

**ANÁLISIS DE LAS INTERACCIONES ENTRE LAS
PROTEÍNAS
TRANSCRIPTASA INVERSA (RT) Y DNA DEL VIRUS
DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1 (VIH-1) A
TRAVÉS DE DINÁMICA MOLECULAR.**

Nombres y apellidos:

Maria Fernanda Pertuz Peña

Código estudiantil:

202012221312

Nombres y apellidos:

Natalia Melitza Puello Guerra

Código estudiantil:

202012226031

Microbiología

Tutor(res):

Moises Alberto Arquez Mendoza

RESUMEN

El VIH ha sido un tema de preocupación a nivel global y continúa siendo uno de los desafíos más apremiantes en la esfera de la salud pública a nivel mundial. La elevada diversidad genética del virus ha dado lugar a mutaciones en la RT que confieren resistencia a diversos inhibidores de la RT. Por lo tanto, esta tesis se centró en analizar las interacciones entre las proteínas RT y el ADN del virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1 (VIH-1) mediante dinámica molecular. El estudio comenzó con la búsqueda de secuencias en la base de datos Protein Data Bank (PDB) que contienen cristales de los complejos RT WT-DNA y RT mutante-DNA. Para obtener estructuras iniciales, se utilizó un modelo generado por AlphaFold2 para la RT mutante, debido a que el cristal encontrado tenía Gaps, mientras que se usó la estructura del PDB para la RT WT. A su vez, se llevó a cabo un modelado de la proteína mutante, seleccionando el mejor candidato generado por AlphaFold2 y validando su estructura con la herramienta MatchMaker. Posteriormente, se preparó el sistema para la simulación de dinámica molecular, que implicó la adición de iones y agua, así como la parametrización de las interacciones entre átomos y moléculas utilizando campos de fuerza específicos. Simultáneamente, se realizó una fase de minimización en el sistema, seguida de calentamiento y equilibrio bajo condiciones de presión constante. Finalmente, se llevó a cabo una simulación de producción de 100 ns.

La relevancia biológica de estas mutaciones radica en su potencial impacto en la eficacia de los tratamientos antirretrovirales y la capacidad del VIH-1 para resistirlos. Es por esta razón que resultados revelaron diferencias significativas en la estructura y flexibilidad entre la RT mutante y la RT WT, lo que sugiere que las mutaciones pueden influir en la estabilidad y la función de la proteína.

Además, se calculó la energía libre de unión a través de mecánica molecular - área de superficie basada en Poisson-Boltzmann (MM/PBSA) para evaluar la afinidad entre la RT y el ADN. Posteriormente, se identificaron residuos específicos que contribuyen significativamente a la estabilidad del complejo. Asimismo, se analizaron las interacciones entre residuos a lo largo de la simulación, identificando cinco categorías de interacciones: aniónicas, hidrofóbicas, contactos de van der Waals, interacciones tipo pi-stacking y enlaces donadores y aceptores de puentes de hidrógeno. Los resultados revelaron diferencias en las interacciones en la RT mutante y la RT WT, lo que proporciona información valiosa sobre cómo las mutaciones pueden alterar la dinámica molecular de la proteína.

Los resultados sugieren la hipótesis de que la RT mutante, al tener un mayor número de interacciones en los tipos de Anionic, VdWcontact y HBAacceptor, podría estar mejor preparada para resistir la acción de los fármacos antirretrovirales. Por otro lado, la RT WT, al carecer de estas interacciones en la misma medida, podría ser menos eficaz en la resistencia a los medicamentos.

Para concluir, esta tesis utilizó la dinámica molecular para analizar las interacciones entre las proteínas RT y el ADN del VIH-1, proporcionando información esencial sobre cómo las mutaciones en la RT pueden afectar su estructura y función, así como su capacidad de resistir a los tratamientos antirretrovirales. Los resultados obtenidos tienen implicaciones significativas en la investigación y el tratamiento del VIH-1.

Palabras clave: VIH-1, Retrovirus, Bioinformática, DNA, Transcriptasa inversa, Dinámica molecular.

ABSTRACT

HIV has been an issue of global concern and continues to be one of the most pressing public health challenges worldwide. The high genetic diversity of the virus has resulted in mutations in RT that confer resistance to various RT inhibitors. Therefore, this thesis focused on analyzing the interactions between RT proteins and Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1) DNA by molecular dynamics. The study began by searching the Protein Data Bank (PDB) database for sequences containing crystals of the RT WT-DNA and RT mutant-DNA complexes. To obtain initial structures, a model generated by AlphaFold2 was used for mutant RT, because the crystal found had Gaps, while the PDB structure was used for WT RT. In turn, a modeling of the mutant protein was carried out, selecting the best candidate generated by AlphaFold2 and validating its structure with the MatchMaker tool. Subsequently, the system was prepared for molecular dynamics simulation, which involved the addition of ions and water, as well as the parameterization of interactions between atoms and molecules using specific force fields. Simultaneously, a minimization phase was performed on the system, followed by heating and equilibrium under constant pressure conditions. Finally, a 100 ns production simulation was carried out.

The biological relevance of these mutations lies in their potential impact on the efficacy of antiretroviral treatments and the ability of HIV-1 to resist them. It is for this reason that results revealed significant differences in structure and flexibility between mutant RT and WT RT, suggesting that mutations may influence protein stability and function.

In addition, binding free energy was calculated via molecular mechanics-Poisson-Boltzmann-based surface area (MM/PBSA) to assess the affinity between RT and DNA. Subsequently, specific residues that contribute significantly to the stability of the complex were identified. Furthermore, the interactions between residues throughout the simulation were analyzed, identifying five categories of interactions: anionic, hydrophobic, van der Waals contacts, pi-stacking interactions, and hydrogen bridge donor and acceptor bonds. The results revealed differences in the interactions in mutant RT and WT RT, providing valuable information on how mutations can alter the molecular dynamics of the protein.

The results suggest the hypothesis that mutant RT, having a greater number of interactions in the Anionic, VdWcontact and HBAAcceptor types, might be better able to resist the action of antiretroviral drugs. On the other hand, RT WT, lacking these interactions to the same extent, might be less effective in drug resistance.

To conclude, this thesis used molecular dynamics to analyze the interactions between RT proteins and HIV-1 DNA, providing essential information on how mutations in RT may affect its structure and function, as well as its ability to resist antiretroviral treatments. The results obtained have significant implications for HIV-1 research and treatment.

KeyWords: HIV-1, Retrovirus, Bioinformatics, DNA, Reverse transcriptase, Molecular dynamics.

REFERENCIAS

1. Aat, N., Mohammad, T., Hasan, G. M., & Hassan, M. I. (2018). Advancements in docking and molecular dynamics simulations towards ligand-receptor interactions and structure-function relationships. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 18(20), 1755-1768. <https://doi.org/10.2174/1568026618666181025114157>
2. Alave, J., Paz, J., González, E., Campos, M., Rodríguez, M., Willig, J., & Echevarría, J. (2013). Factores asociados a falla virológica en pacientes infectados con VIH que reciben terapia anti-retroviral en un hospital público del Perú. *Revista Chilena de Infectología*, 30(1), 42–48. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182013000100006>
3. Alqahtani, S., Yang, H., & Hu, X. (2017). Quantum chemical study of molecular recognition between etravirine/rilpivirine and the HIV-1 reverse transcriptase. *Madridge Journal of Novel Drug Research*, 1(1), 25-34. <https://doi.org/10.18689/mjndr-1000105>
4. Amblard, F., Patel, D., Michailidis, E., Coats, S. J., Kasthuri, M., Biteau, N., Tber, Z., Ehteshami, M., & Schinazi, R. F. (2022). HIV nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 240, 114554.
5. Arion, D., Kaushik, N., McCormick, S., Borkow, G., & Parniak, M. (1998). Phenotypic mechanism of hiv-1 resistance to 3'-azido-3'-deoxythymidine (azt): increased polymerization processivity and enhanced sensitivity to pyrophosphate of the mutant viral reverse transcriptase. *Biochemistry*, 37(45), 15908-15917. <https://doi.org/10.1021/bi981200e>
6. Bertoline, L. M. F., Lima, A. N., Krieger, J. E., & Teixeira, S. K. (2023). Before and After AlphaFold2: An Overview of protein Structure Prediction. *Frontiers in bioinformatics*, 3. <https://doi.org/10.3389/fbinf.2023.1120370>
7. Bignon, E., Grandemange, S., Dumont, E., & Monari, A. (2023). How SARS-CoV-2 Alters the Regulation of Gene Expression in Infected Cells. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 14(13), 3199–3207. https://doi.org/10.1021/ACS.JPCLETT.3C00582/SUPPL_FILE/JZ3C00582_SI_001.PDF
8. Bhakat, S., Martin, A. J. M., & Soliman, M. E. S. (2014). An integrated molecular dynamic, principal component analysis and residue interaction network approach reveals the impact of M184V mutation on HIV reverse transcriptase resistance to

- lamivudine. Molecular BioSystems, 10(8), 2215–2228.
<https://doi.org/10.1039/C4MB00253A>
9. Cilento, M. E., Kirby, K. A., & Sarafianos, S. G. (2021). Avoiding drug resistance in HIV reverse transcriptase. *Chemical reviews*, 121(6), 3271-3296.
10. Das, K., & Arnold, E. (2013). HIV-1 reverse transcriptase and antiviral drug resistance. Part 1. *Current Opinion in Virology*, 3(2), 111–118.
<https://doi.org/10.1016/J.COVIRO.2013.03.012>
11. Dunn, L., Boyer, P., Clark, P., & Hughes, S. (2013). Mutations in hiv-1 reverse transcriptase cause misfolding and miscleavage by the viral protease. *Virology*, 444(1-2), 241-249. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.06.017>
12. Grande, T. M. (2008). Determinantes moleculares implicados en la resistencia a análogos a timidina y en la fidelidad de copia de la retrotranscriptasa del virus de la inmunodeficiencia humana tipo (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Madrid).
13. Global HIV & AIDS statistics — Fact sheet | UNAIDS. (n.d.). Retrieved October 22, 2023, from <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>
14. Goeta, B. (2002). Bioinformatics-sequence and genome analysis. *Briefings in Bioinformatics*, 3(1), 101-103. <https://doi.org/10.1093/bib/3.1.101>
15. Herschhorn, A., & Hizi, A. (2010). Retroviral reverse transcriptases. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2010 67:16, 67(16), 2717–2747.
<https://doi.org/10.1007/S00018-010-0346-2>
16. *HIV – Number of people (all ages) living with HIV*. (n.d.). Retrieved October 27, 2023, from <https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/estimated-number-of-people--living-with-hiv>
17. Ilina, T., LaBarge, K., Sarafianos, S. G., Ishima, R., & Parniak, M. A. (2012). Inhibitors of HIV-1 Reverse Transcriptase—Associated Ribonuclease H Activity. *Biology* 2012, Vol. 1, Pages 521-541, 1(3), 521–541.
<https://doi.org/10.3390/BIOLOGY1030521>
18. Kasaraneni, N., Leibowitz, J., & Berghman, L. R. (2017). Vector Engineering for Cell and Gene Therapy. <https://oaktrust.library.tamu.edu/handle/1969.1/165854>

19. Machado, J. E., & Alzate, J. A. (2008). Patterns of antiretroviral drug prescription in 997 Colombian patients. *Biomédica*, 28(1), 78-86.
20. Martínez Del Río, J., & Menéndez Arias, L. (n.d.). La actividad RNasa H de la retrotranscriptasa del VIH como diana terapéutica. 9, 202009–2020.
21. Matamoras, T., Barrioluengo, V., Abia, D., & Menéndez-Arias, L. (2013). Major groove binding track residues of the connection subdomain of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase enhance cDNA synthesis at high temperatures. *Biochemistry*, 52(51), 9318–9328.
22. Menéndez-Arias, L. (2010). Molecular basis of human immunodeficiency virus drug resistance: an update. *Antiviral Research*, 85(1), 210–231.
23. Menzies, N. A., Berruti, A. A., Berzon, R., Filler, S., Ferris, R., Ellerbrock, T. V., & Blandford, J. M. (2011). The Cost of Providing Comprehensive HIV Treatment in PEPFAR-Supported Programs. *AIDS (London, England)*, 25(14), 1753. <https://doi.org/10.1097/QAD.0B013E3283463EEC>
24. Montana, J. F., Ferreira, G. R. O. N., Cunha, C. L. F., de Queiroz, A. A. R., Fernandes, W. A. A., Polaro, S. H. I., Gonçalves, L. H. T., Couto, D. C. C., Gir, E., Reis, R. K., Sorensen, W., & Botelho, E. P. (2021). The HIV epidemic in Colombia: spatial and temporal trends analysis. *BMC Public Health*, 21(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/S12889-021-10196-Y/FIGURES/4>
25. Moonsamy, S., Bhakat, S., Walker, R. C., & Soliman, M. E. S. (2016). Single Active Site Mutation Causes Serious Resistance of HIV Reverse Transcriptase to Lamivudine: Insight from Multiple Molecular Dynamics Simulations. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 74(1), 35–48. <https://doi.org/10.1007/S12013-015-0709-2/METRICS>
26. Operario, D., Balakrishnan, M., Bambara, R., & Kim, B. (2006). Reduced dntp interaction of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase promotes strand transfer. *Journal of Biological Chemistry*, 281(43), 32113–32121. <https://doi.org/10.1074/jbc.m604665200>
27. Ramírez Silva, L. H., & Vilchis Landeros, M. M. (2021). Aplicaciones de simulaciones de dinámica molecular en proteínas

28. Rezende, L., Curr, K., Ueno, T., Mitsuya, H., & Prasad, V. (1998). The impact of multidideoxynucleoside resistance-conferring mutations in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase on polymerase fidelity and error specificity. *Journal of Virology*, 72(4), 2890-2895. <https://doi.org/10.1128/jvi.72.4.2890-2895.1998>
29. Roy, J. and Linial, M. (2007). Role of the foamy virus pol cleavage site in viral replication. *Journal of Virology*, 81(10), 4956-4962. <https://doi.org/10.1128/jvi.00104-07>
30. Santoro, M. M., Perno, C. F., Daines, D. A., & Kingsley, D. H. (2013). HIV-1 Genetic Variability and Clinical Implications. 2013, 20. <https://doi.org/10.1155/2013/481314>
31. Tian, X., Chen, J., Wang, X., Xie, Y., Zhang, X., Han, D., Fu, H., Yin, W., & Wu, N. (2023). Global, regional, and national HIV/AIDS disease burden levels and trends in 1990–2019: A systematic analysis for the global burden of disease 2019 study. *Frontiers in Public Health*, 11. <https://doi.org/10.3389/FPUBH.2023.1068664/FULL>
32. Varadi, M., Anyango, S., Deshpande, M., Nair, S., Natassia, C., Yordanova, G., Yuan, D. Y., Stroe, O., Wood, G., Laydon, A., Žídek, A., Green, T., Tunyasuvunakool, K., Petersen, S., Jumper, J., Clancy, E., Green, R., Vora, A., Lutfi, M., . . . Velankar, S. (2021). AlphaFold Protein Structure Database: massively expanding the structural coverage of protein-sequence space with high-accuracy models. *Nucleic Acids Research*, 50(D1), D439-D444. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1061>
33. Warren, K., Warrilow, D., Meredith, L., & Harrich, D. (2009). Reverse Transcriptase and Cellular Factors: Regulators of HIV-1 Reverse Transcription. *Viruses*, 1, 873–894. <https://doi.org/10.3390/v1030873>
34. Waterman, M. (1998). Introduction to computational biology: maps, sequences, and genomes. *Biometrics*, 54(1), 398. <https://doi.org/10.2307/2534039>.