

УДК 577.152.3

©Белов, Веселовский

АНАЛИЗ ОБЛАСТИ КОНТАКТА СУБЪЕДИНИЦ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ ВИЧ

Д.А. Белов, А.В. Веселовский

ГУ НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, 119121, Москва,
Погодинская ул., д. 10; факс: (495)245-08-57; эл. почта: veselov@ibmh.msk.su

В работе выполнен молекулярно-графический анализ структуры и свойств области контакта субъединиц обратной транскриптазы ВИЧ. Показано, что аминокислотные остатки, образующие эту область, являются более консервативными по отношению к остальному белку. Расчет вклада аминокислотных остатков, образующих контактные области, в энергию взаимодействия субъединиц показал, что основная ее часть приходится на небольшое количество этих аминокислотных остатков ("hot spots"). Показано, что они группируются в кластеры на поверхности субъединиц, причем на субъединице р66 выделено два основных кластера, а на субъединице р51 – четыре. Анализ этих кластеров позволил выявить область на поверхности субъединицы р66 обратной транскриптазы ВИЧ, которая может быть перспективной для разработки ингибиторов димеризации этого фермента.

Ключевые слова: обратная транскриптаза, ВИЧ, компьютерное моделирование, димер, ингибиторы димеризации, энергия связывания, область контакта

ВВЕДЕНИЕ. Обратная транскриптаза (ОТ) ВИЧ является одним из ключевых ферментов, участвующих в жизненном цикле вируса. Этот фермент осуществляет транскрипцию вирусной РНК в двуспиральную ДНК, которая впоследствии встраивается в ДНК хозяина с помощью другого вирусного фермента – интегразы. Биологически активная форма ОТ представляет собой псевдогетеродимер, состоящий из двух субъединиц р66 и р51 с молекулярной массой 66 и 51 кДа соответственно [1, 2]. В инфицированных клетках субъединица р51 образуется в результате отщепления рибонуклеазного домена от субъединицы р66 под действием вирусной протеиназы [3, 4]. Субъединица р66 является каталитической субъединицей и содержит полимеразный и рибонуклеазный домены, а субъединица р51 выполняет только структурную и стабилизирующую роль. Несмотря на идентичность аминокислотных последовательностей р51 и большей части р66, пространственная организация этих субъединиц сильно различается.

Димеризация субъединиц р66 и р51 *in vitro* происходит в два этапа. Связывание субъединиц начинается с образования промежуточного комплекса за счет гидрофобных взаимодействий соединительных доменов. Этот комплекс способен связывать нуклеиновые кислоты, но не обладает ферментативной активностью. На следующем этапе происходят медленные конформационные изменения, приводящие к формированию активной формы ОТ [5].

ОТ активно используется в качестве одной из основных мишеней для действия анти-ВИЧ препаратов [6]. В настоящее время разработаны три класса ингибиторов этого фермента, применяемые в клинике: нуклеотидные и

нуклеозидные ингибиторы, связывающиеся в активном центре фермента, и ненуклеозидные ингибиторы, взаимодействующие с аллостерическим центром фермента. Они активно используются в комплексной лекарственной терапии ВИЧ (обычно включают ингибитор протеазы ВИЧ и ингибиторы ОТ, действующие на активный и аллостерический центры фермента). Однако, несмотря на одновременное применение нескольких ингибиторов с разным механизмом действия, это не решает проблему развития резистентности вируса к этим препаратам. Поэтому разработки новых соединений с другим механизмом действия и направленных на новые мишени остается актуальной задачей.

Одним из перспективных направлений для создания новых лекарственных препаратов является разработка ингибиторов, блокирующих образование функциональных комплексов белков [7-9]. С одной стороны, области контакта взаимодействующих белков являются высокоспецифичными, что позволяет создавать селективные лиганды к ним. С другой стороны, аминокислотные остатки, формирующие эти области контакта, являются консервативными и мало подвержены спонтанным мутациям [10, 11], что должно препятствовать развитию лекарственной устойчивости у вируса.

Ранее было показано, что некоторые пептиды из области контакта субъединиц способны препятствовать образованию функционального димера и ингибировать активность ОТ [12, 13]. Основное внимание в этих исследованиях уделяли пептидам из соединительного домена, где находится так называемый триптофановый кластер, содержащий шесть близкорасположенных по последовательности остатков триптофана. Однако, недавно было показано, что эти пептиды взаимодействуют с субъединицей p51 вдали от области контакта, и ингибирование связано с аллостерическим влиянием на структуру фермента [14]. Поэтому области контакта субъединиц ОТ, пригодные в качестве места связывания ингибиторов димеризации этого фермента, остаются неопределенными. В данной работе был осуществлен детальный анализ области контакта субъединиц ОТ ВИЧ-1 и выявлен перспективный участок в качестве мишени для разработки лигандов, способных блокировать формирование активного димера ОТ.

МЕТОДИКА. Для оценки консервативности аминокислотных остатков ОТ было выполнено сравнение известных аминокислотных последовательностей этого фермента, полученных из базы данных Swiss-Prot [15], с помощью множественного выравнивания в программе ClustalX [16].

В работе использовали три пространственные структуры ОТ, полученные из базы данных PDB: ОТ из штамма HXB2 (индекс PDB 1rtj, разрешение 2,35 Å) и ОТ из штамма BH10 (индексы PDB 1hmv, разрешение 3,2 Å), и штамм 2hmi (разрешение 2,8 Å).

Моделирование молекулярной динамики белков в водном окружении проводили при помощи Gromacs 3.2 [17] на вычислительном кластере из 16 2-х процессорных узлов на базе AMD MP 2200+ МГц, соединенных сетью Fast Ethernet под ОС Linux Red Hat 7.3 со следующими параметрами: использовали поле сил OPLS-AA; время 1 нс; при постоянных давлении (1 бар) и температуре (300 K); кубический бокс с расстоянием 7 Å от стенок бокса до ближайшего атома, заполненный молекулами воды и ионами Na⁺ и Cl⁻ (из расчета 150 mM).

Оценку вклада аминокислотных остатков в энергию связывания субъединиц ОТ осуществляли двумя методами: методом виртуального аланинового сканирования по методу [18] на сайте <http://rosetta.bakerlab.org> и путём оценки энергии связывания каждой аминокислоты с противоположной субъединицей проводили путем вычисления энергии связывания субъединиц до и после удаления соответствующего аминокислотного остатка из белка. Расчеты проводили в поле сил Tripos в программном комплексе SYBYL [19] на сервере ORIGIN 200 (SGI). Расчет парциальных зарядов осуществляли по методу Gasteiger-Huckel.

Величину вклада каждого аминокислотного остатка в энергию взаимодействия субъединиц выражали как

$$\Delta BE_{AB} = \frac{BE_{AB} - BE'_{AB}}{BE_{AB}} \times 100\%,$$

где BE_{AB} и BE'_{AB} – энергия связывания мономеров с учётом всех аминокислот и без одной из аминокислот соответственно.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Сопоставление нескольких кристаллических структур ОТ показало, что аминокислотный состав области контакта субъединиц в разных кристаллах различается. В дальнейшей работе в качестве аминокислотных остатков, образующих область контакта субъединиц, были выбраны те, которые находятся на расстоянии меньше 3Å от другой субъединицы во всех трех выбранных для анализа кристаллических структурах после молекулярной динамики этих структур. Область контакта субъединиц ОТ образована 39 аминокислотными остатками от каждой субъединицы.

Считается, что области контакта субъединиц в белковых комплексах образованы консервативными аминокислотными остатками, мало подверженными спонтанным мутациям [10,11]. Мы проанализировали пятьдесят известных последовательностей ОТ из базы данных Swiss-Prot на присутствие мутаций в ферменте, не приводящих к образованию неактивной формы фермента. Из 560 аминокислотных остатков ОТ для 145 из них была показана возможность мутаций. В то же время в контактной области из 78 аминокислотных остатков известны мутации только для 19 (табл. 1). Отношение частоты мутаций в области контакта к остальной части белка составляет 0,92. Таким образом, область контакта демонстрирует относительную повышенную устойчивость к мутациям. Следует отметить, что в большинстве случаев замены в области контакта происходят только на аминокислотные остатки с близкими свойствами.

Таблица 1. Консервативность аминокислотных остатков из области контакта обратной транскриптазы ВИЧ.

Остаток	Степень стабильности (ClustalX)	Остаток	Степень стабильности (ClustalX)	Остаток	Степень стабильности (ClustalX)
VAL21	100	GLY262	100	GLU396	100
GLN23	100	ASN265	100	THR397	100
PRO25	100	CYS280	87(Ser)	THR400	65(Ala, Ser)
THR27	100	LEU283	94(Ile)	TRP401	100
GLU28	100	THR286	74(Ala, Ile)	TRP402	100
GLU53	100	ALA288	100	TYR405	100
PRO55	100	LEU289	100	TRP406	100
ASN57	100	THR290	100	GLN407	100
ASP66	100	LYS331	100	ALA408	100
PHE87	100	GLN334	91(Lys, Asp)	THR409	100
TRP88	100	ASN363	100	TRP410	100
GLN91	100	ASP364	100	PRO433	100
PRO95	100	VAL365	96(Ile)	VAL435	72(Ile, Leu)
LEU100	100	GLN373	100	THR439	100
ASN136	100	THR376	64(Ala, Ser)	TYR441	100
ASN137	100	THR377	83(Ile, Gln)	VAL458	95(Leu, Val)
GLU138	95(Gln)	ILE380	100	ASN460	53(Asp)
PRO140	100	VAL381	96(Ile)	VAL496	100
ARG143	89(Gly)	ILE382	100	TYR532	100
ALA158	100	TRP383	100	TRP535	100
SER162	31(Tyr, Cys)	GLY384	89(Arg)	PRO537	84(Leu)
TYR181	100	LYS385	94(Arg)	ILE542	100
ASN255	100	PRO392	100	GLY543	100
GLN258	100	ILE393	100		
LYS259	100	GLN394	100		

Примечание: в скобках показаны известные замены аминокислотных остатков.

ДИМЕР ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ ВИЧ

Анализ вклада каждой аминокислоты в энергию связывания субъединиц ОТ проводили двумя методами: методом виртуального аланинового сканирования и оценкой энергии связывания субъединиц после виртуального удаления каждого аминокислотного остатка из контактной области (табл. 2). Анализ полученных результатов показывает, что в зависимости от использованных кристаллических структур рассчитанные величины взаимодействия для каждой аминокислоты сильно варьируют. Это показывает, что на основании только одной структуры нельзя достоверно оценить вклад конкретной аминокислоты в связывание с другой субъединицей.

Таблица 2. Оценка энергии связывания аминокислотных остатков из областей контакта обратной транскриптазы ВИЧ.

Остатки Субъединица p66	Аланиновое сканирование (ккал/моль)			Энергия (%)		
	1rtj	1hmv	2hmi	1rtj	1hmv	2hmi
ASP86	-0,19	0,06	-0,14	3,2	1,0	5,3
PHE87	0,75	0,73	0,85	1,0	1,3	1,7
TRP88	3,73	4,35	4,44	2,6	5,1	3,4
GLN91	3,82	1,71	0,45	0,3	1,7	1,0
PRO95	-	-	-	0,9	2,1	1,1
HIS96	0,01	0,01	0,27	1,0	1,1	1,4
GLY99	-	-	-	-0,3	0,0	0,5
LEU100	-	-	-	0,6	1,0	0,3
ALA158	-	-	-	0,3	0,3	0,3
SER162	-	-	-	0,3	0,3	0,2
TYR181	1,47	1,84	1,2	2,1	3,0	1,1
GLN373	0,61	4,36	0,83	1,6	2,9	0,8
THR376	0,27	0,32	0,16	0,4	0,4	0,5
THR377	-	-	-	0,2	0,7	0,5
ILE380	1,36	1,82	1,07	0,7	1,3	1,2
VAL381	0,4	0,36	0,45	1,0	1,9	1,7
ILE382	0,24	0,18	0,58	0,4	0,9	0,7
TRP383	-	-	-	0,2	0,4	0,1
GLY384	-	-	-	1,2	1,2	1,2
LYS385	0	0,02	0,16	0,6	1,2	10,1
TRP402	1,84	2,6	0,41	2,6	4,1	2,5
TYR405	-0,03	0,06	0,03	1,7	2,8	0,9
TRP406	1,8	1,48	4,01	1,4	3,0	2,4
GLN407	0,92	2,49	2,54	2,3	6,2	2,5
ALA408	-	-	-	1,6	2,7	2,2
THR409	0,54	0,67	0,02	1,1	1,9	1,0
TRP410	3,83	3,45	3,59	2,8	1,7	1,2
PRO433	-	-	-	0,5	0,7	0,4
VAL435	-	-	-	0,2	0,4	0,6
THR439	2,25	0,99	1,69	0,6	1,1	1,1
TYR441	2,44	1,71	2,52	1,8	2,4	1,9
VAL458	-	-	-	0,2	0,2	0,3
ASN460	0,12	0,1	0,22	0,9	1,1	1,4
VAL496	0,46	0,48	0,49	0,3	0,3	0,3
TYR532	1,2	0,53	1,23	0,6	0,5	0,4
TRP535	1,24	1,17	1,19	0,8	3,0	0,9
PRO537	-	-	-	0,5	0,8	0,3
ILE542	2	1,47	1,76	1,0	1,6	1,3
GLY543	-	-	-	1,0	0,8	2,0

Таблица 2. Продолжение.

Субъединица r51						
LYS20				2,9	0,5	4,8
VAL21	-	-	-	0,1	0,2	0,1
GLN23	-	-	-	0	0,3	0,3
PRO25	-	-	-	0,3	0,7	1,1
THR27	1,12	0,27	1,21	0,8	1,1	1,5
GLU28	0	-0,17	0,11	1,8	0,8	10,9
PRO52	-	-	-	1,5	3,1	2,5
GLU53	1,46	2,6	0,85	1,2	1,3	2,1
PRO55	-	-	-	0,7	0,7	1,2
ASN57	0,17	2,46	0,3	0,4	1,2	0,3
ILE135	1,29	1,12	1,2	1,1	1,9	1,5
ASN136	2,57	2,47	1,4	3,0	4,7	4,6
ASN137	1,94	2,17	1,92	1,5	3,7	2,7
GLU138	1,7	1,16	0,42	9,7	4,9	12,0
PRO140	-	-	-	0,8	1,8	1,1
ARG143	1,43	9,3	2,21	0,8	2,3	1,5
ASN255	1,06	0,13	1,06	-0,1	0,3	0,6
GLN258	1,07	1,59	1,39	0,6	1,6	1,7
LYS259	-	-	-	8,3	2,6	11,6
GLY262	-	-	-	0,3	0,7	0,4
ASN265	0,35	0,77	0,4	0,8	0,7	0,7
CYS280	-0,16	0,06	-0,13	0,3	0,4	0,4
LEU283	0,49	0,69	0,29	0,4	0,6	1,4
THR286	0,99	0,74	1,54	1,5	2,2	2,3
ALA288	-	-	-	0,5	0,8	0,8
LEU289	2,11	2,25	2,03	1,5	2,1	1,7
THR290	0,68	0,79	1,63	0,5	0,9	1,0
LYS331	5,84	6,55	2,08	6,5	11,1	6,4
GLN334	-	-	-	1,0	2,1	0,3
ASN363	0,62	0,58	0,57	0,9	0,2	0,5
ASP364	4,69	4,11	0,11	2,6	0,9	0,1
VAL365	-	-	-	0,4	0,9	0,4
PRO392	-	-	-	0,7	1,6	1,4
ILE393	0,65	0,58	0,71	0,4	0,6	1,0
GLN394	1,95	1,41	2,17	2,5	0,6	1,4
GLU396	1,21	-0,36	0,57	4,2	9,3	9,7
THR397	0,37	4,21	0,39	1,1	1,7	0,7
THR400	-	-	-	0,6	0,7	0,3
TRP401	-	-	-	1,2	1,9	1,4

Детальный анализ разнообразных белок-белковых комплексов показал, что основной вклад в энергию взаимодействия их субъединиц вносят небольшое количество аминокислотных остатках (так называемых “hot spots”), включающих гидрофильные и гидрофобные остатки [20,21]. Поэтому для дальнейшего анализа в качестве реперных аминокислот, определяющих связывание субъединиц, были использованы аминокислотные остатки, для которых рассчитанные величины во всех кристаллах превышали пороговые значения, выбранные равными 1 ккал/моль и 1,5% для аламинового сканирования и расчета энергии взаимодействия, соответственно. В результате на субъединице r66 было выбрано девять аминокислотных остатков по методу аламинового сканирования (Trp88, Tyr181, Ile380, Trp406, Trp410, Thr439, Tyr441, Trp535, Ile542) и шесть аминокислотных остатков по оценки энергии связывания (Trp88, Trp402, Trp406, Gln407, Ala408,

ДИМЕР ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ ВИЧ

Тyr441), причём три остатка были общими (Trp88, Trp406, Tyr441). Для субъединицы p51 таких остатков было выделено восемь (Ile135, Asn136, Asn137, Arg143, Gln258, Leu289, Lys331, Gln394) по методу аланинового сканирования, и восемь (Pro52, Asn136, Asn137, Glu138, Thr286, Leu289, Lys331, Gln394) по оценке энергии связывания (четыре остатка были общими для обоих методов – Asn136, Asn137, Lys331, Gln394). Распределение этих остатков на поверхностях субъединиц представлено на рисунке 1.

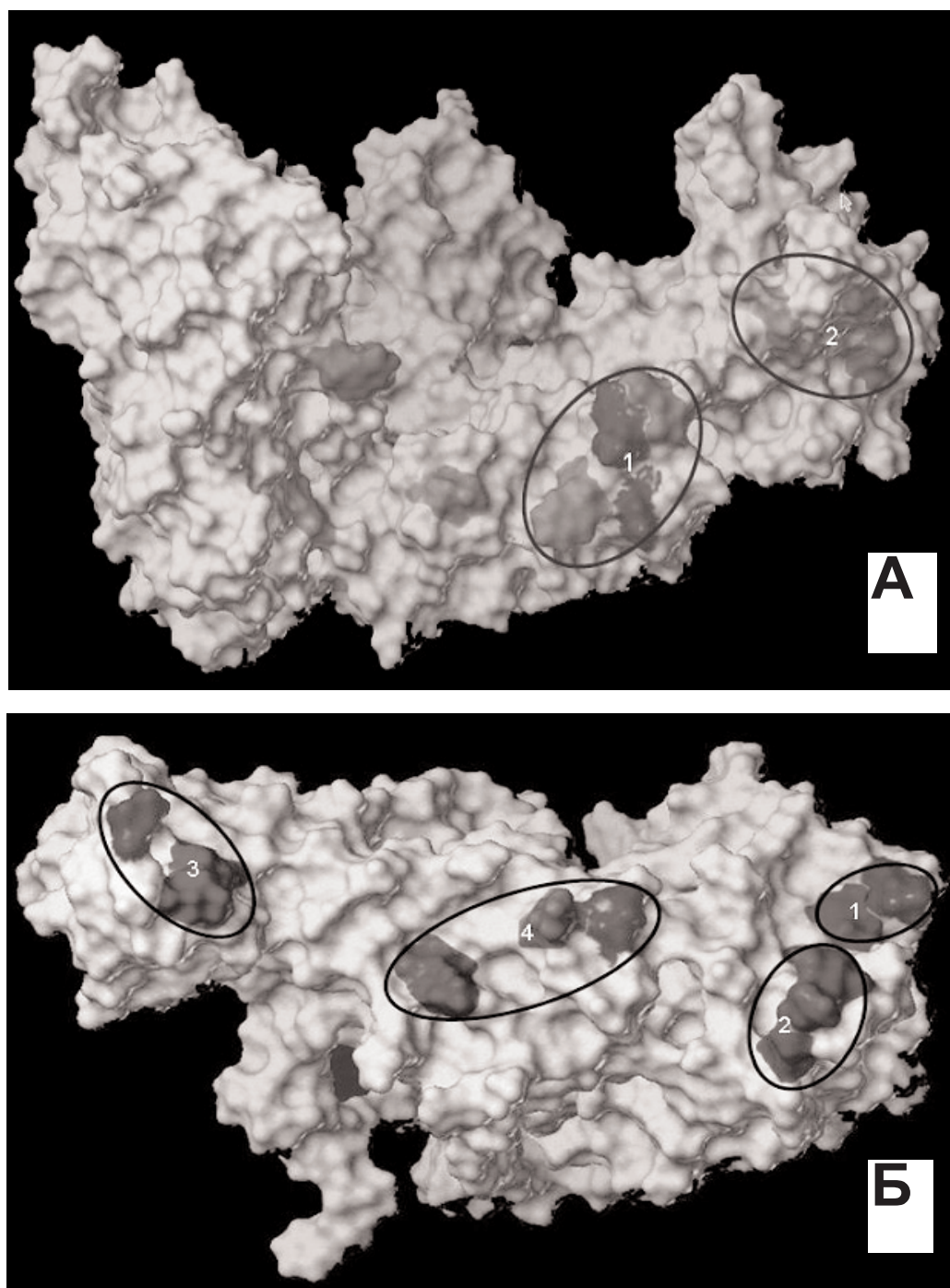


Рисунок 1.

Распределение кластеров из аминокислотных остатков на поверхности области контакта субъединиц ОТ ВИЧ. А – субъединица p66, Б – субъединица p51. Темным цветом отмечены аминокислотные остатки, вносящие основной вклад в связывание субъединиц.

Видно, что большинство этих остатков группируются в кластеры. Причём на поверхности субъединицы р66 можно выделить два основных кластера (рис. 1а), а на субъединице р51 их четыре (рис. 1б). Это совпадает с представлениями о том, что “hot spots” часто группируются в такие кластеры [9,21,22]. Аминокислотный состав каждого кластера и взаимодействующие с ними аминокислотные остатки из другой субъединицы представлены в таблице 3. Анализ вклада кластеров в энергию связывания каждой субъединицы показывает, что для р66 два его кластера суммарно обеспечивают почти половину энергии взаимодействия с р51, оцененного по методу аланинового сканирования и 30% по методу оценки энергии. Для субъединицы р51 вклад ее кластеров еще больше – примерно 50 и 75%, соответственно.

Сопоставление расположения кластеров на одной субъединице относительно кластеров на противоположной субъединице показывает, что кластеры 1 и 2 на субъединице р66 взаимодействуют с кластерами 4 и 3 на субъединице р51, соответственно (рис. 1, табл. 3).

Таблица 3. Кластеры аминокислотных остатков в области контакта субъединиц ОТ ВИЧ и остатки из другой субъединицы, контактирующие с ними.

№ кластера	Аминокислоты, входящие в кластер	Вклад кластера в энергию связывания		Контактирующие аминокислоты из другой субъединицы
		Аланиновое сканирование (ккал/моль)	Оценка энергии (%)	
Субъединица р66				
1	Trp402, Trp406, Gln407, Ala408, Trp410	9,65	13,2	Lys331, Asn363, Asp364, Val365, Pro392, Ile393, Gln394, Gln394, Trp401, Tyr405, Asn418
2	Thr439, 441, Trp535, Ile542	6,8	5,8	Gln258, Val261, Gly262, Leu283, Thr286, Lys287, Ala288, Leu289
Субъединица р51				
1	Pro52, Arg143	2,2	3,9	Phe87, Trp88, Ala158
2	Ile135, Asn136, Asn137, Gln138	6,45	17,1	Gln91, Gly93, Pro95, His96, Gly99, Lys101, Tyr181, Val381, Ile382, Gly384
3	Gln258, Thr286, Leu289	4,57	5,1	Pro433, Thr439, Tyr441, Val458, Asn460, Asn494, Val496, Tyr532, Ala534, Trp536, Ile542, Gly543
4	Lys331, Gln394, Gln396	7,13	33,2	Gln373, Trp402, Thr403, Tyr405, Trp406, Gln407, Ala408, Thr409

Первый кластер субъединицы р66 представляет собой активно изучаемый мотив с повторяющимися триптофановыми остатками [23]. Замена ряда триптофанов в нем приводит к потере способности белка димеризоваться [24]. Несколько пептидов из этого кластера были изучены на их способность блокировать формирование активного димера ОТ и продемонстрирована их слабая активность [12,13]. Однако более детальные исследования показали, что эти пептиды взаимодействуют с субъединицей р51, но не в области ее контакта с р66 [14]. Поэтому в настоящее время невозможно с определенностью сказать о пригодности данного участка на молекуле ОТ и контактирующего с ним кластера 4 субъединицы р51 в качестве перспективной мишени для ингибиторов димеризации. Тем не менее, нахождение данного кластера на контактной поверхности субъединицы подтверждает применимость использованного нами подхода для поиска важных участков в области контакта субъединиц.

Второй кластер р66 располагается на рибонуклеазном домене ОТ, на краю области контакта. Его поверхность и поверхность контактирующего с ним домена 3 субъединицы р51 являются плоскими, что является неблагоприятным фактором для эффективного связывания низкомолекулярных лигандов с белковой поверхностью.

ДИМЕР ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ ВИЧ

Первый кластер субъединицы р51 является самым маленьким, состоящим всего из двух аминокислотных остатков и обладающим самой низкой оценкой суммарного вклада в энергию связывания.

Второй кластер субъединицы р51 представляет собой единую последовательность из четырех аминокислотных остатков. Оба использованных метода предсказывают примерно 20% вклад этого тетрапептида в энергию связывания субъединицы. Он представляет собой поворот, соединяющий два тяжа β -слоя, и находится в кармане субъединицы р66 (рис. 2). Ни для одной из аминокислот, образующих этот карман не отмечено значительного вклада в энергию связывания. Для двух аминокислотных остатков из этого тетрапептида отмечена возможность аминокислотных замен, сохраняющих функциональную активность фермента (табл. 1). В одном случае возможна замена глутаминовой кислоты (138) на глутамин, а во втором случае изолейцина (135) на близкий по свойствам валин или на треонин. Поскольку фермент сохраняет активность, эти замены не сильно сказываются на структуре всего фермента, что предполагает некоторую свободу “маневра” при поиске новых непептидных лигандов для данного места.

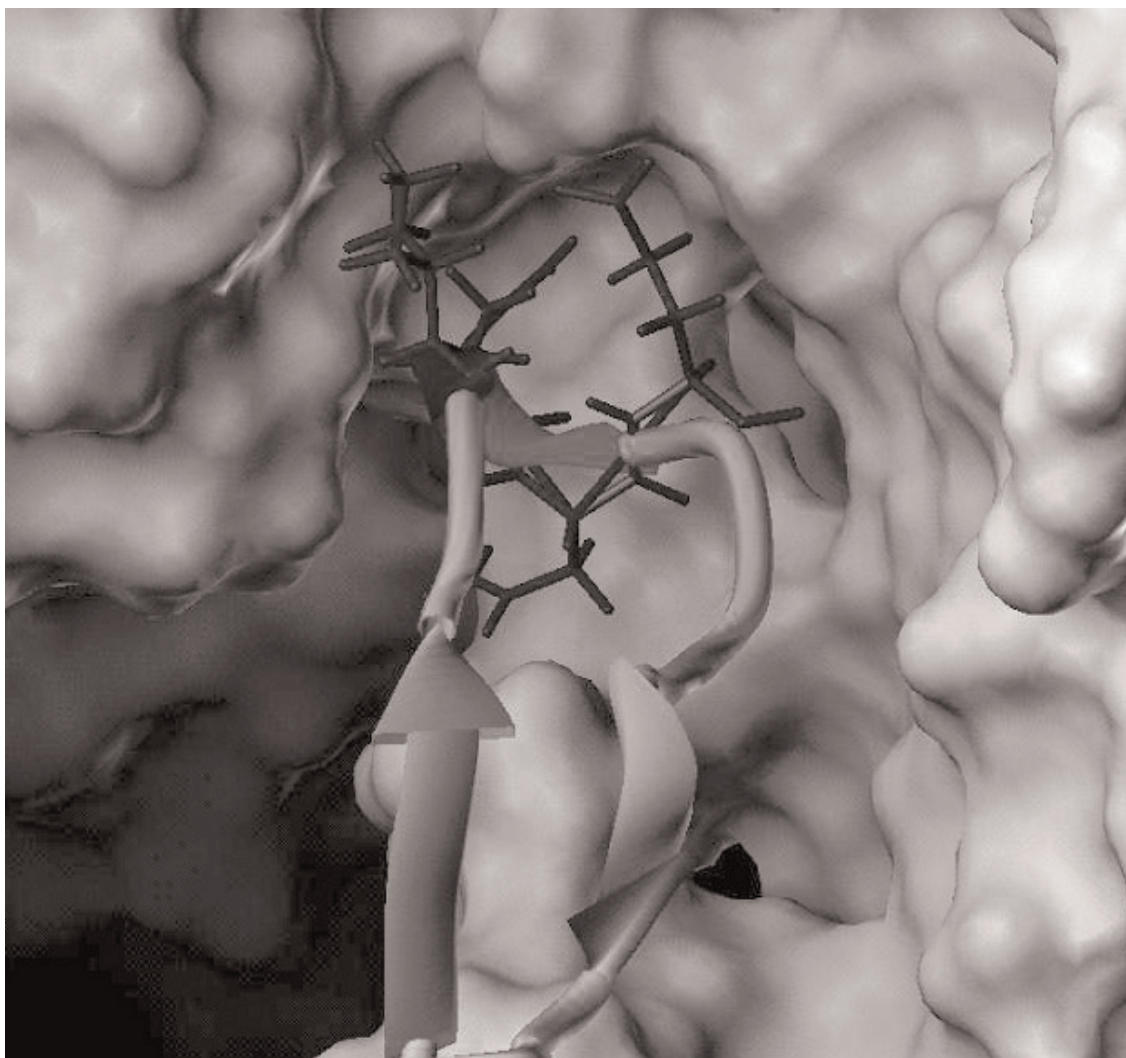


Рисунок 2.

Область контакта кластера 2 субъединицы р51 с субъединицей р66 ОТ ВИЧ. Субъединица р66 представлена в виде молекулярной поверхности.

На перспективность данного участка на субъединице р66 указывает и то, что он расположен рядом с местом связывания ненуклеозидных ингибиторов ОТ. Связывание некоторых ингибиторов из этого класса приводит к дестабилизации димера ОТ [25, 26].

Когда статья готовилась к печати появилось сообщение, что мутация аминокислотного остатка Asn136 в субъединице р51 (входящего во второй выделенный нами кластер на этой субъединице) приводит к полной инактивации ОТ [27]. Анализ показал, что эта потеря активности связана с распадом димера ОТ. Эти данные свидетельствуют в пользу нашего предположения о важном вкладе во взаимодействие субъединиц ОТ кластера 135-138 субъединицы р51. Таким образом, нам представляется, что участок на субъединице р66, контактирующий со вторым кластером субъединицы р51, может быть перспективной мишенью для разработки ингибиторов димеризации ОТ.

А.В. Веселовский признателен Региональному Фонду содействия отечественной медицины за поддержку этой работы на заключительном этапе.

ЛИТЕРАТУРА

1. DiMarzo V, Copel T.D., DeVico A.L., Rahman R., Oroszlan S., Gallo R.C., Sarngadharan M.G. (1986) *Science*, **231**, 1289-1291.
2. Lightfoote M.M., Coligan J.E., Folks T.M., Fauci A.S., Martin M.A., Venkatesan S. (1986) *J. Virol.*, **60**, 771-775.
3. Muller B., Restle T., Weiss S., Gautel M., Sczakiel G., Goody R.S. (1989) *J. Biol. Chem.*, **264**, 13975-13978.
4. Prasad V.R., Goff S. P. (1989) *J. Biol. Chem.*, **264**, 16689-16693.
5. Divita G., Rittinger K., Geourjon C., Deleage G., Goody R.S. (1995) *J. Mol. Biol.*, **245**, 508-521.
6. Ren J., Stammers D.K. (2005) *Trends Pharmacol. Sci.*, **26**, 4-7.
7. Archakov A.I., Govorun V.M., Dubanov A.V., Ivanov Y.D., Veselovsky A.V., Lewi P., Janssen P. (2003) *Proteomics*, **3**, 380-391.
8. Veselovsky A.V., Ivanov Y.D., Ivanov A.S., Archakov A.I., Lewi P., Janssen P. (2002) *J. Mol. Recognit.*, **15**, 405-422.
9. Arkin M.R., Wells J.A. (2004) *Nat. Rev. Drug Discov.*, **3**, 301-317.
10. Valdar W.S., Thornton J.M. (2001) *Proteins*, **42**, 108-124.
11. Caffrey D.R., Somaroo S., Hughes J.D., Mintseris J., Huang E.S. (2004) *Protein Sci.*, **13**, 190-202.
12. Divita G., Restle T., Goody R.S., Chermann J.C., Baillon J.G. (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 13080-13083.
13. Divita G., Baillon J.G., Rittinger K., Chermann J.C., Goody R.S. (1995) *J. Biol. Chem.*, **270**, 28642-28646.
14. Depollier J., Hourdou M.L., Drian-Herrada G., Rothwell P., Restle T., Divita G. (2005) *Biochemistry*, **44**, 1909-1918.
15. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez>
16. Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F., Higgins D.G. (1997) *Nucleic Acids Res.*, **25**, 4876-4882.
17. Van Der Spoel D., Lindahl E., Hess B., Groenhof G., Mark A.E., Berendsen H.J. (2005) *J. Comput. Chem.*, **26**, 1701-1718.
18. Kortemme T., Kim D. E., Baker D. (2004) *Sci. STKE*. **2004**, PL2.
19. SYBYL 6.9 Tripos Inc. 1699 South Hanley Road. St. Louis. Missouri. 63144. USA.
20. Bogan A.A., Thorn K.S. (1998) *J. Mol. Biol.*, **280**, 1-9.
21. Ma B., Elkayam T., Wolfson H., Nussinov R. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 5772-5777.

ДИМЕР ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ ВИЧ

22. *Reichmann D., Rahat O., Albeck S., Meged R., Dym O., Schreiber G.* (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 57-62.
23. *Mulky A., Sarafianos S.G., Jia Y., Arnold E., Kappes, J.C.* (2005) *J. Mol. Biol.*, **349**, 673-684.
24. *Wapling J., Moore K.L., Sonza S., Mak J., Tachedjian G.* (2005) *J. Virol.*, **79**, 10247-10257.
25. *Camarasa M.J., Velazquez S., San-Felix A., Perez-Perez M.J.* (2005) *Antivir. Chem. Chemother.*, **16**, 147-153.
26. *Tachedjian G., Goff S.P.* (2003) *Curr. Opin. Investig. Drugs.*, **4**, 966-973.
27. *Balzarini J., Auwerx J., Rodriguez-Barrios F., Chedad A., Farkas V., Ceccherini-Silberstein F., Garcia-Aparicio C., Velazquez S., De Clercq E., Perno C.F., Camarasa M. J., Gago F.* (2005) *Mol. Pharmacol.*, **68**, 49-60.

Поступила: 01. 09. 2005

ANALYSIS OF CONTACT INTERFACES OF HIV REVERSE TRANSCRIPTASE SUBUNITS

D.A. Belov, A.V. Veselovsky

Institute of Biomedical Chemistry, Pogodinskaya ul., 10, Moscow, 119121 Russia;
tel.: 7(495)246-7115; fax: 7(495)245-08-57; e-mail: veselov@ibmh.msk.su

Analysis of structure and features of subunit contact areas of reverse transcriptase (RT) HIV was done. The amino acid residues from contact areas of RT subunits are more conservative than the rest residues of the protein. Estimation of contribution of the amino acid residues from contact areas in binding energy of subunits showed that binding energy is mostly localized on the several amino acid residues of the dimer interface (hot spots). The majority of these hot spots form several clusters on contact surfaces. Analysis of these clusters allows to predict the region on the contact area of protein dimer that can be useful for design the inhibitors of dimerization of RT HIV.

Key words: reverse transcriptase, HIV, computer modelling, dimer, inhibitors of dimerization, binding energy, interface.