

氏 名 (本 国 籍)	高 井 理 恵 (岐阜県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 6 3 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 2 6 年 9 月 2 4 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 3 条第 1 項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	<i>Salvia divinorum</i> の識別方法に関する研究
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教 授 向 井 讓 副査 岐阜大学 教 授 小 山 博 之 副査 静岡大学 教 授 森 田 明 雄

論 文 の 内 容 の 要 旨

近年、薬物の若年層への汚染が浸透し、覚せい剤をはじめとする種々の薬物が乱用され、大きな社会問題となっている。幻覚成分サルビノリン A を含有する幻覚性サルビア (*Salvia divinorum*) も、平成 19 年からは規制の対象となり、一般的な観賞用サルビアと、*Salvia divinorum* の識別法の開発が求められている。この研究では、*Salvia divinorum* と観賞用サルビアとの識別方法について開発した。その概要は、次の 2 点にまとめられる。

1. SNPs マーカーを用いた幻覚性サルビア (*Salvia divinorum*) の判別方法の開発

幻覚性サルビア (*Salvia divinorum*) およびその他の観賞用サルビア 29 種について、*rbcL* 領域を PCR 増幅し、4 種のタイピングプライマーによる一塩基伸長反応を行った結果、SNPs を検出した。さらに、マーカーにおける *Salvia divinorum* の塩基の組み合わせは、今回試料に供した他の組み合わせとは異なっており、幻覚性サルビアを区別することができた。この方法は、保存性が極めて高い *rbcL* 上の多型を利用することにより幻覚性サルビアを近縁種と区別できる精度を持つことから、DNA 鑑定技術として優れた特性を持つと判断できた。

2. 葉緑体 DNA の *trnL-trnF* 領域を用いたサルビア属の識別

この研究では、*trnL-trnF* 領域を対象に、幻覚性サルビア及びその近縁種 (サルビア属) の特定方法を検討した。サルビア属 30 種および異种植物 18 種を材料とし、これらの DNA を鋳型とし、*trnL-trnF* spacer 領域のユニバーサルプライマーにより PCR で増幅断片を得ることができた。この増幅部分の DNA 配列解析を行ったところ、多様性が確認できた。この

領域を対象に解析により得られた配列を比較し設計したサルビア属特異的プライマー trnL-SF, trnL-SR は、全てのサルビア属サンプルで約 500bp の断片を増幅させた。一方、その他18種では、このプライマーでは増幅断片が得られなかった。このことから、trnF-trnL 領域の多様性を利用して、サルビア属のみを検出することが可能であることが確認できた。

以上、本研究では、微細資料でも対応し得るよう葉緑体ゲノム上をターゲットとし PCR 増幅で *Salvia* 属を特異的に検出し、SNPsを用いて *Salvia divinorum* を識別することができ、規制対象である幻覚性サルビア *Salvia divinorum* を識別する目的を達成することが出来た。

なお、これらの成果は、DNA 多型に公表している。

審 査 結 果 の 要 旨

植物資料の識別・同定は、警察における鑑定技術として開発が望まれている領域である。遺留品における植物種の同定、消化管内での植物由来サンプルの種（品種）同定などは鑑識が提供できる重要な情報源となることが期待され、また、ある種の植物は所持自体が法律により禁止されている状況にあるため、鋭敏で正確な識別方法を確立することは、鑑識捜査における重要な課題となっている。本論文は、幻覚性成分を含むため、所持自体が禁止されている *Salvia divinorum*（幻覚性サルビア）の識別方法を検討したもので、その概要は以下の2点に大別できる。

1. 葉緑体ゲノムを利用したサルビア近縁種との識別法の開発

識別目標とする *Salvia divinorum* は、幻覚性成分である salvinorin 類を含み、所持自体が法律により禁止されている植物である。通常、乾燥品として違法に流通する他、違法な自家栽培により所持することが懸念される植物である。この植物は、幻覚成分の有無に寄らず、所持自体が違法であるため、組織片を生物学的に同定することが要求されている。申請者は、国内で花卉として流通するサルビアと、幻覚性サルビアを、DNA多型により識別することを目的とし、葉緑体ゲノム上で近縁種と異なる塩基多型が存在することを見出した。具体的には、Rubisco (Ribrose 1,5 bis -phosphate carboxylase/oxygenase)上に存在する多型を組合わせて識別する方法で、微量なサンプルからの検出を可能とする方法であった。

2. 異なる種・属植物とサルビア属を区別する手法の開発

上記の方法では、サルビア近縁種と、*Salvia divinorum* を明確に区別することが可能である。学位申請者は、この、上記1の方法を用いるために、特定の識別対象組織片が、サル

ビア属の物であることを組合わせることを思いつき、その手法を検討した。この項目では、種・属の識別に用いられることが多い、葉緑体ゲノム上の trnL-trnF 領域の多型を対象として、様々な植物との比較を行った。識別対象としては、日常的に乾燥品を所持する可能性が高い植物種、花卉植物、葉菜類とサルビア属植物とした。その結果、特定の保存領域を認識するプライマーを用いると、サルビア属のみを識別できることが示された。

これらの結果から、申請者は、植物組織片の鑑定にDNA鑑定技術が有効であると結論するとともに、残されている技術的な課題に関しても議論した。研究内容と関連する項目に関する知識等も十分であると判断できたことから、本学研究科の学位論文として相応しい内容と判断した。尚、この研究に関しては、以下の2つの学術論文が公表されている。

基礎となる学術論文

SNPsマーカーを用いた幻覚性サルビア (*Salvia divinorum*) の判別方法の開発

鈴木理恵, 向井譲, 小山博之, 高田直樹, 高山知周, 渡辺芳久

DNA 多型 18:66-69. (2010)

葉緑体 DNA の TrnL-TrnF spacer 領域を用いたサルビア属の識別

高井理恵, 向井譲, 小山博之, 高田直樹, 高山知周, 森幾啓, 渡辺芳久

DNA 多型 (2014) 印刷中