ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-281
© АНТОНОВА А.А., ПРОТАСОВА Л.А., КИМ К.В., МУНЧАК Я.М., МЕЖЕНСКАЯ Е.Н., ОРЛОВА-МОРОЗОВА Е.А., ПРОНИН А.Ю., ПРИЛИПОВ А.Г., КУЗНЕЦОВА А.И., 2025

Генетическое разнообразие белка Vif у вариантов вируса иммунодефицита человека 1-го типа (Retroviridae: *Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*), циркулировавших в Московской области в 2019–2020 гг.

Антонова А.А.[1], Протасова Л.А.[1], Ким К.В.[1], Мунчак Я.М.[1], Меженская Е.Н.[1], Орлова-Морозова Е.А.[2], Пронин А.Ю.[2], Прилипов А.Г.[1], Кузнецова А.И.[1]✉

[1]Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;
[2]ГБУЗ Московской области «Центр профилактики и борьбы со СПИД», 140053, Московская область, г. Котельники, Россия

Резюме
Введение. Белок Vif вируса иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1) является фактором вирусной инфекционности и противодействует клеточным дезаминазам семейства APOBEC3, препятствующим репликации вируса. На основе белка Vif ведутся разработки для создания терапевтических средств. Природные замены в белке Vif могут влиять на его функциональность и ассоциироваться с ускоренным переходом ВИЧ-инфекции в стадию СПИДа. Изучение особенностей белка Vif у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, ранее не проводилось.
Цель работы: изучить генетическое разнообразие белка Vif вариантов ВИЧ-1, циркулировавших в Московской области в 2019–2020 гг.
Материалы и методы. Проанализировано 234 образца цельной крови ВИЧ-инфицированных пациентов без опыта приема антиретровирусной терапии. Дизайн исследования включал следующие стадии: экстракция провирусной ДНК, амплификация гена *vif*, секвенирование продуктов амплификации, определение генетических вариантов полученных нуклеотидных последовательностей; затем проводили исследование консенсусных последовательностей белка Vif наиболее распространенных генетических вариантов ВИЧ-1, анализ консервативности и генетического разнообразия белка Vif-A6 (белок Vif вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6) у пациентов с разными стадиями заболевания, оценку генетического разнобразия белка Vif-A6 в Московской области.
Результаты. Проведена оценка генетического разнообразия ВИЧ-1 в области генома, кодирующего белок Vif, – выявлено большое генетическое разнообразие, включающее в себя ВИЧ-1 чистых субтипов (A6, B и G), а также его рекомбинантных форм (CRF63_02A6). Впервые получены консенсусные последовательности белка Vif генетических вариантов ВИЧ-1 – B и CRF63_02A6, циркулирующих на территории Российской Федерации. Для наиболее распространенных в России вариантов ВИЧ-1 определены характерные замены в консенсусных последовательностях.
Заключение. Ограничением исследования является небольшая выборка последовательностей, принадлежащих генетическим вариантам B и CRF63_02A6 ВИЧ-1. Полученные результаты могут быть интересны и учтены при разработке терапевтических средств на основе белка Vif, а также при изучении вопросов патогенности ВИЧ-1 суб-субтипа A6.

Ключевые слова: *ВИЧ-1; Vif; суб-субтип A6; субтип B; CRF63_02A6*

Для цитирования: Антонова А.А., Протасова Л.А., Ким К.В., Мунчак Я.М., Меженская Е.Н., Орлова-Морозова Е.А., Пронин А.Ю., Прилипов А.Г., Кузнецова А.И. Генетическое разнообразие белка Vif у вариантов вируса иммунодефицита человека 1-го типа (Retroviridae: *Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*), циркулировавших в Московской области в 2019–2020 гг. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(2): 117–132. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-281 EDN: https://elibrary.ru/qoqqce

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 к.б.н., научному сотруднику лаборатории вирусов лейкозов Алексею Владимировичу Лебедеву за помощь в графической визуализации результатов.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.
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/10.36233/0507-4088-281

Genetic diversity of Vif protein in human immunodeficiency virus type 1 variants (Retroviridae: *Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*) that circulated in the Moscow region in 2019–2020

Anastasiia A. Antonova[1], Larisa A. Protasova[1], Kristina V. Kim[1], Iana M. Munchak[1], Ekaterina N. Mezhenskaya[1], Elena A. Orlova-Morozova[2], Alexander Yu. Pronin[2], Alexey G. Prilipov[1], Anna I. Kuznetsova[1]✉

[1]D.I. Ivanovsky Institute of Virology of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia;
[2]Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, 140053, Moscow region, Kotelniki, Russia

Abstract
Introduction. The Vif protein counteracts cellular deaminases, APOBEC3, which prevent viral replication. Vif is used for development of therapeutic agents. Natural polymorphisms in Vif can affect its functionality and may be associated with accelerated progression of HIV-infection to the AIDS. The study of Vif features in HIV-1 variants circulating in Russia has not been conducted previously.
The aim of the study: to study the genetic diversity of Vif in the HIV-1 variants that circulated in the Moscow region in 2019–2020.
Materials and methods. 234 whole blood samples obtained from HIV-infected patients without experience of therapy were analyzed. The study design included the following stages: extraction of proviral DNA, amplification of the *vif* gene, sequencing, identification of genetic variants, followed by a study of consensus sequences of the most common genetic variants of HIV-1, analysis of the conservation and genetic diversity of Vif-A6 (Vif protein of HIV-1 sub-subtype A6 variants) in patients with different stages of the disease, and assessment of genetic diversity of Vif-A6 in the Moscow region.
Results. A high degree of genetic diversity of *vif* gene was revealed. Consensus sequences of Vif in B and CRF63_02A6 variants were obtained for the first time. Characteristic substitutions in the consensus sequences were determined for the most common HIV-1 variants.
Conclusion. The limitation of this study is the small sample of B and CRF63_02A6. The results obtained may be of interest and may be taken into account in the development of therapeutic agents based on the Vif protein, as well as in the study of the pathogenicity of HIV-1 sub-subtype A6.

Keywords: *HIV-1; Vif; sub-subtype A6; subtype B; CRF63_02A6*

For citation: Antonova A.A., Protasova L.A., Kim K.V., Munchak Ia.M., Mezhenskaya E.N., Orlova-Morozova E.A., Pronin A.Yu., Prilipov A.G., Kuznetsova A.I. Genetic diversity of Vif protein in human immunodeficiency virus type 1 variants (Retroviridae: *Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1*) that circulated in the Moscow region in 2019–2020. *Problems of Virology* (*Voprosy Virusologii*). 2025; 70(2): 117–132. DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-281 EDN: https://elibrary.ru/qoqqce

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 Aleksey Vladimirovich Lebedev, 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 apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.
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

Белок Vif вируса иммунодефицита человека 1-го типа (Retroviridae: *Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1,* HIV-1, ВИЧ-1) является фактором вирусной инфекционности, который специфически противодействует клеточным дезаминазам семейства APOBEC3, или A3 [1, 2]. Члены семейства APOBEC3 являются эффекторами врожденного иммунитета, противодействующими многим экзогенным вирусам, включая ВИЧ-1. При этом геном человека кодирует 7 генов A3 (*A3A*, *B*, *C*, *D*, *F*, *G* и *H*) [2]. A3G (APOBEC3G) является наиболее сильным ингибитором репликации ВИЧ-1 в отсутствие белка Vif [2, 3]. Благодаря своей цитидиндезаминазной активности, A3G преобразует цитидин (C) в уридин (U) в одноцепочечной некодирующей вирусной ДНК, образующейся в процессе обратной транскрипции вирусной РНК. На этапе синтеза второй, кодирующей, цепи провирусной ДНК происходит замена гуанина (G) на аденин (A), что в конечном итоге приводит к нарушению синтеза белка и прерыванию репликации ВИЧ-1 [2, 4]. Другие белки семейства APOBEC3: A3D, A3F и A3H, проявляют разную степень противовирусной активности [5, 6]. При этом белки семейства A3 могут проявлять противовирусную активность также дезаминазно-независимым способом на разных стадиях цикла репликации вируса (обратная транскрипция, интеграция, созревание) [2, 7, 8]. Vif нейтрализует белки семейства A3 через присоединение этих белков к E3-убиквитин-лигазному комплексу, включающему белки Cullin 5, Elongin C, Elongin B и CBF-β, для поли-убиквитинилирования с последующей протеасомной деградацией. Кроме того, Vif способен ингибировать транскрипцию A3G через захват транскрипционного кофактора (CBF-β), блокировать трансляцию A3G, ингибировать включение A3G во вновь образованные вирусные частицы [2].

Белок Vif является высоко основным полипептидом, состоящим из 192 аминокислот, массой около 23 кДа, синтезирующимся на поздней стадии репликации вируса [9, 10]. На протяжении многих лет с момента открытия белка Vif (1986 г.) изучаются его свойства и особенности взаимодействия с белками клетки-хозяина, однако полностью его роль так и не определена [2, 9–11]. На **рис. 1** обозначены описанные функциональные мотивы белка Vif.

В более ранних исследованиях показано, что натуральные вариации в белке Vif могут вызывать дефекты A3G- и A3F-нейтрализующей активности [12]. Последующие работы продемонстрировали, что между разными вариантами ВИЧ-1 присутствуют различия в функциональной активности белка Vif [13, 14]. Например, в области генома ВИЧ-1, кодирующего ген *vif*, суб-субтипа A6, широко распространенного на территории Российской Федерации, были обнаружены 12 нуклеотидных замен, 4 из которых являлись несинонимичными и приводили к заменам аминокислот K91Q, E134N, Q136P и I159E, по сравнению с ВИЧ-1 HXB2 [15]. При этом в другом исследовании была обнаружена ассоциация изменений Vif с ускоренным переходом заболевания в стадию СПИДа, мутация Q136P являлась одним из таких изменений наряду со вставкой одной аминокислоты в 61-м положении и заменами A62D/N/S [16].

В процессе исследований генетического разнообразия белка Vif были определены пары аминокислот и единичные замены, которые могут быть ассоциированы как со сниженным уровнем CD4-клеток, так и с высокой вирусной нагрузкой (ВН) [17, 18]. Таким образом, естественные вариации в белке Vif могут влиять на функциональность белка и течение заболевания.

Более того, в настоящее время разрабатываются молекулы, являющиеся антагонистами белка Vif, которые в дальнейшем могут стать основой для создания антиретровирусных препаратов нового класса [19–21]. В дизайн многих разрабатываемых мультиэпитопных вакцинных конструкций входят антигены, содержащиеся в белке Vif [22]. Таким образом, белок Vif является привлекательной мишенью для разработки терапевтических препаратов и вакцин, что делает исследование его генетического разнообразия еще более актуальным. Высокое генетическое разнообразие ВИЧ-1 и неравномерное распределение существующих вариантов вируса в мире определяют актуальность изучения особенностей белка Vif у локально циркулирующих вариантов вируса [14, 18, 23–25].

В России состав циркулирующих генетических вариантов ВИЧ-1 уникален: доминирующим вариантом является суб-субтип A6 (82,9%), на втором месте – субтип B (7,14%), затем быстро распространяющаяся рекомбинантная форма CRF63_02A6 (3,59%), и око-

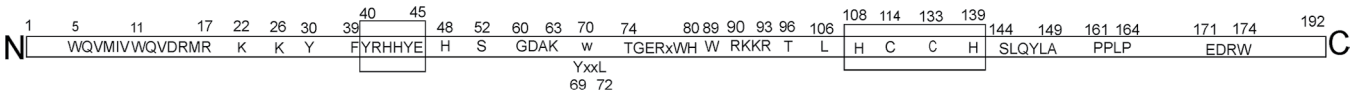

Рис. 1. Схематическое изображение функциональных мотивов в белке Vif.

[11]WQVDRMR[17], [74]TGERxWH[80] и [171]EDRW[174] – сайты, картирующиеся с A3F; K[22], K[26], Y[30], [40]YRHHYE[45], S[52], W[70] и [161]PPLP[164] – с A3G; F[39], H[48] и [60]GDAK[63] – с A3H; [69]YxxL[72] – с A3G и A3F; [90]RKKR[93] – сигнал, ингибирующий ядерную локализацию; 108Hx5Cx17−18Cx3−5H139(HCCH мотив) – с Cullin 5, входит в состав E3-убиквитин-лигазного комплекса; [144]SLQYLA[149] – с Elongin C, входит в состав E3-убиквитин-лигазного комплекса; [5]WQVMIVW[11], W[89], T[96], L[106] – с CBF-β [2, 9–11].

Fig. 1. Schematic representation of functional motifs in the Vif protein.

[11]WQVDRMR[17], [74]TGERxWH[80] and [171]EDRW[174] – sites mapping to A3F; K[22], K[26], Y[30], [40]YRHHYE[45], S[52], W[70] and [161]PPLP[164] – to A3G; F[39], H[48] and [60]GDAK[63] – to A3H; [69]YxxL[72] – to A3G и A3F; [90]RKKR[93] – a signal inhibiting nuclear localisation; [108]Hx5Cx17−18Cx3−5H[139] (HCCH motif) – to Cullin 5, is part of the E3 ubiquitin ligase complex; [144]SLQYLA[149] – to Elongin C, is a member of the E3-ubiquitin ligase complex; [5]WQVMIVW[11], W[89], T[96], L[106] – to CBF-β [2, 9–11].

ло 1% приходится на каждую из рекомбинантных форм CRF02_AG и CRF03_AB [26]. В ранее проведенных нами исследованиях были изучены особенности регуляторных белков Tat, Rev и вспомогательного белка Vpu ВИЧ-1 среди вирусов, принадлежащих суб-субтипу A6, который является наиболее широко распространенным генетическим вариантом на территории Российской Федерации; в процессе исследований проводили сравнение генетической вариабельности данных белков среди пациентов с разными стадиями заболевания [27–30]. При сравнении консенсусных последовательностей белка Vif у вариантов вируса суб-субтипа A6, циркулирующих в разных регионах России, были отмечены характерные особенности, которые могут быть связаны с так называемым «эффектом основателя» [31].

Цель исследования – изучение генетического разнообразия белка Vif вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в Московской области: определение генетических вариантов, сравнение консенсусных последовательностей наиболее распространенных из них; анализ консервативности и генетического разнообразия белка Vif-A6 (белок Vif вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6) у пациентов с разными стадиями заболевания, оценка генетического разнобразия белка Vif-A6 в Московской области.

Материалы и методы

В работе были использованы клинические образцы цельной крови, полученные от 234 наивных (без опыта приема антиретровирусной терапии (АРТ) в анамнезе) ВИЧ-инфицированных пациентов, проходивших лечение в ГКУЗ МО «Центр профилактики и борьбы со СПИД» (далее – Центр СПИД). Процедуру забора крови осуществляли сотрудники Центра СПИД. Забор крови производили единоразово в период с августа 2019 г. по июль 2020 г. в рамках реализации проекта CARE (https://www.careresearch.eu/, доступ на 29 июня 2024 г.). Весь полученный клинический материал использовали с информированного согласия пациентов на основании одобрения Комитета по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (протокол № 16 от 08.02.2019). Выявление факторов риска инфицирования проводили путем опроса пациентов при сборе эпидемиологического анамнеза. Также регистрировали следующую дополнительную информацию: пол и возраст пациента, дату забора клинического образца, стадию заболевания, показатели ВН и иммунный статус пациента (количество $CD4^+$-клеток).

Таблица 1. Характеристика включенных в исследование ВИЧ-инфицированных пациентов, классифицированных по стадии ВИЧ-инфекции*
Table 1. Characteristics of HIV-infected patients included in the study, classified by stage of HIV infection*

Характеристики Characteristics	2-я стадия/стадия начальных проявлений Stage 2/stage of initial manifestations	3-я стадия/субклиническая стадия Stage 3/subclinical stage	4-я стадия/стадия вторичных проявлений Stage 4/stage of secondary manifestations
Всего пациентов, абс. Total patients, abs.	47	82	105
Пол, абс. | Gender, abs.			
мужской | male	29	46	75
женский | female	18	36	30
Возраст, медиана лет (диапазон) Age, median years (range)	38 (19–62)	38 (21–70)	39 (24–64)
Путь инфицирования, абс. | infection route, abs.			
гетеро | hetero	25	58	64
ПИН | IDU	5	11	36
МСМ | MSM	16	10	4
нозокомиальный nosocomial	0	0	1
неизвестно unknown	1	3	0
CD4, кл/мкл (диапазон) CD4, cells/μL (range)	642,96 (290–2022)	474,10 (110–1658)	236,78 (8–1062)
Вирусная нагрузка, lg РНК, копий/мл (диапазон) Viral load, log10 RNA, copies/mL (range)	4,9 (3,4–7,0)	4,6 (3,3–6,2)	5,1 (3,1–6,4)

Примечание. В скобках представлены диапазоны абсолютных значений. ПИН – потребители инъекционных наркотиков; МСМ – мужчины, имеющие секс с мужчинами.

Note. Ranges of absolute values are presented in brackets. IDU – injecting drug users; MSM – men having sex with other men

Пациенты, включенные в исследование, находились на 2, 3 и 4-й стадиях заболевания (**табл. 1**). Таким образом, для дальнейшего анализа были сформированы 3 группы пациентов в зависимости от их стадии заболевания.

В табл. 1 показаны основные демографические и клинико-эпидемиологические характеристики пациентов, включенных в исследование, в зависимости от стадии ВИЧ-инфекции, согласно клиническим рекомендациям Минздрава России.

Экстракцию провирусной ДНК в составе геномной ДНК из клеток крови (лимфоцитов) осуществляли методом высаливания [32]. На следующем этапе проводили амплификацию гена *vif* с помощью «гнездовой (Nested)» двухраундовой полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим секвенированием продуктов амплификации. Последовательности использованных в работе праймеров и условия амплификации:

– *1-й раунд:* праймеры: Vif1p (GCAGGTAAGAGAGCAAGCTGAACA) и Vif1o (GTCTCCGCTTCTTCCTGCCATAGGA), программа: 1) 95 °C – 5 мин; 2) 35 циклов: 95 °C – 30 с, 57 °C – 1 мин, 72 °C – 1 мин 20 с; 3) 72 °C – 7 мин; 4) 4 °C – ∞ (хранение);

– *2-й раунд:* праймеры; Vif2p (GCTaCTCTGGAAAGGTGAAGG) и Vif2o (TACAAGGAGTCTTGGGCTGAC), программа: 1) 95 °C – 5 мин; 2) 35 циклов: 95 °C – 30 с, 53 °C – 1 мин, 72 °C – 1 мин 20 с; 3) 72 °C – 7 мин; 4) 4 °C – ∞ (хранение).

Амплифицированный фрагмент содержал 948 нуклеотидных оснований и включал ген *vif*. Очистку продуктов амплификации проводили с использованием коммерческого набора для очистки ПЦР-фрагментов – Clean S-Cap («Евроген», Россия) в соответствии с протоколом фирмы-производителя.

Определение нуклеотидных последовательностей осуществляли дидезокси-методом по Сэнгеру с использованием набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) и праймеров Vif2p и Vif2o согласно протоколу фирмы-производителя. Проведение оценки реакции секвенирования выполнялось автоматически в генетическом анализаторе ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

Сборку и редактирование полученных нуклеотидных последовательностей проводили с использованием приложения SeqMan II 6.1. (DNASTAR Inc., США). Попарное и множественное выравнивание было выполнено с помощью модуля ClustalW, интегрированного в программный пакет AliView [33]. В случае, если в полученных алайментах были выявлены проблемные участки, проводили их дополнительное выравнивание «вручную».

Предварительное определение генетических вариантов ВИЧ-1 осуществляли с применением специализированных программ: COMET HIV-1 (https://comet.lih.lu/) – использует контекстноориентированное моделирование для быстрого типирования вирусов ВИЧ-1 [34]; jpHMM – определяет рекомбинантные формы вируса, используя скрытую марковскую модель [35]; RIP 3.0 (https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/RIP/RIP) – служит для идентификации рекомбинантных форм вируса; размер окна при анализе составил 50 н.о., что позволило детектировать рекомбинацию в последовательностях короткой длины. Для уточнения полученных результатов был проведен филогенетический анализ. Его осуществляли методом максимального правдоподобия (Maximum Likelihood, ML) с использованием программы IQ-TREE [36]. Источником эталонных последовательностей служила база данных Лос-Аламосской лаборатории США (https://www.hiv.lanl). Модель замещения нуклеотидов определяли при помощи программы jModelTest v. 2.1.7 на основании информационного критерия Акаике (Akaike information criterion, AIC) [37]. Достоверность выведенных филогений 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 считали достоверно установленными. Визуализацию и графическую обработку результатов филогенетического анализа осуществляли в программе iTOL [38].

Затем были отобраны наиболее распространенные генетические варианты ВИЧ-1, для каждого из них были сформированы консенсусные аминокислотные последовательности для их дальнейшего сравнения. Для этого первоначально полученные нуклеотидные последовательности ВИЧ-1 наиболее распространенных генетических вариантов были переведены в аминокислотные последовательности с помощью онлайн-инструмента для трансляции, представленного на сайте: https://www.bioinformatics.org/sms2/translate.html. После этого с помощью инструмента Simple Consensus Maker (https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/CONSENSUS/SimpCon.html) на основе полученных аминокислотных последовательностей для каждого анализируемого генетического варианта ВИЧ-1 была сформирована общая консенсусная аминокислотная последовательность. Далее полученные консенсусные последовательности сравнивали между собой и относительно референсного штамма HXB2 ВИЧ-1 (GenBank Accession No: K03455) с применением программы MEGA v. 10.2.2.

На следующем этапе исследования оценивали консервативность и генетическую вариабельность белка Vif ВИЧ-1 суб-субтипа A6 у пациентов с разными стадиями заболевания. Для этого полученные аминокислотные последовательности Vif-A6 были сгруппированы в соответствии со стадией ВИЧ-инфекции пациента (3 группы), от которого они были получены. Затем для каждой группы дополнительно формировали консенсусные последовательности, как описано ранее. Таким образом, с помощью инструмента Simple Consensus Maker (https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/CONSENSUS/SimpCon.html) на основе полученных аминокислотных последовательностей для каждой стадии заболевания (2, 3 и 4-я) была сформирована общая консенсусная аминокислотная последовательность, характерная для каждой

стадии. Затем оценивали уровень консервативности аминокислот в каждой позиции в каждой группе, между группами и по отношению к общему консенсусу для вариантов суб-субтипа A6, полученных ранее для всей группы исследуемых последовательностей (см. абзац выше). Для каждой позиции аминокислоты проводилась оценка консервативности по следующей шкале: 100, 90–99, 76–89, 51–75, ≤ 50%. Далее с применением программного модуля Nonparametric Statistics из пакета Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США) оценивали статистически значимые различия в консервативности последовательностей белка Vif у пациентов с разными стадиями заболевания (точный двусторонний тест Фишера с коррекцией множественного теста Бонферрони, $p < 0{,}0033$).

Для оценки генетической вариабельности белка Vif ВИЧ-1 суб-субтипа A6 аминокислотные последовательности Vif-A6 также были поделены на группы в зависимости от стадии заболевания пациента (3 группы). Затем определяли аминокислотные замены (с применением программы MEGA v. 10.2.2) в каждой группе пациентов, используя в качестве референсной последовательности общую консенсусную аминокислотную последовательность, полученную для Vif ВИЧ-1 суб-субтипа A6. Сайты со статистически достоверными различиями в частоте встречаемости у пациентов с разными стадиями заболевания выявляли с с применением программного модуля Nonparametric Statistics из пакета Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США), допустимым считали уровень значимости при использовании критерия χ^2 с поправкой Бонферрони ($p < 0{,}0005$).

На завершающем этапе исследования в рамках изучения генетического разнообразия белка Vif суб-субтипа A6 в группе вариантов вируса, циркулирующих в Московской области, проводили их сравнение с референс-группой. Для формирования референсной группы из международной базы данных Лос-Аламос (www.hiv.lanl.gov, дата обращения 17 октября 2024 г.) были выгружены полногеномные нуклеотидные последовательности ВИЧ-1 суб-субтипа A6. Последовательности, полученные от одного и того же пациента, были исключены из анализа. Общее число последовательностей для дальнейшего анализа составило 166. Затем из загруженных полногеномных нуклеотидных последовательностей в программе MEGA v. 10.2.2 были вырезаны последовательности гена *vif*; полученные нуклеотидные последовательности гена *vif* переведены в аминокислотные, как описано ранее. Также на основе полученных аминокислотных последовательностей (исследуемых и загруженных) была сформирована общая консенсусная последовательность, которая использовалась в качестве референсной последовательности. Под генетическим разнообразием понимали частоту встречаемости аминокислоты, отличной от представленной в референсной последовательности, в каждой группе (последовательностей Vif-A6 из Московской области и последовательностей Vif-A6 из не Московской области). С помощью программного модуля Nonparametric Statistics из пакета Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США) были выявлены участки со статистически значимыми различиями ($p < 0{,}0013$ при использовании критерия χ^2 с поправкой Бонферрони).

Результаты

По результатам первичного анализа нуклеотидных последовательностей было установлено, что два образца (0,86%, 2/234), полученные от пациентов с 3-й стадией заболевания, 1311000563 и 1311001125, относились к уникальным рекомбинантам (URFs) ВИЧ-1 и были образованы фрагментами ВИЧ-1 генетических вариантов A6 и B. Данные последовательности были исключены из дальнейшего филогенетического анализа.

По результатам филогенетического анализа 6 (2,56%) нуклеотидных последовательностей (н.п.) были включены в кластер, образованный нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 субтипа G, 8 (3,42%) н.п. – циркулирующей рекомбинантной формы CRF63_02A6, 19 (8,12%) н.п. – субтипа B. Остальные 199 (85,04%) последовательностей образовали достоверный кластер с нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 суб-субтипа A6 (**рис. 2**).

При этом нуклеотидные последовательности, относящиеся к генетическим вариантам B и G, были получены от пациентов со всеми стадиями заболевания, тогда как последовательности, определенные как CRF63_02A6, – для пациентов с 3-й и 4-й стадиями заболевания. Также было выявлено, что две (1311001061 и 1311001117) из 234 исследуемых аминокислотных последовательностей, полученных от пациентов со 2-й стадией заболевания, имели делецию в 131-м положении аминокислотной последовательности. При этом обе последовательности относились к ВИЧ-1 субтипа B. Одна последовательность (1311001065), также B-субтипа, полученная от пациента с 3-й стадией ВИЧ-инфекции, содержала инсерцию 62insG.

Все полученные в ходе настоящего исследовании нуклеотидные последовательности гена *vif* ВИЧ-1 (234) были депонированы в международную базу данных генотипов GenBank со следующими номерами: PQ572780–PQ573013.

Консенсусные последовательности белка Vif были сформированы для вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6, субтипа B и рекомбинантной формы CRF63_02A6 как наиболее часто встречающихся на территории Российской Федерации [26]. Общая консенсусная аминокислотная последовательность Vif суб-субтипа A6 была сформирована на основе 199 исследуемых последовательностей: субтипа B – 19, а CRF63_02A6 – 8 соответственно. Все сформированные консенсусные последовательности состояли из 192 аминокислотных остатков и не содержали ни инсерций, ни делеций. При этом в 8 аминокислотных последовательностях суб-субтипа A6, полученных от пациентов с 3-й и 4-й стадией заболевания, были обнаружены стоп-кодоны в различных позициях: наиболее часто (37,5%) – в 70-й позиции и в 25% в каждой из позиций: 21, 38 и 192.

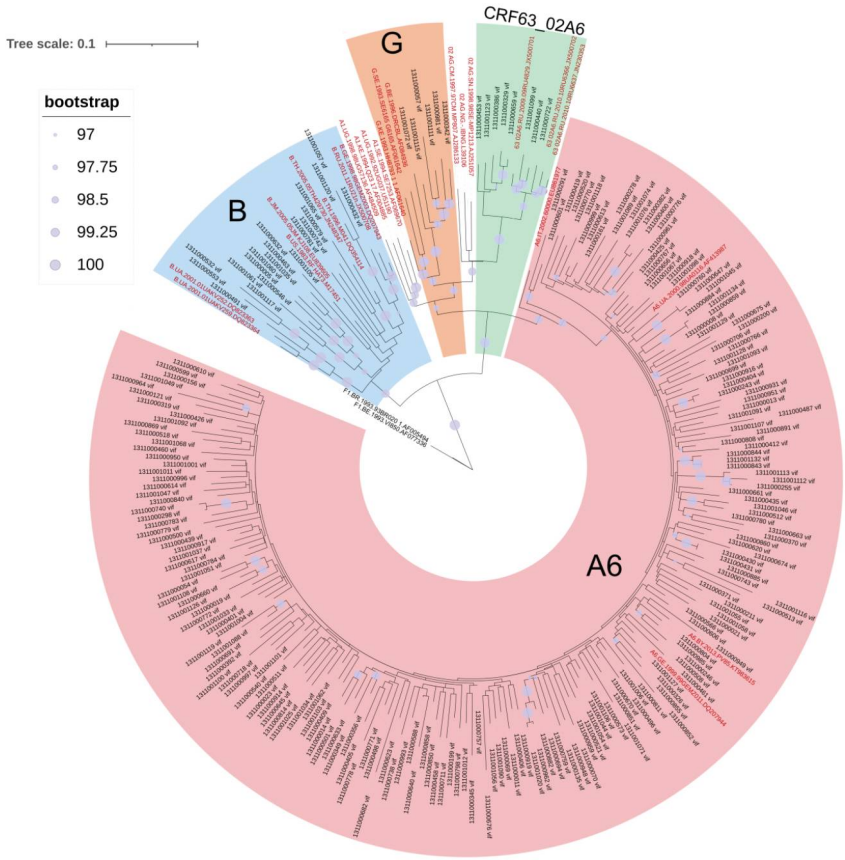

Рис. 2. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *vif* ВИЧ-1 (n = 257, модель замещения нуклеотидов – GTR + I + G4).

Референсные последовательности выделены красным цветом, исследуемые – черным.

Fig. 2. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences of the HIV-1 *vif* gene (n = 257, nucleotide substitution model – GTR + I + G4).

Reference sequences are highlighted in red, study sequences are highlighted in black.

Дополнительно проведенная оценка силы связи между исследуемыми признаками (наличие стоп-кодонов и стадия ВИЧ-инфекции) с применением критерия ϕ и V Крамера показала несущественную силу взаимосвязи.

Затем было проведено сравнение полученных консенсусных последовательностей. Результаты сравнения консенсусных последовательностей Vif ВИЧ-1 разных генетических вариантов представлены на **рис. 3**.

При сравнении консенсусных последовательностей вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории Российской Федерации, были обнаружены различия у Vif ВИЧ-1 разных генетических вариантов, а также относительно референсной последовательности HXB2.

Принимая во внимание абсолютное доминирование ВИЧ-1 суб-субтипа A6 на территории России и в связи с тем, что репрезентативная выборка нуклеотидных последовательностей была получена только для суб-субтипа A6, в дальнейший анализ вошли только последовательности гена *vif* суб-субтипа A6 (всего 199 н.п., полученных от 199 пациентов с разной стадией заболевания): 35 н.п. – от пациентов со 2-й стадией (стадией начальных проявлений), 68 н.п. – с 3-й (субклинической стадией) и 96 – с 4-й (стадией вторичных проявлений) ВИЧ-инфекции.

При анализе консервативности белка Vif у пациентов с разными стадиями заболевания было выявлено, что консенсусные последовательности в каждой группе содержали преимущественно аминокислоты, аналогичные аминокислотам в общей консенсусной последовательности, однако с разной частотой выявления (**рис. 4**).

Оценка распределения позиций с различной степенью консервативности в белке Vif в разных группах (по стадиям заболевания) пациентов не выявила статистически значимых различий (**табл. 2**).

При оценке вариабельности Vif у пациентов с разными стадиями ВИЧ-инфекции выявлено 35 замен со статистически значимыми различиями (**табл. 3**). Однако с учетом множественного сравнения, реально статистически значимыми в данном случае различия становятся с учетом поправки Бонферрони, т.е. при уровне значимости $p < 0{,}0005$.

Таким образом, с учетом поправки по Бонферрони, не было выявлено ни одного сайта со статистически значимыми различиями в частоте встречаемости у пациентов с разными стадиями заболевания.

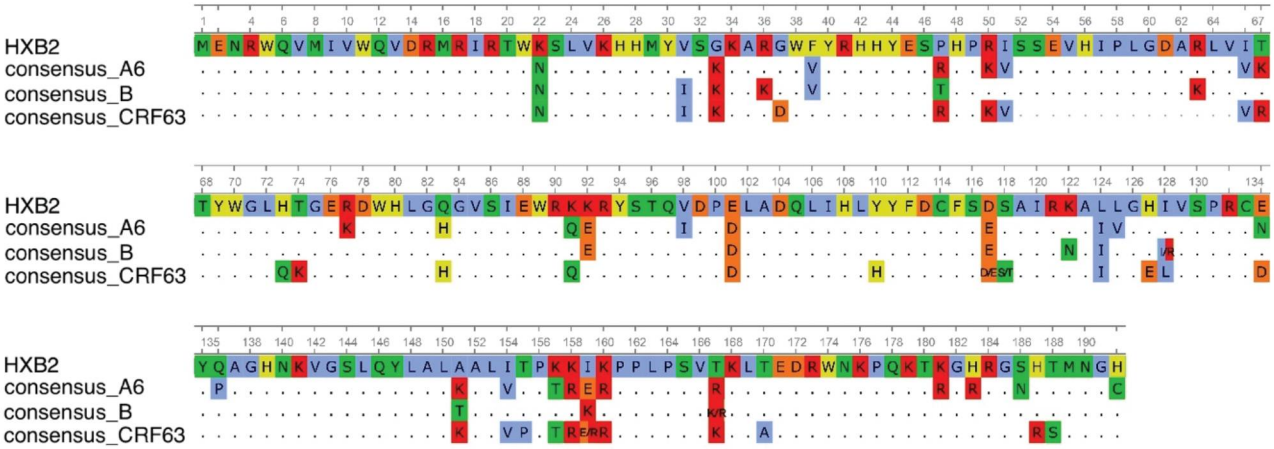

Рис. 3. Консенсусные последовательности Vif ВИЧ-1 генетических вариантов, наиболее часто встречающихся на территории России (суб-субтипа A6, субтипа B и рекомбинантной формы CRF63) выравненные относительно референс-штамма HXB2.

Точками обозначены позиции аминокислотных остатков (АК), в которых АК в консенсусах соответствовали референсу. Аминокислоты классифицированы на основе полярности радикалов. Неполярные 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), Y (тирозин), W (триптофан), H (гистидин) – желтым; отрицательно заряженные аминокислоты: D (аспарагиновая кислота) и E (глутаминовая кислота) – оранжевым; положительно заряженные аминокислоты: K (лизин), R (аргинин) – красным [39, 40].

Fig. 3. Consensus sequences of Vif HIV-1 genetic variants most frequently encountered in Russia. The dots indicate amino acid residues (a.a.r.) positions in which the a.a.r. in the consensus corresponded to 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), Y (tyrosine), W (tryptophan), H (histidine) – yellow; polar acidic, negatively charged, amino acids: D (aspartic acid) and E (glutamic acid) – orange; polar basic, positively charged amino acids: K (lysine), R (arginine) – in red [39, 40].

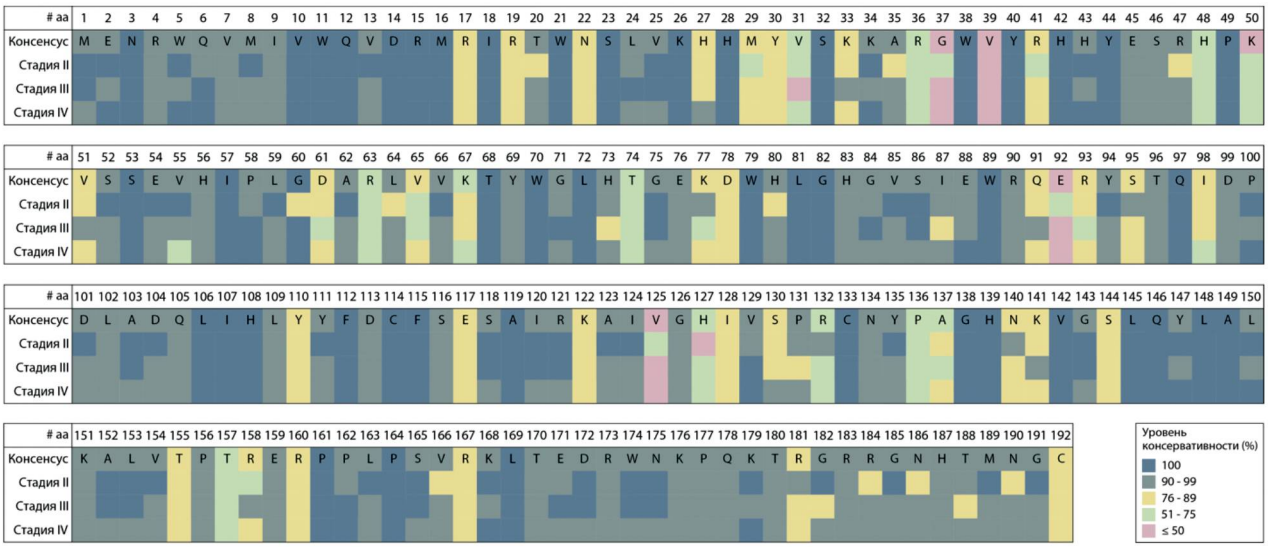

Рис. 4. Консервативность аминокислотных последовательностей белка Vif суб-субтипа A6 в группах пациентов с разными стадиями заболевания.

Аминокислоты в общем консенсусе обозначены однобуквенным кодом: A – аланин; C – цистеин; D – аспарагиновая кислота; E – глутаминовая кислота; F – фенилаланин; G – глицин; H – гистидин; I – изолейцин; K – лизин; L – лейцин; M – метионин; H – аспарагин; P – пролин; Q – глутамин; R – аргинин; S – серин; T – треонин; V – валин; W – триптофан; Y – тирозин.

Fig. 4. Conservation of amino acid sequences of the Vif sub-subtype A6 protein in groups of patients with different stages of the disease.

Amino acids are designated by a general consensus with a one-letter code: A, alanine; C, cysteine; D, aspartic acid; E, glutamic acid; F, phenylalanine; G, glycine; H, histidine; I, isoleucine; K, lysine; L, leucine; M, methionine; N, asparagine; P, proline; Q, glutamine; R, arginine; S, serine; T, threonine; V, valine; W, tryptophan; Y, tyrosine.

Таблица 2. Распределение консервативности позиций в белке Vif в группах пациентов с разными стадиями ВИЧ-инфекции
Table 2. Distribution of conserved positions in the Vif protein in groups of patients with different stages of HIV infection

Консервативность (%) Conserved positions (%)	Число сайтов (*n*) | Number of sites (*n*)			*p**		
	1-я стадия stage 1	2-я стадия stage 2	3-я стадия stage 2	p_{2-3}	p_{3-4}	p_{2-4}
100	92	70	88	0,0299	0,0778	0,7591
90–99	49	75	60	0,0062	0,1344	0,2576
76–89	34	28	28	0,4883	1,0000	0,4883
51–75	15	5	12	0,0363	0,1345	0,6905
≤ 50	2	14	4	0,0036	0,0271	0,6850

Примечание. * – указано значение *p* для разницы в показателе между группами (точный двусторонний тест Фишера с коррекцией множественного теста Бонферрони, $p = 0,0033$).

Note. * – indicates *p*-value for difference between groups is indicated (Fisher's exact two-tailed test with Bonferroni multiple test correction, $p = 0.0033$).

Сравнение генетического разнообразия белка Vif ВИЧ-1 суб-субтипа A6 в группе вариантов вирусов, циркулирующих в Московской области, и в референсной группе выявило 39 аминокислотных замен, имеющих разницу в частоте встречаемости ($p < 0,05$) (**табл. 4**).

С учетом поправки Бонферрони ($p < 0,0013$) частота встречаемости замен в 5 сайтах достоверно значимо различалась между группами.

Обсуждение

Применение современной антиретровирусной терапии для лечения ВИЧ-инфекции предотвращает клиническое прогрессирование заболевания, однако не приводит к устранению вирусных резервуаров, т.е. не позволяет элиминировать вирус, что определяет необходимость пожизненного приема антиретровирусных препаратов. Постоянный прием антиретровирусных препаратов, в свою очередь, со временем может приводить к появлению побочных эффектов лечения, формированию лекарственной устойчивости вируса и возникновению проблемы межлекарственных взаимодействий. В связи с этим в мире на постоянной основе ведется работа по созданию новых антиретровирусных препаратов, а также немалые усилия прикладывают к созданию средств полного излечения от ВИЧ-инфекции. В рамках этой работы конструируются также антогонисты белка Vif разного принципа действия: ингибиторы мультимеризации белка Vif, ингибиторы прямого связывания Vif с A3G, ингибиторы связывания Vif с Elongin C и ингибиторы связывания Vif с CBF-β [19, 41]. Кроме того, на основе белка Vif разрабатываются основы для создания терапевтических вакцин и генной терапии ВИЧ-инфекции. Так, эксперименты, проведенные *in vitro*, продемонстрировали, что мультиэпитопная конструкция, содержащая неструктурный белок Vif, имела высокую эффективность проникновения в клетки [42]. Разрабатываются лентивирусные векторы для генной терапии ВИЧ-инфекции, кодирующие A3G, устойчивые к действию белка Vif [43]. В настоящем исследовании впервые изучались особенности белка Vif у вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России.

Результаты распределения генетических вариантов ВИЧ-1 в настоящем исследовании и в ранее проведенном масштабном исследовании генетического разнообразия ВИЧ-1 на территории Российской Федерации хорошо коррелируют между собой: суб-субтип A6 – 85,04%, субтип B – 8,12%, CRF63_02A6 – 3,42% и суб-субтип A6 – 82.9%, субтип B – 7,14%, CRF63_02A6 – 3,59% соответственно. Однако в настоящем исследовании 2,56% последовательностей были генотипированы как субтип G, тогда как, по результатам более масштабного исследования, на долю субтипа G приходилось менее 1% от проанализированных образцов [26]. Такое несовпадение может быть объяснено тем, что часть последовательностей, которые в настоящем исследовании по гену *vif* были определены как субтип G, на самом деле могут являться циркулирующими рекомбинантными формами или уникальными рекомбинантами. Например, некоторые варианты ВИЧ-1, первоначально генотипированные по гену *pol* как субтип G, затем методом полногеномного секвенирования были определены как рекомбинантная форма BG [44].

По результатам проведенного исследования было установлено, что две последовательности, полученные от пациентов со 2-й стадией ВИЧ-инфекции, содержали делеции; одна последовательность, полученная от пациента с 3-й стадией ВИЧ-инфекции, содержала инсерцию (62insG). В 8 последовательностях, полученных от пациентов с 3-й (3 последовательности) и 4-й стадией (5 последовательностей) заболевания, были обнаружены стоп-кодоны в разных позициях. Чаще всего (в 37,5% аминокислотных последовательностей, содержащих стоп-кодоны) стоп-кодоны находились в 70-й позиции. В 25% последовательностей встречались стоп-кодоны в каждой из следующих позиций: 21, 38 и 192. Учитывая высокую частоту встречаемости стоп-кодонов в определенных позициях, можно сделать предположение о неслучайном механизме данного явления, которое связано с действием клеточного белка A3G [2, 4].

Сила связи наличия стоп-кодонов и стадии заболевания была несущественной. При этом в ряде исследований отмечается, что на фоне течения ВИЧ-инфекции количество дефектного провируса увеличива-

Таблица 3. Аминокислотные замены Vif-A6 со статистически значимыми различиями по частоте встречаемости в группах ВИЧ-инфицированных пациентов с разными стадиями заболевания

Table 3. Vif-A6 amino acid substitutions with statistically significant differences in frequency of occurrence in groups of HIV-infected patients with different stages of the disease

Позиция Position	Мутация Mutation	2-я стадия stage 2 n = 35	3-я стадия stage 3 n = 68	4-я стадия stage 4 n = 96	p*		
					$p_{2–3}$	$p_{2–4}$	$p_{3–4}$
24	L24I	2	0	3	0,047	–	–
29	M29I	8	10	9	–	0,042	–
31	V31I	7	28	21	0,032	–	0,008
31	V31H	2	0	0	0,047	0,018	–
33	K33G	2	0	1	0,047	–	–
35	A35V	2	0	0	0,047	0,018	–
41	**R41I**	2	1	0	–	0,018	–
48	**H48E**	0	8	4	0,035	–	–
50	K50R	23	31	43	–	0,034	–
51	V51I	4	2	11	–	–	0,047
60	**G60R**	3	0	3	0,014	–	–
60	**G60E**	2	0	4	0,047	–	–
61	**D61E**	3	18	12	0,033	–	0,023
61	**D61G**	2	0	0	0,047	0,018	–
63	**R63M**	2	0	2	0,047	–	–
65	V65I	6	14	5	–	0,029	0,002
77	**K77R**	2	16	10	0,024	–	0,024
122	K122Q	2	0	1	0,047	–	–
122	K122R	0	5	1	–	–	0,034
127	H127Q	17	20	22	–	0,004	–
130	S130R	2	11	3	–	–	0,003
131	P131H	1	3	0	–	–	0,038
132	R132S	1	11	7	0,046	–	–
136	P136S	6	18	13	–	–	0,037
137	A137E	2	7	1	–	–	0,007
141	K141Q	4	3	15	–	–	0,024
156	P156L	2	1	0	–	0,018	–
157	T157A	3	1	1	–	0,027	–
158	R158K	8	5	10	0,025	–	–
159	E159A	2	0	0	0,047	0,018	–
173	**R173K**	2	1	0	–	0,018	–
181	R181K	1	9	15	–	0,048	–
182	G182D	0	7	7	0,049	–	–
184	R184K	4	1	4	0,026	–	–
186	N186H	2	0	0	0,047	0,018	–

Примечание. Значения p-value представлены для всех позиций с $p < 0,05$; позиции с $p \geq 0,05$ отмечены знаком «–». Достоверно значимыми считали различия с p с поправкой Бонферрони ($p < 0,0005$). * – указано значение p для разницы в показателе между группами. Жирным шрифтом отмечены замены в функционально значимых областях (рис. 1).

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 ($p < 0.0005$) were considered significantly significant. * – indicates p-value for difference between groups is indicated Substitutions in functionally significant areas are marked in bold (Figure 1).

Таблица 4. Сравнение генетического разнообразия Vif-A6 ВИЧ-1 в группе вариантов вируса, циркулирующих в Московской области, и референсной группе

Table 4. Comparing genetic diversity of Vif-A6 HIV-1 between the group of virus variants circulating in the Moscow region and the reference group

Позиция Position	Мутация Mutation	Московская область Moscow region (n = 199)	Референсная группа Reference group (n = 166)	p
9	I9V	10	2	0,042
17	R17X	1	9	0,004
19	R19K	21	6	0,012
20	T20X	1	18	**0,000009**
27	H27Y	19	6	0,023
31	V31N	5	0	0,04
31	V31X	7	16	0,017
33	K33R	17	5	0,027
41	R41X	2	10	0,007
45	E45D	13	3	0,028
51	V51G	0	4	0,028
56	H56X	0	4	0,028
61	D61X	2	7	0,049
65	V65X	2	11	0,004
67	K67I	9	1	0,022
73	H73Q	17	36	**0,0004**
74	T74X	1	13	**0,0003**
77	K77R	28	12	0,037
78	D78A	8	1	0,036
93	R93K	21	5	0,005
93	R93M	0	5	0,014
93	R93X	0	11	**0,0002**
98	I98X	5	12	0,033
113	D113N	5	0	0,04
128	I128X	0	5	0,014
140	N140X	2	11	0,004
141	K141X	0	5	0,014
153	L153I	1	14	**0,0001**
155	T155X	2	9	0,014
157	T157A	5	0	0,04
158	R158K	23	8	0,021
158	R158X	1	7	0,016
160	R160X	0	5	0,014
167	R167X	2	10	0,007
176	K176X	0	4	0,028
181	R181X	2	9	0,014
185	G185X	0	6	0,007
188	T188S	6	0	0,024
192	C192R	8	1	0,036

Примечание. X – аминокислота не определена. Значения p представлены для позиций с $p < 0,05$. Достоверно значимыми считали различия p с поправкой Бонферрони ($p < 0,0013$) – выделены жирным шрифтом.

Note. X – amino acid is not defined. *p-values* are given for the positions with $p < 0.05$. In bold: significant in the χ^2 test with Bonferroni correction $p < 0.0013$.

ется, а его доля может составлять порядка 90% всего резервуара ВИЧ [45, 46].

Однако существующие ограничения исследования, такие как относительно небольшой объем выборки и отсутствие наличия сиквенсов от одного и того же пациента в динамике, а также индивидуальные особенности течения болезни у каждого конкретного человека не дают нам возможности говорить о каких-либо тенденциях относительно стоп-кодонов в последовательностях Vif. Для белков Rev и Tat неоднократно отмечалась возможность наличия преждевременных стоп-кодонов с сохранением функциональной активности белков, тогда как для белка Vif к настоящему моменту таких данных нет, поэтому оценить функциональную значимость каждой позиции стоп-кодона так же пока не представляется возможным [47, 48].

При сравнении консенсусов циркулирующих в России вариантов ВИЧ-1 было обнаружено, что консенсусная последовательность белка Vif суб-субтипа A6 отличалась от референсной последовательности HXB2 в 30 позициях, субтипа B – в 16 позициях, рекомбинантной формы CRF63_02A6 – в 32 позициях. Наибольшее количество замен, 2 и более, консенсусы белка Vif циркулирующих в России вариантов ВИЧ-1 относительно HXB2 содержали в позициях: 47, 128, 134, 151, 159 и 167. При этом между собой консенсусы белка Vif циркулирующих в России вариантов ВИЧ-1 также отличались: от консенсуса суб-субтипа A6 консенсус субтипа B отличался в 28 из 192 позиций (на 14,6%), а консенсус рекомбинантной формы CRF63_02A6 – в 25 из 192 позиций (на 13%). Кроме того, следует отметить, что циркулирующая рекомбинантная форма CRF63_02A6 представляет собой вторичный рекомбинант, образованный ВИЧ-1 суб-субтипа A6 и CRF02_A6G, а ген *vif* является областью рекомбинации с включением фрагментов обоих вариантов вируса (https://www.hiv.lanl.gov/components/sequence/HIV/crfdb/crfs.comp).

Важно отметить, что консенсусы вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, в 7 функционально значимых позициях отличались от референс-штамма HXB2 и содержали следующие замены: K22N, F39V, R63K, T74K, R77K, K91Q, K92E (рис. 1). Замены аргинина (R) на лизин (K) в 63-й и 77-й позиции не приводят к изменению типа аминокислоты в анализируемой позиции, т.е. аминокислота остается положительно заряженной, тогда как замены K22N, F39V, T74K, K91Q, K92E приводят к изменению типа аминокислоты (рис. 1), что может повлиять на изменение функциональных свойства белка. Так, ранее было показано, что наличие положительного заряда в функционально значимом мотиве, в который входит K22, важен для связывания и инактивации A3G [49]. Таким образом, замена лизина (K) – положительно заряженной аминокислоты в 22-м положении, на аспарагин (N) – полярную незаряженную аминокислоту, может привести к снижению положительного заряда, что, в свою очередь, может повлиять на связывание и инактивацию A3G.

Оценка распределения консервативности позиций в белке Vif не выявила достоверной разницы между группами пациентов с разными стадиями заболевания (табл. 3), что согласуется с результатами аналогичных исследований для белка Vpu [29].

По результатам исследования вариабельности Vif у пациентов с разными стадиями ВИЧ-инфекции не было выявлено замен со статистически значимыми различиями в частоте встречаемости (табл. 3), что отличает результаты этого исследования от результатов изучения других неструктурных белков – Tat и Vpu [28, 29]. Анализ замен в области функционально значимых областей белка Vif (табл. 3) у пациентов с разными стадиями заболевания не позволяет также выявить какую-либо тенденцию в частоте их встречаемости. В ранее проведенном исследовании генетического разнообразия белка Vif ВИЧ-1 субтипа B было показано, что у пациентов, инфицированных вариантами вируса, содержащими замену K22H, отмечалась тенденция к более низкому уровню CD4-клеток и более высокой ВН [18]. В настоящем исследовании разницы в частоте встречаемости ($p < 0,05$) замены K22H у пациентов с разными стадиями заболевания обнаружено не было.

Характерных замен, достоверно чаще встречающихся у вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6, циркулирующих в Московской области, обнаружено не было, при этом частота встречаемости замен в 5 сайтах (T20X, H73Q, T74X, R93X, L153I) в референсной группе была достоверно выше (табл. 4). Аналогичное исследование генетического разнообразия белка Vif субтипа C в Уганде, Южной Африке и Индии позволило выявить специфичные аминокислотные замены, характерные для исследуемых географических регионов [50]. Полученные нами результаты могут быть связаны с особенностью исследуемого региона. Так, Московский столичный регион (включающий в себя Москву и Московскую область) представляет собой крупнейший транспортный узел в России, что обуславливает пересечение крупных миграционных потоков, в свою очередь приводящих к постоянной циркуляции и смене вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6 из различных регионов нашей страны, а также стран бывшего Советского Союза. Все это может препятствовать формированию каких-либо выраженных особенностей циркулирующих вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6 на территории Московской области [51].

Заключение

В проведенном исследовании был впервые проведен комплексный анализ особенностей белка Vif вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в России, в Московской области. Состав генетических вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в Московской области, определенный по гену *vif*, преимущественно коррелировал с составом генетических вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории Российской Федерации в целом. При проведении исследования впервые получены и представлены консенсусные последовательности белка Vif ВИЧ-1 генетических вариантов B и CRF63_02A6, циркулирующих в России. Определены аминокислотные замены в функционально значимых позициях белка Vif, характерные для вариантов ВИЧ-1, наиболее распространенных в России; данные замены потенциально могут оказать влияние на изменение свойств белка и в будущем могут быть учтены при разработке терапевтических препаратов на основе белка Vif. Сравнение консервативности и генетической вариабельности белка Vif-A6 у пациентов с разными стадиями ВИЧ-инфекции не выявило достоверно значимых различий. При этом были определены позиции, содержащие делеции, инсерции и стоп-кодоны в области генома ВИЧ-1, кодирующей белок Vif. В целом генетическое разнообразие белка Vif-A6 ВИЧ-1 вариантов вируса, циркулирующих в Московской области, было меньше, чем в общей популяции вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6. Проведенное исследование имеет ограничение, связанное с небольшой выборкой последовательностей Vif ВИЧ-1 генетических варинтов – B и CRF63_02A6.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rose K.M., Marin M., Kozak S.L., Kabat D. The viral infectivity factor (Vif) of HIV-1 unveiled. *Trends Mol. Med*. 2004; 10(6): 291–7. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2004.04.008
2. Stupfler B., Verriez C., Gallois-Montbrun S., Marquet R., Paillart J.C. Degradation Independent inhibition of APOBEC3G by the HIV-1 Vif protein. *Viruses*. 2021; 13(4): 617. https://doi.org/10.3390/v13040617
3. Sheehy A.M., Gaddis N.C., Choi J.D., Malim M.H. Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein. *Nature*. 2002; 418(6898): 646–50. https://doi.org/10.1038/nature00939
4. Mangeat B., Turelli P., Caron G., Friedli M., Perrin L., Trono D. Broad antiretroviral defence by human APOBEC3G through lethal editing of nascent reverse transcripts. *Nature*. 2003; 424(6944): 99–103. https://doi.org/10.1038/nature01709
5. Hultquist J.F., Lengyel J.A., Refsland E.W., LaRue R.S., Lackey L., Brown W.L., et al. Human and rhesus APOBEC3D, APOBEC3F, APOBEC3G, and APOBEC3H demonstrate a conserved capacity to restrict Vif-Deficient HIV-1. *J. Virol*. 2011; 85(21): 11220–34. https://doi.org/10.1128/JVI.05238-11
6. Wang X., Abudu A., Son S., Dang Y., Venta P.J., Zheng Y.H. Analysis of human APOBEC3H haplotypes and anti-human immunodeficiency virus type 1 activity. *J. Virol*. 2011; 85(7): 3142–52. https://doi.org/10.1128/JVI.02049-10
7. Guo F., Cen S., Niu M., Yang Y., Gorelick R.J., Kleiman L. The interaction of APOBEC3G with human immunodeficiency virus type 1 nucleocapsid inhibits tRNA3Lys annealing to viral RNA. *J. Virol*. 2007;81(20):11322–31. https://doi.org/10.1128/JVI.00162-07
8. Xu W.K., Byun H., Dudley J.P. The role of APOBECs in viral replication. *Microorganisms*. 2020; 8(12): 1899. https://doi.org/10.3390/microorganisms8121899
9. Azimi F.C., Lee J.E. Structural perspectives on HIV-1 Vif and APOBEC3 restriction factor interactions. *Protein Sci*. 2020; 29(2): 391–406. https://doi.org/10.1002/pro.3729
10. Friedler A., Zakai N., Karni O., Friedler D., Gilon C., Loyter A. Identification of a nuclear transport inhibitory signal (NTIS) in the basic domain of HIV-1 Vif protein. *J. Mol. Biol*. 1999; 289(3): 431–7. https://doi.org/10.1006/jmbi.1999.2785
11. Takaori-Kondo A., Shindo K. HIV-1 Vif: a guardian of the virus that opens up a new era in the research field of restriction factors. *Front. Microbiol*. 2013; 4: 34. https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00034
12. Simon V., Zennou V., Murray D., Huang Y., Ho D.D., Bieniasz P.D. Natural variation in Vif: differential impact on APOBEC3G/3F and a potential role in HIV-1 diversification. *PLoS Pathog*. 2005; 1(1): e6. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0010006
13. Iwabu Y., Kinomoto M., Tatsumi M., Fujita H., Shimura M., Tanaka Y., et al. Differential anti-APOBEC3G activity of HIV-1 Vif pro-

teins derived from different subtypes. *J. Biol. Chem*. 2010; 285(46): 35350–8. https://doi.org/10.1074/jbc.M110.173286
14. Ronsard L., Raja R., Panwar V., Saini S., Mohankumar K., Sridharan S., et al. Genetic and functional characterization of HIV-1 Vif on APOBEC3G degradation: First report of emergence of B/C recombinants from North India. *Sci. Rep.* 2015; 5: 15438. https://doi.org/10.1038/srep15438
15. Громов К.Б., Лага В.Ю., Мурзакова А.В., Киреев Д.Е. Анализ полиморфизма неструктурных генов ВИЧ-1 Vif и Rev. В кн.: *Молекулярная диагностика – 2017: сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием*. М.; 2017: 455–6.
16. De Maio F.A., Rocco C.A., Aulicino P.C., Bologna R., Mangano A., Sen L. Effect of HIV-1 Vif variability on progression to pediatric AIDS and its association with APOBEC3G and CUL5 polymorphisms. *Infect. Genet. Evol*. 2011; 11(6): 1256–62. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.04.020
17. Bizinoto M.C., Yabe S., Leal É., Kishino H., Martins L. de O., de Lima M.L., et al. Codon pairs of the HIV-1 vif gene correlate with CD4+ T cell count. *BMC Infect. Dis*. 2013; 13: 173. https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-173
18. Villanova F., Barreiros M., Janini L.M., Diaz R.S., Leal É. Genetic diversity of HIV-1 gene Vif among treatment-naive Brazilians. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2017; 33(9): 952–9. https://doi.org/10.1089/AID.2016.0230
19. Bennett R.P., Salter J.D., Smith H.C. A new class of antiretroviral enabling innate immunity by protecting APOBEC3 from HIV Vif-dependent degradation. *Trends Mol. Med*. 2018; 24(5): 507–20. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.03.004
20. Sharkey M., Sharova N., Mohammed I., Huff S.E., Kummetha I.R., Singh G., et al. HIV-1 escape from small-molecule antagonism of Vif. *mBio.* 2019; 10(1): e00144-19. https://doi.org/10.1128/mBio.00144-19
21. Duan S., Wang S., Song Y., Gao N., Meng L., Gai Y., et al. A novel HIV-1 inhibitor that blocks viral replication and rescues APOBEC3s by interrupting Vif/CBFβ interaction. *J. Biol. Chem.* 2020; 295(43): 14592–605. https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.013404
22. Akbari E., Seyedinkhorasani M., Bolhassani A. Conserved multiepitope vaccine constructs: A potent HIV-1 therapeutic vaccine in clinical trials. *Braz. J. Infect. Dis*. 2023; 27(3): 102774. https://doi.org/10.1016/j.bjid.2023.102774
23. Guerra-Palomares S.E., Hernandez-Sanchez P.G., Esparza-Perez M.A., Arguello J.R., Noyola D.E., Garcia-Sepulveda C.A. Molecular characterization of Mexican HIV-1 Vif sequences. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2016; 32(3): 290–5. https://doi.org/10.1089/AID.2015.0290
24. 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
25. Williams M.E. HIV-1 Vif protein sequence variations in South African people living with HIV and their influence on Vif-APOBEC3G interaction. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2024; 43(2): 325–38. https://doi.org/10.1007/s10096-023-04728-0
26. 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
27. Кузнецова А.И., Громов К.Б., Киреев Д.Е., Шлыкова А.В., Лопатухин А.Э., Казеннова Е.В. и др. Анализ особенностей белка Tat вируса иммунодефицита человека 1 типа суб-субтипа A6 (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1). *Вопросы вирусологии*. 2021; 66(6): 452–63. https://doi.org/10.36233/0507-4088-83 https://elibrary.ru/cmzgyc
28. Kuznetsova A., Kim K., Tumanov A., Munchak I., Antonova A., Lebedev A., et al. Features of Tat protein in HIV-1 sub-subtype A6 variants circulating in the Moscow Region, Russia. *Viruses*. 2023; 15(11): 2212. https://doi.org/10.3390/v15112212 https://elibrary.ru/ucqyal
29. Антонова А.А., Лебедев А.В., Казеннова Е.В., Ким К.В., Ожмегова Е.Н., Туманов А.С. и др. Вариабельность белка VPU ВИЧ-1 суб-субтипа A6 у пациентов с различными стадиями ВИЧ-инфекции. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2024; 16(2): 40–50. https://doi.org/10.22328/2077- 9828-2024-16-2-40-50 https://elibrary.ru/lpjxqk
30. 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
31. Антонова А.А., Лебедев А.В., Ожмегова Е.Н., Шлыкова А.В., Лаповок И.А., Кузнецова А.И. Вариабельность неструктурных белков у вариантов ВИЧ-1 суб-субтипа A6 (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/wbbkuq
32. 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
33. 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
34. 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
35. Schultz A.K., Bulla I., Abdou-Chekaraou 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: W193-8. https://doi.org/10.1093/nar/gks414.
36. 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
37. 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.
38. 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
39. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. *Биологическая химия.* М.: Медицина; 1998.
40. 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
41. Duan S., Wang S., Song Y., Gao N., Meng L., Gai Y., et al. A novel HIV-1 inhibitor that blocks viral replication and rescues APOBEC3s by interrupting vif/CBFβ interaction. *J. Biol. Chem.* 2020; 295(43): 14592–605. https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.013404
42. Kardani K., Hashemi A., Bolhassani A. Comparison of HIV-1 Vif and Vpu accessory proteins for delivery of polyepitope constructs harboring Nef, Gp160 and P24 using various cell penetrating peptides. *PLoS One.* 2019; 14(10): e0223844. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223844
43. Delviks-Frankenberry K.A., Ackerman D., Timberlake N.D., Hamscher M., Nikolaitchik O.A., Hu W.S., et al. Development of Lentiviral Vectors for HIV-1 Gene Therapy with Vif-Resistant APOBEC3G. *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2019; 18: 1023–38. https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.10.024
44. 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
45. 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
46. Веселова Е.И., Каминский Г.Д., Самойлова А.Г., Васильева И.А. Резервуар ВИЧ у больных ВИЧ-инфекцией. *Туберкулёз и болезни лёгких*. 2019; 97(5): 50–7. http://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-5-50-57 https://elibrary.ru/hfadpt
47. Jayaraman B., Fernandes J.D., Yang S., Smith C., Frankel A.D. Highly mutable linker regions regulate HIV-1 rev function and stability. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 5139. https://doi.org/10.1038/s41598-019-41582-7
48. Li L., Dahiya S., Kortagere S., Aiamkitsumrit B., Cunningham D., Pirrone V., et al. Impact of Tat genetic variation on HIV-1 disease. *Adv. Virol*. 2012; 2012: 123605. https://doi.org/10.1155/2012/123605

49. Chen G., He Z., Wang T., Xu R., Yu X.F. A patch of positively charged amino acids surrounding the human immunodeficiency virus type 1 Vif SLVx4Yx9Y motif influences its interaction with APOBEC3G. *J. Virol*. 2009; 83(17): 8674–82. https://doi.org/10.1128/JVI.00653-09
50. Williams ME. HIV-1 Vif protein sequence variations in South African people living with HIV and their influence on Vif-APOBEC3G interaction. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2024; 43(2): 325–38. https://doi.org/10.1007/s10096-023-04728-0
51. Савченко-Бельский В.Ю., Мальцева М.В., Маслова А.П. Проблемы и перспективы развития транспортной системы Московской агломерации. *Транспортное дело России.* 2022; (1): 124–7. https://doi.org/10.52375/20728689_2022_1_124 https://elibrary.ru/cctqsp

REFERENCES

1. Rose K.M., Marin M., Kozak S.L., Kabat D. The viral infectivity factor (Vif) of HIV-1 unveiled. *Trends Mol. Med*. 2004; 10(6): 291–7. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2004.04.008
2. Stupfler B., Verriez C., Gallois-Montbrun S., Marquet R., Paillart J.C. Degradation Independent inhibition of APOBEC3G by the HIV-1 Vif protein. *Viruses.* 2021; 13(4): 617. https://doi.org/10.3390/v13040617
3. Sheehy A.M., Gaddis N.C., Choi J.D., Malim M.H. Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein. *Nature*. 2002; 418(6898): 646–50. https://doi.org/10.1038/nature00939
4. Mangeat B., Turelli P., Caron G., Friedli M., Perrin L., Trono D. Broad antiretroviral defence by human APOBEC3G through lethal editing of nascent reverse transcripts. *Nature.* 2003; 424(6944): 99–103. https://doi.org/10.1038/nature01709
5. Hultquist J.F., Lengyel J.A., Refsland E.W., LaRue R.S., Lackey L., Brown W.L., et al. Human and rhesus APOBEC3D, APOBEC3F, APOBEC3G, and APOBEC3H demonstrate a conserved capacity to restrict Vif-Deficient HIV-1. *J. Virol.* 2011; 85(21): 11220–34. https://doi.org/10.1128/JVI.05238-11
6. Wang X., Abudu A., Son S., Dang Y., Venta P.J., Zheng Y.H. Analysis of human APOBEC3H haplotypes and anti-human immunodeficiency virus type 1 activity. *J. Virol*. 2011; 85(7): 3142–52. https://doi.org/10.1128/JVI.02049-10
7. Guo F., Cen S., Niu M., Yang Y., Gorelick R.J., Kleiman L. The interaction of APOBEC3G with human immunodeficiency virus type 1 nucleocapsid inhibits tRNA3Lys annealing to viral RNA. *J. Virol*. 2007;81(20):11322–31. https://doi.org/10.1128/JVI.00162-07
8. Xu W.K., Byun H., Dudley J.P. The role of APOBECs in viral replication. *Microorganisms*. 2020; 8(12): 1899. https://doi.org/10.3390/microorganisms8121899
9. Azimi F.C., Lee J.E. Structural perspectives on HIV-1 Vif and APOBEC3 restriction factor interactions. *Protein Sci*. 2020; 29(2): 391–406. https://doi.org/10.1002/pro.3729
10. Friedler A., Zakai N., Karni O., Friedler D., Gilon C., Loyter A. Identification of a nuclear transport inhibitory signal (NTIS) in the basic domain of HIV-1 Vif protein. *J. Mol. Biol*. 1999; 289(3): 431–7. https://doi.org/10.1006/jmbi.1999.2785
11. Takaori-Kondo A., Shindo K. HIV-1 Vif: a guardian of the virus that opens up a new era in the research field of restriction factors. *Front. Microbiol*. 2013; 4: 34. https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00034
12. Simon V., Zennou V., Murray D., Huang Y., Ho D.D., Bieniasz P.D. Natural variation in Vif: differential impact on APOBEC3G/3F and a potential role in HIV-1 diversification. *PLoS Pathog*. 2005; 1(1): e6. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0010006
13. Iwabu Y., Kinomoto M., Tatsumi M., Fujita H., Shimura M., Tanaka Y., et al. Differential anti-APOBEC3G activity of HIV-1 Vif proteins derived from different subtypes. *J. Biol. Chem*. 2010; 285(46): 35350–8. https://doi.org/10.1074/jbc.M110.173286
14. Ronsard L., Raja R., Panwar V., Saini S., Mohankumar K., Sridharan S., et al. Genetic and functional characterization of HIV-1 Vif on APOBEC3G degradation: First report of emergence of B/C recombinants from North India. *Sci. Rep.* 2015; 5: 15438. https://doi.org/10.1038/srep15438
15. Gromov K.B., Laga V.Y., Murzakova A.V., Kireev D.E. Analysis of polymorphism of non-structural HIV-1 Vif and Rev genes. In: *Molecular Diagnostics – 2017: Proceedings of the IX All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation [Molekulyarnaya diagnostika – 2017: sbornik trudov IKH Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem]*. Moscow; 2017: 455–6. (in Russian)
16. De Maio F.A., Rocco C.A., Aulicino P.C., Bologna R., Mangano A., Sen L. Effect of HIV-1 Vif variability on progression to pediatric AIDS and its association with APOBEC3G and CUL5 polymorphisms. *Infect. Genet. Evol*. 2011; 11(6): 1256–62. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.04.020
17. Bizinoto M.C., Yabe S., Leal É., Kishino H., Martins L. de O., de Lima M.L., et al. Codon pairs of the HIV-1 vif gene correlate with CD4+ T cell count. *BMC Infect. Dis*. 2013; 13: 173. https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-173
18. Villanova F., Barreiros M., Janini L.M., Diaz R.S., Leal É. Genetic diversity of HIV-1 gene Vif among treatment-naive Brazilians. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2017; 33(9): 952–9. https://doi.org/10.1089/AID.2016.0230
19. Bennett R.P., Salter J.D., Smith H.C. A new class of antiretroviral enabling innate immunity by protecting APOBEC3 from HIV Vif-dependent degradation. *Trends Mol. Med*. 2018; 24(5): 507–20. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.03.004
20. Sharkey M., Sharova N., Mohammed I., Huff S.E., Kummetha I.R., Singh G., et al. HIV-1 escape from small-molecule antagonism of Vif. *mBio*. 2019; 10(1): e00144-19. https://doi.org/10.1128/mBio.00144-19
21. Duan S., Wang S., Song Y., Gao N., Meng L., Gai Y., et al. A novel HIV-1 inhibitor that blocks viral replication and rescues APOBEC3s by interrupting Vif/CBFβ interaction. *J. Biol. Chem.* 2020; 295(43): 14592–605. https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.013404
22. Akbari E., Seyedinkhorasani M., Bolhassani A. Conserved multiepitope vaccine constructs: A potent HIV-1 therapeutic vaccine in clinical trials. *Braz. J. Infect. Dis*. 2023; 27(3): 102774. https://doi.org/10.1016/j.bjid.2023.102774
23. Guerra-Palomares S.E., Hernandez-Sanchez P.G., Esparza-Perez M.A., Arguello J.R., Noyola D.E., Garcia-Sepulveda C.A. Molecular characterization of Mexican HIV-1 Vif sequences. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2016; 32(3): 290–5. https://doi.org/10.1089/AID.2015.0290
24. 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
25. Williams M.E. HIV-1 Vif protein sequence variations in South African people living with HIV and their influence on Vif-APOBEC3G interaction. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2024; 43(2): 325–38. https://doi.org/10.1007/s10096-023-04728-0
26. 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/tpwttn (in Russian)
27. Kuznetsova A.I., Gromov K.B., Kireev D.E., Shlykova A.V., Lopatukhin A.E., Kazennova E.V., et al. Analysis of Tat protein characteristics in human immunodeficiency virus type 1 sub-subtype A6 (Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus-1). *Voprosy virusologii*. 2021; 66(6): 452–63. https://doi.org/10.36233/0507-4088-83 https://elibrary.ru/cmzgyc (in Russian)
28. Kuznetsova A., Kim K., Tumanov A., Munchak I., Antonova A., Lebedev A., et al. Features of Tat protein in HIV-1 sub-subtype A6 variants circulating in the Moscow Region, Russia. *Viruses*. 2023; 15(11): 2212. https://doi.org/10.3390/v15112212 https://elibrary.ru/ucqyal
29. Antonova A.A., Lebedev A.V., Kazennova E.V., Kim K.V., Ozhmegova E.N., Tumanov A.S., et al. Variability of VPU protein in HIV-1 sub-subtype A6 in patients with different stages of HIV infection. *VICH-infektsiya i immunosupressii*. 2024; 16(2): 40–50. https://doi.org/10.22328/2077- 9828-2024-16-2-40-50 https://elibrary.ru/lpjxqk (in Russian)
30. 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
31. Antonova A.A., Lebedev A.V., Ozhmegova E.N., Shlykova A.V., Lapavok I.A., Kuznetsova A.I. Variability of non-structural proteins in 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)
32. 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
33. 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
34. 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
35. Schultz A.K., Bulla I., Abdou-Chekaraou 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: W193-8. https://doi.org/10.1093/nar/gks414.
36. 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
37. 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.
38. 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
39. Berezov T.T., Korovkin B.F. *Biological Chemistry [Biologicheskaya khimiya]*. Moscow: Meditsina; 1998 (in Russian)
40. 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
41. Duan S., Wang S., Song Y., Gao N., Meng L., Gai Y., et al. A novel HIV-1 inhibitor that blocks viral replication and rescues APOBEC3s by interrupting vif/CBFβ interaction. *J. Biol. Chem.* 2020; 295(43): 14592–605. https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.013404
42. Kardani K., Hashemi A., Bolhassani A. Comparison of HIV-1 Vif and Vpu accessory proteins for delivery of polyepitope constructs harboring Nef, Gp160 and P24 using various cell penetrating peptides. *PLoS One.* 2019; 14(10): e0223844. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223844
43. Delviks-Frankenberry K.A., Ackerman D., Timberlake N.D., Hamscher M., Nikolaitchik O.A., Hu W.S., et al. Development of Lentiviral Vectors for HIV-1 Gene Therapy with Vif-Resistant APOBEC3G. *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2019; 18: 1023–38. https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.10.024
44. 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
45. Bobkova M.R. Defective HIV proviruses: possible involvement in the HIV infection pathogenesis. *Voprosy virusulogii.* 2024; 69(5): 399–414. https://doi.org/10.36233/0507-4088-261 https://elibrary.ru/pselci (in Russian)
46. Veselova E.I., Kaminskiy G.D., Samoylova A.G., Vasilyeva I.A. HIV reservoir in HIV patients. *Tuberkulez i bolezni legkikh*. 2019; 97(5): 50–7. http://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-5-50-57 https://elibrary.ru/hfadpt (in Russian)
47. Jayaraman B., Fernandes J.D., Yang S., Smith C., Frankel A.D. Highly mutable linker regions regulate HIV-1 rev function and stability. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 5139. https://doi.org/10.1038/s41598-019-41582-7
48. Li L., Dahiya S., Kortagere S., Aiamkitsumrit B., Cunningham D., Pirrone V., et al. Impact of Tat genetic variation on HIV-1 disease. *Adv. Virol*. 2012; 2012: 123605. https://doi.org/10.1155/2012/123605
49. Chen G., He Z., Wang T., Xu R., Yu X.F. A patch of positively charged amino acids surrounding the human immunodeficiency virus type 1 Vif SLVx4Yx9Y motif influences its interaction with APOBEC3G. *J. Virol*. 2009; 83(17): 8674–82. https://doi.org/10.1128/JVI.00653-09
50. Williams ME. HIV-1 Vif protein sequence variations in South African people living with HIV and their influence on Vif-APOBEC3G interaction. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2024; 43(2): 325–38. https://doi.org/10.1007/s10096-023-04728-0
51. Savchenko-Belsky V., Maltseva M., Maslova A. Problems and prospects of the development of the transport system of the Moscow agglomeration. *Transportnoe delo Rossii.* 2022; (1): 124–7. https://doi.org/10.52375/20728689_2022_1_124 https://elibrary.ru/cctqsp (in Russian)

Информация об авторах:

Антонова Анастасия Александровна – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: anastaseika95@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-9180-9846

Протасова Лариса Анатольевна – лаборант-исследователь лаборатории вирусов лейкозов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: larisa.protasova.03@mail.ru; https://orcid.org/0009-0001-0430-1578

Ким Кристина Вячеславовна – младший научных 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», Московская область, Котельники, 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», Московская область, Котельники, 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

Кузнецова Анна Игоревна✉ – заведующая лаборатории вирусов лейкозов, канд. биол. наук, 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

Участие авторов: Антонова А.А. – анализ и интерпретация данных, подготовка текста, одобрение окончательного варианта статьи для публикации; Протасова Л.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; Кузнецова А.И. – концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, подготовка текста, одобрение окончательного варианта статьи для публикации.

Поступила 19.11.2024
Принята в печать 14.01.2025
Опубликована 30.04.2025

Information about the authors:

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

Larisa A. Protasova – research assistant, Laboratory of T-lymphotropic viruses, Ivanovsky Institute of virology, Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Russia. E-mail: larisa.protasova.03@mail.ru; https://orcid.org/0009-0001-0430-1578

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. Mezhenskaya – 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

Anna I. Kuznetsova✉ – 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

Contribution: Antonova A.A. – analysis and interpretation of the data, preparing of the text, final approval of the article for publication; Protasova L.A. – analysis and interpretation of the data; Kim K.V. – conducting experiments; Munchak Ia.M. – conducting experiments; Mezhenskaya E.N. – analysis and interpretation of the data; Orlova-Morozova E.A. – data collection; Pronin A.Yu. – data collection; Prilipov A.G. – conducting experiments; 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.

Received 19 November 2024
Accepted 14 January 2025
Published 30 April 2025