

アーミング技術によるメタルバイオテクノロジー： レアメタル資源の選別回収への展開

Metal-Biotechnology with Arming Technology: Development of Selective Recovery of Rare Metal Resources

植田 充美*, 黒田 浩一
MITSUYOSHI UEDA and KOICHI KURODA

京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻生体高分子化学分野

〒606-8502 京都市左京区北白川追分町

* TEL: 075-753-6110 FAX: 075-753-6112

* E-mail: mueda@kais.kyoto-u.ac.jp

Laboratory of Biomacromolecular Chemistry, Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto
University, Kitashirakawa-Oiwake-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan

キーワード: メタルバイオテクノロジー, アーミング技術, 細胞表層工学, レアメタル, バイオアブソorbent

Key words: metal-biotechnology, arming technology, cell surface engineering, rare metal, bioadsorbent

(原稿受付 2009年5月19日/原稿受理 2009年6月15日)

1. はじめに

近年のハイテク産業では、レアメタル（レアアースを含む）を中心とした無機金属元素の活用が必須となってきたが、一方で、これまでにない環境汚染や希少資源の枯渇による産業の不安定化などが懸念され、日本が、科学技術立国として、また、自然と共生した安心安全な持続社会構築をリードしていくためには、環境適合技術によってグローバルで適正な金属元素マネジメントが求められている¹⁾。

世界の文化や文明が変化していくときのその契機は、少なからずも、生活に密着する金属の革命や主要金属の交代によるところがあることは歴史がよく物語っている。石器・土器から青銅器の時代をすごしてきた世界各地の古代文明は、現トルコに位置するヒッタイト民族の開拓した鉄器によって一変することになった。この鉄を支柱とする文明は、現在も延々と続いている。このような鉄や銅は、亜鉛やアルミニウムなどとともにベースメタルと言われ、生活と密着した金属である。金や銀など古来からの宝飾品としての貴金属も一種の生活と関連した金属である。周期表でも周知のように、その後、多くの金属の発見により、それらと鉄との融和による文化・文明の進歩が進み、近年大きく注目されている希少資源レアメタル（31種、レアアース17種）などは、我々の健康・経済あるいは国家間外交にまで関わってきている非常に重要な物質となってきた。レアメタルは自動車、液晶テレビ、携帯電話など様々なハイテク進化の時代への変化に必要な不可欠な素材であり、レアメタルの安定供給は世界の科学技術の発展にとってもはや死活問

題ともなってきた。レアメタルパニックや新しい元素戦略など最優先資源課題がひたひたと押し寄せてきている²⁻⁶⁾。しかし、一方では、皮肉にも、現代社会では、重金属による環境汚染が深刻さを増してきており、環境や水資源の浄化が声高に世界を席卷している。日本では、足尾銅山に始まり、水俣や神通川での重金属汚染事件を契機に、要求されている環境排水基準はますます厳しくなっており、環境浄化や水資源の確保の重要性が浸透してきている。

2. 元素資源をめぐる世界情勢

科学技術立国日本を支える資源としてのレアメタルは、BRICsなどの経済発展による需要の大きな増加と特殊な機能を有する電子機器の開発に伴う急激な需要の増加、さらに、それにとまらぬ更なる先進市場の要求により、国際価格が数倍から十倍程度まで跳ね上がっており、日本の備蓄金属も底をつくリスクがあるなどハイテク産業への影響は計り知れず、日本だけでなく、世界の現代社会や未来社会のアキレス腱とも言われている。このような状況の中、レアメタル類を自然界から効率よく集める技術や、廃棄された製品や排水中などから効率よく回収してリサイクルできるような技術の確立が急務となっており、物理化学的な手法と比べてより安価で有効であることから、生物機能を有効に利用して浄化を行う「バイオレメディエーション」が大きな可能性を秘めた技術として注目を集めている。これは、世界の人口の増加に伴う食糧・エネルギー問題が進めば、レアメタル枯渇問題は、そのすぐ延長上で表面化し、また、最も恐れられ

ている水問題とも連携する水質保全問題への解決の突破口が従来の技術を革新するバイオテクノロジーに期待されているからである。

ところで、レアメタルとは、リチウム (Li)、ベリリウム (Be)、ホウ素 (B)、チタン (Ti)、バナジウム (V)、クロム (Cr)、マンガン (Mn)、コバルト (Co)、ニッケル (Ni)、ガリウム (Ga)、ゲルマニウム (Ge)、セレン (Se)、ルビジウム (Rb)、ストロンチウム (Sr)、ジルコニウム (Zr)、ニオブ (Nb)、モリブデン (Mo)、パラジウム (Pd)、インジウム (In)、アンチモン (Sb)、テルル (Te)、セシウム (Cs)、バリウム (Ba)、ハフニウム (Hf)、タンタル (Ta)、タングステン (W)、レニウム (Re)、白金 (Pt)、タリウム (Tl)、ビスマス (Bi) と希土類 (いわゆるレアアースで、すべてで1種として数える) の31種の総称である (図1)。一方、レアアースとは、希土類元素17種で、スカンジウム (Sc)、イットリウム (Y)、ランタン (La)、セリウム (Ce)、プラセオジウム (Pr)、ネオジウム (Nd)、プロメチウム (Pm)、サマリウム (Sm)、ユーロピウム (Eu)、ガドリニウム (Gd)、テルビウム (Tb)、ジスプロシウム (Dy)、ホルミウム (Ho)、エルビウム (Er)、ツリウム (Tm)、イッテルビウム (Yb)、ルテチウム (Lu) の総称で、レアメタルの範疇に入る。これらのレアメタルは、ベースメタルに添加して、性能強化した構造材料を作成したり、電子・磁性材料などに代表される機能性材料の作成に必須の要素となっており、身近な電子機器には、すべて含まれているといっても過言ではない。さらに、高度な機能を欲して要求が過度にエスカレートしているのも現状である。レアアースについては、これらの化学的性質が互によく似ており、同じ鉱石中に相伴って産出し、単独で分離することが難しい。そのため混合物であるミッシュメタルとして利用されることも多い。一つ一つの元素の分離精製が特に難しく、精錬による濃縮に煩雑な操作とコストがかかるため、「レア」なのである。しかし、

永久磁石には、Nd, Sm, Dy, 光磁気ディスクには、Tb, Dy, 蛍光体には、Y, Ce, Eu, Tb, レーザーには、Y, Ho, Yb, 光ファイバー増幅器には、Er, Tm, コンデンサーには、Y, La, Nd, 水素吸蔵合金には、Laが必須の元素となっている。レアメタルも含めて、これらは、鉱業において、銅、亜鉛、鉛などの主産物の副産物として産出されるものも多く、経済性から、混合物のまま、野積み放置されているのが現状でもある。

こういう現状のもと、世界の人口は増加の一途をたどっており、人口増加問題と食糧不足問題は一体化しており、さらに、発展の著しい新興国も含めたエネルギー問題も地球温暖化問題と連帯化してきている。この問題のさらなるステージは資源、特に、鉱物資源の争奪問題となることは、世界的、あるいは、地球的規模で流布され始めている。レアメタルに関しては、日本では、海外からの供給が困難になった場合に備えて、Ni (23.3日分備蓄)、Cr (30.4日分備蓄)、W (21.2日分備蓄)、Mo (21.0日分備蓄)、Co (24.2日分備蓄)、Mn (31.8日分備蓄)、V (21.4日分備蓄) の7種類が国家備蓄されてきている (ちなみに、石油は、91.0日分備蓄)。しかし、アフリカ諸国、中央アジアや南米諸国など政情不安定な国への偏在性が高く、価格は世界情勢に大きく影響されるなど、日本の経済活動において重要であるにも関わらず、その供給構造は極めて脆弱で輸入に完全依存している。そこで、安定供給のために、電子機器などの加工品を再生資源とするリサイクル技術が非常に重要な課題となってきている。

3. 都市鉱山：新しい鉱脈の魅力

リサイクル技術の対象である都市ごみとして大量に投棄・廃棄される家電製品を再生資源とみなす「都市鉱山」という概念は、1980年代に、東北大学の南條道夫教授によって提唱された。国内に蓄積されリサイクルの対象となる金属の量として「都市鉱山」を算定すると、日本

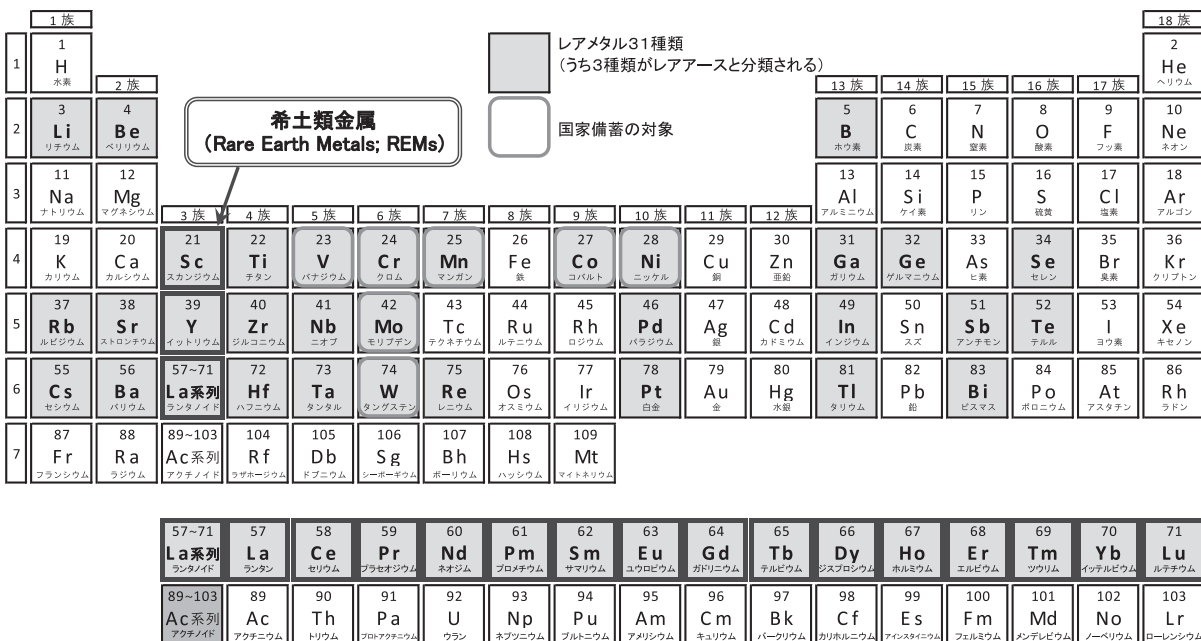


図1. レアメタル・レアアースを区別した周期表

は世界有数の資源大国に匹敵するとも言われている。都市鉱山は天然鉱山よりも金属含有量が非常に高いというリサイクルからみれば、大きな利点をもつ。金は6800トンと算出され、世界の天然埋蔵量の16%に相当し、同じく22%に相当する6万トンと算出される銀とともに世界のトップの資源量となる。これから需給不足が懸念されているインジウムは61%、1700トンが埋蔵されており、全世界の消費量の4年分を保有していることになる。電気自動車の電池材料として期待されているリチウムも世界消費の7年分、排ガス除去触媒に重要なプラチナは5年分が埋蔵されている計算結果が報告されている。このように、レアメタルでは、世界トップの資源大国として、垂れ流しで無駄に使い放置するのではなく、リサイクルの重要性が認識されねばならない。

4. メタルバイオテクノロジー： 日本発信の新しい環境バイオテクノロジー

都市鉱山として世界トップの高濃度鉱脈を有するわが国としては、レアメタルを自然界から効率よく集める技術だけでなく、廃棄された製品、排水中などから効率よく分離・選択的回収する技術を開発することが非常に重要な課題であるため、従来の技術では、特に手に負えない点、すなわち、濃縮回収と選択特異的な個別回収に、新しい革新的な技術、微生物を吸着剤とする「バイオアドソorbent」の開発への期待が大きい。

生物は環境中の金属濃度に関わらず生体内の金属濃度をある一定の範囲に留めておくシステムを備えている。このシステムの中で、金属イオンを認識して情報伝達を行ったり、無毒な形に封じ込めたりするタンパク質が働いており、バイオアドソorbションではこのような生物の金属認識・結合能を用いるのである。また、微生物と金属イオンとのかかわりの中でも、吸着という相互作用に着目すると、(1)細胞表面における吸着と(2)細胞内に取り込まれた後の細胞内タンパク質への吸着(細胞内への蓄積)の2つの吸着が行われており、バイオアドソorbentの開発では細胞内への蓄積を強化する試みがなされてきた。ところが、吸着した後の金属イオンの回収を考えると、細胞を破碎しなければならず困難を伴う。一方、細胞表面における吸着は、吸着に要する時間も短く、回収の際にも細胞を破碎する必要が無いため、1度吸着に用いた細胞も再利用して吸着に用いることも可能であると考えられる。バイオ技術は従来の細胞内に金属イオンをより多くため込ませようとする試みが中心となっており、細胞内に蓄積させた重金属イオンをどのように取り出して有効利用していくかという、限りある資源のリサイクルも考えていく必要が今後課題になってくる。そのため近年、細胞表面で吸着させようとする考え方が急速に広まるとともに、生物の細胞表面デザインを可能にしたアーミング技術(細胞表面工学技術)が確立されてきたことによって⁷⁻¹⁰⁾、バイオレメディエーションの新技术として細胞表面をデザインした新しいバイオアドソorbentが開発されつつある。細胞表面を使った新しい金属イオン吸着システムは、有害重金属の吸着・回収だけでなく、レアメタルの回収にも威力を発揮し、「メタルバイオテクノロジー」隆起の発火点となり、未来型

社会の先導的バイオ技術として期待されてきている¹¹⁻¹³⁾。

5. 新たな金属吸着に向けたバイオ・アーミング技術 (細胞表面工学)

細胞表面で吸着を行うという考え方にに基づき、細胞表面での金属吸着能を強化あるいは新たに付与することができれば、これまでにない新たなバイオアドソorbentの創製が可能になると考えられる。このような戦略を実現させる技術はこれまで存在せず事実上困難であったが、近年、細胞表面に様々な機能性タンパク質・ペプチドをアンカリングさせることによって集積提示(分子ディスプレイ)を行い、細胞表面をデザインする「細胞表面工学」という新しいバイオ技術の確立によって実現可能となった⁷⁻¹⁰⁾。実際、細胞表面工学技術によって、これまでにない新たな機能を付与したアーミング細胞が作製されてきている。この技術において、細胞表面に局在するタンパク質の分子情報を基に、これを提示させる目的のタンパク質に融合させることによって、細胞表面への集積提示を行う。我々の開発してきた酵母ディスプレイ法では、酵母が元来持っている α -グルチニンと呼ばれる性凝集に関わる細胞表面タンパク質のN末端の分泌シグナルとC末端のGPIアンカー付着シグナルを含む細胞表面アンカリングドメインを用いることによって、細胞表面提示に成功している。そこで、水圏中から金属イオンを吸着・回収リサイクルするための細胞表面デザインとして、金属イオン吸着能をもったタンパク質やペプチドの細胞表面提示を行い、様々な金属イオンを細胞表面上で吸着・回収することのできるバイオアドソorbentの分子育種が行われた¹⁴⁻¹⁷⁾(図2)。細胞表面工学によるバイオアドソorbentの創製では、微生物を金属イオン吸着分子の生産者としてだけではなく吸着分子の担体として用いることによって、吸着分子の生産と担体への結合という二段階のプロセスを同時に行うことができる。しかも、微生物を培養するという簡便な操作だけでこれを自動的に行うことが可能である。したがって、一晚培養するだけで大量のバイオアドソorbentを用意することができ、これをそのまま金属イオン吸着に利用することができるのである。ここで、用いている酵母は真核微生物であるため、タンパク質の品質管理機構を備えており、遺伝子配列が分かっている全ての金属イオン吸着タンパク質・ペプチドを細胞表面提示させることができるといった大きな利点をもつ。そのため、様々な種類の金属イオンに対するバイオアドソorbentの創製が期待できる。

2価重金属イオンを吸着することのできるモデルペプチドとしてヒスチジン6量体(His)₆を、さらにそのモデルタンパク質として酵母由来のメタロチオンをアーミング技術により細胞表面に提示に成功した¹⁴⁻¹⁷⁾。生物にとって、金属は必須なものと非必須なものの2つに大別されるが、必須金属元素であっても過剰量を取り込むと毒性を示すようになる。そこで生物は生育に必要な必須金属元素を積極的に取り込むとともに、有害金属元素や過剰に取り込んでしまった必須金属元素を細胞内タンパク質でキレートすることによって無毒化したり、必要時に備えて細胞内に貯蔵するといった、細胞内の金

属濃度をある一定範囲に保とうとする機構を有している。そのため、生物は様々な金属を認識・吸着するタンパク質を生産しており、このようなタンパク質のもつ金属認識・吸着能を利用することが可能である。メタロチオネインもこのような細胞内金属イオンの恒常性維持に

おいて働くタンパク質の1つである。目的タンパク質のN末端に分泌シグナル、C末端にα-アグルチニンの細胞壁アンカリングドメインを融合させた形で発現させ、抗体を用いた蛍光染色によってその細胞表面提示を視覚的に確認することができる(図3)。このようにして構

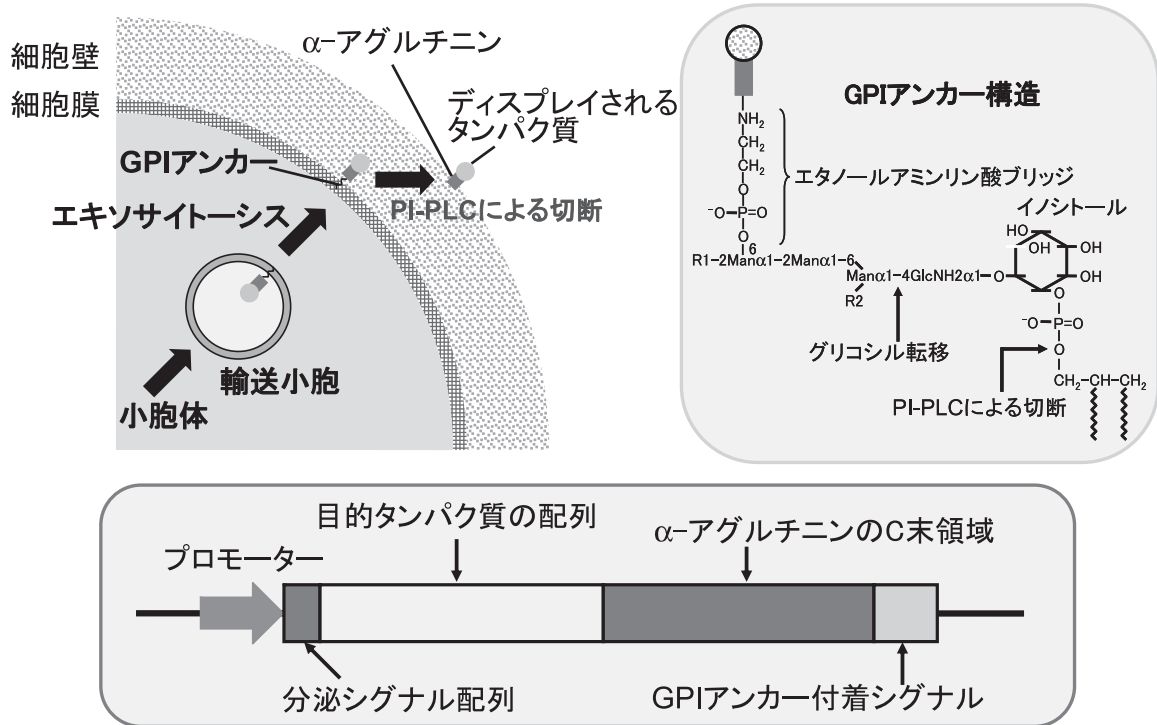
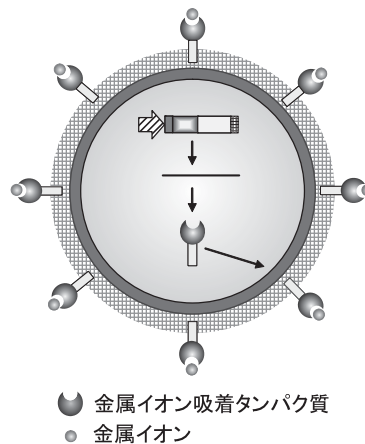
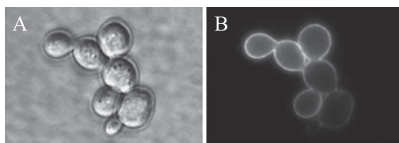


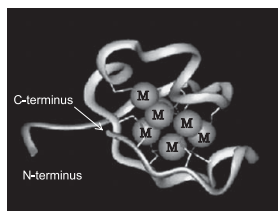
図2. 酵母における金属イオン吸着タンパク質の細胞表面提示メカニズム (アーミング技術)

- ① (His)₆ペプチドの細胞表面提示
Cu²⁺, Ni²⁺吸着・回収
- ② メタロチオネインの細胞表面提示
Cd²⁺の吸着・回収

【蛍光抗体染色による提示の確認】



【酵母由来メタロチオネインタンパク質】



Peterson et al. FEBS Lett. 379, 85-93, 1996

EDTAによる回収
(His)₆提示酵母

金属種	回収率 (%)
CuSO ₄ (7.7ppm)	100
Cu(NO ₃) ₂ (9.1ppm)	100
CuCl ₂ (6.3ppm)	100
NiCl ₂ (6.2ppm)	100

図3. (His)₆やメタロチオネイン提示酵母による細胞表面での金属イオン吸着・回収例

築した細胞表面提示酵母を用いて実際に金属イオンの吸着を行い、キレート剤 EDTA によって細胞表面から金属イオンを脱着・回収したところ、(His)₆ 提示酵母では銅、ニッケルイオンの吸着・回収能が増大した。また、メタロチオネイン提示酵母ではカドミウムイオン吸着・回収能の増大が見られた。さらに、細胞表面での金属イオン吸着能を細胞に与えることによって、野生型では生育できない濃度の銅イオン含有培地においても生育可能であるという興味深い知見が得られ、細胞への耐性付与という点においても細胞表面デザインによる細胞表面の改良が有効な戦略の 1 つであると言える。以上の結果から、酵母の細胞表面デザインによる金属イオンの吸着・回収システム構築の可能性が示された (図 4)。

有害重金属をターゲットとした細胞表面での吸着・回収システムは、レアメタルのような産業上価値の高い金属に対しても効果的であり、資源回収という意味で有用なレアメタル回収酵母の創製も可能であると考えられる。レアメタルの 1 つである、モリブデンをターゲットとしたバイオアドソorbent の創製を試みた¹¹⁻¹³⁾。生体内のモリブデン吸着分子として、ヒトや植物をはじめ様々な生体分子中にモリブデンを補因子として機能するモリブデン結合型タンパク質が存在するため、これらのタンパク質のもつモリブデン認識・結合能力に着目した。大腸菌において外界中のモリブデンを取り込むためのトランスポーターの発現を制御する転写因子として ModE というタンパク質が存在しており、このタンパク質のモリブデン酸イオン (MoO_4^{2-}) 結合能を利用した。α-アグルチニンによる酵母ディスプレイ法によって ModE タンパク質の細胞表面提示を行い、実際に水圏中のモリブデンの吸着を試みた。100 μM の MoO_4^{2-} 水溶液に構築した酵母を添加したところ、野生型と比べて吸着量の増大が見られた。また、吸着時の pH を 7.8 から 10 に変化させると吸着量が大きく低下したため、細胞表面にて吸着したモリブデンを脱着・回収する簡便な化学的処理として、pH 変化が有効な処理法の 1 つとして期待できた。したがって、酵母の細胞表面デザインによる吸着・

回収システムはレアメタルなどの有用金属資源の回収においても利用可能であることが分かった^{12,13)}。

6. 多種多様なレアメタル・レアアースへの対応技術：革新的バイオ素子創製基盤技術の展開

特異的かつ選択的に回収するバイオ素子としてのタンパク質の素材の魅力はその改変の柔軟性にある。ゲノム情報をタンパク質に変換する系 (発現系) としては、おもに細胞内系と細胞外分泌系の二つが使われている。細胞内発現の場合、発現産物であるタンパク質を細胞内に蓄積させると、細胞毒性を示したり不活性な封入体 (凝集体) となることがある。封入体になってしまった場合には、立体構造の再生 (リフォールディング) の操作が必要となる。一方、細胞外に分泌生産させた場合、濃縮操作の際に、タンパク質分解酵素を阻害する必要がある。

このように、どちらの発現系においても回収効率の低下が問題となるため、魅力あるバイオ素子としてのタンパク質を網羅的に、最少量、かつ迅速に (ハイスループットともよばれる) 選択して作り出すとともに、改変できる技術が待望視されてきた。導入した DNA から発現した個々のタンパク質を、細胞表面や細胞膜上に安定な形で提示 (分子ディスプレイ) できるアーミング技術を使えば、活性を保持したまま保存したり、必要に応じて増幅できるようになり、細胞表面で機能解析が格段に容易となる。さらに、PCR (遺伝子増幅) 法などの併用により、導入された DNA の配列から分子ディスプレイされたタンパク質のアミノ酸配列が決定できるというメリットもある。この分子ディスプレイ法を駆使して、新しく、簡易、迅速、しかも、多くの組み合わせの (コンビナトリアル) 分子ライブラリーから適合するものをシステムティックに選択して解析する研究領域は、「コンビナトリアル・バイオエンジニアリング」と呼ばれ⁷⁻¹⁰⁾、いわゆる「コンビナトリアルケミストリー」とは違って、増産できる生細胞や酵素反応を「分子ツール」として利用し、目的の分子を得るのである。すなわち、簡易で迅速

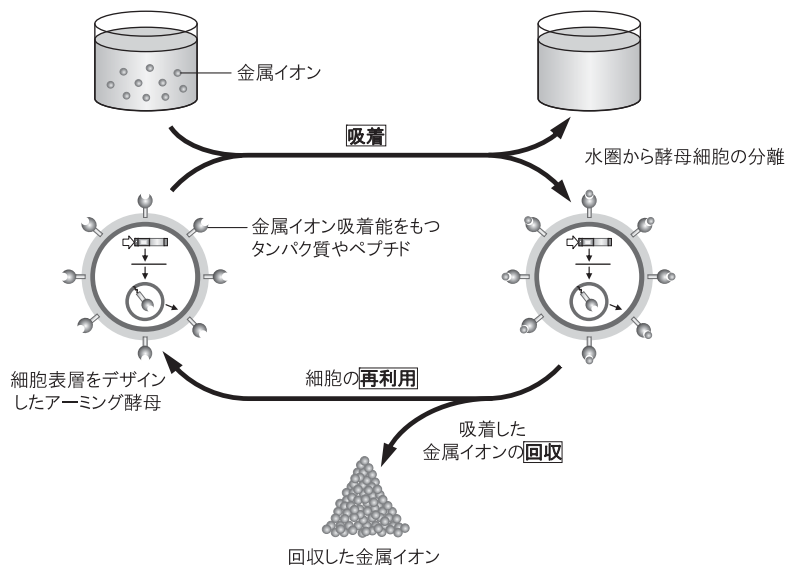


図 4. 細胞表面での吸着を利用した金属イオン吸着・回収システム

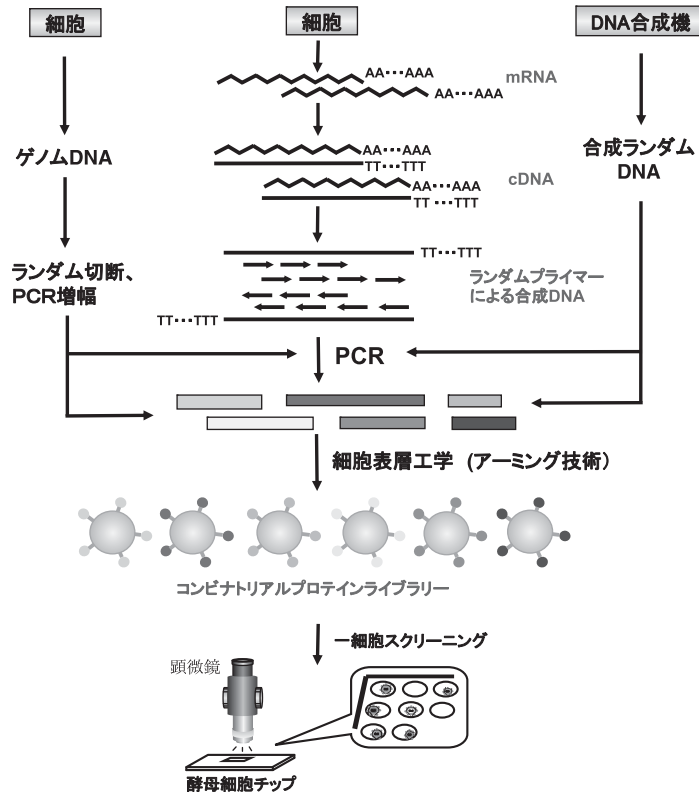


図5. コンビナトリアルバイオエンジニアリングによる多様なレアメタル種に対応する新しいタンパク質分子の創製

に多くの組み合わせの（コンビナトリアル）タンパク質分子ライブラリーが調製され、ハイスループットに目的のタンパク質を、ここでは、個々の金属イオンを識別して捕捉できるタンパク質分子を選択して獲得できる¹⁸⁾。

中核をなすアミニング技術によって、これまで様々な機能性タンパク質を細胞表面にディスプレイすることが可能になり、これまでにない各種金属イオンに特異的な吸着機能を付与したタンパク質分子をディスプレイしたアミニング細胞が作製されている。細胞表面に局在するタンパク質の分子情報を基にし、金属イオン吸着・回収のための細胞表面デザインとして、金属イオン吸着タンパク質やペプチドをディスプレイすることによって様々な金属イオンを細胞表面上で吸着・回収することのできるバイオアドソルベントの多種多様な分子育種が可能になってきている。

7. アミニング技術による未来型環境適合レアメタル資源リサイクルシステムの展望

真核細胞である酵母を用いることで、活性のあるタンパク質がディスプレイできる。このシステムと、マイクロウエル（チャンバー）アレイチップなどのマイクロやナノテクノロジーとの組み合わせたプロテインライブラリーの作製と、それをを用いたハイスループットシステムの構築が急速に進んでいる^{19,20)}。全くランダムなライブラリーのスクリーニングによって、これまで世の中に存在しなかった新しい個別レアメタル標的吸着タンパク質分子を創造することも可能になった（図5）。

実際にアミニング酵母を利用して金属イオンの吸着・

回収を行う際、水圏中に目的の金属以外の様々な金属が混合している。そのため、目的の金属のみを特異的に吸着することが重要な課題である。アミニング技術を基盤技術とすると、細胞表面デザインによりバイオアドソルベントの分子育種が自在に可能となり、金属イオン吸着タンパク質を改変して金属特異性を変えたり、特異的な吸着を持ったペプチドやタンパク質を新たに創製し、これをディスプレイすることによって特異的な吸着を示すバイオアドソルベントの分子育種が可能である。また、変異を導入したタンパク質がディスプレイされた細胞を1つの支持体として、タンパク質の精製・濃縮操作を必要とすることなく、ディスプレイされた変異タンパク質の選択的金属結合機能解析を行うことができる革新的な分子ツールでもあるので、金属イオン吸着タンパク質の設計改変とバイオアドソルベントの分子育種が同時に達成できるのである（図6）。そこで、金属イオン吸着タンパク質の金属イオン認識に関わる領域にコンビナトリアルな変異を導入したタンパク質ライブラリーや、全くランダムなアミノ酸配列を持ったランダムペプチドライブラリーを構築し、これを酵母にディスプレイした酵母ライブラリーから特異性を示すものを選択することによって、今後新しい分子とバイオアドソルベントの創製が期待される。

このように、多様なレアメタルやレアアースに対して、アミニング技術の柔軟性はゲノムには存在しない、それぞれのレアメタルやレアアースに選択的に対応する新しいタンパク質分子素子の創製も可能であると考えられ、今後、分子認識システムの基礎解析と更に実用的で魅力的な未来型環境適合資源リサイクルバイオシステム（図

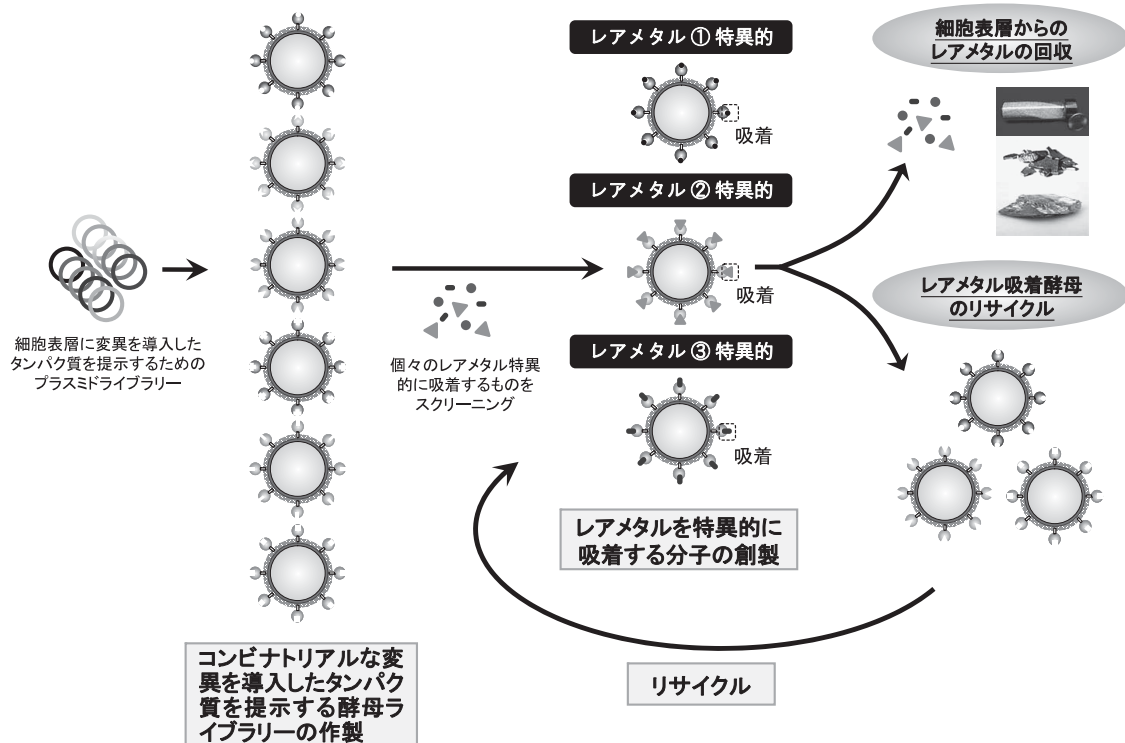


図6. 新しいレアメタル識別機能をもった改変タンパク質分子素子の創製

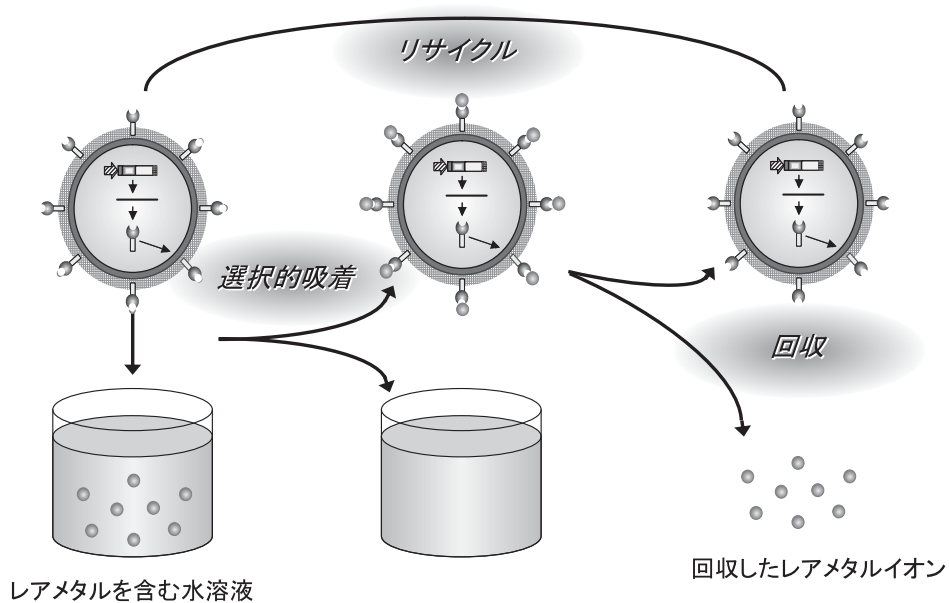


図7. アーミング技術によるレアメタル選択リサイクルシステム

7) がアーミング技術を基に発展していくことが期待される。

文 献

1) 植田充美, 池 道彦 (監修), 吉田和哉 (名誉監修). 2009. メタルバイオテクノロジーによる環境保全と資源回収—新元素戦略の新しいキーテクノロジー—. シーエムシー出版.
 2) 植田充美, 黒田浩一. 2008. アーミング技術による細胞表

層デザインの展開—環境浄化からレアメタル・レアアース資源の選択回収へ—. 日本生物工学会誌. 86: 617-619.
 3) 中村繁夫. 2007. レアメタル資源争奪戦. 日刊工業新聞社.
 4) 田中和明. 2007. レアメタルの基本と仕組み. 秀和システム.
 5) 日経エレクトロニクス. 2007. レア・アース.
 6) 植田充美. NHK 教育 TV (ETV), サイエンスゼロ (2008/03/15 放映) 第 201 回「都市鉱山を生物パワーで掘りおこせ」出演解説
 7) 植田充美. 2004. 新機能タンパク質を自在に創るナノバイオテクノロジーのフロンティア: コンビナトリアル・バイオエンジニアリング. 未来材料. 4: 44-50.

- 8) 植田充美. 2004. コンビナトリアル・バイオエンジニアリングの最前線. シーエムシー出版.
- 9) 植田充美. 2003. ナノバイオテクノロジーの最前線. シーエムシー出版.
- 10) 植田充美. 2003. コンビナトリアル・バイオエンジニアリング. 化学フロンティア 第9巻 化学同人.
- 11) 黒田浩一, 植田充美. 2003. 酵母によるバイオレメディエーション—重金属イオン検知・吸着・回収リサイクリングシステム. *BIO INDUSTRY*. 20: 34–39.
- 12) 黒田浩一, 島田まり子, 植田充美. 2007. 細胞表面デザインによる金属の高効率回収バイオ技術. 工業材料 (日刊工業新聞社). 55: 66–70.
- 13) 黒田浩一, 植田充美. 細胞表面工学による新しいモリブデン回収バイオ技術とその展開. 貴金属・レアメタルのリサイクル技術集成 (エヌ・ティー・エス). 305–313.
- 14) Kuroda, K., S. Shibasaki, M. Ueda, and A. Tanaka. 2001. Cell surface-engineered yeast displaying histidine oligopeptide (hexa-His) has enhanced adsorption of and tolerance to heavy metal ions. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57: 697–701.
- 15) Kuroda, K., M. Ueda, S. Shibasaki, and A. Tanaka. 2002. Cell-surface-engineered yeast with ability to bind, and self-aggregate in response to, copper ion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59: 259–264.
- 16) Kuroda, K., and M. Ueda. 2003. Bioadsorption of cadmium ion by cell surface-engineered yeasts displaying metallothionein and hexa-his. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63: 182–186.
- 17) Kuroda, K., and M. Ueda. 2006. Effective display of metallothionein tandem repeats on the bioadsorption of cadmium ion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 70: 458–463.
- 18) 植田充美. 2003. コンビナトリアル・バイオエンジニアリングによるタンパク質のハイスループット改変. 日本応用酵素協会誌. 38: 1–10.
- 19) Fukuda, T., S. Shiraga, M. Kato, Y. Morita, E. Tamiya, T. Hori, S. Suye, and M. Ueda. 2005. Construction of novel single cell screening system using a yeast cell chip for nano-sized modified-protein-displaying libraries. *Nanobiotechnology*. 1: 105–111.
- 20) Fukuda, T., S. Shiraga, M. Kato, S. Suye, and M. Ueda. 2006. Construction of cultivation system of a yeast single cell in a cell chip chamber. *Biotechnol. Prog.* 22: 944–948.