

## C型肝炎ウイルスの感染・複製系の確立とその応用による抗ウイルス療法の開発

所属 (財) 東京都医学研究機構 東京都神経科学総合研究所  
研究者 脇田 隆宇

研究要旨 効率よく複製可能な HCV、JFH-1 株を用いて、培養細胞における HCV の全長ウイルス RNA 複製系および感染系を確立し、その機構を解析する。そして、ウイルスの感染、複製増殖に関する宿主およびウイルスの因子を同定し、新たな抗ウイルス治療法の標的を探索する。

### 分担研究者

- (1) 名古屋市立大学大学院医学研究科  
溝上 雅史
- (2) 国立感染症研究所ウイルス第二部  
勝二 郁夫
- (3) 東レ株式会社医薬研究所  
曾根 三郎

### A. 研究目的

HCV は日本では 200 万人、世界中で 17000 万人にのぼる感染者が存在する。感染すると高率に持続感染化し、多くの症例で慢性肝炎から肝細胞癌を発症する。その治療はインターフェロンおよびリバビリン以外に無く、その効果はいまだ不十分である。新たな治療法の開発が望まれているが、HCV の良いウイルス培養系が無いことが妨げになってきた。最近、HCV レプリコンシステムが開発され、培養細胞内で HCV 遺伝子の持続的な複製が可能となり、この系により HCV に対する抗ウイルス薬の培養細胞でのスクリーニングや評価が初めて可能となった。しかし、HCV 全長遺伝子を効率よく複製する実験系および HCV の感染増殖系は未だに存在しない。

我々は、これまでウイルス培養に感染材料として用いてきたウイルス株の増殖能の低さと、感染させる細胞の感受性の低さが問題と考えた。HCV はその遺伝子配列に多様性を持ち、株間でその増殖能力や薬剤反応性が異なる。そこで我々は HCV による劇症肝炎の患者から分離された株に注目した (JFH-1 株)。最近開発された RNA レプリコンによりこの JFH-1 株を解析すると、慢性肝炎患者から分離された株に比べ、はるかに効率的な複製・増殖が可能であった (Kato T, Gastroenterology 2003, 125:1808-1817)。この JFH-1 株を用いることにより、培養細胞で安定し、再現性のある増殖が可能なウイルス感染・複製系の構築が可能になると考えた。そこで本研究の目的は、これまでになく高い効率で培養細胞において複製可能な JFH-1 株を用いて、全長 HCV 遺伝子の培養細胞におけるウイルス RNA 複製系および感染系を確立し、その機構を解析し、新たな抗ウイルス戦略の構築に供することである。

### B. 研究方法

HCV の全長ウイルス RNA の培養細胞での複製増

殖

全長RNAを培養細胞中にエレクトロポレーション法により導入した。Huh7、HepG2、IMY-N9、HuhH6、HLE、HLFなどの肝癌細胞と、HeLa、293などの非肝癌細胞を用いた。ノーザンブロットでウイルスゲノムの複製を解析した。培養上清中のウイルスRNA量とHCVコア蛋白を定量した。さらに、培養上清を密度勾配遠心により分画し、各分画中のウイルスRNAとコア蛋白質を定量した。この解析によりウイルス粒子および不完全粒子の比重を決定し、さらにウイルス粒子分画を濃縮精製した。

HCVの全長ウイルスゲノムをもつレプリコンの作製とその感染実験系

JFH-1株を用いて全長のウイルスゲノムにネオマイシン耐性遺伝子などのマーカー遺伝子を挿入したレプリコン構築を作製した。合成した全長HCVレプリコンRNAを培養細胞にエレクトロポレーション法により導入した。薬剤選択培養でレプリコン複製細胞を得た。得られた細胞内のRNAとタンパク質を解析した。培養上清中のウイルス粒子を前述と同様の方法で解析した。ウイルス粒子を含む培養上清を新たな細胞に感染させ、レプリコン複製細胞を得た。

JFH-1株の複製に関与する領域の解析

JFH-1株と、チンパンジーでの感染が確認されているHCV-J6株の二種類のHCV遺伝子型2a株のcDNAを用い、レプリコンを作成した。合成したRNAをHuh7肝癌細胞に導入し、コロニーの生成効率を評価した。また、JFH-1株にJ6株のNS3、NS4、NS5a、NS5b、3'UTR-X各領域を

入れ換えたキメラレプリコンを作成し、これら二つの株の増殖能の差を規定するウイルス遺伝子領域を検討した。

バイオリアクター培養系（RFB システム）によるJFH-1株複製細胞の培養

Huh7細胞のRFBでの培養条件について基礎的検討を行った。4mlサイズのカラムにPVA担体を充填し、 $3 \times 10^7$ 個のHuh7細胞を播種した。種々の培地で播種後2-4週間培養し、その間細胞の酸素消費量を記録するとともに、経時的に培養上清を回収しグルコース消費量等を測定した。得られた至適条件下にJFH-1株複製細胞（genotype 2a）およびRCYM1-HCV RNAレプリコン細胞（genotype 1b）の培養を行った。

ウイルス粒子の精製法

以下の1から4の精製法を試みた。

1. HCVの全長ウイルスゲノムをもつレプリコン細胞から得られる培養液にはウイルス粒子が含まれている。培養液を回収し、遠心分離後さらに $0.45 \mu\text{m}$ のフィルターで濾過して細胞の断片などを取り除く。
2. 限外濾過膜によりウイルス粒子を濃縮する。
3. 各種アフィニティーカラムによる精製を試みた。
4. しょ糖密度勾配遠心によるウイルス粒子の精製。

（倫理面への配慮）

本研究計画の実験計画は所属施設に提出されその承認を得ている。取り扱うすべてのDNAおよび病原性微生物に関しては適切な封じ込めレベルの実験施設で取り扱われる。取り扱うすべ

ての DNA に関して組み換え DNA 実験計画を提出し承認を得ている。取り扱うすべての病原微生物（感染性のウイルスを含む）に関しても取り扱い届けを提出し承認を得ている。ウイルスの遺伝子をクローニングした患者血清は、すべてその感染ウイルスの解析についてインフォームドコンセントを得て採取されている。ヒトの遺伝子解析を行う予定はない。

### C. 研究結果

#### 1. HCV の全長ウイルス RNA の培養細胞での複製増殖

試験管内で合成した JFH-1 の全長 RNA を Huh7 細胞にトランスフェクションした。RNA トランスフェクション後、経時的に細胞と培養上清を回収した。細胞から RNA を抽出し、ノーザンブロットで解析した。コントロール RNA のトランスフェクションではトランスフェクション直後には導入した RNA のバンドの弱いシグナルを確認できるが、時間の経過とともにシグナルは減弱し、24 時間後にはほとんどバンドはみえない。しかし、JFH-1 RNA 導入の場合、トランスフェクション後 24 時間以降にははっきりとしたバンドが確認できた。このシグナルは HCV に特異的であり、導入した全長 RNA の一部が複製増殖したものと考えられた。RNA 複製酵素である NS5B の活性モチーフを変異させた JFH1/GND では複製はみられず、NS5B の活性が HCV の全長 RNA の複製に重要であることが示された。HCV の野生株の RNA を培養細胞に導入してノーザンブロットレベルで複製を確認できたことはこれまで報告されていない。これまでに分離された全長の H77 株、J6 株や我々が慢性肝炎から分離し

た JCH1 株でも同様の実験をおこなったが、これらの株では RNA 複製は全く確認できなかった。

培養上清中のコアタンパク質を EIA 法で測定した。JFH-1 のトランスフェクション後 48 時間から 72 時間後に培養上清中にコアタンパク質を検出できた。コントロール RNA のトランスフェクションでは培養上清中にコア蛋白質は全く検出されなかった。JFH-1 RNA のトランスフェクションにより分泌されたこのコアタンパク質がウイルス粒子として分泌されているかどうかを解析するため、トランスフェクション後の培養上清をしょ糖密度勾配により分画し、各分画の密度、HCV コア蛋白濃度、HCVRNA コピー数を定量した。比重 1.17mg/ml の分画にコアタンパク質と HCVRNA のピークが一致した。この培養上清を RNase で処理してもピークが変化しなかった。さらにこの分画にはコア、E1 および E2 の蛋白質をウエスタンブロットで確認できた。以上の結果から、JFH-1 RNA の Huh7 細胞へのトランスフェクションによりウイルス RNA が複製し、さらにウイルス粒子が形成され、培養液中に分泌されたと考えられた。

#### 2. HCV の全長ウイルスゲノムをもつレプリコンの作製とその感染実験系

JFH-1 の全長レプリコン構築、pFGR-JFH1 から合成した RNA をエレクトロポレーション法により Huh7 細胞に導入した。G418 を添加し、培養を継続した。21 日培養後のコロニー形成能は G418 濃度 1mg/ml で、 $3.63 \times 10^2$  Colony Forming Unit (CFU)/microgram RNA であった。クローン化された細胞から RNA を抽出し、ノーザンブ

ロット法により解析すると HCV 特異的 RNA が検出できた。これによりレプリコン RNA がクローニングした細胞内で複製増殖していることが確認できた。全長レプリコン細胞の培養上清を新たな Huh7 細胞に感染させ、24 時間後に G418 を添加し、3 週間培養を継続した。8 クローンの培養細胞上清を感染させたところ 3 クローンにコロニー形成を認めた。このコロニーをさらにクローニングして培養しその細胞の中で全長レプリコン RNA の複製を確認した。つまり全長レプリコンのゲノムをふくむウイルス粒子が新たな細胞に感染することができ、そのレプリコン複製細胞を選択的に培養することができた。

### 3. JFH-1 株の複製に関与する領域の解析

JFH-1 株からは HCV RNA が持続的に自律複製するレプリコン細胞の生成が可能であった。しかし、J6 株由来のレプリコンではコロニーの生成が全く認められなかった。JFH-1 株の HCV 非構造領域の各領域を入れ換えたキメラレプリコンを作製し、コロニー生成について検討した。その結果、NS3、NS4、NS5a それぞれを入れ換えたキメラレプリコンではコロニー生成効率に変化を認めないが、3' UTR-X 領域を J6 株に入れ換えたキメラレプリコンでは軽度の、NS5b 領域を J6 株に入れ換えたキメラレプリコンにおいては著しいコロニー生成効率の低下が認められた。逆に J6 株の NS5b~3' UTR-X 領域を JFH-1 株に変えたキメラレプリコンでは十分なコロニー生成が認められるようになった。以上のような結果から、NS5b 領域が J6 株と比較した時の JFH-1 株の強い増殖能に寄与する領域であると考えられた。さらに、レプリコン配列中のネオマイシ

ン耐性遺伝子をルシフェラーゼ遺伝子に改変したレポーターレプリコンを作製し一過性に遺伝子導入後、経時的にルシフェラーゼ活性を測定する事により、直接レプリコンの増殖を評価する系を確立した。このレポーターレプリコンシステムを用い、JFH-1 株と J6 株のキメラレプリコンの増殖能を評価した。その結果、JFH-1 株の NS3 と 3' UTR-X 領域を J6 株に入れ換えたキメラレプリコンでは軽度の、NS5b 領域を入れ換えたキメラレプリコンでは高度の増殖能の低下が検出された。

### 4. RFB 培養系による JFH-1 株複製細胞の培養

2%FCS 含有 ASF104 培地では少なくとも細胞播種後 2 週間程度 RFB システム内で Huh7 細胞を維持することが可能であるとわかった。また、同条件で Huh7 細胞を培養し、グルコース消費量及び酸素消費量ともに高値を示した時点で担体内で細胞が増殖していることが確認できた。そこで 2%FCS 含有 ASF104 培地を用いて RFB 培養系により HCV RNA レプリコン細胞(RCYM1, JFH-1)を培養させたところ、良好な細胞増殖が得られた。培養上清を回収し、ウイルス粒子形成について解析を始めた。

### 5. ウイルス粒子の精製法

回収したウイルス粒子を含む培養液は遠心処理で細胞や細胞の破片などを取り除いた。遠心後の培養液はフィルターで濾過した。濾過後の培養液に含まれる低分子の夾雑物を取り除き濃縮するために限外濾過を行った。限外濾過膜により培養液は 10 分の 1 から 100 分の 1 に濃縮することができた。この濃縮した培養液から

各種クロマトグラフィーによりウイルス粒子を精製することができた。さらにこのウイルス溶液をしょ糖の密度勾配遠心で分画することによりウイルス粒子を濃縮精製することができた。ウイルス粒子は 1.15 から 1.17g/ml の密度に分画された。

#### D. 考察

これまでに培養細胞で複製可能な全長 HCVRNA は遺伝子型 1b のウイルス株で、しかも適合変異が必要であった。この適合変異を導入することによりウイルス遺伝子の培養細胞での複製効率は改善されるが、*in vivo* での感染性が失われることが報告されている (Bukh J, Proc Natl Acad Sci U S A. 2002 99:14416-21)。しかしながら、JFH-1 株はすでに我々が報告してきたように適合変異なしで、培養細胞で効率よく複製する。これまで他のウイルス株ではウイルス遺伝子が培養細胞内で複製するにも関わらず、ウイルス粒子の形成が観察できなかったが、JFH-1 株ではウイルス遺伝子の複製によりウイルス粒子の形成、培養液中への分泌が観察できた。適合変異の導入によるウイルス遺伝子複製効率の変化には本来のウイルス粒子形成を伴うウイルス複製経路とは異なる因子の関与が考えられる。従って、ウイルス複製に関与する細胞性の因子の解析に重要な知見と考えられた。

JFH-1 株由来のレプリコンは Huh7 に遺伝子導入する事によりコロニーの生成を認めたが、チンパンジーに感染可能であるはずの HCV-J6 株由来のレプリコンではコロニーの生成が全く認められなかった。この二つの株のキメラレプリコンを用いた検討により、NS3 領域、NS5b 領域

および 3' UTR-X 領域 が増殖効率の差に関与していることが明らかとなった。

RFB システムで Huh7 細胞を培養する条件として、2%FCS 含有 ASF104 培地を用いた場合には少なくとも約 2 週間の培養は可能であることがわかった。培養条件としては他に培養温度、三次元培養カラム内に充填する担体の材質等が検討すべき事項として残っている。FLC4 細胞の様に長期培養を可能とするためにはこれらの条件について詳細に検討する必要があると考えられた。

ウイルス粒子の精製法を開発することができた。濃縮精製したウイルス液を SDS-PAGE およびウエスタンブロットでコア、E1、E2 を検出する必要がある。

#### E. 結論

以上の結果から JFH-1 株の全長のウイルス遺伝子の複製実験系およびウイルス粒子の形成系を構築することができた。さらに JFH-1 株の全長のウイルス遺伝子および全長の遺伝子をもつレプリコンによるウイルス粒子の形成およびウイルスの感染実験系を構築することができた。この実験系によりこれまで困難であったウイルス粒子の形成および分泌過程の研究、ウイルス感染に必要なレセプターのクローニングなどの研究が可能となり、その成果を利用して新たな抗ウイルス療法や予防法の開発が可能となる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Y Mori, T Okabayashi, T Yamashita, Z Zhao,

- T Wakita, K Yasui, F Hasebe, M Tadano, E Konishi, K Moriishi, Y Matsuura. Nuclear Localization of Japanese Encephalitis Virus Core Protein Enhances Viral Replication. *J Virol*. 2005 79:3448-3458.
- 2) T Kato, T Date, M Miyamoto, Z Zhao, M Mizokami, T Wakita. Non-Hepatic Cell Lines HeLa and 293 Cells Support Efficient Replication of Hepatitis C Virus Genotype 2a Subgenomic Replicon. *J Virol* 2005 79:592-596.
- 3) T Kato, M Miyamoto, T Date, A Furusaka, M Mizokami, T Wakita. Difference of Hepatitis C Virus Core Protein Processing between Genotypes 1 and 2. *Hepatology Research* 2004 30:204-209.
- 4) Kanazawa N, Kurosaki M, Sakamoto N, Enomoto N, Itsui Y, Yamashiro T, Tanabe Y, Maekawa S, Nakagawa M, Chen C-H, Oshima S, Nakamura T, Kato T, Wakita T, Watanabe M. Regulation of Hepatitis C Virus Replication by Interferon Regulatory Factor-1 *J Virol* 2004 78: 9713-9720
- 5) Date T, Kato T, Miyamoto M, Zhao Z, Yasui K, Mizokami M, Wakita T. Genotype 2a Hepatitis C Virus Subgenomic Replicon Can Replicate in HepG2 and IMY-N9 cells. *Journal of Biological Chemistry* 2004, 279:22371-22376.
- 6) Fujiwara K, Tanaka Y, Orito E, Ohno T, Kato T, Sugauchi F, Suzuki S, Hattori Y, Sakurai M, Hasegawa I, Ozasa T, Kanie F, Kano H, Ueda R, Mizokami M. Lack of association between occult hepatitis B virus DNA viral load and aminotransferase levels in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2004 19:1343-7.
- 7) Kato H, Sugauchi F, Ozasa A, Kato T, Tanaka Y, Sakugawa H, Sata M, Hino K, Onji M, Okanoue T, Tanaka E, Kawata S, Suzuki K, Hige S, Ohno T, Orito E, Ueda R, Mizokami M. Hepatitis B virus genotype G is an extremely rare genotype in Japan. *Hepatol Res*. 2004 30: 199-203.
- 8) Yuen MF, Fung SK, Tanaka Y, Kato T, Mizokami M, Yuen JC, Wong DK, Yuan HJ, Sum SM, Chan AO, Wong BC, Lai CL. Longitudinal study of hepatitis activity and viral replication before and after HBeAg seroconversion in chronic hepatitis B patients infected with genotypes B and C. *J Clin Microbiol*. 2004 42: 5036-40.
- 9) Azuma A, Li YJ, Abe S, Usuki J, Matsuda K, Henmi S, Miyauchi Y, Ueda K, Izawa A, Sone S, Hashimoto S, Kudoh S. Interferon- $\beta$  inhibits bleomycin-induced lung fibrosis by decreasing transforming growth factor- $\beta$  and thrombospondin. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2005 32(2):93-8.
- 10) Shinji T, Kyaw YY, Gokan K, Tanaka Y, Ochi K, Kusano N, Mizushima T, Fujioka S, Shiraha H, Lwin AA, Shiratori Y, Mizokami M, Khin M, Miyahara M, Okada S, Koide N. Analysis of HCV genotypes from blood donors shows three new HCV type 6 subgroups exist in Myanmar. *Acta Med Okayama*. 2004 58:135-42.
- 11) Michitaka K, Horiike N, Chen Y, Duong TN, Konishi I, Mashiba T, Tokumoto Y, Hiasa Y,

- Tanaka Y, Mizokami M, Onji M. Gianotti-Crosti syndrome caused by acute hepatitis B virus genotype D infection. *Intern Med.* 2004 43:696-9.
- 12) Tanaka Y, Hasegawa I, Kato T, Orito E, Hirashima N, Acharya SK, Gish RG, Kramvis A, Kew MC, Yoshihara N, Shrestha SM, Khan M, Miyakawa Y, Mizokami M. A case-control study for differences among hepatitis B virus infections of genotypes A (subtypes Aa and Ae) and D. *Hepatology.* 2004 40:747-55.
- 13) Tanaka Y, Yeo AE, Orito E, Ito K, Hirashima N, Ide T, Sata M, Mizokami M. Prognostic indicators of breakthrough hepatitis during lamivudine monotherapy for chronic hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol.* 2004 39:769-75.
- 14) Mizokami M, Tanaka Y. Molecular evolutionary analysis predicts the incidence of hepatocellular carcinoma in the United States and Japan. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2004 54 Suppl 1:S83-6.
- 15) Yamauchi N, Itoh Y, Tanaka Y, Mizokami M, Minami M, Morita A, Toyama T, Yamaguchi K, Fujii H, Okanoue T. Clinical characteristics and prevalence of GB virus C, SEN virus, and HFE gene mutation in Japanese patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol.* 2004 39:654-60.
- 16) Sakurai M, Sugauchi F, Tsai N, Suzuki S, Hasegawa I, Fujiwara K, Orito E, Ueda R, Mizokami M. Genotype and phylogenetic characterization of hepatitis B virus among multi-ethnic cohort in Hawaii. *World J Gastroenterol.* 2004 10:2218-22.
- 17) Yuen MF, Sablon E, Tanaka Y, Kato T, Mizokami M, Doutrelouigne J, Yuan HJ, Wong DK, Sum SM, Lai CL. Epidemiological study of hepatitis B virus genotypes, core promoter and precore mutations of chronic hepatitis B infection in Hong Kong. *J Hepatol.* 2004 41:119-25.
- 18) Kato H, Nakamura M, Ito T, Ito Y, Orito E, Ueda R, Tsuzuki T, Mizokami M. Enterovesical fistula complication in B-cell-type lymphoma of the small intestine. *J Gastroenterol.* 2004 39:589-91.
- 19) Kato H, Gish RG, Bzowej N, Newsom M, Sugauchi F, Tanaka Y, Kato T, Orito E, Usuda S, Ueda R, Miyakawa Y, Mizokami M. Eight genotypes (A-H) of hepatitis B virus infecting patients from San Francisco and their demographic, clinical, and virological characteristics. *J Med Virol.* 2004 73:516-21.
- 20) Ishikawa T., Fukushima Y., Shiobara Y., Kishimoto T., Tanno S., Shoji I., Suzuki T., Matsui T., Shimada Y., Ohyama T., Nagai R., and Miyamura T. An outbreak of hepatitis C virus infection in an outpatient clinic. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, (2005) (in press).
- 21) Tanaka Y, Utsumi J, Matsui M, Sudo T, Nakamura N, Mutoh M, Kajita A, Sone S, Kigasawa K, Shibuya M, Reddy VN, Zhang Q, Iwata T. Purification, molecular cloning, and expression of a novel growth-promoting factor

for retinal pigment epithelial cells, REF-1/TFPI-2. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2004. 45:245-252.

22) 脇田隆宇

HCV repliconに関する研究

臨床消化器内科, 2004(19)1545-7

23) 脇田隆宇

HCV repliconによるHCV RNA複製

細胞, 2004, 36;(7)293-6

24) 勝二郁夫. C型肝炎. 岡部信彦編集、からだの科学増刊号新興再興感染症-SARSの教訓.

58-60, 日本評論社、東京、2004年

25) 勝二郁夫. HBV粒子の構造と特徴. 小俣政男編集、日本臨床増刊号肝炎ウイルス(下)-最新研究の動向-. 日本臨床社、62, 8-11、東京、2004年

2. 学会発表

1) Wakita, T, Efficient Replication of Genotype 2a Hepatitis C Virus in Cultured Cells, Second MMRF Meeting on Viral Hepatitis in Asia, 2004年5月

2) 加藤孝宣、脇田隆宇, レプリコンシステムを用いたC型肝炎ウイルス増殖能規定領域の検討, 第40回日本肝臓学会総会 2004年6月

3) 田中靖人、折戸悦朗、溝上雅史, HBV genotypeの違いによるHBV増殖、HBe抗原陽性率、発がん率の違いの検討, 第40回日本肝臓学会総会, 2004年6月

4) 長谷川泉、田中靖人、伊藤清顕、小笹貴士、藤原圭、桜井万弓、加藤孝宣、杉原寛治、大野智義、折戸悦朗、上田龍三、溝上雅史, B型肝炎ウイルス genotypeA の subtype 分類法の開発

とその有用性, 第40回日本肝臓学会総会, 2004年6月

5) 伊藤清顕、田中靖人、加藤道夫、小笹貴士、藤原圭、長谷川泉、杉原寛治、加藤孝宣、大野智義、折戸悦朗、上田龍三、溝上雅史, B型肝炎細胞癌の発生をHbeAgセロコンバージョン前に予測することができるか-全塩基配列での検討, 第40回日本肝臓学会総会, 2004年6月

6) 田中靖人、加藤孝宣、折戸悦朗、大野智義、杉原寛治、溝上雅史, C型慢性肝炎に対するRibavirin単独療法におけるHCV遺伝子変異パターンの検討, 第40回日本肝臓学会総会, 2004年6月

7) 脇田隆宇、加藤孝宣, 遺伝子型2aのC型肝炎ウイルスレプリコンおよび全長ウイルス遺伝子の複製, 第63回日本癌学会学術総会・シンポジウムS22「HCV肝がんの撲滅をめざして」2004年9月

8) Date T Kato T Miyamoto M Wakita T, A selectable and infectious full-length hepatitis C virus replicon, 11th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2004年10月

9) Wakita T Kato T Date T Miyamoto M, Infectious virus production from hepatitis C virus RNA replicating cells, 11th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2004年10月

10) Pietschmann T Koutsoundakis G Kallis S Kato T Fong S Wakita T Bartenschlager R, Chimeric Hepatitis C Virus Infectious in Cell Culture, 11th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2004年10月



- 11) Nagy RI Wakita T Penin F Lavergne JP Darlix JL Implications of HCV Core Protein on Viral RNA Replication and Dimerization, 11th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2004年10月
- 12) Tanabe J Sato M Date T. Miyamoto M Sone S Wakita T, Effects of IFNs on Genotype2A Hepatitis C Virus Subgenomic Replicons, 11th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2004年10月
- 13) Murakami, K., Ishii, K., Yoshizaki, S., Aizaki, H., Tanaka, K., Shoji, I., Sata, T., Suzuki, T., Bartenshlarger, R., and Miyamura, T. Assembly of HCV-like particles in three-dimensional cultures. 11th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2004年10月.
- 14) Shirakura, M., Shoji, I., Ichimura, T., Suzuki, R., Suzuki, T., Sugiyama, Y., Shimoji, T., Murakami, K., Sato, S., Fukasawa, M., Yamakawa, Y., Nishijima, M., and Miyamura, T. Proteomic analysis of hepatitis C virus core-interacting proteins using a novel tandem affinity purification tag and mass spectrometry. 11th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2004年10月.
- 15) Fukasawa, M., Sato, S., Yamakawa, Y., Natsume, T., Suzuki, T., Shoji, I., Aizaki, H., Miyamura, T., and Nishijima, M. Proteomic profiling of lipid droplet proteins in HCV core-expressing hepatoma cell lines. 11th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2004年10月.
- 16) Kato T Date T. Miyamoto M Tanaka.Y Orito E Mizokami M Wakita T, In Vitro Anti-Viral Effects of Interferon and Ribavirin at Their Clinical Concentrations against Hepatitis C Virus, 55th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, 2004年10月
- 17) 脇田隆宇、加藤孝宣、伊達朋子、宮本道子、培養細胞におけるC型肝炎ウイルス複製と感染性粒子の産生、第52回日本ウイルス学会学術集会、2004年11月
- 18) 杉山真也、加藤孝宣、溝上雅史、伊達朋子、宮本道子、脇田隆宇、C型肝炎ウイルスに対する薬剤感受性評価システムの確立、第52回日本ウイルス学会学術集会、2004年11月
- 19) 森嘉生、脇田隆宇、小西英二、山下哲生、森石恆司、松浦善治、コア蛋白質が核に移行しない変異日本脳炎ウイルスの性状、第52回日本ウイルス学会学術集会、2004年11月
- 20) 渡士幸一、石井直人、土方誠、井上大輔、脇田隆宇、下遠野邦忠、シクロフィリンによるHCVゲノム複製制御、第52回日本ウイルス学会学術集会、2004年11月
- 21) 村上恭子、石井孝司、吉崎佐矢香、相崎英樹、田中恵子、勝二郁夫、佐多徹太郎、鈴木哲朗、宮村達男。三次元肝細胞培養システムによるC型肝炎ウイルス(HCV)粒子形成。第52回日本ウイルス学会学術集会、2004年11月。
- 22) 白倉雅之、勝二郁夫、市村 徹、鈴木亮介、鈴木哲朗、相山裕一、下地 徹、村上恭子、佐藤慈子、深澤征義、山河芳夫、西島正弘、宮村達男。MEF tag 精製-プロテオーム解析によるC型肝炎ウイルス Core 蛋白新規結合因子の同定。第52回日本ウイルス学会学術集会、2004年11

月.

23) Zhao Z Date T Miyamoto M Yasui K Wakita T,  
Characterization of the Env-138 (E/K)  
Mutation in Japanese Encephalitis Virus Using  
a Stable Full-length Infectious cDNA Clone.,  
40th Anniversary US-japan Cooperative Medical  
Science Program, 2004年12月

24) Wakita T Kato T Date T Miyamoto M, HCV  
replication and viral particle formation in  
cell culture., 40th Anniversary US-japan  
Cooperative Medical Science Program, 2004  
年12月

25) 勝二郁夫、白倉雅之、市村 徹、鈴木亮介、  
鈴木哲朗、梶山裕一、下地 徹、村上恭子、佐  
藤慈子、深澤征義、山河芳夫、西島正弘、宮村  
達男. MEF タグ精製-プロテオーム解析による C  
型肝炎ウイルス Core 蛋白新規結合因子の同定.  
第 27 回日本分子生物学会年会, 2004 年 12 月.

26) 佐藤慈子、深澤征義、山河芳夫、夏目徹、  
鈴木哲朗、勝二郁夫、相崎英樹、鈴木亮介、宮  
村達男、西島正弘. プロテオミクスの手法を用  
いた C 型肝炎ウイルスの病原性に関する宿主  
因子の探索。第 125 年会 日本薬学会 2005 年  
3 月、東京

G. 知的所有権の出願・登録状況

なし