

HIV 抗体陰性、コバスタックマン法陰性血漿 22 検体を用いて、特異性の検討を行った。
3-7. KK-TaqMan 法とコバス TaqMan 法との比較

HIV-1 感染者血漿 45 検体を KK-TaqMan 法で測定し、コバス TaqMan 法での測定値と比較した。

3-8. 限界希釈法による HIV-1 RNA 定量 (ポアソン分布法)

8E5 細胞培養上清を限界希釈し、gag p24 領域をターゲットとした RT-nested PCR 法で測定した後、ポアソン分布法に従いコピー数を算出した。

(倫理面への配慮)

主治医から患者に研究内容を説明し、同意の得られた症例について研究を実施した。特異性の検討に用いた HIV 陰性血漿は、HIV 遺伝子検査を希望する受検者から得られたものである。患者名はすべて記号化して扱っており、プライバシーの流出防止など患者の人権保護に十分配慮した。なお、本研究は当研究所の倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

1. HIV-1 RNA 回収率

8E5 細胞培養上清から調整した、150、5,000、500,000 コピー/ml の 3 つの濃度の HIV-1 RNA 回収率は 31%~34% でほぼ同程度であった (表 1)。

2. KK-TaqMan 法における標準曲線と希釈直線性

8E5 細胞培養上清から調製した 6 つの濃度の希釈系列を用いて標準曲線を作製した結果、50~500,000 コピー/ml の範囲で良好な直線性が得られた (slope=3.411, $R^2=0.9819$, 図 3)。

IIIB 株、臨床分離株 (CRF01_AE) の希釈系列の測定値は 50~500,000 コピー/ml 範囲で良好な直線性を示し、コバス TaqMan 法との相関も良好であった (IIIB 株: $y=1.016x+0.1652$ 、

$R^2=0.9968$ 、図 4; CRF01_AE 分離株: $y=1.003x+0.0268$, $R^2=0.9994$, 図 5)。

3. KK-TaqMan 法の精度と再現性

分散分析解析の結果、IIIB 株の希釈系列、500,000、5,000、50 コピー/ml での実験内変動係数はそれぞれ 12.8%、10.2%、56.7%、実験間変動係数は 29.9%、25.6%、61.8% であった。各濃度の精度 (accuracy) は 2.2%、11.1%、14.9% であった (表 2)。

4. KK-TaqMan 法の特異性

HIV 抗体陰性および HIV-1 遺伝子陰性血漿 22 検体を測定した結果、すべての検体で HIV-1 RNA は検出できなかった。

5. KK-TaqMan 法とコバス TaqMan 法の相関

HIV-1 感染者検体 45 検体の測定値は、コバス TaqMan 法での測定値と良好な相関を示した ($y=0.968x+0.0605$, $R^2=0.9765$, 図 6)。両方法での測定値の関係を調べると、KK-TaqMan 法とコバス TaqMan 法の測定値の比は範囲 0.882~1.093、平均 0.977、標準誤差 0.108 であり、二つの測定値の間に有意差がなかった (図 7)。

D. 考察

我々は以前 HIV-1 グループ M に属する遺伝子型が検出可能な HIV-1 プロウイルス定量法を開発した。今回、この測定系を応用し、リアルタイム PCR 法による HIV-1 RNA 定量法の開発を試みた。

本測定法では、サブタイプ B (IIIB)、CRF01_AE ともに、50~500,000 コピー/ml の範囲で良好な希釈直線性が得られた。IIIB 株、5,000、500,000 コピー/ml での実験間変動係数は 30% 以内、定量下限 50 コピー/ml で 61.8% であり、再現性も優れていた。また、患者血漿 45 検体の測定値は、コバス TaqMan 法での測定値と良好な相関を示した。KK-TaqMan 法はコバス TaqMan 法とほぼ同等の再現性、精度を保持しており、臨床への応用が期待される。

KK-TaqMan 法で用いているプライマーおよ

びプローブは、HIV-1グループMに属する遺伝子型を幅広く測定出来るように、それぞれ1~5箇所の塩基をdegenerate (縮重型) に設計した。我々は、以前これらプライマー、プローブを用いたプロウイルス定量法の検討において、6種のサブタイプ (B、A、C、F、GとCRF01_AE) の測定値が、ポアソン分布法での計算値とほぼ一致することを確認した。今回、HIV-1RNA定量法の検討に用いたサンプルのほとんどはサブタイプBとCRF01_AEであったが、他のサブタイプについても有用な測定法であると考えられる。

今後、さらに感度、特異性の検討、サブタイプ非依存性の確認を行い、出来るだけ速やかにKK-TaqMan法を地方衛生研究所等の研究機関に移管し、HIV-1確認検査や基礎研究に役立てたいと考えている。

E. 結語

一般的なリアルタイムPCR装置を用いたHIV-1 RNA定量法を確立した。本法 (KK-TaqMan法) はコバスタTaqMan法とほぼ同程度の感度、再現性を保っており、両方法の測定値には良好な相関が認められた。

KK-TaqMan法はHIV-1グループMの遺伝子型に対応できるようにdegenerateプライマーおよびプローブを用いている。今回、RNA定量系の検討に用いたサンプルのほとんどはサブタイプBとCRF01_AEであったが、他のサブタイプについても有用な方法と考えられ、臨床検体への応用が期待される。

F. 研究発表

論文発表

1. Kuji, N., Yoshii, T., Hamatani, T., Hanabusa, H., Yoshimura, Y., and Kato, S. Buoyant density and sedimentation dynamics of HIV-1 in two density-gradient media for semen processing. *Fertil. Steril.* (in press)

2. Kondo, M., Sudo, K., Tanaka, R., Sano, T., Sagara, H., Iwamuro, S., Takebe Y., Imai, M., and Kato, S. :Quantification of HIV-1 group M proviral DNA using TaqMan MGB real-time PCR, *J. Virol. Methods* (in press)
3. Tanaka, R., Hanabusa, H., Kinai, E., Hasegawa, N., Negishi, M., and Kato, S. Intracellular efavirenz levels in peripheral blood mononuclear cells from HIV-infected individuals. *Antimicrob. Agents Chemother.* 52(2):782- 785(2008).

学会発表

1. Kato S, Sudo K, Tanaka R :Novel assay using PCR and mass spectrometry for quantification of minor populations of HIV-1 carrying drug-resistant mutations, XVII International AIDS Conference. 3-8 August, 2008, Mexico city, Mexico.
2. Kondo M, Sudo K, Sano T, Sagara H, Iwamuro S, Imai M :The genetic diversity of HIV-1 subtype B in Tokyo and Yokohama aria, Japan, XVII International AIDS Conference. 3-8 August, 2008, Mexico city, Mexico.
3. Shingo Kato, Mitsuhiro Kamakura. Quantification of minor populations of drug-resistant HIV-1 variants by PCR and mass spectrometry. United States-Japan Cooperative Medical Science Program, 21st Joint Meeting of the AIDS Panels. 2008, September 10 - 12, Awaji Island and Tokyo, Japan.
4. 加藤真吾. サテライト公演「HIV感染症診のガイドライン」、保健所等におけるHIV検査のガイドライン-妊婦検診を含めて、第22回日本エイズ学会学術集会・総会

- (2008年11月26～11月28日、大阪)。
5. 植田知幸、加藤真吾. 休止期CD4+T細胞におけるHIV-1感染防御機構の解析, 第22回日本エイズ学会学術集会・総会 (2008年11月26～11月28日、大阪)。
 6. 花房秀次、小島賢一、加藤真吾、兼子 智、高桑好一、久慈直明、木内 英、加嶋克則、吉村泰典、田中憲一、和田裕一. HIV感染夫婦の生殖補助医療の実績と安全性: HIV陽性同士の生殖補助医療プロトコール, 第22回日本エイズ学会学術集会・総会 (2008年11月26～11月28日、大阪)。
 7. 田中理恵、古谷茂之、林 邦彦、今井光信、加藤真吾:HIV-1 RNA定量キットのコントロールサーベイ, 第22回日本エイズ学会学術集会・総会 (2008年11月26～11月28日、大阪)。
 8. 近藤真規子、田中理恵、須藤弘二、佐野貴子、岩室紳也、倉井華子、立川夏夫、相楽裕子、加藤真吾、今井光信:汎用リアルタイムPCR装置を用いたHIV-1 RNA定量法の検討, 第22回日本エイズ学会学術集会・総会 (2008年11月26～11月28日、大阪)。
 9. 木内英、岩室紳也、相楽裕子、大木茂、元重京子、近藤真規子、今井光信、花房秀次、加藤真吾:母子感染予防における出生児の AZT 薬物動態と副作用, 第22回日本エイズ学会学術集会・総会 (2008年11月26～11月28日、大阪)。
 10. 須藤弘二、加藤真吾:PCRとLC-MSを組み合わせた薬剤耐性変異定量法の検討, 第22回日本エイズ学会学術集会・総会 (2008年11月26～11月28日、大阪)。
 11. 佐野貴子、山中晃、金子恵、井戸田一朗、平井由児、岩室紳也、須藤弘二、近藤真規子、今井光信:唾液で検査可能な HIV迅速検査試薬の検討, 第22回日本エイズ学会学術集会・総会 (2008年11月26～11月28日、大阪)。
 12. 須藤弘二、佐野貴子、近藤真規子、加藤真吾、今井光信:HIV 郵送検査に関する実態調査および検査制度の調査, 第22回日本エイズ学会学術集会・総会 (2008年11月26～11月28日、大阪)。
 13. 池野 良、高木律男、児玉泰光、田邊嘉也、手塚貴文、佐藤みさ子、加藤真吾.リアルタイムPCR法 (TaqMan法) を用いた唾液中HIV-1 RNA/DNA量と血清中HIV-1 RNA量の比較検討, 第22回日本エイズ学会学術集会・総会 (2008年11月26～11月28日、大阪)。
 14. 加藤真吾、榎本 茜、田中理恵. 正しい血中ウイルス量を求める方法の検討, 第22回日本エイズ学会学術集会・総会 (2008年11月26～11月28日、大阪)。
 15. 杉浦 互、湯永博之、吉田 繁、千葉仁志、小池隆夫、伊藤俊広、原 孝、佐藤武幸、石ヶ坪良明、上田敦久、近藤真規子、今井光信、貞升健志、長島真美、福武勝幸、山元泰之、田中理恵、加藤真吾、宮崎菜穂子、藤井 毅、岩本愛吉、藤野真之、仲宗根正、巽 正志、椎野禎一朗、岡 慎一、林田庸総、服部純子、伊部史朗、藤崎誠一郎、金田次弘、浜口元洋、上田幹夫、大家正義、田邊嘉也、渡辺香奈子、渡邊 大、白阪琢磨、栗原 健、森 治代、小島洋子、高田 昇、木村昭郎、南 留美、山元政弘、松下修三、健山正男、藤田次郎:2003-2007年の新規HIV-1感染者における薬剤耐性頻度の動向, 第22回日本エイズ学会学術集会・総会 (2008年11月26～11月28日、大阪)。
- G. 知的財産権の出願・登録**
- 特許出願
1. 発明の名称: 遺伝子変異検出システム及び遺伝子変異検出方法、発明者: 加藤真吾、須藤弘二、発願年月日: 2008年05月

19日、出願番号：特願2008-131243号。

図1 Real-time RT-PCR法の概要

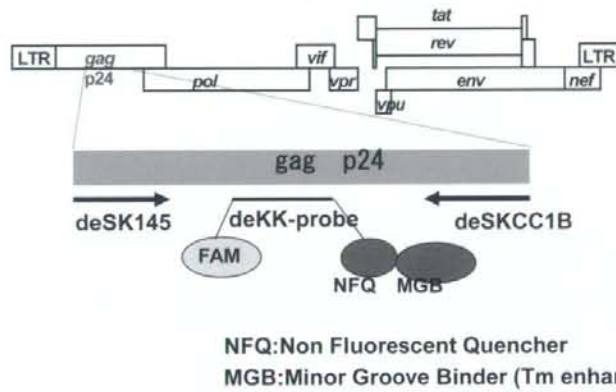


図2 縮重プライマーおよびプローブの塩基配列

◆ forward primer:deSK145

5'- AGTRGGGGGACAYCARGCAGCHATGCARAT - 3'

◆ reverse primer:deSKCC1B

5'- TACTAGTAGTTCCTGCTATRTCACCTCC - 3'

◆ probe deKK-probe

5'- ATCAATGARGARGCTGCAGAATGGGA - 3'

表1 8E5ウイルスRNA 回収率

Nominal conc. (copies/ml)	Recovery	
	Mean ± SD	
High QC 500,000	34% ± 16%	
Middle QC 5,000	31% ± 11%	
Low QC 150	33% ± 20%	

*QIAamp UltraSence Virus Kit (Qiagen) 使用

図3 標準曲線 (8E5細胞培養上清)

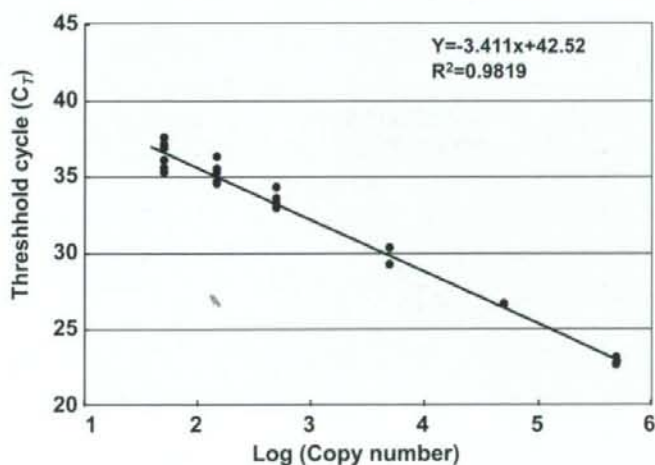


図4 希釈直線性: IIIIB培養上清

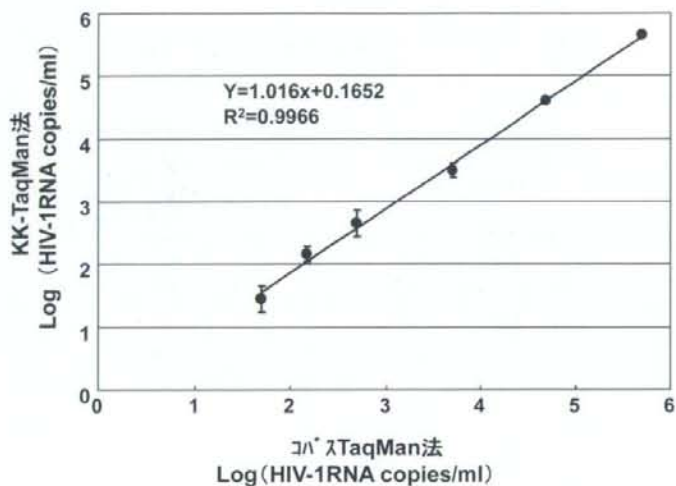


図5 希釈直線性: CRF01_AE(臨床分離株)

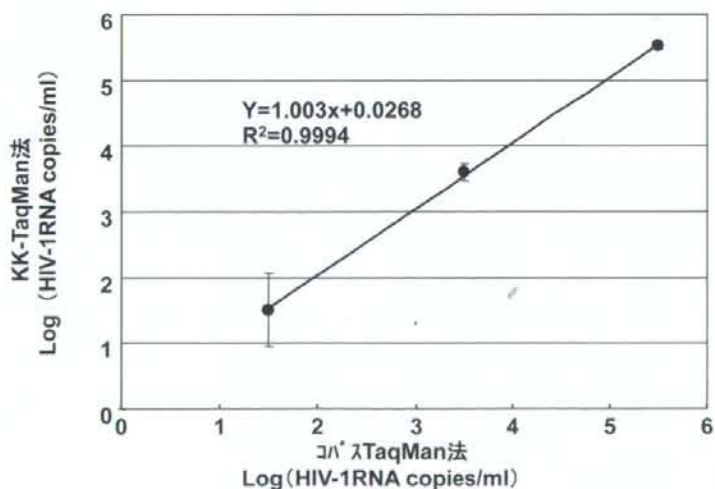


表2 再現性 (KK-TaqMan)

IIIB* (copies/ml)	Intra-assay (n=4)		Inter-assay (n=3)		
	mean	SD (CV%)	mean	SD (CV%)	accuracy
500000	599000	76900(12.8%)	511000	153000(29.9%)	2.2%
5000	4110	420(10.2%)	4500	1150(25.6%)	11.1%
50	45.5	25.8(56.7%)	43.5	26.9(61.8%)	14.9%

*コハスTaqMan測定値を基準とし希釈系列を作製

図6 患者血漿におけるKK-TaqMan法とコハスTaqMan法の相関

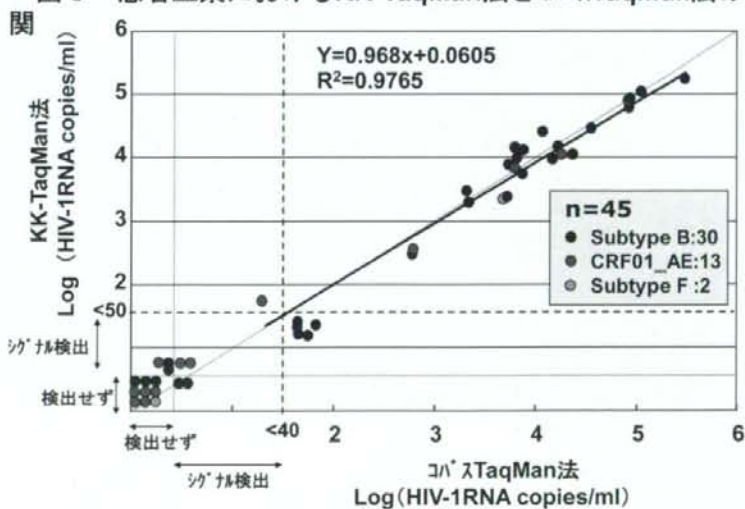
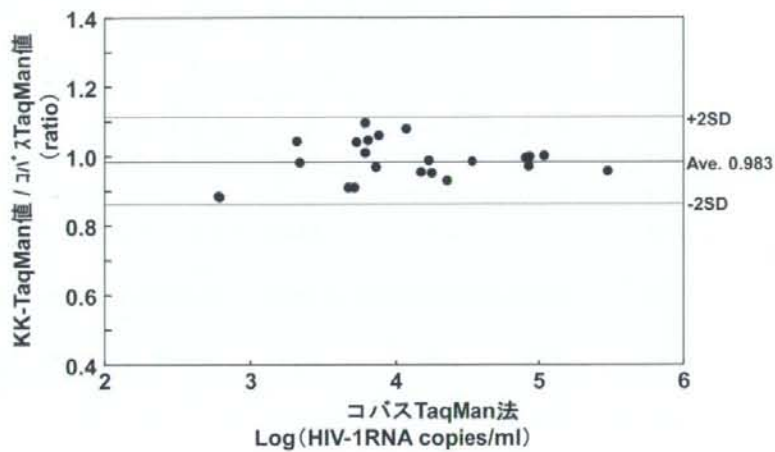


図7 KK-TaqMan法とコバスTaqMan法測定値の比率
 — 患者血漿 (n=23) —



25. 薬剤耐性変異の解析法の開発・改良・技術研修に関する研究： 薬剤耐性検査の実用化と衛生研究所等への技術移管

研究分担者	杉浦 互	(国立感染症研究所エイズ研究センター)
研究協力者	武部豊	(国立感染症研究所エイズ研究センター)
	石川晃一	(国立感染症研究所エイズ研究センター)
	西澤雅子	(国立感染症研究所エイズ研究センター)
	藤野真之	(国立感染症研究所エイズ研究センター)
	鈴木寿子	(国立感染症研究所エイズ研究センター)
	濱口元洋	(国立病院機構名古屋医療センター)
	湯永博之	(国立国際医療センターACC)
	加藤真吾	(慶応大学医学部微生物学免疫学教室)
	山本直彦	(名古屋大学医学部)
	近藤真規子	(神奈川県衛生研究所)
	椎野禎一郎	(国立感染症研究所エイズ研究センター)
	岩谷靖雅	(国立病院機構名古屋医療センター)
	横幕能行	(国立病院機構名古屋医療センター)
	伊部史朗	(国立病院機構名古屋医療センター)
	藤崎誠一郎	(国立病院機構名古屋医療センター)
	服部純子	(国立病院機構名古屋医療センター)
	須藤弘二	(慶応大学医学部微生物学免疫学教室)
	田中正大	(愛知県衛生研究所)

研究要旨

全国の衛生研究所等の施設において HIV 検査を担当する技術者を対象にした技術研修会を平成 18-20 年、各年 3 日間の日程で国立感染症研究所あるいは名古屋医療センター講義室・実習室において開催した。この研修会では国立感染症研究所で行っている HIV 薬剤耐性検査の技術について技術移管を行うとともに、内外から講師を招待し HIV 薬剤耐性に関する基礎的な知識から臨床における薬剤耐性検査の意義について講義を行った。

A. 研究目的

多剤併用療法は患者の予後を改善したが、一方で薬剤耐性 HIV の出現が治療を進めていく上で障害となっている。薬剤耐性 HIV の問題は治療を受けている患者だけでなく、新規に HIV・AIDS と診断された患者にも散見されるようになっている。その頻度は欧米諸国で 10~20%といわれており、我が国では 2003~04 年に実施された調査で約 5%と報告されている。今後保健所等で把握される HIV 症例においても薬剤耐性 HIV-1 感染症例が検出されると予想され、新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV の状況を正しく把握し迅速な対策を講じるためにも、各地の拠点病院・衛生研究所等で HIV 検査業務を担当する技官等が HIV の

薬剤耐性検査法や薬剤耐性について正しい技術と知識を習得している事が望ましい。本研究では HIV 検査担当者に対して HIV 検査技術研修会を開催し、薬剤耐性 HIV 遺伝子検査の技術移管を実施した。

B. 研究方法

平成 18 年から 20 年まで毎年 3 日間の日程で、国立感染症研究所村山分室(平成 18 年、19 年)あるいは名古屋医療センター講義室・実習室(平成 20 年)において HIV 検査技術講習会を開催した。三年間で全国 43 施設から 43 名が参加した(資料 1)。講義と実習内容は各年、内容と講師の若干の相違はあるが、基本的に薬剤耐性 HIV 検査と

サブタイピングを主要課題として取り上げてきた。実習ではバイオセーフティー上のレギュレーションから事前に調製・解析済みの HIV RNA をサンプルとした。この RNA サンプルを国立感染症研究所で開発したプライマーを用い、RT-PCR で逆転写酵素領域とプロテアーゼ領域を増幅し、塩基配列解析を行った。また *env* 領域についても同様に PCR による増幅・塩基配列解析を行いサブタイプ決定した。我が国においても HIV-2 感染症例が報告されたことを受けて、HIV-2 についても講義を実施した。各年研修終了後実習と講義に対してアンケート調査を行い、その回答をもとに講義・実習内容の吟味と改定を行ってきた。

C. 研究結果

事後評価のアンケート調査の結果は各年とも高く、実習・講義ともに 80%以上の受講者が満足と回答してきた。このことから本研究は参加者の要求にはほぼ応えてきたと思われる。

D. 考察

今後の課題として、新薬の情報提供とコンピューターを用いた遺伝子配列のデータ解析の質の向上を検討したい。参加者が研修会によって得た検査技術をその後職場でどのように生かせるかの追跡調査することが、今後の研修会改善や各地域での HIV 検査への取り組みの実態を知るために必要であるとおもわれ、次年度以降の追跡調査の実施を検討したい。

E. 結論

3年間で全国 43 施設から 43 名の参加者を対象にして HIV 検査技術研修会を 3 日間の日程で開催し、HIV 検査技術の移管と薬剤耐性 HIV の講義を行い知識の向上を図った。いずれの年においても参加者の評価は高く、本研究の目的は達成したと考えている。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

論文発表

1. Deforche K, Camacho RJ, Grossman Z, Soares MA, Van Laethem K, Katzenstein DA, Harrigan PR, Kantor R, Shafer R, Vandamme AM: non-B Workgroup. Bayesian network analyses of resistance pathways against efavirenz and nevirapine. *AIDS*. 18:22(16):2107-15. Oct 2008
2. Furuya K, Omura M, Kudo S, Sugiura W, Azuma H.: Recognition profiles of microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* polar tube protein 1 with human immunoglobulin M antibodies. *Parasite Immunol*. 2008 Jan;30(1):13-21.
3. S Yoshida, H Gatanaga, T Itoh, M Fujino, M Kondo, K Sadamasu, T Kaneda, F Gejyo, T Shirasaka, H Mori, M Ueda, N Takata, R Minami, W Suigura and the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network.: Prevalence of drug resistance associated mutations in newly diagnosed HIV/AIDS patients in Japan from 2003-2007. *Antiviral Therapy*. 13(3):A162, 2008
4. Okuma K, Tanaka R, Ogura T, Ito M, Kumakura S, Yanaka M, Nishizawa M, Sugiura W, Yamamoto N, Tanaka Y.: Interleukin-4-Transgenic hu-PBL-SCID Mice: A Model for the Screening of Antiviral Drugs and Immunotherapeutic Agents against X4 HIV-1 Viruses. *J Infect Dis*. Jan 1;197(1):134-41, 2008
5. Rajintha M Bandaranayake, Moses Prabu-Jeyabalan, Junko Kakizawa, Wataru Sugiura, and Celia Schiffer. :Structural Analysis of Human Immunodeficiency Virus Type 1

- CRF01_AE Protease in Complex with the Subtype p1-p6. *Journal of Virology*, 82(13),2008
6. H Suzuki, M Fujino, M Matsuda, H Yan, Y Iwatani, W Sugiura.: Effects of Protease and reverse transcriptase inhibitor-resistance mutations on integrase polymorphism in multidrug resistance cases. *Antiviral Therapy*. 12(1):S4, 2007
 7. J Shibata, F Ren, M Nishizawa, M Fujino, Y Iwatani, M Matsuda, H Miura, H Tanaka and W Sugiura.: Interference between Gag non-cleavage site mutation P453L and HIV-1 protease non-drug resistance mutation E35D. *Antiviral Therapy*. 12(1):S143, 2007
 8. Saeng-Aroon S, Yoshida LM, Ariyoshi K, Taguchi M, Pathipvanich P, Rojanawiwat A, Matsuda M, Kannagi M, Sawanpanyalert P, Sugiura W, Auwanit W.: An Efficient Tool for Surveying CRF01_AE HIV Type 1 Resistance in Thailand to Combined Stavudine-Lamivudine-Nevirapine Treatment: Mutagenically Separated PCR Targeting M184I/V. *AIDS Res Hum Retroviruses*. Dec;23(12):1461-8, 2007
 9. Satoh E, Li XK, Hara Y, Ogata K, Guo L, Kitazawa Y, Funeshima-Fuji N, Satoh T, Miyagi T, Sugiura W, Yamamoto N, Teramoto K, Arii S, Kimura H.: Sensitization to enhanced green fluorescence protein minor histocompatibility antigen by gene transduction into dendritic cells and peritoneal exudate macrophages. *Transpl Immunol*. Nov;18(2):73-84, 2007
 10. Iwatani Y, Chan DS, Wang F, Maynard KS, Sugiura W, Gronenborn AM, Rouzina I, Williams MC, Musier-Forsyth K, Levin JG.: Deaminase-independent inhibition of HIV-1 reverse transcription by APOBEC3G. *Nucleic Acids Res*. 35(21):7096-108, 2007
 11. Seiichiro Fujisaki, Saeko Fujisaki, Shiro Ibe, Tsukasa Asagi, Toshihiro Itoh, Shigeru Yoshida, Takao Koike, Masayasu Oie, Makiko Kondo, Kenji Sadamasu, Mami Nagashima, Hiroyuki Gatanaga, Masakazu Matsuda, Mikio Ueda, Aki Masakane, Mami Hata, Yasushi Mizogami, Haruyo Mori, Rumi Minami, Kiyomi Okada, Kanako Watanabe, Takuma Shirasaka, Shinichi Oka, Wataru Suigura and Tsuguhiro Kaneda.: Performance and Quality Assurance of Genotypic Drug-Resistance Testing for Human Immunodeficiency Virus Type 1 in Japan. *Jpn. J.Infect. Dis.*,60:113-117, 2007
 12. Ode H, Matsuyama S, Hata M, Hoshino T, Kakizawa J, Sugiura W.: Mechanism of drug resistance due to N88S in CRF01_AE HIV-1 protease, analyzed by molecular dynamics simulations. *J Med Chem*. 19:50(8):1768-77. 2007
 13. Chiba-Mizutani T, Miura H, Matsuda M, Matsuda Z, Yokomaku Y, Miyauchi K, Nishizawa M, Yamamoto N, Sugiura W.: Use of new T-cell-based cell lines expressing two luciferase reporters for accurately evaluating susceptibility to anti-human immunodeficiency virus type 1 drugs. *J Clin Microbiol*. 45(2):477-87. 2007
 14. Makiko Hamatake, Masako Nishizawa, Naoki Yamamoto, Shingo Kato, Wataru Sugiura.: A simple competitive RT-PCR assay for quantitation of HIV-1 subtype B and non-BRNA in plasma. *J Virol Methods*. 142:113-7. 2007

15. Hiroyuki Gatanaga, Shiro Ibe, Masakazu Matsuda, Shigeru Yoshida, Tsukasa Asagi, Makiko Kondo, Kenji Sadamasu, Hiroki Tsukada, Aki Masakane, Haruyo Mori, Noboru Takata, Itsuhiro Nakagiri, Rumi Minami, Masao Tateyama, Takao Koike, Toshihiro Itoh, Mitsunobu Imai, Fumitake Gejyo, Mikio Ueda, Motohiro Hamaguchi, Yoko Kojima, Takuma Shirasaka, Akiro Kimura, Masahiro Yamamoto, Jiro Fujita, Shinichi Oka, and Wataru Sugiura.: Nationwide Survey of Drug-Resistant HIV-1 Prevalence in Patients Newly Diagnosed with HIV/AIDS in Japan. *Antiviral Research*, 75(1):75-82. 2007
16. Afework Kassu, Masayuki Fujino, Masakazu Matsuda, Masako Nishizawa, Fusao Ota, Wataru Sugiura.: Molecular Epidemiology of HIV-1 in Treatment Naïve Patients in North Ethiopia, *AIDS Research and Human Retroviruses*, 23(4):564-568. 2007
17. Deforche K, Camacho R, Grossman Z, Silander T, Soares MA, Moreau Y, Shafer RW, Van Laethem K, Carvalho AP, Wynhoven B, Cane P, Snoeck J, Clarke J, Sirivichayakul S, Ariyoshi K, Holguin A, Rudich H, Rodrigues R, Bouzas MB, Cahn P, Brigido LF, Soriano V, Sugiura W, Phanuphak P, Morris L, Weber J, Pillay D, Tanuri A, Harrigan PR, Shapiro JM, Katzenstein DA, Kantor R, Vandamme AM. Bayesian network analysis of resistance pathways against protease inhibitors. *Infect Genet Evol.* 7(3):382-90, 2007
18. Koga I, Odawara T, Matsuda M, Sugiura W, Goto M, Nakamura T, Iwamoto A. Analysis of HIV-1 sequences before and after co-infecting syphilis., *Microbes Infect.* 8(14-15):2872-9, 2006
19. Omura M, Furuya K, Kudo S, Sugiura W, Azuma H.: Detecting IgM antibodies against microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* polar tubes in sera from healthy and HIV-infected Japanese., *Clin Vaccine Immunol.* 14(2) 168-72, 2006
20. Miyauchi K, Komano J, Myint L, Futahashi Y, Urano E, Matsuda Z, Chiba T, Miura H, Sugiura W, Yamamoto N,. Rapid propagation of low-fitness drug-resistant mutants of human immunodeficiency virus type 1 by a streptococcal metabolite sparsomycin., *Antivir Chem Chemother.* 17(4):167-74, 2006
21. Joke Snoeck, Rami Kantor, Robert W. Shafer, Kristel Van Laethem, Koen Deforche, Ana Patricia Carvalho, Brian Wynhoven, Marcel A. Soares, Patricia Cane, John Clarke, Candice Pillay, Sunee Sirivichayakul, Koya Ariyoshi, Africa Holguin , Hagit Rudich, Rosangela Rodrigues, Maria Belen Bouzas, Francoise Brun -Vezinet, Caroline Reid, Pedro Cahn, Luis Fernando Brigido, Zehava Grossman, Vincent Soriano, Wataru Sugiura, Praphan Phanuphak, Lynn Morris, Jonathan Weber, Deenan Pillay, Amilcar Tanuri, Richard P.Harrigan, Ricardo Camacho, Jonathan M.Schapiro, David Katzenstein, and Anne-Mieke Vandamme: Discordances between Interpretation Algorithms for Genotypic of Human Immunodeficiency Virus Are Subtype Dependent. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 50(2): 694-701,2006
22. Ode H, Neya S, Hata M, Sugiura W, Hoshino T. Computational simulations of HIV-1 proteases-multi-drug resistance due to nonactive site mutation L90M., *J Am Chem Soc.* 128(24):7887-95. 2006

学会発表

1. S Yoshida, H Gatanaga, T Itoh, M Fujino, M Kondo, K Sadamasu, T Kaneda, F Gejyo, T Shirasaka, H Mori, M Ueda, N Takata, R Minami, W Suigura and the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network.: Prevalence of drug resistance associated mutations in newly diagnosed HIV/AIDS patients in Japan from 2003-2007. XVII International HIV Drug Resistance Workshop. Jun. 10-14, 2008, Sitges, Spain.
2. Rajintha Bandaranayake, M Prabu-Jeyablab, J Kakizawa, W Sugiura and C Schiffer.: The Effect of Sequence Polymorphisms on CrF01_AE Protease Structure. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Feb.3-6, 2008, Boston, USA.
3. 岩谷靖雅、吉居廣朗、武田 哲、杉浦 互: HIV-1 Vif 依存的な APOBEC3G のユビキチン化サイトの同定. 第 56 回日本ウイルス学会学術集会. 2008 年 10 月 26~28 日, 岡山
4. 宮崎菜穂子、松下修三、藤井 毅、岩本愛吉、杉浦 互: 既治療患者における薬剤耐性(多剤耐性) HIV の現状調査. 第 22 回日本エイズ学会学術集会. 2008 年 11 月 26~28 日, 大阪
5. 巽 正志、梅木優子、竹川菜穂、松田昌和、橋本 修、西澤雅子、石古博昭、杉浦 互、山本直樹: 薬剤耐性ウイルスの感染性分子クローンを軸にした Genotype と Phenotype をつなぐ実験解析系. 第 22 回日本エイズ学会学術集会. 2008 年 11 月 26~28 日, 大阪
6. 岩谷靖雅、吉居廣朗、武田 哲、杉浦 互: APOBEC3G の HIV-1 Vif に依存したユビキチン化サイトに関する研究. 第 22 回日本エイズ学会学術集会. 2008 年 11 月 26~28 日, 大阪
7. 柴田潤子、岩谷靖雅、任 鳳蓉、田中 博、杉浦 互: HIV-1 ゲノム RNA における poly (A) 付加部位に関する研究. 第 22 回日本エイズ学会学術集会. 2008 年 11 月 26~28 日, 大阪
8. 大出裕高、横山 勝、佐藤裕徳、伊部史朗、藤崎誠一郎、間宮均人、濱口元洋、杉浦 互、横幕能行: HIV-1 プロテアーゼにおける耐性変異 L89V の立体的影響. 第 22 回日本エイズ学会学術集会. 2008 年 11 月 26~28 日, 大阪
9. 椎野禎一郎、貞升健志、長島真美、杉浦 互: HIV-1 薬剤耐性変異の感染者集団における固定/消失時間の解析. 第 22 回日本エイズ学会学術集会. 2008 年 11 月 26~28 日, 大阪
10. 正岡崇志、梁 明秀、巽 正志、杉浦 互、森下 了、澤崎達也、山本直樹: 酵素活性を指標とした新規 HIV プロテアーゼ薬剤耐性検査法の開発. 第 22 回日本エイズ学会学術集会. 2008 年 11 月 26~28 日, 大阪
11. 星野忠次、辰巳絢子、篠原祐子、大出裕高、杉浦 互: コンピューターによる薬剤耐性 HIV-1 に対する薬効予測の試み. 第 22 回日本エイズ学会学術集会. 2008 年 11 月 26~28 日, 大阪
12. 横幕能行、大出裕高、間宮均人、濱口元洋、伊部史朗、藤崎誠一郎、藤崎菜穂子、金田次弘、杉浦 互: Enfuvirtide (T-20) +raltegravir (RAL) +darunavir (DRV) +etravirine(TMC125)+lamivudine (3TC) の多剤高度耐性 HIV-1 感染症に対する治療効果. 第 22 回日本エイズ学会学術集会. 2008 年 11 月 26~28 日, 大阪
13. 杉浦 互、湯永博之、吉田 繁、千葉 仁志、小池隆夫、伊藤俊広、原 孝、佐藤武幸、石ヶ坪良明、上田敦久、近藤真規子、今井光信、貞升健志、長島真美、福武勝幸、山本泰之、田中理恵、加藤真吾、宮崎菜穂子、藤井 毅、岩本愛吉、藤野真之、仲宗根 正、巽 正志、椎野禎一郎、岡 慎一、林田庸総、服部純子、伊部史朗、藤崎誠一郎、金田次弘、濱口元洋、上田幹夫、大家正泰、田邊嘉也、渡辺香奈子、渡邊 大、白阪琢磨、栗原 健、森 治代、小

- 島洋子、高田 昇、木村昭郎、南 留美、山本政弘、松下修三、健山正男、藤田次郎：2003-2007 年の新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性頻度の動向。第 22 回日本エイズ学会学術集会。2008 年 11 月 26~28 日、大阪
14. H Suzuki, M Fujino, M Matsuda, H Yan, Y Iwatani, W Sugiura: Effects of Protease and reverse transcriptase inhibitor-resistance mutations on integrase polymorphism in multidrug resistance cases. XVI International HIV Drug Resistance Workshop. Jun. 12-16, 2007, Barbados, West Indies.
 15. J Shibata, F Ren, M Nishizawa, M Fujino, Y Iwatani, M Matsuda, H Miura, H Tanaka and W Sugiura: Interference between Gag non-cleavage site mutation P453L and HIV-1 protease non-drug resistance mutation E35D. XVI International HIV Drug Resistance Workshop. Jun. 12-16, 2007, Barbados, West Indies.
 16. J Shibata, F Ren, M Nishizawa, H Tsang, Y Iwatani, M Matsuda, H Miura, H Tanaka, W Sugiura: Gag and Protease Interference Affect Acquisition and Selection of Resistance Viruses in Antiretroviral Treatment Failure Case. 8th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance. Nov. 11-14, 2007, USA.
 17. Wataru Sugiura: Drug Resistance assays. International Conference on Molecular and Cellular Biology of Therapeutics of HIV and Associated Viral Infections. Jan. 12-14, 2007, Hyderabad, India.
 18. 柴原 健、吉野宗宏、佐野俊彦、小島賢一、日笠 聡、杉浦 互、白阪琢磨：拠点病院における抗 HIV 療法と薬剤関連アンケート調査結果(第 4 報)。第 21 回日本エイズ学会学術集会。2007.11.28-30, 広島
 19. 中里俊文、高村 斉、大出裕高、清水 愛、杉浦 互、星野忠次：L90M 変異体に阻害作用をもつ抗 HIV 薬の設計・合成。第 21 回日本エイズ学会学術集会。2007.11.28-30, 広島
 20. 羽生勇一郎、山本紀生、日吉真照、黒崎直子、石川晃一、松田昌和、岡田誠治、杉浦 互、山本直樹、高久 洋：shRNA, decoy RNA 共発現レンチウィルススペクターによる HIV-1 複製阻害効果の検討。第 21 回日本エイズ学会学術集会。2007.11.28-30, 広島
 21. 田中理恵、柴原 健、杉浦 互、加藤真吾：HPLC によるダルナビルの血中濃度測定法の開発。第 21 回日本エイズ学会学術集会。2007.11.28-30, 広島
 22. 岩谷靖雅、杉浦 互：HIV-1 NC と APOBEC3 G の逆転写反応への作用。第 21 回日本エイズ学会学術集会。2007.11.28-30, 広島
 23. 松山 翔、大出裕高、柿澤淳子、杉浦 互、星野忠次：臨床検体由来 Subtype C HIV-1 protease の薬剤耐性機構に関する構造化学的研究。第 21 回日本エイズ学会学術集会。2007.11.28-30, 広島
 24. 柿澤淳子、松山 翔、大出裕高、星野忠次、大高泰靖、岩谷靖雅、西澤雅子、Rajintha Bandaranayake, Celia A Sciffer、杉浦 互：CRF01_AE とサブタイプ B のプロテアーゼの構造解析。第 21 回日本エイズ学会学術集会。2007.11.28-30, 広島
 25. 長谷川直紀、杉浦 互、任 鳳蓉、松田昌和、柴田潤子、田中 博：HARRT 下における連続サンプルを用いた経時的な HIV の宿主内進化解析。第 21 回日本エイズ学会学術集会。2007.11.28-30, 広島
 26. 柴田潤子、任 鳳蓉、西澤雅子、藤野真之、松田昌和、岩谷靖雅、杉浦 互、田中 博：抗 HIV 薬剤投与下における protease と Gag の共進化に関する研究。第 21 回日本エイズ学会学術集会。2007.11.28-30, 広島
 27. 吉田いづみ、西澤雅子、藤野真之、仲宗根 正、岩谷靖雅、長谷川直紀、柴田潤子、杉浦 互、

- 任 鳳蓉、田中 博: HIV-1 env 遺伝子の多様性進化. 第 21 回日本エイズ学会学術集会. 2007.11.28-30, 広島
28. 近藤真規子、宮崎裕美、須藤弘二、佐野貴子、倉井華子、相楽裕子、岩室紳也、杉浦 互、武部 豊、今井光信: 日本で流行している HIV-1 サブタイプ B の diversity. 第 21 回日本エイズ学会学術集会. 2007.11.28-30, 広島
29. 藤野真之、三浦秀佳、西澤雅子、松田昌和、鈴木寿子、杉浦 互: プロテアーゼ阻害剤耐性 HIV-1 株に対するダルナビルの有効性についての解析. 第 21 回日本エイズ学会学術集会. 2007.11.28-30, 広島
30. 杉浦 互、湯永博之、吉田 繁、千葉仁志、小池隆夫、伊藤俊広、原 孝、佐藤武幸、石ヶ坪良明、上田敦久、近藤真紀子、今井光信、貞升健志、長島真美、福武勝幸、山元泰之、田中理恵、加藤真吾、宮崎菜穂子、岩本愛吉、藤野真之、仲宗根 正、巽 正志、椎野慎一郎、岡 慎一、林田庸聡、服部純子、伊部史朗、藤崎誠一郎、金田次弘、浜口基洋、上田幹夫、正兼亜季、大家正義、下条文武、田邊嘉也、渡邊香奈子、白阪琢磨、栗原 健、森 治代、小島洋子、中桐逸博、高田 昇、木村昭郎、南 留美、山本政弘、松下修三、健山正男、藤田次郎: 2003-2006 年の新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性頻度の動向. 第 21 回日本エイズ学会学術集会. 2007.11.28-30, 広島
31. 今井光信、中瀬克己、小島弘敬、加藤真吾、杉浦 互、栗原 健、白阪琢磨: HIV 検査および検査体制・技術の進歩と今後の課題. 第 20 回日本エイズ学会 シンポジウム記録. 9(3):202-208,2007
32. 松田昌和、杉浦 互: HIV 薬剤耐性検査. モダンメディア別冊 53(11):319-322, 2007
33. 西澤雅子、杉浦 互: 薬剤耐性 HIV の抱える諸問題: Considerable Issues of Drug Resistance. The Journal of AIDS Research. 9(3):197-201,2007
34. 杉浦 互: 抗ウイルス薬耐性獲得のメカニズム. HIV. 月刊薬事. 49(11):31-36, 2007
35. 岩谷靖雅、杉浦 互: DNA マイクロアレイ法. (増刊号)臨床と微生物. 34:479-481, 2007
36. 杉浦 互: 薬剤耐性化と対策. 薬剤耐性化. HIV の耐性化機序. 日本臨床 65 増刊号 2.487-492, 2007
37. 杉浦 互: 感染症の治療と薬剤耐性. 生体防御医学辞典. 朝倉書店. 66-71, 2007
38. 藤崎誠一郎、藤崎彩恵子、伊部史朗、浅黄 司、伊藤俊広、吉田 繁、小池隆夫、大家正泰、渡邊香奈子、正兼亜季、上田幹夫、湯永博之、松田昌和、貞升健志、長島真美、岡田清美、近藤真規子、奏 真美、溝上泰司、森 治代、南 留美、白阪琢磨、岡 慎一、杉浦 互、金田次弘: 日本における HIV-1 遺伝子型薬剤耐性検査のコントロールサーベイ. 日本エイズ学会誌 (The Journal of AIDS Research). 9(2):136-146, 2007
39. Rajintha M. Bandaranayake, Moses Prabu-Jeyabalan, Junko Kakizawa, Wataru Sugiura, Celia Shiffer: Structural Analysis of HIV-1 CRF01_{pro} Protease in Complex with the Substrate p1-p6. 7th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance. Nov.12-15, 2006, Virginia.
40. Junko Shibata, Masako Nishizawa, Masakazu Matsuda, Wataru Sugiura, Fengrong Ren, Hiroshi Tanaka: Analysis of Co-Evolution Between Mutations in Protease Inhibitor Resistance and in Gag. 7th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance. Nov.12-15, 2006, Virginia.
41. T Ueda, M Itaya, K Tusge, K Fujita, M Matsuda, M Nishizawa, W Sugiura: Reconstruction of HIV-1 full genome clones with Bacillus subtilis. HIV Drug Resistance Workshop. Jun 13-17, 2006, Spain.
42. Hua Yan, Kazuro Shiomi Nobuhiko Nomura, Tomoko Chiba-Mizutani, Hideka

- Miura, Tadakazu Takakura, Haruo Tanaka
Wataru Sugiura: New HIV-1 integrase
inhibitors identified from small molecule
chemical library and microbial metabolites.
International Workshop on Discovery of
antiviral compounds. Apr. 26-29, 2006,
Lubeck, Germany
43. Wataru Sugiura: Virological and Statistical
Analyses of Interference between Protease
Inhibitor Resistant Mutations and Gag
Mutations. 13th Conference on
Retroviruses and Opportunistic Infections.
Feb. 5-9, 2006, Denver, USA.
44. Wataru Sugiura: Multi-Center Nationwide
Survey of Drug Resistant HIV-1 in Newly
Diagnosed HIV/AIDS Patients in Japan
from 2003 to 2004. 13th Conference on
Retroviruses and Opportunistic Infections.
Feb. 5-9, 2006, Denver, USA.
45. Hua Yan, Nobuhiko Nomura, Tomoko
Chiba-Mizutani, Hideka Miura, Tadakazu
Takakura, Satoshi Takeda, Wataru
Sugiura: New HIV-1 integrase inhibitors
identified from small molecule chemical
library. 第 16 回抗ウイルス化学療法研究会.
2006 年 5 月 26-27 日, 福島.
46. 岩谷靖雅, レビンジュディス, 杉浦 互:
APOBEC3G の HIV-1 の逆転写阻害メカニ
ズム. 第 54 回日本ウイルス学会学術集会. 2006
年 11 月 19 日~21 日, 名古屋.
47. 三浦秀佳, 千葉智子, 滝澤万里, 松田昌和,
西澤雅子, 本多三男, 杉浦 互: ヒト細胞由来
レポーター細胞 MARRBLE を用いた臨床分
離株薬剤感受性検査の評価. 第 54 回日本ウ
ィルス学会学術集会. 2006 年 11 月 19 日~21
日, 名古屋.
48. 柴田潤子, 西澤雅子, 松田昌和, 長谷川直紀,
吉田いづみ, 杉浦 互, 任 鳳蓉, 田中 博: 抗
HIV 剤治療下における Protease と Gag の相
互干渉と共進化に関する解析. 第 54 回日本
ウィルス学会学術集会. 2006 年 11 月 19 日~
21 日, 名古屋.
49. 杉浦 互: HIV 遺伝子検査の進歩と今後の課
題-本邦における薬剤耐性検査の現状と今後
の展望-. 第 20 回日本エイズ学会学術集会.
シンポジウム 1, 2006 年 11 月 30 日, 東京.
50. 小池 満, 三好 洋, 山口洋子, 奥瀬千晃, 中
島由紀子, 井上靖之, 鈴木貴雄, 高橋正知,
三浦偉久男, 杉浦 互, 中島秀喜: HIV/HVB
重複感染例の検討. 第 20 回日本エイズ学会
学術集会. 2006 年 11 月 30 日-12 月 2 日, 東
京.
51. 古賀一郎, 小田原 隆, 松田昌和, 杉浦 互,
後藤美江子, 中村哲也, 岩本愛吉: 良好な
HIV 治療中に合併した梅毒感染前後での
HIV プロウイルス塩基配列の変化. 第 20 回
日本エイズ学会学術集会. 2006 年 11 月 30 日
-12 月 2 日, 東京.
52. 大出裕高, 松山 翔, 柿澤淳子, 杉浦 互, 星
野忠次: CRF01_AE HIV-1 における NFV 耐
性変異 N88S の出現メカニズムに関する構造
学的知見. 第 20 回日本エイズ学会学術集会.
2006 年 11 月 30 日-12 月 2 日, 東京.
53. 藤崎誠一郎, 藤崎彩恵子, 伊部史朗, 浅黄 司,
吉田 繁, 正兼亜季, 大家正泰, 渡邊香奈子,
湯永博之, 松田昌和, 貞升健志, 岡田清美,
近藤真規子, 奏 眞美, 溝上泰司, 森 治代,
南 留美, 杉浦 互, 金田次弘: HIV-1 遺伝子
型薬剤耐性検査のパリテーション. 第 20 回
日本エイズ学会学術集会. 2006 年 11 月 30 日
-12 月 2 日, 東京.
54. 西澤雅子, 加藤真吾, 三浦秀佳, 山本直樹,
杉浦 互: 細胞内における抗 HIV 薬 (プロテ
アーゼ阻害剤) の薬剤濃度のモニタリング.
第 20 回日本エイズ学会学術集会. 2006 年 11
月 30 日-12 月 2 日, 東京.

資料 1

講習会参加施設一覧

平成 18 年 (11 施設)

福島県衛生研究所
埼玉県衛生研究所
相模原市衛生試験所
長野県環境保全研究所
浜松市保健環境研究所
三重県津保健福祉事務所 総合検査室
島根県保健環境科学研究所
京都府保健環境研究所
熊本県保健環境科学研究所
宮崎県衛生環境研究所
鹿児島県環境保健センター

平成 19 年 (19 施設)

青森県環境保健センター
栃木県保健環境センター
宇都宮市衛生環境試験所
千葉市環境保健研究所
川崎市衛生研究所
静岡市環境保健研究所
岐阜県保健環境研究所
京都市衛生公害研究所
兵庫県立健康環境科学研究所センター
神戸市環境保健研究所
和歌山市衛生研究所
鳥取県衛生環境研究所
鳥取大学医学部附属病院
愛媛県立衛生環境研究所
佐賀県衛生薬業センター
長崎県衛生公害研究所
沖縄県衛生環境研究所
琉球大学大学院医学研究科
沖縄県立中部病院

平成 20 年 (13 施設)

新潟県保健環境科学研究所
千葉県衛生研究所
愛知県衛生研究所
名古屋市衛生研究所
岐阜市衛生試験所
三重県津保健福祉事務所総合検査室
滋賀県衛生科学センター
京都府保健環境研究所
鳥取県衛生環境研究所
島根県保健環境科学研究所
広島県立総合技術研究所
香川県環境保健研究所センター
福岡市保健環境研究所

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 (2006)

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Usuku S, Noguchi Y, Sakamoto M, Adachi T, Sagara H, Sudo K, Nishizawa M, Kondo M, Tochikubo O, Imai M.	Analysis of a long-term discrepancy in drug-targeted genes in plasma HIV-1 RNA and PBMC HIV-1 DNA in the same patient.	Jpn J Infect Dis.	59(2)	122-5	2006
Kato, S., Hanabusa, H., Kaneko, S., Takakuwa, K., Suzuki, M., Kuji, N., Jinno, M., Tanaka, R., Kojima, K., Iwashita, M., Yoshimura, Y., and Tanaka, K.	Complete removal of HIV-1 RNA and proviral DNA from semen by the swim-up method: Assisted reproduction technique using spermatozoa free from HIV-1.	AIDS	20(7)	967-973	2006
Hamatake, M., Nishizawa, M., Yamamoto, N., Kato, S., and Sugiura, W.	assay for quantitation of HIV-1 subtype B and non-B RNA in plasma.	J. Virol. Methods	in press		
Tomoko Chiba-Mizutani, Hideka Miura, Masakazu Matsuda, Zene Matsuda, Yoshiyuki Yokomaku, Kosuke Miyauchi, Masako Nishizawa, Naoki Yamamoto, Wataru Sugiura.	New T-Cell-Based Lines with Two Luciferases for Accurately Evaluating Susceptibility to HIV-1 Drugs.	J Clinical Microbiology	in press		
Hiroyuki Gatanaga, Shiro Ibe, Masakazu Matsuda, Shigeru Yoshida, Tsukasa Asagi, Makiko Kondo, Kenji Sadamasu, Hiroki Tsukada, Aki Masakane, Haruyo Mori, Noboru Takata, Itsuhiro Nakagiri, Rumi Minami, Masao Tateyama, Takao Koike, Toshihiro Itoh, Mitsunobu Imai, Fumitake Gejyo, Mikio Ueda, Motohiro Hamaguchi, Yoko Kojima, Takuma Shirasaka, Akio Kimura, Masahiro Yamamoto, Jiro Fujita, Shinichi Oka, and Wataru Sugiura.	Nationwide Survey of Drug-Resistant HIV-1 Prevalence in Patients Newly Diagnosed with HIV/AIDS in Japan.	Antiviral Research	in press		
Afewerk Kassu, Masayuki Fujino, Masakazu Matsuda, Masako Nishizawa, Fusao Ota, Wataru Sugiura.	Molecular Epidemiology of HIV-1 in Treatment Naive Patients in North Ethiopia.	AIDS Research and Human Retroviruses	in press		
Kousuke Miyauchi, Jun Komano, Lay Myint, Yuko Futahashi, Emiko Urano, Zene Matsuda, Tomoko Chiba, Hideka Miura, Wataru Sugiura and Naoki Yamamoto.	Rapid propagation of low-fitness drug-resistant mutants of human immunodeficiency virus type 1 by a streptococcal metabolite sparsomycin.	Antiviral Chemistry & Chemotherapy	17(4)	167-174	2006
Hirotsuka Ode, Saburo Neya, Masayuki Hata, Wataru Sugiura, Yuji Hoshino.	Computational Simulations of HIV-1 Proteases-Multi-drug Resistance Due to Nonactive Site Mutation L90M.	J. AM.Chem.Soc.,	128	7887-7895	2006