

Now Available: HIV-1 and HIV-2 gp140 Antigens



HIV 診断のための新しいツール

生命を脅かす後天性免疫不全症候群（AIDS）の蔓延を抑え、人々を守る唯一の手段は、依然として高感度で利用しやすい診断薬と薬物療法である。ヒト免疫不全ウイルス 1（HIV-1）は世界的に AIDS の最も一般的な原因であり、HIV-2 感染は主に西アフリカの人々に限られている。これらの HIV 感染症の臨床的特徴は異なり、HIV-1 に感染した患者は十分な治療と早期診断なしに AIDS に進行する可能性が高い（Nyamweya et al.） HIV-1 と HIV-2 のウイルス侵入受容体はエンベロープタンパク質 gp160 であり、成熟糖タンパク質 gp120 と膜貫通タンパク質 gp41 を特徴とする膜貫通型糖タンパク質である。gp160 はポリタンパク質として合成され、宿主に常在するプロテアーゼ furin によって切断される（Checkley et al.）

ビリオン内ドメインと膜貫通ドメインを除去すると、gp140 と呼ばれる可溶性の分泌型 gp160 ができる。The Native Antigen Company (TNAC) は現在、タグなし HIV-1 糖タンパク質 gp140 グループ M サブタイプ A、B、C、CRF01-AE、グループ O、および HIV-2 糖タンパク質 gp140 を提供しており、新世代の診断アッセイと構造研究を可能にしている。すべてのタンパク質は、3 つのアミノ酸の変化（一般に SOSIP と呼ばれる）を利用して修飾され、ジスルフィド橋が gp120 と gp21 と呼ばれる gp41 の可溶性ドメインを共有結合し、複合体の安定性と寿命を向上させている（Binley ら、2000）。

分類と疫学

HIV-1 の感染性は、このウイルスの遺伝的不均一性の広さに起因しており、その結果、様々な世界的分布を持つこのウイルスの多くの亜種が生成されている。HIV-1 亜種の 4 つの主要な系統群には、メイングループ (M)、アウトライアーグループ (O)、非 M または O グループ (N)、そして最近加わったグループ P がある (Vallari et al.) 世界中の HIV-1 感染のほとんどは、A-K 亜型に分類されるメイングループに関連している。O 群、N 群、P 群は HIV-1 感染者全体の約 1% に過ぎないと推定されるが、M 群の亜型は HIV-1 感染者全体の約 95% を占めている (Giovanetti et al.)

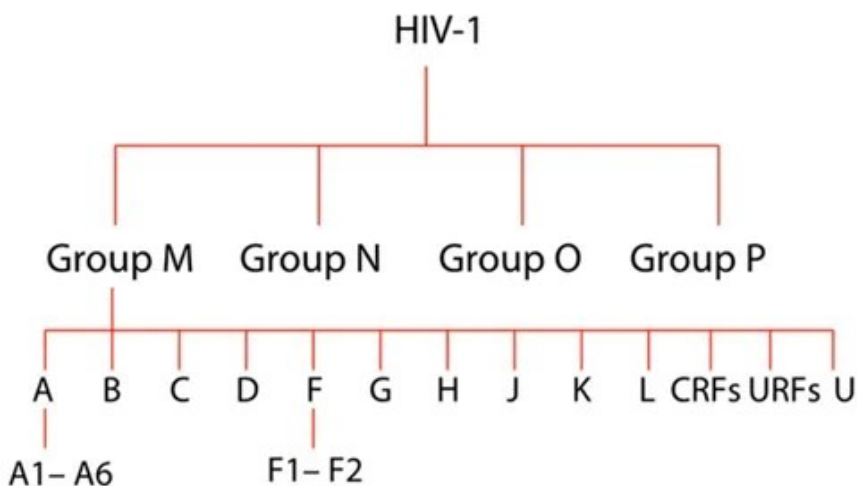


図 1. HIV-1 株間の進化的関係を図式化したもの。上から、4つの主要なグループ、サブタイプ (A-U)、サブサブタイプ (例えば、A1-A-6) があり、「U」は型付けされていないものを意味し、「CRFs」は循環組換え型 (circulating Recombinant Forms) の略称、「URFs」はユニーク組換え型 (Unique Recombinant Forms) を意味する。写真出典：Giovanetti et al：Giovanetti et al.

C 亜型は最も流行しているウイルス型で、主にインドやエチオピアのような低所得国や南部アフリカの感染症例に関連しており、そこでは成人の 4 人に 1 人が HIV-1 感染症に罹患している。ヨーロッパとアメリカ大陸で最も流行している HIV-1 サブタイプ B に関連する宣伝や研究への関心は不釣り合いに高いが、HIV-1 感染全体の約 12% を占めるにすぎない (Hemelaar et al.)

CRF01_AE 亜型と他のいくつかの CRF は、東アジアと東南アジアにおける主な HIV-1 亜型である。この地域における様々な CRF の急速な出現は、異なるリスクグループにおける B 亜型と CRF01_AE の共流行の間に始まった。その結果、タイ、マレーシア、シンガポールで最初に見つかった CRF15_01B11 や CRF34_01B など、これらの亜型からさらに複雑な組み換え株が出現した (Liu et al.)

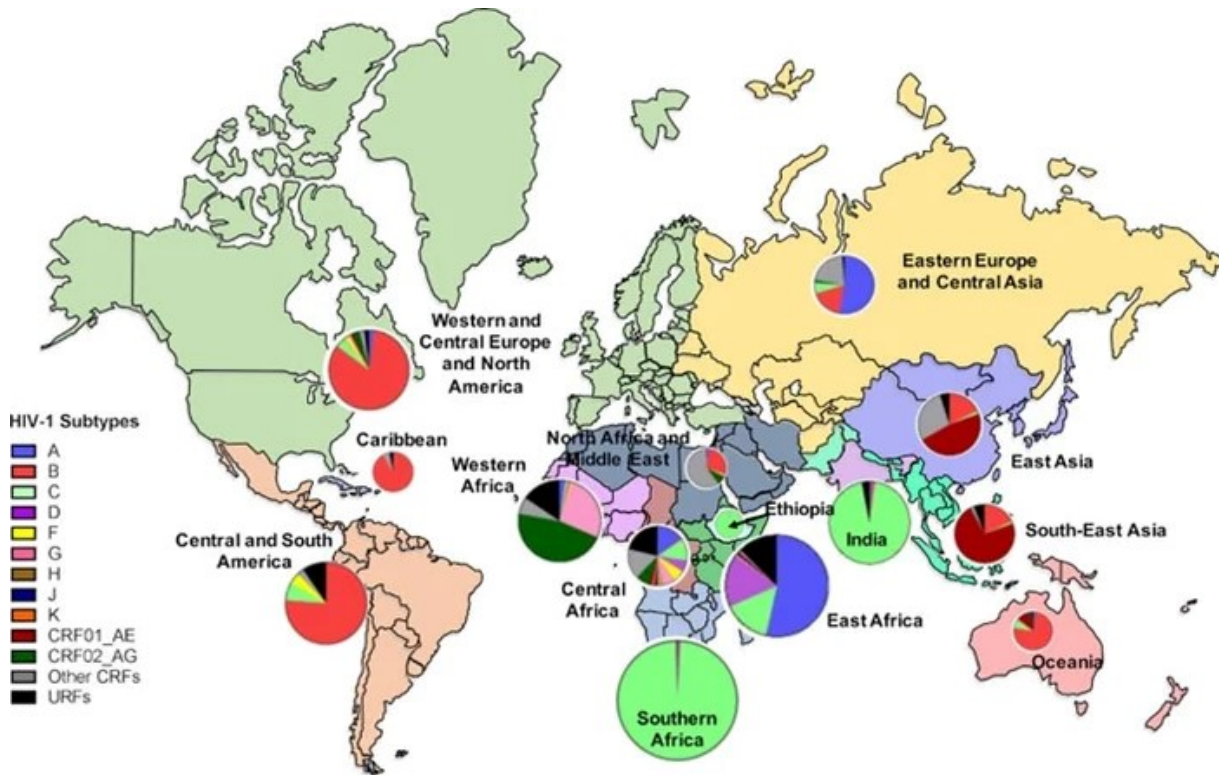
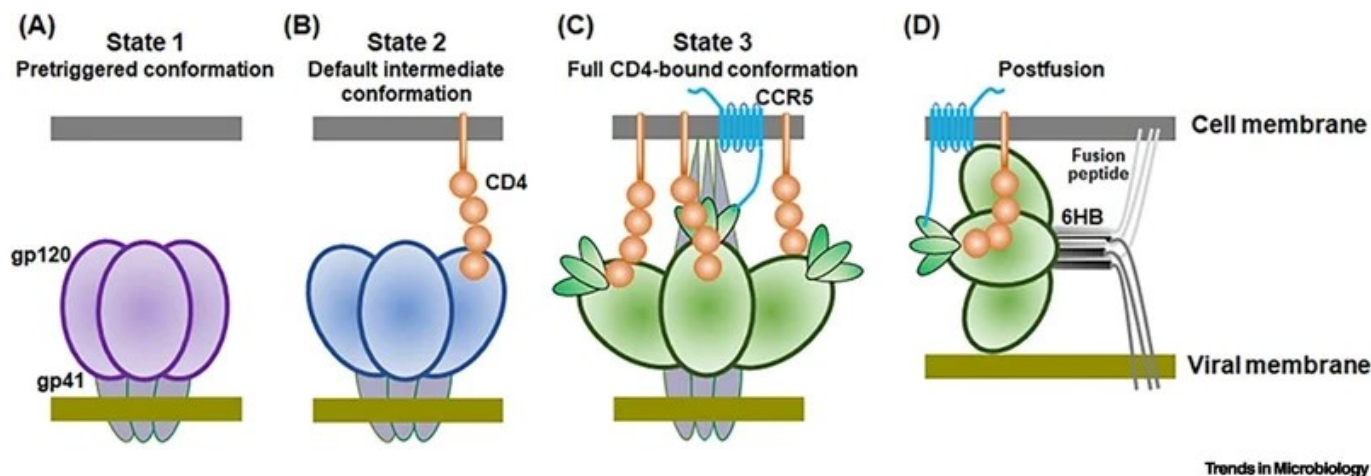


図 2. 世界の HIV-1 M 群亜型の有病率。写真出典：Gartner ら、2020 年。

ウイルスの侵入

HIV-1

ウイルスエンベロープタンパク質 gp160 は HIV-1 の侵入の中心であり、膜融合とそれに続く宿主細胞への遺伝子コアの送達を可能にする。HIV エンベロープタンパク質が宿主細胞膜に接触すると、宿主レセプター CD4 およびコアセプター CCR5/CXCR4 に結合する。この結合がエンベロープ糖タンパク質 3 量体の多段階構造変化を引き起こす。これらの構造変化によって融合ペプチドが露出し、その後のウイルスと宿主細胞膜の融合とゲノムの宿主細胞質への侵入が可能になる (Wang et al.)



Trends in Microbiology

図3. ウイルス侵入に至る HIV エンベロープタンパク質のコンフォメーションの段階。写真出典：Wang et al：Wang ら、2020 年。

HIV-1 エンベロープ糖タンパク質複合体の 6 つのサブユニット間の自然な非共有結合相互作用では、組換え発現タンパク質の三量体構造を維持することはできない。TNAC の顧客は、組換え gp41 抗原単独では一般的に不溶性であり、高濃度のイオン性洗浄剤を含む緩衝液なしでは取り扱いが困難であるため、体外診断用医薬品のアッセイ製造には不向きであると報告しています。

HIV アッセイ製造の課題に対する当社のソリューション:

gp120 と gp41 の間にジスルフィド結合を導入することで、HIV-1 糖タンパク質複合体のネイティブライクな構造を安定化させ、gp120 と gp41 可溶性ドメインである gp21 を橋渡しする。得られた gp140 抗原 (SOSIP) は、ネイティブな HIV エンベロープタンパク質の抗原特性を模倣しており、中和抗体応答の主要な標的として、アッセイ開発やワクチンデザイン研究において重要である (Pugach et al.) 組換え gp140 タンパク質は可溶性で、単純な生理的緩衝液中で安定であるため、アッセイ法の開発や生産に便利である (Harris et al.) ネイティブなフリリン切断部位のアミノ酸配列を変更することにより、gp140 ポリタンパク質の切断を促進し、Binley ら、2000 に記載されているように、gp120:gp21 エクトドメイン抗原性標的の最適な提示をもたらした。

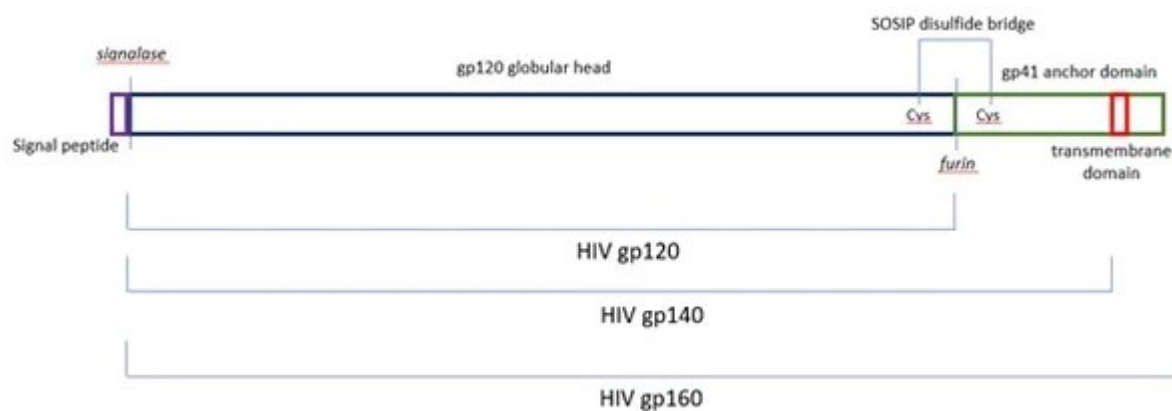


図4. 我々の gp140 (SOSIP) は、タンパク質の成熟を可能にする強化されたフリリン切断部位 (Binley et al., 2000) と、gp120 と gp21 の間のジスルフィド結合を特徴とし、共有結合を維持する (Pugach et al., 2015)。

The Native Antigen Company (TNAC)は、以下のウイルスグループおよびサブタイプの HIV-1 および HIV-2 gp140(SOSIP)抗原の上市を発表いたします。

Cat. No.	Product	Unit
REC32083	Human immunodeficiency virus subtype A, gp140 (SOSIP), untagged	100ug/500ug
REC32084	Human immunodeficiency virus subtype C, gp140 (SOSIP), untagged	100ug/500ug
REC32085	Human immunodeficiency virus subtype AE, gp140 (SOSIP), untagged	100ug/500ug
REC32086	Human immunodeficiency virus subtype B, gp140 (SOSIP), untagged	100ug/500ug
REC32076	Human immunodeficiency virus type 2, gp140 (SOSIP), untagged	100ug/500ug
REC32082	Human Immunodeficiency virus clade O, gp140 (SOSIP), untagged	100ug/500ug

References

1. Binley, J.M. *et al.* (2000) 'A recombinant human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein complex stabilized by an intermolecular disulfide bond between the gp120 and GP41 subunits is an antigenic mimic of the trimeric virion-associated structure', *Journal of Virology*, 74(2), pp. 627–643. doi:10.1128/jvi.74.2.627-643.2000.
2. Checkley, M.A., Luttge, B.G. and Freed, E.O. (2011) 'HIV-1 envelope glycoprotein biosynthesis, trafficking, and incorporation', *Journal of Molecular Biology*, 410(4), pp. 582–608. doi:10.1016/j.jmb.2011.04.042.
3. Gartner, M.J. *et al.* (2020) 'Understanding the mechanisms driving the spread of subtype C HIV-1', *EBioMedicine*, 53, p. 102682. doi:10.1016/j.ebiom.2020.102682.
4. Giovanetti, M. *et al.* (2020) 'Molecular epidemiology of HIV-1 in African countries: A comprehensive overview', *Pathogens*, 9(12), p. 1072. doi:10.3390/pathogens9121072.
5. Harris, A. *et al.* (2011) 'Trimeric HIV-1 glycoprotein GP140 immunogens and native HIV-1 envelope glycoproteins display the same closed and open quaternary molecular architectures', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(28), pp. 11440–11445. doi:10.1073/pnas.1101414108.
6. Hemelaar, J. *et al.* (2019) 'Global and regional molecular epidemiology of HIV-1, 1990–2015: A systematic review, global survey, and Trend Analysis', *The Lancet Infectious Diseases*, 19(2), pp. 143–155. doi:10.1016/s1473-3099(18)30647-9.
7. Liu, Y. *et al.* (2012) 'Identification of a novel HIV type 1 circulating recombinant form (CRF52_01B) in Southeast Asia', *AIDS Research and Human Retroviruses*, 28(10), pp. 1357–1361. doi:10.1089/aid.2011.0376.
8. Marcelino, J.M. *et al.* (2006) 'Use of a new dual-antigen enzyme-linked immunosorbent assay to detect and characterize the human antibody response to the human immunodeficiency virus type 2 envelope GP125 and GP36 glycoproteins', *Journal of Clinical Microbiology*, 44(2), pp. 607–611. doi:10.1128/jcm.44.2.607-611.2006.
9. Nyamweya, S. *et al.* (2013) 'Comparing HIV-1 and HIV-2 infection: Lessons for viral immunopathogenesis', *Reviews in Medical Virology*, 23(4), pp. 221–240. doi:10.1002/rmv.1739.
10. Pugach, P. *et al.* (2015) 'A native-like sosip.664 trimer based on an HIV-1 subtype B *env* gene', *Journal of Virology*, 89(6), pp. 3380–3395. doi:10.1128/jvi.03473-14.
11. Sanders, R.W. *et al.* (2013) 'A next-generation cleaved, soluble HIV-1 *env* trimer, BG505 SOSIP.664 gp140, expresses multiple epitopes for broadly neutralizing but not non-neutralizing antibodies', *PLoS Pathogens*, 9(9). doi:10.1371/journal.ppat.1003618.

12. Valadés-Alcaraz, A., Reinoso, R. and Holguín, Á. (2022) 'HIV transmembrane glycoprotein conserved domains and genetic markers across HIV-1 and HIV-2 variants', *Frontiers in Microbiology*, 13. doi:10.3389/fmicb.2022.855232.
13. Vallari, A. *et al.* (2011) 'Confirmation of putative HIV-1 Group P in Cameroon', *Journal of Virology*, 85(3), pp. 1403–1407. doi:10.1128/jvi.02005-10.
14. Wang, Q., Finzi, A. and Sodroski, J. (2020) 'The conformational states of the HIV-1 envelope glycoproteins', *Trends in Microbiology*, 28(8), pp. 655–667. doi:10.1016/j.tim.2020.03.007.