

MOLECULAR IDENTIFICATION OF
CHINESE MEDICINAL MATERIALS:
TECHNOLOGY AND APPLICATION

中药分子鉴定 技术与应用

主编 曹 晖 邵鹏柱 毕培曦



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE



MOLECULAR IDENTIFICATION OF
CHINESE MEDICINAL MATERIALS:
TECHNOLOGY AND APPLICATION

中药分子鉴定 技术与应用

主 编 曹 晖 邵鹏柱 毕培曦

主要作者(以姓氏笔画为序)

王义权(厦门大学生命科学学院)

刘玉萍(香港大学 SPACE 中医药学部)

李 明(香港中文大学中医中药研究所)

李 萍(中国药科大学中药学院)

毕培曦(香港中文大学生命科学学院)

吴孟华(暨南大学药学院)

张 英(暨南大学药学院)

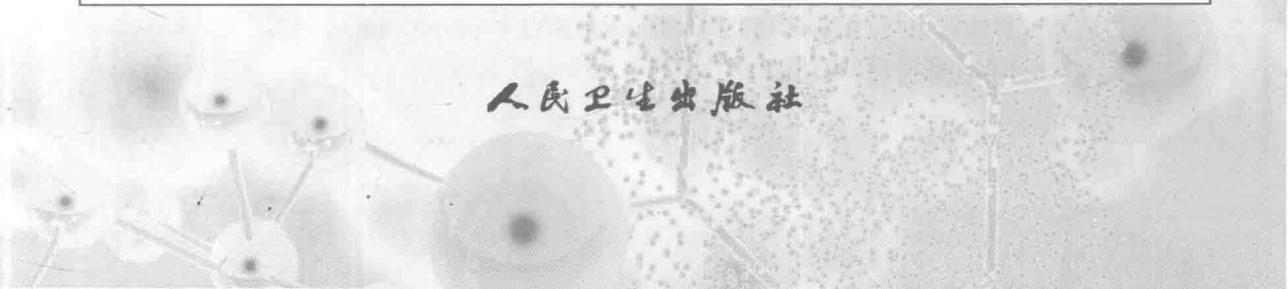
张艳波(香港大学中医药学院)

邵鹏柱(香港中文大学生命科学学院及中医中药研究所)

周开亚(南京师范大学遗传资源研究所)

曹 晖(暨南大学药学院/国家中药现代化工程技术研究中心)

黄家乐(香港中文大学中医中药研究所)



人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

中药分子鉴定技术与应用 / 曹晖, 邵鹏柱, 毕培曦主编. —北京: 人民卫生出版社, 2015

ISBN 978-7-117-21117-8

I. ①中… II. ①曹… ②邵… ③毕… III. ①中药鉴定学
IV. ①R282.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 173946 号

人卫智网	www.ipmph.com	医学教育、学术、考试、健康, 购书智慧智能综合服务平台
人卫官网	www.pmph.com	人卫官方资讯发布平台

版权所有, 侵权必究!

中药分子鉴定技术与应用

主 编: 曹 晖 邵鹏柱 毕培曦

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 北京铭成印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 44 插页: 2

字 数: 1098 千字

版 次: 2016 年 11 月第 1 版 2016 年 11 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-21117-8/R · 21118

定 价: 99.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

暨南大学中药与天然药物研究所、
香港中文大学中医中药研究所与
国家中药现代化工程技术研究中心
联合实验室
成立十周年纪念

主编简介



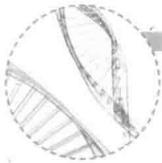
曹 晖,香港中文大学生物学哲学博士,国家药典委员会委员。曾任职日本国立富山大学、日本津村顺天堂生物化学研究所、香港中文大学,现任暨南大学药学院岭南传统中药研究中心主任、教授、博士生导师及国家中药现代化工程技术研究中心主任,兼任中国中医科学院客座研究员、中山大学生命科学学院博士生导师。主要研究方向为中药材的鉴定和品质控制。发表180余篇学术论文,主编《中药分子鉴定》等专著10部。



邵鹏柱,英国伦敦大学帝国学院生物技术学哲学博士。现任香港中文大学生命科学学院生物化学课程主任、教授,香港中文大学中医中药研究所副所长,中山大学生命科学学院客座教授,中国遗传学会理事及《Chinese Medicine》副主编。曾任香港特别行政区渔农自然护理署濒危物种咨询委员会主席。主要研究方向为中药材的鉴定和品质控制及药用蛋白质工程。发表200余篇学术论文,主编《中药分子鉴定》等专著2部。



毕培曦,美国加州大学伯克利分校植物学哲学博士。现任香港中文大学生命科学学院兼任教授,为香港中药鉴定和质量控制研究的先驱。经常协助香港政府部门、消费者委员会及工商界鉴定中药中毒案例,测试中药产品质量和安全性,提供技术培训和顾问服务。主要研究方向为中药材品质控制及香港植物分类与植被生态。发表260余篇学术论文,编著《中药分子鉴定》等专著15部。



内容简介

中药鉴定的千年发展历程表明,技术经历从古代外观(形、色、气、味)、近代宏观(分类学)到现代微观(细胞组织、化合物、蛋白质),但迄今相关的研究工作却难以从根本上解决中药真伪问题。随着 20 世纪中叶以来生物技术的发展,尤其是 DNA 结构和 PCR 技术的出现,为中药鉴别开创了以 DNA 分子鉴定的新时代。本书即为集中展现中药 DNA 分子鉴定的专著,必将对业界研究带来开拓性影响。

本书主要编者均为分子生物学、中药学博士,各自出版了多部学术专著,具备丰富的编撰经验,长期在大学与研究院所等部门任职,在数十年的工作中积累了大量研究资料,汇集了国内外相关研究报告,经精心整理,以科学性、技术性、实用性三者兼顾为原则,配以精辟的图谱编撰成书,内容精彩丰富,体例完备,极具特色。

所选中药、分子技术均具有代表性,从生物自然分类上说,涵盖了动物、植物和真菌;从中药部位分类上说,包括根与根茎类、叶类、花类、果实种子类;从 DNA 分子鉴定技术上说,举凡基因测序涉及的核 DNA、叶绿体 DNA、线粒体 DNA 等常用基因序列片段及其与 DNA 指纹图谱结合的 AFLP、SCAR 等分子技术均有应用介绍。

本书上篇总论分 4 章,介绍中药分子鉴定的现状、常规的分子生物技术方法、中药分子鉴定的生物信息学知识、中药分子鉴定的应用前景与发展趋势等。下篇各论按中药部位分 6 章,主要介绍 110 余种常用中药 DNA 分子鉴定应用实例。附录部分包括论文题录(收集截止于 2015 年底国内外的有关文献资料)、索引(中文药名、拉丁学名等)。

本书不但适宜国内外中医药学界人士参考,也适宜中医药企业界人士阅读。

前言



为了建立中医药应用的健康体系,有必要加强对中药材原料和产品的品质监控。为此,我国在这方面一直不遗余力,而许多其他国家亦已开展实施对中药(尤其是进口中药)的品质标准规范管理。由于大多数中药来源自动植物,因此 DNA 分子鉴定方法顺理成章成为继四大经典鉴别方法(基原鉴别、性状鉴别、显微鉴别、理化鉴别)之后的第五大国家药典法定方法,2015 年版《中国药典》已正式收录了乌梢蛇、蕲蛇和川贝母 DNA 分子鉴别方法。相对于表型标记如形态、解剖组织、化学成分等鉴定方法, DNA 分子鉴定技术具有更加准确、可靠的特点。由于基因组中 DNA 序列的排列多样性,细胞核、叶绿体以及线粒体 DNA 多态性和序列、条形码常常能够提供一个物种丰富的分子鉴定信息。

鉴于近年中药 DNA 分子鉴定研究的快速发展,这次组织《中药分子鉴定技术与应用》编写,是暨南大学中药与天然药物研究所、香港中文大学中医中药研究所与国家中药现代化工程技术研究中心三方“联合实验室”成立 10 周年之际,作为中药标准化合作项目的一个组成部分,由曹晖教授和邵鹏柱教授及毕培曦教授领衔编著,并且汇聚了在该领域顶级专家们的开拓性研究成果。另一方面,随着 2010 年版《中国药典》开始的 DNA 鉴别方法的法定实施,今后中药 DNA 分子鉴定技术在中药真伪鉴别中的实际应用将更加明确。故此,本书在编排上有必要为兼顾《中国药典》的未来发展而收录更多成熟的中药 DNA 分子鉴别技术和科学资料,并将书中章节划分为总论和各论上下两篇。

上篇总论部分共四章,第一章“中药分子鉴定概况”,着重介绍中药分子鉴定的技术发展和现状。第二章“中药分子鉴定常用技术”,简要介绍 DNA 提取关键技术,重点阐述实验步骤、问题解决方案及其应用范围,以及分子鉴定的常规方法和技术原理,如各种基于聚合酶链反应(PCR)技术开发的不需要预先了解生物个体 DNA 序列信息的背景资料的“DNA 指纹鉴定技术”,包括 RAPD、AP-PCR、DALP、RFLP、DAMD 等;通过特异引物的“DNA 测序和条形码鉴定技术”,包括线粒体基因组 *cyt b*、12S rRNA、*COI*,核基因组 18S rRNA、ITS、5S rRNA 间隔区,叶绿体基因组 *mat K*、*trn K*、*rbc L*、*trn H-psb A* 等;以及“分子组合鉴定技术”,包括 PCR-RFLP、SCAR、AFLP、ARMS、DNA 芯片等。第三章“中药分子鉴定生物信息学与技术专利知识”,着重介绍常用的数据库、在线分析工具和各类分析软件,讨论如何以生物信息学去选择与中药分子鉴定有关的合适的数据库及各类分析软件,简略介绍中美两国对中药分子鉴定技术专利申请与授权概况。第四章“中药分子鉴定展望”,重点评价各种 DNA 分子技术在中药鉴定领域的优势和局限性,并探讨分子鉴定新技术的发展趋势和应用前景。下篇各论部分,主要按照中药自然属性及药用部位分六章介绍 110 余种常用中药分子鉴定应用实例。附录部分,包括主要论文题录(截止于 2015 年底)、索引(中文名、拉丁名称等)

中药分子鉴定的研究依赖于先进的实验方法,而最好的方法又来源于反复的修改与验证。本书的一个特点和优势是书中介绍的诸多技术实验方法与结果均经具有实践经验的中外学者反复验证,因此结论比较可靠且重复性好。其中一些方法更是由作者及其实验室所创造或改进的,尤为本书添色不少。此外,需要指出的是,本书所有图、表除作者自己研究之外,部分引用他人研究成果出于时效的考虑并未向原作者取得图谱使用许可,但均列出参考



文献。对于引用或翻译后整理的内容存在差错,请与作者联系。同时非常欢迎同行专家和读者对本书提出宝贵意见,以便于作者修订。

编写本书时,我们务求文句通俗易懂,内容适合一般读者的需要,主要对象是国内外从事中药分子鉴定研究和在校学习的大学生和研究生,以及应用中药 DNA 分子鉴定技术的执法及科研人员。然而,由于各位作者背景的差异,所述实验方案可能有特定用途,故此各论中药所述方法难免可能与其他方法重复,但是作者在每味中药后都列出了原始参考文献,相信不会影响每个独立方法的有效性。同时我们希望本书所介绍的 DNA 分子技术能够在中药鉴定应用中具有推广价值,并能够促进这一充满前景领域的研究发展。

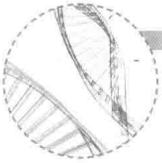
我们要特别感谢每位作者,为本书提供了他们在中药 DNA 分子鉴定方面的第一手宝贵资料。其次,感谢为本书出版付出热情劳动的国家中药现代化工程技术研究中心巩凡女士、沈玲女士、胡娟女士、黄文漳先生以及丽珠集团高郎女士、广东食品药品职业技术学院杨桂玲博士。

曹 晖 (kovhuicao@aliyun.com)

邵鹏柱 (pcshaw@cuhk.edu.hk)

毕培曦 (paulbut@hotmail.com)

2012年8月



◎ 上篇 总 论 ◎

第一章 中药分子鉴定概况·····	2
第一节 引言·····	2
第二节 传统鉴定方法·····	2
第三节 分子鉴定方法·····	3
第二章 中药分子鉴定常用技术·····	9
第一节 引言·····	9
第二节 DNA 提取技术·····	9
第三节 常用的分子技术·····	13
第四节 各种分子技术的分析比较·····	23
第三章 中药分子鉴定的生物信息学与技术专利知识·····	27
第一节 引言·····	27
第二节 常用数据库简介·····	27
第三节 常用分析软件与操作范例简介·····	30
第四节 中药分子鉴定技术专利简介·····	39
第四章 中药分子鉴定展望·····	50
第一节 引言·····	50
第二节 分子鉴定技术的优越性·····	50
第三节 分子鉴定技术的发展趋势·····	51
第四节 分子鉴定的应用前景·····	53

◎ 下篇 各 论 ◎

第五章 根与根茎类中药·····	58
八角莲与桃耳七(鬼臼)·····	58
人参与西洋参、竹节参·····	62
三七·····	79
大黄·····	86
大戟·····	94

山药	97
川贝母与浙贝母	102
川牛膝与怀牛膝	117
川芎与日本川芎	121
川麦冬与山麦冬	130
天麻	134
云木香与川木香、青木香	141
太子参	144
升麻	148
丹参	151
乌头类(川乌、附子、草乌)	156
巴戟天	163
水菖蒲	166
甘草	168
龙胆	175
沉香	178
白术与苍术	182
白芍	187
白及	191
白芷	193
半夏与虎掌、水半夏、天南星	195
地黄	205
百合	209
百部	211
当归与东当归	218
肉苁蓉	224
防风	230
红景天	233
何首乌	237
羌活与独活	243
南沙参与北沙参	246
泽泻	249
贯众	251
骨碎补	254
重楼	257
秦艽	259
莪术与郁金、姜黄、片姜黄	261
桔梗	270
柴胡	273
党参	282

前胡	288
射干	292
黄精与玉竹	294
黄连	298
黄芪	302
黄芩	310
菝葜	314
葛根	316
藁本	319
第六章 果实种子类中药	321
八角茴香	321
马兜铃与天仙藤	324
五味子与南五味子	327
牛蒡子	331
化橘红与枳壳、佛手	334
巴豆与毛巴豆	340
瓜蒌与天花粉	343
豆蔻与草豆蔻、红豆蔻	347
车前子与车前草	350
连翘	352
吴茱萸与山茱萸	356
罗汉果	360
砂仁	365
栀子	370
枸杞子	373
蛇床子	376
葶苈子	380
第七章 茎木皮花叶类中药	382
川木通与木通、关木通	382
肉桂	386
杜仲	389
刺五加	392
厚朴	395
钩藤	399
红花	402
金银花	406
天山雪莲	412
西红花	414



蓼大青叶·····	417
艾叶·····	419
桑叶与桑白皮·····	422
淫羊藿·····	424
紫苏叶与紫苏梗、紫苏子·····	427
第八章 全草类中药·····	430
广藿香与藿香·····	430
青蒿与茵陈·····	436
石斛与铁皮石斛·····	444
白花蛇舌草·····	468
金线莲·····	474
鱼腥草·····	478
细辛·····	483
穿心莲·····	487
绞股蓝·····	489
益母草·····	493
麻黄·····	495
紫花地丁·····	501
溪黄草·····	503
獐牙菜与藏茵陈·····	505
槲寄生·····	509
第九章 真菌类中药·····	511
冬虫夏草·····	511
红曲·····	519
灵芝·····	521
第十章 动物类中药·····	525
龟甲与鳖甲·····	525
阿胶·····	533
鸡内金·····	536
海马·····	539
金钱白花蛇与乌梢蛇、蕲蛇·····	542
鹿茸与鹿鞭·····	555
紫河车·····	563
蛤蚧·····	565
蛤蟆油·····	567
蜈蚣·····	571



塞隆骨·····	573
麝香·····	576
附录 1 1980—2012 年相关论文题录 ·····	578
附录 2 近四年(2012—2015 年)相关论文题录 ·····	633
中文药名笔画索引·····	659
拉丁学名索引·····	679
后记·····	694

上 篇

总 论



中药分子鉴定 技术与应用

MOLECULAR IDENTIFICATION OF
CHINESE MEDICINAL MATERIALS:
TECHNOLOGY AND APPLICATION

第一章

中药分子鉴定概况



第一节 引言

中国医学源远流长,是人类文明的一个重要组成部分。由于中药作用的多靶点特征,中医药被认为特别适宜治疗慢性病等现代疾病,从中药里开发的各种保健食品正是顺应了人类“回归自然”的历史潮流。经数千年来的尝试及实践,具有药用价值的动植物和矿物已超过 10 000 种;2015 年版《中国药典》就收录了约 700 个药用的动植物品种。正因为所采用的药材繁多,常有中药的偶然混淆使用或故意掺伪、制伪,以致常常干扰中医的治疗效果,甚至导致危及性命的中药中毒事故。1991 年,比利时出现因广防己 *Aristolochia fangchi* 被误用作汉防己 *Stephania tetradra*,而导致 80 多宗肾脏中毒事故;在国际社会掀起巨大风波的“中药马兜铃酸事件”,并出现了“中草药肾脏病变(Chinese Herb Nephropathy)”这个医学名词;2004 年,香港发生混淆白英 *Solanum lyratum* 和含马兜铃酸药材寻骨风 *Aristolochia mollissima*,导致一名港人患上肾纤维病变(Lo 等,2005);还有误将桃儿七(在香港称为鬼臼)当作龙胆草配售,导致神经系统受损,引发香港政府成立中医药工作小组,最终立法管制中医药(Ng 等,1991)。凡此种种,均使人们对中医药的安全性和品质控制起了戒心,阻碍其现代化的进程。由此说明可靠的药材基原,无可置疑是发展中医药的最根本要求。

第二节 传统鉴定方法

中药误用导致中毒的一个重要原因是中药品质检测系统的缺失。而传统的中药鉴定方法主要依靠外观性状特征,形态鉴定主要是形、色、气、味、质地等性状检测,该方法简便、直接,缺点是主观性强,其准确性完全取决于检测者的经验判断。近现代则从生物分类学(基原鉴定)、组织学(显微鉴定)、化学(理化鉴定)角度建立了比较客观的中药鉴定标准。同时,随着科学技术的发展,细胞学(染色体分析)、酶学(同工酶分析)、生物化学(蛋白质分析及效价评价)、血清学(免疫测定)、药理学(活性测定)等生物检测技术亦逐渐应用到中药鉴定中。

一、组织学方法

显微鉴定常用于检测中药及其制成品的细胞或组织特征。由于组织特征的相似性问题,解剖学分析不能圆满提供解决相近种药材鉴定的手段,同时组织结构易受地理环境、生长期、储存条件等诸多因素的影响,从而影响鉴定的准确性。

二、化学方法

中药的化学成分常常可以用来作为很好的鉴定指标,薄层色谱(TLC)和高效液相色谱



分析(HPLC)技术已经成为中药鉴定的常规方法。毛细管电泳技术(CE)被开发用于中药材基原鉴定和品质评价。为了提高分析的灵敏性,许多仪器分析技术如超高效液相色谱(UPLC)、气相色谱(GC)与质谱(MS)分析和它们的联用手段如FD-MS、Q-TOF/MS、LC-MS等也被用于中药鉴定。

不管情况如何,化学分析方法有其局限性。因为中药活性成分的含量受到其生理条件、采收时间、储藏等诸多因素影响。同时,对化学成分相似的近缘种,光凭成分的有无或含量高低亦难以区分。

三、生物化学方法

采用凝胶电泳技术进行蛋白质谱带数目、宽窄、位置、以及染色程度分析,可获得很多信息,从而达到中药鉴别的目的。但是蛋白质电泳图谱类型主要是依靠肉眼直观比较,人为区分的,在一定的程度上影响了结果的准确性。

同工酶的变异非常丰富,结构的差异直接来源于基因的差异,并能够稳定于种内遗传。因此,用它可以鉴定许多从外部形态上难以鉴别的遗传变异。其次,由于同工酶分析系采用酶活性染色和电泳检测,非酶类成分不被显示,电泳图谱往往比蛋白质电泳图谱简洁、清晰。20世纪60年代开始,同工酶分析常被用于农作物和动物的居群遗传变异、地理变异类型、物理遗传连锁作图和基因分型鉴别等。由于DNA链上平均只有30%碱基变异可以改变氨基酸电荷结构而产生差异,进而影响酶的电泳迁移率,这意味着同工酶多态性存在一定的局限性,这是为什么有些在形态上变异大的品种,其同工酶是单态性的。此外,其还有一个缺点,即为防止酶失活,条件比蛋白质分析要求高。取样与染色体分析一样,必须是新陈代谢活跃的部位,这也限制了同工酶分析在干燥药材鉴别上的应用。

中药有许多具有抗原决定簇结构的大分子如蛋白质等,用它们制成特异性抗体(抗血清)进行中药定性定量分析是一种高度选择性的血清学鉴定方法,使得血清学特征在中药复方制剂(成药)中特定的药材(如动物药)鉴定上具有极大的开发利用价值。而且,一个氨基酸链上的单个变异可以改变与野生型抗体的亲和力,所以抗体还可以用来鉴别种特异性(species-specific)和多态性蛋白质以及同工酶等。其缺点是免疫测定实验周期长,所需动物量大等。

第三节 分子鉴定方法

脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)是生物的设计蓝图,依据此建构细胞内的分子,例如各类核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)和蛋白质(protein)等。DNA是一种聚合物,基本单位是核苷酸(nucleotide)。核苷酸由糖类、磷酸分子以及碱基组成。DNA有4种碱基,分别是腺嘌呤(adenine, A)、胞嘧啶(cytosine, C)、鸟嘌呤(guanine, G)与胸腺嘧啶(thymine, T)。每个核苷酸只含1个碱基,所以负责建构DNA分子的共有4种核苷酸。每种核苷酸依特定位置重复排列,其中的糖类分子与核苷酸的磷酸分子以化学键相连,组成长链骨架,而在这长链骨架分子里的核苷酸排列次序便是基因序列(sequence)。在细胞内, DNA大部分时间都是由两条互相配对的长链紧合,形成双螺旋结构,其中A配对T,而C配对G。

理论上,每一个生物个体的DNA序列都是独一无二的。分子鉴定技术是通过直接分析遗传物质的多态性来诊断生物内在基因排列规律及其外在性状表现规律的技术。这些基因

排列变化可大致归纳为①序列突变;②插入突变;③缺失突变;④重复单元数目突变;以及⑤单核苷酸突变。各类 DNA 鉴定技术就是针对这些基因排列差异而设计,并分析解读生物基因组数据,从而辨别或区分不同物种或个体。

由于 DNA 分子的信息量大,且不受外界因素和生物体发育阶段及器官组织差异的影响,即每一个体的任一细胞都含有相同的遗传信息,这就使其在生物鉴定方面具备了准确性高、重现性好等特点。同时, DNA 分子鉴定直接分析的是生物的基因型而非表现型,鉴别结果不受环境因素、样品形态(无论原品、粉状或片状)和材料来源的影响,因此,可为中药鉴定提供更加准确可靠的手段。分子鉴定技术的兴起和逐步成熟,使得中药材以形、色、味、质地为依据的传统质量评价方法和以形态组织学、解剖学、化学等客观指标为依托的现代质量评价方法得到了有益的补充,解决了上述方法所不能解决的问题,并呈现了长足发展的潜力和更广泛应用于中药材鉴别的趋势。

分子技术的发展使得分子鉴定成为动植物鉴定的一个大众化手段,因此也成为继四大经典鉴定方法(基原鉴定、性状鉴定、显微鉴定、理化鉴定)之后的第五大国家法定方法(2015年版《中国药典》)。

根据原理及所使用的核心技术,分子鉴定技术可分为三大类:①DNA 指纹图谱技术;②DNA 测序技术;及③基于 PCR 的高通量核酸杂交技术。本章简要概述分子鉴定技术及其分析方法在中药鉴定方面的研究现状与进展,而各种技术的原理,详见第二章。

近 20 年来,国内外学者在中药分子鉴定研究取得了许多新的进展。目前国内外应用分子鉴定技术对人参、石斛等植物类以及蛇类等动物类 200 余种中药材进行了鉴定研究,具体应用的代表性实例参见下篇各论。

一、基于 PCR 的 DNA 指纹图谱技术

指纹(fingerprinting)是鉴证专业中的重要证据,理论上每一个人(或个体)的指纹都独一无二,通过比较嫌疑人和案件现场所搜集的指纹,便可确认是否由嫌疑人所留下。这个概念可延伸到鉴定生物品种范畴上。DNA 指纹图谱是一个可反映基因组 DNA 特征的技术。物种在进化过程中,因环境或其他因素导致基因突变,会令物种间或个体间的 DNA 出现差异。通过 DNA 指纹图谱技术将基因组特征图像化,便可获得生物 DNA 的“指纹”。比较各物种的特异图谱,可了解它们的相似性或差异,从而作出鉴定。

聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)是 20 世纪 80 年代中期发明的一种无细胞的基因扩增技术。该技术的问世为现代生命科学研究开创了一个新时代。PCR 借着 DNA 重复变性(denaturing)、复性(annealing)、延伸(extension)约 20~40 次,能在 2 小时内将少量的靶 DNA 扩增数百万倍,从而方便检核;更理想的是相关的操作具有简单、快速、特异、灵敏的特点。自此,指纹图谱技术不再受中药材 DNA 数量不足所限,科研人员利用 PCR,接连发明了各种 DNA 指纹技术。较之经典的限制性片段长度多态性(RFLP)技术,这些技术有以下优点:①无须使用同位素,不受同位素半衰期的限制,并减少实验室污染;②不需大量 DNA;③较少受模板 DNA 质量影响。

基于 PCR 的指纹图谱受引物(primer)和 DNA 模板(DNA template)之间的互补程度所影响。如果引物和模板完全互补,那么退火时两者会紧密结合,从引物起开始延伸,得出扩增的指纹谱带。部分指纹图谱技术的扩增条件严格,引物和模板如果出现错配(mismatch),则可能会导致两者无法互补结合,谱带区域没被扩增,依这种思路设计的指纹图谱技术,主要是区分不同物种之间的序列差异,例如等位基因上的碱基突变。相反,某些指纹图谱技术