6. HIV の複製機構

足立昭夫¹⁾, 山本善彦²⁾, 曾根三郎²⁾

(徳島大学医学部 ¹⁾ウイルス学教室, ²⁾第三内科教室)

はじめに

1983年エイズの原因ウイルスとして発見されて既に10年あまり、ヒト免疫不全ウイルス1型(Human Immunodeficiency Virus type 1; HIV-1)は様々な分野の研究者によって多方面にわたる解析が活発に行われてきた。1986年にはHIV-2がエイズの原因として新たに分離され、HIV-1には無い遺伝子を主な対象に解析が進められている。これらの研究によってHIVでは従来のレトロウイルスに見られない実に巧妙な複製調節が行われていることが明らかにされてきた。新しいウイルス遺伝子として7種が同定されたことにより、HIVは幅広い生物学領域の研究対象として関心が持たれ、ウイルス複製機構の解明にとどまらない研究も行われている。基本的枠組みは確立されたもののまだまだ多くのウイルス複製過程が未解明である。また、複製との関連が明らかでない生物活性を示すウイルス蛋白質も数多く報告されている。本稿はHIV複製機構を中心にまとめるが、HIV蛋白質の重要な生物活性についても十分に記述したい。

HIVのゲノム構造

HIVは、主にCD4(HIVの細胞レセプター)陽性のhelper/inducer T細胞やマクロファージに感染し、やがてはヒトの免疫系を破壊しエイズに至らしめる。HIVはレトロウイルスに属するが、そのなかでも際

だって複雑な遺伝子構造を持つ。図1に示したように、マウス白血病ウイルス等の代表的レトロウイルスと比較してみるとその複雑さがわかる。僅か10キロベース弱のゲノムから9個の遺伝子が発現しており、更に蛋白のプロセッシングにより15を越える最終産物が産生される。これらにはレトロウイルスに共通する構造蛋白質(Gag, Pol, Env)に加えてHIVに特有のTat, Rev, Vif, Vpr, Vpx(HIV-2のみにある), Vpu(HIV-1のみにある), Nefと呼ばれる蛋白質群がある。現在TatとRevは調節蛋白質(トランス活性化因子)、それ以外はアクセサリー蛋白質と称されている。HIVの複製は後述するように高度に制御されており、各遺伝子産物の機能だけでなくそれらの調節機構の理解も重要である。わかりやすくするために、まず、表1にHIVの遺伝子名と最終産物をまとめておく。

HIVの複製機構

HIV複製の基本的様式は他のレトロウイルスと変わらない(図2)。ウイルス粒子の細胞への吸着と侵入に始まり、逆転写酵素(RT)によるウイルスDNAの合成と、それに続くウイルスDNAの染色体DNAへの組み込みまでの初期過程と、組み込まれたプロウイルスDNAの転写、翻訳から子孫ウイルスの細胞外への放出に至る後期(生合成)過程の2つに大別される。初期過程の逆転写と組み込みという複製様式がレトロウイルスと他のウイルスとの主な違いであるが、後期過程で行われる種々の調節・制御機構がHIVを他のレトロウイルスとは根本的に異なるものにしている。後期過程は更に、Tat依存性の初期遺伝子群(*tat, rev, nef*)の発現とTat及びRev双方に依存性の後期遺伝子群(*gag, pol, env, vif, vpr, vpu, vpx*)の発現の2つのステップに分けられる(図3)。以下それぞれについて述べていくことにする。

Mechanism of HIV replication

Akio Adachi¹⁾, Yoshihiko Yamamoto²⁾, Saburo Sone²⁾

¹⁾Department of Virology and ²⁾Third Department of Internal Medicine, School of Medicine, The University of Tokushima, 3-18-15 Kuramoto, Tokushima, Tokushima 770

〒770 徳島市蔵本町3-18-15

図1 レトロウイルス(プロウイルス)の遺伝子構造。HIV-1とHIV-2のゲノムは基本的に同じ構造であるが、HIV-2にはvpuが無く、また、vprの上流にvpxが有る。pro (protease)領域は特別に取り出して図示してある。MuLV (murine leukemia virus), HTLV-I (human T cell leukemia virus type I), FIV (feline immunodeficiency virus), HSRV (human spuma retrovirus).

図2 レトロウイルスのライフサイクル。

表1 HIV遺伝子

Gag(p 17,24,7,6)	Group Specific Antigen
Pol(p 10,66,34,15)	Polymerase
Env(gp 120,41)	Envelope
Tat(p 14)	Trans-activator of Transcription
Rev(p 19)	Regulator of Expression of Virion Proteins
Nef(p 27)	Negative Factor
Vif(p 23)	Virion Infectivity Factor
Vpr(p 15)	Viral Protein R[P(Pol)から2番目のORF]
Vpu(p 16)	Viral Protein U(Pから5番目のORF)
Vpx(p 16)	Viral Protein X(謎の蛋白質)

感染後期過程

図3 HIVの初期遺伝子群と後期遺伝子群。

1. Tat と Rev の作用機構

Tat と Rev は HIV 複製に必須のトランス活性化因子である¹⁰⁾。その機能は、Tat が全ウイルス遺伝子発現のスイッチ、Rev が後期遺伝子群発現のスイッチと簡単に考えることが出来る。

Tat は HIV プロウイルスの LTR (long terminal repeat; 転写の開始や終結等のためのシグナル配列が存在する) に働いて、その転写活性を飛躍的に増大させる。しかし、一般の転写因子とは異なり、Tat は転写された mRNA の 5' 末端に形成される TAR (trans-acting responsive element) と呼ばれる高次構造に結合してその作用を表す(図4)。まだ完全な作用機構の解明には至っていないが、多くの転写活性化因子のように転写開始頻度を上げるのではなく、転写複合体を安定化させることで結果的に転写活性を増強させていると考えるのが妥当である^{30),41)}(図4)。Tat はその作用により全ての HIV 遺伝子の発現を増強する。

Rev もウイルス mRNA 上にある認識配列 RRE (Rev responsive element) に結合してその作用を示す(図5)。この RRE を持つ mRNA は Rev 存在下でのみ効率良く核から細胞質に輸送され、ウイルス蛋白質へと翻訳される(図5)。図3に示した後期遺伝子群の mRNA は全て RRE を持っている。このようなメカニズムで Rev は後期蛋白質群の発現調節を行っている^{15),25),37),47)}。しかし、未だ完全に Rev の作用機構は解明されておらず、現在もなお詳細な研究が展開されている。

Tat, Rev とともにその作用には宿主細胞因子が関与するとされており、実際 TBP-1, TAM1, Rab, hRIP, eIF5A などが報告されている^{5),6),18),29)}。しかし、これらの細胞因子がどの程度 Tat や Rev 機能に関与するか、また相互の関係はどうかなど未解明の課題が多い。

図4 Tatの作用機構。(A)にTatの認識結合配列 TAR-RNAの模式構造を(B)に作用機序を示した。SIV_{AGM}とSIV_{MND}はそれぞれアフリカミドリサルとマンドリル由来サル免疫不全ウイルスを示す。

2. 構造蛋白質の機能

全てのレトロウイルスに共通して存在するため、構造蛋白質の主な機能は HIV 発見以前からかなりわかってきた。しかし、HIV に関して展開された広範な研究により、より詳しく解明されたり、新たに明らかになってきた事実も多い。これらを総合してまとめたものが表2である。いわゆる構造蛋白質以外にもウイルス粒子に大量に取り込まれるアクセサリ蛋白質もあるので粒子構造も示した (図6)。

ウイルス感染細胞内 (外) で種々の修飾を受けた後の最終的な HIV 構造遺伝子産物は10種類にも及ぶ (表2, 図6)。Gag 及び Env は前駆体として合成され、後にプロテアーゼの働きにより成熟ウイルス蛋白質が生成される。Gag 前駆体の開裂には自身のプロテアーゼが、また Env 前駆体の開裂には宿主細胞由来のプロテアーゼが使われる。さらに、リボソームフレームシフトにより合成される Gag-Pol 前駆体からウイルスプロテアーゼにより種々の Pol が生成する。ウイルス粒子の成熟は感染後期過程の最終段階で起こり (図2), 細胞外液中にも未成熟な粒子が観察される。

図5 Revの作用機構。(A)にRevの認識結合配列 RRE-RNAの模式構造を(B)に作用機序を示した。

表2にまとめてあるように、構造蛋白質はどのような細胞でもウイルス複製に必須であり、後述するアクセサリ蛋白質と対照的である。

Gag が粒子形成に必要なのは当然であるが (表2), この他最近、サイクロフィリン A やトポイソメラーゼ I といった Gag 結合細胞因子が報告され注目を集めている^{17),50),51)}。これらはウイルス粒子の感染性に重要であり、特にトポイソメラーゼ I は逆転写過程を促進する。多数の Gag 変異体を用いた我々の研究でも宿主細胞因子の逆転写過程への関与が示唆されている (表2)。更に、HIV-1 がサルリンパ球で増殖し得ない原因も Gag にあるとする結果も報告されている^{12),46)}。この他にも Gag によって決定されていると思われるウイルスの細胞指向性 (トロピズム) がある (足立, 未発表データ)。

Env はウイルス感染の最初の段階に必要で (図2), CD4トロピズムの担い手である。HIV の2大ターゲット細胞は T 細胞とマクロファージであるが、CD4は主としてこれらの細胞系で発現している。HIV には T 細胞トロピックとマクロファージトロピックのものが

表2 HIVの構造遺伝子産物の機能

遺伝子	蛋白質	機 能
<i>gag</i>	p17	マトリックス (MA) 蛋白質。粒子形成。脱殻／逆転写。
	p24	キャプシド (CA) 蛋白質。粒子形成。脱殻／逆転写。
	p 7	ヌクレオキャプシド (NC) 蛋白質。脱殻／逆転写。
	p 6	Vpr/Vpxのウイルス粒子へのターゲティング。
<i>pol</i>	p10	ウイルスプロテアーゼ。粒子成熟。
	p66(+p51)	逆転写酵素 (RT)。ウイルスDNA合成。
	p34	リボヌクレアーゼ (インテグラーゼ)。ウイルスDNA組込み。
	p15	リボヌクレアーゼH。
<i>env</i>	gp120	ウイルス外被糖蛋白質SU。細胞への吸着／侵入。
	gp41	ウイルス外被糖蛋白質TM。細胞への吸着／侵入。

HIV粒子構造については図6参照。蛋白質の分子量はHIV-1のもの。

図6 HIVの粒子構造。この他に, NefとVifも微量に粒子内に存在するとされている。分子量はHIV-1のもの。

あるが(どちらも Env がウイルス側の決定因子)、CD4 だけでは説明できず、セカンドレセプターがあることが予測されていた。ごく最近、このレセプターが相次いで同定され、大きなトピックになっている^{2),11),13),16)}。Fusin が T 細胞トロピックのウイルスに、CC-CKR-5 がマクロファージトロピックのウイルスに使われている。更に多数のレセプターが発見される可能性もある。Env はまた、HIV 感染による直接の細胞変性の原因でもあり、この意味でも重要である。

3. アクセサリー蛋白質の機能

アクセサリー遺伝子群はウイルス複製に必須でない non-essential gene として同定された^{49),53)}。クローン

化した完全長の HIV DNA を用い遺伝子を不活化するような変異を導入し、その遺伝子産物のみが作れないようにした変異ウイルスの感染実験が行われた。構造遺伝子、調節遺伝子に関するもの以外、実に半数の遺伝子が non-essential であった。これはウイルス学の常識に反し、長い間謎であった。しかし、最近の研究により、ある特定の細胞では *vif*, *vpx* が essential であることが分かったし、*nef* と *vpu* の必要性の高い細胞があることも報告されている^{31),52)}。分子レベルでの解析は進んでおらず、まだまだ不明な点が多いが、アクセサリー蛋白質が HIV の生物活性発現に極めて重要な役割を果たすことが明らかになりつつある。アクセサリー蛋白質の作用機構の解明が HIV のウイルス学的理解に必須であると言えよう。表3に HIV 複製に関するアクセサリー蛋白質の機能をまとめておく。

Nef という名称はウイルス増殖に関して負に働くということから来ている。しかし、Nef が LTR 内のプロモーターに抑制的作用するという初期の報告は現在では否定されている。Nef が Positive Factor であることを示すデータは多くの研究グループから再現性を持って報告され^{9),39),48)}、今の課題はその詳細な作用機構である。Nef が感染後期過程に働き、何らかのメカニズムでウイルス粒子を修飾することまではコンセンサスがあるが、それから、ウイルス DNA 合成に関与するとする報告⁴⁰⁾と吸着・侵入段階に関与するとする説とがある。Nef の効果で特に注目すべきことはその個体内での役割である。Nef を発現出来ないサル免疫不全ウイルス (Simian Immunodeficiency Virus, SIV) はサル個体内での増殖効率が悪い。このことが、エイズ発症と関係する可能性があり、極めて重要な知見で

表 3 HIVのアクセサリー遺伝子産物の機能に関する主な知見

Nef	細胞膜結合性。 感染個体内(アカゲザルにおけるSIV, ヒト胸腺を移植したSCIDマウスにおけるHIV-1)での高レベルのウイルス量の維持に必要。 ウイルスの細胞への吸着・侵入に必要。 ウイルスDNA合成に関与。
Vif	子孫ウイルス粒子の感染性を増強(宿主細胞依存性)。 Env gp41のC末端のプロセッシング/集合に関与。 Envのウイルス粒子への取込み促進。 Gag前駆体のプロセッシング/集合に関与。 ウイルスDNA合成に重要。 ヌクレオプロテインコアのパッキングに関与。
Vpr	ウイルス粒子蛋白質(Gag p6との相互作用による)。 SIV感染アカゲザル体内の高レベルのウイルス量の維持に必要。 HIV遺伝子発現のトランス活性化因子。
Vpu	子孫ウイルス粒子の細胞外への放出効率の促進(宿主細胞依存性)。
Vpx	ウイルス粒子蛋白質(Gag p6との相互作用による)。 ウイルス複製の初期段階に必要(末梢血単核細胞中)。 核酸結合性。

矛盾する知見もかなりあり, 今後の検証が必要である。

ある。

Vifは感染後期過程でウイルス粒子を修飾しその感染性を高める⁴³⁾。細胞によってはVifと同じ働きをする因子があるらしく, Vifがなくてもウイルスは良く増える場合がある。Vifの作用機構も不明で, Gag²⁷⁾あるいはEnv⁴³⁾に作用するとする説があり, 今後の課題である。

Vprのウイルス複製に対する役割は全く不明と言ってよい。様々な報告はあるものの, ウイルス増殖に関して再現性のあるものは少ない。ただ, サルへの感染実験でNefと同じような効果があるとの興味深い報告がある³³⁾。

Vpuはウイルス複製の最後の段階, ウイルス粒子放出, の効率を制御している⁴⁴⁾。この機構も未だ不明である。Vpuのこの効果はEnvやCD4の存在に関わり無く認められ, また, HIV-1に特異的でなく, HIV-2や

他のレトロウイルスに対しても観察される²²⁾。他に粒子放出に関与するとされるウイルス蛋白質としてはGag p6があるが, p6変異体によるウイルス粒子の放出不全はVpuを補っても改善されない⁴⁵⁾。Vpuとは異なるメカニズムで働くと考えられる²³⁾。Vpuの効果にも細胞特異性があり, ある細胞ではVpuの存否に関わらずウイルス粒子は効率良く産生される⁴⁴⁾。

Vpx変異ウイルスは株化細胞では非常に良く増殖する。これに反し, プライマリーマクロファージでは全く増えない³²⁾。粒子蛋白質でもあるので, Vpxがこの細胞系で感染サイクルの初期過程に作用しているのは確実だが, その作用機構は未だ不明である。

HIV 遺伝子産物の生物活性

既に述べたように, HIV蛋白質にはウイルス複製との関連が不明で重要な生物活性が多数あり, ここではそれらについてまとめてみる。

1. Tat, Rev

近年, Tatの転写活性化機能以外の様々な作用が報告されている。そのなかでもTatがカポジ肉腫細胞の増殖因子として機能していることに注目が集まっている。EnsoliらはTatが血管壁形成に必要な増殖因子bFGFと極めて類似した機能を持っていることを明らかにし, TatがbFGFと協同でカポジ肉腫の増殖を促している可能性を示唆した¹⁴⁾。それ以外にも, TatがMHCクラスI遺伝子のプロモーター活性を低下させること²⁸⁾, CD26に結合してrecall antigenに対するT細胞の反応性を低下させるなどの報告もある²⁴⁾。Revに関しては, その強い核/核小体移行性により細胞傷害性があるとされる⁴²⁾。

2. Nef

NefによるCD4のdown-regulationは再現性良く認められている現象である^{4), 38), 45)}。このdown-regulationには種特異性がなく, CD4がエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれた後ライソソーム内で消化されるためである¹⁾。NefとCD4の直接的な相互作用は証明されておらず, メカニズムは未解明の部分が多い。CD4はそのC末端の細胞質ドメインのシステイン残基を介してT細胞特異的チロシンキナーゼp56^{lck}(Lck)のN末端と結合しており, Nefはこの結合を解離させることによりCD4のdown-regulationを促進すると考えられる。このことは, NefがT細胞の細胞膜情報伝達機構に影響を与える可能性を示して

いる。実際、そのような結果が多数報告されている^{3),7)}。

ごく最近我々は Nef の細胞傷害活性を報告した。遊離分子でも発現細胞でも Nef には CD4+T 細胞をアポトーシス死させる能力がある¹⁹⁾⁻²¹⁾。Nef と結合する細胞因子の分子クローニングにも成功しているので、Nef による細胞死のメカニズムはまもなく解明できると考えている。

3. Vpr

Vpr には細胞の growth arrest (G2) を起こす効果がある²⁶⁾。初期に報告された Vpr の細胞分化促進効果³⁵⁾もこれと関連があると思われる。また、Vpr が HIV 潜伏感染細胞のウイルス抗原の発現を促進するとの報告もある³⁶⁾。

4. Vpu

CD4陰性細胞で CD4 と Env gp160 とを発現させると、小胞体内で gp160-CD4 複合体を形成するため、そのプロセッシング産物である gp120 と gp41 は殆ど認められない。Vpu を補うと CD4 degradation が起こり gp160-CD4 複合体の形成が阻害され、正常に Env のプロセッシングが進むようになる⁵⁶⁾。CD4 の細胞質ドメインが Vpu のターゲットである^{8),34),54),55)}。

おわりに

HIV 発見後10年以上が経過した現在も基礎研究の重要性は少しも減少していない。以外なほど未解明な部分も多い。HIV の全遺伝子産物の作用機序が分子レベルで明らかにされるまで今までと同様の努力が必要である。アクセサリ遺伝子など研究が遅れているものは特に大切である。本稿で示されたように、HIV 研究のキーワードは宿主因子である。従って、細胞生物学的研究の重要性は今後ますます増していくであろう。これらの基礎研究と同時に、新しい抗 HIV 戦略に基づいた応用研究も推進していかねばならない。基礎と臨床の有機的協力が絶対に必要である。

引用文献

- 1) Aiken, C., Konner, J., Landau, N. R., Lenburg, M. E. and Trono, D. (1994) Nef induces CD 4 endocytosis: requirement for a critical dileucine motif in the membrane-proximal CD 4 cytoplasmic domain. *Cell* **76**, 853-864.
- 2) Alkhatib, G., Combadiere, C., Broder, C. C., Feng, Y., Kennedy, P. E., Murphy, P. M. and Berger, E. A. (1996) CC CKR 5: a RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. *Science* **272**, 1955-1958.
- 3) Bandres, J. C. and Ratner, L. (1994) Human immunodeficiency virus type 1 Nef protein down-regulates transcription factors NF- κ B and AP-1 in human T cells in vitro after T-cell receptor stimulation. *J. Virol.* **68**, 3243-3249.
- 4) Benson, R. E., Sanfridson, A., Ottinger, J. S., Doyle, C. and Cullen, B. R. (1993) Downregulation of cell-surface CD 4 expression by simian immunodeficiency virus Nef prevents viral super infection. *J. Exp. Med.* **177**, 1561-1566.
- 5) Bogerd, H. P., Fridell, R. A., Madore, S. and Cullen, B. R. (1995) Identification of a novel cellular cofactor for the Rev/Rex class of retroviral regulatory proteins. *Cell* **82**, 485-494.
- 6) Braddock, M., Thorburn, A. M., Kingsman, A. J. and Kingsman, S. M. (1991) Blocking of Tat-dependent HIV-1 RNA modification by an inhibitor of RNA polymerase processivity. *Nature* **350**, 439-441.
- 7) Brady, H. J., Pennington, D. J., Miles, C. G. and Dzierzak, E. A. (1993) CD 4 cell surface downregulation in HIV-1 Nef transgenic mice is a consequence of intracellular sequestration. *EMBO J.* **12**, 4923-4932.
- 8) Chen, M.-Y., Maldarelli, F., Karczewski, M. K., Willey, R. L. and Strebel, K. (1993) Human immunodeficiency virus type 1 Vpu protein induces degradation of CD 4 in vitro: the cytoplasmic domain of CD 4 contributes to Vpu sensitivity. *J. Virol.* **67**, 3877-3884.
- 9) Chowes, M. Y., Spina, C. A., Kwok, T. J., Fitch, N. J. S., Richman, D. D. and Guatelli, J. C. (1994) Optimal infectivity in vitro of human immunodeficiency virus type 1 requires an intact nef gene. *J. Virol.* **68**, 2906-2914.
- 10) Cullen, B. R. (1992) Mechanism of action of regulatory proteins encoded by complex retroviruses. *Microbiol. Rev.* **56**, 375-394.
- 11) Deng, H., Liu, R., Ellmeier, W., Choe, S., Unutmaz, D., Burkhart, M., Marzio, P. D., Marmon, S., Sutton, R. E., Hill, C. M., Davis, C. B., Peiper, S. C., Schall, T. J., Littman, D. and Landau, N. R. (1996) Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature* **381**, 661-666.
- 12) Dorfman, T. and Gottlinger, H. G. (1996) The human immunodeficiency virus type 1 capsid p2 domain confers sensitivity to the cyclophilin-binding drug SDZ NIM 811. *J. Virol.* **70**, 5751

- 5757.
- 13) Dragic, T., Litwin, V., Allaway, G. P., Martin, S. R., Huang, Y., Nagashima, K. A., Cayan, C., Maddon, P. J., Koup, R. A., Moore, J. P. and Paxton, W. A. (1996) HIV-1 entry into CD 4 + cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature* **381**, 667-673.
 - 14) Ensoli, B., Gendelman, R., Markham, P., Fiorelli, V., Colombini, S., Raffeld, M., Cafaro, A., Chang, H. E., Brady, J. N. and Gallo, R. C. (1994) Synergy between basic fibroblast growth factor and HIV-1 Tat protein in induction of Kaposi's sarcoma. *Nature* **371**, 674-680.
 - 15) Feinberg, M. B., Jarrett, R. F., Aldovin, A., Gallo, R. C. and Wong-Staal, F. (1986) HTLV-III expression and production involve complex regulation at the level of splicing and translation of viral RNA. *Cell* **46**, 807-817.
 - 16) Feng, Y., Broder, C. C., Kennedy, P. E. and Berger, E. A. (1996) HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science* **272**, 872-877.
 - 17) Franke, E. K., Hui Yuan, H. E. and Luban, J. (1994) Specific incorporation of cyclophilin A into HIV-1 virions. *Nature* **372**, 359-362.
 - 18) Fritz, C. C., Zapp, M. L. and Green, M. R. (1995) A human nucleoporin-like protein that specifically interacts with HIV Rev. *Nature* **376**, 530-533.
 - 19) Fujii, Y., Otake, K., Tashiro, M. and Adachi, A. (1996) Soluble Nef antigen of HIV-1 is cytotoxic for human CD 4 + T cells. *FEBS Letters* **393**, 93-96.
 - 20) Fujii, Y., Otake, K., Tashiro, M. and Adachi, A. (1996) Human immunodeficiency virus type 1 Nef protein on the cell surface is cytotoxic for human CD 4 + T cells. *FEBS Letters* **393**, 105-108.
 - 21) Fujii, Y., Otake, K., Tashiro, M. and Adachi, A. (1996) In vitro cytotoxic effects of HIV-1 Nef on unprimed human CD 4 + T cells without MHC-restriction. *J. Gen. Virol.*, in press.
 - 22) Gottlinger, H. G., Dorfman, T., Cohen, E. A. and Haseltine, W. A. (1993) Vpu protein of human immunodeficiency virus type 1 enhances the release of capsids produced by gag gene constructs of widely divergent retroviruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 7381-7385.
 - 23) Gottlinger, H. G., Dorfman, T., Sodroski, J. G. and Haseltine, W. A. (1991) Effect of mutations affecting the p 6 gag protein on human immunodeficiency virus particle release. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**, 3195-3199.
 - 24) Gutheil, W. G., Subramanyam, M., Flentke, G. R., Sanford, D. G., Munoz, E., Huber, B. T. and Bachovchin, W. W. (1994) Human immunodeficiency virus 1 Tat binds to dipeptidyl aminopeptidase IV (CD26) : a possible mechanism for Tat's immunosuppressive activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 6594-6598.
 - 25) Hadzopoulou-Ckadaras, M., Felber, B. K., Cladaras, C., Athanassopoulos, A., Tse, A. and Pavlakis, G. (1989) The rev (trs/art) protein of human immunodeficiency virus type 1 affects viral mRNA and protein expression via cis-acting sequence in the env region. *J. Virol.* **63**, 1265-1274.
 - 26) He, J., Choe, S., Walker, R., Di Marzio, P., Morgan, D. O. and Landau, N. R. (1995) Human immunodeficiency virus type 1 viral protein R (Vpr) arrests cells in the G 2 phase of the cell cycle by inhibiting p34cdc 2. *J. Virol.* **69**, 6705-6711.
 - 27) Hoglund, S., Ohagen, A., Lawrence, K. and Gabuzda, D. (1994) Role of vif during packing of the core of HIV-1. *Virology* **201**, 349-355.
 - 28) Howcroft, T. K., Strebel, K., Martin, M. A. and Singer, D. S. (1993) Repression of MHC class I gene promoter activity by two-exon Tat of HIV. *Science* **260**, 1320-1322.
 - 29) Katahira, J., Ishizaki, T., Sakai, H., Adachi, A., Yamamoto, K. and Shida, H. (1995) Effects of translation initiation factor eIF-5 A on the functioning of human T-cell leukemia virus type I Rex and human immunodeficiency virus Rev inhibited trans dominantly by a Rex mutant deficient in RNA binding. *J. Virol.* **69**, 3125-3133.
 - 30) Kato, H., Sumimoto, H., Pognonee, P., Chen, C.-H., Rosen, C. A. and Roeder, R. G. (1992) HIV-1 Tat acts as a processivity factor in vitro in conjunction with cellular elongation factors. *Genes & Dev.* **6**, 655-666.
 - 31) Kawamura, M., Ishizaki, T., Ishimoto, A., Shioda, T., Kitamura, T. and Adachi, A. (1994) Growth ability of human immunodeficiency virus type 1 auxiliary gene mutants in primary blood macrophage cultures. *J. Gen. Virol.* **75**, 2427-2431.
 - 32) Kawamura, M., Sakai, H. and Adachi, A. (1994) Human immunodeficiency virus Vpx is required for the early phase of replication in peripheral blood mononuclear cells. *Microbiol. Immunol.* **38**, 871-878.
 - 33) Lang, S. M., Weeger, M., Stahl-Hennig, C., Coulibaly, C., Hunsmann, G., Muller, J., Muller

- Hermelink, H., Fuchs, D., Wachter, H., Daniel, M. M., Desrosiers, R. C. and Fleckenstein, B. (1993) Importance of vpr for infection of rhesus monkeys with simian immunodeficiency virus. *J. Virol.* **67**, 902-912.
- 34) Lenburg, M. E. and Landau, N. R. (1993) Vpu-induced degradation of CD 4 : requirement for specific amino acid residues in the cytoplasmic domain of CD 4. *J. Virol.* **67**, 7238-7245.
- 35) Levy, D. N., Fernandes, L. S., Williams, W. V. and Weiner, D. B. (1993) Induction of cell differentiation by human immunodeficiency virus 1 vpr. *Cell* **72**, 541-550.
- 36) Levy, D. N., Refaeli, Y., MacGregor, R. R. and Weiner, D. B. (1994) Serum Vpr regulates productive infection and latence of human immunodeficiency virus type 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 10873-10877.
- 37) Malim, M. H., Hauber, J., Le, S. -Y., Maizel, J. V. and Cullen, B. R. (1989) The HIV-1 rev trans-activator acts through a structured target sequence to activate nuclear export of unspliced viral mRNA. *Nature* **338**, 254-257.
- 38) Mariani, R. and Skowronski, J. (1993) CD 4 down-regulation by nef alleles isolated from human immunodeficiency virus type 1-infected individuals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 5549-5553.
- 39) Miller, M. D., Warmerdam, M. T., Gaston, I., Greene, W. C. and Feinberg, M. B. (1994) The human immunodeficiency virus-1 nef gene product : a positive factor for viral infection and replication in primary lymphocytes and macrophages. *J. Exp. Med.* **179**, 101-113.
- 40) Miller, M. D., Warmerdam, M. T., Page, K. A., Feinberg, M. B. and Greene, W. C. (1995) Expression of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) nef gene during HIV-1 production increases progeny particle infectivity independently of gp160 or viral entry. *J. Virol.* **69**, 579-584.
- 41) Nelbock, P., Dillon, P. J., Perkins, A. and Rosen, C. A. (1990) A cDNA for a protein that interacts with the human immunodeficiency virus tat transactivator. *Science* **248**, 1650-1653.
- 42) Nosaka, T., Takamatsu, T., Miyazaki, Y., Sano, K., Sato, A., Kubota, S., Sakurai, M., Ariumi, Y., Nakai, M., Fujita, S. and Hatanaka, M. (1993) Cytotoxic activity of rev protein of human immunodeficiency virus type 1 by nucleolar dysfunction. *Exp. Cell Res.* **209**, 89-102.
- 43) Sakai, H., Shibata, R., Sakuragi, J., Sakuragi, S., Kawamura, M. and Adachi, A. (1993) Cell-dependent requirement of human immunodeficiency virus type 1 Vif protein for maturation of virus particles. *J. Virol.* **67**, 1663-1666.
- 44) Sakai, H., Tokunaga, K., Kawamura, M. and Adachi, A. (1995) Function of human immunodeficiency virus type 1 Vpu protein in various cell types. *J. Gen. Virol.* **76**, 2717-2722.
- 45) Sanfridson, A., Cullen, B. R. and Doyle, C. (1994) The simian immunodeficiency virus protein Nef protein promotes degradation of CD 4 in human T cells. *J. Biol. Chem.* **269**, 3917-3920.
- 46) Shibata, R., Sakai, H., Kawamura, M., Tokunaga, K. and Adachi, A. (1995) Early replication block of human immunodeficiency virus type 1 in monkey cells. *J. Gen. Virol.* **76**, 2723-2730.
- 47) Sodroski, J., Goh, W. C., Rosen, C. A. Dayton, A. Terwilliger, E. and Haseltine, W. A. (1986) A second post-transcriptional transactivator gene required for HTLV-III replication. *Nature* **321**, 412-417.
- 48) Spina, C. A., Kwoh, T. J., Chowes, M. Y., Guatelli, J. C. and Richman, D. D. (1994) The importance of nef in the induction of human immunodeficiency virus type 1 replication from primary quiescent CD 4 lymphocytes. *J. Exp. Med.* **179**, 115-123.
- 49) Subbramanian, R. A. and Cohen, E. A. (1994) Molecular biology of the human immunodeficiency virus accessory proteins. *J. Virol.* **68**, 6831-6835.
- 50) Takahashi, H., Matsuda, M., Kojima, A., Sata, T., Andoh, T., Kurata, T., Nagashima, K. and Hall, W. A. (1995) Human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase : enhancement of activity by interaction with cellular topoisomerase I. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92**, 5694-5698.
- 51) Thali, M., Bukovsky, A., Kondo, E., Rosenwirth, B., Walsh, C. T., Sodroski, J. and Gottlinger, H. G. (1994) Functional association of cyclophilin A with HIV-1 virions. *Nature* **372**, 363-365.
- 52) Tokunaga, K., Ishimoto, A., Ikuta, K. and Adachi, A. (1996) Growth ability of auxiliary gene mutants of human immunodeficiency virus types 1 and 2 in unstimulated peripheral blood mononuclear cells. *Arch. Virol.*, in press.
- 53) Trono, D. (1995) HIV accessory proteins: leading roles for the supporting cast. *Cell* **82**, 189-192.
- 54) Vincent, M. J., Raja, N. U. and Jabbar, M. A.

- (1993) Human immunodeficiency virus type 1 Vpu protein induces degradation of chimeric envelope glycoproteins bearing the cytoplasmic and anchor domains of CD 4 : role of the cytoplasmic domain in Vpu-induced degradation in the endoplasmic reticulum. *J. Virol.* **67**, 5538-5549.
- 55) Willey, R. L., Buckler-White, A. and Strebel, K. (1994) Sequences present in the cytoplasmic domain of CD 4 are necessary and sufficient to confer sensitivity to the human immunodeficiency virus type 1 Vpu protein. *J. Virol.* **68**, 1207-1212.
- 56) Willey, R. L., Maldarelli, F., Martin, M. A. and Strebel, K. (1992) Human immunodeficiency virus type 1 Vpu protein regulates the formation of intracellular gp160-CD 4 complexes. *J. Virol.* **66**, 226-234.