


文 章 内 容

标 题:	高粱胞质雄性不育及保持系的RAPD 技术优化
作 者:	范昌发 1 2, 孙春昀3 4, 孙 毅2, 王景雪2, 贾敬芬1, 何军贤3, 郭晓才4
发表年限:	2002
发表期号:	3
单 位:	(1. 西北大学生命科学学院, 陕西西安710069; 2. 山西省农业生物技术研究中心, 山西太原030031; 3. 四J大学生命学院, 四川成都610064; 4. 中国科学院成都生物研究所, 四川成都610041)
关键词:	细胞质雄性不育; 高粱; RAPD; 技术优化
摘 要:	<p>以高粱细胞质雄性不育系和保持系A₁T_x623A / B, A₂V₄A / B为材料, 考察了Mg²⁺, Taq酶, dNTP, 引物, 模板等的用量、循环参数及不同的PCR仪对随机扩增多态性DNA(RAPD)反应的影响。结果发现: 在25 L体系中, MgCl₂ 2. 0 mmol / L, Taq酶0. 75 U(1U—1 t~mol / min), dNTP 0. 15mmol / L, 引物16. 5 ng, 模板30 ng, 明胶0. 001, KCl 50 mmol / L, Tris 10 mmol / L (pH8. 3)为最佳反应混合物组合。对Pehier Thermal Cycler 200而言, 94C预变性5 min, 94℃ 变性1 rain, 35° C退火1 rain, 72° C延伸2 min, 最后72℃保温5 min, 共计40个循环为最佳扩增条件; 对Perkin ElmerCetus DNA Thermal Cycler—480而言, 采用94℃ 预变性3 min后, 前3个循环, 94℃ 变性1 min, 35° C退火1 min, 72° C延伸2 min, 后37个循环, 94° C变性30S, 36° C退火45 S, 72° C延伸1 min, 最后72℃保温5 min的循环程序可获得理想扩增。并阐述了优化RAPD实验体系的设计原则。</p> <p> 高粱胞质雄性不育及保持系的RAPD 技术优化.pdf</p>

打印

关闭