

C型肝炎ウイルス由来 RNA 依存 RNA ポリメラーズの結晶構造

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所

吾郷日出夫、宮野雅司*

現所属：* 理化学研究所 播磨研究所 構造生物物理研究室

Crystal structure of the RNA-dependent RNA polymerase of hepatitis C virus

Hideo Ago & Masashi Miyano*

Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc., 1-1 Murasaki-cho,
Takatsuki, Osaka 569-1125, Japan

current address

* Structural Biophysics Laboratory, The Institute of Physical and Chemical
Research, 1-1 Kouto, Mikazuki-cho, Sayo-gun, Hyogo 679-5148, Japan

The NS5B protein of hepatitis C virus (HCV) is the RNA dependent RNA polymerase (RdRp) which has the full-functionality of HCV RNA genome replication, and is one of the potential targets for anti-HCV agents. The structure of HCV RdRp was determined by X-ray crystallography. The structure of HCV RdRp can be divided into three domains, namely fingers, palm and thumb domains. The fingers and thumb domains are more complicated structure than those of the other polymerases. The complicated fingers domain and the palm domain have suitable structures to explain the specificity for the ribonucleoside triphosphate (rNTP) as a substrate and the selectivity for the RNA duplex. The thumb domain also has novel and strange features, which would influence the activity of HCV RdRp.

1. はじめに

C型肝炎ウイルス(HCV)は、慢性肝炎の主な病原ウイルスで、主に血液を媒体として感染する。WHOの報告によれば、すでに世界中でおおよそ1億7千万人のキャリアーがいるとされている(1)。現在では有効なウイルス検出のためのアッセイ方法が進歩したため、新たな感染のリスクは急激に減少している。しかしHCV自体の脅威が去ったわけではない。HCVの感染者のおおよそ8割が慢性肝炎を発病し、このうちのおおよそ2割が感染から20~30年を経て肝硬変に移行し、さらにその一部は肝細胞癌に至る可能性がある。現在日本では、肝臓癌患者の数は増えており、癌による死亡者の中で肝細胞癌は胃、肺に次いで第三位となっており、このうち約8割がHCVが原因となっている。このため新たな感染者は激減しているとはいえ国内で200万人を数えるHCV感染者の治療はこれからが本番であるといえよう。HCVは現在、有効なワクチンが無く、また有効な治療法であるとされているインターフェロン療法もウイルスの型によって効果が異なり万能ではない。このためあらゆるウイルス型に有効な治療薬の開発が望まれている。

HCVはフラビウイルスの一種に分類され、約9600塩基からなる(+)鎖の一本鎖RNA

(+)ssRNA)をゲノムとするウイルスである(2)。このゲノムはおよそ 3010 アミノ酸残基をコードする長い一つの翻訳領域を持っており、翻訳されて一本のポリプロテインが出来る。このポリペプチドは宿主由来のプロテアーゼとウイルス由来のプロテアーゼによって限定分解を受け、構造蛋白質(C、E1、E2)と非構造蛋白質(NS2、NS3、NS4A、NS5A、NS5B)が遊離する。これらのうち NS2、NS3、NS5B が HCV の複製で主要な役割を果たす酵素である。NS2 と、NS3 の N 末側 3 分の 1 はプロテアーゼ活性を持ち各蛋白質をポリペプチドから切り出す。NS3 の C 末側 3 分の 2 はヘリケース活性を有する。NS3 の三次元構造は、はじめはプロテアーゼドメイン、ヘリケースドメインそれぞれで決定され、最近 NS3 全体の構造が決定された(3-7)。本稿で述べる NS5B は RNA 依存 RNA ポリメラーゼ(RdRp)で(8,9)、ウイルスのゲノムの複製を行い、HCV のライフサイクルで中心的な役割を担っているため抗HCV薬の主要なターゲットとなっている。本酵素は他のウイルス由来蛋白質や宿主由来の蛋白質の助けを借りること無く、HCV ゲノム RNA をテンプレートとして(-)RNA 鎖全長をコピーバックプライミングによって複製することが出来ることが報告されていたが(10-12)、最近ゲノム RNA、またそのアンチセンス RNA のどちらからでもそれぞれの相補鎖をプライマーRNA 無しで複製開始が可能で、なおかつ完全長の相補鎖の複製が可能なが証明された(13)。また NS5B の結晶構造も我々のグループを含む 3 つのグループから相次いで報告され(14-16)単一タンパク質で一連のゲノム複製がすべて出来るこの RNA 依存 RNA ポリメラーゼの全貌が明らかにされつつある。

2 . HCV RdRp の立体構造

HCV RdRp は約 67x63x68 の大きさの球状蛋白質で、大きく分けて三つのドメインから構成されている。他の構造既知のポリメラーゼにおいて核酸鎖の伸長にあずかる触媒部分を構成する部分を右手になぞらえてフィンガードメイン、パームドメイン、サムドメインと呼ぶ 3 つのドメインに分割して呼んでいるが、この三つのドメインはこれらに対応していて、間違った複製の校正を行うフィデリティードメインは無い(図 1-a,1-b)。

パームドメインは基質であるリボヌクレオチド三リン酸(rNTP)を結合し、テンプレート RNA を鋳型にして相補鎖をその表面で伸長させている活性ドメインである。パームドメインのフォールディングモチーフは多くのポリメラーゼや核酸関連タンパク質で共通して見られる構造である(図 2-a)。ポリメラーゼの活性発現にはマグネシウムやマンガンなどの 2 価陽イオンが必須であり(8,9)、これらの金属のポリメラーゼ上への結合に預かっているアミノ酸残基は Asp318、Asp319(以上 7)、Asp220そして Thr221 主鎖のカルボキシル基(以上 3)である(図 3-a)。これら三つの酸性残基の配置は他のポリメラーゼと相同であった。

フィンガードメインは、さらに ヘリックスに富むサブドメインと スtrandに富むサブドメインの 2 つのサブドメインに分割され、ここでは フィンガー、フィンガーとする(図 1-a,2-a)。一般的なポリメラーゼでのパームドメインに対するフィンガードメインの相対的な位置関係にあるのは HCV RdRp では フィンガーで、フィンガーは新しく生成した RNA 二重鎖が活性クレフトから出ていく側に存在している。パームドメインを重ねて HIV RT(17)と HCV RdRp のフィンガードメインを比べると、HCV RdRp の フィンガーには HIV RT のフィンガードメインが対応し、フィンガーに対応する構造は HIV RT には無いことがわかる(図 2-a)。 フィンガーは

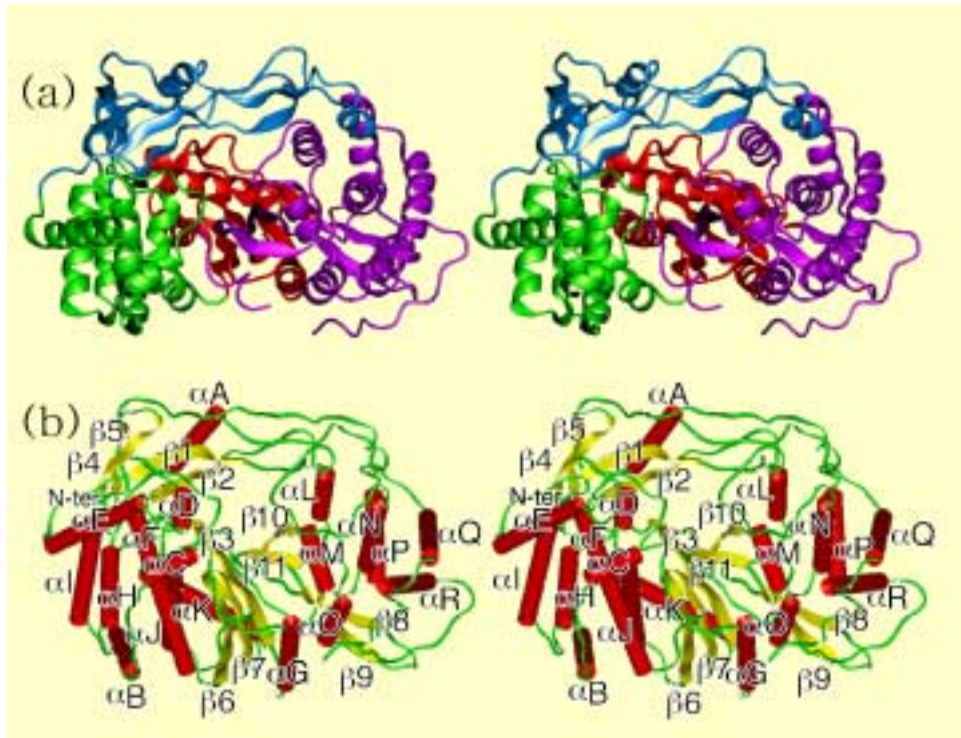


図1 HCV RdRp 結晶構造のステレオ図 (PDB : 1QUV) (a)HCV RdRp 結晶構造のリボンモデル。水色で フィンガードメイン、緑色で フィンガードメイン、赤色でパームドメイン、紫色でサムドメインを表している。(b)二次構造のアサイン。赤色で ヘリックスを黄色で ストランドを表す。

4本の ストランドと一本の ヘリックスを二次構造として持ち、これらの二次構造はコンパクトに集まっていて、フィンガーのコアとなっている(図1-a,1-b)。このコア部分の構造とパームドメインに対する相対的な位置は、有為なアミノ酸配列の相同性が無いにもかかわらず HIV RT と良く似ていた(図2-a)。このコア構造からサムドメインに向かって2本の長いループ(ループ1: Ala9~Thr41、ループ2: Asn142~Ala157)が上下に重なりながら伸び、サムドメインとの間にブリッジ構造を作っている(図1-a,1-b)。先端に短いヘリックス構造を持つループ1はサムドメインに到達し、先端のヘリックス構造はサムドメインの表面にある窪みにしっかりとロックされていた(図1-a)。このため他のポリメラーゼで知られているような核酸と相互作用した時に起るフィンガードメインの大きな動きは HCV RdRp では不可能なように思われる(17,18)。またこのブリッジ構造とパームドメインの間は rNTP の取込み口と考えられ、この穴に面したブリッジ構造の表面には塩基性残基が多く見られた(図2-a)。HCV RdRp の Arg155 は HIV RT では相同な位置に dNTP の結合にかかわる塩基性残基があり(17)、HCV RdRp の Arg155 も rNTP の結合に関与していると考えられる。フィンガーは新しく生成した RNA 二重鎖が酵素の活性部位から出ていく側に存在し、またパームドメインの上に張り出すようなオーバーハング構造を持っていた(図2-a,3-b)。RNA 二重鎖が出ていく位置にあるオーバーハング構造は、構造既知のポリメラーゼでは見られなかった構造である。オーバーハング構造の下側からパームドメインにかけて塩基性残基が集まっていて、正の静電ポテンシャルを持つ分子表面を形成する。

HCV RdRp のサムドメインの主要な部分は七本のヘリックスと一つのシートからできている。今までに構造決定されたポリメラーゼのサムドメインは数本のヘリ

ックスが主要な要素でこれと比べると HCV RdRp のサムドメインは二次構造に富んでいる。図 2-b は HCV RdRp のサムドメインを HIV RT やポリオウイルスの RdRp (19) と重ね合わせたものである。HCV RdRp の L、M、N は、サムドメインのコア構造を形成し、対応する構造は HIV RT やポリオウイルスの RdRp でも見られる。このコア構造を取り巻くように配置されたその他の二次構造は、アミノ酸配列上コア構造の C 末の後に付加されている。

サムドメインの最上部から RNA 二重鎖を結合するクレフト内に向かって長く伸びた シート (10、11) は、他の構造既知のポリメラーゼではまったく見られていない構造である。この シートは RNA 二重鎖の結合クレフト内に伸びているため、RdRp が酵素活性を発現するためには、なんらかの構造変化が必須である。Bressanelli 等 (15) は我々 (16) や Lesburg 等 (14) が解析したコンストラクトより C 末を更に短くした HCV RdRp の結晶構造を報告しているがその構造を我々の解析した構造とサムドメインを中心にして重ねてみるとサムドメインが フィンガーとの接触部位あたりを軸にして外側にわずかに回転しており、サムドメイン全体が動く可能性を示唆している (図 2-c)。一方、他のポリメラーゼでは核酸の伸長反応中に核酸鎖と酵素が解離する可能性があることが知られているが、HCV RdRp では他のポリメラーゼと比べてこのような解離が起こりにくい点から (10-13)、この シートが結合した核酸鎖を外側から覆って核酸鎖と酵素の結合の安定化に寄与している可能性が考えられる。しかし現在の所この シートが RNA 二重鎖を結合したときに活性クレフトの外側にめくれる (図 1-b で紙面手前) のか、サムドメイン全体が大きく動くのかは明らかでない。この構造上特異な シートの推定される他の機能としては、T7 RNA ポリメラーゼの特異性ループ (20) のように HCV ゲノムの 3'(X) 配列 (11, 13) を認識し伸長反応の開始時点で何らかの役割を果たしている可能性や、HCV RdRp のプライマー鎖非依存的にテンプレート鎖の相補鎖を合成し始める *de novo* 複製開始 (13) にかかわっている可能性である。この シートの折り返し部分は核酸鎖との結合モデル中では、プライマー鎖の 3' 末端の核酸ベースとベースペアを作る図 3-c 中の (0) で現されるテンプレート鎖の核酸ベースのすぐ隣にあって、反応開始時点でテンプレート鎖の 3' 末端を適当な位置に固定出来るように見える。

膜結合領域と考えられる疎水的な 571 から 591 番目のアミノ酸残基の前にある、サムドメインの C 末部分 (Thr532 から Arg570) は、RNA 二重鎖を結合する活性クレフトの中をいったん通過してから活性部位の外に出ている (図 1-a)。特に Leu547 から Ser556 までのペプチド鎖はサムドメインの シートとサムドメインの間に挟まれる位置にあり RNA 二重鎖の結合には C 末部分の構造変化が必要で、実際 C 末を更に短く改変した HCV RdRp では活性がより高まるという報告 (21) があり、この C 末領域が活性の自己阻害していると考えられる。C 末領域の Ser543 と Ser556 の近傍にはカゼインカイネース のリン酸化サイトとなりうるアミノ酸配列が見られる。HCV RdRp は細胞中でリン酸化されるという報告 (22) があり、この二つのサイトがそれにあたる可能性がある。リン酸化によって C 末の親水性が高まり、溶媒中へ C 末が出て行くことが HCV RdRp の細胞中での酵素活性を調節する上で何らかの役割を担っているかもしれない。

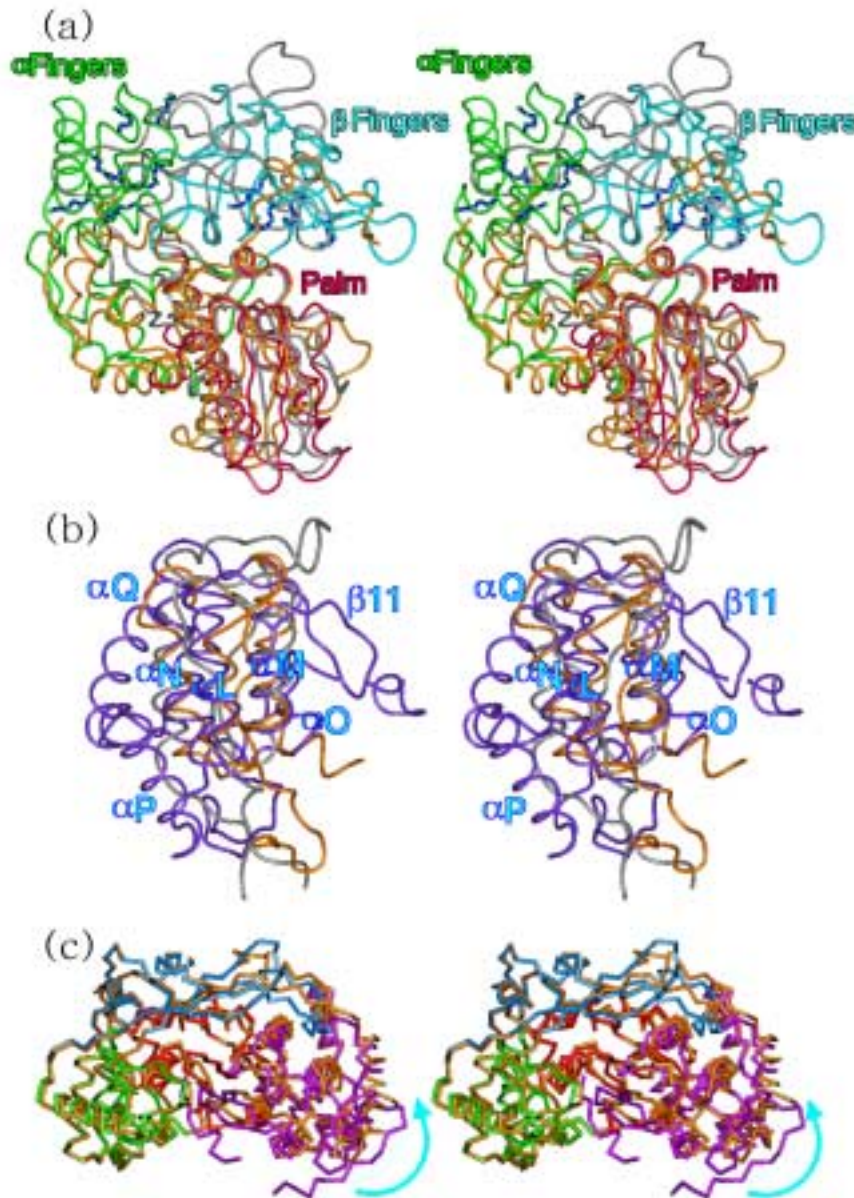


図 2 HCV RdRp (a.a.1-570)(16)とポリオウイルス RdRp(19)、HIV RT(17)、HCV RdRp (a.a.1-536)(15)の構造比較。(a)HCV RdRpのフィンガー、パームドメインとポリオウイルス RdRp、HIV RTの対応するドメインの重ね合わせ。HCV RdRpのフィンガー、フィンガー、パームドメインは各々緑、水色、赤で表されている。HIV RTは灰色、ポリオウイルス RdRpは黄色である。青色の側鎖は本文中で記述のあるHCV RdRpの塩基性残基である。(b)HCV RdRp(紫)、ポリオウイルス RdRp(黄)、HIV RT(灰色)のサムドメインの重ね合わせ。(c)HCV RdRp(a.a. 1-570)とHCV RdRp(a.a. 1-536)(黄色)のパームドメインによる重ね合わせ。水色矢印はHCV RdRp(a.a. 1-570)に対するHCV RdRp(a.a. 1-536)のサムドメインの動きを表す。

3. 核酸選択性

HCV RdRpは、基質であるrNTPをdNTPから厳密に認識しているだけでなく、テンプレートとする核酸鎖の種類もまた非常に厳しく選択し(8,9,23)、RNA鎖のみを認識しDNA鎖をテンプレートとすることは無い。プライマー鎖の種類はテンプレート鎖の認識の厳密さに比べるとより寛容であるが、DNAプライマーを用いた場合の伸長速度はRNAプライマーを用いた場合に比べて明らかに低下する(9,23)。他のクラスのポリメラーゼがDNA鎖もRNA鎖もしばしばテンプレートとして認識しうるのに対し、HCV RdRpでは有為なプライマー鎖の伸長はRNAをテンプレートとし、rNTPを基質とする場合のみに見られる点はこのRNAポリメラーゼの活性の大きな特徴である。またこれと並んで他のポリメラーゼと異なり伸長反応中での酵素と核酸鎖の解離がほとんど起こらない点(8-12)も酵素活性の特徴である。

3 - 1 . 基質選択性

Hansen 等はポリオウイルス RdRp の構造解析の報告中で基質選択性について議論している(19)。この中では RNA ポリメラーゼの rNTP 選択性に預かっている残基は Asp238 で、この酸性残基は(+)ssRNA ウイルスの RdRp で保存されており、また RdRp である Moloney murine leukemia virus (MMLV)のポリメラーゼ (MMLV RT) では対応するアミノ酸は Phe155 になっている事を指摘している。はたして HCV RdRp の活性部位の構造を HIV RT の dNTP・核酸二重鎖・Mg 複合体 (HIV RT 複合体) の活性部位の構造と重ねあわせてみると、ポリオウイルスの Asp238 に対応する HCV RdRp の酸性残基 Asp225 は HIV RT 複合体では Tyr115 であった (図 3-a)。HIV RT の dNTP を rNTP と考えると Asp225 の側鎖は、rNTP の 2'位の水酸基 (2'-OH) と水素結合可能な位置にあり、Hansen 等が提唱した基質選択性のメカニズムが HCV RdRp でも可能であることが示唆された。MMLV RT の Phe155 の部位特異的アミノ酸置換実験では、Phe155 をより小さな側鎖を持つアミノ酸に置換することで rNTP の取り込みが起こることが報告されており、Gao 等は MMLV RT の基質選択性は Phe155 と rNTP の 2'位の水酸基の立体障害に起因すると結論している(24)。これらの点からすると HCV RdRp では 2'位に水酸基を持つ rNTP が dNTP に比べて水素結合可能なため結合が有利ではあるが、dNTP を排除するメカニズムを完全には説明出来ないようにおもえる。HCV RdRp の Asp225 近傍は(+)ssRNA RdRp で良く保存された親水性残基 (Asp225、Ser282、Thr287、Asn291) を含む浅く窪んだ表面になっており (図 3-a)、水和した水分子が見られた。これに対して HIV RT や MMLV RT の対応する領域は疎水性残基が多く HCV RdRp に比べてよりフラットな表面であった。この水和した親水的な窪んだ表面への rNTP の接近は水和した水分子の rNTP の水酸基での置き換えであるのに対し、dNTP では水分子の排除が必要な分、エネルギー的に不利である。基質の認識では Asp225 と 2'位の水素結合の形成によるエンタルピーの利得に併せて、このような水分子の排除にかかるエネルギーの両方が寄与していると考えられる。

3 - 2 . テンプレート/プライマー選択性

フィンガーは他のクラスのポリメラーゼと比較した場合もっとも大きな構造上の特徴で、おそらく フィンガーが RNA 二重鎖を認識する重要な構造であると考えられる。

核酸二重鎖は構成する核酸鎖の種類組み合わせによって二重鎖の巻き具合が変わり、二重鎖の太さや一巻きあたりの並進量などが異なってくる。代表的なものは A 型と B 型二重鎖である。RNA の場合は 2'位の水酸基の影響で A 型二重鎖のみ形成でき、DNA の場合は A 型、B 型両方を取りうるが、普通は B 型の二重鎖になる。ポリメラーゼの活性部位中などでは DNA も A 型の二重鎖になっていることが知られている。RNA/DNA ハイブリッドは A 型に近いが典型的な A 型ではない。HCV RdRp は核酸二重鎖の巻き方の違いを認識していると考えられる。

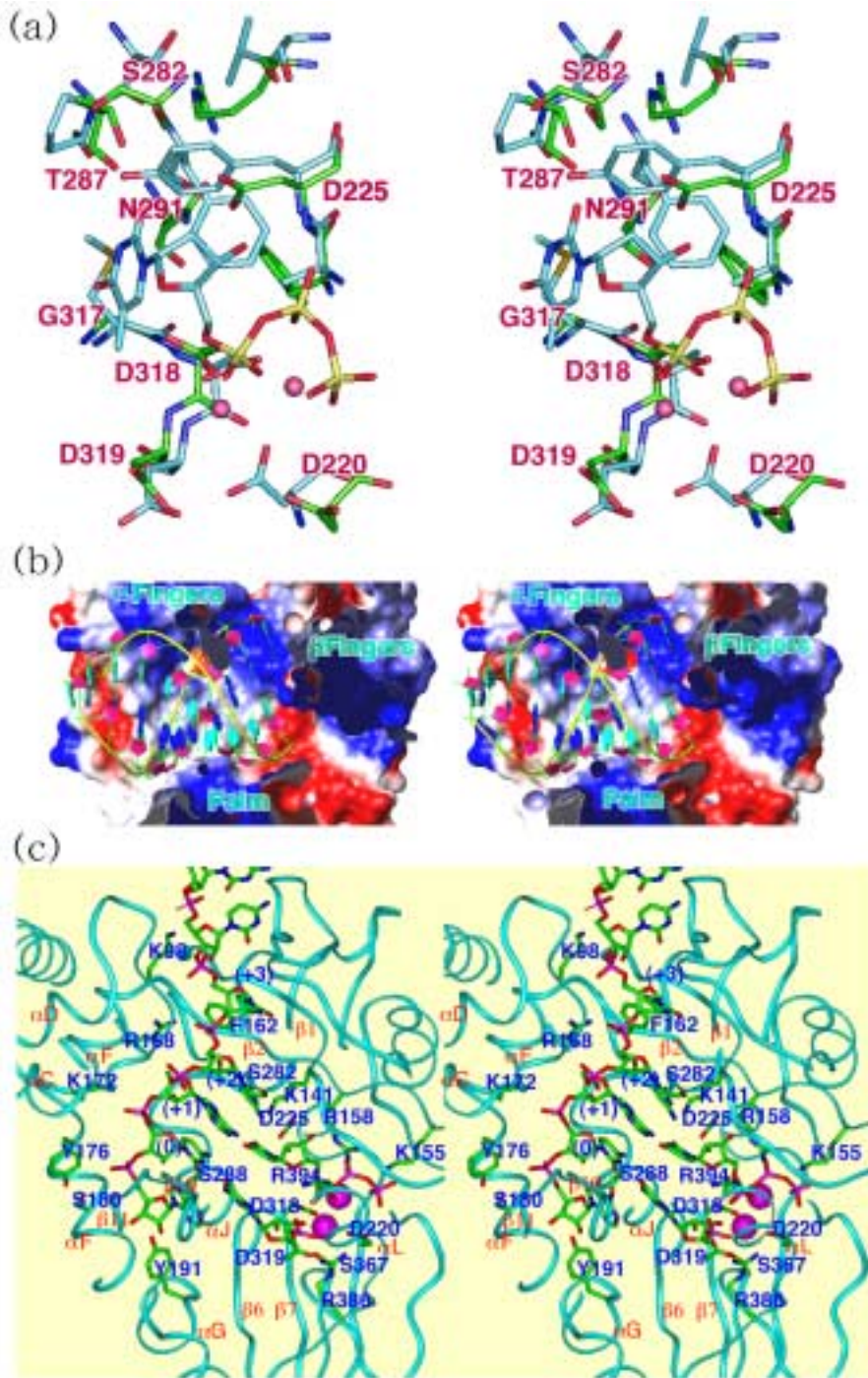


図3 基質とRNA二重鎖の認識。(a)HCV RdRp(16)と HIV RT(17)の基質結合部位のスティックモデル。HCV RdRpモデルと HIV RTモデルの炭素原子は、それぞれ緑色、水色で表している。ボールモデルは HIV RTの結晶構造中の Mg^{2+} である。赤色の文字は HCV RdRpのアミノ酸の種類とシーケンス番号である。(b)HCV RdRpの活性クレフトの静電ポテンシャルとRNA二重鎖モデル。RNAモデルは HIV RTの複合体結晶構造(17)に基づいて作成した。静電ポテンシャルの正負は、それぞれ青と赤で表されている。(c)HCV RdRpのRNA鎖結合モデル。 Mn^{2+} (ピンク色のボール)と基質の三リン酸部分の位置は HCV RdRpの Mn^{2+} /UTP 浸漬結晶で実験的に決定した。RNA鎖の位置は、実験で決まった三リン酸の位置と HIV RTの複合体結晶構造(17)に基づいて決めた。

サムドメインのシートとC末を除いた HCV RdRpモデルを HIV RT複合体(17)と重ねあわせると、若干の接触は残るものの HIV RT複合体のA型DNA二重鎖領域を HCV RdRpの活性クレフトに置くことが出来る。このモデルに基づいて、RNA二重鎖モデルを構築した。このモデルではRNAテンプレートのホスホジエステルバックボーンがフィンガー上の窪んだ正の静電ポテンシャル表面にフィットしているのがわかる(図3-b,3-c)。この窪みはフィンガーのCとそれに続くループ領域から出来ており、テンプレート鎖の上方にオーバーハングしている。またこのオーバーハング構造の下側からパームドメインにかけて、フィンガードメインのFとパームドメインのJのN末側が作る浅い溝が、テンプレート鎖のホスホジエステルバックボーンと核酸

のリボースをホールドするように形成されている。この浅い溝を作る F 上の Arg168 と Lys172 は、テンプレート鎖のホスホジエステルバックボーンのすぐ隣にあって、HIV RT でも相同な位置には Arg78 と Lys82 があり、その正に帯電した側鎖は DNA テンプレート鎖の負に帯電したホスホジエステルバックボーンを受け入れている。F はテンプレート鎖に沿うように湾曲したヘリックスで、N 末側はテンプレート鎖単独、C 末側は二重鎖のメジャーグローブに沿っており、そのいずれでもテンプレート鎖と直接相互作用している。一方 F と共にこの浅い溝を形成している J の N 末側では Gly283 と Leu285 のペプチドバックボーンのカルボキシル基、Ser288 の側鎖がテンプレートの 2' 位の水酸基と水素結合可能距離に存在している。またこれとは別に Tyr191 の側鎖の水酸基も 2' 位の水酸基と水素結合可能距離にあった。Chang 等の実験によれば フィンガー領域 (1-194a.a.) と J を含むアミノ酸残基にして 196-298a.a. の領域が RNA との特異的な相互作用をすると報告されており (25)、ここでのモデルからの考察と良い一致を示している。このように フィンガードメインはテンプレート鎖の結合に重要な役割をになっていることが推察された。また、HCV RdRp の RNA 結合モデルでは A 型二重鎖の一部であるプライマー鎖は活性部位から見て フィンガードメインの最も外側に沿うように配置されていた (図 3-b)。フィンガードメインの対応する分子表面は Lys90、Lys106、Arg109 等の塩基性のアミノ酸残基からなる正の静電ポテンシャル表面で、プライマー鎖のホスホジエステルバックボーンを受け入れるのに好都合であった。このように フィンガードメインは A 型 RNA 二重鎖を構成するテンプレート鎖、プライマー鎖のいずれにも直接相互作用する事で、巻方の異なる核酸二重鎖の中から RNA 二重鎖を認識していると考えられた。

ポリオウイルス RdRp のフィンガードメインの大部分はディスオーダーのためモデルに含まれていないが、決定されたフィンガードメインの構造は HCV RdRp の フィンガードメインの中でパームドメインに近い部分の構造と同じフォールディングを持っており (図 2-a)、同じ (+)ssRNA ウイルスの酵素であるポリオウイルス RdRp も フィンガーを持っていることが示唆された。そこで PSI-BLAST (26) で RdRp のアミノ酸配列アライメントを行ったところ、deng virus、bovine diarrhoea virus、polio virus、tobacco mosaic virus、human rhino virus などの (+)ssRNA ウイルスの RdRp では HCV RdRp の フィンガー中の Lys106 や Arg109 に対応する塩基性残基が保存されていた (16)。フィンガードメインは (+)ssRNA ウイルスの RdRp に共通して見られる構造で、その RNA 二重鎖の認識にかかわる構造単位である可能性が示唆された。

4. おわりに

最近構造解析された酵母菌由来の RNAPol (27) のような複雑な分子複合体で働くポリメラーゼと比較したとき、本酵素は単独でゲノム複製を行なう能力があり、コンパクトな完全複製マシーナリーである可能性が高い。核酸鎖の複製メカニズムを研究する上で極めて単純化された複製マシーナリーモデルとして展開できる可能性がある。

HCV ウイルスのライフサイクルの中でゲノム複製という重要な位置を占める酵素の立体構造が明らかになったことで、活性部位をターゲットとする酵素阻害剤の開発の一助となると考えられる。また C 末部分が酵素の活性に影響を与えていることは間違いなく、C 末部分の構造も阻害剤開発のターゲットとなる可能性が示唆された。

謝辞

本研究は、JT 医薬総合研究所の安達剛、稲垣栄二、奥田佳代、公納秀幸、永尾英太、羽深典之、八浪公夫、吉田厚仁 諸氏、播磨理研の熊坂崇、山本雅貴 両氏との共同研究である。

セレノメチオニン誘導体タンパク質の発現について御指導くださいました大阪バイオサイエンスの入倉大祐、裏出良博 両氏に感謝します。

フォトンファクトリーの利用に御協力いただきました五十嵐教之、坂部知平、鈴木守 諸氏に感謝します。

参考文献

- (1) WHO (1999). *J. Viral Hepatitis* **6**, 35-47
- (2) Bartenschlager, R. (1997) *Intervirology* **40**, 378-393
- (3) Love, R., *et al.* (1996) *Cell* **18**, 331-342
- (4) Kim, J.L., *et al.* (1996) *Cell* **18**, 343-355
- (5) Yao, N., *et al.* (1997) *Nat. Struct. Biol.* **6**, 463-467
- (6) Kim, J.L., *et al.* (1998) *Structure* **6**, 89-100
- (7) Yao, N., *et al.* (1999) *Structure* **7**, 1353-1363
- (8) Behrens, S.E., *et al.* (1996) *EMBO J.* **15**, 12-22
- (9) De Francesco, R., *et al.* (1996) *Methods Enzymol.* **275**, 58-67
- (10) Lohmann, V., *et al.* (1997) *J. Virol.* **71**, 8416-8428
- (11) Lohmann, V., *et al.* (1998) *Virology* **249**, 108-118
- (12) Lohmann, V., *et al.* (1999) *J. Biol. Chem.* **274**, 10807-10815
- (13) Oh, J-W., *et al.* (1999) *J. Virol.* **73**, 7694-7702
- (14) Lesburg, C.A., *et al.* (1999) *Nat. Struct. Biol.* **6**, 937-943
- (15) Bressanelli, S., *et al.* (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 13034-13039
- (16) Ago, H., *et al.* (1999) *Structure* **7**, 1417-1425
- (17) Huang, H., *et al.* (1998) *Science* **282**, 1669-1675
- (18) Li, Y., *et al.* (1998) *EMBO J.* **17**, 7514-7525
- (19) Hansen, J.L.H., *et al.* (1997) *Structure* **5**, 1109-1122
- (20) Cheetham, G.M.T., *et al.* (1999) *Nature* **399**, 80-83
- (21) Ferrari, E., *et al.* (1999) *J. Virol.* **73**, 1649-1654
- (22) Hwang, S.B., *et al.* (1997) *Virology* **227**, 439-446
- (23) Yamashita, T., *et al.* (1998) *J. Biol. Chem.* **273**, 15479-15486
- (24) Gao, G., *et al.* (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 407-411
- (25) Cheng, J-C., *et al.* (1999) *J. Virol.* **73**, 7044-7049
- (26) Altschul, S.F., *et al.* (1997) *Nucleic Acids Res.* **25**, 3389-3402
- (27) Cramer, P., *et al.* (2000) *Science* **288**, 640-649