

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月19日現在

機関番号：51201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20580107

研究課題名（和文） セルラーゼの縮合反応における進化分子工学と構造活性相関

研究課題名（英文） Evolutionary molecular engineering and structure-activity relationship in cellulase condensation reaction.

研究代表者

戸谷 一英（TOTANI KAZUHIDE）

一関工業高等専門学校・物質化学工学科・教授

研究者番号：40369913

研究成果の概要（和文）：これまでセロビオースを加水分解しないとされてきた糸状菌 *Trichoderma reesei* の EG I（エンド型セルラーゼの一種）が高濃度セロビオース（例えば 1 M）から顕著にグルコースを生成し、その生成速度は BGL I（β-グルコシダーゼの一種）のセロビオース加水分解速度の 2 分の 1 に匹敵することを見いだした。一方、菌体外に分泌され、その役割が不明な BGL I はセロビオースから転移生成物と思われる 3 糖を合成するが、グルコースからの縮合生成物は観察されないこと、などを明らかにし、既にグルコースからセルラーゼ誘導剤であるソホロースを縮合することが報告されている BGL II とは異なる性質が推測された。

研究成果の概要（英文）：Endoglucanase I (EG I) from filamentous fungus *Trichoderma reesei* has not been considered to hydrolyze the “cellobiose”. On the other hand, the physiological role of a secreted β-glucosidase I (BGL I) is not clear, which can hydrolyze cellobiose outside fungus body. *T. reesei* derived EG I, of which catalytic domain was used, generated glucose (product) from cellobiose (substrate) in a substrate concentration-dependent manner, and glucose production ratio reached to more than half of BGL I under the high substrate concentration such as 1 M. When *T. reesei* derived BGL I reacted with a high concentration of cellobiose, a remarkable synthesis of trisaccharide considered as transglycosylational product was observed. In the case that BGL I reacts with high concentrations of glucose, no condensational product was observed. The physiological role of BGL I is considered to be different to BGL II in the fungus body, which has been reported to generate the strongest cellulase inducer sophorose by the *in vitro* condensation of high concentration of glucose.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	3,100,000	930,000	4,030,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度			
年度			
総計	4,100,000	1,230,000	5,330,000

研究分野：糖鎖工学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用生物化学

キーワード：酵素利用学、糖鎖工学

1. 研究開始当初の背景

セルラーゼは、非結晶セルロースの鎖の内部をランダムに切断するエンドグルカナラーゼ (EG) と、セルロースの末端から2糖単位で分解していくセロビオヒドロラーゼ (CBH)、さらに EG と CBH により生じたセロビオースやセロオリゴ糖の非還元末端からグルコースを遊離する β -グルコシダーゼ (BGL) に大別される。糸状菌 *Trichoderma reesei* は 10 種類以上のセルラーゼを発現しており、セルロース分解において、これらのセルラーゼが協奏的に作用していると推定される (表 1)。

表 1 *Trichoderma reesei* が発現するセルラーゼ

Enzyme	GH Family*	アミノ酸残基数	Mr(K)	pI	転写レベル [%]
CBH I (Cel7A)	7	496	59-58	3.5-4.2	100
CBH II (Cel6A)	6	447	50-58	5.1-6.8	60
EG I (Cel7B)	7	437	50-55	4-6	20
EG II (Cel5A)	5	397	48	5.5	2
EG III (Cel12A)	12	218	25	7.4	1
EG IV (Cel61A)	61	326	(37)**	-	N.D.
EG V (Cel45A)	45	225	(23)**	2.8-3.0	1
EG VI (Cel74A)	74	85	95-105	5.6-6.8	N.D.
EG VII (Cel61A)	61	25	N.D.	-	-
EG VIII (Cel5B)	5	45	N.D.	-	-
BGL I (Cel3A)	3		71-76		2
BGL II (Cel1A)	1		98		4
Cel3C	3				

*Glycoside hydrolase family **アミノ酸配列より計算

これまでに申請者らはラクトースや *N*-アセチルラクトサミン (LacNAc) 二糖を、OH 基を有するアグリコンへ縮合させる活性の本体を Glycosyl Hydrolase Family 7 に属する EG I と同定した。また、同じ Family 7 の CBH I にもラクトース縮合活性を見いだした。弘前大学の吉田らは、やはり Family 7 の *Aspergillus oryzae* の Cel B に二糖縮合活性が存在することを明らかにした。このような経緯で Family 7 セルラーゼの縮合反応における構造活性相関に興味を持たれた。

その頃、本課題の連携研究者である長岡技術科学大学の岡田らは、*T. reesei* EG I 触媒ドメイン (EG I CD, CD: catalytic domain) の大腸菌発現に成功した。当初本研究は、この大腸菌株をプラットフォームにした進化分子工学的的手法 (error-prone PCR 法) により、比活性の高い EG I CD 組換え体大腸菌変異株を獲得して酵素の構造活性相関を明らかにすることを目的としていたが、親菌株より比活性の高い変異株が得られなかった。その中で EG I が従来有しないとされてきたセロビオース分解活性を見いだしたことから、*T. reesei* 由来の EG I や BGL I 等について、セロビオースやセロオリゴ糖、*p*NP 配糖体に対する反応特性を糖鎖工学的な観点から比較することで、EG I の新たな展開を探ることとした。

これまで、*T. reesei* の EG I や CBH はセロビオース (Glc β 1 \rightarrow 4Glc、図 1A) で生成物阻害を受けることが報告されているが、セロビオースの加水分解速度は3糖以上のセロ

オリゴ糖に対する加水分解速度に比べて極めて遅い (セロトリオースの 1/1,000、セロテトラオースの 1/100,000 程度) ことから、EG I は「セロビオースを分解する」とは考えられて来なかった。しかしながら長岡技術科学大学の岡田らは EG I ノックアウト *T. reesei* の培養上清による木質バイオマスの糖化反応においてセロビオースの蓄積とグルコースの減少を観察しており、その理由は長い間不明であった。

また、セロビオースを分解する役割を担う BGL については、菌体内に局在するとされる BGL II が *in vitro* におけるグルコースの縮合やセロビオースを基質とする糖転移反応により *T. reesei* の強力なセルラーゼ誘導物質であるソホロース (Glc β 1 \rightarrow 2Glc、図 1B) を合成することが知られている。しかしながら、菌体外に分泌される BGL I の役割は未だ不明である。

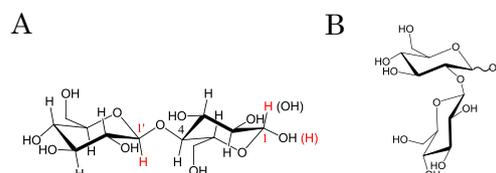


図 1 セロビオース(A)とソホロース(B)の構造

2. 研究の目的

具体的には、大腸菌で発現した *T. reesei* 由来の EG I CD や BGL I を中心に *T. reesei* の各種セルラーゼや、それらの触媒ドメインを用いて、人工基質に対する基質特異性と、セロビオース等に対する加水分解、糖転移、縮合反応を検証し、セロビオース分解における EG I と BGL I の反応特性を比較する。即ち、EG I や BGL I の基質特異性を糖鎖工学的に比較することにより、木質バイオマス糖化における EG I の新たな役割や、BGL I の特性を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 酵素

異種発現組み換え酵素 EG I と CBH I (*T. reesei* QM9414 株由来の EG I を *A. oryzae* で発現し Q-Sepharose FF にて精製したもの) を使用した (岡田らによる)。粗酵素は合同酒精(株)製 GODO TCD-H3 を用いた。

(2) *egl1-cd*、*egl2-cd* および *egl3* 組み換え体プラスミドの構築と *E. coli* での発現と精製

EG I CD (触媒ドメイン)、EG II CD、EG III の各遺伝子を発現ベクター pET22b (+) あるいは、pET15bs のマルチクローニングサイト (MCS) に組み込み pET $egl1cd$ 、pET $egl2cd$ 、pET $egl3$ を作成した。宿主として *E. coli* Rosetta-gami B (DE3) pLacI

(Novagen) を使用し、形質転換体を調製した (岡田ら)。例として、EG I CD の組み換え体プラスミドの調製法を示す (図 2)。

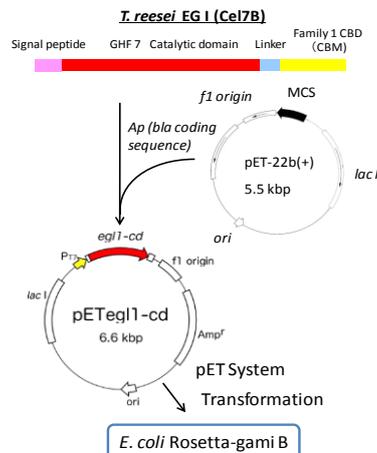


図 2 EG I CD の組み換え体プラスミドの調製

(3) 組み換え酵素の発現と精製

各形質転換体を LB 培地で前培養し、1000 ml の 2×YT 培地に植菌し、OD₆₀₀ 値が 0.6 になるまで培養後、終濃度 1 mM になるようにイソプロピル-β-チオガラクトピラノシド (IPTG) を添加し、さらに培養を行った。培養液を遠心分離して集菌し、生理食塩水で菌体を洗浄後、菌体を BugBuster™ Protein Extraction Reagent (Novagen) を用いて溶菌させた。BugBuster 処理した菌体溶解液に 100 mM 酢酸緩衝液 (pH 4.0) を添加し *E. coli* タンパク質を酸性沈殿させた。遠心上清を限外ろ過により濃縮し、50 mM 酢酸緩衝液 (pH 5.5) に置換し、精製標品とした。精製した EG I CD、EG II CD、EG III、BGL I のタンパク質を SDS-PAGE により分析した。

(4) 精製酵素の基質特異性

2 mM *p*-nitrophenyl (*p*NP) 配糖体を基質とし精製酵素を反応させた。1.0 M 炭酸ナトリウム水溶液を等量加えて、反応停止後、直ちに遊離した *p*NP をマイクロプレートリーダーにて 405 nm で測定した。酵素活性の 1 U は 1 分間に *p*NP 配糖体から 1 μmol の *p*NP を生じる酵素量と定義した。

(5) セロビオース、セロオリゴ糖の分解反応と生成物の分析

セロビオース (0.5~25 wt%) および各糖セロオリゴ糖 (2糖~6糖: 0.5 wt%) を基質とし、50 mM 酢酸緩衝液 (pH 5.5) 中で反応温度 40 °C で酵素反応を行った。生成物は経時的に HPLC-ELSD (蒸発光散乱検出器) で分析し、生成物濃度や反応速度を算出した。カラムは Develosil (NOMURA CHEMICAL 製、4.6 × 250 mm)、分析温度は 40 °C、流速は 1 ml/min、溶媒は 75 %アセトニトリル

を使用した。

(6) 各種 2 糖に対する酵素反応速度

セロビオース (125~1000 mM) とソホロース (7~29 mM) とラミナリビオース (7~29 mM) ゲンチオビオース (36~292 mM) を基質に(5)と同様に反応を行い、グルコースキットにより生成したグルコースを測定した。Km、Vmax は Lineweaver-Burk プロットにより算出した。

4. 研究成果

(1) *E. coli* からの組み換え酵素の精製

菌体を可溶化し不純物を酸沈殿させた後、上清を限外ろ過で濃縮することにより、目的とする精製酵素を得た。EG I CD、EG II CD、EG III および BGL I の分子量は、それぞれ 40、35、23、72 kDa であり、推定分子量と一致し、酸沈殿前のものと比べ均一に精製された (図 3)。

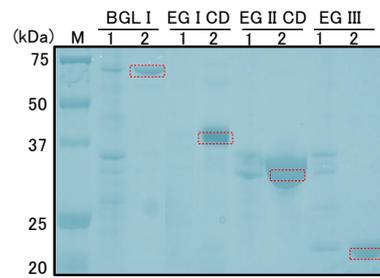


図 3 各形質転換体の SDS-PAGE

M: 分子量マーカー, 1: 酸沈殿前, 2: 酸沈殿後

(2) 精製酵素の基質特異性

EG I CD は *p*NP 2 糖配糖体から、*N*-acetyllactosamine (LacNAc) > Lactose (Lac) > Cellobiose 単位の順に 2 糖を遊離した。Glcβ-*p*NP の加水分解は認められなかった (図 4)。EG II CD と EG III はいずれも *p*NP 配糖体を分解しなかった。BGL I は Glcβ-*p*NP と Cellobioseβ-*p*NP に対し高い分解活性を示した。

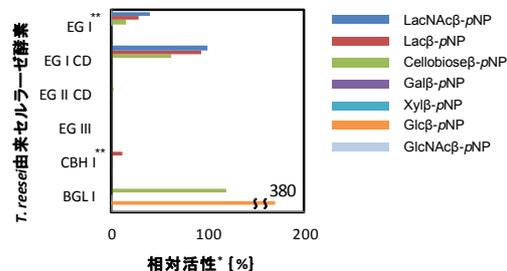


図 4 各酵素の基質特異性

*LacNAcβ-*p*NP の分解活性 (*p*NP 遊離活性) を 100 % とした. **異宿主発現酵素. LacNAc, *N*-acetyllactosamine; Lac, lactose; Gal, galactose; Xyl, xylose; GlcNAc, *N*-acetylglucosamine

(3) EG I CD によるセロビオースの加水分解
 セロビオース 0.5 wt% ではグルコースが生成し加水分解反応のみ観察されたが、25 wt% は加水分解反応が著しく進行すると同時に 3 糖が生成する糖転移反応が観察された (図 5)。高基質濃度下では EG I CD のセロビオース分解速度は BGL I の数分の 1 に達した。これは、岡田らが観察した「EG I ノックアウト *T. reesei* でセロビオースが蓄積されグルコース生成量が低い」という現象に符号する。*T. reesei* においては BGL の発現量は EG I に比べ極端に低く、このため *T. reesei* は BGL 活性が弱い。その代わりに、高濃度の木質バイオマス分解においては、EG I がセロビオース分解に一役買っているかもしれない。

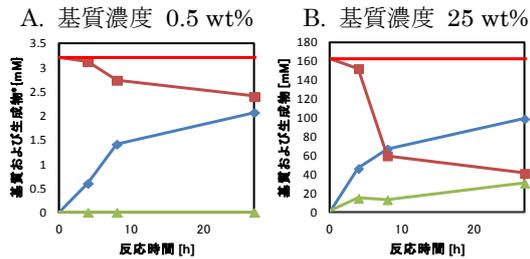


図 5 EG I CD による 2 糖加水分解の基質濃度比較
 A: 基質濃度 0.5 wt%, B: 基質濃度 25 wt%, 酵素濃度: A, B 0.45 mg/ml, ◆: グルコース, ■: セロビオース, ▲: セロトリオース, —: 理論基質濃度 (最大飽和濃度). 検出: HPLC. * 縦軸はタンパク質 1 mg 当たりの濃度

(4) BGL I によるセロビオースの加水分解

BGL I は顕著にセロビオースを加水分解するが、高基質濃度においては EG I CD ほど加水分解反応の充進はなかった。BGL I はセロビオースを基質として反応初期数時間以内に「顕著な 3 糖合成」が起こり高い糖転移が認められた (図 6B)。

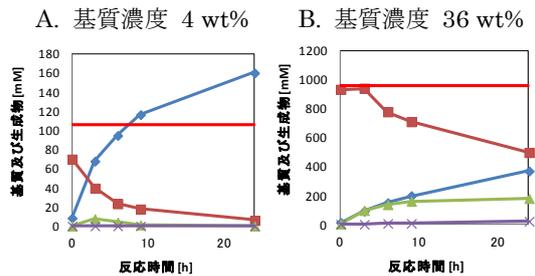


図 6 BGL I による 2 糖加水分解の基質濃度比較
 A: 基質濃度 4 wt%, B: 基質濃度 36 wt%, 酵素濃度: A, B 0.11 mg/ml, ◆: グルコース, ■: セロビオース, ▲: セロトリオース, ×: セロテトラオース, —: 理論基質濃度 (最大飽和濃度). 検出: HPLC. * 縦軸はタンパク質 1 mg 当たりの濃度

(5) セロビオースを基質とした EG I CD と BGL I の生成物生成速度の比較
 低基質濃度 (図 7A)、高基質濃度 (図 7B)

とも BGL I のグルコース生成速度が最も大きい、EG I CD は低基質濃度と比べ、高基質濃度で約 150 倍グルコース生成速度が上昇した。これにより EG I CD によるグルコースの生成速度が BGL I の数分の 1 に達した (図 7B)。

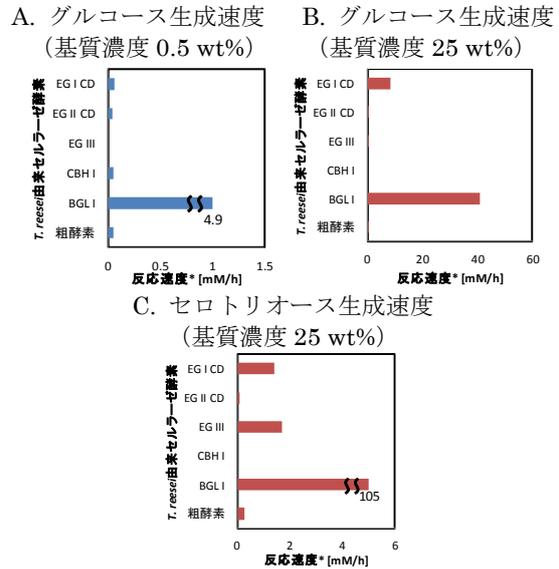


図 7 BGL I による 2 糖加水分解の基質濃度比較
 A: 基質濃度 4 wt%, B: 基質濃度 36 wt%, 酵素濃度: A, B 0.11 mg/ml, ◆: グルコース, ■: セロビオース, ▲: セロトリオース, ×: セロテトラオース, —: 理論基質濃度 (最大飽和濃度). 検出: HPLC. * 縦軸はタンパク質 1 mg 当たりの濃度

(6) BGL I の糖転移と縮合反応

また、BGL I を高濃度のセロビオースと反応させた場合、糖転移生成物と考えられる顕著な 3 糖の合成が観察された (図 6B、図 7C)。セロトリオース生成速度は BGL I >> EG III、EG I CD であった。BGL I の高い糖転移能と生理的な役割との関係は興味深い。これに対し、BGL I を高濃度のグルコースと反応させた場合、縮合生成物は観察されなかった。菌体内に存在するとされる BGL II は、*in vitro* で高濃度のグルコースの縮合や糖転移によりセロビオースや最強のセルラーゼ誘導剤であるソホロースなどの 2 糖を生成することが報告されており、BGL I と BGL II の生理的役割は大きく異なることが示唆された。

(7) 各酵素のセロオリゴ糖分解速度の比較

EG I CD、EG II CD、EG III の低基質濃度でのセロビオース分解速度は、3 糖以上のオリゴ糖分解速度に比べ無視できるほど小さく (1/1,000 以下)、鎖長依存的に分解速度が増す傾向があった (図 8)。一方、BGL I はセロビオースをよく分解するが、分解速度は 3 糖が最大であり、EG とは逆の傾向を示した。高基質濃度でのセロビオース分解速度は EG I CD を除いて加速しなかった (図 7)。

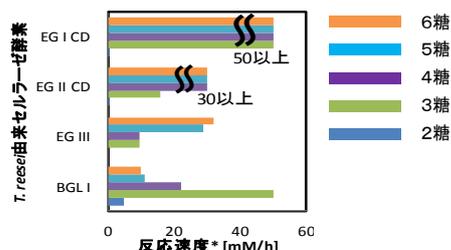


図8 各酵素のセロオリゴ糖分解速度の比較
各オリゴ糖の基質濃度：0.5 wt%。検出：HPLC。
*横軸はタンパク質 1 mg 当たりの反応速度

(8) EG I CD と BGL I の 2 糖分解の相対活性
グルコースキットを使用して各種 2 糖に
対する EG I CD と BGL I の酵素 1 mg 対
する活性 (比活性) を相対値で比較した (表
2)。EG I CD はセロビオース (β1→4 グルコ
シド結合) に対する特異性が高く、その他の
結合様式を有する 2 糖異性体は全く分解し
なかった。一方、BGL I の基質特異性は低く
いろいろな 2 糖を分解した。

今回、表 2B より A の方で EG I CD の相
対活性が増加していることから、EG I CD は
基質濃度依存的にセロビオースを加水分解
すること (図 5B の HPLC 分析) を裏付ける
結果となった。特に表 2A のセロビオースに
対する相対活性 66 U/mg (EG I CD) と 100
U/mg (BGL I) の比較は、セロビオース濃度が
1000 mM (35 wt%) と極めて高い環境下では、
BGL I により生成したグルコースの大半が糖
転移反応による 3 糖生成に奪われて、BGL I
の見かけのグルコース生成能が下がった結
果、EG I CD によるグルコース生成能が BGL
I に肉薄したものと推察する。

これはこれまでのセルラーゼによるセル
ロース分解反応の常識を覆す結果であり、木
質バイオマス分解における酵素組成や基質
濃度のデザインに寄与するものと考えらる。

表 2 EG I CD と BGL I の 2 糖に対する相対活性

A. セロビオース基質濃度 1000 mM		
	EG I CD U/mg	BGL I U/mg
セロビオース	66	100
ソホロース	0	12
ラミナリビオース	N.D.	14
ゲンチオビオース	N.D.	7

B. セロビオース基質濃度 125 mM		
	EG I CD U/mg	BGL I U/mg
セロビオース	25	100
ソホロース	0	11
ラミナリビオース	N.D.	9
ゲンチオビオース	N.D.	12

A: セロビオース基質濃度 1000 mM, B: セロビオース基
質濃度 125 mM. 酵素濃度: A, B とも EG I CD 0.45 mg/ml,
BGL I 0.11 mg/ml. *BGL I のセロビオース分解活性を 100
とした. **セロビオース以外の 2 糖はセロビオースと濃
度が異なるため参考値. 検出: グルコースキット. (ラ
ミナリビオース, Glcβ1→3Glc; ゲンチオビオース,
Glcβ1→6Glc)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に
は下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

- ① Takeshi Hattori, Makoto Ogata, Yumiko Kameshima, Kazuhide Totani, Mitsuru Nikaido, Takashi Nakamura, Hiroyuki Koshino, Taichi Usui, Enzymatic synthesis of cellulose II-like substance via cellulolytic enzyme-mediated transglycosylation in an aqueous medium. *Carbohydr. Res.*, **353**, 22–26 (2012). 査読有
- ② 二階堂満, 戸谷一英, コンバージミルを用いたバイオマス資源の有効活用 (Effective utilization of woody biomass using converge mill). *Cellul. commun.*, **18**, 115-118 (2011).
- ③ Makoto Ogata, Yumiko Kameshima, Takeshi Hattori, Kousuke Michishita, Tomohiro Suzuki, Hirokazu Kawagishi, Kazuhide Totani, Jun Hiratake, Taichi Usui, Lactosylamide-based affinity purification for cellulolytic enzymes EG I and CBH I from *Hypocrea jecorina* and their properties. *Carbohydrate Research* **345** (4), 2623–2629 (2010). 査読有
- ④ Koizumi H, Totani K, Kitamoto N, Sato S, Ohmachi T, and Yoshida T, Fungal cellulases of glycosyl hydrolase family 7 catalyze lactose condensation. *J. Appl. Glycosci.*, **57**, 239-243 (2010). 査読有
- ⑤ 福村卓也, 長田光正, 戸谷一英, 二階堂満, 特集: バイオマス — 木質原料の酵素糖化特性に及ぼすコンバージミル粉碎の影響. *J. Jpn. Inst. Energy.*, **89** (10), 968-974 (2010). 査読有
- ⑥ 二階堂満, 戸谷一英, 福村卓也, 長田光正, 丹野浩一, 猪股尚治, 粉川潤, 特集: ソフトマテリアルの粉碎技術 — コンバージミルによる木質バイオマス原料の高効率粉碎. 粉体技術, **2** (8), 17-24 (2010).
- ⑦ 竹田匠, 二階堂満, 戸谷一英, 小原実広, 中野友貴, 内宮博文, コンバージミル(エネルギー集中型媒体ミル)によるイナワラ等の糖化効率の評価. *J. Appl. Glycosci.*, **56** (2), 71-76 (2009). 査読有

[学会発表] (計 15 件)

- ① 宮永明, 齋藤勇司, 岡田宏文, 尾形慎, 服部武史, 碓氷泰市, 戸谷一英, *Trichoderma reesei* 由来のセルラーゼによるセロビオースの加水分解特性. 日本農芸化学会, 2012 年 3 月 23~25 日, 京都市(京都女子

- 大学)
- ② 小松光子, 長野まどか, 吉村聖也, 齋藤勇司, 中澤光, 二階堂満, 戸谷一英, 小笠原涉, 森川康, 岡田宏文, *Trichoderma reesei* 由来糖化酵素のバイオマス分解における役割. 日本農芸化学会, 2012年3月23~25日, 京都市(京都女子大学)
 - ③ 長野まどか, 三井勇輔, 吉村聖也, 齋藤勇司, 小松光子, 中澤光, 岡田宏文, 戸谷一英, 二階堂満, セルロース系バイオマス糖化における *Trichoderma reesei* EG IV および EG VII の役割. 日本農芸化学会, 2012年3月23~25日, 京都市(京都女子大学)
 - ④ 宮永明, 吉田尚生, 岡田宏文, 尾形慎, 服部武史, 碓氷泰市, 戸谷一英, *Trichoderma reesei* 由来のセルラーゼによるセロビオースの加水分解. 日本応用糖質科学会 平成23年度大会(第60回), 2011年9月28~30日, 札幌市(北海道大学)
 - ⑤ 吉村聖也, 齋藤勇司, 長野まどか, 星つかさ, 清水翔太, 二階堂満, 戸谷一英, 森川康, 小笠原涉, 岡田宏文, *Trichoderma reesei* セルラーゼを用いた4種バイオマスの糖化(2). 日本農芸化学会大会講演要旨集2011, 3月5日
 - ⑥ 齋藤勇司, 吉村聖也, 長野まどか, 星つかさ, 清水翔太, 二階堂満, 戸谷一英, 森川康, 小笠原涉, 岡田宏文, *Trichoderma reesei* セルラーゼを用いた4種バイオマスの糖化(1). 日本農芸化学会大会講演要旨集2011, 3月5日
 - ⑦ 宮永明, 吉田尚生, 岡田宏文, 尾形慎, 碓氷泰市, 戸谷一英, *Trichoderma reesei* セルラーゼ触媒ドメインによるセロビオースの加水分解とセロオリゴ糖の合成. 日本農芸化学会大会講演要旨集2011, 3月5日
 - ⑧ 二階堂満, 蜂谷亮, 千葉圭亮, 古関健一, 福村卓也, 長田光正, 戸谷一英, セルロース系バイオマスの酵素糖化特性に及ぼす多段前処理粉碎の影響. バイオマス科学会議, 2011年1月12~13日, 大阪大学
 - ⑨ 微粉碎スギの酵素糖化に最適な *Trichoderma reesei* セルラーゼの組成. 鈴木務士, TREESUKON Treebupachatsakul, 中澤光, 二階堂満, 戸谷一英, 小笠原涉, 森川康, 岡田宏文, 日本農芸化学会大会講演要旨集2010, 253, 2010年3月27~30日, 東京大学
 - ⑩ 糸状菌セルラーゼによる Lac 糖転移・縮合反応. 小泉英誉, 戸谷一英, 北本則行, 柿崎育子, 吉田孝, *J Appl Glycosci* 56(Suppl.), p50, 2009, 日本応用糖質科学会平成21年度大会(第58回), 2009年9月16~18日, 弘前大学

- ⑪ *Trichoderma reesei* 由来エンドグルカナゼ及びセロビオハイドロラーゼの特異的精製及び機能解析. 亀島祐美子, 尾形慎, 村田健臣, 戸谷一英, 平竹潤, 碓氷泰市, *J Appl Glycosci* 56(Suppl.), p56, 2009, 日本応用糖質科学会平成21年度大会(第58回), 2009年9月16~18日, 弘前大学
- ⑫ セルラーゼ酵素群のグリコン基質をリガンドとした特異的アフィニティークロマトグラフィー. 亀島祐美子, 尾形慎, 村田健臣, 戸谷一英, 平竹潤, 碓氷泰市, 日本農芸化学会大会講演要旨集2009, p48, 2009年3月27~29日, 福岡国際会議場
- ⑬ *Trichoderma reesei* セルラーゼを用いた微粉碎バイオマスの糖化. 小山泰裕, 鈴木務士, 中澤光, 二階堂満, 戸谷一英, 小笠原涉, 岡田宏文, 森川康, 日本農芸化学会大会講演要旨集2009, p336, 2009年3月27~29日, 福岡国際会議場
- ⑭ *Trichoderma reesei* の産生するセルラーゼの二糖縮合活性と基質特異性. 戸谷一英, 吉田尚生, 千葉千尋, 鈴木尊久, 碓氷泰市, 中澤光, 小笠原涉, 岡田宏文, 森川康, 日本農芸化学会大会講演要旨集2009, p319, 2009年3月27~29日, 福岡国際会議場
- ⑮ *Trichoderma reesei* 由来 EG I 触媒ドメインによる二糖縮合活性. 吉田尚生, 戸谷一英, 中澤光, 小笠原涉, 岡田宏文, 森川康, 第60回日本生物工学会, 平成20年8月27~29日, 仙台(東北学院大学).

[その他]

ホームページ等

<http://www.ichinoseki.ac.jp/gyoseki/che/TotaniKazuhide.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

戸谷 一英 (TOTANI KAZUHIDE)

一関工業高等専門学校・物質化学工学科・教授

研究者番号: 40369913

(2) 連携研究者

岡田 宏文 (OKADA HIROFUMI)

長岡技術科学大学・工学部・生物系・准教授

研究者番号: 70233343