山东大学学报(医学版) 2012, 50(1) 57-61 DOI: ISSN: 1671-7554 CN: 37-1390/R

论文

蠕形螨ISSR-PCR的反应体系优化及引物筛选

刘艳荣1，刘付红1，肖克源1，郭淑玲1，冯玉新2，袁方曙1

山东大学医学院 1.病原生物学研究所； 2.细胞生物学研究所, 济南 250012

摘要：

目的 以蠕形螨的DNA为模板,对蠕形螨简单重复序列锚定PCR(ISSR-PCR)反应体系优化并对ISSR引物进行筛选，为ISSR分析奠定基础。方法 用自然沉降法收集山羊蠕形螨，用基因组DNA提取试剂盒提取山羊蠕形螨DNA,并以此为模板,以(CA)8RG(R为1分子的嘧啶)为引物，利用正交实验法，从Mg2+浓度、引物用量、dNTPs、DNA模板用量和TaqDNA聚合酶以及退火温度对蠕形螨ISSR-PCR反应体系进行优化，并以优化的反应体系筛选ISSR-PCR的引物。结果 ISSR-PCR 25μL最佳反应体系包括：0.4mmol/L Mg2+、30pmol引物、30～60ng模板DNA、2u Taq酶、最佳退火温度为49℃、循环35次。筛选出10条条带清晰、多态性好、重复性高的引物。结论 筛选出蠕形螨ISSR-PCR最佳反应体系和理想的引物，为蠕形螨的分子生物学研究奠定了基础。

关键词： 螨；微卫星重复; 反应体系优化；DNA引物

Condition optimization and primer screening for ISSR-PCR of Demodex

LIU Yan-rong1, LIU Fu-hong1, XIAO Ke-yuan1, GUO Shu-ling1, FENG Yu-xin2, YUAN Fang-shu1

1. Institute of Pathogenic Biology； 2. Institute of Cell Biology, School of Medicine, Shandong University, Jinan 250012, China

Abstract:

Objective To optimize conditions and screen for primers for inter-simple sequence repeat-anchored (ISSR-PCR) of Demodex， using genome DNA as the template, preparing for the genetic diversity research of Demodex with ISSR mark. Methods After mites were rinsed and precipitated in double distilled water(DDW), the genome DNA of Demodex was extracted with a kit. Then experiments were carried out using DNA of Demodex as the template, and (CA)8RG as the primer. The orthogonal array was conducted, and the involved factors were as follows： concentrations of Mg2+, dNTPs, primers，template DNA and Taq DNA polymerase and return temperature. An optimal reaction system of ISSR-PCR of Demodex was established, through which an optimal primer was obtained. Results An optimal 25μL of ISSR-PCR amplification system contained 2.0mmol/L of Mg2+, 0.4mmol/L of dNTPs, 30-60ng of template DNA, 30pmol of primers, and 2U of Taq DNA polymerase. The optional return temperature for primer was 49℃, and the cycle index is 35. 10 primers were selected, with clear bands, good polymorphism and high repetition. Conclusion The optimal conditions of ISSR-PCR and primers of genome DNA of Demodex have been screened， which are the basis of molecular biological research of Demodex mites.

Keywords: Mites; Minisatellite repeats; Optimization of the reaction system； DNA primers

收稿日期 2011-06-29 **修回日期** **网络版发布日期**

DOI:

基金项目:

山东省自然科学基金资助项目(Y2008C111)

通讯作者: 袁方曙(1959-)，男，教授，硕士研究生导师，主要从事蠕形螨的基础研究。 E mail:yuanfangshu@126.com

作者简介: 刘艳荣(1982-)，女，硕士研究生，主要从事蠕形螨的基础研究。

作者Email:

参考文献：

扩展功能

本文信息

Supporting info

PDF(1509KB)

[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

螨；微卫星重复; 反应体系优化；DNA引物

本文作者相关文章

PubMed

本刊中的类似文章

Copyright by 山东大学学报(医学版)