

基于物种特异性 PCR 方法的鸡内金真伪鉴别

蒲婧哲¹, 张亚中^{1*}, 朱夜琳², 蒋超³, 袁媛^{3*}

(1. 安徽省食品药品检验研究院, 合肥 230051;

2. 安徽省市场监督管理局, 合肥 230051;

3. 中国中医科学院中药资源中心, 道地药材国家重点实验室培育基地, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立鉴别鸡内金及其常见伪品的物种特异性聚合酶链式反应(PCR)方法, 对全国中药材及饮片专项抽验任务中所抽取的鸡内金饮片进行真伪鉴别, 评价市场上鸡内金的真伪情况。方法: 根据鸡、鸭、鹅的 12S 序列差异, 设计或优化物种特异性 PCR 鉴别引物, 对影响 PCR 结果的主要因素退火温度, PCR 循环次数, 模板 DNA 浓度, Taq 酶种类等进行方法学考察和优化。使用优化的特异性 PCR 方法对鸡、鸭、鹅内金样品进行 DNA 分子鉴别。结果: 在进行方法学考察确定最优鉴别条件的基础上, 当 PCR 退火温度为 55 ℃, 循环次数为 30 次的条件下, 当使用文中筛选得到的鸡物种特异性鉴别引物时, 所测鸡内金饮片均检出约为 273 bp 的特异性扩增条带, 混伪品鸭内金和鹅内金均无相应扩增条带; 当使用鸭和鹅鉴别引物时, 均未检出相应的扩增条带。结论: 位点特异性 PCR 方法能够快速准确的鉴别出鸡内金真伪品, 可用于全国中药材及饮片专项抽验任务中鸡内金的真伪鉴定, 目前市场上用鸭内金和鹅内金充鸡内金现象较少, 质量评价较好。

[关键词] 鸡内金; 鸭内金; 鹅内金; 伪品

[中图分类号] R284.2; R285; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)17-0142-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191717

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190610.1607.006.html>

[网络出版时间] 2019-06-11 9:00

Quality Evaluation of Galli Gigerii Endothelium Corneum by Allele-specific PCR Method

PU Jing-zhe¹, ZHANG Ya-zhong^{1*}, ZHU Ye-lin², JIANG Chao³, YUAN Yuan^{3*}

(1. Anhui Institute for Food and Drug Control, Hefei 230051, China;

2. Anhui Provincial Market Supervision Administration, Hefei 230051, China;

3. State Key Laboratory Breeding Base of Dao-di Herbs, National Resource Center for Chinese Materia, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To screen the specific reverse primers of Galli Gigerii Endothelium Corneum, duck gizzard membrane and goose gizzard membrane, and establish a specific PCR for molecular identifying Galli Gigerii Endothelium Corneum and its common adulterants. **Method:** Based on the mutation sites on the 12S rRNA sequence, specific polymerase Chain reaction (PCR) identify primers were designed for chicken, duck and goose gizzard membrane. The specific PCR reaction conditions were optimized, and the PCR identification method was explored and verified in terms of tolerance and feasibility. Thirty batches of Galli Gigerii Endothelium Corneum decoction pieces extracted from the test were identified. **Result:** Thirty batches of Galli Gigerii Endothelium Corneum decoction pieces were detected using chicken-specific primers, 273 bp of specific bands was amplified and

[收稿日期] 20190319(013)

[基金项目] 2018年全国中药材及饮片专项抽验项目(2018-4);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(ZZ10-008);中央本级重大增减支项目(2060302)

[第一作者] 蒲婧哲, 主管中药师, 从事中药质量标准研究, E-mail:181570394@qq.com

[通信作者] *张亚中, 主任中药师, 硕士生导师, 从事中药质量标准研究, E-mail:13956985695@139.com;

*袁媛, 研究员, 从事中药鉴定与分子生药学研究, Tel:010-64087649, E-mail:y_yuan0732@163.com

visualized on the agarose electrophoregram. When duck and goose primers were used, no corresponding amplified band was detected. **Conclusion:** The allele-specific PCR method can be used as a rapid and accurate method to identify *Galli Gigerii Endothelium Corneum*. It is a promise method for special sampling tasks of Chinese herbal medicine and decoction tablets nationwide.

[**Key words**] *Galli Gigerii Endothelium Corneum*; duck Gizzard Membrane; goose Gizzard Membrane; adulterants

鸡内金为雉科动物家鸡 *Callus gallus domesticus* 的干燥沙囊内壁^[1],始载于《神农本草经》丹雄鸡项下,列为上品^[2]。鸡内金具有健胃消食,涩精止遗,通淋化石的功效,是我国传统常用中药材^[3]。

在由中国食品药品检定研究院中药民族药检定所牵头,安徽省食品药品检验研究院承担的“2018 年全国中药饮片专项抽验—鸡内金质量研究”工作中发现,市场上存在用鸭内金或鹅内金冒充鸡内金的现象。目前,鸡内金真伪鉴别方法主要为性状鉴别和薄层色谱鉴别,然而鸡内金及其伪品外观性状及化学成分高度相似^[4-6],区分困难。

近年来,DNA 分子鉴定技术快速发展,DNA 分子作为遗传信息的直接载体,在同种或同品种内具有高度的遗传稳定性,且不受外界环境因素的影响,用于中药鉴别结果更为准确可靠^[7]。其中特异性聚合酶链式反应(PCR)因具有特异性强、灵敏度高、简单快捷等特点,越来越多的应用到动物药材及饮

片的真伪鉴定工作中^[8-11]。Rodríguez 等^[12]基于线粒体 DNA 序列差异,建立了鸡、鸭和鹅肝鉴定的特异性 PCR 方法,然而该方法用于鸡内金鉴别时出现了假阴性问题。本研究在此基础上进行了改进,在原方法的基础上重新设计鸡位点特异性反向引物,并对 PCR 方法的适用性进行考察,以期建立准确可靠的鸡内金特异性 PCR 鉴别方法。同时对国家中药饮片专项抽验的鸡内金样品进行检测,对市售鸡内金真伪质量情况进行考察。

1 材料

1.1 实验样本 鸡内金对照药材来源于中国食品药品检定研究院(批号 121153-201002)。选取 7 家饮片生产厂家生产的鸡内金 3 批、炒鸡内金 3 批、醋鸡内金 1 批,经安徽省食品药品检验研究院中药室张亚中博士鉴定为正品;另从合肥、北京不同的菜市场购买鸭和鹅各 4 只,分别取其新鲜肫皮,干燥,见表 1。

表 1 鸡内金及伪品样品信息

Table 1 *Galli Gigerii Endothelium Corneum* and adulterants in this study

No.	材料名称	拉丁名称	来源	A_{260}/A_{280}	DNA 质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
1	鸡内金	<i>Gallus gallus domesticus</i>	企业 1	1.81	34.8
2	鸡内金	<i>G. gallus domesticus</i>	企业 2	1.84	35.2
3	鸡内金	<i>G. gallus domesticus</i>	企业 3	1.72	28.4
4	炒鸡内金	<i>G. gallus domesticus</i>	企业 4	1.55	8.7
5	炒鸡内金	<i>G. gallus domesticus</i>	企业 5	1.25	4.7
6	炒鸡内金	<i>G. gallus domesticus</i>	企业 6	1.33	6.5
7	醋鸡内金	<i>G. gallus domesticus</i>	企业 7	1.50	2.8
8	鸭内金	<i>Anser platyrhyncha domestica</i>	合肥菜市场	1.78	30.8
9	鸭内金	<i>A. platyrhyncha domestica</i>	合肥菜市场	1.78	31.5
10	鹅内金	<i>A. cygnoides orientalis</i>	合肥菜市场	1.81	36.5
11	鹅内金	<i>A. cygnoides orientalis</i>	合肥菜市场	1.83	40.4
12	鸭内金	<i>A. platyrhyncha domestica</i>	北京市场	-	-
13	鸭内金	<i>A. platyrhyncha domestica</i>	北京市场	-	-
14	鹅内金	<i>A. cygnoides orientalis</i>	北京市场	-	-
15	鹅内金	<i>A. cygnoides orientalis</i>	北京市场	-	-

1.2 试剂 Wizard SV Genomic DNA Purification System (Promega 公司, 批号 A2361); DL2000 DNA marker (Takara 公司, 批号 D501A); SpeedSTAR HS *Taq* DNA 聚合酶 (批号 RR070A), *ExTaq* DNA 聚合酶 (批号 RR001B), *rTaq* DNA 聚合酶 (批号 R001B) 均购自大连 Takara 公司; 2 × T5 Super PCR Mix (北京擎科新业生物技术有限公司, 批号 TSE005)。

1.3 仪器 Thermal Cycler Dice Touch PCR 仪 (Takara 公司), Nanodrop2000 型超微量核酸蛋白测定仪 (Thermo Scientific 公司), Gel Doc™ EZ Imager (Bio-Rad 公司), 球磨粉碎仪 (Retsch 公司)。使用 Wizard SV Genomic DNA Purification System (Promega 公司)。

2 方法

2.1 模板 DNA 提取 取鸡内金饮片、炒鸡内金和醋鸡内金各 1 g, 分别研磨成细粉, 取鸭内金和鹅内金各 1 g, 剪碎, 上述样本各取 20 mg, 分别放在 1.5 mL 的离心管中, 加入消化液 275 μL [细胞核裂

解液 200 μL, 0.5 mol·L⁻¹ 乙二胺四乙酸二钠溶液 (pH 8.0) 50 μL, 20 g·L⁻¹ 蛋白酶 K 20 μL, RNA 酶溶液 5 μL] 中, 保证样本完全浸没在溶液中, 在 55 °C 水浴中加热过夜 (16 ~ 18 h), 加入裂解缓冲液 250 μL, 混匀, 加到 DNA 纯化柱中, 离心 (转速 13 000 r·min⁻¹) 3 min; 弃去过滤液, 加入洗脱液 650 μL, 离心 1 min; 弃去过滤液, 用上述洗脱液反复洗脱 3 次, 每次离心 (转速 13 000 r·min⁻¹) 1 min; 弃滤液, 再离心 2 min, 将 DNA 纯化柱转移入另一个离心管中, 加无菌双蒸水 250 μL, 放置 2 min, 离心 (转速 1 万 r·min⁻¹) 2 min, 取上清液, 作为供试品溶液, 置 -20 °C 保存备用。使用 Nanodrop 2000 型超微量核酸蛋白测定仪测定获得 DNA 的浓度以及吸光度 A₂₆₀/A₂₈₀。

2.2 PCR 扩增反应

2.2.1 鉴别引物的设计 对文献 [12] 中鸡、鸭及鹅的 12S rRNA 基因的核苷酸序列进行分析比较, 设计出特异性强的鸡、鸭、鹅 3 对引物, 并由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 见表 2。

表 2 鸡、鸭、鹅引物的 DNA 鉴别引物

Table 2 Oligo sequences of specific primers for chicken, duck and goose

引物名	长度/bp	序列 (5'-3')	用途
12SFW	26	CCACCTAGAGGAGCCTGTTCTATAAT	正向引物
12SREV	27	TCCGGTACACTTACCTTGTACGACTT	原鸡源性反向引物
12XE	20	CTAAGGGCGGGTTTCACGTC	新设计鸡源性反向引物 1
12XM	23	GAGCTTAGGGGTATGATCTCAC	新设计鸡源性反向引物 2
12XW	24	TGATGTTGATGGCTTCTGAAGAGG	新设计鸡源性反向引物 3
12XH	20	TAGCCGGGAGGGGAGGTATA	新设计鸡源性反向引物 4
12SD	25	CACCTACCTCATCTTTGGCATTGAC	鸭源性反向引物
12SG	22	CTAAATCCGCCTTCCAGAAATG	鹅源性反向引物

2.2.2 PCR 反应 25 μL 反应体系包括 10 × 缓冲液 2.5 μL, 2.5 mmol·L⁻¹ dNTP 1.5 μL, 10 μmol·L⁻¹ 鉴别引物各 0.25 μL, 模板 1 μL, 5 U·μL⁻¹ *Taq* DNA 聚合酶 0.25 μL, 无菌水 19.5 μL。PCR 反应参数: 95 °C 预变性 5 min, 循环反应 30 次 (95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s), 72 °C 延伸 5 min。另取无菌水, 同法上述 PCR 操作, 作为阴性对照。

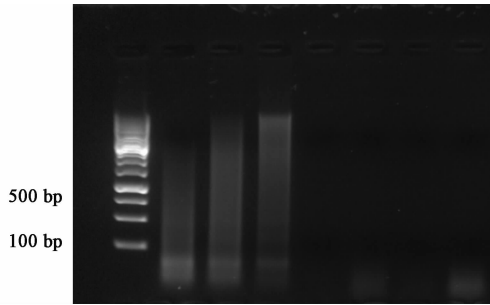
2.3 电泳检测 照琼脂糖凝胶电泳法, 1% 胶中加入核酸凝胶染色剂 GelRed; 供试品与对照药材 PCR 反应溶液的上样量分别 8 μL, DNA 分子量标准, DNA 分子量标记上样量为 2 μL (0.5 g·L⁻¹)。电泳

结束后, 取凝胶片在凝胶成像仪上检视。

3 结果与分析

3.1 DNA 提取 鸡内金根据炮制工艺不同分为鸡内金、炒鸡内金和醋鸡内金^[1]。制备方法参考 2015 年版《中国药典》一部; 鸡内金洗净, 干燥; 取净鸡内金, 照清炒或烫法炒至鼓起 (温度 200 ~ 350 °C) 得炒鸡内金; 取净鸡内金, 照清炒法炒至鼓起 (温度 200 ~ 350 °C), 喷醋, 取出, 温度 200 ~ 350 °C 干燥, 得醋鸡内金。其中炒鸡内金和醋鸡内金在炮制过程中需经过 200 ~ 350 °C 的高温, 炒制时间从十几秒至十几分钟不等。使用试剂盒提取的新鲜鸭内金、鹅内金及鸡内金饮片的 DNA 质量浓度在 28 ~

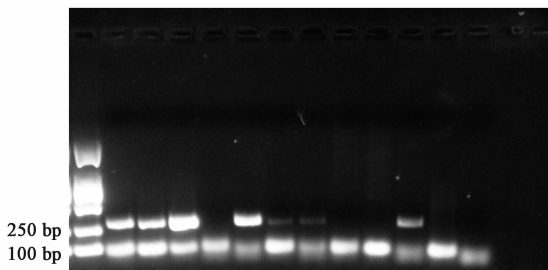
40 mg·L⁻¹, A₂₆₀/A₂₈₀ 值为 1.80, 表明其 DNA 质量较好。而经过高温炮制的炒鸡内金和醋鸡内金 DNA 质量浓度在 2.8 ~ 8.7 mg·L⁻¹, 浓度值大幅下降。说明炮制会影响到鸡内金 DNA 降解程度, 见表 1。对鸡内金、炒鸡内金和醋鸡内金 DNA 提取产物进行凝胶电泳, 见图 1, 结果显示炒鸡内金和醋鸡内金基因组无条带, 而鸡内金基因组均有条带, 表明炮制可极大影响 DNA 鉴别结果。



M. DL 2 000 DNA Marker; 1 ~ 3. 鸡内金; 4 ~ 6. 炒鸡内金; 7. 醋鸡内金

图 1 鸡内金、炒鸡内金、醋鸡内金基因组凝胶电泳
Fig. 1 Genome DNA electrophoresis of *Galli Gigerii Endothelium Corneum*, fried *Galli Gigerii Endothelium Corneum* and vinegar *Galli Gigerii Endothelium Corneum*

3.2 鉴别引物的设计 通过文献[12]可知, 引物组 12SFW 和 12SREV 扩增了鸡、鸭及鹅的 12S rRNA 基因的核苷酸序列, 其中鹅 DNA 中 392 bp, 鸭 DNA 中 394 bp 和鸡的 DNA 中 402 bp 的片段。但使用该鸡源性特异性反向引物进行鉴别时, 炮制鸡内金样品条带极弱, 易出现假阴性, 鹅内金样品出现一条约为 325 bp 假阳性扩增条带, 见图 2, 3。



鸡反向引物 12 SC

M. DL 2000 DNA Marker; 1 ~ 3. 鸡内金; 4 ~ 6. 炒鸡内金; 7. 醋鸡内金; 8 ~ 9. 鲜鸭内金; 10 ~ 11. 鹅内金; 12. 阴性对照

图 2 鸡内金、鸭内金和鹅内金的扩增电泳
Fig. 2 PCR electrophoresis of *Galli Gigerii Endothelium Corneum*, duck gizzard membrane and goose gizzard membrane

为提高鉴别特异性, 笔者重新设计了 4 条鸡源性特异性反向鉴别引物 (12XE, 12XM, 12XW, 12XH), 使用正向引物 12SFW 和特异设计的 12XE,

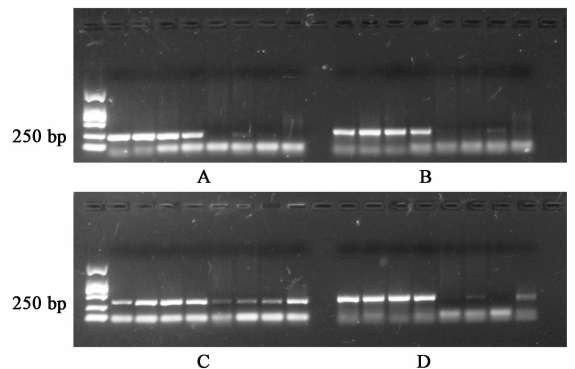
鸡	CCACCTAGAG	GAGCCTGTTC	TATAATCGAT	AATCCACGAT	TCACCCAACC
鸭	CCACCTAGAG	GAGCCTGTTC	TGTAATCGAT	GATCCACGAT	CAACCCAACC
鹅	CCACCTAGAG	GAGCCTGTTC	TGTAATCGAT	AATCCCCGAT	TAACCCAACC
鸡	ACCCCTTGCC	A-GCACAGCC	TACATACCGC	CGTCGCCAGC	CCACCTCTAA
鸭	GCCCTTGCC	AAGCACAGCC	TACATACCGC	CGTCGCCAGC	CCACCTCGAA
鹅	ACCCCTTGCC	A-ACACAGCC	TACATACCGC	CGTCGCCAGC	CCACCTCGAA
鸡	TGAAAGAACA	ACAGTGAGCT	CAATAGCCCC	TCGCTAATAA	GACAGGTCAA
鸭	TGAGAGCGCA	ACAGTGGGCG	CAACAGCACC	CCGCTAATAA	GACAGGTCAA
鹅	TGAGAGCACA	ACAGTGGACA	CAATAGCACC	CCGCTAATAA	GACAGGTCAA
鸡	GGTATAGCCT	ATGGGGTGGG	AGAAATGGGC	TACATTTTCT	A-ACATAGAA
鸭	GGTATAGCCT	ATGGGACGGA	AGAAATGGGC	TACATTCCTC	ATGCATAGGG
鹅	GGTATAGCCT	ATGGAGTGGA	AGAAATGGGC	TACATTCCTC	ATTATAGGG
鸡	CAA-ACGAAA	AAGGACGTGA	AACCCGCCCT	TAGAAGGAGG	ATTTAGCAGT
鸭	CAACACGGAA	AGAAGTATGA	AACT-GCTTC	TAGAAGGAGG	ATTTAGCAGT
鹅	CAC-ACGGAA	AGAAGCGTGA	AACC-ACTTC	TGGAAGGCGG	ATTTAGCAGT
鸡	AAAGTGAGAT	CATACCCCTT	AAGTCACTT	TAAGACGGCT	CTGAGGCACG
鸭	AAAGCGGGAC	AATA-----	AAGTCACTT	TAAGCCGGCC	CTAGGGCAGC
鹅	AAAGTGGGAT	AATA-----	GAGCCTACTT	TAAGCCGGCC	CTGGGGCAGC
鸡	TACATACCGC	CCGTCACCCT	CTTCACAAGC	CATCAACATC	AATAAATATA
鸭	TACATACCGC	CCGTCACCCT	CCTCATAAAGC	CACACCCCCA	CATAAATATA
鹅	TACATACCGC	CCGTCACCCT	CCTCAAAGC	CACA-TCCCA	CATAACTAA-
鸡	TACCTCCCT	CCCGGCTAAA	GACGAGGCAA	GTCGTAACAA	GGTAAGTGTA
鸭	TACCACG--T	AAATGCCAAA	GATGAGGTAA	GT-GTAACAA	GGTAAGTGTA
鹅	TACCATA--A	ATACGCTGAA	GATGAGGTAA	GTCGTAACAA	GGTAAGTGTA

- 对齐引入的间隙; 下划线. 引物 12XM, 12XD, 12XG, 12SFW

图 3 鸡、鸭和鹅 12S PCR 产物 DNA 序列

图 3 DNA sequences of 12S PCR products from chicken, duck and goose samples

12XM, 12XW, 12XH 反向引物, 进行 12S rRNA 基因的物种特异性片段的扩增, 采用反向引物 12XW 及 12XH 时, 鸭和鹅均扩增出一条 DNA 条带, 见图 4C, D; 采用反向引物 12XM 时, 约在 273 bp 处鸡内金有单一 DNA 条带, 且条带明显, 鸭和鹅均无条带, 具有良好的特异性, 见图 4B。故最终选择 12XM 用于鸡内金特异性鉴别研究。

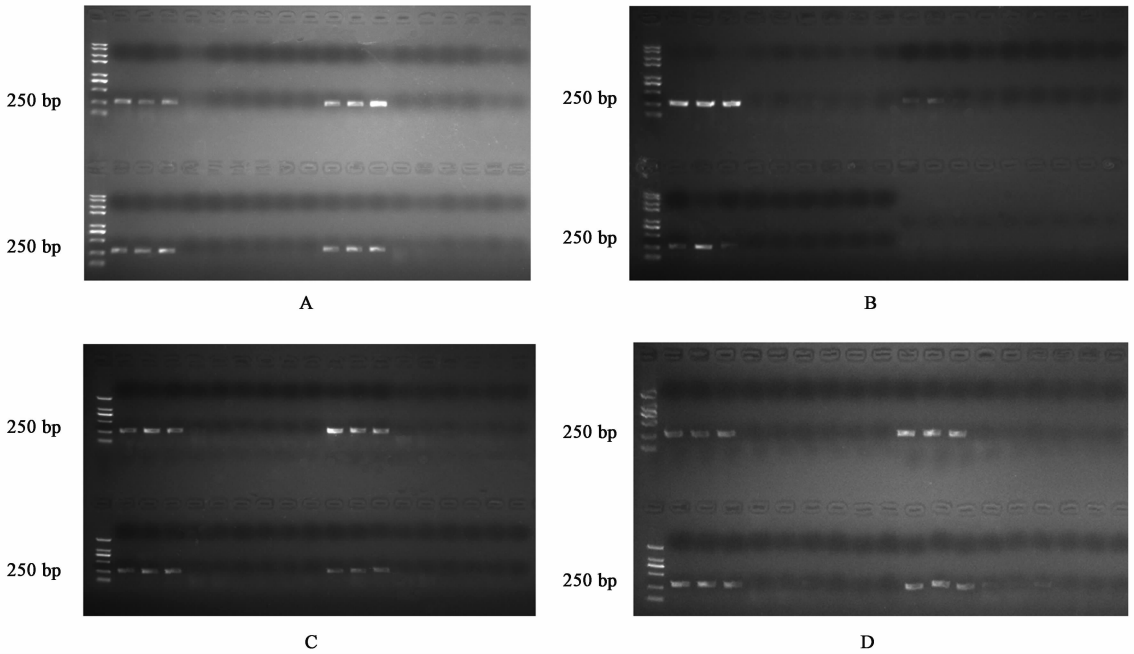


M. DL 2000 DNA Marker; 1 ~ 4. 鸡内金; 5 ~ 6. 鸭内金; 7 ~ 8. 鹅内金; A. 12SFW12XE; B. 12SFW12XM; C. 12SFW12XW; D. 12SFW12XH

图 4 不同鸡引物的鸡内金、鸭内金、鹅内金扩增凝胶电泳
Fig. 4 Different chicken primer amplification electrophoresis of *Galli Gigerii Endothelium Corneum*, duck gizzard membrane and goose gizzard membrane

3.3 适用性考察 对影响鉴别特异性的关键因素(退火温度,PCR 循环次数,DNA 模板浓度,DNA 聚合酶种类)进行考察,见图 5,根据优化后的引物及 PCR 反应条件(见方法 2.2.2 项下 PCR 反应),对鸡内金、鸭内金和鹅内金进行特异性 PCR 鉴别,当使用正向引物 12SFW 及鸡特异性反向引物 12XM 时,鸡内金样本能扩增出一条约在 273 bp 的特异性鉴

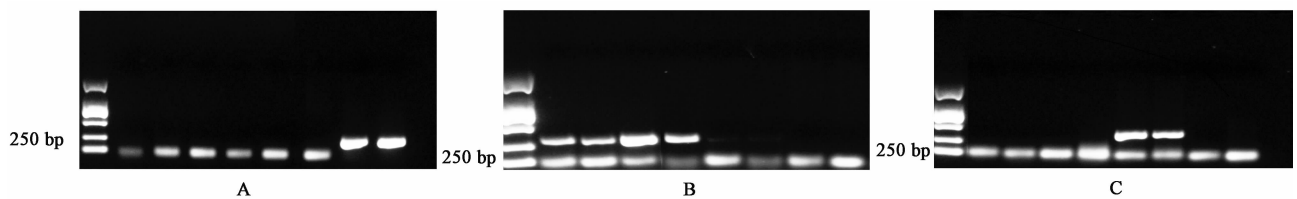
别条带,鸭内金和鹅内金样本均无条带;当使用正向引物 12SFW 及鸭特异性反向引物 12SD 时,鸭内金样本能扩增出一条约 325 bp 的特异性鉴别条带,鸡内金和鹅内金样本均无条带;当使用正向引物 12SFW 及鹅特异性反向引物 12SG 时,鹅内金样本能扩增出一条约 243 bp 的特异性鉴别条带,鸡内金和鸭内金样本均无条带,见图 6。



M. DNA Marker;1~3. 鸡内金;4~6. 鸭内金;7~8. 鹅内金;9. 空白对照;A. 退火温度;B. 循环次数;C. DNA 浓度;D. 酶种类

图 5 PCR 反应条件对鸡内金鉴别结果的影响

Fig. 5 Influence of PCR reaction conditions in specific identify of Gallus Gigerii Endothelium Corneum



M. DL 2000 DNA Marker;D. 鸡内金对照药材;1~3. 鸡内金;8~9. 鸭内金;10~11. 鹅内金;A. 鸡 12SFW12XW;B. 鸭 12SFW12SD;C. 鹅 12SFW12SG

图 6 不同引物的鸡内金、鸭内金、鹅内金扩增凝胶电泳

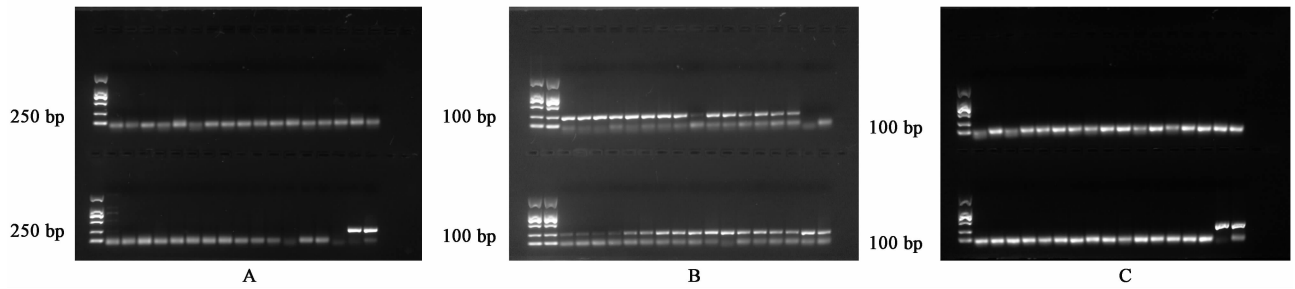
Fig. 6 Different primer amplification electrophoresis of Gallus Gigerii Endothelium Corneum, duck gizzard membrane and goose gizzard membrane

3.4 鸡内金质量评价 此次国家中药饮片专项抽检饮片数共 196 批次,其中鸡内金 92 批,抽样地域覆盖了全国 30 个省、直辖市和自治区,涉及到全国 80 个生产厂家;本研究随机抽取 30 批鸡内金饮片按照上述 PCR 方法进行鸡内金的真伪鉴定。当采用鸡源性鉴别引物时,30 批鸡内金饮片与鸡内金对照药材在约 273 bp 处扩增出相同的单一 DNA

条带,见图 7A;采用鸭和鹅鉴别引物时,30 批鸡内金饮片均未扩增出与鸭和鹅对应的 DNA 扩增条带,见图 7B,C,所测样本中未发现用鸭内金和鹅内金充鸡内金的现象。

4 讨论

在每年的国家中药饮片专项中,动物药材真伪抽检一直是重点和难点问题,其工作量大,对操作人



M. L 2000 DNA Marker; J. 鸡内金对照药材; Y. 鸭内金; E. 鹅内金; K. 空白; 1 ~ 30: 鸡内金; A. 鸡; B. 鸭; C. 鹅

图 7 不同引物的 30 批鸡内金样本的扩增凝胶电泳

Fig. 7 Different primer amplification electrophoresis of 30 batches Gallus Gigerii Endothelium Corneum

员的专业素质上的要求较高,需要极强的性状鉴别经验。DNA 分子鉴定为抽验提供了新的手段,特异性 PCR 鉴别简单易用,在所需时间上、操作人员专业素质上要求都相对较低,检验用样品量少,且开发成试剂盒后,对操作要求进一步降低,仅需短期培训即可稳定、准确执行抽验中的鉴别任务,是传统方法的重要补充和提高。

本次研究在市场上收集了一些新鲜的鸭内金和鹅内金,并按照鸡内金饮片工艺进行炮制,炮制后的鸭内金和鸡内金从性状上难以区分,而鹅内金呈碟状,边缘有齿状短裂纹,略向内卷,与鸡内金差异较大,故用鹅内金充鸡内金的可能性较小。经本研究建立的 DNA 分子鉴定方法进行鉴别,可在 3 ~ 4 h 内鉴别鸡内金、鸭内金及鹅内金,且一次可执行多个样品的特异性 PCR 鉴别操作,可达到高通量鉴别的效果。从对国家中药饮片专项抽验中所抽鸡内金饮片的 PCR 真伪鉴定可以看出,目前市场上用鸭内金和鹅内金充鸡内金现象较少,鸡内金总体质量评价较好。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:193-194.
[2] 汪岩,王月珍,马千里,等. 中药鸡内金研究进展 [J]. 中国民族民间医药,2014(19):10-12.

[3] 郑雁,苗明三. 鸡内金的现代研究特点分析 [J]. 中医学报,2015,30(12):1796-1797.
[4] 戴笑盈,王宝庆,罗梦琪,等. 鸡内金检测方法的研究进展 [J]. 黑龙江科技信息,2017(13):63-64.
[5] 金伶俐. 鸡内金炮制工艺及质量标准规范化研究 [D]. 沈阳:辽宁中医药大学,2011.
[6] 吕武清,马珠. 鸭、鹅、鸡内金化学成分比较研究 [J]. 中药材,1992,15(1):14-16.
[7] 陈士林. 中药 DNA 条形码分子鉴定 [M]. 北京:人民卫生出版社,2012:398.
[8] 曲萌,崔继春,董志恒,等. 鸡内金的分子鉴定研究 [J]. 中国中药杂志,2009,34(24):3192-3194.
[9] 许翊,陆妍,武海萍,等. 蛇类中药饮片分子鉴别方法的研究进展 [J]. 中国中药杂志,2017,42(15):2930-2933.
[10] 刘富艳,金艳,袁媛,等. 多重位点特异性 PCR 鉴别海龙及其混伪品 [J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(15):57-64.
[11] 马德源,谭晴晴,陈力群,等. 中药材五灵脂特异性 PCR 鉴别方法的研究 [J]. 食品与药品,2018,20(6):413-417.
[12] Rodríguez M A, García T, González I, et al. Identification of goose, mule duck, chicken, turkey, and swine in foie gras by species-specific polymerase chain reaction [J]. J Agri Food Chem, 2003, 51(6):1524-1529.

[责任编辑 顾雪竹]