

革新的環境技術シンポジウム 2014

2014年 12月 17日

# バイオリファイナーの 実用化に向けた取組み の現状と展望

公益財団法人 地球環境産業技術研究機構(RITE)

バイオ研究グループ

グループリーダー代行, 主席研究員

奈良先端科学技術大学院大学(NAIST)

バイオサイエンス研究科 客員教授

乾 将行



# 新規産業: バイオリファイナリー

非可食  
バイオマス



↓  
C6糖 6  
C5糖 5

## 増殖非依存型 バイオプロセス

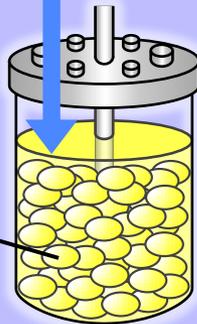
反応槽に微生物を  
高密度充填し反応する

混合糖完全同時利用可

醗酵阻害  
物質耐性

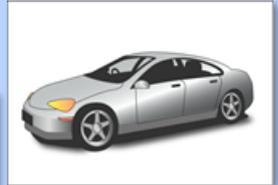
菌体触媒  
(非増殖)

高生産性



## バイオ燃料

- ・エタノール
- ・イソブタノール
- ・ブタノール 他



## グリーン化学品

- ・C2 エタノール
- ・C3 プロパノール
- ・C4 ブタノール等
- ・芳香族類  
カルボン酸  
アミン等

自動車部材、包装材、電気製品部材、  
炭素繊維、各種樹脂等



# バイオリファイナリー市場予測



市場規模は急拡大と推定



**\$700.7 Billion by 2018**

BCC Research 2014 (incl. biorefinery application)

# バイオリファイナー

## 1. バイオ燃料…………… high volumes low margins

バイオアルコール(エタノール、ブタノール等)  
バイオディーゼル

## 2. グリーン化学品… lower volumes higher margins

C3～C6化合物  
アミノ酸  
芳香族化合物等

# グリーンケミカルズ: 市場規模予測

✔ **Bio-derived chemicals ... \$331.3 billion in 2018**

BCC Research (2014)

✔ **Bio-based chemicals..... €450 (\$576) billion by 2020**

DSM Press Information (2012)

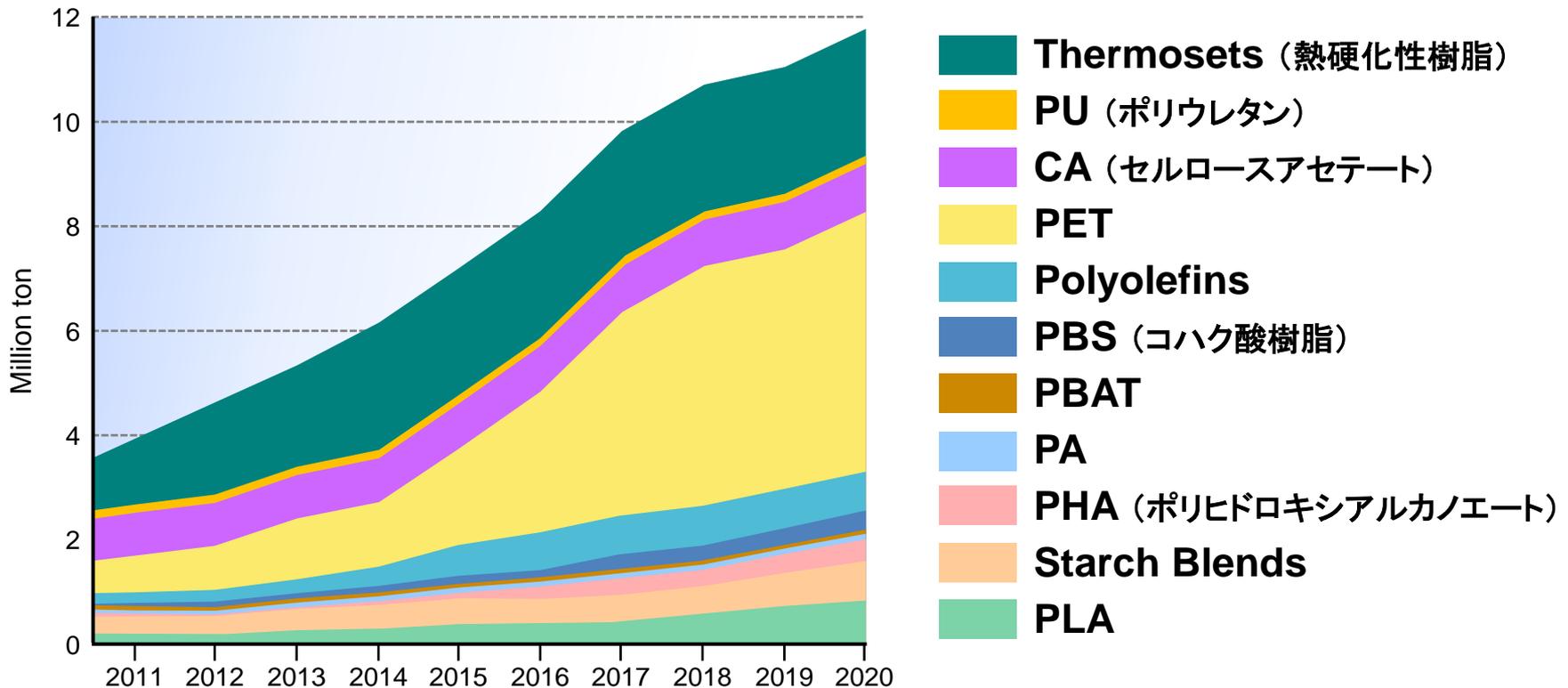


**Make green-chemicals first**

**By 2030, 30% of chemicals is expected to be bio-based**

Joint European Biorefinery Vision for 2030 (2013)

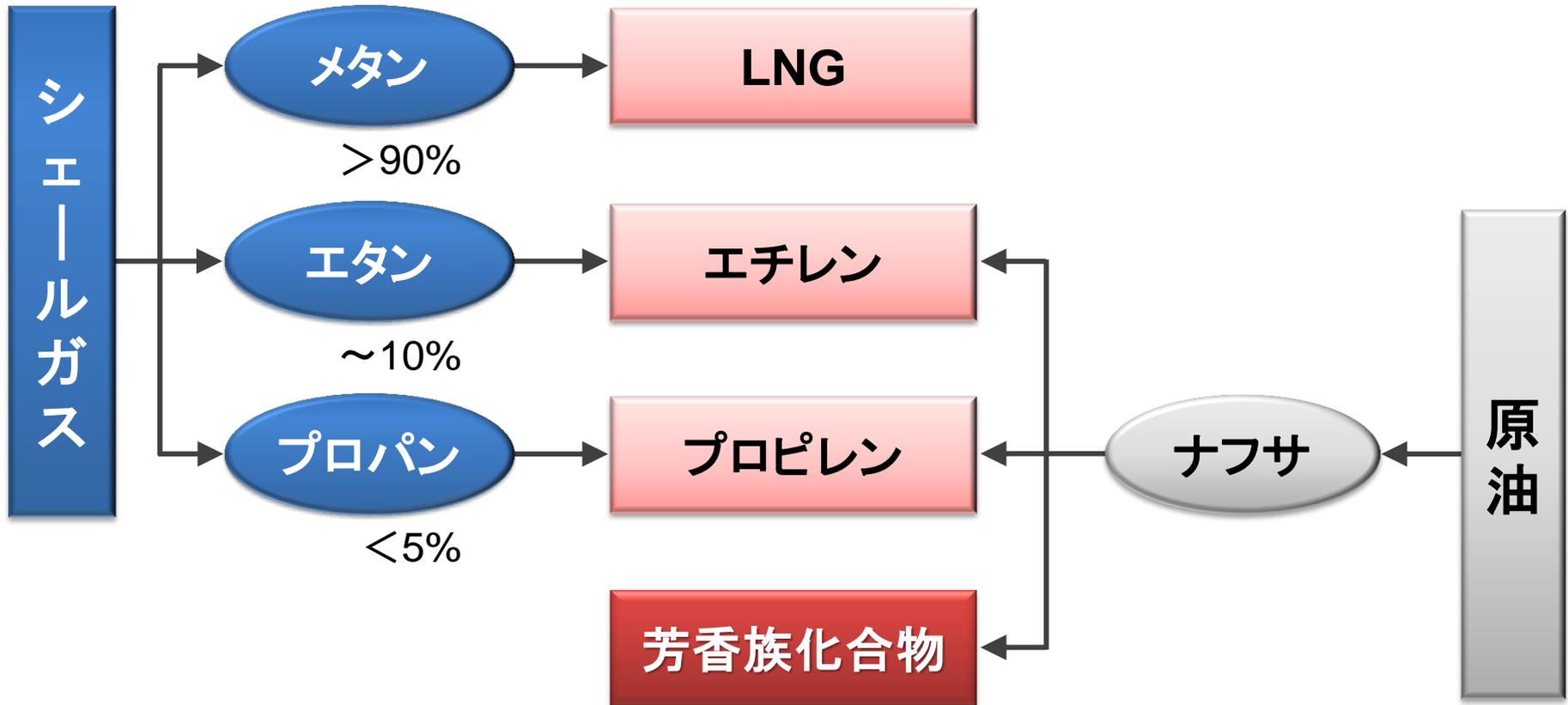
# バイオポリマー生産量予測



[http://www.biofpr.com/details/news/4459681/Production\\_capacity\\_of\\_bio-based\\_polymersm\\_will\\_triple\\_by\\_2020\\_according\\_to\\_stud.html](http://www.biofpr.com/details/news/4459681/Production_capacity_of_bio-based_polymersm_will_triple_by_2020_according_to_stud.html)

**Bio-based polymer production will reach nearly 12 million tonnes by 2020 and its share should increase from 1.5% in 2011 to 3% in 2020 (Biofpr.com, 2013).**

# シェール革命による化学産業への影響



芳香族化合物及びC4以上の化学品は、シェールガスからの生成は難しく、今後、価格上昇が予想される。

CO<sub>2</sub>排出量削減からもバイオマスからの製造技術確立が期待される。

# 増殖非依存型バイオプロセスの概念図

## 増殖非依存型バイオプロセス

反応槽に微生物を高密度充填し反応する

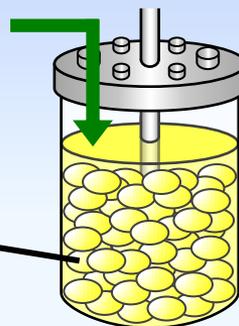
特許 JP3869788 DE602004026192.0 JP4927297  
JP4451393 DK1647594 US7598063  
US7368268 FR1647594 EP1291428  
EP1647594 GB1647594 JP4294373  
CH1647594

混合糖完全同時利用可

C5, C6糖

醗酵阻害  
物質耐性

菌体触媒  
(増殖なし)



高生産性

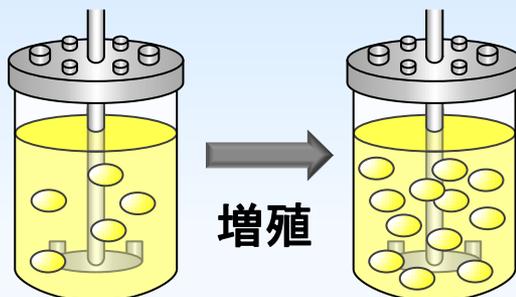
生産物  
バイオ燃料  
バイオ化学品

微生物が増殖しないため、

- 増殖のためのエネルギーロスがなく、原料収率が高い。
- システムが簡便である。

## 従来の醗酵法

微生物が増殖しながら物質を生成する



- 微生物が増殖するため、スペースが必要であり巨大な反応槽が必要となる。
- 生産(反応)時間は微生物の増殖に依存する。

 **混合糖類 (C6, C5糖)  
の完全同時利用性**

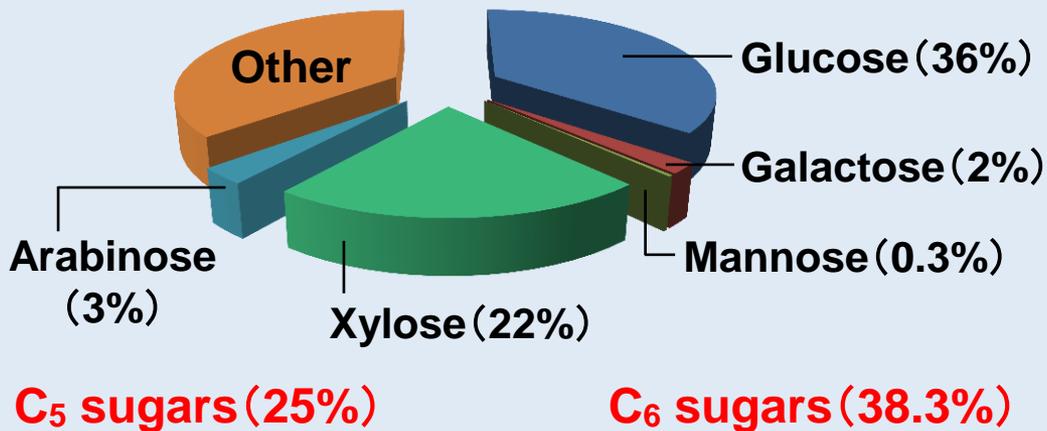
 **“醗酵阻害物質”  
への高度耐性**

# 背景: ソフトバイオマスの有効利用

## ソフトバイオマス:

- 不可食性(未利用資源)
- 草本系バイオマス由来
- 稲ワラ, corn stover, bagasse, スイッチグラス等

## ソフトバイオマス(Corn stover)



Corn stover

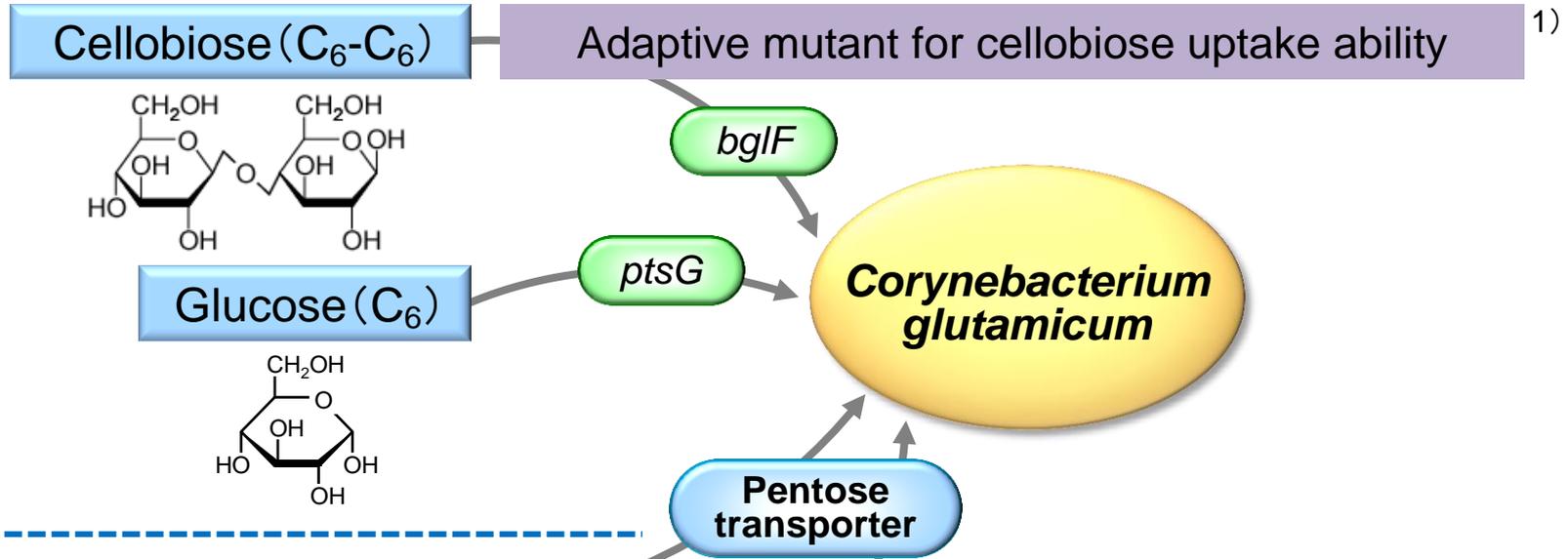


Bagasse

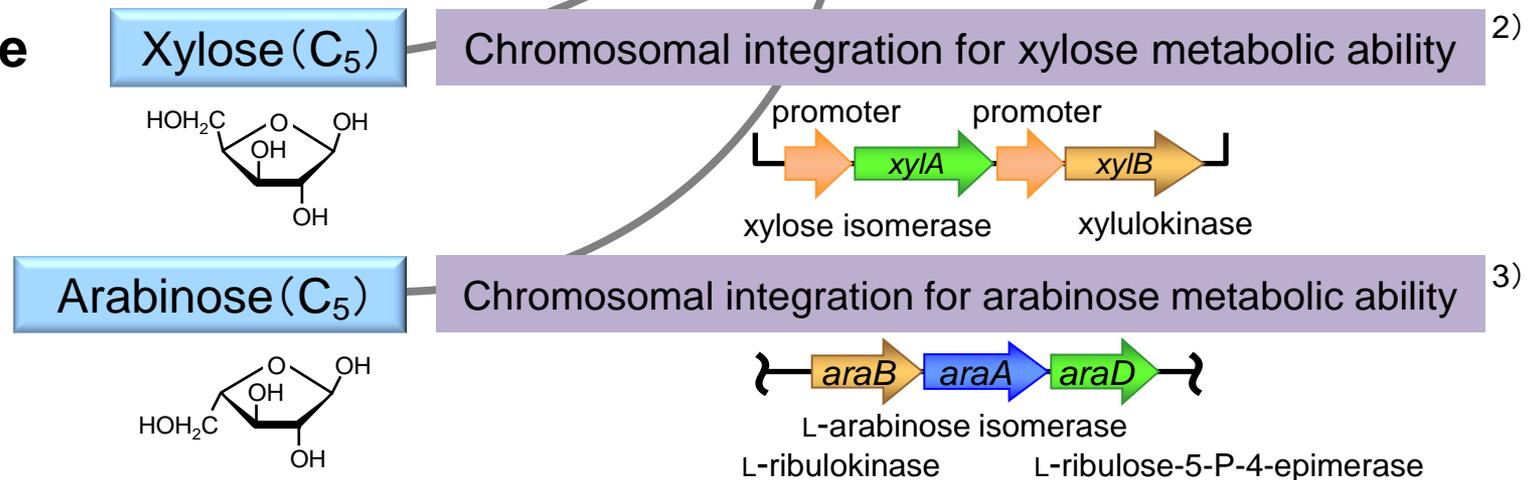


# C6糖、C5糖の同時利用

## Cellulose



## Hemicellulose

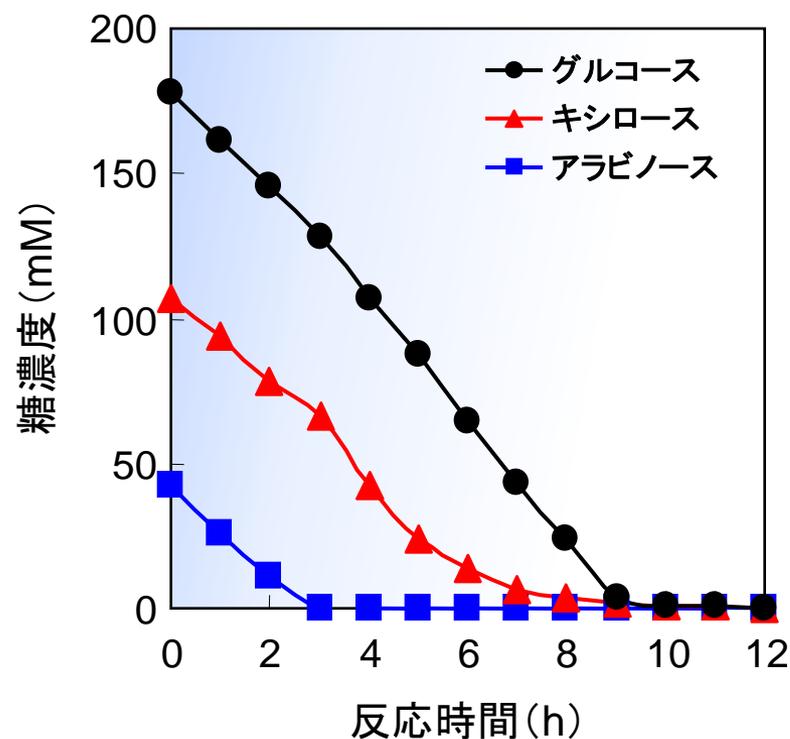
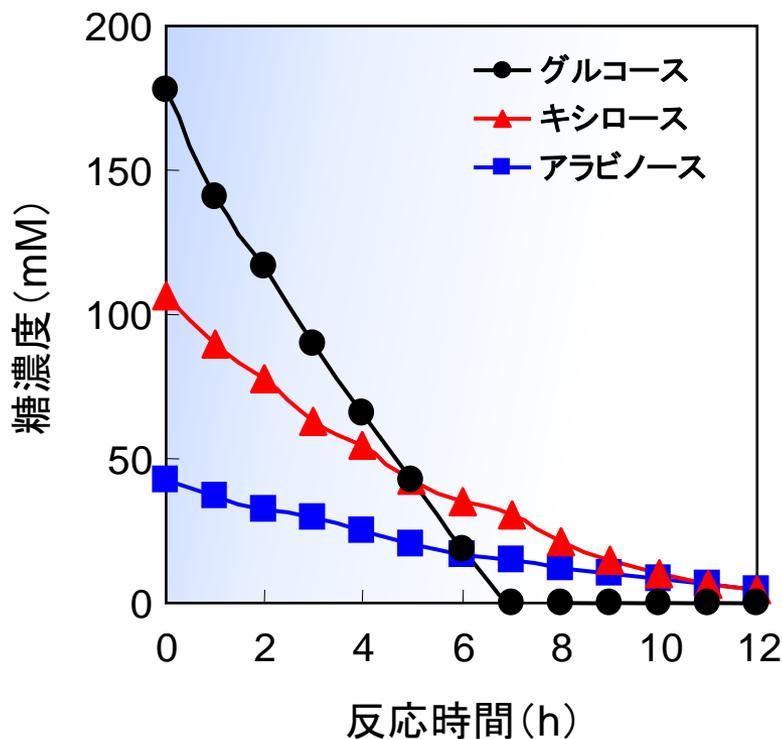
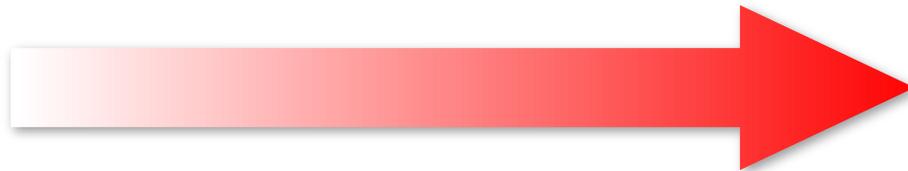


RITE論文:

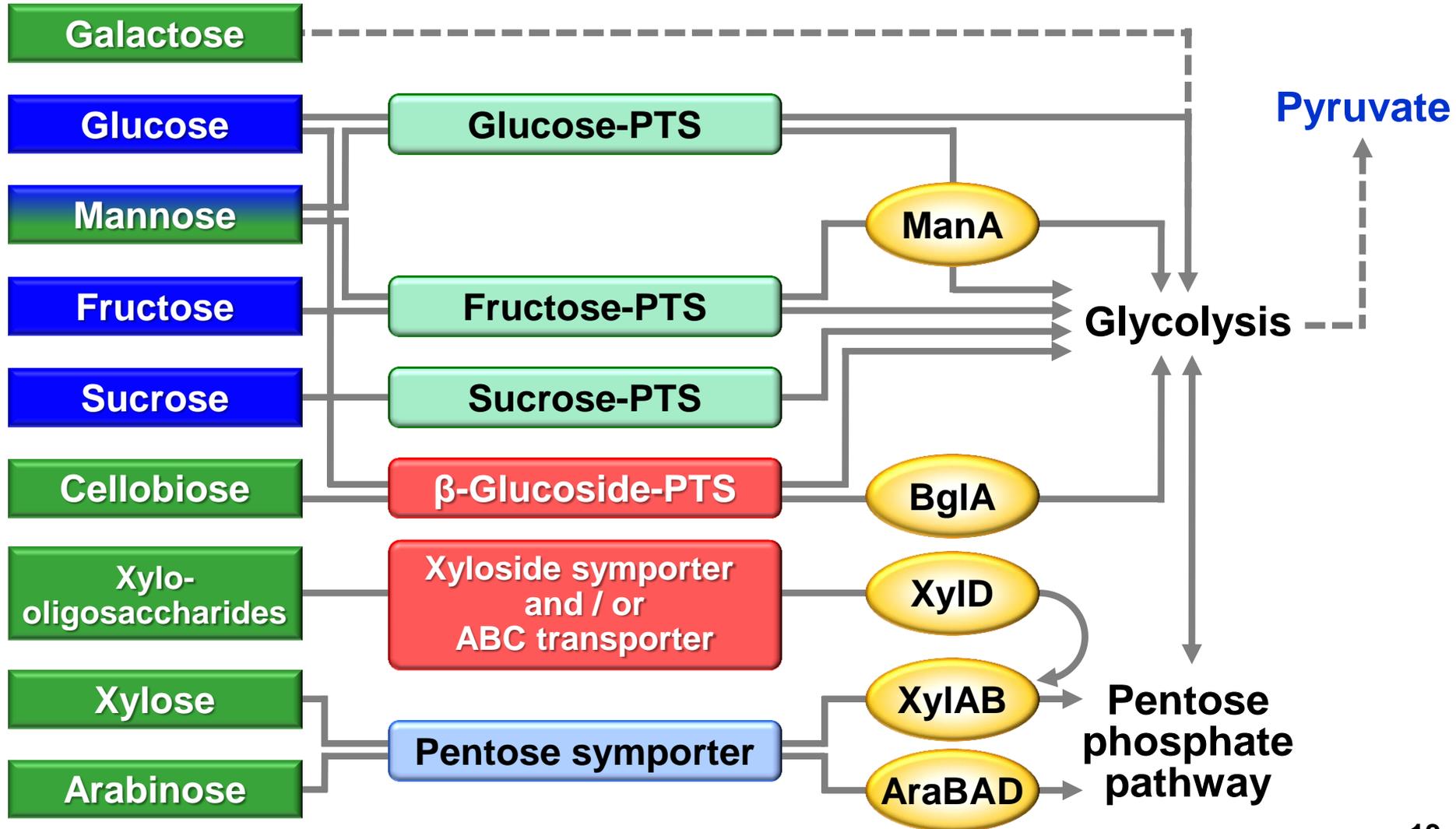
1) *Microbiology* **149**:1569-1580. 2003. 2) *Appl. Environ. Microbiol.* **72**:3418-3428. 2006. 3) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **77**:1053-1062. 2008.

# ペントーストランスポーターの導入による 混合糖同時利用能の向上(増殖非依存型バイオプロセス)

## Pentose transporter 遺伝子(*araE*) 導入



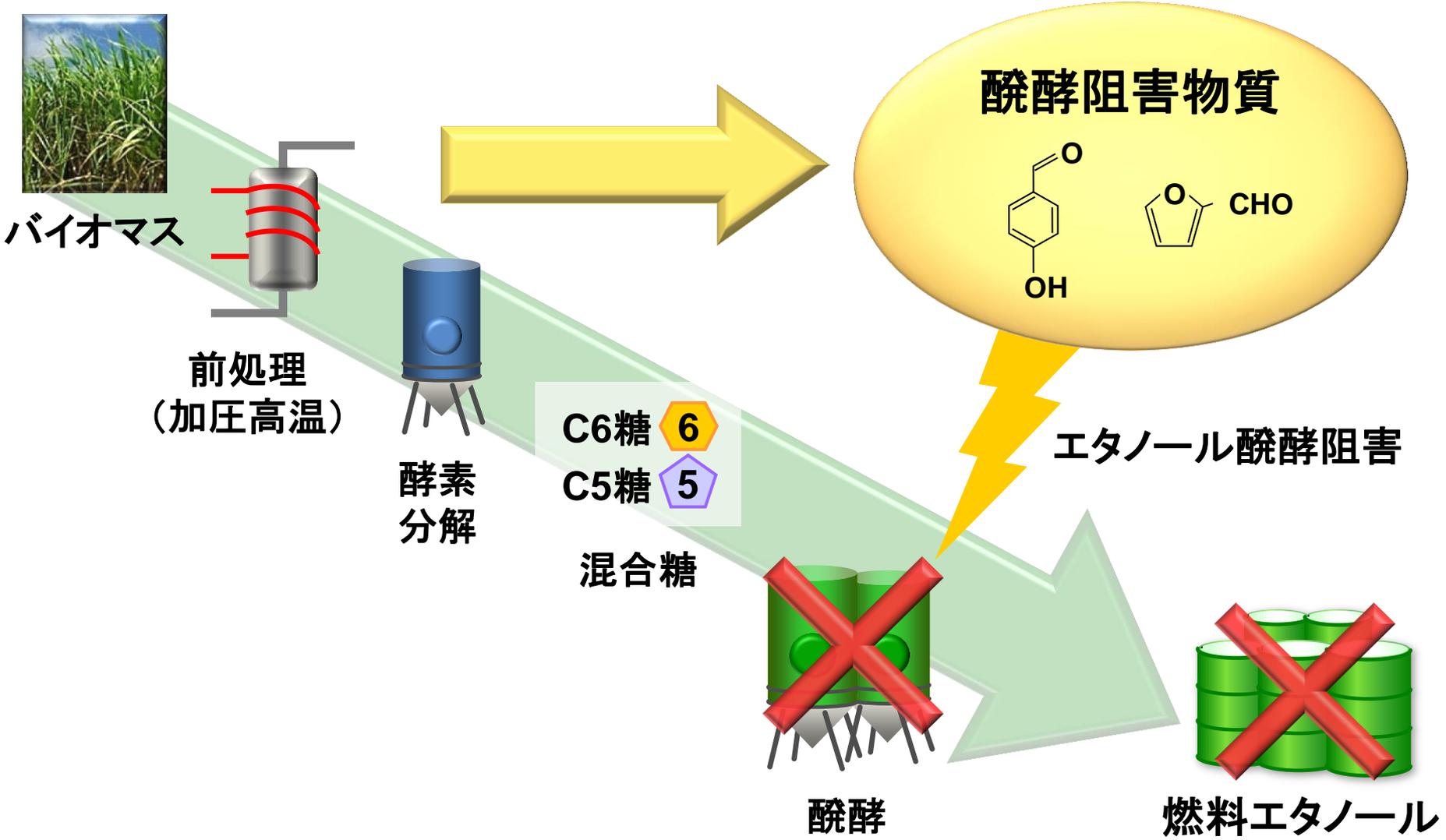
# 混合糖 (C6&C5) 利用能の付与



✓ 混合糖類（C6, C5糖）  
の完全同時利用性

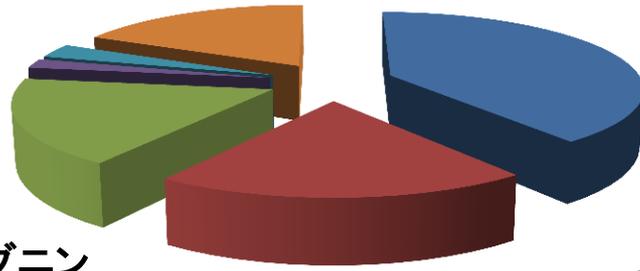
✓ “醗酵阻害物質”  
への高度耐性

# 醗酵阻害物質とは？



# 主な阻害物質

## バイオマス成分



セルロース

Hexose

ヘミセルロース

Pentose

Furans

リグニン

Phenols

Acetic acid

Furfural

5-HMF

5-hydroxymethyl-2-furaldehyde

4-HB

4-hydroxybenzaldehyde

Vanillin

Syringaldehyde

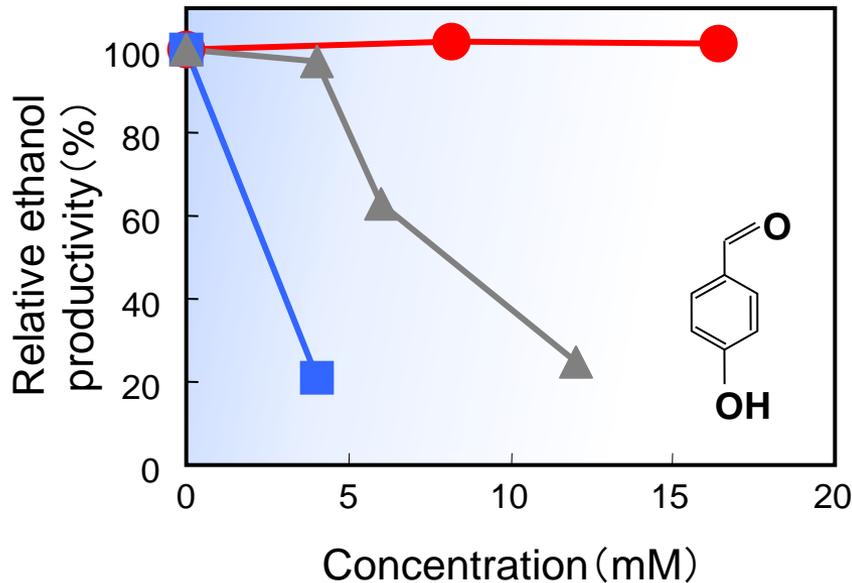
# 阻害物質の影響

● RITE Bio-Process

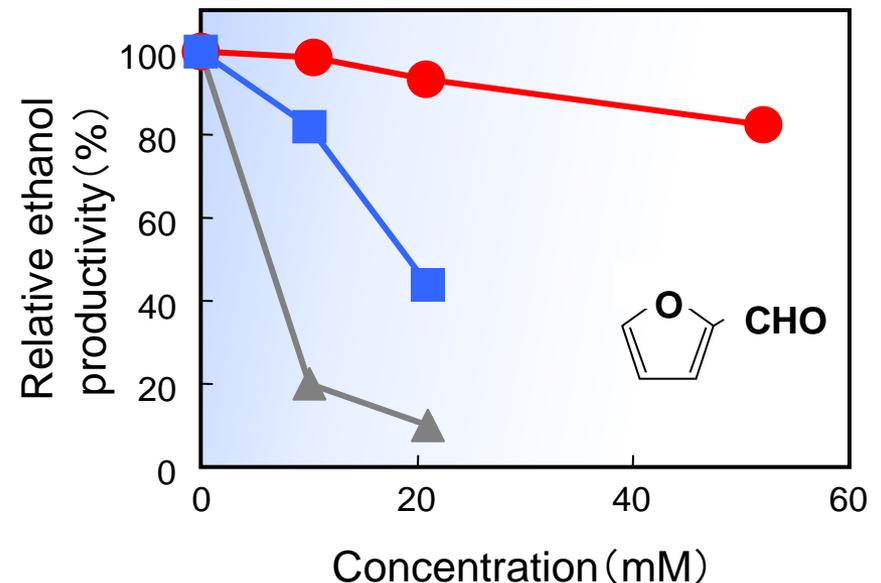
■ ザイモモナス菌

▲ アルコール酵母

## 4-HB



## フルフラール



# 各種前処理糖化液中の阻害物質濃度

		I <sup>1)</sup>	II <sup>2)</sup>	III <sup>3)</sup>	IV <sup>4)</sup>
前処理		希酸処理	水蒸気爆砕処理	アルカリ処理	超臨界水処理
原料		コーンストーバ	バガス	麦わら	スギ
阻害物質 (mM)	Acetate	43	70	28	
	Furfural	13	11		2.5
	5-HMF	2.4	3.2		3
	4-HB		0.9		
	Vanillin				5.4
	Formate		22	91	
	p-coumaric acid		2.9		
	Ferulic acid		1.1		
	Glycolic acid			17	
	Lactic acid			4.9	
	Succinate			2.5	
	Malate			1.2	
Coniferylaldehyde				0.5	

1) Nicholas *et al.*, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **121-124**:379-390. 2005.

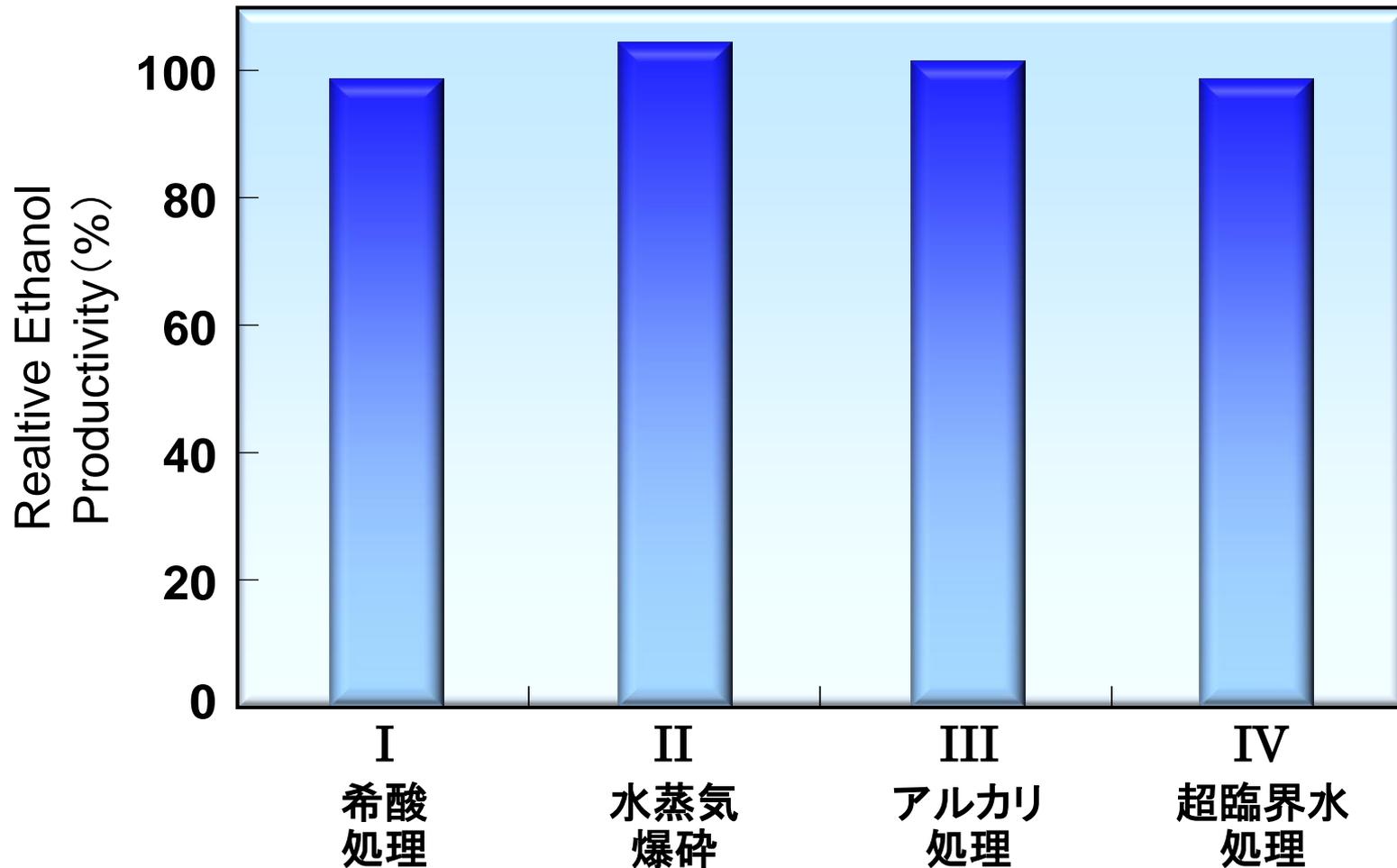
2) Martin *et al.*, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **98-100**:699-716. 2002.

3) Klinke *et al.*, *Bioresour. Technol.* **82**:15-26. 2002.

4) Miyafuji *et al.*, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **121-124**:963-971. 2005.

※文献中0.1g/L以下の成分は除外

# 阻害物質混合液での耐性



# Product portfolio by RITE bioprocess

## (1) バイオ燃料

- ガソリン混合・代替
  - ・エタノール(NREL)
- バイオジェット燃料
  - ・イソブタノール(NREL)
  - ・n-ブタノール(NREL)
  - ・**C10~C15飽和炭化水素**  
+ **芳香族化合物**
- バイオ水素

## (2) グリーン化学品

- 芳香族化合物
  - ・**シキミ酸(インフルエンザ治療薬タミフル原料)**
  - ・**フェノール(フェノール樹脂、ポリカーボネート)**
  - ・**4-ヒドロキシ安息香酸(ポリマー原料)**
  - ・**アニリン(石油外天然資源タイヤ原料(老化防止剤))**
- 有機酸
  - ・D-乳酸、L-乳酸(ステレオコンプレックス型ポリ乳酸)
  - ・コハク酸
- アミノ酸
  - ・アラニン(医薬品原料、食品)
  - ・バリン(次世代飼料用アミノ酸、医薬品原料、食品)
  - ・トリプトファン(飼料用アミノ酸、医薬品原料、飲料)
  - ・メチオニン(飼料用アミノ酸、調味料)
- アルコール
  - ・イソプロパノール(プロピレン原料)
  - ・キシリトール(甘味料)



# 高細胞阻害物質の生産技術確立への挑戦

高細胞阻害物質を  
増殖を伴う醗酵法で  
生産する場合の課題

生成物による増殖阻害のため  
低生産性(生成速度の低下、  
最終生成物濃度の低下等)

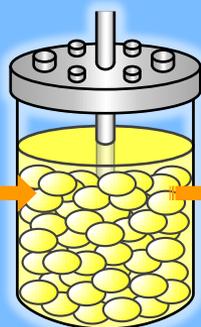
実用生産は  
非常に難

## 増殖非依存型バイオプロセス

非可食  
バイオマス

前処理  
糖化

混合糖  
(C6,C5糖)



## 高細胞阻害物質

- ・芳香族化合物(フェノール等)
- ・アルコール(ブタノール等)

- 優位点**
- コリネ型細菌は、芳香族化合物やアルコールに対する耐性が高い。
  - 生成物が高細胞阻害物質の場合、増殖を伴う醗酵法と比較して、増殖非依存型バイオプロセスは影響が低い。



# 芳香族化合物の用途

## 1. ポリマー原料

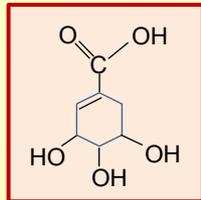
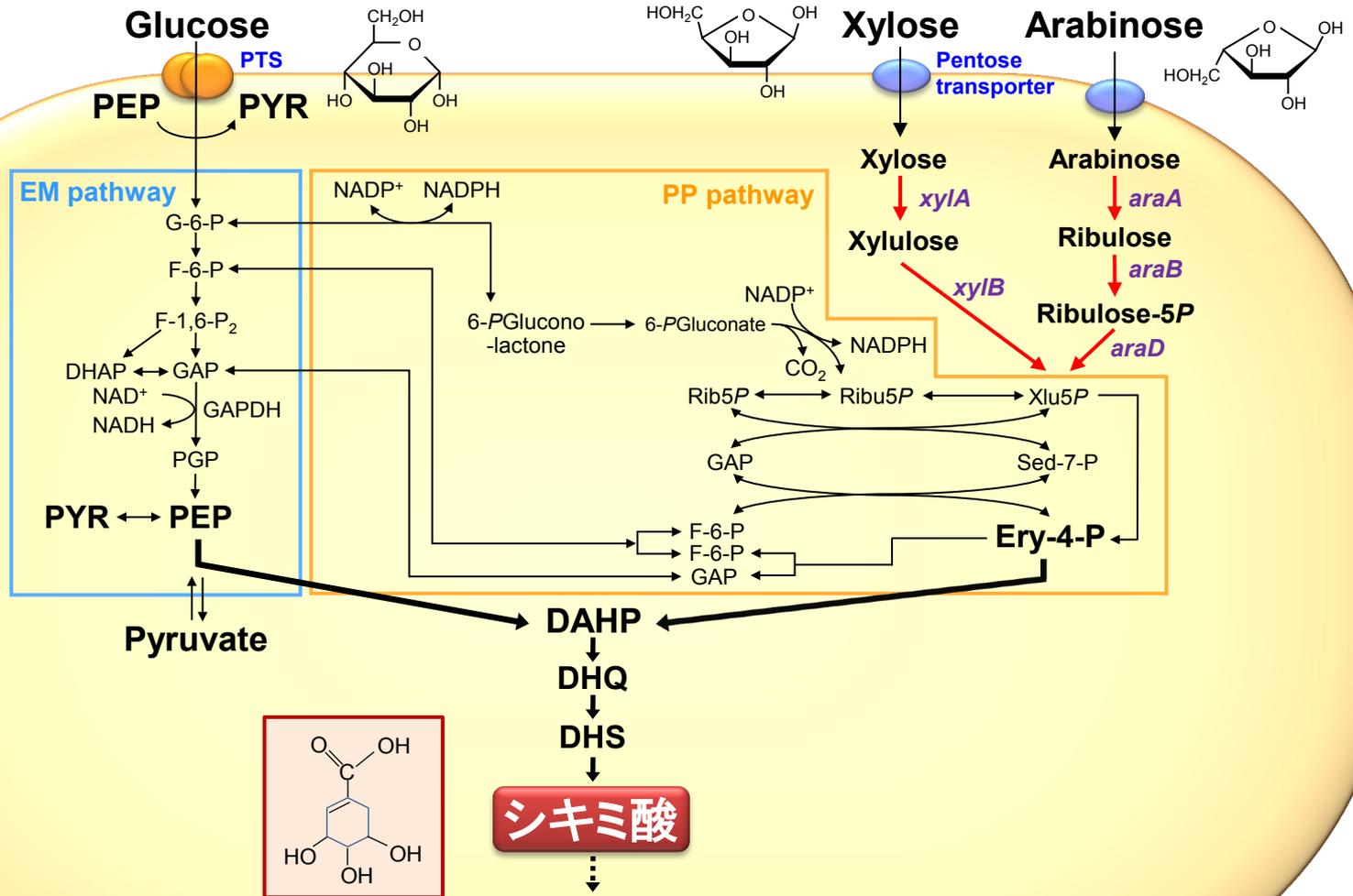
- ・プラスチック原料（フェノール樹脂、ポリカーボネート樹脂、エポキシ樹脂、ポリスチレン等）
- ・液晶原料
- ・合成繊維原料（ポリエステル、ナイロン）
- ・合成ゴム原料（スチレンゴム等）

## 2. 工業薬品原料

- ・合成洗剤原料（アルキルフェノール、アルキルベンゼン）
- ・塗料原料、染料、写真現像薬原料
- ・重合防止剤、可塑剤、紫外線吸収剤

## 3. 医薬・農薬、香料の原料

# 芳香族化合物の生産技術開発



シキミ酸

芳香族化合物、芳香族アミノ酸他

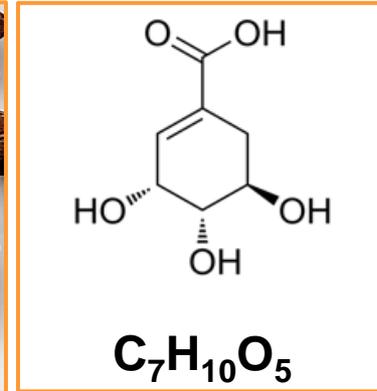
# 芳香族化合物前駆体: シキミ酸の用途、製造法



シキミの花



シキミの実



シキミ酸

## シキミ酸の需要

- ・インフルエンザ治療薬タミフル (oseltamivir) の原料  
緊急のインフルエンザ対策のためタミフルの備蓄が必要→原料のシキミ酸が不足。
- ・3つの不斉炭素原子を有する環状ヒドロキシ酸  
→様々な医薬品、化成品、化粧品、農薬等の合成原料。

## シキミ酸の製造方法

従来はシキミ(ハッカク)の乾燥果実より抽出、精製 → 高コスト、低収量。

→ 安価な再生可能原料からの高生産バイオプロセスが望まれている。

# 生産性比較: シキミ酸生産

宿主	生産量	収率	反応時間	研究グループ
<i>Escherichia coli</i> SP1.1pts/pSC6.090B	71 g/L <sup>1)</sup>	27%	60 h	Frost JW., 2003. (Michigan state university)
	85 g/L <sup>1)</sup> (+ Yeast extract)	33%	41 h	
<i>Escherichia coli</i> AR36	43 g/L <sup>2)</sup> (+ Yeast extract)	43%	30 h	Gosset G, Bolivar F., 2013. (メキシコ国立自治大学)
<i>Bacillus subtilis</i> ID36	20 g/L <sup>3)</sup>	—	90 h	Iomantas <i>et al.</i> , 2002. (味の素)
<i>Citrobacter freundii</i>	10 g/L <sup>4)</sup>	—	100 h	Shirai M. <i>et al.</i> , 2001. (東レ)
<b><i>Corynebacterium glutamicum</i></b>	<b>141 g/L</b>	<b>51%</b>	<b>48 h</b>	<b>RITE</b>

1) Chandran *et al.*, (Michigan州立大) *Biotechnol. Bioeng.* **19**:808-814. 2003.

2) Rodriguez *et al.*, (メキシコ国立自治大学) *Microbial. Cell Factories* **12**:86. 2013.

3) Iomantas *et al.*, US Patent 6436664 (Ajinomoto co., inc) Method for producing shikimic acid. 2002.

4) Shirai *et al.*, EP 1092766 (TORAY) Microorganisms belonging to the genus citrobacter and process for producing shikimic acid. 2001.

# シキミ酸精製



培養液を遠心して  
菌体を除去



活性炭処理



イオン交換樹脂で  
吸着・洗浄・溶出



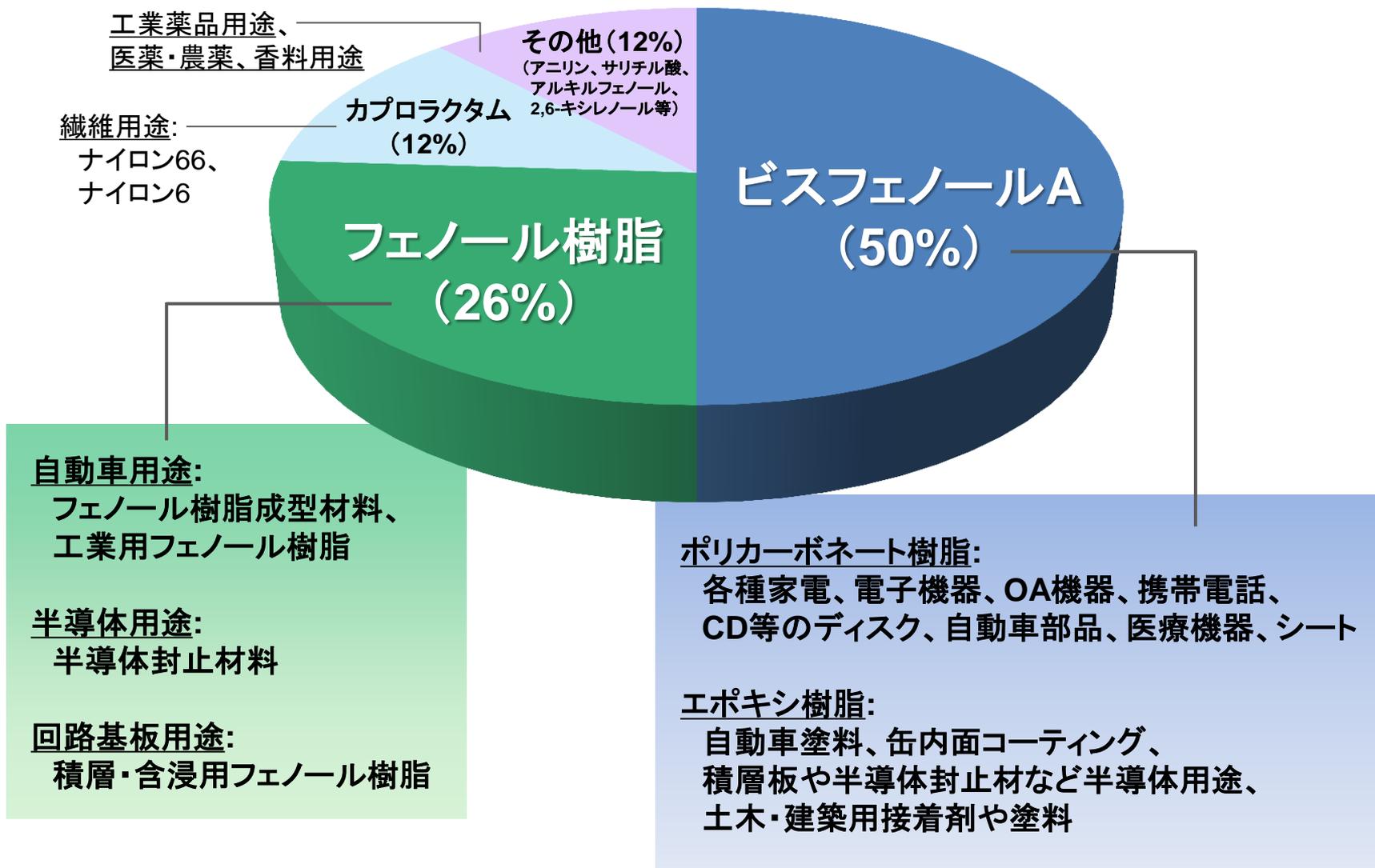
濃縮・乾燥

再沈殿



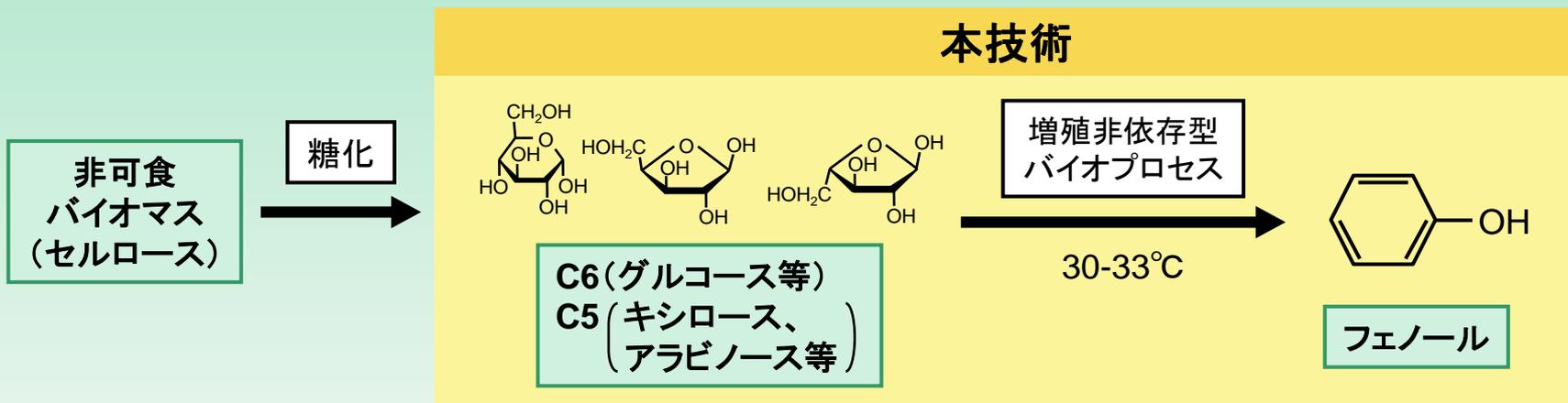
- ・ LC/MS/MSで保持時間、フラグメント一致
- ・ 残存グルコースなし
- ・ HPLCで純度 99.6%

# 世界のフェノール用途内訳(2013年度)

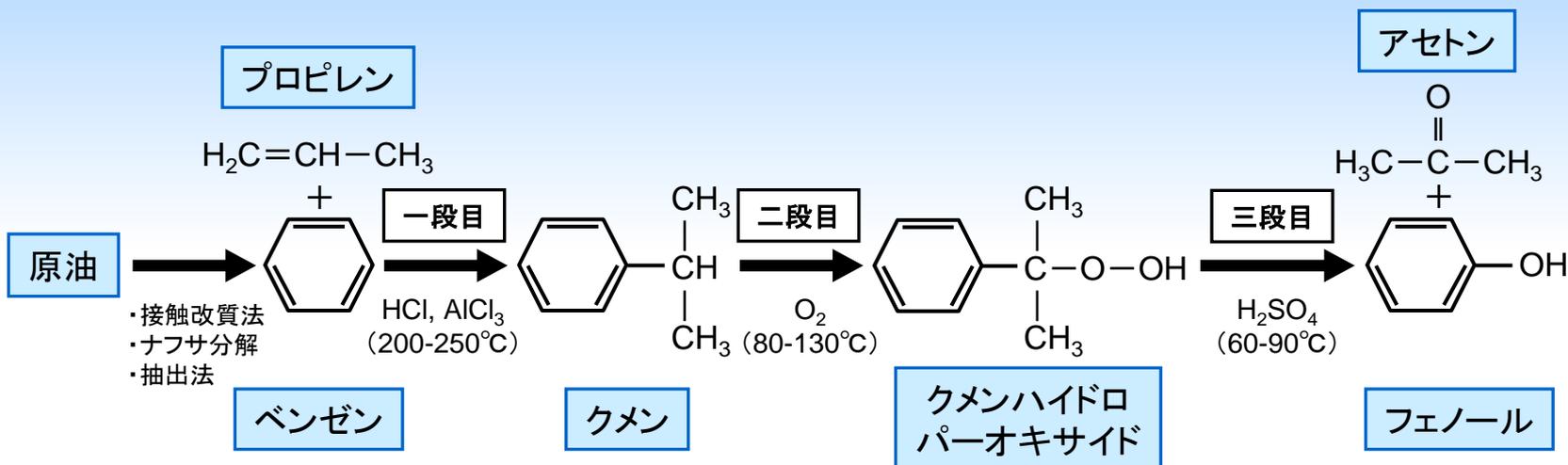


# グリーンフェノール生産法 vs 現在の工業的フェノール生産法

## (A) グリーンフェノール生産法



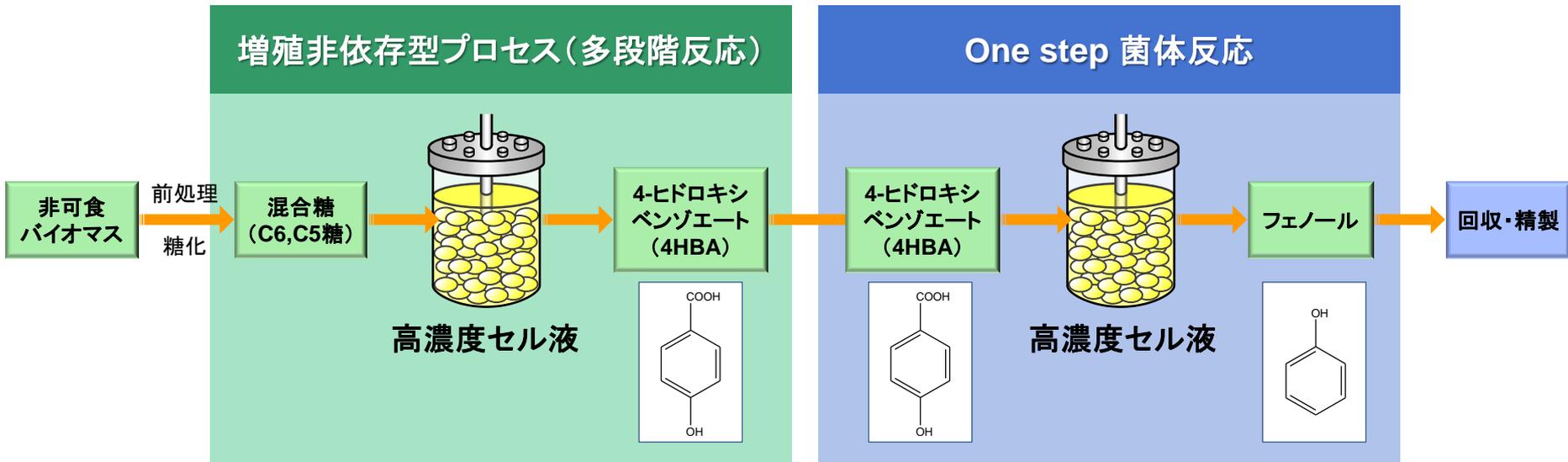
## (B) 現在の工業的フェノール生産法 (クメン法)



# グリーンフェノール生成プロセス (二段反応方式)

## 第1段反応

## 第2段反応



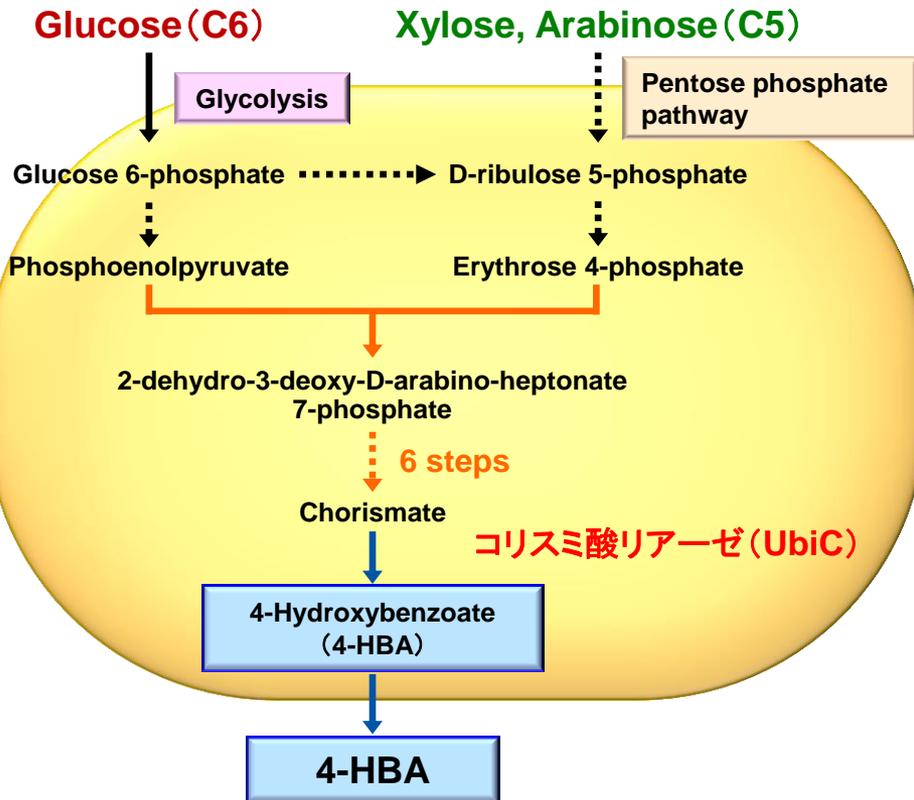
## IC<sub>50</sub>濃度相対比

	増殖への 阻害度	増殖非依存型バイオプロセス への阻害度
フェノール	1	1 / 3
4-HBA	1 / 10	1 / 20

# 二段反応に用いる、2種の遺伝子組換え菌

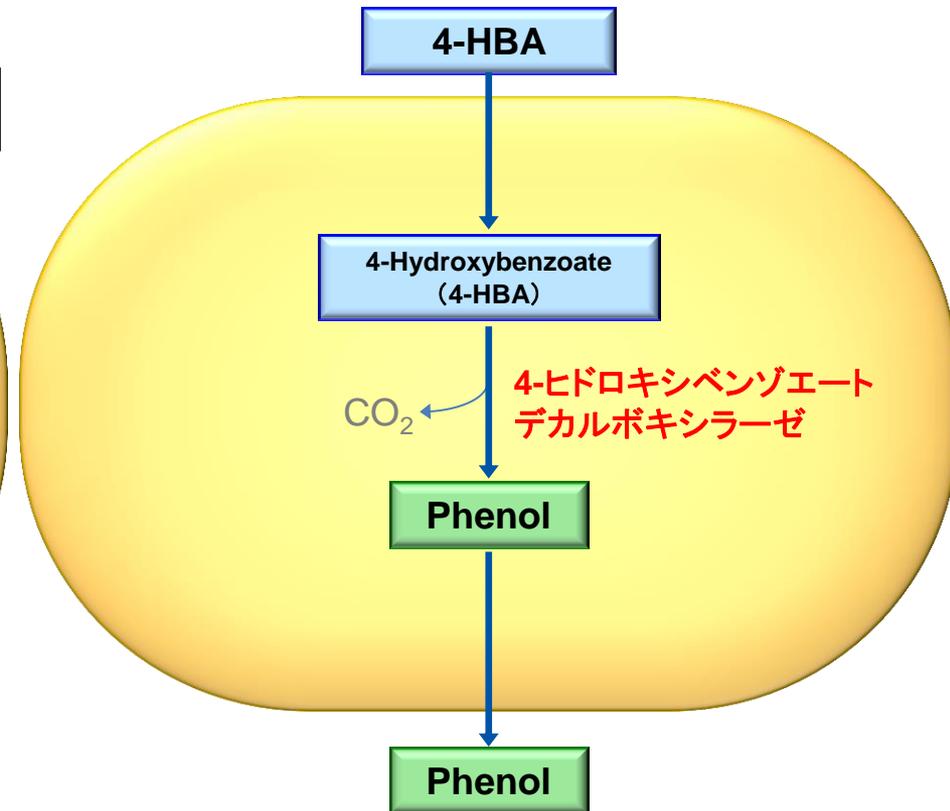
## 第1段反应用

### 混合糖から4-HBA生成菌の構築



## 第2段反应用

### 4-HBAからフェノール生成菌の構築



# 生産性比較: フェノール生産

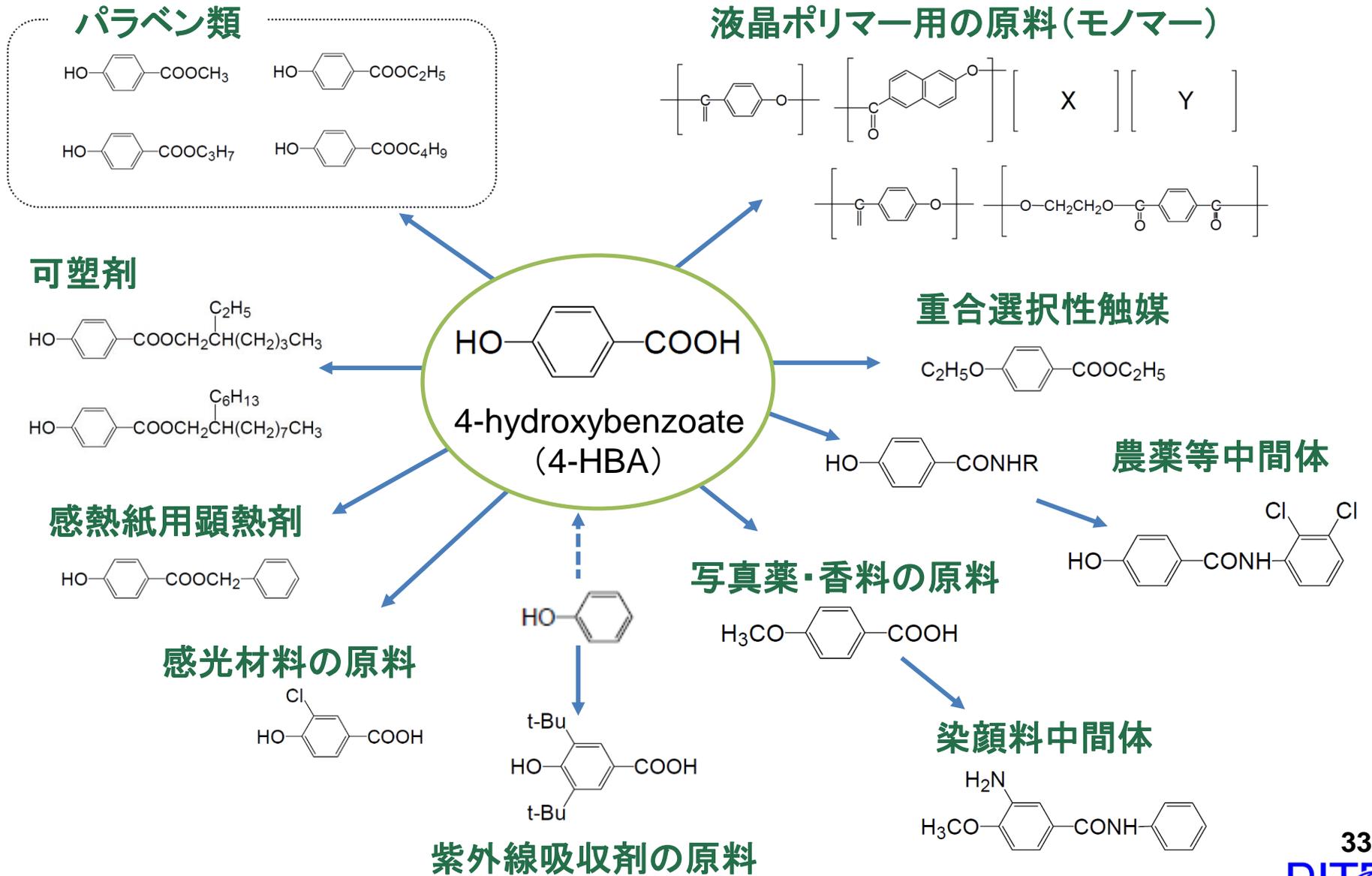
宿主	生産量	反応時間	研究グループ
<i>Escherichia coli</i> <sup>1)</sup>	1.69 g/L	27 h	B. Kim <i>et al.</i> , 2014. (KAIST)
<i>Pseudomonas putida</i> <sup>2)</sup>	0.47 g/L	30 h	N. J. P. Wierckx <i>et al.</i> , 2005. (デルフト大)
<b><i>Corynebacterium glutamicum</i><sup>3)</sup></b>	<b>22 g/L</b>	<b>~24 h</b>	<b>RITE</b> <b>(二段反応)</b>

1) *Biotechnol. J.* **9**:621-629. 2014. チロシン経由, fed batch

2) *Appl. Environ. Microbiol.* **71**:8221-8227. 2005. チロシン経由, fed batch

3) RITE (tentative data) コリスミ酸経由

# 4-hydroxybenzoateの用途



# グリーンフェノール開発(株)の設立

## 【設立目的】

世界初となるグリーンフェノールの生産、及びグリーンフェノール樹脂製造に関わる基盤技術を「増殖非依存型バイオプロセス」の基本技術を保有する(公財)地球環境産業技術研究機構とフェノール樹脂製造に関する技術を保有する住友ベークライト(株)が協同開発し、その事業化を目指す。

## 【経緯】

2010年2月:

グリーンフェノール・高機能フェノール樹脂製造技術研究組合(GP組合)を設立。

2010年3月～2011年3月:

NEDOプロジェクト「グリーンフェノール及びこれを原料としたグリーンフェノール樹脂製造に関わる基盤技術開発」を実施。

2011年5月～2013年3月:

「グリーンフェノール及びこれを原料としたグリーンフェノール樹脂製造に関わる基盤技術開発」を実施。

2014年5月:

- ・経済産業省大臣承認を受けてGP組合が発展的に新会社に移行。
- ・NEDO実用化ベンチャー支援事業採択、パイロットプラント(500L反応槽)建設中。

2015年:

グリーンフェノールサンプルの国内企業への提供予定。

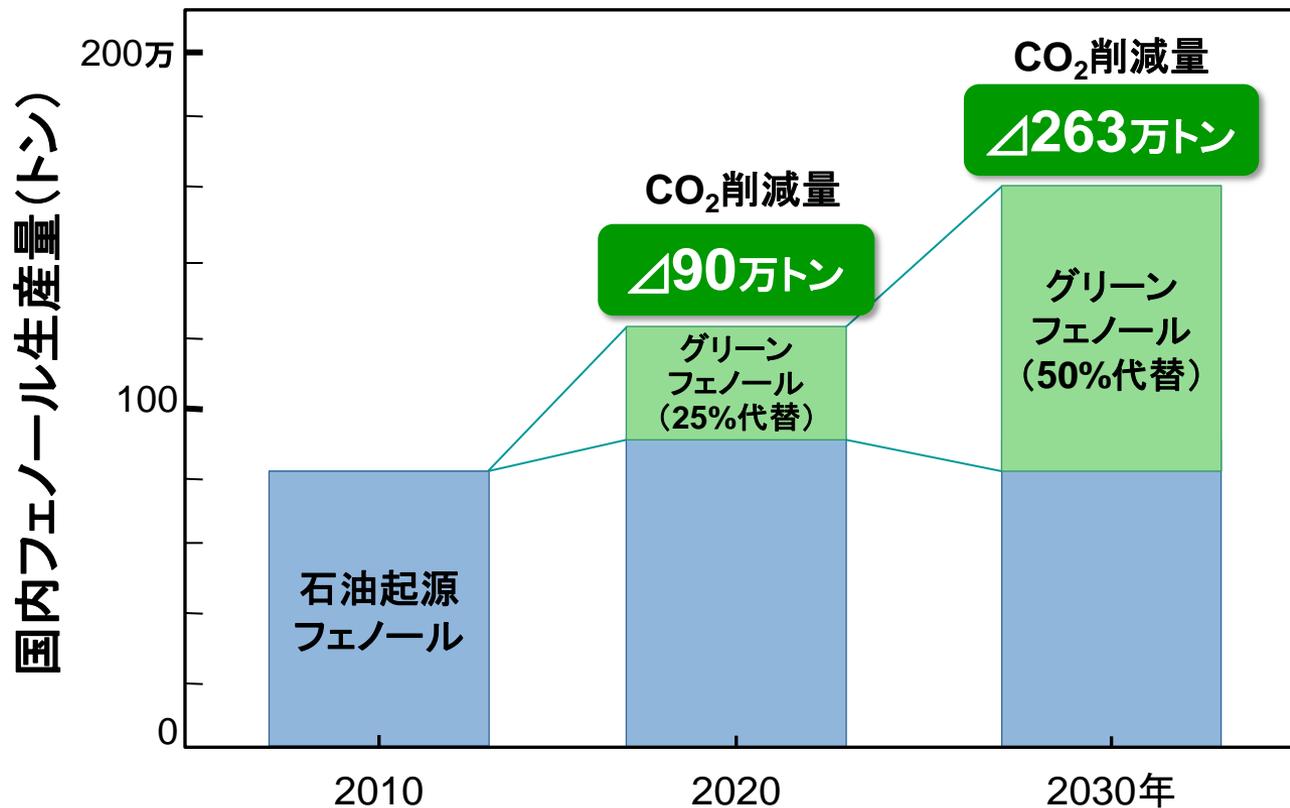
# 石油代替効果によるCO<sub>2</sub>排出抑制

世界

2030年、フェノールの世界生産量の50%をグリーンフェノールに置換えた場合、約2600万トンのCO<sub>2</sub>を削減可能。

日本

グリーンフェノールへの置換によるCO<sub>2</sub>排出抑制効果。



# 生産性比較: L-アラニン生産

菌株	最終濃度 (g/L)	最大生産性 (g/L/h)
<b>増殖プロセス</b>		
- <i>Corynebacterium glutamicum</i> AL107 (1994) <sup>1)</sup> ※増殖→酸素供給制限条件	71	1.1
- <i>Escherichia coli</i> ALS929 (2006 University of Georgia) <sup>2)</sup> ※増殖→嫌気条件	88	5.7
- <i>Escherichia coli</i> ZX132 (2007 Florida Univ.) <sup>3)</sup>	114	4
<b>非増殖・非通気プロセス</b>		
- RITEバイオプロセス( <i>C. glutamicum</i> ) <sup>4)</sup>	235	10.3

1) JP6277082. 1994.

2) *Biotech. Lett.* **28**:1695-1700. 2006.

3) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **77**:355-366. 2007.

4) *Appl. Environ. Microbiol.* **78**:4447-4457. 2012.

# 生産性比較: L-バリン生産

菌株	最終濃度 (g/L)	最大生産性 (g/L/h)
<b>通気・増殖プロセス</b>		
- <i>Brevibacterium lactofermentum</i> No.487 <sup>1)</sup>	31	0.8
- <i>Brevibacterium flavum</i> AA54(1992) <sup>2)</sup>	55	0.6
<b>通気・非増殖プロセス</b>		
- <i>Corynebacterium glutamicum</i> <sup>3)</sup>	50	1.2
<b>非通気・非増殖プロセス</b>		
- RITEバイオプロセス( <i>C. glutamicum</i> ) <sup>4)</sup>	<b>227</b>	<b>13.8</b>

1) *Agric. Biol. Chem.* **39**:1319-1322. 1975.

2) JP4045160. 1992.

3) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **79**:471-479. 2008.

4) *Appl. Environ. Microbiol.* **79**:1250-1257. 2013.

# 生産性比較: D-乳酸生産

生産株	研究グループ	最終濃度 (g/L)	対糖収率 (%)	生産培地
<i>Lactobacillus lactis</i> <sup>1)</sup>	インド国立化学研究所	110	73	栄養培地 (Cane sugar)
<i>Lactobacillus plantarum</i> <sup>2)</sup>	神戸大	74	78	栄養培地 (MBS+Glc/Xyl)
<i>Sporolactobacillus sp.</i> <sup>3)</sup>	上海交通大学	207	93	栄養培地 (Peanut meal)
<i>Bacillus coagulans</i> QZ19 <sup>4)</sup>	フロリダ大	90	96	栄養培地 (LB)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> OC2 <sup>5)</sup>	豊田中研、東大	62	62	栄養培地 (YPD)
<i>Escherichia coli</i> TG114 <sup>6)</sup>	フロリダ大	120	98	最少培地 (+Glc)
<i>Escherichia coli</i> B1103-070 <sup>7)</sup>	江南大	118	87	最少培地 (+Glc)
RITEバイオプロセス <i>Corynebacterium glutamicum</i> <sup>8)</sup>	RITE	125	86	最少培地 (+Glc)
<b>RITEバイオプロセス <i>Corynebacterium glutamicum</i> <sup>9)</sup></b>	<b>RITE</b>	<b>264</b>	<b>95</b>	<b>最少培地 (+Glc)</b>

1) *Biotechnol. Lett.* **32**:517-520. 2010.

2) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **92**:67-76. 2011.

3) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **89**:1009-1017. 2011.

4) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **108**:18920-18925. 2011.

5) *J. Biosci. Bioeng.* **101**:172-177. 2006.

6) *Biotechnol. Lett.* **28**:1527-1535. 2006.

7) *Curr. Microbiol.* **62**:981-989. 2011.

8) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **78**:449-454. 2008.

**9) RITE (unpublished)**

# 生産性比較: イソブタノール生産

Microorganisms	Isobutanol (g/L)	Isobutanol productivity (g/L/h)	Aerobic/ Anaerobic	KDC	ADH
<i>Escherichia coli</i> <sup>1)</sup>	22	0.20	Micro-aerobic	<i>kivD</i>	<i>adh2</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <sup>2)</sup>	0.63	0.007	Aerobic	<i>aro10</i>	<i>adh2</i>
<i>Bacillus subtilis</i> <sup>3)</sup>	5.5	0.09	Micro-aerobic	<i>kivD</i>	<i>adh2</i>
<i>Synechococcus elongatus</i> <sup>4)</sup>	0.45	0.003	Aerobic	<i>kivD</i>	<i>yqhD</i>
<i>Corynebacterium glutamicum</i> <sup>5)</sup>	13	0.26	Shift to oxygen deprivation	<i>kivD</i>	<i>adh2</i>
<b><i>Corynebacterium glutamicum</i><sup>6)</sup></b>	<b>27</b>	<b>0.53</b>	<b>RITE bioprocess</b>	<b><i>kivD</i></b>	<b><i>adhP</i></b>

1) *Nature* **451**:86-90. 2008.

2) *Biotechnol. Biofuels* **5**:65. 2012.

3) *Microb. Cell Fact.* **11**:101. 2012.

4) *Nat. Biotechnol.* **27**:1177-1180. 2009.

5) *Appl. Environ. Microbiol.* **77**:3300-3310. 2011.(Germany)

**6) *Biotechnol. Bioeng.* **110**:2938-2948. 2013.(RITE)**

*kivD* : *Lactococcus lactis*  
*aro10*: *Saccharomyces cerevisiae*

*adh2*: *Saccharomyces cerevisiae*  
*yqhD*: *Escherichia coli*  
*adhP*: *Escherichia coli*

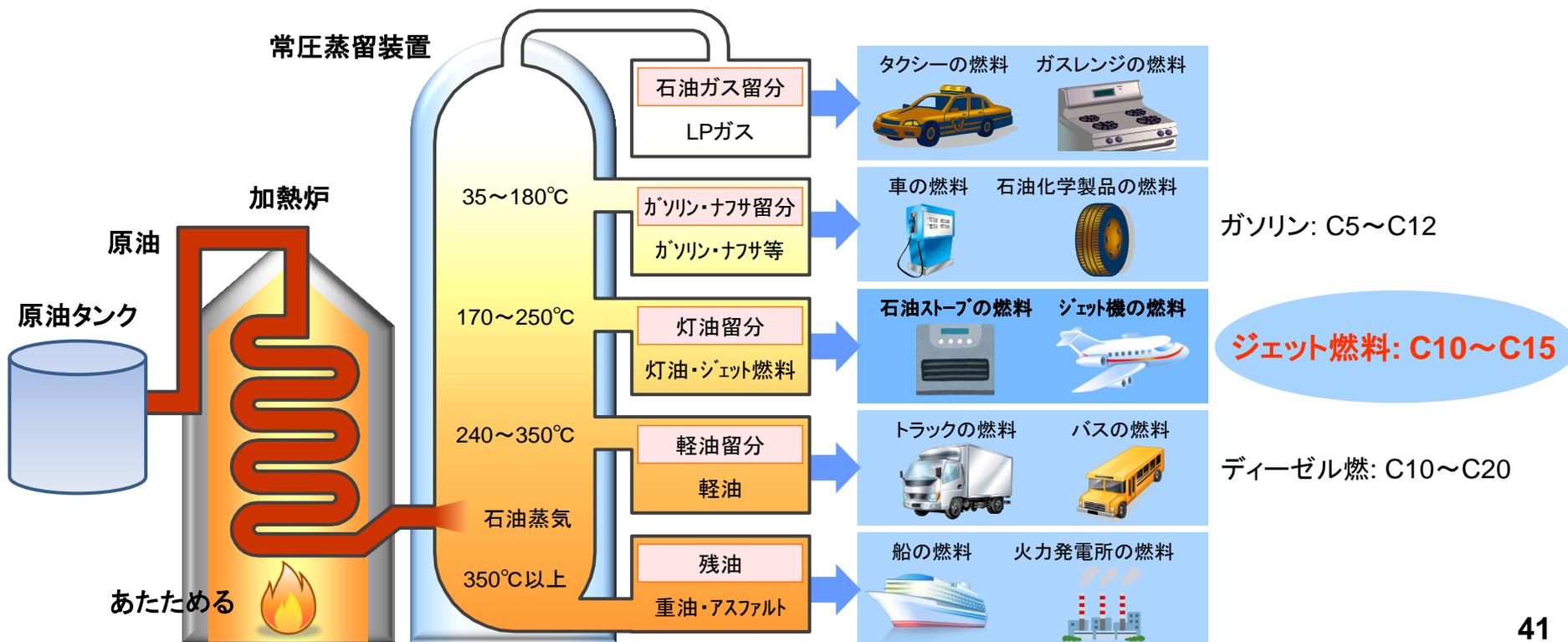
# 100%グリーンジェット燃料 生産技術の開発

# 石油からのジェット燃料製造

現在使用されているジェット燃料は石油を沸点別に分留して得られた灯油留分から製造されており、炭素数がC10～C15の鎖状炭化水素と芳香族化合物を主成分とする炭化水素の混合物。

**ジェット燃料: 融点が $-47^{\circ}\text{C}$ 以下、引火点 $38^{\circ}\text{C}$ 以上等の厳しい規格有。**

## 常圧蒸留装置のしくみ



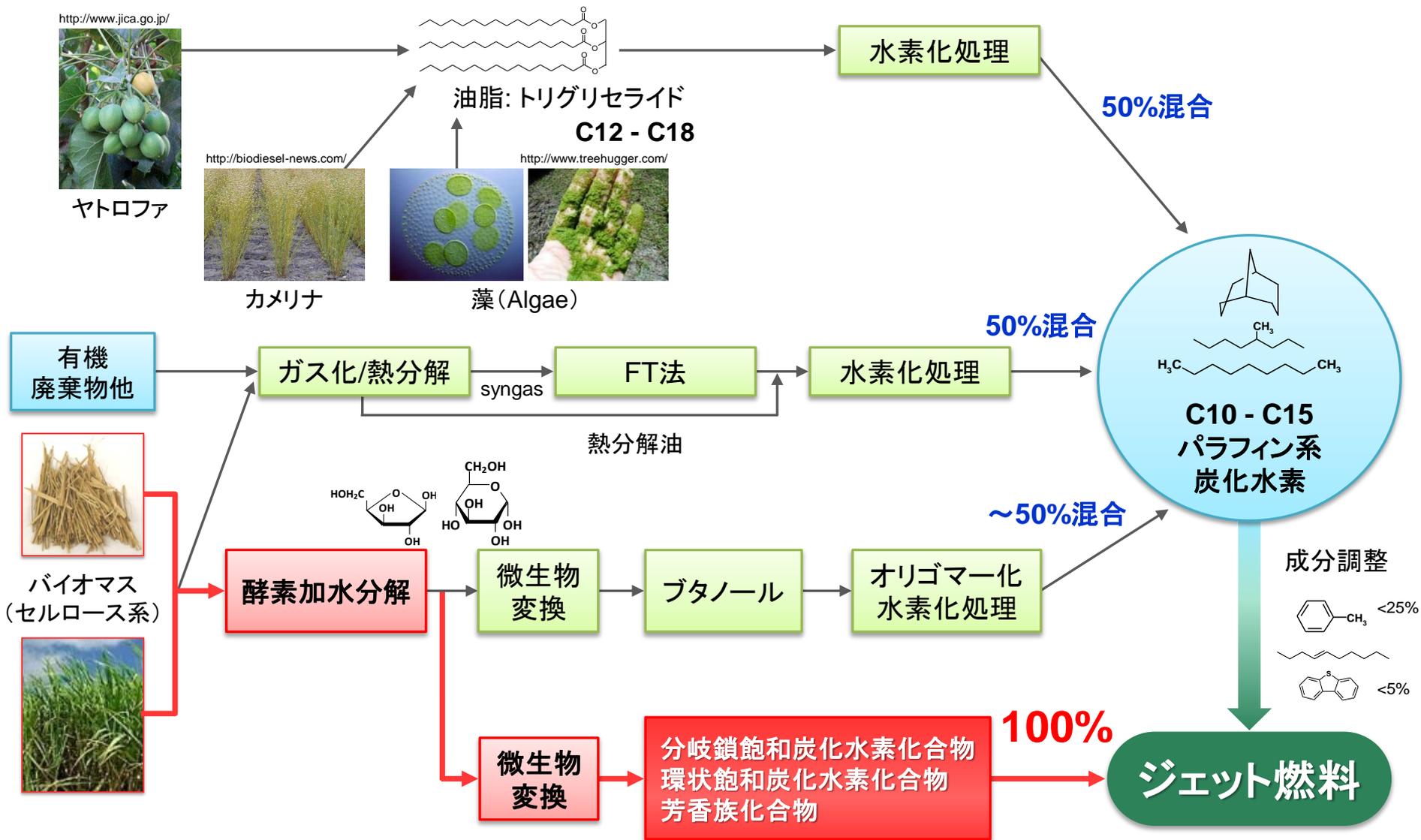
# 石油系ジェット燃料の組成

## 石油系ジェット燃料の平均的組成

直鎖飽和炭化水素	28%
分岐鎖飽和炭化水素	29%
環状飽和炭化水素	20%
芳香族化合物	18%

- ・飽和炭化水素は発熱量が大きく、ジェット燃料の推進力源として必須。
- ・直鎖飽和炭化水素の融点はジェット燃料の規格よりもかなり高く、直鎖飽和炭化水素のみではジェット燃料に不適。
- ・分岐鎖や環状飽和炭化水素の融点はジェット燃料の規格より十分低い。
- ・芳香族化合物はジェットエンジン等に使用されるニトリル系O-リングを膨潤させる性質があり、燃料系機器の気密性維持に必須。

# グリーンジェット燃料の生産技術開発



# グリーンジェット燃料製造法の比較



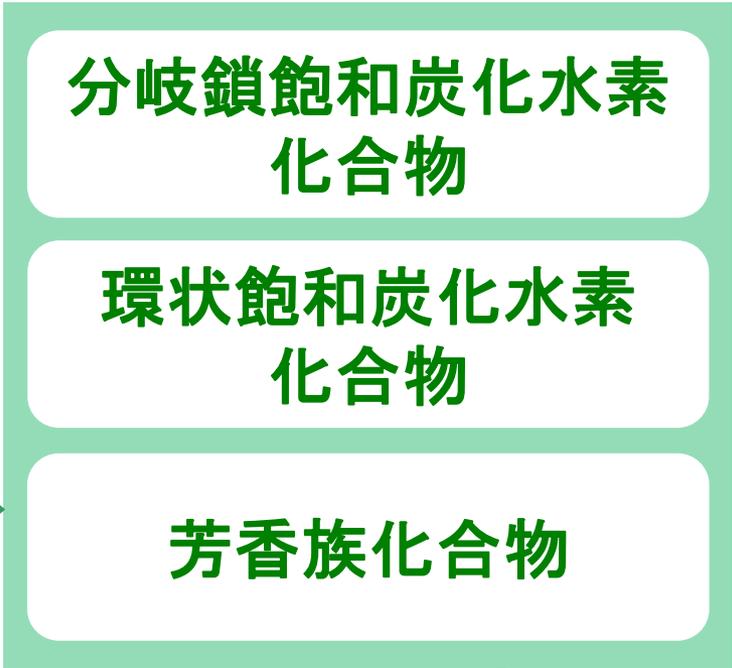
	油脂抽出法	ファルネセン /脂肪酸 発酵生産法	RITE法
外部からの水素供給 の必要性	必要	必要	<b>不要</b>
製造できる 炭化水素化合物	飽和炭化水素化 合物のみ	1種類の飽和炭化 水素化合物のみ	<b>飽和炭化水素と 芳香族化合物</b>
認可されているジェット 燃料との混合比率	50%	10% (ファルネセン)	<b>100%利用</b>

既存のグリーンジェット燃料は最大で50%までしか混合できない。

**RITE法は、外部からの水素供給が不要で、飽和炭化水素と芳香族化合物の両方を製造可能な世界初の低コスト・低炭素型100%グリーンジェット燃料製造法**

# 100%グリーンジェット燃料製造法 (RITE法)

非可食バイオマス



100%グリーンジェット燃料

# まとめ

## 増殖非依存型バイオプロセス

- ・高生産性
- ・混合糖類(C6, C5糖)の完全同時利用性
- ・醗酵阻害物質への高度耐性

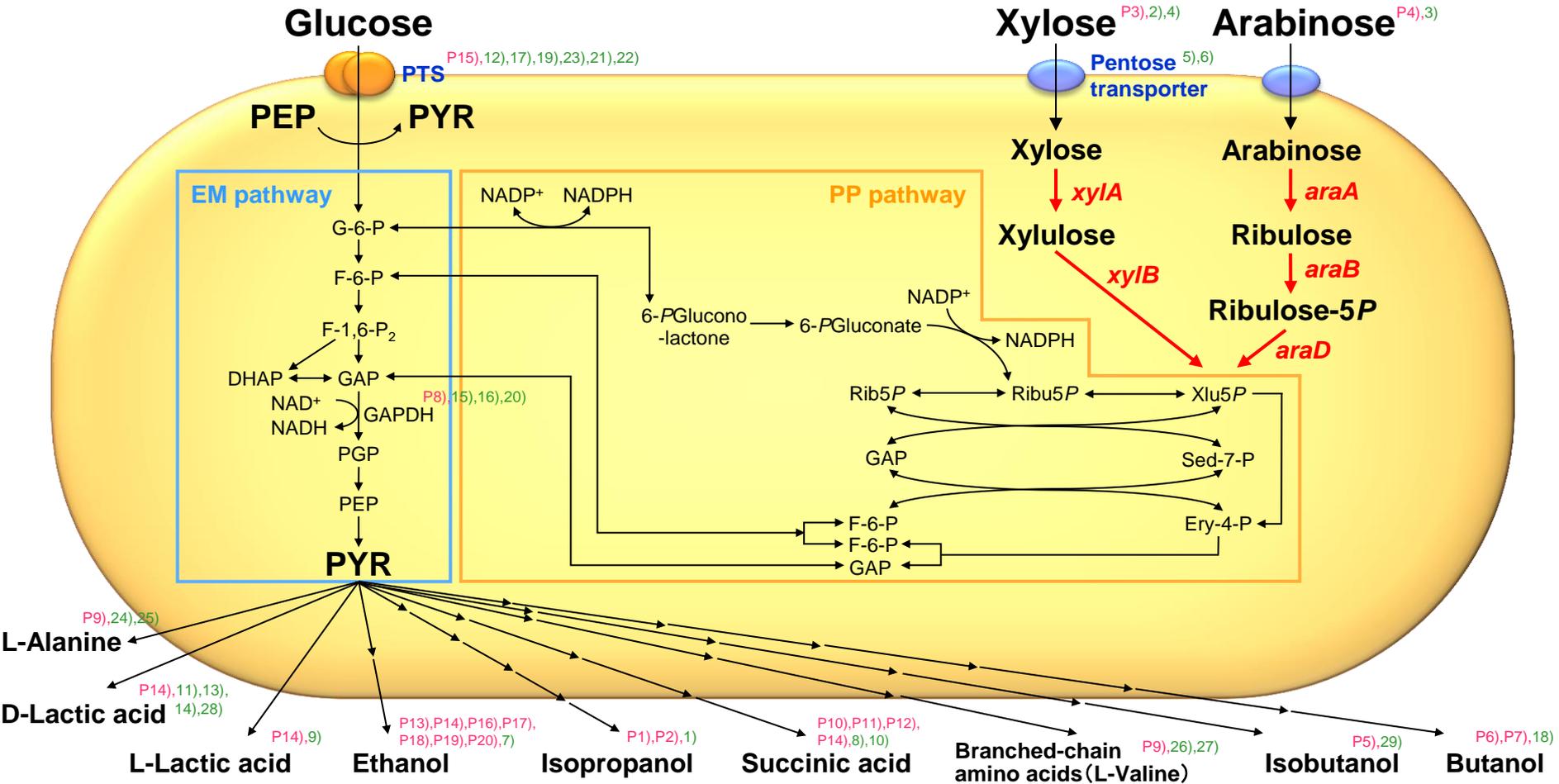
## 芳香族化合物生産

- ・シキミ酸生産(芳香族化合物前駆体);  
代謝工学的改変技術を駆使して、  
従来法を大幅に上回る生産性を達成。
- ・フェノール生産;  
二段反応方式により、フェノールによる細胞毒性  
を回避し、従来法と比較し大幅な高生産性を実現。

## 100%グリーンジェット燃料生産

- ・飽和炭化水素と芳香族化合物の両方を製造可能。
- ・外部からの水素供給が不要。
- ・世界初の低コスト・低炭素型100%グリーンジェット燃料製造法。

# 鎖状化合物生産技術開発



## Patent application / registration by RITE

P1) WO2009028582	P11) WO2005010182A1
P2) WO2009131040	P12) US7368268
P3) PCT/JP2009/060637	P13) JP4294373
P4) JP2009050236(A)	P14) JP3869788
P5) JP2009083668	P15) JP4171265
P6) JP2009039031	P16) EP1291428A1
P7) JP2009183259	P17) US7598063
P8) JP2007295809	P18) CN1436240
P9) JP2007043947	P19) IN209524
P10) EP1647594A1	P20) JP2002510689

## Publication by RITE

1) <i>Appl. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>77</b> :1219-1224. 2008.	11) <i>Appl. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>78</b> :449-454. 2008.
2) <i>Appl. Environ. Microbiol.</i> <b>72</b> :3418-3428. 2006.	12) <i>Microbiology</i> <b>155</b> :3652-3660. 2009.
3) <i>Appl. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>77</b> :1053-1062. 2008.	13) <i>J. Bacteriol.</i> <b>191</b> :4251-4258. 2009.
4) <i>Appl. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>81</b> :691-699. 2008.	14) <i>Appl. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>83</b> :315-327. 2009.
5) <i>Appl. Environ. Microbiol.</i> <b>75</b> :3419-3429. 2009.	15) <i>J. Bacteriol.</i> <b>191</b> :968-977. 2009.
6) <i>Appl. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>85</b> :105-115. 2009.	16) <i>Appl. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>81</b> :291-301. 2008.
7) <i>J. Mol. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>8</b> :243-254. 2004.	17) <i>Appl. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>78</b> :309-318. 2008.
8) <i>J. Mol. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>7</b> :182-196. 2004.	18) <i>J. Mol. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>15</b> :16-30. 2008.
9) <i>Appl. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>68</b> :475-480. 2005.	19) <i>Microbiology</i> <b>154</b> :264-274. 2008.
10) <i>Appl. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>81</b> :459-464. 2008.	20) <i>J. Mol. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>8</b> :91-103. 2004.

21) <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> <b>289</b> :1307-1313. 2001.
22) <i>J. Biosci. Bioeng.</i> <b>92</b> :502-517. 2001.
23) <i>Microbiology</i> <b>149</b> :1569-1580. 2003.
24) <i>Appl. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>87</b> :159-165. 2010.
25) <i>Appl. Environ. Microbiol.</i> <b>78</b> :4447-4457. 2012.
26) <i>Appl. Environ. Microbiol.</i> <b>78</b> :865-875. 2012.
27) <i>Appl. Environ. Microbiol.</i> <b>79</b> :1250-1257. 2013.
28) <i>Appl. Microbiol. Biotechnol.</i> <b>97</b> :6693-6703. 2013.
29) <i>Biotechnol. Bioeng.</i> <b>110</b> :2938-2948. 2013.

## Host vector system

- *Agric. Biol. Chem.* **54**:443-447. 1990.
- *J. Industrial. Microbiol.* **5**:159-165. 1990.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **57**:759-764. 1991.
- *Res. Microbiol.* **144**:181-185. 1993.
- *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **57**:2036-2038. 1993.
- *Plasmid* **36**:62-66. 1996.
- *ACS Symposium Series 862 Fermentation Biotechnol.* 175-191. 2003.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **81**:1107-1115. 2009.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **87**:1855-1866. 2010.
- *Microbiology* **156**:3609-3623. 2010.
- *J. Microbiol. Methods.* **85**:155-163. 2011.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97**:8219-8226. 2013.
- *J. Appl. Microbiol.* **115**:495-508. 2013.

## Gene transformation methods

- *Mol. Gen. Genet.* **245**:397-405. 1994.
- *Mol. Microbiol.* **11**:739-746. 1994.
- *Biotech. Lett.* **17**:1143-1148. 1995.

## Gene expression system

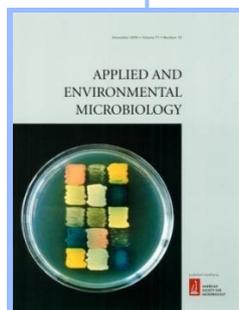
- *FEMS Microbiol. Lett.* **131**:121-126. 1995.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **82**:491-500. 2009.
- *Letts. Appl. Microbiol.* **50**:173-180. 2010.

## Chromosome engineering methods

- *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **8**:243-254. 2004.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **71**:407-416. 2005.
- *Microbiology* **151**:501-508. 2005.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **67**:225-233. 2005.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **71**:3369-3372. 2005.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **71**:7633-7642. 2005. (Review)
- *Appl. Environ. Microbiol.* **71**:8472-8480. 2005.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **69**:151-161. 2005.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **72**:3750-3755. 2006.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **74**:1333-1341. 2007.
- *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **71**:1683-1690. 2007.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **77**:871-878. 2007.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **79**:519-526. 2008. (Mini-Review)
- *Strain Engineering* 409-417. 2011.



*C. glutamicum R*



The cover of AEM

The cover of MM



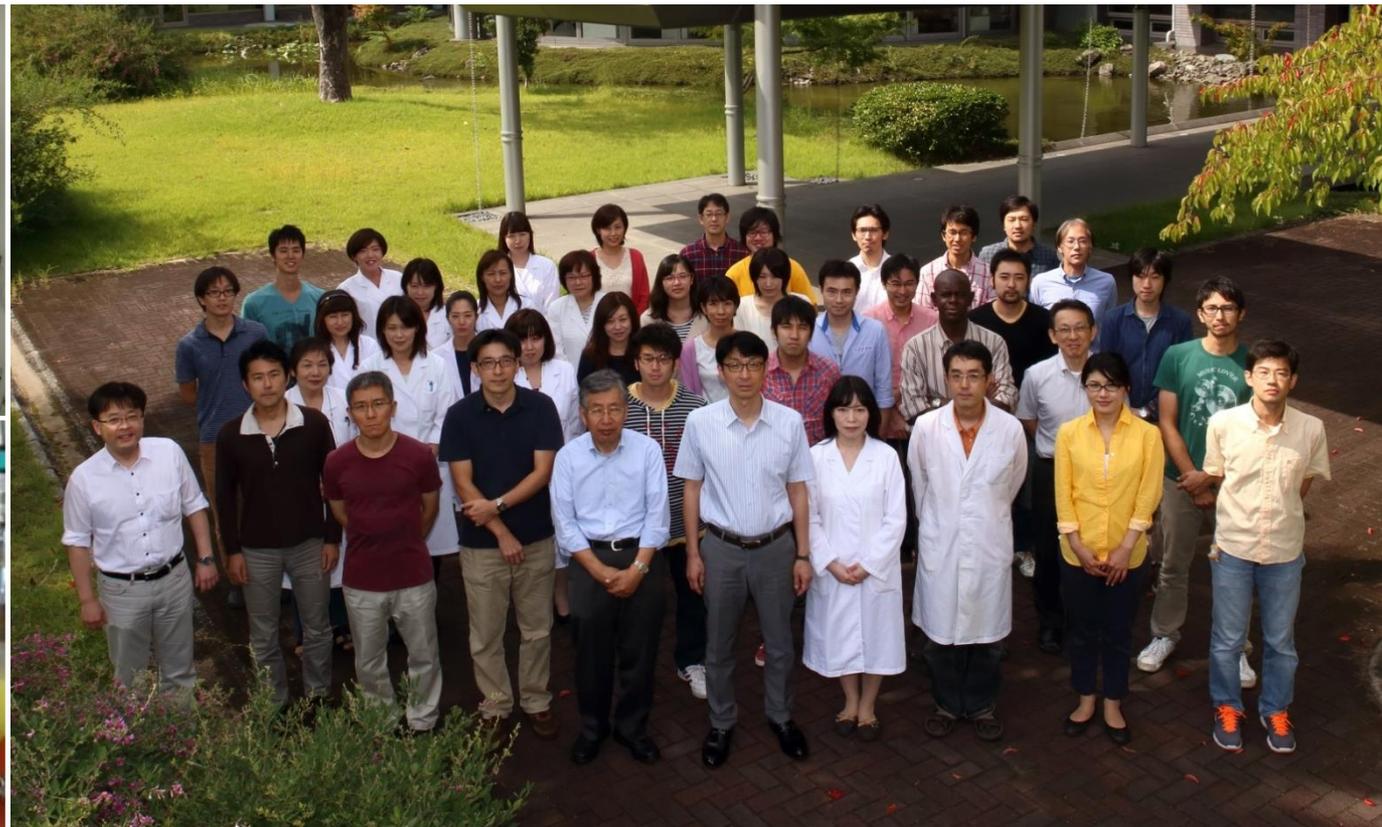
## RITE bioprocess (Production of chemicals and fuels)

- *Process Biochem.* **1**:124-128. 1985.
- *Process Biochem.* **21**:164-166. 1986.
- *Process Biochem.* **21**:196-199. 1986.
- *Process Biochem.* **24**:60-61. 1989.
- *J. Industrial. Microbiol.* **5**:289-294. 1990.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **35**: 348-351. 1991.
- *Catalysis Today* **22**:621-627. 1994.
- *Microbiology* **149**:1569-1580. 2003.
- *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **7**:182-196. 2004.
- *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **8**:243-254. 2004.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **68**:475-480. 2005.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **72**:3418-3428. 2006.
- *Nat. Biotechnol.* **24**:761-764. 2006.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **73**:2349-2353. 2007.
- *Microbiology* **153**:2491-2504. 2007.
- *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **82**:693-697. 2007.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **77**:853-860. 2007.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **77**:1053-1062. 2008.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **77**:1219-1224. 2008.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **77**:1305-1316. 2008.
- *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **15**:16-30. 2008.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **78**:449-454. 2008.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **74**:5146-5152. 2008.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **81**:459-464. 2008.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **81**:505-513. 2008.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **81**:691-699. 2008.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **85**:105-115. 2009.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **85**:471-480. 2010. (Mini-Review)
- *Biomass to Biofuel* 311-330. 2010.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **86**:1057-1066. 2010.
- *Encyclopedia of Industrial Biotechnol.* 2010.
- *Encyclopedia of Industrial Biotechnol.* 2010.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **87**:159-165. 2010.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **89**:1905-1916. 2011.
- *Biofuels* **2**:303-313. 2011. (Review)
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **90**:1721-1729. 2011.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **91**:1375-1387. 2011.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **78**:865-875. 2012.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **78**:4447-4457. 2012.
- *Annu. Rev. Microbiol.* **66**:521-550. 2012.
- *FEBS Lett.* **586**:4228-4232. 2012.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **79**:1250-1257. 2013.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97**:8139-8149. 2013.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97**:6693-6703. 2013.
- *Biotechnol. Bioeng.* **110**:2938-2948. 2013.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (in press)
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (in press)
- *Microbiology* (in press)

## Physiology of corynebacteria

- *DNA seq.* **3**:303-310. 1993.
- *DNA seq.* **4**:87-93. 1993.
- *DNA seq.* **4**:95-103. 1993.
- *DNA seq.* **4**:177-184. 1993.
- *Gene* **139**:99-103. 1994.
- *Gene* **158**:87-90. 1995.
- *FEMS Microbiol. Lett.* **133**:239-244. 1995.
- *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **236**:383-388. 1997.
- *Methods Enzymol.* **279**:339-348. 1997.
- *Recent Res. Devel.* **2**:429-435. 1998.
- *Genet. Anal.* **15**:9-13. 1999.
- *DNA seq.* **11**:383-394. 2000.
- *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **289**:1307-1313. 2001.
- *J. Biosci. Bioeng.* **92**:502-517. 2001. (Review)
- *Mol. Genet. Genomics* **271**:729-741. 2004.
- *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **8**:91-103. 2004.
- *Microbiology* **153**:1042-1058. 2007.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **75**:889-897. 2007.
- *Microbiology* **153**:2190-2202. 2007.
- *Microbiol. Monogr.* 349-401. 2007.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **76**:1347-1356. 2007.
- *Microbiology* **154**:264-274. 2008.
- *Mol. Microbiol.* **67**:597-608. 2008.
- *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **15**:264-276. 2008.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **78**:309-318. 2008.
- *J. Bacteriol.* **190**:3264-3273. 2008.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **74**:5290-5296. 2008.
- *Microbiology* **154**:3073-3083. 2008.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **81**:291-301. 2008.
- *J. Bacteriol.* **190**:8204-8214. 2008.
- *J. Bacteriol.* **191**:968-977. 2009.
- *Microbiology* **155**:741-750. 2009.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **83**:315-327. 2009.
- *J. Bacteriol.* **191**:2964-2972. 2009.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **75**:3419-3429. 2009.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **75**:3461-3468. 2009.
- *J. Bacteriol.* **191**:4251-4258. 2009.
- *J. Biol. Chem.* **284**:16736-16742. 2009.
- *Microbiology* **155**:3652-3660. 2009.
- *Microbiology* **156**:1335-1341. 2010.
- *Appl. Environ. Microbiol.* **76**:5488-5495. 2010.
- *Future Microbiol.* **5**:1475-1481. 2010. (Review)
- *Microbiology* **157**:21-28. 2011.
- *J. Bacteriol.* **193**:349-357. 2011.
- *J. Bacteriol.* **193**:1327-1333. 2011.
- *J. Biotechnol.* **154**:114-125. 2011. (Review)
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **90**:1051-1061. 2011.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **91**:677-687. 2011.
- *J. Bacteriol.* **193**:4123-4133. 2011.
- *Microbiology* **158**:975-982. 2012.
- *J. Bacteriol.* **194**:6527-6536. 2012.
- *FEBS J.* **279**:4385-4397. 2012.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97**:4917-4926. 2013.
- *J. Bacteriol.* **195**:1718-1726. 2013.
- *FEBS J.* **280**:3298-3312. 2013.
- *J. Bacteriol.* **196**:60-69. 2014.
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **98**:4159-4168. 2014.
- *Mol. Microbiol.* **92**:356-368. 2014.
- *J. Bacteriol.* **196**:2242-2254. 2014.
- *J. Bacteriol.* **196**:3249-3258. 2014.
- *J. Bacteriol.* (in press)
- *Nucleic Acids Res.* (in press)

# RITE バイオ研究グループ



RITE バイオ研究グループ ↑

← 奈良先端科学技術大学院大学  
教育連携研究室  
微生物分子機能学(乾研究室)