

Polyprotein Gag je prekurzorem strukturních proteinů viru HIV-1 nezbytných pro správné složení, pučení a zrání virové částice v průběhu životního cyklu viru HIV-1. Proces zrání do stádia infekčního virionu je závislý na štěpení polyproteinu Gag a GagPol virovou proteínasou na devíti přesně určených místech. Narušení tohoto štěpení je jedním z hlavních terapeutických cílů v léčbě nákazy HIV. Virus HIV-1 si však vytváří rezistenci k inhibitorům proteínasy vznikem mutací jak v proteínase samotné, tak v jejím substrátu.

Štěpení Gagu HIV-1 proteínasou je proces s přesně daným pořadím a rychlostí jednotlivých kroků. Předchozí biochemické studie stanovily kinetické parametry těchto procesů s pomocí oligopeptidů reprezentujících přirozeně se vyskytující štěpicí místa. Tato práce popisuje štěpení samotného polyproteinu Gag, který je přirozeným substrátem HIV-1 proteínasy. Za tímto účelem byl rekombinantně připraven kompletní polyprotein Gag v bakteriálním expresním systému. Bylo provedeno jeho štěpení HIV-1 proteínasou a produkty tohoto štěpení byly analyzovány pomocí SDS-PAGE a Western blotu. Dále byla porovnána substrátová specifita proteínasy divokého typu a mutované varianty HIV-1 proteínasy vůči kompletnímu divokému typu Gag polyproteinu. Byly pozorovány podstatné rozdíly mezi rychlostmi jednotlivých kroků štěpení pomocí proteínasy divokého typu a mutované HIV-1 proteínasy.