

博士論文（要約）

HIV-1 侵入阻害剤を用いた Env 機能構造研究

引地 優太

## 1. 序論

ヒト免疫不全ウイルス1型 (human immunodeficiency virus-1, HIV-1) は、ヒトCD4陽性細胞を主標的として感染するレトロウイルスである。HIV-1感染者において、体内ウイルス量は感染成立の数週間後に急速にピークに達するが、約半年後には一定レベルまで減少し、定常状態となり慢性持続感染が成立する。その後、数年～10年間ほどの経過を経て、エイズ (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) 発症に至る。エイズ発症までの数年間は、殆ど症状がない無症状期が続くが、実際には、感染者体内では、無治療の場合は10億個以上のHIV-1が毎日産生されている<sup>(1)</sup>。また、HIV-1遺伝子産物の1つである逆転写酵素のDNA合成の精度は、極めて低く、30万塩基対に対して1回の頻度で変異が生じる<sup>(2)</sup>。この極めて高いウイルス増殖と極めて低いDNA合成精度により、感染者体内では、毎日、迅速かつ容易に膨大な量の変異ウイルスが産生される。結果、HIV-1は劇的な多様性を獲得し、宿主馴化、免疫機構、および薬剤などの各種選択圧に対して、迅速かつ容易に対応し、そのような障壁から容易に乗り越える能力を有する<sup>(3)</sup>。

実際、抗HIV阻害剤等の選択圧濃度を段階的に増加させてHIV-1を継代培養する *in vitro*耐性誘導法では、数週から数ヶ月の期間で、容易に薬剤耐性株を選択することが可能である<sup>(4-12)</sup>。この*in vitro*耐性誘導法は、点突然変異解析と異なり、(1) ウイルスが選択可能な変異の解析、(2) 協調して生じる変異群の解析、および(3) 継時的な変異

蓄積の解析、などの特色を有し、薬剤耐性機序のみならず、宿主馴化、免疫逃避、そしてHIV-1進化の各解析研究に有用である<sup>(4, 5, 8, 13)</sup>。加えて、選択された変異領域の解析を介して、これまでに種々のHIV-1遺伝子産物に関する機能構造が明らかにされている<sup>(6, 8, 11, 12, 14-19, 20)</sup>。

HIV-1遺伝子産物の中でも、表面糖蛋白であるHIV-1 Envは、新規感染個体への馴化、液性免疫、および宿主因子などの様々な選択圧の標的として晒されるため、極めて多様性が高い<sup>(21)</sup>。このHIV-1 Envは、外皮糖蛋白gp120 (SU) と膜貫通蛋白gp41 (TM) の2つのサブユニットが非共有結合したプロトマーの三量体から構成されるが (図1A、B)<sup>(22)</sup>、実際、外皮糖蛋白であるgp120 (SU) の多様性は極めて高く、特に、外側領域 (アウトードメイン) に位置する5つのV (variable) 領域 (V1からV5) は、ループ形状により選択圧に容易に対応し、極めて高い多様性を有する。一方、これら各V領域の間に位置し、内側領域 (インナードメイン) を形成する5つのC (conserved) 領域 (C1からC5) の配列は、比較的保存されている (図1A、B)<sup>(22)</sup>。また、膜貫通蛋白gp41 (TM) は、融合ペプチド (FP)、N末端およびC末端のヘプタッドリピート配列 (HR1およびHR2)、ジスルフィドループ (DSL)、および膜貫通部位近傍 (membrane proximal external region, MPER) までの細胞外ドメイン領域と、膜貫通領域 (TM)、および細胞質領域 (CT)

から構成されるが (図1A、B)<sup>(22)</sup>、gp120のC領域 (インナードメイン) より更に三量体内部に位置するため、選択圧の影響は、gp120に比して低いとされる。

これら外皮糖蛋白gp120 (SU) と膜貫通蛋白gp41 (TM) の各領域が連動して機能することで、ウイルスの侵入過程が執り行われる。Env gp120が宿主受容体結合を主な機能とするのに対し、Env gp41は膜融合を主機能とする。各侵入過程において、Env領域 (構造) に受容体等が結合することにより、次の過程 (機能) に必要なEnv高次構造変化が誘起され、次々と連続的なEnv機能構造変化を制御しながら侵入過程は完了する。具体的には、まず、受容体が結合していない準安定状態 (metastable state) のEnv gp120のCD4結合領域 (CD4 binding site, CD4bs) に、主要受容体であるCD4が結合することで、Env gp120コアの高次構造変化が誘導され、Env gp120 V3領域の露出およびEnv gp120 ブリッジングシートの形成を含む補助受容体 (主にCCR5またはCXCR4) 結合への準備が整う。補助受容体結合は、露出したEnv gp120 V3チップ (先端) に補助受容体のECL2 (second extracellular loop) 領域が結合した後に、更に補助受容体N末端領域が、Env gp120ブリッジングシートおよびEnv gp120 V3基部領域に結合することで成立する、と考えられている。補助受容体結合は、更に、Env gp41ヘプタッドリピート配列の構造変化を誘導し、N末端とC末端ヘプタッドリピート配列が一本の長いヘリックス (プレヘアピン構造) となる。このEnv gp41構造変化により、ウイルスが宿主細胞膜側に接近し、

Env gp41融合ペプチドが宿主細胞膜に貫通する。その後、Env gp41ヘプタッドリピート配列の更なる構造変化が進み、3つのN末端ヘプタッドリピート配列からなる柱構造に、3つのC末端ヘプタッドリピート配列が会合し、6つの柱構造（six-helix bundles、ヘアピン構造）が形成され、ウイルス膜と宿主細胞膜が近接し、膜融合および侵入過程が完了する、と考えられている (図1C)<sup>(23)</sup>。

このように、HIV-1 Envはウイルス感染に必須である侵入機能を担う一方で、唯一のウイルス表面蛋白として、中和抗体をはじめとする液性免疫、新規感染個体への馴化、各種宿主因子などの様々な選択圧に対する標的として晒されながら、高い変異性により迅速かつ容易に対応し、劇的な多様性を獲得する。一方で、このように極めて高い多様性を有するHIV-1 Envが、各種選択圧から免れつつ、侵入機能を保持するために、どのような構造を保持しているのかは、十分に理解されていない。近年、2つの認可薬（CCR5阻害剤マラビロクおよびペプチド系融合阻害剤T-20）をはじめとしてHIV-1 Env機能を標的とする阻害剤（化合物）の開発が進められている (図1C)。そこで本研究では、*in vitro*耐性誘導法を用いて、このような化合物に対する耐性ウイルスを誘導し、多様なHIV-1 Env株を得て、その機能と構造を解析することにより、HIV-1 Env機能構造の必要条件の理解へ繋げることを主目的として展開した。

HIV-1 Envが対応すべき馴化、免疫、および宿主因子などの各種選択圧には、液性免疫などに代表されるEnvを攻撃するもの、および宿主受容体への結合などに代表されるEnvが対応すべきもの、の二つに大別される。したがって、多様なHIV-1選択圧耐性Env株を得て、その機能と構造を解析する場合においても、このような各選択圧の特性に留意した検討が必要となる。所属研究室では、HIV-1 Env機能を標的とする阻害剤（化合物）の開発を進めていることから、本研究では、これらライブラリー化合物の中から、Envが対応すべき選択圧として補助受容体に結合するCXCR4阻害剤を、Envを攻撃する選択圧としてEnvに直接結合するトリテルペン誘導体を用いて、検討することにした。

HIV-1は、侵入過程で使用する補助受容体の種類により、機能的に、CCR5指向性株（R5ウイルス）、CXCR4指向性株（X4ウイルス）、および二重指向性株（R5X4ウイルス）の三種に大別される<sup>(24)</sup>。R5ウイルスが急性感染期、無症候期、およびエイズ発症後など感染者体内に慢性的に存在するのに対し、X4ウイルスはエイズを発症する直前の限られた病期のみ主に存在する<sup>(25,26)</sup>。CXCR4阻害剤は、X4ウイルスが補助受容体として使用するケモカインレセプターCXCR4に結合する化合物で、De ClercqらによりAMD3100およびAMD11070が報告されている<sup>(27,28)</sup>。所属研究室では、AMD3100らとは構造が異なる新規CXCR4阻害剤としてKRH-3955などの研究開発を進めている<sup>(29)</sup>。そこで本研究では、Envが対応すべき選択圧として、KRH-3955、AMD3100、および

AMD11070の三種のCXCR4阻害剤を用意し、これらCXCR4阻害剤に対する耐性HIV-1 Env株を用いて、Env機能構造の検討を行った。

一方、同じく所属研究室では、Holz-smithらにより報告されたEnv標的阻害剤 IC9564<sup>(30-36)</sup>を基本骨格に合成展開を進め、顕著な活性を示すトリテルペン誘導体OKS3-019をヒット化合物として見出している。本トリテルペン誘導体に関しては、より優れたヒット化合物の合成展開および詳細解析を展開し、その結果、NAT-078およびNAT-078rをはじめとする有用第二世代トリテルペン誘導体群を更に見出した。これらトリテルペン誘導体の結合部位は、分子動力学解析からEnv gp41 HR1領域である可能性が示されている。そこで本研究では、Envを直接攻撃する選択圧に関しては、NAT-078、NAT-078r、OKS3-019、およびIC9564の四種のトリテルペン誘導体を用意し、これらトリテルペン誘導体に対する耐性ウイルスを誘導することで、多様なHIV-1 Env株を得て、それら耐性HIV-1 Env株を用いて、その機能と構造の検討を行った。

近年、B細胞の分離および解析技術の向上に伴い、HIV感染者から中和抗体の単離が盛んに行われている<sup>(37)</sup>。これら中和抗体は、標的領域（エピトープ領域）を基に、(1) Env三量体の突端部のgp120 V2糖鎖領域を認識する抗V2 apex抗体、(2) gp120 V3基部の糖鎖を認識する抗V3-high mannose patch抗体、(3) gp120 CD4結合領域（CD4bs）を認識する抗CD4bs抗体、(4) gp120とgp41の境界面を認識する抗gp120/41 interface抗体、(5)

gp41の融合ペプチドを認識する抗FP抗体、そして、(6) gp41の膜貫通部位近傍 (MPER) を認識する抗MPER抗体、の6種類のカテゴリーに分けられる (図1C)<sup>(37)</sup>。すなわち、これら中和抗体は、特定の構造だけでなく、特定の機能阻害のプロープとしても有用である<sup>(38-40)</sup>。そこで、本研究では得られた選択株Envの機能構造解析では、ウイルス複製能をはじめとする性状解析、分子動力学解析に加え、中和抗体および各種Env機能阻害剤をプローブとして用いる感受性解析も検討した。



## 2. 材料と方法

本項は近い将来刊行されることが期待されるため、インターネットに公表することができません。

### 3. 結果

本項は近い将来刊行されることが期待されるため、インターネットに公表することができません。

#### 4. 考察

本項は近い将来刊行されることが期待されるため、インターネットに公表することができません。

## 5. 総括

本項は近い将来刊行されることが期待されるため、インターネットに公表することができません。

## 6. 謝辞

本研究にご協力いただいた国立感染症研究所エイズ研究センターの原田恵嘉先生、吉村和久先生、村上努先生、山本直樹先生、国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センターの横山勝先生、佐藤裕徳先生、長崎大学の竹村太地郎先生、熊本大学の前田洋助先生、静岡大学の鳴海哲夫先生に心より感謝いたします。

最後に、修士過程より5年間にわたってご指導くださった、指導教員の俣野哲朗先生に篤く御礼申し上げます。

## 7. 図表

本項は近い将来刊行されることが期待されるため、インターネットに公表することができません。

## 8. 参考文献

1. Coffin JM. 1992. Genetic diversity and evolution of retroviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 176:143–164.
2. Coffin JM. 1995. HIV population dynamics in vivo: Implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* 267:483–489.
3. Rambaut A, Posada D, Crandall KA, Holmes EC. 2004. The causes and consequences of HIV evolution. *Nature Reviews Genetics* 5:52–61.
4. Yoshimura K, Harada S, Boonchawalit S, Kawanami Y, Matsushita S. 2014. Impact of maraviroc-resistant and low-CCR5-adapted mutations induced by in vitro passage on sensitivity to anti-envelope neutralizing antibodies. *Journal of General Virology* 95:1816–1826.
5. Harada S, Yoshimura K, Yamaguchi A, Boonchawalit S, Yusa K, Matsushita S. 2013. Impact of antiretroviral pressure on selection of primary human immunodeficiency virus type 1 envelope sequences in vitro. *Journal of General Virology* 94:933–943.
6. Yoshimura K, Harada S, Shibata J, Hatada M, Yamada Y, Ochiai C, Tamamura H, Matsushita S. 2010. Enhanced exposure of human immunodeficiency virus type 1 primary isolate neutralization epitopes through binding of CD4 mimetic compounds. *Journal of Virology* 84:7558–7568.
7. Quashie PK, Mesplède T, Han Y-S, Oliveira M, Singhroy DN, Fujiwara T, Underwood MR, Wainberg MA. 2012. Characterization of the R263K mutation in HIV-1 integrase that confers low-level resistance to the second-generation integrase strand transfer inhibitor dolutegravir. *Journal of Virology* 86:2696–2705.
8. Yoshimura K, Shibata J, Kimura T, Honda A, Maeda Y, Koito A, Murakami T, Mitsuya H, Matsushita S. 2006. Resistance profile of a neutralizing anti-HIV monoclonal antibody, KD-247, that shows favourable synergism with anti-CCR5 inhibitors. *AIDS* 20:2065–2073.

9. Shimura K, Kodama E, Sakagami Y, Matsuzaki Y, Watanabe W, Yamataka K, Watanabe Y, Ohata Y, Doi S, Sato M, Kano M, Ikeda S, Matsuoka M. 2008. Broad antiretroviral activity and resistance profile of the novel human immunodeficiency virus integrase inhibitor elvitegravir (JTK-303/GS-9137). *Journal of virology* 82:764–774.
10. Mansky LM, Bernard LC. 2000. 3'-Azido-3'-deoxythymidine (AZT) and AZT-resistant reverse transcriptase can increase the in vivo mutation rate of human immunodeficiency virus type 1. *Journal of Virology* 74:9532–9539.
11. Lemke CT, Titolo S, von Schwedler U, Goudreau N, Mercier J-F, Wardrop E, Faucher A-M, Coulombe R, Banik SSR, Fader L, Gagnon A, Kawai SH, Rancourt J, Tremblay M, Yoakim C, Simoneau B, Archambault J, Sundquist WI, Mason SW. 2012. Distinct effects of two HIV-1 capsid assembly inhibitor families that bind the same site within the N-terminal domain of the viral CA protein. *Journal of Virology* 86:6643–6655.
12. Waki K, Durell SR, Soheilian F, Nagashima K, Butler SL, Freed EO. 2012. Structural and functional insights into the HIV-1 maturation inhibitor binding pocket. *PLoS pathogens* 8:e1002997.
13. Das AT, Berkhout B. 2010. HIV-1 evolution: frustrating therapies, but disclosing molecular mechanisms. *Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological sciences* 365:1965–1973.
14. Baldwin C, Berkhout B. 2008. Mechanistic studies of a T20-dependent human immunodeficiency virus type 1 variant. *Journal of Virology* 82:7735–7740.
15. Das AT, Zhou X, Vink M, Klaver B, Verhoef K, Marzio G, Berkhout B. 2004. Viral evolution as a tool to improve the tetracycline-regulated gene expression system. *The Journal of biological chemistry* 279:18776–82.
16. Das AT, Brummelkamp TR, Westerhout EM, Vink M, Madiredjo M, Bernards R, Berkhout B. 2004. Human immunodeficiency virus type 1 escapes from RNA interference-mediated inhibition. *Journal of Virology* 78:2601–2605.



17. Chen R, Yokoyama M, Sato H, Reilly C, Mansky LM. 2005. Human Immunodeficiency Virus mutagenesis during antiviral therapy: impact of drug-Resistant reverse transcriptase and nucleoside and nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors on human immunodeficiency virus type 1 mutation frequencies. *Journal of Virology* 79:12045–12057.
18. Keller PW, Morrison O, Vassell R, Weiss CD. 2018. HIV-1 gp41 residues modulate CD4-induced conformational changes in the envelope glycoprotein and evolution of a relaxed conformation of gp120. *Journal of Virology* 92:e00583-18.
19. Baldwin CE, Sanders RW, Deng Y, Jurriaans S, Lange JM, Lu M, Berkhout B. 2004. Emergence of a drug-dependent human immunodeficiency virus type 1 variant during therapy with the T20 fusion inhibitor. *Journal of Virology* 78:12428–12437.
20. Baldwin CE, Berkhout B. 2006. Second site escape of a T20-dependent HIV-1 variant by a single amino acid change in the CD4 binding region of the envelope glycoprotein. *Retrovirology* 3:84.
21. Goulder PJR, Watkins DI. 2008. Impact of MHC class I diversity on immune control of immunodeficiency virus replication. *Nature Reviews Immunology* 8:619–630.
22. Checkley MA, Luttge BG, Freed EO. 2011. HIV-1 envelope glycoprotein biosynthesis, trafficking, and incorporation. *Journal of Molecular Biology* 410:582–608.
23. Wilen CB, Tilton JC, Doms RW. 2012. HIV: cell binding and entry. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2:a006866.
24. Schuitemaker H, van 't Wout AB, Lusso P. 2011. Clinical significance of HIV-1 coreceptor usage. *Journal of translational medicine* 9 Suppl 1:S5.
25. Connor RI, Sheridan KE, Ceradini D, Choe S, Landau NR. 1997. Change in coreceptor use correlates with disease progression in HIV-1--infected individuals. *The Journal of experimental medicine* 185:621–628.
26. Xiao L, Rudolph DL, Owen SM, Spira TJ, Lal RB. 1998. Adaptation to promiscuous

- usage of CC and CXC-chemokine coreceptors in vivo correlates with HIV-1 disease progression. *AIDS* 12:F137-143.
27. Moyle G, DeJesus E, Boffito M, Wong RS, Gibney C, Badel K, MacFarland R, Calandra G, Bridger G, Becker S, X4 Antagonist Concept Trial Study Team. 2009. Proof of activity with AMD11070, an orally bioavailable inhibitor of CXCR4-tropic HIV type 1. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 48:798–805.
  28. De Clercq E, Yamamoto N, Pauwels R, Balzarini J, Witvrouw M, De Vreese K, Debyser Z, Rosenwirth B, Peichl P, Datema R. 1994. Highly potent and selective inhibition of human immunodeficiency virus by the bicyclam derivative JM3100. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 38:668–674.
  29. Murakami T, Kumakura S, Yamazaki T, Tanaka R, Hamatake M, Okuma K, Huang W, Toma J, Komano J, Yanaka M, Tanaka Y, Yamamoto N. 2009. The novel CXCR4 antagonist KRH-3955 is an orally bioavailable and extremely potent inhibitor of human immunodeficiency virus type 1 infection: comparative studies with AMD3100. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53:2940–2948.
  30. Bär S, Alizon M. 2004. Role of the ectodomain of the gp41 transmembrane envelope protein of human immunodeficiency virus type 1 in late steps of the membrane fusion process. *Journal of Virology* 78:811–820.
  31. Mayaux JF, Bousseau A, Pauwels R, Huet T, Hénin Y, Dereu N, Evers M, Soler F, Poujade C, De Clercq E. 1994. Triterpene derivatives that block entry of human immunodeficiency virus type 1 into cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91:3564–3568.
  32. Labrosse B, Treboute C, Alizon M. 2000. Sensitivity to a nonpeptidic compound (RPR103611) blocking human immunodeficiency virus type 1 Env-mediated fusion depends on sequence and accessibility of the gp41 loop region. *Journal of Virology* 74:2142–2150.
  33. Labrosse B, Pleskoff O, Sol N, Jones C, Hénin Y, Alizon M. 1997. Resistance to a

- drug blocking human immunodeficiency virus type 1 entry (RPR103611) is conferred by mutations in gp41. *Journal of Virology* 71:8230–8236.
34. Yuan X, Huang L, Ho P, Labranche C, Chen CH. 2004. Conformation of gp120 determines the sensitivity of HIV-1 DH012 to the entry inhibitor IC9564. *Virology* 324:525–530.
  35. Holz-Smith SL, Sun IC, Jin L, Matthews TJ, Lee KH, Chen CH. 2001. Role of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 envelope in the anti-HIV activity of the betulinic acid derivative IC9564. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45:60–66.
  36. Huang L, Lai W, Ho P, Chen CH. 2007. Induction of a nonproductive conformational change in gp120 by a small molecule HIV type 1 entry inhibitor. *AIDS Research and Human Retroviruses* 23:28–32.
  37. Burton DR, Hangartner L. 2016. Broadly neutralizing antibodies to HIV and their Role in vaccine design. *Annual Review of Immunology* 34:635–659.
  38. Herschhorn A, Gu C, Moraca F, Ma X, Farrell M, Smith AB, Pancera M, Kwong PD, Schön A, Freire E, Abrams C, Blanchard SC, Mothes W, Sodroski JG, Sodroski JG. 2017. The  $\beta$ 20- $\beta$ 21 of gp120 is a regulatory switch for HIV-1 Env conformational transitions. *Nature communications* 8:1049.
  39. Flemming J, Wiesen L, Herschhorn A. 2018. Conformation-dependent interactions between HIV-1 envelope glycoproteins and broadly neutralizing antibodies. *AIDS Research and Human Retroviruses* 34:794–803.
  40. Herschhorn A, Ma X, Gu C, Ventura JD, Castillo-Menendez L, Melillo B, Terry DS, Smith AB, Blanchard SC, Munro JB, Mothes W, Finzi A, Sodroski J. 2016. Release of gp120 restraints leads to an entry-competent intermediate state of the HIV-1 envelope glycoproteins. *mBio* 7.
  41. Maeda Y, Foda M, Matsushita S, Harada S. 2000. Involvement of both the V2 and V3 regions of the CCR5-tropic human immunodeficiency virus type 1 envelope in reduced sensitivity to macrophage inflammatory protein 1alpha. *Journal of Virology*

74:1787–1793.

42. Platt EJ, Wehrly K, Kuhmann SE, Chesebro B, Kabat D. 1998. Effects of CCR5 and CD4 cell surface concentrations on infections by macrophagetropic isolates of human immunodeficiency virus type 1. *Journal of Virology* 72:2855–2864.
43. Adachi A, Gendelman HE, Koenig S, Folks T, Willey R, Rabson A, Martin MA. 1986. Production of acquired immunodeficiency syndrome-associated retrovirus in human and nonhuman cells transfected with an infectious molecular clone. *Journal of Virology* 59:284–291.
44. Collman R, Balliet JW, Gregory SA, Friedman H, Kolson DL, Nathanson N, Srinivasan A. 1992. An infectious molecular clone of an unusual macrophage-tropic and highly cytopathic strain of human immunodeficiency virus type 1. *Journal of Virology* 66:7517–7521.
45. Eda Y, Takizawa M, Murakami T, Maeda H, Kimachi K, Yonemura H, Koyanagi S, Shiosaki K, Higuchi H, Makizumi K, Nakashima T, Osatomi K, Tokiyoshi S, Matsushita S, Yamamoto N, Honda M. 2006. Sequential immunization with V3 peptides from primary human immunodeficiency virus type 1 produces cross-neutralizing antibodies against primary isolates with a matching narrow-neutralization sequence motif. *Journal of Virology* 80:5552–5562.
46. Madani N, Schön A, Princiotta AM, Lalonde JM, Courter JR, Soeta T, Ng D, Wang L, Brower ET, Xiang S-H, Kwon Y Do, Huang C-C, Wyatt R, Kwong PD, Freire E, Smith AB, Sodroski J. 2008. Small-molecule CD4 mimics interact with a highly conserved pocket on HIV-1 gp120. *Structure* 16:1689–1701.
47. Kilby JM, Hopkins S, Venetta TM, DiMassimo B, Cloud GA, Lee JY, Alldredge L, Hunter E, Lambert D, Bolognesi D, Matthews T, Johnson MR, Nowak MA, Shaw GM, Saag MS. 1998. Potent suppression of HIV-1 replication in humans by T-20, a peptide inhibitor of gp41-mediated virus entry. *Nature Medicine* 4:1302–1307.
48. Dorr P, Westby M, Dobbs S, Griffin P, Irvine B, Macartney M, Mori J, Rickett G, Smith-Burchnell C, Napier C, Webster R, Armour D, Price D, Stammen B, Wood A,

- Perros M. 2005. Maraviroc (UK-427,857), a potent, orally bioavailable, and selective small-molecule inhibitor of chemokine receptor CCR5 with broad-spectrum anti-human immunodeficiency virus type 1 activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49:4721–4732.
49. Lin P-F, Blair W, Wang T, Spicer T, Guo Q, Zhou N, Gong Y-F, Wang H-GH, Rose R, Yamanaka G, Robinson B, Li C-B, Fridell R, Deminie C, Demers G, Yang Z, Zadjura L, Meanwell N, Colonna R. 2003. A small molecule HIV-1 inhibitor that targets the HIV-1 envelope and inhibits CD4 receptor binding. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100:11013–11018.
50. Huang C-C, Tang M, Zhang M-Y, Majeed S, Montabana E, Stanfield RL, Dimitrov DS, Korber B, Sodroski J, Wilson IA, Wyatt R, Kwong PD. 2005. Structure of a V3-containing HIV-1 gp120 core. *Science* 310:1025–1028.
51. Huang C-C, Lam SN, Acharya P, Tang M, Xiang S-H, Hussan SS-U, Stanfield RL, Robinson J, Sodroski J, Wilson IA, Wyatt R, Bewley CA, Kwong PD. 2007. Structures of the CCR5 N terminus and of a tyrosine-sulfated antibody with HIV-1 gp120 and CD4. *Science* 317:1930–1934.
52. Kong R, Xu K, Zhou T, Acharya P, Lemmin T, Liu K, Ozorowski G, Soto C, Taft JD, Bailer RT, Cale EM, Chen L, Choi CW, Chuang G-Y, Doria-Rose NA, Druz A, Georgiev IS, Gorman J, Huang J, Joyce MG, Louder MK, Ma X, McKee K, Odell S, Pancera M, Yang Y, Blanchard SC, Mothes W, Burton DR, Koff WC, Connors M, Ward AB, Kwong PD, Mascola JR. 2016. Fusion peptide of HIV-1 as a site of vulnerability to neutralizing antibody. *Science* 352:828–833.
53. Munro JB, Gorman J, Ma X, Zhou Z, Arthos J, Burton DR, Koff WC, Courter JR, Smith AB, Kwong PD, Blanchard SC, Mothes W. 2014. Conformational dynamics of single HIV-1 envelope trimers on the surface of native virions. *Science* 346:759–763.
54. Haim H, Strack B, Kassa A, Madani N, Wang L, Courter JR, Princiotta A, McGee K, Pacheco B, Seaman MS, Smith AB, Sodroski J. 2011. Contribution of intrinsic reactivity of the HIV-1 envelope glycoproteins to CD4-Independent infection and global inhibitor sensitivity. *PLoS Pathogens* 7:e1002101.

55. Ma X, Lu M, Gorman J, Terry DS, Hong X, Zhou Z, Zhao H, Altman RB, Arthos J, Blanchard SC, Kwong PD, Munro JB, Mothes W. 2018. HIV-1 Env trimer opens through an asymmetric intermediate in which individual protomers adopt distinct conformations. *eLife* 7.
56. Herschhorn A, Gu C, Espy N, Richard J, Finzi A, Sodroski JG. 2014. A broad HIV-1 inhibitor blocks envelope glycoprotein transitions critical for entry. *Nature Chemical Biology* 10:845–852.
57. Haim H, Salas I, McGee K, Eichelberger N, Winter E, Pacheco B, Sodroski J. 2013. Modeling virus- and antibody-specific factors to predict human immunodeficiency virus neutralization efficiency. *Cell Host Microbe* 14 (5): 547-558
58. Pacheco B, Alshafiq N, Debbeche O, Prévost J, Ding S, Chapleau J-P, Herschhorn A, Madani N, Princiotta A, Melillo B, Gu C, Zeng X, Mao Y, Smith AB, Sodroski J, Finzi A, Finzi A. 2017. Residues in the gp41 ectodomain regulate HIV-1 envelope glycoprotein conformational transitions induced by gp120-directed inhibitors. *Journal of Virology* 91:e02219-16.