

KiKw-1a,b	G A C T T T T G T C T G A T T G T A T A G G A G T A G T T T T T G A A C T A A A	40
KiKw-2a,b,3b,5c,8a,b,9a,10a,b,12a,b	.	40
KiKw-3a	.	40
KiKw-4a,5a	.	40
KiKw-4b,6a	.	40
KiKw-6b	.	40
KiKw-7b	. . T .	40
KiKw-9b,11b	.	40
KiKw-11a	.	40
morifolium-1	.	40
morifolium-2	.	40
indicum-2	.	40
indicum-1	.	40
indicum-3	.	40
indicum-4	.	40
KiKw-1a,b	A A A G G A G C A A T A G C T T T C C T C T T G T T T T A T C A A G A G G G C G	80
KiKw-2a,b,3b,5c,8a,b,9a,10a,b,12a,b	.	80
KiKw-3a	.	80
KiKw-4a,5a	.	80
KiKw-4b,6a	.	80
KiKw-6b	.	80
KiKw-7b	.	80
KiKw-9b,11b	.	80
KiKw-11a	.	80
morifolium-1	.	80
morifolium-2	.	80
indicum-2	.	80
indicum-1	.	80
indicum-3	.	80
indicum-4	.	80
KiKw-1a,b	T T A T T G C T C C T T T T T T A T T T A G T A C T A T T T G C C T T A C A C	120
KiKw-2a,b,3b,5c,8a,b,9a,10a,b,12a,b	.	120
KiKw-3a	.	120
KiKw-4a,5a	.	120
KiKw-4b,6a	.	120
KiKw-6b	.	120
KiKw-7b	.	120
KiKw-9b,11b	.	120
KiKw-11a	.	120
morifolium-1	.	120
morifolium-2	.	120
indicum-2	.	120
indicum-1	.	120
indicum-3	.	120
indicum-4	.	120
KiKw-1a,b	A G T T T C T T T A A A A A T A T T T T A T A G T T T G G T T C G A T T C G C G	160
KiKw-2a,b,3b,5c,8a,b,9a,10a,b,12a,b	.	160
KiKw-3a	.	160
KiKw-4a,5a	.	160
KiKw-4b,6a	.	160
KiKw-6b	.	160
KiKw-7b	.	160
KiKw-9b,11b	 G .	160
KiKw-11a	.	160
morifolium-1	.	160
morifolium-2	.	160
indicum-2	.	160
indicum-1	.	160
indicum-3	.	160
indicum-4	.	160
KiKw-1a,b	T G T T T T C T C T T T G T A T T C A T A T T T A T T T A T A T T A T A G G T T	200
KiKw-2a,b,3b,5c,8a,b,9a,10a,b,12a,b	 C .	200
KiKw-3a	 C .	200
KiKw-4a,5a	 C .	200
KiKw-4b,6a	 C .	200
KiKw-6b	 C .	196
KiKw-7b	 C .	200
KiKw-9b,11b	 C .	200
KiKw-11a	 Y .	200
morifolium-1	 C .	200
morifolium-2	 C .	200
indicum-2	 C .	200
indicum-1	 C .	200
indicum-3	 C .	200
indicum-4	 C .	200

Fig. 5 *TmH-psbA* IGS sequence alignment for Chrysanthemum flower

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
薬用植物栽培並びに関連産業振興を指向した薬用植物総合情報データベースの
拡充と情報整備に関する研究（H25-創薬-指定-006）
分担研究報告書

分担研究課題 トランスクリプトーム・ゲノミクス解析に関する研究
ー薬用植物のトランスクリプトーム・ゲノミクス情報の収集ー

研究分担者 齊藤 和季 千葉大学大学院 薬学研究院 教授

昨年度から薬用植物総合情報データベースに増設される新カテゴリーの一つとして、「薬用植物のトランスクリプトーム・ゲノミクス情報」のデータ収集を開始した。H25年度に実施した48植物種160サンプル由来のRNA-Seq解析に関して、配列アッセブル及びBLAST検索を終了し、薬用植物のEST情報のサイト（メンバー限定）に配列情報を登録した。H25年度に得られたデータについて、それぞれの薬用成分生合成に関する遺伝子contigの推定、発現解析、生合成経路への投影などのインフォマティクス解析を進めた（クズ、クララ、シソ、ケシなどが進行中）。また、今年度、新規に26植物種121サンプル由来のRNA-Seq分析（Hiseq1500のPaired-End 100bp）を行い、一部データ取得が完了した。さらに、選抜した8種類の薬用植物のゲノムサイズを測定し、比較的ゲノムサイズの小さいシナニッケイ（生薬名：桂皮）のゲノム解読を計画している。現在、シナニッケイの葉からゲノム抽出を実施中である。

研究協力者	持田恵一	（独）理化学研究所 バイオマス
山崎真巳 千葉大学大学院 薬学研究院 准教授		基盤研究チーム 副チームリー ダー
高橋弘喜 千葉大学大学院 真菌医学研究 センター 准教授	福島敦史	（独）理化学研究所 統合メタボ ロミクス研究グループ メタボ ローム情報研究チーム 研究員
川原信夫 （独）医薬基盤研究所 薬用植物 資源研究センター センター長	村中俊哉	大阪大学大学院工学研究科 生 命先端工学専攻 細胞工学領域 教授
吉松嘉代 （独）医薬基盤研究所 薬用植物 資源研究センター 育種生理研 究室長	關 光	大阪大学大学院工学研究科 生 命先端工学専攻 細胞工学領域 准教授
河野徳昭 （独）医薬基盤研究所 薬用植物 資源研究センター 育種生理研 究室 主任研究員	福島 エリ	オデット 大阪大学大学院工学 研究科 生命先端工学専攻 細 胞工学領域 助教
櫻井哲也 （独）理化学研究所 ゲノム情報 統合化研究ユニット ユニット リーダー	野路征昭	徳島文理大学 薬学部 准教授

兼目裕充 徳島文理大学 生薬研究所 助教
岡田岳人 徳島文理大学 香川薬学部 助教
鈴木秀幸 (公財)かずさ DNA 研究所 バイオ研究開発部 グループ長
金谷重彦 奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科 教授
小野直亮 奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科 助教

A. 研究目的

薬用植物は多種多様な構造を有する有用二次代謝産物を植物種特異的に生産するが、その生合成システムは、植物種特異的に分布する二次代謝酵素およびその関連遺伝子群により高度な基質特異性、立体制御のもと構成されている。

これらの生合成遺伝子群は薬用植物遺伝子資源として、将来、有用物質生産のツールとして鍵となるポテンシャルを有しており、薬用植物資源がそもそも具有している遺伝子資源としてのポテンシャルを開拓し、新たな付加価値を付与し活用する情報基盤の整備を行うための情報基盤整備が喫緊の課題となっている。

本研究においては、薬用植物総合情報データベースの新カテゴリーである「薬用植物のトランスクリプトーム・ゲノミクス情報」の整備の一環として、次世代シーケンサーによるディープ・トランスクリプトーム及びゲノム解析並びに、薬用植物総合情報データベースと連携する遺伝子情報の公開データベースの構築を、医薬基盤研究所を中心とする理研、大学等とのコンソーシアムにより有機的に進め、メタボロミクスなどを統合することにより薬用成分生産の鍵遺伝子の推定とその機能解析を推進し、重要薬用植物の薬用成分生産の鍵となるゲノム基盤の解明と利用、並びに、日本固有の薬用生物資源の確保と産業利用(知的財産権防衛)を進めることを、基幹

の目的とする(図1)。

薬用植物の遺伝子情報を資源として開拓、整備することにより、植物資源により高度な付加価値を付与することが可能であり、植物資源の高度な利用法の開発及び、薬用植物の品質・安全性向上に果たす役割は大きく、意義深い。

本研究においては、漢方薬の原料として重要性の高い薬用植物をはじめ、有用物質生産植物等について、次世代シーケンサーを用いて RNA-seq 解析または全ゲノム解析を行い、発現遺伝子情報の網羅的集積である EST (expressed sequence tag)ライブラリー構築、トランスクリプトーム情報の集積、そしてゲノム情報を、短期間かつ低コストに構築する点がコンセプト、手法の両面において独創的である。また、このような薬用植物の EST ライブラリーの情報で一般に公開されているものは少ない。今回構築するライブラリーは医薬基盤研究所の植物試料由来の情報については基本的に一般への公開を前提としていることを特色とする。

本研究においては、薬用植物の二次代謝酵素遺伝子および関連遺伝子群に関する遺伝子情報を中心として解析、整備する計画であるが、EST ライブラリーの構築、トランスクリプトーム情報の集積等の遺伝子情報の整備に関わる一連のプロセスそれ自体が、薬用植物資源の新たな付加価値を創出するものであり、次世代の高付加価値薬用植物資源の利用において他の研究の追随を許さないアドバンテージとなると考えられる。

B. 研究方法

本研究班を構成する各研究拠点がそれぞれ注力する薬用植物の RNA-Seq 解析またはゲノム解析を行い、得られた EST 等の情報はかずさ DNA 研究所において新たに構

築された EST 情報のデータベースサーバに収載する。

本研究における植物資源の提供からデータ取得、EST データ等のデータベースへの収載の概要について、図 2 に示す。

以下、今年度の研究実施内容及びそれらを実施した研究拠点について記す。

B1. H25 年度に実施した 48 植物種 160 サンプル由来の RNA-Seq 分析データのトランスクリプトーム解析 (かずさ DNA 研究所)

昨年度、実施した 48 植物種 160 サンプル由来の RNA-Seq 分析データ (イルミナ社 HiSeq2000, Hiseq1500Rapid mode, Paired-End 100bp) は千葉大学、大阪大学、医薬基盤研究所から提供された RNA サンプル (表 1, 2, 3, 4) から取得している。トランスクリプトーム解析の概要について、図 3 に示す。今年度、得られた生データ (FASTQ データ) を用いて、同一植物頃に、配列アッセンブル (CLC Genomics Workbench, CLC bio 社/QIAGEN 社) を行い、得られた contig 配列に対して、BLASTX 検索(vs. NCBI nr, e-5, Best20)を実行した。また、同ソフト (CLC Genomics Workbench, CLC bio 社/QIAGEN 社) にて、植物器官・組織毎に遺伝子発現量を RPKM (Reads Per Killobases per Million) 値にて、出力した。昨年度、構築した薬用植物の EST 情報のサイト (メンバー限定) に配列情報を登録し、RNA サンプルを提供した各研究機関 (千葉大学、大阪大学、医薬基盤研究所) に解析全データを情報提供した。

B2. 薬用成分生合成経路への投影などのインフォマティクス解析 (千葉大学・理研・医薬基盤研究所・かずさ DNA 研究所)

昨年度、RNA-Seq データを獲得したクズ、クララ、シソ、ケシなどを中心として、それぞれの薬用成分生合成に関する遺伝子

contig の推定、発現解析、生合成経路への投影などのインフォマティクス解析を進めた。ケシに関しては、今年度から、奈良先端科学技術大学院大学の金谷研究室 (金谷教授、小野助教) の協力により、モルヒネ生合成経路のインフォマティクス解析に着手した。クズ、クララに関しては、千葉大学医薬薬学府大学院生と真菌医学研究センターの高橋准教授、シソに関しては、理研メタボローム情報研究チーム 福島研究員がインフォマティクス解析を担当した。

B3. 重要薬用植物のゲノムサイズの測定 (医薬基盤研究所・千葉大学・かずさ DNA 研究所)

薬用植物総合情報データベース構築においては、データを優先的に収集する対象生薬として、漢方処方エキス製剤生産量の約 90%を占める重要処方 44 種¹⁾ に配合される重要生薬 75 種 (表 5) を選択し、関連データの収集を進めている。第 4 回、第 5 回薬用植物ゲノミクス連絡会 (H26 年 6 月 2 日、H26 年 9 月 3 日) をポリコムおよび電話会議なども利用して開催し、表 5 の植物情報を下に、ゲノムサイズを測定する薬用植物 (8 種類) 選抜し、フローサイトメーターによるゲノムサイズ推定した (図 4、表 6)。フローサイトメーターによるゲノムサイズ推定は茨城県土浦市にあるパルテックジャパン株式会社に委託した。

以下にフローサイトメーターによるゲノムサイズ推定における測定原理及び解析手法を示す。

測定原理；

核内 DNA を PI (Propionium Iodide) で染色し、フローサイトメーターで裸核 1 個あたりの蛍光強度を測定する。ゲノムサイズ既知の植物サンプルと比較してサンプル植物のゲノムサイズを推定する。

Paretc 社製 CyStain PI absolute P キット

を使用、染色プロトコールは付属の説明書に従う。フローサイトメーターは Paretc 社製 CyFlow SL 型を使用、488nm(青) 50 mW レーザーで励起し、赤蛍光を検出する。

図 4 のフローサイトメーターの測定データの解釈では、ヒストグラムの横軸は蛍光強度（リニアスケール、等間隔）で、縦軸はカウント（裸核の数、出現頻度）を示す。蛍光強度はゲノムサイズに比例するので、予めサイズ既知のゲノムを用いて検量線を作成し、出現頻度の山の部分の蛍光強度から回帰を行う。図 4 の「arabi+pasly」のヒストグラムで、左のピークから RN2, RN3, RN4 はそれぞれシロイヌナズナの 2C, 4C, 8C であり、横軸 270 付近の塊は 16C、右側の RN1 はパセリの 2C ピークを示す。そして、グラフの下にピークの分析値が表示され Mean-X を読み取る。なお、更に下の Gain 値はピークの位置を決める検出器の感度を示す。パセリのピークをより右側で検出するにはこの値を下げる。

図 4 「arabi+pasly」の解析結果から、パセリのゲノムサイズは 3208Mbase (2n) と計算された。そして、それぞれの薬用植物のゲノムサイズを表 6 に示した。その結果、ゲノムサイズの比較的小さいシナニッケイ（生薬名：桂皮）のゲノム解読（n = ca.767.0Mb）を計画している（表 6）。現在、シナニッケイの葉からゲノム抽出を実施し、Miseq（Paired-End 300bp X 3run）で、データ量約 45Gb のゲノムデータを取得する予定である。

B4. 新規 RNA-Seq 分析(Paired-End 100bp)の取得（千葉大学・大阪大学・医薬基盤研究所・かずさ DNA 研究所）

今年度新たに千葉大学、大阪大学、医薬基盤研究所から提供された 26 植物種 121 サンプル（表 7, 8, 9, 10）由来の RNA-Seq 分析を HiSeq1500Rapid mode（Paired-End

100bp）で行い、既に、一部のデータ取得（FASTQ データ）が完了した。

C. 研究結果

C1. H25 年度に実施した 48 植物種 160 サンプル由来の RNA-Seq 分析データのトランスクリプトーム解析（かずさ DNA 研究所）

H25 年度にイルミナ社 HiSeq2000（Paired-End 100bp）で取得した FASTAQ データの RNA サンプル情報を表 1-4 にまとめた。表 1 は千葉大学から提供された RNA サンプル情報（96 種類の RNA サンプル）、表 2 及び表 3 は医薬基盤研究所から提供された RNA サンプル情報、表 4 は大阪大学から提供された RNA サンプル情報を示す。表 3 の医薬基盤研究所から提供された RNA サンプルは HiSeq1500 Rapid mode（Paired-End 100bp）で FASTAQ データを取得した。

RNA-Seq 解析の解析フローは図 3 に示した。具体的には、同一植物頃に、配列アセンブルを市販の CLC Genomics Workbench, (CLC bio 社/QIAGEN 社) のソフトを用いて行った。得られた contig 配列に対して、BLASTX 検索（vs. NCBI nr, e-5, Best20）を実行した。また、同ソフトにて、植物器官・組織毎に遺伝子発現量を RPKM（Reads Per Killobases per Million）値にて、出力した。昨年度、構築した薬用植物の EST 情報のサイト（メンバー限定）に逐次、配列情報を登録し、RNA サンプルを提供した各研究機関（千葉大学、大阪大学、医薬基盤研究所）に RNA-Seq 解析の全データ及び FASTAQ データを提出した。

C2. 薬用成分生合成経路への投影などのインフォマティクス解析（千葉大学・理研・医薬基盤研究所・かずさ DNA 研究所）

第 4 回、第 5 回薬用植物ゲノミクス連絡

会（H26 年 6 月 2 日、H26 年 9 月 3 日）をポリコムおよび電話会議なども利用して開催し、これまでに多種の植物の多様な組織、器官の EST、トランスクリプトーム情報が収集されてきているが、これらの情報を活用するためのメタ解析の方向性について、議論した。

その結果、植物の生産する化合物をトリテルペン、フラボノイド等の基本骨格別に分類し、それらの生合成酵素遺伝子群の塩基配列情報、発現情報等を植物種間等で比較解析する手法が考えられ、ケシに関しては、今年度から、奈良先端科学技術大学院大学の金谷研究室（金谷教授、小野助教）の協力により、モルヒン生合成経路のインフォマティクス解析に着手するため打ち合わせを実施し、表 2 に含まれている 3 種類の RNA-Seq データ（FASTQ ファイル）を金谷研究室に提供した。具体的には、Kiban_1（オニゲシ、POL2 1-1HO）Kiban_15（ケシ、PslK）、Kiban_17（ケシの T-DNA 挿入変異体、PsM1-2LN）の 3 種類の RNA-Seq データを提供した。繰り返しの RNA-Seq 分析データも必要であることから、今年度、再分析を計画した。

クズ、クララに関しては、千葉大学にてアルカロイド・フラボノイド生合成経路に注目して、インフォマティクス解析を担当した。さらに、シソに関しては、理研 メタボローム情報研究チーム 福島研究員がトリテルペン、フラボノイド生合成経路に注目して、インフォマティクス解析を担当した。

C3. 重要薬用植物のゲノムサイズの測定（医薬基盤研究所・千葉大学・かずさ DNA 研究所）

第 4 回、第 5 回薬用植物ゲノミクス連絡会（H26 年 6 月 2 日、H26 年 9 月 3 日）をポリコムおよび電話会議なども利用して開

催し、昨年度の実績報告したゲノム解析対象植物種を検討する上で基盤情報となる、ゲノムサイズ及び染色体の倍数性の指標となる C-value 解析結果から、ケイヒは同属植物の *Cinnamomum camphora* の C-value が小さいことが明らかになったが、この結果を検証する目的で、今年度は、フローサイトメーターでゲノムサイズの測定する事を決定した（委託先：パルテックジャパン株式会社）。ゲノムサイズの知られているシロイヌナズナを中心として、パセリ、クララ、ヒロハクララ、シナニッケイ、ミシマサイコ（圃場）、ミシマサイコ（in vitro 培養物）、トウキ、センキュウ、オタネニンジン、シナマオウなどの 8 種類の重要薬用植物含む計 11 種類の新鮮葉を委託先に提供し、フローサイトメーターによるゲノムサイズを測定した（図 4、表 6）。

図 4「arabi+pasly」の解析結果から、パセリのゲノムサイズは 3208Mbase（2n）と計算され、それぞれの薬用植物のゲノムサイズを表 6 に示した。その結果、ゲノムサイズの比較的小さいシナニッケイ（生薬名：桂皮）のゲノム解読（n = ca.767.0Mb）を計画している（表 6）。現在、シナニッケイの葉からゲノム抽出を実施し、Miseq（Paired-End 300bp X 3run）で、データ量約 45Gb のゲノムデータを取得する予定である。ゲノム解析は、かずさ DNA 研究所のゲノム解析グループの平川博士が担当予定である。

C4. 新規 RNA-Seq 分析(Paired-End 100bp)の取得（千葉大学・大阪大学・医薬基盤研究所・かずさ DNA 研究所）

今年度、昨年度に引き続き、多くの薬用植物を中心として、新規 RNA-Seq 分析を HiSeq1500 Rapid mode（Paired-End 100bp）の取得する計画を立てた。千葉大学、大阪大学、医薬基盤研究所から提供された計 26

植物種 121 サンプル（表 7, 8, 9, 10）由来の RNA-Seq 分析(Hiseq1500 の Paired-End 100bp)を行い、既に、一部のデータ取得（FASTQ データ）が完了した。

表 7 は千葉大学から提供された RNA サンプル情報（30 種類の RNA サンプル）、表 8 は大阪大学から提供された RNA サンプル情報（18 種類の RNA サンプル）を示し、同じ RNA-Seq 分析(Hiseq1500 の Paired-End 100bp)で FASTAQ データを取得した。表 9 は医薬基盤研究所から提供された RNA サンプル情報（27 種類の RNA サンプル）を示す。ケシ由来の RNA サンプルのみ、直接 RNA サンプルが提供され、その他は植物材料がかずさ DNA 研究所に提供され、かずさ DNA 研究所で RNA サンプルの抽出を行った。現在、RNA-Seq 分析（Hiseq1500 の Paired-End 100bp）で FASTAQ データを取得中である。表 10 は千葉大学から提供された RNA サンプル情報（46 種類の RNA サンプル）である。一部の植物材料は、医薬基盤研究所から提供され、千葉大学にて、RNA サンプルの抽出を行った。現在、RNA-Seq 分析 (Hiseq1500 の Paired-End 100bp) で FASTAQ データする計画である。なお、表 10 の RNA サンプルに関して千葉大学の技術補助員がかずさ DNA 研究所にて RNA-Seq 分析を行うためのライブラリー調製（全 RNA から）を実施した。

D. 考察

解析試料とする植物資源について

本研究において、とくに医薬基盤研究所で分担している重要生薬の基原植物の EST 情報収集においては、RNA-Seq 解析の材料として、医薬基盤研究所薬用植物資源研究センターにおいて保存、維持栽培されている植物資源を使用している。このように、来歴の確実な植物試料から EST ライブラリー等を構築することは、以後の実験の再

現性等を担保するため重要である。また、植物資源に EST 等の付加情報が付属することにより、植物資源そのものの価値も高められると考えられる。

今回、医薬基盤研究所から RNA-seq 解析に供した植物試料はいずれも導入番号等で管理される来歴の確かなものであることに加え、in vitro 培養物においては定期的に継代維持されているため、いつでも、RNA-Seq 情報を取得したものと同一の遺伝子背景を持つ植物体を目的遺伝子単離等の実験に使用可能である点が優れていると考えられる。

ゲノム解析対象植物種の選択について

今年度、生薬桂皮の基原植物である *Cinnamomum* 属植物を本プロジェクトでゲノム解析を行う対象薬用植物に決定し、予備試験データ取得に着手した。シナニッケイ（生薬名：桂皮）は重要生薬の中で、ゲノムサイズが小さい可能性が示唆されたので、選抜した（表 6）。ゲノム解析には、かずさ DNA 研究所のゲノム解析グループの平川博士の協力を得る計画であるため、次年度の解析成果を計画している。

次年度以降の RNA-Seq 解析について

次年度は新規の RNA-Seq 解析の取得に関して、全体として解析試料数を減らす方向で調整し、2 年間（H25 年度、H26 年度）で取得した RNA-seq 解析に関して、バイオインフォマ解析を強化する。また、シナニッケイのドラフトゲノム解読結果を受けて、ゲノム解析に関与する追加のゲノムデータの検討を開始する予定である。また、今年度は配列生データの取得にとどまり、精密なアセンブルやアノテーション、発現解析などが未着手のデータが多く残っているので、これらの未解析データについて来年度以降に精密解析を進めていく。なお、漢方薬に用いられる重要生薬の基原植物につい

ては、ひきつづき医薬基盤研究所の保有植物資源を材料として RNA-Seq 解析を進めて行くこととした。これらの解析は HiSeq1500 Rapid mode (Paired-End 100bp) で実施する予定である。また、個々のサブグループで別予算にて得られた RNA-Seq データを本データベースに収集、登録することも今後の統合的な解析のために重要である。

E. 結論

昨年度に引き続き、薬用植物総合情報データベースに増設される新カテゴリーの一つとして、「薬用植物のトランスクリプトーム・ゲノミクス情報」のデータ収集を継続した。H25 年度に実施した 48 植物種 160 サンプル由来の RNA-Seq 解析に関して、配列アッセブル及び BLAST 検索を終了し、薬用植物の EST 情報のサイト (メンバー限定) に配列情報を登録した。H25 年度に得られたデータについて、それぞれの薬用成分生合成に関する遺伝子 contig の推定、発現解析、生合成経路への投影などのインフォマティクス解析を進めた。また、今年度、新規に 26 植物種 121 サンプル由来の RNA-Seq 分析 (HiSeq1500 の Paired-End 100bp) を行い、一部データ取得が完了した。さらに、選抜した 8 種類の薬用植物のゲノムサイズを測定し、比較的ゲノムサイズの小さいシナニッケイ (生薬名: 桂皮) のゲノム解読を計画している。解析・収集した EST 情報を収載し、薬用植物総合情報データベースのトランスクリプトーム・ゲノミクス情報と配列情報のリンクを行うデータベースサイトの構築を更新した。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 河野徳昭, 吉松嘉代, 鈴木秀幸, 斉藤和季, 川原信夫, 薬用植物のトランスクリプトーム情報の整備, 日本生薬学会第 61 回年会 (福岡) 大会・シンポジウム (2014 年 9 月, 福岡)
- 2) 韓榮春, 中村道美, Bunsupa somnuk, 山本浩文, 鈴木秀幸, 高橋弘喜, 吉本尚子, 山崎真巳, 斉藤和季 RNA-Seq analysis on 9 tissues of *Sophora flavescens* reveals putative genes involved in the biosynthesis of quinolizidine alkaloids and isoflavonoids, 日本生薬学会第 61 回年会 (2014 年 9 月, 福岡)
- 3) 河野徳昭, 乾貴幸, 吉松嘉代, 川原信夫, 薬用植物資源の遺伝子情報の基盤整備とその活用, 第 43 回生薬分析シンポジウム (2014 年 11 月, 大阪)
- 4) 河野徳昭, 吉松嘉代, 鈴木秀幸, 斉藤和季, 川原信夫, 薬用植物のトランスクリプトーム情報の整備, 日本薬学会第 135 年会 (神戸) (2015 年 3 月, 神戸)
- 5) 河野徳昭, 吉松嘉代, 鈴木秀幸, 斉藤和季, 川原信夫: 薬用植物トランスクリプトーム情報の整備. 日本薬学会 135 年会 (2015. 3. 26-28, 神戸)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

参考文献

- 1) 平成 16 年「薬事工業生産動態統計年報」厚生労働省医政局経済課, 日本漢方生薬製剤協会 (2004)

(図表)

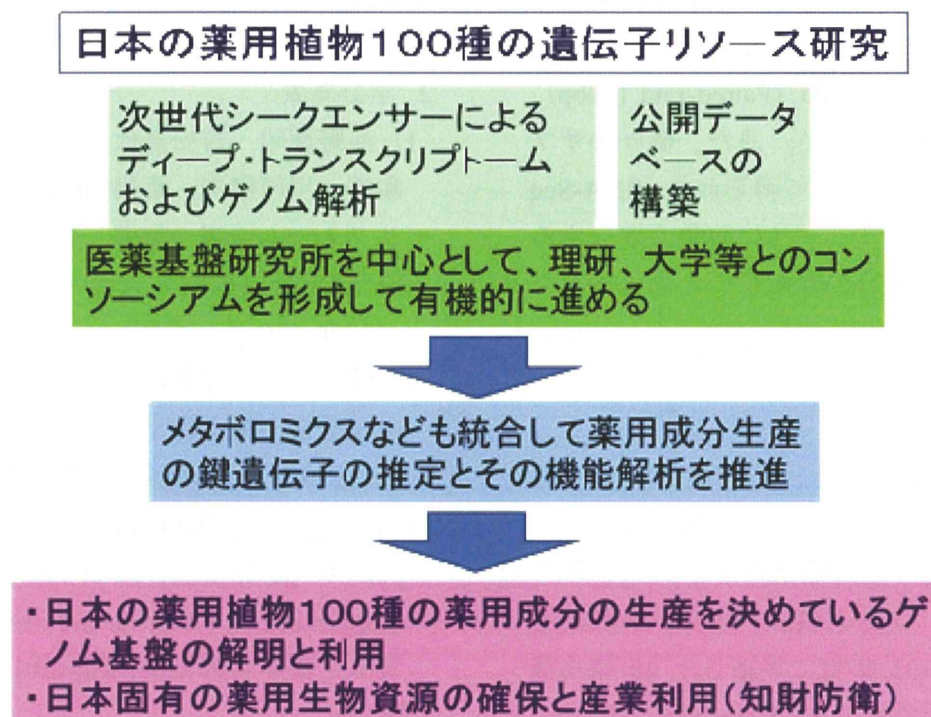


図1. 日本固有の薬用生物資源の確保と産業利用（知的財産権防衛）

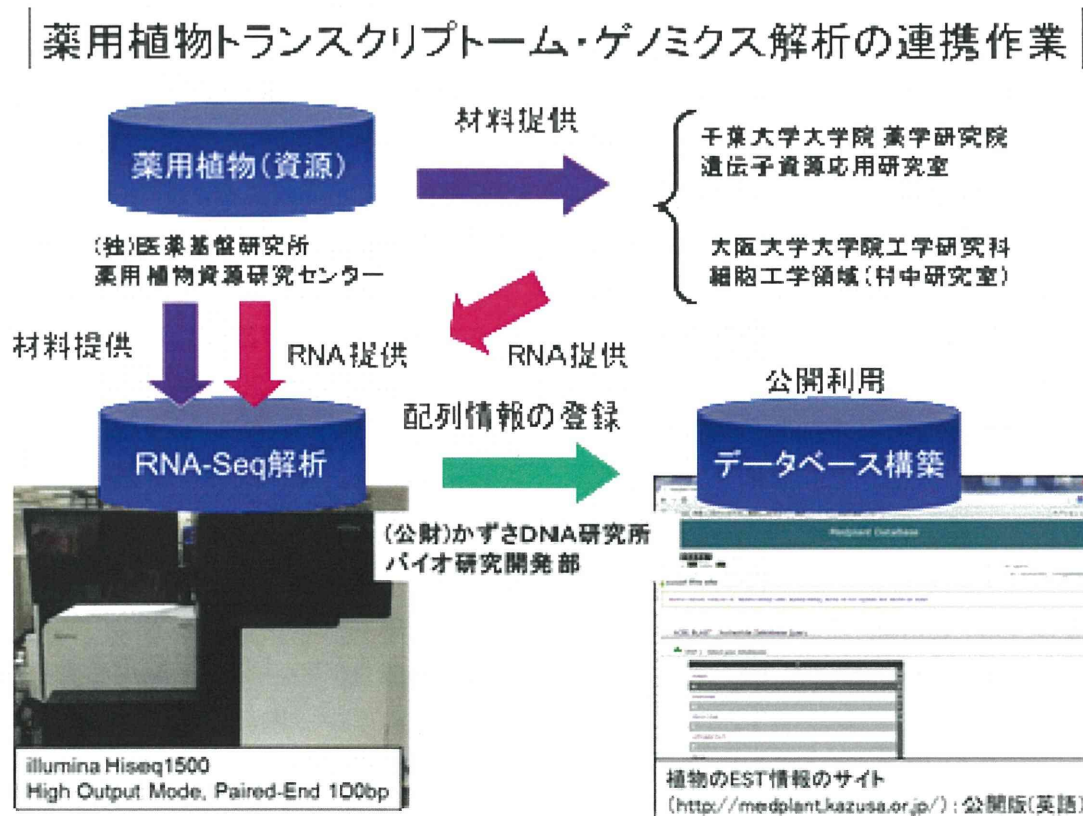


図2. 薬用植物トランスクリプトーム・ゲノミクス解析の研究拠点間連携概要

表1. RNA-seq解析に供した植物由来のRNAサンプルリスト
(H25年度獲得データ・千葉大学担当分)

	ID	Sample ID	和名	部位	学名
1	Chiba-univ_#1	Ca#1	キジュ	未熟葉	<i>Camptotheca acuminata</i> Decne.
2	Chiba-univ_#2	Ca#2	キジュ	若い葉	
3	Chiba-univ_#3	Ca#3	キジュ	成熟葉	
4	Chiba-univ_#4	Ca#4	キジュ	茎	
5	Chiba-univ_#5	Ca#5	キジュ	樹皮	
6	Chiba-univ_#6	Ca#6	キジュ	材	
7	Chiba-univ_#7	Ca#7	キジュ	花芽	
8	Chiba-univ_#8	Sf#1	クララ	カルス	<i>Sophora flavescens</i>
9	Chiba-univ_#9	Sf#2	クララ	茎	
10	Chiba-univ_#10	Sf#3	クララ	花	
11	Chiba-univ_#11	Sf#4	クララ	開花直前蕾	
12	Chiba-univ_#12	Sf#5	クララ	開花している花の茎	
13	Chiba-univ_#13	Sf#6	クララ	蕾	
14	Chiba-univ_#14	Sf#7	クララ	蕾の茎	
15	Chiba-univ_#95	Sf#8	クララ	青い蕾	<i>Ophiorrhiza kuroiwae</i>
16	Chiba-univ_#15	Ok#1	クロイワイナモリ	茎頂	
17	Chiba-univ_#16	Ok#2	クロイワイナモリ	葉	
18	Chiba-univ_#17	Ok#3	クロイワイナモリ	根	
19	Chiba-univ_#18	Ok#4	クロイワイナモリ	茎	<i>Lonicera japonica</i>
20	Chiba-univ_#19	Lj#1	スイカズラ	茎頂	
21	Chiba-univ_#20	Lj#2	スイカズラ	若い葉	
22	Chiba-univ_#21	Lj#3	スイカズラ	若い葉	
23	Chiba-univ_#22	Lj#4	スイカズラ	成熟葉	
24	Chiba-univ_#23	Lj#5	スイカズラ	茎	
25	Chiba-univ_#24	Lj#6	スイカズラ	緑の蕾	
26	Chiba-univ_#25	Lj#7	スイカズラ	白い花の蕾	
27	Chiba-univ_#26	Lj#8	スイカズラ	白い花	
28	Chiba-univ_#27	Lj#9	スイカズラ	黄色い花	<i>Physalis alkekengi</i> var. <i>franchetii</i>
29	Chiba-univ_#28	Pal#1	ホオズキ	観賞用	
30	Chiba-univ_#29	Ppe#2	ホオズキ	食用	<i>Physalis pruinosa</i>
31	Chiba-univ_#30	Ccm#1	クスノキ	硬くない葉	<i>Cinnamomum camphora</i>
32	Chiba-univ_#31	Ccm#2	クスノキ	成熟葉	
33	Chiba-univ_#32	Ccm#3	クスノキ	若い枝	
34	Chiba-univ_#33	Ccm#4	クスノキ	樹皮	
35	Chiba-univ_#34	Ccm#5	クスノキ	材	
36	Chiba-univ_#35	Ccm#6	クスノキ	開花前花芽	
37	Chiba-univ_#36	Ccm#7	クスノキ	開いた花芽	
38	Chiba-univ_#37	Ccm#8	クスノキ	花芽の茎	
39	Chiba-univ_#38	Cp#1	ロウバイ	若い葉	<i>Chimonanthus praecox</i>
40	Chiba-univ_#39	Cp#2	ロウバイ	若い葉	
41	Chiba-univ_#40	Cp#3	ロウバイ	成熟葉	
42	Chiba-univ_#41	Cp#4	ロウバイ	若い茎	
43	Chiba-univ_#42	Mj#1	アカメガシワ	若い葉	<i>Mallotus japonicus</i>
44	Chiba-univ_#43	Mj#2	アカメガシワ	成熟葉	
45	Chiba-univ_#44	Mj#3	アカメガシワ	茎	
46	Chiba-univ_#45	Mj#4	アカメガシワ	枝	
47	Chiba-univ_#46	Mj#5	アカメガシワ	樹皮	
48	Chiba-univ_#47	Mj#6	アカメガシワ	材	
49	Chiba-univ_#48	Mj#7	アカメガシワ	花	

表1. RNA-seq解析に供した植物由来のRNAサンプルリスト
(H25年度獲得データ・千葉大学担当分) つづき

	ID	Sample ID	和名	部位	学名
50	Chiba-univ. #49	Pa#1	アンズ	成熟葉	<i>Prunus armeniaca</i>
51	Chiba-univ. #50	Pa#2	アンズ	茎	
52	Chiba-univ. #51	Pa#3	アンズ	未熟種子	
53	Chiba-univ. #52	Pa#4	アンズ	未熟果・中央部果肉	
54	Chiba-univ. #53	Pa#5	アンズ	未熟果・枝に近い果肉	
55	Chiba-univ. #54	Pa#6	アンズ	未熟果・種皮(内果	
56	Chiba-univ. #55	Hc#1	ドクダミ	終わった花	<i>Houttuynia cordata</i>
57	Chiba-univ. #56	Hc#2	ドクダミ	総苞	
58	Chiba-univ. #57	Hc#3	ドクダミ	若い葉	
59	Chiba-univ. #58	Hc#4	ドクダミ	茎の節部分	
60	Chiba-univ. #59	Hc#5	ドクダミ	茎(上方)	
61	Chiba-univ. #96	Hc#6	ドクダミ	花	
62	Chiba-univ. #60	Mo#1	ホオノキ	茎頂	<i>Magnolia obovata</i>
63	Chiba-univ. #61	Mo#2	ホオノキ	若葉	
64	Chiba-univ. #62	Mo#3	ホオノキ	成熟葉	
65	Chiba-univ. #63	Mo#4	ホオノキ	樹皮	
66	Chiba-univ. #64	Mo#5	ホオノキ	材	
67	Chiba-univ. #65	Mo#6	ホオノキ	開花前の花芽	
68	Chiba-univ. #66	Mo#7	ホオノキ	花柱	<i>Amygdalus persica</i> L.
69	Chiba-univ. #67	Ap#1	モモ	若い葉	
70	Chiba-univ. #68	Ap#2	モモ	未熟種子	
71	Chiba-univ. #69	Ap#3	モモ	果肉	<i>Cinnamomum sieboldi</i>
72	Chiba-univ. #70	Ccs#1	ニッケイ	茎頂	
73	Chiba-univ. #71	Ccs#2	ニッケイ	成熟葉	
74	Chiba-univ. #72	Ccs#3	ニッケイ	枝	
75	Chiba-univ. #73	Ccs#4	ニッケイ	材	
76	Chiba-univ. #74	Ccs#5	ニッケイ	樹皮	
77	Chiba-univ. #75	Ccs#6	ニッケイ	開花前の花芽	
78	Chiba-univ. #76	Ccs#7	ニッケイ	開花後の花芽	<i>Morus australis</i>
79	Chiba-univ. #77	Ma#1	ヤマグワ	未展開の葉	
80	Chiba-univ. #78	Ma#2	ヤマグワ	未熟葉	
81	Chiba-univ. #79	Ma#3	ヤマグワ	若い葉	
82	Chiba-univ. #80	Ma#4	ヤマグワ	成熟葉	
83	Chiba-univ. #81	Ma#5	ヤマグワ	樹皮	
84	Chiba-univ. #82	Ma#6	ヤマグワ	材	
85	Chiba-univ. #83	Ma#7	ヤマグワ	未熟果実	<i>Pueraria lobata</i>
86	Chiba-univ. #84	Pl#1	クズ	茎頂	
87	Chiba-univ. #85	Pl#2	クズ	未展開の葉	<i>Cornus officinalis</i> Sieb. et Zucc.
88	Chiba-univ. #86	Co#1	サンシュユ	若い茎	
89	Chiba-univ. #87	Co#2	サンシュユ	若い葉	
90	Chiba-univ. #88	Co#3	サンシュユ	成熟葉	
91	Chiba-univ. #89	Co#4	サンシュユ	未熟種子	
92	Chiba-univ. #90	Co#5	サンシュユ	未熟果肉	<i>Nothapodytes nimmoniana</i>
93	Chiba-univ. #91	No#1	クサミズキ	葉	
94	Chiba-univ. #92	No#2	クサミズキ	若い葉	
95	Chiba-univ. #93	No#3	クサミズキ	茎頂	
96	Chiba-univ. #94	No#4	クサミズキ	根	

表2. RNA-seq解析に供した植物由来のRNAサンプルリスト
(H25年度獲得データ・医薬基盤研究所担当分)

ID	Sample ID	和名	部位	学名
1 Ab	Ab	ベラドンナ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	<i>Atropa belladonna</i> L.
2 RpSA13	RpSA13	ダイオウ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	<i>Rheum palmatum</i> L.
3 RehN1	RehN1	カイケイジオウ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	<i>Rehmannia glutinosa</i> Libos.
4 RehN2	RehN2	カイケイジオウ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	var. <i>hueichingensis</i>
5 RehA1	RehA1	アカヤジオウ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	<i>Rehmannia glutinosa</i> Libos. var. <i>purpurea</i>
6 RehA2	RehA2	アカヤジオウ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	
7 RehA4	RehA4	アカヤジオウ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	
8 Acf1	Acf1	ヒナタイノコズチ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	<i>Achyranthes bidentata</i> var. <i>fauriei</i>
9 Acb1	Acb1	トウイノコズチ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	<i>Achyranthes bidentata</i> Blume
10 Es145L4	Es145L4	シナマオウ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	<i>Ephedra sinica</i> Stapf
11 Es513L6	Es513L6	シナマオウ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	
12 Es611D4	Es611D4	シナマオウ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	
13 ES611L1	ES611L1	シナマオウ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	
14 CrI2	CrI2	ニチニチソウ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	<i>Catharanthus roseus</i> G.Don
15 CrIW1①	CrIW1①	ニチニチソウ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	
16 Rs	Rs	インドジャボク	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	<i>Rauwolfia serpentina</i> Benth.ex Kurz
17 Stj	Stj	ビャクブ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	<i>Stemona japonica</i> Franch. & Sav.
18 ZoK2	ZoK2	ショウガ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	<i>Zingiber officinale</i> Rosc.
19 ZoS1	ZoS1	ショウガ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	
20 ZoO2	ZoO2	ショウガ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	<i>Papaver somniferum</i>
21 POL2 1-1HO	Kiban_1	オニゲシ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	
22 PSN8IK2 × POL2 2-7HO	Kiban_3	ケシxオニゲシ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	
23 PSN5IK4 × POL2 1-5HT	Kiban_5	ケシxオニゲシ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	
24 POL2-3 × PSIK 2MOT	Kiban_7	ケシxオニゲシ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	
25 POL2-3 × PSIK 2-6M	Kiban_9	ケシxオニゲシ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	
26 PSN5IK4 × POL2 2-2M	Kiban_11	ケシxオニゲシ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	
27 PSN1K4 × POL2 2-8M	Kiban_13	ケシxオニゲシ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)	

表3. RNA-seq解析に供した植物由来のRNAサンプルリスト
(H25年度獲得データ・医薬基盤研究所担当分)

Sample ID	和名	学名
1 Paeonia #1	シャクヤク(大和シャクヤク・白花)	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.
2 Paeonia #2	シャクヤク(赤花)	
3 Paeonia #3	シャクヤク(液体培養暗)	
4 Paeonia #4	シャクヤク(液体培養明)	
5 Mentha #1	ハッカ「綾波」	<i>Mentha arvensis</i> L. var. <i>piperascence</i> Malinv. 'Ayanami'
6 Mentha #2	ハッカ「赤坂」	<i>Mentha arvensis</i> L. var. <i>piperascence</i> Malinv. 'Akasaka'
7 Mentha #3	ハッカ「大葉」	<i>Mentha arvensis</i> L. var. <i>piperascence</i> Malinv. 'Ooba'
8 Mentha #4	セイヨウハッカ「米国白」	<i>Mentha x piperita</i> L. 'Beikoku Shiro'
9 Mentha #5	セイヨウハッカ「英国黒」	<i>Mentha x piperita</i> L. 'Eikoku Kuro'
10 Mentha #6	ナガバハッカ	<i>Mentha longifolia</i> huds.
11 Mentha #7	ミドリハッカ	<i>Mentha spicata</i> L.
12 Mentha #8	パイナップルミント	<i>Mentha suaveolens</i> Ehrh. 'Pineapple mint'
13 Boui #1	オオツヅラフジ	<i>Sinomenium acutum</i> (シノニム: <i>Cocculus acutus</i>)
14 Boui #2	オオツヅラフジ	
15 Boui #3	アオツヅラフジ	<i>Cocculus trilobus</i> (Thunb.) DC.
16 Boui #4	アオツヅラフジ	
17 Akebia #1	アケビ	<i>Akebia quinata</i> (Houtt.) Decne.
18 Akebia #2	アケビ	
19 Akebia #3	ミツバアケビ	<i>Akebia trifoliata</i> (Thunb.) Koidz.
20 Akebia #4	ミツバアケビ	
21 Akebia #5	ゴヨウアケビ	<i>Akebia x pentaphylla</i> (Makino) Makino var. <i>pentaphylla</i>
22 Akebia #6	ゴヨウアケビ	
23 Kiban #15 PsIK	ケシ	<i>Papaver somniferum</i>
24 Kiban #17 PsM1-2LN	ケシ(T-DNA挿入変異体)	

表 4. RNA-seq 解析に供した植物由来の RNA サンプルリスト
(H25 年度獲得データ・大阪大学担当分)

	ID	Sample ID	和名	部位	学名
1	Osaka-univ #1		クソニンジン	葉	<i>Artemisia annua</i>
2	Osaka-univ #2		カワラヨモギ	葉	<i>Artemisia capillaris</i>
3	Osaka-univ #3			葉	<i>Artemisia afra</i>
4	Osaka-univ #4		サザンウッド	葉	<i>Artemisia abrotanum</i>
5	Osaka-univ #5		キキョウ	根	<i>Platycodon glandiflorum</i>
6	Osaka-univ #6		キキョウ	葉	
7	Osaka-univ #7		キキョウ	花卉	
8	Osaka-univ #8			毛状根 (Mock処理)	<i>Ajuga reptans</i>
9	Osaka-univ #9			毛状根 (MeJA処理12h)	
10	Osaka-univ #10			毛状根 (MeJA処理24h)	
11	Osaka-univ #11			毛状根 (MeJA処理72h)	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>
12	Osaka-univ #14		標準系統	培養ストロン	
13	Osaka-univ #15		スーパーカンゾウ: No.70	培養ストロン	

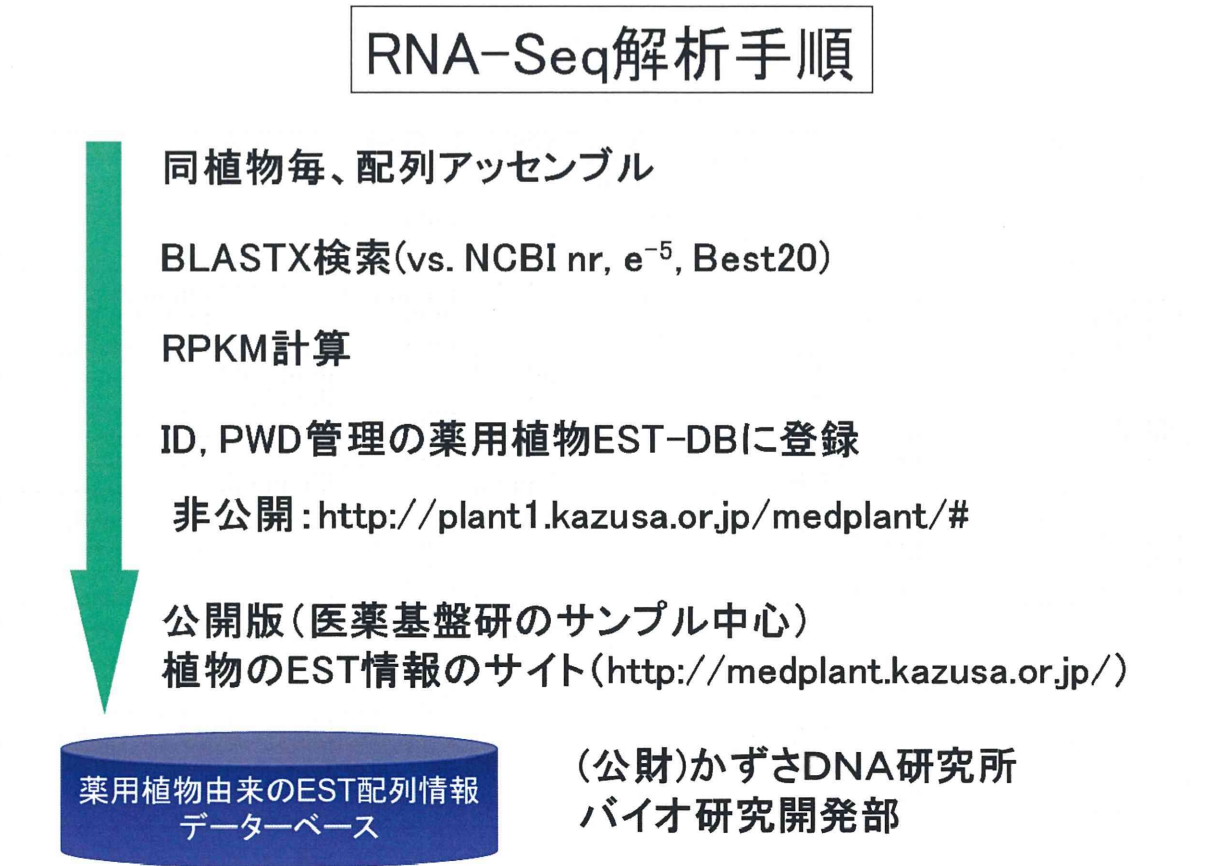


図3. かずさDNA研究所におけるトランスクリプトーム解析のパイプライン概要

表5. 漢方製剤生産量（平成16年）の90%以上を占める漢方処方44処方に配合される重要生薬75種

最優先5品目	オウゴン	カンゾウ	ショウキョウ	ソウジュツ	ニンジン
第一優先 15品目	オウレン	ケイヒ	ゴシツ	サイコ	サンシシ
	ジオウ	シャクヤク	シャゼンシ	センキュウ	ソヨウ
	ダイオウ	トウキ	ビャクジュツ	ブクリョウ	マオウ
第二優先 25品目	ボタンピ	トウニン	サイシン	ハンゲ	カッコン
	タクシャ	バクモンドウ	チョウトウコウ	ゴシュユ	キョウニン
	ボウイ	モクツウ	チンピ	オウギ	オウバク
	オンジ	キキョウ	コウボク	ゴミシ	サンシュユ
	サンショウ	タイソウ	サンヤク	チモ	ボウフウ
第三優先 30品目	ケイガイ	ショウマ	キクカ	マシニン	コウベイ
	カンキョウ	レンギョウ	チョレイ	コウジン	キジツ
	ブシ	ハッカ	ドクカツ	シンイ	ビャクシ
	リュウタン	キョウカツ	イレイセン	テンマ	サンソウニン
	モッコウ	リュウガンニク	バクガ	ボクソク	アキョウ
	ボレイ	リュウゴツ	カッセキ	ボウショウ	セッコウ

: 動物生薬

: 鉱物生薬

フローサイトメーターによるゲノムサイズ推定の方法

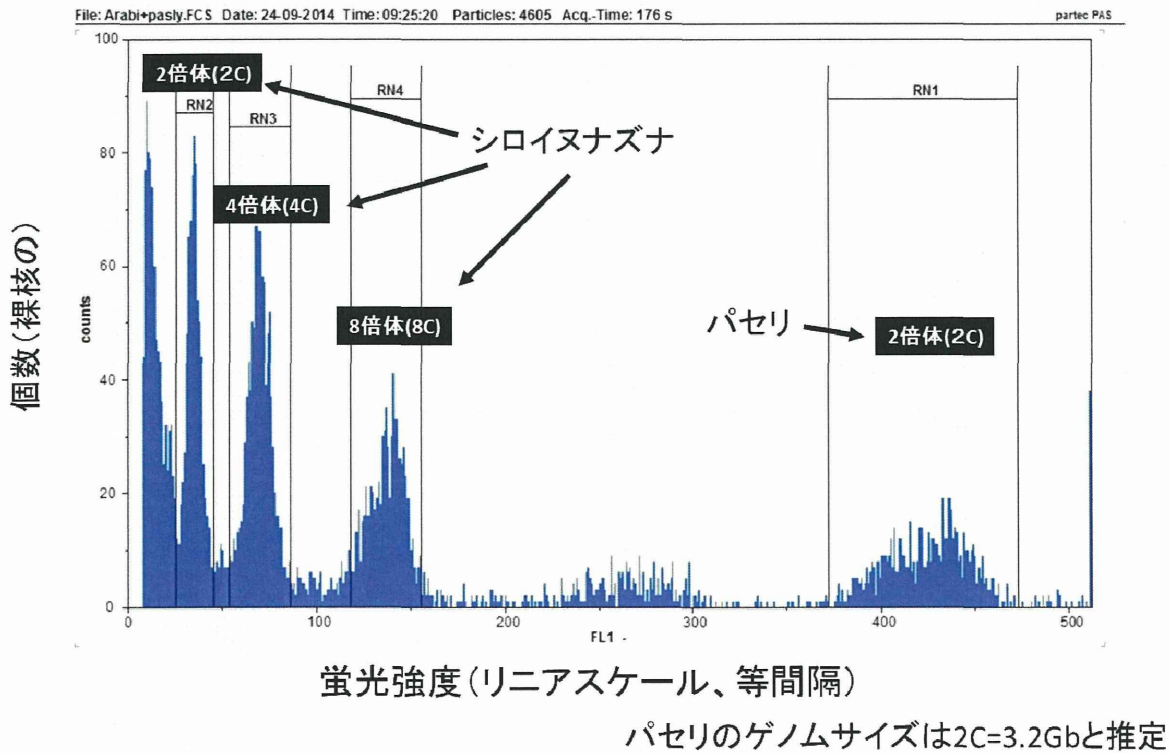


図4. フローサイトメーターによるゲノムサイズ測定（シロイヌナズナとパセリの比較）

表6. Propionium Iodide染色とフローサイトメーターによる8種類の植物のゲノムサイズ推定

植物リスト	ピーク平均値	Mb	備考
1シロイヌナズナ	137.49	1040.00	*1
パセリ	424.14	3208.27	*1
パセリ	108.94	3208.00	*2
2クララ	108.94	3208.00	*2
3ヒロハクララ	109.43	3222.43	*2
4シナニッケイ	52.09	1533.92	*2
5ミシマサイコ(圃場)	87.38	2573.11	*2
6ミシマサイコ(<i>in vitro</i> 培養物)	88.05	2592.84	*2
8トウキ	114.23	3363.78	*2
9センキュウ	140.20	4128.53	*2
10オタネニンジン	149.51	4402.68	*2
パセリ	56.86	3208.00	*3
7シナマオウ	410.69	23170.83	

*1 gain 362 シロイヌナズナの 8C ピークを 130x8=1040 Mbase として計算

*2 gain300 パセリの 2C ピークを 3208 Mbase として計算

*3 gain280 パセリの 2C ピークを 3208 Mbase として計算

表7. RNA-seq解析に供した植物由来のRNAサンプルリスト

(H26年度獲得データ・千葉大学担当分)

	Sample ID	和名	部位	植物材料提供
1	Gg#1	スペインカンゾウ	茎頂	北海道医療大学
2	Gg#2	スペインカンゾウ	若い葉	北海道医療大学
3	Gg#3	スペインカンゾウ	成熟葉	北海道医療大学
4	Gg#4	スペインカンゾウ	Stem 1	北海道医療大学
5	Gg#5	スペインカンゾウ	Stem 2	北海道医療大学
6	Gg#6	スペインカンゾウ	茶色い茎	北海道医療大学
7	Gg#7	スペインカンゾウ	ストロン1	北海道医療大学
8	Gg#8	スペインカンゾウ	ストロン3	北海道医療大学
9	Gg#9	スペインカンゾウ	ストロン4	北海道医療大学
10	Gg#10	スペインカンゾウ	ストロン4の節	北海道医療大学
11	Gg#11	スペインカンゾウ	主根1	北海道医療大学
12	Gg#12	スペインカンゾウ	主根2	北海道医療大学
13	Gg#13	スペインカンゾウ	主根3	北海道医療大学
14	Gg#14	スペインカンゾウ	ストロン3の細い根	北海道医療大学
15	Pj#1	トチバニンジン	花	北海道医療大学
16	Pj#2	トチバニンジン	細根	北海道医療大学
17	Pj#3	トチバニンジン	根茎1	北海道医療大学
18	Pj#4	トチバニンジン	根茎6-7	北海道医療大学
19	Pj#5	トチバニンジン	葉	北海道医療大学
20	Aj#1	オクトリカブト	葉	北海道医療大学
21	Aj#2	オクトリカブト	塊根・細根	北海道医療大学
22	Aj#3	オクトリカブト	塊根・母根1-2	北海道医療大学
23	Aj#4	オクトリカブト	塊根・母根2-3	北海道医療大学
24	Aj#5	オクトリカブト	塊根・母根3-2	北海道医療大学
25	Aj#6	オクトリカブト	塊根・子根4-1	北海道医療大学
26	Aj#7	オクトリカブト	塊根・子根5-1	北海道医療大学
27	Aj#8	オクトリカブト	塊根・子根6-1	北海道医療大学
28	Op#1	チャボイナモリ	茎頂	
29	Op#2	チャボイナモリ	葉	
30	Op#3	チャボイナモリ	節	

表8. RNA-seq解析に供した植物由来のRNAサンプルリスト

(H26年度獲得データ・大阪大学担当分)

	Sample ID	サンプル情報	部位	植物材料提供
1	Glycyrrhiza_01	ウラルカンゾウ	無処理	
2	Glycyrrhiza_02	ウラルカンゾウ	MeJA処理、6時間	
3	Glycyrrhiza_03	ウラルカンゾウ	MeJA処理、12時間	
4	Glycyrrhiza_04	ウラルカンゾウ	MeJA処理、48時間	
5	Glycyrrhiza_05	ウラルカンゾウ	SA処理、6時間	
6	Glycyrrhiza_06	ウラルカンゾウ	SA処理、12時間	
7	Glycyrrhiza_07	ウラルカンゾウ	SA処理、48時間	
8	Glycyrrhiza_08	ウラルカンゾウ	プロヘキサジオン処理、6時間	
9	Glycyrrhiza_09	ウラルカンゾウ	プロヘキサジオン処理、12時間	
10	Glycyrrhiza_10	ウラルカンゾウ	プロヘキサジオン処理、48時間	
11	Glycyrrhiza_11	ウラルカンゾウ	yeast extract 処理、6時間	
12	Glycyrrhiza_12	ウラルカンゾウ	yeast extract 処理、12時間	
13	Glycyrrhiza_13	ウラルカンゾウ	yeast extract 処理、48時間	
14	Astragalus_01	レンゲ	茎	
15	Astragalus_02	レンゲ	緑葉	
16	Astragalus_03	レンゲ	赤葉	
17	Astragalus_04	レンゲ	根	
18	Astragalus_05	レンゲ	発芽種子	

表9. RNA-seq解析に供した植物由来のRNAサンプルリスト

(H26年度獲得データ・医薬基盤研究所担当分)

	Sample ID	サンプル情報	部位
1	Pfa11	アカジソ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)
2	Pa2	オオバコ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)
3	Zp1	サンショウ	葉
4	Zp2	サンショウ	果実(未熟)
5	Zp3	サンショウ	果実(赤熟)
6	Zj1	ナツメ	葉
7	Zj2	ナツメ	果実(未熟)
8	Zj3	ナツメ	果実(赤熟)
9	Wf1	フジ	花
10	Wf2	フジ	葉
11	Gj1	コリンクチナシ	葉
12	Co1	サンシュユ	葉
13	Co2	サンシュユ	果実(未熟・緑)
14	Oj1	ジャノヒゲ	葉
15	Oj2	ジャノヒゲ	根(膨大部)
16	Oj3	ジャノヒゲ	根
17	Ac1	ハナトリカブト	花
18	Ac2	ハナトリカブト	蕾
19	Ac3	ハナトリカブト	葉
20	Ac4	ハナトリカブト	塊根
21	PsIK_1-1	ケシ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)
22	PsIK_2-1	ケシ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)
23	PsIK_3-1	ケシ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)
24	PsM_4-1	ケシ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)
25	PsM_5-1	ケシ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)
26	POL2_6-1	オニゲシ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)
27	POL2_7-1	オニゲシ	<i>in vitro</i> 培養物(全草)

表10. RNA-seq解析に供した植物由来のRNAサンプルリスト
(H26年度獲得データ・千葉大学担当分)

	Sample ID	サンプル情報	部位	植物材料提供
1	Op#4	チャボイナモリ	節間	
2	Op#5	チャボイナモリ	根	
3	Fs#1	レンギョウ	花	医薬基盤研究所
4	Fs#2	レンギョウ	葉	医薬基盤研究所
5	Fv#1	シナレンギョウ	花	医薬基盤研究所
6	Fv#2	シナレンギョウ	葉	医薬基盤研究所
7	Fvk#1	チョウセンレンギョウ	花	医薬基盤研究所
8	Fvk#2	チョウセンレンギョウ	葉	医薬基盤研究所
9	As#1	ハナスゲ	葉	医薬基盤研究所
10	As#2	ハナスゲ	根茎	医薬基盤研究所
11	As#3	ハナスゲ	細い根	医薬基盤研究所
12	As#4	ハナスゲ	鱗茎	医薬基盤研究所
13	Cs#1	ニッケイ	葉	医薬基盤研究所
14	Cs#2	ニッケイ	茎	医薬基盤研究所
15	Cc#1	シナニッケイ	葉	医薬基盤研究所
16	Cc#2	シナニッケイ	茎	医薬基盤研究所
17	Cz#1	セイロンニッケイ	葉	医薬基盤研究所
18	Cz#2	セイロンニッケイ	茎	医薬基盤研究所
19	Sf#1	クララ	種子	
20	Sf#2	クララ	未熟脇芽	
21	Sf#3	クララ	地下茎1	
22	Sf#4	クララ	地下茎1の下方部	
23	Sf#5	クララ	地下茎1の脇芽下部	
24	Sf#6	クララ	主根1	
25	Sf#7	クララ	細い根	
26	Pl#1	クズ	古い花	
27	Pl#2	クズ	花	
28	Pl#3	クズ	紫の蕾	
29	Pl#4	クズ	緑の蕾	
30	Pl#5	クズ	茎頂	
31	Pl#6	クズ	若めの葉	
32	Pl#7	クズ	成熟葉	
33	Gj#1	サイカチ	若い葉	
34	Gj#2	サイカチ	成熟葉	
35	Gj#3	サイカチ	枝(5/2)	
36	Gj#4	サイカチ	材(5/2)	
37	Gj#5	サイカチ	樹皮(5/2)	
38	Gj#6	サイカチ	つぼみ(5/2)	
39	Gj#7	サイカチ	花(5/2)	
40	Gj#8	サイカチ	花の軸(5/2)	
41	Gj#9	サイカチ	実下部(6/25)	
42	Gj#10	サイカチ	実上部(6/25)	
43	Gj#11	サイカチ	実中部(6/25)	
44	Co#1	サンシュユ	新芽	
45	Co#2	サンシュユ	枝(14Mar26採取分)	
46	Co#3	サンシュユ	花卉	

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
薬用植物栽培並びに関連産業振興を指向した薬用植物総合情報データベースの
拡充と情報整備に関する研究（H25-創薬-指定-006）
分担研究報告書

分担研究課題 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整備と組織培養物の資源化－

研究分担者 吉松 嘉代 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター
育種生理研究室長
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 主任研究員
研究協力者 乾 貴幸 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター 特任研究員
研究協力者 岩本 嗣 神奈川工科大学大学院工学研究科 准教授
研究協力者 松本 敏一 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
准教授

医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター筑波研究部のホームページで公開中の「薬用植物総合情報データベース」に収載の漢方薬原料生薬（高等植物由来 64 品目）の基原植物の組織培養物及び効率的増殖法に関する情報整備のため、文献調査、新規情報のデータベースへの入力、既存データの更新を行った。その結果、47 品目 57 種の薬用植物について、86 件の情報の拡充を完了した。また、薬用植物栽培並びに関連産業振興のため、前記漢方薬原料生薬の基原植物のオリジナルデータの取得と組織培養物の資源化を進め、生薬 19 品目の基原植物 24 種のオリジナルデータ取得を完了し、以前から継代培養中の薬用植物も含め、生薬 23 品目の基原植物 28 種の組織培養物の資源化を完了した（23/64：35.9%）。以上、高等植物由来の生薬 64 品目のうち 50 品目について、少なくとも 1 種の基原植物についての文献情報あるいはオリジナルデータ取得を完了した（50/64：78.1%）。

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

処方にに基づく医薬品）の生産動態によると 2011 年の漢方製剤等生産金額は 1,422 億円²⁾であるが、2012 年には 1,519 億円³⁾と確実に伸びている。

しかしその原料生薬の供給は 88.3%（2012 年）が海外に、特に中国に依存（2012 年：80.8%）⁴⁾しており、その多くは野生植物の採取によるものである。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・輸出規制の影響等により、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量上位30品目の2013年の価格は、2006年の約2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(資源化)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) 漢方薬原料生薬基原植物の植物組織培養による増殖法に関する文献調査

「薬用植物総合情報データベース」に収載の生薬の基原植物について、植物組織培養による増殖法に関する文献調査を行い、新規情報のデータベースへの入力及び既存データの更新を行った。

2) オリジナルデータ取得及び資源化のための植物組織培養物の育成と培養

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。また、培養植物体の作成及び継代培養法が未確立の植物については、培養条件の検討を行った。

さらに、継代培養により維持してきた対象植物種の培養物については、培養条件及び増殖率等の調査を行った。

C. 研究結果

1) 組織培養物及び効率的増殖法に関する情報整備(文献)

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)については、少なくとも基原植物1種についての文献情報の入力と公開が完了し、計20件の情報を収載した。第1コア生薬で文献情報が未取得なのは、蒼朮の基原植物 *Atractylodes chinensis* Koidzumi である(表1、文献欄)。

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、黄連、蘇葉)については、菌類生薬である茯苓を除き、少なくとも基原植物1種についての文献情報の入力と公開が完了し、計32件の情報を収載した。第2コア生薬基原植物(高等植物)で文献情報が未取得なのは、黄連の基原植物である *Coptis japonica* Makino var. *japonica* Satake (キクバオウレン)、*C. japonica* Makino var. *major* Satake (コセリバオウレン)、*C. deltoidea* CY.Cheng et Hsiao (ガレン)、大黄の基原植物である *Rheum tanguticum* Maximowicz, *R. officinale* Baillon, *R. coreanum* Nakai (チョウセンダイオウ)、当帰の基原植物である *Angelica acutiloba* (Siebold et Zucc.) Kitag. var. *sugiyamae* Hikino (ホッカイトウキ)、麻黄の基原植物である *Ephedra sinica* Stapf (シナマオウ)、