

令和元年6月13日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05911

研究課題名(和文)自己集合性ポリペプチドの合理的デザインによる弾性ゲルプラットフォームの創出

研究課題名(英文)Creation of elastic gel platform through the rational design of self-assembling polypeptides

研究代表者

鳴瀧 彩絵 (Sugawara-Narutaki, Ayae)

名古屋大学・工学研究科・准教授

研究者番号：10508203

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、「使いやすいエラスチン系材料の開発」を通じて、ライフサイエンス研究のためのプラットフォームとなる新しい材料群を創出することを目的とした。研究代表者が独自に開発したエラスチン類似ブロックポリペプチドGPG類は、既存のエラスチン系材料と比較して2桁低い濃度でハイドロゲルを形成すること、細胞接着性配列の付加により、線維芽細胞に対してフィブロネクチンと同等の接着性、増殖性を示すこと、および、細胞接着性配列を持たないIGPGは血小板低粘着性に優れることをそれぞれ示すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、エラスチン類似ブロックポリペプチドGPGは、ハンドリング性、堅牢な自己集合性による分子設計の自由度の高さ、ファイバー表面への機能性モチーフ提示による高い生理活性等に優れる材料であることが示された。GPG類は、細胞のメカノトランスダクション研究や、細胞プリンティング用基材、人工血管や人工皮膚の創製など、ライフサイエンス研究のための新しいプラットフォームとして幅広い活用が期待される。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to create new biomaterials as a platform for life science research through the development of easy-to-use elastin materials. The elastin-like block polypeptide GPGs developed by us are found to exhibit following characteristics. 1) GPGs form hydrogels at a concentration of two orders of magnitude lower than that of those existing elastin-based materials. 2) The fusion of a cell-adhesive sequence to GPG results in a nanofibers showing cell adhesive and proliferation properties equivalent to fibronectin toward fibroblast cells. 3) GPG nanofibers without the cell adhesion sequence are excellent in low platelet adhesion property.

研究分野：生体高分子化学

キーワード：ナノバイオ 生体材料 ポリペプチド エラスチン ゲル

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

1. 研究開始当初の背景

エラスチンは、その名のとおり elasticity (弾性) に関与する細胞外マトリクスタンパク質であり、皮膚・血管・靭帯などにおいて線維状の弾性組織を形成して組織に伸縮性を与える。そのユニークな力学特性と生体適合性から、エラスチンは医用材料や化粧品への応用が期待されるが、他の細胞外マトリクス成分であるコラーゲンやヒアルロン酸に比べ、その利用は大幅に遅れている。これは、生体由来エラスチンが高度に架橋され不溶化しており、均質で扱いやすい素材を得るのが困難なためである。

一方、天然エラスチンに由来するアミノ酸配列を含む人工ポリペプチド、すなわちエラスチン類似ポリペプチド (Elastin-Like Polypeptide; ELP) の開発が 1990 年頃から進み、米国の Urry らによりその機能が明らかにされた。天然エラスチンに繰り返し出現する VPGXG (V: Valine, P: Proline, G: Glycine, X: P 以外のアミノ酸) の反復配列体 poly(VPGXG) が、エラスチンの特色であるエントロピー弾性と、室温付近の下限臨界共溶温度 (LCST) を再現できる機能性高分子であることが示された。エントロピー弾性の発現は VPGXG 配列の水和状態における高い運動性に起因する。さらに、poly(VPGXG) の LCST は、X 部位に導入するアミノ酸によって制御できる。ところが、以上のような興味深い性質を持ってしても、ELP の医療分野への利用は思うように進んでこなかった。この原因は、ELP の高い疎水性に起因するハンドリングの困難さにある。例えばコラーゲン等の物質と混合した場合、ELP は凝集を起こして以降のプロセッシングが困難になることが知られている。また、LCST 以上で水溶液から容易に相分離して沈殿するため、分子集合構造の制御が難しく、均質な材料を再現性良く得ることが困難であった。

研究代表者は、上記のような ELP の制御性の難しさは、ELP の自己集合性が方向性を持たない疎水的相互作用のみに支配されているためであると考えた。そこで、従来多用されてきた LCST を示す配列の両末端に、分子間で水素結合を形成できる配列を連結したブロック ELP (図 1(a)) を新規に創出し、GPG と命名して 2013 年に報告した。GPG は、室温付近に LCST を示す Proline-rich 配列 (P 配列, (VPGVG)₂₅) を分子中央部に、分子間水素結合を形成しうる Glycine-rich 配列 (G 配列, (VGGVG)₅) を分子両末端に有する。P 配列、G 配列ともにエラスチン由来の配列である。

GPG を冷水に溶解させたのち 37 °C 以上に加熱すると、数日で数珠状のナノファイバーを形成する (図 1(d) 挿入図)。円二色性 (CD) スペクトル測定 (図 1(b)) および原子間力顕微鏡 (AFM) (図 1(c, d)) によりファイバーの形成過程を調べたところ、まず温度応答性の P 配列が β -turn 構造を形成しながら疎水的に凝集してナノ粒子を形成し、続いて G 配列が粒子間で β -sheet 構造を形成することで、粒子が数珠状に連結していくことが示唆された (図 1(e))。このナノファイバーは均質性にすぐれ、水中で透明分散液を与える点において、過去の ELP 研究には報告がない。

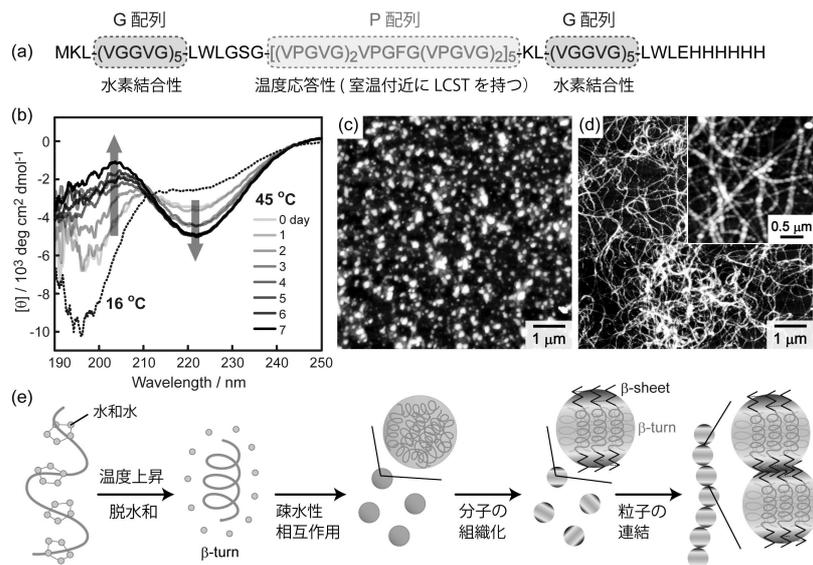


図 1. (a) GPG のアミノ酸配列, (b) GPG の水中における CD スペクトル, (c, d) GPG の AFM 像 (d の挿入図はナノファイバーの拡大像): (c) 1 日後, (d) 7 日後. (e) 提案されている自己集合機構.

2. 研究の目的

本研究は、「使いやすいエラスチン系材料の開発」を通じて、ライフサイエンス研究のためのプラットフォームとなる新しい材料群を創出することを目的とする。エラスチン類似ブロックポリペプチド GPG のさらなる合理的な分子デザインにより、既存のエラスチン系材料と比較して 2 桁以上低い濃度でゲル化するハイドロゲルを開発する。また、GPG 類の生物学的特性を調べ、医用材料としての有用性を明らかにしていく。

3. 研究の方法

(1) GPG3 および GPPG の合成

本研究では、以前に報告した GPG および GPG2 に加え、図 2 に示す GPG3 および GPPG を新たに設計して合成した。まず、pET22b(+)-GPG2 を鋳型として、C 末端側の G 配列 ~ KAAKGRGDS と終止コドンコードする DNA 断片をポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) により合成した。両端の HindIII 制限酵素部位を切断し、P 配列のみをコードするプラスミド DNA の対応する部位に挿入して pET22b(+)-PG3 を得た。次に、BamHI および NdeI 制限酵素部位に隣接した N 末端側の G 配列をコードする第二の DNA 断片も PCR により構築した。それを pET22b(+)-PG3 に挿入して、GPG3 タンパク質をコードする pET22b(+)-GPG3 を得た。GPPG タンパク質をコードするプラスミド DNA である pET22b(+)-GPPG は、GPG をコードするプラスミド DNA である pET22b(+)-GPG の BamHI 制限酵素サイトに P 配列をコードする DNA 断片をライゲーションすることによって得た。これら新たに作製したプラスミド DNA を用いて大腸菌 BLR 株を形質転換し、各タンパク質を発現させた。タンパク質を金属アフィニティークロマトグラフィーにより回収し、純水に対して透析して塩類を除去したのち、凍結乾燥して試料粉末を得た。ドデシル硫酸ナトリウム - ポリアクリルアミド電気泳動 (SDS-PAGE) とマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析 (MALDI-TOF-MS) により精製を確認した。

```
GPG: MKL-(VGGVG)5-LWLGSGL-[(VPGVG)2VPGFG(VPGXG)2]5-KL-(VGGVG)5-LWLEHHHHHHH
GPG2: MKL-(VGGVG)5-LWLGSGL-[(VPGVG)2VPGFG(VPGXG)2]5-KL-(VGGVG)5-LWLEHHHHHHH KAAK
GPG3: MKL-(VGGVG)5-LWLGSGL-[(VPGVG)2VPGFG(VPGXG)2]5-KL-(VGGVG)5-LWLEHHHHHHH KAAKGRGDS
GPPG: MKL-(VGGVG)5-LWLGSGL-[(VPGVG)2VPGFG(VPGXG)2]5-KLGSG
      -[(VPGVG)2VPGFG(VPGXG)2]5-KL-(VGGVG)5-LWLEHHHHHHH
(VGGVG)5: G 配列 [(VPGVG)2VPGFG(VPGXG)2]5: P 配列 KAAK: 架橋可能モチーフ GRGDS: 細胞接着性モチーフ
```

図 2 GPG およびその誘導体のアミノ酸配列。下線は GPG へ付加された機能性モチーフを示す。

(2) GPG と GPPG の自己集合性の比較とゲル化能の解明

GPG と GPPG をそれぞれ 20 μM (それぞれ 0.034 および 0.055 wt%) となるように冷水に溶解させたのち、37 °C で 7 日間インキュベートした。この間、円二色性 (CD) 分散計で 190~260 nm の吸光度を測定することにより、タンパク質二次構造の変化を調べた。7 日後の試料溶液をマイカ基板に滴下し、37 °C で自然乾燥したのちに、原子間力顕微鏡 (AFM) で形態を観察した。このとき、GPG と GPPG を所定量混合した試料についても観察を行った。さらに、ポリペプチド濃度を 0.3 wt% に増加させて 37 °C に昇温し、1 日後に溶液の外観の変化を観察した。GPG についてはレオメーター (ARES-G2, TA Instruments) による動的粘弾性測定を行った。25 mm のパラレルプレートを使用し、37 °C で測定を行った。ひずみ 2%、角周波数を 0.3 ~ 100 rad s⁻¹ とした。

(3) GPG および GPG3 に対する線維芽細胞の接着性と増殖性

GPG および GPG3 を冷水に溶解したのち、37 °C で 7 日間インキュベートし、ナノファイバーを形成させた。ファイバー分散液、および比較のためにフィブロネクチンを細胞培養用のポリスチレン基板にコーティングした。これら表面に、マウス胎仔由来線維芽細胞 (NIH/3T3) を播種し、24 時間培養して接着性を調べた。細胞の生死を LIVE/DEAD® reagent (Thermo Fisher Scientific 社製) で評価した。増殖性試験の際は、初期の細胞播種濃度を接着性試験の 20% とした。

(4) GPG および GPG3 に対する血液系細胞の接着性

GPG および GPG3 を冷水に溶解したのち、37 °C で 7 日間インキュベートし、ナノファイバーを形成させた。ファイバー分散液、および比較のために I 型コラーゲンを細胞培養用のガラス基板にコーティングした。これら表面に、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を播種し、24 時間培養した。細胞を免疫染色して蛍光顕微鏡で観察し、接着性を評価した。また、ヒト全血より血小板懸濁液を調製し、各表面に 1 時間接触させた。固定化ののち走査型電子顕微鏡で観察し、血小板粘着性を評価した。

4. 研究成果

(1) GPG3 および GPPG の合成

SDS-PAGE および MALDI-TOF-MS より、GPG3 と GPPG の発現と精製に成功したことを確認した。GPG3 の理論分子量は 17,670 Da、MALDI-TOF-MS で観測された生成物の分子量は 17,672 Da であった。また、GPPG 理論分子量は 27,700 Da、MALDI-TOF-MS で測定された分子量は 27,732 Da であった。

(2) GPG と GPPG の自己集合性の比較とゲル化能の解明

本研究で新たに作製した GPPG においては、GPG にさらに P 配列を挿入し、P 配列間をフレキシブルなリンカー配列 (KLGSG) で連結している。リンカーの効果により、GPPG では P 配列の接続部分で分子鎖の柔軟な折れ曲がりが可能となり、GPG と比較して分岐構造が生じやすくなり、ゲル形成能が高まると期待した。

はじめに、ゲルを形成しない低濃度の条件 (20 μM) で両ポリペプチドの自己集合性を比較した。15 $^{\circ}\text{C}$ の条件で CD スペクトルを測定したところ、どちらのポリペプチドにおいても 200 nm に負のバンド、224 nm 付近に負のショルダーが現れた。これらはそれぞれ、ランダムコイル構造および β -turn 構造に由来しており、(VPGXG)_n 配列を有する ELP に特徴的なスペクトルである。この溶液を 37 $^{\circ}\text{C}$ に加温すると、スペクトルは経時的に変化した。どちらの場合にも、198 nm の楕円率が正の方向へ増大する一方、218 nm の楕円率は負の方向に増大した。これらは、 β -sheet 構造の割合が 1 週間にわたり増加し続けていることを示している。1 モル残基当たりの楕円率を比較すると、 β -sheet 構造に由来する楕円率の強度は GPG のほうが GPPG よりも大きかった。GPPG において 1 モル残基当たりの β -sheet 構造形成割合が低いのは、 β -sheet 構造を形成しうる G 配列が分子中で占める割合が、GPG (26%) > GPPG (15%) であることに起因すると考えられる。AFM ではどちらのポリペプチドにおいてもナノファイバーが観察された。平均ファイバー径は GPG で 23 nm、GPPG で 82 nm であり、GPPG がより太いナノファイバーへと自己集合した。また、GPG と GPPG を任意の割合で混合したところ、混合比がモル比で 1:1 に近づくと、粒子状集合体を形成することがわかった。GPG および GPPG 分子が相互作用して自己集合することを示す結果である。

濃度を 0.3 wt% とし、37 $^{\circ}\text{C}$ で 1 日インキュベートしたところ、GPG および GPPG 溶液の両者とも流動性を失い、目視によって半透明のゲルが観察された。このうち、GPG ゲルについて動的粘弾性測定を行った結果を図 3 に示す。角周波数 0.3 ~ 100 rad s^{-1} において貯蔵弾性率 G' が損失弾性率 G'' を上回っており、ゲルを形成していることが示された。過去に報告されている ELP 物理ゲルのゲル化濃度はいずれも 10 wt% 以上であることから^[1-3]、既存のエラスチン系材料と比較して 2 桁低い濃度でのゲル化を達成できた。当初期待していた、GPPG によるゲル化能の向上は確認できなかったものの、研究代表者らが開発してきたブロック ELP がその自己集合性においてロバストであり、P 配列のブロック鎖長を 2 倍に増加させてもファイバー形成能とゲル化能が保たれることが明らかとなった。また、分子長の異なる複数の GPG 類の混合により、自己集合挙動を制御できる可能性が示された。

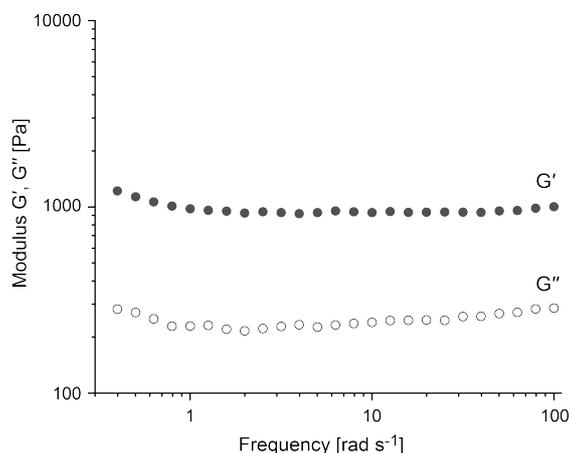


図 3 GPG (0.3 wt%) の貯蔵弾性率 G' および損失弾性率 G'' .

(3) GPG および GPG3 に対する線維芽細胞の接着性と増殖性

線維芽細胞 NIH/3T3 の GPG ファイバーへの接着性はポリスチレン基板よりも低い一方、GPG に細胞接着性配列 GRGDS を付加した誘導体である GPG3 ファイバーは、フィブロネクチンと同等の細胞接着性を示した (図 4)。さらに、GPG の細胞増殖性も、フィブロネクチンと同等であった。親水的な配列である GRGDS がファイバー表面に効果的に提示されていることを示している。また、細胞接着性配列の有無により、線維芽細胞への接着性をドラスティックに変更できることが示された。

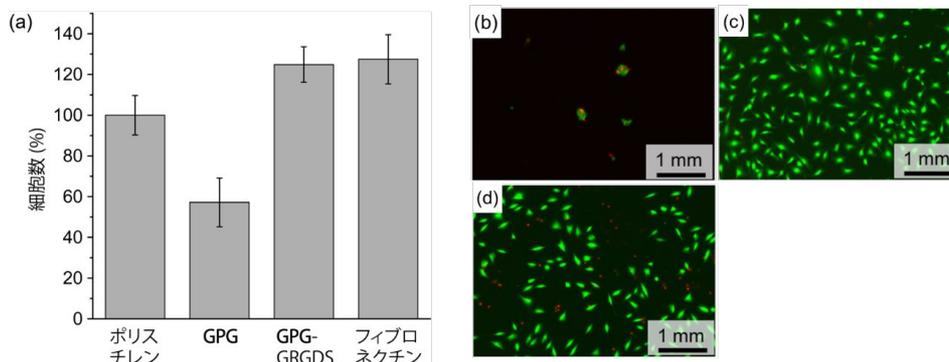


図 4 各表面における NIH-3T3 細胞の (a) 相対的な細胞数および (b-d) 蛍光顕微鏡像: (b) GPG ナノファイバー, (c) GPG3 ナノファイバー, (d) フィブロネクチン. (b-d) において緑は生細胞、赤は死細胞を示す。

(3) GPG および GPG3 に対する血液系細胞の接着性

HUVEC は、GPG、GPG3、コラーゲン、細胞培養用ガラスのすべての表面に良好に接着し、サンプル間における有意な差はみられなかった。

一方、GPG および GPG3 における血小板粘着性は、コラーゲンおよびガラス表面と比較して有意に低いことが明らかになった。GPG が最も低い血小板粘着性を示すとともに、活性化した type 3 型の血小板はほとんど観察されなかった。

以上、本研究課題においては、エラスチン類似ブロックポリペプチド GPG 類が、既存のエラスチン系材料と比較して 2 桁低い濃度でハイドロゲルを形成すること、細胞接着性配列の付加により、線維芽細胞に対してフィブロネクチンと同等の接着性、増殖性を示すこと、および、細胞接着性配列を持たない GPG は血小板低粘着性に優れることをそれぞれ示すことができた。ハンドリング性、ロバストな自己集合性、機能性モチーフの付加による生理活性のチューニング性に優れる GPG 類はライフサイエンス研究のための新しいプラットフォームと成り得ることを、本研究によって示すことができた。細胞のメカノトランスダクション研究や、細胞プリンティング用基材、人工血管や人工皮膚の創製など、幅広い活用が期待される。

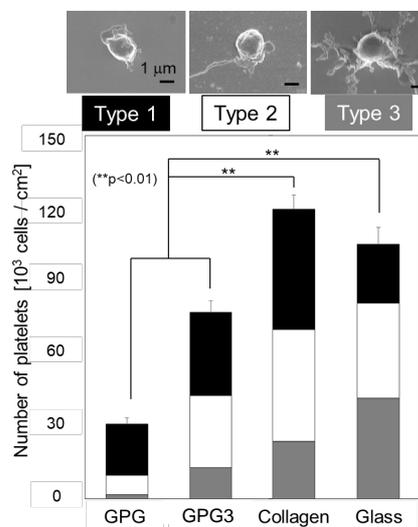


図 4 各表面における血小板粘着性。

- [1] E. R. Wright, R. A. McMillan, A. Cooper, R. P. Apkarian, V. P. Conticello, *Adv. Funct. Mater.*, **12**, 149 (2002).
- [2] R. E. Sallach, W. Cui, J. Wen, A. Martinez, V. P. Conticello, E. L. Chaikof, *Biomaterials*, **30**, 409 (2009).
- [3] M. J. Glassman, B. D. Olsen, *Biomacromolecules*, **16**, 3762 (2015).

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

Duc H. T. Le, Ayae Sugawara-Narutaki,* Elastin-Like Polypeptides as Building Motifs toward Designing Functional Nanobiomaterials, *Molecular Systems Design & Engineering*, 査読有, 4 巻, 2019, 545–565. (DOI: 10.1039/C9ME00002J)

鳴瀧彩絵, エラスチンの可能性を拓く ~ 自己組織化とバイオマテリアル~, 生命化学研究レター, 査読無, 58 巻, 2019, 11–16. (<http://www3.tagen.tohoku.ac.jp/~FBC/>)

鳴瀧彩絵, 自己集合性ブロックポリペプチドによる機能性ナノファイバーの創製, Peptide Newsletter Japan (日本ペプチド学会), 査読無, 110 巻, 2018, 9–12. (<https://www.peptide-soc.jp/pnj/>)

Duc H. T. Le, Yoko Tsutsui, Ayae Sugawara-Narutaki,* Hiroshi Yukawa,* Yoshinobu Baba, Chikara Ohtsuki, Double-Hydrophobic Elastin-Like Polypeptides with Added Functional Motifs: Self-Assembly and Cytocompatibility, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 査読有, 105 巻, 2017, 2475–2484. (DOI: 10.1002/jbm.a.36105)

鳴瀧彩絵, 目の下のシワを消すローション!? - 第二の皮膚として機能する生体模倣ポリマー, 化学, 査読無, 71 巻, 10 号, 2016, 39–42. (https://www.kagakudojin.co.jp/kagaku/web-kagaku02/c07110/c07110-narutaki/_SWF_Window.html?pagecode=1)

[学会発表] (計 2 0 件)

鳴瀧彩絵, ブロック高分子を活用したナノバイオ材料の構築, 第一回光量子バイオ分析診断技術研究会, 2019 年.

Kazuki Natsume, Ayae Sugawara-Narutaki, Jin Nakamura, Kazuhide Sato, Chikara Ohtsuki, Cell Behavior on Self-Assembled Nanofibers of Elastin-Like Polypeptides, 1st G'Lowing Polymer Symposium in KANTO, 2018 年.

Ayae Sugawara-Narutaki, Self-Assembled Bio-Nanomaterials Designed by Block Copolymers, JSPS-CNRS Progress Meeting, 2018 年. (招待講演)

鳴瀧彩絵, Cell Behavior on Self-Assembled Polypeptide Nanofibers, ナノ学会 ナノ構造・物性 - ナノ機能・応用部会合同シンポジウム, 2018 年. (招待講演)

鳴瀧彩絵, エラスチン類似ポリペプチドの配列デザインによる機能性ナノファイバーの構

築, 第 49 回 中部化学関係学協会支部連合秋季大会, 2018 年. (依頼講演)
鳴瀧彩絵, ブロック高分子が拓くナノマテリアルデザイン, 高分子学会九州支部フォーラム, 2018 年. (招待講演)
Ayae Sugawara-Narutaki, Shunsuke Nara, Jin Nakamura, Chikara Ohtsuki, Nanofibrous Scaffolds from Elastin-Like Block Polypeptides, 5th TERMIS World Congress 2018, 2018 年.
Ayae Sugawara-Narutaki, Sawako Yasunaga, Chikara Ohtsuki, Thermoresponsive Hydrogels from Double-Hydrophobic Elastin-Like Polypeptides, Biomaterials International 2018, 2018 年.
Ayae Sugawara-Narutaki, Biofunctional Nanofibers of Self-Assembled Elastin-Like Polypeptides, MIRAI Materials Science Workshop 2018 Spring, 2018 年. (依頼講演)
鳴瀧彩絵, Design, Construction and Functionalization of Elastin-Like Block Polypeptides Assembling into Beaded Nanofibers, ナノ学会 ナノ構造・物性 - ナノ機能・応用部会合同シンポジウム, 2017 年. (招待講演)
鳴瀧彩絵, 安永佐和子, 奈良俊佑, 中嶋優友, Duc H. T. Le, 中村仁, 大槻主税, エラスチン類似ポリペプチドの配列設計による自己集合性の制御とハイドロゲルの形成, 第 39 回日本バイオマテリアル学会大会, 2017 年.
Ayae Sugawara-Narutaki, Sawako Yasunaga, Duc H. T. Le, Chikara Ohtsuki, Development of Functional Nanofibers from Elastin-Like Block Polypeptides, 2nd Global Congress & Expo on Materials Science & Nanoscience, 2017 年.
Ayae Sugawara-Narutaki, Sawako Yasunaga, Duc H. T. Le, Chikara Ohtsuki, Design and Construction of Elastin-Like Block Polypeptides Assembling into Beaded Nanofibers, IUMRS-ICAM2017 (The 15th International Conference on Advanced Materials), 2017 年.
Sawako Yasunaga, Ayae Sugawara-Narutaki, Duc H. T. Le, Chikara Ohtsuki, Effect of Block Length on the Self-Assembly and Gelation Behavior of Elastin-Like Polypeptides, 第 9 回名大 - 清華大 - トヨタ - 北大合同シンポジウム, 2017 年.
Ayae Sugawara-Narutaki, Double-Hydrophobic Elastin-Like Polypeptides Assembling into Beaded Nanofibers, 第 17 回日本蛋白質科学会年会, 2017 年. (招待講演)
Ayae Sugawara-Narutaki, Sawako Yasunaga, Duc H. T. Le, Chikara Ohtsuki, Effect of Block Length on the Self-Assembly of Elastin-Like Block Polypeptides, 日本化学会第 97 春季年会 (2017), 2017 年.
鳴瀧彩絵, ブロック高分子が拓く自己組織化とバイオ応用, 新領域研究グループ「エキゾチック自己組織化材料」「金属と分子集合」第 1 回合同シンポジウム, 2016 年. (依頼講演)
鳴瀧彩絵, Duc H. T. Le, 安永佐和子, 筒井陽子, 湯川博, 馬場嘉信, 大槻主税, ナノファイバー形成能を持つエラスチン類似ポリペプチドへの配列付加による機能化, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2016, 2016 年.
Ayae Sugawara-Narutaki, Duc H. T. Le, Noriki Kubota, Chikara Ohtsuki, Elastin-Like Block Polypeptides Assembling into Beaded Nanofibers, The 3rd International Conference on Bioinspired and Biobased Chemistry & Materials (N.I.C.E. 2016), 2016 年.
鳴瀧彩絵, Duc H. T. Le, 久保田紀城, 筒井陽子, 湯川博, 馬場嘉信, 大槻主税, エラスチン類似ブロックポリペプチドによる機能性ナノファイバーの構築, 第 65 回高分子討論会, 2016 年.

[図書] (計 1 件)

鳴瀧彩絵, 大槻主税 (分担執筆), 人工ポリペプチドを用いた生体模倣材料の開発, 医療・診断をささえるペプチド科学 - 再生医療・DDS・診断への応用 -, シーエムシー出版, pp.129-136 (2017).

[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://profs.provost.nagoya-u.ac.jp/view/html/100007263_ja.html

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

なし

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。