

방풍류의 감별을 위한 분자마커의 탐색과 활용

홍성미, 이미영, 고재철¹, 고병섭*

한국한의학연구원 검사사업부, ¹대구가톨릭대학교 생명자원학과

Development and Application of PCR-based Markers for the Discrimination of Bang-Poong and Related Species

Seong-Mi Hong, Mi-Young Lee, Jae-Chul Koh¹, Byoung-Soeb Ko*

Department of Inspection Enterprise, Korea Institute of Oriental Medicine, Seoul 135-100, Korea

¹Department of Life Resources, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

ABSTRACT Bang-Poong and related species are an important herbal medicine. However, it is difficult to determine the commercial dry material through anatomical and chemotaxonomical characteristics. Here, we used a PCR-based technique for an accurate discrimination of Bang-Poong and related species. With the RAPD primers, 215 RAPDs (random amplified polymorphic DNAs) were obtained, and 98% of them showed polymorphic patterns. RAPDs from the four primers were appropriate for the discrimination of *S. divaricata* (T_{URCZ.}) S_{CHISKIN}, those from the six primers for *P. japonicum* T_{HUNBERG}, those from the four primers for *P. terebinthaceum* F_{ISHER}, and those from the six primers for *G. littoralis* Fr. S_{CHMIDT}. The specific bands from the primer 425 were obtained and used to develop SCAR (sequence characterized amplified region) markers, based on the sequence information of the RAPD markers. The SCAR primers generated a 215 bp fragment specific to *Peucedanum terebinthaceum* F_{ISHER}, and a 177 bp and a 300 bp fragment specific to *G. littoralis* Fr. S_{CHMIDT}. As a result, the three SCAR markers were able to discriminate from two Bang-Poong related species.

Key words: Bang-Poong and related species, discrimination, RAPD, SCAR marker

서 론

방풍 (防風)은 미나리과 (Umbellifere)에 속하는 다년생 초본으로 국내에서는 *Saposhnikovia divaricata* (T_{URCZ.}) S_{CHISKIN}을 방풍으로 정하고 있으며 (Korea Food & Drug Administration 2002a), 중국과 일본에서도 *S. divaricata*을 방풍으로 정하고 있다 (Ministry of Health and Welfare, Japan 1996; Pharmacopoeia commission of the ministry of public health, P. R. China 1996). 그러나 현재 국내에서 사용되고 있는 방풍의 종류를 살펴보면, *Glehnia littoralis* Fr. S_{CHMIDT} (갯방풍)의 뿌

리를 해방풍으로 (Korea Food and Drug Administration 2002a), *Peucedanum japonicum* T_{HUNBERG} (갯기름나물)의 뿌리를 식방풍으로 (Korea Food and Drug Administration 2002b), *Peucedanum terebinthaceum* F_{ISHER} (기름나물)의 뿌리를 석방풍으로 사용하고 있다. 방풍은 처방에 자주 사용되는 한약재로서 그 약리작용은 해열, 진통, 소염, 혈압강하작용, 관절염 유발억제의 기능을 가진다.

우리나라는 한약재 재배농가의 보호를 위해 방풍의 수입을 금지시켜 수급조절에 맞게 일정량만을 수입해온 결과, 국내에서는 갯방풍과 식방풍 등이 주로 시판되고 있으며 갯방풍의 뿌리는 중국에서 복사삼으로 정하고 있다 (Pharmacopoeia Commission of the Ministry of Public Health, P. R. China 1996). 한약재는 건조시킨 근경과 뿌리를 주로 사용하므로 육

*Corresponding author Tel 016-264-1289 Fax 02-3447-7985
E-mail bsko@kiom.re.kr

안으로 감별하기가 어려우며 특히 절단되었을 경우 구별이 더욱 어려운 실정이다. 뿐만아니라 형태적인 특성 비교는 주관적일 수 있으므로 판별기준에 어려움이 있으며 성분분석 비교는 건조약재의 혼용품을 명확히 분별하기 어려운 단점을 가지고 있으므로 본 연구에서는 분자생물학적 분석에 의한 감별을 시도하였다. 방풍류에 관한 지금까지의 연구는 미미하며 Choi (1997) 등이 방풍, 석방풍, 갯방풍에서 internal transcribed spacer (ITS) primer를 이용하여 restriction fragment length polymorphism (RFLP) 분석을 보고하였다. Paran과 Michelmores (1993)는 sequence characterized amplified region (SCAR)라는 새로운 표지인자를 제안하였는데, 이 표지인자는 random amplified polymorphic DNA (RAPD) 표지인자의 불안정성을 개선하기 위하여 선발된 RAPD 밴드의 염기서열을 분석한 후 긴 primer를 제작하여 높은 annealing 온도에서 PCR을 수행하여 표지인자를 선발하는 것으로 단일의 DNA 밴드로 나타나며 primer 설계를 바꾸어 공우성 표지인자 (co-dominant marker)로 전환할 수도 있기 때문에 이형접합체의 탐색을 할 수 있는 장점을 가지고 있다 (Negi et al. 2000). SCAR 마커에 관한 연구는 동식물의 병원균에 관련된 저항성 유전자의 유전자지도 작성이나, 저항성 유전자의 유무진단에 수행되어져 왔다. RAPD 마커를 이용한 SCAR 마커로의 전환에 관한 연구로는 벼의 도열병 저항성 유전자 (Naqvi and Chatto 1996)와 병원균인 *Clonostachy rosea*의 유무의 진단 (Bulat et al. 2000), PVY 감자 바이러스에 관한 연구 (Arnedo et al. 2002)가 보고되기도 하였다. 따라서 본 연구는 국내 한약 시장에서 유통되고 있는 4종의 방풍에 대한 진위를 구명하고자 방풍 *Saposhnikovia divaricata* (TURCZ.) SCHISCHKIN과 석방풍 *Peucedanum japonicum* THUNBERG, 석방풍 *Peucedanum terebinthaceum* FISCHER, 갯방풍 *Glehnia littoralis* Fr. SCHMIDT에 대해 특이적으로 나타내는 RAPD marker를 확인하고 이를 SCAR 마커로 전환하여 보다 쉽고 정확한 방풍류 감별가능성을 확인하고자 한다.

재료 및 방법

식물체 재료

본 실험에 사용된 재료는 국내에서 시험 재배중인 방풍과 중국의 식물원에서 방풍을 채취하여 中藥彩色圖集 (1996)을 참조하였고, 이외 석방풍, 석방풍, 갯방풍은 국내 8여곳의 식물원과 중국의 식물원 등에서 채집하여 한국기준식물도감 (Lee 1996)과 비교하면서 사용하였다 (Table 1). 채집한 시료는 이물질을 제거한 후 신선도의 유지를 위해 -70°C 에 급냉시켜 한국한의학연구원에 보관중이며, 건조약재는 시중에서 유통되고 있는 약재를 중심으로 서울약령시와 경북 영천, 영주, 전남 화순, 중국 흑룡강 등 국내의 약재상에서 수집하였다 (Table 2).

Genomic DNA의 추출

채집된 생체시료의 DNA 추출은 Doyle와 Doyle (1987)의 수정된 방법을 이용하였다. 신선한 시료에 액체질소를 넣어 마쇄한 후, 2% cetyl trimethylammonium bromide (CTAB) 완충용액과 혼합한 다음 60°C 항온기에서 1시간 처리하여 phenol과 chloroform : isoamylalcohol (24:1)를 첨가하여 잘 섞어준 후 실온에서 10분간 정치시키고 60°C 항온수조에서 5~10분간 반응시켜 13,000 rpm으로 5분간 원심분리하였다. 상층액에 chloroform : isoamylalcohol (24:1)을 첨가하여 완전히 섞이도록 흔들어 준 다음 13,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 동량의 isopropanol을 넣어 -20°C 에서 DNA를 침전시켰다. 침전시킨 DNA는 13,000 rpm에서 15분간 원심분리하여

Table 1. The list of plant materials used in this study.

Lane	Species	Locality	Date of collection
1	<i>Saposhnikovia divaricata</i>	Pyungchang, Korea	2000. 4
2	(TURCZ.) SCHISCHKIN	Guangxi, China	2002. 7
3		Hamduk, Jejudo, Korea	1999. 11
4		Jungmoon, Jejudo, Korea	1999. 11
5		Chuncheon, Korea	2002. 5
6	<i>Peucedanum japonicum</i>	Chinan, Korea	2002. 5
7	THUNBERG	Jeonju, Korea	2002. 5
8		Suwon, Korea	2002. 6
9		Woolungdo, Korea	2002. 7
10		Guangxi, China	2002. 7
11	<i>Peucedanum</i>	Mt. Gumdan, Korea	1999. 9
12	<i>terebinthaceum</i> FISCHER	Mt. Yongmoon, Korea	1999. 9
13		Hanlim, Jejudo, Korea	1999. 11
14	<i>Glehnia littoralis</i>	Jungmoon, Jejudo, Korea	1999. 11
15	Fr. SCHMIDT	Chinan, Korea	2002. 5
16		Suwon, Korea	2002. 6

Table 2. Plant materials of botanical origin and commercial market.

Lane	Species	Locality	Plant materials
1	<i>S. divaricata</i>	Pyongchang, Korea	Fresh leaf
2	(TURCZ.) SCHISCHKIN	China 1	Dry root
3		China 2	Dry root
4		Jejudo, Korea	Fresh leaf
5		Korea 1	Dry root
6	<i>P. japonicum</i>	Korea 2	Dry root
7	THUNBERG	Korea 3	Dry root
8		Korea 4	Dry root
9		Korea 5	Dry root
10		Jejudo, Korea	Fresh leaf
11	<i>G. littoralis</i>	China 1	Dry root
12	Fr. SCHMIDT	Korea 1	Dry root
13		China 2	Dry root

70% EtOH로 세척한 후 자연 건조시키고, 건조시킨 DNA에 TE 완충용액 [10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM EDTA]을 용해하여 1 mg/mL의 RNase를 첨가하여 UV/VIS spectrophotometer (Shimazu, Japan)로 DNA 순도검정 및 정량하였다. 건조약재의 게놈 DNA는 시료를 분말상태가 되도록 마쇄한 후, Nucleospin DNA extract kit (Macherey-Nagel, Germany)을 사용하여 추출하였다. 추출된 DNA는 순도와 농도를 측정 후 -20°C 에 보관하면서 사용하였다.

RAPD 분석을 위한 PCR 증폭

PCR 증폭은 Williams 등 (1990)의 방법을 수정하여 사용하였다. PCR 반응용액은 멸균 증류수에 $10\times$ 완충용액 [750 mM Tris-HCl, pH 8.8, 200 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.1%(v/v) Tween 20], 200 μM dNTP, 1.5 mM MgCl_2 , 300 nM primer (UBC, Canada), 1 U DNA polymerase, 50 ng DNA를 혼합하여 총 20 μL 로 조성하였다. PCR은 Geneamp PCR system 2700 (Perkin elmer, USA)을 이용하여 94°C 에서 5분간 pre-denaturation한 후 94°C 에서 30초 denaturation, 37°C 에서 30초간 annealing, 72°C 에서 1분간 extension을 35회 수행하고 마지막으로 72°C 에서 10분간 반응시켰다. 증폭된 산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 EtBr (Sigma, USA)로 염색한 후 Bioimaging system (Syngene, England)으로 관찰하였고, polyacrylamide gel을 이용한 확인 방법은 최종 PCR 반응이 끝난 후 6% polyacrylamide gel에서 전기영동하여 silver staining kit (Promega, USA)을 이용하여 결과를 분석하였다.

특이 마커의 분리 및 cloning

RAPD 분석에 사용된 총 36개의 primer에서 방풍류의 다형성을 나타내는 10-mer primer (UBC, Canada)를 이용하여 4개의 방풍에서 특이적으로 나타나는 polyacrylamide gel로 전기영동하여 단편을 각각 2개씩 선별하였다. 분리된 단편에 멸균수 200 μL 를 첨가하여 95°C 의 항온수조에서 10분간 배양시킨 후 14,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상층액에 3 M sodium acetate (pH 5.2), 35 mg/mL glycogen (Quantum, USA)과 100% ethanol을 첨가하여 DNA를 침전시키고, 14,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 70% ethanol로 세척한 다음 pellet을 멸균수 10 μL 로 녹여서 -20°C 에 보관하였다. 그리고 보관중인 DNA의 1 μL 를 주형으로 하여 RAPD-PCR의 방법과 동일한 조건으로 PCR을 재수행하여 각 단편을 증폭시킨 다음 agarose gel로 전기영동하여 각 특이 단편의 DNA를 분리하였으며 (MN-Nucleospin, Germany), 이를 cloning을 위한 재료로 사용하였다. 또한 polyacrylamide gel에서 분리된 특이단편은 pGEM T-easy vector System I (Promega, USA)을 이용하여 cloning하였고 plasmid miniprep kit (Promega, USA)을 이용하여 DNA를 소량 분리하였다.

Cloning의 확인 여부는 1 U의 *EcoRI* (GibcoBRL, Germany)으로 절단시켜 2% agarose gel에서 확인한 후 이를 염기서열분석에 이용하였다.

SCAR 마커 제작

특이적인 단편에 대한 각각의 염기서열은 NCBI (National Center for Biotechnology Information)의 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)에서 유사성을 조사하였으며 Primer 3 (Whitehead Institute/MT center) program을 이용하여 primer를 제작하였다. 특이밴드를 기초로 하여 고안된 각 primer의 이용여부를 확인하기 위하여 4종의 방풍 DNA를 PCR 증폭시켜 증폭된 패턴을 확인하였다. 제작한 primer의 염기서열중 단편 5는 5'-TATTACGAGTCGACAAATCAAA (forward)와 5'-CTATATAGG TGATTAGTATCGAACAGA (reverse), 단편 7은 5'-TTTATAAATACTTTATCTCAAAGTTCG (forward)와 5'-CCTTACCACTTCTTGAGTATCAG (reverse), 단편 8은 5'-CATTCTTGAAACA TTTATAACCAT (forward)와 5'-TCCTTCTACTAGTTGAGAAGTAAAGTT (reverse)를 사용하였다. PCR 증폭조건은 100 ng의 DNA, $10\times$ 반응 완충액, 2.5 mM의 dNTP, 20 pmol의 primer, 1 U의 Taq polymerase를 첨가하여 전체 20 μL 의 PCR 혼합액을 제조하였다. PCR 반응 조건은 94°C 에서 5분간 반응시킨 후, 94°C 에서 1분, 56°C 에서 30초, 72°C 에서 1분간 35회 수행하고 72°C 에서 10분간 반응시켰다. SCAR 마커의 명확성 여부는 PCR product size에서 나타나는 특이 밴드의 유무로 결정하였다.

결과 및 고찰

RAPD 분석

방풍, 식방풍, 석방풍, 갯방풍에 대해 모두 36개의 primer를 이용하여 RAPD 분석을 한 결과, 4종의 방풍에 특이적인 19개의 primer를 선별하였다. 특히 우리나라에서 시험재배 되고 있는 방풍은 중국에서 채집한 방풍과 다형성의 패턴이 일치하였으며 PCR 결과를 통해 다형성을 나타내는 밴드수는 전체 밴드 215개 중 211개로 전체 밴드수의 98%를 나타내었고, 방풍류 각각을 나타내는 특이한 밴드는 21개로 전체의 10%를 나타냈다. 특히 RAPD 분석에서 선별된 19개의 primer 중 네 종의 방풍류를 한번에 구별할 수 primer로는 425가 적합하였으며 (Figure 1) 이를 SCAR 마커로 전환하기 위한 특이적인 밴드의 분리에 이용하였다. 그리고 유전자 감별을 시판되는 한약재에 응용하기 위해서는 수집한 건조약재와 생체시료의 동일성 여부를 파악하여야 하므로 RAPD 분석 결과를 polyacrylamide gel로 비교하였다 (Figure 2). 생체시료와 시판되는 건조약재 (Table 2)를 비교한 결과, 방풍의 생체시료와 중국에서 구입한

건조약재 2개가 모두 동일한 패턴을 나타냈으며 (Figure 2A), 식방풍의 생체시료와 국내에서 유통되는 건조약재 5개 (Figure 2B), 갯방풍의 생체시료와 국산, 중국산등 3개의 건조약재 (Figure 2C)가 생체시료와 동일한 다형성을 나타내어 건조약재의 이용가능성을 확인할 수 있었다.

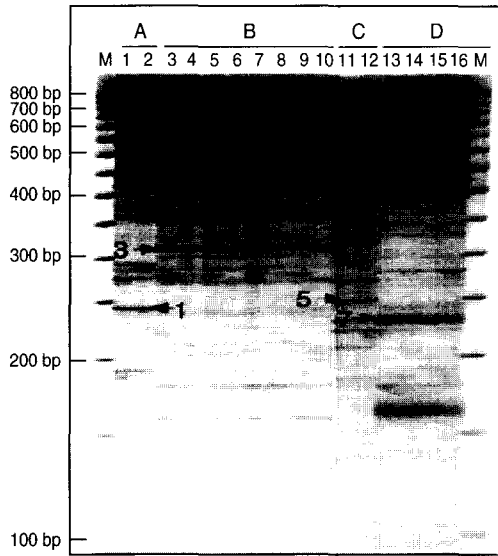


Figure 1. RAPD polymorphism of Bang-Poong and related species. The primer used was UBC 425. A (Lane 1~2), *S. divaricata* (TURCZ.) SCHISKIN; B (lane 3~10), *P. japonicum* THUNBERG; C (lane 11~12), *P. terebinthaceum* FISHER; D (lane 13~16), *Glehnia littoralis* Fr. SCHMIDT. M, 50 bp DNA ladder. Arrows indicate specific bands. The information on the plant materials is indicated in Table 1.

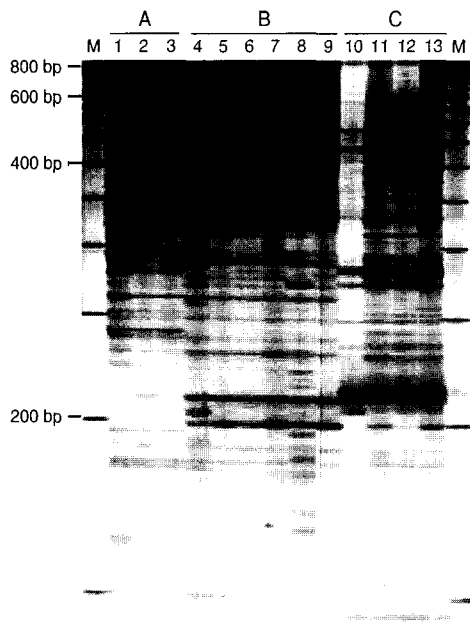


Figure 2. Comparison of botanical origin and commercial market of Bang-Poong and related species by using the UBC 425 primer. A (Lane 1~3), *S. divaricata* (TURCZ.) SCHISKIN; B (lane 4~9), *P. japonicum* THUNBERG; C (lane 10~13), *Glehnia littoralis* Fr. SCHMIDT. M, 50 bp DNA ladder. The information of each lane is indicated in Table 2.

특이적인 마커 선발에 의한 cloning 및 염기서열분석

Random primer인 10-mer primer를 사용하면 비특이적인 밴드의 형성이 많아지므로 PCR 증폭시 primer의 염기수를 늘려 주어 반응의 안정성을 높일 수 있는 SCAR가 필요하다고 보고되었으므로 (Paran and Michelmore 1993) 본 실험에서도 효율적인 이용가치를 위해 22~27 mer인 primer를 이용하여 SCAR 마커로서의 가능성을 확인하였다. 방풍류 8개 특이 밴드가 SCAR 마커로서 개발될 수 있는지 가능성 여부를 확인 하였을때, cloning된 DNA 단편의 크기는 방풍은 245 bp, 680 bp, 식방풍은 320 bp, 375 bp, 석방풍은 250 bp, 480 bp, 갯방풍은 230 bp, 450 bp이었다 (Figure 3). 각 DNA 단편의 염기서열을 분석하여 Gene bank에 등록된 유전자들과 유사성을 조사한 결과, 단편 2의 blast score는 82로 나타났고 이미 밝혀진 *Arabidopsis thaliana* DNA chromosome 3, BAC clone F7P3 유전자들과 유사한 것으로 나타났다.

SCAR 마커를 이용한 식물체의 감별

특이적인 밴드의 전체 염기서열 정보를 이용하여 세 쌍의 특이적인 primer를 고안한 후 제작한 primer를 이용하여 16개 방풍류 (Table 1)를 PCR 증폭한 결과, 석방풍은 215 bp 에서 특이적인 밴드가 나타났으며 (Figure 4) 단편 7을 이용하여 제작된 primer에서는 177 bp 에서 갯방풍만을 나타내는 특이적인 밴드의 발현을 볼 수 있었다 (Figure 5). 그리고 단편 8에서의 primer는 300 bp에서 갯방풍의 특이적인 밴드가 뚜렷하게 나타나 (Figure 6) SCAR 마커로서의 가능성을 보여주었다. SCAR 마커로 전환된 특이밴드의 경우 3개의 특이 primer 제작시 예상되는 product 크기와 동일한 크기인 215 bp, 177 bp, 300 bp에서 각각 나타났으며 정확한 위치 외에도 몇 개의 밴드들이 나타났지만 방풍류의 감별에는 영향을 미치지 않았다.

시판되는 방풍은 수입금지 품목이었으나 현재는 수입이 허

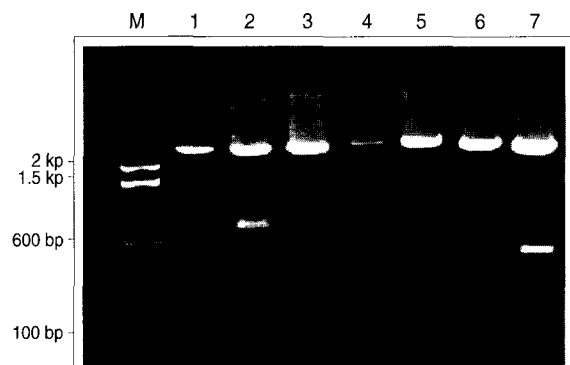


Figure 3. Cloning of RAPD fragments obtained from the UBC primer 425. The resulting recombinant plasmids were digested with *Eco*R I. Lane 1, fragment 1; lane 2, fragment 2; lane 3, fragment 3; lane 4, fragment 4; lane 5, fragment 5; lane 6, fragment 7; lane 7, fragment 8 in Figure 1. M, 100 bp DNA ladder.

가되어 대부분의 방풍이 수입되어 유통되고 있고, 갯방풍과 식방풍은 국내에서 주로 재배·생산되고 있으며 석방풍은 대부분 자연산이다. 실제로 국내의 여러 구입처 중 영천을 비롯한 국내 지역 1개소에서 구입한 방풍은 식방풍이라고 기재되어 있었지만 agarose gel을 이용한 RAPD 분석에서 식방풍은 중국산 방풍과 같은 패턴을 나타내었다 (결과 미제시). 따라서 중국산 방풍이 국내산 식방풍으로 표기되어 시판되고 있음을 짐작할 수 있으며, 이에 대한 정확한 구별방법을 개발하고자 본 연구에서는 병저항성의 진단을 위한 중요 수단으로 사용

(Ardiel et al. 2002; Randig et al. 2002)되는 SCAR 마커를 이용하였다. 방풍의 종류에 관한 연구는 대부분 이화학적 성분분석 (Ryu and Yook 1972; Okuyama et al. 2001; Yuan et al. 2002)에 대해 보고되어 있지만 DNA 마커를 이용한 연구는 미비한 실정이다. 그중 RAPD는 빠르고 쉽게 분석이 가능하지만 이형접합체의 특성을 분석하는데 한계가 있으며, SCAR는 보다 정확한 분석법으로 자동화나 복합적인 분석에 적합하다고 하였다 (Hernandez et al. 2003). 따라서 방풍 종류의 보다 간편하고 효율적인 감별 마커 개발을 위해 RAPD 분석 후 SCAR 마커로 전환하였을때 석방풍과 갯방풍의 SCAR 마커를 찾을수 있었고, *Panax* 종과 혼합약재 구별의 실제적용에도 SCAR 마커가 이용된 바와 같이 (Wang et al. 2001) 본 연구에서의 마커를 이용하여 진품과 시판되는 한약재의 진위여부에 RAPD를 이용한 SCAR 마커를 이용하면 보다 효율적으로 방풍류 약재감별에 이용될 수 있을것이다.

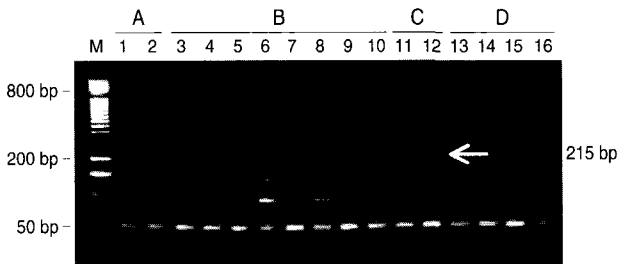


Figure 4. PCR amplification of Bang-Poong and related species using the primer designed from the fragment 5. A, *S. divaricata* (TURCZ.) SCHISKIN; B, *P. japonicum* THUNBERG; C, *P. terebinthaceum* FISHER; D, *Glehnia littoralis* Fr. SCHMIDT. M, 50 bp DNA ladder. Arrow indicates SCAR marker. The information on the materials is indicated in Table 1.

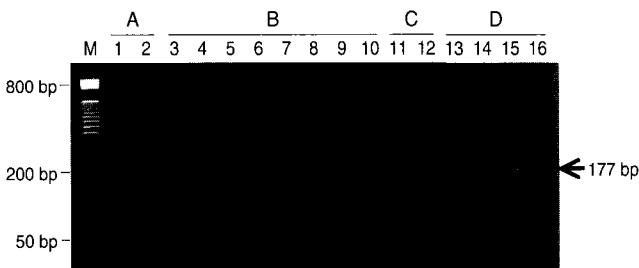


Figure 5. PCR amplification of Bang-poong and related species using the primer designed from the fragment 7. A, *S. divaricata* (TURCZ.) SCHISKIN; B, *P. japonicum* THUNBERG; C, *P. terebinthaceum* FISHER; D, *Glehnia littoralis* Fr. SCHMIDT. M, 50 bp DNA ladder. Arrow indicates SCAR marker. The information on the materials is indicated in Table 1.

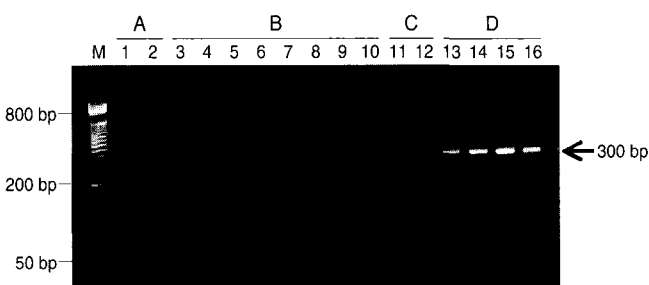


Figure 6. PCR amplification of Bang-Poong and related species using the primer designed from the fragment 8. A, *S. divaricata* (TURCZ.) SCHISKIN; B, *P. japonicum* THUNBERG; C, *P. terebinthaceum* FISHER; D, *Glehnia littoralis* Fr. SCHMIDT. M, 50 bp DNA Ladder. Arrow indicates SCAR marker. The information on the materials is indicated in Table 1.

적 요

한약재로 사용되는 방풍류는 절단되어 유통되므로 외부 형태적인 특징만으로 구분하기가 어려워 방풍류로 사용되는 방풍, 식방풍, 석방풍, 갯방풍 등 4종에 대해 PCR에 기초한 RAPD 마커를 이용하여 SCAR 마커를 개발하고자 하였다. RAPD 분석결과 밴드의 패턴은 다양하게 나타났으며 다형성의 밴드 수는 총 215개로 전체 밴드수의 98%였다. RAPD 분석에서 각 방풍류를 구별 할 수 있는 특이적인 밴드를 나타내는 primer는 방풍에서 4개의 primer, 식방풍은 6개의 primer, 석방풍은 4개의 primer, 갯방풍은 6개의 primer를 선발하였고, 그 중 특히 primer 425는 4종의 방풍류의 감별에 유용하였고, 이를 이용하여 SCAR 마커로 전환하는데 이용하였다. 특이적인 단편을 클로닝하여 염기서열 분석으로 특이 primer를 제작하고 제작된 primer로 방풍류 시료 16개에 적용하였을 때, 국내의 야생에서 주로 자생하는 석방풍은 215 bp, 그리고 국내에서 가장 많이 재배 또는 생산되는 갯방풍은 177 bp와 300 bp에서 뚜렷하게 나타났다. 따라서 갯방풍과 석방풍의 감별 가능성을 제시할 수 있으며 개발된 SCAR 마커를 이용하여 시중에 유통되고 있는 방풍류 건조약재의 감별에 유용한 마커로 활용될 수 있을 것이다.

인용문헌

- Ardiel GS, Grewal TS, Deberdt P, Rossnagel BG, Scoles GJ (2002) Inheritance of resistance to covered smut in barely and development of a tightly linked SCAR marker. *Theor Appl Genet* 104: 457-464
- Amedo AM, Gil-Ortega R, Luis AM, Hormaza J (2002) Development

- of RAPD and SCAR markers linked to the Pvr4 locus for resistance to PVY in pepper (*Capsicum annum* L.). *Theor Appl Genet* 105: 1067-1074
- Bulat SA, Lübeck M, Alekhina IA, Jensen DF, Knudser IM, Lübeck PS (2000) Identification of a universally primed-PCR-derived sequence-characterized amplified region marker for an antagonistic strain of *Clonostachys rosea* and development of a strain-specific PCR detection assay. *Appl Environ Microbiol* 66: 4758-4763
- Choi HY, Lee SI, Suh YB (1997) PCR-mediated RFLP to identify "Bangpoong", a crude drug. *Kor J Pharmacogn* 28: 1-8
- Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19: 11-15
- Hernandez P, Dorado G, Ramirez MC, Laurie DA, Snape JW, Martin A (2003) Development of cost-effective *Hordeum chilense* DNA markers: molecular aids for marker-assisted cereal breeding. *Hereditas* 138: 54-8
- Korea Food and Drug Administration (2002a) The Korean pharmacopoeia 8th edition. pp 1309; pp 1560
- Korea Food and Drug Administration (2002b) The Korean herbal pharmacopoeia. pp 247
- Lee WC (1996) Coloured standard illustrations of Korean plants. Academy Co Ltd. pp 257-260
- Ministry of Health and Welfare, Japan (1996) The Japanese pharmacopoeia 13th ed. D-980
- Naqvi N, Chattoo BB (1996) Development of a sequence characterized amplified region (SCAR) based indirect selection method for a dominant blast-resistance gene in rice. *Genome* 39: 26-30
- Negi MS, Devic M, Delseny M, Lakshmikumaran M (2000) Identification of AFLP fragments linked to seed coat colour in *Brassica juncea* and conversion to a SCAR marker for rapid selection. *Theor Appl Genet* 101: 146-152
- Okuyama E, Hasegawa T, Matsushita T, Fujimoto H, Ishibashi M, Yamazaki M (2001) Analgesic components of *Saposhnikovia* root (*Saposhnikovia divaricata*). *Chem Pharm Bull* 49: 154-60
- Paran I, Michelmore RW (1993) Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theor Appl Genet* 85: 985-993
- Pharmacopoeia Commission of the Ministry of Public Health, P. R. China (1995 edition) A coloured atlas of the Chinese materia medica specified in pharmacopoeia of the People's Republic of China. Guangdong Science and Technology Press. pp 190-123
- Randig O, Bongiovanni M, Cameiro RM, Castagnone-Sereno P (2002) Genetic diversity of root-knot nematodes from Brazil and development of SCAR markers specific for the coffee-damaging species. *Genome* 45: 862-870
- Ryu DS, Yook CS (1972) Coumarin components in the root of *Peucedanum terebinthaceum*. *Kor J Pharmacogn* 3: 215-216
- Wang J, Ha WY, Ngan FN, But PP, Shaw PC (2001) Application of sequence characterized amplified region (SCAR) analysis to authenticate *Panax* species and their adulterants. *Planta Med* 67: 781-783
- Williams JG, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV (1990) DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res* 18: 6531-6535
- Yuan Z, Tezuka Y, Fan W, Kadota S, Li X (2002) Constituents of the underground parts of *Glehnia littoralis*. *Chem Pharm Bull* 50: 73-77

(접수일자 2003년 9월 2일, 수리일자 2003년 12월 18일)