

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20580371

研究課題名(和文) 微細針状材料と細菌の相互作用およびその原理応用

研究課題名(英文) Interactions between nano-sized acicular materials and bacterial cells and industrial application

研究代表者

吉田 ナオト (YOSHIDA NAOTO)

宮崎大学・農学部・准教授

研究者番号：50284823

研究成果の概要(和文): 微細針状材料と細菌から成るコロイド溶液をハイドロゲル界面の摩擦場に置くと、穿刺中間体が形成される。この現象をヨシダ効果と呼ぶ。本研究によりヨシダ効果のアスベスト検知への応用と自然界における意義が明らかにされた。シランカップリング剤で処理することにより、検知感度は向上させることができた。ヨシダ効果は誘因子を選択することにより、地震発生時に起こる可能性を示した。地震刺激は蛇紋岩中のバイオフィルムの細菌進化原動力の一要因であると考えられる。

研究成果の概要(英文): When a colloidal solution consisting of nano-sized acicular materials and bacterial cells is stimulated with sliding friction, at the interface of the hydrogel, the nano-sized acicular material and bacterial cells form a chestnut-bur shaped complex. When the sliding friction force becomes a driving force, the chestnut-bur shaped complex grows and penetrates the bacteria to form a penetration-intermediate. This phenomenon, with the formation of a penetration-intermediate, is known as the "Yoshida effect". This research demonstrated the Yoshida effect was utilized for quantitative detection method of asbestos and the occurrence of the Yoshida effect may be a driven force for prokaryote evolution during providing seismic stimulation.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：境界農学・応用分子細胞生物学

キーワード：アスベスト、クリソタイル、プラスミド、形質転換、滑り摩擦、ヨシダ効果

1. 研究開始当初の背景

微細針状材料と細菌から成るコロイド溶液に、ハイドロゲル界面にて摩擦係数が増大するような滑り摩擦刺激を与えると、微細針状材料と細菌はいがぐり状複合体を形成する。そして滑り摩擦力が推進力となって、い

がぐり状複合体は成長しながら細菌を穿刺し、微細針状材料-細菌穿刺中間体と呼ばれるものが形成される。この穿刺中間体が生じる現象は発見者の名前にちなんで「ヨシダ効果」と命名された。

2. 研究の目的

本研究はヨシダ効果の発生に関して、より詳細な微視的原理説明と、その原理応用（環境中のアスベスト検知技術開発、自然界における役割と意義）に関する研究を行う。

3. 研究の方法

(1) 環境中のアスベスト検知技術開発

粘土鉱物コロイド溶液の調製 アスベストとしてクリソタイル（アスベスト、和光純薬）クロシドライト（アスベスト、関東化学）を用いた。アスベスト以外の粘土鉱物としてベントナイト（和光純薬）カオリナイト（ナカライテスク）ガラスウール（建築廃棄物）、ロックウール（建築廃棄物）タルク（和光純薬）酸化マグネシウム（和光純薬 0.01 μm）を用いた。それぞれの粘土鉱物を 10 mg/ml になるように蒸留水に懸濁させ、ポルテックスマシーン（EYLA cute mixer CM-1000）を用いて 1500 rpm にて 10 分間回転撹拌した。撹拌後、2000 rpm にて 2 分間遠心し、上澄みを廃棄した。さらに粘土鉱物沈殿物に 40 ml の蒸留水を加えポルテックスマシーンを用いて 1500 rpm にて 10 分間回転撹拌した。撹拌後、2000 rpm にて 2 分間遠心し、上澄みを別チューブに移して、オートクレーブ滅菌した。この溶液を粘土鉱物コロイド溶液とした。粘土鉱物の濃度はいずれも 40-50 μg/ml となる。

大腸菌-粘土鉱物混合液の調製 LB 液体培地に *Escherichia coli* JM109 を植え付け、18-24 時間、30 で震盪培養した。その時の濁度は OD550 の値として 2.0-3.0 付近が適している。培養液 500 μl をチューブに取り 8000 x g で 2 分間遠心した後、上清を廃棄する。大腸菌の沈澱にそれぞれの粘土鉱物コロイド溶液を 475 μl、pUC18 DNA 0.5 ng、4M NaCl を 25 μl 加えた後、大腸菌を分散させ、大腸菌-粘土鉱物混合液とした。

弾性体の調製 2%寒天（ナカライテスク 01028-85）を含む LB 培地（トリプトン 1%、酵母エキス 0.5%、塩化ナトリウム 1%）を加圧滅菌（121、1 kgf/cm²、15 分）し、50 付近にまで冷めたら、アンピシリンを 50 μg/ml になるように加える。その後直径 8 cm のシャーレに流し込み、固化させた。

弾性体曝露 固化させた培地は、弾性体曝露直前にクリーンベンチ内でふたをあけ、15 分間培地表面を乾燥させた。LB 寒天培地一枚あたり大腸菌-粘土鉱物混合液を 50 μl 加え、ガラス製コーンラージ棒等（ディスプレイザブルイノキュレーションプレッダーが最適である。アシスト 86.1569.005）を用いて、1 分間まんべんなく培地表面をこす。このとき培地表面は十数秒以内で乾燥した状態にならなければならない）LB 寒天培地

を 37 の恒温槽に 16—20 時間置く。アンピシリン耐性に形質転換した大腸菌をプレート当たりのコロニー数 cuf (colony forming unit) として計測した。

海砂中に含まれるアスベスト繊維の測定の可能性 海砂を水で十分に洗浄後、30meshふるい（aperture 500 μl）にて分別し、500 μm 以下の海砂を回収した。回収した海砂を 60 にて 18 時間保温し、滅菌した。クリソタイルを 5mg/ml になるように蒸留水に懸濁させ、121、15 分間オートクレーブ滅菌した。滅菌された海砂 1g をチューブに取り、0.05-5 mg/ml のクリソタイル溶液を 3ml 加えた。この懸濁液をアスベスト（クリソタイル）を含む砂礫とみなした。懸濁液をポルテックスマシーン（EYLA cute mixer CM-1000）で 1500rpm、10 分震盪撹拌後、2000rpm、2 秒の遠心で得られた上層を 30 マイクロメートルフィルター（Millipore nylon net filters NY30）でろ過し、粘土鉱物コロイド溶液とした。LB 液体培地にて 30、22 時間培養された大腸菌（*Escherichia coli* JM109）培養液を 500 μl チューブに取り、9000g、3 分遠心後、上澄みを廃棄し、細胞沈殿物を得た。細胞沈殿物に粘土鉱物コロイド溶液 475 μl、プラスミド DNA (pUC18) 0.02 μg、4M NaCl solution 25 μl の順に加えた後、細胞沈殿物を懸濁させた。これを細胞-粘土鉱物懸濁液とした。

細胞-粘土鉱物懸濁液 50 μl を、2%寒天（ナカライ）と 50 μg/ml のアンピシリンを含む LB 平板培地上に滴下し、60 秒間弾性体曝露を行った。LB 寒天培地を 37 の恒温槽に 16—20 時間インキュベートした後、アンピシリン耐性に形質転換した大腸菌をプレート当たりのコロニー数 cuf (colony forming unit) として計測した。

(2) ヨシダ効果の自然界における役割と意義

菌株、プラスミド プラスミド受容菌としては *Pseudomonas* sp. と *Bacillus subtilis* ISW1214 を使用した。付与プラスミドはそれぞれ pHSG298、pHY300PLK とした。*Pseudomonas* sp. は岩石堆積層から分離された。特色ある性質としては重金属特にカドミウム耐性を有している。カナマイシン感受性であるので、カナマイシン耐性遺伝子をコードしているプラスミド pHSG298 を獲得すれば、カナマイシン抵抗性に形質転換する。*Bacillus subtilis* はテトラサイクリン感受性であるのでテトラサイクリン耐性遺伝子をコードしているプラスミド pHY300PLK を獲得すれば、テトラサイクリン抵抗性に形質転換する。PHSG298 と pHY300PLK はタカラバイオから購入した。

細菌の培養 プラスミド受容細菌である *Pseudomonas* sp. と *Bacillus subtilis* ISW1214LB は LB 寒天培地に植え付けられ、30 で 18 時間培養してコロニーを形成させた。

クリソタイルコロイド溶液の調製

滅菌蒸留水で洗浄し、60 にて乾燥させたクリソタイルをブレンダーにて粉碎し、できるだけ細かい粉状にした。続いて 100 、60 分乾熱滅菌した。クリソタイルパウダーを 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ になるように滅菌生理食塩水に懸濁させ、クリソタイルコロイド溶液とした。電子顕微鏡による観察ではクリソタイルの直径は 20-50 nm、長さは 1-2 μm であった。

人工バイオフィルムの調製

LB 液体培地にゼランガムを 0.1-1.5% (w/v) になるように加え、121 、20 分間オートクレーブ滅菌した。50 付近にさめたら、カナマイシンを 50mg/ml またはテトラサイクリンを 15mg/ml になるように添加し、直径 9cm のシャーレに流し込み固化させ人工バイオフィルムとして実験に使用した。

地震摩擦刺激 クリソタイル溶液

500 μl にプラスミドを 50-400 ng、続いて LB 寒天培地状のプラスミド受容菌のコロニーを白金耳で掻き取り、 $2 \times 10^8/\text{ml}$ になるように加えた。これをクリソタイル-細胞コロイド溶液とした。1%ゼランを含む人工バイオフィルム表面にシリカビーズを 25 個または 50 個置き、続いてクリソタイル-細胞コロイド溶液 50 μl を人工バイオフィルム表面に滴下した。シリカビーズ、クリソタイル-細胞コロイド溶液ののった人工バイオフィルムを震盪培養装置に固定し、人工地震として 52-133gal の横揺振動を 60 秒与えた。振幅は 1.5cm とした。人工地震刺激の後シリカビーズを取り除き、人工バイオフィルムを 30 で 18 時間インキュベートした。人工バイオフィルム表面に形成される抗生物質に耐性に形質転換した細菌のコロニーを計測した。シリカビーズは直径約 4mm 重さ約 82mg で和光純薬から購入した。

4. 研究成果

(1) 環境中のアスベスト検知技術開発

弾性体曝露法によって大腸菌に遺伝子を送り込める粘土鉱物 環境中の砂礫等にはさまざまな種類の粘土鉱物が存在することになる。したがって砂礫等建築廃棄物中に含まれるアスベストを定量しようとする場合、砂礫中に含まれる他の粘土鉱物の大腸菌や遺伝子、弾性体曝露への影響が懸念される。200 mM NaCl を含むクリソタイルあるいはクロシドライトのコロイド溶液中に遺伝子 pUC18 を加えた後、宿主細胞である大腸菌をそれにけん濁させ弾性体曝露さ

せると、大腸菌は pUC18 を取り込んで、抗生物質耐性に形質転換することを明らかにしている。そこでアスベスト以外の粘土鉱物に pUC18 を大腸菌に導入させる効果があるのか調べた。

カオリナイト、ベントナイトは土壌の粘土鉱物として自然界に普遍的に存在するものである。

カオリナイトとクリソタイルは 4 面体シートと 8 面体シートから構成され 1:1 層状構造をしており、構造式も似ている。クリソタイルは 8 面体シートにマグネシウム原子が入っており、カオリナイトはマグネシウムのかわりにアルミニウムが入っている。類似性が高いにもかかわらず、表に示すようにカオリナイトには大腸菌に遺伝子を取込ませる効果はまったく認められなかった。両者の顕著な違いは結晶形態にある。カオリナイトは六角板状結晶であり、クリソタイルは針状構造をとっている。ベントナイトはモンモリロナイトを主成分とし、石英、クリストバル石、長石、ゼオライトなどを含む薄片状粘土鉱物である。ベントナイトはカオリナイト同様に大腸菌への遺伝子導入効果はまったく見られなかった。タルクはマグネシウム、珪素が酸素および水酸基と結びついてできた含水マグネシウム珪酸塩の一種である。一般に $\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$ の化学構造式で表されるように、タルクはカオリナイト以上にクリソタイルに構造式が似ている。タルク粉末の結晶形態は、不定形の板状のものが最も多いが、繊維状のタルクもまたかなり多く存在している。しかしタルクには遺伝子導入効果はまったく見られなかった。アスベストの代替品として用いられているガラスウール、ロックウールは物性がアスベストとよく似ている。異なる点は繊維の太さにある、ガラスウールやロックウールは人工鉱物であり、クリソタイルやクロシドライトの微細繊維の幅 0.02-0.05 μm に対して太いといわれている。これらの繊維についても大腸菌への遺伝子導入効果はまったく見られなかった。またクリソタイルには MgO が多く含まれている。酸化マグネシウムは白色で不溶性の結晶である。単独で大腸菌に遺伝子導入効果があるか調べたが、まったくそのような効果はなかった。本実験結果から大腸菌に遺伝子を運搬できるのはクリソタイルとクロシドライトだけであった。このことより化学構造式よりも結晶形態とその大きさが遺伝子導入には重要であることが示唆される。すなわち適度な直径と硬度をもった繊維状鉱物であることが必要であると推察される。滑り摩擦をとおして大腸菌にプラスミドによる形質転換を引き起こすのは、アスベスト特有の現象であると思われる。このことはアスベストとガラスウール、ロックウール、他の粘土鉱物が混ざ

った状態であっても、弾性体曝露法にて得られる大腸菌のプラスミドによる形質転換体数はアスベストの量を反映したものであるといえる。

遺伝子導入を達成するクリソタイルの希釈限界 大腸菌の形質転換技術（弾性体曝露法）を利用した砂礫中のアスベスト繊維の定量を行うにあたって、実験室レベルでアスベストの検出限界を求めておくことは重要である。クリソタイルは粉末状にて市販されており、測定等取り扱いが容易であるので、クリソタイルコロイド溶液のクリソタイルの濃度を様々に変化させて、大腸菌の形質転換数を調べた。

実験室レベルではクロシドライト濃度 41.7ng~1000 ng/ml の間で、大腸菌の形質転換体とクロシドライト濃度には相関があるようである。Y をアンピシリン耐性に形質転換した大腸菌のコロニー数、x をクロシドライト濃度とすると回帰直線で表される、関係式は $Y=0.5846x + 49.33$ となった。使用した pUC18 DNA の最小量は 41.7 ng/ml である。プラスミド DNA 量を増やせば 41.7 ng/ml 以下のクリソタイルに対してもコロニーを形成し、クリソタイルに対する感度はさらに上昇すると思われる。

海砂中に含まれるアスベスト繊維の測定の可能性 建築資材であるコンクリートはセメント、砂、砂利で構成されている。砂には海砂または河砂が用いられている。したがってコンクリート廃材中には海砂または河砂が多量に含まれていると考えられる。そこで環境中からアスベスト濃度を算出するモデル実験として、海砂中にアスベストが混在する場合を想定した。そこから鉱物コロイド溶液の調製法と弾性体曝露をとおして得られる形質転換体数を調べ、環境中のアスベスト繊維定量の可能性を探った。

海砂 1g 中にクリソタイルが 0.15-15mg 含まれている場合、上記方法にしたがえば、クリソタイル濃度と得られた大腸菌の形質転換体数には相関があり、海砂中のクリソタイル濃度の予想は可能であるといえる。クロシドライトであってもクリソタイルであっても遺伝子を導入させる効率は同様であるので、両者が混合した状態であっても全アスベスト含有量として濃度を予想することができると思われる。環境中の砂礫についても上記方法に準拠すればアスベスト濃度予想可能であると思われる。形質転換体数を y (cfu/plate)、クロシドライト濃度を x (mg/g) とすると、

$$y=33.746x+14.338 \quad (1)$$

という相関が導き出すことができる。上記方法にしたがって環境中の砂礫を処理し、プレート中に 150 個のコロニーが得られたとすると、(1) 式から 4.0 が導き出され、砂礫中 1g

中には 4.0 mg のアスベストが含まれていると予想することができる。ただし本方法では砂礫 1g 中 100 μg 以上のアスベストが含まれている場合に限り有効となる。

大腸菌形質転換を利用した環境中のアスベスト繊維を定量するには、まず海砂とクリソタイルを混合し、そこから調製された粘土鉱物コロイド溶液に大腸菌を懸濁させ、寒天曝露を通して得られた形質転換体数を求め、クリソタイル濃度との関係について検量線を作成しておく。次に環境中の砂礫を指定されたプロトコールにしたがって形質転換体数を求めれば砂礫中に含まれるアスベスト濃度を予想することができる。

アスベストの解析には他の粘土鉱物が混在していることが多く、このような場合には電子顕微鏡法による計測が困難となる。また X 線マイクロアナライザー解析では回折像が重なってしまうのでアスベストの判別は困難となってしまう。これらはアスベスト含有の有無は明らかにすることができるが、定量には向かない。大腸菌細胞を用いたアスベストの定量は多量の粘土鉱物が混在していても定量性があるし（カオリナイトやベントナイト等のアスベスト以外の粘土鉱物には形質転換の仲介効果がないことは明らかにしている）解体に伴う粉塵や、砂礫中のアスベストの定量も可能になり、従来法が持つ欠点を克服できると考えている。感度もアスベスト濃度 100μg/海砂 g から測定可能であり鋭敏であるといえる。

(2) ヨシダ効果の自然界における役割と意義

地震摩擦は細菌の遺伝的変換を促進するか？ 蛇紋岩層の亀裂ではクリソタイルが形成される場所であるので、クリソタイルの微細針状結晶は蛇紋岩層の亀裂に生じたバイオフィーム表面に存在し、またバイオフィームの形成過程で内部にもクリソタイルが取込まれていると予想される。もちろん多くの細菌や細胞の自主溶解から派生する核酸物質なども存在している。地震が発生すると岩石とバイオフィームとの間に摩擦が生じるはずである。シャーレ中の弾性体は栄養源を含んだジェランで構成されるバイオフィームのアナログである。ジェランガムとは、*Pseudomonas elodea* が菌体外に産出する多糖類である。蛇紋岩等の変成岩の主成分はシリカであるため、蛇紋岩に相当するシリカビーズをバイオフィーム上に置いた後、クリソタイル-細胞コロイド溶液を滴下し、横揺れ地震に相当する地震刺激を与えた（地震摩擦刺激）。シリカビーズは激しくランダムにバイオフィーム表面をすべり、バイオフィームとシリカビーズとの間に摩擦が発生

したことになる。シリカビーズとバイオフィルムとの接触面は約 0.03cm²で接地圧は 2.61g/cm²であった。シリカビーズ50個、25個の接地面積はバイオフィルムのそれぞれ 0.02%、0.01%であった。地震摩擦刺激を与えた直後はクリソタイル細胞コロイド溶液由来の水分がバイオフィルム表面をコートし、潤滑剤としてふるまうので摩擦は低い、水分はバイオフィルム中に浸透するので摩擦は次第に高くなる。

Pseudomonas sp. にバイオフィルム表面にて地震摩擦を与えると、バイオフィルム上にコロニーを形成した。このことは *Pseudomonas* sp. はプラスミド pHSG298 を獲得して、カナマイシン耐性に遺伝的に変化したことを示す。pHSG298 は受容菌のゲノム DNA に統合されることなく自立的に複製されることがアガロースゲル電気泳動にて確かめられた。振動強度 150 gal において、シリカビーズ 50 個は 25 個よりも多くの *Pseudomonas* sp. 遺伝的変換をもたらす。また振動強度の増加にともなって遺伝的変換した *Pseudomonas* sp. の数は増加した。振動強度はシリカビーズのバイオフィルムとの接地（摩擦）面積の積分値を意味するので振動強度が高いことは長く摩擦刺激を受けたことを意味する。このことよりジェランとシリカビーズとの間に発生する地震摩擦は明らかにシュードモナスの外来遺伝子の取込みによる遺伝的変換を助長することがわかった。

バチルスにバイオフィルム表面にて同様に地震刺激摩擦を与えると、バチルスはプラスミド pHY300PLK を獲得して、テトラサイクリン耐性に形質転換し、バイオフィルム上にコロニーを形成した。クリソタイル細胞コロイド溶液中のクリソタイル濃度 50 ug/ml はバチルスのプラスミド獲得をもたらさなかったが、1mg/ml はプラスミドの獲得をもたらした。pHY300PLK は宿主ゲノム DNA に統合されることなく、自立的に複製されることはアガロースゲル電気泳動で確かめられた。振動強度 150 gal において、シリカビーズ 50 個は 25 個よりも多くのバチルスの遺伝的変換をもたらす。また振動強度の増加にともなって遺伝的変換したバチルスの数は増加した。このことよりジェランとシリカビーズとの間に発生する摩擦は明らかにバチルスの外来遺伝子の取込みによる遺伝的変換を助長することがわかった。この遺伝子の取込み現象はクリソタイルだけでなく、クロシドライトやマグヘマイトなどの針状鉱物に置き換えても同様に明らかになった。

バイオフィルムの堅さ 本実験では 1.0%ジェランを含む LB 培地をバイオフィルムモデルとして用いている。ジェラン濃度を変えることはバイオフィルムの物理的

強度が変化することである。地震摩擦を与えた時、シリカビーズとバイオフィルムの間に生じる摩擦力も変化すると思われる。したがってバイオフィルムの強度と細菌の遺伝的変換の関係を調べるため、ジェラン濃度 0.3%~1.5%のバイオフィルムを調製し、50個のシリカビーズを置き、クリソタイルシュードモナスコロイド溶液を滴下した。そして133ガル、60秒の地震摩擦刺激を与えた。30、24時間インキュベートし、カナマイシン耐性に形質転換したシュードモナスのコロニーを計測した。ジェラン濃度 1.0~1.5%のバイオフィルムの界面では遺伝的変換効率は 10³ のオーダーであった。ジェラン濃度 1.0~1.5%のバイオフィルムの界面では効率は減少し、ジェラン濃度 0.3%の界面ではシュードモナスの遺伝的変換は観察されなかった。

堅いバイオフィルムは柔らかいバイオフィルムよりも、細菌の遺伝的変換を仲介する効果が大きい。柔らかいバイオフィルムは水分を多く含むので潤滑効果が強く界面に生じる摩擦力は低い。堅いバイオフィルムに生じる摩擦力は高いと考えられる。これらの結果は適度な堅さをもったバイオフィルム界面でクリソタイルをともなった地震摩擦は細菌の遺伝的変換を仲介することを支持するものである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

Yoshida, N and Ide, K. Plasmid DNA is released from nanosized acicular material surface by low molecular weight oligonucleotides: exogenous plasmid acquisition mechanism for penetration intermediates based on the Yoshida effect. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 80, 813-821 (2008)

Yoshida, N., and Fujiura, N. Earthquake promote bacterial genetic exchange in serpentinite crevices. *Astrobiology*, 9, 289-295 (2009).

Yoshida, N. and Sato, M. Plasmid uptake by bacteria: a comparison of the methods and efficiencies. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 83, 791-798 (2009).

[学会発表](計5件)

ヨシダ効果における穿孔中間体がプラスミドを獲得する機構
吉田ナオト、井手香織、佐藤美沙

第 60 回日本生物工学会大会 東北学院大学
土樋キャンパス 2008 年 8 月 27 日

地震によって促進される細菌の遺伝的転換

吉田ナオト、藤浦 緑
第 24 回日本微生物生態学会 北海道大学
2008 年 11 月 25～29 日

ヨシダ効果を利用した石綿検出方法の感
度向上検討

浅野博光、内田佳孝、今泉幸男、土谷直史、
吉田ナオト
第 61 回日本生物工学会大会 名古屋大学東
山キャンパス 2009 年 9 月 23 日

シュルレアリスムと科学ーヨシダ効果の
発見とその原理応用を一例にー

吉田ナオト
第 25 回日本微生物生態学会 広島大学西条
キャンパス 2009 年 11 月 23 日 (招待講演)

ヨシダ効果を応用したアスベスト検知技
術開発

吉田ナオト
第 62 回日本生物工学会大会シンポジウム
ワールドコンベンションセンターサミット
(宮崎市) 2010 年 10 月 27 日 (招待講演)

〔図書〕(計 1 件)

Yoshida, N.
Number of plasmids transported into
Escherichia coli through the Yoshida
effect and predicted structure of the
penetration-intermediate. In: Asbestos:
Risks, Environment and Impact (Antonio
Soto and Gael Salazar ed.) p.37-55
Nova Science publishers, Hauppauge NY.
(2009).

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: アスベストの検出方法
発明者: 内田佳孝 浅野博光 土谷直史 吉
田直人
権利者: 九州電力株式会社 九電産業株式会
社 国立大学法人宮崎大学
種類: 特許
番号: 特開 2010-178634
出願年月日: 平成 21 年 (2009 年) 2 月 3 日
国内外の別: 国内

所得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:

権利者:
種類:
番号:
所得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等
<http://www6.ocn.ne.jp/~paxmicro/>

6. 研究組織
(1) 研究代表者
吉田 ナオト (YOSHIDA NAOTO)
宮崎大学・農学部・准教授
研究者番号: 50284823

(2) 研究分担者

研究者番号:

(3) 連携研究者

研究者番号: