

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	免疫機構を制御する微生物由来化合物の化学合成と機能解析および新規制御分子の創製
研究機関・部局・職名	大阪大学・大学院理学研究科・准教授
氏名	藤本ゆかり

1. 当該年度の研究目的

免疫機構を制御する微生物由来化合物について下記の目的で研究を行う。すなわち、細菌の分泌性免疫刺激物質の解析については、特に *Bacillus* 属細菌および酢酸菌等に含まれる自然免疫を活性化する天然 Nod1 リガンド解析を行う。また、免疫を活性化する分子として、細菌細胞壁成分ペプチドグリカンの効率的合成法開発・ライブラリ構築を行うとともに、他の微生物由来糖脂質として、特異な活性を持つ化合物の合成を進める。また、確立した合成法を基盤として機能解析のため分子プローブとして用いる標識化合物を合成する。獲得免疫の制御を目指した複合型分子については合成を行い構造と活性についての知見を得ることを目指す。

2. 研究の実施状況

下記のそれぞれの項目について研究を実施した。すなわち、細菌の分泌性免疫刺激物質の解析については、継続して *Bacillus* 属細菌および酢酸菌等に含まれる自然免疫を活性化する天然 Nod1 リガンド解析を行うと共に、*Bacillus subtilis* に見出された分子構造について、関連構造の化学合成を行い Nod1 刺激活性を観測した。

細菌細胞壁成分ペプチドグリカンの化学合成については、種々の効率的合成法開発を行った。液相法での合成法開発を行うとともに、ペプチドグリカンの部分構造であるフラグメント・ライブラリを構築し、数種のペプチドグリカンを認識するタンパク質の結合・認識構造を明らかにした。また、得られた合成化合物・手法を用いて、同時に多くの解析を可能とするアレイ化のための検討を行った。また、Nod1、Nod2 生物活性を維持した標識体の合成に成功したことから、今後の細胞内/生体内イメージング・細胞内認識機構の解析に用いる予定である。

また、他の微生物由来糖脂質として、寄生性細菌 (*Helicobacter pylori*, *Porphyromonas gingivalis*) 由来リポ多糖部分構造分子群の合成に成功するとともに、選択的サイトカイン活性化と構造との相関を見出した。また、赤痢アメーバ *E. histolytica* 由来イノシトールリン脂質の合成法について、必要な合成手法の確立を行ったほか、細菌特有の脂質構造の化学合成法開発を行った。

獲得免疫の制御を目指した複合型分子の開発についても進めているが、複合化の手法の開発を行うとともに、複合型分子の構造と活性についての知見を得た。

3. 研究発表等

雑誌論文 計 8 件	<p>(掲載済み一査読有り) 計 7 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Fujimoto, Y.</u>, Pradipta, A. R., Inohara, N., Fukase, K., Peptidoglycan as Nod1 ligand; Fragment structures in the environment, chemical synthesis, and their innate immunostimulation. <i>Nat. Prod. Rep.</i> 2012, 29, 568-579. 2. <u>Fujimoto, Y.</u>, Fukase, K., Structures, Synthesis, and Human Nod1 Stimulation of Immunostimulatory. Bacterial Peptidoglycan Fragments in the Environment. <i>J. Nat. Prod.</i> 2011, 74, 518-25. 3. Shimoyama, A., Saeki, A., Tanimura, N., Tsutsui, H., Miyake, K., Suda, Y., <u>Fujimoto, Y.</u>, Fukase, K., Chemical synthesis of <i>Helicobacter pylori</i> lipopolysaccharide partial structures and their selective proinflammatory response. <i>Chem. Eur. J.</i> 2011, 17, 14464-14474. 4. Shimoyama, A., <u>Fujimoto, Y.</u>, Fukase, K., Stereoselective glycosylation of 3-deoxy-D-manno-2-octulosonic acid (Kdo) with batch and microfluidic methods. <i>Synlett</i> 2011, 16, 2359-2362. 5. Nishio, H., Kanno, S., Onoyama, S., Ikeda, K., Tanaka, T., Kusahara, K., <u>Fujimoto, Y.</u>, Fukase, K., Sueishi, K. Hara, T. Nod1 ligands induce site-specific vascular inflammation. <i>Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.</i>, 2011, 31, 1093-1099. 6. Sawahata, R., Shime, H., Yamazaki, S., Inoue, N., Akazawa, T., <u>Fujimoto, Y.</u>, Fukase, K., Matsumoto, M., Seya, T. Failure of mycoplasma lipoprotein MALP-2 to induce NK cell activation through dendritic cell TLR2. <i>Microbes Infect.</i> 2011, 13, 350-358. 7. Fukase, K., <u>Fujimoto, Y.</u>, Shimoyama, A., Tanaka, K., Synthesis of Bacterial Glycoconjugates and Their Bio-functional Studies in Innate Immunity. <i>J. Synth. Org. Chem., Jpn.</i>, 2012, 70, 113-130. <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Fujimoto, Y.</u>, Shimoyama, A., Suda, Y., Fukase, K. Synthesis and immunomodulatory activities of <i>Helicobacter pylori</i> lipophilic terminus of lipopolysaccharide including lipid A. <i>Carbohydrate Research</i>, 2012, in press.
会議発表 計 33 件	<p>専門家向け 計 33 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 第 38 回有機反応懇談会 (大阪 2011.8.3.) 免疫機構制御に関わる微生物由来化合物の合成と機能 <u>藤本ゆかり</u> (招待講演) 2. The 14th Asian Chemical Congress 2011 (Bangkok, Thailand 2011.9.5-8) Innate immune stimulatory components from bacteria: Structure elucidation, chemical synthesis and functions <u>Yukari Fujimoto</u> (招待講演) 3. 第 14 回生命化学研究会 (白浜 2011.12.3) 細菌由来の複合糖質; 合成法開発と自然免疫機構制御のためのアプローチ <u>藤本ゆかり</u> (招待講演) 4. 第 17 回エンドトキシン・自然免疫研究会 (西宮 2011.12.10) 寄生性細菌のリピド A の網羅的合成とサイトカイン誘導活性 <u>藤本ゆかり</u> (招待講演) 5. Gordon Research Conference –Carbohydrate (Waterville, USA 2011.6.19-24) Synthesis of glycoconjugates from bacteria for regulation of immune system. <u>Y. Fujimoto</u>, A. Shimoyama, A. Saeki, Y. Kajiki, K. Fukase 6. The 16th edition of the European Carbohydrate Symposium (Eurocarb 16) (Sorrento, Italy 2011.7.3-7) Synthesis of glycoconjugates from bacteria for regulation of immune system. <u>Y. Fujimoto</u> 7. 関西グライコサイエンスフォーラム (大阪 2011.5.14) 自然免疫受容体 Nod1/Nod2 リガンド標識体の合成と機能～細菌細胞壁ペプチドグリカンによる免疫活性化機構解明を目指して～ <u>藤本勝将</u>, 下山敦史, 橋本雅仁, HEINE Holger, 長谷川瑞穂, 猪原直弘, <u>藤本ゆかり</u>, 深瀬浩一 8. 日本ケミカルバイオロジー学会 第 6 回年会 (東京 2011.5.23-25) ペプチドグリ

	<p>カン部分構造を含む免疫アジュバント複合体 の創製 加治木泰範、勝本麻美、瀬谷司、猪原直弘、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>9. 日本ケミカルバイオロジー学会 第 6 回年会 (東京 2011.5.23-25) 免疫制御機構解明を目指した <i>P. gingivalis</i> 由来リピド A の網羅的合成 佐伯昭典、笠松千郁、下山敦史、来山直弘、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>10. 第 46 回 天然物化学談話会 (静岡 2011.7.7-9) 寄生性細菌由来リポ多糖部分構造群の網羅的合成と機能 下山敦史、佐伯昭典、来山直弘、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>11. 第 46 回 天然物化学談話会 (静岡 2011.7.7-9) 自然免疫受容体 Nod1/Nod2 によるリガンド認識機構解明を目指した蛍光標識体の合成と機能 藤木勝将、下山敦史、橋本雅仁、HEINE Holger、長谷川瑞穂、猪原直弘、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>12. 27th International Symposium on The Chemistry of Natural Products and 7th International Conference on Biodiversity (Brisbane, Queensland, Australia 2011.7.10-15) Natural ligands for innate immune receptor Nod1: identification from bacterial supernatants and elucidation of biological functions Ambara R. Pradipta, Akiko Kawasaki, Mizuho Hasegawa, Naohiro Inohara, <u>Yukari Fujimoto</u>, Koichi Fukase</p> <p>13. 27th International Symposium on The Chemistry of Natural Products and 7th International Conference on Biodiversity (Brisbane, Queensland, Australia 2011.7.10-15) Synthesis of <i>Entamoeba histolytica</i> inositol phospholipids which activate NKT cell Daichi Umegaki, Masaki Sato, Takanori Iwasaki, Nobuaki Kambe, <u>Yukari Fujimoto</u>, Koichi Fukase</p> <p>14. 第 30 回日本糖質学会年会 (長岡 2011.7.11-13) 複合糖質合成を指向した新規固相合成法の開発 角永悠一郎、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>15. 第 30 回日本糖質学会年会 (長岡 2011.7.11-13) 認識タンパク質探索・解析を目指したペプチドグリカン・フラグメントライブラリ構築 王 宁、黄 正元、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>16. 第 38 回有機反応懇談会 (大阪 2011.8.3.) <i>Helicobacter pylori</i> リポ多糖部分構造の合成と機能解析 来山直弘、下山敦史、佐伯昭典、生地哲平、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一 (ポスター賞)</p> <p>17. 第 38 回有機反応懇談会 (大阪 2011.8.3.) 免疫調整活性複合糖質の複合化を目指した糖 6 位水酸基選択的酸化反応の検討 向坂菜摘、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>18. 第 28 回有機合成化学セミナー (天童 2011.8.31.-9.2) 複合糖質合成を指向した新規固相合成法の開発 角永悠一郎、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>19. 第 28 回有機合成化学セミナー (天童 2011.8.31.-9.2) meso-ジアミノピメリン酸誘導体の効率的合成および Nod1 リガンドの合成 松尾裕介、Ambara R. Pradipta、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>20. 31th Naito Conference (Sapporo 2011.9.13-16) Immunoregulatory bacterial glycoconjugates; Chemical synthesis and functions Yasunori Kajiki, Mami Katsumoto, Naohiro Inohara, Tsukasa Seya, <u>Yukari Fujimoto</u>, Koichi Fukase</p> <p>21. 第 25 回生体機能関連化学部会若手フォーラム (大阪 2011.9.23) 細菌細胞壁ペプチドグリカンによる免疫活性化機構解明を目指した Nod1/Nod2 リガンド蛍光標識体の合成 藤木勝将、下山敦史、Heine Holger、長谷川瑞穂、猪原直弘、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>22. 第 53 回 天然有機化合物討論会 (大阪 2011.9.27-29) 免疫調節作用制御を目指した寄生性細菌由来リポ多糖部分 構造の集積的合成法の開発と機能解析 下山敦史、佐伯昭典、来山直弘、笠松千郁、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>23. The Seventh International Symposium on Integrated Synthesis (ISIS-7) (Kobe 2011.10.9-10) Solid-phase synthesis of glycoconjugates Y. Kadonaga, <u>Y. Fujimoto</u>, K. Fukase</p> <p>24. The 3rd Asian Communications on Glycobiology and Glycotechnology (Shanghai,</p>
--	---

	<p>China 2011.10.27-29) Synthesis of lipopolysaccharide partial structures of parasitic bacteria; elucidation of their immunomodulating function K. Fukase, A. Shimoyama, A. Saeki, N. Kitayama, C. Kasamatsu, <u>Y. Fujimoto</u></p> <p>25. 第 31 回有機合成若手セミナー「明日の有機合成を担う人のために」(京都 2011.11.16) 寄生性細菌 <i>P. gingivalis</i> 由来リポド A の網羅的合成とその免疫刺激活性 佐伯昭典、笠松千郁、下山敦史、來山直弘、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>26. 日本化学会第 92 春季年会(横浜 2012.3.25-28) 自然免疫活性化物質と発酵食品 PRADIPTA Ambara Rachmat、<u>藤本ゆかり</u>、橋本雅仁、管 慎太郎、重久 浩、深瀬浩一</p> <p>27. 日本化学会第 92 春季年会(横浜 2012.3.25-28) ペプチドグリカン・フラグメントライブラリ構築と受容体認識解析 王 寧、黄 正元、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>28. 日本化学会第 92 春季年会(横浜 2012.3.25-28) Nod1 によるペプチドグリカン認識機構解明を目指した標識化合物の合成と機能 藤木勝将、長谷川瑞穂、猪原直弘、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>29. 日本化学会第 92 春季年会(横浜 2012.3.25-28) ペプチドグリカンの新規固相合成法の開発 角永悠一郎、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>30. 日本化学会第 92 春季年会(横浜 2012.3.25-28) 寄生菌型リポド A の合成と特異な生物活性(1)ーテトラアシル型 <i>H. pylori</i> リポド A 來山直弘、下山敦史、佐伯昭典、生地哲平、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>31. 日本化学会第 92 春季年会(横浜 2012.3.25-28) 寄生菌型リポド A の合成と特異な生物活性(2)ー<i>P. gingivalis</i> リポド A 佐伯昭典、下山敦史、笠松千郁、來山直弘、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>32. 日本化学会第 92 春季年会(横浜 2012.3.25-28) 酵素反応を用いた <i>meso</i>-diaminopimelic acid 誘導体の効率的合成およびペプチドグリカン・フラグメント合成への展開 松尾裕介、PRADIPTA Ambara Rachmat、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>33. 日本化学会第 92 春季年会(横浜 2012.3.25-28) 複合化・標識化を指向したヘキソース 6 位選択的酸化反応とその展開 向坂菜摘、<u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一</p> <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図書 計 2 件</p>	<p>1. <u>藤本ゆかり</u>、深瀬浩一; アジュバント開発研究の新展開 “アジュバントとしての細菌表層成分分子: リポ多糖/リポドA、ペプチドグリカン、リポペプチド” 石井健・山西弘一編, シーエムシー出版, 2011 年, pp. 66-73 (8 page). 総ページ数 249page, ISBN 978-4-7813-0405-2.</p> <p>2. 深瀬浩一、<u>藤本ゆかり</u>; 遺伝子医学 MOOK 21、最新ペプチド合成技術とその創薬研究への応用 “細菌由来ペプチドによる自然免疫活性化” 木曾義昭 編, メディカルドゥ, 2012 年 pp. 137-144 (8 page). 総ページ数 316 page, ISBN 978-4-944157-51-8.</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>大阪大学・最先端・次世代研究開発支援プログラム http://www.osaka-u.ac.jp/ja/research/program_next 大阪大学大型教育研究プロジェクト支援室・最先端・次世代研究開発支援プログラム http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/index_jisedai.html 藤本ゆかり (Yukari FUJIMOTO, Ph.D.) - 大阪大学大学院理学研究科 http://www.chem.sci.osaka-u.ac.jp/lab/fukase/fujimoto/</p>

様式19

<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>下記2件のサイエンスカフェを実施</p> <p>1) サイエンスカフェ「カフェ・オンザエッジ・ネクスト」“免疫は微生物を必要としている？～化学の目から見た身の回りの細菌と活性物質～” 日時・場所：2011. 11. 17、大阪(アートエリアB 1 (京阪電車中之島線「なにわ橋駅」地下1階コンコース) 対象者：一般向け、参加者数：約50名。内容：免疫の働きに影響をおよぼす微生物由来化合物について、身近な微生物を切り口に、免疫と微生物の不思議な関係に迫る。</p> <p>2) サイエンスカフェ”自然免疫を活性化する分子－微生物由来化合物とその機能－” 日時・場所：2011. 11. 22、京都(同志社高等学校)、対象者：高校生、参加者数：約20名。内容：自然免疫を活性化する分子について、その構造と機能の紹介。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	121,000,000	40,292,000	0	80,708,000	0
間接経費	36,300,000	12,087,600	0	24,212,400	0
合計	157,300,000	52,379,600	0	104,920,400	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	39,500,524	0	0	39,500,524	39,500,524	0	0
間接経費	11,968,879	0	0	11,968,879	6,371,393	5,597,486	0
合計	51,469,403	0	0	51,469,403	45,871,917	5,597,486	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	34,683,117	質量分析装置、合成/分析用試薬・器具
旅費	1,694,838	研究成果発表旅費(ヨーロッパ糖質学会他)
謝金・人件費等	2,518,432	博士研究員謝金
その他	604,137	学会参加費、投稿論文校正費、サンプル送付費
直接経費計	39,500,524	
間接経費計	6,371,393	
合計	45,871,917	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
超高精度質量分析 システム1式	ブルカー・ダルトニク ス(株) micrOTOFQII	1	29,956,500	29,956,500	2011.9.26	大阪大学
安全キャビネット1 式	三洋電機(株) MHE-132AJ他	1	1,461,600	1,461,600	2011.11.25	大阪大学