стадиями ВИЧ-инфекции, содержали инсерцию между 84-м и 85-м положениями аминокислотных остатков. Двадцать из 192 (10,42%) последовательностей Vpr-A6, полученные от пациентов с разными стадиями заболевания, содержали делеции в 84–89-м положениях, при этом 50% данных последовательностей содержали сразу две делеции. Наиболее часто делеции встречались в 85-м (85%, 17/20) и в 86-м (40%, 8/20) положениях (табл. 2). Ранее уже отмечалось наличие делеций в 85, 86 и 89-й позициях в белке Vpr вариантов суб-субтипа A6 [46]. Преждевременные стоп-кодоны были выявлены у 6 пациентов с 3-й и 4-й стадиями за-

болевания. Известны исследования закономерностей и частоты встречаемости стоп-кодонов в участках провирусной ДНК, кодирующих протеазу, обратную транскриптазу и интегразу [50, 51]. Однако аналогичных работ по изучению распространенности стоп-кодонов в провирусной ДНК, кодирующей белок Vpr, пока не проводилось. В целом в настоящее время существует предположение, что дефектные провирусы могут обладать биологической активностью: образуемые на их основе транскрипты и соответствующие им белки могут участвовать в стимуляции иммунного ответа, последующей хронической активации иммунной системы и быть серьезным препятствием для разработки средств эрадикации ВИЧ [52].

Консенсусные последовательности анализируемых вариантов ВИЧ-1 в нескольких позициях, предположительно участвующих в формировании пространственной структуры белка, содержали замены относительно референсной последовательности – Vpr_model: замену D17E – суб-субтип A6, субтип B, CRF63_02A6; T19M – суб-субтип A6, T55E – суб-субтип A6, CRF63_02A6; T55A – субтип B; L60I – суб-субтип A6, субтип B, CRF63_02A6 и R77Q – суб-субтип A6, субтип B, CRF63_02A6. При этом замены T55E, T55A и R77Q приводили к изменению химических свойств аминокислотного остатка в заданном положении.

Предсказание пространственных структур консенсусных последовательностей и референсной последовательности Vpr_model определило, что в анализируемых последовательностях структурированные участки белка преимущественно приходились на область с 16-го по 85-й а.о., что совпадало с областью, в которой картировались эпитопы в белке Vpr (рис. 1, 7).

Предсказание олигомерных структур белка Vpr консенсусных последовательностей и Vpr_model проде-

монстрировало различия среди тетрамерных и гексамерных форм. При пространственном выравнивании гексамерных форм было определено, что наибольшее среднеквадратичное отклонение между α -атомами (RMSD) составило 37,8 Å для пары гексамера консенсусной последовательности субтипа В и гексамера консенсусной последовательности CRF63_02A6, а наименьшее – 16,9 Å для пары гексамера консенсусной последовательности рекомбинантной формы CRF63_02A6 и гексамера Vpr_model (рис. 9). RMSD является количественной мерой сходства между двумя белковыми структурами, и наименьшее значение RMSD между олигомерными формами указывает на их структурное сходство.

Таким образом, имеющиеся особенности белка Vpr у различных вариантов ВИЧ-1 могут повлиять на формирование олигомерных форм белка. Учитывая высокую значимость процесса олигомеризации, который влияет на включение белка Vpr в вирионы и, как следствие, определяет возможность участия белка Vpr в ранних стадиях репликации вируса, можно утверждать, что существующие особенности могут повлиять на функциональные свойства белка Vpr [4].

В ранее выполненном исследовании динамики вариабельности гена *vpr* у пациентов, инфицированных ВИЧ-1 субтипа С, отмечалось постепенное увеличение генетического разнообразия *vpr* в популяции вируса у пациента в течение первого года развития заболевания [53]. Однако сравнение белка Vpr у вариантов вируса, выделенных от пациентов с разными стадиями заболевания в Китае, не выявило существенных различий аминокислот в функционально значимых областях [54]. В данном исследовании также не было обнаружено аминокислотных замен в белке Vpr-A6, имеющих статистически значимые различия в частоте встречаемости у пациентов с разными стадиями заболевания, что подтверждает ранее сделанные выводы о низкой вариабельности белка Vpr-A6 и перспективности его использования для создания средств терапии ВИЧ-инфекции [46, 47].

Ограничениями проведенного исследования является относительно небольшая выборка, в том числе не-A6-вариантов, а также изучение вариантов вируса, циркулирующих в пределах одного региона – Московской области.

Заключение

Впервые проведено сравнение особенностей белков Vpr генетических вариантов ВИЧ-1, наиболее широко распространенных на территории Российской Федерации (A6, В, CRF63). Было установлено, что присутствующие особенности могут повлиять на формирование олигомерных форм белка. Принимая во внимание важность процесса олигомеризации белка Vpr, можно предположить, что имеющиеся различия могут приводить к разной функциональной активности белка Vpr у вариантов ВИЧ-1. Вместе с тем сравнение генетического разнообразия Vpr-A6 у пациентов с разными стадиями ВИЧ-инфекции не выявило достоверно значимых аминокислотных замен,

что подтверждает данные о низкой вариабельности белка Vpr внутри вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6 и о возможности его использования для разработки средств терапии ВИЧ-инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

- Kogan M., Rappaport J. HIV-1 accessory protein Vpr: Relevance in the pathogenesis of HIV and potential for therapeutic intervention. *Retrovirology*. 2011; 8: 25. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-8-25>
- Morellet N., Bouaziz S., Petitjean P., Roques B.P. NMR structure of the HIV-1 regulatory protein VPR. *J. Mol. Biol.* 2003; 327(1): 215–27. [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(03\)00060-3](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(03)00060-3)
- Sawaya B.E., Khalili K., Gordon J., Taube R., Amini S. Cooperative interaction between HIV-1 regulatory proteins Tat and Vpr modulates transcription of the viral genome. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(45): 35209–14. <https://doi.org/10.1074/jbc.M005197200>
- Fritz J.V., Dujardin D., Godet J., Didier P., De Mey J., Darlix J.L., et al. HIV-1 Vpr oligomerization but not that of Gag directs the interaction between VPR and GAG. *J. Virol.* 2010; 84(3): 1585–96. <https://doi.org/10.1128/JVI.01691-09>
- Venkatachari N.J., Walker L.A., Tasthan O., Le T., Dempsey T.M., Li Y., et al. Human immunodeficiency virus type 1 Vpr: oligomerization is an essential feature for its incorporation into virus particles. *Virol. J.* 2010; 7: 119. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-7-119>
- Nodder S.B., Gummuluru S. Illuminating the role of VPR in HIV infection of myeloid cells. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1606. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01606>
- Vanegas-Torres C.A., Schindler M. HIV-1 Vpr functions in primary CD4+ T Cells. *Viruses*. 2024; 16(3): 420. <https://doi.org/10.3390/v16030420>
- Zhang F., Bieniasz P.D. HIV-1 VPR induces cell cycle arrest and enhances viral gene expression by depleting CCDC137. *Elife*. 2020; 9: e55806. <https://doi.org/10.7554/eLife.55806>
- Huang C.Y., Chiang S.F., Lin T.Y., Chiou S.H., Chow K.C. HIV-1 VPR triggers mitochondrial destruction by impairing Mfn2-mediated ER-mitochondria interaction. *PLoS One*. 2012; 7(3): e33657. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033657>
- Zhao L., Wang S., Xu M., He Y., Zhang X., Xiong Y., et al. VPR counteracts the restriction of LAPTM5 to promote HIV-1 infection in macrophages. *Nat. Commun.* 2021; 12(1): 3691. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24087-8>
- Eldin P., Péron S., Galashevskaya A., Denis-Lagache N., Cogné M., Slupphaug G., et al. Impact of HIV-1 Vpr manipulation of the DNA repair enzyme UNG2 on B lymphocyte class switch recombination. *J. Transl. Med.* 2020; 18(1): 310. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02478-7>
- Casey Klockow L., Sharifi H.J., Wen X., Flagg M., Furuya A.K., Nekorchuk M., et al. The HIV-1 protein Vpr targets the endoribonuclease Dicer for proteasomal degradation to boost macrophage infection. *Virology*. 2013; 444(1-2): 191–202. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.06.010>
- Li G., Makar T., Gerzanich V., Kalakonda S., Ivanova S., Pereira E.F.R., et al. HIV-1 VPR-induced proinflammatory response and apoptosis are mediated through the Sur1-Trpm4 channel in astrocytes. *mBio*. 2020; 11(6): e02939–20. <https://doi.org/10.1128/mbio.02939-20>
- Mukerjee R., Chang J.R., Del Valle L., Bagashev A., Gayed M.M., Lyde R.B., et al. Deregulation of microRNAs by HIV-1 VPR protein leads to the development of neurocognitive disorders. *J. Biol. Chem.* 2011; 286(40): 34976–85. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.241547>
- James T., Nonnemacher M.R., Wigdahl B., Krebs F.C. Defining the roles for VPR in HIV-1-associated neuropathogenesis. *J. Neurovirol.* 2016; 22(4): 403–15. <https://doi.org/10.1007/s13365-016-0436-5>
- Fabryova H., Strebel K. VPR and its cellular interaction partners: R we there yet? *Cells*. 2019; 8(11): 1310. <https://doi.org/10.3390/cells8111310>
- González M.E. The HIV-1 VPR protein: A multifaceted target for therapeutic intervention. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18(1): 126. <https://doi.org/10.3390/ijms18010126>
- Dampier W., Antell G.C., Aiamkitsumrit B., Nonnemacher M.R., Jacobson J.M., Pirrone V., et al. Specific amino acids in HIV-1 Vpr are significantly associated with differences in patient neuro-

- cognitive status. *J. Neurovirol.* 2017; 23(1): 113–24. <https://doi.org/10.1007/s13365-016-0462-3>
19. Hadi K., Walker L.A., Guha D., Murali R., Watkins S.C., Tarwater P., et al. Human immunodeficiency virus type 1 VPR polymorphisms associated with progressor and non-progressor individuals alter VPR-associated functions. *J. Gen. Virol.* 2014; 95(3): 700–11. <https://doi.org/10.1099/vir.0.059576-0>
 20. Colle J.H., Rose T., Rouzioux Ch., Garcia A. Two highly variable Vpr84 and Vpr85 residues within the HIV-1-Vpr C-terminal protein transduction domain control transduction activity and define a clade specific polymorphism. *World Journal of AIDS.* 2014; (4): 148–55. <https://doi.org/10.4236/wja.2014.4201>
 21. Hagiwara K., Ishii H., Murakami T., Takeshima S.N., Chutiwittoonchai N., Kodama E.N., et al. Synthesis of a VPR-binding derivative for use as a novel HIV-1 inhibitor. *PLoS One.* 2015; 10(12): e0145573. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145573>
 22. Milani A., Baesi K., Agi E., Marouf G., Ahmadi M., Bolhassani A. HIV-1 accessory proteins: which one is potentially effective in diagnosis and vaccine development? *Protein Pept. Lett.* 2021; 28(6): 687–98. <https://doi.org/10.2174/0929866528999201231213610>
 23. Bbosa N., Kaleebu P., Ssemwanga D. HIV subtype diversity worldwide. *Curr. Opin. HIV AIDS.* 2019; 14(3): 153–60. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000534>
 24. Антонова А.А., Кузнецова А.И., Ожмегова Е.Н., Лебедев А.В., Казеннова Е.В., Ким К.В. и др. Генетическое разнообразие ВИЧ-1 на современном этапе эпидемии в Российской Федерации: увеличение распространенности рекомбинантных форм. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2023; 15(3): 61–72. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2023-15-3-61-72> <https://elibrary.ru/tpwttn>
 25. Antonova A., Kazennova E., Lebedev A., Ozhmegova E., Kuznetsova A., Tumanov A., et al. Recombinant forms of HIV-1 in the last decade of the epidemic in the Russian Federation. *Viruses.* 2023; 15(12): 2312. <https://doi.org/10.3390/v15122312>
 26. Maksimenko L.V., Sivay M.V., Totmenin A.V., Shvalov A.N., Skudarnov S.E., Ostapova T.S., et al. Novel HIV-1 A6/B recombinant forms (CRF133_A6B and URF_A6/B) circulating in Krasnoyarsk region, Russia. *J. Infect.* 2022; 85(6): 702–69. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2022.10.001>
 27. Halikov M.R., Ekushov V.E., Totmenin A.V., Gashnikova N.M., Antonets M.E., Tregubchak T.V., et al. Identification of a novel HIV-1 circulating recombinant form CRF157_A6C in Primorsky Territory, Russia. *J. Infect.* 2024; 88(2): 180–2. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2023.11.005>
 28. Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988; 16(3): 1215. <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1>
 29. Struck D., Lawyer G., Ternes A.M., Schmit J.C., Bercoff D.P. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42(18): e144. <https://doi.org/10.1093/nar/gku739>
 30. Schultz A.K., Bulla I., Abdou-Chekarau M., Gordien E., Morgenstern B., Zoaulim F., et al. jpHMM: recombination analysis in viruses with circular genomes such as the hepatitis B virus. *Nucleic Acids Res.* 2012; 40(Web Server issue): W193–8. <https://doi.org/10.1093/nar/gks414>
 31. Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 2015; 32(1): 268–74. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
 32. Larsson A. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics.* 2014; 30(22): 3276–8. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu531>
 33. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat. Methods.* 2012; 9(8): 772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>
 34. Letunic I., Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Res.* 2021; 49(W1): W293–6. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab301>
 35. Lobanov M.Y., Sokolovskiy I.V., Galzitskaya O.V. IsUnstruct: prediction of the residue status to be ordered or disordered in the protein chain by a method based on the Ising model. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2013; 31(10): 1034–43. <https://doi.org/10.1080/07391102.2012.718529>
 36. Jumper J., Evans R., Pritzel A., Green T., Figurnov M., Ronneberger O., et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature.* 2021; 596(7873): 583–9. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
 37. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. *Биологическая химия.* М.: Медицина; 1998.
 38. Lobanov M.Y., Pereyaslavets L.B., Likhachev I.V., Matkariyev B.T., Galzitskaya O.V. Is there an advantageous arrangement of aromatic residues in proteins? Statistical analysis of aromatic interactions in globular proteins. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2021; 19: 5960–8. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.10.036>
 39. Nair M., Gettins L., Fuller M., Kirtley S., Hemelaar J. Global and regional genetic diversity of HIV-1 in 2010–21: systematic review and analysis of prevalence. *Lancet Microbe.* 2024; 5(11): 100912. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(24\)00151-4](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(24)00151-4)
 40. Bouman J.A., Venner C.M., Walker C., Arts E.J., Regoes R.R. Per-pathogen virulence of HIV-1 subtypes A, C and D. *Proc. Biol. Sci.* 2023; 290(1998): 20222572. <https://doi.org/10.1098/rspb.2022.2572>
 41. Sami Saribas A., Cicalese S., Ahooyi T.M., Khalili K., Amini S., Sa-riyer I.K. HIV-1 Nef is released in extracellular vesicles derived from astrocytes: evidence for Nef-mediated neurotoxicity. *Cell Death Dis.* 2017; 8(1): e2542. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.467>
 42. Cafaro A., Schietroma I., Sernicola L., Belli R., Campagna M., Mancini F., et al. Role of HIV-1 tat protein interactions with host receptors in HIV infection and pathogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* 2024; 25(3): 1704. <https://doi.org/10.3390/ijms25031704>
 43. Khan N., Geiger J.D. Role of Viral Protein U (VPU) in HIV-1 infection and pathogenesis. *Viruses.* 2021; 13(8): 1466. <https://doi.org/10.3390/v13081466>
 44. Ruiz A.P., Ajasin D.O., Ramasamy S., DesMarais V., Eugenin E.A., Prasad V.R. A naturally occurring polymorphism in the HIV-1 tat basic domain inhibits uptake by bystander cells and leads to reduced neuroinflammation. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 3308. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39531-5>
 45. Lebedev A., Kim K., Ozhmegova E., Antonova A., Kazennova E., Tumanov A., et al. Rev protein diversity in HIV-1 group M clades. *Viruses.* 2024; 16(5): 759. <https://doi.org/10.3390/v16050759>
 46. Лапавок И.А. *Анализ полиморфизма неструктурных областей генома варианта ВИЧ-1, доминирующего в России:* Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М.; 2009. <https://elibrary.ru/nkranl>
 47. Антонова А.А., Лебедев А.В., Ожмегова Е.Н., Шлык А.В., Лаповок И.А., Кузнецова А.И. Вариативность неструктурных белков у вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа А6 (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1, sub-subtype A6), циркулирующих в разных регионах Российской Федерации. *Вопросы вирусологии.* 2024; 69(5): 470–80. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-262> <https://elibrary.ru/vbbkqu>
 48. Murzakova A., Kireev D., Baryshev P., Lopatukhin A., Serova E., Shemshura A., et al. Molecular epidemiology of HIV-1 subtype G in the Russian Federation. *Viruses.* 2019; 11(4): 348. <https://doi.org/10.3390/v11040348>
 49. Щемелев А.Н., Семенов А.В., Останкова Ю.В., Найденова Е.В., Зуева Е.Б., Валутите Д.Э. и др. Генетическое разнообразие вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1) в Калининградской области. *Вопросы вирусологии.* 2022; 67(4): 310–21. <https://elibrary.ru/bkswno>
 50. Makinson A., Masquelier B., Taieb A., Peytavin G., Waldner-Combarnoux A., Collin G., et al. Presence of numerous stop codons in HIV-1 reverse transcriptase proviral DNA sequences from patients with virological response to HAART. *AIDS.* 2006; 20(9): 1327–9. <https://doi.org/10.1097/01.aids.0000232242.51286.7b>
 51. Alidjinou E.K., Deldalle J., Robineau O., Hallaert C., Meybeck A., Huileux T., et al. Routine drug resistance testing in proviral HIV-1 DNA: Prevalence of stop codons and hypermutation, and associated factors. *J. Med. Virol.* 2019; 91(9): 1684–7. <https://doi.org/10.1002/jmv.25474>
 52. Бобкова М.Р. Дефектные провирусы ВИЧ: возможное участие в патогенезе ВИЧ-инфекции. *Вопросы вирусологии.* 2024; 69(5): 399–414. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-261> <https://elibrary.ru/pselci>
 53. Rossen Khan R., Novitsky V., Sebunya T.K., Musonda R., Gashe B.A., Essex M. Viral diversity and diversification of major non-structural genes vif, vpr, vpu, tat exon 1 and rev exon 1 during primary HIV-1 subtype C infection. *PLoS One.* 2012; 7(5): e35491. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035491>
 54. Shen C., Gupta P., Wu H., Chen X., Huang X., Zhou Y., et al. Molecular characterization of the HIV type 1 vpr gene in infected Chinese former blood/plasma donors at different stages of diseases.

AIDS Res. Hum. Retroviruses. 2008; 24(4): 661–6. <https://doi.org/10.1089/aid.2007.0270>

REFERENCES

- Kogan M., Rappaport J. HIV-1 accessory protein Vpr: Relevance in the pathogenesis of HIV and potential for therapeutic intervention. *Retrovirology*. 2011; 8: 25. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-8-25>
- Morellet N., Bouaziz S., Petitjean P., Roques B.P. NMR structure of the HIV-1 regulatory protein VPR. *J. Mol. Biol.* 2003; 327(1): 215–27. [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(03\)00060-3](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(03)00060-3)
- Sawaya B.E., Khalili K., Gordon J., Taube R., Amini S. Cooperative interaction between HIV-1 regulatory proteins Tat and Vpr modulates transcription of the viral genome. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(45): 35209–14. <https://doi.org/10.1074/jbc.M005197200>
- Fritz J.V., Dujardin D., Godet J., Didier P., De Mey J., Darlix J.L., et al. HIV-1 Vpr oligomerization but not that of Gag directs the interaction between VPR and GAG. *J. Virol.* 2010; 84(3): 1585–96. <https://doi.org/10.1128/JVI.01691-09>
- Venkatachari N.J., Walker L.A., Tastan O., Le T., Dempsey T.M., Li Y., et al. Human immunodeficiency virus type 1 Vpr: oligomerization is an essential feature for its incorporation into virus particles. *Virol. J.* 2010; 7: 119. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-7-119>
- Nodder S.B., Gummuluru S. Illuminating the role of VPR in HIV infection of myeloid cells. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1606. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01606>
- Vanegas-Torres C.A., Schindler M. HIV-1 Vpr functions in primary CD4+ T Cells. *Viruses*. 2024; 16(3): 420. <https://doi.org/10.3390/v16030420>
- Zhang F., Bieniasz P.D. HIV-1 VPR induces cell cycle arrest and enhances viral gene expression by depleting CCDC137. *Elife*. 2020; 9: e55806. <https://doi.org/10.7554/eLife.55806>
- Huang C.Y., Chiang S.F., Lin T.Y., Chiou S.H., Chow K.C. HIV-1 VPR triggers mitochondrial destruction by impairing Mfn2-mediated ER-mitochondria interaction. *PLoS One*. 2012; 7(3): e33657. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033657>
- Zhao L., Wang S., Xu M., He Y., Zhang X., Xiong Y., et al. VPR counteracts the restriction of LAPTM5 to promote HIV-1 infection in macrophages. *Nat. Commun.* 2021; 12(1): 3691. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24087-8>
- Eldin P., Péron S., Galashevskaya A., Denis-Lagache N., Cogné M., Slupphaug G., et al. Impact of HIV-1 Vpr manipulation of the DNA repair enzyme UNG2 on B lymphocyte class switch recombination. *J. Transl. Med.* 2020; 18(1): 310. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02478-7>
- Casey Klockow L., Sharifi H.J., Wen X., Flagg M., Furuya A.K., Nekorchuk M., et al. The HIV-1 protein Vpr targets the endoribonuclease Dicer for proteasomal degradation to boost macrophage infection. *Virology*. 2013; 444(1-2): 191–202. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.06.010>
- Li G., Makar T., Gerzanich V., Kalakonda S., Ivanova S., Pereira E.F.R., et al. HIV-1 VPR-induced proinflammatory response and apoptosis are mediated through the Surl1-Trpm4 channel in astrocytes. *mBio*. 2020; 11(6): e02939–20. <https://doi.org/10.1128/mbio.02939-20>
- Mukerjee R., Chang J.R., Del Valle L., Bagashev A., Gayed M.M., Lyde R.B., et al. Dereglulation of microRNAs by HIV-1 VPR protein leads to the development of neurocognitive disorders. *J. Biol. Chem.* 2011; 286(40): 34976–85. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.241547>
- James T., Nonnemacher M.R., Wigdahl B., Krebs F.C. Defining the roles for VPR in HIV-1-associated neuropathogenesis. *J. Neurovirol.* 2016; 22(4): 403–15. <https://doi.org/10.1007/s13365-016-0436-5>
- Fabryova H., Strebel K. VPR and its cellular interaction partners: R we there yet? *Cells*. 2019; 8(11): 1310. <https://doi.org/10.3390/cells8111310>
- González M.E. The HIV-1 VPR protein: A multifaceted target for therapeutic intervention. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18(1): 126. <https://doi.org/10.3390/ijms18010126>
- Dampier W., Antell G.C., Aiamkitsumrit B., Nonnemacher M.R., Jacobson J.M., Pirrone V., et al. Specific amino acids in HIV-1 Vpr are significantly associated with differences in patient neurocognitive status. *J. Neurovirol.* 2017; 23(1): 113–24. <https://doi.org/10.1007/s13365-016-0462-3>
- Hadi K., Walker L.A., Guha D., Murali R., Watkins S.C., Tarwater P., et al. Human immunodeficiency virus type 1 VPR polymorphisms associated with progressor and non-progressor individuals alter VPR-associated functions. *J. Gen. Virol.* 2014; 95(3): 700–11. <https://doi.org/10.1099/vir.0.059576-0>
- Colle J.H., Rose T., Rouzioux Ch., Garcia A. Two highly variable Vpr84 and Vpr85 residues within the HIV-1-Vpr C-terminal protein transduction domain control transductional activity and define a clade specific polymorphism. *World Journal of AIDS*. 2014; (4): 148–55. <https://doi.org/10.4236/wja.2014.4201>
- Hagiwara K., Ishii H., Murakami T., Takeshima S.N., Chutiwittonchai N., Kodama E.N., et al. Synthesis of a VPR-binding derivative for use as a novel HIV-1 inhibitor. *PLoS One*. 2015; 10(12): e0145573. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145573>
- Milani A., Baesi K., Agi E., Marouf G., Ahmadi M., Bolhassani A. HIV-1 accessory proteins: which one is potentially effective in diagnosis and vaccine development? *Protein Pept. Lett.* 2021; 28(6): 687–98. <https://doi.org/10.2174/0929866528999201231213610>
- Bbosa N., Kaleebu P., Ssemwanga D. HIV subtype diversity worldwide. *Curr. Opin. HIV AIDS*. 2019; 14(3): 153–60. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000534>
- Antonova A.A., Kuznetsova A.I., Ozhmegova E.N., Lebedev A.V., Kazennova E.V., Kim K.V., et al. Genetic diversity of HIV-1 at the current stage of the epidemic in the Russian Federation: an increase in the prevalence of recombinant forms. *VICH-infektsiya i immunosupressii*. 2023; 15(3): 61–72. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2023-15-3-61-72> <https://elibrary.ru/tpwttt> (in Russian)
- Antonova A., Kazennova E., Lebedev A., Ozhmegova E., Kuznetsova A., Tumanov A., et al. Recombinant forms of HIV-1 in the last decade of the epidemic in the Russian Federation. *Viruses*. 2023; 15(12): 2312. <https://doi.org/10.3390/v15122312>
- Maksimenco L.V., Sivay M.V., Totmenin A.V., Shvalov A.N., Skudarnov S.E., Ostapova T.S., et al. Novel HIV-1 A6/B recombinant forms (CRF133_A6B and URF_A6/B) circulating in Krasnoyarsk region, Russia. *J. Infect.* 2022; 85(6): 702–69. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2022.10.001>
- Halikov M.R., Ekushov V.E., Totmenin A.V., Gashnikova N.M., Antonets M.E., Tregubchak T.V., et al. Identification of a novel HIV-1 circulating recombinant form CRF157_A6C in Primorsky Territory, Russia. *J. Infect.* 2024; 88(2): 180–2. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2023.11.005>
- Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988; 16(3): 1215. <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1>
- Struck D., Lawyer G., Ternes A.M., Schmit J.C., Bercoff D.P. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42(18): e144. <https://doi.org/10.1093/nar/gku739>
- Schultz A.K., Bulla I., Abdou-Chekaraou M., Gordien E., Morgenstern B., Zoulim F., et al. jPHMM: recombination analysis in viruses with circular genomes such as the hepatitis B virus. *Nucleic Acids Res.* 2012; 40(Web Server issue): W193–8. <https://doi.org/10.1093/nar/gks414>
- Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 2015; 32(1): 268–74. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
- Larsson A. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics*. 2014; 30(22): 3276–8. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu531>
- Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat. Methods*. 2012; 9(8): 772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>
- Letunic I., Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Res.* 2021; 49(W1): W293–6. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab301>
- Lobanov M.Y., Sokolovskiy I.V., Galzitskaya O.V. IsUnstruct: prediction of the residue status to be ordered or disordered in the protein chain by a method based on the Ising model. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2013; 31(10): 1034–43. <https://doi.org/10.1080/07391102.2012.718529>
- Jumper J., Evans R., Pritzel A., Green T., Figurnov M., Ronneberger O., et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*. 2021; 596(7873): 583–9. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
- Berezov T.T., Korovkin B.F. *Biological Chemistry [Biologicheskaya khimiya]*. Moscow: Meditsina; 1998. (in Russian)
- Lobanov M.Y., Pereyaslavets L.B., Likhachev I.V., Matkarimov B.T.,

- Galzitskaya O.V. Is there an advantageous arrangement of aromatic residues in proteins? Statistical analysis of aromatic interactions in globular proteins. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2021; 19: 5960–8. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.10.036>
39. Nair M., Gettins L., Fuller M., Kirtley S., Hemelaar J. Global and regional genetic diversity of HIV-1 in 2010–21: systematic review and analysis of prevalence. *Lancet Microbe.* 2024; 5(11): 100912. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(24\)00151-4](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(24)00151-4)
 40. Bouman J.A., Venner C.M., Walker C., Arts E.J., Regoes R.R. Per-pathogen virulence of HIV-1 subtypes A, C and D. *Proc. Biol. Sci.* 2023; 290(1998): 20222572. <https://doi.org/10.1098/rspb.2022.2572>
 41. Sami Saribas A., Cicalese S., Ahooyi T.M., Khalili K., Amini S., Sariyer I.K. HIV-1 Nef is released in extracellular vesicles derived from astrocytes: evidence for Nef-mediated neurotoxicity. *Cell Death Dis.* 2017; 8(1): e2542. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.467>
 42. Cafaro A., Schietroma I., Sernicola L., Belli R., Campagna M., Mancini F., et al. Role of HIV-1 tat protein interactions with host receptors in HIV infection and pathogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* 2024; 25(3): 1704. <https://doi.org/10.3390/ijms25031704>
 43. Khan N., Geiger J.D. Role of Viral Protein U (VPU) in HIV-1 infection and pathogenesis. *Viruses.* 2021; 13(8): 1466. <https://doi.org/10.3390/v13081466>
 44. Ruiz A.P., Ajasin D.O., Ramasamy S., DesMarais V., Eugenin E.A., Prasad V.R. A naturally occurring polymorphism in the HIV-1 tat basic domain inhibits uptake by bystander cells and leads to reduced neuroinflammation. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 3308. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39531-5>
 45. Lebedev A., Kim K., Ozhmegova E., Antonova A., Kazennova E., Tumanov A., et al. Rev protein diversity in HIV-1 group M clades. *Viruses.* 2024; 16(5): 759. <https://doi.org/10.3390/v16050759>
 46. Lapavok I.A. *Analysis of polymorphism of non-structural regions in the genome of the HIV-1 variant dominant in Russia*: Diss. Moscow; 2009. <https://elibrary.ru/nkranl> (in Russian)
 47. Antonova A.A., Lebedev A.V., Ozhmegova E.N., Shlykova A.V., Lapavok I.A., Kuznetsova A.I. Variability of non-structural proteins of HIV-1 sub-subtype A6 (retroviridae: orthoretrovirinae: lentivirus: human immunodeficiency Virus-1, sub-subtype A6) variants circulating in different regions of the Russian Federation. *Voprosy virusologii.* 2024; 69(5): 470–80. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-262> <https://elibrary.ru/wbbkuq> (in Russian)
 48. Murzakova A., Kireev D., Baryshev P., Lopatukhin A., Serova E., Shemshura A., et al. Molecular epidemiology of HIV-1 subtype G in the Russian Federation. *Viruses.* 2019; 11(4): 348. <https://doi.org/10.3390/v11040348>
 49. Shchemelev A.N., Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Naidenova E.V., Zueva E.B., Valutite D.E., et al. Genetic diversity of the human immunodeficiency virus (HIV-1) in the Kaliningrad region. *Voprosy virusologii.* 2022; 67(4): 310–21. <https://elibrary.ru/bkswno> (in Russian)
 50. Makinson A., Masquelier B., Taieb A., Peytavin G., Waldner-Combarnoux A., Collin G., et al. Presence of numerous stop codons in HIV-1 reverse transcriptase proviral DNA sequences from patients with virological response to HAART. *AIDS.* 2006; 20(9): 1327–9. <https://doi.org/10.1097/01.aids.0000232242.51286.7b>
 51. Alidjinou E.K., Deldalle J., Robineau O., Hallaert C., Meybeck A., Huileux T., et al. Routine drug resistance testing in proviral HIV-1 DNA: Prevalence of stop codons and hypermutation, and associated factors. *J. Med. Virol.* 2019; 91(9): 1684–7. <https://doi.org/10.1002/jmv.25474>
 52. Bobkova M.R. Defective HIV proviruses: possible involvement in the HIV infection pathogenesis. *Voprosy virusologii.* 2024; 69(5): 399–414. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-261> <https://elibrary.ru/pselci> (in Russian)
 53. Rossenkhon R., Novitsky V., Sebunya T.K., Musonda R., Gashe B.A., Essex M. Viral diversity and diversification of major non-structural genes vif, vpr, vpu, tat exon 1 and rev exon 1 during primary HIV-1 subtype C infection. *PLoS One.* 2012; 7(5): e35491. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035491>
 54. Shen C., Gupta P., Wu H., Chen X., Huang X., Zhou Y., et al. Molecular characterization of the HIV type 1 vpr gene in infected Chinese former blood/plasma donors at different stages of diseases. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2008; 24(4): 661–6. <https://doi.org/10.1089/aid.2007.0270>

Информация об авторах:

Кузнецова Анна Игоревна — канд. биол. наук, заведующая лабораторией вирусов лейкозов, ведущий научный сотрудник Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», Москва, Россия. E-mail: a-myznikova@list.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5299-3081>

Антонова Анастасия Александровна — канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: aantanova1792@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-9180-9846>

Макеева Екатерина Александровна — студентка факультета химической технологии и биотехнологии ФГАОУ ВО «Московский политехнический университет», Москва, Россия. E-mail: makeevakaty13@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0005-7085-3361>

Ким Кристина Вячеславовна — младший научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: kimsya99@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-4150-2280>

Мунчак Яна Михайловна — младший научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: yana_munchak@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4792-8928>

Меженская Екатерина Никитична — канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: belokopytova.01@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3110-0843>

Орлова-Морозова Елена Александровна — канд. мед. наук, заведующая амбулаторно-поликлиническим отделением ГБУЗ МО «Центр профилактики и борьбы со СПИД», Котельники, Московская область, Россия. E-mail: orlovamorozova@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-2495-6501>

Пронин Александр Юрьевич — канд. мед. наук, главный врач ГБУЗ МО «Центр профилактики и борьбы со СПИД», Котельники, Московская область, Россия. E-mail: alexanderp909@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-9268-4929>

Прилипов Алексей Геннадьевич — д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной генетики института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: a_prilipov@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8755-1419>

Галзитская Оксана Валериановна — д-р физ.-мат. наук, заведующая лабораторией биоинформатики, главный научный сотрудник ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», Москва, Россия. E-mail: ogalzit@vega.protres.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3962-1520>

Участие авторов: Кузнецова А.И. — концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, подготовка текста, одобрение окончательного варианта статьи для публикации; Антонова А.А. — анализ и интерпретация данных, подготовка текста, одобрение окончательного варианта статьи для публикации; Макеева Е.А. — анализ и интерпретация данных; Ким К.В. — проведение экспериментов; Мунчак Я.М. — проведение экспериментов; Меженская Е.Н. — анализ и интерпретация данных; Орлова-Морозова Е.А. — сбор данных; Пронин А.Ю. — сбор данных; Прилипов А.Г. — проведение экспериментов; Галзитская О.В. — анализ и интерпретация данных, подготовка текста, одобрение окончательного варианта статьи для публикации.

Поступила 13.02.2025
Принята в печать 10.04.2025
Опубликована 30.08.2025

Information about the authors:

Anna I. Kuznetsova ✉ – PhD, Head of laboratory of T-lymphotropic viruses, PhD, leading researcher, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: a-myznikova@list.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5299-3081>

Anastasiia A. Antonova – PhD, Researcher, Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: aantonova1792@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-9180-9846>

Ekaterina A. Makeeva – student, Moscow Polytechnic University, Faculty of Chemical Engineering and Biotechnology, Moscow, Russia. E-mail: makeevakaty13@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0005-7085-3361>

Kristina V. Kim – junior researcher, Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: kimsya99@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-4150-2280>

Iana M. Munchak – junior researcher, Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: yana_munchak@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4792-8928>

Ekaterina N. Mezhenkaya – PhD, Researcher, Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: belokopytova.01@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3110-0843>

Elena A. Orlova-Morozova – PhD, Head of outpatient department, Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Moscow region, Kotelniki, Russia. E-mail: orlovamorozova@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-2495-6501>

Alexander Yu. Pronin – PhD, Chief Physician, Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Moscow region, Kotelniki, Russia. E-mail: alexanderp909@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-9268-4929>

Alexey G. Prilipov – Doctor of Biological Sciences, leading researcher, head of the laboratory of molecular genetics, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: a_prilipov@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8755-1419>

Oxana V. Galzitskaya – Doctor of Physical and Mathematical Sciences, Head of the Bioinformatics Laboratory, Chief Researcher, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. E-mail: ogalzit@vega.protres.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3962-1520>

Contribution: Kuznetsova A.I. – the study concept and design, analysis and interpretation of the data, preparing of the text, final approval of the article for publication; Antonova A.A. – analysis and interpretation of the data, preparing of the text, final approval of the article for publication; Makeeva E.A. – analysis and interpretation of the data; Kim K.V. – conducting experiments; Munchak I.A. – conducting experiments; Mezhenkaya E.N. – analysis and interpretation of the data; Orlova-Morozova E.A. – data collection; Pronin A.Yu. – data collection; Prilipov A.G. – conducting experiments; Galzitskaya O.V. – analysis and interpretation of the data, preparing of the text, final approval of the article for publication.

Received 13 February 2025

Accepted 10 April 2025

Published 30 August 2025