

ペプチドを設計した (図 2)。また、以前と同様、スペーサーとして Gly、octa-Arg との reaction point として Cys を導入した(図 3)。MA 部分ペプチドは、Fmoc 固相合成法により合成した。合成の際に NovaSyn® TGR resin (Novabiochem 社製) を用いて部分ペプチドの C 末端をアミド化し、最後に N 末端をアセチル化した。固相合成後、TFA によるアミノ酸側鎖の脱保護および脱樹脂を行った。その後、HPLC で精製を行い、ESI-TOF MS により目的物を同定した。合成スキームを図 4 に示す。合成した MA 部分ペプチドを細胞内へ導入するため、細胞膜透過性を有する octa-Arg 配列を付加した。octa-Arg の N 末端にあるクロロアセチル基と CA 部分ペプチドの C 末端に導入した Cys のチオール基との化学選択的反応により合成した (図 3)。

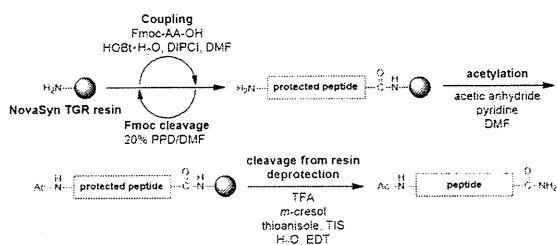


図 4. MA 部分ペプチドの合成スキーム

2) CA 部分ペプチドライブラリーの調製

前年度より、全長 231 残基の CA タンパク質をカバーする CA 部分ペプチドライブラリーを構築し、上述の MA 部分ペプチドの合成と同様にそれぞれに細胞膜透過性配列 octa-Arg を付加した(CA-1L~23L)。なお、コントロールとして、C 末端の Cys のチオール基を 2-iodoacetamide でキャッピングしたコントロールペプチド (CA-1C~23C)も調製した(図 5)。

No.	CA 部分ペプチドの配列
-----	--------------

1	H ₂ N-PIVQNLQGQMVHQAIGC-CONH ₂
2	Ac-HN-VHQAI SPRTLNAWVKGC-CONH ₂
3	Ac-HN-NAWVKVVEEKAFSPEGC-CONH ₂
4	Ac-HN-AFSPEVIMFSALESGC-CONH ₂
5	Ac-HN-SALSEGATPQDLNTMGC-CONH ₂
6	Ac-HN-DLNTMLNTVGGHQAAGC-CONH ₂
7	Ac-HN-GHQAAMQMLKETINEGC-CONH ₂
8	Ac-HN-ETINEEAAEWDRLHPGC-CONH ₂
9	Ac-HN-DRLHPVHAGPIAPGQGC-CONH ₂
10	Ac-HN-IAPGQMREPRGSDIAGC-CONH ₂
11	Ac-HN-GSDIAGTTSTLQEQIGC-CONH ₂
12	Ac-HN-LQEQIGWMTHNPPIPGC-CONH ₂
13	Ac-HN-NPPIPVGEIYKRWIIGC-CONH ₂
14	Ac-HN-KRWIILGLNKIVRMYGC-CONH ₂
15	Ac-HN-IVRMYPTSILDIRQGC-CONH ₂
16	Ac-HN-LDIRQGPKEPFRDYVGC-CONH ₂
17	Ac-HN-FRDYVDRFYKTLRAEGC-CONH ₂
18	Ac-HN-TLRAEQASQEVKNWMGC-CONH ₂
19	Ac-HN-VKNWMTETLLVQNANGC-CONH ₂
20	Ac-HN-VQANPDSKILKALGC-CONH ₂
21	Ac-HN-ILKALPGATLEEMMGC-CONH ₂
22	Ac-HN-LEEMMTASQVGGPGGC-CONH ₂
23	Ac-HN-VGGPGHKARVLGC-CONH ₂

図 5. CA 部分ペプチドライブラリーの配列。細胞膜透過性ペプチドは各番号の配列の C 末端 Cys のチオール基に octa-Arg を付加(CA-1L~23L)、コントロールペプチドはチオール基を acetamide でキャッピング(CA-1C~23C)した。

3) 細胞膜透過性の検討

本研究では、部分ペプチドを細胞内へ導入するために、細胞膜透過性配列 octa-Arg を付加している。しかし最近、二次構造を維持し共有結合で架橋することにより、細胞膜を透過することができるステイプルペプチド (staple peptide)が使用されている。このステイプルペプチドは生体内の酵素にも安定であり、

新しいペプチド医薬として期待されている。そこで、ステイプルペプチドを応用できるかどうかを検討した。ペプチド性インテグラーゼ阻害剤をモデルとして、細胞膜透過性の向上を目的としたステイプルペプチドの検討を行った(図 6)。

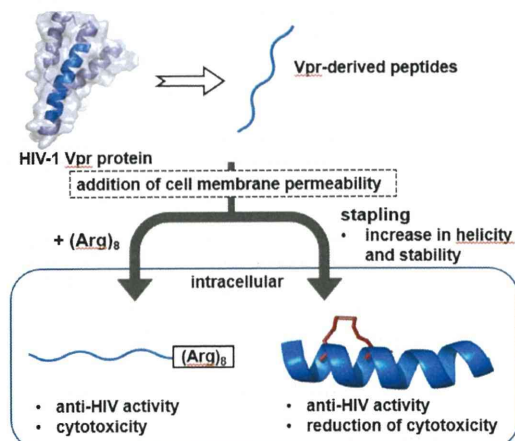


図 6. ペプチド性インテグラーゼ阻害剤を基にしたステイプルペプチドのデザイン

(倫理面への配慮)

今年度の研究に関して、倫理面に該当する事項はない。

C. 研究結果

1) 新たな MA 部分ペプチドの合成

以前高活性を示した MA-8L と 9L の間の配列①~⑨の部分ペプチドの合成を、今年度までにすべて終了した。合成した細胞膜透過性 MA 部分ペプチド①~⑨の ESI-TOF MS のデータと収率を表 1 に示した。ほぼすべてのペプチドで収率よく、合成することができた。なお、ネガティブコントロールとして、MA-9L のアミノ酸配列をシャッフルさせたペプチド 9R を合成した。

表 1. 新たな MA 部分ペプチドの ESI-TOF MS データと収率

compd	calcd. for [M+H] ⁺	found	yield (%) ^a
①	1970.98	1972.76	17
②	1970.98	1973.48	11
③	1941.00	1943.61	2
④	1949.02	1951.05	7
⑤	1963.99	1966.08	16
⑥	1963.99	1966.13	15
⑦	1990.05	1992.23	18
⑧	1991.99	1994.19	18
⑨	1927.99	1930.14	1
9R	1942.05	1944.16	trace

^a 樹脂からの全工程収率

2) 新たな MA 部分ペプチドの活性試験

合成した細胞膜透過性 MA 部分ペプチド①~⑨の抗 HIV-1 活性および細胞毒性の評価を村上努博士(国立感染症研究所、エイズ研究センター)に依頼した。これらの評価には MT-4 細胞、NL4-3 株を使用する MTT アッセイを用い、アッセイにはクロロキン 5 μM 添加した(表 2)。以前の MA 部分ペプチドライブラリーのアッセイでは、MT-4 細胞が薬剤に対して感受性が高く、抗 HIV-1 活性を示す濃度に至るまでに細胞毒性を示した。この原因として、エンドサイトーシスにより細胞内に導入された MA 部分ペプチドがエンドソームから細胞質に放出されにくいこと、アルギニン残基数が多いことが挙げられる。そこで、本研究ではクロロキンを添加したアッセイ系に変更した。クロロキンは、弱い塩基性であるため、エンドソーム内に H⁺ が取り込まれる。そのためエンドソーム内の濃度が上昇し、エンドソーム膜が破られることで MA 部分ペプチドが細胞質に放出される。

表 2. 新たな MA 部分ペプチドの抗 HIV 活性

と細胞毒性

compd	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
①	>9.0	9.0
②	>7.2	7.2
③	1.8	9.4
④	>5.9	5.9
⑤	0.80	4.5
⑥	1.0	3.7
⑦	0.65	5.2
⑧	0.80	5.5
⑨	2.0	10
MA-9L	0.78	4.5
9R	>4.8	4.8

結果として、MA-8L と 9L の間の配列では C 末端側の部分ペプチドのほうが高活性を示し、⑤~⑧の部分ペプチドが MA-9L とほぼ同等の抗 HIV 活性を示した。

3) CA 部分ペプチドライブラリーの活性試験

合成した CA 部分ペプチドライブラリーの抗 HIV-1 活性および細胞毒性の評価を村上努博士(国立感染症研究所、エイズ研究センター)に依頼した。これらの評価には MT-4 細胞、NL4-3 株を使用する MTT アッセイを用いた。今回は、最初のスクリーニングであるためアッセイにクロロキンを添加しなかった。表 3 には、C 末端 Cys のチオール基に octa-Arg を付加した細胞膜透過性ペプチド (CA-1L~23L)のみを記載した。いくつかの部分ペプチドに顕著な抗 HIV 活性が見られた。とくに、N 端側の CA-1L, 2L と 6L, 15L は高活性を示した。

表 3. 細胞膜透過性 CA 部分ペプチドの抗 HIV

活性と細胞毒性

compd	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
1L	4.5	>50
2L	8.8	>50
3L	50	>50
4L	41	>50
5L	35	>50
6L	9.3	>50
7L	46% inh. at 50 μM	>50
8L	15	>50
9L	33% inh. at 50 μM	>50
10L	35	>50
11L	35% inh. at 50 μM	>50
12L	>50	>50
13L	>35	35
14L	>9	9
15L	4.6	9.3
16L	33	>50
17L	>25	25
18L	>50	>50
19L	47% inh. at 50 μM	>50
20L	33	>50
21L	>50	50
22L	46% inh. at 50 μM	>50
23L	36% inh. at 50 μM	>50
AZT	0.078	>100
AMD3100	0.033	>50
SCH-D	>5	>5

4) 細胞膜透過性の検討

インテグラーゼ(IN)阻害活性ペプチド中に、アルキルタイプの側鎖を有する非天然アミノ酸を導入し調製したステイプルペプチドと octa-Arg ペプチドを付与したペプチドを検討した。CD スペクトルより、リニアペプチドや octa-Arg ペプチドを付与したペプチドよりも側鎖を架橋したステイプルペプチド

ドの方がより高い α -ヘリックス性を有していた。蛍光イメージングにより、顕著な細胞膜透過性を有することが明らかになった。

D. 考察

Gag を標的とする治療標的部位の探索、目的化合物の設計、合成ができ、有機合成化学およびケミカルバイオロジーの技術の有用性を示した。いくつかの MA および CA 部分ペプチドに顕著な抗 HIV 活性が見られ、構造活性相関のデータが得られた。二次構造を維持するように共有結合で架橋したステイプルペプチドは、細胞膜を透過することができ、細胞で抗 HIV 活性を示す化合物を創出できた。

E. 結論

Gag を標的とする治療標的部位の探索、MA/CA 由来の抗 HIV リード化合物の最適化、細胞内導入の効率化、リード化合物の構造活性相関の情報基盤の提供を目指して、十分な研究成果を得ることができた。

抗ウイルス活性の測定実験に関して、国立感染症研究所エイズ研究センター、村上 努 室長、藤野真之博士にお世話になりました。厚く御礼申し上げます。

F. 知的所有権の取得状況

該当事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ohashi N, Nomura W, Minato N, Tamamura H. Screening for Protein Kinase C Ligands Using Fluorescence Resonance Energy Transfer. *Chem. Pharm. Bull.* 62(10): 1019–1025, 2014.
- 2) Masyuk M, Abduelmula A, Morosan-Puopolo G, Ödemis V, Rehimi R, Khalida N, Yusuf F, Engele J, Tamamura H, Theiss C, Brand-Saberi B. Retrograde Migration of Pectoral Girdle Muscle Precursors Depends on CXCR4/SDF-1 Signaling. *Histochem. Cell. Biol.* 142(5): 473–488, 2014.
- 3) Yamamoto J, Maeda N, Komiya C, Tanaka T, Denda M, Ebisuno K, Nomura W, Tamamura H,

Sato Y, Yamauchi A, Shigenaga A, Otaka A. Development of a Fluoride-responsive Amide Bond Cleavage Device that is Potentially Applicable to a Traceable Linker. *Tetrahedron* 70(34): 5122–5127, 2014.

4) Takano H, Narumi T, Ohashi N, Suzuki A, Furuta T, Nomura W, Tamamura H. Development of the 8-Aza-3-bromo-7-hydroxycoumarin-4-ylmethyl Group as a New Entry of Photolabile Protecting Groups. *Tetrahedron* 70(29): 4400–4404, 2014.

5) Yamamoto J, Denda M, Maeda N, Kita M, Komiya C, Tanaka T, Nomura W, Tamamura H, Sato Y, Yamauchi A, Shigenaga A, Otaka A. Development of a Traceable Linker Containing a Thiol-responsive Amino Acid for the Enrichment and Selective Labelling of Target Proteins. *Org. Biomol. Chem.* 12(23): 3821–3826, 2014.

6) Narumi T, Tsuzuki S, Tamamura H. Imidazolium Salt-Catalyzed Friedel-Crafts-Type Conjugate Addition of Indoles: Analysis of Indole/Imidazolium Complex by High Level ab Initio Calculations. *Asian J. Org. Chem.* 3(4): 497–503, 2014.

7) 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.* 16(4): 1184–1187, 2014.

8) Nomura W, Ohashi N, Métifiot M, Fujino M, Pommier Y, Murakami T, Tamamura H. Stapled Peptides as HIV-1 Integrase Inhibitors Derived from HIV-1 Gene Products. *Peptide Science*, 57-58, 2014.

9) Nomura W, Hashimoto C, Suzuki T, Honda Y, Ohashi N, Fujino M, Murakami T, Yamamoto N, Tamamura H. Multimerized C34-Related Peptides as HIV-1 Fusion Inhibitors. *Peptide Science*, 337-338, 2014.

10) Nomura W, Masuda A, Tamamura H. Creation of Zinc Finger Nucleases Targeting Telomerase Promoter Region. *Peptide Science*, 241-242, 2014.

11) 野村 渉、玉村 啓和. ターゲットタンパク質を特異的に認識するプローブ. 化学工業 特集「ペプチド化学の新潮流(I)」(化学工業社 川崎)、65巻、11号、頁8~14、2014年(11月)

2. 学会発表等

(1) Tamamura H. Chemical Biology Studies on the Elucidation of a Dimerization State of a GPCR CXCR4 and the Development of Recognition Probes for Cancerous Cells. Seminar in University of Cologne, Sep 11, 2014, Cologne, Germany.

(2) Tamamura H. Development of peptide-lead anti-HIV agents. The 15th Akabori Conference 2014: Japanese-German Symposium on Peptide Science, Sep 7-9, 2014, Boppard, Germany.

(3) Nomura W, Hashimoto C, Fujino M, Murakami T, Ohashi N, Tamamura H. Multimerized Peptides Derived from the C-Terminal Region of HIV-1 gp41 as Fusion Inhibitors. The 33rd European Peptide Society Symposium, Aug 31-Sep 5, 2014, Sofia, Bulgaria.

(4) Nomura W, Métifiot M, Ohashi N, Fujino M, Mizuguchi T, Yamamoto N, Pommier Y, Komano JA, Murakami T, Tamamura H. Cell-permeable

Stapled Peptides with Integrase Inhibitory Activity Derived from HIV Gene Products. The 15h Kumamoto AIDS Seminar, Oct 1-3, 2014, Kumamoto, Japan.

(5) Yamada Y, Hashimoto C, Otsuki H, Hirota Y, Yoshimura K, Harada S, Ohashi N, Mizuguchi T, Nomura W, Miura T, Igarashi T, Matsushita S, Tamamura H. A CD4 Mimic as an HIV Entry Inhibitor: Pharmacokinetics. The 15h Kumamoto AIDS Seminar, Oct 1-3, 2014, Kumamoto, Japan.

(6) Irahara Y, Kotani M, Harada S, Narumi T, Yamada Y, Hirota Y, Ohashi N, Mizuguchi T, Nomura W, Matsushita S, Yoshimura K, Tamamura H. A New Type of Small CD4 Mimic Molecules Targeting an HIV Envelope Protein gp120. The 15h Kumamoto AIDS Seminar, Oct 1-3, 2014, Kumamoto, Japan.

(7) Kotani M, Hirota Y, Irahara Y, Harada S, Yamada Y, Ohashi N, Mizuguchi T, Nomura W, Matsushita S, Yoshimura K, Tamamura H. Structure-activity Relationship Studies of CD4 Mimic Molecules. The 15h Kumamoto AIDS Seminar, Oct 1-3, 2014, Kumamoto, Japan.

(8) 玉村啓和. エイズ発症防止と疾患予防科学. 東京医科歯科大学大学院 生命理工学系専攻「疾患予防科学コース」ミニシンポジウム「疾患予防科学で何を学ぶのか」疾患予防のための理工学:その魅力と大学院キャリアセミナー「研究紹介セミナー」, 2014年7月19日, 東京.

(9) 本田柚子奈, 野村 渉, 武富昇平, 大橋南美, 橋本知恵, 玉村啓和. HIV-gp41 の膜融合阻害ペプチドの二量体化を基にした誘導体の創製研究. 第 58 回日本薬学会関東支部大会, 2014年10月4日, 東京.

(10) Honda Y, Mizuguchi T, Nomura W, Tamamura H. Development of Dimeric Peptide Derivatives Based on gp41 Fragments as HIV-1 Fusion Inhibitors. 第 51 回ペプチド討論会, 2014年10月22-24日, 徳島.

(11) 野村 渉, 大橋南美, 水口貴章, Mathieu Metifiot, 藤野真之, Yves Pommier, 村上 努, 玉村啓和. ステープルペプチドを活用した HIV-1 遺伝子産物由来のインテグラーゼ阻害剤の創出. 第 32 回メデイシナルケミストリーシンポジウム, 2014年11月26-28日, 神戸.

(12) 野村 渉, 水口貴章, 大橋南美, Mathieu Metifiot, 藤野真之, Yves Pommier, 駒野 淳, 村上 努, 玉村啓和. HIV-1 遺伝子産物由来のインテグラーゼ阻害活性を持ったステープルペプチド. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2014年12月3-5日, 大阪.

研究課題：Gag ペプチドを用いた Gag 機能部位の研究

分担研究者：村上 努（国立感染症研究所 エイズ研究センター 室長）

共同研究者：玉村啓和（東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 教授）

塩田達雄（大阪大学 微生物病研究所 教授）

研究要旨：我々は、Gag 機能部位を明らかにするための基盤的研究として、ペプチド化学的手法によって合成した HIV-1 Gag 部分ペプチドの細胞内導入による HIV 複製制御の可能性を検討している。H26 年度は、HIV-1 CA 部分ペプチドライブラリーを作製し、それらの抗 HIV-1 活性と細胞毒性を評価した。その結果、細胞膜透過性を付与することにより X4、R5 HIV-1 のいずれのウイルスに対しても阻害活性を示す部分ペプチドとして、fragment 1、6、8、15 を特定できた。興味深いことに、fragment 15 は細胞膜透過性を付与しなくても弱いながら抗 HIV-1 活性を有していた（玉村先生との共同研究の成果）。次に、HIV-1 複製前期過程に障害を有することが推定されている Gag MA 領域の変異体（V6R）を用いて、前期過程の詳細な解析（VSV-G シュードタイプ HIV-1 の HeLa 細胞への感染系において種々の段階のウイルス DNA 合成を real-time PCR で解析）を行った。その結果、V6R 変異体は、逆転写の過程に障害を有することが明らかになった（共同研究者の塩田先生の研究から、V6R 変異体はその脱殻速度が亢進しているという結果も同時に得た）。

A. 研究目的

Gag に関連する治療標的構造の解明／抗 HIV 活性リード化合物の開発につながる Gag 機能部位の同定と Gag 蛋白質による HIV 複製制御機構の解明を目的とする。期待される成果は、Gag 部分ペプチドの抗 HIV 活性評価およびその作用機序の解明による Gag 機能部位および治療標的候補因子の特定である。

B. 研究方法

(1) CA 部分ペプチド (CA の N 末より 15 残基ずつ 5 残基ずつオーバーラップさせて合成した。Octa-Arg を C 末に付与した細胞膜透過性ペプチドと付与しないコントロールペプチドのセット) を調製し、標的細胞 MT-4 と X4 HIV-1 である NL4-3 の感染系もしくは、標的細胞 PM1/CCR5 と R5HIV-1 である NL(AD8)の感染系で抗 HIV-1 活性および細胞毒性を MTT 試験によって測定した。なお NL(AD8)の感染系では、一部の部分ペプチドの抗 HIV-1 活性の評価を感染細胞培養上清中の p24 (CA) ELISA によっても評価した。

(2) MA 変異体 V6R の HIV-1 複製前期過程における障害がどこに存在するかを明らかにするために、VSV-G シュードタイプ HIV-1 (NL4-3) を HeLa 細胞に感染させた。経時的にウイルス

DNA を抽出し、各種プライマーを用いた real-time PCR によって、後期逆転写産物、2-LTR、宿主 DNA に組込まれたウイルス DNA を定量した。

(倫理面での配慮)

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

C. 研究結果

(1) CA 部分ペプチドの抗 HIV-1 活性および細胞毒性測定試験：Octa-Arg を C 末に付与し、細胞膜透過性を付与することにより X4、R5 HIV-1 のいずれのウイルスに対しても阻害活性を示す部分ペプチドは、fragment 1、6、8、15 の 4 つであった (表 1)。興味深いことに、fragment 15 細胞膜透過性ペプチドと付与しないコントロールペプチドにおいても弱いながら X4、R5 HIV-1 に対して抗ウイルス活性を有していた。

(2) MA 変異体 V6R の HIV-1 複製前期過程における障害部位を real-time PCR によって特定する実験：V6R 変異によって逆転写の過程に障害が生じ (図 1)、それが組込まれる DNA 量やウイルスの感染価の低下につながっていることが明らかになった。

D. 考察

(1) CA 部分ペプチドの fragment 15 は CA の NTD と CTD の連結領域であり、HIV-1 コアのアセンブリーなどに重要という報告もあり、このペプチドの作用機序に興味もたれる。

(2) 共同研究者の塩田先生の研究から、V6R 変異体はその脱殻速度が亢進しているという結果も同時に得ており、これまでの報告のように、脱殻と逆転写は相互に関連して進行していることが示唆された。

E. 結論

(1) CA 部分ペプチド fragment 1、6、8、15 の4つは新規抗 HIV 薬のためのシードと考えられる。

(2) MA 蛋白質の N 末の変異 (V6R) によって、ウイルス複製前期過程におけるウイルス DNA の逆転写の過程に障害が生じることが明らかになった。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

1) 引地優太、横山 勝、竹村太地郎、藤野真之、

熊倉 成、山本直樹、佐藤裕徳、俣野哲朗、村上 努. 新規 CXCR4 阻害剤 KRH-3955 耐性 HIV-1 の誘導とその解析. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014 年 11 月 10 日-12 日

2) 引地優太、武田英里、藤野真之、Eric O. Freed、中山英美、塩田達雄、俣野哲朗、村上 努. HIV-1 マトリックス (MA) 変異体を用いた複製前期過程の解析. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 大阪, 2014 年 12 月 3 日-5 日

3) 野村 渉、水口貴章、大橋南美、Mathieu Metifiot、藤野真之、Yves Pommier、駒野 淳、村上 努、玉村啓和. HIV-1 外被タンパク質 gp41-CHR の二量体構造を基盤とした膜融合阻害剤の有用性. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 大阪, 2014 年 12 月 3 日-5 日

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

該当事項なし。

CA 部分ペプチド	抗HIV-1活性		細胞毒性	
	MT-4/NL4-3	PM1/CCR5/NL(AD8)	MT-4	PM1/CCR5
	EC ₅₀ (μM)	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
1L	4.5	6.2	>50	>50
6L	8.1	13	>50	>50
8L	14	14% inh. (50 μM)	>50	>50
15L	6.6	1.2	9.3	18
15C	47	27	>50	>50
AZT	0.066	5.3	>100	>100
AMD3100	0.033	>50	>50	>50
Vicriviroc	>5	0.0081	>5	>5

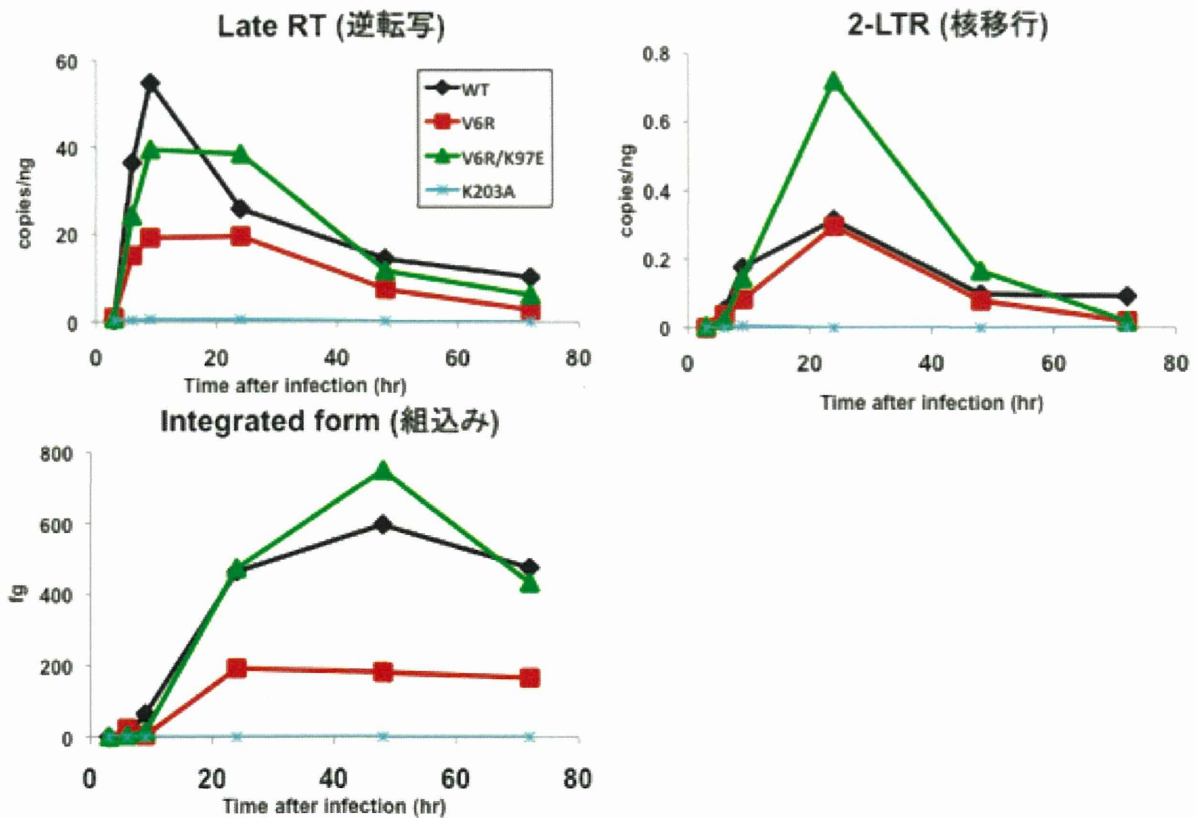


図1. MA変異体(V6R)、復帰変異体(V6R/K97E)、CA変異体(K203A)のウイルスDNA合成の経時変化

III. 業績一覽 (2014)

研究成果の刊行に関する一覧

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
佐藤 裕徳					
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.	88	3598-604	2014
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 and Infection	16	320-7	2014
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
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.	88	4145-60	2014
Nomaguchi M, Nakayama EE, Yokoyama M, Doi N, Igarashi T, Shioda T, Sato H, Adachi A.	Distinct combinations of amino acid substitutions in N-terminal domain of Gag-capsid afford HIV-1 resistance to rhesus TRIM5 α	Microbes Infect.	16	936-44	2014
野間口 雅子					
Nomaguchi M, Nakayama EE, Yokoyama M, Doi N, Igarashi T, Shioda T,	Distinct combinations of amino acid substitutions in N-terminal domain of Gag-capsid afford HIV-1	Microbes and Infection	16	936-44	2014

Sato H, Adachi A.	resistance to rhesus TRIM α				
Doi N, Adachi A, Nomaguchi M.	Growth properties of macaque-tropic HIV-1 clones carrying vpx/vpr genes from simian immunodeficiency viruses in place of their vpr regions.	Journal of Medical Investigation	61	374-79	2014
Nomaguchi M, Doi N, Adachi A.	Virological characterization of HIV-2 <i>vpx</i> gene mutants in various cell systems. Microbes Infect.	Microbes and Infection	16	695-701	2014
Nomaguchi M, Miyake A, Doi N, Fujiwara S, Miyazaki Y, Yokoyama M, Tsunetsugu-Yokota Y, Sato H, Masuda T, Adachi A.	Natural single-nucleotide polymorphisms in the 3' region of HIV-1 <i>pol</i> gene modulate viral replication ability.	Journal of Virology	88	4145-60	2014
塩田 達雄					
Takeda E, Kono K, Hulme AE, Hope TJ, Nakayama EE, Shioda T.	Fluorescent image analysis of HIV-1 and HIV-2 uncoating kinetics in the presence of old world monkey TRIM5 α .	PloS one			Accepted
Hayasaka H, Kobayashi D, Yoshimura H, Nakayama EE, Shioda T, Miyasaka M.	The HIV-1 gp120/CXCR4 axis promotes CCR7 ligand-dependent CD4 T cell migration: CCR7 homo- and CCR7/CXCR4 hetero-oligomer formation as a possible mechanism for up-regulation of functional CCR7.	PloS one			Accepted
Nomaguchi M, Nakayama EE, Yokoyama M, Doi N, Igarashi T, Shioda T, Sato H, Adachi A.	Distinct combinations of amino acid substitutions in N-terminal domain of Gag-capsid afford HIV-1 resistance to rhesus TRIM5 α .	Microbes and infection / Institut Pasteur	16	936-44	2014
増田貴夫					
Kinpara S, Itoh S, Takahata T, Saitoh Y, Hasegawa A, Kijiyama M, Utsunomiya A, Masuda M, Miyazaki Y, Matsuoka M,	Involvement of double-stranded RNA-dependent protein kinase and anti-sense viral RNA in the constitutive	Leukemia			In press

Nakamura M, Yamaoka S, Masuda T, Kannagi M.	NFkB activation in adult T-cell leukemia/lymphoma cells.				
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	88	4145-60	2014
梁 明秀					
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	53	2349-52	2014
蝦名 博貴					
Ebina H, Kanemura Y, Misawa N, Sakuma T, Kobayashi T, Yamamoto T, Koyanagi Y.	A high excision potential of TALENs for integrated DNA of HIV-based lentiviral vector.	PLoS One			In Press
蝦名 博貴、小柳 義夫	ゲノム編集と AIDS 治療	医学のあゆみ	252	189-93	2015
間陽子					
Hagiwara K, Ishii H, Murakami T, Takeshima S-n, Chutiwitoonchai N, Kondo Y, Honda K, Osada H, Tsunetsugu-Yokota Y, Suzuki M, Aida Y.	Synthesis of a Vpr-binding derivative for use as a novel HIV-1 inhibitor	Antiviral Research		in press	2015
Miyatake H, Sanjoh A, Unzai S, Matsuda G, Tatsumi Y, Miyamoto Y, Dohmae N, Aida Y.	Crystal structure of human importin- α 1 (Rch1), revealing a potential autoinhibition mode involving homodimerization.	PloS ONE	10	e011599 5	2015
Murakami T, Aida Y.	Visualizing 1 Vpr-induced G2 arrest and apoptosis.	PloS ONE	9	e86840	2014
Zahoor M A, Xue G, Sato H, Murakami T, Takeshima S-n, Aida Y.	HIV-1 Vpr induces interferon-stimulated genes in human monocyte-derived	PloS ONE	9	e106418	2014

	macrophages.				
玉村 啓和					
Ohashi N, Nomura W, Minato N, Tamamura H.	Screening for Protein Kinase C Ligands Using Fluorescence Resonance Energy Transfer.	Chem. Pharm. Bull.	62	1019-25	2014
Masyuk M, Abduelmula A, Morosan-Puopolo G, Ödemis V, Rehim R, Khalida N, Yusuf F, Engele J, Tamamura H, Theiss C, Brand-Saberi B.	Retrograde Migration of Pectoral Girdle Muscle Precursors Depends on CXCR4/SDF-1 Signaling.	Histochem. Cell. Biol.	142	473-88	2014
Yamamoto J, Maeda N, Komiya C, Tanaka T, Denda M, Ebisuno K, Nomura W, Tamamura H, Sato Y, Yamauchi A, Shigenaga A, Otaka A.	Development of a Fluoride-responsive Amide Bond Cleavage Device that is Potentially Applicable to a Traceable Linker.	Tetrahedron	70	5122-7	2014
Takano H, Narumi T, Ohashi N, Suzuki A, Furuta T, Nomura W, Tamamura H.	Development of the 8-Aza-3-bromo-7-hydroxyco umarin-4-ylmethyl Group as a New Entry of Photolabile Protecting Groups.	Tetrahedron	70	4400-4	2014
Yamamoto J, Denda M, Maeda N, Kita M, Komiya C, Tanaka T, Nomura W, Tamamura H, Sato Y, Yamauchi A, Shigenaga A, Otaka A.	Development of a Traceable Linker Containing a Thiol-responsive Amino Acid for the Enrichment and Selective Labelling of Target Proteins.	Org. Biomol. Chem.	12	3821-6	2014
Narumi T, Tsuzuki S, Tamamura H.	Imidazolium Salt-Catalyzed Friedel-Crafts-Type Conjugate Addition of Indoles: Analysis of Indole/Imidazolium Complex by High Level ab Initio Calculations.	Asian J. Org. Chem.	3	497- 503	2014
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.	16	1184-7	2014

書籍

著者氏名	論文 タイトル	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
蝦名博貴	ゲノム編集 技術を用い たエイズ根 治療法の可 能性	山本卓	今すぐ始める ゲノム編集	羊土社	日本	2014	21-22
野村渉、 玉村啓和	ターゲット タンパク質 を特異的に 認識するプ ローブ		化学工業 特集 「ペプチド化 学の新潮流(I)」	化学工業社	川崎	2014	8-14
Nomura W, Ohashi N, Métifiot M, Fujino M, Pommier Y, Murakami T, Tamamura H.	Peptides as HIV-1 Integrase Inhibitors Derived from HIV-1 Gene Products.	Yuji Nishiuchi and Tadashi Teshima	Peptide Science	The Japanese Peptide Society	Osaka	2014	57-8
Nomura W, Hashimoto C, Suzuki T, Honda Y, Ohashi N, Fujino M, Murakami T, Yamamoto N, Tamamura H.	Multimerized C34-Related Peptides as HIV-1 Fusion Inhibitors.	Yuji Nishiuchi and Tadashi Teshima	Peptide Science	The Japanese Peptide Society	Osaka	2014	337-8
Nomura W, Masuda A, Tamamura H.	Creation of Zinc Finger Nucleases Targeting Telomerase Promoter Region.	Yuji Nishiuchi and Tadashi Teshima	Peptide Science	The Japanese Peptide Society	Osaka	2014	241-2

