

令和 2 年 6 月 26 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00409

研究課題名(和文)糖結合モジュールタンパク質による糖鎖基質認識機構の網羅的解析

研究課題名(英文) Exhaustive analysis for substrate recognition mechanisms of the carbohydrate binding module proteins

研究代表者

湯井 敏文 (Yui, Toshifumi)

宮崎大学・工学部・教授

研究者番号：50230610

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：物や微生物の細胞壁、甲殻類の外殻等を形成するセルロースやキチンは、地球上で最も大量に生産されるバイオマス資源である。本研究は、これらバイオマス資源に特異的に結合する糖結合モジュール(CBM)タンパク質を対象として、分子シミュレーション手段によりCBMによる糖鎖基質認識を分子の視点で解明することを目的とした。これより、CBMが結晶性基質表面の特定の部位に結合する結合特異性やオリゴ糖鎖が示す結合挙動を再現することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

セルラーゼによる不溶性セルロース基質の酵素分解は、Michaelis-Mente理論モデルが適用できない不均一系の反応であり、酵素反応速度論的に多くの点で不明である。CBMによる基質認識が酵素反応の律速段階であるならば、本研究が、新たな酵素反応速度理論の構築に貢献する点できわめて学術性が高い。応用面からの社会的な意義として、セルロースに代表されるバイオマス資源を有効利用するうえでCBMに対する理解は、高効率酵素的分解技術を改良・向上させるための基盤知識を提供しうる。

研究成果の概要(英文)：Cellulose and chitin, a primary components of plant cell walls and the exoskeletons of arthropods, respectively, are the most abundant biomass present on Earth. The present study has focused on carbohydrate binding module proteins which bind to and recognize specifically the biomass materials, and has aimed to reveal the mechanisms of the substrate recognition with atomistic details by using molecular simulation method. It was suggested that the CBM of cellobiohydrolase recognizes the specific positions of the cellulose crystal surface. The CBM of chitinase, also recognizing the topology of chitin chain, binds the chain to its surface with the specific direction. Similar binding feature is observed in the chitin binding peptide, Hevein.

研究分野：高分子・繊維、分子シミュレーション

キーワード：セルロース キチン セルラーゼ キチナーゼ ドッキングシミュレーション 分子シミュレーション
糖結合モジュール(CBM)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

難分解性のセルロースを高効率で分解するために、多くのセルラーゼは触媒ドメインと分離した糖結合モジュール (CBM) を持つ。糸状菌 (*Trichoderma reesei*) が産生する高活性セルラーゼ酵素群は産業的に重要であることから、多くの生化学的・分子生物学的研究が報告されてきた。なかでもセロビオヒドロラーゼ Cel7A は結晶性セルロース認識に特化した CBM を持つ。研究代表者は、分子シミュレーション計算によって *T. reesei* 由来のセロビオヒドロラーゼ Cel7A CBM のセルロース結晶面に対する基質認識特性を網羅的に解析し、セルロース結晶面上に CBM が認識する吸着点の存在を示した。この結果は、CBM がセルロース結晶面の形状をある程度特異的に認識すること、さらに酵素反応の過程で反応生成物に相当するセロビオース単位で CBM が結晶面上を不連続に移動することを示唆する重要な知見であった (T.Yui, et al., *J. Phys. Chem. B*, 2010)。

糖結合性タンパク質の基質認識様式は大きく三つに分類され (CAZypedia, H. Brumer et al.) *T. reesei* Cel7A CBM は表面に三つの芳香族アミノ酸が一行に並び、セルロース分子鎖ピラノース平面を認識する Type A とされ (図 1)、孤立分子鎖を分解するエンドグルカナーゼ CBM は浅いクレフト部位に分子鎖が結合する Type B に相当する。Type C はレクチン等に見られる単～二糖を認識する結合様式で、Type B よりさらに浅いクレフトに糖鎖を結合する。厳密な特異性に基づいて基質と結合する酵素活性部位と異なり、糖鎖結合能のみ有する CBM は、可逆的かつ複数の基質結合様式を生じると推定される。一方、Type B を除く CBM と糖鎖基質の複合体構造は、X 線結晶構造解析で解明されていない。これらの背景のもと、今回、分子シミュレーションによる解析を試みるに至った。

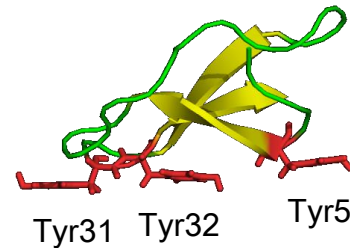


図1 Cel7 CBM と基質認識芳香族アミノ酸

2. 研究の目的

高分子量で、多くの極性基を持つ糖鎖の認識様式は多点認識とされる。また、タンパク質側では個々の糖残基に対応する複数の認識点 (サブサイト) が協同的に作用する。これらの特徴は、糖質関連酵素の活性部位にみられるが、これを CBM の可逆的基質認識に拡張するため下記の2点を想定し、それらを根拠に本申請研究課題の目的を設定した。① 一般に、酵素活性部位においては、反応が終了するまで結合状態を大きく変化させないが、CBM が示す可逆的基質認識では、自らの熱揺らぎや触媒ドメイン等からの外的な力によって糖鎖基質の脱離や CBM 表面上の移動が誘導される。CBM による糖鎖基質認識挙動を一定の複合体構造に基づく静的なイメージではなく、糖鎖の吸・脱着や表面移動スキームを想定する。② Cel7A CBM に示されたように、主要な結合部位を含めた複数の結合部位の存在を想定する。以上の2点から、CBM による糖鎖基質認識をより大きなスケールの空間的・時間的アンサンブルとして捉えた。

モデル糖結合モジュールタンパク質として；① *T. reesei* セロビオヒドロラーゼ Cel7A の CBM (Type A)、および② *Clostridium josui* エンドグルカナーゼ CBM (CjCBM) (Type B)、をモデル CBM として選択した。

課題1；ドッキング解析によりモデル CBM 表面全体のセロオリゴ糖基質結合部位を網羅的に探索し、複合体構造モデル群を求める。複合体結晶構造が報告されている CjCBM についても、可能な基質結合状態を探索した。

課題2；CBM 表面上における基質糖鎖の移動過程に相当する反応経路を設定し、それら反応経路に沿った CBM 移動過程に伴う自由エネルギー変化量を求めた。

研究課題申請時から変更点； Type B CBM として、*Clostridium cellulovans* エンドグルカナーゼ CBM を解析対象としたが、注目すべき結果が得られなかった。その代わりに、キチン分子鎖を基質とする Hevein やキチナーゼ CBM を研究対象に含めた。Hevein は、レクチン様ペプチドと定義され、Type C CBM に分類される。基質糖鎖移動による自由エネルギー計算は、Type B CBM を予定したが、技術的に困難であったので、Type A CBM を対象とした。CBM に分類されないが、非触媒性でセルロース分子鎖を認識するセルロース合成酵素サブユニット D も対象に追加した。

3. 研究の方法

(1) 複合体モデル群の網羅的探索

以下の2種の探索手段によって、CBM に対する可能な糖鎖基質結合状態を網羅的に求めた。

① 基質吸着シミュレーション；CBM の周囲に数分子の基質糖鎖を任意の位置に配置し、 μs オーダーの CBM 基質水溶液シミュレーション計算に供した。CBM 周囲の基質の分布状態を視覚化し、基質が自発的に吸着する領域や複合体構造を求めた。

② 網羅的ドッキング解析；申請者が天然セルロース結晶表面と Cel7A CBM 間の結合認識を解析するために開発した手段 (T.Yui, et al., *J. Phys. Chem. B*, 2010) で、糖鎖結晶表面を格子状に分割し、各格子点の相互作用を評価することで、結晶表面全体の相互作用の分布を明らかにした。

(2) 自由エネルギー計算法

従来の分子シミュレーション手段は、シミュレーション軌跡の変化に伴う内部エネルギー変

化量のみを与えるが、本研究においては、2種の手段により自由エネルギーを評価した。ひとつは、溶媒と自由エネルギーを近似的に求める MM-PBSA 法を採用し CBM と糖鎖基質間の相互作用自由エネルギー変化量を求めた。対象によっては、結合に伴う結合エントロピー変化量も計算した。次に、対象分子に外力を印加し、任意の軌跡に沿った対象分子の移動に伴う自由エネルギー変化量を計算する操舵分子動力学法 (Steered Molecular Dynamics、SMD) を採用し、糖鎖基質上における CBM の移動に伴う自由エネルギー変化量を求めた。

(3) QM/MM 計算法

QM/MM 法とは、高精度の量子化学と古典的分子力学法をハイブリッドさせた計算手段である。本研究では、タンパク質との相互作用によって、糖鎖分子のピラノース環構造を維持できない系に対して、ピラノース環の配座変換を正しく再現するために採用した。また、酵素活性部位における酵素反応の再現にも適用した。

4. 研究成果

セルロースⅢ₁型結晶表面に対する *T. reesei* 由来セロビオヒドロラーゼ Cel7A CBM の基質認識

セルロースⅢ₁型は、天然 I 型結晶をアンモニアや有機アミン類で処理することによって得られる結晶構造である。Ⅲ₁型結晶試料は、天然 I 型と比較して、高いセルラーゼによる分解活性を示し、天然 I 型からⅢ₁型結晶への結晶転換は、リグノセルロースバイオマスの効率的酵素分解の前処理手段として期待されている。本研究では、以前、発表した天然 I 型結晶表面に対する Cel7A CBM のドッキング解析手段 (T.Yui, et al., *J. Phys. Chem. B*, 2010) を踏襲し、同 CBM が示すⅢ₁型結晶表面に対する結晶性基質認識を解析した。

図2に、Ⅲ₁型結晶を構成する3種類の結晶面と、各結晶面に対して求めた CBM との自由エネルギー相互作用ポテンシャル曲面を示す。これより、最も疎水的と推定される(1-10)結晶面に対する相互作用が全体的に大きな値となり、A、Bで示される明確なエネルギー極小点が得られた。天然 I 型結晶面と比較して、Ⅲ₁型結晶面に対する相互作用は I 型とほぼ匹敵したが、エネルギー極小点の形状は相対的に不明瞭であった。また、I 型においては、酵素触媒ドメインの加水分解方向と一致する CBM の AP 配置 (CBM がセルロース分子鎖の還元末端から非還元末端方向に配置する) が、より安定な複合体を形成したが、Ⅲ₁型結晶面に対しては、CBM の方向性について明確な違いは認められなかった。全相互作用に対する、基質認識アミノ酸ごとの相互作用の寄与を評価したところ、I 型結晶面に対しては、三つの芳香族アミノ酸 (図1) と他 2 つのアミノ酸側鎖でほとんどの相互作用が生じた、Ⅲ₁型結晶面に対しては、それら以外のアミノ酸側鎖にも相互作用が分散した。

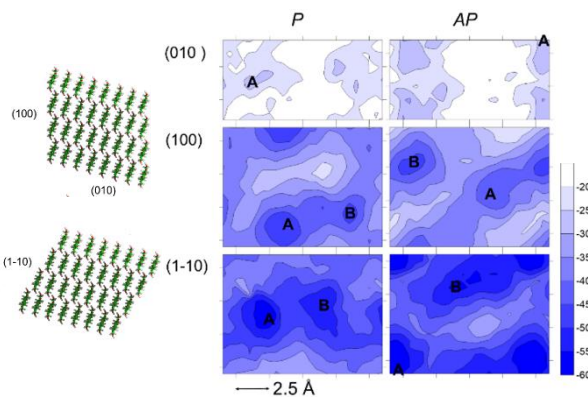


図2 セルロースⅢ₁型結晶面構造(左)とドッキング解析より求めた自由エネルギー相互作用ポテンシャル曲面(右)。

以上の結果から、Cel7A CBM はⅢ₁型結晶試料の疎水性(100)や(1-10)結晶面に対して、I 型結晶面にほぼ匹敵する相互作用を生じるが、CBM の方向性や結合点の明確さという点は、より低い特異性を示すことが示唆された。但し、Ⅲ₁型結晶は2種類の疎水性結晶面と提供するため、見かけ上天然 I 型より容易に酵素分解を受けることが推定された。

以上の研究成果は、研究期間中に *Journal of Renewable Materials* に投稿し、受理された。

Clostridium josui 由来エンドグルカナーゼ CBM(CjCBM28)のセルロース分子鎖認識評価

CjCBM28 は Type B CBM に分類され、活性クレフトに重合度の異なる種々のセロオリゴ糖が結合した複合体結晶構造が報告されている (図3)。本研究では、セロビオース (G2) からセロオクタオース (G8) までの、4種の CBM とセロオリゴ糖複合体を対象にした分子シミュレーションを実施し、結合相互作用を解析した (一部の結果は、本課題研究申請書に記載済み)。

図4に基質オリゴマーの重合度が異なる4種の複合体について計算した結合自由エネルギーとその内訳を比較する。全結合自由エネルギーは基質セロオリゴ糖が G3 から G5 になるところで増大した。溶媒と自由エネルギーや結合エントロピーを評価しない、気相状態の結合エネルギー ($\Delta E_{\text{gas, bind}}$) は、ほぼ同程度の静電相互作用と van der Waals 相互作用で構成され、後者の値から糖鎖ピラノース環と CBM 表面間における疎水性の相互作用の寄与が推定された。結合に伴うエントロピーの糖鎖の伸長による変化量は相対的に少なかった。唯一、結合エネルギーの実験値が報告されている CjCBM と G5 複合体の結合自由エネルギーから、エントロピー変化量

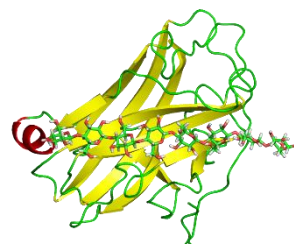


図3 *Clostridium josui* CBM と G8 複合体構造。

を考慮することで、結合自由エネルギー (ΔG^2_{bind}) が実験値と良く一致することが示唆された。ただ、MM-PBSA 法による溶媒和自由エネルギー計算は粗い近似とされ、今後、これら複合体モデルについては、より高精度な自由エネルギー計算法の適用が望まれた。

Pyrococcus furiosus 由来キチナーゼ、Pf-ChiA、キチン結合ドメインのキチン分子鎖認識

P. furiosus が産生する耐熱性キチナーゼのキチン結合ドメイン (ChBD2) は Type A CBM に分類され、基質結合面の三つのトリプトファン残基が不溶性キチン基質を認識する。

(1) 基質吸着シミュレーション

ChBD2 周囲の任意の位置にキトテトラオース (GlcNAc4) を配置したシミュレーション計算を数 μs 実施した。GlcNAc4 の初期配置が異なる 4 通りの計算を実施した結果、すべての計算において ChBD2 の加水分解方向へ GlcNAc4 の還元末端残基から非還元末端残基が配向した複合体構造が不可逆的に発生した。この結果から、ChBD2 の基質結合面がキチン分子鎖の方向について結合特異性を生じることが示された。

(2) キチン分子鎖上における ChBD2 移動による自由エネルギー変化

SMD 計算を適用し、ChBD2 をキチン分子鎖上を一定速度のもとで移動させ、移動に伴う自由エネルギー変化量を求めた。(1) の基質吸着シミュレーションで予測されたキチン基質の結合方向を基に、触媒ドメインの加水分解の際に ChBD2 が進行する方向を前進方向 (forward)、その逆方向を後進方向 (backward) と定義した (図 5)。自由エネルギー変化 (PMF) 曲線は、キチン分子鎖表面の形状を反映して、僅かな増減が生じた。キチン分子鎖 2 回らせん構造のらせん周期 ($\sim 10 \text{ \AA}$) に相当する距離を移動した後、自由エネルギー変化量に違いが発生し、前進方向がより少ない自由エネルギー量で移動することが示唆された。平均値として、前進方向 18 kcal/nm、後進方向 24 kcal/nm となった。但し、SMD 計算結果の再現性は良好でなく、計算条件を修正したうえで計算の続行が必要である。

Hevein のキチンオリゴマー基質吸着シミュレーション

Hevein はゴムの木 (*Hevea brasiliensis*) の樹液から単離された抗真菌性ペプチドである。Hevein は三つの芳香族アミノ酸によってカビ細胞壁に相当するキチン基質を認識することが報告されている。Hevein とキチンオリゴマーの複合体構造は NMR 測定によって決定され、キチントライマー (GlcNAc3) の還元末端残基から非還元末端残基が Hevein のサブサイト +1~+3 に結合することが示された (図 6)。

Hevein 周囲の任意の位置に GlcNAc3 を配置し、 μs オーダーの分子シミュレーション計算を実施した。この際、6 通りの GlcNAc3 の初期配置を設定した。当初の計算では、6 通りすべてのシミュレーション計算において NMR 複合体構造と一致する方向に GlcNAc3 が結合したが、1 残基分移動したサブサイト +2~-1 に結合した。その後、van der Waals パラメータを修正し、シミュレーション計算を再実行した結果、最大 $5\mu\text{s}$ のシミュレーション計算の間で、6 通りの計算のうち、2 通りの計算が NMR 複合体構造と一致する複合体構造を与えた。さらにシミュレーション計算を継続したところ、一旦、結合した GlcNAc3 は脱離した。図 7 に、 $5\mu\text{s}$ の軌跡より評価した Hevein 周囲にお

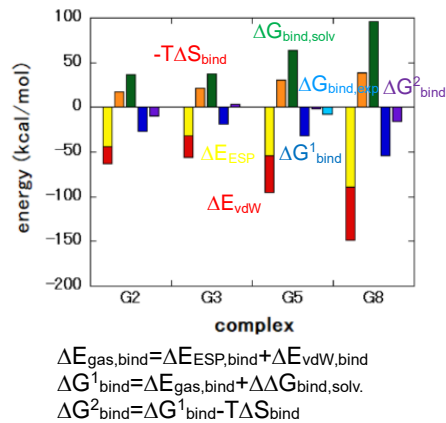


図4 各種複合体の結合自由エネルギー

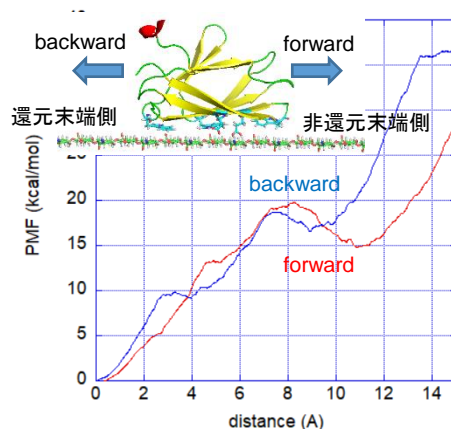


図5 ChBD2 移動に伴う自由エネルギー変化

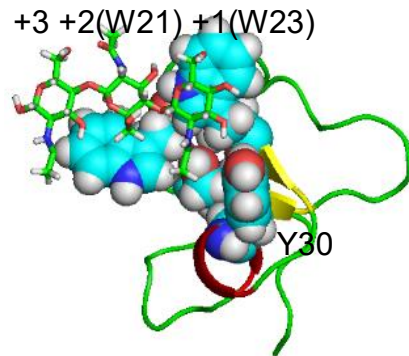


図6 Hevein とキチンオリゴマー複合体の NMR 構造

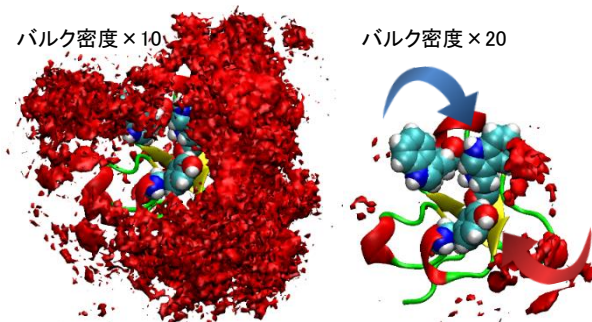


図7 Hevein 周囲におけるキチン基質分子の分布

る GlcNAc3 の分布を示す。基質バルク密度 20 倍の分布図 (右) の矢印は、複合体形成時における GlcNAc3 分子の結合方向を示す。複合体形成が発生した 2 つのシミュレーション計算において、それぞれ、異なる方向から基質が結合した。特に、青矢印方向からの結合過程では、一旦、GlcNAc3 は逆方向に結合したが、芳香族側鎖上で基質が回転し、NMR 構造に相当する方向に再配置する興味深い挙動を観察した。以上は、シミュレーションによる複合体構造の予測に成功した事例として、大変、重要な成果であることから、論文投稿準備中である。

セルロース合成複合体サブユニット D (CeSD) におけるセルロース分子鎖認識挙動

CeSD は酢酸菌が産生するセルロース合成複合体の一部を形成するタンパク質であり、そのホモ 8 量体構造は報告され、4 か所の 2 量体界面にセルロース分子鎖が結合することが示唆された (図 9)。本課題では、コンピュータモデリングにより 4 か所の 2 量体界面にセルロース分子鎖 (DP=12) を結合させ、得られた CeSD-4G12 複合体を分子シミュレーション計算に供した。

G12 分子鎖を結合させた結果、図 8 に示すように、当初、直線的なイメージであった 2 量体界面は、屈曲構造を形成し、G12 分子鎖は S 字状の形状となること分かった (図 9)。さらに、CeSD8 量体を構成するポリペプチド鎖の N 末端が、お互いにかみ合うような構造で G12 分子鎖を認識することが明らかになった。シミュレーション軌跡を解析したところ、G12 分子鎖の屈曲部分が周囲のポリペプチド鎖と原子間接触を発生し、G12 分子鎖の屈曲部に相当するグルコース残基のピラノース環配座が不可逆的に椅子型からボート型へと変換したことが分かった。従来の分子シミュレーション手段では、このような現象に対応できないため、G12 分子鎖を量子化学 (QM) 領域に設定した QM/MM 計算を実行した。その結果、それらピラノース環において、CeSD 全体構造の周期的変化に同期した椅子型とボート型間の可逆的配座変換を観察した。

セルロース合成複合体において、触媒能を持たない CeSD の役割は不明であったが、今回のシミュレーション研究から、生合成されたセルロース分子鎖が細胞外まで移動する過程で、CeSD が 4 分子鎖単位でセルロース分子鎖の移動を同期させることにより、細胞外でのセルロース分子鎖の結晶化を補助するのではないかとこの仮説を提案した。以上の結果は、現在、Journal of Chemical Theory and Computation に投稿中である。

ニワトリ卵白リゾチームの糖加水分解反応シミュレーション

ニワトリ卵白リゾチームは歴史的な意味で重要なタンパク質である。本課題では、QM/MM 計算を適用し、加水分解反応のシミュレーションを試みた。

リゾチーム-キトトリオース複合体結晶構造を基に、基質糖鎖を 8 量体 (GlcNAc8) まで延長した (図 10)。2 個の触媒アミノ酸 (E35 と D52) とサブサイト +1 と -1 に結合する糖残基を QM 領域に設定し、QM/MM 計算を実施した。種々の反応経路を探索した結果、中間体を形成から加水分解反応に至るまでのシミュレーションに成功した (図 11)。以上の結果は、加水分解過程が、オキソカルベニウムイオン中間体ではなく、糖-酵素共有結合中間体を形成する機構を支持した。中間体形成に至るまでは、大きな吸熱的過程 ($\Delta G \gg 0$, 23 kcal/mol)、その後、若干の発熱過程 ($\Delta G < 0$, -0.5 kcal/mol) となる結果が得られた。

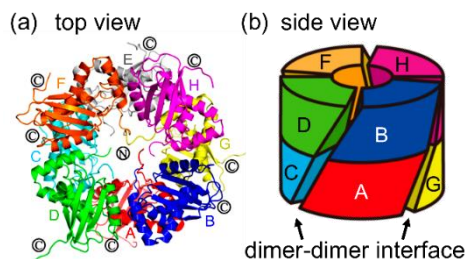


図8 CeSD の立体構造 (Hu, S. Q. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2010, 107,

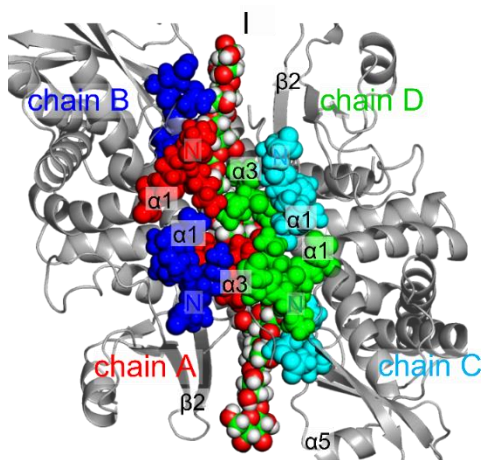


図9 CeSD 内部、2 量体界面における G12 分子鎖の結合状態

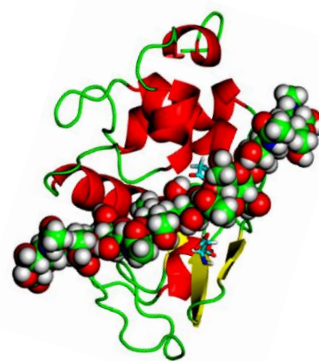


図10 卵白リゾチーム-GlcNAc8 複合体構造

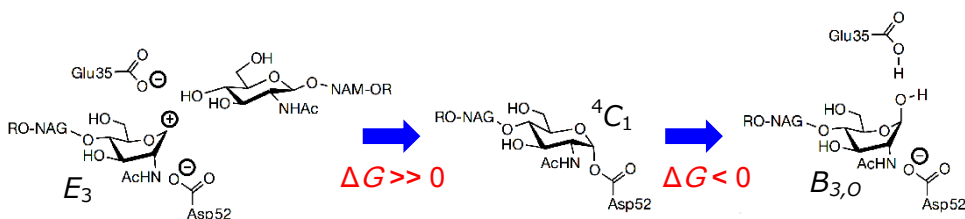


図11 卵白リゾチーム活性部位における加水分解過程

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Toshifumi Yui, Takuya Uto	4. 巻 -
2. 論文標題 Docking and Molecular Dynamics Study of the Carbohydrate Binding Module from Trichoderma reesei Cel7A on the Surfaces of the Cellulose III1 Crystal	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Renewable Materials	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.32604/jrm.2020.010830	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 該当する

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 岡田美沙希、高橋さくら、宇都卓也、湯井敏文
2. 発表標題 キチン結合性タンパク質ヘベインによる糖鎖認識
3. 学会等名 第56回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三谷亮樹、宇都卓也、湯井 敏文
2. 発表標題 ニワトリ卵白リゾチームの糖加水分解反応シミュレーション
3. 学会等名 第56回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡田美沙希、高橋さくら、宇都卓也、湯井敏文
2. 発表標題 キチン結合性タンパク質ヘベインによる糖鎖認識
3. 学会等名 セルロース学会第26回年次大会、
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. Yui, R. Otoshi, T. Uto
2. 発表標題 Carbohydrate recognition by chitin binding proteins: a molecular dynamics study
3. 学会等名 14th International Chitin and Chitosan Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 米倉努、宇都卓也、湯井敏文
2. 発表標題 酢酸菌由来セルロース合成酵素サブユニットDにおけるセルロース分子鎖のダイナミクス挙動
3. 学会等名 平成29年度繊維学会秋季研究発表会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 米倉努、宇都卓也、湯井敏文
2. 発表標題 QM/MM法によるニワトリ卵白リゾチームの加水分解反応シミュレーション
3. 学会等名 日本応用糖質科学会平成29年度大会 (第66回)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 米倉努、宇都卓也、湯井敏文
2. 発表標題 酢酸菌セルロース合成酵素サブユニットD-糖鎖複合体のQM/MMシミュレーション
3. 学会等名 セルロース学会第24回年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 落 亮太、湯井 敏文
2. 発表標題 細菌由来キチナーゼのキチン結合モジュール表面における糖鎖吸着
3. 学会等名 セルロース学会第24回年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大西 孝尚、湯井 敏文
2. 発表標題 微生物由来エクспанシンによる基質認識
3. 学会等名 第54回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 落 亮太、湯井 敏文
2. 発表標題 細菌由来キチナーゼのキチン結合モジュール表面における糖鎖ドッキング解析
3. 学会等名 第54回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 米倉努、宇都卓也、湯井敏文
2. 発表標題 セルロース合成酵素サブユニットDの糖鎖経路における基質糖鎖構造の安定性
3. 学会等名 第54回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2017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
研究 分担 者	宇都 卓也 (Uto Takuya) (60749084)	宮崎大学・キャリアマネジメント推進機構・助教 (17601)	2018年10月まで、日本学術振興会特別研究員(PD)として鹿児島大学理工学研究科に在籍