

令和元年6月16日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08111

研究課題名(和文) 菌根性きのこの孢子分離培養法および菌株保存法の開発による菌類遺伝資源の拡充

研究課題名(英文) Enrichment of fungal genetic resources by developing spore isolation method and culture preservation method for ectomycorrhizal mushrooms

研究代表者

中桐 昭 (NAKAGIRI, Akira)

鳥取大学・農学部・教授

研究者番号：70198050

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：難培養性とされる菌根性きのこの分離法として担子孢子発芽を誘導できる孢子分離法を開発するとともに、培養法を改良して多様なきのこ培養株を樹立し、さらに、保存が困難とされてきた菌株の凍結保存法を開発し、長期間安定的に菌株を維持保存することによって、新たな生物資源を開発することを目指した。これまでに、22属115種の菌根性きのこの担子孢子をMNC培地、n-酪酸添加MNC培地、寒天の代わりにゲランガムを用いたゲランガムMNC培地で分離培養し、266株の菌株を分離した。また、菌の分類群ごとに良好な生育培地が異なることを見出した。菌株の保存では、パーミキュライト法を用いて197菌株を凍結保存できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

菌根性きのこの類はこれまで多くの種が培養されていなかった。本研究によって担子孢子から培養株が得られるようになることで、菌の培養性状や無性世代、菌糸の特徴などこれまで未知の性状を利用して、多様な菌根性きのこの生態や分類に関する新たな知見が得られることが期待できる。特に、単孢子分離株が得られることから、これまで不可能だった交配による近縁種間の生物学的種の判別も可能となる。また、多種多様な菌根性きのこの菌株が凍結保存されて、いつでも利用可能になれば、新たな生物資源として、有用生理活性物質の探索など様々な応用研究に活用されることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Development of spore isolation methods for inducing germination of basidiospores from ectomycorrhizal mushrooms, which have been known as hard-to-culture fungi, followed by improving culture methods to establish strains of various mycorrhizal fungi and also by development of long-term preservation method for such hard-to-preserve fungi, then establishing a new biological resource is the purpose of this research. We isolated basidiospores of 22 genera and 115 species of ectomycorrhizal mushrooms on MNC medium, n-MNC supplemented with butyric acid or G-MNC containing gelangum instead of agar. We also found the optimum medium is different from taxon to taxon. By employing the freezing method known as the vermiculite method, we successfully froze and stored 197 strains of ectomycorrhizal fungi.

研究分野：菌類多様性、菌株保存

キーワード：菌根菌 培養株 凍結保存 難培養性 難保存性

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

1. 研究開始当初の背景

現在までに約3万種が報告されている担子菌類のうち約1/3は、マツタケのような植物の根と菌根を作り共生する菌根性担子菌である。一方、子囊菌類約6万5千種のうちの半数は地衣類で、残りの多くはいわゆるカビであるが、それ以外にチャワンタケ類のように大型の子実体(きのこ)を作るものもいて、トリュフなどのように菌根性のものが含まれる。このような菌根性きのこは、培養株の樹立が困難な難培養性菌類とされてきた。これらの菌根性きのこは、腐生性きのこと比較すると、一般にその孢子の発芽率が著しく低いために孢子からの培養株の分離が難しく、現在までに培養されている種のほとんどは、きのこ子実体内部の組織をブロック状に切り出して培地上に載せ、組織から脱分化して栄養菌糸となって成育してきた菌糸体を植え継いで菌株としているものである。しかし、この組織分離法をおこなうことができるのは子実体が大型のものだけであり、小型の子実体を形成するものには適用できない。また、子実体内部にバクテリアや糸状菌が生息している場合もあり、きのこの純粋培養株の取得には孢子からの新たな分離法の開発が必要である。

培養法についてもこれまでいろいろと検討され、エビオス培地(浜田培地) MMN 培地などの培地が菌根性きのこの類の人工培養用培地として開発されてきているが、これらの培地を用いても生育が悪く、一度継代培養しただけで死滅してしまうことがあり、新たな培養法の開発が望まれている。このようなことが原因となり、培養株として維持されている種は菌根性きのこの類の1割にも満たないごく少数にとどまっている。国内および世界の菌株コレクションにおいて、きのこの類の菌株で保存されているのは腐生性のきのこがほとんどで、ごく少数の菌根性きのこの菌株しか公開されていないのは、上述のように、分離や培養が困難であることに加え、腐生性きのこでは容易に適用できる一般的な凍結保存法では菌根性きのこの培養株は保存できない、つまり難保存性であることが理由となっている。これらのことが原因となって、多くの菌根性きのこの類の培養株が菌学の基礎研究や医薬品開発などの応用研究に利用できない状況となっている。

一方、申請者が所属する鳥取大学農学部附属菌類きのこ遺伝資源研究センターで菌株の収集、保存を行う中で、最近、数種の菌根性きのこの孢子から菌株の樹立に成功したが、この際の孢子の処理方法が他種にも有効かどうかを検証し、さらに改良を進めていく必要がある。また、センターで維持されている菌根性菌類の菌株を各種培地で培養したところ、菌種により旺盛な菌糸成長が得られる培地が異なること、菌体から培地中に出される代謝産物によって菌糸の成長が阻害され死滅する場合があることなどが分かり、これらを考慮した培養法の改良が必要になった。また、菌株保存のための凍結保存法の改良として、申請者らの研究によるパーライトを培養基材として用いる方法(Sato et al. 2012)や、活性炭ろ紙を利用する方法(Stielow et al., 2012)などで一部の菌株の凍結保存が可能となってきた。しかし、より多種多様な菌根性きのこの類の菌株を安全に長期保存するためには、保存法の改良をさらに進める必要がある。

2. 研究の目的

難培養性とされる菌根性きのこの培養法として孢子発芽を誘導できる孢子分離法を開発するとともに、培養法を改良して多様なきのこ培養株を樹立し、さらに、難保存性菌株の凍結保存法を開発し、長期間安定的に菌株を維持保存することによって、新たな生物資源を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 菌根性きのこの孢子発芽誘導法の開発

菌根性きのこを野外から採集し、図1に示すように、子実体から落下法で得た孢子を滅菌蒸留水に懸濁し、MNC 寒天培地(MNC)、n-酪酸30 ppmを添加したMNC 寒天培地(n-MNC)、MNC 培地の固化材をゲランガムとした培地(G-MNC)の3種類の培地に塗布し、20°Cで2~4週間培養して発芽率を調べ、有効な孢子の発芽誘導条件を検証した。

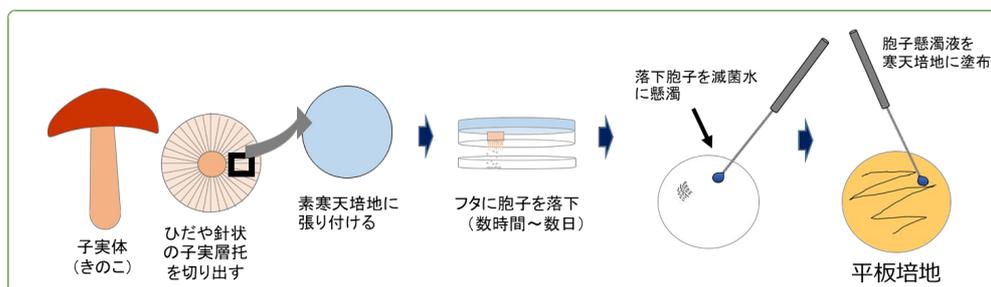


図1. きのこからの孢子分離法

(2) 菌根性きのこ培養菌糸体の培養法の改良

上記のMNC、n-MNC、G-MNCのほか、MMN 寒天培地(MMN)、YG 寒天培地(YGA)、1/4YMG

寒天培地（1/4YMG）、麦芽エキス寒天培地（MA）などを用いて、20～25℃で培養して、菌糸生長を比較し、菌糸培養に有効な培地を選別した。培地の組成は、表1の通り。

表1. 菌根性菌類の分離、培養、保存に用いた培地

試薬 \ 培地名	EBIOS	MA	MMN	YGA	MNC	YMG	1/4YMG
Ebios (g)	5						
Malt extract (g)		15	3			10	10
Yeast extract (g)				5	0.5	4	1
Ammonium tartrate (g)			0.25		0.5		
KH ₂ PO ₄ (g)			0.5		1		
MgSO ₄ · 7H ₂ O (g)			0.15		0.5		
CaCl ₂ · 2H ₂ O (g)			0.05				
NaCl (g)			0.025				
0.1% Thiamine HCl (ml)			0.1		0.05		
Glucose (g)	20		10	20	10	4	10
Casamino acid (g)					0.23		
0.2% ZnSO ₄ (ml)					0.5		
1% Fe(III)-citrate (ml)			1		0.5		
Distilled water (ml)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Agar (g)	20	20	15	15	15	15	15
pH				5.0			

(3)菌根性きのこ培養株を長期保存できる凍結保存法の開発

一部の菌根性菌は、腐生性菌類の凍結保存法として一般的に用いられる寒天ディスク法（図2）でも凍結・復元が可能であるが、多くの菌根性菌類の菌株は保存できないため、次の方法を用いて凍結保存を試みた。

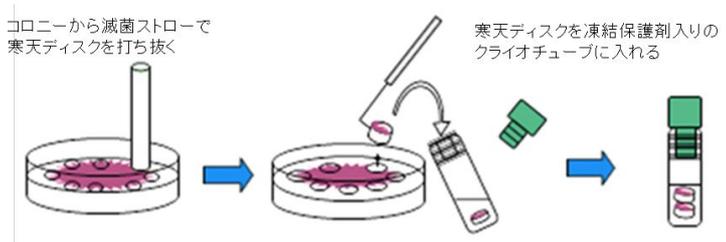


図2. 寒天ディスク法

改良パーライト法

- Sato et al. (2012, 2019)の方法に基づき、2 ml 容凍結チューブに粒状のパーライトを 0.2 g 入れ、菌種に適した液体培地を 0.8 ml 加えてオートクレーブ滅菌しておく。
- 寒天培地に生育させたコロニーから寒天ごと 5 mm 角に切り出した菌糸体をパーライトに接種し、20℃で3～8週間培養して、菌糸がパーライト粒の間に広がって生育していることを確認する。
- 凍結保護剤として、5% DMSO+10% trehalose (5D10T)の3倍濃度液 0.4 ml を上記のチューブに添加して、4℃で48時間置く。
- プログラムフリーザーを用いて、冷却速度-1℃/min で-40℃まで冷却凍結したのちに液体窒素気相タンクに移して保管する。
- 凍結標品の復元は、凍結チューブを 30℃の温水浴で急速解凍したのち、チューブ内のパーライトを生育に適した液体培地で3回リンスしてから、寒天培地に移して、20℃で培養する。

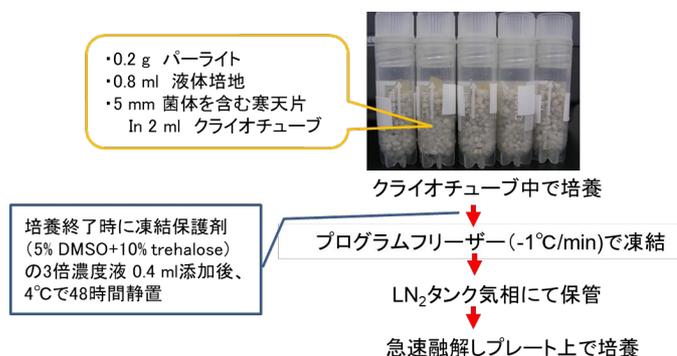


図3. 改良パーライト法

パーミキュライト法

上述のパーライト法のパーライトをパーミキュライトに置き換えたのがパーミキュライト法である。パーライト法で復元が不調だった株もパーミキュライト法で保存できる場合があり、パーライト法に勝る保存成績を上げることが報告されている（佐藤ら, 2018）。本研究においても、当初はパーライト法を用いていたが、後半はパーミキュライト法を主に採用して菌株保存を行った。

なお、すべての供試菌株は、流動パラフィン法でも保存を行いバックアップ用の保存標品とした。

4. 研究成果

(1) 孢子分離法による菌株分離

野外から収集した様々な菌根性担子菌類の担子胞子を MNC、G-MNC、n-MNC のほか YMG などの培地を適宜用いて、22 属 115 種の分離を行った。多くの菌種が分離できた 4 属 (*Tricholoma*, *Amanita*, *Entoloma*, *Hydnum*) の分離株取得状況について以下に示す。

キシメジ属 (*Tricholoma* 属)

主に鳥取県内から収集したキシメジ属 10 種 [シモコシ 3 試料、キシメジ 1 試料、ミネシメジ 1 試料、カキシメジ 2 試料、カキシメジ近縁種 1 (*T. cf. stans*) 2 試料、カキシメジ近縁種 2 (*T. cf. ustale*) 1 試料、シロシメジ 2 試料、シロマツタケモドキ 1 試料、ミネシメジ 7 試料、ハエトリシメジ 1 試料、およびマツタケ 1 試料] の子実体から図 1 の方法を用いて担子胞子分離を試みた。子実体から無菌的に得た落下胞子を少量の滅菌蒸留水で懸濁し、n-MNC および対照区として n-酪酸を添加しない MNC に塗布した。その結果、カキシメジ近縁種 2 (*T. cf. ustale*)、シロマツタケモドキおよびハエトリシメジを除く 7 種 18 試料で孢子発芽が見られ、それら 7 種に由来する 16 菌株を確立できた。n-MNC 培地では、対照区と比較して 7 種いずれの孢子発芽も顕著に促進しており、n-酪酸 30 ppm を添加した MNC 培地の使用が有効であると考えられた。

ハルシメジ類 (*Entoloma* 属)

日本各地から収集したハルシメジ類の子実体 (*E. clypeatum* 14 試料、*E. sepium* 4 試料、*E. aprile* 6 試料) を孢子分離法により、MNC 寒天平板培地および n-MNC 培地で分離を試みた。その結果、*E. clypeatum* の n-MNC 培地での孢子発芽率は MNC 培地での約 3 倍に、また、*E. sepium* では約 2 倍となった。一方、*E. aprile* ではほぼ同等であった。このように種間で差はあるものの、n-MNC 培地はハルシメジ類の孢子発芽に効果があることが分かった。*E. clypeatum* 13 試料、*E. sepium* 4 試料、および *E. aprile* 4 試料の子実体から得られた胞子は発芽後に菌糸体生育を示し、これら子実体の胞子に由来する菌株を確立できた。

テングタケ属 (*Amanita* 属)

国内産テングタケ属 40 種 68 試料 (子実体) を用いて、図 1 の方法で孢子分離を試みた。分離培地として、MNC、n-MNC、G-MNC を用いて 2 か月以上培養した。各培地は肉眼的および顕微鏡的観察により、孢子発芽率および菌糸体形成数を計測した。供試した 68 試料中、3 種 37 試料より分離株が得られた。各試料の孢子発芽率について MNC を培地とした場合と比較した結果、n-MNC では 18 試料が高く、GMNC 培地では 16 試料が高かった。特にタマシロオニタケでは、MNC での孢子発芽率 0.80% が、n-MNC では 3.86% と約 5 倍上昇し、シロオニタケ近縁菌 (*A. cf. virgineoides*) では、n-MNC で発芽率が MNC での 33 倍に上昇した。また、G-MNC 培地を用いることで、イボテングタケおよびヘビキノコモドキでは孢子発芽率が約 2 倍に上昇した。さらに、アケボノツルタケ、コテングタケモドキ、フクロツルタケ、ミヤマタマゴタケおよび *A. cf. lavendula* では MNC では胞子の発芽が見られず、孢子発芽に上記の n-MNC もしくは G-MNC を必須とした。このように、MNC 培地に n-酪酸を添加、または寒天の代わりにゲランガムを用いることが多様な菌種の孢子発芽に効果があることが分かった。

カノシタ属 (*Hydnum* 属)

鳥取県内より、カノシタ属の *H. repandum*、*H. cf. repandum*、*H. minum*、*H. rufescens*、および *H. albomagnum* の子実体 10 試料を収集した。子実体から得た担子胞子を MNC および n-MNC に塗布し、20°C 暗所条件で最大 3 か月間培養した。*H. cf. repandum* では G-MNC も用いた。その結果、供試した 10 試料全てで、MNC と n-MNC のいずれの培地でも胞子が発芽した。n-MNC では、*H. minum* と *H. cf. repandum* が他条件よりも孢子発芽率が高い傾向にあったが、他の 3 種では菌糸生長が阻害され、コロニーが形成されなかった。*H. cf. repandum* において、G-MNC では MNC よりも孢子発芽率が高い傾向にあり、コロニーの生育は MNC や n-MNC よりも良好であった。孢子発芽後に生じた菌糸体を MNC に移植した結果、供試した 10 標本それぞれに由来する菌株を確立できた。以上より、カノシタ属は MNC を用いた孢子分離が可能であること、また、本属菌の孢子分離において、培地への n-酪酸の添加は必ずしも有効ではないと判断された。また、n-MNC で発芽した菌糸は、菌糸成長に対する n-酪酸の生育阻害作用を避けるために、MNC に移植する方が良いことが示唆された。

(2) 菌根性きのご類の培養

上記(1)の孢子分離法によって分離された菌株に加えて、従来法の子実体の組織を切り出して分離する組織分離法で分離され、菌類きのご遺伝資源研究センターのTUFCCコレクションで保管されているさまざまな種の菌株を用いて、菌糸成長が良好な培地を比較してみたところ、次のことが分かった。

菌根性きのご類の属や節レベルの分類群ごとに、生育に好適な培地が明らかになった。汎用性の高い培地としてMNCがあげられるが、一部の属や種では、2%MAやYMG、1/4YMGが適していることが明らかになった。例えば、テングタケ科、*Amanita*属では、キリシタケ節の11種、テングタケ節の5種、節に含まれない3種では、MNCが適していた。一方、タマゴタケ節の3種、タマゴテングタケ節の1種、フクロツルタケ節の1種ではMNCほか様々な培地でも生育が悪く、マツカサモドキ節の7種ではMNCで生育はよいものの新たな培地に移植すると死滅するなど不安定であった。*Entoloma*属では、腐生性の*E. abortivum*はMAで良好だが、菌根性の4種は成長が遅いもののMNCで生育する。*Ticholoma*属15種では、EBIOS、MA、MNCで生育は良好であった。イグチ科の5属(*Boletus*, *Butyriboletus*, *Gyroporus*, *Gyrodon*, *Strobilomyces*)8種は、2%MAで生育良好だった。ニセシヨウロ科*Scleroderma*属2種では、2%MA培地で生育は良好だが、移植後の生育が不安定であった。ヌメリイグチ科の2属(*Boletinus*, *Suillus*)の12種では、MAで生育は良好であった。カノシカ科の*Hydnum*属の7種はおおむねMNCで良好な生育を示したが、*H. repandum*(カノシタ)の生育は遅かった。ベニタケ科の*Albatrellus*, *Lactarius*の2属10種はMNCもしくは1/4YMGで生育はよい。一方、*Russula*属の多くは生育が悪く培養が困難であったが、ニオイコベニタケ*R. bella*, クサハツ*R. foetens*, ケシヨウハツ*R. violeipes*の3種は1/4YMGもしくはYGAで生育が良かった。イボタケ目の5属(*Hydnellum*, *Phellodon*, *Sarcodon*, *Tomentella*, *Thelephora*)7種は、全体的に生育は遅いが、MNC培地で培養できた。フウセンタケ科の*Cortinarius*属の1種ウスフジフウセンタケ*C. alboviolaceus*およびヌメリガサ科の*Hygrophorus*属の1種アケボノサクラシメジ*H. fagi*はMNC培地で生育は良好だったが、その他の種は培養が困難なものがほとんどであった。

上述のように、ある程度分類群(科や属)ごとに、生育が良好な培地の傾向がみられるものの、属内の節や種ごとに異なる傾向も見られ、個々の種ごとに適した培地のさらなる検討が必要である。

(3) 凍結保存

菌株の凍結保存は、パーミキュライト法を主に用いたが、テングタケ(*A. pantherina*)およびシロオニタケ(*A. virgineoides*)では、パーライト法で凍結保存を行った。とくに後者は、パーミキュライト法では保存できておらず、菌種もしくは菌株により、パーミキュライト法よりもパーライト法のほうが有効な場合がある可能性がある。パーミキュライト法では、生育に適した培地の液体培地をパーミキュライトに染み込ませたものを培養基材として培養した後、凍結保護剤5D10Tを用いて、プログラムフリージング(-1/min)で凍結して、液体窒素相タンクで保存した。培養株が得られ、TUFCC菌株として登録した266株のうち197株の保存を完了している。残りの69株のうち6株は、保存成績が悪く、また、培養株も死滅したために、廃棄した。他の63株は現在、凍結保存の完了を目指して、凍結前の前培養での培地の変更や培養法の検討を行っている。

パーミキュライト法の有効性が明らかとなったが、一方、菌糸成長が悪く、培養法の更なる検討が必要な菌種、菌株も有ることが分かった。また、凍結保存後の復元培養の方法も改善の余地があり、液体培地を用いる復元法が有効な場合があることも分かった。今後は、好適な菌糸成長をもたらす培地の改良、凍結前の前培養法の改良、復元の際の復元法の改良に取り組み、保存法の改良に取り組んでいく必要がある。

<引用文献>

- Sato, M., Sukenobe, J. and Nakagiri, A., Cryopreservation of cryosensitive basidiomycete cultures by application and modification of perlite protocol. *CryoLetters*, 33, 2012, 86-94
- Stielow, J.B., Vaas, L.A.I., Göker, M., Hoffmann, P. and Klenk, H.-P., Charcoal filter paper improves the viability of cryopreserved filamentous ectomycorrhizal and saprotrophic Basidiomycota and Ascomycota, *Mycologia*, 104, 2012, 324-330
- Sato, M., Inaba, S., Sukenobe, J., Sasaki, T. Inoue, R., Noguchi, M., Nakagiri, A., Modified perlite protocol with a mixed dimethyl sulfoxide and trehalose cryoprotectant improves the viability of frozen cultures of ectomycorrhizal basidiomycetes. *Mycologia*, 111, 2019, 161-176

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 3件)

- 1) Shishikura, M., Sugawara, R., Takemura, Y., Sotome, K., Maekawa, N., Nakagiri, A., Endo, N. First successful isolation of *Entoloma clypeatum* species complex from basidiospores. *Mycoscience*. 査読有り、2019, DOI: 10.1016/j.myc.2019.02.011
- 2) Sugawara, R., Yamada, A., Kawai, M., Sotome, K., Maekawa, N., Nakagiri, A., Endo, N.

Establishment of monokaryotic and dikaryotic isolates of Hedgehog mushrooms (*Hydnum repandum* and related species) from basidiospores. Mycoscience. 査読有り、2019, DOI: 10.1016/j.myc.2019.02.007

- 3) Sato, M., Inaba, S., Sukenobe, J., Sasaki, T. Inoue, R., Noguchi, M., Nakagiri, A. Modified perlite protocol with a mixed dimethyl sulfoxide and trehalose cryoprotectant improves the viability of frozen cultures of ectomycorrhizal basidiomycetes. Mycologia 査読有り、111, 2019, 161-176. Published on line on 4 Feb. 2019, DOI: 10.1080/00275514.2018.1520035

〔学会発表〕(計 10 件)

- 1) 菅原 遼, 前川 二太郎, 山田 明義, 中桐 昭, 早乙女 梢, 遠藤 直樹. 日本産 *Hydnum* 属の分類学的研究 - 海外産新種との系統学的・形態学的比較 -, 日本菌学会第 63 回大会, 秋田県立大学, 秋田市, 2019 年
- 2) 穴倉 愛美, 竹村 佳弘, 山田 明義, 小林 久泰, 早乙女 梢, 中桐 昭, 前川 二太郎, 遠藤 直樹. 日本産ハルシメジ類は少なくとも 9 種の未記載種を含む, 日本菌学会第 63 回大会, 秋田県立大学, 秋田市, 2019 年
- 3) 中桐 昭. 菌類培養株の保存 - 難培養性菌株の凍結保存法改良 -. Cryopreservation Conference 2018, 岡崎コンファレンスセンター, 岡崎市, 2018 年
- 4) 佐藤 真則, 野口 麻里子, 稲葉 重樹, 中桐 昭. パーミキュライト法による菌根性担子菌培養株の凍結保存法の開発. 日本きのこ学会第 22 回大会, 函館アリーナ, 函館市, 2018 年
- 5) Nakagiri, A. Mushroom culture collection. 1st Symposium on Mushroom Research and Cultivation Technology: Progress & Challenges, Century Park Hotel, Bangkok, Thailand, 2018
- 6) Nakagiri, A. Technique for Preservation and Evaluation of Mushroom Cultures. Pre-Workshop of 1st Symposium on Mushroom Research and Cultivation Technology. NSTDA Presented, Thailand Science Park Convention Center, Pathum Thani, Thailand, 2018
- 7) 菅原 遼, 中桐 昭, 早乙女 梢, 前川 二太郎, 遠藤 直樹. 菌根性テングタケ属 (*Amanita*) 菌の遺伝資源菌株の拡充に向けた孢子分離法の改良. 日本微生物資源学会第 25 回大会, 国立環境研究所, つくば市, 2018 年
- 8) 菅原 遼, 早乙女 梢, 中桐 昭, 前川 二太郎, 山田 明義, 遠藤 直樹. 日本産カノシタ属 (*Hydnum*) の分類学的再検討. 日本菌学会第 62 回大会, 信州大学農学部, 南箕輪村, 長野県, 2018 年
- 9) 穴倉 愛美, 竹村 佳弘, 早乙女 梢, 中桐 昭, 前川 二太郎, 遠藤 直樹. バラ科樹木を宿主とするハルシメジ類の孢子分離および菌根分離. 菌根研究会 2017 年度大会, 筑波大学, つくば市, 2017 年
- 10) 遠藤 直樹, 牛島 秀爾, 長澤 栄史, 菅原 遼, 早乙女 梢, 前川 二太郎, 中桐 昭. キシメジ属きのこの担子孢子および外生菌根からの分離培養. 菌根研究会 2017 年度大会, 筑波大学, つくば市, 2017 年

6. 研究組織

(1) 研究分担者
なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 遠藤 直樹

ローマ字氏名: (ENDO, naoki)

研究協力者氏名: 佐藤 真則

ローマ字氏名: (SATO, masanori)

研究協力者氏名: 前川 二太郎

ローマ字氏名: (MAEKAWA, nitaro)

研究協力者氏名: 早乙女 梢

ローマ字氏名: (SOTOME, kozue)

※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。