

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H04977

研究課題名(和文) 褐藻類にみられる有用物質の代謝関連酵素の同定と高度変換技術の開発

研究課題名(英文) Identification of enzymes related to metabolism of useful compounds in brown algae

研究代表者

井上 晶 (INOUE, AKIRA)

北海道大学・水産科学研究院・准教授

研究者番号：70396307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 9,300,000円

研究成果の概要(和文)：褐藻は、他の生物にはほとんど見られないユニークな多糖類やカロテノイド類を含む。それらの成分のいくつかは、人類にとって有用な成分であることが知られており、注目されている。しかしながら、褐藻がこれらの成分をどのような酵素を利用して生合成しているのかについては、ゲノムや遺伝子解析から部分的に推定されているにすぎなかった。本研究では、多糖類であるアルギン酸の配列決定に関わるマンヌロン酸C5-エピメラーゼや遺伝子レベルではその存在が見出されなかった褐藻のアルギン酸分解酵素の機能をタンパク質レベルで解明した。また、褐藻の β -カロテン生合成を担う酵素についてもリコペン合成大腸菌を作出し、その機能を実証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、褐藻の複数の有用酵素について、活性をもつ組換え酵素としての生産に成功した。特に、マンヌロン酸C5-エピメラーゼは、異種細胞発現が困難とされており、酵素活性を明らかにした報告は無かった。同酵素は、有用多糖類のアルギン酸の配列を人工的に改変するテーラーメイドアルギン酸技術の開発に必須の酵素であるが、本研究成果はその進展に密接につながるものである。また、褐藻のカロテノイド生合成関連酵素について機能を実証した例は無かったが、組換え大腸菌を低温培養し、リコペンを β -カロテンに変換する褐藻由来酵素の活性を明らかにした。これは、本法が褐藻のカロテノイド生合成経路解明に有効であることを示している。

研究成果の概要(英文)：Brown algae biosynthesize unique polysaccharides and carotenoids that are rarely found in other organisms. It has been reported that some of these components exhibit interesting physiological activities that are useful for human beings. Therefore, these compounds have been drawing attention. Although some candidate enzymes involving these biosynthesis pathways have been predicted through massive gene researches of brown algae, there is poor information on functional enzymes at the protein level. In this study, we elucidated the functions of mannuronate C5-epimerase, which is involved in the sequencing of the polysaccharide alginate, and the function of alginate-degrading enzymes of brown algae, whose existence could not be found at the gene level. We also produced a lycopene-synthesizing *Escherichia coli* and it was used for functional identification of an enzyme involving β -carotene biosynthesis in brown algae.

研究分野：水圏生化学

キーワード：褐藻類 多糖類 アルギン酸 カロテノイド リコペン β -カロテン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

コンブやワカメなどの褐藻類は、古くから利用されており、日本人には馴染み深い海藻である。褐藻類は世界各地の海洋で豊富に存在するバイオマスであるだけでなく、環境保全など健全な海洋環境の維持にも重要な役割を担っている。また、褐藻は他の生物には、ほとんど見られないユニークな多糖類やカロテノイドをもつことが知られており、それらのいくつかは有用な生理活性作用を示すことから、人類にとって有用な資源であると考えられてきた。一方、これまでに褐藻類に関する研究例は多いものの、それらは組織や個体を対象としている場合が多く、高等植物や他の藻類で進められている遺伝子やタンパク質を対象とした分子レベルの研究は極めて少なかった。そのような状況下で、2010年に褐藻では始めてシオミドロ *Ectocarpus siliculosus* のゲノムが解読、報告された (Cock, J. M. *et al. Nature* **465**, 617-621 (2010))。さらに、マコンブ、ワカメ、ホンダワラなど複数の褐藻類において大規模な遺伝子解析が進められ、遺伝子配列に関する情報が蓄積されてきた。これらの研究により、褐藻に特徴的な多糖類やカロテノイドの生合成機構の解明が期待されたが、褐藻特有の化合物の生合成や代謝に関わると予測された酵素の機能について、実際に調べられた例はほとんど無かった。さらに、存在すると期待されたいくつかの酵素については、遺伝子から予測することは困難であることが明らかになった。

褐藻類の分子生物学的研究が他の藻類と比較して立ち遅れていた主たる要因のひとつは、その材料となる DNA や RNA の核酸およびタンパク質の抽出が困難であることが指摘されてきた。褐藻は多量の粘性多糖類を含んでおり、これらを含む細胞破砕液は高い粘性を示すため、他の生物では有効な核酸やタンパク質抽出法を適用することができなかった。このような状況下で研究代表者らは、腐敗褐藻からアルギン酸資化細菌 *Flavobacterium* sp. UMI-01 株を単離し、市販のアルギン酸分解酵素と比較して約 20~100 倍の高い活性を示す同酵素 FIAlyA を発見した (Inoue, A. *et al. Mar. Drugs* **12**, 4693-4712 (2014); Inoue, A. *et al. Algal Res.* **19**, 355-362 (2016))。また、本酵素を褐藻からの核酸抽出時に添加することで、従来の解決すべき課題であった細胞破砕液の粘性が低下することを見出し、これにより既存の核酸抽出キットを利用し、短時間で高品質の核酸を得ることが可能となった。

以上より、褐藻の各種酵素タンパク質の機能解析の基盤が整ったと考えられたことから、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究では、有用大型褐藻類として代表的なマコンブとワカメを対象として、多糖類およびカロテノイド類の生合成や代謝に関わる各酵素の遺伝子クローニングおよび異種細胞発現系による組換えタンパク質の生産を進めた。特に、候補タンパク質の存在は示唆されているものの機能の実証が困難である酵素や既報のゲノムおよびトランスクリプトーム解析では、候補タンパク質が見出されなかった酵素に着目し、生化学的手法により新規酵素の同定と機能解析を目指した。

3. 研究の方法

(1) マコンブおよびワカメのトランスクリプトーム解析

マコンブおよびワカメの各孢子体葉状部から、核酸抽出キット GM quicker2、HULK アルギン酸分解酵素、および DNase I (いずれもニッポンジーン) を使用して、全 RNA を抽出した。塩基配列解析は、次世代シーケンサー HiSeq 3000 (Illumina) により行い、Trinity (Grabherr *et al. Nat. Biotechnol.* **29**, 644-652 (2011)) を用いて *de novo* アセンブリ解析を行い、各トランスクリプトームデータベースを構築した。

(2) マコンブ孢子体・cDNA 発現ライブラリーの作成

マコンブ孢子体葉状部から全 RNA を抽出し、mRNA を精製後、ランダムプライマーを用いて cDNA を合成した。cDNA の両末端にアダプター配列を PCR により導入し、改変した pCold プラスミドベクター (タカラバイオ) に組み込んだ。次いで、大腸菌 BL21 (DE3) に組換えプラスミドを導入し、アンピシリンを含む寒天培地に播き、37°C で 12 時間インキュベートした。生じた各コロニーは、液体培地中で 37°C、16 時間培養し、イソプロピル-β-D-チオガラクトピラノシド (IPTG) を 0.1 mM となるように加えた。15°C で 12 時間培養後、遠心分離により菌体を回収し、BugBuster (メルク) を用いて、菌体を破砕し、遠心分離により発現タンパク質を含む抽出液を調製した。

(3) 昆虫細胞分泌発現系による組換えタンパク質の生産

組換えタンパク質の分泌発現は、Bac-to-Bac システム (Thermo Scientific) と昆虫細胞 Sf9 を用いて行った。すなわち、目的タンパク質の N 末端にミツバチ・メリチン由来の分泌シグナル配列、C 末端側にヒスチジンタグをそれぞれ融合発現するように変異を導入した DNA を PCR 法により作成し、pFastBac1 ベクター (Thermo Scientific) に組み込んだ。次いで、組換えバキュロウィルスを作成し、力価測定を行った。組換えタンパク質の発現は、感染多重度が約 10 となるように Sf9 培養液に加え、17°C で 7 日間培養することにより行った。遠心分離により回収した培養液から、硫酸分画、ニッケルアフィニティークロマトグラフィーに順次供することにより、組換えタンパク質を精製した。

(4) マンヌロン酸 C5-エピメラーゼ活性の評価

マンヌロン酸 C5-エピメラーゼ活性は、アルギン酸から酸分解により調製したポリマンヌロン酸 (PolyM) を基質として調べた。活性は、酵素反応前後における基質の Ca^{2+} によるゲル形成能を指標とし、ウロン酸の定量はカルバゾール硫酸法により行った。また、酵素反応後の基質の構造については、プロトン核磁気共鳴 ($^1\text{H-NMR}$) を測定し、決定した。

(5) アルギン酸分解酵素活性の評価

アルギン酸分解活性は、アルギン酸溶液の粘度変化およびチオバルビツール酸法により調べた。分解物については、薄層クロマトグラフィー (TLC) で解析した。なお、分解物は、陰イオンクロマトグラフィーにより分画し、それぞれエレクトロスプレーイオン化質量分析 (ESI-MS) に供し、得られた質量からそれらの構造を決定した。

(6) カロテノイド合成大腸菌の作出

リコペン合成能をもつ大腸菌は、先に研究代表者らが単離した *Flavobacterium* sp. UMI-01 株のドラフトゲノム解析で見出された 3 種類の候補遺伝子、すなわちゲラニルゲラニルピロリン酸合成酵素様タンパク質 (FICrtE)、フィトエン合成酵素様タンパク質 (FICrtB) およびフィトエン不飽和化酵素 (FICrtI) をコードする遺伝子をそれぞれ発現ベクターの T7 プロモーター下流に組み込み、大腸菌 BL21(DE3) に導入することにより作成した。また、UMI-01 株およびワカメ由来の各リコペン -シクラゼ様タンパク質 (FICrtY および UpLCYB) についても同様の方法で大腸菌に導入した。

(7) カロテノイドの抽出および解析

カロテノイド合成関連遺伝子を導入した組換え大腸菌を 30°C で 16 時間培養後、 0.1 mM となるように IPTG を加え、さらに $17\sim 30^\circ\text{C}$ で最大 72 時間培養した。遠心分離により回収した菌体は凍結乾燥後、アセトンおよび *n*-ヘキサンでカロテノイド成分を抽出し、エバポレーターで濃縮した。カロテノイド組成は、菌体の呈色変化、TLC、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、吸収スペクトルにより分析した。HPLC で精製したカロテノイドについては、大気圧化学イオン化質量分析 (APCI-MS) により質量を測定した。

4. 研究成果

(1) 褐藻由来マンヌロン酸 C5-エピメラーゼの機能発現とその性状

アルギン酸を生合成する生物は極めて限定的であり、褐藻類と一部の細菌類がアルギン酸合成関連酵素をもつことが知られている。これらは類似したアルギン酸生合成経路をもつと考えられているが、褐藻では生合成の最終段階で作用するマンヌロン酸 C5-エピメラーゼのアイソザイムが細菌の場合と比較して多いことが示唆されてきた。マンヌロン酸 C5-エピメラーゼは、マンヌロン酸をグルロン酸へとエピマー化する反応を触媒する。アルギン酸生合成細菌の *Pseudomonas aeruginosa* や *Azotobacter vinelandii* では、同酵素は 1 および 7 個存在する (Franklin *et al.* *J. Bacteriol.* **176**, 1821-1830 (1994); Ertesvåg *et al.* *Mol. Microbiol.* **16**, 719-731 (1995); Svanem *et al.* *J. Bacteriol.* **181**, 68-77 (1999)) ことが知られているが、褐藻ではゲノム解析によりシオミドロでは 28 個 (Michel *et al.*, *New Phytol.* **188**, 82-97 (2010).)、マコンブでは 45 個 (Ye *et al.*, *Nat. Commun.* **6**, 6986 (2015)) の候補遺伝子が確認されている。この違いは、アルギン酸のマンヌロン酸とグルロン酸の組成比に寄与するものと考えられており、褐藻のアルギン酸が細菌のそれと比較して多様な配列をもつことと密接に関連していると推定されてきた。しかしながら、褐藻のマンヌロン酸 C5-エピメラーゼについて、精製酵素を用いて詳細な機能を調べた報告は無く、異種細胞発現系で生産した場合には、不溶性タンパク質として得られたことが報告 (Nyvall *et al.* *Plant Physiol.* **133**, 726-735 (2003)) されているにすぎなかった。

本研究では、初めにマコンブ胞子体の cDNA を用いて、RT-PCR 法により 8 種類のマンヌロン酸 C5-エピメラーゼ様タンパク質をコードする遺伝子の部分配列情報を得た。さらに、トランスクリプトーム解析を行い、マンヌロン酸 C5-エピメラーゼをコードすると予測される 13 種類の mRNA を見出した。これらのうち、RT-PCR で最も出現頻度が高く、トランスクリプトーム解析でも一致する配列の mRNA が確認された SjC5-VI と名付けたタンパク質について、RACE 法により翻訳領域全体をコードする cDNA のクローニングを行った。その結果、SjC5-VI は、499 アミノ酸から成り、N 末端の 21 アミノ酸は分泌シグナル配列と予測された。次いで、SjC5-VI の分泌シグナルに相当する領域を除去した組換えタンパク質の生産を試みた。大腸菌および酵母による細胞内発現では可溶性タンパク質として得ることはできなかったが、バキュロウィルス-昆虫細胞を用いた分泌発現により、培地中に可溶性タンパク質として得られることが明らかになった。また、回収した培地から硫酸分画および Ni-アフィニティークロマトグラフィーにより、組換え SjC5-VI を精製することができた。性状解析の結果、SjC5-VI はマンヌロン酸をグルロン酸へとエピマー化する活性をもつことが明らかになった。至適温度、同 pH、および同 NaCl は、それぞれ 35°C 、pH 7-8、および 300 mM NaCl であり、 1 mM Ca^{2+} により活性が上昇することが分かった。さらに、NMR 解析により、SjC5-VI のエピマー化パターンは、マンヌロン酸が連続している配列を 1 つお

きにグルロン酸へと変換する様式をもつことを明らかにした(図1)。このように本研究において、褐藻のマンヌロン酸 C5-エピメラーゼの機能を初めてタンパク質レベルで実証することに成功した。本発現法は、従来困難であった褐藻のマンヌロン酸 C5-エピメラーゼの機能発現に有効であったことから、アミノ酸配列が類似した他のアイソザイムにも適用可能である可能性が高い。今後、各アイソザイムのエピマー化パターンを明らかにすることで、人工的にアルギン酸の配列を制御するテラーメイドアルギン酸技術の基盤になると考えられる。

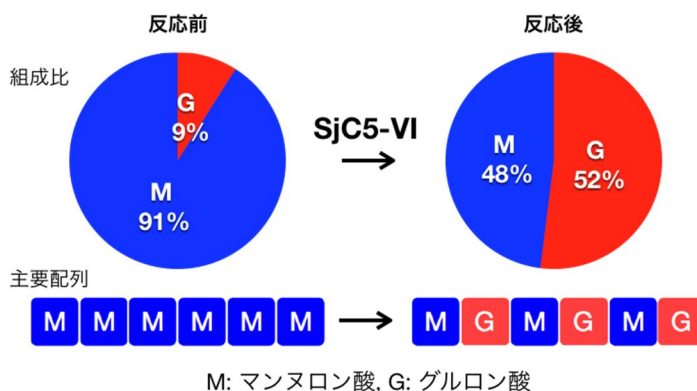


図1. SjC5-VIによるポリマンヌロン酸のエピマー化

(2) 褐藻のアルギン酸分解酵素の同定

褐藻は、自然界でアルギン酸を生合成する代表的かつ主要な生物であるが、その分解・代謝機構については知見がほとんど無かった。特に、褐藻が自らアルギン酸を分解しているのかについては、ゲノム解析やトランスクリプトーム解析を経ても不明なままであった。これは、既知のアルギン酸分解酵素と一次構造が著しく異なる同酵素の存在を示唆していたため、本研究では、マコンブ cDNA 発現ライブラリーを構築し、各組換え大腸菌の細胞抽出液をアルギン酸と混合し、その分解活性を調べた。3,280 個のコロニーの抽出液について調べた結果、1 個のコロニーのものがアルギン酸オリゴ糖を生じることが分かった。この組換え体にクローン化された cDNA の塩基配列を決定したところ、5' 末端側が欠損している cDNA であると推定された。そのため、マコンブ・トランスクリプトームデータベースを検索し、翻訳領域全体と推定される配列を取得した。5' -および 3' -非翻訳領域に相当するプライマーを用いて RT-PCR により目的遺伝子を増幅した結果、N 末端 27 アミノ酸が分泌シグナルと予測される配列を含む 359 アミノ酸から構成されるタンパク質(SjAly)であることが分かった。また、マコンブのゲノム配列と比較すると、SjAly をコードする遺伝子は、7 個のエキソンから構成されていることが明らかになったことから、本タンパク質は褐藻に寄生または共生している細菌由来のものではなく、マコンブがコードしていることが分かった。

SjAly については、昆虫細胞分泌発現系を用いて、成熟型と考えられる 28-359 番目のアミノ酸配列から成る組換えタンパク質の発現に成功した。性状解析の結果、SjAly はエンド型切断様式でアルギン酸を特異的に分解する酵素であることが分かった。さらに、マンヌロン酸が連続している領域を良く分解し、主に不飽和単糖、同 2 糖、および同 3 糖を生じることが分かった(図2)。注目すべき点として、本酵素により不飽和単糖が生じることが挙げられる。アルギン酸由来不飽和単糖は、自発的または酵素反応により開環し、4-deoxy-L-erythro-5-hexoseulose uronate (DEHU)へ変換される。褐藻を摂餌するアルギン酸資化生物では、DEHU は酵素により還元され、Entner-Doudoroff 経路によりピルビン酸へと代謝される(Nishiyama *et al. Mar. Drugs* 15, 37 (2017))。一方、アルギン酸生合成生物である褐藻や一部の細菌類では、これまでに自らアルギン酸を分解し、不飽和単糖を生じる報告は無い。これらの新しい知見は、マコンブが自ら合成したアルギン酸を分解できるだけでなく、最小分解物として DEHU を生じることを示すものであり、アルギン酸生合成生物においてもアルギン酸を DEHU を経てピルビン酸へ変換する経路が存在する可能性を提案した。

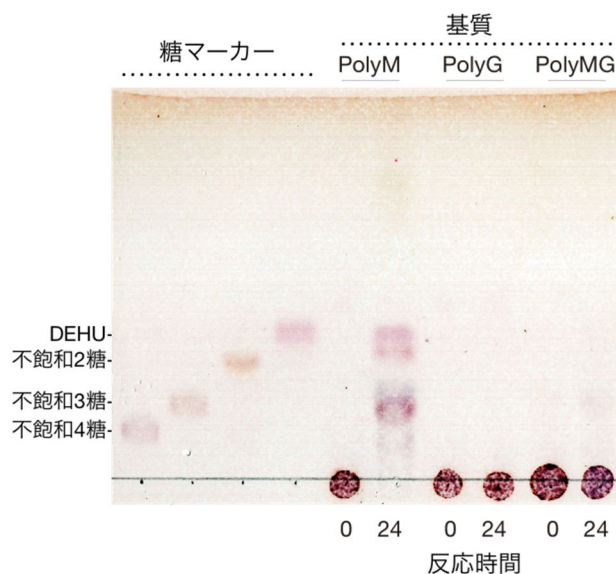


図2. SjAlyによるアルギン酸の分解

(3) カロテノイド生合成大腸菌の作出

大腸菌はカロテノイドを生合成できないが、その前駆体となるファルネシル二リン酸を合成する。本研究では、褐藻のカロテノイド生合成関連酵素の活性評価のために、既報(Misawa *et al. J. Bacteriol.* 172, 6704-6712 (1990))を参照し、プラットフォームとして利用するため

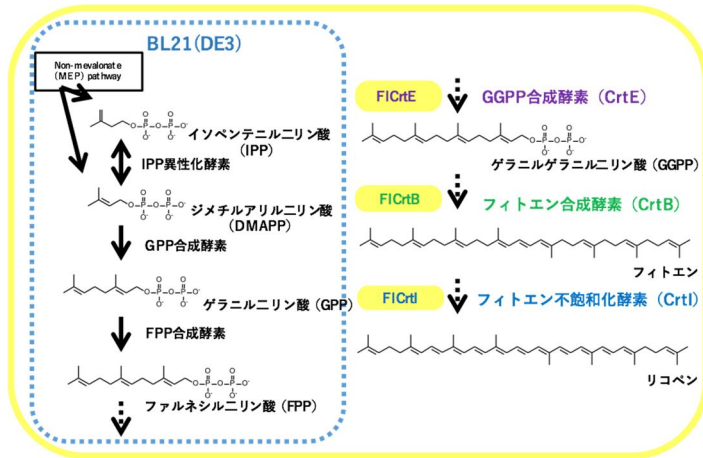


図3. リコペン合成大腸菌の概略

生合成に関わる3つの遺伝子 (*flcrtE*, *flcrtB*, および *flcrtI*) をもつことが分かった。これらの候補遺伝子をクローニング後、大腸菌発現ベクターに組み込み、形質転換した大腸菌を培養した結果、これらの3つの遺伝子が全て発現するように組換えた大腸菌は赤色に呈色した(図4)が、1つでも欠けた場合には呈色は見られなかった。また、赤色に呈色した大腸菌から抽出したカロテノイドは、吸収スペクトル、HPLC、およびTLC解析により、リコペンであることが分かった。このようにして作出したリコペン合成大腸菌を用いて、褐藻のβ-カロテン生合成に関わる酵素の機能解析を進めることとした。

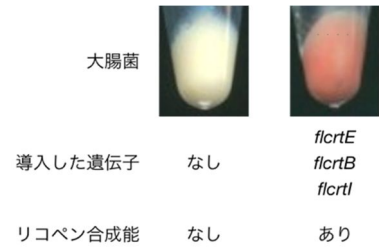


図4. リコペン合成大腸菌の呈色

のリコペン生合成をもつ大腸菌を作出した(図3)。先に単離した UMI-01 株のドラフトゲノム解析の結果、本菌はリコペン

(4) 褐藻由来 β-リコペンシクラーゼの機能同定

ワカメ胞子体のトランスクリプトーム解析により、高等植物や他の藻類で同定されたリコペンシクラーゼと有意な相同性を示すタンパク質 (UpLCYB) をコードする遺伝子を見出した。同遺伝子の非翻訳領域に相当するプライマーを用いて RT-PCR を行い、1,897 bp の塩基配列を決定した。UpLCYB は、625 アミノ酸から構成されており、データベースに登録されている他の褐藻類の相同タンパク質と高い同一率 (75.6-99.8%) を示したが、UpLCYB の N 末端には 76 残基の伸長領域が存在していた。この領域を含む 89 残基は、TargetP server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>) による解析では、葉緑体移行シグナルに相当すると予測されたため、90-625 番目のアミノ酸を成熟型タンパク質と考え、以後の活性評価に用いた。

UpLCYB の機能解析は、同遺伝子を発現ベクターに組み込んだ後、リコペン合成大腸菌を形質転換することにより行った。培養温度が 30°C の場合には、菌体の呈色はリコペン由来の薄い赤色であったが、培養温度が低下するのに伴って菌体は濃黄色を呈し、17°C が最適であることが分かった(図5)。これは、ワカメの生息温度を考慮すると、25-30°C では UpLCYB の熱安定性が低く十分な活性を示さないためと推察された。最適条件下で培養後の大腸菌から抽出したカロテノイド成分について調べた結果、β-カロテンが蓄積していることが明らかになった。このように、UpLCYB はリコペンを基質として環化を触媒し、β-カロテンを生じる機能をもつことを明らかにした。これは、褐藻類で初めてカロテノイド生合成関連酵素の機能を実証した結果である。また、本研究で使用した大腸菌の低温培養法は、褐藻のキサントフィル生合成関連酵素の機能解析にも有用であることを示唆するものと考えられた。

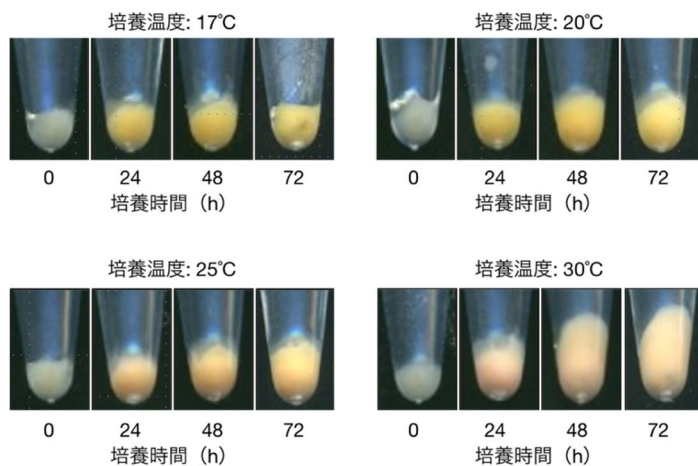


図5. リコペン合成大腸菌を用いたワカメ・リコペンβシクラーゼの活性評価

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Akira Inoue, Takao Ojima	4. 巻 9
2. 論文標題 Functional identification of alginate lyase from the brown alga <i>Saccharina japonica</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4937
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-41351-6	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 Akira Inoue, Toshiyuki Iwayama, Takao Ojima	4. 巻 85
2. 論文標題 Complementary DNA cloning and functional analysis of lycopene -cyclase in the brown alga <i>Undaria pinnatifida</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Fisheries Science	6. 最初と最後の頁 717-729
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12562-019-01314-2	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 Akira Inoue	4. 巻 605
2. 論文標題 Characterization of PL-7 alginate lyases from marine organisms and their application	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Methods in Enzymology	6. 最初と最後の頁 499-524
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/bs.mie.2018.01.030	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 Akira Inoue, Aya Satoh, Mio Morishita, Yuko Tokunaga, Takuya Miyakawa, Masaru Tanokura, Takao Ojima	4. 巻 16
2. 論文標題 Functional heterologous expression and characterization of mannuronan C5-epimerase from the brown alga <i>Saccharina japonica</i>	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Algal Research	6. 最初と最後の頁 282-291
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.algal.2016.03.030	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6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 井上 晶、西山竜士、尾島孝男
2. 発表標題 褐藻類のアルギン酸由来不飽和単糖還元酵素
3. 学会等名 平成31年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩山俊幸、井上 晶、尾島孝男
2. 発表標題 褐藻類リコペン シクラーゼのcDNAクローニングと機能同定
3. 学会等名 平成30年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井上 晶、岩山俊幸、尾島孝男
2. 発表標題 褐藻類リコペン シクラーゼの性状解析
3. 学会等名 第20回マリンバイオテクノロジー学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akira Inoue, Toshiyuki Iwayama, Takao Ojima
2. 発表標題 Functional identification of brown algal lycopene -cyclase
3. 学会等名 The 8th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井上 晶、尾島 孝男
2. 発表標題 褐藻類のアルギン酸分解酵素の同定と性状解析
3. 学会等名 平成30年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井上 晶
2. 発表標題 難分解性多糖関連酵素-アルギン酸修飾酵素-
3. 学会等名 平成29年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Takao Ojima, Ryuji Nishiyama, Akira Inoue	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Taylor & Francis	5. 総ページ数 495-510
3. 書名 Enzymatic Technologies for Marine Polysaccharides	

〔産業財産権〕

〔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	尾島 孝男 (Ojima Takao) (30160865)	北海道大学・水産科学研究院・教授 (10101)	