

- polysaccharides from *Dendrobium candidum* [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2004, 39 (4): 254-256.
- [2] Arun D S, Prabhjot K G, Prabhjeet S. RNA Isolation from plant tissues rich in polysaccharides [J]. *Anal Biochem*, 2003, 314 (2): 319-321.
- [3] Wang D H, Wang B C, Li B, et al. Extraction of RNA from *Chrysanthemum* containing high levels of phenolic and carbohydrates [J]. *Colloids Surfaces B*, 2004, 36: 111-114.
- [4] Fang G, Hammar S, Grumet R. A quick and inexpensive method for removing polysaccharides from plant genomic DNA [J]. *Biofeedback*, 1992, 13 (1): 52-54.
- [5] Liu Y Y, Wang B C, Long X F, et al. Effects of sound field on the growth of *Chrysanthemum* callus [J]. *Colloids Surfaces B*, 2002, 24: 321-326.
- [6] Minafra A, Hadidi A, Martelli G P. Detection of grapevine closterovirus a in infected tissue by reverse transcription-polymerase chain reaction [J]. *Vitis*, 1992, 31: 221-227.
- [7] Ainsworth C. Isolation of RNA from floral tissue of *Rumex acetosa* (sorrel) [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 1994, 12: 198-203.
- [8] Geuna F, Harting H, Scienza A. A new method for rapid extraction of high quality RNA from recalcitrant tissues of grapevine [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 1998, 16: 61-67.
- [9] Bahloul M, Burkard G. An improved method for the isolation of total RNA from spruce tissues [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 1993, 11: 210-213.

利用 RAPD 分析 13 种石斛属植物的遗传多样性和亲缘关系

王慧中, 卢江杰, 施农农, 应奇才

(杭州师范学院 生物化学与分子生物学杭州市重点实验室, 浙江 杭州 310036)

摘要:目的 通过对 13 种石斛属植物进行遗传多样性和亲缘关系分析, 为更好地开发利用石斛资源奠定基础。方法 随机扩增多态性 DNA (RAPD) 技术分析遗传多样性, UPGMA 类平均法进行聚类分析。结果 利用筛选出的 10 个随机引物对供试材料 DNA 进行随机扩增, 共得到 188 条带, 其中多态性带有 180 条, 多态性百分率为 95.74%。采用 UPGMA 类平均法对扩增出的谱带进行遗传聚类分析, 得出反映各种间亲缘关系的树状图。在遗传距离 (D) = 0.63 处, 可将供试材料分为 3 类, RAPD 对基因组的分析结果与传统分类学的结果差异不大。结论 该标记技术对石斛属植物的遗传多样性和分类研究是可行的。

关键词: 石斛属; RAPD; 遗传多样性; 亲缘关系

中图分类号: R282.7

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2006)04-0588-05

Analysis of genetic diversity and affinity relationships among 13 species of *Dendrobium* Sw. by RAPD

WANG Hui-zhong, LU Jiang-jie, SHI Nong-nong, YING Qi-cai

(Key Laboratory of Hangzhou City for Biochemistry and Molecular Biology, Hangzhou Normal College, Hangzhou 310036, China)

Abstract: **Objective** Genetic diversity and affinity relationships among 13 species of *Dendrobium* Sw. were analyzed, the result laid a solid foundation for the better use of this resources. **Methods** Random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique was used to analyze genetic diversity, and the dendrogram was constructed by UPGMA. **Results** Ten RAPD primers were applied to do random amplification. A total of 188 DNA bands was detected, 180 among which were polymorphic, the average rate of polymorphic bands was 95.74%. The result of cluster analysis by using UPGMA method showed that 13 genotypes could be classified into three types in genetic distance 0.63. This outcome was corresponding to the result by using traditional classification. **Conclusion** It is concluded that RAPD markers can be used on the studies of genetic relationships and classification of species of *Dendrobium* Sw. sensitively.

Key words: *Dendrobium* Sw.; RAPD; genetic diversity; genetic relationships

兰科 (Orchidaceae) 石斛属 (*Dendrobium* Sw.) 植物除了观赏之外, 不少还是珍贵的药用植物。国内外学者已对石斛属 37 种植物进行了化学成分分析,

从中分离鉴定出生物碱类、多糖类、倍半萜类、菲醌类、联苄类、苊酮类、香豆素类以及挥发油等多种化学成分, 并对其药理活性进行了研究^[1]。目前有关石

收稿日期: 2005-07-10

基金项目: 浙江省自然科学基金 (301406); 浙江省“151”和杭州市“131”人才基金资助项目

作者简介: 王慧中 (1962—), 男, 教授, 博士, 主要从事植物分子生物学研究。Tel: (0571) 28865198 E-mail: whz62@163.com

斛属植物的系统分类和进化研究,其主要根据是宏观形态学性状、尤其是花粉块的数目以及唇瓣与蕊柱的愈合程度,是基于形态学和地理分布而建立起来的^[2]。由于单纯依据形态学和地理分布分类法的局限性,比如在石斛属中存在着一些物种,它们除在花被片上表现出一定的差异外,其他形态特征十分相似,并且在地理分布上也是重叠的,对于这样一些物种,由于尚不清楚颜色差异的遗传背景,只能作为单独的种处理^[3]。总之,由于形态分类学方法划分物种是建立在个体性状描述和宏观观测水平基础上,因此,得到的结论往往不完善,易引起争论。

与形态学鉴定相比,DNA 分子标记技术鉴定具有直接以 DNA 的形式表现,在植物体的各个组织、发育时期均可检测,数量多、遍及整个基因组,遗传稳定,表现为“中性”,有一些分子标记为共显性,检测迅速等优点。

有关分子标记技术在石斛属植物品种鉴定的研究,国内外已有一些报道。彭锐等^[4]利用 RAPD 技术对石斛属植物进行了基因组 DNA 多态性分析,初步构建聚类树状图并设计 1 对能鉴别铁皮石斛的特异性引物。罗玉明等^[5]根据细叶石斛及其他 37 种枫斗类和黄草类石斛的 rDNA ITS 序列,设计了位点特异性 PCR 鉴别引物 XYJB01S 和 XYJB01X,对细叶石斛进行了成功的 DNA 分子鉴别。Li 等^[6]报道利用 SSH 杂交和 DNA 微阵法对兰科石斛属的 5 个物种进行鉴定。Lau 等^[7]报道 16 个不同的石斛种间 ITS 2 序列平均有 12.4% 差异,而非兰科植物以及拟石斛之间平均有 29.8% 和 18.8% 的序列不同,并认为 ITS 2 序列可以用于鉴别药用石斛的真假。虞弘^[8]等采用 AFLP 技术对石斛属 4 种植物进行了遗传多样性分析,得出该技术可用于药用石斛 DNA 指纹研究的结论。

虽然 DNA 分子标记技术在石斛属植物鉴定等方面已有一些研究报道,但目前分子标记应用于石斛属植物研究的种类和数量都还十分有限,还只是局限在部分标记技术和部分物种。本试验所选的石斛材料多数还未见有 RAPD 研究报道。本研究目的是利用 RAPD(随机扩增多态性 DNA, random amplified polymorphic DNA)技术研究石斛属植物的遗传多样性,构建亲缘关系图谱,确立属下分类系统,为更好地开发利用石斛资源服务。

1 材料和方法

1.1 材料:实验所用的 13 种材料见表 1。均经开花鉴定,鉴定人为杭州师范学院何业琪教授。

表 1 材料名称

Table 1 Materials tested in experiment

编号	材料名称	编号	材料名称
1	美花石斛(花,淡白) <i>Dendrobium loddigesii</i>	7	玫瑰石斛 <i>D. crepidatum</i>
2	球花石斛 <i>D. thyrsiflorum</i>	8	晶帽石斛 <i>D. crystallinum</i>
3	滇桂石斛 <i>D. guangxiense</i>	9	美花石斛(花,浅红)
4	报春石斛 <i>D. primulinum</i>	10	细叶石斛 <i>D. hancockii</i>
5	鼓槌石斛 <i>D. chrysotoxum</i>	11	广东石斛 <i>D. wilsonii</i>
6	重唇石斛 <i>D. hercoglossum</i>	12	铁皮石斛 <i>D. officinale</i>
		13	串珠石斛 <i>D. falconeri</i>

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取:取保存于 -70℃ 新鲜嫩叶片约 1 g,用液氮研碎,加入 5 mL CTAB 提取缓冲液(100 mmol/L Tris-HCl, 20 mmol/L EDTA, 1.4 mol/L 2% 巯基乙醇, 2% CTAB), 65℃ 水浴 30 min;加入等体积氯仿-异戊醇(24:1)抽提,离心取上清液加入等体积异丙醇,静置 1 h 或 -20℃ 过夜;用玻璃钩捞出絮状沉淀,转入 Eppendorf 管中,加入 70% 的乙醇漂洗 3 次;弃乙醇,风干 DNA 沉淀,加入适量 TE 缓冲液溶解,再加入 RNase A, 37℃ 15 min;用等体积苯酚-氯仿-异戊醇(25:24:1)、氯仿-异戊醇各抽提一次,离心吸上清液于 Eppendorf 管中,加入 1/10 体积的 NaAC (3 mmol/L, pH 5.2)和二倍体积冷的无水乙醇,混匀, -20℃ 放置 1 h 以上,离心得沉淀,用 70% 的乙醇漂洗 DNA 沉淀 2~3 次,风干后溶于 400 μL TE (含 1 mol/L NaCl)缓冲液中;重复上步骤,风干后 DNA 沉淀溶于 100 μL TE。用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测片段大小,UV-2401PC(岛津)紫外分光光度计检测 A_{260} 、 A_{280} 值并定量。由表 2 可看出,提取的基因组 DNA 的 A_{260}/A_{280} 值大部分在 1.7~1.9,说明蛋白质质量较少, RNA 基本上被完全降解,能够满足 RAPD 反应对 DNA 的质量要求。

表 2 供试材料基因组 DNA 的紫外分析结果

Table 2 UV Analysis of optical density DNA and concentration of materials

材料	A_{260}	A_{280}	A_{260}/A_{280}	质量浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
1	0.322 4	0.193 0	1.67	806
2	0.235 1	0.135 1	1.74	588
3	0.143 7	0.084 0	1.71	359
4	0.289 4	0.155 6	1.86	723
5	0.275 6	0.148 2	1.86	689
6	0.220 6	0.123 9	1.78	552
7	0.229 8	0.133 6	1.72	574
8	0.157 2	0.083 6	1.88	393
9	0.216 2	0.128 0	1.69	540
10	0.184 3	0.104 7	1.76	460
11	0.154 2	0.082 4	1.87	383
12	0.357 6	0.206 7	1.73	894
13	0.204 3	0.120 2	1.70	510

1.2.2 RAPD 方法:将 DNA 溶液稀释成 80~100 ng/ μ L,作为 RAPD 反应的模板。*Taq* 酶购自上海生工生物工程技术服务有限公司,RAPD 反应体系见表 3。RAPD 反应程序:94 $^{\circ}$ C 变性 1 min,36 $^{\circ}$ C 复性 1 min,72 $^{\circ}$ C 延伸反应 2 min,35 个循环。

表 3 RAPD 扩增反应体系

Table 3 RAPD Amplification reaction system

成分	体积/ μ L
10 $\times$ 缓冲液	2.50
dNTP (10 mmol/L)	0.25
MgCl ₂ (25 mmol/L)	1.50
<i>Taq</i> 酶 (5 U/ μ L)	0.20
DNA (80~100 ng/ μ L)	1.00
双蒸水	18.55
引物	1.00
总体积	25.00

PCR 扩增结束后,加入适量上样缓冲液 ($V_{\text{样品}}:V_{\text{上样缓冲液}}=5:1$),混匀。于 1.2% 琼脂糖凝胶电泳,制胶时在胶中加入 500 ng/mL 溴化乙锭。电泳条件:100 V 恒压,电泳时间 2.5 h,电泳结束后,在 ZF—90 暗箱式紫外透射仪上观察,用 Epson 数码相机拍照。

1.2.3 RAPD 随机引物筛选:10 bq 寡核苷酸随机引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成,S20—S119,共 100 个 RAPD 引物。用一种材料做完 100 对引物后,去除只扩增出 3 条带以下或没有条带的引物,再用另一种材料依次筛选下去。筛选出多态性较强、重现性好的引物 10 个,见表 4。

表 4 10 个 RAPD 引物的名称和序列

Table 4 Name and sequence of ten RAPD primers

引物名称	序列 (5'-3')	引物名称	序列 (5'-3')
S50	GGTCTACACC	S51	AGCGCCATTG
S53	GGGGTGACGA	S59	CTGGGGACTT
S65	GATGACCGCC	S69	CTCACCGTCC
S71	AAAGCTGCGG	S80	ACTTCGCCAC
S90	AGGGCCGTCT	S92	CAGCTCACGA

1.2.4 数据分析方法:电泳图谱中根据分子迁移率及其有无进行统计,有带计为 1,无带或模糊不能辨认计为 0。用 NTSYS 软件计算出遗传相似性系数,用 UPGMA 法进行聚类分析构建聚类图。

2 结果

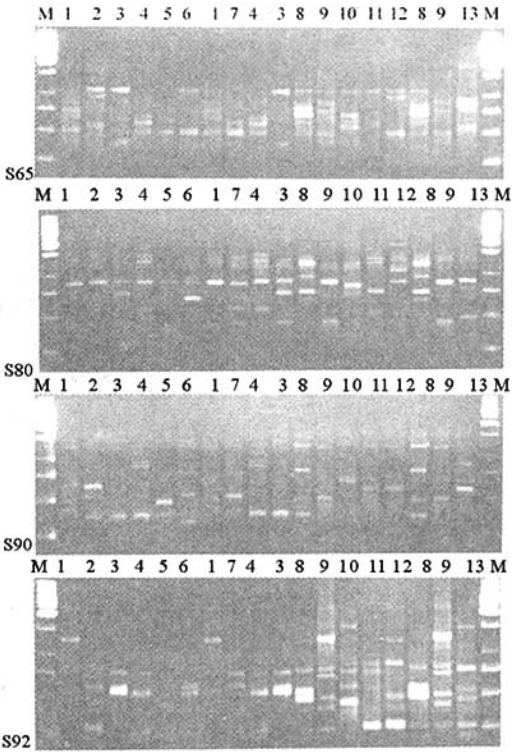
2.1 10 个随机引物对石斛属 13 种植物基因组 DNA 的扩增:运用筛选出的 10 个引物对供材料 DNA 进行随机扩增,共得到 188 条带,其中多态性带有 180 条,多态性百分率为 95.74%。扩增出的 DNA 带的分子大小在 100~2 000 bp,见表 5。文中只选出 4 个多态性最好的引物扩增出的代表性图,

见图 1。

表 5 10 个随机引物对石斛材料的扩增结果

Table 5 Amplification results of ten random primers on materials in *Dendrobium* Sw.

引物	扩增带数	多态带数	多态带的百分率/%
50	10	9	90
51	21	19	90.48
53	20	20	100
59	20	18	90
65	20	20	100
69	23	21	91.30
71	14	13	92.86
80	18	18	100
90	19	19	100
92	23	23	100



M-1 kb DNA ladder 1~13-供试材料编号(表 1)

M-1 kb DNA ladder 1~13-experimental sample numbers that are same as in Table 1

图 1 引物 S65、S80、S90 和 S92 扩增结果

Fig. 1 Amplification results by primer S65, S80, S90, and S92

2.2 石斛属间的 DNA 聚类分析结果:实验所得的相似系数矩阵见表 6,应用 UPGMA 法聚类,所得聚类图见图 2。在相似系数 0.63 处,可将 13 种材料分为 I、II、III 类。I 类包括:串珠石斛、美花石斛(花,浅红)、晶帽石斛、铁皮石斛、广东石斛、玫瑰石斛、报春石斛。其中的晶帽石斛、美花石斛(花,浅红)

表 6 根据 RAPD 标记计算的相似系数

Table 6 Genetic similarity between species on basis of RAPD markers

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	1.000												
2	0.242 4	1.000											
3	0.176 4	0.337 3	1.000										
4	0.391 7	0.309 5	0.321 8	1.000									
5	0.391 7	0.282 0	0.172 8	0.292 6	1.000								
6	0.371 1	0.179 4	0.296 2	0.243 9	0.315 7	1.000							
7	0.340 0	0.296 2	0.238 0	0.282 3	0.177 2	0.303 7	1.000						
8	0.181 8	0.250 0	0.216 8	0.214 2	0.307 6	0.155 8	0.246 9	1.000					
9	0.183 6	0.227 8	0.219 5	0.216 8	0.103 8	0.179 4	0.250 0	0.253 1	1.000				
10	0.206 8	0.309 8	0.309 8	0.138 8	0.242 4	0.333 3	0.260 8	0.391 7	0.315 7	1.000			
11	0.101 2	0.100 0	0.222 2	0.093 7	0.103 4	0.206 8	0.262 2	0.066 6	0.101 6	0.250 0	1.000		
12	0.166 6	0.259 7	0.175 0	0.271 6	0.346 6	0.080 0	0.179 4	0.285 7	0.263 1	0.184 6	0.140 3	1.000	
13	0.141 1	0.272 7	0.231 8	0.257 1	0.187 5	0.218 7	0.298 5	0.212 1	0.338 4	0.282 0	0.173 9	0.190 4	1.000

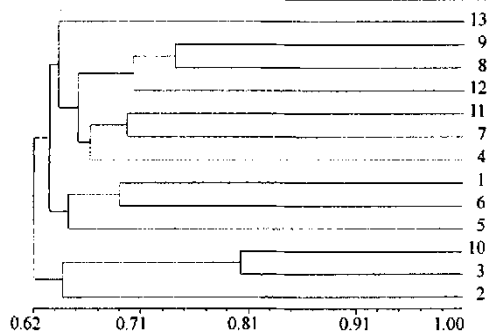


图 2 RAPD 标记构建的 UPGMA 聚类图

Fig. 2 UPGMA Dendrograms generated from RAPD markers

首先聚合成小组,然后与铁皮石斛聚合;同时广东石斛、玫瑰石斛聚合成小组,然后与报春石斛聚合;这两组再聚合后与串珠石斛聚合,形成Ⅰ类。Ⅱ类包括:鼓槌石斛、美花石斛(花,淡白)、重唇石斛。它们的关系是美花石斛(花,淡白)、重唇石斛先聚合,再和鼓槌石斛聚合,形成Ⅱ类。Ⅲ类包括:球花石斛、滇桂石斛和细叶石斛。其中滇桂石斛和细叶石斛首先聚合,再和球花石斛聚合,形成Ⅲ类。

3 讨论

吉占和^[9]在 1980 年首先提出我国石斛属植物种类达 57 种,并将它们划分为 9 个组,分别为剑叶组、圆柱叶组、禾叶组、心叶组、基肿石斛组、草叶组、黑毛组、顶叶组和大花石斛组。以上Ⅰ类的串珠石斛、美花石斛(花,浅花)、铁皮石斛、广东石斛和玫瑰石斛属于组 9;大花石斛组。Ⅱ类的鼓槌石斛单独列出属于组 8;顶叶组。两种分类方法结果完全吻合。但属Ⅱ类的重唇石斛和属Ⅲ类的细叶石斛按传统分类也应归属于组 9,两种不同水平的分类方法存在一些差异。另外,两种开不同颜色花的美花石斛,学

名均为 *D. loddigesii*,传统分类属一个种。RAPD 分析结果表明,两者分属于Ⅰ类和Ⅱ类。球花石斛、滇桂石斛和晶帽石斛由于吉占和当年没有研究,所以分类地位有待进一步研究。

从总体上看,本实验绘制的 13 种石斛聚类图与吉占和在 1980 年首先提出我国石斛属植物的划分差异不大,因为Ⅰ类聚合结果大多在大花石斛组中,只有Ⅱ类中的重唇石斛和Ⅲ类中的细叶石斛不在这组,表明该标记技术对石斛属植物的遗传多样性和分类研究是可行的。另外,理论上两种开不同颜色花的美花石斛实验材料在类聚结果上应该比较接近,可是实际上没有这样。究其原因,当然是多方面的。作者认为可以从以下几个方面加以考虑:首先, RAPD 技术本身存在多态性少和重现性差的缺点。尽管本试验已采取了多种措施尽量加以避免,比如挑选多态性高的引物,实验试剂及条件相对恒定等等,但这并不能从根本上解决该技术固有的不足。其次,由于自然杂交的结果,石斛属植物变异很大,中间类型很多,种的界限不清楚,对有些种或品种的形态学分类,一直以来,不同的学者持有不同的看法。第三,对于扩增条带的携带过程中,分析软件和操作者存在着客观的和主观的原因。第四,所用的候选引物数量还不够多,可以再增加,这在一定程度上可以减少实验结果分析的误差以及种间和种群间遗传多样性所产生的影响。

对于 RAPD 多态性较少和稳定性不高的缺点,在实验设计的时候就已考虑到了。在筛选引物的时候,笔者用了 3 种石斛材料的 DNA 对 100 种随机引物进行逐一筛选,选出在 3 种石斛材料中均有 3 条以上条带的引物进行扩增。选出的引物在一定程度上可以作为石斛属植物的通用引物。随着分子标

记技术的发展,各种新的技术不断产生,如果要科学、准确地对植物的遗传多样性和亲缘关系进行研究,还得运用多种分子标记技术,将每种标记的结果和传统的分类结果进行全面的比较和分析,才能获得令人信服的结果。

References:

- [1] Chen X M, Guo S X. Advance in the research of constituents and pharmacology of *Dendrobium* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2001, 13 (1): 70-75.
- [2] Yang S J. *Plant Biology* (植物生物学) [M]. Beijing: Science Press, 2000.
- [3] Lan M X. *Dendrobium* (石斛) [M]. Beijing: Science and Technology Bibliography Press, 2002.
- [4] Peng R, Li Q S, Li L Y. RAPD based molecular identification of *Dendrobium* species [J]. *J Southwest Agric Univ: Nat Sci* (西南农业大学学报:自然科学版), 2004, 26 (4): 437-440.
- [5] Luo Y M, Ding X Y, Xu L S, et al. Identification of *Dendrobium miniliforme* with PCR technique [J]. *J Huaiyin Teachers Coll: Nat Sci* (淮阴师范学院学报:自然科学版), 2002, 1 (1): 82-86.
- [6] Li T X, Wang J K, Bai Y F, et al. A novel method for screening species-specific DNA probes for species identification [J]. *Nucleic Acids Res*, (核酸研究), 2004, 32 (4): 45.
- [7] Lau D T, Shaw P C, Wang J, et al. Authentication of medicinal *Dendrobium* species by the internal transcribed spacer of ribosomal DNA [J]. *Planta Med*, 2001, 67 (5): 456-460.
- [8] Yu H, He L, Ni N C, et al. Fingerprinting analysis of plant of *Dendrobium Sw.* by AFLP [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*. (中草药), 2004, 35 (7): 808-810.
- [9] Tsi Z H. A preliminary study of the orchid genus *Dendrobium Sw.* in China [J]. *Acta Phytotaxon Sin.* (植物分类学报), 1980, 18 (4): 27-28.

模式识别在白芍质量控制中的应用

冯雪松¹, 刘雅茹¹, 张克荣², 郭晓明¹, 刘俊亭¹

(1. 中国医科大学 药物分析学教研室, 辽宁 沈阳 110001; 2. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 旨在通过通用性强的中药色谱数据特征的抽取和神经网络识别,建立白芍的质量评价模式。方法 首先通过实验获取同一品种不同质量 29 个白芍样本的高效液相色谱数据,然后依照非线性的核主成分分析(KPCA)进行数学特征提取,将取得的压缩数据,输入 BP 神经网络进行学习,运用训练后的网络识别白芍的质量分类。并探讨了模式识别中人工神经网络的数据预处理、网络隐含层数、隐节点数、激励函数和过拟合现象等。结果通过改良后网络训练,已成功地识别白芍药材质量类别(识别率 100%)。结论 非线性特征提取 KPCA 法与人工神经网络结合适用于白芍整体质量分析。

关键词:白芍;质量;高效液相色谱;非线性的核主成分分析

中图分类号:R282.7

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)04-0592-04

Application of chemical pattern recognition to quality control of *Radix Paeoniae Alba*

FENG Xue-song¹, LIU Ya-ru¹, ZHANG Ke-rong², GUO Xiao-ming¹, LIU Jun-ting¹

(1. Department of Pharmaceutical Analysis, China Medical University, Shenyang 110001, China;

2. College of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective With generalization and steadiness, a new evaluation model by Integrating Non Linear Features extraction algorithm with artificial neural networks (ANN) used for pattern recognition of quality control of *Radix Paeoniae Alba* was proposed in this paper. **Methods** The HPLC data from 29 samples with different quality were proceeded with nonlinear kernel principal component analysis (KPCA) and an improved Back propagation algorithm of ANN. The extract characteristics was fed into BP neural networks as input elements for pattern recognition. In the meantime, the processing data, the optimal numbers of hidden layers, the numbers of hidden nodes, excitation functions, and over-fitting, etc. were discussed wholly so that standardization networks was designed without jamming. **Results** As recognition ratio was 100%, the pattern recognition of quality control of *Radix Paeoniae Alba* was established successfully by trained networks and predicted results. **Conclusion** Integrating KPCA algorithm with ANN for pattern recognition of quality control of *Radix Paeoniae Alba* has been proved to be available.

Key words: *Radix Paeoniae Alba*; quality; HPLC; kernel principal component analysis (KPCA)

收稿日期:2005-07-28

作者简介:冯雪松,男,籍贯辽宁锦州,讲师,硕士,毕业于沈阳药科大学药物分析专业,研究方向为中药质量分析。

Tel: 13889161239 E-mail: voncedar@21cn.com, fcedar@sina.com