

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 7 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2012～2014

課題番号：24248030

研究課題名(和文)多機能型担子菌による統合木質バイオリファイナリープロセスの構築

研究課題名(英文)The construction of integrated fungal fermentation process (IFFP)

## 研究代表者

近藤 隆一郎(Kondo, Ryuichiro)

九州大学・(連合)農学研究科(研究院)・特任教授

研究者番号：80091370

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,300,000円

研究成果の概要(和文)：地球環境が悪化する中で、さらなる低炭素社会の実現、食料不足問題およびエネルギー供給問題の解決は人類の最重要課題となっている。

本課題では食料問題と競合しない未利用バイオマスである木質資源を活用するため、統合木質バイオリファイナリープロセス(Integrated Fungal Fermentation Process (IFFP))の構築を目的に、木質分解能を強化し、さらに高レベルのアルコール発酵能を付与した多機能性担子菌の分子育種を行うことで、木質バイオマスよりワンステップでエタノールを生産する技術開発を行った。

研究成果の概要(英文)：Future expansion has to be based on bioethanol from lignocellulosic materials, such as agricultural residues and forest residues, as well as from dedicated crops.

The white-rot fungus *Phlebia* sp. strain MG-60 was proposed as a candidate for integrated fungal fermentation process (IFFP), which unifies aerobic delignification and semi-aerobic consolidated biological processing by a single microorganism based on its ability to efficiently degrade lignin and ferment the sugars from cellulose. To improve IFFP, the development of a molecular breeding method for strain MG-60 is necessary. The study is to establish the transformation method for the strain MG-60 and to obtain the over-expressing transformants of lignin-degrading enzyme, manganese peroxidase. The MG-60 transformation provides a useful methodology for widely accessible to interested researches. These results indicate the possibility of metabolic engineering of strain MG-60 for improving IFFP.

研究分野：木質化学

キーワード：バイオエタノール 白色腐朽菌 褐色腐朽菌 リグニン 微生物分解 広葉樹 針葉樹 アルコール発酵

## 1. 研究開始当初の背景

地球環境が悪化する中で、さらなる低炭素社会の実現、食料不足問題およびエネルギー供給問題の解決は人類の最重要課題となっている。

## 2. 研究の目的

本課題では食料問題と競合しない未利用バイオマスである木質資源を活用するための「多機能型担子菌による統合木質バイオリアイナリープロセス(Integrated Fungal Fermentation Process (IFFP))」の構築を目的に、木質分解能(リグニン除去、セルロース分解)を強化し、さらには従来では達成し得ないレベルのアルコール発酵能を付与した多機能性担子菌の分子育種を行うことで、木質バイオマスよりワンステップでエタノールを生産する技術開発を行う。本提案を具体化することで、木質資源のエネルギー利用効率を飛躍的に向上させる技術開発に挑む。

## 3. 研究の方法

### 3-1 広葉樹対応型 IFFP の確立

#### 3-1-1 グリオキサールオキシダーゼ(GLOX)遺伝子高発現がリグニン生分解に与える影響

宿主として高活性リグニン分解菌 *Phanerochaete sordida* YK-624 株を使用した。本菌由来の GLOX 遺伝子 (*glx*) 及び木材腐朽時特異的発現遺伝子プロモーター (*bee2 pro*) を連結したプラスミドを構築し、これと URA5 遺伝子発現プラスミドを *P. sordida* YK-624 株由来ウラシル要求性変異株 UV-64 株に共形質転換した。ウラシル非要求性株を選抜し、さらに *glx* 特異的プライマーを用いてゲノム PCR を行い、*glx* 導入株を選抜した。得られた株の液体培地におけるマンガンペルオキシダーゼ (MnP) 活性及び GLOX 活性を測定した。またこれらの株をブナ木粉培地に接種し、28 日間 30°C で静置培養し、培養後リグニン分解率を求めた。

#### 3-1-2 アルコール発酵能改善の試み

宿主として *P. sordida* YK-624 株を使用した。本菌由来ピルビン酸デカルボキシラーゼ (PDC) 遺伝子 (*pdg*) 及びグリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GPD) 遺伝子プロモーターを連結した発現プラスミドを構築し、URA5 遺伝子発現プラスミドとともに UV-64 株に共形質転換した。3-1-1 と同じ要領で遺伝子導入株を取得し、得られた株のエタノール産生能を評価した。また、最もエタノール産生能の高かった株を用いて、4 週間脱リグニン処理後、発酵培地を添加して、発酵試験を行った。

また、アルコール発酵能に優れた白色腐朽菌 *Phlebia* sp. MG-60 株を用いて、次世代シーケンサー MiSeq による発現差解析を行い、アルコール発酵時に高発現している遺伝子群の解析を行った。

#### 3-1-3 セルラーゼ遺伝子高発現株の取得及びその効果について

宿主として *P. sordida* YK-624 株を用い、本菌よりエンドグルカナーゼ、エキソグルカナーゼ、 $\beta$ -グルコシダーゼ遺伝子のクローニングを行った。

これら遺伝子のうち、エンドグルカナーゼ及び  $\beta$ -グルコシダーゼ遺伝子をタンデムに連結した強制発現プラスミドを構築し、これを *P. sordida* YK-624 株に導入した。得られた遺伝子導入株の上記酵素活性を測定し、最も活性の高かった株をブナ木粉に接種し、木材分解特性を調査した。

### 3-2 針葉樹対応型 IFFP の確立

#### 3-2-1 アルコール発酵能改善の試み

供試菌としてキチリメンタケを使用した。本菌より PDC 遺伝子をクローニングし、これを GDP 遺伝子プロモーターを用いて強制発現させ、遺伝子導入株のエタノール産生能を評価した。

またラッカーゼを産生するキチリメンタケ L61 株を用いて、スギ材の IFFP を試みた。28 日間の脱リグニン処理後、発酵液体培地を添加し所定期間半嫌気条件下にて培養し、エタノール産生能を調査した。

### 3-3 IFFP 各要素技術の強化

#### 3-3-1 無機塩類添加が脱リグニンおよび IFFP に与える影響

IFFP 候補菌株として *Phlebia* sp. MG-60 を用い、IFFP 過程における特に脱リグニン期間の短縮を目指して含水率および無機塩添加の影響を調べた。サトウキビバガス 1 g を三角フラスコに量りとり、それぞれ含水率 (w/v) を 60%, 65%, 70%, 75%, および 80% に蒸留水を用いて調整し、MG-60 株を接種し 2 週間および 4 週間 28°C 暗所で培養した。培養後は重量減少率、リグニン含有率等主成分分析を行い、脱リグニン能を評価した。一方で、脱リグニン過程後の培養基に発酵用基本培地 20 ml を添加し、シリコン栓で密栓後 28°C 暗所でエタノール発酵を行った。培養液中のエタノール濃度は HPLC で分析した。

最適な含水率を求めた後、添加物の影響を調べた。含水率調製溶液として 0.22 g/L malt extract, 10 mg/L glucose, 37 mg/L FeSO<sub>4</sub>, 168 mg/L MnSO<sub>4</sub>, 3.7 mg/L CuSO<sub>4</sub>, 167 mg/L CaSO<sub>4</sub>, Kirk 液体培地 (basal medium), 無機塩培地 (inorganic basal medium), 無機塩培地 + 窒素源 (inorganic basal LN medium) の 9 種類を調製し、接種前の含水率調整に用いた。それぞれの溶液を用いて含水率を調整後、上記と同様に MG-60 を接種、脱リグニン能の評価、IFFP の評価 (エタノール変換率) を求めた。

#### 3-3-2 *Phlebia* sp. MG-60 の形質転換法の確立とマンガンペルオキシダーゼ高発現

IFFP 対応菌株である *Phlebia* sp. MG-60 の脱リグニンおよび糖化・発酵の各要素反応を強化するために、形質転換法の確立と発現ベクター構築、リグニン分解酵素の一つであるマンガンペルオキシダーゼ遺伝子の高発現を試みた。形質転換の際に必要な MG-60 のプロトプラストは、既報を参考に調製した。MG-60 用発現ベクターは、*Phlebia brevispora* 由来グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素プロモーターおよびターミネーターに、enhanced green fluorescent protein (EGFP) 遺伝子(*egfp*)、選択マーカーとしてハイグロマイシン耐性遺伝子 (*hph*)、MG-60 のマンガンペルオキシダーゼアイソザイム 2 (MG-MnP2) 遺伝子(*MG-mnp2*)をそれぞれ連結し、構築した。形質転換は以下の方法に従った。発現ベクターを含む 1 M sorbitol、40 mM CaCl<sub>2</sub> 溶液をプロトプラスト溶液と混合し 30 分氷上で静置した。その後 2 倍量の 50%PEG#4000 溶液を添加後 10 mL SorbOsm を添加した。この溶液を 0.5% アガロース含有 CYM 再生培地(pH6.5)と混合後、プレートに播種し 28°C、暗所で培養を行った。プロトプラスト再生開始時に、15 g/ml となるようにハイグロマイシン含有 CYM 再生培地を重層し、ハイグロマイシン耐性株を分離した。

#### 4. 研究成果

##### 4-1 広葉樹対応型 IFFP の確立

###### 4-1-1 GLOX 遺伝子高発現がリグニン生分解に与える影響

16 株の *glx* 導入株 (G 株) を取得し、これらの MnP 及び GLOX 産生能について調査した。URA5 遺伝子のみ導入されたコントロール株 (U 株) における GLOX 活性は平均 0.19 nkat/flask であったのに対して、G 株では 0.66 nkat/flask と有意に高い活性が認められた。一方、両株間で MnP 産生能に違いは認められなかった。

そこで G 株のリグニン分解能について調査した結果、U 株におけるリグニン分解率の平均は 48.9%であったのに対して、G 株では 52.9%と有意に高いリグニン分解能が認められた。

以上の結果より、GLOX 遺伝子を高発現させることで、リグニン分解能の改善が可能である事が実証された。

###### 4-1-2 アルコール発酵能改善の試み

アルコール発酵の鍵酵素である PDC に着目し、本酵素遺伝子を高発現させることでアルコール発酵能が改善されるかどうか検討した。

16 株の *pdc* 導入株 (GP 株) の取得に成功し、この中から最も高いアルコール発酵能が認められた GP7 株を選抜した。

本株をブナ木粉培地に接種し、28 日間脱リグニン処理を行ったところ、リグニン分解率は 46.6%であり、野生株と遜色ないリグニン分解能を示した。この培地に発酵培地及びセ

ルラーゼを添加し、所定期間半嫌気条件下にて培養したところ、培養 6 日間 (セルラーゼ添加) において GP7 株では 1.39 g/L のエタノール産生を示し、野生株 (0.98 g/L) と比較して優位に高い値を示した。

つまり、PDC 遺伝子を高発現させることで、エタノール産生能が改善可能である事が判明した。

###### 4-1-3 セルラーゼ遺伝子高発現株の取得及びその効果について

エンドグルカナーゼ、エキソグルカナーゼ、β-グルコシダーゼ遺伝子のクローニングを行った結果、約 1.8 kbp、1.6 kbp、及び 3.9 kbp のエンドグルカナーゼ、エキソグルカナーゼ及び β-グルコシダーゼ遺伝子の取得に成功した。

このうち、エンドグルカナーゼ及び β-グルコシダーゼ遺伝子をタンデムに連結した強制発現プラスミドを構築し、これを導入した結果、高い活性を与える EB10 株の取得に成功した。

本株のブナ木粉分解特性を評価した結果、野生株と比較してリグニン分解能に違いは見られなかったものの、リグニン分解選択性の大幅な減少が認められた。つまり、糖加水分解酵素を強制発現させることで、ホロセルロース分解能が改善されることが判明した。

##### 4-2 針葉樹対応型 IFFP の確立

###### 4-2-1 アルコール発酵能改善の試み

キチリメンタケにおける PDC 強制発現株の取得を試み、野生株 (1.5 g/L) と比較してアルコール発酵能の高い P3 株 (2.5 g/L) の取得に成功したが、本株は野生株が有する「スギ材腐朽能」を欠落していた。

そこで、ラッカーゼを産生するキチリメンタケ L61 株を用いて、スギ材の IFFP を試みた。脱リグニン処理後、発酵培地を加え半嫌気条件下にて培養したところ、発酵 12 日目において野生株より有意なエタノール産生が認められたことから、リグニン分解能の付与によりアルコール発酵能が改善されることが判明した。

また MiSeq を用いて、*Phlebia* sp. MG-60 株の発現差解析を行い、アルコール発酵時に高発現している遺伝子群の解析を行った。その結果、*Phlebia* sp. MG-60 株は他の白色腐朽菌と比較して、糖の取り込み、解糖系、ピルビン酸代謝系、アルコール発酵系と一連の遺伝子が活性化されていることが判明した。

つまり、アルコール発酵能を改善する場合、糖の取り込みを優先して改善する必要があることが示された。

##### 4-3 IFFP 各要素技術の強化

###### 4-3-1 無機塩類添加が脱リグニンおよび IFFP に与える影響

脱リグニンおよび IFFP に最適な初期含水率について検討したところ、75%の初期含水

率でリグニン分解が顕著であり、バガスの初期リグニン含有率が 23%であるのに対し、4週間の培養でリグニン含有率が 17%に減少した。一方で、グルカンの初期含有率は 40%であるのに対し、処理後バガスは 39%と比較的維持されていた。そこで初期含水率を 75%に固定し、添加物の影響を調べたところ、Kirk 液体培地を加えた時に脱リグニンおよびその後のエタノール発酵共に蒸留水のみよりも向上した。また、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、および  $\text{Cu}^{2+}$ 、などの無機イオンを加えると、炭水化物の消費が抑えられ、リグニン分解の選択性が向上し、エタノール変換率も上昇した。これらの結果は、IFFP における脱リグニン過程で初期培地組成を検討することで、IFFP の効率を高めることが可能であることを示している。

#### 4-3-2 *Phlebia* sp. MG-60 の形質転換法の確立とマンガンペルオキシダーゼ高発現

*hpt* 発現ベクターおよび *egfp* 発現ベクターを MG-60 株に導入したところ、ハイグロマイシン耐性クローンを得ることが出来た。この時、形質転換効率は 0.26%であった。PCR 法にて *egfp* 導入が確認できたクローンからは、緑色の蛍光が確認された。したがって、MG-60 発現ベクターおよび形質転換系が構築されたことが示された。同様の方法で、*hpt* 発現ベクターおよび *MG-mnp2* 発現ベクターを MG-60 株に導入したところ、形質転換効率 0.38% のハイグロマイシン耐性クローンが得られた。PCR 法にて *MG-mnp2* の導入が確認できたクローンを接種した Kirk-HCHN 培地中の MnP 活性を測定したところ、野生株では MnP 活性が認められなかったのに対し、*MG-mnp2* 強制発現株においては強い MnP 活性が認められた。強制発現株をコナラ木粉に接種し、脱リグニン試験に供したところ、リグニン分解能の向上は認められなかった。しかしながら、脱リグニン過程終了時の細胞外 MnP 活性を測定したところ、野生株 (Wt) や *hpt* のみ導入した株 (HPT) よりも有意に高い MnP 活性が得られたことから、*MG-mnp2* は正常に高発現しているものの、それ以外の木材腐朽に関わる形質が影響しているものと考えられた。この原因について検討したところ、野生株からのプロトプラスト調製過程で核の分配が起こり、異なる核相・形質の再生菌糸が得られたことが原因と考えられた。そこでプロトプラスト再生株を選抜することで、形質の均一な再生株を樹立することに成功した。

#### 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 9 件)

① Tatsuki Sugiura, Toshio Mori, Ichiro Kamei, Hirofumi Hirai, Hirokazu Kawagishi, Ryuichiro Kondo, Improvement of ligninolytic properties in

the hyper lignin-degrading fungus *Phanerochaete sordida* YK-624 using a novel gene promoter, FEMS Microbiol. Lett., 査読有, Vol. 331, 2012, pp. 81-88

DOI: 10.1111/j.1574-6968.2012.02556.x

② Ichiro Kamei, Yoshiyuki Hirota, Sadatoshi Meguro, Integrated delignification and simultaneous saccharification and fermentation of hard wood by a white-rot fungus, *Phlebia* sp. MG-60, Bioresour. Technol., 査読有, Vol. 126, 2012, 137-141

DOI: 10.1016/j.biortech.2012.09.007

③ Kenta Misumi, Tomohiro Suzuki, Hirokazu Kawagishi, Hirofumi Hirai, Improvement of manganese peroxidase production by the hyper lignin-degrading fungus *Phanerochaete sordida* YK-624 by recombinant expression of the 5-aminolevulinic acid synthase gene, Current Microbiology, 査読有, Vol. 67, 2013, 708-711

DOI: 10.1007/s00284-013-0428-0

④ Le Duy Khuong, Ryuichiro Kondo, Rizalinda De Leon, To Kim Anh, Sadatoshi Meguro, Kuniyoshi Shimizu, Ichiro Kamei, Effect of chemical factors on integrated fungal fermentation of sugarcane bagasse for ethanol production by a white-rot fungus, *Phlebia* sp. MG-60. Bioresour. Technol., 査読有, Vol. 168, 2014, 33-40

DOI: 10.1016/j.biortech.2014.05.064

⑤ Le Duy Khuong, Ryuichiro Kondo, Rizalinda De Leon, To Kim Anh, Kuniyoshi Shimizu, Ichiro Kamei, Bioethanol production from alkaline-pretreated sugarcane bagasse by consolidated bioprocessing using *Phlebia* sp. MG-60. Int. Biodeterior. Biodegrad., Vol. 88, 2014, 62-68

DOI: 10.1016/j.ibiod.2013.12.008

⑥ Yuto Yamada, Jianqiao Wang, Hirokazu Kawagishi, Hirofumi Hirai, Improvement of ligninolytic properties by recombinant expression of glyoxal oxidase gene in hyper lignin-degrading fungus *Phanerochaete sordida* YK-624, Biosci. Biotechnol. Biochem., 査読有, Vol. 78, 2014, 2128-2133

DOI: 10.1080/09168451.2014.946398

⑦ Toshio Mori, Ichiro Kamei, Hirofumi Hirai, Ryuichiro Kondo. Identification of novel glycosyl hydrolases with cellulolytic activity against crystalline cellulose from metagenomic libraries constructed from bacterial enrichment cultures, SpringerPlus, online published. Vol.3, 2014, 365

DOI: 10.1186/2193-1801-3-365.

⑧ Yumi Yamasaki, Megumi Yamaguchi, Kenji Yamagishi, Hirofumi Hirai, Ryuichiro Kondo, Ichiro Kamei, Sadatoshi Meguro. Expression of a manganese peroxidase isozyme 2 transgene in the ethanologenic white rot fungus *Phlebia* sp. strain MG-60, SpringerPlus, online published. Vol. 3, 2014, 699

DOI: 10.1186/2193-1801-3-699

⑨ Ichiro Kamei, Takeshi Nitta, Yuma Nagano, Megumi Yamaguchi, Yumi Yamasaki, Sadatoshi Meguro. Evaluation of spent mushroom waste from *Lentinula edodes* cultivation for consolidated bioprocessing fermentation by *Phlebia* sp. MG-60, Int. Biodeterior. Biodegrad., Vol. 94, 2014, 57-67  
doi:10.1016/j.ibiod.2014.07.001

〔学会発表〕(計 19 件)

- ① 山田祐人、平井浩文、河岸洋和、高活性リグニン分解菌 *Phanerochaete sordida* YK-624 株における glyoxal oxidase 遺伝子高発現によるリグニン分解特性の改善、第 57 回リグニン討論会、2012 年 10 月 18 日、アクロス福岡 (福岡市)
- ② Hirofumi Hirai, Tatsuki Sugiura, Kenta Misumi, Yuto Yamada, Hirokazu Kawagishi, Ichiro Kamei, Toshio Mori, Ryuichiro Kondo, Molecular breedings of superior lignin-degrading fungi for the woody biorefinery, 2nd Symposium on Biotechnology Applied to Lignocelluloses, 2012 年 10 月 16 日、アクロス福岡 (福岡市)
- ③ 平林 翔、平井浩文、河岸洋和、白色腐朽菌を用いた木質バイオリファイナリー技術の構築 ～キシリトール、エタノール産生株の作出～、第 63 回日本木材学会大会、2013 年 3 月 27 日、岩手大学 (盛岡市)
- ④ 平林翔、平井浩文、河岸洋和、ピルビン酸デカルボキシラーゼ遺伝子高発現による白色腐朽菌におけるアルコール発酵能改善、第 58 回 リグニン討論会、2013 年 11 月 13 日、サンポートホール高松 (高松市)
- ⑤ 小山元規、河岸洋和、平井浩文、芳香環代謝系酵素遺伝子高発現による高活性リグニン分解菌のリグニン分解能改善の試み、第 64 回日本木材学会大会、2014 年 3 月 14 日、愛媛大学 (松山市)
- ⑥ 有本美沙、河岸洋和、平井浩文、山岸賢治、亀井一郎、近藤隆一郎、ラッカーゼ生産性褐色腐朽菌 *Gloeophyllum trabeum* の分子育種、第 64 回日本木材学会大会、2014 年 3 月 14 日、愛媛大学 (松山市)
- ⑦ 王剣橋、鈴木智大、河岸洋和、平井浩文、高活性リグニン分解菌 *Phanerochaete sordida* YK-624 株のリグニン分解過程におけるトランスクリプトーム解析、第 59 回リグニン討論会、2014 年 9 月 14 日、福井工業大学 (福井市)
- ⑧ 有本美沙、山岸賢治、亀井一郎、近藤隆一郎、河岸洋和、平井浩文、リグニン分解能を付与した褐色腐朽菌 *Gloeophyllum trabeum* の分子育種、環境微生物系学会合同大会 2014、2014 年 10 月 23 日、アクトシティ浜松 (浜松市)
- ⑨ 瀧上翔子、王剣橋、亀井一郎、鈴木智大、河岸洋和、平井浩文、エタノール発酵性白色腐朽菌 *Phlebia* sp. MG-60 株のエタノール発酵メカニズムの解析、第 65 回日本木材学会大

会、2015 年 3 月 18 日、タワーホール船堀 (東京都)

⑩ 廣田佳幸、山崎有美、亀井一郎、目黒貞利、白色腐朽菌 *Phlebia* sp. MG-60 による高濃度セルロース基質の糖化発酵、第 20 回日本木材学会九州支部大会、2013 年 09 月 02 日、九州大学 (福岡)

⑪ 山崎有美、亀井一郎、目黒貞利、山岸賢治、*Phlebia* sp. MG-60 株における MnP 強制発現株の作成およびエタノール発酵能解析、第 65 回日本生物工学会大会、2013 年 09 月 19 日、広島国際会議場 (広島)

⑫ 廣田佳幸、山崎有美、亀井一郎、目黒貞利、高濃度セルロース基質含有培地での白色腐朽菌 *Phlebia* sp. MG-60 UV 変異導入株による直接エタノール発酵、第 65 回日本生物工学会大会、2013 年 09 月 19 日、広島国際会議場 (広島)

⑬ 廣田佳幸、山崎有美、亀井一郎、目黒貞利、白色腐朽菌 *Phlebia* sp. MG-60 株を用いた脱リグニン同時糖化発酵法の短縮化に向けた糖化発酵工程の検討、第 64 回日本木材学会大会、2014 年 03 月 14 日、愛媛大学 (松山市)

⑭ 山崎有美、亀井一郎、目黒貞利、白色腐朽菌による広葉樹未晒クラフトパルプエタノール発酵溶液の細菌増殖抑制活性および抗菌活性、第 64 回日本木材学会大会、2014 年 03 月 14 日、愛媛大学 (松山市)

⑮ 山崎有美、亀井一郎、山口 恵、目黒貞利、平井浩文、山岸賢治、近藤隆一郎、*Phlebia* sp. MG-60 株におけるマンガンペルオキシダーゼ強制発現株の作成および脱リグニン能解析、第 64 回日本木材学会大会、2014 年 03 月 14 日、愛媛大学 (松山市)

⑯ 栗原周佐、亀井一郎、目黒貞利、白色腐朽菌 *Phlebia* sp. MG-60 P2 株の MGmnp2 形質転換株の作製、第 21 回日本木材学会九州支部大会、2014 年 9 月 12 日、くまもと県民交流館パレア (熊本市)

⑰ 戸高和也、栗原周佐、亀井一郎、目黒貞利、*Phlebia* sp. MG-60 株由来プロトプラスト再生株の形質安定化に関する研究、第 21 回日本木材学会九州支部大会、2014 年 9 月 12 日、くまもと県民交流館パレア (熊本市)

⑱ Ichiro Kamei, Yumi Yamasaki, Sadatoshi Meguro

Improvement of integrated fungal fermentation by the development of expression methods of transgenes in the ethanologenic white rot fungus *Phlebia* sp. strain MG-60, LignoBiotech III symposium, 2014 年 10 月 27 日、コンセプトシオン (チリ)

⑲ 栗原周佐、戸高和也、亀井一郎、目黒貞利、白色腐朽菌 *Phlebia* sp. MG-60 株の MGmnp2 形質転換株による脱リグニン能、およびエタノール発酵能の検討、第 65 回日本木材学会大会、2015 年 03 月 17 日、タワーホール船堀 (東京)

〔図書〕（計 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

近藤 隆一郎 (KONDO, Ryuichiro)  
九州大学・農学研究院・特任教授  
研究者番号：80091370

### (2)研究分担者

平井 浩文 (HIRAI, Hirofumi)  
静岡大学・農学部・教授  
研究者番号：70322138

亀井 一郎 (KAMEI, Ichiro)  
宮崎大学・農学部・教授  
研究者番号：90526526

研究者番号：

### (3)連携研究者

( )

研究者番号：