

香蕉果实 SMART cDNA 文库的构建及 利用 PCR 方法筛选香蕉 *Actin2* 基因

徐碧玉, 苏伟, 张建斌, 刘菊华, 金志强*

(中国热带农业科学院生物技术研究所; 热带作物生物技术国家重点实验室, 海口 571101)

摘要: 利用 SMART (switching mechanism at 5' end of RNA transcript) 技术, 提取果实少量总 RNA, 经 15-25 轮 LD-PCR 扩增获得全长 ds-cDNA, 构建了海南主栽的食用香蕉巴西蕉 (*Musa* AAA Group Cavendish) 果实的 cDNA 文库。所构建的文库容量为 5×10^6 Pfu ml⁻¹, 重组率 93%。利用此 cDNA 文库, 采用 96 孔板 PCR 法筛选香蕉 *Actin2* 基因, 测序结果显示, 序列全长 1 723 bp, 编码区长 1 134 bp, 编码 378 个氨基酸, 与蝴蝶兰 *Actin2* 基因序列同源率达 83%, 已递交 GenBank, 接受号 692696。

关键词: 香蕉; 果实; SMART cDNA 文库; 96 孔板 PCR; *Actin2* 基因

中图分类号: Q785

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2005)05-0375-06

The Construction of SMART cDNA Library from Banana Fruit and the Screening of *Actin2* Gene by Using PCR Method

XU Bi-yu, SU Wei, ZHANG Jian-bin, LIU Ju-hua, JIN Zhi-qiang*

(State Key Laboratory of Tropical Crops Biotechnology; Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract: In this paper, SMART (switching mechanism at 5' end of RNA transcript) was used in the construction of cDNA library of postharvested banana fruit. Total RNA was isolated from banana fruit after harvested for 2 days and cDNA was synthesized by using 15-25 round LD-PCR (Long-distance PCR). Full length of amplified ds-cDNA (Double-strained complement DNA) was obtained and used in the construction of cDNA library afterward. The capacity of the library was measured to be 5×10^6 Pfu ml⁻¹, with 93% recombinant. A cDNA was amplified by using PCR with this library diluted in 96-well-plate as templates. The sequence of this cDNA shows 83% similarity to *Actin2* gene in the NCBI database (Accession No. 692696).

Key words: Banana; Fruit; Switching mechanism at 5' end of RNA transcript cDNA library; 96-well-plate PCR; *Actin2* gene

香蕉为重要的热带水果, 被联合国粮农组织确认为世界第四大粮食作物^[1]。香蕉果实是典型的呼吸跃变型, 具有明显的后熟阶段且不耐储藏^[2]。香蕉采后生理学与分子生物学研究表明, 果实在后熟过程中涉及到复杂的生理生化变化^[3-6]。并有一系列新的基因表达^[7-11]。为了深入、系统地研究香蕉果实成

熟的生理学与分子生物学机理, 构建香蕉果实 cDNA 文库是非常必要的。

香蕉果实富含淀粉、果胶、酚类及多糖物质, 高质量、数量的 RNA 的提取较为困难^[12], 影响所构建文库的基因片段的数量和长度。同时, 常规建库方法用 oligo(dT)作引物反转录 ss-cDNA (Single-

收稿日期: 2005-03-25 接受日期: 2005-07-11

基金项目: 海南省优秀中青年教师奖励基金项目资助

* 通讯作者 Corresponding author

strained complement DNA), 当 mRNA 较长或其 5' 端存在二级结构时, 反转录酶会提前终止反转录, 对应于 mRNA 5' 端的信息会丢失, 较难获得全长 cDNA, 使文库的质量大受影响^[13]。本实验采用 CLONTECH 公司的 SMART 技术构建香蕉果实 cDNA 文库, 该方法是基于 PCR 基础上的一种 cDNA 合成的文库构建方法, 其特点是用少量总 RNA (50–1 000 ng) 经 15–25 轮 LD-PCR (Long-distance PCR) 扩增即获得几微克的全长 ds-cDNA (Double-strained complement DNA), 同时保持了原始信息^[14]。该技术产生的 ss-cDNA 富含 mRNA 完整的 5' 非翻译区 (Untranslated region, UTR), 也省略了合成接头的连接、甲基化等操作步骤, 更易获得全长基因^[15]。

传统的从文库筛选目的基因的方法为噬菌斑原位杂交, 该方法工作量大、周期长, 费用高, 须用同位素标记, 且假阳性克隆数量较多^[16]; 而 PCR 筛选方法利用了 PCR 反应快速、灵敏的特点, 使筛选时间大大缩短, 筛选的准确性明显提高^[17]。本文介绍采用 SMART 技术构建香蕉果实 cDNA 文库, 并与 PCR 技术相结合筛选目的基因的方法, 目的是建立一种高质量、快速构建 cDNA 文库及筛选方法, 为研究从文库中快速筛选与香蕉果实发育相关基因提供科学依据, 为研究与果实后熟相关基因的功能奠定基础。

肌动蛋白 (Actin) 是微丝的结构成分, 广泛存在于真核细胞中。该基因为多基因家族^[18–20], 根据表达部位的差异分为营养和生殖两种类型^[21], 营养型只在幼苗、成熟植株的根、茎、叶及花器官复合体的某些部位表达; 生殖型则在生殖器官如花、胚珠、种子及果实等部位表达。最新的研究表明 *Actin* 基因还在信号转导过程中具有信号感受和应答的作用^[22]。本文从香蕉果实 cDNA 文库中筛选到 *Actin2* 基因, 今后将通过对该基因功能的研究, 进一步揭示该基因与香蕉果实发育间的关系。

1 材料和方法

1.1 植物材料

香蕉为巴西香蕉 (*Musa* AAA Group Cavendish), 采自中煤绿原农业开发公司海南临高美台香蕉种植地。果实采后于 25℃ 下放置 48 h。

1.2 试剂

SMART™ PCR cDNA Library Construction Kit

为 CLONTECH Laboratories Inc. 产品, MaxPlax™ λ 噬菌体包装蛋白购自 Epicentre 公司, RNA 提取试剂购自 Sigma 公司, 其它试剂均为分析纯或化学纯。

1.3 RNA 提取

香蕉果实 RNA 提取方法参照 Wan^[23] 的热硼酸法。

1.4 SMART cDNA 文库构建

根据试剂盒提供方法合成第一链 cDNA 和被 PCR 放大的第二链 cDNA。然后经过蛋白酶 K 消化, Sfi I 酶切, 过柱分离并收集大于 500 bp 的双链 cDNA, 和载体 λ TripIEx2 的左右臂在 16℃ 下连接过夜。最后按照 Epicentre 公司提供的 MaxPlax™ λ 噬菌体包装蛋白说明书进行包装。

1.5 文库质量检测

按照 SMART™ PCR cDNA Library Construction Kit 说明书的方法检查文库的滴度。将包装得到的 cDNA 文库按 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 进行稀释, 然后各取 1 μ l 与用 10 mmol/L 硫酸镁重悬过夜培养的大肠杆菌 XL1-Blue 0.2 ml 混合, 37℃ 吸附 15 min。再与含有 IPTG (Isopropyl- β -D-Thiogalactoside 50 μ g ml⁻¹) 和 X-gal (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -Galactoside 50 μ g ml⁻¹) 的 5 ml 上层琼脂混匀, 倒在经过 37℃ 放置 1 h 的 LB (Luria-Bertani medium) 平板上, 37℃ 培养 10 min, 然后将其倒置在 37℃ 温床培养 6–8 h, 待噬菌体长出后, 计数蓝白噬菌斑, 计算香蕉果实 cDNA 文库滴度。

随机挑取 10 个噬菌斑与大肠杆菌 BM25.8 环化培养, 铺平板。挑取经环化的大肠杆菌单菌落, 提取质粒 DNA, 进行 PCR 扩增以检验文库质量。

1.6 利用 96 孔板 PCR 法从文库筛选香蕉 *Actin2* 基因

利用我们构建的香蕉采后 48 h 与 0 h 果实抑制缩减文库 (Suppression Subtractive Hybridization, SSH) 中获得的 *Actin2* 基因片段序列 (521 bp) 设计 5' 和 3' 引物。5' primer: TGTCGCAATTCAGGC-AGTC; 3' primer: GCCAACATGGTTGATCCACC。

以该香蕉果实 cDNA 文库为模板进行 PCR 反应。反应体系: 1 μ l cDNA 库液; 1 μ l 10 μ mol/L 5' 引物; 1 μ l 10 μ mol/L 3' 引物; 2.5 μ l 10 \times PCR buffer; 0.5 μ l 10 mmol/L dNTP; 0.5 μ l polymerase

(5 U μl^{-1}), 加水至 25 μl 。反应条件: 94°C 变性 3 min; 94°C 45 s, 58°C 45 s, 72°C 1.50 min, 30 次循环; 72°C 延伸 10 min。

PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳, 获得大小约 520 bp 的条带, 与目的带大小相同。再将 1 μl 库液稀释不同的倍数, 重复上述 PCR 反应, 筛选能出目的带的最大稀释倍数。

第一轮 96 孔板筛选: 参照徐军里方法^[7]。取最大稀释倍数的库液 1 μl , 加 400 μl 宿主菌 (XL1-blue) 混匀, 37°C 培养 30 min。然后在 96 孔细胞培养板的每孔加入 250 μl LB 溶液和 4 μl 噬菌体与宿主菌混合液 37°C 培养液。将培养板放入 37°C 摇床, 150 r min^{-1} 培养 8~9 h。取 96 孔板同列的每孔培养液 5 μl 混匀, 用每列的混合液作模板进行 PCR 反应, 反应条件与从文库中筛选目的片段相同。根据列的 PCR 结果, 筛选出阳性列, 以阳性列的各孔液作模板, 重复上述 PCR, 筛选阳性孔。

第二轮 96 孔板筛选: 第一轮筛选出的阳性孔的溶液作稀释倍数筛选。并按以上方法进行第二轮列与孔的筛选。

经过二轮 96 孔板筛选, 将阳性孔的溶液稀释 100 倍铺平板, 随即挑取独立的噬菌体提取 DNA, 以此 DNA 为模板进行 PCR 反应, 反应条件同上。筛选目的噬菌体, 经与大肠杆菌 BM25.8 环化培养后送上海生物技术有限公司测序。

2 结果和分析

2.1 香蕉果实 RNA 提取

RNA 质量的高低直接影响构建文库的质量。提取的香蕉果实 RNA 经 1% 琼脂糖凝胶电泳观察, RNA 完整, 经紫外分光光度计测定总 RNA 含量为 2.3 $\mu\text{g} \mu\text{l}^{-1}$, $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 为 1.86, 无 DNA、蛋白质污染, 满足反转录 cDNA 的需要(图 1)。



图 1 香蕉果实总 RNA 电泳图

Fig. 1 Electrophoretogram of total RNA from banana fruit

2.2 连接产物的体外包装和效价分析

包装后的连接产物, 形成了携带外源 cDNA 片段的完整噬菌体, 以不同浓度的噬菌体感染受体菌 (大肠杆菌 XL1-blue), 涂布在含有 X-gal 和 IPTG 的 LB 平板上形成蓝色和透明菌斑(图 2)。从透明斑数量计算此文库的滴度为 5×10^6 Pfu ml^{-1} , 重组率 93%。随即挑取透明噬菌斑, 提取质粒, 经 PCR 鉴定, 插入片段大小在 500~1 800 bp(图 3), 平均大小在 1 200 bp 左右。

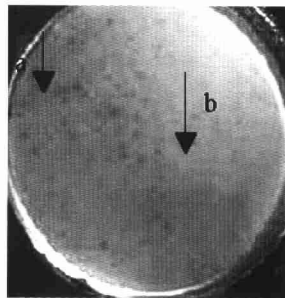


图 2 香蕉 cDNA 文库

Fig. 2 cDNA library of banana fruit

蓝色(箭头 a)示阴性; 透明(箭头 b)示阳性。Blue spot (arrow a), and transparent spot (arrow b) represent negative and positive clones, respectively.

我们构建的香蕉果实 SMART™ cDNA 文库, 利用其独特的蓝白筛选, 计算出构建的文库阳性率为 93%, 符合建库要求。试剂盒提供的环化大肠杆菌 BM25.8 与噬菌体混合培养既可使目的片段通过内切连接酶的作用直接连接到大肠杆菌载体上, 用于测序, 省去了传统文库中需要酶切、连接、转化等步骤。

2.3 PCR 筛选 cDNA 文库

以库液为模板, 扩增出目的基因片段, 大小为 520 bp 左右(图 4)。稀释 100 倍库液经过两轮 96 孔板 PCR 筛选(图 5), 获得了经过富集的含有大量阳性噬菌体的孔(噬菌体)液。取第二轮 D 孔的噬菌体液铺平板, 随机挑取了 20 个单独噬菌斑, 与大肠杆菌 BM25.8 环化培养, 环化后的菌液涂平板, 每板挑取单菌落, 提取质粒 DNA, 经 PCR 鉴定, 选取目的基因克隆进行测序。

96 孔板 PCR 筛库法, 利用 PCR 快速、灵敏的

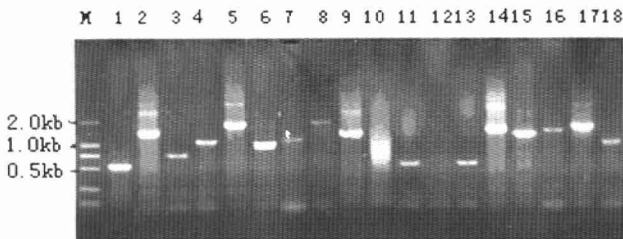


图 3 部分阳性克隆 PCR 检测
Fig. 3 PCR screening of partial positive clones
M: DL2000 Marker; 1-18: 阳性克隆鉴定 Identification of positive clones

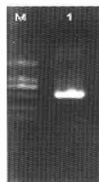


图 4 目的基因片段 PCR 电泳图
Fig. 4 Electrophoretogram of target gene fragment by PCR
M: DL2000 Marker;
1: *Actin2* 基因目的片段
The fragment of *Actin2* gene

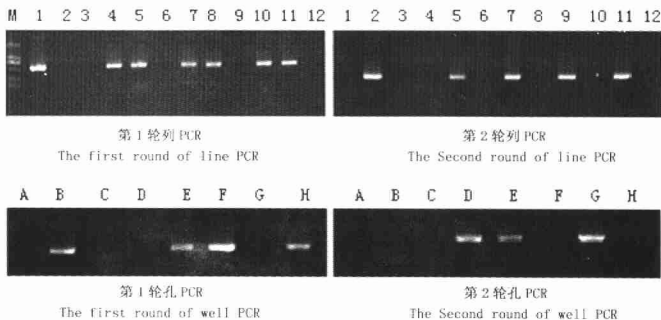


图 5 96 孔板筛选目的基因电泳图
Fig. 5 Electrophoretogram of target gene by using 96-well-plate screening method

特点, 只经过两轮 PCR 就将目的基因 cDNA 富集到较高水平, 整个过程只需 2 d 时间, 同时 PCR 所用 DNA 聚合酶价格便宜, 因此与传统的标记探针杂交筛选相比, 省时, 省钱, 并且由于目的基因克隆的富集, 获得的阳性克隆率较高。

2.4 *Actin 2* 基因测序

测序结果显示, 序列的全长为 1 723 bp, 编码区长度为 1 134 bp, 已递交 GenBank, 接受号 692696 (Accession No. 692696)。进行 BLASTn 比较, 编码区与编号 AF246715 (蝴蝶兰 *Actin2*) 及编号 AY096397 (拟南芥 *Actin2*) 的序列同源率分别为 83% 和 81% (图 6), 该基因编码 378 个氨基酸。对 *Actin2* 基因的研究仅在拟南芥中有报道, 与根毛的

发育有关^[24]。而我们克隆的香蕉 *Actin2* 基因最初的基因片段来自于采后早期果实抑制缩减文库, 故推测其在果实发育过程中具有一定的作用, 其功能有待进一步研究验证。

参考文献

- [1] Moflat A S. Crop engineering goes South [J]. Science, 1999, 285: 370-371.
- [2] Zhu X R (朱西儒), Wang Z X (王正询), Zhang Z Q (张昭其), et al. Physiology studies on post-harvested banana fruit and storage [J]. J Guangzhou Univ (Nat Sci) (广州大学学报自然科学版), 2003, 2(3): 228-234. (in Chinese)
- [3] Jin Z Q (金志强), Peng S Q (彭世清), Kong D Q (孔德骞). Relationship of ethylene biosynthesis with ACC accumulated in banana fruit ripening [J]. Chin J Trop Crops (热带作物学报), 1995, 16: 26-30. (in Chinese)

```

1 ATGGCGGACGATGGATATATCCAGCCTCTTGTGTTGTGACAATGGTACTGGAATGGTCAAGGCTGGATTGCTGGTGATGATGC
    * * * * * * * * *
2 ATGGCGGACGTTGATGATATTCAGCCTCTTGTGTTGCGATAATGGAACGGAATGGTTAAGGCTGGATTGCTGGTGATGATGC

1 ACCTAGAGCAGTGTTCCTCCAGTATTGTTGGCAGACCTCGTCACACTGGTGTATGGTTGGGATGGGCCAAAAGATGCTTACG
    * * * * * * * * * * * * *
2 ACCCAGAGCTGTGTTCCCAAGCATTGTAGGCCGACCTCGTCACACTGGTGTCAATGGTTGGCATGGGCCAAAAGGATGCTTATG

1 TTGGTGATGAAGCTCAGTCCAAAGAGAGGTATCCTCACCTTGAAGTATCCAATCGAGCACGGAATTGTGAGCAATGGGATGAC
    * * * * * * * * * * * * *
2 TGGGAGATGAAGCTCAATCTAAAAGAGGTATCCTAACCTTGAATATCCTATGAGCACGGAATTGTAAGCAACTGGGATGAT

1 ATGAAAAGATTGGAAACACACCTTTTGCAATGAGCTCCGTGTAGCTCCGAGGAGCACCCGATCCTTTTGACTGAGGCTCC
    * * * * * * * * * * * * *
2 ATGAAAAGATTGGCAACACACCTTTTACAACGAGCTCCGTGTGCCCCGAGGAGCACCCGTACTCTTAACGAAGCCCC

1 TCTTAATCCAAGGCTAACAGAGAGAAGATGACTCAGATCATGTTGAAAGTTTAAATGTGCCTGCAATGTATGTCGCAATTC
    * * * * * * * * * * * * *
2 TCTCAATCCAAGGCAAACAGAGAAAAGATGACGCAGATATGTTGAGACTTCAACGTGCCCTGCCATGTATGTTGCCATTC

1 AGGCAGTCCTTTCCCTCTATGCTAGTGGCCGAACAACCTGGTATCGTGTGACTGCTGGTGTGATGGTGTGACCCATGCTTCCC
    * * * * * * * * * * * * *
2 AAGCTGTCTTTCCCTATATGCTAGTGGCCGTACAACGTGATGTTGACTCGATTCTGGTGTGTTGTCAGTACACCCGTCTCC

1 ATTTATGAAGGATATGCACTACCTCATGCCATCTCTCGTTGGATCTTGCTGGCCGTGATCTCACGGATGCATCATGAAGATC
    * * * * * * * * * * * * *
2 ATTTATGAGGGTTATGCACTTCCCTCATGCCATCTCTCGATTGGACCTGGCTGGCCGGGACCTCACAGACTCATTTGATGAAAATA

1 CTTACAGAGAGAGGTTATTCGTTCACTACAACCTGCAGAACGGGAAATTTGTAAGGGACATAAAAAGAGAAGCTTGCAATATGATGCC
    * * * * * * * * * * * * *
2 CTCCTGAGAGAGGATACTCTTTCACAACCACTGCGGAGCGTGAATTTGTTAGGGACATCAAGGAGAAGCTAGCCATGATGATGCC

1 CTTGATTATGAACAGGAGCTGGAGACTGCCAAGACTAGCTCTGATGTGGAGAAGAGCTTTGAACTCCAGATGGGCAGGTCATT
    * * * * * * * * * * * * *
2 CTTGATTATGAGCAAGAGCTGGAACTTCCAAGAGCAGCTCTCAATAGAAAAAGCTACGAGCTTCCCAGTGGCCAGGTTATT

1 ACTATTGGTGCTGAGAGATTTAGGTGCCCGGAGGTCCTCTTCAGCCATCATTTGATTGGCATGGAAGCTGCTGGAATCCATGAG
    * * * * * * * * * * * *
2 ACTATTGGGGCTGAGAGATTCAGGTGCCCGGAGGTTCTCTCCAGCCATCTCTGATTGGAATGGAAGCTGCTGGCATCCATGAG

1 ACCACATATAATTCATTATGAAATGTGATGTTGATATCAGGAAAGATTTGATGGGAACATCGTGCTCAGTGGTGGATCAACC
    * * * * * * * * * * * * *
2 ACCACGTACAACCTCATGAAATGTGATGTTGATATCCGAAAGGATTTGTACGGTAACATTGTTCTTAGTGGAGGTTCCACC

1 ATGTTGCTGGTATCGCTGATCGTATGAGCAAGGAGATCACTGCTCTTGCCCCAAGCAGCACGAAGATTAAGGTGGTTGCCCA
    * * * * * * * * * * * * *
2 ATGTTCCAGGCATTGCTGACCGCATGAGCAAAGAGATATCTGCGCTTGACCCAGCAGCATGAAGATCAAGGTGGTTGCTCCG

1 CCTGAACGTAAGTACAGTGTCTGGATTGGAGGTCCATCCTTGCTTCTCTTAGCACTTTC CAACAGATGTGGATTTC AAGGGGC
    * * * * * * * * * * * * *
2 CCAGAGAGAAATACAGTGTCTGGATTGGAGGATCTATCCTTGCCCTCCCTCAGCACATTC CAACAGATGTGGATTTC AAGGCA

1 GAGTACGAGGGGCTGGCCAGCAATTGTCCATCGGAAATGCTTCTGA
    * * * * * * *
2 GAGTATGATGAATCTGGTCCAGCTATTGTCCATAGGAAATGCTTCTGA

```

图 6 香蕉与蝴蝶兰 *Actin2* 同源性比较

Fig. 6 Identity comparison of *Actin2* gene of banana with that of Phalaenopsis
1: 香蕉 Banana; 2: 蝴蝶兰 Phalaenopsis; * 不同核苷酸 The different nucleotides

- [4] Cordenunsi B R, Lajolo F M. Starch breakdown during banana ripening: sucrose synthase and sucrose phosphate synthase [J]. J Agri Food Chem, 1995, 43:347-351.
- [5] Gooding P S, Bird C, Robinson S P. Molecular cloning and characterization of banana fruit polyphenol oxidase [J]. Plant, 2001, 213: 748-757.
- [6] Clendennen S K, Kipp P B, May G D. The role of ethylene in banana fruit ripening [J]. In AK Kanellis, 1997, 115:141-148.
- [7] Liu X, Shiomi S, Nakatsuka A, et al. Characterization of ethylene biosynthesis associated with ripening in banana fruit [J]. Plant Physiol, 1999, 121:1257-1265.
- [8] Domínguez-Puigjaner E, Vendrell M, Ludevid D M. Differential protein accumulation in banana fruit during ripening [J]. Plant Physiol, 1992, 98:157-162.
- [9] Clendennen S K, May G D. Differential gene expression in ripening banana fruit [J]. Plant Physiol, 1997, 115:463-469.
- [10] Nascimento J R O, Cordenunsi B R, Lajolo F M, et al. Banana sucrose-phosphate synthase gene expression during fruit ripening [J]. Planta, 1997, 203:283-288.
- [11] Pua E C, Lee Y C. Expression of a ripening-related cytochrome P450 cDNA in Cavendish banana (*Musa acuminata* cv. Williams) [J]. Gene, 2003, 305:133-40.
- [12] Yuan M Z(袁明珠), Wen R(温柔), Liu J S(刘吉升), et al. Isolation of total RNA from different plant species [J]. Mol Plant Breed (分子植物育种), 2005, 2:285-292. (in Chinese)
- [13] D'Alession G M, Gerard G F. Second-strand cDNA synthesis with *E. coli* DNA polymerase I and RNase H: the fate of information at the mRNA 5' terminus and the effect of *E. coli* DNA ligase [J]. Nucl Acid Res, 1988, 16:1999-2014.
- [14] Natalia S, Alexandre S, Eugenia W. Digital image analysis for rapid quantification of total and cDNA for SMART™-PCR [J]. Biol Techn, 2001, 31:746-752.
- [15] Chenchik A, Moqadam F, Siebert P. A new method for full-length cDNA cloning by PCR [A]. In: Krieg P A. A Laboratory Guide to RNA Isolation, Analysis and Synthesis [M]. N. Y., N. Y.: Wiley-Liss, Inc., 1996. 273-321.
- [16] Benton W D, Davis R W. Screening lambda gt recombinant clones by hybridization to single plaques *in situ* [J]. Science, 1977, 196:180-182.
- [17] Xu J W(徐军望), Zhu Z(朱贞), Li X G(李旭刚). Isolation and identification of starch synthase cDNA using a simple procedure based on PCR [J]. High Techn Inform(高技术通讯), 2001, 8:1-6. (in Chinese)
- [18] An Y Q, Huang S, McDowell J M. The *Arabidopsis ACT1/ACT3 actin* subclass is expressed in organ primordia and mature pollen [J]. Plant Cell, 1996, 8:15-30.
- [19] An Y Q, McDowell J M, Huang S. Strong, constitutive expression of the *Arabidopsis ACT2/ACT8 actin* subclass in vegetative tissues [J]. Plant, 1996, 10:107-121.
- [20] Huang S, An Y Q, McDowell J M, et al. The *Arabidopsis thaliana ACT4/ACT12 actin* gene subclass is strongly expressed throughout pollen development [J]. Plant, 1996, 10:189-202.
- [21] Meagher R B, Mckinney E C, Vitale A V. The evolution of new structures: clues from plant cytoskeletal genes [J]. Trends Genet, 1999, 15:278-284.
- [22] Drøbak B K, Franklin-Tong V E, Staiger C J. The role of the actin cytoskeleton in plant cell signaling [J]. New Phytol, 2004, 163 (1): 13-30.
- [23] Ringli C, Baumberger N, Diet A, et al. *ACTIN2* is essential for bulge site selection and tip growth during root hair development of *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 2002, 129(4):1464-1472.
- [24] Wan C Y, Wilkins T A. A modified hot borate method significantly enhances the yield of high-quality RNA from cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Anal Biochem, 1994, 223(1):7-12.

欢迎订阅 2006 年《果树学报》

《果树学报》是中国农业科学院郑州果树研究所主办的国家级学术期刊, 中文园艺学核心期刊, 中国科技核心期刊, 已被美国化学文摘、俄罗斯文摘杂志、英国 CABI 等 20 余种国内外重要检索系统与数据库收录。据《中国科技期刊引证报告》(2004 年版) 统计结果, 《果树学报》的影响因子达 0.704, 已成为国内外有影响的学术期刊之一。《果树学报》着重选发密切结合我国果树科研、教学、生产实际, 反映学科学术水平和发展动向的优秀稿件, 及时报道重大科研成果、阶段性成果和科研进展情况。栏目设置有研究论文、专论与综述、研究报告、技术与方法、新品种选育快报及信息快递等; 内容包括生物技术、品种与种质资源、生理与栽培、土壤与肥料、植物保护、贮藏加工等。读者对象为果树学科的科研人员、高等农业院校师生及基层果树管理技术人员。

本刊为双月刊, 2006 年每期 128 页码, 定价 15 元, 全年 6 期共 90 元。邮发代号: 36-93, 国际代号 BM/1107。欢迎投稿, 欢迎订阅。

编辑部地址: 中国农业科学院郑州果树研究所 邮编: 450009

电话: 0371-65330927/28 传真: 0371-65330982 E-mail: chinagsxb@163.com