

培養上清中の HIV-1 p24CA 量を ELISA で定量するとともに、細胞内 Gag 蛋白を Western blot で解析した。

(倫理面への配慮)

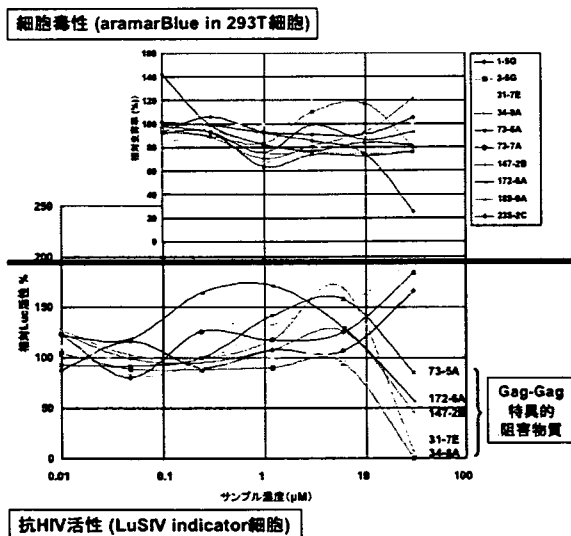
本研究では HIV 患者からの臨床材料を用いた実験を含まないため、生命倫理に対する措置を講じなかった。実験遂行上の安全対策は、遺伝子組換え実験については二種省令・二種告示に従った。

### C. 研究結果

1) LuSIV 細胞細胞を用いた候補化合物の抗 HIV 活性の評価

昨年度、酵母 CytoTrap Two Hybrid 法を利用した Gag-Gag 相互作用反応系を用いて約 20,000 個の低分子化合物ライブラリ (10 $\mu$ M) を探索し、酵母での相互作用を阻害する 10 個の候補化合物 (Gag-Gag 特異的阻害物質 6 化合物、非特異的阻害物質 3 化合物、酵母毒性物質 1 化合物) を見いだした。本年度はまずこれら 10 個の化合物 (30 $\mu$ M から段階希釈) の抗 HIV 活性を LuSIV 細胞すなわち HIV の感染を luciferase reporter 活性として定量できるヒト T リンパ球系培養細胞を用いて調べた。いずれの化合物も低濃度では効果がなかったが、30 $\mu$ M では 2-5G、31-7E、34-8A、147-2B、172-6A に抗 HIV 活性が認められた。293T 細胞に対する細胞毒性を alamarBlue で調べたが、それらの化合物は 30 $\mu$ M でも細胞毒性はなかった (図 1)。

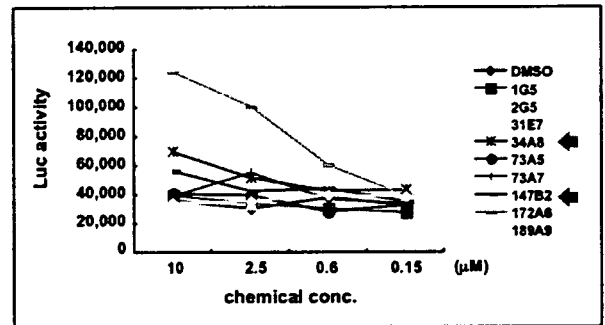
図1、候補化合物の細胞毒性と抗HIV活性



2) MT-4 Luc 細胞を用いた候補化合物の抗 HIV 活性の評価

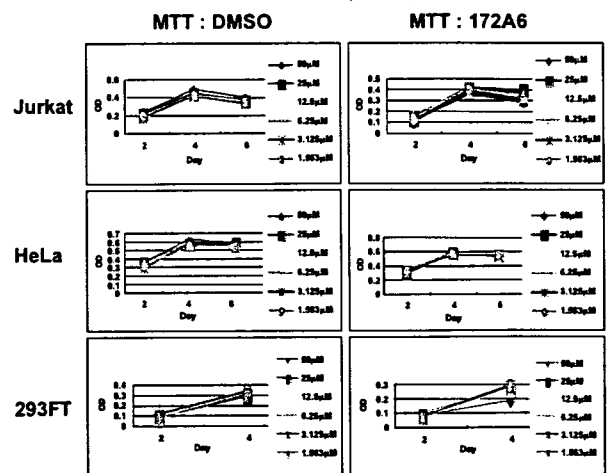
上記の 9 化合物 (10 $\mu$ M から段階希釈) の抗 HIV 活性を HIV-1 (HXB2 株) 感染 MT-4 Luc 細胞を用いて調べた。MT-4 Luc 細胞は恒常的に luciferase を発現する細胞であり、HIV 増殖によりその luciferase 値が低下する。この細胞を用いて調べたところ、化合物 172A6 と 34A8 に濃度依存的な抗 HIV 活性が認められた。172A6 の方が有望と思われたが、それでもその IC50 は 25-50 $\mu$ M と高く、NFV や EFV と比べると約 500-1000 倍であった (図 2)。

図2、HIV感染MT-4 Luc細胞における候補化合物の抗HIV活性



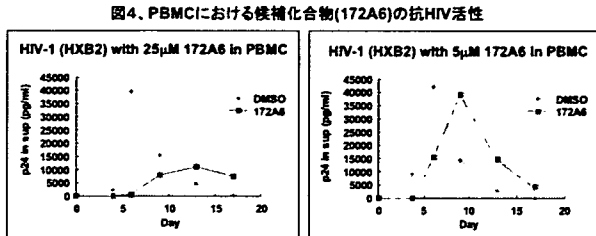
MTT アッセイにより 172A6 の Jurkat, HeLa, 293FT 細胞に対する細胞毒性を調べた。50 $\mu$ M では、293FT 細胞でわずかに値の低下が認められたが、Jurkat, HeLa 細胞では認められなかった (図 3)。

図3、MTTアッセイによる候補化合物(172A6)の細胞毒性の評価



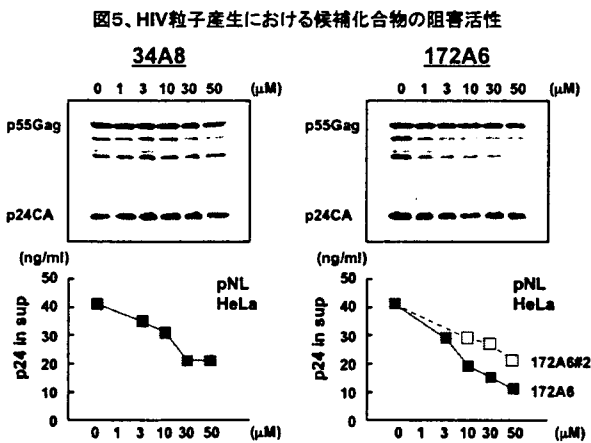
3) 末梢血単核球を用いた候補化合物の抗 HIV 活性の評価

HIV-1 (HXB2 株) を感染させた末梢血単核球に 172A6 を 5, 25 $\mu$ M で添加して培養し、経時的に培養上清中の HIV 粒子産生量を ELISA で調べた。25 $\mu$ M 添加では HIV 産生は顕著に低下し、5 $\mu$ M 添加でも HIV の増殖遅延が認められた (図 4)。



#### 4) 抗 HIV 候補化合物の作用機作

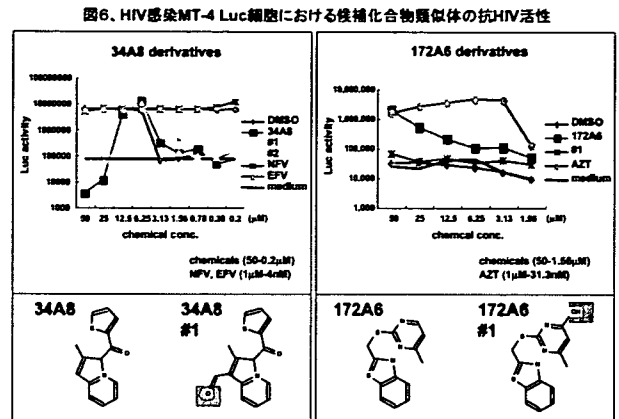
HeLa 細胞に pNL43 を transfection し、3-50 $\mu$ M の 34A8 と 172A6 をそれぞれ添加して培養した。Western blotting で細胞内 Gag 発現を調べたところ、いずれの候補化合物も Gag 蛋白発現を阻害しなかったが、172A6 では Gag 蛋白のプロセッシングパターンに変化 (p55Gag 蛋白の切断反応中間体である p41(MA-CA) や p46(MA-CA-NC) の減少) が認められた。粒子産生量を ELISA で定量したところ、いずれの候補化合物も濃度依存的に粒子産生を阻害したが、その活性は 172A6 の方が強かった (図 5)。



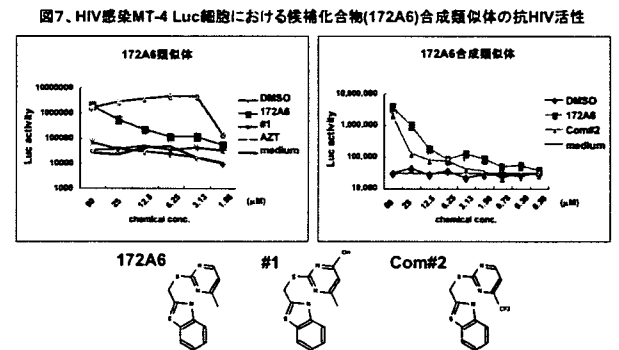
#### 5) 抗 HIV 候補化合物の類似体と化学修飾

候補化合物 172A6 と 34A8 や 147B2 には構造類似性が認められた。そこで、これら候補化合物の IC<sub>50</sub> 値を改善するため、Enamine 社の化合物ライブラリから構造類似体 (34A8 に O 基が導入

された 34A8#1 と 172A6 に OH 基が導入された 172A6#1) を入手した。HIV 感染の MT-4 Luc 細胞を用いて抗 HIV 活性を調べたところ、それらの類似体では抗 HIV 活性が認められないことが判明した (図 6)。



172A6 に CF<sub>3</sub> 基導入を試みたが、その合成類似体 (172A6Com#2) 場合にも抗 HIV 活性は低下した (図 7)。



#### D. 考察

本研究では HIV 粒子形成過程に着目し、低分子化合物ライブラリから探索して得られた Gag-Gag 蛋白の相互作用を標的とする候補化合物の抗 HIV 活性の評価を行なうとともに、その作用機作の解明を開始した。

LuSIV 細胞で候補化合物の抗 HIV 活性を調べたところ、探索に用いた酵母での結果と相関する結果、すなわち、酵母細胞で Gag-Gag 相互作用特異的阻害物質と判断した 31-7E、34-8A、147-2B、172-6A に阻害効果が認められ、非特異的阻害剤であった 73-7A と 189-9A には抗 HIV 活性は認められない結果が得られた。

これらの抗 HIV 活性を HIV-1 感染 MT-4 Luc 細胞を用いて調べたところ、化合物 172A6 が有望と思われたが、それでもその IC50 は 25-50 $\mu$ M と高く、OH 基導入 (172A6#1) や CF<sub>3</sub> 基導入 (172A6Com#2) でも改善しなかった。しかし、末梢血単核球を用いた実験では 172A6 に抗 HIV 活性を認めている。

化合物 172A6 の抗 HIV 作用機作の解析を開始した。pNL43 を transfection した HeLa 細胞に 172A6 添加して調べたところ、Gag 蛋白の切断反応中間体 p41(MA-CA)や p46(MA-CA-NC)の減少が認められた。しかしながら、最終切断産物である CAp24 生成量に減少がなかったことから、プロテアーゼ阻害剤のような作用機作ではないと思われる。

近年、HIV 粒子形成過程の Gag アセンブリーを作用点とした抗 HIV 阻害剤がいくつか (PA-457, CAI, CAP1, 2) 報告されている。PA-457 (分子量 584) は Gag 蛋白の CA-SP1 から CA への切断を阻害する化合物で、成熟過程を阻害し、形態学的に異常な非感染性 HIV 粒子を産生させる (IC50=10nM)。一方、CAI は 12 残基のペプチドで CA の C 末端ドメインに結合し 2 量体形成部位を変化させ CA-CA 相互作用を阻害する (Kd=15 $\mu$ M)。同様に CAP-1 は CA の N 末端ドメイン底部に結合し、6 量体形成部位の構造を変化させ CA-CA 相互作用を阻害する (CAP-1: Kd=820 $\mu$ M, CAP-2: Kd=52 $\mu$ M)。本化合物 172A6 でも Gag 蛋白のプロセッシングパターンに変化が認められたことから、化合物が Gag 蛋白へ結合するにより構造変換が生じた可能性が考えられる。Gag 蛋白質結合部位を明らかにするとともに、その立体構造解析が重要だと思われる。

#### E. 結論

市販の低分子化合物ライブラリから見いだした化合物 172-6A に抗 HIV 活性が確認できた。その IC50 値は高かったが、Gag 蛋白に作用し Gag-Gag 相互作用を阻害する可能性が示唆された。

#### F. 知的所有権の取得状況

なし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. Y. Morikawa, T. Goto, D. Yasuoka, F. Momose, & T. Matano  
Defect of human immunodeficiency virus type 2 Gag assembly in *Saccharomyces cerevisiae*.  
J. Virol. 81: 9911-9921 (2007)
2. F. Momose, Y. Kikuchi, K. Komase, & Y. Morikawa  
Visualization of microtubule-mediated transport of influenza viral progeny ribonucleoprotein.  
Microbes Infect. 9: 1422-1433 (2007)
3. A. Ryo, N. Tsurutani, K. Ohba, R. Kimura, J. Komano, M. Nishi, H. Soeda, S. Hattori, K. Perrem, M. Yamamoto, J. Chiba, J. Mimaya, K. Yoshimura, S. Matsushita, M. Honda, A. Yoshimura, T. Sawasaki, I. Aoki, Y. Morikawa, & N. Yamamoto  
SOCS1 is an inducible host factor during HIV-1 infection and regulates the intracellular trafficking and stability of HIV-1 Gag.  
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105: 294-299 (2008)
4. 森川裕子, 鶴谷直美  
HIV の粒子形成と成熟機構  
蛋白質核酸酵素 52: 1181-1186 (2007)

##### 学会発表

1. E. Urano, S. Shimizu, M. Hamatake, Y. Morikawa, & J. Komano.  
Upregulating expression of cyclin K/CPR4 limits the replication of HIV-1.  
CSH Meeting, 2007 年、米国
2. 浦野恵美子, 清水佐紀, 濱武牧子, 森川裕子, 高橋直子, 深澤秀輔, 山本直樹, 駒野淳  
Cyclin K/CPR4 による HIV-1 複製抑制とそのメカニズムの解析  
第 55 回日本ウイルス学会, 2007 年、札幌
3. 大倉喬, 菊池雄士, 駒瀬勝啓, 百瀬文隆, 森川裕子

H5N1 型高病原性トリインフルエンザウイルス HA に結合する中和モノクローナル抗体のエピトープ解析

第 55 回日本ウイルス学会、2007 年、札幌

4. 駒野淳、浦野恵美子、巖馬華、中原徹、堤浩、宮内浩典、森川裕子、玉村啓和、杉浦亙、山本直樹

HIV-1 インテグラーゼ阻害活性を有する 6 アミノ酸モチーフの同定とその抗ウイルス活性

第 55 回日本ウイルス学会、2007 年、札幌

5. 須山真理、佐野浩二、森川裕子

HIV 潜伏感染細胞からのウイルス産生機構

第 55 回日本ウイルス学会、2007 年、札幌

6. 富田有里子、櫻木小百合、森川裕子、河岡義裕  
Gag 出芽機構に關与する宿主因子の網羅的解析-  
出芽酵母を利用した遺伝学的アプローチ

第 55 回日本ウイルス学会、2007 年、札幌

7. 原口日和、森川裕子

HIV-1 Gag-Pol 蛋白の細胞内輸送

第 55 回日本ウイルス学会、2007 年、札幌

8. 百瀬文隆、菊池雄士、駒瀬勝啓、森川裕子  
新規抗インフルエンザウイルス NP モノクローナル抗体による RNP 複合体の可視化

第 55 回日本ウイルス学会、2007 年、札幌

9. 水越文徳、山本拓也、立川（川名）愛、岩本愛吉、森川裕子、横田（恒次）恭子

抗原の糖鎖による樹状細胞の cross-presentation の影響

第 21 回日本エイズ学会、2007 年、広島

10. 大倉喬、菊池雄二、駒瀬勝啓、百瀬文隆、森

川裕子

高病原性 H5N1 トリインフルエンザウイルス HA に結合する中和モノクローナル抗体のエピトープ解析と scFv の作製

第 30 回日本分子生物学会/第 80 回日本生化学会、2007 年、横浜

11. 奥長浩之、鶴谷直美、森川裕子

エンドソーム分子 HRS によるヒト免疫不全ウイルスの Gag 輸送制御機能の解析

第 30 回日本分子生物学会/第 80 回日本生化学会、2007 年、横浜

12. Komano Jun、浦野恵美子、奥長浩之、森川裕子

Co-chaperonine タンパク質 DNA J/ HSP40 family による HIV-1 複製抑制

第 30 回日本分子生物学会/第 80 回日本生化学会、2007 年、横浜

13. 原口日和、森川裕子

ヒト免疫不全ウイルス Gag-Pol 蛋白の細胞内輸送制御機構

第 30 回日本分子生物学会/第 80 回日本生化学会、2007 年、横浜

14. 百瀬文隆、菊池雄士、駒瀬勝啓、森川裕子

微小管依存的なインフルエンザウイルス子孫 vRNP 複合体輸送の可視化

第 30 回日本分子生物学会/第 80 回日本生化学会、2007 年、横浜

## ランダムアプローチによる HIV-1 Nef 蛋白を標的とした新規 抗 HIV-1 薬のスクリーニング

分担研究者 岡田誠治 熊本大学エイズ学研究センター予防開発分野  
研究協力者 鈴 伸也 熊本大学エイズ学研究センター予防開発分野

**研究要旨** HIV-1 Nef 蛋白を標的とした新たな抗 HIV-1 薬を開発するために、Nef 活性化誘導型細胞株 (TF-1-fms-Nef) を用いたバイオアッセイによるスクリーニング系を用いて様々な物質のスクリーニングを行った。得られた数種類の候補物質のうち 1 つは、Nef 蛋白と Hck の結合を阻害することにより、Nef の機能を阻害することが判明した。現在、本物質の抗 HIV-1 薬としての可能性を検討中である。

### A. 研究目的

HIV-1 の感染者は年々その数が増加し、感染者は全世界で 4 千万人を超え、近年インドや中国では著しく HIV-1 感染者が増加している。本邦においても HIV-1 感染者は 1 万人を突破し、その数は徐々に増えている。有効な治療法がなかったエイズも、有効な薬剤の開発によりその生命予後は著しく改善している。しかし、現在の治療法では HIV-1 の完全な排除は事実上不可能であり、薬剤の長期投与による副作用や薬剤耐性など多くの問題が生じている。現在の治療薬は、HIV-1 の生活環を阻害する薬剤であり、作用機序の異なる新たな薬剤の開発が望まれている。

HIV-1 は、いくつかのアクセサリー蛋白を有しており、これらのアクセサリー蛋白が、エイズの病態に深く関わっていることが知られている。特に、Nef 蛋白は、HIV-1 の複製能を高めるなどエイズの発症を助長する重要な病原因子である。そのため、Nef 蛋白を分子標的とした化合物は、新たな作用機序を持つ抗 HIV-1 薬として潜伏感染や薬剤耐性ウィルスへの効果が期待される。本研究では、Nef 蛋白を標的とした新規薬剤開発を目指して、HIV-1 の重要な標的細胞であるマクロファージ系細胞における Nef 蛋白の影響を指標に、低分子物質ライ

ブラリーを含む様々な物質の大規模スクリーニングを行った。

### B. 研究方法

1) Nef 蛋白を標的とした抗 HIV-1 薬のランダムライブラリー大規模スクリーニング

Nef 活性化誘導型細胞株 (TF-1-fms-Nef) が Nef の活性化により増殖抑制をきたすことを指標に、新たなバイオアッセイ系を樹立した。本系では、添加薬剤により Nef の活性化が阻害されると、TF-1-fms-Nef の増殖抑制が解除されることを指標にしたバイオアッセイである。TF-1-fms-Nef を 96 穴プレートに撒き、合成エストロジェンであるタモキシフェンと低分子物質を添加し、MTT 法により細胞増殖を計測し、タモキシフェン単時投与と比べて細胞増殖が回復している低分子化合物を陽性として 2 次スクリーニングと機能検査をおこなった。

2) Nef 蛋白, Hck, M-CSF 受容体蛋白の結合阻害を指標とした二次スクリーニング系の樹立

Nef 蛋白は、その Proline-rich 領域と非受容体型チロシンキナーゼ Hck の SH3 領域を介して結合する事が既に明らかになっている。そこで、GST 蛋白質と融合させた Nef 蛋白を用いた Pull-down 法による二次スクリーニング法を樹

立した。

### 3) 候補物質の作用機序の解析

変異 Nef 蛋白と Hck を用いて候補物質の作用機序の解析を行った。また、FACS を用いて MHC class I の細胞表面発現低下を指標に効果判定を行った。

#### (倫理面への配慮)

本年度は、細胞株を用いたバイオアッセイと蛋白解析のみであり、倫理面に配慮が必要な研究は行っていない。

## C. 研究結果

### 1) Nef 蛋白を標的とした抗 HIV-1 薬のランダムライブラリー大規模スクリーニング

Enamine 低分子化合物ライブラリーのスクリーニングを行った。2万種類すべてのスクリーニングを終了し、3種類の陽性化合物 (69-4H, 71-3H, 154-11A) を得た。また、その他の様々な物質ライブラリー等から数種類の候補物質を得た。

### 2) Nef 蛋白, Hck, M-CSF 受容体蛋白の結合阻害を指標とした二次スクリーニング系

GST 蛋白質と融合した Nef 蛋白を作成し、Pull-down 法により Hck との結合阻害を蛋白レベルで解析する系を樹立した。Enamine 低分子化合物ライブラリーから得られた 69-4H, 71-3H, 154-11A には、Nef と Hck の結合阻害作用は認められなかったため、その他の機序による Nef の機能阻害作用が示唆された。協和発酵より供与された UCS15A とその誘導体 2b, 2c (Chemistry & Biology 10:433, 2003) に強い Hck との結合阻害作用が認められた。

### 3) 候補物質の作用機序の解析

変異 Nef 蛋白と Hck を用いた Pull-down 法により UCS15A とその誘導体 2b, 2c が、Nef proline-rich 領域阻害作用を有していることが判明した。また、特に 2c は、Nef 蛋白により引き起こされる Fms の輸送・成熟障害と MHC Class I の細胞表面発現低下を解除することが証明された。2c は UCS15A, 2b に比べて作用が強く、細胞毒性が少ないことが判明した。

## D. 考察

HIV-1 Nef 蛋白を標的とした新たな抗 HIV-1 の開発を目的に、バイオアッセイにより低分子物質の大規模スクリーニングを行った。本スクリーニング系は、Nef 活性化誘導型細胞株 (TF-1-fms-Nef) が、Nef の活性化により細胞

増殖が抑制され、Nef の機能阻害剤が存在すると細胞増殖抑制が解除されるというバイオアッセイである。スクリーニングにより数種類の候補物質が同定されたが、Hck と Nef の結合阻害作用を有していたのは、UCS15A とその誘導体 2b, 2c のみであった。これらは、強力な Nef proline-rich 領域阻害作用を有し、軽微な MHC class I 発現低下阻害効果を有していた。特に 2c は細胞毒性も弱く、新たな作用機序を持つ抗 HIV-1 薬のリード薬物として期待できる。抗 HIV-1 薬として HIV-1 Nef 蛋白を標的とした薬剤は、これまでに開発された薬剤とまったく作用機序が異なる抗 HIV-1 薬として、既存の薬剤との併用療法で効果が期待される。また、その作用機序から潜伏感染や薬剤耐性ウイルスに対する効果も期待できることから、その開発が急がれる。

## E. 結論

Nef 蛋白を標的とした抗 HIV-1 薬開発のために、低分子物質の大規模スクリーニングを行い、最終的に 1 種類の候補物質を得ることができた。今後、細胞レベル、動物レベルで候補物質の抗 HIV-1 薬としての有効性と作用機序の解明を行っていく予定である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Suzu S, Hiyoshi M, Yoshidomi Y, Harada H, Takeya M, Kimura F, Motoyoshi K, and Okada S; M-CSF-mediated macrophage differentiation but not proliferation is correlated with increased and prolonged ERK activation.

*J Cell Physiol* 212(2):519-525, 2007

2) Hiyoshi M\*, Suzu S\*, Yoshidomi Y, Hassan R, Harada H, Sakashita N, Akari H, Motoyoshi K, and Okada S; Interaction between Hck and HIV-1 Nef negatively regulates cell surface expression of M-CSF receptor. *Blood* 111(1):52-58, 2008 (\*Equal contribution)

### 2. 学会発表

1) 鈴 伸也、日吉真照、吉富友香、元吉和夫、岡田誠治. Src キナーゼ Hck による M-CSF レ

セプター輸送・成熟過程の負の制御. 第 69 回日本血液学会総会、2007 年 10 月 11-13 日、横浜

- 2) 日吉真照、鈴 伸也、吉富友香、原田英樹、岡田誠治. HIV Nef の宿主細胞内チロシンキナーゼに対する影響. 第 55 回日本ウイルス学会学術集会、2007 年 10 月 21-23 日、札幌
- 3) 吉富友香、鈴 伸也、日吉真照、岡田誠治. HIV-1 Nef タンパク質のゴルジ体における機能. 第 21 回日本エイズ学会学術集会総会、

2007 年 11 月 28 日—11 月 30 日、広島

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

#### 謝辞

Enamine 低分子ライブラリーは、駒野淳博士・武部豊博士（国立感染症研究所）より御供与いただきました。UCS15A とその誘導体 2b, 2c は、(株)協和発酵に御供与いただきました。

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表



研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
武部 豊					
Tee, K. K., Pybus, O. G., Li, X.-J., Han, X., Shang, H., Kamarulzaman, A., and <u>Takebe, Y.</u>	Temporal and Spatial Dynamics of the Human Immunodeficiency Virus Type 1 Circulating Recombinant Forms 08 BC and 07 BC in Asia	<i>J. Virol.</i>	(revision for publication)		(2008)
<u>Takebe, Y.</u> , Uenishi, R., and Li, X.-J.	Global molecular epidemiology of HIV: Understanding the genesis of AIDS pandemic. "HIV: Molecular biology and pathogenesis: viral mechanisms 48" (ed. Kuan-Teh Jeang).	<i>Advances in pharmacology</i>	56	1-25	2007
Tee, K. K., Pybus, O. G., Liao, H., Uenishi, R., Hase, S., Kamarulzaman, A., Li, X.-J., and <u>Takebe, Y.</u>	Chronology of the HIV-1 CRF07_BC expansion in East-Asia.	<i>AIDS</i>	22	156-158	2008
Li, X.-J., Uenishi, R., Hase, S., Liao, H., Tee, K. K., Kusagawa, S., and <u>Takebe, Y.</u>	HIV/AIDS in Asia: The shape of epidemics and their molecular epidemiology.	<i>Virologica Sinica</i>	22(6)	426-433	2007
Han, X., Zhang, M., Dai, D., Wang, Y., Zhang, Z., Liu, J., Geng, W., Jiang, Y., <u>Takebe, Y.</u> , and Shang, H.	Genotypic resistance mutations to antiretroviral drugs in treatment-naive HIV/AIDS patients living in Liaoning Province, China: baseline prevalence and subtype-specific difference.	<i>AIDS Res Hum Retroviruses</i>	23(3)	357-364	2007
Utsumi, T., Nagakawa, H., Uenishi, R., <u>Kusagawa, S.</u> , and <u>Takebe, Y.</u>	An HIV-2-infected Japanese man who was a long-term nonprogressor for 36 years.	<i>AIDS</i>	21(13)	1834-1835	2007
Naito, Y., Nohtomi, K., Onogi, T., Uenishi, R., <u>Ui-Tei, K.</u> , Saigo, K., and <u>Takebe, Y.</u>	Optimal design and validation of antiviral siRNA for targeting HIV-1.	<i>Retrovirology</i>	4(1)	80	2007
駒野 淳					
Shimizu, S., Urano, E., Futahashi, Y., Miyauchi, K., Isogai, M., Matsuda, Z., Notomi, K., Onogi, T., <u>Takebe, Y.</u> , Yamamoto, N., and <u>Komano, J.</u>	Inhibiting lentiviral replication by HEXIM1, a cellular negative regulator of the CDK9/cyclin T complex.	<i>AIDS</i>	21:	575-582	2007
Akihide Ryo, Naomi Tsurutani, Kenji Ohba,	SOCS1 is an inducible host factor during HIV-1	PNAS	105	294-299	2008

Ryuichiro Kimura, <u>Jun Komano</u> , Mayuko Nishi, Hiromi Soeda, Shinichiro Hattori, Kilian Perrem, Mikio Yamamoto, Joh Chiba, Jun-ichi Mimaya, Kazuhisa Yoshimura, Shuzo Matsushita, Mitsuo Honda, Akihiko Yoshimura, Ichiro Aoki, Yuko Morikawa and Naoki Yamamoto.	infection and regulates the intracellular trafficking and stability of HIV-1 Gag.				
Matsuda Z, Iga M, Miyauchi K, <u>Komano J</u> , Morishita K, Okayama A, Tsubouchi H.	In vitro translation to study HIV protease activity.	<i>Methods Mol Biol.</i>	<b>375</b>	135-49. Review.	2007
Kameoka M, Kitagawa Y, Utachee P, Jinnopat P, Dhepakson P, Isarangkura-na-ayuthaya P, Tokunaga K, Sato H, <u>Komano J</u> , Yamamoto N, Oguchi S, Natori Y, Ikuta K.	Identification of the suppressive factors for human immunodeficiency virus type-1 replication using the siRNA mini-library directed against host cellular genes.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	<b>359(3)</b>	729-34	2007
Futahashi Y, <u>Komano J</u> , Urano E, Aoki T, Hamatake M, Miyauchi K, Yoshida T, Koyanagi Y, Matsuda Z, Yamamoto N.	Separate elements are required for ligand-dependent and -independent internalization of metastatic potentiator CXCR4.	<i>Cancer Sci</i>	<b>98(3):</b>	373-9	2007
程久美子					
<u>Ui-Tei, K.</u> , Naito, Y., Zenno, S., Nishi, K., Yamato, K., Takahashi, F., Juni, A., Saigo, K.	Functional dissection of siRNA sequence by systematic DNA substitution: modified siRNA with a DNA seed arm is a powerful tool for mammalian gene silencing with significantly reduced off-target effect.	<i>Nucleic Acids Res.</i> In press.			2008
Naito, Y., Saigo, K., <u>Ui-Tei, K.</u>	Evaluation of published rational siRNA design algorithms using firefly luciferase gene as a reporter.	<i>RNA interference research progress</i>	In press		
<u>Naito, Y.</u> , Nohtomi, K., Onogi, T., Uenishi, R., <u>Ui-Tei, K.</u> , Saigo, K., and <u>Takebe, Y.</u>	Optimal design and validation of antiviral siRNA for targeting HIV-1.	<i>Retrovirology</i>	<b>4(1)</b>	80	2007
<u>Ui-Tei, K.</u> , Naito, Y.,	Guidelines for the	<i>Methods</i>	<b>361</b>	201-216	2006

Saigo, K.	selection of effective short-interfering RNA sequences for functional genomics.	Mol. Biol.			
高橋 信弘					
Takahashi, N., and Isobe, T.	Proteomic Biology using LC-MS, Wiley Interscience, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken,	New Jersey USA		p1-254	2007
Kaji, H., Kamiie, J., Kawakami, H., Kido, K., Yamauchi, Y., Shinkawa, T., Taoka, T., <u>Takahashi, N.</u> , and Isobe, T.	Large-scale analysis of N-glycoproteins in <i>C. elegans</i> suggests atypical translocation mechanism of type III integral membrane proteins.	Mol. Cell. Proteomics	in press		2007
高橋 信弘 山越 智					
Noguchi K, Fukazawa H, Murakami Y, <u>Takahashi N</u> , <u>Yamagoe S</u> , Uehara Y.	g-Herpesviruses and cellular signaling in AIDS-associated malignancies.	<i>Cancer Sci</i>	<b>98</b>	1288-1296	2007
村上 努					
<u>T. Murakami</u> .	Roles of the interactions between Env and Gag proteins in the HIV-1 replication cycle.	Microbiol. Immunol.	In press		2008
<u>Murakami, T.</u> , and Yamamoto, N.	AIDS: How do we overcome this social or biodisaster?	J. Disaster Res.	<b>2 (2)</b>	71-80	2007
森川 洋子					
<u>Y. Morikawa</u> , T. Goto, D. Yasuoka, F. Momose, & T.	Matano Defect of human immunodeficiency virus type 2 Gag assembly in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	J. Virol	<b>81</b>	9911-9921	2007
F. Momose, Y. Kikuchi, K. Komase, & <u>Y. Morikawa</u>	<u>Morikawa</u> Visualization of microtubule-mediated transport of influenza viral progeny ribonucleoprotein.	Microbes Infect.	<b>9</b>	1422-1433	2007
A. Ryo, N. Tsurutani,	SOCS1 is an inducible	. Natl. Acad.	<b>105</b>	294-299	2008

K. Ohba, R. Kimura, J. Komano, M. Nishi, H. Soeda, S. Hattori, K. Perrem, M. Yamamoto, J. Chiba, J. Mimaya, K. Yoshimura, S. Matsushita, M. Honda, A. Yoshimura, T. Sawasaki, I. Aoki, <u>Y. Morikawa</u> , & N. <u>Yamamoto</u> .	host factor during HIV-1 infection and regulates the intracellular trafficking and stability of HIV-1 Gag.	Sci. USA			
岡田 誠治					
Suzu S, Hiyoshi M, Yoshidomi Y, Harada H, Takeya M, Kimura F, Motoyoshi K, and <u>Okada S</u> .	M-CSF-mediated macrophage differentiation but not proliferation is correlated with increased and prolonged ERK activation.	<i>J Cell Physiol</i>	<b>212(2)</b>	519-525	2007
Hiyoshi M, Suzu S, Yoshidomi Y, Hassan R, Harada H, Sakashita N, Akari H, Motoyoshi K, and <u>Okada S</u> .	Interaction between Hck and HIV-1 Nef negatively regulates cell surface expression of M-CSF receptor.	<i>Blood</i>	<b>111(1)</b>	52-58	2008