

李果实果肉组织 RNA 提取方法的比较分析

宣继萍, 贾展慧, 钱美华, 张计育, 王 刚, 郭忠仁

(中国科学院 植物研究所, 中山植物园, 江苏 南京 210014)

摘 要:以中国李品种‘携李’的果肉组织为试材, 比较了 Trizol 法、RNA 提取试剂盒和改良的 CTAB 法提取 RNA 的效果, 筛选出适合李果实果肉组织总 RNA 的提取方法。结果表明: Trizol 法和 RNA 提取试剂盒均不能得到完整的 RNA; 改良的 CTAB 法能有效去除多糖, 28S 条带的荧光亮度是 18S 条带的 1.5~2.0 倍, D_{260}/D_{280} 值都在 1.8~2.1, 样品的平均得率为 770.96~1 029.04 ng/ μ L, RT-PCR 结果扩增出了特异性条带, 说明改良 CTAB 法从李果实果肉组织中提取的 RNA 质量高、完整性好、产率高, 完全可以用于后续的分子生物学试验。

关键词:李; 果实果肉; 比较分析; RNA; 改良 CTAB 法

中图分类号:S 661.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)22-0106-05

提取高质量的 RNA 是对植物组织进行分子水平研究的必要前提。cDNA 文库建立、纯化 mRNA、RT-PCR、原位杂交、表达特性等研究都需要较高质量的 RNA。有的植物由于未能有效分离纯化组织中的 RNA 而阻碍在其分子水平上的研究。目前, 有关植物组织的 RNA 提取方法很多, 最常用的有 Trizol 法, CTAB (Hexadecyltrimethylammonium bromide, 十六烷基三甲基溴化铵)法和商业试剂盒法等。由于不同植物或同种植物不同组织, 甚至同一组织不同发育时期, 使用同一种方法所提取出来的 RNA 可能都不一样, 因此, 需针对植物材料的具体特点选择适宜的 RNA 提取方法。据报道, 使用 Trizol 法能有效地从杏 (*Armeniaca vulgaris* Lam.) 嫩叶中提取较高质量的总 RNA^[1]; 使用 CTAB 作为阳离子表面活性剂已从多种植物不同组织中分离出高质量的 RNA, 包括香蕉 (*Musa nana* Lour.) 叶片^[2], 菠萝蜜 (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) 花序^[3], 荔枝 (*Li-*

tchi chinensis Sonn.) 果皮^[4], 桃 (*Amygdalus persica* L.)^[5], 苹果 (*Malus pumila* Mill.)^[6]、猕猴桃 (*Actinidia chinensis*) 果实^[6]等。

果实成熟时各种酶的活性增强, 其中也包含 RNAase, 不溶性淀粉转化成可溶性多糖^[7], 李果实果肉细胞壁中的特殊成分, 以及果实中的高含水量和高含量多酚化合物都是干扰高质量 RNA 提取的因素。因此从李果实果肉中提取高质量的 RNA 有相当大的难度。该研究以中国李 (*Prunus salicina* Lindl.) 品种“携李” (‘Zuiliz’) 的成熟果实果肉为试验材料, 对比了 Trizol 法、改良 CTAB 法和 RNA 提取试剂盒法, 以期获得一套完整高效的提取李果实果肉总 RNA 的方法, 为木本果树尤其是核果类果树提取高质量的 RNA 提供参考, 也为今后开展李的分子生物学研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试携李成熟果实采自浙江省桐乡市携李种质资源苗圃, 将采取的成熟果实立即带回中国科学院植物研究所 (江苏省) 果树科学实验室, 在室温 (25℃) 下贮存 10 d, 分别在贮存的第 1、3、5、7、9 天取样, 去除外果皮和内果皮, 把果实的中果皮在液氮中速冻后, -80℃ 冰箱中保存备用。

Trizol 试剂购自南京诺唯赞公司; EASY spin 植物 RNA 快速提取试剂盒购自 Aidlab 公司; CTAB、PVPP、

第一作者简介:宣继萍 (1976-), 女, 浙江东阳人, 博士, 副研究员, 现主要从事李果实发育等研究工作。E-mail: 13915954315@163.com.

责任作者:郭忠仁 (1960-), 男, 江苏南京人, 硕士, 研究员, 现主要从事果树育种和观赏园林植物资源等研究工作。E-mail: zhongrenguo@cnbg.net.

基金项目:公益性行业 (农业) 科研专项经费资助项目 (201003058); 江苏省农业三新工程资助项目 (SXGC[2013]348)。

收稿日期:2015-05-25

β -巯基乙醇、Tris 碱、EDTA 和 Tris 饱和酚均购自南京博全公司;dNTPs、pMD18-T Vector 和 Taq 酶等购自 TaKaRa 公司;其它试剂为国产分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 Trizol 法 具体步骤参照 Trizol 试剂盒说明书进行。称取李果肉组织 0.5 g 在液氮中研磨成粉末后转入离心管,加入 1 mL RNAzol,混匀后,室温放置 5 min,使其充分裂解。加入 200 μ L 氯仿,震荡 15 s,静置 2~3 min。12 000 r/min 4℃离心 15 min,将上清转移至新离心管中,加入 2 倍体积无水乙醇,-20℃放置 30 min。12 000 r/min 4℃离心 10 min,弃上清,加入 1 mL 75%乙醇轻轻混匀后,7 500 r/min 4℃离心 5 min,弃上清。干燥后,加入 20 μ L Rnase-free 水溶解,即为 RNA 样品。

1.2.2 改良 CTAB 法 称取李果肉组织 0.5 g 在液氮中研磨成粉末后转入 2 mL 离心管,加入 1 mL 预热的 CTAB 裂解缓冲液(100 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)、20 mmol/L EDTA (pH 8.0)、1.4 mol/L NaCl、2.5% CTAB(M/V)、2% PVP(M/V)、2% β -巯基乙醇(M/V)),涡旋,震荡均匀。置于 65℃水浴裂解 30 min,期间颠倒混匀 3 次。水浴后,10 000 r/min 4℃离心 10 min,取上清,加入等体积酚:氯仿:异戊醇(25:24:1,V/V),涡旋后,冰上静置 10 min,12 000 r/min 4℃离心 10 min。取上清,加入等体积酚:氯仿:异戊醇(25:24:1,V/V)抽提 2 次。取上清,转移至 1.5 mL 离心管中,加入 1/3 体积的 LiCl(10 mol/L),-20℃静置过夜。13 000 r/min 4℃离心 15 min,收集沉淀,用 70%的乙醇冲洗 2 遍,无水乙醇冲洗 1 遍。干燥后,20 μ L Rnase-free 水溶解,即为 RNA 样品。

1.2.3 快速 RNA 提取试剂盒 按照 Aidlab 的 EASY spin 植物 RNA 快速提取试剂盒说明书操作。称取李果肉组织 0.5 g 在液氮中研磨成粉末后转入 2 mL 离心管中,加入 1 mL 细胞裂解液(混有 100 μ L PLANTaid),涡旋,震荡均匀。56℃温育 1~3 min 以充分裂解。13 000 r/min 4℃离心 10 min。取上清,转移至新离心管中,加入 1/2 体积的无水乙醇,吸打混匀。将混合物加入 1 个基因组清除柱中,13 000 r/min 4℃离心 2 min,弃掉废液。将基因组 DNA 清除柱子放入一个干净 2 mL 离心管内,加入 500 μ L 裂解液 RLT Plus,13 000 r/min 4℃离心 30 s,收集滤液,加入 1/2 体积无水乙醇,吸打直至混匀。将混合物加入 1 个吸附柱 RA 中,13 000 r/min 4℃离心 2 min,弃掉收集管中的废液。加 700 μ L 去蛋白液 RW1,室温放置 1 min,13 000 r/min 4℃离心 30 s,弃掉废液。加 500 μ L 去蛋白液 RW,13 000 r/min 4℃离心 30 s,弃掉废液。重复 1 遍。将吸附柱 RA 放回空收集

管中,13 000 r/min 4℃离心 2 min,尽量除去漂洗液,以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。取出吸附柱 RA,放入 1 个 RNase-free 离心管中,中间部位加 20 μ L Rnase-free 水,室温放置 1 min,12 000 r/min 4℃离心 1 min,滤液即为 RNA 样品。

1.3 RNA 的检测方法

1.3.1 RNA 的电泳检测 RNA 样品的凝胶电泳分析是判断 RNA 质量的一种重要的手段,不仅能从 18S rRNA 和 28S rRNA 的完整性判断 RNA 有无降解,也可以判断有无 DNA 和蛋白质的污染。取 2 μ L RNA 原液,加 0.2 μ L 上样缓冲液(含 0.25%溴酚蓝和 40%蔗糖)在 1.0%琼脂糖凝胶(含 0.5 μ g/mL 的 EB(溴化乙锭))中电泳,电泳缓冲液为 1×TAE,电压为 120 V,电泳大约 10 min后,在紫外凝胶成像系统下检测其完整性,并拍照。

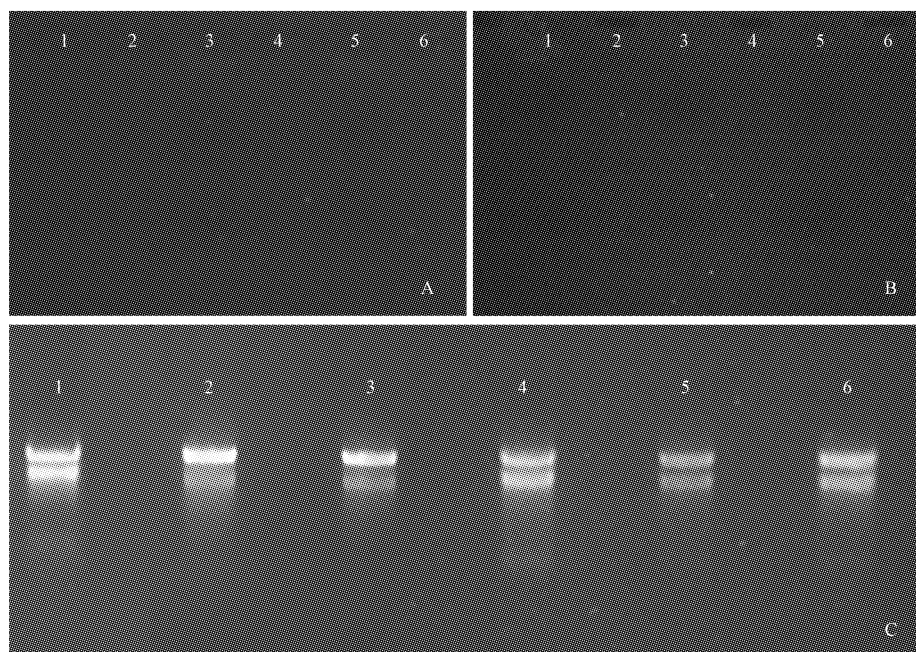
1.3.2 RNA 纯度和产率检测 高纯度 RNA 的 OD₂₆₀/OD₂₈₀值应介于 1.8~2.0,OD₂₆₀/OD₂₃₀值应大于 2.0。取 2 μ L RNA 原液在 Onedrop 光谱仪上检测,直接从仪器上读取 RNA 浓度、OD₂₆₀/OD₂₈₀、OD₂₆₀/OD₂₃₀,每个样品重复 3 次。

1.3.3 RT-PCR 检测 cDNA 第一链的合成参照 TaKaRa 公司 PrimeScript 反转录说明书进行。以合成的单链 cDNA 为模板,根据 NCBI GeneBank 已登录的果胶裂解酶基因(PsPL)的序列设计引物,引物序列如下所示:PsPLF:5'-TGCTACCCTAGTGCCTTGCAC-3',PsPLR:5'-GAAACCCTAATGCTGCCTAAGAG-3',引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成。PCR 反应总体积 20 μ L:cDNA 1 μ L,10×LA PCR buffer 2 μ L,dNTPs 3.2 μ L,MgCl₂ 2 μ L,上下游引物各 1 μ L,ddH₂O 9.6 μ L,LA Taq 酶 0.2 μ L。PCR 反应程序:94℃预变性 5 min;94℃ 45 s,55℃ 45 s,72℃ 2 min,共 35 个循环;72℃再延伸 10 min;最后 4℃保温。PCR 扩增产物在 1%琼脂糖凝胶上电泳检测目的条带。

2 结果与分析

2.1 不同方法提取的总 RNA 的完整性检测

检测结果显示(图 1),Trizol 法(图 1A)和 Aidlab 试剂盒(图 1B)提取的 RNA 没有条带,说明这 2 种方法不适合提取李果果肉总 RNA。改良 CTAB 法(图 1C)提取的总 RNA 28S、18S 条带带型清晰,无 DNA 污染,28S 亮于 18S,2 个带之间无弥散现象,5S 条带浅,提取的总 RNA 完整性很好,无明显的降解,表明这种改良 CTAB 法在操作过程中能有效抑制 RNase 活性,适合李果果肉总 RNA 的提取。



注:A, Trizol 法; B, Aidlab 试剂盒; C, 改良 CTAB 法; 1~6 泳道为李果实贮藏 0、1、3、5、7、9 d 的 RNA 样品。
Note: A, Trizol; B, RNAPrep pure Plant Kit of Aidlab; C, Modified CTAB; 1—6, samples stored 0, 1, 3, 5, 7, 9 d.

图 1 不同方法提取李果实果肉组织总 RNA 的 1% 琼脂糖凝胶电泳

Fig. 1 1% Agrose gel electrophoresis of extracted total RNA from plum fruit with different methods

2.2 总 RNA 产量与质量分析

由表 1 可知, 改良 CTAB 法提取的总 RNA 纯度较高, 5 个样品的 OD_{260}/OD_{280} 值都在 1.868~2.057。这种方法所提取的总 RNA 得率也比较高, 浓度为 $770.96 \sim 1\,029.04 \mu\text{L}/\text{ng}$ 。同时, 所有 RNA 样品光谱仪分析结果与电泳表型基本一致, 说明改良 CTAB 法用于 RNA 提取是稳定而可靠的。

表 1 改良 CTAB 法提取总 RNA 样品的产量和质量分析结果

Table 1 Yield and purity analysis of total RNA extracted by modified CTAB method

RNA 样品 RNA sample	光吸收比值 Absorbency ratio ^a		RNA 产量 RNA yield ^b / ($\mu\text{L} \cdot \text{ng}^{-1}$)
	OD_{260}/OD_{280}	OD_{260}/OD_{230}	
贮藏前	2.064 ± 0.07	1.868 ± 0.03	770.96 ± 76.38
贮藏 1 d	2.063 ± 0.08	1.932 ± 0.04	889.65 ± 95.81
贮藏 3 d	2.052 ± 0.13	1.927 ± 0.08	$1\,029.04 \pm 85.14$
贮藏 5 d	2.052 ± 0.09	1.942 ± 0.06	$1\,029.04 \pm 88.63$
贮藏 7 d	2.041 ± 0.06	2.057 ± 0.02	964.79 ± 92.36
贮藏 9 d	2.033 ± 0.10	1.928 ± 0.09	$1\,011.16 \pm 89.29$

注: ^{a, b} 数值为 3 次重复的平均值 \pm 标准误。

Note: ^{a, b} Values were the mean of 3 replicates recorded \pm SE.

2.3 RT-PCR 分析

由图 2 可知, PCR 产物条带与预期相符; PCR 产物经回收连接及转化, 测序后获得 1 241 bp 果胶裂解酶基因最大开放阅读框(ORF), 编码 413 个氨基酸。说明此方法提取的 RNA 可满足进一步的分子生物学试验的需要。

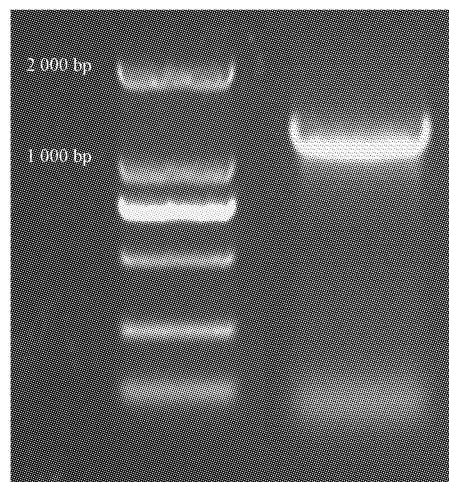


图 2 果胶裂解酶基因的 RT-PCR 扩增

Fig. 2 RT-PCR amplification of pectate lyase gene

3 讨论

纯度高、完整性好的 RNA 是进行分子生物学研究的基础。Trizol 法和 RNA 提取试剂盒操作简单快捷, 但是都不能从富含多糖、多酚的李果实果肉中提取出完整的 RNA, 干扰因素主要有酚类化合物、多糖、蛋白杂质等。改良 CTAB 法较普通的 CTAB 法增加了 CTAB 和 PVP 的浓度, RNA 提取效果明显优于其它 2 种方法。李晓颖等^[8]利用 CTAB-LiCl 法从杏叶片和果实中提取到高质量的 RNA; 佟兆国^[9]利用 CTAB 法从桃不同组

织(根尖、幼茎、叶、花、果实)提取到高质量的 RNA。该研究结果与上述报道一致。

在植物材料匀浆时,酚类物质会释放出来,氧化后使匀浆液变为褐色,并随氧化程度的增加而加深,这一现象被称为褐化效应(browning effect)^[10],许多植物组织特别是李果实果肉组织富含酚类化合物。被氧化的酚类化合物(如醌类)能与 RNA 稳定、不可逆地结合,从而影响 RNA 的分离纯化。防止酚类氧化的方法有还原剂法、螯合剂法、Tris-硼酸法、牛血清白蛋白(BSA)法和丙酮法等^[11]。 β -巯基乙醇可以打断多酚氧化酶的二硫键使之酶失活,在提取缓冲液中加入 β -巯基乙醇来防止酚类物质被氧化, β -巯基乙醇的浓度可高达 2%^[11]。pH<8.0 时,螯合剂聚乙烯吡咯烷酮(PVP) 中的 CO-N=基有很强的结合多酚化合物的能力,其结合能力随着多酚化合物中芳环羟基数量的增加而加强^[11]。

多糖的污染是提取植物 RNA 时常遇到的另一个棘手的问题。李果实果肉组织中富含多糖,而多糖的许多理化性质与 RNA 很相似,因此很难将它们分开。在去除多糖的同时会造成 RNA 产量的减少;Trizol 法在沉淀 RNA 时,产生多糖的凝胶状沉淀,这种含有多糖的 RNA 沉淀难溶于水,溶解后产生粘稠状的溶液。由于多糖可以抑制许多酶的活性^[12],因此污染了多糖的 RNA 样品无法用于进一步的分子生物学研究。FANG 等^[12]认为缓冲液中含有高浓度的 NaCl 有助于去除多糖,在改良 CTAB 法中,缓冲液中 NaCl 的浓度为 1.4 mol/L,通过氯仿抽提和乙醇沉淀 RNA 将 RNA 与多糖分离。沉淀之后的 RNA 溶液中加入终浓度 70%乙醇来溶解多糖,离心纯化 RNA。TESNIERE 等^[13]在从葡萄浆果组织中提取 RNA 时,沉淀后的 RNA 溶液中加入终浓度 30%乙醇来沉淀多糖,进一步纯化 RNA 样品。

DNA 滞留、蛋白质残留是污染 RNA 样品的又一个重要因素。在 1%琼脂糖凝胶上表现为加样孔有荧光。大于 50 kb 基因组 DNA,在 1%琼脂糖凝胶电泳,不能电泳出孔,滞留在加样孔中产生荧光。蛋白质虽不会被 EB 染色,能出现荧光,一定比较大的 DNA 与残留的蛋白质结合后,电泳不能出孔而在孔中产生荧光。酶反应产物,如果没有经过纯化去除酶,也非常容易在孔中出现荧光,其原因是酶与核酸几乎都有比较强的结合能

力。由于 RNase 和多酚氧化酶亦属于蛋白质,因而要获得完整的、高质量的 RNA 就必须有效地去除蛋白杂质。在改良 CTAB 法中,裂解液中含有蛋白质变性剂-十六烷基三甲基溴化铵(CTAB),在裂解细胞同时使蛋白质变性;凝聚;通过酚:氯仿:异戊醇(25:24:1,V/V)抽提 3 次,进一步纯化 RNA。

改良 CTAB 法可以从李果实果肉组织中提取到质量高完整性好的 RNA,RT-PCR 也能扩增出目的条带,说明此法提取的 RNA 可以用于后续分子生物学试验;同时也为其它富含多糖、多酚的植物材料总 RNA 的提取提供借鉴意义。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 淦国英,漆艳香,蒲金基,等. 改良 CTAB 法提取高质量香蕉叶片总 RNA[J]. 广东农业科学,2009(7):192-195.
- [3] 李映志,吴成焕,何楚仪,等. 用改良 CTAB 法提取菠萝蜜叶和花序总 RNA[J]. 热带作物学报,2009,30(2):167-169.
- [4] 王家保,徐碧玉,杜中军,等. 改良 CTAB 法从采后荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.) 果皮中提取总 RNA[J]. 农业生物技术学报,2006,14(6):998-999.
- [5] 陈长宝,朱树华,周杰. 改良 CTAB 法提取成熟肥城桃果实的总 RNA[J]. 山东农业科学,2009(5):102-104.
- [6] 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, 2002, 20(1):69.
- [7] LOPEZ-GOMEZ R, GOMEZ-LIM M A. A method for extracting intact RNA from fruits rich in polysaccharides using ripe mango mesocarp[J]. Hort Science, 1992(27):440-442.
- [8] 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.
- [9] 佟兆国. 桃果实果胶降解相关基因的克隆与表达分析[D]. 南京:南京农业大学,2010:58-59.
- [10] SU X, GIBOR A. A method for RNA isolation from marine macroalgae[J]. Anal Biochem, 1988, 174:650-657.
- [11] 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(1):36-39.
- [12] FANG G, HAMMAR S, GRUMET. A quick and inexpensive method for removing polysaccharides from plant genomic DNA[J]. Bio Techniques, 1992(13):52-56.
- [13] TESNIERE C, VAYDA M E. Method for the isolation of high-quality RNA from grape berry tissues without contaminating tannins or carbohydrates[J]. Plant Mol Biol Repr, 1991(9):242-251.

Comparative of Methods for RNA Extraction From Plum (*Prunus salicina* Lindl.) Fruit Flesh

XUAN Jiping, JIA Zhanhui, QIAN Meihua, ZHANG Jiyu, WANG Gang, GUO Zhongren

(Zhongshan Botanical Garden, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Nanjing, Jiangsu 210014)

DOI:10.11937/bfyy.201522029

苦瓜谷氨酰胺合成酶基因(*McGS1*) 原核表达载体的构建及表达分析

申龙斌, 牛 玉, 刘子记, 刘昭华, 扬 衍

(中国热带农业科学院 热带作物品种资源研究所, 农业部华南作物基因资源与种质创制重点开放实验室, 海南 儋州 571737)

摘 要:以“热研3号”苦瓜为试材,根据苦瓜谷氨酰胺合成酶基因(*McGS1*)全长序列信息设计引物,提取“热研3号”苦瓜总RNA并反转录成cDNA作为模板,通过PCR扩增、产物测序、酶切等方法与pET-30a(+)原核表达载体相连,构建苦瓜*McGS1*基因原核表达载体,并在大肠杆菌BL21(DE3)中进行表达分析,研究不同IPTG浓度及诱导时间对苦瓜*McGS1*基因蛋白在大肠杆菌BL21(DE3)中表达的影响。结果表明:该研究成功构建了苦瓜*McGS1*基因的原核表达载体,37℃、0.2 μmol/L IPTG诱导4 h苦瓜*McGS1*基因蛋白在大肠杆菌BL21(DE3)中可高效表达,表达的蛋白质分子量约为35 kDa。

关键词:苦瓜;谷氨酰胺合成酶;原核表达

中图分类号:S 642.503.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)22-0110-04

氮(N)素是植物吸收和利用的必需营养元素之一,是植物生命活动中不可缺少的重要组成成分,植物细胞中的蛋白质、核酸、酶类等需要氮元素,因此,氮元素能直接影响到植物的生长发育。作物中的N元素主要从土壤中获取,土壤中氮素的多少直接影响到作物的生长发育、产量形成与品质的好坏^[1-2]。自然环境中土壤的氮元素含量较少,无法满足作物生产的需要,含N肥料的开发和利用大大地提高了作物的产量和品质。来自

联合国粮农组织的数据表明,发展中国家粮食的主要增产因素是因为化肥的大量使用,其中含氮肥料的使用又起着关键的作用,我国目前每年使用在农作物上的氮肥超过2 000万t,是世界上氮肥使用最多的国家之一。氮肥的大量使用给农作物带来高产、稳产的同时也带来一系列的环境问题,目前世界氮肥的平均利用率约为40%~60%,而我国仅为30%左右。氮肥利用效率低不仅带来了极大的资源浪费,还造成了环境的污染^[3]。因此,研究合理地施用氮肥,在减少氮素损失的同时又能提高作物对氮素的利用率来增加作物的产量和改善作物的品质,已成为大家共同关注的问题。

谷氨酰胺合成酶是植物体内参与氮素同化的关键性酶之一,它依靠ATP功能催化谷氨酸生成谷氨酰胺,完成无机氮向有机氮转化的第一步。因此谷氨酰胺合成酶在植物N素同化和利用效率方面起着极为重要的

第一作者简介:申龙斌(1984-),男,博士,助理研究员,研究方向为瓜菜遗传育种。E-mail:sjylnong@163.com。

责任作者:扬衍(1971-),男,博士,研究员,硕士生导师,现主要从事瓜菜遗传育种等研究工作。E-mail:yzq@126.com。

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目(1630032013007,1630032015015)。

收稿日期:2015-07-27

Abstract: To select the suitable method for total RNA extraction from oriental plum (*Prunus salicina* Lindl.) fruit, the performances of three extraction methods, trizol, plant total RNA extraction kit and modified CTAB were compared. Trizol and RNA plant extraction kit were determined to hardly extract integrate RNA. Modified CTAB was capable of efficiently removing polysaccharides. The lightness of 28S rRNA of the RNA isolated by modified CTAB was 1.5—2.0 times as much as that of 18S rRNA, with the OD₂₆₀/OD₂₈₀ value ranging from 1.8 to 2.1. The RNA productivities from 5 samples of fruit tissue were 770.96—1 029.04 ng/μL, respectively. The specific RNA bands obtained by RT-PCR indicate that the RNA extracted by modified CTAB was of high-quality and good-integrity at a higher productivity, thus completely suitable for further molecular biological research.

Keywords: plum (*Prunus salicina* Lindl.); fruit flesh; comparative; RNA; modified CTAB