

バイオリアクターの基礎的研究

Studies on Bioreactors

山内 愛造*・一條 久夫**

Aizo Yamauchi Hisao Ichijo

1. はじめに

バイオリアクターは生物細胞が持つ物質を合成、分解、修飾する能力を利用する反応器を意味し、物質生産、環境浄化などの機能により、われわれの生活にバイオテクノロジーを具現化してくれる。われわれの祖先は旧くから酒、味噌、チーズなどの醗酵槽としてバイオリアクターを用いてきたという考えもあり、現に欧米では通常の醗酵槽もバイオリアクターに含めている場合もある。しかし、我が国では最近の先進的バイオテクノロジーの一環として捕らえ、酵素や微生物などの生体触媒を固定化して用いる反応器を、特にバイオリアクターと呼ぶのが通例なので本稿でもその考えに従って述べる。

バイオリアクターを工業的に応用したのは1969年に田辺製薬の千畑らがアミノアシラーゼをイオン交換性多糖類 (DEAE-Sephadex) にイオン結合してL-アミノ酸を生産したのが最初で、バイオテクノロジー

一分野で我が国が世界に誇れる業績である。その後もL-アスパラギン酸、6-アミノペニシラン酸、L-アラニン、アクリルアミドなどの生産に用いられ、我が国が常にバイオリアクターの研究開発、企業化における先導的役割を果たしてきた。工業生産に実用化されている主なバイオリアクターを表1に示す。しかし、これらのほとんどはすでに自社で企業化しているプロセスをバイオリアクターにより効率化したもので固定化された生体触媒や生産システムが販売されているのは僅かに各社の異性化糖と東洋醸造の6-アミノペニシラン酸の2例にすぎない。このうち前者は砂糖に代わる甘味料として量産化され、後者は醗酵ペニシリンを半合成ペニシリンの原料にかえるプロセスで付加価値の高い製品を生産する点が対象的で興味深い。

このようにバイオリアクターの企業化は研究開発が盛んな割にはまだ少ないが、生体触媒を固定化してバイオリアクターを構築するメリットは、①同一生体触媒の繰り返し利用が可能で生産量当たりの触媒量が少

表1 工業生産に実用化されている主なバイオリアクター

生産物	原料	生体触媒	企業名	工業化時期
Lアミノ酸	D,Lアミノ酸	アミノアシラーゼ加水分解酵素	田辺製薬	1969年
Lアスパラギン酸	フマル酸アモンニウム	大腸菌〔アスパルターゼ〕	田辺製薬	1973年
6アミノペニシラン酸	ペニシリンG	ペニシリンアミダーゼ	米国Squibb社 東洋醸造	1973年 1980年
異性化糖(果糖+ブドウ糖)	ブドウ糖(グルコース)	ブドウ糖異性化酵素	多くの企業	1973年
Lリンゴ酸	フマル酸	Brevibacterium〔フマラーゼ〕	田辺製薬	1974年
低乳糖乳	牛乳	乳糖分解酵素	雪印乳業	1977年
Lアラニン	Lアスパラギン酸	Pseudomonas(Lアスパラギン酸β脱炭酸酵素)	田辺製薬	1982年
アクリルアミド	アクリロニトリル	微生物〔水和反応を触媒する酵素〕	日東化学	1985年

日経バイオテク、日経メディカル編：日経バイオテクノロジー最新用語辞典（1985）p. 312より引用し一部改変。

* 工業技術院繊維高分子材料研究所エネルギー変換プロセス研究室研究員

〒305 茨城県筑波郡谷田部町東1-1-4

** 工業技術院繊維高分子材料研究所エネルギー変換プロセス研究室主任研究員

なくてすむこと、②連続反応が可能となること、③生体触媒の安定性が向上すること、④生体触媒の高密度化による生産性の向上と装置の小型化が図れること、等である。バイオリクターが穏和な条件で高効率に、しかも選択性よく物質生産を行えることから今後ますます多くのプロセスで用いられることになる。

一方、微生物が持つ物質生産能力の他にわれわれが忘れてはならないのは、環境浄化能である。OECDは1982年にバイオテクノロジーに関する報告¹⁾において、廃物処理、特に排水処理と再利用の重要性を強調している。しかし有用物質生産以外にバイオリクターを実用化するには、経済性をはじめ多くの問題がある。本稿ではこのような背景をふまえて、広くバイオリクターについて述べ、同時にわれわれの研究についても紹介したい。

2. 生体触媒の固定化

2.1 固定化の意義

すでに述べたようにここでいうバイオリクターは酵素、微生物などの生体触媒を固定化して用いる反応器であり、まず固定化について述べる。

生体触媒として用いられるのは酵素、微生物などであるが、酵素以外の場合も実際に触媒機能を持つのはタンパク質からなる酵素であり、生体触媒の基本単位といえる。酵素の反応は選択性がよく、代謝生産物もないため、一般に副生成物がなく純度が高い。一方、微生物、細胞等の場合は複合酵素系と考えてよく、多段反応を行うことが可能で、触媒の酵素を生産し、自らも増殖することが出来る特徴を持つ。

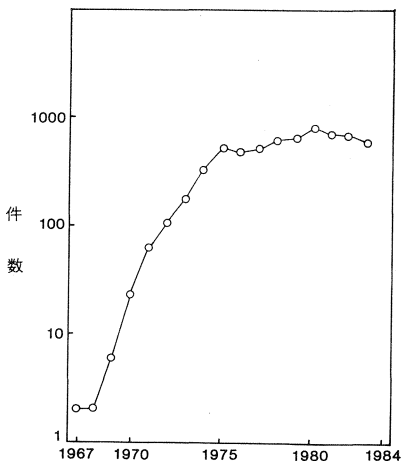


図-1 ケミカルアブストラクトに収録されている固定化酵素の件数推移

酵素固定化に関する文献、特許数の推移をみると、図-1に示すように1975年までは指数関数的に増大し、その後ほぼ一定になっている。一方、微生物、細胞の固定化はまだ微増の傾向を示している。これらの国別内訳をみるとわが国の件数が極めて多く、固定化技術でも先導的地位にあることが分かる^{2), 3)}。

酵素固定化の概念の変遷を考えると、はじめは、水に可溶性酵素を不溶化し、反応液から容易に分離して反応系を連続化することを目的としていた。その後、酵素を固定化することで高価な酵素の有効利用を図り、固定化によって酵素を安定化し、反応器中の酵素密度を高めて生産性を向上させた。さらに最近の研究では、固定化担体と酵素とを一種の複合体とみなし、酵素の近傍に存在する担体によって酵素反応の微小環境、例えば pH や基質濃度などを制御し、生成物除去を促進しようという試み、非水系における担体・酵素系の結合水の解析と利用など、固定化による微小環境を自然状態以上の有利な条件に変換しようという積極的意図が見受けられる。

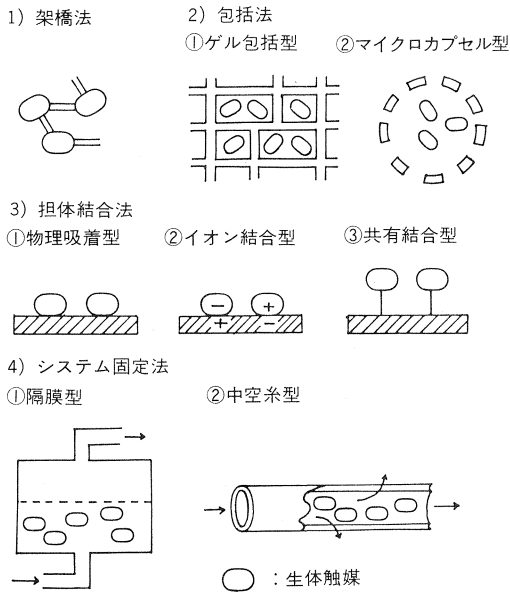
2.2 固定化の方法

既に多くの成書でも紹介されているように、固定化の方法としては^{4), 5), 6)}。

- ① 2個以上の官能基を持つ試薬で生体触媒同士を架橋不溶化する架橋法、
- ②高分子の3次元化網状ゲルやマイクロカプセルなどの中へ生体触媒を閉じ込める包括法、
- ③物理的吸着、イオン結合、共有結合などにより不溶性担体の表面に生体触媒を固定化する担体結合法、
- ④透析膜や限外濾過膜などの隔膜や中空糸で仕切られた反応空間に生体触媒を閉じ込めるシステム固定法、
- ⑤数種の方法を組み合わせた複合法がある。

図-2に概念図を、表2に特徴を示すが、いずれも長所と短所を持ち、目的に合わせて適当な方法を選択することが必要である。

架橋法及び共有結合法は化学反応により生体触媒を結合する方式であり、適当な試薬と反応条件を選択すれば、無機、有機いずれでも多種の担体に酵素を強く結合することが出来る。それゆえ、イオン強度の高い溶液中でも使用可能である。しかし、他の方法に比べて激しい反応条件で固定化するため、酵素タンパクの活性中心が破壊されたり、高次構造の変化が起り、酵素活性が低下し易い。また、微生物など生きている生体触媒への適用が困難であり、担体の再利用も難しい。実際には、架橋法は安価なため量産型の異性化糖



(福井 三郎編; バイオリアクター (1985), 講談社, p11, 図 1.2 を改変)

図-2 生体触媒の固定化法

表 2 固定化方式と特徴

1) 架橋法	架橋剤による失活, 生きた微生物には不適當, 安価
2) 包括法	
①ゲル包括型	微生物増殖が可能, 自然反応系に近い, 反応物の大きさに依存, 内部拡散律速
②マイクロカプセル型	ゲル包括と同様の特徵, 複合系酵素による人工細胞
3) 担体結合法	
①物理吸着型	操作簡便, 結合力弱く脱落の恐れ, 担体再利用可能
②イオン吸着型	操作簡便, 結合力やや弱い, 担体再利用可能
③共有結合型	結合力強く脱落しない, 結合反応による活性低下, 担体再利用不可, 微生物には不適當
4) システム固定法	
①隔膜型	自然反応系に近い, 反応物の大きさに依存, 担体不用
②中空糸型	隔膜型の高性能化

の生産に, 共有結合型はタンパク質の混入を嫌う医薬など高付加価値製品の製造に用いられることが多い。

包括法は生体触媒の種類によらず, また複数の触媒の同時固定も可能で, 網目構造を制御することで酵素の脱落も防げ, 阻害剤や雑菌の影響も受け難い。しかし, 基質の大きさに制限を受け, 基質や生成物の担体を通しての透過, 拡散の影響が大きく, また, 担体の

再利用も出来ない。実用的にはアルコール醗酵をはじめ多くの工業生産に使われている。

イオン結合法は穏和な条件で個定化するため, 比較的活性の高い固定化酵素が得られるが結合力はやや弱い。これは生体触媒が担体から脱離しやすい欠点である反面, 固定化酵素の再生が容易であることを示している。実用的にはL-アミノ酸の製造などに用いられ, 複合法としても期待される方法である。

システム固定法は特別の操作を必要とせず, 固定化にともなう失活もないが, 高分子半透膜により生体触媒と供給基質液との接触が制限されるため, 包括法と同様にこれを通しての物質の拡散が問題になる。しかし, 中空糸を用いた高性能型のもは近年, 研究も多く, いろいろな分野に利用されよう。

2.3 固定化材料

固定化法同様, 使用される担体も多岐にわたっている。

天然高分子としてはセルロース, デンプン, デキストラン, カラギーナン, アルギン酸などの多糖類とその誘導体, ゼラチン, コラーゲンなどのタンパク質がおもに用いられている。天然高分子はコスト, 安全性の面で優れており, 既に実用化されているものもあるが, その機能向上のための研究が進められている。

合成高分子は, 合目的に合成したり, 比較的自由にその構造を変えたり, 化学修飾を行うことが出来る。そこで, 共重合物の組成や実験条件を変えながら様々な高分子材料を作成し, 酵素の活性や安定性に最適な組成を決定しようという試みがなされている。代表的な高分子は包括法で用いるアクリルアミドで, 重合熱による温度上昇やモノマーによる毒性などの問題があるにもかかわらず, 重合過程が解明されており, 取扱が容易なため, 未だに担体として広く用いられている。

無機系担体は, (1)機械的強度が高い, (2)酸, アルカリ, 有機溶媒等に対する抵抗性が高い, (3)微生物により分解されない, (4)再生が可能, という利点を持つ。多孔性ガラス, シリカ, アルミナ, カオリナイト, ベントナイト, ヒドロキシアパタイト, 各種金属水酸化物, 各種金属酸化物等が多く使われている。多孔性ガラスは多数の連続した細孔を持ち, 30-2500Åの広い範囲のものを任意に調整する事が出来るが, 固定化には, 孔径 550Å前後, 表面積40m²/g程度のもがよく用いられる。多孔性ガラス上に酵素をそのまま物理的吸着法で固定化する事も出来るが, シラン処理を施した後共有結合させると, 比較的安定な固定化酵素がえ

表3 固定化酵素の形態

酵素固定化法	粒 子	膜	管	織 維	板 状
架橋法	グルタルアルデヒド ビスジアゾベンジジン	ポリアクリルアミド			
包 括 法	格子法	ポリアクリルアミド カラギーナン アルギン酸カルシウム 感光性PVA	ポリアクリルアミド		セルロースト リアセタート 光硬化性樹脂 金網+ポリアク リルアミド
	マイクロ カプセル法	ナイロン皮膜 ポリスチレン コロジオン			
担 体 結 合 法	共有結合法	アミノ酸共重合体 酸アジド誘導体 ハロゲン化アセチル 誘導体	CM-セルロース+カルボジイミド コラーゲン膜のアジド誘導体	ナイロン管 のジアゾニ ウム誘導体	合成樹脂 +ポリアミノ酸
	担体 架橋法	グルタルアルデヒド +担体	セロハン膜+グルタルアルデヒド セルロース+グルタルアルデヒド コロジオン膜+ビスジアゾベンジジン	ナイロン管 +グルタル アルデヒド	アミノ化PAN +グルタル アルデヒド
合 法	イオン結合法	DEAEセルロース DEAEセフデックス	DEAEセルロース		DEAE-セル ロース アミノ化PAN 繊維化PVA
	物理吸着法	活性炭 多孔性ガラス 酸性白土	コラーゲン膜		

②) 記載した各固定化方法の担体および試薬は代表例を記入した。

られる。遷移金属水酸化物はタンパク質のカルボキシル基、アミノ基及び水酸基とキレートを形成すると言われており、この原理に基づいてチタンIV、ジルコニウムIV等の素材が担体として使われている。

固定化担体を選択する際重要な因子は、材料を構成する物質の組成と、各用途に適した形状への賦型し易さである。固定化材料を固定化形態により分類したものが表3である⁷⁾。粒子状担体は、(1)従来のリアクターで使用可能、(2)取扱いが容易、等の理由から最も広く使われている。次に多いのは膜状で、膜接触型では圧損が少なく、洗浄も容易であるが、接触面積が小さい。膜透過型の場合は透過抵抗が問題となる。管状のものは、管壁面への固定化が難しいため、薬剤の消費量が多く、効率が低いといわれている。繊維状は比較的圧損が少なく、各種モジュールに対応した形態への賦型が容易である。板状のものは、他に比べ機械的強度が高い点に特徴がある。

3. バイオリアクターの構成

リアクターの種類は回分式と連続式に大別される。現在工業的に利用されている反応プロセスの多くは回分式であり、生体触媒の増殖や活性を最適にするような種々のパラメータを制御する必要がある。充填層、攪拌層、流動層、限外濾過膜型、等連続式リアクターは、i) 生産量あたりの反応器容積が小さい、ii) 人件費の低減が可能、iii) 均質な製品が得やすい、等の特色

を持つ。各々の構造を図-3に示す⁷⁾。

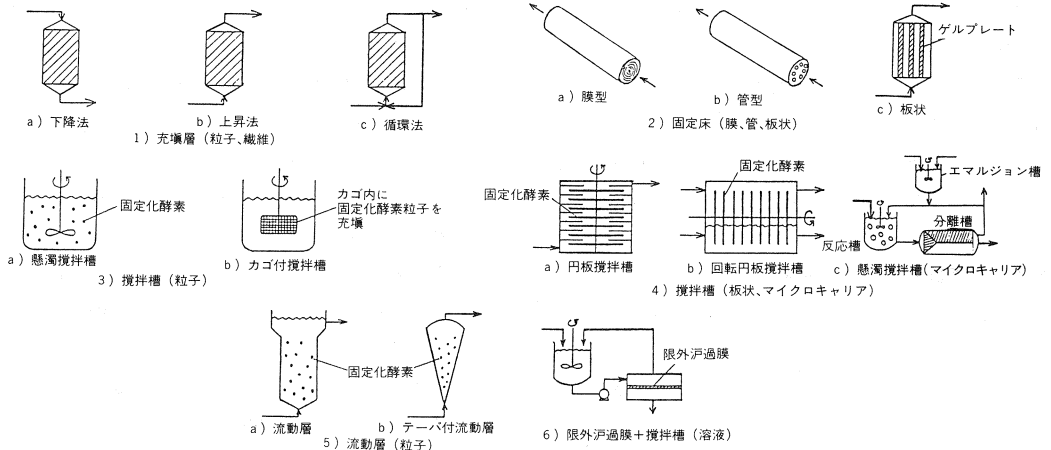
充填層は、i) 反応面積が比較的広く物質移動量が多い、ii) 押し出し流れ型のため反応率が高い、等の利点と、i) 目詰りを起こし易く、圧力損失が大きい、ii) チャネリングや溶液の滞留が問題、等の欠点を持ち、現在、固定化生体触媒を用いるリアクターとして最も広く使用されている。世界で初めて工業化に成功したL-アミノ酸の連続生産にも充填層が用いられた。担体のDEAE-Sephadexが膨潤し圧損が増加するため充填層を多段化し、一種の棚塔にする事で実用化されたと言われている。

攪拌層、流動層は、i) 熱及び物質の移動特性が良い、ii) 生体触媒の充填、取り出しが容易、iii) ガスの除去が容易、iv) 粒子が破壊され易い、v) 完全混合型なので反応率が低い、等の特徴があり、基質の粘度が高い、生成物がガス、等の場合に適している。具体的には、澱粉等大分子量物質の分解、アルコール及びメタン醗酵等の用途が考えられる。

回転円板は基質として酵素を用いる場合、反応でガスが生じる場合に、膜型は、酵素を膜表面に固定化した場合、固定化が困難な場合、補酵素を含む複数の酵素を用いる場合、等に利用される。既に、排水処理やアミノ酸の合成に応用されつつある。

4. 二三の研究例

バイオリアクターに関する研究例としてわれわれの



〔機械振興協会経済研究所編；バイオテクノロジー関連機械システムに関する調査研究報告書（1983）より引用〕

図-3 バイオリアクターの構造（カッコ内は固定化酵素の形態）

研究を紹介する。繊維高分子材料研究所では繊維を含む高分子材料全般についての研究を実施しており、バイオリアクターについては主に固定化材料とその方式の面から研究を進めている。材料は以下に述べる理由からポリビニルアルコール（PVA）系繊維と感光性高分子ゲルとした。

材料は共に当所において酵素固定化用あるいは汎用機能性材料として開発されたもので、繊維状担体は広い表面積を生かしたイオン結合法、感光性高分子担体は光架橋反応を生かしたゲル型包括法である。前者は担体表面への結合のため固定化された生体触媒と基質の接触や酵素の再生が容易であり、繊維の持つ多様な賦型性からリアクター設計の自由度を増すことを目途とした。一方、後者は紫外・可視光線と容易に担体高分子間の架橋が起こり、いかなる種類の生体触媒、特に増殖性の微生物・細胞を損傷することなく包括固定化して反応に用いることを期待した。

4.1 繊維状担体による固定化⁸⁻¹²⁾

PVA水溶液を特殊な条件下で紡糸し、後処理することにより繊維の径が1 μm以下という極めて細い繊維

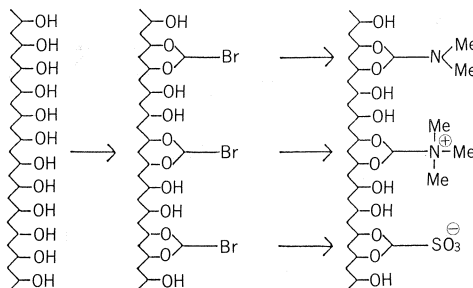


図-4 PVAへの官能基の導入

維が得られ、既に工業化されている。この細繊維繊維（SFF）は200 m²/g以上（活性炭の1/5~1/10）という極めて広い表面積を持つ柔軟な繊維で編織布や濾紙などへの加工が可能である。PVAの水酸基を利用してSFF表面に図-4に示すような官能基を導入して担体表面に電荷を局在化させる。微生物・酵素等の種類に応じて固定化能の高い担体を選択する。固定化は生体触媒溶液と接触させるだけの簡単な方法であるが、ジメチルアミノ化繊維1gに0.8gのインペルターゼが固定化されるという極めて高い固定化能を持つ。その際の吸着速度は図-5に見られるように速い。また、興味深いことに酵母も繊維上に容易に固定化され、しかもその表面で増殖してアルコールを生産するという結果を得た。固定化する生体触媒は基礎研究として標準的なインペルターゼと酵母を主体に選んだが、その他、酵素はグリコアミラーゼ、ラクターゼなど、微生物は

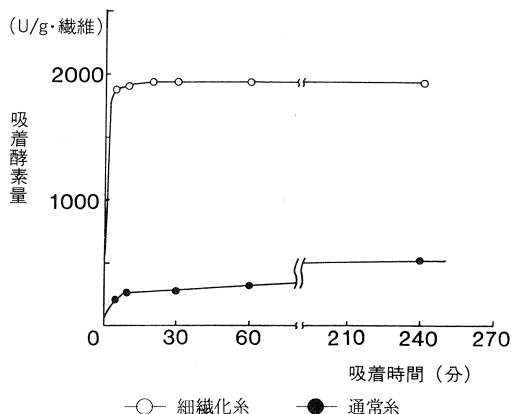


図-5 PVA繊維による酵素吸着速度

活性汚泥やメタン醗酵菌などの研究も進めている。

繊維の形状は紐、編布、織布、濾紙等を用い、各々に適した反応装置について検討を行っているが、表面積が大きく多量の生体触媒が固定化出来てリアクター中の生体触媒密度が高まり、反応に適した担体と装置の組合せにより高効率に反応が進むことが期待されている。

4.2. 感光性高分子による固定化¹³⁻¹⁵⁾

水溶性高分子のPVAに感光性の官能基、スチリルピリジニウム基(SbQ)を導入し、その水溶液に酵素や微生物、細胞などの生体触媒を混合し、適当な形状、例えばフィルムや非水溶性溶媒中へ分散した粒子などにして太陽光に暴露する。数分で生体触媒を包含した含水ゲルが簡単に得られる。図-6に担体の製法と架橋反応を示す。固定化はアクリルアミドのような単量体やグルタルアルデヒドのような試薬を用いず、太

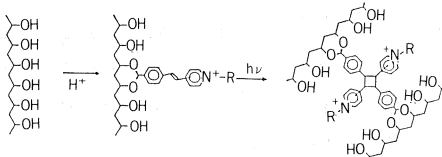
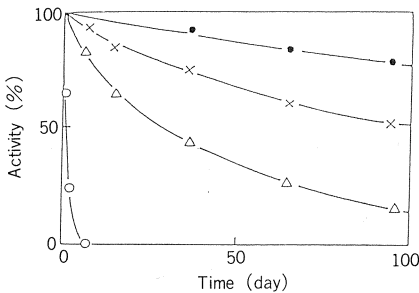


図-6 SbQ基を持つPVAの合成と光架橋

陽光による効率の高い光二量化反応でラジカルが関与しないため、生体触媒に対する毒性がなく反応中の失活が殆どない。また、SbQ基はPVAに対して約1モル%と少なく、その導入量を変えることにより架橋密度、すなわち網目の大きさを制御し、生体触媒毎に適した担体を提供することが可能である。さらに、残



○：未固定ヒドロゲナーゼを緩衝液中室温で保存、△：固定化ヒドロゲナーゼを同条件下で保存、×：乾燥フィルムで室温保存、●：乾燥フィルムで5°C保存

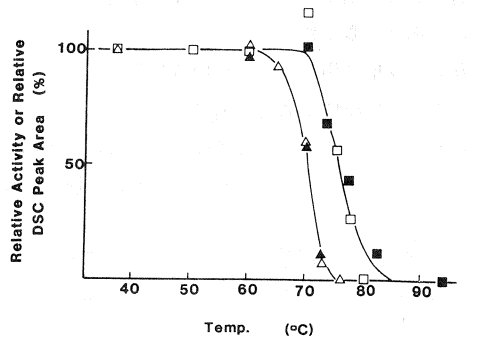
〔市村国宏：光機能性高分子の合成と応用，p. 215，シーエムシー（1985）より引用〕

図-7 ヒドロゲナーゼの活性に及ぼす光固定化の効果

存水酸基に他の官能基を導入することで包括した生体触媒近傍の微小環境を制御することも期待される。この担体に固定化された酵素は、一般に安定化する傾向にあり、図-7にヒドロゲナーゼの活性低下が固定化により改善された例を示す。酵素の失活はプロテアーゼのような酵素あるいは薬品によって酵素タンパクが分解されるか、熱や薬品によって酵素タンパクの高次構造が不可逆な変性を起こすかによる。包括法で固定化された酵素はゲル網目に囲われた状態にあって外敵から守られ、同時に周囲の担体の高分子効果で拘束されて構造の改変を防いでいるためと考えられる。

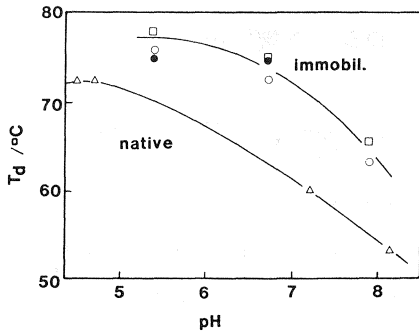
4.3 固定化酵素の熱安定性^{16,17)}

上述したように固定化により酵素の安定性が向上する場合がある。古くから酵素の安定性改善のために多糖類や多価アルコールを添加すると良いことが知られていた。酵素が他の物質と複合体を形成して安定な構造を維持出来れば酵素の寿命が延びて経済性が高まり、より高温で反応が行えるので生産性が向上し、反応系の雑菌汚染防御にも都合がよい。はじめに述べたように、近年は固定化による生体触媒近傍の微小環境制御が重要な研究課題となってきた。しかし我々はその現象を直接把握する手段を持っていない。そこで、固定化された酵素の熱変性温度を高感度示差走査熱量計(DSC)で測定し、自然状態と固定化状態の熱的挙動の違いから熱安定性を評価し、微小環境についての知見が得られることを期待した。図-8に示すように繊維状担体に固定化されたインベルターゼは固定化により熱変性温度が5~10度向上し、活性測定の結果とも良い一致を示した。感光性高分子に包括した場合も同様の



— △ — 水溶液中インベルターゼ (活性測定)
 — ▲ — 水溶液中インベルターゼ (DSC熱測定)
 — □ — SFFに固定化されたインベルターゼ (活性測定)
 — ■ — SFFに固定化されたインベルターゼ (DSC熱測定)

図-8 水溶液中及びPVA細繊維(SFF)上に固定化されたインベルターゼの熱安定性



△; 水溶液中インベルターゼ
□○●; 光架橋高分子に固定化されたインベルターゼ

図-9 DSC測定によるインベルターゼの熱変性温度のpH依存性

傾向が見られ、図-9に見られるようにpHにも影響を受け、酵素の等電点近傍で安定性が增大している。研究はまだ緒についたばかりだが、酵素の構造と高分子の組成と構造の相関、周辺の水、特に拘束水やイオンの影響など興味ある現象が見受けられている。

5. おわりに

バイオリクターというものが極めて実用的な装置であるため、基礎研究といっても応用基礎的な色彩をもつ場合が多い。バイオテクノロジーフィーバーもそろそろ見直しをして、バイオリクターについても基本的現象をじっくり考えなおす時期ではなかろうか。組替えDNA、プロテインエンジニアリング、高分子の分子設計、材料設計など日進月歩の周辺科学技術の知恵もかりて、生体触媒を用いたこの有用な装置をさらに一層われわれ人類の役に立つものに育て上げたいと思う。

参 考 文 献

- 1) Bull, A. T., Holt, G., Lilly, M. D.; *Biotechnology*, (1982), OECD
- 2) 山内愛造; PVA系担体への酵素の固定化と熱安定性, 第2回次世代産業基盤シンポジウム予稿集, (1984), 日本産業振興協会, p. 255~270
- 3) 一條久夫, 山内愛造, 津田圭四郎; 生体触媒の固定化材料, *BIOINDUSTRY*, 2巻, (1985), p. 24~33
- 4) 福井三郎編; 生体触媒としての微生物, 共立出版, (1979) p. 99~119
- 5) 福井三郎, 千畑一郎, 鈴木周一編; 酵素工学, 東京化学同人, (1981), p. 157~243
- 6) 福井三郎編; バイオリクター, 講談社, (1985),

p. 1~75

- 7) 醗酵工学協会編; バイオテクノロジー関連機械システムに関する調査報告書, (1983), p. 52~55
- 8) Ichijo, H., Yamauchi, A. et al.; Fibrous Support for Immobilization of Enzymes, *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. 27, No. 5 (1982), 1665
- 9) Ichijo, H.; Fibrous Support for Immobilization of Enzymes II, *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. 28, No. 4 (1983) 1447
- 10) Ichijo, H., Yamauchi, A. et al.; Super Fine Filaments of Sulfonated Poly (vinyl alcohol) for Enzyme Immobilization, *SEN-I GAKKAISHI*, Vol. 39, No. 12 (1983), T-532
- 11) Ichijo, H., Yamauchi, A. et al.; Immobilization of β -Galactosidase on Sulfonated Poly (vinyl alcohol) Super Fine Fibers, *SEN-I GAKKAISHI*, Vol. 41, No. 7 (1985), T-303
- 12) Ichijo, H., Yamauchi, A. et al.; Enzyme Reactor with Knitted Fabric Made of Poly (vinyl alcohol) Super Fine Filaments, *Biotechnol. Bioeng.*, Vol. 27, No. 7 (1985), 1077
- 13) Ichimura, K.; A Convenient Photochemical Method to Immobilize Enzymes, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, Vol. 22, No. 11 (1984), 2817~2828
- 14) 市村国宏; 生体触媒の光固定化, 光機能高分子の合成と応用, *CMC*, (1984), 215~226
- 15) 市村国宏ほか2名; 感光性ポリビニルアルコールによる酵素膜の調整とその酵素電極への応用, *高分子論文集*, 41巻, 4号 (1984), 221
- 16) Uedaira, H., Yamauchi, A., Ichijo, H., Ichimura, K., et al.; The Effect of Immobilization in Photocrosslinked Polymer on the Thermal Stability of Invertase, *SEN-I GAKKAISHI*, Vol. 40, No. 9 (1984), T-317
- 17) Ichijo, H., Uedaira, H., Yamauchi, A., et al.; Thermal Stability of Free and Immobilized Invertase Studied by Activity Assay and Calorimetry, *Agric. Biol. Chem.*, Vol. 49, No. 12 (1985) 3591~35