

关 玲,赵密珍,王庆莲,等. 改良 CTAB 方法提取果树不同组织的 RNA[J]. 江苏农业科学,2018,46(15):19-22.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.15.005

# 改良 CTAB 方法提取果树不同组织的 RNA

关 玲<sup>1</sup>,赵密珍<sup>1</sup>,王庆莲<sup>1</sup>,吴伟民<sup>1</sup>,钱亚明<sup>1</sup>,巫建华<sup>2</sup>

(1. 江苏省农业科学院果树研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室,江苏南京 210014;

2. 江苏现代园艺工程技术中心,江苏句容 212400)

**摘要:**果树多富含多酚、多糖等次生代谢物质。为了解决果树 RNA 提取工作较为困难的现象,拟改良现有的十六烷基三甲基溴化铵(hexadecyl trimethyl ammonium bromide,简称 CTAB)方法,以将其用于提取多年生草本、藤本及木本果树 RNA。经非变性琼脂糖凝胶电泳检测,表明应用该方法可以获得清晰明亮的 RNA 条带;经核酸分析发现,所提取的 RNA 的  $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$  值均在 1.80~1.93 之间,表明该方法可以去除果树中的蛋白质; $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$  值为 2.03~2.27,表明该方法可以去除果树中的多糖及小分子盐离子。结果表明,应用改良后的 CTBA 方法提取果树不同组织 RNA 所得到的反转录 cDNA 可以直接用于后续的逆转录 PCR(RT-PCR)试验。

**关键词:**果树;CTAB;RNA 提取;荧光定量 RT-PCR

**中图分类号:**S601;S188 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)15-0019-04

果树作为重要的园艺作物,在国民生产中占有重要地位。分子生物学研究作为有效的试验工具,被广泛应用于果树研究中<sup>[1-3]</sup>。同时,随着果树基因组数据的逐渐丰富,越来越多的果树物种基因组信息得到了注释,因此,开展果树分子生物学研究,对于挖掘功能基因以及通过基因工程等手段实现为果树育种服务的目标被越来越多的果树育种工作者接受<sup>[4-6]</sup>。

RNA 的提取作为分子生物学研究的基础步骤,其成熟度较为重要。果树作为多年生木本或草本植物,因其多年生的特点,多富含多糖、多酚等次生代谢物质,使其 RNA 的提取及纯化工作较为困难<sup>[7]</sup>。生物试剂盒对于分子生物学研究具有快速、简便的优点,但当今市场上尚没有针对果树物种 RNA 提取的试剂盒,并且利用广谱的植物 RNA 提取试剂盒提取果树物种 RNA 具有不稳定的特点。常用的传统 RNA 提取方法有 TRIzol 方法、苯酚法、氯化锂沉淀法、异硫氰酸胍法及十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate,简称 SDS)/酚抽提方法<sup>[8-11]</sup>,以上方法具有价格昂贵、费时费力的特点,且得到的果树 RNA 产量较少<sup>[12]</sup>。此外,笔者通过试验对比发现,TRIzol 方法多适用于草本植物,不适用于木本植物材料的 RNA 提取。本试验通过对十六烷基三甲基溴化铵(hexadecyl trimethyl ammonium bromide,简称 CTAB)法的进一步改良,得到通用于提取果树不同代表物种如草莓(草本)、苹果(木本)以及葡萄(藤本)不同组织 RNA 的方法。本研究以期通过对比不同 RNA 提取方法和进一步改进已有的 CTAB 提取方法,

为果树分子生物学研究提供基础、准确的 RNA 提取方法,从而方便果树研究者进行后续研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本试验所用材料草莓、葡萄均取自江苏省农业科学院园艺研究所试验田,草莓(*Fragaria × ananassa* Duch.)品种为宁玉<sup>[13]</sup>,定植时期为 2014 年 9 月初;葡萄(*Vitis* L.)的组培苗、大田苗品种皆为红宝石无核,其中组培苗为胚挽救后代种苗,大田苗为 5 年生植株;苹果材料采自山东省临沂市平邑县一年生苹果(*Malus domestica*)砧木 M9。用于 RNA 提取的草莓、苹果和葡萄的组培苗材料均采集根、茎、叶(图 1-A、图 1-B、图 1-C)3 种组织;于葡萄大田苗上采集根、茎、叶、果皮和果肉(图 1-D)5 种组织,所采集的样品应尽量呈幼嫩状态并立即置于液氮中带回实验室,放置于 -70℃ 冰箱中待用。

### 1.2 试剂与仪器

1.2.1 改进后的 CTAB 裂解液母液的配制成分 (1)5 mol/L NaCl(使用浓度为 1.4 mol/L)。(2)0.5 mol/L EDTA·2Na(pH 值为 8.0,使用浓度为 20 mmol/L)。用磁力搅拌器剧烈搅拌,加入 NaOH 调节 pH 值到 8.0 时,EDTA·2Na 方可溶解。(3)1 mol/L Tris-HCl(pH 值为 8.0,使用浓度为 0.1 mol/L),用 HCl 调节 pH 值至 8.0。(4)2% (质量浓度)CTAB。(5)2% (质量浓度)聚乙烯吡咯烷酮 K-30 (polyvinylpyrrolidone K-30,简称 PVP K-30)。以 100 mL 为例,用适量体积的上述各组分母液配制 CTAB 裂解液:28 mL NaCl,4 mL EDTA·2Na,1 mL Tris-HCl,2 g CTAB,2 g PVP,用 RNase free ddH<sub>2</sub>O 定容。

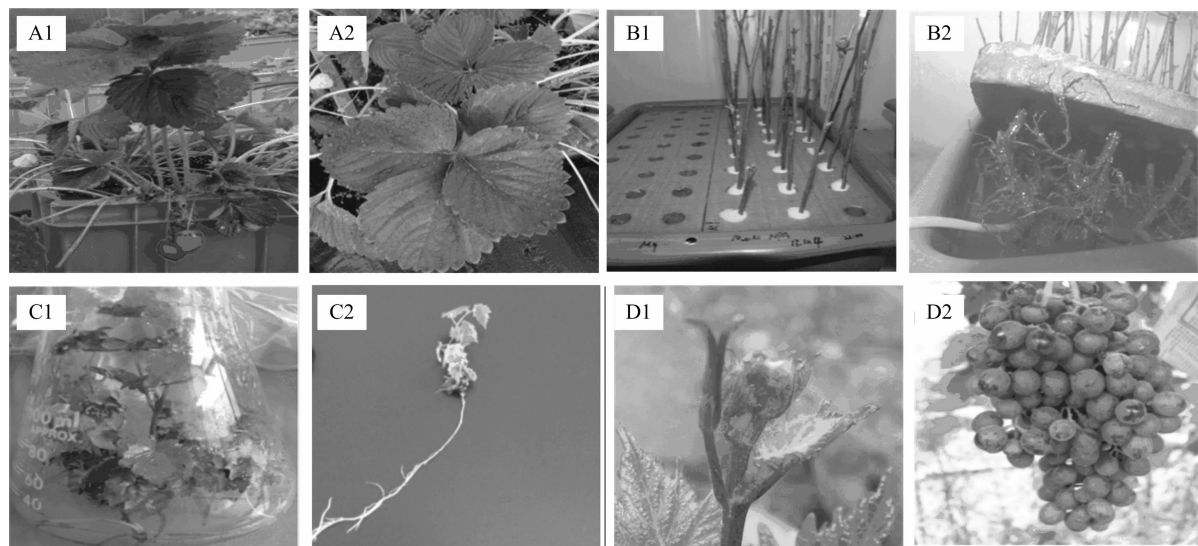
1.2.2 其他组分及试剂 (1)10 mol/L LiCl(LiCl 易吸潮,需快速操作,注意溶解放热烫);(2)3 mol/L NaAc(pH 值 5.2);(3) $\beta$ -巯基乙醇,使用浓度为 1%;(4)70% (体积分数)乙醇;(5)三氯甲烷+异戊醇(体积比 24:1);(6)水饱和酚(pH 值 4.5);(7)无水乙醇;(8)ddH<sub>2</sub>O(RNase free)。

收稿日期:2017-03-09

基金项目:国家自然科学基金(编号:31601738);江苏省农业科学院院级基金(编号:6111641)。

作者简介:关 玲(1987—),女,吉林四平人,博士,助理研究员,主要从事草莓发育分子生物学研究。Tel:(025)84390585;E-mail:guanling@jaas.ac.cn。

通信作者:赵密珍,硕士,研究员,主要从事草莓资源与新品种选育研究。Tel:(025)84390219;E-mail:njzhaomz@163.com。



A1、A2—草莓宁玉；B1、B2—苹果砧木M9材料；C1、C2—葡萄红宝石无核胚挽救后代组培苗；  
D1、D2—葡萄红宝石无核大田苗

图1 用于 RNA 提取的草本、木本及藤本果树材料

配制各组分试剂均使用 ddH<sub>2</sub>O, 配制完毕后加入外源 RNA 酶清除剂处理 24 h 待用。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 果树 RNA 提取的操作步骤** (1) 取待提取 RNA 试材 (除果实外的组织取材质量约为 0.5 ~ 1.0 g, 果实质量为 1.5 ~ 2.0 g), 置于液氮中迅速研磨成粉末, 将 1 000 μL CTAB 裂解液和 20 μL β-巯基乙醇依次加入 2 mL 离心管中, 于 65 ℃ 水浴 30 min (水浴过程中每隔 10 min 将离心管上下颠倒约 30 次, 以保证待提取试材与 CTAB 裂解液充分接触); (2) 加入等体积的三氯甲烷 + 异戊醇 (体积比 24 : 1), 旋涡混匀, 8 000 g, 4 ℃ 离心 10 min; (3) 取 800 μL 上清, 加入 1/2 体积的水饱和酚 (pH 值 4.5), 混匀, 静置 5 min, 再加入 1/2 体积的三氯甲烷 + 异戊醇 (体积比 24 : 1), 旋涡混匀; 8 000 g、4 ℃ 离心 10 min; (4) 取 600 μL 上清 (在 1.5 mL 离心管中操作), 加入 1/30 体积的 NaAc (3 mol/L, pH 值 5.2) 和 1/10 体积的无水乙醇, 混匀后静置 5 min, 8 000 g、4 ℃ 离心 10 min; (5) 取 450 μL 上清, 加入 1/3 体积的 LiCl (10 mol/L), -20 ℃ 静置 2 ~ 3 h; 8 000 g、4 ℃ 离心 15 min; (6) 弃上清, 用 70% 乙醇洗涤沉淀 2 次, 再用无水乙醇洗涤沉淀 1 次, 室温干燥, 将清洗后的沉淀溶于 ddH<sub>2</sub>O (RNase free) 中, 于 -70 ℃ 保存备用; (7) 取 2 μL 总 RNA, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行检测

(电泳仪电压不宜设置过大, 否则会因为产热引起 RNA 样品降解导致检测结果不准确); (8) 将 RNA 样品上 Biophotometer 核酸仪检测, 体系为 1 μL RNA 样品加入 49 μL ddH<sub>2</sub>O (RNase free), RNA 浓度、 $D_{280\text{ nm}}/D_{260\text{ nm}}$  值和  $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$  值直接从仪器上读取。

**1.3.2 基因组 DNA 的消化及反转录** 利用上述方法提取的 RNA 样品中, 存在少许基因组 DNA, 其消化及 cDNA 的合成按照 TaKaRa 公司的 PrimerScript™ RT reagent Kit (TaKaRa, 货号: RR047A) 说明书进行。为确保试验结果的可靠性, 消化及反转录试验需在冰上进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 RNA 琼脂糖电泳检测

RNA 产物使用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测, 图 2 结果显示, 经过改进的 CTAB 法提取多年生草本、木本及藤本果树材料均可获得清晰的 3 条 RNA 条带, 如图 2 分别是 28.0S rRNA、18.0S rRNA、5.8S rRNA 及少量 gDNA (基因组 DNA)。

### 2.2 RNA 纯度检测

利用 Biophotometer 核酸仪对所提取样品 RNA 的吸光度及产量进行检测。结果表明, RNA 样品的  $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$  值均

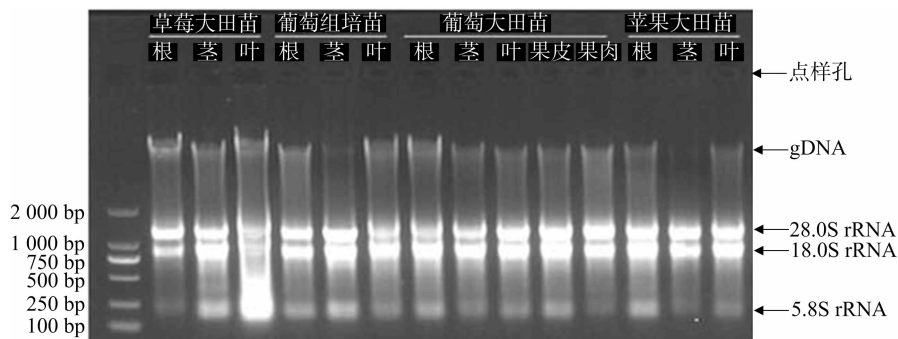


图2 RNA 琼脂糖电泳检测结果

高于 2.0, 具体为 2.03 ~ 2.27 (表 1)。说明利用改进后的 CTAB 法抽提获得的 RNA 所含多糖、酚类及其他小分子物质较少。草莓、苹果大田苗及葡萄组培苗的根、茎、叶片 RNA 的  $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$  值范围为 1.80 ~ 1.93, 葡萄大田苗各组织 RNA 的  $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$  值为 1.80 ~ 1.91, 表明利用本方法抽提获得的果树 RNA 中杂质蛋白质污染较少。不同组织的 RNA 产量情况如下: 根器官 RNA 产量为 600.15 ~ 712.75 ng/ $\mu\text{L}$ ; 茎 RNA 产量为 530.61 ~ 694.54 ng/ $\mu\text{L}$ ; 叶片 RNA 产量为 617.54 ~ 777.53 ng/ $\mu\text{L}$ ; 果皮 RNA 产量为 561.23 ng/ $\mu\text{L}$ ; 果肉 RNA 产量为 40.23 ng/ $\mu\text{L}$ 。

表 1 分光光度法检测 RNA 质量及产量

样品	部位	$D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$ 值	$D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$ 值	产量 (ng/ $\mu\text{L}$ )
草莓大田苗	根	2.10	1.83	712.95
	茎	2.08	1.80	694.54
	叶	2.11	1.84	740.43
葡萄组培苗	根	2.08	1.83	669.45
	茎	2.03	1.89	531.32
	叶	2.22	1.93	735.62
葡萄大田苗	根	2.05	1.81	600.15
	茎	2.14	1.82	590.05
	叶	2.26	1.91	617.54
	果皮	2.06	1.81	561.23
	果肉	2.04	1.80	40.23
苹果大田苗	根	2.13	1.81	700.32
	茎	2.04	1.80	530.61
	叶	2.27	1.86	777.53

注: 吸光度比值为 3 个样品重复的平均值。

综合上述 4 种试材不同组织的  $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$  值及所得 RNA 产量情况, 可以得出草莓、苹果以及葡萄 RNA 的提取在根、茎、叶 3 种营养器官中出现一致的难易度趋势, 即叶片较根容易提取, 两者皆较茎容易提取得到 RNA; 葡萄大田苗生殖器官的 RNA 提取难易程度表现为果皮较果肉容易。

2.3 RNA 提取后的质量检测

为检测 RNA 质量是否满足 RT-PCR 试验, 设计草莓的内参基因 *FvMSII* 的引物如下: F, 5'-TCCCCACACCTTTGATTGCCA-3'; R, 5'-ACACCATCAGTCTCCTGCCAAG-3'。苹果内参基因 18S rRNA 引物如下: F, 5'-GTTACTTTTAGGACTCCGC C-3'; R, 5'-TTCCTTTAAGTTTCAGCCTTG-3'。葡萄内参基因为 *UBI*, F, 5'-GCTCGCTGTTTTGCAGTCTAC-3'; R, 5'-AACATAGCTGAGGCCGCACTT-3'。使用所提取的果树 RNA 进行反转录得到 cDNA, 利用上述引物经 PCR 扩增后, 将产物进行琼脂糖电泳检测 (图 3), 分析结果可知, 利用该方法获得的 RNA 均可用于后续的 RT-PCR 试验。

3 讨论与结论

3.1 RNA 提取前的准备工作

RNA 提取的关键是抑制细胞中的 RNA 分解和防止操作环境中的 RNA 酶污染。因此在试验中应采取以下措施: (1) 使用 70% 乙醇清洁试验操作台; (2) 使用 RNA 操作专用试验台, 或者利用外源 RNA 酶清除剂处理台面及操作用到的所有器具 (研钵、镊子、药匙等); (3) 水浴锅提前预热、离心机提

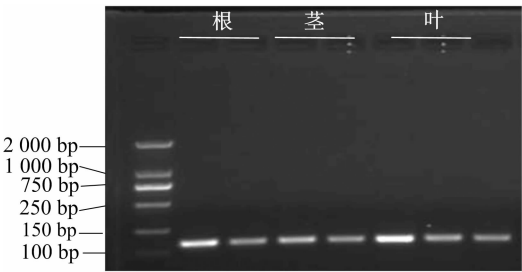


图 3 大田葡萄各组织 RNA 反转录 cDNA 为模板的 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳结果

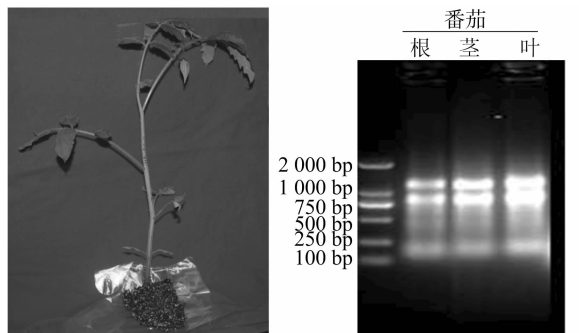
前预冷。通过上述方法主要防止外界环境、空气或者试验者唾液中 RNA 酶的污染。

3.2 改良 CTAB 法的优点

3.2.1 提取液改进 PVP 用量 本试验在 RNA 的提取过程中改进了 PVP 的用量, 不仅能去除果树各组织中的酚类物质和多糖, 还能去除一些其他色素和脂类物质, 同时可以消除泡沫, 保护胶体, 可以提取得到更完整和纯度更高的 RNA 产物。同时与传统的 CTAB 法相比<sup>[12,14]</sup>, 本方法改进了各组分的用量, 如 CTAB 提取液的用量 (1 mL)、 $\beta$ -巯基乙醇的使用浓度 (1%, 体积分数) 和 NaAc 浓度 (3 mol/L), 一方面可以节约成本, 另一方面可以减少如  $\beta$ -巯基乙醇等物质在操作过程中的毒害作用。进一步分析可知, 所提取的 RNA 与传统方法相比, 拥有高纯度 ( $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$  值 > 2.0,  $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$  值 > 1.8) 的特点, 同时 RNA 产量较高 (除果肉 RNA 产量为 40.23 ng/ $\mu\text{L}$  外, 其余材料的产量范围为 530.61 ~ 777.53 ng/ $\mu\text{L}$ ), 其质量及产量均满足后续的 RT-PCR 试验要求。

3.2.2 高效稳定 相对于生物公司销售的成品 RNA 提取试剂盒, 本方法具有操作简便、试验结果可靠性高及节本的特点。笔者所在课题组曾尝试使用多种成品试剂盒提取果树不同组织中的 RNA, 发现效果均不理想。尤其是提取木质化程度较高的果树材料及次生代谢物质含量较高的果树生殖器官 RNA, 如葡萄的果皮和果肉组织。分析其原因可能是在成品试剂盒中, 针对木本果树特有的多酚、多糖的去除技术尚未成熟。同时考虑到果树物种的季节性较强, 样品采集的重复性较差, 应用高效稳定的 RNA 提取方法对于果树分子生物学研究十分重要。笔者通过多次试验, 发现经本研究改进的 CTAB 法具有重复性好、可靠性高的特点, 尤其适用于木本果树的 RNA 提取。本研究分别选取草本、木本及藤本果树的不同营养器官及生殖器官开展研究, 进一步验证了改进后的 CTAB 法可用于不同类型果树各组织 RNA 的提取, 从而为果树分子生物学研究提供了高效稳定的 RNA 提取方法。

3.2.3 CTAB 法与 TRIzol 方法的比较 笔者曾利用灵敏且快捷的 TRIzol 方法对苹果材料不同组织的 RNA 进行提取, 结果均不理想 (只有幼嫩的叶片材料可获得少量的 RNA, 其他木质化程度较高的材料均无法获得 RNA)。利用 TRIzol 方法提取拟南芥以及果树研究中的果实模式植物——番茄却可以得到理想结果 (图 4), 但成品 TRIzol 试剂价格昂贵。笔者分析其原因, 可能是木本果树中的多酚等次生代谢物质阻碍了 TRIzol 试剂对果树组织内 RNA 的分离, 但是应用 TRIzol 方法提取其他草本植物 RNA 仍不失为一种优良方法。基于此, 笔



A. 番茄RNA的原始材料

B. 琼脂糖电泳检测结果

图4 TRIzol 方法提取果实模式植物 RNA 的结果

者提出,本研究中改进的 CTAB 法适用于木本果树材料,同时对于珍稀材料或者采集重复性较差的试验样品使用该方法可提高稳定性,减少材料损失。

3.2.4 外源 RNA 酶清除剂替代焦碳酸二乙酯 (diethyl pyrocarbonate, 简称 DEPC) 处理 利用上述外源 RNA 酶清除剂可以较快速地去掉所用试剂、器具及 RNA 提取环境中的 RNA 酶,与传统的 DEPC 处理方法<sup>[15]</sup>相比,可以省去繁琐的高温灭菌步骤,且外源 RNA 酶清除剂的使用,具有快速、操作简便及无毒的特点。

3.3 果树 RNA 提取过程中可能出现的问题及对策

3.3.1 琼脂糖凝胶点样孔模糊或  $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$  值非正常范围 正常提取所得 RNA 的  $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$  值  $\geq 2$ ,若该值偏小或琼脂糖凝胶点样孔模糊,说明所提取的 RNA 样品中有杂质多糖、多酚或其他盐类小分子物质。本试验材料的  $D_{260\text{ nm}}/D_{230\text{ nm}}$  值范围为 2.03 ~ 2.27。可见利用该方法在提取液中加入较高质量浓度的 PVP,能够有效地去除果树组织中的酚类、多糖等次生代谢物质,同时提高 RNA 的完整性和纯度。

3.3.2 提取样品 RNA 呈现褐色 本研究提取的试材不新鲜,存在褐化,或由于研磨过程中未能保持样品处于液氮中,抑或由于研磨所得的样品在装入离心管之前未在管中及时添加  $\beta$ -巯基乙醇,导致研磨样品与空气中的氧气接触,从而使试材中的酚类物质氧化成醌类物质而呈现褐色。解决对策有以下 2 个:一是保证提取试材新鲜并处于超低温环境;二是保证研磨所得样品在装入离心管前加入  $\beta$ -巯基乙醇,以防止样品褐化。此外,整个研磨及装管过程需要操作迅速。

3.3.3  $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$  值及产量  $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$  值正常范围为 1.8 ~ 2.0,其值偏小说明 RNA 样品中有杂质蛋白质污染;其值偏大说明 RNA 降解严重。苯酚在低 pH 值的情况下可促进水相中的蛋白质和 DNA 向有机相分配,从而最大限度地去除总 RNA 中的蛋白质和 DNA,因此在抽提过程中需要加入水饱和酚 (pH 值 4.5)。本试验中葡萄大田苗生殖器官的 RNA 提取难易程度为果肉远难于果皮,分析其原因,可能是果肉中的水分含量较高。操作者在研磨时为降低杂质出现的概率,会加入少量的葡萄果肉材料,导致最终 RNA 产量较少。因此,对于葡萄果实的提取,可以适当增加试材的研磨量 (1.5 ~ 2.0 g),以提高果实的 RNA 产量,从而满足后续试验

要求。

3.3.4 LiCl 选择性地沉淀 RNA 利用该法可以充分去除 RNA 中的 DNA 污染。若样品量允许,可以进行 2 次 LiCl 沉淀。注意使用 70% (体积分数) 乙醇至少洗涤 2 次,避免 RNA 中因含有 LiCl (金属  $\text{Li}^+$ ) 而影响反转录的效果。本研究通过反复试验,比较经典草本植物 RNA 提取的 TRIzol 方法以及改进的 CTAB 方法,摸索出更加成熟的可通用于草本、木本果树不同组织 RNA 提取的新方法,经检测,所提取得到的 RNA 可以直接用于后续研究。

## 参考文献:

- [1] Qiang X U, Liu C Y, Biswas M K, et al. Recent advances in fruit crop genomics [J]. Frontiers of Agricultural Science and Engineering, 2014, 1 (1): 21 - 27.
- [2] 乔鑫, 李梦, 殷豪, 等. 果树全基因组测序研究进展 [J]. 园艺学报, 2014, 41 (1): 165 - 177.
- [3] 王云生, 聂飞, 林顺权. 果树高通量测序的最新研究进展 [J]. 基因组学与应用生物学, 2015, 34 (9): 2034 - 2043.
- [4] 田鹏, 苏艳丽, 康保珊, 等. 两个红梨品种花色苷合成相关基因及转录因子 MYB10 表达模式分析 [J]. 江苏农业学报, 2015, 31 (1): 166 - 171.
- [5] 王西成, 吴伟民, 巫建华, 等. 葡萄  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶基因的克隆、序列分析及表达 [J]. 江苏农业学报, 2015, 31 (4): 899 - 905.
- [6] 许园园, 李晓刚, 李慧, 等. 梨 CDPK 基因家族全基因组序列鉴定分析 [J]. 江苏农业学报, 2015, 31 (3): 659 - 666.
- [7] Gudenschwager O, González - Agüero M, Defilippi B G. A general method for high - quality RNA isolation from metabolite - rich fruits [J]. South African Journal of Botany, 2012, 83 (4): 186 - 192.
- [8] Couto D, Stransfeld L, Arruabarrena A, et al. Broad application of a simple and affordable protocol for isolating plant RNA [J]. BMC Research Notes, 2015, 8 (1): 154.
- [9] Eldh M, Lötval J, Malmhäll C, et al. Importance of RNA isolation methods for analysis of exosomal RNA: evaluation of different methods [J]. Molecular Immunology, 2012, 50 (4): 278 - 286.
- [10] Lacroix C, Renner K, Cole E, et al. Methodological guidelines for accurate detection of viruses in wild plant species [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2016, 82 (6): 1966 - 1975.
- [11] 王颖芳, 陈艳琳, 王文娟. 适用于转录组测序的人参根总 RNA 提取方法的筛选 [J]. 广东药科大学学报, 2017, 33 (1): 18 - 22.
- [12] Hu C G, Honda C, Kita M, et al. A simple protocol for RNA isolation from fruit trees containing high levels of polysaccharides and polyphenol compounds [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2012, 20 (1): 69.
- [13] 赵密珍, 庞夫花, 袁华招, 等. 不同栽培条件下草莓品种宁玉花序分化进程 [J]. 江苏农业学报, 2016, 32 (1): 196 - 200.
- [14] 李晓颖, 曹雪, 房经贵, 等. 杏叶片与果实总 RNA 提取方法研究 [J]. 中国农学通报, 2010, 26 (2): 152 - 156.
- [15] 曹建斌. RNA 的提取及 3 种 RNA 提取试剂盒的比较 [J]. 科技情报开发与经济, 2008, 18 (10): 206 - 207.