

三种樟科植物的细胞总 DNA 提取*

徐虹¹, 郑敏¹, 章军¹, 朱斌琳¹, 张饶挺¹, 袁文杰²

(1 细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室, 厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361005;

2 厦门市药品检验所, 福建 厦门 361012)

摘要: 为了从富含次生代谢物的樟科植物肉桂、锡兰肉桂、阴香中获得高质量 DNA, 研究和改进了 CTAB 法、高盐低 pH 法和尿素法。改进方法包括: 1) 在裂解液中加入 2% - 巯基乙醇和 5% PVP, 以防止氧化褐变的发生; 2) 在酚: 氯仿抽提前加入 1.5 mol/L 醋酸铵冰浴处理, 能降低 DNA 的黏性。所得 DNA 的质量和产量经电泳、紫外吸收 A_{260}/A_{280} 、PCR 扩增和限制性内切酶酶切检测, 结果表明改进法提取的 DNA 质量要比常规法的好。其中改进的 CTAB 法获得的 DNA 纯度最高, 能用于 PCR 扩增和限制性内切酶酶切, 是提取这 3 种樟科植物总 DNA 的最佳方法。

关键词: 肉桂; 锡兰肉桂; 阴香; DNA 提取

中图分类号: Q 946

文献标识码: A

文章编号: 0253 - 2700(2004)04 - 0451 - 07

Isolation of Total Cellular DNA from Three Species of Lauraceae

XU Hong¹, ZHENG Min¹, ZHANG Jun¹, ZHU Bin-Lin¹,
ZHANG Rao-Ting¹, YUAN Wen-Jie²

(1 The Key Laboratory of Ministry of Education for Cell Biology and Tumor Cell Engineering, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2 Xiamen Institute for Drug Control, Xiamen 361012, China)

Abstract: CTAB method, low pH medium with high salt method (LPHS), and urea method were used and improved to extract high quality DNA from Lauraceae plant *Cinnamomum cassia* Presl., *C. zeylanicum* and *C. burmannii*, which are rich in secondary metabolites. The modified protocols involved two key steps: 1) adding 2% -mercaptoethanol and 5% polyvinylpyrrolidone (PVP) in extraction solution to inhibit the oxidization of polyphenols; 2) treating with 1.5 mol/L NH_4Ac and incubation at 0 prior to supernatant extraction with phenol: chloroform to lower the viscosity of DNA. The yields and qualities of DNA were analyzed by electrophoresis, ratios of A_{260}/A_{280} , PCR amplification and restriction digestion. The results showed that the modified methods are better than the original ones in terms of the quality of total DNA. Among them, the modified CTAB method, which can produce high quality DNA suitable for PCR amplification and restriction digestion, is the best one for DNA extraction from three species of Lauraceae.

Key words: *Cinnamomum cassia*; *Cinnamomum zeylanicum*; *Cinnamomum burmannii*; DNA extraction

* 基金项目: 厦门大学预研基金资助

收稿日期: 2004 - 01 - 12, 2004 - 05 - 24 接受发表

作者简介: 徐虹 (1973 -) 女, 讲师, 在职博士, 主要研究方向为植物生理与分子生物学。

E-mail: xuhongxm@sohu.com

樟科樟属的一些植物如肉桂 (*Cinnamomum cassia* Presl.)、锡兰肉桂 (*C. zeylanicum* Bl.)、阴香 (*C. burmannii* (C. G. et Th. Nees) Bl.) 等属于分子生物学家所称的顽拗植物 (recalcitrant plant) (Vrohbid 等, 1996)。它们的细胞内含有大量的多糖、多酚、鞣质以及桂皮醛、桂皮酸等次生代谢物。这些次生代谢产物, 不仅能干扰 DNA 的提取过程, 影响 DNA 的得率, 还能与 DNA 发生不可逆的结合 (尤其是多酚氧化后产物), 影响 DNA 的质量, 使提取的 DNA 样品呈棕褐色, DNA 溶液粘稠, 这种不纯的 DNA 既不能被内切酶酶切, 也不能作为 PCR 模板, 不能用于常规的分子生物学分析和研究 (Shioda 等, 1987; 邹喻苹等, 1994; Khanuja 等, 1999)。因此, 如何从这些植物中取得适于分子遗传分析和鉴定的高纯度基因组 DNA 是一个亟待解决的问题。虽然目前国内外针对多种顽拗植物基因组 DNA 的提取进行了大量的研究, 提出了许多改进方法 (Couchu & Fritz, 1990; Vrohbid 等, 1996; Peterson 等, 1997; Khanuja 等, 1999; 项艳等, 2001; Zeng 等, 2002; 洪付祥等, 2002; 丁晓东和吕柳新, 2002; 罗军武等, 2002; 郭金英等, 2002; 王传堂等, 2002), 但这些技术方法只是针对某种或某类植物而言, 不同的顽拗植物所含的次生代谢物种类和含量不同, 因此改进的方法也存在差异, 不能普遍适用。我们曾采用常规的 CTAB 法、高盐低 pH 法、尿素法以及针对西南桦 (Zeng 等, 2002)、鹤望兰 (洪付祥等, 2002)、荔枝 (丁晓东和吕柳新, 2002)、番茄 (Peterson 等, 1997)、茶叶 (罗军武等, 2002) 等顽拗植物而改进的方法提取过肉桂、锡兰肉桂、阴香的基因组 DNA, 均未获得满意的效果。本研究就以这 3 种樟科植物为实验材料, 参照前人的研究对植物 DNA 提取的几种方法进行了改进和比较研究, 确定了一种针对这类植物提取高质量基因组 DNA 的方法。

1 材料与方法

1.1 材料

肉桂、锡兰肉桂、阴香的新鲜叶片均取自厦门亚热带植物研究所, 原植物由厦门大学生命科学学院张尧挺教授和厦门亚热带植物研究所胡宏友博士鉴定。

1.2 主要试剂

CTAB、SDS、尿素、Tris 碱、EDTA、PVP、RNase、Primer S477、dNTP、Taq 聚合酶、 β -巯基乙醇等试剂均购自上海生工生物工程技术有限公司。

1.3 样品 DNA 提取方法

1.3.1 常规 CTAB 提取法 参照顾红雅和瞿礼嘉 (1998) 的方法进行。

1.3.2 改良 CTAB 提取法 参照 Zeng 等 (2002) 和 Couchu & Fritz (1990) 的方法加以改进。取 1.0 g 新鲜叶片用液氮研磨, 磨碎后加入 5 倍体积的 3 × CTAB 缓冲液 (100 mmol/L Tris-HCl pH 8.0, 20 mmol/L EDTA, 1.4 mol/L NaCl, 3% CTAB, 2% β -巯基乙醇, 5% PVP), 65 °C 温育 30 min, 加入 1/5 倍体积的 7.5 mol/L NH₄Ac, 颠倒混匀, 冰浴 30 min, 10 000 r/min 离心 5 min, 将上清液吸入另一离心管, 用等体积的酚, 酚:氯仿:异戊醇 (25:24:1), 氯仿:异戊醇 (24:1) 各抽提 1 次, 然后加入等体积的异丙醇室温沉淀 1 h, 10 000 r/min 离心 15 min, 弃上清, 所得沉淀分别用 70% 的乙醇和无水乙醇洗涤 2 次, 沉淀吹干后用 500 μ l 高盐 TE (1.0 mol/L NaCl, 10 mmol/L Tris-HCl pH 8.0, 1 mmol/L EDTA) 溶解, 加入 RNase, 37 °C 温育 30 min, 再用等体积的氯仿:异戊醇 (24:1) 抽提 1 次, 用 2 倍体积的冰预冷无水乙醇于 -20 °C 沉淀 30 min, 沉淀用 70% 的乙醇和无水乙醇洗涤两次后用 300 μ l TE 溶液 (10 mmol/L Tris-HCl pH 8.0, 1 mmol/L EDTA) 溶解。

1.3.3 常规高盐低 pH 法 参照邹喻苹等 (1994) 的方法进行。

1.3.4 改良高盐低 pH 法 参照邹喻莘等 (1994) 的方法加以改进。取 1.0 g 新鲜叶片用液氮研磨, 磨碎后加入 5 倍体积的提取缓冲液 (100 mmol/L 醋酸钠, 50 mmol/L EDTA, 500 mmol/L NaCl, 5 % PVP, 3 % SDS, 2 % - 巯基乙醇, pH 5.5), 65 °C 温育 30 min, 加入 1/5 倍体积的 7.5 mol/L NH₄Ac, 颠倒混匀, 冰浴 30 min, 10 000 r/min 离心 5 min, 取上清加入 1/3 倍体积的 5 mol/L 醋酸钾 (pH 4.8), 颠倒混匀, 冰浴 20 min, 用等体积的酚 氯仿 异戊醇 (25:24:1) 和氯仿 异戊醇 (24:1) 各抽提 1 次, 然后加入等体积的异丙醇室温沉淀 1 h, 15 000 r/min 离心 15 min, 所得沉淀用 70 % 的乙醇和无水乙醇洗涤两次、吹干后用 500 μl 高盐 TE 溶解, 加入 RNase, 37 °C 温育 30 min, 再用等体积的氯仿 异戊醇 (24:1) 抽提 1 次, 用 2 倍体积的冰预冷无水乙醇于 -20 °C 沉淀 30 min, 沉淀用 70 % 的乙醇和无水乙醇洗涤两次后用 300 μl TE 溶解, 4 °C 保存。

1.3.5 常规尿素提取法 参照傅荣昭等 (1994) 的方法进行。

1.3.6 改良尿素提取法 参照 Tan 等 (1998) 的方法加以改进。取 1.0 g 新鲜叶片, 加入 5 倍体积的提取缓冲液 (8 mol/L 尿素, 0.5 mol/L NaCl, 50 mmol/L Tris-HCl pH 8.0, 20 mmol/L EDTA, 5 % Sarcosyl, 5 % 酚, 1.5 % - 巯基乙醇, 5 % PVP), 65 °C 温育 30 min 后, 加入 1/5 倍体积的 7.5 mol/L NH₄Ac, 颠倒混匀, 冰浴 30 min, 10 000 r/min 离心 5 min, 将上清液吸入另一离心管, 加入等体积的酚, 酚 氯仿 异戊醇 (25:24:1), 氯仿 异戊醇 (24:1) 各抽提 1 次, 然后用等体积的异丙醇室温沉淀 1 h, 15 000 r/min 离心 15 min, 所得沉淀用 70 % 的乙醇和无水乙醇洗涤后用 500 μl 高盐 TE 溶解, 加入 RNase, 37 °C 温育 30 min, 再用等体积的氯仿 异戊醇 (24:1) 抽提 1 次, 用 2 倍体积的冰预冷无水乙醇于 -20 °C 沉淀 30 min, 沉淀用 70 % 的乙醇和无水乙醇洗涤两次后用 300 μl TE 溶解, 4 °C 保存。

1.4 DNA 鉴定

1.4.1 紫外检测 将所得 DNA 提取液稀释 100 倍, 于紫外分光光度计 (Beckman UN-240) 上测定波长 260 nm、280 nm 处的吸光度。根据 A₂₆₀/A₂₈₀ 的值判断 DNA 纯度, 以 A₂₆₀ 的值计算 DNA 浓度并计算出 DNA 得率。

1.4.2 电泳检测 将所得 DNA 于 0.8 % 琼脂糖凝胶中进行电泳, 用 LabWorks 凝胶成像分析系统扫描电泳结果, 并判断 DNA 浓度及分子量大小。

1.4.3 PCR 扩增检测 以 3 种改良法提取的样品 DNA 为模板, 用 RAPD 引物 S477 进行 PCR 扩增。50 μl 反应体系中含 DNA 模板 50 ng, 引物浓度为 0.5 μmol/L, 5 μl 10 × Buffer, 2.0 mmol/L MgCl₂, 0.2 mmol/L dNTP, 3U Taq DNA 酶, 加水至 50 μl, 反应程序为: 94 °C, 预变性 5 min; 94 °C, 变性 45 s, 37 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 90 s, 45 cycles; 72 °C 延伸 5 min。产物以 0.8 % 琼脂糖凝胶电泳, 以 DNA/EcoRI + Hind III 为分子量标记。

1.4.4 酶切检测 在 37 °C 条件下, 用 EcoRI 过夜酶切 3 种改良法提取的 DNA 样品。酶切产物以 0.8 % 琼脂糖凝胶电泳, 以 DNA/EcoRI + Hind III 为分子量标记。

2 结果与分析

2.1 紫外检测

樟科樟属植物肉桂、锡兰肉桂、阴香含有大量的多糖、鞣质、多酚等多种次生代谢产物, 采用常规的 CTAB 法、SDS 法、高盐低 pH 法、尿素法提取总 DNA 时, 都不能很好的除掉这些物质, 导致提取分离出的 DNA 由于不可逆的结合了这些次生代谢物而呈棕褐色, 且难以溶解, 不能用于 PCR 扩增和酶切等分子生物学研究。我们采用改进的 CTAB 法和高盐低 pH 法提取这类植物的基因组 DNA, 能有效除去细胞内次生代谢物, 阻止它们与 DNA 的结合, 使所得的 DNA 溶液呈浅黄色或无色。而用改进的尿素法则不能很好的除掉这些次生代谢物, 所得的 DNA 沉淀呈棕褐色, DNA 溶液粘稠。将这 3 种改进方法所提取的 DNA 溶解后, 稀释 100 倍, 进行紫外检测, 通过测定其 A₂₆₀、A₂₈₀, 来判断其纯度和得率。结果见表 1。

由表 1 中可知用常规方法所提的 DNA 纯度低, 不符合分子生物学操作要求。而在 3 种

表 1 不同提取法获得的肉桂基因组 DNA 质量

Table 1 Quality and yield of the genomic DNA with different methods

		A_{260}/A_{280}	DNA 得率 ($\mu\text{g/g}$)
			DNA yield ($\mu\text{g/g}$)
高盐低 pH 法 LPHS method	肉桂 (<i>C. cassia</i> Presl.)	1.438	237.31
	锡兰肉桂 (<i>C. zeylanicum</i>)	1.374	185.27
	阴香 (<i>C. burmannii</i>)	1.305	180.29
改良高盐低 pH 法 Modified LPHS method	肉桂 (<i>C. cassia</i> Presl.)	1.715	207.29
	锡兰肉桂 (<i>C. zeylanicum</i>)	1.611	187.62
	阴香 (<i>C. burmannii</i>)	1.652	160.78
CTAB 法 CTAB method	肉桂 (<i>C. cassia</i> Presl.)	1.387	63.51
	锡兰肉桂 (<i>C. zeylanicum</i>)	1.293	47.27
	阴香 (<i>C. burmannii</i>)	1.279	42.65
改良 CTAB 法 Modified CTAB method	肉桂 (<i>C. cassia</i> Presl.)	1.861	81.28
	锡兰肉桂 (<i>C. zeylanicum</i>)	1.833	54.74
	阴香 (<i>C. burmannii</i>)	1.917	53.19
尿素法 Urea method	肉桂 (<i>C. cassia</i> Presl.)	1.164	147.18
	锡兰肉桂 (<i>C. zeylanicum</i>)	1.039	130.92
	阴香 (<i>C. burmannii</i>)	1.073	135.16
改良尿素法 Modified urea method	肉桂 (<i>C. cassia</i> Presl.)	1.323	140.67
	锡兰肉桂 (<i>C. zeylanicum</i>)	1.315	136.64
	阴香 (<i>C. burmannii</i>)	1.386	129.83

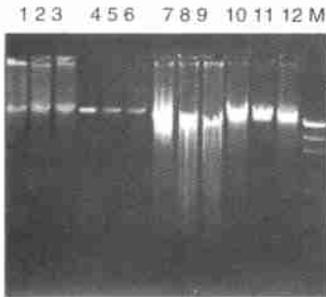


图 1 DNA 的凝胶电泳分析

1 - 3. 常规 CTAB 法提的肉桂、锡兰肉桂和阴香 DNA；
4 - 6. 改良 CTAB 法提的肉桂、锡兰肉桂和阴香 DNA；
7 - 9. 改良尿素法提的肉桂、锡兰肉桂和阴香 DNA；
10 - 12. 改良高盐低 pH 法提的肉桂、锡兰肉桂和阴香 DNA；M: DNA/Hind

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of total DNA

1 - 3. DNA of *C. cassia*, *C. zeylanicum* and *C. burmannii* extracted by conventional CTAB method; 4 - 6. DNA of *C. cassia*, *C. zeylanicum* and *C. burmannii* extracted by modified CTAB method; 7 - 9. DNA of *C. cassia*, *C. zeylanicum* and *C. burmannii* extracted by modified urea method; 10 - 12. DNA of *C. cassia*, *C. zeylanicum* and *C. burmannii* extracted by modified LPHS method; Marker: DNA/Hind

改良方法中，CTAB 法所提取的 DNA 纯度最高，高盐低 pH 法所提的 DNA 得率最高，但纯度却不如 CTAB 法，改良尿素法提取的 DNA 不仅得率低、纯度也不高， $A_{260}/A_{280} = 1.315 \sim 1.386 < 1.80$ ，不符合分子生物学研究的要求。因此，认为改良的 CTAB 法是提取肉桂、锡兰肉桂、阴香这类樟科樟属植物总 DNA 的最佳方法，所提取的 DNA 不仅纯度高， $A_{260}/A_{280} > 1.80$ ，DNA 产率也较高，可达 54.74 - 81.28 $\mu\text{g/g}$ ，符合分子生物学研究要求。

2.2 电泳检测

由于受多糖、多酚等次生代谢物的影响，用 3 种常规方法分离提取的 DNA 产率低，质量差，在进行琼脂糖凝胶电泳时呈片状弥散分布，且有大量 DNA 被阻滞在点样孔不能泳出。用改进的 CTAB 法、高盐低 pH 法所提取的 DNA 完整性好，降解程度低，在电泳时主带清晰，分子量大于 20 kb，符合 PCR 扩增的模板要求。而改进的尿素法虽然也能除去部分次生代谢物，但获得的 DNA 仍呈深棕色，电泳时仍有部分 DNA 阻滞在点样孔，且降解扩散较为严重，不适合分子生物学研究（图 1）。

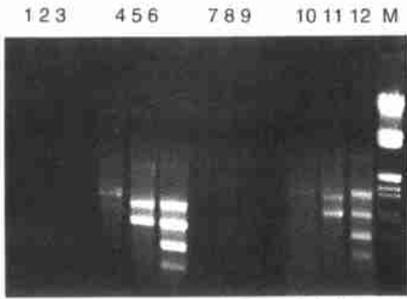


图2 RAPD 扩增结果 (S477)

1-3. 常规 CTAB 法提的阴香、锡兰肉桂和肉桂；4-6. 改良 CTAB 法提的阴香、锡兰肉桂和肉桂；7-9. 改良尿素法提的阴香、锡兰肉桂和肉桂；10-12. 改良高盐低 pH 法提的阴香、锡兰肉桂和肉桂；M: λ DNA/EcoRI + Hind III

Fig. 2 Results of RAPD amplification (S477)

1-3. DNA of *C. burmannii*, *C. zeylanicum* and *C. cassia* extracted by conventional CTAB method; 4-6. DNA of *C. burmannii*, *C. zeylanicum* and *C. cassia* extracted by modified CTAB method; 7-9. DNA of *C. burmannii*, *C. zeylanicum* and *C. cassia* extracted by modified urea method; 10-12. DNA of *C. burmannii*, *C. zeylanicum* and *C. cassia* extracted by modified LPHS method; Marker: λ DNA/EcoRI + Hind III



图3 EcoRI 酶切分析

1-3. 常规 CTAB 法提的阴香、锡兰肉桂和肉桂；4-6. 改良 CTAB 法提的阴香、锡兰肉桂和肉桂；7-9. 改良尿素法提的阴香、锡兰肉桂和肉桂；10-12. 改良高盐低 pH 法提的阴香、锡兰肉桂和肉桂；M: λ DNA/EcoRI + Hind III

Fig. 3 Restriction digestion of the total DNA with EcoRI

1-3. DNA of *C. burmannii*, *C. zeylanicum* and *C. cassia* extracted by conventional CTAB method; 4-6. DNA of *C. burmannii*, *C. zeylanicum* and *C. cassia* extracted by modified CTAB method; 7-9. DNA of *C. burmannii*, *C. zeylanicum* and *C. cassia* extracted by modified urea method; 10-12. DNA of *C. burmannii*, *C. zeylanicum* and *C. cassia* extracted by modified LPHS method; Marker: λ DNA/EcoRI + Hind III

2.3 PCR 扩增和酶切检测

从肉桂、锡兰肉桂、阴香中提取 DNA 是为了能进行分子生物学分析和鉴定，但用常规方法提取的 DNA 由于与多糖、多酚等次生代谢物发生了不可逆的结合，而不能被限制性内切酶和 Taq DNA 聚合酶所识别，导致酶切和 PCR 扩增失败（图 2, 3）。而我们采用的 3 种改进方法对多糖和多酚等物质的去除效果不同，也就导致了所提 DNA 的质量存在差异。用 Taq DNA 聚合酶和限制性内切酶 EcoRI 分别对 3 种改进方法所提的 DNA 进行 RAPD 扩增和酶切检测。结果表明改进的 CTAB 法所提的 3 种样品 DNA 都能扩增出清晰、稳定的条带，且实验结果重复性好；改进的高盐低 pH 法虽然也能扩增出带，但扩增效果不好，条带模糊，扩增结果也不太稳定，经常出现弱扩增；而改进的尿素法所提取的 DNA 则无扩增（图 2）。用这 3 种改进法所提的 DNA 都能被限制性内切酶 EcoRI 不同程度的酶切，其中改进 CTAB 法所提的 DNA 酶切效果最好，能被 EcoRI 完全酶切，降解产物在琼脂糖凝胶电泳中呈片状弥散分布，无清晰可见的大分子 DNA 条带；而改进的高盐低 pH 法和尿素法所提的 DNA 虽也能被 EcoRI 酶切，但效果不好，经 EcoRI 过夜酶切后只发生了 DNA 的不完全降解，在约 20 kb 的位置仍可见有清晰的 DNA 条带存在（图 3）。由此可见，用改进 CTAB 法所提基因组 DNA 质量最好，能用于 PCR 扩增和限制性内切酶酶切，适合分子生物学分析和研究。

3 小结

获取高质量的 DNA 是分子生物学研究的基础,而在提取过程中,多糖、多酚以及其它次生代谢物时常产生严重干扰。通常采取的是加入多酚络合物 PVP (聚乙烯吡咯烷酮)及抗氧化剂 - 巯基乙醇、VitC、DTT (二硫苏糖醇) 和亚硫酸钠等方法,以防止多酚物质氧化成醌类,避免褐变的发生。

肉桂、阴香和锡兰肉桂这类植物中也含有大量的多糖、鞣质、多酚等次生代谢物,常规方法提取会使这些物质与 DNA 发生不可逆的结合而使 DNA 呈褐色、粘稠,影响 DNA 质量。另外,在提取过程中经裂解液处理后,细胞破碎,次生代谢物被释放出来,使提取液变得异常粘稠,难以操作,这不仅给提取工作带来了很大困难,并且在沉淀过程中这些粘稠物质会包裹 DNA 一起沉淀形成粘稠的胶状物,导致提取的 DNA 质量差,溶解困难。为解决这些问题,我们在提取过程中参考前人的研究结果,在提取缓冲液中加入 5% PVP 和 2% - 巯基乙醇,结果能较好的防止氧化褐变的发生,使 DNA 溶液的颜色明显变浅。而针对提取液粘稠的问题,我们也曾采取过目前普遍使用的多次洗涤和核质分离的方法,但程序繁琐,收效甚微。于是我们参照 Couchu & Fritz (1990) 的方法,在 65 °C 核裂解以后加入 NH₄Ac 冰浴处理。结果发现,提取液经 NH₄Ac 冰浴处理后再用酚:氯仿抽提,粘性即大大降低,而抽提两次后粘性基本消失,所得 DNA 沉淀为白色絮状而非粘稠胶状。如适当延长 NH₄Ac 冰浴处理时间将会使解粘效果更显著。经过这些改进后,我们发现在整个提取过程中操作变得容易,所提 DNA 的质量也大大提高,比改进前的常规法要好很多。通过紫外检测、凝胶电泳、PCR 扩增及酶切检测表明,在 3 种改进法中以 CTAB 法提取的 DNA 质量最好,纯度最大,也最易溶解,所提的 DNA 能被限制性内切酶酶切和进行 PCR 扩增,适于分子生物学研究。

〔参 考 文 献〕

- 罗军武, 沈程文, 施兆鹏等, 2002. 茶叶基因组 DNA 提取纯化技术研究 [J]. 茶叶通讯, 4: 20—24
- 顾红雅, 瞿礼嘉, 1998. 植物分子生物学手册 [M]. 北京: 高等教育出版社, 3—12
- 傅荣昭, 孙勇如, 贾士荣, 1994. 植物遗传转化手册 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 131—136
- Couchu JA, Fritz B, 1990. Isolation of DNA from plants high in polyphenolics [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 8: 8—12
- Ding XD (丁晓东), Lü LX (吕柳新), 2002. Study on genomic DNA extraction from recalcitrant *Litchi* [J]. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 8 (2): 142—145
- Guo JY (郭金英), Fan CH (范崇辉), Wang LR (王力荣), et al, 2002. Comparison of genomic DNA extraction methods in peach [J]. *J Fruit Sci* (果树学报), 19 (3): 205—207
- Hong FX (洪付祥), Xu JS (徐金森), Xiong LY (熊玲媛), et al, 2002. Modified methods for DNA extraction from *Strelitzia reginae* banks [J]. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 8 (4): 366—370
- Khanuja SPS, Shasany AK, Darokar MP, et al, 1999. Rapid isolation of PCR amplifiable DNA from the dry and fresh sample of plant producing large amounts of secondary metabolites and essential oils by modified CTAB procedure [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 17: 1—3
- Peterson DG, Boehm KS, Stack SM, 1997. Isolation of milligram quantities of nuclear DNA from tomato (*Lycopersicon esculentum*), a plant containing high levels of polyphenolic compounds [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 15: 148—151
- Shioda M, Maraka M, Muofushi K, 1987. Selective inhibition of DNA polymerase by a polysaccharides purified from slime of *Phsarum polcephalum* [J]. *Bilphys Res Commun*, 146: 61—66

- Tan SL, Dossett M, Katze MG, 1998. Extraction of genomic DNA suitable for PCR analysis from dried plant rhizomes/roots [J]. *Biotech*, **25** (5): 796—801
- Vrohbi I, Harvengt L, Chandelier A, *et al*, 1996. Improved RAPD amplification of recalcitrant plant DNA by the use activated charcoal during DNA extraction [J]. *Plant Breed*, **115**: 205—206
- Wang CT (王传堂), Huang Y (黄粤), Yang XD (杨新道), *et al*, 2002. Isolation of DNA from peanut: comparison between modified CTAB and high salt, low pH methods [J]. *J Peanut Sci* (花生学报), **31** (3): 20—23
- Xiang Y (项艳), Zhu SW (朱苏文), Chen BJ (陈备久), 2001. Comparative research on several isolation and purification method for genomic DNA of Chinese chestnut [J]. *J Anhui Agric Univ* (安徽农业大学学报), **28** (10): 36—39
- Zeng J, Zou YP, Bai J Y, *et al*, 2002. Preparation of total DNA from "recalcitrant plant taxa" [J]. *Acta Bot Sin*, **44** (6): 694—697
- Zou YP (邹喻苹), Wang XQ (汪小全), Lei YD (雷一丁), *et al*, 1994. Isolation and characterization of total DNA from several endangered species and their allies [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), **36** (7): 528—533

* * * * *

欢迎订阅《中国天然药物》

《中国天然药物》(Chinese Journal of Natural Medicines) 是由中国药科大学与中国药学会共同主办的国家级药学学术期刊, 2003 年 5 月创刊。本刊以科学前沿与国家战略需求相结合, 以报道来自天然产物的先导化合物的发现及其药效为重点, 旨在通过多学科基础与应用基础研究, 为具有我国独特优势的中药、草药、海洋药物、生化药物、微生物药物、民族药物、民间药物的创新研究提供学术载体, 是我国天然药物研究领域进行国内外交流的重要窗口。

本刊主要报道天然药物学科创新性成果, 辟有药学前沿、综述、论文、简报、思路与方法、技术交流、快报、热点聚焦、药事法规、临床研究等栏目; 登载中药学、天然药物化学、药剂学、药物分析学、药理学、毒理学、生物化学、微生物学、分子生物学及其相关学科的研究原著, 刊物体现了前沿性、权威性、学术性、科学性、可读性的特点。

《中国天然药物》坚持学术质量, 刊登国家重大基金项目论文比例高达 70%, 国内外学术影响不断扩大, 目前本刊已被国际四大权威检索数据库美国化学文摘 (CA)、国际药理学文摘 (IPA)、荷兰医学文摘 (EMBASE)、俄罗斯《文摘杂志》收录为来源期刊; 同时被中国核心期刊 (遴选) 数据库、科技论文统计源期刊、中国学术期刊光盘版、中文科技期刊数据库、万方数据库、中国药理学文摘、中国生物学文摘等国内权威检索数据库收录, 是我国药学领域高水平学术期刊。在高等院校、科研机构、制药企业、药检部门、医疗单位拥有众多读者群。

本刊为双月刊, A4 开本, 逢单月 20 日出版, 国内外公开发行。国内定价每期 15 元, 全年 90 元。国内统一刊号: CN 32-1708/R, 国际连续出版物号 ISSN: 1672-3651。

欢迎到当地邮局订阅, 邮发代号: 28-306, 漏订者可向编辑部补订。

地址: 南京市童家巷 24 号《中国天然药物》编辑部 邮编: 210009

电话: 025-83271565/8 传真: 025-83271229

电子信箱: zgtryw@sohu.com zgtryw@cpu.edu.cn

网址: <http://zgtr.chinajournal.net.cn>