

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月10日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2008～2011

課題番号：20248009

研究課題名（和文）微生物の新規窒素代謝系の解明

研究課題名（英文）Elucidation of novel nitrogen metabolisms of microbes

## 研究代表者

祥雲 弘文 (SHOUN HIROFUMI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・名誉教授

研究者番号：70012036

研究成果の概要（和文）：真菌（カビ）と細菌（放線菌と脱窒細菌）の新規な窒素代謝系の研究を行った。カビ脱窒系では亜硝酸還元酵素 NirK の遺伝子取得に成功し、その研究を通じてミトコンドリアの起源と進化に関して新たな視点をもたらした。さらに、カビの共脱窒、*S. coelicolor* の新規窒素代謝、N<sub>2</sub>O 発生抑制型脱窒菌である *P. stutzeri* TR2 株の脱窒特性および生残性に関して、詳細な解析を行った。

研究成果の概要（英文）：We studied novel nitrogen metabolisms of Eukaryotic microbes (fungi) and Bacteria (Actinomycetes and denitrifier). For the fungal denitrification system, we succeeded in obtaining the gene for nitrite reductase (*nirk*), providing a novel point of view about the origin and evolution of mitochondria. In addition, we studied fungal codenitrification, a novel nitrogen metabolism of *S. coelicolor*, and the characteristics and survival of *P. stutzeri* TR2.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2009年度	9,800,000	2,940,000	12,740,000
2010年度	9,300,000	2,790,000	12,090,000
2011年度	8,600,000	2,580,000	11,180,000
年度			
総計	35,700,000	10,710,000	46,410,000

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：微生物代謝、窒素代謝

## 1. 研究開始当初の背景

生命による無機窒素循環系である窒素サイクルは地上における主要な物質循環系の一つとして、また生命への窒素供給源として、生物圏において重要な役割を果たしている。研究代表者らは真菌 *Fusarium oxysporum* の脱窒の発見を皮切りに、近年、カビの普遍的な脱窒、カビのアンモニア発酵、放線菌の脱窒など、窒素サイクルに関わる新規代謝あるいは新規メンバーを多数見出し、微生物に

よる窒素サイクルが従来知られていたものより遥かに多彩であることを明らかにしてきた。

## 2. 研究の目的

本研究では、上記の発見をさらに発展させ、微生物窒素代謝の総合的理解のための基盤を創成することを目的とし、それらの分子機構を明らかにする

### (1) カビ脱窒系

脱窒系は硝酸イオンを二原子窒素にまで還元する4段階より構成される ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ )。これまで研究代表者らは3番目の一酸化窒素(NO)還元がP450norにより行われることを明らかにしてきた。本研究では2番目の亜硝酸( $\text{NO}_2^-$ )還元酵素(NirK)の遺伝子を取得し、その性質を調べる。

### (2) フラボヘモグロビン(Fhb)の生理機能

Fhbは真核および原核微生物に普遍的に分布し、酵素活性としてNOジオキシゲナーゼ(NOD)活性( $\text{NO} + \text{O}_2 + e^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ )を示すことが知られている。麹菌 *Aspergillus oryzae* ゲノムに存在する2種類のFhb遺伝子の生理機能を解明する。

### (3) 共脱窒

共脱窒現象はカビ脱窒に付随する興味深い反応で、亜硝酸と他の窒素化合物(アミノ酸などの窒素ドナー)からハイブリッドの $\text{N}_2$ を生成する。しかし、類似の反応が非生物学的にも起こる。カビ共脱窒反応が生理反応であるかどうかを検討し、その反応の詳細を明らかにする。

### (4) 放線菌の新規窒素代謝

放線菌は多くの人類の役に立つ抗生物質や抗寄生虫薬、抗がん剤、免疫抑制剤などを生産するため、人類にとって非常に有用であり、世界中で多くの研究者の研究対象とされている。これまで絶対好気性細菌とされてきた土壌細菌である *Streptomyces* 属放線菌から、嫌氣的に生育可能な *S. antibioticus* を見出した。興味深いことに本菌は、通性嫌気性放線菌という特徴のみならず、これまでに報告例の無い実にユニークな新規代謝系を有していた。この代謝系は生体内で有機体窒素から無機窒素酸化物を生成する代謝系であり、NOD活性を持つFhbと膜結合型硝酸還元酵素(dNar)の2つの酵素が関与していると考えられる。Fhb及びdNarはこれまで様々な細菌で研究されているが、本菌のこの2つの酵素はいずれも、発現条件が既知のあらゆる知見と全く異なっており、本新規代謝系との関わりのある結果が得られたことは非常に興味深い。全塩基配列の解析が終了している *S. coelicolor* について検証したところ *S. antibioticus* と同様の現象を確認したため、*S. coelicolor* について分子生物学的手法を用い本新規代謝の意義を検証することとした。本研究は、放線菌の新規な窒素代謝系を分子レベルで明らかにして、地球上の窒素サイクルの新たな学術的知見を得ることを目的とする。また、各種発酵生産における放線菌の通気などによる生育制御や、本代謝系を

利用した排水処理技術の開発などの応用が期待できる。

### (5) $\text{N}_2\text{O}$ 発生抑止型脱窒菌

廃水処理の過程で強力な温室効果ガスである  $\text{N}_2\text{O}$  が発生することはよく知られている。その主要因がどのような微生物によるものなのかを明らかにする。さらに、好気条件において  $\text{N}_2\text{O}$  の放出が少ない微生物(脱窒エキスパート)について、既已取得している *Pseudomonas stutzeri* TR2株の特性を排水処理条件において詳細に検討しつつ、より強力な新規微生物の探索を行う。

## 3. 研究の方法

### (1) カビ脱窒系

強力な脱窒真菌 *F. oxysporum*、*Cylindrocapon tonkinense* と麹菌 *A. oryzae* から、特定の誘導条件で特異的に発現する遺伝子を取得する suppression subtractive hybridization (SSH) 法により *nirK* 遺伝子を取得した。これらの遺伝子の異種宿主での発現と蛋白質の精製、各種脱窒条件での発現解析、他の生物由来の *nirK* 遺伝子との分子系統樹解析を行った。

### (2) Fhb の生理機能

*A. oryzae* ゲノムより2種類のFhb遺伝子 (*fhb1*, *fhb2*) をクローニングし、異種宿主での発現と蛋白質の精製、酵素活性の確認と性質解明を行った。さらに両遺伝子の発現条件の検索や、遺伝子破壊および過剰発現の影響などを検討し、これら2種のFhbの細胞内局在、酸化ストレスやNOストレスに関する生理機能などを調べた。

### (3) 共脱窒

3種類のカビ (*F. oxysporum*, *C. tonkinense*, *F. solani*) の共脱窒を測定し、最も活性の強かった *F. solani* を用いて実験を行った。亜硝酸または窒素ドナーを安定同位体  $^{15}\text{N}$  でラベルして生成するハイブリッド  $\text{N}_2$  ( $^{29}\text{N}_2$ ) を測定した。菌体と破砕液を用いて動力学的解析を行った。

### (4) 放線菌の新規窒素代謝

本代謝系に関与することが示唆されている各遺伝子破壊株を作成し、親株との表現型の比較、窒素酸化物の生産量などを比較した。また、窒素酸化物の受容タンパク質の候補を推定し、遺伝子破壊、プロテオーム解析を行った。

### (5) $\text{N}_2\text{O}$ 発生抑止型脱窒菌

間歇曝気式廃水処理の硝化過程から  $\text{N}_2\text{O}$  が発生する主要因を探るために、豚糞排水処理

由来の活性汚泥を用いたモデルシステムを構築して、NirK の阻害剤の添加、*nirK* 遺伝子の発現の解析などを行った。*P. stutzeri* TR2 株は、好気脱窒特性および脱窒条件での活性汚泥中での生残性を検討した。 $N_2O$  還元能力の高い新規な菌の単離には、上記廃水処理システムの活性汚泥を単離源に用いた。硝化脱窒槽の環境に似た培地を用いて、気相を  $N_2O$  で置換した条件で5回の液体集積培養とプレート培養を行い、2次にわたるスクリーニングをかけた。

#### 4. 研究成果

##### (1) カビ脱窒系

*F. oxysporum* より *nirK* 遺伝子の取得に成功した。大腸菌で発現して精製した NirK の性質解明を行い、それが十分高い亜硝酸還元活性を持つこと、EPR などの分光学的測定からタイプ1とタイプ2の銅を両方持つことを明らかにした。その後、麹菌 *A. oryzae* から *nirK* 遺伝子の単離に成功した。*A. oryzae* の *nirK* 遺伝子は脱窒条件に応答して転写量が増加すること、その遺伝子産物がミトコンドリアに局在することを明らかにした。さらに、カビ *C. tonkinense* の解析を行い、NirK と Fhb が脱窒に関与することを示した。本研究により、カビの *nirK* が細菌脱窒系の *nirK* のオルソログであることを明らかにした。真核生物からの *nirK* 遺伝子の単離は初めての例である。一方近年のゲノム解析により多くのカビのゲノムが読まれているが、それらに *nirK* ホモログが数多く見いだされる。細菌、古細菌と真核生物を合わせた *nirK* およびそのホモログの系統樹では、真核生物のものは全て同じクラスターに分離された (図1)。

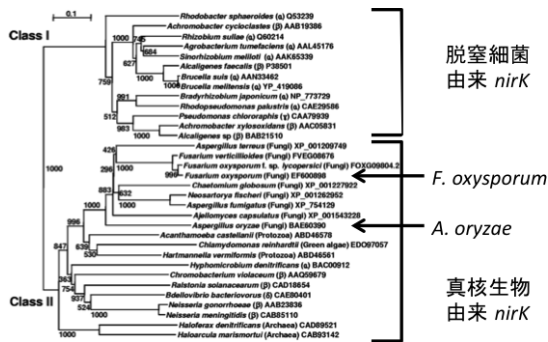


図1

このことは真核生物 *nirK* が同一起源 (おそらくプロトミトコンドリア) であることを意味し、ミトコンドリアの起源と進化に関して新たな視点を投じた。

##### (2) Fhb の生理機能

まず、*A. oryzae* の2種類の Fhb の生化学的性質を明らかにした。Fhb1 と Fhb2 は溶液

中でそれぞれ単量体と二量体で存在し、どちらも高い NOD 活性を示した。Fhb1 は NADH と NADHP の両方を電子供与体として利用できるのに対し、Fhb2 は NADH しか利用できなかった。Fhb2 には N 末端にミトコンドリアへの局在シグナルがあることから、Fhb1 と Fhb2 はそれぞれ細胞質とミトコンドリアで NO 解毒に関与することが予想された。

次に、酸化ストレス耐性に関して研究を行った。*fhb1* および *fhb2* 遺伝子破壊株は、過酸化水素に対して野生型より高い耐性を示した。Fhb2 遺伝子を過剰発現させた株は過酸化水素耐性が低下したことから、カビの Fhb は酸化ストレス耐性に悪影響があることが分かった。

さらに、NO ストレス耐性と両 Fhb の細胞内局在に関する研究を行った。細胞外の NO ストレスに対して *fhb1* は転写レベルで応答したのに対し、*fhb2* は変化がなかった。GFP との融合タンパク質を用いて、Fhb1 と Fhb2 がそれぞれ細胞質とミトコンドリアに局在することを明らかにした (図2)。

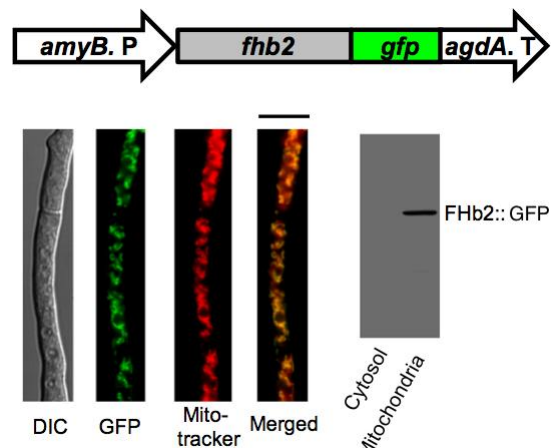


図2

*fhb2* 遺伝子は野生株では転写量が低すぎて検出できなかったが、*nirK* の過剰発現株では検出された。以上の結果より、Fhb1 は細胞外の NO ストレスに、Fhb2 は細胞内のミトコンドリアでの脱窒に由来する NO ストレスに対して、それぞれ防御機構として機能していることが示された。

##### (3) 共脱窒

*F. solani* を用いて、窒素ドナーとしてアニリンを利用した共脱窒の解析を行った。動力学的解析から、それが化学反応ではなく、生物反応によるものであることが示された。亜硝酸、アニリンのいずれをラベルした場合にも大量のハイブリッド  $N_2$  が生成し、窒素原子の回収率は 50%以上と非常に高かった (図3)。



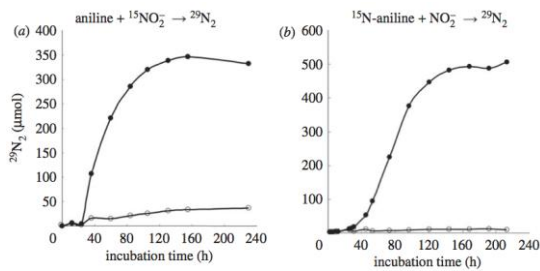


図 3

NirK の阻害剤は共脱窒を強く阻害したことから、亜硝酸還元酵素の関与が示唆された。亜硝酸の代わりに NO を用いてもハイブリッド  $N_2$  が生成したことから、共脱窒の直接の反応物質は亜硝酸ではなく NO であることが示唆された。近年、他のグループにより草地土壌においてカビの脱窒と共脱窒が優勢であることが報告されており、カビの共脱窒も脱窒と同様に環境中で普遍的に起こっていることが明らかになりつつある。

#### (4) 放線菌の新規窒素代謝

*dnar* の破壊株、*fhb* 破壊株、相補株を作成し解析した結果、本菌の *dNar*、*Fhb* が確かに本代謝系に必須であることを明らかにし、新規窒素代謝系の作業仮説についてそのほとんどを明らかとした。*dnar* 破壊株（亜硝酸非生産株）及び *fhb* 破壊株（内在性 NO 蓄積株）の形態観察を行ったところ、*dnar* 破壊株では、赤色抗生物質生産が全く確認されず、かつ気菌糸形成に異常が見られた。この表現型は培地に亜硝酸を添加することによって回復した。一方、*fhb* 破壊株では、逆に赤色抗生物質生産量が顕著に増加した。これらの結果は、明らかに、菌自らが生産する窒素酸化物が二次代謝制御に関与していることを示していた。その後、赤色抗生物質生産に関与する遺伝子の転写解析を行ったところ、NO に速やかに反応し転写レベルが顕著に増加した。以上の結果より、本菌の生産している窒素酸化物が二次代謝を制御するホルモンとして作用していることを明らかとした。

本代謝系により生産される窒素酸化物の受容体候補を推定し検証した結果、2つのタンパク質について、受容していることを明らかとした。遺伝子破壊の結果、一方は本代謝系の酵素 *dNar* の発現を制御し、その他いくつかの遺伝子の転写因子でもあった。その制御下の遺伝子を破壊した結果、抗生物質生産、形態分化に顕著に影響が見られた。また、もう一方の遺伝子は一酸化窒素を受容し、形態形成を制御していることが示唆された。

#### (5) $N_2O$ 発生抑制型脱窒菌

豚糞廃水処理槽由来の活性汚泥を用いた

モデルシステムを構築し、アンモニアおよびヒドロキシルアミンを用いて好気条件で運転した結果、大量の  $N_2O$  が発生し、これらの脱窒基質が枯渇した時点で  $N_2O$  の発生は停止した。アンモニアを硝酸および亜硝酸に置換した場合には  $N_2O$  は発生しなかったことから、硝化条件における  $N_2O$  の発生は、亜硝酸酸化細菌 (NOB) による亜硝酸の酸化によるものでも、従属栄養脱窒細菌によるものでもなく、アンモニア酸化細菌 (AOB) によるアンモニアの酸化に由来することが示唆された。AOB の硝化反応の産物である亜硝酸を加えたところ、 $N_2O$  が大量に発生したことから、これが脱窒により生成したと考えられた。NirK の阻害剤を加えたところ、ヒドロキシルアミンからの  $N_2O$  発生がブロックされた。さらに、硝化条件下の活性汚泥からは、AOB の *nirK* 遺伝子の発現が確認された。以上の結果から、硝化プロセスにおける  $N_2O$  発生は活性汚泥中の AOB による脱窒が原因であることが示された。

*P. stutzeri* TR2 株の脱窒活性を様々な脱窒菌 (*P. aeruginosa*, *P. denitrificans*, *R. pickettii* K50, *P. stutzeri* ZoBell) と比較した結果、TR2 株は強い脱窒活性を示し、調べた全ての条件でほとんど  $N_2O$  を生成しなかった。他の脱窒菌は脱窒条件では生育速度が遅くなるのに対し、TR2 株の生育速度は脱窒条件においても好気条件と同程度であった。また、TR2 株は高濃度の亜硝酸の毒性に対して耐性を持ち、良好な脱窒基質とした (図 4)。

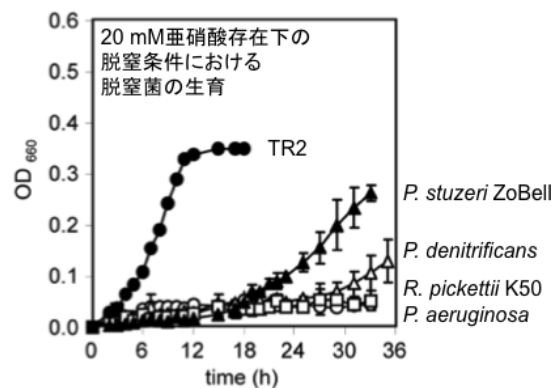


図 4

亜硝酸と  $N_2O$  が同時に存在する条件では、TR2 株は  $N_2O$  を優先的に脱窒した。脱窒遺伝子の解析を行ったところ、シトクロム *cdI* タイプの亜硝酸還元酵素遺伝子 (*nirS*) と  $N_2O$  還元酵素 (*nosZ*) が高発現していた。特に、*nosZ* 遺伝子は、好氣的な非脱窒条件においても恒常的に発現していることが分かった。

また、TR2 株を活性汚泥と共培養し、高濃度のアンモニアを含む豚糞処理水由来の培地を用いて 5 回の継代培養を行い、その生残性を調べた。その結果、TR2 株はこのよう

条件でも増殖できること、亜硝酸が硝酸よりも TR2 株の生残性に適していること、TR2 株は好気条件においても強い生残性を示すことが分かった。以上の性質から、TR2 株は好気脱窒条件に適した、脱窒のエキスパートとしての性質を示すことが分かった。

N<sub>2</sub>O 発生抑制効果をもたらす新規有用脱窒菌の単離を行った結果、5 種類の微生物 (M-01, M-07, M-08, M-11, M-13 株) の単離に成功した。M-01 株と M-11 株が *Pseudomonas* 属、M-13 株が *Paracoccus* 属に属していた。M-07 株は *Advenella* 属の新種として認められ、*Advenella faeciporci* と命名した。*A. faeciporci* を含む *Advenella* 属の 16S rRNA 遺伝子による系統樹を示す (図 5)。

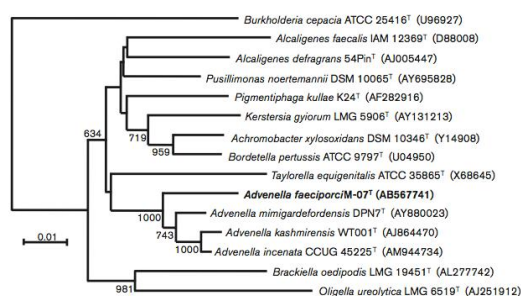


図 5

また、M-08 株は *Pseudomonadaceae* 科の新属である可能性が示唆された。これらの株の脱窒特性を調べた結果、M-07 株以外は全て強い N<sub>2</sub>O 還元能を有することが判明した。M-11 株は全く N<sub>2</sub>O を放出しないことが分かり、M-01 株は N<sub>2</sub>O 還元能が強いものの、硝酸および亜硝酸からの脱窒能が非常に弱いという変わった特徴を有していた。活性汚泥への添加実験を行った結果、どちらも高い N<sub>2</sub>O 発生抑制能を示すことが分かった。ただし、M-01 株の方が生残性が高く、廃水処理での利用に適していることが分かった。続いて、M-01 株と M-11 株の脱窒遺伝子をクローニングしたところ、どちらも *nirS*, *norCB*, *nosZ* 遺伝子を 1 つずつ有していることが分かった。さらに、M-08 株の脱窒遺伝子構造の解析を行ったところ、*nirS* と *nosZ* を 2 種類ずつ持つことが判明した。複数の *nosZ* が機能的に働くという報告はこれまでなく、興味深い発見である。

## 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 13 件)

- ①M. Matsuoka, S. Park, S.-Y. An, M. Miyahara, S.-W. Kim, K. Kamino, S. Fushinobu, A. Yokota, T. Wakagi, and H. Shoun, *Advenella faeciporci* sp. nov., a

nitrite-denitrifying bacterium isolated from nitrifying-denitrifying activated sludge collected from a laboratory-scale bioreactor treating piggery wastewater. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **62**, 2986-2990 (2012), DOI:10.1099/ij.s.0.037440-0

- ②M. Miyahara, S.-W. Kim, S. Zhou, S. Fushinobu, T. Yamada, W. Ikeda-Ohtsubo, A. Watanabe, K. Miyauchi, G. Endo, T. Wakagi, and H. Shoun, Survival of the aerobic denitrifier *Pseudomonas stutzeri* Strain TR2 during co-culture with activated sludge under denitrifying conditions. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **76**, 495-500 (2012), DOI:10.1271/bbb.110785

- ③H. Shoun, S. Fushinobu, L. Jiang, S.-W. Kim, and T. Wakagi, Fungal denitrification and nitric oxide reductase cytochrome P450nor. *Phil. Trans. R. Soc. B* **367**, 1186-1194 (2012), DOI:10.1098/rstb.2011.0335

- ④S. Zhou, S. Fushinobu, S.-W. Kim, Y. Nakanishi, J.-I. Maruyama, K. Kitamoto, T. Wakagi, and H. Shoun, Functional analysis and subcellular location of two flavohemoglobins from *Aspergillus oryzae*. *Fungal Genet. Biol.* **48**, 200-207 (2011), DOI:10.1016/j.fgb.2010.08.011

- ⑤S.-W. Kim, S. Fushinobu, S. Zhou, T. Wakagi, and H. Shoun, The possible involvement of copper-containing nitrite reductase (NirK) and flavohemoglobin in denitrification by the fungus *Cylindrocarpon tonkinense*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **74**, 1403-1407 (2010), DOI:10.1271/bbb.100071

- ⑥M. Miyahara, S.-W. Kim, S. Fushinobu, K. Takaki, T. Yamada, A. Watanabe, K. Miyauchi, G. Endo, T. Wakagi, and H. Shoun, Potential of aerobic denitrification by *Pseudomonas stutzeri* TR2 to reduce nitrous oxide emissions from wastewater treatment plants. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**, 4619-4625 (2010), DOI:10.1128/AEM.01983-09

- ⑦S. Zhou, S. Fushinobu, S.-W. Kim, Y. Nakanishi, T. Wakagi, and H. Shoun, *Aspergillus oryzae* flavohemoglobins promote oxidative damage by hydrogen peroxide. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **394**, 558-561 (2010), DOI:10.1016/j.bbrc.2010.03.018

- ⑧Y. Nakanishi, S. Zhou, S.-W. Kim, S.

Fushinobu, J. Maruyama, K. Kitamoto, T. Wakagi, and H. Shoun, A eukaryotic copper-containing nitrite reductase derived from a NirK homolog gene of *Aspergillus oryzae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **74**, 984-991 (2010), DOI:10.1271/bbb.90844

⑨ S.-W. Kim, M. Miyahara, S. Fushinobu, T. Wakagi, and H. Shoun, Nitrous oxide emission from nitrifying activated sludge dependent on denitrification by ammonia-oxidizing bacteria. *Bioresour. Technol.* **101**, 3958-3963 (2010), DOI:10.1016/j.biortech.2010.01.030

⑩ S.-W. Kim, S. Fushinobu, S. Zhou, T. Wakagi, and H. Shoun, Eukaryotic *nirK* genes encoding copper-containing nitrite reductase: originating from the protomitochondrion? *Appl. Environ. Microbiol.* **75**, 2652-2658 (2009), DOI:10.1128/AEM.02536-08

⑪ S. Zhou, S. Fushinobu, Y. Nakanishi, S.-W. Kim, T. Wakagi, and H. Shoun, Cloning and characterization of two flavohemoglobins from *Aspergillus oryzae*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **381**, 7-11 (2009), DOI:10.1016/j.bbrc.2009.01.112

[学会発表] (計22件)

- ① 小口悠、佐々木康幸、小林卓矢、高谷直樹、矢嶋俊介、池田治生、高野英晃、大澤貫寿、祥雲弘文、放線菌の新規窒素代謝経路の解明、日本農芸化学会2012年度大会、2012年3月24日、京都
- ② 石山正宗、矢嶋俊介、大澤貫寿、祥雲弘文、佐々木康幸、嫌気条件下における *Streptomyces coelicolor* のプロテオーム解析、日本農芸化学会2010年度大会、2010年3月29日、東京
- ③ 山崎良、佐々木康幸、高谷直樹、矢嶋俊介、池田治生、高野英晃、大澤貫寿、祥雲弘文、放線菌における異化型硝酸塩還元酵素の関連した新規窒素代謝系の解析、日本農芸化学会2010年度大会、2010年3月29日、東京
- ④ 佐々木康幸、森谷健太、高谷直樹、山崎良、矢嶋俊介、大澤貫寿、祥雲弘文、放線菌における新規窒素代謝系の解析、日本農芸化学会2009年度大会、2010年3月29日、福岡
- ⑤ 加藤慶一、池田宗一郎、吉本明弘、黒木進吾、矢嶋俊介、池田治生、大澤貫寿、祥雲弘文、佐々木康幸、放線菌由来フラボヘモグロビンパラログに関する研究、日本農芸化学会2009年度大会、2010年3月28日、福岡

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

祥雲 弘文 (SHOUN HIROFUMI)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・名誉教授  
研究者番号：70012036

### (2) 研究分担者

佐々木 康幸 (SASAKI YASUYUKI)  
東京農業大学・応用生物科学部・助教  
研究者番号：50398814

伏信 進矢 (FUSHINOBU SHINYA)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授  
研究者番号：00302589

若木 高善 (WAKAGI TAKAYOSHI)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・研究員  
研究者番号：70175058