

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

プリオン複製機構の解明とプリオン病の
治療法開発に関する研究

平成16年度～18年度 総合研究報告書

主任研究者 金子 清俊

平成19（2007）年 3月

目 次

I.	総合研究報告	
	プリオン複製機構の解明とプリオン病の治療法開発に関する研究	
	-----	1
	金子清俊	
II.	研究成果の刊行に関する一覧表	----- 21
IV.	研究成果の別刷	----- 31

プリオン複製機構の解明とプリオン病の治療法開発に関する研究

主任研究者：金子清俊 東京医科大学神経生理学講座主任教授

研究要旨

1. アンフォルジンによる BSE プリオンを含む異常凝集蛋白質の抗原抗体反応による検出感度を大幅に改善する手法を確立した。BSE プリオンなどの高感度診断法開発が期待される。
2. アンフォルジンの極めて高度の解きほぐし活性に対する活性調節機構を付加する事によって、プリオン病を含む、いわゆる蛋白質凝集病の治療法への可能性が示唆された。
3. ヒトやマウスにおいても酵母アンフォルジンのホモログが ubiquitous に発現していることを発見した。これらはプリオンの複製に関与する新たな因子である可能性も推測される。
4. プリオン分子のダイナミクス情報に基づき、in silicoでの創薬スクリーニングのシステムを確立し、プリオン蛋白質の構造変換を阻止する化合物を発見した。
5. 家族性プリオン病の発症予防に着目し、正常アシルは抑制せずに変異アシルのみを抑制するアシル特異的RNAi手法を確立した。

分担研究者

北條浩彦 国立精神・神経センター神経研究所遺伝子工学研究部室長

桑田一夫 岐阜大学医学部人獣感染防御研究センター長

八谷如美 東京医科大学医学部神経生理学講座助教授

通じたプリオン複製機構の解明と創薬スクリーニングシステムの確立、(3) RNAiを用いた新たなプリオン病治療・予防法の開発である。

主任研究者の金子及び分担研究者の八谷は、プリオン生成に対してドミナントネガティブ効果を有する防御型プリオン蛋白質の同定と治療・予防法への応用、抗プリオン抗体の応用、乾燥硬膜移植後プリオン病のマウスモデルの開発などを行ってきた。その過程において、プリオンをはじめとする異常凝集蛋白質に対して極めて高度の解きほぐし活性を発揮する新規クラスの分子シャペロン (oligomeric Aip2p; アンフォルジン)を同定した。その結果を踏まえ、プリオンを含む凝集性蛋白質の高感度検出法、凝集解きほぐしを通じた治療法の開発を目指した。

A. 研究目的

本研究の目的は、プリオン病に対する発症前早期診断を可能とするような効率的な感染型プリオン蛋白質 (PrP^{Sc})の高感度検出法並びに根本的な治療法・予防法の開発である。具体的には、(1)我々が新たに同定したアンフォルジンによる異常凝集体に対する比類のない解きほぐし活性を利用したPrP^{Sc}高感度診断法並びにプリオン病治療・予防法の開発、(2) NMRによるプリオン蛋白質構造解析を

分担研究者の桑田は、プリオン複製機構の解明に向けて、プリオン分子のダイナミクスを検討した。また、これらの情報に基づいて、in silicoでの創薬スクリーニングのシステムを確立し、効果的なプリオン病治療薬の開発を目指した。

分担研究者の北條は、RNAiによる遺伝子発現抑制効果を踏まえ、まず家族性プリオン病の発症予防に着目した。感染によるプリオン病と異なり、遺伝子変異による家族性プリオン病においては、変異を有するPrP^C遺伝子の発現を抑制すれば、プリオン病の発症を遅延させ得る可能性がある。しかし、人における正常型プリオン蛋白質 (PrP^C)の生理機能が完全に解明されていない現状を踏まえ、正常アリルは抑制せずに変異アリルのみを抑制するアリル特異的RNAi手法の開発を目指した。

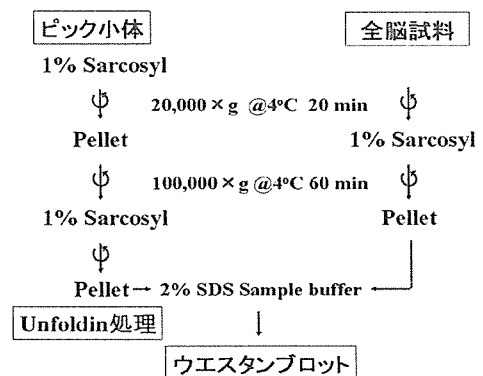
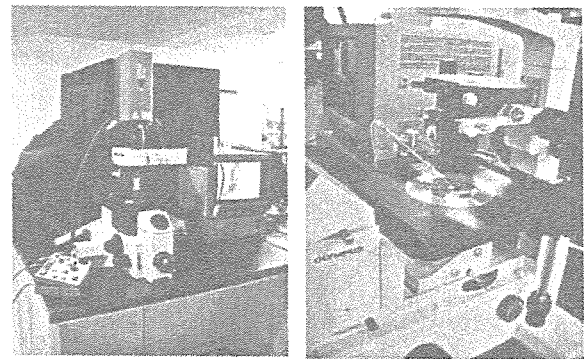
B. 研究方法

「アンフォルジンの応用によるPrP^{Sc}高感度診断法並びにプリオン病治療・予防法の開発」
(八谷)

高凝集性蛋白質の高感度検出形の確立に向けて、まずモデル系として感染防御の必要のないピック病検体を用いた検討を行った。2検体、3領域の孤発性ピック病剖検脳組織の凍結切片 (5ミクロン厚) から、まず抗リン酸化 タウ抗体 (AT8)による免疫染色にてピック小体を同定し、レーザーマイクロダイセクション法を用いてピック小体を単離・回収した (図1)。ピック小体を構成するリン酸化タウの分子種の解析を行なうために、回収したピック小体をSDS-PAGEにて分離した後、抗リン酸化タウ抗体 (AT8及びAT100)を用いたイムノブロッティングを行った。脳組織切片からのSarkosyl不溶性分画は、定法により回収した。

BSE感染脳は、国立感染症研究所細胞化学部山河芳夫博士の協力の元に、処理を行った。アンフォルジンによる回収したピック小体の解きほぐし処理は、既に報告した方法により行った (図2)。

図1: レーザーマイクロダイセクター



細胞内で合成されたポリペプチドが機能する分子となるには、速やかに正しい立体構造を形成することが重要である。そこで細胞には、この速やかな立体構造形成を手助けするためにシャペロンとよばれる一連の分子が存在し効率良く機能する分子を作り出している。ところが細胞が運動、分裂などダイナミックな動きをするときや、間違った高次構造をとったものを一旦ほぐして分解系へ手渡すような場合、対象となる蛋白質には一旦形成された高次構造を速やかに変換させる (アンフォールディング) 柔軟性が必要になってく

る。

我々は出芽酵母細胞内からこのような unfoldase 活性を持つ分子を精製するためにトリプシン感受性を利用した独自の試験管内アッセイ系を確立した。この、いわゆる unfolding assay 系の概要として、まず prepro α -factor (pp α F) を基質として用い、巻き戻しを受けた pp α F は分解されないが、解きほぐされた pp α F のみが trypsin によって分解される条件を確立した。ここに、酵母のマイクロゾーム画分を加えることでの pp α F の分解が生じることを確認した。酵母のマイクロゾーム画分中には、pp α F の解きほぐし活性が存在すると考えられたため、この活性を同定するため Table 1 のステップにより、最終的にこの活性を同定し、アンフォルジンと命名した (既報告)。

Table 1 Purification of unfoldin from yeast microsomes salt extracts

Purification step	Total protein(mg)	Total activity(units)	Specific activity(units/mg)	Purification (fold)	Yield (%)
NaCl Extract	200	2200	11	1	100
DEAE- FastFlow	20	1066	53	5	49
ResorceQ	3	1000	333	30	45
Hydroxy A petite	0.15	350	2333	212	16
ATPagarose	0.03	222	6938	631	10

「NMRによるプリオン蛋白質構造解析を通じたプリオン複製機構の解明と創薬スクリーニングシステムの確立」 (桑田)

正常型における初期の構造変換が、どこで起きるかは、静的な立体構造を眺めていてもまずわからない。そこで、ダイナミクスを直接測定するか、あるいはシミュレーションする必要が出て来る。我々は、本研究において構造生物学的な計測方法 (NMR, 蛍光, 赤外) を用いて、正常型プリオンの揺らぎ、ダイナミクス、熱安定性を実験的に調べた。プリオンを構成する原子のダイナミクスを溶液中の自然な状態において、CPMG緩和分散法により調べた。

また粗視化した分子動力学法を用い、プリオンの正常型から異常型への立体構造変換過

程を、原子レベルの詳細にわたってシミュレーションした。また、この構造変換を阻止する物質を発見する際に、どこをターゲットとすればよいか、という点を考察し、実際にプリオンの複製を阻止する化合物のスクリーニングを行った。

「RNAiを用いた新たなプリオン病治療・予防法の開発」 (北條)

アリル特異的RNAi誘導を実現させるためには、まず、その評価方法を確立しなければならない。そこで、レポーター遺伝子を用いてレポーター対立遺伝子 (レポーターアリル) 構築し、それらを用いてアリル特異的RNAi活性を簡便に評価するシステムの確立を行った。

ホタル・ルシフェラーゼ遺伝子とウミシイタケ・ルシフェラーゼ遺伝子をそれぞれコードした発現プラスミドを利用してレポーターアリルを構築した。まず、変異アリル、正常アリルに相当するオリゴDNAを合成し、それらをそれぞれのレポーター遺伝子の3'非翻訳領域に挿入して変異レポーターアリルそして正常レポーターアリルを構築した。次に、変異アリルをターゲットとする合成siRNAを作製し、正常、変異レポーターアリルをそれぞれ含んだプラスミドDNAとベータガラクトシダーゼ遺伝子を含んだ発現プラスミドDNA (コントロールとして用いた) をリポフェクタミン2000試薬 (Invitrogen社) を用いたリポフェクションによってヒトHeLa細胞に導入し、24時間後、細胞抽出液を調製した。そして、両ルシフェラーゼ活性、ベータガラクトシダーゼ活性を測定した。ベータガラクトシダーゼの活性値を基に両ルシフェラーゼの活性量 (発現量) を正常化し、テストしたsiRNAの変異アリルに対するノックダウン効果と正常アリルに対する影響を評価した。

(倫理面への配慮)

動物愛護上の実験動物等への倫理面での配慮として、動物の処置（安楽死）等については、東京医科大学、岐阜大学、国立精神・神経センターの倫理規定に従った。

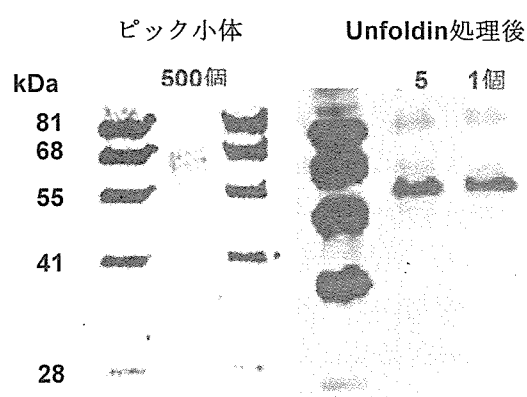
C. 研究結果

「アンフォルジンの応用によるPrP^{Sc}高感度診断法並びにプリオン病治療・予防法の開発」
(八谷)

実際の生体内凝集体に対する解きほぐし能を検討するために、まずピック病脳に蓄積する異常凝集体であるピック小体を用いた検討を行った。

ピック病の脳内に蓄積するピック小体をアンフォルジン処理後にウエスタンブロット法により検討した結果、古典的な処理では単離した500個のピック小体を用いても異常リン酸化タウシグナルの検出が困難であったが、アンフォルジン処理後には、わずか数個若しくは1個のピック小体によって単一のタウシグナルを鮮明に検出できた(図3)。アンフォルジンは極めて難溶性のピック小体を容易に解きほぐし、抗体による検出能を1,000倍以上改善した。

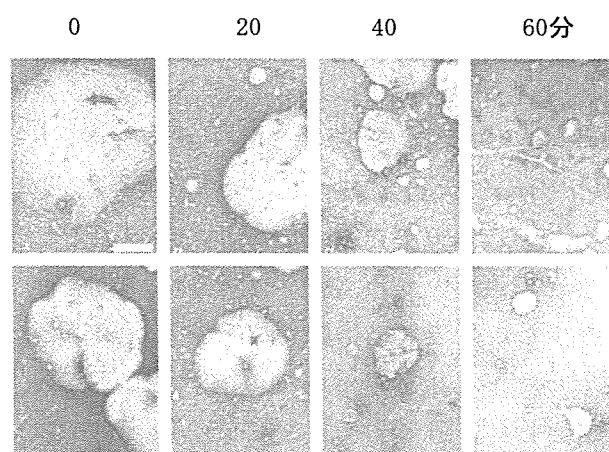
図3: アンフォルジンによる高感度検出



電子顕微鏡では、時間経過と共に主にピック小体の解きほぐし像が観察された。図4に、アンフォルジンとの反応後1時間までの解きほ

ぐしの様子を示す。

図4: アンフォルジンによる解きほぐし効果



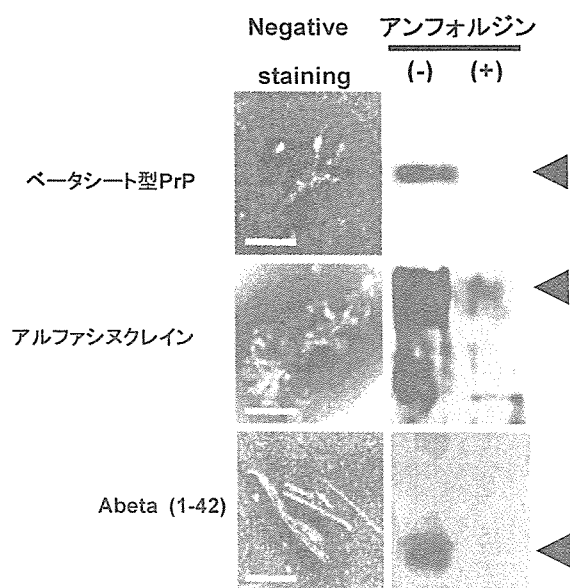
現在プロテオーム研究の主流はLC-MS/MSに大きく依存しているが、試料調整の段階において、対象となる生体細胞・組織の構成タンパク質群の難溶性、高凝集性が大きな課題となっている。中でも特に、細胞表面の脂質マイクロドメインである“ラフト”に存在するPrP^Cを含むタンパク質群の解析に関しては、その網羅的解析が極めて困難である。

しかしながら、解析試料をアンフォルジンにより事前処理することで、この問題を大幅に改善できる可能性を示した。一例として、ベータシート型プリオン蛋白質を用い、ペプチド断片化に常用されるタンパク質分解酵素(Lys C)に対する感受性を検討した結果、効率よく断片化を生じていた。このことから、アンフォルジンによる前処理は、タンパク質全体(プロテオーム)を網羅的に解析するプロテオミクス解析への応用の可能性を示した。

さらに、ピック小体にとどまらず、他の高凝集性蛋白質を対象として、アンフォルジンの解きほぐし活性を検討した。アンフォルジンは、正常にfoldingされた分子だけではなく、ベータシート型プリオン蛋白質、アルファシ

ヌクレイン、並びにAbeta(1-42)などの異常凝集体の高次構造を解きほぐす活性を有していた(図5)。

図5:アンフォルジンによる解きほぐし効果



BSE感染脳を用いたpreliminaryな検討においても、同様の著明な感度の改善を認めることが出来た。すなわち、アンフォルジン処理により、わずか5 μgのBSE感染脳より、BSEプリオンが検出された(図6)。

図6:アンフォルジンによる解きほぐし効果

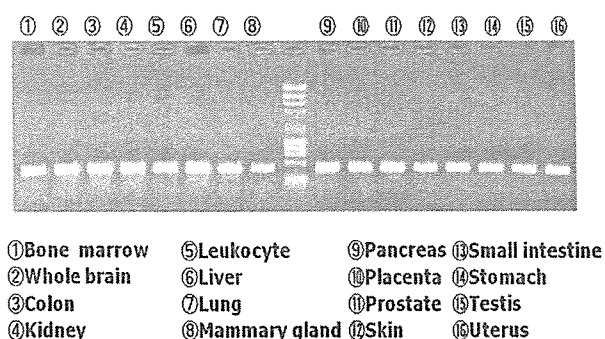


この解きほぐし活性をプリオン病の治療法開発に応用するため、その活性調節機構についての検討を行った結果、アンフォルジンの

細胞内局在とその活性が、細胞周期によって変化していることを見出した。すなわち、(1) 出芽酵母分裂期において、アンフォルジンが分裂溝に集積すること、(2) 分裂溝に集積したアンフォルジンが極めて高い活性を示すことが確認された。さらに、その活性にはATPの結合が関与していることを明らかにした。このことは、凝集体が原因となりうるような疾患(コンフォメーション病)の治療並びに予防法開発にアンフォルジンが応用できる可能性を示した。

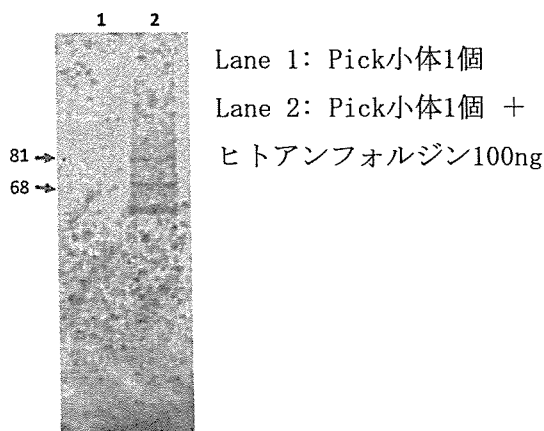
さらに、ヒトやマウスにおいてもアンフォルジンのホモログがubiquitousに発現していることを発見した(図7)。

図7:ヒトアンフォルジンの組織発現



ヒトアンフォルジンの機能解析の結果、酵母アンフォルジンと同様のオリゴマーを形成し、高度の解きほぐし活性を有していることを確認した(図8)。このことから、アンフォルジンがプリオンの複製に関与する新たな因子である可能性も推測される。

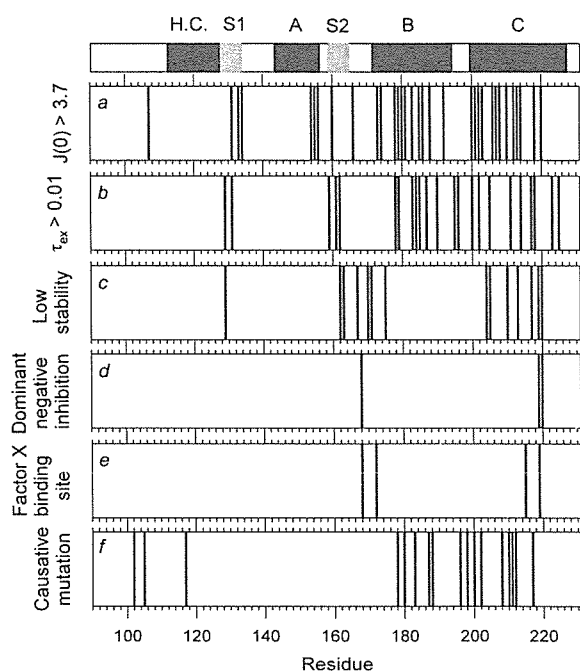
図8:ヒトアンフォルジンの解きほぐし活性



「NMRによるプリオン蛋白質構造解析を通じたプリオン複製機構の解明と創薬スクリーニングシステムの確立」(桑田)

NMR緩和測定により、ピコ秒からナノ秒のダイナミクスと、マイクロ秒からミリ秒のダイナミクスを測定した。その結果、後者の遅いダイナミクスで著明な揺らぎを示す残基群は、主にB及びCヘリックスに存在し、病原性変異を示す残基群の分布に類似していた(図8)。

図8:NMR緩和測定によるゆらぎの部位



一方、高圧NMRを用い、残基毎の熱力学的安定性を調べた。その結果、安定性の低い残基群は、やはりB及びCヘリックスに存在していた。

遅い揺らぎを示す残基群と低い熱安定性を示す残基群とは、比較的良好一致していた。これは、B及びCヘリックス部分に特に不安定な残基が存在し、これらの変異により、プリオン蛋白質全体が一層不安定になることを示している。

また、遺伝性プリオン病における病原性変異部位が、同様にこれらの部分に集中して存在していることは、プリオン立体構造の不安定性が、感染型構造への変換反応の引き金になる可能性を示唆している。

さらに、この熱力学的に不安定な部分が、ファクターXの結合サイト周辺に分布していることが分かった。このことは、ファクターXの周辺が、分子間相互作用により、特に構造変化を起こしやすい部位であることを示している、と考えられる。さらに、このような立体構造変換を包含するような蛋白質のダイナミクスを理解するために、新たに数論を用いた理論体系を構築した。

加えて、CPMG分散法により、ミリ秒からマイクロ秒の遅いタイムスケールの揺らぎが、ヘリックスBとCに分布していることが明らかになり、これらの部位が、遺伝性プリオン病における変異部位と関連していることが確認された。また、ATRを用いた赤外分光法により、水溶液中でのプリオンの二次構造変化を凝集状態も含めて、リアルタイムで測定することが可能となった。また、蛍光測定により、プリオン蛋白質全体のフォールディング状態に関する知見を得られることも分かった。

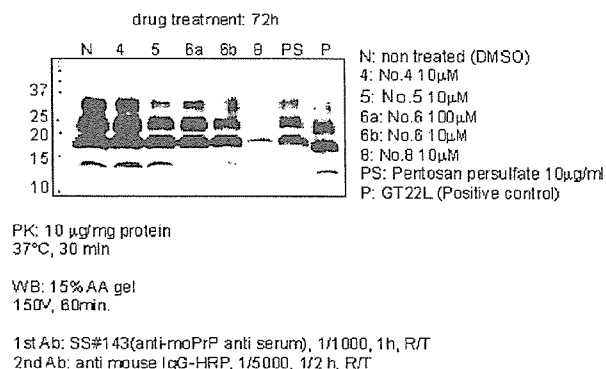
郷モデルを用いた粗視化シミュレーションにより、正常型（NMR構造）から異常型（電顕構造）への構造変換過程をシミュレーションすることが可能となった。現在は、単分子によるシミュレーションを行っているが、N末のベータヘリックスが早期に形成され、その後C末のアルファヘリックスが再配置することが分かった。また、この反応の途中でN末とC末部分が独立に運動するような中間的な構造（中間体）が存在することが分かった。

一般に、このような蛋白質のダイナミクス情報、或いは熱安定性情報に基づいて、低分子化合物の*in silico*スクリーニングを行う場合（SBDD）、ターゲットとなる部位を限定する必要がある（範囲を限定しない方法もある）。酵素の場合は主に活性部位、分子間相互作用の場合は相互作用部位ということになるだろう。しかしプリオンは、明らかに酵素ではなく、例えば、正常型と異常型との相互作用部位がどこにあるのかも分かっていない。

プリオンでは、正常型から異常型への立体構造変換が病原性発現のスイッチになるので、立体構造変換の初期に起きる構造変化を食い止め、正常型を安定化することにより、このスイッチが入らないようにすることが出来る可能性がある。NMRで明らかになったような揺らぎの多い部位を、三次元立体構造上にマッピングすると、そのような残基はプリオンの特定の部位に集中していることが分かった。

これらの情報に基づいて、我々は、ACDSCデータベースを用いて、*in silico*スクリーニングを行い、同部位に特異的に結合し、プリオンの構造変換を阻止する化合物を発見することが出来た（図9）。

図9: プリオン構造変換阻止化合物の同定

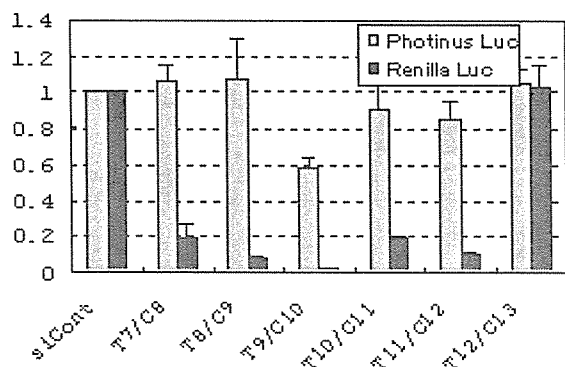


このような抗プリオン作用のメカニズムを、上述のシミュレーション結果と比較した結果、正常型において近接しているが、異常型において遠く離れているようなアミノ酸残基に水素結合を架けるような薬剤が、有効であるらしいという示唆が得られた。

「RNAiを用いた新たなプリオン病治療・予防法の開発」（北條）

まず、モデルアリルとして、APP遺伝子のSwedish型変異（アミノ酸変化を伴う2塩基変異）を選択し、評価システムを検討した結果（図10）、設計した一つのsiRNA [siAPP(T12/C13)]を除いて変異アリルに対する発現抑制が観察された。一方、それらのsiRNAの正常型アリルに対する影響は、ほとんど影響を与えないものから中程度(40%程度)の発現抑制を誘導するものと様々な影響が観察された。

図10: siRNAによるアリル特異的な抑制効果



我々はさらに、改良型siRNAを用いて、アリル特異的RNAi誘導が改善されるか否かについても検討した。今回テストした改良型siRNAは、Fork-siRNAで、センス鎖の3'末端に mismatchesを導入しアンチセンス鎖とのアニリングを阻害したsiRNA二量体である。このFork型siRNAは従来型のsiRNAと比べてRNAiを強く誘導することが知られている。このFork-siRNAを用いてSwedish型変異アリルに対する発現抑制効果の亢進、そして、正常型アリルに対するオフターゲット効果の減少が誘導されるか否かを調べた。その結果、Swedish型変異アリルでは全体的にアリル特異的RNAi活性が高まり、さらに、従来型のsiRNAではRNAi活性を誘導することができなかったsiAPP(T12/C13)においても、Fork型にすることでアリル特異的RNAi活性が誘導された。

この評価システムを用いて、プリオン遺伝子の変異アリルに対するアリル特異的ノックダウンを誘導するsiRNAについて検討した。ターゲットとした変異型アリルは、Gerstmann-Straeussler syndrome(GSS)と関連するP102LとP105L変異、そしてCreutzfeld-Jakob病(CJD)と関連するD178N変異である。それぞれアミノ酸置換を伴う一塩基の変異アリルである。これらの変異型アリルに対する

siRNAを設計し、その効果を上記の簡易システムを用いて検討した。その結果、設計した一部のsiRNAは、変異型アリルと正常型アリルを識別し、変異型アリルに対するノックダウン効果を持つことが示された。我々は、さらに、正常型アリルとの識別を増強するためにsiRNA配列内に mismatchesを導入し、それによる効果も検討した。その結果、一部の mismatches配列の導入は、アリル特異的ノックダウン効果を強めることが示唆された。

D. 考察

プリオン病の高感度診断法に関しては、PrP^{Sc}抗体等の同定を目指す他の研究グループとは一線を画し、我々は凝集性蛋白質の抗原提示能を飛躍的に改善する手法を開発したが、今後は抗体側の改善手法と組み合わせることで更なる高感度検出法を確立していく必要がある。日本にとどまらず、欧州、北米大陸において、既に牛海綿状脳症(BSE)や変異型CJDの問題は重大な社会問題となっている。今回の高感度検出法を診断に応用していくことは、大きな社会的意義を有する。

また、プロテオーム解析の主役は、液体クロマトグラフィー(LC)と質量分析計(MS/MS)の組み合わせであるが、試料調整の段階において、対象となる生体細胞・組織の構成タンパク質群の難溶性、高凝集性が大きな課題となっている。従って、異常凝集体に限らず、膜蛋白質を多く含む解析試料をアンフォルジンにより事前処理することで、この問題の改善につながるかもしれない。

高感度診断法の開発と共に、プリオン病治療・予防法の開発は極めて重要なテーマである。今回の研究では、より有効なプリオン病の根本的治療法の開発のために、様々な角度から検討を行った。しかしながら、現状の効

率を考えた場合、未だ単一手法のみで十分な診断・治療法が確保できるとは言えない状況にある。

NMRにより正常型プリオンの立体構造が決定されてからおよそ10年経過したが、病原性を形成する立体構造変換に関わるメカニズムは未だ理解されていない。本研究は、正常プリオンの立体構造安定性が、異常プリオンへの構造変換と深い関わりがあることを世界で始めて実証したものである。グローバルな揺らぎ及び熱安定性に関わる情報が、原子分解能で得られたことは、今後のプリオン病治療薬開発に向けての大きな手がかりになる、と考えられる。

プリオンの立体構造変換過程を、様々な物理化学的方法により測定することは、現在の技術で可能である。また、粗視化したモデルを用いて、実験結果と組み合わせることにより、原子レベルで構造変換の全容を理解することが可能であると考えられる。またこのような厳密な情報を得ることより、より有効な論理的治療薬開発が可能になるであろう。

プリオン病の進行を阻止する試みは、国内外において広く精力的に試みられてきた。特に近年、既に存在する薬剤、化合物等を幅広く網羅的にスクリーニングすることで、効果的なプリオン病治療薬を同定しようとする試みがなされてきており、一定の効果を挙げている。しかしながら、プリオン病の根本的治療法の開発に関しては、未だ有効な報告は認められず、ヒトプリオン病に対する効果的な根本的治療法・予防法の開発は急務である。

我々は、プリオン病の治療として、PrP^Cやプリオン生成補助因子との反応部位等、複数の標的を狙う「複合療法」が効果的であると

考えており、既に「ドミナントネガティブ効果を有する防御型プリオン蛋白質」や「抗プリオン抗体」を同定し、治療法への応用を検討してきたが、今回の研究においては、複合療法への準備として、アンフォルジン（八谷）、治療化合物（桑田）、RNAi（北條）等の単独での有効性を検討した。また、PrP^{Sc}を直接的標的とするアンフォルジンは全く新しいクラスを形成する分子と考えられるため、少なくとも我々の知る限りにおいては、同様の研究は国内外において存在しない。

既にHIV感染症や、悪性腫瘍の治療法においては、複数の薬剤による複合療法が実用化され、治療効果の向上、副作用の軽減に大きな成果を挙げている。今後は、これらの手法の組み合わせによる相加、相乗効果について検討していく必要がある。

E. 結論

- 1) アンフォルジンによる BSE プリオンを含む異常凝集蛋白質の抗原抗体反応による検出感度を大幅に改善する手法を確立した。BSE プリオンなどの高感度診断法開発が期待される。
- 2) アンフォルジンの極めて高度の解きほぐし活性に対する活性調節機構を付加する事によって、プリオン病を含む、いわゆる蛋白質凝集病の治療法への可能性が示唆された。
- 3) ヒトやマウスにおいてもアンフォルジンのホモログが ubiquitous に発現していることを発見した。これらはプリオンの複製に関与する新たな因子である可能性も推測される。
- 4) プリオン分子のダイナミクス情報に基づき、in silicoでの創薬スクリーニングのシ

ステムを確立し、プリオン蛋白質の構造変換を阻止する化合物を発見した。

- 5) 家族性プリオン病の発症予防に着目し、正常アリルは抑制せずに変異アリルのみを抑制するアリル特異的RNAi手法を確立した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hachiya NS, Watanabe K, Sakasegawa Y, Kaneko K: Microtubules-associated intracellular localization of the NH₂-terminal cellular prion protein fragment. *Biochem Biophys Res Commun.* 13:818-823, 2004
- 2) Tremblay P, Ball HL, Kaneko K, Groth D, Hegde RS, Cohen FE, DeArmond SJ, Prusiner SB, Safar SJ: Mutant PrP^{Sc} Conformers Induced by a Synthetic Peptide and Several Prion Strains. *J Virol.* 78:2088- 2099, 2004
- 3) Hachiya NS, Watanabe K, Yamada M, Sakasegawa Y, Kaneko K: Anterograde and retrograde intracellular trafficking of fluorescent cellular prion protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 315:802-807, 2004
- 4) Kishida H, Sakasegawa Y, Watanabe K, Yamakawa Y, Nishijima M, Kuroiwa Y, Hachiya NS, Kaneko K: Non-glycosylphosphatidylinositol (GPI) -anchored recombinant prion protein with dominant-negative mutation inhibits PrP^{Sc} replication *in vitro*. *Amyloid.* 11:14-20 2004
- 5) Hachiya NS, Sakasegawa Y, Jozuka A, Tsukita S, Kaneko K: Interaction of D-lactate dehydrogenase protein 2 (Dld2p) with F-actin: Implication for an alternative function of Dld2p. *Biochem Biophys Res Commun.* 319:78-82, 2004
- 6) Hachiya NS, Sakasegawa Y, Sasaki H, Jozuka A, Tsukita S, Kaneko K: Oligomeric Aip2p/Dld2p forms a novel grapple-like structure and has an ATP-dependent F-actin conformation modifying activity *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun.* 320:1271-1276, 2004
- 7) Hachiya NS, Sakasegawa Y, Sasaki H, Jozuka A, Tsukita S, Kaneko K: Oligomeric Aip2p/Dld2p modifies the protein conformation of both properly-folded and misfolded substrates *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun.* 323:339-344, 2004
- 8) Hachiya NS, Yamada M, Watanabe K, Jozuka A, Ohkubo T, Sano K, Takeuchi Y, Kozuka Y, Sakasegawa Y, Kaneko K: Mitochondrial localization of cellular prion protein (PrP^C) invokes neuronal apoptosis in aged transgenic mice overexpressing PrP^C. *Neurosci Lett.* 374:98-103, 2005
- 9) Hachiya NS, Watanabe K, Kawabata MY, Jozuka A, Ohkubo T, Kozuka Y, Sakasegawa Y, Kaneko K: Prion protein with Y145STOP mutation induces mitochondria-mediated apoptosis and PrP-containing deposits *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun.* 327:894-899, 2005
- 10) Tamura Y, Sakasegawa Y, Omi K, Kishida H, Asada T, Kimura H, Tokunaga K, Hachiya NS, Kaneko K, Hohjoh H: Association study of the chemokine, CXC motif, ligand 1 (CXCL1) gene with sporadic Alzheimer's disease in a Japanese population. *Neurosci Lett.* 379:149-151, 2005
- 11) Noma T, Ikebukuro K, Sode K, Ohkubo T, Sakasegawa Y, Hachiya NS, Kaneko K: Screening of DNA aptamers against multiple proteins in tissue. *Nucleic Acids Symposium Series.* 49:357-358, 2005
- 12) Hachiya NS, Ohkubo T, Kozuka Y, Yamazaki M, Mori O, Mizusawa H, Sakasegawa Y,

- Kaneko K: More than a 100-fold increase in immunoblot signals of laser-microdissected inclusion bodies with an excessive aggregation property by oligomeric actin interacting protein 2/d-lactate dehydrogenase protein 2. *Anal Biochem.* 347:106-111, 2005
- 13) Omi K, Hachiya NS, Tokunaga K, Kaneko K: siRNA-mediated inhibition of endogenous Huntington disease gene expression induces an aberrant configuration of the ER network *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun.* 338:1229-1235, 2005
- 14) Kaneko K, Hachiya NS: Hypothesis: Gut as source of motor neuron toxin in the development of ALS. *Med Hypotheses.* 66:438-9, 2006
- 15) Ohkubo T, Sakasegawa Y, Toda H, Kishida H, Arima K, Yamada M, Takahashi H, Mizusawa H, Hachiya NS, Kaneko K: Three-repeat tau 69 is a major tau isoform in laser-microdissected Pick bodies. *Amyloid.* 13:1-5, 2006
- 16) Kaneko K, Hachiya NS. The alternative role of 14-3-3 zeta as a sweeper of misfolded proteins in disease conditions. *Med Hypotheses.* 67:169-171, 2006
- 17) Furuya K, Kawahara N, Yamakawa Y, Kishida H, Hachiya NS, Nishijima M, Kirino T, Kaneko K: Intracerebroventricular delivery of dominant negative prion protein in a mouse model of iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease after dura graft transplantation. *Neurosci Lett.* 402:222-226, 2006
- 18) Noma T, Ikebukuro K, Sode K, Ohkubo T, Sakasegawa Y, Hachiya NS, Kaneko K: Selection of DNA aptamers toward a specific protein in complex targets. *Biotechnol Lett.* 28:1377-1381, 2006
- 19) Ohnishi Y, Tokunaga K, Kaneko K, Hohjoh H: Assessment of allele-specific gene silencing by RNA interference with mutant and wild-type reporter alleles. *J RNAi Gene silencing.* 2:154-160, 2006
- 20) Hachiya NS, Imagawa M, Kaneko K: The possible role of protein X, a putative auxiliary factor in pathological prion replication, in regulating a physiological endoproteolytic cleavage of cellular prion protein. *Med Hypotheses*, in press
- 21) Hachiya NS, Kaneko K: Investigation of laser microdissected inclusion bodies. *Methods in Cell Biology* vol 82: Laser manipulation of cells and tissues (Berns M and Greulich KO ed.), Academic Press (New York), in press
- 22) Kuwata K, Kamatari YO, Akasaka K, James TL: Slow Conformational Dynamics in the Hamster Prion Protein. *Biochemistry.* 43:4439-4446, 2004
- 23) Kuwata K: Semi-classical quantization of protein dynamics: Novel NMR relaxation formalism and its application to prion. p.155-170, In *Prions Food and Drug Safety*, T. Kitamoto (Ed.) Springer, 2005
- 24) Kimura K, Nagaki, M, Nishihara J, Kuwata K, Moriwaki H: Role of macrophage migration inhibitory factor for CTL-induced liver injury in hepatitis B transgenic mice. *Clinical and Vaccine Immunology.* 13:415-419, 2005
- 25) Kimura K, Moriwaki, H, Nagaki, M, Saio, M, Nakamoto, Y, Naito, M, Kuwata, K, Chisari, FV: Pathogenic role of B cells in anti-CD40 caused necroinflammatory liver disease. *The American Journal of Pathology.* 168, 786-795, 2005
- 26) Soeda A, Nakashima T, Okumura A, Kuwata K, Shinoda J, Iwama T: Cognitive impairment after traumatic brain injury—a functional magnetic resonance imaging study using the

- Stroop task. *Neuroradiology*. 47:501-506, 2005
- 27) Hashimoto K, Kato Z, Nagase T, Shimozawa N, Kuwata K, Omoya K, Li A, Matsukuma E, Yamamoto Y, Ohnishi H, Tochio H, Shirakawa M, Suzuki Y, Wanders RJ, Kondo N: Molecular Mechanism of a Temperature-Sensitive Phenotype in Peroxisomal Biogenesis Disorder. *Pediatric Research*. 58:263-269, 2005
- 28) Kimura K, Nagaki M, Nishihira J, Kuwata K, Moriwaki H: Role of macrophage migration inhibitory factor for CTL-induced liver injury in hepatitis B transgenic mice. *Clin Vaccine Immunol*. 13(3):415-9, 2006
- 29) Kimura K, Moriwaki H, Nagaki M, Saio M, Nakamoto Y, Naito M, Kuwata K, Chisari FY: Pathogenic role of B cells in anti-CD40 caused necroinflammatory liver disease. *Am J Pathol*. 168(3):786-95, 2006
- 30) Sukegawa HK, Kato Z, Nakamura H, Tomatsu S, Fukao T, Kuwata K, Orii T, Kondo N: Effect of Hunter disease (mucopolysaccharidosis type II) mutations on molecular phenotypes of iduronate-2-sulfatase : Enzymatic activity, protein processing and structural analysis. *J Inherit Metab Dis*, 29:755-761, 2006
- 31) Sago N, Omi K, Tamura Y, Kunugi H, Toyoka T, Tokunaga K, Hohjoh H: RNAi induction and activation in mammalian muscle cells where Dicer and eIF2C translation initiation factors are barely expressed. *Biochem Biophys Res Commun*, 319: 50-57, 2004
- 32) Ohnishi Y., Tokunaga K., Hohjoh H.: Influence of assembly of siRNA elements into RNA-induced silencing complex (RISC) by fork-siRNA duplex carrying nucleotide mismatches at the 3'- or 5'-end of the sense-stranded siRNA element. *Biochem Biophys Res Commun*, 329: 516-521, 2005
- 33) Tamura Y., Sakasegawa Y., Omi K., Kishida H., Asada T., Kimura H., Tokunaga K., Hachiya N.S., Kaneko K., Hohjoh H.: Association study of the chemokine, CXC motif, ligand 1 (CXCL1) gene with sporadic Alzheimer's disease in a Japanese population. *Neurosci. Letters*, 379: 149-151, 2005
- 34) Ohnishi Y, Tokunaga K, Kaneko K, Hohjoh H: Assessment of allele-specific gene silencing by RNA interference with mutant and wild-type reporter alleles. *J RNAi Gene silencing*, 2: 154-160. 2006
- 35) Sakai T, Hohjoh H: Gene silencing analyses against amyloid precursor protein (APP) gene family by RNA interference. *Cell Biol Int*, 30: 952-956, 2006
- 36) Ohashi J, Naka I, Toyoda A, Takasu M, Tokunaga K, Ishida T, Sakaki Y, Hohjoh H: Estimation of the species-specific mutation rates of the DRB1 locus in human and chimpanzee. *Tissue Antigens*, 68: 427-431, 2006
- 37) Kawashima M, Tamiya G, Oka A, Hohjoh H, Juli T, Ebisawa T, Honda Y, Inoko H, Tokunaga K. Genome-wide association analysis of human narcolepsy and a new resistance gene. *Am J Hum Genet*, 79: 252-263, 2006
- 38) 金子清俊: BSE-最新の知見. *日本医事新報*. 4165:46-51, 2004
- 39) 八谷如美, 金子清俊: プリオン病の現況と将来. *Current Concepts in Infectious Disease*. 23:18-19, 2004
- 40) 八谷如美, 金子清俊: プリオン病治療の新たな可能性. *バイオインダストリー*. 21:60-66, 2004

- 41) 金子清俊: BSE (牛海綿状脳症) とその食へのリスクについて. 日本食肉加工情報. 647:19-29, 2004
- 42) 八谷如美, 金子清俊: BSEとプリオンの増殖・感染機構. 蛋白質・核酸・酵素. 49:1005-1007, 2004
- 43) 八谷如美, 金子清俊: プリオン病とミトコンドリアの接点. 医学のあゆみ. 209:1015-1017, 2004
- 44) 金子清俊: プリオン病. 小児内科. 36:1166-1169, 2004
- 45) 金子清俊: プロテオミクスによる神経疾患の病態解析. 神経研究の進歩. 48:700-706, 2004
- 46) 金子清俊: ウシ海綿状脳症 (BSE). 現代化学. 404:32-36, 2004
- 47) 金子清俊: 牛海綿状脳症/プリオン病. 日本内科学会雑誌. 93:2363-2368, 2004
- 48) 金子清俊: プルシナー論文を読む コッホの四原則を証明. 現代化学. 404:39, 2004
- 49) 金子清俊: BSE 検査. 日本医事新報. 4200:88-89, 2004
- 50) 逆瀬川裕二, 八谷如美, 金子清俊: プリオン病. 国立医療学会誌「医療」. 58:658-660, 2004.
- 51) 金子清俊: 牛海綿状脳症/プリオン病. 日本内科学会雑誌. 93:2363-2368, 2004.
- 52) 八谷如美, 金子清俊: プリオン病の治療-現状と将来展望-. Annual Review2005 神経. 柳沢信夫, 篠原幸人, 岩田誠, 清水輝夫, 寺本明編. 中外医学社 (東京), 4:90-95, 2005.
- 53) 金子清俊: 不思議なプリオン病. 脳はどこまでわかったか. 朝日選書 771. 井原康夫編, 朝日新聞社 (東京), 2005.
- 54) 金子清俊: クロイツフェルト・ヤコブ病. 臨床と微生物. 32:69-72, 2005.
- 55) 八谷如美, 金子清俊: 新しいシャペロンの発見 - 神経難病の治療へ-. 科学. 75:283-285, 2005.
- 56) 八谷如美, 金子清俊: プリオン研究の進展. VIRUS REPORT. 2:14-19, 2005.
- 57) 金子清俊: vCJD (変異型クロイツフェルト・ヤコブ病). 日本評論社「からだの科学」. 244:95, 2005.
- 58) 金子清俊: BSE と食の安全. 日本薬剤師会雑誌. 57:81-84, 2005
- 59) 金子清俊: 科学と行政 - 科学者と BSE 対策 -. 現代化学. 416:60-63, 2005
- 60) 八谷如美, 金子清俊: プリオン病の現状-牛海綿状脳症と変異型 CJD を中心に-. LABIO 21. 22:5-10, 2005.
- 61) 八谷如美, 金子清俊: 牛海綿状脳症 (BSE) と変異型 CJD. Bios. 10:7-8, 2005.
- 62) 金子清俊: プリオン病に挑むアンフォルジン. 東京医科大学雑誌. 63:443-449, 2005
- 63) 金子清俊: 理系の説明責任. BSE 問題をめぐって. 科学. 76:52-55, 2006
- 64) 八谷如美, 金子清俊: プリオン蛋白質異常化の分子機構. 化学療法の領域. 22:63-68, 2006
- 65) 金子清俊: 牛海綿状脳症と変異型クロイツフェルト・ヤコブ病. TMDC MATE. 242:12-13, 2006
- 66) 金子清俊: プリオン病 - 牛海綿状脳症 (BSE) と変異型クロイツフェルト・ヤコブ病 -. BRAIN. 83:4-5, 2006
- 67) 金子清俊: 食について考える - 「安全」と「安心」とは -. 建設労働の広場. 59:52-56, 2006
- 68) 金子清俊, 神田敏子, 水澤英洋, 山内一也. BSE の危険度はどこまでわかったのか - 何が問われるべきか-. 科学, 76:1105-1112, 2006.

- 69) 八谷如美, 金子清俊: 正常型プリオンたんぱく質の正体は? - その推定される機能 -. 現代化学. 422:26-31, 2006
- 70) 八谷如美, 金子清俊: プリオンたんぱく質は正常人では何をしているのか? 科学, 76:1138-1142, 2006
- 71) 八谷如美, 金子清俊: 正常 Prion 蛋白の機能と異常化 (感染) のメカニズム. Brain Medical, 印刷中
- 72) 八谷如美, 金子清俊. 正常 Prion 蛋白とその機能. 日本臨床, 印刷中
- 73) 桑田一夫: プリオン中間体と治療薬開発 - 分子感染機構と創薬制御. 蛋白質 核酸 酵素. 49:1110-1112, 2004
- 74) 桑田一夫, 副田明男, 岩間亨, 桑田弘美, 中島年彦: f MRI による高次脳機能障害の診断法及び各種治療法の開発. 岐阜脳医学研究会報告集. 1, 2004
- 75) 桑田一夫: 素数とプリオン-21 世紀における生命科学の新表現理論への挑戦. 数理科学. 499:45-53, 2005
- 76) 桑田一夫: プリオンタンパク質, 「タンパク質科学」, 化学同人, 315-330, 2005
- 77) 桑田一夫: 連載“話題のウイルス” NO.12 プリオン. Drug Delivery System (DDS). 21:156-157, 2006
- 78) 桑田一夫: 20 世紀の 2 大発見 - 量子力学と分子生物学, 『論理的創薬入門 - 構造生物学に基づくアプローチ』桑田一夫 編著, 共立出版 (東京), 9-24, 2006
- 79) 桑田一夫: フーリエ変換とタンパク室・核酸の基本立体構造, 『論理的創薬入門 - 構造生物学に基づくアプローチ』桑田一夫 編著, 共立出版 (東京), 25-49, 2006
- 80) 桑田一夫: タンパク室・核酸の構造ダイナミクス, 『論理的創薬入門 - 構造生物学に基づくアプローチ』桑田一夫 編著, 共立出版 (東京), 91-108, 2006
- 81) 桑田一夫: 計算機実験の基礎, 『論理的創薬入門 - 構造生物学に基づくアプローチ』桑田一夫 編著, 共立出版 (東京), 137-145, 2006
- 82) 桑田一夫: 分子構造と生理機能, 『論理的創薬入門 - 構造生物学に基づくアプローチ』桑田一夫 編著, 共立出版 (東京), 168-181, 2006
- 83) 桑田一夫: タンパク質の構造異常, 『論理的創薬入門 - 構造生物学に基づくアプローチ』桑田一夫 編著, 共立出版 (東京), 182-194, 2006
- 84) 桑田一夫: タンパク質のコンホメーション制御 - 分子手術法, 『論理的創薬入門 - 構造生物学に基づくアプローチ』桑田一夫 編著, 共立出版 (東京), 195-209, 2006
- 85) 桑田一夫: プリオン病の発症と伝播機構 - 特集 アミロイドの謎は解けるか? : プリオン病・アルツハイマー病・透析アミロイドーシスなどの病態を紐解く - 山口圭一, 松本友治, 児玉耕太, 岸直人, 桑田一夫 細胞工学, 26(2):151-155, 2007
- 86) 桑田一夫: アミロイドーシス発症の分子機構解明を目指して: 現状と展望, 夢 - 特集 アミロイドの謎は解けるか? : プリオン病・アルツハイマー病・透析アミロイドーシスなどの病態を紐解く - 後藤祐児, 桑田一夫, 関島良樹, 田中元雅, 内木宏延, 永井義隆, 松崎勝巳, 樋口京一 細胞工学, 26(2):181-185, 2007
- 87) 北條浩彦: 神経・筋疾患治療への RNAi 応用. 神経治療学, 23: 31-36. 2006
- 88) 北條浩彦: RNAi 効果の評価法. バイオテクノロジージャーナル, 6: 51-57. 2006
2. 学会発表
- 1) Hachiya NS, Yamada M, Watanabe K, Jozuka A, Ohkubo T, Kozuka Y, Sakasegawa Y, Kaneko K: Mitochondrial localization of

- cellular prion protein (PrP^C) invokes neuronal apoptosis in aged transgenic mice overexpressing PrP^C. International Symposium of Prion Diseases in Sendai JAPAN. Sendai, Oct 31-Nov 2, 2004
- 2) Hachiya NS, Yamada M, Jozuka A, Kozuka Y, Sakasegawa Y, Kaneko K: Prion disease and protein unfolding chaperone:Unfoldin/Oligomeric Aip2p. International Symposium of Prion Diseases in Sendai, JAPAN. Sendai, Oct 31-Nov 2, 2004
 - 3) Hachiya NS, Watanabe K, Sakasegawa Y, Kaneko K: Anterograde and retrograde intracellular trafficking of fluorescent cellular prion protein. International Symposium of Prion Diseases in Sendai JAPAN. Sendai, Oct 31-Nov 2, 2004
 - 4) Sakasegawa Y, Kishida H, Watanabe K, Hachiya NS, Kaneko K: A non-glycosylphosphatidylinositol (GPI) -anchored recombinant prion protein with dominant negative mutation inhibits PrP^{Sc} replication *in vitro*. International Symposium of Prion Diseases in Sendai JAPAN. Sendai, Oct 31-Nov 2, 2004
 - 5) Iwanami N, Sankawa U, Saido TC, Yamakawa Y, Nishijima M, Kaneko K: Screening study of prion binding agents and their inhibitory effect on the conversion of prion protein. International Symposium of Prion Diseases in Sendai JAPAN. Sendai, Oct 31-Nov 2, 2004
 - 6) Tamura Y, Kunugi H. , Kaneko K, Hohjoh H: Analyses of epigenetic DNA methylation in the human genome. 54th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics. Toronto, Canada, 2004
 - 7) Hachiya NS, Yamada M, Jozuka A, Sakasegawa Y, Kaneko K: Prion disease and Unfoldase:an ATP-dependent novel protein-unfolding chaperone. KEYSTONE SYMPOSIA:Molecular Mechanisms of Transmissible Spongiform Encephalopathies. Colorado, Jan 11-15, 2005
 - 8) Kaneko K, Yamada M, Watanabe K, Jozuka A, Ohkubo T, Sakasegawa Y, Hachiya NS: Mitochondrial localization of cellular prion protein (PrP^C) invokes neuronal apoptosis in aged transgenic mice overexpressing PrP^C. KEYSTONE SYMPOSIA:Molecular Mechanisms of Transmissible Spongiform Encephalopathies. Colorado, Jan 11-15, 2005
 - 9) Ohnishi Y, Omi K, Tamura Y, Tokunaga K, Kaneko K, Hohjoh H: Evaluation system for siRNA duplexes conferring allele-specific gene silencing. Diverse role RNA in gene regulation, Keystone Symposia. Breckenridge, Colorado, 2005
 - 10) Hachiya NS, Yamada M, Jozuka A, Sakasegawa Y, Kaneko K: Prion disease and Unfoldase chaperone:an ATP-dependent novel protein-unfolding chaperone. 30th FEBS & 9th IUBMB Conference:The Protein World. Budapest, July 2-7, 2005
 - 11) Noma T, Ikebukuro K, Sode K, Ohkubo T, Sakasegawa Y, Hachiya NS, Kaneko K: *In vitro* selection of DNA aptamers against proteins in tissue. Second World Congress on Synthetic Receptors. Zalzburg, Sept 7-9, 2005
 - 12) Noma T, Ikebukuro K, Sode K, Ohkubo T, Sakasegawa Y, Hachiya NS, Kaneko K: Screening of DNA aptamers against multiple proteins in tissue. The 4th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (SNAC2005). Fukuoka, Sept 20-22, 2005
 - 13) Kaneko K: Diagnostic application of a novel protein unfolding chaperone (Unfoldin) in protein aggregation disorders. The 1st International Symposium on Geriatrics and

- Gerontology. Nagoya, Nov 3, 2005
- 14) Hachiya NS, Ohkubo T, Kozuka Y, Sakasegawa Y, Kaneko K: Over a hundredfold increase in immunoblot signals of laser-microdissected inclusion bodies with an excessive aggregation property by oligomeric Aip2p/Dld2p. 45th American Society for Cell Biology Annual Meeting. San Francisco, Dec 10-14, 2005
 - 15) Kozuka Y, Kaneko K, Watanabe K, Hachiya NS: Ultrastructural analyses of two novel microorganisms from deep sea suggesting the presence of intermediate organisms between prokaryotes and eukaryotes. The 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and the 11th FAOBMB Congress. Kyoto, June 18 - 23, 2006
 - 16) Omi K, Hachiya NS, Tokunaga K, Kaneko K: Identification of N-terminal residues that is indispensable for the aggregate formation with polyglutamine-expanded Huntingtin protein. The 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and the 11th FAOBMB Congress. Kyoto, June 18 - 23, 2006
 - 17) Imagawa M, Kozuka Y, Omi K, Watanabe K, Hachiya NS, Kaneko K: Ultrastructural analysis of the aberrant endoplasmic reticulum network in Huntington protein-depleted neuro2a cells. The 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and the 11th FAOBMB Congress. Kyoto, June 18 - 23, 2006
 - 18) Iwanami N, Sankawa U, Yamakawa Y, Nishijima M, Kaneko K, Saido TC: Chlorophyll derivatives inhibit the conversion of prion protein. The 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and the 11th FAOBMB Congress. Kyoto, June 18 - 23, 2006
 - 19) Kozuka Y, Kaneko K, Watanabe K, Hachiya NS: Ultrastructural analysis of two microorganisms from deep sea suggesting the presence of intermediate of organisms between prokaryotes and eukaryotes. The 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and the 11th FAOBMB Congress. Kyoto, June 18 - 23, 2006
 - 20) Hachiya NS, Watanabe K, Imagawa M, Kaneko K: More than a thousand-fold increase in immunoblot signals of laser-microdissected inclusion bodies with an excessive aggregation property by oligomeric Aip2p/Dld2p. 10th International Symposium on the Genetics of Industrial Microorganisms. Prague, June 24-28, 2006
 - 21) Kiyotoshi Kaneko: Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) and variant CJD. National Assembly Compound, Seoul, Nov 23, 2006
 - 22) Hachiya NS, Kaneko K: Intracellular Trafficking of Fluorescent Cellular Prion Protein in Differentiated Cells: Selective but Constant Reduction of Anterograde Velocity in the Neurites. 46th American Society for Cell Biology Annual Meeting. San Diego, Dec 9-14, 2006
 - 23) Kuwata K, Nishida N, Shirabe S, Katamine S: The-35 discovery of a new drug capable of inhibiting PrP* and PrPRes formation. First International Conference of the European Network of Excellence NeuroPrion. Paris, France, 2004
 - 24) Kuwata K: Slow conformational dynamics of prion protein revealed through NMR measurement. The Awaji International

- Forum on Infection and Immunit. Awaji Island, Hyogo, Japan, 2004
- 25) Kuwata K, Nishida N, Shirabe S, Katamine S: Drug discovery for prion diseases based on the structural dynamics of prion protein. Neuro 2004- Joint Meeting of the 27th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society and the 47th Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry. Osaka, Japan, 2004
- 26) Kuwata K: Slow dynamics of prion protein. International Symposium Prion Diseases Food and Drug Safety. Sendai, Oct 31-Nov 2, 2004
- 27) Kuwata K: Pressure-induced conformational change of mouse prion. Dialysis-related amyloidosis: from molecular mechanisms to therapies. 1st Italian-Japanese Workshop, Italy, Dec 9-13, 2004
- 28) Kuwata K: Drug discovery based on the structural dynamics of prion. Chem-Bio Informatics Society YEAR 2005. Yokohama, Aug 24-26, 2005
- 29) Kuwata K: EMBO-FEBS Workshop on Amyloid Formation. Italy, Mar 25-28, 2006
- 30) Kuwata K: Dynamics Based Drug Design for Prion Diseases. Fifth East Asia Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan. Okinawa, Nov 12-16, 2006
- 31) Omi K, Tokunaga K, Hohjoh H: RNAi induction in mammalian neurons and muscle cells. 54th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Toronto, Ontario, 2004
- 32) Kawashima M, Ikuta T, Tamiya G, Hohjoh H, Juji T, Honda Y, Inoko H, Tokunaga K: Fine mapping of candidate regions for human narcolepsy with high density markers. 54th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Toronto, Ontario, 2004
- 33) Kawashima M, Tamiya G, Hohjoh H, Juji T, Ebisawa T, Honda Y, Inoko H, Tokunaga K: A new resistant gene candidate for human narcolepsy identified by a genome-wide association study. 55th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Salt Lake City, Utah, USA, 2005
- 34) Ohnishi Y, Yoshida M, Tamura Y, Tokunaga K, Kimura H, Hohjoh H: Assessment of allele-specific gene silencing by siRNA duplexes and short hairpin RNAs with wild and mutant-type reporter alleles. 56th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, New Orleans, Louisiana, USA, 2006
- 35) Ohnishi Y, Tokunaga K, Hohjoh H: Evaluation assay system for siRNA duplexes conferring allele-specific gene silencing. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, 2006
- 36) 金子清俊: プリオン蛋白質の複製に関与する因子. 産業総合研究所特別セミナー. 東京, 4.7, 2004
- 37) 金子清俊: プリオンたんぱく質の細胞内輸送と細胞死のメカニズム. 第8回日本神経ウイルス研究会. 札幌, 6.12, 2004
- 38) 金子清俊: プリオン蛋白質の複製に関与する因子. 産業総合研究所特別セミナー. 東京, 4.7, 2004
- 39) 金子清俊: プリオンたんぱく質の細胞内輸送と細胞死のメカニズム. 第8回日本神経ウイルス研究会. 札幌, 6.12, 2004
- 40) 金子清俊: BSE とクロイツフェルト・ヤコブ病. 第13回PCR感染症検査研究会. 東京, 6.25, 2004
- 41) 大久保卓哉, 逆瀬川裕二, 有馬邦正, 山田光則, 水澤英洋, 八谷如美, 金子清俊: Pick

- 小体の構成成分の同定;神経変性疾患における細胞内封入体形成メカニズムの解明. 第 45 回日本神経学会. 横浜, 5.14, 2004
- 42) 金子清俊: 牛海綿状脳症 (BSE) と人変異型クロイツフェルト・ヤコブ病. 全国消費者団体連絡会. 東京, 8.27, 2004
- 43) 八谷如美, 定塚昌子, 逆瀬川裕二, 金子清俊: プリオン病と蛋白質アンフォールディング因子;Unfoldin. 第 27 回神経科学会・第 47 回日本神経化学会大会. 大阪, 9.21-23, 2004
- 44) 渡邊光太, 八谷如美, 定塚昌子, 逆瀬川裕二, 金子清俊: 正常型プリオン蛋白質の細胞内輸送機構の解析. 第 27 回神経科学会・第 47 回日本神経化学会大会. 大阪, 9.21-23, 2004
- 45) 逆瀬川裕二, 八谷如美, 金子清俊: HSP90β による正常型プリオン蛋白質高次構造変換機構の解析. 第 27 回神経科学会・第 47 回日本神経化学会大会. 大阪, 9.21-23, 2004
- 46) 金子清俊, 山田真紀子, 定塚昌子, 大久保卓也, 逆瀬川裕二, 八谷如美: プリオン蛋白質過剰発現老齡トランスジェニックマウスに於けるミトコンドリア由来アポトーシス機構. 第 27 回神経科学会・第 47 回日本神経化学会大会. 大阪, 9.21-23, 2004
- 47) 金子清俊: 牛海綿状脳症 (BSE) と人変異型クロイツフェルト・ヤコブ病. 日本農芸化学会関東支部大会. 東京, 10.2, 2004
- 48) 金子清俊: プリオン病. 福島県立医科大学脳神経外科学教室招待講演. 福島, 10.21, 2004
- 49) 八谷如美, 山田真紀子, 渡邊光太, 定塚昌子, 逆瀬川裕二, 金子清俊: プリオン蛋白質過剰発現によるミトコンドリア由来神経細胞死機構. 第 77 回日本生化学会大会. 横浜, 10.13-16, 2004
- 50) 金子清俊, 山田真紀子, 定塚昌子, 大久保卓也, 逆瀬川裕二, 八谷如美: プリオン蛋白質過剰発現老齡トランスジェニックマウスにおけるミトコンドリア由来神経細胞死. 第 77 回日本生化学会大会. 横浜, 10.13-16, 2004
- 51) 逆瀬川裕二, 岸田日帯, 渡邊光太, 八谷如美, 金子清俊: リコンビナントプリオン蛋白質のドミナントネガティブ効果による異常感染型プリオン感染機構の解析. 第 77 回日本生化学会大会. 横浜, 10.13-16, 2004
- 52) 金子清俊: Unfoldin –治療法への応用-. 国際ヤコブデー. 東京, 11.12, 2004
- 53) 金子清俊: Prion disease: Physiology and pathological aspects of prion protein and therapeutics. Amyloidosis: Genetics, Biochemistry, Pathology and Clinical studies. 熊本, 2.10-11, 2005
- 54) 金子清俊: Cellular prion protein: Intracellular trafficking and mitochondria-mediated neuronal apoptosis. 京都大学ウイルス研究所コロキウム「膜輸送研究の新展開」. 京都, 2.10-11, 2005
- 55) 金子清俊: 人変異型クロイツフェルト・ヤコブ病 (vCJD). 東京都獣医師会都民公開シンポジウム. 東京, 3.12, 2005
- 56) 金子清俊: プリオン病の謎に挑む. 信州大学ヒト環境科学研究支援センター主催セミナー. 松本, 3.18, 2005
- 57) 岩浪直子, 三川潮, 西道隆臣, 山河芳夫, 西島正弘, 金子清俊: プリオン結合物質によるプリオン蛋白質構造変換阻害効果. 2005 年度日本農芸化学会大会. 札幌, 3.28-30, 2005
- 58) 金子清俊: 牛海綿状脳症 (BSE) と人変異型クロイツフェルト・ヤコブ病. 第 59 回日本栄養・食料学会大会. 東京, 5.16, 2005
- 59) 金子清俊: 牛海綿状脳症 (BSE) と人変異型クロイツフェルト・ヤコブ病. 日本労働組合連合会. 東京, 6.28, 2005