

201227037A

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服緊急対策研究事業

C型肝炎ウイルス感染特異的な 長鎖ノンコーディングRNAの探索

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 島 上 哲 朗

平成25 (2013) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

肝炎等克服緊急対策研究事業

C型肝炎ウイルス感染特異的な
長鎖ノンコーディングRNAの探索

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 島上 哲朗

平成25（2013）年 3月

C型肝炎ウイルス感染特異的な長鎖ノンコーディングRNAの探索

研究組織

| | | |
|--------------|-----------------|------|
| <u>研究代表者</u> | | |
| 島上 哲朗 | 金沢大学附属病院 | 特任助教 |
| <u>研究分担者</u> | | |
| 白崎 尚芳 | 金沢大学医薬保健研究域保健学系 | 助教 |

目 次

I. 総括研究報告

C型肝炎ウイルス感染特異的な長鎖ノンコーディングRNAの探索

島上 哲朗 ----- 1

II. 分担研究報告

1. C型肝炎ウイルス感染特異的な長鎖ノンコーディングRNAの探索

島上 哲朗 ----- 5

2. C型肝炎ウイルス感染特異的な長鎖ノンコーディングRNAの探索

白崎 尚芳 ----- 9

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 13

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 15

I. 総括研究報告

C型肝炎ウイルス感染特異的な長鎖ノンコーディングRNAの探索

研究代表者：島上 哲朗 金沢大学附属病院 特任助教

研究要旨：本邦におけるC型慢性肝炎に対する治療は、従来のペグインターフェロンとリバビリン併用療法に加え、プロテアーゼ阻害剤の使用が可能となり、C型肝炎ウイルス（HCV）排除率は約80%にまで向上することが予想される。しかし、今後プロテアーゼ阻害剤耐性ウイルスによるbreakthrough肝炎、またインターフェロンの副作用による治療困難例への対策が必要となる。そのため既存治療とは異なる作用機序の新規抗HCV療法の開発が急務と考えられる。近年、200塩基以上のlong non-coding RNA (lncRNA)が、様々な疾患・病態において重要な役割を果たしていることが報告されている。本研究ではHCV感染を制御しうるlncRNAの同定を行なうことを目的とした。

H24年度は、HCV感染培養細胞由来RNAをcoding RNAおよびlncRNAに対するプローブを有するDNAチップを用いてマイクロアレイ法にて解析を行った。その結果HCV感染特異的に発現が変化するlncRNA群を同定した。さらに、その中の一つlncRNA-Aに注目してHCV培養細胞系において機能解析を行ったところ、lncRNA-Aは、HCVの複製に対して抑制的に働いている可能性が示唆された。

A. 研究目的

本研究の目的は以下である。

- 1) HCV感染特異的に発現が増減するlncRNAを探索する。
- 2) さらにそれらのlncRNAの中からHCV複製および感染を制御するlncRNAを同定する。
- 3) 同定したlncRNAによるHCV複製制御機構を解明する。
- 4) C型慢性肝炎感染肝組織におけるlncRNAの発現と、インターフェロン治療効果およびインターフェロン治療抵抗性の関連を明らかにする。

B. 研究方法

- 1) マイクロアレイ法および次世代シーケンサーを用いたRNAシーケンス法にてHCV感染培養細胞由来RNAの解析を行い、HCV感染特異的に発現が増減するlncRNAを抽出する。
- 2) HCV培養細胞系において、1)において同定したlncRNAの過剰発現および発現抑制を行い、実際にHCV感染を制御するlncRNAの同定を行う。
- 3) HCV培養細胞系を用いて、lncRNAによるHCV感染制御機構の解明を行う。
- 4) C型慢性肝炎患者肝組織におけるlncRNAの発現と臨床フェノタイプ（イ

ンターフェロン療法感受性、発癌など)との関連の有無を検討する。

(倫理面への配慮)

本研究では感染性粒子を産生しうる HCV 細胞培養系も用いる。そのためウイルス粒子を形成する実験に関しては、必ず P2 ルームで施行するとともに、汚染事故には十分注意して行う。なお申請者が所属する研究グループは既に P2 ルームを有しており、HCV 感染実験での P2 ルームの使用に関しては、平成 24 年 6 月 12 日付けで文部科学大臣より確認を受け、更に金沢大学長より機関承認を得ている(金大 6 第 1316 号)。

またヒトゲノム・遺伝子解析研究が必要になった場合にはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守し、インフォームドコンセントを得た症例の試料のみを用いて研究を行う。

C. 研究結果

- 1) 細胞培養感染 HCV クローンをヒト肝がん細胞株に感染させ、感染後経時的に細胞全 RNA を回収した。また NS5A 阻害剤を投与し、同様に細胞全 RNA を回収した。
- 2) これらの RNA のうち polyA を有する RNA のみ選択的に増幅し、約 15000 個の lncRNA と約 28000 個の coding RNA に対するプローブを有する DNA チップを用いてマイクロアレイ法にて各々の RNA の発現解析を行った。
- 3) 同時に HCV RNA 量を qRT-PCR 法にて測定し、HCV RNA 量とマイクロアレイ法にて測定した lncRNA 量との相関・逆相関を検討した。その結果 HCV RNA 量

と相関・逆相関を示す lncRNA 群を同定した。

- 4) 最も強く HCV RNA 量と逆相関した lncRNA-A の HCV 複製に与える影響を培養細胞系において検討した。
- 5) siRNA による lncRNA-A の発現抑制により HCV 複製の増強を認めた。

D. 考察

- 1) lncRNA-A は、HCV 複製に抑制的に働くことが示唆された。また逆に HCV は lncRNA の発現を抑制することで、自己複製を増強している可能性が示唆された。この結果を踏まえ、次年度は以下の検討を予定する。lncRNA-A の過剰発現による HCV 複製の抑制効果の有無を検討する。
- 2) lncRNA-A による HCV 複製制御機序を解明する。
- 3) 次世代シーケンサー (RNA シーケンス) にて HCV 感染を制御する新規 lncRNA を探索する。

E. 結論

マイクロアレイ法による解析により同定した lncRNA-A は、HCV 複製に抑制的に働くことが示唆された。今後は lncRNA-A による複製制御機構の解明、さらに同様に HCV 感染を制御する lncRNA の検索を行う予定である。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) **Shimakami T**, Yamane D, Welsch C, Hensley L, Jangra RK, Lemon SM. Base pairing between hepatitis C virus RNA and microRNA 122 3' of its seed sequence is essential for genome stabilization and production of infectious virus. *J Virol*. 2012. 86(13):7372-83.
- 2) **Shimakami T**, Yamane D, Jangra RK, Kempf BJ, Spaniel C, Barton DJ, Lemon SM. Stabilization of hepatitis C virus RNA by an Ago2-miR-122 complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012. 109(3):941-6.
- 3) Welsch C, Schweizer S, **Shimakami T**, Domingues FS, Kim S, Lemon SM, Antes I. Ketoamide resistance and hepatitis C virus fitness in val55 variants of the NS3 serine protease. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012. 56(4):1907-15.
- 4) Welsch C, **Shimakami T**, Hartmann C, Yang Y, Domingues FS, Lengauer T, Zeuzem S, Lemon SM. Peptidomimetic escape mechanisms arise via genetic diversity in the ligand-binding site of the hepatitis C virus NS3/4A serine protease. *Gastroenterology*. 2012. 142(3):654-63.
- 5) Okada H, Honda M, Jean S. Campbell, Sakai Y, Yamashita T, Takebuchi Y, Hada K, **Shirasaki T**, Takabatake R, Nakamura M, Sunakozaka H, Tanaka T, Nelson Fausto, Kaneko S. Acyclic retinoid targets platelet-derived growth factor signaling in the prevention of hepatic fibrosis and hepatocellular carcinoma development. *Cancer Research*. 2012. 72(17):4459-71.

2. 学会発表

- 1) **Tetsuro Shimakami**, Masao Honda, Takayoshi Shirasaki, Masaya Funaki, Riuta Takabatake, Stanley Lemon, and Shuichi Kaneko. Inhibition of Hepatitis C Virus Replication by Acyclic Retinoid, The 63rd AASLD 2012, 2012年11月
- 2) **Tetsuro Shimakami**, Daisuke Yamane, Masao Honda, Shuichi Kaneko, and Stanley M Lemon. miR-122 stabilizes Hepatitis C Virus RNA by an Ago2-dependent mechanism, The 10th single topic conference, 2012年11月
- 3) **島上哲朗**、本多政夫、金子周一. プロテアーゼ阻害剤耐性C型肝炎ウイルスのRNA複製能・感染性粒子産生能に関する検討、第48回日本肝臓学会総会、2012年6月
- 4) **白崎尚芳**、本多政夫、金子周一. 慢性C型肝炎におけるIFN治療抵抗性とTGF- β シグナル、第77回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会、2012年11月
- 5) **Shirasaki T**, Honda M, Shimakami T, Okada H, Lemon S, Murakami S, Kaneko S. Gene expression profile of primary hepatocyte and differential innate antiviral response of IFN- α and IL28B, The 63rd AASLD 2012, 2012年11月
- 6) **Shirasaki T**, Honda M, Shimakami T, Okada H, Murakami S, Kaneko S. Gene expression profile of primary hepatocyte and differential innate antiviral response of IFN- α and IL28B, 第35回日本分子生物学会年会, 2012年12月

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特記事項なし

II. 分担研究報告

C型肝炎ウイルス感染特異的な長鎖ノンコーディングRNAの探索

研究代表者：島上 哲朗 金沢大学附属病院 特任助教

研究要旨：近年、200塩基以上のlong non-coding RNA(lncRNA)が、様々な疾患・病態において重要な役割を果たしていることが報告されている。H24年度、研究代表者島上は、lncRNAを標的としたC型慢性肝炎の新規治療法を開発することを目的として、C型肝炎ウイルス（HCV）感染を制御するlncRNAの同定をHCV培養細胞系を用いて行った。

HCV感染培養細胞由来RNAをcoding RNAおよびlncRNAに対するプローブを有するDNAチップを用いて、マイクロアレイ法にて解析を行った。今回解析したRNAは、HCV感染後12時間から72時間まで経時的に回収を行ったもの、さらに感染24時間後からNS5A阻害剤によりHCV複製を抑制したものをを用いた。マイクロアレイ法によって得られたcoding RNAとlncRNAの発現をそれぞれクラスタリングを行ったところ、非感染、感染後の時系列、NS5A阻害剤添加によって分類された。この結果からlncRNAの発現は、HCVの感染の影響を受けていることが示唆された。さらに各条件下におけるHCV RNA量と、lncRNA量との関連を検討したところ、HCV RNA量と強く相関・逆相関するlncRNA群が同定された。これらのlncRNAは、HCV感染を制御している可能性が考えられ、新規抗ウイルス療法の治療標的となり得る可能性が示唆された。

A. 研究目的

HCV感染培養細胞由来RNAを、coding RNAおよびlncRNAに対するプローブを有するDNAチップを用いてマイクロアレイ法にて解析し、以下の点を明らかにすることを目的とした。

- 1) HCV感染特異的なlncRNAの発現パターンの有無を検討する。
- 2) HCV RNA量と相関するlncRNA群の抽出を行う。

B. 研究方法

- 1) 細胞培養感染クローンである、遺伝子

型 Ia H77S 株と IIa JFH1 株のキメラである HJ3-5 株をヒト肝癌細胞株 (Huh7.5) に MOI 5 で感染させ、感染 12、24、36、48、72 時間後に細胞全 RNA を回収した。また感染 24 時間後に EC50 の 5 倍 (50pM)、および 100 倍濃度 (1nM) の NS5A 阻害剤を投与し、その 48 時間後 (感染 72 時間後) に同様に細胞全 RNA を回収した。

- 2) これらの RNA のうち polyA を有する RNA のみ選択的に増幅し、約 15000 個の lncRNA と約 28000 個の coding RNA に対するプローブを有する DNA チップ

を用いてマイクロアレイ法にて各々の RNA の発現解析を行った。

- 3) 同時に HCV RNA 量を qRT-PCR 法にて測定し、HCV RNA 量とマイクロアレイ法にて測定した lncRNA 量との相関を検討した。
- 4) マイクロアレイ法にて得られた lncRNA の発現量のデータを用いて、HCV RNA 量と発現が相関する lncRNA 群の抽出を行った。

(倫理面への配慮)

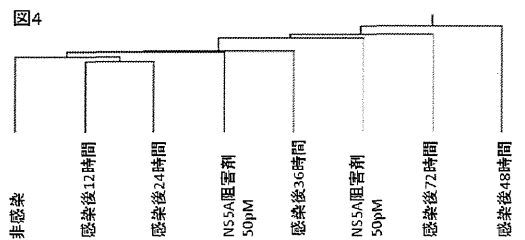
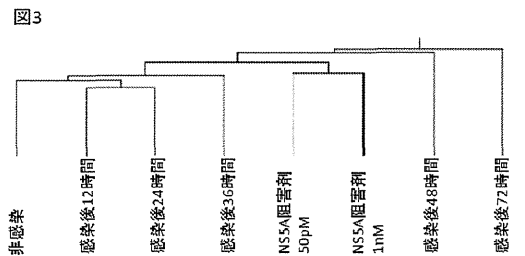
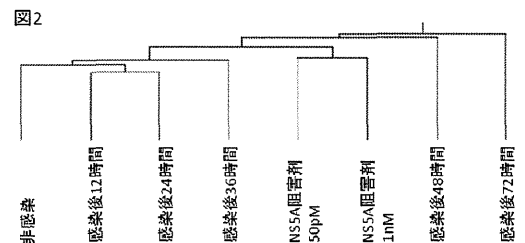
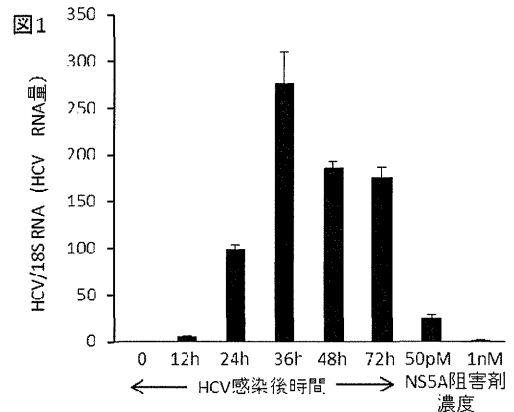
本研究では感染性粒子を産生しうる HCV 細胞培養系も用いる。そのためウイルス粒子を形成する実験に関しては、必ず P2 ルームで施行するとともに、汚染事故には十分注意して行う。なお申請者が所属する研究グループは既に P2 ルームを有しており、HCV 感染実験での P2 ルームの使用に関しては、平成 24 年 6 月 12 日付けで文部科学大臣より確認を受け、更に金沢大学長より機関承認を得ている(金大 6 第 1316 号)。

またヒトゲノム・遺伝子解析研究が必要になった場合にはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守し、インフォームドコンセントを得た症例の試料のみを用いて研究を行う。

C. 研究結果

- 1) 各条件下における HCV RNA 量を測定した。経時的な HCV RNA 量の増加、および NS5A 阻害剤による濃度依存性の HCV RNA 量の低下を認めた。(図 1)
- 2) マイクロアレイ法で得られた発現パタ

ーンを、全 RNA (図 2)、coding RNA (図 3)、non-coding RNA (図 4) 別にクラスタリングを行った。



- 3) HCV RNA 量と lncRNA 量との相関を pearson's correlation coefficient を用いて抽出した。その際正・負の相関を示すものを両方抽出した。その結果、正の相関を示すもの 50 個、負の相関を示すもの 90 個が抽出された。

D. 考察

- 1) マイクロアレイ法を用いた lncRNA の発現パターンは、HCV 感染・非感染、また感染後の時系列、NS5A 阻害剤添加によってクラスタリングされた。この結果から lncRNA の発現は、HCV の感染の影響を受けていることが示唆された。
- 2) HCV RNA 量と発現が相関する lncRNA 群を抽出した。これらの中には HCV 感染を制御しているものが含まれている可能性が考えられ、今後各々の lncRNA の HCV 複製における役割を検討する予定である。
- 3) 次年度以降は次世代シーケンサー (RNA シーケンス) にて HCV 感染を制御する新規の lncRNA の探索も行う。

E. 結論

HCV 感染培養細胞由来 RNA をマイクロアレイ法を用いて解析を行い、HCV 感染を制御している可能性が考えられる lncRNA 群を抽出した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) **Shimakami T**, Yamane D, Welsch C, Hensley L, Jangra RK, Lemon SM. Base pairing between hepatitis C virus RNA and microRNA 122 3'of its seed sequence is essential for genome stabilization and production of infectious virus. *J Virol*. 2012. 86(13):7372-83.
- 2) **Shimakami T**, Yamane D, Jangra RK, Kempf BJ, Spaniel C, Barton DJ, Lemon SM. Stabilization of hepatitis C virus RNA

by an Ago2-miR-122 complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012. 109(3):941-6.

- 3) Welsch C, Schweizer S, **Shimakami T**, Domingues FS, Kim S, Lemon SM, Antes I. Ketoamide resistance and hepatitis C virus fitness in val55 variants of the NS3 serine protease. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012. 56(4):1907-15.
- 4) Welsch C, **Shimakami T**, Hartmann C, Yang Y, Domingues FS, Lengauer T, Zeuzem S, Lemon SM. Peptidomimetic escape mechanisms arise via genetic diversity in the ligand-binding site of the hepatitis C virus NS3/4A serine protease. *Gastroenterology*. 2012. 142(3):654-63.

2. 学会発表

- 1) **Tetsuro Shimakami**, Masao Honda, Takayoshi Shirasaki, Masaya Funaki, Riuta Takabatake, Stanley Lemon, and Shuichi Kaneko. Inhibition of Hepatitis C Virus Replication by Acyclic Retinoid, The 63rd AASLD 2012, 2012年11月
- 2) **Tetsuro Shimakami**, Daisuke Yamane, Masao Honda, Shuichi Kaneko, and Stanley M Lemon. miR-122 stabilizes Hepatitis C Virus RNA by an Ago2-dependent mechanism, The 10th single topic conference, 2012年11月
- 3) **島上哲朗**, 本多政夫, 金子周一. プロテアーゼ阻害剤耐性C型肝炎ウイルスのRNA複製能・感染性粒子産生能に関する検討、第48回日本肝臓学会総会、2012年6月

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特記事項なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

C型肝炎ウイルス感染特異的な長鎖ノンコーディングRNAの探索

研究分担者：白崎 尚芳 金沢大学医薬保健研究域保健学系 助教

研究要旨：近年、200塩基以上のlong non-coding RNA (lncRNA)が、様々な疾患・病態において重要な役割を果たしていることが報告されている。H24年度、研究代表者島上は、C型肝炎ウイルス（HCV）感染培養細胞由来RNAに対するマイクロアレイ法による解析からHCV RNA量と強い正・負の相関を示すlncRNA群を抽出した。H24年度、研究分担者白崎は、それらの遺伝子群の中から最も強くHCV RNA量と負の相関を示したlncRNA-Aに注目し、そのHCV複製における影響をHCVの培養細胞系を用いて解析した。

lncRNA-Aに対する2種類のsiRNAを作成し、lncRNA-Aの発現を抑制しHCV感染に与える影響を検討した。その結果、コントロールに比べて2-3倍の複製の増強を認めた。この結果からマイクロアレイ法により抽出したlncRNA-Aは、HCV複製に対して抑制的に働いている可能性示唆された。来年度以降、lncRNA-AによるHCV複製制御機序の解明を行う予定である。

A. 研究目的

研究代表者島上がマイクロアレイ法において抽出したHCV感染特異的に発現が増減するlncRNA群の中で、実際にHCV複製を制御しているlncRNAを同定し、そのHCV複製制御機構を解明することを目的とする。

B. 研究方法

1) 細胞培養感染クローンである、遺伝子型Ia H77S株とIIa JFH1株のキメラであるHJ3-5株をヒト肝癌細胞株（Huh7.5）にMOI 5で感染させ、感染12、24、36、48、72時間後に細胞全RNAを回収した。また感染24時間後にEC50の5倍（50pM）、および100倍濃度（1nM）のNS5A阻害剤を投与し、そ

の48時間後（感染72時間後）に同様に細胞全RNAを回収した。

- 2) これらのRNAのうちpolyAを有するRNAのみ選択的に増幅し、約15000個のlncRNAと約28000個のcoding RNAに対するプローブを有するDNAチップを用いてマイクロアレイ法にて各々のRNAの発現解析を行った。また同時にHCV RNA量もqRT-PCR法にて測定した。
- 3) 上記の結果から、最も強くHCV RNA量と相関するlncRNAを同定した。
- 4) 同定したlncRNAに対するsiRNAを作成し、HCV持続複製細胞にsiRNAを導入し、HCV複製に与える影響を検討した。
- 5) siRNAによりあらかじめ標的lncRNAの

発現を抑制した細胞に HCV 感染を行い、HCV 感染に与える影響を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究では感染性粒子を産生しうる HCV 細胞培養系も用いる。そのためウイルス粒子を形成する実験に関しては、必ず P2 ルームで施行するとともに、汚染事故には十分注意して行う。なお申請者が所属する研究グループは既に P2 ルームを有しており、HCV 感染実験での P2 ルームの使用に関しては、平成 24 年 6 月 12 日付けで文部科学大臣より確認を受け、更に金沢大学長より機関承認を得ている(金大 6 第 1316 号)。

またヒトゲノム・遺伝子解析研究が必要になった場合にはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守し、インフォームドコンセントを得た症例の試料のみを用いて研究を行う。

C. 研究結果

- 1) lncRNA-A が、HCV RNA と最も強い負の逆相関を示した。(図 1、図 2)
- 2) HCV の p7 と NS2 の間に分泌型ルチフェラーゼを含む HCV が持続的に複製する細胞を作成し、lncRNA-A に対する siRNA2 種類を導入し、ルチフェラーゼ活性にて HCV 複製に対する影響を検討した。その結果 lncRNA-A の発現抑制により、HCV 複製は 1.5 倍から 2 倍にまで増強した。(図 3)
- 3) あらかじめヒト肝がん細胞株 Huh7.5 細胞に lncRNA-A に対する siRNA2 種類を導入し、その 72 時間後に分泌型ルチフェラーゼを含んだ HCV を感染させ、ルチフェラーゼ活性にて HCV 感染・複

製に対する影響を検討した。その結果 lncRNA-A の発現抑制により HCV の感染・複製は 2 倍から 3 倍にまで増強した。(図 4)

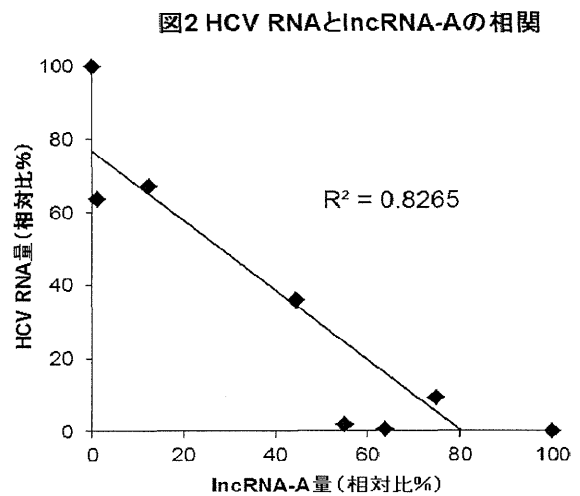
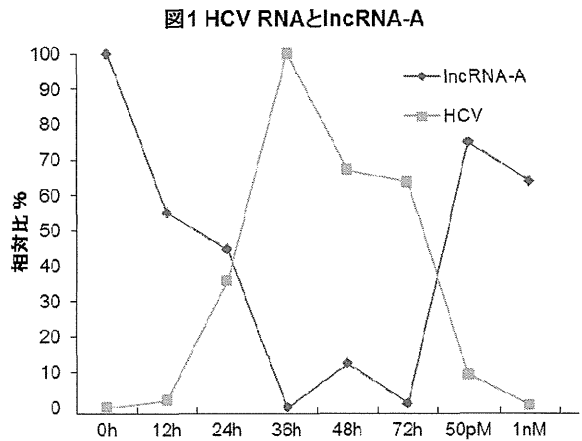


図3 HCV複製へのlncRNA-A抑制の影響 (siRNA投与72時間後)

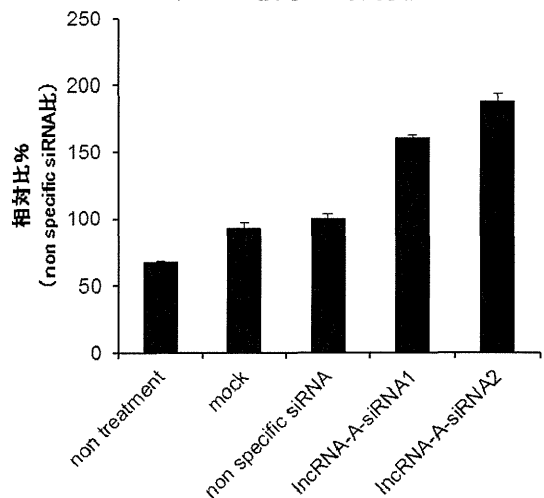
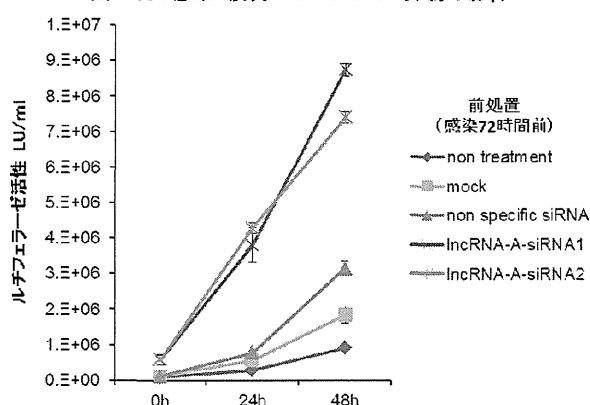


図4 HCV感染・複製へのlncRNA-A抑制の影響



D. 考察

lncRNA-Aは、HCV複製に抑制的に働くことが示唆された。また逆にHCVはlncRNAの発現を抑制することで、自己複製を増強している可能性が示唆された。

E. 結論

マイクロアレイ法により抽出したlncRNA-Aは、HCV複製に対して抑制的に働いている可能性が示唆された。来年度以降、lncRNA-AによるHCV複製制御機序の解明を行う予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Okada H, Honda M, Jean S. Campbell, Sakai Y, Yamashita T, Takebuchi Y, Hada K, **Shirasaki T**, Takabatake R, Nakamura M, Sunakozaka H, Tanaka T, Nelson Fausto, Kaneko S. Acyclic retinoid targets platelet-derived growth factor signaling in the prevention of hepatic fibrosis and hepatocellular carcinoma development. Cancer Research. 2012.72(17):4459-71.

2. 学会発表

- 1) **白崎尚芳**, 本多政夫, 金子周一. 慢性C型肝炎におけるIFN治療抵抗性とTGF-βシグナル, 第77回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会, 2012年11月
- 2) **Shirasaki T**, Honda M, Shimakami T, Okada H, Lemon S, Murakami S, Kaneko S. Gene expression profile of primary hepatocyte and differential innate antiviral response of IFN-α and IL28B, The 63rd AASLD 2012, 2012年11月
- 3) **Shirasaki T**, Honda M, Shimakami T, Okada H, Murakami S, Kaneko S. Gene expression profile of primary hepatocyte and differential innate antiviral response of IFN-α and IL28B, 第35回日本分子生物学会年会, 2012年12月

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特記事項なし

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

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 |
|----------------------------------|-------------------------------------------|-----------|------|------|-----|------|---------|
| 島上哲朗 山根大典 Stanley Lemon | miR-122-Ago2複合体 によるC型肝炎ウイ ルスRNAの安定化 | 一戸敦子 | 実験医学 | 羊土社 | 東京 | 2012 | 1444-48 |

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 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-----|-----------|------|
| <u>Shimakami T</u> , Yamane D, Welsch C, Hensley L, Jangra RK, Lemon SM | Base pairing between hepatitis C virus RNA and microRNA 122 3'of its seed sequence is essential for genome stabilization and production of infectious virus | Journal of Virology | 86 | 7372-7383 | 2012 |
| <u>Shimakami T</u> , Yamane D, Jangra RK, Kempf BJ, Spaniel C, Barton DJ, Lemon SM | Stabilization of hepatitis C virus RNA by an Ago2-miR-122 complex | Proc Natl Acad Sci U S A | 109 | 941-946 | 2012 |
| Welsch C, Schweizer S, <u>Shimakami T</u> , Domingues FS, Kim S, Lemon SM | Ketoamide resistance and hepatitis C virus fitness in val55 variants of the NS3 serine protease | Antimicrob Agents Chemother | 56 | 1907-1915 | 2012 |
| Welsch C, <u>Shimakami T</u> , Hartmann C, Yang Y, Domingues FS, Lengauer T, Zeuzem S, Lemon SM | Peptidomimetic escape mechanisms arise via genetic diversity in the ligand-binding site of the hepatitis C virus NS3/4A serine protease | Gastroenterology | 142 | 654-653 | 2012 |

IV. 研究成果の刊行物・別刷