

別添1

研究費の名称=厚生科学研究費補助金

研究事業名=厚生科学特別研究事業

研究課題名=薬用植物の遺伝的・形質的多様性の極長期保存技術構築に関する研究（総括研究報告書）

国庫補助金精算所要額（円）=3,000,000

研究期間（西暦）=1997-1999

研究年度（西暦）=1999

主任研究者名=吉松嘉代（国立医薬品食品衛生研究所）

分担研究者名=下村講一郎（国立医薬品食品衛生研究所）

研究目的=熱帯多雨林地帯をはじめ地球上に分布する多様性に富んだ植物資源は、現代医療でも完治が難しいとされるアレルギー等の各種疾患や新たに見い出される感染症等に有効な次世代の新薬開発原料として重要であり、欧州、米国等の先進国で特に注目されている。しかしながら、アジア、アフリカ地域での急激な人口増加、大気汚染、森林伐採の継続ならびに大気中二酸化炭素の増加による地球温暖化にともなう世界的な環境破壊および砂漠化により、地球上の植物の遺伝的多様性が失われつつある現状にあり、これらの多様性の維持および保存技術の確立は緊急性の高い課題である。本研究では、最新技術によるこれらの多様性の保存法の構築を行う。

研究方法=国内外の種々の薬用植物を材料に、培養条件（温度、栄養培地、植物生長調節物質等）を検討し、組織培養による植物種および多様な形質を持った植物の維持法の確立を行う。また、同様に培養方法を改良し、それらを有効利用するための大量増殖および種苗生産技術を確立する。そして大量に得られた組織培養物を材料に、極長期保存技術として現在最も有望視されている液体窒素温度（-196℃）における超低温保存技術の構築のため、ガラス化法による超低温保存法について検討する。また、確立した組織培養系および超低温保存後の組織培養物の薬用成分について、HPLC法による定量定性分析を行う。

結果と考察=平成11年度においては、オーキシン非要求性のヒヨス不定根（非形質転換根）培養を確立し、増殖のための液体培養条件を調べると共に、ガラス化法による超低温保存条件を調べた。その結果、超低温保存前の液体培養条件、前培養条件および超低温保存試薬の調製に用いる基本培地の組成が、保存後の再生率に影響を与えることが判明した。ヒヨス不定根はMS培地よりWP培地で良好な生育を示すが、MS培地で約2週間培養した対数増殖期の不定根を材料として、前培養培地はWP培地、脱水およびガラス化液処理はMS培地を用い、0℃で10分間ガラス化液処理後、超低温保存した不定根の解凍後の再生率は90%以上であった。この結果は、毛状根と同様に非形質転換根においても、保存前の根の生育状態が保存後の再生率に与える影響が大きいことを示唆している。超低温保存後再生したヒヨス不定根のトロパンアルカロイド生産能は速やかに回復することが判明した。さらに、ビャクダンの種子胚を培養し、植物ホルモン無添加培地で増殖し再生する不定胚培養系を確立した。オタネニンジン、オウレン、ケシ、ビャクダンの不定胚を、グリセロールと高濃度の糖を含む培地で前培養後、ガラス化液処理を25℃で20ないし30分間行くと、超低温保存が可能なが判明した。

結論=非形質転換根においても、ガラス化法による超低温保存が可能であり、種々条件を最適化することにより、高い再生率が得られることが判明した。また、熱帯性植物のビャクダンを含む薬用植物不定胚は、高濃度の糖と共にグリセロールを添加した培地で前培養を行うことにより、超低温保存後、良好に再生し復元植物体が得られたことから、種子に替わる遺伝子資源として期待できるものであることが判明した。

薬用植物の遺伝的・形質的多様性の極長期保存技術構築に関する研究

主任研究者 吉松 嘉代 国立医薬品食品衛生研究所・筑波薬用植物栽培試験場・主任研究官

研究要旨 ヒヨス不定根について、超低温保存のための種々条件を検討した。また、超低温保存後再生した不定根の生育とトロパンアルカロイド含量を調べ、未保存対照群との比較を行った。さらに、薬用植物不定胚の超低温保存を行った。

分担研究者氏名・所属施設及び所属施設における職名

下村 講一郎 国立医薬品食品衛生研究所
筑波薬用植物栽培試験場
育種生理研究室長

A. 研究目的

熱帯多雨林地帯をはじめ地球上に分布する多様性に富んだ植物資源は、現代医療でも完治が難しいとされるアレルギー等の各種疾患や新たに見い出される感染症等に有効な次世代の新薬開発原料として重要であり、欧州、米国等の先進国で特に注目されている。しかしながら、アジア、アフリカ地域での急激な人口増加、大気汚染、森林伐採の継続ならびに大気中二酸化炭素の増加による地球温暖化にともなう世界的な環境破壊および砂漠化により、地球上の植物の遺伝的多様性が失われつつある現状にあり、これらの多様性の維持および保存技術の確立は緊急性の高い課題である。本研究では、最新技術によるこれらの多様性の保存法の構築を行う。

B. 研究方法

国内外の種々の薬用植物を材料に、培養条件（温度、栄養培地、植物生長調節物質等）を検討し、組織培養による植物種および多様な形質を持った植物の維持法の確立を行う。また、同様に培養方法を改良し、それらを有効利用するための大量増殖および種苗生産技術を確立する。そして大量に得られた組織培養物を材料に、極長期保存技術として現在最も有望視されている液体窒素温度（-196℃）における超低温保存技術の構築のため、ガラス化法による超低温保存法について検討する。また、確立した組織培養物および超低温保存後の組織培養物の薬用成分について、HPLC法による定量定性分析を行う。

C. 研究結果

平成11年度においては、無菌植物体の根より、オーキシン非要求性のヒヨス不定根（非形質転換根）培養を確立し、増殖のための液体培地条件を調べた。その結果、MS培地よりWP培地の方が増殖が良好であることが判明した。MSあるいはWP液体培地で約2週間培養した対数増殖期の不定根の先端約5mmを材料に、ガラス化法による超低温保存条件を調べた。その結果、超低温保存前の液体培養、前培養条件および超低温保存試薬の調製に用いる基本培地の組成が、保存後の再生率に影響を与えることが判明した。MS培地で培養した不定根を材料として、前培養はWP培地、脱水およびガラス化液処理はMS培地を用い、0℃で10分間ガラス化液処理後、超低温保存した不定根の解凍後の再生率は90%以上であった。超低温保存後、WP固形培地上で再生した不定根をWP液体培地で約3週間培養後、トロパンアルカロイド含量を調べ、未保存対照群と比較した。その結果、ヒヨス不定根のトロパンアルカロイド生産能は速やかに回復することが判明した。

さらに、ビャクダンの種子胚を培養し、植物ホルモン無添加培地で増殖し再生する不定胚培養系を確立した。オタネニンジン、オウレン、ケシ、ビャクダンの不定胚を、1Mグリセロールと高濃度の糖（0.1-0.2 M ショ糖）を含む培地で前培養後、ガラス化液処理を25℃で20-30分間行くと、超低温保存が可能ながことが判明した。

D. 考察

現在までに、非形質転換根（不定根）の実用的レベルの超低温保存は、ほとんど報告がなかったが、ヒヨス不定根を用いて得られた結果から、保存前の培養条件を含めた諸条件を最適化することにより、不定根培養においても、実用的な超低温保存が可能であることが判明した。また、薬用植物不定胚の超低温保存は、種子の長期保存が困難な植物遺伝子資源の保存技術として期待できるものである。

E. 結論

非形質転換根（不定根）培養においても、ガラス化法による超低温保存法が、諸形質を極長期に保存する技術として使用できることが判明した。また、薬用植物不定胚は、極長期保存用の植物遺伝子資源として有用であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shu, W, Yoshimatsu, K., Yamaguchi, H., Shimomura, K., "Somatic embryogenesis and ginsenoside production of *Panax ginseng* in phytohormone-free medium", 国立医薬品食品衛生研究所報告, 117: 140-147, 1999
- 2) Shu, W, Yoshimatsu, K., Yamaguchi, H., Shimomura, K., "High production of ginsenosides by transformed root cultures of *Panax ginseng*: Effect of basal medium and *Agrobacterium rhizogenes* strains", 国立医薬品食品衛生研究所報告, 117 148-154, 1999

2. 学会発表

- 1) Jung, D.-W., Hatakeyama, Y., Yoshimatsu, K., Shimomura, K., Touno, K. "Cryopreservation of *Hyoscyamus niger* adventitious roots", 日本薬学会第120年回、平成12年3月29日

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他

薬用成分の評価に関する研究

分担研究者 下村 謙一郎 国立医薬品食品衛生研究所・筑波薬用植物栽培試験場・育種生理研究室長

研究要旨 ヒヨス不定根（超低温保存後再生した根及び未保存対照群）の液体培養を行い、新鮮及び乾燥重の増加を調べた。また、乾燥根からアルカロイド画分を抽出し、HPLC法によるトロパンアルカロイド（5種）の同時定量を行った。さらに、オタネニンジン不定胚（超低温保存後再生した不定胚及び未保存対照群）中のジンセノシド含量を調べた。

A. 研究目的

薬用植物の不定根培養は、毛状根培養と同様に薬用成分生産研究材料として優れている。しかしながら、現在までに実用的な超低温保存の例がほとんどない。超低温保存を含む極長期保存技術の確立において最も重要なことは、保存前の諸形質が保存後も変化しないことである。そこで、ヒヨス不定根について、超低温保存後再生した根と未保存対照群のトロパンアルカロイド生産能を調べ、変化の有無について検討した。また、オタネニンジン不定胚について、超低温保存後再生した不定胚と未保存対照群のジンセノシド含量を比較した。

B. 研究方法

ガラス化法により超低温保存したヒヨス不定根を解凍、洗浄し、3%ショ糖を含むWP固形培地で培養した。再生した不定根を、3%ショ糖を含むWP液体培地で培養し、新鮮及び乾燥重量の増加を測定し、さらに、アルカロイド画分の抽出とHPLC法によるトロパンアルカロイド（6β-ヒドロキシヒヨスチアミン、7β-ヒドロキシヒヨスチアミン、スコポラミン、ヒヨスチアミン、リットリン）の同時定量を行った。さらに、ガラス化法により超低温保存したオタネニンジン不定胚を3%ショ糖を含む1/2MS固形培地で培養した後、収穫、凍結乾燥し、抽出後、HPLC法によるジンセノシド類（ジンセノシド Rb1、Rc、Rd、Re、Rg1）の定量を行った。

C. 研究結果

固形培地での再培養時における不定根の生育（伸長及び分枝）は、未保存対照群とほぼ同様で、また、液体培地における重量増加もほぼ同じであった。未保存対照群の不定根には5種のトロパンアルカロイドが、検出され、主アルカロイドはヒヨスチアミン（約0.5%乾燥重）であった。超低温保存後再生した不定根にも5種のトロパンアルカロイドが、検出され、主アルカロイドは未保存対照群と同様ヒヨスチアミン（0.4-0.45%乾燥重）であった。超低温保存後再生したオタネニンジン不定胚および植物体は、未保存対照群と同パターンおよびレベルのジンセノシドを含有していた。

D. 考察

超低温保存後再生したヒヨス不定根の生育は良好で、トロパンアルカロイド生産能の回復も速やかであった。今回の結果から、ガラス化法による超低温保存は、不定根培養の形質の保存法としても有効であることが判明した。また、不定胚培養においても二次代謝物生産能が維持されていることが判明した。

E. 結論

超低温保存後再生したヒヨス不定根培養、オタネニンジン不定胚および復元植物体は、保存前と同じ二次代謝物生産能を有していた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shu, W, Yoshimatsu, K, Yamaguchi, H., Shimomura, K, "Somatic embryogenesis and ginsenoside production of *Panax ginseng* in phytohormone-free medium", 国立医薬品食品衛生研究所報告, 117. 140-147, 1999
- 2) Shu, W, Yoshimatsu, K., Yamaguchi, H, Shimomura, K., "High production of ginsenosides by transformed root cultures of *Panax ginseng*: Effect of basal medium and *Agrobacterium rhizogenes* strains", 国立医薬品食品衛生研究所報告, 117: 148-154, 1999.

2. 学会発表

- 1) Jung, D -W, Hatakeyama, Y, Yoshimatsu, K., Shimomura, K., Touno, K "Cryopreservation of *Hyoscyamus niger* adventitious roots", 日本薬学会第120年回、平成12年3月29日

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

別添 1

研究費の名称=厚生科学研究費補助金

研究事業名=厚生科学特別研究事業

研究課題名=薬用植物の遺伝的・形質的多様性の極長期保存技術構築に関する研究（総合研究報告書）

国庫補助金精算所要額（円）=3,000,000

研究期間（西暦）=1997-1999

研究年度（西暦）=1999

主任研究者名=吉松嘉代（国立医薬品食品衛生研究所）

分担研究者名=下村謙一郎（国立医薬品食品衛生研究所）

研究目的=熱帯多雨林地帯をはじめ地球上に分布する多様性に富んだ植物資源は、現代医療でも完治が難しいとされるアレルギー等の各種疾患や新たに見出される感染症等に有効な次世代の新薬開発原料として重要であり、欧州、米国等の先進国で特に注目されている。しかしながら、アジア、アフリカ地域での急激な人口増加、大気汚染、森林伐採の継続ならびに大気中二酸化炭素の増加による地球温暖化にともなう世界的な環境破壊および砂漠化により、地球上の植物の遺伝的多様性が失われつつある現状にあり、これらの多様性の維持および保存技術の確立は緊急性の高い課題である。本研究では、最新技術によるこれらの多様性の保存法の構築を行う。

研究方法=国内外の種々の薬用植物を材料に、培養条件（温度、栄養培地、植物生長調節物質等）を検討し、組織培養による植物種および多様な形質を持った植物の維持法の確立を行う。また、同様に培養方法を改良し、それらを有効利用するための大量増殖および種苗生産技術を確立する。そして大量に得られた組織培養物を材料に、極長期保存技術として現在最も有望視されている液体窒素温度（-196℃）における超低温保存技術の構築のため、ガラス化法による超低温保存法について検討する。また、確立した組織培養系および超低温保存後の組織培養物の薬用成分について、HPLC法による定量定性分析を行う。

結果と考察=平成9年度においては、種々の遺伝子を導入したペラドンナ毛状根培養の確立と植物体再生系の確立を行った。オタネニンジン毛状根、トウキ毛状根について、ガラス化法による超低温保存を実施した。ガラス化法には、1) 前培養、2) 脱水前処理、3) ガラス化液による脱水処理、4) 液体窒素中での保存、5) 解凍、6) 解凍後処理、7) 再培養の過程があるが、特に、1) 前培養と3) ガラス化液処理について検討した。その結果、前培養時にオーキシンを添加し、トウキ毛状根では2)、3)を氷上で行うことにより、保存後の再生率80%以上が得られた。平成10年度においては、日本産アグロバクテリウムの遺伝子（T-DNA）を導入したペラドンナ毛状根のガラス化法による超低温保存を実施し、保存期間（1日、1週間、1ヶ月間および3ヶ月間）が解凍後の再生率に与える影響を調べた。その結果、いずれも63-96.3%の高い再生率が得られることが判明した。また、解凍後再生した毛状根を数代に渡って継代培養し、各継代時の生育、アルカロイド含量を調べた。生育は、液体培地での継代初期から速やかに回復し、未保存対照群とほぼ同様な重量の増加が認められた。アルカロイド含量は、液体培養3代目までは保存後再生した毛状根クローン間でばらつきが認められたが、継代4及び5代目では、未保存対照群とほぼ同様のアルカロイド含量が得られた。さらに、保存後再生した毛状根のゲノムDNAを抽出し、PCR法によるT-DNA断片の増幅とランダムプライマーを用いたゲノムDNAのRAPD分析を行った。その結果、保存後再生した毛状根クローンには未保存対照群と同様にT-DNAが検出され、RAPD分析でも、両者に違いは認められなかった。超低温保存を含む極長期保存技術の確立において最も重要なことは、保存前の諸形質が保存後も変化しないことである。以上の結果から、生育と遺伝的性質は変化がないことが確かめられた。トロパンアルカロイド生産能は、回復するまでに少なくとも4代以上の継代期間が必要であるが、解凍後約半年たてば、保存前と同様の特性に復帰することが判明した。平成11年度においては、オーキシン非要求性のヒヨス不定根（非形質転換根）培養を確立し、増殖のための液体培地条件を調べると共に、ガラス化法による超低温保存条件を調べた。その結果、超低温保存前の液体培養条件、前培養条件および超低温保存試薬の調製に用いる基本培地の組成が、保存後の再生率に影響を与えることが判明した。ヒヨス不定根はMS培地よりWP培地で良好な生育を示すが、MS培地で約2週間培養した対数増殖期の不定根を材料として、前培養培地はWP培地、脱水およびガラス化液処理はMS培地を用いて、0℃で10分間ガラス化液処理後、超低温保存した不定根の解凍後の再生率は90%以上であった。この結果は、毛状根と同様に非形質転換根においても、保存前の根の生育状態が保存後の再生率に与える影響が大きいことを示唆している。超低温保存後再生したヒヨス不定根のトロパンアルカロイド生産能は速やかに回復することが判明した。さらに、ビャクダンの種子胚を培養し、植物ホルモン無添加培地で増殖し再生する不定胚培養系を確立した。オタネニンジン、オウレン、ケシ、ビャクダンの不定胚を、グリセロールと高濃度の糖を含む培地で前培養後、ガラス化液処理を25℃で20ないし30分間行くと、超低温保存が可能なが判明した。

結論=超低温保存前の継代維持培養条件を含めた種々条件を最適化することにより、今まで保存が困難とされていた培養根（毛状根および不定根）においても、ガラス化法による超低温保存が可能で、高い再生率が得られることが判明した。また、熱帯性植物のビャクダンを含む薬用植物不定胚は、高濃度の糖と共にグリセロールを添加した培地で前培養を行うことにより、超低温保存後、良好に再生し復元植物体を得られたことから、種子に替わる遺伝子資源として期待できるものであることが判明した。

薬用植物の遺伝的・形質的多様性の極長期保存技術構築に関する研究

主任研究者 吉松 嘉代 国立医薬品食品衛生研究所・筑波薬用植物栽培試験場・主任研究官

研究要旨 数種の薬用植物毛状根、不定根および不定胚について、増殖と継代維持のための培養条件および超低温保存のための培養、前培養および凍害防御剤処理条件を検討した。また、超低温保存後再生した培養物の生育と薬用成分含量を調べ、未保存対照群との比較を行った。さらに、ゲノムDNAの変異についても検討した。

分担研究者氏名・所属施設及び所属施設における
職名

下村 講一郎 国立医薬品食品衛生研究所
筑波薬用植物栽培試験場
育種生理研究室長

A 研究目的

熱帯多雨林地帯をはじめ地球上に分布する多様性に富んだ植物資源は、現代医療でも完治が難しいとされるアレルギー等の各種疾患や新たに見い出される感染症等に有効な次世代の新薬開発原料として重要であり、欧州、米国等の先進国で特に注目されている。しかしながら、アジア、アフリカ地域での急激な人口増加、大気汚染、森林伐採の継続ならびに大気中二酸化炭素の増加による地球温暖化にともなう世界的な環境破壊および砂漠化により、地球上の植物の遺伝的多様性が失われつつある現状にあり、これらの多様性の維持および保存技術の確立は緊急性の高い課題である。本研究では、最新技術によるこれらの多様性の保存法の構築を行う。

B. 研究方法

国内外の種々の薬用植物を材料に、培養条件（温度、栄養培地、植物生長調節物質等）を検討し、組織培養による植物種および多様な形質を持った植物の維持法の確立を行う。また、同様に培養方法を改良し、それらを有効利用するための大量増殖および種苗生産技術を確立する。そして大量に得られた組織培養物を材料に、極長期保存技術として現在最も有望視されている液体窒素温度（-196℃）における超低温保存技術の構築のため、ガラス化法による超低温保存法について検討する。また、確立した組織培養系および超低温保存後の組織培養物の薬用成分について、HPLC法による定量定性分析を行う。

C 研究結果

平成9年度においては、種々の遺伝子を導入したベラドンナ毛状根培養の確立と植物体再生系の確立を行った。オタネニンジン毛状根、トウキ毛状根について、ガラス化法による超低温保存を実施し、特に、前培養とガラス化液処理について検討した。その結果、前培養時にオーキシンを添加し、トウキ毛状根ではローディング液処理とガラス化液処理を氷上で行うことにより、保存後の再生率80%以上が得られた。

平成10年度においては、日本産アグロバクテリウムの遺伝子（T-DNA）を導入したベラドンナ毛状根のガラス化法による超低温保存を実施し、保存期間（1日、1週間、1ヶ月間および3ヶ月間）が解凍後の再生率に与える影響を調べた。その結果、いずれも63-96.3%の高い再生率が得られることが判明した。また、解凍後再生した毛状根を数代に渡って継代培養し、各継代時の生育、アルカロイド含量を調べた。生育は、液体培地での継代初期から速やかに

回復し、未保存対照群とほぼ同様な重量の増加が認められた。アルカロイド含量は、液体培養3代目までは保存後再生した毛状根クローン間でばらつきが認められたが、継代4及び5代目では、未保存対照群とほぼ同様のアルカロイド含量が得られた。このことから、トロパンアルカロイド生産能は、回復するまでに少なくとも4代以上の継代期間が必要であるが、解凍後約半年たてば、保存前と同様の特性に復帰することが判明した。さらに、保存後再生した毛状根のゲノムDNAを抽出し、PCR法によるT-DNA断片の増幅とランダムプライマーを用いたゲノムDNAのRAPD分析を行った。その結果、保存後再生した毛状根クローンには未保存対照群と同様にT-DNAが検出され、RAPD分析でも、両者に違いは認められなかった。

平成11年度においては、オーキシン非要求性のヒヨス不定根（非形質転換根）培養を確立し、増殖のための液体培地条件を調べると共に、ガラス化法による超低温保存条件を調べた。その結果、超低温保存前の液体培養条件、前培養条件および超低温保存試薬の調製に用いる基本培地の組成が、保存後の再生率に影響を与えることが判明した。ヒヨス不定根はMS培地よりWP培地で良好な生育を示すが、MS培地で約2週間培養した対数増殖期の不定根を材料として、前培養培地はWP培地、脱水およびガラス化液処理はMS培地を用いて、0℃で10分間ガラス化液処理後、超低温保存した不定根の解凍後の再生率は90%以上であった。この結果は、毛状根と同様に非形質転換根においても、保存前の根の生育状態が保存後の再生率に与える影響が大きいことを示唆している。超低温保存後再生したヒヨス不定根のトロパンアルカロイド生産能は速やかに回復することが判明した。さらに、ジャクダンの種子胚を培養し、植物ホルモン無添加培地で増殖し再生する不定胚培養系を確立した。オタネニンジン、オウレン、ケシ、ジャクダンの不定胚を、グリセロールと高濃度の糖を含む培地で前培養後、ガラス化液処理を25℃で20ないし30分間行くと、超低温保存が可能なが判明した。

D. 考察

ガラス化法による超低温保存には、1) 前培養、2) 脱水前処理、3) ガラス化液による脱水処理、4) 液体窒素中での保存、5) 解凍、6) 解凍後処理、7) 再培養の過程がある。現在までに、培養根の実用的レベルの超低温保存は、ほとんど報告がなかったが、超低温保存前の継代維持培養条件を含めた種々条件を最適化することにより、今まで保存が困難とされていた培養根（毛状根および不定根）においても、ガラス化法による超低温保存が可能で、高い再生率が得られることが判明した。

超低温保存を含む極長期保存技術の確立において最も重要なことは、保存前の諸形質が保存後も変化しないことである。本研究の成果から、超低温保存

後再生した培養物の生育（ペラドンナ毛状根、トウキ毛状根、オタネニンジン毛状根および不定胚、ヒヨス不定根、ケシ不定胚、オウレン不定胚、ビャクダン不定胚）、薬用成分生産能（ペラドンナ毛状根、オタネニンジン毛状根および不定胚、ヒヨス不定根、ケシ不定胚）および遺伝的性質（ペラドンナ毛状根）は変化がないことが確かめられた。

E. 結論

超低温保存前の継代維持培養条件を含めた種々条件を最適化することにより、今まで保存が困難とされていた培養根（毛状根および不定根）においても、ガラス化法による超低温保存が可能で、高い再生率が得られることが判明した。また、熱帯性植物のビャクダンを含む薬用植物不定胚は、高濃度の糖と共にグリセロールを添加した培地で前培養を行うことにより、超低温保存後、良好に再生し復元植物体が得られたことから、種子に替わる遺伝子資源として期待できるものであることが判明した。

F. 研究発表

1 論文発表

- 1) Shu, W., Yoshimatsu, K., Yamaguchi, H., Shimomura, K., "Somatic embryogenesis and ginsenoside production of *Panax ginseng* in phytohormone-free medium", 国立医薬品食品衛生研究所報告, 117: 140-147, 1999.
- 2) Shu, W., Yoshimatsu, K., Yamaguchi, H., Shimomura, K., "High production of ginsenosides by transformed root cultures of *Panax ginseng*: Effect of basal medium and *Agrobacterium rhizogenes* strains", 国立医薬品食品衛生研究所報告, 117: 148-154, 1999.
- 3) Yoshimatsu, K., Jaziri, M., Kamada, H., Shimomura, K., "Production of diploid and haploid transgenic *Atropa belladonna* plants: Morphological traits and tropane alkaloid production", Belgian Journal of Botany, 130: 38-46, 1997
- 4) Ishikawa, K., Harata, K., Mii, M., Sakai, A., Yoshimatsu, K., Shimomura, K., "Cryopreservation of zygotic embryos of a Japanese terrestrial orchid (*Bletilla striata*) by vitrification", Plant Cell Reports, 16: 754-757, 1997.

2 学会発表

- 1) Jung, D.-W., Hatakeyama, Y., Yoshimatsu, K., Shimomura, K., Touno, K. "Cryopreservation of *Hyoscyamus niger* adventitious roots", 日本薬学会第120年回、平成12年3月29日
- 2) 吉松嘉代、下村講一郎、Shu Wendy, "Somatic embryogenesis and cryopreservation in *Coptis japonica*", 日本薬学会第117年会、平成9年3月26日
- 3) 吉松嘉代、中尾伸子、西孝三郎、下村講一郎、"オウレン毛状根培養によるプロトベルベリン型アルカロイド生産"、第16回日本植物細胞分子生物学会、平成10年7月24日
- 4) 吉松嘉代、下村講一郎、矢崎一史、"ガラス化法によるムラサキ培養細胞の超低温保存"、日本生薬学会第45回年会、平成10年9月5日
- 5) Yoshimatsu, K., Touno, K., Shimomura, K., "Cryopreservation of medicinal plant resources-retention of biosynthetic capabilities in transformed cultures", JIRCAS/IPGRI Joint International Workshop 1998, Tsukuba, Japan, 20th October, 1998

- 6) 吉松嘉代、山口浩子、下村講一郎、Shu Wendy, "Cryopreservation of medicinal plants: Somatic embryos of *Panax ginseng*, *Coptis japonica* and *Papaver somniferum*", 第15回日本植物分子生物学会、平成9年7月21日
- 7) Touno, K., Kamada, K., Yoshimatsu, K., Shimomura, K., "Characteristics of *Atropa belladonna* hairy roots cryopreserved by vitrification method", International Symposium on Natural Medicines, Kyoto, Japan, 平成9年10月29日
- 8) Yoshimatsu, K., Shimomura, K., "Morphology and protoberberine alkaloid production in transformed cultures of *Coptis japonica*", International Symposium on Natural Medicines, Kyoto, Japan, 平成9年10月29日

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他