



中华人民共和国林业行业标准

LY/T 2347—2014

刚竹属 DNA 扩增片段长度多态性(AFLP) 分析方法

Method of DNA amplification fragment length polymorphism (AFLP)
for *Phyllostachys* bamboo

2014-08-21 发布

2014-12-01 实施

国家林业局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准的附录为规范性附录。

本标准由全国竹藤标准化技术委员会(SAC/TC 263)提出并归口。

本标准起草单位:国际竹藤中心、北京林业大学、中国林业科学研究院亚热带林业研究所。

本标准主要起草人:李雪平、高志民、牟少华、陈敏、袁金玲。

刚竹属 DNA 扩增片段长度多态性(AFLP) 分析方法

1 范围

本标准规定了刚竹属(*Phyllostachys*)竹种的 DNA 提取、酶切、连接、扩增实验步骤及采用的仪器设备。

本标准适用于刚竹属竹种 DNA 多态性的分析。

2 试剂

2.1 所用化学试剂如没有特殊说明,均为分析纯。

2.2 DNA 提取液:1 mol/L Tris-HCl pH8.2、细胞裂解液(1 mol/L Tris-HCl pH7.5,0.25 mol/L EDTA pH8.0,5 mol/L 氯化钠,2% CTAB)与 5% SLS 按 5:5:2 混合,在使用前加入亚硫酸钠至终浓度为 0.02 mol/L。

2.3 三氯甲烷:异戊醇=24:1。

2.4 异丙醇。

2.5 70%乙醇:70 mL 无水乙醇加蒸馏水定容到 100 mL。

2.6 5 mol/L 氯化钠:称取 29.22 g 氯化钠,用蒸馏水溶解后定容到 100 mL。

2.7 0.5 mg/mL 溴化乙锭:称取 5 mg 溴化乙锭,用蒸馏水溶解后定容到 10 mL。

2.8 变性缓冲液:去离子甲酰胺 50 mL,EDTA(0.5 mol/L,pH=8.0)1 mL,二甲苯青 FF 0.125 g,溴酚蓝0.125 g。

2.9 10×TBE:Tris 108.0 g,硼酸 55.0 g,0.5 mol/L EDTA(pH8.0)40 mL,定容到 1 000 mL。

2.10 40%丙烯酰胺溶液:2.0 g 甲叉双丙烯酰胺,38.0 g 丙烯酰胺混合加水定容到 100 mL。

2.11 10%过硫酸胺溶液:1.0 g 过硫酸胺加水定容到 10 mL。

3 仪器

3.1 PCR 仪(具有 touchdown 功能,温度精度±0.2 °C)。

3.2 移液器。

3.3 4 °C低温离心机(max 14 000 r/min 以上)。

3.4 水浴锅。

3.5 电泳仪(可满足 DNA 测序)。

3.6 紫外分光光度计。

3.7 分析天平。

3.8 摇床。

4 试验步骤

4.1 DNA 提取

按照附录 A 的方法提取和检测竹子基因组 DNA。电泳检测 DNA 主带完整、平均分子量>20 kb;