

엽록체 trnLF 염기서열을 이용한 지모(*Anemarrhena asphodeloides*)의
유연관계 확인 및 종감별 분자마커 개발

노중훈, 김명겸, 배갈마, 양덕춘*

Phylogenetic Analysis of Ji-Mo(*Anemarrhena asphodeloides*) on the basis of
trnLF Sequences and Development of Molecular Marker for Identification

Jong-Hun Noh, Myung Kyum Kim, Baigalmaa Jigden, Deok-Chun Yang*

Korean Ginseng Center for Most Valuable Products & Ginseng Genetic Resource
Bank, Kyung Hee University,

1 Seocheon-dong, Giheung-gu Yongin-si, Gyeonggi-do 449-701, South Korea

Objectives

지모(*Anemarrhena asphodeloides*)는 한약재로 널리 사용되어지는 약초로서 한국, 일본, 중국에서 그 기원식물이 *A. asphodeloides* 로 동일하게 승인되어 한의약품 원료로 유통되고 있다. 지모의 엽록체 DNA중의 하나인 trnLF 영역 분석을 통하여 지모로 유통되고 있는 식물의 기원 및 유연관계를 확인할 수 있으며, 또한 지모만을 구별할 수 있는 종감별용 특이 마커개발로 한약재의 오용 및 혼용을 막을 수 있어 궁극적으로 지모 한약재의 품질, 안정성, 유효성을 확보하고자 하는 것이다.

Material and methods

■ 식물재료

작물과학원과 경희대학교 농장, 식약청 약초시험장에서 채취한 지모 식물체와 현재 시중에서 유통되고 있는 지모(한국산, 중국산) 한약재를 구입하여 액체질소로 얼린 후 유발에서 마쇄하고 Plant DNA isolation kit(GeneAll社)를 이용하여 DNA를 추출하였다. agarose gel과 UV spectrophotometer를 이용하여 정량하였다.

■ trnL-F 염기서열을 결정하기 위해, trnL-F 영역의 universal primer인 c와 f 프라이머를 이용하여 PCR 증폭을 수행하였다. 프라이머의 염기서열은 c (5'-CGA AAT CGG TAG ACG CTA-3')와 f (5'-ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG-3')이었으며 (Taberlet et al, 1991), PCR condition은 pre-denaturation 94°C, 1 min; denaturation 94°C, 60 sec; annealing 56°C, 30 sec; extension 72°C, 120 sec; 34 cycles 이었다.

■ 얻어진 지모의 염기서열은 NCBI에서 Blast를 수행하였다. 계통수를 그리기 위하여 Bioedit 프로그램으로 식물체의 염기서열들을 편집하였고, ClustalX 프로그램으로 염기서열을 정렬하였다. phylogenetic tree는 MEGA4 프로그램을 사용하였으며, 종감별용 특이 프라이머는 Bioedit 프로그램으로 디자인한 후, (주)제노텍에 제작을 의뢰하였다.

주저자 연락처 : 양덕춘 E-mail : dcyang@khu.ac.kr Tel : 010-2483-5434

Results and discussions

■ 지모의 염기서열을 얻은 후, NCBI에서 BLAST를 수행하여 근연관계에 있는 염기서열을 모두 수집하였다. CLUSTAL X 프로그램을 이용하여 MEGA 프로그램을 이용하여 phylogenetic tree를 작성하였다.

■ phylogenetic tree에서 지모(*A. asphodeloides*)의 염기서열은 Agave속, Hosta속, Hesperocalis속과 근연관계를 보였으며, 지모식물체와 한약재로 유통되고 있는 지모 샘플들은 모두 trnLF영역에서 동일함을 나타내었다. 따라서 현재 지모라는 이름으로 유통되고 있는 한약재는 trnLF 염기서열이 *A. asphodeloides*과 동일한 것으로 보아 이 한약재들은 순수한 지모가 맞는 것을 알 수 있었다.

■ 지모의 염기서열과 근연관계에 있는 식물들의 염기서열을 정렬하여 비교 분석한 후, 지모에만 특이적으로 반응할 수 있는 특이 프라이머 염기서열을 결정하였다.

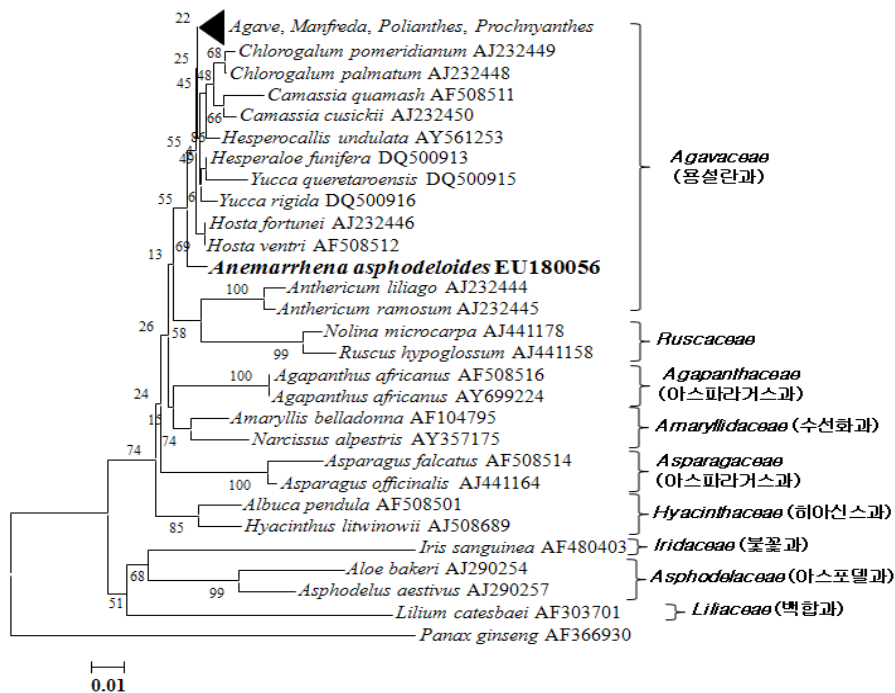


Fig. 1. The Neighbor-joining tree of *trnL-F* sequences of species belonging to various families in *Asparagales* order.

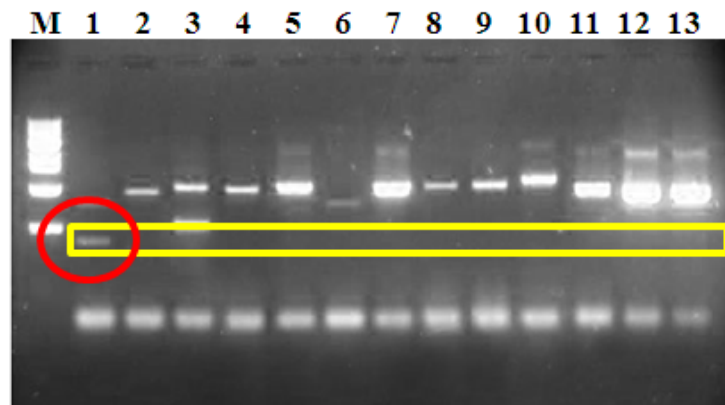


Fig. 2. Multiplex PCR for identification of *A. asphodeloides*