

平成 21 年 5 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 (B)  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18370037  
 研究課題名 (和文) 管状マスチゴネマの起源の探索とその多様性から見たクロミスタ系統群の進化系統  
 研究課題名 (英文) Origin of tripartite tubular mastigonemes and phylogeny of the Chromista lineage deduced from mastigoneme gene divergence  
 研究代表者  
 川井 浩史 (KAWAI HIROSHI)  
 神戸大学・自然科学系先端融合研究環内海域環境教育研究センター・教授  
 研究者番号：30161269

## 研究成果の概要：

黄金藻 *Ochromonas danica* から単離した鞭毛からレクチンにより管状マスチゴネマの単離・精製を行い、構成タンパク質のアミノ酸配列を解析した。得られたアミノ酸配列から抗体を作製し、蛍光抗体法によりその局在部位を解析するとともに、DNA 塩基配列を決定しマスチゴネマ構成タンパク質 Ocm1-4 の遺伝子を決定した。またこの遺伝子情報によりストラメノパイル系統群の系統解析を行ったほか、遺伝子導入系の確立に向けた検討を行った。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	7,000,000	2,100,000	9,100,000
2007年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2008年度	3,200,000	960,000	4,160,000
年度			
年度			
総計	14,700,000	4,410,000	19,110,000

## 研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

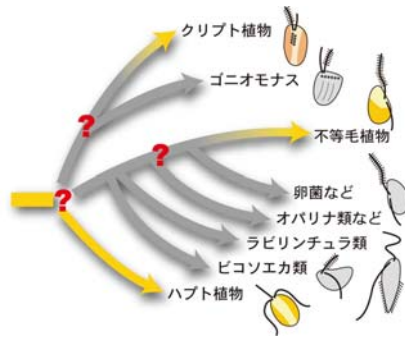
キーワード：不等毛藻類、黄金色藻、クロミスタ、マスチゴネマ、新規タンパク質、ストラメノパイル、オクロモナス、褐藻

## 1. 研究開始当初の背景

褐藻類、珪藻類などの不等毛藻類 (黄色植物) は二次細胞内共生により葉緑体を獲得した光合成生物の一系統群であるが、不等毛藻類はさらに葉緑体を持たない原生動物やラビリンチュラ類を含むストラメノパイル系統群に含まれる。これらの生物はいずれも2本ある鞭毛のうち長鞭毛だけに付随し、基部、管状部、先端毛の3つの部分から構成されるマスチゴネマ (3部構成管状マスチゴネマ) を持つことにより特徴づけられる。この不等毛藻類またはストラメノパイル系統群は緑色植物全体に匹敵する大きな系統群であるが、過去10年間に10近い新しい綱が設立さ

れたことに示されるようにその系統分類学的研究はきわめて不十分である。また、最も重要な形質である管状マスチゴネマの起源や、その構成タンパク質や遺伝子などについてはほとんど研究がなされていない。一方、ストラメノパイル系統群と同じく2次細胞内共生に起源する葉緑体を有するクリプト藻類とハプト藻類をまとめてクロミスタとして扱うとの見解もあり、このうちクリプト藻は管状マスチゴネマを持つが、その構造は2部構成管状であり、ストラメノパイルのマスチゴネマとの類縁は不明である。一方、ストラメノパイル系統群では、ピコソエカ類などの葉緑体を持たない系統群がより祖先的

であり、これらの原生動物が葉緑体を獲得することにより不等毛藻類が成立したとの解析結果も示されており、その初期進化は不明な部分が多い。



## 2. 研究の目的

以上の背景から本研究ではこの管状マスタチゴネマに着目し、構成タンパク質のアミノ酸および遺伝子塩基配列を決定し、この遺伝子を用いたクロミスタ生物群の分子系統学的解析を行うほか、細胞内におけるマスタチゴネマの形成と鞭毛形成時における鞭毛への選択的付着過程の比較解析を行うことを目的として行った。

## 3. 研究の方法

ストラメノパイルおよびクリプト藻類におけるマスタチゴネマ研究の好適材料の探索・株確立を行った。ピコソエカ類、*Developayella*、ペラゴ藻、黄金色藻、ディクティオカ藻、*Cryptomonas*、*Rhodomonas*、*Plagioselmis*、*Chromoans* 等の株を系統株保存施設から購入または野外サンプルから確立し、マスタチゴネマタンパク質調査の実験材料とした。

黄金色藻 *Ochromonas danica* の大量培養系から鞭毛を単離・回収し、界面活性剤処理による鞭毛膜分画・精製後、レクチンにより管状マスタチゴネマの単離・精製を行い、構成タンパク質のアミノ酸配列を解析した。得られたアミノ酸配列から抗体を作製し、蛍光抗体法によりタンパク質の局在部位を解析するとともに、ディジェネレートプライマーにより DNA 塩基配列を決定した。ペラゴ藻、ラフィド藻、褐藻、シゾクラディア藻、ピコソエカ類の大量培養をおこない、RACE 法によりオルソログを単離した。また、塩基配列情報からこれらの系統群の分子系統学的解析を行った。

## 4. 研究成果

黄金色藻 *Ochromonas danica* における三部構成管状マスタチゴネマ遺伝子の単離同定

*Ochromonas danica* では管状マスタチゴネマ分画の二次元電気泳動解析により、三部構成管状マスタチゴネマは少なくとも 5 つのタンパク質から構成されることが明らかとなった。これらのうち 83 kDa のスポットにおいて、V8 プロテアーゼを用いたペプチドマッピング

後、内部配列を決定し、また RACE 法により 83 kDa タンパク質の遺伝子を決定した。推定アミノ酸配列は複数のシステイン残基を含む 4 つの EGF-like ドメイン (動物などの細胞の細胞外基質タンパク質などに良くみられる) を有していた。83 kDa タンパク質について人工ペプチドを作製し、ウサギポリクローナル抗体を作製した。間接蛍光抗体法により、83 kDa タンパク質は三部構成管状マスタチゴネマの軸部に局在することが明らかとなり、当該タンパク質を *Ocm1* と命名した。二次元電気泳動によるその他のスポットは発現量や N 末端の修飾などにより、アミノ酸配列の解析が不可能であった。三部構成マスタチゴネマにおける基部、先端毛を含めたその他の構成タンパク質を同定するため、*Ocm1* の EGF-like ドメインにおいてディジェネレートプライマーを作製し、類似遺伝子の単離をおこなった。*Ocm1* に相同性を持つ 3 つの遺伝子 (*Ocm2*, *Ocm3*, *Ocm4*) が単離され、これらの推定アミノ酸配列は、*Ocm1* と比較してサイズは異なるものの、その構造は EGF-like ドメイン 4 つ有しており、*Ocm1* のそれによく類似していた。また、推定アミノ酸配列から作製されたポリクローナル抗体を用いることにより、*Ocm2* および *Ocm3* は基部構成タンパク質、*Ocm4* は軸部構成タンパク質であることが明らかとなった。

ストラメノパイル系統群における *Ocm* のオルソログ単離

*Ankyrochrysis* sp. では 3 つの (*AnkOcm1*, *AnkOcm2*, *AnkOcm3*)、*Heterosigma akashio* では 2 つ (*HetOcm1*, *HetOcm3*)、シオミドロでは 3 つ (*EctOcm1*, *EctOcm2*, *EctOcm3*)、*Schizocladia ischiensis* では 1 つ (*SchOcm3*) のオルソログが単離された。単離されたオルソログはすべてその配列内に 4 つの EGF-like ドメインを有しており、構造の維持など重要な機能ドメインであることが予測された。EGF-like ドメイン以外の領域は、非常に進化速度が速く、網間での相同性はほとんど確認されなかった。しかしながら、EGF-like ドメインを含む領域の相同性は高く、分子系統解析における有用なマーカーに成りうると思われた。

マスタチゴネマ遺伝子を用いた褐藻系統解析

褐藻 11 目 13 種において *Ocm3* のオルソログが単離された。解析の結果、褐藻類 11 目の *Ocm3* 推定アミノ酸配列は 93% の相同性を示し、いずれの目においても同じ箇所には 4 カ所のイントロンが見いだされた。このイントロン配列の進化速度は非常に速く、異なる目の種間でのアライメントは困難であったが、属内の複数の系統間ではイントロン配列内に多数のギャップが存在しており、このギャップ情報は塩基情報に加え、系統解析において有用な分類形質となりうることを示唆さ

れた。この遺伝子の塩基配列情報を用いて褐藻のモデル生物であるシオミドロの系統解析を行った結果、シオミドロ属は *Ocm3* インترون配列は gap (in/del) 構造から少なくとも 8 つのタイプに大別された。これらのタイプは *EcOcm3* インترونの塩基情報に基づく分子系統樹およびミトコンドリア *cox3* 遺伝子に基づく分子系統樹の主要なクレードと高い相関を示した。また indel 情報から MCIC 法により構築した分子系統樹はこの結果を強く支持した。これらの結果から、シオミドロ属は少なくとも 8 つの、おそらく種に相当する分類群を含むことが示唆された。また *Ocm3* インترون配列のギャップは系統解析に有用な情報を多く含んでおり、今後、各クレードの分岐順序の解析や PCR 産物の塩基長比較による簡便な種同定法の開発に利用が可能であると考えられる。

#### クリプト藻 *Pyrenomonas* におけるマスチゴネマの単離・同定

クリプト藻類 *P. helgorandii* (SAG) の大量培養をおこない、クラミドモナスの pH ショック法を応用した鞭毛の単離法を確立した。また、鞭毛膜分画の二次元電気泳動解析により、マスチゴネマ由来と考えられる複数のスポットを特定した。

#### 黄金色藻 *Ochromonas* を対象とした遺伝子導入系の開発

*Ochromonas* を材料に、遺伝子導入系に向けての EST 解析とその基礎実験を行った。活発に細胞分裂を行っている *Ochromonas* から RNA を抽出し、cDNA ライブラリーを作成した。その後、522 クローンの EST データについて解析を行った。522 クローンのうち他の真核細胞の遺伝子と高い相同性を示す 278 クローンについて機能別に分けたところ、代謝関連 (32%)、遺伝子・タンパク質発現関連 (19%)、リボソーム関連 (16%)、細胞構造 (9%)、ミトコンドリア・葉緑体関連 (7%)、細胞防御関連 (7%)、細胞分裂関連 (2%)、細胞シグナル関連 (2%) であった。なお、マスチゴネマ関連遺伝子 (*Ocm*) としては *Ocm1* を含めて 3 種類が含まれていた。*Ochromonas* のコドンユースは、同じ不等毛藻類に属する珪藻 *Thalassiosira pseudonana* に最も近いものであった。さらに、*Ochromonas* における Kozak 配列、polyA シグナルや葉緑体移行シグナルなどの特徴を明らかにした。*Ochromonas* は細胞壁を持たない単細胞藻類であるため、遺伝子導入法の候補として PEG 法、ガラスビーズ法、パーティクルボンバードメント法、エレクトロポレーション法が考えられたが、今回はエレクトロポレーション法に焦点を絞り条件解析を行った。遺伝子導入に用いるプラスミドの分子量が約 300 万程度であることを考慮に入れ、エレクトロポレーションによる遺伝子

導入のための予備実験として、蛍光色素である FITC あるいはローダミン標識の分子量 1 万、50 万、200 万のデキストランを用いて、これらのデキストランが細胞内に入る電気的條件 (電圧、抵抗、静電容量) を決定した。その結果 500-700V の電圧下で 2-3 回のパルス処理により高い頻度で細胞内にデキストランが取り込まれることが明らかになった。今回の遺伝子発現解析から発現頻度の高い遺伝子は最も高いものから順に、elongation factor-1a(8), actin (4), a-tubulin (3), adenosylhomocysteinase (3), b-glucosidase (3), CREG2 (3), 40S ribosomal protein S2 (3), 60S ribosomal protein L27 (3), b-tubulin (2), heat shock protein 70 (2) であった。これらの中から elongation factor-1a,  $\beta$ -tubulin heat, shock protein 70 遺伝子の開始コドンから約 1000bp 上流までのプロモータ領域とターミネーター領域の間に GFP 遺伝子あるいは GUS 遺伝子をつなげた幾つかの遺伝子導入用コンストラクトを作成し、上記の予備実験から得られた種々の条件でエレクトロポレーションを行った。しかしながら現時点において顕著な GFP 遺伝子・GUS 遺伝子の発現は確認されなかった。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 38 件)

- (1) Yamagishi, T., Motomura, T., Nagasato, C., Kawai, H. Novel proteins composing the stramenopile tripartite mastigoneme in *Ochromonas danica* (Chrysophyceae). *J. Phycol.* In press (2009) 査読有
- (2) Yoshida, M., Nakayama, T. Inouye, I. *Nuclearia thermophila* sp. nov. (Nucleariidae), a new nucleariid species isolated from Yunoko Lake in Nikko (Japan). *European Journal of Protistology* in press. (2009) 査読有
- (3) Yamaguchi, T., Prabowo, R. E., Ohshiro, Y., Shimono, T., Jones, D., Kawai, H., Otani, M., Oshino, A., Inagawa, S., Akaya, T., Tamura, I. 2009. The introduction to Japan of the Titan barnacle, *Megabalanus coccopoma* (Darwin, 1854) (Cirripedia: Balanomorpha) and the role of shipping in its translocation. *Biofouling*. In press (2009) 査読有
- (4) Katsaros, C., Motomura, T., Nagasato, C., Galatis, B. Diaphragm development in cytokinetic vegetative cells of brown algae. *Bot. Mar.* 52:150-161. (2009) 査読有
- (5) Ueki, C., Nagasato, C., Motomura, T., Saga, N. Ultrastructure of mitosis and cytokinesis during spermatogenesis in *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta). *Bot. Mar.* 52:129-139. (2009) 査読有
- (6) Nagasato, C., Motomura, T. Effect of latrunculin B and brefeldin A on cytokinesis in

- the brown alga, *Scytosiphon lomentaria* (Scytosiphonales, Phaeophyceae). *J. of Phycol.* 45:404-412. (2009) 査読有
- (7) Motomura, T., Nagasato, C. Functional and non-functional spindle formation affecting mitosis and cytokinesis in *Fucus distichus* zygotes: the role of the centrosome. *Bot. Mar.* 52:140-149. (2009) 査読有
- (8) Niwa, K., Iida, S., Kato, A., Kawai, H., Kikuchi, N., Kobiyama, A., Aruga, Y. Genetic diversity and introgression in two cultivated species (*Porphyra yezoensis* and *P. tenera*) and closely related wild species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Phycol.* 45: 493-502. (2009) 査読有
- (9) Uwai, S., Kogame, K., Yoshida, G., Kawai, H., Ajisaka, T. Geographical genetic structure and phylogeography of the *Sargassum horneri/filicinum* complex in Japan, based on the mitochondrial *cox3* haplotype. *Marine Biology* 156:901-11. (2009) 査読有
- (10) Kato, A., Guimarães, S.M.P.B., Kawai, H., Masuda, M. Characterization of the crustose red alga *Peyssonnelia japonica* (Rhodophyta, Gigartinales) and its taxonomic relationship with *P. boudouresquei* based on morphological and molecular data. *Phycol. Res.* 57: 74-86. (2009) 査読有
- (11) Ueki, C., Nagasato, C., Motomura, T. and Saga, N. Reexamination of the Pit Plugs and the Characteristic Membranous Structures in *Porphyra Yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta). *Phycologia* 47: 5-11. (2008) 査読有
- (12) Ni-Ni-Win, Hanyuda, T., Arai, S., Uchimura, M., Abbott, I.A., Kawai, H. New records of *Padina* species from the western coast of the Pacific Ocean. *Phycol. Res.* 56:288-300. (2008) 査読有
- (13) Kawai, H., Hanyuda, T., Lindeberg, M., Lindstrom, S.C. 2008. Morphology and molecular phylogeny of *Aureophycus aleuticus* gen. et sp. nov. (Laminariales, Phaeophyceae) from the Aleutian Islands. *J. Phycol.* 44: 1013-21. (2008) 査読有
- (14) Ikuta, K., Kawai, H., Müller, D.G., Ohama, T. 2008. Recurrent invasion of mitochondrial group II introns in specimens of *Pylaiella littoralis* (brown alga), collected worldwide. *Current Genetics* 53: 207-16. (2008) 査読有
- (15) Tang, J.C., Xiao Y., Oshima, A., Kawai, H., Nagata, S. 2008. Disposal of seaweed wakame (*Undaria pinnatifida*) in composting process by marine bacteria *Halomonas* sp. AW4. *Int. J. Biotechnology* 10: 73-85. (2008) 査読有
- (16) Niwa, K., Kato, A., Kobiyama, A., Kawai, H., Aruga, Y. 2008. Comparative study on wild and cultivated *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) based on molecular phylogeny and morphology. *J. Appl. Phycol.* 20: 261-70. (2008) 査読有
- (17) Kawai, H., Shimada, S., Hanyuda, T., Suzuki, T., Gamagori City Office. Species diversity and seasonal changes of dominant *Ulva* species (Ulvales, Ulvophyceae) in Mikawa Bay, Japan, deduced from ITS2 rDNA region sequences. *Algae* 22: 222-30. (2007) 査読有
- (18) Shimono, T., Iwasaki, N., Kawai, H. A new species of *Dactylopusioides* (Copepoda: Harpacticoida: Thalestridae) infesting brown algae, and its life history. *Zootaxa* 1582: 59-68. (2007) 査読有
- (19) Cho, G.Y., Kogame, K., Kawai, H., Boo, S.M. Genetic diversity of *Scytosiphon lomentaria* (Scytosiphonaceae, Phaeophyceae) from the Pacific and Europe based on RuBisCO large subunit and spacer, and ITS nrDNA sequences. *Phycologia* 46: 657-65. (2007) 査読有
- (20) Lim, P.E., Sakaguchi, M., Hanyuda, T., Kogame, K., Phang, S.-M., Kawai, H. Molecular phylogeny of crustose brown algae (Ralfsiales, Phaeophyceae) inferred from *rbcL* sequences resulting in proposal for Neoralfsiaceae fam.nov. *Phycologia* 46: 456-66. (2007) 査読有
- (21) Aguilar-Rosas, L.E., Aguilar-Rosas, R., Kawai, H., Uwai, S., Valenzuela-Espinoza, E. New record of *Sargassum filicinum* Harvey (Fucales, Phaeophyceae) in the Pacific Coast of Mexico. *Algae* 22: 17-21. (2007) 査読有
- (22) Kawai, H., Kamiya, M., Komatsu, T., Nakaoka, M., Yamamoto, T., Marine Research Group of Takeno. Ten years' monitoring of intertidal macroalgal vegetation of Hyogo Prefecture, northwestern coast of Honshu, Japan to assess the impact of the *Nakhodka* oil spill. *Algae* 22: 37-44. (2007) 査読有
- (23) Ohtani, M., Ohmi, T., Uwai, S., Hanyuda, T., Prabowo, R.E., Yamaguchi, T., Kawai, H. Occurrence and diversity of barnacles on international ships visiting Osaka Bay, Japan, and their risk of introduction. *Biofouling* 23: 277-86. (2007) 査読有
- (24) Uwai, S., Arai, S., Morita, T., Kawai, H. Genetic distinctness and phylogenetic relationships among *Undaria* spp. based on mitochondrial *cox3* sequence. *Phycol. Res.* 45: 687-95. (2007) 査読有
- (25) Yamagishi, T., Motomura, T., Nagasato, C., Kato, A., Kawai, H. A tubular mastigoneme-related protein *ocm1* isolated from the flagellum of a chromophyte alga *Ochromonas danica*. *J. Phycol.* 43: 519-27. (2007)
- (26) Tanaka, A., Nagasato, C., Uwai, S.,

- Motomura, T., Kawai, H. Reexamination of ultrastructures in the stellate chloroplasts of brown algae; *Splachnidium rugosum*, *Scytothamnus australis*, *Asteronema ferruginea* and *Asterocladon interjectum* (Phaeophyceae). *Phycol. Res.* 55: 203-13. (2007) 査読有
- (27) Yamada, M., Yamamoto, K., Ushihara, Y., Kawai, H. Variation in metal concentrations in the brown alga *Undaria pinnatifida* in Osaka Bay, Japan. *Phycol. Res.* 55: 222-30. (2007) 査読有
- (28) Tang, J.C., Wei, J.-H., Maeda, K., Kawai, H., Zhou, Q., Hosoi-Tanabe, S., Nagata, S. Degradation of seaweed wakame (*Undaria pinnatifida*) by composting process with inoculation of *Bacillus* sp. HR6. *Biocontrol Science* 12: 47-54. (2007) 査読有
- (29) Ajisaka, T., Kim, S.-H., Uwai, S., Kawai, H. *Cladosiphon umezakii* sp. nov. (Ectocarpales, Phaeophyceae) from Japan. *Phycol. Res.* 55: 203-13. (2007) 査読有
- (30) Miller, K. A., Engle J., Uwai S., Kawai, H. First report of the Asian seaweed *Sargassum filicinum* Harvey (Fucales) in California, USA. *Biol. Invasions* 9: 609-13. (2007) 査読有
- (31) Kawai, H., Hanyuda, T., Draisma, S.G.A., Müller, D.G. Molecular phylogeny of *Discosporangium mesarthrocarpum* (Phaeophyceae) with a reassessment of the order Discosporangiales. *J. Phycol.* 43: 186-94. (2007) 査読有
- (32) Sasaki, H., Kawai, H. Taxonomic revision of the genus *Chorda* (Chordaceae, Laminariales) based on sporophyte anatomy and molecular phylogeny. *Phycologia* 46:10-21. (2007) 査読有
- (33) Uemori, C., Nagasato, C., Kato, A. and Motomura, T. Ultrastructural and immunocytological studies on the rhizoplast in the chrysophycean alga *Ochromonas danica*. *Phycol. Res.* 54:133-9. (2006) 査読有
- (34) Kato, A., Baba, M., Kawai, H., Masuda, M. Reassessment of the little-known crustose red algal genus *Polystrata* Heydrich (Gigartinales), based on morphology and SSU rDNA sequences. *J. Phycol.* 42: 922-33. (2006) 査読有
- (35) Uwai, S., Nelson, W., Neill, K., Wang, W. D., Aguilar-Rosas, L.E., Boo, S.M., Kitayama, T., Kawai, H. 2006. Genetic diversity in *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyceae) deduced from mitochondria genes – origins and succession of introduced populations. *Phycologia* 45: 687-95. (2006) 査読有
- (36) Sasaki, H., Ishida, A., Hashimoto, Y., Takeda, S., Oshima, A., Kawai, H., Nagata, S. Utilization of proline in *Escherichia coli* K-12 at different osmolarities. *J. Biol. Sci.* 6: 675-9. (2006) 査読有
- (37) Yamada, M., Yamamoto, K., Ushihara, Y., Kawai, H. A survey of organic solvent extractable metal concentrations in the bottom sediment in Osaka Bay, Japan. *Mar. Poll. Bull.* 52: 214-38. (2006) 査読有
- (38) Yano, T., Kamiya, M., Murakami, A., Sasaki, H., Kawai, H. Biochemical phenotypes corresponding to molecular phylogeny of the red algae *Plocamium* (Plocamiales, Rhodophyta): implications of incongruence with the conventional taxonomy. *J. Phycol.* 42: 155-69. (2006) 査読有
- [学会発表] (計 76 件)
- (1) Kawai H. and Yamagishi T. Macroalgal cryopreservation in Kobe University macroalgal culture collection (KU-MACC). Algal Culture Collection 2008. Oban, Scotland, UK, June, 8-11, 2008.
- (2) Yamagishi T., Hanyuda T., Takagi R., Müller D. G. and Kawai, H. Structural diversity of the EcOcm3 gene introns in *Ectocarpus* spp. *Ectocarpus* 2008. Ectocarpus 2008. Oban, Scotland, UK, June 4-8, 2008.
- (3) Yamagishi T. and Kawai H. Flagella-related gene annotation. *Ectocarpus* genome project annotation meeting. Oban, Scotland, UK, June 3-4, 2008.
- (4) Yamagishi, T., Motomura, T., Nagasato, C., Kawai, H. Identification of the proteins composing the tripartite tubular mastigoneme in a chromophyta alga, *Ochromonas danica*. 4<sup>th</sup> European Phycological Congress. Oviedo, Spain, 23-27 July 2007.
- (5) Hanyuda, T., Drasima, S.G., Müller, D.G. 2006. Molecular phylogeny of *Discosporangium mesarthrocarpum* (Phaeophyceae) with a reassessment of the order Discosporangiales. The 2006 annual meeting of Phycological Society of America. 7-12 July 2006. Juneau, Alaska, U.S.A.
- [他 71 件]

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

川井 浩史 (KAWAI HIROSHI)

神戸大学・自然科学系先端融合研究環内海域

環境教育研究センター・教授

研究者番号：30161269

### (2) 研究分担者

山岸 隆博 (YAMAGISHI TAKAHIRO)

神戸大学・自然科学系先端融合研究環重点研

究部・助教

研究者番号：30379333

本村 泰三 (MOTOMURA TAIZO)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学セン

ター・教授

研究者番号：30183974

中山 剛 (NAKAYAMA TAKESHI)

筑波大学・大学院生命環境科学研究科・講師

研究者番号：40302369