

連載特集：HIV 制御のための宿主防御因子研究の展開 (2)

APOBEC3 の抗ウイルス作用および HIV-1 Vif による
分解不活化の分子メカニズムMolecular Mechanisms of APOBEC3-Mediated Antiviral Functions and
HIV-1 Vif-Dependent APOBEC3 Degradation

大 出 裕 高, 岩 谷 靖 雅

Hirotaka ODE and Yasumasa IWATANI

国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター感染・免疫研究部

Clinical Research Center, National Hospital Organization Nagoya Medical Center

はじめに

ヒトはレトロウイルスとの共進化の過程でレトロウイルスに対する感染・増殖抑制因子を獲得してきた。これらの宿主防御因子は、潜在的にはレトロウイルスである HIV-1 の感染・伝播を抑制する機能を有していることが知られており、これまでに APOBEC3 (A3) ファミリー, Trim5α, BST2/tetherin などが発見されている^{1,2)}。とりわけ, A3 ファミリーは強力な抗レトロウイルス作用をもつことが知られている。しかし, HIV-1 はこれらの宿主防御因子を破壊もしくはこれらの働きを解除する術をもつため, ヒトであたかも防御因子が機能していないかのように感染, 増殖してしまう。

A3 ファミリー遺伝子はヒト 22 番染色体上にタンデムにコードされ, ファミリータンパク質として A3A と A3B, A3C, A3D, A3F, A3G, A3H の 7 種が存在する^{3,4)}。HIV-1 との関係で重要な A3F と A3G, A3H は, リンパ球やマクロファージなどの細胞で発現している⁵⁾。A3 は共通して, 一本鎖 DNA (single-stranded DNA, ssDNA) のシトシン (dC) をウラシル (dU) に変換する DNA シチジン脱アミノ化酵素活性をもち, ssDNA と ssRNA に高い親和性をもつ核酸結合タンパク質である (一部例外を除く)。このような生化学的特性をもつため, 通常 A3 は, HIV-1 感染細胞から放出されるウイルスに取り込まれ, 新たな感染細胞において HIV-1 の複製を抑制する能力を発揮する。特に A3G, つづいて A3F が潜在的に強い抗 HIV-1 活性を有する^{1,6-12)}。また, 稀な遺伝子型ではあるが A3H ハプロタイプ II も抗 HIV-1 活性を示すことが知られている^{1,11,13-16)}。しかし, そ

れら A3 の抗 HIV-1 活性は, HIV-1 がコードする *vif* の遺伝子産物 Vif (Viral infectivity factor) による A3 の分解不活化によって解除されてしまう^{6,8)}。Vif はアダプタータンパク質として A3 を特異的に E3 ユビキチン複合体にリクルートし, A3 をポリユビキチン化することによりその後のプロテアソーム系による選択的な分解を促す¹⁷⁻²⁰⁾。これにより, A3 は感染細胞から放出される HIV-1 に取り込まれなくなり, 結果, 新たな感染細胞での複製を抑制できなくなる。

2002 年に A3G が初の抗 HIV-1 宿主因子として発見されてから 10 年以上が経ち⁶⁾, A3 の HIV-1 の複製抑制メカニズムや Vif による A3 の分解不活化メカニズムがより詳細に解明された。また, HIV-1 が生体で増殖するうえで Vif による A3 の分解が必須であることから, 現在, A3 あるいは Vif は新たな創薬のターゲットとして注目を浴びている^{10,21)}。本稿では, A3 の抗 HIV-1 作用および HIV-1 Vif による A3 の分解不活化の分子基盤について概説したい。

1. A3 の生化学的性質

A3 は Zn^{2+} イオンを配位する (H/C)x E (x)₂₃₋₂₈ PCxxC 配列モチーフからなる Zn クラスタドメインを 1 つ (A3A, C, H) あるいは 2 つ (A3B, D, F, G) もち²²⁾, DNA シチジン脱アミノ化酵素活性ならびに核酸結合活性を有する。Zn クラスタを 2 つもつ A3D, F, G では C 末端側ドメインが, A3B では N 末端側, C 末端側の両ドメインが酵素活性中心として機能する²³⁾。A3 は ssDNA の dC を dU に変換する (図 1A)。HIV-1 に対しては, A3 はウイルスゲノムから逆転写される (−) 鎖 ssDNA を脱アミノ化するため, ウィルスタンパク質をコードする (+) 鎖 ssDNA では, グアニン (dG) からアデニン (dA) への変異が生じる²⁴⁻²⁸⁾。ただし, 各 A3 は, 異なる配列を認識し, 脱アミノ化する¹⁰⁾。たとえば, A3G は 5'-CC-3', A3F は 5'-TC-3', A3A は 5'-CC-3',

著者連絡先：岩谷靖雅 (〒460-0001 名古屋市中区三の丸 4-1-1 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター 感染・免疫研究部)

2014 年 2 月 4 日受付

5'-TC-3'の両者を認識し効率よく脱アミノ化する²⁹⁾。この認識の違いはA3の分子立体構造上のループ7領域の形が主要因であるようだ³⁰⁾。また、A3Gの酵素活性はpH依存性があり、pH 5.5で最も強いが³¹⁾、抗HIV-1活性との関係についてはより詳細な解析が必要である。A3GによるssDNAの脱アミノ化には、テトラマー化あるいはより高次のオリゴマー化が必要との報告もある³²⁾。

A3Gについては、核酸結合についても理解が進んでいる。A3GのN末端側ドメインは脱アミノ化活性をもたないが、A3GがssDNAとssRNAに強い結合能をもつ責任ドメインとなっている³³⁾。一方、二本鎖DNA (double-stranded DNA, dsDNA)、dsRNAとはほとんど結合しない。これらA3Gの核酸結合能は、N末端側ドメインのZnクラスター依存的である^{33,34)}。また、A3Gの核酸結合能は、A3Gのオリゴマー化にも関わる。A3Gは核酸非存在下では単量体、二量体あるいは四量体を形成するが、ssRNA、ssDNAと結合することでより高次のオリゴマーを形成する^{35~39)}。オリゴマー化におけるA3G-A3Gのインターフェースとして、核酸非依存的なC末端側ドメイン-C末端側ドメイン間あるいは核酸依存的なN末端側ドメイン-N末端側ドメイン間があり、N末端側ドメイン-N末端側ドメイン間が抗ウイルス活性では重要な働きをされると考えられている^{35~38, 40)}。

2. A3のvif欠損型HIV-1に対する抗ウイルス活性

A3は、vif欠損型HIV-1に感染した細胞から放出されるウイルス粒子に取り込まれ、粒子成熟過程でウイルスRNAとともにコアへ集約される。そのため、A3は新たな細胞へ感染するときに逆転写複合体(粒子コア)内に存在し、その後の複製過程を効果的に抑制する⁶⁾。vif欠損型HIV-1で逆転写産物が減少することは、A3Gが発見される以前である1993年にvon Schwedlerらによって見出されていた⁴¹⁾。そのため、A3Gが発見された当初(2002年)⁶⁾、A3がシチジン脱アミノ化酵素であることから、A3の抗HIV-1活性は脱アミノ化酵素活性依存的なメカニズムによるものだと考えられていた。実際、酵素活性中心に変異を導入した非活性型A3Gは、抗HIV-1作用が極度に低下する^{26, 33, 34, 42)}。では、脱アミノ化されることによって、なぜ複製が強力に抑制されるのであろうか? 実はこの答えはいまだ明らかになっていない。最も広く認知されたメカニズムとしては、A3により脱アミノ化された(-)鎖ssDNAの相補鎖((+)鎖ssDNA)に生じるdGからdAへの過剰な変異の蓄積(G-to-A hypermutation)がある^{9, 43, 44)}(図1A)。たとえば、G-to-A hypermutationによりTrp(TGG)からpremature stop codon(TAGあるいはTGA)への変異が生じ、そのDNAから正常なウイルスタンパク質が発現されなくなる。G-to-A hypermutationによるメカニズム説は、抗RNAウイルス薬

であるリバビリンの作用メカニズムに近く、いわゆるerror catastropheに陥るメカニズムである^{45~47)}。第2のメカニズムとして、A3がプライマーであるtRNAの除去に干渉し、結果的に、インテグレーションに不適当なDNAを産生させるメカニズムが提唱されている^{48~50)}。この場合、ssDNAに特異的に作用するA3が酵素活性依存的にRNA/DNAハイリッドにアクセスできるところに矛盾が生じる。第3のメカニズムとして、A3によりウラシル化された(-)鎖ssDNAが、細胞のウラシルDNAグリコシラーゼにより分解を受けるという説が考えられているが^{24, 27)}、既知のウラシルDNAグリコシラーゼをノックアウトしても、あるいは阻害剤であるUGIを発現させても、A3の抗HIV-1活性

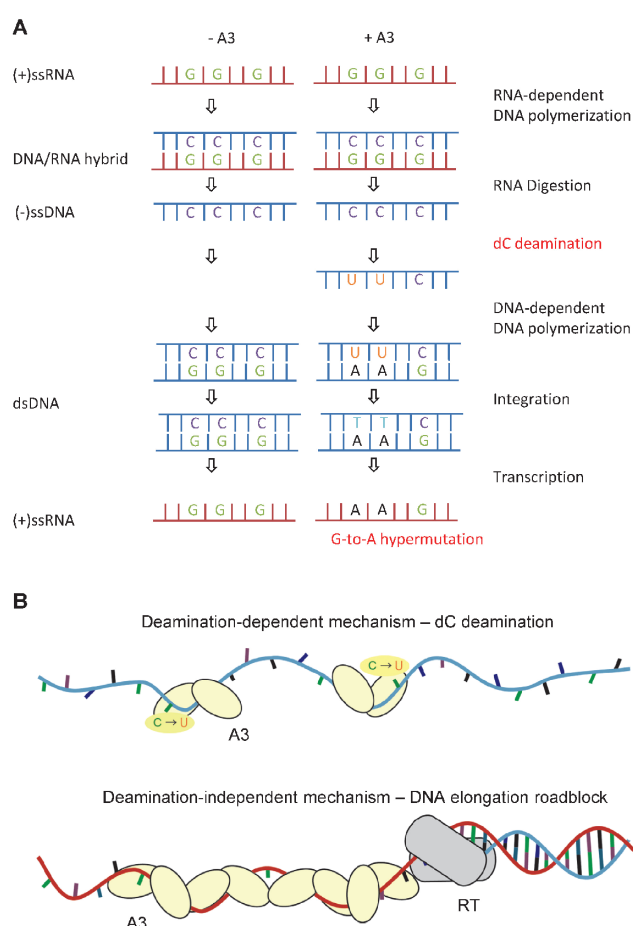


図1 脱アミノ化酵素活性依存と非依存のA3の抗HIV-1作用メカニズム

(A) Hypermutationの発生メカニズム。(B) 逆転写伸張反応の阻害メカニズム。A3が鋳型ssDNA上に疎に存在するとき、解離しやすく、脱アミノ化反応が生じやすい。一方、密に存在するとき、A3が鋳型核酸上で多量体形成し、解離反応が低下する。そのため、多量体形成したA3Gはバリエードとして働き、逆転写酵素の伸張反応を阻害する。

に影響しないことが証明されている^{51,52)}。しかし、未同定の DNA 修復酵素が A3 による抗 HIV-1 活性に関与している可能性は否定できない。これらメカニズムの詳細は他の総説に譲るが^{50,53)}、これらの脱アミノ化酵素活性依存的メカニズムが混在することにより HIV-1 が不活化させるとも考えられている。

ところが、A3 の抗 HIV-1 活性は、これら酵素活性依存的メカニズムだけでは説明できない。たとえば、酵素活性を失活させた非活性型 A3G でも抗 HIV-1 活性が残存すること、あるいは非活性型 A3F は野生型 A3F と抗ウイルス活性が同等であることが知られている^{33,34,48,54)}。2007 年にわれわれのグループは、酵素活性“非依存的”メカニズムとして、*in vitro* で A3G が逆転写酵素による DNA 伸長反

応を阻害することを見出した⁵⁵⁾。その後、他のグループによって感染・培養系においても酵素活性非依存的に逆転写伸長反応が抑制される現象が確認された^{56~58)}。さらに最近、米国の Williams らとわれわれの共同研究によって、それら DNA の伸張阻害は、A3G が単に一本鎖の鋳型核酸に結合して逆転写酵素の伸張反応を阻止しているだけでなく、A3G が鋳型上でオリゴマー化し、鋳型から解離しな

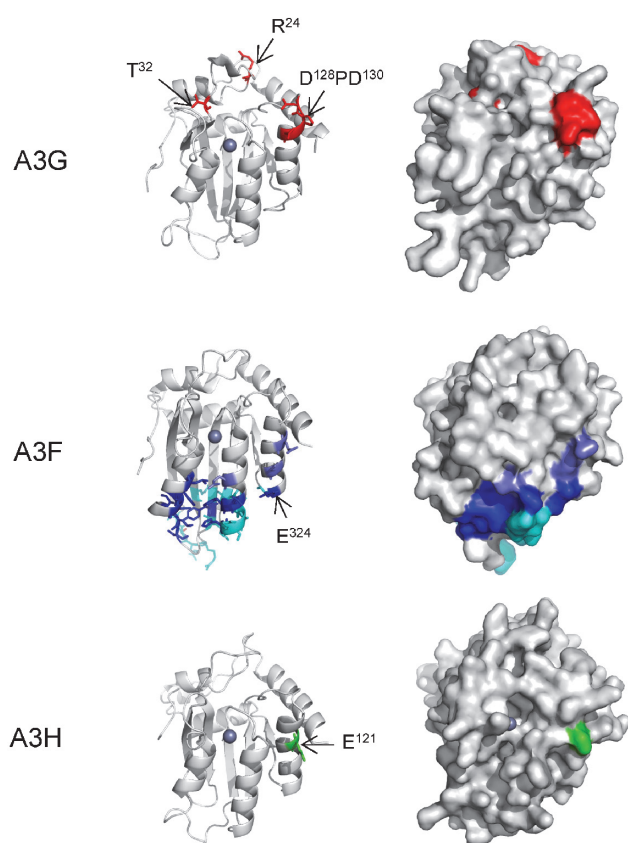


図 2 A3G N 末端側ドメイン、A3F C 末端側ドメイン、A3H の Vif 結合領域
それぞれの構造は A3C の X 線結晶構造 (PDB ID : 3VOW) を基に、Accelrys Discovery Studio 3.5 により予測した。構造はリボン表示モデル (左) と表面表示モデル (右) で表す。A3G, F, H の Vif 結合領域を赤、青、緑で示し、リボン表示モデルにはスティック表示でハイライトした。A3F の Vif 結合領域として新たに推定された領域をシアン (Bohn ら⁷²⁾)、薄紫 (Siu ら⁷³⁾) で表した。

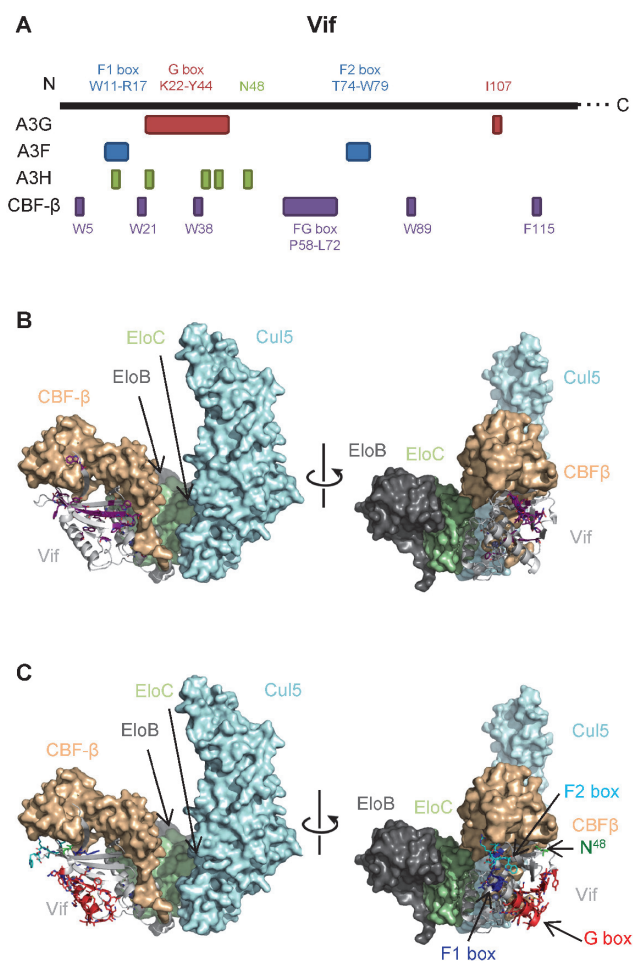


図 3 Vif の A3 結合責任領域と E3 ユビキチン複合体 (Vif-CBF-β-Cul5-EloB/C) の X 線結晶構造 (PDB ID : 4N9F)
(A) A3G, F, H および CBF-β との結合に重要な Vif の領域/アミノ酸残基。それぞれの結合に重要な領域/アミノ酸残基は、赤、青、緑、紫の四角で示す。(B) Vif の CBF-β との結合に重要な領域。Vif を灰色のリボン表示モデル、CBF-β, Cul5, EloB, EloC をそれぞれ象牙色、薄水色、黒色、薄緑色の表面表示モデルで示す。変異導入解析にて Vif の CBF-β 結合領域と推定されたアミノ酸を紫色のリボン表示でハイライトした。(C) Vif の A3G, F, H 結合領域。Vif の G box (A3G), F1, F2 box (A3F) ならびに Asn⁴⁸ (A3H) を、赤、青、シアン、緑のリボン表示でハイライトした。

いたために逆転写反応を阻害することが明らかになった⁵⁹⁾ (図 1B)。ssDNA に疎に結合した A3G は解離が早く、dC を dU に変換する脱アミノ化反応には都合がよい。一方で、ssDNA に密に結合した A3G は、ssDNA 上でのオリゴマー化により A3G の解離速度が遅くなる。結果的に、逆転写酵素による DNA 伸張を、A3G がバリアードとなって阻害する。A3G の核酸結合によるオリゴマー化は、HIV-1 感染細胞から放出されるウイルス粒子への A3G の取込みにも関わっており^{60,61)}、A3G が抗 HIV-1 活性を発揮するために重要な役割を果たしているようだ。

3. A3-Vif 間結合インターフェース

HIV-1 がコードする *vif* の遺伝子産物 Vif は、アダプタータンパク質として A3 (A3C, D, F, G, H) を特異的に E3 ユビキチン複合体にリクルートし、A3 のポリユビキチン化とその後のプロテアソーム系による分解を促すことで、A3 の抗 HIV-1 活性を阻害する^{6,8,11,17-20,23)}。この分解は A3 と Vif の結合の特異性に規定される⁶²⁻⁶⁴⁾。つまり、結合を阻害する変異によって、Vif による分解も阻止できる。現在では変異導入解析により、Vif が A3 中の 3 種のインターフェース (A3G 型、A3F 型、A3H 型) と結合することが示唆されている^{65,66)} (図 2)。A3G は、Vif との結合に重要な D¹²⁸PD¹³⁰ モチーフをもつ^{62-64,67)}。また、A3G の Thr³² と Arg²⁴ が Vif との結合に関わるとの報告がある⁶⁸⁾。一方、A3C, D, F は、A3G とは異なる共通した Vif 結合インターフェースをもつ⁶⁹⁻⁷¹⁾。2012 年にわれわれのグループは、このインターフェースが A3C, D, F に保存された 10 アミノ酸で構成され、A3C の X 線結晶構造 (PDB ID : 3VOW) 上、負電荷を帯びた浅い凹みを形成していることを見出した⁷¹⁾。加えて、A3D, F ではその凹みの近傍にある Glu³³⁷ (A3D)、Glu³²⁴ (A3F) の Vif 結合への関与も報告されている^{69,71)}。最近、上述の Vif 結合インターフェースを含む A3F C 末端側ドメインの結晶構造 (PDB ID : 4IOU, 4J4J) が他の 2 グループにより決定され、分子表面の電気的性質あるいはバイオレイヤー干渉法により、われわれが同定した 10 残基を含むさらに広範囲な Vif 結合インターフェースが推定された^{72,73)}。しかし、新たに推定された A3F の Vif 結合領域すべてが Vif による A3F の分解に関与するのかは不明である。また、A3H にも特有の Vif 結合インターフェースがあると考えられている。これまで Glu¹²¹ が A3H の Vif 結合に関与するアミノ酸として唯一報告されている^{74,75)}。このアミノ酸は A3G の D¹²⁸PD¹³⁰ モチーフの近傍に位置するが、A3H の Glu¹²¹ 付近の配列は、他の A3 の配列と相同性が低いため、A3G や A3F とは異なる Vif 結合領域があると推定される。

A3 の Vif 結合インターフェースとは逆に、Vif の A3 結

合インターフェースもまた変異導入解析により理解が進んでいる^{65,66,76)}。A3 は Vif の N 末端側領域と結合する。A3G との結合には Vif の G box (K²²x₃K²⁶x₃Y³⁰x₉YRHHY⁴⁴ モチーフ)⁷⁷⁻⁸¹⁾ や Ile¹⁰⁷ を⁸²⁾、A3F との結合には F1 box (W¹¹QVDRMR¹⁷ モチーフ)^{78,83-85)}、F2 box (T⁷⁴GERxW⁷⁹ モチーフ)^{79,84,86)} を介するとされる (図 3A)。また、A3H との結合には、Vif の F1 box 中の Asp¹⁴Arg¹⁵、G box 中の Lys²²、Phe³⁹、Arg⁴¹His⁴² が⁸関与するとされる^{15,74)}。その他、A3H との結合にのみ関わる Vif の Asn⁴⁸ も発見されている⁸⁷⁾。

さらに 2012 年に発見された宿主因子 CBF- β ^{88,89)} と Vif の結合様式も理解されてきた。CBF- β は Vif と直接結合することで E3 ユビキチン複合体 (Vif-Cul5-EloB/C) を安定化させ、A3 の Vif との結合とその後の分解に重要な役割を果たす⁹⁰⁻⁹³⁾。CBF- β との結合には Vif の FG box (P⁵⁸Lx₄₋₅Lx Φ x₂YWxL⁷² モチーフ、 Φ は疎水的アミノ酸) の疎水的アミノ酸や Trp 残基 (Trp⁵、Trp²¹、Trp³⁸、Trp⁸⁹)、Phe¹¹⁵ が重要とされる⁹⁴⁻⁹⁷⁾。これら領域/アミノ酸残基は CBF- β の発見以前に報告されていた、A3G との結合と A3F との結合に共通して重要な Vif の領域と重なる^{84,86)}。

2014 年に入り、Vif、CBF- β を含む SCF 型ユビキチン複合体 (Vif-CBF- β -Cul5-EloB/C) の X 線結晶構造 (PDB ID : 4N9F) が公開され⁹⁸⁾、CBF- β -Vif 間相互作用はさらに明確となった (図 3B)。また、この構造情報を踏まえると、既報の CBF- β との結合に重要な Vif の領域/アミノ酸残基は直接的に結合する (Trp⁵、Trp⁸⁹、Phe¹¹⁵、FG box の一部) あるいは間接的な影響を与えるものと考えられる。Vif の後者の領域は、Vif 単独では intrinsically disordered 構造を持つ C 末端側領域⁹⁹⁾ と近接していることから、CBF- β 結合時の構造安定化に関わるように思われる。しかし詳細な理解にはさらなる研究が必要だろう。さらにこの複合体構造は、A3 の結合領域についても重要な情報を提起した (図 3C)。Vif のアミノ酸配列 (一次構造) 上の F1 box と F2 box は離れた位置に配置されている (図 3A)。しかし、これら 2 つの領域は立体構造上近くに位置した。つまり A3C, D あるいは F 上のまとまった領域を Vif が認識することを想像させる。このことは A3C, D, F の Vif 結合推定領域と矛盾しない。また、面白いことに、F1, F2 box と G box は Vif の立体構造上離れて位置しており、A3H との結合に特異的に重要な Asn⁴⁸ は、F1, F2, G box と交わらない。A3 に A3G 型、A3F 型、A3H 型の 3 種の Vif 結合領域が存在することをうまく説明できる。より詳細な A3-Vif 間結合の理解のため、3 種それぞれの A3 と Vif との複合体の構造決定が待たれる。

展 望

A3 と Vif の研究が進み、A3 の抗 HIV-1 活性の分子メカ

ニズムや Vif による A3 の分解不活化メカニズムについて多くの情報が蓄積されてきた。また, A3 による *vif* 欠損型 HIV-1 の複製抑制をサポートする GANP¹⁰⁰⁾ などの宿主因子や A3 を分解するために必要なユビキチンの NEDD 化¹⁰¹⁾ など, A3 と Vif の機能に関わる因子の情報も蓄積され始めている⁶⁶⁾。Vif-A3 あるいは Vif-CBF- β などの相互作用インターフェースは, 抗 HIV-1 薬の魅力的な新しい創薬ターゲットである^{10,21)}。Vif-A3 あるいは Vif-CBF- β などの相互作用の阻害により, Vif による A3 の分解不活化を阻害させ, 結果的にヒトが本来保持している A3 の抗 HIV-1 活性を発揮させる新たな治療戦略の道が開ける。また, これらに相互作用を阻害する薬物により, いまだ Berlin patient の 1 症例¹⁰²⁾ しかない HIV-1 の“根治”に向けた新たな治療戦略の模索が可能になるだろう。これらの情報や A3-Vif 複合体構造の決定など更なる研究により, Vif による A3 の分解不活化作用を阻害する薬物の開発も進むことが期待される。

文 献

- Harris RS, Hultquist JF, Evans DT : The restriction factors of human immunodeficiency virus. *J Biol Chem* 287 : 40875-40883, 2012.
- Strebel K : HIV accessory proteins versus host restriction factors. *Curr Opin Virol* 3 : 692-699, 2013.
- Jarmuz A, Chester A, Bayliss J, Gisbourne J, Dunham I, Scott J, Navaratnam N : An anthropoid-specific locus of orphan C to U RNA-editing enzymes on chromosome 22. *Genomics* 79 : 285-296, 2002.
- LaRue RS, Andresdottir V, Blanchard Y, Conticello SG, Derse D, Emerman M, Greene WC, Jonsson SR, Landau NR, Lochelt M, Malik HS, Malim MH, Munk C, O'Brien SJ, Pathak VK, Strebel K, Wain-Hobson S, Yu XF, Yuhki N, Harris RS : Guidelines for naming nonprimate APOBEC3 genes and proteins. *J Virol* 83 : 494-497, 2009.
- Refsland EW, Stenglein MD, Shindo K, Albin JS, Brown WL, Harris RS : Quantitative profiling of the full *APOBEC3* mRNA repertoire in lymphocytes and tissues : implications for HIV-1 restriction. *Nucleic Acids Res* 38 : 4274-4284, 2010.
- Sheehy AM, Gaddis NC, Choi JD, Malim MH : Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein. *Nature* 418 : 646-650, 2002.
- Wiegand HL, Doehle BP, Bogerd HP, Cullen BR : A second human antiretroviral factor, APOBEC3F, is suppressed by the HIV-1 and HIV-2 Vif proteins. *EMBO J* 23 : 2451-2458, 2004.
- Zheng YH, Irwin D, Kurosaki T, Tokunaga K, Sata T, Peterlin BM : Human APOBEC3F is another host factor that blocks human immunodeficiency virus type 1 replication. *J Virol* 78 : 6073-6076, 2004.
- Simon V, Zennou V, Murray D, Huang Y, Ho DD, Bieniasz PD : Natural variation in Vif : differential impact on APOBEC3G/3F and a potential role in HIV-1 diversification. *PLoS Pathog* 1 : e6, 2005.
- Albin JS, Harris RS : Interactions of host APOBEC3 restriction factors with HIV-1 in vivo : implications for therapeutics. *Expert Rev Mol Med* 12 : e4, 2010.
- Hultquist JF, Lengyel JA, Refsland EW, LaRue RS, Lackey L, Brown WL, Harris RS : Human and rhesus APOBEC3D, APOBEC3F, APOBEC3G, and APOBEC3H demonstrate a conserved capacity to restrict Vif-deficient HIV-1. *J Virol* 85 : 11220-11234, 2011.
- Chaipan C, Smith JL, Hu WS, Pathak VK : APOBEC3G restricts HIV-1 to a greater extent than APOBEC3F and APOBEC3DE in human primary CD4+ T cells and macrophages. *J Virol* 87 : 444-453, 2013.
- OhAinle M, Kerns JA, Li MM, Malik HS, Emerman M : Antiretroelement activity of APOBEC3H was lost twice in recent human evolution. *Cell Host Microbe* 4 : 249-259, 2008.
- Li MM, Emerman M : Polymorphism in human APOBEC3H affects a phenotype dominant for subcellular localization and antiviral activity. *J Virol* 85 : 8197-8207, 2011.
- Binka M, Ooms M, Steward M, Simon V : The activity spectrum of Vif from multiple HIV-1 subtypes against APOBEC3G, APOBEC3F, and APOBEC3H. *J Virol* 86 : 49-59, 2012.
- Ooms M, Brayton B, Letko M, Maio SM, Pilcher CD, Hecht FM, Barbour JD, Simon V : HIV-1 Vif adaptation to human APOBEC3H haplotypes. *Cell Host Microbe* 14 : 411-421, 2013.
- Yu X, Yu Y, Liu B, Luo K, Kong W, Mao P, Yu XF : Induction of APOBEC3G ubiquitination and degradation by an HIV-1 Vif-Cul5-SCF complex. *Science* 302 : 1056-1060, 2003.
- Yu Y, Xiao Z, Ehrlich ES, Yu X, Yu XF : Selective assembly of HIV-1 Vif-Cul5-ElonginB-ElonginC E3 ubiquitin ligase complex through a novel SOCS box and upstream cysteines. *Genes Dev* 18 : 2867-2872, 2004.
- Iwatani Y, Chan DS, Liu L, Yoshii H, Shibata J, Yamamoto N, Levin JG, Gronenborn AM, Sugiura W : HIV-1 Vif-mediated ubiquitination/degradation of APOBEC3G

- involves four critical lysine residues in its C-terminal domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 106 : 19539–19544, 2009.
- 20) Albin JS, Anderson JS, Johnson JR, Harjes E, Matsuo H, Krogan NJ, Harris RS : Dispersed sites of HIV Vif-dependent polyubiquitination in the DNA deaminase APOBEC3F. *J Mol Biol* 425 : 1172–1182, 2013.
- 21) Cadima-Couto I, Goncalves J : Towards inhibition of Vif-APOBEC3G interaction : which protein to target ? *Adv Virol* 2010 : 649315, 2010.
- 22) Wedekind JE, Dance GS, Sowden MP, Smith HC : Messenger RNA editing in mammals : new members of the APOBEC family seeking roles in the family business. *Trends Genet* 19 : 207–216, 2003.
- 23) Goila-Gaur R, Strebel K : HIV-1 Vif, APOBEC, and intrinsic immunity. *Retrovirology* 5 : 51, 2008.
- 24) Harris RS, Bishop KN, Sheehy AM, Craig HM, Petersen-Mahrt SK, Watt IN, Neuberger MS, Malim MH : DNA deamination mediates innate immunity to retroviral infection. *Cell* 113 : 803–809, 2003.
- 25) Lecossier D, Bouchonnet F, Clavel F, Hance AJ : Hypermutation of HIV-1 DNA in the absence of the Vif protein. *Science* 300 : 1112, 2003.
- 26) Mangeat B, Turelli P, Caron G, Friedli M, Perrin L, Trono D : Broad antiretroviral defence by human APOBEC3G through lethal editing of nascent reverse transcripts. *Nature* 424 : 99–103, 2003.
- 27) Zhang H, Yang B, Pomerantz RJ, Zhang C, Arunachalam SC, Gao L : The cytidine deaminase CEM15 induces hypermutation in newly synthesized HIV-1 DNA. *Nature* 424 : 94–98, 2003.
- 28) Suspene R, Sommer P, Henry M, Ferris S, Guetard D, Pochet S, Chester A, Navaratnam N, Wain-Hobson S, Vartanian JP : APOBEC3G is a single-stranded DNA cytidine deaminase and functions independently of HIV reverse transcriptase. *Nucleic Acids Res* 32 : 2421–2429, 2004.
- 29) Rausch JW, Chelico L, Goodman MF, Le Grice SF : Dissecting APOBEC3G substrate specificity by nucleoside analog interference. *J Biol Chem* 284 : 7047–7058, 2009.
- 30) Rathore A, Carpenter MA, Demir O, Ikeda T, Li M, Shaban NM, Law EK, Anokhin D, Brown WL, Amaro RE, Harris RS : The local dinucleotide preference of APOBEC3G can be altered from 5'-CC to 5'-TC by a single amino acid substitution. *J Mol Biol* 425 : 4442–4454, 2013.
- 31) Harjes S, Solomon WC, Li M, Chen KM, Harjes E, Harris RS, Matsuo H : Impact of H216 on the DNA binding and catalytic activities of the HIV restriction factor APOBEC3G. *J Virol* 87 : 7008–7014, 2013.
- 32) McDougall WM, Okany C, Smith HC : Deaminase activity on single-stranded DNA (ssDNA) occurs *in vitro* when APOBEC3G cytidine deaminase forms homotetramers and higher-order complexes. *J Biol Chem* 286 : 30655–30661, 2011.
- 33) Iwatani Y, Takeuchi H, Strebel K, Levin JG : Biochemical activities of highly purified, catalytically active human APOBEC3G : correlation with antiviral effect. *J Virol* 80 : 5992–6002, 2006.
- 34) Navarro F, Bollman B, Chen H, Konig R, Yu Q, Chiles K, Landau NR : Complementary function of the two catalytic domains of APOBEC3G. *Virology* 333 : 374–386, 2005.
- 35) Wedekind JE, Gillilan R, Janda A, Krucinska J, Salter JD, Bennett RP, Raina J, Smith HC : Nanostructures of APOBEC3G support a hierarchical assembly model of high molecular mass ribonucleoprotein particles from dimeric subunits. *J Biol Chem* 281 : 38122–38126, 2006.
- 36) Bennett RP, Salter JD, Liu X, Wedekind JE, Smith HC : APOBEC3G subunits self-associate via the C-terminal deaminase domain. *J Biol Chem* 283 : 33329–33336, 2008.
- 37) Salter JD, Krucinska J, Raina J, Smith HC, Wedekind JE : A hydrodynamic analysis of APOBEC3G reveals a monomer-dimer-tetramer self-association that has implications for anti-HIV function. *Biochemistry* 48 : 10685–10687, 2009.
- 38) Huthoff H, Autore F, Gallois-Montbrun S, Fraternali F, Malim MH : RNA-dependent oligomerization of APOBEC3G is required for restriction of HIV-1. *PLoS Pathog* 5 : e1000330, 2009.
- 39) Chelico L, Prochnow C, Erie DA, Chen XS, Goodman MF : Structural model for deoxycytidine deamination mechanisms of the HIV-1 inactivation enzyme APOBEC3G. *J Biol Chem* 285 : 16195–16205, 2010.
- 40) Shandilya SM, Nalam MN, Nalivaika EA, Gross PJ, Valesano JC, Shindo K, Li M, Munson M, Royer WE, Harjes E, Kono T, Matsuo H, Harris RS, Somasundaran M, Schiffer CA : Crystal structure of the APOBEC3G catalytic domain reveals potential oligomerization interfaces. *Structure* 18 : 28–38, 2010.
- 41) von Schwedler U, Song J, Aiken C, Trono D : Vif is crucial for human immunodeficiency virus type 1 proviral DNA synthesis in infected cells. *J Virol* 67 : 4945–4955, 1993.
- 42) Browne EP, Allers C, Landau NR : Restriction of HIV-1 by APOBEC3G is cytidine deaminase-dependent. *Virology* 387 : 313–321, 2009.
- 43) Pace C, Keller J, Nolan D, James I, Gaudieri S, Moore C,

- Mallal S : Population level analysis of human immunodeficiency virus type 1 hypermutation and its relationship with APOBEC3G and vif genetic variation. *J Virol* 80 : 9259–9269, 2006.
- 44) Sato K, Izumi T, Misawa N, Kobayashi T, Yamashita Y, Ohmichi M, Ito M, Takaori-Kondo A, Koyanagi Y : Remarkable lethal G-to-A mutations in vif-proficient HIV-1 provirus by individual APOBEC3 proteins in humanized mice. *J Virol* 84 : 9546–9556, 2010.
 - 45) Crotty S, Cameron CE, Andino R : RNA virus error catastrophe : direct molecular test by using ribavirin. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 : 6895–6900, 2001.
 - 46) Eigen M : Error catastrophe and antiviral strategy. *Proc Natl Acad Sci USA* 99 : 13374–13376, 2002.
 - 47) Graci JD, Cameron CE : Quasispecies, error catastrophe, and the antiviral activity of ribavirin. *Virology* 298 : 175–180, 2002.
 - 48) Luo K, Wang T, Liu B, Tian C, Xiao Z, Kappes J, Yu XF : Cytidine deaminases APOBEC3G and APOBEC3F interact with human immunodeficiency virus type 1 integrase and inhibit proviral DNA formation. *J Virol* 81 : 7238–7248, 2007.
 - 49) Mbisa JL, Barr R, Thomas JA, Vandegraaff N, Dorweiler IJ, Svarovskaia ES, Brown WL, Mansky LM, Gorelick RJ, Harris RS, Engelman A, Pathak VK : Human immunodeficiency virus type 1 cDNAs produced in the presence of APOBEC3G exhibit defects in plus-strand DNA transfer and integration. *J Virol* 81 : 7099–7110, 2007.
 - 50) Aguiar RS, Peterlin BM : APOBEC3 proteins and reverse transcription. *Virus Res* 134 : 74–85, 2008.
 - 51) Kaiser SM, Emerman M : Uracil DNA glycosylase is dispensable for human immunodeficiency virus type 1 replication and does not contribute to the antiviral effects of the cytidine deaminase APOBEC3G. *J Virol* 80 : 875–882, 2006.
 - 52) Langlois MA, Neuberger MS : Human APOBEC3G can restrict retroviral infection in avian cells and acts independently of both UNG and SMUG1. *J Virol* 82 : 4660–4664, 2008.
 - 53) Imahashi M, Nakashima M, Iwatani Y : Antiviral mechanism and biochemical basis of the human APOBEC3 family. *Front Microbiol* 3 : 250, 2012.
 - 54) Miyagi E, Schwartzkopff F, Plishka R, Buckler-White A, Clouse KA, Strebel K : APOBEC3G-independent reduction in virion infectivity during long-term HIV-1 replication in terminally differentiated macrophages. *Virology* 379 : 266–274, 2008.
 - 55) Iwatani Y, Chan DS, Wang F, Maynard KS, Sugiura W, Gronenborn AM, Rouzina I, Williams MC, Musier-Forsyth K, Levin JG : Deaminase-independent inhibition of HIV-1 reverse transcription by APOBEC3G. *Nucleic Acids Res* 35 : 7096–7108, 2007.
 - 56) Holmes RK, Koning FA, Bishop KN, Malim MH : APOBEC3F can inhibit the accumulation of HIV-1 reverse transcription products in the absence of hypermutation. Comparisons with APOBEC3G. *J Biol Chem* 282 : 2587–2595, 2007.
 - 57) Yang Y, Guo F, Cen S, Kleiman L : Inhibition of initiation of reverse transcription in HIV-1 by human APOBEC3F. *Virology* 365 : 92–100, 2007.
 - 58) Bishop KN, Verma M, Kim EY, Wolinsky SM, Malim MH : APOBEC3G inhibits elongation of HIV-1 reverse transcripts. *PLoS Pathog* 4 : e1000231, 2008.
 - 59) Chaurasiya KR, McCauley MJ, Wang W, Qualley DF, Wu T, Kitamura S, Geertsema H, Chan DS, Hertz A, Iwatani Y, Levin JG, Musier-Forsyth K, Rouzina I, Williams MC : Oligomerization transforms human APOBEC3G from an efficient enzyme to a slowly dissociating nucleic acid-binding protein. *Nat Chem* 6 : 28–33, 2014.
 - 60) Belanger K, Savoie M, Rosales Gerpe MC, Couture JF, Langlois MA : Binding of RNA by APOBEC3G controls deamination-independent restriction of retroviruses. *Nucleic Acids Res* 41 : 7438–7452, 2013.
 - 61) Li J, Chen Y, Li M, Carpenter MA, McDougall RM, Luengas EM, Macdonald PJ, Harris RS, Mueller JD : APOBEC3 multimerization correlates with HIV-1 packaging and restriction activity in living cells. *J Mol Biol* 426 : 1296–1307, 2014.
 - 62) Bogerd HP, Doehle BP, Wiegand HL, Cullen BR : A single amino acid difference in the host APOBEC3G protein controls the primate species specificity of HIV type 1 virion infectivity factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 101 : 3770–3774, 2004.
 - 63) Mangeat B, Turelli P, Liao S, Trono D : A single amino acid determinant governs the species-specific sensitivity of APOBEC3G to Vif action. *J Biol Chem* 279 : 14481–14483, 2004.
 - 64) Schrofelbauer B, Chen D, Landau NR : A single amino acid of APOBEC3G controls its species-specific interaction with virion infectivity factor (Vif). *Proc Natl Acad Sci USA* 101 : 3927–3932, 2004.
 - 65) Kitamura S, Ode H, Iwatani Y : Structural features of antiviral APOBEC3 proteins are linked to their functional

- activities. *Front Microbiol* 2 : 258, 2011.
- 66) Desimmie BA, Delviks-Frankenberry KA, Burdick RC, Qi D, Izumi T, Pathak VK : Multiple APOBEC3 restriction factors for HIV-1 and one Vif to rule them all. *J Mol Biol* 426 : 1220–1245, 2014.
- 67) Huthoff H, Malim MH : Identification of amino acid residues in APOBEC3G required for regulation by human immunodeficiency virus type 1 Vif and Virion encapsidation. *J Virol* 81 : 3807–3815, 2007.
- 68) Shirakawa K, Takaori-Kondo A, Yokoyama M, Izumi T, Matsui M, Ito 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.
- 69) Albin JS, LaRue RS, Weaver JA, Brown WL, Shindo K, Harjes E, Matsuo H, Harris RS : A single amino acid in human APOBEC3F alters susceptibility to HIV-1 Vif. *J Biol Chem* 285 : 40785–40792, 2010.
- 70) Smith JL, Pathak VK : Identification of specific determinants of human APOBEC3F, APOBEC3C, and APOBEC3DE and African green monkey APOBEC3F that interact with HIV-1 Vif. *J Virol* 84 : 12599–12608, 2010.
- 71) Kitamura S, Ode H, Nakashima M, Imahashi M, Naganawa Y, Kurosawa T, Yokomaku Y, Yamane T, Watanabe N, Suzuki A, Sugiura W, Iwatani Y : The APOBEC3C crystal structure and the interface for HIV-1 Vif binding. *Nat Struct Mol Biol* 19 : 1005–1010, 2012.
- 72) Bohn MF, Shandilya SM, Albin JS, Kouno T, Anderson BD, McDougale RM, Carpenter MA, Rathore A, Evans L, Davis AN, Zhang J, Lu Y, Somasundaran M, Matsuo H, Harris RS, Schiffer CA : Crystal structure of the DNA cytosine deaminase APOBEC3F : the catalytically active and HIV-1 Vif-binding domain. *Structure* 21 : 1042–1050, 2013.
- 73) Siu KK, Sultana A, Azimi FC, Lee JE : Structural determinants of HIV-1 Vif susceptibility and DNA binding in APOBEC3F. *Nat Commun* 4 : 2593, 2013.
- 74) Zhen A, Wang T, Zhao K, Xiong Y, Yu XF : A single amino acid difference in human APOBEC3H variants determines HIV-1 Vif sensitivity. *J Virol* 84 : 1902–1911, 2010.
- 75) Li MM, Wu LI, Emerman M : The range of human APOBEC3H sensitivity to lentiviral Vif proteins. *J Virol* 84 : 88–95, 2010.
- 76) Takaori-Kondo A, Shindo K : HIV-1 Vif : a guardian of the virus that opens up a new era in the research field of restriction factors. *Front Microbiol* 4 : 34, 2013.
- 77) Mehle A, Wilson H, Zhang C, Brazier AJ, McPike M, Pery E, Gabuzda D : Identification of an APOBEC3G binding site in human immunodeficiency virus type 1 Vif and inhibitors of Vif-APOBEC3G binding. *J Virol* 81 : 13235–13241, 2007.
- 78) Russell RA, Pathak VK : Identification of two distinct human immunodeficiency virus type 1 Vif determinants critical for interactions with human APOBEC3G and APOBEC3F. *J Virol* 81 : 8201–8210, 2007.
- 79) Yamashita T, Kamada K, Hachio K, Adachi A, Nomaguchi M : Identification of amino acid residues in HIV-1 Vif critical for binding and exclusion of APOBEC3G/F. *Microbes Infect* 10 : 1142–1149, 2008.
- 80) Dang Y, Wang X, Zhou T, York IA, Zheng YH : Identification of a novel WxSLVK motif in the N terminus of human immunodeficiency virus and simian immunodeficiency virus Vif that is critical for APOBEC3G and APOBEC3F neutralization. *J Virol* 83 : 8544–8552, 2009.
- 81) Chen G, He Z, Wang T, Xu R, Yu XF : A patch of positively charged amino acids surrounding the human immunodeficiency virus type 1 Vif SLVx4Yx9Y motif influences its interaction with APOBEC3G. *J Virol* 83 : 8674–8682, 2009.
- 82) Peng J, Ao Z, Matthews C, Wang X, Ramdahn S, Chen X, Li J, Chen L, He J, Ball B, Fowke K, Plummer F, Embree J, Yao X : A naturally occurring Vif mutant (I107T) attenuates anti-APOBEC3G activity and HIV-1 replication. *J Mol Biol* 425 : 2840–2852, 2013.
- 83) Schrefelbauer B, Senger T, Manning G, Landau NR : Mutational alteration of human immunodeficiency virus type 1 Vif allows for functional interaction with nonhuman primate APOBEC3G. *J Virol* 80 : 5984–5991, 2006.
- 84) Tian C, Yu X, Zhang W, Wang T, Xu R, Yu XF : Differential requirement for conserved tryptophans in human immunodeficiency virus type 1 Vif for the selective suppression of APOBEC3G and APOBEC3F. *J Virol* 80 : 3112–3115, 2006.
- 85) Pery E, Rajendran KS, Brazier AJ, Gabuzda D : Regulation of APOBEC3 proteins by a novel YXXL motif in human immunodeficiency virus type 1 Vif and simian immunodeficiency virus SIVagm Vif. *J Virol* 83 : 2374–2381, 2009.
- 86) He Z, Zhang W, Chen G, Xu R, Yu XF : Characterization of conserved motifs in HIV-1 Vif required for APOBEC3G and APOBEC3F interaction. *J Mol Biol* 381 : 1000–1011, 2008.
- 87) Ooms M, Letko M, Binka M, Simon V : The resistance of human APOBEC3H to HIV-1 NL4-3 molecular clone is determined by a single amino acid in Vif. *PLoS One* 8 :

- e57744, 2013.
- 88) Jager S, Kim DY, Hultquist JF, Shindo K, LaRue RS, Kwon E, Li M, Anderson BD, Yen L, Stanley D, Mahon C, Kane J, Franks-Skiba K, Cimermanic P, Burlingame A, Sali A, Craik CS, Harris RS, Gross JD, Krogan NJ : Vif hijacks CBF- β to degrade APOBEC3G and promote HIV-1 infection. *Nature* 481 : 371–375, 2012.
 - 89) Zhang W, Du J, Evans SL, Yu Y, Yu XF : T-cell differentiation factor CBF- β regulates HIV-1 Vif-mediated evasion of host restriction. *Nature* 481 : 376–379, 2012.
 - 90) Salter JD, Lippa GM, Belashov IA, Wedekind JE : Core-binding factor β increases the affinity between human Cullin 5 and HIV-1 Vif within an E3 ligase complex. *Biochemistry* 51 : 8702–8704, 2012.
 - 91) Zhou X, Evans SL, Han X, Liu Y, Yu XF : Characterization of the interaction of full-length HIV-1 Vif protein with its key regulator CBF β and CRL5 E3 ubiquitin ligase components. *PLoS One* 7 : e33495, 2012.
 - 92) Wang X, Wang X, Zhang H, Lv M, Zuo T, Wu H, Wang J, Liu D, Wang C, Zhang J, Li X, Wu J, Yu B, Kong W, Yu X : Interactions between HIV-1 Vif and human ElonginB-ElonginC are important for CBF- β binding to Vif. *Retrovirology* 10 : 94, 2013.
 - 93) Fribourgh JL, Wolfe LS, Nguyen HC, Dewitt DC, Zhang W, Yu XF, Rhoades E, Xiong Y : Core binding factor beta plays a critical role by facilitating the assembly of the Vif-Cullin 5 E3 ubiquitin ligase. *J Virol* 88 : 3306–3319, 2014.
 - 94) Hultquist JF, McDougale RM, Anderson BD, Harris RS : HIV type 1 viral infectivity factor and the RUNX transcription factors interact with core binding factor β on genetically distinct surfaces. *AIDS Res Hum Retroviruses* 28 : 1543–1551, 2012.
 - 95) Kim DY, Kwon E, Hartley PD, Crosby DC, Mann S, Krogan NJ, Gross JD : CBF β stabilizes HIV Vif to counteract APOBEC3 at the expense of RUNX1 target gene expression. *Mol Cell* 49 : 632–644, 2013.
 - 96) Zhou X, Han X, Zhao K, Du J, Evans SL, Wang H, Li P, Zheng W, Rui Y, Kang J, Yu XF : Dispersed and conserved hydrophobic residues of HIV-1 Vif are essential for CBF β recruitment and A3G suppression. *J Virol* 88 : 2555–2563, 2014.
 - 97) Matsui Y, Shindo K, Nagata K, Io K, Tada K, Iwai F, Kobayashi M, Kadowaki N, Harris RS, Takaori-Kondo A : Defining HIV-1 Vif residues that interact with CBF β by site-directed mutagenesis. *Virology* 449 : 82–87, 2014.
 - 98) Guo Y, Dong L, Qiu X, Wang Y, Zhang B, Liu H, Yu Y, Zang Y, Yang M, Huang Z : Structural basis for hijacking CBF- β and CUL5 E3 ligase complex by HIV-1 Vif. *Nature* 505 : 229–233, 2014.
 - 99) Marcsisin SR, Narute PS, Emert-Sedlak LA, Kloczewiak M, Smithgall TE, Engen JR : On the solution conformation and dynamics of the HIV-1 viral infectivity factor. *J Mol Biol* 410 : 1008–1022, 2011.
 - 100) Maeda K, Almofty SA, Singh SK, Eid MM, Shimoda M, Ikeda T, Koito A, Pham P, Goodman MF, Sakaguchi N : GANP interacts with APOBEC3G and facilitates its encapsidation into the virions to reduce HIV-1 infectivity. *J Immunol* 191 : 6030–6039, 2013.
 - 101) Nekorchuk MD, Sharifi HJ, Furuya AK, Jellinger R, de Noronha CM : HIV relies on neddylation for ubiquitin ligase-mediated functions. *Retrovirology* 10 : 138, 2013.
 - 102) Allers K, Hutter G, Hofmann J, Loddenkemper C, Rieger K, Thiel E, Schneider T : Evidence for the cure of HIV infection by CCR5Delta32/Delta32 stem cell transplantation. *Blood* 117 : 2791–2799, 2011.