

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：10103

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26340067

研究課題名(和文) 耐冷性炭化水素分解菌の分解遺伝子解明及び植物成長促進根圏菌の多面的機能解析

研究課題名(英文) Elucidation of degradation genes of cold-resistant hydrocarbon degrading bacteria and multifaceted functional analysis of plant growth promotion Rhizospheric bacteria

研究代表者

チャン ヨンチョル (CHANG, Young-Cheol)

室蘭工業大学・工学研究科・教授

研究者番号：30422025

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：南極の土壌から単離された *Penicillium* sp. CHY-2 を用い、8つの異なる脂肪族および芳香族炭化水素の生分解性を確認した。最も高い分解率を示したデカンの分解には CHY-2 由来の酵素であるマンガネルオキシダーゼ (MnP) が関与していることが分かった。また、様々な根圏微生物が単離され、炭化水素の分解に関与していることが判明した。さらに、CHY-2 株の分解関与遺伝子を確認した結果、真菌の代表的な三種の酵素であるシトクロム P450 ヒドロキシラーゼ、リグニンペルオキシダーゼ、バニリルアルコールオキシダーゼをコードする遺伝子が確認できた。

研究成果の概要(英文)：Biodegradability of eight different aliphatic and aromatic hydrocarbons (octane, decane, dodecane, ethylbenzene, butylbenzene, naphthalene, acenaphthene, and benzo[a]pyrene) was confirmed using *Penicillium* sp. CHY-2 isolated from Antarctic soil. In addition, it was found that the enzyme manganese peroxidase (MnP) derived from strain CHY-2 was involved in the degradation of decane which showed the highest degradation rate among the tested aliphatic and aromatic hydrocarbons. Furthermore, various rhizosphere microorganisms were isolated and found to be involved in hydrocarbon decomposition. As a result of confirming the gene of strain CHY-2 responsible for degradation, genes encoding cytochrome P450 hydroxylase, lignin peroxidase and vanillyl alcohol oxidase were confirmed.

研究分野：応用微生物学

キーワード： *Penicillium* 炭化水素 根圏土壌 低温域 南極 メタゲノム アルキルフェーノール

1. 研究開始当初の背景

地球はもともと寒冷な惑星で、生物圏の85%が5以下の環境に露出している。低温域の炭化水素汚染は増加しており、特に北半球における社会的、経済的集中により光熱暖房、交通輸送などに多量の化石燃料が用いられることが一因となっている。一方、日本全国では、ガソリンスタンドや工場跡地など土壤汚染が増加している地域も多く、土壤浄化が必要とされている土地は32万ヶ所にも及ぶと言われている。平成15年2月の土壤汚染対策法施行により、こうした潜在的需要は一気に顕在化し、安価で処理時間の短い浄化方法である原位置での生物環境修復(バイオレメディエーション, Bioremediation)手法が国内で広く普及し、すでに実用化の域に達している。しかし、従来の土木施設や設備側の視点に立った汚染土壤修復工法では価格と効果の両面で限界があるとされる。汚染土壤を場外搬出せずに浄化する方法として、土壤中に内在する微生物群の代謝活性を利用するインサイトバイオレメディエーション(原位置処理)技術開発が期待されている。この技術は微生物の有機物分解活性に依存するため、微生物の分解能力以上の汚染物質が土壤中に侵入すると汚染物質は蓄積し、結果的には土木施工的に地表構造物を移設した後に土壤を搬出して汚染物質を除去しなければならないという欠点がある。そのため、汚染現場にボーリングの穴を設け、そこから活性の優れている分解微生物を直接投入する積極的な浄化手法であるバイオオーグメンテーション(直接生物添加法, Bioaugmentation)が注目されているが、実用化や事業化例が稀である。この技術の実用化のためには、汚染現場に存在する既存微生物と新しく混入した微生物との相関関係を明らかにすると同時に、インサイトバイオレメディエーション技術の最大の課題とされている低温での汚染物質の持続的な処理技術の確立が何より優先されなければならない。

2. 研究の目的

本研究では低温での分解が難しいとされている炭化水素化合物をターゲットとし、低温での持続的な処理方法を検討した。また、寒冷地の土壤中微生物個体群指標及び遺伝子標的メタゲノミクスを用いた微生物群集構造の解析や、植物の成長に関与する根圏微生物由来の遺伝子や酵素の性質を明らかにし、低温バイオレメディエーション(ファイトレメディエーションを含む)の開発を行うことを目的とした。さらに、多様な難分解性有機化合物の冬季間処理技術へまでその利用可能性を広げた上で、重要な基礎データを提供することを目指した。

3. 研究の方法

(1) 微生物個体群指標及び遺伝子標的メタゲノミクスを用いた微生物群集構造の解明:

細菌と菌類の微生物個体群指標は北海道の高山地から調査した。土壤中の微生物個体群指標及びクローンライブラリーは、アルカンモノオキシダーゼ(C6~C16アルカン分解)、カテコール-2,3-ジオキシゲナーゼ(キシレンとトルエン分解)、ナフタレンジオキシゲナーゼ(ナフタレン分解)、ピリンオキシゲナーゼ(ピリン分解)及びリグニン・ペルオキシダーゼ及びマンガン・ペルオキシダーゼ(多環芳香族炭化水素)をコードする16Sあるいは18SリボソームRNA及び機能性遺伝子を使用した。増幅された細菌と菌類の16Sあるいは18S DNA、そして機能性遺伝子フラグメントはピロシーケンシング法(DNAポリメラーゼによる伸長反応を基本としたシーケンス手法)で分析した。

(2) 炭化水素の分解微生物(CHY-2株)由来の分解関与遺伝子の同定及び分解特性検討:

分解促進因子および阻害因子の明確化

他の電子受容体の影響、炭素源の影響、酸素の影響、ORPの影響、硝酸塩濃度の影響、至適初発温度およびpHの検討を行った。現在、この項目に含まれていない最大分解濃度や電子供与体の検討は完了している。

分解関与遺伝子の同定

アメリカ国立医学図書館附属国立生物学情報センターのヌクレオチド検索機能を用いて、炭化水素分解菌(寒冷型および非寒冷型分解菌)の遺伝子の塩基配列を得た。これらから選別して炭化水素分解遺伝子の塩基配列に基づいたプライマーを設計した。その後、遺伝子のクローニングを行った。

(3) 植物成長促進根圏細菌の効果検証:

栽培試験はポットやポリプロピレン製プランターを用いて実施した。ファイトレメディエーションに用いる植物種の選定においては、いくつかの条件が必要となるが、栽培期間削減のため、成長が速い寒冷期の遺存植物群を用いた。本研究では汚染物質が地表から60cm以内の浅い所で幅広く分布した場合を想定し実験を行った。ポットに汚染土壤環境(実証試験環境)を創出した後、これにスクリーニングで選定された細菌あるいは菌類を導入し、残存する汚染物質(石油系燃料油)の分析と解析を行った。また、微生物の増殖、フェノール性物質生産可否、根圏酵素活性を検討し、植物と微生物の相関関係を把握した。また、根圏土壤中の細菌単独もしくは菌類を用い、アルキルフェノールの分解能を検証した。

4. 研究成果

(1) 微生物個体群指標及び遺伝子標的メタゲノミクスを用いた微生物群集構造の解明:

高山地から採取した土壤から回収される極めて少量のDNAをMDA(Multiple Displacement Amplification)法を用いて全てのDNAを十分に増幅する技術を確立した。得られた土壤のDNAを用いて、SSH(Suppressive

Subtractive Hybridization)法によって高山地(低温域)土壤に多く存在している遺伝子を獲得し、この解析を進めた。解析には韓国朝鮮大学の協力によりパイロシーケンス法を導入することによって約 350 万 bp の塩基配列を極めて短時間で決定することが可能となった。この手法を用いて非低温域と低温域土壤を対象とした比較メタゲノム解析を実施した。その結果、クラスターにおける著しい違いが認められる遺伝子の存在は確認できなかった。この結果は、一般土壤で見られる菌が低温域においても同様に存在していることを示唆し、またそれらの菌が低温環境に順応し低温下においても分解能力を発揮しているものと推察した。現在約 150 個のクローンを作成し、これらについて塩基配列を順次決定している。塩基配列の決定には 16S rRNA 遺伝子の配列を用いた種の推定からその機能の推定を試みている。

(2) 炭化水素の分解微生物(CHY-2 株)由来の分解関与遺伝子の同定及び分解特性検討:

Penicillium sp. CHY-2 株の分解関与遺伝子を確認するために、真菌の代表的な三種類の酵素であるシトクロム P450 ヒドロキシラーゼ、リグニンペルオキシダーゼ、バニリルアルコールオキシダーゼについて検討を行なった。まず、遺伝子の増幅のため、ヌクレオチドプライマーを設計した。さらに、ゲノム DNA と mRNA を CHY-2 株から単離した。cDNA は mRNA から合成し、検討対象の三種の遺伝子増幅に用いた。その増幅遺伝子を BLAST 検索にかけた結果、バニリルアルコールオキシダーゼをコードする遺伝子は、*Penicillium chrysogenum* のゲノムと完全に一致した(GenBank:AM920427.1)。また、残りの二つの遺伝子は、*Penicillium* 以外の真菌類と一致した。

一方、CHY-2 株は 6 種のアルキルフェノール類及び 8 種の炭化水素類化合物に対して有意な分解活性を示した。さらに、グルコース(5.0 g/L)と Tween 80 (5.0 g/L)存在下において、CHY-2 株による炭化水素類化合物の分解における最適 pH と温度を検討した結果、それぞれ pH 6.0、20 °C の条件であった。また、CHY-2 株由来のマンガンペルオキシダーゼ(MnP)(図-1)を精製し、*n*-デカン、4-ブチルフェノールおよび 4-*tert*-ブチルフェノールの分解を確認した結果、分解活性がみられたため、精製された MnP が CHY-2 株によるアルキルフェノール類及び炭化水素類化合物の分解に関与していることが示唆された。また、SDS-PAGE 分析とゲル濾過クロマトグラフィー分析の結果から MnP の天然型がダイマーの立体配座を有することが示唆された。

CHY-2 株の 4 下におけるデカン分解の最適 pH 検討の結果、最適 pH は pH6 であった。培養後の GC によるデカン残存濃度の測定結果から、28 日間の培養で 4 下で最大 81% のデカンの分解が確認できた。また、4 下で

CHY-2 株による混合炭化水素類化合物(デカン、ブチルベンゼン、ドデカン、ナフタレン、アセナフテン、オクタン、エチルベンゼン、ベンゾ()ピレン)の有意な分解もみられた。混合炭化水素類化合物の分解がみられたことは注目すべき点であり、CHY-2 株が複数の炭化水素類化合物で汚染されている汚染現場に利用できる可能性が示唆された。

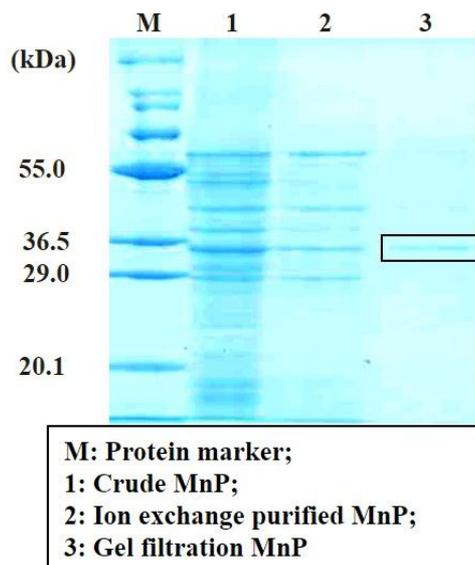


図-1. MnP の SDS-PAGE 分析

(3) 選定植物の根圏微生物の単離およびアルキルフェノール分解実験:

石油系炭化水素化合物(ブチルシクロヘキサン、エチルベンゼン、ブチルベンゼン、アセナフテン、2,2,4-トリメチルペンタン、オクタン、デカン、ドデカン、ナフタレン)を供した条件において、ギボウシとオダマキの耐性実験を行った結果、ギボウシは葉の変色がオダマキと比べて少なかった。そのため、微生物源としてギボウシの根圏土壤を選択した。また、ギボウシの根圏土壤菌の遺伝子解析による同定の結果、多様な細菌類及び真菌が根圏土壤に存在することが分かった。ギボウシの根圏土壤からは 30 種類の菌株(*Stenotrophomonas rizophila*, *Staphylococcus warneri*, *Bosea* sp., *Lysinbacillus fusiformis*, *Bosea* sp., *Paenibacillus* sp., *Lysinbacillus fusiformis*, *Lysinbacillus* sp., *Bacillus* sp., *Paenibacillus lautes*, *Bacillus weihenstephanensis* など)が単離され 20 株の同定を完了し、さらに 14 株の真菌類(カビ)を単離し(*Acidisoma tundraem*, *Trichoderma asperellum*, *Clonostachys rosea*, *Trichoderma virens*, *Penicillium verruculosum*, *Penicillium pinophilum*, *Acremonium cellulolyticus*, *Penicillium verruculosum*, *Penicillium aculeatum*, *Talaromyces pinophilus*, *Fungal endophyte voucher ARIZ*, *Penicillium verruculosum* など)その中、10 株の同定を完了した。

図-2と図-3より、単離した微生物のうち細菌類では4-tert-ブチルフェノールの生分解率が10%から20%を示したものが多く、一方で真菌類では生分解率が40%近い値となったものが存在していることが明らかとなった。

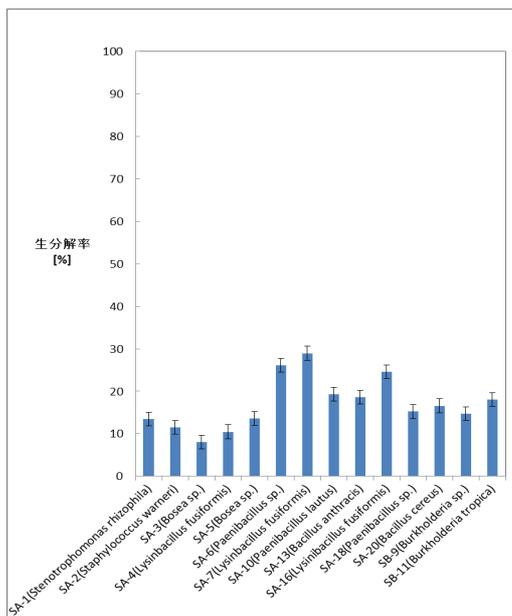


図-2. 根圏微生物(細菌)による4-tert-ブチルフェノール分解実験

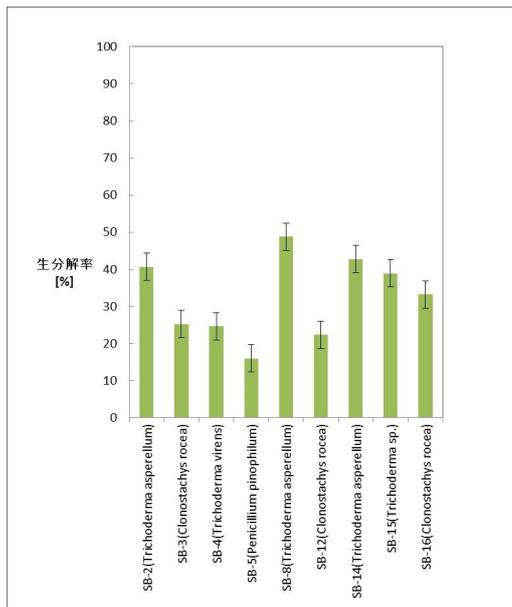


図-3. 根圏微生物(カビ)による4-tert-ブチルフェノール分解実験

特に真菌類では、SB-8株における生分解率が最も高く、この菌株は4-tert-ブチルフェノールに対する分解能を有する可能性が考えられる。そのほかにも、生分解率が30%近い細菌類や、一部を除く真菌類にもその分解能を有している可能性が推測される。

以上の結果より、ギボウシの根圏から単離された微生物は4-tert-ブチルフェノールに対する分解活性を示し、特に真菌類については、一部を除き4-tert-ブチルフェノールに対する分解能を有する可能性があることが示唆された。同時に、本研究で単離した根圏微生物は、4-tert-ブチルフェノールのような有機化合物の分解における重要な役割を果たすと考えられ、また高い生分解率を示した真菌類については、微生物による有機化合物の分解に大きく寄与していると推測された。

現在、単離した根圏菌を用いデカンの分解実験を行っており、一部の細菌とカビにおいて分解活性が確認された。

(4) 植物成長促進根圏細菌の効果検証:

植物の葉圏、根圏および内部に生息する微生物は様々な物質を放出し、植物の成長や形態形成に影響をおよぼしている。韓国農村振興庁の協力の下で寒天培地で育成しているシロイヌナズナの傍らに今回単離した根圏微生物の中から細菌7株、真菌3株、計10株選定し、それらをお互いが物理的に接触しないようにセットし、微生物から放出される揮発性物質によるシロイヌナズナ成長を調査した。その結果、試験した10種類の微生物の中、7種類の微生物が放出する揮発性物質はシロイヌナズナの生重量を2~3倍増加させることがわかった。また、放出される揮発性物質に対する応答の程度は微生物種によって異なっており、微生物から放出される様々な揮発性物質の混合物に植物の様々なシグナル伝達経路が応答していると考えられる。特に試した菌株の中、*Bacillus subtilis*の揮発性物質で処理した葉で遺伝子発現量が最も多かった。

植物の成長を促進する能力を持つPGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacterium) 細菌はそのほとんどが *Pseudomonas* として知られているが、*Anthrobacter*、*Alcaligenes*、*Serratia*、*Rhizobium*、*Agrobacterium* と *Bacillus* なども報告されている。植物ホルモンの分泌による植物成長促進と迅速な colonization によって植物の根付近に結晶化され、植物への病原菌の侵入を防ぐ。特に微生物が分泌する鉄キレート剤であるシデロフォア (siderophore) の作用によって、病原体が利用する鉄を吸着することにより、病原体の生育を阻害することが分かった。Emergen Bio社の SideroTec Kitを用いギボウシ根圏土壌中のシデロフォア濃度を測定した結果、ギボウシの成長がよかった鉢の方が5~8倍濃度が高いことが分かった。

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8件)

(1) Muthusamy Govarathanan, Soichiro Fuzisawa, Toshiki Hosogai, Young-Cheol Chang, Biodegradation of aliphatic and aromatic hydrocarbons using the filamentous fungus

Penicillium sp. CHY-2 and characterization of its manganese peroxidase activity, RSC Adv., 7, 20716–20723 (2017) DOI: 10.1039/c6ra28687a 「査読あり」

(2) M. Govarthanan, R. Mythili, T. Selvankumar, S. Kamala-Kannan, Dubok Choi, Young-Cheol Chang, Isolation and characterization of a biosurfactant-producing heavy metal resistant *Rahnella* sp. RM Isolated from chromium-contaminated soil, Biotechnology and Bioprocess Engineering, 22, 186-194 (2017) DOI: 10.1007/s12257-016-0652-0 「査読あり」

(3) M. Govarthanan, R. Mythili, T. Selvankumar, S. Kamala-Kannan, A. Rajasekar, Young-Cheol Chang, Bioremediation of heavy metals using an endophytic bacterium *Paenibacillus* sp. RM isolated from the roots of *Tridax procumbens*, 3Biotech, 6:242 (2016) DOI: 10.1007/s13205-016-0560-1 「査読あり」

(4) Young-Cheol Chang, Soichiro Fuzisawa, M. Venkateswar Reddy, Hikari Kobayashi, Eri Yoshida, Yuka Yajima, Tamotsu Hoshino, and DuBok Choi, Degradation of toxic compounds at low and medium temperature conditions using isolated fungus, CLEAN–Soil Air Water, 44, 992-1000 (2016) DOI: 10.1002/clen.201500753 「査読あり」

(5) Young-Cheol Chang, M. Venkateswar Reddy, Honoka Umemoto, Yuki Sato, Mi-Hye Kang, Yuka Yajima, Shintaro Kikuchi, Bio-augmentation of *Cupriavidus* sp. CY-1 into 2,4-D contaminated soil: microbial community analysis by culture dependent and independent techniques, PLoS ONE 10(12): e0145057 (2015) DOI: 10.1371/journal.pone.0145057 「査読あり」

(6) 藤澤宗一郎, 小林 ひかり, 吉田 愛里, 大平 勇一, M. Venkateswar Reddy, 張裕喆, 菊池 慎太郎, 南極由来の真菌 *Penicillium* sp. CHY-2 株による 4-ブチルフェノールの低温分解及び Tween 80 の効果に関する研究, 土木工学会論文集 G (環境), 71, 405-411 (2015) 「査読あり」

(7) 菅原 豪人, 小山 大貴, 澤田 研, 張裕喆, 菊池 慎太郎, *Aquamicrobium* sp. SK-2 株由来 Biphenyl 分解酵素 BphC の精製と分解特性, 土木工学会論文集 G (環境), 71, 413-419 (2015) 「査読あり」

(8) Young-Cheol Chang, Ken Sawada, Eun-Sook Kim, Kweon Jung, and Shintaro Kikuchi, Whole-Genome Sequence of *Aquamicrobium* sp. SK-2, A polychlorinated biphenyl-utilizing bacterium isolated from sewage sludge, Genome Announcements, Volume 3 Issue 3 e00439-15 (2015) DOI: 10.1128/genomeA.00439-15 「査読あり」

〔学会発表〕(計 14 件)

(1) M. Govarthana, R. Mythili, T. Selvankumar, S. Kamala-Kannan, Y. C. Chang, Enhanced bioremediation potential of *Pseudomonas* sp. RPT with biostimulant neem oil cake in

artificially contaminated soil, Proceedings of the 7th Forum on Studies of the Environmental and Public Health Issues in the Asian Mega-cities (EPAM2016), pp.178-179, 2016.9.1-9.2, Muroran Institute of Technology, Muroran, Hokkaido (Japan)

(2) Hideto Sugawara, Tatsuya Koike, Yuka Yajima, Ken Sawada, Young-Cheol Chang, Purification characteristics of a biphenyl-degrading enzyme from strain *Pseudomonas* sp. SK-1, Proceedings of the 7th Forum on Studies of the Environmental and Public Health Issues in the Asian Mega-cities (EPAM2016), pp.180-181, 2016.9.1-9.2, Muroran Institute of Technology, Muroran, Hokkaido (Japan)

(3) Soichiro Fuzisawa, Yuka Asano, Hikaru Fukuda, Toshiki Hosogai, Satoru Hayashi, Yuka Yajima, Young-Cheol Chang, Degradation of petroleum hydrocarbons using the fungus *Penicillium* sp. CHY-2 and bacteria *Pseudomonas aeruginosa* TW-1, Proceedings of the 7th Forum on Studies of the Environmental and Public Health Issues in the Asian Mega-cities (EPAM2016), pp.182-183, 2016.9.1-9.2, Muroran Institute of Technology, Muroran, Hokkaido (Japan)

(4) Rui Onodera, Honoka Umemoto, Yuki Nakamura, Yuka Yajima, Young-Cheol Chang, Degradation of 4-tert-butylphenol from the artificially contaminated soil using *Penicillium* sp. CHY-2, Proceedings of the 7th Forum on Studies of the Environmental and Public Health Issues in the Asian Mega-cities (EPAM2016), pp.184-185, 2016.9.1-9.2, Muroran Institute of Technology, Muroran, Hokkaido (Japan)

(5) Honoka Umemoto, M. Venkateswar Reddy, Yuka Yajima, Young-Cheol Chang, Characterization of *Cupriavidus* sp. CY-1 and its bio-augmentation into 2,4-D contaminated soil, Joint seminar on environmental science and disaster mitigation research (JSED), pp. 36-37, 2016.3.11, Muroran Institute of Technology, Muroran, Hokkaido (Japan), Muroran, Hokkaido (Japan)

(6) Hideto Sugawara, Tatsuya Koike, Yuka Yajima, Ken Sawada, Young-Cheol Chang, Purification and characteristics of a Biphenyl-degrading enzyme BphC from strain SK-2, Joint seminar on environmental science and disaster mitigation research (JSED), pp. 40-41, 2016.3.11, Muroran Institute of Technology, Muroran, Hokkaido (Japan)

(7) Soichiro Fuzisawa, Yuka Yajima, Young-Cheol Chang, Biodegradation of 4-butylphenol at low temperature conditions using the isolated fungi, Joint seminar on environmental science and disaster mitigation research (JSED), pp. 38-39, 2016.3.11, Muroran Institute of Technology, Muroran, Hokkaido

(Japan)

(8) 小野寺瑠依, 梅本穂乃香, 矢島 由佳, 張 倅喆, *Penicillium* sp. CHY-2 株による模擬汚染土壌中の 4-*tert*-ブチルフェノール分解特性, 第 68 回日本生物工学会年次大会講演集, p. 196, 2016.9.28-9.30, 富山国際会議場, 富山市(富山県)

(9) 中屋江梨花, M. Venkateswar Reddy, 矢島由佳, 張 倅喆, *P. pseudoflava* および *P. palleroni* による芳香族化合物の生物分解に関する研究, 第 68 回日本生物工学会年次大会講演集, p. 304, 2016.9.28-9.30, 富山国際会議場, 富山市(富山県)

(10) 藤澤宗一郎, 小林 ひかり, 吉田 愛里, 大平 勇一, M. Venkateswar Reddy, 張 倅喆, 菊池 慎太郎, 南極由来の真菌 *Penicillium* sp. CHY-2 株による 4-ブチルフェノールの低温分解及び Tween 80 の効果に関する研究, 第 52 回環境工学フォーラム, p. 405, 2015.11.27-11.29, 日本大学工学部, 郡山市(福島県)

(11) 菅原 豪人, 小山 大貴, 澤田 研, 張 倅喆, 菊池 慎太郎, *Aquamicrobium* sp. SK-2 株由来 Biphenyl 分解酵素 BphC の精製と分解特性, 第 52 回環境工学フォーラム, p. 413, 2015.11.27-11.29, 日本大学工学部, 郡山市(福島県)

(12) Eri Yoshida, Mizuho Yamauchi, A. Giridhar Babu, Tamotsu Hoshino, Young-Cheol Chang, Shintaro Kikuchi, Characterization of a 4-butylphenol-degrading microorganism isolated from the Antarctic soil, Joint seminar on environmental science and disaster mitigation research (JSED), 2014. 3.07, 35-36, Muroran Institute of Technology, Muroran, Hokkaido (Japan)

(13) 吉田 愛里, 山内 瑞穂, 星野 保, 張 倅喆, 菊池 慎太郎, 南極由来真菌による 4-ブチルフェノール分解特性, 第 66 回日本生物工学会大会講演要旨集, pp.224 (3p-120) 2014.9.9-9.11, 北海道大学, 札幌市(北海道)

(14) Yuki Sato, Honoka Umemoto, Young-Cheol Chang, Shintaro Kikuchi, 2,4-D 分解菌 Y1 株による汚染土壌浄化における微生物相の多様性評価, 環境微生物系学会合同大会, p. 93, 2014.10.21-10.24, アクトシティ浜松コングレスセンター, 浜松市(静岡県)

〔図書〕(計 1 件)

張 倅喆ら, 北海道新聞社, 室蘭工大未来をひらく技術と研究, 微生物の機能を利用したバイオテクノロジー, 室蘭工業大学, pp.109-115, (2014 年 07 月)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称: 汚水処理方法

発明者: チャン ヨンチョル

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特許願 2016-141923 号

出願年月日: 平成 28 年 7 月 19 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

公開用研究者データベース RD-Soran

<http://rdsoran.muroran-it.ac.jp/search?m=home&l=ja>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

張 倅喆 (CHANG, Young-Cheol)

室蘭工業大学・工学研究科・教授

研究者番号: 30422025