

(Promega)を用い DNA を抽出・精製した。回収 DNA 溶液, 各 200 μ L 中の 1 μ L を PCR 反応に用いた。これを鋳型として葉緑体 DNA 上の *rbcL*, *matK*, *trnL-trnF* および, 核リボゾーム DNA 上の ITS 領域を, 各領域で保存性の高い配列を基にしたプライマー⁶⁻⁸⁾を用い, Ex Taq (Takara) および Ampdirect plus (Shimadzu) を使用して PCR によって各領域の増幅を以下のプログラムで行った (95°C 180sec; 94°C 30sec, 52°C 30sec, 72°C 90sec, 35cycle; 72°C, 300sec)。アガロースゲル電気泳動によりバンドを確認後, シングルバンドについてはポリエチレングリコール (PEG) 沈殿後, ダイレクトシーケンスを行った。また, バンドが複数確認できる場合, ダイレクトシーケンスにおいてピークが重なって検出される場合は, PEG 沈殿後, Mighty TA-cloning Kit (Takara) を用い, ベクターライゲーション後, 塩基配列を決定した。Cycle Sequence 反応には, BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) を用い, 解析は ABI Prism 3100-Avant Genetic Analyzer (ABI) を使用した。用いたプライマーを以下に示す。

rbcL forward primer;

5'-ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC-3',

rbcL reverse primer;

5'-GTAAAATCAAGTCCACCRCG-3',

matK forward primer;

5'-CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG-3',

matK reverse primer;

5'-ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGTT
C-3', *trnL-trnF* forward primer;

5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3',

trnL-trnF reverse primer;

5'-ATTTGAAGTGGTGACACGAG-3',

ITS forward primer;

5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3',

ITS reverse primer;

5'-CCTTATCATTTAGAGGAAGGAG-3'.

C. 研究結果

1. 塩基配列解析

植物の鑑別・同定に使われる葉緑体 DNA 上の 3 領域および核ゲノムの ITS 領域を植物共通プライマーを用い増幅後, 各増幅産物の塩基配列を決定し, 国際塩基配列データベース (DDBJ/EMBL/GenBank) に登録されている配列と比較した。

表 1 に今回検出された DNA 塩基配列より示唆される植物種 (学名) を示す (上記, 分析 DNA 4 領域中, 3 領域以上で高い相同性を示す種 (学名) を示した)。21 製品中 10 製品と最も検出された植物種は *Althaea officinalis* (マシュマロウ, ウスベニタチアオイ) であった。化学分析において合成カンナビノイド等化合物が検出されなかった製品 No.5-10 の製品からはいずれも *Turnera diffusa* (ダミアナ) が検出された。また, 合成カンナビノイド等化合物が検出される製品からのダミアナの検出はなかった。また, これまでにも検出事例のある *Rubus idaeus* (ラズベリー), *Verbascum thapsus* (マレイン, モウズイカ) が検出される製品が見られた。また, 同一製品中には単一の植物種が検出されるものが多くみられた。製品 No.4 で検出された *Galactia striata* はデータベースにおいて最も相同性が高い植物種として記載したが, *matK* 領域で 714 塩基中 705 塩基の相同性 705/714 (98%), *rbcL* 領域 541/549 (98%), *trnL-trnF* 領域 730/745 (97%) と, 植物種を強く示唆できる結果は得られなかった。また, 本 DNA 配列は, 本製品中のわずかな植物片からのみ検出され (data not shown), 多くの植物片からは *Althaea officinalis* が検出された (表 1)。

D. 考察

違法ドラッグ市場に流通する脱法ハーブと称する 21 製品中の植物片の基原種同定を行った。

近年の傾向としてはダミアナ (*Turnera diffusa*) の混入が顕著であったが, 昨年からは, ウスベニ

タチアオイ(*Althaea officinalis*)が最も検出される植物種となり(48 製品中 28 製品)⁹⁾, その傾向は今年度も同様で 21 製品中 10 製品と最多であった(表 1). また, これまで多数の製品で検出されていたダミアナは今年度 1 製品(昨年度 3 製品から検出)からも検出されなかった(合成化合物を含む脱法ハーブ製品中). 一方で, 今年度, 合成カンナビノイド等化合物の添加されていない製品一群が検出され, その一群の製品すべてからダミアナが検出された(製品 No. 4~10(同一製造元と考えられる)). これら製品はいずれも製品(商品)名に“7th”の記載が見られた(○○○7th, △△△7th など). さらに, これら製品の後発品と考えられる○○○(○○○は 7th, 8th とともに同一名) 8th ではウスベニタチアオイが検出され, 合成化合物の添加も確認された(製品 No. 14). 以上のことから, これら一群の製品のダミアナの添加は故意によるものであることが示唆され, 依然として違法ドラッグ市場にダミアナの流通が認められた. なお, ダミアナ葉は国内では「専ら医薬品として使用される成分本質(原材料)」に該当するため, 食品に添加することはできないことになっている. 今年度検出された植物種(ダミアナを除く)はいずれもハーブティーとして, 同一の形態(植物体の刻み(植物片))で, 国内でも販売されている植物種である.

製品 No. 15 は製品名記載なし, 安価(3g 300 円)な商品で「ブースターハーブ」と呼ばれるものと考えられた. これは合成化合物添加済みハーブ製品を加熱する際のカサ増しや, 違法ドラッグ市場の「アロマリキッド」の賦形剤として利用するものと考えられ, DNA 塩基配列解析の結果, ウスベニタチアオイであることが示唆された. この結果は, 賦形剤としての植物はウスベニタチアオイが広く流通しており, 今後も脱法ハーブ製品としてウスベニタチアオイが多数検出されるものと推測された. また, 以前, 多数見られた製品中の複数種の混合は, あまり見られず, 1 製品 1 植物種のものが多数(21 製品中 19 製品)であり, 昨年見ら

れた複数種の花弁を添加した製品⁹⁾も見られなかった.

今年度の調査では, 大麻やケシなど, 国内法規制植物や幻覚性が示唆される植物の混入は見られなかった.

E. 参考文献

- 1) Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Kawahara, N., Haishima, Y., Goda, Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **57**, 439–441 (2009).
- 2) Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Ogata, J., Goda, Y., *Forensic Science International*, **198**, 31–38 (2010).
- 3) Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Kawamura, M., Goda, Y., *Forensic Toxicol.*, **29**, 25–37 (2011).
- 4) Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Kawamura, M., Goda, Y., *Forensic Science International*, **227**, 21–32 (2013).
- 5) Ogata, J., Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Goda, Y., *Forensic Science International*, **227**, 33–41 (2013).
- 6) CBOL Plant Working Group, *Proc Natl Acad Sci USA* **106**, 12794–12797 (2009).
- 7) Stanford, M. A., Harden, R., Parks, C. R., *American Journal of Botany* **87**, 872–882 (2000).
- 8) Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., Bouvet, J., *Plant Mol. Biol.* **17**, 1105–1109 (1991).
- 9) 平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)分担研究報告書「違法ドラッグに関する分析情報の収集及び危害影響予測に関する研究」植物系違法ドラッグ製品の基原植物種の同定 緒方 潤

F. 健康危険情報

なし.

G. 研究発表

学会発表

なし

論文発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし.

表 1. 各製品由来 DNA 配列から示唆された植物種

製品No.	購入月	植物種
1	201209	<i>Althaea officinalis</i> (Marshmallow)
2	201209	<i>Rubus idaeus</i> (Rapsberry)
3	201211	<i>Verbascum thapsus</i> (Mullein) <i>Althaea officinalis</i>
4	201211	<i>Turnera diffusa</i> (Damiana) <i>Galactia striata</i> *
5	201211	<i>Turnera diffusa</i>
6	201211	<i>Turnera diffusa</i>
7	201211	<i>Turnera diffusa</i>
8	201211	<i>Turnera diffusa</i>
9	201211	<i>Turnera diffusa</i>
10	201211	<i>Turnera diffusa</i>
11	201212	<i>Althaea officinalis</i>
12	201301	<i>Althaea officinalis</i>
13	201302	<i>Althaea officinalis</i>
14	201302	<i>Althaea officinalis</i>
15	201303	<i>Althaea officinalis</i> *
16	201303	<i>Rubus idaeus</i>
17	201304	<i>Althaea officinalis</i>
18	201305	<i>Althaea officinalis</i>
19	201306	<i>Althaea officinalis</i>
20	201307	<i>Verbascum thapsus</i>
21	201308	<i>Rubus idaeus</i>

分担研究課題:植物系違法ドラッグ製品の基原種の特定

分担研究者:合田 幸広 国立医薬品食品衛生研究所薬品部 部長

—指定薬物である *Salvia divinorum* の LAMP 法を用いた簡易検出法の検討—

研究協力者:緒方 潤 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 主任研究官

研究要旨:“脱法ハーブ”と称する違法ドラッグ製品中の植物片は一見では、その植物種を判定することができず、DNA 塩基配列の解析など手間と時間を要した。そこで膨大な“脱法ハーブ”製品の簡易スクリーニング法のひとつとして、指定薬物である *Salvia divinorum* 由来 DNA の Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP)を用いた目視判定法を検討した。本実験系では電気泳動やシーケンサーなどの機器を使用せず、全工程 3 時間程度で検出が可能であることが示唆された。

研究協力者

内山奈穂子 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 主任研究官

A. 研究目的

違法ドラッグ市場において、植物片に合成カンナビノイド等を添加した、いわゆる“脱法ハーブ”と呼ばれる製品が広く若者をはじめとして流通しており、“脱法ハーブ”による事件や事故が連日報道されている。本研究機関ではこれまで違法ドラッグ対策を目的として、継続的に化学的^{1,3)}、分子生物学的⁴⁾手法を用いた製品分析を行っている。これまでに、分子生物学的手法を用いた解析として、DNA 塩基配列を用いた植物種の同定を行い、指定薬物であるサルビア・ディビノラム (*Salvia divinorum*) の混入を確認している⁴⁾。

植物種特異的プライマーを用いた DNA による植物種同定法は、DNA の「抽出」、標的 DNA の「増幅」、その「検出」、の大きく 3 つに分類される。一般的な手法として、「増幅」には PCR 法⁵⁾、「検出」には電気泳動法があるが、いずれも装置そのものの準備や設置場所の確保、試験全体の工程

の多さ、煩雑さ、というものがある。

そこで、本研究ではプライマー 4 種 (PCR 法は通常 2 種) を設計し、等温 (PCR 法は温度変化が必要) での標的 DNA の「増幅」が可能である Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法⁶⁾を用い、「検出」は反応溶液中の Hydroxynaphthol Blue (HNB)を用いた比色検出法⁷⁾を採用し、指定薬物である *Salvia divinorum* の簡易検出法を検討した。

B. 研究方法

1. 実験材料

本研究機関で栽培した *Salvia divinorum*⁴⁾の葉 (a)、違法ドラッグ市場で販売されていた「サルビア・ディビノラム」(乾燥植物片) (b)、大麻種子トチギシロ、および「脱法ハーブ」製品 (2013 年度分析品) を使用した。

2. 実験方法

2-1. DNA の抽出

1. 実験材料に示した各試料、約 20 mg (乾燥植物片) (大麻種子は 1 粒) を液体窒素で凍結さ

せた後, MM-300 (Qiagen) により粉碎した. 粉碎後, Maxwell 16 Tissue DNA purification kit (Promega) 内の溶出液に溶解し, Maxwell 16 (Promega) を用い DNA を抽出・精製した. 各 300 μ L を回収 DNA 溶液とした.

2-2. LAMP プライマーの作成

実験材料(a), (b)から得られた DNA を鋳型として, 5S rRNA non transcribed spacer (5S-rRNA-NTS)⁸⁾全長のクローニングを行った.

各回収 DNA 溶液 1 μ L を用い,

5S-rRNA-NTS forward primer

(5'-GTGCTTGGGCGAGAGTAGTA-3')⁸⁾ および

5S-rRNA-NTS reverse primer

(5'-TTAGTGCTGGTATGATCGCA-3')⁸⁾ により

PCR にて全長を増幅した. 全量 10 μ L とし, Ex Taq (Takara) および Ampdirect plus (Shimadzu) により以下のプログラムで全長を取得した (94°C 120sec; 94°C 60sec, 56°C 60sec, 72°C 120sec, 40cycle; 72°C, 300sec). アガロースゲル電気泳動によりバンドを確認後, ポリエチレングリコール沈殿により DNA 増幅断片を回収後, Mighty TA-cloning Kit (Takara) を用い, サブクローニング後, BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) を用い, 解析は ABI Prism 3100-Avant Genetic Analyzer (ABI) を使用し塩基配列を決定した.

得られた塩基配列および既報の *Salvia divinorum* 5S ribosomal RNA genes, partial sequence (Accession No. DQ230979)⁸⁾ の配列アラインメントを行い, 共通配列から PrimerExplorer V4

(<https://primerexplorer.jp/lamp4.0.0/index.html>)

を用い検討した.

2-3. LAMP による検出

LoopampDNA 増幅試薬キット (EIKEN Chemical Co., Ltd.) を用い 63°C の等温条件下で 90 分反応, 全量 11 μ L を基本条件として以下の組成で反応を行った. PCR チューブに, 2 x Reaction Mix 5 μ L, primer (SD-F (2.5 pmol),

SD-R (2.5 pmol), SD-FI (20 pmol), SD-RI (20 pmol)) 1 μ L, *Bst* DNA polymerase 0.5 μ L, MilliQ 2.5 μ L, DNA 溶液 1 μ L および Hydroxy naphthol Blue (HNB) (Dojindo) 水溶液 (20 mM) 1 μ L を混合し, Mineral Oil (Sigma-Aldrich) を 1 滴添加した. 2% アガロースゲル電気泳動にて反応産物の確認を行った.

C. 研究結果

1. LAMP プライマーの作成

図 1 にサルビア・ディビノラム 5S-rRNA-NTS の部分配列を示す. プライマー作成に用いた配列相同性は最も高いものでシソ科 *Stachys setifera* 5S-rRNA-NTS (Accession No. AF501976) と 64%, *Salvia officinalis* 5S-rRNA-NTS (Accession No. DQ230980) とは 52% であった. プライマーの設計には①T_m 値, ②末端安定性, ③GC 含量, ④増幅長, ⑤二次構造非形成能⁹⁾を検討し, PrimerExplorer V4 によって得られた候補プライマー配列から, SD-F primer

5'-CCGAAATGGCTCAAAACGC-3'(1),

SD-FI primer

5'-ATCATCGCGAAGCTCTCGCCTTGGTGTC ATATCACCCCA-3'((3)+(2)),

SD-RI primer

5'-GCTCCCGTAACTCCTATCGGGTGCCAGT GAACAGGTGAACAT-3'((4)+(5)),

SD-R primer

5'-TCCACCGCAATGTATTCCTT-3'(6) の 4 種のプライマーを作成した (詳細は図 1 に示す).

2. LAMP による検出

図 2 に本実験による検出結果を示す. 図 2-1) は反応停止後 (85°C, 5min) の可視光下での反応チューブを示す. A. コントロールが青紫色を呈し, B. が青色を呈した. これは, DNA の増幅 (酵素反応) によって溶液中の HNB の色調が変化したものである. また, その反応溶液 (-HNB) の電気泳動図 (図 2-2) では, A. ではバンドが確認されな

かったが、B において様々なバンドサイズの反応産物が確認された。反応産物によって色調が変化すること、*Salvia divinorum* に特異的に反応していることが示唆された。図 3 に、平成 25 年度分析“脱法ハーブ”¹⁰⁾ による分析結果を示す。脱法ハーブ製品はいずれも DNA 塩基配列解析の結果、*Salvia divinorum* は検出されず¹⁰⁾、今回の LAMP による結果でも同様であった。また、*Salvia divinorum* 由来の違法ドラッグ製品「サルビア・デイビノラム」からは HNB の色調が変化することで検出が可能であった(図 3 の 8)。また、現時点で、“脱法ハーブ”の DNA 塩基配列解析において *Salvia divinorum* 由来 DNA が検出されないサンプルで HNB の色調が変化するものは見られていない(data not shown)。

また、反応溶液は分光高度計 Nanodrop 1000 (Thermo scientific)にて吸収スペクトルを確認した(図 4)。

D. 考察

Salvia divinorum は、シソ科アキギリ属の 1 種で、サルビア、セージとして、鑑賞花、香辛料などで知られる大きな属に含まれる。プライマーの作成候補配列としては、特異的な配列として Salvinorin A 合成系酵素の塩基配列も有効と考えられたが、現時点では同定されておらず、5S-rRNA-NTS を選択した。

LAMP に用いたプライマーは *Salvia divinorum* 由来 DNA に高い特異性を示した。今回の結果においても等温反応下で、様々なサイズの反応産物を形成⁹⁾したことは LAMP の反応が今回の系においても明確に機能したことが示された(図 2-2))。LAMP プライマーは 4 種のプライマーに対して相同性が必要であり、その配列が設計どおりに並ぶ必要⁹⁾があるため、原理的に極めて高い特異性を示すこととなる。また、今回は 4 種のプライマーで検討したが、更に、2 種類のインナープライマー(ループプライマー)を設計することで、反応時間を 1/3 に短縮できるが⁹⁾、今回は初条件

の検討と誤判定の回避を考え、4 種のプライマーを用い実験を行った。しかしながら、反応溶液の調製、反応結果の判定までにはこれまでの PCR、電気泳動に比べて短時間での確認が可能であった。また、DNA 溶液は PCR 反応グレードのもので問題なく結果が得られた。通常の PCR 反応でバンドが確認できるサンプルであれば LAMP でも採用できることが示唆された。また、今回、電気泳動装置、蛍光検出器などを必要としない簡易な判定法として HNB⁷⁾ による目視判定を採用した。常法では、白濁検出法¹¹⁾、DNA 合成の際、dNTPs から遊離されるピロリン酸イオンと Mg^{2+} と結合し不溶性のピロリン酸マグネシウムが得られることで、白濁が確認できるが、今回の検討ではそのような現象は見られなかった。1 つには今回、反応時間の短縮化が可能なループプライマーを用いなかったため、全体として増幅効率が低くなったことによると考えられる。また、蛍光指示薬を添加した蛍光検出法¹²⁾ があるが、UV ランプ等の検出器を必要とする点で簡易スクリーニングに不向きと考えた。今回検討した HNB は、アルカリ条件下で酵素反応により利用される Mg^{2+} の減少によって HNB の可視光域の吸収極大が長波長側にシフトする(図 4)ことで色調に変化が見られ目視での判定が可能となるものである。更に、本指示薬は酵素反応を阻害しない点で、反応前に反応溶液中への添加が可能であり、反応産物の取り扱いにおいて、反応指示薬を反応後に添加するなど、チューブのフタを開けることによるコンタミを防ぐことができる点も有効であった。また、反応溶液に Mineral Oil を添加することで、反応産物の気散を防止し、より一層のコンタミの回避を図った。現在までに LAMP 法はウイルス¹³⁾、植物¹²⁾、動物¹¹⁾ など幅広くその検出法が応用されている。

今回行った LAMP による一連の実験系は、DNA の抽出に 1 時間、調整、酵素反応に 2 時間と、全工程 3 時間程度で検出が可能であり、誤判定もないことから、大量生産される“脱法ハーブ”

製品中の *Salvia divinorum* 植物体の混入の有無の簡易スクリーニング法として有効な手法であることが示唆された。今後は、時間短縮化のためのループレライマーの作成や、より詳細な条件検討を行う。

E. 参考文献

- 1) Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Ogata, J., Goda, Y., *Forensic Science International*, **198**, 31-38 (2010).
- 2) Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Kawamura, M., Goda, Y., *Forensic Toxicol.*, **29**, 25-37 (2011).
- 3) Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Kawamura, M., Goda, Y., *Forensic Science International*, **227**, 21-32 (2013).
- 4) Ogata, J., Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Goda, Y., *Forensic Science International*, **227**, 33-41 (2013).
- 5) Saiki, R. K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K. B., Horn, G. T., Erlich, H. A., Arnheim, N., *Science*, **230**, 1350-1354 (1985).
- 6) Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N., Hase, T., *Nucleic Acids Res.*, **28**, e63 (2000).
- 7) Goto, M., Honda, E., Ogura, A., Nomoto, A., Hanaki, K., *Short Technical Reports*, **46**, 167-172 (2009).
- 8) Berteà, C. M., Luciano, P., Bossi, S., Leoni, F., Baiocchi, C., Medana, C., Azzolin, D. M. M., Temporale, G., Lombardozzi, M. A., Maffei, F. E., *Phytochem.*, **67**, 371-378 (2006).
- 9) 牛久保宏, *ウイルス*, **54**, 107-112 (2004).
- 10) 平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金 (医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業) 分担研究報告書「違法ドラッグに関する分析情報の収集及び危害影響予測に関する研究」植物系違法ドラッグ製品の基原植物種の同定 緒方 潤

11) Hirayama, H., Kageyama, S., Moriyasu, S., Sawai, K., Minamihashi, A., *J. Reprod. Dev.*, **59**, 321-326 (2013).

12) Sasaki, Y., Fujimoto, T., Aragane, M., Yasuda, I., Nagumo, S., *Biol. Pharm. Bull.*, **32**, 887-891 (2009).

13) Fukuda, S., Takao, S., Kuwayama, M., Shimazu, Y., Miyazaki, K., *J. Clin. Microbiol.*, **44**, 1376-1381 (2006).

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

学会発表

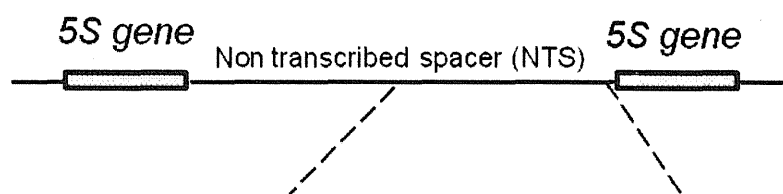
緒方 潤, 内山奈穂子, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広, 袴塚高志, 法規制植物の LAMP を用いた簡易検出法の検討(日本薬学会第 134 年会, 平成 26 年 3 月)

論文発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。



(Sense 5' -) AATATCGAAA TATGCCCGAA ATGGCTCAA ACGCTTATTT TTTTGGTGTC
 (Antisense 3' -) ttatagcttt atacgggctt taccgagttt tgcgaataaa aaaaccacag
CCGAA ATGGCTCAA ACGC (1) TTGGTGTC

(Sense 5' -) ATATCACCCC CAACGGGCTA CGCCGGTTGG CTACGTGGTC GGGCTCGGCG
 (Antisense 3' -) tatagtgggg gttgcccgat gcggccaaacc gatgcaccag cccgagccgc
ATATCACCCC CA (2) ccgc

(Sense 5' -) AGAGCTTCGC GATGATATGC TGTGGCTCCC GTAACTCCTA TCGGGTTAAA
 (Antisense 3' -) tctcgaagcg ctactatacg acaccgaggg cattgaggat agcccaattt
tctcgaagcg ctacta (3) GCTECC GTAACTCCTA TCGGGT (4)

(Sense 5' -) AGTTATGCCC GTACGAAGGT TGGAAGATGT TCACCTGTTC ACTGGCGCAT
 (Antisense 3' -) tcaatacggg catgcttcca accttctaca agtggacaag tgaccgcgta
taca agtggacaag tgaccg (5)

(Sense 5' -) ATGCTATAAA GGAATACATT GCGGTGGACA TGATGGGTGC
 (Antisense 3' -) tacgatattt ccttatgtaa cgccacctgt actaccacg
tt ccttatgtaa cgccacct (6)

SD-F primer **CCGAAATGGC TCAAAACGC**

SD-FI primer **atcatcgga agctctccgc TTGGTGTC TATCACCCCC A**

SD-RI primer **GCTCCCGTAA CTCCTATCGG GTgccagtg aacaggtgaa cat**

SD-R primer **tccaccgcaa ttattcctt**

図 1. *Salvia divinorum* 5S-rRNA-NTS の部分配列 (センス鎖, アンチセンス鎖) および作成したプライマ
 ーの配列
 太字はプライマー配列, 括弧の数字はプライマー設定箇所 (本文 2-2). アンダーバーはアンチセン
 ス鎖を示す.

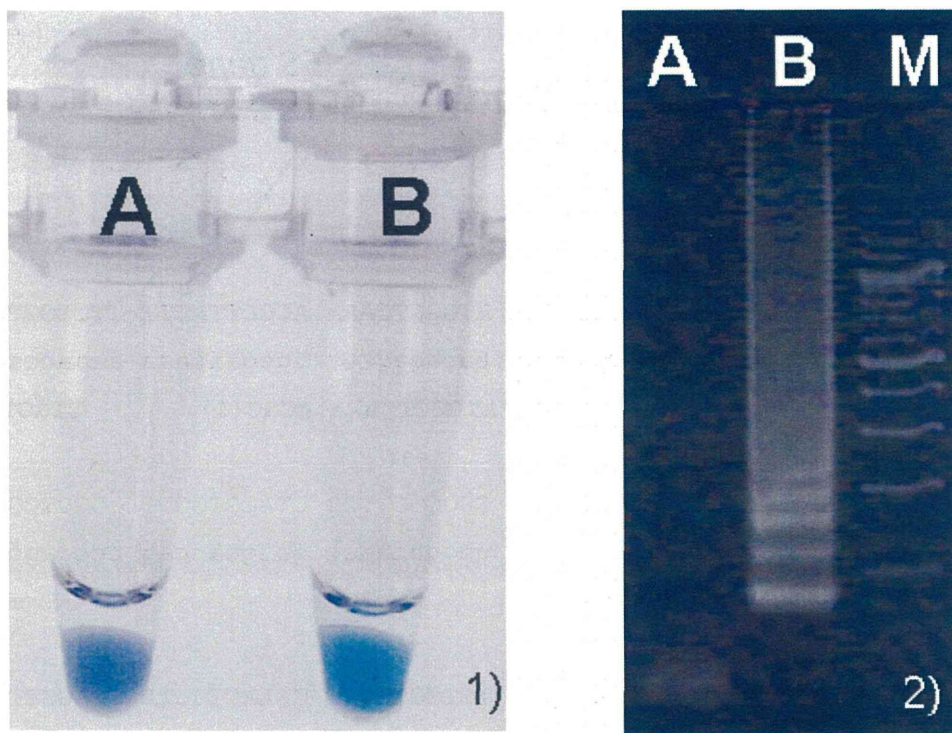


図2. LAMP 比色検出法を用いた *Salvia divinorum* の検出 (1) , LAMP を用いた電気泳動図(2)
 A. 大麻種子 1 粒から得られた DNA 溶液(コントロール), B. *Salvia divinorum*(a)から得られた DNA 溶液. 2) の M は 200bp ラダーマーカー

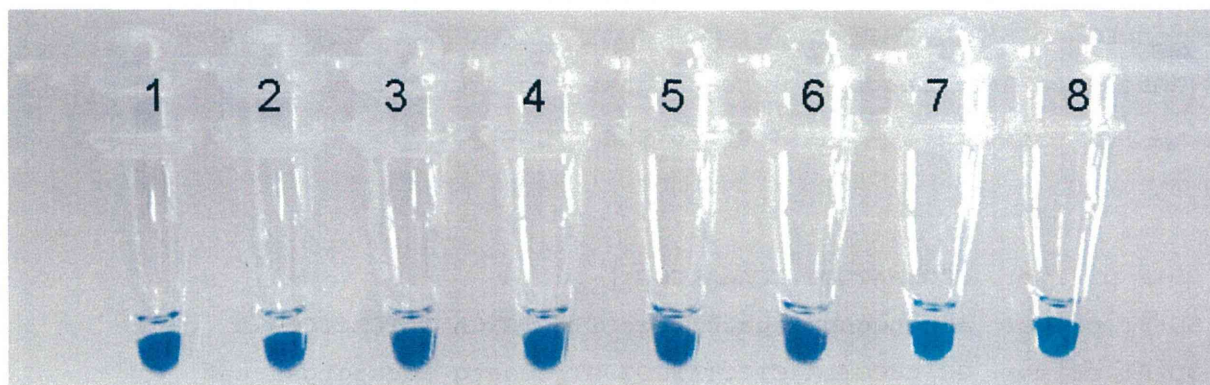


図3. LAMP 法による“脱法ハーブ”における *Salvia divinorum* の検出
 1~6. 2013 年度分析“脱法ハーブ”, 7. *Salvia divinorum* (a). 8. 違法ドラッグ製品「サルビア・デイビノラム」(b).

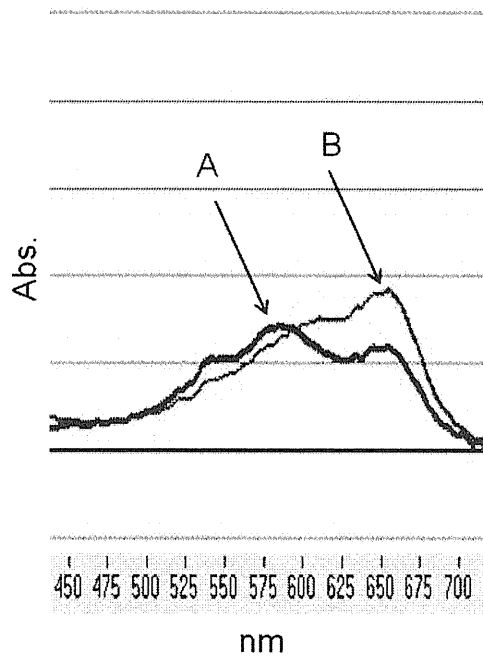


図 4. LAMP 反応溶液中の吸収スペクトル

A (図 2-1)A). コントロール, B (図 2-1)B). 酵素活性あり.
反応溶液 2 μ L を測定

研究成果の刊行に関する一覧表

	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻, 号	ページ	出版年
1	R. Kikura-Hanjiri, N. Uchiyama, M. Kawamura, Y. Goda	Changes in the prevalence of new psychoactive substances before and after the introduction of the generic scheduling of synthetic cannabinoids in Japan.	<i>Drug Testing and Analysis.</i>	in press	DOI 10.1002/dta.1584.	2014
2	T. Takayama, M. Suzuki, K. Inoue, K. Todoroki, J. Z. Min, R. Kikura-Hanjiri, Y. Goda, T. Toyo'oka	UPLC-ESI-MS/MS based determination of metabolism of several new designated substances, ADB-FUBINACA, AB-FUBINACA, AB-PINACA, QUPIC, 5F-QUPIC and α -PVT, by human liver microsome.	<i>Biomed. Chromatogr.</i>	in press		2014
3	N. Uchiyama, S. Matsuda, M. Kawamura, Y. Shimokawa, R. Kikura-Hanjiri, K. Aritake, Y. Urade, Y. Goda	Characterization of four new designer drugs, 5-chloro-NNEI, NNEI indazole analog, α -PHPP and α -POP, with 11 newly distributed designer drugs in illegal products.	<i>Forensic Sci. Int.</i>	243	1-13	2014
4	N. Uchiyama, Y. Shimokawa, S. Matsuda, M. Kawamura, R. Kikura-Hanjiri, Y. Goda	Two new synthetic cannabinoids, AM-2201 benzimidazole analog (FUBIMINA) and (4-methylpiperazin-1-yl)(1-pentyl-1H-indol-3-yl)methanone (MEPIRAPIM), and three phenethylamine derivatives, 25H-NBOMe 3,4,5-trimethoxybenzyl analog, 25B-NBOMe, and 2C-N-NBOMe, identified in illegal products.	<i>Forensic Toxicol.</i>	32(1)	105-115	2014
5	N. Uchiyama, S. Matsuda, M. Kawamura, R. Kikura-Hanjiri, Y. Goda	Identification of two new-type designer drugs, a piperazine derivative MT-45 (I-C6) and a synthetic peptide Noopept (GVS-111), with a synthetic cannabinoid A-834735, a cathinone derivative 4-methoxy- α -PVP and a phenethylamine derivative 4-methylbuphedrine from illegal products.	<i>Forensic Toxicol.</i>	32(1)	9-18	2014
6	Y. Fuchigami, R. Ikeda, M. Kuzushima, M. Wada, N. Kuroda, K. Nakashima	Warning against co-administration of 3,4-methylenedioxy methamphetamine (MDMA) with methamphetamine from the perspective of pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluations in rat brain.	<i>Eur. J. Pharm. Sci.</i>	49	57-64	2013
7	N. Uchiyama, S. Matsuda, M. Kawamura, R. Kikura-Hanjiri, Y. Goda	Two new-type cannabimimetic quinolinyl carboxylates, QUPIC and QUCHIC, two new cannabimimetic carboxamide derivatives, ADB-FUBINACA and ADBICA, and five synthetic cannabinoids detected with a thiophene derivative, α -PVT, and an opioid receptor agonist, AH-7921, in illegal products.	<i>Forensic Toxicol.</i>	31(2)	223-240	2013
8	花尻 (木倉) 瑠理	いわゆる“脱法ドラッグ (脱法ハーブ)”による健康被害を防ぐために	和漢薬	721	4-7	2013
9	内山 奈穂子	違法ドラッグ (脱法ドラッグ) の正体は？	和漢薬	723	10-11	2013

