

# 応用微生物学的見地から見た海洋深層水と 海底堆積物の有効利用

Utilization of deep seawater and marine sediment in applied microbiology

今田 千秋

Chiaki IMADA

## Abstract

In this study, micro-organisms producing various enzyme inhibitors of pharmaceutical and agricultural importance were isolated from the marine environment and characterized. Protease inhibitor-producing marine bacteria were isolated from the seawater of a neritic environment. The strain was identified as a new species of *Pseudoalteromonas*. The strain produced two types of inhibitors of considerably different chemical structure and inhibitory spectra. A high-molecular weight inhibitor named 'monastatin' was effective in the formation of cooked fish meat gel (Kamaboko). Novel pyroglutamyl peptidase inhibitor-producing actinomycete was isolated from the shallow sea sediment of Shanghai City in China. The strain was identified as *Streptovercillium* sp. based on its taxonomical characteristics. *N*-acetyl-glucosaminidase inhibitors were isolated from a genus of *Streptomyces* living in the marine sediment sample at a depth of 100 m were collected from the Otsuchi Bay in the Iwate Prefecture. The compound was novel. Tyrosinase inhibitor-producing fungi were isolated from the marine sediment collected from off of Niijima Island, near Japan. The remarkable preventative effect on the black discoloration of the cultured prawn was observed in the presence of the cultured supernatant. The supernatant also showed strong inhibitory activity against tyrosinase in the model wine, suggesting that the supernatant effectively prevented browning during the winemaking.

An attempt was made to isolate the novel lactic acid bacteria from the deep-sea water samples of Izu Peninsula in the Shizuoka Prefecture. 52 positive strains were isolated. Among them, strain AK800 showed the strongest activity and was therefore selected for further studies. From the 16S rRNA sequence analysis, the strain was identified as *Lactobacillus plantarum*. Further studies on the characterization of the strain will be necessary in order to clarify its industrial importance.

**Key Words:** deep-seawater, enzyme inhibitor, actinomycetes, marine sediment, marine bacteria

## 1. はじめに

既知物質が1万種類を超える現在、新規な有用生理活性物質を陸上に生息する微生物から分離することは困難になってきた。このような趨勢から著者らはこれまで海洋微生物の低温・高圧・高塩分濃度な

どの環境下で生育するという特異性に着目し、海洋環境からの有用微生物探索研究に精力的に従事してきた。そして、培養温度、特殊な基質の添加、海水濃度および圧力などを色々組み合わせた海洋微生物の分離培地と培養方法を考案するとともに各種培養装置を開発してきた（今田ら、2003；Imada *et al.*,

1998).

これらの装置を用いて表面海水や海底堆積物中からプロテアーゼインヒビターやチロシナーゼインヒビターなどの新規酵素阻害剤の生産菌やユニークな活性を有する抗生物質を生産する海洋微生物を次々と分離し、有効物質の化学構造を明らかにすると共にこれらを用いた応用研究を展開してきた(今田, 2009).

中でもチロシナーゼインヒビターを生産する海洋性糸状菌の培養液は赤ワインの変色や甲殻類および生鮮野菜などの保存中の褐変防止に大変効果的であり、現在実用化に向けた最終段階に到達している。

海底堆積物中には多種多様の微生物が生息することから、応用微生物学的見地から見れば大変魅力的なサンプルといえる。しかしながら、水深 200 m を越える深海から海底堆積物を採集するには大掛かりな採泥器や研究船などが不可欠であるため、一度に多量のサンプルを連続的に採集することは困難を極める。

これに対し、「海洋深層水」は施設さえ建設すれば無尽蔵に取水が可能のため、有用微生物の探索には格好の材料である。現在全国各地に十数の海洋深層水の取水施設が存在し、そこで汲み上げられた深層水は水産物加工や水産生物の種苗生産など水産利用に広く用いられている。しかし、新奇な微生物の存在が期待されるにも関わらず表面水と比較すると、低温で清浄であり、微生物が極めて少ないことから、これまで深層水からあまり有用微生物が分離されていないのが現状である。

本稿では著者がこれまで行ってきた表面海水や海底堆積物中からの有用微生物探索研究を紹介するとともに最近着手した海洋深層水中からの新規有用微生物の探索についての若干の知見を報告したい。

## 2.

### 2.1 沿岸表層海水中から分離したプロテアーゼインヒビター生産菌の諸性状

生体内では様々な酵素が生命活動を営むために働いているが、その活性があまり強すぎても、また逆

に弱すぎても身体の状態を一定に保ついわゆる「恒常性」(ホメオスタシス)を維持することができない。酵素阻害剤(インヒビター)は酵素と結合し、酵素活性を抑える物質であり、酵素活性を正常なレベルに制御する重要な役割を演じている。各種インヒビターの中でもプロテアーゼインヒビター(PI)は最も研究されているインヒビターの一つであり、プロテアーゼの異常活性に基づく様々の疾患の治療薬として幅広く応用されている。また農水産学などの応用学問分野においても重要な物質であり(寺下ら, 1981)、これまで陸上生物を中心とした探索研究が行われてきた。現在までに単離されてきたPIはタンパク質などの高分子と低分子の有機化合物の二つに大別されるが(今田, 2009)、前者は主に動植物由来であり、後者は放線菌を初めとする陸上微生物由来であるが、海洋微生物由来のものは皆無である。

日本近海の各所より、各深度の海水および海底堆積物を採集し、得られたサンプル中から海洋細菌を分離し、PI生産菌の探索を行ったところ、約3,000株の海洋細菌の中から3株のPI生産菌が発見された(Imada *et al.*, 1985)。

得られたPI生産菌3株のうち最も高く、しかも生産に安定性が見られた株(B-10-31株と命名)について分類学的性状を明らかにすると共に有効物質の単離精製および化学構造解析を行った。本菌は単一の極鞭毛によって運動するグラム陰性の桿菌であり、生育に海水を要求する新種の海洋細菌であった。本菌は相模湾の表面海水中から分離されたことから分離海域にちなんで *Pseudoalteromonas sagamiensis* B-10-31株と命名された(Kobayashi *et al.*, 2003)。

本菌は表1に示すように全く性質の異なった2種類のPIを生産していることが判明した。すなわち「モノスタチン」と命名された糖タンパク質と「マリノスタチン群」と命名された糖を持たない低分子の単純ペプチドとである。これらのPIは分子量の大きさはもとより、pH安定性、阻害されるプロテアーゼに大きな相違が認められた(Imada *et al.*, 1986)。なお、マリノスタチンC-1、C-2について

表1 プロテアーゼインヒビターマリノスタチン群とモナスタチンの性質

性 質	マリノスタチン群 C-1, C-2*	モナスタチン
組 成	単純ペプチド	糖タンパク質
分子量	1,418, 1,644	約 20,000
PH安定性	4-8	2-12
阻害される プロテアーゼ	セリンプロテアーゼ (トリプシンを除く)	システインプロテアーゼ (魚病細菌プロテアーゼ を含む)

C-1: Phe-Ala-Thr-Met-Arg-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ser-Asp-Glu  
 C-2: Gln-Pro-Phe-Ala-Thr-Met-Arg-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ser-Asp-Glu

はそのアミノ酸配列や立体構造なども明らかにされている (Imada 2004; Kanaori *et al.*, 2005). なお, このように全く性質の異なった2種類のPIを同時に生産する微生物については報告がみられないことから海洋細菌の持つ生理機能の多様性を垣間見ることが出来た.

陸上生物由来のPIは高等生物から微生物に至るまで阻害反応部位近辺のアミノ酸配列に相同性が認められることがあり, これらのPIが共通の祖先から進化し, またその阻害反応部位は長い進化の過程でもよく保存されている事を伺わせる. しかしながら今回初めて海洋細菌から分離されたマリノスタチンはこれら陸上生物のPIとの間に相同性は認められなかったことから, 海洋生物は陸上とは異なった

進化の道を行ってきたのではないかと推定される (表2). ただし, この問題については今後様々な海洋生物からPIが単離され, そのアミノ酸配列が比較できるようになるまで待たねばならないだろう (今田, 2000).

かまぼこや竹輪などの練り製品は噛んだ時の歯ごたえや弾力性のある食感 (足と呼ばれる) によってその品質が左右されるが, 魚肉中に存在する熱に安定なアルカリプロテアーゼが製造工程における加熱の際, すり身に作用し品質を低下させることがある. この酵素の活性を抑制するために卵白や牛血清タンパク質および大豆やリマ豆等のPIを含む天然物が練り製品のすり身に添加されているが, あまり効果的でないことから (Miller and Spennelli, 1982), より実用的な物質の開発が望まれていた. そこでマイワシすり身にマリノスタチンおよびモナスタチンを添加してその効果を調べたところ, 表3に示すようにマリノスタチンはその添加量を増加させても, 「足」の増強には効果が全く見られないのに対し, モナスタチンは添加量の増加に伴い, 破断強度および破断凹みの顕著な増強効果が認められた (今田ら, 2001). 今後, このモナスタチンを様々な魚種のすり身に添加して, その効果を調べていきたいと考えている.

表2 種々のプロテアーゼインヒビターの阻害反応部位付近のアミノ酸配列の比較

起源	プロテアーゼインヒビター	阻害反応部位付近のアミノ酸配列							
		p4	p3	p2	p1	p1'	p2'	p3'	p4'
微生物	マリノスタチン	-Phe	-Ala	-Thr	-Met*	-Arg	-Tyr	-Pro	-Ser
	プラスミノストレプトチン	-Ala	-Cys	-Thr	-Lys*	-Gln	-Phe	-Asp	-Pro
	S-SI	-Met	-Cys	-Pro	-Met*	-Val	-Tyr	-Asp	-Pro
植 物	大豆	-Ala	-Cys	-Thr	-Lys*	-Ser	-Asn	-Pro	-Pro
	リマ豆	-Leu	-Ser	-Thr	-Lys*	-Ser	-Ile	-Pro	-Pro
	空豆	-Met	-Cys	-Thr	-Arg*	-Ser	-Met	-Pro	-Gly
	雛豆	-Val	-Cys	-Thr	-Lys*	-Ser	-Ile	-Pro	-Pro
動 物	蛭	-Val	-Cys	-Thr	-Lys*	-Glu	-Leu	-His	-Arg
	鶏卵白	-Leu	-Cys	-Thr	-Lys*	-Asp	-Phe	-Ser	-Phe
	猪の精液	-Phe	-Cys	-Thr	-Arg*	-Gln	-Met	-Asn	-Pro
	牛の腭液	-Gly	-Cys	-Pro	-Arg*	-Ile	-Tyr	-Asn	-Pro
	豚の腭液	-Gly	-Cys	-Pro	-Lys*	-Ile	-Tyr	-Asn	-Pro
	羊の腭液	-Gly	-Cys	-Pro	-Arg*	-Ile	-Tyr	-Asr	-Pro
	人の腭液	-Gly	-Cys	-Thr	-Lys*	-Ile	-Tyr	-Asn	-Pro
犬の顎下腺	-Ala	-Cys	-Pro	-Arg*	-Leu	-His	-Glx	-Pro	

\*阻害反応部位

表3 マリノスタチン及びモナスタチンのマイワシすり身への効果

インヒビター濃度 (%)	破断強度 (g)	破断凹み (mm)
マリノスタチン		
0	247	7.2
0.75	238	7.0
0.150	227	6.6
0.225	229	6.8
0.300	220	6.6
モナスタチン		
0	206	6.6
0.04	287	7.7
0.08	369	8.4
0.12	352	8.3
0.16	368	8.4

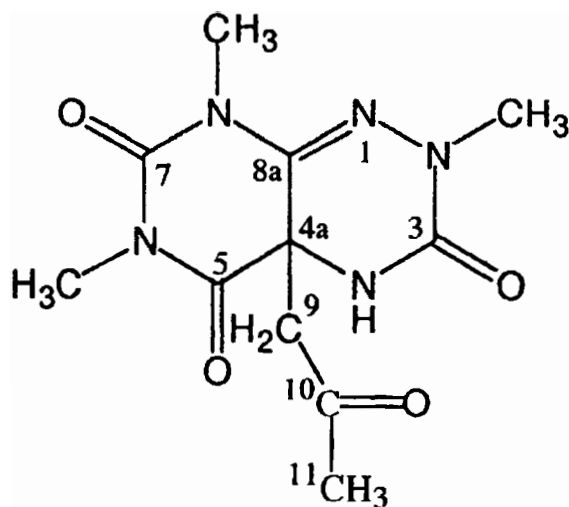


図1 ピリジノスタチンの化学構造

## 2.2 沿岸海底堆積物中から分離したピログルタミールペプチダーゼインヒビター生産菌 (Aoyagi *et al.*, 1992)

ピログルタミールペプチダーゼ (PGP) は、タンパク質およびペプチドのアミノ末端に存在するピログルタミン酸残基を特異的に遊離する酵素であるが、本酵素は動物体内において、ノイロテンシン、黄体形成ホルモン、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモンなどの多様な生理機能を有するペプチドホルモンの分解及び代謝に関与し、ペプチドホルモンの調節あるいは新しい生理活性の発現に関係していることが知られている。このようなことから、本酵素のインヒビターを発見すれば、新たな生理機能の解明に繋がるとともに医薬品開発の可能性も期待できる。

種々の微生物培養液から本インヒビター生産菌の探索を行った結果、中華人民共和国上海市の沿岸海底堆積物中より生産菌が発見された。本菌は *Streptoverticillium* 属の放線菌であり、海水培地中で培養した結果、ピリジノスタチンと命名した新規物質を生産した (図1)。本物質の PGP に対する阻害様式は不拮抗であり、その  $IC_{50}$  値は  $1.8 \mu\text{g}/\text{ml}$  であった。ピリジノスタチンの PGP に対する阻害活性は新しい生理作用を有する薬剤として、また各種下垂体ホルモン分泌不全症の治療薬として期待されるものである。

## 2.3 深海堆積物中から分離した *N*-アセチルグルコサミニダーゼインヒビター生産菌

*N*-アセチルグルコサミニダーゼは細胞表面に存在する糖タンパク質や糖脂質の糖鎖から *N*-アセチルグルコサミンを遊離する酵素であるが、尿中での本酵素の活性上昇は、腎臓の尿管細管障害を示す。また血中での本酵素の活性上昇は糖尿病、白血病、癌において認められている。*N*-アセチルグルコサミニダーゼインヒビターは本酵素の活性を抑制するため、これらの病気の治療薬に応用できる可能性がある。そこで、海洋環境から種々の放線菌を分離し、本インヒビターの生産菌を探索した。得られた有望株の培養液から有効物質を単離精製し、化学構造解析を行ったところ図2に示すような二つの新規物質が得られ、ピロスタチン A および B (Pyrostatin A, B) と命名された。生産菌は岩手県大槌湾の水

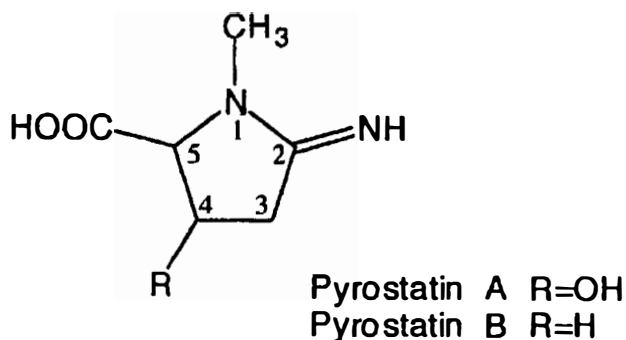


図2 ピロスタチンの化学構造

深約 100 m の海底堆積物から分離された放線菌であり、*Streptomyces* sp. SA-3501 と命名された。本物質をマウスに静脈注射してその毒性を調べたところ毒性を示さなかったことから、様々な疾病治療薬への応用が期待される (Aoyama *et al.*, 1995)。

#### 2.4 深海堆積物中から分離したチロシナーゼインヒビター生産菌

チロシナーゼは銅を活性中心に持つ金属酵素であり、動植物や微生物に広く分布するキノンオキシダーゼの一種であり、チロシンからドーパ (Dihydroxy phenylalanine) へ、さらにドーパキノン (Dopaquinone) への酸化を触媒する。皮膚科学においてチロシナーゼは、メラニン生成の初期段階に関与することから、メラニン生成における主要酵素として位置づけられている。

チロシナーゼの活性を阻害するチロシナーゼインヒビター (TI) はメラニン生成を抑えることから美白化粧品分野で応用されているが、微生物由来の美白剤としては、陸上由来の *Aspergillus* 属や *Penicillium* 属の糸状菌が生産するコウジ酸 (Kojic acid) が最も有名である。このコウジ酸については TI 作用に留まらず、顕著なメラニン生成抑制作用もあることから、新しい美白剤として研究開発された。そして新規美白化粧品に華々しく配合される兆しにあったが、安全性に関する疑念が浮上して一時期配合の禁止措置がとられたため、優れた効果を有しながらもその位置付けは不本意なまま今日に至っている。

このような背景からコウジ酸に代わる新しい TI を生産する海洋微生物の探索を試みた。その結果、伊豆諸島新島沖の水深約 100 m の海底堆積物中から生産微生物が発見された。本菌は電子顕微鏡による形態観察から *Trichoderma* 属の糸状菌と考えられ、*Trichoderma* sp. H1-7 株と命名された (Imada *et al.*, 2001)。さらに分子生物学的手法により系統解析を行うとともに従来の生理・生化学的手法による表現性状から検証を行った結果、本菌は *Trichoderma viride* と同定された (Yamada *et al.*, 2008)。

本有効物質を培養液中から単離精製し、各種機器分析により化学構造を解析した結果、図 3 に示すように 5-ヒドロキシ-3-イソシアノ-5-ビニルサイクロペンタ-2-エノンであることが判明した (Tsuchiya *et al.*, 2008)。この物質は既知物質であったが、本物質が TI 活性を有していることを明らかにしたのは今回が初めてである。

正常ヒトメラノサイトを用いて本培養上清のメラニン生成抑制効果を調べたところ、図 4 に見られる

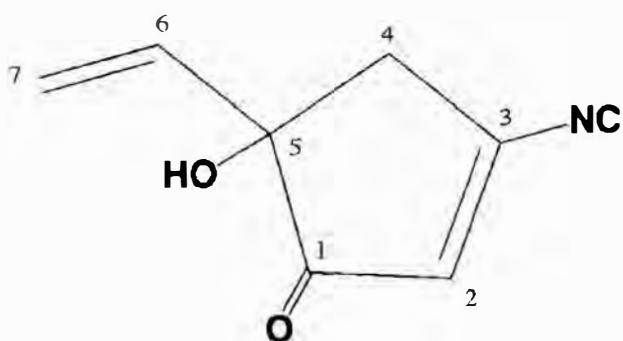


図3 チロシナーゼインヒビターの化学構造

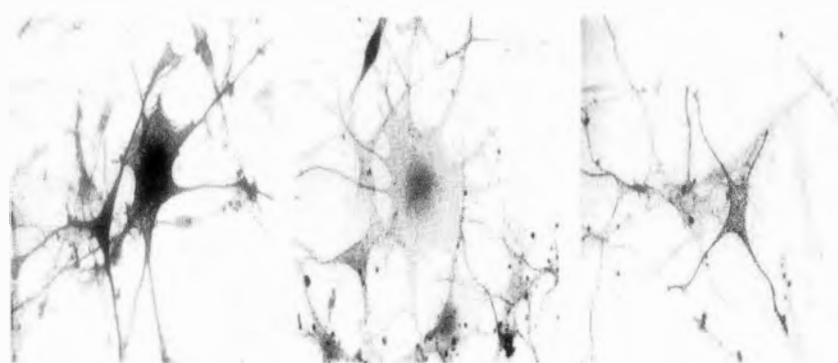


図4 ヒト皮膚由来正常メラノサイトによるメラニン生成抑制効果  
左 無添加, 中央 H1-7 株培養上清 10%添加, 右 アルブチン 1.5 mM 添加



図5 クルマエビの保存中における褐変現象



図6 菌株培養上清添加によるマスト作製時（スチューベン種）の褐変防止効果  
左 精製水添加，中央 ピロ亜硫酸カリウム添加，右 本菌培養上清液添加

ように本培養上清を最終濃度 10% になるように添加して培養したメラノサイトは、アルブチンと同等以上のメラニン生成抑制効果が観察されたことから、新しい美白剤への応用の可能性が示唆された（山田ら、2007a）。

また本 TI は図 5 に見られるように培養上清 10% 液処理により、クルマエビの保存中における頭部の褐変現象を顕著に抑制する効果が認められたため（山田ら、2007b）、現在実用化へ向けた研究の段階に入っている。

図 6 に示すように H1-7 株の培養上清はワイン作成時においてブドウ果汁の褐変を著しく抑えることが出来、鮮やかな色の赤ワインが作成できることが判明した（山田ら、2008）。

### 3. 海洋深層水からの乳酸菌の探索

表 4 にいくつかの海洋深層水取水設備から入手した深層水の成分分析結果を示した。この表からわかるように、硝酸塩以外の成分は海域による差がほとんど見られないのに対し、硝酸塩濃度は F 施設が他の施設より顕著に高い。この F は株式会社 DHC により伊豆赤沢に 2008 年 4 月に建設された取水施設の深層水であるが、他の海域とは異なった珍しい微生物が存在する可能性が考えられる。

このようなことから、F より取水の際に使用した海洋深層水中（水深 800 m）の懸濁物の除去に用いられたバグフィルター（孔径 0.4 ミクロン）を入手し、フィルター上に捕集された現場微生物を各種条件下で分離培養し、有用微生物の探索研究の一環として化粧品や健康食品などへの応用が期待され

る乳酸菌の探索を行った。乳酸菌の選択分離には 1% CaCO<sub>3</sub> 含有 MRS ブイヨン（Oxoid 社製）海水寒天培地（抗真菌剤としてシクロヘキシミド 0.005% 添加）を用い、バグフィルター内に捕集された海洋深層水懸濁液（ろ過残渣）1 ml を混釈法により処理し、27℃ で 3 日間静置培養を行った後、ハロー形成が確認された 52 株を分離した。これらの中でハロー形成が最も顕著で、しかも再現性の認められた AK800 株について 16S rRNA 遺伝子の塩基配列を解析し、種の同定を行った結果、*Lactobacillus plantarum* と判明した。本菌は今日話題の「植物性乳酸菌」と呼ばれる乳酸菌であり、わが国の食文化において「漬物」などの分野で長い実績を有する有用菌の一種である。この乳酸菌が水深 800 m の海洋深層水中から分離されたことの意味やこれまで報告されている同種の菌株の生理・生化学的諸性状における比較研究などについてはその産業利用面からも非常に興味を持たれるところであり、今後の重要な課題であると考えられる。

なお今回分離されたその他の菌株については、現在、種の同定ならびに生理・生化学的諸性状を調べているところである。また将来は取水ポンプ手前に設置されたストレーナーに捕捉された大型の深海生物などからも微生物を分離したいと考えている。

### 文 献

- Aoyagi, T., M. Hatsu, C. Imada, H. Naganawa, Y. Okami and T. Takeuchi (1992) Pyrrozinostatin, a new inhibitor of pyroglutamyl peptidase. *J. Antibiot.*, 45, 1795-1796.
- Aoyama, T., T. Kojima, C. Imada, Y. Muraoka, H. Naganawa, Y. Okami, T. Takeuchi and T. Aoyagi (1995) Pyrostatins A and B, new inhibitors of

表 4 各施設の海洋深層水の主な化学成分の分析結果

施設	取水日	硝酸イオン mg/l	フッ素 mg/l	ナトリウム mg/l	カリウム mg/l	カルシウム mg/l	マグネシウム mg/l	塩化物イオン mg/l	硫酸イオン mg/l	臭化物イオン mg/l
A	H19. 1.30	0.29	0.99	11,000	400	410	1,300	19,000	2,900	61
B	H17. 6.20	未分析	1.00	10,600	601	363	1,300	19,500	2,720	65
C	H19. 4.18	2.0	1.30	9,000	440	450	1,200	19,300	2,700	69
D	H16. 8. 1	0.33	1.20	10,800	370	410	1,300	19,300	2,680	66
E	H19. 5. 9	0.30	0.82	11,000	402	442	1,290	20,000	2,810	未分析
F	H19. 2.23	2.50	0.90	10,500	390	384	1,220	18,000	2,600	67

- N*-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase, produced by *Streptomyces* sp. SA-3501. *J. Enzyme Inhibit.*, 8, 223-232.
- Kobayashi, K., C. Imada, A. Hiraishi, H. Tsujibo, K. Miyamoto, Y. Inamori, N. Hamada and E. Watanabe (2003) *Pseudoalteromonas sagamiensis* sp. nov., a marine bacterium that produces protease inhibitors. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 53, 1807-1811.
- Imada, C., M. Maeda, S. Hara, N. Taga and U. Simidu (1986) Purification and characterization of subtilisin inhibitors 'Marinostatin' produced by marine *Alteromonas* sp. *J. Appl. Bacteriol.*, 60, 469-476.
- 今田千秋 (2000) 海洋微生物の話(1). 酵素阻害剤 (インヒビター). 食品と容器, 41, 86-92.
- 今田千秋・西本真一郎・原 三郎 (2001) 海洋細菌由来のプロテアーゼインヒビター添加によるマイワシかまぼこゲル強度増強効果. 日水誌, 67, 85-89.
- Imada, C., Y. Sugimoto, T. Makimura, T. Kobayashi, N. Hamada-Sato and E. Watanabe (2001) Isolation and characterization of tyrosinase inhibitor-producing microorganisms from marine environment. *Fish. Sci.*, 67, 1151-1156.
- 今田千秋・小林武志・濱田(佐藤)奈保子・渡邊悦生 (2003) 相模湾および遠州灘の海底堆積物から分離した好圧細菌の諸性状. 日水誌, 69, 347-351.
- Imada, C., K. Hotta and Y. Okami (1998) A novel marine *Bacillus* with multiple amino acid analog resistance and selenomethionine-dependent antibiotic productivity, *Mar. Biotechnol.*, 6, 189-192.
- Imada, C., U. Simidu and N. Taga (1985) Isolation and characterization of marine bacteria producing alkaline protease inhibitor. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 51, 799-803.
- Imada, C. (2004) Enzyme inhibitors of marine microbial origin with pharmaceutical importance. *Mar. Biotechnol.*, 6, 193-198.
- 今田千秋 (2009) 海の微生物の利用—未知なる宝探し—. 成山堂書店, 東京, pp. 50-69.
- Kanaori, K., K. Kamei, Taniguchi, T. Koyama, T. Yasui, R. Takano, C. Imada, K. Tajima and S. Hara (2005) Solution structure of Marinostatin, a natural ester-linked protein protease inhibitor. *Biochem.*, 44, 2462-2468.
- Miller, R. and J. Spenelli (1982) The effect of protease inhibitors on proteolysis in parasitized pacific whiting, *Merluccius productus*, muscle. *Fish. Bull.*, 80, 281-286.
- 寺下隆夫・小田耕平・河野又四・村尾沢夫 (1981) 酸性プロテアーゼ阻害剤 S-PI による人工しめじ (ヒラタケ) の増産. 醗酵工学, 59, 55-57.
- Tsuchiya, T., K. Yamada, K. Minoura, K. Miyamoto, Y. Usami, T. Kobayashi, N. Hamada-Sato, C. Imada and H. Tsujibo (2008) Purification and determination of the chemical structure of the tyrosinase inhibitor produced by *Trichoderma viride* strain H1-7 from a marine environment. *Biol. Pharm. Bull.*, 31, 1618-1620.
- 山田勝久・今田千秋・小林武志・濱田(佐藤)奈保子 (2007a) 海洋環境より分離した糸状菌培養上清の生鮮食材変色防止効果. 日食科工, 54, 274-279.
- 山田勝久・今田千秋・土屋孝弘・宮本勝城・辻坊裕・小林武志・濱田(佐藤)奈保子 (2007b) 海洋環境より分離された糸状菌培養液の美白素材への応用研究. 粧技誌, 41, 254-261.
- 山田勝久・今田千秋・佐藤充克・小林武志・濱田(佐藤)奈保子 (2008) 海洋由来糸状菌培養上清液添加によるワインの色調変化の防止効果. *J. ASEV Jpn*, 19, 2-9.
- Yamada, K., C. Imada, M. Uchino, T. Kobayashi, N. Hamada-Sato and K. Takano (2008) Phenotypic characterization and cultivation conditions of inhibitor-producing fungus isolated from marine environment. *Fish. Sci.*, 74, 662-669.
- (2008年12月26日受付; 2009年6月29日受理)