

农业生物技术科学

花椰菜的ISSR-PCR反应体系的建立与优化

陶兴林, 胡立敏, 朱慧霞, 侯栋, 张东琴

甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 兰州730070

摘要:

以花椰菜基因组为材料, 对ISSR反应体系中各种影响因子如dNTP浓度, DNA模板含量, Taq DNA聚合酶量浓度, 引物用量以及最适退火温度等进行了优化和筛选, 建立了适合花椰菜的ISSR反应体系: 25μl反应体积, 内含 1×PCR 反应缓冲液(含Mg²⁺)、0.75 U Taq DNA 聚合酶、0.15mmol/L dNTPs、0.5μmol/L 引物、60ng 模板 DNA。确定了适宜的退火温度为48.6℃。扩增程序为94℃预变性5 min; 35个循环为 94℃变性 30s, 46.9℃退火45 s, 65℃延伸1.5min; 最后 65℃延伸 7min, 4℃保存。花椰菜ISSR反应体系的建立为利用ISSR标记技术进行花椰菜品种鉴别、分类、种质资源遗传多样性分析奠定了良好基础。

关键词: 花椰菜 ISSR反应体系 优化

Establishment and Optimization of ISSR-PCR Reaction System for Cauliflower

Abstract:

Abstract: Based on the genomic DNA extracted from cauliflower, the factors influenced ISSR were optimized and the effect of 5 factors such as annealing temperature, Taq DNA polymerase dosage, DNA templates concentration, primer concentration and dNTPs concentration on ISSR amplification were tested using single factor experiment. A reaction system and amplified procedure suitable for cauliflower were established, that is 25μl amplification reaction system containing 1×PCR buffer (Mg²⁺), 0.75 U Taq DNA polymerase, 0.15mmol/L dNTPs, 0.5μmol/L primer, 60ng template DNA. The optimized annealing temperature is 48.6℃. The optimal amplified procedure was as follows: after a pre-denaturing of 4 min at 72℃, 35 cycles were performed with 30s for denaturing at 94℃, annealing of 45s at 48.6℃, extension of 1.5 min at 65℃, 7 minutes of extension at 65℃ in the final cycle and hold at 4℃. The establishment of the ISSR-PCR reaction system could settle favorable foundation for identification of cauliflower cultivars, classification and analysis of the genetic diversity of cauliflower using ISSR molecular marker techniques.

Keywords: Cauliflower ISSR reaction system optimization

收稿日期 2009-09-08 修回日期 2009-09-15 网络版发布日期 2010-02-05

DOI:

基金项目:

甘肃省农业生物技术研究与应用开发项目

通讯作者: 陶兴林

作者简介:

作者Email: taoxinglin77@126.com

参考文献:

本刊中的类似文章

1. 肖扬.香菇反转录转座子间扩增多态性(IRAP)PCR反应体系的研究[J].中国农学通报,2009,25(07):47-51
2. 杨友才,周清明,尹晗琪.烟草RAPD反应体系的建立与优化研究[J].中国农学通报,2005,21(5):97-97
3. 李双梅,郭宏波,黄新芳,柯卫东.萎蒿DNA提取、RAPD优化及引物筛选初报[J].中国农学通报,2006,22(4):

扩展功能

本文信息

- ▶ Supporting info
- ▶ PDF(1452KB)
- ▶ [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

- ▶ 花椰菜
- ▶ ISSR反应体系
- ▶ 优化

本文作者相关文章

- ▶ 陶兴林

PubMed

- ▶ Article by Dao,X.L

4. 张传珂.糯玉米优化施肥研究[J]. 中国农学通报, 2004,20(2): 139-139
5. 刘正学, 刘 飞, 李宝强, 王 靖, 朱新亮, 王桂香.高肥地小麦再高产综合农艺措施初探[J]. 中国农学通报, 2005,21(6): 185-185
6. 赵荣芳^{1,2}, 孟庆锋², 崔振岭², 曹 宁³, 陈新平² .磷素优化管理方法对冬小麦籽粒品质的影响[J]. 中国农学通报, 2009,25(17): 158-161
7. 钟海丰^{1,2}, 黄宇翔^{1,2}, 邓朝生³, 江 斌³.东方百合快繁培养基优化与脱毒技术研究[J]. 中国农学通报, 2009,25(17): 168-173
8. 刘昊.猪源性成分的PCR检测技术优化研究[J]. 中国农学通报, 2009,25(18): 1-6
9. 朱红霞¹, 胡利宗², 邓小莉¹.均匀设计优化野生狗牙根的SRAP-PCR反应体系[J]. 中国农学通报, 2009,25(18): 41-46
10. humingbaohnuu@.com. .大叶紫薇多酚超声波提取工艺及其抗氧化性研究[J]. 中国农学通报, 2006,22(5): 91-91
11. 范富 , 张庆国, 张宁, 苑学 , 朱占林.旱作绿豆优化施肥对产量及生物性状的影响[J]. 中国农学通报, 2003,19(5): 47-47
12. 林启训 , 胡亮 , 龚荔丽 ,陈丽玉.紫背天葵色素的稳定性及其提取工艺优化[J]. 中国农学通报, 2004,20(1): 141-141
13. 李 严, 张春庆.新型分子标记—SRAP技术体系优化及应用前景分析[J]. 中国农学通报, 2005,21(5): 108-108
14. 佟汉文, 孙 群, 吴 波, 丁自勉, 孙宝启, 王建华.Optimization of ISSR-PCR system in licorice[J]. 中国农学通报, 2005,21(4): 70-70
15. 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