

研究課題：HIV Gag 蛋白質と関連因子の治療標的構造の解明に向けた統合的研究

課題番号：H25-エイズ-一般-003

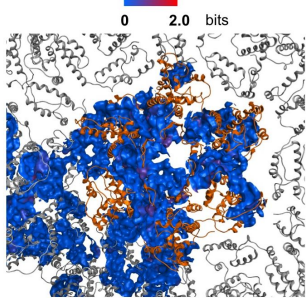
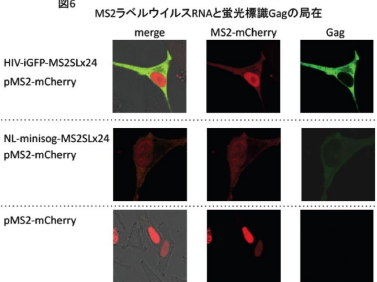
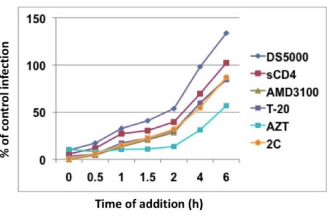
研究代表者：佐藤 裕徳（国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター 室長）

研究分担者：塩田 達雄（大阪大学微生物病研究所 教授）、増田 貴夫（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 准教授）、梁 明秀（横浜市立大学医学部、教授）、櫻木 淳一（大阪大学微生物病研究所 助教）、間 陽子（理化学研究所分子ウイルス学特別研究ユニット ユニットリーダー）、野間口 雅子（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 准教授）、蝦名 博貴（京都大学ウイルス研究所 助教）、村上 努（国立感染症研究所エイズ研究センター 室長）、玉村 啓和（東京医科歯科大学学生体材料工学研究所 教授）

研究要旨

本研究は、HIV Gag 蛋白質を標的とする創薬に必要な基礎情報を収集することを目的とする。創薬標的を論理的に絞り込むために、HIV の複製研究と Structure-Based Drug Design (SBDD)を一つの研究組織で行う。初年度は、HIV-1 コアの表面構造と多様性を解析し、Gag CA 多量体界面の保存される結合ポケットを見出した。細胞内 Gag の機能複合体（コア、Gag 前駆体 / ウイルスゲノム RNA 複合体）の動態を調べる *in situ* uncoating assay と Gag ライブイメージング系の構築を進め、Gag の細胞における本質的な機能と制御を解析する土台を作った。さらに創薬標的の無作為的の同定も進めた。細胞膜透過性 Gag ペプチドのライブラリーを作製し、Gag MA と CA の特定の部分ペプチドが抗 HIV 活性をもつことを見出した。次年度は、各自の成果を発展させながら連携し、Gag の細胞における役割と機能構造の理解を深める。その延長で HIV 感染の予防・治療標的となりうる弱点を絞り込む。

初年度研究の主な成果

<p>【目的】 HIV Gag蛋白質と結合因子を標的とする創薬に必要な基礎情報の収集</p> <p>【方法】 1. 創薬標的の論理的な絞り込み → 柱1. 機能構造と変化能の研究、柱2. HIVの複製研究 2. 創薬標的の無作為的の同定 → 柱3. 抗HIV化合物研究</p>		
<p>柱1</p> <ul style="list-style-type: none"> * HIV-1コアの保存性結合ポケットの同定 * Gag CAの致死変異の同定  <p>Gag CA多量体界面に高度に保存されるリガンド結合ポケットが存在する</p>	<p>柱2</p> <ul style="list-style-type: none"> * 生細胞のGagの動態を解析する新システムの構築 * HIV複製機構の新知見の蓄積 <p>図6 MS2ラベルウイルスRNAと蛍光標識Gagの局在</p>  <p>ウイルスゲノムRNAとGag前駆体は、細胞質～細胞膜に共局在する</p>	<p>柱3</p> <ul style="list-style-type: none"> * 細胞膜透過性Gagペプチドライブラリーの作製 * 抗HIV活性をもつGag CA, MA部分ペプチドの同定  <p>MAペプチド2CはHIV-1のCD4結合後膜融合に至る過程を阻害する</p>
<p>論文発表</p> <p>➢ Nomaguchi M, Yokoyama M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Doi N, Fujiwara S, Saito A, Akari H, Miyakawa K, Ryo A, Ode H, Iwatani Y, Miura T, Igarashi T, Sato H, Adachi A. <i>J Virol.</i> 87:11447-612013, 2013.</p> <p>➢ 他、HIV/SIVの複製、ウイルス蛋白質の構造・機能・進化、抗HIV分子の研究成果の論文計37報</p>		

1. 研究目的

HIV 感染症の制御は、国際社会の主要課題と位置づけられる。HIV は高度に変異性である。薬剤治療の有効性を確保し感染拡大を防ぐには、新たな HIV 制御法の開発が重要な課題となる。HIV-1 Gag 蛋白質は、感染性ウイルス粒子の形成やウイルスの複製において広く重要な機能を担う。もしウイルスの生活環を維持するために必然的に変化しにくい Gag 部位があれば、耐性が発現しにくい感染予防・治療標的の候補となる。しかし、実験のみではこのような標的部位の解明に時間がかかる。

近年、生体分子の振る舞いをコンピュータにより近似する技術が急速に進歩している。2013 年度のノーベル化学賞はこの分子シミュレーションの先駆者が受賞したことからも、科学の進展における計算科学の重要性が強調された。我々は約 10 年前にこの技術に着目し、解析基盤を整備して蛋白質の構造解析に応用して来た。蛋白質の構造特性の情報を入手することで、機能発現と制御の理解が進み、ひいてはウイルスの性質の理解が分子レベルで進む。我々は、ウイルス学研究と連携して、計算科学がウイルスの複製、薬剤耐性、免疫逃避、宿主指向性などのしくみ、および変異に伴うウイルスの性質変化の解析に極めて有用であることを立証してきた。さらに、創薬を念頭に置いた分子解析ツールも急速に拡充しており、計算科学の活用は創薬標的を論理的に絞り込む 'Structure-Based Drug Design (SBDD)' に不可欠の技術となっている。

一方、SBDD の出発点として用いる立体構造の不確かさ(機能構造を反映するか否かの不確かさ)を勘案すれば、計算科学のみで創薬標的を絞り込むことには大きな危険がある。X 線結晶構造解析等で得られる構造は、あくまで細胞外の特殊な環境でとりうる歪んだ構造であり、蛋白質が生理的環境下で働くときの機能構造である保証は無い。また、Gag の本質的な機能は、生きた細胞が作り出す細胞内環境で発揮される。しかし、生細胞内で Gag が機能する時と場、機能的相互作用

に伴う Gag の構造動態、あるいは機能発現を制御する要因について詳細に解析することは現在でも難しい。したがって、現在でも感染細胞における Gag の本質的な機能と機能構造は不明な点が多い。

そこで本研究では、創薬標的をより論理的に絞り込むために、HIV-1 の複製研究と SBDD を一つの研究組織で行う。さらに、創薬標的を無作為に同定し、HIV 複製研究と創薬に還元する戦略を進める。この双方向性の研究により、HIV Gag の機能複合体を標的とする創薬に必要な基礎情報の収集をめざす。本研究は、実験に計算科学や情報科学の手法を取り入れた学際的アプローチを用いて新しいウイルス学研究と HIV 制御法開発の土台を構築する基礎研究と位置づけられる。先進性・独創性が高く、学術的、社会的、国際的な意義は大きい。

2. 研究方法

異なる解析アプローチをとる三つの研究の柱を設定し、3 年計画で Gag の弱点を探索・選別し、創薬シード同定やワクチン抗原設計の土台をつくる。H25 年度は、解析系の構築と弱点の予備的探索を行う。H26 年度は、初年度の研究を継続して Gag の機能構造と変化能の新知見を収集し、弱点探索を続ける。また、班員の共同研究を推進して新たな発見の確率を高める。H27 年度は、Gag の有力な弱点候補を選別し、創薬シード同定の土台をつくる。研究協力者として、蛋白質の *in silico* 構造解析を専門とする横山勝博士(国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター)に協力を仰ぐ。

【役割分担】

柱 1 . Gag 蛋白質の機能構造と変化能の研究
分子シミュレーション、情報エントロピー解析、数学理論、変異導入解析などを併用することで、機能構造維持のために必然的に変わらない分子表面構造を探索する(佐藤、野間口)。

柱 2 . HIV の複製研究

細胞内の Gag の局在、動態、構造、相互作用を解析する新しい実験系を立ち上げ、Gag の本質

的な機能と機能発現に必要な要因を調べ、HIVの感染力と複製能維持のために必然的に変わらない部位を探索する(塩田、蝦名、増田、間、梁、櫻木)

柱3 . 抗HIV化合物研究

細胞内に浸潤可能なGagペプチド誘導体等を設計・合成し、生物活性と作用機序を解析することにより、Gagの弱点部位を探る(玉村、村上)。

(倫理面への配慮)

本研究は、遺伝子組換え生物等を用いる実験を行う。該当する研究については、所属実験機関の承認を得て、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」を遵守して行なっている。

3. 研究結果

柱1 . Gag 蛋白質の機能構造と変化能の研究 :

- 1) MOEのSBDD用ツールとShannon情報エントロピーを用いて蛋白質表面の構造特性と多様性を解析し、Gag CA蛋白質の多量体界面に保存度の高い結合ポケットを見出した(佐藤)。
- 2) 変異導入解析により、 β -hairpin, helix3, helix 4, helix 7のそれぞれに、HIV-1の増殖能を維持するために保存されるアミノ酸残基(Q13, Q50Y, K70, R82, I135)が存在することを見出した(野間口)。

柱2 . HIVの複製研究 :

- 1) HIVコアの細胞内での脱殻過程を追跡する *in situ* uncoating assayをつくり、カニクイザル細胞での増殖能を獲得した改変HIV-1のヒト細胞での増殖能低下は、脱殻速度に低下に起因する可能性を示唆した(塩田)。
- 2) HIV-1インテグラーゼの dimer-dimer インターフェースにおけるNTD-CCDドメイン間相互作用に必須のアミノ酸残基を同定し、当該相互作用が感染性ウイルス粒子コアの形成/維持に関わる可能性を示唆した(増田)。
- 3) 細胞のキナーゼaPKCがHIV-1 Gag の487番目のセリンをリン酸化することを見出し、このリン酸化はVprのウイルス粒子内への取り込みを促

進させることで、マクロファージにおけるウイルスの感染性の増強に寄与することを示した(梁)。

- 4) miniSOG標識Gagを用いてGagの局在を解析するライブイメージング系の構築を進め、シグナルが微弱で改善の余地はあるものの、ウイルスゲノムRNAとGag前駆体の共局在の場合(細胞質~細胞膜付近)を検出した(蝦名)。
- 5) Gag依存的なゲノムパッケージングを解析し、ゲノム二量体化開始点に未報告の機能構造が存在する可能性を見いだした(櫻木)。

柱3 . 抗 HIV 化合物研究 :

- 1) HIV-1 Gag CA 全域をカバーするペプチドライブラリーと Cyp A binding loop 環状ペプチド誘導体を化学合成し、新たな細胞内導入法を見出した(玉村)。
- 2) HIV-1 Gag MA 部分ペプチドの抗 HIV 作用の作用点はウイルスの CD4 結合後膜融合に至る過程であることを示唆した(村上)。
- 3) Vpr と Gag p6 の相互作用を標的とする阻害剤候補を探索する ELISA binding 法を構築し、構造多様性を考慮した 9600 個の化合物を入手した(間)。

班員の共同研究 :

- 1) HIV-1 宿主域の変化における Gag の役割を structure-guided mutagenesis などにより解析し、HIV-1 CA 蛋白質の特定のアミノ酸変異(M94L/R98S/ Q110D/G114Q)がマカクザル細胞におけるウイルス増殖を顕著に促進することを見出した(野間口、塩田、梁、佐藤)。
- 2) 実験と分子シミュレーションにより、HIV-1 CA の Ser487 のリン酸化が Vpr との相互作用を制御することを示した(梁、佐藤)。
- 3) 抗 HIV-1 活性をもつ HIV-1 CA 部分ペプチドを複数見出し、それらの作用点異なることを示唆した(玉村、村上)。

4. 考察

柱1 . Gag 蛋白質の機能構造と変化能の研究 :

Gag の創薬標的を論理的に絞り込むためには、

Gag 蛋白質の機能構造と変化能の情報が不可欠である。しかし、「1. 研究目的」で述べたように、蛋白質の機能構造の特定は、一般には難しい。Gag については種々の立体構造が報告されているが、どの構造が機能をよく反映して SBDD に使えるのかを慎重に検討する必要がある。感染性粒子の形成には Gag 間の適切な相互作用が必須である。この機能的相互作用を体現する構造の一つがウイルス粒子のコア構造である。最近、クライオ電子顕微鏡法により HIV-1 subtype B のコア構造が解明された (PDB:3J3Q, Nature 497:643-646, 2013)。現在までに報告されている CA 構造の中で、機能構造を最もよく反映する構造と言える。そこで本研究では、このコア構造を基に結合ポケットを探索した。その結果、低分子化合物が結合しうるポケットが多数同定された。このうち CA 多量体界面の結合ポケットに着目して研究を進めることとした。このポケットは、正常なコア形成を反映して形成される可能性が高い。また、ポケットを形成するアミノ酸残基は、株間で比較的保存されている。そこで H26 年度は、計算科学と実験により CA 多量体界面のポケットが創薬の標的となるかを検証する予定でいる。

HIV CA の弱点を探索する際、CA の致死変異の情報が重要な手がかりを提供する可能性がある。本研究で、ヒト細胞における HIV-1 増殖能を著しく低下させる変異が CA 領域に新たに 4 種見つけた (野間口)。これらの部位は、HIV-1 group M でよく保存されていることもわかった。興味深いことに、SIV CA の対応するアミノ酸は HIV-1 の相対するものとは異なることもわかった。以上の点から、今回見出された部位は、HIV-1 の生活環を維持して行く上で、まだ知られていない重要な役割を担う部位かもしれない。今後は、実験と構造解析により、この部位の役割を検証して行く予定でいる。

柱 2 . HIV の複製研究 :

Gag の創薬標的を論理的に絞り込むためには、HIV の複製機構の理解が不可欠である。複製研究により Gag の重要な機能の情報が得られ、標的と

すべき機能を論理的に絞り込むことができる。しかし、「1. 研究目的」で述べたように、生細胞における Gag の本質的な機能の特定は、一般には難しい。最大の原因は、生細胞における Gag の挙動 (局在や構造の動態、機能的相互作用) を精密に追跡する系の欠如にある。そこで本研究では、Gag の細胞内での挙動を解析する新しい系の構築を進めた (塩田、蝦名)。現在、感染初期におけるコア脱殻過程、あるいは感染後期における Gag 前駆体とウイルスゲノム RNA の動態を詳細に解析する系ができつつある。解析系が完成すれば、HIV 複製中の機能複合体 (コアや Gag/ウイルスゲノム RNA 複合体) の細胞内局在と動態、および影響因子を解析する。HIV 複製機構の black box の解明に非常に重要な役割を果たすことが期待される。

本研究では、8 名の研究者が手分けして HIV 複製の前期と後期過程を解析している。いずれの研究も解析系、あるいは着眼点に独創的な点を持ち、複製研究に独自の道を切り開いている。今後も個々の班員の独自研究を進展させることで、HIV の複製機構の black box の解明に寄与することが期待される。その際、進展の内容によっては、コア脱殻の制御、あるいは Gag 前駆体とウイルスゲノム RNA の相互作用の制御との関わりが生じる可能性が十分にある。そこで、H26 年度は、個々の班員の研究を進展させるとともに、適宜、塩田博士、蝦名博士との共同研究を計画し、必要に応じて *in situ* uncoating assay 系、および Gag ライプライミング系による解析を取り入れる。これにより、新しい系の検証・改良と応用を効率的に進めたい。

柱 3 . 抗 HIV 化合物研究 :

「1. 研究目的」で述べたように、SBDD に用いる構造の不確かさ (機能構造を反映するかどうかの不確かさ) を勘案すれば、従来からあるリード化合物の同定手法、すなわち構造情報に依存せず無作為に抗 HIV 阻害因子を探索する手法は、依然として非常に有力な手法である。その際、Gag 蛋白質の細胞膜透過性部分ペプチドのライブラ

リーを探索すれば、拮抗阻害が期待される。そこで本研究では、HIV-1 Gag CA と MA の全域をカバーする部分ペプチドライブラリーを化学合成し、octa-Arg 配列を付加して膜透過性を付与した後、抗 HIV 活性を調べた。その結果、抗 HIV-1 活性をもつ複数の Gag 部分ペプチドを見出した。今後の研究で作用点の特異性と低細胞毒性が確認されれば、ウイルスの複製研究や創薬への応用が期待される。

5. 自己評価

1) 達成度について

本研究の開始にあたっては、事前評価のコメント（改善すべき点：ウイルス学研究としてレベルの高いものを申請してほしい、具体的なゴールを設定すべき）を考慮して目的と計画を練り直した。結果の項に示す通り、研究は、計画に沿って順調に進んでいる。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義

本研究では、HIV Gag蛋白質と結合因子について創薬に必要な基礎情報を収集する。その過程で得られるGag蛋白質の構造、機能、変化能の知見は、ウイルスの複製と進化の理解を深める。ウイルス学の進展における学術的意義がある。さらに、HIVの弱点探索の基盤情報となり、創薬シードやワクチン抗原の論理的設計や同定につながる。本研究の成果が新たな抗HIV薬やワクチン抗原の開発に結びつけば、HIV感染者の治療やHIV感染拡大阻止に貢献する。厚生労働行政的、社会的、国際的意義も大きいと考えられる。

3) 今後の展望について

H26年度は、個々の班員の独創的な研究を進展させるとともに、班員間や柱間の共同研究を推進して新たな発見の確率を高める。

柱1、2、3の共同研究：

1) HIV-1 コアの CA 多量体界面に見出された保存

性結合ポケットが創薬の標的となるかを検証する。変異導入解析等を通じてポケットの破壊がもたらす効果を調べる。コンピュータを用いて結合分子を設計し、化学合成し、抗 HIV 活性を調べる。

2) HIV 複製研究に携わり、Gag 変異ウイルスを所有する班員や宿主因子を研究する班員について、適宜、HIV コアの *in situ* uncoating assay と Gag ライブイメージング系を用いた共同研究を進め、細胞内 Gag の機能複合体の動態と制御について新知見を蓄積する。

6. 結論

HIV の弱点同定のために HIV の複製研究と Structure-Based Drug Design (SBDD) を進め、(i) Gag CA 多量体界面の保存された結合ポケットを見出した、(ii) Gag CA の致死変異を同定した、(iii) HIV 複製中の機能複合体(コアや Gag/ウイルスゲノム RNA 複合体)の細胞内局在と動態を解析する新システムの構築が進んだ、(iv) HIV 複製機構の新知見を蓄積した、(v) 細胞膜透過性 Gag ペプチドのライブラリーを作製し、Gag MA と CA の部分ペプチドが抗 HIV 活性をもつことを見出した。次年度は、個々の成果を発展させながら連携し、細胞における Gag の役割と機能構造の理解を深める。その延長で HIV 感染の予防・治療標的となる弱点を絞り込む。

7. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

HIV 立体構造認識抗体誘導ペプチド（特願2011-082813）、CXCR4多量体を認識する多価型CXCR4リガンド、及びその合成方法（特願2009-159771）、HIV立体構造認識抗体誘導ペプチド抗原、及びその合成方法（特願2009-120352）、HIV立体構造認識抗体誘導ペプチド抗原、及びその合成方法（特願2009-120352）、標的物質の検出方法、並びに、これに用いるタグ、DNA、ベクター、プローブ及び検出キット（特願2009-509091）

論文発表

: Gag 蛋白質とその結合因子の解析、* : 班員の共同研究

HIV/SIV の複製研究、ウイルス蛋白質の構造・機能・進化研究、抗 HIV 分子の研究の論文を抜粋

研究代表者

佐藤裕徳

- 1) Burwitz B, Wu H, Reed J, Hammond K, Newman L, Bimber B, Nimiyongskul F, Leon E, Maness N, Friedrich T, Yokoyama M, Sato H, Matano T, O'Connor D, Sacha J. Tertiary mutations stabilize CD8+ T lymphocyte escape-associated compensatory mutations following transmission of simian immunodeficiency virus. *J Virol*. [Epub ahead of print] PMID: 24371068
- 2) * Nomaguchi M, Miyake A, Doi N, Fujiwara S, Miyazaki Y, Tsunetsugu-Yokota Y, Yokoyama M, Sato H, Masuda T, Adachi A. Natural single-nucleotide polymorphisms in the 3' region of HIV-1 pol gene modulate viral replication ability. *J Virol*. [Epub ahead of print] PMID:24478432
- 3) * Kudoh A, Takahama S, Sawasaki T, Ode H, Yokoyama M, Okayama A, Ishikawa A, Miyakawa K, Matsunaga S, Kimura H, Sugiura W, Sato H, Hirano H, Ohno S, Yamamoto N, Ryo A. The phosphorylation of HIV-1 Gag by atypical protein kinase C facilitates viral infectivity by promoting Vpr incorporation into virions. *Retrovirology*. 11:9, 2014. PMID:24447338
- 4) Motozono C, Yokoyama M, Sato H, Ueno T. Cross-reactivity analysis of T cell receptors specific for overlapping HIV-1 Nef epitopes of different lengths. *Microbes Infect*. S1286-4579(13)00266-9, 2013. PMID:24380790
- 5) Koyama T, Arias JF, Iwabu Y, Yokoyama M, Fujita H, Sato H, Tokunaga K. APOBEC3G Oligomerization is associated with the inhibition of both Alu and LINE-1 retrotransposition. *PLoS One*. 2013 Dec 19;8(12):e84228. PMID:24367644
- 6) * Nomaguchi M, Yokoyama M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Doi N, Fujiwara S, Saito A, Akari H, Miyakawa K, Ryo A, Ode H, Iwatani Y, Miura T, Igarashi T, Sato H, Adachi A. Generation of rhesus macaque-tropic HIV-1 clones that are resistant to major anti-HIV-1 restriction factors. *J Virol*. 87(21):11447-61, 2013. PMID:23966385
- 7) Sato H, Yokoyama M, Toh H. Genomics and computational science for virus research. *Front Microbiol*. 4:42,2013. PMID:23472060
- 8) Tsuchiya K, Ode H, Hayashida T, Kakizawa J, Sato H, Oka S, Gatanaga H. Arginine insertion and loss of N-linked glycosylation site in HIV-1 envelope V3 region confer CXCR4-tropism. *Sci Rep*. 2013 Aug 8;3:2389. doi: 10.1038/srep02389. PMID:23925152
- 9) Yuan Y, Yokoyama M, Maeda Y, Terasawa H, Harada S, Sato H, and Yusa K. Structure and dynamics of the gp120 V3 loop that confers noncompetitive resistance in R5 HIV-1JR-FL to maraviroc. *PLoS One*. Jun 28;8(6):e65115, 2013. PMID:23840315
- 10) * Saito A, Nomaguchi M, Kono K, Iwatani Y, Yokoyama M, Yasutomi Y, Sato H, Shioda T, Sugiura W, Matano T, Adachi A, Nakayama E, Akari H. TRIM5 genotypes in cynomolgus monkeys primarily influence inter-individual diversity in susceptibility to monkey-tropic human immunodeficiency virus type 1. *J Gen Virol*. 94(Pt 6):1318-24, 2013. PMID:23486671
- 11) Kuwata T, Takaki K, Yoshimura K, Enomoto I, Wu F, Ourmanov I, Hirsch VM, Yokoyama M, Sato H, Matsushita S. Conformational epitope consisting of the V3 and V4 loops as a target for potent and broad neutralization of simian immunodeficiency viruses. *J Virol*. 87(10):5424-36, 2013. PMID:23468483
- 12) * Nomaguchi M, Doi N, Fujiwara S, Saito A, Akari H, Nakayama EE, Shioda T, Yokoyama M, Sato H, Adachi A. Systemic biological analysis of the mutations in two distinct HIV-1mt genomes occurred during replication in macaque cells. *Microbes Infect*. 15(4):319-28, 2013. PMID:23384722
- 13) * Nomaguchi M, Yokoyama M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Saito A, Akari H, Yasutomi Y, Matano T, Sato H, Adachi A. Gag-CA Q110D mutation elicits TRIM5-independent enhancement of HIV-1mt replication in macaque cells. (NM and YM equally contributed to this work). *Microbes Infect* 15:56-65, 2013. PMID:23123544
- 14) Kamiyama H, Kakoki K, Shigematsu S, Izumida M, Yashima Y, Tanaka Y, Hayashi H, Matsuyama T, Sato H, Yamamoto N, Sano T, Shidoji Y, Kubo Y. CXCR4-tropic, but not CCR5-tropic, human immunodeficiency virus infection is inhibited by the lipid raft-associated factors, acyclic retinoid analogs, and cholera toxin B subunit. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 29:279-88, 2013. PMID:22845664

研究分担者

塩田達雄

- 1) Taya K, Nakayama EE, Shioda T. Moderate restriction of macrophage-tropic human immunodeficiency virus type 1 by SAMHD1 in monocyte-derived macrophages. *PLoS One*. 2014 Accepted.
- 2) *Nomaguchi, M., Yokoyama, M., Kono, K., Nakayama, E.E., Shioda, T., Doi, N., Fujiwara, S., Saito, A., Akari, H., Miyakawa, K., Ryo, A., Ode, H., Iwatani, Y., Miura, T., Igarashi, T., Sato, H., and Adachi, A. Generation of rhesus macaque-tropic HIV-1 clones that are resistant to major anti-HI-1 restriction factors. *J Virol. Nov* ; 87(21):11447-11461, 2013.
- 3) Kono, K., Takeda, E., Tsutsui, H., Kuroishi, A., Hulme, A.E., Hope, T.J., Nakayama, E.E., and Shioda, T. Slower Uncoating Is Associated with Impaired Replicative Capability of Simian-Tropic HIV-1. *PLoS One. Aug* 13;8(8): e72531, 2013.
- 4) *Saito, A., Nomaguchi, M., Kono, K., Iwatani, Y., Yokoyama, M., Yasutomi, Y., Sato, H., Shioda, T., Sugiura, W., Matano, T., Adachi, A., Nakayama, E., and Akari, H. TRIM5 genotypes in cynomolgus monkeys primarily influence inter-individual diversity in susceptibility to monkey-tropic human immunodeficiency virus type 1. *J Gen Virol.* ;94(Pt 6):1318-24, 2013.
- 5) *Nomaguchi, M., Doi, N., Fujiwara, S., Saito, A., Akari, H., Nakayama, E.E., Shioda, T., Yokoyama, M., Sato, H., and Adachi, A. Systemic biological analysis of the mutations in two distinct HIV-1mt genomes occurred during replication in macaque cells. *Microbes Infect.* ;15(4):319-28, 2013.
- 6) Nakayama, E.E., Nakajima, T., Kaur, G., Mimaya, J.I., Terunuma, H., Mehra, N., Kimura, A., Shioda, T. A naturally occurring single amino acid substitution in human TRIM5 α linker region affects its anti-HIV-1 activity and susceptibility to HIV-1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses. Jun*; 29(6):919-24, 2013.
- 7) *Nomaguchi, M., Yokoyama, M., Kono, K., Nakayama, E.E., Shioda, T., Saito, A., Akari, H., Yasutomi, Y., Matano, T., Sato, H., and Adachi, A. Gag-CA Q110D mutation elicits TRIM5-independent enhancement of HIV-1mt replication in macaque cells. *Microbes Infect.* ;15(1):56-65, 2013.

野間口雅子

- 1) *Nomaguchi M, Miyake A, Doi N, Fujiwara S, Miyazaki Y, Tsunetsugu-Yokota Y, Yokoyama M, Sato H, Masuda T, Adachi A. Natural single- nucleotide polymorphisms in the 3' region of HIV-1 *pol* gene modulate viral replication ability. *J Virol.*, in press.
- 2) Miyake A, Miyazaki Y, Fujita M, Nomaguchi M, Adachi A. Role of poly-proline motif in HIV-2 Vpx expression. *Front Microbiol.* 25:24, 2014.
- 3) Miyake A, Fujita M, Fujino H, Koga R, Kawamura S, Otsuka M, Ode H, Iwatani Y, Sakai Y, Doi N, Nomaguchi M, Adachi A, Miyazaki Y. Poly-proline motif in HIV-2 Vpx is critical for its efficient translation. *J Gen Virol.* 95:179-189, 2014.
- 4) *Nomaguchi, M., Yokoyama, M., Kono, K., Nakayama, E.E., Shioda, T., Doi, N., Fujiwara, S., Saito, A., Akari, H., Miyakawa, K., Ryo, A., Ode, H., Iwatani, Y., Miura, T., Igarashi, T., Sato, H., and Adachi, A. Generation of rhesus macaque-tropic HIV-1 clones that are resistant to major anti-HIV-1 restriction factors. *Journal of Virology* 87: 11447-11461, 2013.
- 5) Doi N, Okubo A, Yamane M, Sakai Y, Adachi A, Nomaguchi M. Growth potentials of CCR5-tropic/CXCR4-tropic HIV-1mt clones in macaque cells. *Front Microbiol.* 4:218, 2013.
- 6) *Saito, A., Nomaguchi, M., Kono, K., Iwatani, Y., Yokoyama, M., Yasutomi, Y., Sato, H., Shioda, T., Sugiura, W., Matano, T., Adachi, A., Nakayama, E.E., and Akari, H. TRIM5 genotypes in cynomolgus monkeys primarily influence inter-individual diversity in susceptibility to monkey-tropic human immunodeficiency virus type 1. *Journal of General Virology* 94: 1318-1324, 2013.
- 7) *Nomaguchi, M., Doi, N., Fujiwara, S., Saito, A., Akari, H., Nakayama, E.E., Shioda, T., Yokoyama, M., Sato, H., and Adachi, A. Systemic biological analysis of the mutations in two distinct HIV-1mt genomes occurred during replication in macaque cells. *Microbes and Infection* 15: 319-328, 2013.
- 8) *Nomaguchi, M., Yokoyama, M., Kono, K., Nakayama, E.E., Shioda, T., Saito, A., Akari, H., Yasutomi, Y., Matano, T., Sato, H., and Adachi, A. Gag-CA Q110D mutation elicits TRIM5-independent enhancement of HIV-1mt replication in macaque cells. *Microbes and Infection* 15: 56-65, 2013.

増田貴夫

- 1) *Nomaguchi M, Miyake A, Doi N, Fujiwara S, Miyazaki Y, Tsunetsugu-Yokota Y, Yokoyama M, Sato H, Masuda T, Adachi A. Natural single-nucleotide polymorphisms in the 3' region of HIV-1 *pol* gene modulate viral replication ability. *J Virol.* (in press)
- 2) Kinpara, S., Kijiyama, M., Takamori, A., Hasegawa, A., Sasada, A., Masuda, T., Tanaka, Y., Utsunomiya, A., and Kannagi, M. Interferon-alpha (IFN-alpha) suppresses HTLV-1 gene expression and cell cycling, while IFN-alpha combined with zidovudine induces p53 signaling and apoptosis in HTLV-1-infected cells. *Retrovirology* 10: 52, 2013.

梁明秀

- 1) Furukawa A, Sugase K, Morishita R, Nagata T, Kodaki T, Takaori-Kondo A, Ryo A, Katahira M.: Quantitative Analysis of Location- and Sequence-Dependent Deamination by APOBEC3G Using Real-Time NMR Spectroscopy. *Angew Chem Int Ed Engl.* In press, 2014
- 2) *Kudoh A, Takahama S, Sawasaki T, Ode H, Yokoyama M, Okayama A, Ishikawa A, Miyakawa K,

Matsunaga S, Kimura H, Sugiura W, Sato H, Hirano H, Ohno S, Yamamoto N, Ryo A.: The phosphorylation of HIV-1 Gag by atypical protein kinase C facilitates viral infectivity by promoting Vpr incorporation into virions. *Retrovirology*. 11(1):In press, 2014

- 3) * Nomaguchi M, Yokoyama M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Doi N, Fujiwara S, Saito A, Akari H, Miyakawa K, Ryo A, Ode H, Iwatani Y, Miura T, Igarashi T, Sato H, Adachi A.; Generation of rhesus macaque-tropic HIV-1 clones that are resistant to major anti-HIV-1 restriction factors. *J Virol*. 87(21):11447-61, 2013.

蝦名博貴

- 1) Ebina, H., Misawa, N., Kanemura, Y., Koyanagi, Y. Harnessing the CRISPR/Cas9 system to disrupt latent HIV-1 provirus. *Scientific Reports*. 3: 2510, 2013.

櫻木淳一

- 1) Sho Sudo, Hiyori Haraguchi, Yoko Hirai, Hiroyuki Gatanaga, Jun-ichi Sakuragi, Fumitaka Momose, and Yuko Morikawa. Efavirenz enhances HIV-1 Gag processing at the plasma membrane through Gag-Pol dimerization. *J. Virol. March*; 87:6 3348-3360. doi:10.1128/JVI.02306-12, 2013.

岡陽子

- 1) Murakami, T., and Aida, Y. Visualizing 1 Vpr-induced G2 arrest and apoptosis *PloS ONE* 9:e86840, 2014.

玉村啓和

- 1) Narumi T, Takano H, Ohashi N, Suzuki A, Furuta T, Tamamura H. Isostere-Based Design of 8-Azacoumarin-type Photolabile Protecting Groups: A Hydrophilicity Increasing Strategy for Coumarin-4-ylmethyls. *Org. Lett.* in press.
- 2) Hashimoto C, Narumi T, Otsuki H, Hirota Y, Arai H, Yoshimura K, Harada S, Ohashi N, Nomura W, Miura T, Igarashi T, Matsushita S, Tamamura H. A CD4 Mimic as an HIV Entry Inhibitor: Pharmacokinetics. *Bioorg. Med. Chem.* 21(24): 7884–7889, 2013.
- 3) * Hashimoto C, Nomura W, Narumi T, Fujino M, Nakahara T, Yamamoto N, Murakami T, Tamamura H. CXCR4-derived Synthetic Peptides Inducing Anti-HIV-1 Antibodies. *Bioorg. Med. Chem.* 21(22): 6878–6885, 2013.
- 4) Otsuki H, Hishiki T, Miura T, Hashimoto C, Narumi T, Tamamura H. Yoshimura K, Matsushita S, Igarashi T. Generation of a Replication-competent Simian–human Immunodeficiency Virus, the Neutralisation Sensitivity of Which can be Enhanced in the Presence of a Small Molecule CD4 Mimic. *J. Gen. Virol.* 94(12): 2710–2716, 2013.
- 5) * Nomura W, Aikawa H, Ohashi N, Urano E, Metifiot M, Fujino M, Maddali K, Ozaki T, Nozue A, Narumi T, Hashimoto C, Tanaka T, Pommier Y, Yamamoto N, Komano J, Murakami T, Tamamura H. Cell-Permeable Stapled Peptides Based on HIV-1 Integrase Inhibitors Derived from HIV-1 Gene Product. *ACS Chem. Biol.* 8(10): 2235–2244, 2013.
- 6) * Hashimoto C, Nomura W, Narumi T, Fujino M, Tsutsumi H, Haseyama M, Yamamoto N, Murakami T, Tamamura H. Anti-HIV-1 Peptide Derivatives Based on the HIV-1 Co-receptor CXCR4. *ChemMedChem* 8(10): 1668-1672, 2013.
- 7) * Nomura W, Hashimoto C, Suzuki T, Ohashi N, Fujino M, Murakami T, Yamamoto N. Tamamura H. Multimerized CHR-derived Peptides as HIV-1 Fusion Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* 21(15): 4452–4458, 2013.
- 8) Narumi T, Arai H, Yoshimura K, Harada S, Hirota Y, Ohashi N, Hashimoto C, Nomura W, Matsushita S, Tamamura H. CD4 Mimics as HIV Entry Inhibitors: Lead Optimization Studies of the Aromatic Substituents. *Bioorg. Med. Chem.* 21(9): 2518–2526, 2013.
- 9) * Narumi T, Aikawa H, Tanaka T, Hashimoto C, Ohashi N, Nomura W, Kobayakawa T, Takano H, Hirota Y, Murakami T, Yamamoto N, Tamamura H. Low Molecular Weight CXCR4 Ligands with Variable Spacers. *ChemMedChem* 8(1): 118-124, 2013.
- 10) Ohashi N, Nomura W, Narumi T, Tamamura H. Peptide-based Ligand Screening and Functional Analysis of Protein Kinase C. *Biopolymers: Peptide Science* 100(6): 613-620, 2013.

村上努

- 1) * Hashimoto, C., Nomura, W., Narumi, T., Fujino, M., Nakahara, T., Yamamoto, N., Murakami, T., and Tamamura, H. CXCR4-derived synthetic peptides inducing anti-HIV-1 antibodies. *Bioorg Med Chem* 21(22): 6878-6885, 2013.
- 2) * Nomura, W., Aikawa, H., Ohashi, N., Urano, E., Métifiot, M., Fujino, M., Maddali, K., Ozaki, T., Nozue, A., Narumi, T., Hashimoto, C., Tanaka, T., Pommier, Y., Yamamoto, N., Komano, J., Murakami, T., and Tamamura, H. Cell-Permeable stapled peptides based on HIV-1 Integrase Inhibitors derived from HIV-1 gene products. *ACS Chemical Biology* 8(10): 2235-2244, 2013.
- 3) * Hashimoto, C., Nomura, W., Narumi, T., Fujino, M., Tsutsumi, H., Haseyama, M., Yamamoto, N., Murakami, T., and Tamamura, H. Anti-HIV-1 Peptide derivatives based on the HIV-1 co-receptor

- CXCR4. Chem Med Chem 8: 1668-1672, 2013.
- 4) *Nomura, W., Hashimoto, C., Suzuki, T., Ohashi, N., Fujino, M., Murakami, T., Yamamoto, N., and Tamamura H. Multimerized CHR-derived peptides as HIV-1 fusion inhibitors. Bioorg Med Chem 21(15): 4452-4458, 2013.
 - 5) Takemura, T., Kawamata, M., Urabe, M., and Murakami, T. Cyclophilin A-dependent restriction to capsid N121K mutant human immunodeficiency virus type 1 in a broad range of cell lines. J Virol 87(7): 4086-4090, 2013.
 - 6) Checkley, M.A., Luttge, B.G., Mercredi, Kyere, S.K., Donlan, J., Murakami, T., Summers, M.F., Cocklin, S., and Freed, E.O. Reevaluation of the requirement for TIP47 in human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein incorporation. J Virol 87(6): 3561-3570, 2013.
 - 7) *Narumi, T., Aikawa, H., Tanaka, T., Hashimoto, C., Ohashi, N., Nomura, W., Kobayakawa, T., Takano, H., Hirota, Y., Murakami, T., Yamamoto, N., and Tamamura, H. Low-molecular-weight CXCR4 ligands with variable spacers. Chem Med Chem 8(1): 118-124, 2013.