

· 药材与资源 ·

半夏叶片总RNA四种提取方法及效果的比较

吴林^{1,2}, 薛建平^{1,3*}, 徐有明², 田振东²

(1. 淮北煤炭师范学院生物系, 安徽 淮北 235000; 2. 华中农业大学园艺林学学院, 湖北 武汉 430070;

3. 资源植物生物学安徽省重点实验室, 安徽 淮北 235000)

摘要:目的 针对三叶半夏成熟叶片化学成分复杂, 富含多糖、酚类及其他多种化学物质的特点, 选择优化一种简便、经济、高效的半夏成熟叶片高质量总RNA提取方法。方法 用4种不同的RNA抽提方法如异硫氰酸胍法、皂土法、CTAB-LiCl法和改进的SDS/酚法提取总RNA, 通过电泳、紫外分光光度计检测以及RT-PCR验证等对提取结果进行分析比较。结果 4种方法均能从半夏成熟叶片中提取到总RNA。其中皂土法的提取过程只需3~4 h, 是其他3种提取方法所用时间的一半。提取1 g叶片的成本只有其他3种方法的1/13~1/14。此法提取的总RNA 18S、28S带型清晰无弥散, 完整性好, 无严重的蛋白质和其他杂质污染, A_{260}/A_{280} 为1.8~2.0, A_{260}/A_{230} 大于2.0, 且总RNA的产率高, 为365.744 $\mu\text{g/g}$ 鲜重, 提取的总RNA适用于RT-PCR试验。结论 皂土法提取的RNA完全适用于DDRT-PCR、Northern blotting、cDNA文库构建等分子生物学研究, 是一种快速、经济、适于抽提半夏总RNA的好方法。

关键词:半夏; RNA提取; 皂土法; 异硫氰酸胍法; CTAB-LiCl法; SDS/酚法

中图分类号: R282.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)06-0901-05

Comparison of four methods and their efficiency for total RNA extraction from leaves of *Pinellia ternata*

WU Lin^{1,2}, XUE Jian-ping^{1,3}, XU You-ming², TIAN Zhen-dong¹

(1. Department of Biology, Huaibei Coal Industry Teachers' College, Huaibei 235000, China; 2. College

of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

3. Anhui Key Laboratory of Plant Resources and Biology, Huaibei 235000, China)

Abstract: **Objective** To optimize a simple, economic, and efficient method for total RNA extraction with high-quality from mature leaves of *Pinellia ternata* which has plenty of polysaccharides, phenols, and many other chemical substances. **Methods** Four methods, i.e. guanidine isothiocyanate, bentonite, CTAB-LiCl, and the modified SDS/phenol, were used to extract the total RNA. Then the results of the extraction were compared and analyzed by electrophoresis, UV spectrophotometer detection, and RT-PCR verification. **Results** Among all of the four methods, the bentonite method took only about 3~4 h, which was half time of the other three methods, and the cost of extracting 1 g leaf was 1/13~1/14 of the other three. The 18S and 28S bands of the total RNA extracted by bentonite method were clear and no dispersion, the integrity of the RNA was well, and there was no obvious contamination with proteins and other impurities in the RNA extracts. The ratios of A_{260}/A_{280} were equal to 1.8~2.0 and A_{260}/A_{230} over 2.0, the yield of total RNA was higher at 365.744 $\mu\text{g/g}$ fresh weight. The total RNA was applied to RT-PCR test. **Conclusion** The bentonite method is quick, economic, and efficient for the total RNA extraction from the leaves of *P. ternata*. The RNA is suitable for DDRT-PCR, Northern blotting, cDNA library construction, and other molecular biology research.

Key words: *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.; RNA extraction; bentonite method; guanidine isothiocyanate method; CTAB-LiCl method; SDS/phenol method

收稿日期: 2007-09-20

基金项目: 国家农业成果转化资金资助项目(05EFN213400124)

作者简介: 吴林(1981-), 男, 华中农业大学2005级硕士研究生, 主要从事植物分子生物学研究。E-mail: wulin206@126.com

* 通讯作者 薛建平 Tel: (0561)3802025 E-mail: xuejp2000@yahoo.com.cn

我国传统中药材半夏为天南星科半夏属多年生草本植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的块茎,其组织中化学成分复杂,富含多糖、酚类及多种次生代谢物质,药用价值很高^[1]。从分子生物学的角度来研究我国传统中药材已引起人们的高度重视,但半夏分子生物学领域的研究刚起步,cDNA 文库构建、RNA 印迹、基因克隆和基因表达分析等是分子生物学研究的重要内容,开展这些研究最基本的条件是抽提出高质量的总RNA。关于植物总RNA 抽提方法已多有报道^[2-4],但是植物材料细胞壁厚,细胞内富含蛋白质、多糖及鞣质、萜烯、色素、酚类等物质,很不利于总RNA 的提取及其逆转录、酶切等实验操作^[5]。不同植物或同一植物的不同组织中内含物组分及量也有较大差异,因此,没有一种适合于所有植物总RNA 的提取方法,必须针对不同植物材料的特点,对总RNA 的提取方法进行优化选择,才能达到高效提取高质量总RNA 的目的。目前,有关半夏总RNA 的抽提方法未见报道。由于半夏组织中化学成分复杂,内含物丰富,为此,本研究尝试4种方法从其叶片中提取总RNA,以期找到一种理想的抽提方法。

1 材料和方法

1.1 实验材料:半夏块茎采自安徽省淮北市南湖开发区高科技农业示范中心国家半夏人工种子中试基地,由薛建平教授鉴定为天南星科植物半夏 *P. ternata* (Thunb.) Breit.,于25℃温室培养至成苗,取其成熟叶片,清洁后吸干水分,于液氮中快速冷冻并保存于-70℃或直接用于RNA 的提取。

实验操作中使用的塑料制品如Eppendorf管、吸头等用0.1%焦碳酸二乙酯(DEPC)水处理12h,然后高压灭菌后备用。玻璃器皿于280℃干热灭菌3h。电泳槽等用去污剂清洗后用3% H₂O₂处理10min,再用DEPC处理灭菌水冲洗干净。

1.2 主要试剂:异硫氰酸胍、DEPC为Amresco产品;RQ DNaseI、RNasin、M-MLV反转录酶、Taq酶为Promega产品;dNTP、锚定引物、特异引物为上海生工产品;其余生化试剂均为进口及国产分析纯。

用于总RNA 提取的所有配制的溶液(Tris除外)均需经0.1% DEPC处理12h,高压灭菌后方可使用;含Tris的溶液用经高压灭菌的0.1% DEPC处理的水配制;其余试剂高压灭菌后使用。

1.3 总RNA 抽提

1.3.1 异硫氰酸胍法:(1)在研钵中加入0.8g(或贮存于-70℃的)新鲜叶片,用液氮研磨;(2)将粉末移入预冷的50mL离心管中,加入2mL RNA 抽提缓

冲液(4mol/L 异硫氰酸胍,25mmol/L 柠檬酸钠,0.5%十二烷基肌氨酸,4%β-巯基乙醇);(3)依次加入2mol/L 醋酸钠(pH 4.0)0.5mL,水饱和苯酚2mL,水饱和氯仿0.5mL,充分混匀,在冰上冷却至少10min;(4)10 000 r/min、4℃离心20min。将水相移入一新鲜的50mL离心管中,加入等体积异丙醇,-20℃放置2h以沉淀RNA;(5)10 000 r/min、4℃离心20min。倾去上清液,用75%乙醇洗涤RNA;(6)将RNA 溶解于800μL DEPC处理水中,再将其转入2mL小离心管,然后加入500μL的水饱和苯酚和600μL水饱和氯仿,振荡混匀。4℃下以12 000 r/min离心15min以便充分沉淀蛋白质;(7)收集上层相,加入1/10体积的2mol/L 醋酸钠(pH 4.0)和等体积的异丙醇,-20℃沉淀总RNA 2h;(8)4℃下以12 000 r/min离心15min,倾去上清液,以1mL 75%乙醇浸泡总RNA 30min,倒出乙醇,凉干总RNA 至胶状,最后将沉淀溶解于适量DEPC处理水中,-70℃深冷冰箱贮藏备用。

1.3.2 皂土法:(1)取新鲜叶片0.8g,在液氮中研磨成粉末并快速转移到预冷的50mL离心管中;(2)加入2mL 皂土提取缓冲液[25mmol/L 柠檬酸钠(pH 7.0),10mmol/L EDTA,100mmol/L NaCl,0.5% SDS,4%β-巯基乙醇,0.5%皂土],剧烈振荡混匀。加1倍提取缓冲液体积的水饱和酚,继续振荡混匀;再加1倍提取缓冲液体积的氯仿,振荡混匀,4℃,12 000×g离心15min;(3)取上清液到一新管,加入1/2体积的5mol/L KAc (pH 4.8),冰上放置10min;4℃,13 000×g离心10min;(4)取液相到另一新离心管,加入1/2体积的水饱和酚和1/2体积的氯仿,振荡混匀,4℃,10 000×g离心5min;(5)重复抽提,直到界面清亮;(6)取上清液再加入等体积的氯仿抽提1次。将上清液转到新管中,加入等体积的乙二醇丁醚,-20℃放置1h;4℃,14 000×g,离心15min;(7)去液相,沉淀用75%乙醇洗2次。空气中干燥,溶于适量DEPC处理水中,-70℃保存。

1.3.3 CTAB-LiCl法:(1)取0.8g实验材料,在液态氮中研碎后放入50mL离心管,按固液比1:10加入2×CTAB液[2% CTAB,0.1mol/L Tris-HCl (pH 8.0),20mmol/L EDTA (pH 8.0),1.4mol/L NaCl,加入2.0% PVP、4.0%β-巯基乙醇(用时再加)],65℃水浴中放置10min;(2)加入等体积的氯仿-异戊醇,搅拌后于室温下8 000 r/min离心10min,回收上清液;(3)再一次加入等体积的氯仿-异戊醇,轻轻搅拌后室温下8 000 r/min离心10min,

回收上清液并分装入2 mL离心管;(4)加入1/3体积的8 mol/L氯化锂,在-20℃放置2 h以上,4℃条件13 000 r/min离心10 min,待沉淀物风干(或真空干燥)后溶于适量DEPC处理水;(5)然后再分别用等体积的苯酚-氯仿、氯仿-异戊醇各抽提1次后,回收水溶液加入1/3体积的8 mol/L氯化锂,-20℃放置2 h以上;(6)于4℃条件下13 000 r/min离心10 min,回收沉淀,用75%乙醇洗净,真空干燥后,溶于适量的DEPC处理水中,-70℃保存。

1.3.4 改进的SDS/酚法:(1)称取约0.8 g叶片,液氮研磨粉碎;(2)加入80℃预热的提取缓冲液3.4 mL(100 mmol/L LiCl, 100 mmol/L Tris, 50 mmol/L EDTA, 1% SDS,使用前加入2% PVP和4% β -巯基乙醇),充分混匀,冰浴15 min;(3)4℃,12 000 r/min离心15 min,移上清液至一新离心管中,加入1/3体积5 mol/L KAc (pH 4.8),充分混匀,冰浴10 min,移上清液至一新的离心管中;(4)4℃,12 000 r/min离心15 min,移上清液至一新离心管中。加入等体积氯仿-异戊醇(24:1),充分混匀,冰浴15 min;(5)4℃,12 000 r/min离心15 min,移上清液至一新离心管中,加入等体积的预冷异丙醇,-20℃放置2 h;(6)4℃,12 000 r/min离心15 min,弃上清液12 000 r/min离心15 min,弃上清液,用600 μ L重悬缓冲液(2 mol/L LiCl; 50 mmol/L EDTA)重悬沉淀;(7)4℃,12 000 r/min离心15 min,弃上清液,75%乙醇清洗沉淀两次,室温下干燥;(8)沉淀溶于适量DEPC处理水中,-70℃保存。

1.4 总RNA检测

1.4.1 总RNA的纯度及完整性检测:分别取不同方法提取的半夏总RNA样品,在1.0%的非变性琼脂糖凝胶上电泳检测完整性;RNA样品用灭菌的DEPC处理水稀释80倍,用紫外分光光度计测定吸光度(A),计算样品 A_{260}/A_{280} 、 A_{260}/A_{230} 的值,并计算得率[得率(μ g/g)= $A_{260} \times 40$ (μ g $\cdot$ μ L⁻¹) $\times$ 稀释倍数 $\times$ RNA原液体积(μ L)/所取叶片质量]。

1.4.2 RT-PCR检测:(1)总RNA中的DNA去除及纯化:取20~40 μ g总RNA用Dnase I去除基因组DNA,纯化后溶于适量(40 μ L)DEPC处理水中。(2)逆转录反应:取5 μ L上述除去DNA的总RNA分别加入2 μ L 10 μ mol/L锚定引物(AAGCT₁₀G或AAGCT₁₀A),用DEPC处理的无菌水将终体积调整为11 μ L,70℃保温10 min,迅速置于冰上急冷2 min以上,离心数秒,依次加入4 μ L 5 $\times$ M-MLV Buffer,

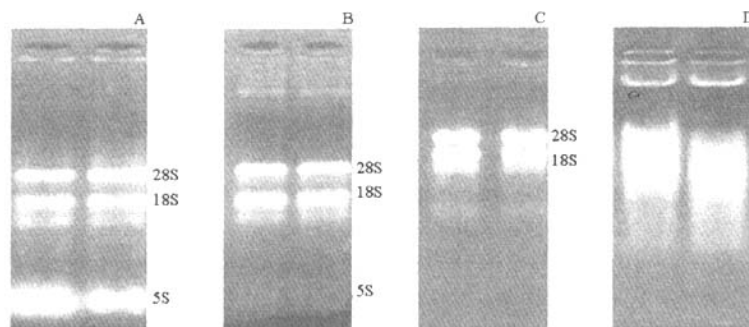
2 μ L dNTPs(各10 mmol/L),1 μ L RNase抑制剂(40 U/ μ L),加RNase free dH₂O至19 μ L,混匀后置于37℃水浴平衡2 min,加入1 μ L RTase M-MLV (RNase H-)(200 U/ μ L),然后在37℃水浴反应1 h,最后70℃保温15 min灭活逆转录酶。逆转录产物进行琼脂糖电泳检测。(3)PCR反应:20 μ L PCR反应体系:逆转录产物1 μ L、2 μ L 10 $\times$ PCR Buffer、2 μ L MgCl₂(25 mmol/L)、2 μ L dNTPs(2 mmol/L)、0.2 μ L Taq聚合酶(5 U/ μ L)与逆转录时对应的锚定引物1 μ L,10 μ mol/L 10 mer的随机引物1 μ L,补加无菌水至终体积为20 μ L。在PCR仪上以如下反应条件进行扩增:94℃、2.5 min;94℃、30 s,38℃、1 min,72℃、1.5 min,35个循环;72℃延伸5 min,4℃保存。扩增产物进行琼脂糖电泳检测。

2 结果与分析

2.1 不同方法提取总RNA的完整性、纯度与产率:不同方法提取总RNA经1.0%的非变性琼脂糖凝胶电泳检测,结果见图1。异硫氰酸胍法、皂土法和CTAB-LiCl法提取出的总RNA 18S、28S带型清晰无弥散,完整性好,加样孔内干净,说明无蛋白质和其他杂质污染,但在加样孔附近有微弱条带,有轻微DNA污染。异硫氰酸胍法提取的总RNA有较高的5S条带,皂土法提取的5S条带较弱,CTAB-LiCl法提取的5S条带最弱。紫外分光光度计检测结果显示,这3种方法的 A_{260}/A_{280} 的值均在1.8~2.0, A_{260}/A_{230} 的值均大于2.0,得率均较高(表1),说明这3种方法所提的半夏叶片总RNA纯度高,质量好。而改进的SDS/酚法提取出的总RNA没有明显的18S、28S条带,条带弥散,总RNA不完整,降解较严重,另外,在加样孔里有荧光,加样孔附近有明显的条带,说明蛋白质和DNA污染严重,其 A_{260}/A_{280} 大于2.3(表1)。

2.2 不同提取方法所用时间及成本比较:从上述分析结果与多次重复试验表明异硫氰酸胍法、皂土法和CTAB-LiCl法均能提取出完整的半夏叶片的总RNA。但提取时间和成本各不相同,比较结果见表1。皂土法最经济方便,提取过程只需3~4 h,是其他3种提取方法所用时间的一半,提取叶片的成本[成本=(提取液成本+纯化液成本)/所用叶片质量]只有其他方法的1/13~1/14。所以,皂土法是提取半夏成熟叶片总RNA的最经济、有效方法。

2.3 RT-PCR:为了验证皂土法提取的总RNA完全可以用于RT-PCR、差异显示等分子生物学方面



A-异硫氰酸胍法 B-皂土法 C-CTAB-LiCl 法 D-改进的 SDS/酚法
A-guanidine isothiocyanate method B-bentonite method C-CTAB-LiCl method D-modified SDS/phenol method

图1 4种不同方法提取的半夏叶片总RNA电泳检测结果

Fig.1 Electrophorogram of extracted total RNA from leaves of *P. ternata* by four different methods

表1 4种不同方法提取的半夏叶片总RNA质量、效率及成本比较

Table 1 Comparison of quality, efficiency, and cost of extracted total RNA from leaves of *P. ternata* by four different methods

提取方法	A_{260}/A_{280}	A_{260}/A_{230}	得率/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	提取时 间/h	提取成本/ (元 $\cdot \text{g}^{-1}$)
异硫氰酸胍法	1.872	2.316	326.160	7~8	1.335
皂土法	1.937	2.162	365.744	3~4	0.10
CTAB-LiCl 法	1.949	2.224	381.05	7~8	1.313
改进 SDS/酚法	2.892	2.436	298.632	6~7	1.425

的研究,以皂土法提取的总RNA为模板进行RT-PCR试验。

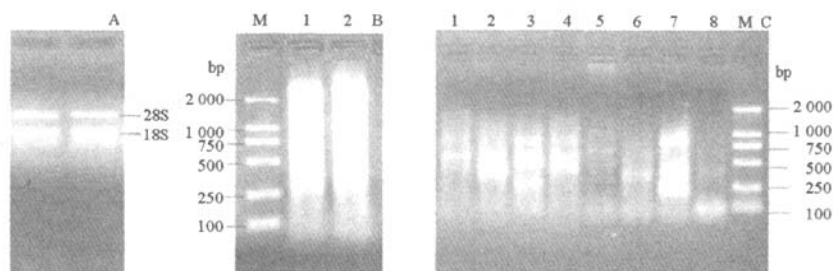
2.3.1 总RNA中的DNA去除及纯化:去除了DNA后的总RNA经1.0%的非变性琼脂糖凝胶电泳检测(图2-A)显示:18S和28S条带带型清晰,无弥散,点样孔内干净,说明总RNA完整性好,无蛋白质及DNA等杂质,可进行后续试验。

2.3.2 逆转录反应:以皂土法提取消化DNA后的总RNA为模板,选取AAGCT₁₀G和AAGCT₁₀A为引物,分别进行逆转录反应,逆转录产物经非变性琼脂糖凝胶电泳检测(图2-B)。结果显示cDNA片段大小主要集中分布在250~2500 bp,由于植物RNA相对较短,因此在这个范围内的cDNA是很完整的,反映出提取的总RNA质量较高,降解轻微。

2.3.3 PCR反应:随机挑取4个随机引物(GAT-CTCAGAC、GATCATAGCC、GATCAA-TCGC和GATCTAACCG)分别与逆转录时的锚定引物(AAGCT₁₀G、AAGCT₁₀A)随机组合进行PCR扩增反应,扩增结果(图2-C)表明:片段介于100~2000 bp,带型清晰,多态性好。

3 讨论

植物总RNA可用多种方法提取,在保证质量的前提下,选择一种简便、经济、快速的方法对于后续的分子生物学研究十分必要。本研究根据半夏成熟叶片中多糖和酚类等物质质量较多的特点,选择4种抽提方法进行了系统比较,异硫氰酸胍法和CTAB-LiCl法能够提取出完整的、较高产率的半夏叶片总RNA,但操作步骤繁琐,提取时间长(多于7 h),成本高。LiCl只能选择性地沉淀高相对分子质量的RNA,会导致低相对分子质量RNA的丢失,同时样品中残余的LiCl可能会干扰后续研究。而改进的SDS/酚法,虽然作了严格操作和相应的调整,但提取时间较长,抽提出的总RNA质量很差。皂土具有吸附蛋白质及有效抑制RNase的特性^[6],将一定量的皂土加入到RNA提取缓冲液中可以在早期抑制及吸附样品中的RNase等蛋白质,从而减少了后期用苯酚-氯仿抽提去蛋白的次数,降低了因苯酚-氯仿抽提造成的RNA损耗,提高了产率,节省了时间,整个提取过程3~4 h完成,大大减少了RNA被内外源RNA酶降解的机会。半夏叶片中含有较多糖类和酚类物质,多糖的许多理化性质与RNA相似,在提取过程中能与RNA共沉淀,很难将它们分开,酚类化合物在匀浆时极易被氧化成醌类物质,与RNA不可逆地结合,从而影响总RNA的分离纯化^[7]。而在皂土提取液中加入的较高浓度的 β -巯基乙醇,可有效防止酚的氧化,打断多酚氧化酶的二硫键而使之失活^[8]。在沉淀RNA之前加入1/2体积的5 mol/L KAc (pH 4.8),能有效去除样品中的多糖,从而提高了RNA抽提质量^[5,9]。用50%乙二醇丁醚来沉淀RNA,可使混于RNA中的多酚溶于其中



A-消化DNA后的半夏叶片总RNA B-反转录产物cDNA(泳道:M-2 000 DL Maker, 1-以AAGCT₁₀G为引物, 2-以AAGCT₁₀A为引物) C-PCR扩增产物(泳道1~4-锚定引物为AAGCT₁₀G, 随机引物分别为GATCTCAGAC, GATCATAGCC, GATCAATCGC和GATCTAACCG; 泳道5~8-锚定引物为AAGCT₁₀A, 随机引物与泳道1~4相同; 泳道M-2 000 DL Maker)

A-total RNA from *P. ternata* leaves was removed DNA B-reverses transcribed cDNA (Lanes: M-2 000 DL Maker, 1-a prime for AAGCT₁₀G, 2-a prime for AAGCT₁₀A) C-products of PCR amplification (Lanes 1-4-anchored primer is AAGCT₁₀G, arbitrary primer is GATCTCAGAC, GATCATAGCC, GATCAATCGC, and GATCTAACCG, respectively; Lanes 5-8-anchored primer is AAGCT₁₀A, arbitrary primer is same lanes 1-4; Lane M-2 000 DL Maker)

图2 皂土抽提半夏叶片总RNA RT-PCR电泳检测结果

Fig. 2 Electropherogram of RT-PCR for extracted total RNA from leaves of *P. ternata* by bentonite method

而被除去^[10]。皂土法提取的半夏叶片总RNA纯度较高,完整性好,排除了多糖、酚类等杂质的污染,能成功地用于RT-PCR的研究。该方法所用试剂价格低,用量少,耗材使用量少,大大降低了抽提成本,并且操作简便,花费时间短,重复性好。所以,优化后的皂土法是一种抽提半夏叶片总RNA的好方法。同时,本研究结果也可为其他草本植物总RNA的提取提供参考和借鉴。

参考文献:

- [1] 毛子成, 彭正松. 半夏研究进展 [J]. 江西科学, 2002, 20(1): 42-46.
- [2] 顾红雅, 瞿礼嘉, 明小天, 等. 植物基因与分子操作 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1995.
- [3] Chang S J, Puryear J, Caimey J. A simple and efficient method for RNA isolating from pine trees [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 1993, 11(2): 113.
- [4] Li Y Y, Wang Z H, Zhang Z. An effective method for extracting total RNA from *Fagopyrum esculentum* [J]. *Biotechnology*, 2004, 14(3): 23-24.
- [5] 李宏, 王新力. 植物组织RNA提取的难点及对策 [J]. 生物技术通报, 1999, 15(1): 36-39.
- [6] Putzer H, Condon C, Brechemier-Baey D, et al. Transfer RNA-mediated antitermination *in vitro* [J]. *Nucl Acids Res*, 2002, 30(14): 3026-3033.
- [7] Loomis W D. Overcoming problems of phenolics and quinines in the isolation of plant enzymes and organelles [J]. *Method Enzymol*, 1974, 31: 528-545.
- [8] Chang S, Puryear J, Caimey J. A simple and efficient method for isolating RNA from pine trees [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 1993, 11(2): 113-116.
- [9] 杜中军, 徐兵强, 黄俊生, 等. 一种改进的富含多糖的芒果组织中完整总RNA提取方法 [J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(2): 202-204.
- [10] 何振艳, 徐文忠, 杨学习. 提取蕨类植物蜈蚣草总RNA的一种有效方法 [J]. 植物学通报, 2005, 22(2): 198-202.

山药微型块茎诱导形成的影响因子研究

李明军^{1,2}, 刘欣英², 李萍², 张晓丽², 赵喜亭², 柳俊¹, 谢从华^{1*}

(1. 华中农业大学园艺林学学院 园艺植物生物学教育部重点实验室, 湖北 武汉 430070;

2. 河南师范大学生命科学学院, 河南 新乡 453007)

摘要:目的 探讨培养方式、碳源、氮源对山药微型块茎诱导形成的影响, 以期找到适宜的微型块茎诱导形成的

收稿日期: 2007-09-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30670208); 河南省重点科技攻关项目(0623030700); 河南师范大学青年科学基金资助项目(2006036)

作者简介: 李明军(1962-), 男, 河南温县人, 教授, 博士、硕士生导师, 长期从事植物生理学及植物生物技术方面的教学和科研工作。

Tel: (0373) 3328189 E-mail: limingjun2002@263.net

* 通讯作者 谢从华 Tel: (027) 87287381 E-mail: xiech@mail.hzau.edu.cn

半夏叶片总RNA四种提取方法及效果的比较

作者：[吴林](#), [薛建平](#), [徐有明](#), [田振东](#), [WU Lin](#), [XUE Jian-ping](#), [XU You-ming](#), [TIAN Zhen-dong](#)

作者单位：[吴林, WU Lin \(淮北煤炭师范学院, 生物系, 安徽, 淮北, 235000; 华中农业大学园艺林学学院, 湖北, 武汉, 430070\)](#), [薛建平, XUE Jian-ping \(淮北煤炭师范学院, 生物系, 安徽, 淮北, 235000; 资源植物生物学安徽省重点实验室, 安徽, 淮北, 235000\)](#), [徐有明, 田振东, XU You-ming, TIAN Zhen-dong \(华中农业大学园艺林学学院, 湖北, 武汉, 430070\)](#)

刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**

英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年, 卷(期): 2008, 39(6)

被引用次数: 3次

参考文献(10条)

1. 毛子成;彭正松 [半夏研究进展](#)[期刊论文]-[江西科学](#) 2002(01)
2. 顾红雅;瞿礼嘉;明小天 [植物基因与分子操作](#) 1995
3. Chang S J;Puryear J;Cainey J [A simple and efficient method for RNA isolating from pine trees](#)[外文期刊] 1993(02)
4. Li Y Y;Wang Z H;Zhang Z [An effective method for extracting total RNA from Fagopyrum esculentum](#) 2004(03)
5. 李宏;王新力 [植物组织RNA提取的难点及对策](#)[期刊论文]-[生物技术通报](#) 1999(01)
6. Putzer H;Condon C;Brechemier-Baey D [Transfer RNA-mediated antitermination in vitro](#)[外文期刊] 2002(14)
7. Loomis W D [Overcoming problems of phenolics and quinines in the isolation of plant enzymes and organelles](#)[外文期刊] 1974
8. Chang S;Puryear J;Caimey J [A simple and efficient method for isolating RNA from pine trees](#)[外文期刊] 1993(02)
9. 杜中军;徐兵强;黄俊生 [一种改进的富含多糖的芒果组织中完整总RNA提取方法](#)[期刊论文]-[植物生理学通讯](#) 2005(02)
10. [何振艳;徐文忠;杨学习](#) [提取蕨类植物蜈蚣草总RNA的一种有效方法](#)[期刊论文]-[植物学通报](#) 2005(02)

本文读者也读过(3条)

1. [宋波涛](#).[田振东](#).[杨文杰](#).[Song Botao](#).[Tian Zhendong](#).[Yang Wenjie](#) [sAGP基因增强表达对马铃薯淀粉和还原糖的影响及安全性评价](#)[期刊论文]-[中国马铃薯](#)2006, 20(1)
2. [郭秀莲](#).[张正银](#).[田萍](#).[罗绍银](#).[白洁](#).[庄平](#).[GUO Xiu-lian](#).[ZHANG Zheng-yin](#).[TIAN Ping](#).[LUO Shao-yin](#).[BAI Jie](#).[ZHUANG Ping](#) [杜鹃花叶片总RNA的改良CTAB法提取](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2010, 21(1)
3. [覃芳](#).[王军民](#).[何海旺](#).[何龙飞](#).[李创珍](#).[韦本辉](#).[何虎翼](#).[甘秀芹](#).[Qin Fang](#).[Wang Junmin](#).[He Haiwang](#).[He Longfei](#).[Li Chuangzhen](#).[Wei Benhui](#).[He Huyi](#).[Gan Xiuqin](#) [山药组织总RNA提取方法的比较与分析](#)[期刊论文]-[基因组学与应用生物学](#)2009, 28(4)

引证文献(3条)

1. [薛建平](#).[吴林](#).[盛玮](#).[张爱民](#).[李国兴](#).[常莉](#).[宋运贤](#).[陶兴魁](#) [高温胁迫下半夏叶片总RNA变化及mRNA差异表达的研究](#)[期刊论文]-[中国中药杂志](#) 2010(12)
2. [王静芳](#).[曹秋芬](#).[高建平](#) [一种党参高质量总RNA的提取方法](#)[期刊论文]-[中国药物与临床](#) 2012(6)

3. [林娜](#), [高继海](#), [艾涛波](#), [范林洪](#), [王胜华](#), [陈放](#) [一种新型的油樟叶片总RNA提取方法](#)[期刊论文]-[中国生物工程杂志](#) 2013(5)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200806035.aspx