

# 真核生物中的微卫星及其应用

何 平

(中国科学院遗传研究所, 北京 100101)

## Abundance, Polymorphism and Applications of Microsatellite in Eukaryote

HE Ping

(Institute of Genetics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101)

在名目繁多的分子标记中, 基于 Southern 杂交的 RFLP 技术一直倍受人们的青睐, 这主要归因于其结果稳定可靠、重现性好。但其实验流程长、耗资大、信息量小以及以放射性同位素为主的标记技术让众多的实验者不愿接受。于是人们一直试图发展基于 PCR 技术的分子标记, 其中最普及的莫过于 RAPD 技术, 这一显性标记虽在一定程度上提高了识别效率, 但其低重复性让众多的研究者感到无奈。AFLP 是一种将 RFLP 与 PCR 相结合的标记技术, 它信息量大, 可产生无限的标记数目, 但因其操作繁琐、大剂量同位素的使用而使人望而生畏。目前, 在这一领域中, 人们越来越多地使用另外一种以 PCR 扩增为基础的分子标记, 即微卫星标记。

微卫星(Microsatellite)是指以少数几个核苷酸(多数为 2~4 个)为单位多次串联重复的 DNA 序列, 人们也称之为简单序列重复(simple sequence repeats)、短串联重复(short tandem repeats)或简单序列长度多态性(simple sequence length polymorphism)<sup>[1]</sup>。1982 年, Hamada 等在人心肌肌动蛋白(Ha-25)的内含子中发现了一个重复 25 次的(dT-dG)序列, 同时指出这一序列在人及其它真核生物的基因组中广泛存在, 并与 Z-DNA 的形成有关<sup>[2,3]</sup>。由于微卫星寡核苷酸的重复次数在同一物种的不同基因型间差异很大, 于是这一技术很快便发展为一种分子标记<sup>[4]</sup>, 并首先在人类和小鼠中构建了以微卫星为主的分子连锁图谱<sup>[5,6]</sup>。在植物中, 这一技术的运用相对较晚, 但目前已在多种植物中发展了微卫星标记并用于遗传作图和种质鉴定等, 如拟南芥<sup>[7]</sup>、大麦<sup>[8,9]</sup>、大豆<sup>[10]</sup>、水稻<sup>[11,12]</sup>、小麦<sup>[13]</sup>、玉米<sup>[1,14]</sup>、番茄<sup>[15,16]</sup>、葡萄<sup>[17]</sup>和苹果<sup>[18]</sup>等。这一标记由于操作简便、稳定可靠, 而有逐渐取代 RFLP 标记之趋势。

### 1 微卫星在真核生物基因组中的广泛分布

在真核生物中大约每隔 10~50kb 就存在 1 个微卫星<sup>[19]</sup>, 且人们从一开始就认识到微卫星在基因组中的分布是随机的, 不仅可以存在于内含子中, 也可存在于编码区及染色体上的其它任一区域<sup>[3]</sup>。它们主要以两个核苷酸为重复单位, 也有一些微卫星重复单位为 3 个核苷酸, 极少数为 4 个核苷酸或更多。人和动物中的微卫星重复单位主要为(TG), 人类和小鼠遗传图谱的构建也是以这类微卫星为主<sup>[5,6]</sup>。Hamada 等列出了各种真核生物含有 poly(T-G)<sub>n</sub> 元件的可能拷贝数(表 1), 并指出基因组大的生物似乎含有更多的拷贝数<sup>[3]</sup>。

在植物中微卫星重复单位的碱基组成及拷贝数依不同的物种及序列来源而异(表 2 和表 3)。结合表 2 和表 3 可以看出, 各种植物以检索结果估计的微卫星数普遍比从基因组文库中估计的数目多。而且重复单位的寡核苷酸组成也不一样, 从基因组文库筛选的含有微卫星的克隆重复单位以(GA)和(AC)为主(表 2), 而从 DNA 数据库检索的结果中重复单位主要为(AT)<sup>[20]</sup>。由于目前数据库中的 DNA 序列, 主要是一些结构基因, 尚不能反映整个基因组的全貌。这可能是造成这两种方法对微卫星数目估计差别很大的原因。从上述分析不难推测, 在结构基因区含有微卫星的频率要高于非结构基因区, 而不同的重复单位在不同的染色体区域出现的频率也不一样, 即

(AT)<sub>n</sub> 主要出现在结构基因内或其附近区域, 而(GA)<sub>n</sub> 和(AC)<sub>n</sub> 的分布则远离结构基因区。

表 1 几种真核生物基因组中含有 poly(T-G)<sub>n</sub> 元件的可能拷贝数

物种	基因组大小(bps)	可能拷贝数	物种	基因组大小(bps)	可能拷贝数
人	$3 \times 10^9$	$5 \times 10^4$	爪蟾	$2 \times 10^{10}$	10+[5]
牛	$3 \times 10^9$	$3 \times 10^4$	鲑	$6 \times 10^9$	$2 \times 10^5$
小鼠	$3 \times 10^9$	$10^5$	果蝇	$2 \times 10^8$	$2 \times 10^3$
鸡	$10^9$	$4 \times 10^3$	酵母	$10^7$	$10^2$

注: 探针 poly(A-C/T-G)<sub>n</sub> 中的 n 值为 25。

表 2 几种植物微卫星的主要重复单位及其拷贝数(来源于基因组文库)

物种	基因组	主要重复单位及拷贝数		微卫星总数	作者
		GA	AC		
小麦	$1.6 \times 10^{10}$	$7.5 \times 10^4$	$5.5 \times 10^4$	$1.5 \times 10^5$	Ma Z Q 等 (1996)
玉米	$2.5 \times 10^9$	$3.1 \times 10^3$	$1.9 \times 10^3$		Taramino G 等 (1996)
水稻	$4.3 \times 10^8$	$1.36 \times 10^3$	$1.23 \times 10^3$	$5.7 \times 10^3$	Panaud O 等 (1995)
大麦	$4.87 \times 10^9$	$1.5 \times 10^4$	$7.8 \times 10^3$		Liu Z W 等 (1996)
番茄	$9.5 \times 10^8$	$8 \times 10^2$	$8 \times 10^2$	$3.8 \times 10^3$	Brown P 等 (1996)

表 3 通过 EMBL 对几种植物微卫星的检索结果

物种	检索 DNA 长度 (kbs)	微卫星数目	估计总数目	物种	检索 DNA 长度 (kbs)	微卫星数目	估计总数目
大麦	156.4	1	$3.1 \times 10^4$	玉米	410.5	7	$4.3 \times 10^4$
小麦	144	7	$7.8 \times 10^5$	番茄	195.5	6	$2.9 \times 10^4$
水稻	208	9	$1.8 \times 10^4$	拟南芥	424.2	6	$2 \times 10^3$

值得注意的是, 并不是所有的微卫星都严格按照重复单位的碱基组成串联重复, 这种重复可能被另外一些核苷酸所打断, 形成不完整的微卫星。这可能是由于碱基的替换、错配及不均等交换所致<sup>[15]</sup>。

## 2 微卫星分析的一般流程

微卫星分析的关键在于开发基因组中某个微卫星两侧的引物序列。如果有现成的微卫星引物, 在 PCR 扩增后, 即可利用电泳技术进行分析。以下根据流程的先后, 分 4 个步骤进行介绍, 前两步是为开发新的微卫星引物所必须的。一般的实验室应用已知的微卫星引物进行多态性分析, 只需掌握后两步即可。

### 2.1 微卫星序列的获得

这是微卫星分析的第一步, 也是最复杂的一步。通常有两种途径可获得这一序列。

2.1.1 从基因组文库中获得含有微卫星的阳性克隆 首先构建某种生物的小片段(300~800bps)插入文库, 再用含有特定微卫星序列的探针去筛选这一文库中的阳性克隆, 随后对这些阳性克隆进行序列测定即可。为了提高筛选效率, 可以构建富含微卫星的小片段基因组文库, Karagyozyov 等在筛选小鼠小片段插入文库含 poly(CA)<sub>n</sub> 的克隆时, 经过两轮富集, 阳性克隆从 1% 提高到 40%<sup>[22]</sup>。为了减少测序的工作量, 有必要对所有的阳性克隆进行预检测, 即通过 PCR 扩增去除那些空载体或插入片段不在所要求范围内的克隆。也可通过设计引物排除那些微卫星序列在插入位点附近的克隆, 因这些克隆无法确定微卫星两侧的保守序列<sup>[23, 24]</sup>。

2.1.2 通过检索 GenBank、EMBL 和 DDBJ 等 DNA 序列数据库 相对而言, 这种搜索微卫星序列的方法简便, 易行, 随着公布的 DNA 序列越来越多, 人们可以轻而易举地从互联网上获得含有微卫星的序列。这一方法可以省去构建基因组文库、杂交、测序等繁琐的工作, 但所获得的微卫星信息往往不如基因组文库。如 Akagi 从 DDBJ 数据库中搜索了 11798 个水稻序列, 找到了 369 个微卫星<sup>[25]</sup>, 而从水稻基因组文库中估计则有 5 700

~10 000 个微卫星。

## 2.2 微卫星引物的设计

由于微卫星两侧的序列在同一物种间是高度保守的, 即可据此设计引物, 用以扩增同一物种甚至不同物种其它基因型的微卫星片段。引物设计的原则同一般 PCR 扩增引物的设计, 简单地讲, 微卫星重复序列两侧的引物在基因组内应具有高度的专一性。每条引物一般为 18~24 个核苷酸, (G+C)% 含量接近 50% (Tm 值为 60℃ 左右), 避免引物内二级结构的产生及某个核苷酸的连续出现, 3'-末端最好富含 GC, PCR 的扩增产物在 100~300bps 之间。

## 2.3 PCR 扩增

引物设计好后, 只要合成引物就可对微卫星进行扩增了。由于其是特异性扩增, 相对来说, 重现性和稳定性都较好。但由于每对引物的(G+C)%含量不同、扩增产物的长度有异, 因此, 有必要给每对引物一个合适的扩增条件。这一般可通过改变退火温度、缓冲液中  $Mg^{2+}$  的浓度及循环数来获得清晰可靠的条带<sup>[16, 26]</sup>。Tautz 在讨论这一问题时指出, 当第一对引物扩增到后期时, 可通过加入另一个与目标序列互补的引物来去除那些由于引物与其它位点的同源性而产生的非相关扩增条带。但他同时也指出, 尽管通过多次预实验来改变反应条件, 也不能完全避免某些 PCR 扩增所带来的假带<sup>[19]</sup>。

## 2.4 对扩增产物进行检测

由于扩增的片段短(一般小于 300bps), 基因型间的差异小(一般为几个 bps), 故通常使用分辨率高的聚丙烯酰胺凝胶电泳。早先的研究趋向于在扩增时加入某种含有放射性标记的 dNTP, 再将扩增产物经变性聚丙烯酰胺凝胶电泳后, 通过放射自显影显示出结果<sup>[11, 12]</sup>。这一方法虽然灵敏度高, 条带清晰, 但由于放射性同位素的使用而使其黯然失色。利用银染来检测扩增产物可避免操作同位素的危险, 也不会降低灵敏度<sup>[23]</sup>。银染的分辨率很高, 能检测出 1ng 以下的 DNA。但聚丙烯酰胺凝胶电泳操作起来总没有琼脂糖凝胶电泳那样得心应手。Wu 等在检测水稻 13 个微卫星的多态性时, 有 3 个经过 4% 的琼脂糖凝胶电泳在两个亲本间找到了多态<sup>[11]</sup>, 而 Akagi 利用 3% Metaphor 琼脂糖凝胶(FMC 公司)电泳在 35 个水稻微卫星标记中, 有 28 个标记在两个亲本间显示出多态<sup>[25]</sup>。如能用琼脂糖凝胶电泳代替变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 则微卫星的操作程序还可进一步简化。这样, 任何一家实验室只要有一台 PCR 仪, 即可对其进行分析。我们建议, 如果 PCR 产物在高浓度(3~4%)的琼脂糖凝胶上检测不出多态性, 则可再进一步进行变性或非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳。

## 3 微卫星长度的多态性

由简单序列的重复次数所造成的多态性常常表现为复等位性, 在不同的基因型间广泛存在。多数研究者认为这种多态性起因于复制过程中的滑动(Slippage)<sup>[27, 28]</sup>。Panaud 等利用 25 对引物, 对 20 个亚洲栽培稻进行扩增, 每对引物的位点数从 2 到 9 不等, 平均为 5, 而当同时扩增稻属另外 4 个种时, 平均每对引物的位点数上升到 8。而且遗传距离越远, 多态性越丰富, 如亚洲栽培稻(基因组为 AA)与药用野生稻(基因组为 CC)。为了阐明这种多态性的分子基础, 他们又对其中一对引物 RM16 在 3 个栽培稻品种 IR24、DGWG 和 IR127 的扩增产物进行了序列测定。结果发现, 除微卫星中寡核苷酸的重复次数不同外, 其它序列在 3 个品种中完全一样<sup>[23]</sup>。他们认为, 重复次数的多寡与多态性之间不存在相关性, 但 Valdes 等认为在人类中重复次数低于 5 的微卫星几乎检测不出多态性<sup>[29]</sup>。Smulders 等根据对茄科的 220 个微卫星序列分析表明, 重复次数多的微卫星既能在种间, 又能在品种间产生多态性, 而重复次数少的微卫星, 仅能在种间产生多态(表 4)<sup>[16]</sup>。

从表 4 可见, 不论重复次数多少, 微卫星在种间的多态性都高达 70~90%, 而只有长的微卫星在品种间多态性才丰富, 达 60%。有意义的是, 他们利用从番茄中获得的引物去扩增同一科另一属中土豆的微卫星, 结果有 50% 的引物仍可扩增出产物。同样, 利用来自土豆的 7 对引物去扩增番茄, 有 3 对可扩增出产物。这意味着同一科不同属间可共享某些引物, 这可望解决某些物种已知微卫星引物数目少的困难。但显然这与属间的亲缘关系紧密相关, 如只有 14% 的番茄引物可在另一亲缘关系较远的辣椒属中的胡椒中扩增出条带。

## 4 微卫星标记的应用

### 4.1 用于遗传疾病的诊断

人们发现至少有 3 种遗传病与人体内的微卫星有关<sup>(29)</sup>。这类微卫星主要以 3 个核苷酸为重复单位, 但重复次数却不稳定。正常的个体在微卫星座位上的重复次数都有一个严格的上限, 由于一些未知的机理, 某些个体微卫星重复单位的重复次数超过这一上限, 处于一种前突变状态(Premutational state), 而它们后代的重复次数则会急剧增加, 可达几千拷贝以上。如 Fragile X 基因中(CGG)的重复次数在正常家族中为 6~54, 大多为 29 个重复, 而在前突变体中的重复次数为 50~200, 病变的个体则有 200~1 500 个拷贝。据此, 即可由扩增片段的大小来诊断与微卫星突变有关的疾病。

表 4 微卫星长度对茄科种间和品种间多态性的影响程度

品种间	重复数	座位数	有多态性的座位数	多态性座位百分数	种 间	重复数	座位数	有多态性的座位数	多态性座位百分数
番茄	4~8	18	1	6	番茄属	4~8	18	15	83
7 个	9~11	8	3	36	4 个	9~11	8	7	88
品种间	>12	10	6	60	种间	>12	10	7	70

### 4.2 用于构建遗传图谱

这是微卫星标记的一个主要用途。它是一种共显性标记, 不仅简化了遗传分析过程, 且利于不同作图群体间的标记转换<sup>(18)</sup>。它也是一种 STS 标记, 便于从遗传图谱向物理图谱过渡<sup>(30,31)</sup>。1996 年, Dietrich 等建成了一张含有 7 377 个遗传标记的小鼠连锁图, 其中有 6 580 个是微卫星标记<sup>(6)</sup>, 而 Dib 等构建了一张含有 5 264 个微卫星标记的人类遗传图谱<sup>(5)</sup>。其它如大鼠<sup>(32)</sup>、牛<sup>(33)</sup>和羊<sup>(34)</sup>的基于微卫星的连锁图谱也逐渐发展起来。在植物的遗传图谱中, 微卫星标记还没有占据主导地位, 目前只是将其添加到以 RFLP 标记为主的连锁图上。如 Bell 和 Ecker 将 30 个微卫星标记添加到拟南芥的连锁图上<sup>(7)</sup>。Akkaga 等将 34 个微卫星标记置于大豆的连锁图上, 其它作物如大麦<sup>(8)</sup>、水稻<sup>(23,24)</sup>和玉米<sup>(14)</sup>中的研究也类似。最近, Chen 等将 94 个最新发展的及 27 个以前报道的微卫星标记整合到了水稻 4 个群体的 RFLP 框架图上, 平均每 16~20 cM 就有一个微卫星, 没有发现微卫星标记集中分布于着丝粒或端粒附近<sup>(24)</sup>。目前, 我们实验室的水稻窄叶青 8 号×京系 17 的 DH 群体的遗传图谱已含 89 个微卫星标记(徐云碧等, 科学通报, 待发表)。从人和动物遗传图谱来看, 构建以微卫星标记为主的植物遗传图谱也是完全可能的。拟南芥、水稻、番茄、土豆和玉米在遗传图谱上 1cM 分别相当于物理距离的 150 kb、300 kb、500 kb、1 000 kb 和 1 500 kb<sup>(20)</sup>。这样, 在拟南芥中每 1 cM 就有 2.5 个微卫星, 而在基因组较大的物种如水稻中每 1 cM 就有 4 个以上的微卫星标记。由此可见, 仅以 2 个、3 个和 4 个核苷酸为重复单位的微卫星标记就足以构建饱和的遗传图谱甚至 STS 物理图谱。

### 4.3 用于种质鉴定

由于微卫星座位的复等位性, 使它易于鉴别同一物种的不同基因型。Olufowote 等指出选择 4 个微卫星标记即可有效地评估栽培稻内的不同品种间的异质性<sup>(35)</sup>。Powell 等指出微卫星比其它分子标记如 RFLP、RAPD 和 AFLP 更能揭示遗传多样性<sup>(36)</sup>。Guifford 等利用 3 个微卫星标记就能区分 21 个苹果品种<sup>(18)</sup>, 而 Akagi 等利用高度多变的含(AT)<sub>n</sub> 的 17 个微卫星标记, 成功地区分了 59 个亲缘关系极近的梗稻品种<sup>(37)</sup>。同样可用这类标记来鉴别种子的纯度和真假杂种, 当然也可用此来研究物种的系统发生、亲缘关系及起源。

另外, 微卫星标记还可用于基因定位及分子标记辅助育种。Bligh 定位了一个与水稻糯性基因紧密连锁的微卫星标记<sup>(38)</sup>。Yu 等找到一个微卫星标记与大豆抗花叶病毒基因紧密连锁<sup>(39)</sup>。Zhang 等利用微卫星标记来预测产量和估计杂种优势<sup>(40)</sup>。同样, 可用微卫星标记来提高选择携带外源基因植株的效率, 以便在育种早期排除那些非必需染色体区段。遗传学发展到今天, 不管是理论上的研究, 还是实践上的应用, 都离不开分子标记这一手段。微卫星标记虽然设计和合成引物工作繁琐、费时、耗资大, 但这一工作只需少数实验室来完成, 一般实验

室均可应用现成的微卫星标记进行简单易行的常规分析, 这是 RFLP 标记所无法攀比的。相信, 微卫星标记在遗传学和育种学中将成为一种不可缺少的分子标记, 发挥其独特的优势。

### 参 考 文 献

- 1 Chin E C L *et al.* Maize simple repetitive DNA sequences: abundance and allele variation. *Genome*, 1996, 39: 866~873
- 2 Hamada H *et al.* Potential Z-DNA forming sequences are highly dispersed in the human genome. *Nature*, 1982, 298: 396~398
- 3 Hamada H *et al.* A novel repeated element with Z-DNA-forming potential is widely found in evolutionarily diverse eukaryotic genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1982, 79: 6465~6469
- 4 Nakamura Y *et al.* Variable number of tandem repeat(VNTR) markers for human gene mapping. *Science*, 1987, 235: 1616~1622
- 5 Dib C *et al.* A comprehensive genetic map of the human genome based on 5 264 microsatellites. *Nature*, 1996, 380: 152~154
- 6 Dietrich W F *et al.* A comprehensive genetic map of the mouse genome. *Nature*, 1996, 380: 149~152
- 7 Bell C J, Ecker J R. Assignment of 30 microsatellite loci to the linkage map of *Arabidopsis*. *Genomics*, 19: 137~144
- 8 Liu Z W *et al.* Development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map. *Theor. Appl. Genet.*, 1996, 93: 869~876
- 9 Maroof M A S. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, 91: 5466~5470
- 10 Akkaya M F *et al.* Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean. *Genetics*, 1992, 132: 1131~1139
- 11 Wu K S *et al.* Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellite in rice. *Mol. Gen. Genet.*, 1993, 241: 225~235
- 12 Zhao X P, Kochert G. Characterization and genetic mapping of a short, highly repeated, interspersed DNA sequence from rice (*Oryza sativa* L.) *Mol. Gen. Genet.*, 1992, 231: 353~359
- 13 Ma Z Q *et al.* Frequencies and sequence characteristics of di-, tri-, and tetra-nucleotide microsatellites in wheat. *Genome*, 1996, 39: 123~130
- 14 Taramino G *et al.* Simple sequence repeats for germplasm analysis and mapping in maize. *Genome*, 1996, 39: 277~287
- 15 Broun P, Tanksley S D. Characterization and genetic mapping of simple repeat sequence in the tomato genome. *Mol. Gen. Genet.*, 1996, 250: 39~49
- 16 Smulders M J M *et al.* Use of short microsatellites from database sequences to generate polymorphisms among *Lycopersicon esculentum* cultivars and accessions of other *Lycopersicon species*. *Theor. Appl. Genet.*, 1997, 97: 264~272
- 17 Thomas M R, Scott N S. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STS). *Theor. Appl. Genet.*, 1993, 86: 985~990
- 18 Guilford P *et al.* Microsatellites in *Malus × domestica* (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification. *Theor. Appl. Genet.*, 1997, 94: 249~254
- 19 Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acid Research*, 1989, 17: 6463~6471
- 20 Wang Z *et al.* Survey of plant short tandem DNA repeats. *Theor. Appl. Genet.*, 1994, 88: 1~6
- 21 Panaud O *et al.* Frequency of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Genome*, 1995, 38: 1170~1176
- 22 Karagyozov L *et al.* Construction of random small-insert genomic libraries highly enriched for simple sequence repeats. *Nucleic Acid Research*, 1993, 21: 3911~3912
- 23 Panaud O *et al.* Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol. Gen. Genet.*, 252: 597~607
- 24 Chen X *et al.* Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* (in press)
- 25 Akagi H *et al.* Microsatellite DNA markers for rice chromosomes. *Theor. Appl. Genet.*, 1996, 93: 1071~1077
- 26 Rychlik W *et al.* Optimization of the annealing temperature for DNA amplification *in vitro*. *Nucleic Acid Research*, 1990, 18: 6409~6412
- 27 Stephan W, Cho S. Possible role of natural selection in the formation of tandem-repetitive noncoding DNA. *Genetics*, 1994, 136: 333~341
- 28 Schlotterer C, Tautz D. Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acid Research*, 1992, 20: 211~215

- 29 Valdes A M *et al.* Allele frequencies at microsatellite loci: the stepwise mutation model revisited. *Genetics*, 1993, 133: 737~749
- 30 Inoue T *et al.* Sequence-tagged sites (STSs) as standard landmarks in the rice genome. *Theor. Appl. Genet.*, 1994, 89: 728~734
- 31 Olson M. A common language for physical mapping of the human genome. *Science*, 1989, 245: 1434~1435
- 32 Serikawa T *et al.* Rat gene mapping using PCR-analyzed microsatellites. *Genetics*, 1992, 131: 701~721
- 33 Bishop M D *et al.* A genetic linkage map for cattle. *Genetics*, 1994, 136: 619~639
- 34 Crawford A M *et al.* Sheep linkage mapping: nineteen linkage groups derived from the analysis of paternal half-sib families. *Genetics*, 1994, 137: 573~579
- 35 Olufowote J O *et al.* Comparative evaluation of within-cultivar variation of rice (*Oryza sativa* L.) using microsatellite and RFLP markers. *Genome* (in press)
- 36 Powell W *et al.* The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 1996, 2: 225~238
- 37 Akagi H *et al.* Highly polymorphic microsatellites of consist of AT repeats, and a classification of closely related cultivars with these microsatellite loci. *Theor. Appl. Genet.*, 1997, 94: 61~67
- 38 Bligh H F J *et al.* A microsatellite sequence closely linked to the Waxy gene of *Oryza sativa*. *Euphytica*, 1995, 86: 83~85
- 39 Yu Y G *et al.* RFLP and microsatellite mapping of a gene for soybean mosaic virus resistance. *Phytopathology*, 1994, 84: 60~64
- 40 Zhang Q F *et al.* A diallel analysis of heterosis in elite hybrid rice based on RFLPs and microsatellites. *Theor. Appl. Genet.*, 1994, 89: 185~192

1997-8-26 收稿, 1997-11-18 修回.

## 《遗传》杂志征稿简则

《遗传》杂志是国内外公开发行的全国自然科学核心期刊。其专业领域涉及遗传学各分支学科。有关植物遗传、动物遗传、人类与医学遗传、分子与微生物遗传等方面的研究论文、快报、技术与方法、综述、讲座、争鸣与讨论、遗传学教学经验等文章均受本刊欢迎。请作者投稿时注意下列事项:

1. 来稿请附单位介绍信。多单位、多作者的要征得其他单位和作者的同意,以免发生纠纷。
2. 研究论文一般不超过4000字,正文前加一段约200字的摘要及3~5条关键词,并注明中图法分类号。再将文题、作者姓名、单位名称、摘要及关键词译成英文。在第一页下脚注明第一作者的性别、年龄、学历、职称及专业方向。综述性文章不要超过6000字。
3. 文稿中的数学公式、拉丁文学名、限制性内切酶、试剂符号等应表明大小写、正斜体及上下角标。勿用繁体字及不规范的简化字。请使用法定计量单位。
4. 文稿要书写清楚或打印,图、表放于文内相应部位,线条图要用碳素墨水精绘在硫酸纸上,用铅笔写图字,或用激光打印机打印插图;照片要清晰,比例合适,符合制版要求。
5. 参考文献要精炼,尚未公开发表的文章或内部资料不宜引用。采用顺序编码制,引文编号按文内出现的顺序排列。著录内容包括:作者、题目、刊名、出版年,卷(期):起~止页;或作者、书名、出版地:出版社,出版年,起~止页。
6. 为加快审稿进程,来稿最好一式两份。审后不能采用之稿当妥为退还,可用文稿及时退作者修改,详告修改意见。请自留原稿录入文件,以便修改定稿后向编辑部提供录入软盘(文本文件)。个别情况下审稿进度较慢(如审稿人外出或生病等),若来稿3个月后经询问不见结果,可另投他刊。
7. 编辑部将对稿件酌情删改或润色,发表之前给作者看校样。稿件一经刊出,即寄上稿酬和样刊。
8. 本刊所登论文常被国内外检索期刊引用,被中国学术期刊光盘版收录,按惯例不再向作者支付报酬。
9. 根据有关文件精神,本刊向投稿人适当收取审稿费和发表费。请投稿的同时寄来40元审稿费;文章发表时另收版面费(每印刷页码90元,黑白图版每面200元,彩色图版每面1000元),收款后寄发票。
10. 来稿及汇款请寄:北京安定门外大屯路917大楼 中国科学院遗传研究所《遗传》编辑部收,邮政编码:100101。联系人:李绍武,编辑部电话:(010)64889354;传真:(010)64914896;E-mail:bjb.igt.ac.cn