

**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 25 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、特に特定の受容体を活性化して免疫調節に関わると考えられ腸内細菌の表層成分/分泌成分についての解析を行う。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・ライブラリ構築および認識タンパク質解析を行うとともに、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、これまでに得た知見に基づき発展的に展開し、腸内の *Clostridium* 菌あるいは *Alcaligenes* 菌の分泌成分あるいは表層成分の生物活性解析を行った。**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い、結核菌特有の構造に着目し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について結核菌型を含む網羅的な化合物ライブラリを構築した。より長い糖鎖構造を含む PGN 部分構造合成のため、固相合成法を確立した。マイクロアレイのプロトタイプ作成に成功し、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するとともに DAP 型 PGN 部分構造のライブラリおよびアレイ用リンカー導入を可能とする合成法開発を行った。また、他の微生物由来糖脂質として、GlcN3N 構造の糖を骨格構造として有するリポ多糖部分構造あるいはフラジェリン N 結合型糖鎖について合成法検討を行い糖鎖骨格部位の合成法を確立した。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、選択的なリン酸化法の開発を行うとともに細菌特有の脂質構造の化学合成法開発を行い、全合成を達成するとともに類縁体合成を行い生物活性の評価を行った。また他の生物種のイノシトールリン脂質合成にも展開可能な方法の開発を行った。**獲得免疫の制御を目指した複合型分子の開発**については、複合化の手法の開発・合成を行うとともに、活性化機構解析のための化合物合成、解析方法開発を行った。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 7 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 5 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Uchinashi, Y., Tanaka, K., Manabe, Y., <u>Fujimoto, Y.</u>, Fukase, K. Practical and Efficient Method for α-Sialylation with an Azide Sialyl Donor Using a Microreactor. <i>J. Carbohydrate Chem.</i> 2014, <i>33</i>, 55–67. 2. <u>Fujimoto, Y.</u>, Kajiki, Y., Kawahara, Y., Katsumoto M., Fukase, K. Bacterial Lipopeptides as Toll-Like Receptor 2 (TLR2) Ligands; Synthesis, Function and Its Application. <i>Peptide Science</i>, 2014, <i>2013</i>, 41–42. 3. An, J. H., Kurokawa, K., Jung, D. J., Kim, M. J., Kim, C. H., <u>Fujimoto, Y.</u>, Fukase, K., Coggeshall, K. M., Lee, B. L. Human SAP is a novel peptidoglycan recognition protein that induces complement-independent phagocytosis of Staphylococcus aureus. <i>J Immunol.</i> 2013, <i>191</i>, 3319–3327. 4. <u>Fujimoto, Y.</u>, Mitsunobe, K., Fujiwara, S., Mori, M., Hashimoto, M., Suda, Y., Kusumoto, S., Fukase, K. Synthesis and biological activity of phosphoglycolipids from <i>Thermus thermophilus</i>. <i>Org. Bioorg. Chem.</i> 2013, <i>11</i>, 5034–5041. 5. Hashimoto, M., Obara, K., Ozono, M., Furuyashiki, M., Ikeda, T., Suda, Y., Fukase, K., <u>Fujimoto, Y.</u>, Shigehisa, H. Separation and characterization of the immunostimulatory components in unpolished rice black vinegar (kurozu). <i>J. Biosci. Bioeng.</i> 2013, <i>116</i> (6), 688–696. <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 6. Kadonaga, Y., Wang, N., <u>Fujimoto, Y.</u>, Fukase, K. Solid-phase Synthesis of Bacterial Cell Wall Peptidoglycan Fragments. <i>Chem. Lett.</i> 2014, <i>in press</i>. 7. Tanimura, N., Saitoh, S.I., Ohto, U., Akashi-Takamura, S., <u>Fujimoto, Y.</u>, Fukase, K., Shimizu, T., Miyake, K. The attenuated inflammation of MPL is due to the lack of CD14-dependent tight dimerization of the TLR4/MD2 complex at the plasma membrane. <i>Int. Immunol.</i>, 2014 <i>in press</i>.
<p>会議発表 計 31 件</p>	<p>専門家向け 計 31 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. The 23rd French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry (FJS-2013) “Practical Synthesis of alpha-Sialosides under Microfluidic Conditions” Y. Uchinashi, K. Tanaka, Y. Manabe, Y. Fujimoto, and K. Fukase (ANA クラウンプラザホテル長崎グラバーヒル、長崎、2013.5.12–15) 2. 理化学研究所セミナー “微生物表層分子の認識：鍵分子としての複合糖質/脂質の合成と機能解析 Recognition of microbial cell surface molecules; Synthesis and functions of lipid/glycoconjugates as the key components” 藤本ゆかり (理化学研究所、和光、2013.5.14). 3. Nakanishi 88th Birthday Symposium “Synthesis and Biofunctions of Nod1/Nod2 Ligands from Peptidoglycan; Innate Immunostimulatory Glycoconjugates of Bacterial Cell Wall” Yukari Fujimoto (Columbia University, New York, アメリカ、2013.5.18) 4. The 22nd International Glycoconjugates Symposium (Glyco22), “Bacterial Cell Wall Peptidoglycan Fragment Library/Array for Investigation of Their Protein Recognition.” Y. Fujimoto, N. Wang, A. Hirata, K. Nokihara, K. Fukase. (大連、中国、2013.6.23–27). 5. The 22nd International Glycoconjugates Symposium (Glyco22), “Synthesis of Mycobacterium Peptidoglycan (PGN) Fragments Containing N-glycolylmuramic Acid” Q. Wang, Y. Matsuo Y. Fujimoto, K. Fukase. (大連、中国、2013.6.23–27). 6. 第 48 回天然物化学談話会 “NKT 細胞刺激作用を有するイノシトールリン脂質の合成” 相羽俊彦, 佐藤昌紀, 梅垣大地, 田中慎二, 北村雅人, 岩崎孝紀, 神戸宣明, 藤本ゆかり, 深瀬浩一(アヤハレークサイドホテル、大津 2013.7.3–5). 7. 第 48 回天然物化学談話会 “細菌由来カルジオリピンの合成研究” 高松正之、浅田早織、藤本ゆかり、深瀬浩一(アヤハレークサイドホテル、大津 2013.7.3–5). 8. 第 48 回天然物化学談話会 “自然免疫受容体 TLR4/MD2 複合体の新規リガンド探索を目指した funiculosin 類縁体の解析と合成研究” 溝手啓介、佐伯昭典、藤本ゆかり、深瀬浩一(アヤハレークサイドホテル、大津 2013.7.3–5). 9. 第32回日本糖質学会年会”NKT 細胞刺激作用を有するイノシトールリン脂質の合成” 相羽俊彦、佐藤昌紀、梅垣大地、田中慎二、北村雅人、岩崎孝紀、神戸宣明、藤本ゆかり、深瀬浩一(大阪国際交流センター、大阪、2013.8.5–7). 10. 第32回日本糖質学会年会”Synthesis of Mycobacterium Peptidoglycan (PGN) Fragments Containing N-Glycolyl-muramic Acid” Qianqian Wang, Yusuke Matsuo, Yukari Fujimoto, Koichi Fukase(大阪国際交流センター、大

- 阪、2013.8.5-7).
11. 第55回天然有機化合物討論会“細菌細胞壁ペプチドグリカンのフラグメント構造ライブラリ/アレイ作成と認識タンパク質による被認識構造の探索” 王 寧、長谷川瑞穂、平田晃義、猪原直弘、軒原清史、藤本ゆかり、深瀬浩一(同志社大学、京都、2013.9.18-20).
 12. 第3回CSJ化学フェスタ2013“細菌由来カルジオリピンの合成研究” 高松正之、浅田早織、藤本ゆかり、深瀬浩一(タワーホール船堀、東京 2013.10.21-23).
 13. 第3回CSJ化学フェスタ2013“自然免疫受容体TLR4/MD-2複合体の新規リガンド創製を目指したインプレノイド脂質の構造解析と合成研究” 溝手啓介、佐伯昭典、本田裕恵、岡本直樹、木村隆仁、長井良憲、高津聖志、藤本ゆかり、深瀬浩一(タワーホール船堀、東京 2013.10.21-23)
 14. The 2nd Annual Conference of the International Chemical Biology Society (ICBS2013) “Molecular basis of bacterial recognition with the cell wall component peptidoglycan” Yukari Fujimoto, Ning Wang, Katsunori Fujiki, Naohiro Inohara, Koichi Fukase, (京都大学、京都、2013.10.7-9)
 15. 4th Modern Solid Phase Peptide Synthesis & its applications Symposium “Solid phase synthesis for bacterial cell wall peptidoglycan Fragments” Y. Kadonaga, Y. Fujimoto, K. Fukase, (シーサイドホテル舞子ビラ、神戸、2013.11.2-4)
 16. The 4th Asia-Pacific International Peptide Symposium (APIPS), in conjunction with the 50th Japanese Peptide Symposium (JPS) “Bacterial Lipopeptides as Toll-Like Receptor 2 (TLR2) Ligands; Synthesis, Function and Its Application” Yukari Fujimoto, Yasunori Kajiki, Yuki Kawahara, and Koichi Fukase, (ホテル阪急エキスポパーク、吹田、2013.11.6-8).
 17. The 4th Asia-Pacific International Peptide Symposium (APIPS), in conjunction with the 50th Japanese Peptide Symposium (JPS) “Molebular Probes for Toll-like receptor (TLR) 2; Synthesis and Function of Labeled Bacterial Lipopeptides” Yuki Kawahara, Yasunori Kajiki, Yukari Fujimoto and Koichi Fukase, (ホテル阪急エキスポパーク、吹田、2013.11.6-8).
 18. The 4th Asia-Pacific International Peptide Symposium (APIPS), in conjunction with the 50th Japanese Peptide Symposium (JPS) “Synthetic Study of Enterococcus faecalis Cell Wall Peptidoglycan Fragment” Hiroki Hasegawa, Ning Wang, Yukari Fujimoto, Koichi Fukase, (ホテル阪急エキスポパーク、吹田、2013.11.6-8).
 19. The 11th International Symposium on Organic Reaction (ISOR-11) “Synthetic Study of Microbial and Animal Glycans” Koichi Fukase, Yukari Fujimoto, Katsunori Tanaka, and Yoshiyuki Manabe (Taipei, 台湾、2013.11.19-22)
 20. The Eighth International Symposium on Integrated Synthesis (ISIS-8) “Synthesis of Inositol phospholipid, as an NKT cell activator” Toshihiko Aiba, Masaki Sato, Daichi Umegaki, Shinji Tanaka, Masato Kitamura, Takanori Iwasaki, Nobuaki Kambe, Yukari Fujimoto and Koichi Fukase (東大寺総合文化センター、奈良 2013.11.29-12.1)
 21. The First Osaka university-EPFL International Symposium, (Osaka) “Synthesis and Bio-imaging study of glycans towards immunoregulation” Koichi Fukase, Yukari Fujimoto, Yoshiyuki Manabe, and Katsunori Tanaka, (大阪大学、豊中 2013.12.2-4).
 22. The First Osaka university-EPFL International Symposium, (Osaka) “Fully Synthetic Self-Adjuvanting Sialyl-Tn Antigen Based Anticancer Vaccine” Tsung-Che Chang, Chun-Cheng Lin, Yoshiyuki Manabe, Yukari Fujimoto, Koichi Fukase, (大阪大学、豊中 2013.12.2-4)
 23. 第3回CSJ化学フェスタ2013“NKT細胞刺激作用を有するイノシトールリン脂質の合成” 相羽俊彦、佐藤昌紀、梅垣大地、田中慎二、北村雅人、岩崎孝紀・神戸宣明、藤本ゆかり、深瀬浩一(タワーホール船堀、東京 2013.10.21-23)
 24. 第3回コンビナトリアル科学研究推進体セミナー「糖鎖の構造と機能のシンポジウム」細菌表層の複合糖質：構造、化学合成とその免疫調節作用” 藤本ゆかり (東工大、東京、2014.3.11).
 25. 日本化学会第94春季年会 “Synthesis and Biological Activities of Mycobacterium Peptidoglycan (PGN) Fragments Containing MurNGlyc” Wang, Q., Matsuo, Y., Fujimoto, Y., Fukase, K.(名古屋大学、名古屋、2014.3.27-30).
 26. 日本化学会第94春季年会 “NKT細胞の選択的免疫応答を誘導する *Entamoeba histolytica* 由来イノシトールリン脂質の合成” 相羽俊彦、佐藤昌紀、梅垣大地、中川 翔、田中慎二、北村雅人、藤本ゆかり、深瀬浩一(名古屋大学、名古屋、2014.3.27-30).
 27. 日本化学会第94春季年会 “古細菌 *Methanococcus voltae* の鞭毛成分フラジェリンの N-結合型糖鎖の合成研究” 生地哲平、藤本ゆかり、深瀬浩一(名古屋大学、名古屋、2014.3.27-30).
 28. 日本化学会第94春季年会 “細菌由来カルジオリピンの合成研究” 高松正之、浅田早織、藤本ゆかり、深瀬浩一(名古屋大学、名古屋、2014.3.27-30).
 29. 日本化学会第94春季年会 “自然免疫受容体TLR2リガンドであるリポペプチドの蛍光分子プローブ開発と細胞内挙動解析” 河原佑紀、加治木泰範、藤本ゆかり、深瀬浩一(名古屋大学、名古屋、2014.3.27-30).

様式19 別紙1

	<p>30. 日本化学会第 94 春季年会 “<i>Enterococcus faecalis</i> 由来ペプチドグリカン部分構造の合成研究” 長谷川弘毅、王 寧、藤本ゆかり、深瀬浩一(名古屋大学、名古屋、2014.3.27-30).</p> <p>31. 日本化学会第 94 春季年会 “自然免疫受容体 TLR4/MD-2 複合体の新規リガンド創製を目指したイソプレノイド脂質の合成” 溝手啓介、佐伯昭典、本田裕恵、岡本直樹、木村隆仁、長井良憲、高津聖志、藤本ゆかり、深瀬浩一(名古屋大学、名古屋、2014.3.27-30).</p> <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図書 計 2 件</p>	<p>1. 藤本ゆかり, Ambara R. Pradipta, Ning Wang, 長谷川瑞穂、猪原直弘、深瀬浩一. エンドトキシン・自然免疫研究 16,「Nod1/Nod2 リガンドとしての細菌細胞壁ペプチドグリカン; 化学合成と免疫調節活性」, 三宅健介 監修, 医学図書出版, 2013, <i>in press</i>.</p> <p>2. 深瀬浩一、藤本ゆかり. 実験医学増刊 第三の生命鎖 糖鎖の機能と疾患「精密有機合成を基盤とする細菌由来複合糖質の機能解明」門松健治、遠藤玉夫、岡 昌吾、北川裕之編, 羊土社, 2013; pp. 1637-1643.</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</p> <p>(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</p> <p>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</p> <p>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>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>1)大阪大学 2013 年度 いちよう祭(2013/5/3 大阪大学)一般対象 約30名 「糖と分子認識—甘味料はなぜ甘い？」糖や甘味料を例にとり、受容体タンパク質が、形の似ている化合物を認識することを示すとともに、種々の甘味料の味を体験した。</p> <p>2) 第8回女子中高生のための関西科学塾 (2013/10/20 大阪大学)高校生対象 15 名 「“眠気を覚ます”物質を単離する」紅茶、お茶、コーヒーからカフェインの抽出を行い、その性質を観察した。</p> <p>3)大阪大学 2013 年度 待兼祭(2013/11/3 大阪大学)一般対象 約30名 「糖と分子認識—甘味料はなぜ甘い？」糖や甘味料を例にとり、受容体タンパク質が、形の似ている化合物を認識することを示すとともに、種々の甘味料の味を体験した。</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25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	105,725,000	15,275,000	0	0
間接経費	36,300,000	31,717,500	4,582,500	0	0
合計	157,300,000	137,442,500	19,857,500	0	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	2,172	15,275,000	0	15,277,172	15,276,991	181	0
間接経費	4,816,322	4,582,500	0	9,398,822	9,398,822	0	0
合計	4,818,494	19,857,500	0	24,675,994	24,675,813	181	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	9,360,054	極低温反応機、実験器具、試薬等
旅費	1,056,970	研究成果発表旅行(国際糖質学会(Dalian)等)
謝金・人件費等	2,878,896	派遣技術職員人件費
その他	1,981,071	学会参加費、学会誌投稿料、装置修理・点検代
直接経費計	15,276,991	
間接経費計	9,398,822	
合計	24,675,813	

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
極低温反応機	UCリアクター 1 式	1	757,050	757,050	2013.4.18	大阪大学