

- 60 回 (2013 年) 年会 (2013. 9. 7-8、北海道).
- 29) 吉松嘉代: 「水耕栽培システムによる甘草等漢方薬原料生薬の生産とその評価」、アカデミックフォーラム、5 月 16 日 ACA-4、主催: リード エグジビション ジャパン株式会社、東京ビッグサイト BIO tech 会場内 (東京都、2014 年 5 月 16 日) .
- 30) Kawano N., Inui T., Kawahara N., Yoshimatsu K.: Expression Analysis of Glycyrrhizin Biosynthetic Genes in Licorice, International Association for Plant Biotechnology Congress 2014 (Melbourne, Victoria, Australia, Aug. 10-15, 2014).
- 31) Yoshimatsu K., Kawano N., Inui T., Araho D., Tamura Y., Kawahara N.: Establishment of tissue culture bank for *Glycyrrhiza uralensis* (Chinese licorice), International Association for Plant Biotechnology Congress 2014 (Melbourne, Victoria, Australia, Aug. 10-15, 2014).
- 32) Inui T., Kawano N., Araho D., Tamura Y., Iida O., Kawahara N., Yoshimatsu K.: Development of discrimination and selection method of *Glycyrrhiza uralensis* strains with high-glycyrrhizin contents using DNA sequence polymorphisms in glycyrrhizin biosynthetic genes, International Association for Plant Biotechnology Congress 2014 (Melbourne, Victoria, Australia, Aug. 10-15, 2014).
- 33) 吉松嘉代、河野徳昭、乾貴幸、新穂大介、田村幸吉、川原信夫: 薬用植物の組織培養物バンクの確立-ウラルカンゾウについて、第 32 回植物細胞分子生物学会 (盛岡) 大会・シンポジウム (2014. 8. 21-22、盛岡) .
- 34) 乾貴幸、河野徳昭、川原信夫、吉松嘉代: 水耕栽培を用いたセリバオウレン生産の可能性、第 32 回植物細胞分子生物学会 (盛岡) 大会・シンポジウム (2014. 8. 21-22、盛岡).
- 35) 河野徳昭、乾貴幸、川原信夫、吉松嘉代: ウラルカンゾウにおけるグリチルリチン酸生合成酵素遺伝子の発現解析、第 32 回植物細胞分子生物学会 (盛岡) 大会・シンポジウム (2014. 8. 21-22、盛岡).
- 36) Yoshimatsu K., Inui T., Kawano N., Fuchino H., Kudo T., Takahashi Y., Araho D., Tamura Y., Otsuki N., Akiyama H., Komatsu K., Kawahara N.: Feasibility study for the utilization of crude drug including *Glycyrrhiza* produced by the artificial hydroponic cultivation system, The 14th International Symposium on Traditional Medicine in Toyama 2014, “Towards Sustainable and Effective Uses of Traditional Medicines & Traditional Medicine-based Drug Development” (Oct 27-28, Toyama, 2014).
- 37) 吉松嘉代: 国内外における生薬に関わる諸問題と生薬の優良種苗の確保及び国産化に関する今後の展望、北里 WHO・COI シンポジウム (兼漢方診療標準化プロジェクト第 2 回シンポジウム)、III 生薬評価システム (2014. 12. 6、横浜) .
- 38) 吉松嘉代、乾貴幸、河野徳昭、北澤尚、林茂樹、菱田敦之、杉村康司、中村理恵、吉岡拓磨、山路弘樹、武田修己、川原信夫: ウラルカンゾウの人工水耕-圃場ハイブリッド栽培システムの構築、日本薬学会第 135 年会 (神戸) (2015. 3. 25-28).
- 39) 乾貴幸、矢野宏、酒井あゆみ、加藤さやか、河野徳昭、川原信夫、吉松嘉代: オタネニンジン実生苗の水耕栽培、日本薬学会第 134 年会 (2014. 3. 28-30、熊本)
- 40) 乾貴幸、矢野宏、酒井あゆみ、加藤さやか、河野徳昭、川原信夫、吉松嘉代: オタネニンジン実生苗の水耕栽培及びギンセンシド含量の比較、日本生薬学会第 61 年会 (2014. 9. 13-14、福岡) .

- 41) 化粧品・医薬部外品中の乳アレルギータンパク質の分析について, 大月 典子、杉本 理恵、佐藤 恭子、杉本 直樹、秋山 卓美、豊田 正武、穂山 浩, 日本食品化学学会 第20回総会・学術大会 (2014.5) .
- 42) 葛躍偉、村上守一、田村隆幸、川本元裕、磯田進、朱姝、吉松嘉代、小松かつ子 : Chemical constituents analysis of the leaf of *Eleutherococcus senticosus* cultivated in different environment. 第31回和漢医薬学会学術大会 (2014, 8.31、千葉) .
- 43) Zhu, S., Shirakawa, A., Shi, Y. H., Yu, X. L., Tamura, T., Yoshimatsu, K., Komatsu, K. : Comparing the contents of main components in the roots of Bonten, a medicinal cultivar of *Paeonia lactiflora* after different post-harvest processing. The 8th JSP-CCTCNM-KSP Joint Symposium on Pharmacognosy (2014, 9.13, Fukuoka, Japan).
- 44) Zhu, S., Yu, X. L., Komatsu, K. : Genetic and chemical characterization of white and red peony root derived from *Paeonia lactiflora*. The 28th International Symposium on the Chemistry of Natural Products and the 8th International Conference on Biodiversity (ISCNP28 & ICOB8) (2014, 10.19-24, Shanghai, China).
- 45) 越村佳奈、平修、朱姝、植松宏平、片野肇、小松かつ子 : 生薬原料(大黄)の2次代謝物のイメージング質量分析による局在解析. 第14回日本食品工学年次大会 (2014, 8.8-9、つくば).
- 46) Ge, Y. W., Kazuma, K., Zhu, S., Yoshimatsu, K., Komatsu, K. : Comprehensive Analysis of Sequencing Proanthocyanidin Oligomers in Rhubarb by HPLC-ESI-MSⁿ. The 8th JSP-CCTCNM-KSP Joint Symposium on Pharmacognosy (2014, 9.13, Fukuoka, Japan).
- 47) 数馬恒平、葛躍偉、紺野勝弘、小松かつ子 : LC-MSによる大黄の縮合タンニン類の分析. 日本薬学会第135回年会 (2015, 3.27、神戸) .
- G. 知的財産権の出願・登録状況
- 1) 吉松嘉代、河野徳昭、乾 貴幸 : カンゾウ属植物株、識別マーカ、増殖方法、及び、水耕栽培装置、特願2013-049279、出願日 : 2013年3月12日.
 - 2) 吉松嘉代、河野徳昭、乾貴幸 : 植物生長促進剤、特願2013-105525、出願日 : 2013年5月17日.
 - 3) 新穂大介、吉松嘉代 : 皮膚化粧品及び頭髪化粧品、特願2013-234010、出願日 : 平成25年11月12日.
 - 4) 乾貴幸、吉松嘉代、河野徳昭 : ウコギ科薬用植物の栽培方法、特願2013-263365、出願日 : 2013年12月20日.
 - 5) 根岸直希、浦田信明、大島玲子、河岡明義 : 挿し木苗の生産方法、特願2013-109139、出願日 : 2013年5月23日.
 - 6) 澤田裕樹、工藤 善、大野貴子、早雲まり子、後藤英司、彦坂晶子 : カンゾウ属植物の薬用成分濃度向上方法、特願2013-114417、出願日 : 2013年5月30日.
 - 7) 乾貴幸、吉松嘉代、河野徳昭、発明の名称 : ウコギ科薬用植物の栽培方法、特願2013-263365、出願日2013年12月20日.
 - 8) 吉松嘉代 : 植物栽培装置、及び、栽培方法、特許番号 : 特許第5633666号、登録日 : 2014年10月24日、特願2009-131442、出願日 : 2009年5月29日.
 - 9) 乾貴幸、吉松嘉代、河野徳昭 : ウコギ科薬用植物の栽培方法、PCT/JP2014/083781、出願日 2014年12月19日.
 - 10) 工藤 善、澤田裕樹 : 水耕栽培システム及び水耕栽培方法、特願2014-227008、出願日 : 2014年11月7日.

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

平成24年度～26年度総合研究報告書

人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた

実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）

分担研究報告書

分担研究課題：人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化
に向けた実証的研究

－人工水耕栽培システムにより生産したカンゾウ苗の圃場栽培試験－

研究分担者 吉松嘉代（独）医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター
筑波研究部 育種生理研究室長

要旨 人工水耕栽培システムにより生産したウラルカンゾウのグリチルリチン酸高含量系統（GuIV1、GuIV2、Gu#11）について挿し木苗の圃場栽培を2013年度より2年間行った。経時的にサンプリングした個体のグリチルリチン酸含量を定量した結果、定植2年目11月時点でGuIV1、Gu#11が平均2.5%以上を示し、高含量の性質が圃場栽培でも再現された。定植1年目の課題であった活着率の向上は順化处理を行うことで改善できた。また定植2年目には生存しているが出芽しない個体があったこと、生育や含量のばらつきも大きいことが確認され、今後安定した苗の大量生産方法の確立および栽培体系の改良による均質化が課題であると考えられた。

研究協力者

吉岡拓磨 東京生薬協会

武田修己 同

乾 貴幸（独）医薬基盤研究所
薬用植物資源研究センター
筑波研究部 特任研究員

河野徳昭 同 筑波研究部 主任研究員

A. 研究目的

人工水耕栽培システムにより生産したウラルカンゾウ（*Glycyrrhiza uralensis*）のグリチルリチン酸（以下 GL）高含量系統 GuIV1、GuIV2、Gu#11、Gu71#31 の挿し木苗について、圃場栽培を組み合わせることにより、従来の植物工場による栽培法に比べて安

価で汎用性の高い栽培法（ハイブリッド栽培）を検証した。

B. 研究方法

1. 圃場栽培の検討

人工水耕栽培システムにより生産した挿し木苗3系統（GuIV1、GuIV2、Gu#11）を2013年4月に茨城県稲敷郡の圃場へ定植し、2年間の栽培試験を行った。これらの苗について圃場活着率や出芽等の生育を確認した。また定期的に数個体ずつ根のサンプリングを行い（2013年11月、2014年6月、2014年7月、2014年11月）、各時期で形質調査（根頭径やストロンの発生など）を行った。その後日本薬局方カンゾウ定量法の2分の1スケ

ールにて GL 含量の分析を行った。

2. 順化方法の検討

2013 年度定植品は活着率が低く、これは移植ストレスによるものと考えられた。そこで 2014 年度は移植ストレスを軽減し活着率の向上を目的とし、GL 高含量を示す 3 系統 GuIV2、Gu#11、Gu71#31 を用い、順化方法を検討した。検討資材（ペーパーポット、チェーンポット、ナウエルポット、ビニールポット）毎に活着率を比較した。

C. 研究結果

1. 圃場栽培の検討

1-(1). 生育 (2013 年定植)

GuIV1、GuIV2、Gu#11 とも順化をしないため、定植後の活着率は 33%以下と低い値であった。

また栽培 2 年目に枯死せず生存しているが出芽しない個体を確認した。全生存個体のうち出芽した個体の割合は GuIV1 : 60%、GuIV2 : 47.8%、Gu#11 : 0%であった。

1-(2). GL 含量 (2013 年定植)

圃場定植 2 年間で、各系統とも定植 2 年目 11 月収穫品が最も高い値を示しており、2 系統が 2.5%以上を示した (GuIV1:2.92±0.90%、GuIV2 : 2.23±0.55%、Gu#11:2.76±0.32%)。

また定植 2 年目ではストロンを発生させることで有意に GL 含量が向上した。

2. 順化方法の検討 (2014 年定植)

無処理区は GuIV2、Gu#11、Gu71#31 の系統全てが活着率 40%以下と非常に低い値を示した。順化処理を行うことにより無処理区と比較して高い生存率を示した。中でもペーパーポット区の生存率が 66.7~77.8%と安定して高い傾向にあった。

D. 考察

2 年間の圃場栽培を行った結果、各系統の GL 含量は定植 2 年目 11 月収穫品が最も高い値を示し、また同収穫品で GuIV1、Gu#11 は GL 含量が日本薬局方の規格値 2.5%以上を示

した。これにより茨城県での栽培は 2 年間、収穫時期は秋季が良い可能性が考えられた。GuIV2 においても平均 GL 含量が 2.0%を超えていることから、3 系統は圃場で高含量性が再現されたと考えられた。

生育について定植 2 年目で出芽しない個体が確認され、これは定植 1 年目に腋芽部分に覆土されなかったため、地下部の新芽形成ができなかった個体であると考えられた。定植 2 年目サンプルはストロンを発生させることで有意に GL 含量が向上したことから、定植時もしくは 1 年目栽培途中に腋芽に覆土を行い、新芽形成を誘導することが良いと考えられた。

1 年目の課題であった活着率の向上は資材を用いた順化工程の導入により、改善することに成功した。特にペーパーポットでの順化は安定的に活着率を約 7 割に向上でき、ハイブリッド栽培にとって有用な方法であると考えられた。

以上、本試験での結果より、茨城でのハイブリッド栽培では以下の 3 点が重要であることが判明した。

- ①資材（ペーパーポットなど）で順化し、その後定植を行う。
- ②ストロンを発生させるため、定植時もしくは栽培途中に腋芽に覆土を行う。
- ③定植 2 年目秋季以降に収穫する。

また、今回は遺伝的に均一なクローン苗を使用したにもかかわらず GL 含量は安定していなかった。この原因として育苗期間の違いや、圃場への定植から活着までの期間がばらついていたりなど、苗生産工程での環境条件の違いによることが考えられた。このため安定的に高 GL 含量確保を行うためには、苗生産の最適化を行い、苗を安定化させることで、活着率をより向上することが必要である。

E. 結論

ウラルカンゾウのハイブリッド栽培法により、GuIV1、Gu#11 が定植 2 年目 11 月収穫で日本薬局方適合の GL 含量を示し、高含量

の性質が圃場でも再現されていると考えられた。

またカンゾウ高含量系統挿し木苗について、定植前に順化を行うことで圃場生存率を66.7～77.8%にまで向上させることが可能となった。

また今回使用した苗は遺伝的に均一であるが、生育や出芽、ストロン発生の有無や GL 含量などばらつきが大きかった。今後ハイブリッド栽培方法を確立するため、安定した苗

の大量生産方法や栽培体系を改良検討することが課題である。

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。

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

平成24年度～26年度総合研究報告書

人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた

実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）

分担研究報告書

分担研究課題：人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化
に向けた実証的研究

－養液栽培で育成したウラルカンゾウ優良株の地上茎挿し木苗を用いた露地栽培の
実証試験について－

研究分担者 吉松嘉代（独）医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター
筑波研究部 育種生理研究室長

要旨 2014年に前年露地への移植試験により定着した17個体を継続して栽培した結果、Gu71#31の1個体、Gu1V1の3個体、Gu#11-1-2の1個体、Gu71#1の2個体計7個体が地上部と地下部ともに旺盛な生育を示した。また、根部のグリチルリチン酸含量も日本薬局方規格値を満たす個体も見られたことから、養液栽培で得られた地上茎挿し木苗の露地栽培への実用化の可能性が示唆された。

研究協力者

福田達男 北里大学薬学部附属薬用植物園
准教授

石川 寛 同 助教

乾 貴幸（独）医薬基盤研究所
薬用植物資源研究センター
筑波研究部 特任研究員

河野徳昭 同 筑波研究部 主任研究員

武田修己 東京生薬協会

部分である根のグリチルリチン酸（GL）の定量分析を行った。

B. 研究方法

2013年7月19日、医薬基盤研薬用植物資源研究センターで育成したウラルカンゾウ優良株6系統より得た地上茎挿し木苗各系統3個体計18個体を、北里大学薬学部附属薬用植物園研究圃場で移植試験を行った。

2014年は前年生育した個体について月1回草丈、葉数、個体の大きさ（長さ×幅）を測定した。10月7日には生育した個体の地下部を掘り上げ、乾燥後、第16改正日本薬局方（日局）に記載されるカンゾウの定量法に従い、GLの定量を行った。

A. 研究目的

養液栽培で育成されたウラルカンゾウ優良株の地上茎挿し木苗の露地栽培への実用化を検討するため、2013年に地上茎挿し木苗18本の露地への移植試験を行った結果17本が定着した。さらに、2014年には定着した苗の露地栽培を継続し、生育調査及び生薬

C. 研究結果

2013年12月30日現在でGuIV1が3個体、GuIV2が2個体、Gu#11-1が3個体、Gu71#1が3個体、Gu#12が3個体、Gu71#31が3個体合計17個体の生存株を認めた。2014年は17個体中Gu71#31の1個体、GuIV1の3個体、Gu#11-1-2 1個体、Gu71#1の2個体計7個体の萌芽を認めた。7個体は萌芽後順調に生育し、8月26日には最大草丈がGu71#1の56cm、最大葉数が401枚になり、個体の大きさも10月7日の収穫時点でGu#11-1-2の111cm×幅69cmに達した。

10月7日収穫したウラルカンゾウの根は定植時にひげ根の状態であったが、収穫時には太い根を直下に伸ばす個体が多く、中には1mの位置でも太さが1cm近い個体があった。GL含量はGuIV1が根の直径が5mm以上と5mm未満の部分で、日局規格値の2.5%を超えたが、日局規格値に満たない個体も認めた。

D. 考察

2014年に生育した7個体は、GL含量が日局規格値を満たす個体も見られ、地上部と地下部ともに旺盛な生育を示したことから、養液栽培で得られた地上茎挿し木苗の露地栽

培への実用化の可能性が示唆された。しかし、2013年には17個体が定着したのに対し、2014年の生育個体が7個のみであることから、初年度定着した個体が越冬する時、根頭部の直立根茎が低温による被害を受けないようにする方法を確立する必要があると思われる。

E. 結論

2014年に前年の露地への移植試験により定着した個体を継続して栽培した結果、地上部と地下部ともに旺盛な生育を示し、GL含量も日局規格値を満たす個体も見られたことから、養液栽培で得られた地上茎挿し木苗の露地栽培への実用化の可能性が示唆された。

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。

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

平成24年度～26年度総合研究報告書

人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた

実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）

分担研究報告書

分担研究課題：人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方原料生薬の実用化
に向けた実証的研究

－種子島におけるウラルカンゾウ優良株の試験栽培に関する研究－

研究分担者 吉松嘉代（独）医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター
筑波研究部 育種生理研究室長

要旨 本研究では、温暖な地域におけるカンゾウ栽培の可能性ならびに優良系統の有用性を検討するため、種子島においてウラルカンゾウ優良系統を用いた筒栽培試験を行った。

- 1) ウラルカンゾウの草丈、茎径、節数、分枝数、最大葉長と幅は、栽培年数の経過に伴って、全て増加した。同様に、根重、主根長、最大根径も栽培年数の経過に伴って、増加した。
- 2) 1年生から2年生にかけての各形質の増加率が1.5倍前後と低かったのは、GuIV2系統が種子島の夏の暑さと乾燥、さらに長筒ハウス栽培にあまり適さない系統であったためと推察された。
- 3) 種子島でウラルカンゾウ栽培を行うためには、栽培環境や栽培方法に影響を受けにくい勢力が旺盛な優良系統を用いることが必要である。さらに、夏場の地温上昇と土壤乾燥を抑える白マルチ栽培や、収量増加を目的とした肥料設計や追肥計画を検討することが重要だと考えられる。

研究協力者

杉村康司（独）医薬基盤研究所
薬用植物資源研究センター
種子島研究部
研究サブリーダー

乾 貴幸 同 筑波研究部 特任研究員

河野徳昭 同 筑波研究部 主任研究員

A. 研究目的

温暖な地域におけるカンゾウ栽培の可能性ならびに優良系統の有用性を検討するた

め、種子島においてウラルカンゾウ優良系統を用いた筒栽培試験を行った。また、温暖な地域に適応した栽培法を検討するための基礎データを収集し、今後のカンゾウの栽培育成に活かすことを目的とする。

B. 研究方法

材料：GUIV2系統を4株。GUIV2は、閉鎖系栽培施設での養液栽培に適した高グリチルリチン酸含量（1年間の養液栽培でグリチルリチン酸含量が3%以上）を示す優良

系統。

栽培地：鹿児島県熊毛郡中種子町の種子島研究部のシックスライトハウス（無加温、換気調整のみ）

栽培方法：定植前の条件は、2012年9月24日にプラグ苗を受け取り、その後鉢上げせずにそのままの状態ですぐに育苗した。定植後の条件は、同年10月23日に直径10cm、長さ1mの筒（間隔20cm）に定植した。用土は有機質が入った培養土を使用し、基肥はマグアンプを適量使用した。追肥は行っていない。

生育調査：2012年から栽培を開始した1年生2株（GuIV2-2、4）を2013年10月9日に、2年生2株（GuIV2-3、9）を2014年10月24日に収穫した。地上部の特性として、草丈、茎径、節数、分枝数、最大葉の長さ、幅、開花・結実の有無を、地下部の特性として根の重量、主根長、最大主根径、側根数、ストロン数を記録した。

C. 研究結果

1) ウラルカンゾウ地上部特性の経年変化

種子島で栽培した1年生（2013年調査）と2年生（2014年調査）のウラルカンゾウの地上部の特性である草丈、茎径、節数、分枝数、最大葉の長さ、幅の各平均値と開花・結実の有無を表1に示す。

1年生株と2年生株の地上部を比較すると、平均草丈は80.5cmから104.0cm、平均茎径は4.5mmから5.5mm、平均節数は19.5cmから25.0cm、平均分枝数は3.0本から4.5本、最大葉の平均長は12.5cmから17.25cm、平均幅は4.25cmから6.75cmと変化していた。開花・結実が1年生、2年生共に無かった。

このように、種子島で栽培されたウラルカンゾウの地上部の経年変化を見ると、草丈、茎径、節数、分枝数、最大葉の長さ、幅の全測定項目において増加する傾向が見られた。

2) ウラルカンゾウ地下部特性の経年変化

種子島で栽培した1年生（2013年調査）と2年生（2014年調査）のウラルカンゾウの地下部の特性である根重、主根長、最大根径、

側根数、ストロン数の各平均値を表2に示す。1年生株と2年生株の地下部を比較すると、平均根重は30.9gから47.6g、平均主根長は1.1mから1.4m、平均最大根径は7.8mmから11.9mm、平均側根数は1.0本から2.5本、平均ストロン数は1.0本から3.0本と変化していた。

このように、種子島で栽培されたウラルカンゾウの地下部の経年変化を見ると、根重、主根長、最大根径、側根数、ストロン数の全ての測定項目において増加する傾向が見られた。

D. 考察

ウラルカンゾウの草丈、茎径、節数、分枝数、最大葉の長さ、幅は、栽培年数の経過に伴って、全て増加した。同様に、根重、主根長、最大根径も栽培年数の経過に伴って、全て増加した。しかし、これらの増加幅を見ると1.5倍前後のものが多く、1年生から2年生にかけて期待していたほどの増加は認められなかった。これは、本調査で使用したGuIV2系統が種子島特有の気候特性（夏の暑さと乾燥）と長筒ハウス栽培にあまり適さない系統であることを示していると考えられる。

E. 結論

種子島のような温暖な地でウラルカンゾウ栽培を行うためには、栽培地や栽培方法を選ばずどのような条件下においても勢力が旺盛な優良系統を作出することが重要である。さらに、夏場の地温上昇と土壌乾燥を抑える白マルチ栽培や、収量増加を目的とした肥料設計や追肥計画を検討することが重要だと考えられる。

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. ウラルカンゾウの地上部特性の経年変化

栽培年 (調査年)	平均 草丈 (cm)	平均 茎径 (mm)	平均 節数	平均 分枝数	最大葉		開花	結実	備考
					平均長 (cm)	平均幅 (cm)			
1年生 (2013)	80.5	4.5	19.5	3.0	12.5	4.3	無し	無し	n = 2
2年生 (2014)	104.0	5.5	25.0	4.5	17.3	6.8	無し	無し	n = 2

表2. ウラルカンゾウの地下部特性の経年変化

栽培年 (調査年)	平均 根重 (g)	平均 主根長 (m)	平均 最大根径 (mm)	平均 側根数	平均 ストロン 数	備考
1年生 (2013)	30.9	1.1	7.8	1.0	1.0	n = 2
2年生 (2014)	47.6	1.4	11.9	2.5	3.0	n = 2

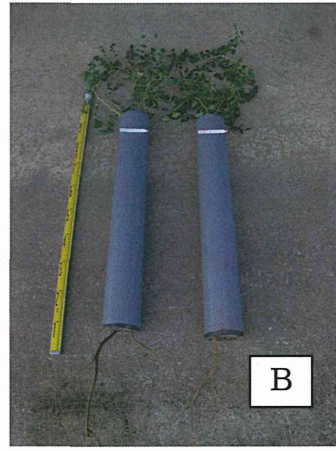


図 1A~C (1年生株、2013年10月9日撮影)

A: 筒栽培状況の全景 (収穫前)

B: 収穫根の状況 (筒付き)

C: 収穫根の状況



図 2A~C (2年生株、2014年10月24日撮影)

A: 筒栽培状況の全景 (収穫前)

B: 収穫根の状況 (筒付き)

C: 収穫根の状況

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

平成24年度～26年度総合研究報告書

人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた
実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）

分担研究報告書

分担研究課題：人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化
に向けた実証的研究

－ウラルカンゾウの筒栽培及び水耕栽培に関する研究－

研究分担者 吉松嘉代（独）医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター
筑波研究部 育種生理研究室長

要旨 水耕栽培植物の地上茎を挿し穂とする大量増殖法で増殖させたウラルカンゾウ優良株3種、GuTS71-08IV1（以下、GuIV1）、GuTS71-08IV2（以下、GuIV2）及びGuTS71-08No.11（以下、Gu#11）を、2013年4月22日に丸善製薬（株）総合研究所内圃場で筒栽培を開始し、2014年10月17日に収穫した。2013年10月に生存が確認できたGuIV1 11株、GuIV2 11株及びGu#11 9株のうち、越冬生存株がGuIV1、GuIV2及びGu#11いずれも1株であった。2013年10月時の測定値と比較すると、2014年10月に収穫した株は、地上部及び地下部はいずれも大きな数値を取っていた。その中でもGu#11株は、根頭部の根径が20mm以上で、乾燥重量122g、グリチルリチン酸含量が2.09%であった。また、前記3種を含む6種のウラルカンゾウ優良株の水耕栽培を行い、良好な生育を観察した。但し、恒温室内の水耕栽培ではハダニ発生による生育障害が観察された。また前記3種を含む6種のウラルカンゾウ優良株68株を圃場に定植し、栽培を行った。11月12日に生育を観察したところ、26株の生育が確認できた。栽培初期は良好な生育を示したが、生育期間中にコオロギによる食害を受け、枯死する株が認められた。

研究協力者

田村幸吉 丸善製薬株式会社研究開発本部
甘草生薬研究グループ
グループ長

新穂大介 同 甘草研究グループ 主任
乾 貴幸（独）医薬基盤研究所
薬用植物資源研究センター
筑波研究部 特任研究員

河野徳昭 同 筑波研究部 主任研究員

A. 研究目的

生薬甘草は、漢方処方70%以上に配合され、漢方薬原料として最も重要であり、また、食品、食品添加物、医薬部外品及び化粧品としても汎用されている。しかし、その供給は100%海外に依存し、主生産国の中国の物価・人件費上昇、需要増加、採取・輸出規制、生物多様性条約の「遺伝子資源へのアクセスと利益配分」のルールづくり等により、レアアースと同様に、今後益々その確保が困難になると予想されている。

我々はこれまでに、最も汎用され重要な漢方薬原料である甘草について、人工水耕栽培環境下で、短期間で安定的に生薬を生産するシステムを世界で初めて開発した。

本研究では、人工水耕栽培により生産した甘草等の生薬の確実な実用化の推進のため、経済性・汎用性の高い栽培システムの構築を行っており、ウラルカンゾウ新規優良株の育成、水耕栽培植物の地上茎を挿し穂とする大量増殖法の確立、簡便な新規水耕栽培装置の開発に成功している。本研究では、ウラルカンゾウ優良株の特性と有用性（適応の範囲）の確認のため、丸善製薬株式会社にて、2年間の圃場筒栽培試験、各種の水耕栽培試験及び圃場栽培試験を実施した。

B. 研究方法

1) ウラルカンゾウ優良株の筒栽培

i) 材料植物：医薬基盤研究所から提供されたGuIV1、GuIV2、Gu#11の3クローンの挿し木苗を、2013年4月22日に定植し、2014年10月17日に収穫した。

ii) 栽培方法：赤土 120kg、堆肥 20kg、ようりん 0.2kg、苦土石灰 1kg、化成肥料(8-8-8) 1kgの混合土を培養土として使用した。図1に示すように、塩ビ製の筒(径15cm、長さ80cm)を40cm埋設し、その周囲及び筒の中に培養土を使用した。灌水は、定植後3カ月間、1日2回、散水ホースで30分間行った。

2) 成分分析

グリチルリチン酸、リクイリチン、イソリクイリチン及びグリシクマリンの分析は、以下の条件で実施した。

<抽出液・分析試料液 調製法>

a) グリチルリチン酸、リクイリチン、イソリクイリチンの定量分析

粉碎した甘草根の20倍量の50%EtOHで室温抽出した。さらに抽出液1mLを50%EtOHで10mLにメスアップし、メンブランフィルター(0.2 μ m)でろ過したものを分析

試料溶液とした。グリチルリチン酸の標準養液として、1.0、0.1、0.01mg/mL溶液を調製した。リクイリチン、イソリクイリチンの基準品としてR21の1.0mg/mL溶液を調製した。

b) グリシクマリンの定量分析

粉碎した甘草根の10倍量のEtOHで室温抽出した。EtOH抽出液をメンブランフィルター(0.2 μ m)でろ過したものを分析試料溶液とした。グリシクマリンの標準養液として、0.1mg/mL溶液を調製した。

<HPLC分析条件(a、b共通)>

装置：ACQUITY UPLC(Waters)

カラム：ACQUITY UPLC BEHC18(1.7 μ m、50mm x 2.0mm i.d.)

移動相：A)0.1%ギ酸水溶液；B)MeCN、

0-0.45 min A:B=80:20、0.45-6.5 min A:B=80:20→30:70、6.5-6.75 min A:B=30:70→0:100、6.75-7 min A:B=80:20

流速：0.8 mL/min

検出：PDA e λ (254nm：グリチルリチン酸、316nm：リクイリチン、イソリクイリチン、350nm：グリシクマリン)

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

サンプル管理温度：25 $^{\circ}$ C

分析サンプル注入量：2.0 μ L

3) ウラルカンゾウ優良株の水耕栽培

ウラルカンゾウ優良株(GuIV1、GuIV2、Gu#11、Gu71#1、Gu71#22、Gu71#31)挿し木苗は、恒温室内でのスポンジを支持体とする新規水耕栽培装置あるいはパミスを支持体とする水耕栽培を行った。

4) ウラルカンゾウ優良株の圃場栽培

ウラルカンゾウ優良株(GuIV1、GuIV2、Gu#11、Gu71#1、Gu71#12、Gu71#22)挿し木苗を、2014年6月2日に、研究所圃場に定植した。

C. 研究結果

1) ウラルカンゾウ優良株の野外筒栽培

ウラルカンゾウ優良株3種の2年間の生育状況を表1に示した。1年目10月の生存率は、GuIV2(68%)、GuIV1(55%)、Gu#11(50%)の順に良かった。しかし2015年春の生存数は、3種いずれも1株しか認められなかった。越冬時に低温障害を受け、春の萌芽が生じなかったためと考えられる。定植した挿し木苗の根頭部が地上に露出し、越冬時に低温に曝されたため、根頭部が凍結し、シュートを形成する基部が損害を受け、春の萌芽が生じなかったのが原因と考えられる。

生存株の栽培1年目(2013年10月)及び2年目(2014年10月)の根の測定結果を表2に示した。根の2年目の生育は、いずれの株も1年目以上の生育を示した。根の生育は、Gu#11>GuIV2>GuIV1の順に良かった。特にGu#11株は、2年目の乾燥根重量が122.3gと、他と比較して非常に良かった。

乾燥根中の二次代謝物含量の測定の結果、2年目の方が全ての成分について増加していた(表3)。特に根の生育が良好であったGu#11株のグリチルリチン酸含量は2%以上であった。

2) ウラルカンゾウ優良株の水耕栽培

恒温室内のウラルカンゾウ優良株6種のスポンジ水耕では、株間で生存率に違いが認められ、Gu#11が最も低く(25.0%)、Gu71#1及びGu71#22が最も高かった(87.5%)(表4)。なお栽培期間中、恒温室内でハダニが発生し、地上部が食害を受け、生存率が低いのは、ハダニの影響が主因と思われた。パミス水耕では、恒温室及び温室いずれも高い生存率が認められた(表4)。

3) ウラルカンゾウ優良株の圃場栽培

ウラルカンゾウ優良株6種を、2014年に総数68株定植したところ、11月現在の生存数は、26株であった。株間で生存率に違いが認められ、GuIV1とGu71#12が最も低く(0%)、GuIV2が最も高かった(60%)。生育中の枯死する原因としては、ワラを敷いたことによる、過湿によるカビ発生及びコオロギによる虫害と思われた(図3)。コオロギは、

夏以降発生しており、活動の盛んな秋以降の障害が大きい傾向が認められた。

D. 考察

地上茎挿し木で増殖させたウラルカンゾウ優良株は、越冬性に問題があり、ほとんどの株の春の萌芽が認められなかった。挿し木増殖した株を定植した場合、1年目のシュート発生した基部が根頭部として存在し、それ以外の部位からシュートを発生できないため、根頭部が越冬時に低温障害を受けると、萌芽できなくなると考えられた。この現象を防ぐには、挿し木苗の野外栽培の場合は、シュートを形成する根頭部を地下に埋めるように定植するか、冬の前に株元に土寄せをして、根頭部が露出しないようにすることが重要と思われた。

生育状況及び成分含有に関しては、地上部の生育に比例して、地下部の収量及び成分含量が高くなる傾向が認められた。

野外栽培においては、コオロギによる食害が発生し、優良株の生存率と生育に影響を及ぼし、生存率低下の主因と思われた。今後の実用化推進の上で、食害害虫に関する知見は重要であると思われる。

E. 結論

地上部挿し木で増殖したウラルカンゾウ優良株の2年目の栽培の結果、越冬時の低温対策が重要と考えられた。生存株のうち、特に生育が良かったGu#11株においては、乾燥根重量122.3g、グリチルリチン酸含量2.03%であった。

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

- 1) 新穂大介、吉松嘉代：皮膚化粧品及び頭髪化粧品。出願番号特願2013-234010、出願日 平成25年11月12日



図1. ウラルカンゾウ優良株の筒栽培

表1. ウラルカンゾウ優良株の筒栽培試験の生育状況

甘草種	詳細	2013年				2014年	
		4月22日		10月2日		6月2日、10月17日	
		定植数	系統別	生育数	系統別	生育数	系統別
GuIV1	GuIV1S8-1	4	20	2	11	0	1
	GuIV1S8-2	4		3		0	
	GuIV1S8-4	3		2		0	
	GuIV1S8-5	5		2		1	
	GuIV1S8-6	2		1		0	
	GuIV1S8-7	2		1		0	
GuIV2	GuIV2H4③St1	8	19	8	13	1	1
	GuIV2H4③St2	11		5		0	
Gu#11	Gu#11-1-2	18	18	9	9	1	1
計		57	57	33	33	3	3

表2. ウラルカンゾウ優良株の根の測定値

甘草種	2013年			2014年		
	根径 (mm)	根長 (cm)	乾燥重 (g)	根径 (mm)	根長 (cm)	乾燥重 (g)
GuIV1	2.4	83	2.3	6.6	81	4.6
GuIV2	1.3	62	0.4	8.5	129	23.9
Gu#11	3.4	83	5.3	23.6	122	122.3

表 3. ウラルカンゾウ優良株の根の二次代謝物含量

1) グリチルリチン酸 (%)

甘草種	2013 年	2014 年
GuIV1	0.87	1.36
GuIV2	0.27	1.29
Gu#11	1.47	2.09

2) 水溶性フラボノイド (%)

甘草種	2013 年		2014 年	
	リクイリチン	イソリクイリチン	リクイリチン	イソリクイリチン
GuIV1	0.20	0.08	0.35	0.10
GuIV2	0.11	0.04	0.23	0.08
Gu#11	0.63	0.16	0.76	0.17

3) 脂溶性フラボノイド (%)

甘草種	グリシクマリン	
	2013 年	2014 年
GuIV1	0.00	0.04
GuIV2	0.00	0.04
Gu#11	0.01	0.04

表 4. ウラルカンゾウ優良株の水耕栽培

甘草種	スポンジ栽培 (恒温室)		パミス栽培 (恒温室)		パミス栽培 (温室)	
	0 日目	70 日目	0 日目	118 日目	0 日目	94 日目
GuIV1	8	4	1	1	—	—
GuIV2	8	5	5	5	6	4
Gu#11	8	2	6	3	6	6
Gu71#1	8	7	—	—	—	—
Gu71#22	8	7	—	—	—	—
Gu71#31	8	4	—	—	—	—

表 5. ウラルカンゾウ優良株の圃場栽培

甘草種	定植数	生存数
GuIV1	5	0
GuIV2	25	15
Gu#11	13	5
Gu71#1	8	4
Gu71#22	6	0
Gu71#31	11	2

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

平成24年度～26年度総合研究報告書

人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた

実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）

分担研究報告書

分担研究課題：人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化
に向けた実証的研究

－光独立栄養培養による薬用植物の挿し木に関する研究－

研究分担者 吉松嘉代 （独）医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター
筑波研究部 育種生理研究室長

要旨 重要な漢方薬原料生薬である甘草（特にグリチルリチン酸含量が多いウラルカンゾウ4クローン）及び、麻黄（日本薬局方記載のシナマオウとキダチマオウ）について、挿し木増殖法について検討を行った。炭酸ガスと光強度条件が発根に及ぼす影響について調査した結果、炭酸ガス1,000ppm、光強度10,000 luxが適していた。また、シナマオウについては酸化型グルタチオンの効果を調査した結果、50mg/Lの酸化型グルタチオンを培地中に添加することで、発根率が向上することが明らかとなった。キダチマオウでは無菌培養系に導入し、培養シュートを挿し木材料とすることで発根することを確認した。

研究協力者

根岸直希 日本製紙株式会社 研究開発本部
アグリ・バイオ研究所 主査
小川健一 岡山県農林水産総合センター
生物科学研究所植物レドックス
制御研究グループ グループ長

基盤研)の人工光室で水耕栽培されたものを用いた。麻黄はシナマオウでは基盤研より譲渡を受けた組織培養物(培養シュート)を使用した。キダチマオウについては、圃場で栽培しているものから枝を採取し、新芽部分を滅菌処理により無菌培養系へ導入して、そこから得られた培養シュートを挿し木材料とした。培地条件は25℃、16時間明期、インドール酪酸(IBA)2mg/Lを添加、1/5 Gamborg B5(1/5B5)液体培地(無糖)をオアシスに湿潤したものを培地として使用し、麻黄ではさらに光合成活性の促進に効果が期待される酸化型グルタチオン(興人)50mg/Lを培地に添加した。培養環境については、炭酸ガス濃度を1,000ppmに制御し、ウラルカンゾウとシナマオウについては光強度350luxもしくは10,000lux条件とし、キダチマオウについては10,000luxとした。発根率の調査は

A. 研究目的

グリチルリチン酸含量が多い4クローンの甘草(ウラルカンゾウ)と日本薬局方記載の麻黄(シナマオウ、キダチマオウ)において、挿し木増殖を行う。

B. 研究方法

挿し木材料として、ウラルカンゾウ4クローン(GuTS71-08IV2, GuTS71-08IV1, Gu2-2-1, Gu2-3-2)については、独立行政法人医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター(以下、

ウラルカンゾウでは3週間後、シナマオウとキダチマオウは2ヶ月後に行った。

C. 研究結果

炭酸ガス濃度 1,000ppm、光強度 10,000 lux 条件下において、ウラルカンゾウの発根率は GuTS71-08IV2 80.0%、GuTS71-08IV1 78.2%、Gu2-2-1 85.0%、Gu2-3-2 91.5%と最も良かった。シナマオウでは培地中に酸化型グルタチオンを添加することで発根率が50%から68%に向上した。ウラルカンゾウとシナマオウでは供試数が50個程度であったが、キダチマオウについては、組織培養によるシュートの増殖途中であったこともあり、5個のみの試験となったが、1個体で発根が認められた。

D. 考察

発根には光合成活性の増加が重要であることが、日本製紙のこれまでの研究により明らかとなっている。今回、炭酸ガス濃度 1,000ppm、光強度 10,000 lux 条件において、ウラルカンゾウ及びシナマオウで高い発根率が得られたことから、これら植物の光合成活性が増加したことによって、発根が促進されたことが示唆された。また、シナマオウでは光合成活性の促進が期待される酸化型グルタチオンを培地中に添加することで発根率が向上したことから、発根には光合成が重要な役割を行っていることが改めて示された。また、キダチマオウにおいては、圃場から採取した枝を材料として挿し木を行っても発根は認められなかったが、培養シュートを挿し木材料とした結果、発根が認められ

たことから、組織培養を行った事で幼若化現象が起こり、発根に繋がった可能性がある。こうした組織培養物で発根性が良くなることはその他の植物でも見受けられる。薬用植物は全般的に挿し木が困難な品目が多いことから、薬用植物に組織培養を利用することは効果的と考えられる。

E. 結論

甘草（ウラルカンゾウ4クローン）及び麻黄（シナマオウとキダチマオウ）の挿し木増殖に取り組んだところ、培養環境としては炭酸ガス濃度 1,000ppm と光強度 10,000 lux が適していることを見出した。また、酸化型グルタチオン 50mg/L を培地に添加することは麻黄に有効であることが分かった。今回材料としたキダチマオウは培養シュートを挿し木材料とすることで発根した。

F. 研究発表

1. 論文発表
無し。
2. 学会発表
無し。

G. 知的財産権の出願・登録状況

出願番号：2013-109139

発明者：根岸直希、浦田信明、大島玲子、河岡明義

特許出願人：日本製紙株式会社

発明者の名称：挿し木苗の生産方法

出願日：2013年5月23日

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

平成24年度～26年度総合研究報告書

人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた
実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）

分担研究報告書

分担研究課題：人工水耕栽培システムによる生薬の生産と化学的・遺伝的安定性に
関する研究

—遺伝子情報を活用した薬用植物の有用物質生産性向上に関する研究—

研究分担者 河野徳昭 （独）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

要旨 人工水耕栽培システムによる生薬原料植物の生産のためには、人工水耕栽培に適した形質や、有用物質の高生産能を有する優良系統の選抜、並びに、栽培条件やコストといった各種制限下における有用物質生産の高効率化が重要な課題となる。本分担研究課題では、効率的なグリチルリチン酸(GL)生産に寄与する基盤情報を整備することを目的とし、ウラルカンゾウのEST情報を活用したGL生合成関連遺伝子群の基盤情報の整備、GL生合成酵素遺伝子の配列多型を利用した優良系統等の遺伝子識別法の開発、並びに、ウラルカンゾウ挿し木苗の根を材料としたGL生合成酵素遺伝子群の発現解析を行った。その結果、水耕栽培したウラルカンゾウ優良株より構築したリファレンスESTライブラリーには、GL生合成酵素遺伝子群に加え、チトクローム P450 や糖転移酵素等の二次代謝関連酵素遺伝子が多数含まれていることが確認された。遺伝子識別については、CYP88D6 相同遺伝子のイントロン7の塩基配列情報を用いた、高精度なカンゾウ属植物の遺伝子識別法の開発に成功した。また、ウラルカンゾウ優良株挿し木苗におけるGL生合成遺伝子群の発現解析では、根の径が太い根基部の方が、径の細い根端部と比較して各遺伝子の発現量が高い傾向があることが明らかになった。さらに、挿し木苗に対する疑似乾燥ストレスまたは塩ストレス処理の応答を解析した結果、塩ストレスはCYP88D6の発現量を、また、疑似乾燥ストレスはbAS、CYP88D63、CYP72A154の3遺伝子ともに発現量を低下させることが明らかになった。これらの情報は、GLの高効率生産を志向した遺伝子マーカー構築の基盤情報となるものと考えられる。

研究協力者

吉松嘉代 （独）医薬基盤研究所
薬用植物資源研究センター
筑波研究部 育種生理研究室長

乾 貴幸 同 特任研究員

寺岡秀興 同 特任研究員

田村幸吉 丸善製薬株式会社研究開発本部
甘草生薬研究グループ
グループ長

新穂大介 同 甘草研究グループ 主任

A. 研究目的

ウラルカンゾウ (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch. (Gu)) の地下部の乾燥物は、緩和作用や止渴作用等を有することから、多数の漢方薬に配合されている。また、その主成分であるグリチルリチン酸 (GL) は、抗炎症作用等に加え、強い甘みを有することから、医薬品、化粧品、甘味料など幅広い用途に用いられている。カンゾウの生産は、海外からの輸入、特に野生植物の採取に強く依存しているが、乱獲による環境破壊や資源の枯渇が顕在化しつつある。そのため、甘草を安定供給するための栽培法の開発や優良株の選抜などが精力的に行われており、厚生労働科学研究費「人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた実証的研究」研究班においても、生薬甘草の安定供給に向けた資源確保のため、基原植物のひとつであるウラルカンゾウの水耕栽培法を確立し、その実用化に向けた実証的研究を進めている。

人工水耕栽培システムによる生薬原料植物の生産において、重要な課題となっているのが、人工水耕栽培に適した形質や、有用物質の高生産能を有する優良系統の選抜、並びに、栽培条件やコストといった各種制限下における有用物質生産の高効率化である。

そこで、本分担研究課題では、水耕栽培環境下をはじめとするウラルカンゾウの栽培の各種条件の最適化への寄与、並びに、効率的な GL 生産に寄与する優良株の選抜、そして GL 生合成遺伝子群の発現情報に関わる基盤情報の整備を目的とし、1. ウラルカンゾウの EST 情報を活用した GL 生合成関連遺伝子群の基盤情報の整備、2. GL 生合成酵素遺伝子の配列多型を利用した優良系統等の遺伝子識別法の開発、3. ウラルカンゾウ挿し木苗の根をモデル解析系とした、根の部位別 GL 生合成酵素遺伝子群の発現解析、4. ウラルカンゾウ挿し木苗の根をモデル解析系とした、根に対する各種ストレス負荷条件下における GL 生合成酵素遺伝子群の発現解析の各研究を行った。

B. 研究方法

B1. ウラルカンゾウ EST ライブラリーの構築及び解析

ウラルカンゾウ EST ライブラリーの構築

ウラルカンゾウ優良株である GuTS71-08 IV1 (GuIV1) の水耕栽培株の根からの total RNA 調製には RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) を使用した。

EST ライブラリーの構築はダナフォーム社 (横浜市鶴見区) に委託した。ウラルカンゾウ GuIV1 水耕栽培株の根より調製した高品質 total RNA 約 100 µg より、完全長 cDNA 合成技術 (Cap-Trapping 法) 及びポリ A 鎖除去技術を用い、完全長 cDNA ライブラリーを作成した。均一化処理はハイブリダイゼーション及び 2 本鎖特異的 DNA ヌクレアーゼ処理により行った。作成した均一化 cDNA ライブラリーを断片化し、シーケンス用アダプターを付加し、次世代型シーケンサー Roche454 GS-FLX-Titanium 解析用試料 (RNA-seq ライブラリー) として調製したのち、Japan Bioinformatics KK において 1 run のシーケンシング (1 リード長: 52-1201 bp, 1,032,634 reads/run) を行った。得られた RNA-seq ドラフトシーケンスは Whole Genome Assembler (WGS) 7.0 でアセンブルしたのち、cDNA 配列としてプロセッシングに供した。

得られた cDNA 配列について、NCBI Non redundant protein database (NR) (dated 21-March 2012) に対し、NCBI Blast 2.2.26+ (e-value cutoff 0.001、上位 10 ヒットを抽出) でアノテーション解析を行い、さらに UniprotKB で解析を行い、対応する GO-annotation、KEGG gene IDs、EC numbers、UniprotKB gene names、eggNOG ID、そして Interpro ID のデータを取得した。これらのバイオインフォマティクス解析データを収載したものを EST ライブラリーとした。得られた、cDNA 配列、推定機能等のデータは FASTAQ 形式、エクセル形式で受領した。

ウラルカンゾウ EST ライブラリーの解析

1. GL 生合成酵素遺伝子の探索

人工水耕栽培環境下で栽培したウラルカ