

5. ゲノミクス, 計算科学, 実験科学の手法に基づく HIV の中和抗体逃避機構の研究

横 山 勝

国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター 第二室

HIV-1 gp120 の V3 は, 感染受容体との相互作用に中心的役割を担う. そのため本来は, 機能的制約が強く作用し, アミノ酸変異は抑制されるはずである. ところが V3 は高変異領域として知られる. これは, V3 は免疫原性が高く, 持続感染には抗原変異を必要とするため, とされる. これまで, 我々は V3 電荷量が中和感受性に影響することを示してきた. gp120 が中和を逃避するメカニズムとして, 抗原変異, 立体配置による遮蔽, 糖鎖による遮蔽, 立体構造変化による遮蔽などが提案されている. 中和を逃避する分子メカニズムが理解できれば, 中和能を制御できる可能性がある. 本総説では, 計算科学による HIV の中和抗体逃避機構の研究を紹介する. 計算科学は, ゲノム情報に基づく多様性解析や実験科学の手法等と組み合わせることで, より有益な情報を得ることができる.

1. はじめに

HIV-1 エンベロープ蛋白質は感染受容体との結合部位を持つ gp120 と, ウイルスと標的細胞との膜融合に重要な gp41 からなり, gp120 と gp41 のヘテロダイマーが三量体を形成している. これまで抗体や感染受容体との複合体にすることで, gp120 の単量体構造は X 線結晶構造解析により部分的に決定されている¹⁻⁹⁾. gp120, CD4, および抗体との複合体構造を **図 1** に示す. gp120 コアから下に突出している部位は V3 領域と呼ばれる. この V3 領域は 35 アミノ酸残基からなり^{5, 7)}, CCR5 や CXCR4 などの感染受容体との相互作用に中心的役割を担うと考えられている^{10, 11)}. そのため, V3 領域は機能的制約が強く作用して, アミノ酸変異は抑制されると考えられるが, この V3 領域は高変異領域として知られている¹²⁾. これは, V3 領域は免疫原

性が高く, 持続感染には抗原変異を必要とするためであると考えられている¹³⁻¹⁵⁾. HIV の主要中和領域が V3 領域に位置し¹⁶⁾, HIV 感染者の約半がこの領域を標的とした抗体を保持していると考えられている¹⁷⁾. しかしながら, V3 領域や gp120 の他の領域を認識する抗体は, gp120 単量体では中和感受性であるが, 多量体となると低感受性であるものが多い. これまで, gp120 が中和を逃避するメカニズムとして, 抗原変異, 立体配置による遮蔽¹⁸⁾, 糖鎖による遮蔽^{18, 19)}, 立体構造変化による遮蔽²⁰⁾などが提案されている. 中和を逃避する分子メカニズムが理解できれば, 中和能を制御できる可能性がある.

近年, 分子の構造機能情報の蓄積, 計算機の演算能力の向上, 情報処理技術の進展などに伴い, 蛋白質・核酸の高次構造, 酵素反応, 分子間相互作用, 複合体分子構造などを高精度で計算機を用いて再現・予測する計算科学が急速に進展している²¹⁻²⁵⁾. 我々は, この計算科学に基づく解析技術が, 培養が困難な RNA ウイルスや易変異性 RNA ウイルスの構造特性と形質変化の迅速予測に役立つことを示してきた^{12, 26-43)}. 本総説では, この中から, 特に計算科学による HIV の中和抗体逃避機構の研究に焦点を当てて紹介する.

2. 抗体に認識されにくい V3 配列

V3 領域は高変異領域として知られているが, CCR5 指向性を規定する V3 配列は, 感染者体内で比較的均一な集

連絡先

〒 208-0011

東京都武蔵村山市学園 4-7-1

国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター 第二室

TEL: 042-561-0771 (ex. 3371)

FAX: 042-567-5632

E-mail: yokoyama@nih.go.jp

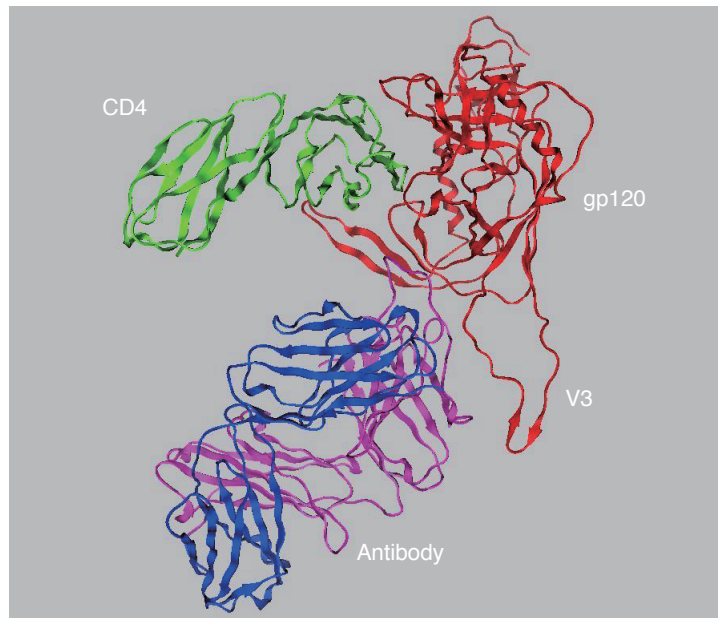


図1 HIV-1 gp120, CD4, および抗体の複合体構造 (PDB code:2B4C¹⁸)。

団として維持されることが知られている⁴⁴⁻⁴⁷。これはCCR5指向性を規定するV3が中和抗体から逃避していることを示唆する。CCR5指向性を規定するV3配列の特徴を知るために、他の細胞指向性V3と比較すると、CCR5指向性を規定するV3配列は塩基性アミノ酸が少ない⁴⁴⁻⁴⁷。したがって、V3の電荷量が中和抗体からの逃避の制御因子である可能性が考えられる。この仮説を確かめるために、自然界でのV3の電荷量のV3配列の多様性への影響、およびV3電荷量の抗V3抗体中和感受性への影響を調べた³²。

多様性解析は情報エントロピーを求めることにより行われた。情報エントロピーとは、ある座位における記号（アミノ酸であればA, C, D, E, F, …など）が、その座位において観測される記号の不確かさ意味している^{34, 48, 49}。そのため、情報エントロピーはその座位の多様性を表し、そのスコアが大きいほどその座位では様々な記号が観測され、零であればある特定の記号のみが観測されることを示す。情報エントロピー H はシャノンの式^{34, 48, 49}：

$$H = -\sum_{i=1}^n p_i \log p_i$$

で求めることができる。ここで、 p_i は生起確率を表す。情報エントロピーの最大値はすべての記号の生起確率が等しい時である。アミノ酸であれば、アミノ酸はA, C, D, E, F, …など20種類の記号で表されるので、情報エントロピーの最大値は4.4となる。

解析にはHIV sequence database⁵⁰より得た、HIV-1 CRF01_AEのV3領域のアミノ酸配列($n=1361$)を用いた。V3配列を電荷量と糖鎖付加部位の有無でグループに分類

して、それぞれのグループの情報エントロピーを求めた。ここでV3領域の電荷量は塩基性アミノ酸を+1、酸性アミノ酸を-1、それ以外のアミノ酸を0としてV3領域35アミノ酸残基の総和とした。HIV-1 CRF01_AEのV3で、自然界において多く見られる配列は電荷量が+2~+4かつ糖鎖付加部位を持ち、全体の約44%は電荷量が+3かつ糖鎖付加部位を持つV3配列であった³²。自然界で最も多く見られる電荷量が+3かつ糖鎖付加部位を持つV3配列と、電荷量が+7かつ糖鎖付加部位を持たないV3配列の情報エントロピーを比較した。電荷量が+3かつ糖鎖付加部位を持つV3配列は電荷量が+7かつ糖鎖付加部位を持たないV3配列に比べアミノ酸が保存され、特に、V3領域のstemに多様性に違いが見られた。(図2)この結果より、電荷量の低下によってV3配列の多様性が低下すると考えられる。

次に、V3電荷量の抗V3抗体中和感受性への影響を知るために、中和実験と組換えV3由来合成ペプチドを用いた結合抗体量の測定を行った³²。中和実験には、HIV-1 subtype B LAI株とV3領域のみ異なるV3組換えウイルス($n=30$)を用いた。CRF01_AE感染血漿($n=21$)の中和力価と抗V3抗体価の関係を見てみると、V3配列の電荷量が+2, +3, +4かつ糖鎖付加部位を持つとき、ウイルスは抗V3抗体に低感受性であった³²。この結果は、前述の多様性解析において自然界で多く見られるV3配列と一致する。また、同じ電荷量でもCCR5指向性であるとき中和抵抗性であった。したがって、CCR5指向性ウイルスは、電荷量の低下によって抗V3抗体に低感受性となり、V3配列の多様性が低下したと考えられる。

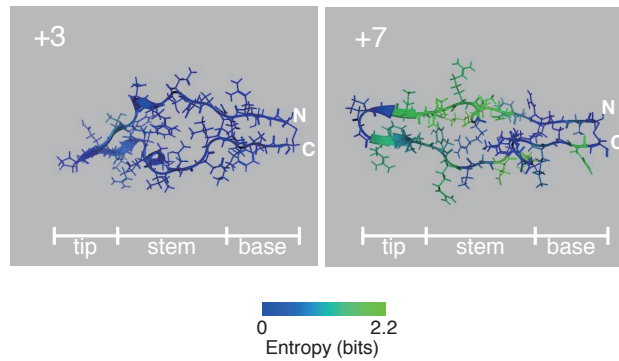


図2 HIV-1 CRF01_AE gp120 V3 領域の多様性解析.

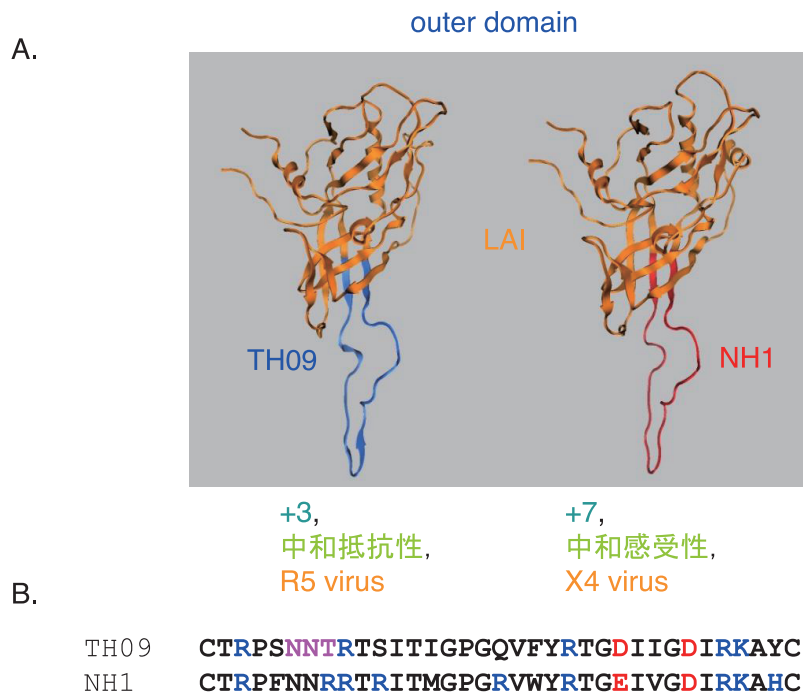


図3 ホモロジーモデリング法による V3 配列のみが異なる 2 つの gp120 外部ドメイン分子モデル構築.

3. HIV の液性免疫逃避能を制御する gp120 の構造要因

(1) 抗 V3 抗体中和を逃避するメカニズム

V3 配列の電荷量が +2, +3, +4 かつ糖鎖付加部位を持つとき、ウイルスは抗 V3 抗体に低感受性であった³²⁾。また、同じ電荷量でも CCR5 指向性であるとき中和抵抗性であった³²⁾。ウイルスが抗 V3 抗体中和を逃避するメカニズムを知るため、HIV-1 gp120 の分子モデルを構築することで、V3 配列の電荷量の gp120 構造への影響を調べた³²⁾。分子モデルはホモロジーモデリング法および分子動力学法により構築した。

ホモロジーモデリング法とは、既知の 3 次元構造情報をもとに配列の類似する蛋白質の構造を予測する方法であ

る。アミノ酸の配列が類似している蛋白質同士は、分子構造も類似しているという原理を利用している^{51, 52)}。ホモロジーモデリング法では、アミノ酸配列一致度が高いほど、より精度の高い分子モデルを構築することができる^{21, 22)}。多くの場合、鋳型との配列一致度が 50% 以上あれば X 線結晶構造と 1 Å 程度の誤差範囲で一致する²²⁾。結晶構造の解像度が 1 ~ 3 Å 程度であることを考慮すれば、実験誤差の範囲といえる。また、一般的には、鋳型との配列類似度が 30% 以上あれば、得られたモデルのうち約 90% が主鎖の誤差が 1.5 ~ 3 Å 程度のモデルが得られる²²⁾。分子動力学法は、多数の粒子の運動をニュートンの運動方程式を数値的に積分することにより計算機の中で再現し、系の静的・動的安定構造や、動的過程を解析することができる²³⁻²⁵⁾。

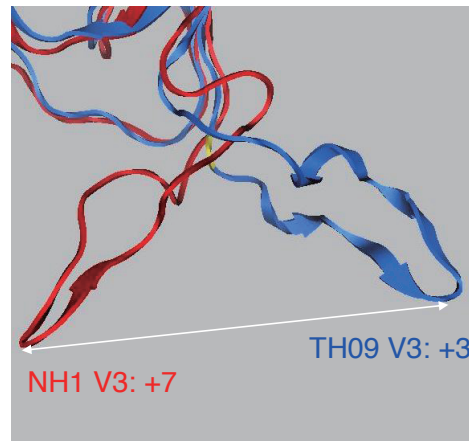


図4 V3電荷量がV3の配置に及ぼす影響。

V3の先端の位置がTH09(電荷量:+3)とNH1(電荷量:+7)で $\sim 35\text{\AA}$ 離れている。

現在の技術では、動的な側面を理解するには実験的手法のみでは困難である場合が多い。そのため、蛋白質などの動的性質を理解するには、分子動力学法は有用な手法である。

V3配列の電荷量のgp120構造への影響を検討するため、図3に示すようなV3配列のみが異なる2つのgp120外部ドメイン分子モデル(V3配列の電荷量が+3と+7)を、ホモロジーモデリング法により初期構造を構築し、得られた構造を用いて分子動力学法によりgp120構造の安定構造を調べた。得られた安定構造によりV3配列の構造への影響を解析することができ、gp120コアとV3との相対的な配置の知見が得られる。電荷量が+3のgp120分子モデルと+7のgp120分子モデルを比較した。電荷量が+3ではV3先端部が $\beta 20\text{-}\beta 21$ ループとは反対方向に向き、電荷量が+7ではV3先端部は $\beta 20\text{-}\beta 21$ ループの方向に向いた。(図4)ゆえに、gp120コアが同じアミノ酸配列であっても、V3配列の電荷量によりV3の立体配置が変化する。クライオ電子顕微鏡の像⁵³⁾をもとにgp120三量体におけるV3の配置を検討すると、V3配列の電荷量の低下により中和エピトープの露出度が低下する可能性が示唆された。したがって、HIV-1 gp120はV3配列の電荷量の低下より、中和エピトープを抗体から隠れる配置することで、抗V3抗体中和に低感受性となると考えられる³²⁾。

(2) V3電荷量がCD4結合ループの配置に及ぼす影響

gp120コアのアミノ酸配列が同じでも、V3配列の電荷量によってV3の配置が変わった。次に、V3配列の電荷量がCD4結合ループの配置に及ぼす影響を調べた。V3配列の電荷量が+7であるgp120のCD4結合ループは、+3であるgp120よりもV4ループの方向にシフトしていた⁵⁴⁾。そのため、V3配列の電荷量が+7のgp120は+3のgp120よりもCD4結合部位が広い。この結果より、V3

配列の電荷量が大きいとCD4結合部位を認識する中和抗体による感受性大きいと考えられる。

V3配列の電荷量が大きいとCD4結合部位を認識する中和抗体による感受性大きいと、CD4結合ループ周辺はCD4結合部位を認識する抗体による選択圧を受け、そのため多様性が増大していると考えられる。gp120配列の多様性を情報エントロピーにより調べた。解析にはHIV sequence database⁵⁰⁾より得た、HIV-1 CRF01_AE gp120のアミノ酸配列(電荷量:+3, n=81または電荷量:+7, n=9)、およびsubtype C gp120のアミノ酸配列(電荷量:+3, n=137または電荷量:+7, n=13)を用いた。V3配列の電荷量が+7では、電荷量が+3と比べてCD4結合ループ周辺のアミノ酸がより多様である。(図5)これはCD4結合部位近傍が抗体の選択圧を受けていることを示唆し、構造解析の結果を支持する。電荷量が+7では+3よりも中和感受性であることを確かめるために中和試験を行うと、+7のウイルスは+3のウイルスよりも、CD4結合部位を認識する中和抗体の感受性大きいことが分かった。

4. HIVの細胞指向性と中和感受性の変化

V3の電荷量の低下によりV3の配置が変わることで、抗V3抗体に低感受性となることが示唆された³²⁾。さらに、V3配列の電荷量はCD4結合部位を認識する中和抗体による感受性にも影響を与えられと考えられる。一方、V3はCCR5やCXCR4などの感染受容体との相互作用に中心的役割を担うと考えられている^{10, 11)}。ゆえに、V3は電荷量に基づきウイルスの中和感受性と細胞指向性を司る機能領域と考えられる。以下では、感染者体内でのHIV細胞指向性と中和感受性の変化を、V3の電荷量の変化と関連付けて考察する³²⁾。

無症状期の感染者体内では、免疫が機能するために抗

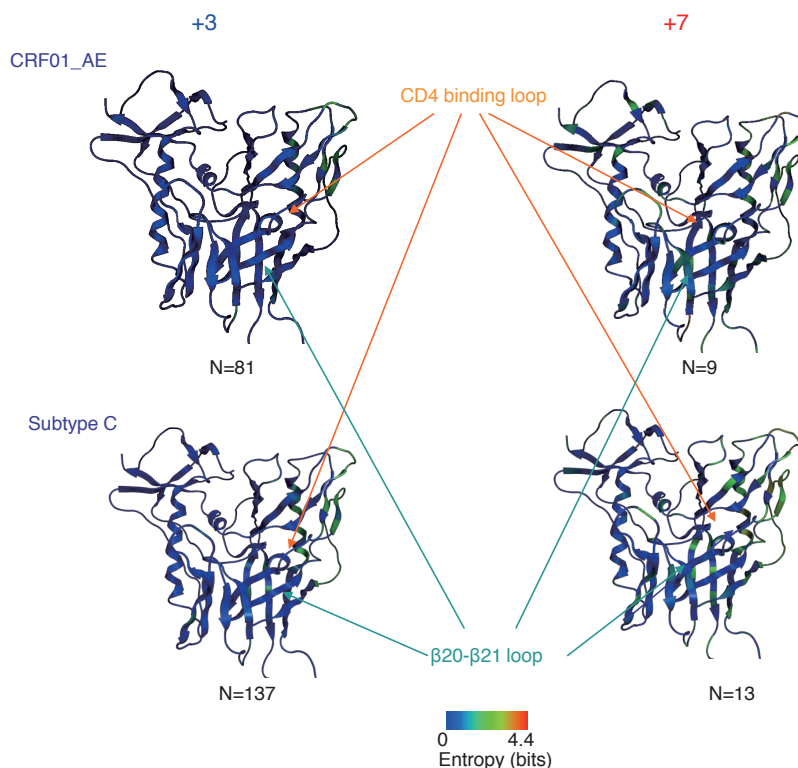


図5 V3配列の電荷量よりグルーピングして行ったCD4結合ループ周辺のアミノ酸の多様性解析.

V3抗体の淘汰圧がHIVに強く働くと考えられる。そのため、感染者体内では抗V3抗体から、より逃避できるV3抗体中和抵抗性HIVが選択される。このHIVは低電荷量かつ糖鎖付加型V3であるCCR5指向性HIVである。無症状期が数年経過してエイズになると、免疫系が破綻しているために抗V3抗体の淘汰圧は弱くなっている。そのため、抗V3抗体から逃避できることよりも、より増殖能の高いHIVが選択される可能性が高くなる。高電荷量V3であるCXCR4指向性HIVはCD4の結合部位が広がることで、感染受容体であるCD4との結合能を高めていると考えられる。ゆえに、より増殖能の高いHIVとして高電荷量V3であるCXCR4指向性HIVが選択される。これは進化の仮説の一つである赤の女王仮説⁵⁵⁾の例と言えるかもしれない。

赤の女王仮説とは、1973年にL. van Valenにより提唱された、「競争型共進化において、種が存続するためには進化し続ける必要があり、進化をやめるとその種は絶滅する」という仮説である⁵⁵⁾。これはルイス・キャロルの童話「鏡の国のアリス」に登場する「赤の女王」の有名な台詞「その場にとどまるためには、全力で走り続けなければならない」に喩えて「赤の女王仮説」と呼ばれる。HIVは感染者体内では抗V3抗体の淘汰圧を受ける環境下において、V3電荷量を変化させることにより中和感受性、細胞指向性、増殖能を制御する。その結果、HIVは感染者

体内で常にその環境に適応するため進化を続けると考えられる。

5. おわりに

計算科学によるHIV-1 gp120の構造解析を行い、ゲノム情報に基づく多様性解析および実験科学の手法と組み合わせることで、HIVの液性免疫逃避能を制御するgp120の構造要因を特定した。V3の電荷量によってgp120コアのアミノ酸配列が同じでも、V3配列の電荷量によってV3の配置が変わることが示された。また、V3配列の電荷量はV3の配置だけではなく、gp120コアの構造にも影響を与えた。このV3の機能によって、HIVは抗V3抗体中和などから逃避すると考えられる。したがって、このV3の機能を制御できれば、中和能を制御できる可能性がある。

最近、相次いでHIV-1に対する広域中和活性が格段に向上したモノクローナル抗体が発見されている⁵⁶⁻⁵⁸⁾。米国NIAIDにより報告されたVRC01は、HIV-1の主なサブタイプ全てを含むHIV-1分離株に対し、その90%以上と結合し中和する能力を持つ⁵⁷⁾。この抗体は、これまで広域中和抗体であることが知られているb12のエピトープを有し、かつこれまでに提案されている中和を逃避するメカニズム（立体配置による遮蔽¹⁸⁾、糖鎖による遮蔽^{18,19)}、立体構造変化による遮蔽²⁰⁾など）が生じないgp120を設計し、これをプローブとして広域中和抗体を産生するB

細胞の分離と中和抗体遺伝子の同定により得られた⁵⁷⁾。このように中和抗体逃避機構を知ることで、これまでより広域中和活性が格段に向上した中和抗体が発見されている。今後、より中和抗体逃避機構を理解することで、また新しい広範囲の HIV-1 に対する広域中和抗体が発見されるかもしれない。

6. 謝辞

本研究を行う機会を与えていただいた国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター第二室長佐藤裕徳博士、中和試験を担当していただいた横浜市立大学情報システム予防医学長縄聡博士（現 東京都臨床医学総合研究所）および北村勝彦准教授、中和抗体を分与していただいた熊本大学エイズ学研究センター病態制御分野松下修三教授、計算機環境のサポートをしていただいた、日本 SGI 株式会社清浦慎吾さん、株式会社菱化システム澤田香織さん、池上貴史さんに深く感謝いたします。

参考文献

- 1) Kwong PD, Wyatt R, Robinson J, Sweet RW, Sodroski J, Hendrickson WA.: Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody. *Nature* 393:648-659, 1998.
- 2) Kwong PD, Wyatt R, Majeed S, Robinson J, Sweet RW, Sodroski J, Hendrickson WA.: Structures of HIV-1 gp120 envelope glycoproteins from laboratory-adapted and primary isolates. *Structure* 8:1329-1339, 2000.
- 3) Huang CC, Venturi M, Majeed S, Moore MJ, Phogat S, Zhang MY, Dimitrov DS, Hendrickson WA, Robinson J, Sodroski J, Wyatt R, Choe H, Farzan M, Kwong PD.: Structural basis of tyrosine sulfation and VH-gene usage in antibodies that recognize the HIV type 1 coreceptor-binding site on gp120. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:2706-2711, 2004.
- 4) Huang CC, Stricher F, Martin L, Decker JM, Majeed S, Barthe P, Hendrickson WA, Robinson J, Roumestand C, Sodroski J, Wyatt R, Shaw GM, Vita C, Kwong PD.: Scorpion-toxin mimics of CD4 in complex with human immunodeficiency virus gp120 crystal structures, molecular mimicry, and neutralization breadth. *Structure* 13:755-768, 2005.
- 5) Huang CC, Tang M, Zhang MY, Majeed S, Montabana E, Stanfield RL, Dimitrov DS, Korber B, Sodroski J, Wilson IA, Wyatt R, Kwong PD.: Structure of a V3-containing HIV-1 gp120 core. *Science* 310:1025-1028, 2005.
- 6) Zhou T, Xu L, Dey B, Hessel AJ, Van Ryk D, Xiang SH, Yang X, Zhang MY, Zwick MB, Arthos J, Burton DR, Dimitrov DS, Sodroski J, Wyatt R, Nabel GJ, Kwong PD.: Structural definition of a conserved neutralization epitope on HIV-1 gp120. *Nature* 445:732-737, 2007.
- 7) Huang CC, Lam SN, Acharya P, Tang M, Xiang SH, Hussan SS, Stanfield RL, Robinson J, Sodroski J, Wilson IA, Wyatt R, Bewley CA, Kwong PD.: Structures of the CCR5 N terminus and of a tyrosine-sulfated antibody with HIV-1 gp120 and CD4. *Science* 317:1930-1934, 2007.
- 8) Chen L, Kwon YD, Zhou T, Wu X, O'Dell S, Cavacini L, Hessel AJ, Pancera M, Tang M, Xu L, Yang ZY, Zhang MY, Arthos J, Burton DR, Dimitrov DS, Nabel GJ, Posner MR, Sodroski J, Wyatt R, Mascola JR, Kwong PD.: Structural basis of immune evasion at the site of CD4 attachment on HIV-1 gp120. *Science* 326:1123-1127, 2009.
- 9) Pancera M, Majeed S, Ban YE, Chen L, Huang CC, Kong L, Kwon YD, Stuckey J, Zhou T, Robinson JE, Schief WR, Sodroski J, Wyatt R, Kwong PD.: Structure of HIV-1 gp120 with gp41-interactive region reveals layered envelope architecture and basis of conformational mobility. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:1166-1171, 2010.
- 10) Hwang SS, Boyle TJ, Lyerly HK, Cullen BR.: Identification of the envelope V3 loop as the primary determinant of cell tropism in HIV-1. *Science* 253:71-74, 1991.
- 11) Choe H, Farzan M, Sun Y, Sullivan N, Rollins B, Ponath PD, Wu L, Mackay CR, LaRosa G, Newman W, Gerard N, Gerard C, Sodroski J.: The β -chemokine receptors CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates. *Cell* 85:1135-1148, 1996.
- 12) 佐藤裕徳, 横山 勝.: RNA ウイルスと変異. *ウイルス*, 55:221-230, 2005.
- 13) Simmonds P, Balfe P, Ludlam CA, Bishop JO, Brown AJ.: Analysis of sequence diversity in hypervariable regions of the external glycoprotein of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 64:5840-5850, 1990.
- 14) Bonhoeffer S, Holmes SE, Nowak M: Causes of HIV diversity. *Nature* 376:125, 1995.
- 15) Yamaguchi Y, Gojobori T: Evolutionary mechanisms and population dynamics of the third variable envelope region of HIV within single hosts. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:1264-1269, 1997
- 16) Matsushita S, Robert-Guroff M, Rusche J, Koito A, Hattori T, Hoshino H, Javaherian K, Takatsuki K, Putney S.: Characterization of a Human Immunodeficiency Virus Neutralizing Monoclonal Antibody and Mapping of the Neutralizing Epitope. *J. Virol.*, 62:2107-2114, 1988.
- 17) Moore JR, Ho DD.: Antibodies to Discontinuous or Conformationally Sensitive Epitopes on the gp120 Glycoprotein of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Are Highly Prevalent in Sera of Infected Humans. *J Virol* 67:863-875, 1993.
- 18) Wyatt R, Kwong PD, Desjardins E, Sweet RW, Robinson J, Hendrickson WA, Sodroski JG.: The antigenic structure of the human immunodeficiency virus gp120 envelope glycoprotein. *Nature* 393:705-711, 1998.
- 19) Wei X, Decker JM, Wang S, Hui H, Kappes JC, Wu X, Salazar-Gonzalez JF, Salazar MG, Kilby JM, Saag MS, Komarova NL, Nowak MA, Hahn BH, Kwong PD,

- Shaw GM.: Antibody neutralization and escape by HIV-1. *Nature* 422:307-312, 2003.
- 20) Kwong PD, Doyle ML, Casper DJ, Cicalak C, Leavitt SA, Majeed S, Steenbeek TD, Venturi M, Chaiken I, Fungq M, Katinger H, Parren PWIH, Robinson J, Van Ryk D, Wang L, Burton DR, Freire E, Wyatt R, Sodroski J, Hendrickson WA, Arthosk J.: HIV-1 evades antibody-mediated neutralization through conformational masking of receptor-binding sites. *Nature* 420:678-682, 2002.
 - 21) Sanchez R, Pieper U, Melo F, Eswar N, Marti-Renom MA, Madhusudhan MS, Mirkovic N, Sali A.: Protein structure modeling for structural genomics. *Nat Struct Biol* 7 Suppl:986-990, 2000.
 - 22) Baker D, Sali A.: Protein structure prediction and structural genomics. *Science* 294:93-96, 2001.
 - 23) Karplus M, Petsko GA.: Molecular dynamics simulations in biology. *Nature* 347:631-639, 1990
 - 24) Karplus M, McCammon JA.: Molecular dynamics simulations of biomolecules. *Nat Struct Biol* 9:646 - 652, 2002.
 - 25) Dodson GG, Lane DP, Verma CS.: Molecular simulations of protein dynamics: new windows on mechanisms in biology. *EMBO reports* 9: 144-150, 2008.
 - 26) Kinomoto M, Yokoyama M, Sato H, Kojima A, Kurata T, Ikuta K, Sata T, Tokunaga K.: Amino acid 36 in the human immunodeficiency virus type 1 gp41 ectodomain controls fusogenic activity: implications for the molecular mechanism of viral escape from a fusion inhibitor. *J Virol* 79:5996-6004, 2005.
 - 27) Kinomoto M, Appiah-Opong R, Brandful JAM, Yokoyama M, Nii-Trebi N, Ugly-Kwame E, Sato H, Ofori-Adjei D, Kurata T, Barre-Sinoussi F, Sata T, Tokunaga K.: HIV-1 proteases from drug-naive West African patients are differentially less susceptible to protease inhibitors. *Clin Infect Dis* 41:243-251, 2005.
 - 28) Chen R, Yokoyama M, Sato H, Reilly C, Mansky LM.: HIV Mutagenesis During Antiviral Therapy: Impact of Drug Resistant Reverse Transcriptase, Nucleoside And Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors On Human Immunodeficiency Virus Type 1 Mutant Frequencies. *J Virol* 79:12045-12057, 2005.
 - 29) Oka T, Yamamoto M, Yokoyama M, Ogawa S, Hansman GS, Katayama K, Miyashita K, Takagi K, Tohya Y, Sato H, Takeda N.: Highly conserved configuration of catalytic amino acid residues among calicivirus-encoded proteases. *J Virol* 81:6798-6806, 2007.
 - 30) Song H, Nakayama EE, Yokoyama M, Sato H, Levy JA, Shioda T.: A single amino acid of Human immunodeficiency virus type 2 capsid determines susceptibility to cynomolgus monkey and human TRIM5 α restriction. *J Virol* 81:7280-7285, 2007.
 - 31) Motomura K, Oka T, Yokoyama M, Nakamura H, Mori H, Ode H, Hansman GS, Katayama K, Kanda T, Tanaka T, Takeda N, Sato H, the Norovirus Surveillance Group of Japan.: Identification of Monomorphic and Divergent Haplotypes in 2006/2007 Norovirus GII/4 Epidemic Population by Genome-wide Tracing of Evolutionary History. *J Virol* 82:11247-11262, 2008.
 - 32) Naganawa S, Yokoyama M, Shiino T, Suzuki T, Ishigatsubo Y, Ueda A, Shirai A, Takeno M, Hayakawa S, Sato S, Tochikubo O, Kiyoura S, Sawada K, Ikegami T, Kanda T, Kitamura K, Sato H.: Net positive charge of HIV-1 CRF01_AE V3 sequence regulates viral sensitivity to humoral immunity. *PLoS One* 3:e3206, 2008.
 - 33) Shirakawa K, Takaori-kondo A, Yokoyama M, Izumi T, Matsui M, Io K, Sato T, Sato H, Uchiyama T.: Phosphorylation of APOBEC3G by protein kinase A regulates its interaction with HIV-1 Vif. *Nat Struct Mol Biol* 15:1184-1191, 2008.
 - 34) Oka T, Yokoyama M, Katayama K, Tsunemitsu H, Yamamoto M, Miyashita K, Ogawa S, Motomura K, Mori H, Nakamura H, Wakita T, Takeda N, Sato H.: Structural and Biological Constraints on Diversity of Regions Immediately Upstream of Cleavage Sites in Calicivirus Precursor Proteins. *Virology* 394:119-129, 2009.
 - 35) Yokoyama M, Mori H, Sato H.: Allosteric regulation of HIV-1 reverse transcriptase by ATP for nucleotide selection. *PLoS One* 5:e8867, 2010.
 - 36) Gatanaga H, Ode H, Hachiya A, Hayashida T, Sato H, Oka S.: Combination of V106I and V179D polymorphic mutations in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase confers resistance to efavirenz and nevirapine but not etravirine. *Antimicrob Agents Chemother* 54:1596-1602, 2010.
 - 37) Gatanaga H, Ode H, Hachiya A, Hayashida T, Sato H, Takiguchi M, Oka S.: Impact of human leukocyte antigen-B*51-restricted cytotoxic T-lymphocyte pressure on mutation patterns of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance. *AIDS* 24:F15-22, 2010.
 - 38) Onyango CO, Leligdowicz A, Yokoyama M, Sato H, Song H, Nakayama EE, Shioda T, de Silva T, Townend J, Jaye A, Whittle H, Rowland-Jones S, Cotten M.: HIV-2 capsids distinguish high and low virus load patients in a West African community cohort. *Vaccine* 28 Suppl 2:B60-67, 2010.
 - 39) Motomura K, Yokoyama M, Ode H, Nakamura H, Mori H, Kanda T, Oka T, Katayama K, Noda M, Tanaka T, Takeda N, Sato H, the Norovirus Surveillance Group of Japan.: Divergent Evolution of Norovirus GII/4 by Genome Recombination over 2006-2009 in Japan. *J Virol* 84:8085-8097, 2010.
 - 40) Kono K, Song H, Yokoyama M, Sato H, Shioda T, Nakayama EE.: Multiple sites in the N-terminal half of simian immunodeficiency virus capsid protein contribute to evasion from rhesus monkey TRIM5 α -mediated restriction. *Retrovirology* 7:72, 2010.
 - 41) Inagaki N, Takeuchi H, Yokoyama M, Sato H, Ryo A, Yamamoto H, Kawada M, Matano T.: A structural constraint for functional interaction between N-terminal and C-terminal domains in simian immunodeficiency virus capsid proteins. *Retrovirology* 7:90, 2010.

- 42) Ode H, Yokoyama M, Kanda T, Sato H.: Identification of folding preferences of cleavage junctions of HIV-1 precursor proteins for regulation of cleavability. *J Mol Model* 17:391-399, 2011.
- 43) Kobayashi T, Ode H, Yoshida T, Sato K, Gee P, Yamamoto SP, Ebina H, Strebel K, Sato H, Koyanagi Y.: Identification of amino acids in the human tetherin transmembrane domain responsible for HIV-1 Vpu interaction and susceptibility. *J Virol* 85:932-945, 2011.
- 44) Sato H, Kato K, Takebe Y.: Functional complementation of the envelope hypervariable V3 loop of human immunodeficiency virus type 1 subtype B by the subtype E V3 loop. *Virology* 257:491-501, 1999.
- 45) Sato H, Shiino T, Kodaka N, Taniguchi K, Tomita Y, Kato K, Miyakuni T, Takebe Y.: Evolution and biological characterization of human immunodeficiency virus type 1 subtype E gp120 V3 sequences following horizontal and vertical virus transmission in a single family. *J Virol* 73:3551-3559, 1999.
- 46) Sato H, Taniguchi K, Tomita Y, Shiino T, Miyakuni T, Takebe Y.: Evidence for the selective pressure to reduce heterogeneity of HIV-1 subtype E envelope V3-loop sequences in an intrafamilial infection case. *AIDS* 11:396-397, 1997.
- 47) Kato K, Sato H, Takebe Y.: Role of naturally-occurring basic amino acid substitutions on viral co-receptor usage and cellular tropism in human immunodeficiency virus type 1 subtype E envelope V3 loop. *J Virol* 73: 5520-5526, 1999.
- 48) Shannon CE.: A Mathematical Theory of Communication. *The Bell System Technical Journal* 27:379-423, 623-656, 1948.
- 49) Kober BTM, Farber RM, Wolpert DH, Lapedes AS.: Covariation of mutations in the V3 loop of human immunodeficiency virus type 1 envelope protein: An information theoretic analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:7176-7180, 1993.
- 50) Kuiken C, Korber B, Shafer RW.: HIV Sequence Databases. *AIDS Rev* 5:52-61, 2003. (<http://www.hiv.lanl.gov/>)
- 51) Chothia C, Lesk AM.: The relation between the divergence of sequence and structure in proteins. *Embo J* 5:823-826, 1986.
- 52) Lecomte JT, Vuletich DA, Lesk AM.: Structural divergence and distant relationships in proteins: evolution of the globins. *Curr Opin Struct Biol* 15:290-301, 2005.
- 53) Zhu P, Liu J, Bess J Jr, Chertova E, Lifson JD, Grisé H, Ofek GA, Taylor KA, Roux KH.: Distribution and three-dimensional structure of AIDS virus envelope spikes. *Nature* 441: 847-852, 2006.
- 54) 松下修三, 横山 勝, 宮内浩典, 松田善衛, 俣野哲朗, 岩谷靖雅.: HIV 細胞侵入とその防御機序. *日本エイズ学会誌* 12:67-73, 2010.
- 55) Van Valen L.: A New Evolutionary Law. *Evolutionary Theory* 1:1-30, 1973.
- 56) Walker LM, Phogat SK, Chan-Hui PY, Wagner D, Phung P, Goss JL, Wrinn T, Simek MD, Fling S, Mitcham JL, Lehrman JK, Priddy FH, Olsen OA, Frey SM, Hammond PW, Protocol G Principal Investigators, Kaminsky S, Zamb T, Moyle M, Koff WC, Poignard P, Burton DR.: Broad and Potent Neutralizing Antibodies from an African Donor Reveal a New HIV-1 Vaccine Target. *Science* 326:285-289, 2009.
- 57) Wu X, Yang ZY, Li Y, Hogerkorp CM, Schief WR, Seaman MS, Zhou T, Schmidt SD, Wu L, Xu L, Longo NS, McKee K, O' Dell S, Louder MK, Wycuff DL, Feng Y, Nason M, Doria-Rose N, Connors M, Kwong PD, Roederer M, Wyatt RT, Nabel GJ, Mascola JR.: Rational Design of Envelope Identifies Broadly Neutralizing Human Monoclonal Antibodies to HIV-1. *Science* 329:856-861, 2010.
- 58) Zhou T, Georgiev I, Wu X, Yang ZY, Dai K, Finzi A, Kwon YD, Scheid JF, Shi W, Xu L, Yang Y, Zhu J, Nussenzweig MC, Sodroski J, Shapiro L, Nabel GJ, Mascola JR, Kwong PD.: Structural Basis for Broad and Potent Neutralization of HIV-1 by Antibody VRC01. *Science* 329:811-817, 2010.

Structural mechanism of immune evasion of HIV-1 gp120 by genomic, computational, and experimental science.

Masaru YOKOYAMA

Laboratory of Viral Genomics, Pathogen Genomics Center,
National Institute of Infectious Diseases,
4-7-1 Gakuen, Musashi Murayama-shi, Tokyo 208-0011, Japan

The third variable region (V3) of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) envelope gp120 subunit participates in determination of viral infection co-receptor tropism and host humoral immune responses. Positive charge of the V3 plays a key role in determining viral co-receptor tropism. In our previous papers, we showed a key role of the V3's net positive charge in the immunological escape and co-receptor tropism evolution in vivo. On the other hand, the several papers suggested that trimeric gp120s are protected from immune system by occlusion on the oligomer, by mutational variation, by carbohydrate masking and by conformational masking. If we can reveal the mechanism of neutralization escape, we expect that we will regulate the neutralization of HIV-1. In this review, we will overview the structural mechanism of neutralization escape of HIV-1 gp120 examined by computational science. The computational sciences for virology can provide more valuable information in combination with genomic and experimental science.

