

図 25. マスタ情報編集画面

登録画面で使用するマスタ情報の編集を行う。編集画面に表示・非表示の切り替え設定が可能。

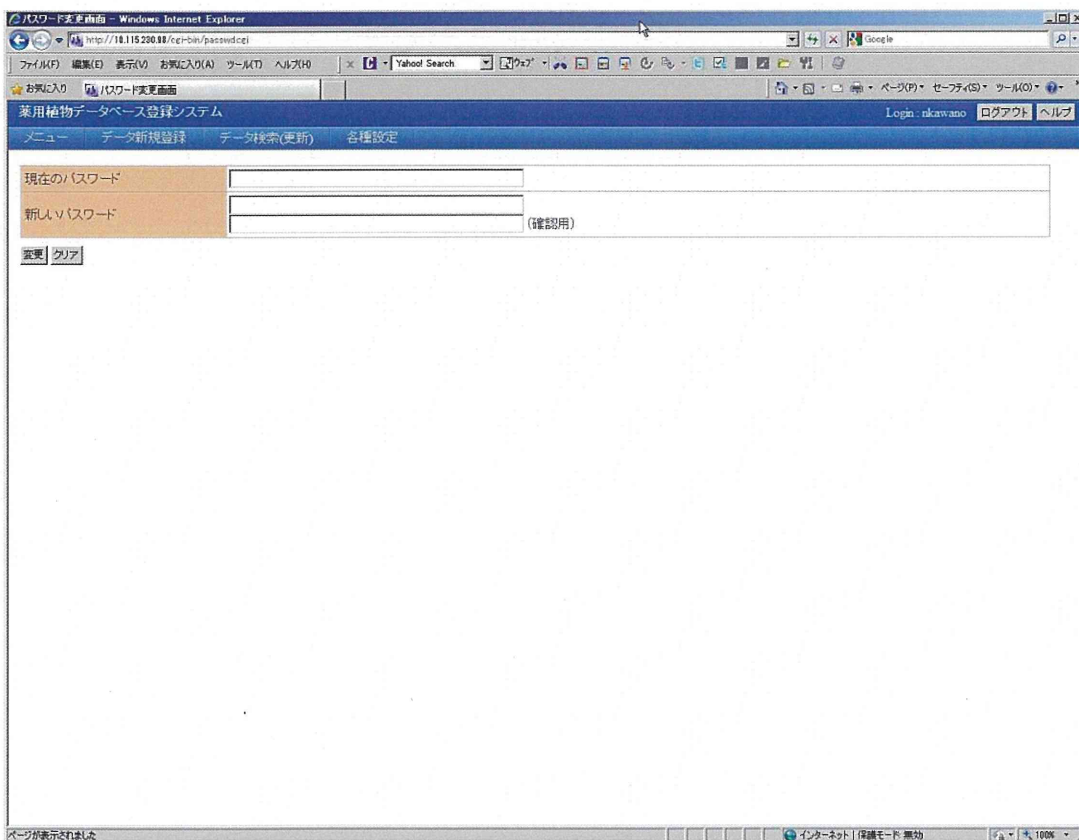


図 26. パスワード変更

登録システムにログイン中の本人のログインパスワードを変更する。

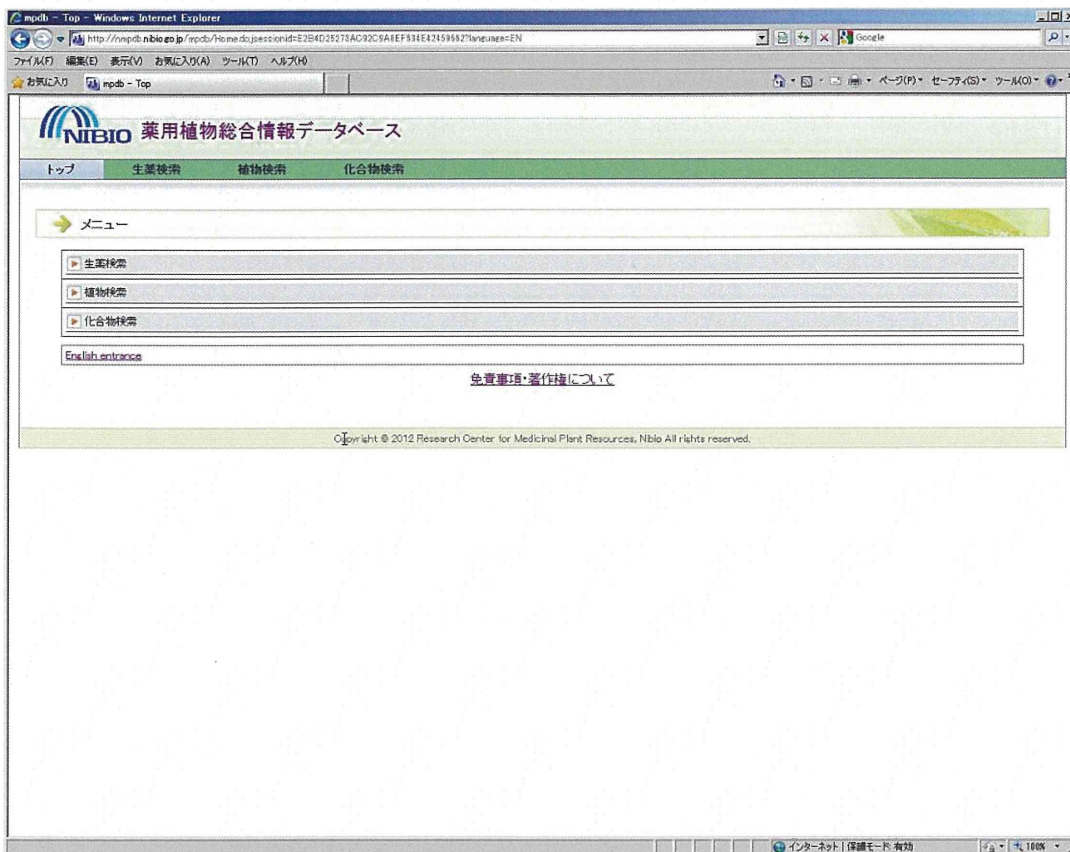


図 27. 日本語版のトップページ

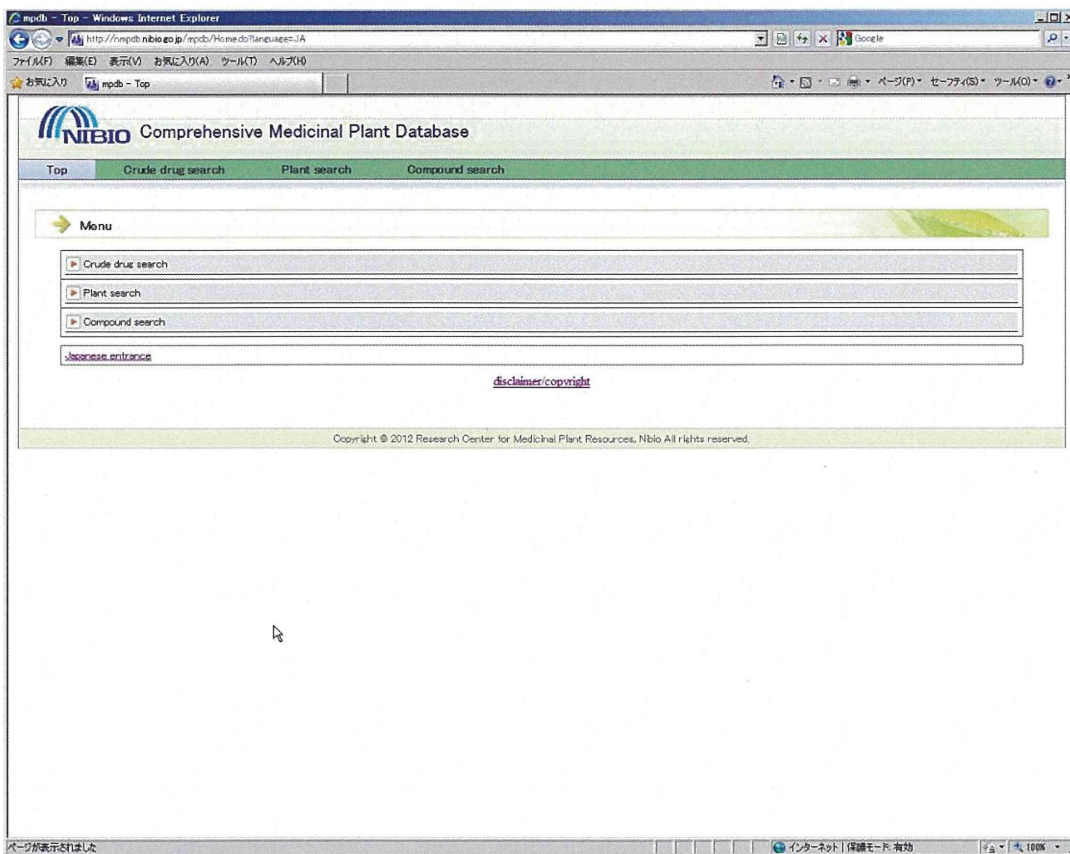


図 28. 英語版トップページ

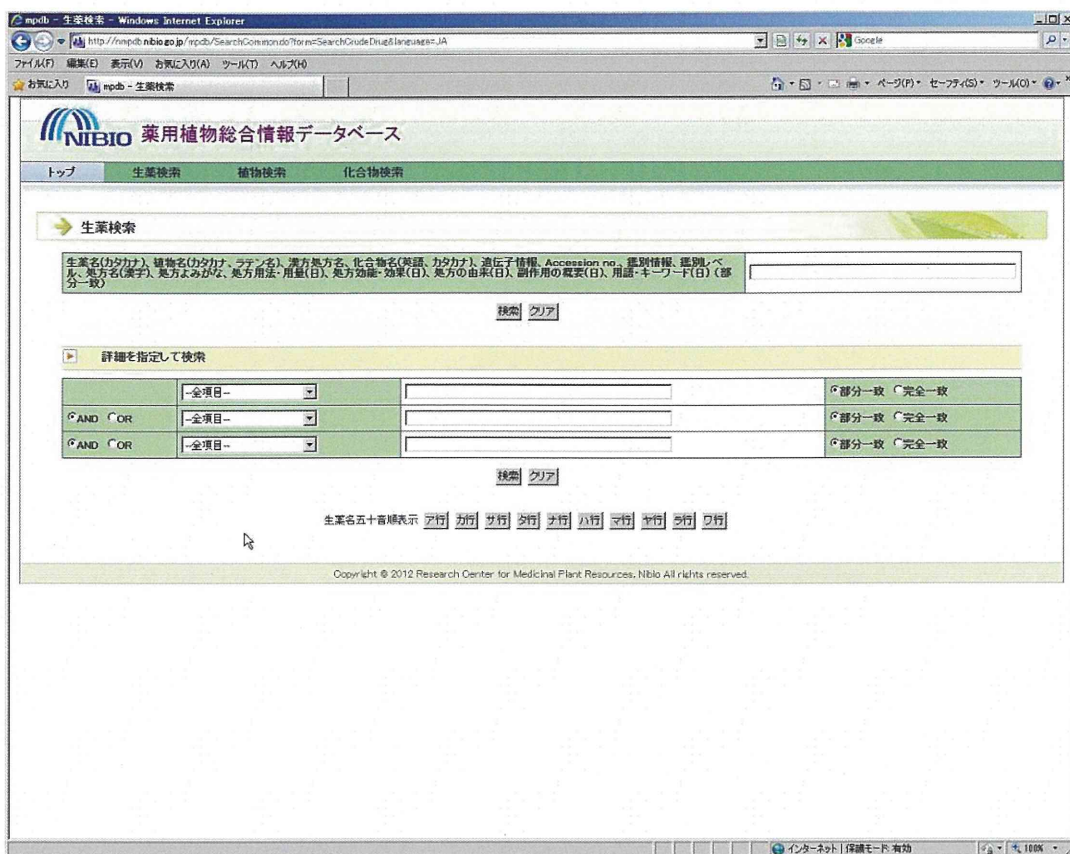


図 29. 日本語版生薬検索画面

完全一致/部分一致検索、および AND/OR による複数キーワード検索機能を追加した。検索対象項目に生薬以外の関連する各種カテゴリデータも追加した。

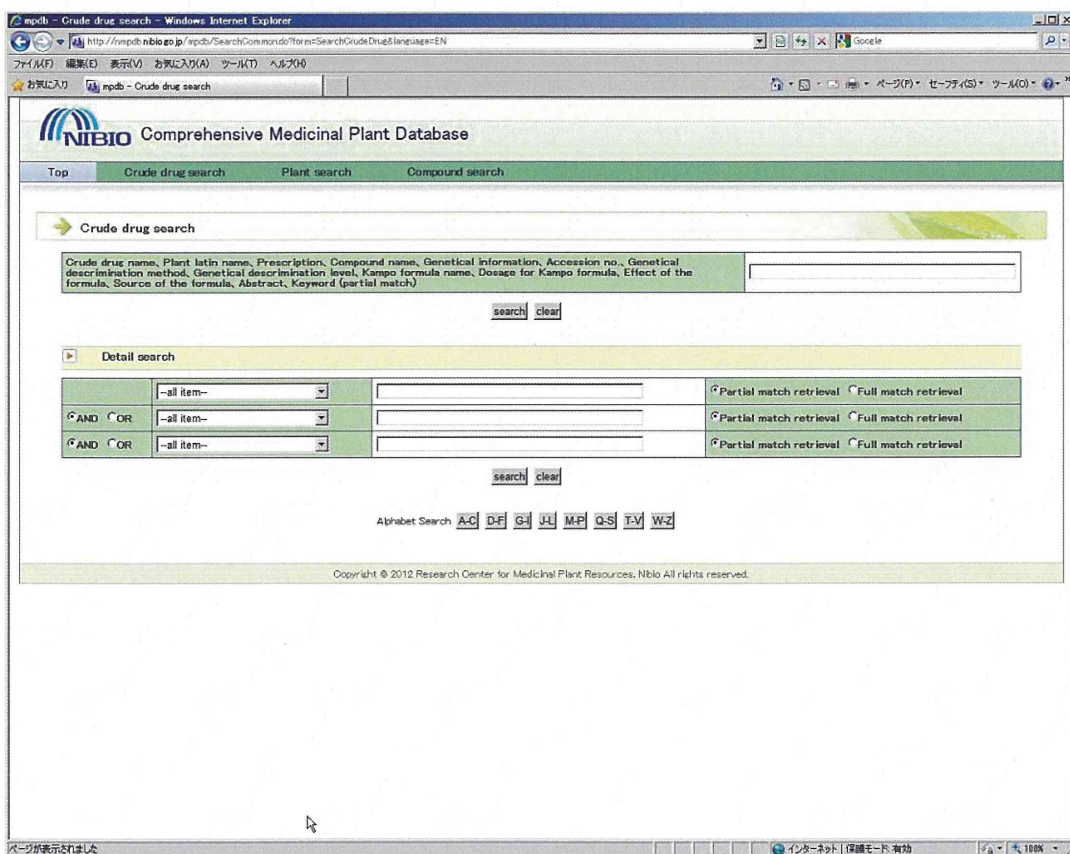


図 30. 英語版生薬検索画面

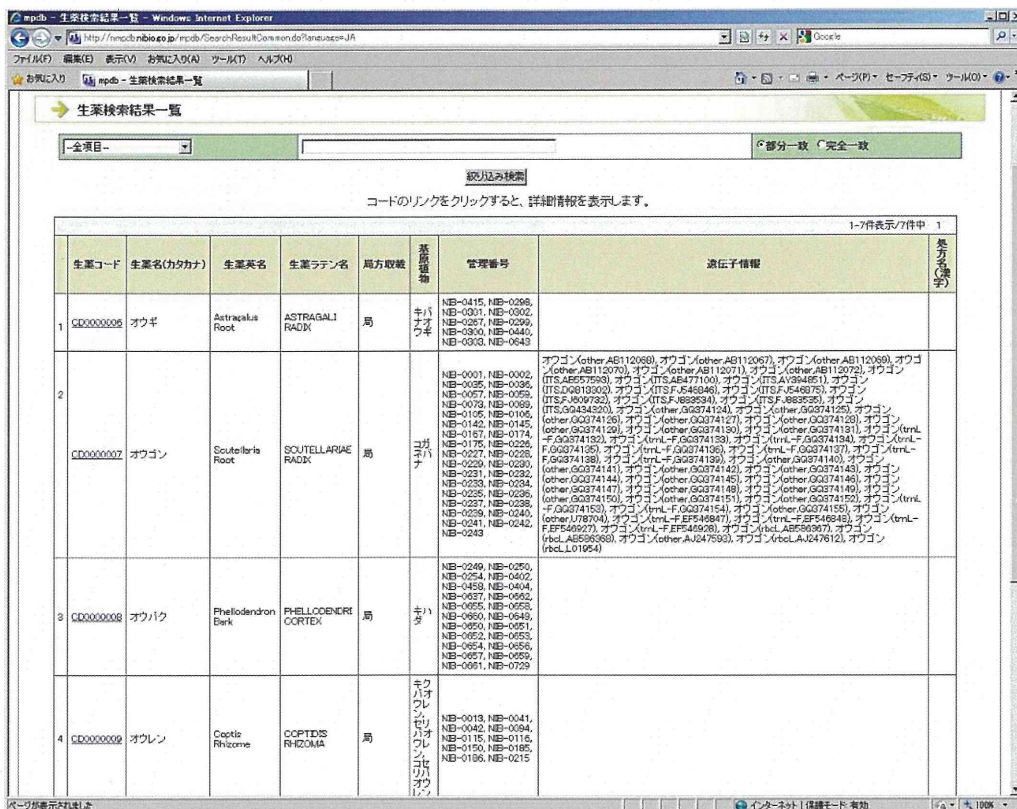


図 31. 生薬検索結果一覧

絞り込み検索機能を追加した。

登録システムで「非公開・医薬基盤研内公開」に設定されているデータは表示されない。

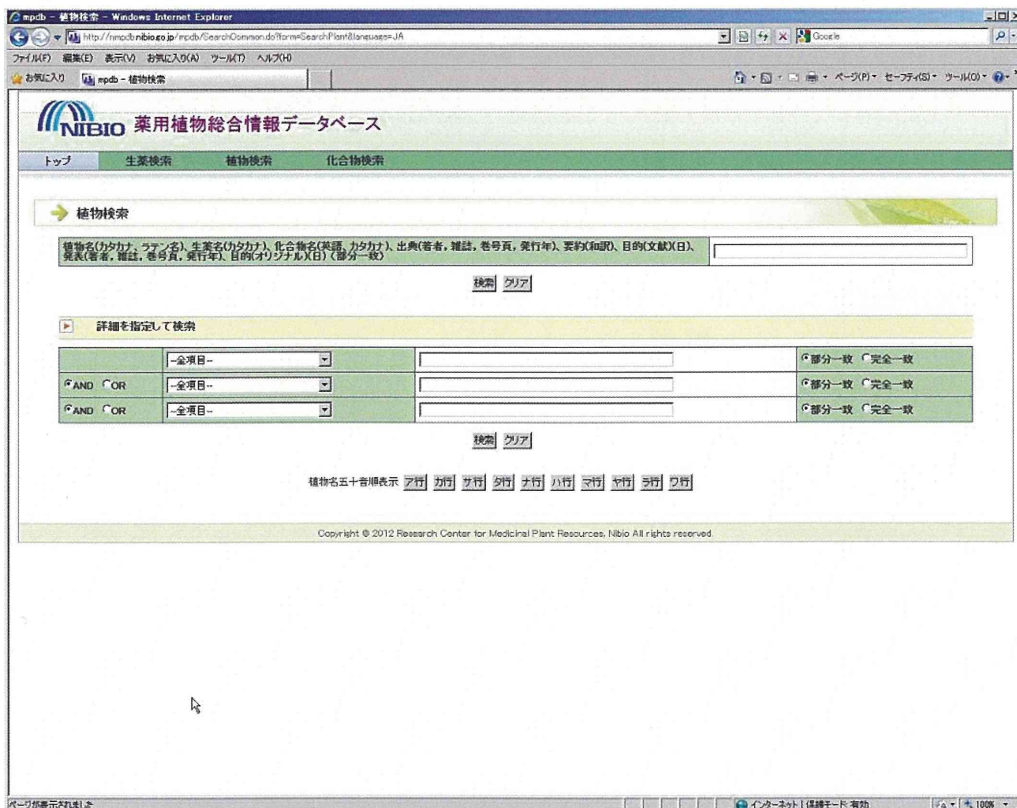


図 32. 日本語版植物検索画面

完全一致/部分一致検索、および AND/OR による複数キーワード検索機能を追加した。

検索対象項目に植物以外の関連する各種カテゴリデータも追加した。

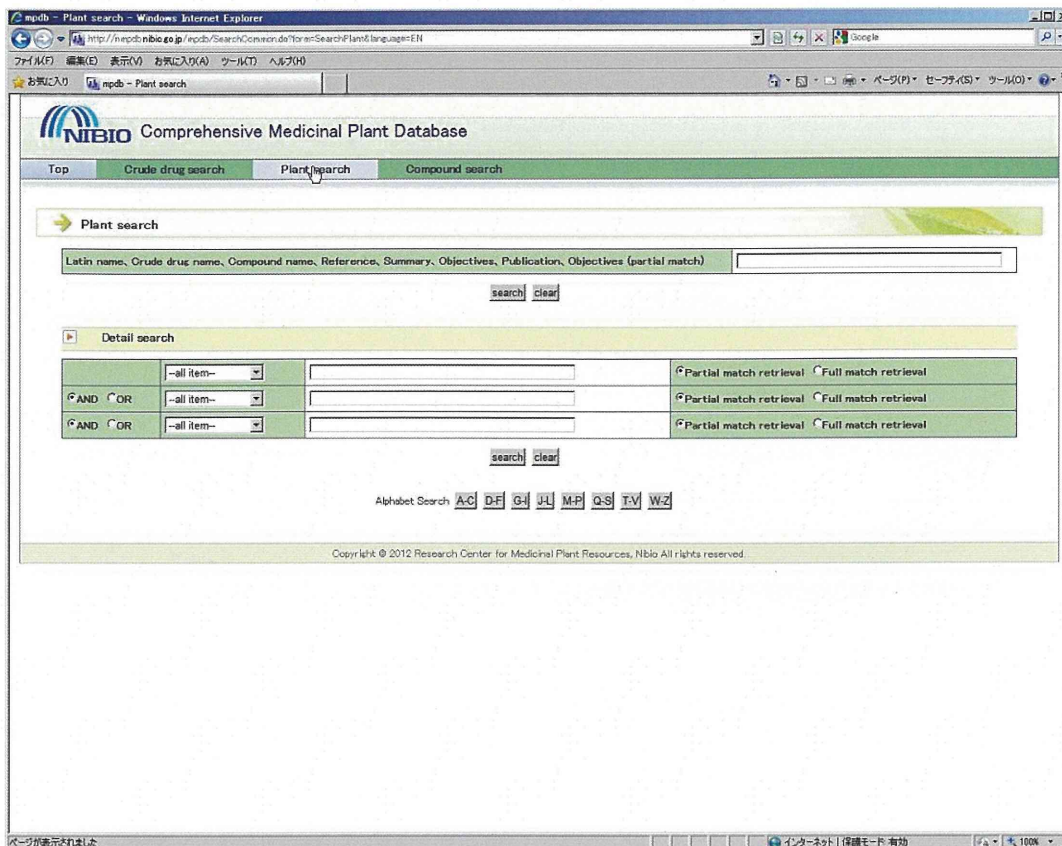


図 33. 英語版植物検索画面



図 34. 植物検索結果一覧

絞り込み検索機能を追加した。

登録システムで「非公開・医薬基盤研内公開」に設定されているデータは表示されない。

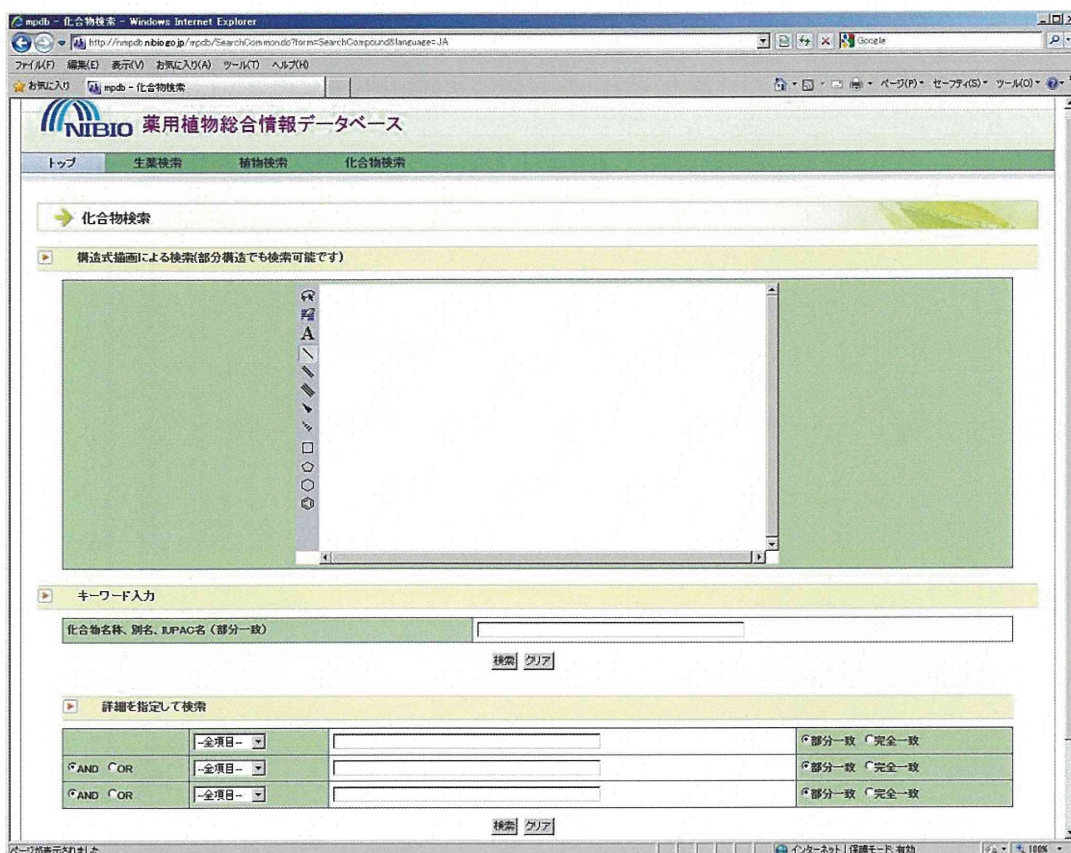


図 35. 日本語版化合物検索画面

ChemDraw で描画した構造を Copy & Paste で描画エディタに反映する機能を追加した。

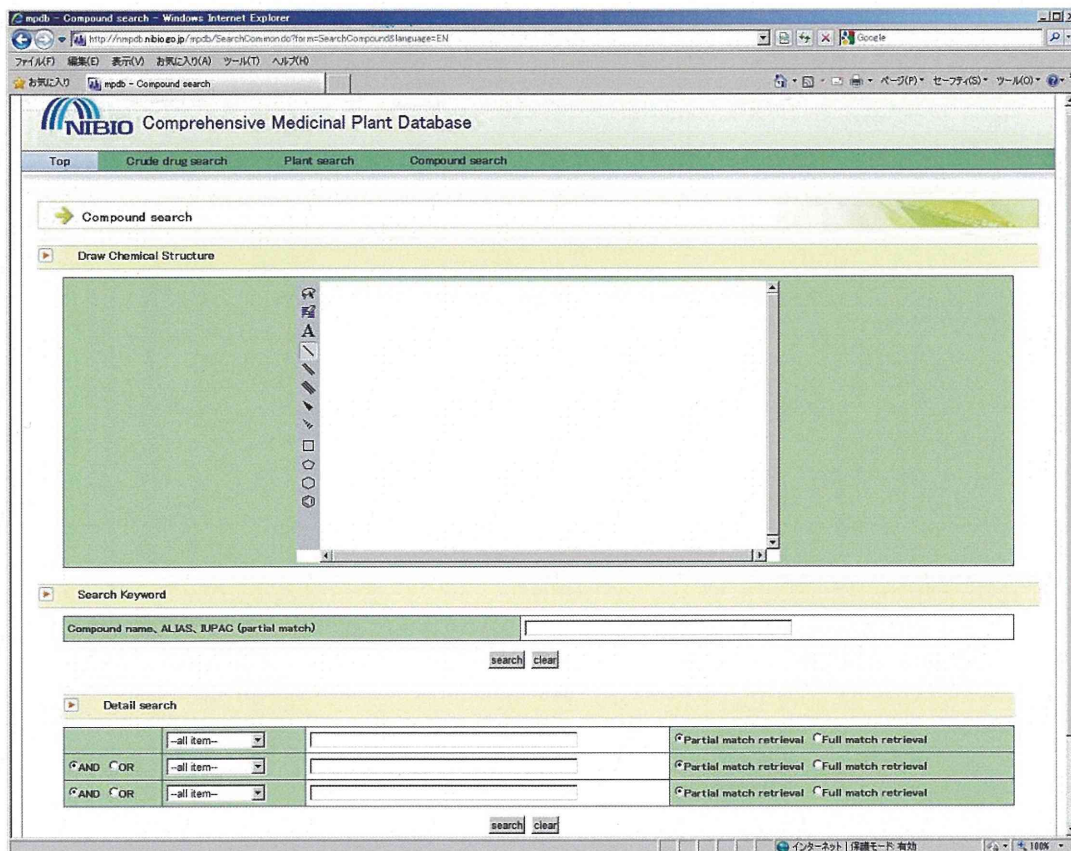


図 36. 英語版化合物検索画面

薬用植物総合情報データベース

化合物検索結果一覧

検索条件: 全項目一致

コードのリンクをクリックすると、詳細情報を表示します。

化合物コード	構造式	名称	別名
1		baicalin(バイカリン)	Baicalin 7-galacturonide, 5,6-Dihydroxy-4-oxo-2-phenyl-4H-1-benzopyran-7-yl beta-D-Galactopyranosiduronic Acid
2		wogonin(ワゴニン)	5,7-Dihydroxy-8-methoxyflavone, wogonin
3		baicalein(バイカレイン)	Baicalein, 5,6,7-Trihydroxy-2-phenyl-4H-1-benzopyran-4-one
4		Licochalcone A(リコカルコン A)	3-[5-(1,1-Dimethyl-2-propenyl)-4-hydroxy-2-methoxyphenyl]-1-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-one, 9-O-[5-(1,1-Dimethyl-2-propenyl)-4-hydroxy-2-methoxychalcone]
5		Licochalcone B(リコカルコン B)	3-(3,4-Dihydroxy-2-methoxyphenyl)-1-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-one, 3,4,4'-Trihydroxy-2-methoxychalcone

図 37. 化合物検索結果一覧

登録システムで「非公開・医薬基盤研内公開」に設定されているデータは表示されない。

生薬詳細

生薬コード	CD0000007
生薬名(カタカナ)	オウゴン
生薬英名	Scutellaria Root
生薬ラテン名	SCUTELLARIAE RADIX
生薬和名	黄芩
基原植物	Scutellaria baicalensis Georg. (「ガゼ」)
部位	周皮を削いた根
局方取壊	局
食薬区分	
生薬成分	主: baicalin:10~20%, baicalein, wogonin
性状	円すい状、半茎または平根状で、長さ20cm、直径5~2cmである。外面は黄褐色を呈し、根維管環が認められる。断面は黄褐色を呈し、維管環が認められる。根は硬く、折断面は黄白色を呈する。根は硬く、折断面は黄白色を呈する。根は硬く、折断面は黄白色を呈する。根は硬く、折断面は黄白色を呈する。
用途	消炎、解熱、鎮痛、止咳
調製法	2年目の秋の地上部を剪取り、土を削り取り、根を揃え、乾燥させる。乾燥させた根は、水洗後、竹や金網製たわし(砂目は粗目)で表面を洗淨し、50~60℃で乾燥させる。乾燥した根は黄白色を呈する。根は硬く、折断面は黄白色を呈する。根は硬く、折断面は黄白色を呈する。根は硬く、折断面は黄白色を呈する。
エキス取率	
文献情報	
処方	黄連解毒湯、小柴胡湯、大柴胡湯、柴胡桂枝湯、三黄泻心湯、乙字湯
モデル試験(39件)	
遺伝子情報	オウゴン(Other AB112069), オウゴン(Other AB112067), オウゴン(Other AB112069), オウゴン(Other AB112070), オウゴン(Other AB112071), オウゴン(Other AB112072), オウゴン(Other AB112073), オウゴン(Other AB112074), オウゴン(Other AB112075), オウゴン(Other AB112076), オウゴン(Other AB112077), オウゴン(Other AB112078), オウゴン(Other AB112079), オウゴン(Other AB112080), オウゴン(Other AB112081), オウゴン(Other AB112082), オウゴン(Other AB112083), オウゴン(Other AB112084), オウゴン(Other AB112085), オウゴン(Other AB112086), オウゴン(Other AB112087), オウゴン(Other AB112088), オウゴン(Other AB112089), オウゴン(Other AB112090), オウゴン(Other AB112091), オウゴン(Other AB112092), オウゴン(Other AB112093), オウゴン(Other AB112094), オウゴン(Other AB112095), オウゴン(Other AB112096), オウゴン(Other AB112097), オウゴン(Other AB112098), オウゴン(Other AB112099), オウゴン(Other AB112100), オウゴン(Other AB112101), オウゴン(Other AB112102), オウゴン(Other AB112103), オウゴン(Other AB112104), オウゴン(Other AB112105), オウゴン(Other AB112106), オウゴン(Other AB112107), オウゴン(Other AB112108), オウゴン(Other AB112109), オウゴン(Other AB112110), オウゴン(Other AB112111), オウゴン(Other AB112112), オウゴン(Other AB112113), オウゴン(Other AB112114), オウゴン(Other AB112115), オウゴン(Other AB112116), オウゴン(Other AB112117), オウゴン(Other AB112118), オウゴン(Other AB112119), オウゴン(Other AB112120), オウゴン(Other AB112121), オウゴン(Other AB112122), オウゴン(Other AB112123), オウゴン(Other AB112124), オウゴン(Other AB112125), オウゴン(Other AB112126), オウゴン(Other AB112127), オウゴン(Other AB112128), オウゴン(Other AB112129), オウゴン(Other AB112130), オウゴン(Other AB112131), オウゴン(Other AB112132), オウゴン(Other AB112133), オウゴン(Other AB112134), オウゴン(Other AB112135), オウゴン(Other AB112136), オウゴン(Other AB112137), オウゴン(Other AB112138), オウゴン(Other AB112139), オウゴン(Other AB112140), オウゴン(Other AB112141), オウゴン(Other AB112142), オウゴン(Other AB112143), オウゴン(Other AB112144), オウゴン(Other AB112145), オウゴン(Other AB112146), オウゴン(Other AB112147), オウゴン(Other AB112148), オウゴン(Other AB112149), オウゴン(Other AB112150), オウゴン(Other AB112151), オウゴン(Other AB112152), オウゴン(Other AB112153), オウゴン(Other AB112154), オウゴン(Other AB112155), オウゴン(Other AB112156), オウゴン(Other AB112157), オウゴン(Other AB112158), オウゴン(Other AB112159), オウゴン(Other AB112160), オウゴン(Other AB112161), オウゴン(Other AB112162), オウゴン(Other AB112163), オウゴン(Other AB112164), オウゴン(Other AB112165), オウゴン(Other AB112166), オウゴン(Other AB112167), オウゴン(Other AB112168), オウゴン(Other AB112169), オウゴン(Other AB112170), オウゴン(Other AB112171), オウゴン(Other AB112172), オウゴン(Other AB112173), オウゴン(Other AB112174), オウゴン(Other AB112175), オウゴン(Other AB112176), オウゴン(Other AB112177), オウゴン(Other AB112178), オウゴン(Other AB112179), オウゴン(Other AB112180), オウゴン(Other AB112181), オウゴン(Other AB112182), オウゴン(Other AB112183), オウゴン(Other AB112184), オウゴン(Other AB112185), オウゴン(Other AB112186), オウゴン(Other AB112187), オウゴン(Other AB112188), オウゴン(Other AB112189), オウゴン(Other AB112190), オウゴン(Other AB112191), オウゴン(Other AB112192), オウゴン(Other AB112193), オウゴン(Other AB112194), オウゴン(Other AB112195), オウゴン(Other AB112196), オウゴン(Other AB112197), オウゴン(Other AB112198), オウゴン(Other AB112199), オウゴン(Other AB112200)
日本薬局方情報	定量法: AS0000001 確認試験法: ED0000001 確認試験法(TLC): ED0000002 乾燥減量: ED0000003 灰分: ED0000004 不溶性灰分: エキス含量: 精油含量: 純度試験: ED0000005
NMR情報	
漢方処方情報	黄連解毒湯
生物活性情報	活性情報(cabai)

図 38. 生薬情報

今年度新たに開発した遺伝子情報、漢方処方情報、生物活性情報へのリンクを追加した。

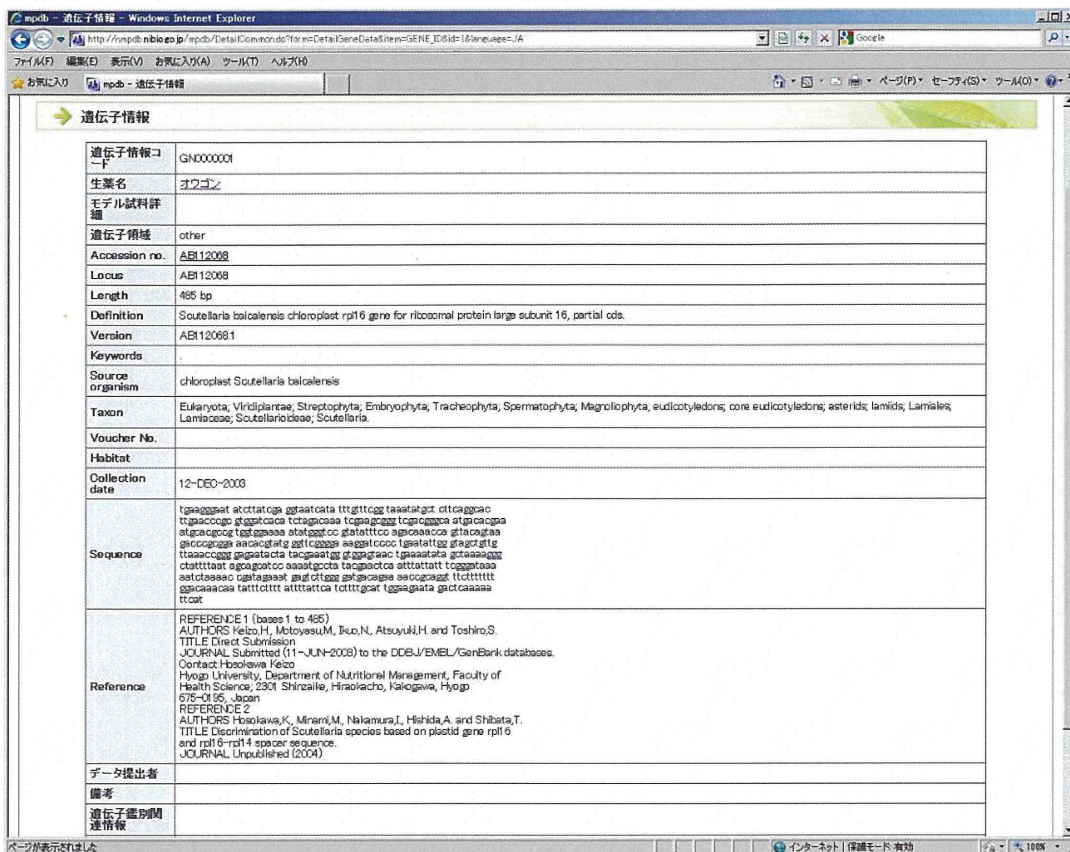


図 39. 遺伝子情報
遺伝子鑑別情報へのリンクがある。

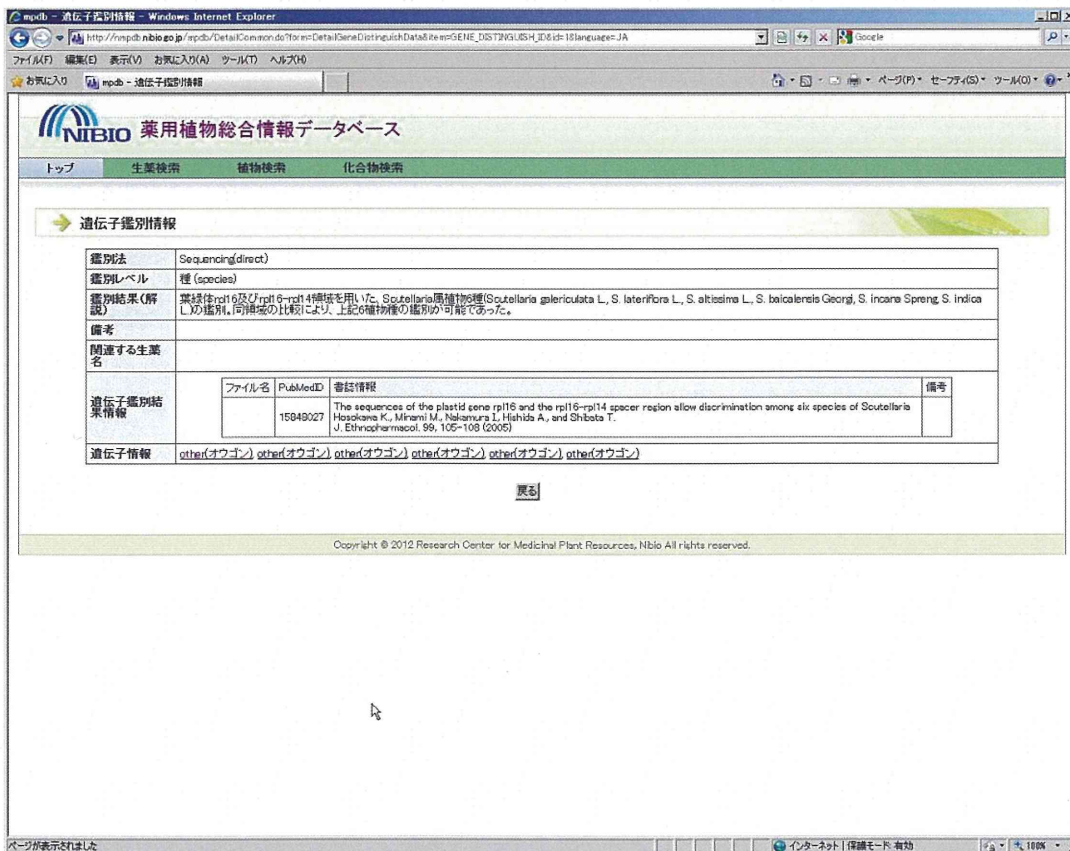


図 40. 遺伝子鑑別情報



図 41. 漢方処方情報

生薬情報、副作用情報へのリンクがある。

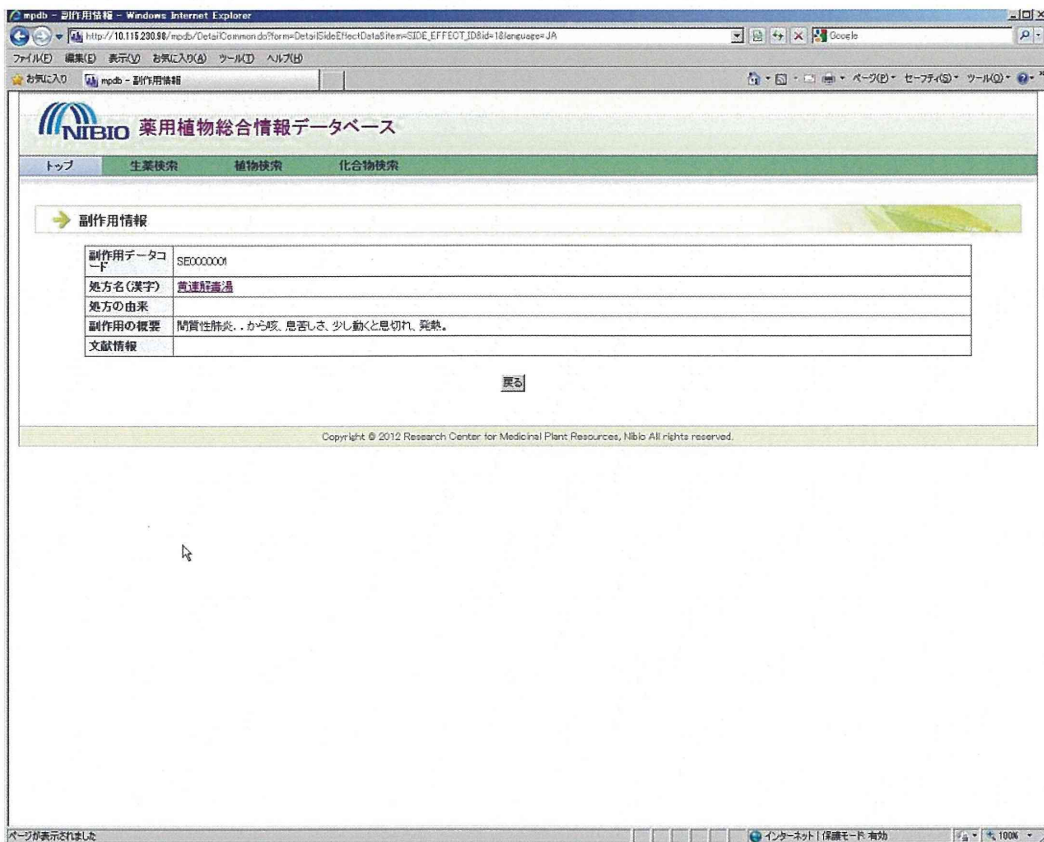


図 42. 副作用情報

Kampo CONSORT Statement ([http:// kconsort.umin.jp/](http://kconsort.umin.jp/)) へのリンクがある。

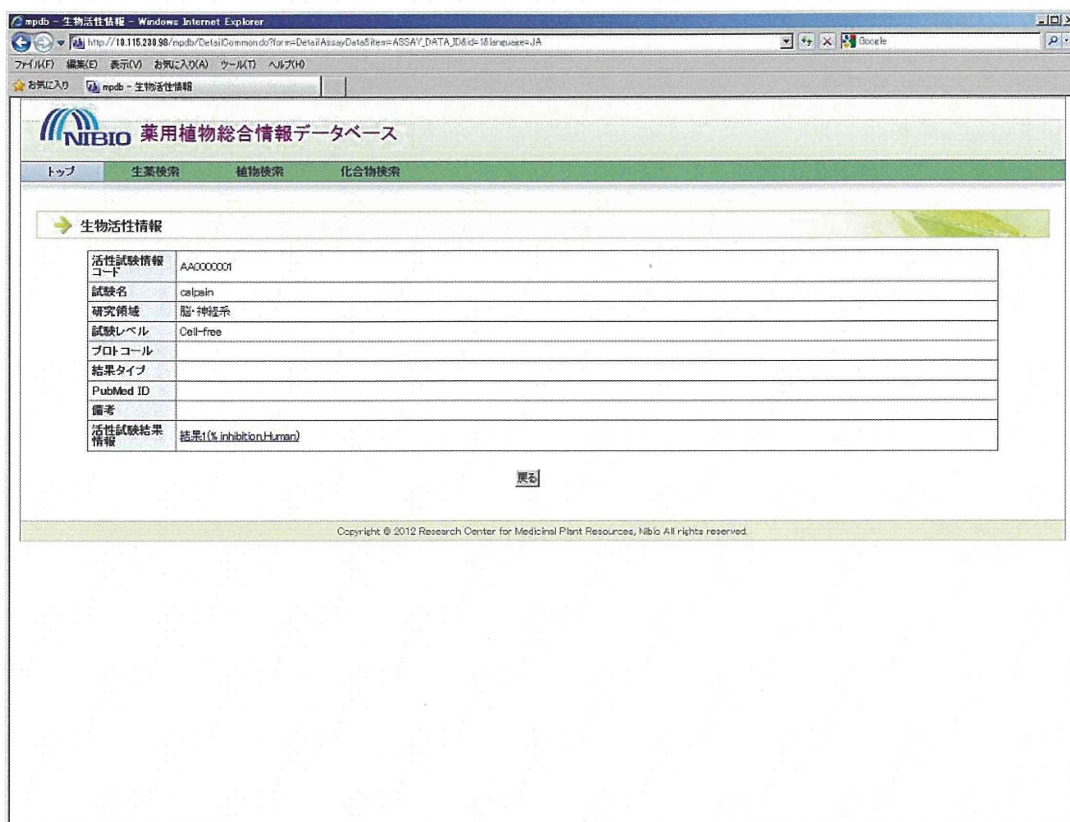


図 43. 生物活性情報
 生物活性結果情報へのリンクがある。

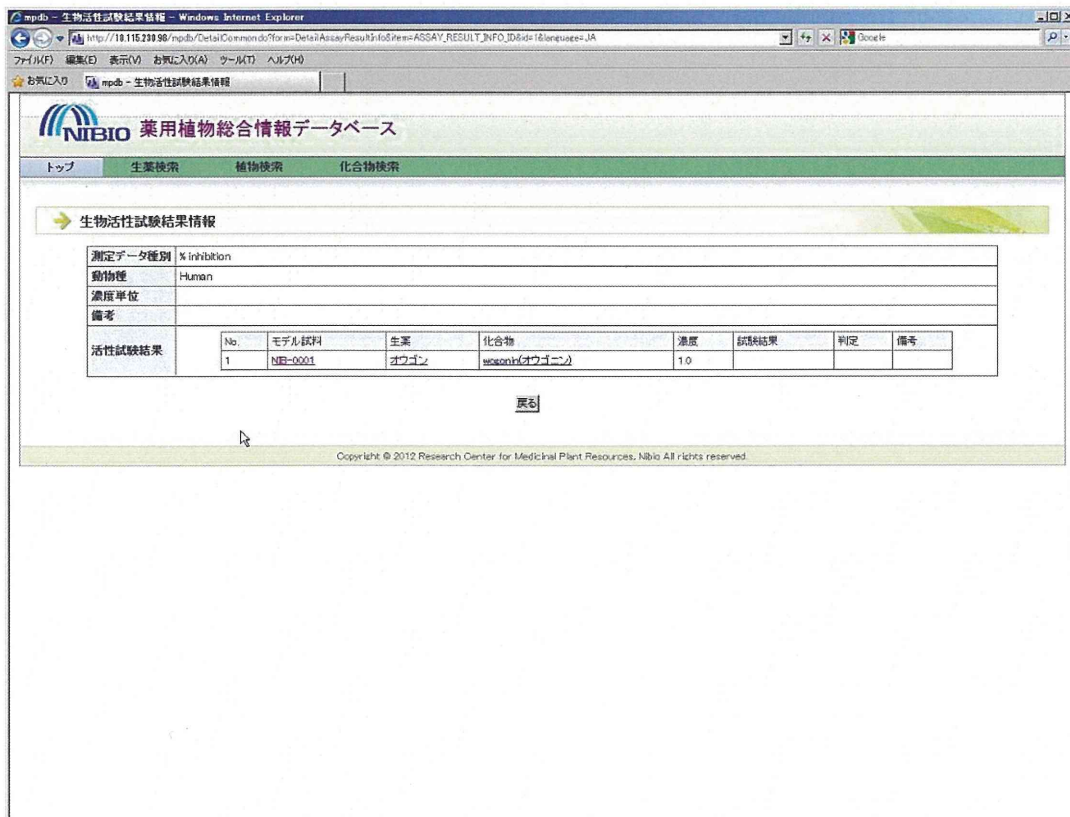


図 44. 生物活性結果情報
 生物活性試験に用いた、生薬情報、モデル試料情報、化合物情報へのリンクがある。



図 45. モデル試料情報

今年度新たに開発した、遺伝子情報、生物活性情報、官能データ(色・味)、内部形態及びさく葉標本情報へのリンクを追加した。



図 46. 植物情報

今年度新たに開発した、組織培養物及び効率的増殖法(文献・オリジナル)、植物体栽培及び植物の効率的生産法情報へのリンクを追加した。



図 47. 植物体栽培及び植物の効率的生産法情報

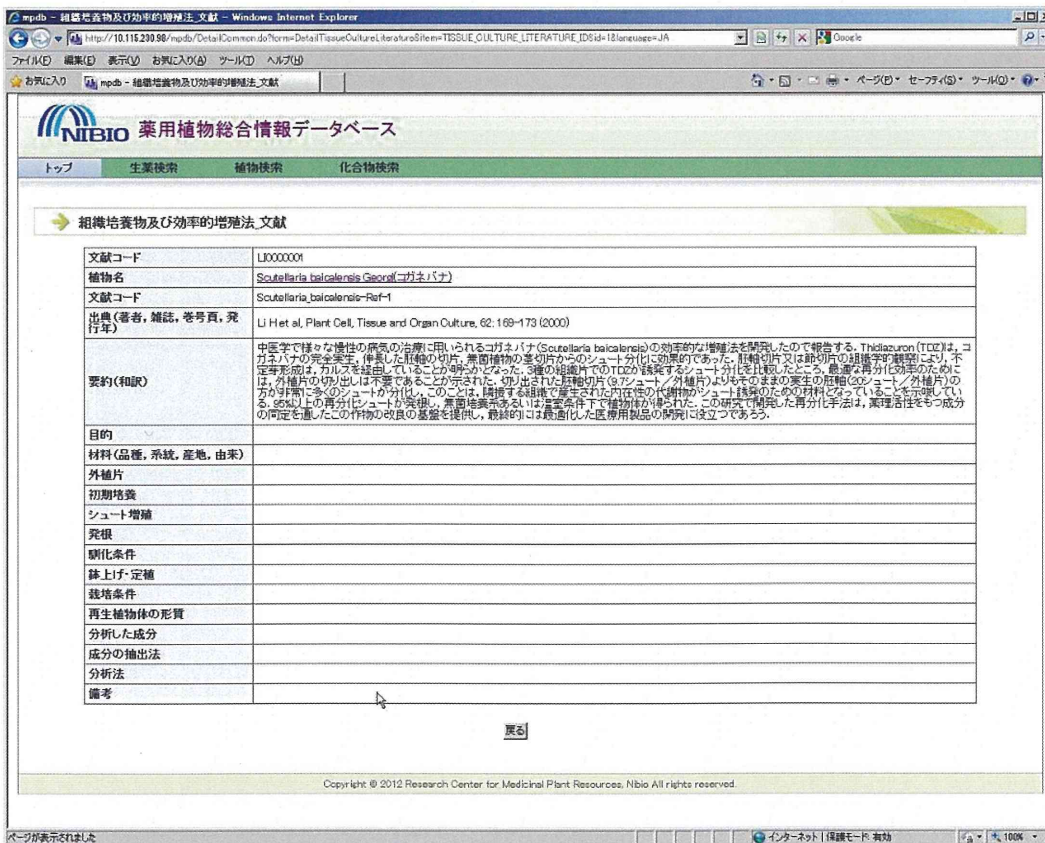


図 48. 組織培養物及び効率的増殖法文献情報

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 漢方薬に用いられる薬用植物の遺伝子情報の整備に関する研究
生薬オウレンの遺伝子情報について

研究分担者 医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター 筑波研究部
主任研究員 河野 徳昭

生薬オウゴンの遺伝子鑑別に関する情報の整備のため、基原植物であるオウレン属植物または生薬オウレンの核 rDNA ITS 領域及び、葉緑体 DNA *rpl16-rpl14* 領域の塩基配列解析を行った。その結果、市場流通オウレン由来の ITS1 領域は、1 検体に 1～数種の配列タイプが存在することが判明し、これらは既に報告されているデータベース登録配列と同一であるものと、新規配列である場合があった。また、同試料由来の葉緑体 DNA *rpl16-rpl14* 領域は、まず国内産系統と中国産系統に分類され、さらに中国系統は *Coptis teeta* を基原とするものと、その他に分類されることが判明した。以上の結果から、上記 2 領域は生薬オウレンの基原植物鑑別に利用できると考えられる。

A. 研究目的

本研究は、「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」の一環として、薬用植物資源の安定供給を志向し、生薬情報の多様性の確認を目的として、生薬及びそれらの基原植物の遺伝子鑑別法に関する情報の収集ならびに、市場流通モデル試料の遺伝子情報の集積により、生薬の遺伝子鑑別に関する情報の整備を行う。

成分情報等生薬に関する多角的な情報とともに遺伝子鑑別法のデータベース化を行うことは、国内に流通する生薬の安全性の確保ならびに品質の向上に貢献するものと期待される。

本報告書では、生薬オウレン及びその基原植物である *Coptis* 属植物の遺伝子鑑別に関する情報について報告する。

B. 研究方法

生薬オウレンの基原植物についての、第十六

改正日本薬局方（平成 23 年 3 月 24 日 厚生労働省告示第 65 号）の記述は下記のとおりである。

「オウレン *Coptis Rhizome* COPTIDIS RHIZOMA 黄連 本品はオウレン *Coptis japonica* Makino, *Coptis chinensis* Franchet, *Coptis deltoidea* C.Y. Cheng et Hsiao 又は *Coptis teeta* Wallich (*Ranunculaceae*) の根をほとんど除いた根茎である。」

生薬オウレン遺伝子鑑別に関する論文情報の収集

PUBMED(www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) または、Google Scholar (scholar.google.co.jp/) で ‘Coptis’、‘Coptidis’、‘genetic’ 等のキーワードで検索を行い、遺伝子鑑別関連の文献を抽出した。

データベース登録遺伝子情報検索

DDBJ で ‘Coptis’ をキーワードに検索を行い、

Coptis 属の主に植物種間識別に関する登録遺伝子情報を抽出した。

供試生薬試料

本研究に供した生薬オウレンの市場流通品モデル試料は表1のとおり。

Coptis 属植物試料

本研究に供した、*Coptis* 属植物体または培養物は下記のとおり。

セリバオウレン (導入番号 3206-91)、キクバオウレン (導入番号 845-87)、*C. chinensis* 植物体、*C. teeta* 植物体、*C. omeiensis* 植物体、Cc (*C. chinensis* 不定胚培養物)、M (ミレン不定胚培養物)、G (ガレン不定胚培養物)、Comp (*Coptis* 属植物不定胚培養物)。

生薬オウレンからのゲノム DNA 調製

市場流通品モデル試料については、「原形」、「刻み」(荒い刻み) 生薬の1片を1検体とした。検体2片を選び、それぞれに[1]、[2]とナンバリングし、それぞれから清拭した剪定鋏で約 20-50 mg を削りとりゲノム DNA 調製用試料とした。

生薬試料約 20-50 mg を直径 4.8 mm のステンレスボールと共に 2 mL スクリューキャップチューブに入れ、液体窒素に 5 分間浸漬したのち、MS-100(TOMY)にセットし 2,500 rpm で 1 分間破砕した。(3,000 rpm では、チューブの破損が頻発した。) 破砕粉末に 1 mL の DNeasy Plant Mini Kit(QIAGEN) AP1 バッファー及び 2 μ L の RNase (キット添付のもの) を加え、以後、キットのプロトコルに準拠しゲノム DNA 調製を行った。最終的にゲノム DNA は 50 μ L の AE バッファーで溶出し、その 1 μ L を PCR に使用した。

植物体または培養物からのゲノム DNA 調製

植物体の葉または、不定胚培養物の約 100 mg を試料とし、500 μ L の DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) AP1 バッファーおよび直径 4.8 mm のステンレスボール 2 個と共に 2 mL スクリューキャップチューブに入れ、MS-100(TOMY)にセットし 3,000 rpm で 1 分間 x 2 回破砕した。破砕液に 2 μ L の RNase (キット添付) を加え、以後、

キットのプロトコルに準拠しゲノム DNA 調製を行った。最終的にゲノム DNA は 100 μ L の AE バッファーで溶出し、その 1 μ L を PCR に使用した。

ITS1 領域の塩基配列情報の取得

予備実験の結果、生薬由来の DNA を鋳型に、ITS1-ITS2 の全領域の PCR 増幅を安定的に行うことは、その長さから困難と考えられた。そこで、ITS1 領域について PCR 増幅を行い、同領域の塩基配列情報を集積することとした。データベース登録配列に拠れば、ITS1 領域は *C. chinensis* と *C. deltoidea* で同一であったが、これらはいずれも生薬オウレンの基原植物であり、同領域での両植物種の識別は本研究の目的とする生薬の基原植物の鑑別にはとくに必須でないものと考えた。

Coptis 属植物の ITS1 領域の PCR 増幅のために、データベースに登録のあった *Coptis* 属 ITS1 領域の塩基配列データ (HQ829628-HQ829634, EF206702, FJ527849-FJ527853, JF423949, EU370101) から新規に ITS2rev プライマーを設計し、使用した。PCR 条件等は下記のとおり。センスプライマーは ITS5 (文献1) を使用した。Primers: ITS5: 5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3'
ITS2rev: 5'-CGT TCT TCA TCG ATG CGA GAG -3'
PCR reaction mixture: KOD-plus 1 μ l, primer sense & antisense (100 pmol) 0.5 μ l each, genome DNA 1 μ l (reaction volume: 50 μ l)
PCR condition: 94°C 2 min. - (94°C 15 sec. - 58°C 30 sec. - 68°C 90 sec.) x 30 - 4°C ∞
Instrument: iCycler (BioRad)

得られた増幅産物はアガロース電気泳動で解析し、単一バンドであることを確認したのちクローニング&シーケンシングに供した。

クローニング&シーケンシングには多検体を高効率に解析処理するため、コロニーダイレクトシーケンシングの手法をとった。PCR 増幅産物を A-attachment mix (Toyobo) で処理し Ligation Kit Ver.2 (Takarabio) で T-vector (Merck) にライゲーションしたのち、*E. coli* DH5 α を形質転換し、LB (Amp50, X-gal) プレート上培養し、コロニーを単離した。1 検体あたり、8~16 コロニー(ク

ローン)をレプリカプレートに植菌し、コロニーダイレクト PCR に供した。PCR の条件は下記のとおり。

Primers: U-19: 5'-GTT TTC CCA GTC ACG ACG T-3'

R-20: 5'-CAG CTA TGA CCA TGA TTA CG-3'

PCR reaction mixture: GoTaq Green Master Mix 12.5µl,

primer sense & antisense (100 pmol) 0.25 µl each,

suspend *E. coli* colony (reaction volume: 25 µl)

PCR condition: 95°C 5 min. - (95°C 30 sec. - 58°C 30 sec. - 72°C 60 sec.) x 30 - 72°C 10 min. - 4°C ∞

Instrument: iCycler (BioRad)

コロニーダイレクト PCR の増幅産物を AGE で確認したのち、8~16 クローンについて、ExoSAP- I T (GE Healthcare)で処理し、U-19 プライマーを用い、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (ABI)でシーケンシングサイクル反応を行った。塩基配列解析には ABI PRISM 3130-Avant DNA sequencer、80 cm キャピラリー、POP-7 ポリマー(ABI)を用い、データ解析には DNASIS-Mac v3.7 (Hitachi Software)、Finch TV (Geospiza Inc.)を使用した。

Rpl16-rpl14 領域の塩基配列情報の取得

Rpl16-rpl14の増幅方法は文献5に準拠したが、PCR 酵素には正確性の高い pfu 酵素 KOD-plus (Toyobo) を使用し、アニール温度 58°C に、サイクル回数 30 回に変更した。なお、増幅の不良の試料については、サイクル回数を 35 回に変更した。

PCR による rpl16-rpl14 領域の増幅には文献 5 記載のプライマーセットを使用した。

Primers: A-primer: 5'-AAA GAT CTA GAT TTC GTA AAC AAC ATA GAG GAA GAA-3'

B-primer: 5'-ATC TGC AGC ATT TAA AAG GGT CTG AGG TTG AAT CAT-3'

PCR reaction mixture: KOD-plus 1µl, primer sense & antisense (100 pmol) 0.5 µl each,

genome DNA 1 µl (reaction volume: 50 µl)

PCR condition: 94°C 2 min. - (94°C 15 sec. - 58°C 30 sec. - 68°C 90 sec.) x 30 - 4°C ∞

Instrument: iCycler (BioRad)

得られた増幅産物はアガロース電気泳動で

解析し、単一バンドであることを確認したものについてダイレクトシーケンシングに供した。

ダイレクトシーケンシング

PCR 産物を ExoSAP-IT で処理し、その 5 µl をシーケンシング反応に供した。DNA シーケンシング反応は、プライマーに PCR 増幅に使用した A または B-primer を用い、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (ABI)で行った。塩基配列解析は上記 クローニング&シーケンシングと同様に行った。

C. 研究結果

文献・データベース調査結果

生薬の遺伝子鑑別全般 (文献 1-5) 及びオウレンの遺伝子鑑別 (文献 6-8) に関連する情報は文献の項に記した。

遺伝情報検索結果

DDBJ において登録配列を検索し、遺伝子鑑別関連の登録データを抽出したものを図 1 にまとめた。2011 年 10 月時点で、*Coptis* 属関連の遺伝子情報は 342 件登録されており、そのうちゲノム DNA の情報は 198 件であった。ゲノム DNA 情報の植物種別の内訳は、*C. chinensis* が 43 件と最も多く、次いで *C. deltoidea* 及び *C. omeiensis* がそれぞれ 31 件、*C. teeta* が 21 件、*C. japonica* は 11 であった。また、遺伝子領域別では、*psbA-trnH* 領域が 39 件で最も多く、*rbcL* が 35 件、ITS が 26 件、*trnL-trnF* が 23 件の順であった。なお、*rpl16-rpl14* 領域については登録がなかった。

市場流通品モデル試料の ITS1 領域の塩基配列情報収集

10 種のモデル試料より調製したゲノム DNA 各 2 サンプル合計 20 サンプルおよび、*Coptis* 属植物、培養物各試料の ITS1 領域の塩基配列の解析結果を表 2 に示す。

これらの試料においては、いずれも 1~数種類の配列タイプが出現し、データベース登録配列と完全一致となり、基原植物種を確定できると考えられる試料は *C. teeta* と推定される #41-2 など、少数であった。しかしながら、配列タイプの出現頻度を勘案すると、その基原植物種は、

C. chinensis または *C. deltoidea* と判断される (両植物種の ITS1 領域は同一配列) ものがほとんどであった。なお、国内産の試料については、ITS1 領域の配列はセリバオウレンまたはキクバオウレンと相同性が高く、*C. japonica* を基原とするものと判断された。

市場流通品モデル試料および *Coptis* 属植物の *rpl16-rpl14* 領域の塩基配列情報収集

10 種のモデル試料より調製したゲノム DNA 各 2 サンプル合計 20 サンプルを鋳型とした *rpl16-rpl14* 領域の PCR 増幅の結果を図 2 (増幅サイクル数: 30 サイクル) および図 3 (同 35 サイクル) に示す。

これらの PCR 産物について塩基配列解析を行い、各試料についてアラインメント解析を行った結果、表 2 に示す変異点の情報が得られた。原因は不明であるが、生薬を試料とした場合、本領域の 3' 領域が解析不明瞭となる場合が多かった。しかしながら、雲南省産の試料 #41 及び日本産の #115、#185 そして、四川省産のうち #215-2 が他のモデル試料と異なる配列パターンを示すことが判明した。

Coptis 属植物由来の同領域の塩基配列は、表 2 のように、*C. chinensis* (2 タイプ)、*C. deltoidea*、*C. teeta*、*C. omeiensis*、そして *C. japonica* とタイプ分離することが明らかになった。今回供試したモデル試料より得られた配列と完全に一致したものは不定胚培養物の M 及び Comp と #215-2 のみであり、他の試料では塩基パターンに類似点はあるものの、完全に一致するものは認められなかった。

D. 考察

表 2 に示すように、ITS1 領域または、*rpl16-rpl14* 領域は、それぞれ生薬オウレンの基原植物鑑別に有用と考えられるが、同領域の情報を使い、総合的に判断することにより、より確度の高い基原植物種鑑別が可能になると考えられる。

rpl16-rpl14 領域については、比較対象とした *Coptis* 属植物または培養物と、モデル試料より得られた配列で完全一致したものは #215-2 の 1 検体のみであった。本領域を使用したモデル試

料の基原植物種の鑑別の確度を向上させるためには、より多種の基準となる *Coptis* 属植物について塩基配列情報の収集を行う必要がある。

また、生薬試料においては 3' 領域が解析不明瞭となる場合が多く、この原因についてさらに検討する必要がある。

E. 結論

生薬オウレンの遺伝子鑑別法について、既存文献情報、遺伝子データベース上に登録されている遺伝子情報を収集した。また、生薬オウレンの市場流通モデル試料 10 検体について、ゲノム DNA を調製し、核リボソーム DNA ITS1 領域および、葉緑体 DNA *rpl16-rpl14* 領域の塩基配列情報を収集・解析した。その結果、市場流通オウレン由来の ITS1 領域は、1 検体に 1~数種の配列タイプが存在することが判明し、これらは既に報告されているデータベース登録配列と同一であるものと、新規配列である場合があった。また、同検体由来の葉緑体 DNA *rpl16-rpl14* 領域は、まず国内産系統と中国産系統に分類され、さらに中国系統は *Coptis teeta* を基原とするものと、その他に分類されることが判明した。なお、局方非収載の *C. omeiensis* 型の配列を有する検体は認められなかった。以上の結果から、上記 2 領域は生薬オウレンの基原植物鑑別に利用できると考えられる。

F. 文献

(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) [RAPD analysis for genetic diversity of medicinal plant *Coptis omeiensis*]. [Article in Chinese] Zhang C, He P, He J, Zhang Y, Qiao Y, Zhang M, Shi Z, Hu S. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* **35**, 138-41 (2010)

(文献 7) [ISSR analysis of genetic diversity of *Coptis deltoidea*]. [Article in Chinese] Zhang C, He P, Hu S, Yuan F, Wang R, Gao S. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* **34**, 3176-9 (2009)

(文献 8) [Genetic diversity of *Coptis chinensis* germplasm based on ISSR analysis]. [Article in Chinese] Chen DX, Li LY, Peng R, Qu XY. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* **31**, 1937-40 (2006)

(文献 9) Genetic variation among wild and cultivated populations of the Chinese medicinal plant *Coptis chinensis* (*Ranunculaceae*). Shi W, Yang CF, Chen JM, Guo YH. *Plant Biol* (Stuttg). **10**, 485-91 (2008)

(文献 10) Permanent genetic resources added to Molecular Ecology Resources Database 1 October 2010-30 November 2010. Molecular Ecology Resources Primer Development Consortium, SourceDepartment of Biology-University of Padova, via U. Bassi 58/b, Padua, Italy. *Mol Ecol Resour.* **11**, 418-21 (2011)

(文献 11) [Chromosome characteristics of three *Coptis* species]. [Article in Chinese] Xiang G, Fu T, Fan Q. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* **35**, 1367-71 (2010)

G 研究発表

1. 学会発表

1-1. 河野徳昭、吉松嘉代、川原信夫、丸山卓郎、合田幸宏、小松かつ子「市場流通生薬の遺伝子情報による安全性・品質確保に関する研究—黄芩—について」日本生薬学会第 58 回年会 (2011.9.24-25, 東京)

1-2. 河野徳昭、丸山卓郎、合田幸広、小松かつ子、吉松嘉代、川原信夫「漢方薬に使用される薬用植物の遺伝子鑑別に関する研究—黄連について—」日本薬学会第 132 年会 (2012.3.28-31, 札幌)

2. 論文発表

無し

H. 知的財産権の出願, 登録状況

無し

I. 健康危険情報

無し

(図表)

表1. 生薬オウレン 市場流通品モデル試料一覧

管理番号	モデル試料提供時形態	産地
NIB-0013	原形	中国四川省
NIB-0041	原形	中国雲南省
NIB-0042	原形	中国重慶市
NIB-0094	原形	中国四川省
NIB-0115	原形	日本
NIB-0116	刻み	中国重慶市
NIB-0150	原形	中国四川省
NIB-0185	原形	日本福井県
NIB-0186	原形	中国四川省
NIB-0215	原形	中国四川省

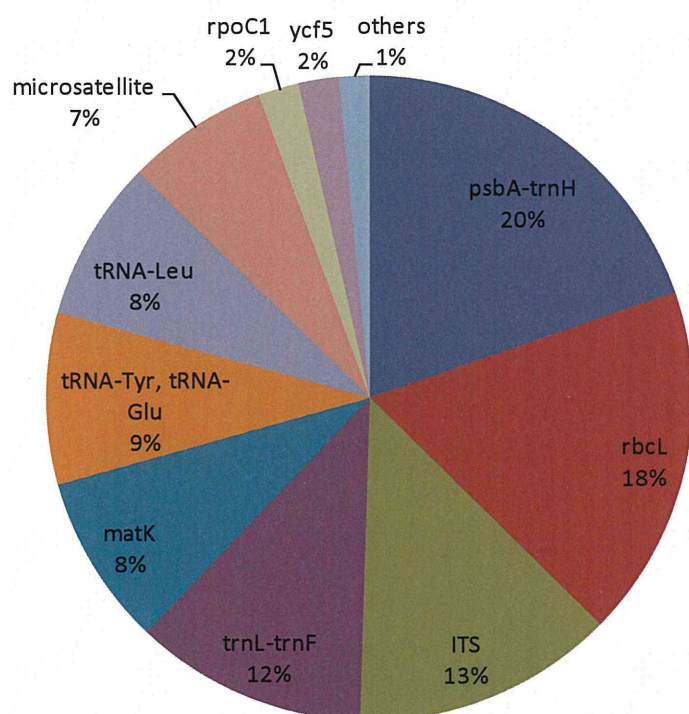
総Hit数: 342 (2011年10月時点)

1. 登録配列種別内訳

Type	Count
genome	198
mRNA	51
patent	93
total	342

2. genome 植物種別内訳

Species	Count
chinensis	43
deltoides	31
omeiensis	31
teeta	21
trifolia	16
japonica	11
quinquefolia	10
quinesecta	5
ramosa	5
trifoliolata	5
laciniata	5
lutescens	5
occidentalis	5
aspleniifolia	5



3. genome 領域別内訳

Region	Count
psbA-tmH	39
rbcL	35
ITS	26
tmL-tmF	23
matK	17
tRNA-Tyr, tRNA-Glu	17
tRNA-Leu	16
microsatellite	14
rpoC1	4
ycf5	4
others	3

図1. 遺伝子情報データベース検索結果

(1. 登録配列種別、2. genome植物種別内訳、3. genome領域別内訳)

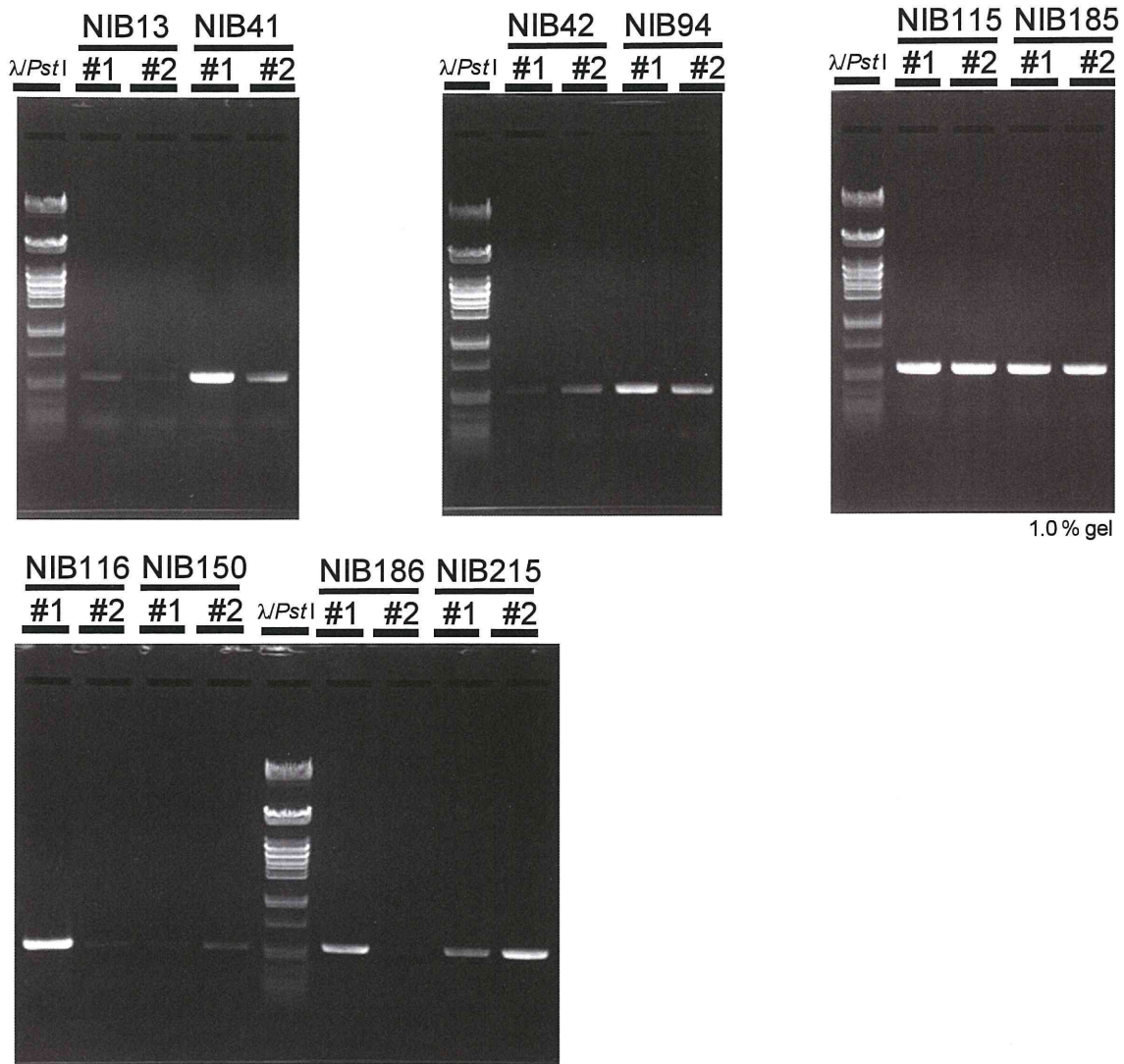


図2. モデル生薬*rpl16-rpl14*領域PCR増幅結果 (30サイクル)

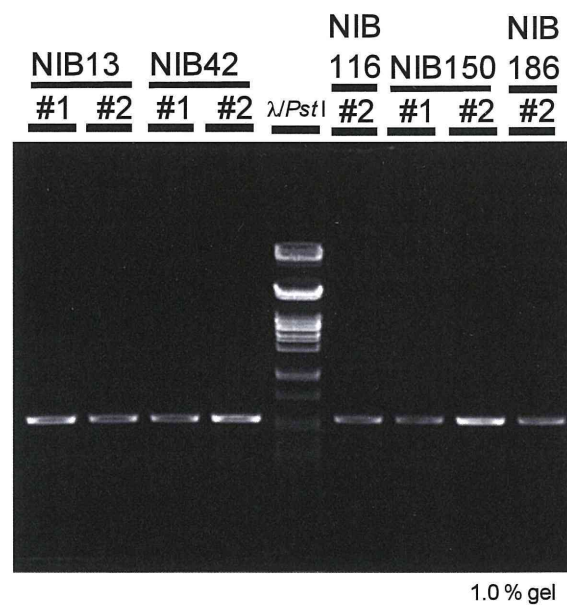


図3. モデル生薬*rpl16-rpl14*領域PCR増幅結果 (35サイクル)

表2. モデル生薬及び*Coptis*属植物*rpl16-rpl14*領域及びITS1領域解析結果

管理番号	試料tag	産地	<i>rpl16-rpl14</i> region										<i>rpl16-rpl14</i> type	distribution of ITS1 clones					
			133	163	239	287	299	312	401	433	434	435		436	Cc/Cd	Ct	Co	Cj	other
NIB-0013	13-1	中国四川省	A	G	C	G	C	T	A	T	T	T	T	<i>C. chinensis</i>	1	6 (3)			
NIB-0013	13-2	中国四川省	A	G	C	G	C	T	A	T	T	T	T	<i>C. chinensis</i>	5				
NIB-0041	41-1	中国雲南省	A	G	T	G	C	C	A	T	T	T	A	<i>C. teeta</i>	2	1			
NIB-0041	41-2	中国雲南省	A	G	T	G	C	C	A	T	T	-	A	<i>C. teeta</i>		6 (1)			
NIB-0042	42-1	中国重慶市	A	G	C	G	C	T	A	T	T	T	T	<i>C. chinensis</i>	4	1 (1)			
NIB-0042	42-2	中国重慶市	A	G	C	G	C	T	A	T	T	T	T	<i>C. chinensis</i>	4				
NIB-0094	94-1	中国四川省	A	G	C	G	C	T	A	T	T	T	T	<i>C. chinensis</i>	6	1 (1)			
NIB-0094	94-2	中国四川省	A	G	C	G	C	T	A	T	T	T	T	<i>C. chinensis</i>	5	3 (3)			
NIB-0115	115-1	日本	A	G	C	A	C	C	A	T	T	-	A	<i>C. japonica</i>				7	
NIB-0115	115-2	日本	A	G	C	A	C	C	A	T	T	-	A	<i>C. japonica</i>				8	
NIB-0185	185-1	日本福井県	A	G	C	G	C	C	A	T	T	-	A	<i>C. japonica</i>				7	
NIB-0185	185-2	日本福井県	A	G	C	A	C	C	A	T	T	-	A	<i>C. japonica</i>				7	
NIB-0116	116-1	中国重慶市	A	G	C	G	C	T	A	T	T	T	T	<i>C. chinensis</i>	7				
NIB-0116	116-2	中国重慶市	A	G	C	G	C	T	A	T	T	T	T	<i>C. chinensis</i>	8				
NIB-0150	150-1	中国四川省	A	G	C	G	C	T	A	T	T	T	T	<i>C. chinensis</i>	2				
NIB-0150	150-2	中国四川省	A	G	C	G	C	T	A	T	T	T	T	<i>C. chinensis</i>	4				
NIB-0186	186-1	中国四川省	A	G	C	G	C	T	A	T	T	T	T	<i>C. chinensis</i>	5	2 (2)			
NIB-0186	186-2	中国四川省	A	G	C	G	C	T	A	T	T	T	T	<i>C. chinensis</i>	7	1 (1)			
NIB-0215	215-1	中国四川省	A	G	C	G	C	T	A	T	T	T	T	<i>C. chinensis</i>	5 (3)	2 (2)	1 (1)		2
NIB-0215	215-2	中国四川省	G	G	C	G	C	T	A	T	T	-	-	<i>C. chinensis</i>	3	2 (2)			1
セリバオウレン (3206-91)			A	A	C	G	C	C	A	T	T	T	A	<i>C. japonica</i>	new sequence data				
キクバオウレン (845-87)			A	A	C	G	C	C	A	T	T	T	A	<i>C. japonica</i>	new sequence data				
<i>C. chinensis</i>			A	G	C	G	C	C	A	-	-	-	A	<i>C. chinensis</i>	10 (10)				
<i>C. teeta</i>			A	G	T	G	C	T	A	T	T	-	A	<i>C. teeta</i>		5 (1)			
<i>C. omeiensis</i>		網室	A	G	C	G	C	C	T	T	-	-	A	<i>C. omeiensis</i>			6		
Cc		培養物	A	G	C	G	C	C	A	-	-	-	A	<i>C. chinensis</i>	5 (5)				
G(0.5/1P)		培養物	A	G	C	G	A	C	A	T	-	-	A	<i>C. deltoidea</i>	5 (5)				
M(MS0.5/1P)		培養物	G	G	C	G	C	T	A	T	T	-	-	<i>C. chinensis</i>	3	1 (1)			
Comp(1/2)		培養物	G	G	C	G	C	T	A	T	T	-	-	<i>C. chinensis</i>	2 (2)	1 (1)			1

・塩基番号は明瞭に解析可能であった塩基を1番目とした。(5'-ATATCTTAT・・・-3'の最初のAを1番目とした)

・ITS1のタイプ別クローン数において()内は、クローンのうち、相同性の低いクローンの数。