

Desarrollo de fármacos antirretrovirales: estudios de la interacción de ligandos con la proteína de la cápside del VIH-1

Zoraima Arúa¹, Ana Clara Segovia¹, Maximiliano Granzella¹, Christophe Guillot², Xavier Robert², Ha Truong³, Guzmán Álvarez¹, Ileana Corvo¹, Lía Randall¹

¹ Laboratorio de I+D de Moléculas Bioactivas, Departamento de Ciencias Biológicas, CENUR Litoral Norte, Universidad de la República, Paysandú, CP 60000, Uruguay (zartia@cup.edu.uy)
² Equipe Rétrovirus et Biochimie Structurale, Institut de Biologie et Chimie des Protéines, Lyon, Francia.
³ Atomwise Inc., San Francisco, USA

1. Introducción

- El VIH afecta 38 millones de personas en el mundo y se ha descrito el fracaso terapéutico debido a la resistencia a múltiples fármacos^{1,2,3}
- La cápside del VIH está formada por el ensamblaje de una única proteína vírica (CA), crucial para la replicación y la infectividad del virus⁴
- Trabajamos en el desarrollo y caracterización de moléculas capaces de interaccionar con la CA o interferir con la multimerización de la CA-NC como potenciales fármacos antirretrovirales.
- Se realizó un *screening* virtual masivo (Atomwise) con inteligencia artificial que identificó 84 moléculas que interaccionan con una región conservada en la interfase entre monómeros de la CA.⁵

2. Objetivos

Profundizar en el estudio de los compuestos que alteran la multimerización de la cápside de VIH *in vitro*.

- Evaluar el efecto de los compuestos en la multimerización *in vitro* de la CA-NC.
- Estudiar la interacción de los compuestos con la proteína de la cápside mediante termoforesis a microescala utilizando la proteína CA *wild type* (CAwt) y una CA mutante (CAmut) resistente a Lenacapavir.
- Evaluar la actividad de los compuestos en un modelo *in cellulo* de infección por VIH.
- Trabajar en la elucidación de la naturaleza de la interacción mediante *docking* molecular

3. Docking molecular

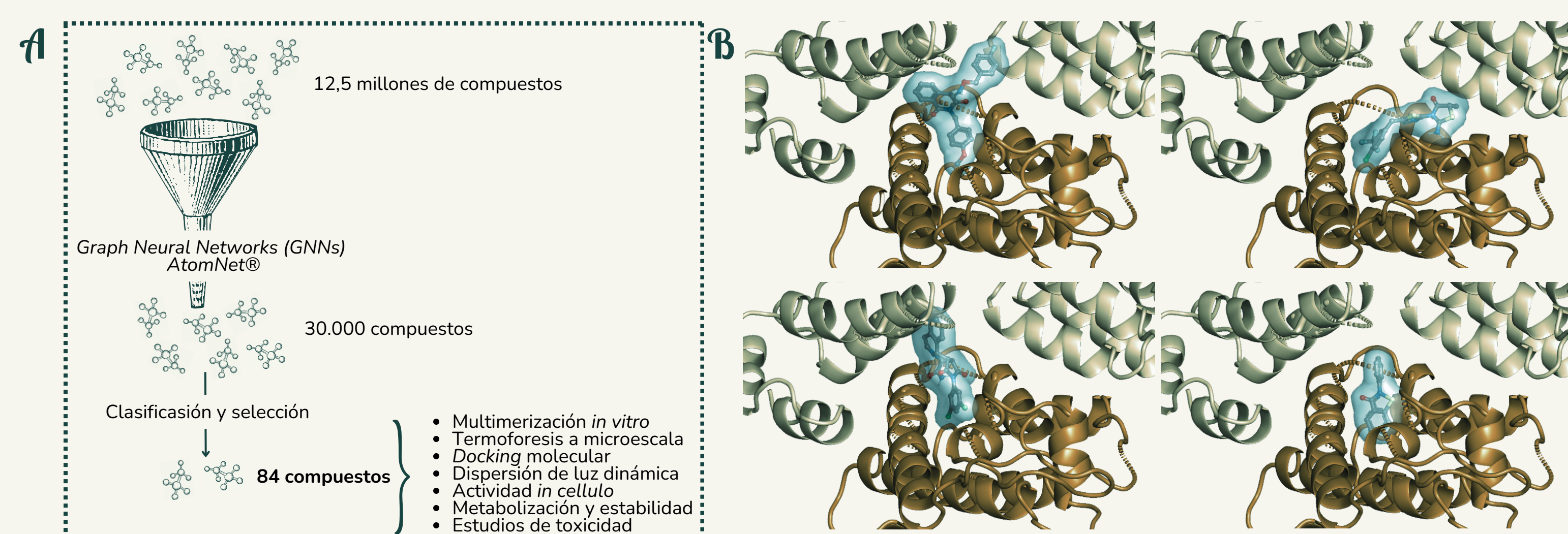


Figura 1. (A) Para el sitio altamente conservado seleccionado, la red neuronal analizó las coordenadas tridimensionales de cada complejo proteína-ligando, se seleccionaron 30.000 ligandos que se clasificaron garantizando diversidad y seleccionaron los compuestos con mayor puntuación de cada grupo, 84 en total. (B) Se utilizó la estructura cristalina de la proteína nativa de la cápside del VIH-1 de longitud completa en complejo con PF74 PDB 4XFZ para reconstruir la estructura del hexámero completo. A continuación, se conservaron dos monómeros adyacentes (denominados A y B) y se utilizaron como primer objetivo. Se puede observar que los diferentes compuestos adoptan distintos posicionamientos en la estructura.

4. Ensayo de multimerización

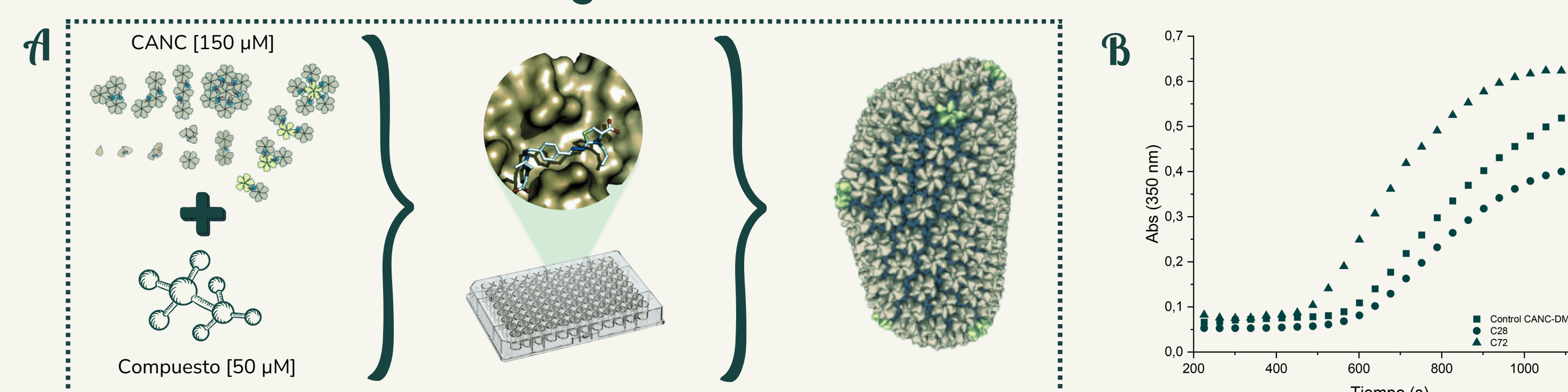


Figura 2. (A) Se realizó *in vitro* en buffer fosfato de sodio 50 mM, pH 8,2. Se midió Abs a 350 nm cada 30 s a 42°C. Los compuestos se ensayaron a dosis fijas (0,5% DMSO) y se realizaron dos controles con la proteína en 0,5% DMSO y CANC sin DMSO. (B) Ejemplo de gráfico de Abs a 350 nm en función del tiempo, la pendiente de la porción lineal de las curvas se utilizó para calcular el porcentaje de alteración con la fórmula: % de alteración = pendienteCompuesto * 100 / pendienteControl, obteniendo un valor positivo o negativo para compuestos que aceleran (C72) o reducen (C28) la velocidad de multimerización de CANC, respectivamente.

