

令和 2 年 5 月 14 日現在

機関番号：14101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K18218

研究課題名（和文）クロストリジウム属細菌のセルロース系バイオマス分解酵素生産の調節機構

研究課題名（英文）Regulation of CAzyme genes expression in a cellulolytic Clostridium bacterium

研究代表者

市川 俊輔 (Ichikawa, Shunsuke)

三重大学・教育学部・講師

研究者番号：50781118

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：細菌*Clostridium thermocellum*はセルロース系バイオマスの構造や構成成分を認識し、遺伝子発現調節因子（ σ 因子）を介して、その分解に適した多種の分解酵素を分泌する。*C. thermocellum*の因子（sig17）遺伝子構成的発現株では、47つの糖質関連酵素遺伝子の発現が促進、8つの糖質関連酵素遺伝子の発現が抑制されていることを、トランスクリプトーム解析によって明らかにした。sig17発現株の培養液のセルロース系バイオマス分解活性は、野生株のものより小さかった。この株の培養液中の分子量約75kDaおよび約50kDaのキシラナーゼが減少していることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

未利用資源であるセルロース系バイオマスからの原油代替化合物生産（バイオリファイナリー）を実現するために、セルロース系バイオマスの効率的分解を達成する必要がある。バイオリファイナリーの候補微生物である*Clostridium thermocellum*はセルロース系バイオマスの構造や構成成分を認識し、遺伝子発現調節因子（ σ 因子）を介して、その分解に適した多種の分解酵素を分泌する。本研究では、 σ 因子の機能を明らかにすることで、*C. thermocellum*のバイオマス分解酵素生産の調節メカニズムの一端を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：The cellulolytic bacterium *Clostridium thermocellum* recognizes the structure and constituents of cellulosic biomass and secretes multiple degradative enzymes suitable for its degradation via gene expression regulators (σ -factors). Transcriptome analysis revealed that the expression of 47 carbohydrate-active enzyme genes were promoted and eight were repressed in *C. thermocellum* sig17 expression strain. The cellulosic biomass degradation activity of the cultures of the sig17 strain was lower than that of the wild-type strain. Xylanases with molecular weight of approximately 75 kDa and 50 kDa were reduced in the culture of the sig17 strain.

研究分野：応用微生物学、生化学

キーワード：セルロース系バイオマス セルロース分解細菌 糖質関連酵素

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

合成生物学の発展にともない、糖液から液体燃料・プラスチック原料・化成品など、あらゆる原油の代替化合物が生産できるようになりつつある（バイオリファイナー）。糖液は、地球上に膨大に存在し再生可能で未利用な資源であるセルロース系バイオマスから得ることが求められている。しかしながら、セルロース系バイオマスの分解酵素は高価でありその分解効率も低いことが課題である¹⁾。セルロース系バイオマスからの物質生産プロセスの抜本的簡略化を達成するために、分解酵素の添加を省き、細菌を培養することでセルロース系バイオマスから糖液を生産する技術（Biological simultaneous enzyme-production and saccharification: BSES）²⁾や、燃料化合物を生産する技術（Consolidated bioprocessing: CBP）³⁾が提案されている。グラム陽性好熱性嫌気性土壌細菌 *Clostridium thermocellum* は、セルロース系バイオマス分解活性が高いために、BSES と CBP の候補微生物と位置付けられている⁴⁾。

C. thermocellum は 4.4g/L の精製セルロースを 1 日で完全に分解する⁵⁾。また、5g/L のスイッチグラスを 5 日で 65%、10g/L のトウモロコシ葉を 7 日で 70% 分解する能力を持つ^{6,7)}。*C. thermocellum* を含むいくつかのセルロース分解細菌は、セルロソームと呼ばれる糖質関連酵素複合体を形成する⁸⁾。セルロソームは、骨格タンパク質に複数の糖質関連酵素が結合することによって形成される⁴⁾。*C. thermocellum* ゲノムは 130 以上の糖質関連酵素遺伝子をコードしており、そのうち 70 以上の糖質関連酵素（exo-1,4-glucanase、endo-1,4-glucanase、endo-1,4-xylanase、acetylxyylan esterase、xyloglucanase、endo-1,4-mannanase、lichenase、chitinase など）がセルロソームを構成している。*C. thermocellum* は 0.5% の微結晶セルロース（Avicel）を 45 時間で分解するが、骨格タンパク質（CipA）欠損株では分解に 500 時間近くかかることから、*C. thermocellum* の迅速なセルロース分解能力にはセルロソームが重要であることがわかっている⁹⁾。また、精製セルロソームと比較して、*C. thermocellum* を培養した方がセルロース分解が進むこともわかっている¹⁰⁾。したがって、*C. thermocellum* のセルロース分解活性をセルロソームのみでは説明できず、例えばセルロソームを構成する糖質関連酵素の生産調節などの要素が、*C. thermocellum* のセルロース分解活性で重要であるものと予想される。

C. thermocellum の糖質関連酵素遺伝子の発現パターンは、セルロース分解の初期と後期で変化する¹¹⁾。また、培養する際に用いる基質によって、糖質関連酵素遺伝子の発現パターンが異なる^{12,13)}。Kahel-Raifer らは、*C. thermocellum* がセルロース系バイオマス中の多糖類の存在を複数の抗シグマ因子（RsgIs）で感知し、シグマ因子（SigIs）を介して適切な糖質関連酵素遺伝子の発現を誘導することを報告している¹⁴⁾（図 1）。RsgIs の細胞外ドメインの構造は、糖質結合モジュール（Carbohydrate-binding module: CBM）または糖質加水分解酵素（Glycosyl hydrolase: GH）に類似しており、それぞれ異なる多糖類を認識する。例えば、RsgI1_CBM3 および RsgI4_CBM3 はセルロースに結合し、RsgI6_GH10 はセルロースおよびキシランに結合し、RsgI3_PA14 はペクチンに結合することがわかっている¹⁴⁾。

C. thermocellum におけるシグマ因子を介した糖質加水分解酵素遺伝子発現調節機構に関する研究の多くは、*C. thermocellum* の遺伝子改変の非効率さから、*in vitro* または異種宿主において実施されてきた。Nataf らは run-off assay により、シグマ因子 SigI1 が糖質関連酵素遺伝子 *cel48S* の転写を誘導する能力を示した¹⁵⁾。他の研究では、*C. thermocellum* ゲノム中の SigI3 や SigI6 の標的となる糖質加水分解酵素遺伝子候補のプロモーター配列をバイオインフォマティクス解析により検索し、異種宿主として *Bacillus subtilis* を用いてプロモーター活性を評価している^{16,17)}。

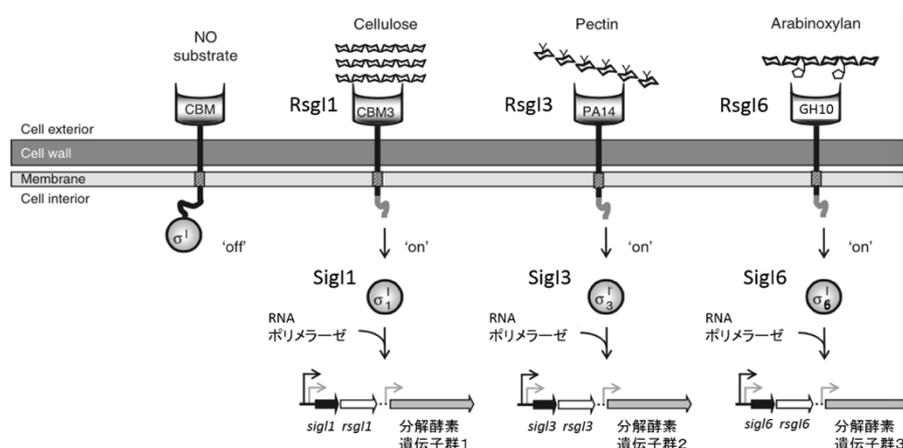


図 1 : *C. thermocellum* の糖質関連酵素生産の調節機構¹⁴⁾

C. thermocellum は複数の RsgI を、セルロース系バイオマスの存在を感知するセンサーとして備えている。例えば RsgI1 はセルロースを、RsgI3 はペクチンを、RsgI6 はアラビノキシランを感知できる。多糖と結合した RsgI は、シグマ因子（SigI）を細胞内に放出する。SigI は RNA ポリメラーゼと結合し遺伝子発現を促進する。9 つある SigI それぞれが異なる分解酵素遺伝子の発現を促進する。以上の機構により *C. thermocellum* は細胞外に存在する多糖に合わせた分解酵素を生産する。

2. 研究の目的

本研究では、*C. thermocellum* シグマ因子遺伝子発現株を作製し、その機能を *in vivo* で解析することによって、*C. thermocellum* の糖質関連酵素生産調節機構を明らかにする。加えて、*C. thermocellum* シグマ因子遺伝子発現株が生産する分解酵素を解析することによって、セルロース系バイオマス分解活性にとって重要な分解酵素の探索を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) *C. thermocellum* の形質転換と、*sigI* 遺伝子の発現確認

C. thermocellum DSM1313 の *sigI* 遺伝子を PCR で増幅し、発現プラスミドに挿入した³⁾。*C. thermocellum* を CTFUD 培地 (3 g/L sodium citrate tribasic dihydrate, 1.3 g/L (NH₄)₂SO₄, 1.5 g/L KH₂PO₄, 130 mg/L CaCl₂ 2H₂O, 500 mg/L L-cysteine-HCl, 11.56 g/L 3-morpholinopropanesulfonic acid, 2.6 g/L MgCl₂ 6H₂O, 1 mg/L FeSO₄ 7H₂O, 4.5 g/L yeast extract, 1 mg/L resazurin, 5g/L cellobiose, pH 7.0) に接種し、窒素ガスによる嫌気性条件下で 60°C で培養した¹⁸⁾。*C. thermocellum* 細胞懸濁液 20μL とプラスミド 1μg を 1mm エレクトロポレーションキュベット内で混合し、ジーンパルサー Xcell エレクトロポレーションシステム (Bio-Rad) を用いて、電圧 1500V、パルス長 1.5ms で、方形波電気パルスを印加した。回収した細胞を、6 μg/mL thiamphenicol を含む CTFUD 固体培地上にプレートし、55°C で 3 日間培養した。形成されたコロニーを単離し、thiamphenicol を含む CTFUD 培地で培養した。培養液中の細胞がプラスミドを保持していることを、PCR によって確認した。形質転換体における *sigI* 遺伝子の発現は、ウエスタンブロッティングによって解析した。

(2) トランスクリプトーム解析

C. thermocellum を CTFUD 培地で培養し、細胞を回収してトータル RNA を抽出した。リボソーム RNA を、Ribo-Zero Bacteria rRNA Removal Kit (Illumina, CA, USA) を用いて除去した。TruSeq Stranded Total RNA Sample Prep Kit (Illumina, CA, USA) を用いて、シーケンシングライブラリーを調製した。ライブラリーのシーケンスを、NovaSeq 6000 システム 2×100 bp ペアリードで決定した。出力されたシーケンスを、Trimmomatic プログラムでトリミングし、Bowtie プログラムを用いて *C. thermocellum* リファレンスゲノム [GenBank: CP002416.1] にマッピングした。マッピング後、HTseq プログラムを用いて発現プロファイリングを行った。遺伝子領域内の転写産物の量を、マップされたリード数を用いて測定した。発現プロファイルを、転写産物の長さと同様にカバレッジの深さを基準として正規化した値 (Reads Per Kilobase of transcript per Million mapped reads: RPKM) で算出した。

(3) *C. thermocellum* セクレトームの調製

C. thermocellum 培養液を遠心分離し、上清を 0.22μm シリンジフィルターで濾過して、細胞を除去した。ろ液を Vivaspin 20-100K (GE Healthcare, IL, USA) で濃縮することにより、セクレトームを調製した⁹⁾。

(4) リコンビナントタンパク質の調製

糖質関連酵素遺伝子を *C. thermocellum* ゲノム DNA から PCR により増幅し、大腸菌 iVEC3 を用いて、プラスミド pET16b に挿入した。得られたプラスミド DNA を、大腸菌 BL21(DE3) の形質転換に用いた。大腸菌で発現させた目的タンパク質を、Profinia IMAC タンパク質精製システム (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) を用いて精製した。

(5) 酵素活性測定

多糖の分解活性測定の基質として、微結晶セルロース (Avicel: Sigma-Aldrich, MO, USA)、キシラン (oat spelt xylan: Fluka, Switzerland)、およびアルカリ処理稲わらを使用した。アルカリ処理稲わらは、稲わらを室温で 1% NaOH に 24 時間浸漬し、その後純水でよく洗浄して天日で乾燥させ、ナイフミル粉砕することで調製した。0.1% 基質溶液に *C. thermocellum* セクレトームを添加し、60°C で反応させた。放出された還元糖量を、DNS 法によって決定した¹⁹⁾。

オリゴ糖の分解活性測定の基質として、*p*-nitrophenyl β-D-glucopyranoside: pNPG (TCI, Japan)、*p*-nitrophenyl β-D-xylopyranoside: pNPX (TCI, Japan)、*p*-nitrophenyl β-D-arabinofuranoside: pNPA (Sigma-Aldrich, MO, USA)、coniferin (ChemFaces, China)、xyloglucan oligosaccharides (Megazyme, Ireland) を用いた。coniferin と xyloglucan oligosaccharide の分解活性測定は、DNS 法によって行った。pNPG、pNPX、pNPA の分解活性は、*p*-nitrophenol 放出量に基づいて決定した。毎分 1 μmol の分解産物を生産する酵素量を 1 U と定義した。

4. 研究成果

(1) *C. thermocellum sigI7* が発現調節する糖質関連酵素遺伝子の探索

C. thermocellum は9つの *sigI* 遺伝子をもつ。*sigI* 遺伝子を構成的に発現させるためのプラスミドを調製し、エレクトロポレーション法によって *C. thermocellum* に導入した。遺伝子導入株を単離し、液体培地にて培養した。9つの *sigI* 遺伝子のうち、*sigI7* 遺伝子を *C. thermocellum* 細胞内で構成的に発現させられることを、ウエスタンブロッティング法によって確認した。

C. thermocellum は、多様な糖質関連酵素を含む複合体（セルロソーム）を構成することで、セルロース系バイオマスを効率よく分解する。シグマ因子が機能していれば、糖質関連酵素の分泌が促進されているはずである。*sigI7* 遺伝子導入株とベクターコントロール株について、RPKMを用いて Differentially Expressed Genes 解析を行った。その結果、*sigI7* 遺伝子導入株では、49つの糖質関連酵素遺伝子の発現が2倍以上の変化で増加していることがわかった（図2）。*xyn11A* (Clo1313_0521)、*xgh74A* (Clo1313_0851)、*cel5E* (Clo1313_1425)、*cel9V* (Clo1313_0349)、*cel9-44J* (Clo1313_1604)、*cel9P* (Clo1313_1955)、*rgae12A* (Clo1313_0693)、*rgl11A* (Clo1313_1983)、*cel9W* (Clo1313_1477)、*cel48S* (Clo1313_2747)、*lic16B* (Clo1313_2022)、*cel5O* (Clo1313_2805)、*xyn5A* (Clo1313_2856)、*xyn10Y* (Clo1313_1305)、*cel5G* (Clo1313_0413)、*chi18A* (Clo1313_1959)、*cbh9A* (Clo1313_1808)、*cel8A* (Clo1313_1960)、*xyn30A* (Clo1313_0563) など主要なセルロソーム糖質関連酵素遺伝子、また *cipA* (Clo1313_0627)、*olpB* (Clo1313_0628) といったセルロソーム骨格遺伝子の発現量増加が確認された。そのほか、*sigI7* 遺伝子導入株において endo-1,4-β-xylanase 遺伝子 (Clo1313_0522) の発現が23倍、CBM-containing protein 遺伝子 (Clo1313_1494) の発現が22倍に増加しており、顕著であった。一方、8つの糖質関連酵素遺伝子の発現が *sigI7* 遺伝子導入株で2倍以上の変化を伴って低下していることも確認した。セルロソーム構成酵素遺伝子の一つである *cel5-26H* (Clo1313_2234) の発現量は、*sigI7* 遺伝子導入株で4.5倍減少していた。*sigI7* 遺伝子導入株では、*sigI2* の発現が2.2倍、*sigI8* の発現が3.8倍に増加し、*sigI3* の発現が2.1倍に減少しており、糖質関連酵素遺伝子の発現調節経路のクロストークが存在するものと予想された。

*sigI7*遺伝子導入株でmRNAの蓄積が2倍以上になった糖質関連酵素遺伝子やセルロソーム骨格遺伝子は49つあった

セルロソーム主構成要素のCAZyme (一例)				セルロソームの骨格			
Gene name	Locus tag	Domain structure	<i>sigI7</i> / vector fold change	Gene name	Locus tag	Domain structure	<i>sigI7</i> / vector fold change
<i>cel48S</i>	Clo1313_2747	GH48	3.1				
<i>cel8A</i>	Clo1313_1960	GH8	2.1	<i>cipA</i>	Clo1313_0627	Type 1 cohesin, CBM3, Type 2 dockerin	2.5
<i>xyn11A</i>	Clo1313_0521	GH11,CBM6,CE4	19.3				
<i>cgh9A</i>	Clo1313_1808	CBM4,GH9,CBM3	2.2	<i>olpB</i>	Clo1313_0628	Type 2 cohesin	3.7

*sigI7*遺伝子導入株でmRNAの蓄積が2倍以下になった糖質関連酵素遺伝子は8つあった

Gene name	Locus tag	Domain structure	<i>sigI7</i> / vector fold change
	Clo1313_0820	GH1	-2.0
	Clo1313_2576	CE4	-2.2
	Clo1313_1002	GH3	-2.3
	Clo1313_1001	CBM3,CBM4	-2.3
	Clo1313_0140	GT4	-2.4
	Clo1313_0333	GH23	-2.6
	Clo1313_0136	GT32	-3.0
<i>cel5-26H</i>	Clo1313_2234	GH26,GH5,CBM11	-4.5

*sigI7*遺伝子導入株でmRNAの蓄積に変動があった*sigI*遺伝子は3つあった

Gene name	Locus tag	Domain structure	<i>sigI7</i> / vector fold change
<i>sigI2</i>	Clo1313_1961	Sigma factor	2.2
<i>sigI3</i>	Clo1313_1911	Sigma factor	-2.1
<i>sigI8</i>	Clo1313_0525	Sigma factor	3.8

図2 : *C. thermocellum sigI7* 遺伝子導入株のトランスクリプトーム解析

(2) *C. thermocellum sigI7* 遺伝子導入株のセルロース系バイオマス分解活性

C. thermocellum sigI7 遺伝子導入株培養液からセクレトームを回収し、そのセルロース系バイオマス分解活性を測定した。アルカリ処理稲わらに対する *sigI7* 遺伝子導入株の活性は 1.00 mg reducing sugar/mg-protein である一方、ベクターコントロール株の活性は0.74 mg reducing sugar/mg-protein だった（図3）。セルロース分解活性は、*sigI7* 遺伝子導入株とベクター株との間で類似していた。*sigI7* 遺伝子導入株およびベクター株のキシラン分解活性は、それぞれ 4.4 reducing sugar/mg-protein、7.5 reducing sugar/mg-protein であった。これらの結果より、*sigI7* 遺伝子導入株セクレトームのセルロースの分解活性に変化はなかったが、キシランの分解活性が低下していることがわかった。*sigI7* 遺伝子導入株セクレトームに存在する糖質関連酵素を活性染色法にて解析したところ、分子量約 75kDa および約 50kDa のキシランナーゼが減少していることを確認できた。

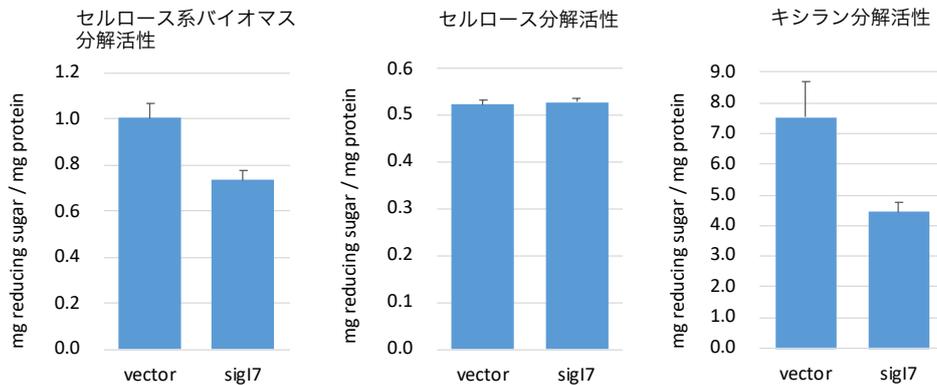


図3 : *C. thermocellum sigI7* 遺伝子導入株セクレトームのセルロース系バイオマス分解活性
C. thermocellum 培養液を、10 kDa molecular cut-off フィルターを用いて限外濾過して濃縮し、酵素溶液とした。酵素溶液を 0.1% 基質溶液 (粉碎アルカリ処理稲わら、Avicel、オートスペルトキシラン) と混合し、反応後に生産された還元糖量を定量した。エラーバーは標準誤差を表す。

(3) *C. thermocellum* のセルロース分解活性に重要な糖質関連酵素の探索

C. thermocellum は 100 以上の糖質関連酵素を用いて効率よくセルロース系バイオマスを分解する。糖質関連酵素の多様性がセルロース系バイオマス分解活性に重要であることがわかっているが²⁰⁾、どの糖質関連酵素の活性が全体の活性に寄与しているのか明らかでない。

ここまでのトランスクリプトームや活性染色による結果を踏まえて、*sigI7* 遺伝子導入株で減少している糖質関連酵素を推定した。糖質関連酵素遺伝子 Clo1313_2234 のリコンビナントタンパク質は、セルラーゼ活性とキシランナーゼ活性を持つことがわかっているが (図2)、*sigI7* 遺伝子導入株セクレトームに添加してもアルカリ処理稲わらの分解活性に変化はなかった。一方で、Clo1313_1002 から調製したリコンビナントタンパク質は、アルカリ処理稲わら分解活性をほとんど示さなかったが、*sigI7* 遺伝子導入株セクレトームの活性を復帰できることがわかった (図4)。Clo1313_1002 は、 β -glucosidase (EC 3.2.1.21)、 β -xylosidase (EC 3.2.1.37)、coniferin β -glucosidase (EC 3.2.1.126)、 α -L-arabinofuranosidase (EC 3.2.1.55) 活性を示す GH3 糖質関連酵素であり (図5)、これらの活性が *C. thermocellum* のセルロース系バイオマス分解活性に重要であることが示唆された。

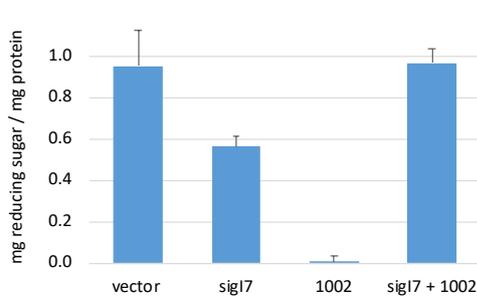


図4 : *C. thermocellum sigI7* 遺伝子導入株のアルカリ処理稲わら分解活性

C. thermocellum セクレトームを酵素溶液として、0.1% 粉碎アルカリ処理稲わらと混合し、反応後に生産された還元糖量を定量した。エラーバーは標準誤差を表す。

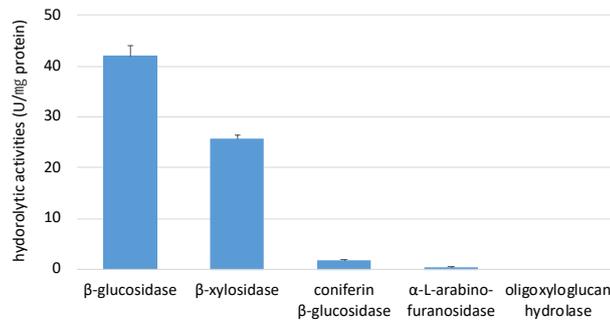


図5 : Clo1313_1002 の分解活性

Clo1313_1002 の精製リコンビナントタンパク質を調製し、その pNPG、pNPX、pNPA、coniferin、xyloglucan oligosaccharides の分解活性を測定した。エラーバーは標準誤差を表す。

《参考文献》

- Himmel *et al.* Science. 315: 804. 2007.
- Prawitwong *et al.* Biotechnol. Biofuels. 6: 184. 2013.
- Ichikawa *et al.* FEMS Microbiol. Lett. 362: fmv202. 2015.
- Doi *et al.* Nat. Rev. Microbiol. 2: 541. 2004.
- Izquierdo *et al.* Biotechnol. Biofuels. 7: 136. 2014.
- Paye *et al.* Biotechnol. Biofuels. 9: 8. 2016.
- Ichikawa *et al.* Biosci. Biotechnol. Biochem. 81: 2028. 2017.
- White *et al.* Annu. Rev. Microbiol. 68: 279. 2014.
- Xu *et al.* Sci Adv 2: e1501254. 2016.
- Lu *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 103: 16165. 2006.
- Raman *et al.* BMC Microbiol. 11: 134. 2011.
- Raman *et al.* PLoS One. 4: e5271. 2009.
- Zverlov *et al.* Ann N Y Acad Sci 1125: 298. 2008.
- Kahel-Raifer *et al.* FEMS Microbiol. Lett. 308: 84. 2010.
- Nataf *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 107: 18646. 2010.
- Muñoz-Gutiérrez I *et al.* PLoS One. 11: e0146316. 2016.
- Ortiz de Ora *et al.* Sci. Rep. 8: 11036. 2018.
- Mori. Appl. Environ. Microbiol. 56: 37. 1990.
- Sumner. J. Biol. Chem. 47: 5. 1921.
- Hirano *et al.* Sci Rep. 6: 35709. 2016.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ichikawa Shunsuke, Ichihara Maiko, Ito Toshiyuki, Isozaki Kazuho, Kosugi Akihiko, Karita Shuichi	4. 巻 127
2. 論文標題 Glucose production from cellulose through biological simultaneous enzyme production and saccharification using recombinant bacteria expressing the -glucosidase gene	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 340 ~ 344
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.jbiosc.2018.08.008	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 Ichikawa Shunsuke, Ogawa Satoru, Nishida Ayami, Kobayashi Yuzuki, Kurosawa Toshihito, Karita Shuichi	4. 巻 366
2. 論文標題 Cellulosomes localise on the surface of membrane vesicles from the cellulolytic bacterium Clostridium thermocellum	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FEMS Microbiology Letters	6. 最初と最後の頁 fnz145
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1093/femsle/fnz145	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 Ishikawa Masaki, Morishita Mio, Higuchi Yohei, Ichikawa Shunsuke, Ishikawa Takaaki, Nishiyama Tomoaki, Kabeya Yukiko, Hiwatashi Yuji, Kurata Tetsuya, Kubo Minoru, Shigenobu Shuji, Tamada Yosuke, Sato Yoshikatsu, Hasebe Mitsuyasu	4. 巻 5
2. 論文標題 Physcomitrella STEMIN transcription factor induces stem cell formation with epigenetic reprogramming	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Plants	6. 最初と最後の頁 681 ~ 690
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1038/s41477-019-0464-2	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 市川俊輔
2. 発表標題 細菌 Clostridium thermocellum のセルロース分解メカニズム
3. 学会等名 第33回セルラーゼ研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 市川俊輔 小川覚 西田郁美 黒澤俊人 苅田修一
2. 発表標題 Clostridium thermocellumのメンブランベシクル形成とセルロソームの局在
3. 学会等名 第32回セルラーゼ研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤敏之 市川俊輔 市原舞子 磯崎一步 苅田修一
2. 発表標題 BGL発現細菌とClostridium thermocellumを用いたグルコース生産
3. 学会等名 第32回セルラーゼ研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木下玄太 市川俊輔 西田郁美 岡崎文美 中山寛子 増田裕一 西村訓弘 島田康人
2. 発表標題 土壌微生物叢からの抗大腸がん作用物質の探索
3. 学会等名 第82回生化学会中部支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木下玄太 市川俊輔 西田郁美 岡崎文美 中山寛子 増田裕一 西村訓弘 島田康人
2. 発表標題 土壌微生物叢からの抗大腸癌作用物質の探索
3. 学会等名 第133回薬理学会近畿部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 市川俊輔 西田郁美 岡崎文美 増田裕一 黒柳淳哉 中山寛子 西村訓弘 島田康人
2. 発表標題 大腸ガン増殖抑制作用を持つ土壌微生物叢の探索研究
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 市川 俊輔 小川 覚 西田 郁美 小林 柚姫 黒澤 俊人 苅田 修一
2. 発表標題 細菌 Clostridium thermocellum のメンブランベシクル生産とセルロース分解能への寄与
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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
研究協力者	苅田 修一 (Karita Shuichi) (90233999)	三重大学・生物資源学研究所・教授 (14101)	