

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03642

研究課題名(和文) ヒドロゲナーゼ成熟化の分子機構に関する構造生物学研究

研究課題名(英文) Structural Biology of Molecular Mechanism of Hydrogenase Maturation Proteins

研究代表者

三木 邦夫 (Miki, Kunio)

京都大学・理学研究科・名誉教授

研究者番号：10116105

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：水素生産を触媒するタンパク質[NiFe]ヒドロゲナーゼにおいて、その活性中心であるNi, Feの金属クラスターを生体内でヒドロゲナーゼに組み込んで、機能をもつ酵素に成熟化させる過程の分子機構を解明した。これまでに成熟化を触媒する因子として働く6つのHypタンパク質の結晶構造を決定したが、ここでは、成熟化の反応過程で過渡的に形成されるHypタンパク質の複合体を中心に研究を行った。その結果、Ni原子へのシャペロンとして働くHypAタンパク質とヒドロゲナーゼ・大サブユニット前駆体の複合体の結晶構造などを決定し、Ni原子の組み込み、C末端部分の切断などの成熟化機構について新しい構造生物学的知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

[NiFe]ヒドロゲナーゼはプロトンから水素分子への可逆的な酸化還元反応を触媒する。多くの細菌におけるエネルギー代謝に関わっており、次世代クリーンエネルギーとの関連からも注目されている。その活性中心であるNi, Feの金属クラスターを生体内でヒドロゲナーゼ前駆体に組み込んで機能をもつ酵素にするHyp成熟化タンパク質群を対象に構造生物学的研究を行った。ここでは、Hypタンパク質の一つとヒドロゲナーゼ前駆体との過渡的複合体の結晶構造の決定に成功した。その結果、成熟化反応の過程をスナップショットして捉えることができ、[NiFe]ヒドロゲナーゼの生体内機能を発現させる分子機構に重要な知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：[NiFe] hydrogenases catalyze reversible hydrogen production/consumption. We have elucidated the molecular mechanism of maturation process of [NiFe] hydrogenases where the Ni/Fe cluster, an active center of the enzyme, is incorporated into protein precursors of hydrogenase in vivo. We have already determined crystal structures of six Hyp proteins which catalyze a series of maturation process of [NiFe] hydrogenases. We focused here on the structures of transient complexes including Hyp proteins which are formed during a series of reactions of maturation process. We succeeded in crystal structure determination including the complex between a nickel chaperon HypA and a large subunit precursor of hydrogenase. Consequently, we have acquired new important knowledge of the mechanism for Ni atom incorporation from the viewpoint of structural biology.

研究分野：構造生物学, タンパク質結晶学

キーワード：X線結晶解析 ヒドロゲナーゼ タンパク質の成熟化 Hyp成熟化タンパク質 構造機能相関

## 1. 研究開始当初の背景

[NiFe]ヒドロゲナーゼは、微生物による水素生産を触媒する酵素であり、プロトン ( $H^+$ ) から水素分子 ( $H_2$ ) への可逆的な酸化還元反応を触媒する。多くの細菌におけるエネルギー代謝に関わり、細菌からアーキアまで幅広く分布している。[NiFe]ヒドロゲナーゼの活性中心には、NiFe 金属クラスターが存在し、Fe 原子には二つのシアノ基と一酸化炭素が配位している。生体内でのヒドロゲナーゼ前駆体への NiFe クラスターの組み込みは、[NiFe]ヒドロゲナーゼ成熟化因子である Hyp タンパク質群が担っていて、その働きによってヒドロゲナーゼが活性型に成熟化する。Hyp タンパク質群は6種のタンパク質 (HypA, HypB, HypC, HypD, HypE, HypF) からなり、HypA および HypB は Ni 原子の組み込みに、残りの HypC, HypD, HypE, HypF は Fe 原子のシアノ化とその組み込みに関与している。最後には、プロテアーゼによってヒドロゲナーゼ・大サブユニット前駆体の C 末端が切断されることで、ヒドロゲナーゼ・小サブユニットが結合し、成熟化が完了する。この分野では長年大腸菌をモデルとした生化学的な研究が行われてきたが、成熟化の各過程における Hyp タンパク質の立体構造や成熟化反応の分子機構については、ほとんど明らかになっていなかった。われわれは6種の Hyp タンパク質すべての結晶構造を初めて決定し、ヒドロゲナーゼ成熟化機構に関する多くの構造生物学的知見を得た。また、Fe 原子のシアノ化の過程で一時的に形成される HypCD 複合体や HypCDE 三者複合体および HypE 反応中間体の結晶構造も決定し、反応過程に関する重要な構造基盤を得た。さらには、Ni 原子を供給する HypAB 複合体の結晶構造も決定し、Ni 原子取り込み機構を初めて明らかにした。このように、ヒドロゲナーゼ成熟化機構の構造生物学研究はわれわれが先導的に進めてきたが、Hyp タンパク質間あるいはヒドロゲナーゼ前駆体との複合体での過渡的な相互作用や、NiFe 活性中心でのクラスター組み立てなど、成熟化機構の本質的理解には多くの不明な点が残っていた。

## 2. 研究の目的

[NiFe]ヒドロゲナーゼに金属補因子を組み込むことで活性化状態に導く成熟化について、その分子機構の原子レベルでの解明を目指す。これまでに、超好熱性アーキア、*Thermococcus (T.) kodakarensis* 由来の[NiFe]ヒドロゲナーゼ成熟化因子である Hyp タンパク質 (HypA, HypB, HypC, HypD, HypE, HypF) を対象に、そのすべての結晶構造解析に成功し、[NiFe]ヒドロゲナーゼの成熟化による機能発現の分子機構に多くの構造生物学的知見を得た。このような成果を発展させるために、成熟化の過程で過渡的に形成されるさまざまな複合体を中心に、構造および機能の解析を行う。その具体的な研究対象は、HypA および HypB によるヒドロゲナーゼへの Ni 原子組み込み機構の解明、HypC および HypD による Fe 原子組み込み機構の解明、成熟化の最終段階で生じる成熟化プロテアーゼによるヒドロゲナーゼ認識ならびに切断機構の解明などである。また、これまでに蓄積されている成熟化タンパク質群の構造生物学知見を総括して、金属原子取り込みならびにヒドロゲナーゼ成熟化の分子機構の全体像を明らかにする。

## 3. 研究の方法

超好熱性アーキア *T. kodakarensis* 由来の Hyp タンパク質およびその複合体を対象に、結晶構造解析を主な手法として以下の研究を計画した。

Ni 原子の組み込み機構の解明. Ni 原子の組み込みには HypA と HypB が関わっており、HypA の N 末端には Ni 結合部位が存在する。これまでの生化学的な解析で、HypA は HyhL と複合体を形成することを明らかにしている。ここでは、過渡的に形成される HyhL-HypA 複合体を調製して、結晶化および構造解析を行い、得られた結晶構造から Ni 原子の HyhL への組み込み機構を原子レベルで解明する。

Fe 原子の組み込み機構の解明. Fe 原子はシアノ化修飾が行われた後、HypCD 複合体からヒドロゲナーゼ・大サブユニット HyhL に組み込まれる。HypD は Fe 原子を組み込んだ後すぐに解離すると考えられている。HypC については HyhL と複合体を形成することをすでに明らかにしている。ここでは、この Fe の組み込み機構について、HyhL と HypC の過渡的な複合体を調製して結晶化および構造解析を行うことで、極めて複雑な Fe 組み込み機構の構造生物学基盤を明らかにする。

ヒドロゲナーゼ切断機構の解明. 成熟化の最終段階において、HyhL はヒドロゲナーゼ特異的プロテアーゼ (エンドペプチダーゼ) HybD により切断修飾を受ける。これまでに HybD の結晶構造を決定し、活性部位の詳細を明らかにした。しかし、金属クラスターを含まない未成熟な HyhL では HybD による切断は起こらず、その認識機構の詳細は不明である。ここでは、金属クラスターを含む HyhL とヒドロゲナーゼ特異的プロテアーゼとの複合体の構造決定や超好熱性アーキアの関連するプロテアーゼ (HybD, HycI など) の結晶構造を比較することで、プロテアーゼの基質認識やヒドロゲナーゼ切断の分子機構を解明する。

#### 4. 研究成果

(1) 超好熱性アーキア *T. kodakaraensis* 由来の成熟化タンパク質を対象にした前項の研究方法のうち、過渡的な複合体として結晶構造解析に成功した HyhL-HypA 複合体による成熟化の分子機構、および HypI の結晶構造解析と HybD との構造比較について、研究成果を以下に記す。

(2) NiFe(CN)<sub>2</sub>CO 基は、HypA および HypC によって未成熟型のヒドロゲナーゼ・大サブユニット前駆体に組み込まれる。しかしながら、大サブユニットと Hyp タンパク質群との相互作用についての詳細な解析は行われていなかった。われわれは、*T. kodakaraensis* の細胞質で機能する [NiFe] ヒドロゲナーゼ・大サブユニット HyhL の生化学的な解析に取り組んだ。精製した未成熟型 HyhL は、溶液中で二量体と単量体の平衡状態で存在する。HyhL と HypA および HypC タンパク質との相互作用解析によって、HyhL は単量体に解離して、HypA と 1:1 の複合体を形成することが分かった。一方、HypC との相互作用も見られたものの、HypA よりは弱い相互作用であり、より強く相互作用するには Fe(CN)<sub>2</sub>CO が必要であることが示唆された。

さらに、未成熟型 HyhL と HypA が強固な複合体を形成することを利用して、HyhL-HypA 複合体の結晶化に取り組んだ。HyhL-HypA 複合体の調製においては、HyhL 二量体の解離速度が非常に遅いことが均一な複合体を調製することの障壁であった。熱処理を施して HyhL 二量体を解離しやすくさせることで均一な複合体を調製できたが、この加熱調製した試料では結晶は得られなかった。さまざまな条件検討の結果、最終的には 20°C で約 1 週間インキュベートして調製した複合体試料を用いることで、空間群の異なる二種の結晶が異なる温度条件から得られた。これらの結晶を用いて SPring-8 および PF において回折実験を行い、3.3~3.45Å 分解能の回折強度データを収集した。位相決定は、*Methanothermobacter marburgensi* 由来の細胞質型 [NiFe] ヒドロゲナーゼの大サブユニット FrhA と *T. kodakaraensis* 由来 HypA の結晶構造をモデル分子とした分子置換法で行った。

ゲルろ過の結果から予想されたように、結晶構造において HypA と HyhL は 1:1 の複合体を形成していた (図 1)。結晶内のパッキングは異なるものの、二種の結晶での複合体の全体構造はほぼ同じであった。未成熟型 HyhL の全体構造は、N 末および C 末領域を除いて、成熟型 FrhA の全体構造とよく類似していた。HypA においては、Zn 結合ドメインの一部がディスオーダーしており、この領域の可動性が示唆された。構造解析の結果、未成熟型 HyhL と HypA との複合体は、主に二つの相互作用部位で形成されていることが分かった。HyhL の N 末端の約 20 残基は外に突き出た位置にあり、HypA の Ni 結合ドメインと相互作用して、新たに β シートを形成していた (図 1)。この HyhL の N 末端 10 残基を欠損させた変異体では HypA との相互作用が失われており、この β シート形成が HypA との複合体形成に必須であることが分かった。もう一つの相互作用部位は、HypA の Ni 結合ドメインの二本のヘリックスと HyhL 間で形成されており、主に疎水性相互作用によるものであった (図 2)。その結果、HypA の Ni 結合に関わる His2 は、HyhL の NiFe 活性中心の配位に関わる三つのシステイン近傍に位置していた。すなわち、Ni イオンは HypA の Ni 結合部位から直接 HyhL に受け渡されることが示唆された。これらの相互作用に関わるアミノ酸残基は、HypA および HyhL 間における保存性は高くなく、この領域が種の特異性に関わっていると推定される。

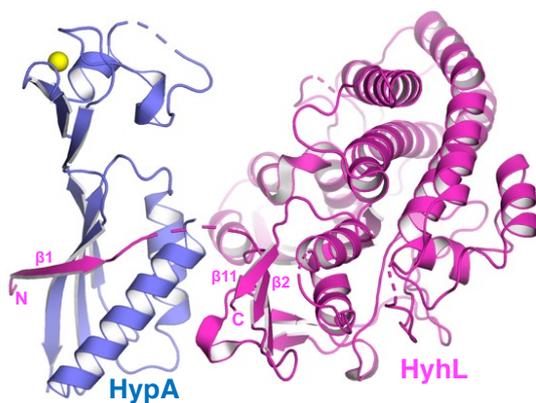


図 1 *T. kodakaraensis* 由来 HypA-HyhL 複合体の結晶構造

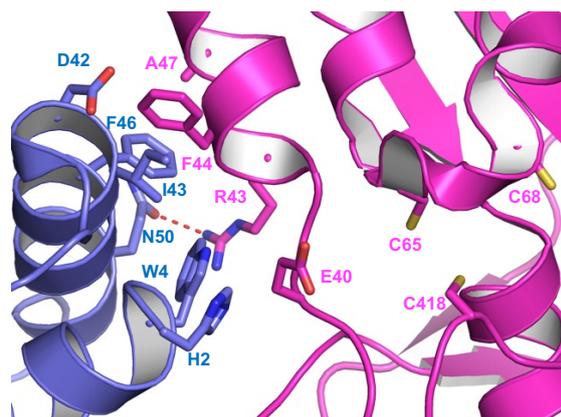


図 2 HypA-HyhL 間の相互作用部位

興味深いことに、未成熟型 HyhL と成熟型大サブユニットとの構造と比べると、N 末端と C 末端構造の空間配置が大きく異なることが分かった (図 1)。成熟型大サブユニットにおいて、N 末の 20 残基は β2 ストランドと β シートを形成しており、C 末領域は短い α ヘリックスを形成して、[NiFe] センターを覆うように位置している。一方、未成熟型 HyhL 構造においては、N 末端領域は外側に伸びた位置にあり、代わりに C 末領域が成熟型大サブユニットの N 末領域と同じ

位置にあり、 $\beta 2$  ストランドと相互作用して  $\beta$  ストランド ( $\beta 11$ ) を形成している。[NiFe]クラスターの配位に関わる四つのシステイン残基のうちの一つは、未成熟型でも同様な位置にあったが、四番目のシステイン残基 (Cys421) は  $\beta 11$  ストランド上にあるため、かなり離れたところに位置していた。すなわち、NiFe クラスターの組み込みに伴って  $\beta 11$  ストランドが外側に外れることが示唆される。

この N 末と C 末領域の空間的な違いが、未成熟型をエンドペプチダーゼから保護する役割を担っていることも示唆された。成熟化の最終段階では、大サブユニットの C 末端領域は、ヒドロゲナーゼ特異的エンドペプチダーゼによって切断され、成熟型への構造変化が誘導される。ヒドロゲナーゼ特異的エンドペプチダーゼの立体構造は、これまでに大腸菌の[NiFe]ヒドロゲナーゼ 2 に特異的なエンドペプチダーゼ HybD、大腸菌の[NiFe]ヒドロゲナーゼ 1 と 3 に特異的な HycI および *T. kodakarensis* 由来 HybD が報告されている。これらのエンドペプチダーゼは、未成熟型ではなく成熟型だけを切断することが報告されており、どのように成熟型と未成熟型を区別しているかは分かっていなかった。今回の HypA-HyhL 複合体の構造解析の結果、未成熟型 HyhL のエンドペプチダーゼの認識配列は、 $\beta 11$  ストランド上に位置しており、立体障害によって HybD から保護していることが明らかになった。

以上の結果から、次のような成熟化モデルを提唱した (図 3)。(I) 未成熟型大サブユニット、HyhL の C 末領域は  $\beta$  シート構造をとり、エンドペプチダーゼから保護されている。また、N 末領域は外に伸びた構造をとることで、[NiFe]クラスターが組み込まれる前に小サブユニットと会合することを防ぐ役割を担っていると示唆される。(II) 大サブユニットの N 末領域を介して、HypA および HypC が相互作用し、(III) Ni および  $\text{Fe}(\text{CN})_2\text{CO}$  基が組み込まれる。(IV) [NiFe]クラスターの組み込みに伴って、4番目のシステイン残基 Cys421 が[NiFe]クラスターの配位に関わって  $\beta 11$  ストランドが外側に引き出される。(V) 溶媒に露出した C 末領域は、エンドペプチダーゼによって切断修飾を受け、短い  $\alpha$  ヘリックスを形成して[NiFe]クラスターを格納する。(VI) 最後に N 末領域は  $\beta 2$  と相互作用して  $\beta$  シートを形成することで成熟化は完了する。このように[NiFe]ヒドロゲナーゼでは、大サブユニットの N 末端および C 末端の空間配置が入れ替わることで、成熟化の完了を監視する役割を担っていることが明らかになった。

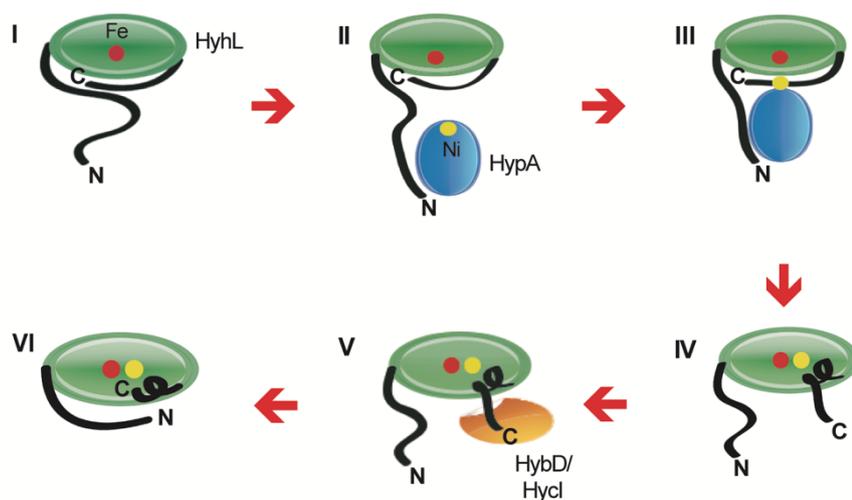


図 3 大サブユニット, HyhL への Ni の挿入と C 末端切断に対する成熟化分子機構のモデル

(3) [NiFe]ヒドロゲナーゼの成熟化過程の最終段階では、HybD または HycI と呼ばれる成熟化プロテアーゼ (エンドペプチダーゼ) が、大サブユニットの C 末端部位を認識し、C 末端の数残基を切断する。膜結合性ヒドロゲナーゼの C 末端切断機構を解明するため、*T. kodakarensis* 由来の 2 つの成熟化プロテアーゼ (HybD, HycI) の一つ、HycI の X 線結晶構造解析を行った。HybD は細胞性ヒドロゲナーゼの大サブユニット (HyhL) の C 末端切断に関わるが、HycI は膜結合性ヒドロゲナーゼの大サブユニット (MbhL) に働く。HycI の結晶構造解析のため、大腸菌発現システムを用いてタンパク質を大量生産した後、陰イオン交換クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィーおよびゲルろ過クロマトグラフィーを用いて精製し、高純度のタンパク質試料を得た。*T. kodakarensis* 由来の HycI の結晶は、HEPES-NaOH と 2-methyl-2,4-pentanediol を用いる結晶化条件で得られ、SPring-8 で 1.6 Å 分解能の回折強度データを収集した。HycI の結晶構造は分子置換法によって決定した。

全体構造として  $\alpha/\beta/\alpha$  サンドイッチフォールドを取る *T. kodakarensis* 由来の HycI は、相同のプロテアーゼである HybD と同様の構造であることが分かった (図 4)。HycI の Asp27, Asp57 お

よび His101 は、配列上および空間上保存され、基質認識と触媒作用に重要な役割をされると考えられる。HybD との構造比較から、HycI の活性部位に近くにある L5 ループが HybD のループに比べて長いこと、この L5 ループと隣の L4 ループによって、より大きなポケットが形成できることが分かった (図 5)。活性部位と推測されるポケットの大きさは、認識する基質の大きさに関係があり、HybD が HyhL の C 末端の 4 残基を切断するのに比べて、HycI は MbhL の C 末端 45 残基を切断する。MbhL の C 末端は二次構造を形成する可能性があることも構造予測から分かった。さらに、MbhL の認識残基として知られている Arg は、HyhL の His に比べて側鎖がより長く、基質結合のためにはより大きなポケットを必要としていると考えられる。



図 4 *T. kodakarensis* 由来の HycI の全体構造

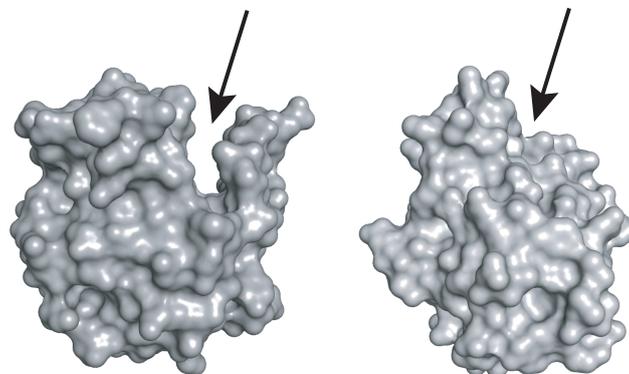


図 5 *T. kodakarensis* 由来の HycI (左) と HybD (右) の結合ポケットの比較 (矢印)

HycI は MbhL の C 末端残基だけではなく、HyhL の C 末端残基もある程度切断することが分かっている。このような HycI の二重の基質認識能力は HycI の結合ポケットの大きさによると考えられる。HycI の大きなポケットは大きな基質も小さな基質も受容できる。この HycI の分子表面を分析したところ、結合ポケットには多くの疎水性残基が分布していることが分かった。未成熟型 MbhL と HyhL の C 末端残基の配列には、それぞれ VAVV と VARL という疎水性残基が連続的に繋がっており、HycI は HyhL の C 末端残基にも疎水性相互作用できることが示唆される。このようなポケットの大きさの違いによって、HycI は MbhL と HyhL の両方を基質として認識し、一方、HybD は HyhL だけを認識すると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5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 4件）

1. 著者名 S. Kwon, S. Watanabe, Y. Nishitani, T. Kawashima, T. Kanai, H. Atomi, K. Miki	4. 巻 115
2. 論文標題 Crystal structures of a [NiFe] hydrogenase large subunit HyhL in an immature state in complex with a Ni chaperone HypA	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	6. 最初と最後の頁 7045 ~ 7050
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1801955115	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 三木邦夫	4. 巻 61
2. 論文標題 構造生物学から生物構造化学にいたるタンパク質結晶学の展開	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本結晶学会誌	6. 最初と最後の頁 95 ~ 102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5940/jcrsj.61.95	査読の有無 無
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 K. Miki, H. Atomi, S. Watanabe	4. 巻 53
2. 論文標題 Structural Insight into [NiFe] Hydrogenase Maturation by Transient Complexes between Hyp Proteins	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Accounts of Chemical Research	6. 最初と最後の頁 875-886
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.accounts.0c00022	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 S. Kwon, Y. Nishitani, Y. Hirao, T. Kanai, H. Atomi, and K. Miki	4. 巻 492
2. 論文標題 Structure of a [NiFe] Hydrogenase Maturation Protease HycI Provides Insights into Its Substrate Selectivity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 782-788
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.03.058. Epub 2018 Mar 15	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 渡部 聡, 三木邦夫	4. 巻 62
2. 論文標題 [NiFe]ヒドロゲナーゼ成熟化の構造生物学	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本結晶学会誌	6. 最初と最後の頁 91 ~ 98
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5940/jcrsj.62.91	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 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 三木邦夫
2. 発表標題 タンパク質結晶学のさらなる可能性—分子構造から電子構造へ—
3. 学会等名 日本結晶学会2019年度年会 (金沢市) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 K. Miki
2. 発表標題 Recent Topics on Metalloprotein Crystallography
3. 学会等名 SYSU & HKU Symposium on Bioinorganic Chemistry, SunYat-Sen University, Guangzhou, China (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sunghark Kwon, 渡部 聡, 西谷優一, 河島拓未, 金井 保, 跡見晴幸, 三木邦夫
2. 発表標題 [NiFe]ヒドロゲナーゼ大サブユニットと成熟化タンパク質 HypA との複合体のX線結晶構造解析
3. 学会等名 日本結晶学会2017年度年会, 広島市
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西谷優一, 瀧口あさひ, 石原和樹, 河島拓未, 渡部 聡, 金井 保, 跡見晴幸, 三木邦夫
2. 発表標題 [NiFe]ヒドロゲナーゼと成熟化因子との複合体の結晶学的研究
3. 学会等名 日本結晶学会2017年度年会, 広島市
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sunghark Kwon, 渡部 聡, 西谷優一, 河島拓未, 金井 保, 跡見晴幸, 三木邦夫
2. 発表標題 Structures of a large subunit HyhL in complex with a Ni chaperone HypA reveal a key checkpoint for the [NiFe] hydrogenase maturation
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会, 新潟市
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三木邦夫
2. 発表標題 構造生物学から生物構造化学にいたるタンパク質結晶学の展開
3. 学会等名 日本結晶学会2018年度年会, 東京都目黒区 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sunghark Kwon, 渡部 聡, 西谷優一, 河島拓未, 金井 保, 跡見晴幸, 三木邦夫
2. 発表標題 [NiFe]ヒドロゲナーゼ成熟化の分子機構: 大サブユニットHyhLとNiシャペロンタンパク質HypAとの複合体の結晶構造
3. 学会等名 日本結晶学会2018年度年会, 東京都目黒区
4. 発表年 2018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	渡部 聡 (Watanabe Satoshi)  (50432357)	東北大学・多元物質科学研究所・助教  (11301)	
研究分担者	藤橋 雅宏 (Fujihashi Masahiro)  (10397581)	京都大学・理学研究科・助教  (14301)	

	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
研究協力者	西谷 優一 (Nishitani Yuichi)		
研究協力者	權 成鶴 (Kwon Sunghark)		
連携研究者	跡見 晴幸 (Atomi Haruyuki)  (90243047)	京都大学・工学研究科・教授  (14301)	

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
---------	---------