

## 集団としての微生物機能の解析・利用 —微生物社会学 (Socio-microbiology) の提唱—

### Structure and Function Analyses and Application of Microbial Community/Society (Proposal of the Establishment of Socio-microbiology)

五十嵐 泰 夫

YASUO IGARASHI

西南大学生物エネルギー・生物修復研究センター (中華人民共和国・重慶)

西南大学生物エネルギー・生物修復研究センター (重慶市北碚区天生路2号)

E-mail: aigara@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

Director of Research Center of Bioenergy and Bioremediation, Southwest University (RCBB-SWU),  
Tiansheng Rd, Beibei District, Chongqing, P.R.China

キーワード: 微生物社会学, 微生物集団, コミュニティ解析, バイオマス分解

Key words: socio-microbiology, microbial community, community analysis, biomass degradation

(原稿受付 2013年11月22日/原稿受理 2013年11月29日)

#### 1. はじめに

この度、思いもかけず栄誉ある平成25年度環境バイオテクノロジー学会賞を受賞させて頂きました。私はその連絡を5月から赴任していた中国重慶で学会関係者からのメールで知りました。既に3月に東京大学を定年退職し、研究の第一線から離れて中国・西南大学に来ており、主に日本で博士号を修得した若い微生物・環境バイオテクノロジーの研究者達と、新しいバイオテクノロジーセンターを設立することで頭がいっぱいでした。また最近では本学会の活動や会合等もややサボリ気味でしたので、受賞のお知らせにはいささか戸惑いました。しかし、かつては今中忠行先生たちと共にこの環境バイオテクノロジー学会を舞台に国際会議の招致運営に多大な精力を注いだこともあるなど思い出も多く、また私の研究者活動にとって重要な意味を持つ学会であることなどから、喜んでこの賞を受けさせて頂くこととしました。

その後、福田会長から授賞式が6月1日に開催されるというご連絡を受けました。しかし私はこの日には既に変更できない日程が入っていました。すなわち5月の末にビザ取得のため一度日本に戻り、6月1日に家内ともども再び重慶に出発する予定でした。重慶到着直後には新センター設立に関する催しも決まっていた。その結果、栄えある授賞式に出席できないという、私自身としても絶対と言ってもいいくらい考えられない事態が生じてしまいました。授賞式欠席の件、会員の皆様には心より申し訳なく思っております。

さらに困ったことに、次は学会誌への論文の寄稿です。私の受賞理由は「環境バイオテクノロジー分野ならびに環境バイオテクノロジー学会の発展に対する貢献」

と理解しています。環境バイオテクノロジー分野における私の小さな業績といえば「微生物集団の構造と機能解析」くらいですが、これについては既に日本生物工学会誌<sup>1)</sup>や化学工学<sup>2)</sup>に書かせていただいていますし、その後の最新の結果は若い共同研究者により紹介され議論されるべきと考えます。さらに重慶には生活に必要な身の回りの物だけを持ってきており、原稿の執筆に必要な材料も整っていません。この点では、原稿の遅れと共に不完全な原稿で編集担当の金原先生はじめ多くの皆様に御迷惑をおかけしています。申し訳ありません。

前置き・言い訳が異常に長くなりましたが、結局結論として、これを機会に私が環境バイオテクノロジー・応用微生物学が今後歩むべきひとつの道と信じている「集団としての微生物機能の解析と利用」について、私の現時点での考えをまとめることにしました。このことも既に機会あるごとにお話しし、また書いてきましたので、「何ら新鮮味がない」とお叱りを受けそうですが、「消え行く老兵のあがき」としてお赦しください。

#### 2. 微生物社会学の目指すもの

20世紀の応用微生物学は、自然環境中から一種類の微生物を取り出し、その中身を詳細に調べ、そして他の微生物の同居しないという状況で、持っている機能を最大限発揮させるという環境条件を与えて培養するという手法によって発展してきた。このような手法の背景には、(1) 一般に生育が早く取り扱いが容易であること、(2) 小さくて簡単な構造であること、(3) 持っている遺伝情報も多くないこと、など微生物の持つ利点が考えられる。そしてこのような手法の行き着く先は、多種多様

な微生物の持つ膨大な遺伝情報から必要な情報だけを生物の生存にとって最低必要な遺伝情報のみを持つ微生物（ミニマムゲノムファクトリー・MGF または人工合成微生物・SM）で発現させる技術の開発であろう<sup>3)</sup>。

一方で、自然界に生きる微生物は、大部分の場合、自分ひとりまたは自分と同じ仲間だけで生きているわけではない。多種多様な微生物が、同じ空間、同じ時間を共有しながら生きている。生育の速い微生物は条件が整えばあっという間に数的にその場における中心を占める微生物（優占種）となり、条件が悪くなるとまた直ぐに検出するのが困難な程の少数派に陥る場合もある。一方で、生育は遅いが一定の場の中でひっそりと生きながらえている微生物もあり、最初から他の微生物が生き延びられないようなニッチな環境で行き続けている微生物もいる。また、ほとんど生育もせずにある場所に留まっている微生物もいるかも知れない。

自然界がこのような多種多様な微生物から成り立っている場である以上、少なくとも自然環境における微生物の研究では、そのような微生物社会の成り立ちを研究対象とする必要がある。さらに微生物の機能の応用を目指す応用微生物学の分野においても、殺菌などにより他の微生物の混入が防げない場合や、さらには積極的に集団としての微生物の機能を利用しようとする場合が考えられる。これまでも土壌微生物、水棲微生物、腸内微生物等の研究分野、さらには完全に自然環境とはいえないが、排水処理槽中の微生物、コンポスト化に関わる微生物、さらには伝統的発酵食品に関わる微生物の研究などが微生物集団の研究対象となってきた。さらに今後は、エネルギー物質生産や抗生物質生産など物質生産の分野でも集団としての微生物機能を利用することが考えられ、また近年数多くの問題が発生している公衆衛生の分野でも微生物集団に関する知見の活用が期待される。

このような研究は、人間社会の研究であれば「社会学」と言われる学問分野である。人間と微生物の関係では病原微生物学・衛生学という分野があり、またその他植物間の関係、植物と微生物の関係なども地球上での人類の生存に大きな役割をはたしている（図1）。この人間社会の成り立ちの研究を微生物間の関係に置き換えたものが、筆者がこの10年来主張している微生物社会学（Socio-microbiology）である。微生物社会学が持つ人間の社会学とは異なった特長としては、(1) 微生物の世代時間が短く、社会の変化が短時間で観察され得ること、(2) 個々の微生物の生活が単純で、行動が理解・予測しやすいこと、(3) 一種類の微生物を社会から抹殺する（後述のノックアウト実験等）など人間社会では不可能な社会実験ができること、などが挙げられる。一方欠点としては、(1) 注目していた優占種が突然見えなくなってしまう、逆に意図せず混入した微生物があっという間に優占種になってしまうなど不測の事態が起こり得ること、(2) 今の環境・状況をどう感じているか、微生物にインタビューできないこと、(3) 多くの場合、社会が複雑で構成員の特定さえできないこと、などが挙げられる。

そのような利点・欠点を理解した上で、ここで特に問題としたいのは、研究手法の問題である。近年のDGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), T-

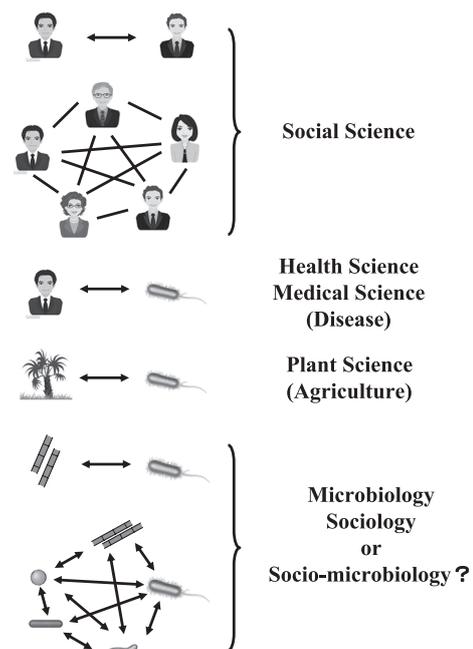


図1. 生物間関係—社会科学か自然科学か？

自然科学であるうとすれば、事象を再現性を持って解析する手法と、それに対する合理的解釈・説明が必要ではないか？

RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism), メタゲノムによる16s-rRNA 遺伝子解析などによる集団を構成する微生物種の同定、定量PCR (Polymerase Chain Reaction) やFISH (Fluorescence in situ hybridization) による微生物数の定量などのDNA解析手法、さらには個々の微生物種のFISHによる固体表面や内部における存在位置、SIP (Stable Isotope Probing) による集団中の働きの可視化の手法などの発展により、微生物の社会というものがどんな微生物から成り立ち、だれが何をしているらしく、誰と誰がどんな関係で、だれがどこに居を構えているか、などと言った「微生物社会の構造」についての解析が急速に解析可能となっている。今後、社会の構造と機能にかかわるより深化した解析・考察ができるかどうか、さらにはより良い（機能的かつ効率的な？）社会の形成に繋がるような新しい研究手法が見いだせるかどうか、これらが微生物社会学が一個の独立した学問分野として認められるかの大きなポイントであると考えている。

一方、今の微生物学では、まだ集団中の微生物を一匹、一匹単離してその性質を調べるというクラシカルな解析が強力な手段となっているのが実情である。しかし集団中の微生物のあるものは培養が極めて困難であり（難培養微生物）、また集団中の生菌数の極めて少ない場合もある。このような場合、DGGEなどにより目的微生物が多く存在する場所や時期を知る方法、FISHやその他染色法により目的微生物の存在場所や細胞形態を知る方法、さらにそれらの情報をもとにフローサイトメトリーなどで物理的に単離する方法などが試みられている。このような既存の解析技術の有効利用や組み合わせ利用なども微生物社会学の構築に必要と考えられる。

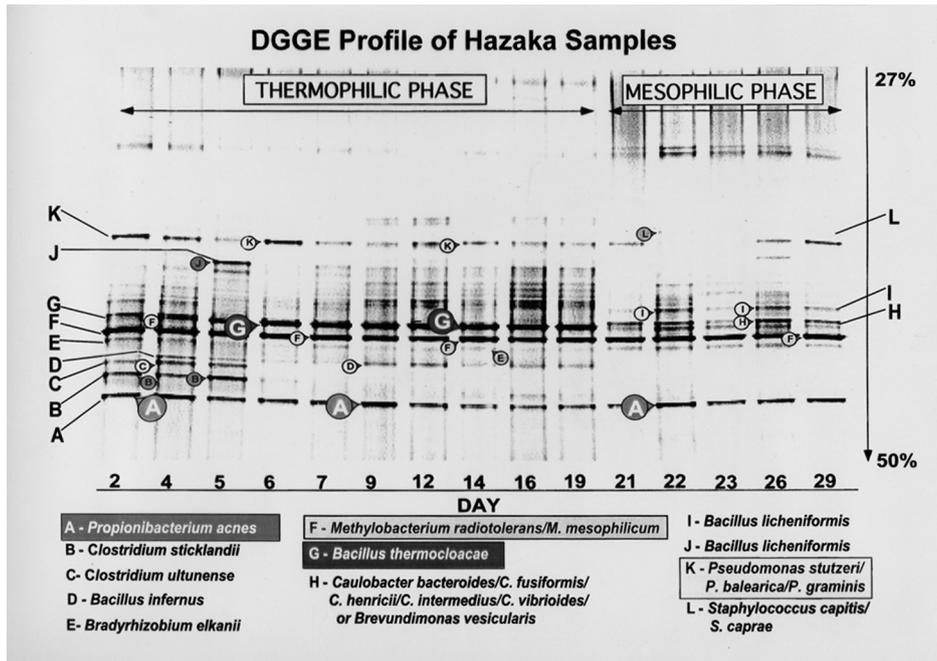


図2. ハザカプラントにおける発酵プロセス中の微生物相の変遷  
プラントの入り口から出口まで約 100 M をほぼ 4 M 毎（一日投入分）にサンプリング，DGGE により菌叢解析を行った。

### 3. 微生物の社会はどうなっているか

それでは、微生物の社会の構造はどうなっているのか、実際の研究例を見てみよう。図2は、大型の有機性廃棄物のコンポスト化（堆肥化）プラントとして代表的なハザカプラントにおける微生物菌叢の変遷をDGGE法により追ったものである。このプラントは全長約100 m、入り口から投入した有機廃棄物を攪拌を加えて一日4 m程度ずつ前方に移動させながら、途中、下部からの通気により醗酵を早めている。醗酵過程におけるかさの減量もあるので、約一ヵ月後に入り口と反対の口（出口）から回収される。

この装置の最初から最後までを4 m（一日分）毎にサンプリングし、そこに存在する微生物（バクテリア）を解析したところ、初期に外部から持ち込まれたもの、中期の醗酵温度の高い時期に現れるもの、後期の乾燥安定期に多く見られるものなど、DGGEで検出できるバンドだけでも50本を超えていた<sup>4)</sup>。季節変動等も見ているが、大筋では安定した菌叢を示していると考えられた。最初に外部から持ち込まれた菌は廃棄物によって大きく変動するはずなのに、その後の菌叢が比較的安定しているのは、入り口で新たに加える有機廃棄物の20-30%の重量にあたる堆肥を出口から入り口に戻していること（戻し堆肥）が理由として考えられる。この戻し堆肥は、日本中どこでも行われている手法であり、微生物社会学などと難しいことを言うまでもなく、昔の人達は微生物社会の仕組みをよく理解していたのであろう。

50本以上のDGGEバンド（微生物）のうち、最初から最後まで優占種として存在した2種を単離、その性質を調べたがコンポスト化に関わる特別な機能は観察されなかった<sup>9)</sup>。ただこれら2種の微生物の利用出来る有機化合物を調べたところ、食べ分けというか、相補的な関

係が認められ、これがこれら2種の微生物の生き残り戦略の一部と考えられた。また別の小型のコンポスターの実験でも、最優占種には特別な機能は見つかっておらず、ただコンポスト化の条件である弱アルカリ性、塩濃度、高温に耐性を示した<sup>6)</sup>。すなわち、コンポスト化の優占種は、何か特別な能力を有しているというのではなく、与えられた環境条件で生き延びるといった耐性を持つか、他の微生物との連携作用で生き延びているという可能性が示された。

もう一つ、より単純と考えられるがより長く安定性を示していると思われる微生物集団の解析の例を見てみよう。鹿児島県霧島市福山地区では200年ほど前より、「壺造りの黒酢」と呼ばれる長期熟成された色の濃い食酢が生産されている。これは素焼きの壺の中に、蒸し米と麴と水を加えて地面の上に置いておくだけという単純な製法で造られる（図3）。当地の人々はこれを壺畑と呼んでいる。長期熟成の農産加工品が生まれるのにふさわしい名前だと思う。このような方法で、良く何万という壺の中が腐らないで酢になっていくものだと不思議に思って、製造工程中の菌叢の変遷を解析することにした（図4）<sup>7)</sup>。その結果、当然ことながら、麴菌とアルコール発酵酵母、そして初期の段階で腐敗を防ぐ乳酸菌は麴由来することが判明した。また驚くべきことに、その後徐々に増加する酢酸菌と、熟成期に出現して恐らく風味や機能性に関与すると思われる酢酸耐性の乳酸菌は壺の内壁に残存していたものが再活性化されたものと考えられた。ちなみに新しい壺の場合、「最初に黒酢を入れてしばらく置いておく」という操作をしないと黒酢製造には使用できない。このようなやり方でよく200年間も安定した黒酢作りができたものだと思うが、この地の気候風土、使用する容器や道具の材質、水や発酵原料の性質なども安定な発酵に関わっているかも知れない。

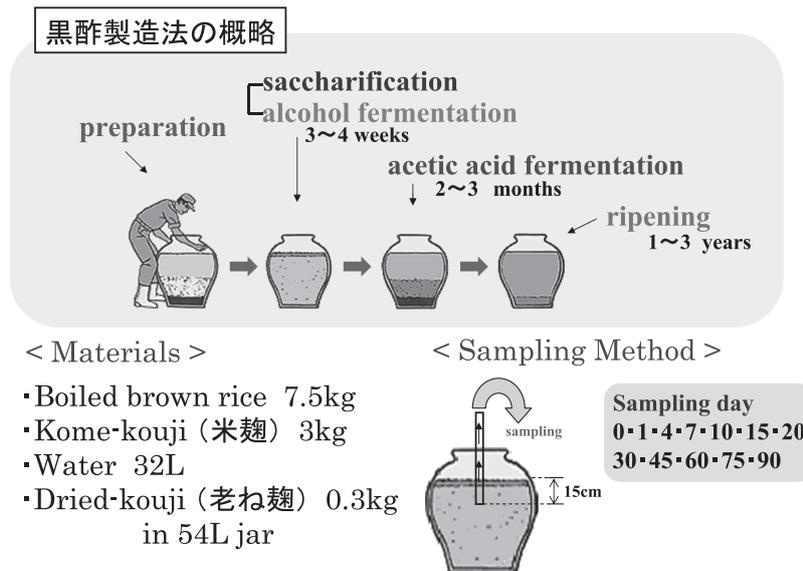


図3. 福山地区における黒酢製造法の概略

原料は、玄米、米麴、水のみ。なぜこれで腐らずに酢になるのか不思議に思ったのが黒酢の研究を始めた動機。

### DGGE profile (Bacteria) and estimated microbes

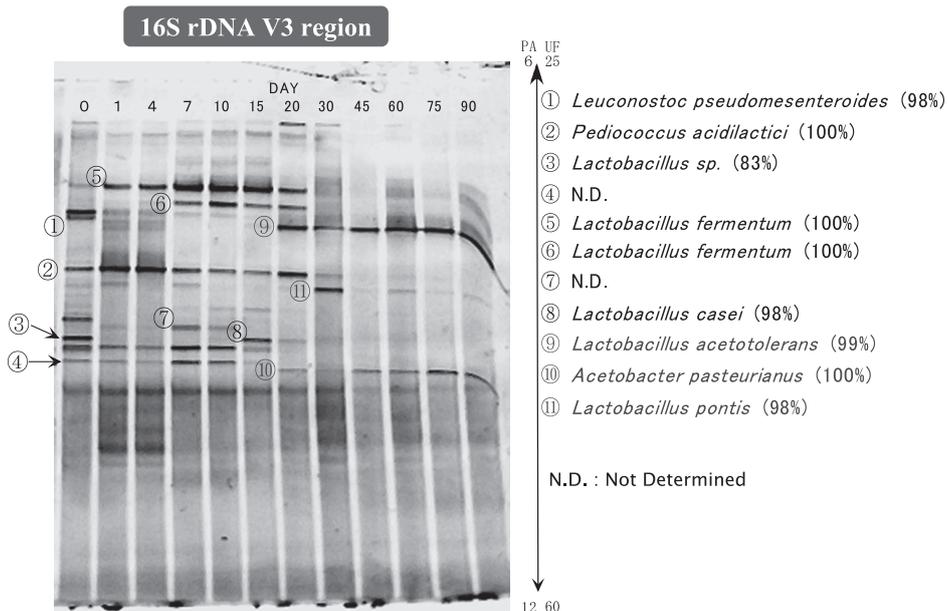


図4. 黒酢醸造過程における微生物の変遷 (細菌)

真核微生物の同様な解析によって、麴の中には麹菌だけでなくアルコール酵母も含まれていることが判明している。また別な実験によって酢酸菌は壺の内壁に生息していることも判明している。

しかし、発酵の中身を覗き込んでいるだけでは黒酢の上手な造り方にも、安定な造り方にも何にも寄与しない。今後、なんとか効率化・安定化に寄与したいと考えている。それが微生物社会学の確立への道でもあると思う。なお、黒酢の機能性については、今回の乳酸菌の菌叢解析の結果を参考に、別な研究グループにより精力的に研究が進められている。

#### 4. モデル実験系の確立

上記のような手法によって微生物社会の構造が完全に理解されるわけではない。1種類または2種類程度の微生物からなる社会であれば、このような手法によらなくとも十分に解析が可能であろうが、現実の微生物社会の多くは堆肥化で見られるように多くの微生物種からなり、その全てが検出されている訳ではない。また各種微生物の菌数の変動も多く、全体の構造を理解することは困難である。このような場合、数理モデル化またはモデ

## 単離菌の性質

Strain	Closest relative	Aerobic growth	Anaerobic growth	Utilization			
				Cellulose	Cellobiose	Glucose	Acetate
S	<i>Clostridium straminisolvens</i>	-	+	+	+	-	-
F	<i>Clostridium thermosuccinogenes</i>	-	+	-	+	+	-
1	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	+	-	+	+	+
3	<i>Pseudoxanthomonas taiwanensis</i>	+	+	-	-	-	-
4	<i>Virgibacillus pantothenicus</i>	+	-	-	-	-	+
5	<i>Brevibacillus agri</i>	+	-	-	-	+	-
6	<i>Bordetella petri</i>	+	-	-	-	-	-

図5. 単離菌の性質

構築した稲わら分解微生物集団から主要な微生物7種を単離し、その性質を調べた。またここでは示さないが、上段の Clostridia 2株は、培養中稲わら表面に付着していた。さらに、それぞれの微生物の培養液が他の菌株の生育に及ぼす影響も調べてある。

ル生態系（人工生態系）の構築という手法が用いられる。数理モデルについては、既に共同研究者である首都大・春田伸准教授、東大・石井正治教授などにより米国シアトルのフレッド・ハチソン研究所との共同研究が始まっており、その成果に期待したい。ここではモデル生態系の構築と解析について延べる。

共同研究者の中国農業大学崔教授らは、長い時間と多大な労力をかけて、無処理の稲わらを効率的に分解する安定な微生物集団を構築した<sup>9)</sup>。その詳細はここでは述べないが、この集団は、無殺菌で植え継いでもその構成メンバーが変わらないという安定性を示した。さらに我々はこの集団から主要な微生物を単離し（図5）、その単離菌の組み合わせによって、4-5種類の微生物からなる人工生態系（モデル生態系）を構築した<sup>9,10)</sup>。ただしこのモデル系は当初の人工生態系ほど安定ではない。少なくとも無殺菌操作によりこの集団の構造は崩れ、外部の菌の侵入を許してしまう。

人工生態系（モデル生態系）の再構築が可能になったことから、この系から1種類ずつ微生物種を除いた集団を培養しその挙動を追うこと（ノックアウト実験、図6）が初めて可能となった。その結果が図7である。ここでは稲ワラからの分解産物が示されているが、その他にも培養中の pH の変化なども測定している。以上のすべての結果を総合的に解析した結果、現時点ではこの再構成微生物集団による稲わらは図8でのようなネットワークにより効率的に行われていると考えている<sup>11)</sup>。

### 5. 効率化・安定化への道

微生物社会学が目指すところの一つである微生物集団による機能の効率化はどのようになされ得るのであろう。現在のところ、微生物集団の構造と機能を制御・効

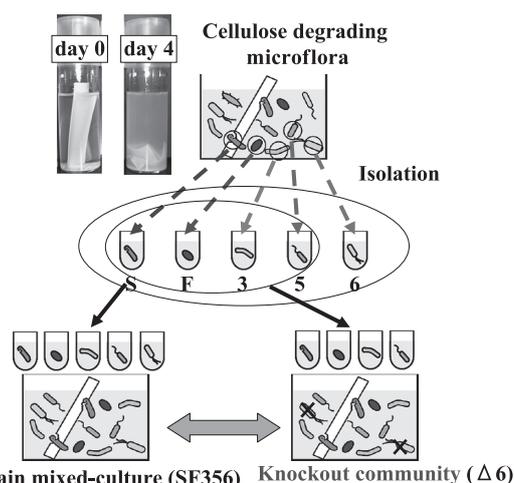


図6. 代表的菌株5種による再構成とノックアウト実験

単離した株のうちの5株を用いて、稲わら分解集団を再構成した。この5株のうちの1株を加えないで、稲わらの分解過程を観察した（ノックアウト実験）。再構成微生物集団から、特定の菌株を除いたこのような実験は世界で初めての試みと考えられる。

率化する方法は殆どが培養法に関わるものであって、積極的に微生物機能を制御するものではない。前述の堆肥化の例では、微生物叢の安定化に最も寄与しているのは「戻し堆肥」という作業であり、効率化については、途中の工程における通気攪拌や水分条件のコントロールなどに頼っている。

また、目的とする微生物集団の機能が高分子または難分解物質の分解である場合、その第一段階の物質分解に携わる微生物の機能を強化すること、具体的には分解微生物を添加することが効率化に繋がる場合が多い。安定

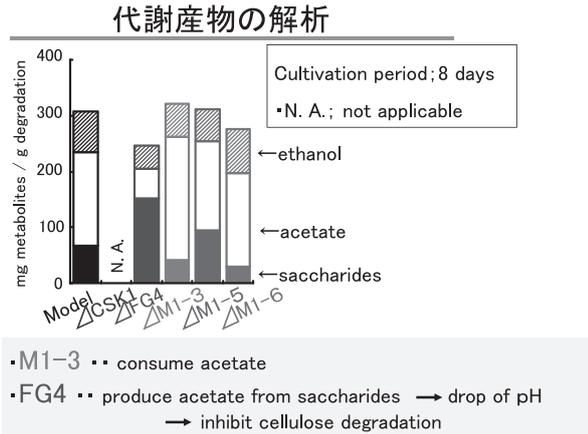


図7. ノックアウト実験の結果  
 ここでは、稲わらからの分解産物が示されているが、この他稲わらの分解率、培養中の pH の変化なども調べている。さらに一部の実験については、培養中のそれぞれの菌株の存在量も調べている。

### Putative roles of the members

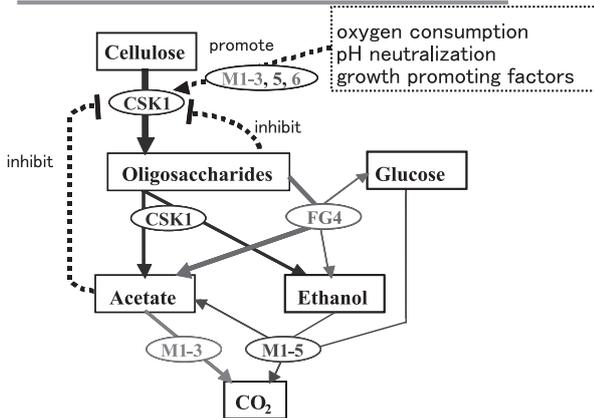


図8. 再構成微生物集団の相互関係  
 今までの実験結果を総合して、この再構成微生物による稲わらの分解は本図のようなネットワークにより行われていると考えている。

した生態系では第一段階の分解活性より次段階以降の活性の方が強いことがほぼ必須と考えられるからである。セルロース分解メタン発酵において、第一段階のセルロース分解菌を添加することによりメタン発生量の増加が観察された例があるが、このような場合、添加した分解微生物の菌数はまた元に戻ると考えられ、継続的に添加しなければならない可能性が高い。

一方、メタン発酵のような嫌気発酵においては、各微生物およびシステム全体の酸化還元バランスを保つために、微生物間で直接または間接的に電子をやり取りしていることが知られている。このような場合、発酵槽内または壁に電極を設置し、槽内に電子を供給するか逆に電子を引き抜くことにより、微生物集団の酸化還元活性を制御できることが考えられる。実際、我々のグループの佐々木らにより、メタン発酵槽内に電極を設置することによりメタン発酵や水素発酵を効率化させた例が報告されている<sup>12,13</sup>。今後物質を介した集団内における微生物

### コンポスト製造過程での大腸菌の消長

Compost (100g) & *E. coli* K12 (2% of total bacterial cells) → 37°C cultivation → PCR detection

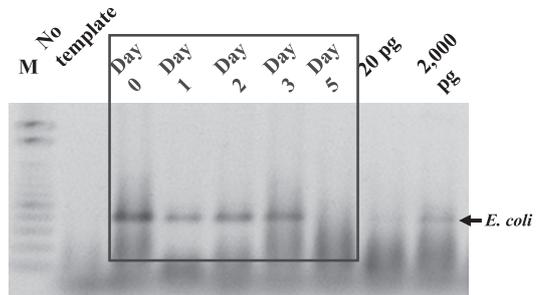


図9. 家畜排泄物の液肥化処理過程における大腸菌数の減少  
 通常の処理過程において、家畜排泄物中の大腸菌数は大きく減少する。

間相互作用に加えて、微生物間の電子のやりとりについての知見が基礎及び応用の両面から重要になる。

ただし、この方法は好気培養には適用が困難である。好気性菌の場合、栄養物質・生理活性物質（クォーラムセンシング物質、抗生物質等）を含む「物質」を介しての相互作用の研究にとどまっている状況であり、微生物社会学の発展のためには今後何か新たな視点・アイデアが必要と考えられる。

一方、有機物の分解や物質生産という面だけでなく、微生物集団中の相互作用には別の利用法もあると考えている。図9は家畜排泄物の液肥化処理過程において大腸菌数が大きく減少するという現象を示している<sup>14</sup>。この際、大腸菌の好むブドウ糖等を添加すると大腸菌数は急激に上昇するので、この現象は化学物質による大腸菌の生育阻害によるものではなく、集団中の栄養分の競合、協調または排他的ネットワークともいべきものの存在が影響しているのではと想像される。現時点では、このような現象によって大腸菌を死滅させることはできないが、将来、化学品に頼らない微生物制御システムの開発に重要なヒントになるのではと期待している。

### 6. 終わりに、そしてこれから

最初に述べましたように、私は本年（2013年）5月より、中華人民共和国・西南大学に生物エネルギー・生物修復研究センターを設立するために、重慶にやってきました。ここで熱意あふれる若い人達や、学内外の人々の優しさに囲まれて、毎日楽しく生活しています。しかし、まだ自分自身で微生物社会学を切り開いていくことを諦めたわけではありません。一度はもう自分自身で研究グループを引っ張っていくことを諦めかけたのですが、実はこのセンターの設立にあたっては、中央政府・重慶市・西南大学から、研究スペース、研究スタッフ、研究費について、日本では考えられないような大きな援助を受けています。現在在籍する3人のスタッフはいずれも日本で博士号をとって間もない30代前半の研究者、2人のポスドクはどちらもドイツで博士号を取ったばかりの30歳そこそこの研究者です。さらにもう数人ポス

ドク採用の予定があります。そのような若い共同研究者の中であって、今しばらくの間は研究の面での私のリーダーシップが必要とされるようです。そしてこのセンターでも、内容はかなり応用的なものになると思いますが、微生物社会学に関連した研究をいくつか計画しています。日本のように基礎研究がすべて、というわけにはいきませんが、中国でも基礎の重要性は強く認識され始めているので、この年齢になっても良いアイデアさえ浮かべば、ここで結構面白い研究ができると思っています。

ただし、退職記念の最終講義でもはっきりと申し上げましたが、卒論生・院生そして助手・助教授・教授に至る45年に及ぶ東大での私の研究者生活の中で、私自身の業績というものは殆どありません。この稿でご紹介した我々のグループの研究も、殆どすべて若い共同研究者が自ら考え、自らの手でやったものです。研究費を集めてきたことと、研究の足をひっぱるような批評ばかりしたことと、一緒にお酒を飲んで嘆きまた喜んだこと以外、私のしたことはほとんどありません。いまさら重慶で、またこの年になって、何か新しいアイデアが出てくるものか、はなはだ疑問です。

ところで若いみなさん、息の詰まりそうな日本を捨ててアジアで活躍しませんか。研究環境は、中国・韓国・台湾はもとよりタイやマレーシアでも相当によくなっています。もうすぐ日本に追いつき追い越すかも知れません。日本で先のポストが全く読めないなんて言っていないで、中国に限らずアジア諸国に羽ばたいてみてはいかがでしょうか。ちなみに私のセンターもポスドク募集中

です。

最後に、この度は栄えある環境バイオテクノロジー学会賞を頂き、学会関係者の皆様にご心より御礼申し上げます。ここ中国でも環境バイオテクノロジー学会が隆盛を極めつつあるようです。日本と中国には共通の環境問題も多くあります。今後両国の環境科学および技術の交流に少しでもお役に立てればと考えています。

## 文 献

- 1) 五十嵐泰夫. 2009. 微生物集団の構造と機能およびその利用に関する研究. 生物工学会誌. 87(1): 2-7.
- 2) 五十嵐泰夫. 2012. 純粋培養から集団としての微生物機能の解析・利用へ—21世紀の応用微生物学の歩むべきひとつの道—. 化学工学. 76(11): 664-666.
- 3) 原島 俊. 2011. 2011年度タイバイオテクノロジー学会基調講演より. 2011年10月27日, バンコク.
- 4) Pedro, M.S., et al. 2001. J. Biosci. Bioeng. 91(2): 159-165.
- 5) Pedro, M.S., et al. 2003. J. Biosci. Bioeng. 95(4): 368-373.
- 6) Nakamura, K., et al. 2004. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 54: 1063-1069.
- 7) Haruta, S., et al. 2006. Int. J. Food Microbiol. 109: 79-87.
- 8) Haruta, S., et al. 2002. Appl. Microbiol. Biotechnol. 59(4-5): 529-534.
- 9) Kato, S., et al. 2004. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 54: 2043-2047.
- 10) Kato, S., et al. 2005. Appl. Environ. Microbiol. 71(11): 7099-7106.
- 11) Kato, S., et al. 2008. Microb. Ecol. 56(3): 403-411.
- 12) Sasaki, K., et al. 2011. Appl. Microbiol. Biotechnol. 89: 449-455.
- 13) Sasaki, K., et al. 2011. J. Biosci. Bioeng. 111(1): 47-49.
- 14) Hanajima, D.S., et al. 2009. J. Appl. Microbiol. 106(1): 118-129.