

「遺伝子情報を利用する生薬の純度試験」の改定に向けた妥当性確認試験について
 ○丸山 卓郎¹, 近藤 健児², 四柳 雄一³, 山本 豊⁴, 川崎 武志⁵, 司馬 真央²,
 寺坂 和祥⁶, 山根 真由³, Shu ZHU⁷, 坂田 こずえ⁸, 藤田 正雄⁵, 穂山 浩⁸,
 西村 直行³, 小松 かつ子⁷, 水上 元⁶, 合田 幸広¹(¹国立衛研・生薬部, ²ツムラ,
³島津製作所, ⁴栃木天海堂, ⁵ウチダ和漢薬, ⁶名市大院薬, ⁷富山大和漢研, ⁸国立衛
 研・代謝生化学部)

【目的】従来、局方における生薬の基原植物の確認は、鏡検を含む生薬の性状及び特徴的な成分の検出に基づく方法が規定されてきた。しかし、形態及び成分化学的な鑑別が困難な生薬もあることから、近年、DNA 塩基配列を用いた生薬の鑑別法が研究されている。これを受け、第十五改正日本薬局方第一追補より、「遺伝子情報を利用する生薬の純度試験」が、参考情報として収載された。近年の技術の進歩に伴い、より平易かつ頑健性の高い方法が可能となったため、試験法の改良を行い、7 機関による共同試験により、その精度及び有用性の検証を行った。

【実験方法】予め基原種を特定した朮類生薬 25 個体 (*A. lancea*, 4 個体; *A. chinensis*, 6 個体; *A. japonica*, 8 個体; *A. ovata*, 7 個体) を共通未知試料として、試験実施 7 機関に配布した。改定試験法案に沿って各機関において試験を行い、全機関共通の様式により、試験結果の回答を得た。但し、2 機関においては、実験設備の都合上、同一の施設で試験を行った。試験法案では、インキュベーション操作のみの簡易な DNA 抽出; PCR による核 rDNA, ITS1 領域の増幅; 2 種の制限酵素による PCR 産物の切断; アガロースゲル電気泳動による DNA 断片長の確認からなる PCR-RFLP 法を用いた。

【結果・考察】全ての機関において、全 25 個体の基原種が正しく導かれた。試験実施者 7 名の PCR 実験の経験年数は、0-10 年 (平均 5.7 年) であり、この内、2 名が、0 年であった。主な実験装置は、概ね 4-5 社、5-6 種類の装置が使用された。今回の研究結果から、改定試験法案が、熟練した技術を要さず、かつ、高い精度と頑健性を有する方法であることが示された。また、今回の改定案では、従来の煩雑な DNA 抽出操作を回避出来ていることも大きな利点の一つである。