

令和 2 年 6 月 25 日現在

機関番号：84431

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2019

課題番号：15K06593

研究課題名(和文)セルロースを原料とするポリマー前駆体であるグルカル酸の新規酵素合成系の確立

研究課題名(英文)Development of new enzymatic production method of D-glucaric acid from cellulose

研究代表者

桐生 高明(KIRYU, Takaaki)

地方独立行政法人大阪産業技術研究所・森之宮センター・主任研究員

研究者番号：20416308

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：バイオマスであるセルロースからポリマー原料として期待されるグルカル酸の生産法を開発を目的としている。本課題ではセルロースの分解物であるセロビオースを酵素(カーボハイドレートアクセプターオキシドレダクターゼ)や微生物菌体で酸化しセロビオン酸を生産する手法を開発した。また、セロビオン酸を分解しグルカル酸の前駆体であるグルコン酸を生産する酵素(-グルコシダーゼ)の性質を明らかにするとともに、酸を使用したセロビオン酸の効率的な加水分解法も開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

グルカル酸はバイオポリマー原料として実用化が大いに期待される化合物である。本研究によりバイオマスであるセルロースの分解物であるセロビオースから、セロビオン酸という既報の経路とは全く異なる化合物を経由してグルカル酸の前駆体、グルコン酸を調製できることが明らかになった。今後は、本課題のデータをもとに、バイオマスからのグルカル酸生産の実用化研究の進展が期待される。

研究成果の概要(英文)：Glucaric acid is expected to use building block of new polymer. In this grant, we studied the producing method of glucaric acid from cellulose known as biomass. We developed the method to oxidized cellobiose (hydrolysis product of cellulose) and produce cellobionic acid by the enzyme (carbohydrate: acceptor oxidoreductase) and the resting cells of bacteria. Furthermore we studied the enzyme that hydrolyzed cellobionic acid and produced gluconic acid known as precursor of glucaric acid. Besides, we found effective hydrolysis method of cellobionic acid by hydrochloric acid.

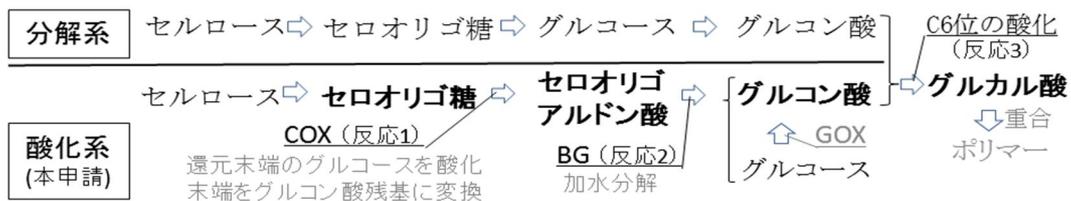
研究分野：糖酸化酵素

キーワード：セルロース バイオマス グルカル酸 酸化酵素 -グルコシダーゼ デヒドロゲナーゼ セロビオース セロビオン酸

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

1. 研究開始当初の背景

グルコースの C1 と 6 位が酸化されたグルカル酸は米エネルギー省から「Top value added chemical from biomass」に指定されるなど、バイオポリマー原料として期待される。そのため、イノシトールを原料に複数の遺伝子を組み込んだ大腸菌を用いる生産法や、ブナ材に含まれる xylan の側鎖のグルクロン酸の C-1 位を酸化する生産法が開発されるなど、バイオマスを原料とするグルクロン酸生産法が開発が精力的に行われている。しかし、いずれの手法もグルカル酸を安価にかつ効率的に生産できる手法とはいえず、実用化には至っていない。一方、我々は *Pseudogluconobacter* 属微生物がグルコースの C6 位および C1 位を酸化しグルカル酸を生産することを明らかにし、特許を出願した。本手法を使用すれば、バイオマスであるセルロースを分解し、生成するグルコースを酸化する方法(セルロース分解系、**図 1** 上段)でグルカル酸を生産することが可能である。しかし、セルロース(セロオリゴ糖)の分解効率は生成するグルコースがセロオリゴ糖の分解を阻害するなどの理由で、必ずしも高くない。一方、本課題のセルロース酸化系(**図 1** 下段)を共役させれば、グルコン酸の生産の効率化が期待できる。



COX: Carbohydrate:acceptor oxidoreductase BG: β -Glucosidase GOX: Glucose dehydrogenase

図1. セルロースの分解系(上段)と酸化系(下段)

2. 研究の目的

バイオマスであるセルロースからポリマー原料として期待されるグルカル酸を生産するため、セルロース分解の中間体であるセロビオースなどのセロオリゴ糖をセロビオン酸などのセロオリゴアルドン酸に酸化する特徴的な酵素(図 1、反応 1)及びグルコン酸をグルカル酸に酸化する特徴的な微生物(図 1 反応 3)を取得している。反応 1 と 3 を繋ぐセロオリゴアルドン酸を加水分解しグルコン酸を生成する β -グルコシダーゼ(BG、**図 1** 反応 2)を取得すれば、セルロースからのグルカル酸生産系が構築できる。本研究では反応 1 と反応 2 を効率的に行う反応系の確立を目的に以下に示す研究に取り組んだ。

- (1) *Paraconiothyrium* 属由来 COX によるセロビオースからのセロビオン酸の生産
- (2) *Penicillium* 属由来の BG (**図 1** 反応 2) を用いたセロビオン酸の分解
- (3) セロビオース酸化反応(1)とセロオリゴ糖分解反応(2)を組み合わせたセロビオースからのグルコン酸生産の実証

3. 研究の方法

- (1) *Paraconiothyrium* 属由来 COX によるセロビオースからのセロビオン酸の生産

Paraconiothyrium 属を培養し、菌体を除去した後、培養液を濃縮したものを COX 含有酵素液とし各種活性測定を行い、COX の二糖類やより長鎖のオリゴ糖に対する基質特異性や、反応の至適 pH 等の諸性質を明らかにした。

Burkholderia cepacia 休止菌体を調製、休止菌体(10 mg/ml)と炭酸カルシウム及び 200 mM セロビオースからなる反応液を 30、120 oscillation/min で振とうしながら反応し、BG(反応 2)の基質するためのセロビオン酸を大量に調製した。

Paraconiothyrium 属由来 COX (反応 1) の N 末端アミノ酸配列からプライマーを調製し、*Paraconiothyrium* 属より抽出した m-RNA から調製した cDNA を鋳型に COX 遺伝子を PCR により増幅させた。PCR 産物から COX の全塩基配列を決定した。さらにその配列をもとに酵母などの発現系を用いた COX の大量発現を目指した。

- (2) *Penicillium* 属由来の BG (反応 2) を用いたセロビオン酸の分解

Penicillium chrysogenum 由来の市販酵素剤、ヌクレアーゼ「アマノ」G(天野エンザイム株式会社)やその他の酵素剤のセロビオースおよびセロビオン酸分解活性を比較し、セロビオン酸分解活性について評価した。また、ヌクレアーゼ「アマノ」G のセロビオース分解活性の至適 pH などの性質について明らかにした。

ヌクレアーゼより、目的の BG を精製し、比活性を上昇させた。この部分精製酵素を用い、セロビオン酸分解活性の諸性質を解明した。

全ゲノム解析株 *P. chrysogenum* ATCC28089 由来の 3 種の BG を酵母で発現させ、

それらの BG のセロビオン酸への作用性を明らかにした。また、酵素の大量調製を目指した。

(3) COX と BG によるセロビオースからセロビオン酸を経由するグルコン酸生産法の実証

上記の研究で得た知見をもとに COX や BG を用い、セロビオースを原料にグルコン酸が調製できることの実証を目指した。また、BG によるセロビオン酸分解反応が途中で停止する現象がみられたため、その原因を生成物阻害であると想定し、生成物であるグルコース及びグルコン酸の BG の阻害活性を調べた。さらに、BG の代わりに終濃度 1M となるように塩酸を添加、1 時間煮沸することでセロビオン酸を分解する手法についても検討を行った。

4. 研究成果

(1) *Paraconiothyrium* 属由来 COX によるセロビオースからセロビオン酸の生産

生成した *Paraconiothyrium* 属由来 COX の二糖およびセロオリゴ糖への作用性を調べたところ、至適 pH である pH5.5 では、*Paraconiothyrium* 属由来 COX はラクトースほどではないがセロビオースを効率的に酸化した。さらにセロオリゴ糖についても高い活性を示すことが分かった (表1)。

表1. COXの二糖類およびオリゴ糖に対する作用性

Lactose	Gal β1 4 Glc	100	Isomaltose	Glc α1 6 Glc	-
Cellobiose	Glc β1 4 Glc	63	Gentiobiose	Glc β1 6 Glc	-
Maltose	Glc α1 4 Glc	19	Melibiose	Gal α1 6 Glc	-
Kojibiose	Glc α1 2 Glc	-	Cellotriose		138
Sophorose	Glc β1 2 Glc	-	Cellotetraose		133
Nigerose	Glc α1 3 Glc	-	Cellopentaose		134
Laminaribiose	Glc β1 3 Glc	-	Cellohexaose		134

-:酸化せず

セロビオースを酸化させた際に COX がセロビオースを完全に酸化できることを確認するためにセロビオースを COX で酸化させ、その経時変化を調べた。TLC で調べた結果、セロビオースが完全に酸化され二糖酸化物と思われるスポットが生成した。TLC による分取で二糖酸化物と思われるスポットを回収し、酸加水分解した後、その構成糖を HPAEC-PAD で分析するとグルコースとグルコン酸がほぼ 1:1 の比率 (7.8:7.3) で生成したことから、本酸化物がセロビオン酸であることが確認できた。

セロビオン酸を大量調製するために、*Paraconiothyrium* 属由来培養液を濃縮し COX 含有酵素液を調製した。しかし、本酵素液には BG 活性が含まれており、基質であるセロビオースが分解された。また、混在する BG はセロビオースほどではないがセロビオン酸も分解することが分かった。そのため本酵素剤の使用は、セロビオン酸の収率が下がるだけでなく、グルコースやグルコン酸などの副生成物ができることが分かった。グルコースやグルコン酸の生成は本研究にとっては好ましい現象ではあるが、セロビオン酸の調製には好ましくない。

そのため、糖酸化菌 *B. cepacia* でのセロビオン酸の大量調製を行った。*B. cepacia* 休止菌体は 200 mM のセロビオースを完全に酸化し、ほぼ 100% のモル収率でセロビオン酸 (カルシウム塩) を生成した (図2)。

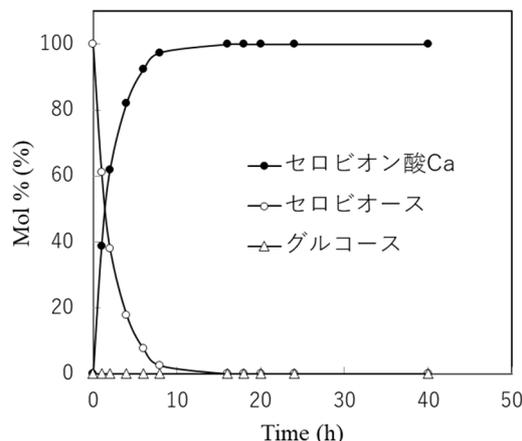


図2. *B. cepacia* 休止菌体によるセロビオン酸の調製

Paraconiothyrium 属の cDNA を鋳型に N 末端アミノ酸配列から設計したプライマーと poly-dt を含むプライマーで PCR を行い、約 1304 bp の目的酵素遺伝子を得た。これをベクターに組み込み、シークエンスにより PCR 産物の全塩基配列を決定した。決定した塩基配列を、既報の *Microdochium nivale* の COX と比較したところ、二つの間には 87% 相同性が見られたことから、得た遺伝子は COX 遺伝子であると結論づけた。本遺伝子を酵母用の発現ベクターに組み込み、発現用酵母に形質転換した。目的の遺伝子が正確に組み込まれていること確認した後、糖酸化活性を測定したが、形質転換体は COX 活性を示さなかった。さらに大腸菌での COX 発現を目指したが、活性を示す形質転換体を得ることができなかった。今後は枯草菌等、別の発現系を用い、COX を高発現する遺伝子組み換え生物の取得を目指す。

(2) *Penicillium* 属由来の BG (反応 2) を用いたセロピオン酸の分解

ヌクレアーゼや約 20 種以上市販酵素のセロピオース及びセロピオン酸分解活性を調べ、比較的セロピオン酸分解活性が高かった酵素剤の TLC を図 3 に示した。*Trichoderma* 属や *Aspergillus* 属由来の酵素剤にもセロピオン酸分解活性は見られたが、セロピオース分解活性と比較すると低かった。一方、*Penicillium* 属由来の酵素剤、とくにヌクレアーゼはセロピオース分解活性より高いセロピオン酸分解活性を示した。

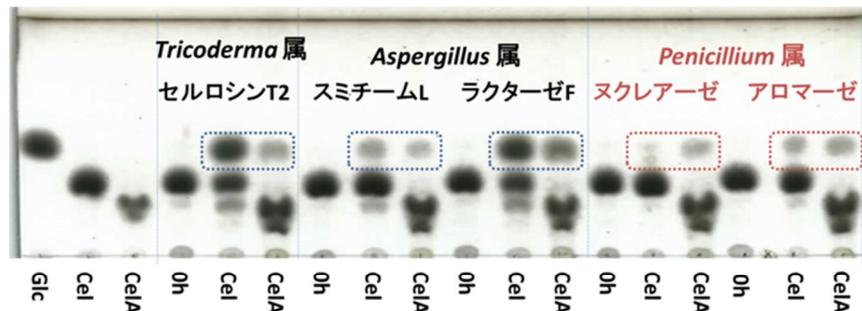


図3. セロピオース及びセロピオン酸分解活性の比較
各種市販酵素 (1%) と 36 mM のセロピオースおよびセロピオン酸とを混合、pH 5.5 で 24 時間反応させたのち TLC によりグルコースの生成を確認した。Cell、CelA、Oh はそれぞれセロピオース、セロピオン酸の分解及びセロピオース分解前を示す。点線内は分解により生成するグルコースのスポット。

ヌクレアーゼから、セロピオン酸に対し高い分解活性を示す BG を精製するために、まず硫酸沈殿を行

表2. 硫酸沈殿画分のセロピオース及びセロピオン酸分解比活性

画分	Cel分解活性	CelA分解活性	Cel : CelA
70%飽和画分	6.0 U/mg	4.4 U/mg	10:7
100%飽和画分	1.1 U/mg	0.25 U/mg	10:2

Cel, セロピオース : CelA, セロピオン酸

った。70% 飽和硫酸沈殿させた画分と、100% 飽和硫酸で沈殿させた画分に BG 活性が見られた。それぞれの画分のセロピオース及びセロピオン酸分解活性を表 2 に示した。70% 飽和画分はセロピオースとセロピオン酸分解活性の比が 10 : 7 なのに対し、100% 飽和画分は 10 : 2 とセロピオン酸分解活性の比率が低いことが分かった。また、70% 飽和画は比活性も約 3 倍になるなど、BG を濃縮するのに効果的であることが分かった。さらにそれぞれの画分の至適 pH は 70% 飽和が pH 5.5 であるのに対し、100% 飽和は pH 5.0 であることから、70% と 100% 飽和画分にはそれぞれ異なる BG が含まれていることが分かった。70% 飽和画分に含まれるセロピオン酸に対し比較的高い加水分解活性を示す BG の精製を目的に、陰、陽イオンクロマト、疎水クロマト、ヒドロキシアパタイトなどの各種クロマトグラフィーでの精製を目指したが、クロマト後のセロピオースとセロピオン酸分解活性の比率は 10 : 2 以下に下がり、目的とするセロピオン酸分解活性を示す BG が失活してしまうことが明らかになった。そのため、それ以上精製を進めることができなかった。

ヌクレアーゼは *P. chrysogenum* 由来の酵素剤である。KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) のデータベースを用い、全アミノ酸配列が決定している *P. chrysogenum* ATCC28089 のゲノムから BG と思われる遺伝子 3 種類を選択した。その配列をもとに、ATCC28089 の自然突然変異株である JCM22609 株から調製した cDNA から、目的とする 3 種の BG 候補遺伝子を増幅させた。これらの遺伝子を酵母用の発現ベクターに組み込み、発現酵母に導入したがセロピオン酸分解活性を示す形質転換体を得ることはできなかった。

(3) COX と BG によるセロピオースからのグルコン酸生産の実証

上記の 70% 飽和硫安画分のセロビオン酸分解活性の比活性が高かったことから、70% 飽和硫安画分を脱塩カラムによる処理したものを酵素としてセロビオン酸分解反応を行った。最初に低濃度 (0.5%) のセロビオン酸の分解を試したが、十分量の力価の酵素を入れているにもかかわらず反応 72 時間かけてもセロビオン酸をすべて分解することができなかった。酵素量、pH、基質濃度などの条件を変化させても、結果はほとんど変わらなかった。そのため、セロビオン酸の分解物であるグルコースまたはグルコン酸が BG を阻害する、フィードバック阻害がかかっていると考え、セロビオン酸分解時に 15 mM のグルコースまたはグルコン酸を加えて反応を行った。37 °C、pH 5.5、24 時間で反応させた後に残存するセロビオン酸量を測定した。グルコースの添加はセロビオン酸分解に影響を与えなかったが、グルコン酸添加した場合、初濃度 6.25 mM のセロビオン酸を、無添加の場合、24 時間で 66% を分解したのに対し、15 mM のグルコン酸を添加した場合 28% と分解率が半減した。これらの結果はグルコン酸が目的の BG を阻害することを示している。セロビオン酸の分解により生成するグルコン酸を効率的に除去するのは困難であることから、本 BG でセロビオン酸を効率的に分解することは極めて難しいことが分かった。そこで、セロビオン酸を化学的に分解することにした。セロビオン酸に終濃度 1 M HCl を添加し少なくとも 1 時間煮沸することで、セロビオン酸を完全に分解し、高収率でグルコースとグルコン酸に変換できることがわかった。

上記の (1) で調製した COX 含有酵素剤を用いれば、48 時間で、200 mM のセロビオン酸をほとんどロスなくセロビオン酸に (一部はグルコン酸に) 変換できた。さらに、1 M HCl による酸分解に供することで、ほとんどすべての構成糖をグルコースとグルコン酸に変換できた。また、(1) において *B. cepacia* で調製したセロビオン酸も同様に 1 M HCl による酸分解でグルコースとグルコン酸に変換することが可能であった。しかしながら、COX によるセロビオースの酸化反応とセロビオン酸の酸加熱分解は同時に行うことができない。そのため、セロビオン酸の酸分解を用いた場合、図 1 で示したセルロース分解系との共役も困難である。今後はフィードバック阻害による反応の停止が起こらないセロビオース高分解性の BG の取得を目指して研究を続ける。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kiryu Takaaki, Kiso Taro, Koma Daisuke, Tanaka Shigemitsu, Murakami Hiromi	4. 巻 83
2. 論文標題 Identifying membrane-bound quinoprotein glucose dehydrogenase from acetic acid bacteria that produce lactobionic and cellobionic acids	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1171 ~ 1179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1580136	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kiryu Takaaki, Kiso Taro, Sato Hirofumi, Murakami Hiromi	4. 巻 84
2. 論文標題 Oxidation of isomaltose, gentiobiose, and melibiose by membrane-bound quinoprotein glucose dehydrogenase from acetic acid bacteria	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 507 ~ 517
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1689095	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 桐生高明, 木曾太郎, 村上洋	4. 巻 93
2. 論文標題 食品・化粧品素材の生産に利用可能な微生物菌体および酵素の検索	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 科学と工業	6. 最初と最後の頁 180-195
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 村上洋, 桐生高明, 木曾太郎, 中野博文	4. 巻 36
2. 論文標題 Paraconiothyrium sp.KD-3株由来乳糖酸化酵素を用いたラクトビオン酸カルシウムの生産	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BIO INDUSTRY	6. 最初と最後の頁 51-60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 桐生高明	4. 巻 59
2. 論文標題 大阪発、微生物を利用した新規酸性オリゴ糖の開発	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 食品と容器	6. 最初と最後の頁 746-752
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 畠中芳郎、村上 洋、長尾寿浩	4. 巻 23
2. 論文標題 大阪府発フードイノベーション 大阪産業技術研究所における食品産業支援	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FOOD STYLE 21	6. 最初と最後の頁 17-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 桐生 高明	4. 巻 54
2. 論文標題 微生物の糖酸化反応の食品素材生産への応用	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 温故知新	6. 最初と最後の頁 65-76
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 村上 洋、桐生 高明、木曾太郎	4. 巻 7
2. 論文標題 微生物・酵素を用いた糖カルボン酸の生産と利用	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本応用糖質学会誌	6. 最初と最後の頁 214-218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 村上 洋、桐生 高明、木曾太郎	4. 巻 7
2. 論文標題 高水溶性カルシウム素材「ラクトビオン酸カルシウム」の開発	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本応用糖質学会誌	6. 最初と最後の頁 165-168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 桐生高明, 木曾太郎, 村上洋	4. 巻 111
2. 論文標題 新規機能性食品素材ラクトビオン酸の生産法の開発	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 日本醸造協会誌	6. 最初と最後の頁 808-815
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 桐生高明, 木曾太郎, 駒大輔, 田中重光, 中野博文, 村上洋	4. 巻 6
2. 論文標題 ラクトビオン酸生産法をはじめとする工業化を目指したオリゴ糖酸化技術の開発研究	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 日本応用糖質学会誌	6. 最初と最後の頁 131-137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 桐生高明, 木曾太郎, 駒大輔, 田中重光, 中野博文, 村上洋	4. 巻 64
2. 論文標題 食品用途に利用可能な機能性糖質ラクトビオン酸の生産法の開発	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 日本食品科学工学会誌	6. 最初と最後の頁 137-141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://doi.org/10.3136/nskkk.63.137	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takaaki Kiryu, Taro Kiso, Hirofumi Nakano and Hiromi Murakami	4. 巻 79
2. 論文標題 Lactobionic and cellobionic acid production profiles of the resting cells of acetic acid bacteria	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1712-1718
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2015.1038214	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 桐生高明、木曾太郎、中野博文、村上 洋	4. 巻 8
2. 論文標題 カスピ海ヨーグルトに含まれる新規機能性糖質ラクトピオン酸の開発	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 生物化学工学会誌	6. 最初と最後の頁 494-496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 桐生高明	4. 巻 50
2. 論文標題 生体触媒を用いたオリゴ糖アルドン酸の生産に関する研究	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 食品の試験と研究	6. 最初と最後の頁 91-93
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 村上洋、桐生高明、木曾太郎	4. 巻 86
2. 論文標題 微生物・酵素を用いた糖カルボン酸の生産	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 科学と工業	6. 最初と最後の頁 177-184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 桐生高明、木曾太郎、駒大輔、田中重光、中野博文、村上洋	4. 巻 6
2. 論文標題 ラクトビオン酸生産法をはじめとする工業化を目指したオリゴ糖酸化技術の開発研究	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 応用糖質科学会誌	6. 最初と最後の頁 91-97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 桐生高明、木曾太郎、駒大輔、田中重光、中野博文、村上洋	4. 巻 63
2. 論文標題 食品用途に利用可能な機能性糖質ラクトビオン酸の生産法の開発	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 食品科学工学会誌	6. 最初と最後の頁 137-141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3136/nskkk.63.137	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計29件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 桐生 高明、木曾 太郎、西村 政晃、増田 隆史、村上 洋
2. 発表標題 ラッカーセ処理によるショウガ粉末乳酸菌発酵物調製時の生育阻害の予防
3. 学会等名 日本農芸化学会 2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 桐生高明、木曾太郎、村上洋
2. 発表標題 機能性糖質素材の開発
3. 学会等名 ifia JAPAN 2019 [アイフィア・ジャパン] 第24回 国際食品素材 / 添加物展・会議
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 桐生高明, 木曾太郎, 村上洋
2. 発表標題 アルドースのC-6位を酸化するPseudogluconobacter saccharoketogenesによる配糖体酸化物の調製
3. 学会等名 日本応用糖質科学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 桐生高明, 木曾太郎, 西村政晃, 増田隆史, 村上洋
2. 発表標題 ラッカーゼ処理によるショウガ粉末乳酸菌発酵物調製時の生育阻害の予防
3. 学会等名 酢酸菌研究会 第10回研究集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈍實宗彦, 村上洋, 桐生高明, 木曾太郎, 服部優親
2. 発表標題 パイナップル果実芯の酵素処理による水溶性食物繊維の調製
3. 学会等名 日本応用糖質科学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上洋, 桐生高明, 木曾太郎, 中野博文
2. 発表標題 Enzymatic conversion of lactose to calcium lactobionate.
3. 学会等名 The 15th International Symposium on Biocatalysis and Agricultural Biotechnology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上洋、桐生高明、木曾太郎
2. 発表標題 「糖カルボン酸」のバイオ技術による開発
3. 学会等名 産業技術支援フェア in KANSAI
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 桐生高明、木曾太郎、村上洋
2. 発表標題 P. saccharoketogenes IF014483株の微生物変換における酸化活性の基質特異性
3. 学会等名 日本農芸化学会平成30年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 桐生高明、木曾太郎、村上洋
2. 発表標題 高ラクトース処理による酢酸菌由来グルコースデヒドロゲナーゼの活性上昇の解析
3. 学会等名 日本応用糖質科学会平成30年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 ケオケントラポン, 内田侑里、桐生高明、松谷峰之介、片岡尚也、松下一信、薬師寿治
2. 発表標題 Gluconobacter 属酢酸菌の膜結合型グルコース脱水素酵
3. 学会等名 日本農芸化学会平成30年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上洋、今岡駿、原田政仁、大沼貴之、桐生高明、木曾太郎
2. 発表標題 微生物多糖の生産株の検索
3. 学会等名 日本応用糖質科学会平成30年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村上洋、桐生高明、木曾太郎
2. 発表標題 食品・化粧品等の物性改良や素材開発のためのバイオ技術
3. 学会等名 Tech Connect KANSAI 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上 洋、桐生 高明、木曾 太郎
2. 発表標題 Production and Utilization of Calcium Lactobionate
3. 学会等名 第57回澱粉研究懇談会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiromi Murakami, Takaaki Kiryu, Taro Kiso, Hirofumi Nakano
2. 発表標題 Microbial Conversion of Lactose to Calcium Lactobionate
3. 学会等名 10th World Congress on Nutrition & Food Sciences (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 村上洋、桐生高明、木曾太郎、中野博文
2. 発表標題 Paraconiothyrium sp.KD-3由来乳糖酸化酵素の性質とラクトピオン酸カルシウムの生産
3. 学会等名 食品酵素化学研究会 第17回学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hirofumi Sato, Rei Yamada, Takaaki Kiryu, Ryuichi Arakawa, Hideya Kawasaki
2. 発表標題 Deracemization of 1-phenylethanols by chemo-enzymatic combination Mn O2-oxidation and ADH-reduction through compartmentalization
3. 学会等名 The Asian Conference on Oleo Science 2017 and The 56th Annual Meeting of the Japan Oil Chemists' Society (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 桐生高明、駒大輔、田中重光、木曾太郎、村上洋
2. 発表標題 Komagataeibacter medellinensisのラクトース酸化活性は高ラクトース濃度で誘導される
3. 学会等名 日本農芸化学会2018年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 桐生高明、山内康平、益山新樹、木曾太郎、中野博文、村上洋
2. 発表標題 Enterobacter属由来乳糖酸化酵素の二糖類への作用性
3. 学会等名 日本応用糖質科学会平成28年度大会 (第65回)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 山田 怜、佐藤博文、桐生高明、川野真太郎、静間基博、小野大助、川崎英也、荒川隆一
2. 発表標題 KMnO ₄ /MnO ₂ による酸化反応と酵素による不斉還元反応を組み合わせたキラルアルコールのワンポット合成
3. 学会等名 日本油化学会第55回年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 村上洋、宮本康平、湯口宣明、桐生高明、木曾太郎
2. 発表標題 微生物を用いたラクトピオン酸の生産
3. 学会等名 日本女性科学者の会 第11回学術大会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 木下久瑠美、静間基博、桐生高明、村上洋、野村啓一
2. 発表標題 ピタヤ(<i>Hylocereus undatus</i>)における粘性多糖の構造解析と季節変動
3. 学会等名 日本応用糖質科学会平成28年度大会（第65回）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 村上洋、宮本康平、湯口宣明、桐生高明、木曾太郎
2. 発表標題 糖転移反応による二糖類アルドンの生成
3. 学会等名 日本応用糖質科学会平成28年度大会（第65回）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 桐生高明、木曾太郎、村上洋
2. 発表標題 新規機能性糖質素材ラクトビオン酸の開発
3. 学会等名 酢酸菌研究会 第8回 研究集会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 桐生高明、木曾太郎、駒大輔、田中重光、中野博文、村上洋
2. 発表標題 ラクトビオン酸生産法をはじめとする工業化を目指したオリゴ糖酸化技術の開発研究
3. 学会等名 日本応用糖質科学会平成27年度大会（第64回）・応用糖質科学シンポジウム
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 桐生高明、木曾太郎、中野博文、村上洋
2. 発表標題 新規機能性食品素材ラクトビオン酸の生産法の開発
3. 学会等名 日本食品科学工学会第62回大会 シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 桐生高明、駒大輔、田中重光、木曾太郎、中野博文、村上洋
2. 発表標題 酢酸菌のイソマルトビオン酸生産酵素の同定
3. 学会等名 日本農芸化学会2016年大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 木曾太郎、安居弘樹、湯口宜明、桐生高明、村上 洋、中野博文
2. 発表標題 ステロイドホルモン類の配糖化について
3. 学会等名 日本応用糖質科学会平成27年度大会（第64回）
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 村上洋、宮本康平、水取貴史、湯口宜明、静間基博、桐生高明、木曾太郎、中野博文
2. 発表標題 糖転移反応によるオリゴ糖アルドン酸の合成
3. 学会等名 日本農芸化学会2016年度大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 木曾太郎、安居弘樹、湯口宜明、桐生高明、村上 洋、中野博文
2. 発表標題 ステロイドホルモン類に対する糖転移
3. 学会等名 日本農芸化学会2016年度大会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 村上洋、桐生孝明、木曾太郎 他	4. 発行年 2019年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 15-60
3. 書名 食品・バイオにおける最新の酵素応用	

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 ショウガ乳酸発酵物の製造方法	発明者 西村政晃、増田隆史、小野池智香、桐生高明、木曾太郎、	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-145819	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 パイナップル残渣の処理方法	発明者 服部優親、鈍寶宗彦、村上洋、木曾太郎、桐生高明	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-046873	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 美白組成物	発明者 服部優親、鈍寶宗彦、村上洋、木曾太郎、桐生高明	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-002679	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 D-グルカル酸生産菌およびD-グルカル酸の生産法	発明者 伊東哲也、田所宏基、村上洋、木曾太郎、桐生高明	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT中国出願201380029481.2	取得年 2019年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	村上 洋 (Murakami Hiromi) (10416307)	地方独立行政法人大阪市立工業研究所・生物・生活材料研究部・研究室長 (84421)	
研究分担者	木曾 太郎 (Kiso Taro) (90416313)	地方独立行政法人大阪市立工業研究所・生物・生活材料研究部・主任研究員 (84421)	
研究分担者	大橋 博之 (Ohashi Hiroyuki) (10826184)	地方独立行政法人大阪産業技術研究所・森之宮センター・研究員 (84431)	