

农学一研究报告

正交设计优化狭叶坡垒ISSR-PCR反应体系

代文娟,唐文秀,邓涛,丁莉,骆文华,黄仕训

广西植物研究所

摘要:

以狭叶坡垒DNA为模板,利用正交试验分别对ISSR-PCR反应的MgCl₂浓度、dNTPs浓度、Taq聚合酶浓度、引物浓度、模板DNA浓度进行了优化,并通过梯度PCR确定最佳退火温度和循环次数,最终确定狭叶坡垒最佳反应体系及扩增条件为:25 μL体系中1×PCR buffer,2 mmol/L MgCl₂,0.25 mmol/L dNTPs,0.04 U/μL Taq聚合酶,0.2 μmol/L引物,4 ng/μL DNA模板;最佳扩增程序为:94℃预变性5 min;94℃变性45 s,53℃退火45 s,72℃延伸1.5 min,共35个循环;72℃最后延伸7 min。

关键词: 优化

Optimization for ISSR Reaction System of *Hopea chinensis* by Orthogonal Design

1,

Abstract:

To optimize the inter simple sequence repeat(ISSR) reaction condition for *Hopea chinensis* genomic DNA, the concentrations of MgCl₂, dNTPs, Taq polymerase, primers and template DNA were studied with an orthogonal experimental design, and the optimal anneal temperature of primer and cycles were determined through gradient PCR. The optimal PCR system for ISSR analysis was 1×PCR buffer, 2 mmol/L MgCl₂, 0.25 mmol/L dNTPs, 0.04 U/μL Taq polymerase, 0.2 μmol/L primer, 4 ng/μL template DNA in 25 μL reaction solution. And the augmentation procedure was pre-denaturation at 94℃ for 5 min, denaturation at 94℃ for 45 s, annealing at 53℃ for 45 s, extension at 72℃ for 1.5 min, reaction with 35 cycles, and extension at 72℃ for 7 min.

Keywords: optimization

收稿日期 2011-05-04 修回日期 2011-06-10 网络版发布日期 2011-07-27

DOI:

基金项目:

植物园迁地保护植物编目及信息标准化

通讯作者: 黄仕训

作者简介:

作者Email: hsx@gxib.cn

参考文献:

[1] Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome Fingerprinting by simple sequence repeat(SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification[J]. *Genomics*, 1994,20: 176-183.

[2] 宾晓芸,唐绍清,周俊亚,等.金花茶遗传多样性的ISSR分析[J].*武汉植物学研究*, 2005,23(1): 20-26.

[3] 彭云滔,唐绍清,李伯林,等.野生罗汉果遗传多样性的ISSR分析[J].*生物多样性*, 2005,13(1): 36-42.

扩展功能

本文信息

- ▶ Supporting info
- ▶ PDF(729KB)
- ▶ [HTML全文]
- ▶ 参考文献[PDF]
- ▶ 参考文献

服务与反馈

- ▶ 把本文推荐给朋友
- ▶ 加入我的书架
- ▶ 加入引用管理器
- ▶ 引用本文
- ▶ Email Alert
- ▶ 文章反馈
- ▶ 浏览反馈信息

本文关键词相关文章

- ▶ 优化

本文作者相关文章

- ▶ 代文娟
- ▶ 唐文秀
- ▶ 邓涛
- ▶ 丁莉
- ▶ 骆文华
- ▶ 黄仕训

PubMed

- ▶ Article by Dai,W.J
- ▶ Article by Tang,W.X
- ▶ Article by Deng,s
- ▶ Article by Ding,l
- ▶ Article by Luo,W.H
- ▶ Article by Huang,S.X

- [4] 陈万胜,王元英,罗成刚,等.利用正交设计优化烟草SRAP反应体系[J].分子植物育种,2008,6(1):177-182.
- [5] 周凌瑜,吴晨炜,唐东芹,等.利用正交设计优化小苍兰ISSR-PCR反应体系[J].植物研究,2008,28(4):402-407.
- [6] 白锦军,魏安智,王佳,等.仁用杏ISSR分析体系的正交优化[J].分子植物育种,2009,7(6):1237-1224.
- [7] 申洁,侯思宇,孙朝霞,等.正交优化枣树ISSR-PCR反应体系的研究[J].华北农学报,2010,25(2):116-120.
- [8] 乔燕春,林顺权,杨向晖,等.均匀设计在枇杷ISSR-PCR反应体系优化中的应用[J].基因组学与应用生物学,2009,28(1):123-126.
- [9] 卢圣栋.现代分子生物学实验技术[M].北京:中国协和医科大学出版社,1999:458-463.
- [10] 陈大霞,李隆云,鲁成,等.黄连ISSR反应条件优化的研究[J].植物研究,2007,27(1):77-81.
- [11] 王建波.ISSR分子标记及其在植物遗传学中的应用[J].遗传,2002,24(5):613-616.
- [12] 周俊亚,宾晓芸,彭云滔,等.罗汉果ISSR-PCR反应体系的建立[J].广西师范大学学报(自然科学版),2004,22(3):81-84.
- [13] 刘立军,孙珍夏,彭定祥.苕麻ISSR-PCR体系的优化[J].中国农学通报,2006,22(7):64-68.

本刊中的类似文章

1. 林玉芳 陈清西 关夏玉 陈明贤 欧高政.橄榄总多酚提取工艺优化研究[J].中国农学通报,2011,27(第5期3月):396-400
2. 于安芬 李瑞琴 水蓉 赵有彪 陶海霞 徐美蓉.功能性植物蛋白源——苜蓿叶蛋白加热盐溶法浸提正交试验研究[J].中国农学通报,2011,27(第5期3月):457-461
3. 袁婧 李聪 王秋玉.石油污染土壤降解细菌的分离、鉴定及生长条件优化[J].中国农学通报,2011,27(第6期3月):266-271
4. 苏军虎 张艳萍 魏彦明.甘肃金鳃AFLP体系建立及应用[J].中国农学通报,2011,27(第7期4月):400-404
5. 欧立军 黄园 王俞人 谭智文.天门冬AFLP反应体系的建立及优化[J].中国农学通报,2011,27(第8期4月):87-90
6. 魏述英 朱祝军.辣椒种子引发技术优化试验[J].中国农学通报,2011,27(第4期2月):169-172
7. 稻瘟病菌SSR反应体系的优化.稻瘟病菌SSR反应体系的优化[J].中国农学通报,2007,23(6):174-174
8. 李文政.农村土地流转中政府职能优化的策略审视[J].中国农学通报,2009,25(15):0-
9. 赵荣芳,陈新平,张福锁.基于养分平衡和土壤测试的冬小麦氮素优化管理方法研究[J].中国农学通报,2005,21(11):211-211
10. 康孟利,薛旭初,凌建刚,骆耀平,林旭东.新颖袋泡茶工艺参数的优化[J].中国农学通报,2007,23(11):130-130
11. 程艳 张克诚 赵明富 孙蕾 崔增杰 檀贝贝.应用SAS软件优化武夷菌素产生菌发酵培养基[J].中国农学通报,2010,26(21):268-272
12. 杨帆 胡小虎 刁英 邓凤娇 胡中立 舒新亚.克氏原螯虾ISSR体系优化[J].中国农学通报,2010,26(21):432-435
13. 吴红,林清,雷开荣,陈旭,蒋晓英,陶伟林.丝瓜SRAP-PCR体系建立与优化[J].中国农学通报,2009,25(04):30-34
14. 潘坤,王文泉,吴翼,唐龙祥.椰子ISSR体系优化[J].中国农学通报,2009,25(04):24-29
15. 张传珂.糯玉米优化施肥研究[J].中国农学通报,2004,20(2):139-139