

```

      170      180      190      200      210      220      230      240
J1 THS72034 Kouchi TGACTCGTGTGCGGACGGCTGAAAAAGTTGCCCGTTGGTGGCATGCACACACGCGATCAGTGGTGGTTGACAAAAACCATT
J2 THS70940 Ibaraki
C1 AY017394 S. acutum
C1 THS44140 Hubei
C2 THS44141 Hubei
C3 THS74917 Sichuan
----
NIB-0256-Japan
NIB-0403-Japan
NIB-0569-Japan
NIB-0570-Japan
NIB-0571-Japan
NIB-0572-Japan
NIB-0574-Japan
NIB-0575-Japan
NIB-0576-Japan
NIB-0577-Japan
NIB-0578-Japan
NIB-0579-Japan
NIB-0580-Japan
NIB-0581-Japan
NIB-0582-Japan
NIB-0583-Japan
NIB-0584-Japan
NIB-0585-Japan
NIB-0586-Japan
NIB-0587-Japan
NIB-0588-Japan
NIB-0589-Japan
NIB-0590-Japan
NIB-0591-Japan
NIB-0592-Japan
NIB-0593-Japan
NIB-0636-Japan
NIB-0749-Japan
----
NIB-0416-China
NIB-0573-China
----
AY017395 Menispermum dauricum .....T.....

```

```

      250      260      270      280      290      300      310
J1 THS72034 Kouchi CACCGAAATAGGATGACTTGATCGAGTAGTTGCCATCGAGGGTAAATTGAACCCCTTAGCTCATATACCAT
J2 THS70940 Ibaraki .....C.....
C1 AY017394 S. acutum
C1 THS44140 Hubei
C2 THS44141 Hubei
C3 THS74917 Sichuan
----
NIB-0256-Japan .....C.....
NIB-0403-Japan .....C.....
NIB-0569-Japan .....C.....
NIB-0570-Japan .....C.....
NIB-0571-Japan .....C.....
NIB-0572-Japan .....C.....
NIB-0574-Japan .....M.....
NIB-0575-Japan .....C.....
NIB-0576-Japan .....C.....
NIB-0577-Japan .....C.....
NIB-0578-Japan .....C.....
NIB-0579-Japan .....C.....
NIB-0580-Japan .....C.....
NIB-0581-Japan .....M.....
NIB-0582-Japan .....M.....
NIB-0583-Japan .....M.....
NIB-0584-Japan .....M.....
NIB-0585-Japan .....M.....
NIB-0586-Japan .....C.....
NIB-0587-Japan .....C.....
NIB-0588-Japan .....C.....
NIB-0589-Japan .....C.....
NIB-0590-Japan .....M.....
NIB-0591-Japan .....C.....
NIB-0592-Japan .....M.....
NIB-0593-Japan .....M.....
NIB-0636-Japan .....M.....
NIB-0749-Japan .....M.....
----
NIB-0416-China
NIB-0573-China
----
AY017395 Menispermum dauricum .....G.....G...C.....

```

Fig. 10-3 続き

11. バクモンドウ

Table 11-1 本研究に使用した試料

試料 No.	管理番号	名称	形態	産地	等級等	入手年
1	S11101502	?	葉	湖北省	—	2012
2		ヤブラン	新鮮葉	京大	—	2012
3		ジャノヒゲ	新鮮葉	京大	—	2012
4		ジャノヒゲ	葉	日本	—	2011
5		ヤブラン1	葉	日本	—	2011
6		ヤブラン2	葉	日本	—	2011
7	S11081504	?	葉	四川省	—	2012
8	NIB-0263	バクモンドウ	刻み	四川省		
9	NIB-0384	バクモンドウ	生	四川省	94-4344	2011
10	NIB-0385	バクモンドウ	生	四川省	94-00717	2010
11	NIB-0386	バクモンドウ	生	四川省	3級 94-3633	2008
12	NIB-0387	バクモンドウ	生	四川省	2級 94-33841	2007
13	NIB-0388	バクモンドウ	生	四川省	3級 94-33842	2007
14	NIB-0389	バクモンドウ	生	四川省	3級 94-32572	2006
15	NIB-0390	バクモンドウ	生	四川省	2級 94-3141	2006
16	NIB-0391	バクモンドウ	生	四川省	3級 94-31013	2006
17	NIB-0392	バクモンドウ	生	四川省	2級 94-31011	2006
18	NIB-0393	バクモンドウ	生	四川省	3級 94-3039	2006
19	NIB-0394	バクモンドウ	生	四川省	1級 94-19621	2001
20	NIB-0395	バクモンドウ	生	四川省	3級 94-19622	2001
21	NIB-0396	バクモンドウ	生	四川省	2級 94-1820	1999
22	NIB-0397	バクモンドウ	生	四川省	2級 94-1809	1999
23	NIB-0398	バクモンドウ	生	四川省	2級 94-17542	1999
24	NIB-0418	バクモンドウ	原形	四川省	1級	2011
25	NIB-0448	バクモンドウ	生	四川省		2010
26	NIB-0647	バクモンドウ	刻み	四川省		2011
27	NIB-0739	バクモンドウ	(生?)			

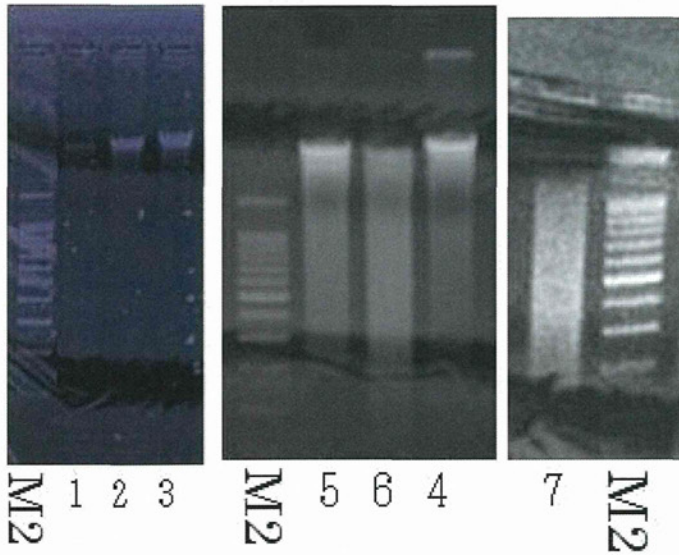


Fig. 11-1 地上部試料からの DNA 抽出結果

それぞれのレーン下の数字は Table 11-1 の試料 No.と対応している. M2 は 200 bp DNA ladder.

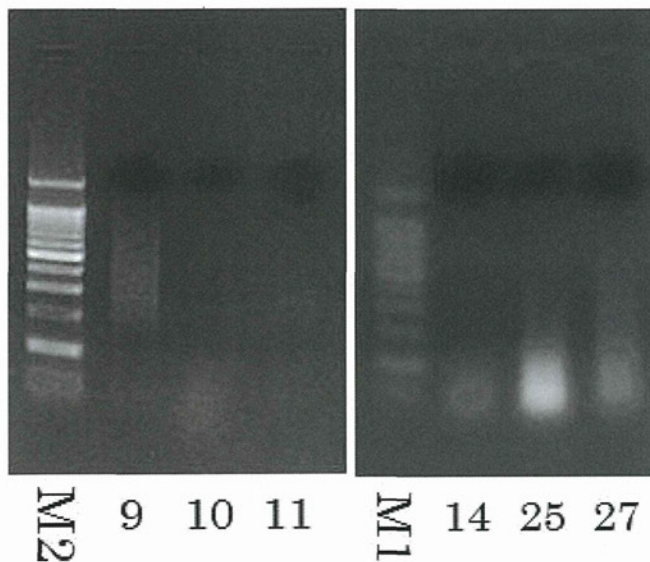
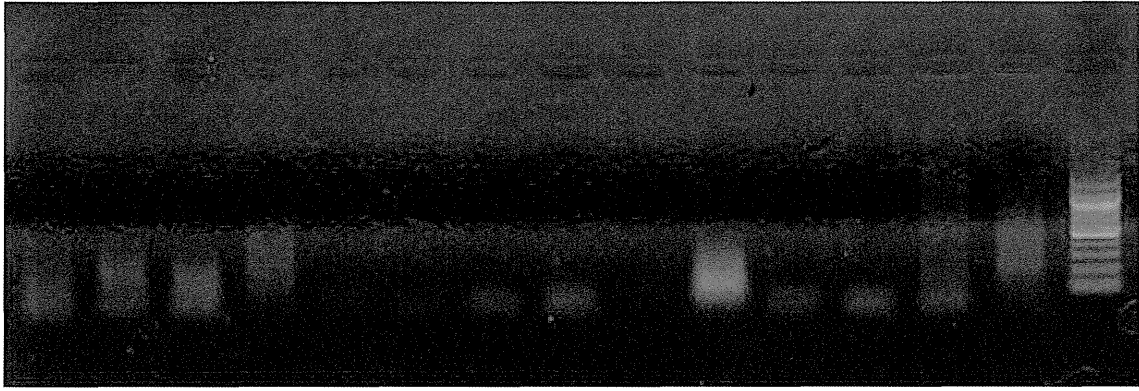


Fig. 11-2-1 生薬試料からの DNA 抽出結果(1)



8 12 13 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 26 M1

Fig. 11-2-2 生薬試料からの DNA 抽出結果(2)

それぞれのレーン下の数字は Table 11-1 の試料 No.と対応している. M1 は 100 bp DNA ladder, M2 は 200bp DNA ladder.

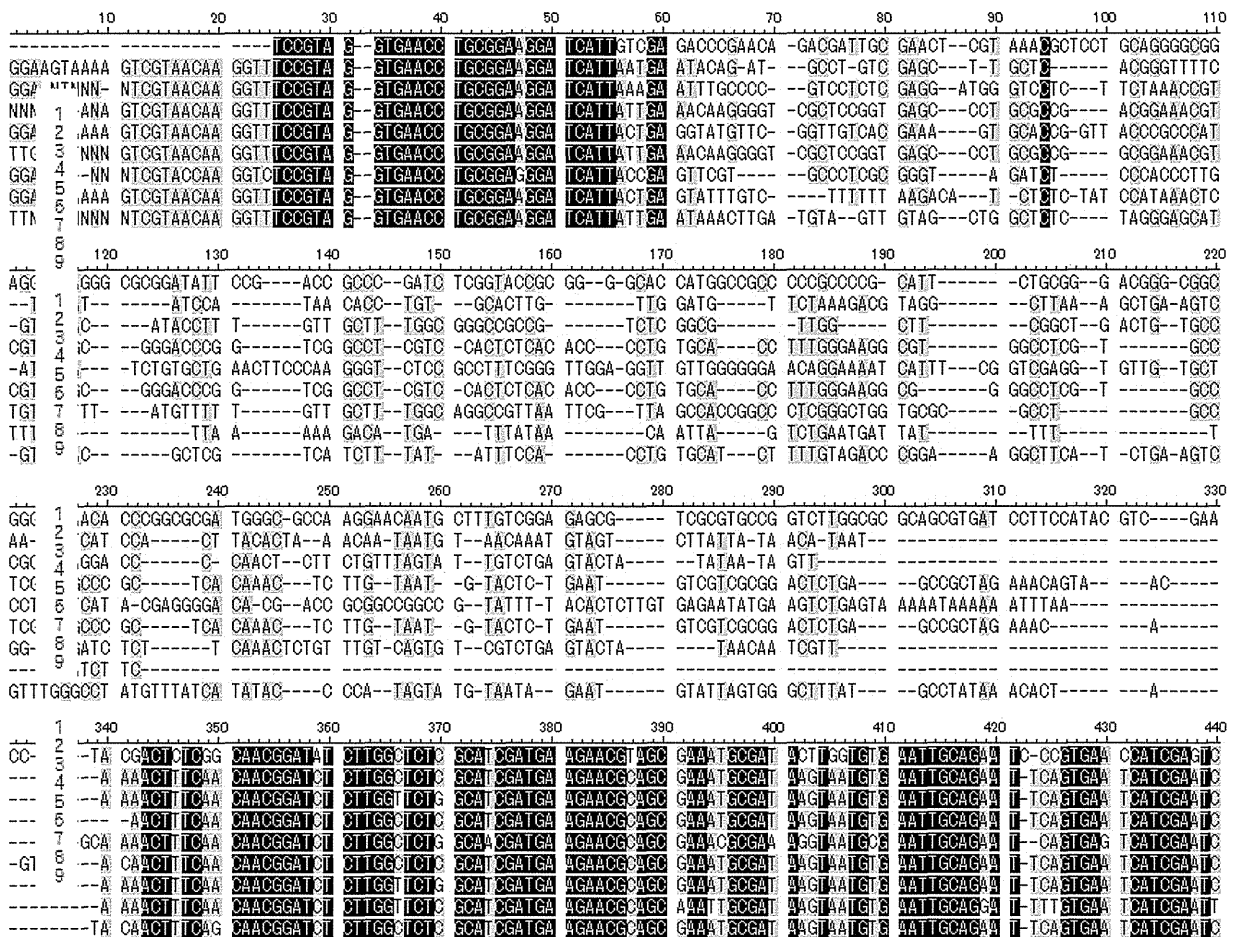


Fig. 11-3 ジャノヒゲ属およびヤブラン属植物の ITS 領域の配列比較の一部

1, 3, 4, 5, 6 はジャノヒゲ属植物由来, 2, 7, 8, 9 はヤブラン属植物由来の配列.

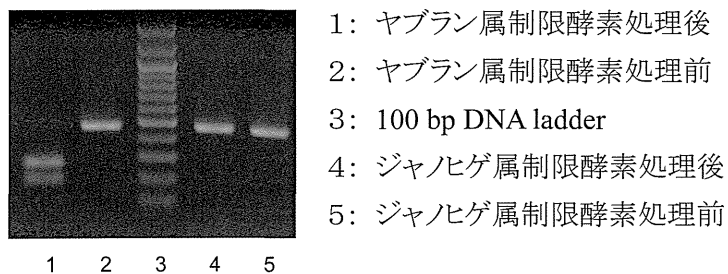


Fig. 11-4 ヤブラン属およびジャノヒゲ属植物由来 DNA を用いた PCR-RFLP 分析結果の典型例

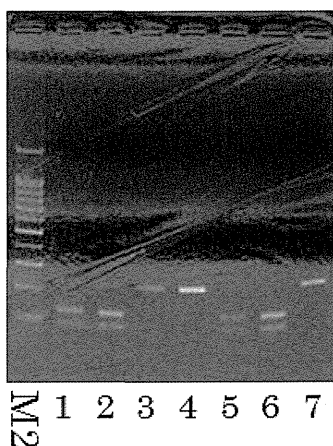


Fig. 11-5 新鮮葉試料を用いた PCR-RFLP の結果。各レーンの番号は Table 11-1 に同じ。

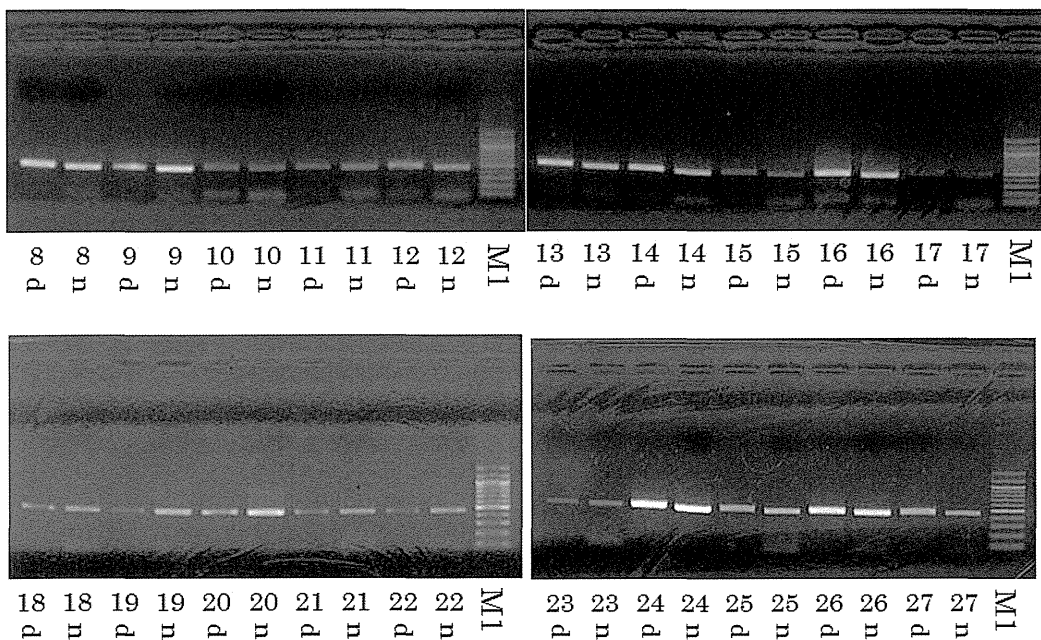
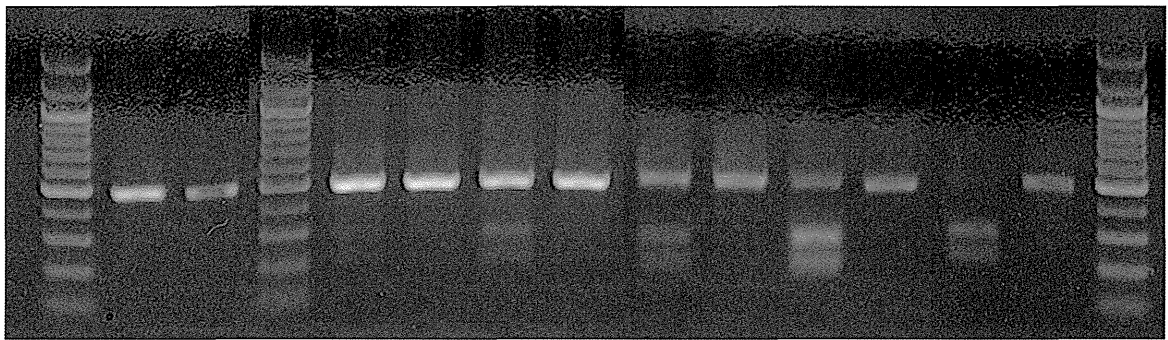


Fig. 11-6 生薬試料について PCR-RFLP 法を行った結果

各レーンの試料番号は Table 11-1 に同じ。試料番号の後ろに d があるレーンは制限酵素処理後のもの、n があるレーンは同酵素処理前のもの。

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

- | | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1: 100bp DNA ladder | 9: ヤブラン属 50%混合 <i>Hinc</i> II digest |
| 2: ヤブラン属 1%混合 <i>Hinc</i> II digest | 10: ヤブラン属 50%混合 non digest |
| 3: ヤブラン属 1%混合 non digest | 11: ヤブラン属 90%混合 <i>Hinc</i> II digest |
| 4: 100bp DNA ladder | 12: ヤブラン属 90%混合 non digest |
| 5: ヤブラン属 10%混合 <i>Hinc</i> II digest | 13: ヤブラン属 99%混合 <i>Hinc</i> II digest |
| 6: ヤブラン属 10%混合 non digest | 14: ヤブラン属 99%混合 non digest |
| 7: ヤブラン属 30%混合 <i>Hinc</i> II digest | 15: 100bp DNA ladder |
| 8: ヤブラン属 30%混合 non digest | |

Fig. 11-7 ジャノヒゲ属(*Ophiopogon* 属)粉末に、ヤブラン属(*Liliope* 属)粉末を1~99%添加した混合試料を用いた場合の実験結果

平成24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

研究分担課題：植物組織培養情報に関する研究
－組織培養物及び効率的増殖法に関する情報－

研究分担者 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 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター 乾 貴幸
研究協力者 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター 河野徳昭
研究協力者 神奈川工科大学大学院工学研究科 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、最優先のデータ取得必須の第1コア生薬5品目（甘草、生姜、人参、蒼朮、黄芩）、優先のデータ取得必須の第2コア生薬15品目（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、続いてデータ取得を行う第一優先生薬25品目（牡丹皮、桃仁、黄耆、細辛、防風、半夏、大枣、五味子、沢瀉、麦門冬、釣藤鉤、山茱萸、遠志、呉茱萸、杏仁、知母、葛根、桔梗、山藥、防己、山椒、黄柏、陳皮、厚朴、木通）、第二優先生薬30品目（阿膠、荊芥、乾姜、附子、紅参、辛夷、芒硝、石膏、竜骨、牡蛎、猪苓、滑石、粳米、枳実、麦芽、竜眼肉、樸椒、麻子仁、独活、威靈仙、酸棗仁、白芷、薄荷、升麻、竜胆、羌活、天麻、木香、連翹、菊花）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、昨年度に引き続き、第1コア、第2コア、第1優先及び第2優先生薬基原植物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植物について、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、効率的増殖法及び植物体再生条件の検討を行った。

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ている。日本漢方生薬製剤協会の漢方薬処方実態調査2011¹⁾によると、日常診療の中で漢方薬を処方する医師はでは全体の89%に上り、今後も漢方薬の需要は増加するものと思われる。また、同協会による漢方製剤等（漢

方製剤、生薬、その他の生薬及び漢方処方に基づく医薬品）の生産動態²⁾によると2011年の漢方製剤等生産金額は1,422億円であるが、2015年には2000億円を超えると予想されている³⁾。

しかしその原料生薬の供給は約90%が海外に、特に中国に依存しており、その多くは野生植物の採取によるものである⁴⁾。従って、生薬の原料となる薬用植物資源の減少が著しく、また、主生産

国である中国の近年の急激な経済成長に伴う、中国での物価や人件費上昇、中国国内での生薬の需要増加、外国での生薬の需要増加、中国での採取・輸出規制の影響により、生薬供給価格が高騰している。現に中国から直接輸入している生薬の使用上位30品目の2010年の価格は、2006年の約1.6倍である⁵⁾。

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(図1)。

B. 研究方法

1) 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、第2コア、第1優先及び第2優先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。

3) 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植物について、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) 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 glabra* (甘草)、*Glycyrrhiza uralensis* (甘草)、*Zingiber officinale* (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、*Coptis japonica* (黄連)、*Coptis chinensis* (黄連)、*Coptis teeta* (黄連)、*Atractylodes japonica* (白朮)、*Atractylodes ovata* (白朮)、*Cinnamomum cassia* (桂皮)、*Gardenia jasminoides* (山梔子)、*Paeonia lactiflora* (芍薬)、*Plantago asiatica* (車前子)、*Perilla frutescens* (蘇葉)、*Angelica acutiloba* (当帰)、*Achyranthes fauriei* (牛膝)、*Achyranthes bidentata* (牛膝)、*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(表1、表4、表5)。

また、第1優先生薬基原植物のうち、*Alisma orientale* (沢瀉)、*Ophiopogon japonicus* (麦門冬)、*Uncaria rhynchophylla* (釣藤鉤・釣藤鉤)、*Polygala tenuifolia* (遠志)、*Prunus armeniaca* (杏仁)、*Pueraria lobata* (葛根)、*Dioscorea japonica* (山薬)、*Dioscorea batatas* (山薬)、*Aconitum carmichaeli* (附子)、*Phellodendron amurense* (黄柏)、*Citrus unshiu* (陳皮)、*Magnolia obovata* (厚朴)、*Akebia quinata* (木通)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(表2、表3、表6)。

さらに、第2優先生薬基原植物のうち、*Quercus acutissima* (樸櫨)、*Cannabis sativa* (麻子仁)、*Aralia cordata* (独活)、*Zizyphus jujuba* Miller var. *spinosa* Hu ex H.F.Chou (酸棗仁)、*Mentha arvensis* (薄荷)、*Gentiana scabra* (竜胆)、*Gentiana triflora* (竜胆)、*Gastrodia elata* (天麻)、*Saussurea lappa* (木香)、*Forsythia suspense* (連翹)、*Chrysanthemum morifolium* (菊花)、*Chrysanthemum indicum* (菊花)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(表3、表7)。

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

第1 コア及び第2 コア生薬基原植物についてのオリジナルデータ取得状況を表8に、オリジナルデータの例を図2-5に示した。

第1 コア生薬基原植物については、少なくとも1種について培養植物体までのオリジナルデータ取得が完了した。

第2 コア生薬基原植物については、高等植物由来生薬14種のうち、10種の生薬の基原植物について、少なくとも1植物種の培養植物体までのオリジナルデータ取得が完了し、引き続き残りの植物及び第1優先、第2優先生薬基原植物についてのデータ取得を継続中である。

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）の収集を行った。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。

オリジナルデータ取得時には、材料の植物系統、外植片とした部位、種子のロット等の違いにより、同じ生薬の基原植物であっても、あるいは同じ植物種であっても、殺菌が困難で初代培養物を得るのが非常に困難である例も生じている。また、収集した文献中の植物ホルモン条件では期待した反応が認められない結果も生じている。

したがって、オリジナルデータ取得には、文献情報がある植物種についても、再度、詳細な培養条件の設定が必要であった。

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）の収集を行い、49の植物に関する文献情報と19の植物の培養植物体育成までのオリジナルデータを取得した。

参考文献

- 1) 漢方薬処方実態調査(定量)、Summary Report、日本漢方生薬製剤協会報告書2011年10月18日、<http://www.nikkankyo.org/topix/news/111114/jittaichousa2011.pdf>, cited 15 March, 2012.
- 2) 漢方製剤等の生産動態、平成23年「薬事工業生産動態統計年報」から、日本漢方生薬製剤協会総務委員会・編、2012年11月16日、<http://www.nikkankyo.org/publication/movement/h23/all.pdf>
- 3) 森田哲明、“日本が変わる、エッジが変える”、エッジ産業分析レポート（第2回）漢方薬、第125回NRIメディアフォーラム、野村総合研究所、2010年2月22日、http://www.nri.co.jp/publicity/mediaforum/2010/pdf/forum125_2.pdf, cited 15 March, 2012.
- 4) 原料生薬使用量等調査報告書、平成20年度の使用量、日本漢方生薬製剤協会生薬委員会、平成23年7月15日、<http://www.nikkankyo.org/topix/news/111001/shiyouyou-chousa.pdf>, cited 15 March, 2012.
- 5) 中国産原料生薬の価格調査について、日本漢方生薬製剤協会、2011年10月1日、<http://www.nikkankyo.org/topix/news/111001/kakaku-chousa.pdf>, cited 15 March, 2012.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 吉松嘉代：薬用植物組織培養物コレクションについて。日経バイオテクオンライン GreenInnovation, **219**, (2012).
- 2) 吉松嘉代、河野徳昭、乾 貴幸：植物工場での甘草生産に適したウラルカンゾウの選抜と育成。ブレインテクノニュース、**149**, 1-9 (2012)
- 3) 吉松嘉代：甘草の水耕栽培 薬用植物資源の保護と確保。ファルマシア、**49**, 141-146 (2013).

4) 吉松嘉代: 植物工場における薬用植物優良苗の育成と生産。SHITA REPORT No.30, 日本生物環境工学会, 京都, 2013, pp.13-21.

5) Nobuo Kawahara: Establishment of the “Comprehensive Medicinal Plant Database” aiming at standardization and industrial promotion of the medicinal plants in Japan. 5th International Symposium on Scientific Research of Traditional Medicine (2012, 10. 13, Toyama)

2. 学会発表

1) 吉松嘉代: 「植物工場に適した薬用植物の分子育種」、日本学術振興会植物バイオ第160委員会第4期第4回研究会「植物工場と植物バイオの接点」(2012. 6. 29, 大阪)

2) 吉松嘉代: 「植物工場における薬用植物優良苗の育成と生産」。第23回SHITAシンポジウム (2013. 1. 18, 東京)

3) 吉松嘉代、松本敏一、岩本嗣、乾貴幸、河野徳昭、川原信夫: 漢方薬に使用される薬用植物の組織培養及び効率的増殖法に関する情報整備 (2).

第30回日本植物細胞分子生物学会 (生駒) 大会・シンポジウム (2012. 8. 6-8, 奈良)

4) 吉松嘉代、河野徳昭、乾貴幸、川原信夫: 種々栽培環境条件下で養液栽培したウラルカンゾウ優良株の形質。日本生薬学会第59回年会 (2012. 9. 17-18, 千葉)

5) 吉松嘉代、河野徳昭、飯田修、根岸直希、中浜克彦、河岡明義、御影雅幸、川原信夫: 人工環境制御下でのマオウ属種苗の保存と効率的増殖に関する研究。日本薬学会第133年会 (2013, 3/28-30, 横浜)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1) 出願番号 特願2013-049279 発明者 吉松嘉代、河野徳昭、乾 貴幸 特許出願人、識別番号 (団体名及び弁理士事務所) 独立行政法人医薬基盤研究所 (505314022) 代理人: 木村 満 (100095407) 発明の名称 カンゾウ属植物株、識別マーカー、増殖方法、及び、水耕栽培装置 出願日 平成25年3月12日

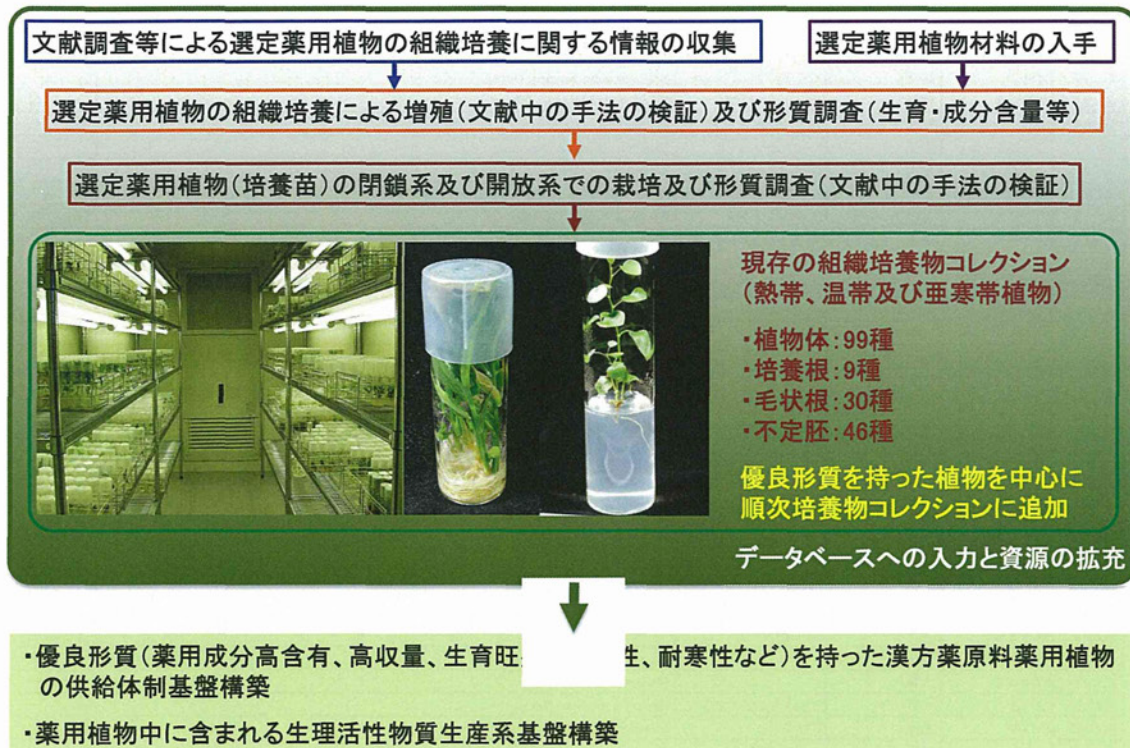


図1. 漢方薬に用いる薬用植物の組織培養に関する情報基盤整備

表1. 漢方薬に用いる薬用植物の組織培養に関する情報基盤整備：データ取得状況1（第1コア及び第2コア）

担当	種別	生薬名(カナ)	生薬名	植物名	ラテン名	文献	オリジナル
吉松	第1コア	オウゴン	黄芩	コガネバナ	Scutellaria baicalensis Georgi	○	○
吉松	第1コア	カンゾウ	甘草	ウラルカンゾウ	Glycyrrhiza uralensis Fisher	○	○
吉松	第1コア	カンゾウ	甘草	スペインカンゾウ	Glycyrrhiza glabra Linne	○	—
吉松	第1コア	ショウキョウ	生姜	ショウガ	Zingiber officinale Roscoe	○	○
吉松	第1コア	ソウジュツ	蒼朮	ホソバオケラ	Atractylodes lancea De Candolle	○	○
吉松	第1コア	ソウジュツ	蒼朮	シナオケラ	Atractylodes chinensis Koidzumi	—	—
吉松	第1コア	ニンジン	人参	オタネニンジン	Panax ginseng C. A. Mey.	○	○
吉松	第2コア	オウレン	黄連	キクバオウレン	Coptis japonica Makino var. japonica Satake	—	—
吉松	第2コア	オウレン	黄連	セリバオウレン	Coptis japonica Makino var. dissecta Nakai	○	○
吉松	第2コア	オウレン	黄連	コセリバオウレン	Coptis japonica Makino var. major Satake	—	—
吉松	第2コア	オウレン	黄連	ミレン	Coptis chinensis Franchet	○	○
吉松	第2コア	オウレン	黄連	ガレン	Coptis deltoidea C.Y.Cheng et Hsiao	—	○
吉松	第2コア	オウレン	黄連		Coptis teeta Wallich	○	—
松本	第2コア	ケイヒ	桂皮	シナニッケイ	Cinnamomum cassia Blume	○	—
岩本	第2コア	ゴシツ	牛膝	ヒナタイノコズチ	Achyranthes fauriei Lévy. et Vaniot	○	○
岩本	第2コア	ゴシツ	牛膝	トウイノコズチ	Achyranthes bidentata Blume	○	○
岩本	第2コア	サイコ	柴胡	ミシマサイコ	Bupleurum falcatum L.	○	○
松本	第2コア	サンシシ	山梔子	クチナシ	Gardenia jasminoides Ellis	○	—
岩本	第2コア	ジオウ	地黄	アカヤジオウ	Rehmannia glutiosa Libosch. var. purpurea Makino	○	△
岩本	第2コア	ジオウ	地黄	カイケイジオウ	Rehmannia glutiosa Libosch. f. hueichingensis (Chao et Schih) Hsiao	○	○
松本	第2コア	シャクヤク	芍薬	シャクヤク	Paeonia lactiflora Pallas	○	△
松本	第2コア	シャゼンシ	車前子	オオバコ	Plantago asiatica L.	○	○
岩本	第2コア	センキュウ	川芎	センキュウ	Cnidium officinale Makino	○	△
松本	第2コア	ソヨウ	蘇葉	シソ	Perilla frutescens (L.) Britton var. acuta Kudo	○	○
岩本	第2コア	ダイオウ	大黃	ダイオウ	Rheum palmatum Linne	○	○
岩本	第2コア	ダイオウ	大黃		Rheum tanguticum Maximowicz	—	—
岩本	第2コア	ダイオウ	大黃		Rheum officinale Baillon	—	—
岩本	第2コア	ダイオウ	大黃	チョウセンダイオウ	Rheum coreanum Nakai	—	—
松本	第2コア	トウキ	当帰	トウキ	Angelica acutiloba Kitagawa	○	○
松本	第2コア	トウキ	当帰	ホツカイトウキ	Angelica acutiloba var. sugiyamae Hikino	—	—
吉松	第2コア	ビャクジュツ	白朮	オケラ	Atractylodes japonica Koidzumi ex Kitamura	○	○
吉松	第2コア	ビャクジュツ	白朮	オオバナオケラ	Atractylodes ovata DC.	○	—
吉松	第2コア	ブクリョウ	茯苓	マツホド	Poria cocos Wolf	—	—
岩本	第2コア	マオウ	麻黄	アイマオウ	Ephedra intermedia Schrenk et C.A.May.	○	—
岩本	第2コア	マオウ	麻黄	シナマオウ	Ephedra sinica Stapf	—	○
岩本	第2コア	マオウ	麻黄	コダチマオウ	Ephedra equisetina Bunge	—	—

表2. 漢方薬に用いる薬用植物の組織培養に関する情報基盤整備：データ取得状況1（第1優先）

種別	生薬名(カナ)	生薬名	植物名	ラテン名	文献	オリジナル
第1優先	ボタンビ	牡丹皮	ボタン	<i>Paeonia suffruticosa</i> Andrews	—	—
第1優先	トウニン	桃仁	モモ	<i>Prunus persica</i> Batsch	—	—
第1優先	トウニン	桃仁	モモ	<i>Prunus persica</i> Batsch var. <i>davidiana</i> Maximowicz	—	—
第1優先	オウギ	黄耆	キバナオウギ	<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	—	—
第1優先	サイシン	細辛	ウスバサイシン	<i>Asiasarum sieboldii</i> (Miq.) F. Maekawa = <i>Asarum sieboldii</i> Miq.	—	—
第1優先	サイシン	細辛	ケイリンサイシン	<i>Asiasarum heterotropoides</i> (F. Schmidt) F. Maekawa var. <i>mandshuricum</i> F. Maekawa = <i>Asarum heterotropoides</i> F. Schmidt var. <i>mandshuricum</i> (Maxim.) Kitagawa	—	—
第1優先	ボウフウ	防風	トウスケボウフウ	<i>Saposhnikovia divaricata</i> Schischkin	—	—
第1優先	ハンゲ	半夏	カラスビシャク	<i>Pinellia ternata</i> Breitenb.	—	—
第1優先	ケイガイ	荊芥穂	ケイガイ	<i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briq.	—	—
第1優先	タイソウ	大棗		<i>Ziziphus jujuba</i> Lam.	—	—
第1優先	ゴミシ	五味子	チョウセンゴミシ	<i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Baill.	—	—
第1優先	カンキョウ	乾姜	ショウガ	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	○	○
第1優先	タクシャ	沢瀉	サジオモダカ	<i>Alisma orientale</i> Juzepczuk	○	—
第1優先	バクモンドウ	麦門冬	ジャノヒゲ	<i>Ophiopogon japonicus</i> Ker Gawl.	○	—
第1優先	チョウトウコウ	釣藤鈎・釣藤鈎	カギカズラ	<i>Uncaria rhynchophylla</i> (Miq.) Miq.	○	—
第1優先	サンシュユ	山茱萸	サンシュユ	<i>Cornus officinalis</i> Siebold et Zucc.	—	—
第1優先	オンジ	遠志	イトヒメハギ	<i>Polygala tenuifolia</i> Willdenow	○	△
第1優先	ゴシュユ	呉茱萸	ゴシュユ	<i>Evodia rutaecarpa</i> (Juss.) Benth.	—	—
第1優先	ゴシュユ	呉茱萸	ホンゴシュユ	<i>Evodia officinalis</i> Dode	—	—
第1優先	キョウニン	杏仁	ホンアンズ	<i>Prunus armeniaca</i> Linne	○	—
第1優先	キョウニン	杏仁	アンズ	<i>Prunus armeniaca</i> Linne var. <i>ansu</i> Maximowicz	—	—
第1優先	キョウニン	杏仁		<i>Prunus sibirica</i> Linne	—	—
第1優先	チモ	知母	ハナスゲ	<i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge	—	—
第1優先	カクコン	葛根	クズ	<i>Pueraria lobata</i> (Willd.) Ohwi	○	—
第1優先	キキョウ	桔梗	キキョウ	<i>Platycodon glandiflorum</i> (Jacq.) A. DC.	—	—
第1優先	サンヤク	山薬	ヤマノイモ	<i>Dioscorea japonica</i> Thunb.	○	△
第1優先	サンヤク	山薬	ナガイモ	<i>Dioscorea batatas</i> Decne.	○	—
第1優先	ボウイ	防已	オオツツラフジ	<i>Sinomenium glandiflorum</i> Rehder et Wilson	—	—
第1優先	サンショウ	山椒	サンショウ	<i>Zanthoxylum piperitum</i> (L.) DC.	—	—
第1優先	フシ	附子	ハナトリカブト	<i>Aconitum carmichaeli</i> Debeaux	○	△
第1優先	フシ	附子	オクトリカブト	<i>Aconitum japonicum</i> Thunb.	—	—
第1優先	オウバク	黄柏	キハダ	<i>Phellodendron amurense</i> Ruprecht	○	—
第1優先	チンピ	陳皮	ウンシュウミカン	<i>Citrus unshiu</i> Marcov.	○	—
第1優先	コウジン	紅参	オタネニンジン	<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.	○	○
第1優先	コウボク	厚朴	ホウノキ(ホオノキ)	<i>Magnolia obovata</i> Thunb.	○	—

表3. 漢方薬に用いる薬用植物の組織培養に関する情報基盤整備：データ取得状況1（第1優先、第2優先）

種別	生薬名(カナ)	生薬名	植物名	ラテン名	文献	オリジナル
第1優先	モクツウ	木通	アケビ	<i>Akebia quinata</i> Decne.	○	—
第1優先	モクツウ	木通	ミツバアケビ	<i>Akebia trifoliata</i> Koidz.	—	—
第1優先	シンイ	辛夷	タムシバ	<i>Magnolia salicifolia</i> Maximowicz	—	—
第1優先	シンイ	辛夷	コブシ	<i>Magnolia kobus</i> De Candolle	—	—
第1優先	シンイ	辛夷		<i>Magnolia biondii</i> Pampanini	—	—
第1優先	シンイ	辛夷	ハクモクレン	<i>Magnolia denudata</i> Desrousseaux	—	—
第2優先	アキョウ	阿膠				
第2優先	ボウショウ	芒硝				
第2優先	セッコウ	石膏				
第2優先	リュウコツ	竜骨				
第2優先	ボレイ	牡蛎				
第2優先	チョレイ	猪苓	チョレイマイタケ	<i>Polyporus umbellates</i> Fries	—	—
第2優先	カッセキ	滑石				
第2優先	コウベイ	稷米	イネ	<i>Oryza sativa</i> L.	—	—
第2優先	キジツ	枳実	ダイダイ	<i>Citrus aurantium</i> L.	—	—
第2優先	バクガ	麦芽	オオムギ	<i>Hordeum vulgare</i> L.	—	—
第2優先	リュウガンニク	竜眼肉	リュウガン	<i>Euphoria longana</i> Lamarck	—	—
第2優先	ボクソク	榎榔	クヌギ	<i>Quercus acutissima</i> Carruth.	○	—
第2優先	マシニン	麻子仁	アサ	<i>Cannabis sativa</i> L.	○	△
第2優先	ドクカツ	独活	ウド	<i>Aralia cordata</i> Thunb.	○	—
第2優先	イレイセン	威靈仙	サキシマボタンズル	<i>Clematis chinensis</i> Osbeck	—	—
第2優先	イレイセン	威靈仙		<i>Clematis manshurica</i> Ruprecht	—	—
第2優先	イレイセン	威靈仙		<i>Clematis hexapetala</i> Pallas	—	—
第2優先	サンソウニン	酸棗仁	サネブトナツメ	<i>Zizyphu jujuba</i> Miller var. <i>spinosa</i> Hu ex H.F.Chou	○	—
第2優先	ビヤクシ	白芷	ヨロイグサ	<i>Angelica dahurica</i> (Fisch.) Benth. et Hook. fil.	—	—
第2優先	ハッカ	薄荷	ハッカ	<i>Mentha arvensis</i> Linné var. <i>piperascens</i> Malinvaud	○	—
第2優先	ショウマ	升麻	サラシナショウマ	<i>Cimicifuga simplex</i> Wormsk.	—	○
第2優先	リュウタン	竜胆	トウリンドウ	<i>Gentiana scabra</i> Bunge	○	—
第2優先	リュウタン	竜胆		<i>Gentiana manshurica</i> Kitagawa	—	—
第2優先	リュウタン	竜胆		<i>Gentiana triflora</i> Pallas	—	—
第2優先	キョウカツ	羌活		<i>Notopterygium incisum</i> Ting ex H.T.Chang	—	—
第2優先	キョウカツ	羌活		<i>Notopterygium forbesii</i> Boissieu	—	—
第2優先	テンマ	天麻	オニノヤガラ	<i>Gastrodia elata</i> Blume	○	△
第2優先	モッコウ	木香	モッコウ	<i>Saussurea lappa</i> Clarke	○	—
第2優先	レンギョウ	連翹	レンギョウ	<i>Forsythia suspensa</i> Vahl	○	—
第2優先	キクカ	菊花	キク	<i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramatulle	○	—
第2優先	キクカ	菊花	シマカンギク	<i>Chrysanthemum indicum</i> Linne	○	—

表4. 漢方薬に用いる薬用植物の組織培養に関する情報基盤整備：文献一覧1（第1コア）

生薬名	ラテン名	文献コード	出典(著者, 雑誌, 巻号頁, 発行年)	要約(目)
黄耆	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	Scutellaria_baicalensis-Ref-1	Li H et al. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 62: 169-173 (2000)	中医学で様々な慢性の病気の治療に用いられるコガネバナ(<i>Scutellaria baicalensis</i>)の効率的な増殖法を開発したので報告する。Thidiazuron (TDZ) は、コガネバナの完全葉生、伸長した胚軸の切片、無菌植物の茎切片からのシュート分化に効果的であった。胚軸切片又は茎切片の組織学的観察により、不定芽形成は、カルスを経由していることが明らかとなった。3種の組織切片でのTDZが誘発するシュート数を比較したところ、最適な再分化効率のために、外植体の切り出しは不要であることが示された。切り出された胚軸切片(97シュート/外植片)よりもそのままの材料の胚軸(20シュート/外植片)の方が非常に多くのシュートが分化し、このことは、隣接する組織で発生された内在性の代謝物がシュート誘発のための材料となっていることを示唆している。95%以上の再分化シュートが獲得し、無菌培養系あるいは温室条件下で植物体を得られた。この研究で開発した再分化手法は、薬理活性をもつ成分の固定を通じた作物の改良の基盤を提供し、最終的には最適化した医療用製品の開発に役立つであろう。
黄耆	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	Scutellaria_baicalensis-Ref-2	Alan AR et al. Plant Cell Reports 26: 199-203 (2007)	フコサイトメトリ(FCM)解析と形態学的解析及び化学組成分析の組み合わせにより、インビトロで6年以上ワクローを維持している <i>Scutellaria baicalensis</i> の系統の遺伝的安定性及び生理活性物質の多様性について調べた。若いシュート由来の各サンプルを用いた FCM 解析に基づいて、 <i>S. baicalensis</i> の核DNA量は、0.84 pg/2Cと算出された。また、FCM 解析では、インビトロで長期維持している系統間に核DNA量および遺伝的有意な差は認められなかった。外環境に馴化させたインビトロ維持系統の植物体は、特色のある生育および生理活性物質の生産性を示した。 <i>S. baicalensis</i> で認められたこのような高い遺伝的安定性は、この薬用植物体によく解析された系統の長期間の無菌保存および容易な供給を可能にする。この研究は、持続的な維持管理、モニタリング、特異的な化合物を有する薬用植物組織の生産への新しいアプローチを示すものである。
甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer	Glycyrrhiza_uralensis-Ref-1	Kusano G et al. Natural Medicines 54: 199-203 (2000)	絶滅が危惧された甘草原産地(山梨県塩山市)のウラルカンゾウ <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.について、環境整備、地下茎の移植補植、茎頂培養による復活を試み、所期の目的を達したため、その経過を報告する。
甘草	<i>Glycyrrhiza glabra</i> Linne	Glycyrrhiza_glabra-Ref-1	Kohjyouma M et al. Plant Tissue Culture Letters 12: 145-149 (1995)	<i>G. glabra</i> L.の胚芽切片をNAA及びBAPを含むMS培地上で培養した結果、培養40日後に1 mg/L BAPを含む培地上でマルチプルシュートの形成が認められた。得られたシュートを切断し、NAA及びBAPを含む培地上へ移植した結果、培養80日後に0.01-0.5 mg/LのNAAを含む培地でシュートはよく発根し、健全な植物体へと成長した。
甘草	<i>Glycyrrhiza glabra</i> Linne	Glycyrrhiza_glabra-Ref-2	Patel RM and Shah RR, Journal of Herbal Medicine and Toxicology 1: 27-29 (2007)	カンゾウの試験管内での再生は、節切片を外植片として使うことで達成された。いずれの植物ホルモン濃度でもシュートの形成がよく認められたが、特に0.5 mg/LのBAP及び0.05 mg/LのNAAを含むMS培地上では、100%の頻度でシュート形成が認められた。また、1.0 mg/LのBAPと0.05 mg/LのNAAを含むMS培地上でも形成したシュートほど、最大長とシュートあたりの節の数が多かった。一方で、外植片利用のシュートの最大数は、0.05 mg/LのNAA及び高濃度のBAP(2.0mg/L)を含むMS培地で認められた。試験管内での発根は、IBA(0.5-1.0 mg/L)を含むMS培地で良好であった。最大根数とシュートの最大長は、0.5 mg/LのIBAで処理で記録された。さらに発根した幼植物は、土壌と腐葉土を等量混ぜた土でよく馴化し、72%が活着した。この技術は、純粋かつ無菌の植物原料の効率的な周年生産への応用が期待される。
生薬	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zingiber_officinale-Ref-1	Sharma TR et al. Plant Cell Reports 13: 300-302 (1994)	ショウガシュートの芽の4%アルギン酸ナトリウムゲルへの包埋に成功した。包埋した芽は、試験管内で発芽し、根とシュートを形成した。培養5週間後の包埋した芽の試験管内での発芽(新芽の出現)は、培地により異なる16.7%から81.8%であった。平均的なシュート長(2.3cm)と根長(1.7 cm)の正常な植物体は、特別な処置無しで滅菌していない土への移植が可能であった。これらの植物体は、ショウガ黄化病(ginger yellows disease)の症状や、病気の症状がなかった。
生薬	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zingiber_officinale-Ref-2	Sharma TR and Singh BM, Plant Cell Reports 15: 274-277 (1995)	1 mg/l BA + 2 mg/l calcium pantothenate + 0.2 mg/l GA ₃ + 0.05 mg/l NAAを添加したMS液体培地で増殖させたショウガ(<i>Zingiber officinale</i> Roscoe)の培養シュートよりミクロ根茎の増殖に成功した。培養4週間後、培地をミクロ根茎誘導培地(8 mg/l BAP + 75 g/l 蔗糖含有MS培地)に交換した。ミクロ根茎形成は、25°C、暗所で設置後20日後から開始した。培養50-60日後、1-4個の芽を持つ長さ73.8-459 mgのミクロ根茎を収穫した。湿らせて砂中、室温で2ヶ月間保管すると、ミクロ根茎の80%が発芽し、根とシュートを形成した。
生薬	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zingiber_officinale-Ref-3	Ma X and Gang DR, Phytochemistry 67: 2239-2355 (2006)	ショウガは、薬用および食用として重要なハーブであり、その健康促進作用は世界的に知られている。ショウガは、種子で増やすことができず、根茎を分けることでクローン増殖を行うので、世代間で病原菌が蓄積、移行しやすい。加えて、このような増殖技術は、有用なストックを増やすのに時間がかかる。われわれは、これら問題の改善のため、インビトロにおける増殖法を開発した。3つの異なる系統のショウガについて、従来法により温室室内で生育した株とインビトロでの増殖由来株との間に化合物組成の違いがあるかどうかを、GC/MSおよびHPLC-ESI-MSを用いたメタボリックプロファイリングにより調べた。モノおよびセスキテルペン、gingerolとその類似化合物、ジアルールヘプタノイド、これら化合物のメチルエステル誘導体などが同定された。主成分分析および階層的クラスター分析により、系統(yellow ginger and blue ring ginger)と部位(根茎、根、葉、シュート)間の化合物組成の違いが明らかとなる一方で、生育法の違い(従来法による温室における生育とインビトロ増殖を経た植物)による化合物組成の有意な差は認められなかった。さらにANOVAの結果も、これら解析結果と一致するものであった。これら知見は、ショウガで認められる多様な遺伝的変異による化合物の生物合成機構は、インビトロによる増殖法の影響を受けにくいことを示唆する。
蒼朮	<i>Atractylodes lancea</i> De Candolle	Atractylodes_lancea-Ref-1	Shoyama Y et al. Shoyakugaku Zasshi 41(4): 313-317 (1987)	ボンバケラ <i>Atractylodes lancea</i> DC.の茎頂をBAP(1及び2.5 ppm)とIAA(1 ppm)を添加した培地で4週間培養した。シュートをBAP 5 ppmとIAA 1 ppm添加培地で7週間連続培養したところ、切片当たり約1本のシュートが形成した。一方、BAP 2.5 ppmとIAA 1 ppm添加培地で培養したところ、マルチプルシュート形成と細胞集塊の形成が誘導された。引き続き、これらのシュートをオーキシン(IAA、NAA及びIBA)を含む培地あるいは植物ホルモン無添加培地へ移植したところ、発根が誘導された。オーキシンのかわりにGAを含む培地、あるいは植物ホルモン無添加培地にGAを添加した培地では、根茎の肥大が観察された。その移植は良好であった。
人參	<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.	Panax_ginseng-Ref-1	Choi YE et al. Plant Cell Reports 18: 493-499 (1999)	ニンジン(<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.)未熟種子胚の子葉外植片を植物成長調節物質を含まないMS培地で培養すると、直接不定胚を誘導できる。多数の不定胚が互いに融合し、子葉外植片と融合していた。子葉外植片を1.0 M ₂ 蔗糖で24-72時間処理すると、子葉の全ての表面に根の不定胚が形成し、外植片当たりの形成不定胚数は増加し、4倍となった。組織学的観察により、予め原形質分離を記させた子葉に形成した全ての個々の不定胚は、1個の表皮細胞由来であることが示され、一方、前処理無しの子葉に形成した多数の不定胚は表皮細胞及び皮下細胞集団由来であった。不定胚が子葉期まで成熟すると、成長が停止し、白いままとなり、恐らく休眠していると思われる。1.0 mg/l以上のGA ₃ あるいは低温処理(-2°C、8週間以上)による不定胚発芽の必要条件であった。組織学的観察の結果、低温やGA ₃ 処理を行っていない不定胚の子葉細胞には多数の脂質蓄積があり、細胞質の密着、プロプラスチド、閉鎖型のミトコンドリアが認められ、一方、低温やGA ₃ 処理後の不定胚の子葉細胞は、真直に液胞が形成し、発達した葉緑体を含み、多数のクリスタで囲まれた活性型のミトコンドリアを含んでいた。このことは、培養で得られたニンジン不定胚は、種子胚と同様に、成熟すると休眠することを示唆している。
人參	<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.	Panax_ginseng-Ref-2	Tang DC and Choi YE, Plant Cell Reports 19: 491-496 (2000)	野生型 <i>Agrobacterium rhizogenes</i> を根切片に感染させ、ニンジン(<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.)毛根を得た。異なる色素沈着をもった毛根3系統を選択した。1 mg/l 2,4-D添加Murashige and Skoog (MS)培地で不定胚形成をもつカルスを選択した。赤い色素沈着をもった系統の不定胚形成能は37.4%であった。不定胚形成能を有するカルスからの不定胚形成は2.4-D濃度(0.5 mg/l)を低くすることにより、効率的に誘導された。10 mg/l GA ₃ 含有培地で発芽した不定胚は、GA ₃ を含まない1/2MS培地に移植した。引き続き、これらのシュートをオーキシン(IAA、NAA及びIBA)を含む培地あるいは植物ホルモン無添加培地の形態変化は根の収量増加に有益であろう。
人參	<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.	Panax_ginseng-Ref-3	Choi YE et al. Plant Cell Reports 17: 544-551 (1998)	ニンジン(<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.)子葉外植片を植物成長調節物質を含まないMS培地で培養すると、直接不定胚が形成した。体細胞不定胚は、子葉の熟成度によりマルチプルあるいはシングル状態が発生した。半熟の子葉外植片は、マルチプル不定胚を形成し、一方、完熟子葉外植片は、シングル不定胚を形成した。シングル体細胞不定胚は、根とシュートを有する正常な植物体へと分化するが、マルチプル不定胚は、根を形成せず、単にマルチプルシュートへと分化した。シングル不定胚由来の植物体の根の生育は、MS基本培地でシュートに比べると良くなかった。MS培地から硝酸アンモニウムを強く植物体の根の形成を促進した。シングル不定胚から再生した、良(発達したシュートと根を持った)ニンジン植物体は、土壌へ移植すると、温室で良好に馴化した。
人參	<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.	Panax_ginseng-Ref-4	Lim HT et al. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 49: 179-187 (1997)	形態形成を介したニンジン(<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.)の再分化能を試験した。インビトロ植物体の葉、葉柄、花梗及び根より、密集したカルスを選択した。葉柄がカルス誘導に最も効果的であった。2,4-D(4.5 μM) + kinetin(0.46 μM)含有Murashige and Skoog (MS)培地で誘導したカルス培地で2週間コンディショニングした。これらのカルスはkinetin(4.7 μM) + チオ硫酸銨(STS) 10 μM添加1/2MS培地で培養すると不定胚へ分化した。GA ₃ (2.9 μM) + BA(4.4 μM)のMS培地への添加は、試験管内発芽を高効率(86.1%)で誘導し、正常な植物体への発芽に影響を与えない多数の不定胚を誘導した。再分化シュートをIBA 1.2 μMを含有するMS20培地で6週間培養すると、良く発達した根を有する植物体を得られた。再生植物体の遺伝的安定性を調べるため、核DNA含量を測定した。DNAのサイトメトリック分析により、全ての再分化体は親植物と同様に2倍体であり、細胞分裂時不安定であることが判明した。
人參	<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.	Panax_ginseng-Ref-5	Asaka I et al. Planta Medica 59: 345-346 (1993)	我々はニンジン(<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.)のマルチプルシュートを中程度の高温処理することにより胚体誘導する新規の技術を開発した。形成した胚体数は、未処理の場合に比べ10倍であった。胚体は植物ホルモン無添加培地に移植することで正常な植物体が再生した。これらの植物体は、従来のニンジンと同様に、 <i>ginsenosides</i> (Rb ₁ , Rg ₁)及びその他のサポニンを含む。
人參	<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.	Panax_ginseng-Ref-6	Arya S. et al. Plant Cell Reports 10: 277-281 (1991)	ニンジン(<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.)種子胚から誘導した不定胚形成能を有する4年生の細胞株KOTC POLよりプロトプラストを単離した。2% Cellulysin, 1% Pectinase, 1% Macerase, 12% mannitolを含む1/2 Murashige and Skoog (MS)培地で9-6時間消化すると22-25 × 10 ⁴ / tissueの高収量のプロトプラストが得られた。1 × 10 ⁴ プロトプラスト/mlがプロトプラスト培養には最適な接種量であった。アガロース培地で初級分画濃度10%が得られた。Myo-inositol(6%)をもっとも最適な浸透圧調節物質であった。不定胚形成能を有するカルスから誘導したプロトプラストから体細胞不定胚が形成し、それらは幼植物まで再分化した。
人參	<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.	Panax_ginseng-Ref-7	Shoyama Y et al. Planta Medica 54: 155-156 (1988)	カルスを経たニンジン(<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.)不定胚形成を若い花芽より3ヶ月で誘導した。完熟胚は、GA ₃ (1.4 μM) + BAP(2.2 μM) + 1.5%蔗糖含有1/2濃度のMurashige and Skoog(1/2 MS)培地で発芽可能であった。GA ₃ (1.4 μM) + BAP(11.1 μM)含有培地では、シュートから切片当たり8本のシュートを持つマルチプルシュートが形成した。一方、GA ₃ (1.4 μM) + BAP(4.4 μM)添加は、花芽形成を誘導した。シュートの発根は、5.4 μM NAA含有MS培地で最もよくであった。引き続き、幼植物はパーミキュライトに移植した。
人參	<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.	Panax_ginseng-Ref-8	Arya S et al. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 34: 157-162 (1993)	体細胞胚とエンブリオジェニックカルスが、オタネニンジンの未熟胚から形成した。これらの体細胞胚は2次胚、3次胚形成によって増殖し、それは培地中のホルモンで影響された。オーキシンである10mg/L ¹ の2, 4-D, NAAおよびIAAは、最初の胚の胚軸の子葉から直接発生した2次胚、3次胚形成に効果的だった。体細胞胚や不定胚の高含有は、最初の胚から誘導された。サイトカイニン(Kn, BA)は、不定胚形成を阻害した。二次不定胚は生育して、2つの過程(MS+10mg/L ¹ のKnでシュート伸長、1.0 mg/L ¹ のKn+1.0 mg/L ¹ のGA3培地で発根)で植物体が再生した。

表5. 漢方薬に用いる薬用植物の組織培養に関する情報基盤整備：文献一覧2（第2コア）

生薬名	ラテン名	文献コード	出典(著者, 雑誌, 巻号頁, 発行年)	要約(日)
黄連	<i>Coptis japonica</i> <i>Makino var. dissecta</i> Nakai	Coptis_japonica_ref-1	Syono K and Furuya T, <i>Experientia</i> 28: 236 (1972)	要約無し
黄連	<i>Coptis japonica</i> <i>Makino var. dissecta</i> Nakai	Coptis_japonica_ref-2	Kuta A et al., <i>Phytochemistry</i> 14: 1209-1210 (1975)	オウレン根茎の主要なアルカロイドはすべてカルスでも確認された。含量は根茎に比べて低いが、ベルベリンとマテオリジンが、カルスの主アルカロイドであった。カルス培養から再分化した植物の根茎では、アルカロイド含量の回復が認められた。カルス培養から再分化した植物体は、元の植物体と比べて、形態学的にも生合成活性においても正常であることが示唆された。
黄連	<i>Coptis chinensis</i> Franchet	Coptis_chinensis_ref-1	Songsheng H et al., <i>Journal of Wuhan Botanical Research</i> (1991)	要約無し
黄連	<i>Coptis chinensis</i> Franchet	Coptis_chinensis_ref-2	Shaoqiang K et al., <i>Journal of Wuhan Botanical Research</i> (1992)	この論文では、物理的および化学的方法による <i>Coptis chinensis</i> の同質的な胚発生について報告した。体細胞胚発生は、0.5 mg/L 2,4-D と 0.2 mg/L NAA を含む MS 培地で誘導され、0.5 mg/L ABA と 0.2 mg/L NAA を含む MS 培地で 2 週間培養後、メッシュサイズの異なるふるいで体細胞胚を分離した。その結果、この方法により 60-85% の体細胞胚の同調率を達成した。結論：植物の体細胞胚発生とその同調のカギは、適切な培養長調剤因子を適切な濃度で与えることにより体細胞胚の発達をコントロールすることであり、ふるいを使うのは単に同じサイズの体細胞を得るための方法である。
黄連	<i>Coptis teeta</i> Wallich	Coptis_teeta_ref-1	Tandon P and Rathore T.S., <i>Plant Cell, Tissue and Organ Culture</i> 28: 115-117 (1992)	<i>Coptis teeta</i> の無菌培養した発芽種子より取り出した胚軸切片を 2,4-D と Kin を含む MS 培地上培養することにより、カルス培養系を確立した。このカルス系を Kin を含む 1/2 MS 培地上で 6-7 週間培養することでマイクロシュートが得られた。さらに切り出したマイクロシュートは IBA を含む 1/2 MS 培地上で発根し、幼植物体の再生に成功した。
黄連	<i>Coptis teeta</i> Wallich	Coptis_teeta_ref-2	Tandon P et al., <i>Indian Journal of Biotechnology</i> 6: 280-282 (2007)	<i>Coptis teeta</i> の成熟植物の根茎部の原液を 4.42 μM の BAP と 0.56 μM の IAA を含む 1/2 MS 培地で培養することにより、多芽体を得た。得られたシュートは、7.35 μM の IAA を含む 1/2 MS 培地で発根し、幼植物体の再生に成功した。幼植物体の再生に成功した。幼植物体は、2.31 μM の Kin と 0.56 μM の IAA を含む Gamborg 培地で培養することで根茎切片より直接誘導することも可能であった。
桂皮	<i>Cinnamomum cassia</i> Blume	Cinnamomum_cassia_ref-1	Babu KN et al., <i>Plant Cell, Tissue and Organ Culture</i> 74: 179-183 (2003)	12 年生シネニッケイの茎頂及び節切片から BA とカイネチン添加 WPM 培地で多芽体が発導できた。培養植物から得た節切片から多数のシュートが得られ、そのシュートは活性炭と IBA 添加の WPM 培地で発根した。植物体は順化後に野外で栽培したが、90% の生存であった。
牛膝	<i>Achyranthes fauriei</i> Lé v. et Vaniot	Achyranthes_fauriei_ref-1	Hikino H. et al. <i>Yakugaku Zasshi</i> 95: 581-589 (1975)	イノズチ属植物の生産する昆虫変態性物質の生合成経路研究のため、イノズチ属植物種子からのカルスの誘導及び増殖、カルスからの植物体再生、根の培養について検討し、効率的な培養条件を決定した。さらに、得られた各培養組織における昆虫変態性物質の生産をセンテニクエの精化試験及び抽出物の TLC, GC により確認した。
牛膝	<i>Achyranthes bidentata</i> Blume	Achyranthes_bidentata_ref-1	Gnanaraj W.E. et al. <i>Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine</i> 2(1): 1-5 (2012)	(方法) <i>A. aspera</i> 及び <i>A. bidentata</i> の若いシュートを収穫し、0.1% の HgCl ₂ で表面殺菌後、約 1 cm の節切片を調製し、外植片として使用した。外植片は、3% のシロ糖、0.6% (w/v) の寒天、種々の濃度・組み合わせの BAP, Kin, NAA, IAA を含む MS 培地に置床した。(結果) MS 培地上で、節切片は偶発的に増殖したが、BAP や Kin を加えることでその頻度は高まり、3 mg/L の BAP を含む MS 培地でシュート形成頻度が最も高かった。また、外植片あたりのシュートの数は 5 mg/L の BAP を含む MS 培地で、シュートの長さは 3.0 mg/L の BAP を含む MS 培地で、それぞれ最大となった。発根頻度、シュートあたりの発根数、根長は、1 mg/L の IBA を含む 1/2 MS 培地で最大を記録した。70% の幼植物体でポリカッパへの抽出に成功し、68% の植物が温室条件下で馴化した。また、65% の植物がフォルムに活着した。(結論) これら結果は、新芽を含む節を用いる方法が、信頼性のある新たな <i>A. aspera</i> 及び <i>A. bidentata</i> のクローン増殖法であることを示している。また、高効率なシュート及び根の増殖率と馴化後の活着率は、本方法が容易に商業規模での大量栽培に応用可能であることを示している。
柴胡	<i>Bupleurum falcatum</i> L.	Bupleurum_falcatum_ref-1	Hiraoka N. et al., <i>Plant Cell Reports</i> 5: 319-321 (1986)	体細胞胚発生によるミニマライズ植物体の根と種子繁殖したミニマライズ植物体の根のサポニン含量を含む異なる形態を比較した。組織培養で増殖した植物は均一な形態を示したが、根茎の平均とばらつきは大きく、乾燥重レベルのサポニン含量は、ほとんど差がなかった。根中のサイコサポニン c の含量は、組織培養株の方が高かった。
山椒子	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	Gardenia_jasminoides_ref-1	Serret MD et al., <i>Plant Cell, Tissue and Organ Culture</i> 47: 217-230 (1997)	クナクナの子植物体の培養における増殖と順化における密閉、照明及び温度の効果をもつステージ(シュート増殖と発根)で比較した。発根時の植物体は、シュート増殖時より高い光合成独立栄養となった。照度と培地濃度を低く培養物の密閉を緩くすることで、植物体の光合成独立栄養が高まった。
地黄	<i>Rehmannia glutinosa</i> Libosch. var. <i>purpurea</i> Makino	Rehmannia_glutinosa_var_ar_purpurea_ref-1	Yong-Yi C et al., <i>Plant Cell, Tissue and Organ Culture</i> 62: 219-226 (2000)	<i>in vitro</i> の成長と <i>ex vitro</i> の生存に最適な環境を決めるために、異なる培養条件下でアカヤジウの幼植物を 4 週間培養した。培養容器的な空気交換の回数を増やすと、幼植物の成長は増加し、1 時間当たり 4.4 回の空気交換で、シュート重量、根生体重量、葉面積、クロロフィル含量が最大となった。高濃度 (30g l ⁻¹) のシロ糖は、根重を増加させたが、シュートの生育は低下させた。シロ糖が培地に添加されない時、幼植物の純光合成速度は最大であった。一方、 <i>ex vitro</i> の幼植物の生存は、シロ糖濃度によって影響されなかった。暗期の温度 (DIF)、光合成光子量 (PPF)、日長の差異の実験において、DIF と PPF レベルが増加すると、幼植物の成長が増加した。特に、PPF レベルの増加は、DIF レベルの増加より効果が高かった。プラスの DIF (+8 DIF) と高 PPF (210 μmol m ⁻² s ⁻¹) において幼植物の成長が最大を示すので、DIF と PPF の相互作用もまた重要である。結論として、この実験の結果は、培養容器的な空気交換回数の増加、シロ糖濃度の減少、プラスの DIF と高 PPF レベルの組合せが、アカヤジウ幼植物の成長と順化を高めることを示している。
地黄	<i>Rehmannia glutinosa</i> Libosch. f. <i>hueichingensis</i> (Chao et Schih) Hsiao	Rehmannia_glutinosa_f_hueichingensis_ref-1	Xu XH and Davey MR, <i>Plant Cell Reports</i> 2: 55-57 (1983)	カイネチン添加培養シュートの本葉プロトプラストを 0.2 mg l ⁻¹ NAA と 0.5 mg l ⁻¹ IBA 添加 MS 液体または寒天培地で培養した。グルタミン、アルギニン、アラバリン酸の混合物を、プロトプラストの分裂を促進し、コロニー形成率は 27% であった。プロトプラスト由来のコロニーは、カルス形成し、2.0 mg l ⁻¹ IAA と 1.0 mg l ⁻¹ IBA 添加 MS 寒天培地に移植すると、すぐにシュートが形成した。
芍薬	<i>Paeonia lactiflora</i> Pallas	Paeonia_lactiflora_ref-1	Tian D et al., <i>Scientia Horticulturae</i> 123: 385-389 (2010)	シクククの外植片からのシュート形成を BA, TDZ, GA ₃ 添加の半固形 MS 培地で調査した。不定芽は生長点がある組織から形成され、節部で最高 20 本のシュートが得られた。シュート形成には BA より TDZ (0.1-3 mg/L) が適していたが、高濃度ではシュート伸長を阻害した。外植片を 20 mg/L の TDZ 液で処理すると不定芽を直接誘導できた。GA ₃ はシュート伸長に効果があった。
車前子	<i>Plantago asiatica</i> L.	Plantago_asiatica_ref-1	Makowczyńska J and Andrzejewska-Golec E, <i>Acta Soc. Bot. Pol.</i> 69: 245-250 (2000)	オオバコは直接的な不定胚形成の初期段階を光学顕微鏡下で観察した。オオバコカルスでは、体細胞胚形成と体細胞不定胚形成が同時に生じていた。
車前子	<i>Plantago asiatica</i> L.	Plantago_asiatica_ref-2	Makowczyńska J and Andrzejewska-Golec E, <i>Acta Soc. Bot. Pol.</i> 72: 191-194 (2003)	IAA と BAP 又はカイネチン添加 MS 培地を用い、茎頂培養による薬用のオオバコ (<i>Plantago asiatica</i>) の増殖を行った。最良の増殖結果は、0.1 mg/l IAA と 1 mg/l BAP 添加培地で得られた。培養 6 週間後、発根のためシュートを MS 培地に移植した。得られた幼植物体は、8 週間後斜に移植し、馴化の後、土壌(園地栽培)へ移植した。オオバコは初めて茎頂培養により増殖された。
川芎	<i>Cnidium officinale</i> Makino	Cnidium_officinale_ref-1	北海道中央農業試験場園芸部野菜 花き第 1 科	成果報告書につき記載なし
蘇葉	<i>Perilla frutescens</i> (L.) Britton var. <i>acuta</i> Kudo	Perilla_frutescens_var_acuta_ref-1	Zhang T et al., <i>BIOLOGIA PLANTARUM</i> 49 (3): 423-426 (2005)	シソの子葉、胚軸からの植物体再生条件を検討した。MS 培地でのシュート形成率は、子葉では 91%、胚軸では 76% であった。ホルモンの最適な組み合わせは、4.44 μM BA (子葉)、2.22 μM BA + 2.85 μM IAA (胚軸) であった。発根は、ホルモンプリー/2MS 培地で良好であった。順化率は 80% であったが、再生植物に若干の形態的異常が認められた。
大黃	<i>Rheum palmatum</i> Linne	Rheum_palmatum_ref-1	北海道中央農業試験場園芸部野菜 花き第 1 科	成果報告書につき記載なし
当帰	<i>Angelica acutiloba</i> Kitagawa	Angelica_acutiloba_ref-1	Watanabe A et al., <i>Plant Cell Reports</i> 18: 187-192 (1998)	胚芽培養により維持されているトウキの遺伝的変異の発生を検討するため、オリジナル植物と RAPD で比較したところ、差異が認められなかった。したがって、組織培養での増殖による DNA 配列や構造の変異はないと考えられる。
当帰	<i>Angelica acutiloba</i> Kitagawa	Angelica_acutiloba_ref-2 (文献入手不能)	Miura Y. et al., <i>Planta Medica</i> 54(1): 79-81 (1988).	商業栽培されているトウキ (<i>Angelica acutiloba</i>) 1 本を材料に、細胞懸濁培養より誘導した体細胞不定胚を介して増殖させたクローン植物は、種子で増殖させた植物に比べて、根の薬学上有効な化学成分 (リグステライド及びコロン) の含量が非常に均一であった。
当帰	<i>Angelica acutiloba</i> Kitagawa	Angelica_acutiloba_ref-3	HL Lay, 1999 薬用植物の間食利用 検討会論文集: 169-176 (1999)	要約なし
白朮	<i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi ex Kitamura	Atractylodes_japonica_ref-1	Hatana K et al. <i>Planta Med.</i> 56: 131-132 (1990)	Letter のため要約無し
白朮	<i>Atractylodes ovata</i> DC.	Atractylodes_japonica_ref-1	Hatana K et al. <i>Planta Med.</i> 56: 131-132 (1990)	Letter のため要約無し
麻黄	<i>Ephedra intermedia</i> Schrenk et C.A. May.	Ephedra_intermedia_ref-1	O'Dowd N. et al., <i>Plant Cell, Tissue and Organ Culture</i> 34: 149-155 (1993)	マオウ属の数種 (<i>E. andina</i> , <i>E. distachya</i> , <i>E. equisetina</i> , <i>E. fragilis</i> var. <i>campylopus</i> , <i>E. gerardiana</i> , <i>E. intermedia</i> , <i>E. major</i> ssp. <i>procera</i> , <i>E. minima</i> , <i>E. saxatilis</i>) のカルス形成に及ぼす植物成長物質の濃度を検討した。すべての種は、0.25 μM カイネチンと 5.0 μM 2,4-D または NAA 添加 MS 培地でカルス形成した。数種の懸濁培養は 25 μM カイネチンと 5.0 μM 2,4-D または NAA 添加 MS 培地で確立した。バリン/グバ/イオリアクア/での <i>E. andina</i> 懸濁培養の生体重量増加時間は 70 ± 7 h、バッチ培養では最短 56 h であった。アルギニン/グルタミン/グルコースのバッチ培養も可能であった。 <i>E. distachya</i> , <i>E. fragilis</i> , <i>E. saxatilis</i> の懸濁培養、培養幼植物ともにアルカロイドを産出した。他の種の培養幼植物において、トリス程度の 1-エフェドリン、トリスから 0.14% の 4-ソノイドエフェドリンが抽出された。アルカロイド産生能は、連続した絶代培養によって 0 まで減少した。

表6. 漢方薬に用いる薬用植物の組織培養に関する情報基盤整備：文献一覧3（第1優先）

生薬名	ラテン名	文献コード	出典(著者, 雑誌, 巻号頁, 発行年)	要約(日)
沢瀉	<i>Alisma orientale</i> Juzepczuk	<i>Alisma_orientale</i> -Ref-1	Xu D. et al., <i>Shandong Agricultural Sciences</i> , Issue 7, Page 5-7 (2010)	大きな根茎のサジモダカ (<i>Alisma orientale</i>) の遺伝子資源を保護するため、根茎を材料に栄養繁殖システムを構築した。カリスの誘導と継代培養に理想的なのは、MS + BA 0.3 mg/L + NH ₄ H ₂ PO ₄ 50 mg/L + 2,4-D 1.8 ~ 2.0 mg/L、カリスからの再分化に理想的なのは、MS + NAA 0.1 mg/L + AgNO ₃ 0.5 mg/L + GA ₃ 1.0 mg/L + BA 0.9 mg/L、不定芽の発根に最適なのは、液体培地の1/2 MS + IAA 0.2 mg/L + NAA 0.1 mg/Lであった。得られた種イモは容易に温室内で移植して栽培でき、もとの場所から旺盛に成長し、大きな根茎が得られた。
麦門冬	<i>Ophiopogon japonicus</i> Ker Gawl.	<i>Ophiopogon_japonicus</i> -Ref-1	Strandberg J. O., <i>Plant Cell, Tissue and Organ Culture</i> 32: 277-282 (1993)	ジャムシグ <i>Ophiopogon japonicus</i> (ムリ科) の茎頂は、オーキシンやサイトカイニン無添加のMS修正培地で培養すると、低率だが、幼植物体とエンブリオジュニクカルスが得られた。0.54 μM NAAに長時間浸漬した茎頂を基本培地で培養する、または、NAAまたはNAAとBAを添加した培地で一時的に培養した時、茎頂の多くは幼植物体に成長またはカリスを誘導し、基本培地に戻した後に、カリスから幼植物体が生じた。ホルモンの液体培地でカリスを培養すると、大量の単細胞と細胞集塊を生じた。大きな細胞集塊は胚様構造体を生じ、固形培地に移植後、根、子葉、その後、幼植物体を生じた。液体培養を長期に行うと、液体培地中で胚様構造体を生じた。これらの構造体は、固形培地に置かれると、体細胞胚としての多くの基礎を示し、正常な幼植物体に成長した。
釣藤鈎・釣藤鈎	<i>Uncaria rhynchophylla</i> (Miq.) Miq.	<i>Uncaria_rhynchophylla</i> -Ref-1	Kohda H. et al., <i>Chemical and Pharmaceutical Bulletin</i> 44: 352-357 (1996)	カビカズラ <i>Uncaria rhynchophylla</i> (Miq.) MIQUEL (アカネ科) カリス培養における成長とアルカロイド生産に及ぼす成長ホルモンや栄養成分の効果と調査した。インドール酢酸(10-4 M)と6-ベンジルアミノプリン(3 × 10 ⁻⁵ M)を添加したGamborg B5(B5)培地で、成長(5週間)で生体重量1.8gとアルカロイド生産(5週間)で乾燥重量当たり1.73mgの両方に最適であった。スクロース濃度の影響を調査したところ、2%スクロースが成長およびアルカロイド生産のために最適であることが明らかになった。窒素源組成の効果も調査した。6 mMの塩化アンモニウムと25mMの硝酸カリウムがB5培地に添加した時に、最大の成長とアルカロイド生産が得られた。Hirsutine, hirsutine, 3α-dihydrocadinaneとウルソール酸がカリスから分離された。カリスの3α-dihydrocadinane濃度は、カビカズラの幹や葉の50倍高い濃度であった。
遠志	<i>Polygala tenuifolia</i> Willdenow	<i>Polygala_tenuifolia</i> -Ref-1	尾崎誠・岡本登亮・奈良文昭・神田博史・藤野廣春・鈴木正一・吉崎正雄・佐竹元吉 植物組織培養12: 97-98 (1995)	イトハメガシ <i>Polygala tenuifolia</i> Willd.) 中国東北部、華北東部地方に自生するヒメハギ科の多年生草本で、その根は生薬「遠志」として利用されている。薬効としては、去痰、強壮作用が認められている他、神農本草経上品には、「智慧を益し、耳目を聡明に、物を忘れず、志を強し、力を倍すと記されており、最近、その成分に関する研究が盛んに行われている組織培養に関しては、同属生薬である「セネガ(ヒロコ)で下胚軸由来カリスからの個体再生が報告されているが、イトハメガシでは今までのところ、栽培研究は行われていないもの、培養についての報告はなされていない。そこで今回、イトハメガシの大量生産を可能とする栄養繁殖法の確立を目的として、実生の葉切片由来カリスの組織培養系を検討し、個体再生に適した培養条件が明らかとなったので、以下にそれらの結果を報告する。
杏仁	<i>Prunus armeniaca</i> Linne	<i>Prunus_armeniaca</i> -Ref-1	Joseph C. G. et al., <i>Plant Growth Regulation</i> 17: 41-46 (1995)	正常な表現型を示す植物体を再生するための効率的かつ信頼性の高い方法が、形質転換のための前提条件となる。2つの無関係なホナズン遺伝子型の2ARDとNJA82から3つの発端段階(Pがそれぞれ3, 30~60, 100)で、未熟胚または子葉が培養された。外胚は(0.5, 0.5, 0.5, 2.0 μM)のBAまたはTDZ(0.5 μM)とIAA(0.2 μM)を添加したMS培地で培養された。ホルモンのMS培地ではステージ1の胚は、胚様構造体を生じた。5-20 μM TDZと1 μM 2,4-Dを添加した培地で、ステージ2の子葉より、シュート原基が最も良く誘導された。しかし、シュートの形態は異常で、特にTDZ高濃度区で際立っていた。別の要因実験において、オーキシン無添加、1 μM 2,4-D、1 μM IBA、5 μM IBAとTDZ(0.5, 0.5, 10, 15, 20 μM)を組合せ添加した培地でステージ2の子葉を培養した。80%以上の再生率が、1-5 μM IBAと5-10 μM TDZを添加した培地で観察された。5 μM IBAを単独で添加した培地は、表現型が正常な幼植物体の再生の高率な再生が認められた。
葛根	<i>Pueraria lobata</i> (Willd.) Ohwi	<i>Pueraria_lobata</i> -Ref-1	Li L. and Zhang C.R., <i>Journal of Environmental Biology</i> 27: 21-26 (2006)	クズ苗木を体外から誘導したカリスを1mg l ⁻¹ 2,4-D, 1mg l ⁻¹ NAA, 0.5mg l ⁻¹ カイネチン, 30g l ⁻¹ シンチを添加したGamborg B5培地に懸濁した。細胞成長と懸濁細胞からのエタノールとイソフラボンの収量に及ぼすコナツツミルとカイネチン加水分解物(GH)の効果を検討した。懸濁培養におけるイソフラボンとエタノールの総量は、分光光度計(HPLC)により定量した。最適濃度のコナツツミル10%濃度は、細胞培養の成長とイソフラボンの蓄積を減少させた。しかし、0.2%のGH添加は、細胞培養の成長とエタノールとイソフラボンの蓄積と放出を促進した。エタノールとイソフラボンの収量は、対照区に比べて、それぞれ34%と40.8%高かった。クズ苗木の細胞培養にとって最適な培地は、1mg l ⁻¹ 2,4-D, 1mg l ⁻¹ NAA, 0.5mg l ⁻¹ カイネチン, 2% シンチ, 20 mg l ⁻¹ GHを添加したB5培地であった。この手順の利用は、イソフラボンの生産にとって有用である。
山薬	<i>Dioscorea japonica</i> Thunb.	<i>Dioscorea_japonica</i> -Ref-1	Kadota M and Nimi Y., <i>Scientia Horticulturae</i> 102: 461-466 (2004)	ヤマノイモ (<i>Dioscorea japonica</i> Thunb.) のエリート品種の大量増殖法を改良した。初回培養時、新鮮量は1Nジエタラム培地で633.0mgと最大となり、0.2%では204.3mgだったが、0.1%ジエタラム培地では水浸状態体数が多くなった。シュート伸長には、節数(それぞれ6.9, 2.1個)、新鮮量(各、283.4, 51.9g)で、液体培地から固形培地より優れていた。0.44mMのBA添加で、節数1.0個、シュート数2.6本及び新鮮量338.0mgとなった。LS培地培養の量(40mL, 20mL)では、節数(各18.6, 5.6個)、シュート数(3.6, 2.7本)及び新鮮量(783.0, 278.0mg)となり、40mLの培地量が優れていた。節数培養では、回転培養より節数、新鮮量ともに増加していた。発根においては、寒天とゼラチン培地は液体培地より発根率は優れていたが、発根数は劣っていた。順化した苗には、主な形質について差異は確認されなかった。
山薬	<i>Dioscorea batatas</i> Decne.	<i>Dioscorea_batatas</i> -Ref-1	Matsubara S. et al., <i>Scientific Reports of the Faculty of Agriculture, Okayama University</i> 79: 37-44 (1992)	ヤマノイモ類は栄養繁殖されるのでウイルス罹病株が多く、かつ繁殖率が低いので苗イモが高価である。そのため無病のイチョウイモ (<i>Dioscorea batatas</i> Decne.) の多芽体培養による増殖を試みた。MS培地を基本培地とし、種々の支持体や植物ホルモンを添加、シロ糖濃度も変えた。培養条件は、25℃、2000Lux人工光による16時間日長とした。多芽体形成のために、栽培植物のムゴを無菌培養し、発芽してきた幼植物体、1胚芽を付けた葉切片を外植体とした。20mg/Lアンシメドール添加基本培地に植え付けたところ、多芽体が生じた。この多芽体を切り分け、アンシメドール0または10mg/L添加に植え付け、40日間重量又は回転培養を行ったところ、いずれの方法でも多芽体が生じた。特にアンシメドール添加培地の葉と4週間隔で継代培養を7回繰り返した。増殖率、形成された多芽体の大きさに世代毎の大きな差は見られず、増殖率はほぼ30倍前後であった。これらの多芽体を蓄化するため、切り分けた外植体を寒天0.3または0.7%、gelrite 0.1または0.2%添加基本培地のいずれかに植え付け、10、20、30日間培養後順化した。いずれの区でも順化した。培養期間が長い発根率が早く、gelrite培地の方が短期間の培養でも早く発根した。多芽体を切り分け、0.2% gelriteと3%シロ糖添加基本培地を入れた培養瓶に植え付け室内に放置しておいたところ、2-3か月後にミニチューバーが出来、冬季に一度地上部が枯れた後、春になって既に出来ていたミニチューバーが発芽し、それからの苗葉が伸長し、その基部や節にまたミニチューバーが形成された。以上イチョウイモでは多芽体培養により、1年で30本の幼植物を増殖出来、さらに1年より年約30倍のミニチューバーが出来ることが分かった。
附子	<i>Aconitum carmichaeli</i> Debeaux	<i>Aconitum_carmichaeli</i> -Ref-1	Hatano K et al., <i>Plant Cell Reports</i> 6: 446-448 (1987)	トリカブト (<i>Aconitum carmichaeli</i> Debx.) の薬を用いて、カリス誘導を試みた。5ppm 2,4-Dと1ppmのカイネチンの添加で15週間でカリスが形成された。1ppmの2,4-Dを含む培地で12週間日長を付けた。カリスを継代培養すると、胚発生が確認された。成熟した体細胞胚は、0A 1ppmとEAP 5ppmを含む培地で移植すると正常なシュートを形成した。IAA 0.5ppmを含む新しい培地にシュートを移植すると発根した。すべての植物は5か月間の培養で成熟個体となった。
黄柏	<i>Phellodendron amurense</i> Ruprecht	<i>Phellodendron_amurense</i> -Ref-1	Azad MAK et al., <i>Plant Cell, Tissue and Organ Culture</i> 80: 43-50 (2005)	キハダにおける葉切片からのシュート形成と植物体再生法を確立した。MS培地でのシュート形成とカリス誘導及びシュート再分化を検討するため、培養個体から得られた若い葉切片を用いた。4.4 μMのBAPと1.0 μMのNAAを添加したMS培地に10日目の葉切片(1cm ²)を置いた。4週間培養すると、そこからシュートが直接再生した。2.0 μMのTDZと4.0 μMの2,4-D又はNAAを添加した培地で3週間培養したところ、葉の切り口からカリスが形成された。1.5 μMのBAPと1.0 μMのNAA添加のMS培地で4週間培養後に葉から形成したカリスから最も多くのシュートが再生した。3回目の継代培養で最も多いシュート増殖が見られ、カリス当たり85本となった。発根のため、シュートを2-4 cmの長さで切り、2.0 μMのIBAを含むMS培地に挿入した。3週間で2-6本の根が確認された。培養植物体は、農用上に移植したところ、生存率は90%であった。
陳皮	<i>Citrus unshiu</i> Marcov.	<i>Citrus_unshiu</i> -Ref-1	Nito N and Iwamasa M., <i>Plant Cell, Tissue and Organ Culture</i> 20: 137-140 (1990)	NAA, カイネチンとGA添加のMS培地で、温州ミカンの子葉からカリスを誘導した。胚様体は、1mg/L以下の NAA添加培地でカリスから形成された。胚様体は胚へ成長し、1mg/Lの GA添加培地で幼植物体を得られた。
厚朴	<i>Magnolia obovata</i> Thunb.	<i>Magnolia_obovata</i> -Ref-1	Kim YW et al., <i>Plant Biotechnol Rep</i> 1: 237-242 (2007)	ホノノキの未熟種子を用いた体細胞胚形成による植物体形成について検討した。種子の採取日は、胚細胞の誘導に重要であるようであった。最適な収穫日は開花3-4週後だった。エンブリオジュニク細胞は増殖し、体細胞胚を形成し、その後最適化された培養条件下で正常な植物体となった。エンブリオジュニクカルスからの体細胞胚の形成は、グルコース培地よりもシロ糖培地で良好であった。シロ糖の最適濃度は、3%と考えられた。体細胞胚の約25%は、ジベレリン酸(GA ₃)を含む1/2MS培地で正常な植物体となった。体細胞胚の発芽時には、発芽中の体細胞胚の胚軸下部や根端部分に二次胚が顕著に観察された。人工土壌中で生存した約85%の再生苗は、育苗中で正常に成長した。
木通	<i>Akebia quinata</i> Decne.	<i>Akebia_quinata</i> -Ref-1	生田ら, <i>植物組織培養別</i> (2) 115 (1985)	アケビのカリスを培養し、培養抽出エキス成分の研究を行った。
木通	<i>Akebia quinata</i> Decne.	<i>Akebia_quinata</i> -Ref-2	堀込ら, <i>群馬県園芸試験場研究報告</i> 1: 27-43 (1995)	アケビ数品種の特性を評価し、緑枝挿しによる増殖法を検討した。

表7. 漢方薬に用いる薬用植物の組織培養に関する情報基盤整備：文献一覧4（第2優先）

生薬名	ラテン名	文献コード	出版(著者, 雑誌, 巻号頁, 発行年)	要約(日)
環楸	<i>Quercus acutissima</i> Carruth.	Quercus,acutissima-Ref-1	Okamura M. et al. Journal of Forest Research 6: 63-66 (2001)	クスノギのエンブリオジェニックカルスは、エンブリオジェニック培養物によって首尾良く誘導され、植物はカルスから再生した。関係する技術の発達、この種における大量増殖と遺伝子組換えを可能にするだろう。IBAとBAを添加したMS培地で培養後、未熟胚から抽出した胚軸外植体(すなわち、子葉を除いた胚)からエンブリオジェニック培養物が形成された。子葉外植体からのエンブリオジェニック培養物を誘導する試みは成功しなかった。2,4-Dを添加したMS培地において、エンブリオジェニック培養物から高率にエンブリオジェニックカルスが誘導された。しかし、BAはエンブリオジェニックカルスの形成を阻害した。試験した7つの全てのセルラインにおいて、MS培地でエンブリオジェニックカルスからの体細胞胚の育成が生じた。体細胞胚の発芽は、植物生長調節剤無添加の1/2MS培地で誘導された。最終的に土壌で成育する馴化植物が得られた。
麻子仁	<i>Cannabis sativa</i> L.	Cannabis,sativa-Ref-1	Hemant L. et al. In Vitro Cellular & Developmental Biology -Plant- 45:12-19 (2009)	<i>Cannabis sativa</i> 1年節母植物の根芽を含む節切片を用いた効率の高いシュート再生は、0.05から5.0 μMのチアズロンを添加したMS培地で達成された。再生個体の質と量は、ベンジルアデニンやカイネチンよりもチアズロン(0.5 μMのチアズロン)を用いた方が良好であった。0.5 μMのチアズロン添加培地にジベレリン7.0 μMを加えると、シュートの生長が増加した。500 μmol m ⁻² s ⁻¹ の光強度、2.5 μM IBAを添加した1/2MS培地に移行すると、伸長したシュートの95%が発根した。発根した植物は、首尾良く土壌に馴化できた。馴化後、4ヶ月 in vitroで増殖した植物の成長パフォーマンスをex vitroで栄養成長した同種の植物と比較した。異なる光のレベル(0, 500, 1000, 1500, 2000 μmol m ⁻² s ⁻¹)条件下で研究した。光合成と蒸散の特性を研究した。両タイプの植物において、1,500 μmol m ⁻² s ⁻¹ までは、光強度が増加すると光合成が増加し、その後減少した。しかし、この増加は、500 μmol m ⁻² s ⁻¹ 以下の低い光強度で顕著であった。気孔コンダクタンスと蒸散は、試験した最高レベル(2000 μmol m ⁻² s ⁻¹)において、光強度とともに増加した。細胞間CO ₂ 濃度(Ci)ならびに細胞間CO ₂ 濃度と周囲のCO ₂ 濃度(Ca)の比(Ci / Ca)は、in vitroでEx vitroの両植物において、光強度の増加とともに減少した。その結果は、本研究の範囲内では、ガスと水蒸気交換特性の点において、in vitroで増殖し馴化した植物は、同種のex vitro植物と機能的に同等であることを示している。
独活	<i>Aralia cordata</i> Thunb.	Aralia,cordata-Ref-1	西原隆彦・林義明・松本森子 園芸学会雑誌67: 81-86 (1998)	組織培養による種々の増殖技術を確認するために、葉片および未熟種子を培養し、不定胚形成能の高いカルス誘導法について検討した。葉片培養では、品種「愛知坊主」の不定胚は1.0 mg・liter ⁻¹ 2,4-Dと68.435 g・liter ⁻¹ (0.2M) ショ糖を添加したMS(NH ₄ NO ₃)の濃度を1/4に調整した培地で誘導されたカルスから100%形成された。しかし、「伊勢白」「紫芽の白」の両品種の不定胚形成は、用いたいずれの培地から誘導されたカルスにおいても65%以下であった。一方、未成熟種子の培養では、約3mmの大きさの未成熟種子を用いると、品種「伊勢白」の不定胚は0.5 mg・liter ⁻¹ の2,4-Dを添加したMS培地(30 g・liter ⁻¹ ショ糖添加)で誘導されたカルスから100%形成された。また品種「紫芽の白」の不定胚は、2.4-Dを添加したMS培地(30 g・liter ⁻¹ ショ糖添加)で誘導されたカルスから88.9%形成された。これらのことから、品種「愛知坊主」は2,4-Dを添加した高濃度のショ糖と低濃度の窒素を組み合わせたMS改良培地で葉片を培養することにより、「伊勢白」と「紫芽の白」の両品種は、2,4-Dを添加したMS培地で未成熟種子を培養することにより不定胚形成能の高いカルスを誘導できることが明らかとなった。各品種から誘導された不定胚は、植物体まで生長した。
酸漿仁	<i>Zizyphus jujuba</i> Miller var. spinosa Hu ex H.F.Chou	Zizyphu,jujuba-Ref-1	Gu X. F. and Zhang J. R. Plant Cell Report 23: 775-779 (2005)	サネブトナツメ選抜系統の成本において、本葉外植体からのダイレクトな不定胚誘導が得られた。10日間の本葉がWPM培地に置かれた。暗黒中で維持されたとき、本葉外植体のシュート再生と外植体当たりの平均シュート数が有意に改善された。植物成長調節剤のチアズロン(TDZ)は、サネブトナツメ本葉外植体からのシュート再生を刺激するに効果的であった。シュート形成率が最も高かったのは、4.54 μMのTDZと2.85 μMのインドール酢酸(IAA)を添加したWPM培地で、暗黒下20日間培養時に観察された。再生したシュートは、成長のために0.89 μMベンジルアデニンと5.77 μMジベレリン酸を添加したMS培地に移植した。シュートが約2cmの長さになった時、それらは発根のため、1.14 μM IAAと2.46 μMのインドール酢酸を添加したニッチェ培地に移植した。成本本葉の外植体からの不定胚形成システムは、サネブトナツメの遺伝子工学や信託化にとって有用である。
薄荷	<i>Mentha arvensis</i> Linné var. piperascens Malinvaud	Mentha,arvensis-Ref-1	Reh EL et al. Plant Cell Rep 5: 17-19 (1986)	1年経過した植物体の節部分をBAとKIN添加のMS培地で28℃昼光照明下で30日間培養した。その後、発根したシュートは、土に移植した。
薄荷	<i>Mentha arvensis</i> Linné var. piperascens Malinvaud	Mentha,arvensis-Ref-2	Kawabe S et al. Plant Biotechnology 10: 184-187 (1993)	カルスの増殖系確立と不定胚、不定芽の大量増殖、幼植物体再生
竜胆	<i>Gentiana scabra</i> Bunge	Gentiana-Ref-1	Hosokawa et al. Plant Cell Reports 15: 578-581 (1996)	WSP-3の品種で各種植物体からの植物体再生に最も効果的な培地とサイトカニンとオーキシンの組み合わせを検討した結果、MS培地でTDZとNAAがそれぞれ葉・茎切片に15-10mg/L、0.1mg/L、根切片では10mg/L、1 mg/Lが適していた。他の8種類の栽培地で葉切片からの再生率は30-100%であった。
竜胆	<i>Gentiana manshurica</i> Kitagawa	Gentiana-Ref-2	Nakano et al. Tohoku Agric Res 46: 289-290 (1993)	1リンドウの茎頂培養では、サイトカニンとしてゼアチンが有効で、初代培養は低濃度のNAAと比較的高濃度のゼアチンを組み合わせた培地で行い、その後ゼアチン濃度を1/10程度に減少した培地にシュートを移植する方法が有効と考えられた。
竜胆	<i>Gentiana triflora</i> Pallas	Gentiana-Ref-3	Hoshi N et al. Res Bull Iwate Res Ctr 11: 17-33 (2011)	葉片培養ではMS培地にNAA 0.5mg/L、TDZ 10mg/L、越冬芽ディスク培養ではGO2培地でシュート形成が可能であった。
天麻	<i>Gastrodia elata</i> Blume	Gastrodia,elata-Ref-1	Cai YP et al. Chinese Traditional & Herbal Drugs 32: 445-447 (2001)	塊茎または根芽からプロトコームを誘導した。このプロトコームを分割することでクローン増殖が可能となった。
木香	<i>Saussurea lappa</i> Clarke	Saussurea,lappa-Ref-1	Ayo R et al. Plant Cell Reports 8: 44-47 (1989)	BAとGAを含むMS培地で培養すると3週間では3.5倍の増殖率、NAA添加培地で90%の発根率となった。5℃の暗黒条件下では根は替えなしで12か月間の保存が可能であった。6か月間低温保存後に室温で培養するとシュート増殖率が高くなった。
連翹	<i>Forsythia suspensa</i> Vahl	Forsythia,suspensa-Ref-1	Liu J. Sci-Tech Information Development & Ecology 17: 185-186 (2007)	培地、ホルモン等の組織培養条件を検討
菊花	<i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramatulle	Chrysanthemum,morifolium-Ref-1	Kaul V et al. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 21: 21-30 (1990)	11種類のキクの葉と節切片から不定芽が得られた。5 μMのBAとNAAを含むMS培地が最適で、葉切片が葉切片より優れていた。シュートは容易に発根し、温室で開花した。各再生植物体の表現形質は同じであった。
菊花	<i>Chrysanthemum indicum</i> Linne	Chrysanthemum,indicum-Ref-1	Fukai S et al. Euphytica 54: 201-204 (1991)	<i>Chrysanthemum morifolium</i> と <i>indium</i> を含む数種類のキクの茎頂の超低温保存を行った。2日間培養し、10%DMSOと3%ブドウ糖液で-40℃まで0.2℃/分で冷却し、液体窒素に入れた。生存率は品種間差があり、9.4-100%だった。再生体は温室で開花できた。

表8. 漢方薬に用いる薬用植物の組織培養に関する情報（オリジナルデータ取得状況）

種別	生薬名	植物名(学名)	データ取得状況
第1コア	甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer, <i>G. glabra</i> Linné	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> はほぼ終了。 <i>G. glabra</i> は未取得。
	生姜	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	ほぼ終了。
	人参	<i>Panax ginseng</i> C.A.Mey.	ほぼ終了。
	蒼朮	<i>Actinopycnis lancea</i> De Candolle, <i>A. chinensis</i> Koidzumi	<i>Actinopycnis lancea</i> はほぼ終了。 <i>A. chinensis</i> は未取得。
	黄芩	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	ほぼ終了。
	茯苓	<i>Poria cocos</i> Wolf	未取得。
	芍薬	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	培養シュート(多芽体)形成まで取得。
第2コア	桂皮	<i>Cinnamomum cassia</i> Blume	未取得。
	当帰	<i>Angelica acutiloba</i> Kitagawa, <i>A. acutiloba</i> Kitagawa var. <i>sugiyamae</i> Hikino	ほぼ終了。
	柴胡	<i>Bupleurum falcatum</i> Turcz.	ほぼ終了。
	川芎	<i>Cnidium officinale</i> Makino	培養シュート、カルス誘導まで。
	地黄	<i>Rehmannia glutinosa</i> Liboschitz var. <i>purpurea</i> Makino, <i>R. glutinosa</i> Liboschitz f. <i>hueichingensis</i> (Chao et Schih) Hsiao	<i>Rehmannia glutinosa</i> Liboschitz var. <i>purpurea</i> はシュート誘導まで取得、 <i>R. glutinosa</i> Liboschitz f. <i>hueichingensis</i> はほぼ終了
	麻黄	<i>Ephedra sinica</i> Stapf, <i>E. intermedia</i> Schrenk et C. A. Meyer, <i>E. equisetina</i> Bunge	<i>Ephedra sinica</i> はほぼ終了。
	山梔子	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	未取得。
	大黄	<i>Rheum palmatum</i> Linné, <i>R. tanguticum</i> Maximowicz, <i>R. officinale</i> Baillon, <i>R. coreanum</i> Nakai	<i>Rheum palmatum</i> はほぼ終了。他種は未取得。
	黄连	<i>Coptis japonica</i> Makino, <i>C. chinensis</i> Franchet, <i>C. deltoidea</i> C.Y.Cheng et Hsiao, <i>C. teeta</i> Wallich	<i>Coptis japonica</i> , <i>C. chinensis</i> , <i>C. deltoidea</i> はほぼ終了。 <i>C. teeta</i> は未取得。
	白朮	<i>Actinopycnis japonica</i> Koidzumi ex Kitamura, <i>A. ovata</i> De Candolle	<i>Actinopycnis japonica</i> はほぼ終了。 <i>A. ovata</i> は未取得。
	車前子	<i>Plantago asiatica</i> Turcz.	ほぼ終了。
	蘇葉	<i>Perilla frutescens</i> Britton.	ほぼ終了。
	牛膝	<i>Achyranthes fauriei</i> Leveille et Vaniot, <i>A. bidentata</i> Blume	<i>Achyranthes fauriei</i> , <i>A. bidentata</i> とほぼ終了。

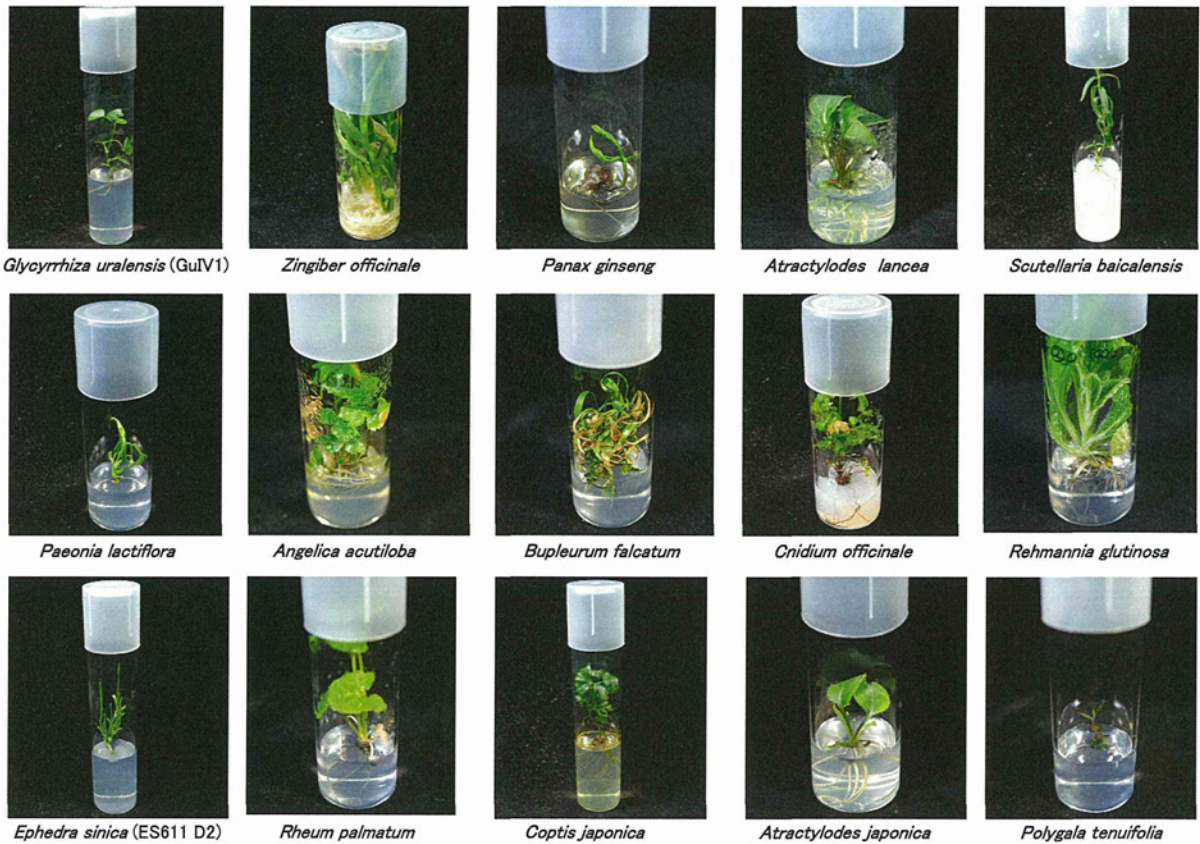
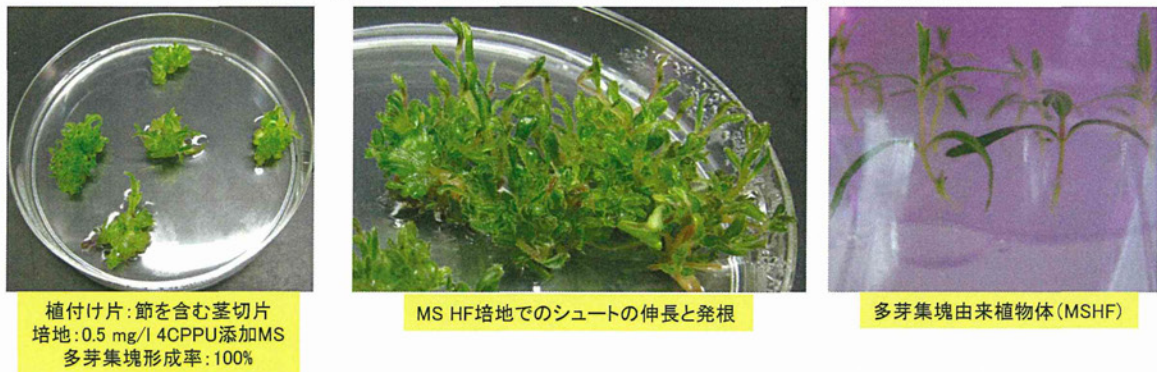


図2. オリジナルデータ例 (培養植物体又は培養シュート)

コガネバナ (*Scutellaria baicalensis*) 多芽体形成と植物体再生



ヒナタイノズチ (*Achyranthes fauriei*) 及びトウゴシツ (*A. bidentata*) 多芽体形成と植物体再生



図3. オリジナルデータ例 (第1コア、第2コア)

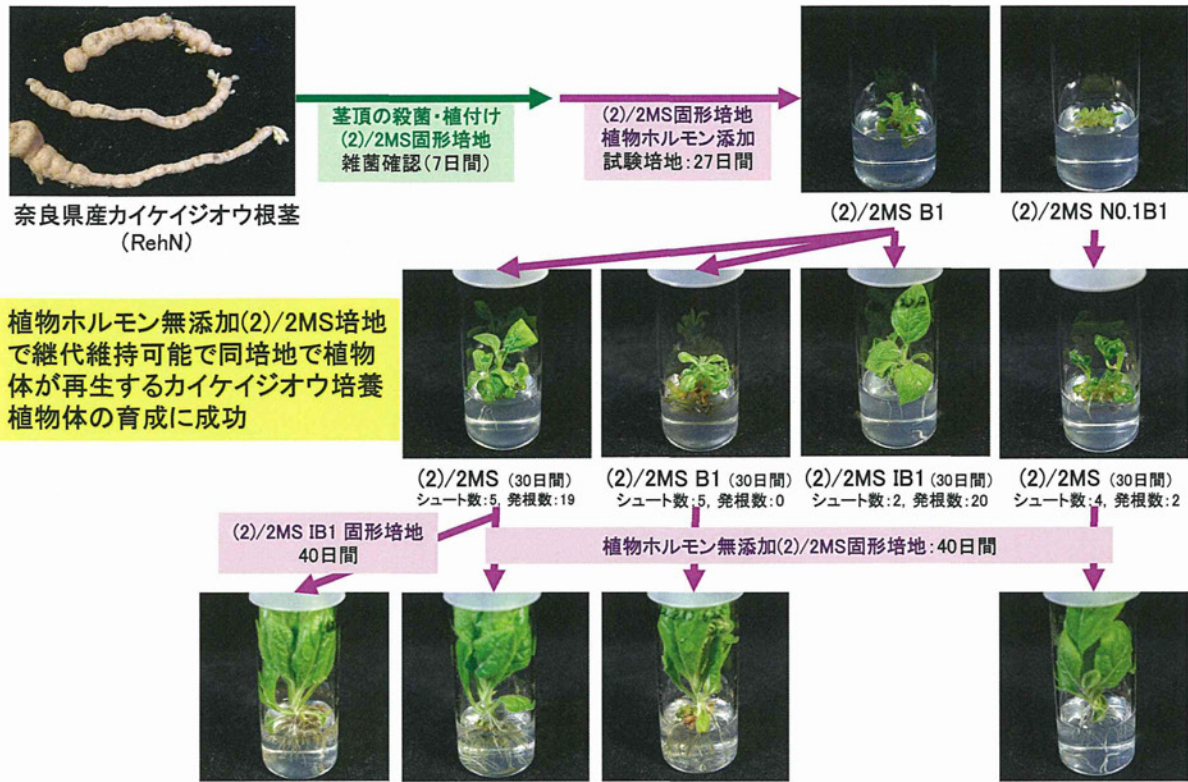


図4. オリジナルデータ例 (第2コア-2)

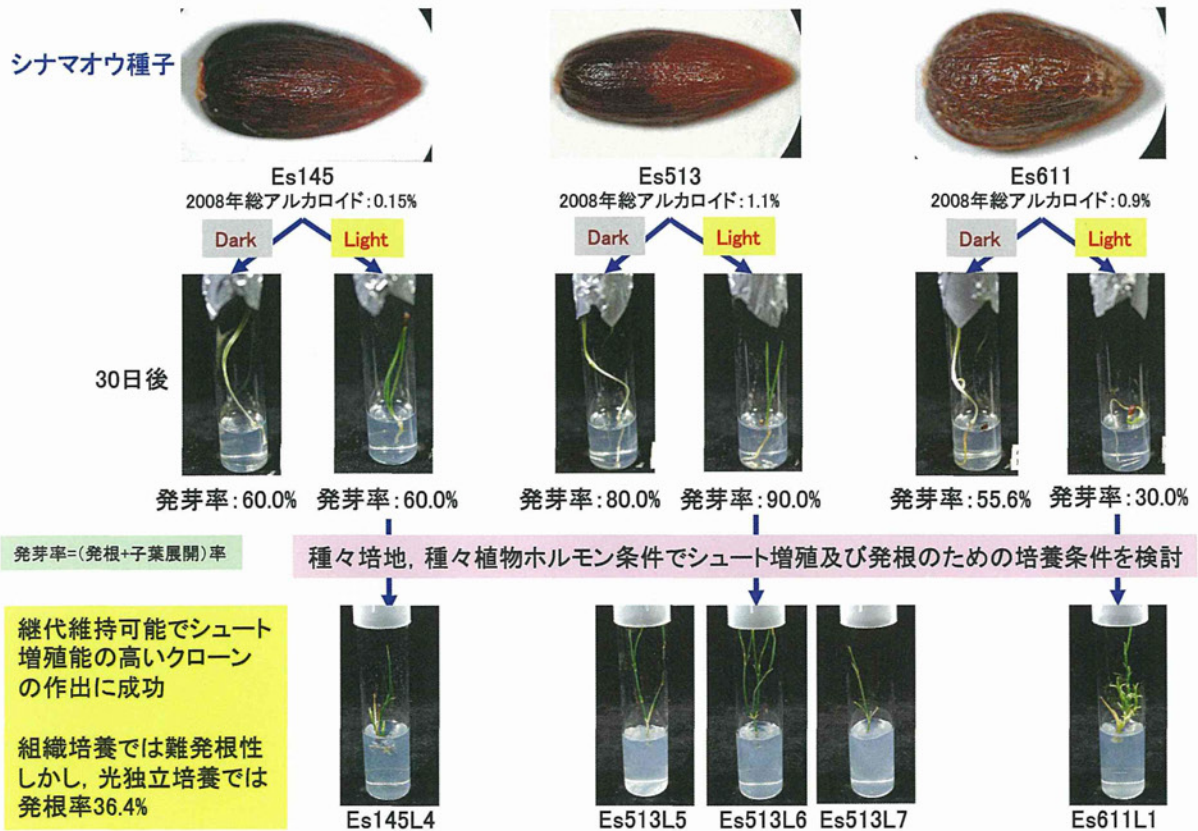


図5. オリジナルデータ例 (第2コア-3)

平成24年度厚生労働科学研究費補助金（創薬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

研究分担課題：植物体栽培情報に関する研究
(効率的増殖法に関する研究)

研究分担者：菱田 敦之 医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター
北海道研究サブリーダー
研究協力者：大谷 克城 旭川医科大学 微生物学講座講師
研究協力者：河野 徳昭 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
研究協力者：林 茂樹 医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター
北海道研究部研究員
研究協力者：飯田 修 医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター
種子島研究リーダー
研究協力者：熊谷 健夫 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

薬用植物の栽培において、栽培条件として重要な施肥条件の目安とするため、生薬市場品の無機成分含量の測定を行った。ICP-発光分光光度法を用いた生薬の無機分析法を確立するために条件検討した結果、サンプルの分解条件を確立し、試料溶液に含まれる29元素の一斉分析ができる測定波長を決定した。この条件をもとに、本年は黄芩（15系統）、甘草（16系統）、地黄（11系統）の3品目42検体の無機成分含有量を測定した。本年度の分析結果では、甘草は、比較的ホウ素が多く含まれる傾向が認められた。

さらにシソ栽培における収穫の省力化技術を開発するため、茶刈り機を用いたシソ葉の収穫を検討した結果、茶刈り機による収穫は、手刈りによる方法と比較して5.5倍の速度で収穫が可能で、収穫された茎葉部は両方で顕著な差が認められないことから、茶刈り機による収穫方法は、シソ葉の収穫において非常に効果があり実用的な省力化技術であると思われた。

生薬、薬用植物の抗酸化活性（ORAC）の検討した結果、測定値を生薬重量あたりに換算したORAC値を同一生薬のロット間で比較すると、生姜が約4倍、人参が約2倍、蒼朮が約2倍の差が認められた。植物体として測定したショウガでは、乾燥重量当たりのORAC値は親ショウガよりも新ショウガの方が約2倍高値を示し、新鮮重量あたりではほぼ同等のORAC値を示すことが明らかになった。乾燥エキスに対応する薬用植物は、今年度分析をおこなったショウガも含め、いずれも薬用部の根や根茎よりもORAC値が高かった。