

천궁의 기원과 식별을 위한 분자마커

송임근¹, 안보람¹, 서부일², 박선주^{1*}

1: 영남대학교 이과대학 생물학과 2: 대구한의대학교 한의학과 본초학교실

Molecular Marker to Identify and Origin of Cnidii Rhizoma from Korea and China

Im-Geun Song¹, Bo-Ram An¹, Bu-il Seo² and Seon-Joo Park^{1*}

1: Department of Biology, College of Science, Yeungnam University
2: Department of Herbology, College of Oriental medicine, Daegu Haany University

ABSTRACT

Objectives : This study was carried out to discriminate origin and molecular marker of oriental medicine “Cnidii Rhizoma” be circulated between Korea and China, which is difficult to discriminate from morphological distinction because of a fragmental materials of roots.

Methods : Materials were collected randomly from a medicinal herb markets in Korea and China and be analyzed with ITS (internal transcribed spacer) regions of nuclear ribosomal DNA (nrDNA).

Results : As a results, ITS regions of nrDNA was shown to be identify as three molecular markers. “Cnidii Rhizoma” was made up syster group of the genus *Ligusticum* L. and divided into three groups with “*Tou-chun-gung*”, “*IL-chun-gung*” and “*China-chun-gung*”.

Conclusions : From the analysis of ITS regions of nrDNA, we presumed that it is the same origin of “Cnidii Rhizoma” from Korea and China because of phylogenetic tree consisted of sister groups with the genus *Ligusticum* than the genus *Cnidium*.

Key words : molecular marker, *Cnidium officinale*, SNPs, *Ligusticum*

서론

천궁(Cnidii Rhizoma)은 산형과(Apiaceae)의 천궁속(*Cnidium* Cuss.)에 속하는 식물로 뿌리줄기를 건조한 것으로, 《대한약전》에서는 천궁(*Cnidium officinale* Makino) 또는 중국천궁(*Ligusticum chuanxiong* Hort. ex Qiu, et al.)의 뿌리줄기를 기원으로 하고 있으며, 우리나라에서는 궁궁이(*Angelica polymorpha* Maxim.)를 대응하기도 한다¹⁾.

천궁(川芎)의 원래명칭은 ‘芎藭’으로, 《本草拾遺》에 “사람의 머리는 활처럼 중앙이 높고 주위가 처졌으며 무궁히 높으니 이는 하늘의 형상이다. 이 약은 상행하여 오로지 두뇌의 여러 병들을 치료하므로 ‘芎藭’이라 명칭이 붙게 되었다”라고 하였으며, 본초강목에 사천성에서 생산되는 것을 川芎이라 한다” 하였다²⁾.

천궁의 性味는 辛, 溫 香竄으로 走하되 守하지 않아

四肢에 通行하는 血中の 氣藥이며, 辛散溫通에 의해 祛風止痛하는 효능이 있으므로 頭痛, 風濕痺通에 대한 좋은 약물이며, 천궁의 엑스 및 분획의 소염진통작용실험에서 수침 및 메탄올엑스와 부탄올분획에서 유의성이 있는 소염진통작용을 보고한 바 있다³⁾.

성분은 주로 chuanxionzine (tetramethylphrazine), ligustilide, cnidilide, wallichilide, neocnidilide, senkyunolide, caffeic acid, varillic acid 등이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다^{2,4,5)}.

일천궁과 토천궁이 지질과산화반응에 미치는 영향은 두 천궁 간의 유의성이 없으며, 항산화 활성이 동일하게 있어 항산화 효과면에서 두 종을 사용하는 것이 무방하다는 견해도 있다^{6,7)}.

그러나, 일천궁은 토천궁에 비하여 혈관 이완효능이 더 좋고⁸⁾, 활성산소류의 생성과정에 관여하는 효소(Aldehydeoxidase,

* 교신저자 : 박선주, 경북 경산시 대동 214-1 영남대학교 이과대학 생물학과
· Tel : 053-810-2377 · E-mail : sjpark01@ynu.ac.kr
· 접수 : 2009년 9월 7일 · 수정 : 2009년 12월 14일 · 채택 : 2009년 12월 21일

Xanthine oxidase)에 대해서 다소 강한 활성을 나타내었지만⁶⁾, 기본적인 화학성분에서 토천궁이 조단백 함량이 높았고, 무기질은 일천궁이 칼륨과 나트륨이 높은 것으로 알려져 있다⁹⁾.

일반적으로 천궁은 기원식물에 따라 중국천궁 또는 당천궁, 토천궁, 일천궁으로 불리고 있으며, 일천궁은 *C. officinale*, 중국천궁과 토천궁은 *L. chuanxiong*의 한 품종으로 알려져 있으나, 일천궁인 *C. officinale*과 토천궁 및 중국천궁으로 사용되고 있는 *L. chuanxiong*의 내부 및 외부의 형태적인 특별한 차이가 없으며¹⁰⁾, 같은 계통의 식물이라고 하는 등 기원식물에 있어 논란이 되고 있다^{6,8)}.

중국천궁 또는 당천궁은 《중국식물지》¹¹⁾에서 *L. sinense* 'Chuanxion' S.H. Qiu et al.로 기재되어 있고, 일천궁인 *C. officinale* Makino는 우리나라 도감류¹²⁾에 기재되어 있으나, 일본의 도감 및 식물지^{13,14)}에서는 *C. officinale* Makino의 종기재가 없어 일천궁의 실체가 모호한 실정이다.

최근 한약재의 수요가 급증함에 따라 많은 양의 한약재가 수입되고, 외국산의 수입이 증가함에 따라 올바른 한약재를 공급하기 위해서 기원, 성분, 약효 등의 평가가 절실히 필요하며, 같은 품종이라 할지라도 생산지별로 기후특성 등의 차이로 미세한 차이를 보이기도 한다. 최근의 한약재의 감별방법은 외부형태적 특징에 의한 감별과 이화학적 성분 분석의 두 가지 방법이 주로 사용되고 있으나, 이는 뿌리로 유통되는 한약재의 특성에 따른 구별에 따른 문제점이 있고, 또한 재현성이나 객관성에서 부족하다 할 수 있다^{15,16)}.

약재 식별에 관한 연구로는 당귀 내추대성 품종 및 건재약재 판별을 위한 RAPD marker 개발을 시도하였고¹⁷⁾, 고려삼과 서양삼을 대상으로 pyrosequencing법에 의한 감별하는 데 객관적 지표가 될 수 있음을 보고^{18,19)}하였다.

또한 민간에서는 잎을 구골엽이라하여 거풍습, 강장, 타박상 등에 사용하고, 열매를 구골자라 하여 신체허약, 양기부족 등에 이용되는 호랑가시나무(*Ilex cornuta*)를 대상으로 ITS염기서열 변이분석을 실시한 결과 65개체의 호랑가시나무로부터 총 8개의 서로 다른 ITS유형이 발견된 것으로 보고²⁰⁾하였고, 또한 해열, 진정작용을 갖는 지모(*Anemarrhena asphodeloides*)를 대상으로 염록체 DNA 염기서열을 이용하여 기원확인 및 유연관계를 분석한 바 있다²¹⁾.

천궁에 관한 연구로는 광학현미경을 이용한 내부 및 외부의 형태적 연구와 분말 형태에 관한 연구^{10,22)}가 있고, 천궁의 원산지 판별에 적용한 기법으로는 SAW센서를 바탕으로 한 GC를 이용한 휘발성 성분분석을 통한 원산지 구별을 시도하였고²³⁾, Capillary electrophoresis (CE)를 이용하여 천궁의 원산지 판별을 시도한 바 있다²⁴⁾. 또한 RAPD, RFLP 등의 분자적 기법을 통해 천궁류 한약재의 유전자 감식에 관한 연구¹⁶⁾가 있으나, 이들 마커는 재현성의 문제가 있는 것으로 알려져 있다.

본 연구에 사용된 마커는 핵 리보솜 RNA (nuclear ribosomal DNA, nrDNA) 유전자의 5.8S 양쪽에 위치하고 있는 internal transcribed spacer (ITS)로 코딩지역보다 더 빠르게 진화하고 일반성·단순성·재현성 등 여러 가지 이점으로 인하여 식물체에서 속이나 속이하의 수준에서 계통추론, 중간 유전적 변이 등에 사용되는 마커^{25,26)}이다.

따라서 본 연구는 현재 유통되고 있는 중국산과 한국산의 한약재를 무작위로 구입하여 외부형태적인 관찰과 nrDNA ITS지역의 분자적 분석을 통하여 세포수준에서의 한약재의 식별 마커를 찾고 한약재 식별을 위한 기초 자료를 제공하고자 수행하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 연구에 사용된 천궁은 국내 유통시장 또는 중국의 유통시장에서 무작위로 개체를 구입하여 사용하였는데 그 내역은 다음과 같다.

한국에 수입된 중국천궁 4개체(CNIC1~4), 중국의 현지시장에서 유통되는 중국천궁 2개체(CNIC5~6), 한국에서 유통되는 일천궁 5개체(CNIK1~5), 한국에서 토천궁으로 유통되는 2개체(CNIC7~8)를 포함하여 총 14개체와 Genbank에서 천궁속(*Cnidium*) 1개체(CNIM), 고본속(*Ligusticum*) 2개체(CNIX, CNIA) 등 총 16개체를 내군(ingroup)에 포함하였다. 외군(outgroup)으로는 선행 연구¹⁶⁾에서 비교군으로 이용하였던 신감채(*Ostercicum grosseserratum* (Maxim.) Kitag.)를 이용하였다(Table 1).

2. DNA 추출 및 PCR 증폭

DNA 추출은 유통되는 한약재료를 실험실로 운반하여 재료 3g을 액체 질소를 이용하여 분쇄시킨 후 CTAB 방법²⁷⁾을 수정하여 4X CTAB로 추출하였다. 추출된 DNA는 1.2% agarose gel상에서 전기영동 후, EtBr 염색법으로 UV 조명 아래서 형광 밝기를 상대 비교하고 흡광도를 측정하여 농도를 확인하였다.

전체 ITS 지역의 증폭은 primer ITS4, ITS5를 이용²⁸⁾하였다. ITS 지역의 증폭을 위한 Polymerase chain reaction (PCR) 반응용액의 조성은 주형 DNA 20~50ng, 10X D-Tag DNA buffer 0.25 μ l, 10mM의 dNTPs mix 1 μ l, 25 pmol의 primer 각각 1 μ l, 2.5 unit의 D-Taq DNA Polymerase (SolGent Co, Korea)에 total volume이 총 50 μ l가 되도록 증류수를 조절하여 첨가하였다.

조제된 PCR 반응 용액은 다음의 조건하에서 PCR을 하여 DNA를 증폭시켰다. PCR의 첫 cycle에서는 DNA의 완전한 denaturation을 위해 95°C에서 5분 동안 1차 denaturation을 한 후, denaturation은 95°C에서 20초를

Table 1. Cnidii Rhizoma with Related Taxa and Outgroup Included in this Study

Taxa(Korean name)	Abbreviation	Locality	
<i>Ligusticum chuanxiong</i> Hort. ex Qiu, et al. (중국천궁 또는 당천궁)	CNIC1	China : unknown	
	Korea (importation)	CNIC2	China : unknown
		CNIC3	China : unknown
		CNIC4	China : unknown
	China (local)	CNIC5	China : <i>Sichuan</i>
		CNIC6	China : <i>Sichuan</i>
(토천궁)	Korea (local)	CNIC7	Korea : <i>Yeongyang-gun</i>
(중국천궁)		CNIC8	Korea : <i>Uiseong-gun</i>
		CNIX	Genbank : DQ311639
<i>Cnidium officinale</i> Makino (일천궁)	Korea (local)	CNIK1	Korea : <i>Jecheon-si</i>
		CNIK2	Korea : <i>Jecheon-si</i>
		CNIK3	Korea : <i>Yeongyang-gun</i>
		CNIK4	Korea : <i>Uiseong-gun</i>
		CNIK5	Korea : <i>Yeongyang-gun</i>
<i>Ligusticum acuminatum</i> Franch. (첨협고분)	CNIA	Genbank : EU236172	
<i>Cnidium monnieri</i> (L.) Cusson (별사상자)	CNIM	Genbank : EU236164	
<i>Ostericum grosseserratum</i> (Maxim.) Kitag. (신감채)	OGRO	Genbank : AY548212	

Some ITS sequences were obtained from Genbank

두고 primer의 annealing을 위해서는 54°C에서 40초, 그리고 primer의 확장을 위해서는 72°C에서 1분으로 구성된 반응을 35회 반복한 후 최종적으로 완전한 primer extension을 위해 72°C에서 5분간 extension하였다. PCR 반응액은 Wizard SV Gel and PCR Clean-Up system (Promega Co., Madison, WI, USA)으로 정제하였다.

3. 염기서열 분석

증폭한 DNA는 ABI PRISM BigDye Terminator 3.1TM Cycle Sequencing ready reaction Kit (PE Applied Biosystems, USA)으로 염기서열을 결정하기 위하여 cyclic sequencing reaction 과정을 수행하였다. Cyclic sequencing reaction은 정제된 PCR product 10~20ng, BigDye Ready Reaction Mix 4 μ l, 5 pmol의 primer를 넣고 증류수로 총 부피가 10 μ l가 되게 조절하였다. Reaction condition 은 96°C에서 10초간 denaturation을 수행한 후 annealing을 위해서 50°C에서 5초 동안 반응을 시키고 extension은 60°C에서 4분간 수행하는 반응을 30회 반복 하였다.

Sequencing reaction 과정을 수행한 후 sequencing 반응에 참여하지 않는 형광물질로 lable된 ddNTP를 제거하기 위해 acetate와 70% EtOH을 이용하여 정제하였다. 염기서열은 automatic DNA analyzer system ABI PRISM 3730 xl analyzer을 이용하였다.

4. Realtime-PCR

PCR이 완료된 샘플에 대하여 SNPs를 분석하기 위해 Real-time PCR (ABI StepOnePlus™, Applied Biosystems)를 이용하였다. 반응용액의 조성은 주형 DNA 10~20ng

1 μ l, 2X Taqman® Genotyping Master Mix (Applied Biosystems, USA) 5 μ l, 40X TaqMan® SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, USA) 0.25 μ l를 첨가하여 total volume이 총 10 μ l가 되도록 하였다.

조제된 PCR 반응 용액은 다음의 조건하에서 PCR을 하여 DNA를 증폭시켰다. Pre-PCR Read (Holding stage)는 60°C에서 30초, Holding stage는 95°C에서 10분, Cycling stage는 95°C에서 15초, 그리고 60°C에서 1분으로 하여 40회 반복하였다.

5. 자료분석

총 17개의 samples에서 얻어진 ITS 염기서열들은 Sequencher program (Gene code, USA)으로 조합하여 Macclade 4.0 (Sinauer Associates, INC)을 사용하여 저장한 후 Clustal X²⁹⁾로 정렬하였으며, 다시 Macclade를 이용한 수작업을 거쳐 최종 정렬하였다. ITS 영역에 대한 염기서열은 기존에 보고된 염기서열 (Genbank Accession DQ311639)과 비교하여 ITS1, 5.8S와 ITS2 sequence를 결정하였다. 정렬결과 gap은 결여형질 (missing data)로 처리하였고, 각 ITS 유형간의 염기서열 분석은 PAUP Ver. 4.0b³⁰⁾로 최대절약분석(parsimony analysis)를 하였으며, 분석방법으로는 Heuristic search를 이용하였다. Heuristic search의 option은 ACCTRAN, MULPARS, 그리고 TBR을 이용하였다.

각 분계도의 지지 정도를 알아보기 위하여 Bootstrap (BS)³¹⁾과 Jackknife (JK)³²⁾를 이용하여 형질 재추출 과정을 1,000회 반복하였으며, 이를 통해 값을 산출하였고, Two-parameter methods³³⁾로 계산된 염기변이 값을 기초로 하여 neighbor-joining tree (NJ)를 산출하였다^{32,34)}.

결 과

1. 외부형태

한국과 중국(수입), 중국(현지)에서 유통되고 있는 천궁(*Cnidii rhizoma*)의 육안적 외부 형태 차이는 한국이 다소 황백색을 나타내고 있고, 중국(수입 포함)의 천궁은 짙은 황갈색이 나타나고 있다.

또한 절편의 형태도 한국은 가로로 잘려져 있고, 중국은 가로 및 세로의 형태로 잘려져 유통되고 있는 것으로 판단된다. 또한 결각의 형태도 한국산 천궁이 결각이 적어 중국산 천궁보다 다소 단조로운 형태를 하고 있으며, 향기는 한국 천궁에 비하여 중국 천궁이 다소 강하게 나타났다(Fig. 1).

2. ITS에 의한 염기서열 분석

국내에 유통되는 종과 국내 수입종, 그리고 중국에서 유통되는 종 16개의 천궁에 대하여 mrDNA의 ITS지역 염기서열을 분석한 결과, 정렬된 염기서열 602개 중에 521개 염기는 변화가 없었고, 계통적으로 유용한 공유파

생형질은 50개로 나타났다. 총 염기서열의 길이는 595~601 bp로 ITS1의 길이는 213-215 bp이며, ITS2와 5.8S는 각각 218-220 bp, 164 bp로 나타났다. 대체로 ITS2지역이 ITS1지역에 비해 조금 길게 나타났으나, ITS 염기서열의 길이는 국내 중국 수입종이나 국내 유통되는 종 및 중국현지에서 유통되는 종 모두 거의 비슷한 길이를 나타내고 있는 것으로 나타났다(Table 2).

또한 DNA의 구조 및 물리적 특성을 결정하는 천궁의 G+C의 염기조성은 ITS1이 55.8~57.1%, 5.8S와 ITS2는 각각 53.1%, 55.5~56.4%로 나타났으며, 전체 염기조성은 54.9~55.7%로 평균 55.4%로 나타났다.

14개체의 천궁을 대상으로 Neighbor-joining (NJ) tree를 분석한 결과 천궁류는 3개의 group으로 유집되었다. group I에서는 한국산 천궁(일천궁)이 유집되었고, group II에서는 중국산 천궁이 유집되었으며, group III에서는 국내에서 토천궁으로 유통되는 개체들이 하나로 유집되었다. 또한 이들 group간에는 group I과 group II가 가깝게 유집되었고, 이 분계조가 다시 group III과 가까운 유연관계를 나타내었다(Fig. 2).

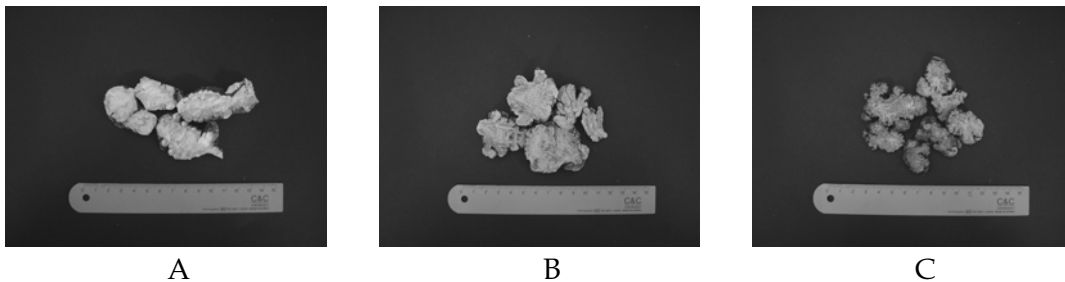


Fig. 1. A photograph of *Cnidii rhizoma*
A : Korea(local). B : China(importation). C : China(local).

Table 2. Size and G+C of ITS Regions of *Cnidii Rhizoma*

Taxon	ITS1		5.8S		ITS2	
	Length (bp)	G+C (%)	Length (bp)	G+C (%)	Length (bp)	G+C (%)
CNIC1	215	56.7	164	53.1	220	55.9
CNIC2	214	57.1	164	53.1	218	56.4
CNIC3	215	56.7	164	53.1	219	56.2
CNIC4	215	56.7	164	53.1	219	56.2
CNIC5	213	56.3	164	53.1	218	56.0
CNIC6	214	56.5	164	53.1	218	56.4
CNIC7	215	55.8	164	53.1	220	55.5
CNIC8	215	55.8	164	53.1	220	55.5
CNIK1	215	56.7	164	53.1	219	56.2
CNIK2	215	56.7	164	53.1	219	56.2
CNIK3	215	56.7	164	53.1	219	55.7
CNIK4	215	56.7	164	53.1	219	56.2
CNIK5	215	56.7	164	53.1	219	56.2
CNIX	215	56.3	164	53.1	220	55.9

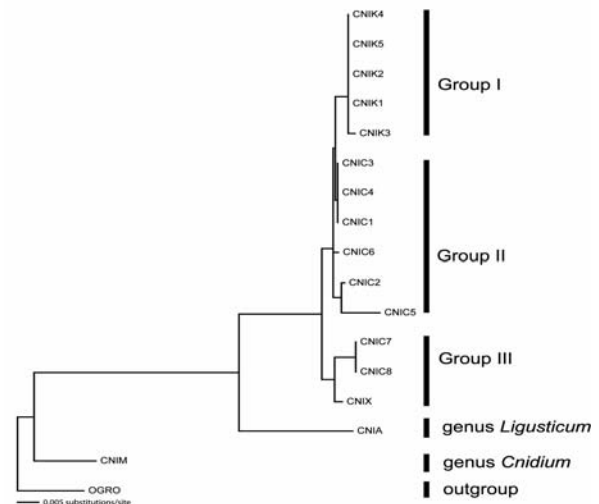


Fig. 2. Neighbor-joining (NJ) tree showing the relative distance among branches

Table 3. Pairwise Sequence Distance between Taxa Examined

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1. CNIC1	-																
2. CNIC2	0.167	-															
3. CNIC3	0.000	0.167	-														
4. CNIC4	0.000	0.167	0.000	-													
5. CNIC5	1.186	0.848	1.185	1.185	-												
6. CNIC6	0.167	0.337	0.167	0.167	1.189	-											
7. CNIC7	1.352	1.187	1.357	1.357	1.873	1.870	-										
8. CNIC8	1.352	1.187	1.357	1.357	1.873	1.870	0.000	-									
9. CNIK1	0.335	0.505	0.336	0.336	1.527	0.505	1.357	1.357	-								
10. CNIK2	0.335	0.505	0.336	0.336	1.527	0.505	1.357	1.357	0.000	-							
11. CNIK3	0.503	0.675	0.504	0.504	1.698	0.675	1.528	1.528	0.168	0.168	-						
12. CNIK4	0.335	0.505	0.336	0.336	1.527	0.505	1.357	1.357	0.000	0.000	0.168	-					
13. CNIK5	0.335	0.505	0.336	0.336	1.527	0.550	1.357	1.357	0.000	0.000	0.168	0.000	-				
14. CNIM	8.740	8.785	8.761	8.761	9.740	8.586	9.312	9.312	8.760	8.760	8.953	8.760	8.760	-			
15. CNIA	5.197	5.220	5.210	5.210	6.139	5.040	5.568	5.568	5.210	5.210	5.393	5.210	5.210	9.072	-		
16. CNIX	1.010	0.845	1.014	1.014	1.873	0.845	0.672	0.672	1.014	1.014	1.185	1.014	1.014	8.924	4.840	-	
17. OGRO	9.330	9.382	9.358	9.358	9.956	9.382	9.513	9.513	9.358	9.358	9.159	9.358	9.358	3.426	9.485	9.517	-

Sequence divergence values($\times 100$) by kimura's two parameter method are below diagonal.

Kimura³³⁾의 two-parameter method를 이용한 유전적 거리지수는 group I인 중국산 천궁이 0~1.189, group II인 한국산 천궁이 0~1.168, 토천궁으로 유통되는 group III은 0~0.672의 범위로 나타났다(Table 3).

군외군을 포함한 17개의 ITS 염기서열의 최대절약(parsimony) 분석 결과는 전체 96단계의 길이를 갖는 계통수를 얻었으며, 일치도(consistency index, CI)는 0.938, 보유계수(retention index, RI)는 0.923을 나타내었다 (Fig. 3).

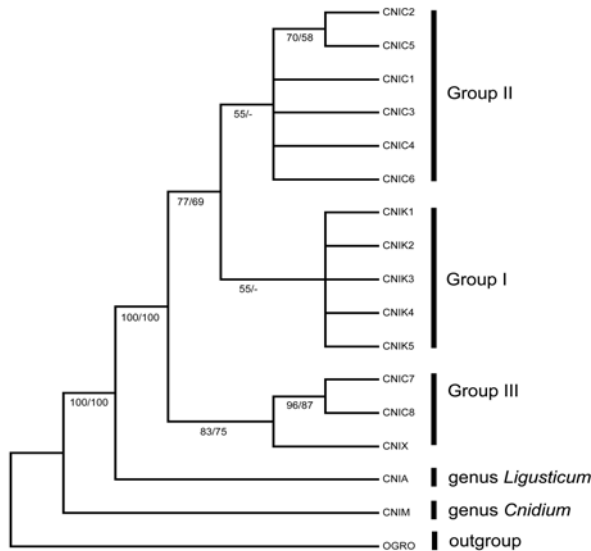


Fig. 3. Strict consensus tree of the two parsimony tree (96 steps, CI = 0.938, RI = 0.923) derived from heuristic search of ITS sequences data

Numbers below branches are bootstrap and jackknife values greater than 50% in 1000 replicates. Refer Table 1 for taxon abbreviations.

Strict consensus 계통수에서 천궁속(*Cnidium*)은 군내(ingroup)의 기부를 이루고 있고, 고본속(*Ligusticum*)은 시중에서 약재로 유통되고 있는 천궁류(*Cnidii Rhizoma*)인 group I~III과 BS와 JK가 각각 100%의 값으로 유집되면서 자매군(syster group)을 형성하였다. 또한 group I, II는 BS와 JK가 각각 77%, 69%로 유집되면서 자매군을 형성하였다.

Group I인 한국산 천궁은 BS가 55%로 유집되었으나 다분지(polytomy)를 형성하였다. Group II인 중국산 천궁은 BS가 55%로 유집되었고, CNIC2와 CNIC5는 BS와 JK가 각각 70%와 58%의 값으로 단계통을 형성하고 있으나 나머지는 군내에서 다분지를 형성하고 있다(Fig. 3).

Group III인 토천궁은 BS와 JK가 각각 83%, 75%로 유집되었고, CNIC7과 CNIC8은 BS와 JK가 각각 96%, 87%로 유집되면서 단계통군을 형성하고 있는 것으로 나타났다.

3. ITS의 marker 분석

시중에 유통되고 있는 천궁의 육안적 식별이 어려움에 따라 이를 세포적 수준에서 구분하고자 실시된 본 연구에서 nrDNA의 ITS지역에서 한국산 일천궁과 토천궁 그리고 중국산 천궁의 개체 간의 차이가 있는 염기서열 유형이 존재한다는 것을 확인하였다. 일천궁과 중국천궁 두 집단 간의 식별가능한 SNPs (Single nucleotide polymorphisms)는 186 bp (C \leftrightarrow T)와 201 bp (G \leftrightarrow A)의 2개 위치에서, 토천궁은 202 bp (C \leftrightarrow T)에서 각각 확인되었다(Table 4).

Realtime-PCR에 의한 결과에서도 일천궁은 group I, 중국천궁은 group II, 토천궁은 group III으로 각각의 group을 형성하고 있는 것으로 나타났다(Fig. 4).

Table 4. Haplotypes of SNPs in ITS Regions

Cnidii rhizome	Korea name	Type 1	Position	Type 2	Position
Korea	일천궁	CCTGT	184~188 bp	CGGCG	199~203 bp
China	중국천궁	CCCGT	(186 bp)	CGACG	(201, 202 bp)
Korea	토천궁	CCCGT		CGGTG	

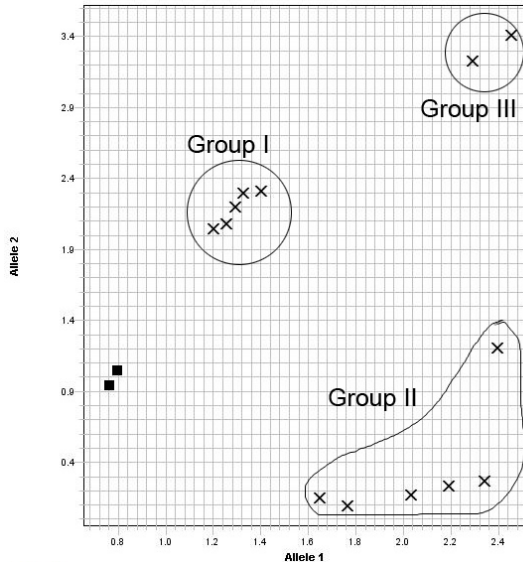


Fig. 4. The allelic discrimination plot of the Cnidii Rhizoma experiment

Group I : Korea (*Il-chun-gung*). Group II : China. Group III : Korea (*Tou-chun-gung*)

고찰

천궁은 중국이 원산지인 다년생 초본으로서 16~17세기에 우리나라에 도입되어 우리나라 각지에서 재배하고 있다. 중국중은 사천성이 주산지로서 운남성에서도 산출되며, 특이한 냄새가 있고, 맛은 약간 쓰며, 중추신경계, 심장, 관상동맥순환, 진정작용 등의 효과가 있으며, 혈압을 낮추는 등 여러가지 효과가 있는 것으로 알려져 있다.^{4,5,35)}

천궁이 함유된 대표적인 처방은 사물탕으로서, 사용되는 천궁은 그 기원에 따라 한국 및 일본산은 *Cnidium officinale* Makino의 근경을 데쳐서 건조한 것을 일천궁, *Ligusticum chuanxion* Hort. ex Qui et al.을 토천궁, 중국 천궁 또는 당천궁으로 구분하고, 기름기와 진액(津液)의 정도에 따라 구분하고 있다.^{4,36,37)}

일반적으로 한약재는 뿌리, 줄기, 꽃, 열매, 분말 등의 형태로 시중에 유통되고 있는 실정으로 유통과정에서 중요부분 결손, 형태유사, 약재의 가공과정에서 생기는 변형 등이 있어 한약재를 육안으로 구별하는 것은 상당한 어려움이 있다.¹⁶⁾

또한 천궁은 뿌리에서 관찰되는 결각상의 차이, 미세한 색의 차이 등으로 구분되고 있어 중국산과 한국산의

구분이 어려운 실정이다. 학자에 따라 토천궁과 일천궁은 외부형태, 기공, 화분 등의 차이가 있고, 중국 천궁과 일천궁의 두 종 간에는 유전적 차이가 있다는 견해^{35,38)}가 있으나, 토천궁과 일천궁 및 중국 천궁의 형태들 간 차이는 크게 없다는 견해^{10,22)}도 있어 천궁의 구별에 대한 논란은 지속되고 있다.

외부형태적 차이와는 다르게 nrDNA의 ITS지역에서 기존 연구결과¹⁶⁾에서는 천궁간 명확한 구분이 이루어지지 않았지만, 본 연구를 통하여 일천궁과 토천궁, 그리고 중국천궁의 각 group이 명확하게 구분되고, group 간 유연관계가 있는 것으로 나타났으며(Table 3, Fig. 2, 3), ITS지역에서 한국산과 중국산 천궁을 구별할 수 있는 SNPs (Single nucleotide polymorphisms)가 확인되었다.

천궁류(Cnidii Rhizoma)를 식별할 수 있는 SNPs는 일천궁과 중국 천궁은 184~203 bp사이에 위치하는 186 bp (C↔T)와 201 bp (G↔A), 토천궁은 202 bp (C↔T)에서 각각 확인되어 nrDNA의 ITS가 한국산 천궁과 중국산 천궁을 식별하는 데 유용한 marker가 될 수 있다는 것을 확인하였다.

천궁은 원산지가 중국산¹²⁾으로 기원식물에 따라 천궁의 구분이 논란이 되고 있는 실정이나 시중에 유통되고 있는 일천궁, 토천궁, 그리고 중국천궁을 대상으로 nrDNA의 ITS지역을 분석한 결과 천궁속(*Cnidium*)이 아닌 고본속(*Ligusticum*)과 자매군을 형성하고 있는 것으로 나타났다.

이 결과는 일천궁으로 알려진 *Cnidium officinale*과 일본의 산형과 식물과의 비교에서 천궁속(*Cnidium*)이나 산천궁속(*Conioselinum*)에 속하지 않고 중국천궁(*Ligusticum chuanxion*)의 자매군으로서 같은 계통의 식물이라는 견해^{10,39)}와 일치하고 있다. 또한 Realtime-PCR의 결과에서도 각 group으로 유집되어 나타났으며(Fig. 4), 한국산 일천궁, 토천궁, 그리고 중국산 천궁의 개체 간의 차이는 동일종이라 하더라도 환경에 의한 유전적 차이³⁵⁾에서 기인한 결과로 사료된다.

천궁류(*Cnidium Rhizoma*)는 정확한 유입경로를 확인할 수 없지만 중국에서 우리나라와 일본으로 전달되어 약용식물로서 재배되면서 각지로 전파된 것으로 추정되므로 한국의 천궁(*Cnidium officinale*)에 대한 분류학적 실체에 대한 재고찰이 요구된다.

결론

본 연구에서 일천궁, 토천궁 및 중국 천궁 등 천궁의 형태적 식별의 어려움으로 인하여 세목적 수준에서 식별 가능성을 확인하고자 ITS 지역을 분석한 결과 유의한 결과를 얻었다.

1. 천궁의 결각 형태나 황백색 또는 황갈색 등 형태적 관찰에는 다소 미세한 차이가 있으나 쉽게 구분할

- 객관적인 형태를 관찰하지 못하였다.
2. 천궁에 대하여 nrDNA의 ITS지역의 염기서열을 분석한 결과, informative character는 50개로 나타났고, 총 염기서열의 길이는 595~601 bp로 ITS2지역이 ITS1지역에 비해 조금 길게 나타났으며, DNA의 구조 및 물리적 특성을 결정하는 천궁의 G+C의 염기조성은 평균 55.4%로 나타났다.
 3. 토천궁과 일천궁, 중국천궁은 모두 천궁속(*Cnidium*) 보다는 고본속(*Ligusticum*)과 같은 분계조를 형성하고 있는 것으로 나타났다.
 4. 한국산 천궁과 중국산 천궁의 두 집단간 식별가능한 SNPs (Single nucleotide polymorphisms)는 186 bp(C→T)과 201 bp(G→A)의 2개 위치, 토천궁은 202 bp(C→T)의 1개 위치에서 각각 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 2008년 교육과학기술부와 한국산업기술진흥원의 지역혁신인력양성사업에 의하여 수행된 연구결과임

참고문헌

1. 한의과학대학 본초학 편찬위원회. 본초학. 서울 : 영림사. 2007 : 447-8.
2. 김호철. 한약약리학. 서울 : 집문당. 2004 : 318-20.
3. 조승길, 권오익, 김창중. 천궁 엑스 및 분획의 소염·진통작용. 생약학회지. 1996 ; 27(3) : 282-7.
4. 서부일, 이재현, 최호영, 권동렬, 부영민. 한약본초학. 서울 : 영림사. 2008 : 576-80.
5. Lee JG, YU Kwon, HJ Chang, OC Kim and JY Park. Studies on the volatile compounds of *Cnidium officinale* (in korean). Journal of the Korean Society of Tobacco Science. 1994 ; 16(1) : 20-5
6. 박용기. 토천궁과 일천궁의 효능 및 품질비교에 관한 연구(I). 대한본초학회지 1998 ; 13(2) : 103-14.
7. 박용기. 토천궁과 일천궁 및 당귀배합방의 항산화 효과에 관한 연구. 대한본초학회지. 2007 ; 22(4) : 101-8.
8. 이향우, 조현국, 박용기. 토천궁과 일천궁의 효능 및 품질비교에 관한 연구(II) - 두 종류의 천궁과 천궁-당귀 배합시 혈관 이완효능. 대한본초학회지. 1999 ; 14(1) : 55-60.
9. Hwang J and M Yang. Comparision of Chemical Components of *Ligusticum chuanxiong* Hort and *Cnidium officinale* Makino (in korean). Analytical Science & Technology. 1998 ; 11(1) : 54-61
10. 최정국, 임덕빈, 이영중. 천궁의 형태에 관한 연구. 대한본초학회지. 2005 ; 20(4) : 95-101.
11. Pu Fading and Mark F Watson. *Ligusticum* in Flora of china. Science, (Beijing) & Missouri : Botanical Gerden. 2005 ; 14 : 140-50.
12. 이우철. 원색한국기준식물도감. 서울 : 아카데미. 1996 : 256.
13. Iwatsuki K, DD Boufford, H Ohba. Flora of Japan. Vol IIc Japan : Kodansha. 2002.
14. Ohwi J. Flora of Japan(in english). Washington DC : Smithsonian institution. 1984.
15. 강인호, 조정희, 김도훈, 심영훈, 김은경, 김종욱, 황완균, 최호영. 유통한약재의 내분비계장애물질 모니터링-유통한약재 중 잔류농약에 관한 조사연구. 대한본초학회지. 2002 ; 17(2) : 175-82.
16. 최호영, 김동욱, 김동은, 서영배, 함인혜. 천궁류 한약재의 유전자 감식 연구. 대한본초학회지. 2005 ; 20(4) : 151-61.
17. 방경환, 유홍섭, 구달희, 조준형, 박희운, 성낙술, 박상일, 김홍식. 당귀 내추대성 품종 및 건재약재 판별을 위한 RAPD marker 개발. 한국약용작물학회지. 2002 ; 10(1) : 46-50.
18. 권기록, 서정철. 산삼과 장뇌삼 중 고려삼과 서양삼의 Pyrosequencing법에 의한 감별. 대한본초학회지. 2004 ; 19(4) : 45-50.
19. 서정철, 임강현, 한상원. 고려인삼과 서양삼의 Pyrosequencing법에 의한 감별. 대한본초학회지. 2004 ; 19(2) : 199-203.
20. 손성원, 김주환, 김용식, 박선주. 호랑가시나무(*Ilex cornuta*) 개체군의 ITS 염기서열 변이분석. 한국식물분류학회지. 2007 ; 37(2) : 131-41.
21. 김명겸, 배갈마, 손화, 노중훈, 김세영, 양덕춘. 엽록체 DNA 염기서열을 이용한 한약재 지모의 기원확인 및 유연관계 분석. 한국약용작물학회지. 2008 ; 16(1) : 20-6.
22. 최정국, 임덕빈, 이영중. 천궁의 분말 형태에 관한 연구. 대한본초학회지. 2003 ; 18(3) : 233-42.
23. 오세연, 노봉수. SAW센서를 바탕으로 한 GC를 이용한 국내산 및 수입산 천궁의 향기 패턴분석. 한국식품과학회지. 2003 ; 35(5) : 994-7.
24. 김정현, 김은영, 정경숙, 류미라. Capillary electrophoresis (CE)를 이용한 천궁의 원산지 판별. 한국농학회지. 2003 ; 46(4) : 380-4.
25. 김영동, 박종욱, 선병윤, 김기중, 이은주, 김성희. 폐지풀 및 단풍잎돼지풀의 ITS 염기서열 변이. 한국식물분류학회지. 2005 ; 35(4) : 273-85.
26. Álvarez I and JF Wendel. Rhibosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. Mol Phylogen Evol. 2003 ; 29 : 417-34
27. Doyle JJ and JA Doyle. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem Bull. 1987 ; 19 : 11-5.

28. White TJ, T Bims, S Lee and J Taylor. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. in PCR protocols : A guide to methods and applications. Innis M, D Gelfand J Sninsky and T White (eds). Sandiego : Academic press. 1990 : 315-22.
29. Thompson JD, TJ Gibson, F Plewniak, F Jeanmougin and DD Higgins. The clustal X windows interface : Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tool. Nuc Acids Res. 1997 ; 25 : 4876-82.
30. Swofford DL. PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony and other methods(ver. 4.0). Sunderland MA : Sinauer Associates. 2002.
31. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies : an approach using the bootstrap. Evolution. 1985 ; 39 : 783-91.
32. Farris JS, Albert VA, Källersjo M, Lipscomb D and Kluge AG. Parsimony jackknifing outperforms neighborjoining. Cladistics. 1996 ; 12 : 99-124
33. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. J Mol Evol. 1980 ; 16 : 111-20.
34. Saitou N and M Nei. The neighbor-joining method : A new for reconstructing phylogenetic trees. Molec Bio. Evol. 1987 ; 4 : 406-25
35. 식품의약품안전청. 원색 한약재감별도감. 대전 : 호미출판사. 2009 : 140-1.
36. 주영승 편저. 운곡 본초학 각론 (하). 서울 : 서림제. 2004 : 70-3.
37. 도정애. 토천궁과 일천궁의 세포분류학적 연구. 한국문화연구원논문집. 1969 ; 2 : 121-3.
38. Luo Y, Wang TZ, Yang B and Chen L. Analysis on genome difference of *Ligusticum chuanxion* and *Cnidium officinale* by RAPD (in chinese). WCJ · PS. 2008 ; 23(3) : 298-300.
39. Kondo, K. S Terabayashi, M Okada, C Yuan and S He. Phylogenetic relationship of medicinally important *Cnidium officinale* and Japanese Apiaceae based on rbcL Sequences. J Plant Res. 1996 ; 109 : 21-7.