

戦略的国際共同研究プログラム(SICORP) 日本-タイ、インドネシア、ラオス共同研究

終了報告書 概要

1. 研究課題名:「ASEAN バイオマス活用に向けた耐熱性微生物を利用するバイオ燃料等変換 プロセスの開発」

2. 研究期間: 2017年4月~2020年3月

3. 主な参加研究者名:

日本側チーム					
	氏名	役職	所属	研究分担	
研究代表者	山田守	教授	山口大学	エタノール生	
				産ストレス耐	
				性株育種	
主たる	薬師寿治	教授	山口大学	酢酸菌による	
共同研究者				高温酢酸発酵	
主たる	酒井謙二	教授	九州大学	高温乳酸生産	
共同研究者				プロセス開発	
主たる	熊切 泉	教授	山口大学	膜による濃縮	
共同研究者					
主たる	星田尚司	准教授	山口大学	CBPによるエ	
共同研究者				タノール生産	
				の解析	
研究参加者	高坂智之	准教授	山口大学	ストレス耐性	
				酵母株のゲノ	
				ム解析	
研究参加者	片岡尚也	助教	山口大学	酢酸菌の合成	
				生物学	
研究参加者	松下一信	教授(特	山口大学	高温酢酸発酵	
		命)		のゲノム基盤	
研究参加者	田代幸寛	准教授	九州大学	複合微生物系	
				による乳酸生	
				産	
研究参加者	園元 謙二	教授	九州大学	バイオマスか	
				らのブタノー	
				ル生産	
研究参加者	善藤 威史	助教	九州大学	高効率ブタノ	
				ール生産プロ	
		111.1.4		セス開発	
研究参加者	赤田 倫治	教授	山口大学	酵母の酵素発	
				現系の開発	
研究期間中の全参加研究者数 32名					

相手側チーム

	氏名	役職	所属	研究分担
研究代表者	リムトン	教授	カセサート大学	セルロース系
	サビトリー			バイオマスを
				用いた発酵
研究代表者	ムヒブディン	教授	ブラビジャヤ大学	耐熱性酵母の

	アントン			分離	
研究代表者	ボウンファミー	准教授	ラオス国立大学	耐熱性酵母お	
	ソムチャン			よび耐熱性酢	
				酸菌の分離	
主たる	ティーラグール	准教授	カセサート大学	耐熱性酢酸菌	
共同研究者	ガンジャナ			の耐熱性機構	
主たる	スプラヨギ	講師	ブラビジャヤ大学	耐熱性酵母の	
共同研究者				分離とデンプ	
				ン系バイオマ	
				スを用いた発	
				酵	
主たる	ケオ-オウドン	講師	ラオス国立大学	耐熱性酵母の	
共同研究者	チャンソム			分離とデンプ	
				ン系バイオマ	
				スを用いた発	
		744 #44	カセサート大学	酵	
研究参加者	キップリーチャ バニチ	准教授	カセサート大字	光学活性L-乳	
	ハーナ ビシエン			酸の生産	
研究参加者	ラートワッタナ	助手	カセサート大学	セルロース系	
初几梦加阳	サクル	助于		バイオマスを	
	ノッポン			用いたエタノ	
				ール生産	
研究参加者	パバサン	准教授	ビヤシリメヒィ研究	膜システムの	
	トプラサート		所	開発	
研究参加者	ワラポーン	助手	シルパコーン大学	膜システムの	
	キアキチポーン			開発	
研究参加者	マハール	講師	ブラビジャヤ大学	耐熱性酵母の	
	ジャヤ			分離	
研究参加者	ヌラティカ	講師	11月10日技術研究所	耐熱性酵母の	
	シリ			分離	
研究参加者	トラポン	講師	ラオス国立大学	耐熱性酢酸菌	
	ケオケン			の分離	
研究参加者	フェンシンサム	講師	ラオス国立大学	耐熱性酵母の	
	フェン			分離	
研究期間中の全参加研究者数 14 名					

4. 国際共同研究の概要

我々は、1990年前半からタイを中心として ASEAN 諸国と「熱帯環境に棲息する有用微生 物資源の探索とその機能開発」を目指した共同研究を進めてきた。特に、拠点大学事業 (1998-2008)やアジア研究教育拠点事業(2008-2013)において、高温でも高い発酵能力 を有する多くの耐熱性微生物を開発した。さらに、耐熱性微生物の特性を活かして、 MEXT-ARDA 事業(2011-2013)で第一次世代バイオマスを用いた高温発酵技術構築を行った。 一方、地球温暖化に伴って CO2 削減に繋がるバイオマスの利用が強く要請されながら、セル ロース系バイオマスのバイオ燃料等への利用は、変換コスト等の問題のためほとんど実用 化されていない。2050年には現在の約10倍の需要が見込まれるバイオ燃料生産のためにも、 変換コストを低減する革新的な技術の開発が望まれている。 本研究では、ASEAN諸国に豊富に存在するセルロース系を含む農業残渣の利用に向けて、 省エネ型の発酵生産技術の開発を進めた。まず、生物多様性条約の締結を見越して、これ までタイと日本チームによって確立した方法を用いて、インドネシアとラオスの自国で利 用できる有用な耐熱性微生物を獲得した。両国では、分離した微生物を用いてキャッサバ デンプンを原料として 5L スケールの高温発酵あるいは非温度制御発酵によるエタノール生 産系を確立した。タイでは、セルロース系バイオマスとしてサトウキビ残渣を原料として 最適な酵母を選択し発酵を行った。一方、日本チームは、ASEAN 諸国で分離した耐熱性株を 基盤株として、耐熱化因子や耐ストレス化因子、糖化酵素等の遺伝子導入、新たな発酵プ ロセス開発、耐水性耐酸性の分離濃縮膜の開発などを実施した。毎年セミナーを開催し、 問題点や開発技術について情報共有をすすめると同時に、若手研究者育成を含めた密なネ ットワーク構築を進めた。

5. 国際共同研究の成果

5-1 国際共同研究の学術成果および実施内容

タイ、インドネシア、ラオスの研究者とともに農業残渣を原料とした耐熱性微生物を用 いたバイオ燃料等変換プロセス(発酵生産)技術の開発を中心に、省エネに繋がる種々の技 術開発研究を実施した。タイでは、セルロース系バイオマスを、インドネシアとラオスで は、デンプン系バイオマスを原料に適した耐熱性酵母を分離・選択し、特性解析や高温発 酵試験等を実施した。一方、日本チームを中心に、耐熱性酵母や耐熱性細菌等を用いて, 耐熱化因子や耐ストレス化因子、糖化酵素等の遺伝子導入、新たな発酵プロセス開発、耐 水性耐酸性の分離濃縮膜の開発などを行った。研究実績として国際共著論文13件、日本側 研究メンバーのみの原著論文11件、日本側研究チームを含まない原著論文2件、その他の 国際共著著作物2件を発表するとともに、招待講演等を含めて多くの学会発表を行った。

5-2 国際共同研究による相乗効果

ASEAN 諸国は農業残渣等バイオマスの賦存量が大きく、CO2 排出削減やバイオリファイナ リー促進の観点からも、利活用が切望されている。しかし、バイオマスの燃料等の有用物 質への変換は可能であるがコスト的に問題がある。本国際共同研究では、参加国がもつ微 生物資源、経験や技術を結集してバイオマス変換の大幅なコスト削減を可能にする技術開 発を実施した。研究の問題点についてはメールや対面によって意見交換をするとともに、 日本以外の各参加国で本事業のセミナーを毎年開催し、成果や技術情報を共有した。ほぼ 毎年、ラオス、インドネシア、タイの研究者が日本側の研究室で共同研究をするとともに、 ラオスの研究者が近隣のタイ側の研究室で研究を行った。また、日本側からも機会がある 度に関係国を訪問し、直接意見交換を行った。

5-3 国際共同研究成果の波及効果と今後の展望

本国際共同研究事業は農業残渣等のバイオマスを原料としたバイオリファイナリーを目 的としたものであるが、本事業で開発した技術はいずれも持続可能な開発目標 SDGs に関 連し、実用化が可能になればその達成に貢献できる。特に、バイオエタノールについては、 開発技術の統合によって大幅なコスト削減が見込まれ、革新的な技術になると期待される。 本事業では各参加国でセミナーを毎年開催し、この取り組みの情報発信を行った。特に、 公的ファンディング機関や企業との情報共有は、今後の開発技術の社会実装に繋がると期 待される。



Strategic International Collaborative Research Program (SICORP) Japan-Thai, Indonesia and Laos Joint Research Program **Executive Summary of Final Report**

1. Project title : Development of New Processes with Thermotolerant Microbes for Bio-refinery Including Biofuels, towards Utilization of ASEAN Biomass

2. Research period : April 2017 $\,\sim\,$ March 2020

3. Main participants :

Japan-side

Japan-		T :41 -		Data in the
	Name	Title	Affiliation	Role in the
				research project
PI	Mamoru	Professor	Yamaguchi	Breeding of
	Yamada		university	ethanol-fermenting
				stress resistant
				strains
Co-PI	Toshiharu	Professor	Yamaguchi	High temperature
	Yakushi		university	acetic acid
				fermentation
Co-PI	Kenji Sakai	Professor	Kyushu University	Development of
				high-temperature
				lactate production
				process
Co-PI	Izumi Kumakiri	Professor	Yamaguchi	Membrane
			university	separation
Co-PI	Hisashi	Associate	Yamaguchi	Analysis of ethanol
	Hoshida	Professor	university	fermentation by
				CBP
Collaborator	Tomoyuki	Associate	Yamaguchi	Genome analysis
	Kosaka	Professor	university	of stress resistant
				yeast strains
Collaborator	Naoya Kataoka		Yamaguchi	Synthetic biology
			university	of acetic acid
				bacteria
Collaborator	Kazunobu	Professor	Yamaguchi	Genome-based
	Matsushita	(Specially	university	high-temperature
		appointed)		fermentation
Collaborator	Yukihiro	Associate	Kyushu University	Production of
	Tashiro	Professor		lactate production
				by mixed culture
Collaborator	Kenji	Professor	Kyushu University	Butanol production
	Sonomoto		, , ,	from biomasses
Collaborator	Takeshi Zendo	Assistant	Kyushu University	Development of
		Professor	,	efficient butanol
				production
				process
Collaborator	Rinji Akada	Professor	Yamaguchi	Development of
	.,		university	protein expression
				system in yeast
Total number of participants throughout the research period: 32				
Total number of participants throughout the research period. 52				

Partner-side

	Name	Title	Affiliation	Role in the
				research project
PI	Savitree	Professor	Kasetsart	Ethanol production

	Limtong		University	with cellulosic
PI	Anton Muhibuddin	Professor	University of Brawijaya	biomass Isolation of thermotolerant yeasts
PI	Somchanh Bounphanmy	Associate Professor	National University of Laos	Isolation of thermotolerant yeasts
Co-PI	Gunjana Theeragool	Associate Professor	Kasetsart University	Thermotolerance in thermotolerant acetic acid bacteria
Co-PI	Suprayogi	Lecturer	University of Brawijiya	Isolation of thermotolerant yeasts and fermentation with starchy biomass
Co-PI	Chansom Keo-Oudone	Lecturer	National University of Laos	Isolation of thermotolerant yeasts and fermentation with starchy biomass
Collaborator	Vichien Kitpreechavani ch	Associate Professor	Kasetsart University	Production of optically active L-lactate
Collaborator	Noppon Lertwattanasa kul	Assistant Professor	Kasetsart University	Ethanol production with cellulosic biomass
Collaborator	Prasert Pavasant	Associate Professor	Vidyasirimedhi Institute	Membrane system
Collaborator	Kiatkittipong Worapon	Assistant Professor	Silpakorn University	Membrane system
Collaborator	Jaya Mahar	Lecturer	University of Brawijiya	Isolation of thermotolerant yeasts
Collaborator	Sri Nurhatika	Lecturer	10 th Nopember Technology Institute	Isolation of thermotolerant yeasts
Collaborator	Toulaphone Keokene	Lecturer	National University of Laos	Ísolation of thermotolerant acetic acid bacteria
Collaborator	Pheng Phengsintham	Lecturer	National University of Laos	Isolation of thermotolerant yeasts
Total number of participants throughout the research period: 14				

4. Summary of the international joint research

Since the first half of 1990, we have been conducting joint research with Thailand and other ASEAN countries to "search for useful microbial resources inhabiting the tropical environment and develop their functions". In particular, we have developed many thermotolerant microorganisms that possess high fermentation capacity even at high temperatures, in Core University Program (1998-2008) and Asian Core Program (2008-2013). Furthermore, by utilizing the characteristics of thermotolerant microorganisms, we constructed a high-temperature fermentation technology using first-generation biomass

in the MEXT-ARDA project (2011-2013). On the other hand, while there is a strong demand for the use of biomass that leads to CO2 reduction due to global warming, the use of cellulosic biomass for biofuels has hardly been put to practical use due to problems such as conversion cost. In order to produce biofuels, which is expected to have about 10 times the demand in 2050, it is desirable to develop innovative technologies that reduce conversion costs.

In this research, we promoted the development of energy-saving fermentative production technology toward the utilization of agricultural residues containing cellulosic materials that are abundant in ASEAN countries. First, in anticipation of the conclusion of the Convention on Biological Diversity, we obtained useful thermotolerant microorganisms that can be used in Indonesia and Laos in their own countries by using the methods established by the Thai and Japanese teams. In both countries, an ethanol production system was established by using the isolated microorganisms by using cassava starch as a raw material for high-temperature fermentation of 5 L scale or non-temperature controlled fermentation. In Thailand, sugarcane tops were used as the raw material for cellulosic biomass, and the most efficient yeast was selected for fermentation. On the other hand, based on the thermotolerant strains isolated in ASEAN countries, the Japanese team introduced genes for thermotolerant and stress-resistant factors and saccharifying enzymes, and developed new fermentation processes and water- and acid-resistant separation membranes for concentration of fermentation products. We held a seminar every year to share information on problems and development technologies, and at the same time promoted the formation of a vital network including the training of young researchers.

5. Outcomes of the international joint research

5-1 Scientific outputs and implemented activities of the joint research

With the researchers in Thailand, Indonesia, and Laos, we carried out various technological development researches leading to energy saving, focusing on the development of biofuel conversion process (fermentation production) technology with thermotolerant microorganisms, using agricultural residues. In Thailand, efficient yeasts that use cellulose-based biomass as the raw material and in Indonesia and Laos, thermotolerant yeasts that use starch-based biomass as the raw material were isolated, and their characteristic analysis and high-temperature fermentation ability were examined. On the other hand, the Japanese team improved the capability of thermotolerant yeasts or bacteria by introduction of genes for thermotolerant and stress-tolerant factors or saccharifying enzymes, and developed new fermentation processes and water- and acid-resistant separation membranes for concentration of fermentation products. As research achievements, 13 international co-authored papers, 11 papers only by Japanese researchers, 2 papers not including Japanese research team, 2 other international co-authored publications, and many conference presentations including invited lectures.

5-2 Synergistic effects of the joint research

In ASEAN countries, the amount of biomass such as agricultural residues is large, and there is a strong demand for utilization from the perspective of reducing CO2 emissions and promoting biorefinery. However, although it is possible to convert biomass into useful substances such as fuel, there is a cost problem. In this international collaborative research, we have developed technology that enables significant cost reduction of biomass conversion by combining the microbial resources, experiences and technologies of the participating countries. We exchanged opinions about research issues by e-mail and face-to-face, and held seminars of this project every year in participating countries other than Japan to share results and technical information. Almost every year, researchers from Laos, Indonesia, and Thailand conducted joint research in the Japanese laboratory, and because of their proximity, Laos researchers conducted research in the Thai laboratory. Also, every time there was an opportunity from the Japanese side as well, we visited the countries concerned and exchanged opinions directly.

5-3 Scientific, industrial or societal impacts/effects of the outputs

This international collaborative research project is aimed at biorefinery using biomass such as agricultural residue as a raw material, but all the technologies developed in this project are relevant to the Sustainable Development Goals SDGs and it can contribute to the achievement if can be put to practical use. In particular, the integration of the developed technologies for bioethanol is expected to become an innovative technology, as it is expected that the cost will be significantly reduced. In this project, seminars were held annually in participating countries to disseminate information on this initiative. In particular, information sharing with public funding institutions and companies is expected to lead to social implementation of development technology in the future.



国際共同研究における主要な研究成果リスト

1. 論文発表等

*原著論文(相手側研究チームとの共著論文)発表件数:計13件

・査読有り:発表件数:計13件

1. S. Trakarnpaiboon, N. Srisuk, K. Piyachomkwan, K. Sakai and V. Kitpreechavanich, Enhanced production of raw starch degrading enzyme using agro-industrial waste mixtures by thermotolerant *Rhizopus microsporus* for raw cassava chip saccharification in ethanol production, *Prep. Biochem. Biotechnol.*, **2017**, DOI: org/10.1080/10826068.2017.1342264

2. T. Yakushi, S. Fukunari, T. Kodama, M. Matsutani, S. Nina, N. Kataoka, G. Theeragool and K. Matsushita K, Role of a membrane-bound aldehyde dehydrogenase complex AldFGH in acetic acid fermentation with *Acetobacter pasteurianus* SKU1108, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2018**, 102 (10): 4549–4561 DOI: 10.1007/s00253–018–8940–6

3. K. Naloka, P. Yukphan, K. Matsushita and G. Theeragool, Molecular Taxonomy and Characterization of Thermotolerant *Komagataeibacter* Species for Bacterial Nanocellulose Production at High Temperatures, *Chiang Mai J. Sci.*, **2018**, 45 (4): 1610–1622

4. G. Theeragool, N. Pitiwittayakul, M. Matsutani and K. Matsushita, Disruption of the *groEL* gene revealed a physiological role for chaperonin in the thermotolerant acetic acid bacterium, *Acetobacter pasteurianus* SKU1108, *Chiang Mai J. Sci.,* **2018**, 45 (4): 1623-1633

5. M. Nurcholis, S. Nitiyon, Suprayogi, N. Rodrussamee, N. Lertwattanasakul, S. Limtong, T. Kosaka and M. Yamada: Functional analysis of Mig1 and Rag5 as expressional regulators in thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2018**, DOI: 10.1007/s00253-018-9462-y

6. S. Pattanakittivorakul, N. Lertwattanasakul, M. Yamada and S. Limtong, Selection of thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* for high temperature ethanol production from molasses and increasing ethanol production by strain improvement, *Anton. Leeuw.*, **2019**, 112 (7), 975–990 DOI: 10.1007/s10482-019-01230-6

7. P. Konjanda, T. Yakushi, K. Matsushita and G. Theeragool. Enhanced growth and ethanol oxidation by overexpressed *caiA* gene encoding acyl-CoA dehydrogenase in *Komagataeibacter medellinensis* NBRC 3288, *Chiang Mai J. Sci.*, **2019**, 46 (2). 196-206

8. P. Taweecheep, K. Naloka, M. Matsutani, T. Yakushi, K. Matsushita and G. Theeragool, In vitro thermal and ethanol adaptations to improve vinegar fermentation at high temperature of *Komagataeibacter oboediens* MSKU 3, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **2019**,189(1): 144–159 DOI: 10.1007/s12010-019-03003-3

9. M. Nurcholis, M. Murata, S. Limtong, T. Kosaka and M. Yamada, *MIG1* as a positive regulator for the histidine biosynthesis pathway and as a global regulator in thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus, Sci. Rep.*, **2019**, 9, 9926 DOI: org/10.1038/s41598-019-46411-5

10. T. Phathanathavorn, K. Naloka, M. Matsutani, T. Yakushi, K. Matsushita and G. Theeragool, Mutated *fabG* gene encoding oxidoreductase enhances the cost-effective fermentation of jasmine rice vinegar in the adapted strain of *Acetobacter pasteurianus* SKU1108, *J. Biosci. Bioeng.*, **2019**, 127 (6): 690-697 DOI: org/10.1016/j.jbiosc.2018.12.006

11. P. Taweecheep, K. Naloka, M. Matsutani, T. Yakushi, K. Matsushita and G. Theeragool, Superfine bacterial nanocellulose produced by reverse mutations in the *bcsC* gene during adaptive breeding of *Komagataeibacter oboediens*, *Carbohydr. Polym.*, **2019**, 226:115243 DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115243

12. K. Naloka, K. Matsushita and G. Theeragool, Enhanced ultrafine nanofibril biosynthesis of bacterial nanocellulose using a low-cost material by the adapted strain of *Komagataeibacter xylinus* MSKU 12. *Int. J. Biol. Macromol.*, **2019**, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.10.117

13. K. Naloka, P. Yukphan, M. Matsutani, K. Matsushita and G. Theeragool, *Komagataeibacter diospyri* sp. nov., a novel species of thermotolerant bacterial nanocellulose-producing bacterium, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **2020**, 70(1): 251–258 DOI: 10.1099/ijsem.0.003745

 ・ 査読無し:発表件数:計0件 該当無し

*原著論文(相手側研究チームを含まない日本側研究チームの論文):発表件数:計12件・査読有り:発表件数:計12件

1. N. Matsumoto, H. Hattori, M. Matsutani, C. Matayoshi, H. Toyama, N. Kataoka, T. Yakushi and K. Matsushita, A single-nucleotide insertion in a drug transporter gene induces a thermotolerance phenotype in *Gluconobacter frateurii* by increasing the NADPH/NADP+ ratio via metabolic change, *Appl. Environ. Microbiol.*, 84(10). **2018** pii: e00354-18 DOI: 10.1128/AEM.00354-18.

2. T. Zhao, Y. Tashiro, J. Zheng, K. Sakai and K. Sonomoto, Semi-hydrolysis with low enzyme loading leads to highly effective butanol fermentation, *Bioresour. Technol.*, 264, 335-342 **2018** DOI.org/10.1016/j.biortech.2018.05.05

3. R. F. Darmavanti, Y. Tashiro, T. Noguchi, M. Gao, K. Sakai and K. Sonomoto. Novel biobutanol fermentation at a large extractant volume ratio using immobilized Clostridium saccharoperbutylacetonicum N1-4. 126(6) 750-757 2018 J. Biosci. Bioeng., DOI.org/10.1016/j.jbiosc.2018.06.006

4. Y. Misumi, S. Nishioka, A. Fukuda, T. Uemura, M. Nakamura, H. Hoshida and R. Akada, YHp as a highly stable, hyper-copy, hyper-expression plasmid constructed using a full $2-\mu$ m circle sequence in cir0 strains of *Saccharomyces cerevisiae*, *Yeast*, **2018** DOI: org/10.1002/yea.3371

5. T. Zhao, K. Yasuda, Y. Tashiro, R. F. Darmayanti, K. Sakai and K. Sonomoto, Semi-hydrolysate of paper pulp without pretreatment enables a consolidated fermentation system with *in situ* product recovery for the production of butanol, *Bioresour. Technol.*, 278, 57–65 **2019** DOI.org/10.1016/j.biortech.2019.01.043

6. T. Kosaka, Y. Nakajima, A. Ishii, M. Yamashita, S. Yoshida, M. Murata, K. Sato, Y. Shiromaru, S. Kato, Y. Kanasaki, H. Yoshikawa, M. Matsutani, P. Thanonkeo and M Yamada, Capacity for survival in global warming: Adaptation of mesophiles to the temperature upper limit, *PLOS ONE*, 14(6): e0218985 2019 DOI.org/10.1371/journal.pone.0215614

7. T. Kihara, T. Noguchi, Y. Tashiro, K. Sakai and K. Sonomoto. Highly efficient continuous acetone-butanol-ethanol production from mixed sugars without carbon catabolite repression. *Bioresour. Technol. Rep.*, **2019** DOI.org/10.1016/j.biteb.2019.03.017

8. N. Matsumoto, M. Matsutani, Y. Azuma, N. Kataoka, T. Yakushi and K. Matsushita, *In vitro* thermal adaptation of mesophilic *Acetobacter pasteurianus* NBRC 3283 generates thermotolerant strains with evolutionary trade-offs. *Biosci Biotechnol Biochem.*, **2020**, 84(4):832-841 DOI: 10.1080/09168451.2019.1703638.

9. S. Anggarini, M. Murata, K. Kido, T. Kosaka, K. Sootsuwan, P. Thanonkeo and M. Yamada, Improvement of thermotolerance of *Zymomonas mobilis* by genes for reactive oxygen species-scavenging enzymes and heat shock proteins, *Front. Microbiol.*, **2020**, 10, 3073 DOI.org/10.3389/fmicb.2019.03073

10. M. Matsutani, N. Matsumoto, H. Hirakawa, Y. Shiwa, H. Yoshikawa, A. Okamoto-Kainuma, M. Ishikawa, N. Kataoka, T. Yakushi and K. Matsushita, Comparative genomic analysis of closely related *Acetobacter pasteurianus* strains provides evidence of horizontal gene transfer and reveals factors necessary for thermotolerance. *J Bacteriol.*, **2020**, pii: JB.00553-19 2020 DOI: 10.1128/JB.00553-19

11. M. A. Abdel-Rahman, J. Tan, Y. Tashiro, T. Zendo, K. Sakai and K. Sonomoto, Non-carbon loss long-term continuous lactic acid production from mixed sugars using Thermophilic *Enterococcus faecium* QU 50, *Biotechnol. Bioeng.*, **2020**, DOI: 10.1002/bit.27313

12. T. Kosaka, A. Nishioka, T. Sakurada, K. Miura, S. Anggarini and M. Yamada: Enhancement of thermal resistance by metal ions in the thermotolerant *Zymomonas mobilis* TISTR 548. *Front. Microbiol.*, **2020**, DOI:10.3389/fmicb.2020.00502

*その他の著作物(相手側研究チームとの共著総説、書籍など):発表件数:計2件

1. T. Kosaka, N. Lertwattanasakul, N. Rodrussamee, M. Nurcholis, N. T. P. Dung, C. Keo-Oudone, M. Murata, P. Götz, C. Theodoropoulos, Suprayogi, J. M. Maligan, S. Limtong and M. Yamada, Potential of thermotolerant ethanologenic yeasts isolated from ASEAN countries and their application in high-temperature fermentation, In Fuel Ethanol Production from Sugarcane. Thalita Peixoto Basso and Luiz Carlos Basso (eds) ISBN: 978-1-78984-937-0 (print) 978-1-78984-937-7 (online) IntechOpen, pp121-154, **2018**

2. M. Nurcholis, N. Lertwattanasakul, N. Rodrussamee, T. Kosaka, M. Murata and M. Yamada, Integration of comprehensive data and biotechnological tools for industrial applications of *Kluyveromyces marxianus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 104 (2), 475–488 **2019**, DOI.org/10.1007/s00253-019-10224-3

*その他の著作物(相手側研究チームを含まない日本側研究チームの総説、書籍など):発表件数:計4件

1. 宮本浩邦、宮本久、田代幸寛、酒井謙二、児玉浩明,好熱性微生物を活用した未利用バイオマス資源からの高機能性発酵製品の製造と学術的解明,日本生物工学会誌,第 96 巻, 第 2 号, pp. 56-63, 2018 年

 [・] 査読無し:発表件数:計0件 該当無し

2. Ming Gao、田代幸寛、Qunhui Wang、酒井謙二、園元謙二, High acetone-butanol-ethanol production in pH-stat co-feeding of acetate and glucose, 日本生物工学会誌, 第96巻, 第2号, pp. 68, 2018 年

3. M. Matsutani and T. Yakushi, Pyrroloquinoline quinone-dependent dehydrogenases of acetic acid bacteria, Appl. Microbiol. Biotechnol., 102, 9531–9540, **2018**, doi: 10.1007/s00253-018-9360-3.

4. T. Zhao, Y. Tashiro and K. Sonomoto, Smart fermentation engineering for butanol production: designed biomass and consolidated bioprocessing systems, Appl. Microbiol. Biotechnol., 103 (23-24), 9359-9371, **2019** DOI: 10.1007/s00253-019-10198-2

2. 学会発表

- *ロ頭発表(相手側研究チームとの連名発表) 発表件数:計29件(うち招待講演:2件)
- *ロ頭発表(相手側研究チームを含まない日本側研究チームの発表) 発表件数:計43件(うち招待講演:9件)
- *ポスター発表(相手側研究チームとの連名発表) 発表件数:計2件
- *ポスター発表(相手側研究チームを含まない日本側研究チームの発表) 発表件数:計18件

3. 主催したワークショップ・セミナー・シンポジウム等の開催

1. The 4th Seminar of Priority Universities for Cooperation in Japan (第4回重点 大学セミナー), 主催者:薬師寿治(山口大・准教授)、山口大学、山口、日本、2017 年 10月 30日,参加人数 40名程度

 The 13th Young Scientist Seminar (第13回若手研究者セミナー)、主催者:薬師寿治 (山口大・准教授)山口県セミナーパーク、山口、日本、2017年11月18~19日,参加人 数100名程度

 The 14th Young Scientist Seminar (第 14 回若手研究者セミナー)、主催者:山田守(山 口大・教授)山口大学、山口、日本、2018 年 3 月 6 日,参加人数 40 名程度

4. Final Joint Seminar of Core-to-Core Program, 主催者:山田守(山口大・教授)山 口大学、山口、日本、2018年12月2~4日,参加人数150名程度

5. 10th YU-RCTMR symposium and ALCA/JST Workshop~The International Symposium on Cellular Responses, Adaptation and Fermentation in Stress Environments~, 主催者: 星田尚司(山口大・准教授)山口大学、山口、日本、2019 年 3 月 4 日, 参加人数 50 名程度

6. International Conferences on Agriculture 2019 \sim Reshaping Agriculture in

Disruption Era~, 主催者: Anton Muhbuddin (ブラビジャヤ大・教授) Universitas Pembangunan Nasional、Surabaya、Indonesia、2019年10月29日, 参加人数150名程度

7. The 11th YU-RCTMR Symposium and The 6th Seminar of Priority Universities for Cooperation in Japan (第6回重点大学セミナー), International Symposium~Bioactive Molecules from Microorganisms~、主催者:伊藤真一(山口大・教授)、山田守(山口大・ 教授)山口大学、山口、日本、2019年11月15日,参加人数50名程度

4. 研究交流の実績(主要な実績)

[合同ミーティング]

・ 2017 年 8 月 26 日: e-ASIA JRP kick-off meeting (1st Seminar), Centara Grand Hotel, Bangkok, Thailand

・ 2018 年 10 月 24 日:2nd e-ASIA JRP Seminar, Meeting People' Council, Luang Phrabang, Laos

• 2019年10月29日:3rd e-ASIA JRP Seminar, Universitas Pembangunan Nasional, Surabaya, Indonesia

[学生・研究者の派遣、受入]

[派遣]

- 2018年2月26~3月2日:麻生 直之(学部生)
- · 2018年2月26~3月2日:岸部 隆太郎(学部生)
- 2018年2月26~3月2日:阿部拓哉(院生)

[受入]

2017 年 6 月 1 日~2017 年 7 月 31 日: Noppon Lertwattanasakul (カセサート大助教)
耐熱性酵母に関する共同研究を実施した。

• 2017 年 6 月 26 日~2017 年 8 月 25 日: Chansom Keo-Oudone (ラオス国立大講師) 耐熱 性酵母分離株の特性解析に関する共同研究を実施した。

2017 年 8 月 1 日~2017 年 8 月 30 日: Toulaphone Keokene (ラオス国立大講師) 耐熱
性酢酸菌に関する共同研究を実施した。

• 2017 年 10 月 16 日~2017 年 12 月 15 日: Suprayogi (ブラビジャヤ大講師) 耐熱性酵母分離株の特性解析に関する共同研究を実施した。

• 2017 年 10 月 16 日~2017 年 12 月 15 日 : Jaya Mahar (ブラビジャヤ大講師) 耐熱性酵母分離株の特性解析に関する共同研究を実施した。

・ 2018 年 3 月 1 日~2018 年 5 月 28 日: Chansom Keo-Oudone (ラオス国立大講師) 耐熱
性酵母のロバスト化に関する共同研究を実施した。

2018 年 7 月 24 日~2018 年 9 月 20 日 : Toulaphone Keokene (ラオス国立大講師) 耐熱性 酢酸菌に関する共同研究を実施した。

・ 2018 年 11 月 6 日~2018 年 12 月 7 日: Suprayogi (ブラビジャヤ大講師) 耐熱性酵母 のロバスト化に関する共同研究を実施した。

・ 2019 年 3 月 4 日~2019 年 5 月 31 日: Chansom Keo-Oudone (ラオス国立大講師) 耐熱
性酵母を用いたデンプンからのエタノール発酵に関する共同研究を実施した。

• 2019 年 9 月 27 日~2019 年 10 月 25 日 : Suprayogi (ブラビジャヤ大講師) 耐熱性酵母 を用いたデンプンからのエタノール発酵に関する共同研究を実施した。

[カセサート大学の受入]

2018 年 2 月 11 日~2018 年 3 月 12 日: Toulaphone Keokene (ラオス国立大講師) 耐熱
性酢酸菌に関する共同研究を実施した。

・ 2019 年 8 月 1 日~2019 年 9 月 21 日: Chansom Keo-Oudone (ラオス国立大講師) 耐熱

性酵母に関する共同研究を実施した。

 ・ 2019 年 8 月 1 日~2019 年 9 月 21 日: Toulaphone Keokene (ラオス国立大講師) 耐熱 性酢酸菌に関する共同研究を実施した。

5. 特許出願

研究期間累積出願件数:1 件 出願準備中:1 件

6. 受賞·新聞報道等

なし

7. その他

山田は宇部市バイオマス産業共創コンソーシアム(平成28年10月に設立)に加わり、一般廃棄物に含まれる紙を利用する「紙からエタノール変換プロジェクト」をすすめ、 宇部市バイオマス産業都市構想の事業化プロジェクトに関する提言書(令和2年3月27日 提出)作成に携わった。