

DA SILVA-JANUÁRIO, M. E. **HIV-1 Nef modula o conteúdo proteico de vesículas extracelulares de células T com a depleção de proteínas antivirais IFITMs.** 2022. 96f. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Nef é uma proteína multifuncional do HIV que contribui para o aumento da viremia e a progressão da doença. Nef exerce essas funções ao modificar os níveis de expressão de várias proteínas antivirais em diferentes compartimentos da célula hospedeira, como a membrana plasmática, complexo de Golgi e vesículas extracelulares (EVs). Nesse trabalho foi realizada uma análise proteômica quantitativa de EVs liberadas por linfócitos a fim de caracterizar as mudanças globais em seu conteúdo proteico promovidas por Nef. A hipótese testada foi de que Nef teria alvos ainda não identificados com seus níveis alterados nas EVs. Dentre as diversas proteínas com níveis modificados, os resultados mostraram que Nef é capaz de reduzir os níveis da proteína antiviral IFITM2 em EVs. A família de proteínas IFITMs (*Interferon-Induced Transmembrane*) age contra uma diversidade de vírus, incluindo: influenza, dengue, zika e HIV. A expressão de IFITMs é regulada por interferon e pelo menos três IFITMs diferentes exibem atividade antiviral (IFITM1, IFITM2 e IFITM3). No contexto da infecção pelo HIV, foi anteriormente mostrado que as IFITMs impedem a fusão do vírus com a membrana plasmática, favorecendo o direcionamento do vírus para uma via de degradação lisossomal. Até o momento, não há evidências de proteínas virais que antagonizam as IFITMs. A descoberta de que Nef reduz os níveis de IFITM2 em EVs motivou a investigação do possível papel de Nef em antagonizar IFITMs em linfócitos. Ensaios de *western blot* demonstraram que Nef reduz os níveis proteicos de IFITM1, IFITM2 e IFITM3 nas EVs de células T, mas não afeta os níveis totais intracelulares. Ensaios de biotinylation e enriquecimento de *lipid rafts*, mostraram que Nef diminui a associação de IFITM1, IFITM2 e IFITM3 com a membrana plasmática e com domínios de *lipid rafts*, respectivamente, sendo este o principal local da biogênese de EVs em linfócitos. A análise da distribuição subcelular de IFITM3 na presença de Nef mostrou que a proteína tem seus níveis reduzidos na superfície celular e é redistribuída a partir do citosol para a região perinuclear. Ensaios de transferência de proteínas por meio de EVs permitiram observar que IFITM3 pode ser eficientemente entregue para células receptoras. Por fim, análises da expressão dos genes IFITMs em resposta ao interferon revelaram que Nef bloqueia fortemente a sua expressão, a partir do bloqueio da via de sinalização de IFN do tipo I.

Os resultados permitem concluir que Nef antagoniza IFITMs na transcrição e pós-tradução, bloqueando sua expressão induzida por interferon e removendo essas proteínas dos domínios de *lipid rafts* na membrana plasmática. Tal ação leva a uma exclusão sustentada de IFITMs de locais de brotamento de EVs.