

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：13801

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580110

研究課題名(和文) 流れ場の毒性物質分解とバイオフィーム形成のシミュレーションとそのメカニズムの解明

研究課題名(英文) Clarification of mechanism of biofilm formation and degradation of toxic compounds by genome sequencing and numerical analysis

研究代表者

金原 和秀 (Kimbara, Kazuhide)

静岡大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：30225122

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、芳香族化合物分解菌が分解過程でバイオフィームを形成することに着目し、バイオフィーム内での特異的な発現解析を目指したゲノム解析を行うと共に、流路デバイスを用いたシミュレーションを行い、形成メカニズムの解明を目的とした。その結果、ビフェニルの水酸化代謝物を添加すると、バイオフィーム形成の促進と生細胞率の増加が観察された。また、ビフェニル分解菌TK102株の完全長ゲノム配列(約6.06 Mb)の決定に成功し、PCB分解遺伝子群が可動性遺伝子上にコードされていることを見出した。バイオフィーム形成のモデル化は、フェーズフィールド法の改良を行い、バイオフィーム形成のシミュレーションに成功した。

研究成果の概要(英文)：This research was focused on the biofilm formation of bacteria which degrade aromatic compounds. Genome of a PCB degrader *Comamonas testosteroni* TK102 was determined for the analysis of specific expression during degradation and biofilm formation. We also carried out a biofilm growth simulation. Addition of hydroxyl compound of biphenyl enhanced biofilm formation and number of live cells. Whole genome sequence of strain TK102 was done by next generation sequencing system and PCB degradation genes were coded on a mobile genetic element. From numerical results, the initial position of biofilm seeds proved to be an important factor and growth behavior was influenced by the relative relationship between convection of flow over biofilm and nutrient diffusion into biofilm.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用微生物学

キーワード：バイオフィーム 流れ場 毒性物質分解 シミュレーション

1. 研究開始当初の背景

環境で生息する微生物の多くは、流れ場でバイオフィルムを形成し周囲の環境に適応していることが分かっている。その形成に関しては、感染症対策の重要性から、緑膿菌や黄色ブドウ球菌などの病原性細菌を対象とした研究がこれまで多く行われ、抗生物質開発を目指した薬剤スクリーニングや抵抗性と遺伝子発現の関連など、詳細が研究されている。また、有機汚濁物質の分解に関しては、バイオフィルムを活用した生物膜法による排水処理プロセスが古くから研究されている。その結果、ストレス環境でバイオフィルム形成の促進が観察されているが、環境汚染物質の分解とバイオフィルム形成との関係は明らかではない。したがって、毒性物質によるストレスと流れ場でのバイオフィルム形成の關係に着目したところに本研究のオリジナリティーがある。流れ場での遺伝子発現解析、形成のシミュレーションを総合してメカニズムに迫る研究は、循環型社会を築く上で重要課題であるにもかかわらず、国内外を問わず類似の研究は見当たらない。

申請者はこれまで、微生物分解が困難な塩素化芳香族化合物であるポリ塩化ビフェニル(PCB)の微生物分解に関する一連の研究を行い、PCB分解菌 *Acidovorax* sp. KKS102株や *Comamonas testosteroni* TK102株を単離し、酵素遺伝子群の解析を行うと共に、実処理プロセスの構築を行った。また、分解過程で生じる中間代謝産物が微生物の生理に影響を与え、分解性が低下することを見出している。一方、流れ場で形成するバイオフィルムを観察する新規マイクロデバイスの開発を行い、多数の薬剤の影響を一挙に検定できるデバイスの開発に成功している。

2. 研究の目的

微生物が構築するバイオフィルムは、環境中で有機汚濁物質の分解に役立っているが、食品加工や医療現場で環境を汚染し、多くの問題を引き起こしている。バイオフィルム形成の研究は多岐にわたり、接着からマイクロコロニーの形成、シグナル物質の分泌による形成促進など、詳細が分かりつつある。しかし、有害物質の分解とバイオフィルムの形成、河川などの流れのある場での形成メカニズムに関しては不明な点が多い。本研究は、芳香族化合物の分解過程でバイオフィルムが形成することに着目し、マイクロアレイによる発現解析を行うと共に、マイクロデバイスを用いて流れ場での形成をシミュレーションし、その形成メカニズムを解明する。

3. 研究の方法

(1) 流路デバイスによる形成促進の定量化
当研究グループが開発した多流路マイクロデバイスを用いて、流路におけるバイオフィルム形成能を検証し、形成量を定量した。

使用菌株および培養条件

使用した菌株は *Comamonas testosteroni* TK102 株である。TK102 株は継代を繰り返すことで形質が変化しやすいことが経験上予想されたため、本研究では使用する度に凍結保存した菌株を新たに培地に植菌して用いた。

多流路マイクロデバイスを用いた Flow system

本培養した菌液 1 mL を、カニューラ（日本シャーウッド製）を接続したデバイスにシリンジで注入してストッパーを取り付けた。30 のインキュベータ（型名 CN-40A，三菱電機エンジニアリング株式会社）で 1 時間培養した（図 3.1）。

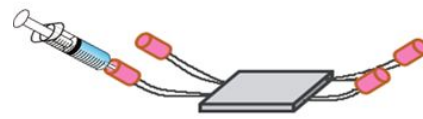


図 3.1 菌液の接種

その後それぞれのデバイスに、Ismatec Pump (IP) high precision multichannel pump (ISM 942, Micropump, Ltd., England) を繋いだ 1/3LB 培地、LB 培地のチューブを 1 チャンネルずつ繋いでインキュベータ内で 30、流量 11 mL/h で 24 h、48 h、72 h、84 h 連続培養した（図 3.2）。

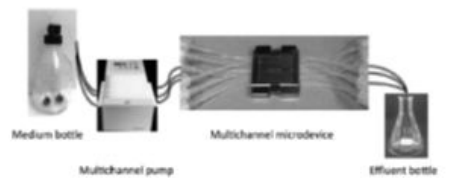


図 3.2 デバイスの流れシステムの概略

SYT09 と Propidium iodide (PI) による二重染色

蛍光顕微鏡で観察する際には、バイオフィルムの生細胞を SYT09，死細胞を Propidium iodide (PI) で二重染色した。染色には 15 μ M の SYT09 1 mL に 1 mM の PI 85.5 μ L を混合したものを用いた。SYT09 と PI の混合染色液をシリンジで各チャンネルに 300 μ L ずつ注入し、15 分静置した。その後 PBS でチャンネル内を流量 11 mL/h で 30 分洗浄し、余剰の蛍光試薬を洗浄した。

蛍光顕微鏡による観察

1/3LB、LB のいずれの条件についても、蛍光顕微鏡での観察点は以下の 5 点とした（図 3.3）。

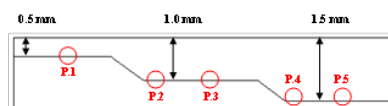


図 3.3 観察点

共焦点レーザー走査顕微鏡 (CLSM) と COMSTAT によるバイオフィーム解析

蛍光顕微鏡よりも定量性に優れた共焦点レーザー走査顕微鏡 (CLSM) と画像解析ソフトウェア COMSTAT を用いて解析を行った。

(2) 全ゲノム配列の決定および配列解析

当初の研究項目は「タイリングアレイによる形成促進機構の解析」であったが、タイリングアレイよりも、ゲノム配列に基づく RNA シークエンスの方が転写解析には優れていることから、タイリングアレイの設計を回避し、TK102 株の完全長ゲノム配列を決定することに方針を変更した。

使用菌体、培養方法およびゲノム情報

TK102 株の培養には Luria broth (LB) を 1/3 に希釈した 1/3LB 培地もしくは無機塩類培地である W 培地をオートクレーブして用いた。また、平板培地には精製寒天を 1.5% となるように添加した。W 培地はふたにピフェニルを載せることにより、揮発したピフェニルを炭素源として菌体に供給した。Pseudomonas putida KT2440 株の培養には 1/3LB を用いた。いずれの菌株も 30 °C にて培養を行なった。特に記述しない限り、各抗生物質はアンピシリン (Ap) を 50 µg/mL、テトラサイクリン (Tc) を 20 µg/mL となるように培地に添加した。ブルーホワイトセレクション用の培地は 100 mM イソプロピル-β-D-チオガラクトピラノシド (IPTG) 100 µL および 50 mg/mL 5-β-プロモ-4-クロロ-3-インドリル-β-D-ガラクトピラノシド (X-gal) 20 µL を 1/3LB に Ap を加えた培地に塗布して調製した。

使用シーケンサーおよびアッセンブル

3 種類の次世代シーケンサーを用いて 3 種類のシーケンスライブラリ (下記参照) を作製し、全ライブラリのデータを Newbler Ver. 2.6 を用いてアッセンブルした。隣り合うコンティグ間の配列は PCR を用いたプライマーウォーキング法により配列を決定し、完全長シーケンスを決定した。使用したシーケンサーとライブラリを以下に示す。

Rapid Library : GS FLX Titanium (Roche) を用いて 900-1300 bp のライブラリを作製

Short paired end Library : HiSeq 1000 (Illumina) を用いて 200-400 bp のライブラリを作製

Mate pair Library : MiSeq (Illumina) を用いて 5-6 kb のライブラリを作製

また、プライマーウォーキングには、Fosmid Clone (Insert Size 37kb) ライブラリを pCC1FOS (Epicentre Biotechnologies, Madison, WI) を用いて作製した。

アノテーション

ゲノム配列を NCBI Prokaryotic Genomes Automatic Annotation Pipeline (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation_prok/) および Microbial Genome Annotation Pipeline (<http://www.migap.org/index.php/en>) に供し、アノテーション

を行った。遺伝子比較ソフトウェア GenomeMatcher のアノテーション支援機能 (Ohtsubo et al., 2008 BMC Bioinformatics) を用いて、パイプラインより得られた 2 つのアノテーション結果と近縁種である *Comamonas testosteroni* KF-1 株および CNB-2 株のゲノムを比較し、タンパク質コード領域の開始コドンを決定した。

系統学的解析

CNB-2 株の 16S rRNA 遺伝子、*dnaJ*, *gryB*, *recA*, *rpoB* 配列をクエリ、*Comamonas* 属の基準株のドラフトシーケンスおよび TK102 ゲノムをデータベースに設定して、Blast search を行うことにより、各クエリと相同性の高い配列を抽出した。抽出した配列を GenomeMatcher の支援機能を用いて解析し、開始コドンおよび終始コドンを決定し候補遺伝子配列およびタンパク質配列とし、MEGA ver. 5.2 を用いて候補遺伝子配列をアライメントした後、ギャップ箇所を除去し系統樹解析を行った。系統樹解析は neighbor-joining (NJ) 法で行い、ブートストラップ回数は 1000 回とした。

比較解析: 2 種類のゲノム配列情報の比較は、GenomeMatcher の比較機能を用いて行った。ゲノム配列情報に基づく近縁株との比較は、全ゲノム配列を 1020 bp ごとに切り分け、それぞれの配列を BLAST によって比較することで、塩基レベルの相同性を求め、ゲノム全体の平均的な塩基の相同性 (Average Nucleotide Identity : ANI) を算出して行った (Johan et al., 2007)。

ANI の算出は Jspecies ver.1.2.1 (<http://www.imedea.uib.es/jspecies/index.html>) を用いて算出した。

(3) バイオフィーム形成のモデル化

解析モデル

本解析の系はバイオフィームと溶液の二相モデルとし、入口から栄養基質成分を含む溶液が流れ込み、その基質成分とバイオフィームの反応により、基質が消費され、バイオフィームが成長する系を考える。そこで、本数値解析においては二次元チャンネルを想定し、チャンネル形状が周囲流動場とバイオフィーム成長に与える影響について大きく分けて四種類の形状について検討した。

< 平板チャンネル >

対称性を考慮して y 方向 (鉛直方向) に半分の領域を解析領域とした。長さは x 方向 (流れ方向) に $3L$ 、 y 方向に L である。

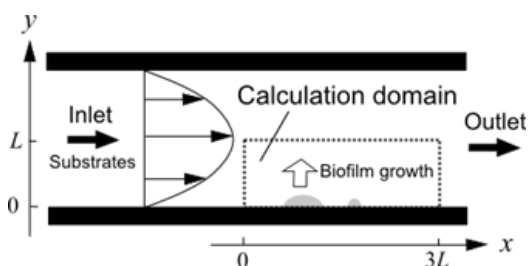


図 3.4 平板モデル

<段形状(バックステップ)チャンネル>
 平板チャンネルと同様に半分の領域を解析領域とし、長さも同様である。段は $L/3$ の高さで設定し、チャンネル幅は段より上流部では $2L/3$ 、下流部では L となっている。

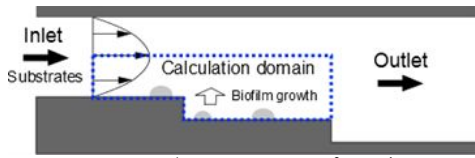


図 3.5 バックステップモデル

<マルチステップチャンネル>
 二つの段を設定し、上流、中流、下流の領域が存在する。

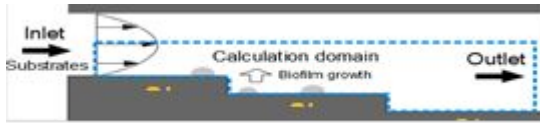


図 3.6 マルチステップモデル

<実験で用いられる段形状を持つメソチャンネルを模擬した二次元チャンネル>

実験で用いられるチャンネルのバイオフィーム成長チャンネル部の断面と同じ形状に設定し、チャンネルの勾配部分(段)は、実験で用いられたチャンネルのように滑らかな勾配を表現した。図 3.7 に示すように、チャンネルは上流、中流そして下流の三区間に分けられ、各区間でチャンネル流路断面が変化し、下流になるにつれ徐々にチャンネルの幅が広がる形状になっている。

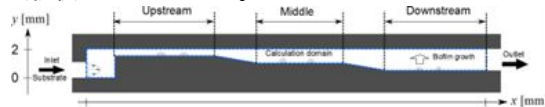


図 3.7 実験用メソチャンネル

以下に主な解析条件(仮定)を示す。

下部の境界は固体壁、流入口における基質濃度は一定、流入口における流れは Hagen-Poiseuille 型流れ、バイオフィームの成長は Monod 式に従う、細菌の付着過程は考慮しない、バイオフィームは流れによって、変形、脱離しない、バイオフィームと基盤との相互作用の影響は考慮しない。

初期条件として図 3.8 のように壁表面をランダムにバイオフィームの種 ($n = 0.5$) を設置する。マルチステップモデルの各区間、そしてメソチャンネルモデル(4)の各区間(上流、中流、下流)において等量のバイオフィーム種を設置している。

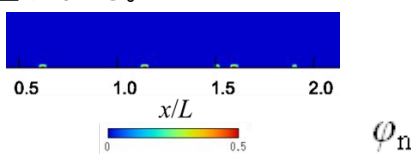


図 3.8 n の初期条件(拡大)

基礎方程式

解析基礎式は以下に示す 4 式である。

<連続式及び Navier-Stokes 式>

時間項を無視した溶液領域に対する連続式及び Navier-Stokes 式。

<基質成分の物質収支式>

バイオフィームによる消費を考慮した基質成分の物質収支式。ここでいう基質は酸素を含む好気性の細菌から構成されたバイオフィームの成長に必要な栄養成分を総括して定義される。

<Cahn-Hilliard 式>

対流項を無視した Cahn-Hilliard 式。

境界条件

以下に境界条件を示す。

平板モデル、バックステップモデル、マルチステップモデル

図 3.9 に平板チャンネルの境界条件を示す。圧力に関して、全境界において勾配 0、速度に関して下の壁面で滑りなし no-slip とし、入口で、各レイノルズ数に対応した最大速度を持つ Hagen-Poiseuille 流れを与えた。基質濃度は流入口で一定濃度 $c_{max}(1.0 \times 10^{-4} \text{ kgm}^{-3})$ を与え、他の境界で勾配なし、バイオフィームの体積分率とバイオフィームの化学ポテンシャルに関しては全境界で勾配なしとした。

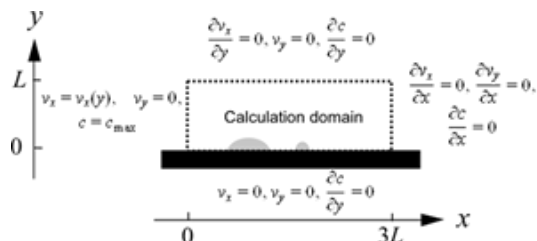


図 3.9 平板チャンネルの境界条件

実験を模擬したメソチャンネル

圧力に関しては、チャンネルの流出面で 0、その他の境界で勾配なしとした。また速度は流入口で完全な Hagen-Poiseuille 型の速度分布を与え、流入口で与える基質濃度は二種類の濃度 $c_{max} = 1.0 \times 10^{-4}, 0.3 \times 10^{-4} \text{ kgm}^{-3}$ とした。上下のチャンネル壁では no-slip とした。その他、基質の濃度とバイオフィームの体積分率、バイオフィームの化学ポテンシャルについては上記の境界条件と同様である。

数値計算法

計算格子は x, y 方向に等間隔な格子を用い、格子点数は計算領域によって異なるが、いずれも一つのセル幅が $1/64 \text{ mm}$ とした。本解析の計算格子にはスタッガード格子を用いた。レギュラー格子で圧力方程式を解くときを考えると、境界条件を境界で圧力値を与えるときには奇数番目の圧力点は境界条件に関与せず、境界条件を圧力勾配で与えると偶数番目の圧力点で境界条件に関与せず、偶数番目と奇数番目がリンクしなくなる。よって、1 格子おきに滑らかであればよく、隣の格子との間で振動する解を許し計算が破綻する。その欠点を解消するしくみがスタッガ

ード格子である。また全て時間刻みは $T = 10^{-3}$ に設定した。

計算方法について、空間差分近似については全方向に二次精度中心差分を用い、時間発展解法については四次精度 Runge-Kutta 法を用いた。

カップリングした圧力場と連続式は SMAC 法(simplified MAC method)を用いて解き、圧力の Poisson 方程式を解く際には SOR 法を利用した。

本シミュレーションコードにおいては、計算時間を短縮するために基質濃度を計算する際に速度の定常値を用いている。つまり、連続式及び Navier-Stokes 式は各タイムステップについて計算せず、 N_{NS} ステップ毎に定常値を求める計算を行う ($N_{NS} \gg 1$, 本研究では $N_{NS} = 10000$ とした)。これは物質移動やバイオフィルムの成長に対して、運動量移動が非常に短い時間のオーダーで起きる現象であるためである。条件に応じて残差 ϵ が十分に小さくなった段階 ($< 10^{-3} - 10^{-5}$) で定常に達したと判断する (図 3.10)。

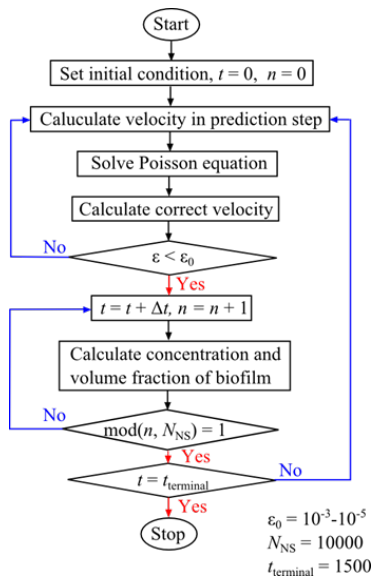


図 3.10 計算アルゴリズム

4. 研究成果

(1) 流路デバイスによる形成促進の定量化
PCB 分解菌である *Comamonas testosteroni* TK102 株のバイオフィルム形成量を増加させるには、LB 培地を用いて、かつ、多流路マイクロデバイスにおける深さ 1.0 mm の流速で培養することが適していた。死細胞が少ないにも関わらずバイオフィルムが著しく減少したのは、TK102 株のステンレス基材に対する付着力が弱いことによる可能性があった。そのため、菌体の付着力を高める方法を探索する必要があると思われる、今後はガラス面を持つデバイスの使用を考慮に入れる。

(2) 全ゲノム配列の決定および配列解析

TK102 株は、従来 *C. testosteroni* に属するとされてきたが、16S rRNA 遺伝子やその他

の housekeeping 遺伝子を用いた系統解析と、ゲノム配列全体を比較した結果から、新たな種に属することが示唆された (図 4.1)。これまでに多種多様なピフェニル分解菌が得られているが、*Burkholderia xenovorans* LB400 株 (Chain et al., 2006 PNAS)、*Novosphingobium aromaticivorans* DSM 12444 株 (accession no. NC_007794, NC_009426, NC_009427)、*Rhodococcus jostii* RHA1 株 (McLeod et al., 2006 PNAS) および *Pseudomonas pseudo-alcaligenes* KF707 株 (Rtiscari-Barberi et al., 2012 JB) は、いずれも他に同種の菌株がない、もしくは非常に少ない、いわば新種細菌である。TK102 株についても、既存の種には属さない可能性が高かったことから、ピフェニルを分解する菌株には、既知の基準株とは異なる機能が必要な可能性がある。

また、本研究によって、TK102 株のピフェニル代謝の下流側の推定経路を明らかにした。安息香酸の代謝経路である Box 経路は、他の好気性代謝経路として知られる Ben-Cat 経路に比べ、必要とする酵素数が少なく (Box 経路 8 酵素に対して Ben-Cat 経路は 11 酵素)、また、分子状酸素と ATP の消費量も半分であることから、いわば「省エネルギー」な代謝経路と考えられている (Denef et al., JB 2005 187:7996)。上記 LB400 株は、Box 経路も Ben-Cat 経路も備えており、基質の種類によって 2 つの経路を使い分けていると考えられている (Denef et al., JB 2005 187:7996)。一方、TK102 株の場合には、Ben-Cat 経路が存在せず、Box 経路のみで代謝していると考

えられた。これは、より消費エネルギーの小さい効率的な経路のみが生き残ったためかもしれない。

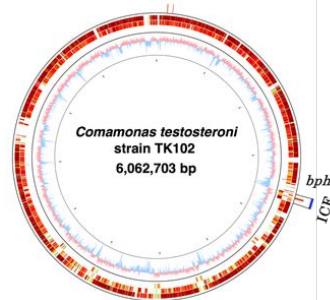


図 4.1 全長シーケンス

(3) バイオフィルム形成のモデル化

実験のメソチャンネルを模擬した系におけるフェーズフィールド法を用いたバイオフィルム形成の数値モデルを新たに構築し、チャンネル形状に依存した各区間における速度場、供給する基質濃度とバイオフィルム形成挙動、バイオフィルム内への栄養供給状態との間の関係性を解明した。構築した数値モデルは報告されている溶液速度、基質濃度分布、また基質濃度勾配に依存したバイオフィルムの形成パターンの実験結果を定性的に再現したため、チャンネル内バイオフィルム形成を表現するモデルとして妥当なものであると考えられた (図 4.2)。またオープンソースである OpenFOAM へ本コードを新たに実装し

たことにより、容易に三次元解析や様々な形状に対する解析が可能となり、汎用性の高いシミュレーションツールを開発し、様々な系に対応した流れ場中のバイオフィーム形成の数値解析の可能性を広げることが出来た。

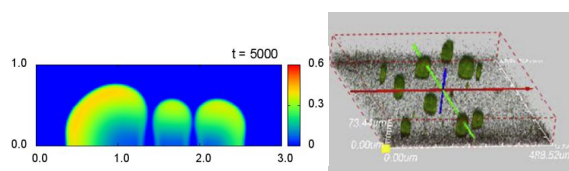


図 4.2 バイオフィーム形成の基質応答観察結果(右)、モデル(左)

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 2 件)

Zoe Sanchez, Akio Tani, Nobuhiro Suzuki, Reiko Kariyama, Hiromi Kumon, and Kazuhide Kimbara, Assessment of change in biofilm architecture by nutrient concentration using a multichannel microdevice flow system, Journal of Bioscience and Bioengineering, Vol 115, 326-331 (2013). 査読有

Zoe Sanchez, Akio Tani, and Kazuhide Kimbara, Extensive reduction in cell viability and enhanced matrix production in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 flow biofilms treated with D-amino acid mixture, Applied and Environmental Microbiology, Vol 79, 1396-1399 (2013). 査読有

〔学会発表〕(計 16 件)

大畑貴嗣, 山本卓也, 高木洋平, 岡野泰則, Zoe Sanchez, 金原和秀, メソチャネル内バイオフィーム形成に及ぼす周囲流動場の影響に関する数値解, 化学工学会第 79 年会, 2014.3.18-20, 岐阜

福田洸平, 下平潤, 細山哲, 山副敦司, 藤田信之, 新谷政己, 金原和秀, PCB 分解菌 *Comamonas testosteroni* TK102 株のゲノム解析, 第 8 回日本ゲノム微生物学会年会, 2014.3.7-9, 東京

青木真央, 村井友哉, 大田隼矢, Zoe Sanchez, 新谷政己, 金原和秀, PCB 分解菌 *Comamonas testosteroni* TK102 株のバイオフィーム形成能, 2013 年度 バイオフィームと複合系研究会, 2013.12.7-8, 宇都宮

金原和秀, 感染症バイオフィーム形成の D-アミノ酸による制御, 静岡大学食品・生物産業創出拠点第 33 回研究会, 2013.9.27, 浜松 (招待講演)

大田隼矢, Sanchez Zoe, 青木真央, 谷明生, 新谷政己, 金原和秀, D-アミノ酸処理による *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 株バイオフィームの構造変化の解析, 2013.9.18-20, 広島

Zoe Sanchez, Akio Tani, Masaki Shintani,

Kazuhide Kimbara, Development of flow system for biofilm analysis and determination of D-amino acid mixture effect on biofilm physiology, 14th *Pseudomonas Conference* 2013, 2013.9.7-11, スイスローザンヌ

T. Ohata, Y. Takagi, Y. Okano, Z. K. Sanchez, M. Shintani, K. Kimbara, Numerical investigation of biofilm formation under fluid flow in a micro-channel with steps, 3rd Asia-Pacific Chemical and Biological Microfluidics Conferences, 2013.8.12-22, 韓国ソウル

Zoe Sanchez, Toshiya Ota, Mao Aoki, Akio Tani, and Kazuhide Kimbara, Extensive reduction of cell viability and enhanced matrix production in *Pseudomonas aeruginosa* flow biofilms treated with D-amino acid mixture, 2012 年度バイオフィームと複合系研究会, 2012.10.13-14, 霞ヶ浦

Zoe Sanchez, Toshiya Ota, Akio Tani, and Kazuhide Kimbara, Monitoring system for biofilm architecture and development using a multichannel microdevice, IBS 2012 15th International Biotechnology Symposium and Exhibition, 2012.9.16-21, 韓国大邱 (President Poster Award 受賞)

Zoe Sanchez, Akio Tani, Nobuhiro Suzuki, and Kazuhide Kimbara, Development of multichannel microdevice flow system for the assessment of biofilm structure and Development, 環境バイオテクノロジー学会 2012 年度大会, 2012.6.25-26, 京都

Zoe Sanchez, Akio Tani, Nobuhiro Suzuki, and Kazuhide Kimbara, Assessment of Structural and Physiological Profiles of Microbial Biofilms Using a Multichannel Microdevice, 日本農芸化学会 2012 年度大会, 2012.3.22-25, 京都

〔その他〕

ホームページ等

<http://163.43.139.71/~tmshint/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金原和秀 (KIMBARA, Kazuhide)

静岡大学・工学研究科・教授

研究者番号: 30225122

(2) 研究分担者

岡野泰則 (OKANO, Yasunori)

大阪大学・基礎工学研究科・教授

研究者番号: 90204007

野尻秀昭 (NOJIRI, Hideaki)

東京大学・生物生産工学研究センター・教授

研究者番号: 90272468