

# МОДЕЛИ CRF63\_02A6 ВИЧ-1 КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗРАБАТЫВАЕМЫХ АНТИРЕТРОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Д.П. Зырянова, Н.В. Богачева, А.В. Тотменин, Н.М. Гашникова

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

**Резюме.** Высокоактивная антиретровирусная терапия (АРВТ) позволяет не только контролировать инфекционный процесс у конкретного пациента, но и снижать риск распространения ВИЧ-инфекции в целом, поэтому одной из целей международного сообщества в рамках борьбы с распространением ВИЧ является максимально широкий охват инфицированных лиц АРВТ. Антиретровирусная терапия при ВИЧ-инфекции назначается пожизненно, в связи с этим эффективность лечения может снижаться за счет появления резистентных к терапии форм ВИЧ-1. В настоящее время во всем мире продолжается процесс разработки новых антиретровирусных препаратов, поэтому для оценки противовирусной эффективности перспективных лекарственных средств востребованными являются стандартные модели ВИЧ-1. Для достоверной оценки эффективности препаратов в отношении российских вариантов ВИЧ-1 в качестве модели вируса должны быть использованы геноварианты ВИЧ-1, широко распространенные на территории России. Недавно возникшая рекомбинантная форма CRF63\_02A6 ВИЧ-1 за последние годы распространилась на территориях России и в настоящее время является доминирующим вариантом, выявляемым среди ВИЧ-инфицированных лиц на значительной части Сибирского федерального округа: в Новосибирской, Томской, Омской, Кемеровской областях, Красноярском и Алтайском крае. Нами получены инфекционные изоляты CRF63\_02A6 ВИЧ-1, один из которых содержит мутации, снижающие чувствительность к применяемым ингибиторам обратной транскриптазы вируса, и инфекционные молекулярные клоны на основе вариантов CRF63\_02A6 ВИЧ-1, имеющих сродство к корецепторам CCR5 и CXCR4. Инфекционные изоляты и молекулярные клоны CRF63\_02A6 протестированы в качестве моделей для оценки эффективности антиретровирусных препаратов на примере препарата «Эфавиренз». Значение пятидесятипроцентной ингибирующей концентрации, определенной на моделях инфекционных молекулярных клонов ВИЧ-1 и изолята 18RU7056 ВИЧ-1, варьировалось от 0,27 до 0,46 нг/мл, что соответствует данным зарубежных авторов. Для резистентного к ненуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы 12RU6987 ВИЧ-1 подавления репликации для исследованных концентраций «Эфавиренза» не отмечалось, что подтверждает снижение чувствительности 12RU6987 ВИЧ-1 к «Эфавирензу» не менее чем в 10 000 раз. Результаты проведенных исследований показывают, что изолированные штаммы CRF63\_02A6 ВИЧ-1 и созданные на основе CRF63\_02A6 ВИЧ-1 инфекционные молекулярные клоны являются релевантными и взаимодополняющими инструментами для оценки эффективности разрабатываемых препаратов, направленных на подавление ВИЧ-1, в том числе вирусов, резистентных к ненуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы.

**Ключевые слова:** модель ВИЧ-1, CRF63\_02A6 ВИЧ-1, инфекционные изоляты ВИЧ-1, инфекционные молекулярные клоны ВИЧ-1, антиретровирусная терапия.

---

**Адрес для переписки:**

Гашникова Наталья Матвеевна  
630559, Россия, р.п. Кольцово, Новосибирской области,  
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.  
Тел.: 8 (383) 363-47-00, доп. 21-40 (служебн.); 8 913 940-54-79.  
E-mail: nmgashnikova@gmail.com

**Contacts:**

Natalya M. Gashnikova  
630559, Russian Federation, Koltsovo, Novosibirsk region,  
State Research Center of Virology and Biotechnology Vector.  
Phone: +7 (383) 363-47-00, add. 21-40 (office); +7 913 940-54-79.  
E-mail: nmgashnikova@gmail.com

**Библиографическое описание:**

Зырянова Д.П., Богачева Н.В., Тотменин А.В., Гашникова Н.М. Модели CRF63\_02A6 ВИЧ-1 как инструмент для оценки эффективности разрабатываемых антиретровирусных препаратов // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 4. С. 769–774. doi: 10.15789/2220-7619-MHC-1261

**Citation:**

Zyryanova D.P., Bogacheva N.V., Totmenin A.V., Gashnikova N.M. HIV-1 CRF63\_02A6 models as a tool for evaluating efficacy of developing antiretroviral drugs // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 4, pp. 769–774. doi: 10.15789/2220-7619-MHC-1261

## HIV-1 CRF63\_02A6 MODELS AS A TOOL FOR EVALUATING EFFICACY OF DEVELOPING ANTIRETROVIRAL DRUGS

Zyryanova D.P., Bogacheva N.V., Totmenin A.V., Gashnikova N.M.

State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russian Federation

**Abstract.** Highly active antiretroviral therapy (HAART) allows not only to control the infection process in certain patient, but also to reduce a risk of HIV infection spreading in general, so that one of the goals for international community fighting against HIV-spread is to maximize coverage of infected subjects with HAART. Antiretroviral therapy in HIV infection is administered lifelong, so that therapeutic efficacy may be lowered due to emergence of resistant HIV-1 variants. Currently, development of new antiretroviral drugs is currently underway throughout the world, therefore standard HIV-1 models are demanded to evaluate antiviral efficacy of promising drugs. To reliably assess drug efficiency regarding Russia-wide HIV-1 variants, HIV-1 genovariants widespread in Russia should be used as a virus model. A recently emerged recombinant form of CRF63\_02A6 HIV-1 is spread in Russia being currently a dominant variant detected among HIV-infected individuals in an extended region of the Siberian Federal District: in the Novosibirsk, Tomsk, Omsk, Kemerovo Regions, Krasnoyarsk and Altai Krai. We have obtained CRF63\_02A6 infectious isolates of HIV-1, one of which contains mutations, reducing the sensitivity to the applied inhibitors of the virus reverse transcriptase. In addition, we constructed infectious molecular clones based on HIV-1 CRF63\_02A6 variants with an affinity for CCR5 coreceptors and CXCR4. Infectious isolates and molecular clones CRF63\_02A6 tested as models for assessing efficacy of antiretroviral drugs using the example of the drug "Efavirenz". The fifty percent inhibitory concentration determined on the models of HIV-1 infectious molecular clones and HIV-1 isolate 18RU7056 ranged from 0.00027 µg/ml to 0.00046 µg/ml being in agreement with data published elsewhere. Concentrations of "Efavirenz" used in the study did not suppress the replication of HIV-1 12RU6987, which is resistant to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, which confirms the decrease in the sensitivity of HIV-1 12RU6987 to "Efavirenz" by no less than 10,000 times. Thus, our data demonstrate that CRF63\_02A6 HIV-1 isolated strains and infectious molecular clones are relevant and complementary tools for assessing efficacy of developing drugs aimed at suppressing HIV-1, including non-nucleoside-resistant virus reverse transcriptase inhibitors.

**Key words:** model of the HIV-1, CRF63\_02A6 HIV-1, HIV-1 infectious isolates, HIV-1 infectious molecular clones, antiretroviral therapy.

## Введение

Заболеваемость ВИЧ-инфекцией во всем мире неуклонно растет. К июню 2017 г. общее число людей, живущих с ВИЧ, составляло 36,9 [31,1–43,9] млн человек [7]. По состоянию на 31 декабря 2018 г. кумулятивное количество зарегистрированных случаев ВИЧ-инфекции среди граждан Российской Федерации составило 1 326 239 человек (по предварительным данным) [2]. Одним из важнейших факторов, препятствующих распространению ВИЧ, является антиретровирусная терапия (АРВТ). Применение АРВТ дало возможность не только контролировать инфекционный процесс у конкретного индивидуума, но и снизить скорость распространения ВИЧ в целом. По данным исследований последних лет, неопределяемая вирусная нагрузка у ВИЧ-инфицированного (концентрация РНК ВИЧ-1 в периферической крови) препятствует передаче вируса половому партнеру [6]. В настоящее время в России разрешено к применению 26 антиретровирусных препаратов (не считая дженериков и лекарственных форм, содержащих несколько препаратов, называемых также препаратами с фиксированной комбинацией доз) [3].

Однако по ряду причин поиск новых противовирусных препаратов, эффективных в отношении ВИЧ, продолжается до сих пор. К таким причинам относятся наличие значимых побоч-

ных эффектов препаратов, необходимость использования препаратов пролонгированного действия, неэффективность препарата в отношении резистентных вирусов.

На раннем доклиническом этапе оценка эффективности препаратов проводится, как правило, *in vitro* с использованием различных модельных систем [8, 9].

В исследованиях применяются модели ВИЧ-1, культивируемые на различных клеточных линиях. К таким моделям ВИЧ-1 относятся изоляты, псевдовиральные частицы (псевдовirus), инфекционные молекулярные клоны. Каждая из моделей отражает существенные признаки своего прототипа в определенных рамках исследования.

Наиболее близкой по биологическим свойствам к «дикому» вирусу является модель ВИЧ, изолированного из клеток инфицированного человека и способного к эффективной репродукции на его первичных/перевиваемых клетках — инфекционный изолят/штамм ВИЧ [1]. В связи с тем, что в организме инфицированного ВИЧ-1 человека в процессе воспроизводства вируса за счет возникновения мутаций в вирусном геноме происходит его постоянное изменение, выделенный из крови ВИЧ-1 (изолят ВИЧ-1) представляет собой генетически неоднородную популяцию вирусов. Ввиду этого не всегда удается при генотипировании вируса отследить начальный этап появления квазивидов ВИЧ-1

с мутациями устойчивости, когда количество таких вирусов со сниженной чувствительностью к лекарственным препаратам, присутствующих в организме инфицированного человека, составляет меньшинство. При каждом последующем пассаже ВИЧ-1 может происходить изменение соотношения квазивидов вирусного изолята, дальнейшее накопление мутаций, что влечет за собой изменение характеристик вируса по сравнению с его прототипом. Однако именно эта особенность данной модели (генетически разнородная популяция ВИЧ, имеющая определенный потенциал для возможности «ухода» от селективного давления препаратов или иммунной системы) и является основным преимуществом при выборе инструмента для первичного скрининга антиретровирусных средств. Коллекции изолятов ВИЧ представляют собой значительный арсенал биологического разнообразия при выборе модели для исследования с учетом биологических характеристик вируса. Поэтому необходимо использование изолятов ВИЧ-1 на доклинических этапах оценки эффективности антиретровирусных препаратов [15].

Другой моделью для скрининга новых антиретровирусных препаратов являются псевдовirusы ВИЧ-1 [4]. Псевдовirusы ВИЧ-1 генетически однородны, безопасны в применении, поскольку они способны лишь однократно инфицировать чувствительные клетки и не воспроизводятся в них, так как имеют дефектный вирусный геном. Следовательно, данная модель ВИЧ может быть использована во многих лабораториях, не требуя создания условий для работы с микроорганизмами I–II группы патогенности. Псевдовirusы ВИЧ-1 широко применяются на доклиническом этапе оценки эффективности препаратов [10], однако отобранные на основе таких исследований препараты необходимо дополнительно изучать с применением репликационно-компетентных моделей ВИЧ.

Инфекционные молекулярные клоны ВИЧ (ИМК) являются уникальной моделью, применяемой для широкого спектра исследований, так как ИМК ВИЧ объединяют некоторые необходимые для исследователей свойства двух предыдущих моделей. ИМК ВИЧ представляет собой плазмидную конструкцию, содержащую полногеномную последовательность вирусного генома [5, 14]. При трансфекции специальных культур эукариотических клеток такой плазмидой, содержащей полную копию ВИЧ, запускается синтез всех закодированных в геноме вирусных белков, вирусной РНК, происходит формирование и выход полноценных вирусов ВИЧ-1 в культуральную среду. Инфекционные ВИЧ-1, полученные на основе ИМК, полностью воспроизводят жизненный цикл вируса, имеют

идентичный геном, могут быть использованы для инфицирования любых культур клеток человека, чувствительных к ВИЧ-1.

ИМК ВИЧ-1, как и псевдовirusы ВИЧ-1, обеспечивают повышение уровня стандартизации исследований и воспроизводимости результатов за счет генетической однородности ВИЧ, известной структуры генома вируса, возможности наработки вируса с известными свойствами в любом количестве без накопления мутаций.

В отличие от модели псевдовirusов, модель ВИЧ-1 на основе ИМК предоставляет возможность направленной модификации вирусного генома, например введения мутаций, связанных с развитием устойчивости вируса к антиретровирусным препаратам (АРВП). Специально разработанные таким образом наборы/панели ИМК ВИЧ-1 могут служить моделью для оценки эффективности новых разрабатываемых средств в отношении вирусов, резистентных к определенным классам ингибиторов ВИЧ-1 [13].

Развитие резистентности ВИЧ-1 к лекарственным препаратам представляет собой сложный процесс отбора вирусов с разными комбинациями случайно возникших в геноме ВИЧ мутаций и мутаций, образующихся под давлением АРВП.

Снижение эффективности действия антиретровирусных препаратов на ВИЧ-1 зависит не только от наличия конкретных мутаций в геноме вируса, ответственных за развитие устойчивости к лекарственным препаратам. Существенное снижение чувствительности ВИЧ-1 может происходить при возникновении определенных комбинаций мутаций резистентности с другими мутациями, которые напрямую не влияют на чувствительность вируса к препарату. Такие мутации, называемые акцессорными, или вторичными, могут увеличивать репродуктивные свойства резистентных ВИЧ или синергетично влияют на снижение чувствительности вируса к АРВП.

Благодаря естественному полиморфизму в областях генома, кодирующих мишени для АРВП, разные генетические варианты ВИЧ-1 (субтипы ВИЧ-1) могут иметь мутации, дающие дополнительный потенциал возможностей ВИЧ-1 к снижению чувствительности к АРВП и уходу от терапии. Поэтому возникновение одних и тех же мутаций у генетически отличающихся вариантов вируса может приводить к развитию резистентности ВИЧ разного уровня [12]. При появлении новых рекомбинантных форм ВИЧ-1 могут образоваться уникальные сочетания генов, эффект которых на фенотипические свойства, в том числе на чувствительность к тем или иным антиретровирусным препаратам, до определенного времени остается

не известен. В связи с этим для достоверного исследования эффективности новых антиретровирусных препаратов важно использование моделей ВИЧ-1, отражающих актуальную эпидемиологическую ситуацию.

В настоящее время доминирующим субтипом ВИЧ-1, определяемым более чем в 70% случаев диагностирования ВИЧ-инфекции на территориях Новосибирской, Томской, Кемеровской областях, в Алтайском крае, является недавно возникший вирус — циркулирующая рекомбинантная форма CRF63\_02A6 ВИЧ-1. В связи с высокой распространенностью этого геноварианта вируса модели CRF63\_02A6 ВИЧ-1 являются актуальными при разработке антиретровирусных препаратов для населения России.

Сотрудниками ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора создана коллекция инфекционных изолятов ВИЧ-1 (включая ВИЧ-1 CRF63\_02A6 и вирусы, содержащие мутации лекарственной устойчивости), которая в настоящее время используется для скрининга противовирусной эффективности разрабатываемых лекарственных препаратов [1].

На основе изолятов ВИЧ-1 из этой коллекции нами сконструировано два ИМК CRF63\_02A6 ВИЧ-1, которые также, как и изоляты ВИЧ-1, могут быть использованы для оценки эффективности разрабатываемых АРВП как альтернативная, более стандартизованная система.

Целью настоящей работы являлось тестирование ИМК и изолятов CRF63\_02A6 ВИЧ-1 в качестве моделей для оценки эффективности антиретровирусного препарата на примере эфавиренза.

## Материалы и методы

Для получения генетически однородных вирусных частиц CRF63\_02A1 ВИЧ-1 были использованы сконструированные нами ранее ИМК pT11.17 ВИЧ-1 (GenBank: MK984160) и pMtBs.18 ВИЧ-1 (GenBank: MK984159). Проведена трансфекция культуры клеток НЕК293Т соответствующими плазмидными конструкциями (5000 нг плазмиды/флакон T25 со сплошностью клеток 90%) с использованием реагента Липофектамин 2000 (Thermo Scientific, Carlsbad, CA, США). Через 2 суток после трансфекции выявление вирусного белка p24 методом иммуноферментного анализа (ИФА) коммерческим набором ВИЧ-1 p24-антиген-ИФА-БЕСТ (Вектор-Бест, Новосибирск, РФ) подтвердило наличие ВИЧ-1 в культуральной жидкости обоих образцов. Полученная вирусосодержащая культуральная жидкость была использована для заражения T11.17 ВИЧ-1 и MtBs.18 ВИЧ-1 периферических мононуклеарных клеток крови человека (РВМС). При культивировании полученных T11.17 ВИЧ-1

и MtBs.18 ВИЧ-1 на периферических мононуклеарных клетках крови человека (РВМС) на 10 сут был отмечен прирост концентрации p24 в обоих образцах более чем в тысячу раз по сравнению с исходной концентрацией в 1 сутки культивирования, что свидетельствует о получении репликационно компетентных ВИЧ-1.

T11.17 ВИЧ-1 и MtBs.18 ВИЧ-1 были использованы для оценки противовирусной эффективности лекарственных препаратов на примере «Эфавиренза». Параллельно, для сравнительной оценки на РВМС проводили культивирование двух изолятов ВИЧ-1 из коллекции ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора 12RU6987 и 18RU7056. Оба изолята ВИЧ-1 имеют тропизм к ССR5 корцепторам и относятся к геноварианту CRF63\_02A6 ВИЧ-1. Кроме того, 12RU6987 содержит мутации устойчивости к ненуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы L100I, K103N, H221Y.

Для оценки эффективности «Эфавиренза», относящегося к группе селективных ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы ВИЧ-1, получали культуру РВМС, выделенную от двух здоровых доноров. Выделение РВМС и стимуляция клеток в культуральной среде, содержащей фитогемагглютинин, проводились по методике, описанной ранее [1]. Заражение клеток ВИЧ-1 (T11.17 ВИЧ-1, MtBs.18 ВИЧ-1, а также изолятами ВИЧ-1 12RU6987, 18RU7056) осуществляли по стандартной методике. Инкубация РВМС с вирусосодержащим материалом проводилась в течение 1 часа. После инкубации клеток с ВИЧ-1 РВМС были отмыты чистой средой и посеяны в 96-луночный планшет с посевной дозой клеток  $4 \times 10^5$  клеток на лунку. В лунки была добавлена полная ростовая среда (RPMI 1640, фетальная сыворотка крупного рогатого скота 20%, L-глутамин 150 мг/мл, пенициллин/стрептомицин 50 мкг/мл, интерлейкин 100 е.а./мл) до рабочего объема 200 мкл, содержащая «Эфавиренз» в конечных концентрациях от 5 мкг/мл до 0,085 нг/мл на лунку (11 последовательных разведений с 3-кратным уменьшением концентрации). Нижний диапазон концентраций был выбран с учетом данных исследований «Эфавиренза» другими авторами, максимальная концентрация, отличавшаяся более чем на пять порядков, была взята для того, чтобы определить кратность снижения чувствительности к «Эфавиренза» изолята ВИЧ-1, содержащего описанный выше набор мутаций резистентности.

Культивирование разных вариантов ВИЧ-1 (изолятов и ИМК) проводилось при 37°C в CO<sub>2</sub> инкубаторе в течение 7 дней в 3 повторях для каждой из моделей ВИЧ-1. Оценку подавления репликации ВИЧ-1 выполняли путем измерения накопления вирусного белка p24 в куль-

### Таблица. Ингибирующий эффект «Эфавиренза» на репродукцию ВИЧ-1 (инфекционных молекулярных клонов ВИЧ-1 и изолятов ВИЧ-1) в культуре РВМС

Table. The inhibition effect of “Efavirenz” on HIV-1 reproduction (HIV-1 infectious molecular clones, HIV-1 infectious isolates) in PBMC culture

Модель ВИЧ HIV-1 model	IC <sub>50</sub> (нг/мл) IC <sub>50</sub> (ng/ml)	95% доверительный интервал (нг/мл) IC <sub>50</sub> CL 95% profile likelihood (ng/ml)
<b>T11.17</b>	0,2787	0,2606–0,2965
<b>MtBs.18</b>	0,2700	0,2032–0,3539
<b>18RU7056</b>	0,4626	0,3586–0,5920
<b>12RU6987</b>	> 5000	

**Примечание.** Результаты IC<sub>50</sub> представляют собой среднюю степень ингибирования в дублирующих экспериментах.

Note. The results IC<sub>50</sub> are the mean inhibition rate in duplicate experiments.

туральной жидкости в сравнении с контролем роста вируса набором ВИЧ-1 р24-антиген-ИФА-БЕСТ (Вектор-Бест, Новосибирск, РФ). Значение 50% ингибирующей ВИЧ-1 концентрации «Эфавиренза» (IC<sub>50</sub>) рассчитывали с помощью нелинейного регрессионного анализа.

### Результаты и обсуждение

На 7 сутки культивирования ВИЧ-1 (изолятов и ИМК ВИЧ-1) в культуральной среде, содержащей разные концентрации «Эфавиренза», была отобрана культуральная жидкость, инактивирована добавлением раствора Tween80 до конечной концентрации 0,1%. По результатам ИФА и оценки накопления вирусспецифического белка р24 в среде были определены значения IC<sub>50</sub> для «Эфавиренза» на каждой из моделей (табл.).

Значение IC<sub>50</sub> «Эфавиренза» в отношении инфекционных молекулярных клонов ВИЧ-1 и изолята 18RU7056 ВИЧ-1 варьировало от 0,27 нг/мл до 0,46 нг/мл, что соответствует данным других авторов, согласно которым средний показатель IC<sub>50</sub> «Эфавиренза» к разным штаммам ВИЧ составляет 0,51 нг/мл [11].

В экспериментальных образцах с резистентным к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы изолятом 12RU6987 ВИЧ-1 подавления репликации ВИЧ-1 для исследованных концентраций «Эфавиренза» не отмечалось. Концентрация р24 в лунках со всеми

разведениями «Эфавиренза» соответствовала уровню контроля роста вируса, что подтверждает снижение чувствительности 12RU6987 ВИЧ-1 к «Эфавирензу» не менее чем в 10 000 раз.

Результаты проведенных исследований показывают, что изолированные штаммы CRF63\_02A6 ВИЧ-1 и созданные на основе CRF63\_02A6 ВИЧ-1 инфекционные молекулярные клоны являются релевантными и взаимодополняющими инструментами для оценки эффективности разрабатываемых антиретровирусных препаратов.

Представленные в работе модели ВИЧ-1 на основе генетического варианта CRF63\_02A6 ВИЧ-1, циркулирующего в России, могут быть успешно использованы для оценки эффективности разрабатываемых антиретровирусных препаратов.

Современные технологии направленного мутагенеза позволяют вводить конкретные изменения в геном ВИЧ. Поэтому полученные нами ИМК CRF63\_02A6 ВИЧ-1, дающие потомство генетически однородной популяции вирусов с известной структурой генома, являются также моделью, позволяющей исследовать взаимосвязь изменения структуры и функции отдельных генов ВИЧ, изучать субтип-специфические особенности ВИЧ-1, вклад отдельных мутаций ВИЧ-1 и их комбинаций в развитие резистентности вируса к применяемым в клинической практике антиретровирусным препаратам.

### Список литературы/References

1. Богачева Н.В., Бледных Н.А., Тотменин А.В., Мирджамалова Ф.О., Соколов Ю.В., Гашникова Н.М. Создание коллекции современных изолятов ВИЧ-1, включающей основные российские генетические варианты вируса // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2017. Т. 9, № 1. С. 65–76. [Bogacheva N.V., Blednyh N.A., Totmenin A.V., Mirdzhamalova F.O., Sokolov J.V., Gashnikova N.M. Creation of a collection of up-to-date HIV-1 isolates including major russian genetic variants of virus. *VICH-infektsiya i immunosuppressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2017, vol. 9, no. 1, pp. 65–76. doi: 10.22328/2077-9828-2017-9-1-65-76 (In Russ.)]
2. ВИЧ-инфекция в Российской Федерации в 2018 г. М.: ФБУН Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, 2018. [HIV infection in the Russian Federation in 2018. Moscow: Central Research Institute of Epidemiology of The Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance, 2018]. URL: <http://www.aids43.ru/stat>
3. Покровский В.В., Юрин О.Г., Кравченко А.В., Беляева В.В., Ермак Т.Н., Канестри В.Г., Шахильдян В.И., Козырина Н.В., Буравцова В.В., Нарсия Р.С., Хохлова О.Н., Покровская А.В., Ефремова О.С., Коннов В.В., Куимова У.А., Попова А.А., Воронин Е.Е., Афонина Л.Ю., Васильева И.А., Зимица В.Н. Национальные рекомендации по диспансер-

- ному наблюдению и лечению больных ВИЧ-инфекцией. Клинический протокол // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2017. № 6. [Pokrovsky V.V., Yurin O.G., Kravchenko A.V., Belyaeva V.V., Ermak T.N., Kanestri V.G., Shakhgildyan V.I., Kozyrina N.V., Buravtsova V.V., Narsia R.S., Khokhlova O.N., Pokrovskaya A.V., Efremova O.S., Konnov V.V., Kuimova U.A., Popova A.A., Voronin E.E., Afonina L.Yu., Vasilieva I.A., Zimina V.N. National guidelines for follow-up and treatment of HIV patients. Clinical protocol. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni. Aktual'nye voprosy = Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items, 2017, vol. 6 (suppl.) (In Russ.)*]
4. Прокофьева М.М., Спирин П.В., Январев Д.В., Иванов А.В., Новиков М.С., Степанов О.А., Готтих М.Б., Кочетков С.Н., Fehse B., Stocking C., Прасолов В.С. Скрининг потенциальных ингибиторов/блокаторов репликации ВИЧ-1 с помощью безопасной лентивирусной системы in vitro // Acta Naturae. 2011. Т. 3, № 4. С. 57–67. [Prokofjeva M.M., Spirin P.V., Yanvarev D.V., Ivanov A.V., Novikov M.S., Stepanov O.A., Gottikh M.B., Kochetkov S.N., Fehse B., Stocking C., Prassolov V.S. Screening of potential HIV-1 inhibitors/replication blockers using secure lentiviral in vitro system. *Acta Naturae, 2011, vol. 3, no. 4, pp. 57–67. (In Russ.)*]
  5. Baalwa J., Wang S., Parrish N.F., Decker J.M., Keele B.F., Learn G.H., Yue L., Rugazigira E., Ssemwanga D., Kamali A. Molecular identification, cloning and characterization of transmitted/founder HIV-1 subtype A, D and A/D infectious molecular clones. *Virology, 2013, vol. 436, no. 1, pp. 33–48. doi: 10.1016/j.virol.2012.10.009*
  6. Cohen M.S., Chen Y.Q., McCauley M., Gamble T., Hosseinipour M.C., Kumarasamy N., Hakim J.G., Kumwenda J., Grinsztejn B., Pilotto J.H., Godbole S.V., Chariyalertsak S., Santos B.R., Mayer K.H., Hoffman I.F., Eshleman S.H., Piwowar-Manning E., Cottle L., Zhang X.C., Makhema J., Mills L.A., Panchia R., Faesen S., Eron J., Gallant J., Havlir D., Swindells S., Elharrar V., Burns D., Taha T.E., Nielsen-Saines K., Celentano D.D., Essex M., Hudelson S.E., Redd A.D., Fleming T.R. HPTN 052 Study Team. Antiretroviral therapy for the prevention of HIV-1 transmission. *N. Engl. J. Med., 2016, vol. 375, no. 9, pp. 830–839. doi:10.1056/nejmoa1600693*
  7. Global HIV & AIDS statistics — 2018 fact sheet UNAIDS. URL: [http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/UNAIDS\\_FactSheet\\_ru.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_ru.pdf)
  8. Harman S., Herrera C., Armanasco N., Nuttall J., Shattock R.J. Preclinical evaluation of the HIV-1 fusion inhibitor L'644 as a potential candidate microbicide. *Antimicrob. Agents Chemother., 2012, vol. 56, no. 5, pp. 4381–4390. doi: 10.1128/AAC.06108-11*
  9. Kobayashi M., Yoshinaga T., Seki T., Wakasa-Morimoto C., Brown K.W., Ferris R., Foster S.A., Hazen R.J., Miki S., Suyama-Kagitani A., Kawauchi-Miki S. In vitro antiretroviral properties of S/GSK1349572, a next-generation HIV integrase inhibitor. *Antimicrob. Agents Chemother., 2011, vol. 55, no. 2, pp. 813–821. doi: 10.1128/AAC.01209-10*
  10. Marsden M.D., Avancena P., Kitchen C.M., Hubbard T., Zack J.A. Single mutations in HIV integrase confer high-level resistance to raltegravir in primary human macrophages. *Antimicrob. Agents Chemother., 2011, vol. 55, no. 8, pp. 3696–3702. doi: 10.1128/AAC.00566-11*
  11. Parkin N.T., Hellmann N.S., Whitcomb J.M., Kiss L., Chappey C., Petropoulos C.J. Natural variation of drug susceptibility in wild-type human immunodeficiency virus type 1. *Antimicrob. Agents Chemother., 2004, vol. 48, no. 2, pp. 437–443. doi:10.1128/aac.48.2.437-443.2004*
  12. Quashie P.K., Oliviera M., Veres T., Osman N., Han Y.S., Hassounah S., Lie Y., Huang W., Mesplède T., Wainberg M.A. Differential effects of the G118R, H51Y, and E138K resistance substitutions in different subtypes of HIV integrase. *J. Virol., 2015, vol. 89, no. 6, pp. 3163–3175. doi: 10.1128/JVI.03353-14*
  13. Reuman E.C., Bachmann M.H., Varghese V., Fessel W.J., Shafer R.W. Panel of prototypical raltegravir-resistant infectious molecular clones in a novel integrase-deleted cloning vector. *Antimicrob. Agents Chemother., 2010, vol. 54, no. 2, pp. 934–936. doi: 10.1128/AAC.01345-09*
  14. Rodriguez M.A., Chen Y., Craig J.K., Chatterjee R., Ratner D., Tatsumi M., Roy P., Neogi D., Gupta P. Construction and characterization of an infectious molecular clone of HIV-1 subtype A of Indian origin. *Virology, 2006, vol. 345, pp. 328–336. doi: 10.1016/j.virol.2005.09.053*
  15. Uckun F.M., Cahn P., Qazi S. Stampidine as a promising antiretroviral drug candidate for pre-exposure prophylaxis against sexually transmitted HIV/AIDS. *Expert Opin. Investig. Drugs, 2012, vol. 21, no. 4, pp. 489–500. doi: 10.1517/13543784.2012.664635*

**Авторы:**

**Зырянова Д.П.**, младший научный сотрудник отдела ретровирусов ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

**Богачева Н.В.**, младший научный сотрудник отдела ретровирусов ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

**Тотменин А.В.**, к.б.н., зав. лабораторией отдела ретровирусов ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

**Гашникова Н.М.**, к.б.н., зав. отделом ретровирусов ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область, Россия.

**Authors:**

**Zyryanova D.P.**, Junior Researcher, Department of Retroviruses, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russian Federation;

**Bogacheva N.V.**, Junior Researcher, Department of Retroviruses, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russian Federation;

**Totmenin A.V.**, PhD (Biology), Head of the Laboratory, Department of Retroviruses, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russian Federation;

**Gashnikova N.M.**, PhD (Biology), Head of the Department of Retroviruses, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russian Federation.

Поступила в редакцию 21.08.2019  
Отправлена на доработку 26.11.2019  
Принята к печати 11.03.2020

Received 21.08.2019  
Revision received 26.11.2019  
Accepted 11.03.2020