

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19167

研究課題名（和文）細菌走化性を活用した食品廃棄物の資源化

研究課題名（英文）Recycling of food wastes using bacterial chemotaxis

研究代表者

橋本 渉（Hashimoto, Wataru）

京都大学・農学研究科・教授

研究者番号：30273519

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：植物細胞表面多糖（アルギン酸とペクチン）に資化性と走化性を示す *Sphingomonas* 属細菌 A1 株細胞は、食品廃棄物である褐藻類藻体やミカン果皮に対しても接近した。走化性発現に重要な A1 株細胞表面ペクチン結合タンパク質は、ペクチン走化性のみならず資化性にも関与する二機能性を示し、ペクチンの鎖長に応じて分子内のドメイン開閉度を変化させた。走化性を発現する A1 株細胞が褐藻類藻体とミカン果皮のそれぞれからバイオ燃料を生産することから、食品廃棄物として処理される加工残渣の新たな有効活用への途を拓くことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、これまでの低分子物質とは異なり、高分子物質（多糖ペクチン）に対する細菌の走化性発現に関わる新たな分子機構が明らかになった。特に、ペクチン結合タンパク質が基質のサイズに応じて親和性と結合様式を変化させることは、タンパク質の構造機能相関の観点から意義深い。また、アルギン酸とペクチンに対して資化性と走化性を示す細菌を用いて、食品廃棄物からバイオ燃料を生産できることが示されたため、循環型社会や脱炭素社会の形成 [ 持続可能な開発目標（SDGs）の達成 ] に貢献できる。

研究成果の概要（英文）： *Sphingomonas* sp. strain A1 cells show alginate/pectin-assimilating ability and chemotaxis towards both plant polysaccharides. In this study, strain A1 cells were found to show chemotaxis towards food wastes such as brown algae producing alginate and mandarin orange peels containing pectin. Strain A1 cell-surface pectin-binding protein crucial for expression of chemotaxis exhibited a bifunctional ability for pectin assimilation as well as chemotaxis, and adopted several conformations with different open/closed ratios of two domains in its molecule. Strain A1 cells showing chemotaxis towards alginate and pectin produced biofuel from the above-described food wastes. This study contributes to formation of sustainable and carbon neutral societies, and achievement of sustainable development goals (SDGs).

研究分野：応用微生物学

キーワード：アルギン酸 細菌 資源化 食品廃棄物 走化性 多糖 ペクチン X線結晶構造解析

## 1. 研究開始当初の背景

細菌の走化性に関して、誘引物質の認識には特異的な細胞表面受容体が機能し、細胞膜に局在するメチル基受容性走化性タンパク質 (MCP) と結合することにより、誘引物質の情報が伝達される<sup>1)</sup>。MCP 自体が誘引物質を認識する受容体として機能する場合もある。その後、一連の Che タンパク質群が細胞質内での情報伝達に機能し、べん毛運動を制御する。しかし、走化性基質はアミノ酸や糖などの低分子物質に限定されている<sup>2)</sup>。これは、細菌が高分子物質を直接利用できず、細胞外で低分子化してから取り込むことが主な要因と考えられる。一方、高分子物質である多糖 (アルギン酸とペクチン) を資化する *Sphingomonas* 属細菌 A1 株は、微生物学の歴史の中で初めて見いだした細胞表面に巨大な孔「体腔」を形成し、多糖アルギン酸を体腔から直接細胞内に輸送する<sup>3)</sup>。また、A1 株は極毛型と側毛型の二種類のフラジェリンを編成し、単一の極べん毛を形成することを明らかにした<sup>4)</sup>。これは、微生物学史上最初の異種フラジェリンによる融合線維の発見である。さらに、A1 株はアルギン酸とペクチンの両多糖に対して正の走化性を示すことを見いだした<sup>5)</sup>。以上の研究成果より、A1 株には細胞外に存在する高分子物質を認識する機構の存在が示唆される。アルギン酸やペクチンの資化性細菌は多数知られているが、両多糖に対する走化性及びその分子機構は不明である。最近、A1 株のペクチン走化性に関わるペクチン結合タンパク質 (SPH1118) を同定している<sup>6)</sup>。

2015 年に国連サミットで 17 の持続可能な開発目標 (Sustainable Development Goals: SDGs) が設定されている。日本政府も SDGs を達成すべく、具体的な実施指針が示され、その中に「食品廃棄物の削減や活用」が含まれる。アルギン酸とペクチンは植物の細胞表面の主要な成分であり、食品素材として利用されている半面、食品加工の過程で多くが廃棄されている。例えば、アルギン酸は海藻残渣に、ペクチンは柑橘類の果皮に多量に含まれる。これまでに原料基質の分解代謝能向上や目的物質の生産強化は多数試みられているが<sup>7)</sup>、走化性の向上 (原料基質のセンシングと接近能強化) の観点から食品廃棄物の資源化を目指す研究例は乏しい。

## 2. 研究の目的

本研究では、A1 株の走化性発現機構の初発 (トリガー) である高分子物質 (多糖) を認識する分子 (多糖結合タンパク質) の構造と機能、並びに走化性発現に関わる分子機構を解明し、細菌走化性を活用した食品廃棄物の資源化を目的とする。具体的には、走化性発現に関わる多糖結合タンパク質の基質特異性 (特に、基質サイズ依存的結合性) 及び X 線結晶構造解析による立体構造の決定を目指す。特に、多糖結合タンパク質による多糖認識様式を原子レベルで解析し、高分子物質に対する走化性発現機構の機序を明らかにする。

A1 株は精製された均一のアルギン酸やペクチンに資化性と走化性を示すが、食品廃棄物である褐藻類残渣やミカン果皮は不均一な成分である。食品廃棄物を資源化するためには、不均一な成分からでも資化性や走化性を示す必要がある。そこで、褐藻類残渣やミカン果皮に対する A1 株の資化性や走化性を評価し、バイオエタノール生産能を付与した A1 株を用いて、褐藻類残渣やミカン果皮からのバイオ燃料生産を目指す。

## 3. 研究の方法

### (1) 材料と微生物

食品廃棄物の一例として、市販のコンブ (褐藻類) やミカンから調製した藻体や果皮を用いた。ペクチン関連多糖として、ペクチン、ポリガラクトuronan (PG)、及びラムノガラクトuronan I (RG-I) を購入した。アルギン酸・ペクチン資化性 A1 株を軟寒天培地で継代培養することにより<sup>5)</sup>、A1 株細胞にアルギン酸とペクチン走化性を付与した。A1 株の増殖は、培養液の波長 600 nm における光学密度または寒天培地でのコロニー形成単位 (CFU) を計測することにより評価した。

### (2) 走化性の評価

軟寒天培地を用いて、被検物質 (アルギン酸や褐藻類藻体、ペクチンやミカン果皮) に接近する A1 株細胞の有無を確認することにより走化性を評価した (図 1)。

### (3) ペクチン結合タンパク質 (SPH1118) の精製

His タグを付加した SPH1118 の遺伝子を導入した遺伝子組換え大腸菌を培養し、培養菌体を超音波破碎と遠心分離に供した後、細胞抽出物を調製した。細胞抽出物より、各種カラムクロマトグラフィーにより SPH1118 を精製した<sup>6)</sup>。

### (4) ペクチンオリゴ糖の調製

RG-I を酵素分解により生じたペクチンオリゴ糖をゲル濾過カラムクロマトグラフィーに供し、ペクチンオリゴ糖を精製した<sup>8)</sup>。

### (5) 結合性の評価

SPH1118 とペクチンオリゴ糖との結合性は紫外吸収差スペクトル法と示差走査型蛍光定量法 (DSF) により評価した<sup>8)</sup>。

## (6) X線結晶構造解析

SPH1118の立体構造解析のため、多検体スクリーニングにより結晶化条件を確立した。放射光実験施設 (SPring-8) で X線回折データを収集し、結晶学的性質 (格子定数、空間群、分解能など) を決定した。分子置換法により位相を決定し、初期モデルを構築後、構造を精密化した。基質結合型の構造決定では、SPH1118と基質 (ペクチンオリゴ糖など) の共存下で調製した共結晶を用いた。

## (7) エタノールの定量

培養液中のエタノール濃度は、培養液を遠心分離により調製した培養濾液を対象に、F-kit エタノール (J.K. インターナショナル) を用いた酵素法により測定した。

## 4. 研究成果

### (1) ペクチン結合タンパク質 (SPH1118) はオリゴ糖よりも多糖と強く結合する

ペクチン走化性欠損株 (図1) における変異遺伝子を解析することにより、ペクチン走化性の発現に関わるトリガーとしてペクチン結合タンパク質 (SPH1118) を同定している<sup>6)</sup>。そこで、SPH1118の基質特異性を明らかにするため、遺伝子組換え大腸菌を用いて、SPH1118を電気泳動的に均一になるまで精製し、基質との結合性を紫外吸収差スペクトル法とDSFにより評価した。

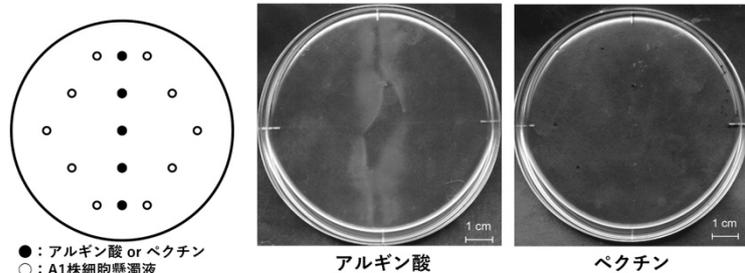


図1. ペクチン走化性欠損株

A1株細胞が中央のアルギン酸に接近し増殖しているが、ペクチンには接近していない(アルギン酸のプレート中央には上下に渡って白い帯状の菌体が観察されるが、ペクチンのプレートにはない)。

DSFにより判明したSPH1118との最低結合濃度は、ペクチン 10  $\mu\text{M}$ 、PG 8.33  $\mu\text{M}$ 、RG-I 16.7  $\mu\text{M}$ 、RG-I オリゴ糖 59.8  $\mu\text{M}$ 、不飽和ガラクトuron酸三糖 ( $\Delta\text{triGalUA}$ ) 380  $\mu\text{M}$ 、ガラクトuron酸 (GalUA) 6.19 mMであった。実際に、紫外吸収差スペクトル法で解離定数 ( $K_d$  値) を算出すると、ペクチン 9.28  $\mu\text{M}$ 、PG 8.28  $\mu\text{M}$ 、 $\Delta\text{triGalUA}$  96.2  $\mu\text{M}$  と決定された (図2)。これらの結果から、SPH1118はオリゴ糖よりも多糖と強く結合することがわかった。

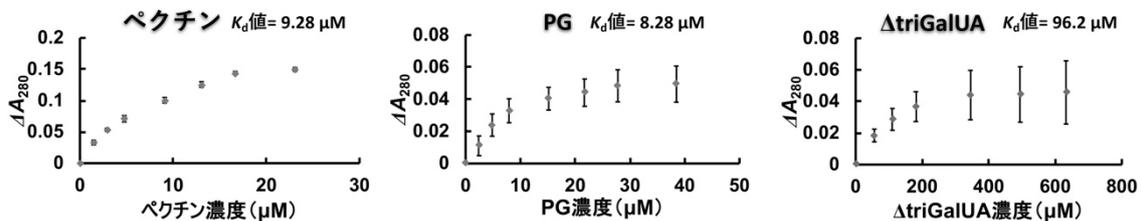


図2. SPH1118 基質特異性

アルギン酸走化性発現に関わるトリガータンパク質は未同定である。そこで、図1と同様に、アルギン酸走化性欠損株の育種を試みた。具体的には、走化性を示すA1野生株細胞を紫外線や変異剤で処理し、突然変異を誘発させ、変異株を分離した。変異株はアルギン酸には走化性を示さず、ペクチンには接近した。なお、変異株はアルギン酸とペクチンに対してやや低い資化性を示すため、変異株の変異箇所の同定を進めている。

### (2) SPH1118は基質のサイズに応じてドメインの開閉度を変化させる

SPH1118はペクチン走化性発現に関わるトリガーと同時に、ペクチン輸送体であるABCトランスポーターに基質を運搬する基質結合タンパク質としても機能する<sup>6)</sup>。これまでにペクチンオリゴ糖の輸送に関わる *Dickeya dadantii* 由来基質結合タンパク質 TogB の構造機能相関が明らかにされているが<sup>9)</sup>、多糖であるペクチンと結合とする基質結合タンパク質の構造決定例はない。そこで、SPH1118の立体構造をX線結晶構造解析により決定することに着手した。

マルチウェルプレートを用いた多検体結晶化スクリーニングにより、幾つかの条件でSPH1118の結晶を得た。SPring-8でX線回折データを収集し、*Thermotoga maritima* 由来オリゴペプチド結合タンパク質 OppA (PDB-ID: 5IPW) をサーチモデルとした分子置換法により分解能 1.7  $\text{\AA}$  でSPH1118の立体構造を決定した (図3)。SPH1118は他の基質結合タンパク質と同様、NとC末端の二つのドメインから構成されており、両ドメインの間には基質との結合箇所と示唆されるクレフトが存在する。クレフトは正に荷電しているため、負に帯電している酸性多糖であるペクチンとの結合には好適であると考えられる。なお、小さなC末端部位はN末端ドメインに含まれる。SPH1118とTogBとの間に一次構造の相同性は全く認められないが、立体構造のトポロジーはよく類似している。一方、相違点としては両ドメインの間に存在するクレフトの大きさが挙げられる。プログラム ProFunc を用いた解析によりクレフトの大きさを調べたところ、SPH1118

は  $9,088 \text{ \AA}^3$  であり、TogB は  $3,564 \text{ \AA}^3$  であることから、SPH1118 は多糖であるペクチンの結合を可能とするための大きなクレフトをもつことが示唆された。

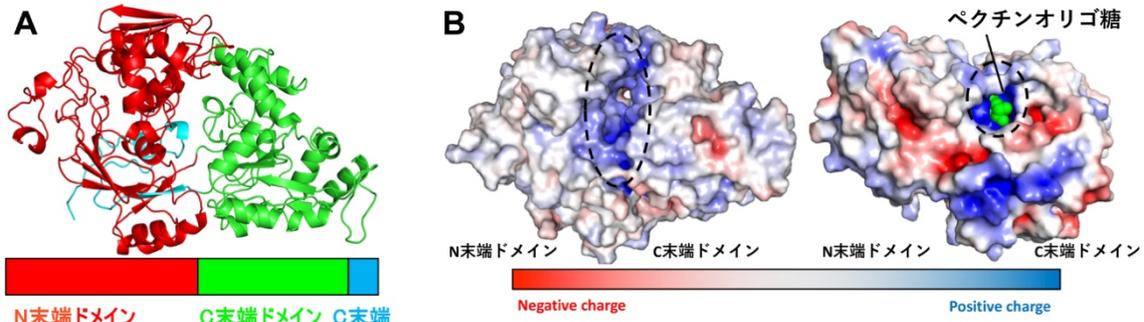


図 3. SPH1118 の立体構造  
(A) リボンモデル(C 末端部位は N 末端ドメインに含まれる)  
(B) 分子表面モデル[左: SPH1118、右 TogB(PDB-ID: 2UVJ)] SPH1118 は大きなクレフトをもつ

SPH1118 の構造機能相関を明らかにするため、各種リガンド (単糖: ガラクツロン酸 GalUA、二糖様: MES2 分子、三糖: 不飽和ガラクトツロン酸三糖  $\Delta$ triGalUA) との複合体の立体構造を決定した。その結果、上記の構造とは、両ドメインの開閉度が異なる 5 種類の構造が得られた (図 4)。基質が結合していても、開閉度が異なる状態が存在する。水溶液中では、ドメインの開閉を繰り返し、フレキシブルな構造をとっていることが示唆された。さらに、興味深いことに、基質が結合している場合、基質のサイズに応じてドメインの開閉度が異なり、基質が大きくなるほど、より閉じた構造をとることがわかった (図 5)。

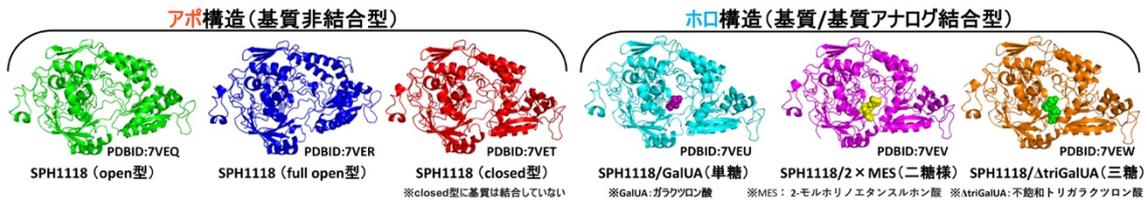


図 4. SPH1118 とリガンドとの複合体の立体構造

最も開いた状態 (full open 型) と比較すると、SPH1118 は単糖との結合で  $38.1^\circ$ 、二糖様との結合で  $40.3^\circ$ 、三糖との結合で  $43.4^\circ$  もドメインを閉じることが示された。これまでに糖の修飾基 (硫酸基) の数の違いによりドメインの開閉度が異なることが報告されているが<sup>10)</sup>、基質のサイズに依存してドメインの開閉度を変化させる例は初めてである。ドメインの開閉度をフレキシブルにすることにより、重合度の異なる基質 (多糖) への結合を可能にしていると考えられる。

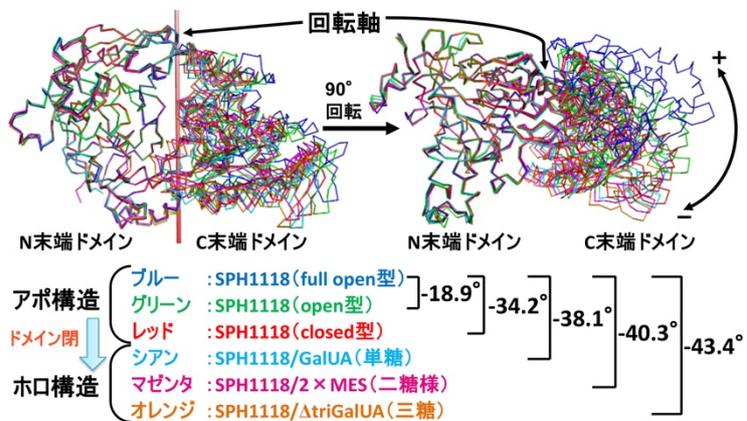


図 5. SPH1118 の基質サイズ依存的ドメイン開閉度

SPH1118 と基質との結合様式を調べるとみると、各サブサイトに基質である糖残基がそれぞれ結合しており、各サブサイトでは水素結合、塩橋、スタッキング相互作用により、SPH1118 がそれぞれの糖残基と結合していることが明らかになった。

### (3) A1 株は褐藻類藻体とミカン果皮にも走化性を示し、バイオ燃料を生産する

A1 株は精製された均一なアルギン酸やペクチンに走化性を示す (図 1)。一方、ミカン果皮などの食品廃棄物は不均一な成分である。そこで、A1 株の食品廃棄物に対する走化性を評価した。食品廃棄物として褐藻類藻体とミカン果皮を用いた。図 1 に示す走化性評価において、被検物質に褐藻類藻体またはミカン果皮を軟寒天培地に置いて、A1 株細胞の接近性を調べた。その結果、A1 株細胞は褐藻類藻体とミカン果皮の両方に正の走化性を示した。アルギン酸とペクチンは水溶性多糖として知られているため、A1 株細胞に認識される状態で褐藻類藻体とミカン果皮のそれぞれに存在していることが示唆された。なお、褐藻類藻体を炭素源とする最少培地で A1 株細胞を培養し CFU を測定したところ、A1 株細胞の増殖が確認された。この点からも褐藻類藻体からアルギン酸が溶出している可能性が考えられる。

合成生物学的に改変した A1 株細胞はアルギン酸からエタノールを生産する<sup>11)</sup>。そこで、改変

A1 株細胞を軟寒天培地で継代培養し、運動性並びに走化性を付与した A1 株細胞を育種した。改変 A1 株と走化性を付与した A1 株の各細胞を用いて、褐藻類藻体またはミカン果皮からのバイオエタノール生産性を評価した。その結果、両株は褐藻類藻体とミカン果皮の両方からバイオエタノールを生産することが認められた。

#### 【本研究成果のインパクトと今後の展望】

本研究により、低分子物質とは異なる高分子物質（多糖ペクチン）に対する細菌の走化性発現の初期応答が明らかになった。A1 株は細胞表層にペクチン結合タンパク質 SPH1118 を発現し、そのドメインを開いたり閉じたりすることにより、重合度の異なるペクチンを認識する。実際に、SPH1118 は重合度の大きい基質ほどドメインを閉じた構造をとる。SPH1118 は走化性と資化性の両方に関与することが示されている<sup>9)</sup>。したがって、A1 株の多糖に対する走化性発現機構として、SPH1118 は基質のサイズに応じてドメイン開閉度を変化させて、走化性発現には細胞質膜の MCP 様分子にシグナル伝達する一方、ABC トランスポーターに基質を運搬して資化性を惹起するモデルを提唱することができる（図 6）。

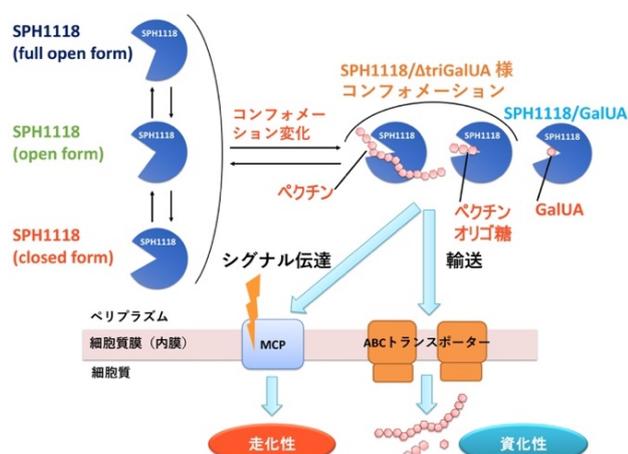


図 6. SPH1118 依存的走化性・資化性発現機構

A1 株が均一なアルギン酸やペクチンのみならず、食品廃棄物（褐藻類藻体とミカン果皮）にも走化性を示し、その廃棄物よりバイオエタノールを生産することが判明した。食品廃棄物からのバイオ燃料生産が達成されることから、食品廃棄物の資源化が可能であることが実証された。以上のことから、本研究成果は持続可能な社会や低炭素社会の実現を目指す SDGs の達成に大いに貢献できると期待される。

#### 引用文献

- 1) Salah, Ud-Din A.I.M. and Roujeinikova, A. (2017) Methyl-accepting chemotaxis proteins: a core sensing element in prokaryotes and archaea. *Cell. Mol. Life Sci.*, **74**, 3293-3303.
- 2) Adase, C.A., Draheim, R.R., and Manson, M.D. (2012) The residue composition of the aromatic anchor of the second transmembrane helix determines the signaling properties of the aspartate/maltose chemoreceptor Tar of *Escherichia coli*. *Biochemistry*, **51**, 1925-1932.
- 3) Murata, K., Kawai, S., Mikami, B., and Hashimoto, W. (2008) Superchannel of bacteria: biological significance and new horizons. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 265-277.
- 4) Maruyama, Y., Kobayashi, M., Murata, K., and Hashimoto, W. (2015) Formation of a single polar flagellum by two distinct flagellar gene sets in *Sphingomonas* sp. strain A1. *Microbiology*, **161**, 1552-1560.
- 5) Kobayashi, M., Konishi, H., Maruyama, Y., Murata, K., and Hashimoto, W. (2016) Lateral-typed flagellin responsible for formation of a polar flagellum but not of lateral flagella in *Sphingomonas* sp. strain A1. *Microbiology*, **162**, 2042-2052.
- 6) Konishi, H., Hio, M., Kobayashi, M., Takase, R., and Hashimoto, W. (2020) Bacterial chemotaxis towards polysaccharide pectin by pectin-binding protein. *Sci. Rep.*, **10**, 3977.
- 7) Wargacki, A.J., Leonard, E., Win, M.N., Regitsky, D.D., Santos, C.N., Kim, P.B., Cooper, S.R., Raisner, R.M., Herman, A., Sivitz, A.B., Lakshmanaswamy, A., Kashiya, Y., Baker, D., and Yoshikuni, Y. (2012) An engineered microbial platform for direct biofuel production from brown macroalgae. *Science*, **335**, 308-313.
- 8) Anamizu, K., Takase, R., Hio, M., Watanabe, D., Mikami, B., and Hashimoto, W. (2022) Substrate size-dependent conformational changes of bacterial pectin-binding protein crucial for chemotaxis and assimilation. *Sci. Rep.*, **12**, 12653.
- 9) Abbott, D.W. and Boraston, A.B. (2007) Specific recognition of saturated and 4,5-unsaturated hexuronate sugars by a periplasmic binding protein involved in pectin catabolism. *J. Mol. Biol.*, **369**, 759-770.
- 10) Oiki, S., Kamochi, R., Mikami, B., Murata, K., and Hashimoto, W. (2017) Alternative substrate-bound conformation of bacterial solute-binding protein involved in the import of mammalian host glycosaminoglycans. *Sci. Rep.*, **7**, 17005.
- 11) Takeda, H., Yoneyama, F., Kawai, S., Hashimoto, W., and Murata, K. (2011) Bioethanol production from marine biomass alginate by metabolically engineered bacteria. *Energy Environ. Sci.*, **4**, 2575-2581.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakatsuji Sakiko, Okumura Kenji, Takase Ryuichi, Watanabe Daisuke, Mikami Bunzo, Hashimoto Wataru	4. 巻 594
2. 論文標題 Crystal structures of EfeB and EfeO in a bacterial siderophore-independent iron transport system	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 124 ~ 130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.01.055	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Anamizu Kotaro, Takase Ryuichi, Hio Mamoru, Watanabe Daisuke, Mikami Bunzo, Hashimoto Wataru	4. 巻 12
2. 論文標題 Substrate size-dependent conformational changes of bacterial pectin-binding protein crucial for chemotaxis and assimilation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12653
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-16540-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 高瀬 隆一、村田 幸作、河井 重幸、橋本 渉	4. 巻 93
2. 論文標題 細菌が高分子多糖に走化性を示す分子機構	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 257 ~ 261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2021.930257	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 MURATA Kousaku, KAWAI Shigeyuki, HASHIMOTO Wataru	4. 巻 98
2. 論文標題 Bacteria with a mouth: Discovery and new insights into cell surface structure and macromolecule transport	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the Japan Academy, Series B	6. 最初と最後の頁 529 ~ 552
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2183/pjab.98.027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中辻 早希子、日尾 守、高瀬 隆一、渡辺 大輔、橋本 渉
2. 発表標題 細菌によるブルーカーボン・レアメタル含有褐藻類の高度利用
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 穴水 康太郎、高瀬 隆一、日尾 守、渡辺 大輔、三上 文三、橋本 渉
2. 発表標題 多糖ペクチン結合タンパク質の基質サイズ依存的な構造変化
3. 学会等名 日本応用糖質科学会第47回近畿支部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 橋本 渉
2. 発表標題 ペクチンを標的とする細菌の分子機構
3. 学会等名 第15回多糖の未来フォーラム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中辻 早希子、高瀬 隆一、橋本 渉
2. 発表標題 細菌鉄輸送Efe系の金属結合タンパク質Efe0の立体構造
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中田 翔太、高瀬 隆一、河井 重幸、渡辺 大輔、橋本 渉
2. 発表標題 海洋酵母と細菌の共生による海藻多糖アルギン酸の利用
3. 学会等名 日本農芸化学会西日本・中四国・関西支部2021年度合同鹿児島大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 勝弘 夏子、中田 翔太、渡辺 大輔、高瀬 隆一、橋本 渉
2. 発表標題 褐藻類多糖を標的とする海洋微生物叢
3. 学会等名 第22回関西グライコサイエンスフォーラム
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関