

Watanabe, K., Takekoshi, M., Maeda, F., Aotsuka, S., Kaneda, Y., Takeuchi, T. and Ihara, S. Preparation of recombinant human monoclonal antibody Fab fragments specific for *Entamoeba histolytica*. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 6: 383-387, 1999.

(2) Tachibana, H., Kobayashi, S., Nagakura, K., Kaneda, Y. and Takeuchi, T. Asymptomatic cyst passers of *Entamoeba histolytica* but not *Entamoeba dispar* in institutions for the mentally retarded in Japan. *Parasitology International*, 49: 31-35, 2000.

(3) Tachibana, H. and Cheng, X.-J. *Entamoeba dispar*: Cloning and characterization of peroxiredoxin genes. *Experimental Parasitology*, 94: 51-55, 2000.

(4) Tachibana, H., Cheng, X.-J., Kobayashi, S., Fujita, Y. and Uono, T. *Entamoeba dispar*, but not *E. histolytica*, detected in a colony of chimpanzees in Japan. *Parasitology Research*, 86: in press, 2000.

2. 学会発表

(1) Tachibana, H., Cheng, X.-J., Kaneda, Y. and Ihara, S. Preparation of a recombinant human monoclonal antibody Fab fragment recognizing a surface antigen of *Entamoeba histolytica*. 第68回日本寄生虫学会大会. *Parasitology International*, 48(Suppl.): 88-89, 1999

(2) Kaneda, Y., Horiki, N., Cheng, X.-J. and Tachibana, H. Serological analysis of asymptomatic individuals infected with *Blastocystis hominis*. 第68回日本寄生虫学会大会. *Parasitology International*, 48(Suppl.): 108, 1999

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |

H. 知的財産権の出願・登録状況

研究成果の刊行
雑誌

Tachibana, H., Cheng, X.-J., Watanabe, K., Takekoshi, M., Maeda, F., Aotsuka, S., Kaneda, Y., Takeuchi, T. and Ihara, S. Preparation of recombinant human monoclonal antibody Fab fragments specific for *Entamoeba histolytica*. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 6 (3): 383-387, 1999.

Tachibana, H., Kobayashi, S., Nagakura, K., Kaneda, Y. and Takeuchi, T. Asymptomatic cyst passers of *Entamoeba histolytica* but not *Entamoeba dispar* in institutions for the mentally retarded in Japan. *Parasitology International*, 49 (1): 31-35, 2000.

Tachibana, H. and Cheng, X.-J. *Entamoeba dispar*: Cloning and characterization of peroxiredoxin genes. *Experimental Parasitology*, 94 (1): 51-55, 2000.

Tachibana, H., Cheng, X.-J., Kobayashi, S., Fujita, Y. and Uono, T. *Entamoeba dispar*, but not *E. histolytica*, detected in a colony of chimpanzees in Japan. *Parasitology Research*, 86: in press, 2000.

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

アメーバ症の化学療法剤の標的に関する研究

分担研究者 牧 岡 朝 夫

研究要旨 新規化学療法剤の標的の研究として、赤痢アメーバ栄養型の増殖阻害因子を探求するとともに、アメーバ症に対する対策上非常に重要である嚢子に注目し、*Entamoeba invadens* のin vitro 嚢子形成系を用いてその形成機構の解明を行い、嚢子形成の阻害因子の探求も行った。その結果、近年、ある種の原虫に対する増殖阻害効果が報告されているジニトロアニリン除草剤であるオリザリンがアメーバ栄養型の増殖を阻害するばかりでなくその嚢子形成の阻害にも有効であることが明らかになった。また、嚢子形成過程の免疫生化学的解析から、その初期過程において最も強く発現される糖蛋白が嚢子壁主成分キチンの合成酵素であることが示唆され、嚢子形成阻害の標的として重要であると考えられた。

A. 研究目的

アメーバ症に対する新規化学療法剤の標的の探求と開発を行う。

B. 研究方法

赤痢アメーバHM-1株栄養型の無菌培養はBI-S-33培養液を用いて行った。薬剤による増殖阻害効果はこの培養系に薬剤を加え、3日間培養後の虫体数を対照の虫体数と比較することにより増殖阻害効果として表した。赤痢アメーバのin vitro 嚢子形成系は確立されていないことから嚢子形成実験は*E. invadens* のin vitro 嚢子形成系を用いた。即ち、BI-S-33培養液中で増殖させた*E. invadens* IP-1株栄養型を嚢子形成液(47%LG)に移すことにより嚢子形成を誘導し、3日間培養後嚢子と栄養型の虫体数を求め、嚢子形成率を算出した。また、嚢子形成の免疫生化学的解析のため、栄養型と嚢子それぞれに対する抗血清を兔を用いて作製した。SDSゲル電気泳動(SDS-PAGE)およびイムノブロッティングは常法により行った。

C. 研究結果

1. 増殖および嚢子形成に及ぼすジニトロア

ニリン除草剤の阻害効果

ジニトロアニリンであるオリザリンおよびトリフルラリンはチューブリンの重合阻害作用があり除草剤として広く用いられているが、近年、ある種の原虫（リーシュマニア、トリパノソーマ、マラリア原虫、トキソプラズマ等）に対する増殖阻害作用が明らかになり注目されている。そこで、アメーバに対する効果について検討した。種々の濃度のオリザリン、トリフルラリン存在下で赤痢アメーバ栄養型を培養した結果、オリザリンは100 μ Mで97%の増殖阻害効果を示したが、トリフルラリンは100 μ Mでも20%の阻害効果しか示さなかった。また、コルヒチンは高濃度でもその阻害効果は弱かった。オリザリンで処理した栄養型の核を観察した結果、培養1日目で約60%の虫体が分裂期で止まっていることが確認された。*E. invadens*の嚢子形成に対するオリザリンの阻害効果を調べた結果、オリザリンは嚢子形成を阻害し、300 μ Mの濃度では栄養型も消失した。培養1日目にオリザリンを加えた場合にも嚢子形成は阻害された。また、オリザリン存在下で1日培養後オ

オリザリンを除去しても嚢子形成の回復はみられなかった。

2. 嚢子形成過程における嚢子特異的蛋白質の発現

E. invadens の *in vitro* 嚢子形成系を用い嚢子形成に伴う嚢子特異的蛋白質の発現を免疫生化学的に解析した。栄養型と培養1-4日後の嚢子をSDS-PAGEで比較したところ、両者の蛋白質のバンド・パターンにほとんど違いは認められなかったが、PAS染色により、嚢子に特異的な250kDaと88kDaの糖蛋白質が検出された。栄養型に対する抗体を用いたイムノブロットングにより栄養型の蛋白質とともに多くの嚢子蛋白質も免疫染色された。栄養型抗原で吸収した抗嚢子抗体を用いた免疫染色では栄養型蛋白質は染色されず、培養1日目の嚢子の88kDaの蛋白質が最も強く染色され、その反応性は2日目以降減少した。この培養1日目の嚢子を可溶性分画と不溶性分画に分け、吸収済抗嚢子抗体で免疫染色したところ、88kDa蛋白質は嚢子壁断片を多く含む不溶性分画に存在することが判明した。

D. 考察

ジニトロアニリンであるオリザリンはアメーバに対しても増殖阻害効果があることが明らかになった。これはオリザリンがアメーバの核分裂時にチューブリンからなる紡錘糸の形成を阻害し、その核分裂を阻害することによると考えられた。オリザリンはまた、アメーバの嚢子形成に対する阻害効果も有することが判明した。嚢子はヒトへの感染形であり、その形成を阻止することはアメーバの発育環を遮断するうえで非常に重要である。しかしながら、現在、赤痢アメーバの *in vitro* 嚢子形成系は確立されておらず、この点で赤痢アメーバと形態ならびに生活史が極めて類似している *E. invadens* の *in vitro* 嚢

子形成系はモデルとして重要と考えられる。嚢子形成過程における嚢子特異的蛋白質の発現の解析から、その初期過程において88kDaの糖蛋白質が最も強く発現されることが明らかになり、また、その分子量および局在からこの蛋白質はアメーバ嚢子壁の主成分キチンの合成酵素であることが示唆され、嚢子形成阻害の重要な標的になりうると考えられた。

E. 結論

ジニトロアニリンであるオリザリンはアメーバの増殖ならびに嚢子形成の阻害効果を有することが明らかになり、新規化学療法剤としての効果が期待される。また、アメーバ嚢子壁の主成分キチンの合成を担うキチン合成酵素は嚢子形成阻害の重要な標的になると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Makioka, A., Kumagai, M., Ohtomo, H., Kobayashi, S., Takeuchi, T.: DNA polymerase activity in encysting *Entamoeba invadens*. *Parasitol. Res.* 85 (7): 604-606, 1999.
- Makioka, A., Kumagai, M., Ohtomo, H., Kobayashi, S., Takeuchi, T.: Appearance of a stage-specific immunodominant glycoprotein in encysting *Entamoeba invadens*. *Parasitol. Res.* 86 (1): 81-85, 2000.
- Makioka, A., Kumagai, M., Ohtomo, H., Kobayashi, S., Takeuchi, T.: Effect of dinitroaniline herbicides on the growth of *Entamoeba histolytica*. *J. Parasitol.* 86 (7): in press, 2000.
- Makioka, A., Kumagai, M., Ohtomo, H., Kobayashi, S., Takeuchi, T.: Effect of

cytochalasin D on the growth, encystation and multinucleation of *Entamoeba invadens*. Parasitol. Res. in press, 2000.

Makioka, A., Kumagai, M., Ohtomo, H., Kobayashi, S., Takeuchi, T.: Effect of anti-tubulin drug oryzalin on the encystation of *Entamoeba invadens*. Parasitol. Res. in press, 2000.

2. 学会発表

Makioka, A., Kumagai, M., Ohtomo, H., Kobayashi, S., Takeuchi, T.: Effect of antimicrotubule herbicides on the growth of *Entamoeba histolytica*. 第68回日本寄生虫学会大会. 1999年4月. [Parasitol. Int.48 (Suppl.): 87, 1999]

Makioka, A., Kumagai, M., Ohtomo, H., Kobayashi, S., Takeuchi, T.: Appearance of a stage-specific immunodominant glycoprotein in encysting *Entamoeba invadens*. 第68回日本寄生虫学会大会. 1999年4月. [Parasitol. Int.48 (Suppl.): 88, 1999]

牧岡朝夫, 熊谷正広, 大友弘士, 小林正規, 竹内 勤: *Entamoeba invadens*のシスト形成時に出現する強い免疫原性を持つシスト特異的糖蛋白質. 第40回日本熱帯医学会大会. 1999年9月. [熱帯医学誌 28 (1): 72, 2000]

牧岡朝夫, 熊谷正広, 大友弘士, 小林正規, 竹内 勤: 赤痢アメーバの増殖に及ぼすジニトロアニリン除草剤の抑制効果. 第40回日本熱帯医学会大会. 1999年9月. [熱帯医学誌 28 (1): 71-72, 2000]

牧岡朝夫, 熊谷正広, 大友弘士, 小林正規, 竹内 勤: *Entamoeba invadens*のシスト形成時に出現する強い免疫原性を持つシスト特異的糖蛋白質. 第32回日本原生動物学会大会. 1999年11月. [原生動物学誌 33 (1): 67, 2000]

牧岡朝夫, 熊谷正広, 大友弘士, 小林正規, 竹内 勤: 赤痢アメーバの増殖に及ぼすジニトロアニリン除草剤の抑制効果. 第

32回日本原生動物学会大会. 1999年11月. [原生動物学誌 33 (1): 66, 2000]

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生科学研究費補助金（新興再興感染症研究事業）
分担研究報告書

アメーバ症の新しい化学療法剤の標的の解明および遺伝子診断法の作成についての研究

分担研究者 野崎 智義 国立感染症研究所寄生動物部 室長

研究要旨 アメーバ症に対する新規薬剤を開発することを目的として赤痢アメーバ特異的な代謝経路についての解析を行った。赤痢アメーバにおける硫黄含有アミノ酸代謝はほ乳類のそれと大きく異なるため、有用な標的であることが示された。特に、今年度はシステイン生合成経路の主要 2 酵素の遺伝子を獲得し、組換え酵素を作成した。組換え酵素の基質特異性、反応速度など酵素学的解析を行い、今後阻害剤開発の際に重要となる基礎データを獲得した。

A. 研究目的

アメーバ症に対して通常用いられるメトロニダゾールなどの現行の薬剤は催奇形性をもつ他、嚢子排出者に対しては比較的無効とされる。赤痢アメーバの伝播を阻止するためには嚢子排出者を良い効率で治療することが不可欠である。そこで我々は新しい抗アメーバ症薬剤を開発することを目的として、赤痢アメーバに特異的な硫黄含有アミノ酸代謝経路の解析を行った。

システインは赤痢アメーバの細胞内最高濃度のチオール化合物であり、細胞接着・運動・増殖に不可欠であることが示されている。赤痢アメーバは細胞外の硫酸を同化し、システインを合成する能力をもつ。この経路は、これまで細菌及び植物にのみ存在すると考えられてきた。我々はシステイン生合成経路から主要な 2 酵素、最終酵素であるシステイン合成酵素と本経路の調節酵素であるセリンアセチル転移酵素、の遺伝子を単離し、組換え酵素を用いて生化学的解析を行うことを本年度までの目

的とした。

B. 研究方法

1. システイン合成酵素・セリンアセチル転移酵素のクローニング
赤痢アメーバのシステイン合成酵素・セリンアセチル転移酵素 cDNA は機能的相補化によって獲得した。赤痢アメーバの cDNA ライブラリーを lamda ZAP を用いて作り、更に in vivo excision によって、プラスミドライブラリーを作製した。これをシステイン合成酵素欠損変異株 NK3 (tryE5 leu-6 thi hsdR hsdM+ cysK cysM) 及びセリンアセチル転移酵素欠損変異株 JM39/5 (F+, cysE51, recA56) に導入し、M9 最小培地システイン非存在下で増殖する株を複数獲得した。更に、それぞれの cDNA クローンを用いて genomic library から全蛋白コード領域を含むクローンを獲得した。
2. 組換えシステイン合成酵素・セリンアセチル転移酵素の作成

システイン合成酵素はカルボキシ

ル端にヒスチジンを添加した形で作成した。セリンアセチル転移酵素はグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) との融合蛋白としてを発現させた。システイン合成酵素とセリンアセチル転移酵素の蛋白コード領域をポリメラーゼチェーンリアクション (PCR) により、両端に Nde I 及び Xho I 或いは BamH I 認識部位をもつオリゴヌクレオチドプライマーを用いて増幅した。用いた PCR の条件は denaturation, 94°C 1 min; annealing, 60°C 1 min; elongation, 72°C 1 min; 30 cycles であった。PCR 産物を制限酵素で消化後、pET22b 或いは pGEX-5X-1 にクローニングし、発現ベクター pET/EhCS1, pGST/EhSAT を得た。pET/EhCS1 で BL21(DE3) を、pGST/SAT で大腸菌株 DH10B を形質転換し、1 mM isopropyl b-D-thiogalactoside の存在下で 37°C で 2 時間培養した。細胞を生理的磷酸緩衝液で洗浄した後、超音波破碎し、大腸菌の粗抽出液を得た。組換えシステイン合成酵素及びグルタチオン-S-トランスフェラーゼ/セリンアセチル転移酵素融合蛋白は Ni-NTA 及びグルタチオンセファロース 4B カラムで精製した。グルタチオン-S-トランスフェラーゼ/セリンアセチル転移酵素融合蛋白は Factor Xa で消化した後、分離精製しセリンアセチル転移酵素を得た。

3. 酵素アッセイ

セリンアセチル転移酵素の活性の測定は二つの方法によって行った。第 1 の方法は acetyl CoA のチオエステル結合に特異的な 232 nm における吸収の減少をモニターする方法であった。反応は 50 mM Tris-HCl pH 8.0, 0.1 mM acetyl CoA, 1 mM L-serine 中で行った。第 2 の方法はシステイン合成酵素とのカップリングを用いたシステインの生成を測定する方法であった。反応は 50 mM

Tris-HCl pH 8.0, 0.1 mM acetyl CoA, 5 mM L-serine, 1 mM Na₂S, 5 mM dithiothreitol, 0.01 unit の組み換えシステイン合成酵素を含む溶液で行った。システイン合成酵素の活性測定は酵素反応は hydrogen sulfide, thiosulfate, uracil, isoxazolin-5-one, 3, 5-dioxo-1, 2, 4-oxadiazolidine, pyrazole, 1, 2, 4-triazole, 3, 4-dihydropyridine, cyanide をアラニル受容体として用い以下で行った。反応は 50 mM Tris-HCl, pH 7.5, 0.1 mM EDTA, 12.5 mM O-acetylserine 及び 12.5-62.5 mM の適当なアラニル受容体の存在下で 30°C で 10-120 分で行った。生じたシステイン量は Gaitondem らの方法により測定した。1 unit の活性は 25°C 1 分間に 1 μ mole のアセチル補酵素 A のチオエステル結合を切断する活性或いは、1 μ mole の L-cysteine を生成する酵素量と定義した。

(倫理面への配慮) 該当せず。

C. 研究結果

1. システイン合成酵素遺伝子のクローニングと解析

赤痢アメーバ及び *E. dispar* からシステイン合成酵素をクローニングし、そのヌクレオチド及びコードするアミノ酸配列を決定した。

赤痢アメーバのシステイン合成酵素は 2 種類存在していることが分かった (EhCS1 and 2)。蛋白コード領域は 36721Da の分子量と 6.39 の pI をもつ 337 アミノ酸からなる蛋白をコードしていた。一方、*E. dispar* からも 2 種類の遺伝子を獲得した。EdCS1 及び 2 はそれぞれ、36236 及び 36899Da の分子量と 7.79、8.87 の pI をもつ 336 アミノ酸からなる蛋白をコードしていた。EdCS2 は EhCS1/2 と 92-93% の同一性を示した。EdCS1 は EhCS1/2 及び

EdCS2 と 80-83%の同一性を示した。分子系統樹解析並びにアミノ酸一次配列の比較から、EdCS2/EhCS1/EhCS2 は近縁にあるが、EdCS1 は他の 3 種のアイソザイムと大きく異なることが明らかとなった。

2. セリンアセチル転移酵素遺伝子のクローニングと解析

赤痢アメーバ及び *E. dispar* からセリンアセチル転移酵素をクローニングし、そのヌクレオチド及びコードするアミノ酸配列を決定した。

システイン合成酵素と異なり赤痢アメーバからは 1 種類の遺伝子が獲得された。EhSAT の蛋白コード領域は 34404Da の分子量と 6.63 の pI をもつ 305 アミノ酸からなる蛋白をコードしていた。一方、*E. dispar* からは 2 種類の遺伝子 (EdSAT1 及び 2) を獲得した。EdSAT1 は 34264Da の分子量と 6.51 の pI をもつ蛋白をコードしていた。EhSAT/EdSAT には多種生物に見られない特異的な 8 アミノ酸の挿入部位が見られた。この挿入部位はシアノバクテリアのプラスミドにコードされた遺伝子産物と相似していた。分子系統樹の解析と総合すると、アメーバのセリンアセチル転移酵素はシアノバクテリアと共通祖先を共有することが示唆された。

3. リコンビナント赤痢アメーバシステイン合成酵素の活性測定及び基質特異性

大腸菌内で発現した EhCS1/2 はほぼ同程度のシステイン合成活性を示した (1mg 蛋白あたり 5.9 ± 2.2 及び 8.1 ± 2.4 U)。様々なアラニル受容体を用いた beta-substituted alanine の合成速度は以下の通りであった。Hydrogen sulfide を 100 とした場合、1,2,4-triazol, 11; isoxazolin-5-one, 2.5; pyrazole, 0.75; sodium cyanide, 0.027; 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidine, 0.0011; uracil/3,4-

dihydroxypyridine < 0.001。従って、赤痢アメーバのシステイン合成酵素の基質特異性は植物に似通っていることが示された。

4. リコンビナント赤痢アメーバ及び *E. dispar* システイン合成酵素の活性パラメーターの比較

EhCS1/EdCS1/EdCS2 の V_{max} , Na_2S 及び O-アセチルセリンに対する K_m を比較すると有意に、以下のことが示された。 Na_2S に対する K_m は $EdCS1 < EhCS1 < EdCS2$ 。また、O-アセチルセリンに対する K_m は $EdCS1 > EhCS1 > EdCS2$ 。

D. 考察

我々は大腸菌の欠損株とアメーバの cDNA 発現ライブラリーを用いて機能的なシステイン合成酵素とセリンアセチル転移酵素遺伝子を赤痢アメーバ、*E. dispar* 両者から分離同定した。この方法はアメーバの代謝経路の多くが原核生物に類似した点を考慮すれば、他の多くの重要な代謝経路の同定、解析にも有用と考えられる。

我々はリコンビナントシステイン合成酵素を用いて様々な酵素学的解析を行った。最も注目すべき結果はアメーバのシステイン合成酵素が硫化水素以外の様々な化合物を基質とする点である。特に、triazole, pyrazole, isoxazoline-5-one は今後誘導体をつくる際の有益なリード化合物と考えられる。現に triazole 及びその類似化合物は除草剤として用いられており、工業化されている。

リコンビナントシステイン合成酵素を用いて得られた第二の注目すべき結果は 4 種類のアイソエンザイムの酵素学的相違である。得られたアイソザイムは基質親和性に有意な違いを示した。赤痢アメーバと *E. dispar* とのシステイン合成経路の質的な相違は両者の病原性の差に関与している可能性がある。

また、アメーバのセリンアセチル

転移酵素の特異的挿入部位は注目に値する。これは阻害剤及びワクチンをデザインする際に有益な情報であるばかりでなく、本研究の大きなテーマの一つであるアメーバ株のサブポピュレーションの解析にも今後役立つものと考えられる。

E. 結論

赤痢アメーバにおける S-アミノ酸代謝はほ乳類のそれと大きく異なるため、薬剤開発のための有用な標的であることが示された。特に、システイン合成経路の主要酵素を解析し、今後重要となる基礎データを獲得した。

F. 研究発表

1. 論文発表

英文

- i. Nozaki, T., Asai, T., Kobayashi, S., Ikegami, F., Noji, M., Saito, K., and Takeuchi, T. (1998) Molecular cloning and characterization of the genes encoding two isoforms of cysteine synthase in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 97, 33-44.
- ii. Asai, T., Howe, D. K., Nakajima, K., Nozaki, T., Takeuchi, T., and Sibley, L. D. (1998) *Neospora caninum*: tachyzoites express a potent type-I nucleoside triphosphate hydrolase1, but lack nucleoside diphosphate hydrolase activity. *Exp. Parasitol.*, 90, 277-285.
- iii. Nozaki, T., Arase, T., Shigeta, Y., Asai, T., Leusteck, T., and Tsutomu, T. (1998) Cloning and bacterial expression of adenosine-5'-triphosphate sulfurylase from an enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Biochim. Biophys. Acta* 1429, 284-291.
- iv. Nozaki, T., Toh-e, A., Fujii, M.,

Yagisawa, H., Nakazawa, M., and Takeuchi, T. (1999) Cloning and characterization of a gene encoding phosphatidyl inositol-specific phospholipase C from *Trypanosoma cruzi*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 97, 33-44.

- v. Nozaki, T., Asai, T., Sanchez, L.B., Kobayashi, S., Nakazawa, M., and Takeuchi, T. (1999) Characterization of the gene encoding serine acetyltransferase, a regulated enzyme of cysteine biosynthesis from the protist parasite *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*: Regulation and possible function of the cysteine biosynthetic pathway in *Entamoeba*. *J. Biol. Chem.* 274 (45), 32445-32452.

- vi. Nozaki, T., Tokoro, M., Imada, M., Saito, Y., Abe, Y., Shigeta, Y., and Takeuchi, T. (2000) Cloning and biochemical characterization of genes encoding two isozymes of cysteine synthase from *Entamoeba dispar*. *Mol Biochem Parasitol* 107,129-133

和文

- i. 野崎智義、竹内勤 (1998) シャーガス病 The Current Clinical Technologist 3 巻 4 号 21.
- ii. 野崎智義 (1999) トリパノソーマ症の生物学、疫学、臨床および治療 感染症とその治療 最新医学 54 巻 6 月増刊号 278-288.

2. 学会発表

- i. 野崎智義 赤痢アメーバにおけるシステイン合成系の解析 (1997) 第 6 回分子寄生虫学セミナー
- ii. 野崎智義、荒瀬透、阿部曜子、浅井隆志、竹内勤 赤痢アメーバにおけるシステイン合成経路の解析 adenosine triphosphate sulfurylase (sulfate

- adenyltransferase)のクローニング及び機能解析 (1997) 第 38 回日本熱帯医学会大会
- iii. Nozaki, T. and Takeuchi, T. (1998) Analysis of cysteine biosynthetic pathway in *Entamoeba histolytica*: involvement of cysteine in the antioxidative mechanism. The 19th International Congress of Parasitology (Symposium)
- iv. 野崎智義、浅井隆志、小林正規、池上文雄、野路征路、斎藤和季、竹内勤 (1998) 赤痢アメーバにおけるシステイン合成経路の解析 第 71 回日本生化学会大会
- v. 野崎智義、浅井隆志、小林正規、中沢幹、繁田泰男、竹内勤 (1999) Regulation of cysteine biosynthesis in *Entamoeba histolytica* 第 68 回日本寄生虫学会大会
- vi. 野崎智義、繁田泰男、中沢幹、竹内勤 (1999) 赤痢アメーバにおける細胞内輸送の解析 第 7 回分子寄生虫学ワークショップ
- vii. Nozaki, T., Asai, T., Sanchez, L.B., Kobayashi, S., Nakazawa, M., and Takeuchi, T. (1999) Characterization of the gene encoding serine acetyltransferase, a regulatory enzyme of cysteine biosynthesis from the protist parasite *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. 10th Molecular Parasitology Meeting
- viii. 野崎智義、東江昭夫、藤井誠、矢木澤仁、中沢幹、竹内勤 (1999) 細胞内寄生原虫トリパノソーマの PLC のクローニングと解析 第 72 回日本生化学会大会
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得
該当せず。
 2. 実用新案登録

該当せず。

別紙5

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
竹内 勤	赤痢アメーバ症	杉本恒明、小俣政男	内科学	朝倉書店	東京	1999	383-385
竹内 勤	赤痢アメーバ症	多賀須幸男、尾形悦郎	今日の治療指針	医学書院	東京	1999	202-203
竹内 勤	赤痢アメーバ	黒川 清、松澤佑次	内科学	文光堂	東京	1999	63 1988-1990
竹内 勤	アメーバ赤痢	山崎修道、井上栄、大久保一郎 神谷斉、倉田毅、小池謙一郎 竹内勤、千葉峻三、眞鍮真澄	感染症予防必携	日本公衆衛生協会	東京	1999	234-235 201-203

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
Nozaki T, Asai T, Sanchez LB, Kobayashi S, Nakazawa M & Takeuchi T	Characterization of the gene encoding serine acetyltransferase, a regulatory enzyme of cysteine biosynthesis from the protist parasite <u>Entamoeba histolytica</u> and <u>Entamoeba dispar</u> : Regulation and possible function of the cysteine biosynthetic pathway in <u>Entamoeba</u>	J Biol Chem	274	32445 ~32452	1999
Tachibana H, Cheng X-J, Watanabe K, Takekoshi M, Maeda F, Aotsuka S, Kaneda Y, Takeuchi T & Ihara S	Preparation of recombinant human monoclonal antibody Fab fragments specific for <u>Entamoeba histolytica</u>	Clin Diag Lab Immunol	6	383 ~387	1999
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobaayshi S & Takeuchi T	DNA polymerase activity in encysting <u>Entamoeba invadens</u>	Parasitol Res	85	604 ~606	1999
Tachibana H & Cheng X-J	<u>Entamoeba dispar</u> : Cloning and characterization of peroxiredoxin genes	Exp Parasitol	94	51-55	2000

Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Appearance of astage-specific immunodominant glycoprotein in encysting <u>Entamoeba invadens</u>	Parasitol Res	86	81~85	2000
Nozaki T, Tokoro M, Imada M, Saito Y, Abe Y, Shigeta Y & Takeuchi T	Cloning and biochemical characterization of genes encoding two isozymes of cysteine synthase from <u>Entamoeba dispar</u>	Mol Biochem Parasitol	107	129~133	2000
Tachibana H, Kobayashi S, Nagakura K, Kaneda Y & Takeuchi T	Asymptomatic cyst passers of <u>Entamoeba histolytica</u> but not <u>Entamoeba dispar</u> in institutions for the mentally retarded in Japan	Parasitol Int	49	31~35	2000
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Effect of dinitroaniline herbicides on the growth of <u>Entamoeba histolytica</u>	J Parasitol		in press	2000
Makioka A, Kumagai M, Ohtomo H, Kobayashi S & Takeuchi T	Effect of cytochalasin D on the growth, encystation, and multinucleation of <u>Entamoeba invadens</u>	Parasitol Res		in press	2000
Tachibana H Cheng X-J, Kobayashi S Fujita Y & Udono T	<u>Entamoeba dispar</u> , but not <u>E. histolytica</u> , detected in a colony of chimpanzees in Japan	Parasitol Res		in press	2000
小林正規、竹内 勤	微生物(感染症)検査:赤痢アメーバ	検査と技術	27 (増刊)	902-905	1999
竹内 勤	性感染症の治療学的展望:赤痢アメーバ	化学療法領域	15(S -1)	197-201 201	1999
竹内 勤	感染症の診断・治療のガイドライン:アメーバ赤痢	日本医師会雑誌	122 (臨時 増刊)	84-87.	1999
田辺将信、小林正規、 竹内 勤	赤痢アメーバ	日本臨床	増刊号	241-244	1999

19990440

以降のページは雑誌／図書等に掲載された論文となりますので
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。