

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24年5月10日現在

機関番号：13102

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20310039

研究課題名（和文） 含塩素有機リン酸トリエステル類の微生物分解に必須な新規分解酵素とその遺伝子の解明

研究課題名（英文） Research on novel degradation enzymes and genes essential to microbial degradation of persistent chlorinated organophosphorus triesters

研究代表者

解良 芳夫（KERA YOSHIO）

長岡技術科学大学・工学部・教授

研究者番号：00137168

研究成果の概要（和文）：

Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate（以下 TDCPP）や Tris(2-chloroethyl) phosphate（以下 TCEP）などの塩素を含む有機リン酸トリエステル類は、難分解性で蓄積性があり、種々の毒性を有する。本研究では、我々が世界で初めて単離に成功した含塩素有機リン酸トリエステル類の分解菌 *Sphingomonas* sp. TDK1 と *Sphingobium* sp. TCM1 に存在する新規分解酵素を単離・精製し、酵素学的特徴を解析した結果、両酵素は3つのリン酸エステル結合のうち、一つのエステル結合だけを加水分解する新規ホスホトリエステラーゼであることを明らかにした。また、TDK1 株と TCM1 株の当該酵素遺伝子を取得し、解析した結果、両株の当該酵素遺伝子の塩基配列は互いに極めて高い同一性を示したが、既存のホスホトリエステラーゼとの同一性は著しく低く、両酵素は全く新しい酵素であることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

The chlorinated organophosphorus (OP) compounds tris(2-chloroethyl) phosphate (TCEP) and tris(1,3-dichloro-2-propyl)phosphate (TDCPP) are widely used as flame retardants mainly in a range of plastic foams, resins, and latexes and in the production of liquid unsaturated polyester resins, respectively. They are hard to eliminate not only in the environment but also in sewage treatment plants. Many studies have shown several toxic effects of the compounds.

In this study, novel bacteria degrading trihaloalkyl phosphates, *Sphingomonas* sp. strain TDK1 and *Sphingobium* sp. strain TCM1, were isolated from soil by growth on TDCPP or TCEP as a sole phosphorus source, respectively. The two strains were able to degrade and assimilate not only the chlorinated OP flame retardants but also several other OP flame retardants and plasticizers, and the strains possessed different substrate specificity for trialkyl phosphates. We purified and characterized phosphotriesterases, catalyzing the first step of TCEP and TDCPP degradation, from *Sphingobium* sp. TCM1 and *Sphingomonas* sp. TDK1, respectively. The corresponding genes of the enzymes were cloned and analyzed. The results suggested that both the enzymes were very closely related each other and very distantly related to phosphotriesterases so far reported.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2009年度	8,800,000	2,640,000	11,440,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
総計	14,100,000	4,230,000	18,330,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学、環境技術・環境材料

キーワード：環境保全技術、難分解性有害物、含塩素有機リン酸トリエステル類、新規分解微生物、新規分解酵素（ホスホトリエステラーゼ）、遺伝子クローニング、遺伝子発現、遺伝子破壊株

1. 研究開始当初の背景

Tris(1, 3-dichloro-2-propyl)phosphate (以下 TDCPP) や Tris(2-chloroethyl)phosphate (以下 TCEP) などの塩素を含む有機リン酸トリエステル類は、建築材料・電気用品・衣類・カーペット・カーテンなどに添加される難燃剤・可塑剤として、また、PCB 類の代用品として油圧液や潤滑剤などに、大量にかつ広汎に使用されており、様々な環境中で検出されている。これらは魚類に対して、農薬マラチオンなどと同等かそれ以上の急性毒性を示し、蓄積性もあり、催奇形性・変異原性なども報告されている。しかし、特に問題なのはその難分解性で、他の有機リン酸トリエステル類と異なり微生物分解が確認されておらず、これらの物質による環境汚染の進行が危惧されている。

我々は、2004年度～2007年度に日本学術振興会科学研究補助金基盤研究（B）の助成を受け、野外試料のスクリーニングにより、TDCPPやTCEPを分解する微生物を探索した結果、高い分解活性を有す含塩素有機リン酸トリエステル類分解菌 *Sphingomonas sp.* TDK1株と *Sphingobium sp.* TCM1株 を世界で初めて見だし、単離に成功した。これまで、単離微生物を用いて TDCPP や TCEP の分解挙動と特性の解析、分解代謝産物の分析、各種有機リン酸トリエステル類に対する分解特異性などを調べてきた。

2. 研究の目的

我々が世界で初めて単離に成功した含塩素有機リン酸トリエステル類の分解菌 TDK1株と TCM1株に存在する新規分解酵素を単離・精製し、酵素学的特徴を明らかにするとともに、当該酵素遺伝子を取得・解析する。これにより、当該エステル類の分解システムをより詳細に把握し、この分解システムを廃水処理や環境修復へと応用するために必要な基礎を築くことが本研究の目的である。

3. 研究の方法

本研究では、主に以下の項目について研究を行った。用いた試薬や具体的な実験方法・手順等は省略する。

(1) TDK1株と TCM1株からの新規分解酵素の単離・精製

TDCPP や TCEP の分解において最初の反応を触媒する新規分解酵素のホスホトリエステラーゼが、分解反応酵素の中で最も重要な「鍵酵素」とであると想定され、これを精製した。ファーメンター培養システムを用いた大量培養、細胞破碎、遠心分離、塩析、各種のカラム（イオン交換カラム、疎水性カラム、ゲル濾過カラム）を用いたクロマトグラフィーを用いて単離・精製を行った。精製酵素標品の純度は SDS-PAGE 電気泳動法で評価した。

(2) 新規ホスホトリエステラーゼの酵素学的特徴の解析

新規ホスホトリエステラーゼの酵素学的特徴の解析を行った。

酵素活性の測定は、反応溶液中の TDCPP や TCEP の減少量から算出した。具体的には、反応溶液の酢酸エチル抽出液をリン化合物に特異的な検出器を備えたガスクロマトグラフィー（GC-FPD）を用いて分析し、TDCPP や TCEP を定量した。また、生成物の分析はガスクロマトグラフィー質量分析計（GC/MS）で行った。

(3) 新規ホスホトリエステラーゼの N 末端および内部ペプチド断片のアミノ酸配列解析

新規ホスホトリエステラーゼ遺伝子の単離に必要な本酵素の N 末端および内部ペプチド断片のアミノ酸配列を解析した。

(4) 新規ホスホトリエステラーゼ遺伝子の単離と異種細胞での発現

TDK1株及び TCM1株のホスホトリエステラーゼから得た内部ペプチドのアミノ酸配列をもとに縮重プライマーを作製した。これを用いて、ゲノム DNA を鋳型とし、PCR 法により部分遺伝子断片を取得した。次にインバース PCR 法により、当該酵素遺伝子全長を含む DNA 断片を得、塩基配列を決定した。

また、当該遺伝子の *E. coli* における発現系を構築し、発現条件の最適化後、発現産物の解析を行った。

(5) 新規ホスホトリエステラーゼ遺伝子破壊

壊株の作製と破壊株の生育解析

TDK1 株及び TCM1 株の当該酵素遺伝子破壊株を作製し、それぞれの破壊株の生育特性について、TDK1 株及び TCM1 株と比較検討した。

(6) 新規ホスホトリエステラーゼ誘導合成に及ぼすリン源の影響

TDK1 株及び TCM1 株をそれぞれ TDCPP や TCEP、及び無機リンの濃度を変え培養し、経時的に菌体を含む培養液を採取し、菌体量、ホスホトリエステラーゼ活性、培地中の無機リン酸濃度を測定することで解析した。

4. 研究成果

(1) *Sphingomonas* sp. TDK1 株の無細胞抽出液から、各種クロマトグラフィーを用いて、収率 1.41%、で TDCPP 分解酵素を均一に単離・精製した。精製酵素標品の比活性は $2.44 \mu\text{mol/min per mg of protein}$ であった。本酵素は分子質量が約 59.6kDa の単量体の酵素であった。

Sphingobium sp. TCM1 株の無細胞抽出液から、同様に各種クロマトグラフィーを用いて収率 12.5% で TCEP 分解酵素を均一に単離・精製した。精製酵素標品の比活性は $6.40 \mu\text{mol/min per mg of protein}$ であった。本酵素は分子質量が約 58.4kDa の単量体の酵素であった。

(2) TDK1 株から精製した酵素は TDCPP の 3 つのエステル結合のうち一つのエステル結合だけを加水分解する新規ホスホトリエステラーゼであること、本酵素は亜鉛を含む金属酵素であること、本酵素は Michaelis-Menten の反応速度論に従うことを明らかにした。 K_m 値、 V_{max} 値、至適 pH、至適温度、基質特異性を明らかにした。

TCM1 株から精製した酵素も TCEP の 3 つのエステル結合のうち一つのエステル結合だけを加水分解する新規ホスホトリエステラーゼであること、亜鉛を含む金属酵素であること、本酵素は Michaelis-Menten の反応速度論に従わないことを明らかにした。また、至適 pH、至適温度、基質特異性を明らかにした。

(3) 上記 2 種類の精製酵素の N 末端アミノ酸配列の解析を試みた結果、両酵素とも、N 末端アミノ酸残基は何らかの修飾を受けており解析できなかった。N 末端アミノ酸残基をホルミルメチオニンと仮定して脱修飾を試みたが解析できなかった。そこで、両酵素をリジルエンドペプチダーゼで処理して断片化した後、処理液を高速液体クロマトグラフィーにより分画して数種の内部ペプチド断片を取得した。アミノ酸シーケンサーを用いて、これらの内部ペプチド断片のアミノ酸

配列を決定した。

(4) インバース PCR 法を用いて TDK1 株ホスホトリエステラーゼ遺伝子 (*oph*) を含む 2538bp の DNA 断片を得た。この断片中に 574 アミノ酸からなるポリペプチドをコードする 1722bp の TDK1 株 *oph* 遺伝子が含まれていた。同様に、TCM1 株ホスホトリエステラーゼ遺伝子 (*oph*) を含む 2574bp の DNA 断片を得た。この断片中に 583 アミノ酸からなるポリペプチドをコードする 1752bp の TCM1 株 *oph* 遺伝子が含まれていた。

BLAST プログラムによる相同性解析や分子系統解析を行った。TDK1 株と TCM1 株の *oph* 遺伝子は互いに極めて高い相同性を示した。しかし、これまでよく研究されている、*P. diminuta* や *Flavobacterium* sp. のホスホトリエステラーゼとは相同性を示さず、*Burkholderia* sp. strain NF100 のフェニトロチオン加水分解酵素と低い相同性を示した。以上、両酵素が新規なホスホトリエステラーゼであることが遺伝子解析の結果から、さらに明確になった。

サザンブロット解析により、TDK1 株や TCM1 株には *oph* 遺伝子は 1 コピーしか存在しないことが明らかにされた。

TDK1 株及び TCM1 株から単離・精製したホスホトリエステラーゼの分子量を MALDI-TOF MS による精密質量分析により決定し、*oph* 遺伝子から推定される分子量と比較した結果、天然の酵素は切断を含む翻訳後修飾を受けていることが示唆された。

TDK1 株及び TCM1 株からクローニングした *oph* 遺伝子を大腸菌に導入して形質転換体を得た。誘導発現を行った形質転換体の無細胞抽出液には、本酵素活性が検出されたことから、当該遺伝子は本酵素遺伝子であることが強く示唆された。また、SDS-PAGE 解析により、大腸菌で発現させた本酵素も天然の酵素と同様に翻訳後に切断を受けていることが示唆された。

また、切断後の N 末端アミノ酸残基はグルタミンと考えられたので、TDK1 株及び TCM1 株から単離・精製した当該酵素標品をピログルタミルアミノペプチダーゼで処理することで、N 末端アミノ酸配列解析が可能となった。従って、天然の両酵素の N 末端アミノ酸残基はグルタミン残基であり、ピロ化による修飾を受けていると考えられた。

(5) 構築した *oph* 遺伝子破壊用ベクターを TDK1 株及び TCM1 株へ導入し、両株の *oph* 遺伝子破壊株を得た。各々の遺伝子破壊株は無機リン酸を含む培地では、野生株と同等の生育を示した。しかし、TDCPP や TCEP の分解活性が消失し、TDCPP や TCEP を唯一のリン源とする培地での生育は認められず、当該遺伝子

が両株におけるホスホトリエステラーゼをコードする唯一の遺伝子であることが示唆された。

(6) TDCPP やTCEP、及び無機リン酸の濃度を変えた培養実験から、TDK1株やTCM1株のホスホトリエステラーゼはTDCPP やTCEPにより特異的に誘導合成されるわけではなく、むしろ無機リン酸の枯渇により誘導される可能性が示唆された。今後、より詳細なメカニズムの解明が必要である。

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4件)

1. Shouji Takahashi, Kaneharu Miura, Katsumasa Abe, and Yoshio Kera: Complete detoxification of tris(2-chloroethyl) phosphate by two bacterial strains: *Sphingobium* sp. strain TCM1 and *Xanthobacter autotrophicus* strain GJ10. Journal of Bioscience and Bioengineering, 印刷中, 2012. 査読有り. DOI:10.1016/j.jbiosc.2012.04.010

2. Shouji Takahashi, Yuki Obana, Shohei Okada, Katsumasa Abe, and Yoshio Kera: Complete detoxification of tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate by mixed two bacteria, *Sphingobium* sp. strain TCM1 and *Arthrobacter* sp. strain PY1. Journal of Bioscience and Bioengineering, 113, 79-83, 2012. 査読有り. DOI:10.1016/j.jbiosc.2011.08.020

3. Shouji Takahashi, Ikuko Satake, Isao Konuma, Koji Kawashima, Manami Kawasaki, Shingo Mori, Jun Morino, Junich Mori, Hongde Xu, Katsumasa Abe, Ryo-hei Yamada, and Yoshio Kera: Isolation and identification of persistent chlorinated organophosphorus flame retardants-degrading bacteria. Applied and Environmental Microbiology. 76, 5292-5296, 2010. 査読有り. DOI:10.1128/AEM.00506-10

4. Shouji Takahashi, Koji Kawashima, Manami Kawasaki, Jun Kamito, Yusuke Endo, Kumiko Akatsu, Sadatoshi Horino, Ryo-hei Yamada, and Yoshio Kera: Enrichment and characterization of chlorinated organophosphate esters-degrading mixed

bacterial cultures. Journal of Bioscience and Bioengineering, 106, 27-32, 2008. 査読有り. DOI:10.1263./jbb.106.27

[学会発表] (計27件)

1. Ryouzuke Majima, Takahiro Kabasawa, Katsumasa Abe, Shouji Takahashi, and Yoshio Kera: Characterization of a haloalkylphosphorus hydrolase from *Sphingobium* sp. strain TCM1. The 1st international GIGAKU conference in Nagaoka, 2012年2月4日, Nagaoka University of Technology (長岡市).

2. Kazunobu Kawakami, Toyokazu Kobayashi, Katsumasa Abe, Shouji Takahashi, and Yoshio Kera: Properties of a haloalkylphosphorus hydrolase from *Sphingomonas* sp. strain TDK1” The 1st international GIGAKU conference in Nagaoka, 2012年2月4日, Nagaoka University of Technology (長岡市).

3. 川上 和延・小林 豊和・阿部 勝正・高橋 祥司・解良 芳夫: *Sphingomonas* sp. TDK1株有機リン酸加水分解酵素遺伝子破壊株の構築と解析. 第29回土木学会関東支部新潟県研究調査発表会、2010年11月22日、ハイブ長岡 (長岡市).

4. 川上和延・阿部勝正・高橋祥司・解良 芳夫: *Sphingomonas* sp. TDK1ハロアルキルリン酸加水分解酵素遺伝子破壊株の構築. 第63回日本生物工学会大会、2011年9月28日、東京農工大学・小金井キャンパス (小金井市)

5. 高橋祥司・三浦兼晴・阿部勝正・解良 芳夫: 難分解性難燃剤リン酸トリス (2-クロロエチル) の微生物分解による無害化の検討. 第63回日本生物工学会大会、2011年9月28日、東京農工大学・小金井キャンパス (小金井市)

6. 間島 亮介・阿部勝正・高橋祥司・解良 芳夫: *Sphingobium* sp. TCM1株ハロアルキルリン酸加水分解酵素遺伝子の機能解析. 第63回日本生物工学会大会、2011年9月28日、東京農工大学・小金井キャンパス (小金井市)

7. 阿部勝正・間島亮介・高橋祥司・解良 芳夫: *Sphingobium* sp. TCM1ハロアルキルリン酸加水分解酵素遺伝子破壊株の構築. 第84回日本生化学会大会、2011年9月22日、国立京都国際会館 (京都市)

8. 高橋祐樹・間島亮介・吉田知史・阿部勝正・高橋祥司・解良芳夫: *Sphingobium* sp. TCM1 株 有機リン酸加水分解酵素遺伝子のクローニングと大腸菌における発現. 第 83 回日本生化学会大会・第 33 回日本分子生物学会年会 (BMB2010)、2010 年 12 月 7 日、神戸ポートアイランド (神戸市)

9. 山田裕里恵・川上和延・鈴木雄斗・阿部勝正・高橋祥司・解良芳夫: *Sphingomonas* sp. TDK1 株 tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate 分解酵素遺伝子のクローニングと大腸菌における発現. 第 83 回日本生化学会大会・第 33 回日本分子生物学会年会 (BMB2010)、2010 年 12 月 7 日、神戸ポートアイランド (神戸市)

10. 三浦兼晴・阿部勝正・高橋祥司・解良芳夫: 微生物を用いた含塩素有機リン系難燃剤無害化処理の基礎的検討. 第 28 回土木学会関東支部新潟会研究調査発表会、2010 年 11 月 25 日、ハイブ長岡 (長岡市)

11. Kazunobu Kawakami, Yurie Yamada, Katsumasa Abe, Shouji Takahashi, and Yoshio Kera: Properties of a novel phosphotriesterase from *Sphingomonas* sp. strain TDK1. 17th Asian Symposium on Ecotechnology, 2010 年 11 月 12 日, Unazuki International Hall “Selene” (黒部市)

12. Ryouzuke Majima, Yuki Takahashi, Katsumasa Abe, Shouji Takahashi, and Yoshio Kera: Purification and characterization of an organophosphorus hydrolase from *Sphingobium* sp. strain TCM1. 17th Asian Symposium on Ecotechnology, 2010 年 11 月 12 日, Unazuki International Hall “Selene” (黒部市)

13. 阿部勝正・高橋祐樹・山田裕里恵・高橋祥司・解良芳夫: *Sphingobium* sp. TCM1 株新規ホスホトリエステラーゼ遺伝子のクローニング. 第 62 回日本生物工学会大会、2010 年 10 月 29 日、ワールドコンベンションセンター・サミット (宮崎市)

14. 阿部勝正・鈴木雄斗・山田裕里恵・高橋祥司・解良芳夫: ハロアルキル基含有有機リン酸トリエステルの分解する新規ホスホトリエステラーゼ遺伝子のクローニング. 日本農芸化学会 2010 年度大会、2010 年 3 月 28 日、東京大学駒場 I キャンパス (東京)

15. 阿部勝正・森淳一・鈴木雄斗・山田裕里恵・高橋祥司・解良芳夫: ハロアルキル

基含有有機リン酸トリエステルを分解する新規ホスホトリエステラーゼの機能解析. 第 82 回日本生化学会大会、2009 年 10 月 23 日、神戸ポートアイランド (神戸市)

16. 鈴木雄斗・山田 裕里恵・森 淳一・阿部勝正・高橋祥司・解良芳夫: *Sphingomonas* sp. TDK1 株 tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate 分解酵素の諸特性解析. 第 61 回日本生物工学会大会、2009 年 9 月 24 日、名古屋大学東山キャンパス(名古屋市)

17. 吉田知史・高橋祐樹・土井由佳・阿部勝正・高橋祥司・解良芳夫: *Sphingobium* sp. TCM1 株 tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate 分解酵素の諸特性解析. 第 61 回日本生物工学会大会、2009 年 9 月 24 日、名古屋大学東山キャンパス(名古屋市)

18. 高橋祥司・尾花友規・岡田庄平・阿部勝正・解良芳夫: 難分解性難燃剤リン酸トリス (1,3-ジクロロ-2-プロピル) の微生物的無害化処理の検討. 第 61 回日本生物工学会大会、2009 年 9 月 23 日、名古屋大学東山キャンパス(名古屋市)

19. 阿部勝正・土居由佳・吉田知史・高橋祥司・解良芳夫: 含塩素有機リン酸トリエステル分解菌の単離とその初発分解酵素の解析. 日本農芸化学会 2009 年度大会、2009 年 3 月 28 日、福岡国際会議場、マリンメッセ福岡(福岡市)

20. Yuto Suzuki, Jun-ichi Mori, Yuka Doi, Satoshi Yoshida, Yuki Obana, Katsumasa Abe, Shouji Takahashi, and Yoshio Kera: Function of tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate-degrading bacterium *Sphingomonas* sp. strain TDK1. The International Symposium on “Green Technology for Global Carbon Cycle in Asia”, 2009 年 3 月 23 日 長岡市、長岡技術科学大学(長岡市)

21. Satoshi Yoshida, Yuka Doi, Jun-ichi Mori, Yuto Suzuki, Yuki Obana, Katsumasa Abe, Shouji Takahashi, and Yoshio Kera: Characterization of tris(2-chloroethyl) phosphate-degrading bacterium *Sphingobium* sp. TCM1 and purification of the degrading Enzyme. The International Symposium on “Green Technology for Global Carbon Cycle in Asia”, 2009 年 3 月 23 日、長岡技術科学大学(長岡市)

22. Yuka Doi, Satoshi Yoshida, Jun-ichi Mori, Yuto Suzuki, Yuki Obana, Katsumasa

Abe, Shouji Takahashi, and Yoshio Kera: Isolation of tris(2-chloroethyl) phosphate-degrading bacteria.

The International Symposium on “Green Technology for Global Carbon Cycle in Asia”, 2009年3月23日、Nagaoka University of Technology (長岡市)

23. Jun-ichi Mori, Yuto Suzuki, Yuka Doi, Satoshi Yoshida, Yuki Obana, Katsumasa Abe, Shouji Takahashi, and Yoshio Kera: Characterization of tris(1,3-dichloro-2-propyl)phosphate-degrading enzyme from *Sphingomonas* sp. TDK1. The International Symposium on “Green Technology for Global Carbon Cycle in Asia”, 2009年3月23日、Nagaoka University of Technology (長岡市)

24. Yuto Suzuki, Jun-ichi Mori, Yuka Doi, Satoshi Yoshida, Tomoki Obana, Katsumasa Abe, Shouji Takahashi, and Yoshio Kera: Characterization of tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate-degrading bacterium *Sphingomonas* sp. strain TDK1. 15th Asian Symposium on Ecotechnology, 2008年10月19日、石川県地場産業振興センター(金沢市)

25. Satoshi Yoshida, Yuka Doi, Jun-ichi Mori, Yuto Suzuki, Tomoki Obana, Katsumasa Abe, Shouji Takahashi, and Yoshio Kera: Tris(2-chloroethyl) phosphate-degrading characteristics of *Sphingobium* sp. TCM1 and purification of the degrading enzyme. 15th Asian Symposium on Ecotechnology, 2008年10月19日、石川県地場産業振興センター(金沢市)

26. 土居由佳・吉田知史・森慎吾・阿部勝正・高橋祥司・解良芳夫: *Sphingobium* sp. TCM1 株 tris(2-chloroethyl)phosphate 分解酵素の精製と特性解析. 第60回日本生物工学会大会、2008年9月28日、東北学院大学土樋キャンパス(仙台市)

27. 森淳一・鈴木雄斗・盛野 淳・阿部勝正・高橋祥司・解良芳夫: *Sphingomonas* sp. TDK1 株 tris(1,3-dichloro-2-propyl)phosphate 分解酵素の誘導発現と精製. 第60回日本生物工学会大会、2008年9月28日、東北学院大学土樋キャンパス(仙台市)

[図書] (計1件)

1. Katsumasa Abe, Shouji Takahashi, and Yoshio Kera, Caister Academic Press, Norfolk, Microbial Bioremediation of

Non-metals; Current Research (Ed., Koukkou, A. -I.), 2011, 45-54.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

解良 芳夫 (KERA YOSHIO)
長岡技術科学大学・工学部・教授
研究者番号: 0 0 1 3 7 1 6 8

(2) 研究分担者

高橋 祥司 (TAKAHASHI SHOUJI)
長岡技術科学大学・工学部・准教授
研究者番号: 9 0 3 2 4 0 1 1

(3) 連携研究者

該当無し