

植物生产层

山生柳SSR PCR反应体系优化

郭敏, 李毅, 马彦军

摘要:

本研究以祁连山4个海拔梯度的山生柳 (*Salix oritrepha*) 为材料, 采用L9(34)正交试验设计和单因子试验, 分析山生柳SSR技术中PCR体系的主要成分对扩增结果的影响, 并对引物SHUK123的适宜退火温度进行优化。结果表明, PCR反应体系的最佳条件: 20  $\mu\text{L}$  体系中2.0  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Mg}^{2+}$  1  $\mu\text{L}$ , 0.10  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  dNTPs 1.5  $\mu\text{L}$ , 0.5 U Taq酶用量为1  $\mu\text{L}$ , 20  $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  DNA模板1  $\mu\text{L}$ , 0.5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的上下游引物各2  $\mu\text{L}$ , 10 $\times$  Taq Buffer 2  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O加至20  $\mu\text{L}$ 。扩增反应程序: 94  $^{\circ}\text{C}$  高温预变性时间3 min, 94  $^{\circ}\text{C}$  变性45 s,  $T_m$ (不同退火温度)退火时间45 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸30 s, 循环数30个, 最后72  $^{\circ}\text{C}$  后延伸时间5 min, 4  $^{\circ}\text{C}$  保温。适宜退火温度为56  $^{\circ}\text{C}$ 。以上结果表明, 此反应体系在山生柳PCR扩增中的稳定性和可重复性较好。

关键词: 山生柳 SSR PCR 体系优化

Establishment and optimization of SSR PCR system of *Salix oritrepha*

GUO Min, LI Yi, MA Yan jun

Abstract:

In this study, the SSR PCR system of *Salix oritrepha* from four altitudes was optimized. The main factors of the system were studied using orthogonal design and single factor experiment. Meanwhile, the suitable annealing temperature of primer SHUK123 was optimized. The results of this study showed the optimized system was: 1  $\mu\text{L}$   $\text{Mg}^{2+}$  (2.50  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 1.5  $\mu\text{L}$  dNTPs concentration (0.10  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 1  $\mu\text{L}$  Taq polymerase (0.5 U), 1  $\mu\text{L}$  DNA template (20  $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ), 2  $\mu\text{L}$  each primer concentration (0.5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 2  $\mu\text{L}$  10 $\times$  Taq Buffer in a mixture of 20  $\mu\text{L}$ . The PCR procedure included an initial step of 94  $^{\circ}\text{C}$  for 3 min, followed by 30 cycles of 94  $^{\circ}\text{C}$  for 45 s, annealing 45 s (annealing temperature varies with the primers), 72  $^{\circ}\text{C}$  extension 30 s, and a final extension at 72  $^{\circ}\text{C}$  for 5 min. The products of PCR were saved at 4  $^{\circ}\text{C}$ . The optimized annealing temperature of primer SHUK123 was 56  $^{\circ}\text{C}$ . The optimized SSR PCR system was stable and repeatable, which will be a good choice in the study of *S. oritrepha*.

Keywords: *Salix oritrepha* SSR PCR system optimization

收稿日期 修回日期 网络版发布日期

DOI:

基金项目:

扩展功能

本文信息

- Supporting info
- PDF(586KB)
- [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

- 山生柳
- SSR PCR
- 体系优化

本文作者相关文章

PubMed

通讯作者:

作者简介:

作者Email:

---

参考文献:

本刊中的类似文章

1. 王芳, 陈文业, 才让卓玛, 戚登臣, 赵明. 高寒区山生柳硬枝扦插灰色系统理论分析研究 [J]. 草业科学, 2010, 27(09): 86-90
2. 沈紫微, 陈本建, 康俊梅, 魏小兰, 张蕴薇. 红豆草ISSR体系优化及其在航天诱变种质鉴定中的应用 [J]. , 2010, 27(12): 65-72