Pharmacy Information 药物资讯, 2025, 14(5), 299-305
Published Online September 2025 in Hans. https://www.hanspub.org/journal/pi
https://doi.org/10.12677/pi.2025.145035

Hans汉斯

基于DNA条形码技术的人参真伪鉴别PCR方法的建立与验证

张　晋，王　雪，肖海峻，田　璐，杨新建*

北京农业职业学院食品与生物工程学院，北京

收稿日期：2025年7月29日；录用日期：2025年8月28日；发布日期：2025年9月5日

摘　要

人参作为一种重要的中药材，具有极高的药用和经济价值。由于市场需求量大且价格昂贵，导致大量伪品充斥市场，严重影响了其临床疗效和消费者利益。本研究旨在建立一种基于PCR技术的人参真伪鉴别方法。方法：通过对人参、三七、西洋参、姜状三七等人参属植物的18S核糖体RNA (18S rRNA)、内部转录间隔区序列1 (Internal Transcribed Spacer1, ITS1)、5.8S rRNA、ITS2基因DNA序列进行比对，发现特异性位点，并设计了相应的引物。进一步优化了PCR反应体系和条件，并对不同样品DNA进行快速检测，以确保PCR扩增技术的特异性和灵敏度。结果：通过实验验证，引物对-1优化后的PCR反应条件为退火温度为57℃，最佳引物浓度0.4 μmol/L，DNA模板浓度为2 ng。在此条件下，PCR方法能够高效、特异性强地扩增，准确区分人参与常见易混品。结论：本研究建立的特异性PCR方法，能够有效区分人参及其易混品，具有操作简便、快速准确的优点，为人参的质量控制和真伪鉴别提供了可靠的技术手段。

关键词

人参，DNA条形码技术，PCR方法，真伪鉴别

Establishment and Validation of a PCR-Based Method for Authenticity Identification of *Panax ginseng* Using DNA Barcoding Technology

Jin Zhang, Xue Wang, Haijun Xiao, Lu Tian, Xinjian Yang*

College of Food and Biological Engineering, Beijing Vocational College of Agriculture, Beijing

*通讯作者。

文章引用: 张晋, 王雪, 肖海峻, 田璐, 杨新建. 基于 DNA 条形码技术的人参真伪鉴别 PCR 方法的建立与验证[J]. 药物资讯, 2025, 14(5): 299-305. DOI: 10.12677/pi.2025.145035

Received: Jul. 29th, 2025; accepted: Aug. 28th, 2025; published: Sep. 5th, 2025

Abstract

***Panax ginseng*, as a valuable medicinal herb, holds significant medicinal and economic value. Due to its high market demand and expensive price, counterfeit products have flooded the market, severely affecting its clinical efficacy and consumer interests. This study aims to establish a PCR-based method for the authenticity identification of *P. ginseng*. Methods: By aligning the DNA sequences of 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, and ITS2 from *P. ginseng*, *Panax notoginseng*, *Panax quinquefolius*, *Panax zingiberensis*, and other Panax species, we identified specific loci and designed corresponding primers. The PCR reaction system and conditions were further optimized, and rapid DNA detection was performed on different samples to ensure the specificity and sensitivity of PCR amplification. Results: Experimental validation showed that the optimized PCR conditions for Primer Pair-1 were as follows: annealing temperature at 57˚C, 35 amplification cycles, the optimal primer concentration at 0.4 μmol/L, and a DNA template concentration of 2 ng. Under these conditions, the PCR method was able to efficiently and specifically amplify the target DNA, accurately distinguishing *P. ginseng* from common adulterants. Conclusion: The specific PCR method established in this study can effectively differentiate *P. ginseng* from its adulterants, offering the advantages of simplicity, speed, and accuracy, thus providing a reliable technical tool for *P. ginseng* quality control and authenticity identification.**

Keywords

***P. ginseng*, DNA Barcoding Technology, PCR Method, Authenticity Identification**

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).
http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Open Access

1. 引言

人参(*Panax ginseng* C. A. Mey)是五加科人参属植物，其干燥根在传统中医药中占据重要地位，具有大补元气、安神生津、补脾益肺等功效[1]。自古以来，人参就被誉为“百草之王”，在《神农本草经》中已有详细记载，其药用价值被广泛认可。现代药理学研究表明，人参含有多种生物活性成分，如苷类、甾醇、挥发油、有机酸、脂类和含氮化合物等，具有调节中枢神经系统、增强免疫力、抗氧化等多种药理作用[2] [3]。然而，由于人参价格昂贵且市场需求量大，市场上常出现以次充好、以假乱真的现象，如用西洋参(*Panax quinquefolius* L)、三七(*Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen)或桔梗(*Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC)等植物冒充人参售卖。这些混伪品虽然在形态上与人参相似，但在药效和安全性上存在显著差异，无法发挥人参的独特疗效，甚至可能对健康造成潜在危害。因此，如何准确区分人参与伪品，确保中药材的质量和用药安全，成为亟待解决的问题。

传统的人参鉴别方法，如性状鉴别和显微鉴别，虽然在一定程度上能够帮助辨识人参，但往往受限于主观因素、操作复杂性和经验的差异，且难以应对形态相似或加工后的样品[4] [5]。此外，理化鉴别方法存在样品处理繁琐、标志性化合物易受环境因素干扰等缺陷，难以满足快速、准确的鉴定需求[6]。随着分子生物学技术的飞速发展，基于 DNA 序列的 PCR 技术为中药材鉴别提供了全新的途径。特别是通

过分析物种间的基因序列差异，PCR 技术不受组织来源、生理状态、环境因素及样品储存条件的影响，能够实现准确、快速的鉴定。

近年来，DNA 条形码技术已成为中药材鉴定的重要方法[7]。18S rRNA 基因高度保守，适用于中药材的科、属级别鉴定[8]；而 ITS 基因序列具有较高的种间变异性和种内保守性，适合用于种级鉴定[9]。本研究通过对人参、三七、西洋参、姜状三七(*Panax zingiberensis* C. Y. Wu & K. M. Feng)等人参属植物的 18S rRNA、ITS1、5.8S rRNA、ITS2 基因序列进行比对，发现特异性位点，并设计了相应的引物。进一步优化了 PCR 反应体系和条件，建立了基于 DNA 条形码技术的 PCR 方法，用于人参真伪鉴别。本研究建立的特异性 PCR 技术，不仅为人参的真伪鉴别提供了技术支持，也为消费者和医药行业提供了可靠的质量保障。该方法具有操作简便、快速准确的优点，能够有效区分人参及其伪品，确保人参的质量与临床用药的安全。未来，该方法可进一步推广应用于其他中药材的鉴定，为中药材的质量控制和市场监管提供科学依据。

2. 材料与方法

2.1. 材料

2.1.1. 实验材料

人参、西洋参、桔梗、三七、萝卜为市售品，以上材料均经本实验室鉴定。

2.1.2. 仪器和试剂

植物基因组 DNA 提取试剂盒、2 × Taq PCR MasterMix II (With Dye)购自天根生化科技(北京)有限公司；DL2000 Plus DNA Marker 购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司；Gold View (I 型核酸染色剂)购自北京酷来搏科技有限公司；多功能微型台式高速离心机和普通 PCR 仪均购自艾本德(上海)国际贸易有限公司；微量振荡器购自江苏海门市其林尔仪器制造有限公司；多功能酶标测试系统购自 Bio Tek 凝胶成像系统购自北京诚茂兴业科技发展有限公司。

2.2. 方法

2.2.1. 基因组 DNA 的提取

用 75%乙醇对人参、西洋参、桔梗、三七和萝卜的表面进行清理消毒，使用手术刀切取适量薄片，置于预冷的研钵中。向研钵中倒入液氮进行预冷处理，并迅速将样品研磨成细腻的粉末状。按照植物基因组 DNA 提取试剂盒的操作步骤，提取各样本的 DNA。提取完成后，将 DNA 样本保存于−20℃，备用。

2.2.2. 特异性引物设计

从 GenBank 数据库中下载人参(登录号：MK408780)及其同属易混物种西洋参(登录号：KM036297)、三七(登录号：KT380921)、姜状三七(登录号：MK408808)的 18S rRNA 基因(1-1808 bp)、ITS1 (1809-2031 bp)、5.8S rRNA 基因(2032-2191 bp)及 ITS2 (2192-2424 bp)序列。利用 MegAlign 软件对这些序列进行多序列比对和同源性分析，发现种间存在显著的差异性单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点。具体而言，在 500 位点(18S rRNA)人参为 C，西洋参、三七、姜状三七均为 G；在 2044 位点(5.8S rRNA)人参为 A，西洋参、三七、姜状三七均为 G；在 1925 位点(ITS1)人参为 A，西洋参、三七、姜状三七均为 C；在 2234 位点(ITS2)人参为 T，西洋参、三七、姜状三七均为 C。这些 SNP 位点为人参及其同属易混物种的分子鉴定提供了可靠的遗传标记，详见图 1。

基于 SNP 位点的差异，采用引物设计软件 Oligo 6 设计了两对用于鉴别人参的特异性引物，其上下游引物分别为 PF-1、PR-1 及 PF-2、PR-2，引物序列见表 1。

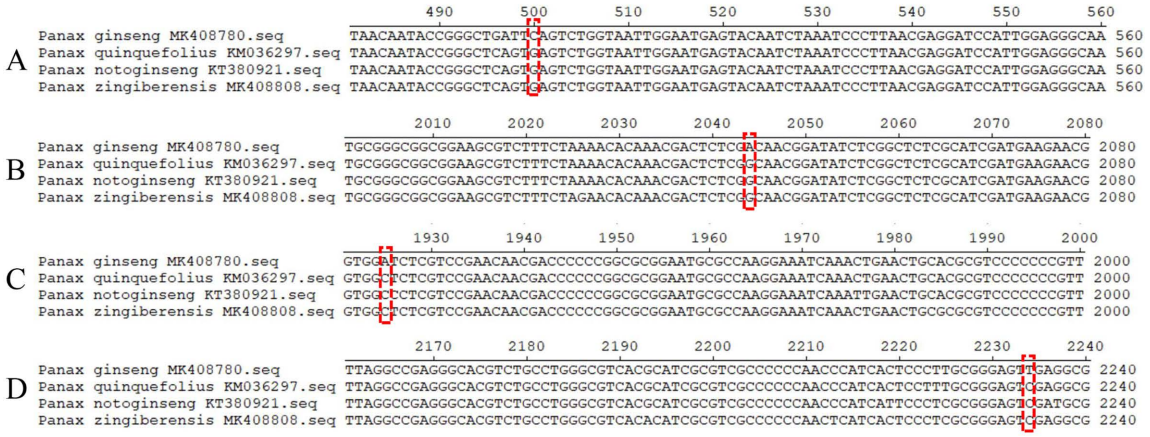


Figure 1. Sequence alignment results of 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, and ITS2 for closely related Panax species. (A): Position 500 (18S rRNA): *Panax ginseng* has C; *P. quinquefolius*, *P. notoginseng*, and *P. zingiberensis* all have G; (B): Position 2044 (5.8S rRNA): *Panax ginseng* has A; *P. quinquefolius*, *P. notoginseng*, and *P. zingiberensis* all have G; (C): Position 1925 (ITS1): *Panax ginseng* has A; *P. quinquefolius*, *P. notoginseng*, and *P. zingiberensis* all have C; (D): Position 2234 (ITS2): *Panax ginseng* has T; *P. quinquefolius*, *P. notoginseng*, and *P. zingiberensis* all have C

图 1. 人参同属易混物种 18S rRNA 基因、ITS1、5.8S rRNA 基因及 ITS2 序列比对结果。(A)：500 位点(18S rRNA)：人参为 C，西洋参、三七、姜状三七均为 G；(B)：2044 位点(5.8S rRNA)：人参为 A，西洋参、三七、姜状三七均为 G；(C)：1925 位点(ITS1)：人参为 A，西洋参、三七、姜状三七均为 C；(D)：2234 位点(ITS2)：人参为 T，西洋参、三七、姜状三七均为 C

Table 1. Specific primer sequences of *Panax ginseng*

表 1. 人参特异性引物序列

引物名称	引物序列(5’-3’)	引物位点	产物长度(bp)
PF-1	AAATAACAATACCGGGCTGATTC	478~500	1589
PR-1	GCGAGAGCCGAGATATCCGTTGT	2044~2066	
PF-2	GGTCGGGGACCACCCTTGGGTGGA	1902~1925	356
PR-2	GCCATTATCCGCCCCTCCGCCTCA	2234~2257	

2.2.3. PCR 方法优化

用人参样品对特异性引物进行 PCR 扩增反应，并对 PCR 反应条件进行系统优化。初始 PCR 反应体系如下：2 × Taq PCR MasterMix II 10 μL，上下游引物(1 μmol/L)各 0.5 μL，DNA 模板 10 ng，ddH_2O 补足至 20 μL。PCR 扩增反应参数为：94℃预变性 3 min；94℃变性 30 s，58℃退火 30 s，72℃延伸 1 min，35 个循环；72℃最终延伸 5 min。扩增产物在 1%琼脂糖凝胶上进行电泳分离，使用 Gold View 染色，100 V 电压下电泳 30 min，使用 Bio Tek 凝胶成像系统观察并拍照记录结果。

实验分别考察了以下因素对扩增效果的影响：退火温度(设置梯度为 51.1、52.9、55、57、59、61、63.1、64.6℃，以确定最佳退火温度)、引物浓度(设置 0.2、0.4、0.8、1.6 μmol/L，以筛选最佳引物浓度)以及 DNA 模板浓度(进行 5 倍梯度稀释，以确定最适模板浓度)。基于上述优化结果，筛选出最适 PCR 反应条件，并对人参及其易混品的全部样品基因组 DNA 进行扩增，以验证引物的特异性。

3. 结果

3.1. 退火温度考察

为确定最佳退火温度，实验分别设置了 51.1、52.9、55、57、59、61、63.1、64.6℃的梯度条件，考

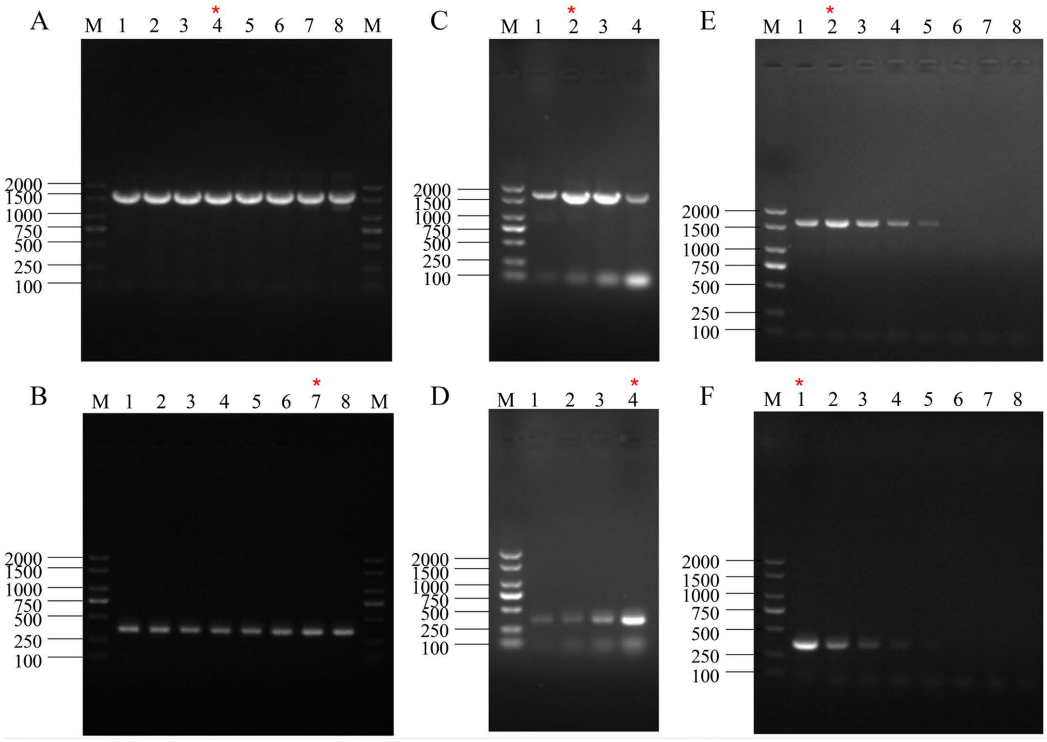
察不同退火温度对 PCR 扩增效果的影响。以琼脂糖凝胶电泳中条带的清晰度和亮度作为评判指标，筛选出最佳退火温度。实验结果表明，引物对-1 (PF-1/PR-1)与引物对-2 (PF-2/PR-2)分别在 57℃(图 2(A))和 63.1℃(图 2(B))退火温度条件下，人参样品扩增的条带最为清晰明亮。

3.2. 最适引物浓度考察

为确定最佳引物浓度，实验设置了 0.2、0.4、0.8、1.6 μmol/L 的浓度梯度进行考察，以琼脂糖凝胶电泳中条带的清晰度和亮度作为评判标准。实验结果表明，引物对-1 在 0.4 μmol/L 浓度下扩增的条带最为清晰(图 2(C))；而引物对-2 则在 1.6 μmol/L 浓度下获得最清晰的扩增条带(图 2(D))。

3.3. 最适 DNA 模板浓度的考察

为确定最佳 DNA 模板浓度，实验对人参 DNA 模板进行了 5 倍梯度稀释，浓度依次设置为 10 ng、2 ng、0.4 ng、0.08 ng、0.016 ng、3.2×10^{-3} ng、6.4×10^{-4} ng、1.28×10^{-4} ng，以琼脂糖凝胶电泳指示条带的清晰明亮度作为评判标准。实验结果表明，引物对-1 在 2 ng 条件下扩增的条带最为清晰明亮(图 2(E))；引物对-2 则需在 10 ng 浓度下才能获得最佳扩增条带(图 2(F))。



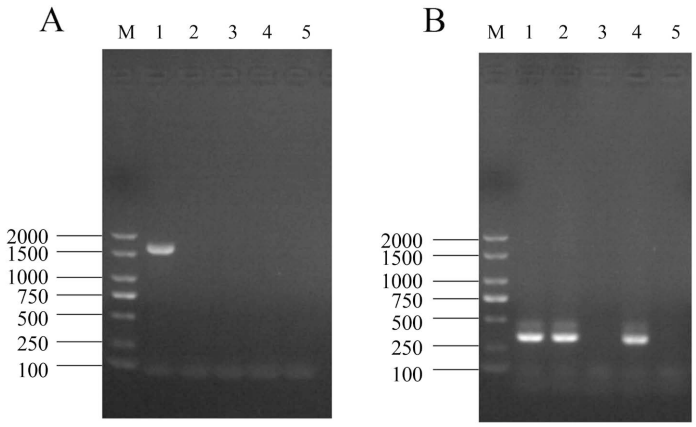
M: DL2000 Plus DNA Marker

Figure 2. Electrophoresis analysis of PCR system optimization for Ginseng samples. (A) (B): Annealing temperature gradient (1: 51.1˚C; 2: 52.9˚C; 3: 55˚C; 4: 57˚C; 5: 59˚C; 6: 61˚C; 7: 63.1˚C; 8: 64.6˚C); (C) (D): Primer concentration gradient (1: 0.2 μmol/L; 2: 0.4 μmol/L; 3: 0.8 μmol/L; 4: 1.6 μmol/L); (E) (F): DNA template concentration gradient (1: 10 ng; 2: 2 ng; 3: 0.4 ng; 4: 0.08 ng; 5: 0.016 ng; 6: 3.2×10^{-3} ng; 7: 6.4×10^{-4} ng; 8: 1.28×10^{-4} ng); *Optimal conditions: (A): 57˚C; (B): 63.1˚C; (C): 0.4 μmol/L; (D): 1.6 μmol/L; (E): 2 ng; (F): 10 ng

图 2. 人参样品 PCR 体系优化电泳分析结果。(A) (B)：退火温度梯度(1：51.1℃；2：52.9℃；3：55℃；4：57℃；5：59℃；6：61℃；7：63.1℃；8：64.6℃)；(C) (D)：引物浓度梯度(1：0.2 μmol/L；2：0.4 μmol/L；3：0.8 μmol/L；4：1.6 μmol/L)；(E) (F)：DNA 模板浓度梯度(1：10 ng；2：2 ng；3：0.4 ng；4：0.08 ng；5：0.016 ng；6：3.2×10^{-3} ng；7：6.4×10^{-4} ng；8：1.28×10^{-4} ng)；*最优条件：(A)：57℃；(B)：63.1℃；(C)：0.4 μmol/L；(D)：1.6 μmol/L；(E)：2 ng；(F)：10 ng

3.4. 特异性验证实验

使用建立好的方法，将上述最优条件进行组合，对人参及其易混品三七、桔梗、西洋参、萝卜样品进行 PCR 扩增检测。实验结果显示，引物对-1 仅有人参扩增出特异性单一条带，其他易混品(三七、桔梗、西洋参、萝卜)均未扩增出特异性条带(图 3(A))，由此表明该引物对人参具有高度特异性，适用于人参的真伪鉴别。引物对-2 除人参外，人参属其他药材三七与西洋参也扩增出了条带，而桔梗和萝卜未扩增出条带(图 3(B))；说明该引物仅能用于不同属间的鉴别，无法用于人参属内如人参、三七、西洋参种间的鉴定。以上结果表明，引物对-1 适用于人参的特异性鉴定，而引物对-2 则适用于属间鉴别，但不能用于种间鉴定。



M: DL2000 Plus DNA Marker；1：人参；2：三七；3：桔梗；4：西洋参；5：萝卜

Figure 3. Electrophoresis results of PCR-amplified bands from *Panax ginseng* and its confused species. (A) Primer Pair-1: Specific single bands were amplified only in *Panax ginseng*, while no specific bands were amplified in other confused species; (B) Primer Pair-2: In addition to *Panax ginseng*, bands were also amplified in other *Panax* herbs, including *Panax notoginseng* and *Panax quinquefolius*

图 3. 人参及其易混品 PCR 扩增条带的电泳结果。(A)：引物对-1：仅有人参扩增出特异性单一条带，其他易混品均未扩增出特异性条带；(B)：引物对-2：除人参外，人参属其他药材三七与西洋参也扩增出了条带

4. 讨论

4.1. DNA 条形码技术在人参真伪鉴别中的应用

本研究基于 DNA 条形码技术，通过分析人参及其易混品西洋参、三七等的 18S rRNA、ITS1、5.8S rRNA 及 ITS2 基因序列，筛选出特异性 SNP 位点，并设计了两对特异性引物(PF-1/PR-1 和 PF-2/PR-2)，成功建立了快速、准确的人参真伪鉴别方法。相比传统的性状鉴别、显微鉴别和理化鉴别方法，DNA 条形码技术具有更高的精确性和稳定性，能避免环境因素和人为因素对鉴定结果的干扰[10] [11]。特别是在中药材市场中，由于质量问题日益突出，伪劣人参产品屡见不鲜，消费者对人参的真伪鉴别存在较大困难。采用 DNA 条形码技术不仅能提高检测的可靠性，还能为药材的溯源、质量监管等方面提供强有力的技术支持。未来，随着基因组学和高通量测序技术的发展，DNA 条形码技术将能够进一步提高鉴定的准确性和效率，为中药材行业的现代化发展提供更加可靠的保障[12]。

4.2. 特异性 PCR 鉴别方法的优化及其适用性验证

在本研究中，通过对 PCR 反应条件的优化，成功建立了针对人参及其易混品的特异性 PCR 鉴别方法。实验结果表明，通过设计特异性引物对-1 和引物对-2，可以在不同层面实现准确的真伪鉴别。引物对-1 显示出较高的特异性，仅在人参样品中扩增出特异性单一条带，其他易混品(三七、西洋参、桔梗、

萝卜)未扩增出特异性条带。这表明，引物对-1 能够准确区分人参与其他易混品，适用于人参属内不同种间的鉴别，尤其适用于人参的真伪鉴定。引物对-2 除了能够成功鉴别人参外，三七和西洋参也能扩增出条带，而桔梗和萝卜未出现扩增条带(图 3(B))。这表明引物对-2 适用于不同属间的鉴别，能够区分人参属与其他非人参属植物，但在种间鉴定(如人参、三七、西洋参之间)存在一定局限性。通过优化退火温度、循环次数、引物浓度和 DNA 模板浓度，确定了最佳 PCR 反应条件，确保了实验结果的稳定性和可重复性。未来可通过增加针对人参属特有基因序列的引物设计或采用多重 PCR 技术，进一步提高种间鉴定的分辨能力。此外，结合高通量测序技术，能够同时检测多个基因标记，进一步提升鉴定的准确性和全面性。尽管本研究已在市售样品上进行了验证，但样本来源较为单一，未来应扩大样本量，涵盖不同产地和品种的人参及其易混品，进一步验证该方法的普适性和稳定性。

4.3. 人参鉴别技术的应用价值与未来发展方向

本研究开发的 PCR 方法为人参及其易混品的真伪鉴别提供了可靠的技术支持，具有较高的特异性、灵敏度和操作便捷性。该方法不仅能够应用于中药材市场的质量监管，防止伪劣产品流入市场，还能为消费者提供准确的鉴别手段，确保人参的疗效和用药安全。随着中药材质量问题的日益突出，准确、快速的检测技术显得尤为重要。未来，结合高通量测序技术和生物信息学分析，可以进一步提升人参及其他中药材的鉴定准确性和效率。此外，随着对中药材 DNA 条形码库的逐步完善，基于 DNA 条形码技术的鉴别方法将具备更广泛的应用潜力，能够涵盖更多品种和类别的中药材，为中药材的标准化、现代化和全球化发展奠定坚实的基础。总体来说，本研究通过引物的优化和 PCR 条件的调节，为人参及其易混品的真伪鉴别提供了可行的技术方法，也为未来更多药材的鉴别工作提供了参考。然而，随着技术的不断进步，未来的研究可以进一步细化引物设计，结合其他现代生物技术，为中药材质量保障提供更加精确、高效的手段。

基金项目

北京农业职业学院学生双创项目(项目编号：XY-XK-21-04)。

参考文献

[1] 祝之友. 人参的中药材鉴别专用术语[J]. 中国中医药现代远程教育, 2017, 15(23): 105.

[2] 嵇再雄, 李家祺, 王建波. 人参皂苷 Rh3 药理作用的研究现状[J]. 上海中医药杂志, 2021, 55(2): 97-100.

[3] 李贵明, 李燕. 人参皂苷药理作用研究现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(8): 1024-1027.

[4] 尚加芬, 梁小瑞. 几组易混淆中药饮片性状鉴别要点[J]. 光明中医, 2020, 35(3): 440-441.

[5] 裴勇. 人参及其常见伪品的鉴别[J]. 光明中医, 2021, 36(19): 3266-3268.

[6] 吴宝祥, 倪丹蓉, 栾秋霞, 等. 20 种中药材的物理化学鉴别方法[J]. 时珍国医国药, 2004(6): 346.

[7] Yu, J., Wu, X., Liu, C., Newmaster, S., Ragupathy, S. and Kress, W.J. (2021) Progress in the Use of DNA Barcodes in the Identification and Classification of Medicinal Plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **208**, Article 111691. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111691

[8] Sasaki, Y., Fushimi, H., Cao, H., Cai, S. and Komatsu, K. (2002) Sequence Analysis of Chinese and Japanese *Curcuma* Drugs on the 18S rRNA Gene and *trn*K Gene and the Application of Amplification-Refractory Mutation System Analysis for Their Authentication. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **25**, 1593-1599. https://doi.org/10.1248/bpb.25.1593

[9] 林凤越, 曹辉, 任欢欢, 等. 基于 ITS2 序列的人参及同属易混品西洋参种子的分子鉴定[J]. 中草药, 2019, 50(9): 2188-2193.

[10] 陈晓辰. 中草药 DNA 条形码分子鉴定: 从基因到基因组[D]: [博士学位论文]. 北京: 北京协和医学院, 2016.

[11] 魏妙洁, 石林春, 赵晴, 等. 三七片 DNA 条形码分子鉴定及方法学考察[J]. 中草药, 2020, 51(7): 1893-1900.

[12] Mahima, K., Sunil Kumar, K.N., Rakhesh, K.V., Rajeswaran, P.S., Sharma, A. and Sathishkumar, R. (2022) Advancements and Future Prospective of DNA Barcodes in the Herbal Drug Industry. *Frontiers in Pharmacology*, **13**, Article ID: 947512. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.947512