

## RAPD 분석을 통한 大黃과 種大黃 감별용 SCAR 유전자 마커 개발

문병철<sup>1</sup>, 이영미<sup>1</sup>, 천진미<sup>1</sup>, 이아영<sup>1</sup>, 윤태숙<sup>1</sup>, 전명숙<sup>1</sup>, 추병길<sup>2</sup>, 김호경<sup>1\*</sup>

1: 한국한의학연구원 한약자원연구센터 2: 전북대학교 작물생명과학과

### Development of SCAR Markers for the Discrimination of Rhei Radix et Rhizoma and Rhei Undulatai Rhizoma based on the RAPD

Byeong Cheol Moon<sup>1</sup>, Young Mi Lee<sup>1</sup>, Jin Mi Chun<sup>1</sup>, A Young Lee<sup>1</sup>, Taesook Yoon<sup>1</sup>,  
Myeong Sook Cheon<sup>1</sup>, Byung Kil Choo<sup>2</sup> and Ho Kyoung Kim<sup>1\*</sup>

1: Center of Herbal Resources Research, Korea Institute of Oriental Medicine  
2: Department of Crop Agriculture and Life Science, Jeonbuk National University

#### ABSTRACTS

**Objectives** : Due to the morphological similarity and frequent occurrence of intermediate forms as well as morphological variations of aerial part, the correct identification between Rhei Radix et Rhizoma and Rhei Undulatai Rhizoma is very difficult. To develop a reliable method for correct identification and improving the quality standards of Rhei Radix et Rhizoma and Rhei Undulatai Rhizoma, we analyzed RAPD and developed SCAR marker.

**Methods** : To amplify target DNA at the genomic level, 32 Operon 10-mer random primers were applied with four *Rheum* species, *R. officinale*, *R. palmatum*, *R. tanguticum* and *R. undulatum*. The nucleotide sequences were determined and species-specific primers were prepared depending on the species-specific RAPD amplicons after subcloned into the pGEM-Teasy vector. To develop the SCAR markers, species-specific PCR amplification and mutiplex-PCR were carried out using the single species-specific primer pairs and combinations of them, respectively.

**Results** : We used RAPD analysis of four *Rheum* plant species to obtain several species-specific RAPD amplicons. From nucleotide sequences of these RAPD amplicons, we developed two SCAR markers that amplified 314 bp and 390 bp DNA fragments in only *R. undulatum* but not in *R. officinale*, *R. palmatum*, *R. tanguticum* and *R. undulatum*, for distinguishing Rhei Undulatai Rhizoma and Rhei Radix et Rhizoma. Furthermore, we established SCAR markers for the simultaneous discrimination of the three species within a single reaction by using multiplex-PCR.

**Conclusions** : These genetic markers can be used for the efficient discrimination of plants species and commercial herbal medicines between Rhei Undulatai Rhizoma and Rhei Radix et Rhizoma, to ultimately prevent indiscriminate distribution and prescription of these herbal medicines.

**Key words** : *Rheum* species, Rhei Radix et Rhizoma, Rhei Undulatai Rhizoma, Sequence Characterized Amplified Region(SCAR) marker, Random Amplified Polymorphic DNA(RAPD), Molecular authentication

---

\* 교신저자 : 김호경, 대전시 유성구 엑스포로 483 한국한의학연구원 한약자원연구센터  
· Tel : 042-868-9502 · E-mail : hkkim@kiom.re.kr  
· 접수 : 2009년 11월 20일 · 수정 : 2009년 12월 14일 · 채택 : 2009년 12월 21일

## 서론

대황(大黃)은 《신농본초경(新農本草經)》<sup>1)</sup>에 味苦寒으로 처음 기록된 이후 사하약(瀉下藥) 중 공하약(攻下藥)으로, 주로 사열통장(瀉熱通腸), 양혈해독(涼血解毒), 축어통경(逐瘀通經)하는 효능과 실열변비(實熱便秘), 습열황달(濕熱黃疸), 혈열토늑(血熱吐衄), 응종정창(癰腫疔瘡), 질타손상(跌打損傷), 수화탕상(水火燙傷) 등의 증상을 치료하는데 이용되는 중요한 한약재 중 하나이다<sup>2)</sup>.

대황(大黃)의 기원식물은 《대한약전》 제9개정과 중화인민공화국 모두 금문계(錦紋系) 대황인 마디풀과(Polygonaceae)의 장엽대황(掌葉大黃, *Rheum falmatum* L.), 약용대황(藥用大黃, *R. officinale* Baill.) 그리고 탕구트대황(唐古特大黃, *R. tanguticum* Maxim. ex Balf.)의 뿌리줄기로 정의하고 있으며<sup>3)</sup>, 이외는 별도로 《대한약전의 한약(생약)규격집》에서는 토대황계(土大黃系)인 종대황(種大黃, *R. undulatum* L.)을 별도로 수재하고 있다<sup>4)</sup>. 하지만 대황(大黃)의 품질규격이 '대황(大黃)의 건조물을 정량할 때 senoside A (C<sub>42</sub>H<sub>38</sub>O<sub>20</sub>)가 0.25% 이상 함유하여야 한다'라고 개정된 이후 센노사이드A 함량과 관계없이 수입할 수 있는 종대황(種大黃)이 다량 수입되어 국산대황(大黃) 또는 대황(大黃)으로 유통되어 임상에서 혼·오용되고 있는 실정이다<sup>5)</sup>. 대황(大黃)의 종 감별은 기원식물의 지상부나 약용부위 또는 한약재 절편의 형태, 색깔, 조직특성, 향기 등에 기초한 관능적 특성 분석에 의해 주로 이루어지고 있으며, 이화학적 방법인 senoside 함량 분석에 의한 정량법은 품질기준으로 종 감별에는 어려움이 있다. 따라서 정품대황(大黃)인 장엽대황, 약용대황, 탕구트대황과 종대황의 객관적인 구별법 개발은 대황(大黃)의 품질관리와 표준화를 위해 중요한 부분이라고 할 수 있다<sup>6-7)</sup>.

최근 들어 특정 유전자의 염기서열 분석과 유전체를 이용한 증합효소 연쇄 반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)과 같은 분자생물학적 분석법의 등장으로 인해 한약재의 보다 정확하고 객관적인 분류법 및 감별법이 개발되고 있다<sup>8,9)</sup>. PCR 기법에 기초한 RAPD법<sup>9)</sup>, AP-PCR법<sup>10)</sup>, AFLP법<sup>11)</sup>, DALP법<sup>12)</sup> 등과 같은 분석법은 나노그램(ng) 수준의 아주 작은 양의 DNA를 이용하여 전체 유전체 분석이 가능한 충분한 양의 DNA를 증폭할 수 있는 장점이 있어 유전자 마커 개발에 널리 이용되고 있다. 이들 중, RAPD 분석법의 경우는 방법이 간단하고 비용이 저렴하면서도 짧은 시간에 분석 가능한 충분한 양의 유전자 다형을 얻을 수 있는 장점으로 인해 다양한 속의 한약재에서 종 감별에 이용되고 있다<sup>8)</sup>. 특히 Paran과 Michelmores의 RAPD 분석을 통해 얻은 종 특이적 증폭산물로부터 보다 정확하고 안정적인 SCAR 마커 개발법<sup>13)</sup>이 알려지면서 국·내외 많은 연구자들이 RAPD에 기초한 SCAR 마커를 활용하여 한약재 감별법을 개발하고 있다<sup>8,14-16)</sup>. 대황(大黃)의 경우는 장엽대황과 종대황이 혈관이완에 미치는 영향의 비교<sup>17)</sup>, 대황(大黃)류 4종의 항염증 활성비교<sup>2)</sup>와 같은 활성연구와 대황(大黃)류 형태감별

연구<sup>5)</sup>, 이화학 분석을 통한 대황속 식물의 senoside 함량 비교<sup>18)</sup> 및 패턴분석을 이용한 대황(大黃)류 구별법에 대한 연구<sup>19)</sup> 등이 보고되었으며, 유전자 분석을 통한 대황(大黃)류 종 감별법 개발로는 Yang 등의 염색체 *matK* 유전자 염기서열의 marker nucleotide를 이용한 유전자 감별법에 대한 보고<sup>20-21)</sup>가 전부이다.

따라서 본 연구에서는 RAPD 분석과 같은 DNA 지문 분석을 통해 전체 유전체를 분석함으로써 장엽대황, 약용대황, 탕구트대황 및 종대황의 종별 유전특성을 파악하고 종 감별에 활용 가능한 SCAR 마커 개발을 통해 대황(大黃)류 혼·오용 방지를 위한 분자마커로 활용하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

실험에 사용한 대황(大黃) 기원식물은 Table 1에서 나타난 바와 같이 강원도 태백의 고원시험장, 일본 동경의 약용식물원 그리고 중국의 사천성, 감숙성, 화북성의 자생지와 재배지에서 2006년 7월부터 2008년 8월에 직접 수집하였다. 수집한 시료는 본초학, 생약학, 식물분류학 등의 전문가로 구성된 분류·동정 자문회의의 동정을 거쳐 그 종을 확정지어 사용하였으며, 각 시료의 기원식물은 표본을 제작하여 한국한의학연구원 표본관에 보관하였다(Table 1).

Table 1. List of Plant Materials and Information of Specimens

Official name	Species	Source	Specimen line	
Rhei radix et rhizoma	<i>Rheum officinale</i> Baill.	Kodairasi, Tokyo, Japan	Leaf 1	
		Li County, Gansu, China	Leaf 2	
		Enshi City, Hubei, China	Seed 3	
	<i>Rheum palmatum</i> L.	Li County, Gansu, China	Leaf 4	
			Root 5	
		Rong County, Sichuan, China	Leaf 6	
		Rong County, Sichuan, China	Leaf 7	
		<i>Rheum tanguticum</i> Maxim. ex Balf.	Li County, Gansu, China	Leaf 8
			Li County, Gansu, China	Leaf 9
			Wuhan City, Hubei, China	Root 10
Rhei undulatai rhizoma	<i>Rheum undulatum</i> L.	Li County, Gansu, China	Root 11	
		Kodairasi, Tokyo, Japan	Leaf 12	
			Leaf 13	
		Taebaek City, Kangwon, Korea	Leaf 14	
			Leaf 15	
			Leaf 16	

### 2. 방법

#### 1) DNA 추출

국내·외 자생지 또는 재배지에서 수집한 기원식물 시료를 액체질소로 급냉시켜 막자사발을 이용하여 분말상태가 되도록 마쇄한 후, Plant Genomic DNA Prep Kit

(Solgent, Korea) 또는 DNeasy plant mini kit(QIAGEN, Germany)을 이용하여 제작자가 제공한 protocol에 따라 추출 정제하였다. 정제된 DNA의 순도와 질을 확인하기 위하여 1.5% agarose gel을 이용하여 전기영동 후, EtBr (Ethidium Bromide)로 염색하여 UV light상에서 DNA의 양과 순도를 확인하였으며, 최종적으로는 UV spectrophotometer (Nanodrop ND-1000, Nanodrop, UK)를 이용하여 260 nm와 280 nm에서 흡광도를 측정하여 정량 하였다.

## 2) RAPD 증폭 및 염기서열 분석

종대황의 특이적 증폭산물을 탐색하기 위해 총 32개의 10-mer RAPD primer(Operon Technologies, Germany)를 이용하여 수정된 Williams 방법<sup>9)</sup>으로 RAPD PCR 증폭을 수행하였다(Table 2). PCR 증폭은 약 5~20 ng의 genomic DNA와 30 pmole의 RAPD primer, 그리고 2 unit의 DNA polymerase를 30  $\mu$ l의 1 $\times$ 반응용액(75 mM Tris-HCL (pH 8.8), 20 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.1%(v/v) Tween 20, 20  $\mu$ M dNTP, 200  $\mu$ M MgCl<sub>2</sub>)에 각각 첨가하여 DNA Engine Dyad Thermal Cycler (MJ Research, USA)

에서 수행하였다. 반응조건은 95 $^{\circ}$ C에서 5분간 predenaturation 한 후 95 $^{\circ}$ C에서 30초 denaturation, 51 $^{\circ}$ C에서 40초 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 1분 extension을 35회 수행하고 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 extension시켜 증폭하였다.

PCR 반응이 끝난 증폭산물 15  $\mu$ l를 1.5% agarose gel에서 1 kb plus DNA ladder (Solgent, Korea)와 함께 전기영동하고 EtBr로 염색하여 UV상에서 종 특이 증폭산물을 탐색하고 이들을 agarose gel로부터 회수하여 Agarose Gel Extraction Kit(SolGent, Korea)를 이용하여 정제한 뒤 pGEM-Teasy Vector Systems (Promega, USA)에 삽입하였다. 삽입된 증폭산물은 XL1-Blue MRF' competent cell (Stratagene, USA)에 형질전환한 뒤 ampicillin과 X-gal/IPTG가 첨가된 LB agar 배지에 도말하여 약 20시간 배양하였다. 각 시료별로 선별된 3개의 white colony를 액체배양하고 Plasmid mini preparation kit (SolGent, Korea)를 이용하여 plasmid DNA를 분리한 후, T7과 SP6 primer를 이용하여 ABI3730 automatic DNA sequencer (Applied Biosystems, USA)에서 염기서열을 분석하고 각각의 종 특이 증폭산물의 염기서열을 확정하였다.

Table 2. List of 10-mer Oligonucleotide Primers Employed for RAPD Analysis

No	Primer	Sequence(5'→3')	G+C Content(%)
1	OPA1	CAG GCC CTT C	70
2	OPA2	TGC CGA GCT G	70
3	OPA3	AGT CAG CCA C	60
4	OPA4	AAT CGG GCT G	60
5	OPA7	GAA ACG GGT G	60
6	OPA10	GTG ATC GCA G	60
7	OPA11	CAA TCG CCG T	60
8	OPB1	GTT TCG CTC C	60
9	OPB2	TGA TCC CTG G	60
10	OPB3	CAT CCC CCT G	70
11	OPB4	GGA CTG GAG T	60
12	OPB5	TGC GCC CTT C	70
13	OPB6	TGC TCT GCC C	70
14	OPB8	GTC CAC ACG G	70
15	OPB10	CTG CTG GGA C	70
16	OPB11	GTA GAC CCG T	60
17	OPC2	GTG AGG CGT C	70
18	OPC4	CCG CAT CTA C	60
19	OPC8	TGG ACC GGT G	70
20	OPC12	TGT CAT CCC C	60
21	OPD1	ACC GCG AAG G	70
22	OPD2	GGA CCC AAC C	70
23	OPD3	GTC GCC GTC A	70
24	OPD5	TGA GCG GAC A	60
25	OPD8	GTG TGC CCC A	70
26	OPD10	GGT CTA CAC C	60
27	OPE1	CCC AAG GTC C	70
28	OPE2	GGT GCG GGA A	70
29	OPE3	CCA GAT GCA C	60
30	OPJ1	CCC GGC ATA A	60
31	OPJ2	CCC GTT GGG A	70
32	OPJ3	TCT CCG CTT G	60

## 3) SCAR 마커 및 multiplex-PCR 증폭

종 특이 증폭산물로부터 얻은 염기서열을 NCBI GenBank BLAST(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) 검색을 통해 기존에 알려진 유전자 염기서열과 유사성을 확인하고 유사성이 없는 부위를 이용하여 primer를 제작하였다. 제작된 primer의 Tm값, GC 함량 및 2차 구조 형성여부는 CyberGene AB primer design tool을 이용하여 확인하고 최적의 PCR 증폭 조건을 설정하였다(<http://www.cybergene.se>, Stockholm, Sweden). 각각의 종 특이 증폭산물로부터 제작된 primer 쌍을 이용한 PCR 증폭 후, 종 특이적 DNA 절편의 증폭 유무, 크기 및 수의 확인을 통해 SCAR marker와 적정 PCR 조건을 탐색하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 대황(大黃)류 RAPD 분석 및 종 특이 증폭산물 염기서열 분석

종대황(種大黃) 종 감별을 위한 종 특이 염기서열 탐색을 위하여 PCR법을 이용한 유전체 RAPD 분석을 실시하였다. 유전적 변이에 의한 종내 개체간의 차이에서 발생하는 RAPD 결과의 오류를 줄이기 위하여 종별로 자생지 또는 재배지가 다른 3개체 이상의 시료를 이용하였다(Table 1). 총 32종의 Operon 10-mer primer를 이용한 PCR 증폭결과, 증폭산물은 주로 150 bp~2.0 kb의 크기에서 다양하게 나타났으며, 20종의 primer로부터 4종의 대황에 대해 각각 특이적으로 증폭되는 다수의 종별 특이 증폭산물을 얻을 수 있었다(Fig. 1). 또한 종내 개체간 RAPD 증폭산물의 다형성을 분석한 결과, 종별 특이 증

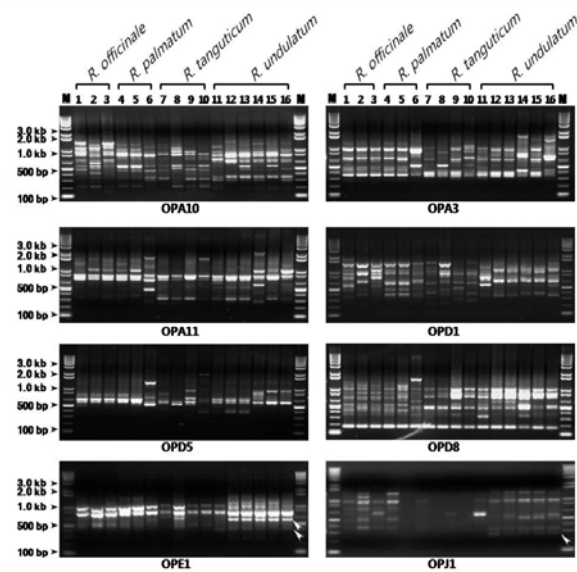


Fig. 1. RAPD profile of the *R. officinale*, *R. palmatum*, *R. tanguticum* and *R. undulatum* using 10-mer random primers. The arrowheads indicate species-specific RAPD amplicons and numbers on lanes 1 through 16 correspond to the lanes in Table 1. M represents a 1 kb plus DNA ladder.

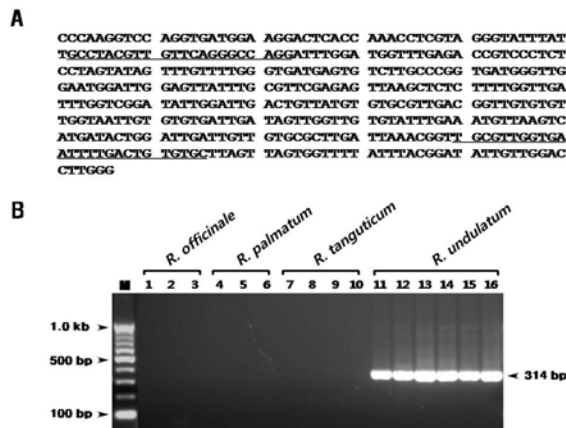


Fig. 2. Nucleotide sequence of the JDE1-1 *R. undulatum* specific RAPD amplicon and development of the SCAR marker. (A) Nucleotide sequence of the JDE1-1 RAPD amplicon. (B) Confirmation of primer specificity for the SCAR marker. The numbers corresponds to the lane numbers in Table 1. The precise size of SCAR marker is indicated to the right of the panel, with the arrowhead. M represents a 100 bp DNA ladder.

폭산물뿐만 아니라 다수의 종내 개체간 특이 증폭산물을 확인할 수 있었다(Fig. 1). RAPD 분석에서 이러한 종내 개체간 증폭산물의 다형성은 분석에 사용된 각 개체의 자생지 또는 재배지 생육환경의 차이에 의한 유전변이나, 종간 교잡과 같은 유전적 특성에서 기인된 변이에 의한 것으로 판단된다.

RAPD 분석으로 확보한 종 특이 증폭산물의 염기서열을 분석하고 이를 토대로 재현성이 높은 SCAR 마커 개

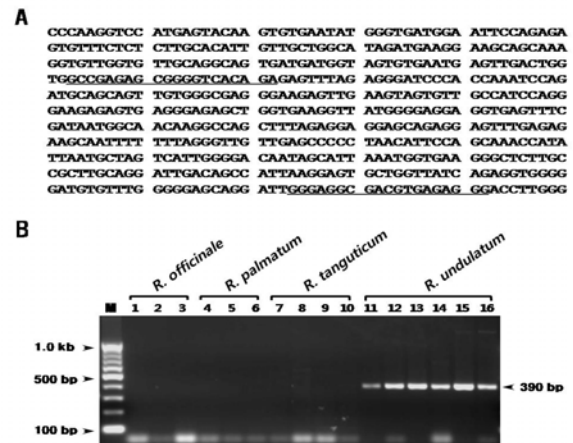


Fig. 3. Nucleotide sequence of the JDE1-2 *R. undulatum* specific RAPD amplicon and development of the SCAR marker. (A) Nucleotide sequence of the JDE1-2 RAPD amplicon. (B) Confirmation of primer specificity for the SCAR marker. The numbers corresponds to the lane numbers in Table 1. The precise size of SCAR marker is indicated to the right of the panel, with the arrowhead. M represents a 100 bp DNA ladder.

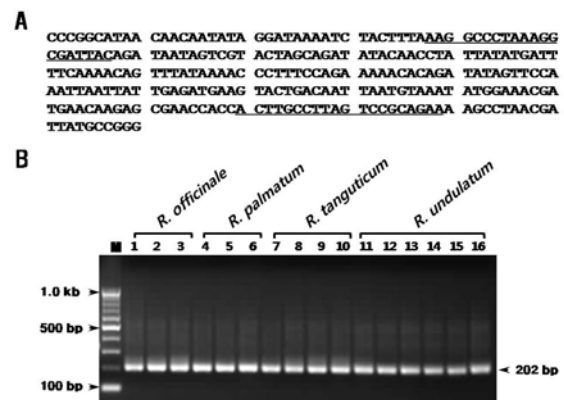


Fig. 4. Nucleotide sequence of the JDJ1-1 *R. undulatum* specific RAPD amplicon and development of the SCAR marker. (A) Nucleotide sequence of the JDJ1-1 RAPD amplicon. (B) Confirmation of primer specificity for the SCAR marker. The numbers corresponds to the lane numbers in Table 1. The precise size of SCAR marker is indicated to the right of the panel, with the arrowhead. M represents a 100 bp DNA ladder.

발을 하였다. OPE1 primer에서 증폭된 약 400 bp와 550bp 2개의 종대황 특이 증폭산물(각각 JDE1-1과 JDE1-2로 명명) 및 OPJ1 primer에서 증폭된 약 270 bp 종대황 특이 증폭산물(JDJ1-1로 명명)을 agarose gel에서 회수하여 염기서열을 분석하였다(Fig. 1 OPE1, OPJ1). 이들 종대황 특이 증폭산물의 염기서열 분석결과, JDE1-1은 406 bp, JDE1-2는 550 bp, 그리고 JDJ1-1은 260 bp의 염기로 구성되어 있음을 알 수 있었으며(Fig. 2A, 3A, 4A), 분석된 염기서열을 NCBI GenBank BLAST(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)를 이용하여 기존에 알려진 유전자 염기서열과 유사성이 있는지 확인하였으나 유사성이 없는 것으로 조사되었다.

## 2. 종대황(種大黃) 감별용 SCAR 마커 개발 및 multiplex-PCR 증폭

종대황(種大黃) 감별용 SCAR 마커<sup>13)</sup> 개발을 위해 3개의 종대황 특이 RAPD 증폭산물의 염기서열로부터 각각의 정방향 및 역방향 primer를 제작하였다(Fig. 2A, 3A, 4A). 제작된 각 primer 쌍을 이용한 PCR 증폭으로 종 특이성을 확인한 결과, JDE1-1과 JDE1-2를 이용하여 제작한 SCAR primer 쌍은 각각 예상한 크기인 314 bp와 390 bp의 DNA 절편이 종대황에서는 증폭되었으나, 약용대황, 장엽대황 및 탕구트대황에서는 증폭되지 않았다(Fig. 2B, 3B). 따라서 JDE1-1과 JDE1-2 유래 314 bp와 390 bp SCAR 마커는 종대황(種大黃)의 종판별에 충분히 활용 가능할 것으로 판단된다. 하지만 JDJ1-1 primer 쌍의 경우는 예상한 크기인 202 bp의 DNA 절편을 증폭하였으나 종대황에 대한 특이성을 갖지 않고 3종의 대황과 종대황에서 모두 증폭됨을 확인하였다(Fig. 4B). 이러한 결과는 JDJ1-1 primer 염기서열 부위가 다른 종과 유사성이 높은 부위이기 때문이거나 다형성 분석에서 정확성이 떨어지는 RAPD법의 단점에서 기인한 것으로 판단된다<sup>8)</sup>.

multiplex-PCR 증폭 DNA 절편을 전기영동으로 관찰한 결과, 두 쌍의 primer 조합(JDE1-1 primer 쌍 + JDJ1-1 primer 쌍, JDE1-2 primer 쌍 + JDJ1-1 primer 쌍) 모두에서 명확한 증폭산물을 확인할 수 있었다(Fig. 5A). 뿐만 아니라, 이들 primer 조합을 이용하여 종대황(種大黃)의 위품으로 이용되고 있는 양제근(羊蹄根, Rumecis Radix)과 대황(大黃)류의 구별 여부를 확인하기 위해 양제근(羊蹄根)과 대황(大黃) 및 종대황(種大黃)을 이용하여 PCR 증폭한 결과, 대황(大黃)에서 202 bp의 DNA 절편이 증폭되었고 종대황(種大黃)에서는 202 bp와 314 bp의 DNA 절편이 동시에 증폭되었지만 양제근(羊蹄根)에서는 증폭되는 DNA 절편을 확인할 수 없었다(Fig. 5B). 따라서 본 연구에서 RAPD 분석을 통해 개발한 SCAR 마커는 대황(大黃)과 종대황(種大黃)의 구분은 물론, 위품인 양제근(羊蹄根)으로부터 대황(大黃)과 종대황(種大黃)을 감별할 수 있음을 알 수 있었다. 하지만 본 연구에서 개발한 SCAR 마커가 현재 중국과 국내에서 대황(大黃)으로 유통되고 있는 고산대황, 화북대황, 탐황, 산대황 등과 같은 다양한 대황속 식물 전체를 감별하는 유전자 마커로는 부족함이 있어 앞으로 정확하게 동정된 이들 대황속 식물을 추가하여 이들로부터 정품 대황(大黃)을 감별할 수 있는 마커의 개발이 추가로 필요할 것으로 사료된다.

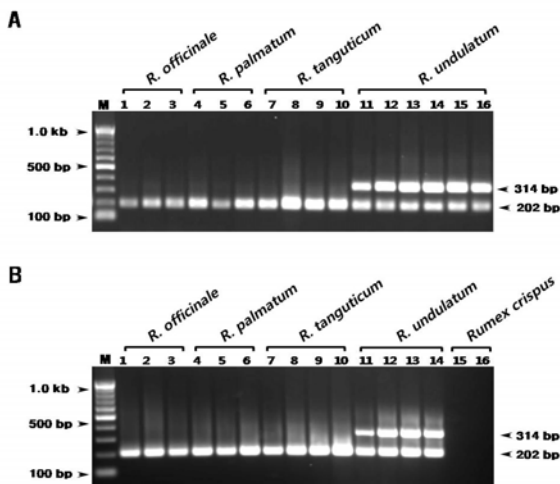


Fig. 5. Amplification of a multiplex-PCR products using the combination of a designed primer pairs

(A) Multiplex-PCR products from the combination of the JDE1-1 primer pair and JDJ1-1 primer pair.

(B) Multiplex-PCR amplification for discriminating Rhei Radix et Rhizoma, Rhei Undulatai Rhizoma and of the combination of the JDE1-1 primer pair and JDJ1-1 primer pair.

Numbers on lanes 1 through 14 correspond to the lanes in Table 1, and lane 15 and 16 represent Rumex crispus. The precise size of SCAR marker is indicated to the right of the panel, with the arrowhead. M represents a 100 bp DNA ladder.

보다 명확한 대황(大黃)과 종대황(種大黃) 감별을 위하여 JDE1-1 primer 쌍과 JDE1-2 primer 쌍을 각각 JDJ1-1 primer 쌍과 동시에 첨가하여 증폭되는 DNA 절편의 크기와 수를 이용한 종 감별 유무를 확인하고자 multiplex-PCR<sup>22)</sup>을 수행하였다. Primer 쌍 조합을 통한

## 결론

본 연구는 《대한약전》과 《대한약전의한약(생약)규격집》에서 대황(大黃)과 종대황(種大黃)으로 구분하여 규정하고 있는 대황(大黃), 약용대황, 장엽대황, 탕구트대황)과 종대황(種大黃) 감별을 위하여 RAPD 분석을 통한 SCAR 마커를 개발함으로써, 혼·오용 되고 있는 대황(大黃)과 종대황(種大黃) 감별은 물론 위품인 양제근(羊蹄根)으로부터 대황(大黃)과 종대황(種大黃)의 감별을 가능하게 함으로써 대황(大黃)류 한약재의 기원정립과 표준화에 이바지 할 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 한국한의학연구원의 한의본초활용기반구축사업의 지원에 의해 수행되었으며(L08020), 본 연구에 이용된 대황속 식물의 정확한 분류·동정에 도움을 주신 분류·동정자문회의 위원님께 감사드립니다.

## 참고문헌

1. 顧觀光 輯, 楊鵬學 校主. 新農本草經 校主. 北京: 學園出版社. 1998: 93-4.
2. 전명숙, 윤태숙, 최고야, 김승주, 이아영, 문병철, 추

- 병길, 김호경. 마우스 Raw264.7 세포에 대한 4종 대황류 추출물의 항염증 활성 비교. 한국약용작물학회지. 2009 ; 17 : 109-114.
3. 식품의약품안전청. 대한약전. 서울 : 식품의약품안전청. 2007 : 919.
  4. 식품의약품안전청. 대한약전의한약(생약)규격집. 서울 : 식품의약품안전청. 2004 : 319.
  5. 김선제, 한신희, 이영중. 대황의 형태 감별에 관한 연구. 대한본초학회지. 2006 ; 21 : 171-6.
  6. Joshi K, Minami M, Kawahara K, Nakamura I, Shibata T. Molecular markers in herbal drug technology. Curr Sci. 2004 ; 87 : 159-165.
  7. Zhang YB, Shaw PC, Sze CW, Wang ZT, Tong Y. Molecular authentication of chinese herbal materials. Food Drug Anal. 2007 ; 15 : 1-9.
  8. Sucher NJ, Carles MC. Genome-based approaches to the authentication of medicinal plants. Planta Med. 2008 ; 74 : 603-623.
  9. Williams JG, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 1990 ; 18 : 6531-5.
  10. Welsh J, McClelland M. Genomic fingerprints produced by PCR with consensus tRNA gene primers. Nucleic Acids Res. 1991 ; 19 : 861-6.
  11. Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijmans M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Marc Z. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res. 1995 ; 23 : 4407-14.
  12. Desmarais E, Lanneluc I, Lagnel J. Direct amplification of length polymorphism. (DALP), or how to get and characterize new genetic markers in many species. Nucleic Acids Res. 1998 ; 26 : 1458-65.
  13. Paran I, Michlmore RW. Development of reliable PCR based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. Theor Appl Genet. 1993 ; 85 : 985-93.
  14. 방경환, 성경숙, 박충현, 김동순, 박춘근, 유홍섭, 박희운, 성낙술. 해부형태적 특징과 SCAR marker를 이용한 백출의 기원식물 판별. 한국약용작물학회지. 2004 ; 12 : 53-9.
  15. 임정현, 김동순, 성경숙, 방경환, 김옥태, 차선우, 박희운. SCAR 마커를 이용한 황기와 몽고황기 판별. 한국약용작물학회. 2007 ; 15 : 51-5.
  16. Choo BK, Moon BK, Ji Y, Kim BB, Choi G, Yoon T, Kim HK. Development of SCAR markers for the discrimination of three species of medicinal plants, *Angelica discursiva*(*Peucedanum decursivum*), *Peucedanum praeruptorum* and *Anthriscus sylvestris*, based on the internal transcribed spacer(ITS) sequence and random amplified polymorphic DNA (RAPD). Biol Pharm Bull. 2009 ; 32 : 24-30.
  17. 김형환, 박수연, 안덕균, 박성규. 장엽대황과 종대황이 흰쥐의 흉부대동맥 혈관이완에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2004 ; 19 : 99-105.
  18. 김미화, 장스엽, 이제현, 고성권, 육창수. 대황 속의 Sennoside A, B의 HPLC에 의한 정량. 경희약대논문집. 2000 ; 28 : 115-20.
  19. 강중성, 박기주, 오은기, 이은실, 황귀서, 이현선, 김영호. 패턴분석법에 의한 대황의 비교 연구. 생약학회지. 2008 ; 39 : 179-85.
  20. Yang DY, Fushimi H, Cai SQ, Komatsu K. Molecular analysis of *Rheum* species used as Rhei Rhizoma based on the chloroplast *matK* gene sequence and its application for identification. Biol Pharm Bull. 2004 ; 27 : 375-83.
  21. Yang DY, Fushimi H, Cai SQ, Komatsu K. Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism(PCR-RFLP) and amplification refractory mutation system(ARMS) analysis of medicinally used *Rheum* species and their application for identification of Rhei Rhizoma. Biol Pharm Bull. 2004 ; 27 : 661-9.
  22. Henegariu O, Heerema NA, Dlouhy SR, Vance GH, Vogt PH. Multiplex PCR: critical parameters and step-by-step protocol. Biotechnology. 1997 ; 23 : 504-511.