



Bioinformatics Study of HIV-1 Integrase Gene Sequences in Iranian Patients

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Hasanshahi Z.¹ MSc,
Dehghani B.¹ PhD,
Hashempour T.^{*1} PhD

How to cite this article

Hasanshahi Z, Dehghani B, Hashempour T. Bioinformatics Study of HIV-1 Integrase Gene Sequences in Iranian Patients. Pathobiology Research. 2020;23(2):57-65.

ABSTRACT

Aims Many inhibitors have been introduced for the treatment of HIV-1 infections; however, most of these efforts have been failed due to the presence of resistant strains. The purpose of the current study was to investigate the treatment-resistance mutations in the HIV virus integrase gene and the effect of these mutations on the structure, function, and physical and chemical properties of this enzyme using bioinformatics software.

Materials & Methods 36 HIV-1 integrase sequences from Iranian patients were obtained from the NCBI Genbank. After determining the mutations compared to the reference sequence, its post-modification and physical and chemical properties were described. Sequences subtypes, as well as the second and third structures, and possible interactions of this enzyme with the main inhibitors of the integrase were examined.

Findings The analysis of selected sequences indicated a number of mutations in this protein. The subtype of most of the samples was A1 and the results of the analysis of the interaction showed that the mutations in the samples had no significant effect on the interaction of inhibitors with the integrase enzyme.

Conclusion The binding site of these inhibitors is often found in the catalytic domain of integrase enzyme, and the results of this study depicted that most mutations were located outside this region, and this may be the main reason for the failure of these mutations to affect the interaction of inhibitors and integrase enzyme. Generally, the findings of this study suggest that anti-HIV inhibitors of HIV-1 can be used as an effective way to control this disease for Iranian patients.

Keywords HIV-1; Integrase; Inhibitors; Bioinformatics; Drug Resistance

¹Shiraz HIV/AIDS Research Center, Institute of Health, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

*Correspondence

Address: Shiraz HIV/AIDS Research Center, Institute of Health, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.
Phone: +98 (71) 37386272
Fax: +98 (71) 37386272
thashem@sums.ac.ir

Article History

Received: December 25, 2019

Accepted: June 10, 2020

ePublished: July 20, 2020

CITATION LINKS

[1] HIV-1 protease: Mechanism ... [2] Knowledge and awareness regarding ... [3] HIV/AIDS knowledge and attitude ... [4] Subtype classification by polymerase ... [5] HIV assays: Operational characteristics ... [6] Whiskers-less HIV-protease: a possible ... [7] Repair of gaps in retroviral DNA ... [8] HIV integrase, a brief overview ... [9] Critical contacts between HIV-1 ... [10] Sequence specificity of viral end DNA ... [11] Association of mutations in the ... [12] HIV capsid and protease, new targets ... [13] The possible regions to design Human ... [14] Evaluating drug resistant mutations ... [15] Antibody development to HCV alternate ... [16] In silico functional and structural ... [17] Molecular epidemiology of HIV type ... [18] Interaction of human herpesvirus ... [19] Bioinformatics analysis of domain ... [20] Using immunoinformatics and structural ... [21] expasy.org ... [22] dabi.temple.edu ... [23] cbs.dtu.dk ... [24] imtech.res.in ... [25] cbs.dtu.dk ... [26] clavius.bc.edu ... [27] Functional and structural characterization of ... [28] Prabi-Gerland Rhone-Alpes Bioinformatic ... [29] zhanglab. I-TASSER ... [30] zhanglab. TM-align ... [31] hivdb.stanford.edu ... [32] Broad antiretroviral activity and resistance ... [33] The HIV-1 integrase E157Q polymorphism ... [34] Retroviral integrase structure and DNA ... [35] Structure and function of HIV-1 ... [36] Non-enzymatic functions of retroviral ... [37] Retroviral integrase protein and intasome ... [38] Subtype classification of Iranian HIV-1 ... [39] Assessing subtype and drug-resistance-associated ... [40] Expression and purification of active form ... [41] Cloning, expression and purification ... [42] Expression of HIV-1 integrase ... [43] Functional interactions of human ... [44] Chromosomal integration of LTR ... [45] Expression of functional HIV-1 integrase ... [46] Expression of HIV-1 integrase in CEM ...

بررسی بیوانفورماتیکی توالی ژن اینتگرز ویروس‌های HIV-1 در بیماران ایرانی

زهرا حسن‌شاهی MSc

مرکز تحقیقات ایدز شیراز، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

بهزاد دهقانی PhD

مرکز تحقیقات ایدز شیراز، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

طیبه هاشم‌پور* PhD

مرکز تحقیقات ایدز شیراز، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

چکیده

اهداف: مهارکننده‌های متعددی برای مهار ویروس HIV-1 معرفی شده‌اند ولی به علت وجود نمونه‌های مقاوم به درمان اکثر این تلاش‌ها بی‌نتیجه مانده است. هدف از مطالعه حاضر نیز بررسی موتاسیون‌های مقاومت به درمان در ژن اینتگرز ویروس ایدز و تاثیر این موتاسیون‌ها بر ساختار، عملکرد و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی این آنزیم با استفاده از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی بود. **مواد و روش‌ها:** ۳۶ توالی مربوط به ژن اینتگرز ویروس HIV-1 در بیماران ایرانی، از بانک ژنی NCBI دریافت شد و پس از تعیین موتاسیون‌ها در مقایسه با توالی مرجع، تغییرات پس‌ترجمه‌ای و خواص فیزیکی و شیمیایی آن مشخص شد. ساب‌تایپ توالی‌ها و همچنین ساختار دوم و سوم و برهم‌کنش‌های ممکن این آنزیم با مهارکننده‌های اصلی اینتگرز بررسی شد. **یافته‌ها:** بررسی توالی‌های انتخاب‌شده نشان‌دهنده موتاسیون‌های متعددی در این پروتئین بود. ساب‌تایپ غالب نمونه‌های مورد بررسی A1 بود و نتایج برهم‌کنش‌ها نشان داد موتاسیون‌های موجود در نمونه‌ها هیچ‌گونه تاثیر معنی‌داری بر برهم‌کنش مهارکننده‌ها با آنزیم اینتگرز ندارند. **نتیجه‌گیری:** درمیان کاتالیتیک آنزیم اینتگرز محل اتصال اغلب مهارکننده‌های این آنزیم است که اغلب موتاسیون‌ها در ناحیه‌ای خارج از این درمیان قرار گرفته‌اند و این موضوع می‌تواند دلیل اصلی عدم تاثیر این موتاسیون‌ها بر برهم‌کنش مهارکننده‌ها و آنزیم اینتگرز باشد. به‌صورت کلی یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که مهارکننده‌های اینتگرز می‌توانند به‌عنوان روش موثری به‌منظور مهار این بیماری برای بیماران ایرانی استفاده شوند. **کلیدواژه‌ها:** HIV-1، مهارکننده‌ها، اینتگرز، بیوانفورماتیک، مقاومت دارویی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۱

*نویسنده مسئول: thashem@sums.ac.ir

مقدمه

ویروس HIV-1 از خانواده ویروس‌های رتروویریده است که در بدن انسان لنفوسیت‌های T سیستم ایمنی را مورد حمله قرار می‌دهد و موجب تضعیف آن می‌شود که احتمال ابتلا به عفونت‌های فرصت‌طلب و سرطان‌های متفاوت را زیاد می‌کند و توانسته بیش از ۳۰ میلیون نفر در جهان را آلوده کند، درنتیجه باعث مرگ‌ومیر مبتلایان به این بیماری می‌شود [1-3].

اطلاعات ژنتیکی ویروس HIV-1 به‌صورت دو رشته RNA تک‌رشته‌ای با طول تقریبی ۹/۲ کیلو باز است که از سه ژن اصلی *gag*، *env* و *pol* تشکیل شده است [4]. این ژن‌ها مسئول ساخت پروتئین‌های ساختاری و عملکردی مورد نیاز ویروس هستند.

محصولات ژن *pol* عبارتند از ترانسکریپتاز معکوس، اینتگرز و پروتئاز که وظیفه هر کدام به ترتیب تبدیل ریبونوکلیک‌اسید به دئوکسی‌ریبونوکلیک‌اسید، الحاق ماده ژنتیکی ویروس به ماده ژنتیکی انسان و پردازش رشته پروتئینی ویروس به پروتئین‌های بالغ است [1, 5, 6].

این سه آنزیم برای همانندسازی ویروس ضروری هستند، به‌طوری که یکی از مراحل مهم در تکثیر ویروس HIV-1 ادغام ژنوم ویروس در ژنوم میزبان است که شامل سه مرحله پردازش انتهایی ۳'، انتقال رشته DNA و ترمیم بخش‌های تک‌رشته‌ای است که تمامی این مراحل به واسطه آنزیم اینتگرز و آنزیم‌های سلول میزبان صورت می‌گیرد [7, 8].

آنزیم اینتگرز، p31، یک پروتئین ۳۱ کیلودالتونی است که شامل ۲۸۸ آمینواسید است. این آنزیم در ساختار فضایی خود سه دمین دارد. اولین دمین، دمین انتهایی آمینی نامیده می‌شود که شامل اسیدآمینه ۱ تا ۴۷ و موتیف حفاظت‌شده HHCC است. دمین این پروتئین درواقع دمین مرکزی کاتالیتیک و شامل اسیدآمینه‌های ۵۹ تا ۲۰۲ است. در نهایت سومین دمین، دمین انتهایی کربوکسیل نامیده می‌شود و در بین دمین‌های دیگر، کمترین حفاظت‌شدگی را دارد و شامل اسیدآمینه‌های ۲۲۳ تا ۲۷۰ است [9, 10].

پروتئین اینتگرز برای عملکرد خود نیاز به ادغام با دیگر اجزای ویروسی دارد که همراه با پروتئین‌های ماتریکسی و پروتئین R مجموعه‌ای به نام مجموعه ادغام‌شونده را تشکیل می‌دهند. این مجموعه به وسیله پروتئین اینتگرز به دو پروتئین به نام ایمپورتین آلفا و بتا متصل می‌شود که درنتیجه باعث امکان ورود این مجموعه به داخل سلول می‌شوند. در محیط هسته cDNA با استفاده از ۴ تا ۶ نوکلئوتید انتهایی خود به‌صورت حلقوی درمی‌آید و توسط آنزیم اینتگرز به‌صورت تصادفی وارد ژنوم می‌شود که در این حالت به آن پرووایروس اطلاق می‌شود. مرحله ادغام‌شدن یکی از مراحل کلیدی و بسیار ضروری در سیکل زندگی ویروس HIV است.

مطالعات اخیر، چندین دارو با عملکردهای مختلف را برای مهار ویروس HIV-1 پیشنهاد داده‌اند که از جمله داروهای مهارکننده نوکلئوزیدی رونوشت‌بردار معکوس (Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor)، مهارکننده‌های پروتئاز (Protease inhibitors)، مهارکننده غیرنوکلئوزیدی رونوشت‌بردار معکوس (Non- Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor)، مهارکننده ورود (Entry inhibitor)، مهارکننده‌های اینتگرز (Integrase inhibitors) هستند که از میان آنها داروهای مهارکننده اینتگرز با مهارکردن آنزیم اینتگرز باعث کاهش تقسیمات ویروس HIV-1 می‌شوند که این داروها شامل بیکتگراویر، دولوتگراویر، الویتگراویر و رالتگراویر هستند. با مصرف این داروها، به‌سرعت مقاومت بالایی به آن پیدا شد که دلیل این مقاومت‌ها را می‌توان به تغییر در توالی ژنی آنزیم اینتگرز نسبت داد.

یک موجود زنده و همچنین آب‌دوستی و آب‌گریزی بودند، مورد بررسی قرار گرفتند.

پیش‌بینی جایگاه‌های پیوند دی‌سولفید و تغییرات پس از ترجمه
از سایت‌های DISPHOS [22] و NetPhos [23] برای پیش‌بینی فسفوریلاسیون توالی‌های مورد نظر استفاده شد. ابتدا توالی اسیدآمینه در نرم‌افزارها ثبت شد، سپس از انواع ارگانیزم‌های مورد بررسی ویروس انتخاب شد و امتیاز بالاتر از سه دهم به‌عنوان نتیجه نهایی در نظر گرفته شد.

سایت‌های GlycoEP [24] و NetNGlyc [25] برای پیش‌بینی N-گلیکوزیلاسیون به کار گرفته شدند. برای تعیین جایگاه‌ها ابتدا توالی اسیدآمینه پروتئین اینتگرز به‌صورت FASTA در نرم‌افزارها ثبت شد. سپس جایگاه‌های بالاتر از امتیاز ۰/۳۲ به‌عنوان جایگاه‌های نهایی انتخاب شدند.

در نهایت از سایت DiANNA [26] برای پیش‌بینی پیوند دی‌سولفید استفاده شد. ابتدا توالی اسیدآمینه در این سایت ثبت شد و در نهایت جایگاه‌های پیوند با امتیاز بالاتر به‌عنوان نتایج نهایی انتخاب شدند.

پیش‌بینی ساختار دوم و ساختار سوم پروتئین
از نرم‌افزار آنالین SOPMA برای تعیین ساختار دوم پروتئین اینتگرز استفاده شد [27, 28]. پس از ثبت توالی، چهار حالت تطابقی و همچنین آستانه تشابه برابر با هشت برای تعیین ساختار انتخاب شدند.

از نرم‌افزار I-TASSER که به‌عنوان معتبرترین نرم‌افزار تعیین ساختار سوم مطرح است، استفاد شد [29]. پس از ثبت توالی اسیدآمینه نتایج به‌صورت ایمیل ارسال شد. از میان نتایج پیشنهادشده، نتایج با C-score مثبت‌تر انتخاب و به‌صورت فرمت PDB ذخیره شد.

تجزیه و تحلیل داکینگ
برهم‌کنش بین پروتئین اینتگرز و داروهای مورد نظر از طریق برنامه 0.5 HEX docking مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا ساختار داروهای بیکتگراویر، دولوتگراویر، الویتگراویر و رالتگراویر به‌صورت PDB از بانک دارویی drugbank.ca دریافت شد. سپس برهم‌کنش داروها و ساختار نهایی پیشنهادشده توسط نرم‌افزار I-TASSER با استفاده از نرم‌افزار HEX docking انجام شد. پارامترهای مورد استفاده در این نرم‌افزار به‌صورت زیر است:

بررسی هم‌ترازی
به‌منظور بررسی تأثیر موتاسیون‌های ساختار پروتئین اینتگرز ابتدا با در نظر گرفتن موتاسیون‌های اصلی توالی موتانت ساخته شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار I-TASSER ساختار سوم موتانت ساخته شد و در نهایت تشابه این ساختار با ساختار اصلی پروتئین اینتگرز با استفاده از TM-align [30] مورد بررسی قرار گرفت.

تعیین سابتایپ
تمامی سکانس‌ها از طریق سایت hivdb.stanford تعیین سابتایپ شدند [31]. ابتدا توالی پروتئین اینتگرز تمام نمونه‌های

در چند سال اخیر از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی برای تجزیه و تحلیل داده‌های بیولوژی استفاده می‌شود که این نرم‌افزارها پیش‌بینی و تحلیل‌های موثری را در ارتباط با ژنوم و پروتئین ویروس‌های مختلف و ابزارهای مناسبی برای طراحی واکسن‌های نو ترکیب ارائه داده‌اند [11-16]. هدف از مطالعه حاضر، استفاده از این نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی برای بررسی تأثیر مهارکننده‌های پروتئین اینتگرز ویروس HIV-1 است و همچنین به بررسی ساختارهای سه‌بعدی پروتئین اینتگرز و نوع موتانت (توالی دارای بیشترین جهش‌های موجود در سکانس‌های مورد مطالعه) پرداخته شد و تأثیر جهش‌های موجود در توالی آنها بر ساختار سه‌بعدی و برهم‌کنش بین مهارکننده‌ها و توالی‌های جهش‌یافته مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تجزیه و تحلیل توالی

۳۵ توالی اینتگرز مربوط به بیماران ایران تا سال ۲۰۱۴ از بانک ژنی NCBI به‌صورت فرمت FASTA دریافت شد و مورد بررسی قرار گرفت. یک توالی نیز با شش جهش اصلی طراحی و به‌عنوان توالی موتانت در نظر گرفته شد (جدول ۱).

جدول ۱) شماره بانک ژنی توالی‌های اینتگرز بررسی‌شده

شماره‌های ثبت‌شده	
KF550051.1	KF550014.1
KF550050.1	KF550013.1
KF550049.1	KF550040.1
KF550048.1	KF550041.1
KF550047.1	KF550031.1
KF550046.1	KF550030.1
KF550045.1	KF550029.1
KF550044.1	KF550028.1
KF550043.1	KF550027.1
KF550042.1	KF550026.1
KF550022.1	KF550025.1
KF550021.1	KF550024.1
KF550020.1	KF550023.1
KF550019.1	KF550032.1
KF550018.1	KF550038.1
KF550017.1	KF550039.1
KF550016.1	KF550015.1
	KF550052.1

برای مقایسه توالی‌های مورد بررسی از توالی با شماره دسترسی AB703615 به‌عنوان توالی مرجع استفاده شد. این توالی به‌صورت ژنوم کامل توسط جهان‌بخش و همکاران [17] در سال ۲۰۱۳ در بانک ژنی ثبت شده است.

تغییرات فیزیکی و شیمیایی

تغییرات فیزیکی و شیمیایی پروتئین‌های مورد بررسی با استفاده از سایت Protparam انجام شد [18-21]. ابتدا توالی آمینواسید پروتئین اینتگرز در این سایت ثبت شد و سپس ویژگی‌های مورد نظر که شامل نقطه ایزوالکتریک (pI) پروتئین‌ها، پایداری آنها در برابر حرارت (شاخص آلفاتیک)، پایداری در لوله آزمایش و در بدن

PH ایزوالکتریک (pI) پروتئین اینتگرز یک پپتید تقریباً اسیدی و موتانت نیز خنثی است (جدول ۳).

نتایج بررسی فسفریله‌شدن آمینواسیدهای سرین، ترئونین و تیروزین موجود در توالی‌های مورد مطالعه و همچنین مناطق گلیکوزیلاسیون در جدول ۴ نشان داده شد. نتایج پیش‌بینی نشان داد که موتاسیون‌ها تأثیری بر قندشدن پروتئین ندارند ولی وجود موتاسیون در جایگاه شماره ۱۷ مانع از فسفریله‌شدن آن شده است. از طریق سایت‌های SCRATCH و DiANNA وجود باندهای دی‌سولفیدی در پروتئین‌ها پیش‌بینی شد و داده‌ها نشان داد که وجود موتاسیون‌ها تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر جایگاه‌های ایجاد باند دی‌سولفیدی دارد (جدول ۴).

برای بررسی ساختار دوم پروتئین از داده‌های برنامه SOPMA استفاده شد (جدول ۵). تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بیشترین ساختارهای پروتئین اینتگرز به ترتیب آلفاهلیکس و رندوم کوئل هستند و همچنین موتاسیون‌های موجود تأثیر چندانی بر ساختار دوم پروتئین نداشته است.

جدول ۳) نتایج Protparam پروتئین اینتگرز و موتانت

PROTPARAM	توالی حاوی جهش	توالی مرجع
تعداد اسیدآمینه	۲۸۸	۲۸۸
وزن مولکولی	۳۲۲۸۵/۸۷	۳۲۲۶۹/۸۷
pI	۷/۲۱	۷/۷۵
نیمه‌عمر		
رتیکولوسیت‌های پستانداران (در شیشه)	یک ساعت	یک ساعت
مخمر (در محیط زنده)	۳ دقیقه	سه دقیقه
اشریشیا کلی (در محیط زنده)	۲ دقیقه	۲ دقیقه
شاخص پایداری	۳۳/۳	۳۳/۷۲
شاخص آلفاتیک	۸۲/۶۴	۸۲/۲۹
شاخص آب‌گریزی	-۰/۳۹۵	-۰/۴۰۱

جدول ۴) جایگاه‌های تحت تأثیر فرآیندهای پس‌ترجمه‌ای

فرآیندها	توالی حاوی جهش	توالی مرجع
فسفوریل‌اسیون		
سرین	۱۷، ۵۷ و ۲۳۰	۵۷ و ۲۳۰
ترئونین	۹۳	۹۳
تیروزین	۱۵، ۸۳ و ۹۹	۱۵، ۸۳ و ۹۹
گلیکوزیلاسیون	۱۱۷ و ۱۲۰	۱۱۷ و ۱۲۰
باندهای دی‌سولفید	۴۰ و ۵۶؛ ۴۳ و ۶۵	۶۵ و ۵۶؛ ۱۳۰ و ۲۸۰

جدول ۵) ساختارهای دوم پروتئین اینتگرز و موتانت مشخص‌شده از طریق برنامه SOPMA

ساختارها	توالی حاوی جهش (درصد)	توالی مرجع (درصد)
آلفاهلیکس	۳۷/۸۵	۳۹/۵۸
رشته‌متد (Extende strand)	۱۶/۶۷	۱۵/۶۲
دور بتا	۷/۶۴	۶/۹۴
رندوم کوئل	۳۷/۸۵	۳۷/۸۵

انتخاب‌شده به فرمت FASTA در این سایت ثبت شد. ساب‌تایپ پیشنهادشده و همچنین حساسیت دارویی هر توالی مورد بررسی قرار گرفت.

ساختار تمام پروتئین‌ها و داروهای مورد بررسی از طریق نرم‌افزار Discovery Studio 2017 R2 Client مورد بررسی قرار گرفت. همچنین برای تعیین اسیدآمینه‌های درگیر در جایگاه اتصال داروها و پروتئین اینتگرز از این نرم‌افزار استفاده شد.

یافته‌ها

تغییرات آمینواسیدها

توالی آمینواسیدی در مقایسه با رفرنس در نظر گرفته‌شده، چندین جایگزینی در پروتئین اینتگرز را نشان می‌دهد که در جدول ۲ قرار داده شده است.

بیشترین شیوع موتاسیون در پروتئین اینتگرز به ترتیب مربوط به جایگاه‌های I 45 L، V 135 I، K 14 R، Q 35 E، N 134 S و N 134 G است.

جدول ۲) تغییرات آمینواسیدها در پروتئین اینتگرز

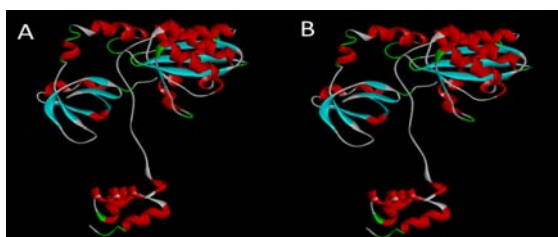
موتاسیون	فراوانی	موتاسیون	فراوانی	موتاسیون	فراوانی
D 6 E	۸	I 45 L	۲۸	S 195 C	۱
K 7 R	۱	M 50 I	۱	I 203 M	۴
E 11 D	۶	M 60 I	۳	I 208 L	۱
K 14 R	۲۰	V 72 I	۳	K 211 R	۴
S 17 T	۲	L 74 I	۲	E 212 I	۱
S 17 N	۱	A 91 V	۱	E 212 A	۱
A 21 T	۲	K 111 R	۱	Q 216 H	۳
A 23 S	۲	V 112 I	۱	Q 216 N	۱
A 23 V	۱	V 112 T	۱	I 220 J	۱
S 24 G	۱	S 119 T	۱	I 220 V	۲
N 27 S	۱	A 124 T	۲	N 222 K	۲
L 28 I	۲	F 126 V	۵	S 230 N	۲
L 28 J	۱	K 127 N	۲	L 234 V	۲
V 31 I	۲	N 134 G	۱۱	L 234 J	۱
V 32 I	۷	N 134 S	۱۷	L 234 I	۱
A 33 S	۱	V 135 I	۲۷	K 240 R	۱
Q 35 E	۱۹	Q 136 K	۱	N 254 R	۱
Q 35 Z	۴	Q 136 Z	۱	D 256 E	۱
A 38 K	۱	Q 137 H	۲	D 278 B	۱
N 39 S	۶	Q 137 L	۱	G 283 S	۷
N 39 C	۲	F 139 Y	۱	D 286 N	۳
N 39 M	۱	G 163 V	۱	D 288 N	۲
Q 44 H	۱	E 167 D	۲		
I 45 V	۲	Q 177 L	۱		

پروتئین اینتگرز و موتانت از نظر پایداری در برابر حرارت و پایداری در لوله آزمایش مشابه و پایدار هستند و همچنین در خواص آب‌دوستی و آب‌گریزی و نیمه‌عمر یکسان رفتار می‌کنند. پیش‌بینی‌های نرم‌افزار protparam نشان داد که از نظر فاکتور

ندارند و همچنین جابه‌جایی‌هایی که در توالی‌های مورد مطالعه بود نیز در این جایگاه‌ها نبودند.

بررسی‌ها نشان داد که آنزیم اینتگرز از سه دمین انتهایی آمینی، انتهایی کربوکسیل و کاتالیتیک مرکزی تشکیل شده است. بیشترین جابه‌جایی که باعث ایجاد مقاومت می‌شود در دمین کاتالیتیک مرکزی است. همچنین در این مطالعه بیشترین جهش‌های موجود در توالی‌ها در دمین انتهایی آمینی قرار دارند. بررسی داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش‌های بین مهارکننده‌ها و آنزیم اینتگرز بیشتر در دمین کاتالیتیک مرکزی قرار دارند (جدول ۱۰ و شکل‌های ۳، ۴ و ۵).

نتایج ساب‌تایپینگ توالی‌های مورد بررسی نشان داد که تمام توالی‌ها متعلق به ساب‌تایپ A و اکثر آنها از نوع A1 هستند و در مقابل داروهای مورد مطالعه حساسیت قابل قبولی دارند.



شکل ۱) ساختار سوم پروتئین اینتگرز (A) و موتانت (B) با استفاده از نرم‌افزار I-Tasser

ساختارهای نهایی پروتئین اینتگرز و موتانت در شکل ۱ و همچنین نتایج بررسی کیفیت ساختار سوم پروتئین‌های اینتگرز و موتانت در جدول ۶ نشان داده شد. برای اینتگرز از ساختار سوم Galaxy. 4 و برای موتانت از ساختار سوم Galaxy. 1 به‌عنوان الگو استفاده شد.

جدول ۷ نتایج بررسی کیفیت ساختار سوم پروتئین موتانت را نشان می‌دهد.

همه برهم‌کنش‌های موجود بین آنزیم اینتگرز و داروهای مختلف از پایداری نسبی برخوردار هستند. پایدارترین برهم‌کنش بین داروی بیکتگراویر و موتانت بود (جدول ۸).

هم‌ترازی پروتئین اینتگرز و موتانت با برنامه TM-align C++ محاسبه شد (شکل ۲). TM-score این هم‌ترازی برابر با ۰/۹۷ بود که تشابه بالای دو پروتئین از لحاظ فولدینگ و ساختار فضایی را نشان داد.

از طریق برنامه Discovery Studio جایگاه‌های اتصال پروتئین اینتگرز با دارو بررسی شد. نتایج نشان داد که داروهای مختلف به جایگاه‌های متفاوتی از آنزیم اینتگرز متصل می‌شوند و تعداد اتصالات نیز متفاوت است. بیشترین تعداد اتصالات مربوط به برهم‌کنش داروی دولوتگراویر با آنزیم اینتگرز بود (جدول ۹). هیچکدام از جهش‌های ایجادکننده مقاومت در این جایگاه‌ها قرار

جدول ۶) بررسی کیفیت ساختار سوم پروتئین اینتگرز (توالی مرجع)

توالی مرجع	ProSA	ERRAT	QMEAN	RAMPAGE	امتیازات
امتیاز z	ضریب کیفیت کلی	ارزش QMEAN4	ناحیه مطلوب (درصد)	ناحیه مجاز (درصد)	ناحیه خارج از محدوده (درصد)
NA	۹۱/۲۴	-۶/۱۴	۸۵	۱۰/۵	۴/۵
-۶/۸۲	۹۱/۵	-۲/۵	۹۴/۸	۳/۸	۱/۴
-۶/۸۴	۹۰/۸۳	-۲/۹۵	۹۴/۴	۳/۵	۲/۱
-۶/۹۵	۸۸/۸۸	-۲/۵۸	۹۵/۱	۳/۵	۱/۴
-۶/۸۳	۹۴/۵۹	-۲/۶۲	۹۵/۵	۳/۱	۱/۴
-۶/۹۴	۹۰/۳۸	-۲/۷۳	۹۴/۴	۴/۵	۱
-۶/۳۹	۹۷/۸	-۳/۰۲	۸۷/۸	۹/۱	۳/۱
-۶/۳۸	۹۹/۲۸	-۲/۷۴	۸۸/۵	۸/۴	۳/۱
-۶/۵۳	۹۷/۸۴	-۲/۵۷	۸۹/۲	۸	۲/۸
-۶/۵۳	۹۷/۱۳	-۲/۷	۸۹/۲	۸/۴	۲/۴
-۶/۵۷	۹۸/۵۷	-۲/۴۹	۸۹/۲	۸/۴	۲/۴

NA: محاسبه نشده

جدول ۷) بررسی کیفیت ساختار سوم پروتئین موتانت

موتانت	ProSA	ERRAT	QMEAN	RAMPAGE	موتانت
امتیاز z	ضریب کیفیت کلی	ارزش QMEAN4	ناحیه مطلوب (درصد)	ناحیه مجاز (درصد)	ناحیه خارج از محدوده (درصد)
NA	۹۴/۴۸	-۵/۵۵	۸۵/۷	۱۱/۲	۳/۱
-۶/۹	۸۷/۱۵	-۱/۷۵	۹۶/۵	۲/۸	۰/۷
-۶/۸۲	۸۶/۳۲	-۲/۴۹	۹۶/۵	۲/۴	۱
-۶/۸۶	۸۷/۵۹	-۲/۴۵	۹۶/۵	۲/۴	۱
-۶/۹۵	۸۵/۲۱	-۱/۹۶	۹۶/۲	۳/۱	۰/۷
-۶/۸۵	۸۷/۰۷	-۲/۱۲	۹۶/۵	۲/۸	۰/۷
-۶/۵۲	۹۵/۲۵	-۳/۱۵	۹۰/۲	۶/۳	۳/۵
-۶/۵۳	۹۵/۲۷	-۲/۹۲	۹۰/۶	۶/۳	۳/۱
-۶/۳	۹۶/۷۵	-۲/۶۶	۹۰/۹	۶/۳	۲/۸
-۶/۱۹	۹۸/۱۹	-۲/۶۶	۹۰/۹	۵/۹	۳/۱
-۶/۳۵	۹۸/۱۹	-۲/۵۲	۹۱/۶	۴/۹	۳/۵

NA: محاسبه نشده

جدول ۸) نتایج برهم‌کنش‌های پروتئین اینتگراز و موتانت با مهارکننده‌های اینتگراز

مهارکننده‌ها	توالی حاوی جهش	توالی مرجع
بیکتگراویر	-۲۸۷/۴۲	-۲۶۲/۱۴
دولوتگراویر	-۲۸۳/۱۶	-۲۶۰/۶۹
الویتگراویر	-۱۴۶	-۱۴۸/۶۳
رالتگراویر	-۲۹۰/۳	-۲۹۰/۵۲



شکل ۴) جایگاه جهش‌های ایجادکننده مقاومت در دمن‌های آنزیم اینتگراز (مناطق زردرنگ)



شکل ۵) جایگاه جهش‌های موجود در توالی‌های مورد مطالعه (مناطق زردرنگ)

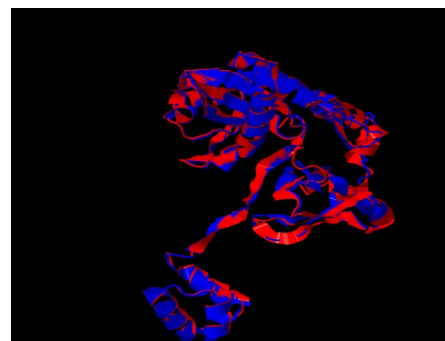
بحث

آنزیم اینتگراز پروتئینی با ۲۸۸ آمینواسید و وزن تقریبی ۳ کیلو دالتون است که وظیفه انتقال ژن ویروس به درون ژن میزبان را دارد. با مهار و کنترل این آنزیم می‌توان مانع ورود ژن ویروس به درون ژن میزبان شد و همچنین روند بیماری را کند و ویروس HIV-1 را مهار کرد، در نتیجه بررسی‌هایی در ارتباط با این آنزیم انجام شد.

مطالعاتی در رابطه با کنترل و مهار ویروس HIV-1 از طریق مهار آنزیم اینتگراز صورت گرفته و برای مهار این آنزیم داروهای بیکتگراویر، دولوتگراویر، الویتگراویر و رالتگراویر پیشنهاد شده است. در مطالعات اخیر جهش‌هایی که باعث مقاومت دارویی این پروتئین می‌شوند مورد مطالعه قرار گرفته و چندین جابه‌جایی به‌عنوان عامل ایجادکننده مقاومت در برابر این داروها تعیین شده‌اند. در مطالعه حاضر، ۳۵ توالی از ژن اینتگراز بیماران ایرانی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که جهش‌هایی که منجر به مقاومت دارویی می‌شوند، در این توالی‌ها وجود ندارند، در حالی که مطالعات نشان داده‌اند که جهش‌های E157Q و R263K باعث شکست درمان می‌شوند و جهش R263K به‌عنوان اولین جهشی که باعث ایجاد مقاومت می‌شود شناخته شده است.

همچنین مطالعات اخیر جهش‌های R 263 K و G 118 R را به‌عنوان جایگاه‌های مقاوم به دارو پیشنهاد دادند که می‌توانند مقاومت ضعیفی در مقابل داروی دولوتگراویر ایجاد کنند.

شیمور و همکاران، ۸ جابه‌جایی آمینواسیدی را برای آنزیم اینتگراز پیشنهاد دادند که در بین آنها ۲ جابه‌جایی T66I و E92Q باعث مقاومت ویروس به داروی الویتگراویر شد [32].



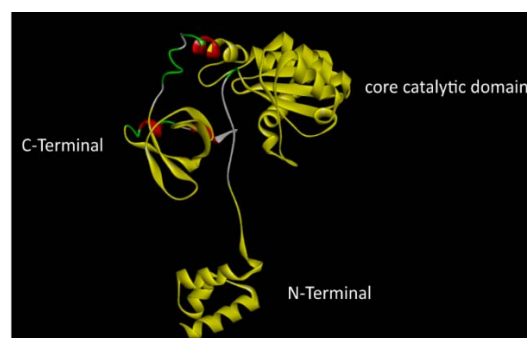
شکل ۲) هم‌ترازی ساختارهای سوم پروتئین اینتگراز و موتانت؛ رنگ قرمز نشان‌دهنده پروتئین اینتگراز و رنگ آبی نشان‌دهنده موتانت است.

جدول ۹) مناطق برهم‌کنش آنزیم اینتگراز با داروهای متفاوت

داروها	مناطق برهم‌کنش
بیکتگراویر	(G ۱۸۹) (Y ۱۹۴)
دولوتگراویر	(R ۱۸۷) (I ۱۹۱) (I ۲۲۰) (G ۱۹۰) (Q ۲۱۶)
الویتگراویر	یافت نشد.
رالتگراویر	(A ۸۰) (R ۱۹۹) (G ۸۲) (L ۲۴۱) (K ۲۴۴)

جدول ۱۰) اتصال مهارکننده به دمن‌های آنزیم اینتگراز و همچنین لیست جهش‌های یافت‌شده در هر دمن

دمن‌های آنزیم اینتگراز	انتهای آمینی	کاتالیتیک مرکزی	انتهای کربوکسیل	متصل‌کننده
جهش‌های ایجادکننده مقاومت	-	۹۲، ۱۱۸ و ۶۶	۶۲۳	-
جهش‌های موجود در توالی‌های مورد مطالعه	۱۴، ۳۵، ۴۵	۱۳۴ و ۱۳۵	-	-
جایگاه‌های اتصال دارو	-	۱۸۹، ۱۹۱، ۱۸۷، ۸۲، ۱۹۹ و ۸۰	۲۴۴ و ۲۴۱	۲۱۶ و ۲۲۰



شکل ۳) سه دمن اصلی در ساختار آنزیم اینتگراز

است. همچنین بیشترین تعداد اتصال به ترتیب بین آنزیم اینتگرز و داروهای دولوتگراویر و رالتگراویر بود که منجر به افزایش انرژی اتصالی میان آنها شده است. بنابراین به نظر می‌رسد که دو داروی مذکور بهتر می‌توانند آنزیم اینتگرز را مهار کنند و اثرات درمانی بهتری را داشته باشند.

در مطالعه حاضر، ساب‌تایپینگ براساس توالی اینتگرز و با استفاده از سایت *standford* انجام شد که نتایج نشان داد که ساب‌تایپ تمامی نمونه‌ها A است که با توجه به نقشه ژنی و ساب‌تایپینگ CRF_35 AD (شکل ۶) می‌توان نتیجه گرفت که ساب‌تایپ اینتگرز بیماران ایرانی از نوع A است.

در برخی مقالات به وجود ساب‌تایپ‌های دیگر نیز اشاره شده است که این تفاوت به ناحیه مورد بررسی در ژن HIV-1 بازمی‌گردد. به‌عنوان مثال باغی و همکاران با بررسی ساب‌تایپ بیماران تحت مطالعه نشان دادند که ۸۳٪ ژن‌های *pol* و ۷۸٪ ژن‌های *gag* و ۹۰٪ کل ژن‌های ویروس از نوع CRF_35 AD بودند^[38]. همچنین همکار و همکاران با بررسی سکانس ژن *pol* بیماران ایرانی به این نتیجه رسیدند که ۴۸٪ نمونه‌ها از نوع A/D، ۴۳٪ از نوع B، ۵٪ از نوع A و ۵٪ از نوع CRF01_AE بودند^[39].

آنالیزهایی در ارتباط با پایداری بیان این ژن انجام داده شد که با بررسی دو فاکتور خرید پایداری پروتئین در لوله آزمایش و در دماهای بالا برای دو پروتئین اینتگرز و موتانت آن مشخص شد که هر دوی آنها در لوله آزمایش و همچنین در برابر دما پایدار هستند و می‌توان برای بررسی‌های آزمایشگاهی از آنها استفاده کرد. در نتیجه وجود موتاسیون‌های موجود در پروتئین موتانت تأثیری بر پایداری آن ندارد.

همچنین نتایج نیمه‌عمر این پروتئین در سلول‌های یوکاریوتی، باکتری /*شریشیا کلی* و مخمر نشان داد که علاوه بر اینکه نیمه‌عمر هر دو پروتئین اینتگرز و موتانت در پستانداران بیشتر از مخمر و باکتری /*شریشیا کلی* است، پایداری مناسبی نیز دارد، در نتیجه می‌توان این پروتئین‌ها را در سلول‌های یوکاریوتی به صورتی بیان کرد که فعال و پایدار باشند.

همچنین در راستای بیان ژن اینتگرز، مطالعات دیگری نیز انجام شده‌اند. وان و همکاران^[40] و همچنین ریخته‌گران تهرانی و همکاران^[41] و مارکوس-سکورا و همکاران^[42] به بررسی بیان ژن اینتگرز در باکتری /*شریشیا کلی* پرداختند. در هر سه مطالعه پروتئین اینتگرز در باکتری /*شریشیا کلی* کلون و بیان شده است و نشان داده شد که این پروتئین در این باکتری پایدار بود. مطالعات دیگری نیز به بیان پروتئین اینتگرز در مخمر پرداختند و نتایج نشان داد که این پروتئین در مخمر بیان شده و فعال بوده است^[43-45]. همچنین بررسی‌ها نشان داد که این پروتئین در سلول‌های یوکاریوتی نیز بیان می‌شود^[45, 46].

پروتئین اینتگرز در سلول‌های یوکاریوتی، مخمر و باکتری /*شریشیا کلی* نه‌تنها قابل بیان است بلکه پایداری مناسبی نیز دارد. نتایج بیوانفورماتیکی نیز مشابه با سایر مطالعات است، اما داده‌ها

سالادینی و همکاران به بررسی دقیق جابه‌جایی E157Q از طریق ساخت ویروس نو ترکیب پرداختند. بررسی‌های این گروه نشان داد که این جایگاه به‌تنهایی نمی‌تواند عامل ایجادکننده مقاومت دارویی در ویروس باشد^[33]. بنابراین به نظر می‌رسد که توالی اینتگرز در بیماران ایرانی دارای جهش مقاومت به درمان نیست و می‌توان با استفاده از داروهای مهارکننده اینتگرز بیماری را کنترل و مهار کرد که البته برای رسیدن به نتیجه قطعی نیاز است که توالی‌های بیشتری مورد بررسی قرار گیرند.

علاوه بر این، برای بررسی دقیق مقاومت دارویی، توالی‌های مورد مطالعه از طریق سایت *stanford* مورد بررسی قرار گرفتند و طبق نتایج، توالی‌های بیماران ایرانی به داروهای مهارکننده اینتگرز مقاوم نیستند.

ساختار پروتئین اینتگرز به وسیله کریستالوگرافی اشعه ایکس و طیف‌سنجی NMR مشخص شده است و شامل سه دمین انتهای آمینی (۱-۴۷)، کاتالیتیک مرکزی (۵۹-۲۰۲) و انتهای کربوکسیل (۲۲۳-۲۷۰) بودند^[34]. نقش دمین انتهای آمینی در عملکرد آنزیم به‌طور دقیق مشخص نیست اما دمین انتهای کربوکسیل وظیفه اتصال ژنوم ویروس به ژنوم میزبان را دارد و دومین کاتالیتیک مرکزی نیز نقش آنزیمی را ایفا می‌کند. بررسی داده‌ها نشان داد که جهش‌هایی که باعث ایجاد مقاومت دارویی می‌شوند بیشتر در نواحی کاتالیتیک مرکزی قرار دارند، ولی در مطالعه حاضر بیشتر جهش‌های موجود در توالی‌ها در دمین انتهای آمینی قرار داشت و این دلیلی بر مقاوم‌نبودن توالی بیماران ایران در برابر داروهای مهارکننده آنزیم اینتگرز بود^[35-37].

برای بررسی ساختار سوم آنزیم اینتگرز از برنامه ITASSER 5.1 استفاده شد و بعد از بهبود مدل به‌دست‌آمده، برهم‌کنش مدل‌های رفرنس و موتانت با داروها به وسیله برنامه HEX بررسی شد. نتایج داکینگ نشان داد که جهش‌های موجود در توالی موتانت تفاوت‌چندانی در قدرت اتصال با داروها ایجاد نمی‌کند و بیشترین اختلاف در قدرت اتصال بین مدل‌های رفرنس و موتانت با دارو مربوط به برهم‌کنش میان آنزیم اینتگرز و موتانت آن با داروهای دولوتگراویر و بیکتگراویر بود که این اختلاف کم می‌تواند به‌علت وجود جهش در اطراف جایگاه‌های اتصال دارو با آنزیم باشد. علاوه بر این بررسی هم‌ترازی ساختار پروتئین اینتگرز و موتانت نشان داد که این دو پروتئین از نظر فولدینگ و ساختار سوم به میزان ۹۷٪ شباهت دارند و وجود جهش‌های موجود در موتانت تأثیر چندانی بر ساختار سه‌بعدی پروتئین موتانت ندارد و همچنین تاییدی بر نتایج برهم‌کنش آنزیم اینتگرز و موتانت با داروها است، چراکه شباهت ساختار سه‌بعدی پروتئین، باعث برهم‌کنش‌هایی با انرژی یکسان می‌شود.

علاوه بر این، جایگاه‌های اتصال دارو با آنزیم اینتگرز با برنامه Discovery Studio مشخص شد و نتایج نشان داد که داروهای مختلف به جایگاه‌های متفاوتی از آنزیم اینتگرز متصل می‌شوند و بیشترین اتصالات مربوط به ناحیه کاتالیتیک مرکزی آنزیم اینتگرز

منابع

- 1- Brik A, Wong CH. HIV-1 protease: Mechanism and drug discovery. *Org Biomol Chem*. 2003;1(1):5-14.
- 2- Dehghani B, Dehghani A, Sarvari J. Knowledge and awareness regarding hepatitis B, hepatitis C, and human immunodeficiency viruses among college students: A report from Iran. *International Q Community Health Educ*. 2019;0272684X19896727.
- 3- Dehghani A, Dehghani P, Dehghani B. HIV/AIDS knowledge and attitude among high school students in Shiraz, Iran in 2015. *J Midwifery Reprod Health*. 2017;5(2):897-903.
- 4- Dehghani B, Hasanshahi Z, Hashempour T, Parvin Afsar K. Subtype classification by polymerase and gag genes of HIV-1 Iranian sequences registered in the NCBI GenBank. *Curr Proteom*. 2020;17:1-9.
- 5- World Health Organization. HIV assays: Operational characteristics (Phase 1). Report 15, Antigen/antibody ELISAs. Geneva: WHO; 2004.
- 6- Dayer MR, Dayer MS. Whiskers-less HIV-protease: a possible Way for HIV-1 deactivation. *J Biomed Sci*. 2013;20(1):67.
- 7- Yoder KE, Bushman FD. Repair of gaps in retroviral DNA integration intermediates. *J Virol*. 2000;74(23):11191-200.
- 8- Craigie R. HIV integrase, a brief overview from chemistry to therapeutics. *J Biol Chem*. 2001;276(26):23213-6.
- 9- Jenkins TM, Esposito D, Engelman A, Craigie R. Critical contacts between HIV-1 integrase and viral DNA identified by structure-based analysis and photo-crosslinking. *EMBO J*. 1997;16(22):6849-59.
- 10- Esposito D, Craigie R. Sequence specificity of viral end DNA binding by HIV-1 integrase reveals critical regions for protein-DNA interaction. *EMBO J*. 1998;17(19):5832-43.
- 11- Hashempour T, Dehghani B, Mousavi Z, Akbari T. Association of mutations in the NS5A-PKRBD region and IFNL4 genotypes with hepatitis c interferon responsiveness and its functional and structural analysis. *Curr Proteom*. 2020;17:1-12.
- 12- Dehghani B, Hasanshahi Z, Hashempour T. HIV capsid and protease, new targets of melittin. *Int J Pept Res Ther*. 2020;1-9.
- 13- Dehghani B, Hasanshahi Z, Hashempour T, Motamedifar M. The possible regions to design Human Papilloma Viruses vaccine in Iranian L1 protein. *Biologia*. 2020;75(5):749-59.
- 14- Hashempour T, Dehghani B, Mousavi Z, Yahaghi M, Hasanshahi Z, Moayedi J, et al. Evaluating drug resistant mutations to HCV NS3 protease inhibitors in Iranian Naïve patients. *Int J Pept Res Ther*. 2019;1-12.
- 15- Musavi Z, Hashempour T, Moayedi J, Dehghani B, Ghassabi F, Hallaji M, et al. Antibody development to HCV alternate reading frame protein in liver transplant candidate and its computational analysis. *Curr Proteom*. 2020;17(2):154-70.
- 16- Moattari A, Dehghani B, Khodadad N, Tavakoli F. In silico functional and structural characterization of H1N1 influenza A viruses hemagglutinin, 2010-2013, Shiraz, Iran. *Acta Biotheor*. 2015;63(2):183-202.
- 17- Jahanbakhsh F, Ibe S, Hattori J, Monavari SH, Matsuda M, Maejima M, et al. Molecular epidemiology of

نشان داد که پروتئین اینتگرز در مخمر و باکتری /شریشیا کلی پایدار نیستند. اختلاف در داده‌ها (نتایج این مطالعه با مطالعات پیشین)، نشان می‌دهد که در محیط‌های آزمایشگاهی نتایج می‌تواند کمی متفاوت با پیش‌بینی‌های بیوانفورماتیکی باشد. نتایج مطالعه حاضر در زمینه تغییرات پس‌ترجمه‌ای برای پروتئین‌های اینتگرز و موتانت نشان داد که جایگاه‌های مختلفی تحت تاثیر این فرآیند قرار گرفته‌اند. گلیکوزیلاسیون و فسفوریلاسیون هر دو فرآیندهایی هستند که در بیماری‌زایی و توانایی ویروس در زنده ماندن نقش دارند. با استفاده از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیک مشخص شد که شش جایگاه به‌عنوان جایگاه‌های فسفوریلاسیون در پروتئین اینتگرز قابل پیش‌بینی است که در توالی موتانت، وجود موتاسیون در اطراف جایگاه ۱۷ باعث شد که این جایگاه نیز فسفوریله شود. فسفوریله شدن یک پروتئین مانع از شناسایی آنتی‌ژن‌های آن توسط سیستم ایمنی میزبان می‌شود، در نتیجه به بیماری‌زایی کمک می‌کند و باعث پایداری بیشتر ویروس می‌شود. در مطالعه‌ای، سرین جایگاه ۲۵۵ را به‌عنوان جایگاه فسفوریله شدن در نظر گرفته است که این جایگاه در داده‌های مطالعه حاضر مشاهده نشد. در توالی‌های بررسی‌شده در این مطالعه، آمینواسید جایگاه ۲۵۵ نیز سرین است و در اطراف این جایگاه جهشی وجود ندارد. در نتیجه فسفوریله شدن این جایگاه در توالی‌های مورد نظر، می‌تواند به علت تفاوت در نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی و نتایج آزمایشگاهی باشد.

نتیجه‌گیری

جهش‌های موجود در توالی اینتگرز بیماران ایرانی منجر به مقاومت دارویی نسبت به داروهای مهارکننده اینتگرز نمی‌شوند، چراکه جهش‌ها نمی‌توانند بر ساختار سوم این آنزیم و در نتیجه قدرت اتصال دارو با آن تاثیر منفی ایجاد کنند. بنابراین می‌توان پیشنهاد کرد که برای کنترل و مهار بیماران ایرانی آلوده با HIV-1 از داروهای مهارکننده آنزیم اینتگرز به‌خصوص دولوتگراویر و رالتگراویر که با قدرت بیشتری به آنزیم متصل می‌شوند، استفاده کرد.

تشکر و قدردانی: نویسندگان از مسئولین محترم دانشگاه علوم پزشکی شیراز به‌ویژه معاونت پژوهشی کمال تشکر را دارند.

تأییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافع وجود ندارد.

سهم نویسندگان: زهرا حسن‌شاهی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی (۴۰٪)؛ بهزاد دهقانی (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر کمکی (۳۰٪)؛ طیب هاشم‌پور (نویسنده سوم)، تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۳۰٪)

منابع مالی: مطالعه حاضر با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی شیراز (طرح مصوب به شماره ۰۱-۵۹-۱۷۶۰۲-۹۷) انجام شد.

32- Shimura K, Kodama E, Sakagami Y, Matsuzaki Y, Watanabe W, Yamataka K, et al. Broad antiretroviral activity and resistance profile of the novel human immunodeficiency virus integrase inhibitor elvitegravir (JTK-303/GS-9137). *J Virol*. 2008;82(2):764-74.

33- Saladini F, Giannini A, Boccuto A, Tiezzi D, Vicenti I, Zazzi M. The HIV-1 integrase E157Q polymorphism per se does not alter susceptibility to raltegravir and dolutegravir in vitro. *AIDS*. 2017;31(16):2307-9.

34- Engelman A, Cherepanov P. Retroviral integrase structure and DNA recombination mechanism. *Microbiol Spectr*. 2014;2(6):1-22.

35- Chiu TK, Davies DR. Structure and function of HIV-1 integrase. *Curr Top Med Chem*. 2004;4(9):965-77.

36- Masuda T. Non-enzymatic functions of retroviral integrase: The next target for novel anti-HIV drug development. *Front Microbiol*. 2011;2:210.

37- Grawenhoff J, Engelman AN. Retroviral integrase protein and intasome nucleoprotein complex structures. *World J Biol Chem*. 2017;8(1):32-44.

38- Baesi K, Moallem S, Farrokhi M, Alinaghi SA, Truong HH. Subtype classification of Iranian HIV-1 sequences registered in the HIV databases, 2006-2013. *PloS One*. 2014;9(9):e105098.

39- Hamkar R, Mohraz M, Lorestani Sh, Aghakhani A, Truong HH, McFarland W, et al. Assessing subtype and drug-resistance-associated mutations among antiretroviral-treated HIV-infected patients. *AIDS*. 2010;24:S85-91.

40- Wan M, Loh BN. Expression and purification of active form of HIV-1 protease from *E. coli*. *Biochem Mol Biol Int*. 1995;35(4):899-912.

41- Rikhtegaran Tehrani Z, Azadmanesh K, Mostafavi E, Azizi M, Khabiri A. Cloning, expression and purification of HIV integrase and evaluation of its antigenicity. *RAZI J Med Sci*. 2015;22(134):59-67. [Persian]

42- Marcus-Sekura CJ, Woerner AM, Zweig M, Court DL, Levin JG, Klutch M. Expression of HIV-1 integrase in *E. coli*: Immunological analysis of the recombinant protein. *AIDS Res Hum Retrovir*. 1990;6(12):1399-408.

43- Parissi V, Calmels Ch, De Soultrait VR, Caumont A, Fournier M, Chaignepain S, et al. Functional interactions of human immunodeficiency virus type 1 integrase with human and yeast HSP60. *J Virol*. 2001;75(23):11344-53.

44- Desfarges S, San Filippo J, Fournier M, Calmels C, Caumont-Sarcos A, Litvak S, et al. Chromosomal integration of LTR-flanked DNA in yeast expressing HIV-1 integrase: Down regulation by RAD51. *Nucleic Acids Res*. 2006;34(21):6215-24.

45- Caumont AB, Jamieson GA, Pichuantes S, Nguyen AT, Litvak S, Dupont CH. Expression of functional HIV-1 integrase in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* leads to the emergence of a lethal phenotype: Potential use for inhibitor screening. *Curr Genet*. 1996;29(6):503-10.

46- Van Griensven J, Zhan X, Van Maele B, Pluymers W, Michiels M, De Clercq E, et al. Expression of HIV-1 integrase in CEM cells inhibits HIV-1 replication. *J Gene Med*. 2004;6(3):268-77.

HIV type 1 infection in Iran: genomic evidence of CRF35-AD predominance and CRF01-AE infection among individuals associated with injection drug use. *AIDS research and human retroviruses*. 2013;29(1):198-203.

18- Dehghani B, Hashempour T, Hasanshahi Z. Interaction of human herpesvirus 8 viral interleukin-6 with human interleukin-6 receptor using in silico approach: The potential role in HHV-8 pathogenesis. *Curr Proteom*. 2020;17(2):107-16.

19- Dehghani B, Hashempour T, Hasanshahi Z, Moayed J. Bioinformatics analysis of domain 1 of HCV-core protein: Iran. *Int J Pept Res Ther*. 2020;26(1):303-20.

20- Dehghani B, Hashempour T, Hasanshahi Z. Using immunoinformatics and structural approaches to design a novel HHV8 vaccine. *Int J Pept Res Ther*. 2020;26(1):321-31.

21- expasy.org [Internet]. Lausanne: Swiss Institute of Bioinformatics; 2005 [cited 2019 July 10]. Available from: <http://expasy.org/tools/protparam.html>

22- dabi.temple.edu/disphos/pred.html [Internet]. San Diego: University of California San Diego; 2004 [cited 2019 July 12]. Available from: <http://www.dabi.temple.edu/disphos/pred.html>

23- <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/> [Internet]. Lyngby: DTU Health TechDTU; 2017 [cited 2019 July 21]. Available from: <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>

24- imtech.res.in/raghava/glycoep/ [Internet]. Chandigarh: Institute of Microbial Technology; 2013 [cited 2019 July 25]. Available from: <http://www.imtech.res.in/raghava/glycoep/>

25- cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/ [Internet]. Lyngby: DTU Health TechDTU; 2017 [cited 2019 August 1]. Available from: <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/>

26- clavius.bc.edu/~clotelab/DiANNA/ [Internet]. Newton: Boston College; 2006 [cited 2019 August 5]. Available from: <http://clavius.bc.edu/~clotelab/DiANNA/>

27- Dehghani B, Ghasabi F, Hashempoor T, Joulaei H, Hasanshahi Z, Halaji M, et al. Functional and structural characterization of Ebola virus glycoprotein (1976-2015)-An in silico study. *Int J Biomath*. 2017;10(08):1750108.

28- Prabi-Gerland Rhone-Alpes Bioinformatic Pole Gerland Site. SOPMA [Software]. 2016 [cited 2019 August 11]. Available from: https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html

29- zhanglab. I-TASSER [Software]. 2010 [cited 2019 August 20]. Available from: <http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER>

30- zhanglab. TM-align [Software]. 2005 [cited 2019 August 23]. Available from: <https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/TM-align/>

31- hivdb.stanford.edu/hivdb/by-sequences/ [Internet]. Stanford: Stanford University; 2020 [cited 2019 September 1]. Available from: