

PCR-amplified nrDNA ITS region에 근거한 현삼의 RFLP분석

국립원예특작과학원 인삼특작부: 이정훈, 이제완, 방경환

충북대학교 : 조익현, 김홍식*

RFLP analysis of Korean figwort(*S. buergeriana* Miquel) based on PCR-amplified nrDNA ITS region

Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA : Jeong-Hoon Lee, Jei-Wan Lee, and Bang-Kyung Hwan

College of Agriculture, Life & Environment Sciences, Chungbuk National University : Ick-Hyun Jo, Hong-Sig Kim*

실험목적

현삼은 현삼과에 속하는 다년생 초본으로 한방에서 자음청열(滋陰清熱), 해독활장(解毒滑腸), 설강변갈(舌絳煩渴), 연건윤조(軟堅潤燥) 등에 자주 쓰이는 한약재이다.

대한약전에서는 현삼의 기원식물로 *Scrophularia buergeriana* Miquel을 수재하고 있으며 우리나라에서 자생하는 현삼과의 식물 중 藥用으로 사용 할 수 있는 것은 현삼(*S. buergeriana* Miquel)으로, 그 외에 대용품은 큰개현삼(*S. kakudensis* Franch), 토현삼(*S. koraiensis* Nakai), 섬현삼(*S. takesimensis* Nakai) 등이 있다.

현삼은 根으로 유통되기 때문에 정품과 대용품을 정확하게 구별하기 쉽지 않다. 때문에 대용품이 현삼으로 사용되는 경우가 빈번하다. 본 연구에서는 한약재로 이용되는 현삼의 ITS(Internal Transcribed Spacer) 부위를 RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism) 방법으로 분석, 비교하였다. ITS-RFLP 분석을 통해 동일한 효력을 나타내는 대용품의 선정 및 眞品과 假品을 구별할 수 있는 Marker로써 활용 가능성을 제시하고, 이를 통해 대용품의 오용을 방지하고 현삼이 한약재로 보다 정확하게 사용되는 기틀을 마련하고자 한다.

재료 및 방법

○ 실험재료

큰개현삼, 북현삼, 현삼 각각 5개체(농촌진흥청에서 수집)

○ 실험방법

- 큰개현삼, 북현삼, 현삼의 DNA를 각각 추출한 후 ITS region 증폭

- Primer는 18S rDNA 부위에서 제작된 ITS1와 ITS4 조합

Name	Primer	Sequence (5' → 3')
ITS1-4	ITS F	GTCCACTGAACCTTATCATT
	ITS R	TCCTCCGCTTATTGATATGC

주저자 연락처 : 김홍식 E-mail : hongsigk@chungbuk.ac.kr Tel : 011-465-5468

- 증폭된 PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 ethidium bromide에 염색한 후 UV상에서 분석
- 8가지 제한효소(*Alu*-I, *Bfa*-I, *Hae*-III, *Hinf*-I, *Mse*-I, *Rsa*-I, *Taq*-I, *Tsp509*-I)를 이용하여 ITS region PCR product 절단 후 밴드 패턴비교

실험결과

큰개현삼, 북현삼, 현삼의 ITS region 증폭산물을 제한효소로 절단하여 RFLP 양상을 조사한 결과 *Bfa*-I, *Hae*-III, *Hinf*-I, *Rsa*-I, *Taq*-I, *Tsp509*-I에서는 중간 절단된 DNA단편의 변이가 없는 것으로 관찰 되었다.

그러나 *Alu*-I(5'-AG/CT-3'), *Mse*-I(5'-T/TAA-3') 제한효소처리구에서는 현삼과 북현삼의 밴드패턴이 동일하게 관찰되었고 큰개현삼의 밴드와는 차이를 보였다. 북현삼과 현삼의 제한효소 단편을 비교해 보았을 때 동일한 패턴을 가지는 것을 확인 할 수 있었으며, 두 종 모두 *Scrophularia buergeriana* Miquel이 기원식물임을 재확인할 수 있었다. 유통되는 현삼의 정품과 대용품의 분자생물학적 기법으로 명확하게 식별하기 위해서는 실험에 사용되었던 현삼(북현삼, 현삼, 큰개현삼) 이외에 좀 더 많은 종을 수집하고 이를 토대로 DNA 염기서열분석을 통해 선발 Marker가 개발되어야 할 것으로 사료된다.

* 시험성적

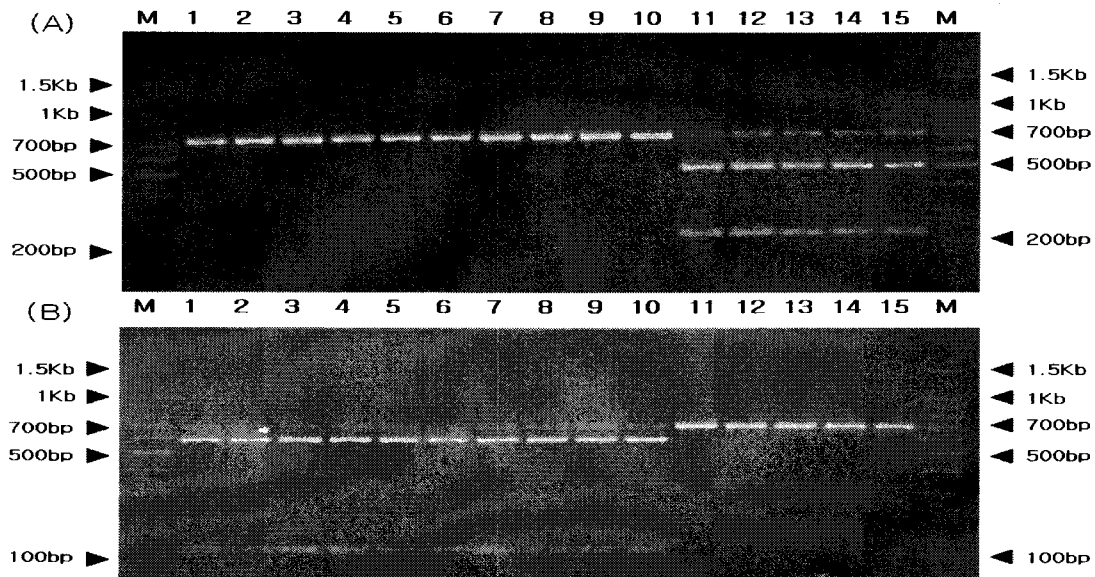


Fig.1.(A) PCR-RFLP patterns restricted by *Alu*-I from Korean figwort.
 (B) PCR-RFLP patterns restricted by *Mse*-I from Korean figwort.
 Lane 1-10: *S. buergeriana* Miquel. Lane10-15: *S. kakudensis* Franch
 Lane M: 100bp molecular weight marker(Promega).