

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 7 日現在

機関番号：10103

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23510086

研究課題名(和文)新規のPCE完全脱塩素化菌の分解酵素精製及び汚染土壌修復中の群集構造解析

研究課題名(英文)Purification of a new PCE-dechlorinating enzyme and microbial community structure analysis under remediation of PCE-contaminated soil

研究代表者

チャン ヨンチョル(Chang, Young-Cheol)

室蘭工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：30422025

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は新たなPCE分解菌(Propionibacterium sp. HK-1)を探索して発見し、その分解機構の一端を解明したものである。PCEによる地下水や土壌汚染は世界的な問題であり、その浄化方法の構築が社会的に要求されている。本菌は、PCEばかりでなく、多種の脂肪属有機塩素化合物を分解する。地下水や土壌汚染は複合汚染であり、バイオレメディエーションの実施には多種の化合物を分解する微生物が要求される。本菌はその候補の一つと考えられ、また、PCE分解機構の一部を明らかにしたことは学問的及び応用上大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：This research was performed to clarify the tetrachloroethylene (PCE) degradation mechanism using the new isolate, designated as strain Propionibacterium sp. HK-1. Groundwater and soil contamination by PCE are a global issue, and the creation of removal method is demanded socially. Strain HK-1 could dechlorinate not only PCE but also other various chlorinated aliphatic compounds. Groundwater and soil contaminations are combined contamination and the microbe which degrades various compounds is required for the implementation of bioremediation. Strain HK-1 has been considered to be one of candidates for the purpose and obtained academic results through this study are considered to be large on the application of PCE bioremediation.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境科・環境技術・環境材料

キーワード：テトラクロロエチレン PCE Propionibacterium 脱塩素 DGGE

1. 研究開始当初の背景

これまでにテトラクロロエチレン (PCE) 脱塩素化菌は世界で十数株が単離され、脱塩素化酵素および遺伝子の解析が行われている。このうち、PCE をエチレンへ完全脱塩素化する菌属は Dehalococcoides 菌属のみであり、エチレンが検出された汚染サイトのサンプルからも Dehalococcoides 属細菌が検出されたことからこの菌属が PCE 分解において重要な役割をしていることが示唆された。しかし、この菌属は単独では育たないため、他の菌もまじって育てるコンソーシアムの形で汚染現場の浄化に利用されている。しかし、わが国では生態系への安全性および処理速度の観点からその使用が懸念されている。一般に、炭化水素の分解には様々な異なる微生物による生物分解が報告されている。PCE のシス-1,2-ジクロロエチレン (cis-DCE; PCE の主な中間代謝産物) への分解も同様のことがいえる。しかし、20 年以上の世界各地での活発な実験室並び実地調査にもかかわらず未だに PCE の完全分解菌として Dehalococcoides 菌属のみが報告されている。しかし、我々は Dehalococcoides 菌属のみが PCE の完全分解のできる唯一な菌属であると生半可に断言してはならない。なぜならば自然環境中には Dehalococcoides 菌属以外にも PCE の完全分解のできる微生物が存在する可能性が依然として存在しているからである。実際に、最近これを裏付けるように茂野らによって Dehalococcoides 属が存在しなくても PCE の完全脱塩素化のできる汚染現場が存在したことが発表されている。他方、我々は2年間の長時間に亘り、北海道の某ドライクリーニング店周辺の下水溝汚泥から PCE および cis-DCE の分解能の高い菌を分離することに成功し、この菌を HK-1 株と名づけた。この HK-1 菌株は微量の酵母エキスを含む無機塩培地の中で高濃度(50ppm)の PCE および cis-DCE を図に示したような毒性の中間代謝産物 (cis-DCE および塩化ビニル) を生成せず部分的な転換ではあるが、エチレンにまで脱塩素化すると知見を得ている。また、Propionibacterium 属と同定された HK-1 菌種は非病原性菌であることがよく知られており、浄化操作の際懸念されるヒトへの安全性の面においても安心して利用できる。さらに、無細胞を用いた実験では PCE だけではなく様々な有機塩素化合物 (1,1-dichloroethane, 1,2-dichloroethane, 1,2-dichloropropane, 1,1,2-trichloroethane) の分解も可能であることが確認されている。

2. 研究の目的

PCE などの有機塩素化合物の浄化に関しては、活性炭吸着や土着微生物の活性化法が、主に実施されてきている。しかし、より積極的な修復手法である生物添加法 (バイオオーギュメンテーション) については、処理の確

実性および処理後の中間代謝産物による二次汚染、コンソーシアムの場合生態系に及ぼす影響が大きい等の課題があり、実用化例はほとんどない。本申請では、実用化の可能性を見出す上で、最も重要な項目の新規の PCE 分解菌の特性を調べ、菌を使ったオーギュメンテーションをする際の最適操作条件を求めることにより土壌浄化の実用化の見通しを得ることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) PCE 分解菌の分解における諸性質の検討(平成23年度):

分解促進因子および阻害因子の明確化
他の電子受容体の影響、炭素源の影響、酸素の影響、ORP の影響、硝酸塩濃度の影響、至適初発温度および pH の検討を行なう。

分解機構解明

GC および GC/MS 分析、C¹⁴ で標識した PCE の分解実験と分解産物である CO₂ から PCE 由来の CO₂ 量を算出する(参考文献: Freedman, D. L. and J. M. Gossett. Appl. Environ. Microbiol. 55, 2144-2151, 1989)。なお、分解産物の同定がうまく行かない場合は、NMR および LC/MS 分析装置による分析も行なう。

PCE および他の揮発性有機塩素化合物の最大分解濃度確認 (対象化合物; trichloroethylene, cis-DCE, trans-DCE, vinyl chloride, 1,2-dichloroethane, 1,1-dichloroethane, dichloromethane, 1,3-dichloropropene, 1,2-dichloropropene, and 1,1,2-trichloroethane 等)。

(2) PCE 分解酵素の精製(平成23~24年度上期):

分解酵素の精製は、伝統的なカラムを用いた精製方法で行なう。酵素の精製中の酸化防止のため、DTT (dithiothreitol) を加え、限外濾過ユニットにて濃縮したあと、陰イオン交換カラム (DEAE Toyopearl 650)、ゲル濾過カラム (Superdex pg 75)、さらに陰イオン交換カラム (Poros HQ) を用いて精製を行なう(参考文献: Benedict C. Okeke, Young C. Chang, Masahiro Hatsu, Tohru Suzuki, and Kazuhiro Takamizawa, Canadian Journal of Microbiology, 47, 448-456, 2001)。

(3) 模擬土壌を用いた分解実験(平成24~25年度上期):

研究結果に詳細に述べる。

(4) 分子生物学的な手法による模擬土壌中の群集構造確認(平成24~25年度):

研究結果に詳細に述べる。

4. 研究成果

H23 年度 (初年度) においては分解活性制御因子の検討及び分解機構の解明を行い、さらに分解酵素の部分精製を行った。Propionibacterium sp. HK-1 株は PCE 分解においてトリクロロエチレン (TCE) などの中間代謝産物を蓄積せず、PCE (0.3 mM) を

速やかに分解した。様々な電子供与体の供与によって分解率の向上が確認された。粗酵素液を用いた実験では Titanium citrate による還元後に Propyl iodide を供与することによって不活性化されたことから、PCE デハロゲナーゼは膜酵素であることが示唆された。反応液中の塩化物イオン (0.094 mM) 濃度が PCE (0.026 mM) の分解によって生じる化学量論値の 91% と一致したため、ほとんどの PCE は脱塩素化されたことが分かった (図 1)。

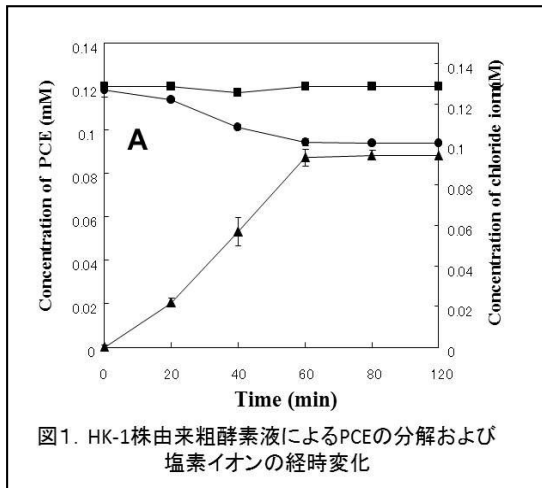


図1. HK-1株由来粗酵素液によるPCEの分解および塩素イオンの経時変化

一方、[1,2-¹⁴C]でラベルした PCE を用いた実験では全放射能活性の 17%のみが回復されたが、7%のエチレンが検出されたため、*Propionibacterium* sp. HK-1 株は PCE を部分的にエチレンにまで転換したと考えられる。

H24 年度においては、分解酵素である PCE デハロゲナーゼを精製するため、DEAE-Toyopearl650、Superdexpg-75、PorosHQ の順で精製を行ったが、完全な精製にまでは至らなかった。PorosHQ カラムによる部分精製において PCE 分解活性を示した画分 (38番)の主なバンドは分子量 20、30、70kDa であった(図 2)。

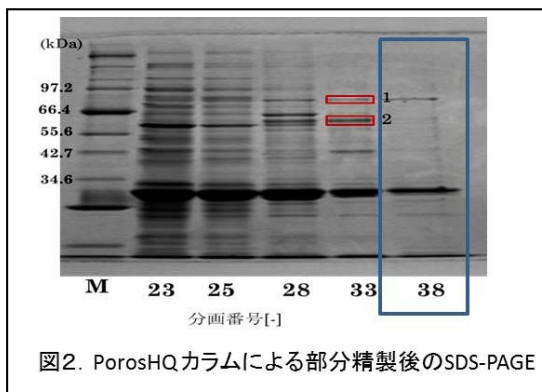


図2. PorosHQカラムによる部分精製後のSDS-PAGE

その後、限外ろ過膜を用いて 30kDa 以下のバンドを除去し 70kDa 付近の一本バンドの酵素を精製した。この精製酵素液を用いて PCE の分解に供した結果、微量ではあるが TCE と cis-DCE などの中間代謝産物が確認できた。一方、分子量 20、30kDa の分画が混在した酵

素溶液では TCE と cis-DCE などの中間代謝産物が確認できなくエチレンの生成が確認できた。この結果から PCE の完全分解には二つ以上の酵素が関与していることが示唆された。現在、30kDa の分画の酵素を精製している。

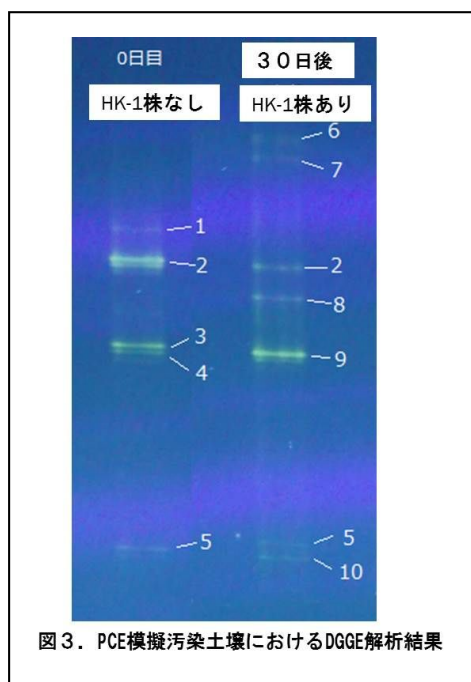
本研究は新たな PCE 分解菌を探索して発見し、その分解機構の一端を解明したものである。PCE による地下水や土壤汚染は世界的な問題であり、その浄化方法の構築が社会的に要求されている。本菌は、PCE ばかりでなく、多種の脂肪属有機塩素化合物を分解する。地下水や土壤汚染は複合汚染であり、バイオレメディエーションの応用には多種の化合物を分解する微生物が要求される。本菌はその候補の一つと考えられ、また、PCE 分解機構の一部を明らかにしたことは学問的及び応用上大きいと考えられる。

一方、モデル汚染土壌から DNA を抽出し、16S rDNA 領域の PCR 増幅及び DGGE 解析を行った。DNA 抽出には QIAGEN 社の Fast DNA SPIN Kit for Soil を使用した。抽出した DNA をテンプレート DNA としてポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) に用いた。PCR ではプライマー (341FGC と 518R) を用いて 16S rDNA の 177bp 領域の DNA を増幅した。これらの PCR 産物を DGGE により解析すると数本のバンドが得られた。その後、そのバンドを精製 (5 回 DGGE を繰り返す) し、シーケンス解析及び BLAST 検索を行った。

H25 年度においては汚染前後の土壌試料中の優占種を把握することと、HK-1 株の投入前後の微生物群集を把握した。試料は、PCE 非汚染土壌と汚染地域からの土壌を獲得し、模擬土壌の分解実験と併用する予定だったが、汚染土壌の入手が困難であったため、人為的に研究室で土壌試料を作成し分析を行った。実験に用いた土壌は室蘭工業大学キャンパス内から採取し、その非滅菌土壌 20 g に PCE 溶液を加え、50 mg/L の汚染土壌を作製した。そこへ HK-1 株の初発菌体濃度 [吸光度 (OD600)] が 0.2 となるよう土壌に供し、密閉した 120 - mL 用のバイアルの中で反応を観察した。0, 1, 2, 3, 5, 7 日後に Most probable number (MPN) 法を用いて PCE 分解菌数の定量、及びガスクロマトグラフィーを用いて PCE 濃度の測定を行った。また、0 及び 30 日後に PCR-DGGE 法により土壌中の微生物の群集構造の解析を行った。

経時変化に伴う PCE 濃度は、HK-1 株を加えていない非滅菌土壌に比べ、加えた土壌の方が PCE の減少が大きく、30 日後にはほとんどの PCE が分解された。また、HK-1 株を加えなかった土壌 (非滅菌土壌) においても PCE が初期濃度のおよそ 30% にまで減少したことから HK-1 株以外にも土壌中に PCE 分解菌が内在することが示唆された。一方、1 日目をピークに PCE 分解菌の急激な減少が見られた。その後、菌の増殖が確認されたが菌の増殖速度は液体培養とは違いかなり遅いことが分

かった。分解産物は主に cis-DCE であったが、分解産物の 10%に相当するエチレンが検出されたことから、部分的な完全分解ができたことと判断した。今後、他の脱塩素化菌との併用による完全分解を試みる予定である。



一方、0日目のHK-1株を接種していなかったコントロール土壌で見られたバンドが、HK-1株を接種した30日目の土壌では見られなかった。その理由として、土壌にPCEを加えたことによって菌の増殖阻害が生じたためであると考えられる。しかし、30日目では0日目では見られなかった新たなバンドが見られた。これより、内在微生物にはPCEに影響されずに増殖できる菌が存在したことが分かった。また、HK-1株は内在微生物と競合することなくPCEを効率よく分解することができるという知見を得た(図3)。

他方、モデル汚染土壌にグルコース溶液(1.0g/L)を添加し、分解能を比較・検討した。HK-1菌株を加えなかった条件に比べ、PCEの除去速度の向上が見られた。これはグルコースがHK-1菌株の増殖を促進した結果によるものであることが考えられる。

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19件)

(1) Young-Cheol Chang, DuBok Choi, Kazuhiro Takamizawa, Shintaro Kikuchi, Isolation of *Bacillus* sp. strains capable of decomposing alkali lignin and their application in combination with lactic acid bacteria for enhancing cellulase performance, *Bioresource Technology*, 152,

429-436 (2014) 「査読あり」

(2) Ki-An Cho, On-You Choi, Hyun Suk Choi, Ha Young Koh, and Young-Cheol Chang, A study on liquid culture of *Pleurotus florid* Mutant L-456 using waste vegetable oil containing high fatty acid. *J. Adv. Eng. and Tech.* 7(1) (In Press) 「査読あり」

(3) Young-Cheol Chang and Shintaro Kikuchi, A New Biological Pretreatment Method for Enhancing Cellulase Performance *J. Bioremediation & Biodegradation* (In Press) 「査読あり」

(4) Young-Cheol Chang, DuBok Choi, Kazuhiro Takamizawa, Shintaro Kikuchi, Effect of blast furnace dust on the degradation of chlorinated organic and endocrine disrupting compounds, *Process Biochemistry*, 48, 694-702 (2013) 「査読あり」

(5) Young-Cheol Chang, Kazunori Takada, DuBok Choi, Tadashi Toyama, Ken Sawada, and Shintaro Kikuchi, Isolation of biphenyl and polychlorinated biphenyl-degrading bacteria and their degradation pathway, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 170(2), 381-398 (2013) 「査読あり」

(6) Woo-Taeg Kwon, Y. C. Chang, Woo-Sik Lee, Young-Ah Rha, Potential exoproteolytic activity assay for the determination of fixed bacterial biomass, *Molecular & Cellular Toxicology*, 9, 319-325 (2013) 「査読あり」

(7) Ki-An Cho, On-You Choi, Shiru Jia, and Young-Cheol Chang, L (+)-lactic acid production in the culture of *Rhizopus oryzae* T 345 using raw cassava meal, *J. Adv. Eng. and Tech.*, 6(1), 13-17 (2013) 「査読あり」

(8) Ki-An Cho, On-You Choi, Shiru Jia, and Young-Cheol Chang, Fumaric Acid Production from *Rhizopus arrhizus* FRA 23 using Airlift Loop Reactor, *J. Adv. Eng. and Tech.* 6(2), 93-97 (2013) 「査読あり」

(9) Young-Cheol Chang, DuBok Choi, Shintaro Kikuchi, Enhanced extraction of heavy metals in the two-step process with the mixed culture of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*, *Bioresource Technology*, 103, 477-480 (2012) 「査読あり」

(10) Young C. Chang, Akinori Nawata, Kweon Jung and Shintaro Kikuchi, Isolation and characterization of an arsenate-reducing bacterium and its application for arsenic extraction from contaminated soil, *J Ind Microbiol Biotechnol*, 39, 37-44 (2012) 「査読あり」

(11) On You Choi, Shiru Jia, KiAn Cho,

and Young-Cheol Chang, -amylase production from *Bacillus megaterium* in the air lift bioreactor using corn starch as sole carbon source. *J. Adv. Eng. and Tech.*, 5(2), 103-107 (2012) 「査読あり」

(1 2) On You Choi, KiAn Cho, Shiru Jia, and Young-Cheol Chang, Optimal conditions for Chitinase production from *Bacillus licheniformis* H-89. *J. Adv. Eng. and Tech.*, 5(3), 197-200 (2012) 「査読あり」

(1 3) Bok Hee Kim, DuBok Choi, Yu Lan Piao, Sang-Shin Park, Myung Koo Lee, Wol-Suk Cha, Young-Cheol Chang, and Hoon Cho, Comparative study on the Antioxidant and Nitrite scavenging activity of Fruiting body and Mycelium extract from *Pleurotus ferulae*, *Kor. J. Chem. Eng.*, 29, 1393-1402 (2012) 「査読あり」

(1 4) Young-Cheol Chang, Kaori Ikeutsu, Tadashi Toyama, DuBok Choi and Shintaro Kikuchi, Isolation and characterization of tetrachloroethylene and *cis*-1,2-dichloroethylene-dechlorinating propionibacteria, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 38, 1667-1677 (2011) 「査読あり」

(1 5) Y. C. Chang, J. Kweon et al., Isolation of an arsenate-reducing bacterium from arsenic contaminated site, *韓国保健環境研究論文集*, 47, 67-77 (2011) 「査読あり」

(1 6) On-You Choi, Young-Sook Moon, and Young-Cheol Chang, Proximate Composition, Mineral, Amino Acid, and Antioxidant Component from Fruiting Body of *Pleurotus ostreatus* Mutant Cultivated on Agricultural and Industrial By-Product, *J. Adv. Eng. and Tech.*, 4(2), 207-211 (2011) 「査読あり」

(1 7) 張俗喆、宮森 侑司、高田 和紀、裴一相、丁 権、菊池 慎太郎、耐塩性ピフェニル類分解菌の単離とピフェニル分解経路の推定、*土木学会論文集G(環境)* 67、475 - 483 (2011) 「査読あり」

(1 8) On-You Choi, Young-Sook Moon, and Young-Cheol Chang, A study on Antioxidant and Nitrite scavenging Effects of Fruiting Body of *Pleurotus ostreatus* Cultivated on Agricultural and Industrial By-Product, *J. Adv. Eng. and Tech.*, 4(3), 255-259 (2011) 「査読あり」

(1 9) On-You Choi, Byeong-Kwon Ahn, Ki-An Cho, Gwang-Yeob Seo, In Sook Kang, and Young-Cheol Chang, Feasibility of kasugamycin production by *Streptomyces kadugaensis* using olive mill waste, *J. Adv. Eng. and Tech.*, 4(4), 391-395 (2011) 「査読あり」

【学会発表】(計17件)

(1) Young-Cheol Chang and Shintaro Kikuchi, A new biological pretreatment method for enhancing cellulase performance, Joint seminar on environmental science and disaster mitigation research 2014, 33-34(室蘭、2014年3月7日)

(2) Eri Yoshida, Mizuho Yamauchi, A. Giridhar Babu, Tamotsu Hoshino, Young-Cheol Chang and, Shintaro Kikuchi, Characterization of a 4-butylphenol-degrading microorganism isolated from the Antarctic soil, Joint seminar on environmental science and disaster mitigation research 2014, 35-36 (室蘭、2014年3月7日)

(3) Young-Cheol Chang, Tsuyoshi Emoto, Hoon Cho, Young-Sik Yoo, Shintaro Kikuchi, Isolation of *Bacillus* sp. strains capable of decomposing alkali lignin and their application in combination with lactic acid bacteria for enhancing cellulase performance, The 4th Forum on Studies of the Environmental and Public Health Issues in the Asia Mega-cities (EPAM2013), 53-67 (岐阜、2013年10月16-20日)

(4) Yuki Sato, Eri Yoshida, Keisuke Kondo, Tamotsu Hoshino, Young-Cheol Chang, Shintaro Kikuchi, Bacterial community of soil samples from the South Pole and a proposal for low-temperature bioremediation, Joint seminar on environmental science and disaster mitigation research 2013, 15-16(室蘭、2013年3月8日)

(5) Young-Cheol Chang, Daiki Koyama, Ben Okeke, Shintaro Kikuchi, Chitinase and alpha-amylase production from a lignin-degrading microorganism, Joint seminar on environmental science and disaster mitigation research 2013, 17-18 (室蘭、2013年3月8日)

(6) Ken Sawada, Yusuke Nara, Shintaro Kikuchi, Young-Cheol Chang, Screening and characterization of biological resources in Hokkaido, Joint seminar on environmental science and disaster mitigation research 2013, 57-58(室蘭、2013年3月8日)

(7) 吉田 愛里、山内 瑞穂、星野 保、張俗喆、菊池 慎太郎、南極土壌由来の難分解性化学物質分解菌の単離および分解特性探索、第50回環境工学研究フォーラム講演要旨集、Vol. 50, pp. 172-173, 2013 (札幌、2013年11月19-21日)

(8) 佐藤 優騎、河田 絢子、阿部 雄樹、張俗喆、菊池 慎太郎、寒冷地の DGGE による微生物群集構造解析及び 2,4-D の分解、第50回環境工学研究フォーラム講演要旨集、pp.

174-175, 2013 (札幌、2013年11月19-21日)

(9) 二階堂 健吾、佐藤 正義、椎名 亮太、安井 肇、張倅喆、菊池 慎太郎、亜臨界水処理と生物反応による未利用海藻のエタノール転換、第50回環境工学研究フォーラム講演要旨集、pp. 83-85, 2013 (札幌、2013年11月19-21日)

(10) 小山 大貴、山下 大、斉藤 航、澤田 研、張倅喆、菊池 慎太郎、ピフェニル分解酵素 BphC の精製及び分解経路の解析、第13回環境技術学会大会講演要旨集、Vol. 13, pp. 82-83, 2013 (岐阜、2013年9月13-14日)

(11) Young-Cheol Chang, Ken Sawada, Kazunori Takada, Hoon Cho, Shintaro Kikuchi, Characterization of salt and nitrate-tolerant PCB-utilizing bacteria: elucidation of dioxygenase encoded by the bphC gene using molecular techniques, The 15th International Biotechnology Symposium, (CD-format) (2012) (Daegu, Korea, September 17-21th, 2012).

(12) Young-Cheol Chang, Kazunori Takada, Ken Sawada, Kazuhiro Takamizawa, Shintaro Kikuchi, Isolation of salt and nitrate-tolerant biphenyl-degrading bacteria and their biphenyl degradation pathway, The 10th International Scientific and Technical Conference "Water Supply and Water Quality", Vol. 2, pp. 255-266 (2012) (Stare Jablonki, Poland, September 9-12th, 2012).

(13) Young-Cheol Chang, Hoon Cho, Kazuhiro Takamizawa, Shintaro Kikuchi, Degradation of chlorinated organic compounds and endocrine disrupting compounds by waste blast furnace dust, The 3rd Forum on Studies of the Environmental and Public Health Issues in the Asian Mega-cities (EPAM 2012) 56-61 (2012) (Beijing, China, July, 5-6th, 2012)

(14) Young-Cheol Chang, Eun-Sook Kim, Mi-Hye Kang, Young-Zoo Chae, Shintaro Kikuchi, Analysis of bacterial community structures in VOC contaminated sites, Joint seminar on environmental science and disaster mitigation research 2012, 17-18 (室蘭、2012年3月9日)

(15) Yuki Abe, Noriyuki Ogasawara, Young-Cheol Chang, Shintaro Kikuchi, Feasibility of using *Cupriavidus oxalatic* Y1 for the bioremediation of herbicide 2,4-D contaminated soil, Joint seminar on environmental science and disaster mitigation research 2012, 21-22 (室蘭、2012年3月9日)

(16) Tsuyoshi Emoto, Yusuke Nara, Ken Sawada, Young-Cheol Chang, Hoon Cho, Tatsuo Iwasa, Shintaro Kikuchi, Isolation

of lignin-degrading bacteria from soil, Joint seminar on environmental science and disaster mitigation research, 2012, 19-20 (室蘭、2012年3月9日)

(17) 阿部 雄樹、小笠原 典之、張倅喆、菊池 慎太郎、2,4-D 分解菌 Y1 株による汚染土壌中の 2,4-D 除去条件の検討、第64回日本生物工学会講演要旨集、pp.79, 2012 (神戸市、2012年10月23-26日)

【図書】(計1件)

菊池慎太郎編著、高見澤一裕、張倅喆共著「微生物の科学と応用」三共出版株式会社、2012年3月、pp.86-91.

〔その他〕

ホームページ等

公開用研究者データベース RD-Soran

<http://rd-soran.muroran-it.ac.jp/search/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

張 倅喆 (CHANG, Young-Cheol)

(室蘭工業大学・工学研究科・教授)

研究者番号：30422025