

*trnLF*, *ndhF* 염기서열을 이용한 한약재 신이(Magnolia Flos)의  
유연관계 확인 및 종감별 분자마커 개발

노중훈, 김명겸, 배갈마, 양덕춘\*

Phylogenetic Analysis of "Sin-ii"(Magnolia Flos) on the basis of *trnLF* and  
*ndhF* Sequences and Development of Molecular Marker for Identification

Jong-Hun Noh, Myung Kyum Kim, Baigalmaa Jigden, Deok-Chun Yang\*

Korean Ginseng Center for Most Valuable Products & Ginseng Genetic Resource  
Bank, Kyung Hee University,

1 Seocheon-dong, Giheung-gu Yongin-si, Gyeonggi-do 449-701, South Korea

**Objectives**

신이(Magnolia Flos)는 널리 사용되어지는 한약재로서 한국에서는 그 기원식물이 *Magnolia denudata*(백목련) 또는 기타 동속 근연식물로 규정되어 있고 중국에서는 *M. denudata*, *M. biondii*(망춘화), *M. sprengeri*(무당옥란)만이 신이로 승인되어 유통되어지고 있다. 신이의 엽록체 DNA들 중의 하나인 *trnLF*, *ndhF* 영역 분석을 통하여 신이로 유통되고 있는 식물의 기원 및 유연관계를 확인할 수 있으며, 현재 한국의 한약재 신이의 규격을 개정할 수 있는 가이드라인을 제시할 수 있다. 또한 신이만을 구별할 수 있는 종감별용 특이 마커개발로 한약재의 오용 및 혼용을 막을 수 있어 궁극적으로 지모 한약재의 품질, 안정성, 유효성을 확보하고자 하는 것이다.

**Material and methods**

■ 식물재료

식약청 약초시험장에서 채취한 신이 식물체와 현재 시중에서 유통되고 있는 신이(한국산, 중국산) 한약재를 구입하여 액체질소로 얼린 후 유발에서 마쇄하고 Invisorb Spin Plant Mini DNA isolation kit(Invitex 社)를 이용하여 DNA를 추출하였다. agarose gel과 UV spectrophotometer를 이용하여 정량하였다.(1~2 ng/ $\mu$ l)

■ *trnL-F* 염기서열을 결정하기 위해, *trnLF* 영역의 universal primer인 c와 f 프라이머를 이용하여 PCR 증폭을 pre-denaturation 96°C, 2 min; denaturation 96°C, 30 sec; annealing 57°C, 30 sec; extension 72°C, 90 sec; 35 cycles 조건으로 수행하였고, *ndhF* 영역을 결정하기 위해, *ndhF* 영역의 universal primer인 F1과 R1 프라이머를 이용하여 PCR 증폭을 pre-denaturation 95°C, 3 min; denaturation 95°C, 30 sec; annealing 58°C, 30 sec; extension 72°C, 90 sec; 35 cycles 조건으로 수행하였다.

■ 얻어진 신이의 염기서열을 NCBI에서 Blast를 수행하였다. 계통수를 그리기 위하여 Bioedit 프로그램으로 식물체의 염기서열들을 편집하였고, ClustalX 프로그램으로 염기서열을 정렬하였다. phylogenetic tree는 MEGA4 프로그램을 사용하였으며, 종감별용 특이 프라이머는 Bioedit 프로그램으로 디자인 하였다.

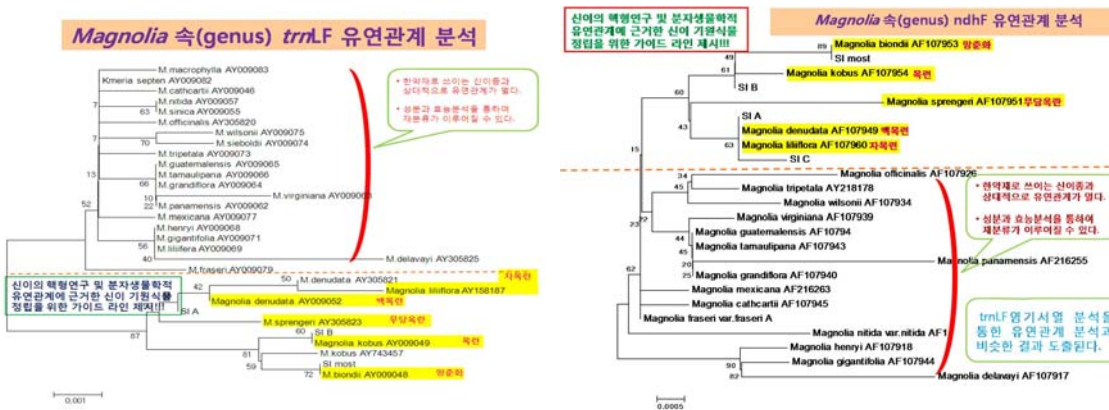
## Results

■ 수집된 생체 및 한약재의 염기서열을 비교분석 한 결과, 시중에 유통되고 있는 대부분의 한약재는 *M. biondii* 종이라는 것을 확인할 수 있었다.

■ phylogenetic tree를 이용한 Magnolia속 식물을 분석한 결과, *M. denudata*, *M. liliiflora*, *M. biondii*, *M. kobus*, *M. sprengeri*는 매우 가까운 근연관계를 보였으며 이는 동일한 한약재로서의 효능을 할 수 있다는 것을 뒷받침 해주고 있으며 식약청의 새로운 규격 개정의 가이드라인을 제시할 수 있을것으로 사료된다.

■ 신이의 염기서열과 근연관계에 있는 식물들의 염기서열을 정렬하여 비교 분석한 후, 신이에만 특이적으로 반응할 수 있는 특이 프라이머 염기서열을 결정하였다.

Fig. 1. The Neighbor-joining tree of *trnL-F* and *ndhF* sequences of species



belonging to various species in genus Magnolia.

Fig. 2. Multiplex PCR for identification of "Sin-ii"

