

植物诱变育种 · 农业生物技术

铁皮石斛SCoT-PCR反应体系构建及优化

赵瑞强, 高燕会, 章晓玲, 斯金平

浙江农林大学/亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 天然药物研究开发中心, 浙江 临安 311300

摘要: 采用正交设计和单因素试验相结合的方法,对铁皮石斛的SCoT-PCR反应中5个因素(DNA 模板、Mg²⁺、dNTPs、Taq 酶和引物)进行优化试验。建立了适合铁皮石斛既稳定且多态性高的SCoT-PCR的最佳反应体:20μl PCR反应体系中含有1×Buffer、30ng DNA 模板、2.5mmol·L⁻¹Mg²⁺、0.15mmol·L⁻¹dNTPs、1.5U Taq DNA聚合酶和0.4μmol·L⁻¹引物。对铁皮石斛的SCoT-PCR最佳反应体系的退火温度进行梯度试验,发现本试验引物S6的退火温度为54.5℃,且最适退火温度因引物而异。这一优化的SCoT-PCR反应体系在32份铁皮石斛材料的验证中表现出良好的稳定性和重复性。该优化的SCoT-PCR反应体系为进一步进行铁皮石斛种质鉴定、遗传图谱构建、基因定位和遗传多样性的分析奠定了技术基础。

关键词: 铁皮石斛 SCoT 正交设计 单因素试验 体系优化

ESTABLISHMENT AND OPTIMIZATION OF SCoT-PCR REACTION SYSTEM FOR *Dendrobium officinale*

ZHAO Rui-qiang, GAO Yan-hui, ZHANG Xiao-ling, SI Jin-ping

A Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Research and Development Center for Natural Medicine, Zhejiang Agricultural and Forestry University, Lin'an, Zhejiang 311300

Abstract: Orthogonal design and single factor experiment design were applied for optimizing five factors (DNA template, Mg²⁺, dNTPs, Taq DNA polymerase and primer) in the SCoT-PCR amplification system on *Dendrobium officinale*. The results showed that a satisfactory SCoT reaction system for *Dendrobium officinale* with desirable repeatability and polymorphic bands was established. In a total volume of 20μl SCoT-PCR system, it contained 1×Buffer, 30ng DNA template, 2.5mmol·L⁻¹Mg²⁺, 0.15mmol·L⁻¹dNTPs, 1.5U Taq DNA polymerase and 0.4μmol·L⁻¹ primer. The optimal annealing temperature of every primer for SCoT-PCR reaction was proposed by gradient PCR, and it was found that different primers had different annealing temperature. As far as primer S6 was concerned, the optimal annealing temperature was 54.5℃. The optimal reaction system was further verified in 32 *Dendrobium officinale* varieties with good stability and repeatability. This optimized SCoT-PCR reaction system would provide the basis for germplasm evaluation of *Dendrobium officinale*, the establishment of genetic maps, gene localization and analysis of genetic diversity.

Keywords: *Dendrobium officinale* Kimura et Migo SCoT orthogonal design single factor experiment system optimization

收稿日期 2011-10-12 修回日期 2012-01-13 网络版发布日期

DOI:

基金项目:

浙江省重大科技专项(2009C12059)

通讯作者: 高燕会(1974 -),女,山西霍州人,博士,副教授,主要从事植物基因工程与遗传改良教学和研究工作。E-mail: gaoyanhui408@126.com

作者简介:

作者Email: gaoyanhui408@126.com

参考文献:

- [1] 国家药典委员会编. 中国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 265
- [2] 国家环境保护局, 中国科学院植物研究所. 中国珍稀濒危保护植物名录[M]. 北京: 科学出版社, 1987
- [3] 谢明璐, 侯北伟, 韩丽, 马艳红, 丁小余. 珍稀铁皮石斛SSR 标记的开发及种质纯度鉴定[J]. 药学学报, 2010, 45 (5): 667-672
- [4] 张铭, 黄华荣, 廖苏梅. 石斛属RAPD 分析及鉴定铁皮石斛的特异性引物设计[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(7) :

扩展功能

本文信息

- ▶ Supporting info
- ▶ PDF(1394KB)
- ▶ [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

- ▶ 铁皮石斛
- ▶ SCoT
- ▶ 正交设计
- ▶ 单因素试验
- ▶ 体系优化

本文作者相关文章

- ▶ 赵瑞强
- ▶ 高燕会
- ▶ 章晓玲
- ▶ 斯金平

PubMed

- ▶ Article by ZHAO Rui-qiang
- ▶ Article by GAO Yan-hui
- ▶ Article by ZHANG Xiao-ling
- ▶ Article by SI Jin-ping

- [5] 白音, 包英华, 王全文. 国产石斛属植物亲缘关系的AFLP分析[J]. 园艺学报, 2007, 34(6): 1569-1574
- [6] Yue G H, Lam chan L T, Hong Y. Development of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in identification of Dendrobium varieties [J]. Molecular Ecol Notes, 2006, 6: 832-834
- [7] Collard B C Y, Mackill D J. Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants [J]. Plant Mol Biol Rep, 2009, 27(1): 86-93
- [8] 陈香玲, 李杨瑞, 杨丽涛, 吴建明, 罗聪, 熊前发, 杨柳. 低温胁迫下甘蔗抗寒相关基因的cDNA-SCOT差异显示[J]. 生物技术通报, 2010, 8: 120-124
- [9] 蒋巧巧, 龙桂友, 李武文, 邓子牛. SCoT结合克隆测序鉴别湖南甜橙变异类型[J]. 中国农学通报, 2011, 27(6): 148-154
- [10] 陈虎, 何新华, 罗聪, 朱建华, 李峰. 龙眼24个品种的SCoT遗传多样性分析[J]. 园艺学报, 2010, 37(10): 1651-1654
- [11] 陈香玲, 李杨瑞, 杨丽涛, 吴建明, 熊前发, 罗聪. cDNA-SCOT基因差异表达两种电泳方法的比较研究[J]. 生物技术通报, 2010, 10: 93-95
- [12] 何正文, 刘运生, 陈立华, 曹美鸿, 夏家辉. 正交设计直观分析法优化PCR条件[J]. 湖南医科大学学报, 1998, 23(4): 403-404
- [13] 司鹏, 戴洪义, 薛华柏, 张玉刚, 郭俊英, 曹尚银. 苹果SRAP-PCR反应体系的建立[J]. 果树学报, 2010, 27(2): 168-173
- [14] 袁长青, 李平, 李君文. PCR反应条件的优化[J]. 中国公共卫生, 1999, 15(3): 255-256
- [15] 宣朴, 邓婧, 陈新, 尹春蓉, 陈放. 苦瓜ISSR扩增条件优化的研究[J]. 核农学报, 2006, 20(3): 215-217
- [16] 时剑, 童再康, 黄华宏, 刘志高, 彭沙沙, 周厚君. 中国石蒜SSR体系的建立及性状对应分析[J]. 园艺学报, 2011, 38(3): 571-578
- [17] 倪星群, 郭景元, 夏家辉, 李麓芸, 何小轩. 利用正交试验设计确定PCR最适条件[J]. 中国卫生统计, 1995, 12(4): 53-55
- [18] 高燕会, 朱玉球, 黄华宏, 张雷凡, 童再康. 杨梅RAPD-PCR正交优化体系的研究[J]. 生物技术, 2006, 16(3): 55-58
- [19] 安静, 徐刚标, 申响保, 谷振军, 张玉梅, 储秀云. 杉木ISSR-PCR反应体系的正交优化[J]. 中南林业科技大学学报, 2011, 31(3): 156-159
- [20] 陈虎, 何新华, 罗聪, 高美萍, 朱建华. 龙眼SCoT-PCR反应体系的优化[J]. 基因组学与应用生物学, 2009, 28(5): 970-974
- [21] 余桂红, 唐克轩, 马鸿翔, 周淼平, 张旭, 任丽娟, 陆维忠. 小麦SSCP分子标记体系的优化[J]. 核农学报, 2007, 21(4): 333-338
- [22] 熊发前, 唐荣华, 陈忠良, 潘玲华, 庄伟健. 目标起始密码子多态性(SCoT): 一种基于翻译起始位点的目的基因标记新技术[J]. 分子植物育种, 2009, 7(3): 635-638
- [23] 熊发前, 蒋菁, 钟瑞春, 韩柱强, 贺梁琼, 李忠, 庄伟建, 唐荣华. 目标起始密码子多态性(SCoT)分子标记技术在花生属中的应用[J]. 作物学报, 2010, 36(12): 2055-2061
- [24] 张君玉, 郭大龙, 龚莹, 刘崇怀, 李猛, 张国海. 葡萄目标起始密码子多态性反应体系的优化[J]. 果树学报, 2011, 28(2): 209-214
- [25] 韩国辉, 汪卫星, 向素琼, 边禹, 郭启高, 何桥, 李晓林, 梁国鲁. 多倍体枇杷SCoT分析体系的建立与优化[J]. 果树学报, 2011, 28(3): 433-437
- [26] 侯小改, 王娟, 贾甜, 张钰乾, 侯娟, 李嘉珏. 牡丹SCoT分子标记正交优化及引物筛选[J]. 华北农学报, 2011, 26(5): 92-96
- [27] 李正鹏, 李延春, 樊洪泓, 胡能兵, 凌磊, 林毅, 蔡永萍. 棉花遗传多样性SCoT和SRAP标记的研究及比较分析[J]. 激光生物学报, 2011, 20(2): 236-244

本刊中的类似文章

1. 詹忠根, 徐程, 席巧芳. $^{137}\text{Cs}\gamma$ 射线辐照对铁皮石斛种胚原球茎的诱变研究[J]. 核农学报, 2009, 23(5): 816-819
2. 邵清松, 郭巧生, 房海灵. 药用菊花SRAP-PCR反应体系的优化[J]. 核农学报, 2009, 23(5): 820-824
3. 宋英今, 季静, 刘海学, 王罡, 杨少辉, 王洁华. 安祖花愈伤组织诱导及其分化的正交试验设计[J]. 核农学报, 2008, 22(03): 300-303
4. 蔡诚, 吴大强, 纵方, 项艳. 正交设计在杨树最佳遗传转化体系的建立[J]. 核农学报, 2008, 22(02): 136-140
5. 刘彩霞, 孙振元, 刘军, 李银凤. 利用二次回归正交设计优化香石竹叶片再生体系中6-BA和NAA的浓度组合[J]. 核农学报, 2008, 22(01): 45-48
6. 汪结明, 项艳, 吴大强, 孙志娟, 蔡诚. 杨树ISSR反应体系的建立及正交设计优化[J]. 核农学报, 2007, 21(05): 470-473+513
7. 何庆元, 王永雄, 王松华, 柯亚珍, 张晓红. 根瘤菌RAPD引物筛选及条件优化[J]. 核农学报, 2007, 21(02): 132-135
8. 谢利娟, 韩蕾, 钱永强, 李晓东, 李永红. 爆仗竹组培快繁6-BA与NAA组合浓度配比优化分析[J]. 核农学报, 2005, 19(03): 181-185