

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 13 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24246134

研究課題名(和文) 実験進化過程のマルチオミクス解析によるストレス耐性細胞工場の創製

研究課題名(英文) Creation of Stress Tolerant Microbial Cell Factories based on Multiomics Analysis of Laboratory Evolution Process

研究代表者

清水 浩 (SHIMIZU, HIROSHI)

大阪大学・情報科学研究科・教授

研究者番号：00226250

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,100,000円

研究成果の概要(和文)：微生物を細胞工場として高度化するためには、バイオプロセスにおいてストレスに耐性を賦与することが重要である。本研究では、大腸菌の長期植え継ぎ培養自動化システムを開発し、バイオ化成品生産のためのストレスに対して耐性を獲得した進化株を取得する方法を開発した。進化株と親株をマルチオミクス解析し、両株の細胞内状態の解明を行った。また、ゲノムスケールの代謝反応モデルを用いて *in silico* 予測された目的物質生産のための代謝経路デザイン株をバイオプロセス環境に適応進化させることにより、生産最適化株を創製する。こうした研究を統合的に進めることにより、バイオ燃料・化成品生産のための大腸菌細胞工場を創製する。

研究成果の概要(英文)：One of the important factors to produce biochemicals and biofuels is to create stress tolerant strains under severe environmental conditions in bioprocesses. Experimental evolution is a powerful technique to create stress tolerant strains under severe environmental conditions through long term cultivation. In this study, experimental evolution under stress conditions in *Escherichia coli* were performed by using an automated serial-transfer culture system. Genome-wide multi-omics analysis was conducted in evolved strains to clarify important factors to confer stress tolerance. *In silico* design of multiple gene deletions for improvement of target compounds productivity was performed based on a genome scale metabolic model. Designed strains were genetically engineered, and then those strains were evolved by long term cultivation. Integration of rational design of metabolic pathways and evolution engineering was successfully performed for creation of useful microbial cell factories.

研究分野：代謝工学

キーワード：進化工学 マルチオミクス ストレス耐性 物質生産 ゲノムスケールモデル

## 1. 研究開始当初の背景

生物機能を利用した生産プロセスは古くから発酵、食品、醸造、医薬品製造などに利用されてきた。今日、石油資源の枯渇や地球規模の二酸化炭素問題が叫ばれる中、再生可能資源からのバイオ化成品、バイオ燃料生産プロセスの開発が注目されている (Lee et al., Curr Opin Biotechnol 2011)。微生物を細胞工場として高度化するためには、バイオプロセスにおいて生産性を維持しつつストレスに耐性を賦与することが重要である (Alper et al., Science 2006)。従来、変異処理とスクリーニングを利用した方法で有用微生物が多く取得されてきた。しかし、この方法では、どの変異が優れた形質をもたらしたかを特定することが容易ではないため、得られた微生物のさらなる改良や有用形質の他の株への新規導入が難しいという短所が存在する。

この点を克服するために、導入された変異や細胞状態の変化を追跡することが可能な方法を構築する必要がある。生物は、ストレス環境下において細胞の内部状態を変化させ、その環境に適応進化することが可能である。本研究においては、大腸菌を用いたバイオ化成品生産プロセスにおいてストレス環境下で耐性を持った大腸菌を実験進化により取得すること、生産性とストレス耐性を連動させる菌株を育種する方法を開発することを目的とした。

## 2. 研究の目的

バイオプロセスで化成品を生産する際に発生するストレス環境を実験室で再現するため、環境を制御し、長期植え継ぎ培養を自動で行えるシステムを開発する。このシステムにより取得された耐性株の進化過程をゲノム、遺伝子発現、代謝の多階層でオミクス解析することによって、ストレス耐性賦与にとって重要な親株との細胞内部状態の差異を抽出する。多種類の生産物のストレス環境において耐性を有する大腸菌株を獲得することを目的とする。具体的には、(1)長期植え継ぎ培養自動化システムによる進化実験法の開発、(2)取得された進化株のマルチオミクス解析、(3)代謝改変と進化工学を統合した代謝進化最適生産株の創製を本研究の目的とした。最終的には、(4)ストレスに強く物質生産能を持った細胞工場を創製することが本研究の目的である。

## 3. 研究の方法

(1)長期植え継ぎ培養自動化システムによる実験進化法の開発

進化過程を追跡可能で、かつ、多種のストレスに対する進化実験をハイスループットに実施可能な長期植え継ぎ培養自動化システムを開発する。

(2)マルチオミクス解析によるストレス耐性メ

## カニズムの解明

多種のストレス環境下で耐性能を持った株を実験進化により獲得後、得られた進化株について次世代シーケンサーを用いたゲノムのリシーケンシングによる全ゲノム塩基変異解析、DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) やキャピラリー電気泳動質量分析計 (CE/MS) によるメタボローム計測に基づく代謝フラックス解析を行い、遺伝子型、細胞内状態の変化が表現型にもたらす影響について詳細に解析を行った。

(3)代謝改変と実験進化と統合した代謝進化最適生産株の創製

我々の研究グループでは、ゲノムスケールの代謝モデルを構築し、これを用いて、有用物質生産のための、遺伝子改変デザインを行うプラットフォームを構築してきた。本研究では、遺伝子削除に伴う代謝改変を行って細胞の状態を変化させた際に細胞が新しい環境に適応する過程と物質生産を連動する方法の開発を目指した。本研究では、生産物を最大生産するために設計された遺伝子改変株を長期植え継ぎ培養により進化させることにより、目的とした物質生産に適した細胞内部状態へ移行させることを試みた。

(4)バイオケミカル生産のための細胞工場の創製

上記の研究成果を統合し、耐性賦与と代謝最適化を統合した大腸菌細胞工場を創製し、バイオ化成品生産を行うことを目指した。

## 4. 研究成果

(1)長期植え継ぎ培養自動化システムによる実験進化法の開発

様々な環境ストレスに対する耐性メカニズムを理解するためには、多系列の進化実験を実施することが必要となる。そうした進化実験を効率的かつ正確に行うために、本研究ではラボオートメーションを用いたハイスループットの植え継ぎ培養自動化システムを開発した。このシステムは、クリーンブース内に設置された自動分注ロボット (Beckman Coulter 社製 Biomek NX)、インキュベーションシステム、吸光プレートリーダーなどから構成され、1台のコンピュータによって制御されている。インキュベーションシステムには44枚の96あるいは384ウェルマイクロプレートが格納することが可能であり、最大で  $384 \times 44 = 16896$  の独立環境での培養を全自動で行うことが可能となった (図1)。

このシステムを用いた培養では、植菌の6時間後に吸光度がターゲットとして設定した値になるように植菌量を制御した。こうした制御を行うことにより、対数増殖期を保つように培養を続けることが可能となった。

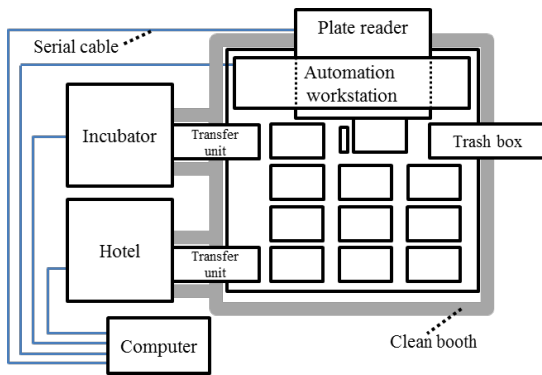


図1. 長期植え継ぎ培養自動化システムの概要

長期にわたる多系列の進化実験を行う場合、培養系列間のクロスコンタミネーションが問題となる可能性がある。そこで、初期条件として菌体を入れないウェルを植え継ぎ、周囲のウェルからのコンタミネーションが生じるかを検討した。結果として、420 時間以上にわたり菌体を入れないウェルからの増殖は確認されず、クロスコンタミネーションが生じる可能性は低いことが確認された。これらの結果より、この培養自動化システムを用い、様々なストレス環境下での多系列の進化実験が実現可能であることが示された。

## (2) マルチオミクス解析によるストレス耐性メカニズムの解明とストレス耐性株の創製

進化実験によって得られたストレス耐性株について、マイクロアレイによるトランスクリプトーム解析、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS)、キャピラリー電気泳動質量分析計 (CE/MS) を用いたメタボローム解析、次世代シーケンサを用いたゲノム変異解析などを行うことにより、ストレス耐性付与をもたらした細胞内状態の変化の抽出を行った。

まず先行研究で得られたエタノール耐性大腸菌の6株について、上記のマルチオミクス解析を実施した。結果として、6株中4株に *relA* 遺伝子への変異が同定され、エタノール耐性との関与が示唆された。*relA* はストレス応答に関与する遺伝子で、この変異によってストレス応答が緩和され、活発な増殖をする状態が回復することが予想された。この *relA* 変異による表現型変化を解析するために、親株ゲノムに同定された変異の一つを導入したところ、エタノールストレス環境下での増殖速度の有意な上昇が観察され、*relA* 変異のエタノール耐性への寄与が確認された。一方で、一つの耐性株で同定された変異をすべて親株ゲノムに導入したところ、耐性株で示されたエタノール耐性を示すに至らず、ゲノム変異に依らない多階層ネットワークの複雑な影響が示唆された。

次に、(1)で構築された培養自動化システムを用いて、酸・アルカリ・界面活性剤など11

種類のストレス環境下での大腸菌進化実験を行い、それぞれの環境に対する耐性株を取得した(図2)。それらの耐性株についてマルチオミクス解析を実施し、それら耐性が出現するメカニズムの同定を試みた。トランスクリプトーム解析の結果からは、それぞれのストレス耐性に特異的な遺伝子発現パターンの変化が見出され、例えば抗生物質耐性に関与する制御遺伝子として知られる *marR* が、ブタノール耐性株と界面活性剤の耐性株に共通で発現低下していることが見出され、これらの耐性への関与が示唆された。また、次世代シーケンサによるゲノム変異解析の結果から、同じストレスに対する耐性株に共通に固定されている変異が同定され、ストレス耐性への関与が示唆された。例えば、5株のメタクリル酸耐性株の全てに、解糖系に関与する *pykF* 遺伝子への変異が同定された。また、その変異を親株ゲノムに導入したところ、メタクリル酸への耐性が上昇し、*pykF* のメタクリル酸耐性への寄与が確認された。同様に、9種類のストレスに対してはストレス耐性に関与する遺伝子変異が同定され、親株への変異導入によりその寄与が確認された。加えてトランスクリプトーム解析とゲノム変異解析の相関を解析し、一部の発現変化はゲノム変異によって説明できることが確認された。こうしたマルチオミクス解析を実施することにより、ストレス耐性のメカニズムの詳細を明らかにすることに成功した。

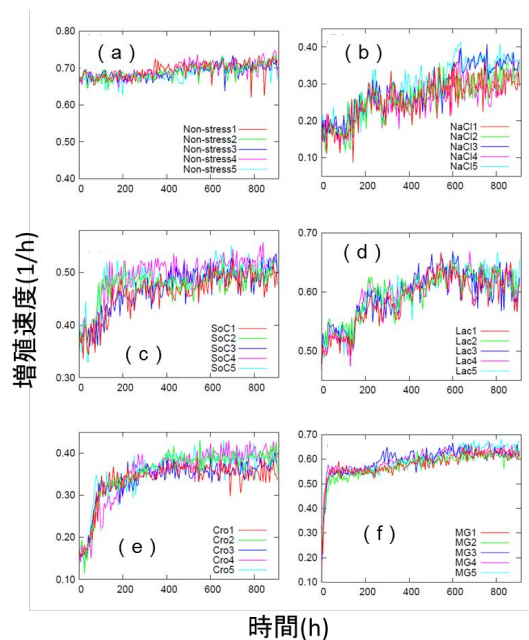


図2. 培養自動化システムを用いた進化実験。(a) ストレスなし、(b) NaCl、(c)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、(d) 乳酸、(e) クロトン酸、(f) メチルグリオキサルをそれぞれ添加した環境下での植え継ぎ培養を行い増殖能力が上昇する進化株を取得できた。他に KCl、 $\text{CoCl}_2$ 、リンゴ酸、メタクリル酸、n-Butanol、塩化アセチルピリジニウムについても進化株を得た。

### (3)代謝改変と実験進化と統合した代謝進化最適生産株の創製

化学量論式を基盤としてゲノムスケールの代謝モデルを構築し、これを線形計画法を用いて、有用物質生産のための、遺伝子改変デザインを行う Flax Balance Analysis (FBA) プラットフォームが構築されてきた。コリネ型細菌 (Shinfuku et al., Microb Cell Factory 2009)、光合成微細藻類 (Yoshikawa et al., Appl Microb Biotech 2011) のゲノムスケール代謝反応モデルは与えられた環境条件において代謝フラックスの状態を精度良く予測することが可能であることが実証されてきた。しかし、これらのシステムを用いて予測された有効な遺伝子削除、導入を行ってもすぐに代謝改変に効果が得られない場合も存在する。これは、細胞内状態のデザインが、増殖最大化を指標に探索されたものであり、実際に構築された組換え体ではそのような状態に速やかに移行しないこともあるためと推測される。また、この株がストレス環境において予測された生産性を発揮できるかどうか不明である。生産物を最大生産するために設計された遺伝子改変株を進化させることにより、目的とした物質生産に適した細胞内部状態へ移行させることを試みた。

ここでは、上記の問題を解決するために、

多数の遺伝子削除による目的物質生産の改良方法プラットフォームの開発、物質生産を目的とした遺伝子削除の実践、目的物質生産のための遺伝子削除物質生産株の進化による生産性の増大の三段階に分けて研究を行った。

多数の遺伝子削除による目的物質生産の改良方法プラットフォームの開発

フラックスバランス解析 (FBA) 法では、微生物の代謝を量論的に表現することによって代謝反応を統一的に表現することを可能とした。この方法では、細胞が置かれた環境条件や遺伝子削除による状態に応じて細胞が自身で増殖を上昇させるであろうという仮定に基づいてその際に得られる物質生産を予測する。今まで、物質生産のための合理的な代謝経路の改良法として効果的であることが確認されているが、多重経路破壊による生産性の改良には限界があった。そこで、シャドウプライスを利用した方法を適用することにより、10 以上の遺伝子の破壊まで探索可能な方法 (FastPros) を開発し、シミュレーションによって 25 破壊までの有効な遺伝子削除探索を行うことを可能とした。

物質生産を目的とした遺伝子削除の実践

上記に示した方法を含め、目的物質生産のための代謝改変デザインの多重遺伝子破壊を実施し、その有効性を確認した。ここでは、大腸菌の 3 ヒドロキシプロピオン酸 (3HP) 生産において FBA により 3HP 生産にとって有効な複数遺伝子破壊を標的物質の有効性を確認した。

大腸菌に 3HP 合成経路を構築すべく遺伝

子を導入した後、その大腸菌に対して、3HP 生産性を向上させる遺伝子を探索した。その結果、3 遺伝子を破壊することで、3HP 生産が向上することが予測された。そこで、3 破壊を実際に行って、3HP 生産が、顕著に上昇することが確認された。このように、細胞の増殖を上昇させると生産物の向上が見込めるような代謝破壊を施すことが物質生産にとって有効であることが実証された。これを細胞の増殖と 3HP 生産の関係を示す図にプロットすると図 3 のようになる。遺伝子を破壊して自由度を制限することで 3HP 生産の収率が上昇することが分かった。しかし、計算最適値には到達していないことも明らかとなった。

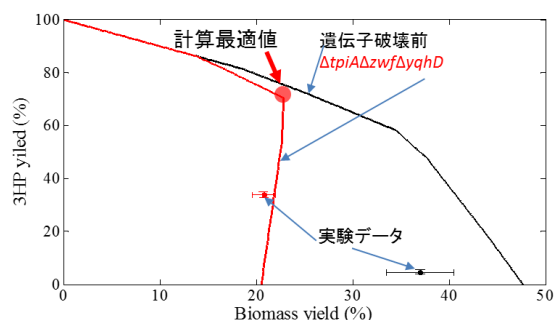


図 3 遺伝子破壊前後の増殖と目的物質生産の関係

目的物質生産のための遺伝子削除物質生産株の進化による生産性の増大

これらの結果を踏まえて、さらに、目的物質生産のための遺伝子削除による株創生と進化による生産性の増大を試みた。ここでは、大腸菌に目的物質生産をさせるための遺伝子破壊の探索と株の構築、さらに構築株の長期植え継ぎ培養による生産性の向上を行った。野生株に目的物質生産を効果的に行う破壊候補遺伝子を FBA により探索し、多重遺伝子破壊株を構築した。さらに、これらの株を繰り返し植え継ぎ培養を実施した。その結果、目的物質生産が、親株、破壊直後の株に比較して増殖に連動して向上する株を得ることが実験的に確認された。

### (4) バイオケミカル生産のための細胞工場の創製

本研究では、化学物質や燃料を生産する微生物の開発を目指して、長期植え継ぎ培養を用いた進化工学による化学物質や燃料に耐性を有するストレス耐性細胞工場の創製、マルチオミクス解析によるストレス耐性因子の解明、*in silico* 代謝改変により得られた物質生産細胞の進化工学による細胞増殖に伴う物質生産能の向上を目指し研究開発を行った。

長期植え継ぎ培養においては、多種のストレスに対する進化実験をハイスループットに実施可能な長期植え継ぎ培養自動化システム開発を行った。開発された培養自動化システムを用いて 11 種類の化学物質やストレ



ス環境における長期植え継ぎ培養を実施することが可能となった。11種すべてのストレス環境において進化株が取得され、ハイスループットなストレス耐性株の創製が可能となった。このシステムを用いて得られたストレス耐性株に対して、マルチオミクス解析を実施した。エタノールストレス耐性に対しては、ゲノム、トランスクリプトーム、メタボローム解析を行い、一部ストレス耐性を付与するための遺伝子の変異が明らかとなった。

また、自動化システムによって得られた乳酸・ブタノールなど11種の環境ストレスに対して耐性を持つ大腸菌株について、同様に解析し、その耐性獲得メカニズムの理解を試みた。その結果として、ストレス耐性に寄与する因子を同定することに成功した。また、長期植え継ぎ培養によるストレス耐性の付与については、大腸菌ばかりでなく光合成微生物におけるバイオ燃料に対する耐性の付与についても有効であることが明らかとなった。また、抗生物質に対する大腸菌の耐性についても知見が蓄積された。

さらに、遺伝子削除を行ったのち、目的物質生産能と増殖能を連動させて上昇させることを目的として、FBAによる遺伝子破壊と長期植え継ぎ培養を実施した。多重遺伝子破壊の探索を可能とする探索システムを開発し、これによって目的物質生産能力を向上させる多重遺伝子破壊を調査することが可能となった。この遺伝子破壊を物質生産株で実施することで物質生産を向上させることが明らかになった。さらに、長期植え継ぎ培養による進化を実施することで、物質生産能力が向上することが明らかとなった。

以上のように、本研究では、その生産物質や生産環境で発生するストレスに強く、高い物質生産能を持った細胞工場を創製するため、進化工学の自動(ハイスループット)化、マルチオミクス解析によるストレス耐性獲得過程の解明、遺伝子削除と進化工学の統合を実施し、新しい細胞工場の創製法の開発に関する道筋を明らかにした。

## 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 18件)

1. Shingo Suzuki, Takaaki Horinouchi, Chikara Furusawa, Phenotypic changes associated with the fitness cost in antibiotic resistant, *Molecular Biosystems*, 査読有, **12**, 414-420, DOI:10.1039/c5mb00590f (2016)
2. 清水浩, 松田史生, 戸谷吉博, 代謝デザインと<sup>13</sup>C同位体標識を用いた代謝フラックス解析の物質生産への応用, 化学と生物, 査読無, **53**, 455-461 [https://katosei.jsbba.or.jp/back\\_issue.php?bn\\_vol=53&bn\\_no=7](https://katosei.jsbba.or.jp/back_issue.php?bn_vol=53&bn_no=7) (2015)
3. Shuichi Kajihata, Fumio Matsuda, Mika

Yoshimi, Kenshi Hayakawa, Chikara Furusawa, Akihisa Kanda, Hiroshi Shimizu, <sup>13</sup>C-based metabolic flux analysis of *Saccharomyces cerevisiae* with a reduced Crabtree effect, *Jour Biosci Bioeng*, 査読有, **120**, 140-144, DOI: 10.1016/j.jbiosc.2014.12.014 (2015)

4. Takaaki Horinouchi, Shingo Suzuki, Takashi Hirasawa, Naoaki Ono, Tetsuya Yomo, Hiroshi Shimizu, Chikara Furusawa, Phenotypic convergence in bacterial adaptive evolution, *BMC Evo Biol*, 査読有, **15**, 180, (2015) DOI: 10.1186/s12862-015-0454-6
5. Riyanto Heru Nugroho, Katsunori Yoshikawa, Hiroshi Shimizu, Metabolomic analysis of acid stress response in *Saccharomyces cerevisiae*, *Jour Biosci Bioeng*, 査読有, **120**, 39, DOI: 10.1016/j.jbiosc.2015.02.011 (2015)
6. Satoshi Ohno, Hiroshi Shimizu, Chikara Furusawa, FastPros: Screening of reaction knockout strategies for metabolic engineering, *Bioinformatics*, 査読有, **30**, 981-987, DOI: 10.1093/bioinformatics/btt672. (2014)
7. Takaaki Horinouchi, Teruaki Minamoto, Shingo Suzuki, Hiroshi Shimizu, Chikara Furusawa, Development of an automated culture system for laboratory evolution, *Jour Lab Automation*, 査読有, **19**, 478-82 DOI: 10.1177/2211068214521417 (2014)
8. Kento Tokuyama, Satoshi Ohno, Katsunori Yoshikawa, Takashi Hirasawa, Shotaro Tanaka, Chikara Furusawa, Hiroshi Shimizu, Increased 3-hydroxypropionic acid production from glycerol, by modification of central metabolism in *Escherichia coli*, *Microbial Cell Factories*, 査読有, **7**, 64, DOI:10.1186/1475-2859-13-64 (2014)
9. Shingo Suzuki, Takaaki Horinouchi, Chikara Furusawa, Prediction of antibiotic resistance by gene expression profiles, *Nature Communications*, 査読有, **5**, 5792, DOI:10.1038/ncomms 6792 (2014)
10. Satoshi Ohno, Chikara Furusawa, Hiroshi Shimizu, *In silico* screening of triple reaction knockout *Escherichia coli* strains for overproduction of useful metabolites, *Jour Biosci Bioeng*, 査読有, **115**, 221-228 DOI: 10.1016/j.jbiosc.2012.09.004 (2013)
11. 清水浩, 代謝工学の創成と発展、-代謝解析とオミクス研究との融合、*生物工学会誌*, 査読無, **90**, 619-620 [https://www.sbj.or.jp/wp-content/uploads/file/sbj/9010/9010\\_tokushu\\_1.pdf](https://www.sbj.or.jp/wp-content/uploads/file/sbj/9010/9010_tokushu_1.pdf) (2012)

[学会発表](計 79件)

1. Hiroshi Shimizu, *In silico* metabolic pathway design and <sup>13</sup>C-based metabolic

- flux analysis for bio-production, The 2nd SBJ Symposium, (招待講演), 2015, 5. 22, Icho Kaikan, Osaka University
2. Chikara Furusawa, Toward understanding of adaptive evolution: computational analysis and experimental evolution, QBiC Symposium: High-dimensional data for the design principles of life (招待講演) 2015. 8. 24-26., 理化学研究所 大阪キャンパス
  3. Hiroshi Shimizu, Integration of *in silico* design and experimental evaluation for creation of microbial cell, Metabolic Engineering X (招待講演), 2014. 6. 15. – 2014. 6. 19. Vancouver, Canada
  4. 松迫卓也、仲嶋翼、吉川勝徳、清水浩、人工進化実験による *Synechocystis* sp. PCC6803 のイソブタノール耐性株の獲得と変異解析、日本光合成学会年会、2014. 5 30.-5.31、近畿大学農学部、奈良
  5. Hiroshi Shimizu, Systems metabolic engineering - Rational design of microbial cell factories, Asian Congress on Biotechnology 2013, 2013. 12. 15 – 2013. 12. 19. Indian Institute of Technology Delhi, India
  6. 大野聡、古澤力、清水浩、*in silico* スクリーニングにより代謝物質生産が予測された大腸菌多重遺伝子破壊株の特徴解析、日本生物工学会大会、広島国際会議場、2013. 9.18 – 9.20.
  7. 堀之内貴明、源晃明、鈴木真吾、清水浩、古澤力、ラボオートメーションによる全自動多系列実験進化システムの構築、日本生物工学会大会、広島国際会議場、2013. 9.18 – 9.20.
  8. Chikara Furusawa, Phenotypic convergence in experimental evolution of antibiotic resistant bacteria, The 14th International Conference on Systems Biology (ICSB2013), 2013. 8. 30. – 2013. 9. 3. Copenhagen, Denmark
  9. Hiroshi Shimizu, Application of genome scale models to design of microbial cell factories, 2nd Conference on Constraint-based Reconstruction and Analysis (COBRA 2012)(招待講演), 2012. 10. 9. Hotel Marienlyst, Helsingoslashr, Denmark
  10. Hiroshi Shimizu, Systems metabolic engineering for creation of superior microbial cell factories, Systems Biotechnology of microalgae for Bioproduction, International Symposium and Exhibition(招待講演), 2012. 9. 21. EXCO, Daegu, Korea
  11. Hiroshi Shimizu, Genome-wide multi-omics analysis of ethanol stress tolerant strain of *Escherichia coli* created by evolution engineering, Metabolic Engineering IX, 2012. 6. 6. Le Bellevue Congress and Exhibition center in Biarritz, France
- 〔図書〕(計 9 件)
1. 清水浩ら、合成生物学の隆起-有用物質の新たな生産法を目指して-第3章オミクス解析の視点、シーエムシー出版、pp.57-66 (10 頁)(2012)
  2. Chikara Furusawa, Takaaki Horinouchi, Takashi Hirasawa, Hiroshi Shimizu, Systems metabolic engineering: the creation of microbial cell factories by rational metabolic design and evolution, *Advanced Biochemical Engineering/ Biotechnology*, pp. 1-23, Springer (23 頁)(2012)
  3. Katsunori Yoshikawa, Chikara Furusawa, Takashi Hirasawa, Hiroshi Shimizu, Design of superior cell factories based on systems wide omics analysis, Systems Metabolic Engineering - Towards Superior Cell Factories, pp. 57-81, (24 頁) Springer, (2012)
- 〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www-shimizu.ist.osaka-u.ac.jp/hp/index.html>
6. 研究組織
- (1)研究代表者  
清水 浩 (SHIMIZU HIROSHI)  
大阪大学・大学院情報科学研究科・教授  
研究者番号：00226250
  - (2)研究分担者  
古澤 力 (FURUSAWA CHIKARA)  
理化学研究所生命システム研究センター・チームリーダー、大阪大学・大学院情報科学研究科・招へい教授  
研究者番号：00372631
  - (3)研究分担者  
平沢 敬 (HIRASAWA TAKASHI)  
東京工業大学・大学院生命理工学研究科准教授、大阪大学・大学院情報科学研究科・招へい准教授  
研究者番号：20407125
  - (4)研究分担者  
松田 史生(MATSUDA FUMIO)  
大阪大学・大学院情報科学研究科・准教授  
研究者番号：50462734
  - (5)研究分担者  
吉川 勝徳(YOSHIKAWA KATSUNORI)  
大阪大学・大学院情報科学研究科・助教  
研究者番号：20599279
  - (6)研究分担者  
戸谷 吉博(TOYA YOSHIHIRO)  
大阪大学・大学院情報科学研究科・助教  
研究者番号：70582162