

원 저

RAPD 방법을 이용한 半夏類 韓藥材의 鑑別 研究

배명효, 김규열, 정유현*, 최호영*
세명대학교 한의과대학, 상지대학교 한의과대학*

Abstract

RAPD Analysis on the Species of Pinelliae Tuber

Myeong-Hyo Bae, Gyu-Yeol Kim, Yoo-Hun Chung*, Ho-young Choi*

College of Oriental Medicine, Sangji University, College of Oriental Medicine, Semyung University*

This study intends to report the significance of several experimental results obtained from analysing the genes extracted from the plants and herbal medicine such as *P. ternata* (Thunb.) Breit, *A. amurense* var *serratum* Nakai, *A. erubescens* (Wall.) Schott, Pinelliae Tuber and Arisaematis Tuber, mainly by the method of RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) and the method of RFLP (restriction fragment length polymorphism) on ITS (internal transcribed spacer) region.

Genomic DNA could be extracted from both original plants and dried materials. DNA fragments of *P. ternata* kind and *A. amurense* kind showed the same aspect separately within the same species under the method of RAPD using random primer, while various aspects (polymorphism) were discovered among different species. In RAPD analysis by uniprimer, common bands were extracted from all types of *P. ternata* in the case of uniprimer #4, which were distinguished from the kind of *A. amurense*. Other polymorphic bands appeared in between different *A. amurense* species as well. In the case of uniprimer #11, particular band came out in the kind of *P. ternata*. On the other hand, in the case of uniprimer #5, #6, and #8, various bands (polymorphism) were revealed in both kinds of *P. ternata* and *A. amurense*.

Although further study is needed to ascertain whether these results are due to the differences of species, kinds, or growing place, the results could be used as a scientific method of identifying the substitutes for *A. amurense* genus. The author believes that as if *P. ternata* class of plants used in this experiment are different among themselves in terms of the shape, size and property, those are clearly a class of *P. ternata* or belong to the same genus. (*J Korean Oriental Med* 2000;20(4):16-22)

Keywords : RAPD, Pinelliae Tuber, Pinellia, herbal medicine

緒 論

半夏 (Pinelliae Tuber)는 천남성과(Araceae) 반하屬

(*Pinellia Tenore*)에 속한 다년생 초본인 반하 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.의塊莖을 건조한 것으로, <神農本草經>에 처음 收載되었으며, 辛溫한 性味와 燥濕化痰, 降逆止嘔, 消堅散結의 효능으로 痰多喘咳, 痰飲眩暈, 風痰眩暈, 痰厥頭痛, 嘔吐反胃, 胸脘痞悶, 梅核氣 等症의 치료에 임상에서 상용하는 한약재로 毒性을 가지고 있다^{1,2,3)}.

· 접수 : 2000년 1월 26일 · 수정 : 2월 25일 · 채택 : 3월 20일
· 교신저자 : 김규열, 충북 제천시 신월동 18-3
(T. 0443-649-1341)

半夏는 일본 후생성의 허가를 받아 생산되는 210개 처방 중 46개에 포함되어 약 22%를 차지하며, 300여개의 痰嗽을 치료하는 처방 중에半夏가 들어 있는 것이 142개로 약 46%를 차지하는 등 임상에서 매우 상용되는 한약재이다. 그러나, 반하는 논밭의 잡초인데, 화학비료와 제초제의 대량 사용으로 그 생산량이 줄고 있다. 예로 浙江省 浦江縣의 최고 생산량은 3,000kg이었는데, 1986년에는 125kg, 1987년에는 조금도 수확하지 못하였고, 四川省 忠縣에는 1978년에는 년 65,000kg을 생산하였는데, 1984년에는 15,000kg으로 떨어졌다^{4,5)}.

최근 우리나라의半夏 생산량은 1985년도에 21.9톤, 87년도에 12.6톤, 88년도에 9.7톤, 91년도에 25톤, 92년도에 9톤, 93년도에 0톤으로 재배 생산성이 점점 줄고 있으며, 야생에서의 채취도 역시 점점 줄고 있다. 그에 반하여 수입은 1993년에 362톤, 1994년에 300톤, 1995년에 179톤에 이르고 있어^{6,7)}, 전적으로 수입에 의존함을 알 수 있다.

최근 우리나라에서는半夏 가격이 고가이므로, 그 대응 또는 偽品으로半夏와 형태가 유사한 식물들의塊莖이 混淆되어 유통되고 있다. 중국에서도半夏의 偽品으로 70년대 이후 水半夏 *Typhonium flagelliforme* (Lodd.) Blume가 시장에서 대량으로 유통되었고, 山珠半夏 *Arisaema yunnanense* Buch도 <雲南藥品標準>에 收載되어 유통되기도 하였다⁴⁾.

반하 및 유사 종간의 감별에 관하여 유전자를 이용한 감별에 관한 연구는 아직 보고된 바 없으나, 최근 인삼屬⁸⁾, 오아리屬⁹⁾, 木藍屬¹⁰⁾, 鬱金屬¹¹⁾ 한약재 등을 RAPD 방법으로 분석하여 그 감별 방법의 타당성을 제시한 보고가 있어,半夏類 한약재의 감별에 유전자 감식법은 매우 유용할 것으로 판단된다.

저자는半夏類 한약재의 감별을 위하여, 국내에서 자생하는 반하 및半夏로 유통되고 있는 산지와 형태가 다양한 한약재와 천남성屬(*Arisaema* Max.)에 속하는 원식물 및 한약재의 유전자를 비교함으로써, 최근 유통되는半夏의 진위감별 및半夏類 한약재의 유전자 감별법을 제시하고자 하였다. 그러므로, 각각의 시료에서 추출된 유전자와 기원이 확인된 시료의

유전자를 PCR-RAPD 방법¹⁶⁾을 이용하여 비교 분석하였고, 이 실험을 통하여半夏類 한약재의 유전자 감별에 유의한 결과를 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

材料 및 方法

1. 실험재료

DNA 분석을 위하여 원식물인 반하 *P. ternata*, 천남성 *A. amurense*은 국내에서 야생으로 생육하고 있는 식물체를 직접 채취하여 사용하였으며, 天南星 *A. erubescens*는 중국 남경중의학원에서 확인된 것을 구입하였고, 한약재半夏 및 天南星類는 국내에서 유통되고 있는 국산 및 수입산을 골고루 구입하여 사용하였다(Table 1).

2. 유전자 분석

1) DNA 추출 및 정제

시료의 DNA의 추출에는 plant isolation QIAGEN kit (QIAGEN Inc. USA)를 이용하였으나, 방법을 약간 변형하였다. 시료를 액체질소에 넣고 막자사발을 이용하여 분쇄한 후 약 25mg씩 1.5ml microcentrifuge tube에 넣고 나서 추출시약(Buffer AP1) 400 μ l를 넣은 다음 4 μ l의 RNase A stock solution(100mg/ml)을 첨가하여 vortex로 혼합하였다. 그리고, 65 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 반응시킨 후 130 μ l의 침전시약(Buffer AP2)을 첨가하여 혼합한 다음 얼음 위에서 5분간 반응시키고, 1200rpm으로 5분간 원심분리 하였다. 다음으로 QIAshredder spin column을 이용하여 상층액의 이물질을 제거한 뒤, DNA결합시약(Buffer AP3) 0.5 volume과 100% ethanol 1 volume을 첨가하고, 피펫으로 이를 혼합하였다. 그리고, DNeasy mini column으로 통과시켜 column의 membrane에 DNA를 결합시킨 다음 column에 세척시약(Buffer AW) 500 μ l를 2회 통과시켜 세척하고 나서 column membrane을 건조시킨 뒤 65 $^{\circ}$ C로 미리 데운 추출시약(Buffer AE)을 100 μ l씩 2회 통과시켜 membrane에 결합된 DNA를 추출하였다.

Table 1. Plant Materials Used for DNA Analysis.

species	sample	voucher	origin	Locality	Date
<i>P. ternata</i>	plant(P)	p9901	Wild	Korea : Chungnam: Seosan	Sep. 1999
Pinellia Tuber	whole root(P1)	p9902	purchased	Korea : local market (origin: Chungnam: Seosan)	Jun, 1998
Pinellia Tuber	whole root(P2)	p9903	purchased	Korea : local market (origin: Chungnam: Seosan)	Jul, 1999
Pinellia Tuber	whole root(P3)	p9904	purchased	China : local market (origin: North Korea)	Jun, 1999
Pinellia Tuber	whole root(P4)	p9905	purchased	Korea : local market (origin: China)	Jun, 1999
Pinellia Tuber	whole root(P5)	p9906	purchased	Korea : local market (origin: China)	Jul, 1999
<i>A. amurense</i>	plant(A)	p9907	Wild	Korea : Kwangwon: Juchen	Oct. 1999
<i>Arisaematis Rhizoma</i>	sliced root(A1)	p9908	purchased	Korea : local market(origin: Korea)	Sep. 1999
<i>Arisaematis Rhizoma</i>	sliced root(A2)	p9909	purchased	China : local market(origin : China : Jilin)	Nov. 1997
<i>Arisaematis erubescens</i>	whole root(AE)	p9910	purchased	China : Nanjing	Oct. 1999

Table 2. Plant Materials Used for DNA Analysis.

No	Sequence(5' -3')	M.W(μg/μmole)	nmoles
RP-1	TACAACGAGG	3214	48.9
RP-2	TGGATTGGTC	3227	61.6
RP-3	TCGATACAGG	3205	51.4
RP-4	TCGGTCATAG	3196	48.6
RP-5	GATCAACTCC	3125	61.0
RP-6	GATCATAGCC	3165	47.4
RP-7	GATCAATCGC	3165	45.4
RP-8	GATCGCATTG	3196	54.1
RP-9	GATCATGGTC	3196	52.5
RP-10	GATCTAACGC	3165	51.8

DNA의 추출 상태는 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 관찰하였으며, DNA의 양은 spectrophotometer를 이용하여 280nm와 260nm의 흡광도를 이용하여 계산하였으며, 그의 비율이 1.7이상인 DNA만을 실험에 사용하였다.

2) PCR-RAPD 방법

(1) Ten-mer (10 nucleotide) random primer(RP)

Random primer(Bioneer Co., Taejon)는 20pmol농도로 20ng의 genomic DNA용액에 0.3mM의 dNTP Mixture, 2.5mM의 MgCl₂, 10×buffer(100mM Tris-HCl(pH 8.3), 500mM KCl), 2.5unit의 Taq polymerase(Takara co. Japan)에 D.W.를 50μl가 되도록 첨가하였다. 증폭은 Techne사의 GENIUS 기종을 사용하여 94℃(denaturation) 1분, 40℃(annealing) 1분, 72℃(extention) 2분으로 총 40 cycle을 수행하였으며, 초기 denaturation은 5분간 시켰으며, 마지막 extention은 7분간 시켰다.

(2) SRILS Uniprimer

SRILS Uniprimer Kit(서린과학(주))를 이용하였다. 100ng/μl의 primer와 20ng의 genomic DNA용액에 0.3mM의 dNTP Mixture, 2.5mM의 MgCl₂, 10×buffer(100mM Tris-HCl(pH 8.3), 500mM KCl), 2.5unit의 Taq polymerase(Takara co.)에 D.W.를 50μl가 되도록 첨가하였다. 증폭조건은 Techne사의 GENIUS 기종을 사용하여 94℃에서 1분간 denaturation, 55℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 2분간 extention 하기를 총 35cycle을 수행하였는데, 초기 denaturation은 5분간 시켰으며, 마지막 extention은 7분간 시켰다. 증폭된 DNA는 작은 크기의 DNA를 분리하는 데에 적합한 2.5% low melting agarose gel로 전기영동한 다음 EtBr로 염색하여 UV light 상에서 비교 관찰하였다.

結果

1. DNA 추출 결과

원식물의 신선한 잎(P, A)에서는 DNA가 매우 많은 양이 추출되어 깨끗하면서 진한 밴드로 나타났다. 건조된 원형약재(P1-P5, A1-A2, AE)에서도 비교적 깨끗한 밴드가 보여,半夏 및 天南星類 한약재 모두 DNA의 보존상태가 양호했음을 알 수 있었다(Fig. 1).

2. PCR-RAPD 결과

반하 *P. ternata*, 전남성 *A. amurense* var *serratum*, 天南星 *A. erubescens*의 유전자와 국내에서 유통되는

국산 및 수입半夏에서 추출된 유전자의 비교를 통한 유전자 감별을 위하여 총 10개의 random primer와 12개의 uniprimer를 이용하였다. 그 중 random primer의 경우 2개에서, uniprimer의 경우 6개에서 유의한 밴드가 나타나 이를 대상으로 분석하였다.

RP-2의 경우半夏類는 약 650bp, 500bp, 380bp에서,天南星類는 1600bp와 1200bp에서 특이한 다형성 밴드(polymorphic band)가 나타났다(Fig. 2). RP-8의

M PT P1 P2 P3 P4 P5 AA A1 A2 AE

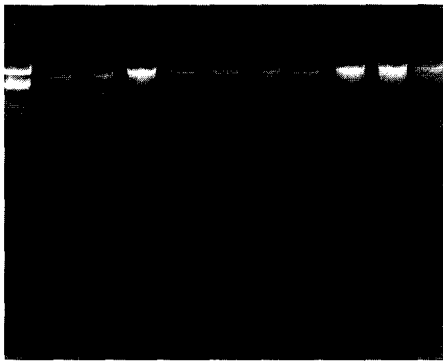


Fig. 1. Genomic DNA isolated from by QIAGEN plant isolation method. Electrophoresis was carried out on 0.7% agarose gel and stained with EtBr. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, DNA/EcoR+ Hind(bioneer co. Korea).

M PT P1 P2 P3 P4 P5 AA A1 A2 AE

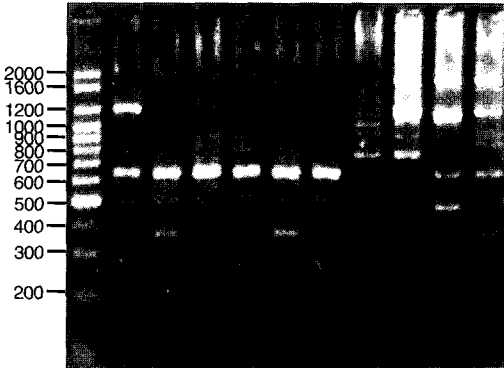


Fig. 2. RAPD patterns obtained with random primer #2. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder (bioneer co. Korea).

M PT P1 P2 P3 P4 P5 AA A1 A2 AE

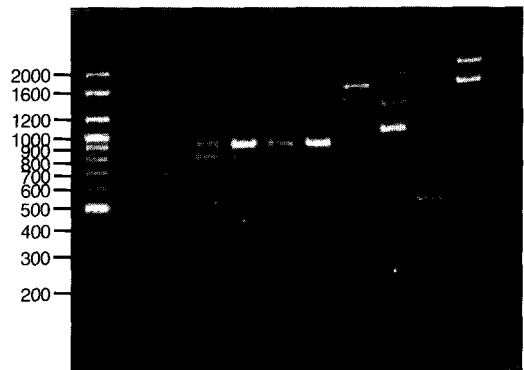


Fig. 3. RAPD patterns obtained with random primer #22. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder (bioneer co. Korea).

M PT P1 P2 P3 P4 P5 AA A1 A2 AE

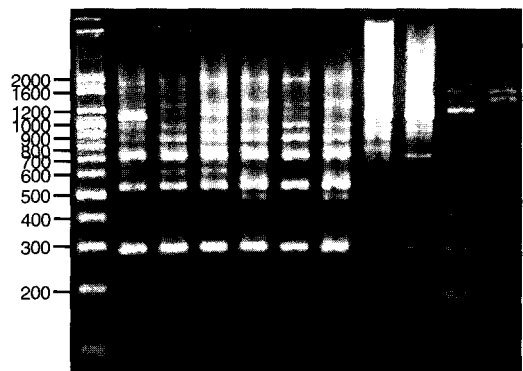


Fig. 4. RAPD patterns obtained with uniprimer #4. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder (bioneer co. Korea).

경우半夏類는 900bp와 800bp에서,天南星類는 1400bp에서 특이한 다형성 밴드가 나타났다(Fig. 3).

Uniprimer인 경우에는 12개의 primer의 평균 밴드 수가 10.8 ± 3.4 개로 random primer의 4.3 ± 2.1 의 경우보다 월등히 많이 나타났다. 또한, PCR-RAPD 반응 시 높은 재현성을 보였는데, 이것은 annealing 온도를 55°C 이상 유지할 수 있었기 때문으로 생각된다.半夏類의 경우 Uniprimer #4의 710bp, 520bp, 300bp에

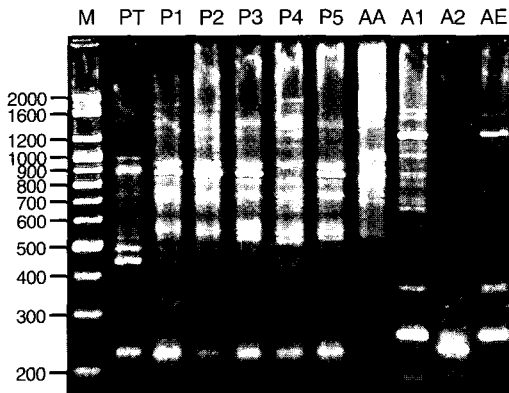


Fig. 6. PAPD patterns obtained with uniprimer #5. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder (bioneer co. Korea).

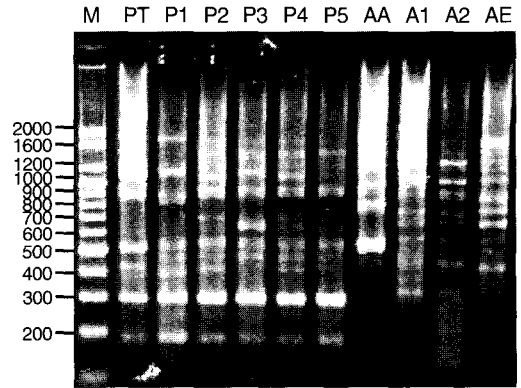


Fig. 7. RAPD patterns obtained with uniprimer #8. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder (bioneer co. Korea).

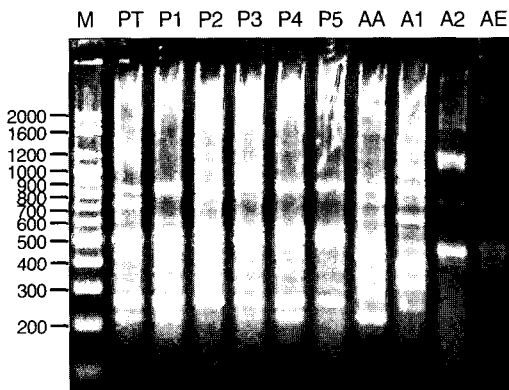


Fig. 6. RAPD patterns obtained with uniprimer #6. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder (bioneer co. Korea).

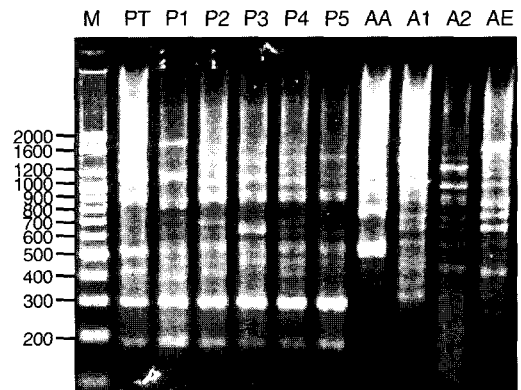


Fig. 8. RAPD patterns obtained with uniprimer #9. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder (bioneer co. Korea).

서 (Fig. 4), uniprimer #5의 240bp에서 (Fig. 5), uniprimer #6의 270bp, 500bp, 850bp에서 (Fig. 6), uniprimer #8의 450bp에서 (Fig. 7), uniprimer #9의 510bp, 420bp, 300bp, 180bp에서 (Fig. 8), uniprimer #11의 450bp, 900bp, 1000bp, 1600bp (Fig. 9)에서 특이한 밴드가 뚜렷하게 나타났다. 그러나, 天南星類는 대부분의 경우에서 각기 다른 다양한 다형성 밴드가 나타났는데, 이것이 產地에 따른 多形成인지, 種의 차이에 의한 多形成인지는 향후 진전된 연구가 필요하다고 생각된다. 그러나, 天南星類도 역시 대개 半夏類

와는 다르게 種內에서 유사한 양상을 보이고 있었다 (Fig. 2~9).

이 결과에 나타난 다형성 밴드는 半夏類와 天南星類 한약재의 감별에 이용될 수 있을 것으로 사료된다. 또한, 半夏類의 경우 외부 형태의 크기 및 성상이 다름에도 불구하고, 동일한 밴드의 양상을 나타내는 것으로 보아 반하 *P. ternata*와 동일한 종이거나 최소한 동속식물임을 나타내는 것이라고 판단되며, 半夏의 천남성屬 偽品과의 감별법으로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

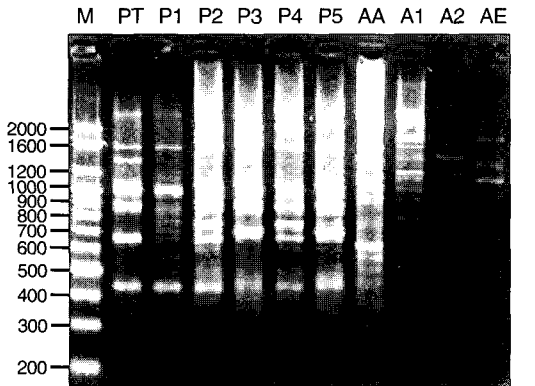


Fig. 9. RAPD patterns obtained with uniprimer #11. See Table 1 for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder (bioneer co. Korea).

考察 및 結論

우리나라에서 半夏는 주로 중국에서 수입하고 있는데, 중국에서 半夏의 대응으로 사용되는 것으로 천남성屬에는 東北天南星 *A. amurensis*, 異葉天南星 *A. heterophyllum*, 天南星 *A. erubescens*, 填南星(山珠半夏) *A. yunnanensis*, 象頭花(母豬半夏) *A. francifolium*, 小天南星 *A. consanguineum*이 있으며, 반하屬(*Pinellia* Tenore)에는 虎掌(南星, 掌葉半夏) *P. pedatisecta*, 大半夏 *P. polyphylla*, 盾葉半夏 *P. peltata* 등의 小塊莖 및 塊莖이 있다. 그 외에도 鞭檐梨頭尖(水半夏) *Typhorium flagelliforme*, 頭尖 *T. divaricatum*, 三裂頭尖 *T. trilobatum*, 三葉頭尖(代半夏) *T. trifoliatum*, 獨角蓮 *T. giganteum*, 芋頭 *Colocasia esculenta*, 魔芋 *Amorphophallus rivieri*가 있다.^{4,12,13)}

그 중에서 半夏, 水半夏, 山珠半夏가 半夏로 사용되는 한약재의 주종을 이루는데, 水半夏 *Typhorium flagelliforme*는 半夏 자원이 급격히 감소된 70년대부터 廣西에서 대량으로 재배된 이후 점차 전국 시장에서 취급하게 되었으나, 毒性이 半夏에 비하여 크고 (LD50 41g/kg), 鎮咳작용이 뚜렷하지 않고, 鎮吐作用이 약하여, 半夏의 대응으로 사용할 수 없다. 填南星

*Arisaema yunnanensis*의 작은 괴경인 山珠半夏는 西南地區에서 자주 보이는 半夏의 偽品이며, 괴경이 큰 것은 天南星으로 유통되며, 三葉梨頭尖(代半夏) *T. trifoliatum*은 山西太谷, 五台, 代縣 등지에서 약 100년간 사용된 역사가 있는데, 塊莖이 半夏와 유사하므로 감별에 주의해야 한다.^{4,13)}

이와 같이 半夏의 代用으로 사용되는 것은 매우 많으며, 그에 대한 형태학적 감별에 대한 보고도 있다.⁴⁾ 물론, 형태학적인 감별은 한약재를 同定하는 데 가장 우선 진행되어야 할 과정이다. 그러나, 또한 형태적 감별의 한계로 말미암아, 偽品 및 代用品이 유통되는 것이다. 그러므로, 저자는 최근 국내에서 유통되고 있는 半夏가 偽品이 혼효되어 있지는 않은지를 조사하기 위하여, 유전자 감식법을 시행하였다.

식물체의 유전적 성질은 환경에 따라 변화되지 않고, 유전에 의하여 전달되는 고유한 정보이기 때문에 유전물질이 되는 DNA의 분석은 식물체의 확인 혹은 중간 구별에 훌륭한 도구로서 활용되고 있다. 이와 관련하여 Shaw 등¹⁴⁾은 산지와 채취시간이 다른 동일한 식물의 경우에도 그 PCR 산물의 DNA fingerprinting은 기본적으로 같으며, 이것은 PCR 기술이 한약재 감별법에 있어서 온정성과 재현성이 있음을 나타내는 것이라고 하였다. 최 등¹⁵⁾은 한약재의 기원식물 규명과 한약재 감별을 통하여 한약재 품질 관리 및 규격화를 위하여 매우 정확하고 실용성 있음을 제시한 바 있다.

그러므로, 저자는 유전자를 비교 감식하기 위하여, PCR 기술을 기반으로 한 RAPD 방법과 RFLP 방법을 사용하였다. Willams 등¹⁶⁾은, RAPD 분석법이 짧은 primer를 사용한 PCR과 agarose gel에서의 전기영동의 과정만 필요하기 때문에 매우 간단하며, RAPD markers가 쉽게 나타나고, 빠른 분석이 가능하며, 적은 양의 DNA를 사용할 뿐만 아니라 또한, 다루거나 폐기하기 힘든 동위원소를 사용하지 않고도 쉽게 판독할 수 있는 장점이 있다고 하였다. 曹暉 등¹⁷⁾은 한약재 감별 방법에서도 이러한 RAPD 방법은 신속하고 有效하며 微量으로도 분석 가능하고 편리한 장점이 있어서 다른 PCR 방법보다 폭 넓게 사용할 수 있

다고 주장하였다.

본 실험에서 원식물 및 건조된 약재 모두에서 DNA를 추출할 수 있었던 것은 일반적인 半夏 및 天南星類 韓藥材의 가공과 보관이 DNA의 추출에 영향이 크지 않았음을 나타내며, 향후 半夏類 및 天南星類 韓藥材의 유전자 감별이 가능하리라는 것을 시사하고 있다.

또한, Random primer와 uniprimer를 이용한 RAPD 결과 半夏類의 다형성 밴드는 대개 각각 種內에서 동일한 양상을 보였으며, 종간에는 다형성을 보였는데, 특히 天南星類의 경우 이러한 결과가 產地에 따른 다형성인지, 種의 차이에 따른 다형성인지는 향후 진전된 연구가 더 필요하다고 생각된다.

본 실험의 결과는 半夏 중 천남성屬 僞品과의 감별법으로 활용할 수 있을 것으로 기대된다. 또한, 이번 실험에 사용된 半夏類 한약재는 외부 형태의 크기 및 성상과 산지가 다름에도 불구하고, 반하 *P. ternata*이거나 혹은 동속식물임을 나타내는 것이라고 사료된다.

參考文獻

1. 대한민국 보건복지부. 대한약전 제7개정(제1부·제2부). 서울 : 대한보건공정서협회. 1998: 730.
2. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編著. 本草學. 서울 : 永林社. 1991: 448-9.
3. 國家中區藥管理局<中華本草>編委會. 中華本草(下冊). 上海 : 上海科學技術出版社. 1998: 2209-18.
4. 樓之峯, 秦波. 常用重藥材品種整理和質量研究 1. 山東 : 北京醫科大學 中國協和醫科大學 聯合出版社. 1995: 919-974.
5. 胡世林. 中國道地藥材, 黑龍江 : 黑龍江科學技術出版社. 1989: 488-491.
6. 農林水産部. 95特用作物生産實績. 1996: 22, 54-55.
7. 전국생약학교수협의회. 한약자원유통 및 저장학, 서울 : 정담. 1999: 121-168.
8. 최호영. RAPD법을 이용한 *Panax*屬 한약재 감별 연구, 大韓本草學會誌 1998; 13(1): 147-159.
9. 張榮, 邵建本, 田學明, 楊靜, 張步振, 葉浩. 用RAPD分析法對鐵線蓮屬7種中藥的鑑定研究. 中草藥 1996; 27(11): 686-687.
10. 張榮, 張步振, 葉浩. 用RAPD分析法鑑定木藍類生藥. 中國中藥雜誌 1997; 22(2): 72-73.
11. 陳毓亨, 白守梅, 程克逮, 章菽. 溫鬱金和川鬱金的 RAPD研究. 中國中藥雜誌 1999; 24(3):131-133.
12. 徐瑤珊, 徐國鈞, 金蓉鸞, 何宏賢. 中國藥材學. 北京 : 中國醫藥科技出版社. 1996: 605-608.
13. 中國藥材公司. 中國常用中藥材. 北京 : 科學出版社. 1995: 147-154
14. Shaw, P.C. and P. B. Paul. Authentication of *Panax* Species and their Adulterants by Random-Primed Polymerase chain Reaction. *Planta Med* 61. 1995; 466-469.
15. 최호영, 이상인, 서영배. 유전자 감식에 의한 防風의 감별. 생약학회지 1997; 28(1): 1-8.
16. Williams J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tingey. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Res*. 1990; 18 : 6531-6535.
17. 曹暉, 華培曦, 邵鵬柱. 中藥材苦地膽的DNA指紋鑑定, 中藥材 1996; 19(12): 608-611.