

3. オウゴン

Table 3-1 生薬「オウゴン」の市場品

管理番号	生薬名	産地	形態	入手年
NIB-001	オウゴン	中国河北省	原形	2010
NIB-002	オウゴン	中国河北省	原形	2009
NIB-035	オウゴン	中国河北省	原形	2010
NIB-036	オウゴン	中国河北省	原形	2009
NIB-057	オウゴン	中国山東省	原形	2009
NIB-059	オウゴン	中国河北省	刻み	2010
NIB-073	オウゴン	中国河北省	刻み	2008
NIB-089	オウゴン	中国吉林省	原形	2009
NIB-105	オウゴン	中国河北省	刻み	2009
NIB-106	オウゴン	中国内蒙古自治区	刻み	2008
NIB-142	オウゴン	中国河北省	原形	2001
NIB-145	オウゴン	中国河北省	原形	2010
NIB-167	オウゴン	中国陝西省	原形	2009
NIB-174	オウゴン	中国河北省	小刻	2010
NIB-175	オウゴン	中国陝西省	原形	2009

Table 3-2 生薬の遺伝子鑑別全般及びオウゴンの遺伝子鑑別に関連する文献情報

文献1. ITS領域の多型を用いた朮類生薬の識別

Identification of Medicinal *Atractylodes* Based on ITS Sequences of nrDNA. Shiba M., Kondo K., Miki E., Yamaji H., Morota T., Terabayashi S., Takeda S., Sasaki H., Miyamoto K., and Aburada M., *Biol. Pharm. Bull.* **29**, 315-320 (2006)

文献2. ITS領域の多型を用いた朮類生薬の識別

DNA authentication of So-jutsu (*Atractylodes lancea* rhizome) and Byaku-jutsu (*Atractylodes* rhizome) obtained in the market based on the nucleotide sequence of the 18S-5.8S rDNA internal transcribed spacer region. Guo Y., Kondo K., Terabayashi S., Yamamoto Y., Shimada T., Fujita M., Kawasaki T., Maruyama T., Goda Y., and Mizukami H., *J. Nat. Med.* **60**, 149-156 (2006)

文献3. 第十五改正日本薬局方第一追補, 参考情報

「遺伝子情報を利用する生薬の純度試験」208-0611.pdf

文献4. 組換えDNA技術応用食品の検査方法に関する通知

平成13年3月, 食発第110号, 一部改正, 平成18年6月, 食安発第0629002号 2.2.1.2

シリカゲル膜タイプキットを使用する方法

文献5. *rpl16-rpl14* linker sequencesの多型を用いた高等植物の識別

A Proposal for Identifying the Short ID Sequence Which Addresses the Plastid Subtype of Higher Plants. Nakamura I., Kameya N., Kato Y., Yamanaka S., Jomori H., and Sato Y., *Breeding Sci.* **47**, 385-388 (1997)

文献6. *rpl16-rpl14* linker sequencesの多型を用いた*Scutellaria*属の識別

The sequences of the plastid gene *rpl16* and the *rpl16-rpl14* spacer region allow discrimination among six species of *Scutellaria*. Hosokawa K., Minami M., Nakamura I., Hishida A., and Shibata T., *J. Ethnopharmacol.* **99**, 105-108 (2005)

文献7. RAPD法を利用した*Scutellaria*属植物の識別

Discrimination among Three Species of Medicinal *Scutellaria* Plants using RAPD Markers. Hosokawa K., Minami M., Kawahara K., Nakamura I., and Shibata T., *Planta Med.* **66**, 270-272 (2000)

文献8. 3遺伝子スペーサー領域(*atpB-rbcL*, *trnL-trnF*, *psbA-trnH*)の多型を用いた中国国内コガネバナの分布調査(China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing)

Impacts of recent cultivation on genetic diversity pattern of a medicinal plant, *Scutellaria baicalensis* (Lamiaceae).

Yuan Q.-J., Zhang Z.-Y., Hu J., Guo L.-P., Shao A.-J., and Huang L.-Q., *BMC Genetics* **11**:29 (2010)

Table 3-3 DDBJ に登録されている *Scutellaria* 属植物の遺伝子鑑別関連の情報

Accession	Plant species	Region	Accession	Plant species	Region	Accession	Plant species	Region
AB112067	<i>Scutellaria altissima</i>	rpl16	EU590859	<i>Scutellaria barbata</i>	psbA-trnH	GQ374124	<i>Scutellaria baicalensis</i>	atpB-rbcL
AB112068	<i>Scutellaria baicalensis</i>	rpl16	EU590864	<i>Scutellaria baicalensis</i>	psbA-trnH	GQ374125	<i>Scutellaria baicalensis</i>	atpB-rbcL
AB112069	<i>Scutellaria galericulata</i>	rpl16	EU590871	<i>Scutellaria baicalensis</i>	rpoB	GQ374126	<i>Scutellaria baicalensis</i>	atpB-rbcL
AB112070	<i>Scutellaria incana</i>	rpl16	EU590873	<i>Scutellaria rehderiana</i>	rpoB	GQ374127	<i>Scutellaria baicalensis</i>	atpB-rbcL
AB112071	<i>Scutellaria indica</i>	rpl16	EU590875	<i>Scutellaria indica</i>	rpoB	GQ374128	<i>Scutellaria baicalensis</i>	atpB-rbcL
AB112072	<i>Scutellaria lateriflora</i>	rpl16	EU590879	<i>Scutellaria barbata</i>	rpoB	GQ374129	<i>Scutellaria baicalensis</i>	atpB-rbcL
AB477100	<i>Scutellaria laeteviolacea</i>	18S rRNA	EU590880	<i>Scutellaria indica</i>	rpoC1	GQ374130	<i>Scutellaria baicalensis</i>	atpB-rbcL
AB557593	<i>Scutellaria baicalensis</i>	ITS1, ITS2	EU590887	<i>Scutellaria baicalensis</i>	rpoC1	GQ374131	<i>Scutellaria baicalensis</i>	atpB-rbcL
AY394851	<i>Scutellaria baicalensis</i>	ITS1, ITS2	EU590892	<i>Scutellaria rehderiana</i>	rpoC1	GQ374132	<i>Scutellaria baicalensis</i>	trnL-trnF
DQ813302	<i>Scutellaria barbata</i>	ITS1, ITS2	EU590894	<i>Scutellaria indica</i>	accD	GQ374133	<i>Scutellaria baicalensis</i>	trnL-trnF
FJ546846	<i>Scutellaria baicalensis</i>	ITS2	EU590907	<i>Scutellaria rehderiana</i>	accD	GQ374134	<i>Scutellaria baicalensis</i>	trnL-trnF
FJ546875	<i>Scutellaria scordifolia</i>	itITS2	FJ513090	<i>Scutellaria indica</i>	psbA-trnH	GQ374135	<i>Scutellaria baicalensis</i>	trnL-trnF
FJ609732	<i>Scutellaria baicalensis</i>	ITS1, ITS2	FJ513143	<i>Scutellaria scordifolia</i>	psbA-trnH	GQ374136	<i>Scutellaria baicalensis</i>	trnL-trnF
FJ883534	<i>Scutellaria baicalensis</i>	ITS2	FJ513144	<i>Scutellaria barbata</i>	rbcL	GQ374137	<i>Scutellaria baicalensis</i>	trnL-trnF
FJ883535	<i>Scutellaria indica</i>	ITS2	FJ513147	<i>Scutellaria rehderiana</i>	rbcL	GQ374138	<i>Scutellaria baicalensis</i>	trnL-trnF
GQ434320	<i>Scutellaria indica</i>	ITS2	FJ513151	<i>Scutellaria indica</i>	rbcL	GQ374139	<i>Scutellaria baicalensis</i>	trnL-trnF
EF546847	<i>Scutellaria hirta</i>	trnL-trnF	FJ513152	<i>Scutellaria baicalensis</i>	rbcL	GQ374140	<i>Scutellaria baicalensis</i>	psbA-trnH
EF546848	<i>Scutellaria sieberi</i>	trnL-trnF	FJ513169	<i>Scutellaria baicalensis</i>	matK	GQ374141	<i>Scutellaria baicalensis</i>	psbA-trnH
EF546927	<i>Scutellaria hirta</i>	trnL	FJ513170	<i>Scutellaria barbata</i>	matK	GQ374142	<i>Scutellaria baicalensis</i>	psbA-trnH
EF546928	<i>Scutellaria sieberi</i>	trnL	FJ513171	<i>Scutellaria indica</i>	matK	GQ374143	<i>Scutellaria baicalensis</i>	psbA-trnH
AB586367	<i>Scutellaria sp.</i>	rbcL	FJ513172	<i>Scutellaria rehderiana</i>	matK	GQ374144	<i>Scutellaria baicalensis</i>	psbA-trnH
AB586368	<i>Scutellaria sp.</i>	rbcL	FJ513173	<i>Scutellaria barbata</i>	ycf5	GQ374145	<i>Scutellaria baicalensis</i>	psbA-trnH
AJ247593	<i>Scutellaria mociniana</i>	cox1	FJ513176	<i>Scutellaria rehderiana</i>	ycf5	GQ374146	<i>Scutellaria baicalensis</i>	psbA-trnH
AJ247612	<i>Scutellaria mociniana</i>	rbcL	FJ528994	<i>Scutellaria rehderiana</i>	psbA-trnH	GQ374147	<i>Scutellaria baicalensis</i>	psbA-trnH
L01954	<i>Scutellaria bolanderi</i>	rbcL				GQ374148	<i>Scutellaria baicalensis</i>	psbA-trnH
Z37457	<i>Scutellaria alpina</i>	rbcL				GQ374149	<i>Scutellaria baicalensis</i>	psbA-trnH
Z37458	<i>Scutellaria altissima</i>	rbcL				GQ374150	<i>Scutellaria baicalensis</i>	psbA-trnH
Z37459	<i>Scutellaria galericulata</i>	rbcL				GQ374151	<i>Scutellaria baicalensis</i>	psbA-trnH
Z37460	<i>Scutellaria orientalis</i>	rbcL				GQ374152	<i>Scutellaria rehderiana</i>	atpB-rbcL
EU138212	<i>Scutellaria hirta</i>	trnS-trnG				GQ374153	<i>Scutellaria rehderiana</i>	trnL-trnF
EU138213	<i>Scutellaria sieberi</i>	trnS-trnG				GQ374154	<i>Scutellaria rehderiana</i>	trnL-trnF
EU138288	<i>Scutellaria sieberi</i>	rps16				GQ374155	<i>Scutellaria rehderiana</i>	psbA-trnH
EU138289	<i>Scutellaria hirta</i>	rps16				U78704	<i>Scutellaria bolanderi</i>	ndhF
AF287334	<i>Scutellaria mociniana</i>	rps10						

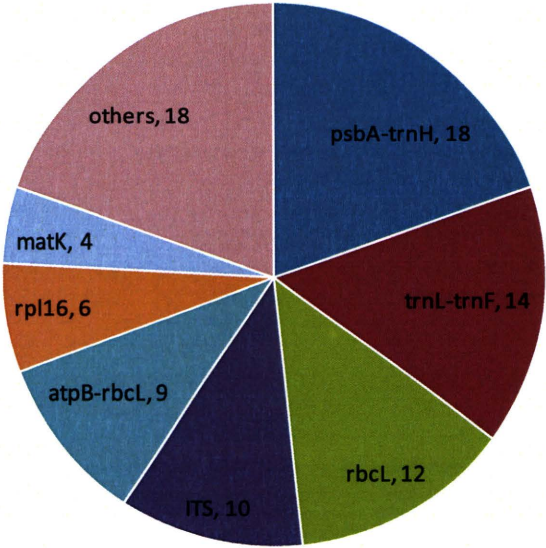


Fig. 3-1 *Scutellaria* 属植物の遺伝子鑑別に関連する遺伝子情報の領域別内訳

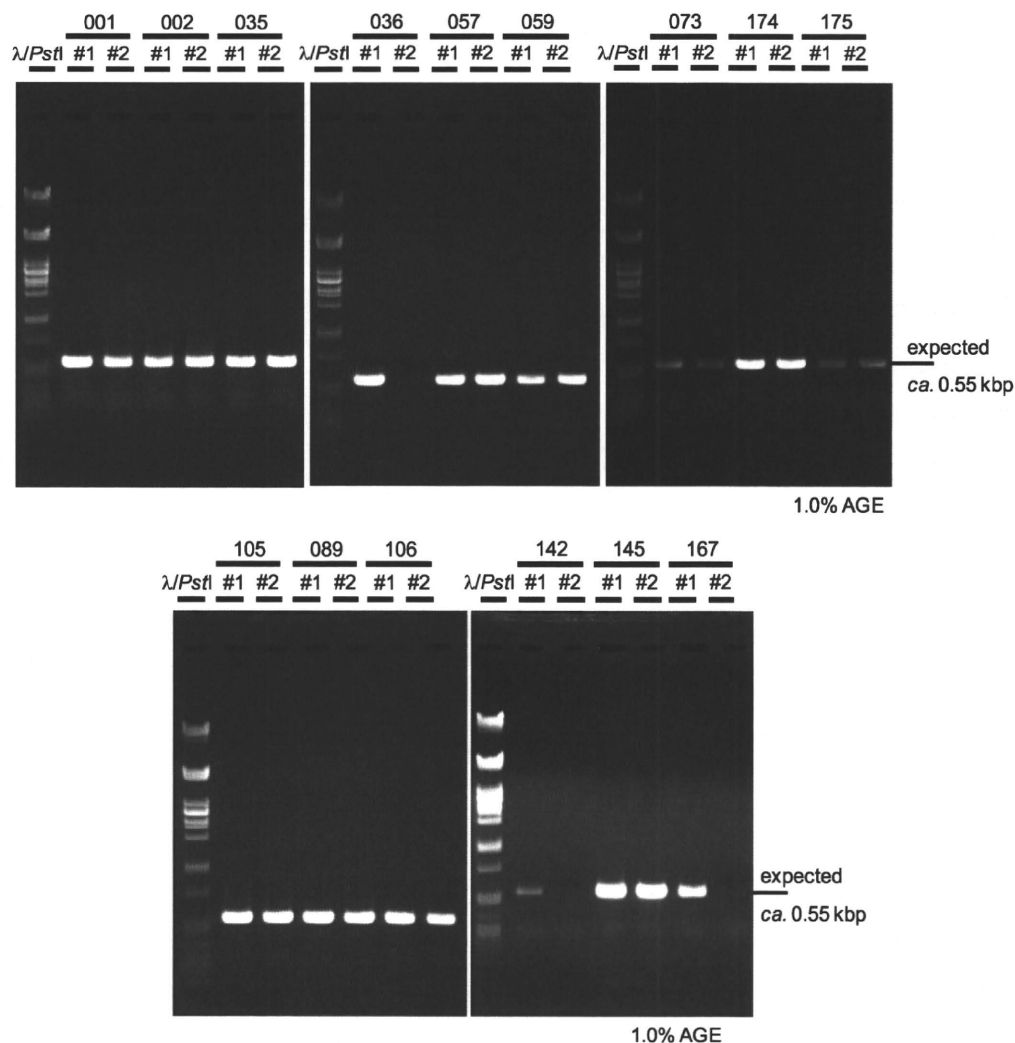


Fig. 3-2 オウゴン市場品各 2 検体の葉緑体 *rpl16-rpl14* 領域の PCR 増幅結果

Table 3-4 オウゴン市場品各 2 検体の *rpl16-rpl14* 領域の PCR 増幅及びダイレクトシーケンシングの結果

試料番号	PCR増幅	解析DNA鎖(A: plus-strand, B: minus-strand)	
001#1	++	B	single
001#2	++	AB	both
002#1	++	AB	both
002#2	++	B	single
035#1	++	AB	both
035#2	++	AB	both
036#1	++	AB	both
036#2	NA	Not analyzed	
057#1	++	B	single
057#2	++	A	single
059#1	++	B	single
059#2	++	AB	both
073#1	+	low quality	
073#2	+	B	single
089#1	++	B	single
089#2	++	AB	both
++: well amplified , +: amplified, NA: Not Amplified			

試料番号	PCR増幅	解析DNA鎖(A: plus-strand, B: minus-strand)	
105#1	++	B	single
105#2	++	NG	
106#1	++	B	single
106#2	++	AB	both
142#1	+	low quality	
142#2	NA	Not analyzed	
145#1	++	AB	both
145#2	++	AB	both
167#1	++	AB	both
167#2	+	B	single
174#1	++	AB	both
174#2	++	B	single
175#1	+	low quality	
175#2	+	low quality	
++: well amplified , +: amplified, NA: Not Amplified			

Data type, Accession	Plant species, Sample	92	167	174	185	198	203	281	364	394	407	413	428	452
AB112068	<i>S. baicalensis</i>	C	A	A	C	A	T	T	C	G	A	C	C	C
AB112069	<i>S. falericulata</i>	C	A	A	T	A	T	T	G	A	G	C	A	C
AB112072	<i>S. lateriflora</i>	C	G	A	T	A	G	T	G	A	G	C	A	C
AB112067	<i>S. altissima</i>	C	A	A	T	A	T	T	G	G	A	A	C	T
AB112070	<i>S. incana</i>	T	A	A	T	T	T	T	G	G	A	A	C	T
AB112071	<i>S. incana</i>	C	A	A	T	A	T	T	G	A	G	-	A	C
Cloning & Sequencing	NIB-174 (#1, #2)	C	A	A	C	A	T	T	C	G	A	C	C	C
Cloning & Sequencing	NIB-073#2 (281T)	C	A	A	C	A	T	T	C	G	A	C	C	C
Cloning & Sequencing	NIB-073#2 (281C)	C	A	A	C	A	T	C	C	G	A	C	C	C
Direct sequencing	NIB-036#1	C	A	T	C	A	T	T	C	G	A	C	C	C
Direct sequencing	NIB-057#2	C	A	A	C	A	T	C	C	G	A	C	C	C
Direct sequencing	NIB-073#2	C	A	A	C	A	T	C	C	G	A	C	C	C

Fig. 3-3 *Scutellaria* 属植物 *rpl16-rpl14* 領域の変異点の概要

塩基番号はAB112068の番号に従った. データベース登録配列:*S. baicalensis* (AB110268), *S. falericulata* (AB112069), *S. lateriflora* (AB112072), *S. altissima* (AB112067), *S. incana* (AB112070, AB112071).
オウゴン市場品の各検体の配列 (クローニング&シーケンシング) : NIB-174(#1, #2), NIB-073#1(281T), NIB-073#2(281C).
オウゴン市場品の各検体の配列 (ダイレクトシーケンシング) : NIB-036#1, NIB-057#2, NIB-073#2 のみについて記載.
変異点は文献 6 に記載の塩基に加え, 174 番目, 281 番目について記載した. 上記以外のオウゴン市場品試料のダイレクトシーケンシング結果は, 上記変異点については AB112068 と同一配列であった.

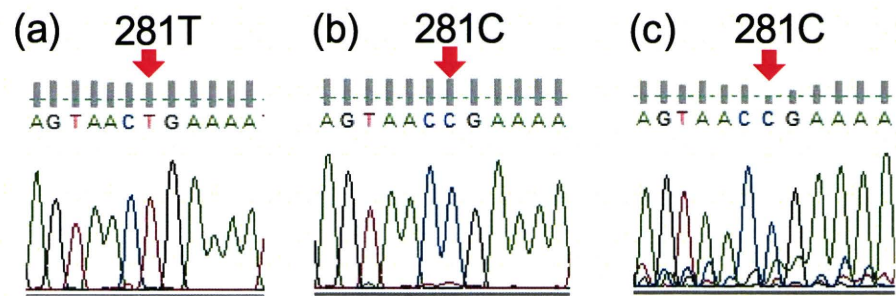


Fig. 3-4 オウゴン市場品 NIB-073 より調製したゲノム DNA NIB-073#2 を鋳型に増幅した *rpl16-rpl14* 領域における 281 番塩基付近の波形データ
(a), (b): クローニング&シーケンシング (281T または 281C のクローン),
(c): ダイレクトシーケンシング

4. カンゾウ

Table 4-1 生薬「カンゾウ」の市場品

管理番号	生薬名	産地	形態	入手年	備考 (等級、	部位、	径 mm)
NIB-003	カンゾウ	中国内蒙古自治区	原形	2010 年	西北丁級	ストロン	φ 6.1
NIB-004	カンゾウ	中国寧夏自治区	原形	2010 年	西北丁級	ストロン	φ 7.7
NIB-005	カンゾウ	中国内蒙古自治区	原形	2010 年	東北 1 号	根	φ 12.6
NIB-006	カンゾウ	中国内蒙古自治区	原形	2010 年	東北 2 号	ストロン	φ 10.3
NIB-007	カンゾウ	中国内蒙古自治区	原形	2010 年	東北 3 号	根	φ 7.5
NIB-037	カンゾウ	中国内蒙古自治区	原形	2010 年	東北 3 号	根	φ 6.5
NIB-038	カンゾウ	中国甘肅省	原形	2010 年	西北丁級	ストロン	φ 6.4
NIB-054	カンゾウ	中国吉林省	原形	2010 年		根	φ 8.9
NIB-074	カンゾウ	中国甘肅省	刻み	2010 年	野生 西北		
NIB-090	カンゾウ	中国寧夏自治区	刻み*	2010 年	西北		
NIB-107	カンゾウ	中国寧夏自治区	刻み*	2010 年	野生 西北 丙		
NIB-108	カンゾウ	中国寧夏自治区	刻み	2010 年	野生 西北 乙		
NIB-109	カンゾウ	中国内蒙古自治区	刻み	2010 年	野生 東北 丙		
NIB-146	カンゾウ	中国甘肅省	刻み	2010 年	西北		
NIB-168	カンゾウ	中国内蒙古自治区	原形	2010 年	野生	ストロン	φ 7.3
NIB-176	カンゾウ	中国内蒙古自治区	原形	2010 年	野生 東北 2 号	根	φ 7.4

*刻み 1 個体の他、刻み 10 個体を混合して粉末化したものについても解析した。

Table 4-2 カンゾウ市場品試料の核 rDNA ITS 領域の塩基配列

管理番号	生薬名	サンプル情報			ITS 領域の塩基配列	
		産地	形態	等級等	187	411-413
NIB-003	カンゾウ	中国内蒙古自治区	原形	西北丁級	C	TGC
NIB-004	カンゾウ	中国寧夏自治区	原形	西北丁級	C	TGC
NIB-005	カンゾウ	中国内蒙古自治区	原形	東北 1 号	C	TGC
NIB-006	カンゾウ	中国内蒙古自治区	原形	東北 2 号	C	TGC
NIB-007	カンゾウ	中国内蒙古自治区	原形	東北 3 号	C	TGC
NIB-037	カンゾウ	中国内蒙古自治区	原形	東北 3 号	C	TGC
NIB-038	カンゾウ	中国甘肅省	原形	西北丁級	C	TGC
NIB-054	カンゾウ	中国吉林省	原形		C/T	TGC
NIB-074	カンゾウ	中国甘肅省	刻み	野生,西北	C	TGC
NIB-090	カンゾウ	中国寧夏自治区	刻み*	西北	C/T	TGC
NIB-107	カンゾウ	中国寧夏自治区	刻み*	野生,西北,丙	C	TGC
NIB-108	カンゾウ	中国寧夏自治区	刻み	野生,西北,乙	C	TGC
NIB-109	カンゾウ	中国内蒙古自治区	刻み	野生,東北,丙	C	TGC
NIB-146	カンゾウ	中国甘肅省	刻み	西北	C	TGC
NIB-168	カンゾウ	中国内蒙古自治区	原形	野生	C	TGC
NIB-176	カンゾウ	中国内蒙古自治区	原形	野生,東北 2 号	C	TGC
NIB-090	カンゾウ	中国寧夏自治区	刻み*	(10 個体混合)	C	TGC
NIB-107	カンゾウ	中国寧夏自治区	刻み*	(10 個体混合)	C	TGC

5. ソウジュツ

Table 5-1 生薬「ソウジュツ」の市場品

	管理番号	生薬名	産 地	形態	入手年
A	NIB-009	ソウジュツ	中国湖北省	原形	2010 年
B	NIB-010	ソウジュツ	中国内蒙古自治区	原形	2010 年
C	NIB-058	ソウジュツ	中国湖北省	原形	2010 年
D	NIB-092	ソウジュツ	中国湖北省	原形	2010 年
E	NIB-111	ソウジュツ	中国湖北省	原形	2010 年
F	NIB-148	ソウジュツ	中国湖北省	原形	2010 年
G	NIB-181	ソウジュツ	中国湖北省	原形	2010 年
H	NIB-182	ソウジュツ	中国陝西省	原形	2010 年

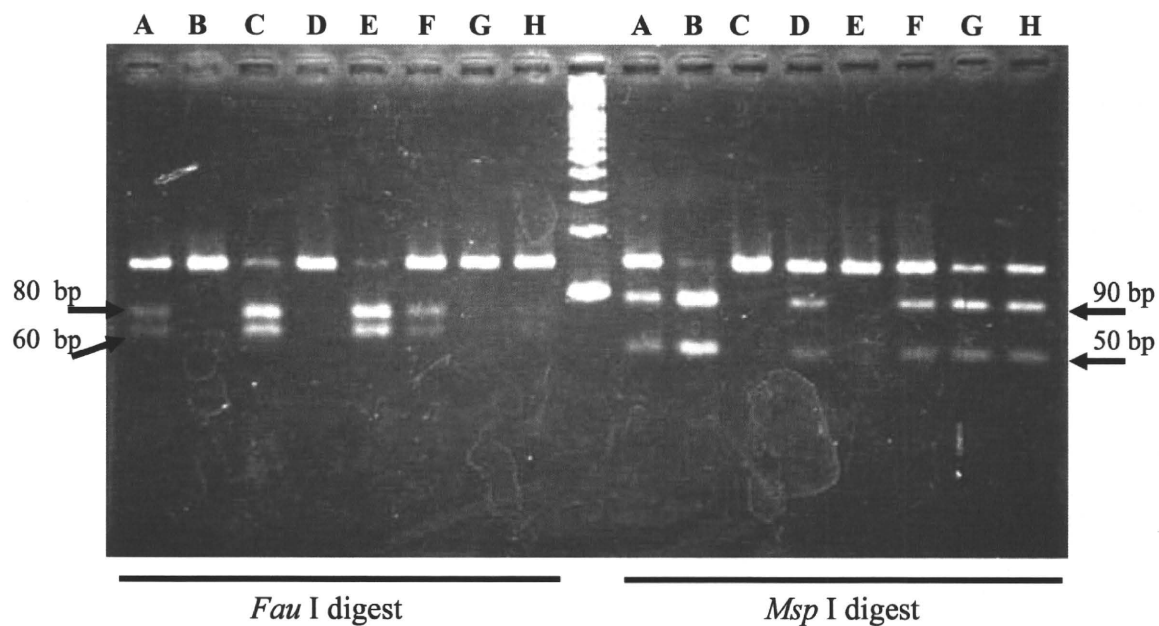


Fig. 5 ソウジュツ市場品 8 試料の PCR-RFLP パターン

Table 5-2 ソウジュツ市場品 8 試料の ITS1 領域内の鑑別サイトの塩基配列

		ITS1 鑑別サイト				
学名 / 管理番号		71	104	117	128	149
Standard	<i>A. lancea</i>	G	C	G	G	C
Standard	<i>A. chinensis</i>	A	T	A	A	T
A	NIB-009	G/A	C/T	G/A	G/A	C/T
B	NIB-010	A	T	A	G	T
C	NIB-058	G	C	G	G	C
D	NIB-092	A	T	A	G	T
E	NIB-111	G	C	G	G	C
F	NIB-148	G/A	C/T	G/A	G/A	C/T
G	NIB-181	A	T	A	A	T
H	NIB-182	A	T	A	A	T

Table 5-3 ソウジュツ市場品 8 試料の遺伝子鑑別結果

	管理番号	PCR-RFLP 法	ITS1 領域の塩基配列
A	NIB-009	hybrid (<i>A. lancea</i> / <i>A. chinensis</i>)	hybrid (<i>A. lancea</i> / <i>A. chinensis</i>)
B	NIB-010	<i>A. chinensis</i>	<i>A. chinensis</i> ? ^a
C	NIB-058	<i>A. lancea</i>	<i>A. lancea</i>
D	NIB-092	<i>A. chinensis</i>	<i>A. chinensis</i> ? ^a
E	NIB-111	<i>A. lancea</i>	<i>A. lancea</i>
F	NIB-148	hybrid (<i>A. lancea</i> / <i>A. chinensis</i>)	hybrid (<i>A. lancea</i> / <i>A. chinensis</i>)
G	NIB-181	<i>A. chinensis</i>	<i>A. chinensis</i>
H	NIB-182	<i>A. chinensis</i>	<i>A. chinensis</i>

a) 1 箇所のみで *A. chinensis* の標準配列と一致しない。

平成22年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベース構築のための
基盤整備に関する研究（H22-創薬総合-一般-013）
分担研究報告書

分担研究課題：組織培養物及び効率的増殖法に関する研究

研究分担者 （独）医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター 吉松嘉代
研究協力者 新潟大学農学部附属フィールド科学教育研究センター 岩本嗣
研究協力者 島根大学生物資源科学部附属生物資源教育研究センター 松本敏一

平成16年薬事工業生産動態統計年報に基づいて作成された「特掲医薬品における漢方エキス製剤91処方の生産量と配合生薬」資料を基に、漢方薬原料生薬の優先順位付けを行った。優先的にデータベースを整備する第1コア生薬5種（甘草、生姜、人参、蒼朮、黄芩）が選定され、さらに、引き続きデータベースを整備する第2コア生薬15種（茯苓、芍薬、桂皮、当帰、柴胡、川芎、地黄、麻黄、山梔子、大黄、白朮、牛膝、車前子、黄连、蘇葉）が選定された。組織培養物及び効率的増殖法に関する情報整備のため、文献情報及び実際の実験で収集するデータ（オリジナルデータ）項目、データ内容及び各データの形式の設定と写真、図表及び文献等の名前付けのルール決めを行った。第1コア生薬基原植物のうち、*Scutellaria baicalensis*、*Glycyrrhiza uralensis*、*Zingiber officinalis*、*Atractylodes lancea*、*Panax ginseng*、及び第2コア生薬基原植物のうち、*Atractylodes japonica*、*Atractylodes ovata*、*Cinnamomum cassia*、*Gardenia jasminoides*、*Paeonia lactiflora*、*Perilla frutescens*、*Angelica acutiloba*、*Bupleurum falcatum*、*Rehmania glutiosa*、*Cnidium officinale*、*Rheum palmatum*、*Ephedra intermedia* について、植物組織培養による効率的増殖に関する文献情報を収集した。また、第1コア及び第2コア生薬基原植物のうち、植物組織培養系誘導のための材料が入手できた *Scutellaria baicalensis*、*Glycyrrhiza uralensis*、*Atractylodes lancea*、*Atractylodes japonica*、*Paeonia lactiflora*、*Rheum palmatum*、*Ephedra sinica* について、効率的増殖法と培養体での維持のための植物組織培養系の誘導を開始した。

A. 研究目的

漢方薬は、日本独自の漢方理論に基づいて処方される医薬品であり、現在、全ての大学医学部と医科大学で漢方教育が行われ、また、日常診療の中で漢方薬を処方する医師は全体の86.3%に上り、今後も漢方薬の需要は増加するものと思われる。2009年の医療用漢方製剤市場規模は1,125億円とされ、漢方薬市

場は、2015年には倍増すると予想されている。

しかし、その原料生薬の供給は90%以上が海外に依存しており、その多くは野生植物の採取によるものである。このような状況の中、漢方薬原料となる生薬の国内での安定的・戦略的確保のための基盤を整備することは、日本における漢方薬の安定的・持続的生産に貢献し、国民の健康の増進を図る上で、その意

義は大きい。

植物組織培養は、限られた空間で、様々な気候区分で生育する植物を遺伝的に安定に維持でき、また、国内での増殖が困難あるいは交雑により含有成分が変化し易い植物を効率的に増殖できる優れた技術である。本研究では、漢方薬原料植物の安定的・戦略的確保のための基盤整備のため、植物組織培養による効率的増殖法に関する文献調査を行うとともに、漢方薬原料となる薬用植物の供給体制基盤構築のため、材料植物の入手、無菌培養系の確立、増殖法の確立を行う。

B. 研究方法

1) 生薬の国内での需要度、重要度及び供給状況の調査

平成16年薬事工業生産動態統計年報に基づいて作成された「特掲医薬品における漢方エキス製剤91処方の生産量と配合生薬」資料を基に、以下の順番で、以下の基準に従い、漢方薬原料生薬の優先順位付けを行った。

- ・91処方での使用頻度が高い順
- ・処方別生産量70%を占める処方での使用頻度が高い順
- ・処方別生産量80%を占める処方での使用頻度が高い順
- ・処方別生産量90%を占める処方での使用頻度が高い順
- ・生薬生産者業界の種苗維持要望

2) 組織培養物及び効率的増殖法に関する情報整備のためのデータベース項目の設定
文献情報及び実際の実験で収集するデータ（オリジナルデータ）項目、データ内容及び各データの形式の設定と写真、図表及び文献等の名前付けのルール決めを行った。

3) 漢方薬原料植物の植物組織培養による増殖法に関する文献調査

第1コア及び第2コア生薬基原植物について、植物組織培養による増殖法に関する文献調査を行い、設定したデータベース項目への入力を行った。

4) オリジナルデータ取得のための、植物組織培養物の育成

データベースオリジナルデータ取得用の植物組織培養系誘導のための材料が入手できた *Scutellaria baicalensis* 種子、*Glycyrrhiza uralensis* 種子及び新芽、*Atractylodes lancea* 新芽、*Atractylodes japonica* 新芽、*Paeonia lactiflora* 新芽、*Rheum palmatum* 種子、*Ephedra sinica* 種子について、常法による殺菌後、各種培地への植付け及び恒温室での培養を行い、培養系の誘導、増殖法の検討を行った。

C. 研究結果

1) 生薬の国内での需要度、重要度及び供給状況の調査

平成16年薬事工業生産動態統計年報に基づいて作成された「特掲医薬品における漢方エキス製剤91処方の生産量と配合生薬」資料を基に、漢方薬原料生薬の優先順位付けを行った結果を表1に示す。

91処方の原料となる植物性生薬の品目数は91であった。優先的にデータを収集する第1コア生薬（表中：赤字）の順位はそれぞれ甘草：1位、生姜：2位、人参：7位、蒼朮：9位、黄芩：11位であり、いずれも漢方薬原料として重要な生薬である。また、第2コア生薬（表中：青字）も、53位以内に入る重要生薬である。

2) 組織培養物及び効率的増殖法に関する情報整備のためのデータベース項目の設定
文献情報及び実際の実験で収集するデータ
(オリジナルデータ)の項目、データ内容及び各データの形式を表2のように設定した。
また、図表及び文献等の名前付けのルールを表3のように設定した。

3) 漢方薬原料植物の植物組織培養による増殖法に関する文献調査
第1コア生薬基原植物のうち、*Scutellaria baicalensis* (黄芩)、*Glycyrrhiza uralensis* (甘草)、*Zingiber officinalis* (生姜)、*Atractylodes lancea* (蒼朮)、*Panax ginseng* (人參)、及び第2コア生薬基原植物のうち、*Atractylodes japonica* (白朮)、*Atractylodes ovata* (白朮)、*Cinnamomum cassia* (桂皮)、*Gardenia jasminoides* (山梔子)、*Paeonia lactiflora* (芍薬)、*Perilla frutescens* (蘇葉)、*Angelica acutiloba* (当帰)、*Bupleurum falcatum* (柴胡)、*Rehmania glutiosa* (地黄)、*Cnidium officinale* (川芎)、*Rheum palmatum* (大黄)、*Ephedra intermedia* (麻黄)について、植物組織培養による効率的増殖に関する文献情報を収集した。その結果を表4に示した。

4) オリジナルデータ取得のための、植物組織培養物の育成

Scutellaria baicalensis 種子(筑波研究部産1系統)は常法による殺菌後、2%ショ糖含有1/2MS培地に播種し、23℃、14時間照明下で培養し、培養植物体を育成中であり、外植片(種子)から培養植物体までのデータを取得予定である。*Glycyrrhiza uralensis* 種子(北海道研究部産3系統)及び新芽(筑波研究部圃場1系統)から育成した培養植物体(図1)

は、種々基本培地(MS、WPG、C2D、DKW)での植物体増殖を検討中であるが、系統により、増殖及び継代維持のための培地が大きく異なる結果が得られている。*Atractylodes lancea* 新芽及び*Atractylodes japonica* 新芽からは、常法による殺菌後、培養植物体の育成と増殖に成功した(図2、図3)。*Paeonia lactiflora* 新芽からは常法による殺菌後、初代培養物が得られている(図4)。*Rheum palmatum* 種子(北海道研究部産1系統)は、常法による殺菌後、2%ショ糖含有1/2MS培地、20℃、14時間照明下で培養し、12日後に96.7%の発芽率が得られており、無菌植物体の育成に成功した(図5)。*Ephedra sinica* 種子(金沢大学産、3系統:表5)は、常法による殺菌後、2%ショ糖含有1/2MS培地に播種し、23℃、暗所又は14時間照明下で培養し、系統により発芽のための光要求性が異なる結果が得られている(表6、図6)。現在、生育が良好なクローンを用いて、増殖法の検討を行っている(図7)。

D. 考察

組織培養物及び効率的増殖法に関する情報整備のため、文献情報及び実際の実験で収集するデータ(オリジナルデータ)項目、データ内容及び各データの形式の設定を行い、収集した文献情報のデータシートへの入力を行った。漢方薬原料生薬の基原植物に関する情報は、英語以外の言語、中国語や韓国語で書かれたものが数多く存在し、日本語あるいは英語への翻訳が困難である。また、文献検索により要約が得られても、入手が困難なものが多い。文献情報については、日本語又は英語への翻訳方法及び文献の入手方法について検討が必要であろう。

E. 結論

組織培養物及び効率的増殖法に関する情報整備のため、文献情報及び実際の実験で収集するデータ（オリジナルデータ）項目、データ内容及び各データの形式の設定を行い、収集した第1コア及び第2コア生薬基原植物に関する文献情報のデータシートへの入力を行った。また、オリジナルデータ取得のための材料が入手できた植物については、組織培養系の誘導を開始した。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1. 生薬の国内での需要度、重要度及び供給状況を基にした研究対象薬用植物の順位付け

順位	生薬名	頻度	植物名
1	甘草	91処方:63, 70%:14, 80%:22, 90%:30	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer, <i>G. glabra</i> Linné
2	生姜	91処方:39, 70%:9, 80%:16, 90%:22	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe
3	茯苓	91処方:33, 70%:10, 80%:17, 90%:21	<i>Poria cocos</i> Wolf
4	大棗	91処方:32, 70%:7, 80%:11, 90%:15	<i>Ziziphus jujuba</i> Lam.
5	芍薬	91処方:31, 70%:8, 80%:14, 90%:18	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.
6	桂皮	91処方:31, 70%:7, 80%:15, 90%:17	<i>Cinnamomum cassia</i> Blume
7	人参	91処方:28, 70%:8, 80%:14, 90%:17	<i>Panax ginseng</i> C.A.Mey.
8	当帰	91処方:26, 70%:5, 80%:7, 90%:12	<i>Angelica acutiloba</i> Kitagawa, <i>A. acutiloba</i> Kitagawa var. <i>sugiyamae</i> Hikino
9	蒼朮	91処方:23, 70%:7, 80%:11, 90%:13	<i>Atractylodes lancea</i> De Candolle, <i>A. chinensis</i> Koidzumi
10	半夏	91処方:20, 70%:6, 80%:11, 90%:13	<i>Pinellia ternata</i> Breitenbach
11	黄芩	91処方:20, 70%:3, 80%:7, 90%:10	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi
12	柴胡	91処方:17, 70%:4, 80%:7, 90%:11	<i>Bupleurum falcatum</i> Turcz.
13	川芎	91処方:16, 70%:3, 80%:4, 90%:8	<i>Cnidium officinale</i> Makino
14	地黄	91処方:15, 70%:3, 80%:4, 90%:6	<i>Rehmannia glutinosa</i> Liboschitz var. <i>purpurea</i> Makino, <i>R. glutinosa</i> Liboschitz
15	陳皮	91処方:13, 70%:3, 80%:4, 90%:6	<i>Citrus unshiu</i> Marcow.
16	麻黄	91処方:13, 70%:3, 80%:3, 90%:5	<i>Ephedra sinica</i> Stapf, <i>E. intermedia</i> Schrenk et C. A. Meyer, <i>E. equisetina</i> Bunge
17	山梔子	91処方:11, 70%:2, 80%:3, 90%:5	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis
18	大黃	91処方:10, 70%:2, 80%:4, 90%:5	<i>Rheum palmatum</i> Linné, <i>R. tanguticum</i> Maximowicz, <i>R. officinale</i> Baillon, <i>R. coreanum</i> Nakai
19	沢瀉	91処方:9, 70%:5, 80%:6, 90%:7	<i>Alisma orientale</i> Juzepczuk
20	黄耆	91処方:9, 70%:3, 80%:4, 90%:6	<i>Astragalus mongolicus</i> Bunge, <i>A. membranaceus</i> Bunge
21	黃連	91処方:8, 70%:0, 80%:1, 90%:3	<i>Coptis japonica</i> Makino, <i>C. chinensis</i> Franchet, <i>C. deltoidea</i> C.Y.Cheng et Hsiao, <i>C. teeta</i> Wallich
22	牡丹皮	91処方:7, 70%:4, 80%:5, 90%:5	<i>Paeonia suffruticosa</i> Andrews
23	麦門冬	91処方:7, 70%:2, 80%:3, 90%:3	<i>Ophiopogon japonicus</i> Ker Gawl.
24	厚朴	91処方:7, 70%:0, 80%:3, 90%:3	<i>Magnolia officinalis</i> Rehder & E.H.Wilson
25	杏仁	91処方:7, 70%:0, 80%:1, 90%:1	<i>Prunus armeniaca</i> Linné, <i>P. armeniaca</i> Linné var. <i>ansu</i> Maximowicz, <i>P. sibirica</i> Linné
26	附子	91処方:6, 70%:2, 80%:4, 90%:5	<i>Aconitum carmichaeli</i> Debeaux
27	防風	91処方:6, 70%:2, 80%:2, 90%:5	<i>Saposhnikovia divaricata</i> Schischkin
28	桔梗	91処方:6, 70%:1, 80%:1, 90%:3	<i>Platycodon grandiflorum</i> ADC.
29	黄柏	91処方:6, 70%:0, 80%:1, 90%:3	<i>Phellodendron amurense</i> Rupr.
30	白朮	91処方:5, 70%:1, 80%:2, 90%:3	<i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi ex Kitamura, <i>A. ovata</i> De Candolle
31	枳実	91処方:5, 70%:0, 80%:1, 90%:2	<i>Citrus aurantium</i> L.
32	薄荷	91処方:4, 70%:2, 80%:2, 90%:3	<i>Mentha arvensis</i> Linné var. <i>piperascens</i> Malinvaud
33	桃仁	91処方:4, 70%:1, 80%:2, 90%:3	<i>Prunus persica</i> Batsch, <i>P. persica</i> Batsch var. <i>daidiana</i> Maximowicz
34	荆芥	91処方:4, 70%:1, 80%:1, 90%:3	<i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briquet
35	知母	91処方:4, 70%:0, 80%:1, 90%:1	<i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge
36	木通	91処方:4, 70%:0, 80%:0, 90%:1	<i>Akebia quinata</i> Deane., koidz.
37	猪苓	91処方:3, 70%:2, 80%:3, 90%:3	<i>Polyporus umbellatus</i> Fries
38	山茱萸	91処方:3, 70%:2, 80%:2, 90%:2	<i>Cornus officinalis</i> Sieb. et Zucco
39	山藥	91処方:3, 70%:2, 80%:2, 90%:2	<i>Dioscorea japonica</i> Thunb., <i>D. batatas</i> Decaisne
40	五味子	91処方:3, 70%:1, 80%:2, 90%:2	<i>Schisandra chinensis</i> Baillon
41	細辛	91処方:3, 70%:1, 80%:1, 90%:3	<i>Asiasarum sieboldii</i> F.Maekawa, <i>A. heterotropoides</i> F.Maekawa var. <i>mandshuricum</i> F.Maekawa
42	升麻	91処方:3, 70%:1, 80%:1, 90%:2	<i>Cimicifuga simplex</i> Wormskjold, <i>C. dahurica</i> Maximowicz, <i>C. foetida</i> Linné, <i>C. heracleifolia</i> Komarov
43	連翹	91処方:3, 70%:1, 80%:1, 90%:2	<i>Forsythia suspensa</i> Vahl
44	防己	91処方:3, 70%:1, 80%:1, 90%:2	<i>Sinomenium acutum</i> (Thunb.) Rehder & E.H.Wilson
45	釣藤鉤	91処方:3, 70%:1, 80%:1, 90%:1	<i>Uncaria rhynchophylla</i> Miquel, <i>U. sinensis</i> Haviland
46	車前子	91処方:3, 70%:1, 80%:1, 90%:1	<i>Plantago asiatica</i> Turcz.
47	蘇葉	91処方:3, 70%:0, 80%:2, 90%:2	<i>Perilla frutescens</i> Britton
48	遠志	91処方:3, 70%:0, 80%:1, 90%:2	<i>Polygala tenuifolia</i> Willdenow
49	吳茱萸	91処方:3, 70%:0, 80%:1, 90%:2	<i>Evodia rutaecarpa</i> Benthams, <i>E. officinalis</i> Dode, <i>E. bodinieri</i> Dode
50	白芷	91処方:3, 70%:0, 80%:0, 90%:2	<i>Angelica dahurica</i> Benthams et Hooker
51	酸棗仁	91処方:3, 70%:0, 80%:0, 90%:1	<i>Zizyphu jujuba</i> Miller var. <i>spinosa</i> Hu ex H.F.Chou
52	粳米	91処方:2, 70%:1, 80%:2, 90%:2	<i>Oryza sativa</i> L.
53	牛膝	91処方:2, 70%:1, 80%:1, 90%:2	<i>Achyranthes fauriei</i> Leveille et Vaniot, <i>A. bidentata</i> Blume

赤字:データベース作成の第1コア生薬

青字:データベース作成の第2コア生薬

優先順位の基準

- ・91処方の使用頻度が高い順
- ・処方別生産量70%を占める処方での使用頻度が高い順
- ・処方別生産量80%を占める処方での使用頻度が高い順
- ・処方別生産量90%を占める処方での使用頻度が高い順
- ・生薬生産者業界の種苗維持要望

表2. 組織培養物及び効率的増殖法に関する情報整備のためのデータベース項目

No	項目名 (必須)	データ型 (必須)	データ型備考 (必須)
1	生薬コード	文字列	10文字
2	生薬名	文字列	30文字程度
3	生薬名 (カナ)	文字列	30文字程度
4	植物学名コード	文字列	30文字程度
5	導入番号	数値	XXXXX ※整数5桁を意味する
6	植物学名	文字列	30文字程度
7	植物和名	文字列	30文字程度
8	データ形式	文字列	10文字程度
9	文献コード	文字列	30文字程度
10	文献：出典 (著者, 雑誌, 巻号頁, 発行年)	文字列	100文字程度
11	文献：要約 (和訳)	文字列	5000文字程度
12	文献：目的	文字列	200文字程度
13	文献：材料 (品種, 系統, 産地, 由来)	文字列	100文字程度
14	文献：外植片	文字列	100文字程度
15	文献：初期培養	文字列	500文字程度
16	文献：シュート増殖	文字列	500文字程度
17	文献：発根	文字列	500文字程度
18	文献：馴化条件	文字列	500文字程度
19	文献：鉢上げ・定植	文字列	500文字程度
20	文献：栽培条件	文字列	500文字程度
21	文献：再生植物体の形質	文字列	500文字程度
22	文献：分析した成分	文字列	500文字程度
23	文献：成分の抽出法	文字列	500文字程度
24	文献：分析法	文字列	500文字程度
25	文献：備考	文字列	500文字程度
26	オリジナルコード	文字列	30文字程度
27	オリジナル：公開の可否	文字列	10文字
28	オリジナル：発表 (著者, 雑誌, 巻号頁, 発行年)	文字列	100文字程度
29	オリジナル：目的	文字列	200文字程度
30	オリジナル：材料 (品種, 系統, 産地, 由来)	文字列	100文字程度
31	オリジナル：外植片	文字列	500文字程度
32	オリジナル：外植片の殺菌	文字列	500文字程度
33	オリジナル：初期培養	文字列	500文字程度
34	オリジナル：シュート増殖	文字列	500文字程度
35	オリジナル：発根	文字列	500文字程度
36	オリジナル：馴化条件	文字列	500文字程度
37	オリジナル：鉢上げ・定植	文字列	500文字程度
38	オリジナル：栽培条件	文字列	500文字程度
39	オリジナル：再生植物体の形質	文字列	500文字程度

40	オリジナル：成分分析法	文字列	500文字程度
41	オリジナル：生産物	文字列	500文字程度
42	オリジナル：参考文献（著者，雑誌，巻号頁，発行年）	文字列	100文字程度
43	オリジナル：備考	文字列	500文字程度
44	オリジナル：材料植物の写真の説明	文字列	100文字程度
45	オリジナル：材料植物の写真	画像	2MB程度
46	オリジナル：外植片の写真の説明	文字列	100文字程度
47	オリジナル：外植片の写真	画像	2MB程度
48	オリジナル：シュートの写真の説明	文字列	100文字程度
49	オリジナル：シュートの写真	画像	2MB程度
50	オリジナル：幼植物の写真の説明	文字列	100文字程度
51	オリジナル：幼植物の写真	画像	2MB程度
52	オリジナル：再生植物体の写真の説明	文字列	100文字程度
53	オリジナル：再生植物体の写真	画像	2MB程度
54	オリジナル：栽培植物の写真の説明	文字列	100文字程度
55	オリジナル：栽培植物の写真	画像	2MB程度
56	オリジナル：その他の写真の説明	文字列	100文字程度
57	オリジナル：その他の写真	画像	2MB程度
58	オリジナル：シュート増殖図表の説明	文字列	100文字程度
59	オリジナル：シュート増殖図表	画像	2MB程度
60	オリジナル：シュート発根図表の説明	文字列	100文字程度
61	オリジナル：シュート発根図表	画像	2MB程度
62	オリジナル：植物体再生図表の説明	文字列	100文字程度
63	オリジナル：植物体再生図表	画像	2MB程度
64	オリジナル：成分構造式説明	文字列	100文字程度
65	オリジナル：成分構造式	画像	2MB程度
66	オリジナル：成分含量図表の説明	文字列	100文字程度
67	オリジナル：成分収量図表	画像	2MB程度
68	オリジナル：その他図表の説明	文字列	100文字程度
69	オリジナル：その他図表	画像	2MB程度

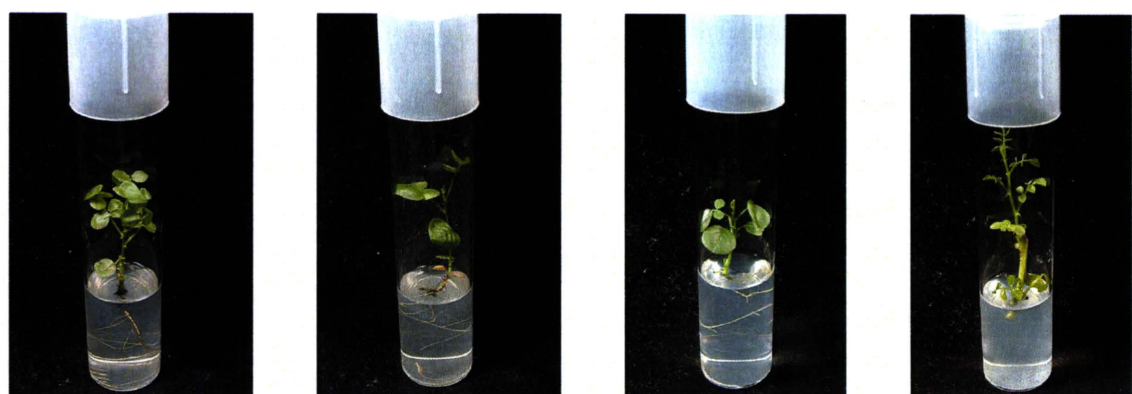
表3. 図表及び文献等ファイルの名前付けのルール

項目ファイル種類	ファイル名のルール	例
9：文献コード	属名_種名-Ref-番号	Panax_ginseng-Ref-1
26：オリジナルコード	属名_種名-Exp-番号	Panax_ginseng-Exp-1
写真ファイル (jpg：Pファイル)	属名_種名-Exp-番号-P-種類番号 種類番号 1：材料，2：外植片，3：シュート，4：幼植物，5：再生植物体，6：栽培植物，7：その他	Panax_ginseng-Exp-1-P-1
図ファイル (jpg 又は pdf：Fファイル)	属名_種名-Exp-番号-F-種類番号 種類番号 1：シュート増殖，2：発根，3：植物体再生，4：成分構造式，5：成分含量，6：成分収量，7：その他	Panax_ginseng-Exp-1-F-1
表ファイル (jpg 又は pdf：Tファイル)	属名_種名-Exp-番号-T-種類番号 種類番号 1：シュート増殖，2：発根，3：植物体再生，4：成分構造式，5：成分含量，6：成分収量，7：その他	Panax_ginseng-Exp-1-T-1

表4. 漢方薬原料植物の植物組織培養による増殖法に関する文献一覧

[illegible]

1つの文庫が複数の雑誌等に渡るときは、上掲の文庫コードを用いる。
 別れた文庫は、**サブファイル**と、文庫コ **ド**を**サブファイル名**とする。



Gu2-2-1

Gu2-3-2

GuTS71-08IV1①

GuTS71-08IV2H4

図1. *Glycyrrhiza uralensis*培養植物体

Gu2-2-1、Gu2-3-2：筑波研究部圃場栽培株新芽より誘導、WPG培地（3%シヨ糖、10 mg/l glutamine含有Woody Plant培地）で継代維持。

GuTS71-08IV1①：北海道研究部産種子（導入番号TS71-08）より誘導、MS培地（1%シヨ糖）

GuTS71-08IV1H4：北海道研究部産種子（導入番号TS71-08）より誘導、DKW培地（1%麦芽糖、NAA 0.1 mg/l + kinetin 0.5 mg/l含有）

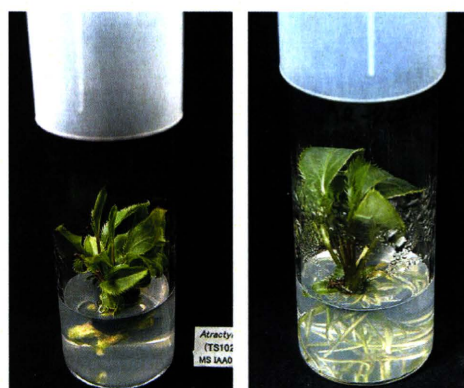


図2. *Atractylodes lancea*マルチプルシュート（左：3%シヨ糖 + IAA 0.5 mg/l + BA 2.5 mg/l含有MS培地）及び培養植物体（右：3%シヨ糖含有植物ホルモン無添加MS培地）

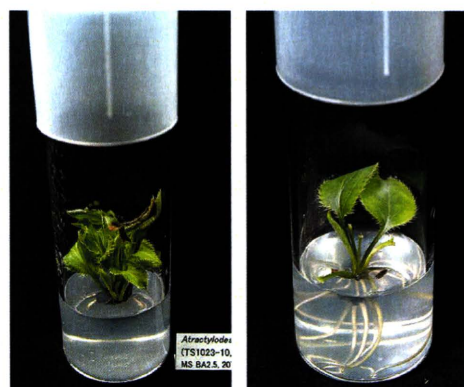


図3. *Atractylodes japonica*マルチプルシュート（左：3%シヨ糖 + BA 2.5 mg/l含有MS培地）及び培養植物体（右：3%シヨ糖含有植物ホルモン無添加MS培地）



図4. *Paeonia lactiflora*マルチプルシュート (3%ショ糖 + BA 2.5 mg/l含有MS培地)

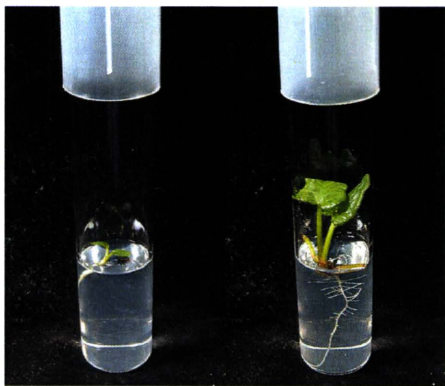


図5. *Rheum palmatum*実生 (左) 及び培養植物体 (右) (培地はいずれも2%ショ糖含有植物ホルモン無添加MS培地)

表5. 無菌播種した*Ephedra sinica*種子

導入番号	備考1	地上茎アルカロイド含量%
TS1025-10	金沢大学ID:145(原株:内蒙古産種子)	2008.9:0.150%, 2009.9:0.208%
TS1026-10	金沢大学ID:513(原株:内蒙古産種子)	2008.9:1.099%, 2009.9:0.642%
TS1027-10	金沢大学ID:611(原株:内蒙古産種子)	2008.9:0.911%, 2009.9:0.686%

表6. 無菌播種した*Ephedra sinica*種子の発芽 (培養30日間)

場所	条件	導入番号	金沢大ID	本数	発根	発芽	子葉展開	発根率%	子葉展開率
恒温室(1) 棚2-4	23°C, 14 hL	TS1025-10	145	10	8	6	6	80.0%	60.0%
		TS1026-10	513	10	10	9	9	100.0%	90.0%
		TS1027-10	611	10	6	4	3	60.0%	30.0%
培養庫3	23°C, Dark	TS1025-10	145	10	7	6	6	70.0%	60.0%
		TS1026-10	513	10	10	8	8	100.0%	80.0%
		TS1027-10	611	9	8	5	5	88.9%	55.6%

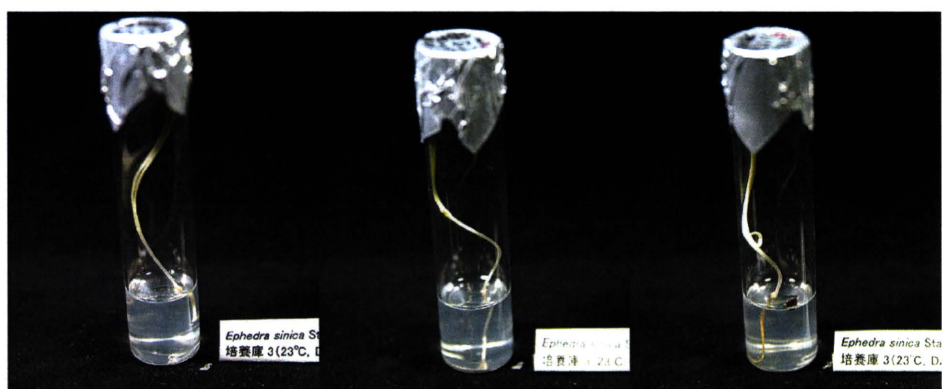
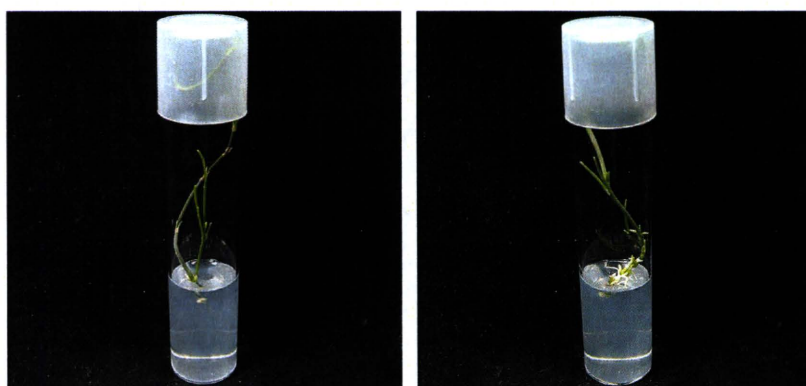


図6. 23℃、暗所で発芽した*Ephedra sinica* (左 : ID145、中 : ID513、右 : ID611)



ES611D2

ES611L1

図7. 生育が良好な*Ephedra sinica*シュート (TS1027-10、ID611)

ES611D2 : 2%ショ糖 + IBA 0.1 mg/l含有DKW培地

ES611L1 : 2%ショ糖 + IBA 0.1 mg/l含有MS培地