

機関番号：23401

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20580208

研究課題名：単細胞窒素固定ラン藻の窒素固定細胞検出法開発と黒潮海域における動態解析

研究課題名：Unicellular diazotrophic cyanobacteria: development of immunocytochemical methods for nitrogenase detection and analysis of their role in Kuroshio Waters.

研究代表者

大城 香 (OHKI KAORI)

公立大学法人福井県立大学・海洋生物資源学部・教授

研究者番号：90101104

研究成果の概要 (和文)：単細胞窒素固定ラン藻を生息海域で検出するための細胞免疫学的手法を開発した。開発した手法を用いて、黒潮海域の3地点 (愛媛県沖、宮城県沖、台湾沖) から海水を採取し、単細胞窒素固定ラン藻の検出を行った。また、試料中 DNA を鋳型に窒素固定酵素・16SrRNA 遺伝子を PCR 増幅・塩基配列決定し、遺伝子由来生物の検索を行った。開発した手法による窒素固定単細胞ラン藻の検出が可能であった。採取地点のうち愛媛県沖・宮城県沖の海水からは細胞免疫学的手法・DNA 解析いずれの方法でも単細胞窒素固定ラン藻はほとんど検出されなかった。一方、台湾沖黒潮上流海域の試料からは海水 1 リットルあたり $0.5 \sim 1.5 \times 10^3$ 細胞の単細胞窒素固定ラン藻が検出された。愛媛県沖・台湾沖試料から、単細胞窒素固定ラン藻の分離株をそれぞれ 1 株ずつ (UWA1, TW3) 作成した。両者は、形態的特徴と 16S rRNA、窒素固定酵素遺伝子部分塩基配列から、*Gloeotheca* 属 (UWA1) と *Cyanothece* 属 (TW3) と同定された。

研究成果の概要 (英文)：Immunocytochemical methods that is applicable for detection of unicellular diazotrophic cyanobacteria in sea waters have been developed. Using developed methods, unicellular diazotrophic cyanobacteria were detected in sea waters collected from Kuroshio waters (off Ehime Prefecture, off Miyagi prefecture and off from South Taiwan). Detection of unicellular diazotrophic cyanobacteria was also tried using DNA-amplification of nitrogenase and 16SrRNA genes. Few diazotrophic unicellular cyanobacteria were detected by both immunocytochemical and DNA-based methods in waters from off Ehime and Miyagi. Unicellular diazotrophic cyanobacteria was abundant in waters from off Taiwan: cell densities were 0.5 to $1.5 \times 10^3/L$. Two diazotrophic cyanobacteria were successfully isolated from off Ehime (UWA1) and Taiwan (TW3). They were identified as *Gloeotheca* spp. (UWA1) and *Cyanothece* spp. (TW3) from the partial sequences of 16S rRNA and nitrogenase (*nifH*) genes and their morphology.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：窒素固定・免疫細胞学的検出法・単細胞窒素固定ラン藻・窒素固定酵素発現・黒潮海域・

1. 研究開始当初の背景

(1) 海洋の外洋にまで広く分布する植物プランクトンは、一次生産者として海洋生物生産に重要な役割を果たすだけでなく、地球温暖化をもたらす炭酸ガスを光合成により固定し海底の貯留へ輸送するフラックス機能をも持つ。植物プランクトンが光合成を最大に発揮するためには、光に加えて様々な栄養塩、特に無機窒素の供給が不可欠である。しかし、海洋真光層（光合成に利用可能な光が届く層で植物プランクトンが生息可能な層）の多くでは、無機態窒素は常に消失が供給を上回る (Karl et al., 2002 他)。従って、窒素固定（窒素ガスをアンモニアに還元する生物反応）能力を持つ生物、特に窒素固定ラン藻が、海洋における一次生産と二酸化炭素の貯留への移動の鍵を握る生物として注目され、その動態解析が期待されている。熱帯・亜熱帯表層に大発生する窒素固定ラン藻トリコデスミウムに加え、近年単細胞性の窒素固定ラン藻の海洋窒素循環への大きな寄与が、外洋海水から回収した DNA を鋳型に行った窒素固定酵素をコードする遺伝子の PCR 増幅産物解析、単細胞ラン藻を含む粒子分画の窒素固定活性測定結果などから、北大西洋、南太平洋、アラビア海などで予測されている (Zehr et al. 他)。しかし、単細胞性ラン藻の窒素固定細胞と非窒素固定細胞は形態的区別が不可能であること、窒素固定酵素遺伝子を持ちながら好気条件では窒素固定活性を発現することができない単細胞ラン藻種の存在は広く知られており、窒素固定酵素遺伝子保有イコール窒素固定では必ずしもない。しかし窒素固定を行っている単細胞ラン藻の直接検出は行われていなかった。

(2) 窒素を固定した細胞を直接検出する方法は、放射性同位体が利用できないため、^(注) 最近窒素安定同位体 ¹⁵N を μ m レベルの解像度で検出可能な質量分析系が開発された、米国の Capone の研究グループで測定が報告されている、Finzi-Har (2009) 炭酸ガス取り込みで用いられてきたようなオートラディオグラフィ法の適用が不可能である。一方ラン藻において、ガス態窒素をアンモニアに変換する酵素（窒素固定酵素）は、窒素固定に先立ち発現が誘導され非窒素固定条件では消滅するタンパク質なので、窒素固定酵素発現細胞を、窒素固定細胞と見なすことで、窒素固定単細胞の検出が可能と考えた。

(3) 本研究開始までに、我々はニトロゲナーゼを構成する 3 つのサブユニットに対する抗体を、海産糸状窒素固定ラン藻トリコデスミウムの同タンパク質遺伝子が大腸菌に組み込んで大量発現させることに成功、大量発現タンパク質に対して作成された抗体を用いて、トリコデスミウムの窒素固定酵素発

現を細胞レベルで検出する方法の開発に成功していた。また、モデル実験系に利用可能な、海産単細胞窒素固定ラン藻の分離株を保持していた。

2. 研究の目的

日本近海の生物生産に大きな影響力のある黒潮海域への無機態窒素導入における単細胞窒素固定ラン藻の寄与を知ることを最終目的として、以下の目的を設定した。

(1) フィールド試料に利用可能な方法を、窒素固定ラン藻培養株をモデル系に用い、抗原性の長期保持可能かつ簡便な試料固定・保存法、感度の良い検出法の検討を行う。

(2) (1) で開発した方法を黒潮海域から得た試料に適用し、単細胞窒素固定ラン藻の検出を試みる。また、試料採取を行った海域の単細胞ラン藻の存在を 16SrRNA・窒素固定酵素遺伝子塩基配列から調べる。

(3) 黒潮海域から窒素固定単細胞ラン藻の分離株作成を試み、その形状・系統・生理特性を明らかにする。

(4) (1)~(3) の結果を統合して、黒潮海域における単細胞窒素固定ラン藻の窒素循環における役割を考察する。

3. 研究の方法

(1) モデル培養系を用いたフィールド試料に適用可能な細胞免疫学的検出法の開発：本実験には、シンガポール沿岸から分離した単細胞窒素固定ラン藻（発表論文リスト⑦）および窒素固定糸状ラン藻トリコデスミウム (Ohki & Fujita, 1982) を用いた。細胞は、窒素源を含まない人工合成培地 (改変 AQUIL, Ohki et al. 1986) を用い明暗周期 (12 時間/12 時間) で培養し、対数増殖期の細胞を遠心により集めた。固定剤・保存法・固定時間・検出法 (細胞膜透過処理剤・ブロッキング剤・抗体の濃度・処理時間) の検討を行った。抗体反応の検出には、蛍光物質を標識した二次抗体 (Alexa488, Molecular Probe 社製) を用いた蛍光法と、ペルオキシダーゼ標識二次抗体 (Bio Rad 社製) を用いて、過酸化水素存在下で酸化 Diaminobenzidine を形成させる発色法を用いた。

反応の検出は、落射蛍光装置を備えた蛍光顕微鏡 (BX51, オリンパス) を用いて行った。

(2) フィールド試料を用いた単細胞窒素固定ラン藻検出：

① 海水の採取は、愛媛県南宇和島郡愛南町内海湾において、急潮現象で黒潮が流入している時期のクロロフィル濃度最大水深とその上下 1m (2008 年 8 月 26 日、北緯 33 度 04 分・東経 132 度 46 分、水深 9, 10, 11m、北緯 33 度 02 分・東経 132 度 45 分、水深 10, 11, 12m、2009 年 9 月 同地点、水深 15m, 30m)、宮

城県沖黒潮下流域 (2009年5月, 北緯37度02分・東経149度14分, 水深10,30,50m), 台湾南東部黒潮上流域 (東経121度23分, 北緯21度55分, 2008年4月14~26日, 水深5,50,95m) で行った。海水中の粒子は, 径100 μm 以上の分画を除去した後, 口径0.2 μm のポリカーボネートフィルター上に吸引濾過法で捕集した。粒子を捕集したフィルターは, -85°Cで凍結保存 (DNA解析用) またはエタノールに浸漬して-30°Cで保存 (窒素固定酵素検出用) した。また採取した海水約10mlは, グルタルアルデヒド (終濃度1%) を加え, 4°Cで保存し, 細胞計数に供した。

単細胞窒素固定ラン藻は, (1)で開発した発色法を用いて検出し, 窒素固定酵素発現細胞を光学顕微鏡下で計数した。

②窒素固定遺伝子を用いた単細胞窒素固定ラン藻検出と同定

愛媛県および宮城沖で採取した試料から抽出したDNAを鋳型に用い, 16SrRNA遺伝子および窒素固定酵素鉄タンパク質遺伝子

(*nifH*) 保存領域中に設定されたプライマーを用い目的領域を増幅, 得られたPCR産物の塩基配列決定を行い, BLASTによる既知遺伝子との相同性検索を行った。また, 97%以上の相同性を持つ塩基配列同志を一つのグループとして, グループ化し, それぞれのOUTからランダムに選んだクローンの塩基配列に基づいて, 近隣結合系統樹を作成した。

(3)窒素固定ラン藻分離株作成と性状解析。

既報 (発表論文リスト①) の方法を用いて, 海水から単細胞窒素固定ラン藻を分離した。得られた株の形態は光学顕微鏡・透過型電子顕微鏡 (TEM)を用いて観察した。TEM観察用試料作成は, Ohki & Fujita(1996)に従った。分離株の窒素固定活性は, ^{15}N 標識した窒素ガス取り込み (Chen et al. 2008)により測定した。

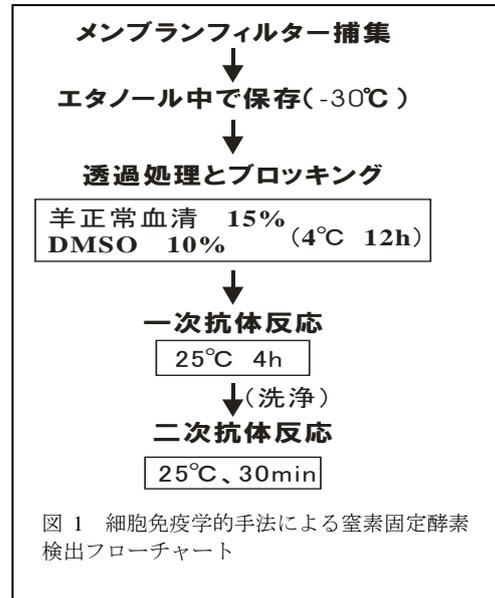
4. 研究成果

(1) モデル系を用いたフィールド試料に適用可能な検出法の開発

①細胞の捕集と固定: ラン藻細胞の捕集には遠心機を用いることが多いが, フィールドでは, 野外や船上での作業が予測されることから, ポリカーボネートメンブタンを用いて捕集したものを用いた。固定法は, フィルターごとエタノールに浸漬することで, -30°Cに置くことで, 少なくとも6ヶ月は抗原性を保持できることが明らかとなった。エタノール中での保存は, エタノール液中にフィルターを浸漬する方法またはエタノールを含んだ濾紙上に保持することが可能であった。前者は長期間の保持に適する一方, フィルター上の粒子がエタノール中に10~30%前後脱落した。後者はコンパクトかつ輸送に適していたが, 長期保存では乾燥する危険性があった。

②検出法: フィルターを浸漬したエタノール

からは細胞分画を遠心で集める必要があった。一方フィルター上で保存した細胞はそのまま各試薬を含んだ濾紙上に置くことで, 検出に供することが可能であった。最も良好な反応が得られた条件のフローチャートを図1に示した。



蛍光色素標識抗体を用いた検 (蛍光法) は, 鮮明な反応が得られた (図2b)。しかし, 検出に用いた蛍光色素(Alexa488)は, 一部のラン藻が持つ光合成色素タンパク質 (フィコエリトリン) の吸収・蛍光発色帯と類似しており,

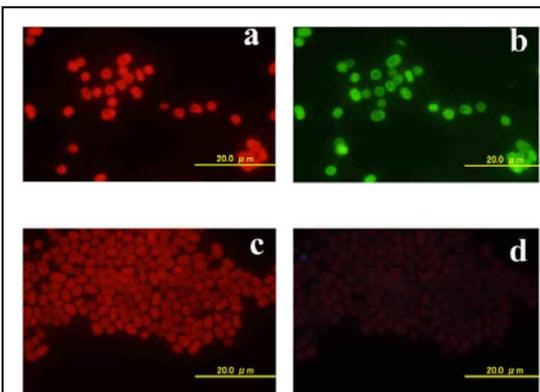


図2 蛍光法による窒素固定酵素の検出
窒素固定酵素発現細胞(a), (b)と非発現細胞(b)
(a), (c)は自家蛍光, (b), (d)は標識色素蛍光
細胞は, 単細胞窒素固定ラン藻 *Gloeothece* sp. 68DG 株

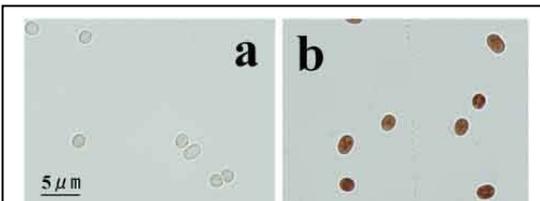


図3 発色法による窒素固定酵素の検出
(a) 非発現細胞, (b)発現細胞
細胞は, 単細胞窒素固定ラン藻 *Gloeothece* sp. 68DG 株

フィコエリトリンを多量を含む細胞ではフィコエリトリン由来の自家蛍光に妨害され、検出は困難であった。発色法は、感度は蛍光法より劣るものの、フィコエリトリンを多量に持つ細胞でも反応が検出可能であることを確認した (図 3b)。

(2) 窒素固定単細胞ラン藻の検出

① 愛媛県宇和郡愛南町内海の試料

2008年8月に愛媛県からの採水試料中の単細胞ラン藻計数結果は、窒素固定酵素を持つ種が知られていない細胞径が $2\mu\text{m}$ 以下の *Synechococcus*, *Prochlorococcus* に属するピコシアノバクテリアが95%以上を占め、窒素固定ラン藻を含む可能性のある細胞径が $3\mu\text{m}$ 以上のラン藻は、1リットルあたり、 $0.2\sim 1.3 \times 10^3$ 細胞であった。2009年の試料でも同様の結果が得られた (データは示さない)。窒素固定細胞は、発色法で小数ではあるが検出された。図4には、発色法で検出された単細胞窒素固定ラン藻を示した。

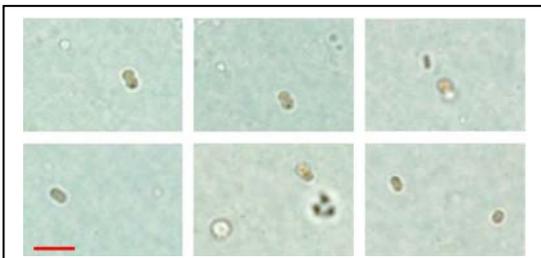


図4 海中の単細胞ラン藻の窒素固定細胞検出。愛媛県沖黒潮海水の試料を用い、窒素固定酵素は、発色法により検出した。

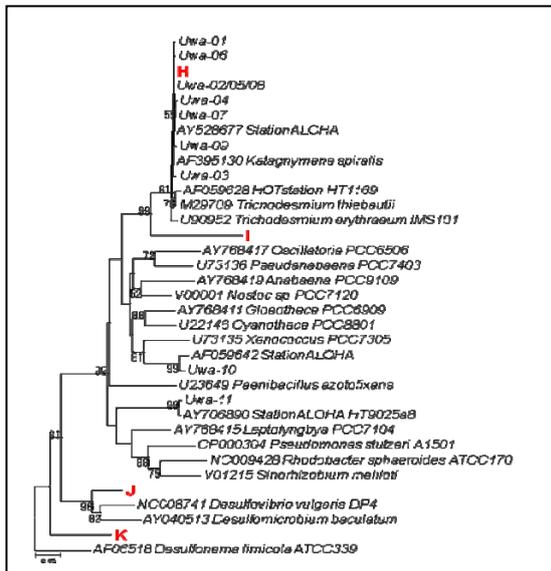


図5 窒素固定酵素 (nifH)塩基配列に基づいた近隣結合系統樹。A~Fのアルファベットは、OUT名で、各OUTからランダムに選んだクローン1つを用いた。図中のUWA-01~11は、2008年以前に既に得ていた結果を示した。ブートストラップ値は、50以上の値のみを示した。

この結果は、現場から採取した粒子分画から抽出したDNAの遺伝子解析結果でも示された。窒素固定酵素遺伝子PCR増幅産物の塩基配列を相同性検索した結果、大部分が糸状体を形成する *Katagimene* 属窒素固定ラン藻であった。一方16SrRNA遺伝子の塩基配列を用いた相同性検索では、その大部分が、*Synechococcus* 属ラン藻であることが示された。図5に、窒素固定酵素遺伝子の塩基配列をもとに作成した分子系統樹を示した。

② 宮城県沖の試料：

窒素固定単細胞ラン藻を含むと考えられる細胞径 $3\mu\text{m}$ 以上の単細胞ラン藻はほとんど検出されなかった。また、現場DNAを鋳型とした窒素固定酵素のPCR増幅産物は全く得られなかった。

③ 台湾沖の試料：

細胞免疫学的手法を用いて、単細胞窒素固定ラン藻が検出された。細胞数は、深度5, 50, 95mで、海水1リットルあたり522, 638, 1567細胞であった。

(3) 窒素固定単細胞ラン藻の分離と特性

愛媛県沖の2008年試料および台湾沖試料から、それぞれ1株の単細胞窒素固定ラン藻が分離された。図6,7に、それぞれの光学顕微鏡・TEM像を示した。愛媛県から分離された株 (UWA1) は、細胞の形態および16S rRNA、窒素固定酵素遺伝子の塩基配列データから、*Gloeotheca* 属窒素固定ラン藻に近縁であると考えられた。一方から分離された株 (TW3)は、同様の手法を用いて、*Cyanothece* 属窒素固定ラン藻と同定された。

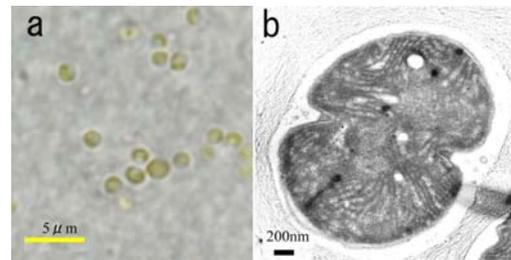


図6 愛媛県沖黒潮海水から分離された単細胞窒素固定ラン藻 (*Gloeotheca* sp. UWA1)。(a)光学顕微鏡像、(b)透過電子顕微鏡像。

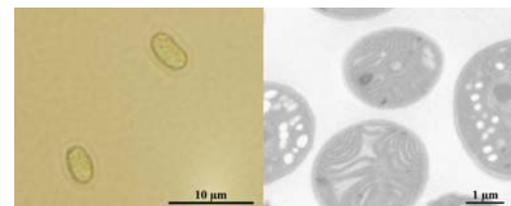
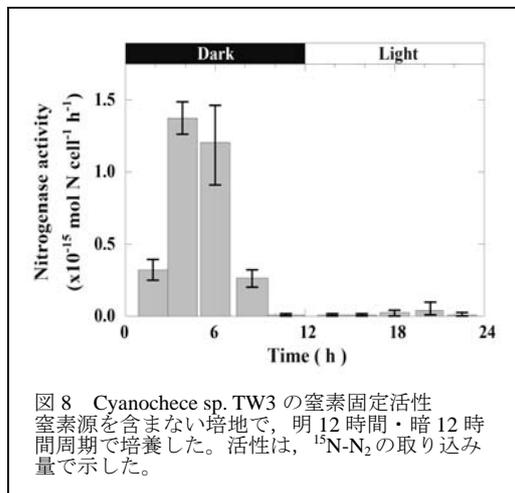


図7 台湾沖黒潮水から分離された単細胞窒素固定ラン藻 (*Cyanothece* sp. TW3)。(a)光学顕微鏡像、(b)透過型電子顕微鏡像。

TW3株を用いて、生育特性と窒素固定活性測定を行った。TW3株を異なった光強度(30~300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$)、温度(25~36°C)、塩濃度(28.5~34.5‰)のもとで培養を行い、生育速度を調べた。その結果本株の至適生育条件は、光強度140 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$ 、温度30°C、塩濃度30‰で、至適条件における最大生育速度は、0.85 (d^{-1})、倍加時間は、19.7時間であった。

至適培養条件における窒素固定活性を図8に示した。窒素固定酵素活性は、暗期開始後増加し、6時間後に最大活性(1.37 \times 0.11 \times 10-15 $\text{molN}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)となった後減少し、明期には最大活性の1%程度の活性しか検出されなかった。本株の窒素固定活性の周期変動は、他の単細胞ラン藻で報告されているように、窒素感受性の高い窒素固定酵素を明期に行われる光合成により生じる酸素から保護しているものと考えられた。



(4) 黒潮海域における単細胞窒素固定ラン藻の役割:

本研究では、広大な黒潮海域のごく一部で、しかも限られた期間のみの調査にとどまったため、この結果を全黒潮海域に敷衍することは不可能である。

しかし、得られた結果からは、黒潮海域でも、場所(とおそらく季節)によって単細胞窒素固定ラン藻が窒素導入に果たす役割は大きく異なると考えられた。単細胞窒素固定ラン藻が有意に検出された台湾近傍の黒潮上流域では、観察された細胞径3 μm 以上の窒素固定ラン藻が、TW3同等の窒素固定活性を持つとして、生息場所の物理化学データをもとに試算した単細胞窒素固定ラン藻による窒素固定への寄与は、3.110-7 $\text{molN}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ と見積もられた。一方、愛媛県内海に流入した黒潮海中では、2008、2009年夏季ともに単細胞窒素固定ラン藻の窒素固定への寄与はほとんどなかったと考えられた。同海域では、

2007~2009年夏季には、糸状体ラン藻トリコデスミウムが大量に発生し、それらの細胞の80%以上から、窒素固定酵素が検出された(発表論文リスト③)こと、さらに遺伝子解析からも糸状体窒素固定ラン藻の生息が示された(図4)ことから、この海域の夏季における主要窒素固定ラン藻は、単細胞種ではなく、糸状体ラン藻である可能性が考えられた。

単細胞窒素固定の生息が確認された海域は少なかったものの、現場海域における単細胞窒素固定ラン藻の存在量を、直接可視化・定量した点が本研究の新しい点であると考ええる。発色による窒素固定細胞検出法については、細胞径が>3 μm という単細胞窒素固定ラン藻の検出には問題なく適用可能であった。しかし、遺伝子解析結果(図5)は、調査海域には窒素固定ラン藻以外の微小な窒素固定細菌の生息を示している。しかし、海水中には大量に微小懸濁物が存在しており、細胞径の小さな窒素固定細菌を本法で検出することは非常に困難と考えられた。目的に応じて蛍光検出法を併用することも必要であろう。また、ラン藻の光合成色素の自家蛍光より長波長に持つプローブ(Alexa800, Molecular Probe社)が発売され、予備的ではあるが長波長側(>700 nm)にも感度を持った顕微鏡用CCDカメラを利用した検出が可能となり、光合成色素自家蛍光の妨害を防ぐことが示されたので、今後その利用も考慮する必要がある。

最後に、本研究で開発した細胞免疫学的検出法は、ラン藻の持つ他のタンパク質検出へも応用が可能であった。その一例として名古屋大学農学研究科藤田祐一准教授・山本治樹博士との共同研究で、ラン藻のクロロフィル合成酵素(光依存型プロトクロフィリド)の細胞内消長を検出することができた(学会発表リスト①)。

謝辞

台湾沖の黒潮上流域における測定および分離株(TW3)の作成、窒素固定酵素活性測定は、本研究協力研究者である台湾国立中山大学・Chen Yuh-ling Lee教授と谷内由貴子博士にお願いした。愛媛県における採水は、南宇和郡愛南町内海海洋資源開発センターの協力を得て行った。宮城県沖での採水は、水産総合研究センター東北水産研究所の研究航海(WK0907)時に、同研究所桑田晃主任研究員・一宮睦夫博士にお願いした。謝意を表す。

参考文献

- Chen, Y.L., Chen, H., Tuo, S., Ohki, K. *Limnol. Oceanograph.* 53: 1705-1721(2008).
Finzi-Har, J.A. et al. *PNAS* 106: 6345-6350, (2009)

Karl,L.他 Biogeochem. 58 :47-98(2002)
Ohki,K. Fujita,Y. Mar.Ecol.Prog.Ser.7: 185-192
(1982).
Ohki,K., Rueter,J.G., Fujita,Y. Mar. Biol. 91:
9-13 (1986).
Ohki,K., Fuijta,Y. J. Phycol. 32: 365-370 (1996)
Zehr, JP. ら, Nature, 462, p635, 2001

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 7 件)

- ① Ichinomiya,M., Yoshikawa,S., Kamiya,M., Ohki,K., Kuwata,A. Isolation and characterization of parmales (Heterokonta/Heterokontophyta/Stramenopiles) from the Oyashio region, Western North Pacific. J. Phycol. 査読有, Vol.47, 2011, 144-151.
- ② Kamiya,M., Nishio,T., Yokoyama,A., Yatsuya,T., Nishigaki,T., Yoshikawa,S., Ohki,K. Seasonal variation of phlorotannin in sargassacean species from the coast of the Sea of Japan. Phycol.Res. 査読有, Vol.58, 2010, 53-61.
- ③ Ohki,K., Taniuchi,Y. Detection of nitrogenase in individual cells of a natural population of *Trichodesmium* using immunocytochemical methods for fluorescent cells. J. Oceanograph. 査読有, Vol.65, 2009, 427-432.
- ④ Ohki,K. Intercellular localization of nitrogenase in a non-heterocystous cyanobacterium (Cyanophyte) *Trichodesmium* sp. NIBB1067. J.Oceanograph., 査読有, Vol.64, 2008, 211-216.
- ⑤ Taniuchi,Y., Murakami,A., Ohki,K. Whole-cell immunocytochemical detection of nitrogenase in cyanobacteria: improved protocol for highly fluorescent cells. Aquatic Microbiol. Ecol. 査読有, Vol.51, 2008, 237-247.
- ⑥ Taniuchi,Y., Yoshikawa,S., Maeda,T., Omata,T. Ohki,K. Diazotrophy under continuous light in a marine unicellular diazotrophic cyanobacterium, *Gloeotheca* 68DGA. Microbiology, 査読有, Vol.154, 2008, 1859-1865
- ⑦ Ohki,K., Kamiya,M., Honda,D., Kumazawa,S., Ho,K.K. Morphological and phylogenetic studies on unicellular diazotrophic cyanobacteria (Cyanophytes) isolated from the coastal waters around Singapore. 査読有, Vol. 44. 2008, 145-151.

[学会発表] (計 4 件)

- ① 山本治樹, 小島寛子, 大城香, 藤田祐一. 光依存型プロトクロロフィリド還元酵素を大量発現させたラン藻 *Leptolyngbya boryana* の細胞生化学的解析, 日本植物生理学会 (2011,03) 東北大学 (仙台市).
- ② 大城香 ヘテロシストを作らないラン藻の窒素固定, シアノバクテリア談話会 2010, 招聘講演(2010,03,20) 熊本大学 (熊本市)
- ③ Kawabata,T., Taniuchi,T., Yoshikawa,S., Kamiya,M., Ohki,K. Transcriptional regulation of the nitrogen fixation related genes (*nif* genes) by NtcA in a unicellular cyanobacterium *Gloeotheca* sp. 68DGA. 13th International Congress of Phototrophic Prokaryotes. (2009,08,10), モントリオール (カナダ) .
- ④ 大城香・谷内由貴子・吉川伸哉・Chen Yhu-ling Lee. 免疫細胞学的手法を用いた窒素固定ラン藻細胞検出の試みと問題点 日本海洋学会秋季大会(2008,09,26) 広島国際大学 (呉市) .

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
大城 香 (OHKI KAORI)
公立学校法人・福井県立大学・海洋生物資源学部・教授
研究者番号: 90101104
- (2) 研究分担者
なし
- (3) 連携研究者
神谷 充伸 (KAMIYA MITSUNOBU)
公立学校法人・福井県立大学・海洋生物資源学部・准教授
研究者番号: 00281139
吉川 伸哉 (YOSHIKAWA SHINYA)
公立学校法人・福井県立大学・海洋生物資源学部・助教
研究者番号: 20405070