

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：23201

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26292072

研究課題名(和文)食品中機能性成分の動態解明を目指した代謝物の高度利用

研究課題名(英文) The high-level usage of metabolites of dietary compounds for elucidating the molecular mechanism of functional foods

研究代表者

生城 真一 (Ikushiro, Shinichi)

富山県立大学・工学部・教授

研究者番号：50244679

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,500,000円

研究成果の概要(和文)：食品中機能性成分代謝物の高度利用により代謝吸収を含めた体内動態を評価するために、ポリフェノールの抱合代謝物を合成する出芽酵母系を構築した。UDP-グルクロン酸転移酵素、硫酸基転移酵素及びメチル基転移酵素などの異物抱合酵素遺伝子を導入した出芽酵母を用いることにより、多種多様な代謝物の合成を可能にした。培養細胞系及び動物個体におけるポリフェノール及び代謝物の体内動態について代謝物標準品を用いて定量定性解析をおこなった。ポリフェノールなどの機能性成分代謝物の高度利用は機能性食品における作用機序の分子メカニズム解明に大きく貢献できるものである。

研究成果の概要(英文)：In order to analyze the pharmacokinetics of dietary compounds including the metabolites in the body, we have developed xenobiotic metabolizing enzymes expression systems in budding yeast. Phase II metabolites of polyphenols having variety of conjugates were synthesized by using genetically engineered budding yeast containing UDP-glucose dehydrogenase-UDP-glucuronosyltransferase, sulfotransferase or catechol methyltransferase isoforms. Pharmacokinetics of polyphenols and metabolites including absorption and metabolism into the body were examined in vitro and in vivo using standard compounds of phase II metabolites. The high-level usage of metabolites of dietary compounds would be a powerful tool for elucidating the molecular mechanism of functional foods

研究分野：農学

キーワード：ポリフェノール 抱合代謝物 出芽酵母 UDP-グルクロン-酸転移酵素 硫酸基転移酵素 メチル基転移酵素 Caco2細胞 共培養系

1. 研究開始当初の背景

機能性解明における抱合代謝物の重要性：『食の安全』という観点から、既存あるいは新しく開発される食品における非栄養成分の安全性を評価する上においてもこれら異物代謝酵素による代謝物の同定は非常に重要となってきた。さらに、機能性成分の代謝による構造変換は自身が有する機能性にも大きく影響を及ぼすことが明らかにされており、そのグルクロン酸抱合や硫酸抱合の位置によって抗酸化能が大きく変動することが知られており、異物代謝酵素による変換反応が機能性を評価する上でも重要であるとの認識が高まっている (Terao J, Murota K, Kawai Y. *Food Funct.* 2, 11, 2011)。さらに腸管における機能性成分の吸収代謝においては未変化体及び代謝物の動態も含めて総合的に評価する必要があるとの報告がなされている。河合らは抗酸化フラボノイドであるケルセチンを対象として、摂取後の代謝変換機構と酸化ストレス制御機構の関係を解析し、ストレス負荷状態の血管内皮および中枢神経系においてフラボノイドがアグリコンに変換されることにより酸化ストレスに応答していることを示した (Kawai Y, et al. *J Biol Chem.* 283, 9424, 2008)。

ポリフェノールなどの生理機能解明における代謝物研究の重要性にもかかわらず、代謝物自身の合成が困難であることから多種多様な化合物に対して簡便かつ安価な抱合代謝物の合成法の確立が望まれていた。本申請者はこれまでの異物代謝酵素に関する酵素の構造と機能に関する研究背景を通して、平成 20～22 年度までに基盤研究 (C) で助成をうけた研究課題「ヒト由来異物代謝酵素発現系を用いた食品成分代謝評価システムの構築」において、異物代謝酵素群の酵母発現系の構築に成功し、とくにグルクロン酸抱合を触媒する UGT の機能解析系として酵母が有用であることを示した。さらに平成 23～25 年度までに基盤研究 (C) で助成をうけた研究課題「遺伝子改変酵母を用いた食品成分代謝物調製技術の開発」において、出芽酵母菌体自体で抱合体を調製可能な画期的なシステムを開発し、異物代謝酵素発現遺伝子改変酵母を用いた食品成分代謝物調製の可能性を示した ((出芽酵母を用いたグルクロン酸抱合体の製造方法 (特許第 5051485 号)、出芽酵母形質転換体 (特許第 5207201 号))。この製造法を用いることにより抱合反応に必要であり高価な UDP-グルクロン酸を添加することなく大量に抱合体を調製する基盤技術を開発した。さらにもう一種の抱合体である硫酸抱合体についても酵母を用いた製造法を開発した。(遺伝子改変酵母を用いた硫酸抱合体の製造方法)。本技術は有機合成で調製困難な場合が多いポリフェノール抱合体代謝物調製の基盤技術が注目を集めており、機能性解明における高度利用を目指した更なる技術開発が求められている。

2. 研究の目的

(1) 高度利用を目指した食品中機能性成分代謝物の新規製造法の確立

生体における食品中機能性成分であるポリフェノールなどの機能性を評価するために、有機合成では困難である複雑な代謝物を遺伝子改変酵母により簡便かつ安価に製造する方法を確立する。とくにグルクロン酸抱合、硫酸抱合およびメチル化など複数の異なる修飾基が付加された代謝物の調製を可能にする。また、安定同位体 (炭素 13) を用いた標識化合物を合成することにより血中代謝物の精密定量分析を可能にする。

(2) 腸肝循環を模倣した食品中機能性成分の体内動態解析系の構築

ポリフェノールなどの機能性成分の真の動態解析を可能にするために、培養細胞系を用いた代謝吸収モデルの構築を目指す。とくに腸肝循環を模倣した小腸-肝臓細胞の共培養による再構成系を用いて、アグリコンおよび課題 1 で供給される抱合代謝物を効果的に用いて動態解析の基礎となるデータ収集を行う。

3. 研究の方法

(1) 高効率産生を目指したヒト及び哺乳動物種由来 UGT 発現抱合体産生酵母の構築

出芽酵母に UDP-グルコース脱水素酵素を導入することによりグルクロン酸抱合に必要なコファクターである UDP-グルクロン酸を供給する系を構築し、菌体による直接的なグルクロン酸抱合産生を可能にできた。これまでに主要なヒト UGT 分子種を組み込んだ酵母株を構築してきたが、さらに広範囲にわたる化学構造を有するポリフェノール類の代謝変換可能な系を構築するために UGT 発現分子種の充実を図る。

(2) メチル化ポリフェノール体の製造方法の確立

酵母においてはメチル化反応に必要な C1 基供給系が存在することから、ヒトあるいは他種生物由来のメチル基転移酵素 (COMT) 遺伝子の導入により、グルクロン酸あるいは硫酸抱合体と同様にメチル化体の製造が可能になると考えられる。ヒト COMT 遺伝子には出芽酵母での発現に最適なコドン頻度でデザインした人工遺伝子を用いる。発現ベクターとしてはシトクロム P450 遺伝子発現で成功している強力な発現プロモーターを有する pGYR 遺伝子を用いる。選択培地にて発現酵母株をスクリーニングして、高活性の株を取得する。

(3) ヘテロな修飾基をもつポリフェノール抱合体の製造

酵母菌株な組み合わせによる逐次的な変換により、グルクロン酸/硫酸基のヘテロな修飾基を有する抱合代謝物の製造を目指す。また、両抱合酵素遺伝子を同時に同一株に導入することによりワンステップでヘテロ抱合体を産生する。

(4) 小腸—肝臓細胞の共培養系を用いた動態解析系の構築

吸収、代謝に関わる小腸上皮細胞ならびに肝細胞モデルとして汎用されているヒト由来がん細胞培養株 Caco-2 および HepG2 を共培養することにより、それぞれの単独培養に比べてヒト血漿中代謝物のパターンに近づけることが可能となった。そこで、本共培養系を用いて各種フラボノイドの吸収代謝評価を行い、課題1で作成した代謝物ライブラリー標準品を用いた詳細な代謝物の構造解析を行うとともに、より有用な代謝物を見だし酵母系での合成にフィードバックする。生体における動態解析の結果と照合するため、胸管リンパカニューレーションラットを用いたフラボノイド投与後の末梢血漿ならびにリンパ液におけるフラボノイド代謝物の構造解析を実施する。

4. 研究成果

(1) 高効率生産を目指したヒト及び哺乳動物種由来UGT発現抱合体産生酵母の構築

① 新規 UGT 分子種としてヒト由来 UGT2A1 の発現酵母株を構築し、レスベラトロールなどのスチルベン系化合物の抱合体生産に効率的な系を得ることに成功した。また、サル由来 UGT1A 分子種についても 10 種の発現系を構築してポリフェノール類のグルクロン酸抱合体産生に有用であることを示した。

② イソフラボン代謝物であるエクオールのグルクロン酸抱合体の大量調製をおこない、数十 mg の高純度代謝物を得ることに成功した。NMR 測定による構造決定をおこない抱合体位置の同定を可能にした (図 1)。

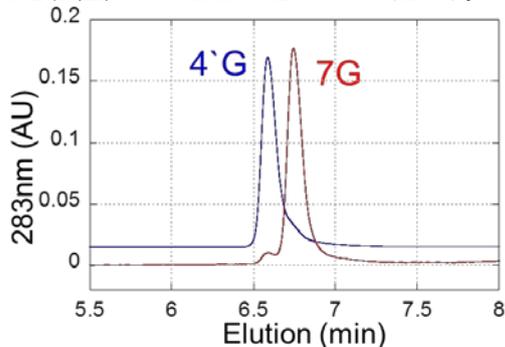


図 1. S-エクオールのグルクロン酸抱合体

③ 出芽酵母におけるヒト硫酸基転移酵素 (SULT1A1, 1A3, 1B1, 1C4, 1E1, 2A1) 発現菌体を用いてケルセチン及びイソラムネチン硫酸抱合体の位置特異的な合成法の確立をおこなった。

④ ポリフェノール抱合体代謝物の多くは酵母菌体の内部に蓄積することから、菌体外への排出機構を酵母に付与することを目的にヒト由来 ABC トランスポーターとの抱合体産生における寄与は得られなかった。

(2) メチル化ポリフェノール体の製造方法の確立

① ヒト由来メチル基転移酵素について膜結合型及び可溶性型の 2 種の発現系 (mCOMT,

sCOMT) を構築しメチル化フラボノイド産生を確認した。これら発現系によりヘテロな修飾を受けたフラボノイド抱合体産生のための発現系を構築し形質転換株を得ることに成功した (図 2)。酵母発現系を用いてメチル化ケルセチン (5 種) の抱合体について網羅的な代謝物生成パターンの解析をおこなった。

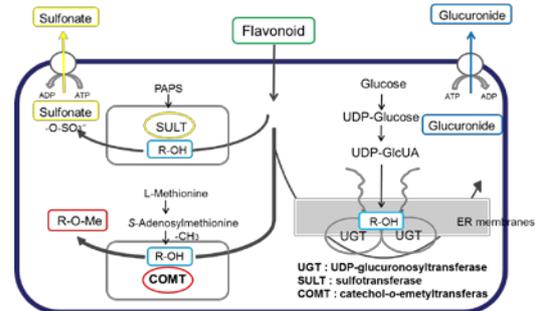


図 2. メチル化を含むポリフェノール抱合体能を有する出芽酵母の構築

②メチル化ケルセチンであるイソラムネチンのグルクロン酸抱合体の位置特異的な合成法の確立をおこない、3 種の抱合体について NMR 測定による構造決定をおこない抱合体位置の同定を可能にした (図 3)。

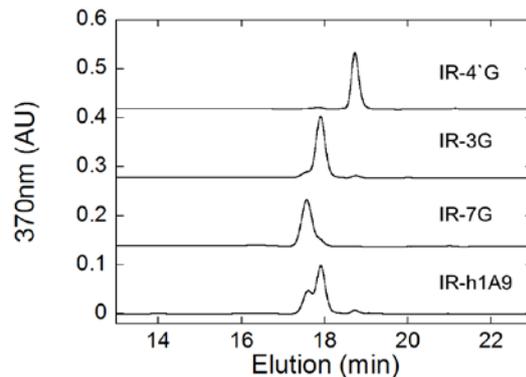


図 3. イソラムネチンの部位特異的なグルクロン酸抱合体

(3) ヘテロな修飾基をもつポリフェノール抱合体の製造

ヘテロな修飾を受けた抱合体産生については UDP-グルクロン酸転移酵素、硫酸基転移酵素及びメチル基転移酵素の同時発現酵母によって可能となった (図 4)。

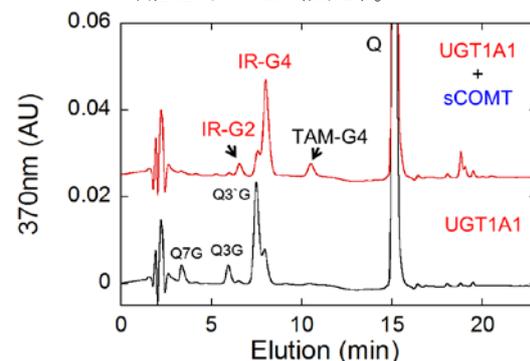


図 4. 同時発現酵母株によるメチル化ケルセチン抱合体の生成

IR: イソラムネチン(3-メチル化ケルセチン)

TAM: タマリキセチン(4-メチル化ケルセチン)

また、安定同位体ラベル抱合体については¹³C グルコースを出発基質として¹³C グルクロン酸により抱合体の調製を試みたが、内在性グルコースによりラベル体が希釈され十分な純度の標品を得ることができなかった。

(4) 小腸-肝臓細胞の共培養系を用いた動態解析系の構築

① ヒト小腸及び肝臓モデルである Caco-2 細胞と HepG2 細胞を用いた動態解析

ケルセチンとヘスペレチンの吸収代謝性の比較を行った。ヘスペレチンにおけるカテコール構造のメチル化修飾の影響を考察するためにメチル化ケルセチンであるイソラムネチンも比較実験に用いた。その結果、いずれの細胞においてもケルセチン>イソラムネチン>ヘスペレチンの順に代謝が起こり易いことが示唆された。また、Caco-2/HepG2 共培養系においては、ケルセチンのメチル化とヘスペレチンの抱合化が増強する一方、イソラムネチンではあまり影響がみられなかった。

また、東京農業大学との共同研究により Caco-2 細胞におけるエクオール¹の吸収比較実験を行った。エクオールは動物レベルで腸肝循環により小腸に出現したグルクロン酸抱合体が再吸収されることで血漿中濃度が上昇していくことが知られている。このとき、細胞が産生する代謝物の光学異性体の比率と、生体内で蓄積して来る光学異性体の比率が異なることが示唆されていた。そこで、富山県立大で S 体と R 体のエクオール-グルクロン酸抱合体を調製し、Caco-2 細胞に大腸菌由来 β-グルクロニダーゼとともに与えたところ、上皮への輸送のされ方が異なることが示唆された。すなわち、エクオール代謝物においては、腸内細菌代謝がグルクロン酸抱合体の光学異性体により異なることを示唆する結果を得た。

② リンパカニューレションラットを用いたフラボノイドの吸収代謝動態の解析

培養細胞を用いた実験において、ケルセチン>イソラムネチン>ヘスペレチンの順に代謝が起こり易いことが示唆されたため、動物レベルにおいての比較を行ったところ、いずれのフラボノイドもほとんどが代謝物として血中およびリンパ液中に出現し、代謝のされやすさには明確な違いが見られなかった。しかし、吸収のされやすさにおいては、ケルセチン>ヘスペレチン>イソラムネチンの順となった。また、Caco-2 細胞にイソラムネチンを与えた場合には、基底膜側への輸送量はケルセチンと同程度であるものの、細胞層に留まる量はケルセチンよりも多い傾向がみられたことから、イソラムネチンは体内に取り込まれにくい可能性が示された。これらに加えて、フラバノン構造とフラボノール構造では血漿濃度とリンパ液濃度の比が異なっており、小腸で生じた代謝物が毛細血

管とリンパ管それぞれに輸送される割合が異なることが示唆された。

食事由来のフラボノイドは主に配糖体であることから、摂取するフラボノイドの配糖体構造に着目し、ケルセチンアグリコン、イソケルシトリン (ケルセチン-3-グルコシド) とルチン (ケルセチン-3-ルチノシド) を投与し、吸収性と生じる代謝物の比較を行った。その結果、ルチンは大腸から吸収されること、リンパへの輸送は主に小腸から吸収されるアグリコンとイソケルシトリンで高いことが示された。さらに、富山県大で調製した一連の抱合体を標準物質として、血漿中およびリンパ液中のケルセチン代謝物構造について LC-MSMS による解析を行った。その結果、血漿とリンパ液に吸収後出現する代謝物の種類は同様であった。しかしながら、グルクロン酸抱合体における抱合基の結合位置により、血漿とリンパ液への分配率が異なる結果を得た。さらに、アグリコンと配糖体では、一部の代謝物において濃度が大きく異なっていた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

(1) S. Ikushiro, M. Nishikawa, Y. Masuyama, T. Shouji, M. Fujii, M. Hamada, N. Nakajima, M. Finel, K. Yasuda, M. Kamakura, Sakaki T: Biosynthesis of Drug Glucuronide Metabolites in Budding Yeast *Saccharomyces cerevisiae*.

Mol. Pharmaceutics **13**, 2274-2284 (2016) (査読有) DOI:10.1021/acs.molpharmaceut.5b00954

(2) T. Nakamura, N. Miyoshi, T. Ishii T, M. Nishikawa, S. Ikushiro, T. Watanabe: Activation of transient receptor potential ankyrin 1 by quercetin and its analogs. *Biosci Biotechnol Biochem.* **80**,949-954 (2016) (査読有) DOI: 10.1080/09168451.2015.1132148.

(3) Y. Sakakibara, M. Katoh, K. mai, Y. Kondo, Y. Asai, S. Ikushiro, M. Nadai: Expression of UGT1A Subfamily in Rat Brain. *Biopharm Drug Dispos.* **37**, 314-319 (2016) (査読有) DOI:10.1002/bdd.2012.

(4) Mano H, Nishikawa M, Yasuda K, Ikushiro S, Sakaki T: Development of bioluminescent sensor to detect vitamin D receptor ligands in the living cells, *Bioconjugate Chemistry* **26**, 2038-2045 (2015) (査読有) DOI:10.1021/acs.bioconjchem.5b00433.

(5) Shirotani N, Togawa M, Ikushiro-S, Sakaki T, Harada T, Miyagawa H, Matsui M, Mikata K, Nishioka K, Hirai N, Akamatsu M: Identification and *In Silico* Prediction of Metabolites of a Model Compound, Tebufenozide by Human CYP3A4 and CYP2C19, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **23**, 6594- 6601 (2015) (査読有) DOI:10.1016/j.bmc.2015.09.019.

(6) Maruo Y, Behnam M, Ikushiro S, Nakahara S, Nouri N, Salehi M. Two Different UGT1A1

Mutations causing Crigler-Najjar Syndrome types I and II in an Iranian Family. *J Gastrointest Liver Dis.* **24**, 523-526 (2015) (査読有) DOI:10.15403/jgld.2014.1121.244.ugt

(7) Yasuda K, Ueno S, Ueda Y, Nishikawa M, Takeda K, Kamakura M, Ikushiro S, and Sakaki T: Influence of sesamin on CYP2C-mediated diclofenac metabolism; in vitro and in vivo analysis, *Pharmacol Res Perspect.* **3**, e00174 (2015) (査読有) DOI:10.1002/prp2.174.

(8) Watanabe KP, Kawai YK, Nakayama SM, Ikenaka Y, Mizukawa H, Takaesu N, Ito M, Ikushiro SI, Sakaki T, and Ishizuka M.

Partial cloning of CYP2C23a genes and hepatic protein expression in eight representative avian species. *J Vet Pharmacol Ther.* **38**, 190-195 (2015) (査読有) DOI: 10.1111/jvp.12159.

(9) Kato Y, Haraguchi K, Onishi M, Ikushiro S, Endo T, Ohta C, Koga N, Yamada S, Degawa M: 3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl-mediated decrease of serum thyroxine level in C57BL/6 and DBA/2 mice occurs mainly through enhanced accumulation of thyroxine in the liver.

Biol Pharm Bull., **37**, 504-509(2014) (査読有) [学会発表] (計 30件)

(1) 生城真一、榊利之 (他 6 名) : 抱合酵素発現酵母株を用いたメチル化ケルセチンの抱合代謝解析、第 21 回フードファクター学会学術集会 2016. 11. 19-20 (富山市)

(2) 岡本海利、生城真一、榊利之 (他 4 名) : 薬物代謝酵素によるセサミン代謝物の解析 第 21 回フードファクター学会学術集会 2016. 11. 19-20 (富山市)

(3) 西川美宇、生城真一、榊利之 (他 2 名) : 薬物代謝酵素発現酵母を用いたフラボノイド代謝物調製法、第 21 回フードファクター学会学術集会 2016. 11. 19-20 (富山市)

(4) 藤井美春、生城真一、榊利之 (他 4 名) : 薬用植物由来有効成分であるペンタガロイルグルコースのグルクロン酸抱合代謝、第 21 回フードファクター学会学術集会 2016. 11. 19-20 (富山市)

(5) 高平梨可、榊利之、生城真一 (他 6 名) : 抱合代謝酵素発現酵母を用いたビタミン E 代謝物合成技術の開発、第 21 回フードファクター学会学術集会 2016. 11. 19-20 (富山市)

(6) 中村俊之、生城真一、室田佳恵子 (他 5 名) : ケルセチンアグリコンまたはケルセチン 3-グルコシド投与による代謝の差違、第 21 回日本フードファクター学会学術集会 2016. 11. 19-20 (富山市)

(6) 藤井駿吾、生城真一、室田佳恵子 (他 4 名) : Equol 鏡像異性体の再吸収動態と骨量減少抑制効果の差違、第 21 回日本フードファクター学会学術集会 2016. 11. 19-20 (富山市)

(7) 生城真一、榊利之 (他 3 名) : ヒトカテコールメチル基転移酵素発現酵母を用いたメチル化フラボノイド合成、第 89 回 日本生化学会大会 2016. 9. 25-28 (仙台市)

(8) 高平梨可、榊利之、生城真一 (他 6 名) : 第二相反応酵素発現酵母を用いたビタミン E 抱合代謝物調製技術の開発、第 89 回 日本生化学会大会 2016. 9. 25-28 (仙台市)

(9) 岡本海利、生城真一、榊利之 (他 2 名) : 薬物代謝酵素によるセサミン代謝物の解析 内外環境応答代謝酵素研究会 2016. 9. 17-18. (静岡市)

(10) Takahira R, Sakaki T, Ikushiro S (他 4 名) : Biosynthesis of phase II conjugates of the vitamin E metabolites using genetically engineered budding yeast.、第 5 回国際コファクター会議 & 酵素活性分子国際会議 2016 2016. 9. 5-8 (宇奈月、富山)

(11) 室田佳恵子、生城真一 (他 3 名) : ラットを用いたケルセチン配糖体のリンパを介した吸収経路に関する検討、第 10 回日本ポリフェノール学会学術集会 2016. 8. 3-4 (東京都)

(12) 生城真一、榊利之 (他 6 名) : 抱合酵素発現酵母株を用いたメチル化ケルセチンの代謝解析、第 10 回日本ポリフェノール学会学術年会 2016. 8. 3-4 (東京都)

(13) 生城真一、西川美宇、榊利之: 食品中機能性成分に対するグルクロン酸抱合代謝の分子基盤、学術シンポジウム: UGT研究の最前線~食品から医薬品、実験動物からヒトまで~、第 43 回日本毒性学会学術年会、2016. 6. 28-7. 1 (名古屋市)

(14) 高平梨可、榊利之、生城真一 (他 4 名) : 異物代謝酵素発現酵母を用いたビタミン E 抱合代謝物の調製、日本ビタミン学会第 68 回大会 2016. 6. 17-18 (富山市)

(15) 高平梨可、榊利之、生城真一 (他 4 名) : 抱合代謝酵素発現出芽酵母を用いたビタミン E 代謝物抱合体調製技術の開発、日本生化学会北陸支部第 34 回大会 2016. 5. 28 (金沢市)

(16) 室田佳恵子、生城真一 (他 4 名) : ラットにおけるケルセチン配糖体の腸管吸収代謝経路の比較、日本農芸化学会 2016 年度大会 2016. 3. 30 (札幌市、北海道)

(17) 中村俊之、生城真一、室田佳恵子 (他 2 名) : ケルセチンとその配糖体投与後のラット血漿およびリンパ液中代謝物の比較、日本農芸化学会 2016 年度大会 2016. 3. 30 (札幌市、北海道)

(18) Ikushiro S, Kataoka M, Sakaki T (他 5 名) : Whole cell-dependent production of equol metabolites using genetically engineered budding yeast, The 6th International Conference on Food Factors (IcoFF 2015) 2015.11.22-25 (Seoul, Korea)

(19) Nishikawa M, Ikushiro S, Sakaki T (他 3 名) : Whole cell-dependent synthesis of flavonoid metabolites using genetically engineered yeast cells, The 6th International Conference on Food Factors (IcoFF 2015) 2015.11.22-25 (Seoul, Korea)

(20) Murota K, Ikushiro S (他 5 名) : Intestinal absorption pathway of quercetin-O-3 -glucoside

in rats., 7th International Conference on Polyphenols and Health, 2015.10-27-30 (Congress Center, Tours, France)

(21) 生城真一、榊利之 (他 2 名) : ヒトカテコールメチル基転移酵素発現酵母を用いたメチル化フラボノイド合成、2015 年度酵素補酵素研究会 2015. 7. 10-11 (福井市)

(22) 生城真一、西川美宇、榊利之: 異物代謝における種差同定を目指した異物代謝酵素発現酵母株の構築」学術シンポジウム: 異物/薬物代謝の種差解明の最先端、第 42 回日本毒性学会学術年会、2015. 6. 29-7. 1 (金沢、石川)

(23) 高平梨可、榊利之、生城真一 (他 4 名) : 出芽酵母発現系を用いたカニクイザル由来 UDP-グルクロン酸転移酵素の機能解析、日本農芸化学会 2015 年度大会 2015. 3. 26-29 (岡山市)

(24) 黒川健治、生城真一、榊利之 (他 6 名) : ヒト血中濃度レベルのケルセチンおよびケルセチン抱合体の抗炎症作用、第 19 回フードファクター学会学術集会 2014. 11. 8-9 (鹿児島市)

(25) 生城真一、室田佳恵子、榊利之 (他 5 名) : 異物代謝酵素発現酵母を用いたエクオール抱合代謝物の調製、第 19 回フードファクター学会学術集会 2014. 11. 8-9 (鹿児島市)

(26) 生城真一 : グルクロン酸抱合によるビリルビン代謝の分子機構」フォーラム: ヘム・ビリルビン代謝の生化学と構造生物学、第 87 回日本生化学大会、2014. 10. 15-17 (京都)

(27) Ikushiro S, Nishikawa M, Sakaki T: Whole cell-dependent production of phase II metabolites using genetically engineered budding yeast. ISSX-JSSX2014, 2014,10.18-23 (San Francisco, USA)

(28) 室田佳恵子、生城真一 (他 2 名) : 赤ワインエキス中トランスレスベラトロールの吸収代謝動態、第 8 回日本ポリフェノール学会学術年会 2014. 8. 8 (東京都)

(29) 生城真一、榊利之 : 哺乳動物由来異物代謝酵素発現酵母を用いたポリフェノール抱合代謝物調製、第 8 回日本ポリフェノール学会学術年会 2014. 8. 8 (東京都)

(30) 生城真一、室田佳恵子、榊利之 (他 5 名) : 異物代謝酵素発現酵母を用いたエクオール抱合代謝物解析、日本ビタミン学会第 66 回大会 2014. 6. 13-14 (兵庫県・姫路市)

[図書] (計 4 件)

(1) Ikushiro, S, Nishikawa, M., and Sakaki, T.: Whole Cell Dependent Biosynthesis of Dug Metabolites Using Genetically Engineered Budding Yeast. Fifty Years of Cytochrome P450 Research (H. Yamazaki ed.) pp. 175-186, Springer Japan, Tokyo (2014) (分担執筆)

(2) 生城真一 : 「遺伝子改変出芽酵母を用いた異物代謝調製技術の開発」産学連携 Vol. 30 シーズ技術、北陸経済研究 419、46-47 (2014)

(3) 西川美宇、生城真一、榊利之 : 「薬物代謝酵素発現酵母を用いたヒト代謝物生産システム」DOJIN News 157, 1-5, (2016)

(4) 室田佳恵子 : 第 10 章 フラボノイドの生体利用性研究の最近の進歩 ポリフェノール: 機能性成分研究開発の最新動向 (波多野力、下田博司 監修), pp. 90-97 (シーエムシー出版) (2016)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: $1\alpha, 25\text{-}$ ヒドロキシビタミン D₂ の製造方法

発明者: 榊利之、安田佳織、生城真一

権利者: 富山県

種類: 特許

番号: 特願 2014-193073

出願年月日: 2014 年 9 月 22 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 2 件)

(1) 名称: 遺伝子改変酵母を用いた硫酸抱合体の製造方法

発明者: 生城真一、榊利之

権利者: 富山県

種類: 特許

番号: 第 5771405 号

取得年月日: 2015 年 7 月 3 日

国内外の別: 国内

(2) 名称: ヒト由来メチルステロール酸化酵素を生産する組替体及びその利用

発明者: 榊利之、安田佳織、生城真一

権利者: 富山県

種類: 特許

番号: 第 5990888 号

取得年月日: 2016 年 8 月 26 日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ:

<http://www.pu-toyama.ac.jp/BR/sakaki/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

生城真一 (IKUSHIRO Shin-ichi)

富山県立大学・工学部・教授

研究者番号: 50244679

(2) 研究分担者

室田佳恵子 (MUROTA Kaeko)

近畿大学・理工学部・准教授

研究者番号: 40294681

榊利之 (SAKAKI Toshiyuki)

富山県立大学・工学部・教授

研究者番号: 70293909

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし