

令和元年6月26日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08766

研究課題名(和文)腸管寄生性原虫赤痢アメーバにユニークなリソソーム酵素ターゲティングシステムの解明

研究課題名(英文) Analysis of a unique lysosomal targeting machinery in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*

研究代表者

津久井 久美子 (Tsukui, Kumiko)

国立感染症研究所・寄生動物部・主任研究官

研究者番号：00420092

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：赤痢アメーバにユニークに存在するリソソーム酵素輸送受容体(cysteine protease binding protein family, CPBF)の赤痢アメーバ病原性への関与を検討した。11存在するCPBFの遺伝子発現抑制株のマトリゲル侵入性を評価し、CPBF2が関与することを見いだした。CPBF2は一種類の $\alpha$ -amylaseをリガンドとするが、マトリゲル侵入に $\alpha$ -amylase活性や $\alpha$ -amylase分子の関与は見いだせなかった。一方でCPBF2遺伝子発現抑制株では運動能力の有意な低下が観察されたことから、CPBF2に細胞運動制御に関わる機能が存在することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

リソソーム酵素輸送受容体にこれまで知られていなかった細胞運動制御機能を見いだした。予想外の発見であったが、細胞内シグナル伝達機構が未解明の赤痢アメーバ原虫における運動制御機構に、新しい分子メカニズムを見いだす端緒となった。初期に分化した真核生物である赤痢アメーバでの研究は、真核生物に重要な役割をもつ細胞運動の進化と分化にユニークな知見を与えることが期待される。また、細胞運動は赤痢アメーバの生存および病原性に重要である。赤痢アメーバにユニークな分子機構の解明は宿主への副作用が少ない創薬標的となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We examined the role of cysteine protease binding protein family (CPBF), *Entamoeba* unique lysosomal hydrolase receptor, and their involvement in the pathogenesis of *Entamoeba histolytica*, the causative agent of amebiasis. We established small RNA mediated gene silencing strains of all the eleven CPBFs and evaluated invasion efficiency using Matrigel matrix. As a result, CPBF2-silenced strain showed significant reduction in Matrigel invasion. CPBF2 is a receptor of solo  $\alpha$ -amylase, however, there was no relation between  $\alpha$ -amylase activity,  $\alpha$ -amylase molecules and Matrigel invasion. On the other hand, CPBF2-silenced strain showed significant defect in cell motility. These results suggest that the deficiency in Matrigel invasion was caused by the reduced cell motility of CPBF2-silenced strain, independent of its role as a lysosomal hydrolase receptor. We found a novel role of lysosomal hydrolase receptor in the regulation of *E. histolytica* cell motility.

研究分野：分子寄生虫学

キーワード：lysosome phagosome *Entamoeba histolytica* protease traffic

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

赤痢アメーバは発展途上国に蔓延する下痢症の主要な病原体の一つである。しかしアメーバ症は衛生環境の整った本国においても男性同性愛者コミュニティ、性風俗業界や知的障害者・老人施設での国内感染がある。年間 1000 例を超える報告数があり、日本で最も多い原虫感染症である。抗アメーバ薬は一剤しか保険適用がなく、副作用、適応の可否、さらに耐性株出現の懸念からも新規薬剤開発が求められている。さらに赤痢アメーバは初期に分化した真核生物であり、赤痢アメーバ生物学の探求は真核生物成立と進化という基礎生物学分野にも知見を与えると期待される。

我々は赤痢アメーバの主要な病原因子として細胞外へ分泌され、かつリソソームへもターゲットされるシステインプロテアーゼ(CP)の解析から、赤痢アメーバにユニークなリソソーム酵素輸送受容体 cysteine protease binding protein family 1: CPBF1 を同定した(Nakada-Tsukui, Cell Microbiol, 2012)。CPBF1 は CP-A5 を含む数種類の CP に結合可能で、CP-A5 のリソソームターゲティングと成熟化に関与していた。さらに 11 ある CPBF のうち二種類(CPBF6, CPBF8)がそれぞれ  $\alpha$ -amylase と  $\gamma$ -amylase または  $\beta$ -hexoaminidase と lysozymes を結合し、リガンド分子のファゴソームへ輸送に関与することを示した(Furukawa, PLoS Pathog, 2012; Furukawa, Inf Immunol, 2013)。さらに 11 ある CPBF におけるリガンド多様性、構造の特徴を明らかにし、CPBF が  $\beta$ -シートのみで構成され 6 個の prepeptidase C-terminal (PPC) ドメインから成ること、11 ある CPBF はまず PPC を 6 個持つタンパク質として成立してから分化したことを示唆した(Marumo, Nakada-Tsukui, Int J Parasitol, 2014)。この解析では CPBF1 の PPC ドメイン単独でもリガンドである CP-A5 に結合できることも明らかにした。6 個の PPC ドメインから構成されるタンパク質は真核生物の中で CPBF が初めての報告であった。

### 2. 研究の目的

赤痢アメーバにおける CPBF の新たな機能を明らかにするため、病原性に関する CPBF を見いだす。さらに CPBF の細胞内輸送システム、リガンド認識機構の解明を目指す。CPBF はファミリー分子として存在し、共通のドメインから成るが、分子間で多様なリガンド特異性を持つ。この解析から典型的なモデル生物では得られないリソソーム形成分子機構に関する知見や新規薬剤ターゲットの提供が期待される。

### 3. 研究の方法

#### (1) 組織破壊に関する CPFB の特定

11 ある CPBF 全てについて遺伝子発現抑制株を作成し、ブタ大腸組織を用いた *ex-vivo* 実験系、トランスウェルを用いたムチンとマトリゲルに対する侵入評価系により組織侵入に関する CPBF を検索した。

#### (2) リガンド認識機構の解明

CPBF1 と CP-A5 をモデルに、小麦胚芽無細胞系を用いて組換えタンパク質を作成し、結合を *in vitro* で再現した

#### (3) CPBF2 遺伝子発現抑制株の性状解析

実験(1)でマトリゲル侵入抑制が観察された CPBF2 遺伝子発現抑制株について、そのリガンドである  $\alpha$ -amylase、CPBF2 遺伝子発現抑制株の細胞機能の解析から、マトリゲル侵入と CPBF2 の関連を明らかにした。

### 4. 研究成果

#### (1) 組織破壊に関する CPFB の特定

リソソーム酵素、特にシステインプロテアーゼ(CP)の分泌が赤痢アメーバによる組織破壊に直接関連することが知られている。CPBF が輸送するリソソーム酵素に未知の組織破壊に機能するリソソーム酵素があれば、CPBF の遺伝子発現抑制株では組織破壊が亢進すると考えた。11 ある CPBF 全てについて遺伝子発現抑制株を作成し(図 1)、ブタ大腸に対する侵入性を評価した(図 2)。

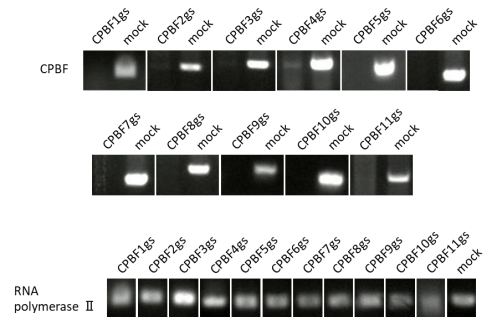


図 1 CPBF 遺伝子発現抑制の確認 (遺伝子発現抑制 = gene silencing, gs)。各遺伝子発現抑制株またはベクターコントロール(mock)株から total RNA を抽出し、逆転写の後各 CPBF (上段) または RNA polymerase II(下段)のプライマーで PCR を行った。

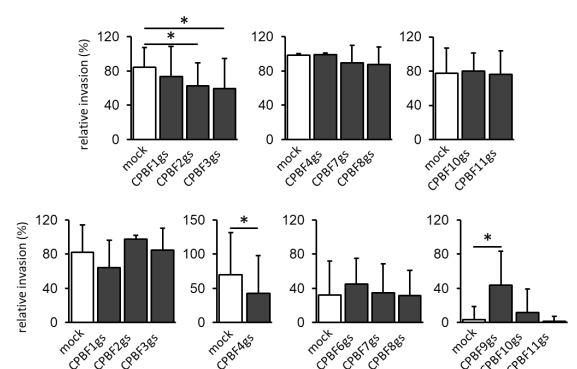


図 2 CPBF 遺伝子発現抑制株のブタ大腸組織侵入活性。上段、下段は独立した実験結果を示す (\*,  $P < 0.05$ )。ブタ大腸片の内腔側に赤痢アメーバ株を播種し、7 時間後組織を 10% ホルマリンで固定した。組織をパラフィン切片とし、組織をヘマトキシリン-エオジンで赤痢アメーバを抗赤痢アメーバ Vps26 抗体で染色した。一視野につき、全赤痢アメーバのうち組織内に侵入した赤痢アメーバの割合を算出した。各サンプル 24 視野観察を行った。

11 全ての CPBF 遺伝子発現抑制株が樹立されたが、ブタ大腸への侵入活性について再現性のある有意な結果は得られなかった。そこでトランスウェルを用い、ムチンとマトリゲルへの侵入活性を評価した(図3)。ムチンへの侵入活性についても再現性のある有意な結果が得られなかった。しかしマトリゲルに対して CPBF2 遺伝子発現抑制株に有意な侵入活性の低下が観察された(図3)によって、CPBF2 は組織障害に關与するリソソーム酵素輸送受容体であると考えられた。

### (2) リガンド認識機構の解明

CPBF1 は CP-A5 と結合するが、その結合様式の詳細は不明である。詳細な解析を行うため、組換え型の受容体と酵素を小麦胚芽無細胞系にて作成する事を試みた。

CPBF1、CP-A5、また CP 輸送に關与する CP 阻害タンパク質 ICP2、CPBF と結合が示唆されたシャペロン HSP70 について、それぞれ GST、Flag、His、V5 タグを付した融合タンパク質として発現するベクターを作成した。CPBF1、CP-A5、ICP2 を単独で発現させた場合、それぞれのポリペプチドは合成されたが CPBF1 と CP-A5 の結合は再現されなかった。そこで三者を同時合成させたところ、結合が観察された。よって同時合成を行うことでレセプターとリガンドの結合解析が可能と考えられた(図4)。

一方で CP 活性は単独発現、三者同時発現共に観察できなかった。生理的条件下での結合を示すためには CP 活性を持つ CP-A5 が合成できる条件の同定が必要と考えられる。そこで合成時に HSP70 を加える、また活性を有するタンパク質が分解されている可能性を考え、可逆的な CP 阻害剤である dithiodipyridine を添加して合成を行う、を試みたが活性は検出できなかった。

そこで CP 活性とは独立に結合特異性を検討するため、CPBF のなかで CPBF1 と最も相同性の高い CPBF2 をコントロールに CP-A5 の結合特異性を検討した。しかし CPBF2 組み換え体の発現が安定せず、結合特異性を示すに至らなかった。さらにプラスミドの確認とタグ変更などの対策により CPBF2 の安定的発現方法を確立する。または CPBF1 以外の CPBF のリガンドとして同定されたリソソーム酵素を発現させて結合特異性の検討を行いたい。

### (3) CPBF2 遺伝子発現抑制株の性状解析

実験(1)でマトリゲルへの侵入効率の低下が観察された CPBF2 遺伝子発現抑制株について、その分子メカニズムの解明を目指した。

先ず CPBF2 のリガンドである  $\alpha$ -amylase にマトリゲル侵入との関連があるか検討した。赤痢アメーバに存在する  $\alpha$ -amylase のうち、CPBF2 のリガンドとなる EHI\_152880 (amy-1)、

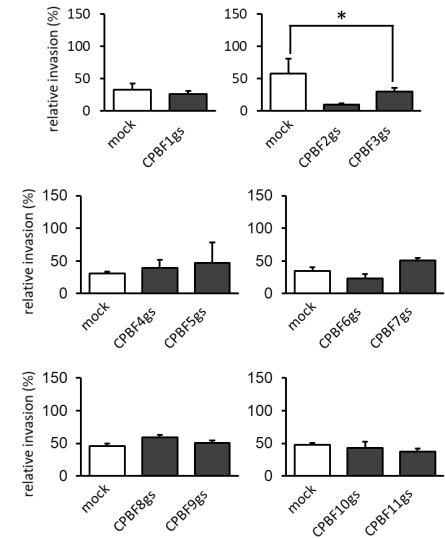
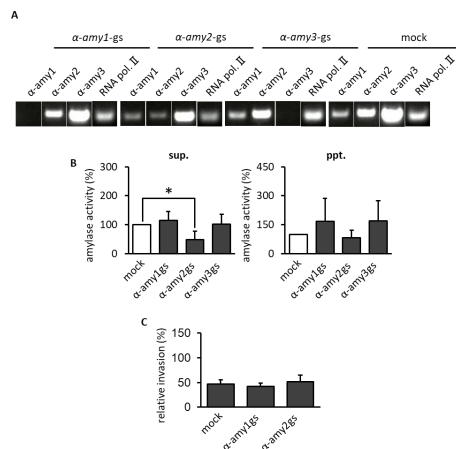


図3 CPBF 遺伝子発現抑制株のマトリゲルへの侵入活性。トランスウェルの上段に無血清培地中に赤痢アメーバ株を播種し、16 時間後に下段の含血清培地中へ移動した細胞の割合を表示した (\*,  $P < 0.05$ )。

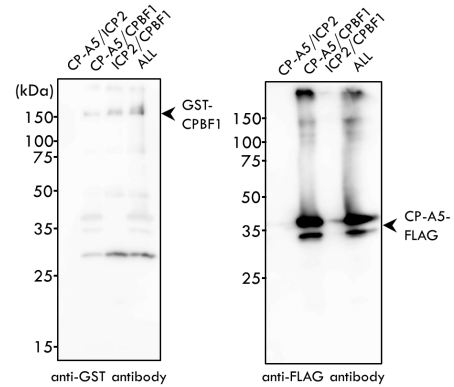


図4 組み換えタンパク質の結合。小麦胚芽無細胞系で CPBF1、CP-A5、ICP2 の二者(レーンに表記)または三者(ALL)を同時に発現させ、各サンプルをグルタチオンアガロースで精製した。続いて抗 GST 抗体または抗 FLAG 抗体でそれぞれ GST-CPBF1、FLAG-CP-A5 を検出した。CPBF1 と CP-A5 が同時発現した場合 CP-A5 の結合が観察された。

図5 アミラーゼ発現抑制株の解析。A、アミラーゼ遺伝子発現抑制の確認。各遺伝子の発現抑制株(gs)から抽出した total RNA から逆転写の後に PCR を行い、各アミラーゼと RNA polymerase II の発現を検討した。B、培養上清(sup)と細胞内のアミラーゼ活性。各アミラーゼ遺伝子発現抑制株のアミラーゼ活性についてベクターコントロール(mock)を 100% とし、相マトリゲル侵入活性。各アミラーゼ遺伝子発現抑制株のマトリゲル対活性量を%で示した(\*,  $P < 0.05$ )。C、侵入活性を全アメーバ数を 100% とし、侵入した細胞の%で示した。

CPBF10 のリガンドとなる EHI\_153100 (amy-2), CPBF6 と 10 のリガンドとなる EHI\_023360 (amy-3)について検討を行った。それぞれの発現抑制株を作成し(図 5 A) アミラーゼ活性を評価した。amy-2 遺伝子発現抑制株の上清中のアミラーゼ活性が低下したが、他の株では変化は見られなかった(図 5 B) amy-1, amy-2 発現抑制株についてマトリゲル侵入活性の評価を行った。また、CPBF2 リガンドの amy-1 と活性に変化のあった amy-2 についてマトリゲル侵入活性を評価した(図 5 C)。しかしベクターコントロールとの差は観察されなかった。さらに  $\alpha$ -amylase をリガンドとする CPBF2, 6, 10 の遺伝子発現抑制株についてアミラーゼ活性(図 6 A) と CP 活性(図 6 B)を測定した。CPBF 6 遺伝子発現抑制株で細胞内アミラーゼ活性が有意に上昇した以外有意な変化は観察されなかった。以上より CPBF2 遺伝子発現抑制株でのマトリゲル侵入の低下はリガンドとなるアミラーゼとは独立した現象であると結論した。

CPBF2 のマトリゲル侵入活性への関与がリソソーム酵素のレセプターとしての機能と独立している可能性が示唆されたため、CPBF2 遺伝子発現抑制株の性状解析を行った。マトリゲルへの侵入には細胞接着能力、運動能力が関与すると考え、コラーゲンコートプレートへの接着、細胞表面分子の発現パターン、運動能力を評価した。まず CPBF1, 2 遺伝子発現抑制株について、コラーゲンプレートへ播種したアメーバを 40 分後に温和に洗い、残った細胞数を計測したところ、コントロールと比較して接着性が上昇していた。しかし同時に検討した CPBF1 遺伝子発現抑制株も接着性の上昇があったため、CPBF2 特異的な現象ではないと考えられた。細胞表面分子をピオチン化し、SDS-PAGE を行いパターンの変化を検討したが差は見いだせなかった。さらに細胞運動について、ランダムな移動速度はベクターコントロール、CPBF1 遺伝子発現抑制株、CPBF2 遺伝子発現抑制株、それぞれ  $0.29 \pm 0.10 \mu\text{m}/\text{sec}$ 、 $0.33 \pm 0.11 \mu\text{m}/\text{sec}$ 、 $0.09 \pm 0.03 \mu\text{m}/\text{sec}$  であり、CPBF2 遺伝子発現株に有意な運動能力の低下が観察された(図 7)。

本研究からリソソーム酵素輸送受容体に細胞運動制御という新しい機能を見いだした。今後、詳細な分子メカニズムの解明が必要である。

## 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 8 件)

Mori M, Tsuge S, Fukasawa W, Jeelani G, Nakada-Tsukui K, Nonaka K, Matsumoto A, Ōmura S, Nozaki T, Shiomi K. Discovery of antiamebic compounds that inhibit cysteine synthase from the enteric parasitic protist *Entamoeba histolytica* by screening of microbial secondary metabolites. *Front Cell Infect Microbiol*. 査読有、8 巻、2018、409. doi: 10.3389/fcimb.2018.00409.

Hanadate Y, Saito-Nakano Y, Nakada-Tsukui K, Nozaki T. Identification and Characterization of the *Entamoeba Histolytica* Rab8a Binding Protein: A Cdc50 Homolog. *Int J Mol Sci*. 査読有、19 巻、2018、pii: E3831. doi: 10.3390/ijms19123831.

Nakada-Tsukui K, Sekizuka T, Sato-Ebine E, Escueta-de Cadiz A, Ji DD, Tomii K, Kuroda M, Nozaki T. AIG1 affects in vitro and in vivo virulence in clinical isolates of *Entamoeba histolytica*. *PLoS Pathog*. 査読有、14 巻、2018、e1006882. doi: 10.1371/journal.ppat.1006882.

Srivastava VK, Yadav R, Watanabe N, Tomar P, Mukherjee M, Gourinath S, Nakada-Tsukui K, Nozaki T, Datta S. Structural and thermodynamic characterization of metal binding in Vps29 from *Entamoeba histolytica*: implication in retromer function. *Mol Microbiol*. 査読有、106 巻、2017、562-581. doi: 10.1111/mmi.13836.

Somlata, Nakada-Tsukui K, Nozaki T. AGC family kinase1 participates in trogocytosis but not in phagocytosis in *Entamoeba histolytica*. *Nat Commun*. 査読有、8 巻、2017、101. doi: 10.1038/s41467-017-00199-y.

Kazama M, Ogiwara S, Makiuchi T, Yoshida K, Nakada-Tsukui K, Nozaki T, Tachibana H. Behavior of DNA-lacking mitochondria in *Entamoeba histolytica* revealed by organelle transplant. *Sci Rep*. 査読有、7 巻、2017、44273. doi: 10.1038/srep44273.

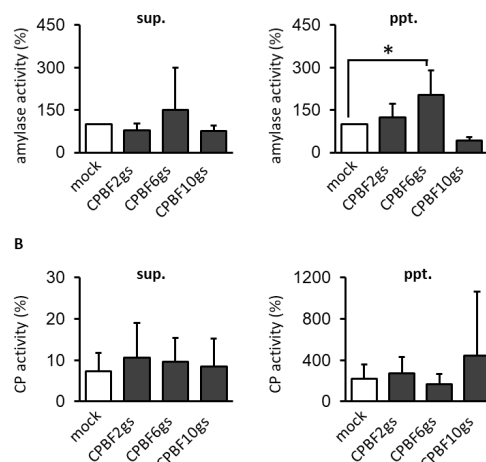


図 6 CPBF2, 6, 10 遺伝子発現抑制株のアミラーゼ活性と CP 活性の評価。培養上清(sup)と細胞内 (ppt) のアミラーゼ活性 (A) と CP 活性 (B) をそれぞれの遺伝子発現抑制株で評価した (\*,  $P < 0.05$ )。ベクターコントロールでの活性を 100%とした相対活性値を示す。

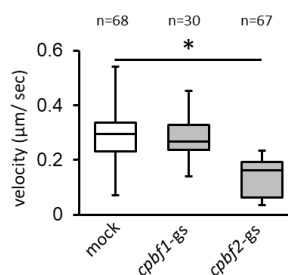


図 7 細胞運動能力の評価。Cell tracker green で染色した各細胞株について共焦点レーザー顕微鏡で動画を撮影し、細胞の重心の移動速度を算出した (\*,  $P < 0.05$ )。

Hanadate Y, Saito-Nakano Y, Nakada-Tsukui K, Nozaki T. Endoplasmic reticulum-resident Rab8A GTPase is involved in phagocytosis in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Cell Microbiol. 査読有、18 巻、2016、1358-73. doi: 0.1111/cmi.12570.

Nakada-Tsukui K, Nozaki T. Immune response of amebiasis and immune evasion by *Entamoeba histolytica*. Front Immunol. 査読有、7 巻、2016、175. doi: 10.3389/fimmu.2016.00175.

〔学会発表〕(計 25 件)

渡辺菜月、野崎智義、津久井久美子、腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおけるホスファチジルイノシトール 3 - リン酸エフェクター、sorting nexin は貪食制御に関与する 第 8 8 回日本寄生虫学会大会 2019

Kumiko Nakada-Tsukui, Shinji Izumiyama, Chelsea Marie, William A. Petri, Yasuaki Yanagawa, Koji Watanabe, Seiki Kobayashi, and Tomoyoshi Nozaki, Genomic and bioinformatic analyses of virulence-associated genome modifications in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 21th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim, 2019

Kumiko Nakada-Tsukui, Kumiko Shibata, Eri Miyamoto, Tetsuo Hashimoto, Tomoyoshi Nozaki, Identification and characterization of Atg5-12/16 complex in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. ASCB|EMBO 2018 meeting, 2018

津久井久美子、腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおける Atg5-12/16 複合体の機能解析、第 11 回オートファジー研究会、2018

津久井久美子、渡辺菜月、前濱朝彦、野崎智義、赤痢アメーバ原虫のホスファチジルイノシトールシグナルと貪食胞成熟の分子機構、第 91 回日本生化学会大会、2018

津久井久美子、渡辺菜月、前濱朝彦、野崎智義、赤痢アメーバ原虫のホスファチジルイノシトールシグナルと貪食の分子機構、第 2 6 回分子寄生虫学ワークショップ/第 1 6 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2018

Kumiko Nakada-Tsukui, Shinji Izumiyama, Kentaro Tomii, Tomoyoshi Nozaki, Genome analysis of the AIG1 family protein genes in *Entamoeba histolytica*. The 15th Taiwan -Japan Symposium on Communicable Diseases and Prevention, 2018

Natsuki Watanabe, Tomoyoshi Nozaki, Kumiko Nakada-Tsukui, Functional analysis of phosphatidylinositol 3-phosphate effector, sorting nexins in *E. histolytica*. 14th International Congress of Parasitology ICPA, 2018

Kumiko Nakada-Tsukui, Natsuki Watanabe, Kumiko Shibata, Ratna Whayuni, Yumiko Saito-Nakano, Tetsuo Hashimoto, Tomoyoshi Nozaki, Uniqueness and conservation of the Atg8 conjugation system in *Entamoeba histolytica*. 14th International Congress of Parasitology ICPA, 2018

Somlata, 津久井久美子、野崎智義、AGC family kinase 1 participates in trogocytosis but not in phagocytosis in *Entamoeba histolytica*, 第 70 回日本細胞生物学会 (日本発生物学会合同大会) 2018

Natsuki Watanabe, Tomoyoshi Nozaki, Kumiko Nakada-Tsukui, Functional analysis of PI3P effector candidate SNX in *Entamoeba histolytica*, XIX International Seminar on Amebiasis 2018

Somlata, 津久井久美子、野崎智義、腸管寄生性原虫赤痢アメーバの AGC ファミリーキナーゼ 1 はトロゴサイトーシスに特異的に関与する、第 8 7 回日本寄生虫学会大会、2018

Natsuki Watanabe, Tomoyoshi Nozaki, Kumiko Nakada-Tsukui Functional analysis of PI3P effector candidate SNX in *Entamoeba histolytica*. ASCB|EMBO 2017 meeting, 2017

宮本絵梨、野崎智義、津久井久美子、腸管寄生性原虫赤痢アメーバオートファジー関連タンパク質 Atg8 による解糖系酵素制御、2017 年度生命科学系学会合同年次大会・第 40 回日本分子生物学会年会・第 90 回日本生化学会大会、2017

Kumiko Nakada-Tsukui, Tsuyoshi Sekizuka, Emi Sato-Ebine, Aleyla Escueta-de Cadiz, Dar-der Ji, Makoto Kuroda, Tomoyoshi Nozaki, Identification of an AIG1 gene as a novel virulence-associated gene by comparative genomics of *Entamoeba histolytica* clinical isolates. Anaerobic protists: Integrating parasitology with mucosal microbiota and immunology, 2017

渡辺菜月、野崎智義、津久井久美子、腸管寄生性原虫 *Entamoeba histolytica* における PI3P のエフェクター候補タンパク質の同定、第 69 回日本細胞生物学会大会、2017

宮本絵梨、野崎智義、津久井久美子、腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおけるオートファジー関連タンパク質 Atg8 による解糖系酵素の制御、第 69 回日本細胞生物学会大会、2017

Kumiko Nakada-Tsukui, Eri Miyamoto, Natsuki Watanabe, Ratna Wahyuni, Yumiko Saito-Nakano, Kumiko Shibata, Tetsuo Hashimoto, Tomoyoshi Nozaki, Functional analysis of an autophagy-related protein Atg8 in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. The 8th international symposium on autophagy, 2017

丸茂このみ、野崎智義、津久井久美子、赤痢アメーバにおける  $\alpha$ -amylase 輸送タンパク質の解析、第 86 回日本寄生虫学会大会、2017

宮本絵梨、野崎智義、津久井久美子、赤痢アメーバにおけるオートファジー関連タンパク質 Atg8 による解糖系酵素の制御、第 86 回日本寄生虫学会大会、2017

② Kumiko Nakada-Tsukui, Tsuyoshi Sekizuka, Emi Sato-Ebine, Aleyla Escueta, Dar-der Ji, Makoto

Kuroda, and Tomoyoshi Nozaki, Identification of an AIG1 gene as a novel virulence-associated gene by comparative genomics of *Entamoeba histolytica* clinical isolates. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 19th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim, 2017

② Kumiko Nakada-Tsukui, Eri Miyamoto, Natsuki Watanabe, Kumiko Shibata, Ratna Wahyuni, Yumiko Saito-Nakano, Tomoyoshi Nozaki, Atg8 is involved in endosome/phagosome maturation in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Cell Biology 2016 ASCB annual meeting, 2016

③ 津久井 久美子、渡辺 菜月、宮本 絵梨、Ratna Wahyuni、柴田 久美子、中野 由美子、富井 健太郎、野崎 智義、赤痢アメーバ原虫における Atg8 を介した貪食胞成熟の分子機構、第 39 回日本分子生物学会年会、2016

④ Kumiko Nakada-Tsukui, Functional analysis of autophagy protein Atg8 in *Entamoeba histolytica*. Conference on Amoebiasis, AMOEBAC meeting, 2016.

⑤ 津久井久美子、柴田久美子、丸茂このみ、渡辺菜月、宮本絵梨、Ratna Wahyuni、中野由美子、野崎智義、腸管寄生性原虫赤痢アメーバの貪食胞成熟の分子機構、第 24 回分子寄生虫学ワークショップ/第 14 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

○取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

### (2)研究協力者

研究協力者氏名: 丸茂このみ、渡辺菜月、宮本絵梨

ローマ字氏名: Konomi MARUMO, Natsuki WATANABE, Eri MIYAMOTO

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。