

衛生署 中醫藥規管辦公室

Chinese Medicine
Regulatory Office
Department of Health

https://www.cmro.gov.hk/html/b5/useful_information/gcmti/index.html



「植物類藥材DNA條形碼檢測法」及 「中藥材參考DNA序列庫」研究分享會

(CME-IP0006-0084)

政府中藥檢測中心

2022年3月4日

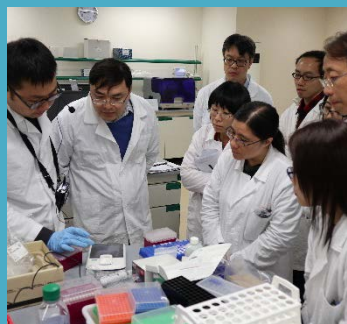
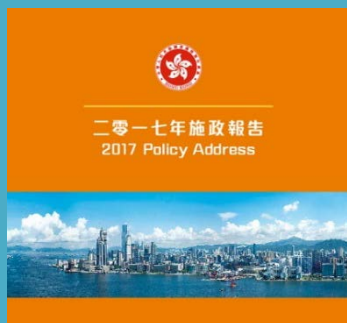
內容

- 01 政府中藥檢測中心簡介
- 02 中藥材鑒別
- 03 甚麼是DNA? 核酸技術?
- 04 核酸檢測方法及應用
- 05 「植物類藥材DNA條形碼檢測法」及「中藥材參考DNA序列庫」



「中醫中藥發展委員會」的建議

集中探討中醫中藥的四大發展範疇



人才培訓及專業發展



中醫服務



科研



產業發展 (包括中藥檢測)

- 認同中藥檢測有助確保中成藥產品的質素和安全
- 在2015年的施政報告中宣佈會籌劃一所由衛生署管理的中藥檢測中心





政府中藥檢測中心

Government Chinese Medicines
Testing Institute (GCMTI)



- 政府中藥檢測中心專責於中藥檢測科研，為中藥安全、品質及檢測方法建立參考標準
- 在2017年開始運作





TSEUNG KWAN O



Oscar by the Sea

F.S. Training School

Wan Po Road

CMH
42,900

GCMT
17,200

Quarters for FSD (2021-22)

View

View

Pak Shing Kok Road

Disused Stage 1 Landfill Site

Future Housing Development (2027-28)

Green Belt

LOHAS PARK

Junk Bay



政府中藥檢測中心 - 目標

制訂中藥參考標準

- 繼續現有的《香港中藥材標準》計劃

設立高科技實驗室

設立中藥標本實驗室

設立培訓及技術轉移中心

強化與國際間之合作



政府中藥檢測中心 - 目標

制訂中藥參考標準

設立高科技實驗室

- 開展中藥的高端科技研究及制訂檢測方法
- 透過技術轉移予中藥業界，加強業界對中藥及其產品的品質控制

設立中藥標本實驗室

設立培訓及技術轉移中心

強化與國際間之合作



政府中藥檢測中心 - 目標

制訂中藥參考標準

設立高科技實驗室

設立中藥標本實驗室

設立培訓及技術轉移中心

強化與國際間之合作

- 收集中藥材標本及其原植 / 動物標本
- 並發展成數碼化標本館開放予公眾，業界及國際科研機構作中藥材鑒別使用
- 同時致力成為具權威性的數碼化標本館
- 二者將成為相關持份者在中藥科研和應用方面的綜合資料庫，重要參考資料及平台



政府中藥檢測中心 - 目標

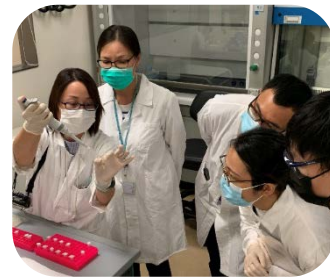
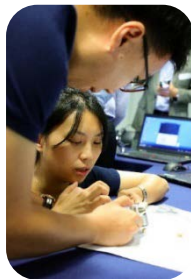
制訂中藥參考標準

設立高科技實驗室

設立中藥標本實驗室

設立培訓及技術轉移中心

強化與國際間之合作



- 為中藥業界及檢測業界提供培訓，推廣中藥參考標準，及將檢測技術轉移予檢測業界
- 促進香港成為國際中藥檢測及認證中心



政府中藥檢測中心 - 目標

制訂中藥參考標準

設立高科技實驗室

設立中藥標本實驗室

設立培訓及技術轉移中心

強化與國際間之合作

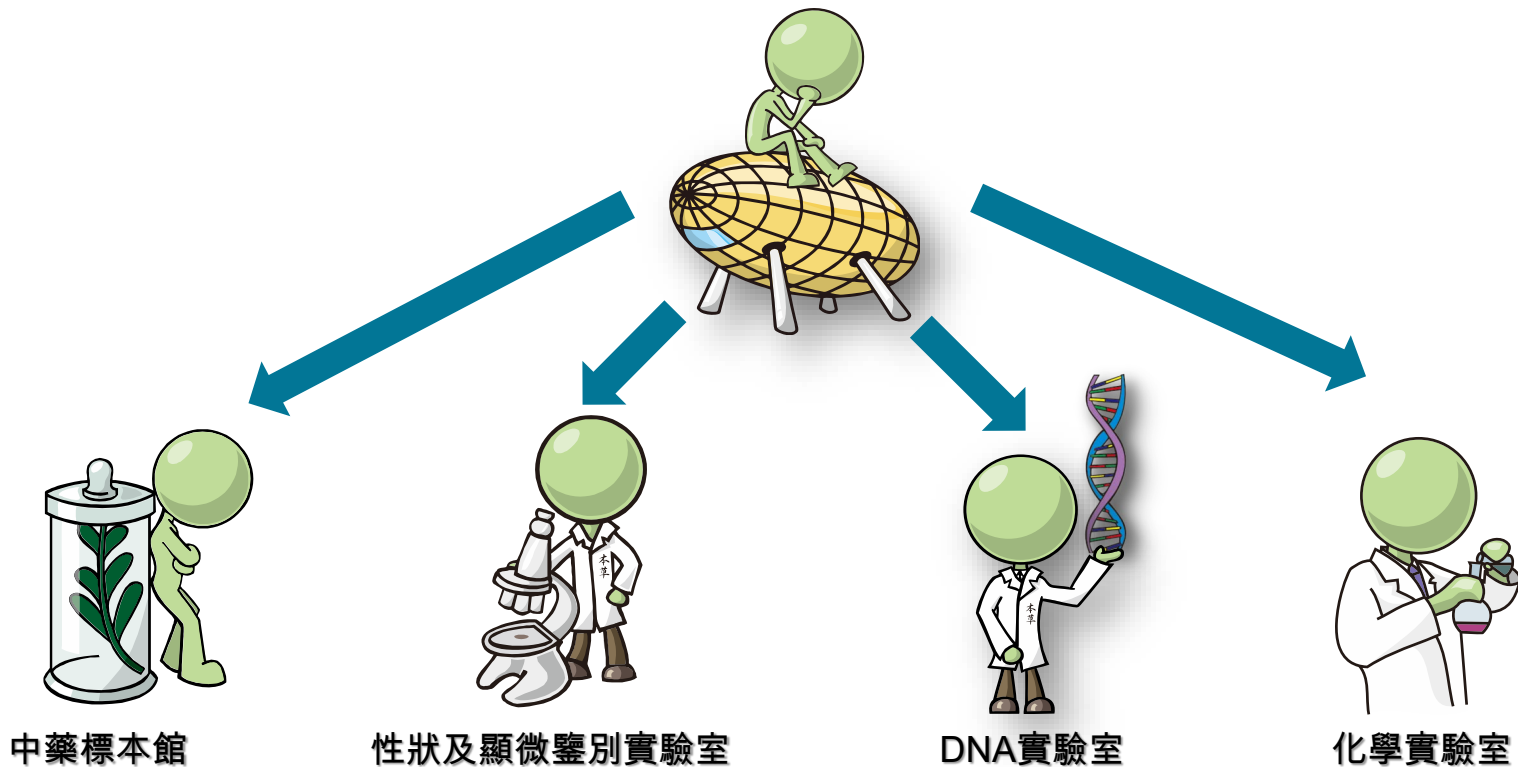


- 舉辦國際性交流活動及繼續維持與內地及海外相關機構的聯絡
- 促進中藥參考標準及檢測方法的統一



政府中藥檢測中心 - 實驗室

設立高科技及具國際水準的認可實驗室





中藥標本館

- 用以貯藏和管理中藥以及嶺南草藥等標本
- 提供實物標本供對比鑒別和研究
- 推動本港中醫藥的發展

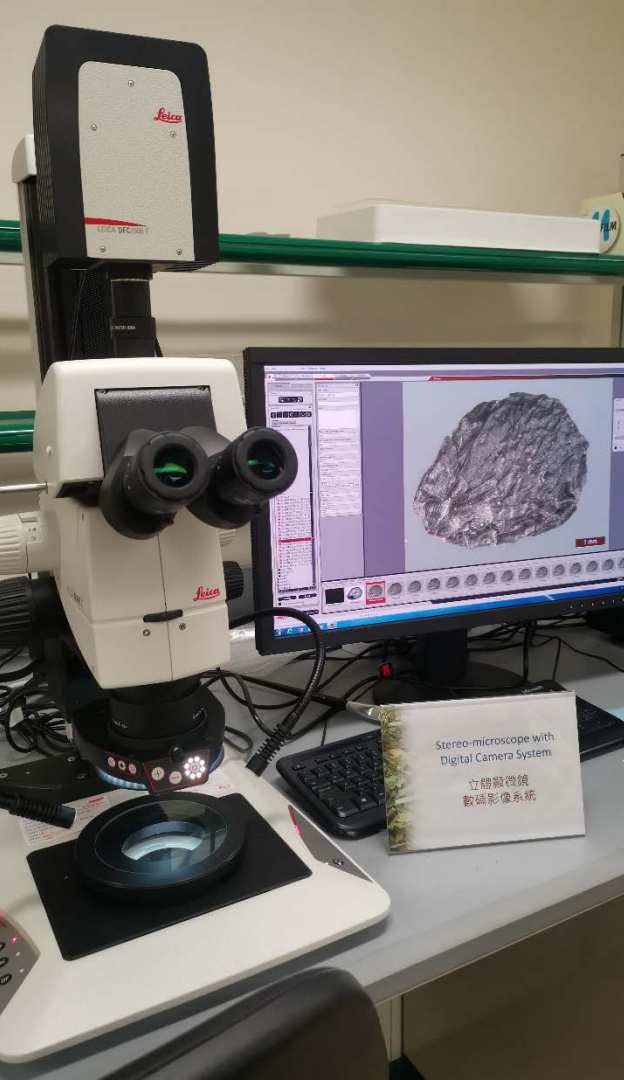
特色展櫃

專題展櫃



正本清源





性狀及顯微鑒別實驗室

實驗室配備了生物顯微鏡及立體光學顯微鏡數碼影像系統，可用於研究及記錄中藥的性狀與顯微特徵，為中藥進行鑒別，支援其他組別的研究項目例如：

性狀鑒別實驗室

- 立體顯微鏡
- 高解像影像系統

顯微鑒別實驗室

- 光學顯微鏡
- 螢光顯微鏡
- 冷凍切片機等





化學實驗室

透過化學手段開展可行和實用的中成藥品質控制檢測方法的研究開發工作，以提升中成藥的品質至國際認可標準

- 超高效液相色譜串聯三重四極桿質譜儀、高效液相色譜儀-二極體陣列檢測器及蒸發光散射檢測器、超高效液相色譜儀-二極體陣列檢測器及多波長螢光檢測器、製備型高效液相色譜儀、氣相色譜串聯三重四極桿質譜儀、超高效液相色譜串聯線性離子阱質譜儀、氣相色譜電子俘獲檢測器、火焰電離檢測器及質譜聯用儀等





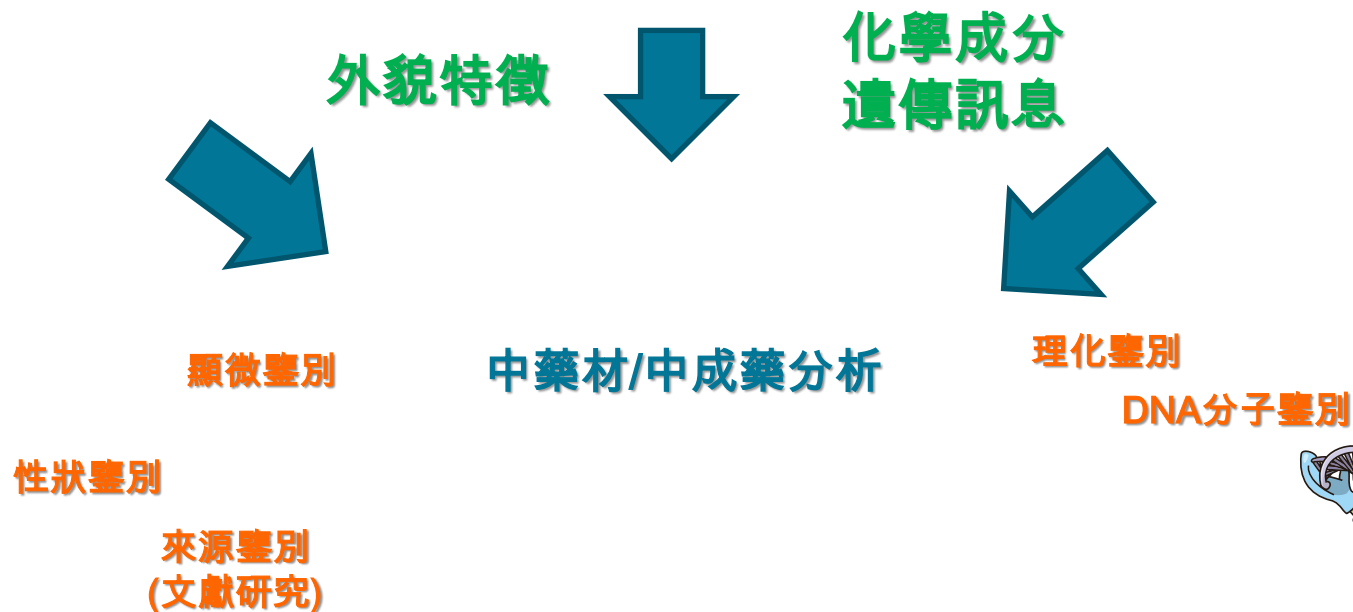
DNA實驗室

透過DNA手段作為中藥鑒別的補充方案，並建立中藥材參考DNA序列庫

- DNA實驗室備有多元化的DNA分析儀器包括遺傳分析儀、次世代定序儀、實時聚合酶鏈式反應熱循環儀、聚合酶鏈式反應熱循環儀、數字PCR、自動化毛細管電泳系統、微流體電泳分析儀、凝膠影像系統、核酸提取純化工作站、自動化移液工作站等



利用多學科的鑒別手段來識別中藥材/中成藥分析



政府中藥檢測中心 - 研究成果

https://www.cmro.gov.hk/html/b5/useful_information/gcmti/research/index.html

性狀及顯微鑒別

- 香港容易混淆中藥的性狀及顯微鑒別研究



生物科技及化學

- 內服中成藥中藥材指標成分的分析(枇杷膏)
- 外用藥油中藥材指標成分的分析



生物科技及化學

- 以DNA技術作為鑒別鹿茸的互補檢測方法
- 植物類藥材DNA條形碼檢測法
- 動物類藥材DNA條形碼檢測法

即將開展 / 進行中的研究項目



政府中藥檢測中心 - 培訓及技術轉移

https://www.cmro.gov.hk/html/b5/useful_information/gcmti/research/index.html



對象

中醫業界、中藥業界、醫院管理局三方協作的中醫教研中心、檢測業界、醫藥學界、內部同事、公眾



宣傳

中醫藥規管辦公室網頁上載研究結果、《中醫組通訊》、《中藥商通訊》、國際現代化中醫藥及健康產品展覽會 - 攤位及展板



教育

分享會
(進修學分供中醫業界)
工作坊



香港特別行政區政府
衛生署 中醫藥規管辦公室
GOVHK 香港政府一站通 國粵語 ENGLISH
獲的品質色彩 AAA 認證
網頁 網頁圖示

給市民的資訊 給中醫藥業界的資訊 給中藥業界的資訊

- 最新消息
- 關於我們
- 規管法例
- 表格及申請須知
- 有用資料

香港特別行政區政府
衛生署
香港中醫藥管理委員會
Chinese Medicines Regulatory Authority

政府中藥檢測中心
Government Chinese Medicines Testing Institute

世界衛生組織
傳統醫學合作中心
WHO Collaborating Centre for Traditional Medicine

中成藥生產質量管理規範
Good Manufacturing Practice for Proprietary Chinese Medicines
WHO Resources

GMP

牙健局
牙醫公會

研究結果

簡介 組織架構 諮詢委員會 中藥標準部 我們的實驗室 委委中藥材標準 研究成果

即統而舉之進行中的研究項目

研究結果

性狀及顯微鏡別

- 香港空基檢測中藥材性狀及顯微鏡別研究

生物科技及化學

- 外來風油中藥材揮發成分的分析
- 以DNA探測作為鑒別真偽的及種檢測方法
- 中藥材製成DNA序列庫
- 內服中成藥中藥材揮發成分的DNA序列庫

測試方法

- 測試方法





02. 中藥材鑒別



中藥材鑒別體系

| 鑒定方法 | 依據 |
|------|--------|
| 性狀鑒定 | 感官 |
| 基原鑒定 | 器官 |
| 顯微鑒定 | 細胞器 |
| 理化鑒定 | 化學指標成分 |
| 分子鑒定 | 核酸 |



性狀鑒別

— 經典方法，快速，簡便

韮菜子

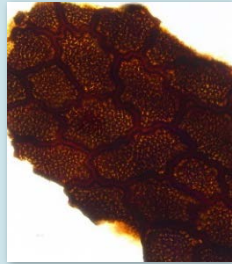
蔥子



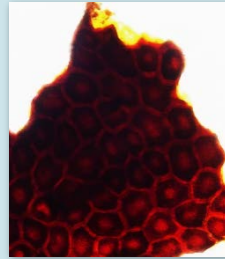
顯微鑒別

- ▶ 通過顯微鏡觀察中藥材的顯微特徵，鑒別中藥材

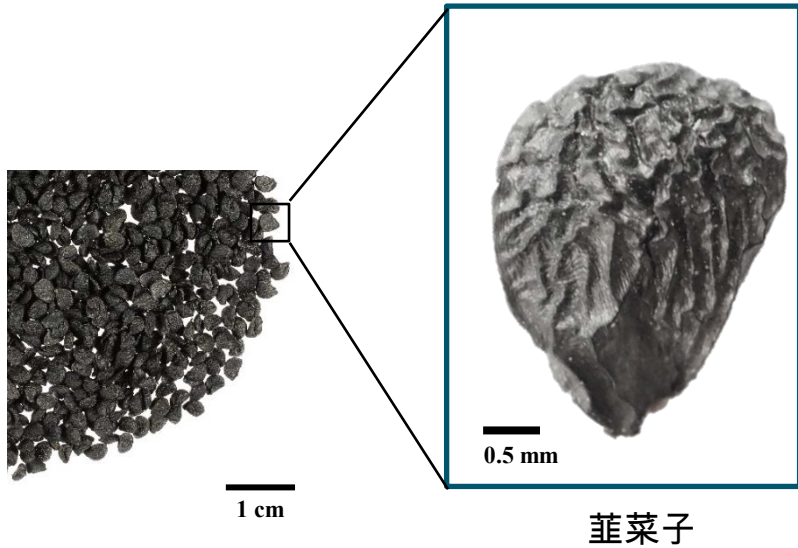
韭菜子



蔥子

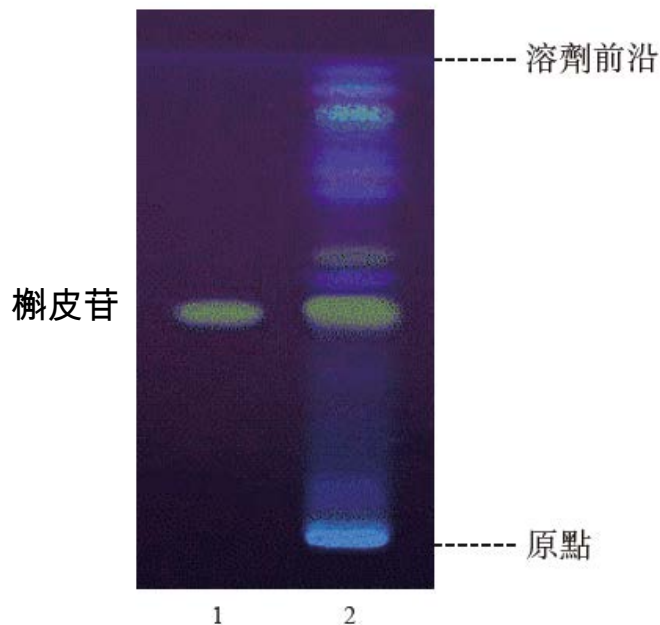


微性狀鑒別



理化鑒別

- 是指用物理或化學方法，對藥材中所含代表性**化學成分**進行鑒別試驗
- 色譜法
 - 薄層色譜法
 - 高效液相色譜或氣相色譜法



香港藥材標準第7冊 – 合歡花的高效薄層色譜圖



容易混淆的藥材



蟬蛻



金蟬蛻



容易混淆的藥材



白花蛇舌草



水線草



容易混淆的藥材



5 mm

南鶴蝨



5 mm

華南鶴蝨





03. 甚麼是DNA?



生物組成 - 特有類別

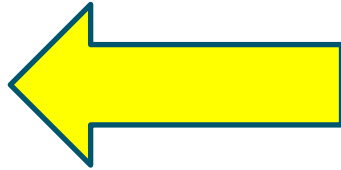
▶ 木質化組織 - 樹木

▶ 甲殼質 - 蝦，蟹，昆蟲



生物組成 – 普遍存在

- ▶ 碳水化合物
- ▶ 脂肪
- ▶ 蛋白質
- ▶ 核酸
 - ▶ DNA
 - ▶ RNA



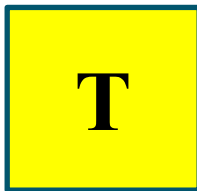
DNA是甚麼？

- Deoxyribonucleic acid (DNA)
- 脫氧核糖核酸
- 存在於生物的細胞內
- 生物設計的藍圖



DNA是甚麼？

- ▶ 由4種化合物組成
- ▶ 像字母積木



DNA是甚麼？

單鏈

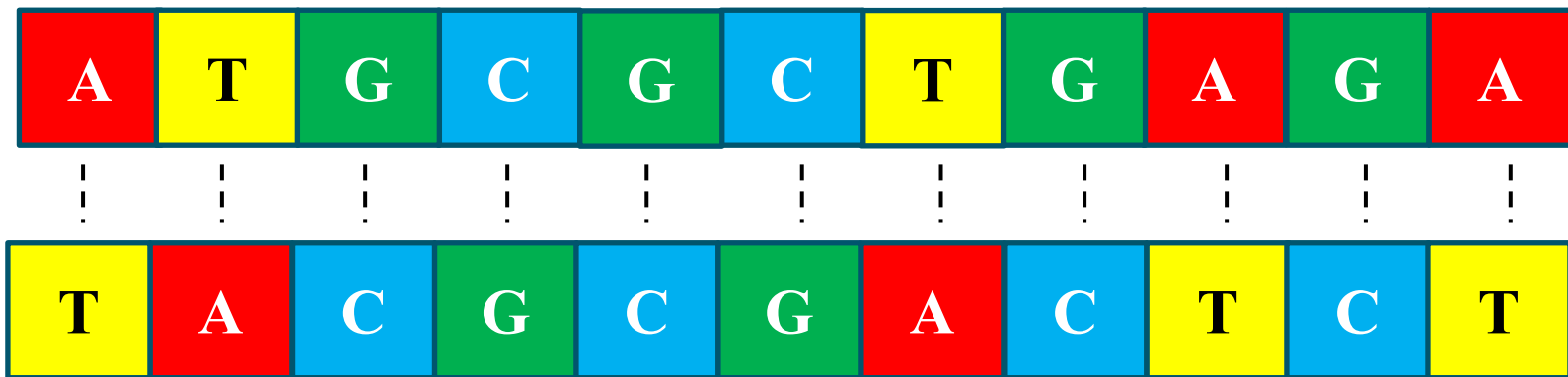


- 其排列次序，稱為DNA序列



DNA是甚麼？

雙鏈



長度: 11 個鹼基對 (11 bp)



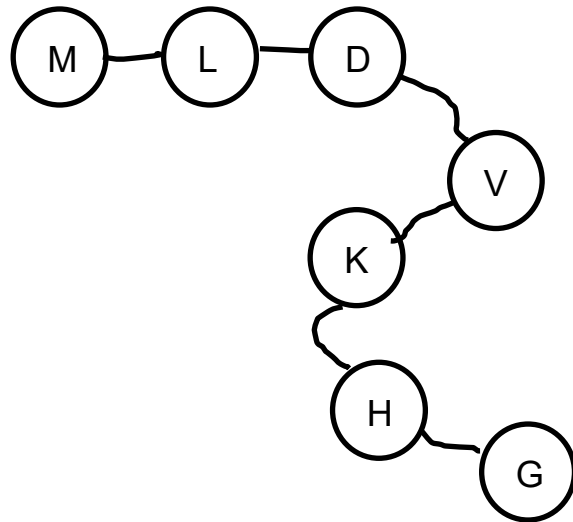
DNA是甚麼？

- 在生物裏，DNA以雙螺旋結構存在
- 1953年，沃森和克里克 (Watson and Crick) 在《自然》雜誌描述了DNA雙螺旋結構



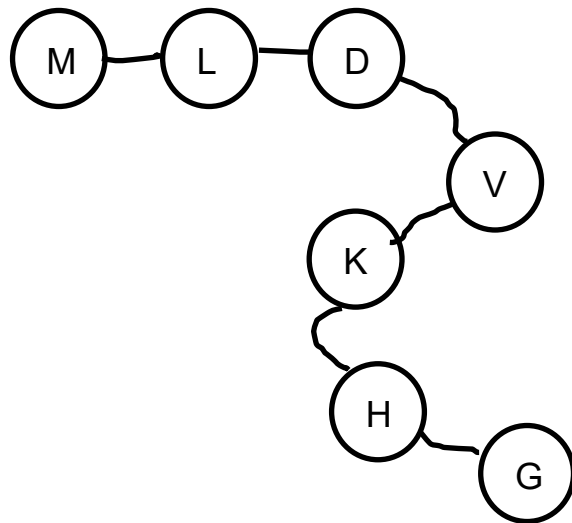
蛋白質

- ▶ 人體由20種氨基酸組成
- ▶ 20個英文字母
- ▶ 生物中必要組成成分
- ▶ 參與細胞的反應
 - ▶ 酶 (生物催化劑)
 - ▶ 肌肉
 - ▶ 免疫



蛋白質

- ▶ 每種蛋白都有獨特氨基酸排列
- ▶ 這些特定的排列，由甚麼決定？



密碼

摩斯密碼

| 訊號 | 代表英文字母 |
|---------|--------|
| ● — | A |
| — ● ● ● | B |
| — ● — ● | C |

DNA密碼

| DNA序列 | 氨基酸 |
|-------|-----|
| ATG | M |
| CGC | R |
| TGC | C |



DNA的角色

我是這個生物的
一個細胞

我是這個
生物的總設計
圖

DNA

我是**蛋白質A**
的設計圖

mRNA

我是最終產物，
負責工作

蛋白質 A



小結

- DNA由4種化合物組合而成
- 4種化合物排列次序，稱為DNA序列
- DNA是生命的藍圖

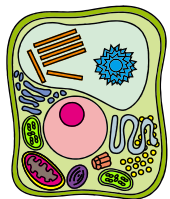




03. 核酸技術



核酸技術里程



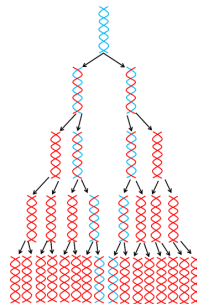
1868

從細胞提取出DNA



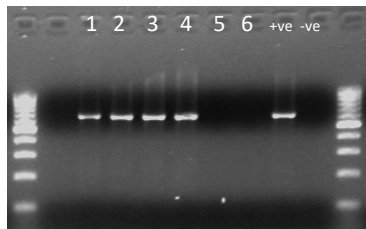
1953

發現DNA的雙螺旋結構



1983

聚合酶鏈式反應 (PCR)



1937

以電泳技術分離生物分子

1977

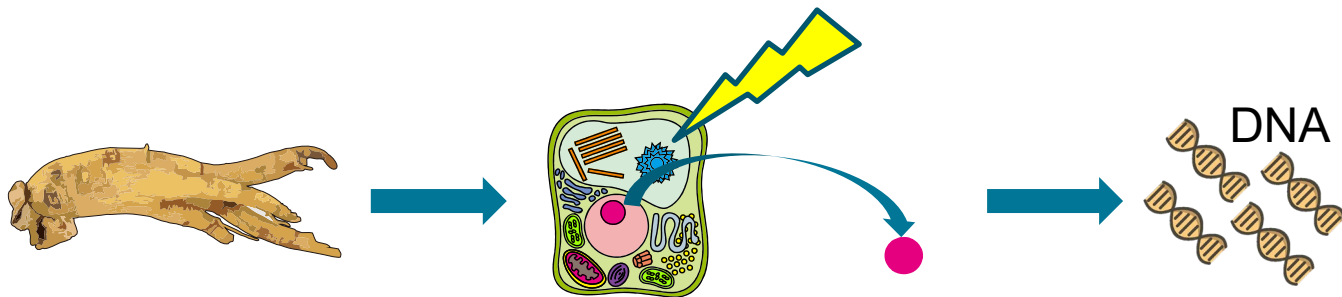
桑格DNA測序

CTAG



從細胞中提取DNA

- 大多數情況下，不能直接檢測樣本
- 需將細胞膜或細胞壁打破
- 去除DNA以外的成份





DNA複製技術

- ➔ 聚合酶鏈式反應 (Polymerase Chain Reaction)
- ➔ 複製DNA
- ➔ 從少量的DNA樣本，反覆擴增，
得到足夠分析的分量



PCR的故事

發明人

- ▶ 凱利.班克斯.穆利斯(Kary B. Mullis)
- ▶ 經常面對DNA樣本不夠使用
- ▶ 由汽車車輪發出規律聲音，啟發複製DNA
- ▶ 人工方法，在試管中進行



PCR的故事

原理

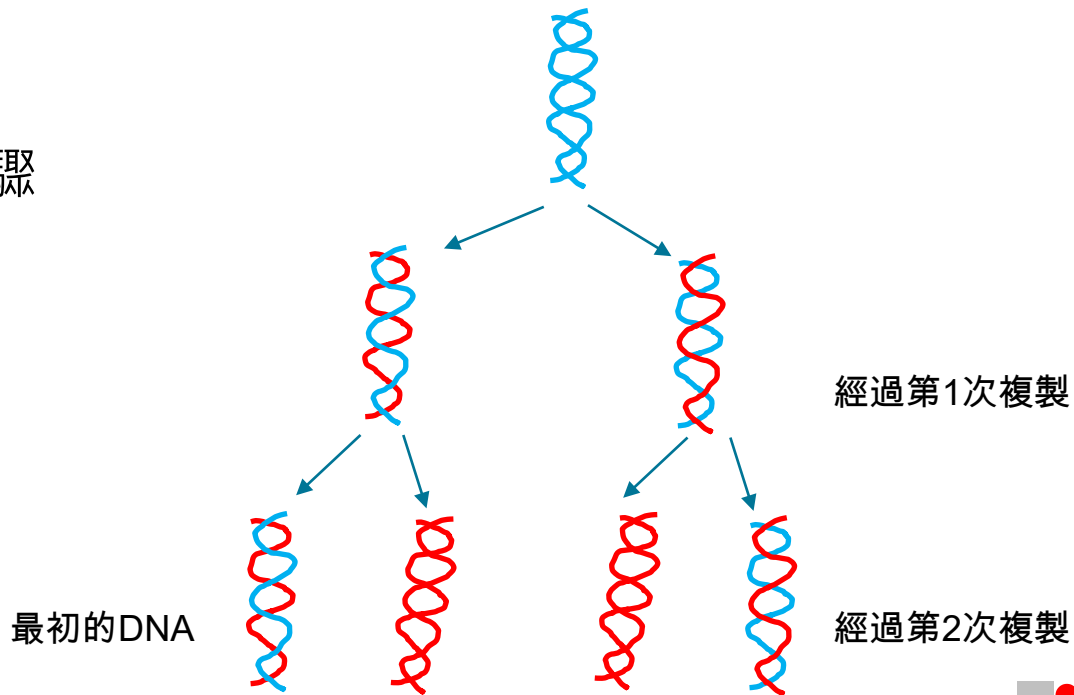
反覆進行相同的複製步驟

➤ 1次 → 由1變2

➤ 2次 → 由2變4

.....

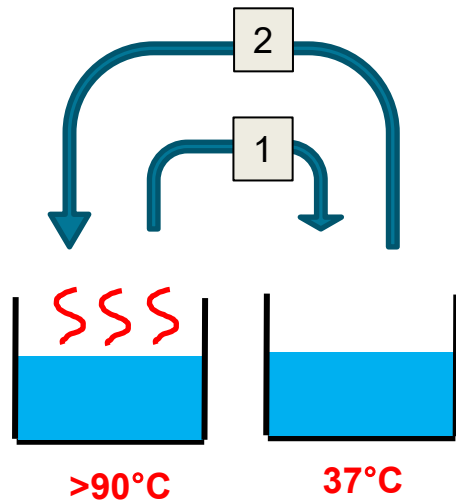
➤ 30次 → 10億



PCR的故事

初期的PCR

- ▶ PCR需進行約30次複製
- ▶ 每次複製前，都需要以 $>90^{\circ}\text{C}$ 進行反應
- ▶ 每次加入新鮮的DNA聚合酶，去進行新一輪複製
- ▶ 十分耗費人力和物力



PCR的故事

DNA聚合酶

水生棲熱菌

- 1970年代
- 美國黃石國家公園的熱泉
- 發現生存在高溫環境的細菌
- 分離出耐高溫的DNA聚合酶
- 莫理斯改用這種DNA聚合酶，解決了每次複製需要加酶的缺點



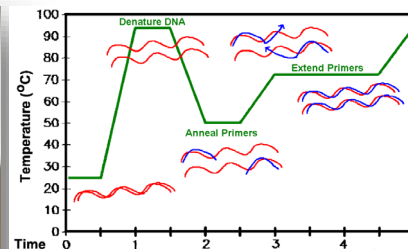
PCR的故事

儀器

- ▶ PCR變得更具實用性
- ▶ 小插曲
 - ▶ 投稿至《科學》遭駁回
 - ▶ 但隨後，《科學》選聚合酶為1989年度分子，讚揚對重要性
- ▶ 1993年，獲得諾貝爾化學獎
- ▶ 現時已有儀器，代替人手PCR

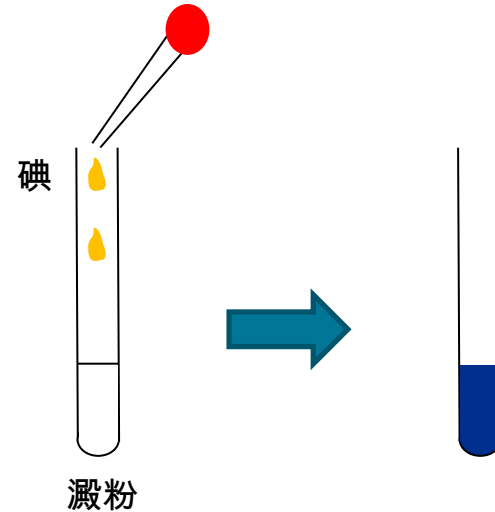
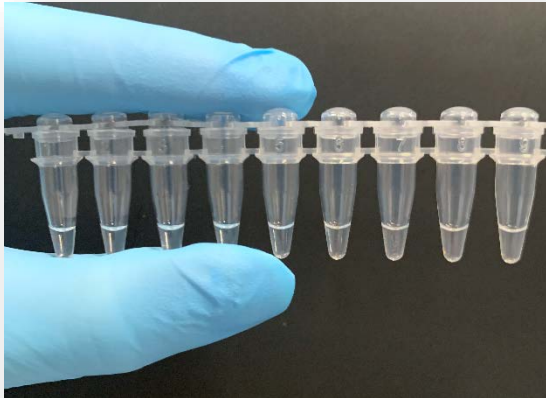


PCR儀



如何“看到”DNA?

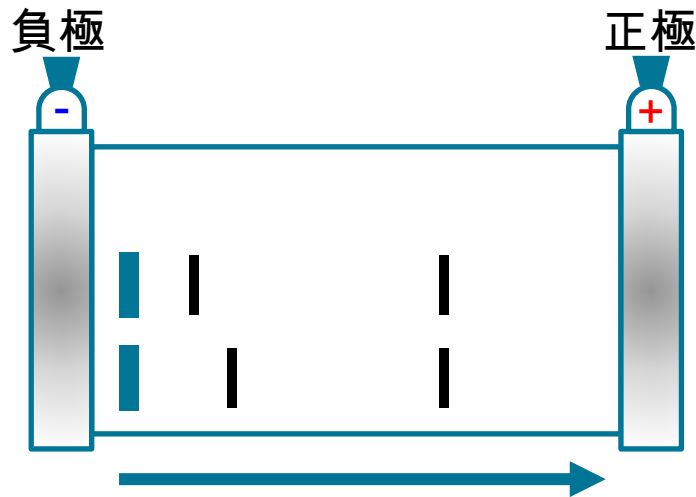
- ▶ 樣本裏有沒有DNA?
- ▶ 經PCR後，有沒有PCR產物?
- ▶ 如果有，鹼基對長度是多少?



如何“看到”DNA?

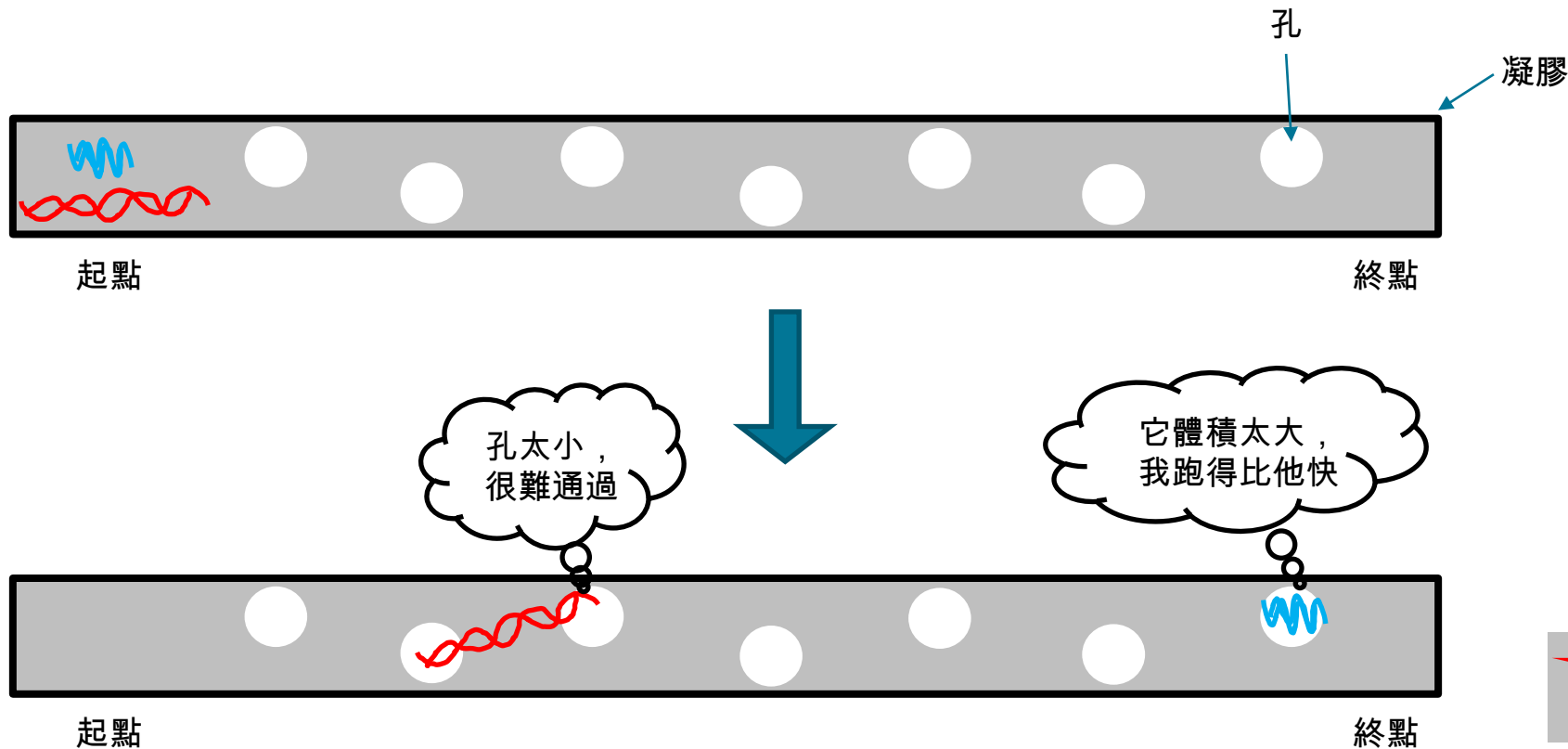
電泳

- ▶ 1937年
- ▶ 分離生物分子
- ▶ 瓊脂糖凝膠
 - ▶ 從海藻中分離
- ▶ DNA帶負電荷，被正極吸引

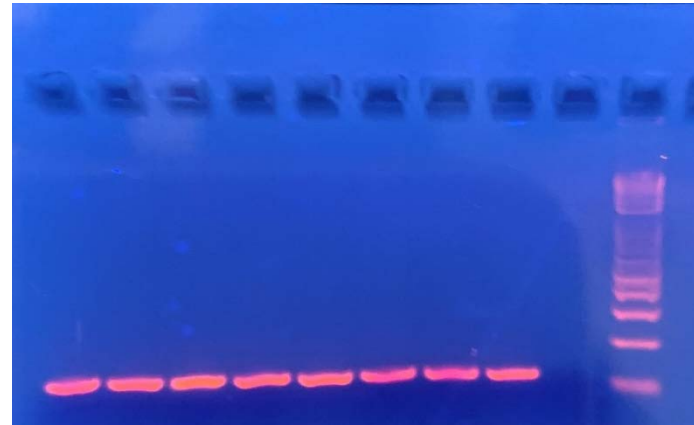
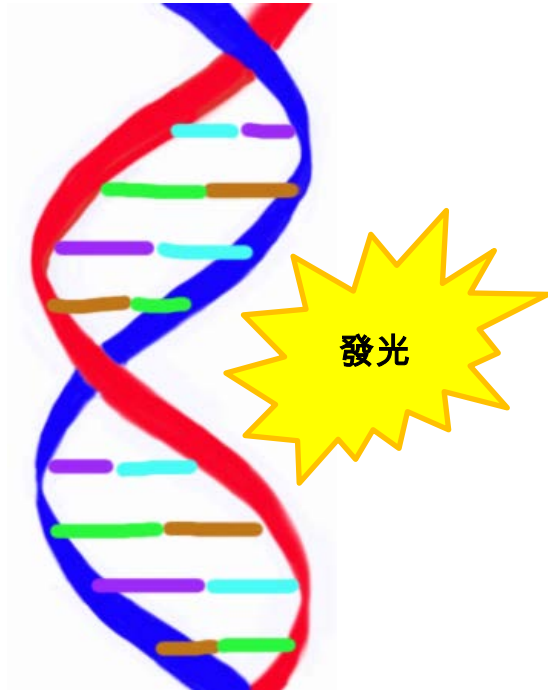


如何“看到”DNA?

參加障礙賽的DNA



如何“看到”DNA?



在紫外光燈下觀察的DNA



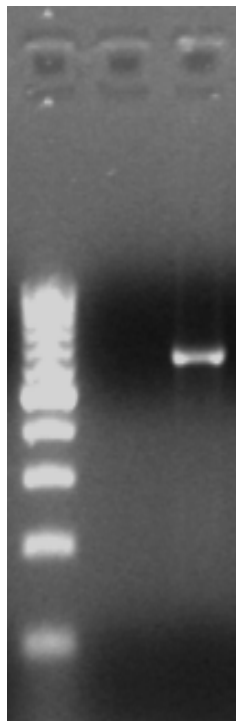
如何“看到”DNA?

電泳圖

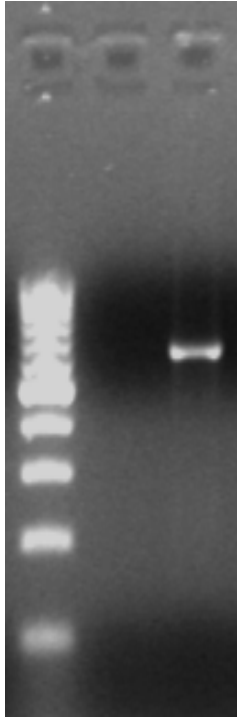
起點

長的DNA

短的DNA



DNA測序



➡ 雖然看到DNA，但不知它的DNA序列



桑格法DNA測序

- 弗雷德里克.桑格 (Frederick Sanger)
- 唯一一位獲得2次諾貝爾化學獎
- 1955年，將胰島素的氨基酸序列定序
- 獲得了1958年諾貝爾化學獎

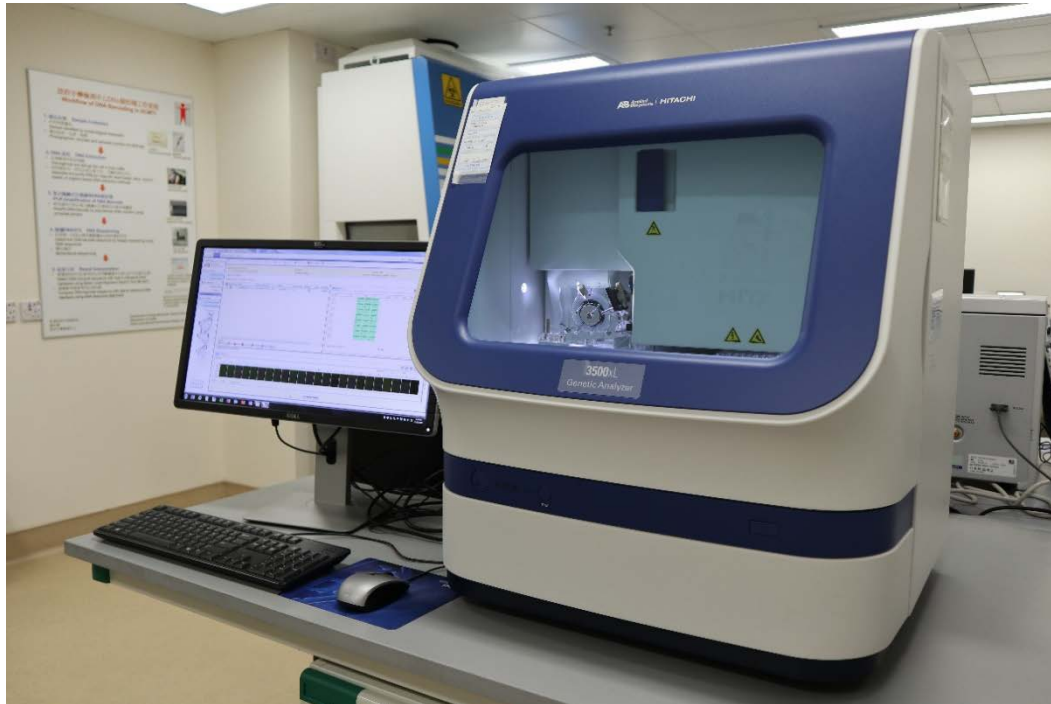


桑格法DNA測序

- ▶ 1975年，發展出一種叫「桑格法」的DNA測序技術
- ▶ 利用電泳讀出DNA序列
- ▶ 1980年，再度獲得諾貝爾化學獎
- ▶ 1990年代，DNA測序要使用放射性元素，手動操作

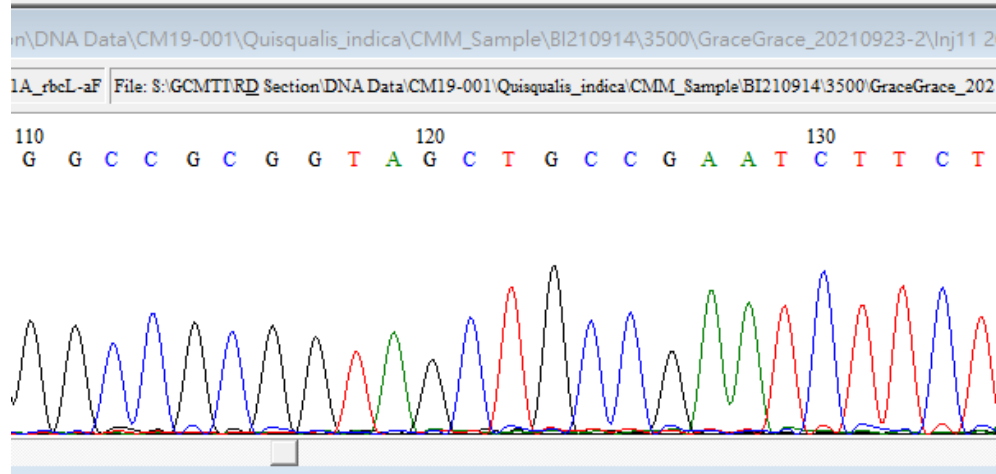


DNA測序儀



DNA序列

測序儀的數據



文字方式儲存

GGCCGCGGTA.....



小結

- 核酸技術用以測試生物的核酸特徵
- 常用的技術有PCR、電泳、DNA測序等





Section Break



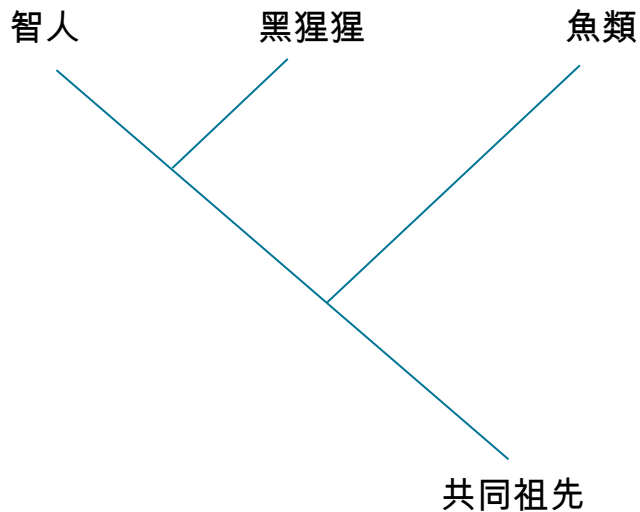


04. 核酸檢測方法及應用



生物之間的DNA序列差異

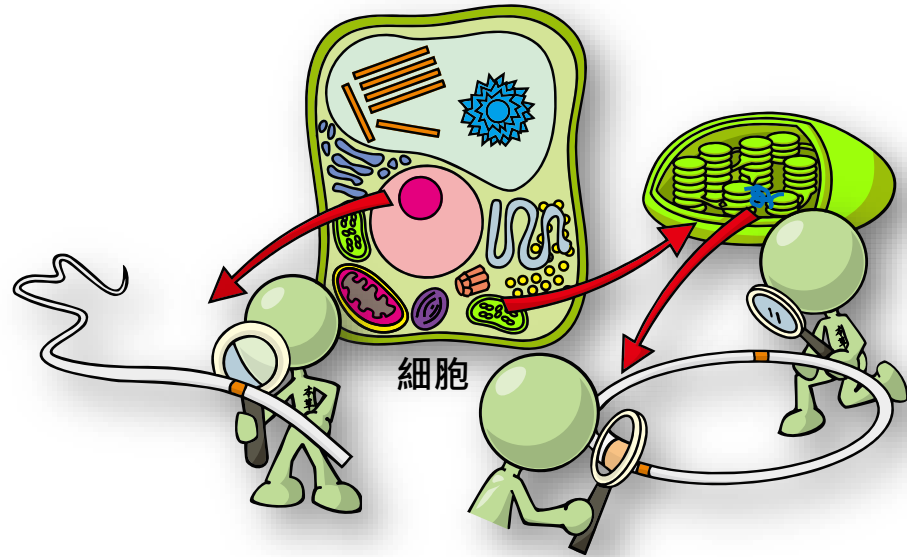
- ▶ 外貌特徵差異大的生物，它們之間的DNA序列差異亦大



生物的身份

- 生物的DNA訊息量大
- 比對DNA序列，可以區分不同物種

➤ 但 ...



含有鑒別特徵的遺傳密碼



- ▶ 以人類為例，有超過30億個鹼基對(bp)
- ▶ 桑格法每次能測1000 bp 以下
- ▶ 將所有鹼基對都進行測序？
 - 人力，時間，金錢
- ▶ 若否，應測試那一部份？



找尋合適的位置

- 科學家不斷尋找合適的DNA區域
- 區分不同生物品種，例如
 - ITS區域 (約600 bp)能夠有效區分人參和西洋參



人參



西洋參



實驗室A

DNA 區域 **A**
對於柴胡十分有效!

我們的結果顯示，DNA
區域 **B**可以區別鬼白和龍
膽。

實驗室B

實驗室C

我試了區域B，但對七葉一
枝花無效，我打算試試區域**C**。

剛接收了一個樣本，
應該用區域**A**、**B**還是
C?...

實驗室D



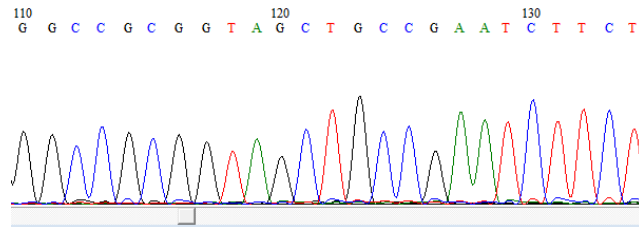
條形碼

- ▶ 按編碼規則排列的黑條和空白
- ▶ 代表商品名等信息
- ▶ 條形碼 = 商品



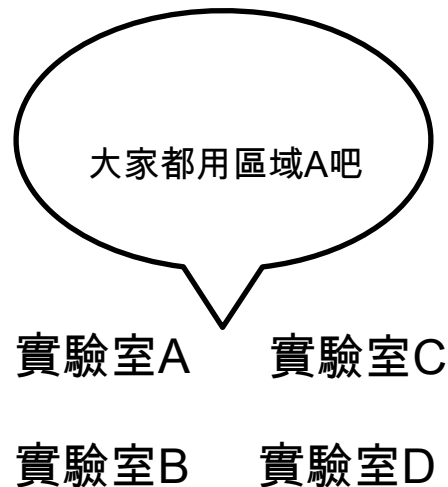
DNA條形碼

- 2003年
- 加拿大動物學家Paul Hebert，提出以小段DNA片段，為全球生物編碼
- 像商品上的條形碼，生物的條形碼，便是其獨特的DNA序列
- 而這個以DNA序列作為條碼的方法，稱為DNA條形碼



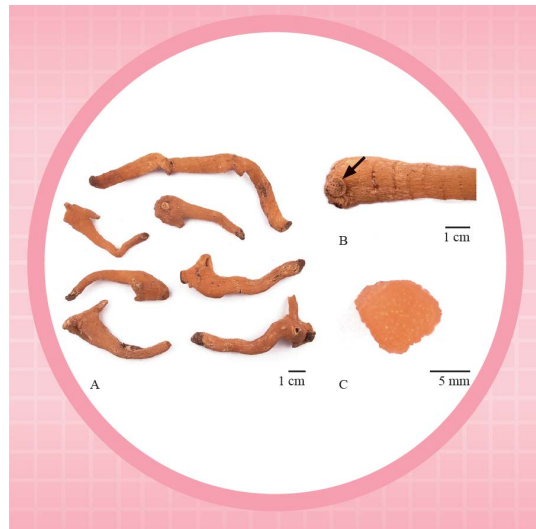
DNA條形碼

- ▶ 利用一段或幾段標準DNA區域
 - 集中資源
 - 資訊交換
- ▶ 實現動物、植物和真菌物種的快速鑒定
- ▶ 物種鑒定發展的大趨勢



DNA序列參考數據

- 等於藥材的圖鑑
- 由已確定來源的標本，所產生的DNA序列
- 所比對的是DNA序列
- 從而得知樣本身份



香港藥材標準第10冊 – 黃精外觀圖



DNA條形碼檢測法在世界各地的應用

衛生防護

法證

環境評估

檢疫隔離
(蟲害)

草藥,香料,高經濟價值農作物

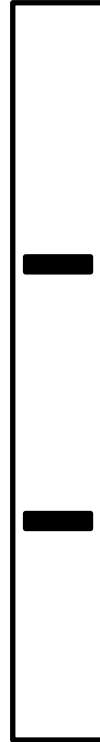
防止市場
欺詐



DNA指紋圖譜

- 無需進行DNA測序
- 找出生物之間的差異

罪案現場



疑犯A



疑犯B



核酸檢測及應用

- 食品
- 環境鑒測
- 鑑證
- 醫療衛生



食品 – 基因改造食物

- 大豆、木瓜、香蕉
- 將其它生物的DNA，插入被改造生物之中
- 具有其它生物的功能
 - 抵抗病毒及蟲害
 - 含豐富維他命A的香蕉



食品 – 食物致敏物

- ▶ 含致敏物的食物，例如
 - 含有麩質的穀類、魚類、花生、大豆、奶類、甲殼類動物及堅果
- ▶ 無醫治方法
- ▶ 患者應避免進食含致敏物的食物



食品 – 食物物種

- ▶ 2010 年 2 月 12 日，海關對 31 家海鮮乾貨零售店進行的一系列突襲中，查獲了 100 多公斤疑似假鮑魚片，價值約 30,000 美元。
- ▶ “靚鮑魚片”，“澳洲鮑魚片”，“日本鮑魚片”，“美國鮑魚片”，“南非鮑魚片”
- ▶ 真身是螺



食品 – 食物安全

- ▶ 2012 年 6 月 15 日，食物安全中心讓公眾停止食用含有河豚毒素的烤石斑魚，河豚毒素的含量由 0.31 毫克至 1.7 毫克/公斤不等。
- ▶ 河豚” 作為 “石斑魚”
- ▶ 有毒河豚肉干(月尾兔頭鮰)



環境鑒測



醫療衛生

- 2019冠狀病毒檢測
- 反轉錄聚合酶連鎖反應(RT-PCR)
- PCR技術的其中一種
- 可以檢出病毒



小結

- ▶ 隨著DNA技術的進步，亦發展出多種檢測方法，例子有DNA條形碼、DNA指紋圖譜
- ▶ DNA檢測技術應用於食品安全、環境監測、鑑證、醫療衛生等範疇，與大眾息息相關



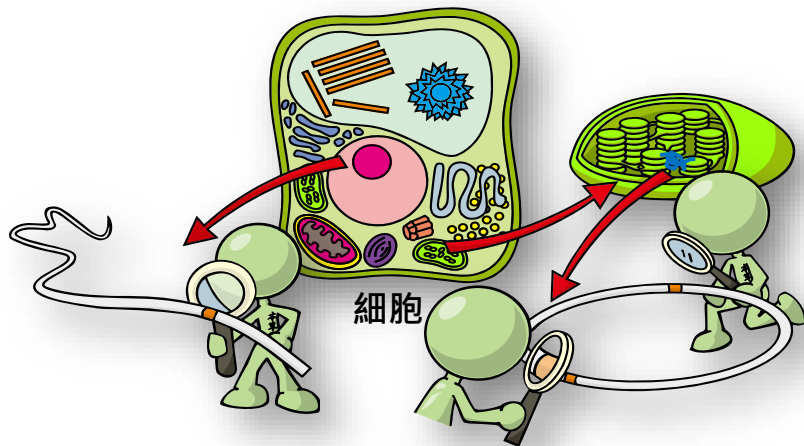


DNA鑒別技術 在中藥材的應用



DNA鑒別技術適用範圍

根據遺傳物質DNA在不同生物之間的差異來鑒別**生物物種 (物種來源)**



含有鑒別特徵的遺傳密碼



| | | |
|----|----------|----------------|
| 01 | 植物類 | 根、莖、花、果、葉、種子等 |
| 02 | 動物類 | 角、肉、血、皮、毛、鱗片等 |
| 03 | 真菌/蕨/海藻類 | 菌絲體、子實體、孢子、複合體 |



DNA鑒別技術特點

- ▶ 分辨能力強
- ▶ 生物各部位的DNA訊息一致
- ▶ 品種混雜、多來源品種的中藥材
- ▶ 沒有獨特化學成分標記的中藥材



DNA鑒別技術不涵蓋的測試範圍

- ▶ 無法作中藥材的品質評估
- ▶ 不適用於礦物類中藥材
- ▶ 不能分辨部位
- ▶ 相對其他鑒別方法，操作步驟較多

藥用部位

藥材的品質

礦物類



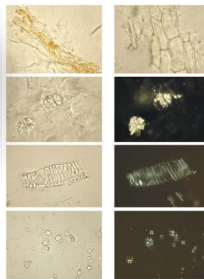
DNA技術在中藥基源品質管理上可發揮的作用

01 作為起始物料的鑒別手段

- 鑒別半加工原料(失去外型特徵、藥材粉末)更顯優勢
- 磨粉後製成的膠囊劑

性狀鑒別:

氣微而特異，味微苦，後回甜

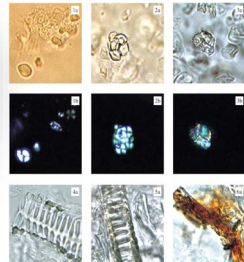


顯微鑒別

1. 樹脂道 2. 草酸鈣簇晶 3. 木栓細胞 4. 導管 5. 澱粉粒
a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

性狀鑒別:

氣微，味苦回甜



顯微鑒別

1. 單粒澱粉粒 2. 複粒澱粉粒 3. 草酸鈣簇晶 4. 網紋葉管 5. 梯紋導管 6. 樹脂道
a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵



DNA技術在中藥基源品質管理上可發揮的作用



01

作為起始物料作的鑒別手段

- 鑒別半加工原料 (失去外型特徵、藥材粉末)更顯優勢
- 磨粉後製成的膠囊劑

02

鑒別多基源的中藥材，有助符合國外的註冊要求

多基源中藥材含有多於一個植物品種，例如黃連(*Coptis chinensis*)，三角葉黃連(*Coptis deltoidea*)

03

品種混雜、容易混淆

洋金花(*Datura metel*) vs 鬧羊花(*Rhododendron molle*)

04

有效成分無法確定的問題 (無獨特化學成分標記的中藥材)

動物藥，例如鹿茸



全球對DNA測試的新發展趨勢

確保中藥材臨床應用的安全和效用

中藥材存在多基原物種及同名異物、同物異名等問題，鑒於傳統基原鑒定、性狀鑒定、顯微鑒定和理化鑒定方法存在局限性，為保證中藥材臨床應用安全、準確、有效，有必要增加中藥材DNA分子鑒定法。

中國藥典2010版

首次發佈烏梢蛇、蕪蛇、川貝母的DNA指紋圖譜方法作為中藥鑒別的有效補充方案

2015, 2020 版第四部

<< 9107 中藥材DNA條碼分子鑒定法指導原則 >>

英國藥典2017版補充章節

利用DNA條形碼方法作為草藥鑒別的工具
鑒別聖羅勒 (*Ocimum tenuiflorum*)

分別黃柏(*Phellodendron chinense*) 及其替代品或攙雜品關黃柏 (*Phellodendron amurense*)

美國藥典2014

指導原則作為補充方法鑒別植物藥

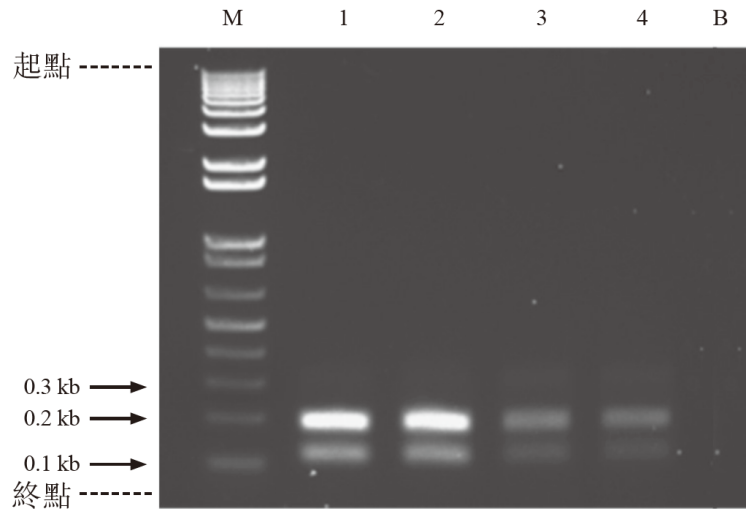
HOKLAS補充準則

Supplementary criteria No 43. "Chinese Medicine" and "Food" - Species Identification by DNA Sequencing for Authentication Purpose



DNA檢測中藥材例子 – 名貴藥材

- ▶ 香港中藥材標準第7冊
- ▶ 川貝母鑒別方法



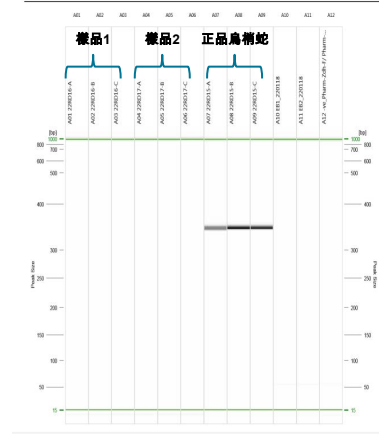
DNA檢測中藥材例子 – 有毒混淆品

- ▶ 川木通、木通、關木通
- ▶ 關木通為馬兜鈴科植物東北馬兜鈴
- ▶ 含有馬兜鈴酸
 - 腎毒性和致癌
- ▶ 關木通混淆木通出售
- ▶ 採用PCR-RFLP技術區分



DNA檢測中藥材例子 – 動物類

- ▶ 蛇類
- ▶ 中國藥典
 - 金錢白花蛇(來源為銀環蛇)
 - 烏梢蛇 (來源為烏梢蛇)
 - 蕪蛇 (來源為五步蛇)
- ▶ 摻雜品十分多，包括
 - 赤鏈蛇、金環蛇、紅點錦蛇、王錦蛇、三索錦蛇、灰鼠蛇、山烙鐵頭等
- ▶ PCR鑒別法將正偽品區分



DNA檢測中藥材例子 – 動物類

- 鱷魚肉、蛇、五爪金龍
- 大眾相信鱷魚肉對哮喘有幫助
- 2006年，有大學對市面11份鱷魚肉乾進行DNA測序
 - 只有1份是鱷魚肉
 - 其餘是蜥蜴肉或蛇肉



其它藥材例子 (1)

➤ 根類

- 八角蓮與鬼臼、大戟、大黃、山藥、升麻、龍膽、百合、百部、紅景天、骨碎補、黨參、前胡、黃連 ...

➤ 果實種子類

- 八角茴香、五味子與南五味子、化橘紅與佛手、巴豆與毛巴豆、吳茱萸與山茱萸、梔子、蛇床子、砂仁、天花粉 ...

➤ 莖木皮花葉類

- 肉桂、杜仲、刺五加、鉤藤、紅花、西紅花、艾葉、桑葉與桑白皮、淫羊藿 ...



其它藥材例子 (2)

➤ 全草類

- 廣藿香與藿香、青蒿與茵陳、石斛與鐵皮石斛、魚腥草、細辛、穿心蓮、益母草、紫花地丁...

➤ 真菌類

- 冬蟲夏草、細曲、靈芝

➤ 動物類

- 阿膠、海馬、蛤蚧、蜈蚣、塞隆骨、麝香...





政府中藥檢測中心方法



植物類中藥材的 DNA 條形碼檢測方法

05. 「植物類藥材DNA條形碼檢測法」及「中藥材參考DNA序列庫」





GCMTI RD-5:2020

政府中藥檢測中心方法



植物類中藥材的 DNA 條形碼檢測方法

GCMTI DNA研究計劃

- 開展“建立中藥材參考DNA序列庫”研究計劃
- 研究計劃旨在制訂中藥材的「DNA條形碼檢測法」和建立一個中藥材參考「DNA序列庫」作鑒別用途
- 透過「DNA條形碼檢測法」建立中藥材和基原動/植物物種之間的遺傳可溯源性，保障中藥材臨床應用的安全和效用
- 以《中華人民共和國藥典》(2015年版)的《中藥材DNA條形碼分子鑒定法指導原則》作為技術藍本，並根據香港實驗所認可計劃的品質管理規定，驗證方法及建立一套DNA測試的品質管理系統



GCMTI 的DNA研究計劃

透過計劃，共開發了3個DNA檢測方法

- 植物類藥材DNA條形碼檢測法
- 動物類藥材DNA條形碼檢測法
- 以DNA技術作為鑒別鹿茸的互補檢測方法

建立中藥材參考DNA序列庫

- 詳情可參閱以下連結:

https://www.cmro.gov.hk/html/b5/useful_information/gcmti/research/testing_methods/index.html



- 最新消息
- 關於我們
- 規管法例
- 表格及申請須知
- 有用資料



政府中藥檢測中心
Government Chinese Medicines Testing Institute

世界衛生組織
傳統醫藥合作中心
WHO Collaborating Centre for Traditional Medicine

中成藥生產質量管理規範
網上資源
Good Manufacturing Practice for Proprietary Chinese Medicines Web Resources



安全使用中藥材



香港中藥材標準
Hong Kong Chinese Materia Medica Standards



支持器官捐贈
立即網上登記！

主頁 > 有用資料 > 政府中藥檢測中心 > 研究成果 > 測試方法

測試方法

簡介 組織架構 諮詢委員會 中藥標本館 我們的實驗室 香港中藥材標準 研究成果

測試方法

免責聲明

預防措施

方法可能涉及使用有害物質及危險物品。在處理此類物質時，使用者有責任採取適當的預防措施。使用眼睛和手部保護的裝置，並必要時在通風櫃中工作。

方法與商業產品

- 1) 採用檢測方法時，使用者有責任評估該方法對其測試對象的適用性。
- 2) 出現於方法中的任何品牌，供應商和特定產品名稱，只是反映了它們在方法開發過程中實際的使用情況。對於任何特定產品，沒有任何暗示，認可，證明和偏好去支持某一種品牌。使用者亦可選用其他品牌的同類型產品及自行評估該產品在方法上的表現和效用。
- 3) 使用者應具備足夠的實驗室知識和技術，了解該方法涉及使用的危險化學品。查看化學品安全技术說明書，評估測試中可能產生的任何潛在危險，才使用測試方法進行分析。
- 4) 本方法內的資訊，可供發布或製成非商業用途，但必須註明有關資訊是由衛生署政府中藥檢測中心提供的。除非事先得到衛生署政府中藥檢測中心的書面授權，否則嚴禁複製、改編、分發、發布或提供本方法內的資訊作商業用途。

目錄

- 外用藥油由中藥材指標成分的分析(測試方法只提供英文版本)
- 以DNA技術作為關聯確證的互補檢測方法(測試方法只提供英文版本)
- 植物類藥材DNA條形碼檢測法(測試方法只提供英文版本) ←
- 動物類藥材DNA條形碼檢測法(測試方法只提供英文版本)
- 內服中成藥中藥材指標成分的分析(測試方法只提供英文版本)

植物類藥材DNA條形碼檢測法

GCMTI RD-5: 2020

https://www.cmro.gov.hk/html/b5/useful_information/gcmti/research/testing_methods/index.html

- 簡介
- 試劑及材料
- 儀器
- 一般程序
(樣本製備、DNA 提取、PCR擴增DNA 條形碼、DNA 測序、測序後分析)
- 品質控制參數



DNA數據庫源於憑証樣本

高追溯性及真確性

現有GCMTI館藏、獨立編號、良好資料記錄

01

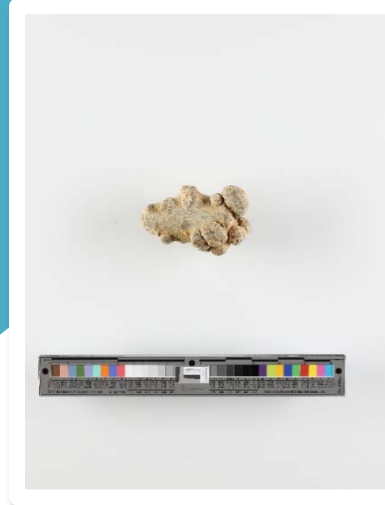
臘葉標本

- “香港中藥材標準”蒐集的葉標本
- 專家鑒別及附鑒定標籤

02

中藥材樣本

- “香港中藥材標準”蒐集的
中藥材樣本，已驗證：
- 性狀分析
- 顯微分析
- 理化分析



[鑒定報告]

藥材三七的鑒定結果

| 樣品序號 | 三七 | 樣品數量 | 2.5 kg |
|--------|-----------------------|------|-----------|
| 樣品名稱 | 三七 | 收到日期 | 2003/2/10 |
| 編號 | SQ-01 | 裝封數量 | 2.5 kg |
| 產地或採集地 | 雲南省文山及 | 裝封包裝 | 雙層膠紙 |
| 鑒定項目 | 植物標本 | 备注 | 茶葉乾者品 |
| 鑒定依據 | 《中國植物志》及《中國藥典》2000版一部 | | |

鑒定結果

經鑒定，本品為五加科植物五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的乾燥根。

| 鑒定人 | 任詠 (藥師) | 蒐樣人 | 張揚 (副主任藥師) |
|------|----------------|-------|------------|
| 鑒定日期 | 2003/2/10 | 复核日期 | 2003/2/17 |
| 鑒定部門 | 中國藥品生物制品檢驗所中藥室 | 技術負責人 | 林瑞超 (師) |



Chinese Medicine Herbarium
Government Chinese Medicines Testing Institute
Family: Araliaceae
Scientific name: *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen
Chinese name: 三七
Collection location: Weichuan Prefecture, Yunnan Province
Collection information: Wang Hong, 2003-05-10
Determination: Zhang Ji, 2003-08-01
Remark: Voucher specimen from Hong Kong Chinese Medicines Testing Institute, specimen no.: SQ-01-01b, corresponding drug ref: ZYC2003-106.

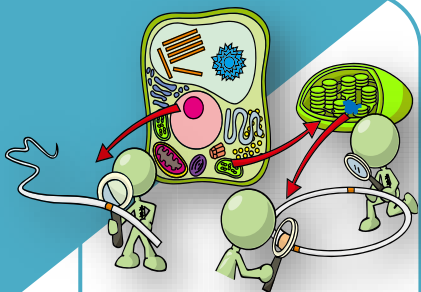


研究計劃特點

廣認授性

測試方法

多國藥典認定「DNA條形碼檢測法」是物種鑒別的直接及有效方法；
研究題材切合業界需要



含有鑒別特徵的遺傳密碼

多選擇性

供物種鑒別用的DNA區域

提供3個供物種鑒別用的
DNA條形碼的檢測方法
及DNA參考序列



高追溯性及高可靠性

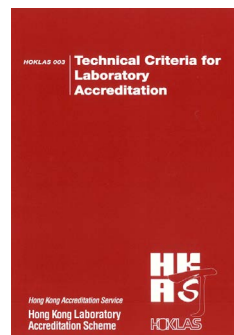
DNA數據庫源於憑証樣本

憑証樣本(臘葉標本和中藥材樣本)具良好資料記錄，提高「DNA序列庫」之遺傳可追溯性及真確性

可轉移性

測試質控

設計配合本地測試認可要求；測試方法及「DNA序列庫」供免費參考使用，讓中藥及檢測業界掌握新的知識和測試技術，從而提高檢測業界的專業水準及國際認可性以開拓新的經濟機遇；更可推動中藥檢測認證產業的發展

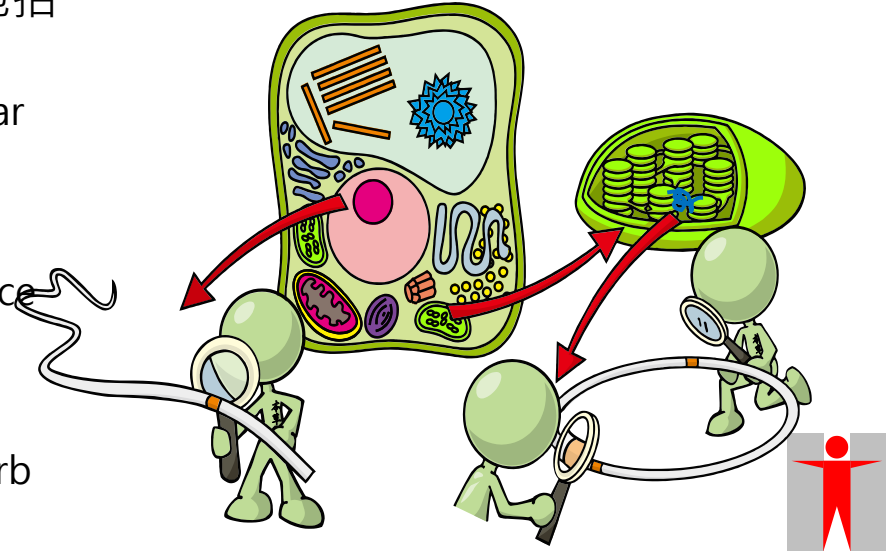


DNA條形碼分子鑒定法

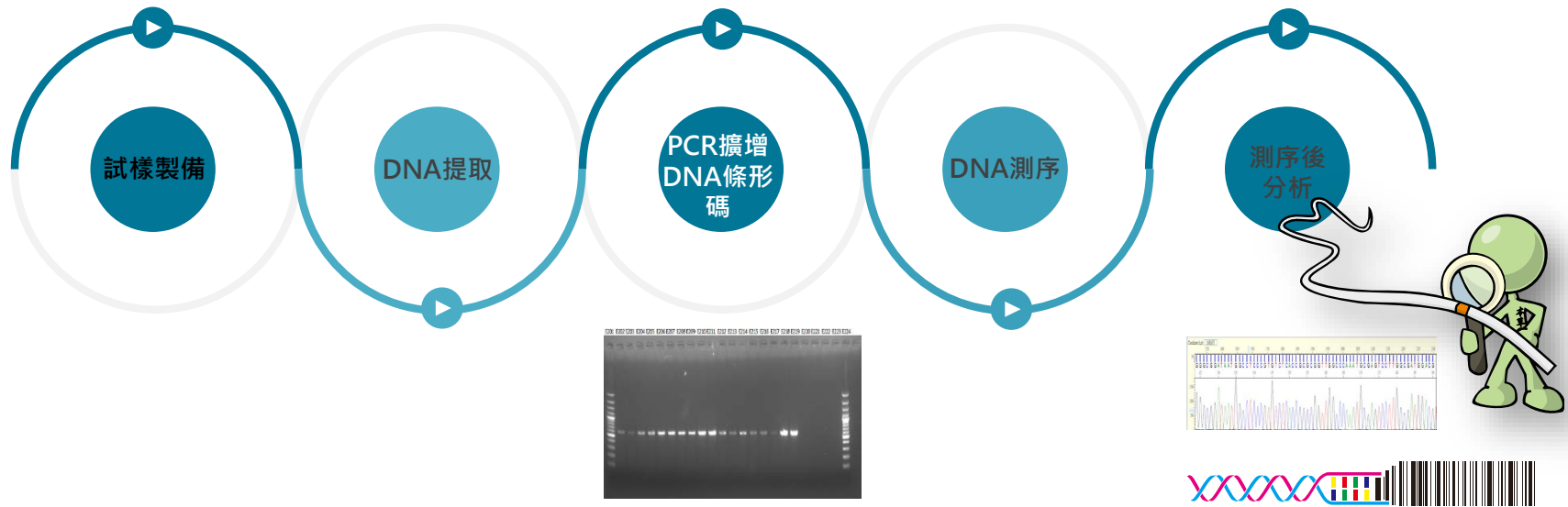
➤ DNA條形碼分子鑒定法是利用基因組中一段公認的、相對較短的DNA序列來進行物種鑒定的一種分子生物學技術

➤ 方法中提供的植物類DNA條形碼包括

- 核糖體內部轉錄間隔區2
(Internal transcribed spacer 2 of nuclear ribosomal RNA, ITS2)
- 葉綠體 $psbA-trnH$ 基因間區
(Chloroplast intergenic $psbA-trnH$ spacer (psbA-trnH))
- 葉綠體二磷酸核酮糖羧化酶大鏈
(Chloroplast ribulose biphosphate carb oxylase large chain, rbcL)



操作流程



操作流程 - 試樣製備



- ▶ 切出部分組織並放入消毒過的黃銅研鉢中，用杵研成粉末
- ▶ 或可用不銹鋼研磨器磨將組織磨碎成粉末

- ▶ 稱取原材料粉末



操作流程 - DNA提取

樣本前處理

樣本粉
抹 → 樣品裂解
液 → 恆溫
混勻 → 分離溶液
及組織

離心柱式DNA提取

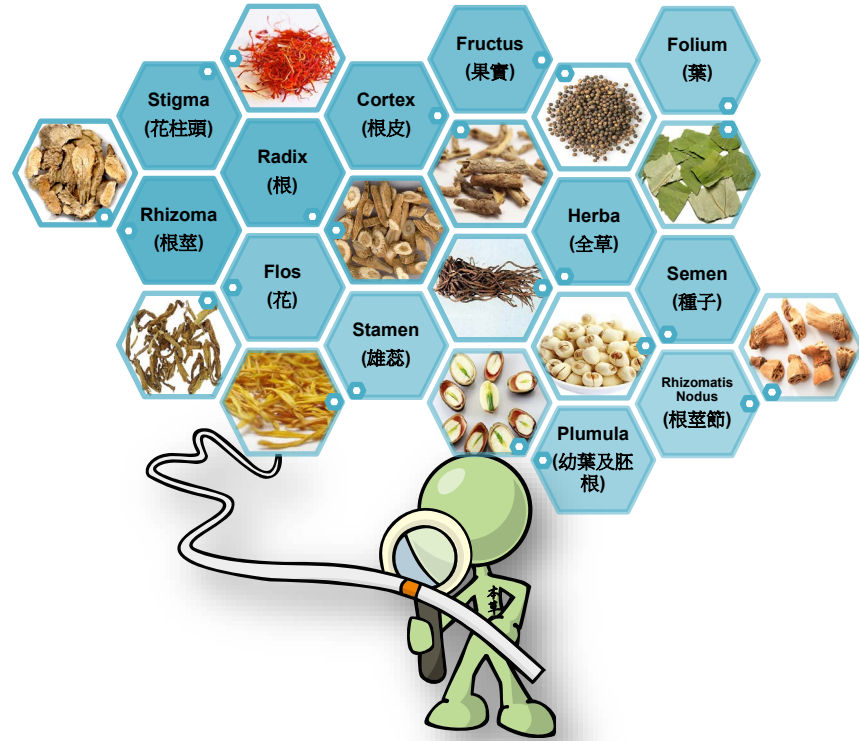
DNA
吸附 → 漂洗 → DNA
洗脫 → 純化
DNA

自動化DNA提取

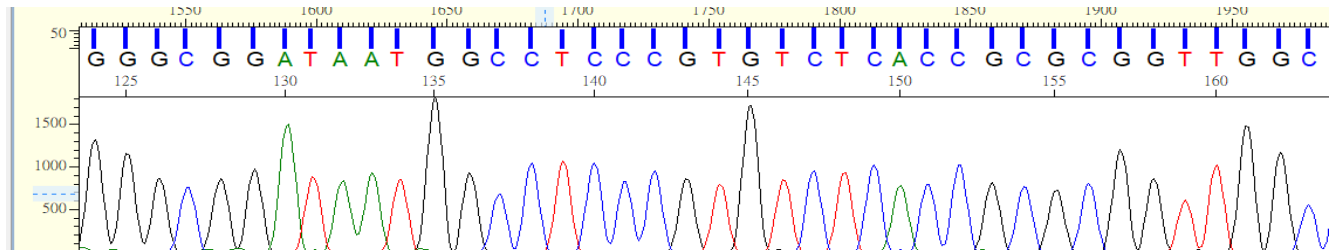
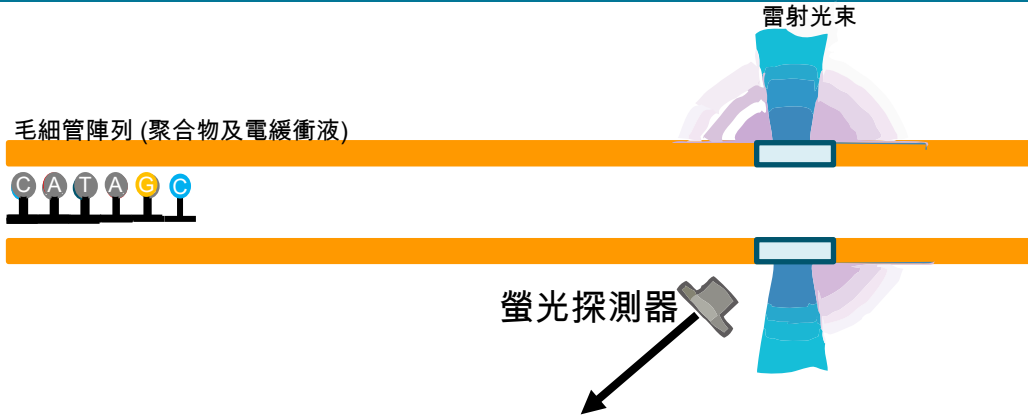
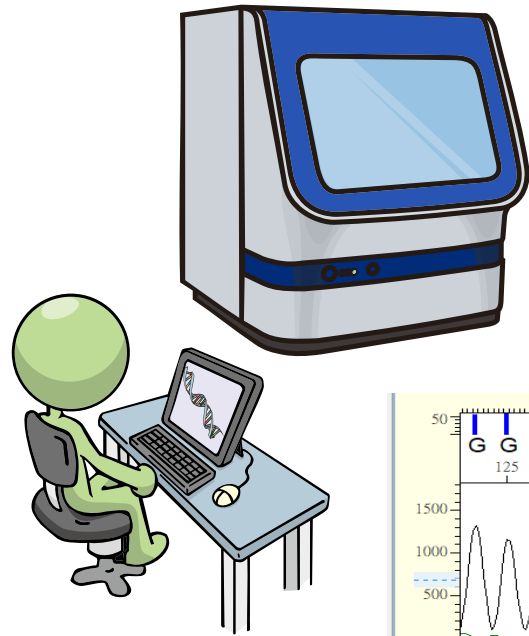
珠子
吸附 → 漂洗 → 磁力
分離 → 純化
DNA



操作流程 - PCR擴增DNA條形碼



操作流程 - 測序分析

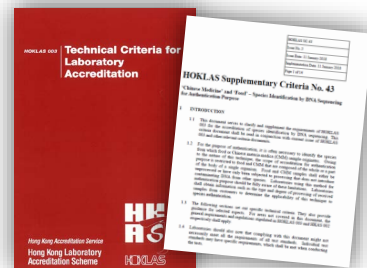


植物類藥材DNA條形碼檢測法



品質管理系統

- 每個主要步驟的檢查點
- 確保測試的可靠性



參考DNA序列 - 資料表的內容

https://www.cmro.gov.hk/html/b5/useful_information/gcmti/research/btc/DNA_sequences.html

GCMTI FS-202-1

Reference DNA Sequence
Plant Specimens

Reference Detail

| Description of reference material | Plant specimen |
|-----------------------------------|---------------------------|
| Genetic name | <i>Pinus phyllis</i> C.L. |
| Labatory number | 1001 |
| Sample date | 2004 |
| Locality | Chai, San Province, China |
| Complementary DNA | 1001 |
| Validation | Yes |

Image

Reference DNA Sequence
Plant Specimens

Reference Detail

| Description of reference material | Plant specimen |
|-----------------------------------|---------------------------|
| Genetic name | <i>Pinus phyllis</i> C.L. |
| Labatory number | 1001 |
| Sample date | 2004 |
| Locality | Chai, San Province, China |
| Complementary DNA | 1001 |
| Validation | Yes |

Image

臘葉標本

GCMTI FS-202-1

Reference DNA Sequence
Chinese Materia Medica (CMM)

Reference Detail

| Description of reference material | Latin Genus |
|-----------------------------------|---------------------------|
| Genetic name | <i>Pinus phyllis</i> |
| Labatory number | 1001-1 |
| Locality | Chai, San Province, China |
| Complementary DNA | 1001 and 1019 |
| Validation | Yes |

Image

Reference DNA Sequence
Chinese Materia Medica (CMM)

Reference Detail

| Description of reference material | Latin Genus |
|-----------------------------------|---------------------------|
| Genetic name | <i>Pinus phyllis</i> |
| Labatory number | 1001-1 |
| Locality | Chai, San Province, China |
| Complementary DNA | 1001 and 1019 |
| Validation | Yes |

Image

中藥材樣本



多謝

政府中藥檢測中心

網址：

https://www.cmro.gov.hk/html/eng/useful_information/gcmti/index.html

電郵地址：gcmti@dh.gov.hk

