

産経新聞社賞

非可食性バイオマスからの糖製造向け
新規酵素の技術開発

東レ株式会社 先端融合研究所

加川 雄介 西山 竜士 野口 拓也 山田 勝成

1. 序 論

現在、東レでは、再生可能な資源の1つとして食料と競合しない(非可食性)セルロース系バイオマス为原料とする非石化原料由来の汎用化学品の量産化に向けた技術開発を推進している(1)。具体的には、セルロース系バイオマスとして製糖工場にて排出されるサトウキビの絞り粕であるバガスをターゲットに、バガス構成成分であるセルロースを糖化酵素によりグルコースにまで分解し、そのグルコースを用いた微生物変換によるバイオベースモノマー生産に向けた技術確立を目指している。しかし、その確立にあたり、2つの課題があった。1つは、従来の糖化工程により得られる糖液は、その後の微生物変換工程で使用される微生物に対し、生育阻害を引き起こす芳香族系化合物が多く含有されることから、使用できる微生物も主に酵母と限られ、生産物もバイオエタノールと限定されること。もう1つは、市販品の糖化酵素は高価であることから、糖化工程による糖製造コストに対し、約40%を糖化酵素費が占めることである。そこで、東レが保有する“膜の技術”と、バガスを糖化酵素により糖にまで分解する工程である“糖化工程”を組み合わせた“膜利用糖化プロセス”の開発を進めてきた。本技術は、NF(Nano Filtration)膜により生育阻害物質が除去された清澄な糖液が得られるだけでなく、糖化酵素の分子サイズに合ったUF(Ultra Filtration)膜を利用することで、使用した糖化酵素を回収リサイクル可能であることから、前述の課題を解決することができる(図1)。そして、本プロセスの社会実装および普及に向け、2016年よりNEDOの委託業務(国際エネルギー消費効率化等技術・システム実証事業/余剰バガスからの省エネ型セルロース糖製造システム実証事業)として、タイにある製糖工場を利用した国際実証プロジェクトを実施している(2)。同プロジェクトは、バガスの主要な構成成分であるセルロースからグルコースを生産するだけでなく、ヘミセルロースからキシロオリゴ糖、リグニンからポリフェノール化合物の3種併産を目指しており、グルコースは、前述の通り、微生物変換によるバイオベースモノマー原料として使用し、キシロオリゴ糖やポリフェノールについては、家畜飼料への添加効果を検証中であり、バガスを余すことなく有価物化することが目的である。そこで、糖化酵素費の低減によって、更なる糖製造コストの競争力を高めるために、低コスト糖化酵素を製造する技術基盤を構築することを目的に、東レ独自の糖化酵素高生産微生物の創出および糖化酵素製造技術の確立に着手した。

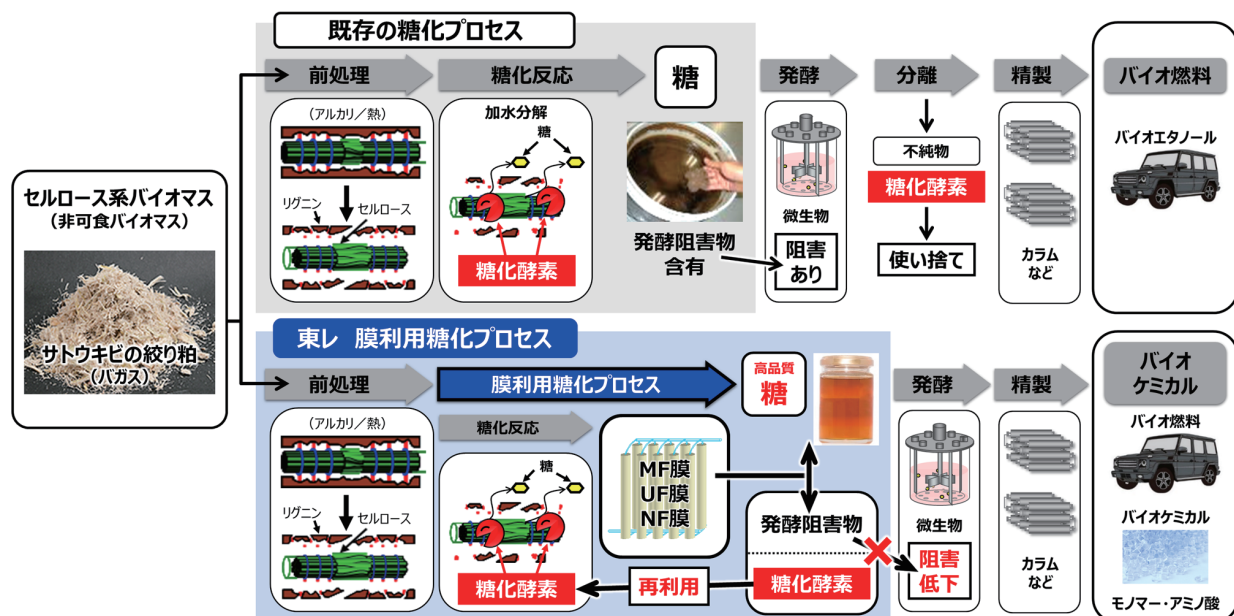


図1：既存の糖化プロセスと膜利用糖化プロセス

2. 高活性な糖化酵素を高生産する微生物の創出

開発のベースとなる微生物として、微生物の中でも糖化酵素生産性および分泌能が比較的優れている糸状菌 *Trichoderma reesei* NBRC31329 (QM9414株) を選択した。本微生物をベースとした育種方法は以下2点の理由から、遺伝子組換え技術を使わない手法を用いた。1つ目の理由は、将来的に非可食性セルロース系バイオマスを豊富に保有する国への“膜利用糖化プロセス”の社会実装を目指しており、同時に糖化酵素を糖化設備拠点に隣接した場所ので生産する“オンサイト生産”を目指すことから、遺伝子組換えに関する法規制に該当するリスクを低減させることにより、この技術の普及を容易にするためである。2つ目の理由は、酵素費の徹底削減を目指す上で重要な高活性な糖化酵素を高生産する微生物の創出において、既存の技術を凌駕するためには、想定し得ない自然変異の幾つもの重なりが必要であると考えた。このことから、ゲノムDNAに対する変異導入は、敢えて古典的な紫外線や薬剤による導入方法に加え、近年、植物の品種改良等に利用されている重イオンビームを導入することと、東レ独自の変異株を選抜する育種方法を考案し、QM9414株の育種を実施した。具体的には、変異導入した数億におよぶ候補微生物の中から、独自のレシピで作成した変異株選抜用寒天培地において、生産される糖化酵素の活性や生産性の向上が期待される変異株を分離した。そして、分離された変異株を培養評価し、糖化酵素の生産性や酵素活性などを指標にし、高機能化した変異株の選抜を実施した。この選抜を繰り返し行い、変異株の選抜や培養条件の最適化のために、ラボにおける通気攪拌培養装置 (5 L ジャーファーメンター) の稼働数は累計2,000回以上に及んだ。その結果、開発期間として約10年を要し、12世代目で“T1281株”を創出した(3)。

糖化酵素は従来、糖化酵素誘導物質として高価な工業パルプを用いて製造されているが、酵素費に対し誘導物質費が高い割合を示す。そこで、工業パルプよりも安価で安定的に入手可能であり、糖化酵素誘導能を持つラクトースを選択した。また、*Trichoderma* 属糸状菌

は好気性であることから、可溶性糖であるラクトースを選択することにより、従来の工業パルプのような固形分を添加した初発培地と比較して、酸素不足を低減させるメリットがある。加えて、ラクトースは水に可溶性の糖であることから、培養途中からの液体での流加も容易に可能となる。一方で、ラクトースは工業パルプと比較すると誘導効果が低く、酵素生産性が低下することが技術的な課題だった。

東レが創出したT1281株、菌株保管機関 ATCCから購入可能なATCC66589株(PC-3-7株)、そして育種のベースとなった親株であるQM9414株を、液糖のみで培養した際の経時的な糖化酵素生産性の推移を図2に示した。培養条件として、初発培地に終濃度10%(w/v)になるようラクトースを添加し、培養開始60時間目からグルコースとラクトースからなる液糖を流加し、計240時間培養を行った。その結果、QM9414株は、糖化酵素をほとんど生産せず、PC-3-7株は、培養開始192時間で約5 g/Lの糖化酵素を生産した。一方、T1281株は、培養開始192時間で約30 g/L、240時間目では約40 g/Lの生産性を示した(4、5)。なお、Trichoderma 属糸状菌が菌体外に分泌するタンパク質のほぼ全ては糖化酵素である(6)。このことから、培養液を遠心分離して得た培養上清中に含まれるタンパク質濃度を糖化酵素濃度と見なす。また、各々の技術者によるタンパク質濃度測定で使用される標準品および測定手法は多様であり、生産性の比較は容易ではない。このことから、T1281株の糖化酵素生産性について、2種の標準品および3種の測定手法による結果を掲載した。

また、各株の培養にて生産された糖化酵素と、市販されている食品添加用糖化酵素(非遺伝子組換え)を用い、工業パルプに対する糖化反応試験を行った結果を表1に示した。糖化反応条件として、工業パルプ5%(w/v)を基質に用い、各種酵素は基質1 gに対し8 mg 添加し、24時間、50℃、pH 5.0にて行った。その結果、T1281株由来の糖化酵素は、基質1 kg からグルコース450 g 以上、キシロース100 g 以上を遊離させることが可能であり、今回比較した市販糖化酵素より糖化性能が高いことが示された。本結果より、T1281株は、高活性な糖化酵素を大量に生産する能力を有することが判明した。

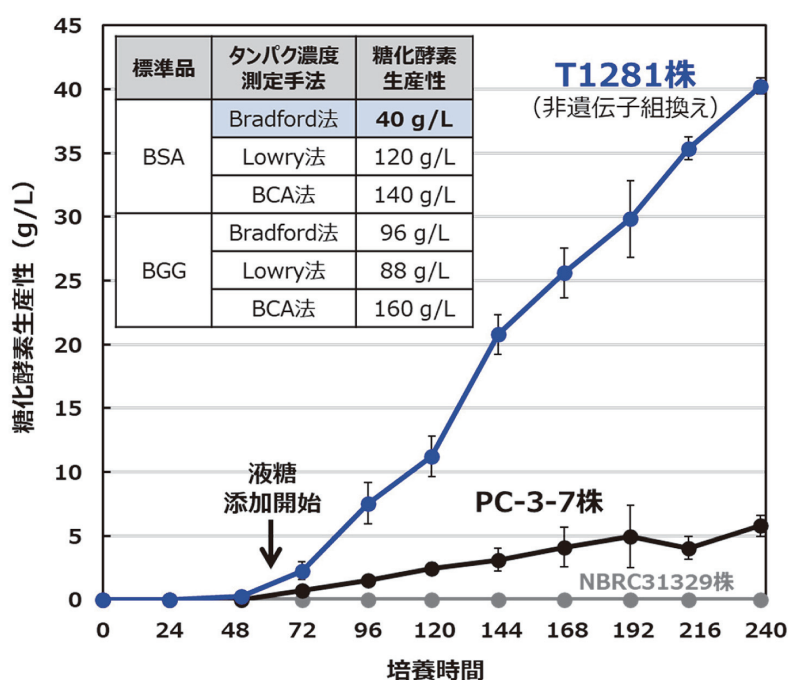


図2：液糖のみを用いたラボ培養による酵素生産推移

表1：各糖化酵素を用いた工業パルプの糖化反応により得られる各単糖量

	工業パルプ1 kgから得られる各単糖量	
	グルコース	キシロース
PC-3-7株由来 糖化酵素	254 g	85 g
T1281株由来 糖化酵素	478 g	102 g
市販糖化酵素 A	329 g	95 g
市販糖化酵素 B	412 g	29 g
市販糖化酵素 C	360 g	44 g

【糖化反応条件】：工業パルプ5%(w/v)、酵素添加量8mg(基質1gあたり)、24時間、50℃、pH5.0

3. 重イオンビームを変異源とした育種

高活性な糖化酵素を大量生産可能なT1281株を創出できたことから、次のステップとして糖化酵素の機能改変を検討した。T1281株は単糖製造を目的とする酵素生産菌であったが、グルコースが重合したセロオリゴ糖やキシロースが重合したキシロオリゴ糖の製造を目的とする酵素生産菌の育種を行った。

これまでの育種では、変異源として古典的な紫外線や薬剤を用いていたが、ターゲットとする不要な酵素をコードする遺伝子を欠損させるべく、二本鎖DNAを切断可能なダイナミックな変異導入を期待できる変異源として重イオンビームを採用した。この重イオンビーム照射により、グルコース二量体であるセロビオースを単量体のグルコースに分解する β -グルコシダーゼ(BGL)をコードする遺伝子や、キシロース二量体であるキシロビオースを単量体のキシロースに分解する β -キシロシダーゼ(BXL)をコードする遺伝子の欠損を目指した。

重イオンビーム照射は、量子科学技術研究開発機構が保有するHeavy Ion Medical Accelerator in Chiba(HIMAC)を使用した。具体的には、T1281株の孢子液に対し、Feイオンビーム(500 MeV/n)をLET 約185 keV/ μ m、線量率 約12 Gy/minの線量にて照射し、生存率10~15%を示す100 Gyを選択した。そして、変異株を微結晶性セルロースなど添加した寒天培地上へ塗布し、寒天培地上に生えた20,000株以上に及ぶ変異株の中から、生育速度や微結晶性セルロース分解で生じるハロのサイズなどを指標とし、候補株を分離した。そして、分離した候補株を対象に、ラクトースを糖化酵素誘導物質として、フラスコ培養やジャーファーメンター培養を行い、糖化酵素生産性および各種酵素活性評価を実施し、目的とする特徴を有する変異株の選抜を行った。その結果、BGLとBXLの機能が欠落したセロオリゴ糖とキシロオリゴ糖の2種オリゴ糖製造用酵素生産菌であるT1640株、BXLの機能が低下したキシロオリゴ糖製造用酵素生産菌であるT1647株(4項にて詳細を記載する)をそれぞれ創出した。

得られた2種オリゴ糖製造用酵素生産菌 T1640株を用い、ラクトースを用いた培養評価を実施した。T1640株は親株であるT1281株と同等の生産性を示していたが、得られた酵素に対する活性評価をした結果、T1640株は親株と比較してBGLおよびBXL活性が、それぞれ

1%および2%まで低下していた。そこで、T1640株が生産する酵素を用いて水酸化ナトリウムにて前処理を施したアルカリ処理バガスの糖化試験を実施した結果を表2に示した。アルカリ処理バガス(乾燥品)1 kgから糖化により約500 gの糖が得られ、その70%以上がセロオリゴ糖およびキシロオリゴ糖を含むオリゴ糖により占められており、親株であるT1281株が生産する酵素を使用した場合と比較して約1.7倍のオリゴ糖を得られることが判明した。また、これら2種の酵素活性が低減した要因をゲノムレベルで解明すべく、変異点解析を実施した。その結果、T1640株のゲノム上では異なる2つの染色体間の転座だけでなく、約120 kbの塩基配列の欠失という大規模な変異が生じていることが推定された(図3)。特に、この欠失した塩基配列はゲノム上において隣接するBGLおよびBXLをコードする遺伝子を含むことが明らかとなり、BGLおよびBXL活性の低減はこのダイナミックな変異によるものであることが確認できた(7)。

表2：バガス糖化による得られる全糖量に対するオリゴ糖の割合

		T1281株由来 糖化酵素	T1640株由来 糖化酵素
単糖	グルコース	37 %	13 %
	キシロース	30 %	14 %
セロオリゴ糖		22 %	47 %
キシロオリゴ糖		12 %	26 %
セロオリゴ糖 + キシロオリゴ糖		44 %	73 %

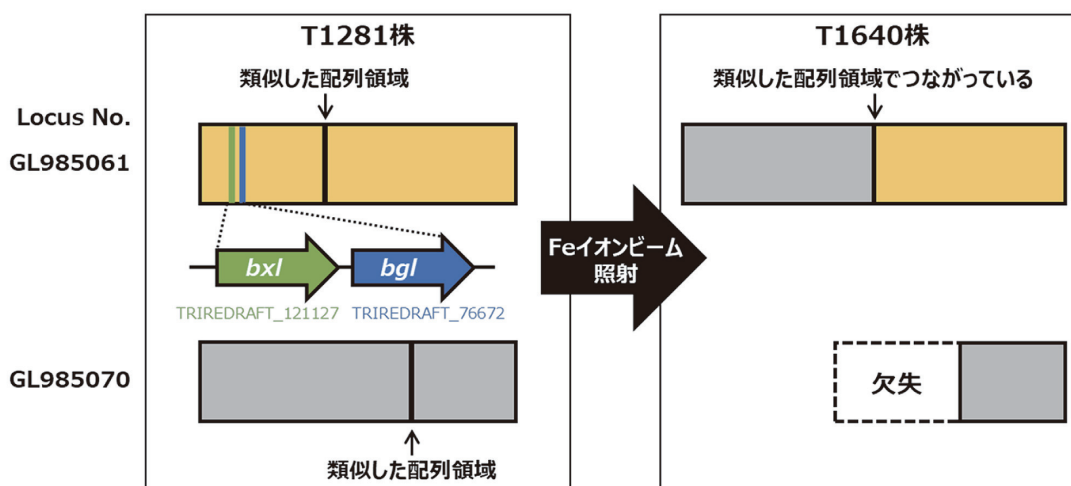


図3：Feイオンビーム照射による変異イメージ図

4. 量産化技術の確立

前述の通り、国際実証プロジェクトでは、バガスの主要な構成成分であるセルロースからグルコース、ヘミセルロースからキシロオリゴ糖を併産するプロセスの構築を検討している。このプロセスに適した酵素の仕様として、ヘミセルロースからキシロオリゴ糖を得るために BXL 活性を持たない酵素機能が求められる。

重イオンビーム照射により得られた変異株の中から選抜した T1647 株は、ラボでの 5 L ジャーファーマンターを使った培養評価にて、親株である T1281 株と酵素生産性は同等であるが、親株と比較して BXL 活性が 90% 以上低下した酵素生産能を有することがラボ検討で明らかとなった。したがって、同プロジェクトに適したキシロオリゴ糖製造用酵素生産菌であると判断し、同プロジェクトの社会実装を想定し、オンサイトにおける安価なキシロオリゴ糖製造用酵素の量産化技術の確立を目指し、T1647 株のスケールアップ培養を行った。なお、東レは大規模な培養設備を保有しないことから、日本国内の培養受託メーカーへ依頼した。

実施した培養工程および製剤化工程のフローを図4に示した。まず培養は、フラスコ培養にて T1647 株の孢子を菌糸へ成長させた後、その培養液を 30 L ジャーファーマンターへ、そして 10 kL タンクへ順次植え継ぎシード培養を行い、2 段のシード培養にて増やした菌体を 60 kL タンクへ植え継ぎ、本培養を実施した。本培養には、糖化酵素誘導物質としてラクトースを終濃度 10% (w/v) になるよう添加した培地を用いて行い、培養途中には pH5.0 になるようにアルカリと酸の両制御を行った。また、培養開始後 60 時間目からは、グルコースとラクトースの他に硫酸アンモニウムやリン酸塩を含む糖液を断続的に添加し、計 200 時間の本培養を実施した。

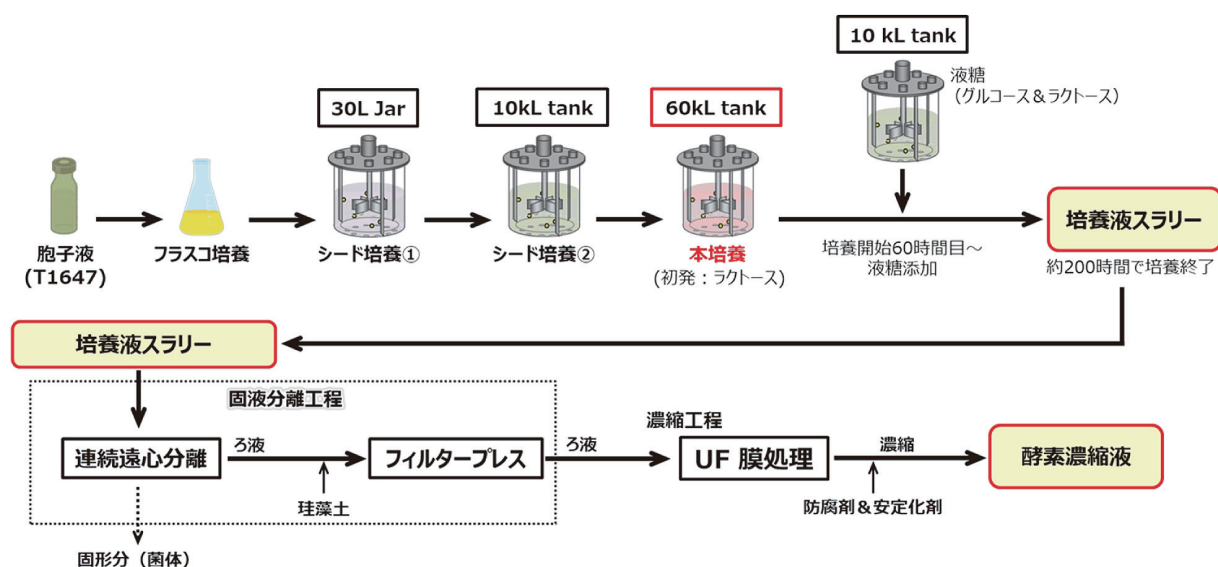


図4：スケールアップ培養時の培養工程 & 製剤化工程フロー

最終的に得られた培養液について、糖化酵素濃度、 β -グルコシダーゼ活性、 β -キシロシダーゼ活性、およびパルプ分解活性を評価した結果、T1647株はスケールアップ培養（60 kL タンク）と委託先の設備のスペックに条件を落とし込んだラボ培養（5 L ジャーファーマンター）

とで同等のパフォーマンスを示すことがわかった(表3)。

次に、得られた培養液を用い、酵素製剤化を行った。最初に、連続遠心分離機を用いて固液分離を行った後、連続遠心分離工程では除けなかった微小な固形分を除去すべく、珪藻土を助剤として用いた圧搾ろ過(フィルタープレス)してろ液を得た。その後、UF膜を使用したろ液の濃縮を実施し、約5倍に濃縮されたキシロオリゴ糖製造用濃縮酵素製剤を得た。その濃縮酵素製剤に含まれる糖化酵素濃度および各種活性を測定した結果、タンク培養上清と同等であり、製剤化工程における各酵素成分のロスが無いことを確認した(表3)。以上の結果から、5 Lから60 kLへの12,000倍のスケールアップに成功し、東レ酵素生産菌による酵素量産技術を構築した。なお、この濃縮酵素製剤は、冷蔵便にてタイ ウドントニにあるNEDO 国際実証設備に向けて輸送を行い、本製剤を使った技術実証を行った。

表3：ラボとスケールアップ培養の活性比較

	5 L ジャーファーマンター	60 kL タンク	
	培養液 上清	培養液 上清	酵素濃縮製剤
酵素蓄積濃度	25 g/L	25 g/L	115 g/L
β -グルコシダーゼ活性	24 U/mL	24 U/mL	115 U/mL
β -キシロシダーゼ活性	0.1 U/mL	0.1 U/mL	0 U/mL
セロビオハイドロラーゼ・ エンドグルカナーゼ活性	4 U/mL	4 U/mL	22 U/mL
パルプ分解活性	47 U/mL	37 U/mL	230 U/mL

各活性値は、培養液 上清もしくは酵素濃縮製剤1 mLあたりの活性値を示す

5. 糖化プロセス実証への適用

4項でスケールアップ技術実証を経て製造されたキシロオリゴ糖製造用酵素について、まずラボスケールにて最適な反応条件を決定した後、国際実証設備を用いた技術実証を行った。

表4は、アルカリ処理バガスに対する酵素添加量を検討した結果を示しており、酵素添加量の増大に伴いキシロオリゴ糖(XOS)の収量も増大し、その収量はバガス1 kgに対して4 gの酵素を添加することで最大となった。また、得られるXOS中のキシロビオース(X2)比率に着目すると、酵素添加量の増大に伴いX2比率も増大していた。なお、先行研究によれば、長鎖のXOSには短鎖のXOSにはみられない生理活性が報告されており(8)、長鎖XOSは有用性がより高いと考えられることから、バガス1 kgに対する最適な酵素添加量は4 gと決定した。

表4：各酵素添加量に対して得られるXOS量

	バガス1 kgから得られるXOS収量			
バガス1 kgあたりの酵素添加量	1 g	2 g	4 g	8 g
キシロビオース：X2(比率)	40 g (60 %)	55 g (68 %)	72 g (74 %)	89 g (92 %)
キシロトリオース：X3	15 g	16 g	18 g	7 g
キシロテトラオース：X4	8 g	7 g	6 g	0 g
キシロペンタオース：X5	4 g	2 g	2 g	0 g
XOS 合計	67 g	80 g	97 g	96 g

次に、東レの膜利用糖化プロセスの特長である糖化液からの酵素回収性について検討した結果を表5に示した。ここでは、一度通常の糖化反応を行った後、糖化液上清を限外ろ過に供し、非透過側に濃縮された回収酵素を、次の糖化反応へ添加する試験を行った。表5が示すように、回収酵素を用いず新規酵素のみを用いて行った糖化反応は、回収酵素30%に新規酵素70%を添加して行った糖化反応よりも単糖およびXOS収量が高く、また回収酵素10%に新規酵素90%添加して行った糖化反応よりも単糖およびXOS収量が低かった。したがって、新規酵素に対する回収酵素の活性比率、すなわち酵素回収性は10～30%程度であると推定された。なお、酵素回収が困難となる主な理由は糖化残渣への吸着であると考えられる。以上の検討結果に基づき、タイにあるNEDO国際実証設備にて、キシロオリゴ糖製造用酵素を用いた技術実証を行った。

表5：回収酵素を用いたバガス糖化試験結果

		バガス1 kgから得られる糖収量				
回収酵素添加量		0 %	100 %	100 %	100 %	100 %
新規酵素添加量		100 %	0 %	50 %	70 %	90 %
単糖(グルコース・キシロース)		200 g	39 g	143 g	175 g	210 g
XOS	キシロビオース：X2	54 g	23 g	47 g	51 g	57 g
	キシロトリオース：X3	19 g	12 g	19 g	19 g	21 g
	キシロテトラオース：X4	7 g	8 g	9 g	8 g	8 g
	キシロペンタオース：X5	0 g	1 g	1 g	0 g	1 g
	XOS 合計	83 g	46 g	79 g	81 g	89 g

実証プラントにおける糖化試験は、酵素回収性を30%と前提して実施し、複数回の試験で得られた単糖(グルコース・キシロース)およびXOS収量を表6に示した。結果、キシロオリゴ糖製造用酵素は、実証プラントスケールにおいても、バガスから単糖およびXOSを併産可能であることが分かった。また、回収酵素を用いた糖化試験では、いずれのスケールにおいても、XOS収量はほとんど変動せず、単糖収量が約14%減少したことから、ラボスケ-

ルと実証プラントスケールで同等の酵素回収性を示すことが確認された。なお、ラボ検討と実証プラントにおいて糖収量に差がある理由は、バガスの品質が気候や保管状態による変化に伴い、バガスのセルロースやヘミセルロース含量も変動するためである。

表6：ラボ糖化試験と実証糖化試験における糖収量比較

糖化スケール	使用酵素		バガス1 kgから得られる糖量(g)	
	回収酵素 添加量	新規酵素 添加量	単糖	XOS
ラボスケール 20 g 反応	0 %	100 %	200 g	83 g
	100 %	70 %	175 g	81 g
実証スケール 20 t 反応	0 %	100 %	186 g	93 g
	100 %	70 %	158 g	99 g

このように東レでは、量産化されたXOS製造用酵素を用いて、実証プラント設備を利用してバガスから単糖およびXOSの生産実績を得た。得られた単糖はバイオベースモノマー生産に向けた発酵原料として、XOSは家畜飼料への添加物としての展開を想定している。

XOSを飼料用途に適用するため、まずXOSの安全性試験を実施した結果、XOSは遺伝毒性試験、急性毒性試験、重金属検出試験、およびカビ毒検出試験のいずれについても陰性であることが確認された。次に、子豚飼育試験および産卵鶏飼育試験を実施した。子豚飼育試験では、乳離れした子豚を42日間飼育し、飼料に対してXOSを200 ppm添加した。また、産卵鶏飼育試験では、産卵鶏を48日間飼育し、飼料に対してXOSを200 ppm添加した結果を表7に示す。子豚飼育試験においては、バガス由来XOSは、コントロール(添加物なし)のみならず、家畜の体重増体に効果が確認されている市販キシロオリゴ糖や市販フラクトオリゴ糖よりも、飼料要求率が改善された。また、産卵鶏飼育試験においては、バガス由来XOSは、市販キシロオリゴ糖と同様、産卵鶏に対しても飼料要求率の改善効果がみられた。以上より、XOS製造用酵素により生産されたバガス由来XOSは、子豚および産卵鶏の両方に対する効果が確認され、家畜飼料への添加物として有用であることが示された。

表7：バガス由来XOSの家畜飼料添加試験

添加サンプル	飼料要求率	
	子豚飼育試験 *1	産卵鶏飼育試験 *2
コントロール(添加物なし)	1.49	2.04
バガス由来 XOS	1.39	1.97
市販キシロオリゴ糖	1.42	1.92
市販フラクトオリゴ糖	1.40	2.04

*1：飼料投与量 kg/ 体重増加量 kg、*2：飼料投与量 kg/ 卵重量増加量 kg

6. 総括・波及効果

本稿では、東レが新たに開発したと糖化酵素高生産菌である“T1281株”の機能や特徴を紹介すると共に、糖化酵素を高生産する株の開発と糖化酵素の機能改変も可能であることを示した。実際、重イオンビームを使用することにより、キシロオリゴ糖製造用酵素やセロオリゴ糖およびキシロオリゴ糖製造用酵素を生産する株の創出のみならず、その量産化技術を確立した。

今後、SDGsの観点より、非可食性バイオマス由来の糖に対する需要は年々高まると推測する。前述の通り、本プロセスで得られる単糖は微生物変換によるバイオベースモノマー生産の原料へ、キシロオリゴ糖は家畜飼料添加物への応用展開が期待される。したがって、本プロセスの普及はSDGsの中でもGOAL 2(飢餓をゼロに)、GOAL 9(産業と技術革新の基盤)などをはじめとする目標の達成に貢献すると考えられる。東レは、膜利用糖化プロセス並びにT1281株を用いた糖化酵素のオンサイト生産を介し、非可食性バイオマス由来の糖を安定的に量産する技術を提供し、非可食性バイオマスを保有する企業や糖から化学品への変換技術を保有する企業らと協業することを目指しており、持続可能な資源から化学品製造が可能な社会の実現に取り組む方針である。現状はサトウキビの絞り粕であるバガス、キャッサバ芋の絞り粕であるキャッサバパルプを非可食性バイオマスとして実証試験に利用しているが、本技術は様々な非可食性バイオマスに通用する技術であり、今後も糖化酵素の更なる高活性化および高生産化に向けた開発と共に糖化プロセスの開発を進める。

また、T1281株は生産する糖化酵素は、非可食性バイオマスの分解用途に留まることなく、非遺伝子組換えというメリットを活かし、食品・飼料用酵素への適用に利点があると考えている。また、本株のタンパク質生産性や分泌能の高さを利用し、遺伝子組換え技術により目的とする異種タンパク質の生産宿主として高いポテンシャルを秘めていると考えている。今後は、多角的な視点から酵素や株の用途について検討する。

東レはT1281株をベースに新境地を開拓し、酵素生産微生物という新しい素材を通し、新境地開拓への挑戦および持続可能で健康な社会への発展に向けて貢献したいと考えている。

7. 謝 辞

本研究の成果の一部は、国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構「国際エネルギー消費効率化等技術・システム実証事業/余剰バガスからの省エネ型セルロース糖製造システム実証事業(国名：タイ)」の委託業務(P93050)から得られたものである。

また、本研究における重イオンビーム照射に関し、ご協力いただいた国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 量子医科学研究所 下川卓志先生に感謝を申し上げる。

8. 参考文献

- (1) 東レ プレスリリース “世界初 非可食性バイオマスを原料とする糖からナイロン原料を創出 – 環境配慮型ナイロン 66 の実用化に向けたバイオアジピン酸の合成に成功 – (2022)”

- <https://www.toray.co.jp/news/details/20220817150637.html>
- (2) 東レ プレスリリース “タイにおける膜利用糖化プロセスの技術実証と三井製糖との合弁会社設立について(2017)”
<https://www.toray.co.jp/news/details/20170105001241.html>
- (3) 加川ら、糖化酵素超高生産 *Trichoderma reesei* 変異株の獲得、日本農芸化学会2019年度東京大会、3C7a06(2019年)
- (4) Noguchi *et al.*, *Bioresource Technology Reports*, Vol.15, 100733 (2021)
- (5) 加川ら、セルラーゼ生産におけるセルラーゼ誘導物質の探索、日本農芸化学会2021年度仙台大会、4H02-12(2021年)
- (6) Herpoël-Gimbert *et al.*, *Biotechnology for Biofuels*, Vol.1, p1-18 (2008)
- (7) Noguchi *et al.*, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol.134, No.6, p491-495 (2022)
- (8) 泉ら、長鎖キシロオリゴ糖組成物およびその製造方法、JP2003048901A(2003年)