

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26292177

研究課題名(和文) 昆虫セルロース消化系の効率化に寄与した代謝因子の探索

研究課題名(英文) Explorations of metabolic factors involved in efficient cellulolytic systems in insects

研究代表者

徳田 岳 (TOKUDA, Gaku)

琉球大学・熱帯生物圏研究センター・教授

研究者番号：90322750

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 8,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、主にゴキブリからシロアリへの進化の過程でセルロース消化の効率化に寄与した因子を探索した。キゴキブリから下等シロアリへの進化過程では、細胞内共生系と腸内共生系の代謝物を巡る競合が起きており、結果的に腸内微生物への依存度が増していったことが示唆された。また、下等シロアリでは宿主ゲノム内でセルラーゼ遺伝子の重複が起きており、機能の多様化が起こったことが示唆された。さらに高等シロアリでは消化管に組織複合域を作り出すことで、液胞型ATPaseなどの輸送分子が関与して腸内腔のアルカリ化を引き起こし、リグニンの可溶化等によって腸内微生物によるセルロース消化を促進している可能性が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：The present study explored metabolic factors that involved in invention of efficient cellulolytic systems during evolution from wood roaches to termites. In evolution of wood roaches to lower termites, we found some overlaps of metabolic networks between endo- and intestinal symbioses, which had led to relaxed selection of some genes in endosymbionts and increased in dependence of the host insects in intestinal symbionts. In lower termites, we analyzed a genome sequence of a Japanese subterranean lower termite. Endogenous cellulase genes were duplicated in the genome, while a few of them appeared to differentiate their functions. Furthermore, we analyzed transcripts of the so-called "the mixed segment" in the gut of a higher termite, which expressed a variety of transporter genes. Among them, V-ATPases and NHE transporters were assumed to be involved in the gut alkalization, which may contribute to solubilize lignin to facilitate cellulose degradation by the intestinal bacteria.

研究分野：昆虫生理学

キーワード：昆虫生理生化学 セルロース代謝 栄養共生 セルラーゼ シロアリ ゴキブリ 消化系進化 輸送分子

## 1. 研究開始当初の背景

植物細胞壁の主成分はセルロース、ヘミセルロースおよびリグニンから構成されており、これらの複合体をリグノセルロースと呼んでいる。特にセルロースはブドウ糖の重合体であり、自然界では毎年約  $9 \times 10^{12}$  から  $9 \times 10^{13}$  kg が生産されていると見積もられている。このことが、セルロースは世界でもっとも豊富なリサイクル可能なバイオマスであると言われる所以である。

しかしながら、リグノセルロースは難分解性の物質であり、多くの生物はこれを利用することができない。そのような中で、シロアリ類はリグノセルロースの効率的な分解システムを身につけ、これを主食として生き延びてきた。これまでの研究により、シロアリ類は枯死植物に含まれるセルロースの 74 ~ 99% を分解していると考えられている。

このようなシロアリ類による効率的なリグノセルロース分解系は、多くの研究者の注目を集め、20 世紀のはじめから、特にセルロース分解に注目した研究が数多く行われてきた。一連の酵素学的研究や分子生物学的な研究の中で、シロアリ類の後腸に共生する微生物がシロアリ類のセルロース消化に主要な役割を果たすこと、シロアリ自身もセルロース分解に必要な酵素を分泌すること、そしてこれらの酵素が基質に対し極めて高い比活性を有することなどが現在までに明らかになっている。

では、一体シロアリ類がどのようにして類まれなるセルロース分解能力を身につけるに至ったのかという疑問を解き明かしていくことは、昆虫消化システムの進化を論ずる上で学術的に興味深いだけでなく、工業的にどのように木質バイオマス分解系やバイオエタノール生産系を改良すれば更なる効率化を達成できるのかという命題に対しても重要な示唆を与えることが期待される。そのためにはシロアリ類の原型と言える食材性ゴキブリ類のセルロース消化や栄養生理に着目し、シロアリ類と比較することが重要である。現在の分子系統学的解析からは、シロアリ類はゴキブリ目の一部であり、*Cryptocercus* 属の食材性キゴキブリとの共通祖先から分化したと考えられている。キゴキブリは消化管内にシロアリ類と近縁な共生原生生物を有しており、セルロース消化に重要な役割を果たしている。ゴキブリ目の中には、シロアリ・キゴキブリ姉妹群とは系統的に離れた食材性ゴキブリが存在する。これらはオオゴキブリ科 (*Blaberidae*) に属しており、国内には *Panesthia* 属のオオゴキブリおよび *Salganea* 属のクチキゴキブリが分布している。これらのうち、クチキゴキブリはシロアリ・キゴキブリ姉妹群の昆虫と同様に社会生活を営み、親子間の栄養交換が知られている。しかしながら、これらのゴキブリは食材性に特化しているものの、シロアリ・キゴキブリ姉妹群の昆虫とは異なり、消化管内に木質消

化に貢献する共生微生物を有しておらず、木質分解能力はシロアリやキゴキブリには劣ると考えられる。

しかし、研究開始当初においては、これらの昆虫間での代謝系・栄養共生系・消化システムの進化についてはあまり知見がなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では、オオゴキブリ科およびキゴキブリ属の食材性ゴキブリ類を用いて、消化管各部における  $^{13}\text{C}$  標識セルロースより派生する代謝物の動態を 2D-NMR 解析することで、これらの昆虫におけるセルロース消化・代謝経路の全容と効率性を解明することを試みた。さらに共生微生物を持たない食材性ゴキブリの消化代謝系、シロアリの前段階であるキゴキブリの消化代謝系、そしてシロアリの消化代謝系の各過程を比較することで、セルロース分解の効率化に關与した代謝的要因を探り出そうとした。

また、ゴキブリ類の栄養生理を考える上では、もうひとつの無視できない要素が存在する。それは、脂肪体内に分布する細胞内共生細菌 *Blattabacterium cuenoti* (以下、プラタバクテリウム) との栄養共生である。この細菌は宿主の窒素老廃物を利用してアミノ酸やビタミンを生合成していると考えられているが、この細胞内共生系は原始的なシロアリ 1 種を除く全てのシロアリ類では 2 次的に失われている。これらのプラタバクテリウムでは、一部のアミノ酸やビタミン生合成遺伝子がキゴキブリや原始的なシロアリへの進化の過程で欠落し、ゲノム縮小が進行していることが明らかになっている。

当時、我々は前述の食材性オオゴキブリのプラタバクテリウムを用いた全ゲノム解析結果に基づき、キゴキブリとムカシシロアリにおけるプラタバクテリウムのゲノムの縮小と遺伝子欠落は、宿主の社会性の発達による腸内微生物の定着が影響している可能性が高いと予想した。もしこの仮説通り、社会行動の発達による腸内共生微生物の定着が細胞内共生細菌ゲノムにおけるアミノ酸生合成遺伝子の欠落に関連しているとするならば、細胞内共生系と腸内共生系にはアミノ酸を中心とした代謝物を巡る競合的な進化関係があると推定される。そこで本研究ではプラタバクテリウムが共生する脂肪体の代謝物も併せて解析し、細胞内共生系と腸内共生系の代謝物をめぐる競合の有無と、それがどのようにセルロース消化代謝系に影響を与えるのかについても検討することとした。

さらに、近年 2 種のシロアリからゲノム解析の結果が報告され、研究中にはゲノムベースでセルロース消化の進化を考察する必要にも迫られた。そこで、下等シロアリであるヤマトシロアリゲノムに存在する糖質分解酵素を解析し、これまでのゲノム解析の報告

と比較しながらゲノムレベルでシロアリのセルロース消化システムの進化についても議論することとした。

また、進化的にもっとも派生的な高等シロアリでは消化管に中腸様組織と後腸様組織の組織複合域が存在することが知られるが、その機能は全く明らかになっていなかった。そこでこの消化管領域の代謝機能がシロアリのセルロース消化にどのような影響を与えているかについても解明を試みた。

### 3. 研究の方法

#### (1) サンプリング

米国東部(ノースカロライナ州、バージニア州、ジョージア州、テネシー州)でキゴキブリの一種 *Cryptocercus punctulatus* を採集したほか、カリフォルニア州北部で *C. clevelandi* を、韓国において *C. kyebangensis* をサンプリングし実験に用いた。オオゴキブリ (*Panesthia angustipennis*) は筑波山においてサンプリングした。ムカシシロアリ *Mastotermes darwiniensis* はオーストラリアにおいて採集し、タカサゴシロアリ *Nasutitermes takasagoensis* は沖縄県西表島において採集し実験に供した。

#### (2) 細胞内共生細菌 (*Blattabacterium cuenoti*) のゲノム比較解析

採集したキゴキブリを解剖して脂肪体を摘出し、全DNAを抽出した。DNAライブラリーを作製後、イルミナ社MiSeqによるシーケンスを実施した。宿主DNAの除去、バクテリアゲノムのアセンブル、およびアノテーションは、Kinjo *et al.* (2015)の方法によって実施した。

#### (3) 代謝物測定

酢酸菌による<sup>13</sup>C標識セルロースシートの合成を行い、オオゴキブリ及びキゴキブリに摂食させた。その後、消化管各部を切り出し、NMRによる測定を実施した。また、脂肪体および腸内アミノ酸量は、各消化管からの抽出物をHPLCによって定量した。

#### (4) ヤマトシロアリゲノムにおけるリグノセルロース分解酵素遺伝子の探索

ヤマトシロアリドラフトゲノムより推定されたタンパク質コード遺伝子を糖質修飾酵素のデータベースdbCANにより分類・検索し、リグノセルロース分解に関わるもののみ抽出して解析した。

#### (5) 高等シロアリ組織複合域の解析

タカサゴシロアリ中腸・組織複合域・後腸よりmRNAを抽出し、次世代シーケンサーによるトランスクリプトーム解析を行った。その中で特徴的な挙動を示したV-ATPaseについて、定量PCRおよび酵素活性測定による解析を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 細胞内共生細菌のゲノム進化

腸内共生系に競合する可能性のある細胞内共生細菌の代謝系を明らかにするため、採

集したキゴキブリに共生するプラタバクテリアのゲノム解析とアノテーションを行った。その結果、*C. punctulatus*の集団間でシステイン生合成系の遺伝子の有無に違いがあることや、他の細胞内共生細菌から硫酸還元経路が欠失していることが明らかとなった。硫酸還元経路はリグニンの生分解に影響を与えることが過去の研究で示唆されており、この経路を腸内微生物が担うことでリグノセルロース分解に影響を与えている可能性が考えられた。また、韓国・米国西部・米国東部におけるキゴキブリの細胞内共生細菌の間では、アミノ酸生合成に関わる遺伝子レパートリーに違いがあり、アミノ酸生合成の点において腸内共生微生物と競合している可能性が示唆された。

#### (2) 腸内代謝物の比較解析

まず解析条件を検討するため、キゴキブリの生育環境に近い低温高湿な飼育条件を構築し、3日、8日、16日の期間で<sup>13</sup>C標識セルロースシートを摂食させた。さらに、ゴキブリ消化管からの代謝物の抽出についても重水を使用した場合と、溶媒を使用した場合とで抽出効率の違いを検討した。

これらの結果に基づき、キゴキブリと食材性オオゴキブリについて<sup>13</sup>C標識セルロースの摂食実験を実施した。NMRによる解析の結果、消化管内代謝物の標識率は摂食後8日目付近で最大となることが示唆された。特に顕著な特徴として、アミノ酸のシグナルは主に後腸で強く検出されたが、共生細菌が分布する脂肪体では強いシグナルは認められなかった。また脂肪体のシグナルのパターンは後腸よりも、中腸や前腸と似ていた。

上述の結果から、細胞内共生細菌が分布する脂肪体と腸内のアミノ酸量の定量を実施する必要があると考えられたことから、HPLCによる各組織(中腸、後腸、脂肪体、および血リンパ)における遊離アミノ酸の定量も実施した。本研究では、米国東部と韓国産のキゴキブリに加えてオオゴキブリとムカシシロアリについて、消化管各部と脂肪体、ならびに血中の遊離アミノ酸量を定量した。その結果、組織あたりのアミノ酸量では米国と韓国産キゴキブリの間で後腸にのみ顕著な差が認められた。しかし、単位体積当たりの遊離アミノ酸量(濃度)を求めたところ、前腸から中腸にかけて遊離アミノ酸の濃度が高いことが明らかとなった(図1)。このことは、腸内微生物が前腸~中腸通過中に消化され、遊離されたアミノ酸を宿主が中腸から吸収していることを示唆していると考えられ、細胞内共生細菌への依存性は低いことが伺えた。したがって、この結果は進化の過程でアミノ酸の生合成に窒素源を要求する細胞内共生系から、空中窒素を利用可能な腸内共生系へ宿主の依存度が変化していることを示していると考えられ、宿主がセルロース消化に特化し、消化の効率化に投資することが

できたひとつの要因であったと考えられる。

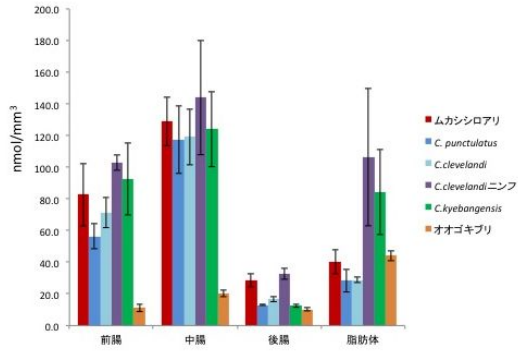


図 1 . 食材性ゴキブリおよびムカシシロアリにおける腸内および脂肪体内アミノ酸濃度の比較

### (3) 下等シロアリゲノムにおけるセルラーゼ遺伝子の進化

本研究開始後、2 種のシロアリのゲノム解析結果について論文が出版された。今後はゲノム情報を利用した研究にも対応する必要に迫られたため、ヤマトシロアリ (*Reticulitermes speratus*) ゲノム解析プロジェクトに参画し、セルロース分解等に關する糖質加水分解酵素のマニュアルアノテーションを開始した。これにより 3 種のシロアリゲノムを比較し、セルロース消化に關する遺伝子情報とそこから推定される代謝系について予備的な知見を得ることができた。本研究によりシロアリゲノム中にはセルラーゼ遺伝子が 4 個あることが明らかになった。このうち 2 つは発現レベルのデータや触媒領域のアミノ酸配列から消化酵素である可能性が考えられたが、ひとつは触媒領域のアミノ酸が置換されていることに加え、頭部で強い発現が認められたことから、セルラーゼではなく補助的な役割を担う可能性が推定された。残る一つについては、虫体全体で弱く発現していた。このことは、セルラーゼ遺伝子が進化の過程で新たな機能を獲得している可能性を強く示唆している。最近報告されたナナフシでヘミセルロース分解ができるように機能分化したセルラーゼと併せて系統解析したところ、類似の系統進化はシロアリでは認められず、同様な基質特異性の変化がシロアリで起きているという証拠は得られなかった。

また、 $\beta$ -グルコシダーゼについてもヤマトシロアリには 16 個のホモログがあり、消化酵素のほかに社会性コミュニケーションに關するものなどが存在していると考えられた。しかし、多くのホモログについてはこれまで機能を明らかにできておらず、これらのセルロース消化への關与については、今後さらに研究が必要であると考えられた。

### (4) 高等シロアリの組織複合域が消化システムに果たす役割

シロアリのセルロース消化システムの進化の過程では、消化管内に組織複合域と呼ばれる中腸組織と後腸組織の組織複合域が発達したことが知られている。本研究では、高等シロアリの組織複合域が消化に果たす役割についても検討した。トランスクリプトーム解析から、消化管のアルカリ化に關する因子として V-ATPase (液胞型 ATPase) と NHE (ナトリウム・プロトン交換) チャンネルが推定された。定量 PCR においても、V-ATPase が隣接組織に比べ組織複合域において高発現していることが裏付けられた。また、組織複合域では隣接する組織に比べて輸送関連分子をコードする遺伝子が多く発現しているものの、セルラーゼに類する配列の発現はほとんど認められなかった (図 2)。V-ATPase 活性を阻害した場合は、組織複合域内の pH 低下が認められた。従って、組織複合域は消化管内腔のアルカリ化によるリグニンやフミン酸の可溶化・分離を通じて、セルロース消化の効率化に寄与している可能性が考えられた。

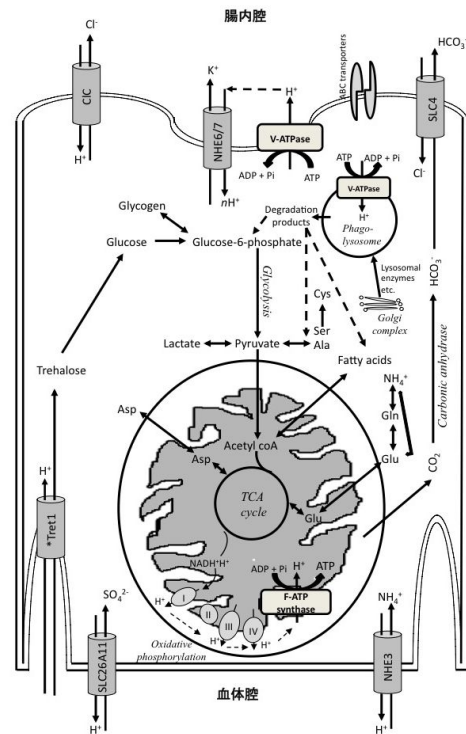


図 2 . 組織複合域で予想される主な代謝経路

### (5) まとめ

本研究では、主にゴキブリからシロアリへの進化の過程でセルロース消化の効率化に寄与した因子を明らかにした。キゴキブリから下等シロアリへの進化過程では、必須アミノ酸を中心とした腸内代謝物を巡る細胞内共生系と腸内共生系の競合が起きており、宿主が窒素源を要求する細胞内共生細菌から、空中窒素を利用可能でかつセルロース分解に主要な役割を果たす腸内微生物への依存

関係を変化させていったことが示唆された。また、下等シロアリでは宿主ゲノム内でセルラーゼ遺伝子の重複が起きており、配列や発現場所の情報から、機能の多様化が起こったことが示唆された。さらに高等シロアリでは消化管に組織複合域を作り出すことで、液胞型 ATPase と NHE 輸送分子により腸内腔のアルカリ化を引き起こし、リグニンの可溶化によって腸内微生物によるセルロース消化を促進していることが考えられた。過去の私たちの研究ではセルラーゼの分泌場所もシロアリ進化の過程で唾液腺から中腸に変化していることも明らかになっており、本研究結果からゴキブリからシロアリへの進化の過程で段階的にセルロース消化に関与する因子も変化していったことが示唆された。今後これらの知見がさらに効率的な木質糖化システムの構築に応用されることが期待される。

#### 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10件)

Li, Y., Arakawa, G., Tokuda, G., Watanabe, H. & Arioka, M. (2017) Heterologous expression in *Pichia pastoris* and characterization of a  $\beta$ -glucosidase from the xylophagous cockroach *Panesthia angustipennis spadica* displaying high specific activity for cellobiose. *Enzyme and Microbial Technology* 97, 104-113. 査読有、DOI: 10.1016/j.enzmictec.2016.11.004

徳田 岳 (2017) シロアリ消化システムの変遷 *生物科学* 68(3), 142-153. 査読有

徳田 岳 (2017) シロアリ社会性の発達と木質消化。 *昆虫と自然* 52(7), 38-40. 査読無

Arakawa, G., Kamino, K., Tokuda, G. & Watanabe, H. (2016) Purification, characterization, and cDNA cloning of a prominent  $\beta$ -glucosidase from the gut of the xylophagous cockroach *Panesthia angustipennis spadica*. *Journal of Applied Glycosciences* 63, 51-59. 査読有、DOI: 10.5458/jag.jag.JAG-2016\_006

Kumara, R. P., Saitoh, S., Aoyama, H., Shinzato, N. & Tokuda, G. (2016) Metabolic pathways in the mixed segment of the wood-feeding termite *Nasutitermes takasagoensis* (Blattodea (Isoptera): Termitidae). *Applied Entomology and Zoology* 51, 429-440. 査読有、DOI: 10.1007/s13355-016-0417-4

Kumara, R. P., Saitoh, S., Aoyama, H., Shinzato, N. & Tokuda, G. (2015) Predominant expression and activity of vacuolar H<sup>+</sup>-ATPases in the mixed segment of the wood-feeding termite *Nasutitermes*

*takasagoensis*. *Journal of Insect Physiology* 38, 1-8. 査読有、DOI: 10.1016/j.insphys.2015.04.012

Kinjo, Y., Saitoh, S. & Tokuda, G. (2015) An efficient strategy developed for next-generation sequencing of endosymbiont genomes performed using crude DNA isolated from host tissues: a case study of *Blattabacterium cuenoti* inhabiting the fat bodies of cockroaches. *Microbes and Environments* 30, 208-220. 査読有、DOI: 10.1264/jisme2.ME14153

徳田 岳 (2015) シロアリによるセルロース代謝。 *しるあり* 163, 1-6. 査読無

Tokuda, G., Tsuboi, Y., Kihara, K., Saitoh, S., Moriya, S., Lo, N. & Kikichi, J. (2014) Metabolomic profiling of <sup>13</sup>C-labelled cellulose digestion in a lower termite: insights into gut symbiont function. *Proceedings of the Royal Society B* 281, 20140990. 査読有、DOI: 10.1098/rspb.2014.0990

Mikaelyan, A., Strassert, J.F.H., Tokuda, G. & Brune A. (2014) The fiber-associated cellulolytic bacterial community in the hindgut of wood-feeding higher termites (*Nasutitermes* spp.). *Environmental Microbiology* 16, 2711-2722. 査読有、DOI: 10.1111/1462-2920.12425

##### [学会発表](計11件)

金城幸宏・本郷裕一・徳田 岳・大熊盛也：偏性共生細菌ゲノムにおける進化選択圧の解析 日本微生物生態学会第31回大会 2016年10月22日-25日 横須賀市文化会館(神奈川県横須賀市)

Tokuda, G.: Genomic and metabolic transitions of the intracellular symbiont during evolution of the wood-feeding cockroaches, *Cryptocercus* spp. XXV International Congress of Entomology (ICE2016), 25<sup>th</sup>-30<sup>th</sup> September 2016, Orlando, FL, USA.

徳田 岳：食材性昆虫と微生物との栄養共生。BMB2015(第38回日本分子生物学会年会・第88回日本生化学会大会合同大会) 2015年12月1-4日 ポートアイランド(兵庫県神戸市)

Tokuda, G.: Exploration of bacterial cellulolytic system in the hindgut of the wood-feeding termite, *Nasutitermes takasagoensis*. Mini-Symposium on Insect Evolution, Ecology, Physiology, and Symbiosis, 6<sup>th</sup> October 2015, 琉球大学50周年記念館(沖縄県西原町)

Rohitha P. Kumara・齋藤星耕・青山洋昭・新里尚也・徳田 岳：トランスクリプトームによるタカサゴシロアリ組織複合域が果たす機能の探索 平成27年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会 2015年9

月 26 日-27 日 北海道大農学部 (北海道  
札幌市)

徳田 岳: タカサゴシロアリのセルロー  
ス消化に關与する微生物由来消化酵素の  
探索 日本動物学会第 86 回大会 2015  
年 9 月 17 日-19 日 朱鷺メッセ (新潟県  
新潟市)

Kinjo, Y., Saitoh, S., Tokuda, G.: An efficient  
strategy developed for the target genome  
reconstruction of endosymbiont genomes  
performed using crude DNA isolated from  
host tissues. International Symposium on  
Basic and Applied Research on Sericulture  
and Insect Sciences, 21<sup>st</sup> April 2015, Daegu,  
Korea

金城幸宏・C. A. Nalepa・本郷裕一・大熊  
盛也・徳田 岳: キゴキブリ集団間にお  
ける細胞内共生細菌 *Blattabacterium* の比  
較ゲノム解析 第 59 回日本応用動物昆  
虫学会大会 2015 年 3 月 26 日-28 日 山  
形大学小白川キャンパス(山形県山形市)  
金城幸宏・徳田 岳・本郷裕一・大熊盛  
也: 比較ゲノムによる細胞内共生細菌の  
転写エラーを利用した遺伝子発現制御シ  
ステムの検証 第 9 回日本ゲノム微生物  
学会年会 2015 年 3 月 6 日 - 8 日 兵庫  
県神戸市 神大会館(百年記念館)(神戸  
大学(六甲第二キャンパス))

徳田 岳・菊地 淳: 昆虫消化系におけ  
るセルロース代謝メカニズム。第 66 回日  
本生物工学会大会(シンポジウム) 2014  
年 9 月 9 日 - 11 日 札幌コンベンション  
センター (北海道札幌市)

Tokuda, G., Kikuchi, J.: Cellulose catabolism  
in the gut of the termite, *Hodotermopsis*  
*sjostedti*. XVII International Congress of  
IUSSI, 13-18 July, 2014, Cairns, Australia.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.cc.u-ryukyu.ac.jp/~tokuda/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

徳田 岳 (TOKUDA, Gaku)

琉球大学・熱帯生物圏研究センター・教授  
研究者番号: 90322750

### (2) 研究分担者

菊地 淳 (KIKUCHI, Jun)

国立研究開発法人理化学研究所・環境資源  
科学研究センター・チームリーダー

研究者番号: 00321753

大熊 盛也 (OHKUMA, Moriya)

国立研究開発法人理化学研究所・バイオリ  
ソースセンター・室長

研究者番号: 10270597

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者

本郷 裕一 (HONGO, Yuichi)

金城 幸宏 (KINJO, Yukihiro)

クマラ ロヒタ (KUMARA, Rohitha P.)

ナレパ クリスティン (NALEPA, Christine

A.)

パク ユンチョル (PARK, Yung Chul)