



DNA バーコーディング

植物の完全な真正性を
評価できるパイオニア企業：
インデナ

概要

薬草などの植物における DNA ベースの鑑定法の開発が、現在進行中です。実際のところ現在では、**動物およびその DNA については非常に多くのことがわかっていますが、植物についてはまだ同じことが言えません。**

動物、特にその DNA についての私たちの知識は比較的深いですが、薬草などの植物の鑑定はより複雑で、植物学、生物学および化学など種々の科学分野の専門知識を必要とします。

実際のところ、植物には**ユニバーサルな DNA バーコード法がなく**、特定の技法の選択に際しては、多くの因子に依存した折衷法となることがよくあります。**各植物は、その植物自体に存在するゲノムを用いて開発されたその植物特有の方法で分析しなければなりません。**

DNA シーケンシングに基づく検査は、植物を確認し、薬草の種および品種を同定するための、信頼性が高い強力なツールとして登場しました。これらの検査法は、新種の同定およびハーブ製品の開発にも用いることができます。**健康食品の製造業において、粗悪品の混入は深刻な懸案事項であるため、これらの検査法は、この業界においても重要な役割を果たします。**

DNA ベースの同定技術は、植物の鑑定に寄与していることは明らかですが、基準となる方法ではなく、**植物学的、化学分類学およびメタボロミクス解析法をうまく補完しています。**したがって、この技術は、信頼性のある鑑定プラットフォームを構築する完全な品質のテキストングツールボックスの一部である必要があります。

約 100 年の歴史をとおり、**インデナは、植物抽出物のために使用する原料の遺伝的同一性をマッピングしてきました。**ユニバーサルなゲノム ID 法を利用できないため、**インデナは、この知識を用いることにより、種特異的 DNA 同定解析ツールを開発することができました。**

インデナは、その品質管理システムの一部として、適切な技術を各事例に適用することができます。

洗練された DNA シーケンシングベースの検査は有望な技術ですが、パズルの 1 つのピースにすぎず、真に重要なことは、植物遺伝子の多様性についての知識を獲得することです。

この知識は、インデナ社自体の DNA の一部となっています。



1 自然の恵み

生物の設計マニュアル：遺伝情報を伝える分子である“DNA”(デオキシリボ核酸)がこの設計マニュアルとなり、地球上のすべての生物で使用されています。その複雑さにもかかわらず、DNA の構成単位は非常にシンプルです：4 種類の分子ヌクレオチドである、シトシン (C)、グアニン (G)、アデニン (A) およびチミン (T) が結合した糖-リン酸骨格で構成されています。これら 4 種類のヌクレオチドが種々に組み合わせり、その組み合わせによって構成される染色体が生物多様性を生み出します。そして、ヒトと昆虫、ヤシの木と海藻のような違いが見られるのです。

植物は、外見だけではなく、内部も驚くほど多様性に富んでいます。植物は、**化学的に複雑なため、化学合成が困難な物質の驚くべき供給元であり**、一次代謝産物と二次代謝産物に分類することができます。一次代謝産物は、植物の成長と種子の形成に必要なすべての基本的な生理学的な活動から生み出される化合物であり、一方、**二次代謝産物は、共生的または拮抗的な相互作用において他の生物と関わる上で不可欠なそれぞれの種に特有の化合物です**。二次代謝産物には、植物エキスの元となる多くの有効成分が含まれています。例えばブルーベリーの二次代謝産物には 15 種類ものアントシアニンが含まれています！



1953 年に科学者のフランシス・クリックとジェームズ・ワトソンは、ネイチャー誌に「A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid (デオキシリボ核酸の構造)」と題する DNA の二重らせん構造に関する論文を発表しました。

「..我々は生命の神秘を発見した」

という言葉は、この論文の中でおそらく最も意味深い表現でしょう。

植物遺伝学は、動物遺伝学と大きく異なり、遺伝子プールがより複雑です。植物細胞には、3つの異なるゲノム（細胞核、ミトコンドリアおよび葉緑体）が存在します。さらに2組の染色体を有するヒトとは異なり、野生および栽培された多くの植物群は、2組以上の染色体（相同染色体）セットを保有し、倍数体と呼ばれています。例えばジャガイモ、ピーナッツ、綿花などは4組の染色体を保有し、サウキビ、カラスムギ、小麦は6組の染色体を持っています。

植物の同定：

植物はどのように分類されるのでしょうか？

植物の外見の形態による植物の同定はしばしば困難な場合があります。植物の同定の操作は、その複雑性により、二次代謝産物パターンを正確に知るための特別な技術を必要とします。**植物標本の品質は、元の植物の原産地および品質に厳密に依存しています。**

植物分類学は、植物の同定と分類の科学です。

植物の正式な命名法は、**ICN（国際藻類・菌類・植物命名規約）**によって決められています。これらの手法の端緒は、**二名法（二名式命名法）**と呼ばれる現代の生物命名体系を形式化したスウェーデンの植物学および動物学の研究者であり医師でもある**カール・リンネ**の時代にさかのぼります。これは生物の正式な命名体系であり、2つの階層で構成されます。**最初の階層は、種が属する属を特定し、2番目の階層は属内の種を特定しています。**

しかし同属の植物では、**種が異なる（遺伝子プールが異なり、異なった二次代謝産物を作り出す）**可能性があります。さらに種および品種が同じ場合でも、**植物の遺伝的同一性の発現は、植物が成長する場所の環境の影響を受け、異なる場所で成長した同種の個体は二次代謝産物が異なる花となる**可能性があります。

CAROLI LINNÆI

REGIÆ M:ITIS SVECIÆ ARCHIATRI; MEDIC. & P
OFESS. UPSAL; EQUITIS AUR. DE STELLÆ PAL
EC NON ACAD. IMPER. MONSPEL. BEROLINENSIS
UPSAL. STOCKH. SOC. & PAR

SPEC

LANTA

カール・リンネは
植物に

苗字と名前、
つまり属と種を

与えました。

NOMI

Carl

LOC



2

DNA 解析とは何でしょう？

植物エキスの品質管理における最初のステップは、**使用する植物のを正確に同定すること**です。現在のところ、**植物同定検査**（肉眼および顕微鏡）と**化学的同定検査**（二次代謝産物を特定するためのフィンガープリント分析技術）という2種類の必須の分析検査があります。

欧州薬局方（生薬総則）と**米国薬局方**（総則、基源植物の品種の同定）という2つの主要なレファレンスがあり、世界中で用いられています。

ほとんどの植物は、肉眼および顕微鏡分析によって明確に同定することができます。**しかし場合によっては、種または品種レベルでの同定を正確に定義するために DNA ベースの解析技術を用いる必要があります。**

DNA 解析には3つの段階があります。

1

DNA 抽出

標準プロトコルに従って DNA を抽出します。

3

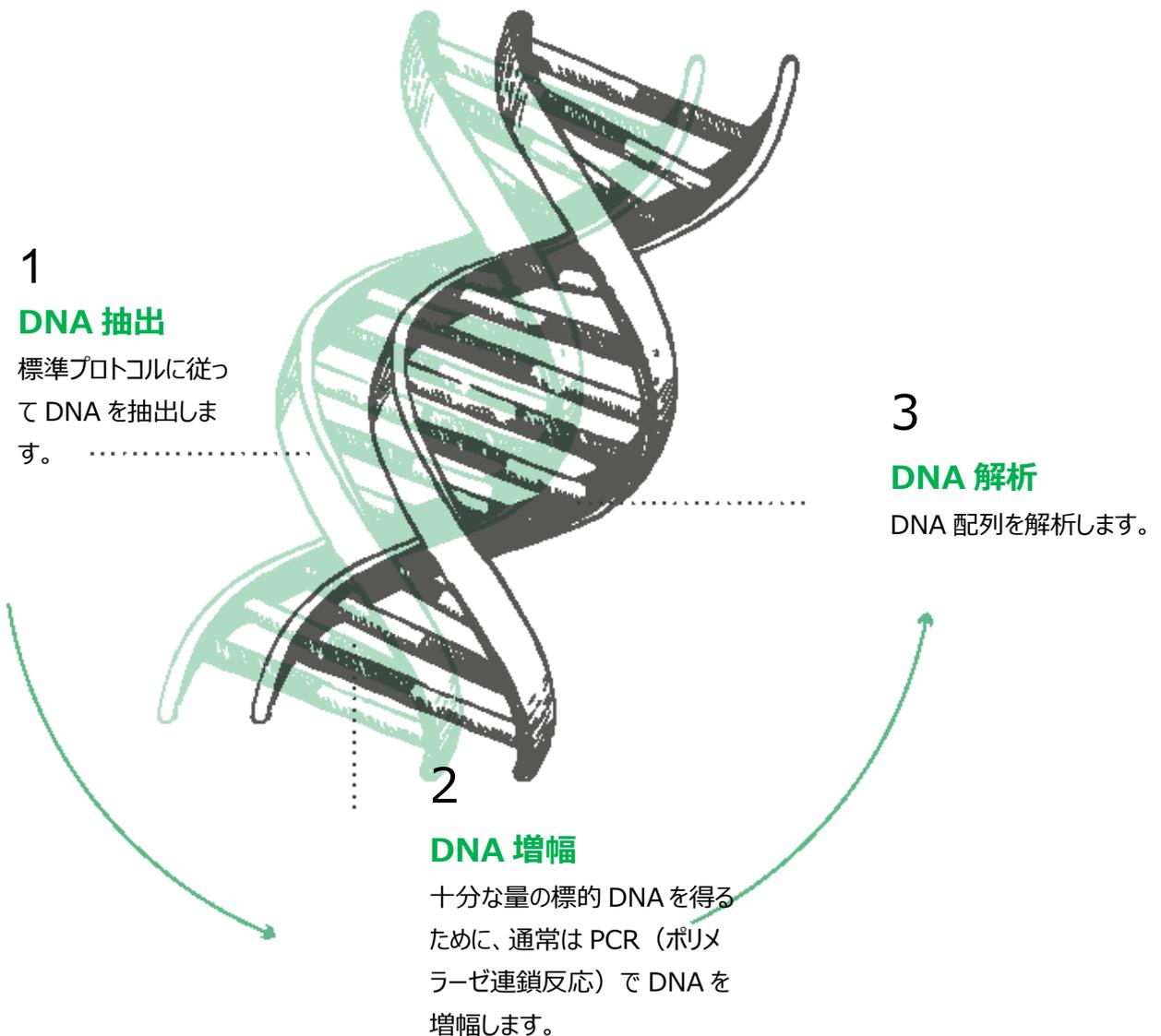
DNA 解析

DNA 配列を解析します。

2

DNA 増幅

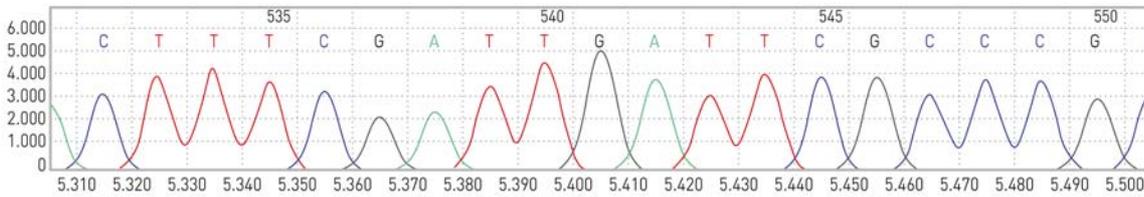
十分な量の標的 DNA を得るために、通常は PCR（ポリメラーゼ連鎖反応）で DNA を増幅します。



2 種類のイチイ属の標的 DNA におけるヌクレオチド配列の違い

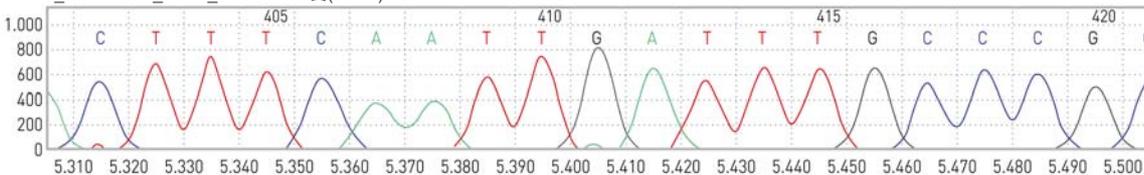
Taxus baccata セイヨウイチイ (タキサン系抗がん剤[例:パクリタキセル]などの主原料)

Baccata_DBAT_F_Synthesis_712.scf --> 質(0-100):60



Taxus X Media メディアイチイ (セイヨウイチイとイチイを掛け合わせた交配種)

Indena_2008-02-05_100-3_D05.ab1--> 質(0-100):29



DNA バーコーディングは上記のように、シトシン (C)、グアニン (G)、アデニン (A) およびチミン (T) の 4 種類のヌクレオチド配列を分析することにより、植物乾燥エキスの種を特定する非常に重要な技術です。

種が異なるイチイ属 (*Taxus*, 略称は T.)の標的 DNA におけるヌクレオチド配列の違い

ゲノムの特定の位置で生じる 11 個の “一塩基多型 (SNP)” の配列の違いで、種が識別できます。

	SNP 1	SNP 2	SNP 3	SNP 4	SNP 5	SNP 6	SNP 7	SNP 8	SNP 9	SNP 10	SNP 11
T. BACCATA (セイヨウイチイ)	T	G	C	CT	G	GA	C	A	T	A	G
T. W. WALLICHIANA 1	T	G	C	C	G	G	C	A	T	A	G
T. W. WALLICHIANA 2	T	G	C	C	G	G	C	AC	T	A	G
T. FUANA	T	G	C	CT	G	A	C	A	C	A	G
T. BREVIFOLIA	T	G	C	T	G	G	C	C	T	GA	G
T. GLOBOSA	T	G	C	T	G	G	C	C	T	A	A
T. M. WARDI	T	G	CT	CT	GC	A	C	AC	T	A	G
T. M. BROWNI 1	T	G	CA	T	G	GA	C	AC	T	A	G
T. M. BROWNI 2	T	G	CA	T	G	GA	CG	AC	T	A	G
T. CANADENSIS	T	G	C	T	G	G	G	C	T	A	G
T. M. TAUTONI	T	G	C	T	G	GA	G	C	T	A	G
T. M. DGS	T	G	T	T	G	A	C	C	T	A	G
T. CUSPIDATA	T	G	CT	T	G	A	C	C	T	A	G
T. M. DENSIFORMIS	T	G	CT	CT	G	GA	C	AC	T	A	G
T. FLORIDANA	T	G	C	T	GC	G	C	C	T	A	G
T. M. RUNYAN	T	G	CT	T	G	GA	C	AC	T	A	G
T. M. HICKSII	T	G	CT	T	G	A	C	AC	T	A	G
T. W. MAIREI 1	CT	GT	T	T	G	G	C	A	T	A	G
T. W. MAIREI 2	CT	GT	T	T	G	G	C	C	T	A	G
T. W. CHINENSIS	CT	G	CT	CT	G	G	C	C	T	A	G

植物界において DNA 解析技術を利用する上での難点は、動物の場合は、細胞内のミトコンドリアのシトクロムオキシダーゼ I (COI) の遺伝子を単一のバーコードとして用いることができますが、**植物は使用できる単一の DNA バーコードが存在しないことです。** 植物の DNA 解析には、複数の遺伝子 (例えば ITS1、ITS2、rbcL、matK trnH-psbA、trnL-trnF 等) をバーコードとして解析する必要があります。

さらに植物の DNA 同定のうえで見落とせない落とし穴は、動物とは異なり、Genbank(ジェンバンク)公開データベースに登録されている DNA 遺伝子データの出所にはチェックがないことです。これは、正確な種または品種に対する DNA 配列の帰属の誤りを生じさせる可能性があります。

基源不明の植物ための DNA ベース解析ツールの開発を成功させるには、科学界全体で共有し検証できる「リファレンス」DNA プロファイルを作成する必要があります。この「リファレンス」DNA プロファイルは、基源が明らかになっている既知の植物サンプル（乾燥植物標本集、分類学的に同定されたサンプル）から作成する必要があります。

上記に基づくと、DNA データの解析に使用するリファレンス DNA 配列を得るためには、「確認された」純粋なサンプルを持つことが最も重要になります。

今のところ、植物エキスの製造業界ではそのような植物同定の確実性を持つには至っていません。

インデナは、高度な植物分析手法により科学的に植物の同定を確認するためのサンプルを提供することができます、このユニークかつ包括的な植物同定技術によって会社をさらに発展させることができると考えています。

3 インデナの DNA 解析

ゲノムの ID はインデナの DNA

品質はインデナの事業の柱の 1 つです。薬用植物についての深い知識と卓越性の追求は、製薬、健康食品およびパーソナルケア産業の顧客に役立つための非常に重要な取り組みであると確信しています。製薬市場向けの我々の製品は米国 FDA および EU の要件を当然満たしており、厳しい品質管理が全製品に適用され、植物学的、分類学的、化学的な面のいずれにおいても必須の品質基準を上回っています。

インデナの世界 5 カ所の全生産工場は、cGMP（世界で最も厳しいと言われるアメリカの医薬品適正製造基準）に準拠しており、API（医薬品有効成分）の製造が認可されています。4 つの施設は、HACCP の下で製造が行われ、食品成分の生産が認可されています。インデナは、FDA（米国食品医薬品局）、AIFA（イタリア医薬品庁）および ANSM（フランス医薬品・保健製品安全庁）による GMP（製造管理および品質管理に関する基準）コンプライアンスアセスメントならびに規制当局による食品安全コンプライアンスの検査を定期的に受けています。

ゲノム遺伝子同定はまさにインデナ社自体の DNA であり、会社の品質分析手順の一つに DNA 解析が含まれています。



ゲノム同定におけるインデナのアプローチは次のように要約することができます。

-  インデナの DNA バーコーディングは、直線分析法では十分でない可能性があるため**直交分析法**を使用しています。
-  インデナは、DNA バーコーディングから DNA-NGS（次世代シーケンサー）まで最先端の技術を使用していますが、**インデナの DNA 解析は低コスト**です。
-  インデナは、DNA ベースの解析方法を補完するために、その**植物の背景情報**を活用します。
-  インデナは、DNA ベースの解析方法を確証させるために、「確認された」コントロールとして参照する種を**どこで、いつ、どのように、収集**するかを熟知しています。
-  当社の熟達した植物学者は、未知の**種**をも同定することができます。
-  インデナは、信頼性の高い DNA ベースの解析法を開発するための**信頼された植物原料を入手することができます**。これは、インデナの古くから継承された財産です。

インデナは 2011 年に DNA シーケンス解析を品質管理システムへ統合し始め、それ以降、植物原料物質の正確なデータベースを構築しています。最近では、必要に応じて**最新の NGS（次世代シーケンサー）技術**を活用しています。

ほとんどのベストセラーのインデナ製品は、最も適切な技術を用いた **DNA 検査**をすでに受けています。

最も重要な対象となる属の例の一部は次のとおりです。

イチイ属 (タキサン系抗がん剤)

スノキ属 (ビルベリー、クランベリー)

ウコン属 (クルクミン)

ブドウ属 (ブドウ種子、赤ブドウ葉)

イチヨウ属 (イチヨウ葉)

アーティチョーク属 (アーティチョーク)

エキナセア属 (エキナセア)

ルイヨウショウマ属 (ブラックコホシュ)

ウコギ属 (エソウコギ)

オオアザミ属 (シリマリン)

ハルパゴフィツム属 (デビルズクロー)

オタネニンジン属 (ニンジン)

トクサ属 (スギナ)

トウダイグサ属 (皮膚病治療薬インゲノール)

シキミ属 (ハッカク)

カラコエ属 (カラコエ)



4 オンサイト分析： 未来はここまで来ている

ある特定の植物と、他の植物や混雑物とを識別できる種ごとの方法を確立するためには、**確実なゲノムデータベースの構築が必須**です。インデナはこれを達成する**利用可能な最良の方法を用いることを絶えず模索**しています。

次世代シーケンシング（NGS）は、今日知られている最も洗練された技術です。**DNA マッピング**は、**先端的な方法とさまざまな技術を駆使して行われますが、植物サンプルが複雑で DNA 含有量が非常に少ない時でも、すべての場合において正確で信頼できる結果を得ることができます。**

次世代シーケンシング技術は、抽出物に存在する全 DNA のハイスループットな解読に基づいています。この技術は、混雑物の存在を評価し、種のレベルで全製品の成分を同定することができる有益なデータを生み出す**非標的アプローチ**を用いて、数百万の小さな DNA 断片を操作します。

インデナは、最終抽出物へもこれらの DNA 検査を含めようとしているため、適切な DNA ベース技術の検証に取り組んでいます。

しかしインデナはそれ以上に進んでいます。Hyris 社と独占契約を結び、数十年にわたって蓄積したインデナの堅牢な植物データベースを活用することにより、**この分野の非熟練者であっても植物サンプルの DNA フィンガープリント分析を実施することができます。**

これを可能にするデバイスが、Hyris 社が生み出した bCUBE です。

コーヒーカップのように小さな bCUBE は、現場での植物採取からおおよそ 1 時間で出発物質を分析することができます。**インデナの分析室から数千マイル離れた場所で分析されたとしても、独自のクラウドベースのプラットフォームでこれらの検査結果をリアルタイムで共有でき、GPS データを記録することで完全なトレースを可能にします。**



bcCUBE : 高速処理とワイヤレス接続



インデナは、栄養補助食品の製造に用いる植物の種類を現場で同定するために、この画期的なゲノム技術を優先して利用しています。

これは、インデナが、高品質・高付加価値の植物エキスの最終製品を製造している企業に提供できるもう 1 つの先駆的な高付加価値のソリューションです。このようにして、健康食品市場は、最終的には製造業者と消費者の両方が、販売または購入する製品の信頼性に関して明確な答えを見つけることができる場所となります。

複数の原料から製造される製品

次世代シーケンシング(NGS)によるアプローチは、複数の原料から製造される製品の正確な成分同定を可能にする唯一の分析方法です。このアプローチの正確性および適用性は、トレースのみであってもあるいは葉緑体および核ゲノムの 4 種類のユニバーサルバーコードを使用したとしても、存在する DNA を拠り所としています。複数のバーコードを使用することにより、原料、増量剤および混雑物の同定を保証します。

NGS 法は、複数の原料または混雑物サンプルにおける特定の種の DNA 割合の半定量的データも提供します。NGS 解析ツールの使用における唯一の限界は、製造過程における超臨界二酸化炭素抽出、および溶媒抽出のような過酷な処理によって DNA が完全に壊れてしまうことです。

5 将来に向かって

インデナの差別化戦略

近年、植物性製品に誤った表示がなされている可能性が指摘された問題は、製品の品質および安全性について、特に健康食品の信頼性に対する一般消費者の懸念につながりました。

インデナでは、日夜、研究の場で厳密な科学的アプローチを追究し、サプリメント、機能性製品、医療製品およびベビーフード製品のために、我々が開発した生物学的に活性な原材料の健康食品市場において、我々の堅牢な薬学的背景をこのアプローチとともに活用しています。我々は、長い歴史の中で、困難をチャンスに変えて、市場の期待以上の成果をあげることを目的として、最先端の臨床試験のデザインから始まり、**他社とは一線を画す高品質なプロファイルを有する多数の製品を開発しました。インデナが市場にもたらした最高製品はすべて標準化プロセスを経ており、有効性および安全性に関する取り組みは科学的に証明されています。**

植物の全ての種および時として 1 つの種の中の特定の変種の使用は、製造過程の最終段階で得られる結果とは、活性成分が著しく異なる場合があることが知られています。**このような状況の中では、植物界そして最も有益な情報を得るための最良の技術評価方法を知り理解している専門家によって、管理された信頼できるゲノム解析を行う必要があります。**



DNA バーコーディングにおける我々のアプローチは、この課題に適切に向き合うことを目的としています。DNA バーコーディングに関するインデナの専門家は、DNA フィンガープリント、PCR(ポリメラーゼ連鎖反応)ベースのツール、特異的な DNA-次世代シーケンシングなどの素晴らしい数々の強力な技術を組み合わせています。

単一のゲノム ID 解析では不十分なため、各植物についてそれぞれ方法を開発し、適切な標本を用いて検証する必要があります。

完全に信頼できるインデナの DNA バーコーディングにおけるアプローチ：

- インデナの研究者の経験豊富な植物学者は、未知の種でさえも同定することができます。
- インデナはすべての植物の同定技術を使用することが可能です。
- インデナは様々な植物の同定技術を開発しました。
- インデナは植物種の調査方法のエキスパートです。



最終製品の製造会社への保証として、抽出エキスの製造に使用した出発原料となる植物も DNA 検査を受けたことを証明するために、特別なインデナのロゴを作成致しました。インデナのお客様は、当社の品質管理システムに加えて、熱心に取り組んできた植物学者と自然への深い理解により 90 年にわたって開発された植物データベースを信頼することができます。

インデナジャパン株式会社

東京都千代田区大手町 1-8-1 KDDI 大手町ビル 21F

TEL: 03-3243-9924 FAX: 03-3243-9925

<http://jp.indena.com>