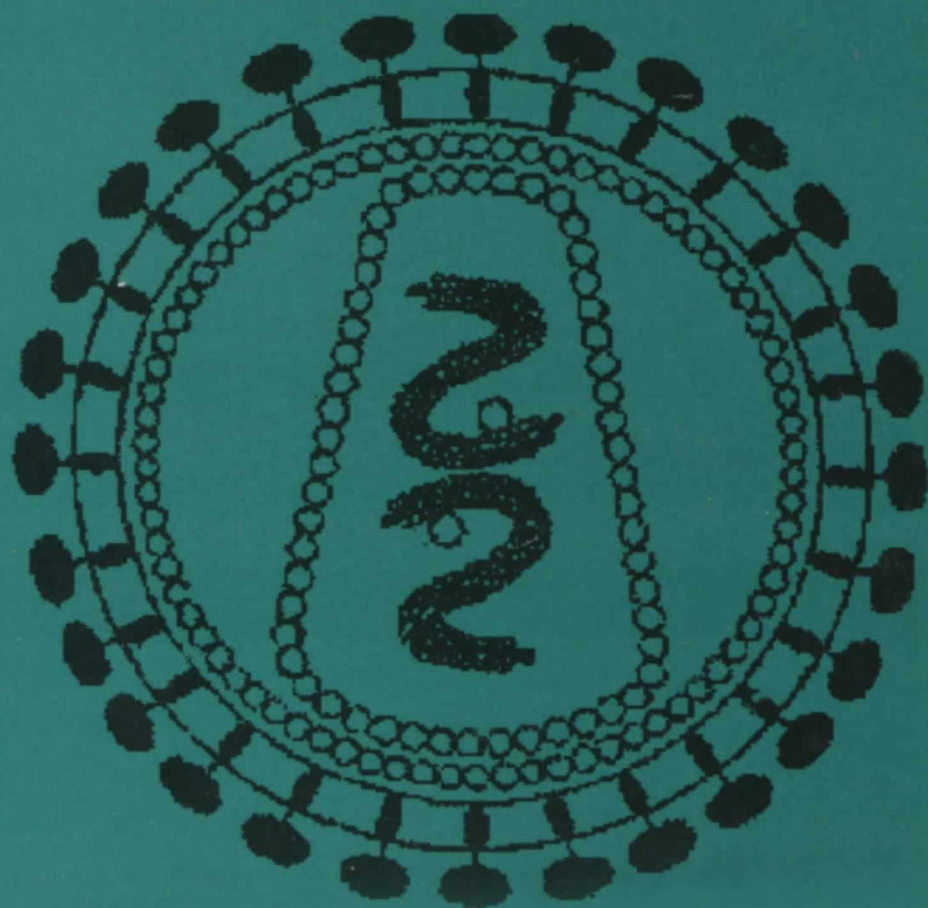


**КАРПОВ О.В., СПІВАК М.Я.,
МИХАЙПЕНКО О.М.**

**ВІЛ-ІНФЕКЦІЯ ТА ІНТЕРФЕРОН:
МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ
АСПЕКТИ**



Національна Академія Наук України
Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного
Науково-виробнича компанія "ДіаПрофМед"

**КАРПОВ О.В., СПІВАК М.Я.,
МИХАЙЛЕНКО О.М.**

ВІЛ-ІНФЕКЦІЯ ТА ІНТЕРФЕРОН: МОЛЕКУЛЯРНО- БІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

Київ – 2003

УДК 616.98.578.82 / 577.245

ББК Е42

К26

ВІЛ-інфекція та інтерферон: молекулярно-біологічні аспекти /
О.В. Карпов, М.Я. Співак, О.М. Михайленко. – Київ: Фітосоціоцентр,
2003. – 184 с.

В монографії міститься детальний опис існуючих експериментальних даних щодо структурних властивостей вірусу імунодефіциту людини, системи інтерферону людини а також наведений аналіз гіпотез що описують молекулярно-біологічні механізми дії інтерферонів різних типів при ВІЛ-інфекції. Особливе місце приділене явищу апоптозу при ВІЛ-інфекції а також шляхам протидії ВІЛ захисним механізмам організму.

Для вірусологів, молекулярних біологів, біохіміків, імунологів, лікарів усіх спеціальностей та студентів медичних та біологічних вищих навчальних закладів.

Рецензенти: доктор біол. наук, професор Бойко А.Л.,
доктор біол. наук, професор Поліщук В.П.,
доктор мед. наук Рибалко С.Л.

Рекомендовано до друку Вченою Радою
Інституту мікробіології та вірусології
ім. Д.К. Заболотного НАНУ (прот. №3 від 11.06.2002)

Всі права авторів захищені. Ні одна частина цього видання не може бути занесена в пам'ять комп'ютера або відтворена іншим способом без попереднього письмового дозволу видавництва.

Видавництво Українського фітосоціологічного центру
03028, Київ-28, а.с. 2, тел/факс (044) 264-11-61

Підписано до друку 13.10.2003 р. Формат 60х84 1/16.
Друк різнографічний. Папір офсетний. Гарнітура Arial. Наклад 300 прим.
Умовн. друк. арк. 11,0. Умовн. вид. арк. 11,9. Зам. №357.

ISBN 966-306-033-9

© О.В. Карпов, М.Я. Співак, О.М. Михайленко, 2003
© Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного, 2003
© Науково-виробнича компанія "ДіаПрофМед", 2003
© Український фітосоціологічний центр, 2003

ЗМІСТ

Передмова	5
1. Структура та біологічні властивості ВІЛ	7
1.1. Структурна організація ВІЛ	7
1.2. Геном ВІЛ та вірусні білки	10
1.3. Регуляція транскрипції ВІЛ	26
1.3.1. Послідовність LTR та її роль у транскрипції	26
1.3.2. Регуляція експресії ВІЛ на рівні генома	31
1.3.3. Регуляція експресії ВІЛ на рівні клітини-носія	34
1.4. Патогенез при ВІЛ-інфекції	36
2. Інтерферон: загальна характеристика та противірусна дія	53
2.1. Класифікація ІФН та гени ІФН	54
2.2. Регуляція експресії генів ІФН	56
2.3. Взаємодія ІФН з рецепторами	61
2.4. Шляхи передачі сигналу від ІФН	61
2.5. Індукція противірусного стану	69
3. Інтерферон при ВІЛ-інфекції	93
3.1. Вплив ВІЛ на продукцію ендогенного ІФН	94
3.2. Продукція кислотолабільного ІФН- α при ВІЛ-інфекції	100
3.3. Протиретровірусна дія екзогенного ІФН	102
3.4. ВІЛ та ІФН-індуковані білки, що беруть участь у захисті проти вірусу	115
4. Зв'язок механізмів регуляції генів ІФН I типу з репродукцією ВІЛ	133
4.1. Інтеграція ДНК ВІЛ та роль білку HMG-I(Y)	134
4.2. Регуляція транскрипції ВІЛ-1: послідовність LTR	134
4.3. Фактори NF- κ B, NF-AT, ATF-2 та Sp1	135
4.4. LTR та ТФ родини IRF	138
4.5. LTR та білки-коактиватори p300 і CBP	141
4.6. Білки-трансактиватори ВІЛ-1	141
5. ІФН та стан апоптозу при ВІЛ-інфекції	149
6. Молекулярні механізми, за допомогою яких ВІЛ рятується від противірусної дії ІФН	176
Заклучення	184

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВІЛ-вірус імунодефіциту людини
ІФН-інтерферон
РНК- рибонуклеїнова кислота
мРНК- матрична рибонуклеїнова кислота
ДНК- дезоксирибонуклеїнова кислота
ФМА- форболмірістатацетат
ФНП- фактор некрозу пухлин
IL – 1 – інтерлейкін – 1
IL – 2 – інтерлейкін – 2
IL – 4 – інтерлейкін – 4
IL – 6 – інтерлейкін – 6
IL – 8 – інтерлейкін – 8
IL – 10 – інтерлейкін – 10
IL – 12 – інтерлейкін – 12
IL – 13 – інтерлейкін – 13
ТФ – транскрипційний фактор
РВМС - клітини периферичної крові
ЛПС – ліпополісахарид
ФГА – фітогемагглютинін
PKR – протеїнкіназа
2,5 OAS – 2'5- олігоаденілатсинтетаза
ІДО – індоламін 2,3 - діоксигеназа

ПЕРЕДМОВА

Синдром набутого імунodefіциту (СНІД)- повільна вірусна інфекція, яка викликається вірусом імунodefіциту людини (ВІЛ) і характеризується вибіркоvim ураженням імунокomпетентних клітин та клітин мозку, що призводить до прогресуючого дефекту імунної системи, лихоманки, лімфоаденопатії, деменції, втрати маси тіла та летальності, як правило від опортуністичних інфекцій.

З'явившись наприкінці ХХ сторіччя інфекція швидко розповсюдилася по всіх континентах земної кулі, набувши характеру пандемії та включивши в свою орбіту не тільки медичні, але й соціальні, етичні, економічні та багато інших аспектів життя суспільства. Практично все людство сьогодні можна розглядати як групу ризику щодо СНІДу.

Спроби контролювати пандемію ВІЛ-зосереджено на всіх аспектах хвороби, включаючи наукові дослідження, вивчення ходу епідемічних процесів, просвітницьку роботу, розробку ефективних медичних технологій та пошук нових антивірусних препаратів, які порушують цикл репродукції цього вірусу та стимулюють імунну систему організму. Зараз досить багато відомо про ВІЛ, можливо, навіть більше, ніж про інших збудників, але найреалістичніша мета терапевтичних втручань може бути пов'язана зі схемою комбінованої терапії, спрямованої на те, щоб загальмувати поширення вірусу та/або розвиток СНІДу. При цьому встановлення факторів, що впливають на експресію генів ВІЛ і його розмноження, формуватиме основу для розвитку дієздатної протівірусної терапії.

На сьогодні досліджено тисячі сполук різної природи, які у ряді випадків виявляють виражену активність проти ВІЛ *in vitro*. Однак в умовах організму ця активність не завжди підтверджується. Для лікування ВІЛ-інфікованих пацієнтів сьогодні використовують принаймні 16 ліцензованих антиретровірусних препаратів, що пригнічують реплікацію ВІЛ. Фактично всі сполуки, які використовуються для лікування або знаходяться на кінцевих стадіях клінічних випробувань - це нуклеозидні або нуклеотидні інгібітори зворотної транскриптази чи інгібітори протеази. Обнадійливі також результати застосування комбінованої терапії вказаними препаратами. Ці ліки, однак, хоча й дозволяють пригнічувати розмноження вірусу, іноді на досить тривалий час, та подовжити життя хворого, все ж не припиняють інфекційного процесу. Вважається, що на сьогодні навчилися лікувати тільки супутні інфекції при ВІЛ/СНІДі, але не сам

СНІД. До того ж, розмаїття генотипів ВІЛ та динаміка природних генетичних мутацій вірусу в організмі хазяїна створює додаткові труднощі при лікуванні ВІЛ-інфікованих. Більше того, застосування обмеженого кола вузькоспеціалізованих препаратів безпосередньо провокує активне формування мутантних штамів вірусу, нечутливих до поширених ліків.

Поряд зі вказаними стратегіями терапії ВІЛ-інфекції досить давно почали вивчати можливості застосування для анти-ВІЛ терапії препаратів інтерферонів, оскільки провідні функції цих природних біологічно активних речовин - створення в організмі стану стійкості проти вірусів та активація імунної системи.

В даній монографії зроблена спроба узагальнити відомі сьогодні лабораторні та клінічні дані про дію ІФН типів I та II при ВІЛ-інфекції як на клітинному рівні, так і на організм в цілому. При цьому наголос зроблено на молекулярно-біологічних дослідженнях та їх інтерпретації, а також на можливих молекулярних механізмах дії інтерферонів у випадку даного вірусного захворювання.

Автори сподіваються, що наведені матеріали будуть корисними як дослідникам так і широкому колу фахівців у ситуації лавиноподібного зростання нових даних щодо проблеми ВІЛ/ СНІД, та можуть бути використані для розробки нових підходів для профілактично- лікувальних заходів при цій інфекції.

Висловлюємо свою глибоку вдячність нашим колегам А.В. Руденко, Е.М. Жеребцовій, Н.В. Іванський, С.В. Антоненко, Л.М. Лазаренко, Л.Д. Кривохатській, Л.О. Гановій, Н.О.Тимошок за допомогу та критичні зауваження при підготовці цього рукопису до друку.

1. СТРУКТУРА ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ВІЛ

Перш ніж перейти до безпосереднього розгляду впливу ІФН на ВІЛ-інфекцію, доцільно коротко охарактеризувати самі ІФН, а також об'єкт їхнього впливу - ВІЛ. У багатьох монографіях та оглядах детально описано фізико-хімічні та біологічні властивості ВІЛ (Gonda, 1988; Волянский и др., 1993; Levy, 1994; Li et al., 1997; Dutch et al., 2000; Cimarelli, Darlix, 2002), тому ми коротко нагадаємо про них, а далі розглянемо лише дані, що безпосередньо стосуються дії ІФН при ВІЛ-інфекції.

1.1. Структурна організація ВІЛ

ВІЛ належить до родини ретровірусів (Retroviridae), підродини так званих "повільних вірусів" (Lentivirinae) (Быковский и др., 1983). Зараз виділено та охарактеризовано два типи цього вірусу - ВІЛ-1 (LAV/HTIV-III, HIV-1) та ВІЛ-2 (IAV-2, HIV-2).

Схематично будову ВІЛ представлено на **рис. 1**. Віріон ВІЛ сферичної форми, діаметр його 100-150 нм. Зовнішня оболонка вірусу, названа вірусною мембраною, фактично являє собою видозмінену мембрану людської клітини. Вона складається з подвійного шару ліпідів клітинного походження, куди вбудовано рецепторні структури. Через клітинне походження оболонки ВІЛ на поверхні вірусної часточки та всередині її міститься багато клітинних білків (наприклад, "хазяйські антигени" основного комплексу гістосумісності I та II класу) (Gonda, 1988). Глікопротеїнова оболонка ВІЛ, як і в інших ретровірусів, вкрита з внутрішнього боку шаром матричного білку р17 завтовшки 5-7 нм. За своєю локалізацією та деякими функціями цей білок подібний до матричного білку рабдовірусів, орто- та параміксовірусів, але відрізняється наявністю міристильованого N-кінця (Gelderblom et al., 1989). Вірусна оболонка досить легко ушкоджується, що пояснює деякі поширені помилкові твердження, а саме: досить легка інактивація вірусу відбувається під дією різних факторів зовнішнього середовища. Однак носієм інфекційного потенціалу ВІЛ є РНК, яка досить стійка до дезінфекції і здатна до ренатурації своєї вторинної структури навіть після термоденатурації.

Під зовнішньою оболонкою розташовується серцевина вірусу (core) у формі конусу, утворена білком р24. Відстань між зовнішньою вірусною мембраною та серцевиною заповнено згаданим вище

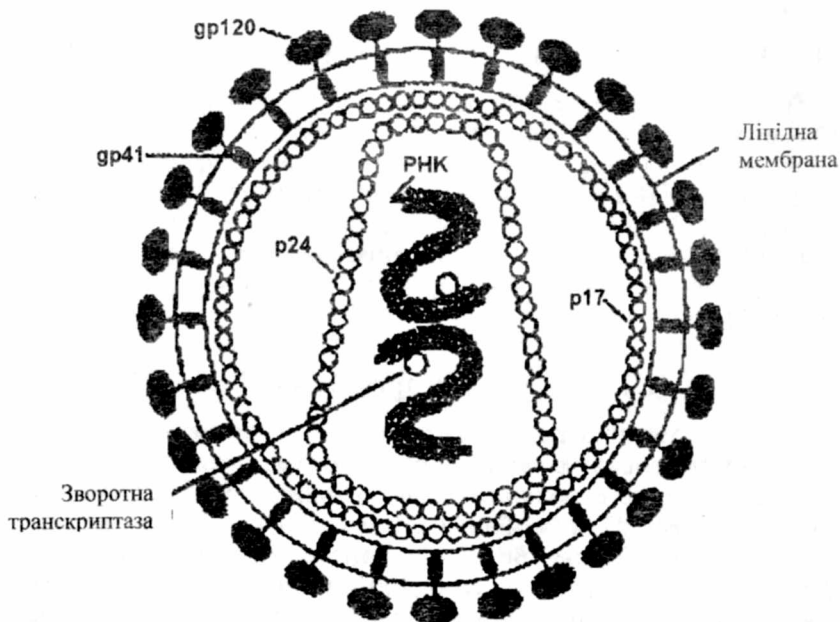


Рис. 1. Вірус імунодефіциту людини

матричним білком p17. Цей білок, що пронизує вірусну частку, зв'язує її структурні елементи і утворює при цьому місток між білками гена *env* і внутрішніми компонентами вірусної часточки (Ozel et al., 1988).

Внаслідок цього у ВІЛ, як і у інших ретровірусів, існує фізичний зв'язок між матричним білком p17 і шипами, зануреними у ліпопротеїнову оболонку віріона (Gonda, 1988).

На поверхні вірусної часточки знаходяться 72 шипи завдовжки 9 нм та діаметром 15 нм. Кожний шип - це тетрамер, що складається з оболонкових білків gp120 та gp41 (Cimarelli, Darlix, 2002). Білок gp120, який впізнає клітинний рецептор, і білок gp41, що забезпечує проникнення віруса в клітину, складаються з чотирьох ідентичних субодиниць, з'єднаних між собою нековалентними зв'язками. Тому gp120 та його фрагменти легко відриваються від поверхні віріона (Букринская, Жданов, 1991). Тетрамер має еліпсоїдний наріжний кінець діаметром 15 нм з поглибленням для клітинного рецептора і

стрижень діаметром 8 нм. Вивільнені структури gp120 ВІЛ можуть фіксуватися далі на плазматичній мембрані клітин-мішеней, перетворюючи їх на об'єкт атаки з боку Т-лімфоцитів та клітин-кілерів. Серцевина ВІЛ витягнута, конусоподібна. Вона містить нуклеокапсид з вірусним геномом; нуклеокапсид складається з білків р7, р9 та р13.

Як і у інших лентівірусів, геном ВІЛ представлений молекулами РНК, що утворюють нуклеоїд. Один віріон містить дві тотожні молекули такої РНК з коефіцієнтом седиментації 35 S. Ці односпіральні молекули РНК розмірами 9,2 кД поєднані між собою на одному з кінців і структуровані низькомолекулярними білками р9 та р7. Віріонна РНК, пов'язана з білками нуклеокапсида, розташовується у нуклеоїді не точно по центру, а дещо зміщено, "ексцентрично" (Gonda, 1988). У серцевині віріонів міститься також декілька молекул таких ферментів, як ревертаза, ендонуклеаза (інтеграза) р31 та протеаза р22. Всі ці білки необхідні для того, щоб розпочати інфекційний процес та забезпечити його ранні етапи.

Як і всі віруси, ВІЛ може репродукуватися тільки в хазяйських клітинах, причому здатен проникати лише в ті клітини, які мають на поверхні певні відповідні рецептори (наприклад, CD4) (Wyatt, Sodroski, 1998). Проникнення вірусу в клітину відбувається після приєднання його до клітинної поверхні; при проникненні відбувається "роздягання" вірусної часточки і вихід молекул РНК в цитоплазму. Тут проходить перший етап життєвого циклу ВІЛ - зворотна транскрипція (див. далі). Утворена провірусна ДНК потрапляє до ядра клітини, де вже за допомогою іншого ферменту - інтегрази - вбудовується в одну з хромосом хазяйської клітини. Характерно, що інтеграція вірусної ДНК відбувається в декількох різних місцях генома людини.

Подальший етап життєвого циклу ВІЛ відтворюється в ядрі клітини: під дією клітинних РНК-полімераз синтезується РНК на матриці провірусної ДНК ВІЛ (пряма транскрипція). Перемістившись у цитоплазму, молекула РНК (матрична РНК) виступає як матриця для синтезу вірусних білків. Синтезовані компоненти ВІЛ - віріонні РНК та білки - складаються у вірусні часточки.

Ретровіруси виробили декілька механізмів складання та вивільнення часточок (Swanstrom, Wills, 1997; Goff, 2001). Деякі з ретровірусів, включаючи й ВІЛ, використовують так званий С-шлях, при якому складання часток відбувається на плазматичній мембрані клітини (Freed, 2002). Після "запаковування" рибонуклеопротеїну незрілий віріон відривається від поверхні клітини, захоплюючи частину мембрани з клітинними білками та ліпідами (Cimarelli, Darlix, 2002).

Коли вірусні часточки відокремлюються від поверхні клітини, частина молекули-попередника спонтанно відколюється і утворює молекулу ферменту протеази (viral protease). Цей фермент нарізує молекули попередника на фрагменти визначеного розміру, які відповідають білкам зрілої вірусної часточки, після чого завершується формування її структури (етап "дозрівання"). Таке розщеплення відбувається під час складання вірусних часточок або після вивільнення їх з клітини. При утворенні віріонів відбувається також олігомеризація поліпротеїнів (Cimarelli, Darlix, 2002). При цьому в одній інфікованій клітині може утворюватися кілька сотень нових віріонів (Gonda, 1988).

Для зв'язування ВІЛ-1 з клітиною необхідна наявність рецептора CD4 (первинний рецептор) (Wyatt, Sodroski, 1998). Однак для проникнення вірусу в клітину самого лише первинного рецептора недостатньо. Зовнішня субодиниця gp120 повинна поєднатися також і зі специфічним хемокіновим рецептором (так званим корецептором; зазвичай це рецептор CCR5 або CXCR4). Такі рецепторні взаємодії забезпечують подальше проникнення вірусу в клітину (Trkola et al., 1996; Wu et al., 1996; Speck et al., 1999; Salzwedel et al., 2000).

Зв'язування віріонів з клітинами-мішенями забезпечує специфічна спорідненість компоненту gp120 ВІЛ до молекул-мішеней CD4⁺ імунної системи. Прикріплення вірусних часточок та їх проникнення у чутливі клітини - це етап, який започатковує подальші події, що призводять до патологічних змін у клітинах та в цілому організмі.

1.2. Генوم ВІЛ та вірусні білки

Особливістю ВІЛ є відносно висока, у порівнянні з іншими ретровірусами, складність структури геному. Генوم ВІЛ може існувати у двох видах: у вигляді геномної РНК, а також у вигляді ДНК, синтезованої на геномній РНК як на матриці та інтегрованої в будь-яку хромосому хазяїна. Ця друга форма існування генома ВІЛ називається провірусом. Розміщення генів вздовж геномної РНК або ДНК провірусу зображено на **Рис. 2**. Як слідує з цього малюнку, гени провірусу не відокремлені один від одного. У геномі завдовжки 9,2 кД вірусні гени частково, але на значному протязі перекриваються з сусідніми. Два гени - *tat* і *rev* - "розірвані", тобто складаються кожний з двох відрізків, що лежать на досить далекій відстані один від одного. мРНК після транскрипції з ДНК провірусу перед трансляцією неодноразово піддається сплайсингу. У мРНК різних генів ВІЛ кількість сплайсингів різна. Регуляторні білки Tat, Rev і Nef трансклюють-

ся з багаторазово сплайсованої РНК (до 20 разів). Білок-попередник Env (gp160) та білок Vif транскрибуються з одноразово сплайсованої РНК. Загальний білок-попередник Gag-Pol транскрибується з несплайсованої інформаційної РНК, транскрибованої з генів *gag-pol*.

Кінці кожної молекули РНК несуть послідовність завдовжки 638 пар нуклеотидів; цю послідовність називають довгим кінцевим повтором (LTR, long terminal repeat). Ділянки LTR діють як перемикачі для керування процесом вірусної транскрипції; при цьому вони взаємодіють як з білками ВІЛ, так і з білками клітини-хазяїна (див. далі).

ДНК провірусу за розмірами дещо більша за геномну РНК. Вона містить 9749 пар нуклеотидів. Це збільшення довжини нитки ДНК провірусу у порівнянні з довжиною нитки РНК відбувається за рахунок дорощування на кінцях по 453 нуклеотиди. Таким чином, ділянки LTR, які знаходяться на кінцях провірусного генома, містять біля 200 нуклеотидів, що походять від матриці геномної РНК, і 453 додаткових нуклеотиди, які прибудовуються у ході зворотної транскрипції та інтеграції провірусу в геном клітини.

Інтеграція провірусної ДНК - це унікальний ферментативний процес, який здійснюється всіма ретровірусами та ретротранспозонами (Hindmarsh, Leis, 1999). У ході інтеграції дволанцюгова лінійна вірусна ДНК вбудовується в геном хазяїна; цей процес каталізується інтегразою, яку кодує вірус. Механізм інтеграції включає ряд нуклеофільних атак, перша з яких вилучає дві термінальні основи з 3'-кінців LTR, а друга вбудовує вірусну ДНК в геном хазяїна.

Крім зрілого віріону, геномна РНК ВІЛ присутня в інфікованій клітині-хазяїні у ранні періоди після інфекції, до того, як відбудеться зворотна транскрипція з цієї РНК її ДНК-копії, а також при завершенні інфекційного процесу в клітині, тобто на стадії інтенсивного розмноження вірусу, коли геномна РНК накопичується у великих кількостях до того, як увійти до складу новоутворених віріонів.

У життєвому циклі вірусу геномна РНК функціонує тільки один раз, коли вона стає матрицею для зворотної транскриптази при біосинтезі комплементарної ДНК. Далі геномна РНК виступає вже як готовий продукт. Весь об'єм біохімічної роботи для забезпечення всіх процесів, необхідних для повної реплікації вірусу, виконується за участю ДНК провірусу (Хаитов, Игнат'єва, 1992).

Кожна з молекул РНК, розміщених в нуклеоїді, містить 9 вірусних генів, а саме: *env*, *gag*, *tat*, *vif*, *nef*, *vpr*, *vpu*, *vpx* і *rev*.

Гени *env*, *gag* і *pol* називають структурними, оскільки кодовані ними білки - це або структурні білки зрілого віріону, або ферменти. Білки генів *gag* і *pol* нарізуються вірусоспецифічною аспарагіновою

протеазою, що є продуктом гену *pol*, а білки гену *env* - клітинною трипсиноподібною протеазою.

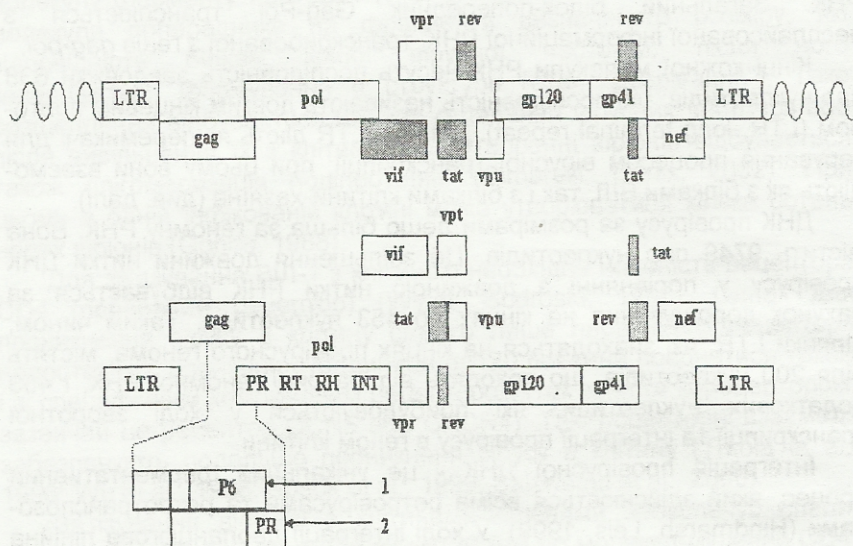


Рис. 2. Схема будови геному провірусу ВІЛ. Відповідність генів білкам, що їх кодують

У верхній частині малюнку показано розміщення генів (пояснення в тексті), в нижній частині малюнку - відповідні білки і, зокрема, дві різні рамки зчитування з іРНК: 1 - рамка зчитування при трансляції білків групи Gag, 2 - рамка зчитування при трансляції білків групи Pol. PR - протеаза, RT - зворотня транскриптаза, RH - РНКаза Н, INT - інтеграза. Інші білки позначені у відповідності з генами (пояснення в тексті)

Гени *tat*, *vif*, *nef*, *vpr*, *vpu*, *vpx* та *rev* називаються регуляторними, оскільки кодовані ними білки виконують різні регуляторні функції протягом життєвого циклу вірусу і не входять (за виключенням білків Vpx та Vpr) до складу вже зрілих вірусних часток (Li et al., 1997).

Ген *env* (envelope). Відповідний оболонковий глікопротеїн (Env) ВІЛ-1 відіграє важливу роль при проникненні вірусу до чутливих клітин і стає головною мішенню гуморальної та клітинної імунної відповіді (McKeating, Willey, 1989; Hunter, Swanstrom, 1990). Env сприяє такому проникненню, забезпечуючи ряд послідовних зв'язувань з рецепторами. Це, в свою чергу, викликає конформаційні зміни, приводячи наостанку до злиття мембран віріону та клітини-

мішені (Wyatt, Sodroski, 1998; Chan, Kim, 1998; Berger et al., 1999; Weissenhorn et al., 1999).

Білок Env спочатку синтезується як високомолекулярний попередник gp160 (Doms et al., 1993; Wyatt, Sodroski, 1998). З гену *env* транскрибується інформаційна РНК, яка перед трансляцією лише один раз піддається сплайсингу (Peleg et al., 2002). Утворена у такий спосіб мРНК завбільшки 4,3 тис. нуклеотидів містить відкриту рамку читування, здатну забезпечити синтез білку, що складається з 861 амінокислотного залишку з молекулярною масою 97,5 кД. На N-кінці білку-попередника міститься гідрофобна сигнальна послідовність амінокислот, завдяки якій даний білок переходить до секреторного апарату клітини через ендоплазматичний ретикулум (McCune et al., 1988; McKeating, Willey, 1989). В цьому компартменті клітини сигнальна послідовність відщеплюється, а молекула попередника інтенсивно глікозилюється. Утворений глікопротеїн (gp160) містить на С-кінці ділянку з послідовністю гідрофобних амінокислот, яка приєднується до мембрани клітини-хазяїна. Після такого приєднання попередник gp160 під дією протеази клітини-хазяїна розщеплюється на gp120 та gp41, які вже не сполучені пептидним зв'язком, але все ж нековалентно взаємодіють один з одним (Willey et al., 1988) і експресуються на мембрані клітин, в яких розмножується вірус (Gallagher et al., 1989). Функціональний Env як на поверхні інфікованих клітин, так і на поверхні віріонів являє собою гомо/олігомери комплексів gp120/gp41 (Salzwedel., Berger, 2000). Поверхневі білки, кодовані геном *env*, формують зовнішні структури віріонів - шипи у формі гриба; це відгалуження діаметром 15 нм і заввишки 9 нм. Шапочка цього гриба складається з gp120, а ніжка - з gp41 (Cimarelli, Darlix, 2002).

Оболонковий глікопротеїновий комплекс Env ВІЛ-1 еволюціонував як мінімально імуногенна структура, яка разом з тим зберігає свою природну функцію рецептор-опосередкованого злиття вірусу з клітиною. Комплекс Env - це тример; його шість окремих субодиниць (три субодиниці gp120 та три gp41) зв'язані відносно слабкими нековалентними зв'язками (Sanders et al., 2002). Олігомерна структура Env зберігається після розщеплення в компартменті апарату Гольджі і транспортується до поверхні інфікованих клітин, де вбудовується у віріони, які тут формуються (Center et al., 2002).

Зрілі вірусні часточки здебільшого втрачають gp120. Встановлено, що взаємодія вказаних білків зі структурними білками віріону може впливати на складання віріонів і, відповідно, на інфекційність вірусних часток (Dubay et al., 1992; Yu et al., 1992; Cosson, 1996).

Основна функція білку gp120 - забезпечення початкових етапів прикріплення вірусу шляхом взаємодії з головною клітинною рецепторною молекулою (CD4) та молекулою корецептора. Така взаємодія забезпечує конформаційні зміни всередині одного з доменів білку gp41, що в свою чергу веде до злиття вірусної та клітинної мембран (Binley, Moore, 1997; Chan, Kim, 1998).

Білок gp41 протикає вірусну оболонку. Він містить внутрішньо-віріонну (власне трансмембранну) ділянку, а також невелике угруповання над оболонкою вірусної часточки, з яким молекула gp120 поєднується двома дисульфідними зв'язками (Lee et al., 2002). На поверхні віріону білки-продукти гена *env* розміщуються у вигляді ікосаедральної сітки.

Показано, що мутації у відповідних ділянках гена впливають на розмноження, інфекційність вірусу та його цитопатогенність (Kovalski et al., 1987; Dubay et al., 1992; Yu et al., 1993), процес роздягання вірусу та проникнення вірусної серцевини у хазяйську клітину (Gabuzda et al., 1992), контакт білка Env з віріонами (Dubay et al., 1992; Yu et al., 1993; Akari et al., 2000; Murakami, Freed, 2000), а також його взаємодію з вірусним матриксним білком під час складання віріонів (Dorfman et al., 1994; Mannano et al., 1995). Тому зрозуміло, що трансмембранний білок gp41 має важливе значення для здійснення вказаних функцій.

Білки gp41 ВІЛ та і інших лентивірусів мають, на відміну від решти ретровірусів, надзвичайно довгу і висококонсервативну цитоплазматичну ділянку ("хвіст") завдовжки близько 150 амінокислотних залишків (Lee et al., 1989; Piller et al., 2000). Конкретну функцію цієї ділянки не встановлено, але показано, що вона відіграє певну роль у регуляції експресії Env на клітинній поверхні (Rowell et al., 1995), у базолатеральній локалізації процесу відбрунькування віріонів від поверхні клітин (в поляризованих клітинах) (Lodge et al., 1994; 1997), а також взаємодіє з клітинними компонентами, що індукують апоптоз (Pan et al., 1996; Micoli et al., 2000), і зв'язується з серединою ланцюга субодиниць $\mu 1$ та $\mu 2$ клатрин-асоційованих адапторних комплексів AP1 і AP2 (Ohno et al., 1997; Boge et al., 1998; Berlioz-Torrent et al., 1999).

Ген *gag* (group-specific antigens). Цей ген транскрибується у поліпротеїн Gag (Pr55gag) - білок-попередник з молекулярною масою 55 кД. Зараз остаточно встановлено, що поліпротеїн Gag відіграє ключову роль у складанні ретровірусних часточок (Craven, Parent, 1995). Він здатен забезпечувати утворення вірусоподібних часточок при відсутності інших вірусних білків (Freed, 1998). Цей

білок синтезується на полісомах, вільних від мембран, і далі транспортується до плазматичної мембрани - місця, де формуються вірусні часточки. У ході дозрівання вірусних часточок поліпротеїн Gag розщеплюється вірусоспецифічною протеазою, утворюючи структурні білки зрілого віріону. Цей протеоліз супроводжується ущільненням вірусної серцевини і становить необхідну передумову для інфекційності віріонів, але не для складання часточок та вивільнення їх з клітини (Kohl et al., 1988; Peng et al., 1989).

У випадку ВІЛ-1 головними продуктами вказаного ферментативного розщеплення поліпротеїну Gag є білок p15-18 (p17) (матрикс, MA), головний внутрішній білок p22-25 (p24) (капсид, CA) та білок p13-15 (p15), який у свою чергу розпадається на С-кінцевий пептид p6-7 (p6) та білок p7-9 (p7) (нуклеокапсид, NC) (Swanstrom, Wills, 1997; Freed, 1998; Freed, Martin, 2001; Cimarelli, Darlix, 2002), а також два невеликі пептиди p1 та p2 (Henderson et al., 1992; Caplan et al., 1994). MA залишається зв'язаним з ліпідним оточенням віріону, яке походить від хазяйської клітини, CA ущільнюється, утворюючи характерну конічну серцевину, а NC покриває геномну вірусну РНК всередині кори (Hunter, 1994; Rein, 1994; Freed, 1998). При цьому вважається, що тільки три невеликі функціональні домени Gag необхідні для продукції вірусних часточок. Домен М, локалізований на N-кінці MA, забезпечує зв'язування з мембраною. (Wang, Barklis, 1993; Spearman et al., 1994). На мембрані відбувається взаємодія між приблизно 2000 молекул Gag через домен І, який існує в двох копіях всередині NC (Bennett et al., 1993; Weldon, Wills, 1993). Домен L у ВІЛ-1 знаходиться на початку послідовності p6; вважається, що він діє на пізніх етапах відбрунькування вірусу від клітини, забезпечуючи відщеплення віріонів (Gottlinger et al., 1991; Garnier et al., 1996).

Гени *gag* і *pol* зчитуються у різних рамках за рахунок рибосомального зсуву рамки на один нуклеотид. При цьому 3'-кінець гена *gag* та 5'-кінець гена *pol* перекриваються у залежності від особливостей ізоляту на ділянці 205-240 нуклеотидів (Букринская, Жданов, 1991).

С-термінальний пептид p6 ВІЛ-1 бере участь у вмонтовуванні білків оболонки (Ott et al., 1999), білку Vpr (Kondo et al., 1995; Bachand et al., 1999) та полімерази (Yu et al., 1998) у вірусну часточку, в розповсюдженні поліпротеїну Gag (Patnaik et al., 2000) та у визначенні розміру вірусної часточки (Garnier et al., 1998; 1999). Вважають, що він містить центр зв'язування з нуклеїновими кислотами. Це останній С-кінцевий компонент Gag-попередника, який кодується ділянкою, що перекривається з геном *pol* (Haseltine,

1990). Білок p7, маючи у своїй структурі такий елемент, як "цинковий палець", безпосередньо зв'язується з вірусною РНК, і це зв'язування необхідне для входження геномної РНК в оболонку нуклеоїда (Букринская, 1992; Roques et al., 1997). Загалом обидва ці білки сприяють димеризації геномної РНК, необхідної для виконання матричної функції РНК в ході зворотної транскрипції.

Процесинг білків гену *gag* включає в себе міристилювання молекул білку p55 та фосфорилування білків p24 і p17. Міристилювання білку p55 відбувається шляхом приєднання міристилової (жирної) кислоти до другого залишку гліцину з N-кінця. Такий N-кінець завдяки гідрофобній взаємодії з ліпідами клітинної мембрани може виконувати функцію мембранного якоря, підвішуючи попередник гену *gag* до плазматичної мембрани клітини (Букринская, Жданов, 1991).

Білок p17 MA піддається посттрансляційній модифікації, приєднуючи залишок міристинової кислоти. В такому вигляді він експресується на поверхні клітин, заражених ВІЛ. Як вже відмічалось, у зрілих віріонах p17 MA заповнює простір між внутрішньою поверхнею мембрани вірусу і нуклеоїдом, за що названий матриксним білком. Існує думка, що деякі ділянки молекули p17 представлені також і на поверхні віріонів, оскільки відомі антитіла, специфічні проти p17, які здатні нейтралізувати інфекційність позаклітинних віріонів (Naylor et al., 1987; Papsidero et al., 1989). Цікаво, що частина антитіл, що реагують з p17 та нейтралізують вірус, перехресно реагує з ІФН- γ (Caruso et al., 1989). Вважається, що цей білок відіграє важливу роль в ядерному транспорті провірусної ДНК (Shavova et al., 1990).

Білок p24 CA гену *gag* гетерогенний за своїм складом. Він містить чотири компоненти, причому лише компоненти "а" та "b" включаються до віріону, в той час як два інших з невеликою кількістю перших можуть залишатися в інфікованій клітині, перебуваючи у розчинній формі, або секретуватися з клітинної поверхні в культуральне середовище. На відміну від ВІЛ, при інших ретровірусних інфекціях структурні білки серцевини вірусів не експресуються на поверхні інфікованих клітин. Фактично капсидний регіон ВІЛ-1 не обов'язково потрібен для утворення часточок, хоча він і необхідний для їхньої інфекційності (Wang, Barklis, 1993). Так, показано, що N-кінець і середня ділянка білку CA ВІЛ-1 відповідають за продукцію зрілих віріонів правильної будови. Експонування молекул p24 CA (всіх його компонентів) може призводити до

формування *gag*-специфічної імунної відповіді і активації у першу чергу Т-цитотоксичних лімфоцитів (Gonda, 1988).

Ген *pol* (polymerase) транскрибується з ДНК у складі загального єдиного транскрипту разом з геном *gag*, так званого транскрипту "*gag-pol*" ($\text{Pr160}^{\text{gag-pol}}$). При цьому білки ВІЛ-1 (протеаза, зворотна транскриптаза, РНКаза Н та інтеграза) синтезуються у вигляді об'єднаного білку, який включає частину білку Gag (MA, CA та NC, але не p6^{Gag}) (Frankel, Young, 1998). Об'єднаний білок Gag-Pol утворюється в результаті зсуву рамки зчитування між доменами p7^{NC} та p6^{Gag} , який відбувається з частотою 5-10% від загального синтезу білків Gag (Swanstrom, Wills, 1998). Як продукт найбільшого структурного гена в складі генома ВІЛ, він містить багато Т-клітинних епітопів (Korber et al., 1998). Трансляція білку Gag-Pol відбувається з несплайсованого, тобто з цілісного транскрипта *gag-pol*. Тільки в результаті протеолітичного розщеплення молекули білку-попередника виникають вже вказані чотири продукти гена *pol*: зворотна транскриптаза, ендонуклеаза (інтеграза) аспарагінова протеаза і РНКаза Н (Loeb et al., 1989; Chandra et al., 1990). Вважають, що ці Pol-білки входять до складу віріонів як у вигляді p55^{Gag} , так і у вигляді попередників $\text{p160}^{\text{Gag-Pol}}$ (Srinivasakumar et al., 1995; Huang, Martin, 1997). При складанні вірусу білок $\text{p160}^{\text{Gag-Pol}}$, зв'язаний з p55^{Gag} через N-кінцеву ділянку, вбудовується у часточки, які утворюються на плазматичній мембрані, після чого зрілі віріони виходять із зараженої клітини (Huang, Martin, 1997). Обидва білки-попередники розщеплюються вірус-кодованою протеазою; вона, в свою чергу, синтезується як частина попередника $\text{p160}^{\text{Gag-Pol}}$ і локалізована біля білку p6^{Pol} (Almog et al., 1996).

Білки-попередники $\text{p160}^{\text{Gag-Pol}}$ та p55^{Gag} кодуються однією мРНК, але синтезуються в неоднакових співвідношеннях (1/20). Для ВІЛ-1 таке співвідношення важливе для інфекційності вірусу та стабільності димерів геномної РНК (Shehu-Xhilaga et al., 2001).

Ген *tat* (transactivator of transcription) кодує трансактиваторний регуляторний білок з молекулярною масою 15 кД (Pavakis, Felber, 1990; Peterlin et al., 1993). Цей ген - найактивніший регуляторний ген ВІЛ, оскільки його включення у 20-1000 разів посилює розмноження ВІЛ. В ДНК провірусу ген локалізований у вигляді двох окремих екзонних послідовностей нуклеотидів; одна з них прилягає до 3'-кінця гена *env*, друга розміщена в межах самого гена *env* (Gjerdrum et al., 2001). Таким чином, мРНК для гена *tat* піддається сплайсингу в позиціях Д4 та А6. Розмір мРНК для *tat* дорівнює 1,8 тисяч основ (Haseltine, 1991).

Tat - це активатор транскрипції який зв'язується зі структурою вип'яченого стрижня (ніжки) новоутвореної лідерної РНК, TAR (transactivation responsive), і її активує (див. далі) (Berkhout et al., 1989; Cainan et al., 1991). Білок Tat складається з 86-101 амінокислот (в залежності від штаму вірусу) та синтезується на ранніх етапах інфекції; синтез його - це необхідна передумова розмноження вірусу (Jeang, Gatignol, 1994). Tat містить три функціональні домени: амінокінцеву амфipатичну α -спіраль - область, яка відома для багатьох активаторів транскрипції; цистеїн-багатий домен, що може бути важливим для димеризації; і основний домен, необхідний для ядерної локалізації та зв'язування з TAR РНК (Garcia et al., 1988, Kuppuswamy et al., 1989; Ruben et al., 1989; Karn, 1999; Taube et al., 1999). В клітині цей білок локалізований у ядрі у формі гомодимера (Hauber, 1987; Ruben et al., 1989). Tat підвищує керовану LTR генну експресію (див. далі) і необхідний для досягнення високих рівнів експресії всіх вірусних генів (Vaishnav, Wong-Staal, 1991; Cullen, 1992; Wong-Staal, Haseltine, 1992). Tat стимулює транскрипційну елонгацію (Laspia et al., 1989), яка регулюється фосфорилуванням великої субодиниці РНК-полімерази II (RNAPII) (Deng et al., 2002).

Зараз вважають, що цей білок посилює утворення продуктивних комплексів елонгації РНК-полімерази II (Jones, 1993). До того ж, Tat сприяє дозріванню полімеразного комплексу. Цю функцію Tat можна передбачити завдяки його здатності підвищувати активність позитивного транскрипційного фактора елонгації, Р-TEFb (Price, 2000). Він має також деякі інші активності, пов'язані з секретуванням ростового фактору (Albini et al., 1998), а також зі зворотною транскрипцією (Harrich et al., 1997). Крім того, Tat знімає гальмування з LTR, яка зв'язана з транскрипційно неактивним хроматином, викликаючи перебудову нуклеосомних структур із залученням пов'язаних з Tat гістонових ацетилтрансфераз (Hottiger, Nabel, 1998).

Ген *vif* (virion infectivity factor). Цей ген кодує фосфорильований високоосновний білок у мультимерній формі, з молекулярною масою 23 кД (Gabuzda et al., 1992a); він складається з 192 амінокислотних залишків і експресується з поодиноких мРНК у ВІЛ-інфікованих клітинах на пізніх стадіях інфекції (Schwartz et al., 1991).

У ВІЛ-1-інфікованих клітинах білок Vif локалізований головним чином у цитоплазмі, де існує як у зв'язаній з мембраною, так і у цитозольній формі (Goncalves et al., 1994). Невеликі кількості Vif зв'язані з вірусними частками ВІЛ-1 (приблизно 10-50 молекул на віріон) (Borman et al., 1995; Liu et al., 1995), однак досі невідомо, чи вбудовування у віріон важливе для функції Vif. Так, показано, що

високоочищені інфекційні віріони ВІЛ-1 не містять Vif (Dettenhofer, 1999). Зв'язування Vif з мембраною важливе для його біологічної функції (Goncalves et al., 1994; Goncalves et al., 1995). Мембранна локалізація потребує С-кінцевих основних доменів та взаємодії з мембрано-зв'язаними білками (Goncalves et al., 1995). Ці ж домени відповідають за взаємодію Vif з попередником білку Gag, а мутації в цих доменах призводять до зникнення біологічної активності Vif (Bouyac et al., 1997). Показано, що Vif зв'язується не тільки з мембранами, але також і з проміжними філаментами цитоскелету клітин-хазяїв (Karczewski, Strebel, 1996), з білком Gag, протеазою ВІЛ-1 (Bouyac et al., 1997; Baraz et al., 1998) та вірусною РНК (Dettenhofer et al., 2000). В останньому випадку доведено, що делеції в N-кінцевій та центральній ділянках Vif впливають на його здатність зв'язуватися *in vitro* з частками агарози, кон'югованої з poly(G).

Vif відіграє важливу роль в регуляції інфекційності вірусу на останніх етапах його життєвого циклу, підвищуючи інфекційність утворених вірусних часточок у 100-1.000 разів. Відсутність функціонального білку Vif проявляється у продукції віріонів зі зменшеною або повністю відсутньою інфекційністю (Kishi et al., 1992). Вірусні часточки, що продукуються за відсутності функціонального білку Vif, можуть зв'язуватися і потрапляти всередину клітин, але вони дефектні за здатністю синтезувати провірусну ДНК (von Schwedler et al., 1993; Sova, Volsky, 1993).

Вважається, що цей білок бере участь у процесингу вірусних структурних білків та складанні вірусних часточок. При цьому, хоча вплив Vif на процесинг вірусних структурних білків, як і на визрівання та стабільність серцевини вірусу, спостерігався багатьма дослідниками (Guy et al., 1991; Hoglund et al., 1994; Borman et al., 1995; Ohagen, Gabuzda, 2000), остаточно цей вплив не доведений (Fouchier et al., 1996; Bouyac et al., 1997). Більш того, як електронно-мікроскопічні, так і біохімічні дослідження не виявили помітної різниці в ультраструктурі (Ochsenbauer et al., 1997) та білковому складі (Fouchier et al., 1996; Ochsenbauer et al., 1997) *vif*⁺ та *vif*⁻ віріонів. Деякі дослідники вважають, що Vif необхідний у непермісивних клітинах для подолання невідомої клітинної функції, що унеможливорює реплікацію ВІЛ-1 (Madani, Kabat, 2000).

Vif може виконувати не тільки регуляторну, але і структурну роль, суттєво підвищуючи здатність новоутворених віріонів до зараження. Показано, що цей білок впливає на пізні стадії життєвого циклу вірусу, напевне, на складання вірусних часток (Gabuzda et al., 1992; Blanc et al., 1993; von Schwedler et al., 1993). Доведено також,

що Vif безпосередньо впливає на стабільність вірусного нуклеопротеїнового комплексу (Hoglund et al., 1994; Ohahen, Gabuzda, 2000). До того ж при відсутності Vif зв'язок нуклеокапсидного білку p7 (NC) та зворотної транскриптази з вірусним кором значно зменшується (Ohahen, Gabuzda, 2000).

Ініціаторний метіоніновий кодон гену *vif* при трансляції перекривається з кінцем гену *pol*. Відстань між термінальним кодоном гена *vif* і початком гена *env* становить 440 нуклеотидів. В цьому проміжку локалізований другий значущий екзон гена *tat*.

Продукт гена *vif* - білок gp23 - діє як трансактиватор ВІЛ на пізніх стадіях репродукції, можливо, на стадії складання вірусних часток, підсилюючи їхню здатність заражати клітини-мішені. Vif необхідний для реплікації ВІЛ-1 в периферичних моноклеарних клітинах крові. Це вказує, що його функція необхідна в умовах *in vivo* (von Schwedler et al., 1993; Coursoul et al., 1995). Показано, що Vif потрібен для правильного складання вірусних часток ВІЛ-1 (Hoglund et al., 1994; Borman et al., 1995).

Біохімічний механізм і регуляція функції Vif невідомі. Існування деяких перещеплюваних клітинних ліній, що не потребують Vif для продукції інфекційного вірусу (Gabuzda et al., 1992a; von Schwedler et al., 1993; Sakai et al., 1993) свідчить, що Vif може компенсувати клітинно-специфічний фактор.

Ген *nef* (negative early factor) кодує білок з молекулярною масою 24-25 та 27 кД (дві ізоформи). Форма p25 міристыльована з N-кінця, а також містить фосфорильований треонін у положенні 15. Форма p27 не міристыльована, але фосфорильована у іншому сайті й зв'язана з цитоплазматичними мембранами клітин.

Nef - це мембрано-асоційований білок, важливий для ефективної реплікації та патогенності ВІЛ (Kestler et al., 1991). Це перший вірусний білок, що виявляється після інфікування ВІЛ-1 і експресується протягом всіх стадій інфекції. Цей вірусний білок підвищує поширення вірусу як опосередковано, за механізмом вірусної інвазії, так і прямо, шляхом підвищення вірусної інфекційності та реплікації (Collins, Baltimore, 1999; Destrosiers, 1999). До того ж, як показано недавно, Nef сприяє патогенності ВІЛ-1 незалежно від розмноження вірусу (Hanna et al., 1998). Але точні молекулярні механізми, що лежать в основі обох цих функцій Nef, невідомі. Здатність Nef підвищувати інфекційність вірусу включає посилення синтезу провірусної ДНК (Aiken, Trono, 1995).

Nef - допоміжний генний продукт, необхідний для ефективної вірусної реплікації і патогенезу *in vivo* (Jamieson et al., 1994; Deacon

et al., 1995). Хоча Nef помірно впливає на здатність ВІЛ-1 розповсюджуватися у Т-клітинних лініях, цей білок значно посилює розмноження вірусу в первинних клітинах-мішенях, які піддаються дії ВІЛ-1 (Miller et al., 1994; Spina et al., 1994). В культурі клітин Nef регуляторно зменшує кількість молекул рецептора CD4 та основних молекул I класу гістосумісності (Aiken et al., 1994; Collins et al., 1998), модулюючи стан клітинної активації (Alexander et al., 1997) і підвищуючи інфекційність віріонів потомства (Aiken, Trono, 1995).

Nef модифікує компоненти віріону або ж змінює молекулярну упаковку віріонів (Aiken, Trono, 1995; Miller et al., 1995). Вважається, що Nef діє як компонент віріону (Bukovsky et al., 1997). Асоційований з віріоном Nef розщеплюється вірусною протеазою, але це не обов'язкова умова для здатності Nef збільшувати інфекційність віріонів (Chen et al., 1998). Nef асоціюється також з клітинними протеїніназами і підвищує серинове фосфорилування вірусного матричного білку MA (Swingler et al., 1997), але чи призводить ця модифікація до істотних структурних змін, досі невідомо.

Показано, що Nef може функціонувати як фактор, що сприяє перенесенню вірусних часточок у цитозоль (Schaeffer et al., 2001).

На відміну від білків генів *gag* і *rev*, білок гена *nef* не потрібен для реплікації ВІЛ *in vitro*. В клітинах білок Nef локалізований переважно в цитоплазмі (Ovod et al., 1991). Вказаний білок знаходиться у конкурентній взаємодії з білком Tat. Існує думка, що саме він сприяє латентній течії ВІЛ-інфекції. Однак гальмівна дія білку Nef на транскрипцію виражена дещо слабше, ніж стимуляція під впливом білку Tat, оскільки Nef здатен пригнічувати транскрипцію лише у 2-4 рази (Cullen, Green, 1989).

Незважаючи на невеликі розміри, Nef надає відносно велику поверхню для взаємодії з білками (Geyer et al., 2001). Встановлено зв'язування Nef з багатьма хазяйськими білками, включаючи плазматичні мембранні рецептори та сигнальні білки (Marsh, 1999; Geyer et al., 2001). Відмічено, що подекуди функції Nef перекриваються з функціями Env. Так, обидва білки зменшують експресію CD4 на поверхні клітин (Garcia, Miller, 1991), змінюють сигналювання CD3 (Iafrate et al., 1997) та впливають на апоптоз (Roshal et al., 2001).

Ген *vpu* (virus protein U) існує у ВІЛ-1, але відсутній у ВІЛ-2; він кодує білок з молекулярною масою 16 кД. Це кислий фосфопротеїн, що складається з 81 амінокислоти, має N-кінцевий гідрофобний домен та C-кінцевий гідрофільний домен (Emerman, Malim, 1998). Аналіз амінокислотної послідовності Vpu свідчить, що він містить 27 амінокислот, які утворюють трансмембранну α -спіраль всередині

вуглеводної серцевини мембрани, і гідрофільний домен, що складається з 54 амінокислот і висувається з мембрани у формі зв'язаних між собою α -спіралей.

На N-кінці молекули цього білку знаходиться так званий "стрек" — ланцюжок з 27 гідрофобних амінокислот. Така біохімічна особливість характерна для білків, асоційованих з мембраною. Завдяки цій особливості даний білок вбудовується в мембрану ендоплазматичного ретикулу.

Вивчення біологічної функції Vpr показало, що він бере участь у двох різних процесах, а саме посилює вивільнення вірусу з поверхні інфікованих клітин (Klimkait et al., 1990; Schubert et al., 1996) та забезпечує розпад молекул CD4 в ендоплазматичному ретикулумі (Willey et al., 1992; Schubert, Strebel, 1994). Прискорене вивільнення вірусу залежить від трансмембранного домену Vpr, який виявляє до того ж і неспецифічну катіонопровідну активність (Ewart et al., 1996). При розпаді CD4, специфічного вірусного рецептора на клітинній поверхні, гідрофільний домен Vpr взаємодіє з цитоплазматичним доменом CD4, порушуючи внаслідок цього взаємодію gp160/CD4 з утворенням відповідного стабільного комплексу в ендоплазматичному ретикулумі і таким чином проводячи протеоліз CD4 (Chen et al., 1993; Schubert et al., 1994; Bour et al., 1995). Як наслідок, Vpr індукує вивільнення gp160, вірусного оболонкового попередника, від CD4, тим самим підвищуючи рівень секреції вірусних часточок (Willey et al., 1992). При цьому фосфорилування Vpr корелює з його здатністю взаємодіяти з CD4 (Willey et al., 1992; Margottin et al., 1996).

Недавно встановили ще одну активність Vpr. Показано, що цей білок модулює як вірус-, так і цитокін-індуковану активацію транс-крипційного фактору NF- κ B у ВІЛ-інфікованих клітинах (Bour et al., 2001).

Ген *vpx* (virus protein X) присутній у часточках ВІЛ-2 та вірусів мав'ячого імунodefіциту (SIV), але відсутній у ВІЛ-1 (Chakrabarti et al., 1987; Guyader et al., 1987). Існує припущення, що ген *vpx* — результат дуплікації гену *vpr* (Tristem et al., 1992).

Ген *vpx* кодує білок з молекулярною масою 17 кД. Білок Vpx складає більш як 10% речовини зрілих віріонів ВІЛ-2. Те, що цей білок входить до складу зрілих віріонів, відрізняє його від інших регуляторних білків вірусу. Vpx упакований всередині віріонів в молярних кількостях, еквівалентних кількості білку Gag (Henderson et al., 1988), що вказує на можливу взаємодію між цими білками. До того ж, Vpx ВІЛ-2 локалізований разом з Gag ВІЛ-2 на внутрішній поверхні плазматичної мембрани інфікованих клітин (Kappes et al., 2001).

1993). Вважається, що Vpx взаємодіє з С-кінцевим доменом поліпротеїну Gag (Pancio, Ratner, 1998).

Vpx може локалізуватися в багатьох субклітинних компартментах. Коли Vpx експресується разом з Gag, він спрямовується на плазматичну мембрану та вбудовується у вірусні часточки, що відбруньковуються від мембрани (Wu et al., 1994). Вхідження Vpx у віріон при цьому забезпечується доменом р6 попередника Gag - поліпротеїну p55^{gag} (Pancio, Ratner, 1998; Accola et al., 1999). При відсутності Gag Vpx може локалізуватися у ядрі завдяки своїй здатності зв'язуватись з ядерними структурами (Pancio et al., 2000). До того ж у деяких клітинах Vpx знаходять у перинуклеарному оточенні (Wu et al., 1994). Різноманітна локалізація Vpx у клітинах свідчить, що цей білок може здійснювати багато різноманітних функцій. Відмічена також здатність Vpx зв'язуватися з одноланцюговими нуклеїновими кислотами, але біологічна суть цього явища невідома (Henderson et al., 1988).

Присутність Vpx у віріонах свідчить про його важливу роль на ранніх етапах життєвого циклу вірусу. Продукт гена *vpx* не потрібен для розмноження вірусу *in vitro*, але необхідний для розмноження вірусу та розвитку інфекції *in vivo* (Trono, 1995). Vpx ВІЛ-2 та SIV потрібен для ефективної вірусної реплікації в культурах первинних лімфоцитів та моноцитів (Karpes et al., 1991). Вважають, що одна з можливих функцій Vpx - спрямування преінтеграційного комплексу вірусної ДНК у ядро разом з різними вірусними та клітинними білками у пермісивних клітинах (Hirsch et al., 1998). Це дозволяє ВІЛ-2 заражати термінально диференційовані макрофаги, які стають важливим джерелом вірусу (Meltzer, Gendelman, 1992).

Ген *rev* (regulator of virus), як зараз вважається, контролює рівновагу між різними мРНК при їх синтезі (Pollard, Malim, 1998). Даний ген роз'єднаний, представлений у вигляді двох ділянок по обидва боки гену *env*. Об'єднання обох послідовностей *rev* відбувається в результаті подвійного сплайсингу, оскільки названі гени мають і загальні нуклеотидні послідовності. Ген *rev* містить також два екзони, що частково перекриваються з екзонами *tat* (Gjerdrum et al., 2001).

Ген *rev* кодує білок з молекулярною масою 20 кД. Смыслові послідовності нуклеотидів *rev* прочитуються по відкритій рамці зчитування і перекриваються з 3'-кінцем першого екзону гену *tat* (Gjerdrum et al., 2001). В результаті транскрипції та сплайсингу до послідовностей, що перекриваються з другим екзоном гену *tat*,

утворюється інформаційна РНК завдовжки 1,8 тис. основ, з якої і трансліюється продукт гена *rev*.

Rev - основний фосфопротеїн, який переміщується між ядром та цитоплазмою (Fouts et al., 1997), але накопичується в ядрі, концентруючись в ядерці. Після трансляції білок Rev фосфорилується за допомогою ферменту казеїнкінази-2 (Meggio et al., 1996). Як і багато інших вірусних та клітинних трансактиваторів, Rev містить окремі пептидні модулі для зв'язування РНК та для активаційних функцій (Bohnelein et al., 1991; Hammerschmid et al., 1994). Основний домен (амінокислоти 35-50) відповідає за ядерну і ядерцеву локалізацію Rev, як і за специфічне зв'язування Rev з RRE (Kjems et al., 1992). Інший необхідний домен (амінокислоти 75-83), що має назву ядерного експортного сигналу (NES), забезпечує активний ядерний експорт Rev (Szilvay et al., 1995; Wolff et al., 1995). Цей домен впізнається клітинним транспортним рецептором, людським CRM1 (hCRM1, також відомим як експортин 1, що належить до родини імпортину), члени якого служать як носії при переміщенні клітинних білків та рибонуклеопротеїнових комплексів між ядром та цитоплазмою (Fornerod et al., 1997; Fukuda et al., 1997).

Білок Rev необхідний для експресії несплайсованих або частково сплайсованих мРНК для вірусних структурних білків (Emerman et al., 1989; Hammariskjold et al., 1989). Rev модулює сплайсинг, ядерний експорт та утилізацію в цитоплазмі несплайсованих або частково сплайсованих вірусних мРНК (Malim, Cullen, 1993; Campbell et al., 1994) шляхом зв'язування з високоструктурованим Rev-відповідним елементом з 234 нуклеотидів (так званим RRE) послідовності РНК, що знаходиться в складі мРНК гену *env* (Daly et al., 1989; Hearphy et al., 1990). RRE РНК утворює чотири структурні елементи типу "стебло-петля", зв'язані з центральною петлею (Malim et al., 1990; Cullen, 1998; Pollard, Malim, 1998). Rev також забезпечує зв'язування з RRE клітинного ядерного експортного фактору Crm1 (Stade et al., 1997; Bogerd et al., 1998). Вихід з ядра не повністю сплайсованих вірусних мРНК потребує залучення багатьох молекул Rev та Crm1 до зв'язування з RRE і залежить при цьому від ГТФ-зв'язаної форми клітинного білку Ran, який забезпечує взаємодію Rev-Crm1 (Fornerod et al., 1997; Bogerd et al., 1998).

Слід відмітити, що сплайсовані РНК потрапляють до цитоплазми незалежно від Rev. Після цього Rev разом з транскрипційним фактором Tat потрібен на ранніх етапах інфекції з сплайсованих РНК. Rev потрапляє до ядра, щоб викликати перенесення інтрон-вмісних Rev-залежних несплайсованих та частково сплайсованих

РНК, з яких трансклюються пізні структурні білки ВІЛ-1 (Kjems, Askjaer, 2000; Pollard, Malim, 1998).

Біологічна функція білку Rev - забезпечення процесу переходу реплікації вірусу зі стадії ранньої експресії регуляторних генів до стадії великомасштабної експресії структурних генів ВІЛ. Існують дані, які вказують на те, що Rev регулює експресію генів ВІЛ-1, втручаючись у нормальний хід процесингу й транспорту еукаріотичних мРНК (Cullen, Malim, 1991).

Ген vpr (virus protein R). Продукт цього гена, білок Vpr - це невеликий основний білок, що складається з 96 амінокислотних залишків і має молекулярну масу 14 кД (Bukrinsky, Adzhubei, 1999). Vpr має важливі біологічні властивості, завдяки яким забезпечується розмноження вірусу. Як і інтеграза та матриксний білок, Vpr вважається посередником при перенесенні в ядро нуклеопотеїнового преінтеграційного комплексу ВІЛ-1, що складається з лінійної дволанцюгової провірусної ДНК та відповідних білків (Heinzinger et al., 1994; Jenkins et al., 1998; Vodicka et al., 1998). В цьому процесі білок Vpr бере участь завдяки спорідненості до ядерних структур, оскільки, у випадку, коли він експресується при відсутності інших вірусних білків, Vpr локалізується в ядрі (Jenkins et al., 1998) та на ядерній мембрані (Vodicka et al., 1998).

Vpr білок успішно потрапляє до вірусних часточок, що відбруньковуються від клітини, та присутній у цитоплазмі щойно інфікованих клітин (Bachand et al., 1999; Selig et al., 1999; Le Rouzic et al., 2002). Це ранній трансактиватор транскрипції, який функціонує до того моменту, як синтезується достатня кількість білку Tat.

Встановлено, що Vpr загальмовує ріст клітин. При вивченні згаданої дії Vpr виявили зміни в пропорції клітин, які знаходяться в фазі G2 та фазі мітозу (М-фазі) клітинного циклу (Jowett et al., 1995). Доведено, що при проникненні вірусу в клітину, Vpr порушує клітинний цикл в інфікованих Т-клітинах людини на стадії G2 (Levy et al., 1993; Rogel et al., 1995; Emerman, 1996). Призупинення проліферації клітин на стадії G2 може змінювати внутрішньоклітинне середовище таким чином, що воно стає сприятливішим для транскрипції, направленої LTR (Goh et al., 1998; Henklein et al., 2000). Фактично кількості Vpr у вірусних часточках досить для того, щоб призупинити клітинний цикл на стадії G2 перед синтезом *de novo* білків провірусного походження (Poon et al., 1998; Hrimch et al., 1999).

У випадку ВІЛ-2 та SIV Vpr викликає призупинення клітинного циклу, але воно не обов'язкове для інфікування макрофагів; для

цього потрібен згаданий вище білок Vpx, який, проте, не впливає на клітинний цикл (Planelles et al., 1996).

Інші біологічні активності, відмічені у Vpr - це утворення іонних каналів (Piller et al., 1996), транскрипційна активація різноманітних гетерологічних промоторів (Cohen et al., 1990; Wang et al., 1995; Felzien et al., 1998; Stark, Hay, 1998), коактивація глюкокортикоїдного рецептора (Kino et al., 1999), регуляція клітинної диференціації (Levy et al., 1993) та індукція апоптозу (Ayyavoo et al., 1997; Stewart et al., 1997). Не встановлено, наскільки важливі ці останні функції для підтримки життєвого циклу ВІЛ та для того, щоб викликати розвиток хвороби в зараженому організмі.

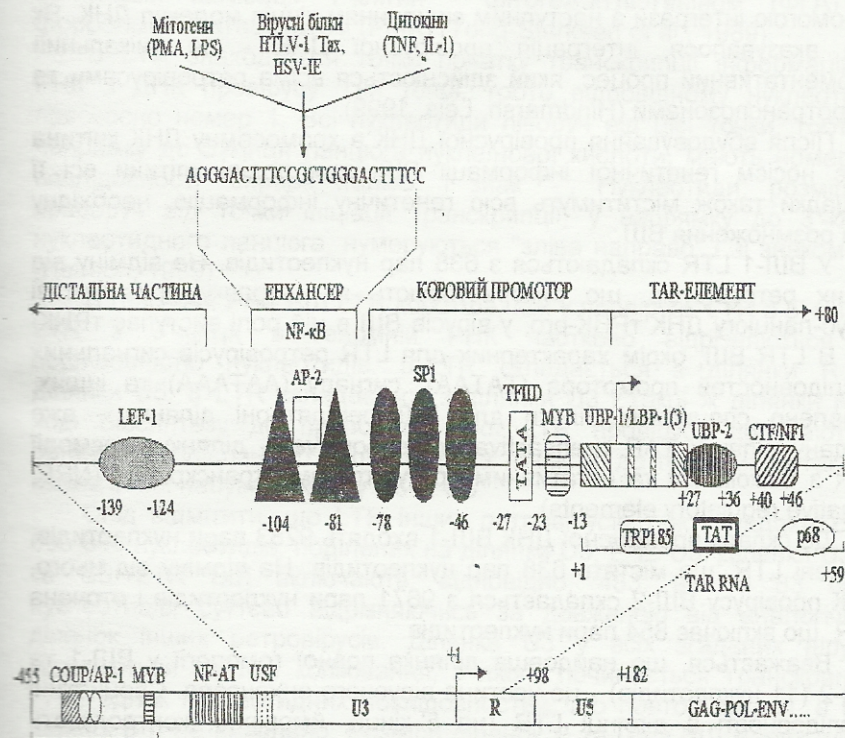
Геном ВІЛ має надзвичайно високий ступінь генетичної мінливості *in vivo*. Частота точкових мутацій ВІЛ складає біля 10^{-4} , тобто кожна часточка вірусного потомства несе хоча б одну мутацію. Така висока генетична мінливість характерна для РНК-вірусів і становить їхній головний біологічний механізм пристосування до виживання у сильно мінливих умовах середовища. Підраховано, що в організмі інфікованого хворого на бессимптомній стадії розвитку хвороби міститься до 10^6 генетичних варіантів вірусу (так званих квазівидів), а на стадії, коли клінічно проявляється СНІД - біля 10^8 варіантів. Головним джерелом такої мінливості є помилки зворотної транскриптази, якій не притаманна 3'-5'-екзонуклеазна активність. Це призводить до появи точкових мутацій, причому кожен нащадок відрізняється від батьківського варіанту в середньому на 1-10 нуклеотидних заміни в циклі реплікації.

1.3. Регуляція транскрипції ВІЛ

1.3.1. Послідовність LTR та її роль у транскрипції

Як вже згадувалося вище, на кінцях генома ВІЛ знаходяться частково нетранскрибовані послідовності нуклеотидів - LTR (Рис.3). Послідовності, які беруть участь у експресії вірусних генів, містяться всередині ділянок U3 та R LTR ВІЛ-1, а також у міжгенному енхансері гена *pol* (El Kharroubi, Verdin, 1994). Такі послідовності характерні для всіх без винятку ретровірусів. При проникненні в клітину ВІЛ синтезує провірус - комплементарну ДНК. На РНК ВІЛ, яка потрапила до цитоплазми, за допомогою зворотної транскриптази відбувається утворення лінійної ДНК-копії вірусу. З цієї лінійної форми ДНК далі утворюється кільцева форма з двома LTR, причому

ковалентно замкнена ДНК, яка утворюється внаслідок такої циркуляції, має на межі цих двох LTR специфічний сайт, чутливий до



ДИСТАЛЬНІ РЕГУЛЯТОРНІ ЕЛЕМЕНТИ

Рис.3. Схема LTR ВІЛ-1.

Регіони U3 та R підрозділені на TAR ДНК елемент, коровий промотор, енхансер, модуляторний та негативний регуляторний елементи, з якими зв'язуються клітинні транскрипційні фактори. Кодований вірусом білок Tat зв'язується з TAR ДНК на додаток до декількох транскрипційних факторів та помітно підсилює транскрипцію, спрямовану LTR ВІЛ-1. Загальний комплекс ініціації транскрипції, представлений TFIID, зв'язується з TATA боксом. Ступінь активації транскрипції залежить від кількості і комбінації факторів, зв'язаних з LTR на даний момент; загалом фактори Myb, Sp1, NF-κB., LEF-1 (TCF-1α), NF-AT та AP-1 виявляють позитивний ефект на транскрипцію, в той час як UBP-1/LBP-1, USF та COUP – негативний. Сильними індукторами генної експресії, спрямованої LTR ВІЛ-1, є антигенні стимули, мітогени, вірусні білки та цитокіни

дії власної ендонуклеази. Ця обставина забезпечує специфічність розриву ДНК перед інтеграцією. Утворена кільцева ДНК-копія далі проходить до ядра і там вбудовується у геном клітини-мішені за допомогою інтегрази з наступним зшиванням кінців молекул ДНК. Як уже вказувалося, інтеграція провірусної ДНК - це унікальний ферментативний процес, який здійснюється всіма ретровірусами та ретротранспозонами (Hindmarsh, Leis, 1999).

Після вбудовування провірусної ДНК в хромосомну ДНК клітина стає носієм генетичної інформації ВІЛ; при поділі клітини всі її нащадки також міститимуть всю генетичну інформацію, необхідну для розмноження ВІЛ.

У ВІЛ-1 LTR складаються з 638 пар нуклеотидів. На відміну від інших ретровірусів, що використовують як затравку при синтезі мінус-ланцюгу ДНК тРНК-*pro*, у вірусів ВІЛ в цій ролі виступає тРНК-*lys*. В LTR ВІЛ, окрім характерних для LTR ретровірусів сигнальних послідовностей промотора (TATAA), сигналу (AATAAA) та інших, виявлено специфічні тільки для ВІЛ регуляторні ділянки - вже згадану ділянку TAR (transactivation responsive) - ділянку взаємодії LTR з білком Tat та негативними регуляторами транскрипції (NRE, negative regulatory elements).

До складу провірусної ДНК ВІЛ-1 входять 9283 пари нуклеотидів, оточені LTR, що містять 638 пар нуклеотидів. На відміну від цього, ДНК провірусу ВІЛ-2 складається з 9671 пари нуклеотидів і оточена LTR, що включає 854 пари нуклеотидів.

Вважається, що найдовша ділянка повної гомології у ВІЛ-1 та ВІЛ-2 (11 нуклеотидів) - це частина вірусного енхансера. Специфічні послідовності в ділянці LTR (на 5'-кінці), ймовірно, контролюють низький рівень експресії генома ВІЛ в багатьох клітинах, що містять інтегрований вірусний геном.

В LTR містяться ділянки послідовності нуклеотидів, що приєднують фактори, які впливають на процес транскрипції. Крім того, в LTR лежать промотори і енхансери, необхідні для запуску та підсилення транскрипції. Загалом вважається, що розмноження ВІЛ контролюється LTR. При цьому транскрипція генома ВІЛ залежить від оточення, в яке інтегрується провірусна ДНК, і регулюється комплексною взаємодією вірусних регуляторних білків та клітинних транскрипційних факторів, які взаємодіють з LTR (Gaynor, 1992; Antoni et al., 1994).

Існує припущення, що LTR відповідають також і за латентне протікання ВІЛ-інфекції. Є підстави вважати, що вони контролюють експресію вірусних генів і визначають внаслідок цього швидкість

синтезу вірусних РНК та білків. Це підтверджується результатами дослідів, де порівнювали регуляцію експресії генів ВІЛ-1 та ВІЛ-2 сигналами активації Т-клітин - фітогемагглютиніном (ФГА) та форболміристатацетатом (PMA) (Tong-Starksen et al., 1989).

В LTR знаходиться точка початку транскрипції інформаційної РНК з ДНК провірусу. Цій точці, тобто відповідному нуклеотиду, присвоєно номер 1. Всі нуклеотиди ліворуч від цієї точки, тобто в напрямку до 5'-кінця ланцюга нуклеїнової кислоти, мають номери у послідовності "справа наліво" і знак "-". Нуклеотиди, розміщені праворуч від точки ініціації транскрипції, у напрямку до 3'-кінця нуклеотидного ланцюга, нумеруються "зліва направо" і зі знаком "+" (Rabson, 1989).

В геномній РНК ВІЛ LTR коротша, ніж у провірусі. LTR з 5'-кінця і LTR з 3'-кінця в геномній РНК частково відрізняються за послідовністю нуклеотидів. 5'-LTR складається з ділянки R та ділянки U5. 3'-LTR складається з ділянки U3 і такої ж ділянки R. У ході біосинтезу до правої та лівої LTR провірусу долучаються однакові послідовності нуклеотидів (з точністю до точкових мутацій) і кожна з них набуває складу U3-R-U5.

Слід відмітити, що LTR інших ретровірусів теж складаються з 600-800 нуклеотидів, поділених на ділянки U3, Р та U5. Ділянки U3, Р та U5 LTR ВІЛ включають, відповідно, 453, 98 та 83 пари нуклеотидів, суттєво відрізняючись за довжиною від аналогічних ділянок інших ретровірусів. Ділянка U3 у всіх згаданих вірусів закінчується сайтом копіювання, з якого починається транскрипція РНК, однак нуклеотидних послідовностей, що повторюються, в U3-ділянці ВІЛ не виявлено. Розміри ділянок Р та U5 у ВІЛ менші, ніж у HTLV-I та HTLV-II, в той час як величина U3 відповідає розмірам гомологічних ділянок інших ретровірусів.

Сигнали, кодовані в LTR, підрозділяються на дві групи: 1) сигнали, пов'язані з процесами поліаденілювання, що контролюються РНК-сайтом, відповідальним за приєднання poly(A)-фрагмента до 3'-області синтезованої РНК; 2) сигнали, контрольовані сайтом копіювання, який відповідає за приєднання метильованих основ на 5'-області РНК і за сигнали для сайтів сплайсингу, необхідних для визрівання РНК і виключення інтронів. Сайт копіювання розташований на межі ділянок U3 та Р, а сайт поліаденілювання - на межі ділянок Р та U5.

Друга група сигналів пов'язана, як правило, з трансляцією РНК і забезпечується головним чином, двома типами послідовностей - промоторами та енхансерами.

Трохи інакше обстоять справи у випадку з LTR ВІЛ. До її складу входять 634 пари основ, причому ділянки U3, P та U5 включають, відповідно, 453, 98 та 83 пари нуклеотидів, суттєво відрізняючись тим самим від гомологічних ділянок інших ретровірусів. Ділянка U3 у всіх згаданих вірусів закінчується сайтом копіювання, з якого починається транскрипція РНК, однак нуклеотидних послідовностей, що повторюються, в U3-ділянці ВІЛ не виявлено. У ВІЛ розміри ділянок P та U5 менші, ніж у HTLV-I та HTLV-II, в той час як величина U3 відповідає розмірам гомологічних ділянок інших ретровірусів. Слідом за ділянкою LTR в структурі ВІЛ знаходиться сайт, комплементарний 3'-області затравки тРНК, - пролінової у більшості ретровірусів і лізинової – у ВІЛ.

Ще одна особливість LTR ВІЛ та HTLV-I - наявність у них послідовностей, частково гомологічних Т-клітинному факторові росту, що складаються з 30 нуклеотидів і розміщені у ділянці U3.

Заслуговує на увагу наявність високої (83%) гомології між 24-членною послідовністю в ділянці U3 LTR ВІЛ та у в першому інтроні гена, що контролює синтез γ -інтерферону. В U3 LTR ВІЛ присутні і консервативні послідовності, які входять у промоторну область та схожі з U3 LTR HTLV-I та HTLV-II. Рівень гомології в цьому випадку досягає 55-60%. Промотор ВІЛ займає область від 44-го нуклеотиду в U3-ділянці ліворуч від сайту копіювання (або сайту ініціації синтезу РНК) до 80-го нуклеотиду в Р-ділянці. Послідовності від 17-го до 137-го нуклеотиду в U3 ліворуч від сайту копіювання притаманна властивість енхансера, дієздатного в різних клітинних системах.

Ділянки, які беруть участь в експресії вірусних генів, розміщені всередині послідовностей U3 та R LTR і підрозділяються на серцевинні (корові) промоторні елементи, енхансер, модуляторні та негативні регуляторні елементи і елемент, що відповідає на Tat (TAR). Здатність деяких транскрипційних факторів зв'язувати ДНК видозмінюється у відповідь на активацію та диференціацію клітин і на вплив цитокінів та мітогенів.

При стимуляції ВІЛ-інфікованих клітин антигенами або цитокінами, що продукуються макрофагами або ж активованими Т-лімфоцитами, а також при додатковому інфікуванні клітини-мішені якимось вірусом, відбувається транскрипція мРНК і починається синтез вірусних білків і РНК з наступним утворенням зрілих віріонів.

Трансактивацію ВІЛ можуть викликати також продукти життєдіяльності інших вірусів. До взаємодії з його LTR здатні, зокрема, білки, що контролюються передранніми генами вірусів простого герпесу та Епштейна-Барр, а також білки аденовірусів.

Суттєво, що подібний вплив здійснюють і мітогени, які впливають на Т-клітини.

Описано п'ять ділянок LTR ВІЛ, здатних зв'язуватися з клітинними білками. Зв'язування з LTR клітинних білків різного походження може суттєво впливати на рівень транскрипції, яку направляє ця послідовність. Нуклеотиди між -104 та -81 послідовності LTR містять прямі повтори і спрацьовують як енхансери. Послідовності NF-κB нагадують послідовності інтронного енхансера у гені Fc-ланцюга імуноглобулінів. Локус NF-κB є місцем прикладення дії комплексу білку Tat з TAR-ділянкою на вірусній РНК. В результаті відбувається пряма активація транскрипції з вірусних генів.

Співставлення трансактиваційної здатності HTLV-1 та ВІЛ виявляє наявність між ними далекоюяжної подібності. У обох вірусів трансактивація супроводжується збільшенням кількості РНК, синтез якої знаходиться під контролем LTR. Як у HTLV-1, так і у ВІЛ послідовності LTR, що взаємодіють з білком Tat, розташовані біля промоторного елемента (TATA-бокса) і включають 3'-послідовності по відношенню до точки ініціації синтезу мРНК. Синтез білкового продукту гена *tat* в обох випадках здійснюється з двічі сплайсованої РНК, чого немає у інших ретровірусів.

Вважається, що доцільно провести подальше порівняльне вивчення LTR різних вірусів, в першу чергу ВІЛ, в двох напрямках: по-перше, в плані вивчення регуляції швидкості синтезу РНК на матриці вірусної РНК, по-друге, з метою отримати більше даних про механізм інтеграції новоутвореної провірусної ДНК в ДНК клітини-мішені.

Висловлено припущення про те, що цитопатогенність ВІЛ може бути хоча б частково пов'язана з пригніченням процесингу клітинних РНК через конкуренцію з LTR за ділянки сплайсингу або ж з комплексуванням їх з ядерними РНК (Minarovits et al., 1987).

1.3.2. Регуляція експресії ВІЛ на рівні генома

На LTR лежать промотори, енхансери та елементи негативної регуляції. Там ідентифіковано такі елементи, як TATA-бокс, сайт зв'язування фактора Sp1, κB-енхансер, сайт зв'язування NFAT-1. Всі ці елементи зчитуються як активні у *cis*-положенні. Це означає, що гени, на які впливають ці регуляторні елементи, лежать у тій же хромосомі на тому ж ланцюгу ДНК. Виявлено, що з цими ділянками можуть зв'язуватися певні клітинні фактори транскрипції; деякі з цих факторів дуже поширені, інші високоспецифічні або можуть

видозмінюватися у відповідь на активацію чи диференціацію клітин, вплив цитокінів чи мітогенів.

Усі вищезазначені елементи регуляції забезпечують позитивну регуляцію, тобто підтримують і підсилюють експресію вірусного генома. На 5'-кінці LTR, в ділянці з послідовністю нуклеотидів з -170 по -160 виявлено елемент негативної регуляції - NRE. Видалення NRE веде до підсилення експресії вірусного генома. Подібну ж послідовність з 9 нуклеотидів знайшли ще в гені α -ланцюга рецептора для інтерлейкіну 2 (IL-2R). Як вірусний NRE, так і NRE α -ланцюга IL-2R лежать у ділянці ДНК, захищеній від розщеплення ДНКазою як *in vivo*, так і у модельних культурах клітин *in vitro*. З NRE споріднений ще один ДНК-фільний білок (DNAP) з молекулярною масою біля 50 kD. З вірусних білків з NRE зв'язується білок Nef.

Дистальна модуляторна ділянка NRE негативно впливає на ініціацію синтезу вірусної РНК *in vitro* та *in vivo* (Okamoto et al., 1990). NRE містить сайти зв'язування клітинних транскрипційних факторів, що як посилюють, так і загальмовують цю експресію (Reddy, Dasgupta, 1992); до них належать адапторний білок 1 (adaptor protein-1, AP-1), N-клітинний фактор В (N cell factor B), Gata3, Myb, стимулятивний фактор, розташований вгору від точки початку реплікації (upstream stimulating factor, USF), COUP, ядерний фактор активованих клітин (nuclear factor of activated T cells, NF-AT), та LEF-1. Механізм, за допомогою якого ця ділянка регуляторно понижує транскрипцію ВІЛ-1, не до кінця розкрито. Показано, що приєднання до цієї ділянки матричного ядерного білку (nuclear matrix protein, NMP) специфічно пригнічує здатність NF- κ B зв'язуватися з ДНК (Hoover et al., 1996). Так само зв'язування Oct-1, який взаємодіє з Tat, може пригнічувати як базову, так і індуковану Tat-активність LTR (Liu, Laichman, 1997).

Енхансер HIV-1 належить до найглибше вивчених компонентів модулятивної ділянки і складається з двох консервативних сайтів зв'язування для транскрипційних факторів з родини NF- κ B/relB (Mallardo et al., 1996). Детально описано роль зв'язування NF- κ B з цими сайтами у контрольованій транскрипції з LTR як у моноцитах, так і у Т-клітинах у зв'язку з NF-AT (Moses et al., 1994). Знайдено пряму кореляцію поміж підвищеним приєднанням NF- κ B до ДНК та керованою LTR транскрипційною активністю ВІЛ-1 при активації Т-клітин. Вивчення мутацій у послідовностях для приєднання NF- κ B-послідовностей у LTR, що знаходиться у складі конструкцій, які містять репортерну послідовність хлорамфеніколацетилтранс-

ферази (chloramphenicol acetyl transferase, CAT), доводить помітне пригнічення експресії генів як у присутності, так і при відсутності вірусного трансактиватора Tat.

Активатор транскрипції AP-2 приєднується до сайту поміж двома послідовностями NF- κ B та впливає на транскрипцію ВІЛ-1 у нестимульованих клітинах. Мутації у цьому сайті загальмовують активність LTR (Perkins et al., 1994), але не заважають РМА чи ФНП- α індукувати активність NF- κ B.

Серцевинна ділянка (core region) багато в чому нагадує відповідні послідовності численних еукаріотичних генів, з яких зчитує інформацію РНК-полімераза II (RNA pol II). Базальний промотор містить як консенсусну послідовність TATA, так і ділянку, де починається транскрипція (initiator region, Inr), куди приєднуються "загальні" фактори транскрипції та РНК-полімераза II (Zawel, Reinberg, 1995). Після залучення транскрипційного фактора IID (TFIID) відбувається сполучення голоензима RNA pol II і загальних факторів ініціації з промотором та утворення преініціативного комплексу (preinitiation complex) (Berkhout, Jeang, 1992). Утворення цього комплексу забезпечує подальше посилення транскрипції за рахунок білок-білкових взаємодій у межах білку, який приєднується до ехансера. Показано, що вірусний трансактиватор Tat взаємодіє з декількома компонентами системи транскрипції, включаючи білок, що приєднується до TATA-бокса (TBP), TFIID та голоензимного комплексу (assembled holoenzyme) (Cujec et al., 1997; Xiao et al., 1997). Для оптимальної активації LTR під дією Sp1 та білку NF- κ B, що приєднується до LTR вище точки початку реплікації, важливе значення мають фактори, асоційовані з TPB (TAF), та коактиватори, що теж приєднується до LTR вище точки початку реплікації [upstream factor stimulatory activity (USF)-derived coactivators] (Guerman et al., 1998).

Послідовність Inr (від -2 до +8) взаємодіє з загальними факторами транскрипції; ця послідовність необхідна для транскрипційної активності Tat (Rittner et al., 1995). Показано, що USF посилює транскрипцію (Du et al., 1993), в той час як білок YY1, приєднаний до послідовності LTR у ядрі (nuclear motif-associated protein-1, YY1), мабуть, цю транскрипцію загальмовує (Margolis et al., 1994). Є також два сайти зв'язування для L-ділянки (LBP-1); одному з них притаманна висока афінність, яка заважає приєднанню TFIID до TATA-бокса (Yoon et al., 1994), а другий низькоафінний, що перекриває Inr. Припускають також, що LBP-1 виступає як мішень при посиленні транскрипції під впливом Tat (Parada et al., 1995).

Над TATA-боксом лежить багата на GC ділянка, яку локалізовано поміж нуклеотидами від -46 до -78 і яка містить три копії послідовності Sp1, куди приєднується транскрипційний фактор Sp1 (Jones et al., 1986). Фізичний зв'язок поміж Tat та фосфорилуванням Sp1 (Chun et al., 1998), а також їх синергічна взаємодія з TATA-боксом забезпечує максимальну активацію промотора під впливом Tat (Sune, Garcia-Blanco, 1995). Показано також, що Vpr взаємодіє з Sp1, стимулюючи промотор перед активацією NF- κ B (Sawaya et al., 1998). Вважають, що серед структур, які посилюють транскрипцію ВІЛ-1, для експресії його у моноцитах та макрофагах велике значення мають TATA, Sp1 та NF- κ B, тоді як найбільший вплив на експресію у активованих Т-клітинах справляє NF- κ B.

Характерна риса LTR ВІЛ-1 - це присутність регулятивних структур, які впливають на транскрипцію, не лише над, але й під точкою, від якої починається транскрипція. Використавши результати футпринтингу *in vivo* та дослідів зі зміщенням електрофоретичної рухливості (electrophoretic mobility shift assays, EMSA), вдалося провести картування сайтів зв'язування конститутивних та індукцибельних транскрипційних факторів у нетрансльованій ділянці генома ВІЛ-1 (El Kharroubi, Verdin, 1994; El Kharroubi, Martin, 1996). До цих сайтів належать три сайти для AP-1, один сайт для NF-AT, два розташованих поруч сайти Sp1 та послідовність завдовжки від +200 до +217, гомологічна ISRE, наявному у промоторі ISG. Порівняння елементів цих послідовностей у різних ізолятах ВІЛ-1 показало, що всі ці сайти висококонсервативні. Вивчення мутантних вірусів зі змінами у цих послідовностях показує, що цим регуляторним елементам належить вирішальна роль у транскрипції та реплікації ВІЛ-1; отже, встановлено, що існує ще один позитивний елемент, який регулює транскрипцію провірусу ВІЛ-1 (Liang et al., 1997).

1.3.3. Регуляція експресії ВІЛ на рівні клітини-носія

Як слідує з попередніх розділів, багато що в механізмі регуляції ВІЛ під дією власної LTR "запозичене" від регуляторних генів, що експресуються в імунocyтах людини і, зокрема, в Т-лімфоцитах. ВІЛ "вміє користуватися" молекулами та механізмами активації, від природи властивими для імунocyтів. Практика показує, що якщо в Т-лімфоциті або в моноциті присутній інтегрований в геном латентний провірус ВІЛ, то експресію вірусу можна викликати штучно, вносячи такі "фактори активації" Т-лімфоцитів, як:

1) Специфічний антиген (при потраплянні будь-якого антигену до організму активна інфекція ВІЛ відбувається, в першу чергу, вибірково в антиген-специфічних клонах Т-лімфоцитів):

2) Мітогени Т-лімфоцитів (РМА - форболмірістатацетат, ФГА) (Zack et al., 1990);

3) Цитокіни (IL-1, IL-2, IL-4, ФНП- α та інші) (Brown et al., 1994; Vicenzi, Poli, 1994; Thea et al., 1996);

4) Інші віруси одночасно з ВІЛ (цитомегаловірус, HTLV-1, віруси герпесу, аденовіруси, вірус Епштейна-Барр та ін.) (Vicenzi, Poli, 1994).

В моноцитах латентну інфекцію ВІЛ можна активувати такими факторами, як ФНП, IL-6, РМА, а також бактерійними імуномодуляторами - мурамідипептидом та ін. (Goletti et al., 1996). Це вказує на те, що супутні інфекції, викликані іншими вірусами та бактеріями, можуть виступати як сильно впливові кофактори при розвитку СНІДу з латентної інфекції ВІЛ (Fauci, 1996).

ФНП- α - основний цитокін, який секретують моноцити, стимульовані, наприклад, ЛПС. Крім того, ФНП- α продукується у великих кількостях активованими В-лімфоцитами. Встановлено, що моноцити, які секретують ФНП- α , не тільки підвищують продукцію ВІЛ інфікованими клітинами, але й стимулюють активацію його латентного провірусу. Молекулярний механізм активації ВІЛ за допомогою ФНП- α полягає у підсиленні транскрипції з вірусних генів, опосередкованому через транскрипційний фактор NF- κ B, який активується за допомогою ФНП- α (Duh et al., 1989; Poli et al., 1990).

Інший плейотропний цитокін - трансформацийний фактор росту (TGF- β) - не гальмує активацію експресії ВІЛ, викликаной ФНП- α в клітинах U1, але пригнічує експресію ВІЛ-1, викликану РМА. При цьому TGF- β не протидіє посиленню експресії ВІЛ за допомогою РМА в клітинах АСН-2. Сам по собі TGF- β загальмовує нормальні процеси активації, проліферації та диференціювання неінфікованих ВІЛ Т-лімфоцитів.

РМА стимулює експресію ВІЛ. Про механізм дії РМА відомо, що він безпосередньо активує клітинну протеїнказу С, яка, в свою чергу, забезпечує процес транслокації NF- κ B. В результаті посилюється транскрипція, в тому числі і з генів вірусу (Fauci, 1993). Можливо, що самої тільки транслокації NF- κ B для цього недостатньо. Необхідні додаткові процеси, пов'язані з активацією Т-лімфоцитів і такі, що забезпечують посттрансляційну модифікацію тетрагетеродимера NF- κ B, після чого він спрацьовує.

IL-6 синтезується у підвищених кількостях активованими В-лімфоцитами. Цей цитокін стимулює реплікацію ВІЛ в Т-лімфоцитах, як вважають, на післятранскрипційному рівні (Fauci, 1993). Показано також, що при активації ВІЛ IL-6 та фактор, що стимулює колонії гранулоцитів/макрофагів (GM-CSF), діють синергічно з ФНП- α (Fauci, 1993).

1.4. Патогенез при ВІЛ-інфекції

Недостатність імунної системи, так званий імунodefіцитний стан організму - це вроджена або набута вада імунної системи, яка проявляється у нездатності організму забезпечувати реакції клітинного та/чи гуморального імунітету.

На відміну від первинної імунної недостатності, явища вторинної недостатності імунної системи не пов'язані безпосередньо з генетичним блоком якоїсь ланки імуногенезу. Вторинна імунна недостатність розвивається під впливом численних несприятливих для організму хвороботворних факторів, що підточують та розхитують первинно неушкоджену імунну систему. Набуті розлади імунodefіциту дуже різноманітні; вони обумовлені розладами і В-, і Т-системи імунітету, а часто і обох цих систем одночасно.

В основі всіх патологічних процесів, які відбуваються при ВІЛ-інфекції, лежить експресія вірусних генів. Основними факторами патогенезу ВІЛ є пряма цитопатична та нецитопатична дія ВІЛ, його непряма дія, що включає активацію Т-клітин та ВІЛ-специфічну імунну відповідь (гуморальний та клітинний імунітет), аутоімунні механізми, вплив суперантигенів та апоптоз. Далі ми зупинимося на деяких особливостях впливу названих факторів.

Встановлено, що однією з особливостей багатьох (хоча і не всіх) штамів ВІЛ є злиття інфікованих клітин (принаймні, у системах культивованих клітин *in vitro*), тобто утворення синцитіїв - гігантських, маложиттєздатних клітин з численними ядрами (Lifson et al., 1986). Заражені вірусом клітини можуть зливатися також з сусідніми клітинами, де ще не розпочався інфекційний процес. При цьому для утворення синцитіїв присутність півноцінного вірусу не обов'язкова.

Показано також утворення синцитіїв *in vivo*, принаймні, у клітинах мозкової тканини (Sharer et al., 1985). У мозку з макрофагів утворюються полінуклеарні гігантські клітини, кожна з яких може містити від 500 до 1.000 копій РНК ВІЛ. Є дані про роль у цьому процесі вірусного антигену gp120, що вважається антагоністом вазоактивного пептиду, який виділяється клітинами глії та сприяє

ростові нейронів. Вірогідно, що першою ланкою у ланцюгу патологічних процесів, який запускається після проникнення та розмноження ВІЛ у ЦНС, є саме утворення синцитіїв.

Певні вірусні білки (наприклад, продукт гену *tat*), експресуючись у клітинах CD4+, понижують здатність цих клітин відповідати на антигени і, отже, у такий спосіб обумовлюють імунний дефіцит. Важливо підкреслити, що самі по собі поверхневі білки ВІЛ не проявляють імуносупресивної дії на Т-лімфоцити. Коли комплекс антигену gp120 та антитіла зв'язується з рецепторами клітин CD4+, то вони втрачають здатність активуватися через свої Т-клітинні рецептори (CD3). Ця нечутливість клінічно корелює з процесом, який називають анергією; у цей період у хворого не може виникнути реакції гіперчутливості уповільненого типу. Поява анергії при ВІЛ-інфекції служить маркером розвитку хвороби (Букринская, Жданов, 1991).

Токсичність неструктурного білку Vif полягає у тому, що він, прискорюючи розмноження вірусу, веде клітину до загибелі, виснажуючи її ресурси (Levy, 1994).

Як уже згадували, необхідним етапом розмноження ВІЛ, подібно до інших ретровірусів, є втрата білкової оболонки, вивільнення віріонної РНК та утворення на цій РНК-матриці комплементарних до неї молекул провірусної ДНК (кДНК). Звичайно "у нормальному типовому випадку" репродукції ВІЛ його кДНК інтегрують у геном клітини-хазяїна (Покровский с соавт., 2000). Описано, проте, численні випадки, коли такої інтеграції не відбувається і коли, внаслідок якогось порушення координаційних чи інших механізмів, молекули кДНК продовжують синтезуватися та накопичуються у цитоплазмі інфікованих клітин. Через токсичну дію високих концентрацій кДНК всередині вражених клітин такі клітини можуть загинути ще на ранньому етапі інфекції. Є думка, що *in vivo*, при пошкодженні мозку, численні різноманітні неврологічні розлади теж можуть бути пов'язані саме з не інтегрованою в клітинний геном ВІЛ-специфічною кДНК.

Величезна мінливість ВІЛ та все розмаїття патологічних змін, які викликають вірусні квазі-види в культивованих клітинах та в організмі, призводять до великої різноманітності клінічних проявів хвороби в залежності від особливостей вірусу-збудника, особливостей зараженого організму та від етапу розвитку хвороби.

Більшість заражених в організмі клітин CD+ гине протягом декількох днів. Решта клітин теж час від часу вражається вірусом. Проте деякі з заражених ВІЛ-трансформованих клітин, у геномі яких присутня провірусна ДНК, продукують протягом тривалого часу малу кількість віріонів та стають постійним джерелом інфекції.

Клінічна стадія інфекції повністю проявляється від того моменту, як починається невпинна та прискорена втрата Т-лімфоцитів CD4+. Таку втрату вважають одним з провідних факторів виникнення СНІДу після ВІЛ-інфікування. Разом з тим, однак, є дані про те, що високі рівні Т-лімфоцитів CD4+ не завжди достеменно корелюють з відносним клінічним благополуччям інфікованого і що якісь інші, до кінця не розпізнані фактори, здатні сприяти різкому погіршенню стану хворого при начебто "незагрозливих" рівнях CD4+. Дослідження природного перебігу ВІЛ-інфекції в людини виявили дуже широкий діапазон її клінічних проявів - від прихованих, безсимптомних станів до захворювання, яке однозначно загрожує здоров'ю та життю хворого і характеризується надзвичайно тяжким імунodefіцитом, небезпечними опортуністичними інфекціями та низьким вмістом Т-лімфоцитів CD4+. Зниження їх вмісту підвищує ризик і опортуністичних інфекцій, і зловиякісних захворювань.

Традиційно виділяють три стадії ВІЛ-інфекції:

1. Гостру стадію, що настає через 2-4 тижні після первинного зараження. Вона спостерігається приблизно у 15% ВІЛ-інфікованих, характеризується лихоманкою та лімфаденопатією; нерідко у хворих спостерігаються тонзиліфарингіт та висипи на шкірі. Гостра стадія триває недовго; незабаром самопочуття хворого поліпшується та нормалізується, а хвороба переходить у безсимптомну стадію ВІЛ-інфекції. З вірусологічного погляду ця гостра стадія характеризується віремією.

2. Безсимптомну стадію, що може тривати протягом різного часу. На цій стадії у хронічно ВІЛ-інфікованого немає ніяких клінічних проявів хвороби. Щоб оцінити динаміку наростання хвороби, часто використовують непрямі ознаки. Вірус можна виділити з крові, а у деяких хворих - також з плазми.

3. Клінічну стадію. На цій фінальній стадії хвороби розвивається тяжке враження імунної системи хворого, супроводжуване ускладненнями, що викликані опортуністичними та/чи зловиякісними хворобами.

Слід зауважити, що визначення СНІДу, запропоноване Центром контролю захворюваності США (Center of Disease Control, CDC, Атланта) (Bartlett, 1998), відрізняється від визначення, ухваленого ВООЗ та прийнятого в Європі. Так, зниження рівня Т-лімфоцитів CD4+ внесене до діагностичних критеріїв СНІДу лише за класифікацією CDC.

Звичайно ж, патогенез ВІЛ-інфекції відбиває мінливі особливості ВІЛ та імунну відповідь хазяїна на інфекцію. Різний вклад цих двох

основних чинників визначає кінцевий результат ВІЛ-інфекції - довготривале виживання зараженого організму чи розвиток СНІДу з усіма супутніми явищами.

Каскад імунних реакцій, який веде до виникнення імунного дефіциту, значно більш складний та розгалужений і не зводиться до самого лише руйнування клітин CD4+.

Загалом вивчення патогенезу ВІЛ-інфекції на клітинному рівні та на рівні цілого організму вже дало певні позитивні наслідки з точки зору клініцистів. Розуміння механізмів репродукції вірусу та його взаємодії з клітинами дало змогу звернутися до ВІЛ-терапії за допомогою сполук, які гальмують активність зворотної транскриптази, транскрипцію РНК з провірусної ДНК та синтез вірусних білків.

Література

1. Букринская А.Г. // Успехи совр. биол. - 1992 - Т.112, Вып.1 - С.44-51.
2. Букринская А.Г., Жданов В.М. Молекулярные основы патогенности вирусов. - М.: Медицина, 1991 - 256 с.
3. Букринский М.И. // Вопр. вирусол. - 1987 - Т.32, №6 - С.649-656.
4. Быковский А.Ф., Клицунова Н.В., Миллер Г.Г. Онкогенные вирусы. - М.: Медицина - 1983 - 224 с.
5. Волянский Ю.Л., Телепнева Л.Г., Васильев Н.В. ВИЧ-инфекция. Факты и гипотезы. - Харьков: Основа - 1993 - 224 с.
6. Гирин В.Н. Синдром приобретенного иммунодефицита. - К.: Здоров'я - 1991 - 141с.
7. Новохатский А.С., Дрынов И.Д., Сергиев В.П. Синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД). - Итоги науки и техники. ВИНИТИ, Вирусология, 1987, 14, 180с.
8. Покровский В.В., Ермак Т.Н., Беляева В.В., Юрин О.Г. ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика и лечение. / Под общ. ред. В.В. Покровского - М.: ГЭОТАР Медицина, 2000 - 496с.
9. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А. СПИД - М.: Народная академия культуры и общечеловеческих ценностей, 1992 - 352с.
10. Accola M.A., Bukovsky A.A., Jones M.S., Göttinger H.G. // J. Virol. - 1999 - Vol.73 - p.9992-9999.
11. Aiken C., Trono D. // J. Virol. - 1995 - Vol.69 - p.5048-5056.
12. Aiken C., Konner J., Landau N.R., Lenburg M.E., Trono D. // Cell - 1994 - Vol.76 - p.853-864.
13. Akari H., Fukumori T., Adachi A. // J. Virol. - 2000 - Vol.74 - p.4891-4893.

14. Albin A., Ferrini S., Benelli R., Sforzini S., Giunciuglio D., Aluigi M.G., Proudfoot A.E., Alouani S., Wells T.N., Mariani G., Rabin R.L., Farber J.M., Noonan D.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* - 1998 - Vol.95 - p.13153-13158.
15. Alexander L., Du Z., Rosenzweig M., Jung J.U., Desrosiers R.C. // *J. Virol.* - 1997 - Vol.71 - p.6094-6099.
16. Al-Harhi L., Roebuck K.A. // *Int. J. Mol. Med.* - 1998 - Vol.1 - p.875-881.
17. Almog N., Roller R., Arad G., Passi-Even L., Wainberg M., Kotler M. // *J. Virol.* - 1996 - Vol.70 - p.7228-7232.
18. Antoni B.A., Stein S.B., Rabson A.B. // *Adv. Virus Res.* - 1994 - Vol.43 - p.53-145.
19. Ayyavoo V., Mahboubi A., Mahalingam S., Ramalingam R., Kudchodkar S., Williams W.V., Green D.R., Weiner D.B. // *Nat. Med.* - 1997 - Vol.3 - p.1117-1123.
20. Bachand F., Yao X.J., Himech M., Rougeau N., Cohen E.A. // *J. Biol. Chem.* - 1999 - Vol.274 - p.9083-9091.
21. Baraz L., Friedler A., Blumenzweig I., Nussinov O., Chen N., Steinitz M., Gilon C., Kotler M. // *FEBS Lett.* - 1998 - Vol.441 - p.419-426.
22. Beg A., Baldwin A.S. // *Genes Dev.* - 1993 - Vol.7 - p.2064-2070.
23. Bennett R.P., Nelle T.D., Wills J.W. // *J. Virol.* - 1993 - Vol.67 - p.6487-6498.
24. Berger E.A., Murphy P.M., Farber J.M. // *Ann. Rev. Immunol.* - 1999 - Vol.17 - p.657-700.
25. Berkhout B., Jeang K.-T. // *J. Virol.* - 1992 - Vol.66 - p.139-149.
26. Berkhout B., Silverman R.H., Jeang K.-T. // *Cell* - 1989 - Vol.59 - p.273-282.
27. Berlioz-Torrent C., Shacklett B.L., Erdtmann L., Delamarre L., Bouchaert I., Sonigo P., Dokhelar M.C., Benarous R. // *J. Biol. Chem.* - 1999 - Vol.73 - p.1350-1361.
28. Binley J., Moore J.P. // *Nature* - 1997 - Vol.387 - p.346-348.
29. Blanc D., Patience C., Schulz T.F., Weiss R., Spire B. // *Virology* - 1993 - Vol.193 - p.186-192.
30. Blazquez M.V., Macho A., Ortiz C., Lucena C., Lopez-Cabrera M., Sanchez-Madrid F., Munoz E. // *AIDS Res. Hum. Retroviruses* - 1999 - Vol.15 - p.1209-1218.
31. Boge M., Wyss S., Bonifacino J.S., Thali M. // *J. Biol. Chem.* - 1998 - Vol.273 - p.15773-15778.
32. Bogerd H.P., Echarri A., Ross T.M., Cullen B.R. // *J. Virol.* - 1998 - Vol.72 - p.8627-8635.
33. Böhnlein S., Pirker F.P., Hofer L., Zimmermann K., Bachmayer H., Böhnlein E., Hauber J. // *J. Virol.* - 1991 - Vol.65 - p.81-88.

34. Borman A., Quillent C., Charneau P., Dauguet C., Clavel F. // J. Virol. – 1995 – Vol.69 – p.2058-2067.
35. Bour S., Schubert U., Strebel K. // J. Virol. – 1995 – Vol.69 – p.1510-1520.
36. Bour S., Perrin C., Akari H., Strebel K. // J. Biol. Chem. – 2001 – Vol.276 – p.15920-15928.
37. Bouyac M., Rey F., Nascimbeni M., Courcoul M., Sire J., Blanc D., Clavel F., Vigne R., Spire B. // J. Virol. – 1997 – Vol.71 – p.2473-2477.
38. Bouyac M., Courcoul M., Bertoia G., Baudat Y., Gabuzda D., Blanc D., Chazal N., Boulanger P., Sire J., Vigne R., Spire B. // J. Virol. – 1997 – Vol.71 – p.9358-9365.
39. Brown C.C., Poli G., Lubaki N., St Louis M., Davachi F., Musey L., Manzila T., Kovacs A., Quinn T.C., Fauci A.S. // J. Infect. Dis. – 1994 – Vol.169 – p.975-980.
40. Bukovsky A.A., Dorfman T., Weimann A., Göttinger H.G. // J. Virol. – 1997 – Vol.71 – p.1013-1018.
41. Bukrinsky M., Adzhubei A. // Rev. Med. Virol. – 1999 – Vol.9 – p.39-49.
42. Calnan B.J., Biancalana S., Hudson D., Frankel A.D. // Genes Dev. – 1991 – Vol.5 – p.201-210.
43. Campbell L.H., Borg K.T., Haines J.K., Moon R.T., Schoenberg D.R., Arrigo S.J. // J. Virol. – 1994 – Vol.68 – p.5433-5438.
44. Caruso A., Pollara P., Foresti I., Bònfanti C., De Francesco M., Gelmi M., Turano A. // AIDS Res. Hum. Retrovir. – 1989 – Vol.5 – p.605-612.
45. Center R.J., Leapman R.D., Lebowitz J., Arthur L.O., Earl P.L., Moss B. // J. Virol. – 2002 – Vol.76 – p.7863-7867.
46. Chakrabarti L., Guyader M., Alizon M., Daniel D., Desrosiers R.C., Tiollais P., Sonigo P. // Nature – 1987 – Vol.328 – p.543-547.
47. Chan D.C., Kim P.S. // Cell – 1998 – Vol.93 – p.681-684.
48. Chandra P., Gerber T., Chandra A., Sarin P.S., Pavlikov S.P., Khaitov R., Ivanov V., Koziach A. // Biomed. Science – 1990 – Vol.1 – p.507-512.
49. Chen M., Maldarelli F., Karczewski M.K., Willey R.L., Strebel K. // J. Virol. – 1993 – Vol.67 – p.3877-3884.
50. Chen Y.L., Trono D., Camaur D. // J. Virol. – 1998 – Vol.72 – p.3178-3184.
51. Chun R.F., Semmes O.J., Neuveut C., Jeang K.-T. // J. Virol. – 1998 – Vol.72 – p.2615-2629.
52. Cimarelli A., Darlix J.L. // Cell. Mol. Life Sci. – 2002 – Vol.59 – p.1166-1184.
53. Cohen E.A., Terwilliger E.F., Jalinoos Y., Proulx J., Sodroski JG, Haseltine WA. // J. Acquired Immune Defic. Syndr. – 1990 – Vol.3 – p.11-18.
54. Collins K.L., Baltimore D. // Immunol. Rev. – 1999 – Vol.168 – p.65-74.

55. Collins K.L., Chen B.K., Kalams S.A., Walker B.D., Baltimore D. // *Nature* – 1998 – Vol.391 – p.397-401.
56. Cosson P. // *EMBO J.* – 1996 – Vol.15 – p.5783-5788.
57. Courcoul M., Patience C., Rey F., Blanc D., Harmache A., Sire J. Vigne R., Spire B. // *J. Virol.* – 1995 – Vol.69 – p.2068-2074.
58. Craven R.C., Parent L.J. In: H.-G. Kraüsslich. (ed.), *Retroviral morphogenesis and maturation*. Springer-Verlag, Berlin, Germany – 1995 p.65-90.
59. Cujec T.P., Cho H., Maldonado E., Meyer J., Reinberg D., Matija Peterlin B. // *Mol. Cell. Biol.* – 1997 – Vol.17 – p.1817-1823.
60. Cullen B.R. // *FASEB J.* - 1991 - Vol.5 - p.2361-2368.
61. Cullen B.R. // *Microbiol. Rev.* - 1992 - Vol.56 - p.375-394.
62. Cullen B.R. // *Virology* – 1998 – Vol.249 – p.203-210.
63. Cullen B., Green W. // *Cell* – 1989 – Vol.58 – p.423-426.
64. Cullen B.R., Malim M.H. // *Trends Biochem. Sci.* - 1991 - Vol.16 - p.346-350.
65. Daly T., Cook K., Gray G., Maione T., Rusche J.R. // *Nature* – 1989 – Vol.342 – p.816-819.
66. Deacon N.J., Tsykin A., Solomon A., Smith K., Ludford-Mending M., Hooker D.J., McPhee D.A., Greenway A.L., Ellett A., Chatfield C., et al. // *Science* – 1995 – Vol.270 – p.988-991.
67. De Clercq E. // *Curr. Med. Chem.* - 2001 - Vol.8 - p.1543-1572.
68. Deng L., Ammosova T., Pumfery A., Kashanchi F., Nekhai S. // *J. Biol. Chem.* - 2002 – Vol.277 – p.33922-33929.
69. Destrois R.C. // *Nat. Med.* – 1999 – Vol.5 – Vol.723-725.
70. Dettenhofer M., Yu X.F. // *J. Virol.* – 1999 – Vol.73 – p.1460-1467.
71. Dettenhofer M., Cen S., Carlson B.A., Kleiman L., Yu X.F. // *J. Virol.* – 2000 – Vol. 74 – p.893-945.
72. Doms R.W., Lamb R.A., Rose J.K., Helenius A. // *Virology* – 1993 – Vol.193 – p.545-562.
73. Dorfman T., Mannano F., Haseltine W.A., Göttinger H.G. // *J. Virol.* – 1994 – Vol.68 – p.1689-1696.
74. D'Souza M.P., Cairns J.S., Plaeger S.F. // *JAMA* - 2000 - Vol.284 - p.215-222.
75. Du H., Roy A.L., Roeder R.G. // *EMBO J.* – 1993 – Vol.12 – p.501-511.
76. Dubay J.V., Roberts S.J., Hain B.H., Hunter E. // *J. Virol.* – 1992 – Vol. 66 – p.6616-6625.
77. Duh E.J., Maury W.J., Folks T.M., Fauci A.S., Rabson A.B. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* – 1989 – Vol. 86 – p.5974-5978.
78. Dutch R.E., Jardetzky T.S., Lamb R.A. // *Biosci. Rep.* – 2000 – Vol.20 – p.597-612.

79. El Kharroubi A., Martin M.A. // *Mol. Cell. Biol.* - 1996 - Vol.16 - p.2958-2966.
80. El Kharroubi A., Verdin E. // *J. Biol. Chem.* - 1994 - Vol.269 - p.19916-19924.
81. Emerman M. // *Curr. Biol.* - 1996 - Vol.6 - p.1096-1103.
82. Emerman M., Malim M.H. // *Science* - 1998 - Vol.280 - p.1880-1884.
83. Emerman M., Vazeux R., Peden K. // *Cell* - 1989 - Vol.57 - p.1155-1165.
84. Ewart G.D., Sutherland T., Gage P.W., Cox G.B. // *J. Virol.* - 1996 - Vol.70 - p.7108-7115.
85. Fauci, A.S. // *Nature* - 1996 - Vol.384 - p.529-534.
86. Fouchier R.A.M., Simon J.H.M., Jaffe A.B., Malim M.H. // *J. Virol.* - 1996 - Vol.70 - p.8263-8269.
87. Fouts D.E., True H.L., Cengel K.A., Celander D.W. // *Biochemistry* - 1997 - Vol.36 - p.13256-13262.
88. Frankel A.D., Young J.A. *Anal. Rev. Biochem.* - 1998 - Vol.67 - p.1-25.
89. Felber B.K., Pavlakis G.N. // *AIDS* - 1993 - Vol.7 - s51-s62.
90. Felzien L.K., Woffendin C., Hottiger M.O., Subbramanian R.A., Cohen E.A., Nabel G.J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* - 1998 - Vol.95 - p.5281-5286.
91. Fomerođ M., Ohno M., Yoshida M., Mattajl W. // *Cell* - 1997 - Vol.90 - p.1051-1060.
92. Fouchier R.A., Simon J.H., Jaffe A.B., Malim M.H. // *J. Virol.* - 1996 - Vol.70 - p.8263-8269.
93. Freed E.O. // *Virology* - 1998 - Vol.251 - p.1-15.
94. Freed E.O., Martin M.A. HIVs and their replication. In: Knipe D.M., Howley P.M. (ed.). *Fields virology*, 4th ed. Lippincott, Philadelphia, Pa. - 2001 - p.1971-2041.
95. Freed E.O. // *J. Virol.* - 2002 - Vol.76 - p.4679-4687.
96. Fukuda M., Asano S., Nakamura T., Adachi M., Yoshida M., Yanagida M., Nishida E. // *Nature* - 1997 - Vol.20 - p.308-311.
97. Gabuzda D.H., Lever A., Terwilliger E., Sodroski J. // *J. Virol.* - 1992 - Vol.66 - p.3306-3315.
98. Gabuzda D., Lawrence K., Landhoff E., Terwilliger E., Dorfman T., Haseltine W.A., Sodroski J. // *J. Virol.* - 1992 - Vol.66 - p.6489-6495.
99. Gallahe W.R., Ball J.M., Garry R.F. // *AIDS Res. Hum. Retrovir.* - 1989 - Vol.5 - p.431-440.
100. Garcia J.A., Gaynor R.B. // *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* - 1994 - Vol.49 - p.157-193.
101. Garcia J.A., Harrich D., Pearson L., Mitsuyasu R., Gaynor R. // *EMBO J.* - 1988 - Vol.7 - p.3143-3147.
102. Garcia J.B., Miller A.D. // *Nature* - 1991 - Vol.350 - p.508-511.

103. Garnier L., Wills J.W., Verderame M.F., Sudol M. // *Nature* – 1996 – Vol.381 – p.744-745.
104. Garnier L., Ratner L., Rovinski B., Cao S.X., Wills J.W. // *J.Virol.* – 1998 – Vol.72 – p.4667-4677.
105. Garnier L., Parent L.J., Rovinski B., Cao S.X., Wills J.W. // *J.Virol.* – 1999 – Vol.73 – p.2309-2320.
106. Gaynor R. // *AIDS* - 1992 - Vol.6 - p.347-363.
107. Gelderblom H.R., Ozel H., Pauli G. // *Arch. Virol.* - 1989 - Vol.106 - p.1-13.
108. Geyer M., Fackler O.T., Peterlin B.M. // *EMBO Rep.* - 2001 – Vol.2 – p.580-585.
109. Gjerdrum C., Stranda A., Szilvay A.M. // *FEBS Let.* – 2001 – Vol.495 – p.106-110.
110. Goff S. Retroviridae: the retroviruses and their replication. In: Knipe D.M., and Howley P.M. (ed.). *Fields virology*, 4th ed. Lippincott, Philadelphia, 2001 – p.1871-1940.
111. Goh W.C., Rogel M.E., Kinsey C.M., Michael S.F., Fultz P.N., Nowak M.A., Hahn B.H., Emerman M. // *Nat. Med.* – 1998 – Vol.4 – p.65-71.
112. Goletti D., Weissman D., Jackson R.W., Graham N.M., Vlahov D., Klein R.S., Munsiff S.S., Ortona L., Cauda R., Fauci A.S. // *J. Immunol.* – 1996 – Vol.157 – p.1271-1278.
113. Goncalves J., Jallepalli P., Gabuzda D.H. // *J. Virol.* – 1994 – Vol.68 – p.704-712.
114. Goncalves J., Shi B., Yang X., Gabuzda D.H. // *J. Virol.* – 1995 – Vol.69 – p.7196-7204.
115. Gonda M.A. // *J. Electron Microsc. Tech.* - 1988 – Vol.8 – p.17-40.
116. Gottlinger H.G., Dorfman T., Sodroski J.G., Haseltine W.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* – 1991 – Vol.88 – p.3195-3199.
117. Guermah M., Malik S., Roeder R.G. // *Mol. Cell. Biol.* – 1998 – Vol.18 – p.3234-3244.
118. Guy B., Geist M., Dott K., Spehner D., Kieny M.PP., Lecocq J.P. // *J. Virol.* – 1991 – Vol.65 – p.1325-1331.
119. Guyader M., Emerman M., Sonigo P., Clavel F., Montagnier L., Alizon M. // *Nature* – 1987 – Vol.326 – p.662-669.
120. Hammariskjold M.L., Heimer J., Hammariskjold B., Sangwan I., Albert L., Rekosh D. // *J. Virol.* – 1989 – Vol.63 – p.1959-1966.
121. Hammerschmid M., Palmeri D., Ruhl M., Jaksche H., Weichselbraun I., Bohnlein E., Malim M.H., Hauber J. // *J. Virol.* – 1994 – Vol.68 – p.7329-7335.
122. Hanna Z., Kay D., Rebai N., Guimond A., Jothy S., Jolicoeur P. // *Cell* – 1998 – Vol.95 – p.163-175.
123. Harrich D., Ulich C., Garcia-Martinez L.F., Gaynor R. // *EMBO J.* – 1997 – Vol.16 – p.1224-1235.

124. Haseltine W.A. // FASEB J. – 1991 – Vol.5 – p.2349-2360.
125. Haseltine W.A. / Retroviruses of human AIDS and related animal dis., Paris, 1990, p.201-212.
126. Hauber J., Perkins A., Heimer E.P., Cullen B.R. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 1987 – Vol.84 – p.6364-6386.
127. Heaphy S., Dingwall C., Ernberg M., Gait M., Green S., Karn J., Lowe A., Singh M., Skinner M. // Cell – 1990 – Vol.60 – p.685-693.
128. Heinzinger N.K., Bukrinsky M.I., Haggerty S.A., Ragland A.M., Kewalramani V., Lee M.A., Gendelman H.E., Ratner L., Stevenson M., Emerman M. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 1994 – Vol.91 – p.7311-7315.
129. Henderson L.E., Sowder R.C., Copeland T.D., Benveniste R.E., Oroszlan S. // Science – 1988 – Vol.241 – p.199-201.
130. Henderson L.E., Bowers M.A., Sowder R.C., Serabyn S.A., Johnson D.G., Bess J.W., Arthur L.O., Bryant D.K., Fenselau C. // J. Virol. – 1992 – Vol.66 – p.1856-1865
131. Henklein P., Bruns K., Sherman M.P., Tessmer U., Licha K., Kopp J., de Noroncha C.M.C., Green W.C., Wray V., Schubert U. // J. Biol. Chem. – 2000 – Vol.275 – p.32016-32026.
132. Hindmarsh P., Leis J. // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 1999 – Vol.63 – p.836-843.
133. Hirsch V.M., Sharkey M.E., Brown C.R., Brichacek B., Goldstein S., Wakefield J., Byrum R., Elkins W.R., Hahn B.H., Lifson J.D., Stevenson M. // Nat. Med. – 1998 – Vol.4 – p.1401-1408. -
134. Höglund S., Ohagen A., Lawrence K. Gabuzda D. // Virology – 1994 – Vol.210 – p.349-355.
135. Hoover T., Mikovits J., Court D., Liu Y.L., Kung H.F., Raziuddin S. // Nucl. Acids Res. – 1996 – Vol.24 – p.1895-1900.
136. Hottiger M.O., Nabel G.J. // J. Virol. – 1998 – Vol.72 – p.8252-8256.
137. Hrimech M., Yao X.J., Bachand F., Rougeau N., Cohen E.A. // J. Virol. – 1999 – Vol.73 – p.4101-4109.
138. Huang M., Martin M.A. // J. Virol. – 1997 – Vol.71 – p.4472-4478.
139. Hunter E. // Semin. Virol. – 1994 – Vol.5 – p.71-83.
140. Hunter E., Swanstrom R. // Curr. Top. Microbiol. Immunol. – 1990 – Vol.157 – p.187-253.
141. Iafrate A.J., Bronson S., Skowinski J. // EMBO J. – 1997 – Vol.16 – p.673-684.
142. International AIDS Society - USA Drug Resistance Mutations Group // Topic HIV Med. - 2001 - Vol. 9 - p.21-23.
143. Jamieson B.D., Aldrovandi G.M., Planelles V., Jowett J.B., Gao L., Bloch L.M., Chen I.S., Zack J.A. // J. Virol. – 1994 – Vol.3478-3485.
144. Jeang K.-T., Gatignol A. // Curr. Top. Microbiol. – 1994 – Vol.188 – p.123-144.

145. Jenkins Y., McEntee M., Weiss K., Green W.C. // J. Cell. Biol. – 1998 – Vol.143 – p.875-885.
146. Jones K.A. // Curr. Opin. Cell. Biol. – 1993 – Vol.5 – p.461-468.
147. Jones K.A., Peterlin B.M. // Annu. Rev. Biochem. – 1994 – Vol.63 – p.717-743.
148. Jones K.A., Kadonaga J.T., Luciw P.A., Tjian R. // Science – 1986 – Vol.232 – p.755-759.
149. Jones K.A., Luciw P.A., Duchange N. // Genes Dev. – 1988 – Vol.2 – p.1101-1114.
150. Jowett J.B.M., Planelles V., Poon B., Shah N.P., Chen M.-L., Chen I.S.Y. // J. Virol. – 1995 – Vol.69 – p.6304-6313.
151. Kagnoff M.F., Roebuck K.A. // J. Infect. Dis. – 1999 – Vol.179 Suppl 3 – S444-S447.
152. Kaplan A.H., Manchester M., Swanstrom R. // J. Virol. – 1994 – Vol.68 – p.6782-6786.
153. Kappes J.C., Conway J.A., Lee S.W., Shaw G.M., Hahn B.H. // Virology – 1991 – Vol.184 – p.197-209.
154. Kappes J.C., Parkin J.S., Conway J.A., Kim J., Brouillette C.G., Shaw G.M., Hahn B.H. // Virology – 1993 – Vol.193 – p.222-233.
155. Karczewski M.K., Strebel K. // J. Virol. – 1996 – Vol.70 – p.494-507.
156. Karn J. Tackling Tat. // J. Mol. Biol. – 1999 – Vol.293 – p.235-254.
157. Kato H., Horikoshi M., Roeder R.G. // Science – 1991 – Vol.251 – Vol.1476-1479.
158. Kestler H.W., Ringler D.J., Mori K., Panicali D.L., Seghal P.K., Daniel M.D., Desrosiers R.C. // Cell – 1991 – Vol.65 – p.651-662.
159. Kim T.K., Kim T.H., Maniatis T. // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A – 1998 – Vol.95 – p.12191-12196.
160. Kino T., Gragerov A., Kopp J.B., Stauber R.H., Pavlakis G.N., Chrousos G.P. // J. Exp. Med. – 1999 – Vol.189 – p.51-62.
161. Kishi M., Nishino Y., Sumiya M., Ohki K., Kimura T., Goto T., Nakai M., Kakinuma M., Ikuta K. // J. Gen. Virol. – 1992 – Vol.73 – p.77-87.
162. Kjems J., Calnan B.J., Frankel A.D., Sharp P.A. // EMBO J. – 1992 – Vol.11 – p.1119-1129.
163. Kjems J., Askjaer P. // Adv. Pharmacol. – 2000 – Vol.48 – p.251-297.
164. Klimkait T., Strebel K., Hoggan M.D., Martin M.A., Orenstein J.M. // J. Virol. – 1990 – Vol.64 – p.621-629.
165. Kohl N.E., Emini E.A., Schleif W.A., Davis L.J., Heimbach J.C., Dixon R.A., Scolnick E.M., Sigal I.S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 1988 – Vol.85 – p.4686-4690.
166. Kondo E., Mammano F., Cohen E.A., Gottlinger H.G. // J. Virol. – 1995 – Vol.69 – p.2759-2764.

167. Korber B., Brander C., Haynes B., Koup R., Moore J., Walker B. HIV molecular immunology database. – Los Alamos National Laboratories, 1998, Los Alamos. N.M.
168. Kovalski M., Potz J., Basiripour L., Dorfman T., Goh W.C., Terwilliger E., Dayton A., Rosen C., Haseltine W., Sodroski J. // Science – 1987 – Vol.237 – p.1351-1355.
169. Kuppaswamy M., Subramanian T., Srivasan A., Chinnadurai G. // Nucl. Acids Res. - 1989 - Vol.17 - p.3551-3561.
170. Laspias M.F., Rice A.P., Mathews M.B. // Cell – 1989 – Vol.59 – p.283-292.
171. Lee S.J., Hu W., Fisher A.G., Looney D.J., Kao V.F., Mitsuya H., Ratner L., Wong-Staal F. // AIDS Res. Hum. Retroviruses – 1989 – Vol.5 – p.441-449.
172. Lee S.-F., Ko C.-Y., Wang C.-T., Chen S.-L. // J. Biol. Chem. – 2002 – Vol.277 – p.15363-15375.
173. Le Rouzic E., Mousnier A., Rustum C., Stutz F., Hallberg E., Dargemont C., Benichou S. // J. Biol. Chem. – 2002 – Vol.277 – p.45091-45098.
174. Levy J.A. HIV and the pathogenesis of AIDS. - 1994 - ASM Press, Washington, D.C. - 359 p.
175. Levy D.N., Fernandes L.S., Williams W.V., Weiner D.B. // Cell – 1993 – Vol.72 – p.541-550.
176. Li X., Quan Y., Wainberg M.A. // Cell. Mol. Biol. – 1997 – Vol.43 – p.443-454.
177. Liang C., Li X., Quan Y., Laughrea M., Kleiman L., Hiscott J., Wainberg M.A. // J. Mol. Biol. – 1997 – Vol.272 – p.167-177.
178. Liou H.C., Baltimore D. // Curr. Opin. Cell Biol. - 1993 - Vol.5 - p.477-487.
179. Liu Y.Z., Laichman D.S. // Biochem. J. – 1997 – Vol.322 – p.155-158.
180. Liu H., Wu X., Newman M., Shaw G.M., Hahn B.H., Kappes J.C. // J. Virol. – 1995 – Vol.69 – p.7630-7638.
181. Lodge R., Göttinger H.G., Gabuzda D., Cohen E.A., Lemay G. // J. Virol. – 1994 – Vol.68 – p.4857-4861.
182. Lodge R., Lalonde J.-P., Lemay G., Cohen E.A. // EMBO J. – 1997 – Vol.16 – p.695-705.
183. Loeb D.D., Hutchison C.A. 3rd, Edgell M.H., Farmerie W.G., Swanstrom R. // J. Virology – 1989 – Vol.63 – p.111-121.
184. Madani N., Kabat D. // J. Virol. – 2000 – Vol.72 – p.10251-10255.
185. Malim M.H., Cullen B.R. // Mol. Cell. Biol. – 1993 – Vol.13 – p.6180-6189.
186. Malim M.H., Tiley L.S., McCarn D.F., Rusche J.R., Hauber J., Cullen B.R. // Cell – 1990 – Vol.60 – p.675-683.

187. Mallardo M., Dragonetti E., Baldassarre F., Ambrosino C., Scala G., Quinto I. // J. Biol. Chem. – 1996 – Vol.271 – p.20820-20827.
188. Mammano F., Kondo E., Sodroski J., Bukovsky A., Göttinger H.G. // J. Virol. – 1995 – Vol.69 – p.3824-3830.
189. Margolis D.M., Somasundaran M., Green M.R. // J. Virol. – 1994 – Vol.68 – p.905-910.
190. Margottin F., Benichou S., Durand H., Richard V., Liu L.X., Gomas E., Benarous R. // Virology – 1996 – Vol.223 – p.381-386.
191. Marsh J.W. // Arch. Biochem. Biophys. – 1999 – Vol.365 – p.192-198.
192. Marzio G., Giacca M. // Genetica - 1999 - Vol.106 - p.125-130.
193. McCune J.M., Rabin L.B., Feinberg M.B., Lieberman M., Kosek J.C., Reyes G.R., Weissman IL. // Cell – 1988 – Vol.53 – p.55-67.
194. McKeating J.A., Willey R.L. // AIDS – 1989 – Vol.3 Suppl 1 - S35-S41.
195. Meggio F., D'Agostino D.M., Ciminale V., Chieco-Bianchi K., Pinna L.A. // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1996 – Vol.226 – p.547-554.
196. Meltzer M.S., Gendelman H.E. // Curr. Top. Microbiol. Immunol. – 1992 – Vol.181 – p.239-263.
197. Micoli K.J., Pan G., Wu Y., Williams J.P., Cook W.J., McDonald J.M. // J. Biol. Chem. – 2000 – Vol.275 – p.1233-1240.
198. Miller M.D., Warmerdam M.T., Gaston I., Green W.C., Feinberg M.B. // J. Exp. Med. – 1994 – Vol.179 – p.101-113.
199. Miller M.D., Warmerdam M.T., Page K.A., Feinberg M.B., Green W.C. // J. Virol. – 1995 – Vol.69 – p.579-584.
200. Minarovits J., Segesdi J., Kovacs Z., Foldes I. // Med. Hypothesis – 1987 – Vol.22 – p.27-33.
201. Moses A.V., Ibanez C., Gaynor R., Ghazal P., Nelson J.A. // J. Virol. – 1994 – Vol.68 – p.298-307.
202. Murakami T., Freed E.O. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 2000 – Vol.97 – p.343-348.
203. Naylor P. H., Naylor C.W., Badamchian M., Wada S., Goldstein A.L., Wang S.S., Sun D.K., Thornton A.H., Sarin P.S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 1987 – Vol. 84 – p.2951-1955.
204. Ochsenbauer C., Wilk T., Bosch V. // J. Gen. Virol. – 1997 – Vol.78 – p.627-635.
205. Öhagen A., Gabuzda D. // J. Virol. – 2000 – Vol.74 – p.11055-11066.
206. Ohno H., Aguilar R.C., Fournier M.C., Hennecke S., Cosson P., Bonifacino J.S. // Virology – 1997 – Vol.238 – p.305-315.
207. Okamoto T., Benter J., Josephs S.F., Sadaie M.R., Wong-Staal F. // Virology – 1990 – Vol.177 – p.606-614.
208. Ott D.E., Chertova E.N., Busch L.K., Coren L.V., Gagliardi T.D., Johnson D.G. // J. Virol. – 1999 – Vol.73 – p.19-28.

209.Ovod V., Lagerstedt A., Ranki A., Gombert F.O., Spohn R., Tahtinen W., Jung G., Krohn K.J. // AIDS - 1992 - Vol.6 - p.25-34.

210.Ozel M., Pauli G., Gelderblom H.R. // Arch. Virol. - 1988 - Vol.100 - p.255-266.

211.Pan Z., Radding W., Zhou T., Hunter E., Mountz J., McDonald J.M. // Am. J. Pathol. - 1996 - Vol.149 - p.903-910.

212.Pancio H.A., Ratner L. // J. Virol. - 1998 - Vol.72 - p.5271-5275.

213.Pancio H.A., Vander Heyden N., Ratner L. // J. Virol. - 2000 - Vol.74 - p.5162-6167.

214.Papsidero L.D., Sheu M., Ruscetti F.W. // Virology - 1989 - Vol.63 - p.267-272.

215.Parada C.A., Yoon J.B., Roeder R.G. // J. Biol. Chem. - 1995 - Vol.270 - p.2274-2283.

216.Patnaik A., Chau V., Wills J.W. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA - 2000 - Vol.97 - p.13069-13074.

217.Pavliakis G.N., Felber B.K. // New Biol. - 1990 - Vol.2 - p.20-31.

218.Peleg O., Brunak S., Trifonov E.N., Nevo E., Bolshoy A. // AIDS Res. Hum. Retroviruses - 2002 - Vol.18 - p.867-878.

219.Peng C., Ho B.K., Chang T.W., Chang N.T. // J. Virol. - 1989 - Vol.63 - p.2550-2556.

220.Perkins N.D., Agranoff A.B., Duckett C.S., Leung K., Rice N.R., Nabel G.J. // J. Virol. - 1994 - Vol.68 - p.6820-6823.

221.Peterlin B.M., Adams M., Alonso A., Baur A., Ghosh S., Lu X., Y.Luo. Tat trans-activator. - In: B.R.Cullen (ed), Human Retroviruses. - IRL Press, Oxford, UK - 1993 - p.74-96.

222.Piller S.C., Ewart G.D., Premkumar A., Cox G.B., Gage P.F. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA - 1996 - Vol.93 - p.111-115.

223.Piller S.C., Dubay J.W., Derdeyn C.A., Hunter E. // J. Biol. Chem. - 2000 - Vol.74 - p.11717-11723.

224.Planelles V., Jowett J.B., Li Q.X., Xie Y., Hahn B., Chen I.S. // J. Virol. - 1996 - Vol.70 - p.2516-2534.

225.Poli G., Bressler P., Kinter A., Duh E., Timmer W.C., Rabson A., Justement J.S., Stanley S., Fauci A.S. // J. Exp. Med. - 1990 - Vol.172 - p.151-158.

226.Pollard V.W., Malim M.H. The HIV-1 Rev protein. // Annu. Rev. Microbiol. - 1998 - Vol.52 - p.491-532.

227.Poon B., Grovit-Ferbas K., Stewart S.A., Chen I.S.Y. // Science - 1998 - Vol.281 - p.266-269.

228.Price D.H. // Mol. Cell. Biol. - 2000 - Vol.20 - p.2629-2634.

229.Rabbi M.F., Saifuddin M., Gu D.S., Kagnoff M.F., Roebuck K.A. // Virology - 1997 - Vol.233 - p.235-245.

230. Rabson A.B. The molecular biology of HIV infection: clues for possible therapy. / In: AIDS. Pathogenesis and treatment. Ed. by J.A. Levy. Marcel Dekker, Inc., New York & Basel, 1989, p.231-255.
231. Reddy E.P., Dasgupta P. // Pathobiology - 1992 - Vol.60 - p.219-224.
232. Rein A. // Arch. Virol. Suppl. - 1994 - Vol.9 - p.513-522.
233. Rittner K., Churcher M.J., Gait M.J., Karn J. // J. Mol. Biol. - 1995 - Vol.248 - p.562-580.
234. Rogel M.E., Wu L.L., Emerman M. // J. Virol. - 1995 - Vol.69 - p.882-888.
235. Roques B.P., Morellet N., de Rocquigny H., Demene H., Schueler W., Jullian N. // Biochimie - 1997 - Vol.79 - p.673-680.
236. Roshal M., Zhu Y., Planelles V. // Apoptosis - 2001 - p.103-116.
237. Roulston A., Lin R., Beauparlant P., Wainberg M.A., Hiscott J. // Microbiol. Rev. - 1995 - Vol.59 - p.481-505.
238. Rowell J.F., Stanhope P.E., Siliciano R.F. // J. Immunol. - 1995 - Vol.155 - p.473-488.
239. Ruben S., Perkins A., Purcell K., Joung K., Sia R., Burghoff B., Haseltine W.A., Rosen C.A. // J. Virol. - 1989 - Vol.63 - p.1-8.
240. Sakai H., Shibata R., Sakuragi J., Sakuragi S., Kawamura M., Adachi A. // J. Virol. - 1993 - Vol.67 - p.1663-1666.
241. Salzwedel K., Berger E.A. // Proc. Natl. Acad. Sci USA - 2000 - Vol.97 - p.12794-12799.
242. Sanders R.W., Vesanen M., Schuelke N., Master A., Schiffner L., Kalyanaram R., Paluch M., Berkhout B., Maddon P.J., Olson W.C., Lu M., Moore J.P. // J. Virol. - 2002 - Vol.76 - p.8875-8889.
243. Salzwedel K., Smith E.D., Dey B., Berger E.A. // J. Virol. - 2000 - Vol.74 - p.326-333.
244. Sawaya B.E., Khalili K., Mercer W.E., Denisova L., Amini S. // J. Biol. Chem. - 1998 - Vol.273 - p.20052-20057.
245. Schaeffer E., Geleziunas R., Green W.C. // J. Virol. - 2001 - Vol.75 - p.2993-3000.
246. Schubert U., Strebel K. // J. Virol. - 1994 - Vol.68 - p.2260-2271.
247. Schubert U., Henklein P., Boldyreff B., Wingender E., Strebel K., Porstmann T. // J. Mol. Biol. - 1994 - Vol.236 - p.16-25.
248. Schubert U., Bour S., Ferrer-Montiel A.V., Montal M., Maldarelli F., Strebel K. // J. Virol. - 1996 - Vol.70 - p.809-819.
249. Schwartz S., Felber B.K., Pavlakis G.N. // Virology - 1991 - Vol.183 - p.677-686.
250. Selig L., Pages J.C., Tanchou V., Preveral S., Berlioz-Torrent C., Liu LX., Erdtmann L., Darlix J., Benarous R., Benichou S. // J. Virol. - 1999 - Vol.73 - p.592-600.
251. Shavova N.R., Ourybayer L.U., Bukrinskaya A.G. / 6 international conference on AIDS, San Francisco, USA - 1990 - p.76.

252. Shehu-Xhilaga M., Crowe S.M., Mak J. // J. Virol. - 2001 - Vol. 75 - p. 1834-1841.
253. Sova P., Volsky D. // J. Virol. - 1993 - Vol. 67 - p. 6322-6326.
254. Spearman P., Wang J.J., Vander Heyden N., Ratner L. // J. Virol. - 1994 - Vol. 68 - p. 3232-3242.
255. Speck R.F., Esser U., Penn M.L., Eckstein D.A., Pulliam L., Chan S.Y., Goldsmith M.A. // Curr. Biol. - 1999 - Vol. 9 - p. 547-550.
256. Spina C.A., Kwok T.J., Chowder M.Y., Guatelli J.C., Richman D.D. // J. Exp. Med. - 1994 - Vol. 179 - p. 115-123.
257. Srinivasakumar N., Hammarskjöld M.-L., Rekosh D. // J. Virol. - 1995 - Vol. 69 - p. 6106-6114.
258. Stade K., Ford C.S., Guthrie C., Weis K. // Cell - 1997 - Vol. 90 - p. 1041-1050.
259. Stark L.A., Hay R.T. // J. Virol. - 1998 - Vol. 72 - p. 3037-3040.
260. Stevenson M., Stanwick T.L., Dempsey M.P., Lamonica C.A. // EMBO J. - 1990 - Vol. 9 - p. 1551-1560.
261. Stewart S.A., Poon B., Jowett J.B., Chen I.S. // J. Virol. - 1997 - Vol. 71 - p. 5579-5592.
262. Sune C., Garcia-Blanco M. // J. Virol. - 1995 - Vol. 69 - p. 6572-6576.
263. Swanstrom R., Wills J.W. In: Coffin J.M., Hughes S.H., and Varmus H.E. (ed.). *Retroviruses*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. - 1997 - p. 263-334.
264. Swingle S., Gallay P., Camau D., Song J., Abo A., Trono D. // J. Virol. - 1997 - Vol. 71 - p. 4372-4377.
265. Szilvay A.M., Brokstad K.A., Kopperud R., Haukenes G., Kalland K.H. // J. Virol. - 1995 - Vol. 69 - p. 3315-3323.
266. Taube R., Fujinaga K., Wimmer J., Barboric M., Peterlin B.M. // Virology - 1999 - Vol. 264 - p. 245-253.
267. Thea D.M., Porat R., Nagimbi K., Baangi M., St Louis M.E., Kaplan G., Dinarello C.A., Keusch G.T. // Ann. Intern. Med. - 1996 - Vol. 124 - p. 757-762.
268. Tong-Starksen S.E., Luciw P.A., Peterlin B.M. // J. Cell. Biochem. - 1989 - Vol. 138, Suppl. 1 - p. 262-264.
269. Travis A., Amsterdam A., Belanger C., Grosschedl R. // Genes Dev. - 1991 - Vol. 5 - p. 880-894.
270. Tristem M., Marshall C., Karpas A., Hill F. // EMBO J. - 1992 - Vol. 11 - p. 3405-3412.
271. Trkola A., Dragic T., Arthos J., Binley J.M., Olson W.C., Allaway G.P., Cheng-Mayer C., Robinson J., Maddon P.J., Moore J.P. // Nature - 1996 - Vol. 384 - p. 184-187.
272. Trono D. // Cell - 1995 - Vol. 82 - p. 182-192.
273. Vaishnav Y.N., Wong-Staal F. // Annu. Rev. Biochem. - 1991 - Vol. 60 - p. 577-630.

274. Vicenzi E., Poli G. // J. Leukocyte Biol. – 1994 – Vol.56 – p.328-339.
275. Vodicka M.A., Koeppe D.M., Silver P.A., Emerman M. // Genes Dev. – 1998 – Vol.12 – p.175-185.
276. von Schwedler U., Song J., Aiken C., Trono D. // J. Virol. – 1993 – Vol.67 – p.4945-4955.
277. Wang C.T., Barklis E. // J. Virol. – 1993 – Vol.67 – p.4264-4273.
278. Wang L., Mukherjee S., Jia F., Narayan O., Zhao L.J. // J. Biol. Chem. – 1995 – Vol.270 – p.25564-25569.
279. Webster G.A., Perkins N.D. // Mol. Cell. Biol. – 1997 – Vol.19 – p.3485-3495.
280. Weissenhorn W., Dessen A., Calder L.J., Harrison S.C., Skehel J.J., Wiley D.C. // Mol. Membr. Biol. – 1999 – Vol.16 – p.3-9.
281. Weldon R.A., Jr., Wills J.W. // J. Virol. – 1993 – Vol.67 – p.5550-5561.
282. Willey R.L., Bonifacino J. S., Potts B.J., Martin M.A., Klausner R.D. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 1988 – Vol.85 – p.9580-9584.
283. Willey R.L., Maldarelli F., Martin M., Strebel K. // J. Virol. – 1992 – Vol.66 – p.7193-7200.
284. Wolff B., Cohen G., Hauber J., Meshcheryakova D., Rabeck C. // Exp. Cell. Res. – 1995 – Vol. 217 – p.31-41.
285. Wong-Staal F., Haseltine W.A. // Mol. Gen. Med. – 1992 – Vol.2 – p.189-219.
286. Wu X., Conway J.A., Kim J., Kappes J.C. // J. Virol. – 1994 – Vol.68 – p.6161-6169.
287. Wu L., Gerard N.P., Wyatt R., Choe H., Parolin C., Ruffing N., Borsetti A., Cardoso A.A., Desjardin E., Newman W., Gerard C., Sodroski J. // Nature – 1996 – Vol.384 – p.179-183.
288. Wyatt R., Sodroski J. // Science – 1998 – Vol.280 – p.1884-1888.
289. Xiao H., Lis J.T., Jeang K.T. // Mol. Cell. Biol. – 1997 – Vol.17 – p.6898-6905.
290. Yoon J.B., Li G., Roeder R.G. // Mol. Cell. Biol. – 1994 – Vol.17 – p.1776-1785.
291. Yu X., Yuan X., McLane M.F., Lee T.-H., Essex M. // J. Virol. – 1993 – Vol.67 – p.213-221.
292. Yu X., Yuan X., Matsuda Z., Lee T.-H., Essex M. // J. Virol. – 1992 – Vol.66 – p.4966-4971.
293. Yu X.F., Dawson L., Tian C.J., Flexner C., Dettenhofer M. // J. Virol. – 1998 – Vol.72 – p.3412-3417.
294. Zack J.A., Arrigo S.J., Weitsman S.R., Go A.S., Haislip A., Chen I.S. // Cell – 1990 – Vol.61 – p.231-222.
295. Zawel L., Reinberg D. // Annu. Rev. Biochem. – 1995 – Vol.64 – p.533-561.