

川芎類 한약재의 유전자 감식 연구

최호영[#] 김동욱, 김동은, 서영배¹, 함인혜^{*}

경희대학교 한의과대학, ¹서울대학교 약학대학 천연물과학연구소

The Relative Identification of *C. officinale* and *L. chuanxiong* by PCR-Mediated Fingerprinting

Hoyoung Choi[#], Dong-Wook Kim, Dong-Eun Kim ¹Youngbae Suh, Inhye Ham^{*}

College of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

¹NPRI, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

ABSTRACT

Objectives : Our research purpose is to establish the standard identification analysis on *C. officinale* and *L. chuanxiong* in Korea and China by PCR-mediated fingerprinting.

Methods : The Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) and Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) method was used on Internal Transcribed Spacer (ITS) regions and *rbcl* regions to compare and discriminate genes extracted from crude drugs as *C. officinale* and *L. chuanxiong* in Korea and China.

Results : *L. chuanxiong* Korea and China have very similar polymorphism, whereas *L. chuanxiong* in Korea and *C. officinale* have very different polymorphism in RFLP. And restriction enzymes *AluI* and *SacI* forms the specific fragment band only in *C. officinale*, they can be used as RFLP marker on ITS regions to discriminate among the species.

Conclusions : The results could be applied in discriminating crude drugs among *C. officinale* and *L. chuanxiong* in Korea and China. Also they could be used in controlling drug quality, preserving medicinal plants, and improving plant description.

* 교신저자 : 함인혜. 경희대학교 한의과대학 본초학교실. 02-961-0983, Fax : 02-965-9372, E-mail : iham@khu.ac.kr

제1저자 : 최호영. 경희대학교 한의과대학 본초학교실. 02-961-9372, Fax : 02-965-9372, E-mail : hychoi@khu.ac.kr

· 접수 : 2005년 10월 26일 · 수정 : 2005년 12월 16일 · 채택 : 2005년 12월 20일

서론

川芎은 미나리과(繖形科) *Umbelliferae*에 속한 多年生 草本인 천궁 *Cnidium officinale* MAKINO의 根莖을 乾燥한 것¹⁾으로, 그 基源은 나라마다 조금씩 다른데 大韓藥典²⁾에서는 천궁 *C. officinale* MAKINO, 中國人民共和國藥典³⁾에서는 川芎 *Ligusticum chuanxiong* HORTURUM, 日本藥局方에서는 천궁 *C. officinale* MAKINO를 基源으로 하고 있다. 일반적으로는 천궁 *C. officinale* MAKINO에서 유래한 일천궁과 천궁 *L. chuanxiong* HORTURUM에서 유래한 토천궁과 그리고 川芎 *L. chuanxiong* HORTURUM에서 유래한 중국천궁으로 구분하고 있다.^{5,14)}

『神農本草經』上品에 川芎에 관하여 “芎藭 味辛溫 主中風入腦頭痛, 寒痺, 筋攣緩急, 金瘡, 婦人血閉無子, 生川谷”이라는 최초 記錄이 있고, 『本草綱目』에 “蜀(四川省)에서 생산되는 것을 川芎”이라고 하였고, 『湯液本草』에 이르러서 ‘川芎’이라는 이름이 記載되기 시작되었다. 川芎은 性味는 辛溫하고 歸經은 肝, 膽, 心包經으로 入하여 活血祛瘀, 行氣開鬱, 祛風止痛, 消腫排膿의 效능이 있어, 風寒頭痛, 風濕痺痛, 產後血暈, 產後腹痛, 血瘀經閉, 癰腫, 打撲腫痛, 月經不調, 經閉通經 등에 응용한다.

川芎은 2001년 7월 1일부터 개정 시행된 ‘한약재 수급 및 유통관리 규정’의 21종 품목 중 하나로서, 국내에서 상당량이 재배 또는 채취되거나 국내 생산량이 소요량을 초과하는 것을 대상으로 하여 국내 재배 및 생산을 제고하기 위해 정부에서 수급 조절 및 유통 규제를 하고 있다. 현재 市中에는 日川芎과 土川芎 유통되고 있으며, 中國川芎은 수입 규제 대상 한약재로서 현재 식품으로 수입되고 있다.

日川芎이 土川芎에 비해 재배가 용이하여 유통량이 많아 가격이 저렴하며, 精油 성분이 적어 去油의 필요성과 부작용이 덜하다는 이유로 臨床에서 多用하고 있는 실정이며, 朴 등은 抗酸化作用과 血管弛緩作用의 比較 實驗을 통해 土川芎에 대한 日川芎의 代用 가능성을 보고하기도 했다.^{13,14)}

지금까지의 한약재 감별 방법은 크게 두가지 방법에 의존하고 있다고 볼 수 있는데, 하나는 한약재 내 외부의 形態學의 特徵에 대한 육안적, 현미경적 分析과 또 하나는 理化學의 成分 分析이라 할 수 있다. 물론 위의 두 방식도 한약재의 감별에 중요한 기준이 되겠으나 재현성이나 객관성에 있어서 다소 부족한 면이 있어왔다. 현재 국내에서 사용되고 있는 川芎類

韓藥材의 基源植物에 대한 객관적인 감별 기준이 모호하고, 種에 따른 정확한 효능 검증과 객관적인 감별법이 확립되지 않은 상태에서 混用되고 있어서 川芎 연구에 관한 種別 比較 및 鑑別에 대한 유전적 研究의 필요성이 제기되었다. 최근에는 분자생물학의 급속한 발전으로 식물체의 genomic DNA 분석을 이용해 품종판별, 품종변이, 식물계통분류 등에 널리 응용하고 있으며, Random Amplified Polymorphic DNA(RAPD), Restriction Fragment Length Polymorphism(RFLP) 분석을 통해, 기존의 방법보다 어떤 면에서는 더욱 객관적인 한약재 감별의 한 방편으로 시도되고 있다. 식물분류학의 목적으로는 흔히 rbcL이나 핵 ribosomal DNA 분석이 주로 이루어지고 있으며, 종 수준에서의 유연관계는 핵 ribosomal DNA중 Internal Transcribed Spacer(ITS) 구간이 매우 유용하다고 한다.^{3,10,11)}

유전자 분석에 의한 한약재 감별에 관한 연구로서, 崔는 이미 건조된 미량의 한약재에서 유전자 분석의 가능성⁷⁾을 제시했으며, 防風類 한약재¹¹⁾, 人蔘類 한약재,¹²⁾ 當歸類 한약재³⁾, 鹿茸類 한약재⁹⁾에 대해 RAPD 및 RFLP 분석을 통해 유전자적 감별방법의 유의성과 타당성을 보고하기도 했고,^{7,11)} 중국에서도 녹용, 산약, 인삼, 삼칠근 등 주요 한약재에 대하여 DNA Sequencing을 기초로 한 한약재 감정에 관한 연구가 진행되어 오고 있다. Zhang 등 은 RAPD와 RFLP가 밀접한 근연관계의 종(species)을 감별하는데 매우 효과적인 방법이라고 연구했고, 한편 Atienzar 등 은 DNA 손상 및 변이의 감정에 대한 RAPD assay의 한계성과 잠재성을 보고했으며, 최근 보건복지부의 한방 치료기술연구개발사업의 일환으로 산형과 Apiaceae 근경류 한약재를 대상으로 유전자 감별연구를 하여 매우 유의성 있는 결과를 얻기도 하였다.

그러므로 본 연구에서 저자는 한약재로 사용되는 각 種別 川芎에 대하여 유전자의 차이를 나타내는 DNA fingerprinting을 통해 유전자 감별법을 제시하고자, ITS 부위 및 rbcL 부위의 RFLP 분석과 RAPD 분석을 이용하여 유의한 결과를 확인하였기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

원식물은 국내에서 재배되는 천궁 *L. chuanxiong*

과 일천궁 *C. officinale* 및 중국에서 재배되는 川芎 *L. chuanxiong*을 동정한 후 사용하였다. 한약재는 현재 우리나라와 중국에서 川芎으로 유통되고 있는 것을 구입하였다. 모든 시료는 표본으로 제작하여 보관하였다(Table I).

Table I. Plant Materials used for DNA Analysis.

Origin	Sample	Locality	Date
plant	<i>L. chuanxiong</i> (LCK1)	Korea : Bongwha	Jun. 2002
-	- (LCK2)	Korea : Bongwha	Jun. 2005
-	- (LCK3)	Korea : Tabaek	Sep. 2005
-	- (LCC1)	China : Anguo	Nov. 2002
-	- (LCC2)	China : Kunming	Aug. 2005
-	- (LCC3)	China : Chengdu	Jul. 2005
-	<i>C. officinale</i> (CO1)	Korea : Bongwha	Jun. 2002
-	- (CO2)	Korea : Bongwha	Jun. 2005
-	- (CO3)	Korea : Bongwha	Sep. 2005
-	- (CO4)	Korea : Bongwha	Oct. 2002
drug	<i>Cnidii Rhizoma</i> (LCK4)	Korea : Local market	Nov. 2002
-	Chuanxiong <i>Rhizoma</i> (LCC4)	Korea : Local market	Nov. 2002

되도록 첨가하였다. 증폭은 Biometra사의 PCR machine을 사용하여 94℃에서 7분간 전치리를 한 후, 94℃에서 1분 denaturation, 55℃에서 1분 annealing, 72℃에서 1분간 합성으로 이루어지는 온도변이 과정을 모두 30cycles을 반복하였으며, 72℃에서 7분간 최종 합성과정을 시켰다. 증폭된 DNA는 1.0% agarose gel로 전기영동한 다음 ethidium bromide로 염색하여 UV light에서 비교 관찰하였다(Table II).

Table II. Primers for Amplifying and Sequencing

Primer	Sequence
ITS1	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'
ITS2	5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'
ITS3	5'-GCATCGATGAAGAACGCAGC-3'
ITS4	5'-TCCTCCGTTATTGATATGC-3'
rbcl F	5'-ATGTCACCACAAACAGAACTAAAGC-3'
rbcl R	5'-AGCAGCAGCTAATTCAGGACTCCA-3'

2. Genomic DNA 추출 및 정제

원식물과 한약재의 genomic DNA의 추출은 DNeasy plant DNA extraction kit (QIAGEN Co., Germany)를 사용하였다. 먼저 시료를 액체질소를 이용하여 막자사발에서 분쇄하였다. 이를 100mg 취하여 400µl AP1 lysis buffer, 4µl RNase (100mg/ml)와 혼합한 후 65℃에서 약 30분간 incubation 하였다. 여기에 130µl AP2 precipitation buffer를 넣고 ice에서 5분간 incubation하고 QIA shredder sin column으로 precipitates와 cell debris를 제거하였다. 0.5배 AP3 binding buffer와 1배 100% ethanol을 넣고 섞은 후 DNeasy mini spin column을 이용하여 추출된 DNA를 membrane에 binding 시킨 후 500µl buffer AW로 세정 후 50-100µl preheated elution buffer로 추출하였다.

3. PCR amplification

반응액은 10pmol/µl의 한 쌍의 primer를 각각 2µl 씩과 50ng의 genomic DNA용액과 2.5mM의 dNTP Mixture 4µl, 10 × buffer (100mM Tris-HC I(pH 8.3), 2.0mM MgCl₂, 50mM KCl) 5µl, 5unit의 Taq polymerase (Takara Co., Japan)에 증류수를 50µl가

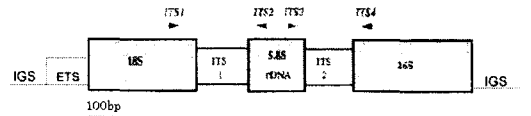


Fig. 1. The location of primers for PCR amplification and sequencing. ETS, external transcribed spacer; ITS 1, internal transcribed spacer 1; ITS 2, internal transcribed spacer 2; IGS, intergenic spacer; 18S, 5.8S, 26S, coding regions of nuclear ribosomal DNA; arrow, the location of each primer.

4. 염기서열 결정 및 정렬

1) 정제

증폭된 PCR 산물은 QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN Co., Germany)를 사용하여 정제하였다. 그 방법은 40µl PCR 산물에 200µl Binding buffer를 첨가하고 잘 섞은 후 spin column을 통과시켜 column membrane에 DNA를 binding 시킨 후 0.75ml washing buffer로 세정 후 Binding buffer를 첨가하고 잘 섞은 후 50µl 10mM Tris-Cl (pH 8.5) buffer로 추출하였다.

2) Cloning

정제된 PCR product를 cloning 하기 위해서 invitrogen사에서 개발된 PCR2.1-TOPO Vector를 사용하였다. 실험 방법은 정제된 PCR product 4µl에 salt solution 1µl, TOPO Vector 1µl를 첨가하고 실

온(20-23°C)에서 30분간 배양하였다. 그 cloning 산물 중 2 μ 를 *E. coli* 균주인 TOP10 competent cells 50 μ 에 넣고 얼음에서 30분간 배양 후 42°C에서 30초간 heat shock을 주고 즉시 얼음에 넣어둔다. 그 배양액에 250 μ l SOC media를 첨가하여 37°C shaking incubator (200rpm)에서 1시간 동안 배양한 후 LB plate (with 100 μ g/ml ampicillin)에 10-20 μ l 정도를 도말 한 후 16시간동안 37°C에서 배양하였다. 배양 후 colony를 확인하고 확인된 colony는 5ml LB media (with 100 μ g/ml ampicillin)에서 16시간 동안 증식시킨 후 QIAGEN Plasmid Purification miniprep kit (QIAGEN Co., Germany)을 이용하여 sequencing 분석에 사용할 plasmid를 정제하였다. 이를 *EcoRI* enzyme (Takara Co., Japan)으로 cutting 해보아 PCR 산물의 vector로의 삽입 여부를 확인하고 확인된 plasmid DNA를 sequencing에 사용하였다.

3) 염기서열 결정

염기서열 결정은 ABI PRISM 377 (PE Biosystems)을 이용하였으며, 각 유전자를 포함한 plasmid DNA를 500ng에 sequencing primer 3.2pmol과 8.0 μ l의 reaction pre-mix를 첨가하고, 최종 부피가 20 μ l가 되도록 증류수를 첨가한 후 DNA thermal cycler 480 (Perkin Elmer, U.S.A.)을 이용하여, 94°C 30초, 50°C 15초, 60°C 4초 동안 총 25cycle을 수행하였다. Automatic sequencing에서 graph noise를 방지하기 위하여 alcohol 침전법을 사용하였다. 그 방법은 반응액에 95% EtOH를 50 μ l 첨가하고 3M NaOAc (pH 4.6)을 2 μ l 첨가하여 얼음 하에서 10초간 배양한 후 12,000RPM에서 30초간 원심분리 한 후 상층액을 제거하고 70% EtOH를 100 μ l 첨가하여 NaOAc를 세척한 후 산물을 실온에서 건조하고 TSRX 용액을 25 μ l 첨가하여 섞은 후 90°C에서 2초 정도 열을 가한 후 얼음에서 식힌 상태에서 autosampler에 옮겨 sequencing을 실시하였다. sequencing이 끝난 후 DNA Sequencing Analysis Software(ver. 3.3)를 이용하여 분석하였다.

5. RAPD 분석

RAPD의 분석은 SRILS Uniprimer Kit (Seoul Bio. Co., Korea)를 이용하였다(Table III). 100ng/ μ l의 uniprimer 2.5 μ l와 50ng의 genomic DNA 1 μ l에 2.5mM dNTP Mixture 4 μ l, 10 \times buffer (100mM Tris-HCl (pH 8.3), 2.0mM MgCl₂, 50mM KCl) 5 μ l,

5 unit의 Taq polymerase (Takara Co., Japan) 0.3 μ l에 증류수를 50 μ l가 되도록 첨가하였다. 증폭은 Biometra사의 PCR machine을 사용하여 94°C에서 1분간 denaturation 시키고, 55°C에서 1분간 annealing 하며, 72°C에서 2분간 extension으로 총 35cycle을 수행하였고, 초기 95°C denaturation은 4분간, 마지막 72°C extension은 7분간 수행하였다.

Table III. Nucleotide Sequence of Primers for RAPD

Primer	Sequence
uniprimer #1	5'-ATCCAAGGTCGAGACAACC-3'
uniprimer #2	5'-CCCAGCAACTGATCGCACAC-3'
uniprimer #3	5'-GTGTGCGATCAGTTGCTGGG-3'
uniprimer #4	5'-AGGACTCGATAACAGGCTCC-3'
uniprimer #5	5'-GGCAAGCTGGTGGGAGGTAC-3'
uniprimer #6	5'-ATGTGTGCGATCAGTTGCTG-3'
uniprimer #7	5'-GGTGAACAGTGAGATGAACC-3'
uniprimer #8	5'-TACATCGCAAGTGACACAGG-3'
uniprimer #9	5'-AATGTGTGGCAAGCTGGTGG-3'
uniprimer #10	5'-GATGTGTTCTTGGAGCCTGT-3'
uniprimer #11	5'-GGACAAGAAGAGGATGTGGA-3'
uniprimer #12	5'-GGTGTAGCCGATATTGTC-3'

실험 결과

1. 川芎類 ITS 부위의 염기서열 분석

천궁 *L. chuanxiong*은 ITS-1 부위의 크기가 215bp, G+C 함량은 57.2%~57.3%이고, ITS-2 부위의 크기는 219bp, G+C 함량은 56.0%~56.2%이며, 5.8S 부위의 크기는 170bp, G+C 함량은 51.5%~52.4%이다. 일천궁 *C. officinale*은 ITS-1 부위의 크기가 215bp, G+C 함량은 56.3%이고, ITS-2 부위의 크기는 218bp~219bp, G+C 함량은 56.6%~56.9%이며, 5.8S 부위의 크기 170bp, G+C 함량은 52.3%~52.4%이다. 중국 川芎 *L. chuanxiong*은 ITS-1 부위의 크기가 215bp, G+C 함량은 56.7%~57.0%이고, ITS-2 부위의 크기 219bp, G+C 함량은 56.2%~57.3%이며, 5.8S 부위의 크기 170bp, G+C 함량은 52.3%~52.4%이다. ITS-1, ITS-2, 5.8S 부위의 길이는 川芎類 모두 비슷하게 나타났다.(Fig. 2, Table IV).

Table IV. Size and Base Composition of ITS gene

	ITS-1		ITS-2		5.8S	
	Length (bp)	G+C(%)	Length (bp)	G+C(%)	Length (bp)	G+C(%)
LCK1	215	57.2	219	56.2	170	52.4
LCK2	215	57.2	219	56.0	170	51.5
LCK3	215	57.3	219	56.2	170	51.5
LCC1	215	56.7	219	56.2	170	52.4
LCC2	215	56.8	219	57.1	170	52.4
LCC3	215	57.0	219	57.4	170	52.4
CO1	215	56.3	219	56.9	170	52.4
CO2	215	56.3	218	56.6	170	52.3
CO3	215	56.3	218	56.6	170	52.3

ITS-1
 CO1 TCGATCTGGGATAGCAGAACGACCTGCTAACAGCTAACACATCGGC [50]
 CO3 [50]
 CO2 [50]
 LCC1 [50]
 LCC2 [50]
 LCK1 [50]
 LCK3 [50]
 LCC3 [50]
 LCK2 [50]

CO1 AAGCATCGGTGGCTTCGGTCCCTTGGTGGCAACCTGGTAGGTGGCC [100]
 CO3 [100]
 CO2 [100]
 LCC1 [100]
 LCC2 [100]
 LCK1 [100]
 LCK3 [100]
 LCC3 [100]
 LCK2 [100]

CO1 CTCCTGGGTGGCACTGGCTGCAAAAACATTTGGGGCGGAAATGGCCCA [150]
 CO3 [150]
 CO2 [150]
 LCC1 [150]
 LCC2 [150]
 LCK1 [150]
 LCK3 [150]
 LCC3 [150]
 LCK2 [150]

CO1 AGGATCTTAAACTGAAATGTACGTCCGCATCTGTGTAGCTGCGAGCGGC [200]
 CO3 [200]
 CO2 [200]
 LCC1 [200]
 LCC2 [200]
 LCK1 [200]
 LCK3 [200]
 LCC3 [200]
 LCK2 [200]

ITS-1 ↔ 5.8S
 CO1 GTCATCCAAACACAGGACTCTCGACAACGATATCTGGCTCTCGCA [250]
 CO3 [250]
 CO2 [250]
 LCC1 [250]

LCC2 [250]
 LCK1 [250]
 LCK3 [250]
 LCC3 [250]
 LCK2 [250]

CO1 TCGATGAGAACTAGCGAAATGCGACTGTGGTGAATTCAGAAATCC [300]
 CO3 [300]
 CO2 [300]
 LCC1 [300]
 LCC2 [300]
 LCK1 [300]
 LCK3 [300]
 LCC3 [300]
 LCK2 [300]

CO1 CGTGAACCATGAGTCTTTGAAGCGAAGTGTGGCCGAGCCATTAGGCT [350]
 CO3 [350]
 CO2 [350]
 LCC1 [350]
 LCC2 [350]
 LCK1 [350]
 LCK3 [350]
 LCC3 [350]
 LCK2 [350]

5.8S ↔ ITS-2
 CO1 GAGGGCACGCTGGCTGGGTGCAAGCATCATCTTTGCCAACAACACAC [400]
 CO3 [400]
 CO2 [400]
 LCC1 [400]
 LCC2 [400]
 LCK1 [400]
 LCK3 [400]
 LCC3 [400]
 LCK2 [400]

CO1 ACTGCTTCAGAGCTGTGGCCGTTTGGGGCGGAAATGGCTCCCGTGGC [450]
 CO3 [450]
 CO2 [450]
 LCC1 [450]
 LCC2 [450]
 LCK1 [450]
 LCK3 [450]
 LCC3 [450]
 LCK2 [450]

CO1 TTGTGTGGGTTGGCGAAAAGCGAGTCTCCGGCGACGGATGTCTGTGAC [500]
 CO3 [499]
 CO2 [499]
 LCC1 [500]
 LCC2 [500]
 LCK1 [500]
 LCK3 [500]
 LCC3 [500]
 LCK2 [500]

CO1 ATCGGTGGTGTAAAGAGCCCTCAGTCTTGTGCAAGCGAATCTGGCTCAT [550]
 CO3 [549]
 CO2 [549]
 LCC1 [550]
 LCC2 [550]
 LCK1 [550]
 LCK3 [550]
 LCC3 [550]
 LCK2 [550]

```

CO1 CTTAGTGTAGCTCTAGGACCCCTAGGGCCACACACTCTGTGTGCGTTCGAT [600]
CO3 ..... [599]
CO2 ..... A ..... [599]
LCC1 ..... A ..... [600]
LCC2 ..... A ..... [600]
LCK1 ..... A ..... [600]
LCK3 ..... A ..... [600]
LCC3 ..... A ..... [600]
LCK2 ..... A ..... [600]

ITS-2 ...
CO1 TGTG [604]
CO3 .... [603]
CO2 .... [603]
LCC1 .... [604]
LCC2 .... [604]
LCK1 .... [604]
LCK3 .... [604]
LCC3 .... [604]
LCK2 .... [604]
    
```

Fig. 2. Comparison of nucleotide sequence of ITS region. Bars(-) indicate gaps required for alignment and dots(·) indicate sequences identical with the first sequences.

Kimura 2-parameter에 의한 NJ tree를 이용한 川芎類에 대한 유연관계의 분석에는 강활(*Ostericum koreanum*)을 외군으로 하였으며, 분석 결과 일천궁군이 단계통군을 형성하고 있는 것으로 나타났다(Fig. 3, Table V).

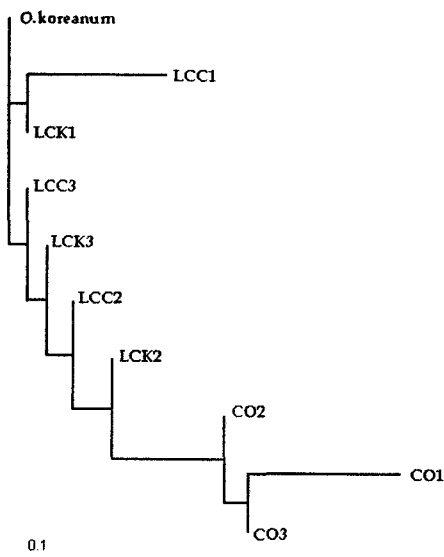


Fig. 3. A phenogram produced on the basis of nucleotide divergence values by NJ tree analysis

Table V. The Representative PHYDIT-Similarity. Analysis Lower-left triangle contains [NT] Similarity (%) and Upper-right triangle contains [NT] Different/Total nucleotides

	LCK1	CO1	LCC1
LCK1	-	108/603	2/604
CO1	82.09	-	108/603
LCC1	99.67	82.09	-

2. 川芎類 ITS 부위의 RFLP 분석

川芎類의 ITS 부위에 대해 RFLP 분석을 하기 위하여 DNA club software를 이용하여 분석한 결과, 총 16종류의 제한효소(*Alu I*, *Alw I*, *Bal I*, *BsaMI*, *Cfo I*, *Cla I*, *EcoRV*, *Fok I*, *HaeIII*, *Hha I*, *HpaII*, *Mbo I*, *Rsa I*, *Sac I*, *Sau3A*, *Taq I*)를 선별할 수 있었다. 대부분의 제한효소 (*Alw I*, *Bal I*, *BsaMI*, *Cfo I*, *Cla I*, *EcoRV*, *Fok I*, *HaeIII*, *Hha I*, *HpaII*, *Mbo I*, *Rsa I*, *Sau3A*, *Taq I*)의 경우 천궁과 일천궁 그리고 중국 川芎이 모두 비슷한 크기의 단편이 생성될 것으로 판단되었다. 그러나, *Alu I*과 *Sac I*의 경우는 일천궁에서 천궁과 중국 川芎과는 다른 크기의 단편이 형성됨을 예상할 수 있었다. 그러므로 *Alu I*과 *Sac I*는 川芎類 한약재 감별을 위한 분자마커로 사용될 수 있을 것으로 생각된다(Table VI).

Table VI. Restriction Enzyme cutting point on ITS region. The unique fragment is underlined.

Enzyme	Recognition Site	LCK1	CO1	LCC1
<i>Alu I</i>	AGCT	442, 588	442, <u>506</u> , 587	442, 588
<i>Alw I</i>	GGATC	22, 182	22, 182	22, 182
<i>Bal I</i>	TGGCCA	139	139	139
<i>BsaMI</i>	GAATGC	171	171	171
<i>Cfo I</i>	GCGC	166, 175, 361, 495, 621	166, 175, 361, 495, 620	166, 175, 361, 495, 621
<i>Cla I</i>	ATCGAT	280	280	280
<i>EcoRV</i>	GATATC	263	263	263
<i>Fok I</i>	GGATG	519	518	519
<i>HaeIII</i>	GGCC	126, 140, 147, 468	126, 140, 147, 468	126, 140, 147, 468
<i>Hha I</i>	GCGC	166, 175, 361, 495, 621	166, 175, 361, 495, 620	166, 175, 361, 495, 621
<i>HpaII</i>	CCGG	449, 511	449, 510	449, 511
<i>Mbo I</i>	GATC	23, 183	23, 183	23, 183
<i>Rsa I</i>	GTAC	200	200	200
<i>Sac I</i>	GAGCTC	587	<u>505</u> , 586	587
<i>Sau3A</i>	GATC	23, 183	23, 183	23, 183
<i>Taq I</i>	TCGA	31, 254, 281, 340, 626	31, 254, 281, 340, 625	31, 254, 281, 340, 626

3. 川芎類 rbcL 부위의 염기서열 분석

土川芎과 日川芎의 rbcL region의 염기서열은 유의성 있는 차이가 없이 거의 동일하였고, 크기는 1238bp, G+C 함량은 44.6%였다(Fig. 4). HaeIII으로 처리하면 114, 424, 700bp fragment를 형성하고, SacII으로 처리하면 118, 415, 705bp fragment를 형성하고, MaeII을 처리하면 139, 194, 350, 555bp fragment를 형성하였다(Fig. 5, Table VII).

4. 川芎類 rbcL 부위의 RFLP 분석

川芎類의 rbcL 부위에 대해 RFLP 분석을 하기 위하여 DNA club software를 이용하여 분석한 결과, 모두 22종류의 제한효소 (*Acc65 I*, *Alu I*, *Bql II*, *BsaMI*, *BssHII*, *Cfo I*, *EcoRV*, *Fok I*, *HaeIII*, *Hha I*, *HpaII*, *Kpn I*, *Mbo I*, *Nde I*, *Nsi I*, *Rsa I*, *SacII*, *Sau3A*, *SnaBI*, *Sph I*, *Taq I*, *Xba I*)을 선발할 수 있었다. 그러나, 각각의 제한효소는 川芎類 한약재에 대하여 거의 유사한 크기의 단편이 생성될 것으로 예상되었다(Table VII).

```

OO1  TAAAGATTAC AAATTGACTT ATATACTCC TGACTATGAA ACCAAGATA
LCK1  .....

OO1  CTGATATCTT GCACGCAITC CGAGTAACTC CTCACCTGGS AGTTCACCT
LCK1  .....

OO1  GAGAGAGCGS GGGCCGCGST AGCTGCGSAA TCTTCTACTG GTACATGAGC
LCK1  .....

OO1  CACTGTGTGG ACCGATGAGC TTACAGCCTT TGATGCTTAC AAAGGGGCGT
LCK1  .....

OO1  GCTACGGAAAT CGAGCCGCGT GCTGGAGAGG AAAATCAATA TATGCTTTAT
LCK1  .....

OO1  GTAGCTTAC CATTAGCCTT TTTTGAAGAA GGTTCCTGTA CTAACTGTT
LCK1  .....

OO1  TACTTCGATT GTAGTAATG TATTGGGTT CAAGCCCTG CCGCTCTAC
LCK1  .....

OO1  GTCTGGAGAA TCTGGGAATC CCGCTTCTT ATGTTAAAC TTTCCAGGA
LCK1  .....

OO1  CCGCCCTATG GCATCCAATG TGAGAGAGAT AAATTGAMCA AATATGCTG
LCK1  .....

OO1  TCCCCTGTTG GGATGTACTA TTAACCTAA AITGGGGTTA TCCCTAAGA
LCK1  .....

OO1  ACTAGGTAG AGCGGTTTAT GAATGTCTCC GCGGTGGACT TGATTTTACC
LCK1  .....

OO1  AAAGAGSHTG AGAATGTGAA CTCGCCACCA TTTATGCGTT GGAGAGATG
LCK1  .....
    
```

```

OO1  TTTCITATTT TTGTGGGANG CAATTITATA AGCACAGGCT GAAACTGGTG
LCK1  .....

OO1  AAATCAANGS GCATTACTTG AATGCTACTG CCGGTACATG TGAGAAATG
LCK1  .....

OO1  ATGAAANGGS CTATATTTCG CAGAGAATTG GGAGTTCCTA TGSTATGCA
LCK1  .....

OO1  TGATTACTTA ACAGGGGGAT TCACTGCAAA TACTAGCTTA GGCATTIATT
LCK1  .....

OO1  GCGGAGATAA TGCGCTACTT CTTCACATCC ACCCGGAAAT GATGCASTT
LCK1  .....

OO1  ATTGTAGAC AGAAGAATCA TGSTATACAC TTCGGTGTAC TACGTAAGC
LCK1  .....

OO1  GTTACGTATG TCTGGTGAG ATCATATTTA CTCGGTATCC GTAGTAGSTA
LCK1  .....

OO1  AACTTGAGG GSAAGAGAC ATCACTCTG GCTTTGTGSA TTTACTGOST
LCK1  .....

OO1  GATGATTTCA TTGAANAAGA TCGAGTCCG GGTATTIATT TCACCAAGA
LCK1  .....

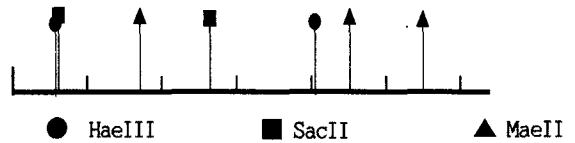
OO1  TTGGTCTCT CTACAGGTTG TTTACCGST TGCTTGGGG GATATTCAG
LCK1  .....

OO1  TTTGGCATAT GCGTCTCTG ACAGAGTCTT TTGGGATGA TTCGTACTA
LCK1  .....

OO1  CAGTTCGTTG GAGGAATTT AGGACACCTT TGGGAATG CACCGGCTC
LCK1  .....

OO1  TGTACTAAT CGAGTAGCTC TAGAAGCATG TGTACAG
LCK1  .....
    
```

Fig. 4. Comparison of nucleotide sequence of rbcL region. Bars(+) indicate gaps required for alignment and dots(.) indicate sequences identical with the first sequences.



(HaeIII-114, 814, SacII-118,533, MaeII-350,905,1099)

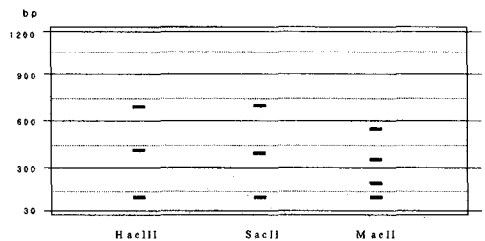


Fig. 5. Restriction site map of rbcL coding region of Chloroplast DNA from *L. chuanxiang* (Korea).

Table VII. Restriction Enzyme cutting point on Chloroplast *rbcl* region

Enzyme	Recognition Site	LCK1	COI
Acc65 I	GGT/ACC	935	935
Alu I	AG/CT	121, 253, 785, 892, 1204, 1216	121, 253, 785, 892, 1204, 1216
BclII	AGA/TCT	358, 1125	358, 1125
BsaM I	G/AATGC	670	670
BssHIII	G/CGCGC	340	340
Cfo I	GC/GC	196, 340, 342, 834	196, 340, 342, 834
EcoRV	GAT/ATC	53	53
Fok I	GGATGNN/	461, 1135	461, 1135
HaeIII	GG/CC	112, 812	112, 812
Hha I	GCG/C	196, 340, 342, 834	196, 340, 342, 834
HpaII	CC/GG	933, 1194	933, 1194
Kpn I	GGTAC/C	935	935
Mbo I	/GATC	182, 359, 596, 920, 1019, 1126	182, 359, 596, 920, 1019, 1126
Nde I	CA/TATG	1106	1106
Nsi I	A/TGCAT	746, 839	746, 839
Rsa I	GT/AC	141, 465, 684, 887, 936, 1145, 1232	141, 465, 684, 887, 936, 1145, 1232
SacII	C/CGCGG	114, 529	114, 529
Sau3A	/GATC	182, 359, 596, 920, 1019, 1126	182, 359, 596, 920, 1019, 1126
SnaB I	TAC/GTA	903	903
Sph I	GCATG/C	841	841
Taq I	T/CGA	210, 987, 1021, 1210	210, 987, 1021, 1210
Xba I	T/CTAGA	1219	1219

Table VIII. RAPD makers to identify *L. chuanxiong* using the uniprimer

uniprimer No.											
#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	#11	#12
500	1380	394	1230	867	700	454	937	1550	867	1031	
300	850	265	757	656	415	365	667	1230			
	415	217	611	555	353	287	518	800			
	291		527	400	278	257	365	492			
			382	261	222		213	388			
				196				248			
				139							

2) 일천공의 RAPD 분석 결과

모두 12개의 uniprimer를 사용하였으며, 그 중 11개 primer에서 각각 2개에서 6개까지 모두 40개, 평균 3.3±1.4의 polymorphic band가 나타났다(Fig. 7, Table IX).

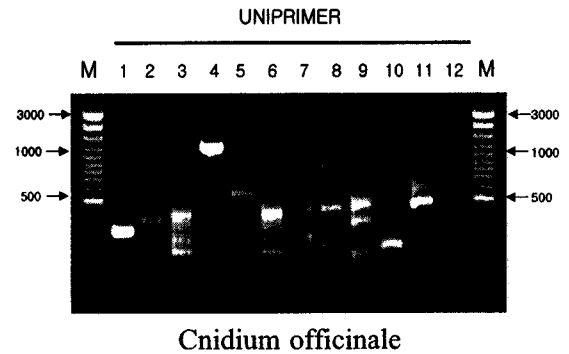


Fig. 7. RAPD patterns obtained with uniprimers #1-12. See Table III for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder.

Table IX. RAPD makers to identify *C. officinale* using the uniprimer.

uniprimer No.											
#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	#11	#12
492	1600	388	1230	1290	700	431	867	900	400	867	
306	365	268	937	689	400	277	438	714	245	600	
		214	622	555	277		282	472		485	
		173	400	353	214		255	359		359	
				200				300		268	
								209			

4. 川芎類의 RAPD 분석

1) 천공의 RAPD 분석 결과

모두 12개의 uniprimer를 사용하였다. 그 중 11개 primer에서 각각 1개에서 7개까지 모두 43개, 평균 4.1±1.3개의 polymorphic band가 나타났다(Fig 6, Table VIII).

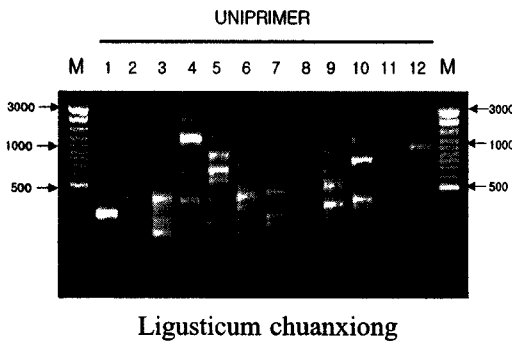


Fig. 6. RAPD patterns obtained with uniprimers #1-12. See Table III for abbreviation and M stands for standard molecular size marker, 100 base pair ladder.

천공과 일천공의 RAPD 결과를 비교했을 때, 특히 Uniprimer #8, #10, #11의 경우가 서로 다른 유형의 밴드 양상을 나타낸 것을 제외하면, 대부분의 Uniprimer에서 유사한 밴드 양상을 형성했다. Uniprimer #1의 약 300bp와 Uniprimer #4의 약 1,230bp에서는 川芎類의 공통적인 특이 밴드가 나타났다(Fig 6, Fig 7, Table VIII, Table IX).

고찰

川芎은 미나리과(繖形科) Umbelliferae에 속한 多年生 草本인 천궁 *Cnidium officinale* MAKINO의 根莖을 乾燥한 것¹⁾으로, 그 基源은 나라마다 조금씩 다른데 大韓藥典²⁾에서는 천궁 *C. officinale* MAKINO, 中國人民共和國藥典에서는 川芎 *Ligusticum chuanxiong* HORTTRUM, 日本藥局方에서는 천궁 *C. officinale* MAKINO를 基源으로 하고 있다. 일반적으로는 천궁 *C. officinale* MAKINO에서 유래한 일천궁과 천궁 *L. chuanxiong* HORTTRUM에서 유래한 토천궁과 그리고 川芎 *L. chuanxiong* HORTTRUM에서 유래한 중국천궁으로 구분하고 있다.^{5,14)}

文獻의으로 살펴보면 川芎은 鞠芎「春秋左氏傳」, 芎藭「神農本草經」, 香果「吳普本草」, 胡芎「名醫別錄」, 雀腦芎, 京芎「本草圖經」, 撫芎「丹溪心法」 등 다양한 이름으로 불리우다 「湯液本草」에 이르러서 비로소 川芎이라 칭하게 되었다. 「本草綱目」에 보면 “芎은 본래 芎이다. 或者는 말하기를 사람의 머리가 穹窿하고 窮高해서 天의 象과 닮았는데 川芎은 기운이 머리쪽으로 작용하여 頭腦의 諸疾患을 치료하기 때문에 芎藭이라 칭하게 되었다.”하고, “胡戍産이 품질이 좋아 胡芎이라 하였고, 모양이 雀腦와 같아 雀腦芎이라 칭하고, 關中産은 京芎이라고 칭하고, 西芎이라고도 하며, 蜀中産은 川芎, 天台産은 台芎, 江南産은 撫芎이라 하는데, 四川産이 품질이 양호하여 원명 芎藭에 ‘川’字를 붙여 川芎이라 칭하게 되었다고 한다.

日川芎이 土川芎에 비해 抗酸化活性이 더욱 강하게 나타나고 血管弛緩作用이 더 효과적인 면이 있어 日川芎을 土川芎 代用으로 사용 가능하다고 하였다.^{22,23)} 실제 임상에서 土川芎과 日川芎을 구별하여 응용해야 함에도 불구하고 臨床醫들은 가격과 부작용 면에서 日川芎이 값이 싸고 부작용이 적으며, 반면에 土川芎은 부작용이 있어 修治를 해야하는 번거로움이 있기 때문에 日川芎을 더 많이 쓰고 있고, 재배 생산에 따른 경제성에서 보면 土川芎이 日川芎에 비해 재배가 어려워 단위면적당 수확량이 적기 때문에 土川芎이 日川芎보다 수익성이 떨어져 농민들도 土川芎의 재배를 기피하고 있는 실정이다.^{5,6,8,13)}

川芎에 대한 다양한 연구가 행해지고 있지만 실제로 이들에 대한 種別 比較 및 鑑別에 대한 研究는 그리 많다고 볼 수 없고, 현재 국내에서 사용되고 있는 川芎類 韓藥材의 基源植物에 대한 객관적인 감별 기준도 모호한 경우가 있다. 이처럼 川芎이 種에 따른 정확한 효능의 검증과 객관적인 감별법이 확립되지

않은 상태에서 混用되고 있으므로 무엇보다 사용되고 있는 한약재의 原植物 규명 및 정확한 감별법의 체계 정립이 요구된다.

따라서 본 논문에서는 川芎類 한약재의 품질 및 유통관리를 위하여 유전자 분석의 방법으로 감별기준에 대해 연구를 진행하였다.

土川芎, 日川芎 및 中國川芎의 ITS 및 rbcL 부위의 RFLP 분석과 RAPD 분석방법을 이용하여, 川芎類 한약재의 감별기준을 확인하고자 하였다.

川芎類 ITS region의 염기서열을 분석한 결과, 土川芎은 ITS-1 region의 size가 215bp, G+C 함량은 57.2%~57.3%이고, ITS-2 region의 size는 219bp, G+C 함량은 56.0%~56.2%이며, 5.8S region의 size는 170bp, G+C 함량은 51.5%~52.4%이다. 日川芎은 ITS-1 region의 size가 215bp, G+C 함량은 56.3%이고, ITS-2 region의 size는 218bp~219bp, G+C 함량은 56.6%~56.9%이며, 5.8S region의 size 170bp, G+C 함량은 52.3%~52.4%이다. 中國川芎은 ITS-1 region의 size가 215bp, G+C 함량은 56.7%~57.0%이고, ITS-2 region의 size 219bp, G+C 함량은 56.2%~57.4%이며, 5.8S region의 size 170bp, G+C 함량은 52.3%~52.4%로 나타났다.

ITS-1, ITS-2, 5.8S region의 길이는 세 가지 川芎類 모두 거의 비슷하나, ITS-2에서 土川芎과 中國川芎은 모두 219bp로 같은 것에 비해 日川芎 중 CO2와 CO3는 218bp로 약간 작게 나타났다(Fig. 2, Table IV).

그리고 Kimura 2-parameter에 의한 NJ tree를 작성하여 분석한 결과, 土川芎과 中國川芎은 모두 0.00166 정도의 유사한 유전적 거리를 나타낸 반면에 日川芎은 0.20299 정도의 유전적 거리로 土川芎과 中國川芎에 비해 많은 차이를 나타내었으며(Fig. 3), 川芎類의 상호 유사도 분석에서도 土川芎과 中國川芎은 99.67%로 서로 매우 유사하다는 결과가 나왔고, 土川芎과 日川芎은 82.09%로 상대적으로 낮은 유사도를 나타냈다(Table V). 또한 제한효소 Alu I 과 Sac I의 경우는 日川芎에서 土川芎과 中國川芎에 비해 서로 다른 수와 크기의 단편이 형성됨으로써 ITS 부위의 RFLP marker로서 사용되어 川芎類의 감별에 응용될 수 있음을 확인했다(Table VI).

위의 川芎類 ITS 부위에 관한 실험결과들을 보면, 土川芎과 中國川芎은 매우 유사하고 상호변이가 적은 종이고, 이에 비해서 日川芎은 다소 이들과는 다른, 유연관계가 먼 종이라는 것을 확인할 수 있다. 물론 川芎類 rbcL 부위에 관한 염기서열과 RFLP 분석에

서는 유의한 차이를 감별해낼 수는 없었으나, RAPD 분석에서 土川芎과 日川芎의 RAPD 결과를 비교했을 때, 특히 Uniprimer #8, #10, #11의 경우가 서로 다른 유형의 밴드 양상을 나타냈고, Uniprimer #1의 300bp와 Uniprimer #4의 1230bp에서는 川芎類의 특이 밴드가 나타남으로써 川芎類의 상호감별을 위한 기준이 될 수 있을 뿐 아니라 川芎類의 공통적인 특이성 또한 다른 유사 한약재(예. 藁本)와의 구별에 중요한 지표가 될 수 있음을 확인했다(Fig 6, Fig 7, Table VIII, Table IX).

따라서 국내 유통량이 많은 日川芎과 土川芎은 기존의 형태학적, 성분학적 분석에서도 일정 부분 相異하다는 보고를 했듯이, 이번 연구 결과에서도 미루어 볼 때, 학명도 다르듯이 유전학적으로도 거리가 있는 종이므로 확실히 감별 분류되어 유통되어야 함이 마땅하다.

현재 한의학에 있어 한방치료제의 현대화, 객관화 및 편리화는 필수적 과제라 할 수 있으며 국민보건에 효율적인 치료의학으로서 기여할 수 있어야 한다. 최근 보건복지부는 한약재의 규격화, 표준화를 위한 연구를 진행시키고 있고 또한 한약재의 유통관리규정을 정하여 규격한약재를 유통시키고 있으며 그 범위를 확대 실시할 계획이다. 따라서 상용 한약재의 감별을 비롯한 품질관리의 중요성이 더욱 커지고 있다.

지금까지의 한약재 감별 방법은 크게 두가지 방법에 의존하고 있다고 볼 수 있는데, 하나는 관능검사로서 한약재 내의부의 形態學의 特徵에 대한 육안적, 현미경적 분석과 또 하나는 理化學的 成分 분석이라 할 수 있다. 위의 두 가지 방법은 각각 장단점이 있는데, 우선 형태학적 분석은 간편하고 직관적으로 감별할 수 있으나 수렴진화, 중요부분 결손, 작은 종자류 한약재의 절편 곤란과 형태 유사 등 식물체가 나타내는 형태학적 변이 및 약재의 가공 과정 중에 생기는 변형과 왜곡은 가끔 한약재 감별의 장애요인이 되고, 특히 한약재로 사용되는 부위인 식물체의 건조된 일부 부위를 비교하여 種을 감별한다는 것은 매우 어려운 면이 많다. 또 다른 방법인 이화학적 방법은 품종과 품질을 감정할 수 있고 감별의 근거를 수량화할 수 있으나 그 분석 대상이 되는 주요성분 및 이차 대사산물이 식물체의 성장환경에 따른 차이를 나타내고 유전 관계가 가까운 한약재는 함유성분이 유사하게 나오기도 하므로 재현성이나 객관성에 있어서 다소 부족한 면이 있다.

즉, 일차적 품질평가를 위해서는 형태학적인 관능검사를 하고, 품질의 우열을 평가하려면 이화학적인

분석이 요구되나, 한약재의 진위여부를 감별하기 위해서는 유전자 감별에 의한 방법이 매우 변별력이 있다.

최근에 분자생물학의 급속한 발전으로 식물체의 genomic DNA 분석을 이용해 품종판별, 품종변이, 식물계통분류 등에 널리 응용하고 있으며, 또한 Polymerase Chain Reaction(PCR)의 개발로 시험관 내에서 임의의 DNA 구간을 증폭할 수 있게 됨에 따라 극미량의 DNA로부터도 특정구간의 염기서열 결정(Sequencing)을 가능케 함으로써, 이를 이용한 RAPD, RFLP 분석을 통해 보다 객관적인 한약재 감별의 한 방편으로 응용하고 있다.

본 연구에서 특히 관심을 두고 있는 유전자는 주로 핵에 존재하는 유전자들이다. rRNA는 리보솜 DNA를 코딩하는 유전자이며, 식물 중에서 반복되어 연속으로 배열되어 있기 때문에 진화속도가 일정하지 않은 코딩부위와 promotor와 전사성 스페이서를 포함하여 비교적 보존된 fragment인 18S, 5S, rRNA를 선택하여 각종 유연관계의 연구에 이용할 수 있다.

ITS는 리보솜 DNA 중의 18S와 26S 유전자 사이에 위치하며, 5.8S 유전자를 포함하여 ITS1과 ITS2로 나누어진다. 진화속도가 빠르며 길이는 700bp 정도이다. 그러므로 대개 종 아래 수준의 유연관계 연구에 사용되며 염색체 유전자가 모계로 유전되는 것과 다르게 핵 유전자는 양쪽 부모로부터 유전되어 진정한 진화과정을 반영하므로 핵 유전자는 한약재 품질감정에 중요한 의의가 있다. 기존의 연구자들이 가장 많이 사용하는 식물체의 과, 종, 속 등의 유연관계를 연구하는 이러한 유전자를 이용하여 대상 한약재의 유전자로부터 각각의 유전자를 증폭하고 염기서열을 분석하여 데이터베이스화하고 sequence들 간의 차이를 이용하여 특정 제한효소를 사용하여 절단된 양상을 비교하여 구별하기 어려운 한약재의 감별하기 위한 목적으로 이용된다.

핵 rDNA(nrDNA)는 수 개 내지 수천 개의 동일한 전사단위들이 계속적으로 반복하면서 intergenic spacer들로 연결되어 있는 형태로 존재하는데 식물체에서는 각 전사단위가 18s, 5.8s, 그리고 26S gene이 차례로 두 개의 internal transcribed spacer(ITS 1&2)로 연결되고, 다시 각각의 단위들은 intergenic spacer(IGS)에 의하여 연결되어 반복적으로 나열되어 있다. 특히 ITS 부위와 같이 빨리 진화하는 DNA 구간은 제한효소를 이용한 RFLP 분석을 통하여 식물종간의 유전적 차이, 한약재의 원식물 규명, 한약재의 감별 등에 사용될 수 있을 것으로 생각된다.³⁾

이런 genomic DNA를 분석하는 방법은 그것이 한

약재 품질의 완전한 지표라고 말할 수는 없겠으나, 식물의 어떤 부위, 심지어는 건조된 미량의 약재라도 동일한 결과가 나오고, 생육환경에 영향을 받지 않는다는 장점을 가지고 있어 앞으로 기반시설만 잘 갖추어진다면 한약재의 품질관리 및 규격화를 위한 중요한 방법이 될 수 있을 것으로 기대된다.

결 론

본 연구에서 土川芎과 日川芎 및 中國川芎의 객관적 감별기준을 확립하고자 각각의 종에 대하여 유전자의 차이를 나타내는 ITS 및 rbcL 부위의 RFLP 분석과 RAPD 분석방법을 이용하여 아래와 같은 유의한 결과를 얻었다.

1. 川芎類 중에서 日川芎만이 ITS-2 길이가 218bp로 비교적 작게 나타났고, G+C 함량도 日川芎이 ITS-1에서 56.3%로 가장 낮게, ITS-2에서 56.9%로 가장 높게 나타났다.
2. 土川芎과 中國川芎은 근연관계이고 日川芎은 원연관계임을 확인했다.
3. 제한효소 Alu I 과 Sac I 의 경우는 日川芎에서만 특이한 단편이 형성되므로 ITS 부위의 RFLP marker로서 사용되어 川芎類의 감별에 응용될 수 있다.
4. 川芎類의 RAPD 분석 결과 Uniprimer #8, #10, #11의 경우가 서로 다른 양상의 밴드를 나타냈고, Uniprimer #1의 300bp와 Uniprimer #4의 1230bp에서는 川芎類의 공통적 특이 밴드가 나타남으로써 감별진단에 중요한 지표가 될 수 있다.

본 실험에서 얻어진 川芎의 유전자 분석결과는 유통되는 川芎類 韓藥材의 감별 및 품질관리에 사용되어, 한의학 臨床에서 사용되는 川芎의 혼용 및 오용을 방지할 수 있을 것으로 생각되며, 분자생물학적인 방법을 통한 유전자 감식법은 한약의 품질표준을 정립하고 동시에 감별, 보존, 품종개량에 필요한 기초 연구로서, 향후 계속된 연구를 통하여 韓藥材 절편은 물론 한약제제 중 丸劑, 膏劑, 散劑 등의 감정 및 평가에도 응용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 바이오그린 21 사업(국내 주요 특용 작물의 차별화를 위한 분자 마커 발굴 및 성분비교) 지원에 의하여 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. 全韓國醫科大學 本草學教授 共編. 本草學. 서울 : 永林社. 1999 : 408-410
2. 藥學大學協議會藥典分科會. 대한약전 제6개정 제1,2부 해설. 서울 : 文聖社. 1996 : 976-977
3. 최호영, 정유현, 고지완. 當歸類 韓藥材의 遺傳子 鑑別 研究. 대한한의학회지. 2000 ; 20(4) : 11-15
4. 배명효, 김규열, 정유현, 최호영 : RAPD방법을 이용한 半夏類 韓藥材의 鑑別 研究. 대한한의학회지. 2000 ; 20(4) : 16-22
5. 慶尙北道 農業技術院. 高冷地藥草 研究概要. 奉化 高冷地藥草試驗場. 2000
6. 奉化高冷地藥草試驗場. 川芎 재배기술 개선 및 연작장해 대책에 관한 연구. 농촌진흥청. 2000
7. 崔湖榮, 林德彬. 건조된 한약재의 유전자 분석 가능성 연구. 大韓本草學會誌. 2001 ; 16(1) : 173-178
8. 文成一, 金亨煥, 趙貞姬, 安德均, 崔湖榮. Angiotensin II로 유도된 혈관신생에 대한 日川芎의 억제효과. 대한본초학회지. 2002 ; 17(2) : 183-190
9. 崔湖榮 外. RFLP법을 이용한 種에 따른 鹿茸類 한약재의 유전자 감식 연구. 大韓本草學會誌. 2000 ; 15(2) : 31-36
10. 徐榮倍. 식물 계통의 재건과 DNA 이용. 식물분류학회지. 1992 ; 22(2) : 121-140
11. 崔湖榮, 李尙仁, 徐榮倍. 유전자 감식에 의한 防風의 감별. 생약학회지. 1997 ; 28(1) : 1-8
12. 崔湖榮. RAPD법을 이용한 Panax 屬 韓藥材 鑑別 研究. 大韓本草學會誌. 1998 ; 13(1) : 147-159
13. 朴涌基. 土川芎과 日川芎의 效能 및 品質比較에 관한 研究(I). 大韓本草學會誌. 1998 ; 12(2) : 103-114
14. 李項雨, 趙顯國, 朴涌基. 土川芎과 日川芎의 效能 및 品質比較에 관한 研究(II). 大韓本草學會誌. 1999 ; 14(1) : 55-60
15. 李叔妍. 川芎類의 生藥學的 研究. 三育大學 論文集. 1980 ; 12 : 407-411
16. 李叔妍. 土川芎의 成分研究(1). 三育大學 論文集. 1985 ; 17 : 399-405