

AFLP fingerprinting법을 이용한 담죽엽의 감별법 연구

심영훈* · 성락선 · 박주영 · 조창희 · 김지연 · 이종화 · 현성예 · 김선호 · 김동섭 · 장승엽¹
식품의약품안전평가원, ¹식품의약품안전청

The Studies on Identification of *Lophatherum gracile*(淡竹葉) Using AFLP fingerprinting Methods

Young Hoon Shim*, Rack Seon Seong, Ju Young Park, Ji Yeon Kim, Chang Hee Cho, Jong Hwa Lee,
Seong Ye Hyeon, Sun Ho Kim, Dong Sup Kim and Seung Yeup Jang¹

National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Cheonwon-gun, Chungcheongbuk-do 363-951, Korea
¹Korea Food and Drug Administration, Cheonwon-gun, Chungcheongbuk-do 363-951, Korea

Abstract – Lophatheri Herba is the aerial part of *Lophatherum gracile* Bronghiart(淡竹葉, Gramineae). 25~75 cm in length. Stem: cylindrical with nodes, empty inside, externally pale yellowish green. Leaf: dehiscent of lanceolate lamina, shrunken and rolled, 5~20 cm long, 10~35 mm wide; surface: pale green ~ yellowish green, parallel-formed with veins of square reticulate, more distinct of appearance on the lower surface. Banbusae Caulis In Taeniam is the stringy strip derived from the stem with the peeled-off epidermis of *Phyllostachys nigra* Munro var. *hensis* Stapf, and *Phyllostachys bambusoides* Siebold et Zuccarini (竹葉, Gramineae). Irregular in size and shape, thin plane ~ strip-shaped, sometimes powdery, sometimes 1~3 mm thick. Outer surface: pale green ~ yellowish green, sometimes grayish white. *L. gracile* and *P. nigra* have different origins although they show similar morphologic features. We were able to distinguish between *L. gracile* and *P. nigra* which are almost indistinguishable through this study. AFLP(Amplifide Fragment Length Polymorphism) was more suitable for identifying differences between *L. gracile* and *P. nigra* in comparison with other genetic analysis using chemical analysis. Therefore, molecular biological methods are believed to be useful for discovering origins of herbal medicines.

Keywords – *Lophatherum gracile*, *phyllostachys nigra*, AFLP, PCR

두통, 감기로 인한 인후통 및 기침 등의 적응증에 사용되는 은교산 처방 중 담죽엽이 죽엽과 오용되어 사용될 수 있으나, TLC법 등의 과학적인 확인시험법등 감별법이 설정되지 않아 품질관리에 어려움이 있어 본 연구를 실시하였다.

담죽엽(淡竹葉)은 대한약전의 한약(생약)규격집(2007)¹⁾에 “벼과(Gramineae) 조릿대풀 (*Lophatherum gracile* Bronghiart)로 꽃피기 전의 지상부를 의미하며, 길이 25~75 cm, 줄기는 원주형으로 마디가 있으며 바깥면은 옅은 황록색이고 꺾은면은 속이 비어있다”로 기술되어 있다. 또한, 중약대사전²⁾에는 “쭈글쭈글하고 약간 목질화한 뿌리줄기가 있으며 수염뿌리의 중간부분이 팽대하고 원기둥꼴 모양의 덩이뿌리”로 되어있다. 주요 성분으로는 줄기와 잎에는 triterpenoid 화합물인 arundoin, cylindrin, taraxerol 및 friendelin이 들어

있다고 되어 있다. 이밖에도 지상부에는 phenol계 성분, amino acids, 유기산, 당류가 있어 해열, 이노작용 등의 약리작용 있고 우리나라에서는 “은교산” 처방에 사용되는 약재로 알려져 있다. 그러나 죽엽(竹葉)은 담죽엽과 동일한 벼과(Gramineae)이나 대나무(오죽)(*Phyllostachys nigra* var. *hensis*)로 기원이 다른 식물로서 가역하여 얻은 즙액(죽력)과 줄기를 고혈압, 당뇨병³⁾ 및 해열⁴⁾ 치료 등에 사용되는 것으로 알려져 있다. 죽엽의 특징은 잎은 좁고 피침형이며 길이는 7.5~16 cm이고 너비는 1~2 cm로 끝은 점차 뾰족해진 모양이나 기부에 가서는 무더지는 형태를 가진다. 잎의 한쪽 면은 비교적 반들반들하고 다른 한쪽 면은 작은 톱니가 있고 거친 특징이 있다. 생약(한약)의 확인시험법으로는 TLC(Thin Layer Chromatography)와 HPTLC(High Performance Thin Layer Chromatography) 등이 널리 활용되고 있으나, 이러한 이화학적 시험법으로는 식물의 기원 종을 구

*교신저자(E-mail): justkfda@korea.kr
(Tel): +82-43-719-4162

별하는데 한계가 있으며 이마저도 설정되지 않아 품질관리
에 어려움이 있다.

따라서, 담죽엽과 죽엽은 동일한 버과의 식물로서 외부
형태학적 특징은 유사하나 속이 다른 식물로서 유전자를 이
용한 분자생물학적 기법을 응용하는 것이 두 식물을 구별
하는데 보다 효과적이라 판단되어 본 연구를 수행하게 되
었다. 분자생물학적 기법은 Genomic DNA를 분리하여 유
전자 염기서열의 차이에 따라 식물의 종을 구별하는 방법
으로 식물의 약용 부위와 생장 기간과는 상관없이 동일한
유전자와 염기서열을 가지는 특징이 있다. 따라서 생육환경
및 생장조건과 채취시기에 따라 성분 및 외부형태에 차이
가 발생할 수 있는 천연물의 특성에 영향을 받지 않고 식물
의 기원 종을 구별해 낼 수 있는 장점을 가지고 있다.⁵⁾ 이
러한 유전자를 이용한 분자생물학적 기법은 기원에 논란이
되는 *Angelica gigas* root, *Saposhnikovia* root, *Coix* seed,
Citrus unshiu peel, *Angelica decursiva* radix, *Magnolia*
bark, *Polygonatum* rhizome, *Bupleurum* root 등 약용 식물
의 기원 판별에 폭넓게 이용되고 있으며, 그 외에도 유전자를
이용한 동·식물의 중간 및 종내 개체간의 유전변이를
확인하기 위한 연구에도 많이 활용되고 있다.⁶⁻⁷⁾

유전자를 이용한 분자생물학적 기법으로는 Random
Amplified Polymorphism DNA(RAPD)법,⁸⁾ Sequence
Characterized Amplified Region(SCAR)법⁹⁾, Restriction
Fragment Length Polymorphism(RFLP)법¹⁰⁾ 및 Amplified
Fragment Length Polymorphism(AFLP)법¹¹⁾ 등이 있다.

이 중 일반적으로 유전자를 이용하여 식물의 중간 유전적
다양성을 확인하기 위한 방법으로 RAPD법과 AFLP법이 폭
넓게 활용되고 있다. AFLP법은 시험이 복잡하고 까다로우
나 Polymerase Chain Reaction(PCR)법에 기초한 DNA의
다형성 분석법으로 적용이 쉽고, 결과가 안정적이라는 장점
때문에 국내·외적으로 많은 작물 및 식물 종들에서 유전
적 다양성 및 유연관계를 밝히는데 이용되고 있다.¹²⁻¹⁴⁾

본 시험법의 원리는 PCR반응에서 특이 프라이머가 인식
할 수 있는 반응 부위가 많지 않은 유전자에 제한효소를 이
용하여 절단한 다음 절단면 끝에 임의로 합성한 DNA 조각
("adaptor")를 붙이고 이 부위에 PCR이 되도록 특이 프라이
머를 제작한다. 이렇게 제작된 프라이머를 이용하여 PCR
반응을 실시하면 증폭산물이 생성되며, 증폭되는 밴드의 크
기에 따라 아가로스 겔상에서 다양한 유전자 증폭 패턴을
확인하게 된다(Fig. 1). AFLP법은 RFLP법으로 확인하기 어
려운 유전자내 염기구조의 특성까지도 확인할 수 있는 장
점이 있으며, 재현성에 문제가 있는 RAPD법의 단점도 보
완한 시험법이다. RAPD법도 PCR을 이용한 방법으로 실험
방법이 간편하고, 적은 양의 DNA가 필요하다는 장점 때문
에 식물의 집단유전학 및 계통분류학적 연구에 많이 이용
되고 있으나 재현성이 떨어진다는 단점이 있다.¹¹⁾

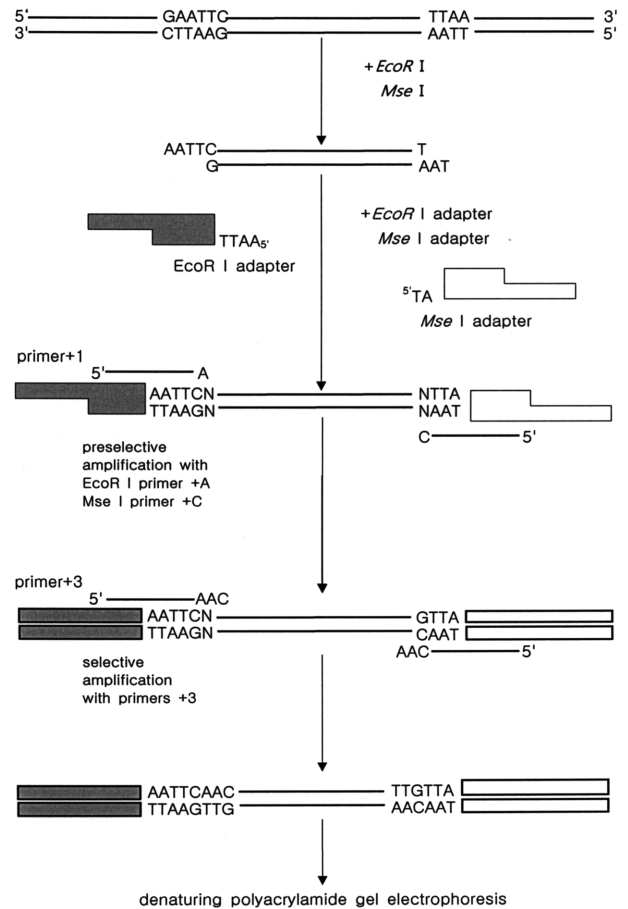


Fig. 1. The AFLP procedure constituted the process of restriction and ligation of genomic DNA, pre-selective amplification, selective amplification and gel electrophoresis.

담죽엽과 죽엽의 감별법을 개발하기 위해 본 연구에는 재
현성이 좋은 AFLP법을 활용하였으며, 국내 약재 시장과 일
본 및 중국 등에서 직접 구입한 샘플에 대해 현미경법으로
1차 확인 후 본 실험에 활용하였다. 현미경 검정법을 통해
확인한 결과 담죽엽과 죽엽은 식물 조직에서 뚜렷한 차이
가 있었으며 이를 토대로 AFLP법의 실험 결과와 비교하였
을 때 현미경법으로 확인된 결과와 일치하였다.

따라서 본 연구를 통해 기원이 명확한 담죽엽이 유통될
수 있는 품질관리법을 개발함으로써 안전하고 우수한 한약
재의 유통에 기여하고 국민의 신뢰를 확보하는데 이바지 할
것으로 기대된다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에 사용된 담죽엽과 죽엽 샘플은 국내
5 개 지역(부산, 대구, 대전, 광주, 원주), 중국 2 개 지역 및
일본 2 개 지역(동경, 오사카)에서 구입하였다. 국내에서는
담죽엽과 죽엽을 구분하여 판매하고 있으며 대부분이 중국

에서 수입된다. 구입한 담죽엽과 죽엽은 각각 10 건씩으로 감별전문가로부터 감별 후 현미경 검경을 통해 담죽엽과 죽엽을 재분류하였다.

유전자분리 - 담죽엽과 죽엽을 가루로 한 다음 분말 100 mg에 700 µL의 CTAB 용액(50 mM Tris · HCl, 0.7 M NaCl, 50 mM EDTA, 140 mM β-mercaptoethanol) 및 proteinase K 용액 (600 mAU/mL 이상) 20 µL을 넣고 60°C항온에서 1 시간 반응시킨다. 이 반응물에 페놀 · 클로로포름 · 이소아밀알콜혼합액 (25 : 24 : 1) 700 µL를 넣고 12,000 rpm에서 10 분간 원심 분리하여 상층액을 취하고 여기에 클로로포름 · 이소아밀알콜혼합액 (24 : 1) 600 µL를 넣어 12,000 rpm에서 5 분간 원심 분리한다. 다시 상층액을 취하여 차가운 이소프로판올 500 µL를 넣고 잘 섞은 다음 -20°C에서 30 분 이상 방치하여 유전자를 침전시킨다. 이 액을 12,000 rpm에서 15 분간 원심 분리하여 상층액은 버리고 침전된 유전자에 70% 에탄올 500 µL을 벽면으로 천천히 가한 다음 12,000 rpm에 5 분간 원심 분리한다. 상층액은 버리고 침전물인 유전자는 실온에서 자연 건조한 다음 TE 용액 (10 mM Tris, pH 8.0, 1 mM EDTA) 100 µL로 유전자를 녹인다. 필요한 경우 RNase (100 mg/mL, 7000 units/mL) 2 µL를 넣고 37°C에서 2 시간 반응시킨다.⁸⁻⁹⁾.

제한효소 처리 및 유전자 조합(ligation of genomic DNA) - 샘플로부터 분리한 유전자 0.25 µg을 제한효소 *EcoR* I, *Mse* I(농도 : 2.5 units)와 5 × reaction buffer [50 mM Tris-HCl(pH 7.5), 50 mM Mg-acetate, 250 mM K-acetate]를 이용하여 37°C에서 2 시간 반응시킨다. 반응 후 본 혼합물을 70°C에서 15 분간 방치한 다음 *EcoR* I와 *Mse* I에 의해 잘린 DNA fragment에 primer를 결합할 수 있도록 T4 DNA-ligase를 이용하여 연결고리를 만들어 준다(Table I). 이 반응은 D.W.를 가지고 50 µL로 한 다음 20°C에서 2 시간 반응시킨다.

1차 선택 증폭(Pre-selective amplification) - 1 차 선택 증폭은 제한효소에 의해 잘린 유전자 단편 끝의 연결고리에 상보적인 결합을 하여 유전자가 충분히 증폭될 수 있도록 프라이머를 제작한다.

샘플에 대한 유전자증폭 반응 조건은 멸균된 0.5 mL PCR 용 튜브에 PCR 완충액(10 × amplification buffer : 500 mM KCl, 100 mM Tris · Cl, pH 8.0) 2 µL에 30 ng of *EcoR* I primer, 30 ng of *Mse* I primer, dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP : 각 2.5 mM) 4 µL, *Taq* polymerase (Finnzymes Fusion *Taq* polymerase and buffer : 2.5 units/µL) 0.2 µL와 5 µL의 분리한 주형 유전자(농도 약 20~50 ng) 1~2 µL를 넣고 멸균증류수로 최종 반응액을 20 µL로 한다(Table II).

유전자증폭 반응에 사용된 기기는 PTC-200 PCR machine (MJ Research Co.)를 이용하였으며 1 차 변성은 95°C에서 2 분, 변성은 95°C에서 45 초, 결합반응은 56°C에서 45 초

Table I. The sequence of adapters used the restriction and ligation of genomic DNA

Adapter	Sequence
<i>EcoR</i> I	5' -CTCGTAGACTGCGTACC CATCTGACGCATGGTTAA-5'
<i>Mse</i> I	5' -GACGATGAGTCCTGAG TACTCAGGACTCAT-5'

Table II. The sequence of *EcoR* I and *Mse* I primers reacted to pre-selective amplifications

Primer	Sequence
<i>EcoR</i> I	5' -GAC TGC GTA CCA ATT C-3'
<i>Mse</i> I	5' -GAT GAG TCC TGA GTA A-3'

Table III. Selective amplification primers

Primer	Sequence
E-AAC	5' - GAC TGC GTA CCA ATT C AAC-3'
E-ACC	5' - GAC TGC GTA CCA ATT C ACC-3'
E-AAG	5' - GAC TGC GTA CCA ATT C AAG-3'
E-ACG	5' - GAC TGC GTA CCA ATT C ACG-3'
E-ACA	5' - GAC TGC GTA CCA ATT C ACA-3'
E-AGC	5' - GAC TGC GTA CCA ATT C AGC-3'
E-ACT	5' - GAC TGC GTA CCA ATT C ACT-3'
E-AGG	5' - GAC TGC GTA CCA ATT C AGG-3'
M-CAA	5' - GAT GAG TCC TGA GTA A CAA-3'
M-CAA	5' - GAT GAG TCC TGA GTA A CAA-3'
M-CAC	5' - GAT GAG TCC TGA GTA A CAC-3'
M-CAG	5' - GAT GAG TCC TGA GTA A CAG-3'
M-CAT	5' - GAT GAG TCC TGA GTA A CAT-3'
M-CTA	5' - GAT GAG TCC TGA GTA A CTA-3'
M-CTC	5' - GAT GAG TCC TGA GTA A CTC-3'
M-CTG	5' - GAT GAG TCC TGA GTA A CTG-3'
M-CTT	5' - GAT GAG TCC TGA GTA A CTT-3'

및 증폭반응은 72°C에서 1 분 30 초간 진행하였으며 본 과정을 35 회 실시하였다. 유전자 증폭 결과를 확인하기 위해 1.2% 아가로즈겔 상에서 증폭반응이 끝난 시료 10 µL를 전기영동법으로 확인하였다.

Selective amplifications - 1차 선택 증폭된 PCR 반응액을 15 배 희석하여 두개의 AFLP 프라이머(*EcoR* I, *Mse* I primer) 연결고리를 가진 증폭 산물을 주형유전자로 재활용한다. 각 프라이머는 1 차 선택 증폭된 프라이머의 3' 말단에 3 개의 oligo-nucleotide를 이용해 재조합시킨다. 따라서 각 프라이머는 *EcoR* I와 *Mse* I와 반응할 수 있는 64 개의 재조합된 프라이머를 만들어 낼 수 있다(Table III). 유전자

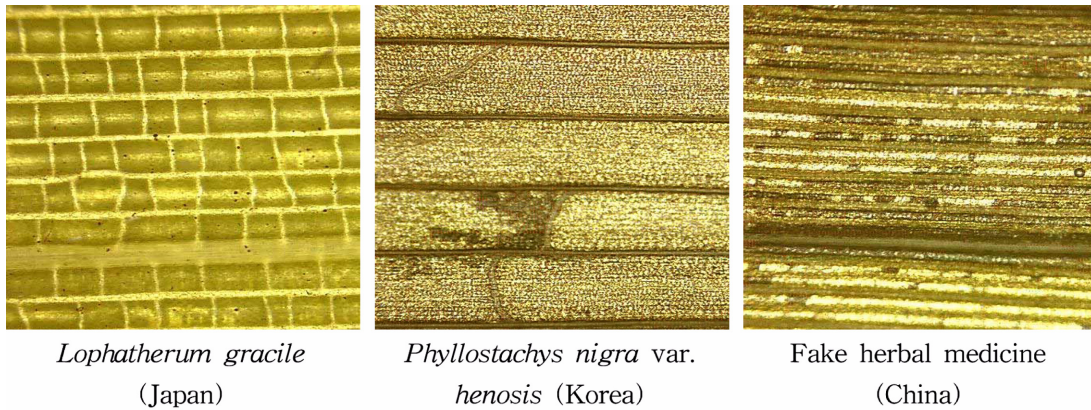


Fig. 2. Comparative results of microscopy methods between *Lophatherum gracile* and *Phyllostachys nigra* var. *henosis*.



Fig. 3. Distributed samples at the market.

증폭 반응은 멸균된 0.5 mL 튜브에 PCR용 완충액(10 × amplification buffer) 2 μL, 60 ng의 *EcoR* I primer, 60 ng의 *Mse* I primer, 4 μL의 dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP : 각 2.5 mM), 0.2 L의 *Taq* polymerase ((Finnzymes Fusion *Taq* polymerase and buffer : 2.5 units/μL)와 5 μL의 1 차 선택 증폭된 유전자 산물을 넣어 최종 반응액 20 μL로 하였다.

유전자증폭 반응은 온도 구배를 이용한 방법으로 진행하였으며 반응 조건은 1 차 변성은 94°C에서 2 분, 변성은 94°C 에서 1 분 및 증폭반응은 72°C에서 2 분 진행하였으며 본 과정은 36 회 실시하였다. 결합 반응 온도는 65°C에서 56°C 까지 설정하였으며 1 회전이 진행된 이후 0.7°C 씩 온도가 하강하도록 하였다.

전기영동 - 유전자증폭반응 결과는 아가로스 겔 또는 폴리아크릴아마이드 겔을 이용한 전기영동법으로 확인할 수 있다. 유전자증폭 산물에 1/6의 겔 염색액(gel loading buffer, Promega Co.)과 혼합하여 아가로스 겔의 각 홈(well)에 검액을 넣고, 첫 번째 홈에는 유전자증폭 산물의 크기를 식별

할 수 있는 사이즈 마커(100 bp PCR size marker, NEB Co.)를 넣는다. 전개액은 10 μL를 넘지 않도록 하였으며 2% 아가로스 겔을 이용해 각 증폭 밴드를 확인하였다. 겔의 염색은 에티디움브로마이드(Ethidium bromide)용액을 이용하였으며 UV상에서 확인하였다.

결 과

현미경을 이용한 감별 - 담죽엽과 죽엽은 끓인 물에 5 분간 처리하여 잎의 바깥 상면의 섬유질 층을 현미경 검경법으로 관찰하면 두 식물을 명확히 감별할 수 있다. 담죽엽은 불규칙한 직사각형의 무늬를 일정하게 가지고 있어 죽엽과는 뚜렷한 차이가 있다. 죽엽은 담죽엽과 달리 불규칙한 직사각형의 무늬가 없으나 일정한 간격으로 조직을 구획하는 가로선을 가진다(Fig. 3). 표면 형태도 담죽엽은 맑고 선명한 특징을 보이거나 죽엽은 거칠고 탁한 특징을 보인다. 또한 위표으로 판별된 샘플은 현미경으로 관찰하였을 때 담죽엽과 죽엽의 특징과는 전혀 다른 형태를 보였으며 외부 형태

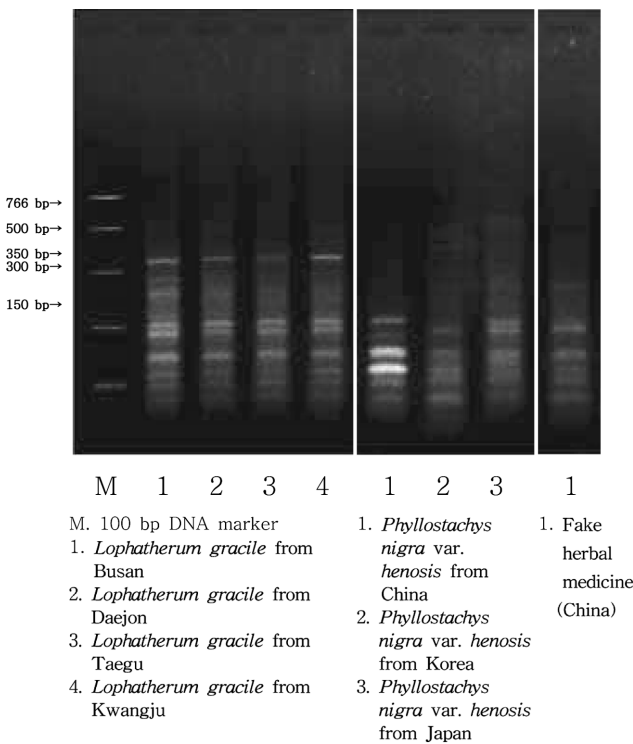


Fig. 4. Comparative results of AFLP fingerprinting methods between *Lophatherum gracile* and *Phyllostachys nigra* var. *henosis* (from left : *Lophatherum gracile*, *Phyllostachys nigra* var. *henosis*, Fake herbal medicine).

도 담죽엽과는 차이가 있었다(Fig. 3).

AFLP법을 이용한 감별 - 담죽엽과 죽엽 샘플은 현미경법으로 확인된 각 10개의 샘플에 대해 AFLP법으로 실험하였다. 유전자를 이용한 AFLP법은 PCR과정에서 특이 프라이머가 시료에 들어있는 주형 유전자와 결합하여 증폭 밴드의 크기에 따라 다양한 패턴을 보였다(Fig. 4). 이러한 증폭 밴드의 패턴은 담죽엽과 죽엽이 서로 다른 염기구조를 갖는 것에서 기인된 것이다.

담죽엽은 350 bp에서 단일 밴드가 증폭되는 반면, 죽엽은 350 bp 부근에서 유전자 증폭 밴드가 나타나지 않았다. 또한, 담죽엽 샘플 대부분은 150 bp 부근에서 2 개의 증폭 밴드를 보이지만 죽엽 대부분의 샘플은 1 개의 증폭 밴드를 보였다. 이러한 특징을 보인 담죽엽 시료들은 현미경법에서 불규칙한 직사각형 무늬를 보였으며, AFLP법에서도 모두 유사한 유전자 증폭 패턴을 보였다.

현미경법에서 죽엽으로 판명된 샘플에 대해 AFLP법으로 확인한 결과 대부분 150 bp 보다 작은 크기의 유전자 증폭 밴드가 확인되었으며, 담죽엽과 달리 샘플 상호간 유사한 유전자 증폭 패턴을 보이지는 않았다. 또한, 위품으로 확인된 샘플에서는 유전자 증폭 패턴이 담죽엽, 죽엽과는 차이를 보였다(Fig. 4).

AFLP법은 식물 조직을 구성하고 있는 세포 속의 유전자

가 동일한 유전자이며 동일한 염기서열을 갖는다면 유전자 증폭 패턴도 동일하게 보여짐을 확인 할 수 있었다.

고 찰

AFLP법을 이용한 담죽엽의 감별법은 분말 및 원형이 손상된 샘플의 감별에 유용하리라 생각된다. 담죽엽과 죽엽은 같은 벼과(Gramineae) 식물이나 기원이 다른 식물로서 구분해서 사용해야 한다. 현재, 우리나라는 담죽엽의 경우 대한약전의 한약(생약)규격집에 수재되어 있으며 죽엽은 공정서에 수재되어 있지 않아 의약품으로는 사용할 수 없다. 다만, 대한약전의 한약(생약)규격집에 “죽여(竹茹)”라 하여 죽엽과 기원 식물은 같지만 사용 부위가 줄기로서 담죽엽과는 쉽게 구별된다.

담죽엽은 감기에 주로 사용되는 “은교산” 처방에 사용되거나 확인시험법 등의 이화학적 시험법이 설정되어 있지 않아 품질 관리에 어려움이 있다. 본 연구는 현미경법을 이용하여 담죽엽과 죽엽 샘플에 대해 1 차 확인하였으며, 현미경을 이용한 감별에서 담죽엽과 죽엽의 세포조직에 차이가 있었다.

AFLP법은 담죽엽과 죽엽 샘플에서 분리한 유전자를 주형으로 하여 증폭반응이 일어나는 것이며 염기서열에 따라 유전자 증폭 패턴이 나타나게 된다. 즉, 유전자 증폭 패턴이 다르다는 것은 염기서열이 다른 식물로 기원이 서로 다른 식물임을 간접적으로 입증하는 것이다. AFLP법을 이용한 담죽엽과 죽엽의 감별 결과는 현미경 실험결과와도 일치함으로써 실험의 정확성도 검증되었다. 다만 죽엽의 경우 샘플간 유전자 증폭 패턴이 일치하지 않은 것은 우리나라는 솜대(*Phyllostachys nigra* Munro var. *henosis* Stapf), 왕대(*P. bambusoides* Sieb. et Zucc)를, 일본은 솜대, 왕대 그리고 화미죽(*Bambusa tuidoides* Munro)을 중국은 솜대, 왕대, 화미죽 이외에 죽변(*Sinocalamus beecheyanus* McClure var. *pubescens* PF Li)등이 기원식물로 사용되기 때문에 종이가 다른 죽엽 샘플이 본 실험에 이용되어 유전자증폭 패턴에서 미미한 차이를 보인 것으로 생각된다.

생약(한약)을 의약품으로 사용할 때 가장 중요한 것은 기원이 명확한 약재를 사용하는 것이라고 본다. 진단과 처방이 정확하더라도 기원이 다른 약재를 사용할 경우 효능도 보장할 수 없어 소비자들에게 생약(한약)에 대한 신뢰도 잃을 것이다. 현재, 관능검사 등을 통해 한약재의 기원, 성상 등을 확인하고 있으나 일부 생약(한약)의 경우 육안을 통한 생약(한약) 감별에 한계가 있으면 사람마다 객관성 확보에 어려움이 있다. 특히 본 연구를 위해 우리나라를 비롯한 중국 및 일본 현지에서 직접 방문하여 샘플을 구입한 결과 동일한 약재라도 각 나라별 채취시기와 건조 방법, 유통 기간 및 보관 환경에 따라 성상이 달라질 수 있다는 문제점도 확인

하였다.

본 연구는 이러한 한계점을 극복하기 위해 유전자분석법을 통한 담죽엽의 확인시험법을 연구하였으며, 개발된 시험법을 이용하여 기원이 정확한 약재가 유통될 수 있도록 품질관리에 이바지 하고자 한다. 또한 본 연구에서 개발된 시험법을 응용하여 감별이 어려운 다른 생약(한약)에 대해 과학적이고 객관적인 감별법으로 폭넓게 활용되리라 기대된다.

인용문헌

1. 식품의약품안전청 (2007) 대한약전외한약(생약)규격집, 서울.
2. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순, 중약대사전 (1997) 2: 883-884, 도서출판정담, 서울.
3. 김정상 (2002) 죽력(*Bambusae Caulis in Liquamen*)의 투여량에 따른 생쥐의 항산화효소 활성과 간과 신장의 조직병리학적 변화. *Korean J. Electron Microscopy* **32**(4): 399-410.
4. Ra, J., Lee, S., Kim, H. J., Jang, Y. P., Ahn, H. and Kim, J. (2010) *Bambusae Caulis* in *Taeniam* extract reduces ovalbumin-induced airway inflammation and T helper 2 responses in mice. *Journal of Ethnopharmacology* **128**: 241-247.
5. Tragoonrun, S., Kanazin, V., Hayes, P. M. and Blake, T. K. (1992) Sequence tagged site facilitated PCR for barley genome mapping. *Theoretical and Applied Genetics* **84**: 1002-1008.
6. Williams, G. K., Hanafey, M. K., Rafalski, J. A. and Tingey, S. V. (1992) Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. *Method in Enz.* **217**: 704-741.
7. Rajapakse, S., Belthoff, L. E., He, G., Estager, A. E., Scorza, R., Verde, I., Ballard, R. E., Baird, W. V., Callahan, A., Monet, R. and Abbott, A. G. (1995) Genetic linkage mapping in peach using morphological RFLP and RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics* **90**: 503-510.
8. Shim, Y. H., Choi, J. H., Park, C. D., Lim, C. J., Cho, J. H. and Kim, H. J. (2003) Molecular differentiation of *Panax* species by RAPD analysis. *Arch. Pharm. Res.* **26**: 601-605.
9. Moon, B. C., Choo, B. K., Cheon, M. S., Yoon, T., Ji, Y., Kim, B. B. and Lee, A. Y. (2010) Rapid molecular authentication of three medicinal plant species, *Cynanchum wilfordii*, *Cynanchum auriculatum* and *Polygonum multiflorum* (*Fallopia multiflorum*), by the development of RAPD-derived SCAR markers and multiplex-PCR. *Plant Biotechnol. Rep.* **4**: 1-7.
10. Tsumura, Y., Yoshimaru, K., Tomaru, N. and Ohba, K. (1995) Molecular phylogeny of conifers using RFLP analysis of PCR-amplified specific chloroplast genes. *Theoretical and Applied Genetics* **91**: 1222-1236.
11. Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M. and Reijans, M. (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* **23**: 4407-4414.
12. Ha, W. Y., Yau, F. C., But, P. P., Wang, J. and Shaw, P. C. (2001) Direct amplification of length polymorphism analysis differentiates *Panax ginseng* from *Panax quinquefolius*. *Planta Med.* **67**: 587-589.
13. Oiki, S., Kawahara, T., Inoue, K., Ohara, M. and Maki, M. (2001) Random amplified polymorphic DNA (RAPD) variation among populations of the insular endemic plant *Campanular microdonta* (Campanulaceae). *Annals of Botany* **87**: 661-667.
14. Shaw, P. C. and But, P. P. (1995) Authentication of *Panax* species and their adulterants by random-primed polymerase chain reaction. *Planta Med.* **61**: 466-469.
15. Partis, L. and Wells, R. J., (1996) Identification of fish species using random amplified polymorphic DNA(RAPD). *Molecular and Cellular probes* **10**: 435-441.
16. Ko, S. R., Choi, K. J. and Han, K. W., (1996) Comparison of proximate composition, mineral nutrient, amino acid and free sugar contents of several *Panax* species. *Korean Journal of Ginseng Science* **20**: 36-41.
17. Ko, S. R., Choi, K. J. and Han, K. W., (1996) Comparison of proximate composition, mineral nutrient, amino acid and free sugar contents of several *Panax* species. *Korean Journal of Ginseng Science* **20**: 36-41.
18. Kyung, K. H., Lee, W. J., Kim, M. Y., Ko, H. J. and Kim, H. Y., (2003) Study on the concept of substantial equivalence and safety assessment of genetically modified foods. *The Annual Report of KFDA* **7**: 770.
19. Partis, L. and Wells, R. J., (1996) Identification of fish species using random amplified polymorphic DNA(RAPD). *Molecular and Cellular probes* **10**: 435-441.
20. Song, B. K., Clyde, M. M., Wickneswari, R. and Normah, M. N. (2000) Genetic relatedness among *lansium domesticum* accessions using RAPD Markers. *Annals of Botany* **86**: 299-307.

(2010. 5. 26 접수; 2010. 7. 15 심사; 2010. 10. 6 게재확정)