



# ONDERSOEK NA VERSKILLE TUSSEN LONGITUDINALE HIV-1 SEKWENSIES VAN PLASMA- EN PROVIRALE POPULASIES IN ART-ONDERDRUKTE SUID-AFRIKAANSE OORPLANTINGSONTVANGERS



Nokuzola Mbhele<sup>1</sup>, Phillipe Selhorst<sup>1</sup>, Carina Combrinck<sup>1</sup>, Kathryn Manning<sup>1</sup>, Carolyn Williamson<sup>1</sup>, Elmi Muller<sup>1'2'</sup> and Andrew D. Redd<sup>1'3'4</sup>

1. Universiteit van Kaapstad, Fakulteit Gesondheidswetenskappe, Afdeling Mediese Virologie, Instituut vir Aansteeklike Siektes en molekuleêre Medisyne, Kaapstad, Suid-Afrika
2. Stellenbosch Universiteit, Suid-Afrika
3. Nasionale Instituut vir Allergiese en Aansteeklike Siektes, Nasionale Instituut vir Gesondheid, VSA
4. Johns Hopkins Universiteit, VSA



## 1. Uittreksel

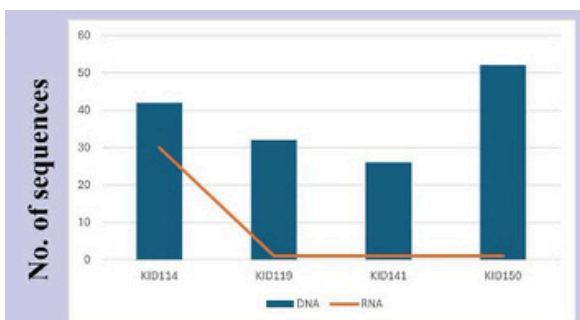
'n Diepgaandee begrip van genetiese variasies binne HIV-1-sekwensies van pasiënte op onderdrukkende antiretrovirale terapie (ART) is kardinaal in HIV-genesingsinisiatiewe en in die skep van groter insig in HIV-1-reservoirs wat laevlak-viremia onder effektiewe terapie onderhou. Daar is aangedui dat die genetiese samestelling van HIV uit plasma bekom, wat as resente-vervaardig beskou word, as geneties verskillend van geïntegreerde provirusse is wat uit monsters van perifere bloedmononukleêre selle (PBMS) bekom is, en wat replikasie-kompetente virusse huisves. Gevolglik, deur die eienskappe en genetiese samestelling van plasma en sellulêr-virale opeenvolgings gelyktydig te bestudeer kan waardevolle inligting verskaf ten opsigte van genetiese veranderlikheid van HIV-1 in vivo, en hul bydrae tot virale reservoir-behoud. Deur "illumina next generation sequencing" te benut kon ons die genetiese verwantskap tussen "HIV-I envelop V3 sequences" (HIV-1 koevert V3-sekwensies) van plasma RNA en sellulêre DNA verkry uit ART-onderdrukte nieroorplantingsontvangers (n=26). Ons het 'n datastel bestaande uit 6,386,288 longitudinale sekwensies bekom. Na data-aggregasie en verwydering van sirkulerende sekwensies en ooreenstemmende skenkensinokulum, is buurverbindende filogenie en paargewyse afstandsanalise op 1229 sekwensies (n=1090 sellulêre DNA en n=39 plasma-RNA) uitgevoer. Vyf individue het DNA en RNA-sekwensies beskikbaar gehad, van wie vier oor homologiese DNA en RNA op verskillende tydskerwe beskik het. Die gemiddelde paargewyse afstand het van 0.003 tot 0.005 gestrek. Hierdie werk sal 'n dieper begrip van die HIV-reservoir oplewer deur virale sekwensies uit verskillende bronne te ondersoek, insluitend translasionêr-kompetente virusse.

## 2. Agtergrond

Genetiese diskordansie tussen geïntegreerde provirusse in perifere bloedmononukleêre selle wat replikasiekompetente virusse en plasmavirale populasies bevat, gereken as onlangs-vervaardigde<sup>1,2</sup>, is al gerapporteer. Om ons begrip te verdiep van hoe HIV-I reservoirs onder ART gehandhaaf word, het ons gelyktydig hierdie twee virale populasies bestudeer onder HIV-geïnfekteerde pasiënte wat gewerf is in die HIV+ tot HIV+ renale oorplantingstudie. Hierdie studie ondersoek 'n beduidende populasie wat dikwels onderverteenwoordig word in genesingsnavorsing.

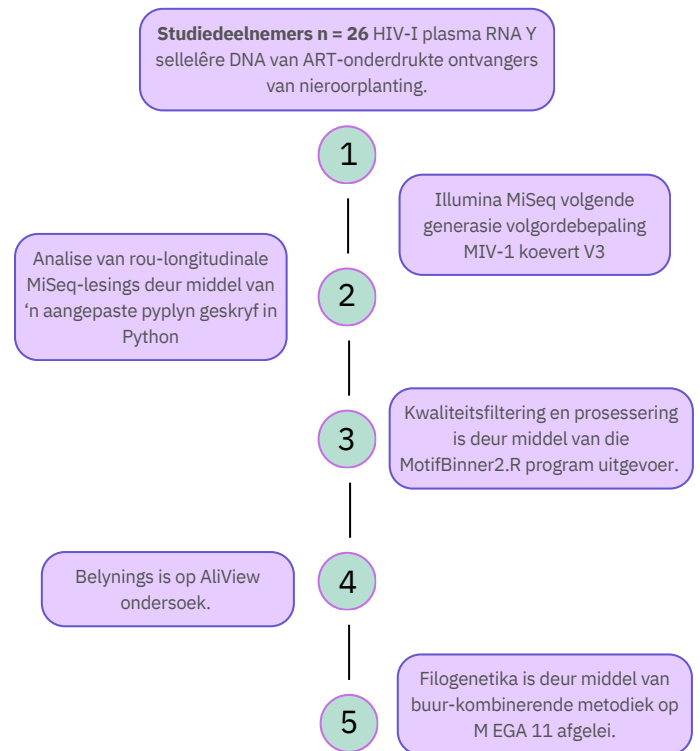
## 4. Data-analise

Van die 26 deelnemers aan die studie het vyf DNA en RNA-sekwense beskikbaar gehad, en het vier deelnemers (KID 114, KID119, KID141 en KID150) homologiese DNA en RNA-sekwense op verskillende tydopname gehad.



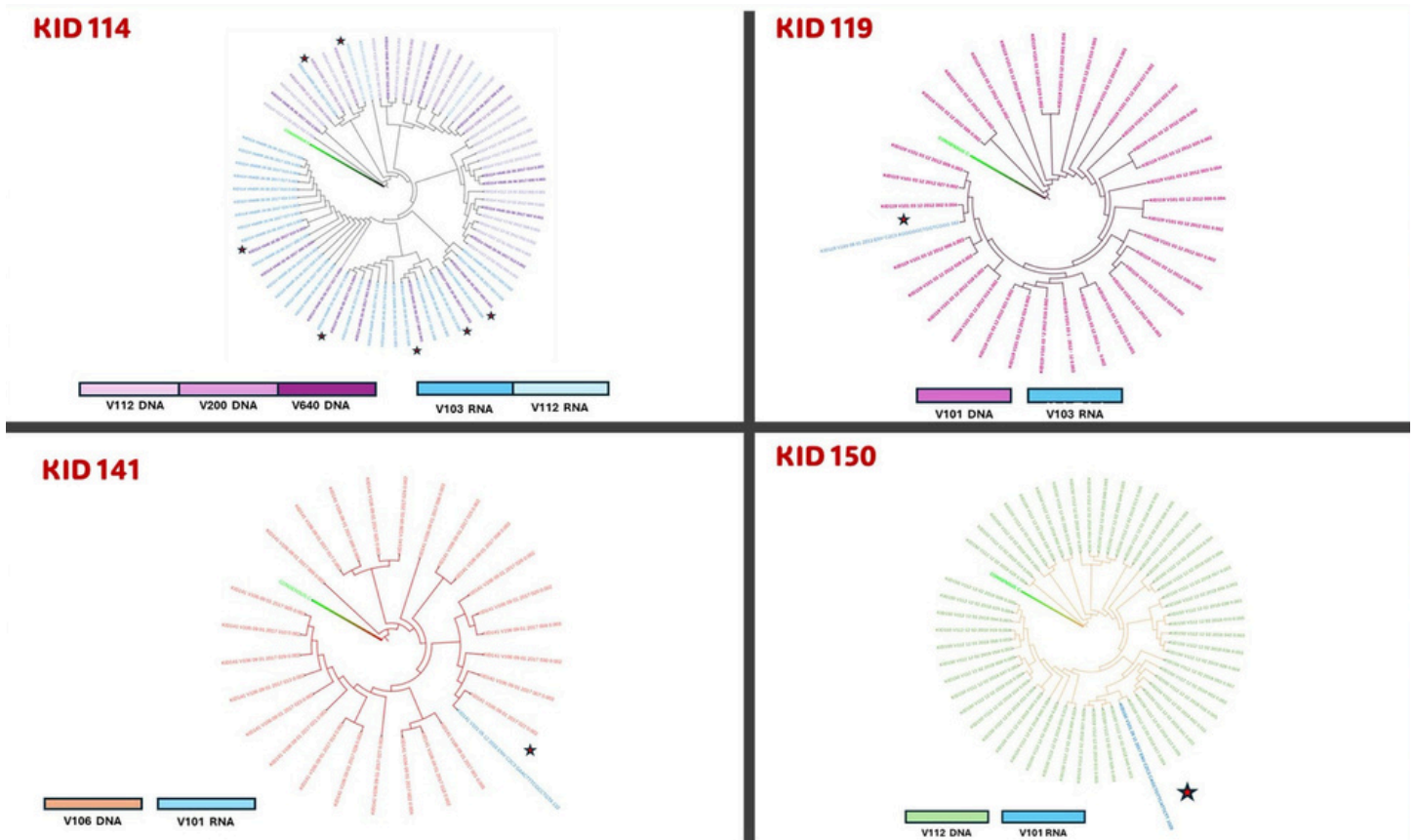
**Figuur 2.** Aantal virussekwense in deelnemers met homologiese DNA en RNA-sekwense.

## 3. Metodiek



**Figuur 1.** Opsomming van studie se werkvloei.

## 5. Resultate



**Figuur 3.** Filogenetiese verwantskap tussen plasma en PBMC-afgeleidevirusse.

Buur-aansluitende boom van Envelope V3-sekwense gekonstrueer op MEGA 1 d.m.v. die p-afstandsmetode. Plasma RNA en sellulêre DNA is gekleurkodeer. Konsensus sub tipe C verskyn in liggroen vir alle deelnemers. Ooreenstemmende plasma RNA en sellulêre DNA-virusse vertoon as besoek-tydpunte aangedui op die sekwens (V101 = een week post-oorplanting; V103 = drie weke post-oorplanting; V106 = ses weke post-oorplanting; V112 = twaalf weke post-oorplanting; V200 = een jaar post-oorplanting; V640 = ~ses jaar post-oorplanting).

## 6. Volgende stap

Verdere ondersoek na die longitudinale HIV+ tot HIV+ niëroorplantingsteekproef deur eerstens die grootte van die translasionêr-kompotente latente virale reservoir (LVR) d.m.v. die virale proteïenkoltoets ("VIP-SPOT assay") te evalueer.

Die nuutontwikkelde sensitiewe en hoëdeurvloei-toets<sup>3,4</sup> is ontwerp om die fraksie van CD4+ T-selle wat latente HIV-1 wat met stimulasie geheraktiveer kan word, huisves, te assesseer. Opvolgend tot die produktiewe virale reservoir-kwantifisering, sal genetiese ooreenstemmings tussen translasionêr-kompotente LVR-sekwense en die sirkulerende laevlak-plasma viremia-sekwense op dieselfde tydspunte bepaal word.

## 7. Verwysings

1. Hendricks, Chynna M., et al. "Discordance between hiv-1 population in plasma at rebound after structured treatment interruption and archived provirus population in peripheral blood mononuclear cells." *Microbiology spectrum* 10.4 (2022): e01353-22.
2. Edo-Matas, Diana, et al. "Genetic composition of replication competent clonal HIV-1 variants isolated from peripheral blood mononuclear cells (PBMC), HIV-1 proviral DNA from PBMC and HIV-1 RNA in serum in the course of HIV-1 infection." *Virology* 405.2 (2010): 492-504.
3. Puertas, Maria C., et al. "VTP-SPOT: an innovative assay to quantify the productive HTV-1 reservoir in the monitoring of cure strategies." *Mbio* 12.3 (2021): 10-1128.
4. Malisa, Jemima, et al. "Use of laboratory-developed assays in global HI V-1 treatment-monitoring and research." *Scientific Reports* 13.1 (2023): 4578.