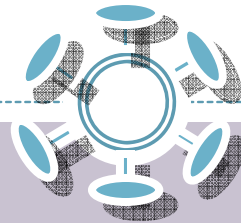


“Characterizing broadly reactive neutralizing antibody responses during HIV and SHIV infections”

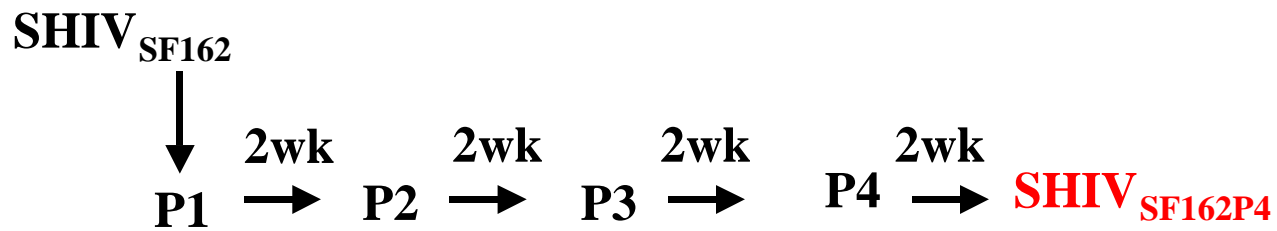
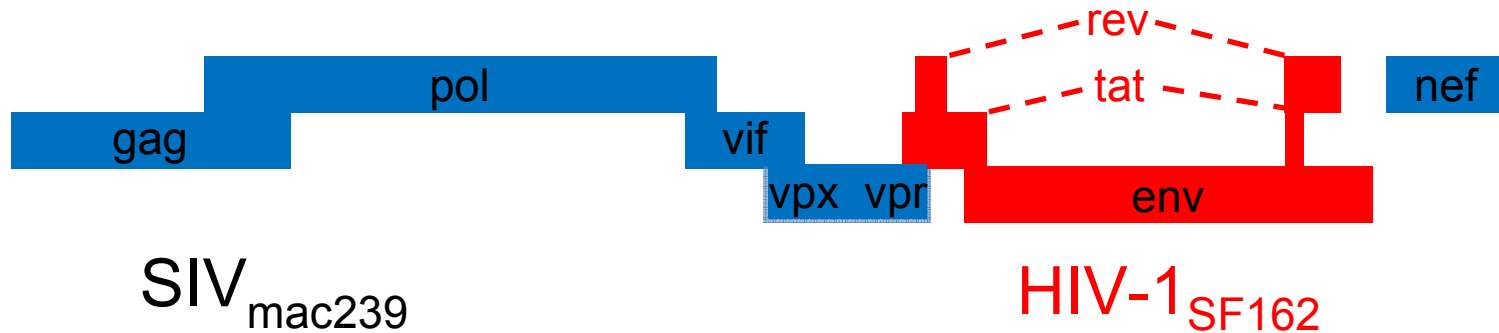


AIDS VACCINE 2007 CONFERENCE

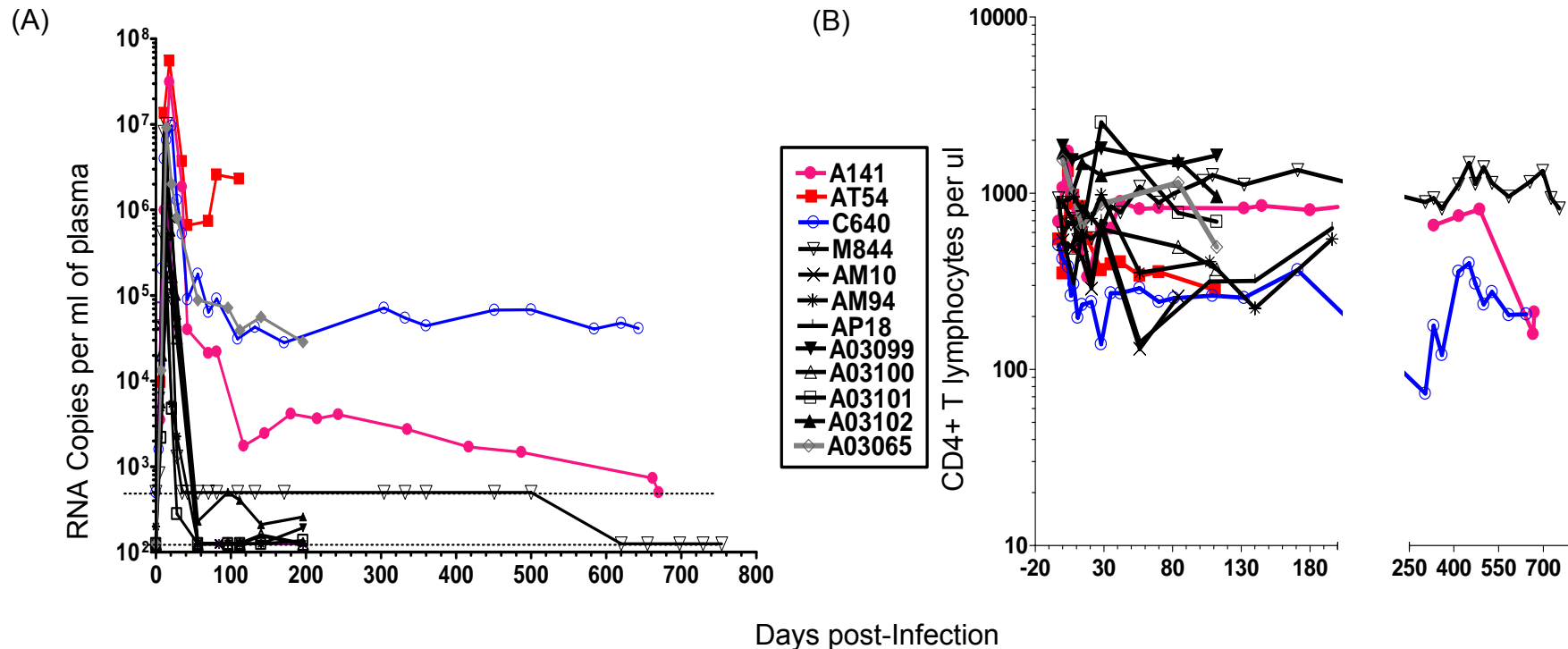
LANCE KAE0 CHING
DEPARTMENT OF PATHOBIOLOGY
UNIVERSITY OF WASHINGTON



Studies in SHIV_{SF162P4}-infected macaques



Replication of SHIV_{SF162P4} in Macaques



Acute infection - High viral loads (5×10^6 - 10^7 RNA copies/ml) in all animals

Chronic infection – 8 animals controlled viral replication; 4 animals had sustained viral replication throughout infection

Development of Homologous NAbs

DPI	Animal											
	M844	AT54	C640	A141	A03065	A03099	A03100	A03101	A03102	AM10	AM94	AP18
0	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
21	300											
28		(-)		370	2,861	585	438	1,596	517			
56	794	(-)	12,836	6,326	8,143	1,174	4,628	1,589	5,831	18,130	5,600	3,675
107										16,400*		
111		(-)*			27,117	939	4,533	1,360	>72,900			
140					14,147	1,468	5,653	1,705	>72,900			
145				18,876								
171	204		7,723									
197					14,510*	720*	58,159*	1,547*	>72,900*		4250*	1,650*
215				27,737								
304			13,568									
332	244											
643			3,190*									
670				9,070*								

Values represent the serum dilutions at which 50% inhibition of SHIVSF162P4 infection was recorded

DPI: Days post-infection

(--): neutralization was not detected at the highest serum concentration tested (1:10)

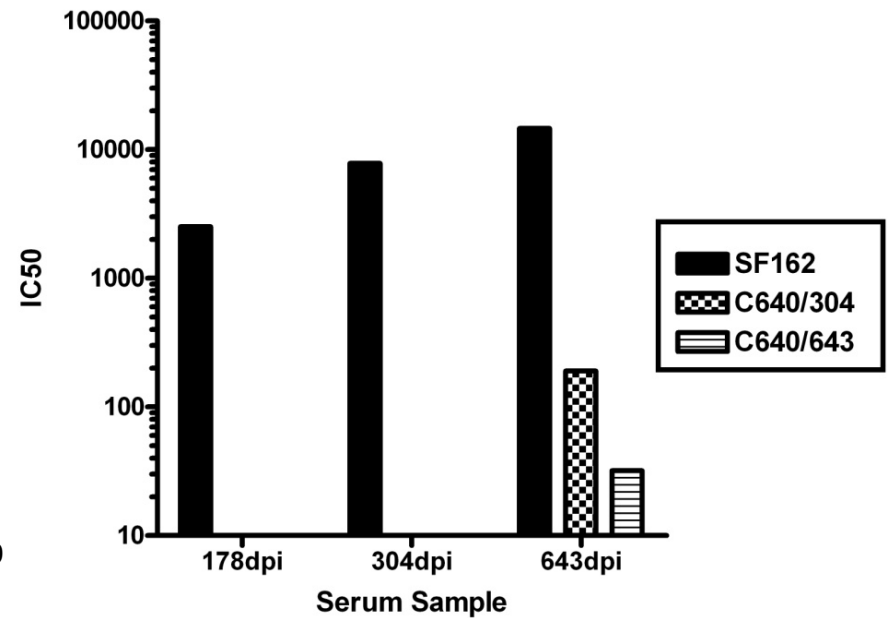
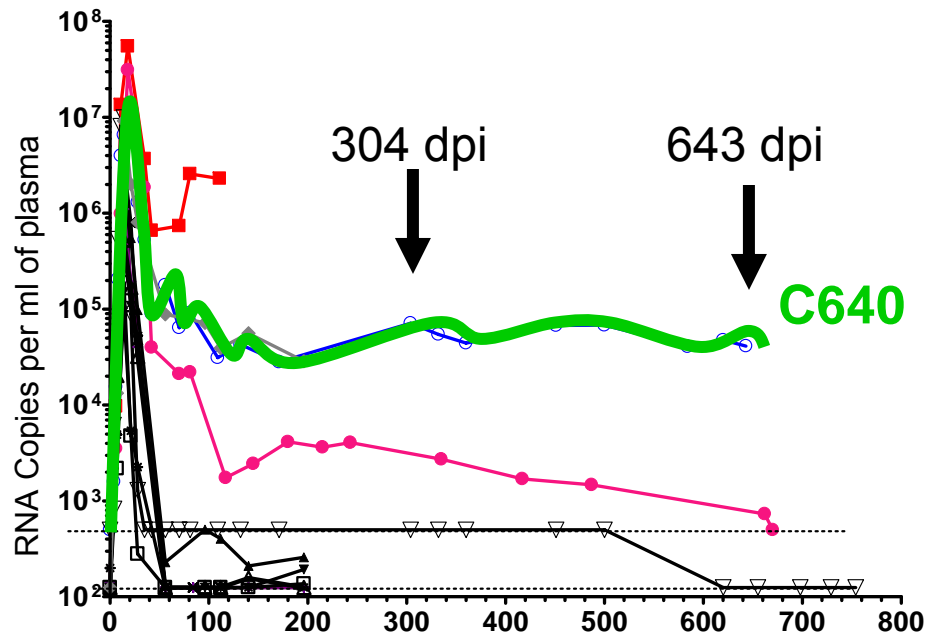
(*): time of euthanasia

Development of Heterologous NAbs

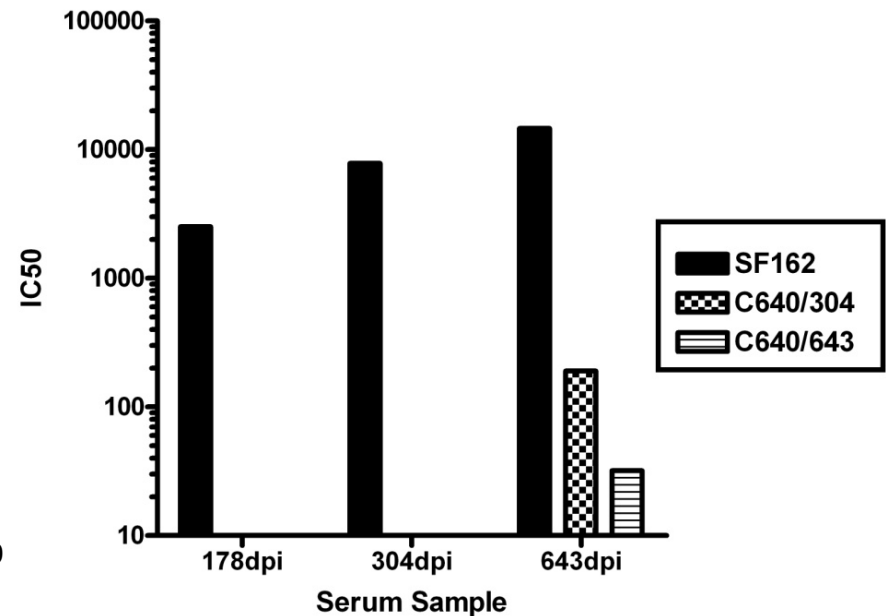
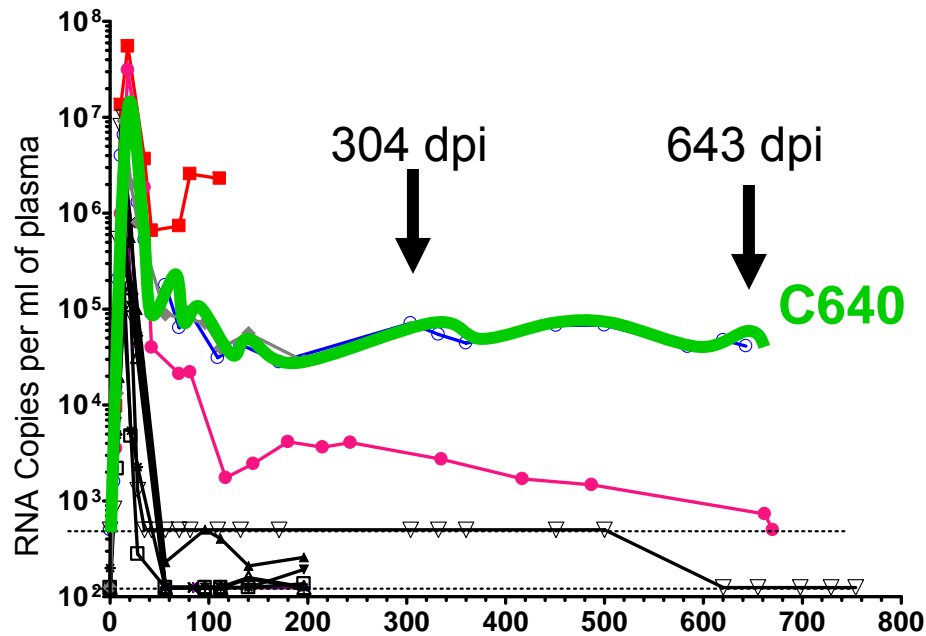
VIRUS	C640		A141		A03065	AT54
	304 dpi	643 dpi*	214 dpi	670 dpi*	197 dpi*	111 dpi*
SF162	98 (0.5)	99 (0.5)	99 (0.5)	97 (3)	96.5 (3)	32.5 (4)
ADA	61.5 (7)	81 (6)	23 (10.5)	28 (3)	25 (10)	11 (10)
JRFL	99 (0.5)	95 (4)	37 (18)	42 (4)	23 (12)	2 (2)
YU2	53 (7)	87 (2)	34 (26)	34 (2)	5 (5)	22 (2)
89.6	71 (4)	71 (15)	71 (12)	90 (2)	84 (5)	3 (3)
HxB2	93 (3)	98 (0)	94 (3)	NT	97 (2)	NT
3988	12 (32)	65 (9)	5 (40)	45 (2.5)	3 (2)	22 (5)
6101	10 (6)	53 (13)	5 (8)	57.0 (6.5)	5 (8)	NT
6535	63 (14)	95 (3)	70 (5)	70 (8)	66.5 (4)	5 (8)
PVO.4	42.5 (11)	65 (6)	14 (21)	37 (5)	6 (8)	38 (10)
QH0692.42	38.5 (12)	59 (10)	29 (17.5)	75 (30)	9 (14)	12 (0.5)
REJO.67	21 (10)	53 (22)	24 (31)	68 (3)	8 (12)	13.5 (1.5)
SC422661.	4 (35)	76 (2)	1 (55)	47.0 (6.0)	3 (2)	30 (9)
SS1196.1	86 (6.5)	77 (17)	62 (10)	91 (0.5)	97(2)	4 (8)
TRO11	20.5 (33)	66 (6)	3 (47)	53 (6.5)	6 (2)	8.5 (5)
TRJO	23.5 (26)	56 (9)	58 (28)	28.0 (18.5)	5 (5)	10 (6)
5768	4.0 (27)	44 (15)	8 (49)	23 (5)	7 (9)	6 (7)
7165	6 (9)	40 (16)	20 (33)	63 (31)	5 (5)	6 (10)
AR29	15 (13)	28 (5)	27 (26)	37 (7)	6 (1)	16 (7)
BG1168	10 (18)	40 (8)	8 (28)	38 (1)	4 (7)	38 (4)
CAAN.A2	20 (16)	38 (0.5)	4 (16)	35 (4)	7 (5)	3(10)
QH0515	40 (25)	40 (9)	14 (45)	37 (4)	8 (10)	NT
RHPA	25 (20)	25 (17)	2 (27)	32 (7)	6 (12)	8 (8)
WITO	19 (13)	41 (7)	30 (28)	16 (12)	15 (12)	5 (5)
MLV	10 (23)	9 (21)	15 (20)	21 (16)	3 (28)	3.5 (17)
	7/23 (30%)	15/23 (65%)	4/23 (17%)	8/23 (35%)	4/23 (17%)	0/23

The values are the percent inhibition of infection recorded at a single (1:20) serum dilution. Neutralization was considered significant (values in bold, shaded boxes) when the value was at least twice that obtained with the unrelated MLV virus and greater than 50%; dpi: Days post-infection; (*): Day of euthanasia; NT: not tested

Escape from cross-reactive NAbs in C640



Escape from cross-reactive NAb



MAb	Epitope*	Virus		
		SF162	C640/304	C640/643
2G12	Glc	1	0.05	0.05
447D	V3 loop	0.1	(--)	(--)
P3E1	V3 loop	0.3	(--)	(--)
P3C8	V1 loop	0.3	(--)	(--)
IgG1b12	CD4-bs	0.005	0.7	10
2F5	MPER	2	1.5	1
4E10	MPER	4	9	4

*Values are
Mab
concentrations
in ug/ml*

Epitope Specificities in SHIV-infected Macaques

Group	Competition Titer			
	b6	15e	b12	2G12
SHIV _{SF162P4} day 643 (C640)	2,000	500	-	500

- indicates <50% competition at highest serum concentration tested, 1:100.

Group	Percent reduction in neutralization in presence of peptide				
	V1 peptide	V3 peptide	2F5 peptide	4E10 peptide	Negative
SHIV _{SF162P4} day 178	-	36%	-	nd	-
(C640) day 304	-	10%	-	nd	-
day 643	-	18%	-	-	-
HIVIG	-	33%	-	-	-

- indicates <5% reduction in neutralization detected. nd indicates not done.

NAbs in Humans

Human Studies: 2 cohorts

LTNP (J. McElrath – FHCRC)

≥ 12 YOI

≥ 500 CD4+ T / ul

No ART

No AIDS defining illness

'Chronic' (CFAR – UW)

2-10 YOI (estimated)

1,000 – 10,000 RNA copies / ml

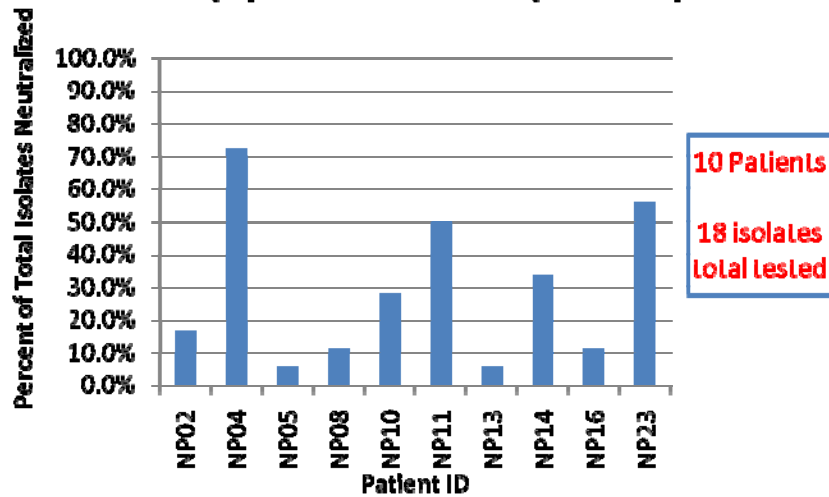
≥ 200 CD4+ T / ul

No ART

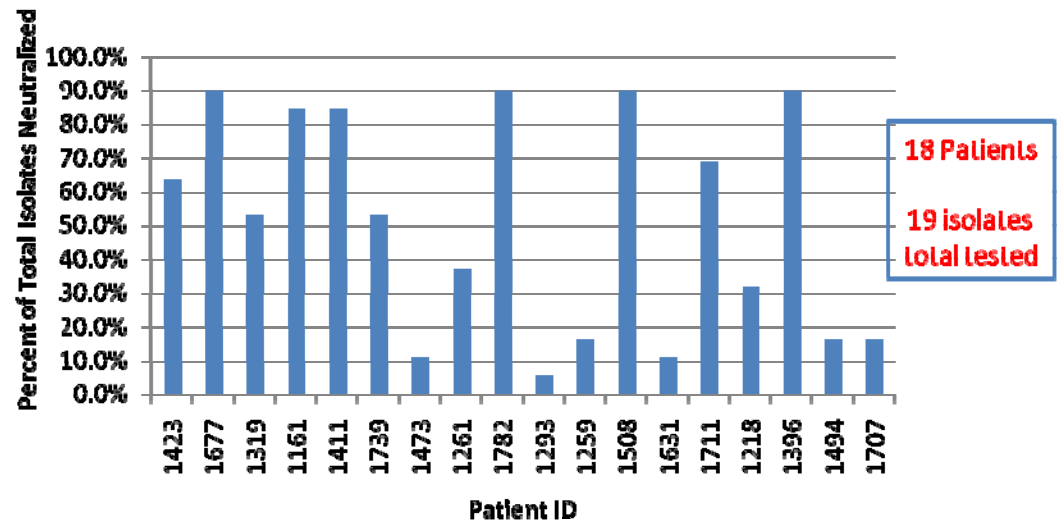
No AIDS defining illness

Humans vs. Macaques

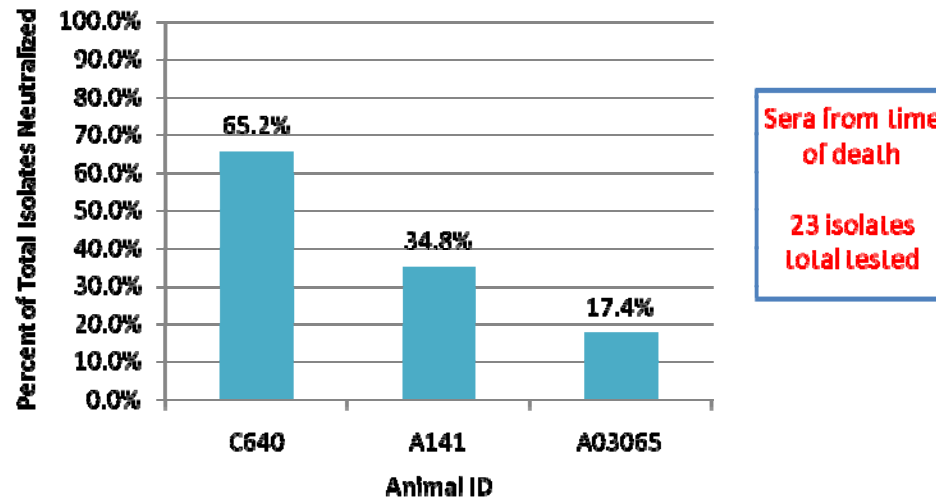
(1) LTNP Cohort (FHCRC)



(2) CFAR Cohort (UW)



SHIV_{SF162P4}-Infected Macaques



Summary

SHIV_{SF162P4}-Infected Macaques

- SHIV_{SF162P4}-infected macaques can develop broad HIV Nab responses
 - B6-like and 15e-like (CD4-BS) and 2G12-like (mannose dependent epitope) NABs; others?
- Viral escape from contemporaneous serum neutralization and multiple known human MABs

Cohort Studies

- Patients show diverse breadth in neutralizing activity
 - Epitope specificity? (similarities with SHIV-infected macaques?)

Factors Conducive BRNAb Development?

Plasma VL and CD4+? Time/extent of infection? Specific viral Env species? Link between autologous NAb and heterologous NAb development? Epitope-specificities of NABs in patients with broad activity and those with narrow breadth of neutralization.

Acknowledgements



SBRI

Leonidas Stamatatos
Zane Kraft
Nina Derby
Ruth A. McCaffrey
Eirini Moisi
Rachel Niec
Cheryl Saunders

FHCRC

J. McElrath
H. Horton
W. Dinges

TNPRC

Agegnehu Gettie

WNPRC

LaRene Kuller

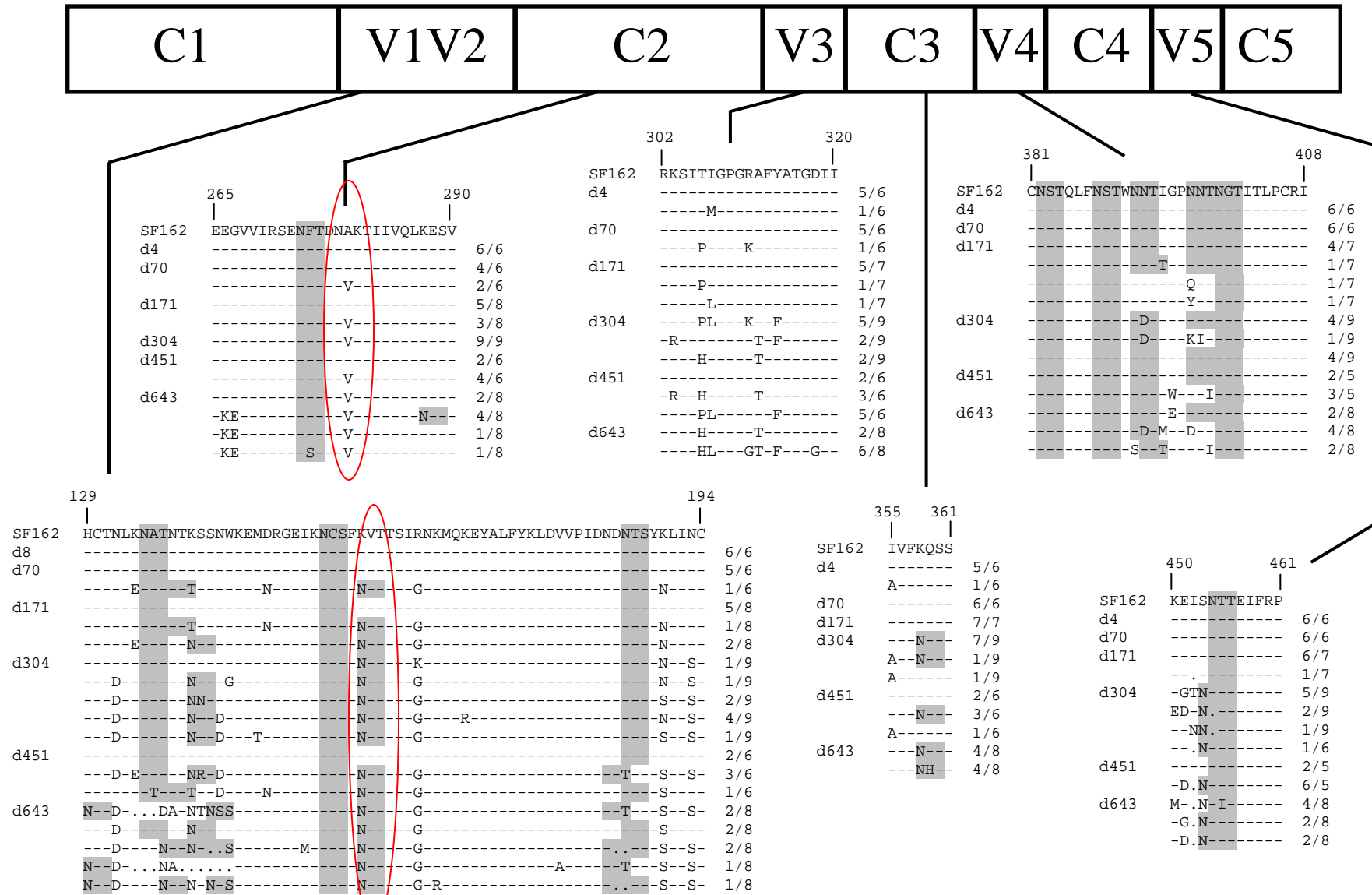
Torrey Pines Institute for Molecular Studies

James Binley

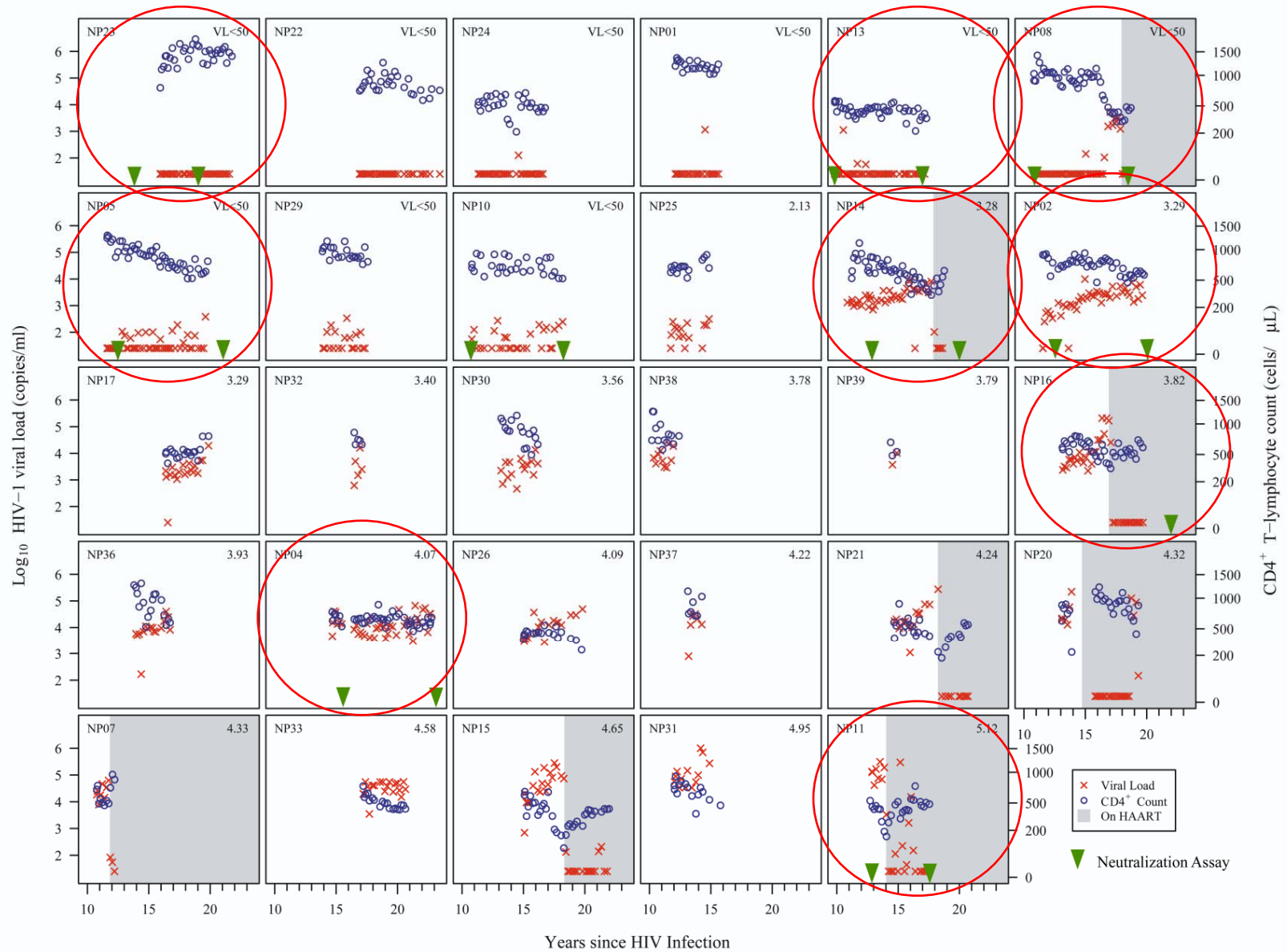
Financial Support

NIH/NIAID
M. J. Murdock Charitable Trust
J. B. Pendleton Charitable Trust
CFAR/UW

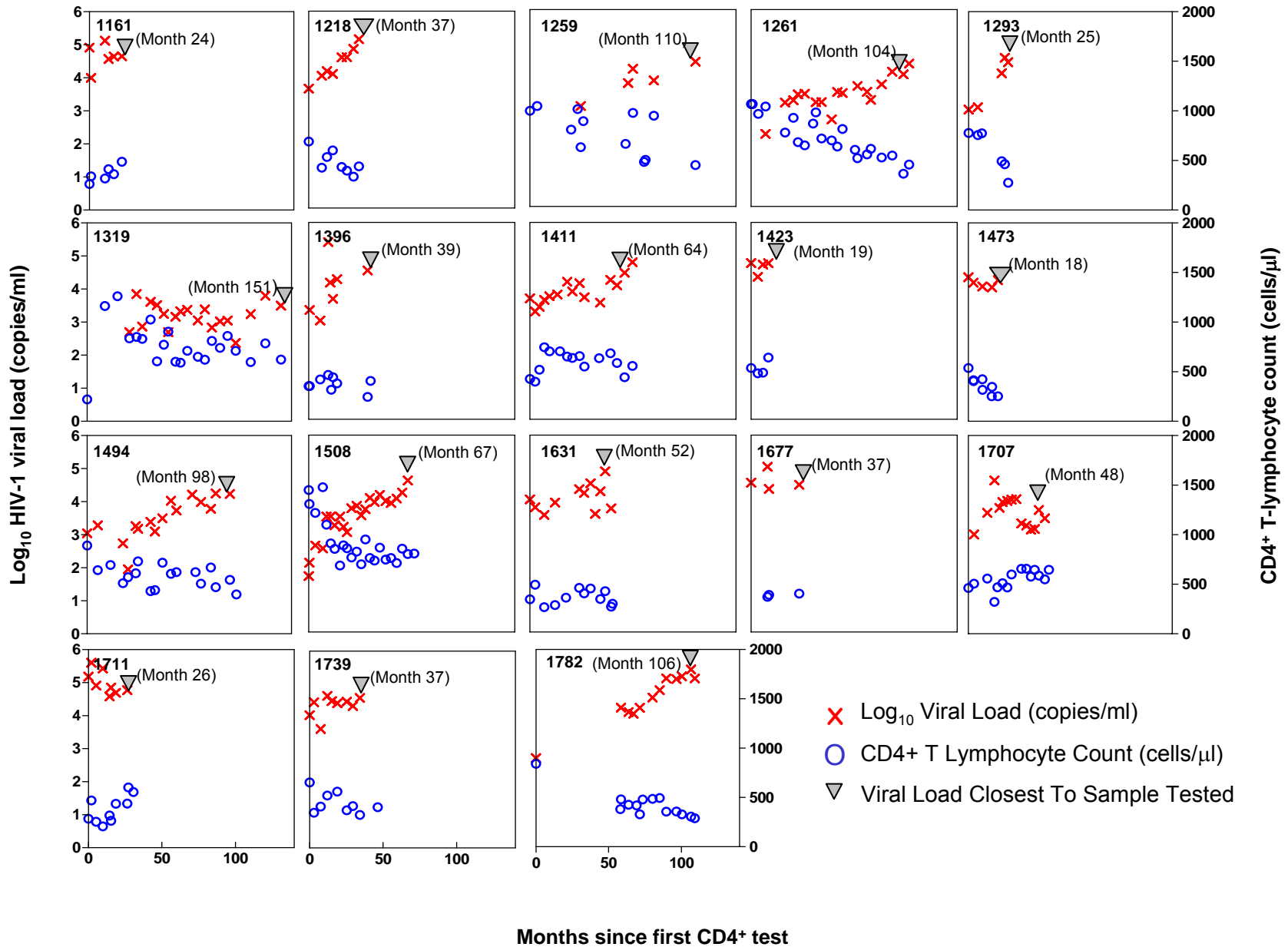
Viral Env Evolution in Animal C640



(1) LTNP Cohort (FHCRC)



(2) CFAR Cohort (UW)



(1) LTNP Cohort NAb Titers

	NP02	NP04	NP05	NP08	NP10	NP11	NP13	NP14	NP16	NP23
	12/19/05	12/20/05	12/19/06	4/22/98	1/11/06	5/23/03	11/10/98	10/1/98	12/19/05	1/24/06
SF162	>360	200	100	(--)	>360	60	(--)	200	360	>360
ADA	(--)	200	(--)	(--)	(--)	30	(--)	(--)	(--)	40
JRFL	(--)	40	(--)	(--)	(--)	30	(--)	(--)	(--)	(--)
YU-2	(--)	40	(--)	(--)	(--)	60	(--)	(--)	(--)	20
3988	30	300	(--)	(--)	(--)	20	(--)	60	(--)	150
6101	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)
TORNO	(--)	50	(--)	(--)	(--)	20	(--)	(--)	(--)	(--)
AR29	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)
QH0515	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	200	(--)	(--)
5768	(--)	100	(--)	(--)	20	20	(--)	(--)	(--)	40
7165	(--)	(--)	(--)	(--)	20	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)
BG1168	>360	>360	(--)	>360	>360	150	(--)	>360	100	>360
PVO.4	(--)	(--)	(--)	30	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)
QH 0692	(--)	20	(--)	(--)	(--)	40	(--)	(--)	(--)	(--)
REJO	(--)	40	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	40	(--)	30
422661	(--)	60	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	20
CAAN	(--)	30	(--)	(--)	60	(--)	(--)	(--)	(--)	20
RPHA	(--)	100	(--)	(--)	(--)	(--)	40	20	(--)	40
WITO	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Total Clade B	3/18	13/18	1/18	2/18	5/18	9/18	1/18	6/18	2/18	10/18

10 sera vs. 18 isolates

Values represent serum dilution to achieve 50% inhibition of viral infection

(--): 50% neutralization not observed at highest serum dilution of 1:20

nd: no data

(2) CFAR Cohort NAb Titers

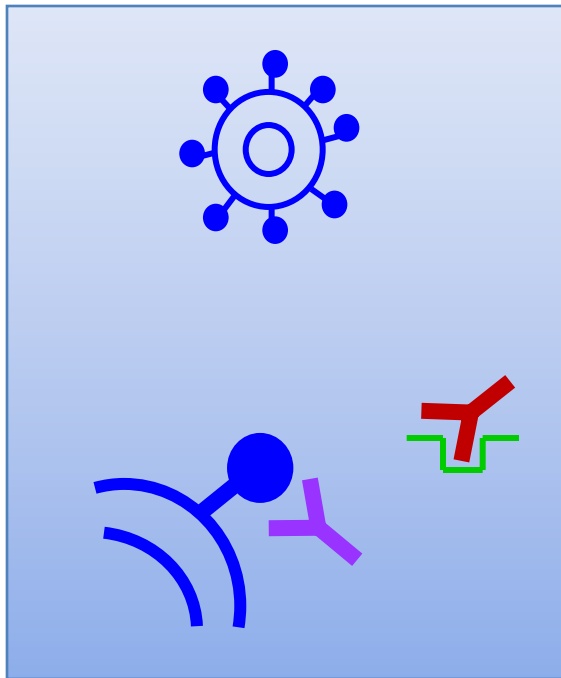
Patient (ETI)	1423 (2003)	1677 (2003)	1319 (1996)	1161 (2004)	1411 (2001)	1739 (2003)	1473 (2005)	1261 (1998)	1782 (1998)	1293 (2004)	1259 (2000)	1508 (2001)	1631 (2002)	1711 (2004)	1218 (2003)	1396 (2003)	1494 (1998)	1707 (2003)
EY	1.59 yrs	3.69 yrs	10.01 yrs	1.95 yrs	5.29 yrs	3.05 yrs	1.47 yrs	8.11 yrs	8.75 yrs	2.05 yrs	6.16 yrs	5.54 yrs	4.25 yrs	2.16 yrs	3.03 yrs	3.14 yrs	8.04 yrs	3.91 yrs
SF162	2583	2080	3207	6840	1087	528	38626	6840	10544	510	11749	22487	705	9128	5509	>64000	1350	248
ADA	62	>320	>320	>320	>320	>320	(-)	(-)	>320	(-)	>320	>320	61	>320	79	>320	(-)	(-)
JRFL	>320	>320	>320	>320	>320	301	204	239	>320	(-)	>320	>320	(-)	>320	208	>320	30	(-)
YU-2	(-)	>320	>320	>320	329	99	(-)	36	97	(-)	(-)	>320	(-)	>320	(-)	>320	(-)	(-)
3988	>320	32	177	>320	124	296	(-)	>320	>320	(-)	(-)	>320	(-)	>320	(-)	>320	(-)	(-)
6101	190	25	(-)	>320	22	32	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	27	(-)	223	(-)	>320	(-)	(-)
TORNO	>320	>320	66	>320	154	94	(-)	37	184	(-)	(-)	208	(-)	>320	(-)	>320	(-)	(-)
AR29	28	45	(-)	>320	(-)	(-)	(-)	(-)	67	(-)	(-)	(-)	(-)	180	(-)	>320	(-)	(-)
QH0515	(-)	36	(-)	26	77	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	42	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5768	(-)	37	(-)	>320	(-)	83	(-)	(-)	>320	(-)	(-)	>320	(-)	72	(-)	>320	(-)	(-)
7165	(-)	(-)	(-)	>320	31	(-)	(-)	(-)	>320	(-)	(-)	>320	(-)	(-)	(-)	>320	(-)	(-)
BG1168	68	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	25	(-)	(-)	(-)	(-)	21	(-)	(-)	(-)	(-)
PVO.4	(-)	>320	(-)	>320	26	(-)	(-)	(-)	227	(-)	(-)	>320	(-)	(-)	(-)	223	(-)	(-)
QH 0692	>320	290	248	>320	177	(-)	(-)	27	>320	(-)	(-)	>320	(-)	317	25	>320	(-)	(-)
REJO	49	127	(-)	(-)	24	47	(-)	(-)	306	(-)	(-)	271	(-)	>320	37	>320	(-)	32
422661	>320	>320	>320	>320	317	106	(-)	239	>320	(-)	(-)	>320	(-)	>320	>320	>320	(-)	(-)
CAAN	37	>320	(-)	>320	31	(-)	(-)	(-)	48	(-)	(-)	127	(-)	(-)	(-)	>320	30	21
RPHA	(-)	>320	243	>320	>320	(-)	(-)	(-)	>320	(-)	(-)	>320	(-)	(-)	(-)	275	(-)	(-)
WITO	(-)	227	110	(-)	204	(-)	(-)	(-)	116	(-)	(-)	76	(-)	(-)	(-)	129	(-)	(-)
Total Clade B	12/19	17/19	10/19	16/19	16/19	10/19	2/19	7/19	17/19	1/19	3/19	17/19	2/19	13/19	6/19	17/19	3/19	3/19

18 sera vs 19 isolates – values represent serum dilution to achieve 50% inhibition of viral infection

(--): 50% neutralization not observed at highest serum dilution of 1:20

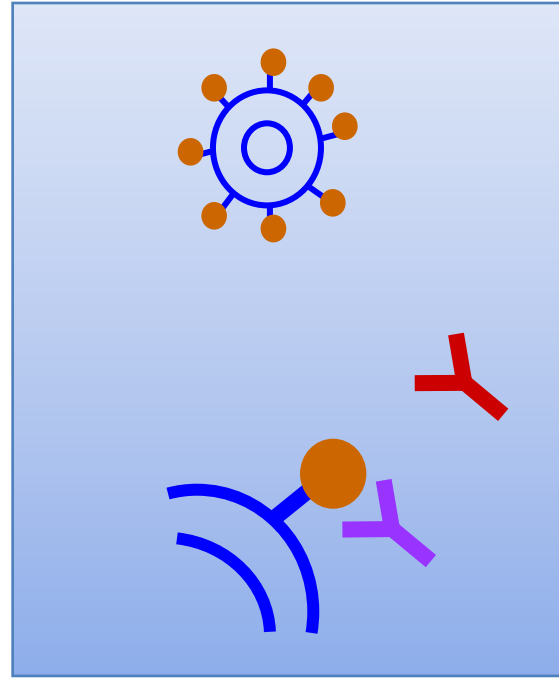
Epitope Mapping

Peptide



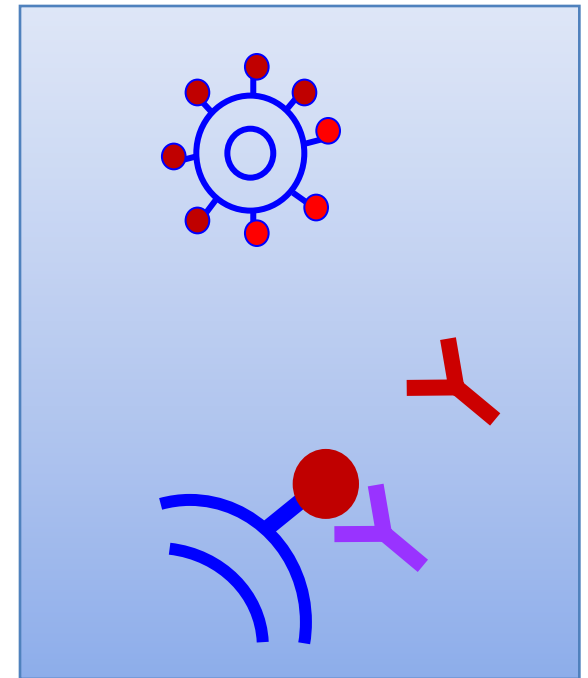
Linear V1, V3 epitopes
(reduction in IC_{50})

$\Delta 2F5.4E10$



2F5, 4E10 epitopes
(reduction in IC_{50})

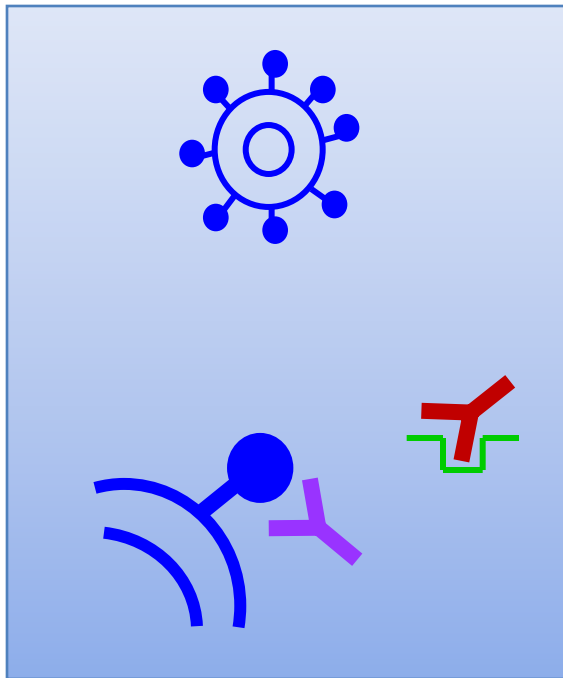
FLAG-tagged



V1, V2, V4 epitopes
(reduction in IC_{50})

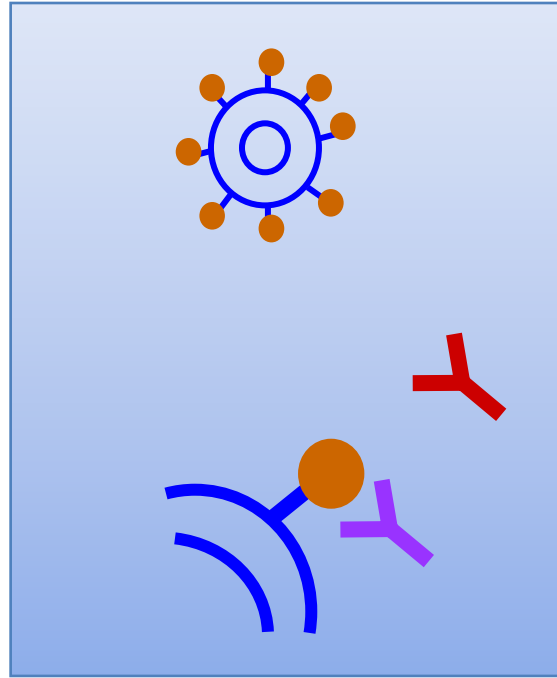
Epitope Mapping

gp140 D364R



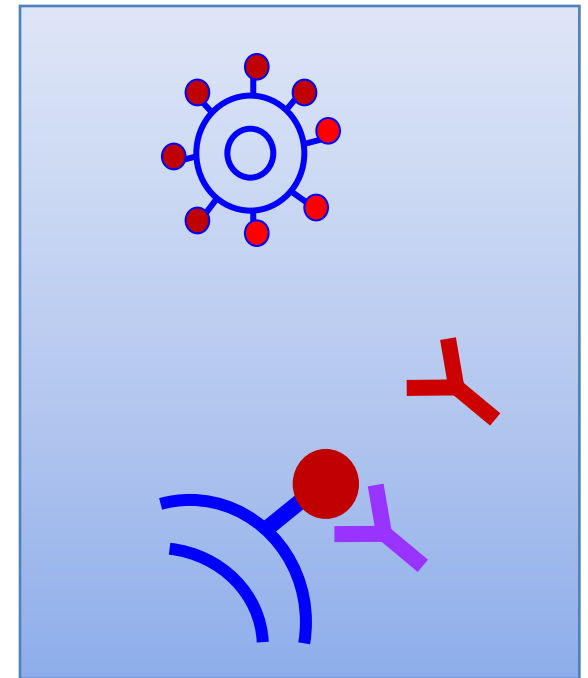
↓
Non-CD4 BS
(reduction in IC_{50})

Δ 2F5.4E10



↓
2F5, 4E10 epitopes
(reduction in IC_{50})

FLAG-tagged



↓
V1, V2, V4 epitopes
(reduction in IC_{50})