

嫌気条件下における Cell Factory の開発 Development of Cell Factory Utilizing Anaerobic Condition

鈴木 伸昭*, 湯川 英明
NOBUAKI SUZUKI and HIDEAKI YUKAWA

財団法人地球環境産業技術研究機構 (RITE) 微生物研究グループ 〒619-0292 京都府相楽郡木津町木津川台9-2

* TEL: 0774-75-2308 FAX: 0774-75-2321

* E-mail: suzuki-n@rite.or.jp

Research Institute of Innovative Technology for the Earth, 9-2 Kizugawadai, Kizu-cho,
Soraku-gun, Kyoto 619-0292, Japan

キーワード: *Corynebacterium*, 増殖非依存型バイオプロセス, バイオリファイナリー, バイオマス

Key words: *Corynebacterium*, growth arrested bioprocess, bio-refinery, biomass

(原稿受付 2005年9月21日/原稿受理 2005年10月25日)

1. はじめに

嫌気性微生物を利用した発酵生産は現在、主に飲料用アルコールや食品等の生産に利用されている。また、かつては嫌気性 *Clostridium* 属細菌を利用した溶剤生産が大規模に行われていた。これは、好気条件下における代謝で有機物は最終的に水と二酸化炭素にまで異化代謝されるのに対し、酸素の非存在下である嫌気条件下では有機物は、条件に応じて様々な還元物質に代謝されるためである。このような嫌気条件下におけるバイオプロセスで生成される代表的な化学物質には、エタノール、酢酸、水素、アセトン等がある。

このように、嫌気条件下における微生物代謝には好気性微生物には見られない興味深い反応が存在し、またエネルギー効率の観点からも魅力ある対象である。新たなバイオケミカルズ生産への利用等を目的に、近年、注目を集めつつある分野でもある。しかしながら、嫌気代謝に関する知見やプロセス技術の研究は好気代謝に比較して圧倒的に少なく、嫌気性微生物の工業的利用には、基礎的知見の充実や市場競争力を持ちえる優れたバイオプロセス技術の開発が必要とされている。

本研究グループではこれまでに、微生物バイオプロセスの反応効率の抜本的改善を目的とし、嫌気条件下における増殖非依存型の新規バイオプロセス「RITE バイオプロセス」の開発を進めてきた。RITE バイオプロセスは、従来バイオプロセスとは全く異なる技術概念に基づき、細胞増殖を抑制した条件下で物質生産を行うため、単位容積・時間当たりで大幅な効率化が可能となる。現在、RITE バイオプロセスを基盤とし、生分解性プラスチックの原料となる各種有機酸、燃料用エタノール等の生産技術開発に取り組んでいる。本稿では、嫌気条件下における RITE バイオプロセスを利用した物質生産につ

いて、最近の本研究グループの研究例を紹介したい。

2. 既存バイオプロセスの課題と新規バイオプロセスの確立

バイオプロセスによる物質生産は、通常、微生物細胞が増殖に際して有機物を異化することにより起きる。このため目的化合物の生産とともに、原料糖類が微生物細胞の複製にも利用される。この結果、原料物質から目的化合物に至る生成効率に限界があるほか、増殖の場となる巨大な反応槽と多大な増殖時間が必要となり、単位容積・時間当たりの生産性の大幅な向上が難しかった。これは嫌気性、好気性に関わらずバイオプロセスに共通の課題であり、これらの理由により一般にバイオプロセスによる生産性は化学プロセスに比較して桁違いに低いものとならざるをえず、原料価格に対して付加価値の高いファインケミカル等の生産を除いて利用が広がらなかった。

これに対して本研究グループでは、近年、嫌気条件下において微生物細胞の分裂増殖を抑制させた状態で物質生産させる増殖非依存型の新規バイオプロセス「RITE バイオプロセス」を基礎的に確立した(図1)。RITE バイオプロセスでは、高効率化の鍵として嫌気条件下において細胞分裂を人為的に停止させた状態で物質生産をさせる。このため微生物細胞はあたかも化学プロセスにおける触媒のように機能し、さらに合成化学反応では極めて困難な多段階反応を実施できる。同時に連続反応方式による化合物生産も行うため、RITE バイオプロセスでは従来バイオプロセスに比較して単位容積・時間あたりで大幅な効率化が達成され、化学プロセスと同等の生産性も可能となった²³⁾。

RITE バイオプロセスにおいて増殖を停止した状態で

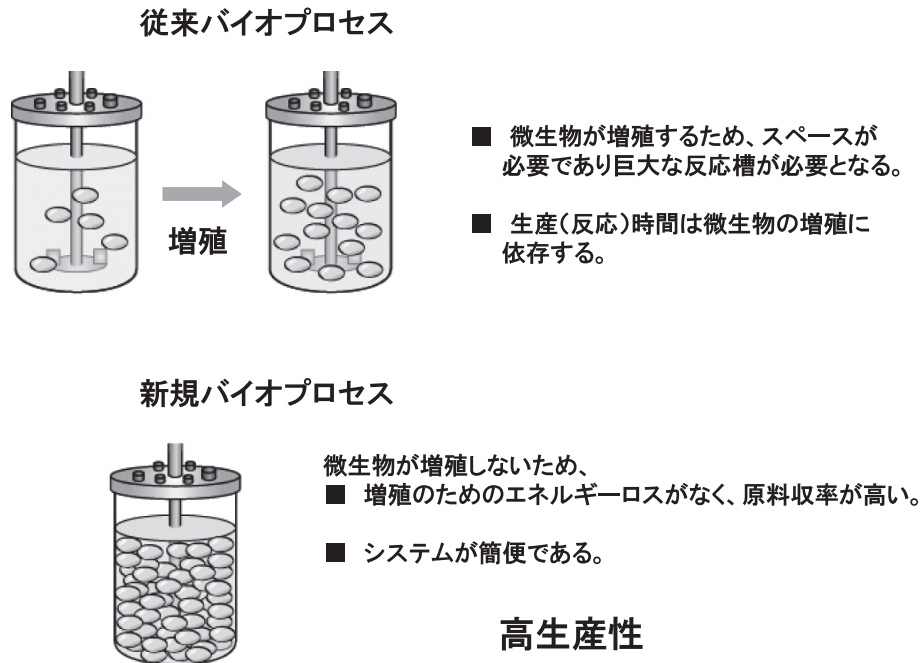


図1. RITE バイオプロセスと従来バイオプロセスとの比較。

の物質生産を可能とした微生物は、コリネ型細菌に属するバクテリア *Corynebacterium glutamicum* である¹⁷⁾。*C. glutamicum* はアミノ酸生産菌として1950年代に日本人の手によって見出されたグラム陽性の土壌細菌で、微生物学的には好気性細菌として分類されている。本菌は、アミノ酸、核酸、ビタミン等の発酵生産に利用されてきた長い歴史を持ち、現在では物質生産能力の優秀さと人体に対する高い安全性から、世界で最も多用される有用細菌のひとつになっている²²⁾。これまで *C. glutamicum* は、発酵槽の中で分裂増殖され、この際に目的化合物が分泌される「従来型バイオプロセス」で利用されてきた。また、*C. glutamicum* に関する研究も、物質生産能力の向上を目的として好気条件下における細胞生理が国内外のグループにより詳細に進められてきた。

これに対して本研究グループでは、*C. glutamicum* が嫌気条件下において好気条件下とは異なる生理的挙動を示し、細胞分裂は停止するものの解糖系等における代謝機能は維持され、盛んな物質代謝を行う興味深い現象を見出した^{12,26)}。さらにこの代謝を積極的に利用することで、新規バイオプロセス技術の確立を行った。技術的観点から言えば、生細胞である *C. glutamicum* を嫌気条件下であたかも「触媒」として利用している。この現象は、物質生産への利用のほか微生物生理に関する基礎研究の観点からも興味深いと思われる。

3. バイオリファイナリーへの利用

では、RITE バイオプロセス技術を利用することができる分野には、どのような分野があるだろうか？近年、地球環境に関わる新しい技術コンセプトである「バイオリファイナリー」が注目されている^{10,15,16,32)}。バイオリファイナリーとは再生可能資源であるバイオマスから化学品、エネルギー物質をはじめとする様々な製品を製造

する概念で(図2)、既に米国ではバイオリファイナリー関連分野は地球温暖化対策としての重要施策、またバイオ技術の産業化への早期推進を図る国家科学戦略として位置付けられている^{10,16,43,44)}。またバイオリファイナリーの実現は、技術的側面から言えば原料バイオマスを「いかに効率良く製品に変換するか」にポイントがあり、言わば、効率的なバイオプロセス技術の開発が研究の中心となる^{33,35,37,41)}。この点から、既存バイオプロセスの課題を解決した RITE バイオプロセス技術の利用は、実用的バイオリファイナリーの確立に大きく寄与できるものと考えられる。

本研究グループでは、現在、RITE バイオプロセス技術を用いることにより、バイオマスを想定した原料糖類を用い、様々な有用化合物を生成する技術開発を民間企業と共同して進めている^{3-9,18-21,27)}。以下にその研究例を記載する。

4. 有用物質の生産例

4.1. 化成品生産への応用：乳酸、コハク酸生産

バイオリファイナリー開発の一環として、再生可能資源からの乳酸ポリマー生産が米国において大規模に開始されている。2002年にカーギル・ダウ社が設立した年産14万トンの巨大なポリ乳酸プラントで、これは植物由来の再生可能資源からバイオプロセスにより乳酸を製造し、さらに化学的に乳酸ポリマーを生産する製造法である。

一方でコハク酸は、乳酸とともに生分解性プラスチックの原料として近年、注目される化学物質である。乳酸系ポリマーとコハク酸系ポリマーは物性において完全に異なることから、市場においては補完的な用途が期待される利点がある(図3)³⁴⁾。しかしながら現在、コハク酸モノマーは石油化学製法により化石燃料を原料として

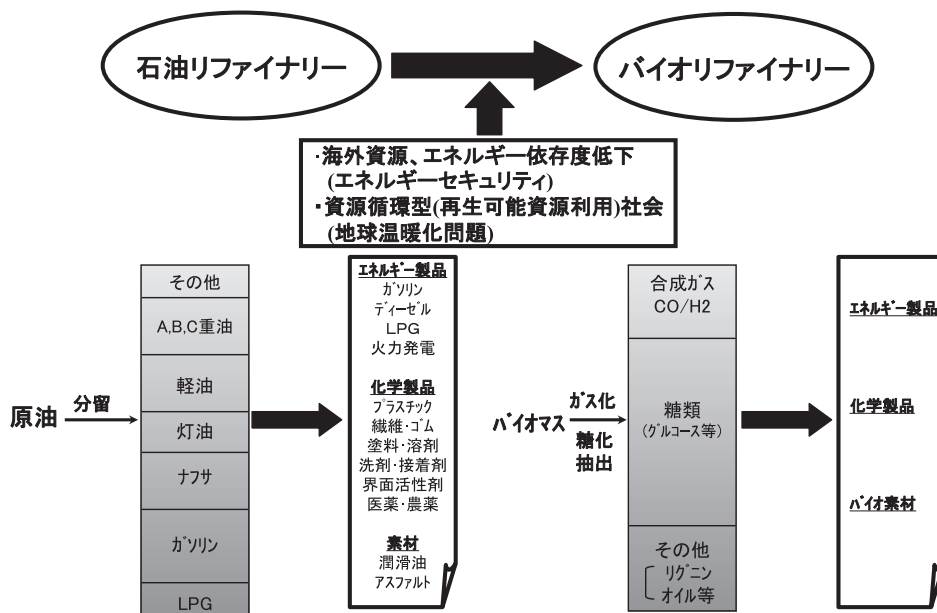


図2. 石油リファイナリーからバイオリファイナリーへ。

生産されコストも高い。再生可能資源からの製造という観点からも経済性のあるバイオプロセス技術の確立が強く望まれている。

本研究グループでは、*C. glutamicum* を嫌気条件下で用いることで、RITE バイオプロセスにより乳酸およびコハク酸を生成する技術の基礎的の確立を終えた^{24,39)}。本研究グループでは *C. glutamicum* R 株の全ゲノム解読を既に終了させており²⁵⁾、ゲノム情報に基づいて、*C. glutamicum* R 株に対して遺伝子組換えを実施することで、乳酸もしくはコハク酸生成量をより一層、増大させた株

をそれぞれ作成した。さらに、乳酸生成株およびコハク酸生成株を用いてそれぞれ RITE バイオプロセスに適応させることで、乳酸もしくはコハク酸生成のプロセス開発を行った。

RITE バイオプロセスによる乳酸およびコハク酸生成プロセスは、どちらも原料として糖類を用いた高効率連続生産方式である。また、コハク酸生成プロセスについては、糖類に加えてさらに副原料として CO₂ が使用される。両方のプロセスとも、乳酸、コハク酸の生産過程においてバイオ触媒とも言える細胞が反応装置に高密度

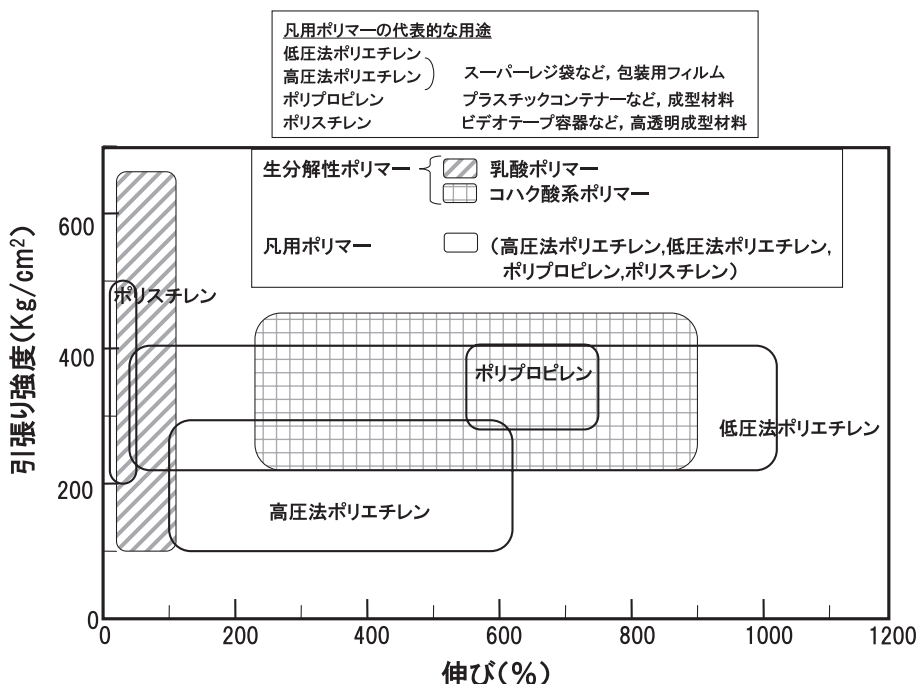


図3. 乳酸系ポリマーとコハク酸系ポリマーの物性比較。

に充填され、原料の糖類が連続的に供給される。さらに生成された乳酸、コハク酸は回収工程へ供給され、フィルターろ過により菌体より分離された後、下流の精製工程へと送られる。なお、コハク酸生産の際に使用するCO₂は炭素鎖の付与反応の原料として用いているが、バイオプロセスの直接の原料としてCO₂を用いることは初めての報告であり酵素的にも大変興味深い反応である(図4)^{14,25,46-48)}。

現在、民間企業と共同にて工業化研究を実施中であり、早期実用化を目指して取り組んでいる。また、バイオリファイナー構築に向けて、さらに多様な化合物のRITE バイオプロセスによる生成技術開発を並行して進めている。

4.2. エネルギー製造への応用：エタノール生産

エタノールは化石資源由来の燃料を代替できる化合物として注目される製品である。このため70年代に生じた石油危機に際して、エタノール生産技術の開発は先進各国で大規模に実施されたが、その後の石油危機に対する認識の低下に合わせて研究開発は急速に縮小、中断されたという経緯がある。日本を含む各国がエタノール製造に関わる研究開発を大幅に後退させる中、米国では状況はやや異なっていた。石油価格の安値安定化にも関わらず、エタノール製造研究はエネルギー省(DOE)を中心として引き続き“かなりの規模”で維持され、技術革新が進められていた。この結果、米国では現在、既に80を越えるエタノール製造プラントが全米各地に建設され、エタノール燃料の利用は未来の話ではなくなりつつある。

エタノールは通常、酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を用いて発酵法により製造されるが、近年ではエタノール生産菌 *Zymomonas mobilis* や遺伝子組み換え大腸菌 *Escherichia coli* による生産も研究されている^{1,2)}。DOE における技術開発のポイントは、既存の醸造用微生物を

用いるのではなくバイオテクノロジーにより工業的製造プロセスに適した「エタノール製造微生物」を創製することにある。現在、米国における工業的微生物の最有力候補は大腸菌であり、米国が目標としている新規バイオコンバージョンは、確かに既存の醸造法と比較し飛躍的な生産性の向上が期待される。しかし、微生物が分裂生育していく際の「分泌物」としてエタノールが生成される現象を利用しているため、基本的には従来バイオプロセスが抱える限界から逃れることは出来ない。これに対して本研究グループでは、嫌気条件下における *C. glutamicum* の代謝系を利用することで、RITE バイオプロセスによるエタノール生成技術の基礎開発を行った。

具体的には、*C. glutamicum* は本来、エタノールを生成しない菌種であるため、遺伝子組換えにより *Z. mobilis* 由来の pyruvate decarboxylase と alcohol dehydrogenase 遺伝子を導入し、エタノール生成能力を付与した *C. glutamicum* 株を開発した^{11,36,38,40,42,45)}(図4)。さらにこの株を RITE プロセスに適応することで、既存のエタノール生産プロセスに比較して生産性を大幅に向上させた新規エタノール生成プロセスを開発した。現在、実用化に向けてさらなる改良を続けている。

環境、資源、安全保障上の問題からエタノール生産技術の開発が与えるインパクトは年々、増大しつつある。現在の主要なエネルギー資源である原油の価格は、近年の中国を初めとするアジア諸国の消費量急増や中東情勢の不安定化等により70ドル/バレルを付ける場面すら見られるようになった。つい数年前の90年代後半には、20ドル/バレル程度で推移していたのがウソのようである。気が付けば、中国、インド等の企業による化石資源の獲得合戦が新聞紙面をにぎわしている。今後、現在の原油の需給バランスを大幅に改善するような大規模な油田の発見は難しいと考えられており、国際的なエネルギー資源の獲得競争はますます激化すると予想される。

米国におけるエタノール生産量は過去20年間、増加を

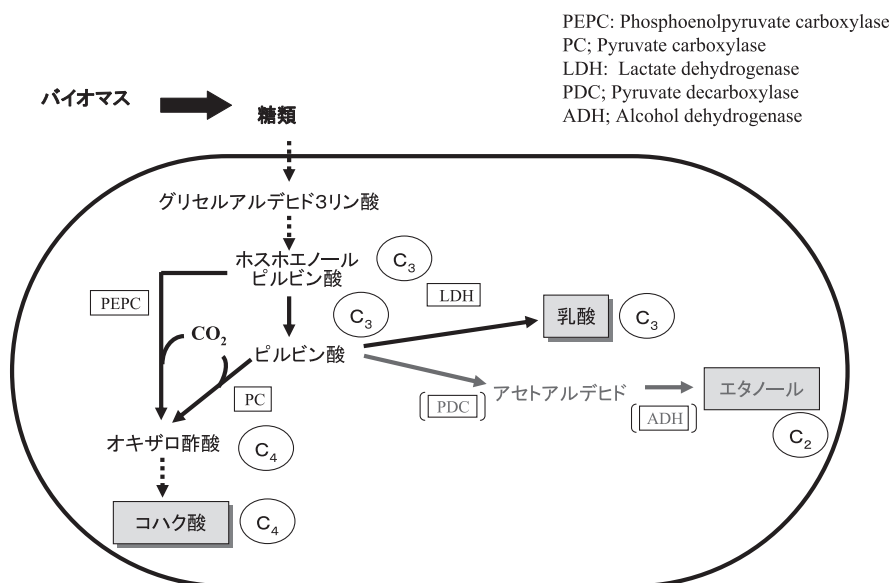


図4. *C. glutamicum* によるエタノール生成。

遺伝子組換えにより、*Z. mobilis* 由来の2遺伝子が導入され、エタノール生成能が付与された。PDC, ADH の経路は遺伝子組換えにより人工的に付加したエタノール合成経路。野生型には存在しない。

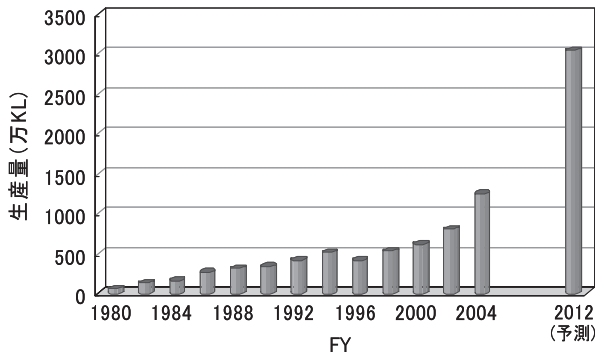


図5. 米国におけるバイオエタノール市場。

続けており、2004年度には約1,300万kLが生産された(図5)。米国では、エネルギー安全保障の観点から国策として石油資源の海外依存度を削減することを目指しており、エタノールの生産と燃料利用の拡大もその目的を含んでいることによる。エネルギー需給に逼迫感が迫る中、燃料用エタノールは注目される化合物であり、エタノール生産分野に対する研究開発の競争と投資は、米国を中心に加速され始めている。バイオプロセスによる燃料用エタノールの生産は、本研究グループでも力を注いでいる重要研究テーマである。

5. おわりに

これまでバイオプロセスは、食品添加物や医薬品原料等のファインケミカルの生産を除いて実用例は少なかった。その原因の多くは、物質生成の反応が好気条件下における微生物細胞の増殖を必要としたほか、一般にバイオプロセス技術の開発は、自然界からバイオプロセスに適した有用な微生物等を採用することから始めなければならず、実現までに長い期間を必要としたことが挙げられる。しかしポストゲノムの時代を迎えた現在、これまで経験に頼って手探りで行われていたバイオプロセスの開発を、ゲノム情報を基に論理的に設計することが可能になりつつある^{13,28-31,49}。

微生物細胞を利用した物質生産は、化学プロセスに比較して生産性の低さが課題と考えられてきた。しかし、本研究グループで開発した増殖非依存型の RITE バイオプロセス技術をはじめ、新規プロセス技術の開発やポストゲノム時代における遺伝子組換え技術の利用により、バイオプロセスにつきものの低 STY (STY: Space Time Yield: 単位反応容積の時間当たりの生産量) 問題は今後、順次克服され解決されていくと予想される。

転じて現在の社会環境に目を向けると、人類は現在、エネルギー資源の枯渇、環境汚染等の解決困難な問題に直面している。バイオプロセスは原料として再生可能資源であるバイオマスとの相性が良く、バイオマスより各種化学製品や燃料等を製造することにより、これらの問題を同時に解決できる極めて有効な手段となる。さらに、本稿で述べたバイオマスより多様な製品の生産を可能とするバイオリファイナリーの実現は、環境、エネルギー分野の枠を越えて、物流体系の変革等、社会構造に変化をもたらす可能性すら秘める。

社会に与える影響の大きさや、バイオテクノロジーを中心に技術開発に伴う産業界への波及効果から、バイオリファイナリー関連分野が米国において国策として重視されていることは本稿中で触れた。本研究グループではこれまで独自に、バイオリファイナリー実現につながる技術開発を進めてきたが、近年、わが国においてもバイオリファイナリー関連分野が注目されるようになった。また、最近になって産官学をあげて、研究開発の充実が図られるようになり、国策としてもバイオリファイナリー実現を目指す研究開発が計画されつつある。

嫌気条件を利用したバイオプロセスは、バイオリファイナリー関連分野における技術開発に大きく寄与できる潜在性を所持し、産業利用への展開を含めて今後の研究開発の進展が期待される分野である。

文 献

- Alterthum, F., and L. O. Ingram. 1989. Efficient ethanol production from glucose, lactose, and xylose by recombinant *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1943-1948.
- Bothast, R.J., and M.A. Schlicher. 2005. Biotechnological processes for conversion of corn into ethanol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 67: 19-25.
- Cho, H.-Y., H. Yukawa, M. Inui, R.H. Doi, and S.-L. Wong. 2004. Production of minicellulosomes from *Clostridium cellulovorans* in *Bacillus subtilis* WB800. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 5704-5707.
- Han, S.O., H. Yukawa, M. Inui, and R.H. Doi. 2005. Molecular cloning and transcriptional and expression analysis of *engO*, encoding a new noncellulosomal family 9 enzyme from *Clostridium cellulovorans*. *J. Bacteriol.* 187: 4884-4889.
- Han, S.O., H. Yukawa, M. Inui, and R.H. Doi. 2005. Effect of carbon source on the cellulosomal subpopulations of *Clostridium cellulovorans*. *Microbiol.* 151: 1491-1497.
- Han, S.O., H. Yukawa, M. Inui, and R.H. Doi. 2004. Isolation and expression of the *xynB* gene and its product, XynB, a consistent component of the *Clostridium cellulovorans* cellulosome. *J. Bacteriol.* 186: 8347-8355.
- Han, S.O., H.-Y. Cho, H. Yukawa, M. Inui, and R.H. Doi. 2004. Regulation of expression of cellulosomes and noncellulosomal (hemi) cellulolytic enzymes in *Clostridium cellulovorans* during growth on different carbon sources. *J. Bacteriol.* 186: 4218-4227.
- Han, S.O., H. Yukawa, M. Inui, and R.H. Doi. 2003. Regulation of expression of cellulosomal cellulase and hemicellulase genes in *Clostridium cellulovorans*. *J. Bacteriol.* 185: 6067-6075.
- Han, S.O., H. Yukawa, M. Inui, and R.H. Doi. 2003. Transcription of *Clostridium cellulovorans* cellulosomal cellulase and hemicellulase genes. *J. Bacteriol.* 185: 2520-2527.
- Herrera, S. 2004. Industrial biotechnology—a chance at redemption. *Nat. Biotechnol.* 22: 671-675.
- Inui, M., H. Kawaguchi, S. Murakami, A.A. Vertes, and H. Yukawa. 2005. Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for fuel ethanol production under oxygen deprivation conditions. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* (in press).
- Inui M., S. Murakami, S. Okino, H. Kawaguchi, A.A. Vertes, and H. Yukawa. 2004. Metabolic analysis of *Corynebacterium glutamicum* during lactate and succinate productions under oxygen deprivation conditions. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 7: 182-196. 2004.
- Inui, M., Y. Tsuge, N. Suzuki, A.A. Vertès and H. Yukawa. 2005. Isolation and characterization of a native composite transposon, Tn14751, carrying 17.4 kilobases of *Corynebacterium glutamicum* chromosomal DNA. *Appl. Environ. Micro-*

- biol. 71: 407–416.
- 14) 乾 将行, 湯川英明. 2000. 微生物機能による CO₂ 再資源化の展開. バイオサイエンスとインダストリー. 58: 699–703.
 - 15) 乾 将行, 湯川英明. 2005. バイオリファインリー構築へ向けて. バイオサイエンスとインダストリー. 63: 23–26.
 - 16) Kamm, B., and M. Kamm. 2004. Principles of biorefineries. Appl. Microbiol. Biotechnol. 64: 137–145.
 - 17) Kinoshita S. 1985. Glutamic acid bacteria, p. 115–146. In A.L. Demain, and N.A. Solomon (ed.), Biology of industrial microorganisms. Cummings, London.
 - 18) Kotrba, P., M. Inui, and H. Yukawa. 2003. A single V317A or V317M substitution in Enzyme II of a newly identified β-glucosidase phosphotransferase and utilization system of *Corynebacterium glutamicum* R extends its specificity towards cellobiose. Microbiology 149: 1569–1580.
 - 19) Kotrba, P., M. Inui, and H. Yukawa. 2001. The *ptsI* gene encoding Enzyme I of the phosphotransferase system of *Corynebacterium glutamicum*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 289: 1307–1313.
 - 20) Kotrba, P., M. Inui, and H. Yukawa. 2001. Bacterial phosphotransferase system (PTS) in carbohydrate uptake and control of carbon metabolism. J. Biosci. Bioeng. 92: 502–517.
 - 21) Koukielekolo, R., A. Kosugi, M. Inui, H. Yukawa and R.H. Doi. 2005. Degradation of corn fiber by *Clostridium cellulovorans* cellulases and hemicellulases and contribution of scaffolding protein, CbpA. Appl. Environ. Microbiol. 71: 3504–3511.
 - 22) Liebl W. 1991. The genus *Corynebacterium*-nonmedical. In: Balows A, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, K.H. Schleifer (eds), The Prokaryotes. Springer-Verlag, New York, Vol. II pp 1157–1171.
 - 23) Okino S., M. Inui, and H. Yukawa. 2005. Production of organic acids by *Corynebacterium glutamicum* under oxygen deprivation. Appl. Microbiol. Biotechnol. (in press)
 - 24) 沖野祥平, 川口秀夫, 篠田吉史, C. Omumasaba, 野中寛, 中田かおり, 乾 将行, 横山益造, 湯川英明. 2004. エネルギー使用合理化古紙等有効利用二酸化炭素固定化技術開発. 経済産業省平成15年度報告書.
 - 25) 沖野祥平, 川口秀夫, 篠田吉史, C. Omumasaba, 野中寛, 中田かおり, 乾 将行, 横山益造, 湯川英明. 2003. エネルギー使用合理化古紙等有効利用二酸化炭素固定化技術開発. 経済産業省平成14年度報告書.
 - 26) Omumasaba, C.A., N. Okai, M. Inui, and H. Yukawa. 2005. *Corynebacterium glutamicum* glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase isoforms with opposite, ATP-dependent regulation. J. Mol. Microbiol. Biotechnol. 8: 91–103.
 - 27) Puskas, L.G., M. Inui, and H. Yukawa. 2000. Structure of urease operon of *Corynebacterium glutamicum*. DNA Sequence 11: 383–394.
 - 28) Suzuki, N., H. Nonaka, Y. Tsuge, S. Okayama, M. Inui, and H. Yukawa. Multiple large segment deletion method for *Corynebacterium glutamicum*. Appl. Microbiol. Biotechnol. (in press)
 - 29) Suzuki, N., S. Okayama, H. Nonaka, Y. Tsuge, M. Inui and H. Yukawa. 2005. Large scale engineering of the *Corynebacterium glutamicum* genome. Appl. Environ. Microbiol. 71: 3369–3372.
 - 30) Suzuki, N., Y. Tsuge, M. Inui, and H. Yukawa. 2005. Cre/*loxP* mediated deletion system for large genome rearrangements in *Corynebacterium glutamicum*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 67: 225–233.
 - 31) Tsuge, Y., K. Ninomiya, N. Suzuki, M. Inui, and H. Yukawa. 2005. A new insertion sequence, IS14999, from *Corynebacterium glutamicum*. Microbiology 151: 501–508.
 - 32) 鈴木伸昭, 湯川英明. 2004. 21世紀の産業革命: Biorefinery. Cellulose Commun. 11: 181–187.
 - 33) 高山勝己, 吉村忠与志, 乾 将行, 湯川英明, 2004. コリネ細菌を用いた再生紙汚泥の有効利用に関する基礎的研究. 繊維学会誌. 60: 300–304.
 - 34) 横山益造, 湯川英明. 2003. 植物資源由来の生分解性プラスチック—新規バイオプロセスによるモノマー有機酸の製造技術開発—. 化学と工業. 56: 12.
 - 35) 湯川英明. 2004. グリーンプロセスによるエネルギー・化学品生産への将来展望. 環境バイオテクノロジー学会誌. 4: 63–67.
 - 36) 湯川英明. 2004. 新規バイオプロセスによる化学品・エタノール生産. バイオマス活用への技術開発. 9: 22–23.
 - 37) 湯川英明. 2003. バイオテクノロジーによるバイオマス資源有効利用. 紙パルプ技術タイムス. 1–4.
 - 38) 湯川英明. 2003. バイオマスエタノールの量産技術と実用化の展望. 高圧ガス. 9: 28–32.
 - 39) 湯川英明. 2003. バイオプロセスによるコハク酸製造技術の開発とグリーンプラスチックへの応用. 産業と環境. 75–77.
 - 40) 湯川英明. 2002. 生物工学的手法によるバイオマス資源からの燃料エタノール生産技術. エコインダストリー. 7: 37–41.
 - 41) 湯川英明. 2002. 高分子素材有機酸の新規バイオプロセス. グリーンプラジャーナル. 12–14.
 - 42) 湯川英明. 2001. バイオマス資源から燃料エタノールの製造. バイオインダストリー. 18: 80–85.
 - 43) 湯川英明. 2001. 米国のバイオマス研究戦略. バイオインダストリー. 18: 76–79.
 - 44) 湯川英明. 2000. バイオマス研究概論—米国の戦略を中心として—化学経済 8: 23–26.
 - 45) 湯川英明. 2000. 都市ゴミからの燃料エタノール製造. 化学経済. 5: 70–71.
 - 46) 湯川英明. 1999. 生物機能を利用した炭酸ガスの資源化技術. 化学工学. 63: 430–433.
 - 47) 湯川英明. 1998. 地球温暖化対策 CO₂ 固定への挑戦. バイオサイエンスとインダストリー. 56:26–28.
 - 48) 湯川英明. 1998. コリネ型細菌による CO₂ 固定への挑戦. バイオインダストリー. 15: 37–43.
 - 49) Vertès, A. A., M. Inui, and H. Yukawa. Manipulating *Corynebacteria* from individual genes to chromosomes. Appl. Environ. Microbiol. (in press)