

200932011A

平成 21 年度 厚生労働科学研究費補助金

エイズ対策事業

課題番号：H20-エイズ-一般-004

**Vif/APOBEC3Gの相互作用を標的とした新規抗
HIV-1薬の開発**

総括・分担研究報告書

平成 22 年 5 月

研究代表者 高折 晃史

(京都大学・医学研究科 講師)

目次

I. 総括研究報告書	-----	1
研究代表者：高折 晃史（京都大学医学研究科）		
II. 分担研究報告書		
1. 研究代表者：高折 晃史（京都大学医学研究科）	-----	3
2. 研究分担者：木曾 良明（京都薬科大学）	-----	5
3. 研究分担者：梁 明秀（横浜市大）	-----	7
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	10

Vif/APOBEC3Gの相互作用を標的とした新規抗HIV-1薬の開発

課題番号：H20-エイズ一般-004

研究代表者：高折晃史（京都大学医学研究科 血液・腫瘍内科学 講師）

研究分担者 錦織桃子（京都大学医学研究科 助教）、梁 明秀（横浜市立大学 教授）、木曾良明（京都薬科大学 教授）、小林 正行（京都大学医学研究科 助教）

研究要旨 Vif/APOBEC3G の相互作用を標的とした新規抗 HIV-1 薬の開発へ向け、複数の低分子化合物ハイスループットスクリーニング系の確立し、スクリーニングを開始した。また、本年度より、班員を増員し、研究を推進した。その結果、2つの異なる一次スクリーニングにより、候補化合物を同定した。さらに、それら化合物の二次スクリーニング、及び薬理学的な解析も併せて行なった。

A. 研究目的

HIV-1 感染は、HAART の出現によりウイルス複製をある程度制御可能になったとはいえ、一方でその長期服用による副作用、また薬剤耐性の出現が大きな問題となっており、これらの克服に向け、新規作用機序の抗 HIV-1 薬の早期開発が待たれている。HIV-1 Vif は、ウイルス複製および AIDS 発症に必須の蛋白であるが、その機能の本態は、本来 HIV-1 の標的細胞が有する抗 HIV-1 宿主因子 APOBEC3G を中和することであることが近年明らかにされた。Vif がウイルス複製にとって必須の蛋白であること、および Vif/APOBEC3G の相互作用の分子機構が詳細に明らかにされたことにより、これらの分子およびその相互作用は、新規の抗 HIV-1 薬の絶好の標的と考えられる。そこで、本研究では、Vif/APOBEC3G 両分子およびその相互作用を標的とした新規抗 HIV-1 薬の開発を目指した研究を行う。

B. 研究方法

本研究の特色は、何よりもまず Vif/APOBEC3G という新規の分子が標的となる創薬研究である点である。またさらに、これら分子に関する申請者ら自身のこれまでの研究により集積された科学情報をもとに、想定可能な複数の標的候補に対し多角的にアプローチを計ることにより、その実現の

可能性を高める点が独創的な点である。具体的には、①Vif による APOBEC3G のユビキチン依存性分解を阻害する化合物

②APOBEC3G の発現および活性を調節する化合物

③Vif のユビキチン依存性分解を促進する化合物に関する複数のスクリーニングを行う。

全体の研究計画としては、上記の課題に対し、

- 1) ハイスループットアッセイ系の確立と低分子化合物のスクリーニング
- 2) リード化合物の選択と二次スクリーニング、in vitro における抗 HIV-1 活性の確認
- 3) in vivo における抗 HIV-1 活性の確認を行う。

(倫理面への配慮)
特に存在しない。

C. 研究結果

昨年度の研究結果として、前述の三つの柱のうち特に「①VifによるAPOBEC3Gのユビキチン依存性分解を阻害する化合物」に関して、高折、錦織、小林により、約2万の低分子化合物ライブラリーを用いて一次スクリーニングを行い、377個の候補化合物を同定

した。これらの候補化合物は、確認試験において47個にしぼられ、さらに小林らによるウエスタン法を用いた二次スクリーニングを施行中である。この際のポジティブコントロールとして、すでに報告されているRN-18の合成を、木曾が行った。またさらに、これら候補化合物の骨格構造に関して、分担研究者木曾らによりコンピューターシミュレーションを用いて、共通の化合物構造等を解析中である。

また、分担研究者梁らは、独自の蛋白結合阻害スクリーニング系を樹立、それを用いて約1万の化合物の一次スクリーニングを施行し、253個の候補化合物を同定した。

D. 考察

Vif/APOBEC3G の相互作用は、新規の抗 HIV-1 薬の絶好の標的と考え、本研究を提案した。実際、一昨年度に我々が計画したのと同様の方法を用いて候補物質が同定され報

告された (Nathans, *Nature Biotech* 26:1187,2008)ことは、本アプローチの方向性の妥当性を示しているといえる。本年度は、本格的にスクリーニングを開始し、2つの異なる一次スクリーニング系を用いて、候補化合物の同定を行った。今後これらの候補化合物を二次・三次スクリーニング、薬理的解析を通じてさらに絞り込んでいきたい。

E. 結論

Vif/APOBEC3G の相互作用を標的とした新規抗 HIV-1 薬の開発に関する研究が順調に進んだ。残り1年間で、適当なリード化合物の候補を選択できるところまで、研究を展開したい。

F. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

なし。

分担研究報告書

分担研究者 高折晃史 京都大学医学研究科 血液・腫瘍内科学 講師

研究要旨 GFP-APOBEC3G と Vif の共発現により、Vif による APOBEC3G の分解を定量化できる系を樹立して、本系を用いて低分子化合物スクリーニングを行った。377 個の候補化合物を同定し、確認試験において 47 個にしぼった。さらに二次スクリーニングを施行中である。

A. 研究目的

本研究では、Vif/APOBEC3G 両分子およびその相互作用を標的とした新規抗 HIV-1 薬の開発を目指し、低分子化合物のスクリーニングを行った。

B. 研究方法

- ①Vif による APOBEC3G のユビキチン依存性分解を阻害する化合物
- ②APOBEC3G の発現および活性を調節する化合物
- ③Vif のユビキチン依存性分解を促進する化合物に関する複数のスクリーニングのうち、①に関して、GFP-APOBEC3G と Vif の共発現により、Vif による APOBEC3G の分解を定量化できる系を樹立して、本系を用いて低分子化合物スクリーニングを行った。

（倫理面への配慮）
特に存在しない。

C. 研究結果

高折、錦織、小林により、約 2 万の低分子化合物ライブラリーを用いて一次スクリーニングを行い、377 個の候補化合物を同定した。これらの候補化合物は、確認試験において 47 個にしぼられ、さらに小林らによるウエスタン法を用いた二次スクリーニングを施行中である。

D. 考察

スクリーニング系を構築した。また、本スクリーニングにより候補化合物を同定できた。

E. 結論

Vif/APOBEC3G の相互作用を標的とした新規抗 HIV-1 薬の開発に関する研究が順調に進んだ。残り 1 年間で、適当なリード化合物の候補を選択できるところまで、研究を展開したい。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Taisuke Izumi, Akifumi Takaori-kondo, Kotaro Shirakawa, Hiroaki Higashitsuji, Katsuhiko Itoh, Katsuhiro Io, Masashi Matsui, Kazuhiro Iwai, Hiroshi Kondoh, Toshihiro Sato, Mitsunori Tomonaga, Satoru Ikeda, Hirofumi Akari, Yoshio Koyanagi, Jun Fujita, and Takashi Uchiyama: MDM2 is a novel E3 ligase for HIV-1 Vif. *Retrovirology* 6(1):1, 2009.

2) Yamamoto R, Nishikori M, Tashima M, Sakai T, Ichinohe T, Takaori-Kondo A, Ohmori K, and Uchiyama T: B7-H1 expression is regulated by MEK/ERK signaling pathway in anaplastic large cell lymphoma and Hodgkin lymphoma. *Cancer Science* 100(11):2093-100, 2009.

3) Sakai T, Nishikori M, Tashima M, Yamamoto R, Kitawaki T, Takaori-Kondo A, Suzuki T, Tsuzuki S, and Uchiyama T:

Distinctive cell properties of B cells carrying the BCL2 translocation and their potential roles in the development of lymphoma of germinal center type. *Cancer Science* 100(12):2361-2367, 2009.

4) 泉 泰輔、高折 晃史: APOBEC3G/Vif システムによる HIV-1 の複製制御。「実験医学」増刊 第 27 卷 第 10 号 135 項~144 項、2009 年

2. 学会発表

1) Taisuke Izumi, Akifumi Takaori-Kondo, Masashi Matsui, Kazuhiro Io, and T Uchiyama: HIV-1 Vif Causes G2 Cell Cycle Arrest and Apoptosis via the p53 Pathway. 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Montreal, Canada, Feb 8-11, 2009. (**Young Investigator Award 受賞**)

2) Kotaro Shirakawa, A Takaori-Kondo, M Yokoyama, T Izumi, M Matsui, K Io, H Sato, and T Uchiyama: P Phosphorylation of APOBEC3G by Protein Kinase A Regulates its Interaction with HIV-1 Vif. 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Montreal, Canada, Feb 8-11, 2009. (**Young Investigator Award 受賞**)

3) Taisuke Izumi, Kotaro Shirakawa, Masashi Matsui, Katsuhiko Io, Takashi Uchiyama, and Akifumi Takaori-Kondo: HIV-1 Vif causes G2 cell cycle Arrest and apoptosis via the p53 Pathway. The 9th Awaji International Forum on

Infection and Immunity, Awaji, Hyogo, Japan, September 8-11, 2009.

4) 泉 泰輔、白川 康太郎、松井 道志、井尾 克宏、内山 卓、高折 晃史: HIV-1 Vif は p53 を介してその機能を発揮する。第 23 回近畿エイズ研究会学術集会、京都、平成 21 年 6 月 6 日

5) 松井 道志、泉 泰輔、井尾 克宏、篠原 正信、高折晃史: Vif/APOBEC3G を標的とした創薬スクリーニング。第 23 回近畿エイズ研究会学術集会、京都、平成 21 年 6 月 6 日

6) 井尾 克宏、泉 泰輔、松井 道志、篠原 正信、内山 卓、高折 晃史: HIV-1 Vif はリン酸化により p53 を安定化し、細胞を G2/M 期に停止させる。第 23 回近畿エイズ研究会学術集会、京都、平成 21 年 6 月 6 日

7) 泉 泰輔、白川 康太郎、松井 道志、井尾 克宏、篠原 正信、内山 卓、高折 晃史: HIV-1 Vif は p53 を介してその機能を発揮する。第 23 回日本エイズ学会学術集会、名古屋、平成 21 年 11 月 26~28 日

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

なし。

分担研究報告書

分担研究者 木曾 良明 京都薬科大学 教授

研究要旨 Vif/APOBEC3G を標的とした新規抗 HIV-1 薬の開発を目指し、RN-18 の合成、および、スクリーニングヒット化合物の化学構造重ね合せ解析を行い、薬理的側面から本研究の推進ができた。

A. 研究目的

本研究では、Vif/APOBEC3G 両分子およびその相互作用を標的とした新規抗 HIV-1 薬の開発を目指し、薬理的側面から研究を展開する。

B. 研究方法

a) RN-18 の合成

4-ニトロフェニルチオールと 2-ヨウ化安息香酸をテトラブチルアンモニウムブロミド中、塩化ニッケル触媒によるクロスカップリング法により、C-S 結合を形成させ、中間体の 2-(4-ニトロフェニルチオ)安息香酸を合成した。得られた中間体と *o*-アニシジンを用いて EDC-HOBt 法により縮合し、ペプチド結合を形成させ、粗生成物を得た。C₁₈ カラムを用いた逆相分取 HPLC により精製し、凍結乾燥後、RN-18 を得た。

b) スクリーニングヒット化合物の化学構造重ね合せ解析

ハイスループットスクリーニングによりヒットした候補化合物および RN-18 について、分子計算ソフト MOE を用いて各々の分子モデルを構築し、フレキシブルアラインメント解析を行った。

(倫理面への配慮)
特に存在しない。

C. 研究結果

標準物質としての RN-18 を得るために、文献 (PCT) とは異なる独自の合成経路を検討した。クロスカップリング反応の収率は高く、ペプチド縮合反応は低収率であったが、最終的に高純度の RN-18 が合成できた。

スクリーニングにより得られた 25 種の候補化合物と RN-18 を加えた計 26 種の化合物について、フレキシブルアラインメント解析を行った。その結果、最も重なった部分構造として、3つの疎水性の環構造が円弧状に連なる特徴が得られた。

D. 考察

報告された候補化合物の合成、本研究により同定された候補化合物の化学構造解析により、本研究を薬理的側面から十分な支援を行えたと考える。

E. 結論

Vif/APOBEC3G の相互作用を標的とした新規抗 HIV-1 薬の開発に関する研究が順調に進んだ。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Yuko Kawasaki, Eduardo E. Chufan, Virginie Lafont, Koushi Hidaka, Yoshiaki Kiso, L. Mario Amzel, Ernesto Freire: How much binding affinity can be gained by filling a cavity? Chem. Biol. Drug Design, 75(2), 143-151 (2010).

2) 木曾良明、林良雄、相馬洋平、日高興士:

生物分子システムを基盤とする統合創薬科学。MEDCHEM NEWS, 20(1), 2-8 (2010).

2. 学会発表

1) Yoshiaki Kiso: Defying difficult diseases: design and synthesis of protease inhibitors, prodrug forms and click peptides. PSJ-AAPS Joint Symposium: New Trends of Medicinal Chemistry. 日本薬学会第129年会、京都、平成21年3月26-28日(invitation)

2) 日高興士、香月紀子、安達基泰、黒木良太、木村徹、木曾良明 : HIV プロテアーゼの

結合部位周辺にある水分子を利用した阻害剤研究。第23回近畿エイズ研究会学術集会、京都、平成21年6月6日

3) 日高興士、Jeffrey-Tri Nguyen、濱田貴司、安達基泰、黒木良太、木村徹、木曾良明 : 架橋水および水和を利用する HIV プロテアーゼ阻害剤研究。第23回日本エイズ学会学術集会、名古屋、平成21年11月26-28日

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

なし。

分担研究報告書

分担研究者 梁 明秀 横浜市立大学 教授

研究要旨 Vif/APOBEC3G を標的とした新規抗 HIV-1 薬の開発を目指し、小麦胚芽無細胞タンパク質合成技術を用いて新規スクリーニングを構築した。本スクリーニングを用いて、1万種類の化合物をスクリーニングした結果、阻害効果の高い化合物 10 種を含む 253 種が 1 次スクリーニング産物として得られた。

A. 研究目的

本研究では、Vif/APOBEC3G 両分子およびその相互作用を標的とした新規抗 HIV-1 薬の開発を目指し、我々が開発した小麦胚芽無細胞タンパク質合成技術を用いて新規スクリーニングを施行する。

B. 研究方法

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り、相互作用阻害を目的とする薬剤の開発は非常に重要である。しかしながら従来の細胞を用いた薬剤スクリーニングは、1, 細胞そのものに薬剤を投与する為、阻害効果が確認出来ても予想する相互作用を阻害しているか判断しにくい。2, スループット性が著しく低く試験出来る化合物数が限られてくる。等の問題がある。標的となるタンパク質を個別に調製し薬剤スクリーニングを行うにしても調製タンパク質の可溶化、及び活性保持に難を持つことが多い。我々はこれまでに小麦胚芽無細胞タンパク質合成技術を用いて活性を保持した宿主タンパク質と HIV タンパク質を調製し相互作用解析を行ってきた。この技術を用いれば、1, 相互作用を行うタンパク質のみでスクリーニング系を構築できる為、結果の解釈が明らか。2, タンパク質調製が全自動化されており、また高感度なタンパク質間相互作用検出システムと組み合わせることによってハイスループットスクリーニング系を構築できる。3, 真核型タンパク質合成システムである為、調製タンパク質の品質が高い。

等の利点を持つ。

HIV-1 Vif による APOBEC3G 分解には、Vif と APOBEC3G との相互作用および、Vif と Cullin 5-elongin B-elongin C-Rbx1 との複合体 (Vif-E3 リガーゼ複合体) 形成が重要である。無細胞タンパク質合成技術を用いて調製したタンパク質は Vif-E3 リガーゼ複合体を形成できることが確認され、また Vif-E3 リガーゼ複合体による APOBEC3G のユビキチン化活性、および APOBEC3G のシチジンデアミナーゼ活性の保持が確認された。これら活性を保持したタンパク質と相互作用を高感度・ハイスループットに検出出来るアルファスクリーンシステムを用いて Vif-APOBEC3G 相互作用阻害剤スクリーニングを行った (図 1)。

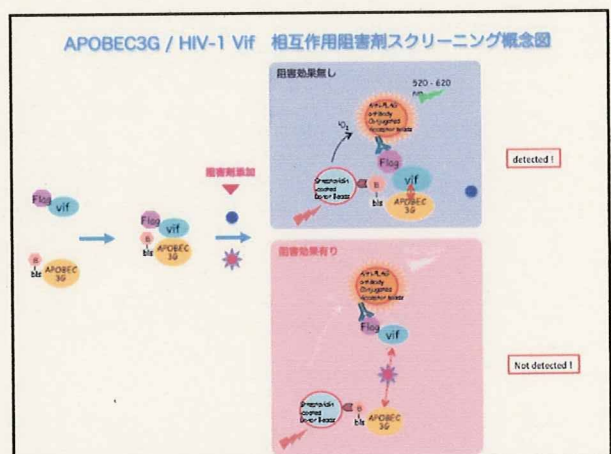


図 1 Vif-APOBEC3G 相互作用検出概念図

(倫理面への配慮)
特に存在しない。

C. 研究結果

1万種類の化合物をスクリーニングした結果、阻害効果の高い化合物 10 種を含む 253 種が 1 次スクリーニング産物として得られた (図 2)。またこのスクリーニング系を応用すれば Vif-APOBEC3G 相互作用阻害剤だけでなく Vif-E3 リガーゼ複合体阻害剤スクリーニング系の構築も可能である (図 3)。

D. 考察

まったく新規のスクリーニング系を構築し、また、スクリーニングにより候補化合物を同定できた。

E. 結論

Vif/APOBEC3G の相互作用を標的とした新規抗 HIV-1 薬の開発に関する研究が順調に進んだ。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 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.* 2009 Dec;5(12):e1000700.
- 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.* 2010 Jan 15;285(3):1754-64.
- 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.* 2009 Sep 4;284(36):23980-8.
- Ohba K, Ryo A, Dewan MZ, Nishi M, Naito T, Qi X, Inagaki Y, Nagashima Y, Tanaka Y, Okamoto T, Terashima K,

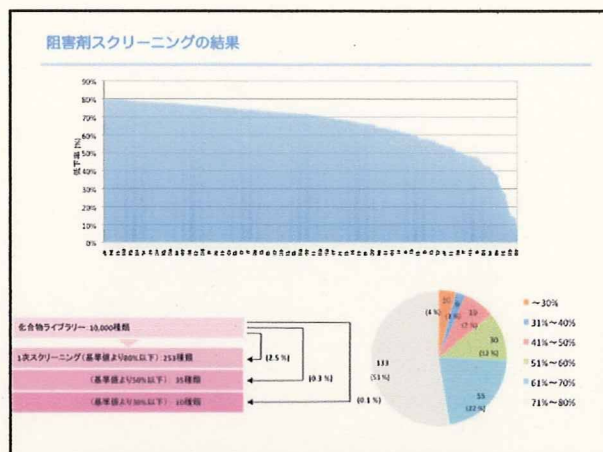


図 2 Vif-APOBEC3G 相互作用阻害剤候補

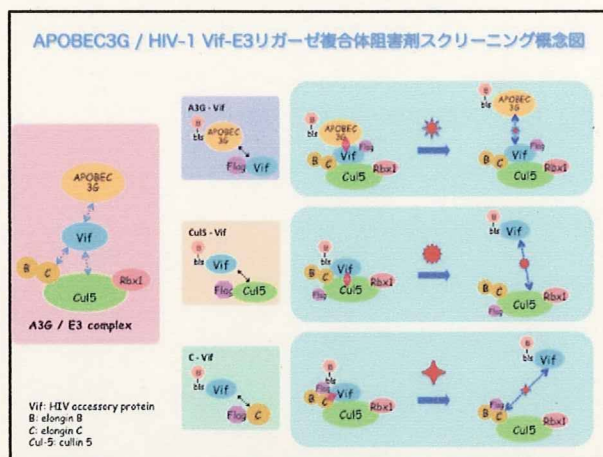


図 3 Vif-E3 リガーゼ複合体相互作用検出概念図

- 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.* 2009 Jul 1;183(1):524-32.
- 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.* 2009 Apr 3;381(2):294-9.
 - 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.* 2009 Apr 17;583(8):1243-50. Epub 2009 Mar 25.

2. 学会発表

1. 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」縦糸研究会, 平成21年5月20～21日, 名古屋大学, 名古屋.
2. 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, 熊本全日空ニュースカイ, 熊本.
3. 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, ゆうぽうと, 東京.
4. 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「分析技術の発達により見えてきた蛋白質の翻訳後修飾とその異常」, 平成21年6月19日, 港南区民文化センター ひまわりの郷, 横浜.
5. 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, 北里大学薬学部, 東京.
6. 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.
7. 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, ホテル日航熊本, 熊本.
8. 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, 名古屋国際会議場, 名古屋.
9. 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, パシフィコ横浜, 横浜.
10. 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, パシフィコ横浜, 横浜.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）
なし。

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
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

雑誌

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
T Izumi, A Takaori-kondo, K Shirakawa, H Higashitsuji, K Itoh, K Io, M Matsui, K Iwai, H Kondoh, T Sato, M Tomonaga, S Ikeda, H Akari, Y Koyanagi, J Fujita, and T Uchiyama	MDM2 is a novel E3 ligase for HIV-1 Vif	<i>Retrovirology</i>	6(1)	1	2009
Yamamoto R, Nishikori M, Tashima M, Sakai T, Ichinohe T, Takaori-Kondo A, Ohmori K, and Uchiyama T	B7-H1 expression is regulated by MEK/ERK signaling pathway in anaplastic large cell lymphoma and Hodgkin lymphoma	<i>Cancer Science</i>	100(11)	2093- 2100	2009
Sakai T, Nishikori M, Tashima M, Yamamoto R, Kitawaki T, Takaori-Kondo A, Suzuki T, Tsuzuki S, and Uchiyama T	Distinctive cell properties of B cells carrying the BCL2 translocation and their potential roles in the development of lymphoma of germinal center type	<i>Cancer Science</i>	100(12)	2361-67	2009
泉 泰輔、高折 晃史	APOBEC3G/Vif シス テムによる HIV-1 の 複製制御	実験医学	27(10)	135-44	2009
Kawasaki Y, Chufan E E, Lafont V, Hidaka K, Kiso Y, L. Amzel L M, Freire E	How much binding affinity can be gained by filling a cavity?	<i>Chem. Biol. Drug Design</i>	75(2)	143-151	2010
木曾良明、林良雄、相 馬洋平、日高興士	生物分子システムを 基盤とする統合創薬 科学。	<i>MEDCHEM NEWS</i>	20(1)	2-8	2010
Matsuura I, Chiang KN, Lai CY, He D, Wang G,	Pin1 promotes transforming growth	<i>J Biol Chem</i>	285(3)	1754-64	2010

Ramkumar R, Uchida T, Ryo A, Lu K, Liu F.	factor-beta-induced migration and invasion.				
Miyakawa K, Ryo A, Murakami T, Ohba K, Yamaoka S, Fukuda M, Guatelli J, Yamamoto N.	BCA2/Rabring7 promotes tetherin-dependent HIV-1 restriction.	<i>PLoS Pathog</i>	5(12)	e1000700	2009
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.	<i>J Biol Chem</i>	284(36)	23980-8	2009
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.	<i>J Immunol</i>	183(1)	524-32	2009
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.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	381(2)	294-9	2009

