

令和元年6月11日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00596

研究課題名(和文) 微生物由来物質が誘発する海藻タンパク質発現変動の解明と水圏環境浄化への利用の研究

研究課題名(英文) The investigation of algal metabolic change induced by microorganism substances and its application to hydrosphere environmental purification

研究代表者

垣田 浩孝 (KAKITA, Hirotaka)

日本大学・文理学部・教授

研究者番号：40356754

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：インドール酢酸の単藻培養株まで純化したオゴノリ科海藻の成長、栄養塩吸収、糖、β-カロテン、電気泳動挙動へのインドール酢酸の影響を調べた。海藻粉末からのβ-カロテンの抽出方法とHPLCでの分析方法を新規に開発した。本研究によりIAAは紅藻類オゴノリ科海藻の代謝物質変動(糖、カロテノイド、電気泳動でのタンパク質挙動、酵素活性、窒素吸収特性の変動)に関係していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した新規β-カロテン分析方法はβ-カロテンを海藻粉末から高効率回収かつ迅速分析可能であり、代謝変動の解析の研究を進める上で便利な分析方法になると考えられる。特に微量な代謝変動の解析に適していると考えられる。IAAが海藻糖、カロテノイド、電気泳動でのタンパク質挙動等に影響を与えていることを明らかにした。これらの結果はIAA等の微生物由来物質により海藻の成長量や窒素吸収特性を制御する技術のための基礎データとして価値があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The unialgal culture strain of the red alga Gracilariaceae was used. The effects of indole-3-acetic acid on algal growth, nutrient uptake, monosaccharide concentration, and beta-carotene concentration were investigated. To determine beta-carotene concentration in algal body, a simple pretreatment and reversed-phase chromatography method for beta-carotene in seaweeds was developed. The present method has several advantages, such as high efficiency extraction and rapid analysis. The present method was successfully applied to beta-carotene analysis and should prove useful for beta-carotene analysis in seaweed. Indole-3-acetic acid (IAA) accelerated algal growth, increased beta-carotene and glucose content. IAA also changed nutrient uptake and protein behavior in electrophoresis gel. This findings suggested that IAA in seawater was related to algal metabolic change, such as algal saccharide, carotenoid, nutrient uptake, protein. The findings seems to be worthwhile for the future.

研究分野：応用藻類学

キーワード：海藻 水圏環境浄化 海洋資源 植物

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 魚類養殖場からの栄養塩負荷は水圏への重大な環境負荷の一つである。硝酸イオンはそれ自体に有害性がある。高濃度栄養塩(窒素・リン)は植物プランクトンの異常発生を助長し、植物プランクトン(赤潮)による貝毒等の大量放出に繋がる。水圏の高濃度栄養塩の濃度低減技術が求められている。一方、海藻にとって窒素・リンは成長のために必要な元素である。大型海藻に富栄養化海水中の窒素・リンを吸収させて、水圏から取り出すことによって栄養塩を陸上に長期間隔離できる。水圏環境浄化において生態系リサイクル可能な海藻が必要である。栄養塩吸収した海藻が余れば生態系リサイクルは停滞する。死んで腐敗すれば海藻が水質汚染の源となる。そこで各種大型海藻の探索を開始し、環境浄化生物としての栄養塩吸収能力が高く、藻体が丈夫で大量培養でき、栄養成長して成熟せず、利活用可能な有用成分を生産する有用な非成熟性オゴノリ科海藻を見出した。しかし水圏環境浄化の更なる効率上昇には有用な非成熟性オゴノリ科海藻の成長促進あるいは栄養塩吸収能上昇が課題として残っていた。

### 2. 研究の目的

(1) 生物の栄養塩吸収機能を活用した水圏環境浄化技術(例えば魚類養殖場の水質浄化技術)の確立を目指した研究の中で、すでに環境浄化生物として有用な非成熟性オゴノリ科海藻を発見した。海藻付着共存微生物を単離し、同定した。オゴノリ科海藻の主要な付着共存微生物は *Flavobacterium - Cytophaga* sp. に属する微生物であり、有色コロニーを形成する微生物であった。またこれらの微生物はインドール合成能を有することでも知られている。海藻付着共存微生物に海藻成長促進する機能があるかどうか調べるために、微生物由来 indole-3-acidic acid (IAA) あるいは微生物を添加した培地での海藻培養を行った。IAA あるいは微生物の添加による海藻成長量上昇、栄養塩吸収能上昇、スクロース量変動を見出すことができた。しかし、IAA あるいは微生物の添加によって海藻中の代謝産物(単糖や二次代謝物質としてのカロテノイド等)やタンパク質がどのように変化するか(代謝変動)については不明であった。そこで本研究では IAA あるいは微生物が誘発する海藻中の代謝産物(単糖や二次代謝物質としてのカロテノイド等)や海藻タンパク質の変動を解析し、高成長量、高栄養塩吸収能を有する海藻の調製に適する微生物由来物質を選定する(検討した物質群の中から IAA より適した物質があるか否かを明らかにする)ことを目的とした。本研究により海藻大量供給や栄養塩高吸収海藻のための基礎データを収集し、効率的な水圏環境浄化技術の確立に繋げることを目指す。

### 3. 研究の方法

(1) 海藻中の  $\beta$ -カロテン分析法の開発(カラムと溶離条件選抜と  $\beta$ -カロテンの安定化法)  
高速液体クロマトグラフィー(HPLC)はカロテノイド分析のための最も実用的な道具の一つである。逆相クロマトグラフィーはカロテノイド分析用の HPLC モードとして一般的である。そこで、3種類の Octadecylsilyl-silica カラム、すなわち、TSKgel ODS-80Ts(monomeric ゲル)、TSKgel ODS-120T(polymeric ゲル)、TSKgel 120-A(polymeric ゲル)を比較して最適なカラムを選抜した。クロマトグラフィーは高圧送液ポンプ、脱気装置、オートサンプラー、カラム恒温槽、紫外可視検出器、データプロセッサから構成される装置を用いた。カロテノイドの検出は 450 nm で行った。カラム温度は 40 °C で行った。カラムと溶離条件選抜実験には  $\beta$ -カロテンとフコキサンチンをカロテノイド標準物質として使用した。抗酸化物質であるピロガロールの  $\beta$ -カロテンの安定性への影響を評価した。ピロガロール含有エタノール中で  $\beta$ -カロテンを 6 日間 4 °C で静置した前後の  $\beta$ -カロテン値の比較により  $\beta$ -カロテンの安定性を評価した。

(2) 海藻中の  $\beta$ -カロテン分析法の開発(前処理法選抜)

カロテノイド分析方法のカラム選抜は確かに重要であるが、HPLC 操作前の試料の前処理方法は最も重要である。なぜならば適切な抽出方法は原料や各食品成分によって様々であるから、高効率抽出方法が目的的食品成分の定量に不可欠である。つまり海藻独特の前処理方法(成分抽出方法)を選択しなければならない。そこで海藻粉末から  $\beta$ -カロテンを抽出する際の各種抽出溶媒での  $\beta$ -カロテン回収率を比較した。この実験には海藻として褐藻類大型海藻ホソメコンブ(*Saccharina japonica* var. *japonica*)の凍結乾燥粉末を試料として用いた。抽出溶媒としてアセトン、イソプロピルアルコール、アセトニトリル、クロロホルム、エタノールを用いて暗室で抽出を行った。海藻粉末 20 mg に抽出溶媒 1 ml を添加し、20 °C で 2 時間攪拌後、遠心分離し上清部分の抽出液を回収した。抽出操作は 3 回行った。抽出液はその後 HPLC に添加し、抽出液中の  $\beta$ -カロテンを定量した。ピロガロール含有したエタノール溶液の抽出溶媒としての評価を行った。ピロガロール含有エタノールによる前処理を含む  $\beta$ -カロテン分析方法を褐藻類以外の海藻への適用を検討した。青のり粉末の原料として日本では主に 3 種類の海藻、すなわち、ヒトエグサ(*Monostroma nitidum*)、スジアオノリ(*Ulva prolifera*)、アオサ(*U. pertusa*)が使用されている。原料海藻により青のり粉末中の  $\beta$ -カロテン量が異なるか否かをピロガロール含有エタノールによる前処理工程を含む  $\beta$ -カロテン分析法により確かめた。

(3) 海藻培養実験

平成 28 年 6 月に徳島県内で採取したオゴノリ科海藻を出発材料として培養株を調製した(この株は難成熟性であった)。プロバゾリの濃縮補助栄養液組成の中でグリセロリン酸ナトリウム

はリン酸水素ナトリウムに変更し、ビタミン類は添加しなかった。人工海水のレシピは Lyman & Fleming (1940) を基本とした。人工海水は塩化ナトリウム、塩化マグネシウム、硫酸ナトリウム、塩化カルシウム、塩化カリウム、炭酸水素ナトリウム、臭化カリウム、塩化ストロンチウムを添加して調製した。pH は pH7.8 に調整した。滅菌海水での海藻培養のための培地は、人工海水 1000 mL に対してプロバゾリの濃縮補助栄養液 20 mL を添加して調製した。天然海域で採取した成熟オゴノリ科海藻を 2.5 cm ~ 3.0 cm 長に切断し、滅菌海水中で胞子を放出させた。胞子を分離し滅菌海水の入ったスクリー管に植え付け、水温 18 °C、14 時間明期-10 時間暗期の光周期で 40  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$  の光強度で静置培養を行った。静置培養後、オゴノリ科海藻の直立体の赤色色素が鮮やかで混入物が少ない直立体を選抜した。選抜した直立体は滅菌海水 800 mL の入った 1000 mL 丸型平底フラスコ中で 18 °C、14 時間明期-10 時間暗期の光周期で 80  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$  の光強度でエアレーション培養を行い、紅藻類オゴノリ科培養株を得た。

IAA は水に溶けないため、あらかじめアルコールに溶解後に蒸留水で希釈し、各濃度の IAA 溶液を調製して実験に供した。本培養株の頂端切片 (5 mm 長) を IAA 濃度 0 mg/L、0.16 mg/L、0.45 mg/L、2.5 mg/L の人工海水中で培養し、湿重量及び電気泳動によるタンパク質パターン比較を行った。頂端切片は培養実験前に抗菌剤混液中で滅菌処理した。

3 種類の植物成長制御因子、IAA、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D)、6-ベンジルアミノプリン (BA) 含有人工海水での比較培養を行った。

代謝産物への IAA の影響を調べる実験として、一次代謝物として糖、二次代謝物としてカロテノイド ( $\beta$ -カロテン含有量) について評価した。還元糖の高感度分析には反応型 HPLC を用いた。クロマトグラフィーは高圧送液ポンプ、脱気装置、オートサンプラー、カラム恒温槽、反応槽、蛍光検出器、データプロセッサから構成される装置を用いて行った。還元糖の蛍光誘導体化反応は 2 分間とした。反応温度は 95 °C で行った。カラムは TSKgel Amide-80 を 80 °C で使用した。 $\beta$ -カロテンの分析には、本研究で開発した  $\beta$ -カロテン分析方法 (ピロガロール含有エタノールでの抽出工程と逆相クロマトグラフィーを組み合わせた  $\beta$ -カロテン分析方法) を用いた。本培養株の頂端切片 (5 mm 長) を IAA 濃度 0 mg/L、0.16 mg/L、0.64 mg/L の人工海水中で培養し、湿重量、還元糖、 $\beta$ -カロテン及び電気泳動によるタンパク質パターン比較を行った。400 mL の人工海水の入った 500 mL 三角フラスコ 1 本あたり 12 本の頂端切片を移植して培養実験を行った。タンパク質の電気泳動後の検出にはコロイド CBB 染色法を用いた。海藻培養前後の海水中の栄養塩をオートアナライザーで測定して海藻の栄養塩吸収能を見積もった。

#### 4. 研究成果

##### (1) 海藻中の $\beta$ -カロテン分析法の開発 (カラムと溶離条件選抜)

アセトニトリルとエタノールの混合液において、移動相中のエタノール濃度のカロテノイド保持時間への影響を図 1 に示す。カロテノイドの分離がよい移動相を探索するために、カロテノイドの中で低い疎水性のフコキサンチンの保持時間と高い疎水性の  $\beta$ -カロテンの保持時間の差が大きくなる移動相を探した。 $\beta$ -カロテン保持力は 3 種類の検討した逆相 HPLC カラムの中で TSKgel ODS-120A が最も弱く、TSKgel ODS-80Ts が最も強かった。エタノール濃度の変化によってフコキサンチンの保持時間はほとんど変わらなかった。一方  $\beta$ -カロテンの保持時間は移動相中のエタノール濃度の上昇に従って減少した。フコキサンチンの保持時間と  $\beta$ -カロテンの保持時間の差は TSKgel ODS-80Ts で最大となったため、3 種類の検討したカラムの中から TSKgel ODS-80Ts をカロテノイド分析用カラムとして選抜した。分析の迅速性を考慮して、移動相中のエタノール濃度は 30% に設定した。なお、 $\beta$ -カロテン 0.42 - 4.20 ng / injection の範囲で  $\beta$ -カロテン添加量と  $\beta$ -カロテンのピーク強度との相関係数は高く ( $r^2 = 0.9999$ )、

$\beta$ -カロテンの実用的分析として許容範囲であると考えられた。図 2 にピロガロール濃度の  $\beta$ -カロテン保存安定性への影響を示す。6 日間 4 °C でエタノール溶液中にて保存した後で  $\beta$ -カロテンの HPLC でのピークが小さくなり、構造異性体様成分のピークが出現した。10%ピロガロール含有エタノールで保存すると  $\beta$ -カロテンのピークの減少もなく、構造異性体様成分ピークの出現も検出されなかった。ピロガロールがカロテノイドの酸化を防ぐことが示唆された。

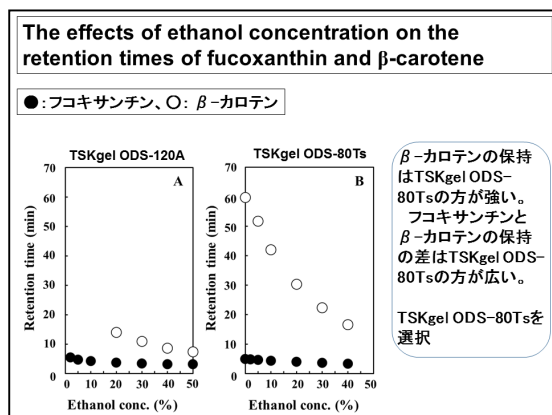


図 1 移動相の  $\beta$ -カロテン保持時間への影響

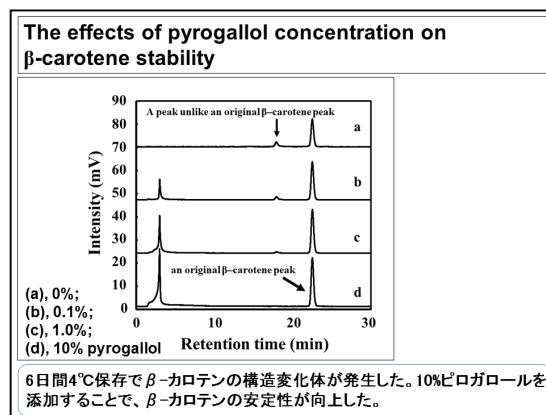


図 2 ピロガロールの  $\beta$ -カロテンへの影響

## (2) 海藻中のβ-カロテン分析法の開発(前処理法選抜)

3回の抽出操作による抽出液中のβ-カロテン量は1回目の抽出液が最も高く、3回目の抽出液が最も低かった。アセトン、イソプロパノール、アセトニトリル、クロロホルムを抽出溶媒として用いた場合は、3回目の抽出液中のβ-カロテンが検出限界値以下(<50 ng/mL)であった。コンブ粉末20 mgからのβ-カロテンの回収量はイソプロパノール(880 ng)<アセトン(1030 ng)<クロロホルム(1130 ng)<エタノール(1180 ng)<アセトニトリル(1240 ng)<メタノール(1420 ng)であった。結果を図3に示す。図3からわかるように抽出溶媒へのピロガロールの添加はホソメコンブ粉末からのβ-カロテン抽出効率を改善した。抽出溶媒中のピロガロールの割合が増えるにしたがってβ-カロテン総回収量は増加した。ホソメコンブ粉末20 mgからのβ-カロテンの回収量はピロガロール0%(1180 ng)<0.1%(2020 ng)<1.0%(2700 ng)=10.0%(2700 ng)であった。ピロガロール(酸化防止剤)含有のエタノール(抽出溶媒)を抽出工程で用いてコンブ粉末中のβ-カロテンを分析した結果を図4に示す。ホソメコンブ粉末中のβ-カロテンを再現性良く検出することが可能であった。

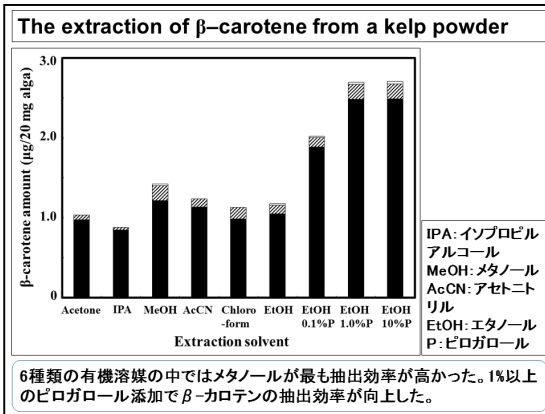


図3 抽出溶媒のβ-カロテン回収率への影響

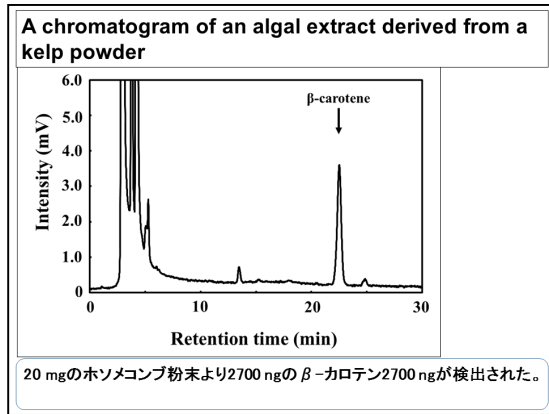


図4 コンブ粉末中のβ-カロテンの定量

## (3) 種々の海藻粉末中のβ-カロテン分析

青のり粉末中のβ-カロテン定量値は青のり粉末A(原料 *Monostroma nitidum*)(β-カロテン 41.3 μg/g)、青のり粉末B(原料 *U. prolifera*)(β-カロテン 131 μg/g)、青のり粉末C(原料 *U. pertussis*)(42.2 μg/g)であり、原料海藻により青のり粉末中のβ-カロテン含有量が異なっていることを明らかにした。結果の一部を図5と図6に示す。再現性も良好であった。以上のことから本研究で開発したβ-カロテン分析方法(ピロガロール含有エタノールでの抽出工程と逆相クロマトグラフィーを組み合わせたβ-カロテン分析方法)は、β-カロテンを海藻粉末から高効率回収かつ迅速分析可能なことが明らかとなった。本法はIAA等植物成長制御因子による海藻β-カロテン成分変動を微量かつ迅速に分析可能な手法であることが示唆された。

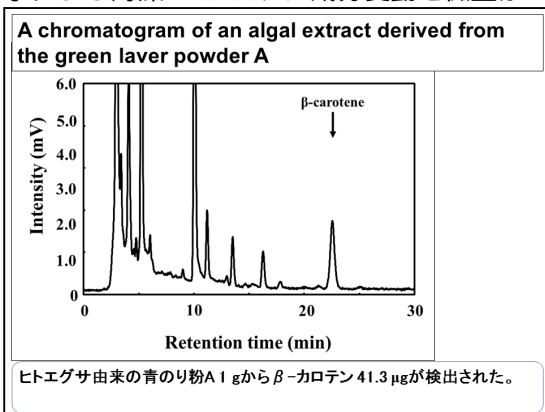


図5 青のり粉末A中のβ-カロテンの分析

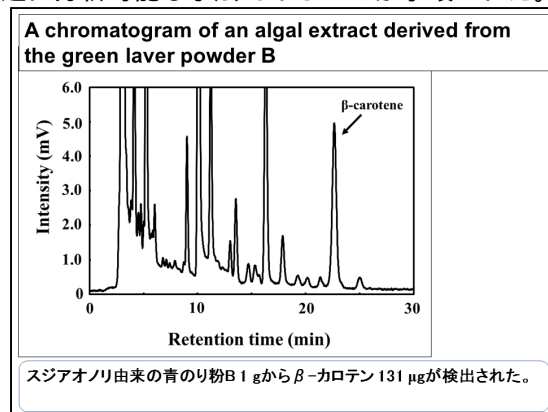


図6 青のり粉末B中のβ-カロテン分析

## (4) 培養株作成

平成28年6月に徳島県内で採取したオゴノリ科海藻から胞子を放出させ、胞子を分離した。胞子を塩分濃度1.0%、2.0%、3.0%、4.0%、5.0%の人工海水中で静置培養し、塩分濃度2.0%、3.0%、4.0%の条件でオゴノリ科海藻の直立体が得られた。一方、当該オゴノリ科海藻の成長は塩分濃度2.0%~4.0%で可能であった。海藻成長と胞子発芽が広い塩分濃度で可能であることが明らかになった。藻体の赤色が鮮明で、培地中の混入物が少ない直立体を選抜し、振とう培養、エアレーション培養を行い、本研究を通じて使用するオゴノリ科海藻株を得ることが出来た。当該株は16週間の連続培養実験でも成熟せず、本株が非成熟性単藻培養株(難成熟性単藻培養株)であることが示唆された。

#### (5)海藻培養実験

人工海水中の IAA 濃度 0.16 mg/L で頂端切片の湿重量増加量が一番高かったことから、IAA は当該海藻の成長を促進することが示唆された。3 種類の植物成長制御因子、IAA、2,4-D、BA 含有人工海水で比較培養を行い、IAA 含有人工海水での海藻成長が最も高い結果を得た。

#### (6) 海藻成長、電気泳動タンパク質挙動と $\beta$ -カロテン含有量と栄養塩吸収への IAA の影響

3 種類の海水培地、IAA 0.64 mg/L 添加海水培地、IAA 0.16 mg/L 添加海水培地、IAA 無添加海水培地で海藻成長比較培養実験を行い、海藻湿重量は IAA 0.16 mg/L 添加海水培地が最も大きく、IAA 無添加海水培地が最も低いことを明らかにした。電気泳動後のゲル上でのタンパク質（ポリペプチド）のバンドパターン（タンパク質移動挙動）は海水中の IAA 濃度により変動した。海藻中の  $\beta$ -カロテンを本研究で開発した「酸化防止剤含有の抽出溶媒を抽出工程で用いる海藻のカロテノイド分析方法」を用いて分析した。結果を図 7 に示す。IAA 0.16 mg/L 添加海水培地で培養した海藻の方が、IAA 無添加海水培地で培養した海藻よりも  $\beta$ -カロテン含有量が高かった。3 種類の IAA 濃度の異なる海水培地においても、オゴノリ科海藻による硝酸態窒素の吸収は維持されていた。

#### (7) 海藻グルコース含有量への IAA の影響

海水に IAA を添加した培地で培養した海藻の方が IAA 無添加海水培地で培養した海藻よりも海藻中のグルコース濃度が高かった。結果を図 8 に示す。また、海水培地への IAA 添加濃度により海藻中のグルコース濃度は変動した。検討した濃度範囲では IAA 0.16 mg/L の濃度で海藻中のグルコース濃度が最大となった。

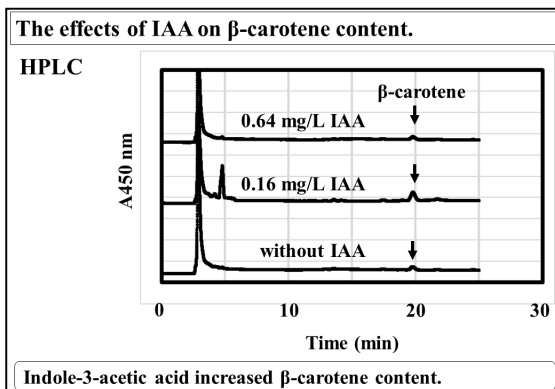


図 7 海藻  $\beta$ -カロテン含有量への IAA の影響

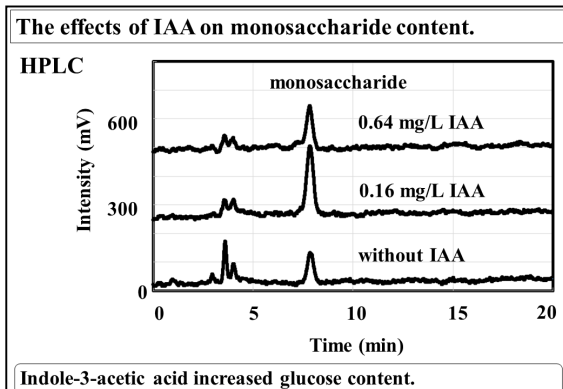


図 8 海藻グルコース含有量への IAA の影響

本研究により IAA は紅藻類オゴノリ科海藻の代謝物質変動（糖、カロテノイド、電気泳動でのタンパク質挙動、酵素活性、窒素吸収特性の変動）に関係していることが示唆された。また、検討した微生物由来物質や植物成長制御物質の中で IAA が最も海藻成長や栄養塩吸収に優れていることを明らかにした。以上の結果は、IAA 等の微生物由来物質により海藻の成長量や窒素吸収特性を制御する技術のための基礎データとして価値があると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

##### 〔雑誌論文〕(計 1 件)

Hiroataka Kakita, Hideki Obika, A simple pretreatment and HPLC method for  $\beta$ -carotene determination in edible seaweeds, Algal Resources, 査読有, 10 巻, 2017 年, p.59-66

##### 〔学会発表〕(計 20 件)

有本清也、垣田浩孝、大型海藻由来の抗アレルギー成分、日本農芸化学会 2019 年度大会、2019 年  
垣田浩孝、小比賀秀樹、インドール 3 酢酸が海藻組成に及ぼす影響、日本農芸化学会 2019 年度大会、2019 年  
柳岡直樹、鹿川紗希、孝志ちあき、垣田浩孝、小比賀秀樹、紅藻類大型海藻オゴノリによる栄養塩吸収、日本農芸化学会 2019 年度大会、2019 年  
平賀捷悟、石島大義、垣田浩孝、関憧平、四ツ倉典滋、アルギン酸含有量、ウロン酸組成、タンパク質含有量のコンブ部位の比較、日本農芸化学会 2019 年度大会、2019 年  
垣田浩孝、小比賀秀樹、インドール 3 酢酸添加が紅藻類オゴノリ科大型海藻の糖組成に及ぼす影響、第 91 回日本生化学会大会、2018 年  
Hiroataka Kakita, Hideki Obika, Yoshio Okuyama, Yoshiaki Takahashi, Reduction of nutrients derived from fish farming by a red alga, Gracilariaopsis chorda, Water and

Environment Technology Conference 2018 (WET2018), 2018 年  
垣田浩孝、小比賀秀樹、海藻中のβ-カロテンの簡易分析法、日本応用藻類学会第 17 回大会、2018 年  
垣田浩孝、小比賀秀樹、インドール酢酸の海藻カロテノイドへの影響、日本農芸化学会 2018 年度大会、2018 年  
垣田浩孝、小比賀秀樹、紅藻類大型海藻ツルシラモの成長に及ぼす植物成長制御因子の影響、2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ComBio2017)、2017 年  
Hirotaka Kakita, Hideki Obika, Survey for Japanese edible seaweeds for hemagglutinins, The JSFS 85<sup>th</sup> Anniversary - Commemorative International Symposium "Fisheries Sciences for Future Generations", 2017 年  
Hirotaka Kakita, Hideki Obika, Yoshio Okuyama, Yoshiaki Takahashi, Nutrient uptake by red alga, *Gracilaria* sp., *Gracilariopsis* sp., and *Gelidium* sp., Water and Environmental Technology Conference 2017 (WET2017), 2017 年  
垣田浩孝、小比賀秀樹、インドール 3 酢酸の紅藻類オゴノリ科海藻成長への影響、日本応用藻類学会第 16 回大会、2017 年  
垣田浩孝、小比賀秀樹、海藻製品中の単糖の迅速分析、日本農芸化学会 2017 年度大会、2017 年  
垣田浩孝、小比賀秀樹、微生物産生オーキシンによる大型海藻成長および栄養塩吸収への影響、第 89 回日本生化学会大会、2016 年  
Hirotaka Kakita, Hideki Obika, Yoshio Okuyama, Yoshiaki Takahashi, Utilization of agarophytes for purifying wastewater, Water and Environmental Technology Conference 2016 (WET2016), 2016 年  
Hirotaka Kakita, Hideki Obika, Utilization of ephiphytic bacteria on a red alga *Gracilariopsis chorda* for algal growth, International Seaweed Symposium 2016, 2016 年  
Hirotaka Kakita, Hideki Obika, Chromatographic analysis for low molecular weight saccharides in edible seaweeds, International Seaweed Symposium 2016, 2016 年  
Hirotaka Kakita, Hideki Obika, A red alga *Gracilariopsis chorda* is a source of a mitogenic hemagglutinin, International Seaweed Symposium 2016, 2016 年  
小比賀秀樹、垣田浩孝、市販アオノリ中のβ-カロテンの成分比較について、日本農芸化学会中四国支部第 45 回講演会、2016 年  
垣田浩孝、小比賀秀樹、食用海藻中に含まれるβ-カロテンの抽出法及び分析方法の検討、日本応用藻類学会第 15 回大会、2016 年

〔その他〕

ホームページ等

<http://dep.chs.nihon-u.ac.jp/chemistry/index.html>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

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。