

令和元年6月16日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04741

研究課題名(和文) 翻訳リサイクルにおけるリボソームstalk蛋白質の機能解明

研究課題名(英文) Functional role of the ribosomal stalk protein in translation recycling

研究代表者

内海 利男 (Uchiumi, Toshio)

新潟大学・自然科学系・教授

研究者番号：50143764

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)： 遺伝情報に従い蛋白質を作る翻訳の反応は、細胞質に存在する巨大な分子複合体であるリボソームのもとで、開始、伸長、終結、およびリサイクルの順に進行するが、リサイクルの仕組みに関する研究は遅れ、最近注目されている。本研究では、リボソームをリサイクルするATPase因子であるABCE1に焦点をあて、生化学と構造生物学の技法でそのはたらきの仕組みを分子レベルで解析した。その結果、リボソームを構成する“stalk”と呼ばれるタンパク質成分がABCE1の特定部位と結合し、リボソームの機能部位にリクルートし、ATPの加水分解を誘発させることで、リボソームを解離・リサイクルするという分子機構を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

翻訳反応が終結・停止した際のリボソームのリサイクル機構の解明は、翻訳研究に残された重要な課題である。リボソームのstalk蛋白質とATPase因子であるABCE1間の相互作用で、リボソームのサブユニットへの解離とリサイクルをもたらすことを初めて証明した本研究の成果は、翻訳リサイクルの動的反応を分子レベルで理解する上で重要な知見で、学術的意義は大きい。本研究ではまた、天然変性蛋白質であるstalkが既知の翻訳開始因子や伸長因子等のGTPase因子に加えてATPase因子とも結合する多機能性成分であることを示した。この知見は、天然変性蛋白質に関わる様々な研究分野に広く影響を与える内容である。

研究成果の概要(英文)： Translation of genetic information, i.e., protein synthesis, on a macromolecular complex called the ribosome occurs in four stages: initiation, elongation, termination, and recycling. So far in research, much less is known about mechanism of the recycling. In this project, we have focused on a ribosome recycling factor, ABCE1 (ATPase), and investigated molecular mechanism of the action of ABCE1 by using techniques of biochemistry and structural biology. As results, we have clarified that a ribosomal protein component, termed the “stalk”, directly binds to a specific site of ABCE1, recruits it to the functional site within the ribosome, and stimulates ATP hydrolysis. Thus, our results demonstrate that interaction between ABCE1 and the stalk protein leads to dissociation of ribosomes to subunits, or ribosome recycling.

研究分野：分子生物学

キーワード：リボソーム リボソーム蛋白質 翻訳因子 リサイクル反応 天然変性蛋白質 翻訳 蛋白質合成 蛋白質間相互作用

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

### 1. 研究開始当初の背景

遺伝情報に従う蛋白質の合成(翻訳)が終結する際、リボソームに各種因子が作用することが知られているが、最近の研究により、終結後にリボソームが解離・リサイクルされるために ABC 蛋白質ファミリーの一員である ABCE1 (酵母では Rli1) の作用が関与することが報告されている。ABCE1 はまた、mRNA の異常で翻訳が停滞した際もはたらく、リボソームをリサイクルすることで注目されている。しかし、リボソームへの ABCE1 リクルート機構、リボソーム上での ATP 加水分解活性化の仕組み、リボソーム亜粒子への解離をもたらす ABCE1 の作用機構など、解明すべき興味深い課題が残されている。

研究代表者らはこれまで、真核生物/古細菌リボソームによる翻訳開始因子と伸長因子のリクルートおよびリボソーム上での GTP 加水分解機構に関する生化学的研究を行い、GTPase である EF1A、EF2、IF5B の各因子のリクルートに、リボソームに複数コピー存在する“stalk”と呼ばれるリボソーム蛋白質の役割を立証してきた。研究代表者らはまた、真核生物の場合、stalk 蛋白質 P1 と P2 は P0 と共に P0(P1-P2)<sub>2</sub> の 5 量体として、古細菌の場合は aP0(aP1)<sub>7</sub> の 7 量体として存在することを示し、古細菌のサンプルを用いた結晶構造解析で stalk 蛋白質の C 末端断片が EF1A と直接結合した複合体の結晶構造を報告した。そして得られた知見から、柔軟な stalk 蛋白質の C 末端部位が各種 GTPase 因子を捕獲し、リボソーム大亜粒子中で GTP 加水分解反応のトリガー部位となる 28S rRNA の sarcin-ricin loop (SRL) にリクルートし GTP の加水分解をひき起こすという仮説を提案した。

近年、クライオ電子顕微鏡による解析により、伸長因子 EF-2 と ABCE1 は、リボソーム上の類似した部位に結合することが判明し、この結果より、「ABCE1 のリボソームへの結合やその後の ATP 加水分解は、EF-2 と同様、stalk 蛋白質に依存しているかもしれない」という可能性が生じた。そこで研究代表者らは、stalk 蛋白質と ABCE1 間の結合性の解析に着手するに至った。それまでの知見では stalk 蛋白質と協調してはたらくのは GTPase 因子だけと信じられており、ABCE1 のような ATPase 翻訳因子の作用も stalk 蛋白質が関与するのかどうか興味深い課題として残されていた。

### 2. 研究の目的

真核生物または古細菌の遺伝情報発現のプロセスで、翻訳終結後や翻訳異常停止した際のリボソームのリサイクルに関わる因子として、最近 ABCE1 (ATPase 因子) が同定され注目されている。研究代表者らはこれまでの研究で、リボソーム蛋白質成分の一部の stalk 蛋白質が ABCE1 の機能に関わる可能性を示唆する知見を得てきた。本研究では、生化学と結晶構造解析の手法を用いて ABCE1 と stalk 蛋白質間の直接的結合機構の詳細を解明するとともに、その結合の機能面の役割を *in vitro* と *in vivo* の両面から明らかにする。本研究により、リボソームのリサイクル反応に stalk 蛋白質が重要な役割を果たすことを世界で初めて立証することになる。

### 3. 研究の方法

本研究では、以下に示す 4 種類の実験(1~4)により stalk 蛋白質と ABCE1 間の相互作用と協調機能面を解析し、翻訳リサイクルへの stalk 蛋白質の役割を解析した。(1) 生化学的手法;(2) 複合体の結晶構造解析;(3) リボソーム機能面の生化学的解析;(4) 酵母細胞を用いた *in vivo* の解析。

研究(1)~(3)に用いる ABCE1、リボソーム、stalk 蛋白質および各種変異体の発現・精製は、内海の他、研究協力者の大学院博士後期課程の今井大達が行った。また両蛋白質の結合性の解析やリボソームの機能解析も、内海と今井が行った。研究(3)の結晶化と構造解析は、研究分担者である新潟大学の伊東孝祐助教が担当した。また、研究(4)は、研究分担者である新潟大学の西川周一教授が担当した。以下に(1)~(4)の具体的研究内容の手順を示す。

(1) 各種古細菌の ABCE1 全長遺伝子および部分削除領域および各種点変異体、さらに古細菌 stalk 蛋白質 aP1 の C 末端断片部分をそれぞれ大腸菌発現用プラスミドに導入しクローン化の後、各蛋白質を大腸菌により発現させ精製した。各種 ABCE1 と aP1 サンプルとの結合性を、native ゲル電気泳動法、pull-down 法、および蛍光偏光度測定法(既存設備)により解析し、ABCE1 と aP1 間の直接的結合を示し結合領域を同定した。

(2) 古細菌 *Pyrococcus furiosus* 由来の ABCE1 の柔軟な N 末端の 74 残基より構成される鉄-イオウ結合ドメインを削除した ABCE1-ΔN74 と aP1 の C 末端ペプチド(18-mer)および ADP を混合し複合体を形成させ、sitting drop vapor diffusion 法により結晶を得た。得られた結晶に対し、Rigaku MicroMAX-007F および Rigaku R-AXIS IV<sup>++</sup>(本学既存設備)を用いて、100 K で 1.54 Å 波長の X 線を結晶に照射し、回折データを取得した。得られた回折データを XDS で処理後、BALBES を用いて分子置換を行い、初期位相を求めた。

その後、Refmac5 と COOT を用いて立体構造モデルの精密化を行った。立体構造のモデル図は CueMol2 (<http://www.cuemol.org/en/>) を用いて構築した。

(3) 大腸菌リボソームより stalk 蛋白質複合体 L10(L12)<sub>4</sub> を特異的に遊離させ、得られたコアリボソームに古細菌の stalk 蛋白質複合体 aP0(aP1)<sub>6</sub> を結合させ、ハイブリッドリボソームを作製した。古細菌由来の stalk 複合体と ABCE1 に依存した ATP 加水分解反応を測定した。aP0 と aP1 の共通 C 末端の削除体や各種変異体から構成した複合体で同様な活性測定を行い、stalk C 末端部位の寄与を解析した。そして stalk と ABCE1 間相互作用とリボソーム機能との関係を解析した。酵母由来のリボソームと ABCE1(Rli1) を調製し、ATP 加水分解活性測定を行い、stalk と ABCE1 間相互作用の重要性が種を越えて保存されているかどうか解析した。酵母サンプルを用いて、ATP の加水分解に依存してリボソームのサブユニットに解離するかどうかシヨ糖密度勾配遠心法により解析した。

(4) stalk 蛋白質結合部位と考えられる ABCE1(酵母では Rli1) 部位に変異を導入した各種プラスミド (LEU2 マーカー) を構築する。得られた各種プラスミドを酵母 (RLI1 遺伝子破壊株) に導入する。各 Rli1 変異体を発現する酵母の成育を観察し、変異導入の効果を探る。

以上の研究を総括し、リボソーム stalk 蛋白質と ABCE1 間相互作用を介するリボソームリサイクル機構を考察する。

#### 4. 研究成果

##### (1) 古細菌リボソーム stalk と ABCE1 間結合性の解析

大腸菌で発現し精製した古細菌 *Pyrococcus horikoshii* のリボソーム stalk 蛋白質を *in vitro* で <sup>32</sup>P 標識し、これと ABCE1 を混合し未変性ゲル電気泳動で分析した。その結果、両蛋白質間の結合性を示すバンドシフトが見られ、両蛋白質の直接的結合性が検出された。aP1 の N 末端部位はホモ二量体を形成する部位であり、ABCE1 との結合には aP1 の C 末端部位が関わっていると考えられた。この点をさらに明確にするため、aP1 の C 末端側半分を含む 61-108 残基をマルトース結合蛋白質 (MBP) と融合させたサンプルと、そこから aP1 の 91-108 残基を削除したサンプルを調製し、両サンプルと ABCE1

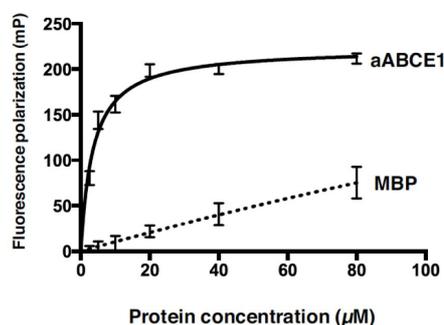


図1 蛍光偏光法による古細菌 ABCE1(aABCE1) と stalk C 末端ペプチドの結合性

と混合し、結合性をプルダウン法により解析・比較した。その結果、aP1 の C 末端部位全長を含む MBP-aP1[61-108]は ABCE1 と共沈し結合性が検出されたが、C 末端を除いた MBP-aP1[61-90]との結合は全く見られなかった。さらに、C 末端の 18 アミノ酸残基からなるペプチド (aP-C18) との直接的結合性を解析するため、蛍光標識した合成ペプチドと様々な濃度の ABCE1 とを混合し、蛍光偏光度を測定し結合性を解析した (図 1)。その結果 aP1 の C 末端断片と ABCE1 は典型的な結合性を示すカーブが得られたがコントロールとして用いた MBP との結合性は検出されなかった。この結合が 1:1 の結合と仮定した際の解離常数は 3.9 μM であった。従って stalk の C 末端部が ABCE1 と結合することが判明した。

##### (2) stalk・ABCE1 複合体の結晶構造解析

各種複合体の結晶化スクリーニングの結果、直径 200 μm 程度のタンパク質結晶が得られ、

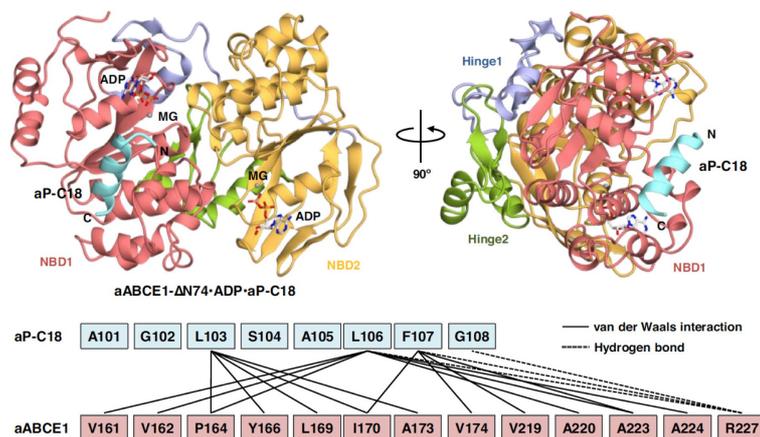


図2 Stalk C 末端部位と ABCE1 の複合体の結晶構造 stalk C 末端部位 (水色) はヘリックス構造をとり、ABCE1 のドメイン 1 (赤) と結合している様子が示されている (上)。下に詳細な相互作用を図示している。

ABCE1- $\Delta$ N74•ADP•aP1-C18 複合体の結晶構造を最大分解能 2.1 Å で決定した(図2上) 得られた構造では、ABCE1 は類似した構造のドメイン 1 (図2上、赤)とドメイン 2 (図2上、黄)より構成されているが、stalk の C 末端はドメイン 1 にのみ結合し、その aP1-C 末端ペプチドは  $\alpha$ -ヘリックスを形成していた。aP1-C 末端ペプチドと ABCE1 間の 4 Å 以下の相互作用に注目すると、aP1 の C 末端部の 3 つの疎水性残基(L103、L106、F107)が、aABCE1 の多くのアミノ酸残基と相互作用していた(図2下)。具体的には、aP1-L103 は aABCE1-P164、Y166、L169、I170、A173 と、aP1-L106 は aABCE1-V161、V162、P164、A220、A223、A224、R227 と、aP1-F107 は aABCE1-V170、V174、V219、A223 とそれぞれ疎水性相互作用を形成していた。また、aP1-L106、F107、G108 は aABCE1-R227 と水素結合を形成していた。これら結晶構造から得られた相互作用の知見の正当性はこれら相互作用を崩壊させる変異導入により、ABCE1 と aP1-C18 間の結合性が低下するという生化学の知見より立証された他、研究 C のリボソーム機能への効果により示された。

### (3) stalk・ABCE1 間相互作用とリボソーム機能との関係: in vitro 解析

大腸菌リボソームから stalk 複合体を除いたコアリボソームに古細菌 *P. horikoshii* 由来の stalk 複合体 aP0(aP1)<sub>6</sub> を結合させたハイブリッドリボソームは ABCE1 依存の ATP 加水分解能を示したが、ABCE1 との相互作用を崩壊させた stalk 変異体 (aP1 のアミノ酸置換体) による同様の活性測定では ATP 加水分解活性の大きな低下が見られ(図3)、stalk・ABCE1 間相互作用と ATP 加水分解反応が共役していることが明らかとなった。また、酵母細胞から調製したリボソームを使用した実験でも stalk・ABCE1 間相互作用の崩壊と ATP 加水分解活性の低下の関係が見られた他、これに伴い、サブユニットの解離効果の低下も見られ、stalk・ABCE1 間相互作用は ATP 加水分解反応ばかりでなく、リボソームのサブユニットへの解離をもたらす、重要なステップであることが示された。

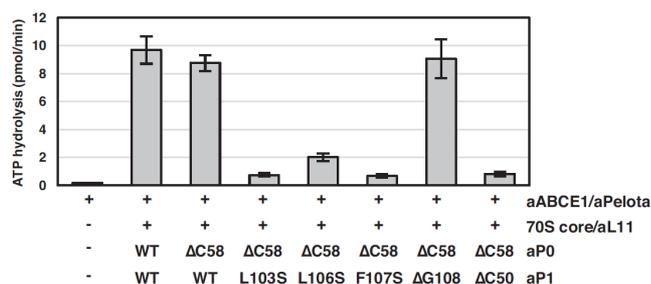


図3 Stalk C 末端部位への変異導入によるリボソーム機能への効果 aP1 の機能に焦点をあてるため、aP0 の C 末端部位を除いた aP0 C58 と各 aP1 の変異体で複合体を形成しその ATP 加水分解能をハイブリッドリボソーム上で解析した。

### (4) stalk・ABCE1 間相互作用と細胞成育の関係: in vivo 解析

細胞内 ABCE1 (Rli1) の発現を抑制した出芽酵母に ABCE1 遺伝子を含むプラスミドの導入により成育を維持させた酵母細胞を用いて、ABCE1 への変異導入による細胞成育への効果を解析した。その結果、stalk の C 末端部位の疎水性アミノ酸 (F107) と相互作用する ABCE1 部位と考えられる部位のアミノ酸置換により細胞成育が抑制された。この結果は上述した in vitro の結果を支持しており、stalk・ABCE1 間相互作用が種を越えて機能面で重要であることを示している。

### 総括

本研究の結果、リボソーム stalk 蛋白質はリサイクル因子である ABCE1 と相互作用し、リボソームの因子結合部位にリクルートし、そこで ABCE1 に結合した ATP の加水分解をもたらす、おそらくそのエネルギーを利用してリボソームのサブユニットに解離すると考えられる。従って、この一連の反応が、翻訳終結後や翻訳異常停止の際にリボソームをリサイクルし新たな翻訳開始で再利用する仕組みであると推定された。

これまで、リボソーム stalk 蛋白質は翻訳の開始、伸長、終結の際に GTPase 因子と協動的に機能する成分として知られてきたが、本研究では stalk が ATPase 因子の作用にも関与する多機能な成分であることを世界で初めて示した。ATPase 因子は非同定な成分も含め他にも多く存在するため、今後 stalk 蛋白質の役割についてのさらなる展開が期待される。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 8 件)

Matsumoto, A., Uehara, Y., Shimizu, Y., Ueda, T., Uchiumi, T., and Ito, K.; High-resolution crystal structure of peptidyl-tRNA hydrolase from *Thermus thermophilus*; *Proteins*, 査読有, vol. 87, 2019, pp. 226-235, DOI: 10.1002/prot.25643

Imai, H., Abe, T., Miyoshi, T., Nishikawa, S., Ito, K., and Uchiumi, T.; The ribosomal stalk protein is crucial for the action of the conserved ATPase ABCE1; *Nucleic Acids Res.*, 査読有, vol. 46,

- 2018, pp. 7820-7830, DOI: 10.1093/nar/gky619
- Murakami, R., Singh, C.R., Morris, J., Tang, L., Harmon, I., Azuma, T., Miyoshi, T., Ito, K., Asano, K., and Uchiumi, T.; The interaction between the ribosomal stalk proteins and translation initiation factor 5B promotes translation initiation; *Mol. Cell Biol.*, 査読有, vol. 38, 2018, e00067-18, DOI: 10.1128/MCB.00067-18
- Tanzawa, T., Kato, K., Girodat, D., Ose, T., Kumakura, Y., Wieden, H.J., Uchiumi, T., Tanaka, I., and Yao, M.; The C-terminal helix of ribosomal P stalk recognizes a hydrophobic groove of elongation factor 2 in a novel fashion; *Nucleic Acids Res.*, 査読有, vol. 46, 2018, pp. 3232-3244, DOI: 10.1093/nar/gky115
- Honda, T., Imai, H., Suzuki, T., Miyoshi, T., Ito, K., and Uchiumi, T.; Binding of translation elongation factors to individual copies of the archaeal ribosomal stalk protein aP1 assembled onto aP0; *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 査読有, vol. 483, 2017, pp. 153-158, DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.12.175
- Miyoshi, T., Ito, K., Murakami, R., Uchiumi, T.; Structural basis for the recognition of guide RNA and target DNA heteroduplex by Argonaute; *Nature Commun.*, 査読有, vol. 7, 2016, 11846, DOI: 10.1038/ncomms11846
- Shigeno, Y., Uchiumi, T., Nomura, T.; Involvement of ribosomal protein L6 in assembly of functional 50S ribosomal subunit in Escherichia coli cells; *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 査読有, vol. 473, 2016, pp. 237-242, DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.03.085
- Murakami, R., Miyoshi, T., Uchiumi, T., Ito, K.; Crystal structure of translation initiation factor 5B from the crenarchaeon *Aeropyrum pernix*; *Proteins*, 査読有, vol. 84, 2016, pp. 712-717, DOI: 10.1002/prot.25009

[学会発表](計 18 件)

- 宮島百香、青木彩香、今井大達、村田菜摘、伊東孝祐、内海利男; 新規古細菌リボソーム結合タンパク質 aYchF の構造・機能解析; 第 41 回日本分子生物学会年会, 2018
- 茅原真晃、中筋航、上原祐二、内海利男、伊東孝祐; ペプチジル tRNA 加水分解酵素 Pth2 の構造・機能解析; 第 41 回日本分子生物学会年会, 2018
- 青木彩香、宮島百香、今井大達、村田菜摘、伊東孝祐、内海利男; 新規古細菌タンパク質 aYchF のリボソームリクルート機構に関する構造学・生化学的解析; 第 5 回リボソームミーティング, 2018
- 今井大達、阿部高也、三好智博、西川周一、伊東孝祐、内海利男; リボソームストークによる ATP 加水分解酵素 ABCE1 の機能促進機構; 第 5 回リボソームミーティング, 2018
- 今井大達、阿部高也、三好智博、西川周一、伊東孝祐、内海利男; ATP 加水分解酵素 ABCE1 とリボソームストーク蛋白質間の機能的相互作用; 第 20 回日本 RNA 学会年会, 2018
- Imai, H., Abe, T., Miyoshi, T., Ito, K., Uchiumi, T.; Archaeal ribosomal stalk protein aP1 directly binds to the ribosome recycling factor aABCE1 and promotes ribosome-dependent ATP hydrolysis; EMBL2017 Protein Synthesis and Translational Control, 2017
- 今井大達、阿部高也、三好智博、伊東孝祐、内海利男; 翻訳リサイクル因子 ABCE1-リボソームストーク間相互作用とその役割; 第 40 回日本分子生物学会, 2017
- 丸山 圭、川村桃子、今井大達、伊東孝祐、内海利男; リボソームストークと GTP 結合型翻訳伸長因子 EF1A 間複合体の X 線結晶構造解析; 第 40 回日本分子生物学会, 2017
- 阿部高也、今井大達、西川周一、伊東孝祐、内海利男; 変異導入解析によるリボソームストークとリサイクル因子 ABCE1 間相互作用の検証; 第 40 回日本分子生物学会, 2017
- 伊藤美穂、阿部綾乃、田中淳也、内海利男、野村隆臣; リボソームタンパク質 uL11 N 末端ドメインの役割に関する機能解析; 第 40 回日本分子生物学会, 2017
- 阿部綾乃、伊藤美穂、田中淳也、内海利男、野村隆臣; 大腸菌リボソーム 50S サブユニット生合成の late-step における bL6 の寄与; 第 40 回日本分子生物学会, 2017
- 青木彩香、今井大達、村田菜摘、伊東孝祐、内海利男; 新規古細菌リボソーム結合因子 aYchF の tRNA に依存する機能に関する研究; 第 19 回日本 RNA 学会年会, 2017
- 内海 利男、今井 大達、三好 智博、伊東 孝祐; 翻訳反応の各ステージで機能するリボソームストーク・翻訳因子間相互作用; 第 39 回日本分子生物学会, 2016
- 村田 菜摘、八重嶋 千彰、三好 智博、伊東 孝祐、石野 園子、石野 良純、内海 利男; 超好熱性アーキアを用いたリボソーム結合性タンパク質の解析: 新規ストーク結合性因子の検出; 第 39 回日本分子生物学会, 2016
- 八重嶋 千彰、村田 菜摘、三好 智博、伊東 孝祐、石野 園子、石野 良純、内海 利男; リボソーム小亜粒子の二量化をもたらす新規アーキアタンパク質; 第 39 回日本分子生物学会, 2016
- 丸山 圭、今井 大達、三好 智博、伊東 孝祐、内海 利男; リボソームストーク C 末端部位と翻訳因子間の結合多様性; 第 39 回日本分子生物学会, 2016
- 今井 大達、阿部 高也、三好 智博、伊東 孝祐、内海 利男; 翻訳リサイクル反応におけるリボソームストークタンパク質 P1 の機能解析; 第 39 回日本分子生物学会, 2016
- Imai, H., Miyoshi, T., Ito, K., Uchiumi, T.; A role of archaeal ribosomal stalk protein aP1 in

ribosome recycling: binding to an ABC-family ATPase aABCE1 and stimulation of ribosome-dependent ATP hydrolysis; RNA-2016, 2016

〔図書〕(計 1件)

跡見晴幸、石野園子、石野良純、伊藤隆、内海利男、大島泰郎、金井昭夫、金井保、木村誠、他; 共立出版; アーキア生物学, pp. 121-129

〔産業財産権〕

出願状況(計 1件)

名称: 抗原結合用キャリア及びその使用

発明者: 内海利男、須田真広、藤間真紀、伊東孝祐

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2016-120039

出願年: 2016

国内外の別: 国内

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

Uchiumi・Ito Lab. <http://www.sc.niigata-u.ac.jp/biologyindex/uchiumi-ito/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名: 伊東 孝祐

ローマ字氏名: (ITO, Kosuke)

所属研究機関名: 新潟大学

部局名: 自然科学系

職名: 助教

研究者番号(8桁): 2 0 5 0 2 3 9 7

研究分担者氏名: 西川 周一

ローマ字氏名: (NISHIKAWA, Syuichi)

所属研究機関名: 新潟大学

部局名: 自然科学系

職名: 教授

研究者番号(8桁): 1 0 2 5 2 2 2 2

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名: 今井大達

ローマ字氏名: IMAI, Hirotatsu

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。