



全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材



全国高等中医药院校规划教材（第十版）

分子生药学

（新世纪第二版）

（供中药学、中药资源与开发、中药制药、药学等专业用）

主 编 刘春生 袁 媛

全国百佳图书出版单位
中国中医药出版社

全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材

全国高等中医药院校规划教材（第十版）

分子生药学

（新世纪第二版）

（供中药学、中药资源与开发、中药制药、药学等专业用）

主 审

黄璐琦（中国中医科学院）

主 编

刘春生（北京中医药大学）

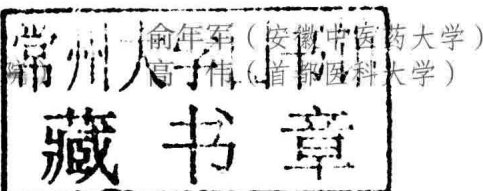
袁 媛（中国中医科学院）

副主编

周 涛（贵阳中医学院）

王小刚（华中科技大学同济药学院）

欧阳臻（江苏大学药学院）



编 委（以姓氏笔画为序）

丁常宏（黑龙江中医药大学）

邢朝斌（华北理工大学生命科学学院）

刘大会（湖北中医药大学）

李国栋（云南中医学院）

吴 波（江西中医药大学）

吴兰芳（河北中医学院）

国锦琳（成都中医药大学）

胡 静（天津中医药大学）

高建平（山西医科大学）

韩琳娜（山东中医药大学）

白吉庆（陕西中医药大学）

朱 芸（石河子大学药学院）

许 亮（辽宁中医药大学）

杨晶凡（河南中医药大学）

吴文如（广州中医药大学）

张春荣（广东药科大学）

赵 群（皖西学院生物与制药工程学院）

晋 玲（甘肃中医药大学）

郭万里（浙江理工大学生命科学学院）

蔡广知（长春中医药大学）

学术秘书

刘 娟（中国中医科学院）

绘 图

徐 亟（中国中药杂志）

图书在版编目 (CIP) 数据

分子生药学/刘春生, 袁媛主编. —2 版. —北京: 中国中医药出版社, 2017. 7

全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材

ISBN 978-7-5132-4259-2

I. ①分… II. ①刘… ②袁… III. ①分子生物学-生药学-中医学院-教材 IV. ①R93

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 121252 号

请到“医开讲 & 医教在线”(网址: www.e-lesson.cn)
注册登录后, 刮开封底“序列号”激活本教材数字化内容。



中国中医药出版社出版

北京市朝阳区北三环东路 28 号易亨大厦 16 层

邮政编码 100013

传真 010 64405750

廊坊市晶艺印务有限公司印刷

各地新华书店经销

开本 850×1168 1/16 印张 8.25 字数 206 千字

2017 年 7 月第 2 版 2017 年 7 月第 1 次印刷

书号 ISBN 978-7-5132-4259-2

定价 35.00 元

网址 www.cptcm.com

社长热线 010-64405720

购书热线 010-89535836

侵权打假 010-64405753

微信服务号 zgzyycbs

微商城网址 <https://kdt.im/LIdUGr>

官方微博 <http://e.weibo.com/cptcm>

天猫旗舰店网址 <https://zgzyycbs.tmall.com>

如有印装质量问题请与本社出版部联系 (010 64405510)

版权专有 侵权必究

全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材

全国高等中医药院校规划教材（第十版）

专家指导委员会

名誉主任委员

王国强（国家卫生计生委副主任 国家中医药管理局局长）

主任委员

王志勇（国家中医药管理局副局长）

副主任委员

王永炎（中国中医科学院名誉院长 中国工程院院士）

张伯礼（教育部高等学校中医学类专业教学指导委员会主任委员
天津中医药大学校长）

卢国慧（国家中医药管理局人事教育司司长）

委员（以姓氏笔画为序）

马存根（山西中医药大学校长）

王 键（安徽中医药大学教授）

王省良（广州中医药大学校长）

王振宇（国家中医药管理局中医师资格认证中心主任）

方剑乔（浙江中医药大学校长）

孔祥骊（河北中医学院院长）

石学敏（天津中医药大学教授 中国工程院院士）

匡海学（教育部高等学校中药学类专业教学指导委员会主任委员
黑龙江中医药大学教授）

吕文亮（湖北中医药大学校长）

刘 力（陕西中医药大学校长）

刘振民（全国中医药高等教育学会顾问 北京中医药大学教授）

安冬青（新疆医科大学副校长）

许二平（河南中医药大学校长）

孙忠人（黑龙江中医药大学校长）
严世芸（上海中医药大学教授）
李占永（中国中医药出版社副总编辑）
李秀明（中国中医药出版社副社长）
李金田（甘肃中医药大学校长）
杨 柱（贵阳中医学院院长）
杨关林（辽宁中医药大学校长）
余曙光（成都中医药大学校长）
宋柏林（长春中医药大学校长）
张欣霞（国家中医药管理局人事教育司师承继教处处长）
陈可冀（中国中医科学院研究员 中国科学院院士 国医大师）
陈立典（福建中医药大学校长）
陈明人（江西中医药大学校长）
武继彪（山东中医药大学校长）
范吉平（中国中医药出版社社长）
林超岱（中国中医药出版社副社长）
周仲瑛（南京中医药大学教授 国医大师）
周景玉（国家中医药管理局人事教育司综合协调处副处长）
胡 刚（南京中医药大学校长）
洪 净（全国中医药高等教育学会理事长）
秦裕辉（湖南中医药大学校长）
徐安龙（北京中医药大学校长）
徐建光（上海中医药大学校长）
唐 农（广西中医药大学校长）
彭代银（安徽中医药大学校长）
路志正（中国中医科学院研究员 国医大师）
熊 磊（云南中医学院院长）

秘 书 长

王 键（安徽中医药大学教授）
卢国慧（国家中医药管理局人事教育司司长）
范吉平（中国中医药出版社社长）

办公室主任

周景玉（国家中医药管理局人事教育司综合协调处副处长）
林超岱（中国中医药出版社副社长）
李秀明（中国中医药出版社副社长）
李占永（中国中医药出版社副总编辑）

编审专家组

组 长

王国强（国家卫生计生委副主任 国家中医药管理局局长）

副组长

张伯礼（中国工程院院士 天津中医药大学教授）

王志勇（国家中医药管理局副局长）

组 员

卢国慧（国家中医药管理局人事教育司司长）

严世芸（上海中医药大学教授）

吴勉华（南京中医药大学教授）

王之虹（长春中医药大学教授）

匡海学（黑龙江中医药大学教授）

王 键（安徽中医药大学教授）

刘红宁（江西中医药大学教授）

翟双庆（北京中医药大学教授）

胡鸿毅（上海中医药大学教授）

余曙光（成都中医药大学教授）

周桂桐（天津中医药大学教授）

石 岩（辽宁中医药大学教授）

黄必胜（湖北中医药大学教授）

前言

为落实《国家中长期教育改革和发展规划纲要（2010-2020年）》《关于医教协同深化临床医学人才培养改革的意见》，适应新形势下我国中医药行业高等教育教学改革和中医药人才培养的需要，国家中医药管理局教材建设工作委员会办公室（以下简称“教材办”）、中国中医药出版社在国家中医药管理局领导下，在全国中医药行业高等教育规划教材专家指导委员会指导下，总结全国中医药行业历版教材特别是新世纪以来全国高等中医药院校规划教材建设的经验，制定了“‘十三五’中医药教材改革工作方案”和“‘十三五’中医药行业本科规划教材建设工作总体方案”，全面组织和规划了全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材。鉴于由全国中医药行业主管部门主持编写的全国高等中医药院校规划教材目前已出版九版，为体现其系统性和传承性，本套教材在中国中医药教育史上称为第十版。

本套教材规划过程中，教材办认真听取了教育部中医学、中药学等专业教学指导委员会相关专家的意见，结合中医药教育教学一线教师的反馈意见，加强顶层设计和组织管理，在新世纪以来三版优秀教材的基础上，进一步明确了“正本清源，突出中医药特色，弘扬中医药优势，优化知识结构，做好基础课程和专业核心课程衔接”的建设目标，旨在适应新时期中医药教育事业发展和教学手段变革的需要，彰显现代中医药教育理念，在继承中创新，在发展中提高，打造符合中医药教育教学规律的经典教材。

本套教材建设过程中，教材办还聘请中医学、中药学、针灸推拿学三个专业德高望重的专家组成编审专家组，请他们参与主编确定，列席编写会议和定稿会议，对编写过程中遇到的问题提出指导性意见，参加教材间内容统筹、审读稿件等。

本套教材具有以下特点：

1. 加强顶层设计，强化中医经典地位

针对中医药人才成长的规律，正本清源，突出中医思维方式，体现中医药学科的人文特色和“读经典，做临床”的实践特点，突出中医理论在中医药教育教学和实践工作中的核心地位，与执业中医（药）师资格考试、中医住院医师规范化培训等工作对接，更具有针对性和实践性。

2. 精选编写队伍，汇集权威专家智慧

主编遴选严格按照程序进行，经过院校推荐、国家中医药管理局教材建设专家指导委员会专家评审、编审专家组认可后确定，确保公开、公平、公正。编委优先吸纳教学名师、学科带头人和一线优秀教师，集中了全国范围内各高等中医药院校的权威专家，确保了编写队伍的水平，体现了中医药行业规划教材的整体优势。

3. 突出精品意识，完善学科知识体系

结合教学实践环节的反馈意见，精心组织编写队伍进行编写大纲和样稿的讨论，要求每门

教材立足专业需求,在保持内容稳定性、先进性、适用性的基础上,根据其在整个中医知识体系中的地位、学生知识结构和课程开设时间,突出本学科的教学重点,努力处理好继承与创新、理论与实践、基础与临床的关系。

4. 尝试形式创新,注重实践技能培养

为提升对学生实践技能的培养,配合高等中医药院校数字化教学的发展,更好地服务于中医药教学改革,本套教材在传承历版教材基本知识、基本理论、基本技能主体框架的基础上,将数字化作为重点建设目标,在中医药行业教育云平台的总体构架下,借助网络信息技术,为广大师生提供了丰富的教学资源 and 广阔的互动空间。

本套教材的建设,得到国家中医药管理局领导的指导与大力支持,凝聚了全国中医药行业高等教育工作者的集体智慧,体现了全国中医药行业齐心协力、求真务实的工作作风,代表了全国中医药行业为“十三五”期间中医药事业发展和人才培养所做的共同努力,谨向有关单位和个人致以衷心的感谢!希望本套教材的出版,能够对全国中医药行业高等教育教学的发展和中医药人才的培养产生积极的推动作用。

需要说明的是,尽管所有组织者与编写者竭尽心智,精益求精,本套教材仍有一定的提升空间,敬请各高等中医药院校广大师生提出宝贵意见和建议,以便今后修订和提高。

国家中医药管理局教材建设工作委员会办公室

中国中医药出版社

2016年6月

编写说明

全国中医药行业“十三五”规划教材是根据国务院《中医药健康服务发展规划（2015—2020年）》《教育部等六部门关于医教协同深化临床医学人才培养改革的意见》（教研〔2014〕2号）精神，在国家中医药管理局教材建设工作委员会宏观指导下，以全面提高中医药人才的培养质量、积极与实践接轨为目标，依据中医药行业人才培养规律和实际需求，由国家中医药管理局教材建设工作委员会办公室组织建设，旨在体现近年来高等中医药教育教学改革和科研成果，全面推进素质教育。

分子生药学（molecular pharmacognosy）是在分子水平上研究中药的鉴定、质量的形成及活性成分生产的一门学科，主要研究对象是生物来源的中药及其资源，与药用植物学、中药鉴定学、中药资源学、中药栽培学、中药化学密切相关。教材内容遵循国家“十三五”规划教材编写的指导思想，突出黄璐琦院士提出的现阶段“以中药分子鉴定为基础、道地药材形成分子机制为特色、应用合成生物学生产活性成分为前沿”的分子生药学发展任务，密切结合中药生产和科研实践，具有以下特色：

1. 综合性与创新性结合 本科生的教学质量是中药学科发展的基础，优秀的本科生应该具有较广的知识面与较好的实践能力。本教材充分体现了实践能力和创新能力的培养，注意新方法、新思路的探讨，力求突出基本理论、基本知识、基本技能，体现思想性、科学性、先进性、启发性、适用性，为学生知识、能力、素质协调发展创造条件。

2. 可读性与实用性统一 本版教材在强调科学性、先进性的基础上，突出了教材的可读性。绘制了大量手绘原理图，并加入科研实例，使学生更直观、更形象地学习与理解该学科，提高学生对中药创新研究以及生命科学的兴趣。

本教材由刘春生、袁媛主编，负责教材内容的整体设计，并编写了第一章绪论部分；第二章为分子生药学的基本技术原理，由王小刚领衔，组织丁常宏、吴波、赵群、张春荣、国锦琳编写；第三章为中药分子鉴定，由俞年军领衔，组织吴文如、朱芸、杨晶凡、晋玲、蔡广知、许亮编写；第四章为中药活性成分生物合成与生产，由高伟领衔，组织郭万里、刘大会、欧阳臻、吴兰芳、韩琳娜编写；第五章为道地药材形成的遗传机理，由周涛领衔，组织胡静、高建平、邢朝斌、李国栋、白吉庆编写。编委会秘书刘娟，绘图由徐亟完成。

本教材数字化工作是在国家中医药管理局中医药教育教学改革研究项目的支持下，由中国中医药出版社资助展开的。该项目（GJYJS16110）由欧阳臻教授负责，编委会全体成员共同参与。

本教材的编写是全体参编人员智慧的结晶和辛勤劳动的结果，在编写过程中得到中国工程院黄璐琦院士的指导，以及各编委所在单位的大力支持，在此一并致以衷心感谢。本教材涉及

知识面较广，在编写框架和内容安排方面均有一定难度，若存在缺漏，恳请广大师生在使用过程中多提宝贵意见，以便再版时修订提高。

《分子生药学》编委会

2017年5月

目 录

第一章 绪论	1	三、DNA 条形码鉴定	52
一、分子生药学的起源	1	第三节 药用植物种质资源的分子评价	57
二、分子生药学的含义	1	一、药用植物种质资源的概念和意义	57
三、分子生药学的任务	2	二、药用植物种质纯度检测	58
四、分子生药学和相关学科的关系	3	三、药用植物种质资源的 DNA 身份证	61
五、分子生药学的学习方法	3	第四节 中药分子鉴定研究进展	63
第二章 基本技术原理	4	一、分子鉴定的新方法	63
第一节 DNA 基本技术原理	4	二、药材年限分子鉴定	66
一、DNA 提取与纯化	4	三、野生与家种（养）药材分子鉴定	67
二、聚合酶链式反应	7	四、分子鉴定的现场运用	68
三、DNA 体外重组	11	第四章 中药活性成分的生物合成与生产	72
四、DNA 序列测定方法	17	第一节 中药活性成分生物合成途径	72
五、DNA 变异与分子标记	17	一、萜类生物合成途径	72
第二节 RNA 基本技术原理	20	二、多酚类生物合成途径	74
一、RNA 的提取与纯化	20	三、生物碱类生物合成途径	76
二、基因表达分析	23	四、其他类生物合成途径	79
三、基因转录调控分析	25	第二节 中药活性成分生物合成中的结构基因和调控基因	82
四、表观遗传学的研究	27	一、结构基因	82
五、非编码 RNA 研究	30	二、调控基因	84
第三节 蛋白质基本技术原理	32	三、结构基因和调控基因功能的研究策略和方法	86
一、蛋白质提取与纯化	32	第三节 中药活性成分的体外培养	87
二、蛋白质组研究	35	一、细胞悬浮培养与毛状根培养生产活性成分	87
第三章 中药分子鉴定	38	二、内生真菌生产活性成分	91
第一节 中药分子鉴定概述	38	三、活性成分的生物转化	94
一、中药鉴定方法概述	38	第四节 中药活性成分的异源生产	97
二、分子鉴定基本原理	40	一、中药生物合成概述	97
三、中药分子鉴定适用范围	44	二、中药生物合成的研究策略及关键技术	99
第二节 药品标准中的中药分子鉴定方法	46		
一、特异性 PCR 鉴定	46		
二、PCR-RFLP 鉴定	49		

三、合成生物研究异源生产中药活性成分	103	一、基于 DNA 序列变异的道地药材研究	108
第五章 道地药材形成的遗传		二、基于基因表达差异的道地药材研究	109
机理	106	三、基于 DNA 甲基化的道地药材研究	111
第一节 道地药材概述	106	四、基于分子谱系地理学的道地药材研究	113
一、道地药材的概念、属性	106	五、基于系统生物学的道地药材研究	115
二、道地药材形成的生物学研究	106	主要参考文献	118
第二节 道地药材形成遗传机理研究的方法 ...	108		

第一章 绪 论

“生药”一词在我国出现很早，它是相对“熟药”而来的。宋代官府设立“熟药库”“熟药所”等机构，负责炮制、修合、储藏、出售饮片或成药制剂。与此相对，生药是指未作加工或经简单加工的药材。明代太医院规定：“凡天下解纳药材，俱贮本院生药库”，“凡太医院所用药饵，均由……各地解来生药制造”。清代太医院规定：“凡遇内药房取用药材……俱以生药材交进，由内药房医生切造炮制”。由此可见，我国古代所谓生药是和“熟药”相对的名称，约为药材的同义词。

目前我国已经形成了较为完善的生药鉴定及质量控制体系，但是依然有一些重要问题未得到阐明，如多来源药材的鉴定、正品和近缘伪品的鉴定、道地药材的形成机制等。随着中药材规范化栽培的推广，又产生了新的问题，如药用植物种质资源的鉴定评价等。

近年来，随着分子生物学的飞速发展，它在解决生物学及其分支学科相关科学问题中起着越来越重要的作用，生物来源中药及其资源研究也迅速吸收分子生物学的知识和技术，以解决中药鉴定、质量形成和有效成分生产等关键问题，从而派生出新的学科——分子生药学。

一、分子生药学的起源

分子生物学（molecular biology）一词最早于1945年由William Astbury提出。1953年Waston和Crick发现DNA双螺旋结构后，分子生物学迅速成为20世纪发展最快、对人类影响最大的学科之一。

PCR技术是分子生物学领域最重要的发现之一。1983年Kary Mullis提出了聚合酶链式反应的设想，1985年发明了聚合酶链式反应，1988年PE-Cetus公司推出第一台PCR仪，1989年Science杂志报道了耐热性的Taq DNA聚合酶，1993年Mullis因为发明聚合酶链式反应而获得诺贝尔化学奖。从此，PCR技术逐渐被生命科学的各个学科利用，不断促进生命科学的发展。

1995年，我国科学家黄璐琦院士敏锐地观察到PCR技术在生药学领域的巨大潜力，分析了分子生物学和生药学结合的理论基础，对分子生物学技术在生药学中的应用进行了展望，认为其在药材鉴定、生产和活性成分获取等方面有着广泛的运用前景，首次提出了“分子生药学（molecular pharmacognosy）”的概念。

二、分子生药学的含义

生药指未作加工或经简单加工的药材，生药除中药材外，还包括民族药材、民间草药、药食两用（食）材、国外天然药材等。

中药包括中药材、中药饮片和中成药，广义的中药还包括民族药和民间药，以及由境外引

进的植物药。

药用植物和药用动物制成的药材称为生物来源药材，药用矿物制成的药材称为非生物来源药材；除此之外，还有少数药材来自人工合成，如人工冰片（合成龙脑），少数药材来自人工配制，如人工牛黄等。生物来源药材是本学科的主要研究对象。

分子生药学是在分子水平上研究中药的鉴定、质量的形成及活性成分生产的一门学科。分子生药学的主要研究对象是生物来源中药及其资源。分子生药学的含义随着中药科研和生产的需要不断更新。

三、分子生药学的任务

（一）从分子水平研究中药的鉴定

1. 从分子水平评价中药的基原物种 中药的基原物种有的来源明确，如中药人参来源于五加科人参 *Panax ginseng* C. A. Mey.；有的中药的基原物种分类学家有争议，如小蓟的基原植物，《中华人民共和国药典》（简称《中国药典》）认为其为刺儿菜 *Cirsium setosum* (Willd.) MB.，而 *Flora of China* 认为应将其合并入丝路蓟 *Cirsium arvense* (Linnaeus) Scopoli，并将其学名修订为 *Cirsium arvense* var. *integrifolium* Wimmer et Grabowski。其次，物种的进化机制十分复杂，利用物种形态和基因片段表示物种进化关系可能出现偏差，如果基因树不能反映物种的进化，该物种则不能利用基因片段进行分子鉴定。因此，在进行分子鉴定之前，首先应对物种进行评价。

2. 从分子水平研究中药鉴定 目前《中国药典》已经建立了较为完善的中药性状、显微和理化鉴定体系，但是动物药的鉴定、正品和近缘伪品的鉴定等问题仍需要探索新的鉴定方法。分子鉴定因其具有较高的分辨率及客观性越来越受到人们的重视，目前特异性 PCR 鉴别法、PCR-RFLP 鉴别法已经被收入《中国药典》一部，中药材 DNA 条形码分子鉴定法指导原则被收入《中国药典》四部。

（二）在分子水平研究中药的质量形成

1. 从分子水平研究道地药材的形成 使用道地药材是中药的用药特色，道地药材是经过长期临床实践总结出来的中药质量标准之一。长期以来，对道地药材的理解几乎处于“知其然而不知其所以然”的状态。目前，相关学科已经对道地药材的外观性状和化学表型、产地气候和土壤特征等方面展开了研究。分子生药学将从道地药材的遗传特征，尤其是产地生态因子与药材基因表达响应机制等方面展开深入研究，深化人们对道地药材的认识。

2. 从分子水平研究中药种质资源 随着中药规范化种植的推广，好种质才能产生好药材的理念越来越深入人心。人们试图从野生优质中药种源中寻找优良种质，分子生药学可以从遗传角度揭示不同种源的差异，阐明优质药材的形成机理；其次，在进行育种的时候，也可以通过分子生药学技术揭示亲本之间的遗传差异，为选择育种亲本提供依据。

（三）中药活性成分的生物合成与生产

1. 从分子水平解析中药活性成分的生物合成途径 中药生物技术资源保护是未来解决濒危中药资源的可能途径之一，合成生物学是重要的研究策略，解析活性成分的生物合成途径是实现中药活性成分生物合成的前提。克隆活性成分的生物合成途径基因，逐步解析活性成分生物合成途径是分子生药学的重要任务之一。目前，紫杉醇、青蒿素等的生物合成途径解析已取

得较大进展。

2. 研究中药活性成分的生物合成 随着中药活性成分的不断阐明,组分中药逐渐成为新药开发的一个方向;与此同时,随着中药活性成分生物合成途径的不断阐明,利用合成生物学方法合成活性成分越来越受到人们的重视,细胞工厂合成中药活性成分逐渐成为可能。中药活性成分的生物合成是分子生药学的重要研究任务,生物合成和化学合成组合将成为活性成分的生产方式之一。

另外,中药资源分类、濒危中药资源保护等也是分子生药学的任务。

四、分子生药学和相关学科的关系

药用植物学、生药学、中药鉴定学、中药资源学、中药栽培学、天然药物化学(中药化学)都和分子生药学有密切的关系。从名称来看,分子生药学和生药学关系密切,有人误认为分子生药学是生药学的一个研究方向,实际则不然。分子生药学的理论基础是分子生物学,是利用分子生物学技术研究中药的学科,是从分子水平研究中药的鉴定、质量的形成和活性成分生产的学科。

五、分子生药学的学习方法

分子生药学的基础是药用植物学、中药资源学、中药鉴定学和中药化学等学科,要学好分子生药学首先要学好这些课程;其次,分子生药学的理论和技术基础是分子生物学,要学好分子生药学对分子生物学的基本知识也要有所了解,只有在中药学和分子生物学的基础上才能学好分子生药学;第三,分子生药学作为一门新兴学科,发展迅速,在学习的同时,要广泛涉猎期刊杂志,了解分子生药学的最新发展,才能准确理解分子生药学的课程内容。

第二章 基本技术原理

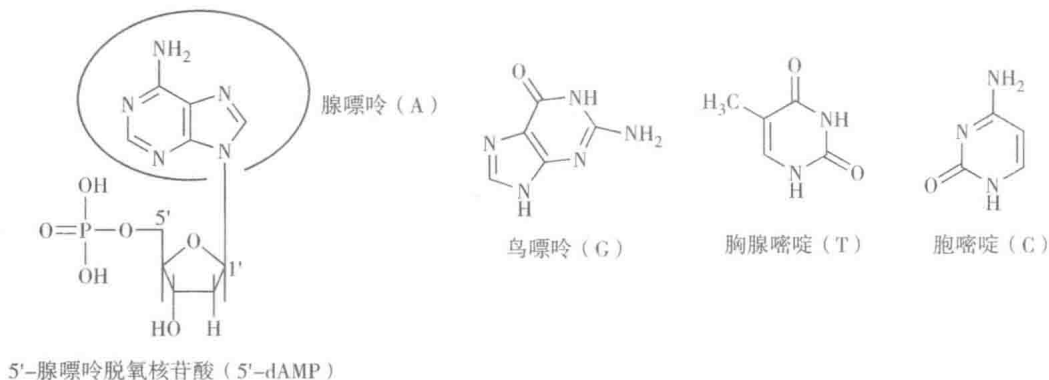
第一节 DNA 基本技术原理

脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 是生物体中的主要遗传物质。原核细胞的 DNA 集中分布于拟核中, 真核细胞的 DNA 则主要集中在细胞核内, 而且真核细胞的线粒体、叶绿体等细胞器中也含有少量的 DNA。DNA 以基因 (gene) 的形式负载遗传信息, 是生物遗传信息复制和基因转录的模板。

一、DNA 提取与纯化

(一) DNA 的理化性质

DNA 由碳、氢、氧、氮、磷 5 种元素组成, 基本组成单位是脱氧核糖核苷酸。脱氧核糖核苷酸又是由脱氧核糖、磷酸和含氮碱基组成, 其中碱基有 4 种, 分别是腺嘌呤 (Adenine, A)、鸟嘌呤 (Guanine, G)、胞嘧啶 (Cytosine, C) 和胸腺嘧啶 (Thymine, T)。



DNA 是白色纤维状固体, 为线性高分子。DNA 微溶于水, 呈酸性, 易溶于碱性溶液, 不溶于乙醇、乙醚和氯仿等有机溶剂。提取 DNA 时常用异丙醇或乙醇从溶液中沉淀 DNA。DNA 的黏度极大, 当其变性或是降解后, 黏度降低。

DNA 既含有酸性的磷酸基团, 又含有弱碱性的碱基, 因此能够发生两性解离。溶液的 pH 值会影响 DNA 的解离状态。因为 DNA 中的磷酸基团酸性较强, 使得整个分子相当于多元酸。DNA 中的嘌呤、嘧啶都具有共轭双键, 可以强烈吸收紫外光, 在 260nm 处有最大吸收峰。

在过酸、过碱、加热等理化因素的作用下, DNA 分子互补碱基对之间的氢键断裂, DNA 双螺旋解链变成两条单链, 即为变性 (denaturation)。在 DNA 解链过程中, 260nm 处的吸光度

增加，增加量与解链程度呈一定的比例关系，称为 DNA 的增色效应（hypochromic effect）。增色效应能够衡量 DNA 变性的程度，当紫外光吸收值达到最大值 50% 时的温度称为 DNA 的解链温度（melting temperature, T_m ）， T_m 值的大小与 DNA 分子中所含碱基的 G+C 含量相关，G+C 含量越高， T_m 值越高。

变性的 DNA 在适当条件下，两条互补链可重新恢复天然的双螺旋构象，称为复性（renaturation）。热变性的 DNA 在缓慢冷却时发生复性过程称为退火（annealing）。在复性的过程中，DNA 溶液的 OD_{260} 值会减小，称为减色效应（hypochromic effect）。

(二) DNA 提取方法

DNA 提取流程如下（图 2-1）：

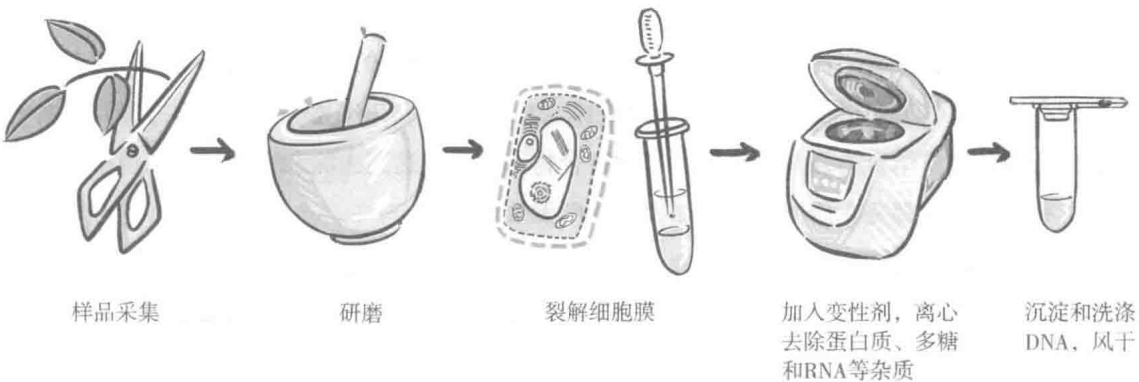


图 2-1 DNA 提取流程

1. 粉碎组织 新鲜的植物组织一般在液氮中快速冷却，然后用研钵研碎，以达到粉碎组织和破坏细胞壁的目的。分离细胞器 DNA 时需要采用较为温和的方法进行破壁，一般在含有渗透剂的缓冲液中，于 4℃ 匀浆破壁，防止内膜系统过早被破坏。对于动物组织来说，如果是鲜品，需立即剪碎，加入适量的消化裂解液温浴；如果是干品，则洗净烘干后，加入玻璃砂研磨粉碎，然后加入适量的消化裂解液温浴。

2. 破坏细胞膜 通常加入含溴化十六烷基三甲胺（cetyltriethyl ammonium bromide, CTAB）或十二烷基硫酸钠（sodium dodecyl sulfate, SDS）等表面活性剂的提取缓冲液温浴一段时间，破坏细胞膜，释放 DNA 到提取缓冲液中。CTAB 和 SDS 这些表面活性剂还能够防止 DNA 被内源核酸酶降解。提取缓冲液中通常还包含乙二胺四乙酸（ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA），β-巯基乙醇（β-mercaptoethanol）、聚乙烯吡咯烷酮（polyvinyl pyrrolidone, PVP）等成分。动物组织还需加入蛋白酶 K（proteinase K）进行消解。当 DNA 释放出来后，实验操作的动作要轻，因为剧烈震荡会打断溶液中的 DNA，破坏其分子的完整性。

3. 去除杂质

(1) 蛋白质和 RNA 的去除 温浴结束后，加入氯仿：异戊醇（24：1）混匀后离心，吸取上清液，以达到去除蛋白质和细胞碎片的目的，其中氯仿能够使蛋白质变性，还有助于水相与有机相分离，去除植物色素，加入的少量异戊醇则能够减少抽提过程中气泡的形成；还可以使用苯酚与氯仿混合液来去除蛋白质。此步骤可根据实际情况重复进行 2~3 次。如需去除 RNA，可以在第一次吸取的上清液中加入 RNA 酶（RNase）。

(2) 多糖和淀粉的去除 如果提取物中多糖和淀粉含量高，可以利用其与 DNA 在不同盐

NOTE