

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

平成 23 年度～平成 27 年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」
研究成果報告書概要

1 学校法人名 大阪医科薬科大学 2 大学名 大阪薬科大学

3 研究組織名 分子構造・機能解析学領域

4 プロジェクト所在地 大阪府高槻市奈佐原4丁目20番1号

5 研究プロジェクト名 組織的研究体系による次世代型感染症治療薬の開発

6 研究観点 研究拠点を形成する研究

7 研究代表者

研究代表者名	所属部局名	職名
辻坊 裕	微生物学研究室	教授

8 プロジェクト参加研究者数 11 名

9 該当審査区分 理工・情報 生物・医歯 人文・社会

10 研究プロジェクトに参加する主な研究者

研究者名	所属・職名	プロジェクトでの研究課題	プロジェクトでの役割
辻坊 裕	薬学部・教授	細菌の増殖機構に関する新規タンパク質の探索	標的タンパク質の特定
宮本 勝城	薬学部・准教授	細菌の増殖機構に関する新規タンパク質の探索	標的タンパク質の特定
土屋 孝弘	薬学部・講師	細菌の増殖機構に関する新規タンパク質の探索	標的タンパク質の特定
友尾 幸司	薬学部・准教授	細菌の増殖機構に関する新規タンパク質の構造解析および新規感染症治療薬の分子設計	標的分子の三次構造の提示
尹 康子	薬学部・准教授	細菌の増殖機構に関する新規タンパク質の構造解析および新規感染症治療薬の分子設計	標的分子阻害剤の三次構造の提示
箕浦 克彦	薬学部・准教授	細菌の増殖機構に関する新規タンパク質の構造解析および新規感染症治療薬の分子設計	標的分子阻害剤の三次構造の提示
福永 理己郎	薬学部・教授	細菌の増殖機構に関するタンパク質の機能解析および酵素科学的解析	標的分子のタンパク質化学的解析結果に基づく機能の提示
井上 晴嗣	薬学部・准教授	細菌の増殖機構に関するタンパク質の機能解析および酵素科学的解析	標的分子のタンパク質化学的解析結果に基づく機能の提示
藤井 忍	薬学部・講師	細菌の増殖機構に関するタンパク質の機能解析および酵素科学的解析	標的分子と阻害剤の相互作用における酵素学的解析結果の提示
三野 芳紀	薬学部・教授	細菌の無機元素輸送体を標的とする新規阻害剤の探索	無機元素輸送体の特定
佐藤 卓史	薬学部・講師	細菌の無機元素輸送体を標的とする新規阻害剤の探索	無機元素輸送体に対する標的分子阻害剤の特定

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

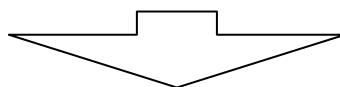
(共同研究機関等)			

<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
細菌の増殖機構に関する新規タンパク質の構造解析および新規感染症治療薬の分子設計	薬学部・教授	石田 寿昌	標的分子と阻害剤の相互作用に基づく阻害剤の分子設計

(変更の時期:平成 24 年 3 月 31 日)



新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割

11 研究の概要(※ 項目全体を10枚以内で作成)

(1) 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

近年、大腸菌 O-157 を病原体とする出血性大腸炎をはじめとする新興感染症、結核などの再興感染症、病院やデイケアセンター内などでの日和見感染症、さらには医療現場での抗菌薬の濫用が原因とも考えられる多剤耐性菌の発生など多くの問題から、新たな作用機作を有する新規抗菌薬の開発が待ち望まれている。今日使用されている多くの抗菌薬は、タンパク質や細胞壁等の生合成を阻害することにより細菌を殺滅する。当研究プロジェクトでは、細菌を殺滅するのではなく、宿主生体内での増殖を抑制する次世代型の新規抗菌薬を開発することを目的とする。すなわち、細菌の増殖機構の阻害へのアプローチとして、(1)増殖機構に関する新規タンパク質の特定とその機能阻害剤の探索、ならびに(2)シデロフォアなどの必須無機元素輸送体およびその機能阻害剤の探索を通して、従来の抗菌薬創製に係るアプローチとは異なる、新たな作用機作を有する新規感染症治療薬を開発する。

研究計画として、まず、重篤な敗血症の原因菌である *Vibrio vulnificus* の鉄欠乏下におけるプロテオーム解析を行い、ヒト体内での増殖に必要な標的タンパク質を探索し、特定する。既に明らかにしている標的タンパク質については、その構造および機能解析を行う。また、鉄および他の無機元素輸送体を標的とする阻害剤についても探索する。次に、それらの成果に基づき、種々の標的分子とその阻害剤との相互作用に関して、構造化学的、生化学的、および生物無機化学的解析を行い、得られた情報から最適な阻害剤を分子設計する。また、他の病原菌に対する新規標的分子やその阻害剤の探索は、申請期間中継続して行う。完成年度には、これまでの研究成果に基づき、候補となる一連の阻害剤の有効性を *in vitro* および *in vivo* で評価する。さらに、阻害剤の体内動態や代謝経路なども考慮に入れ、直ちに実用可能で新たな作用機作を有する新規感染症治療薬を開発する。

(2) 研究組織

研究代表者の所属研究室である微生物学研究室(3名)が中核となり、大阪薬科大学大学院・薬学研究科薬科学専攻の分子構造・機能解析学領域に所属する、薬品物理化学研究室(2名)、生化学研究室(3名)および薬品分析化学研究室(2名)によって実施されるため、プロジェクトを組織的に遂行し、効率よく研究成果を挙げることができる体制が整備されている。さらに、研究者のプロジェクトにおける役割を研究代表者が具体的に設定することによ

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

り、各自の目標および責任体制が明確にされている。プロジェクト開始当初は 2 名のポスドクを採用し、「細菌の増殖機構に関与する新規タンパク質の構造解析」、および「細菌の増殖機構に関与する新規タンパク質の探索」のテーマの基で本プロジェクト研究を円滑に推し進めることができた。また、プロジェクト構成員は、研究進捗状況ならびに研究成果を互いに共有し、最終目標である「細菌の増殖機構に関与する新規タンパク質の探索およびそれを標的とする感染症治療薬の開発」の達成を可能にするべく研究を進めている。

(3) 研究施設・設備等

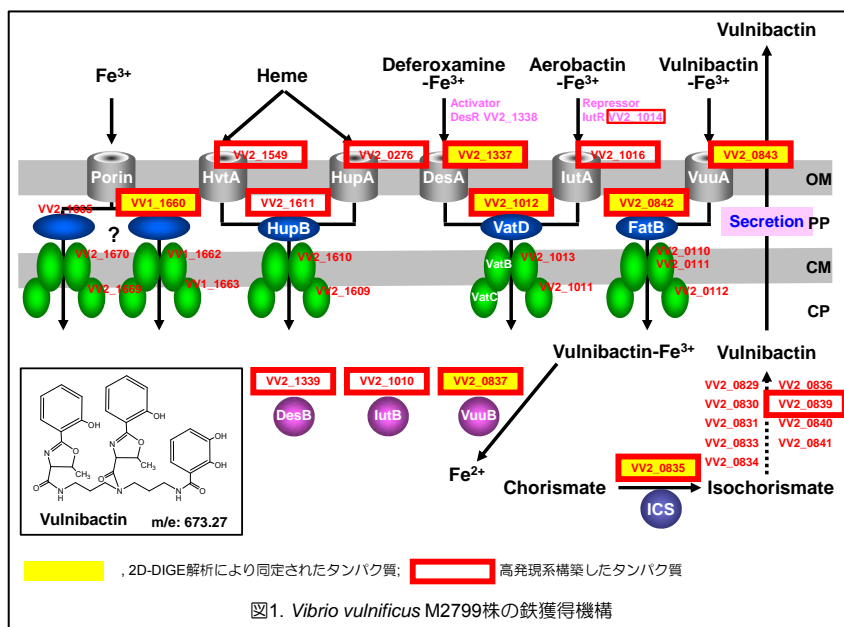
本プロジェクト研究を遂行する本学中央機器研究施設(総面積 706 m²)には、Ettan DIGE システム、MALDI TOF-MS、蛍光イメージアナライザー、X 線解析装置、円二色性分散計、Biacore T200、共焦点レーザースキャン顕微鏡に加えて、本プロジェクトで導入された、超高感度示差走査型熱量計(DSC)と超高感度等温滴定型熱量計(ITC)で構成される「生体高分子熱エネルギー解析システム」および 2012 年度私立学校施設整備費補助金で導入された、Applied Biosystems 3500 ジェネティックアナライザと StepOne Plus リアルタイム PCR システムで構成される「ハイスループット遺伝子発現解析システム」が新たに整備された。研究プロジェクトに参加する、ポスドクを含む 13 名の研究者が、本研究施設内の研究装置を各研究目的に応じて効率的に利用することにより、円滑にプロジェクトを遂行することができる。今回導入された研究装置「生体高分子熱エネルギー解析システム」の稼働時間は、進捗状況報告書提出時には 160 時間だったが、その後は 400 時間と利用時間が倍増し、本プロジェクト研究において重要な研究装置となっている。現在、8 名の研究者が活用している。

(4) 研究成果の概要 ※下記、13及び14に対応する成果には下線及び*を付すこと。

研究プロジェクトの計画や目的・意義と関連づけて、当初の目標をどれだけ達成したか記述するとともに、新たに得られた知見などについても具体的に記述してください。

臨床分離株 *Vibrio vulnificus* M2799 株の鉄獲得系タンパク質を網羅的に明らかにする目的で、プロテオーム解析

を行った。その結果、対数増殖前期、中期、後期に発現差異が認められたタンパク質のうち、それぞれ 18、31、26 種類のタンパク質を同定し、KEGG (<http://www.genome.jp/kegg/>)に基づいて機能分類を行った。それらのタンパク質遺伝子を、suicide vector である pKTN701 (Nishibuchi M, *et al.*, *Microb. Pathog.*, 11:453-460, 1991)に連結して相同組換えにより挿入変異株を作製し、鉄欠



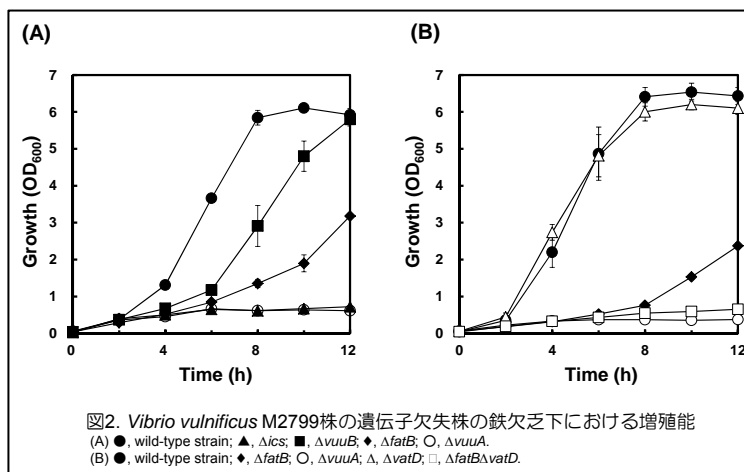
乏下における増殖能について検討した。その結果、 Δ FeADH (鉄依存性アルコール脱水素酵素、VV2_0211)株、 Δ VuuA (Vulnibactin-Fe³⁺外膜レセプター、VV2_0843)株、 Δ FatB (Vulnibactin-Fe³⁺結合タンパク質、VV2_0842)株、 Δ VuuB (Vulnibactin-Fe³⁺還元酵素、VV2_0837)株、 Δ ICS (Vulnibactin合成酵素、VV2_0835)株、および Δ VV2_1400 (オリゴエンドペプチダーゼ F)株は、鉄欠乏下において増殖能が顕著に抑制された(*1)。そこで、それら遺伝子産物の生理的役割を明らかにする目的で、また、多重変異株を作製する目的で、遺伝

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

子欠失株の作製を試みた。なお、図 1 にはプロテオーム解析で明らかにされた M2799 株の鉄取り込み機構を模式的に示している。

遺伝子欠失株の作製は、suicide vector pDM4 (Milton DL, *et al.*, J. Bacteriol., 178:1310-1319, 1996)を用いて行った。まず、鉄獲得機構に関与する遺伝子のグローバルレギュレーターである *fur* 遺伝子の欠失株を作製した。欠失目的領域の上流および下流域それぞれ 500 bp を PCR で増幅し、これらを DNA リガーゼで連結後、PCR を行い増幅した。増幅した DNA を pDM4 に連結し、大腸菌 SY327 λ pir 株を形質転換後、得られた組換えプラスミドを用いて、M2799 株に対する遺伝子伝達能を有する大腸菌 SM10 λ pir 株を形質転換した。SM10 λ pir 形質転換株と M2799 株をそれぞれ培養し、メンブレンフィルター上で接合させることでプラスミドの伝達を行わせて 1 回目の相同組換えを誘発した。得られた相同組換え体を 15%スクロース、100 units/ml ポリミキシン B 含有 LB 寒天培地に塗抹して 2 回目の相同組換えを誘発し、目的とする遺伝子欠失株が得られたことを確認した(*2)。そこで、本菌株の産生するシデロフォアである

Vulnibactin を介する鉄取り込み機構に関与する遺伝子欠失株の作製を試みた。すなわち、VuuA、VuuB、ICS、および FatB について作製した。これらの欠失株の鉄欠乏下における増殖能について検討したところ、*ics* および *vuuA* 遺伝子欠失株では増殖が顕著に抑制されたが、*vuuB* および *fatB* 遺伝子欠失株においては遅いながらも増殖が確認された(図 2A、



*3)。この結果から、VuuB および FatB にはそれぞれ代替タンパク質が存在することが示唆された。

まず、ゲノム情報が明らかにされている *V. vulnificus* CMCP6 株において、FatB ホモログを探索した結果、FatB はハイドロキサメート型シデロフォアである Deferoxamine-Fe³⁺に対するペリプラズム結合タンパク質(VatD)に17%の相同性を示した。そこで、*vatD* 遺伝子欠失株、および *fatB* と *vatD* の二重遺伝子欠失株を作製し、鉄欠乏下における増殖能について検討した結果、*vatD* 遺伝子欠失株は野生株とほぼ同様の増殖能を示したが、二重欠失株では *fatB* 遺伝子欠失株よりも顕著に増殖が抑えられた(図 2B)。また、二重欠失株に、pRK415 をベクターとして用いて *vatD* 遺伝子を回復させたところ、*fatB* 遺伝子欠失株と同様の増殖が認められた。以上のことから、Vulnibactin-Fe³⁺に対するペリプラズム結合タンパク質は FatB が中心となって機能するが、FatB が機能しない場合、VatD で代替可能であることが明らかにされた(*3)。ハイドロキサメート型シデロフォアのペリプラズム結合タンパク質が、他のハイドロキサメート型シデロフォアの代替が可能であるという報告例はあるが、カテコール型シデロフォアを結合するのは今回が初めてである。本研究成果は、Microbial Pathogenesis (Elsevier)に掲載された(*3)。

次に、FatB および VatD タンパク質の高発現系を構築した。すなわち、His タグ融合タンパク質として発現する高発現系ベクター pProEX HTa にそれらの遺伝子を導入し、大腸菌 BL21 株を形質転換した。得られた形質転換株から目的タンパク質の発現を試みた結果、HisFatB は封入体を形成したが、HisVatD は、20°C で 18 時間誘導することにより可溶化状態で回収することができた。そこで、HisVatD タンパク質を Ni-Sepharose 6FF および HiLoad Superdex 75pg クロマトグラフィーにより、電気泳動的に均一にまで精製し、AcTEV プロテアーゼで処理することにより His タグを切断後、再度 Ni-Sepharose 6FF カラムクロマトグラフィーを行い、非吸着

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

画分から VatD タンパク質を回収した。VatD 精製標品を、Amicon Ultra-15 遠心式フィルターユニット(10,000 NMWL)により 10 mg/ml まで濃縮し、これを VatD-Apo 体の結晶化サンプルとした。また、Deferoxamine に FeCl_3 溶液を用いて Deferoxamine- Fe^{3+} を作製し、VatD:Deferoxamine- Fe^{3+} = 1:3 になるように混合して、これを VatD-Deferoxamine- Fe^{3+} 複合体の結晶化サンプルとした。蒸気拡散法によりこれらの結晶を

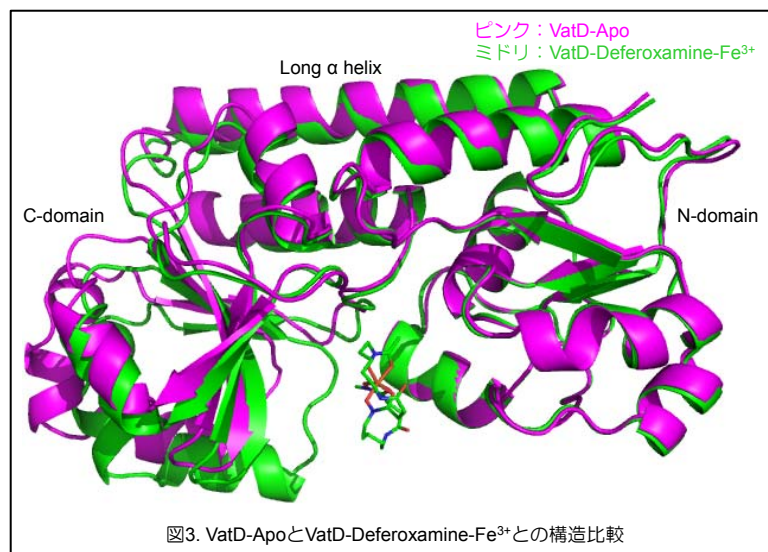


図3. VatD-ApoとVatD-Deferoxamine- Fe^{3+} との構造比較

作製し、リガク社製X線回折装置 (R-AXIS VII) および SPring-8 (BL38B1) により X 線回折強度測定を行った。これらのデータから分子置換法により初期位相を決定し、それを基に構造精密化を行い、構造を決定した(*4)。その結果、VatD-Apo 体では、分解能 2.6 Å、R factor = 17.4%、VatD-Deferoxamine- Fe^{3+} 複合体では分解能 1.85 Å、R factor = 21.9%で構造を決定した。本研究成果は、Acta Crystallographica Section F Structural Biology Communications (Wiley) に掲載された(*4)。X 線解析データから構造解析を行ったところ、VatD の全体構造は N-domain と C-domain から構成されており、両ドメインは long α -helix で繋がっていた。VatD-Deferoxamine- Fe^{3+} 複合体の解析により、それらのドメイン間に Deferoxamine- Fe^{3+} が結合していることが明らかとなった(未発表データ)。Deferoxamine- Fe^{3+} は VatD の Arg69 および Arg177 と直接および水分子を介した水素結合を形成していることが確認できた。また、本結合領域はトリプトファンやフェニルアラニンなどの疎水性残基が多く確認でき、Trp53、Trp205 および Phe263 の 3 残基で疎水性相互作用を形成していた。さらに、Apo 体と複合体との構造比較により、両構造において N-domain から long α -helix までは、良く一致した構造であったのに対して、Apo 体の C-domain は外側にシフトしていることが明らかとなった(図 3、*5)。Apo 体において、本結合領域近隣に存在する Gly227、Pro228 の温度因子が高く不安定であることから、Deferoxamine- Fe^{3+} の結合に伴い、VatD の Trp53、Pro228、Arg169、Thr262 の各アミノ酸残基および隣接する水分子と相互作用ネットワークを形成することにより、C-domain が Deferoxamine- Fe^{3+} 側に動き、結合サイトの構造を安定化しているのではないかと推測された。今後、FatB についても同様に精製し、構造解析を行う予定である。また、今回導入した、「生体高分子熱エネルギー解析システム」の超高感度等温滴定型熱量計 (ITC) を用いて、Vulnibactin を含む各種シデロフォア- Fe^{3+} 錯体との結合能について詳細に検討する予定である。

次に、VuuB について代替タンパク質の探索を試みた。本酵素は細胞内に取り込んだ Vulnibactin- Fe^{3+} 錯体の Fe^{3+} を Fe^{2+} に還元する酵素である。V. vulnificus M2799 株は、本菌が産生する Vulnibactin 以外のヒドロキサメート型シデロフォアである Aerobactin あるいは Deferoxamine を介する取り込み機構を有しており(図 1)、それらの遺伝子クラスターに、大腸菌のヒドロキサメート型シデロフォア鉄錯体の還元酵素である PhuF と相同性を

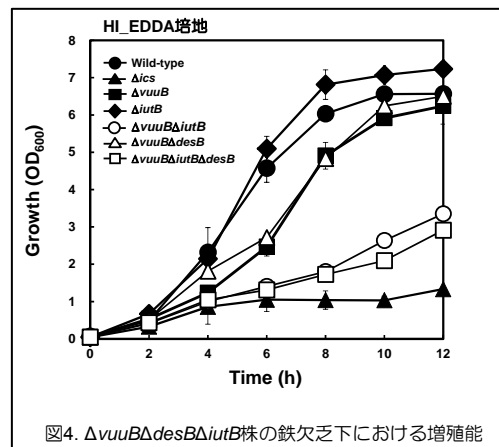


図4. $\Delta vuuB\Delta desB\Delta iutB$ 株の鉄欠乏下における増殖能

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

有するタンパク質(VV2_1010 および VV2_1339)をコードする遺伝子を見出した。クラスターの遺伝子名から、それぞれ IutB および DesB と命名し、それらの遺伝子欠失株を作製した。すなわち $\Delta vuuB$ 、 $\Delta iutB$ 、 $\Delta vuuB\Delta iutB$ 、 $\Delta vuuB\Delta desB$ 、 $\Delta vuuB\Delta iutB\Delta desB$ 株を作製し、鉄欠乏下での増殖能について検討した。なお、*ics* 遺伝子欠失株をネガティブコントロールとして用いた。その結果、IutB が代替タンパク質として機能することが明らかとなった (図 4、*6)。しかしながら Δics 株と比較して、遅いながらも増殖が認められたことから、更なる代替タンパク質が存在する可能性が示唆された。そこで、近縁菌である *V. vulnificus* CMCP6 株のゲノム情報を基に 25 還元

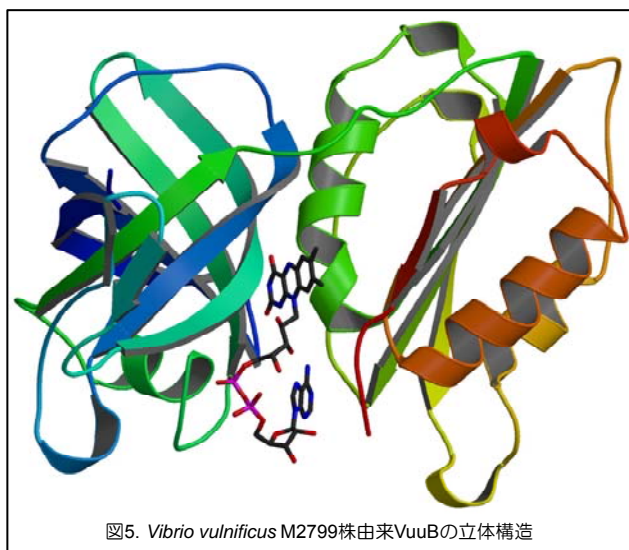


図5. *Vibrio vulnificus* M2799株由来VuuBの立体構造

酵素遺伝子を選択し、現在、それら遺伝子欠失株の作製を行っている。

VuuB、IutB および DesB の高発現系を構築した。現在までに、VuuB タンパク質を精製し、フラビンアデニンジヌクレオチド(FAD)共存下での結晶を得、構造解析を行い、その立体構造を明らかにした(図 5、*7)。今後、Vulnibactin-Fe³⁺複合体との共結晶化を行うとともに、本タンパク質の機能を抑制する、最適な阻害剤を分子設計する予定である。さらに、超高感度等温滴定型熱量計(ITC)を用いて、VuuB と Vulnibactin-Fe³⁺複合体との相互作用についても、詳細に解析する予定である。

さらに、これまでに明らかにされていない Vulnibactin の分泌機構について検討を行った。大腸菌において、Enterobactin の分泌に外膜チャネルタンパク質 TolC が関与することが明らかにされており、TolC を外膜チャネルとする resistance nodulation cell division (RND) 型排出システムが分泌に関与すると推測されている。M2799 株における TolC ホモログを探索した結果、VV1_0612 および VV2_1007 を見出した。そこで、これらの遺伝子の欠失株を作製し、鉄欠乏下での増殖能について検討したところ、VV1_0612 タンパク質遺伝子欠失株の鉄欠乏下での生育が顕著に抑制された(図 6A)。

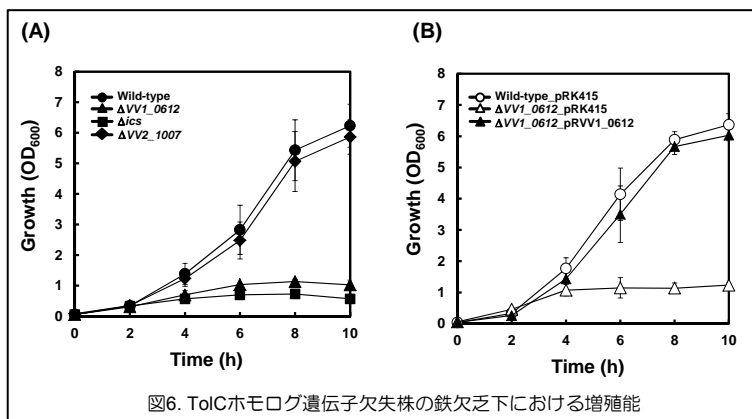


図6. TolCホモログ遺伝子欠失株の鉄欠乏下における増殖能

さらに、pRK415 を用いて VV1_0612 遺伝子を回復させたところ、野生株と同様の増殖が認められた(図 6B)。また、 Δics 株を用いたバイオアッセイを行ったところ、鉄欠乏下において、VV1_0612 タンパク質遺伝子欠失株の培養上清では Δics 株は増殖しなかった。以上のことから、*V. vulnificus* M2799 株において、VV1_0612 タンパク質が TolC であることが認められた(*8)。次に、M2799 株にコードされている 12 種類の RND タンパク質のうち、Vulnibactin の分泌に関与するタンパク質を探索した。まず、本タンパク質は鉄欠乏下で遺伝子発現が増大することが推測されることから、それらの逆転写産物について、定量的リアルタイム PCR を行った。その結果、鉄欠乏下において、VV1_0719、VV1_3156、VV2_0029、VV2_0195 および VV2_1320 の遺伝子発現量が増大した。そこで、それら遺伝子の欠失株を作製し、鉄欠乏下における増殖能について検討した結果、野生株と比較して、増殖能についてほとんど影響がないことが明らかとなっ

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

た(図 7A)。そこで、すべての RND ホモログについて遺伝子欠損株を作製した結果、VV1_1681 が RND タンパク質として Vulnibactin の分泌に関与することが明らかとなった(図 7B、*8)。しかしながら、遅いながらも増殖が確認されたことから、今回解析対象とした RND タンパク質以外の代替タンパク質の存在が示唆された。本研究成果は Microbial Pathogenesis (Elsevier) に掲載された。

類縁菌である *V. vulnificus* CMCP6 株には、ヘム取り込み機構に関与する外膜レセプターとして HupA (VV2_0276)3)および HvtA (VV2_1549)4)が存在することが明らかにされている。そこで、M2799 株のそれら遺伝子欠失($\Delta hupA$ および $\Delta hvtA$)株を作製した。鉄キレーターである EDDA と、単一鉄源としてヘミンを添加した CM9 培地を用いて、 Δics 、 $\Delta ics\Delta hupA$ 、 $\Delta ics\Delta hvtA$ および $\Delta ics\Delta hupA\Delta hvtA$ 株の増殖試験を行った。本培養条件において、 Δics 株は Vulnibactin 非産生菌であるため、ヘム取り込み機構を介しての増殖は可能であるが、ヘミンを利用できない欠失株では増殖できない。増殖試験の結果、 $\Delta ics\Delta hvtA$ 株は Δics 株と同様に増殖したが、 $\Delta ics\Delta hupA$ 株では増殖がやや抑制された。さらに、 $\Delta ics\Delta hupA\Delta hvtA$ 株では顕著に増殖が抑制された(図 8)。以上のことから、本菌株のヘム取り込み機構において、外膜レセプターは HupA が中心となって機能するが、HvtA は補助的役割を有しており、本取り込み機構において、これら 2 つのレセプターは必須であることが明らかとなった。また、ヘム取り込み機構に関与する新規タンパク質を探索した結果、VV2_1611 が唯一のペリプラズム結合タンパク質であり、VV2_1610 および VV2_1609 が細胞内膜に存在する ABC トランスポーターであることを明らかにした。

<優れた成果があがった点>

ヒトに感染症を起こす病原細菌は、宿主生体内で増殖するために鉄を必要とする。したがって、病原細菌の鉄取り込み機構を阻害することにより、ヒトの体内での増殖を抑制することができる。一般に、グラム陰性病原細菌は、ヒトの体内に存在する鉄を獲得するためにカテコール型、ハイドロキサメート型など、様々な構造を有するシデロフォアを産生する。細胞外に分泌されたシデロフォアは、 Fe^{3+} と結合して外膜レセプターを介してペリプラズム間隙に運ばれた後、ペリプラズム結合タンパク質と複合体を形成し、さらに細胞内膜に存在する ABC transporter を介して細胞内に取り込まれる。細胞内では、鉄還元酵素により二価鉄に還元されて利用される。一方、グラム陽性病原細菌は、外膜レセプターを有さず、それ以降はグラム陰性菌とほぼ同様の機構で鉄を獲得する。これまでの研究結果から、グラム陰性菌である *V. vulnificus* の鉄獲得機構の概要を明らかにするとともに、シデロフォア外膜レセプターの基質特異性は高いが、ペリプラズム結合タンパク質の特異性は比較的低いことが推測された。したがって、FatB、VatD 等のペリプラズム結合タンパク質の高発現系を構築して、それらの立体構造を明らかにし、Vulnibactin- Fe^{3+} 結合領域をターゲットとする分子設計を行うことにより、

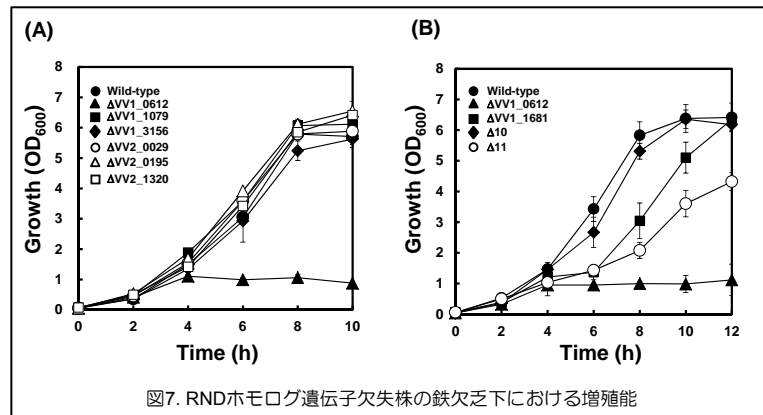


図7. RNDホモログ遺伝子欠失株の鉄欠乏下における増殖能

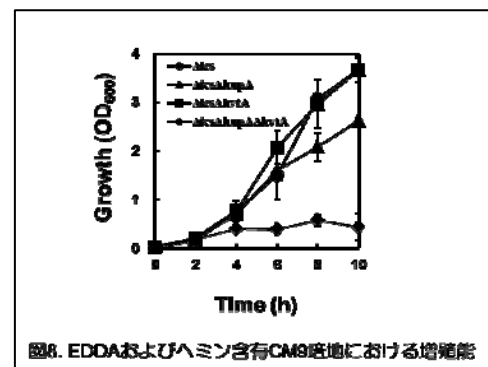


図8. EDDAおよびヘミン含有CM9培地における増殖能

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

新規感染症治療薬のリーダー化合物を開発できる可能性が考えられた。

<問題点>

高発現系を構築する際、封入体として宿主内で不溶化することがしばしばある。得られた封入体を塩酸グアニジンにより可溶化後、精製して立体構造を巻き戻すことが可能なタンパク質も存在するが、構造解析には適さない。したがって、可溶化状態で発現する条件を詳細に検討しなければならない。上述した VatD および VuuB タンパク質は 37°C で誘導すると封入体となったが、20°C では可溶化状態で回収することができた。さらに、それらタンパク質の結晶化に成功し、構造解析を行うことができた。以上のことから、今回導入した、「生体高分子熱エネルギー解析システム」の超高感度示差走査型熱量計(DSC)を用いて、可溶化状態で高発現させる温度や誘導条件などについて詳細に検討したい。さらに、タグの種類を変更する、カイコ由来無細胞タンパク質合成系を構築する等、あらゆる方法を駆使し、この問題点を克服したい。また、類似タンパク質の構造情報から阻害剤を分子設計し、細菌増殖抑制効果を繰り返し評価しつつ、設計分子と増殖抑制との構造活性相関を確立させる。以上の研究を繰り返して実験を収斂させることで、新規感染症治療薬を効率よく開発することができる。

<評価体制>

(研究プロジェクトの目標等に照らした自己評価の実施や、その結果を研究費等の資源の配分へ反映させるためのルールの設定、また、本プロジェクトに係る費用対効果(かけた費用に見合う効果が見られるか)について、どのように分析しているか。また、それらについて、外部(第三者)による評価を受ける体制ができているか等について記述してください。)

毎月第4金曜日に、全構成員が集まり、各研究室に課された研究の進捗状況を報告することによりデータの共有化および自己評価を行い、PDCA サイクルを活用して今後の研究内容について議論している。また、毎年12月には、学内外の研究者、学生を対象に公開シンポジウムを開催し、1年間の主な研究成果の口頭発表と、メンバー全員のポスター発表を行っている。その際、本プロジェクトに関連した先駆的な研究を展開している研究者を招き講演いただくと同時に、我々の研究成果に対する意見交換を行い、費用対効果についても、外部からの評価および指導を得ている。また、本シンポジウムの要旨集を広く配布することにより学内外の研究者からも評価を受けている。

<研究期間終了後の展望>

(本プロジェクト終了後における研究の継続の有無、有の場合は今後の研究方針、無の場合は当該研究施設・装置・設備の活用方針を記述してください。)

カテコール型シデロフォアである Vulnibactin-Fe³⁺に対するペリプラズム結合タンパク質である FatB タンパク質の構造解析を行い、すでに明らかにしたハイドロキサメート型シデロフォアである deferoxamine-Fe³⁺に対するペリプラズム結合タンパク質である VatD タンパク質の構造と比較して、Vulnibactin-Fe³⁺結合領域をターゲットとする分子設計を行う。また、化合物ライブラリーから共通阻害剤を探索し、標的タンパク質との分子間相互作用を Biacore T200 および本プロジェクトで導入された iTC200 を用いて解析する。得られた相互作用解析のデータに基づいて、より高活性な阻害剤を分子設計し、アクセルリス社分子設計プログラム Discovery Studio を用いて標的タンパク質との結合シミュレーションや分子動力的計算を行い、最適構造化合物のスクリーニングを行う。スクリーニングされた阻害剤を用い、*V. vulnificus* を被検菌とし、最小発育阻止濃度を測定する。

V. vulnificus は肝機能障害有するヒトに感染し、高い割合で死に至らしめる。そこで、神戸朝日病院との共同研究で、B型、C型、アルコール性および非アルコール性の代償性肝硬変患者からの血清あるいは正常血清を用いた *in vitro* での阻害活性と、種々の感染モデル動物を用いた *in vivo* での阻害剤の効果との相関性を、投与方法等を含めて評価する。さらには

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

阻害剤の体内動態や、代謝経路なども考慮に入れた感染症治療薬の開発を行う。

<研究成果の副次的効果>

(研究成果の活用状況又は今後の活用計画(実用化・企業化の見通しや、特許の申請があればその申請状況・取得状況等)について、記述してください。)

本菌株の産生するシデロフォアである Vulnibactin を介する鉄取り込み・利用機構に関与する FatB、VatD、VuuB を始めとする標的タンパク質の立体構造を原子レベルで明らかにし、それらの機能を阻害する分子を設計することにより、特許はもとより実用化に繋がる可能性が十分に秘められている。また、本プロジェクトで得られた研究方法や結果を、緑膿菌やアシネトバクター菌などの多剤耐性グラム陰性細菌に適用する副次的効果も十分に考えられる。

12 キーワード(当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してください。)

- (1) 感染症治療薬 (2) プロテオーム (3) Vibrio vulnificus
 (4) 鉄 (5) シデロフォア (6) ABC トランスポーター
 (7) _____ (8) _____

13 研究発表の状況(研究論文等公表状況。印刷中も含む。)

上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには*を付すこと。

<雑誌論文>

1. Tanabe T, Miyamoto K, Tsujibo H, Yamamoto S, Funahashi T.
The small RNA Spot 42 regulates the expression of the type III secretion system 1 (T3SS1) chaperone protein VP1682 in *Vibrio parahaemolyticus*.
FEMS Microbiol. Lett., 362. pii: fnv173 (2015). 査読有り
2. Miyano N, Igarashi T, Kawano H, Miyamoto K, Tsuchiya T, Tomoo K, Tsujibo H.
Expression, purification, crystallization and X-ray crystallographic analysis of the periplasmic binding protein VatD from *Vibrio vulnificus* M2799. (*4)
Acta Crystallogr. F Struct. Biol. Commun., 71:1078-1082 (2015). 査読有り
3. Funahashi T, Tanabe T, Maki J, Miyamoto K, Tsujibo H, Yamamoto S.
Identification and characterization of *Aeromonas hydrophila* genes encoding the outer membrane receptor of ferrioxamine B and an AraC-type transcriptional regulator.
Biosci. Biotechnol. Biochem., 78:1777-1787 (2014). 査読有り
4. Kawano H, Miyamoto K, Yasunobe M, Murata M, Myojin T, Tsuchiya T, Tanabe T, Funahashi T, Sato T, Azuma T, Mino Y, Tsujibo H.
The RND protein is involved in the vulnibactin export system in *Vibrio vulnificus* M2799. (*8)
Microb. Pathog., 75:59-67 (2014). 査読有り
5. Tanabe T, Kato A, Shiuchi K, Miyamoto K, Tsujibo H, Maki J, Yamamoto S, Funahashi T
Regulation of the expression of the *Vibrio parahaemolyticus* *peuA* gene encoding an alternative ferric enterobactin receptor.
PLoS One, 9:e105749 (2014). 査読有り
6. Kawano H, Miyamoto K, Yasunobe M, Murata M, Myojin T, Tsuchiya T, Tanabe T, Funahashi T, Sato T, Azuma T, Mino Y, Tsujibo H.

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

- Role of periplasmic binding proteins, FatB and VatD, in the vulnibactin utilization system of *Vibrio vulnificus* M2799. (*3)
Microb. Pathog., 65:73-81 (2013). 査読有り
7. Kobayashi T, Hirose J, Wu H, Sano K, Katsumata T, Tsujibo H, Nakano T.
Application of electrolysis for inactivation of an antiviral drug that is one of possible selection pressure to drug-resistant influenza viruses.
J. Virol. Methods., 194:154-60 (2013). 査読有り
 8. Funahashi T, Tanabe T, Miyamoto K, Tsujibo H, Maki J, Yamamoto S.
Characterization of a gene encoding the outer membrane receptor for ferric enterobactin in *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966(T).
Biosci. Biotechnol. Biochem., 77, 353-360 (2013). 査読有り
 9. Funahashi T, Tanabe T, Maki J, Miyamoto K, Tsujibo H, Yamamoto S.
Identification and characterization of a cluster of genes involved in biosynthesis and transport of acinetoferrin, a siderophore produced by *Acinetobacter haemolyticus* ATCC 17906T.
Microbiol., 159, 678-690 (2013). 査読有り
 10. Tanabe T, Funahashi T, Shiuchi K, Okajima N, Nakao H, Miyamoto K, Tsujibo H, Yamamoto S.
Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* genes encoding the systems for utilization of enterobactin as a xenosiderophore.
Microbiol., 158, 2039-2049 (2012). 査読有り
 11. Funahashi T, Tanabe T, Mihara K, Miyamoto K, Tsujibo H, Yamamoto S.
Identification and characterization of an outer membrane receptor gene in *Acinetobacter baumannii* required for utilization of desferricoprogen, rhodotorulic acid, and desferrioxamine B as xenosiderophores.
Biol. Pharm. Bull., 35, 753-760 (2012). 査読有り
 12. Tsuchiya T, Nakao N, Yamamoto S, Hirai Y, Miyamoto K, Tsujibo H.
NK1.1(+) cells regulate neutrophil migration in mice with *Acinetobacter baumannii* pneumonia.
Microbiol. Immunol., 56, 107-116 (2012). 査読有り
 13. Tanabe T, Funahashi T, Miyamoto K, Tsujibo H, Yamamoto S.
Identification of genes, *desR* and *desA*, required for utilization of desferrioxamine B as a xenosiderophore in *Vibrio furnissii*.
Biol. Pharm. Bull., 34, 570-574 (2011). 査読有り
 14. Tanabe T, Funahashi T, Okajima N, Nakao H, Takeuchi Y, Miyamoto K, Tsujibo H, Yamamoto S.
The *Vibrio parahaemolyticus pvuAI* gene (formerly termed *psuA*) encodes a second ferric vibrioferrin receptor that requires *tonB2*.
FEMS Microbiol. Lett., 324, 73-79 (2011). 査読有り
 15. Xie C, Soeda Y, Shinzaki Y, In Y, Tomoo K, Ihara Y, Miyasaka T.
Identification of key amino acids responsible for the distinct aggregation properties of microtubule-associated protein 2 and tau.
J. Neurochem. 135(1):19-26 (2015). 査読有り
 16. Kikuchi T, Masumoto Y, In Y, Tomoo K, Yamada T, Tanaka R.
Eringiacetal A, 5,6-seco-(5S,6R,7R,9S)-5,6:5,7:6,9-triepoxyergosta-8(14),22-diene-3 β ,7 β -diol, an unusual ergostane sterol from the fruiting bodies of *Pleurotus eryngii*.
European Journal of Organic Chemistry, 2015(21), 4645-4649 (2015). 査読有り

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

17. Inoue T, Matsui Y, Kikuchi T, Yamada T, In Y, Muraoka O, Sakai C, Ninomiya K, Morikawa T, Tanaka R.
Carapanolides M-S from seeds of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae) and triglyceride metabolism-promoting activity in high glucose-pretreated HepG2 cells.
Tetrahedron 71(18), 2753-2760 (2015). 査読有り
18. Sogawa K, Minoura K, In Y, Ishida T, Taniguchi T, Tomoo K.
CH- π interaction in VQIVYK sequence elucidated by NMR spectroscopy is essential for PHF formation of tau.
Biopolymers. **102**(3), 288-95 (2014). 査読有り
19. Inoue T, Matsui Y, Kikuchi T, In Y, Muraoka O, Yamada T, Tanaka R.
Carapanolides C-I from the seeds of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae).
Fitoterapia **96**, 56-64 (2014). 査読有り
20. Kim Y, In Y, Ishida T, Onaka H, Igarashi Y.
Biosynthetic origin of alchivemycin A, a new polyketide from *Streptomyces* and absolute configuration of alchivemycin B.
Organic Lett., 15, 3514-3517 (2013). 査読有り
21. Inoue T, Matsui Y, Kikuchi T, In Y, Yamada T, Muraoka O, Matsunaga S, Tanaka R.
Guianolides A and B, new carbon skeletal limonoids from the seeds of *Carapa guianensis*.
Organic Lett., 15, 3018-3021 (2013). 査読有り
22. Saeki D, Yamada T, In Y, Kajimoto T, Tanaka R, Iizuka Y, Nakane T, Takano A, Masuda K.
Officinatrione: an unusual (17S)-17,18-seco-lupane skeleton, and four novel lupane-type triterpenoids from the roots of *Taraxacum officinale*.
Tetrahedron, 69, 1583-1589 (2013). 査読有り
23. Okitsu T, Yumitate S, Sato K, In Y, Wada A.
Substituent Effect of bis(pyridines) iodonium complexes as iodinating reagents: control of the iodocyclization/oxidation process.
Chemistry, 19, 4992-4996 (2013). 査読有り
24. Paku K, Umenaga Y, Usui T, Fukuyo A, Mizuno A, In Y, Ishida T, Tomoo K.
A conserved motif within the flexible C-terminus of the translational regulator 4E-BP is required for tight binding to the mRNA cap-binding protein eIF4E.
Biochem. J., 441, 237-245 (2012). 査読有り
25. Sogawa K, Okuda R, In Y, Ishida T, Taniguchi T, Minoura K, Tomoo K.
C-H ... π interplay between Ile308 and Tyr310 residues in the third repeat of microtubule binding domain is indispensable for self-assembly of three- and four-repeat tau.
J. Biochem., 152, 221-229 (2012). 査読有り
26. Ishida T.
Overview of structural study on conformations and intermolecular interactions of biomolecules.
Yakugaku Zasshi, 132, 785-816 (2012). 査読無し
27. Ishida T.
Attracted by the structure of tryptophan which has molecular recognition ability.
Farumashia, 48, 725-727 (2012). 査読無し
28. Sogawa K, Okuda R, Minoura K, In Y, Ishida T, Taniguchi T, Tomoo K.
CH- π interaction between I308 and Y310 residues is required for self assembly of full length tau.

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

- Pept. Sci., 48th, 165-168 (2011). 査読無し
29. Umenaga Y, Paku K, In Y, Ishida T, Tomoo K.
Identification and function of the second eIF4E-binding region in N-terminal domain of eIF4G: comparison with eIF4E-binding protein.
Biochem. Biophys. Res. Commun., 414, 462-467 (2011). 査読有り
30. Fukuyo A, In Y, Ishida T, Tomoo K.
Structural scaffold for eIF4E binding selectivity of 4E-BP isoforms: crystal structure of eIF4E binding region of 4E-BP2 and its comparison with that of 4E-BP1.
J. Pept. Sci., 17, 650-657 (2011). 査読有り
31. Tanaka Y, Yamada T, In Y, Muraoka O, Kajimoto T, Tanaka R.
Absolute stereo structure of andirolides A-G from the flower of *Carapa guianensis* (Meliaceae).
Tetrahedron, 67, 782-792 (2011). 査読有り
32. In Y, Minoura K, Ishida T, Fujioka S, Takeda M, Murashima T, Yamada T.
Synthesis and conformational analysis of Dcp-containing homo-oligopeptides.
Pept. Sci., 48th, 205-208 (2011). 査読無し
33. Miyake T, Ishimoto S, Ishimatsu N, Higuchi K, Minoura K, Kikuchi T, Yamada T, Muraoka O, Tanaka R
Carapanolides T-X from *Carapa guianensis* (andiroba) seeds.
Molecules, 20, 20955-20966 (2015). 査読有り
34. Nakanishi K, Doi M, Usami Y, Amagata T, Minoura K, Tanaka R, Numata A, Yamada T.
Anthcolorins A-F, novel cytotoxic metabolites from a sea urchin-derived *Aspergillus versicolor*.
Tetrahedron, 69, 4617-4623 (2013). 査読有り
35. Amagata T, Xiao J, Chen YP, Holsopple N, Oliver AG, Gokey T, Guliaev AB, Minoura K.
Creation of an HDAC-based yeast screening method for evaluation of marine-derived actinomycetes: discovery of Streptosetin A.
J. Nat. Prod., 75, 2193-2199 (2012). 査読有り
36. Kitano M, Yamada T, Amagata T, Minoura K, Tanaka R, Numata A.
Novel pyridino-a-pyrone sesquiterpene type pileotin produced by a sea urchin-derived *Aspergillus* sp..
Tetrahedron Lett., 53, 4192-4194 (2012). 査読有り
37. Cebdriwski J, Lobo VJSA, Sandler M, Salas A, Kuhn JP, Molero X, Fukunaga R, Mayerle J, Lerch MM, Real FX
Mnk1 is a novel acinar cell specific kinase required for exocrine pancreatic secretion and response to pancreatitis in mice.
Gut, 64, 937-947 (2015). 査読有り
38. Chevillard-Briet M, Quaranta M, Grezy A, Mattera L, Courilleau C, Philippe M, Mercier P, Corpet D, Lough J, Ueda T, Fukunaga R, Trouche D, Escaffit F
Chevillard-Briet M, Quaranta M, Grezy A, Mattera L, Courilleau C, Philippe M, Mercier P, Corpet D, Lough J, Ueda T, Fukunaga R, Trouche D, Escaffit F
Interplay between chromatin-modifying enzymes controls colon cancer progression through Wnt signaling.
Human Molecular Genetics, 23, 2120-2131 (2014). 査読有り
39. Shi Y, Frost P, Hoang B, Yang Y, Fukunaga R, Gera J, Lichtenstein A.

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

- MNK kinases facilitate c-myc IRES activity in rapamycin-treated multiple myeloma cells. *Oncogene*, 32, 190-197 (2013). 査読有り
40. Gorentla BK, Krishna S, Shin J, Inoue M, Shinohara ML, Grayson JM, Fukunaga R, Zhong X-P. Mnk1 and 2 are dispensable for T cell development and activation but important for the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.*, 190, 1026-1037 (2013). 査読有り
41. Sharma B, Joshi S, Sassano A, Majchrzak B, Kaur S, Aggarwal P, Nabet B, Bulic M, Stein BL, McMahon B, Baker DP, Fukunaga R, Altman JK, Licht JD, Fish E. N, Platanius LC. Sprouty proteins are negative regulators of interferon (IFN) signaling and IFN-inducible biological responses. *J. Biol. Chem.*, 287, 42352-42360 (2012). 査読有り
42. Joshi S, Sharma B, Kaur S, Majchrzak B, Ueda T, Fukunaga R, Verma AK, Fish EN, Platanius LC. Essential role for Mnk kinases in type II interferon (IFN γ) signaling and its suppressive effects on normal hematopoiesis. *J. Biol. Chem.*, 286, 6017-6026 (2011). 査読有り
43. Mino Y, Azuma T, Sato T. Amino acid sequences of ferredoxins from several species of genus *Ephedra*. *Bull. Osaka Univ. Pharm. Sci.* 9, 53-60 (2015). 査読有り
44. Azuma T, Ishiuchi H, Inoyama T, Teranishi Y, Yamaoka M, Sato T, Yamashita N, Tanaka H, Mino Y. Detection of peramivir and laninamivir, new anti-influenza drugs, in sewage effluent and river waters in Japan. *PLoS One*, 10, 1-11 (2015). 査読有り
45. Azuma T, Ishiuchi H, Inoyama T, Teranishi Y, Yamaoka M, Sato T, Mino Y. Occurrence and fate of selected anticancer, antimicrobial and psychotropic pharmaceuticals in an urban river in a subcatchment of the Yodo River Basin, Japan. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 22, 18676-18686 (2015). 査読有り
46. Uemura M, Yoshikawa Y, Yoshikawa K, Sato T, Mino Y, Chikuma M, Komeda S, Inorg J. Second- and higher-order structural changes of DNA induced by antitumor-active tetrazolate-bridged dinuclear platinum (II) complexes with different types of 5-substituent. *Biochem.*, 127, 169-174 (2013). 査読有り
47. Tanaka T, Yamamoto D, Sato T, Tanaka S, Usui K, Manabe M, Aoki Y, Iwashima Y, Saito Y, Mino Y, Deguchi H. Adenosine thiamine triphosphate (AThTP) inhibits poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) activity. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 57, 192-196 (2011). 査読有り
48. Azuma T, Mino Y. Chemical degradation of polychlorinated biphenyls by the UV-Fe²⁺/Fe³⁺-H₂O₂ system and its application for polychlorinated biphenyl-polluted electric insulating oil. *J. Health Sci.*, 57, 442-447 (2011). 査読有り
49. 東 剛志、三野芳紀. 硫酸を用いた低温・低 pH 条件における UV-Fe²⁺/Fe³⁺-H₂O₂ 系による PCBs の化学分解. *環境衛生工学研究*, 25, 14-21 (2011). 査読有り

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

<図書>

なし

<学会発表>

1. 宮本勝城、河野広朗、土屋孝弘、田邊知孝、舟橋達也、辻坊 裕.
臨床分離株 *Vibrio vulnificus* M2799 株における *Vulnibactin* 分泌機構の解明. (*6)
第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 大阪 (2015 年 10 月).
2. 栗山善成、奥田峻太、成瀬香奈美、成尾侑紀、岩本遼太郎、野口恭平、品川彩、小川悟史、土屋孝弘、宮本勝城、良原栄策、辻坊 裕.
Bam 複合体を標的とした新規抗菌物質の開発.
第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 大阪 (2015 年 10 月).
3. 宮本勝城、河野広朗、知名秀泰、宮野菜央、五十嵐智子、友尾幸司、土屋孝弘、田邊知孝、舟橋達也、辻坊 裕.
Vibrio vulnificus M2799 株の鉄獲得機構の解明. (*5)
第 27 回微生物シンポジウム 岡山 (2015 年 9 月).
4. 宮本勝城、平野紋華、新田貴志、隈元由香、福井淳一、土屋孝弘、辻坊 裕.
Pseudoalteromonas piscicida O-7 株のキチン分解機構に関する新規タンパク質の解析.
日本キチン・キトサン学会第 29 回大会 熊本 (2015 年 8 月).
5. 河野広朗、宮本勝城、土屋孝弘、田邊知孝、舟橋達也、辻坊 裕.
Vibrio vulnificus M2799 株の *Vulnibactin* 分泌機構に RND タンパク質が関与する. (*8)
第 88 回日本細菌学会総会 岐阜 (2015 年 3 月).
6. 宮野菜央、宮本勝城、土屋孝弘、田邊知孝、舟橋達也、辻坊 裕.
Vibrio vulnificus M2799 株のペリプラズム結合タンパク質 VatD の構造解析. (*4)
第 88 回日本細菌学会総会 岐阜 (2015 年 3 月).
7. 良原栄策、後藤理和、岩本遼太郎、野口恭平、小川悟史、土屋孝弘.
Bam 複合体を標的とした緑膿菌およびアシネトバクターに対する新規抗菌物質の開発.
第 88 回日本細菌学会総会 岐阜 (2015 年 3 月).
8. 宮野菜央、五十嵐智子、河野広朗、宮本勝城、土屋孝弘、辻坊 裕.
臨床分離株 *Vibrio vulnificus* M2799 株の鉄獲得機構の解明. (*4)
日本結晶学会平成 26 年度年会 東京 (2014 年 11 月).
9. 宮本勝城、河野広朗、宮野菜央、土屋孝弘、田邊知孝、舟橋達也、辻坊 裕.
Vibrio vulnificus M2799 株の鉄獲得機構の解明. (*3)
第 38 回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会 仙台 (2014 年 9 月).
10. 河野広朗、宮本勝城、土屋孝弘、田邊知孝、舟橋達也、辻坊 裕.
Vibrio vulnificus M2799 株における *Vulnibactin* 分泌機構. (*3)
第 26 回微生物シンポジウム 東京 (2014 年 9 月).
11. 宮野菜央、五十嵐智子、友尾幸司、宮本勝城、土屋孝弘、田邊知孝、舟橋達也、辻坊 裕.
Vibrio vulnificus M2799 株のペリプラズム結合タンパク質 VatD の構造解析. (*4)
第 26 回微生物シンポジウム 東京 (2014 年 9 月).
12. 宮本勝城、矢野 翼、山田貴大、山下拓起、前田沙梨、土屋孝弘、辻坊 裕.
Pseudoalteromonas piscicida O-7 株のキチン分解機構に関する新規タンパク質の解析.
日本キチン・キトサン学会第 28 回シンポジウム 東京 (2014 年 8 月).

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

13. 河野広朗、宮本勝城、土屋孝弘、田邊知孝、舟橋達也、辻坊 裕.
Vibrio vulnificus M2799 株のバルニバクチンを介する鉄獲得機構におけるペリプラズム結合タンパク質 FatB と VatD の役割. (*3)
 第 87 回日本細菌学会総会 東京 (2014 年 3 月).
14. 土屋孝弘、宮本勝城、良原栄策、辻坊 裕.
 Bam 複合体を標的とした新規抗菌物質の開発.
 第 87 回日本細菌学会総会 東京 (2014 年 3 月).
15. 宮本勝城、長谷川真耶、稲田涼子、北村健太、山本 優、土屋孝弘、辻坊 裕.
 Analysis of the novel proteins involved in the chitinolytic system of *Pseudoalteromonas piscicida* strain O-7.
 日本キチン・キトサン学会第 27 回シンポジウム 米子 (2013 年 10 月).
16. 宮本勝城、河野広朗、廣本武史、五十嵐智子、土屋孝弘、田邊知孝、山本重雄、辻坊 裕.
Vibrio vulnificus M2799 株の鉄獲得機構の解明(*7).
 日本鉄バイオサイエンス学会 第 37 回学術集会 東京 (2013 年 9 月).
17. 河野広朗、宮本勝城、廣本武史、五十嵐智子、土屋孝弘、田邊知孝、山本重雄、辻坊 裕.
Vibrio vulnificus M2799 株の鉄獲得機構の解明(*3).
 第 25 回微生物シンポジウム 静岡 (2013 年 9 月).
18. 土屋孝弘、栗野大輔、河野広朗、宮本勝城、辻坊 裕.
Vibrio vulnificus の病原因子の解析.
 第 25 回微生物シンポジウム 静岡 (2013 年 9 月).
19. 宮本勝城.
2D-DIGE 解析を用いた *Vibrio vulnificus* M2799 株の鉄取り込み機構に関与するタンパク質群の網羅的解析(*1).
 第 63 回日本電気泳動学会シンポジウム 東京 (2013 年 6 月).
20. 河野広朗、宮本勝城、土屋孝弘、田邊知孝、山本重雄、辻坊 裕.
Vibrio vulnificus M2799 株における鉄獲得関連遺伝子欠失株の作製(*2).
 第 86 回日本細菌学会総会 千葉 (2013 年 3 月).
21. 栗野大輔、土屋孝弘、河野広朗、宮本勝城、辻坊 裕.
Vibrio vulnificus の病原因子の解析.
 第 86 回日本細菌学会総会 千葉 (2013 年 3 月).
22. 宮本勝城、河野広朗、廣本武史、土屋孝弘、田邊知孝、山本重雄、辻坊 裕.
Vibrio vulnificus M2799 株の鉄獲得機構の解明(*1).
 第 24 回微生物シンポジウム 大阪 (2012 年 9 月).
23. 宮本勝城、尾上涼馬、中村有貴、小澤舞祈子、土屋孝弘、辻坊 裕.
Pseudoalteromonas piscicida O-7 株のキチン分解機構に關与する新規タンパク質の解析.
 日本キチン・キトサン学会第 26 回シンポジウム 札幌 (2012 年 7 月).
24. Tsuchiya T, Miyamoto K, Yamamoto S, Tsujibo H.
 Role of infiltrating cells in the lung of *Acinetobacter pneumonia* model mice.
 第 85 回日本細菌学会総会 長崎 (2012 年 3 月).
25. 宮本勝城、土屋孝弘、辻坊 裕.
Siderophore (acinetobactin) is involved in biofilm formation by *Acinetobacter baumannii* ATCC19606.
 第 84 回日本細菌学会総会 札幌 (2011 年 9 月).

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

26. 土屋孝弘、宮本勝城、山本重雄、辻坊 裕.
Analysis of infiltrating cells in the lung of *Acinetobacter pneumonia* model mice.
第 84 回日本細菌学会総会 札幌 (2011 年 9 月).
27. 田邊知孝、舟橋達也、宮本勝城、辻坊 裕、山本重雄.
Utilization of xenosiderophores by *Vibrio parahaemolyticus*: identification and characterization of genes, *irgA*, *vctA* and *vpa0150*, encoding ferric enterobactin receptors.
第 84 回日本細菌学会総会 札幌 (2011 年 9 月).
28. 田邊知孝、舟橋達也、中尾浩志、宮本勝城、辻坊 裕、山本重雄.
The *Vibrio parahaemolyticus psuA* gene encodes a second ferric vibrioferrin receptor exclusively dependent on the TonB2 system.
第 84 回日本細菌学会総会 札幌 (2011 年 9 月).
29. 土屋孝弘、宮本勝城、辻坊 裕.
Vibrio vulnificus の病原因子の解析.
第 23 回微生物シンポジウム 千葉 (2011 年 9 月).
30. 宮本勝城、高山加奈子、中西良子、東 えり子、土屋孝弘、辻坊 裕.
Pseudoalteromonas piscicida O-7 株のキチン分解機構に關与する新規タンパク質の解析.
日本キチン・キトサン学会第 25 回シンポジウム 奈良 (2011 年 8 月).
31. 友尾幸司、知名秀泰、宮野菜央、河野広朗、尹 康子、箕浦克彦、宮本勝城、土屋孝弘、辻坊 裕
臨床分離株 *Vibrio vulnificus* M2799 由来シデロフォア結合タンパク質 VatD のシデロフォア結合機構の解明. (*4)
第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 大阪大谷大学 (2015 年 10 月)
32. 菊地 崇、榎本 有季、尹 康子、友尾 幸司、山田 剛司、田中 麗子
エリンギ (*Pleurotus eryngii*) 子実体に含まれる新規 ergostane 型ステロイド
第 62 回日本生薬学会年会 岐阜 (2015 年 9 月)
33. 菊地 崇、榎本 有季、尹 康子、友尾 幸司、山田 剛司、田中 麗子
エリンギ (*Pleurotus eryngii*) 子実体の ergostane 型ステロイド
第 59 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会 大阪 (2015 年 9 月)
34. 若原章夫、尹 康子
Temperature-dependent structural change of 1D-ice, water nanopipe, in crystal.
第 23 回国際結晶学会 カナダ (2014 年 8 月)
35. 曾川甲子郎、奥田良平、箕浦克彦、尹 康子、宮崎杏奈、谷口泰造、石田寿昌、友尾幸司
Tau の分子会合における VQIVYK 配列の構造安定性について
日本薬学会第 134 年会 熊本 (2014 年 3 月)
36. 生野将史、宮本陽菜、曾川甲子郎、箕浦克彦、尹 康子、谷口泰造、石田寿昌、友尾幸司
Tau タンパク質の自己重合抑制能を有する Tau 認識抗体の構造機能解析
日本薬学会第 134 年会 熊本 (2014 年 3 月)
37. 曾川甲子郎、宮崎杏奈、箕浦克彦、尹 康子、谷口泰造、友尾幸司.
Tau の自己重合には微小管結合部位 R3 に存在する Ile308 と Tyr310 の側鎖間が形成する CH- π 相互作用が不可欠である.
日本薬学会第 133 年会 横浜 (2013 年 3 月).
38. 臼井常悟、齋藤 慧、尹 康子、友尾幸司、石田寿昌、宮本勝城、辻坊 裕.
好熱性放線菌 *Streptomyces thermoviolaceus* OPC-520 株由来細胞内キシラン分解酵素

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

- β -xylosidase (BxlA)の X 線結晶構造解析.
日本薬学会第 133 年会 横浜 (2013 年 3 月).
39. 篠原愛花、紙本香奈、上垣内みよ子、石田寿昌、友尾幸司.
小青竜湯成分の AGE 生成阻害活性と阻害機構の解明.
日本薬学会第 133 年会 横浜 (2013 年 3 月).
40. 臼井常悟、斎藤 慧、尹 康子、友尾幸司、石田寿昌、宮本勝城、辻坊 裕.
好熱性放線 *Streptomyces thermoviolaceus* OPC-520 株由来細胞内キシラン分解酵素
 β -xylosidase (BxlA) の結晶化と X 線結晶構造解析.
第 62 回日本薬学会近畿支部総会・大会 西宮 (2012 年 10 月).
41. 曾川甲子郎、箕浦克彦、尹 康子、友尾幸司.
Tau タンパク質阻害分子と R3N 末端 6 残基 VQIVYK との相互作用解析.
第 62 回日本薬学会近畿支部総会・大会 西宮 (2012 年 10 月).
42. 曾川甲子郎、奥田良平、箕浦克彦、尹 康子、友尾幸司、石田寿昌.
Tau タンパク質の自己重合における Ile308 と Tyr310 が形成する CH- π 相互作用の重要性.
日本薬学会第 132 年会 札幌 (2012 年 3 月).
43. 須佐匡樹、土屋孝弘、箕浦克彦、尹 康子、友尾幸司、谷口泰造、辻坊 裕、石田寿昌.
Tau タンパク質の自己凝集抑制能を有する特異的認識抗体の作成とその複合体結 晶化による
構造機能解析.
日本薬学会第 132 年会 札幌 (2012 年 3 月).
44. 篠原愛花、向 高弘、上垣内みよ子、尹 康子、友尾幸司、石田寿昌.
Vanillin 化合物類の構造と AGE 生成阻害活性の関係について.
日本薬学会第 132 年会 札幌 (2012 年 3 月).
45. 臼井常悟、斎藤 慧、石田寿昌、友尾幸司、辻坊 裕、宮本勝城.
好熱性放線菌 *Streptomyces thermoviolaceus* OPC-520 株由来細胞内キシラン分解酵素
 β -xylosidase (BxlA)の X 線結晶構造解析.
日本薬学会第 132 年会 札幌 (2012 年 3 月).
46. 須佐匡樹、土屋孝弘、箕浦克彦、尹 康子、友尾幸司、谷口泰造、辻坊 裕、石田寿昌.
Tau タンパク質の自己凝集抑制能を有する特異的認識抗体の作成とその構造機能解析.
第 61 回日本薬学会近畿支部総会・大会 神戸 (2011 年 10 月).
47. 曾川甲子郎、箕浦克彦、尹 康子、友尾幸司、石田寿昌.
Tau タンパク質の自己重合における Ile308 と Tyr310 が形成する CH- π 相互作用の重要性.
第 61 回日本薬学会近畿支部総会・大会 神戸 (2011 年 10 月).
48. 曾川甲子郎、奥田良平、箕浦克彦、尹 康子、石田寿昌、谷口泰造、友尾幸司.
CH- π interaction between I308 and Y310 residues is required for self-assembly of full length tau.
第 48 回ペプチド討論会 札幌 (2011 年 9 月).
49. 尹 康子、箕浦克彦、石田寿昌.
Synthesis and conformational analysis of a dcp-containing homooligopeptides.
第 48 回ペプチド討論会 札幌 (2011 年 9 月).
50. 紙本佳奈、川西和子、上垣内みよ子、友尾幸司、石田寿昌.
生薬煎液のタンパク質糖化反応阻害/促進活性と機能性添加物として Cyclodextrins の活性への
影響.
日本生薬学会第 58 回年会 東京 (2011 年 9 月).
51. 友尾幸司、石田寿昌.

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

- Protein structure determination using Saturn A200 CCD at SPring-8 by MAD phasing.
第 22 回国際結晶学会 スペイン (2011 年 8 月).
52. 若原章夫、石田寿昌.
The structure of 1D ice, water nanowire, in crystal host.
第 22 回国際結晶学会 スペイン (2011 年 8 月).
53. 友尾幸司、齋藤 慧、臼井常悟、石田寿昌、宮本勝城、辻坊 裕.
Structural studies of β -D-xylosidase from *Streptomyces thermoviolaceus* OPC-520.
第 22 回国際結晶学会 スペイン (2011 年 8 月).
54. 上田 健、福永理己郎、Roumiana Alexandrova、Theo Goh、Tak W. Mak、本田浩章.
Identification of interacting partners for MAP kinase-interacting kinase 1.
第 86 回日本生化学会 横浜 (2013 年 9 月).
55. 中村舞音、松村有紗、矢野可央里、藤井忍、福永理己郎、池田潔、井上晴嗣.
マウスロイシンリッチ α_2 -グリコプロテインとシトクロム c の相互作用.
第 87 回 日本生化学会大会 京都 (2014 年 10 月).
56. 井上晴嗣、松村有紗、矢野可央里、藤井忍、福永理己郎、池田潔.
ロイシンリッチ α_2 -グリコプロテインとシトクロム c の相互作用.
日本薬学会第 134 年会 熊本 (2014 年 3 月).
57. 西村恵子、宮地由香里、村上弦大、伊狩 光、土屋孝弘、藤井 忍、福永理己郎、池田 潔、井上晴嗣.
新規シグナル分子としての細胞外シトクロム c の機能.
第 86 回日本生化学会 横浜 (2013 年 9 月).
58. 矢野可央里、松村有紗、藤井 忍、福永理己郎、池田 潔、井上晴嗣.
ロイシンリッチ α_2 -グリコプロテインとシトクロム c の相互作用.
第 86 回日本生化学会 横浜 (2013 年 9 月).
59. 井上晴嗣、村上弦大、伊狩 光、土屋孝弘、藤井 忍、福永理己郎、池田 潔.
新規シグナル分子としての細胞外シトクロム c の役割.
日本薬学会第 133 年会 横浜 (2013 年 3 月).
60. 東 剛志、井ノ山智美、寺西裕亮、山岡美里、石打浩隆、佐藤卓史、三野芳紀.
都市河川における抗がん剤成分の存在実態.
第 16 回水環境学会シンポジウム 沖縄 (2013 年 11 月).
61. 東 剛志、三野芳紀、中田典秀、山下尚之、田中宏明、菅原民枝、大日康史.
下水処理場流入水中に存在する抗インフルエンザ薬成分を用いた疫学調査手法の検討.
第 48 回日本水環境学会年会 仙台 (2014 年 3 月).
62. 東 剛志、中田典秀、山下尚之、佐藤卓史、三野芳紀、田中宏明.
下水及び河川中に存在する抗インフルエンザ薬タミフル及びその活性代謝物、リレンザの定量解析.
フォーラム 2012 衛生薬学・環境トキシコロジー 名古屋 (2012 年 10 月).
63. 三野芳紀、林 大喜、藤田紀子、東 剛志、佐藤卓史.
環境中の医薬品類の Fe^{3+} - H_2O_2 混合試薬による化学分解 - 医療廃液のタミフル (oseltamivir phosphate) の分解 -.
フォーラム 2012 衛生薬学・環境トキシコロジー 名古屋 (2012 年 10 月).

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

<研究成果の公開状況>(上記以外)

シンポジウム・学会等の実施状況、インターネットでの公開状況等

※ホームページで公開している場合には、URL を記載してください。

<既に実施しているもの>

2011 年 12 月 3 日(土) 14:50-17:40 大阪薬科大学

http://www.oups.ac.jp/gakujutsu/kenkyukiban/kk_ayumi.html

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「組織的研究体系による次世代型感染症治療薬の開発」第 1 回シンポジウム

・宮本勝城(大阪薬科大学 准教授)

「病原細菌 *Vibrio vulnificus* の宿主生体内における生存戦略」

・飯田哲也(大阪大学微生物病研究所 特任教授)

「下痢原因細菌の病原性解析と新規治療法への試み」

ポスターセッション

研究プロジェクトに参加する研究者全員による研究成果報告と討論

2012 年 12 月 8 日(土) 13:50-16:50 大阪薬科大学

http://www.oups.ac.jp/gakujutsu/kenkyukiban/kk_symposium.html

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「組織的研究体系による次世代型感染症治療薬の開発」第 2 回シンポジウム

・宮本勝城(大阪薬科大学 准教授)

「病原細菌 *Vibrio vulnificus* の宿主生体内における生存戦略」

・友尾幸司(大阪薬科大学 准教授)

「好熱性放線菌由来キシロオリゴ糖輸送に関与するタンパク質群の構造機能解析」

・良原栄策(東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 准教授)

「多剤耐性グラム陰性菌に対する新規抗菌分子の開発」

・塩見和朗(北里大学大学院感染制御科学府 北里生命科学研究所 教授)

「微生物の生産する新しいターゲットをもつ抗生物質の探索～抗寄生虫・抗細菌～」

ポスターセッション

研究プロジェクトに参加する研究者全員による研究成果報告と討論

2013 年 12 月 7 日(土) 13:00-17:00 大阪薬科大学

http://www.oups.ac.jp/gakujutsu/kenkyukiban/kk_symposium.html

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「組織的研究体系による次世代型感染症治療薬の開発」第 3 回シンポジウム

・河野広朗(大阪薬科大学 博士研究員)

「病原細菌 *Vibrio vulnificus* の宿主生体内における生存戦略」

・佐藤卓史(大阪薬科大学 講師)

「次世代型感染症治療薬開発への生物無機化学的アプローチ」

・堀口安彦(大阪大学 微生物病研究所 分子細菌学分野 教授)

「なぜ百日咳菌はヒトだけに感染して激しい咳発作を起こすのか？その基礎細菌学的アプローチ」

・山口明人(大阪大学 産業科学研究所 生体防御学研究分野 特任教授)

「多剤排出トランスポーターによる多剤排出機構とその阻害の構造的基礎」

ポスターセッション

研究プロジェクトに参加する研究者全員による研究成果報告と討論

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

2014 年 12 月 6 日(土) 13:00-17:00 大阪薬科大学

http://www.oups.ac.jp/gakujutsu/kenkyukiban/kk_symposium.html

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「組織的研究体系による次世代型感染症治療薬の開発」第 4 回シンポジウム

- ・河野広朗(大阪薬科大学 博士研究員)
「病原細菌 *Vibrio vulnificus* の宿主生体内における生存戦略」
- ・友尾幸司(大阪薬科大学 准教授)
「*Vibrio vulnificus* における鉄獲得機構関連タンパク質の構造と機能」
- ・山口高広(塩野義製薬(株) コア疾患創薬研究所 研究員)
「緑膿菌の抗菌薬耐性とカルバペネム」
- ・村田武士(千葉大学大学院理学研究科 生体構造化学研究室 教授)
「創薬標的膜タンパク質の X 線結晶構造解析に向けた技術開発」

ポスターセッション

研究プロジェクトに参加する研究者全員による研究成果報告と討論

2015 年 12 月 5 日(土) 13:00-17:00 大阪薬科大学

http://www.oups.ac.jp/gakujutsu/kenkyukiban/kk_symposium.html

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「組織的研究体系による次世代型感染症治療薬の開発」第 5 回シンポジウム

- ・河野広朗(大阪薬科大学 博士研究員)
「病原細菌 *Vibrio vulnificus* の宿主生体内における生存戦略」
- ・知名秀泰(大阪薬科大学 技術補佐員)
「*Vibrio vulnificus* M2799 株のペリプラズム結合タンパク質 VatD の構造解析」
- ・井上晴嗣(大阪薬科大学 准教授)
「VatD と Siderophore との相互作用」
- ・三野芳紀(大阪薬科大学 教授)
「微生物の鉄獲得系に作用する新規抗菌剤の開発研究」
- ・和地正明(東京工業大学 大学院生命理工学研究科 生物プロセス専攻 教授)
「新規作用標的を有する抗生物質の探索」
- ・西野邦彦(大阪大学産業科学研究所 生体分子制御科学研究分野 教授)
「細菌の多剤排出機構と新規治療戦略」

<これから実施する予定のもの>

現在のところ未定

14 その他の研究成果等

なし

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

15 「選定時」及び「中間評価時」に付された留意事項とそれへの対応

<「選定時」に付された留意事項>

研究計画から次世代型感染症治療薬開発が達成できるかやや不安が残る。より確実性のある計画を見直し改善されたい。

<「選定時」に付された留意事項への対応>

当初の研究計画より、やや計画に遅れが認められるものの、<特に優れた研究成果>に記載した通り、予想外の研究成果を得ることができたと考えている。今後、*V. vulnificus* M2799株の鉄獲得・利用系を中心に研究を効率よく加速し、本プロジェクト期間内に感染症治療薬有力候補化合物の創製と創薬への可能性について検討したい。

<「中間評価時」に付された留意事項>

1 研究組織について

・拠点を形成する事業なので、PD、RA、大学院生の関与についても明記してほしい。

2 研究施設・設備等について

・本支援事業により設置された研究装置がさらに十分に活用されることを期待する。

3 研究プロジェクトの進捗状況・研究成果等について

・研究の進展が認められるが、更なる研究の推進を期待する。本プロジェクトの研究成果に関しての論文発表を今後積極的に行ってほしい。

・構想調書に沿って研究が進捗していると思われるが、「実用可能で新たな作用機作を有する新規感染症治療薬の開発」を目標としているので、実用化を含め、今後は具体的成果を創出することが期待される。

<「中間評価時」に付された留意事項への対応>

付された留意事項に対し、どのような対応策を講じ、また、それにより、どのような成果があがったか等について、詳細に記載してください。

1 研究組織について

・11 研究の概要(2)研究組織の項に記載した通り、1名のポスドクは「細菌の増殖機構に関与する新規タンパク質の探索」、1名の研究補助員は「細菌の増殖機構に関与する新規タンパク質の構造解析」の具体的なテーマの下に精力的に研究を行った。

2 研究施設・設備等について

・11 研究の概要(3)研究施設・設備等の項に記載した通り、今回導入された研究装置「生体高分子熱エネルギー解析システム」の稼働時間は、進捗状況報告書提出時には160時間だったが、その後は400時間と利用時間が倍増した。また、本プロジェクト最終年度以降も、新規感染症治療薬の開発を目的として、精力的に利用し、その実用化を目指す。

3 研究プロジェクトの進捗状況・研究成果等について

・本プロジェクトの研究成果に関しての論文発表については精力的に行ってきた。

・11 研究の概要(4)研究成果の概要<研究期間終了後の展望>の項に記載した通り、本プロジェクト最終年度以降、新規感染症治療薬の実用化を目指す。

法人番号	271001
プロジェクト番号	S1101031

16 施設・装置・設備・研究費の支出状況(実績概要)

(千円)

年度・区分	支出額	内 訳						
		法人負担	私学助成	共同研究機関負担	受託研究等	寄付金	その他()	備考
平成二三年度	施設	0						
	装置	40,036	20,036	20,000				
	設備	0						
	研究費	26,187	14,449	11,738				
平成二四年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	37,482	27,735	9,747				
平成二五年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	33,231	25,429	7,802				
平成二六年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	28,790	23,872	4,918				
平成二七年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	19,035	14,125	5,416				
総額	施設	0	0	0	0	0	0	0
	装置	40,036	20,036	20,000	0	0	0	0
	設備	0	0	0	0	0	0	0
	研究費	144,725	105,610	39,621	0	0	0	0
総計	184,761	125,646	59,621	0	0	0	0	

※ 最終年度は予定額。

17 施設・装置・設備の整備状況 (私学助成を受けたものはすべて記載してください。)

《施設》(私学助成を受けていないものも含め、使用している施設をすべて記載してください。)(千円)

施設の名 称	整備年度	研究施設面積	研究室等数	使用者数	事業経費	補助金額	補助主体

※ 私学助成による補助事業として行った新增築により、整備前と比較して増加した面積

0 m²

《装置・設備》(私学助成を受けていないものは、主なもののみを記載してください。)

(千円)

装置・設備の名称	整備年度	型番	台数	稼働時間数	事業経費	補助金額	補助主体
(研究装置) 生体高分子熱エネルギー解析システム	平成23年度	・超高感度示差走査型熱量計VP-DSC	1	} 560 h	40,036	20,000	私学助成
		・超高感度等温滴定型熱量計ITC200	1				
		・電源安定化装置AA660F	2				
微小構造解析システム(MALDI TOF-MS Bruker)	平成27年度	・Microflex-OPS	1	10 h	87,470	0	校費
生体分子の微小環境動態測定と薬剤スクリーニングシステム(卓上型超遠心機)	平成25年度	・Optima MAX-XP	1	100 h	44,939	22,469	私学助成
ハイスループット遺伝子発現解析システム(DNAシーケンサー)	平成24年度	・ABI3500-150	1	100 h	} 19,943	9,971	私学助成
ハイスループット遺伝子発現解析システム(リアルタイムPCR装置)	平成24年度	・StepOne Plus-01C	1	150 h			
分子間相互作用の高感度微量検出システム(Biacore T100 System)	平成21年度	・Biacore T100System	1	792 h	45,234	22,617	私学助成
生体高分子用X線解析装置	平成19年度	・FR-E+ SUPER BIRGHT	1	2,664 h	105,249	44,730	私学助成
微量生理活性物質の構造解析・生物影響高感度抽出システム(ルミノ・イメージアナライザー)	平成17年度	・OP LAS-3000 Multi-Color	1	1,404 h	82,362	41,181	私学助成
定量的デフアレンス解析システム(Ettan DIGE System)	平成16年度	・Ettan DIGE, Ettan Spot Pickerパッケージ	1	710 h	43,207	21,603	私学助成
共焦点レーザースキャン顕微鏡	平成14年度	・LSM510	1	418 h	41,439	20,719	私学助成
タンパク質解析トータルシステム(MALDI TOF-MS Voyager)	平成14年度	・Voyager-DE STR	1	35,040 h	40,493	20,246	私学助成
(研究設備) 遺伝子情報発現解析システム(高感度プロテインシーケンサー)	平成12年度	・491-YS	1	43,800 h	} 38,760	20,672	私学助成
遺伝子情報発現解析システム(高速定量PCR装置) (情報処理関係設備)	平成12年度	・LightCycler Work Station V3	1	700 h			

法人番号

271001

18 研究費の支出状況

(千円)

年 度	平成 23 年度			
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳		
		主 な 使 途	金 額	主 な 内 容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消 耗 品 費	20,430	試薬・器具類、その他	13,522,690	試薬、グローブ、ファイル 等
光 熱 水 費				
通 信 運 搬 費	18	郵送料	18	郵送料
印 刷 製 本 費	36	印刷費	36	シンポジウムポスター、封筒
旅 費 交 通 費	1,048	出張旅費	1,048	研究発表、資料収集 等
報 酬 ・ 委 託 料	311	英文校正、謝礼	256,55	英文校正、講演謝礼
(その他)	752	修繕費、会費、その他	493,214,45	機器等の修理、会費 等
計	22,595			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)				
教育研究経費支出 計	0			
設 備 関 係 支 出 (1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	3,485	機器備品	3,485	CO2インキュベーター、小型ルミノメーター 等
図 書	107	図書	107	書籍
計	3,592			
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費 計	0			

年 度	平成 24 年度			
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳		
		主 な 使 途	金 額	主 な 内 容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消 耗 品 費	17,534	試薬・器具類、実験動物、その他	10,856,790,588	試薬、チューブ、マウス 等
光 熱 水 費				
通 信 運 搬 費	25	郵送料	25	郵送料
印 刷 製 本 費	54	印刷費	54	シンポジウムポスター、封筒
旅 費 交 通 費	1,152	出張旅費	1,152	研究発表、資料収集 等
報 酬 ・ 委 託 料	163	謝礼、英文校正	111,52	講演謝礼、英文校正 等
(その他)	2,425	修繕・保守費、その他	2,091,366	機器等の修理・保守、会費 等
計	21,353			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	608	研究補助(タンパク質の精製)		時給 1,450円、年間時間数 360.5時間 実人数 1人 (交通費込)
教育研究経費支出 計	608			
設 備 関 係 支 出 (1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	10,989	機器備品	10,989	HPLCポンプ、微量高速冷却遠心機 等
図 書	32			
計	11,021			
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター	3,300	研究支援(遺伝子欠損株の作製)		学外1人
研究支援推進経費 計	1,200	研究支援(タンパク質の結晶化)		学外1人
	4,500			学外2人

法人番号

271001

年 度	平成 25 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	17,000	試薬・器具類、実験動物、その他	9,390,550、7,060
光 熱 水 費			
通 信 運 搬 費	12	郵送料	12
印 刷 製 本 費	268	印刷費	268
旅 費 交 通 費	1,167	出張旅費	1,167
報 酬 委 託 料	234	謝礼、英文校正	234
(その他)	1,735	修繕・保守費、その他	1,317、418
計	20,416		
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人 件 費 支 出 (兼務職員)	2,776	研究補助(タンパク質の精製)	時給 1,450円、年間時間数 1,411時間 実人数 1人 (交通費込)
教育研究経費支出			
計	2,776		
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)			
教育研究用機器備品	6,439	機器備品	1,592,943
図 書			
計	6,439		
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			
ポスト・ドクター	3,600	研究支援(遺伝子欠損株の作製)	学外1人
研究支援推進経費			
計	3,600		

年 度	平成 26 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	17,459	試薬・器具類、実験動物、その他	12,436、476、4,547
光 熱 水 費			
通 信 運 搬 費	4	郵送料	4
印 刷 製 本 費			
旅 費 交 通 費	780	出張旅費	780
報 酬 委 託 料	572	謝礼、英文校正	572
(その他)	760	修繕・保守費、会費	612、148
計	19,575		
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人 件 費 支 出 (兼務職員)			
教育研究経費支出			
計	0		
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)			
教育研究用機器備品	1,681	機器備品	1,570、111
図 書			
計	1,681		
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			
ポスト・ドクター	7,534	研究支援(タンパク質の精製)	学外2人
研究支援推進経費			
計	7,534		

法人番号

271001

年 度	平成 27 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
主 な 内 容			
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	8,310	試薬・器具類、実験動物、その他	8,310 試薬・実験器具等
光 熱 水 費			
通 信 運 搬 費	9	郵送料	9 郵送料
印 刷 製 本 費	53	印刷費	53 シンポジウムポスター
旅 費 交 通 費	160	出張旅費	160 研究発表等
報 酬 委 託 料	503	謝礼、英文校正	503 講演謝礼、英文校正等
(その他)	548	修繕・保守費、会費	521、27 機器等の修理・保守、会費等
計	9,583		
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人 件 費 支 出 (兼務職員)	2,941	研究補助(タンパク質の精製)	時給 1,450円 実人数 1人 (交通費込)
教 育 研 究 経 費 支 出			
計	2,941		
設 備 関 係 支 出 (1個又は1組の価格が500万円未満のもの)			
教 育 研 究 用 機 器 備 品	2,311	機器備品	606、657 低温パスサーキュレーター、超低温フリーザー等
図 書			
計	2,311		
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			
ポスト・ドクター	4,200	研究支援(タンパク質の精製)	学外1人
研 究 支 援 推 進 経 費			
計	4,200		