

令和元年6月19日現在

機関番号：13102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K06870

研究課題名(和文)糸状菌のセルラーゼ誘導生産に与える -グルコシダーゼ変異のインパクト

研究課題名(英文)The impact of beta-glucosidase on cellulase production by filamentous fungi

研究代表者

志田 洋介 (Shida, Yosuke)

長岡技術科学大学・工学研究科・助教

研究者番号：70573880

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：糸状菌 *Trichoderma reesei* において、菌体内の -グルコシダーゼ BGLII の409番目のアミノ酸変異がセルラーゼの高生産化をもたらす。BGLII の変異とセルラーゼ生産との関連を明らかにするため、変異箇所に飽和変異導入を行い *T. reesei* のセルラーゼ生産に与える影響を解析した。その結果、最も高いセルラーゼ生産性を与えた変異は V409T 変異であった。異種宿主発現による変異型 BGLII の解析から、V409T 変異は加水分解活性を野生株の2倍以上に向上させ、オリゴ糖を生成する糖転移活性を強化することが明らかとなった。また、これらがセルラーゼ生産の誘導物質となっていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糸状菌 *Trichoderma reesei* は植物バイオマス分解酵素(セルラーゼ)を大量に生産するため、非常に有用な菌株である。本菌がセルラーゼを生産するためには誘導物質が必要であるが、その誘導物質生成の一端を担っている菌体内酵素 -グルコシダーゼの変異がセルラーゼ生産に与える影響を解析し、409番目のアミノ酸をバリンからスレオニンに変異させることが最も高いセルラーゼ生産性をもたらした。本研究の成果は、本菌の工業利用を促進するとともに、-グルコシダーゼの酵素機能を理解する上で大きな意義がある。

研究成果の概要(英文)：In the filamentous fungus *Trichoderma reesei*, the amino acid mutation at position 409 of intracellular -glucosidase BGLII leads to enhanced production of cellulase. In order to clarify the relationship between BGLII mutation and cellulase production, saturation mutagenesis was introduced at the mutation site and its influence on cellulase production of *T. reesei* was analyzed. As a result, the mutation that gave the highest cellulase productivity was the V409T mutation. Analysis of mutant BGLII by heterologous expression revealed that the V409T mutation improves the hydrolysis activity more than twice that of the wild strain and enhances the transglycosylation activity to generate oligosaccharides. Moreover, its transglycosylation products were suggested that they are the inducers of cellulase production.

研究分野：応用微生物学

キーワード：誘導発現メカニズム *Trichoderma reesei* -グルコシダーゼ セルラーゼ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

糸状菌 *Trichoderma reesei* は植物細胞壁分解酵素であるセルラーゼを大量に生産することから、植物バイオマスの工業利用のために重要な微生物である。*T. reesei* のセルラーゼ生産は誘導的であり、誘導物質の存在下でのみセルラーゼの発現が活性化される。糸状菌由来のセルラーゼの工業的な重要性から、*T. reesei* をモデル微生物としてセルラーゼ誘導発現メカニズムの研究が盛んに行われてきた。

*T. reesei* は炭素源としてセルロースが存在する時に誘導的にセルラーゼを生産する。しかしながら、セルロースは不溶性のポリマーであるため、菌体内に直接取り込まれることは不可能である。そのため、*T. reesei* は極めて微量のセルラーゼを構成的に発現しており、これによりセルロースから生じるセロピオースまたはオリゴ糖をセルラーゼ発現の誘導物質として認識していると考えられている。セルロース分解産物として生じるセロオリゴ糖のうち、最小のセルロース単位であるセロピオースに関しては、セルラーゼ生産性糸状菌である *Aspergillus* 属や *Neurospora crassa* においてセロピオースによるセルラーゼの誘導生産が報告されており、セロピオースはセルラーゼ生産の主要な誘導物質と考えられている。しかしながら、*T. reesei* 標準株 QM9414 においてはセロピオースによるセルラーゼの誘導能は極めて低く、これは菌体外-β-グルコシダーゼ (BGL) によってセロピオースが容易にグルコースへと分解されるためと考えられている。これにより分解され生じたグルコースは炭素源異化抑制を引き起こし、セルラーゼの生産を強く抑制する。セロピオースと比較して、ソホロースは極めて強いセルラーゼ誘導能を示す。これは -β-グルコシダーゼ (BGL) の糖転移活性によってセロピオースから生じていると考えられている。これまでに、菌体外 BGL である BGLI、CEL3b および CEL3e が糖転位活性を有していることが判明している (1)。これらの菌体外 BGL がセルロースの分解産物であるセロオリゴ糖やセロピオースまたはグルコースをドナーとして糖転移活性により誘導物質を生成し、さらに菌体内へと取り込まれてセルラーゼの誘導のトリガーとなっている可能性がある。また、菌体内 BGL においても、BGLII および CEL1b の 2 種類が糖転位活性を有していることが明らかとなっている (2, 3)。そのため、菌体内へ取り込まれたセロピオースが菌体内 BGL の糖転移活性によりソホロースや他の誘導物質に変換されている可能性も考えられる (図 1)。*T. reesei* は少なくとも 10 種の BGL を有しているが、どの BGL が誘導物質生産に大きく寄与しているのかは不明であり、さらにセルラーゼ誘導発現の真の誘導物質は何か? という問いに対する答えは得られていない。研究代表者は、*T. reesei* のセルラーゼ高生産変異株の系統樹を用いた比較ゲノム解析を通じてセルラーゼ高生産化因子の解明を進めてきた (4-6)。変異株の一つである PC-3-7 は、通常なら非常に弱いセルラーゼの誘導物質であるセロピオースを炭素源とした時に大量のセルラーゼを生産する。そのため、PC-3-7 はセルラーゼ生産メカニズムを解明するうえで鍵となる菌株である。研究代表者は PC-3-7 において菌体内 -β-グルコシダーゼである BGLII の 409 のアミノ酸 V が F に変異していることを見出した (6)。BGLII は *T. reesei* が生産する BGL 10 種のうち結晶セルロース培養における発現量が最も高く、*T. reesei* のセルロース代謝に重要な役割を果たしていることが推測される。PC-3-7 で生じた BGLII の変異 (V409F) を標準株 QM9414 に導入したところ、セロピオースによるセルラーゼ生産性が向上しただけでなく、セルロースによるセルラーゼ生産性も大きく向上した。BGLII の変異が *T. reesei* のセロピオースによるセルラーゼ生産性に影響を与えることから、BGLII はセルラーゼ誘導において重要な酵素であることは明らかである。しかしながら、BGLII に生じた変異が酵素機能にどのような影響を与えているのか、BGLII どの糖転移産物がセルラーゼ生産に寄与しているかは不明であった。

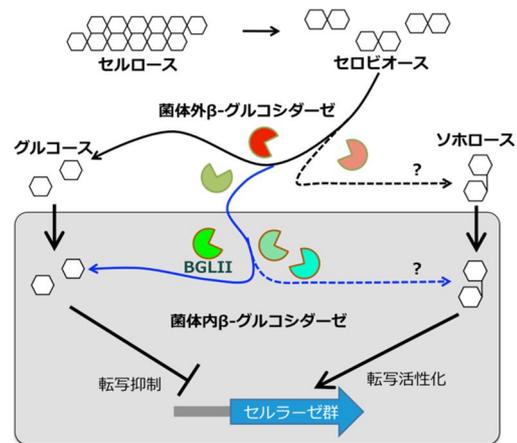


図 1 *T. reesei* のセルラーゼ誘導モデル

### 2. 研究の目的

*T. reesei* のセルラーゼ誘導生産メカニズムを明らかにするには、セルラーゼ高生産変異株の比較ゲノム解析、誘導物質生産に関与していると考えられる BGL 群の生理学的役割の解明、ゲノムデータを活用した転写調節因子の網羅的な機能解析、誘導物質の認識・取り込みに関与するタンパク質・トランスポーターの解析が挙げられる。この中で、本研究では BGLII の機能に焦点を絞り、*T. reesei* セルラーゼ生産における生理学的役割を明らかにする。具体的には、BGLII の酵素学的性質、特に糖転移活性とそれに与える変異点の影響を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

・ *T. reesei* における変異型 BGLII の発現

野生型 BGLII 遺伝子とその上流領域と下流領域、選択マーカーである *pyr4* を有する相同組換え用 DNA 断片を pUC118 にクローニングし、発現用 DNA 断片とした。409 番目のアミノ酸に変異を導入するため、PCR を用いた部位特異的変異導入を行った。*T. reesei* の形質転換はプロトプラスト-PEG 法を用い、相同組換えおよびシングルコピーの形質転換体を解析に用いた。

・変異型 BGLII の異種宿主発現

BGLII の *E. coli* における発現には、発現用ベクター pET-22b (Novagen) を用いた。*P. pastoris* 発現用ベクターは pPICZ A ベクター (Invitrogen) を用いた。BGLII の 409 番目のアミノ酸 (V) を他の 19 種のアミノ酸に変異させた BGLII の cDNA は研究協力者である矢追克郎博士にご供いただいた。発現したタンパク質は His-タグアフィニティー精製して用いた。

・糖転移活性測定

100  $\mu$ g の精製 BGLII を用いて 20% セロピオースを基質とした 50 mM リン酸緩衝液 (pH 6.5) 中で 40 °C、24 時間反応させた。反応液を配位子交換 HPLC、サイズ排除 HPLC および薄層クロマトグラフィーにて解析した。

・タンパク質の分析

CMCase 活性測定は、カルボキシメチルセルロース (CMC) を基質として pH 5.0、50 で行った。セロピアーゼ活性測定はセロピオースを基質として pH 6.5、40 で行った。

タンパク質量はブラッドフォード法で行い、ウシガンマグロブリン相当として算出した。

#### 4. 研究成果

##### (1) *T. reesei* における BGLII の 409 番目のアミノ酸の saturated mutagenesis

セルラーゼ高生産変異

株 PC-3-7 において、BGLII

の 409 番目のアミノ酸 V

が F に変異することがセ

ロピオースによるセルラ

ーゼの高生産化の要因の

一つであることが明らか

となっている。この変異

(V409F) を標準株 QM9414

に導入することで、セロ

ピオースおよびセルロ

ースを炭素源としたときの

セルラーゼ生産性が向上

することも明らかとなっ

ている。しかしながら、

409 番目のアミノ酸が F へ

と変異したことが最良の

結果であったのか、他の

アミノ酸へ変異すること

でさらに高い効果をもた

らすのかは不明である。

そこで、409 番目のアミノ

酸を種々のアミノ酸に変

化させた BGLII を発現す

る *T. reesei* 株を構築し、

変異がセルラーゼ生産に

与える影響を解析した。

炭素源としてセルロース

またはセロピオースを添

加した培地で BGLII 変異

株を培養し、生産される

酵素の CMCase 活性および

菌体外タンパク質量を評

価した。その結果、セルロ

ース培養では V409F、

V409A、V409G、V409H、

V409K、V409N、V409P、

V409Q、V409T、V409W および V409Y の計 11 株が QM9414 のよりも高い酵素生産性を示し、中でも V409T が最も高い CMCase 活性値を示した (図 1)。

セロピオース培養においては、セルロース培養と同様に V409T が最も高い CMCase 活性を示し、V409P および V409Q も次いで高い活性を示した (図 2)。

また、セルロース培養とは対照的に活性がほぼ得られない BGLII 変異株も 6 種 (V409A、V409E、V409I、V409K、V409L、V409W) 存在した。

高活性を示したそれぞれの変異はアミノ酸の特性や分子の大きさ等で説明できる法則性がなく、

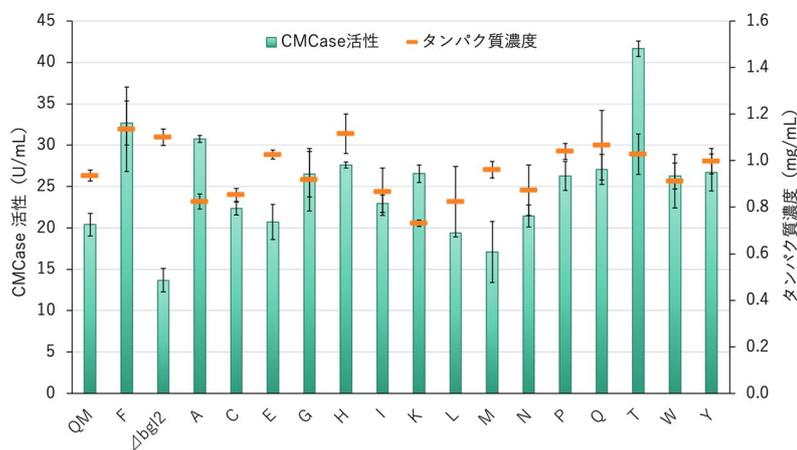


図 2 セルロースを炭素源とした BGLII 変異体発現株のセルラーゼ活性及びタンパク質生産性 (QM:QM9414、 $\Delta$ bg12:BGLII 破壊株)

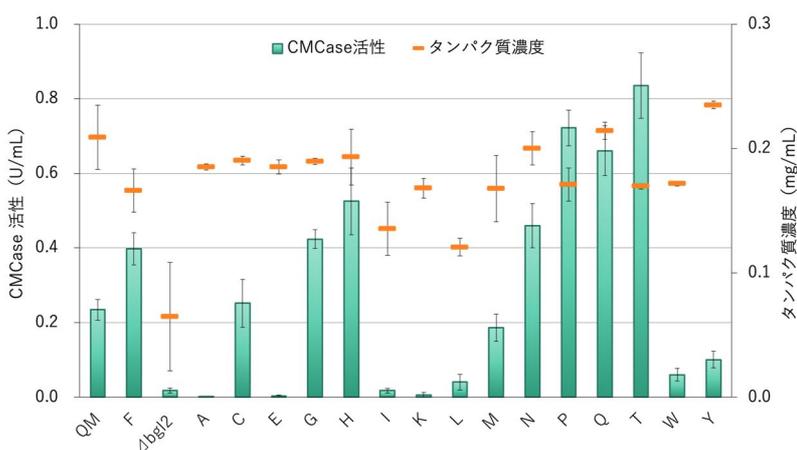


図 3 セロピオースを炭素源とした BGLII 変異体発現株のセルラーゼ活性及びタンパク質生産性 (QM:QM9414、 $\Delta$ bg12:BGLII 破壊株)

それぞれの変異が *T. reesei* のセルラーゼ生産性に影響を与えた原因は現段階では不明である。

## (2) 異種宿主発現による変異型 BGLII の解析

BGLII は菌体内で最も多量に発現している BGL であるため、項目(1)で取得した *T. reesei* の各種 BGLII 変異株において菌体内セロビアーゼ活性に違いが生じる可能性があった。そこで変異株の菌体抽出液を調整し、菌体内セロビアーゼ活性を解析した。その結果、QM9414 と同等のセロビアーゼ活性を有していたのは 18 株中 4 株 (V409C、V409I、V409L および V409T) であり、変異が挿入されることによって多数の変異株の菌体内セロビアーゼ活性が低下していることが判明した。変異株と親株の違いは BGLII の変異のみであるため、菌体内のセロビアーゼ活性の変化は BGLII のセロビアーゼ活性の変化を反映していると考えられた。そこで、409 番目の V をそれぞれのアミノ酸に変異させることが BGLII の酵素活性にどのような影響を与えるのかを明らかにするため、異種宿主において各種 BGLII を発現させ、その酵素活性を解析した。

大腸菌および酵母を宿主として発現を検討した結果、大腸菌において可溶性タンパク質として発現した変異体は V409A、V409L、V409I、V409S、V409T、V409C、不溶性タンパク質として発現した変異体は V409F、V409H、V409P、V409G、V409Q、V409D、V409E、V409K、V409R、発現しなかったものは V409W、V409Y、V409M、V409N であった。以上の結果は、BGLII の 409 番目のアミノ酸は、大腸菌においてその構造を維持するために重要な残基であることを示唆している。不溶性タンパク質として発現した変異体についてリフォールディングを試みたが、可溶化に成功したものは V409F のみであった。そこで、*E. coli* 宿主をフォールディング性能に優れた宿主へ変更して発現を試みた。その結果、V409G、V409P について可溶性タンパク質としての発現に成功した。また、可溶性画分への発現が確認されない変異 BGLII について、発現宿主をメタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* に変更し、発現検討を行った。遺伝子導入した *P. pastoris* 菌体破砕液を用いて発現解析を行った結果、V409H の発現に成功した。

取得した各種変異型 BGLII について、セロビアーゼ活性を比較した(表 1)。PC-3-7 で生じた変異でセルラーゼ高生産性の要因である BGLII (V409F) は野生型 BGLII と比較するとわずかなセロビアーゼ活性を有しており、加水分解能が残存していることが明らかとなった。その他の変異型 BGLII については、野生型 BGLII を大きく上回る活性を示したものは V409S、V409T、V409C であった。また、V409G、V409P、V409H はその活性を大きく失っており、野生型の 10%以下であった。本研究の開始時点で、*T. reesei* におけるセルラーゼ誘導メカニズムにおいて、BGLII (V409F) は加水分解活性が著しく減少していること、しかしながら糖転位活性は残存していることの 2 点から、PC-3-7 は炭素源異化抑制が起こりにくい環境下で誘導物質が生成されることによってセルラーゼ生産を向上させていることが予測されている。しかしながら、V409T については加水分解活性が強化されていること、*T. reesei* における発現株においてセルラーゼ生産性が向上していたことから(図 1、2)、V409F とは異なる要因で *T. reesei* のセルラーゼ生産性を向上させていることが示唆された。

表 1 本研究における BGLII の 409 番目のアミノ酸の変異解析

	異種宿主による変異型 BGLII の酵素学的解析				<i>T. reesei</i> QM9414 における BGLII の変異解析		
	酵素発現	セロビアーゼ活性 (U/mg)	最長糖転移産物	糖転位産物を炭素源とした際の CMCase 活性 (U/mL)	セルロース培養時における CMCase 最大活性 (U/mL)	セロビオース培養時における CMCase 最大活性 (U/mL)	菌体内抽出液のセロビアーゼ活性 (U/mg)
QM9414	○	17.1	5 糖	0.39	20.8	0.23	7.52
Δ <i>bgl2</i>	-	-	-	-	15.0	0.02	0
V409F	○	0.003	4 糖	-	33.2	0.41	0.91
V409A	○	7.8	5 糖	0.34	30.8	0.02	0.25
V409L	○	15.4	5 糖	0.33	20.9	0.05	5.79
V409I	○	8.5	5 糖	0.52	22.9	0.03	7.00
V409G	○	1.4	4 糖	-	26.5	0.42	3.26
V409H	○ ( <i>P. pastoris</i> )	0.37	4 糖	-	30.5	0.53	1.15
V409W	×	-	-	-	31.9	0.06	0.57
V409Y	×	-	-	-	26.7	0.12	0.41
V409C	○	31.1	5 糖	0.41	23.1	0.25	7.62
V409M	×	-	-	-	17.5	0.19	3.25
V409N	×	-	-	-	26.9	0.46	1.85
V409Q	×	-	-	-	27.4	0.69	0.94
V409S	○	35.6	6 糖	0.58	-	-	-
V409T	○	36.5	6 糖	0.58	41.7	0.84	13.32
V409P	○	0.94	4 糖	-	26.3	0.72	1.68
V409D	×	-	-	-	-	-	-
V409E	×	-	-	-	22.9	0.13	0.75
V409K	×	-	-	-	26.6	0.001	0.39
V409R	×	-	-	-	-	-	-

そこで、V409T および V409T と同等のセロビアーゼ活性を示す V409C と V409S に関して糖転移活性を解析した。その結果、配位子 HPLC の結果からは、3 種すべての変異 BGL において標準物質に用いたものではない種々の未知の糖が糖転移産物として検出された。また、サイズ排除 HPLC で糖転移産物の分子量を解析したところ、3 種すべての変異 BGL において 3 糖以上のセロオリゴ糖を生成していることが明らかとなり特に V409S および V409T については 5 糖や 6 糖を多く

生成していることが明らかとなった。V409C、V409S、V409T によって生じた糖転移産物がセルラーゼの誘導能を有しているのかを解析するため、糖転位産物を炭素源とした際のセルラーゼ生産量を解析した。調製した野生型および 3 種の変異型 BGLII 由来糖転位産物を全糖量が 1 % となるように *T. reesei* 培地にそれぞれ添加し、QM9414 の培養を行った。その結果、セロビオースを用いたコントロールではほとんどセルラーゼを生産していないのに対して、糖転位産物を炭素源とした培養ではセルラーゼを生産していることが明らかとなった。特に、BGLII (V409S)、BGLII (V409T) の糖転位産物を炭素源とした培養においては、他の産物よりも 1.5 倍程度多くセルラーゼが生産されていることが明らかとなった(図 3)。この結果からも、V409T 変異は *T. reesei* のセルラーゼ高生産化に寄与することが強く示唆された。

これら 3 種の変異体が生成する糖転移産物を薄層クロマトグラフィーにて分析したところ、特に 3 糖と 4 糖の間で糖スタンダードと一致しないものが見つかり観察された(図 4)。ソホロースやラミナリビオースが生成していたことから、これらは -1,2 結合、-1,3 結合および -1,4 結合から成る新規の三糖および四糖である可能性がある。

本研究の成果をまとめると、以下の通りである

- *T. reesei* を宿主とした BGLII の 409 番目のアミノ酸に関して 20 種のアミノ酸のうち 18 種のアミノ酸に変異させた変異ライブラリを構築した。その中で、セロビオースを炭素源にしたときに V409F 変異に匹敵するセルラーゼ生産向上効果を示したものは 3 種 (V409G、V409H、V409N)、V409F よりも高い効果を示したものは 3 種 (V409Q、V409T、V409P) であった。また、誘導物質として用いたセルロースとセロビオースで変異株の影響が異なった原因は、セルロースから生じるセロオリゴ糖にある可能性がある。しかしながら、両炭素源で最も高いセルラーゼ生産性を示したものは V409T 変異であった。
- 野生型および変異型 BGLII 10 種について異種宿主発現に成功し、その酵素学的性質を解析した。V409T 変異は加水分解活性が野生株の 2 倍以上に向上しており、オリゴ糖を生成する糖転移活性が強化されていることが明らかになった。

本研究において明らかとなった V409F および V409T のセロビアーゼ活性および糖転位活性はどちらもパターンがまったく異なったことから、性質がまったく異なった BGLII であることが明らかとなった。V409F はセロビアーゼ活性が極めて低いために炭素源異化抑制が発生しにくく、かつ糖転位活性の残存により生成された糖転位産物を蓄積してセルラーゼ誘導が引き起こされる可能性がある。しかしながら、V409T のセロビアーゼ活性が野生型 BGLII よりも高いことから、炭素源異化抑制が発生しやすい環境であると考えられるが、糖転位活性も非常に高いことから糖転位産物を多量に蓄積させている、もしくはセルラーゼの誘導能が非常に優れたオリゴ糖産物を生成していることが推測される。また、分解された多量のグルコースも糖転位反応に用い、誘導物質の合成に関与している可能性もある。

#### < 引用文献 >

- 1) Guo B, Sato N, Biely P, Amano Y, Nozaki K. (2016), "Comparison of catalytic properties of multiple  $\alpha$ -glucosidases of *Trichoderma reesei*" Appl. Microbiol. Biotechnol. 2016
- 2) Saloheimo M, Kuja-Panula J, Ylösmäki E, Ward M, Penttilä M. "Enzymatic properties and intracellular localization of the novel *Trichoderma reesei*  $\alpha$ -glucosidase BGLII (Cel1A)" Appl. Environ. Microbiol. 68(9): 4546-53 (2002)
- 3) Zhou Q, Xu J, Kou Y, Lv X, Zhang X, Zhao G, Zhang W, Chen G, Liu W. "Differential

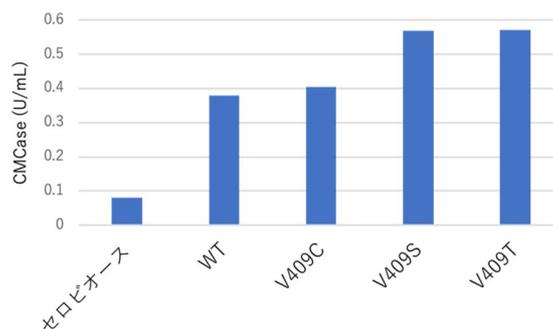


図 3 V409C、V409S、V409T の糖転移産物を炭素源とした *T. reesei* のセルラーゼ生産

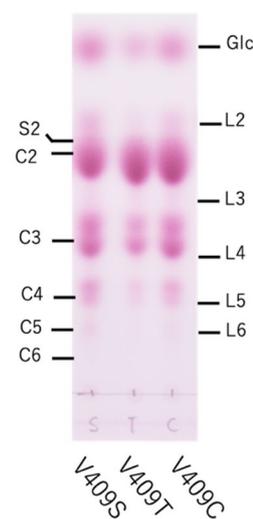


図 4 V409C、V409S、V409T の糖転移産物の薄層クロマトグラフィー  
Glc: グルコース、S2: ソホロース、C2-6: セロオリゴ糖、L2-6: ラミナリオリゴ糖

involvement of  $\beta$ -glucosidases from *Hypocrea jecorina* in rapid induction of cellulase genes by cellulose and cellobiose” Eukaryot. Cell. 11(11): 1371-81 (2012)

- 4) Porciuncula JD, Furukawa T, Mori K, Shida Y, Hirakawa H, Tashiro K, Kuhara S, Nakagawa S, Morikawa Y, Ogasawara W. “Single Nucleotide Polymorphism Analysis of a *Trichoderma reesei* Hyper-Cellulolytic Mutant Developed in Japan” Biosci. Biotechnol. Biochem. 77(3), p534-543 (2013)
- 5) Nitta M, Furukawa T, Shida Y, Mori K, Kuhara S, Morikawa Y, Ogasawara W. “A new Zn(II)(2)Cys(6)-type transcription factor BgIR regulates  $\beta$ -glucosidase expression in *Trichoderma reesei*” Fungal Genet. Biol., 49(5), p388-397 (2012)
- 6) Shida Y, Yamaguchi K, Nitta M, Nakamura A, Takahashi M, Kidokoro S, Mori K, Tashiro K, Kuhara S, Matsuzawa T, Yaoi K, Sakamoto Y, Tanaka N, Morikawa Y, Ogasawara W. “The impact of a single-nucleotide mutation of *bg12* on cellulase induction in a *Trichoderma reesei* mutant” Biotechnol. Biofuels 8:230 (2015)

## 5 . 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 1 件)

Shida Y, Furukawa T, Ogasawara W. “Deciphering the molecular mechanisms behind cellulase production in *Trichoderma reesei*, the hyper-cellulolytic filamentous fungus” Biosci. Biotechnol. Biochem. 80(9), 1712-1729 (2016)

### 〔学会発表〕(計 7 件)

Yosuke Shida, Kaori Yamaguchi, Mikiko Nitta, Ayana Nakamura, Machiko Takahashi, Shun-ichi Kidokoro, Kazuki Mori, Kosuke Tashiro, Satoru Kuhara, Tomohiko Matsuzawa, Katsuro Yaoi, Yasumitsu Sakamoto, Nobutada Tanaka, Yasushi Morikawa, Wataru Ogasawara, The effect of beta-glucosidase mutation in cellulolytic fungus *Trichoderma reesei* mutant, International Biotechnology Symposium 2016, Melbourne, Australia, 24 - 27, October, 2016

Ayana Nakamura, Machiko Takahashi, Tomohiko Matsuzawa, Yosuke Shida, Katsuro Yaoi, Wataru Ogasawara, The physiological role of BGLII in *Trichoderma reesei*, The 5<sup>th</sup> International GIGAKU Conference in Nagaoka (IGCN2016), 長岡, 2016年10月6日-7日  
中村 彩奈, 高橋 真智子, 松沢 智彦, 志田 洋介, 小笠原 渉, 「糸状菌 *Trichoderma reesei* における BGLII の生理学的役割」第 30 回セルラーゼ研究会, 長野, 2016年7月8日-9日

「糸状菌 *Trichoderma reesei* におけるセルロース認識メカニズム」第 30 回セルラーゼ研究会, 長野, 2016年7月8日-9日

「微生物の生き様を知る - 糸状菌 *Trichoderma reesei* -」第 10 回北陸バイオシンポジウム, 富山, 2017年11月10-11日

志田 洋介, 中村 彩奈, 服部 祥吾, 松沢 智彦, 矢追 克郎, 小笠原 渉「*T. reesei* のセルラーゼ生産性を向上させる - グルコシダーゼの変異」日本農芸化学会 2018 年大会, 名古屋, 2018年3月15-18日

服部 祥吾, 中村 彩奈, 志田 洋介, 小笠原 渉, 糸状菌 *Trichoderma reesei* 由来 BGL の変異が酵素学的性質に与える影響, セルラーゼ研究会第 32 回大会, 長野, 2018年7月13日-14日

### 〔その他〕

ホームページ等

<http://www.microorganisms.jp/ogasawara-lab/#intro>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：矢追克郎

ローマ字氏名：(YAOI, katsuro)

研究協力者氏名：城所俊一

ローマ字氏名：(KIDOKORO, syunichi)

研究協力者氏名：奥直也

ローマ字氏名：(OKU, naoya)

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。