

多核苷酸多态性分子标记在中药材质量控制中的应用现状与前景

官容丽, 陈 毫, 李甜甜, 何 恬, 方治伟, 冯 顺, 周俊飞, 陈利红, 李 论, 朱召禄, 肖紫兰, 宋会银*, 彭 海*

江汉大学生命科学学院, 湖北 武汉 430056

摘要: 中药材作为传统医药的核心, 其质量直接影响临床疗效与用药安全。然而, 当前市场存在的物种混淆、掺假掺杂及产地不明等问题, 严重制约了产业发展。传统鉴定方法(如性状鉴定、显微鉴定等)及早期分子标记技术在操作便捷性、准确性、特异性和稳定性等方面存在明显局限。近年来, 多核苷酸多态性(multiple nucleotide polymorphism, MNP)分子标记技术凭借其高特异性、高灵敏度、高通量和稳定性好等优势, 已展现出作为中药材全产业链质量监控突破性工具的潜力。本文系统综述了MNP分子标记技术的原理, 并重点探讨了其在中药材鉴定、掺假检测、产地溯源等方面的研究进展和应用前景。结合国家标准《植物品种鉴定—MNP标记法》(GB/T 38551-2020), 本文进一步提出了构建中药材MNP标记技术鉴定标准化体系的思考与建议, 以期提升中药材质量、推动中药现代化与国际化进程提供技术支持和参考依据。

关键词: 分子鉴定; MNP分子标记; 中药材; 质量控制; 品种鉴定

中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)18-6864-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.18.034

Current applications and prospects of multiple nucleotide polymorphism markers in the quality control of Chinese Herbal Medicines

GUAN Rongli, CHEN Hao, LI Tiantian, HE Tian, FANG Zhiwei, FENG Shun, ZHOU Junfei, CHEN Lihong, LI Lun, ZHU Zhaolu, XIAO zilan, SONG Huiyin, PENG Hai

School of Life Sciences, Jiangnan University, Wuhan 430056, China

Abstract: As the cornerstone of traditional medicine, the quality of Chinese herbal medicines (CHMs) directly impacts clinical efficacy and medication safety. However, common problems such as species misidentification, adulteration, and unclear geographical pose significant challenges to quality control and the development of the CHMs. Traditional identification methods, such as morphological and microscopic techniques, along with early molecular markers exhibit notable limitations in operational efficiency, accuracy, specificity, and stability. In recent years, Multiple Nucleotide Polymorphism (MNP) markers have emerged as a groundbreaking tool for comprehensive quality monitoring across the CHMs supply chain, which was driven by their outstanding features: high specificity, sensitivity, throughput, and stability. This review provides a systematic overview of the principles of MNP technology and its advancements in applications related to Chinese herbal medicine, such as identification, detection of adulteration, and tracing of geographical origin. Furthermore, based on the national standard "Plant Variety Identification—MNP Marker Method" (GB/T 38551-2020), this paper further proposes considerations and recommendations for establishing a standardized system for MNP marker technology identification of CHMs, aiming to provide technical support for improving the quality of CHMs, and promoting the modernization and internationalization of traditional Chinese medicine.

Key words: molecular identification; MNP markers; Chinese herbal medicines; quality control; cultivar identification

中药材作为中医药体系的核心, 承载着中华民族数千年的医学智慧。它不仅是中华传统文化的重要载体(如《黄帝内经》和《本草纲目》系统记载其性味归经与临床应用), 也是现代医疗实践的关键

收稿日期: 2025-06-25

基金项目: 湖北省教育厅科学技术研究计划青年人才项目(Q20244404, Q20234406); 江汉大学校级科研项目(2023KJZX43)

作者简介: 官容丽(1999—), 女, 硕士研究生, 从事MNP分子标记的开发与应用。E-mail: guanrongli2020414@163.com

*通信作者: 宋会银, 博士, 副研究员, 硕士生导师。E-mail: songhuiyin11@163.com

彭 海, 博士, 教授, 博士生导师。E-mail: 18971601772@163.com

键支撑。根据国家中医药管理局的数据,截至 2023 年,中医药已传播到世界 196 个国家和地区^[1]。然而,中药材质量的稳定性直接关乎其临床疗效与国际认可度。世界卫生组织(WHO)指出,全球超过 30%的市售药材存在物种不符问题^[2],严重影响了中医药的临床安全与疗效。

当前中药材市场在质量安全领域面临严峻挑战,主要表现在以下 3 个方面:首先,物种真实性危机。一方面,近缘物种(如人参和西洋参^[3])在形态和特性上具有相似性,导致物种鉴定难度加大,易产生误判。另一方面,伪品替代现象频发,不法分子常以药形相近的低价无效药物或植物碎片冒充高价药材牟利。《中国中医》在 2024 年 315 晚会中药材网购乱象调查中详细报道了相关情况,曝光了安徽亳州部分中药材电商卖家用独活冒充当归、桔梗冒充西洋参、桑枝代替黄芪等行为,甚至有药商用扁豆染色做成酸枣售卖^[4]。其次,产品掺杂掺假问题频发。部分不法商贩为牟取暴利,采用各种恶劣手段对中药材进行掺杂掺假。例如,在红参中掺糖增重,并通过染色使其外观更鲜艳^[5]。此类行为不仅欺诈消费者,还可能对糖尿病患者造成严重的健康危害^[6-7]。此外,外源污染问题也不容忽视。含淀粉、糖类较多的药材容易滋生微生物(如细菌、霉菌、酵母菌),导致药材变质,影响用药安全^[8]。已有研究在黄芪、甘草、板蓝根等常见药材中检出大肠杆菌、芽孢杆菌等微生物^[9]。Katere 等^[10]对 16 批中药材样本的检测表明,其中 15 批样品被曲霉、镰刀菌和青霉菌中至少一个真菌属污染。最后,溯源体系缺失和道地性混乱是亟待解决的问题。《中华人民共和国中医药法》第二十三条明确指出,道地中药材是指在特定地域出产,具有更优品质与疗效、质量稳定且知名度高的中药材。这些优良品质源于特定基因型在特定生境下的复杂调控,进而产生独特的产物^[11]。以“三七”为例,不同产地所产的三七在氨基酸等有效成分含量上存在显著差异,这直接影响其药用价值^[12-13]。上述质量问题不仅损害消费者生命健康,更对中药行业的整体声誉造成了巨大冲击。因此,建立覆盖全产业链的现代化、精准化质量控制体系刻不容缓。其中,大力发展高精度分子鉴定技术是破解当前中药材质量困境、保障产业健康可持续发展的关键。

1 中药材鉴定和质量控制的现状及局限性

1.1 传统鉴定方法

在中药材鉴定领域,传统“四大鉴别”方法体

系(包括基原鉴定、性状鉴定、显微鉴定和理化鉴定)由楼之岑和徐国钧院士等学者奠基^[14-15]。这些方法各具优势,但也存在明显局限:基原鉴定依赖经验且难以区分形态相似的物种;性状鉴定主观性强,易受加工和储存条件影响^[16];显微鉴定对技术要求较高且适用范围有限;理化鉴定则缺乏特异性且稳定性较差。值得注意的是,这些方法通常需要结合使用以确保中药材鉴定的准确性和可靠性^[17]。然而,由于缺乏统一标准,传统方法难以满足现代中药标准化和精准鉴定的需求。作为传统方法的重要补充,分子鉴定技术凭借其高精度和客观性优势,在近缘物种区分和疑难样本鉴定中展现出显著价值。

1.2 分子标记技术鉴定

1.2.1 限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)分子标记技术 RFLP 是一种基于限制性内切酶切割 DNA 片段的技术。该技术通过电泳和 Southern 印迹检测片段长度的多态性来反映基因型差异,由遗传学家 Botstein^[18-19]于 1980 年首次提出。在中药材鉴定领域,RFLP 技术得到了广泛应用。例如,张文娟等^[20]利用 PCR-RFLP 技术对川贝母进行掺伪分析;晁志等^[21]则应用该技术鉴别金钱白花蛇及其伪品。然而,RFLP 技术存在诸多局限性:首先,其操作过程繁琐、周期长且成本较高,同时对 DNA 样本的纯度和用量要求严格;其次,该技术的多态信息含量较低,灵敏度和分辨率有限,难以检测低拷贝数 DNA 片段和低丰度基因变异;最后,RFLP 技术难以实现自动化和高通量分析,信息分析过程复杂,需要专业人员解读。这些缺点在很大程度上限制了 RFLP 技术在中药材鉴定领域的广泛应用。

1.2.2 随机扩增多态性 DNA(randomly amplified polymorphic DNA, RAPD)分子标记技术 RAPD 是一种利用随机引物扩增未知基因组序列,并通过产物多态性进行鉴定的分子标记技术^[22-23]。黄璐琦等^[24-25]率先将 RAPD 技术应用于细辛和天花粉等药材的鉴定。此后,该技术被广泛应用于多种道地药材的遗传变异分析与鉴定研究,包括金银花^[26]、姜黄属药材^[27]、山药^[28]、射干类中药^[29]、金线莲^[30]以及新疆产麻黄^[31]等。然而,由于药材中的 DNA 模板存在不同程度的降解,RAPD 技术的检测结果稳定性显著降低,特别是在需要高分辨率以区分近缘物种或品种时,其准确性和可靠性可能受到较大影响,难

以满足精准鉴定的需求。

1.2.3 简单序列重复 (simple sequence repeat, SSR) 分子标记技术 SSR 又称微卫星 DNA, 是一种基于特异性 PCR 的分子标记技术。其核心序列由 1~6 个核苷酸为重复单元串联组成, 两侧多为保守的单拷贝序列^[32], 该技术可用于群体遗传学和亲缘关系分析^[33]。如张利等^[34]开发了“川芎 2 号”的特异性 SSR 标记, 有效区分了“川芎 1 号”、浙江白芍和安徽白芍等其他品种。严卓彦等^[35]利用 SSR 标记解析了风藤和山药遗传差异, 为海风藤的种质资源鉴定提供了依据。然而, SSR 分子标记序列长度较短, 在 PCR 扩增环节较易出现滑脱变异现象。这会导致 SSR 位点的长度发生偏差, 并在电泳过程中呈现出非特异性的影子带或阶梯状条带。由于该技术主要依据电泳检测的条带对 SSR 标记进行分型, 而非直接针对基因序列本身, 因此其在分型准确性方面存在一定局限性。

1.2.4 DNA 条形码技术 DNA 条形码是一种基于短序列片段进行物种鉴定的分子技术^[36]。该技术由 Hebert 等^[37-38]于 2003 年首次系统提出, 并成功应用于动物物种鉴定。针对药用植物的特点, 陈士林等^[39]建立了以 ITS2 (核糖体内转录间隔区 2) 为核心条形码、psbA-trnH (叶绿体基因间隔区) 为辅助标记的植物类药材 DNA 条形码鉴定体系。在此基础上, 孙一帆等^[40]利用 ITS1 和 ITS2 序列对巴戟天及其常见混伪品进行了鉴定。目前, 中药材 DNA 分子标记鉴定的标准尚未统一, 不同研究机构可能采用不同的标记体系和鉴定方法, 导致难以进行比较和验证。此外, 对于杂交种、多倍体等复杂基因型药材, 现有 DNA 条形码技术的分辨能力有限, 准确性不高, 难以满足所有物种的精准鉴定需求。

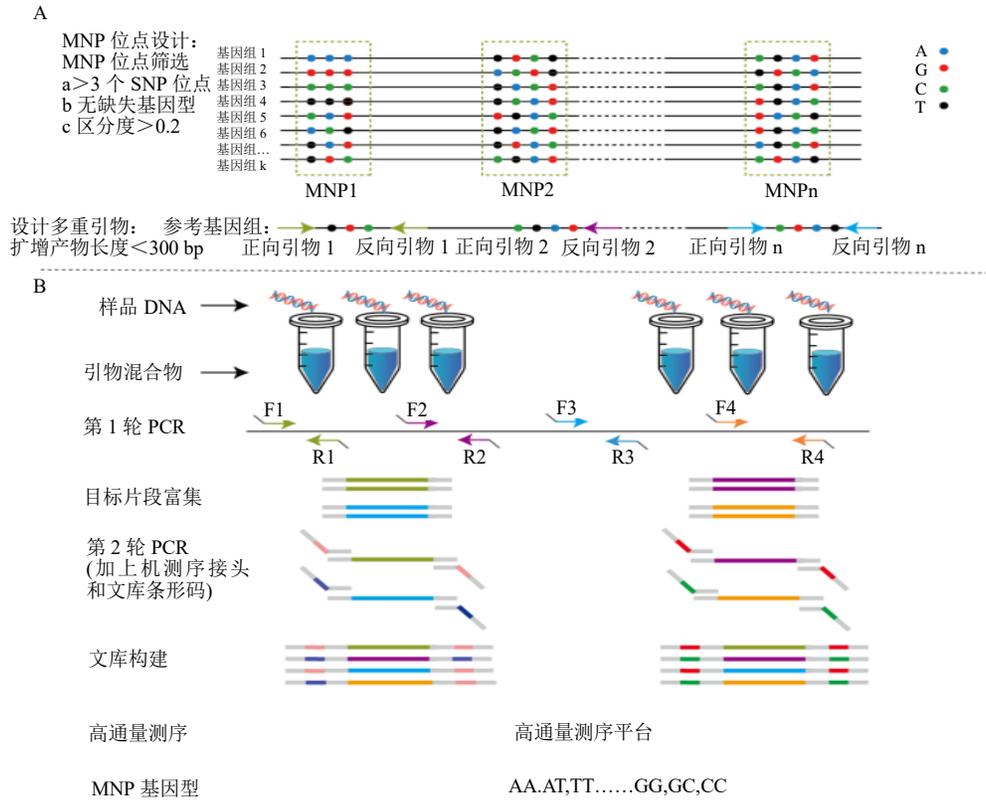
1.2.5 单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 分子标记技术 SNP 是指基因组中由单个碱基变异 (包括转换和颠换) 引起的 DNA 序列多态性, 广泛分布于编码区和非编码区^[41]。近年来, SNP 在中药材的遗传鉴定和品质控制等领域得到了广泛应用。如 Wu 等^[42]通过分析人参皂苷生物合成功能基因中的 SNP 位点, 成功应用于人参和西洋参的遗传鉴定和原料来源追溯; 王戌梅等^[43]开发了与大黄道地产区相关的 SNP 分子标记, 可准确区分道地产区和非道地品种; 魏建和等^[44]开发了用于药用沉香物种鉴定的特异性 SNP 标记, 适用于沉香植物、原材及中成药的物种鉴定; 李西文等^[45]通过分

析贝母属植物的 ITS (核糖体 DNA 内转录间隔区) 和 matK (叶绿体基因) 序列, 筛选出 5 个能有效区分川贝母及其常见掺伪种的特异性 SNP 位点。然而, SNP 信息量有限, 1 个 SNP 位点只有 2 种等位基因状态, 所能提供的遗传信息量较少。在进行复杂性状的基因定位时, 可能需要大量的 SNP 标记才能覆盖整个基因组, 从而增加了实验的复杂性和成本。

2 MNP 分子标记

2.1 MNP 的技术原理与核心特点

多核苷酸多态性 (multiple nucleotide polymorphism, MNP) 分子标记是指在一段 DNA 序列中, 由多个分散的单核苷酸变异位点构成的复合多态性标记, 其开发流程见图 1 (参考 Fang 等^[46]绘制)。该技术通过多重 PCR 扩增, 可在单管反应中同步检测数百至数千个标记位点, 结合高通量测序和生物信息学分析, 实现对基因型变异的高通量、高精度解析^[47]。相较于传统分子标记, MNP 标记技术具有以下优势: (1) 高准确性和特异性: MNP 标记法通过结合多个 SNP 位点的等位基因型, 用于区分不同的个体 DNA, 提高了鉴定的准确性和特异性。相对于传统 DNA 标记技术, MNP 标记技术的技术误差大幅度降低, 准确率往往超过 99.98%, 可同时进行多物种混检, 大幅提升检测效率。(2) 操作的便捷性: 构建完成具体物种的 MNP 标记位点数据库后, 后续检测仅需一次 DNA 提取、一次多重 PCR 扩增和一次测序, 即可完成鉴定, 流程高度标准化。(3) 高重现性和准确性: MNP 位点会通过二代测序重复检测上千次, 其检测结果的重现性得到显著提升, 避免了单次检测可能出现的偶然误差。(4) 高灵敏度检测。①检测低丰度目标: MNP 标记法能够检测极低浓度的目标分子。例如, 在病毒检测中, 该方法可检测到微量的病毒 DNA, 从而提高检测的准确性。在检测金黄色葡萄球菌时, 试剂盒能在 10 拷贝/反应的样本中稳定检出 8 个以上 MNP 位点, 灵敏度低至 10 拷贝/反应^[48]。②多重检测优势: 利用多重 PCR 可一次检测多个靶标, 有效规避了单个靶标扩增失败导致的高假阴性和低灵敏度问题。(5) 鉴定的稳定性。①实验条件适应性强: MNP 标记法在不同的实验条件下能够保持性能稳定。②结果可重复性高: MNP 标记法具有良好的重现性, 不同实验条件下获得的结果可直接、准确地比对。如在金针菇



A-MNP 位点设计; B-MNP 高通量测序。

A-MNPs design; B-MNP-Seq.

图 1 MNP 分子标记的原理

Fig. 1 Principles of MNP markers

菌株鉴别中，MNP 标记技术的鉴别结果与其他方法（如拮抗实验和 ISSR 分子标记）相比，展现出更高的稳定性和可靠性^[49]。③抗干扰能力强：MNP 标记法通过特异性跟踪目标 DNA 序列，避免了其他生物的干扰，从而提高了检测的稳定性和准确性。（6）数据可共享性优势显著。MNP 标记技术通过获取标准化基因型数据，具备以下突出特点：①跨平台兼容性：基于明确的

基因组坐标和标准化的数据格式，确保不同实验室、不同检测平台获得的数据具有可比性；②数据库共建共享：支持多中心协同构建 DNA 指纹数据库，实现数据的动态更新与全球共享。这种标准化的分子标记体系，成功解决了传统鉴定方法数据难以共享的技术瓶颈，显著提升了生物资源管理的科学性和效率。MNP 分子标记与其他分子标记的比较见表 1。

表 1 MNP 分子标记与其他分子标记的比较

Table 1 Comparison of MNP markers with other molecular markers

技术	精准性	灵敏度	稳定性	数据共享性	是否同时检测多个物种	文献
RFLP	一般	一般	一般	差	否	50-51
RAPD	一般	一般	较差	差	否	50,52
SSR	高	一般	一般	差	否	50,53
DNA Barcoding	一般	一般	高	高	是	54
SNP	高	高	高	较好	否	55-56
MNP	极高	极高	极高	极好	是	46-47

2.2 MNP 标记目前的应用情况

MNP 标记目前已广泛应用于微生物鉴定、植物品种鉴定和病毒检测等领域。

2.2.1 微生物鉴定

基于 MNP 标记技术，Li 等^[57]开发了微生物遗传变异测序技术（MGV-Seq）及其配套的生物信息学分析工具，并设计了基于 MGV-

Seq 的微生物鉴定程序,为 MNP 基因分型开发了定制化的计算和统计算法。MGV-Seq 方法具有高重现性、高准确性、高灵敏性和高特异性等特点。江永忠等^[58-59]分别开发了针对病原菌-荚膜组织胞浆菌和新型隐球菌的 MNP 检测体系,实现了高特异性和高灵敏度(低至 10 拷贝/反应)的检测效果,为防疫监测、科研以及变异监测工作提供了高效的技术支持,为相关防控及研究提供了参考依据;高利芬等^[60]开发了用于鉴定区分多种真菌的 MNP 标记体系,聚焦于白色念珠菌、热带念珠菌、近平滑念珠菌和光滑念珠菌等常见念珠菌,实现了在一次检测中对多种真菌的多个标记进行高效、准确和灵敏的检测,从而实现了对多种真菌的准确鉴定、区分和变异检测。

2.2.2 植物品种鉴定 目前,MNP 标记已成为我国国家植物身份鉴定基因分型的技术标准。现行的《植物品种鉴定—MNP 标记法》^[61]详细阐述了植物品种鉴定中 MNP 标记法的原理、试剂与材料、仪器设备、测定步骤以及结果分析等内容。该标准适用于水稻、玉米、大豆、棉花、花生、谷子、西瓜、黄瓜、甜瓜、艾草、番茄、辣椒、白菜、龙眼、荔枝、猕猴桃等多种植物的原始品种鉴定、实质性派生品种鉴定以及品种真实性鉴定。艾莎等^[62]利用 MNP 标记技术开发 940 个标记,精准分型棉花品种,并构建了 98 份棉花品种 DNA 指纹图谱,为品种鉴定、品种权保护及种质创新等多方面提供了有力的技术支持。万人静等^[63]筛选出 623 个木薯 MNP 标记位点,这些标记具有较高的重现性、多态性和品种区分能力,可广泛用于木薯的种质资源多样性、新品种培育及品种鉴定等研究。刘飞等^[64]研究表明,MNP 标记技术能精准区分食用菌的不同品种,具备高重复性与精确性,可为食用菌种质资源保护、育种改良及质量控制提供有力支持与解决方案。

2.2.3 病毒检测 现行的国家标准《细胞中 DNA 病毒测定—MNP 标记法》^[65]详细规定了利用 MNP 标记法同时测定样品中 9 种 DNA 病毒的相关内容。此外,马鑫等^[66]开发了一种用于鉴定新疆常见人呼吸道病原体及其耐药基因的 MNP 标记位点,能够同时检测 15 种病原体(包括病毒、细菌、真菌及特殊病原体)和 5 个耐药基因。高利芬等^[67]开发了一种用于鉴定多种人呼吸道病原体的 MNP 标记位点,可同时检测 13 种人呼吸道病原体。此外,彭海等^[68]

还开发了一种用于鉴定多种猪病原体的 MNP 标记位点,能够同时检测 18 种猪病原体。

3 MNP 在中药材质量控制中的应用与前景

3.1 物种和品种鉴定

MNP 分子标记已应用于菊花、桂花、香菇、芦竹、枸杞等的物种或品种鉴定中。

菊花及其活性成分(如木犀草素、薯蓣皂苷等)对眼部健康具有显著改善作用^[69-70]。然而,由于菊花种质资源丰富^[71],且具有高度杂合和多倍体特性,传统分子标记(如 SSR、SNP 芯片)难以准确鉴定品种,导致市场出现“同名异种”和“同种异名”的乱象。Liu 等^[72]针对菊花杂合性高、倍性复杂的特点,开发了 487 个 MNP 标记,这些标记在 136 个菊花品种中表现出高区分能力(平均判别力 DP=82.77%),聚类结果与 26 147 个 SNP 标记高度一致,为菊花品种精准鉴定提供了高效工具。

白薇、白前、老瓜头与徐长卿均为萝藦科鹅绒藤属植物,四者在形态学特征上高度相似。然而,其化学成分与药理活性存在显著差异,其中老瓜头因含有神经毒性成分而尤为突出。鉴于药材流通环节中四者极易发生混淆,不仅影响临床用药的准确性及疗效,更因老瓜头的神经毒性潜质,存在导致严重用药安全风险的可能。汪冰等^[73]基于 MNP 标记技术,建立了白薇、白前、老瓜头及徐长卿的分子鉴定方法。该方法包含 150 个 MNP 标记,之后采用白薇、白前、老瓜头及徐长卿样品进行验证。实验结果显示,待测样本平均检出 143.7 个 MNP 标记(检出率 95.8%),标记位点分型准确率达 99.57%,四者平均遗传差异为 117.9 个标记位点(差异比例 88%),表明该方法具有较高的鉴别能力和可靠性,可显著提升中药材鉴定的准确性和效率。

香菇品种数量多、管理难度大,且存在品种名称混乱、种质来源不明等问题,导致侵权频发、育种人权益受损,制约产业发展。研究表明,我国香菇栽培种质遗传多样性较低,主要源于少数优良品系的衍生,遗传基础狭窄加剧了品种鉴别困难。针对此问题,Ling 等^[74]筛选出 187 个检测率 100%的核心 MNP 标记位点,基于 240 个菌株的核心位点序列构建系统发育图谱,通过遗传相似度分析实现品种和谱系的精准鉴别。

茯苓作为我国重要的药食同源真菌,在中医药、功能食品及化妆品等多个领域具有广泛应用。虽然目前国内已实现茯苓的规模化栽培,但种质混

杂问题仍然制约着产业高质量发展。针对这一现状,王淼等^[75]搜集我国国内栽培、野生菌株和日本的茯苓菌株,成功构建茯苓 MNP 分子标记库,包含 654 个高特异性位点,菌株间遗传相似性为 9.6%~100%,且基因组重测序分析证实,经继代培养和原生质体再生的菌株在短期无性繁殖过程中保持 MNP 基因型稳定性,为茯苓的品种权保护、菌株鉴别、溯源及遗传多样性研究提供了可靠的技术支撑,并为茯苓杂交育种亲本的选择及种质创新奠定了基础。此外,本课题组目前正基于 MNP 标记技术开展多花黄精、半夏等中药材的品种鉴定体系研究。

鹿茸是我国传统名贵动物类中药材,其中梅花鹿鹿茸的营养价值显著高于马鹿和杂交鹿鹿茸。由于梅花鹿鹿茸价格昂贵,市场上常出现以马鹿或杂交鹿鹿茸冒充的现象,严重影响行业规范和消费者权益。为准确鉴别鹿茸来源,张英等^[76]开发了一套包含 200 个 MNP 标记位点的鉴定体系。该体系性能优异,具体表现在:(1)高检出率与准确性:对梅花鹿与马鹿 DNA 样本进行检测,194 个 MNP 标记位点的检出率超过 97%。样品重复检测中,3140 个 MNP 位点分型结果完全一致(重现性与准确性均达 100%)。(2)强效种属区分能力:种间比较(梅花鹿 vs 马鹿)显示,94.33%的 MNP 位点存在差异;而种内比较(梅花鹿个体间)的差异位点比例仅为 10.25%。(3)高多态性优势:MNP 标记单个位点包含 2ⁿ种基因型,其等位基因丰富度高于 SSR 和 SNP 标记。这使得该体系不仅能有效在种属水平区分梅花鹿、马鹿及杂交鹿,还能实现个体鉴定。结果表明,这 200 个 MNP 标记位点具有高检出率、高分型准确性和强效种属区分能力。该技术为规范鹿茸产业和深入开展鹿种遗传研究提供了可靠的技术支撑^[76]。

MNP 分子标记技术通过高分辨率的遗传鉴定能力,有效解决了菊花、香菇、鹿茸等药用动植物及茯苓等真菌因种质混杂、品种名称混乱或近缘物种形态相似导致的产业规范化和品种权益保护问题,为中药材市场的质量控制和遗传研究提供了统一、可靠的技术支撑。

3.2 掺杂掺假检测

随着中药材产业的快速发展,部分资源短缺导致市场上掺假现象发生。面对掺假手段日益复杂化、隐蔽化的严峻挑战,传统鉴别方法已难以满足

精准检测需求,亟需引入高通量、高灵敏度的分子鉴定技术以保障中药材质量与安全。尽管目前尚无 MNP 标记直接应用于中药材掺假检测的研究报道,但该技术在肉制品等领域的成功应用为其在中药质量控制中的推广提供了重要参考。例如,Yi 等^[77]基于高通量测序及基因组比较分析,筛选物种特异性片段区域,开发了针对 10 种动物(牛、羊、马、驴、鸡、鸭、鹅、鸽子、鹌鹑)的特异性 MNP 标记位点,建立了一种基于多位点检测的肉制品动物源性成分鉴定方法。该方法具有以下特点:位点特异性:各物种拥有不同数量的特异性 MNP 位点(如牛和鸭各 5 个,羊 3 个,鸡和马各 9 个,鹅和鸽子各 10 个,鹌鹑 6 个,驴和羊 1 个)。优异性能:通过掺假模型验证,该方法显示出良好的重复性(准确率 100%)和高灵敏度(对鸡、鸭、马的检测限达 0.1%)。实际应用效果:市售样品检测发现 14 个样品中有 4 个存在标签不符情况(2 个未检出目标成分,2 个存在掺假),有效解决了复杂加工肉制品的掺假鉴定难题。未来,进一步拓展 MNP 技术的检测范围(如覆盖更多中药材及其混伪品),优化其在复杂基质(如中药复方制剂)中的应用效能,并推动该技术在行业监管中的标准化实施,将有助于有效遏制中药材掺假乱象,保障中药产业健康发展和临床用药安全。

3.3 产地溯源及道地药材鉴别

药材的产地溯源是保障中药质量与安全的核心环节,其必要性主要体现在以下几个方面:首先,特定产地的生态因子(如土壤、气候)直接决定药材的道地性与有效成分含量。如吉林与辽宁人参的皂苷含量相近,且显著高于黑龙江人参^[78]。其次,溯源体系能够保护濒危资源(如冬虫夏草)免遭掠夺性开发。以蕲艾为例,其产地蕲春被誉为“中国艾都”,蕲艾是国家地理标志保护产品。然而,当前蕲艾产业面临品种混乱和产品造假两大问题:本地艾草品种繁多且缺乏统一质量标准,部分企业从外地购入普通艾草冒充蕲艾,导致市场产品良莠不齐,严重影响了品牌信誉和产业发展。传统形态学鉴定方法在实际应用中因艾绒形态特征难以辨识而失效,成为制约产业发展的技术瓶颈。为解决这一问题,张英等^[79]基于 317 个 MNP 标记实现蕲春产区(清水河、红门楼等)精准区分,地域遗传差异最高达 89.9%,为遏制“外地艾冒充道地药材”提供分子依据,对实现艾草来源的源头控制、推进

产业品牌化与标准化、促进蕲艾产业的良性发展具有积极影响。在道地药材品牌保护方面，可以筛查道地药材 MNP 基因标识，作为商业秘密存在于区块链，精准识别道地药材。

3.4 中药炮制后鉴定

中药材经高温炮制(如砂炒、酒蒸)后，其 DNA 因细胞结构破坏而发生降解，导致分子标记鉴定困难；同时化学成分发生转化或损失，影响质量评价标准，成为制约产业标准化发展的关键技术瓶颈。MNP 是长度小于 300 bp 的基因组片段内的一组多个分散的 SNP，基于 MNP 标记的多靶标(每个品种检测多个位点)和短序列设计优势，可有效规避长片段扩增失败问题；通过优化多重 PCR 体系和高通量测序，即使在 DNA 片段化严重的情况下，仍能实现高灵敏度和稳定重复性，有望实现对炮制药材的精准鉴定。

3.5 监管中药材产业链

未来，MNP 标记技术将在中药材全产业链质量管控体系中发挥核心作用，构建从种植到流通的全程质量追溯体系。在种植环节，该技术通过建立标准化的种质资源库，精准鉴定道地药材品种并区分近缘种，同时可实现对植株病原微生物的实时监测，为优质药材生产提供源头保障。在加工环节，依托 MNP 技术严格检测原料真伪，确保投料纯正。在流通环节，构建的 MNP 基因身份证系统为每批产品赋予唯一分子标识，既方便消费者扫码获取全程溯源信息，又助力监管部门快速鉴别产品真伪。这一技术体系的推广应用，将显著提升中药材产业的标准化水平和质量管控能力，为中医药现代化发展和国际化进程提供强有力的技术支撑。

4 结语与展望

MNP 标记技术作为中药材鉴定的重要工具，凭借其高准确性、高灵敏度和稳定性，在物种鉴定、掺假检测和有效成分关联分析等方面展现出显著优势。该技术为保障药材质量、规范市场秩序和推动中药现代化提供了关键技术支撑。目前，MNP 技术已成功应用于菊花、蕲艾等药材的品种区分和真伪鉴别，有效解决了中药材行业长期存在的品种混杂和以次充好问题。然而，该技术在中药材质量控制领域的开发程度尚浅。未来，MNP 技术有望通过进一步优化检测方案、建立统一标准体系和拓展全产业链应用(从种植环境监测到终端产品溯源)，全面提升中药材质量

管控水平

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 中医药在全世界璀璨绽放 [EB/OL]. (2025-05-16) [2025-06-18]. <https://www.nhc.gov.cn/xcs/c100122/202505/5d45dd056f5148afb611b1c0655e3575.shtm>.
- [2] Ichim M C. The DNA-based authentication of commercial herbal products reveals their globally widespread adulteration [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1227.
- [3] 王鹏. 西洋参与其混淆品人参的比较鉴别 [J]. *中国药业*, 2015, 24(6): 90-91.
- [4] 中国中医. 315特别报道·中药材网购乱象调查 [EB/OL]. (2024-03-15) [2025-06-18]. http://tcm.china.com.cn/2024-03/15/content_42725726.html.
- [5] 郑熙, 王莎莎. 红参中总还原糖含量测定及限度值拟定 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2018, 18(61): 94.
- [6] 陈佳, 刘永利, 崔志海, 等. 红参中总还原糖含量测定及限度值拟定 [J]. *中药材*, 2016, 39(10): 2426-2429.
- [7] 张浩, 许世泉, 张瑞, 等. 红参中外源糖含量的测定 [J]. *特产研究*, 2011, 33(4): 56-59.
- [8] 任晓航, 杜锐, 张旭, 等. 中药外源性污染物检测技术的现代研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(10): 2480-2490.
- [9] 孙莺, 王玉梅, 何晓英, 等. 甘肃省道地药材黄芪、甘草、板蓝根中药饮片的微生物污染状况研究 [J]. *卫生职业教育*, 2020, 38(22): 119-122.
- [10] Katere D R, Stockenström S, Thembo K M, *et al.* A preliminary survey of mycological and fumonisin and aflatoxin contamination of African traditional herbal medicines sold in South Africa [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2008, 27(11): 793-798.
- [11] 黄璐琦, 郭兰萍, 胡娟, 等. 道地药材形成的分子机制及其遗传基础 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(20): 2303-2308.
- [12] 陈中坚, 孙玉琴, 董婷霞, 等. 不同产地三七的氨基酸含量比较 [J]. *中药材*, 2003, 26(2): 86-88.
- [13] 郭玺, 刘盼茹, 唐乙朝, 等. 三七皂苷成分及临床药理作用研究进展 [J]. *南京中医药大学学报*, 2024, 40(9): 985-992.
- [14] 刘萌萌, 李峰. 显微鉴定新技术在中药材鉴定中的应用进展 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2011, 13(12): 50-52.
- [15] 蔡少青, 王璇. 常用中药材品种整理和质量研究. 北方编第六册 [M]. 北京: 北京医科大学出版社, 2001: 1-23.
- [16] 沈昌明, 王琳. 传统中药鉴定方法的应用 [J]. *医药论坛杂志*, 2010, 31(20): 205-207.
- [17] 刘杰, 房文亮, 谷海媛, 等. 中药鉴定方法及其发展概

- 况 [J]. 中国药事, 2023, 37(11): 1332-1340.
- [18] Botstein D, White R L, Skolnick M, *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *Am J Hum Genet*, 1980, 32(3): 314-331.
- [19] Wyman A R, White R. A highly polymorphic locus in human DNA [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980, 77(11): 6754-6758.
- [20] 张文娟, 刘薇, 魏锋, 等. 聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性法用于检定川贝母掺伪情况的研究 [J]. 药物分析杂志, 2014, 34(10): 1830-1835.
- [21] 晁志, 李晓蕾, 曾伟萍. 基于 DNA 条形码的鉴别金钱白花蛇的引物及 PCR-RFLP 方法和试剂盒: CN104164492A [P]. 2014-11-26.
- [22] Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers [J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18(24): 7213-7218.
- [23] Williams J G, Kubelik A R, Livak K J, *et al.* DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers [J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18(22): 6531-6535.
- [24] 黄璐琦, 王敏, 周长征, 等. RAPD 方法在细辛类药材鉴别研究中的问题及其对策 [J]. 药学报, 1998, 33(10): 59-65.
- [25] 黄璐琦, 王敏, 杨滨, 等. 用随机扩增多态 DNA(RAPD)技术鉴别中药材天花粉及其类似品 [J]. 药物分析杂志, 1999, 19(4): 17-22.
- [26] 于燕莉, 向凤宁, 夏光敏, 等. DNA 序列分析在金银花品种鉴定中的应用 [J]. 山东科学, 2000, 13(4): 39-40.
- [27] 肖小河, 刘峰群, 史成和, 等. 国产姜黄属药用植物 RAPD 分析与分类鉴定 [J]. 中草药, 2000, 31(3): 51-54.
- [28] Lay H L, Liu H J, Liao M H, *et al.* Genetic identification of Chinese drug materials in yams (*Dioscorea* spp.) by RAPD analysis [J]. *J Food Drug Anal*, 2001, 9(3): 132-138.
- [29] 黄芸, 秦民坚, 杨光, 等. RAPD 法鉴定射干类中药 [J]. 中草药, 2002, 33(10): 73-74.
- [30] 胡珊梅, 张启国, 周涵韬, 等. RAPD 法在金钱莲的鉴别研究中的应用 [J]. 中草药, 2002, 33(10): 87-88.
- [31] 党荣理, 马永红, 吴霞, 等. 新疆产麻黄的 RAPD 分析 [J]. 中草药, 2003, 34(9): 96-98.
- [32] Hamada H, Kakunaga T. Potential Z-DNA forming sequences are highly dispersed in the human genome [J]. *Nature*, 1982, 298(5872): 396-398.
- [33] 黄龙花, 吴清平, 杨小兵, 等. 基于特定引物 PCR 的 DNA 分子标记技术研究进展 [J]. 生物技术通报, 2011, 27(2): 61-65.
- [34] 张利, 杨利霞, 廖进秋, 等. 一种川芍 2 号 SSR 分子标记及其引物和应用: CN115820900A [P]. 2023-03-21.
- [35] 严卓彦, 夏瑛瑛, 崔洁, 等. 基于 DNA 条形码及 SSR 技术鉴定风藤和山药 [J]. 现代中药研究与实践, 2023, 37(2): 23-27.
- [36] 郭慧, 王谦博, 贾力维, 等. 中药材 DNA 条形码技术研究进展 [J]. 中国药师, 2016, 19(3): 566-570.
- [37] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L, *et al.* Biological identifications through DNA barcodes [J]. *Proc Biol Sci*, 2003, 270(1512): 313-321.
- [38] Hebert P D N, Ratnasingham S, DeWaard J R. Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species [J]. *Proc Biol Sci*, 2003, 270(Suppl 1): S96-S99.
- [39] 陈士林, 姚辉, 韩建萍, 等. 中药材 DNA 条形码分子鉴定指导原则 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 141-148.
- [40] 孙一帆, 白华, 张娣, 等. 基于 DNA 条形码 ITS1、ITS2 及其二级结构对药材巴戟天及易混伪品进行鉴定 [J]. 商丘师范学院学报, 2024, 40(9): 42-48.
- [41] 邹喻苹, 葛颂. 新一代分子标记: SNPs 及其应用 [J]. 生物多样性, 2003, 11(5): 370-382.
- [42] Wu W R, Cheng C S, Cheng Q Q, *et al.* Novel SNP markers on ginsenosides biosynthesis functional gene for authentication of ginseng herbs and commercial products [J]. *Chin J Nat Med*, 2020, 18(10): 770-778.
- [43] 王戌梅, 杨黎, 李文丽, 等. 一种基于 ALS 基因鉴定道地大黄的分子标记及其获得方法和应用: CN118957133A [P]. 2024-11-15.
- [44] 魏建和, 冯剑, 刘洋洋, 等. 一种用于药用沉香物种鉴定的特异性 SNP 分子标记物、检测方法及其应用: CN118441093A [P]. 2024-08-06.
- [45] 李西文, 冯雪, 刘姿怡. 用于鉴别川贝母药材及其常见掺伪种的 SNP 分子标记及其应用: CN118421825A [P]. 2024-08-02.
- [46] Fang Z W, Li L, Zhou J F, *et al.* Multiple nucleotide polymorphism DNA markers for the accurate evaluation of genetic variations [J]. *bioRxiv*, 2021, doi: 10.1101/2021.03.09.434561.
- [47] 徐云碧, 杨泉女, 郑洪建, 等. 靶向测序基因型检测 (GBTS) 技术及其应用 [J]. 中国农业科学, 2020, 53(15): 2983-3004.
- [48] 万人静, 高利芬, 彭海, 等. 一种金黄色葡萄球菌的 MNP 标记位点、引物组合物、试剂盒及其应用: 中国, CN114790488A [P]. 2022-07-26.
- [49] 吕志文, 杨环, 魏传正, 等. 金针菇 MNP 分子标记菌株鉴别技术建立 [J]. 菌物学报, 2024, 43(1): 22-38.
- [50] 邢啸林, 汪精磊, 胡天华, 等. DNA 指纹图谱技术发展及其在十字花科蔬菜育种中的应用 [J]. 中国蔬菜,

- 2024(5): 23-32.
- [51] 姚红伟, 张立冬, 孙金阳, 等. DNA 分子标记技术概述 [J]. 河北渔业, 2010(7): 42-46.
- [52] 秦延春, 吴伟尧. 分子标记辅助育种在水稻育种中的应用 [J]. 园艺与种苗, 2012, 32(10): 55-57.
- [53] Kalia R K, Rai M K, Kalia S, *et al.* Microsatellite markers: An overview of the recent progress in plants [J]. *Euphytica*, 2011, 177(3): 309-334.
- [54] 夏浩天, 张婕, 刘倩, 等. DNA 条形码技术在物种识别与产品鉴定中的应用 [J]. 中国生物工程杂志, 2025, 45(4): 78-92.
- [55] 李月仙, 姜太玲, 严炜, 等. 基于 SNP 标记的云南黄连分子身份证构建 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2025, 47(5): 103-112.
- [56] 刘宇辰, 张振宇, 尹旻臻, 等. 药用芍药栽培品种的 SNP 标记开发及品种鉴定 [J]. 中草药, 2025, 56(1): 239-247.
- [57] Li L, Kong W Y, Sun J, *et al.* MGVI-seq: A sensitive and culture-independent method for detecting microbial genetic variation [J]. *Front Microbiol*, 2025, 16: 1603255.
- [58] 江永忠, 王欣, 彭海, 等. 一种荚膜组织胞浆菌的 MNP 标记位点、引物组合物、试剂盒及其应用: 中国, CN118547094A [P]. 2024-08-27.
- [59] 江永忠, 刘聪, 高利芬, 等. 一种新型隐球菌的 MNP 标记位点、引物组合物、试剂盒及其应用: 中国, CN117737290A [P]. 2024-03-22.
- [60] 高利芬, 彭海, 李论, 等. 一种鉴定区分多种真菌的 MNP 标记位点、引物组合物、试剂盒及其应用: 中国, CN118497392A [P]. 2024-08-16.
- [61] 植物品种鉴定—MNP 标记法 [S]. GB/T 38551-2020 2020: 332.
- [62] 艾莎, 李莎, 方治伟, 等. 棉花 MNP 标记位点开发及其在 DNA 指纹图谱构建中的应用 [J]. 作物学报, 2024, 50(9): 2267-2278.
- [63] 万人静, 李琼, 周新成, 等. 木薯 MNP 标记在品种鉴定中的应用 [J]. 热带作物学报, 2023, 44(12): 2417-2423.
- [64] 刘飞, 张明哲, 曹槟, 等. MNP 分子标记在食用菌品种精准鉴定中的应用与前景分析 [J]. 菌物研究, 2025, 23(3): 247-253.
- [65] 细胞中 DNA 病毒测定—MNP 标记法 [S]. GB/T 41895—2022 2022: 16.
- [66] 马鑫, 赵俊, 黄佳, 等. 一种鉴定新疆常见人呼吸道病原体及其耐药基因的 MNP 标记位点, 引物组、试剂盒及其应用: 中国, CN119824139A [P]. 2025-04-15.
- [67] 高利芬, 彭海, 李论, 等. 一种鉴定多种人呼吸道病原体的 MNP 标记位点、引物组、试剂盒及应用: 中国, CN119639964A [P]. 2025-03-18.
- [68] 彭海, 高利芬, 周俊飞, 等. 一种鉴定多种猪病原体的 MNP 标记位点、引物组、试剂盒及应用: CN119639965A [P]. 2025-03-18.
- [69] 刘倩宏, 陈立浩, 时健, 等. 菊花总黄酮含药血清对于眼细胞模型 AR、NF- κ B 磷酸化蛋白及 TGF- β 1 表达的影响 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2022, 24(10): 3797-3805.
- [70] 张文晶, 颜瑞萍, 张花治, 等. 菊花-麦冬治疗干眼的网络药理学研究 [J]. 中国中医眼科杂志, 2021, 31(10): 758-764.
- [71] 陈乐, 刘引, 陈昌婕, 等. 药用及茶用菊花种质资源农艺性状的遗传多样性分析 [J]. 分子植物育种, 2022, 20(15): 5172-5188.
- [72] Liu Y F, Zhao Q, Li T T, *et al.* Availability evaluation and application of MNP (multiple nucleotide polymorphism) markers in variety identification of *Chrysanthemum* [J]. *Horticulturae*, 2024, 10(8): 845.
- [73] 汪冰, 林永强, 张全芳, 等. 一种用于鉴定中药材白薇、白前、老瓜头和徐长卿的 MNP 标记位点、引物组、试剂盒及鉴定方法: 中国, CN120210404A [P]. 2025-06-27.
- [74] Ling Y Y, Zhang M Z, Ling Z L, *et al.* Evolutionary relationship and a novel method of efficient identification of *Lentinula edodes* cultivars in China [J]. *Mycosphere*, 2023, 13(1): 56-85.
- [75] 王淼, 汪琦, 董彩虹. 基于 MNP 分子标记的茯苓种质遗传多样性分析与菌株鉴定 [J/OL]. 菌物学报, 1-15 [2025-08-04]. <https://doi.org/10.13346/j.mycosystema.250120>.
- [76] 张英, 李论, 陈颖, 等. 一种用于鉴定梅花鹿、马鹿和杂交鹿的引物组、试剂盒和应用: 中国, CN113832236A [P]. 2021-12-24.
- [77] Yi Y, Jiang Z Y, Ma L X, *et al.* Simultaneous identification of multiple animal-derived components in meat and meat products by using MNP marker based on high-throughput sequencing [J]. *Food Sci Hum Wellness*, 2025, 14(4): 9250178.
- [78] 赵宇新, 麻广霖, 于江泳. 关于完善地方药材标准管理的思考与建议 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(13): 2619-2622.
- [79] 张英, 彭海, 董元火, 等. DNA 身份精准鉴定技术 MNP 标记法在蕲艾鉴定中的应用初探 [A] // 新时代新思维 新跨越 新发展—2019 中国针灸学会年会暨 40 周年回顾论文集 [C]. 武汉: 中国针灸学会, 2019: 1605-1611.