

令和元年6月3日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H06132

研究課題名（和文）マルチファンクショナルセルラーゼによるバイオマス分解能の拡張とバイオ繊維原料生産

研究課題名（英文）Direct bioproduction of useful chemicals by displaying multi-functional cellulase on its cell surface

研究代表者

田中 勉 (Tanaka, Tsutomu)

神戸大学・工学研究科・准教授

研究者番号：90436551

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 19,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、前処理されたバイオマスであるセロオリゴ糖を原料とし、単糖原料と同レベルで有用物質を生産する技術を開発する。細胞表面工学を基本として微生物にセロオリゴ糖分解能を付与し、さらに、代謝工学を基本として目的経路に加えて目的物質の生産量を向上させる。両者の要素技術を組み合わせることで前処理バイオマスから有用物質を生産する技術を開発し、セロビオースから乳酸および3-ヒドロキシプロピオン酸を高生産する微生物の開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低炭素社会の構築、エネルギー問題の解決に向け、再生可能な資源であるバイオマスの有効利用法の開発が急務である。代謝工学の発展とともに、新しい物質生産が可能になり、前処理バイオマスの酵素糖化技術も目覚ましい発展を遂げている。しかし、バイオマス分解から物質生産までを一気に行う、といった極端な研究例が多く、本研究はこれら両者の要素技術の長所をうまく融合しようとする実例として意義がある。

研究成果の概要（英文）：We developed useful chemicals producing microorganisms from cellulosic biomass. Based on the cell surface display techniques, we introduced beta-glucosidase on its cell surface, allowing to biomass assimilation abilities. Metabolic engineering also enabled improving productivities of L-lactic acid and 3-hydroxypropionic acid. Finally, we demonstrated direct LA and 3-HP production from cellobiose with high titer and yields.

研究分野：生物化学工学

キーワード：バイオリファイナリー 代謝工学 細胞表面工学

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

1. 研究開始当初の背景

低炭素社会の構築、エネルギー問題の解決に向け、再生可能な資源であるバイオマスの有効利用法の開発が急務である。バイオリファイナリーは、化石資源への全面依存から脱却して低炭素社会を構築するなどの利点を持つグリーン・イノベーションであり、社会からの要請は非常に強い。

代謝改変微生物を用いた有用物質生産は、上記バイオリファイナリーの重要分野の一つである。アルコール、有機酸やアミノ酸などの基幹化合物を生産する技術が次々と開発されてきた。しかし、これらの化合物は低価格・大量生産が求められており、低コスト生産技術が世界各国において推し進められている。

物質生産における研究の多くは、グルコースを原料とした菌体内の代謝改変に注力されており、代謝工学の発展とともに、新しい代謝経路を構築が盛んである。また、原料となるバイオマス前処理においては、物理的処理などのバイオマス前処理技術、及び前処理バイオマスの酵素糖化技術も目覚ましい発展を遂げている。前処理方法の改良によりバイオマスに含まれる発酵阻害物の種類・濃度は激減し、そして糖化に必要な酵素も、それらの活性の上昇とともに、使用する酵素量・価格はどんどん下がっている。しかし、バイオマス分解から物質生産までを一気に行う、もしくは、完全にグルコースまで糖化されたバイオマスを用いて物質生産を行う、といった極端な研究例が多く、両者の要素技術の長所をうまく融合しようとする研究がほぼないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究では、前処理されたバイオマスであるセロオリゴ糖・キシロオリゴ糖を原料とし、単糖原料と同レベルで有用物質を生産する技術を開発する。細胞表層工学を基本として微生物にセロオリゴ糖およびキシロオリゴ糖分解能を付与し、その資化能力を単糖と同レベルにまで向上させ、「バイオマス分解が物質生産の律速段階」を克服する。さらに、代謝工学を基本として目的経路に加えて目的物質の生産量を向上させる。両者の要素技術を組み合わせることで前処理バイオマスから有用物質を生産する技術を開発する。

3. 研究の方法

遺伝子組換えにおいては CRISPR-Cas9 system を用いて改変を行った。また、微生物培養においては YM 培地、EMM 培地を用いて行い、炭素源としてグルコースおよびセロビオースを用いた。生成物の分析は HPLC にて行った。

4. 研究成果

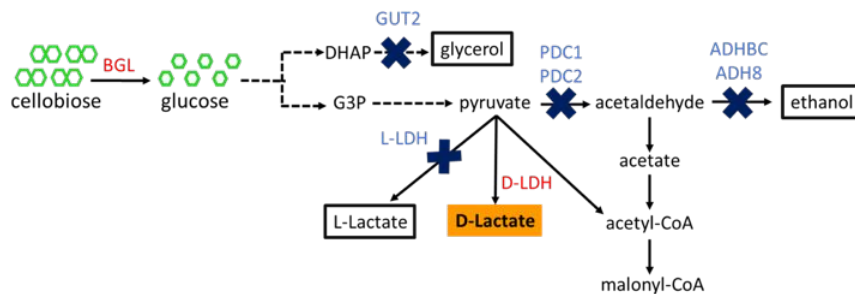
4-1) 分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* を用いた乳酸生産

S. pombe は子囊菌類に属する単細胞真核生物で、真核生物のモデル生物として広く使われている。高レベルのタンパク質発現の宿主として注目されており、組み換えヒトタンパクの発現に成功している。更に、全ゲノム DNA の塩基配列や細胞内の代謝が詳しく調べられ、データベースとしてまとめられていることなどの優位性がある。また、*S. pombe* は高い酸耐性をもつことから、酸性の化合物を生産可能であることや、安価な合成培地で増殖可能であるため、育種の過程において煩雑な培地調整をすることなく、均一な培養環境を迅速かつ容易に得ることができるため、本研究の宿主として選択した。しかし、*S. pombe* は *S. cerevisiae* と比較して、有用物質生産において必要不可欠な遺伝子組み換えツールがあまり発達していない。*S. pombe* では、主に栄養要求性マーカーを用いた相同組換え法が用いられてきた。しかし、相同組換え法を用いた方法では、部位特異的な変異導入効率が低いといった問題点があった。この問題点を克服するため、本研究では、新規ゲノム編集技術「CRISPR Cas9 System」に着目した。しかし、*S. pombe* において、CRISPR Cas9 System を利用した研究報告は過去に一例しかない。*S. pombe* の *ade6* 遺伝子に 1 塩基のみ変異を導入することにより、*ade6* 遺伝子を破壊するという報告であった。そこで、本研究では、過去の報告を参考に、まず遺伝子の破壊・遺伝子の導入技術を確立することを目指した。そして、ゲノム編集により代謝改変を行った *S. pombe* における有用物質生産を行った。本研究では、D-乳酸(D-LA)、3-ヒドロキシプロピオン酸(3-HP)のを目的化合物として設定した。また、微生物を用いた物質生産において、木質系バイオマスの前処理は大きな課題となっている。*S. pombe* はバイオマス資化能を持っていないため、宿主として物質生産を行うには、バイオマスを糖化・前処理によってグルコースにまで分解する必要がある。そのため、プロセスの煩雑さ・コスト面の両面で工業的な生産を目指すには不利である。*S. pombe* の細胞表層に α -グルコシダーゼ (α -glucosidase: BGL) を提示することによって、セロビオースの資化することができる。そこで本研究においては、D-LA 生産能をもつ *S. pombe* にセロビオース資化能を賦与し、セロビオースから一段階での D-LA 生産も目指した。

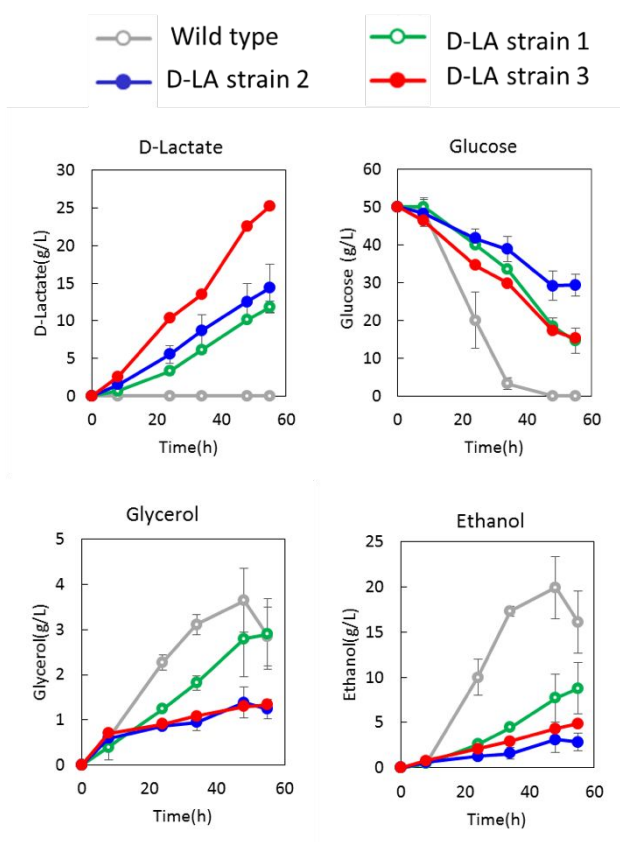
D-LA 生産株を CRISPR Cas9 System を用いて作製した。まず、*S. pombe* において非相同末端結

合修飾系に関わるタンパク質をコードする遺伝子 ku70 を破壊し、生産株作製の効率の向上を図った。他の生産株についても同様とする。主要な副産物となるエタノール合成経路を破壊した。またエタノール合成経路により、アセチル CoA 量が減少し、TCA 回路への炭素フラックスが減少すると考えた。生育が悪くなるのを防ぐため、酢酸からアセチル CoA へバイパスする A-ALD 経路(酵素 EutE, MhpF)を導入した。エタノール合成経路では酵素 ADH によって補酵素 NADH が NAD⁺に再生される。酵素 ADH をコードする adh 遺伝子を破壊すると NAD⁺の再生が不足し、補酵素バランスが崩れてしまう。そのため、NAD⁺を再生するグリセロール生成経路に炭素フラックスが流れてしまうことが知られている。グリセロールもエタノールに次いで D-LA 発酵の主要な副産物となるため、グリセロール生成経路の酵素グリセロールデヒドロゲナーゼをコードする gut2 遺伝子を破壊した。S. pombe は L-LA 生産能を持っているため、l-ldh 遺伝子を破壊した。また、gut2 遺伝子の破壊と同時に、Lactobacillus plantarum 由来の D-乳酸脱炭酸酵素

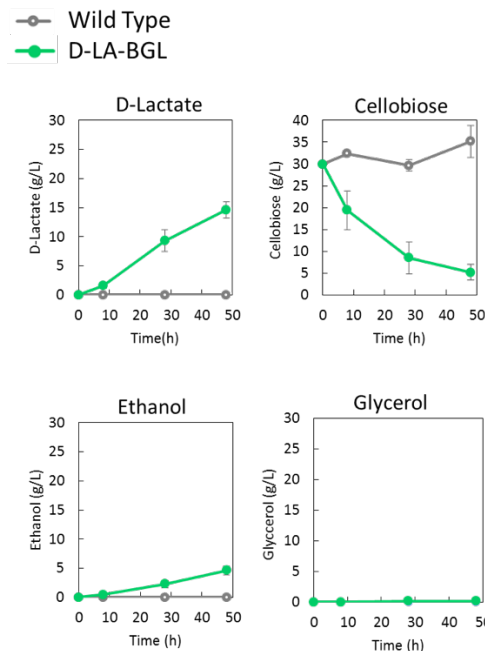
(D-lactate dehydrogenase : D-LDH) 遺伝子を S. pombe に導入し、乳酸発酵能を付与した。これを l-ldh pdc1 ::P_tif51-mh pF pdc2 ::P_tif51-eutEadhBC gut2 ::P_(ef1a-c)-d-ldh 株(D-LA strain 1)とした(右図)。



野生株(Wild strain)と D-LA strain 1 を 5 mL EMM 2 %グルコース培地で試験管嫌気培養した。培養条件は 30 °C, 180 rpm とした。この結果を下図に示した。培養 55 時間において、Wild strain では D-LA を生産していないのに対し、D-LA strain 1 では D-LA 生産量が約 11.8 g/L、収率 33 C-mol % /C-mol glucose であった。また、エタノールの生産量が Wild strain では培養開始 55 時間後、16 g/L であるのに対し、D-LA strain 1 では 8 g/L であり、2 分の 1 に減少していた。これは adhBC 遺伝子の破壊の効果であると考えられる。グリセロールの生産量は Wild strain と D-LA strain 1 の間に差はみられなかった。すべての adh 遺伝子と gpd1, 2 遺伝子を破壊すれば副産物をさらに抑制できると予測できるが、それでは NAD⁺の再生が追い付かず、生育が悪化することが懸念される。酵素 D-LDH も NAD⁺を再生することができるため、adh 遺伝子と gpd1, 2 遺伝子を破壊しながら、d-ldh 遺伝子カセットを導入すればよいと考えた。そこで l-ldh pdc1 ::P_tif51-mhpF pdc2 ::P_tif51-eutEadhBC gut2 ::P_(ef1a-c)-d-ldh 株(D-LA strain 2)、l-ldh pdc1 ::P_tif51-mhpF pdc2 ::P_tif51-eutEadhBC gut2 ::P_(ef1a-c)-d-ldh adh8 ::P_(ef1a-c)-d-ldh 株(D-LA strain 3)を作製した。D-LA strain1 に D-LA strain 2 は gpd2 ::P_(ef1a-c)-d-ldh、D-LA strain 3 は adh8 ::P_(ef1a-c)-d-ldh の変異をそれぞれ導入したものである。この株を 5 mL EMM 2 %グルコース培地で試験管嫌気培養した。培養条件は 30 °C, 180 rpm とした。培養 55 時間において、D-LA strain 2 では D-LA 生産量が約 14.6 g/L、収率 68 C-mol % /C-mol glucose であった。D-LA strain 1 に比べて D-LA 生産が 2 倍以上増加した。これは、副産物のエタノール生産量を D-LA strain 1 の約 3 分の 1 である約 2.8 g/L、グリセロール生産量を約 2 分の 1 である 1.2 g/L と抑制できたからであると考えられる。また、d-ldh 遺伝子を導入したため、ピルビン酸から D-LA へのフラックスが強化された点、D-LA 生産量が増加した分 NAD⁺を十分に再生することができた点も D-LA 生産量を増加することができた要因であると考えられる。さらに D-LA strain 3 では培養開始 55 時間において D-LA strain 1 の約 2 倍である約 25 g/L の D-LA を生産することに成功した(D-LA strain 2 の約 1.75 倍)。収率 72 C-mol %



1/C-mol glucose であった。D-LA strain 1 に比べて D-LA 生産が 2 倍以上増加した。これ D-LA strain 2 と同様に、副産物のエタノール生産量を D-LA strain 1 の約 2 分の 1 である約 4.3 g/L、グリセロール生産量を約 2 分の 1 である 1.3 g/L と抑制できたからであると考えられる。d-ldh 遺伝子を導入したため、ピルビン酸から D-LA へのフラックスが強化された点、D-LA 生産量が増加した分 NAD⁺ を十分に再生することができた点も D-LA 生産量を増加することができた要因であると考えられる。また、D-LA strain 3 では D-LA strain 2 と比較して、培養開始 55 時間における収率が高かったのは、菌体の生育が良好で、グルコース消費速度、D-LA 生産速度がともに高かったためであると考えられる。

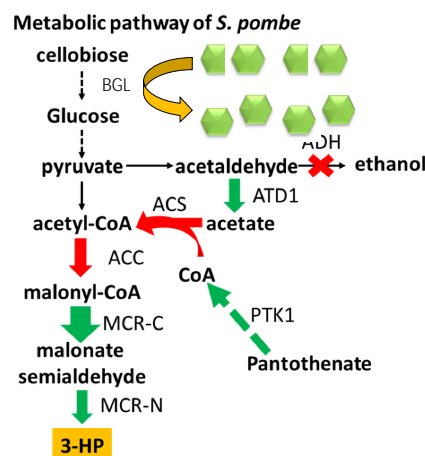


続いて D-LA strain 1 に *gut2* ::Phsp-BGL の変異を導入し、セロビオース資化能を持つ D-LA-BGL strain を創製した。Wild strain と D-LA-BGL strain を 5 mL EMM 1.2 %セロビオース培地で試験管嫌気培養した。培養条件は 30 °C, 180 rpm とした。この結果を右図に示した。Wild strain はセロビオースを消費していないのに対し、D-LA-BGL strain ではセロビオースを資化している。これにより、BGL を細胞表面に提示することで、セロビオースを資化し、D-LA を生産できたことが分かる。D-LA-BGL strain の D-LA 生産量は培養開始 48 時間において、約 14.6 g/L、収率は 63.9 C-mol % / C-mol glucose であり、グルコースを培地とした結果と近い収率が得られた。副産物であるエタノールの生産量も約 5 g/L、グリセロール生成量も約 0 g/L と抑制できているため、効率的に D-LA を生産できていると考えられる。さらなる収率の増加を図るためには、糖の取り込みが課題となると考えられる。培地中のセロビオースをほぼすべて消費しているのに対し、培地中に消費していない遊離グルコースが存在しているからといえる。これはバッチ培養ではなくファーマンターでの培養を行うことや、培養条件を変更することにより、解決できるのではないかと考えられる。また上記の D-LA strain 3 株に *bgl* 遺伝子を導入し、セロビオース資化能を賦与した株を用いれば、さらなる収率の増加が見込まれる結果となった。

4-2) 分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* を用いた 3-ヒドロキシプロピオン酸生産

3-ヒドロキシプロピオン酸(3-HP)はアクリル酸、マロン酸等の高付加価値の物質の前駆体として注目を集めており、US department of energy(アメリカ合衆国エネルギー省)では優先度の高い 12 種のバイオビルディングブロック化合物に選出されている。近年、石油資源の枯渇や二酸化炭素の増加による地球温暖化が問題となっており、バイオリファイナリー型社会の実現が求められている。木質系バイオマスなどの再生可能資源を原料とし微生物を利用したバイオプロセスによる有用物質生産技術の確立が求められている。

上記の CRISPR Cas9 system を用いて遺伝子を組換え 3-HP を効率よく生産できるような株の構築を行った。まず、エタノール合成経路に関する遺伝子 *adh* 類、及びプロテアーゼ遺伝子類を破壊し、3-HP の合成に関する遺伝子 *atd1*, *acs*, *acc*, *mcr* 遺伝子を分裂酵母に組み込んだ代謝経路改変株 (SPO-00) を構築した。この株を用いて、野生株に *mcr* 遺伝子のみを導入した株をコントロール株として、3-HP の生産を行った。15 mL 試験管に 5 mL の EMM+Leu+Ura+50 g/L-glucose 培地を用いて、30 °C, 220rpm の条件で培養を行った。サンプリングは適宜行い、HPLC にて糖、エタノール、3-HP の分析を行った。生産量としては伸びたが大幅に増加しなかった。大幅に増加しなかった原因は、酵素 MCR の活性が弱い事にある。酵素 MCR の活性を向上させるために、MCR の酵素の発現調整を行った。酵素 MCR は C 末端側のドメイン (MCR-C) と N 末端側のドメイン (MCR-N) に分かれており、MCR-C の活性が MCR-N よりも弱い事から、酵素間の活性が不均衡であることが問題とされている。この事が 3-HP の生産量が低い事の原因とされていた (25)。本研究においても、過去の報告を参考にし、MCR-C には変異を加えて活性を向上させ、MCR-C、MCR-N を別々の酵素として設計し、様々なコピー数で *S. pombe* に導入した (SPO-02, SPO-03 株)。構築株を培養し、結果を Fig. 5 に示す。SPO-02 株、SPO-03 株共に生産量が増加していたが、

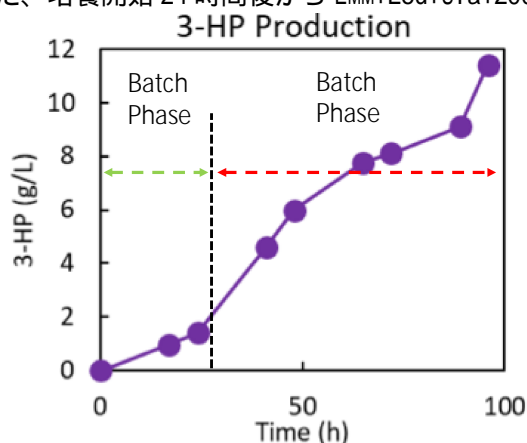


SP0-3株はコントロール株と比較し約33倍の0.53 g/Lの生産量となった。SP0-02よりも、SP0-03の方が生産量は多く、MCR-Cのコピー数を増加させた株の生産能が高いという結果となった。MCR-Cに変異を加えてもMCR-Cの活性が弱く、多く発現させる事によって酵素の発現調整が達成されたといえる。酵素の発現調整が達成されたため、SP0-03株の3-HPへの代謝経路を強化する事を目標とした。SP0-03株に3-HP生合成経路に関する遺伝子acs,accを導入したSP0-04株を作製した。3-HPの生産量はSP0-03に比べて増加しなかった。しかし、酢酸が蓄積するという結果となった。

この酢酸の蓄積を解消するためにACSの反応のもう一つの基質であるCoA基を増加させる事を目標とした。CoA合成の律速段階の酵素である、Pantothenate kinase (PTK1)を導入し、生産量の増加を試みた (SP0-05株)。PTK1の導入は他の生物種においてAcetyl-CoA誘導体の生産量が増加したという報告があったため、3-HP生産にも効果があるのではないかと考え導入を行った。培養の結果、SP0-05株はSP0-04株に比べて約2倍となる1.1 g/Lの3-HPを生産した。依然として酢酸の蓄積は見られるので、グルコースからではなくセロピオースからの培養により結果も変わってくるのではないかと考え、BGLを表層に提示するように遺伝子を導入した (SP0-06株)。SP0-06株をEMM+Leu+Ura+50g/Lグルコース培地にて培養を行った結果、SP0-05株と変わらないという結果となった。これによりBGLを細胞表層に提示する事は3-HP生産に悪影響を及ぼすことがない事が解った。次に、SP0-06株をEMM+Leu+Ura+50 g/Lセロピオース培地を用いて他の培養条件はグルコースの時と同様にして培養を行った。培養の結果セロピオースからの培養の方がグルコースの時よりも約1.5倍生産量が多いという結果となった(生産量は1.6 g/L)。セロピオースからの方が多い要因は生育しきった後の残存の糖量が多い事が一つあげられる。また、セロピオースが分解されてグルコースが少しずつ供給される事によるfed-batch培養に類似した状況になる事から生産量が上がると考えられる。生産量は伸びたものの培養後期に酢酸が未だに微小ではあるが蓄積している。この蓄積を3-HPに流すためにACS、ACCを2コピー導入する事による更なる生産量の強化を試みた (SP0-07株)。SP0-07株をセロピオース培地にて培養を行った。結果3-HPはSP0-06株から微増し(1.8 g/L)、酢酸は減少した。酢酸減少したにも関わらず3-HPが大幅に増加しなかった要因は、代謝経路を強化する事によるAcetyl-CoA及びmalonyl-CoAの供給量は十分ではあるが、3-HP生合成経路の律速反応であるMCR-Cの活性が不十分であるという可能性が生じた。この事より、酵素MCRの発現調整を再び行う必要性が生じた

M CR-Cの追加コピーを導入したSP0-08株を作製した。セロピオース培地にて培養を行った結果SP0-08株はコントロール株と比較し約218倍の3.5 g/Lの生産量となった。更にMCR-C及びMCR-Nを導入する事によって、MCR-C:MCR-Nの比が3:2や4:2となるような株の作製も行った。しかし、これらの株はMCR-C:MCR-Nに比が3:1のSP0-08株と比較しても大幅に生産量を伸ばせるような株は作製出来なかった。よって代謝経路を強化したことによる酵素MCRの発現再調整は達成できたと考える。

これまでの項の検討によって3-HP生産において最適な株が構築出来たのでファーメンターを用いた培養を行った。また、セロピオースを炭素源としたファーメンターを用いた培養も行った。培養条件、初期培地はEMM+Leu+Ura+20 g/Lグルコース培地を用いて、30、pH=5.0、D.O.=3.01 PPMに保たれるように制御して培養を行った。また、培養開始24時間後からEMM+Leu+Ura+200 g/Lグルコース培地を用い、約4 mL/hの速度にて200 mL添加した。コントロール株と比べて約631倍の10.1 g/Lの3-HPを生産した。対糖収率は12.6% (g-3-HP/f-sugar)であった。副産物であるエタノール、酢酸及びグリセロールの生産の結果は3-HPの生産結果よりも少ないものであった。この事より、分裂酵母の代謝改変及び、培養条件の検討によって3-HPの生産効率は十分に上昇したと考えられる。グルコースからのファーメンターでの培養が成功したため、セロピオースを糖源としたファーメンターを用いた培養を行った。培養条件、初期培地はEMM+Leu+Ura+20 g/Lセロピオース培地を用いて、30、pH=5.0、D.O.=3.01 PPMに保たれるように制御して培養を行った。また、培養開始24時間後からEMM+Leu+Ura+200 g/Lセロピオース培地を用い、約4 mL/hの速度にて200 mL添加した。結果コントロールと比べて約712倍の11.4 g/Lの3-HPを生産し、対糖収率は約13% (g-3-HP/g-sugar)であった。グルコースからの培養もセロピオースからの培養もファーメンターを用いた培養において、生産量は大きく変化しないという結果となった。培養初期にグルコースが供給されるバッチ培養ではなく、培養中にグルコースが制限されながら供給される方が生産量が多くなるという事が考えられる。本研究の終濃度及び収率は酵母を宿主とし、malonyl-CoA経路を用いた3-HP生産の研究の中で共に最高値の値となった。これにより、分裂酵母は他の有機酸生産宿主としても非常に魅力的な宿主であるといえる。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Takayama, S., Ozaki, A., Konishi, R., Otomo, C., Kishida, M., Hirata, Y., Matsumoto, T., Tanaka, T.*, Kondo, A. (2018/11) Enhancing 3-hydroxypropionic acid production in combination with sugar supply engineering by cell surface-display and metabolic engineering of *Schizosaccharomyces pombe*. *Microbial Cell Factories*, 17, 176

Matsumoto, T., Tanaka, T., Kondo, A. (Review) (2017/12) Engineering metabolic pathways in *Escherichia coli* for constructing a “microbial chassis” for biochemical production. *Bioresource Technology*, 245, 1362-1368

Imao, K., Konishi, R., Kishida, M., Hirata, Y., Segawa, S., Adachi, N., Matsuura, R., Tsuge, Y., Matsumoto, T., Tanaka T., Kondo, A. (2017/12) 1,5-Diaminopentane production from xylooligosaccharides using metabolically engineered *Corynebacterium glutamicum* displaying beta-xylosidase on the cell surface. *Bioresource Technology*, 245, 1684-1691

Ozaki, A., Konishi, R., Otomo, C., Kishida, M., Takayama, S., Matsumoto, T., Tanaka, T.*, Kondo, A. (2017/08) Metabolic engineering of *Schizosaccharomyces pombe* via CRISPR-Cas9 genome editing for lactic acid production from glucose and cellobiose. *Metabolic Engineering Communications*, 5, 60-67

〔学会発表〕(計 8 件)

松浦礼奈・岸田真裕美・田中勉・近藤昭彦 *Corynebacterium glutamicum* を用いたセロピオースからのカダベリン生産技術の開発 化学工学会第 50 回秋季大会 鹿児島大学 2018/9/19

佐藤直樹・田中勉・近藤昭彦 コリネ菌を用いたセロピオースからのシキミ酸生産技術の開発 化学工学会第 50 回秋季大会 鹿児島大学 2018/9/19

松浦 礼奈, 岸田 真裕美, 平田 有希, 田中 勉, 近藤 昭彦 「*Corynebacterium glutamicum* を用いたセルロース系バイオマスからのカダベリン生産技術の開発」 第 69 回日本生物工学会大会、早稲田、2017.9.11-14

高山 征也, 小西 理絵, 田中 勉, 近藤 昭彦 「分裂酵母の代謝改変株を用いた 3-ヒドロキシプロピオン酸生産」 第 69 回日本生物工学会大会、早稲田、2017.9.11-14

松浦礼奈、田中勉、近藤昭彦 「コリネ菌を用いたセルロース系バイオマスからのカダベリン生産技術の開発」 酵素工学会 第 78 回講演会、秋田、2017.10.6.

高山征也、田中勉、近藤昭彦 「分裂酵母の代謝改変株を用いた 3-ヒドロキシプロピオン酸生産」 酵素工学会 第 78 回講演会、秋田、2017.10.6.

西川 弘樹、田中 勉、近藤 昭彦、 -グルコシダーゼ提示大腸菌を用いたセロピオースからのプトレシン生産、化学工学会第 81 年会、2016

田中勉、高山征也、尾崎愛子、近藤昭彦、CRISPR Cas9 system を用いて代謝改変を行った分裂酵母による有機酸生産技術の開発、化学工学会第 47 回秋季大会、2016

〔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

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。