

200908001B

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業

宿主細胞の細胞内免疫機構に基づく

新規エイズ治療薬の開発

平成19年度～21年度 総合研究報告書

研究代表者 山本 直樹

平成22年3月

目 次

I.	総合研究報告書		
	宿主細胞の細胞内免疫機構に基づく新規エイズ治療薬の開発	・・・	1
	山本 直樹（国立感染症研究所 エイズ研究センター長）		
II.	研究成果の刊行に関する一覧表	・・・	15
III.	研究成果の刊行物・別刷（抜粋）	・・・	21

I. 総合研究報告書

宿主細胞の細胞内免疫機構に基づく新規エイズ治療薬の開発

研究代表者 山本 直樹 国立感染症研究所エイズ研究センター長

研究要旨：HIV 感染症の成立には宿主タンパク質と HIV タンパク質間の相互作用が必須である。HIV-1 の粒子形成に至るプロセスは複雑かつ巧緻であり、構造タンパク質である前駆体 Gag タンパク質 (Pr55) の細胞内ダイナミズムにともなった宿主-ウイルスタンパク質の相互作用が見られる。我々は独自に開発してきた無細胞タンパク質合成技術と高感度相互作用解析手法アルファスクリーンシステム、さらには高感度質量分析計を用いたプロテオーム解析の技術を駆使することで、SOCS1、APC といった HIV-1Gag に直接相互作用し、ウイルス粒子形成に重要な役割を果たすタンパク質を複数同定することに成功した。さらに別のアプローチとして、膜輸送系に関与する約 60 種類のタンパク質ファミリーについて免疫沈降法を行ったところ、BCA2 が HIV-1 をはじめ、多くのエンベロープウイルスを細胞膜に繫留することで知られている、tetherin と相互作用することが分かった。一方、細胞内シグナル伝達情報制御機構の中心的役割を担うプロテインカインースは、タンパク質のリン酸化を通じて、タンパク質輸送や転写・複製機構を制御していることから、HIV-1 はそのリン酸化を通じてタンパク質輸送などの宿主細胞内機能を利用しているものと想像されている。昨年度、見出された HIV-1 のアクセサリ蛋白質である Vif、Vpr および Vpu と結合する 16 種類のヒトプロテインカインースを用いて、細胞内で Vif および Vpr との相互作用解析を行った。その結果、Vif と共発現により発現量が増加する 7 種類のヒトプロテインカインース、および Vpr との共発現により積極的に分解誘導される 3 種類のヒトプロテインカインースを同定した。さらに、その一部のプロテインカインースの過剰発現は HIV 感染に対して抑制的に働くことが示された。

これらの成果は HIV-1 粒子形成に至る詳細な分子機構を解明しただけではなく、宿主因子-ウイルス間相互作用を標的とする新規の薬剤開発に向けた基盤情報となりうる。

研究分担者

梁 明秀

横浜市立大学医学部微生物学 教授

澤崎達也

愛媛大学無細胞生命科学工学研究センター

准教授

殖の仕組みだけでなく、感染した細胞で起こる細胞内増殖機構を理解するために必須である。HIV-1 の感染によって抑制、又は促進される細胞遺伝子の特徴は、ウイルスと細胞間の相互作用や、ウイルス増殖に必要な標的分子を特定することに大いに貢献すると思われる。

本研究は、無細胞タンパク質合成系やプロテオームの技術を駆使して、HIV-1 複製や細胞障害性に関与する宿主因子を網羅的に明らかにすることにより、それらを標的にした全く新しいエイズ治療薬の開発を目指した研究を行った。

A. 研究目的

ヒト免疫不全ウイルス タイプ 1 (HIV-1) の感染においては、ウイルスと細胞間の複雑な相互作用や因子同士のかかわりがあることが分かっている。細胞因子と HIV-1、細胞因子同士の分子間相互作用による HIV-1 の制御は我々がウイルス増

B. 研究方法

プロテオミクス解析

HIV-1 Gag タンパク質と相互作用する宿主因子探索のため TAP/MS (Tandem Affinity Purification/ mass spectrometry) を用いたプロテオミクス解析を行った。C 末端に TAP タグ (IgG-binding motif-TEV 切断配列-calmodulin binding motif) を付加させた HIV-1 Gag のを 293T 細胞にリポフェクション法により発現導入し、アフニティカラムで2段階でGagと結合タンパク質の抽出を行った。回収されたタンパク質を Trypsin で消化し、(MALDI-TOF/MS 解析と MASCOT データベース解析により同定した。同定されたタンパク質はコムギ無細胞タンパク質合成系により合成後、Gag とそのドメイン変異体との結合活性を我々は無細胞タンパク質合成系と化学増幅型ルミネッセンス プロキシミティホモジニアス アッセイ アルファスクリーン法にて解析した。

siRNA 導入

HiPerFectTransfection Reagent(QIAGEN) を用いて定例に従って行った。導入 48 時間後に細胞をカバーガラス上に播種し、各時間経過後にホルマリン固定後蛍光免疫染色を施行した。

使用した siRNA の配列は以下に示す。

siAPC47 : 5'-AAA GGA UGG AAU CUG AAU CAG ACG A-3'

siAPC48 : 5'-UAU AGU GGG ACU GAG AUU AGG UGG G-3'

siControl : 5'-CAG UCG CGU UUG CGA CUG GTT-3'

免疫染色

カバーガラス上に播種した細胞をホルマリン 3%PBS で固定後、0.1%TritonX 及び 10%GoatSerum で 15 分ブロッキングを行い、一次抗体反応させた。PBS で洗浄後、60 分 PBS 中に静置し、二次抗体(室温、60 分)反応させた。同様に洗浄した後、DAPI を用いて核の染色を行い共焦点レーザー顕微鏡(Zeiss LSM510)で観察した。使用した抗体は GFP モノクローナル抗体 (Wako, 1:2000) 、 GFP rabbit 抗体 (invitrogen, 1:200)、Talin モノクローナル抗体 (SIGMA, 1:500) 、 APC rabbit 抗体 (Santa

Cruz, 1:100)である。

ELISA

ルミパルス (富士レビオ) を用いて細胞上清中の p24 量を定量した。

プラスミド構築・ウイルス精製・抗体

ヒト BCA2 (GenBank #BC054049) と tetherin (GenBank #D28137) 遺伝子のクローニングのため、HeLa 細胞の全 RNA から RT-PCR 法にて該当遺伝子を増幅し、pCMV ベクター (Clontech) に挿入した。感染性ウイルスは、293T 細胞にモレキュラークローン (pNL4-3 または pNL4-3ΔVpu) を導入し、48 時間後に上清を回収して調製した。ポリクローナル抗 BCA2 抗体は、KLH キャリアーを付加した BCA2 由来のペプチドをウサギに免疫して作製した。

タンパク質間相互作用の検出

Tetherin を発現した 293T 細胞ライゼートに、グルタチオンビーズが付加された GST-BCA2 タンパク質を添加し、ウェスタンブロット法にて結合タンパク質の検出を行った。または、HA-BCA2 と Myc-tetherin を発現させた 293T 細胞ライゼートに、抗 HA 抗体にて免疫沈降法を行った。

ウイルス複製アッセイ

HeLa または HOS 細胞に pNL4-3 または pNL4-3ΔVpu を、HA-BCA2 とともに発現させ、48 時間後に上清中のウイルス量を ELISA 法にて定量した。細胞ライゼートはウェスタンブロット法にて解析した。T細胞でのマルチサイクルでの複製を解析するために、Jurkat 細胞に BCA2 を安定的に発現させた後、ウイルスを低 MOI にて感染させた。上清中のウイルス量を、ELISA 法にて定期的に解析した。

顕微鏡解析

ガラスボトムディッシュ上の HeLa 細胞に遺伝子導入を行い、48 時間後にパラホルムアルデヒド

により固定・染色の後、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。もしくは、遺伝子導入した HeLa 細胞をグルタルアルデヒドにより固定し、ゼラチンにて包埋・再固定の後、透過型電子顕微鏡にて観察した。

パルスチェイス解析

遺伝子導入した HeLa 細胞を Met/Cys-free 培地にて前処理した後、放射線同位体元素を含む ³⁵S-Met/Cys 培地で HIV-1 Gag タンパク質をラベルした。細胞を通常の培地に戻して定期的に回収し、ライゼートを抗 Gag 抗体にて免疫沈降し、オートラジオグラフィーを用いて解析した。

siRNA・ストリッピングアッセイ

BCA2 に対する siRNA は Invitrogen 社より購入した (Oligo #HSS120532, #HSS120534)。細胞に siRNA を導入し、24 時間後に pNL4-3 または pNL4-3ΔVpu を遺伝子導入した。さらに 48 時間後に上清を回収した。細胞膜上に保持されたウイルス粒子を定量するために、プロテアーゼ (Subtilisin) を、siRNA/DNA 導入細胞に処理し、再度上清を回収した。これらの上清を混合し、含まれるウイルス量を、ELISA 法にて解析した。

HIV-1Vif, Vpr および Vpu と結合するヒトプロテインカイネース

MGC と FANTOM クローン、そして我々の研究室でクローニングされた合計 420 種類の完全長プロテインカイネース遺伝子を鋳型に、コムギ無細胞タンパク質合成系によりプロテインカイネースタンパク質ライブラリーの構築を行った。また、ビオチン化に必要な配列を N 末端に付加し、ビオチンリガーゼ BirA とビオチンを上記無細胞系に加えることにより、ビオチンでラベルしたプロテインカイネースタンパク質を得た。FLAG 配列を N 末端に付加した HIV-1 アクセサリータンパク質との相互作用は、AlphaScreen 法により検出した。また、結合が確認されたプロテインカイネースの細胞を用いた実験は、HEK293T もしくは Jurkat 細胞

を用いて行い、検出には Flag もしくは V5 タグに対する抗体を用いたイムノプロットングにより行った。

HIV タンパク質と宿主因子との複合体形成能または相互作用を基盤とした薬剤スクリーニング系の構築

相互作用をハイスループットで行える高感度検出システムとして、小麦無細胞タンパク質合成システムとアルファスクリーン手法を用いたアッセイ系を構築した。このアッセイ系を用いて Vif-APOBEC3G または Gag-SOCS1 の相互作用を阻害する分子・薬剤のスクリーニングを、約 2 万種類の合成低分子化合物ライブラリーおよび約 3 千種類の天然化合物ライブラリーを用いて解析を行った。

ヒト iPS 細胞

将来の新規の治療法の開発や薬剤評価系の構築を目指して、複数のヒト iPS 細胞の樹立し、種々の HIV 抵抗性宿主因子遺伝子をレンチウイルスベクターまたはエレクトロポレーション法により安定的に導入することで、HIV-1 抵抗性 iPS 細胞を作製した。

(倫理面への配慮)

本研究では遺伝子組換え実験、病原体の使用、動物実験を用いることから、研究者が所属する機関の組換え DNA 実験安全委員会、バイオセーフティ委員会、動物実験委員会、医学研究倫理委員会等の承認・認可を得て実験を行なった。また臨床サンプルの解析及びデータの公表にあたっては、倫理委員会の規則にのっとり、当該患者（感染者）の同意を得た上で行う予定である。動物実験は、「動物愛護の精神」を遵守し、極力動物の苦痛軽減を配慮して行った。細胞移植、採血、剖検の際は、必ず腹腔より十分量のネブタールを注入し、動物が眠っていることを確認してから行っている。

C. 研究結果

1) HIV タンパク質と機能的相互作用する宿主因子の同定

我々は Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) 法, プロリルイソメラーゼ Pin1 プローブとしたリン酸化プロテオミクス法、ヒト全長 cDNA ライブラリーを用いたコムギ無細胞タンパク質合成システム等を融合的に活用することで、HIV 複製や病原性に直接関与する細胞側エフェクター因子の包括的な探索を行った。本研究課題により我々が新規に同定した宿主因子は 20 種類以上にわたり、このうちの 9 種類についてはウイルス増殖や病態形成に至る各ステップに直接関与することを明らかにした。各々の宿主因子の標的因子とその役割については別表に記載する。これらの因子を抑制または活性化することで、HIV の感染および増殖を阻止し、細胞障害性を抑制することで、エイズまたは関連疾患の発症を阻止できる可能性がある。また、今回同定された宿主因子の中には、HIV 感染にともなって反応性に誘導され、細胞内免疫因子として作用すると考えられる因子も複数含まれており、今後の宿主-ウイルス相互作用を標的とした新規の抗 HIV 薬の開発する上で重要な基盤情報になりうる。以下に特記すべき分子について、詳述する；

(1) SOCS

サイトカインシグナル抑制因子 SOCS1 が HIV-1 感染 T 細胞において特異的にその発現が誘導されることを見いだした。SOCS1 は HIV-1 Gag タンパク質と複合体を形成し、Gag タンパク質をユビキチン化することにより、ウイルス粒子タンパク質の細胞内輸送と感染性ウイルス粒子の形成に重要な役割を果たすことを明らかにした。ユビキチン変異体をもちいて Gag のユビキチン化を阻害すると、Gag タンパク質の形質膜への局在と Gag の微小管との結合が阻害された。まとめると、SOCS1 が Gag をユビキチン化することで、Gag の微小管を介した細胞内輸送と粒子産生を促進する。

(2) APC

TAP 法を用いたプロテオミクス解析により 293T

細胞内で HIV-1Gag に結合する宿主タンパク質を複数抽出した。その中に約 300KD のバンドを確認し、MALD-TOF/MS 解析の結果 Adenomatous Polyposis Coli (APC) タンパク質であることが確認された。次にコムギ無細胞タンパク質合成系を用いた結合解析にて、APC の C 末端が Gag の MA および NC に結合することが明らかとなった。これらの現象は免疫沈降法および GST プルダウン法においても確認された。細胞に HIV-1 分子クローンである pNL4-3 と APC またはその変異体群を共発現させ、各時間後の細胞上清中の p24 量を定量したところ、APC による Gag の多重化の亢進と HIV 粒子形成の増加が認められた。2 種類の APC 特異的 siRNA を細胞に予め導入後 pNL4-3 を導入した場合は、コントロールと比較して、顕著にウイルス粒子形成を阻害した。APC と Gag は遊走細胞の先端端において共局在していた。これらの成果は APC が Gag タンパク質の細胞内局在や Gag の多重化のステップを促進することで、感染性ウイルス粒子産生を促進させることを示唆するものである。

我々は、HIV-1Gag のリン酸化という翻訳後修飾に着目し、Gag タンパク質をリン酸化するキナーゼの同定を、コムギ胚芽ハイスループット合成系及び検出系を利用して行った。その結果、我々は、進化的に保存された細胞極性制御キナーゼとして知られる aPKC が、HIV-1 Gag の p6 領域をリン酸化する事を見いだした。MS/MS 解析により当該リン酸化部位を同定したところ、このリン酸化部位は、HIV-1Vpr と Gag との相互作用部位に含まれていた。当該リン酸化部位の点変異体により Gag と Vpr との結合は抑制され、放出された Virus like particle (VLP) に取り込まれる Vpr の量は減少した。このことは、当該リン酸化によりウイルス粒子に含まれる Vpr の量が正に制御されている事を示唆している。また、Vpr と ALIX/AIP の Gag p6 の結合およびウイルス粒子への取り込みが競合的に作用していることも示した。これらの結果は、aPKC による Gag のリン酸化が、ウイルスの病原性や粒子産生の効率に重要な役割を果たす

ことを示唆するものである。

2) BCA2 は、tetherin と相互作用する

細胞質ドメインを欠失させた tetherin は、BCA2 との結合能を失ったことから、BCA2 は tetherin の細胞質ドメイン (cytoplasmic tail) と相互作用することが示唆された。一方、BCA2 は N 末端に Rab7 結合ドメイン、C 末端に RING ドメインをもつ RING 型 E3 リガーゼであるが、tetherin が結合するのはこのどちらのドメインでもなく、その中間領域であることが分かった。共焦点レーザー顕微鏡にて両者の細胞内局在を観察した結果、細胞質と細胞膜の両方で共局在が認められた。

次に、BCA2 が HIV-1 産生に与える影響について、ELISA 法を用いて調べた。BCA2 は HeLa 細胞などの tetherin 陽性細胞では用量依存的に HIV-1 粒子産生を抑制したが、HOS 細胞などの tetherin 陰性細胞では、その抑制は見られなかった。しかし、HOS 細胞に tetherin を一過的に発現させると、BCA2 の抗 HIV-1 活性が認められた。また、この阻害効果は Vpu の共発現により打ち消されたことから、Vpu 欠失型 HIV-1 では阻害効果が増幅されたことから、BCA2 の抗 HIV-1 活性は tetherin 依存的事が示唆された。

ウェスタンブロット法を用いた解析の結果、BCA2 を過剰発現した HeLa 細胞では、HIV-1 コアタンパク質 Gag の発現レベルが極端に低下していた。放射性同位体を用いたパルスチェイス法にて Gag の安定性について比較検討したところ、BCA2 存在下では、Gag の分解が促進されていた。また、この分解はリソソーム阻害剤の添加によって中和された。透過型電子顕微鏡による観察の結果、BCA2 を過剰発現させた HeLa 細胞では、細胞上清中の HIV-1 粒子量の減少にともなって、細胞内小胞中に多数のウイルス粒子が取り込まれていた。これらの結果から、BCA2 は tetherin によって細胞膜に繫留された HIV-1 粒子をリソソームでの分解に導くことが示唆された。

3) HIV アクセサリータンパク質と相互作用する

宿主キナーゼの網羅的解析

近年 HIV-宿主相互作用の一つの形体として、HIV タンパク質の翻訳後修飾、特にリン酸化がウイルスの複製や病態に関与することが示唆されている。我々は HIV アクセサリータンパク質である、Vif, Vpr および Vpu に直接相互作用する宿主キナーゼの網羅的探索を試みた。コムギ無細胞タンパク質合成系と、独自に構築したヒト全長キナーゼライブラリーを用いて、約 420 種類のキナーゼと Vif, Vpr および Vpu との結合をアルファスクリーンを用いてモニタリングした。その結果、Vif は 36 種類、Vpr は 118 種類、Vpu は 17 種類のヒトプロテインキナーゼとの相互作用があることが明らかになった。また、これらのキナーゼの機能的分類をおこない、HIV-ヒトキナーゼ結合データベースを作製した。その結果、各アクセサリータンパク質と相互作用するキナーゼのレパートリーは比較的特異的であるが、Vpr および Vif で共通に相互作用するキナーゼが 31 種類あることが分かった。今後はこれらのデータベースを活用し、HIV の増殖や病態に関わる影響などについて検討を行う。

4) 宿主因子-ウイルスタンパク質相互作用を標的とした in vitro 阻害剤スクリーニング系の構築

アルファスクリーンシステムを駆使することで、ウイルス-宿主タンパク質の機能的相互作用を指標とする新規のハイスループット阻害剤スクリーニング系を構築に成功した。特に、HIV-1 Vif とその結合因子である APOBEC3G はともに全長タンパク質の合成がきわめて困難であり、現在までそれに成功したという報告はない。我々はコムギ無細胞タンパク質合成系と、種々の界面活性剤やペプチドを添加することで、これらのタンパク質の全長の精製に成功し、かつ全長タンパク質同士のハイスループット相互作用系を樹立した。これらのアッセイ系を用いて、約 2 万種類の低分子化合物ライブラリーをスクリーニングした結果、20 種類のヒット化合物を同定し、阻害作用を

有する分子骨格を明らかにした（特許出願準備中）。また、タンパク質間相互作用のみならず、APOBEC3G-Vif-E3 複合体の形成や APOBEC3G のユビキチン化を指標とした 2 次スクリーニング系の構築にも成功しており、今後はこれらのアッセイ系を用いたヒット化合物の絞り込みや *in silico* 分子設計の効果判定などを合わせて行う予定である。

5) ヒト幹細胞を用いた感染モデル系の作成と薬剤評価系の構築

iPS 細胞を用いた研究から、ヒトレトロウイルスの宿主との相互作用、病原性、潜伏感染・持続感染、宿主抵抗性、感染感受性、抗ウイルス免疫反応（先天性、後天性）などのウイルス学上の大きな諸問題を明らかにすることが逆遺伝子的手法により可能となる。これらは、ワクチン及び新規免疫療法による感染予防と治療薬を開発、さらには臨床応用に備えた実用化のためのきわめて重要な基盤情報となりうる。われわれは国立成育医療センター生殖医療部の梅澤部長、阿久津室長と共同で、ヒト胎児肺線維芽細胞 MRC5 由来の iPS 細胞に、APOBEC3G や Tetherin をはじめ本研究課題で同定された内在性抗レトロウイルス因子を安定的に導入し、HIV 感染抵抗性/感受性 iPS 細胞の樹立を行った。今後はこれらの細胞を造血系細胞へ分化誘導を行うことにより、実際の HIV 複製や病態への影響を考察するとともに、これらの細胞を NOG マウスなどの免疫不全マウスに移植することで、*in vivo* おける宿主-ウイルス因子相互作用や各種薬剤の評価を行うためのモデル系を構築する。

D. 考察

本研究ではまず、HIV-1 Gag タンパク質と機能的に相互作用する宿主因子を同定し、ウイルス粒子形成に至る Gag タンパク質の細胞内動態とその調節機構を明らかにすることを目的とした。我々が同定した宿主因子と Gag タンパク質の相互作用を阻害することで、感染性ウイルス粒子の産生を顕著

に阻害できることも明らかとなった。Gag タンパク質の各ドメインに結合する宿主因子は数多く、またその時間的、空間的状況により変化するものと考えられる。それらをさらに詳細に解析することで、ウイルス粒子形成を阻害する新規の HIV 治療薬の開発につながることを期待される。

次に細胞性因子同士の相互作用研究で、tetherin と結合する宿主因子、BCA2 が新たに見出された。HIV-1 産生における内在性 BCA2 の機能を調べるため、siRNA にて BCA2 をノックダウンした HeLa 細胞を用いて解析した。この細胞から産生されるウイルス粒子量は若干増加したが、その多くは細胞膜上で留まっていることが ELISA 法と免疫染色法によって明らかになった。この細胞をプロテアーゼ処理すると、上清ウイルス量が顕著に増加したことから、細胞膜上で留まるウイルス粒子は tetherin によって繫留された状態である可能性が示唆された。これらの結果から、BCA2 は、細胞膜上でウイルス粒子を繫留した tetherin と相互作用し、協調的に細胞質への取り込みおよびリソソームでの分解を促進していることが示唆された。

さらに、HIV-1 タンパク質と相互作用する宿主プロテインカインースタンパク質の網羅的に探索することに成功した。プロジェクト期間中に見出したプロテインカインースの中には、これまでの HIV-1 感染において、指摘されていた細胞生物学的現象を説明可能なくつかの興味深いプロテインカインースが含まれている。その中のたった一つの解析例であるが、Vpr により分解誘導されるプロテインカインースの過剰発現が、HIV-1 増殖を抑制することがわかり、この事は、HIV-1 が細胞感染時に、Vpr の働きにより、このプロテインカインースを分解し、HIV-1 増殖に有利な細胞内環境を整えていることを示唆している。本研究において、この様なプロテインカインースを 160 種類以上見出すことに成功している。

以上の研究により、非常に広範囲に HIV-1 増殖に関与するヒト宿主シグナル伝達タンパク質を同定したといえる。これらの成果は、今後の宿主タ

ンパク質をターゲットとした抗 HIV 薬の開発へ繋がるものと思われる。また樹立した iPS 細胞においては、今後はこれらの細胞を造血系細胞へ分化誘導を行い、実際の HIV 複製や病態への影響を検討する。さらに、これらの細胞を NOG マウスなどの免疫不全マウスに移植することで、in vivo おける宿主-ウイルス因子相互作用や各種薬剤の評価を行うためのモデル系を構築する。

E. 結論

HIV-1 複製や病態に関与する宿主因子を網羅的に明らかにすることに成功した。また、無細胞タンパク質合成系を用いたハイスループット阻害剤スクリーニング系を構築し、宿主因子-ウイルスタンパク質間相互作用を標的とした阻害剤候補化合物を複数同定した。さらには、ヒト iPS 細胞を用いた新規の治療法や薬剤評価系確立のための基盤的な研究を行った。以上の結果は、エイズ発症機序の解明やその阻止法の開発のための有用な基盤情報になると考えられ、今後のより実践的なエイズ創薬や予防法の開発に向けた足掛かりとなると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Watanabe S, Ohta S, Yajima M, Terashima K, Ito M, Mugishima H, Fujiwara S, Shimizu N, Honda M, Shimizu N, Yamamoto N. Humanized NOD/SCID/IL2R γ (null) mice transplanted with hematopoietic stem cells under nonmyeloablative conditions show prolonged life spans and allow detailed analysis of human immunodeficiency virus type 1 pathogenesis. **J Virol.** 81(23):13259-64, 2007.
- 2) Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Miyauchi K, Isogai M, Matsuda Z, Nohtomi K, Onogi T, Takebe Y, Yamamoto N, Komano J. Inhibiting lentiviral replication by HEXIM1, a cellular negative regulator of the CDK9/cyclin T complex. **AIDS.** 21:575-82, 2007.
- 3) Watanabe S, Terashima K, Ohta S, Horibata S, Yajima M, Shiozawa Y, Dewan MZ, Yu Z, Ito M, Morio T, Shimizu N, Honda M, Yamamoto N. Hematopoietic stem cell-engrafted NOD/SCID/IL2R γ null mice develop human lymphoid system and induce long-lasting HIV-1 infection with specific humoral immune responses. **Blood.** 109:212-8, 2007.
- 4) Ryo A, Hirai A, Nishi M, Liou YC, Perrem K, Lin SC, Hirano H, Lee SW, Aoki I: A suppressive role of the prolyl isomerase Pin1 in cellular apoptosis mediated by the death-associated protein Daxx. **J Biol Chem.** 282(50):36671-81, 2007.
- 5) Sawasaki T, Morishita R, Gouda MD, Endo Y. Methods for high-throughput materialization of genetic information based on wheat germ cell-free expression system. **Methods Mol Biol.** 375:95-106, 2007.
- 6) Dewan MZ, Takamatsu N, Hidaka T, Hatakeyama K, Nakahata S, Fujisawa J, Katano H, Yamamoto N, Morishita K: Critical role of TSLC1 expression in the growth and organ-infiltration of adult T-cell leukemia cells in vivo. **J Virol.**, 82(23):11958-63, 2008.
- 7) Saitoh T, Fujita N, Jang MH, Uematsu S, Yang BG, Satoh T, Omori H, Noda T, Yamamoto N, Komatsu M, Tanaka K, Kawai T, Tsujimura T, Takeuchi O, Yoshimori T and Akira S. Loss of Atg16L1, an autophagy regulator, enhances endotoxin-induced IL-1 β production. **Nature**, 456(7219):264-8, 2008.
- 8) Nomura W, Tanabe Y, Tsutsumi H, Tanaka T, Ohba K, Yamamoto N, Tamamura H. Fluorophore Labeling Enables Imaging and Evaluation of Specific CXCR4-Ligand Interaction at the Cell Membrane for Fluorescence-Based Screening. **Bioconjug Chem.** 19: 1917-1920, 2008.
- 9) Ueoka R, Komizu Y, Matsumoto Y, Zhong Y,

- Tanaka R, Yamamoto N. Selective inhibitory effects of hybrid liposomes on the growth of HIV type 1-infected cells in vitro. **Bioorg Med Chem Lett**. 18(16):4578-80, 2008.
- 10) Yajima M, Imadome KI, Nakagawa A, Watanabe S, Terashima K, Nakamura H, Ito M, Shimizu N, Honda M, Yamamoto N, Fujiwara S. A New Humanized Mouse Model of Epstein-Barr Virus Infection That Reproduces Persistent Infection, Lymphoproliferative Disorder, and Cell-Mediated and Humoral Immune Responses. **J Infect Dis**. 198(5):673-682, 2008.
 - 11) Miyake A, Dewan MZ, Ishida T, Watanabe M, Honda M, Sata T, Yamamoto N, Umezawa K, Watanabe T, Horie R. Induction of apoptosis in Epstein-Barr virus-infected B-lymphocytes by the NF-kappaB inhibitor DHMEQ. **Microbes Infect**. 10(7):748-56, 2008.
 - 12) Koyanagi Y, Tanaka Y, Ito M, and Yamamoto N. Humanized mice for human retrovirus infection. (Eds. Nomura, Watanabe, and Habu), **Curr Top Microbiol Immunol**. 324, vol.34, pp138-148, 2008, Springer-Verlag.
 - 13) Amet T, Nonaka M, Dewan MZ, Saitoh Y, Qi X, Ichinose S, Yamamoto N, Yamaoka S. Statin-induced inhibition of HIV-1 release from latently infected U1 cells reveals a critical role for protein prenylation in HIV-1 replication. **Microbes Infect**. 10(5):471-80, 2008.
 - 14) Takahashi Y, Tanaka R, Yamamoto N, Tanaka Y. Enhancement of OX40-Induced Apoptosis by TNF Coactivation in OX40-Expressing T Cell Lines in Vitro Leading to Decreased Targets for HIV Type 1 Production. **AIDS Res Hum Retroviruses**. 24(3):423-35, 2008.
 - 15) Urano E, Shimizu S, Futahashi Y, Hamatake M, Morikawa Y, Takahashi N, Fukazawa H, Yamamoto N, Komano J. Cyclin K/CPR4 inhibits primate lentiviral replication by inactivating Tat/positive transcription elongation factor b-dependent long terminal repeat transcription. **AIDS** 22(9):1081-3, 2008.
 - 16) Saito Y, Yamamoto N, Dewan Z, Sugimoto H, Martinez Bryun VJ, Iwasaki Y, Matsubara K, Qi X, Saitoh T, Imoto I, Inazawa I, Utsunomiya A, Watanabe T, Masuda T, Yamamoto N, and Yamaoka S. Overexpressed NF-kB inducing kinase contributes to the tumorigenesis of adult T-cell leukemia and Hodgkin Reed-Sternberg cells. **Blood** 111(10): 5118-29, 2008.
 - 17) Ryo A, Tsurutani N, Ohba K, Kimura R, Komano J, Nishi M, Soeda H, Hattori S, Perrem K, Yamamoto M, Chiba J, Mimaya J, Yoshimura K, Matsushita S, Honda M, Yoshimura A, Sawasaki T, Aoki I, Morikawa Y, Yamamoto N. 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 U S A**. 105(1):294-9, 2008.
 - 18) 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**. 197(1):134-41, 2008.
 - 19) Takeuchi R, Ryo A, Komitsu N, Mikuni-Takagaki Y, Fukui A, Takagi Y, Shiraishi T, Morishita S, Yamazaki Y, Kumagai K, Aoki I, Saito T: Low-intensity pulsed ultrasound activates the phosphatidylinositol 3 kinase/Akt pathway and stimulates the growth of chondrocytes in three-dimensional cultures: a basic science study. **Arthritis Res Ther**. 10(4):R77, 2008.
 - 20) Masaoka T, Nishi M, Ryo A, Endo Y, Sawasaki T: The wheat germ cell-free based screening of protein substrates of

- calcium/calmodulin-dependent protein kinase II delta. **FEBS Lett.** 582(13):1795-801, 2008.
- 21) Kobayashi T, Kodani Y, Nozawa A, Endo Y, Sawasaki T. DNA-binding profiling of human hormone nuclear receptors via fluorescence correlation spectroscopy in a cell-free system. **FEBS Lett.** 582(18):2737-44, 2008.
- 22) Sawasaki T, Nishihara M, Endo Y. RIP and RALyase cleave the sarcin/ricin domain, a critical domain for ribosome function, during senescence of wheat coleoptiles. **Biochem Biophys Res Commun.** 370(4):561-5, 2008.
- 23) Bardóczy V, Géczi V, Sawasaki T, Endo Y, Mészáros T. A set of ligation-independent in vitro translation vectors for eukaryotic protein production. **BMC Biotechnol.** 8:32, 2008.
- 24) Sawasaki T, Kamura N, Matsunaga S, Saeki M, Tsuchimochi M, Morishita R, Endo Y. Arabidopsis HY5 protein functions as a DNA-binding tag for purification and functional immobilization of proteins on agarose/DNA microplate. **FEBS Lett.** 582(2):221-8, 2008,
- 25) Tsuboi T, Takeo S, Iriko H, Jin L, Tsuchimochi M, Matsuda S, Han ET, Otsuki H, Kaneko O, Sattabongkot J, Udomsangpetch R, Sawasaki T, Torii M, Endo Y. The Wheat germ cell-free based production of malaria proteins for discovery of novel vaccine candidates. **Infect Immun.** 76(4):1702-8, 2008.
- 26) Miyakawa K, Ryo A, Murakami T, Ohba K, Yamaoka S, Fukuda M, Guatelli J, Yamamoto N: BCA2/Rabring7 promotes tetherin-dependent HIV-1 restriction. **PLoS Pathog** 5(12): e1000700, 2009.
- 27) Ohba K, Ryo A, Dewan MZ, Nishi M, Naito T, Qi X, Inagaki Y, Nagashima Y, Tanaka Y, Okamoto T, Terashima K, Yamamoto N: Follicular dendritic cells activate HIV-1 replication in monocytes/macrophages through a juxtacrine mechanism mediated by P-selectin glycoprotein ligand 1. **J Immunol** 183(1): 524-532, 2009.
- 28) Jeong SJ, Ryo A, Yamamoto N: The prolyl isomerase Pin1 stabilizes the human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) Tax oncoprotein and promotes malignant transformation. **Biochem Biophys Res Commun.** 381(2): 294-299, 2009.
- 29) Nishi M, Ryo A, Tsurutani N, Ohba K, Sawasaki T, Morishita R, Perrem K, Aoki I, Morikawa Y, Yamamoto N: Requirement for microtubule integrity in the SOCS1-mediated intracellular dynamics of HIV-1 Gag. **FEBS Lett** 583(8): 1243-50, 2009.
- 30) Dewan MZ, Tomita M, Katano H, Yamamoto N, Ahmed S, Yamamoto M, Sata T, Mori N, Yamamoto N. An HIV protease inhibitor, ritonavir targets the nuclear factor-kappaB and inhibits the tumor growth and infiltration of EBV-positive lymphoblastoid B cells. **Int J Cancer**, 124(3):622-9, 2009.
- 31) Zhou W, Yang Q, Low CB, Karthik BC, Wang Y, Ryo A, Yao SQ, Yang D, Liou YC: Pin1 catalyzes conformational changes of Thr-187 in p27Kip1 and mediates its stability through a polyubiquitination process. **J Biol Chem.** 284(36):23980-8, 2009.
- 32) Ryo A, Wulf G, Lee TH, Lu KP: Pinning down HER2-ER crosstalk in SMRT regulation. **Trends Biochem Sci.** 34(4):162-5, 2009.
- 33) Shimada H, Hirai K, Simamura E, Hatta T, Iwakiri H, Mizuki K, Hatta T, Sawasaki T, Matsunaga S, Endo Y, Shimizu S. Paraquat toxicity induced by voltage-dependent anion channel 1 acting as an NADH- dependent oxidoreductase. **J Biol Chem.** 284(42): 28642-9, 2009.
- 34) Nozawa A, Matsubara Y, Tanaka Y, Takahashi H, Akagi T, Seki M, Shinozaki K, Endo Y, Sawasaki T. Construction of a protein library of

arabidopsis transcription factors using a wheat cell-free protein production system and its application for DNA binding analysis. **Biosci Biotechnol Biochem.** 73(7):1661-4, 2009.

- 35) Igawa T, Fujiwara M, Takahashi H, Sawasaki T, Endo Y, Seki M, Shinozaki K, Fukao Y, Yanagawa Y. Isolation and identification of ubiquitin-related proteins from Arabidopsis seedlings. **J Exp. Bot.** 60(11):3067- 73, 2009.
- 36) Takahashi H, Nozawa A, Seki M, Shinozaki K, Endo Y, Sawasaki T. A simple and high-sensitivity method for analysis of ubiquitination and polyubiquitination based on wheat cell-free protein synthesis. **BMC Plant Biology** 9: 39, 2009.
- 37) Matsuura I, Chiang KN, Lai CY, He D, Wang G, Ramkumar R, Uchida T, Ryo A, Lu K, Liu F: Pin1 promotes transforming growth factor-beta-induced migration and invasion. **J Biol Chem.** 285(3):1754-64, 2010.
- 38) Takai K, Sawasaki T, Endo Y. Practical cell-free protein synthesis system using purified wheat embryos. **Nature Protocols** 5(2):227-38, 2010.

2. 学会発表

- 1) 正岡崇志、赤木達也、嘉村奈美、澤崎達也、遠藤弥重太 A new approach for protease substrate screening based on the wheat cell-free system. 第七回あわじしま感染症・免疫フォーラム 平成19年9月1~5日, 淡路島.
- 2) 梁明秀、澤崎達也、山本直樹: Post-translational regulation of HIV-1 proteins revealed a new type of virus-host cell interaction for HIV-1 replication and pathogenesis. 第21回エイズ学会学術集会, 平成19年11月28~30日, 広島.
- 3) 大庭賢二、梁明秀、寺嶋一夫、山本直樹 濾胞樹状細胞 (FDC) による HIV-1 潜伏感染細

胞からのウイルス複製刺激機構 : P-selectin/RSGL-1 と Syk pathway の関与の可能性. 第21回エイズ学会学術集会, 平成19年11月28~30日, 広島.

- 4) 松永智子, 松岡和弘, 竹尾暁, 澤崎達也, 坪井敬文, 遠藤弥重太, コムギ無細胞タンパク質合成により作製したタンパク質ライブラリーを用いたマラリア感染により誘導される自己抗体の解析. 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会. 平成19年12月11~15日, 横浜.
- 5) 赤木達也、嘉村奈美、澤崎達也、遠藤弥重太 カスパーゼ3により切断されるプロテインカイネーシスの探索システムの構築. 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会. 平成19年12月11~15日, 横浜.
- 6) Takahashi H, Seki M, Shinozaki K, Sawasaki T, Endo Y, High-throughput detection of ubiquitination and poly-ubiquitination based on wheat cell-free protein production system. 19th international Conference on Arabidopsis Research. July 23-27, 2008, Montreal, Canada.
- 7) 西真由子、山本直樹、青木一郎、梁明秀 : SOCS1 は HIV-1 Gag タンパク質の細胞内輸送を促進する 第27回分子病理学研究会, 平成20年8月2~3日, 葉山.
- 8) Ohba K, Ryo A, Terashima K, Yamamoto N : Follicular dendritic cells activate HIV-1 replication through a juxtacrine mechanism mediated by P-selectin glycoprotein ligand-1. The 8th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep. 7-11, 2008, Hyogo.
- 9) Ryo A : Identification of host factors required for HIV-1 Gag trafficking. U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program AIDS Panel, Sep. 12, 2008, Tokyo.
- 10) Ryo A, Yamamoto N : Identification of host factors required for HIV-1 Gag trafficking. The 9th Kumamoto AIDS Seminar, Sep.18-19, 2008,

- Aso Resort Grand Vrio Hotel. 第9回熊本エイズセミナー、平成20年9月18～19日、熊本.
- 11) Ohba K, Ryo A, Terashima K, Yamamoto N : Follicular dendritic cells activate HIV-1 replication through a juxtacrine mechanism mediated by P-selectin glycoprotein ligand-1. The 9th Kumamoto AIDS Seminar, Sep.18-19, 2008, Aso Resort Grand Vrio Hotel. 第9回熊本エイズセミナー、平成20年9月18～19日、熊本.
 - 12) Takahama S, Sawasaki T, Akagi T, Endo Y, Yamamoto N, Ryo A : Atypical protein kinase C (aPKC), a cell polarity regulating kinase, phosphorylates HIV-1 Gag. 第9回熊本エイズセミナー、平成20年9月18～19日、熊本.
 - 13) Ryo A : Use of Cell-Free Protein Synthesis System in HIV/AIDS Research. The 6th PIM(Protein Island Matsuyama) International Symposium 2008, Sep. 25-27, 2008, Matsuyama.
 - 14) Masaoka T, Sawasaki T, Sugiura W, Endo Y, Yamamoto N, Ryo A: Detection and characterization of HIV-1 resistance by cell-free protein production system. The 6th PIM(Protein Island Matsuyama) International Symposium 2008, Sep. 25-27, 2008, Matsuyama.
 - 15) Takahama S, Sawasaki T, Akagi T, Endo Y, Yamamoto N, Ryo A: Atypical protein kinase C (aPKC), a cell polarity regulating kinase, phosphorylates HIV-1 Gag. The 6th PIM(Protein Island Matsuyama) International Symposium 2008, Sep. 25-27, 2008, Matsuyama.
 - 16) Ryo A : Detection and Identification of HIV-1 resistance and crucial host factors by cell-free protein production system. 4th International Infection Control Conference of Theodore Bilharz Research Institute (TBRI), Nov. 10-13, 2008, TBRI, Giza, Egypt.
 - 17) Takahashi H, Seki M, Shinozaki K, Endo Y, Sawasaki T, High-throughput analysis of ubiquitination and polyubiquitination based on wheat cell-free protein production system and luminescent detection. ZOMES The Fifth International Symposium on the COP9 signalosome, Proteasome and eIF3. November 11-14, 2008, RIKEN, Yokohama Institute, Japan.
 - 18) 正岡崇志、梁明秀、巽正志、杉浦亙、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・総会 平成20年11月26～28日、大阪.
 - 19) 梁明秀、山本直樹：無細胞タンパク質合成系を用いたHIV/AIDS研究の新たな展開 第22回日本エイズ学会学術集会・総会シンポジウム7「実験室からの発信」 平成20年11月26～28日、大阪.
 - 20) 宮川敬、梁明秀、大庭賢二、村上努、山本直樹：RINGフィンガー蛋白質BCA2はHIV-1粒子産生を阻害する 第22回日本エイズ学会学術集会・総会 平成20年11月26～28日、大阪.
 - 21) 仲宗根正、網康至、梁明秀、山本直樹：ウイルス曝露非感染サルモデル開発の試み 第22回日本エイズ学会学術集会・総会 平成20年11月26～28日、大阪.
 - 22) 高橋宏隆、関原明、篠崎一雄、遠藤弥重太、澤崎達也 コムギ無細胞系を用いたシロイヌナズナ植物のHECT型E3タンパク質の発現と解析. 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同学会.平成20年12月9～12日、神戸.
 - 23) 関藤利枝、松岡和弘、野澤彰、澤崎達也、遠藤弥重太、コムギ無細胞蛋白質合成系を基盤したヒト蛋白質ライブラリーの作成、第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会,平成20年12月9～12日、神戸.
 - 24) 田所大典、高濱正吉、野澤彰、澤崎達也、遠

- 藤弥重太, カスパーゼ3により切断されるプロテインキナーズの網羅的探索, 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会, 平成20年12月9~12日, 神戸.
- 25) 赤木達也, 澤崎達也, 遠藤弥重太, カスパーゼ8により切断される膜貫通タンパク質の探索システムの構築, 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会, 平成20年12月9~12日, 神戸.
- 26) 梁明秀: 宿主因子とHIVの相互作用研究. 第9回プロテオーム医療創薬研究会, 平成21年3月6~7日, 神奈川.
- 27) 松岡和弘, 小森浩章, 長岡亜紀子, 坪井敬文, 斉藤知行, 能勢真人, 青木一郎, 澤崎達也, 遠藤 弥重太. コムギ無細胞系を基盤としたタンパク質ライブラリーを用いた関節リウマチにおける自己抗原タンパク質の網羅的な解析. 第3回無細胞生命科学研究会. 平成21年3月16~17日, 弘前.
- 28) 野澤彰, 澤崎達也, 小笠原富夫, 松永智子, 岩崎隆宏, 遠藤弥重太. コムギ無細胞系を用いた膜タンパク質生産法の開発. 第3回無細胞生命科学研究会. 平成21年3月16~17日, 弘前.
- 29) 松永智子, 中川直樹, 澤崎達也, 竹尾暁, 坪井敬文, 遠藤弥重太. 自己切断を利用した蛋白質精製ベクターの開発. 第3回無細胞生命科学研究会. 平成21年3月16~17日, 弘前.
- 30) Miyakawa K, Ryo A, Ohba K, Yamamoto N: Inhibition of HIV-1 particle production by a tetherin-interacting protein. The Keystone Symposia, Mar. 22-27, 2009, Keystone Resort, Colorado, USA.
- 31) Takahama S, Sawasaki T, Okayama A, Akagi T, Endo Y, Yamamoto N, Ryo A: Atypical protein kinase C (α PKC), a cell polarity regulating kinase, phosphorylates HIV-1 Gag. The Keystone Symposia, Mar. 22-27, 2009, Keystone Resort, Colorado, USA.
- 32) Chidananda Nagamangala Kanchiswamy, 高橋宏隆, Massimo Maffei, Wilhelm Boland, 高林純示, 澤崎達也, 有村源一郎. 被食誘導遺伝子の発現制御に関与するシロイヌナズナ calcium-dependent protein kinase の同定. 第50回日本植物生理学会年会. 平成21年3月23-24日, 名古屋.
- 33) 高橋宏隆, 関原明, 篠崎一雄, 遠藤弥重太, 澤崎達也. コムギ無細胞系を用いたモデル植物におけるユビキチン化経路探索法の構築. 第50回日本植物生理学会年会. 平成21年3月23~24日, 名古屋.
- 34) 加藤晃, 清水正則, 高橋宏隆, 澤崎達也, 遠藤弥重太, 関原明, 篠崎一雄, 小林裕和. 高等植物の σ 因子をリン酸化するタンパク質キナーゼの探索. 第50回日本植物生理学会年会. 平成21年3月23~24日, 名古屋.
- 35) 梁明秀, 山本直樹: HIV-1産生を制御する tetherin相互作用蛋白の同定. 特定領域研究「感染現象のマトリックス」縦系研究会, 平成21年5月20~21日, 名古屋.
- 36) 梁明秀: HIV-1 Gag タンパク質の細胞内ダイナミクス関連因子の同定とその制御機構の解明. 第9回日本蛋白質科学会年会, 平成21年5月20~22日, 熊本.
- 37) 宮川 敬, 梁明秀, 山本直樹: 宿主蛋白質 BCA2/Rabring7 は tetherin と協調して HIV-1 粒子産生を抑制する. 第19回抗ウイルス療法研究会, 平成21年6月4~5日, 東京.
- 38) 梁明秀: The peptidyl-prolyl isomerase Pin1: A novel post-phosphorylation modifier indevelopment and diseases. 先端融合領域イノベーション創出拠点の形成翻訳後修飾プロテオミクス医療研究拠点の形成 第1回公開シンポジウム, 平成21年6月19日, 横浜.
- 39) 梁明秀: ペプチジルプロリルイソメラーゼ Pin1: 疾患や分化を司る新しいリン酸化後修飾因子. 日本ヒトプロテオーム機構(JHUPO)

- 第7回大会, 平成21年7月27~28日, 東京.
- 40) Miyakawa K, Ryo A, Yamamoto N: Identification of a tetherin-interacting protein that restricts HIV-1 particle production. The 9th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Sep. 8-11, 2009, Hyogo.
- 41) Matsuoka K, Komori H, Nose M, Endo Y, Sawasaki T. New Screening Method for Autoantigen Protein Based on Biotinylated Protein Library. HUPO2009. September 26-30, 2009, The Westin HarbourCastle, Toronto.
- 42) Takahama S, Sawasaki T, Okayama A, Akagi T, Endo Y, Yamamoto N, Ryo A: Atypical protein kinase C positively regulates the Vpr incorporation into HIV-1 particles by phosphorylating Gag p6. The 10th Kumamoto AIDS Seminar, 平成21年9月28~29日, 熊本.
- 43) 高濱正吉, 澤崎達也, 遠藤弥重太. Atypical protein kinase C positively regulates the Vpr incorporation into HIV-1 particles by phosphorylating Gag p6. 第10回熊本エイズセミナー・エイズグローバル COE 合同国際シンポジウム. 平成21年9月28-29日, 熊本.
- 44) 田所大典, 高濱正吉, 澤崎達也, 遠藤弥重太. カスパーゼ3により切断されるプロテインカイネーゼの網羅的探索、及び新規基質の細胞生物学的解析. 第4回無細胞生命科学研究会. 平成21年11月16~17日, 岐阜.
- 45) 清水康平, 田所大典, 高濱正吉, 澤崎達也, 遠藤弥重太. Caspase-3によるTRB3切断の細胞生物学的解析. 第4回無細胞生命科学研究会. 平成21年11月16~17日, 岐阜.
- 46) 正岡崇志, 梁明秀, 巽正志, 杉浦互, 松永智子, 森下了, 澤崎達也, 山本直樹. 酵素活性を指標とした新規のHIVプロテアーゼ阻害剤耐性検査法の基盤技術の開発. 第23回日本エイズ学会学術集会・総会, 平成21年11月26~28日, 名古屋.
- 47) 高濱正吉, 澤崎達也, 岡山明子, 赤木達也, 遠藤弥重太, 山本直樹, 梁明秀: 細胞極性制御キナーゼ aPKC による HIV-1 Gag のリン酸化及びその生理的意義. 第23回日本エイズ学会学術集会・総会, 平成21年11月26~28日, 名古屋.
- 48) 熱田翠薫, 吉田篤司, 吉崎慎二, 八島さやか, 松永智子, 澤崎達也, 梁明秀: 免疫抑制受容体 PD-1 を阻害する新規抗体の作製. 第32回分子生物学会年会, 平成21年12月9~12日, 横浜.
- 49) 小島良績, 後藤さやか, 近藤麻美, 木下茂美, 梁明秀: 滑膜細胞における C/EBP- β に対する Pin1 の効果. 第32回分子生物学会年会, 平成21年12月9~12日, 横浜.
- 50) 船橋一世, 澤崎達也, 遠藤弥重太. Screening of human protein kinases binding to SOCS1 protein 第32回日本分子生物学会年会. 平成21年12月9~12日, 横浜.
- 51) 清水康平, 田所大典, 高濱正吉, 遠藤弥重太, 澤崎達也. Cell biological analysis of TRB3 cleaved by caspase-3. 第32回日本分子生物学会年会. 平成21年12月9~12日, 横浜.
- 52) 橋本季明, 吉田茂生, 澤崎達也, 遠藤弥重太, 吉川潮, 鎌田真司. Screening of novel caspase substrates functioning at mitotic phase. 第32回日本分子生物学会年会. 平成21年12月9~12日, 横浜.
- 53) 田所大典, 高濱正吉, 澤崎達也, 遠藤弥重太. Complementary screening of Caspase-3-cleaved kinome and the cell biological analysis of the new substances. 第32回日本分子生物学会年会. 平成21年12月9~12日, 横浜.
- 54) Sawasaki T, Endo Y, Morishita R, Takai K, Membrane protein production and purification without affinity tag based on wheat germ cell-free system. Keystone Symposia Structural Genomics: Expanding the Horizons of Structural Biology (J2). January 8-13, 2010, Colorado, USA.
- 55) Takeo S, Sawasaki T, Torii M, Sattabongkot J, Endo Y, Tsuboi T, Functional production of

malarial parasites' proteins with wheat germcell-free system. Keystone Symposia Structural Genomics: Expanding the Horizons of Structural Biology (J2). January 8-13, 2010, Colorado, USA.

- 56) Miyakawa K, Ryo A, Murakami T, Guatelli J, Yamamoto N: BCA2/Rabring7 promotes tetherin-dependent HIV-1 restriction. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb.16-19, 2010, San Francisco, CA, USA.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

「A Method for Screening anti-HIV Drugs and a

Diagnostic Method of AIDS」

米国特許：12/188,242

発明者：梁 明秀、澤崎達也、山本直樹

出願日：2008年8月8日

出願人：厚生労働省、株式会社セルフリーサ
イエンス

「最適な抗ウイルス剤の選択方法」

出願済み

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

II. 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

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
山本直樹							
Koyanagi Y, Tanaka Y, Ito M, Yamamoto N.	Humanized mice for human retrovirus infection.	Eds. Nomura, Watanabe, and Habu	Curr Top Microbiol Immunol 324, vol.34	Springer-Verlag		2008	138-148
梁 明秀							
村上努、Heinrich G. Göttinger、森川裕子、駒野淳、梁明秀、佐藤裕徳	Gag 蛋白質の輸送と機能の制御		エイズ学会誌	日本エイズ学会		2007	102-107
梁明秀	HIV 感染症における細胞生物学		細胞	ニュー・サイエンス社		2008	458-461
小杉伊三夫、梁明秀	幹細胞とウイルス感染症		「医学のあゆみ」第5土曜特集第229巻9号 細胞医療 Update	医歯薬出版株式会社		2009	720-725
澤崎達也							
Takai K, Sawasaki T, Endo Y.	Development of key technologies for high-throughput cell-free protein production with the extract from wheat embryos.	Andrzej Joachimiak	Advances in Protein Chemistry and Structural biology, Volume 75 Structural Genomics Part A	Academic Press	CA, USA	2008	53 - 84

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
山本直樹					
Watanabe S, Ohta S, Yajima M, Terashima K, Ito M, Mugishima H, Fujiwara S, Shimizu K, Honda M, Shimizu N, Yamamoto N.	Humanized NOD/SCID/IL2Rgamma(null) mice transplanted with hematopoietic stem cells under nonmyeloablative conditions show prolonged life spans and allow detailed analysis of human immunodeficiency virus type 1 pathogenesis.	J Virol	81(23)	13259-13264	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Miyauchi K, Isogai M, Matsuda Z, Nohtomi K, Onogi T, Takebe Y, Yamamoto N, Komano J.	Inhibiting lentiviral replication by HEXIM1, a cellular negative regulator of the CDK9/cyclin T complex.	AIDS	21	575-582	2007
Watanabe S, Terashima K, Ohta S, Horibata S, Yajima M, Shiozawa Y, Dewan MZ, Yu Z, Ito M, Morio T, Shimizu N, Honda M, Yamamoto N.	Hematopoietic stem cell-engrafted NOD/SCID/IL2R γ null mice develop human lymphoid system and induce long-lasting HIV-1 infection with specific humoral immune responses.	Blood	109	212-218	2007
Dewan MZ, Takamatsu N, Hidaka T, Hatakeyama K, Nakahata S, Fujisawa J, Katano H, Yamamoto N, Morishita K.	Critical role of TSLC1 expression in the growth and organ-infiltration of adult T-cell leukemia cells in vivo.	J Virol	82(23)	11958-11963	2008
Saitoh T, Fujita N, Jang MH, Uematsu S, Yang BG, Satoh T, Omori H, Noda T, Yamamoto N, Komatsu M, Tanaka K, Kawai T, Tsujimura T, Takeuchi O, Yoshimori T, Akira S.	Loss of Atg16L1, an autophagy regulator, enhances endotoxin-induced IL-1 β production	Nature	456 (7219)	264-268	2008
Nomura W, Tanabe Y, Tsutsumi H, Tanaka T, Ohba K, Yamamoto N, Tamamura H.	Fluorophore Labeling Enables Imaging and Evaluation of Specific CXCR4-Ligand Interaction at the Cell Membrane for Fluorescence-Based Screening.	Bioconjug Chem	19	1917-1920	2008
Ueoka R, Komizu Y, Matsumoto Y, Zhong Y, Tanaka R, Yamamoto N.	Selective inhibitory effects of hybrid liposomes on the growth of HIV type 1-infected cells in vitro.	Bioorg Med Chem Lett	18(16)	4578-4580	2008
Yajima M, Imadome KI, Nakagawa A, Watanabe S, Terashima K, Nakamura H, Ito M, Shimizu N, Honda M, Yamamoto N, Fujiwara S.	A new humanized mouse model of Epstein-Barr virus infection that reproduces persistent infection, lymphoproliferative disorder, and cell-mediated and humoral immune responses.	J Infect Dis	198(5)	673-682	2008
Miyake A, Dewan MZ, Ishida T, Watanabe M, Honda M, Sata T, Yamamoto N, Umezawa K, Watanabe T, Horie R.	Induction of apoptosis in Epstein-Barr virus-infected B-lymphocytes by the NF-kappaB inhibitor DHMEQ.	Microbes Infect	10(7)	748-756	2008
Amet T, Nonaka M, Dewan MZ, Saitoh Y, Qi X, Ichinose S, Yamamoto N, Yamaoka S.	Statin-induced inhibition of HIV-1 release from latently infected U1 cells reveals a critical role for protein prenylation in HIV-1 replication.	Microbes Infect	10(5)	471-480	2008