

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「藻類・水圏微生物の機能解明と制御による
バイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」
研究課題
「藻類完全利用のための生物学技術の集約」

研究終了報告書

研究期間 平成23年10月～平成29年3月

研究代表者:植田充美
(京都大学大学院農学研究科、教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

世界第6位の排他的経済水域に、豊富な水圏藻類を原材料とする海洋・水圏資源を基盤とする世界初の、しかも、日本再生ともなる海洋国家「ものづくり」の生物工学技術集約プラットフォームの創製をめざした。その中核技術となる「細胞表層工学によるアーミング技術」は、バイオエタノールを作製するオールインワン型の未来型のプロセスを実現するために開発してきたものである。すなわち、1つの細胞が多段階の反応を進行させる細胞の分子育種法であり、これをさらに深化させることで水圏藻類の完全利用を推進できる。そのためには、障壁となっている藻類の細胞壁を構成する多糖類や藻類特有の化学化合物を分解して利用できる各種酵素を海洋性細菌やメタゲノムやセルロソームを遺伝子資源として探索し、それらの組み合わせを細胞表層提示した高機能エキスパート細胞触媒を創製することが必須である。水圏藻類から液体エネルギーのみならず、海藻特有の有用化合物や電池素材など、これまでの化石燃料由来であった多くの化学素材となる化学化合物も作り出す「藻類バイオリファイナー」を確立するとともに、藻類の基礎的育種への基盤構築をめざしたものである。

具体的には、海洋・水圏バイオマスを基盤として、大型藻類バイオリファイナーをめざしたバイオマス変換プロセスを実現するためには、非可食大型藻類を原料として、三重大と九大の資源の増殖(養殖)と育種や調査をもとに、全成分のエネルギーへの変換を可能にした。これには、京大の細胞表層工学と京大と三重大のソフトバイオマス分解微生物 *Clostridium cellulovorans* の遺伝子特許の活用の寄与が大きい。非可食大型藻類を分解できるベストミックス酵素群を用いたエキスパート触媒の構築には、*C. cellulovorans* や過去の文献調査で大型藻類を全滅(完全分解)させた微生物 *Saccharophagus degradans* の分子情報とタンパク質プロファイルを新規開発のモリス LC/MS を用いたオミクス解析が有効であった、季節変動が大きく大型藻類を特徴づけるラミナランや難分解性アルギン酸の分解の戦略の成功が重要であった。さらなる展開として、エタノール生産の最適化が最終課題である。これには、早大との共同でのメタゲノム解析およびハイスループットスクリーニング技術により、藻類表面付着性細菌や藻類摂食動物の腸内細菌等を遺伝子資源とし、メタゲノムライブラリーを作成し、そのスクリーニングに加え、高活性な酵素群を取得が鍵になり、最適な酵素遺伝子を利用して代替できた。また、これらのエキスパート触媒を働かせる反応温度を維持するために、非可食大型藻類から電力を阪大により開発した電極で確保できた。

(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. 細胞表層工学の活用と合成生物学による代謝工学の融合による新しいエキスパート触媒の作製に成功し、大型藻類の成分のなかでも、季節変動が大きく大型藻類を特徴づけるラミナランや難分解性アルギン酸(ポリマー)を直接分解できる生体触媒は、世界初のラミナランやアルギン酸(ポリマー)から直接エタノールを作製できるエキスパート触媒となった(京大グループ)。
2. 開発したナノ構造電極を組込んだ燃料電池を構築して、実際にアルギン酸や、三重大グループが作製した乾燥クロメ粉末溶液から直接電気エネルギーを取り出すことに成功した。本研究成果は、食料と競合しない褐色藻類バイオマスを、外部からのエネルギーを必要とせず、電気エネルギーや有用材料に変換する新しい道筋を示した研究としてChemCatChem誌のカバーページを飾る論文に採用された(阪大グループ)。
3. 酵母でブタノールを生産できるエキスパート触媒の調製に、合成生物学的育種法により成功した。また、海水から超微量のウランを特異的に選択吸着濃縮できる酵母の調製や白金イオンを還元してナノ粒子として回収できる酵母の育種にも成功した(京大グループ)。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1. 大型藻類からエタノールを作製できるエキスパート触媒の作製に、細胞表層工学の活用と合成生物学による代謝工学の融合の戦略が重要であった。これにより、酵母でブタノールを生産したり、大型藻類に貯留されているウランやレアメタルを選択的に吸着回収できるエキスパート触媒に成功しており、この戦略の実効性の実証をした。さらに、これらの機能を証明するために、多岐にわたる検証を行い、学会発表や論文を多数輩出できた(京大グループ)。

2. 非可食大型藻類(クロメ)の養殖の確保とその海外調査をもとに、陸上バイオマスでこれまで日本で失敗してきた資源の確保を海洋バイオマスへの転換で実現できた。さらに、新たに養殖資源の作出のためにアラメの種苗にも取り組み日本の海洋バイオマス資源の増大に貢献し、細胞工学的技術への応用が期待できた(三重大と九大グループ)。この育種により、将来の日本の海洋資源開発へのインフラ整備への戦略の基盤を確立した(京大グループ)。
3. 大型藻類から、抗酸化性物質やアルギン酸(ポリマー)から稀少糖(モノマー)の生産に成功し、企業との共同研究に発展している(三重大グループ)。

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

1. 「京都大学」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
植田 充美	京都大学大学院農学研究科	教授	H23.10～
黒田 浩一	同上	准教授	H23.10～
石高 彰人	同上	M1～D2	H25.4～
高木 俊幸	同上	D2～D3	H26.4～
油屋 俊介	同上	M2～D1	H27.4～
佐々木勇輔	同上	M2～D1	H27.4～
稲森 貴子	同上	M1～M2	H27.4～
西岡 良将	同上	M1～M2	H27.4～
元根 啓佑	同上	M1～M2	H27.4～
横山 治樹	同上	M2	H28.4～
小澤 敦揮	同上	M1	H28.4～
古村 峻	同上	M1	H28.4～
高村 陽介	同上	M1	H28.4～
三上 洋祐	同上	M1	H28.4～
伊藤 理央	同上	M2	H27.4～H28.3
Shin Jon Won	同上	M2	H27.4～H28.3
重盛 智大	同上	D3	H25.4～H27.3
裴 峻九(Bae Jungu)	同上	D1～D3	H24.4～H27.3
CHUNG JI-HYE	同上	D2～D3	H25.4～H27.3
江坂 康平	同上	M1～M2	H25.4～H27.3
山田 純希	同上	M1～M2	H25.4～H27.3
森坂 裕信	同上	助教	H23.10～H26.12
西田 奈央	同上	D1～D3	H23.10～H26.3
里村 淳	同上	M2	H25.4～H26.3
立上 陽平	同上	M2	H25.4～H26.3
原 圭祐	同上	D3	H23.10～H25.3
五十川 団也	同上	D3	H23.10～H25.3
三浦 夏子	同上	D3・教務補佐員	H23.10～H25.3
中西 昭仁	同上	D3	H23.10～H25.3

青木 航	同上	D2～D3	H23.10～H25.3
松井 一真	同上	M2	H24.4～H25.3
戎谷 一輝	同上	M2	H24.4～H25.3

研究項目

1. プロテオーム解析による大型藻類資化ベストミックス酵素の最適化の探索
2. アルギン酸を分解できる酵素群の単離と発現
3. エネルギー関連希少金属を吸着できる細胞触媒を調製と機能評価の実施

2. 「三重大学」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
柴田 敏行	三重大学 大学院生物資源学研究科	准教授	H23.10～
田中 礼士	同上	准教授	H23.10～
三宅 英雄	同上	助教	H23.10～
倉島 彰	同上	准教授	H28.4～
長山 公紀	熊本県水産研究センター	研究参事	H25.7～
山口 弘子	三重大学 大学院生物資源学研究科	特定事業技術補佐員	H25.7～H28.12
杉浦 真悟	同上	M1～2	H27.4～
水谷 雪乃	同上	M1～2	H27.4～
岡田 昌子	同上	M1～2	H27.4～
藤井 玲央奈	同上	M1	H28.4～
谷口 凌佑	同上	M1	H28.4～
村瀬 祥光	同上	M1	H28.4～
加藤 葉	同上	M1	H28.4～
平松 愛子	同上	M1～2	H26.4～H28.3
長屋 千晶	同上	M1～2	H26.4～H28.3
牧野 沙紀	同上	M1	H27.4～H28.3
富永 圭祐	同上	M1～2	H25.4～H27.3
幡中 友一	同上	M2	H26.4～H27.3
石川 岳	同上	M1～2	H25.4～H27.3
松岡 いづみ	同上	特定事業技術補佐員	H24.5～H26.3
石川 文啓	同上	D3	H23.10～H24.9
藤井 陽平	同上	M2	H24.4～H25.3
高嶋 和也	同上	M1～2	H24.4～H26.3

研究項目

1. 褐藻類を構成する多糖類と糖アルコールの定量分析
2. 褐藻類に特徴的なフィトケミカルの構造と生理機能の解析
3. 褐藻類に対する *C. cellulovorans* の網羅的遺伝子発現解析
4. 褐藻類分解性細菌の探索および分解機能の網羅的解析

3. 「九州大学」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
川口 栄男	九州大学大学院 農学研	教授	H23.10～H28.3

	究院		
畠田 智	お茶の水女子大学 自然 応用科学系	准教授	H23.10～H28.3
寺田 竜太	鹿児島大学 水産学部	准教授	H23.10～H28.3

研究項目

1. アラメ属・カジメ属褐藻類の採取と分類
2. アラメ属・カジメ属褐藻類の栽培技術の確立
3. ホンダワラ科褐藻類の分布・資源量調査
4. 東南アジア地域での未利用大型海藻資源開発

4. 「早稲田大学」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
モリ テツシ	早稲田大学 理工学術院	講師	H23.10～H29.1
庄子 習一	同上	教授	H23.10～H29.1
高橋 真美	同上	研究助手	H24.4～H29.1
山田 由美子	同上	研究助手	H26.4～H28.12
細川 正人	同上	次席研究員	H26.4～H29.1
緑川 直子	同上	研究助手	H24.3～H26.3
小原 洋太郎	同上	D3	H23.10～H26.3
渡辺 幸太郎	同上	M2	H24.4～H26.3

研究項目

1. サンプリング、メタゲノムライブラリーの作成および解析
2. メタゲノムライブラリーの作成および標的酵素の探索・解析
3. 標的酵素の探索・解析およびハイスループットスクリーニングデバイスの作成

5. 「東京農工大学」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
モリ テツシ	東京農工大学 大学院グロ ーバルイノベーション研究院	准教授	H29.2～

研究項目

1. メタゲノムライブラリーの作成および標的酵素の探索・解析
2. 標的酵素の探索・解析およびハイスループットスクリーニングデバイスの作成

6. 「大阪大学」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
吉川 裕之	大阪大学工学研究科	助教	H23.10～
池内 智彦	同上	特任研究員	H23.10～H24.3
Hoa Quynh Le	同上	特任研究員	H24.4～H26.3
Vu Thi Huong	同上	特任研究員	H26.4～H27.7
瀧本 浩右	同上	研究員(派遣職員)	H28.1～
川和田 晴己	同上	事務補佐員	H24.4～H25.3
平田 美江	同上	事務補佐員	H25.4～
森弘 拓人	同上	M2	H24.4～H26.3

尹航	同上	M1	H24.4~H25.3
Ismail Nur Syakimah	同上	D3	H24.4~H27.3
石橋 達也	同上	M2	H25.4~H27.3
十朱 仁	同上	M2	H26.4~H28.3
中川 亮	同上	M1	H27.4~
Joyotu Mazumder	同上	M1	H27.4~

研究項目

1. ナノ構造電極の開発。
2. 燃料電池作製。
3. 電解生成物解析。

§ 3 研究実施内容及び成果

3.1 「藻類完全利用のための多機能エキスパート活性触媒の開発と育種へのプラットフォームの構築」(京都大学グループ)

(1)研究実施内容及び成果

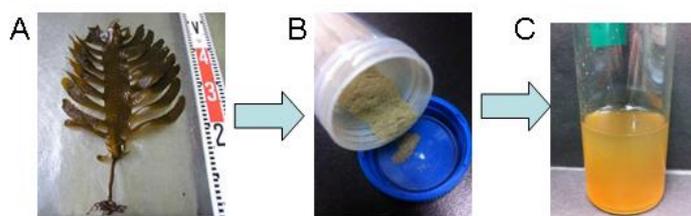
海洋・水圏バイオマスを基盤として、藻類バイオリファイナリーをめざしたオールインワン型のバイオマス変換プロセスを実現するためには、多段階の反応を進行させる細胞の分子育種として、世界が注目している細胞表層工学によるアーミング技術を藻類細胞壁の前処理・糖化に最適な微生物育種に適用し、各種酵素の組み合わせで細胞表層提示した水圏資源利活用に最適な高機能エキスパート触媒の構築に成功した。本プロジェクトのコア技術を形成し、各チームのもつ生物学技術を集約し、全体を有機的に結合させ、新たな海洋水圏資源を基盤とする「ものづくり」科学技術の集約モデルとなる連携システムの構築の推進役として、成果の集約と実社会への展開を、国内外にアピールした。国際的には、2015年12月18日—25日にUSA/ハワイ・ホノルルで5年ごとに開催されるPacifiChem2015で海洋資源の活用に関する2日間のセッションをJSTの支援のもとで開催した。さらに、2016年7月3日—6日にポーランド・クラクフで5年ごとに開催されるECB(ヨーロッパバイオテクノロジー会議)で本プロジェクトの研究成果を発表し、EU諸国にアピールした。

1. スーパープロテオーム解析による大型藻類資化ベストミックス酵素の最適化の探索

我々が世界に先駆けてゲノムの完全解析をしたセルロソームをもつソフトセルロース分解能をもつ微生物 *Clostridium cellulovorans* や海洋バイオマスを完全分解した記録のある海洋性微生物 *Saccharophagus degradans* から、対応する酵素群のすべての遺伝子の単離を行い成功した。このプロセスにおいて、我々の開発してきたモノリスLC/MS/MSを用いたスーパープロテオーム解析が有効であった。

具体的には、以下のとおりである。

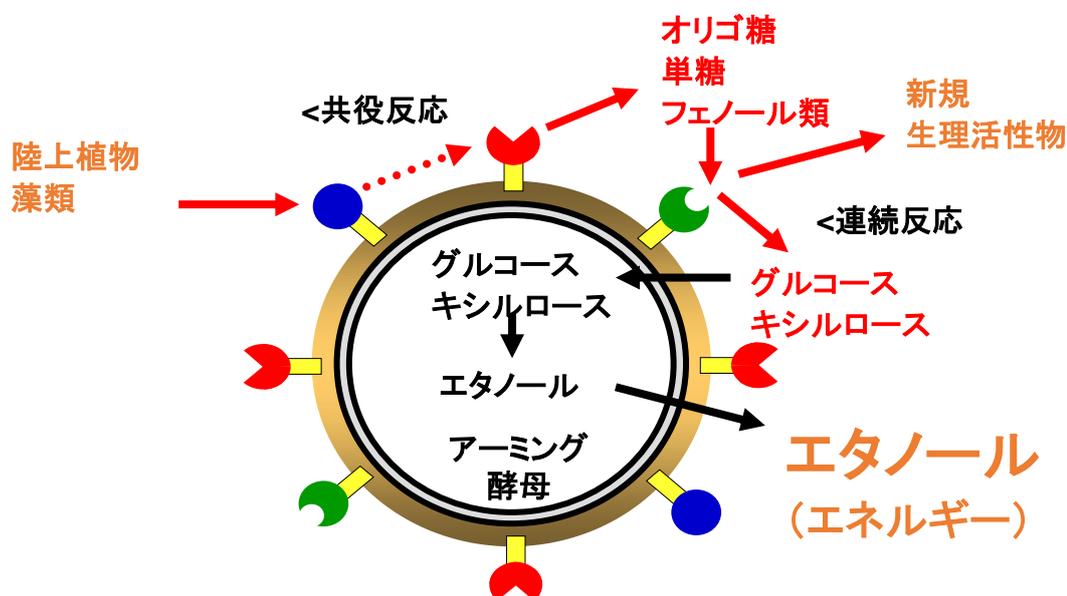
大型藻類として、九州大学と三重大学から提供された養殖クロメ(天草産一丁 Ⅰ)を微粉碎処理した原料(B)を用いて検討をした。我々が世界に先駆けてゲノムの完全解析をしたセルロソームをもつソフトセルロース分解能をもつ微生物 *C. cellulovorans* と *S. degradans* をモデルとして用いた。微粉碎処理クロメを乾燥重 0.3% (w/v) 含む培地で培養した結果、クロメを分解して生育していることが確認できた(C)ので、この培養液に含まれる酵素を網羅的に同定した。



大型藻類の微生物による分解

このプロセスにおいて、我々の開発してきたモノリスLC/MS/MSを用いたスーパープロテオーム解析が有効であった、この解析をもとに、大型藻類を構成するセルロース、ヘミセルロース、アルギン酸、ラミナランを資化できるベストミックス酵素群が判明したので、対象とする微生物、*C. cellulovorans*, *S. degradans* から、対応する酵素群のすべての遺伝子の単離を行い成功した。

構築したセルロース成分とヘミセルロース成分分解酵母によるエタノール生成



細胞表層提示 (α -アグルチニン基盤) 共役酵素群:

セルロース成分の場合 — endoglucanase, cellobiohydrolase, β -glucosidase

ヘミセルロース成分の場合 — xylanase, β -xylosidase, xylose isomerase (世界初の提示成功)

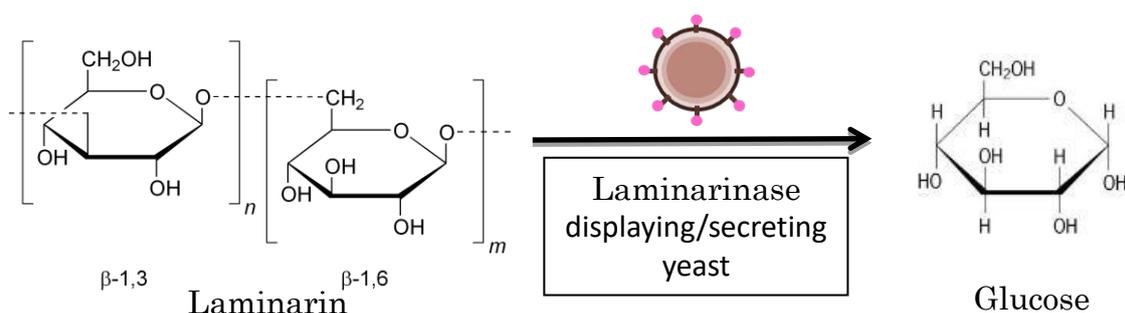
セルロース成分の分解には、比較検討の結果、これまで、陸上植物のセルロース分解に適した *Trichoderma reesei* の endoglucanase と cellobiohydrolase と *Aspergillus aculeatus* の β -glucosidase を共提示して育種した酵母でのエタノール生産が最高値を示したが、今後最適化の必要がある。

ヘミセルロース成分の分解には、*S. degradans* と *C. cellulovorans* から単離した xylanase, β -xylosidase と xylose isomerase の共提示酵母を育種した結果、蛍光抗体染色によりキシラン分解酵素らの提示を確認した後、キシラン及びキシロースオリゴ糖を基質とした酵素反応を行った。DNS assay による還元糖の定量や TLC による糖の分離・検出によって活性測定を行ったところ、キシラン分解活性を有する酵母株が確認され、キシランから直接のエタノール生産に成功した。さらに、最適化するために、補因子の調査などを検討した。コバルトイオンの添加で、約8倍ほどの活性上昇が可能であることが判明し、エタノール生産が 6.2g/L に上昇した。xylose isomerase の細胞における局在設定によりさらなる活性の上昇が期待できることが判明した。

次に、季節変動が大きい、大型藻類の褐藻類の特徴的な成分の褐藻類の貯蔵多糖ラミナラン (β -1,6-結合の枝分かれ構造を持つ β -1,3-グルカン) は、褐藻類の乾燥重量の最大 35% を占めるにもかかわらず、グルコースまでの分解経路が不明であるため、有効な利用技術が未だ開発されていない。また、ラミナリンは褐藻類の種類に応じて β -1,3-結合と β -1,6-結合の含有比率が異なることから、ラミナランの構造に応じた分解の最適化が必要となる。

ラミナランからエタノール生産を行うには、ラミナランをグルコースまで分解し、生成したグルコースをエタノール発酵する必要がある。産業的にエタノール生産に用いられる酵母は、ラミナラン分解能を持たない。そのため、海洋細菌由来のラミナリン分解酵素遺伝子を *S. cerevisiae* の細胞表層を利用して異種発現させることで、高分子のラミナランから直接エタノール生産を行う。 *S. degradans* のプロテオーム解析からラミナラン培地特異的に生産が確認できたタンパク質

群のうち、ラミナラン培地特異的に生産されたタンパク質を 92 種類同定し、その中から Gly5M という糖加水分解酵素ファミリー5 に属する機能未知の酵素を発見した。糖加水分解酵素ファミリー5 にはラミナラン分解酵素が存在することから、Gly5M をラミナラン分解酵素の候補として選抜した。Gly5M 提示酵母をラミナリンと反応させたところ、オリゴ糖が生成したことから、Gly5M は新規のラミナラン分解酵素であることが判明した。また、生成したオリゴ糖を分析した結果、その大部分はグルコースが β -1,6-結合した二糖であるゲンチオビオースであることが判明した。Gly5M 提示酵母はゲンチオビオースをグルコースに分解できなかった。ラミナランを唯一の炭素源とする培地で Gly5M 提示酵母を嫌氣的に培養したところエタノール生産が確認できた。ゲンチオビオースが分解できればエタノール生産量が増加すると考え、ゲンチオビオースを分解する β -グルコシダーゼ提示酵母を作製した。



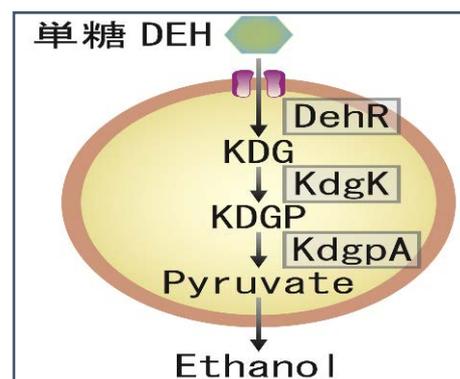
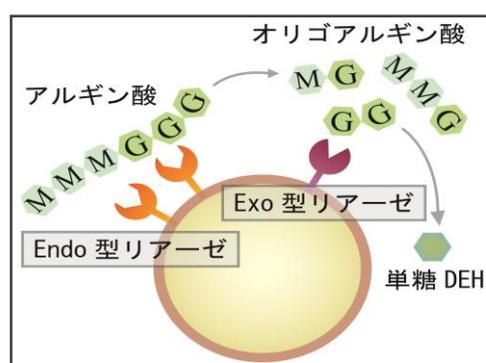
作製したラミナラン分解酵素提示酵母を、ラミナランを唯一の炭素源とする培地で培養し、エタノール生産を行った。エタノール生産量を向上させるため、ラミナラン分解酵素提示酵母によりラミナリンから生成したオリゴ糖をグルコースまで効率良く分解する β -グルコシダーゼ提示酵母との共培養の系も構築した。複数種類の酵素を利用してラミナランをグルコースまで分解した研究例はなく、本研究においてオリゴ糖を介したラミナランの分解経路が世界で初めて示された。さらに、2 種類の酵母株の混合比率を変えることで、ラミナランの構造に応じて分解を最適化することを可能にした。Gly5M 提示酵母と β -グルコシダーゼ提示酵母の共培養を行ったところ、20 g/L のラミナランから 5.2 g/L (理論収率の 46%) のエタノール生産に成功し、Gly5M 提示酵母の単培養に比べてエタノール生産量が 9.5 倍増加した。これらの研究成果は、2016 年 7 月に開催された European Congress on Biotechnology において口頭発表に採択された。

2. アルギン酸を分解できる酵素群の単離と発現

アルギン酸の直接資化できる酵母の育種例は存在しない。細胞表層工学の利点を用いて、その表層でこの難分解性の高分子アルギン酸を分解して資化できる系を、合成生物工学的手法と代謝工学の戦略も用いて構築する。

アルギン酸はマンヌロン酸(M)とグルロン酸(G)のポリマーで、市販の酵素アルギン酸リアーゼ処理により、培養時の大型藻類粘度の低下が確認できた。アミング技術では、複数の酵素提示が可能であるので、アルギン酸の糖化に加えグルコースのような発酵へのエネルギー変換を考えた微生物の育種をめざした。

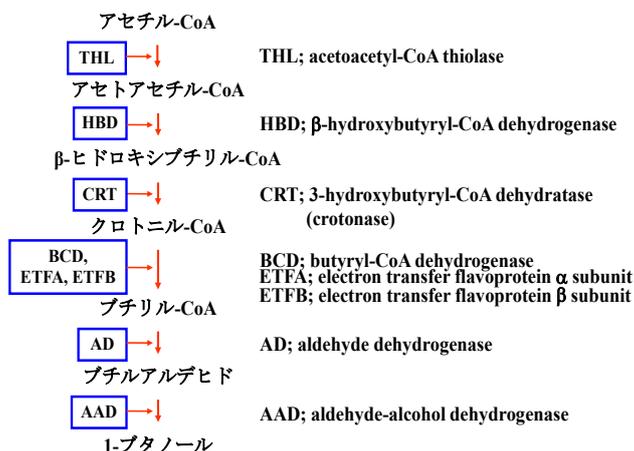
アルギン酸資化酵母の育種



また、合成生物学と代謝工学の融合戦略の展開から、酵母でグルコースからブタノールを生産する経路の構築案も同時に実践していたところ、実際に、酵母で世界最高量のブタノールの生成に成功した。

ブタノール生成酵母とそのブタノール生成

(酵母に導入した 1-ブタノール生産経路)



3. エネルギー関連希少金属を吸着できる細胞触媒の調製と機能評価の実施

原発事故で原子力発電所の危機管理と安全性という問題が浮き彫りになったものの、ウランは強力なエネルギー源である。エネルギー戦略を考える上で、安定したウランの回収方法の確立も重要である。ウラン回収の最大のターゲットは、海水である。海水中には低濃度(平均 3.3 ppb)のウランが含まれているが、海水の量と現在の使用量を考慮すると海水からウランを回収することができれば半永久的にウランを用いることができると考えられる。ウラン回収を目的とし、細胞表面工学を用いたアプローチによって、ウランを吸着・回収するバイオアドソベントの開発をした。提示する吸着分子として、ウラン選択的に結合することが知られている大腸菌のニッケル依存転写抑制因子 NikR の変異体に着目した。ウラニルイオンに対して高い選択性を示すのは NikR の変異体が唯一である。NikR はテトラマーとして機能し、ウラニルイオンをモノマー間の接触面で配位する。この配位様式を再現するために、NikR の C 末端領域変異体を、リンカーを介してタンデムにつないだものを酵母細胞表面に提示した。大腸菌ゲノム DNA から NikR タンパク質をコードする DNA 断片を取得し、変異を加えた後、細胞表面提示を行った。この細胞を用いてウラン吸着試験を行った。その結果、最適化したリンカー長を持つタンデムな NikR 変異体を発現した酵母が有意にウラニルイオンを吸着すること、また 20 分という短い反応時間で吸着反応が平衡に達することが分かった。

さらに、白金イオンをモデルにして、酵母の細胞表面で還元できる酵母の育種にも成功し、細胞表面に白金ナノ粒子として世界で初めて回収できた。

3.2 「有用フィトケミカル活用のための大型褐藻類対応プラットフォーム技術の開発」

(三重大学グループ)

(1)研究実施内容及び成果

1. 褐藻類を構成する多糖類と糖アルコールの定量分析(三重大学 柴田グループ)

褐藻類を構成する糖質には、陸上植物と同じ成分(セルロース、ヘミセルロース)に加え、異なる成分(アルギン酸、フコイダン、ラミナラン、マンニトール)も存在する。ターゲットの藻類バイオマスであるアラメ属・カジメ属褐藻類について糖質と糖アルコールの定量分析を行い、それらの情報提供を担当した。

平成 23 年度から 27 年度にかけて九州大学グループと共同で採取活動を行い、アラメ属褐藻類(アラメ、サガラメ)とカジメ属褐藻類(カジメ、クロメ、ツルアラメ)の天然藻体を得た。熊本県天草市で養殖されたクロメの藻体も含め、糖質(セルロース、ヘミセルロース、アルギン酸、ラミナラン、フコイダン、マンニトール)の定量分析と一般成分分析(タンパク質、脂質、灰分)を行った。いずれの藻種も多糖類の中でアルギン酸の含量が最も高く、養殖クロメでは、乾重量あたり 23.5%、天然クロメでは、26.0%含まれていることが分かった。さらに、HPLC 分析を用いてアルギン酸の構成糖であるマンヌロン酸(M)とグルロン酸(G)の量的比率(M/G 比)を算出した結果、全ての藻種で 1.0 を超える値が得られた。よって、アラメ属・カジメ属褐藻類に含まれるアルギン酸は、マンヌロン酸リッチのアルギン酸であることが明らかになった。

九州大学グループから提供されたベトナム産ホンダワラ三種についても、同一の成分分析を行った。アラメ属・カジメ属褐藻類と同様、構成する成分の中でアルギン酸の含量が最も高かったが、M/G 比の算出結果から *Sargassum olygocystum* と *Sargassum polycystum* については、グルロン酸リッチのアルギン酸であることが分かった。

2. 褐藻類に特徴的なフィトケミカルの構造と生理機能の解析(三重大学 柴田グループ)

ターゲットのバイオマスであるアラメ属・カジメ属褐藻類には、フロロタンニン類と呼ばれるフロログルシノール・オリゴマー(ポリフェノール)が含まれている。フロロタンニン類は、新しい機能性ポリフェノールとして注目されており、市場でのニーズも高い。それぞれの藻体から粗フロロタンニン抽出液を調製し、LC-MS を用いて化合物の組成を解析した。解析の結果、アラメ属褐藻類(アラメ、サガラメ)では、フロログルシノール 3 量体から 7 量体、カジメ属褐藻類(カジメ、クロメ、ツルアラメ)では、フロログルシノール 3 量体から 8 量体の化合物から構成されていることが分かった。クロメの天然藻体と養殖藻体では、化合物の組成に差は見られなかった。また、アラメに特徴的なフロロタンニン類として Fucofuroeckol A(フロログルシノール 4 量体)を同定した。

フロロタンニン類の持つ生理機能の評価として、抗酸化性(H-ORAC 測定、スーパーオキシドアニオンラジカル消去活性:SOSA、DPPH ラジカル捕捉活性、還元力)を解析した。粗フロロタンニン抽出液の H-ORAC 値は、 $8.9 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^4$ $\mu\text{mol TE}$ (トロロックス当量)/g、SOSA は、 $1.5 \times 10^4 \sim 2.9 \times 10^4$ スーパーオキシドジスムターゼ unit/g、DPPH ラジカル捕捉活性は、 $4.7 \times 10^3 \sim 5.5 \times 10^3$ $\mu\text{mol TE/g}$ 、還元力は、 $6.5 \times 10^2 \sim 7.0 \times 10^2$ mg アスコルビン酸当量/g の値がそれぞれ得られた。さらに粗フロロタンニン抽出液からフロログルシノールと 5 種類のオリゴマー(Eckol、Fucofuroeckol A、Phlorofucofuroeckol A、Dieckol、8,8'-Bieckol)を単離・精製し、H-ORAC 測定を行った。その結果、フロログルシノール 4 量体以上の化合物の値が高く、 $8.62 \sim 10.22$ mol TE/mol の範囲にあり、ポジティブコントロールとして用いたアスコルビン酸、エピガロカテキンガレート(茶カテキン)、リスベラトロール(ブドウ・ポリフェノール)の示す値を上回ることを明らかにした。これらの成果は、2 編の原著論文としてまとめ掲載された。

脂溶性フィトケミカルについては、アラメ属・カジメ属褐藻類と養殖クロメからそれぞれ Folch 法に準じて脂溶性画分をそれぞれ調製し、GC-MS を用いて解析を行った。それぞれの画分から 3 種のフィトケミカル(α -トコフェロール、スティグマステロール、フコステロール)と 25 種の脂肪酸を同定した。

3. 褐藻類に対する *C. cellulovorans* の網羅的遺伝子発現解析(三重大学 三宅グループ)

海藻には、セルロースとヘミセルロースが含まれており、これらを構成する基本となる多糖類を炭素源にしたときの *C. cellulovorans* の RNA-Seq 解析を平成 24 年度から 25 年度にかけて行った。具体的には、炭素源としてグルコース、セロビオース、セルロース、キシラン、ガラクトマンナン、ペクチンを用いて培養し、転写活性が高い対数増殖期中期で菌体を回収し total RNA を抽出した。その後、ペアエンドのライブラリーを構築し、次世代シーケンサーに供与した。得られたショートリードをゲノム配列にマッピングし、各遺伝子の発現量の正規化を行った。これらのデータを統計解析し、重要遺伝子の同定とセルロソーム、ノンセルロソームの発現機構を調べた。その結果、*C. cellulovorans* は、セルロソーム関連遺伝子とノンセルロソーム関連遺伝子とでは発現調節が異なり、また、これらの発現調節は、発現量や発現のタイミングが異なることが示唆された。転写因子を中心に解析した結果、セルロソーム関連遺伝子では、 σ ファクターによって *cbpA* 遺伝子クラスターが発現調節され、ノンセル

ロソーム関連遺伝子では、Two-component system によって発現調節されることが示唆された(図 3.2-1)。さらにこれらの遺伝子をクローニングし、組換え体を作製して活性の評価を行った後、京都大学グループへ遺伝子の提供を行った(表 3.2-1)。

平成 26 年度から27年度では、養殖クロメと九州大学グループから提供された *Sargassum polycystum* を炭素源としたときの RNA-Seq ベースのトランスクリプトーム解析を行った。クロメで培養した時には、セルロソームおよびノンセルロソーム関連遺伝子でエンドグルカナーゼ遺伝子が多く発現していた。これは、クロメの成分の 7.3%がセルロースであるため、それを分解するセルラーゼ活性を持つ酵素遺伝子が多く発現したと考えられる。また、クロメには、ヘミセルロースも 6.1%含まれているため、それらの分解のためにセルロソーム関連遺伝子においてキシラナーゼ活性やマンナーゼ活性を有する酵素遺伝子が高い発現量を示した。*S. polycystum* で培養した時には、セルロソーム関連遺伝子では *cbpA* 遺伝子クラスターに含まれる遺伝子のみが高い発現量を示し、これらが中心となりセルロソームを構築していると考えられた。これら高い発現量を示した遺伝子をクローニングし、得られたデータを京都大学グループへ提供した(表 3.2-1)。

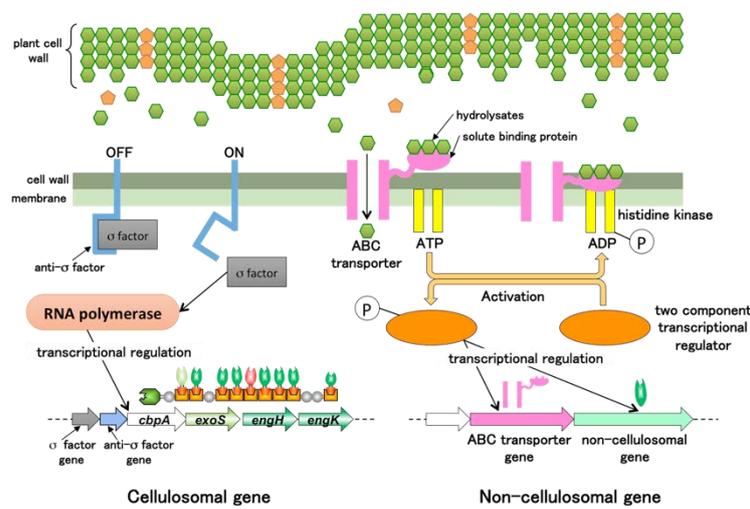


図 3.2-1 *C. cellulovorans* の多糖分解機構

表 3.2-1 セルロース、ヘミセルロース分解に重要な糖質関連酵素遺伝子のクローニング状況

Target protein	Host	Vector	Construct	Expression	Solubilization	Over expression	Purification	Activity			yield mg/L
								Congor red	TLC	Somogyi-Nelson	
EngGH44A											
EngGH5E(EngE)	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○	×							
EngGH5E(EngE)	<i>E. coli</i>	pET41a(+)	○	○	○	○	○	○	○		11.4
EngGH5A											
EngGH5B(EngB)	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○								
EngGH5C											
EngGH5D											
ManGH2B											
EngGH2A											
EngGH5F	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○	○	○	○	○(ドックリン欠損)	○			7.9
EngGH5F	<i>E. coli</i>	pET41a(+)	○	○	○	○	×	○			
ManGH2A(ManA)	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○	○	○	○	○		○	○	98
XynGH8A	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○	○	○	○	○(一部分解)		○		20
EngGH9Y(EngY)											
EngGH9Z(EngZ)											
EngGH9A											
EngGH9B											
EngGH9H(EngH)	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○	○	○	○		○			
EngGH9H(EngH)	<i>E. coli</i>	pET41a(+)	○	○	○	○	○			×	
EngGH9H(EngH)	<i>E. coli</i>	pET22b	○	○	○	○	○		○		3.4
EngGH9K(EngK)	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○	○	△						
EngGH9L(EngL)	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○	○	○	○			○		
EngGH9M(EngM)	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○								
XynGH10B(XynB)	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○	○	○	○	○		○	○	50
XynGH11A(XynA)	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○	○	○	○	○(一部分解)		○		
ManGH26A	<i>E. coli</i>	pET41a(+)	○	○	○	○	○		○	○	19
ManGH26D											
ManGH26B(ManB)	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○	○	○	○	○(ドックリン欠損)		○		2.5
ManGH26C	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○	○	○	○				○	
HypI											
ExgGH48S(ExgS)	<i>E. coli</i>	pET41a(+)	○	○	○	○		○			
ExgGH48S(ExgS)	<i>E. coli</i>	pET22b	○	○	○	○	○		○		0.6
GalGH8A											
PL9A(PeIA)	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○	○	○	○			○		
PLIA	<i>E. coli</i>	pET506(+)	○	○	×						
PLIA	<i>E. coli</i>	pET41a(+)	○	×							
GH88(UGL)	<i>E. coli</i>	pET41a(+)	○	○	○	○	○				

4. アルギン酸リアーゼを用いたアルギン酸単糖の生成(三重大学 三宅グループ)

平成 27 年度後期からは、早稲田大学と共同でアルギン酸完全分解の試みを行った。アルギン酸リアーゼは、その切断様式からエンド型とエキソ型に大別される。エンド型アルギン酸リアーゼがアルギン酸をランダムに分解し、非還元末端に不飽和ウロン酸残基を含む一連のオリゴ糖を生成する。エキソ型アルギン酸リアーゼは、不飽和ウロン酸残基を分解し、不飽和単糖を生成する。その後、不飽和単糖は非酵素的反応により開環し、4-deoxy-L-erythro-5-hexoseulose uronic acid (DEH)になる。早稲田大学によるメタゲノム解析により *Falsirhodobacter* sp. alg1 は、エンド型のアルギン酸リアーゼ遺伝子 (*alyFRA*)とエキソ型のアルギン酸リアーゼ遺伝子 (*alyFRB*) 遺伝子が存在することが明らかとなった。そこで、*Falsirhodobacter* sp. alg1 由来の *alyFRA*と *alyFRB* 遺伝子をクローニングし、これらアルギン酸リアーゼの組換え体を作製することを目的とした。さらにこれら 2 種のアルギン酸リアーゼを用いて DEH の調製を試みた。TLC の結果から、*AlyFRA* ではオリゴ糖を生成した。しかしながら *AlyFRB* のみと *AlyFRA* と *AlyFRB* の両方ではグルコースと同じぐらいの位置にスポットを検出し、これらの生成物を LC-MS で分析した結果、どちらも DEH のみを検出した。

AlyFRA のみ、*AlyFRB* のみ、*AlyFRA* と *AlyFRB* の両方の 3 通りの酵素をアルギン酸 Na と反応させた結果、*AlyFRA* のみでは、アルギン酸オリゴ糖が 16.4%、*AlyFRB* のみでは、DEH が 64.0%、両酵素では、DEH が 83.8%の収率で得ることができた。以上の結果から、*AlyFRA* と *AlyFRB* の両酵素を用いることによって高い収率で DEH のみを調製することができた。

5. 褐藻類分解性細菌の探索および分解機能の網羅的解析(三重大学 田中グループ)

難分解といわれる褐藻類を分解可能な細菌の探索に取り組むとともにゲノム解析により海藻分解機構の解明を行った。

平成 24 年度は、海洋環境中から精力的に新規海藻多糖類分解細菌の分離を試みた。前年度に確立した培養条件を用いて、特にアルギン酸分解性を有する細菌の網羅的取得に成功した。またアルギン酸分解酵素遺伝子の単離を行い京都および早稲田グループへ提供した。

平成 25 年度は、酵母が資化できない海藻構成多糖であるアルギン酸を単一炭素源として、資

化細菌のスクリーニングを行った。アワビの消化管由来の 600 株程度のアルギン酸分解・資化性細菌のライブラリーを用いてアルギン酸からどのような有機物を産生するのか網羅的に調べた。その結果、コハク酸および酢酸産生能の優れた株の選抜に成功した。これらの菌株は *Vibrio chagasii* や *Formosa* 属細菌の新種で構成されており、次年度に向けてこれらの新種記載などを進めることとした。また、アルギン酸分解・資化性に富む細菌株から 4-deoxy-5-keto uronic acid レダクターゼ遺伝子を単離するべくアワビ消化管内よりこれらの遺伝子を保有していると考えられる *Vibrio splendidus* の純粋分離を試みた。分離された細菌株については、これを京都大学グループに提供した。

平成 26 年度は、これまでに行ったアルギン酸分解性菌株のライブラリーのうち食藻動物消化管内から分離されたものについて性状解析および同定を行った。また、アルギン酸分解性および有機酸産生能に優れた菌株のうち、*Vibrio haliotis* についてアルギン酸分解遺伝子クラスターの一次構造を解析し、そのなかから得られた重要な遺伝子群を単離することに成功した。その内訳はエキソ型アルギン酸リアーゼ、トランスポーター、2-deydro-3-deoxyglucono アルドラーゼ、2-deydro-3-deoxy glucono キナーゼ、4-deoxy-5-keto uronic acid レダクターゼなどであった。そのうちのレダクターゼ遺伝子については、これを京都大学グループへ提供した。

平成 27 年度および 28 年度は、難分解といわれる褐藻類を分解可能な細菌の探索に取り組むとともにゲノム解析により海藻分解機構の解明を行った。今年度は、これまでに行ったアルギン酸分解性菌株のライブラリーから褐藻分解性を有する新規の *Formosa* 属細菌について、その性状を詳しく調べ、新種として記載した(図 3.2-2)。

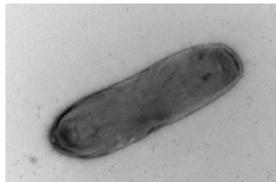


図 3.2-2. 新種の海藻崩壊性細菌 (*Formosa haliotis*)

本菌は、本菌は強力な褐藻分解性を有し、アルギン酸に対する分解性および利用性に優れていた。生化学的性状においてはオキシダーゼ活性、ウレアーゼ活性、スターチ分解能などで既存の *Formosa* 属細菌種と違いが確認された。さらに 16S rRNA 遺伝子による系統解析を行った結果、既知の *Formosa* 属細菌種とは異なる系統群であることが示唆されたことから本菌を *Formosa haliotis* として提案した。なお本菌のアルギン酸分解遺伝子クラスターは、17 の遺伝子で構成されており、その配列について京都大学グループに提供した(図 3.2-3)。

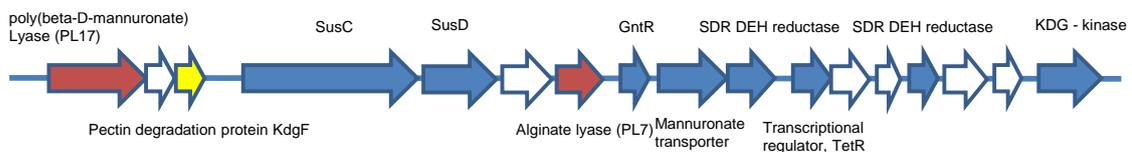


図 3.2-3. *Formosa haliotis* が有するアルギン酸分解遺伝子クラスターの構造図

既知の研究においては海藻体を崩壊できる細菌は、5 種程度しか報告がなく、今回は無脊椎動物から分離されたこともあり、きわめて稀な例であり、その成果は、論文掲載され、マスコミでも報道された。また、本菌はアルギン酸を基質として培養することによりコハク酸を産生することがわかった。さらにコハク酸以外の副産物を生成することがなく極めて純度の高いコハク酸が産生されることがわかった(図 3.2-4)。

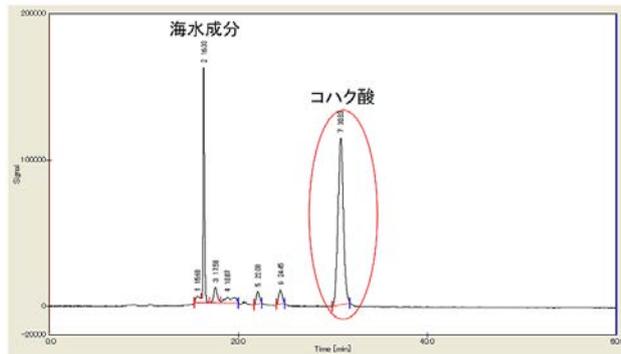


図 3.2-4. アルギン酸を基質した場合の発酵産物のクロマトグラム

現在のところアルギン酸 10 g から 1 g 程度のコハク酸が確認できたため、変換効率は 10% 程度であることがわかった。コハク酸はバイオリファイナリーの基幹物質として挙げられており、今後の海藻バイオリファイナリーの有用性をうかがわせる結果を得ることができたと考えている。

6. 大型褐藻の分類と資源量調査(三重大学 倉島グループ)

平成 28 年度に、三重県沿岸域に生育する大型褐藻種の分類と分布域および資源量の調査を行なった。分類と分布は、SCUBA 潜水と資料により調査した。SCUBA 潜水では目視により確認した種を記録した。資料には主として三重県藻場分布調査、干潟藻場懇談会報告資料を用いた。資源量調査は、SCUBA 潜水とドローンにより行なった。SCUBA 潜水で 1 m 方形枠内の海藻被度を測定した。和具大島の藻場では 0.5 m 方形枠を用いてサガラメの坪刈りを行い、乾燥重量を測定した。ドローンでは、空撮画像から藻場面積を推定した。

調査した地点を図 3.2-5 に、各地点に生育する主要なコンブ目及びホンダワラ科藻類を表 1 に示す。多年生コンブ目であるサガラメ、カジメは、三重県沿岸の伊勢湾口から熊野灘まで見られた。しかし、南伊勢町宿浦以南では、磯焼けが多く発生していたため、これらの藻場が高密度で見られるのは、鳥羽市から志摩市の志摩半島沿岸であった。ホンダワラ科藻類も伊勢湾口から熊野灘まで生育していたが、南部ではキレバモク、コブクロモク、フクレミモク、フタエモク、マジリモクなどの暖海性種が多く見られた。



図 3.2-5 調査地点。赤丸は潜水あるいはドローンで現地調査を行なった地点。白丸は文献調査を行なった地点。

ドローンにより推定した海域ごとの藻場の被度は、和具 17.3%、浜島 32.0%、宿浦 11.4%、早田浦 10.3%、賀田湾 0.04% となった(表 3.2-2)。また、SCUBA 潜水で測定した藻場中の海藻被度は、波切 77.3%、和具大島 45.5%、宿浦 45.0%、宿浦 21.9%、早田浦 28.4%、尾鷲湾南岸 2.1% となった。和具大島のサガラメ藻場の乾燥重量は、3050 g/m²、藻体密度、は 28 個体/m² であった。隣接する和具のサガラメ藻場被度と沿岸線の距離からサガラメ現存量を推定した。その結果、志摩半島沿岸(岸から 100 m 以内)のサガラメ藻場の面積は、約 96.9 ha、現存量は、約 2955 t 乾重と推定された。サガラメは、岸から数 km 以上沖合や島嶼部にも生育していることから、実際の大型褐藻のバイオマスは、この推定量の数倍～十数倍に達すると予想される。志摩半島周辺のサガラメの漁獲量は、年間 100～200 t であるが、現在のところは漁獲量を維持できるだけの現存量があると考えられる。

2. アラメ属・カジメ属褐藻類の栽培技術の確立

現在、本研究の主たる材料のクロメは、養殖材料が安定的に入手可能となっている。バイオマスの糖化を含めた今後の展開を考慮した場合、カジメ科の他の種(アラメ、カジメ、サガラメ、ツルアラメ)についても養殖技術を確立することは重要である。そこでアラメ、サガラメ、カジメならびにツルアラメについて、三重大学グループと共同で種苗の作成を試みた。平成 25 年から平成 27 年の 11 月に、当該褐藻類の成熟した藻体を三重県志摩市、福岡県福津市、山口県下関市にてそれぞれ採取した。母藻から放出された胞子をガラス容器で室内培養を行った結果、微小な糸状体(=雌雄の配偶体)へと発達した(図 3.3-2a)。これを継続的に培養すると糸状体から雄では精子が、雌では卵がそれぞれ形成され、受精後、卵は葉状体(=孢子体;通常みられる体)へと成長した(図 3.3-2b)。糸状体をさらに培養した結果、肉眼で確認可能なサイズの糸状体塊へ成長した。この糸状体塊は、雌雄の配偶体が成熟せずに成長したものであり、これを細断すると成長して再び糸状塊が形成された。よって、この糸状体塊を種苗として活用出来ることが分かった(図 3.3-2c)。これまでに、ターゲットのアラメ属・カジメ属褐藻類すべての藻種から糸状体塊の作出を完了し、九州大学グループと三重大学グループで確保・維持している。さらに、畠田准教授の遺伝子解析から、作出した糸状体塊の塩基配列は、いずれの種も母藻と同一であることを確認している。

これまで、アラメ属・カジメ属褐藻類の大半は、養殖対象にされることはなく種苗作出の報告もなかった。本研究は、水産学ならびに藻類学見地からも重要な成果であると考えられる。

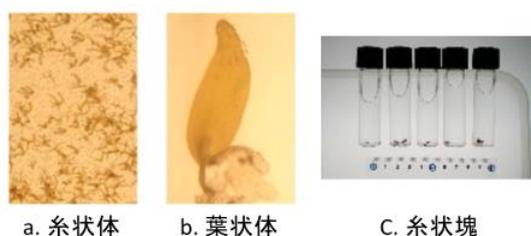


図 3.3-2 アラメ属・カジメ属褐藻類からの種苗の作出

3. ホンダワラ科褐藻類の分布・資源量調査

国内産のホンダワラ類(ガラモ場の構成種)については、九州北部にて、特に大型種に関してフィールド調査を行い、種の特定と生育量の把握を行った。玄界灘(福岡市周辺)では、現在 19 種のホンダワラ類が生育していることを確認した。定点観測を行った博多湾周辺の 4 地点では、0.1~1.2 ha 程度のガラモ場(アカモク、ジョロモク、ヤツマタモク、ホンダワラ、マメタワラなどが混生)が認められた。その他、アカモク主体の藻場(1 ha)の場合、4~6 個体/m²、ヤツマタモク主体の藻場(2ha)の場合、64~112 個体/m²の生育量がそれぞれ把握できた。アラメ属・カジメ属褐藻類の藻場(海中林)とは異なり、ガラモ場は、複数の藻種が混生しているため、種ごとの生育量の把握は、困難であった。

4. 東南アジア地域での未利用大型海藻資源開発

東南アジア諸国では、大型海藻類に関する調査が不十分なため、今後利用可能な海藻資源の存在が期待される。平成 23 年度から 27 年度にかけて、タイ、ベトナム、インドネシアでの大型資源海藻調査を、研究参加者である寺田准教授、畠田准教授と実施した。タイではアンダマン海南部リピ島周辺およびタイ湾中部サムイ島周辺で調査を行った。その結果、大型海藻類としては、ホンダワラ属、ラッパモク属が主で特に後者の藻場が多く認められた(図 3.3-3)。ベトナムでは、中南部ニャチャン市周辺で調査を実施し、各調査地点でホンダワラ科藻場(ガラモ場)が面積 2~5ha、個体密度 10~30 個体/m²で存在することを確認した。ベトナムで採取したホンダワラ類については、バイオリファイナリー原料の調査試料として三重大学グループへ提供した。インドネシア・バリ島でも、ガラモ場が、数か所で認められた。

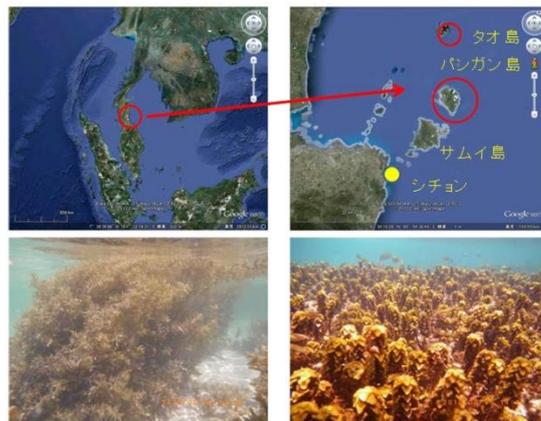


図 3.3-3 タイ・サムイ島周辺で見られた褐藻類

3. 4. 「メタゲノム解析技術を基盤とするゲノム資源活用プラットフォームの構築」(早稲田大学グループ/東京農工大学グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

本課題の目的である、藻類を完全利用するには、大型藻類である褐藻の成分を分解できる高活性なリファイナリー酵素を取得することが必要である。そこで、早稲田大学グループはメタゲノム解析およびハイスループットスクリーニング技術を用い、藻類表面付着性細菌や藻類摂食動物の腸内細菌等を遺伝子資源とし、リファイナリー酵素の探索・取得を行った。早稲田大学グループの研究項目は、

- 1) 藻類リファイナリー酵素遺伝子分離源の確保とメタゲノムライブラリーの構築
- 2) 大型藻類の構成成分分析に基づいたリファイナリー酵素の選定
- 3) 藻類リファイナリー酵素遺伝子のスクリーニング

である。

1. 藻類リファイナリー酵素遺伝子分離源の確保とメタゲノムライブラリーの構築および大型藻類の構成成分分析に基づいたリファイナリー酵素の選定

大型藻類は多様な糖組成から構成され、藻類種の成分に応じたリファイナリー酵素の選定が重要である。そこで、三重大学の協力を得て、標的となる褐藻、*Ecklonia kurome* (クロメ) の成分分析を行った。分析の結果により、クロメの主な多糖類成分はアルギン酸、セルロース、ヘミセルロースやラミナランで構成される。セルロースやヘミセルロースの分解においてはすでに盛んに研究が行われているため、本研究では、まだ報告が少ない、アルギン酸分解酵素、アルギン酸リアーゼやラミナラン分解酵素、ラミナナーゼをメタゲノムライブラリーからのスクリーニングターゲットとして決定した。

まず、新規かつ高活性のリファイナリー酵素を取得するには、遺伝子分離源の選定がもっとも重要である。本研究では、遺伝子分離源として、海藻摂食動物の腸内細菌や海藻表面に付着・腐食している表在菌を選定し、平成23-24年度にかけてサンプリングを行った。海藻摂食動物の腸内細菌は水産総合研究センターの協力を得て、飼育した海藻摂食無脊椎動物、*Diadema setosum* (ガンガゼ)、*Turbo cornutus* (サザエ) および *Dolabella auricularia* (タツナミガイ) の3種類の糞便から採集し、海藻表面に付着・腐食している表在菌は海藻周辺の海水で発酵した3種類の褐藻、*Ecklonia kurome* (クロメ)、*Ecklonia cava* (カジメ)、*Eisenia bicyclis* (アラム)、の発酵液から採集した。アラムおよびカジメは水産総合研究センターの近辺の海岸沖で採集し、クロメは三重大学や九州大学の協力を得て、熊本県の天草市から採集した。それぞれの遺伝子分離源からメタゲノムを抽

出した。

平成24年より、メタゲノムライブラリーの作成を開始し、まず、得られたサンプル中、サザエの腸内細菌群をモデルとし、メタゲノムライブラリーの作成法の確立および最適化を行った。その結果、非常に良好なライブラリー(おおよそ 10^6 クローン)の作成に成功し、引き続き他の遺伝子分離源から抽出したメタゲノムを用いてメタゲノムライブラリーを作成した。いずれのサンプルにおいても 10^5 – 10^6 規模のクローンライブラリーの作成に成功した。

2. 藻類リファイナリー酵素遺伝子のスクリーニング

それぞれの遺伝子分離源からメタゲノムライブラリーを作成した事により、平成 24 年度の後半から 27 年度にかけて、リファイナリー酵素のスクリーニングおよび発現実験を実施した。実施した項目は 1)メタゲノムライブラリーからのアルギン酸リアーゼのスクリーニング、2)メタゲノムライブラリーからのラミナリナーゼのスクリーニング、3)単離培養アルギン酸分解菌からのアルギン酸リアーゼの取得および酵素活性の評価であった。

1)メタゲノムライブラリーからのアルギン酸リアーゼのスクリーニング

本研究のリファイナリー酵素のスクリーニング研究を起動するためには、まず、作成したライブラリーからプレートスクリーニング法を用いて、アルギン酸リアーゼのスクリーニングを行った。その結果、アルギン酸リアーゼを発現したクローンが多数確認された。しかしながら、アルギン酸リアーゼを発現したクローンのほとんどがクロメ、カジメおよびアラメの表在菌のメタゲノムライブラリーから確認され、海藻摂食動物の腸内細菌のメタゲノムライブラリーからはクローンの発現が確認されなかった。この結果を踏まえて、海藻摂食動物の腸内細菌のメタゲノムサンプルにはホストや消化物由来の DNA が多く含まれていると判断し、以後、クロメ、カジメおよびアラメの表在菌のメタゲノムライブラリーを中心にスクリーニングを継続した。プレートスクリーニング法に引き続き、これらのライブラリーに対して、希少と言われているエキソ型アルギン酸リアーゼを有意に選別できるジニトロサリチル酸 (DNS) 法および薄層クロマトグラフィー (TLC) 法も実行した。その後、プレートスクリーニング、DNS および TLC 法から得られたアルギン酸リアーゼ発現したクローンからプラスミドを抽出し、次世代シーケンサーを用いてシーケンスした。*In silico* 解析により獲得したクローンから、アルギン酸リアーゼの遺伝子の同定を行い、その結果、合計 190 個以上のエンド型およびエキソ型のアルギン酸リアーゼの候補遺伝子を取得した(表 3.4-1)。これを持ってアルギン酸リアーゼのスクリーニングを完了し、得られた遺伝子情報は全グループに公開した。

更に、上記の結果を参考に、本研究から希少と言われているエキソ型アルギン酸リアーゼをコードする遺伝子をはじめ、産業において新規かつ高活性の性質の可能性を持つ酵素を取得できることから、エキソ型アルギン酸リアーゼの候補遺伝子(PL17、PL15、PL14 と分類)に対し、遺伝子発現および活性評価を最終年度の課題として試みた。

表 3.4-1 メタゲノムライブラリーのスクリーニングによる獲得したアルギン酸リアーゼの遺伝子数および分類グループ

	エンド型アルギン酸リアーゼ のスクリーニング		エキソ型アルギン酸リアーゼ のスクリーニング	
	PL グループ	遺伝子数	PL グループ	遺伝子数
エンド型アルギン酸リアーゼの分類グループ	PL7	62	PL7	19
	PL6	36	PL6	7
	PL5	12	PL5	7
	PL18	1	PL18	3
エキソ型アルギン酸リアーゼの分類グループ	PL17	10	PL17	35
	PL15	n.i.	PL15	3
	PL14	n.i.	PL14	n.i.
	合計遺伝子数:	121	合計遺伝子数:	74

2) メタゲノムライブラリーからのラミナリナーゼのスクリーニング

アルギン酸に加え、本研究では平成 26 年から、ラミナランの分解酵素である、ラミナリナーゼのスクリーニング法も確立し、メタゲノムライブラリーに対し、スクリーニングを開始した。ラミナリナーゼはラミナランをグルコース(還元糖)に分解し、その分解物は DNS 法により検出可能である。図 3. 4-1 は DNS 法を用いた実際に行われたスクリーニングの一例であり、このように、複数のクローンがポジティブな結果を示した。

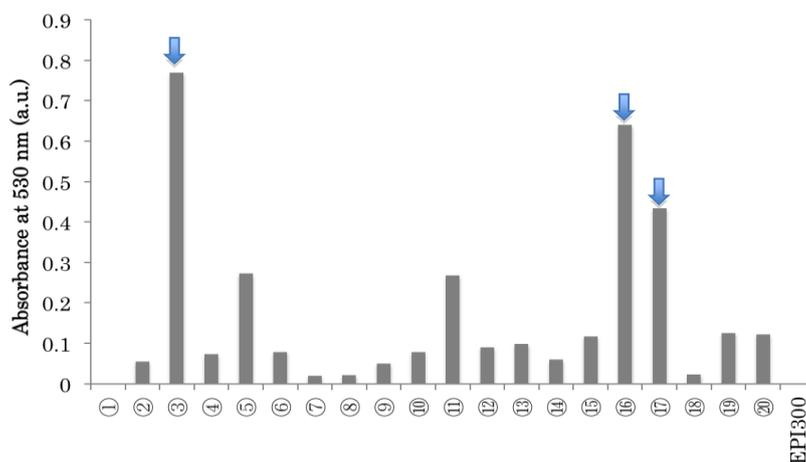


図 3. 4-1 DNS 法を用いたラミナリナーゼのスクリーニング

3) 単離培養アルギン酸分解菌からのアルギン酸リアーゼの取得および酵素活性の評価

メタゲノムライブラリーを用いた酵素のスクリーニングは多くの新規かつ高活性の酵素の取得の可能性を示唆するが、多種の微生物の遺伝子は場合によって、大腸菌で発現できない状況も考えられる。本研究では、メタゲノムライブラリーのスクリーニングをサポートする形で採集した遺伝子分離源か

ら一部を回収し、単離培養も行った。こちらでは、メタゲノムライブラリーのスクリーニングと同様にアルギン酸を分解できる細菌をターゲットにした。また、より新規性をもたらすために、本研究では、単離する微生物の条件を2つ設定した。その1は得られた微生物はアルギン酸を単糖まで分解できる能力を持っている。その2は単離した微生物は新種(最も近い菌種との相同性が96%以下)であること。これらの2つの条件を基準にアルギン酸分解細菌の単離培養を試みた。

それぞれの遺伝子分離源から単離培養したアルギン酸分解菌の16S rRNA解析を行った結果、9属に渡り11以上のバクテリア種が同定され、高いアルギン酸分解能を示した。以後、この細菌株を*Falsirhodobacter* sp. alg1と名付けた。続いて、アルギン酸分解能の検討および次世代シーケンサーによりゲノム解読を行った結果、*Falsirhodobacter* sp. alg1は2つのアルギン酸リアーゼを保有している事がわかり、それぞれの遺伝子がエンド型 (AlyFRA) およびエキソ型 (AlyFRB) アルギン酸リアーゼをコードする。その後、これらの遺伝子を大腸菌で高発現した結果、驚くことに、エキソ型アルギン酸リアーゼであるAlyFRBの方がエキソ型酵素でありながら、高分子アルギン酸ポリマーに対し強い分解能を示した (図3.4-2)。このような性質を持つエキソ型酵素は非常に希少で有り、アルギン酸リアーゼにおいては、世界二つ目の発見として発表した。ここでより高効率にアルギン酸を分解するために、AlyFRBを京都大学グループに提供した。

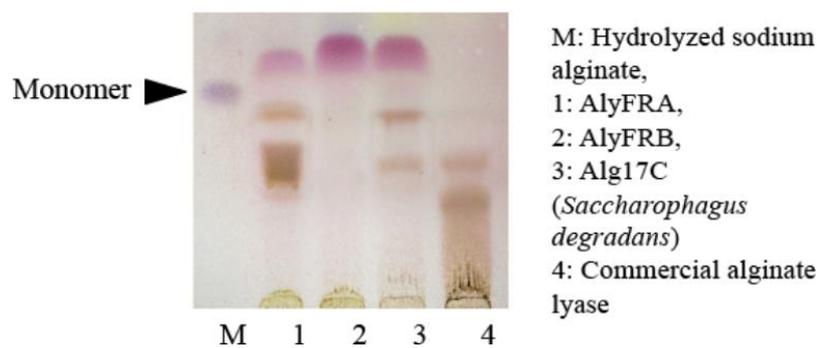


図 3.4-2 TLC 法を用いた *Falsirhodobacter* sp. alg1 株のアルギン酸リアーゼの分解能の評価。

3.5. 「藻類バイオマスの直接電極反応型リファイナリー技術の構築」(大阪大学グループ)

(1)研究実施内容及び成果

阪大グループでは、カーボンナノチューブや金属ナノ粒子などを修飾したナノ構造電極を用いて、多類、単糖など大型褐藻類構成成分を電気エネルギーや有用資源に変換する直接電極反応型リファイナリー技術の構築に取り組んだ。

1. ナノ構造電極の開発：

貴金属ナノ粒子を、高密度にカーボンナノ材料表面に固定化することにより、単糖、多糖など藻類由来バイオマス材料に対して高いエネルギー変換効率や電力密度を実現するナノ構造電極の開発に取り組んだ。

1-1) 酸で表面処理をしたカーボンナノチューブに粒径 5 ~ 7 nm の金ナノ粒子を修飾した電極を作製し (図 3.5-1)、大型褐藻類に主要成分として含まれるアルギン酸を直接電気化学酸化することに成功した。マグネトロンスパッタとアニーリングにより、電極表面へ金ナノ粒

子を高密度に修飾する新手法を開発し、金コロイドを利用した従来法と比較して、単位面積当たりの金ナノ粒子数を約 2.8 倍に向上させた。電気化学特性の詳細な解析から、貴金属ナノ粒子周辺での非共有結合的な相互作用が、有機物の電気化学酸化に寄与しているというメカニズムを示した。

1-2) 白金ナノ粒子を担持したカーボンナノチューブと、カルボキシル基を修飾したカーボンナノチューブをグラフト状の構造にすることにより、酵素活性中心のような活性スポットが形成されてエタノールの電気化学酸化特性が向上することを明らかにし、ナノ構造電極作製における新しい指針を得た。

1-3) 近年注目されているナノ炭素材料である酸化グラフェンナノリボンに、金ナノ粒子を修飾したナノ構造電極を作製し、燃料電池の燃料極としての利用可能性について検討した結果、グルコースの電気化学酸化に対して高い効率を有することを明らかにした。また、本電極が、グルコース濃度に対応した酸化電流変化や電気化学発光を高感度に検出する非酵素型電気化学センサーに応用できることも示した。

1-4) 以上のように、本研究で作製した様々なナノ構造電極の電気化学特性や、長時間動作に対する安定性などを検討した結果、藻類由来バイオマス材料を用いた燃料電池としては、カーボンナノチューブに金ナノ粒子を修飾した電極が燃料極として最も適しているという結論を得た。

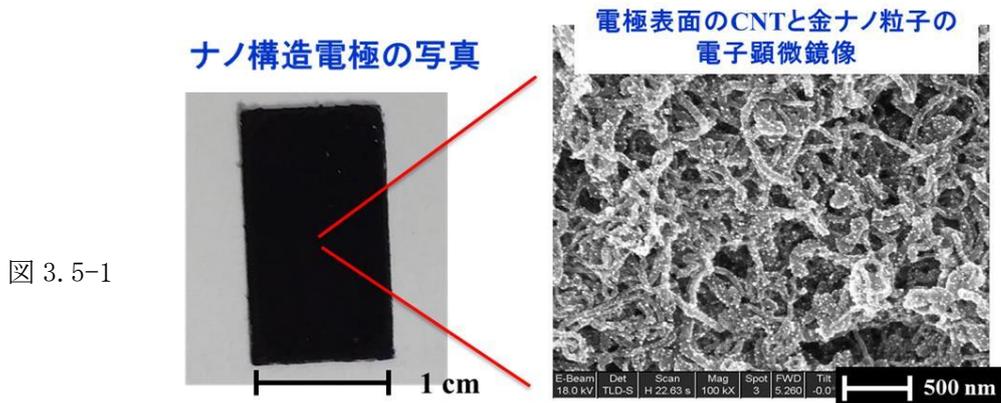


図 3.5-1

2. アルギン酸燃料電池の構築と特性評価：

開発したナノ構造電極を燃料極、白金電極を空気極として、イオン交換膜やアクリル製の筐体と組み合わせた燃料電池を構築し、実際にアルギン酸から直接電気エネルギーを取り出すことに成功した。電力特性を解析した結果、従来型の金電極に比べて3倍以上の電力密度が得られることが明らかとなった。分光測定や HPLC 分析により、電解生成物の解析を行い、電極反応によりアルギン酸中 C2-C3 間の切断がされる酸化プロセスを示した。また標品ではなく、三重大グループより提供された乾燥クロメ粉末溶液からも、直接電気エネルギーを取り出すことに成功した。本研究成果は食料と競合しない褐色藻類バイオマスを用いた、外部からのエネルギーを必要とせず、電気エネルギーや有用材料に変換する新しい道筋を示した研究として ChemCatChem 誌のカバーページに採用され、日経産業新聞においても報道された。

3. フコース燃料電池の構築と特性評価：

大型藻類構成成分の中で酵素群による有用物質への変換が難しいフコースを燃料とする、燃料電池の構築と特性評価を行った。フコース燃料電池の電力特性を最大化するため、ナノ構造電極による電気化学特性の解析、金ナノ粒子やカーボンナノチューブ担持量など電極構造と、フコース濃度や溶液 pH などの実験条件の最適化に取り組んだ。その結果、これまで我がが Biosens. Bioelectron. 30 (2011) 204 において報告した値の約10倍の 2 mW/cm² の電力密

度を達成した。このフコース燃料電池を用いて、青色 LED の点灯や、小型モーターの駆動のデモンストレーションにも成功した (図 3.5-2)。また、電極を蒸留水で洗浄し、燃料を交換すると何度でも同じ電力特性が得られ、繰り返し再利用可能であることを示した。これは我々が開発したナノ構造電極が、劣化や被毒による機能低下がほとんどない優れた特性を有することを示している。また、ナノ構造電極によるフコースの電気化学酸化機構やクーロン効率等について解析し、主にフコースから 2 電子が酸化されてフコノラクトンおよびフコン酸が生成されることを明らかにした。燃料物質の新規性だけでなく、汎用性、耐久性、動作環境などの面で利点を有するナノ構造電極を用いて、従来型バイオ燃料電池に匹敵する電力密度を達成できることを示し、Journal of Solid State Electrochemistry 誌に発表した。

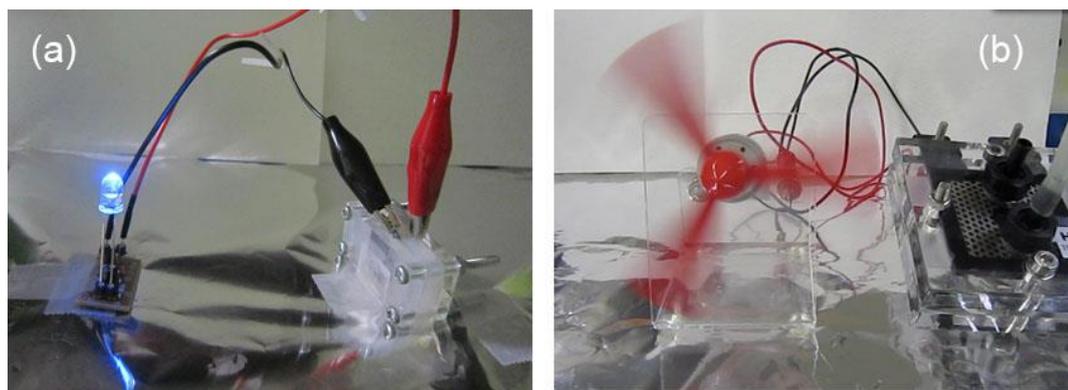


図 3.5-2 フコース燃料電池による (a) 青色 LED の点灯、(b) ファンの駆動

4. 電解生成物の分析

藻類由来の成分であるアルギン酸やフコースを燃料として燃料電池を動作させると、電気エネルギーが生成されるとともに、燃料物質の電解生成物が得られる。この反応生成物の構造や組成に関する分析を、京大グループ、三重大グループと協同で、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、薄層クロマトグラフィー (TLC)、赤外、可視、紫外の吸収スペクトル測定、ガスクロマトグラフ質量分析 (GCMS) 等により実施した。アルギン酸燃料電池では、電極反応によりアルギン酸中 C2-C3 間の切断が起こっていることを示した。これは直接電極反応型リファイナリー技術により、酵素群によるバイオリファイナリーとは本質的に異なる反応プロセスが期待できることを示している。また、電極電位をよりポジティブにすることにより、アルギン酸中のグリコシド結合が切断され、分子量が低下することも明らかにした。さらなる生成物の収量の増加と分子量の低下を目指し、光触媒燃料極を用いたアルギン酸燃料電池 (次項目参照) の電解生成物に対して生成物分析を実施した。三重大グループより、アルギン酸リアーゼを用いて生成されたアルギン酸単糖 (DEH) を提供いただき、分析・比較した結果、生成物が単糖レベルまで分解されていることが実証された。フコースを燃料物質とした場合の電解生成物を分析した結果、フコン酸、乳酸、グリコール酸など種々の生成物が確認された。これら物質は生理機能性や食品機能性、生分解プラスチックなどの原料としても注目されており、燃料電池により外部からのエネルギーを利用せず、電気エネルギーと有用物質を生成するリファイナリーが原理的に可能であることを実証した。

§ 4. 成果発表等

(1)原著論文発表 (国際 (欧文) 誌 67 件)

1. Akihito Nakanishi, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Direct fermentation of newspaper after laccase-treatment using yeast codisplaying endoglucanase, cellobiohydrolase, and beta-glucosidase”, *Renewable Energy*, vol. 44, pp.199-205 (2012) (DOI: 10.1016/j.renene.2012.01.078)
2. Akihito Nakanishi, Jungu Bae, Koutaro Fukai, Naoki Tokumoto, Kouichi Kuroda, Jun Ogawa, Sakayu Shimizu, Mitsuyoshi Ueda, “Effect of pretreatment of hydrothermally processed rice straw with laccase-displaying yeast on ethanol fermentation”, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol.94, pp. 939-948 (2012) (DOI: 10.1007/s00253-012-3876-8)
3. Kouichi Kuroda, Takashi Nishitani, Mitsuyoshi Ueda, ”Specific adsorption of tungstate by cell surface display of the newly designed ModE mutant”, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 96, pp. 153-159 (2012) (DOI: 10.1007/s00253-012-4069-1)
4. Hironobu Morisaka, Kazuma Matsui, Yohei Tatsukami, Kouichi Kuroda, Hideo Miyake, Yutaka Tamaru, Mitsuyoshi Ueda, “Profile of native cellulosomal proteins of *Clostridium cellulovorans* adapted to various carbon sources”, *AMB Express*, vol. 2, e37, (2012) (DOI: 10.1186/2191-0855-2-37)
5. Akihito Nakanishi, Jungu Bae, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Construction of a novel selection system for endoglucanases exhibiting carbohydrate-binding modules optimized for biomass using yeast cell-surface engineering”. *AMB Express*, vol. 2, 56 (2012) (DOI: 10.1186/2191-0855-2-56)
6. Le Quynh Hoa, Mun'delanji C. Vestergaard, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Eiichi Tamiya, “Enhancing catalytic performance of Pt-based electrodes with a noncovalent interaction-induced functionalized carbon nanotube-grafted matrix”, *J. Materials Chem.*, vol. 22, pp. 14705-14714, (2012) (DOI: 10.1039/C2JM32600K)
7. Le Quynh Hoa, Mun'delanji C. Vestergaard, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Eiichi Tamiya, “Optimization of functionalized carbon nanotube matrices for enhanced ethanol oxidation reaction”, *J. Electrochem. Soc.*, vol. 160, No. 7, pp.G3062-G3068, (2013) (DOI: 10.1149/2.010307jes)
8. Miki Ota, Hiroshi. Sakuragi, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Hideo Miyake, Yutaka Tamaru, Mitsuyoshi Ueda, “Display of *Clostridium cellulovorans* xylose isomerase on the cell surface of *Saccharomyces cerevisiae* and its direct application to xylose fermentation”, *Biotechnol. Prog.*, vol. 29, No. 2, pp.346-351, (2013) (DOI: 10.1002/btpr.1700)
9. Nao Nishida, Naoki Ozato, Ken Matsui, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “ABC transporters and cell wall proteins involved in organic solvent tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*”, *J. Biotechnol.*, vol. 165, No. 2, pp.145-152, 2013 (DOI: 10.1016/j.jbiotec.2013.03.003)
10. Natsuoko Miura, Masahiko Shinohara, Yohei Tatsukami, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Spatial reorganization of yeast enolase to alter carbon metabolism under hypoxia”, *Eukaryotic Cell*, vol. 12, No.8, pp. 1106-1119, (2013) (DOI: 10.1010128/EC.00093-13)
11. Atsushi Satomura, Yoshiaki Katsuyama, Natsuoko Miura, Kouichi Kuroda, Takeshi Bamba, Eiichiro Fukusaki, Mitsuyoshi Ueda, “Acquisition of thermotolerant yeast *Saccharomyces cerevisiae* by breeding via stepwise adaptation”, *Biotechnol. Prog.*, vol. 29, No. 5, pp.1116-1123, 2013 (DOI:10.1002/btpr.1754)
12. Kazuma Matsui, Jungu Bae, Kohei Esaka, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Exoproteome profiles of *Clostridium cellulovorans* on various carbon sources”, *Appl. Environm. Microbiol.*, vol. 79, No. 21, pp. 6576-6584, (2013) (DOI:10.1128/AEM.02137-13)
13. Yohei Fujii, Reiji Tanaka, Hideo Miyake, Yutaka Tamaru, Mitsuyoshi Ueda, Toshiyuki Shibata, “Evaluation for Antioxidative Properties of Phlorotannins Isolated from the Brown Alga *Eisenia bicyclis*, by the H-ORAC Method”, *Food Nutr. Sci.*, vol. 4, No. 8A (Special

- Issue on Antioxidant Research in Food Science), pp.78-82, (2013) (DOI:10.4236/fns.2013.48A010)
14. Le Quynh Hoa, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Mitsuyoshi Ueda, Toshiyuki Shibata, and Eiichi Tamiya, "Direct Energy Extraction from Brown Macroalgae-Derived Alginate by Gold Nanoparticles on Functionalized Carbon Nanotubes", *ChemCatChem*, vol. 6, pp.135-141, (2013) (DOI: 10.1002/cctc.201300531)
 15. Toshiyuki Shibata, Taiko Miyasaki, Hideo Miyake, Reiji Tanaka, Shigeo Kawaguchi, "The Influence of Phlorotannins and Bromophenols on the Feeding Behavior of Marine Herbivorous Gastropod *Turbo cornutus*", *Am. J. Plant Sci.*, vol. 5, No. 3, pp.387-392, (2014) (DOI:10.4236/ajps.2014.53051)
 16. Triet Duy Vo, Gregory N. Nishihara, Satoshi Shimada, Yuki Watanabe, Midori Fujimoto, Shigeo Kawaguchi, Ryuta Terada, "Taxonomic Identity and the effect of temperature and irradiance on the photosynthesis of an indoor tank-cultured red alga *Agardhiella subulata* from Japan", *Fisheries Sci.*, vol. 80, No. 2, pp.281-292, (2014) (DOI: 10.1007/s12562-013-0690-x)
 17. Seiji Shibasaki, Wataru Aoki, Mitsuyoshi Ueda, "Evaluation of Mdh1 protein as an antigenic candidate for a vaccine against Candidiasis", *Biocontrol Sci.*, vol. 19, No. 1, pp.51-55, (2014) (DOI: org/10.4265/bio.19.51)
 18. Nao Nishida, Misa Noguchi, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, "A design for the control of apoptosis in genetically modified *Saccharomyces cerevisiae*", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol. 78, No.2, pp. 358-362, (2014) (DOI:org/10.1080/09168451.2014.878224)
 19. Kouichi Kuroda, Kazuki Ehisutani, Mitsuyoshi Ueda, "Enhanced adsorption and recovery of uranyl ions by NikR mutant-displaying yeast", *Biomolecules*, vol. 4, pp. 390-401, (2014) (DOI: doi: 10.3390/biom4020390)
 20. Nao Nishida, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, "Activation of signaling pathways related to cell wall integrity and multidrug resistance by organic solvent in *Saccharomyces cerevisiae*", *Current Genetics*, vol. 60, No. 3, pp. 149-162, (2014) (DOI: 10.1007/s00294-013-0419-5)
 21. Danya Isogawa, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, "Evaluation of chitosan-binding amino acid residues of chitosanase from *Paenibacillus fukuinensis*", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol. 78, No. 7, pp. 1177-1182, (2014) (DOI:org/10.1080/09168451.2014.917263)
 22. Jihye Chung, Natsuko Miura, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, "Single-cell heterogeneity in suppression of PC12 differentiation by direct microinjection of a differentiation inhibitor, U0126", *Cell Biology International*, vol. 38, No. 10, pp. 1215-1220, (2014) (DOI: 10.1002/cbin.10296)
 23. Seiji Shibasaki, Wataru Aoki, Mitsuyoshi Ueda, "Oral immunization against candidiasis using *Lactobacillus casei* displaying enolase 1 from *Candida albicans*", *Scientia Pharmaceutica*, vol. 82, pp. 687-708, (2014) (DOI:org/10.3797/sepharm.1404-07)
 24. Hiroshi Sakuragi, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, "Enhanced butanol production by eukaryotic *Saccharomyces cerevisiae* engineered to contain an improved pathway", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol. 79, No. 2, pp. 314-320, (2014) (DOI:org/10.1080/09168451.2014.972330)
 25. Masahito Hosokawa, Yuri Hoshino, Yohei Nishikawa, Tomotada Hirose, Dong Hyun Yoon, Tetsushi Mori, Tetsushi Sekiguchi, Shuichi Shoji and Haruko Takeyama, "Droplet-based microfluidics for high-throughput screening of a metagenomic library for isolation of microbial enzymes", *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 67, pp.379-385, (2014) (DOI: 10.1016/j.bios.2014.08.059)
 26. Tetsushi Mori, Mami Takahashi, Reiji Tanaka, Toshiyuki Shibata, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Haruko Takeyama, "Draft genome sequence of *Falsirhodobacter* sp. strain alg1, an alginate-degrading bacterium isolated from fermented brown algae", *Genome Announcements*, vol. 2, No.4: e00826-14, (2014) (DOI: 10.1128/genomeA.00826-14)
 27. Nur Syakimah Ismail, Le Quynh Hoa, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Eiichi Tamiya,

- “Development of non-enzymatic electrochemical glucose sensor based on graphene oxide nanoribbon - Gold nanoparticle hybrid”, *Electrochimica Acta*, vol. 146, No. 10, pp.98-105, (2014) (DOI: 10.1016/j.electacta.2014.08.123)
28. Dini Nurdiani, Michihiro Ito, Toru Maruyama, Takeshi Terahara, Tetsushi Mori, Shin Ugawa, Haruko Takeyama, “Analysis of the bacterial xylose isomerase gene diversity with gene targeted metagenomics”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 120, No. 2, pp. 174-180 (2014) (DOI: 10.1016/j.jbiosc.2014.12.022)
29. Jungu Bae, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Proximity effect between cellulose-degrading enzymes displayed on the yeast cell surface”, *Appl. Environm. Microbiol.*, vol. 81, No. 1, pp. 59-66, (2015) (DOI: 10.1128/AEM.02864-14)
30. Kohei Esaka, Shunsuke Aburaya, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Exoproteome analysis of *Clostridium cellulovorans* in natural soft-biomass degradation”, *AMB Express*, vol. 5, No. 1, 2, (2015) (DOI: 10.1186/s13568-014-0089-9)
31. Nao Nishida-Aoki, Hitoshi Mori, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Activation of the mitochondrial signaling pathway in response to organic solvent stress in yeast”, *Current Genetics*, vol. 61, No. 2, pp. 153-164, (2015) (DOI: 10.1007/s00294-014-0463-9)
32. Atsushi Satomura, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Generation of a functionally distinct *Rhizopus oryzae* lipase through protein folding memory”, *PLOS ONE*, vol. 10, No. 5, e0124545, (2015) (DOI: 10.1371/journal.pone.0124545)
33. Tomohiro Shigemori, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Functional screening system for yeast-secreted peptides acting on G-protein coupled receptors”, *AMB Express*, vol. 5, 26, (2015) (DOI: 10.1186/s13568-015-0113-8)
34. Mami Nambu, Yohei Tatsukami, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Quantitative time-course proteome analysis of *Mesorhizobium loti* during nodule maturation”, *J. Proteomics*, vol. 125, No. July 1, pp. 112-120, (2015) (DOI: 10.1016/j.jprot.2015.04.034)
35. Shunsuke Aburaya, Kohei Esaka, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Elucidation of the recognition mechanisms for hemicellulose and pectin in *Clostridium cellulovorans* using intracellular quantitative proteome analysis”, *AMB Express*, vol. 5, 29, (2015) (DOI: 10.1186/s13568-015-0115-6)
36. Tomohiro Shigemori, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Screening of randomly mutagenized glucagon-like peptide-1 library by using an integrated yeast-mammalian assay system”, *J. Biotechnology*, vol. 209, No. Sept. 10, pp. 96-101, (2015) (DOI: 10.1016/j.jbiotec.2015.06.392)
37. Nao Kitahara, Hironobu Morisaka, Wataru Aoki, Yumiko Takeda, Seiji Shibasaki, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Description of the interaction between *Candida albicans* and macrophages by mixed and quantitative proteome analysis without isolation”, *AMB Express*, vol. 5, 41, (2015) (DOI: 10.1186/s13568-015-0127-2)
38. Reiji Tanaka, Ilse Cleenwerck, Yukino Mizutani, Shunpei Iehata, Toshiyuki Shibata, Hideo Miyake, Tetsushi Mori, Yutaka Tamaru, Mitsuyoshi Ueda, Peter Bossier, Peter Vandamme, “*Formosa haliotis* sp. nov., A Brown-alga-degrading Bacterium Isolated from the Gut of the Abalone *Haliotis gigantean*”, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 65, No. 12, pp. 4388-4393, (2015) (DOI: 10.1099/ijsem.0.000586)
39. Toshiyuki Shibata, Kohki Nagayama, Shingo Sugiura, Saki Makino, Mitsuyoshi Ueda, Yutaka Tamaru, “Analysis on Composition and Antioxidative Properties of Phlorotannins Isolated from Japanese *Eisenia* and *Ecklonia* Species”, *American Journal of Plant Sciences*, vol. 6, No. 15 (Special Issue on Algae Research), pp. 2510-2521, (2015) (DOI: 10.4236/ajps.2015.615253)
40. Nur Syakimah Ismail, Le Quynh Hoa, Quamrul Hasan, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Eiichi Tamiya, “Enhanced Electrochemiluminescence of N-(aminobutyl)-N-(ethylisoluminol) Functionalized Gold Nanoparticles by Graphene Oxide Nanoribbons”, *Electrochimica Acta*, Vol. 180, pp. 409-418, (2015) (DOI: 10.1016/j.electacta.2015.08.0)
41. Triet Duy Vo, Gregory N. Nishihara, Yoshiaki Kitamura, Satoshi Shimada, Shigeo Kawaguchi, Ryuta Terada, “The Effect of Irradiance and Temperature on the

- Photosynthesis of *Hydropuntia edulis* and *Hydropuntia euclideanoides* (Gracilariaceae, Rhodophyta) from Vietnam”, *Phycologia*, vol. 54, No. 1, pp. 24-31 (2015) (DOI: <http://dx.doi.org/10.2216/14-61R1.1>)
42. Toshiyuki Takagi, Hironobu Morisaka, Shunsuke Aburaya, Yohei Tatsukami, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, "Putative alginate assimilation process of the marine bacterium *Saccharophagus degradans* 2-40 based on quantitative proteome analysis", *Marine Biotechnology*, vol. 18, No.1, pp. 15-23, (2016) (DOI:10.1007/s10126-015-9667-3)
 43. Toshiyuki Takagi, Takahiro Yokoi, Toshiyuki Shibata, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, "Engineered yeast whole-cell biocatalyst for direct degradation of alginate from macroalgae and production of non-commercialized useful monosaccharide from alginate", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 100, pp.1723-1732, (2016) (DOI: 10.1007/s00253-015-7035-x)
 44. Atsushi Satomura, Natsuko Miura, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, "Reconstruction of thermotolerant yeast by one-point mutation identified through whole-genome analyses of adaptively-evolved strains", *Scientific Reports*, vol. 6, 23157, (2016) (DOI: 10.1038/srep23157)
 45. Ryouyuke Nishioka, Atsushi Satomura, Jyunki Yamada, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, "Rapid preparation of mutated influenza hemagglutinins for influenza virus pandemic prevention", *AMB Express*, vol. 6, No. 1, pp.1-8, (2016) (DOI: 10.1186/s13568-016-0179-y)
 46. Ryuta Terada, Triet Duy Vo, Gregory N. Nishihara, Keisaku Shioya, Satoshi Shimada, Shigeo Kawaguchi, "The Effect of Irradiance and Temperature on the Photosynthesis and Growth of a Cultivated Red Alga *Kappaphycus alvarezii* (Solieriaceae) from Vietnam, Based on *in situ* and *in vitro* Measurements", *Journal of Applied Phycology*, vol. 28, No. 1, pp. 457-467, (2016) (DOI: 10.1007/s10811-015-0557-x)
 47. Tetsushi Mori, Kouji Iwamoto, Satoshi Wakaoji, Hiroya Araie, Yotaro Kohara, Yoshiko Okamura, Yoshihiro Shiraiwa, and Haruko Takeyama "Characterization of a novel gene involved in cadmium accumulation screened from sponge-associated bacterial metagenome", *Gene*, Vol. 576, pp. 618-625, (2016) (DOI:10.1016/j.gene.2015.10.018)
 48. Vu Thi Huong, Hiroyuki Yoshikawa, Le Quynh Hoa, Hitoshi Toake, Toshiyuki Shibata, Eiichi Tamiya, "Comprehensive interrogation of electrochemical reaction and energy conversion of a direct fucose fuel cell" *Journal of Solid State Electrochemistry*, vol. 20, pp. 1481-1488, (2016) (DOI 10.1007/s10008-016-3158-y)
 49. Reiji Tanaka, Toshiyuki Shibata, Hideo Miyake, Tetsushi Mori, Yutaka Tamaru, Mitsuyoshi Ueda, Peter Bossier, "Temporal Fluctuation in the Abundance of Alginate-degrading Bacteria in the Gut of Abalone *Haliotis gigantea* over 1 year", *Aquaculture Research*, vol. 47, No. 9, pp. 2899-2908, (2016) (DOI: 10.1111/are.12740)
 50. Seiji Shibasaki, Maki Karasaki, Shunsuke Aburaya, Hironobu Morisaka, Yumiko Takeda, Wataru Aoki, Mitsuyoshi Ueda, "A comparative proteomics study of a synovial cell line stimulated with TNF-alpha", *FEBS Open Bio*, vol. 6, No. 5, pp.418-424, (2016) (DOI: 10.1002/2211-5463.12049)
 51. Atsushi Satomura, Natsuko Miura, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, "Reconstruction of thermotolerant yeast by one-point mutation identified through whole-genome analyses of adaptively-evolved strains", *Scientific Reports (Sci. Rep.)*, vol. 6, 23157 (2016) (DOI:10.1038/srep23157)
 52. Ryouyuke Nishioka, Atsushi Satomura, Jun Yamada, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, "Rapid preparation of mutated influenza hemagglutinins for influenza virus pandemic Prevention", *AMB Express*, vol. 6, No. 1, pp. 1-8, (2016) (DOI: 10.1186/s13568-016-0179-y)
 53. Yohei Tatsukami, Mitsuyoshi Ueda, "Rhizobial gibberellin negatively regulated host nodule number", *Scientific Reports (Sci. Rep.)*, vol. 6, 27998 (2016) (DOI:10.1038/srep27998)
 54. Tetsushi Mori, Mami Takahashi, Reiji Tanaka, Hideo Miyake, Toshiyuki Shibata, Seinen Chow, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Haruko Takeyama, "*Falsirhodobacter* sp. alg1 harbors single homologs of endo and exo-type alginate lyases efficient for alginate

- depolymerization”, PLOS ONE, vol.11. e0155537 (2016) (DOI: 10.1371/journal.pone.0155537)
55. Keisuke Motone, Toshiyuki Takagi, Yusuke Sasaki, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “ Direct ethanol fermentation of the algal storage polysaccharide laminarin with an optimized combination of engineered yeasts”, J. Biotechnol., vol. 231, pp.129-135 (2016) (DOI: 10.1016/j.jbiotec.2016.06.002)
56. Takako Inamori, Shunsuke Aburaya, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “ Characteristic strategy of assimilation of various saccharides by *Clostridium cellulovorans*” AMB Express, vol. 6, No. 1, pp.1-6 (2016) (DOI: 10.1186/s13568-016-0237-5)
57. Ryuta Terada, Triet Duy Vo, Gregory N. Nishihara, Kazuya Matsumoto, Shogo Kokubu, Yuki Watanabe, Shigeo Kawaguchi, “The Effect of Photosynthetically Active Radiation and Temperature on the Photosynthesis of Two Vietnamese Species of Sargassum, *S. mclurei* and *S. oligocystum*, Based on the Field and Laboratory Measurements”, Phycological Research, vol. 64, No. 4, pp. 230-240, 2016 (DOI: 10.1111/pre.12143).
58. Rio Ito, Kouichi Kuroda, Haruka Hashimoto, Mitsuyoshi Ueda, “ Recovery of platinum (0) through the reduction of platinum ions by hydrogenase-displaying yeast ”, AMB Express, vol. 6, No. 1, pp.88 (2016) (DOI: 10.1186/s13568-016-0262-4).
59. Iris Ann Borlongan, Grevo S. Gerung, Shigeo Kawaguchi, Gregory N. Nishihara, Ryuta Terada, “Thermal and PAR effects on the photosynthesis of *Euclidean denticulatum* and *Kappaphycus striatus* (so-called *Sacol* strain) cultivated in shallow bottom of Bali, Indonesia”, Journal of Applied Phycology, vol. 29, No.1, pp.395-404 (2017) (DOI: 10.1007/s10811-016-0956-7).
60. Meiko Ito, Mami Ishimaru, Toshiyuki Shibata, Hideo Hatate, Ryusuke Tanaka, “High-Performance Liquid chromatography with fluorescence detection for simultaneous analysis of phytosterols (stigmasterol, β -sitosterol, campesterol, ergosterol, and fucosterol) and cholesterol in plant foods”, Food Analytical Methods, in press (2017) (DOI: 10.1007/s12161-017-0841-2).
61. Toshiyuki Shibata, Reona Fujii, Hideo Miyake, Reiji Tanaka, Tetsushi Mori, Mami Takahashi, Toshiyuki Takagi, Hiroyuki Yoshikawa, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Development of an analysis method for 4-deoxy-L-erythro-5-hexoseulose uronic acid by LC/ESI/MS with selected ion monitoring”, Natural Product Communications, in press (2017) (受理日:2017年3月28日)
62. Yusuke Sasaki, Toshiyuki Takagi, Keisuke Motone, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Enhanced direct ethanol production by cofactor optimization of cell surface-displayed xylose isomerase in yeast”, Biotechnol. Prog., in press (2017) (受理日:2017年4月4日)
63. Le Q. Hoa, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Eiichi Tamiya, “Study of co-assembled conducting polymers for enhanced ethanol electro-oxidation reaction ”. MRS Proceedings, vol. 1446, pp.33-38, 2012 (DOI: 10.1557/opl.2012.916)
64. Le Q. Hoa, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito and Eiichi Tamiya, “Functionalized Carbon Nanotube Matrix for Inducing Noncovalent Interactions toward Enhanced Catalytic Performance of Metallic Electrode”, MRS Proceedings, vol. 1549, pp.135-140, (2013) (DOI: 10.1557/opl.2013.685)
65. Toshiyuki Shibata, Kohki Nagayama, Shingo Sugiura, Saki Makino, Mitsuyoshi Ueda, Yutaka Tamaru, “Antioxidative Properties of Phlorotannins Isolated from Japanese *Eisenia* and *Ecklonia* species”, Polypehns Communications 2014, pp.355-356 (2014).
66. Mitsuyoshi Ueda, "Establishment of cell surface engineering and its development", Biosci. Biotechnol. Biochem. vol. 80, No. 7, pp.1243-1253 (2016) (DOI: org/10.1080/09168451.2016.1153953)
67. Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, "Cellular and molecular engineering of yeast for advanced biobutanol production", FEMS Microbiol. Letter, 363, fnv247 (2016) (DOI: 10.1093/femsle/fnv247)

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. 植田充美, “細胞表層デザインナノ工学”, 「ナノ融合による先進バイオデバイス」(シーエムシー出版)民谷栄一 監修, pp. 79-85 (2011)
2. 竹山春子, 植田充美, 「海洋資源発掘のバイオテクノロジー最前線」 生物工学会誌, vol. 89, pp. 672 (2011)
3. 竹山春子, モリテツシ, 庄子習一, “マイクロ流体デバイスのバイオ計測への応用”, 「ナノ融合による先進バイオデバイス」(シーエムシー出版)民谷栄一 監修, pp.258-267 (2011)
4. モリテツシ, “海藻バイオマスからのバイオ燃料生産への環境メタゲノムの応用の項”, 「微細藻類によるエネルギー生産と事業展望」竹山春子 監修, シーエムシー出版, pp. 151-157 (2012)
5. 黒田浩一, 植田充美, “包括的転写制御による効率的物質生産に向けたストレス耐性育種”, 生物工学会誌, vol. 91, pp. 342-345 (2013)
6. 松井一真, 横井貴大, 黒田浩一, 植田充美, “大型藻類からのバイオエタノール生産”, リサイクルバイオテクノロジーの最前線(シーエムシー出版), pp. 50-56 (2013)
7. 戎谷一輝, 黒田浩一, 植田充美, “細胞表層工学によるレアメタル・ウランの選択的回収”, リサイクルバイオテクノロジーの最前線(シーエムシー出版), pp. 215-223 (2013)
8. 黒田浩一, 植田充美, “多様なベースメタルやレアメタルを選別・回収できるバイオ技術の展開—アーミング微生物の構築—”, 環境資源工学会誌, vol. 60, pp. 78-83 (2013)
9. 植田充美, “モノづくりバイオの新展開—合成生物学の行く道”, バイオサイエンスとインダストリー, vol. 71, pp. 475-477 (2013)
10. Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Arming technology in yeast – Novel strategy for whole-cell biocatalyst and protein engineering”, *Biomolecules* vol. 3, pp. 632-650 (2013)
11. 植田充美(監修) “リサイクルバイオテクノロジーの最前線”, シーエムシー出版, 2013.5.1 発行
12. Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Generation of arming yeasts with active proteins and peptides via cell surface display – Cell surface engineering, Bio-arming technology”, *Methods in Molecular Biology*, vol. 1152, pp.137-155 (2014)
13. 植田充美, 黒田浩一, “細胞表層工学による多彩な金属イオンの吸着・回収リサイクル”, 用水と廃水, vol. 56, pp.41-46 (2014)
14. 植田充美, 黒田浩一, “アーミング酵母による多様なレアメタルの選択的回収”, *BIO INDUSTRY*, vol. 31, pp. 19-26 (2014)
15. 森坂裕信, 水口博義, 植田充美, “次世代プロテオーム解析に向けた分離モノリスの開発”, 生命のビッグデータ利用の最前線(シーエムシー出版) pp. 58-65 (2014)
16. 森坂裕信, 植田充美, “バイオマス処理のビッグデータの解釈と環境への活用—トランスオミクス解析を利用したバイオマス分解戦略”, 生命のビッグデータ利用の最前線(シーエムシー出版) pp. 147-153 (2014)
17. 黒田浩一, 植田充美, “酵母の細胞表層デザインによるレアメタル吸着・回収システム”, 地球を救うメタルバイオテクノロジー(成山堂書店) pp. 47-55 (2014)
18. 植田充美(監修) “生命のビッグデータ利用の最前線”, シーエムシー出版, 2014.4.30 発行
19. 竹山春子, モリテツシ, 伊藤通浩, 細川正人, “海洋遺伝子資源の新しいオミクス解析への挑戦”, 「生命のビッグデータ利用の最前線」植田充美 監修, シーエムシー出版, (2014)
20. Tetsushi Mori and Haruko Takeyama, “Springer Handbook of Marine Biotechnology; Chapter 19: Marine Metagenome and Supporting Technology”, Se-Kwon Kim (Ed.), Springer, pp. 497-508, 2015
21. 黒田浩一, 植田充美, 「アーミング酵母による多様なレアメタルの選択的回収」、バイオベース元素戦略(シーエムシー出版), pp.28-36, (2015)
22. 植田充美, 「水素のバイオキャリアの活用への方策」、バイオ水素とキャリア開発の最前線(シーエムシー出版) pp. 157-161 (2015)
23. 立上陽平, 植田充美, 「微生物の合成生物学的改質育種に向けて」、バイオ水素とキャリア開発の最前線(シーエムシー出版) 162-169 (2015)
24. 植田充美, 「ありのまま」の生命現象解析(化学と生物 巻頭言) 化学と生物, vol. 53, No. 4,

- pp. 1 (2015)
25. 植田充美、細胞表層活用の基盤開拓、日本農芸化学会要旨集, pp. 1-2 (2015)
 26. 黒田浩一、植田充美、アーミング酵母による多様なレアメタルの選択的回収、バイオベース元素戦略—都市鉱山・海底鉱山に眠る貴金属・レアメタル回収技術 (シーエムシー出版)、pp. 28-36 (2015)
 27. 近藤昭彦、植田充美、合成生物工学の未来展望、生物工学会誌, vol. 93, No. 9, pp. 2 (2015)
 28. 里村 淳、黒田浩一、植田充美。高効率物質生産に向けた転写因子デザインによるストレス耐性工学、生物工学会誌, vol. 93, No. 9, pp. 539-541 (2015)
 29. 里村淳、黒田浩一、植田充美、プロテインフォールディングメモリーによる酵素タンパク質の改変、酵素工学会誌, vol. 74, pp. 23-26 (2015)
 30. 植田充美、福田剛士、芳野雄一、深見治一、中尾正宏、メタゲノムから有用遺伝子のハイスループットスクリーニングタンパク質への高速変換・機能解析システムの開発—マリンメタゲノムの有効利用 (シーエムシー普及版), pp. 67-77 (2015)
 31. 植田充美、未来エネルギー水素液体キャリアの農林水産廃棄物からの大量生産をめざして、バイオマス利用研究, vol. 17, pp. 15-23 (2016)
 32. 植田充美、ヘルスケアを支えるバイオ計測の意義、ヘルスケアを支えるバイオ計測, pp. 1-6 (2016)
 33. 植田充美「自然」に学べば、尚志 (武田薬品工業)、vol. 47, pp. 3-10 (2016)
 34. 芝崎誠司、植田充美、分子ディスプレイ法を用いた酵母ならびに乳酸菌経口ワクチンの創製、科学と工業, vol. 90, No. 7, pp. 218-224 (2016)
 35. 里村淳、黒田浩一、植田充美、実験室進化 *Saccharomyces cerevisiae* の熱適応戦略の解明と物質生産への応用、バイオサイエンスとインダストリー, vol. 74, No. 6, pp. 505-507 (2016)

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

①招待講演 (国際会議 8 件、国内会議 8 件)

国際学会:

1. Mitsuyoshi Ueda, Cell surface engineering and its application, IGER International Symposium on Cell Surface Structures and Functions, Nagoya, 2013.9.1
2. Natsuko Miura, Masahiro Shinohara, Yohei Tatsukami, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Spatial reorganization of yeast moonlighting protein, enolase, in hypoxia to alter carbon metabolism, American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Boston, USA, 2013.4.20
3. Yohei Tatsukami, Mami Nambu, Kazuma Matsui, Wataru Aoki, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Proteomic profiling of proteins associated with symbiotic conditions in *Mesorhizobium loti*, American Society for Microbiology, Denver, USA, 2013.5.18
4. Jungu Bae, Kazuma Matsui, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, and Mitsuyoshi Ueda, Best natural combination of biomass-degrading proteins determined from super-proteome analysis of *Clostridium cellulovorans*, World Biotechnology Congress 2013, Boston, USA, 2013.6.3
5. Jungu Bae, Kazuma Matsui, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, and Mitsuyoshi Ueda, Optimal Enzyme Combinations for Biomass Degradation, The 2013 KMB's 40th Anniversary International Symposium, 平昌, Korea, 2013.7.3
6. Nao Kitahara, Hironobu Morisaka, Wataru Aoki, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Mixed proteome analysis for clarification of the mechanism of infectious candidiasis, ASBMB2014, San Diego Convention Center, 2014.4.26
7. Jungu Bae, Kazuma Matsui, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, A novel platform to determine and reconstruct an optimal enzyme combination for degradation of various biomasses: quantitative proteomic analysis and yeast cell surface

- engineering, ASM2014 Boston Convention & Exhibition Center, 2014.5.17
8. Mitsuyoshi Ueda, Toshiyuki Takagi Construction of genome designed yeasts for direct assimilation of macroalgae by synthetic biology, Pacificchem2015, USA Hawaii convention hall 2015.12.19

国内学会:

1. 植田充美、セルロソーム形成機構解明への新手法の展開、2012 年度日本農芸化学会、京都女子大学、2012.3.25
2. 柴田 敏行、長山 公紀、齋藤 剛、田中 礼士、三宅 英雄、田丸 浩、マリンポリフェノール:フロロタンニン類の構造と生理機能、マリンバイオテクノロジー学会、三重大学、2014.6.1
3. 田中 礼士、柴田 敏行、三宅 英雄、田丸 浩、海洋細菌による海藻多糖分解の戦略、マリンバイオテクノロジー学会、三重大学、2014.6.1
4. 植田充美、大型藻類の未来ポテンシャルをめざして、日本藻類学会大会第 39 回大会、九州大学、2015.3.21
5. 長山公紀、齋藤剛、熊本県で行われているクロメの養殖と利用、日本藻類学会大会第39回大会・福岡 2015 ミニシンポジウム「大型藻類バイオリファイナリー研究の最新の進捗と将来展望」、九州大学、2015.3.22
6. モリテツシ、藻類バイオマスの利用に向けた環境微生物メタゲノムからの有用遺伝子の獲得、日本藻類学会第 39 回大会・福岡 2015 ミニシンポジウム「大型藻類バイオリファイナリー研究の最新の進捗と将来展望」、九州大学、2015.3.22
7. 吉川裕之、大型藻類バイオマスの直接電極反応型リファイナリー技術の開拓、日本藻類学会第39回大会・福岡 2015 ミニシンポジウム「大型藻類バイオリファイナリー研究の最新の進捗と将来展望」、九州大学、2015.3.22
8. Tetsushi Mori, Mami Takahashi, Yumiko Yamada, Toshiyuki Shibata, Toshiyuki Takagi, Reiji Tanaka, Hideo Miyake, Kouichi Kuroda, Haruko Takeyama, Mitsuyoshi Ueda, "Isolation of biorefinery enzymes for brown macro algae degradation from bacterial metagenome", 第 68 回日本生物工学会 (10th Japan-Korea Biomass Symposium〈国際シンポジウム〉)、富山市、富山県、2016.9.29

② 口頭発表 (国際会議 9 件、国内会議 48 件)

国際会議:

1. Le Quynh Hoa, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito and Eiichi Tamiya, Functionalized Carbon Nanotube Matrix for Inducing Noncovalent Interactions toward Enhanced Catalytic Performance of Metallic Electrode, Materials Research Society (MRS) Spring Meeting & Exhibit, Moscone West Convention Center | Marriott Marquis - San Francisco, California, 2013.4.3
2. Tetsushi Mori, Bacterial metagenomes as potential resources for isolation of biorefinery enzymes in brown macroalgae degradation, Pacificchem 2015, 2015.12.19
3. Hiroyuki Yoshikawa, Eiichi Tamiya, Development of alginate fuel cells for biorefinery of macroalgae, Pacificchem 2015, Hawaii USA, 2015.12.19
4. Joyotu Mazumder, Hiroyuki Yoshikawa, Eiichi Tamiya, Development of direct biomass fuel cells using electrocatalytic and photocatalytic nanomaterial-functionalized anodes, Biosensors 2016, Gothenburg, Sweden, 2016.5.25
5. Atsushi Satomura, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Precise genome editing at single-base resolution by novel CRISPR-nickase system, ECB2016, Krakow, 2016.7.3
6. Keisuke Motone, Toshiyuki Takagi, Yusuke Sasaki, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Platform of direct ethanol production from macroalgae by engineered *Saccharomyces cerevisiae*, ECB2016, Krakow, 2016.7.3
7. Ryo Komura, Wataru Aoki, Eiichi Tamiya, Mitsuyoshi Ueda, Integrating reductive and synthetic approaches in biology using man-made cell-like compartments, ECB2016,

Krakow, 2016.7.3

8.Kouichi Kuroda, Nao Nishida, Mitsuyoshi Ueda. The mechanism of organic-solvent tolerance in yeast *Saccharomyces cerevisiae* triggered by a mutated transcription factor, ECB2016, Krakow, 2016.7.3

9.Tetsushi Mori, Mami Takahashi, Yumiko Yamada, Toshiyuki Shibata, Toshiyuki Takagi, Reiji Tanaka, Hideo Miyake, Kouichi Kuroda, Haruko Takeyama, “Mining Novel Alginate Lyases from Metagenome Libraries for Alginate Depolymerization”, 11th International Marine Biotechnology Conference, Baltimore, USA, 2016.8.31

国内会議:

1. 吉川裕之、広中孝行、斎藤真人、民谷栄一、バイオセンシングのためのレーザー誘起銀ナノ構造体形成、第 59 回応用物理学関係連合講演会、東京都新宿区、2012.3.16

2. Bae Jung、中西昭仁、黒田浩一、植田充美、原料バイオマスに最適な CBM をもつセルラーゼカクテルスクリーニング系の構築、2012 年度日本農芸化学会、京都女子大学、2012.3.24

3. 池内智彦・山中啓一郎・斎藤真人・吉川裕之・民谷栄一、携帯型の電気化学センサーによる迅速な生菌数のモニタリング、日本化学会第 92 春季年会、神奈川県横浜市、2012.3.28

4. 渡邊幸太郎、モリテツシ、緑川直子、張成年、竹山春子、海産無脊椎動物腸内細菌叢のバイオエンリッチメントおよび海藻分解酵素のスクリーニング、生物日本工学会東日本支部 第 7 回学生発表討論会、東京、2012.10.21

5. 藤井 陽平、柴田 敏行、田中 礼士、三宅 英雄、川口 栄男、田丸 浩、黒田 浩一、植田 充美、褐藻アラメから単離したフロロタンニン類のスペクトル解析、日本生物工学会、神戸国際会議場、2012.10.26

6. 三宅 英雄、中島 大地、永野 彰彦、森坂 裕信、黒田 浩一、植田 充美、田丸浩、*Clostridium cellulovorans* 743B が生産する新規セルロソーム骨格タンパク質 CbpB の機能解析、日本生物工学会大会、神戸国際会議場、2012.10.26

7. 高嶋 和也、石川 卓、黒田 浩一、植田 充美、三宅 英雄、異なる糖で培養したセルロソーム生産菌 *Clostridium cellulovorans* 743B の比較 RNA-seq 解析、日本農芸化学会、東北大学、2013. 3. 25

8. 松井一真、江坂康平、森坂裕信、黒田浩一、三宅英雄、田丸浩、植田充美、バイオマス分解のための *Clostridium cellulovorans* の定量的セクレトーム解析、日本農芸化学会 2012 年度大会、東北大学、2013. 3. 27

9. 篠原昌宏、森坂裕信、松井一真、高嶋和也、黒田浩一、三宅英雄、田丸浩、植田充美、ターゲットメタボロミクスに基づく *Clostridium cellulovorans* の代謝経路の解明、日本農芸化学会 2012 年度大会、東北大学、2013. 3. 27

10. Le Quynh Hoa, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Eiichi Tamiya, “Functionalized carbon nanotube matrix enhances catalytic performance of metallic electrodes: role of non-covalent interactions”, 電気化学学会第 80 回大会、東北大学、2013. 3. 29

11. Ismail Nur Syakimah, Le Quynh Hoa, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Eiichi Tamiya, “Non-enzymatic electrochemical glucose sensor based on grapheme-oxide nanoribbon”, 電気化学学会第 80 回 大会、東北大学、2013. 3. 31

12. 柴田 敏行、田丸 浩、アラメ属褐藻類から単離したフロロタンニン類の抗酸化性、マリンバイオテクノロジー学会、沖縄県市町村自治会館、2013.6.1

13. 石川 岳、中島 大地、柴田 敏行、田中 礼士、黒田 浩一、植田 充美、田丸 浩、三宅 英雄、*Clostridium cellulovorans* が生産するセルロソーム形成マンナナーゼの酵素学的諸性質、日本農芸化学会関西支部例会、大阪府立大学、2013.7.6

14. モリテツシ、高橋真美、緑川直子、柴田俊行、黒田浩一、植田充美、竹山春子、アルギン酸分解細菌からのエキソ型アルギン酸リアーゼの探索、第 65 回日本生物工学会大会、広島、2013.9.18

15. 石川 岳、中島 大地、原 浩美、柴田 敏行、田中 礼士、黒田 浩一、植田 充美、田丸 浩、三宅 英雄、*Clostridium cellulovorans* が生産するセルロソーム形成マンナナーゼの酵素学的諸性質と新規骨格タンパク質 CbpB との相互作用解析、日本農芸化学会、明治大学、2014.3.29

16. LE HOA QUYNH, Yoshikawa Hiroyuki, Saito Masato, Tamiya Eiichi, Direct Energy Extraction from Brown Macroalgae-Derived Alginate by Gold Nanoparticles on Functionalized Carbon

- Nanotubes、電気化学会、関西大学千里山キャンパス、2014.3.29
- 17.高木俊幸, 横井貴大, 森坂裕信, 黒田浩一, 植田充美, アルギン酸からのエタノール生産を目指した酵母の合成生物学的育種, 日本農芸化学会, 東京, 明治大学, 2014.3.29
 - 18.横井貴大, 高木俊幸, 柴田敏行, 森坂裕信, 黒田浩一, 植田充美, *Saccharophagus degradans* 由来アルギン酸分解酵素群の基質特異性の解析, 日本農芸化学会, 東京, 明治大学, 2014.3.29
 - 19.BAE Jungu, 黒田 浩一, 植田 充美, 酵母細胞表層工学によるセルラーゼの集積と共役・相乗効果の解析, 日本農芸化学会, 東京, 明治大学, 2014.3.29
 - 20.石高 彰人, BAE Jungu, 三宅 英雄, 田丸 浩, 黒田 浩一, 植田 充美, *Clostridium cellulovorans* を基にしたセルロソームの酵母細胞表層工学による構築の試み, 日本農芸化学会, 東京, 明治大学, 2014.3.29
 - 21.江坂 康平, 松井 一真, 森坂 裕信, 黒田 浩一, 三宅 英雄, 田丸 浩, 植田 充美, ソフトバイオマス分解を目指した *Clostridium cellulovorans* のエキソプロテオーム解析, 日本農芸化学会, 東京, 明治大学, 2014.3.30
 - 22.橋本 遥, 戎谷 一輝, 黒田 浩一, 植田 充美, アーミング酵母によるレアアース回収のためのテーラーメイドスクリーニング法の開発, 日本農芸化学会, 東京, 明治大学, 2014.3.30
 - 23.油屋駿介, 江坂康平, 森坂裕信, 黒田浩一, 植田充美, *Clostridium cellulovorans* の基質認識の解析, 日本農芸化学会, 東京, 明治大学, 2014.3.30
 - 24.モリ テツシ, 高橋 真美, 柴田 敏行, 黒田 浩一, 張 成年, 植田 充美, 竹山 春子, Identification of exolytic alginate lyase genes from brown algae degrading marine bacteria, 日本化学会第 94 春季年会. 名古屋大学, 2014.3.30
 25. 高橋真美, モリテツシ, 柴田敏行, 黒田浩一, 張成年, 植田充美, 竹山春子, “褐藻分解細菌からのアルギン酸リアーゼの探索および分解能の評価”, 第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会, 三重大学, 三重県, 2014. 5. 31
 - 26.吉川裕之, 石橋達也, VU Thi Huong, 十朱仁, 民谷栄一, 貴金属ナノ粒子を利用したバイオセンシングとバイオ燃料電池, 第 8 回バイオ関連化学シンポジウム, 岡山大学津島キャンパス, 2014. 9. 14
 27. Vu Huong Thile Hoaquynh, Hitoshi Toake, Hiroyuki Yoshikawa, Eiichi Tamiya, Development of a novel macroalgae biofuel cell using titanium dioxide and gold nanoparticles, 2014 年電気化学秋季大会, 北海道大学高等教育推進機構, 2014. 9. 27
 28. Ismail Nur Syakimah, Yoshikawa Hiroyuki, Saito Masato, Tamiya Eiichi, ELECTROCHEMILUMINESCENCE OF ISOLUMINOL-GOLD NANOPARTICLE-GRAPHENE OXIDE NANORIBBON HYBRID, 2014 年電気化学秋季大会, 北海道大学高等教育推進機構, 2014. 9. 28
 29. Ismail Nur Syakimah, 荒木晃子, 吉川裕之, 斉藤真人, 民谷栄一, DEVELOPMENT OF UREA ELECTROCHEMILUMINESCENCE BIOSENSOR USING ISOLUMINOL-FUNCTIONALIZED GOLD NANOPARTICLES-GRAPHENE OXIDE NANORIBBONS HYBRID, 電気化学会第 82 回大会, 横浜国立大学, 2015. 3. 15
 30. ブ ティ フン, 吉川裕之, Le Quynh Hoa, 十朱仁, 民谷栄一, Functional nanomaterials modified anode for a novel direct fucose fuel cell, 電気化学会第 82 回大会, 横浜国立大学, 2015. 3. 16
 31. 立上陽平, 南部真実, 森坂裕信, 黒田浩一, 植田充美, ミヤコグサ根粒菌 *Mesorhizobium loti* による共生時特異的なジベレリンの生合成, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 岡山大学, 2015. 3. 27
 32. 稲森貴子, 石高彰人, 油屋駿介, 森坂裕信, 黒田浩一, 植田充美, シュガープラットホーム創製に向けた *Clostridium cellulovorans* の分子育種, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 岡山大学, 2015. 3. 27
 33. 伊藤理央, 橋本遥, 黒田浩一, 植田充美, 白金還元酵母の分子育種, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 岡山大学, 2015. 3. 27
 34. 西岡良将, 山田純希, 三浦夏子, 重盛智大, 黒田浩一, 植田充美, インフルエンザウイルスの高頻度変異タンパク質ヘマグルチニンに対するハイスループットな新規阻害剤スクリーニング系の構築, 日

- 本農芸化学会 2015 年度大会, 岡山大学, 2015. 3. 27
35. 佐々木勇輔, 高木俊幸, 森坂裕信, 黒田浩一, 植田充美, 海洋バイオマス資化酵母の合成生物学的育種, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 岡山大学, 2015. 3. 27
36. 石川岳, 長屋千晶, 江坂康平, 田中礼士, 柴田敏行, 森坂裕信, 黒田浩一, 植田充美, 田丸浩, 三宅英雄, *Clostridium cellulovorans* が生産するセルロソームを構成する酵素群の同定, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 岡山大学, 2015. 3. 27
37. 長屋千晶, 石川岳, 田中礼士, 柴田敏行, 黒田浩一, 植田充美, 田丸浩, 三宅英雄, コヘシンドックリン相互作用解析を基にした *Clostridium cellulovorans* のセルロソームの評価, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 岡山大学, 2015. 3. 27
38. 平松愛子, 黒田浩一, 植田充美, 田丸浩, 三宅英雄, ブタノール生産菌 *Clostridium beijerinckii* を宿主とした *Clostridium cellulovorans* のセルロソーム遺伝子クラスターの発現, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 岡山大学, 2015. 3. 27
39. 高橋真美, 褐藻分解菌 *Falsirhodobacter* sp. alg1 から獲得した アルギン酸リアーゼ AlyFRB の特性評価マリンバイオテクノロジー学会東京海洋大学, 品川キャンパス 2015.5.31
40. 杉浦真悟, 田中礼士, 三宅英雄, 田丸浩, 植田充美, 柴田敏行, アラメ属・カジメ属褐藻類に含まれるフロロタンニン類の組成と抗酸化性の解析, 日本食品科学工学会中部支部大会, 名城大学 天白キャンパス 2015.12.5
41. 寺田竜太, 渡邊裕基, Gregory N. Nishihara, 海藻類の光合成測定で見られる光や温度等のストレス応答について, 日本藻類学会第 40 回大会, 日本歯科大学 2016.3.19
42. 田中礼士, 水谷雪乃, 柴田敏行, 三宅英雄, 植田充美, Ilse Cleenwerck, Peter Bossier, Peter Vandamme, 新規褐藻分解細菌 *Formosa haliotis* の記載およびドラフトゲノム解析, 日本水産学会 春季大会, 東京海洋大学 品川キャンパス, 2016.3.29
43. 吉川裕之, 十朱仁, マズムダルジョイオツ, 柴田敏行, 民谷栄一, 光触媒燃料極を用いた藻類バイオマス燃料電池の特性と生成物の分析, 電気化学会第 83 回大会, 大阪大学 吹田キャンパス 2016.3.29
44. 立上陽平, 植田充美, 根粒菌由来のジベレリンが宿主の根粒形成数を負に制御する, 植物微生物研究交流会, 仙台 2016.9.7
45. 伊藤芽以子, 石丸真美, 柴田敏行, 幡手英雄, 田中竜介. 蛍光-高速液体クロマトグラフィーを用いた海藻に含まれる植物性ステロールの分析方法の開発. 日本水産学会, 近畿大学 2016.9.9
46. 杉浦真悟, 南 佑弥, 田中礼士, 三宅英雄, モリテツシ, 植田充美, 柴田敏行. アラメ属・カジメ属褐藻類から単離したフロロタンニン類の抗糖化活性. 日本農芸化学会 2017 年度大会, 京都女子大学 2017.3.18
47. 村瀬祥光, 柴田敏行, モリテツシ, 田中礼士, 植田充美, 三宅英雄. *Falsirhodobacter* sp. alg1 由来のアルギン酸リアーゼによる 4-deoxy-L-erythro-5-hexoseulose uronic acid の調製. 日本農芸化学会 2017 年度大会, 京都女子大学 2017.3.18
48. マズムダル ジョイオツ, 吉川 裕之, 三宅 英雄, 柴田 敏行, 民谷 栄一 光触媒型燃料電池によるアルギン酸の分解と発電特性の解析, 電気化学会第 84回大会, 首都大学東京 南大沢キャンパス 2017.3.25

③ ポスター発表(国際会議 69 件、国内会議 64 件)

国際会議:

1. 広中孝行, 吉川裕之, 斉藤真人, 民谷栄一, Plasmonic Silver Nanoparticles Deposited by a Focused Laser Beam for Biosensing, 2012 Taiwan-Japan Nanophotonics and Plasmonic Metamaterials Workshop, 台湾・台北, 2012.1.11
2. 広中孝行, 吉川裕之, 斉藤真人, 民谷栄一, Laser microfabrication of Plasmonic Silver Nanoparticles for Biosensing Applications, PITTCON 2012, アメリカ・フロリダ州, 2012.3.14
3. Le Quynh Hoa, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Eiichi Tamiya, Study of co-assembled conducting polymers for enhanced ethanol electro-oxidation reaction,

- Materials Research Society (MRS) Spring Meeting & Exhibit, San Francisco, California, USA, 2012.4.9
4. Le Quynh Hoa, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Eiichi Tamiya, Novel conducting organic supporting matrices for enhanced performance of direct ethanol fuel cells, BIOSENSORS 2012, Cancun, Mexico, 2012.5.12
 5. Hiroyuki Yoshikawa, Tomohiko Ikeuchi, Le Quynh Hoa, Eiichi Tamiya, Nanostructured electrodes using gold nanoparticles and carbon nanotubes for monosaccharide biofuel cell, BIOSENSORS 2012, Cancun, Mexico, 2012.5.15
 6. Daichi Nakajima, Akihiko Nagano (Mie University), Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda (Kyoto University), Hideo Miyake (Mie University), Characterization of the cellulosomal scaffolding protein, CbpB from *Clostridium cellulovorans* 743B, American Society for Microbiology, San Francisco, USA, 2012.6.17
 7. Kotaro Watanabe, Tetsushi Mori, Naoko Midorikawa, Seinen Chow, Haruko Takeyama, "Bioenrichment and diversity analysis of the marine invertebrates gut microflora", APMB2012, Kouchi, 2012.7.13
 8. Reiji Tanaka, Hiromitsu Miyawaki, Shunpei Iehata (Mie University), Hiroto Maeda (Kagoshima University), Detection and determination of algal-polysaccharide-degrading bacteria in the digestive tract of abalone *Haliotis gigantea* through a year, International Symposium of Microbial Ecology, Copenhagen, Denmark, 2012.8.20
 9. Hideo Miyake, Daichi Nakajima, Akihiko Nagano (Mie University), Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda (Kyoto University), Yutaka Tamaru (Mie University), Characterization of the cellulosomal scaffolding protein CbpB from *Clostridium cellulovorans* 743B, 2012 Clostridium International Meeting XII, Nottingham, UK, 2012.9.12
 10. Mami Takahashi, Tetsushi Mori, Seinen Cho, Haruko Takeyama, "Identification of alginate lyase producing bacteria from brown algae", The 1st Joint Summer Workshop on International Collaboration Research for Life Innovation between the University of Bonn and Waseda University, Nagano, 2012.9.21
 11. Le Quynh Hoa, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Eiichi Tamiya, Optimizing functionalized carbon nanotube matrix for enhancing direct ethanol fuel cell performance, PRiME 2012, Honolulu Hawaii, USA, 2012.10.7
 12. Nao Nishida, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Effects of recognition sequence variations on transcription regulation of multidrug resistance regulator Pdr1p in yeast, American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Boston, USA, 2013.4.20
 13. Jungu Bae, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Fundamental analysis of synergistic saccharification of cellulose by three types of cellulases displayed on yeast cell surface, American Society of Microbiology, Denver, USA, 2013.5.18
 14. Kouichi Kuroda, Kazuma Matsui, Kohei Esaka, Hironobu Morisaka, Hideo Miyake, Mitsuyoshi Ueda, Evaluation of proteomic analysis of cellulosomal and noncellulosomal proteins in *Clostridium cellulovorans*, American Society of Microbiology, Denver, USA, 2013.5.18
 15. Hironobu Morisaka, Masahiro Shinohara, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Target metabolome analysis of anaerobic *Clostridium cellulovorans* useful for cellulose degradation, American Society of Microbiology, Denver, USA, 2013.5.18
 16. Kazuya Takashima, Takashi Ishikawa, Reiji Tanaka, Toshiyuki Shibata, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Hideo Miyake. Comparative RNA-seq analysis of cellulosome-producing *Clostridium cellulovorans* cultivated in different sugar media. American Society of Microbiology, Denver, USA, 2013.5.20
 17. Reiji Tanaka, Toshiyuki Shibata, Hideo Miyake, Yutaka Tamaru, Mitsuyoshi Ueda. Fermentation products of alginate by *Vibrio halioticoli* isolated from gut of abalone. Federation of European Microbiological Societies Congress 2013, Leipzig, Germany, 2013.7.21
 18. Hideo Miyake, Kazuya Takashima, Takashi Ishikawa, Toshiyuki Shibata, Reiji Tanaka,

- Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi, Ueda, Yutaka Tamaru. RNA-Seq transcriptome analysis focused on cellulosomal and non-cellulosomal genes from *Clostridium cellulovorans*. Gordon Research Conferences, New Hampshire, USA, 2013.8.5
- 19.Gaku Ishikawa, Daichi Nakajima, Hiromi Hara, Reiji Tanaka, Toshiyuki Shibata, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Yutaka Tamaru, Hideo Miyake. Analysis of the interaction between cellulosomal mannanases and the novel scaffolding protein CbpB from *Clostridium cellulovorans*. Gordon Research Conferences, New Hampshire, USA, 2013.8.5
- 20.Mami Takahashi, Tetsushi Mori, Naoko Midorikawa, Toshiyuki Shibata, Kouichi Kuroda, Seinen Chow, Mitsuyoshi Ueda, Haruko Takeyama, Screening for exolytic alginate lyase genes of bacteria isolated from marine environmental samples, IMBC 2013, Australia, 2013.11.12
- 21.Kouichi Kuroda, Nao Nishida, Mitsuyoshi Ueda, Organic solvent-activated signaling pathways via cell surface sensors and transcription factors, ASBMB2014, San Diego Convention Center, 2014.4.26
- 22.Atsushi Satomura, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Novel protein engineering of lipase by protein folding memory, ASBMB2014 (ibid.), San Diego Convention Center, 2014.4.26
- 23.Tomohiro Shigemori, Kouichi Kuroda, and Mitsuyoshi Ueda, Functional screening system for GPCR-agonists using peptide-secreting yeasts, ASBMB2014 (ibid.), San Diego Convention Center, 2014.4.26
- 24.Mami Takahashi, Tetsushi Mori, Toshiyuki Shibata, Kouichi Kuroda, Seinen Chow, Mitsuyoshi Ueda, Haruko Takeyama, "Isolation of an exolytic alginate lyase gene from a novel marine bacterium degrading brown algae", The 10th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference (<http://www.apmbc2014.com/>), Taipei, Taiwan, 2014.5.6
- 25.Kohei Esaka, Jungu Bae, Kazuma Matsui, Shunsuke Aburaya, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Hideo Miyake, Yutaka Tamaru, Mitsuyoshi Ueda. Exoproteome analyses of *Clostridium cellulovorans* for various soft-biomass degradations. ASM2014 114th General Meeting, Boston, USA, 2014.5.18
- 26.Yohei Tatsukami, Mami Nambu, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Putative secondary metabolic pathway in *Mesorhizobium loti* disclosed by novel proteome analysis, ASM2014 114th General Meeting, Boston, USA, 2014.5.18
- 27.Mami Nambu, Yohei Tatsukami, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Behavior of *Mesorhizobium loti* during nodule development with quantitative proteome analysis, ASM2014 114th General Meeting, Boston, USA, 2014.5.18
- 28.Toshiyuki Takagi, Takahiro Yokoi, Toshiyuki Shibata, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Surface display of alginate lyases on yeast *Saccharomyces cerevisiae* for efficient degradation of alginate, ASM2014 114th General Meeting, Boston, USA, 2014.5.18
- 29.Kouichi Kuroda, Nao Nishida, Misa Noguchi, Mitsuyoshi Ueda, Designed control of programmed cell death in genetically modified *Saccharomyces cerevisiae*, ASM2014, 114th General Meeting, Boston, USA, 2014.5.18
- 30.Akihito Ishitaka, Jyungu Bae, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Reconstruction of artificial cellulosome based on *Clostridium cellulovorans* construct with yeast cell surface engineering, ASM2014, 114th General Meeting, Boston, USA, 2014.5.18
- 31.Gaku Ishikawa, Daichi Nakajima, Reiji Tanaka, Toshiyuki Shibata, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Yutaka Tamaru, Hideo Miyake. Analysis of the interaction between cellulosomal mannanases and the scaffolding protein from *Clostridium cellulovorans*, 国際微生物学連合 2014 会議 Montreal, Canada, 2014.8.29
- 32.Junki Yamada, Natsuko Miura, Tomohiro Shigemori, Tohoru Katsuragi, Suganya Yongkiattakul, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Rapid preparation of frequently mutated-proteins of influenza viruses and construction of screening system to discover novel inhibitors, FEBS EMBO 2014, Paris, 2014.8.30

33. Jihye Chung, Natsuko Miura, Akio Ito, Munetaka Sawada, Shigemichi Nishikawa, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Single-cell analysis of heterogeneous cell population in suppression of PC12 neuronal differentiation by direct microinjection of a differentiation inhibitor, FEBS EMBO 2014 (ibid.), Paris, 2014.8.30
34. Hironobu Morisaka, Nao Kitahara, Mitsuyoshi Ueda, Mixed proteome analysis using a long monolithic column for elucidation of mechanisms of *Candida albicans* infection, FEBS EMBO 2014, Paris, 2014.8.30
35. Toshiyuki Shibata, Kohki Nagayama, Shingo Sugiura, Saki Makino, Mitsuyoshi Ueda, Yutaka Tamaru. Antioxidative properties of phlorotannins isolated from Japanese *Eisenia* and *Ecklonia* species. XXVIIth International Conference on Polyphenols & The 8th Tannin Conference Nagoya, Japan, 2014.9.2
36. LE HOA QUYNH, Yoshikawa Hiroyuki, Saito Masato, Tamiya Eiichi. Direct Alginate oxidation by Gold Nanoparticles on Functionalized Carbon Nanotubes, The 1st Gerischer-Kolb Symposium, International Bunsen Discussion Meeting, Harnack-Haus Ihnstraße, Berlin, Germany, 2014.10.14
37. VU THI HUONG, Hiroyuki Yoshikawa, Le Quynh Hoa, Hitoshi Toake, Eiichi Tamiya, Development of a novel direct fucose fuel cell based on titanium dioxide and gold nanoparticles decorated on f-MWCNTs, The Energy & Materials Research Conference, Madrid Spain, 2015.2.25
38. Toake Hitoshi, Vu Thi Huong, Hiroyuki Yoshikawa, Eiichi Tamiya, Development of alginate fuel cells using functional nanomaterials on anodes, The Energy & Materials Research Conference (ibid.), Madrid Spain, 2015.2.25
39. Kouichi Kuroda, Nao Nishida-Aoki, Hitoshi Mori, Mitsuyoshi Ueda, Mitochondria-mediated Signaling Pathway Involved in Stress Response to Organic Solvent in Yeast, ASM, New Orleans, 2015.5.30
40. Atsushi Satomura, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Stepwise breeding of *Saccharomyces cerevisiae* for identifications of genetic mutations involved with thermotolerance, ASM, New Orleans, 2015.5.30
41. Shunsuke Aburaya, Kohei Esaka, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Proteome analysis of *Clostridium cellulovorans* in response to components of biomass, ASM, New Orleans, 2015.5.30
42. Toshiyuki Takagi, Toshiyuki Shibata, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Molecular breeding of yeast co-displaying endo- and exo-type alginate lyases to completely utilize macroalgae, FEMS, Maastricht, 2015.6.7
43. Yohei Tatsukami, Mami Nambu, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Analysis of metabolic changes in *Mesorhizobium loti* during nodule maturation by quantitative proteomics, FEMS, Maastricht, 2015.6.7
44. Chiaki Nagaya, Gaku Ishikawa, Reiji Tanaka, Toshiyuki Shibata, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Yutaka Tamaru, Hideo Miyake, Identification of cellulosomal enzymes for constructing cellulosomes from *Clostridium cellulovorans*, FEMS, Maastricht, 2015.6.9
45. Aiko Hiramatsu, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Yutaka Tamaru, Hideo Miyake, Expression of the cellulosomal gene cluster of *Clostridium cellulovorans* in butanol producing *Clostridium beijerinckii*, FEMS, Maastricht, 2015.6.9
46. Hideo Miyake, Chiaki Nagaya, Gaku Ishikawa, Reiji Tanaka, Toshiyuki Shibata, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Yutaka Tamaru, Identification of cellulosomal enzymes for constructing cellulosomes from *Clostridium cellulovorans*, Gordon Research Conferences (GRC2015) Cellulosomes, Cellulases & Other Carbohydrate Modifying Enzymes, New Hampshire, USA, 2015.8.4
47. Jyon Shin, Akihito Ishitaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Development of in vivo methylation system for gene-modification of cellulolytic bacterium, *Clostridium*

- cellulovorans*, Pacifichem2015, Hawaii, 2015.12.19
48. Yusuke Sasaki, Toshiuiki Takagi, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Molecular breeding of yeast for assimilating xylan from marine biomass, Pacifichem2015, Hawaii, 2015.12.19
 49. Rio Ito, H. Haruka Hahashimoto, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Molecular breeding of yeasts for platinum reduction, Pacifichem2015, Hawaii, 2015.12.19
 50. Takako Inamori, Akihito Ishitaka, Shunsuke Aburaya, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Construction of “glucose formation platform” using cellulosome-producing bacterium *Clostridium cellulovorans*, Pacifichem2015, Hawaii, 2015.12.19
 51. Keisuke Motone, Toshiyuki Takagi, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Molecular breeding of yeasts for utilization of a marine polysaccharide laminarin, Pacifichem2015, Hawaii, 2015.12.19
 52. Shunsuke Aburaya, Jyon Shin, Kohei Esaka, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Intracellular and extracellular time-course proteome analyses of *Clostridium cellulovorans* grown on xylan, Pacifichem2015, Hawaii, 2015.12.19
 53. Ryouyuke Nishioka, Jun Yamada, Tomohiro Shigemori, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Construction of high-throughput inhibitor screening system for frequently mutated proteins of influenza virus, Pacifichem2015, Hawaii, 2015.12.19
 54. Toshiyuki Shibata, Kohki Nagayama, Tsuyoshi Saito, Reiji Tanaka, Hideo Miyake, Yutaka Tamaru, Shigeo Kawaguchi, Mitsuyoshi Ueda, Analysis of composition and antioxidative properties of phlorotannins isolated from Japanese *Eisenia* and *Ecklonia* species. 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2015), Hawaii, USA, 2015.12.19
 55. Hideo Miyake, Taku Ishikawa, Reiji Tanaka, Toshiyuki Shibata, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Yutaka Tamaru, 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2015), Hawaii, USA, 2015.12.19
 56. Masako Okada, Hideo Miyake, The development of transformation system for the mesophilic cellulosome-producing *Clostridium cellulovorans*. 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2015), Hawaii, USA, 2015.12.19
 57. Chiaki Nagaya, Gaku Ishikawa, Reiji Tanaka, Toshiyuki Shibata, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Yutaka Tamaru, Hideo Miyake, Identification of cellulosomal enzymes for the construction of cellulosomes from *Clostridium cellulovorans*. 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2015), Hawaii, USA, 2015.12.19
 58. Akiko Hiramatsu (Mie University), Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda (Kyoto University), Yutaka Tamaru, Hideo Miyake (Mie University). The creation of new cellulosome-producing strains for next generation biorefinery. International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2015), Hawaii, USA, 2015.12.19
 59. Vu Thi Huong, Hiroyuki Yoshikawa, Le Quynh Hoa, Hitoshi Toake, Eiichi Tamiya Development of fucose fuel cell for biorefinery of macroalgae Pacifichem2015 Hawaii 2015.12.19
 60. Mami Takahashi, Tetsushi Mori, Toshiyuki Shibata, Toshiyuki Takagi, Reiji Tanaka, Hideo Miyake, Kouichi Kuroda, Haruko Takeyama, Mitsuyoshi Ueda, Characterization of novel alginate lyases of *Falsirhodobacter* sp. alg1 isolated from brown algae Pacifichem2015 Hawaii 2015.12.19
 61. Atsushi Satomura, Natsuko Miura, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Molecular analysis of Adaptational Strategies under Heat Stress by Whole-Genome Sequencing of Laboratory-Evolved *Saccharomyces cerevisiae*, ASBMB, New Orleans 2016.4.2
 62. Wataru Aoki, Shun Komura, Eiichi Tamiya, Mitsuyoshi Ueda, Integrating reductive and synthetic approaches in biology using man-made cell-like compartments, ASBMB,

New Orleans 2016.4.2

63. Kouichi Kuroda, Tomohiro Shigemori, Mitsuyoshi Ueda, Integrated Yeast-mammalian Assay System for Screening of Novel Peptides Activating Glucagon-like Peptide-1 Receptor, ASBMB, New Orleans 2016.4.2
64. Kouichi Kuroda, Rio Ito, Haruka Hashimoto, Mitsuyoshi Ueda, Tailor-made Construction of Yeast Adsorbing Rare Earth Elements through Screening from Yeast Library Displaying Random Peptides, ASM, Boston 2016.6.16
65. Toshiyuki Takagi, Hironobu Morisaka, Shunsuke Aburaya, Yohei Tatsukami, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, Proposed alginate utilization process of macroalgae-assimilating *Saccharophagus degradans* 2-40 based on quantitative proteomic analysis, ECB2016, Krakow 2016.7.3
66. Yohei Tatsukami, Mitsuyoshi Ueda Validation of gibberellin synthetic pathway of rhizobia, ECB2016, Krakow 2016.7.3
67. Yusuke Sasaki, Toshiyuki Takagi, Keisuke Motone, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda Ethanol production from hemicellulose using xylose isomerase-displaying yeast, ECB2016, Krakow 2016.7.3
68. Yusuke Takamura, Atsushi Satomura, Wataru Aoki, Mitsuyoshi Ueda, Analysis of exosomal microRNAs derived from rheumatoid arthritis synovial fibroblasts, ECB2016, Krakow 2016.7.3
69. Meiko Ito, Mami Ishimaru, Toshiyuki Shibata, Hideo Hatate, Ryusuke Tanaka, Development of high-performance liquid chromatography with fluorescence detection for higher sensitivity analysis of phytosterol in marine algae, The 10th IMT-GT UNINET Conference 2016 (Bioscience: The Element of Life), Songkhla, Thailand 2016.12.1

国内会議:

1. Le Quynh Hoa, Vestergaard Mun'delanji C, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Eiichi Tamiya, "Functionalized carbon nanotubes matrices for enhanced ethanol oxidation reaction: Grafted or multilayered structure?", 第6回バイオ関連化学シンポジウム, 北海道大学, 2012.9.6
2. 田中 礼士, 知識 まり, 中野 みよ, 柴田 敏行, 三宅 英雄, 田丸 浩, 植田 充美, アルギン酸分解細菌 *Vibrio halotocoli* の菌体外産生物質網羅解析, 日本水産学会秋季大会, 水産大学校, 2012.9.16
3. 森弘拓人, Le Quynh Hoa, 吉川裕之, 民谷栄一, "金ナノ粒子-酸化チタン修飾電極を利用した光バイオ燃料電池の検討", 電気化学会第80回大会, 東北大学, 2013.3.29
4. 江坂 康平, 松井 一真, 森坂 裕信, 黒田 浩一, 三宅 英雄, 田丸 浩, 植田 充美, バイオマスに応じた *Clostridium cellulovorans* の構成酵素プロファイルの解析, 日本生物工学会, 広島国際会議場, 2013.9.18
5. 森坂 裕信, 植田 充美, モノリスカラムを用いたスーパー液体クロマトグラフィーによるトップダウンプロテオミクスへの展開, 日本生物工学会, 広島国際会議場, 2013.9.18
6. 横井 貴大, 高木 俊幸, 森坂 裕信, 黒田 浩一, 植田 充美, 大型藻類の有効利用に向けた *Saccharophagus degradans* 由来アルギン酸分解酵素提示酵母の育種 日本生物工学会, 広島国際会議場, 2013.9.18
7. 柴田 敏行, 松岡 いづみ, 田中 礼士, 三宅 英雄, 田丸 浩, モリ テツシ, 吉川 裕之, 川口 栄男, 黒田 浩一, 植田 充美, 褐藻バイオマスを構成する糖質の定量分析, 日本生物工学会, 広島国際会議場, 2013.9.18
8. 石川 岳, 中島 大地, 原 浩美, 柴田 敏行, 田中 礼士, 黒田 浩一, 植田 充美, 田丸 浩, 三宅 英雄, *Clostridium cellulovorans* が生産するセルロソーム形成マンナーゼの酵素学的諸性質と新規骨格タンパク質 CbpB との相互作用解析, 日本生物工学会, 広島国際会議場, 2013.9.19
9. 三宅 英雄, 高嶋 和也, 石川 卓, 柴田 敏行, 田中 礼士, 黒田 浩一, 植田 充美, 田丸 浩, *Clostridium cellulovorans* のセルロソームとノンセルロソーム遺伝子にフォーカスした RNA-seq トランスクリプトーム解析, 日本生物工学会, 広島国際会議場, 2013.9.19
10. モリテツシ, 高橋真美, 緑川直子, 柴田俊行, 黒田浩一, 植田充美, 竹山春子, アルギン酸分解細菌からのエキソ型アルギン酸リアーゼの探索, 日本生物工学会, 広島国際会議場, 2013.9.19

- 11.家島 俊平, 辻 清昭, 田中 礼士, 福崎 智司, ラムナン硫酸資化性細菌の分離と分解特性に関する研究, 日本水産学会秋季大会, 三重大学, 2013.9.21
- 12.鹿田創空, Nishihara G. N., 寺田竜太, 褐藻アントクメの垂直分布に見られる光や温度のストレス, 日本水産学会秋季大会, 三重大学, 2013.9.21
- 13.森弘拓人, Le Hoa Quynh, 吉川裕之, 民谷栄一、酸化チタン-金ナノ粒子-カーボンナノチューブ複合電極を用いたメタノールの電気化学酸化における光触媒効果, バイオ関連化学シンポジウム, 名古屋大学東山キャンパス, 2013.9.28
- 14.柴田 敏行, 藤井 陽平, 田中 礼士, 三宅 英雄, 田丸 浩, 川口 栄男, 植田 充美, H-ORAC法を用いた褐藻フロロタンニン類の抗酸化測定, 日本水産学会秋季大会, 三重大学, 2013.9.21
- 15.森弘拓人, Le Hoa Quynh, 吉川裕之, 民谷栄一、酸化チタン-金ナノ粒子-カーボンナノチューブ複合電極を用いたメタノールの電気化学酸化における光触媒効果, バイオ関連化学シンポジウム, 名古屋大学東山キャンパス, 2013.9.28
- 16.田中 礼士, 家島 俊平, 中野 みよ, 前田 広人, アワビ消化管からの *Arcobacter* 属細菌の検出および多様性解析, 日本微生物生態学会, 鹿児島大学, 2013.11.24
- 17.西田 奈央, 黒田 浩一, 植田 充美, 酵母の多剤耐性と有機溶媒耐性機構の共通性と違いについて, 日本分子生物学会, 神戸国際会議場, 2013.12.3
- 18.三宅 英雄, 高嶋 和也, 石川 卓, 柴田 敏行, 田中 礼士, 黒田 浩一, 植田 充美, 田丸 浩. *Clostridium cellulovorans* のセルロソームとノンセルロソーム遺伝子にフォーカスした RNA-seq トランスクリプトーム解析, 日本分子生物学会, 神戸国際会議場, 2013.12.3
- 19.富永 圭祐, 家島 俊平, 柴田 敏行, 三宅 英雄, 田丸 浩, 田中 礼士, 植田 充美, アワビ消化管内細菌を用いたアルギン酸からの酢酸生産, 日本水産学会春季大会, 北海道大学, 2014.3.28
- 20.幡中 友一, 家島 俊平, 柴田 敏行, 三宅 英雄, 田丸 浩, 田中 礼士, 植田 充美, 海藻摂餌性甲殻類(コブムシ)消化管内細菌相の解析, 日本水産学会春季大会, 北海道大学, 2014.3.28
- 21.森弘拓人, Le Hoa Quynh, 吉川裕之, 民谷栄一、光触媒効果を有する酸化チタン-金ナノ粒子-カーボンナノチューブ複合電極の開発とバイオマス燃料電池への応用, 電気化学会, 関西大学千里山キャンパス, 2014.3.29
22. 牧野沙紀, 杉浦真悟, 宮崎泰幸, 田丸浩, 柴田敏行, 褐藻フェノール性化合物が藻食性巻貝類の摂餌行動に及ぼす影響, 第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会, 三重大学, 2014.5.31
23. 南部真実, 立上陽平, 森坂裕信, 黒田浩一, 植田充美, 共生過程におけるミヤコグサ根粒菌 *Mesorhizobium loti* の時系列定量プロテオーム解析, 第 66 回日本生物工学会大会, 札幌コンベンションセンター, 2014.9.9
24. 油屋駿介, 江坂康平, 森坂裕信, 黒田浩一, 植田充美, *Clostridium cellulovorans* の基質に応じた代謝機構の解析, 第 66 回日本生物工学会大会, 札幌コンベンションセンター, 2014.9.9
25. 武田裕美子, 北原奈緒, 森坂裕信, 芝崎誠司, 岩崎剛, 佐野統, 植田充美, スーパープロテオーム解析による関節リウマチ発症機構の検討, 第 66 回日本生物工学会大会, 札幌コンベンションセンター, 2014.9.9
26. 高木俊幸, 柴田敏行, 森坂裕信, 黒田浩一, 植田充美, 大型藻類を完全利用するためのエンド・エキソ型アルギン酸リアーゼ共提示酵母の育種, 第 66 回日本生物工学会大会, 札幌コンベンションセンター, 2014.9.9
27. 柴田敏行, 田中礼士, 三宅英雄, 田丸浩, モリテツシ, 吉川裕之, 川口栄男, 黒田浩一, 植田充美, アラメ属褐藻類を構成する糖質の定量分析, 第 66 回日本生物工学会大会, 札幌コンベンションセンター, 2014.9.10
28. 高嶋和也, 石川卓, 田中礼士, 柴田敏行, 黒田浩一, 植田充美, 田丸浩, 三宅英雄, *Clostridium cellulovorans* におけるセルロソームとノンセルロソーム関連遺伝子の発現調節機構, 第 6 回日本生物工学会大会, 札幌コンベンションセンター, 2014.9.11
29. 石川卓, 高嶋和也, 岡田昌子, 田中礼士, 柴田敏行, 黒田浩一, 植田充美, 田丸浩, 三宅 英雄, RNA-Seq を用いた *Clostridium cellulovorans* のゲノムワイドな動的転写プロファイリング, 第 66 回日本生物工学会大会, 札幌コンベンションセンター, 2014.9.11
30. 石川岳, 長屋千晶, 江坂康平, 田中礼士, 柴田敏行, 黒田浩一, 植田充美, 田丸浩, 三宅英雄,

- Clostridium cellulovorans*が生産するセルロソーム形成酵素とセルロソーム骨格タンパク質との相互作用に関する研究,第66回日本生物工学会大会,札幌コンベンションセンター,2014.9.11
31. 平松愛子,黒田浩一,植田充美,田丸浩,三宅英雄,ブタノール生産菌 *Clostridium beijerinckii*を用いた *Clostridium cellulovorans* のセルロソーム遺伝子クラスターの発現,第66回日本生物工学会大会,札幌コンベンションセンター,2014.9.11
32. 長屋千晶,石川岳,田中礼士,柴田敏行,黒田浩一,植田充美,田丸浩,三宅英雄,*Clostridium cellulovorans* のコヘシンドックリン相互作用解析,第66回日本生物工学会大会,札幌コンベンションセンター,2014.9.11
33. 十朱仁, Vu Thi Huong, 吉川裕之, 民谷栄一,酸化チタン-金ナノ粒子-カーボンナノチューブ複合電極を用いた藻類バイオマス燃料電池,第8回バイオ関連化学シンポジウム,岡山大学津島キャンパス,2014.9.15
34. 牧野沙紀,宮崎泰幸,杉浦真悟,田中礼士,三宅英雄,田丸浩,川口栄男,柴田敏行,褐藻フェノール性化合物が藻食性巻貝類の摂餌行動に及ぼす影響,2014年度日本水産学会秋季大会,九州大学,2014.9.20
35. 十朱仁, Vu Thi, Huong, 吉川裕之, 民谷栄一,スパッタ・アニール法による金ナノ粒子修飾電極の作製とアルギン酸燃料電池への応用,電気化学会第82回大会,横浜国立大学,2015.3.15
36. A. Borlongan, G. S. Gerung, S. Kawaguchi, G. N. Nishihara, R. Terada Thermal and PAR effects on the photosynthesis of *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus striatus* (Sacol strain) cultivated in shallow bottom of Bali, Indonesia. 日本藻類学会日本歯科大学 2015.3.20
37. 牧野 沙紀, Duy Vo Triet, 寺田 竜太, 川口 栄男, 田中 礼士, 三宅 英雄, 田丸 浩, 植田 充美, 柴田 敏行, ベトナム産ホンダワラ科褐藻類の成分分析マリンバイオテクノロジー学会大会東京海洋大学 品川キャンパス 2015.5.30
38. 里村 淳,黒田 浩一,植田 充美,NGSによる熱耐性酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の育種と解析 NGS,つくば市 2015.7.1
39. 高木俊幸, 森坂裕信, 油屋駿介, 立上陽平, 黒田浩一, 植田充美,*Saccharophagus degradans* のアルギン酸資化メカニズムの解析、生工会若手会、名古屋市 2015.7.11
40. 油屋駿介、江坂康平、森坂裕信、黒田浩一、植田充美、*Clostridium cellulovorans* の基質認識機構の解明、生工会若手会、名古屋市 2015.7.11
41. 十朱 仁,Vu Thi, Huong,吉川 裕之,民谷 栄一、光触媒燃料極を有するアルギン酸燃料電池の開発と特製評価,バイオ関連化学シンポジウム,熊本大学黒髪南地区キャンパス, 2015.9.10
42. モリテツシ、*Rhodobacteraceae* 科に属する *Falsirhodobacter* sp. alg1.の新規アルギン酸リアーゼ AlyFRB の特性評価,日本生物工学会大会,鹿児島 2015.10.26
43. 牧野 沙紀, Duy Vo Triet, 寺田 竜太, 川口 栄男, 田中 礼士, 三宅 英雄, 田丸 浩, モリ テツシ, 吉川 裕之, 黒田 浩一, 植田 充美, 柴田 敏行, バイオリファイナリーに向けたベトナム産ホンダワラ類の成分分析,日本生物工学会大会,鹿児島 2015.10.27
44. 平松 愛子、黒田 浩一、植田 充美、田丸 浩、三宅 英雄、ブタノール生産菌 *Clostridium beijerinckii*を用いた *Clostridium cellulovorans* 由来ミニセルロソーム発現—骨格タンパク質とセルロソーム形成酵素の影響—日本生物工学会大会,鹿児島 2015.10.28
45. 長屋 千晶, 石川 岳、田中 礼士, 柴田 敏行, 黒田 浩一, 植田 充美, 田丸 浩, 三宅 英雄,*Clostridium cellulovorans* のセルロソーム構築に関する研究,日本生物工学会大会,鹿児島 2015.10.28
46. 杉浦 真悟, 長山 公紀, 田中 礼士, 三宅 英雄, 田丸 浩, 川口 栄男, 黒田 浩一, 植田 充美, 柴田 敏行, アラメ属・カジメ属褐藻類に含まれるフロロタンニン類の組成と抗酸化性の解析,日本生物工学会大会,鹿児島 2015.10.29
47. Tetsushi Mori, Mami Takahashi, Toshiyuki Shibata, Toshiyuki Takagi, Reiji Tanaka, Hideo Miyake, Kouichi Kuroda, Haruko Takeyama, Rhodobacteraceae 科に属する *Falsirhodobacter* sp. alg1 の新規アルギン酸リアーゼ AlyFRB の特性評価, 日本生物工学会大会, 鹿児島 2015.10.26
48. 元根啓佑、高木俊幸、佐々木勇輔、黒田浩一、植田充美、大型藻類有効利用に向けたラミナリン発酵酵母の分子育種,生物工学会,鹿児島 2015.10.26

49. 伊藤理央、橋本遙、黒田浩一、植田充美、ランダムペプチドライブラリー提示酵母を基にしたレアアース選択吸着回収酵母のスクリーニング法, 生物工学会, 鹿児島 2015.10.26
50. 岡田 昌子、三宅 英雄, *Clostridium cellulovorans* の形質転換方法の開発. 日本生物工学会、鹿児島、2015.10.28
51. 油屋駿介、Shin Jungwon, 青木航、黒田浩一、植田充美細胞内・分泌系の同時経時的プロテオーム解析による *Clostridium cellulovorans* のバイオマス分解に関する考察, 分子生物学会, 神戸市ポートアイランド 2015.12.4
52. Iris Ann Borlongan (Kagoshima University), Grevo S. Gerung, Shigeo Kawaguchi, Gregory N. Nishihara, Ryuta Terada, Thermal and PAR effects on the photosynthesis of *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus striatus* (Sacol strain) cultivated in shallow bottom of Bali, Indonesia, 日本藻類学会、日本歯科大学、2016.3.20
53. MAZUMDER, Joyotu; TOAKE, Hitoshi; YOSHIKAWA, Hiroyuki; TAMIYA, Eiichi Investigation of operation characteristics and electrode reaction mechanisms of direct alginate fuel cells that utilize photocatalytic anodes, 日本化学会同志社大学, 京田辺キャンパス 2016.3.26
54. 里村 淳、三浦 夏子、黒田浩一、植田 充美全ゲノム解析による実験室進化 *Saccharomyces cerevisiae* の熱適応戦略の分子解析, 日本農芸化学会, 札幌 2016.3.28
55. 三上 洋祐、米田 久成、立上 陽平、青木 航、植田 充美、代謝工学を用いた大腸菌によるアンモニア生産, 日本農芸化学会, 札幌 2016.3.28
56. MAZUMDER JOYOTU、吉川 裕之、民谷 栄一、光触媒燃料極を有するアルギン酸燃料電池の動作特性と電極反応機構の検討、応用物理学会関西支部 平成 28 年度第 1 回講演会、大阪府池田市、2016.6.17
57. 油屋駿介、青木航、植田充美、実験計画法を用いた LC-MS/MS のプロテオミクスでの最適化を目指した研究, BMS コンファレンス, 熱海 2016.7.4
58. 里村 淳、黒田 浩一、植田 充美、実験室進化 *Saccharomyces cerevisiae* の全ゲノム解析による熱適応戦略の分子解析, 生工会若手会, 府中 2016.7.16
59. 元根 啓佑、高木 俊幸、佐々木 勇輔、黒田 浩一、植田 充美、酵母共培養系を用いた海洋多糖ラミナランのエタノール発酵, 生工会若手会, 府中 2016.7.16
60. 油屋駿介、青木航、黒田浩一、植田充美、Xylan 培養時における *Clostridium cellulovorans* の細胞内・分泌系の同時経時的プロテオミクス, 生工会若手会, 府中 2016.7.16
61. 立上 陽平、植田 充美、根粒菌の生産するジベレリンが根粒数を制御する, 生工会若手会, 府中 2016.7.16
62. MAZUMDER JOYOTU、吉川 裕之、民谷 栄一、酸化チタン電極によるアルギン酸の光触媒・電気化学反応、第 10 回バイオ関連化学シンポジウム、石川県金沢市、2016.9.8
63. 藤井 玲央奈、三宅 英雄、モリ テツシ、田中 礼士、高木 俊幸、吉川 裕之、黒田 浩一、植田 充美、柴田 敏行. LC-MS ならびに HPLC-ELSD を用いたアルギン酸不飽和オリゴ糖と DEH の検出. 日本生物工学会、富山国際会議場、2016.9.28
64. 村瀬 祥光、柴田 敏行、モリ テツシ、田中 礼士、植田 充美、三宅 英雄. *Falsirhodobacter* sp. alg1 由来のアルギン酸リアーゼを用いたアルギン酸単糖の調製. 日本生物工学会、富山国際会議場、2016.9.30

(4)知財出願

①国内出願

1. 発明の名称:ラムナン硫酸資化性細菌の分離方法, 発明者:田中 礼士, 出願人:三重大学, 出願日:2013.9.19, 出願番号:特願 2013-194013
2. 発明の名称:アルコールの製造法, 発明者:三宅 英雄, 田丸 浩, 出願人:三重大学, 出願日:2014.3.28, 出願番号:特願 2014-68757

(5)受賞・報道等

①受賞

1. 日本農芸化学会学会賞(旧鈴木梅太郎記念賞)、植田充美、平成27年3月26日
2. 三重大学大学院生物資源学研究所 ifia JAPAN HFE JAPAN 2015 審査員特別賞 ifia JAPAN HFE JAPAN 事務局東京 2015/5/21

②マスコミ(新聞・TV等)

1. 日経産業新聞(大阪大グループ)、「海藻成分で発電 素子開発、食料と競合せず」、2014.3.7
2. 日本経済新聞(京大グループ)藻類の大部分を燃料に 2015/10/19
3. 毎日新聞(三重版)海藻分解の新種細菌発見 三重大 バイオマス活用に期待 2015/11/3
4. NHK(中部)三重大 海藻分解する細菌発見 2015/11/25

③その他

1. 大阪大学チーム

掲載雑誌の表紙に採用

Le Quynh Hoa, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Mitsuyoshi Ueda, Toshiyuki Shibata, and Eiichi Tamiya, "Direct Energy Extraction from Brown Macroalgae-Derived Alginate by Gold Nanoparticles on Functionalized Carbon Nanotubes", ChemCatChem, vol. 6, pp.135-141, 2013 (DOI: 10.1002/cctc.201300531)

(6)成果展開事例

① 実用化に向けての展開

・2016年9月8日に三重大学海藻バイオリファイナリー研究センターを設立した(三重大学グループ)。

② 社会還元的な展開活動

1. ifiaJAPAN2014(第19回国際食品素材/添加物展・会議, 東京ビッグサイト, 2014.5.21~23)にて、「マリンポリフェノール〜フロロタンニン類の構造と生理機能〜」の題目でポスターを出展した(三重大学グループ 柴田敏行)。
2. 国際的なハンドブック、「Springer Handbook of Marine Biotechnology」に記載されている(三重大学グループ 柴田敏行)。
3. 褐藻類の増養殖ならびにフロロタンニン類の生理機能と利用について、以下の展示会にてポスター発表を行った(三重大学グループ)ー
 - ・ 展示会名称: ifiaJAPAN HFE JAPAN 2014、場所: 東京ビッグサイト、開催日: 2014年5月21日〜23日、開催期間中の来場者数: 32,961人
ータイトル: マリンポリフェノール〜フロロタンニン類の構造と生理機能(柴田 敏行)
 - ・ 展示会名称: ifiaJAPAN HFE JAPAN 2015、場所: 東京ビッグサイト、開催日: 2015年5月20日〜22日、開催期間中の来場者数: 31,280人
ータイトル: 海藻の活用を目指したマリンバイオ研究(柴田 敏行)
ー特記事項: ifia JAPAN HFE JAPAN 2015 審査員特別賞を受賞した。
 - ・ 展示会名称: アグリビジネス創出フェア 2015、場所: 東京ビッグサイト、開催日: 2015年11月18日〜20日、開催期間中の来場者数: 34,860人
ータイトル: 海藻の活用を目指したマリンバイオ研究(柴田 敏行)
 - ・ 展示会名称: スマートコミュニティ Japan 2016・バイオマスエキスポ、場所: 東京ビッグサイト、開催日: 2016年6月15日〜17日、開催期間中の来場者数: 40,606人
ータイトル: 海藻バイオマスの完全利用を目指した基盤研究(柴田 敏行、田中 礼士、三宅 英雄)

§ 5 研究期間中の活動

5. 1 主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2013. 10. 27	生物資源学研究科公開講座	三重大学	50 人	公開講座「自然界からの贈り物～生き物がつくる成分がヒトの生活を豊かにする～」にて、「大型藻類がつくる機能性成分の解析とその活用(演者:柴田敏行)」の演題で講演を行った。
2014.6.1	第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会シンポジウム	三重大学 生物資源学部	210 人	シンポジウム「藻類の機能性とバイオリファイナリーへの展開」(企画責任者:柴田 敏行, 田丸 浩)を企画・開催した。「マリンポリフェノール:フロロタンニン類の構造と生理機能」(演者:柴田 敏行)、「海藻細菌による海藻多糖分解の戦略」(演者:田中 礼士)の演題で講演を行った。
2015. 3. 21	日本藻類学会第 39 回福岡大会・公開特別講演会(公開)	九州大学・箱崎キャンパス(文系地区)	250 人	公開特別講演会「大型藻類の未来ポテンシャルを求めて」(企画責任者:川口栄男、柴田敏行)
2015. 3. 22	日本藻類学会第 39 回福岡大会・ミニシンポジウム(公開)	九州大学・箱崎キャンパス(文系地区)	220 人	ミニシンポジウム「大型藻類バイオリファイナリー研究の最新の進捗と将来展望」(企画責任者:柴田 敏行、川口 栄男)
2015/8/28	三重大学大学院生物資源学研究科オープンラボ「産学官コミュニティシンポジウム 2015」(公開)	三重大学 生物資源学部	80 人	「海藻の活用を目指したマリンバイオ研究」の演題でポスター発表を行った(柴田 敏行)
2016/8/26	SUZUKA 産学官交流会 農水森林交流サロン(公開)	バーベキュー 鈴鹿峠	25 人	「海藻バイオマスの利用」の演題で講演を行った(田中礼士)
2016/9/16	SUZUKA 産学官交流会 第 42 回産学官交流フォーラム(公開)	鈴鹿医療科学大学白子キャンパス	100 人	「海藻と健康維持～伊勢志摩特産「あらめ」食のススメ～」の演題で講演を行った(柴田敏行)