

## 微卫星进化属性及其功能的研究进展

张涛,路宏朝,李新生

(陕西理工学院生物科学与工程学院,陕西汉中 723000)

**摘要:**从微卫星DNA的发现,微卫星DNA的特点及其在基因组中的分布、微卫星DNA的起源进化、微卫星DNA标记的功能及应用,微卫星DNA标记引物的开发及微卫星标记的检测技术和微卫星研究存在问题 and 研究方向等几个方面对微卫星DNA的研究进展进行综述。

**关键词:**微卫星;进化;分布;功能;检测技术

中图分类号:Q0751

文献标识码:A

论文编号:2009-2313

### Progress of Evolutionary Attribute and Function on Microsatellites

Zhang Tao, Lu Hongzhao, Li Xinsheng

(School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong Shaanxi 723000)

**Abstract:** This article summarizes the discovery of microsatellites DNA, the feature and distribution in genomic, the origin and evolutionary, the functions and applications, the exploiting of microsatellite primer and the detection technique of microsatellite DNA, the questions and directions in the research of microsatellite.

**Key words:** microsatellites, evolutionary, distribution, function, detection technique

### 0 引言

微卫星标记是指以少数几个核苷酸(1~6)为单位多次串联重复而成的DNA序列,如(CA)<sub>n</sub>、(GTG)<sub>n</sub>等,重复次数20~30,是一类序列简单但生物学功能和进化途径异常复杂的动态基因组成分<sup>[1-2]</sup>。目前几乎所有的基因组上都发现存在,主要是它的重复频率比一般的核苷酸碱基组成要高,由于其具有普遍的多态性,微卫星已经成为进行遗传变异分析、物种起源进化、基因定型、指纹鉴定、遗传图谱构建、法医科学和动植物遗传育种等领域研究和应用较好的遗传标记<sup>[3-6]</sup>。

### 1 微卫星DNA的发现

20世纪70年代,研究发现经过机械剪切的DNA在CsCl<sub>2</sub>或CsSO<sub>4</sub>中梯度离心时,在DNA总带外还有一条完全不同的特有带,因而,这种带被称作卫星DNA(Satellite DNA)。进一步对这些卫星

DNA研究发现,它们是一些大小不等的重复单元组成。Skinner等于1984年在寄居蟹中识别的卫星DNA重复序列是(TAGG)<sub>n</sub>/(ATCC)<sub>n</sub>,陆续人们发现了比卫星DNA重复单元还小的小卫星DNA和比小卫星DNA还要小的微卫星DNA。其实在1974年,Skinner等在研究寄居蟹(*Pagurus pollicaris*)的基因组时,就发现了微卫星DNA重复序列(AC)<sub>n</sub>/(TG)<sub>n</sub>的存在<sup>[7]</sup>。1981年,Miesfeld等也在人类基因组文库中发现了微卫星DNA<sup>[8]</sup>。1982年,Hamada等发现了从酵母到脊椎动物都存在(dT/dG)<sub>n</sub>拷贝序列。Tautz和Renz(1984)<sup>[9]</sup>发现这种短的重复序列是真核生物独有的,并称之为“简单重复序列”(simple sequence repeat, SSR)。Litt等<sup>[10]</sup>于1989年在心肌肌动蛋白的基因内扩增了一种二核苷酸重复,首先使用了“微卫星”(microsatellite)这个名称。1991年,Sarkar<sup>[11]</sup>的研究结果表明,在灵长类动物中,每100

**基金项目:**陕西省教育厅科研项目,微卫星进化属性与功能的比较基因组学研究,(06JK328);陕西理工学院科研项目,宁强马遗传多态性及其生长基因(GH)的研究,(SLGQD0513)。

**第一作者简介:**张涛,男,1978年出生,陕西大荔人,硕士,讲师,主要从事分子遗传学研究,通信地址:723000 陕西省汉中市朝阳路陕西理工学院生物科学与工程学院,E-mail: z1780823@sina.com。

**收稿日期:**2009-11-05,修回日期:2009-11-25。

kb 有 2.3 个微卫星位点,而在酵母中,每 100 kb 有 1.8 个微卫星位点,从而证实了微卫星在真核生物中存在的广泛性。

## 2 微卫星 DNA 的特点

微卫星广泛分布于真核生物基因组中,对微卫星 DNA 序列研究发现其具有以下特点:

(1)种类多、分布广,并按孟德尔共显性方式世代相传;(2)高度多态;(3)具有遗传连锁不平衡现象;(4)均可被转录,有些编码蛋白质,而另一些则位于非转译区的 5' 端和 3' 端不编码蛋白质;(5)属于不稳定的 DNA 序列;(6)在不同基因位点上的微卫星 DNA 的重复序列可以不同,也可以相同。(9)择中性,即微卫星位点的等位基因频率不受自然选择作用的影响;(8)保守性,微卫星位点在种内是高度保守的,在近似种间也有一定的保守性。

## 3 微卫星 DNA 的起源及进化

每个微卫星 DNA 均由中间的核心区和外围的侧翼区两部分构成。核心区即为串联在一起的重复序列,重复单元数目是随机改变的,串联重复单元的外围即是侧翼区<sup>[12]</sup>。微卫星 DNA 的突变率比较高,这使得微卫星 DNA 在研究较短时期的进化非常有用。目前微卫星 DNA 标记技术得到广泛应用,相应的也推动了微卫星 DNA 本身基本理论的研究,随着分子生物学和计算机科学的发展,用于微卫星起源和进化的研究技术越来越丰富。

Stewart 等<sup>[13]</sup>在 1996 年通过绘制两个微卫星序列的系统发生,显示了微卫星的形成过程,指出在进化过程中微卫星的产生机制是两种突变过程的结合,第一个突变为滑动错配提供足够长度的重复数,第二个突变是通过滑动错配造成重复区域的长度变异。(1)DNA 复制过程中滑动,DNA 复制时,聚合酶从其位置上脱离,模板链和新合成链暂时分离,几秒钟后,部分复性。如果这一过程发生在重复序列复制完成,则新合成链上的重复单元可以与模板链上的重复单元错配(滑移),在某一单链上产生一个单链环。(2)DNA 复制和修复时滑动链与互补链碱基错配,如果这种错配不能修复,不论这个环被切除或保留都将产生突变。保留导致插入突变,切除导致缺失突变。微卫星越长,越容易发生滑移,从而造成重复单元的减少或大量增加。复制滑移可以解释重复次数的少量改变,也可解释微卫星标记的最初产生的位置。这就有能使 2 个或 3 个

碱基的重复分布于整个基因组。复制滑移可以通过连续变异产生多次重复,在微卫星标记的突变进化中起重要作用。(3)另外,在减数分裂中的不等交换,导致一个或几个重复单位的插入或缺失,使这些重复序列的拷贝数发生了变化,从而形成群体内个体间的多样性即多态性也是微卫星形成的主要原因。通过减数分裂时期同源染色体交叉和非姊妹染色单体的不等交换,一条染色单体得到较多重复,而另一条染色单体得到较少重复。这种机制可以解释微卫星标记重复次数的剧烈改变,但这种机制对微卫星标记的进化不是单独起作用的<sup>[14]</sup>。

## 4 微卫星的分布研究

微卫星大量存在于真核生物基因组中,大约每隔 10~50 kb 就存在一个微卫星标记,它们构成了非编码区 DNA 相当大的一部分,而在蛋白质编码区则相对稀少<sup>[15]</sup>。例如在啤酒酵母、果蝇、裂殖酵母家鼠、植物和灵长类中都发现微卫星过度地表现在非编码区。很多物种中的微卫星多是二聚体核苷酸,占到 48%~67%<sup>[16]</sup>,也有一些微卫星的重复单位为 3 个核苷酸,极少数为 4 个或 4 个以上核苷酸。然而与疾病相关的三核苷酸大多数在人基因组的编码区<sup>[17]</sup>。但是在灵长类中单聚体核苷酸(A/T)是最丰富的一类微卫星。对于不同类型的微卫星,其在物种中和基因组中的分布存在较大差异,相对应于三聚体微卫星,二、四聚体的微卫星在编码区就比非编码区少了很多。Tothetal<sup>[18]</sup>仔细分析了从真菌到人的真核分类中的 SSR,结果显示在编码区、非编码区、内含子和基因间区域,各种类型的重复单元的分布呈现高度分类特异的模式,这些特异性部分可以用突变机制与不同的选择互作来解释。累计的经验证据似乎显示 SSR 序列脊椎动物比无脊椎动物更丰富和更长,而在脊椎动物中,冷血动物的 SSR 又要长一点。

## 5 微卫星 DNA 的功能及应用

微卫星广泛存在于各类真核生物基因组以及不同物种中,含量以及占优势的微卫星序列类型各不相同,通常位于非编码区,过去认为 SSR 没有什么实际作用,但是随着对微卫星研究的深入,目前发现其对维持基因组的稳定性和完整性可能有一定作用,并且与部分蛋白质的表达、功能和疾病有一定的关系:(1)微卫星可能作为染色质折叠的密码;(2)微卫星的变化可能导致生物体性别的变化;(3)

微卫星与端粒和着丝粒的结构存在一定的关系,(4)与结构基因的表达相关;(5)微卫星的存在与蛋白质表达存在剂量效应;(6)微卫星可以作为重组和复制的密码。(7)微卫星 DNA 与人类疾病存在一定的联系,当微卫星 DNA 位于基因组的编码区时,可引起人类的某些疾病,位于编码区的可引发人类疾病的微卫星标记多为三核苷酸重复,另外微卫星的不稳定性与癌症有很大的相关性<sup>[19-20]</sup>。

微卫星 DNA 从发现到现在只有三十多年的时间,但是由于其在基因组中表现出高度的长度多态性,杂合性高,侧翼序列保守性极高,可进行 PCR 扩增,同时由于在单个微卫星位点上可做共显性的等位基因分析,且具有操作简单、快速、准确。这些特点使得微卫星标记成为一种理想的分子遗传标记,已广泛应用于建立高密度遗传图谱、遗传多样性分析、系统学研究、QTL 定位、标记辅助遗传育种、品种鉴定、医学及亲缘关系鉴定等研究领域得到极为广泛的应用。

## 6 微卫星标记研究的检测技术

### 6.1 微卫星 DNA 标记引物的开发

基于微卫星 DNA 的特点,微卫星 DNA 标记已经广泛应用于生物学各个领域和其他学科的研究,但是要实现微卫星位点的有效扩增则有赖于获得与其侧翼序列互补的引物,所以对微卫星 DNA 标记引物的开发技术在不断发展和完善。目前微卫星 DNA 标记的开发主要有 4 种思路:构建基因组文库进行 DNA 杂交鉴定并测序、富集微卫星分离法、基于 PCR 的分离法和同源序列借鉴法<sup>[21]</sup>。

### 6.2 微卫星 DNA 的检测技术

为了科学合理的利用微卫星标记的遗传学特点,对其进行准确的检测和鉴定是其应用研究的基础,伴随着分子生物学技术的发展和聚合酶链式反应(PCR)技术的不断成熟和完善,对微卫星 DNA 的检测手段也更加完善和多样化,并使其成本降低、检测程序的标准化程度提高、灵敏度提高。目前主要采用(1)PCR 扩增结合聚丙烯酰胺凝胶电泳检测法;(2)PCR-RFLP 检测法;(3)多重 PCR 微卫星荧光标记全自动基因组扫描;(4)毛细管电泳法等多种技术,甚至多种技术相结合的方法<sup>[22]</sup>。

## 7 微卫星 DNA 研究存在问题和方向

随着现代生物技术的快速发展,微卫星 DNA 的研究取得了较大的进展,但还有许多问题,没有清

楚阐明,例如微卫星 DNA 突变的分子机理,微卫星 DNA 重复序列不稳定性的问题,微卫星动态突变和某些疾病发生机理,微卫星在基因组中的作用等。所以说为了充分认识微卫星的进化和功能,对于微卫星的研究不能一直处于以前初期的水平,仅仅是一些个别现象的描述,今后的研究应把现代分子生物学方法和信息技术相结合,集中在以下几个方面:(1)详细描述微卫星在进化上的地位,探讨微卫星对生物进化的影响是一种达尔文式的正向选择作用、中性突变还是一种有害突变;(2)微卫星和结构基因在进化上有什么必然联系;(3)微卫星在生命树上的进化趋势如何。

目前学界对微卫星的研究已经进入多学科协同作战的状态,主要集中在遗传学、生物化学、分子生物学和生物信息学等诸多学科领域,相信随着基因图谱的完成和高精密度标记在基因组中的定位以及学科之间的相互渗透,在不久的将来会有重大突破,并且在疾病监控和动植物分子标记育种中得到日益广泛的应用。

## 参考文献

- [1] Kong J, Gao H. Analysis of tandem repeat s in the genome of Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*[J] Chinese Science Bulletin,2005,50(14216):146221469.
- [2] Ellegren H. Microsatellite: simple sequence with complex evolution.[J]. Nat REV Genet,2004,5(6):435-452.
- [3] Gao LZ, Zhang CH, Chang LP, et al. Microsatellite diversity within *Oryza sativa* with emphasis on indica-japonoca divergence[J]. Gnent Res,2005,85(10):1-14.
- [4] Balloux F, Brunner H, Lugon-Moulin N, et al. Microsatellites can be misleading: an empirical and simulation study[J]. Evolution,2000,54:1414-1422.
- [5] Liu, WH, Nie, H, Wang, SB, et al. Mapping a resistance gene in wheat cultivar Yangfu 9311 to yellow mosaic virus, using microsatellite markers[J]. Theor Appl Genet,2005,111(4): 651-706.
- [6] Doerge R W. Mapping and analysis of quantitative trait loci in experimental populations [J]. Nat Rev Genet,2002,3:43-52.
- [7] Skinner D M, Beattie W G, Blattner F R. The repeat sequence of a hermit crab satellite deoxyribonucleic acids is (2T2A2G2G2) n2(2A2T2C2C) n [J] . Biochemistry,1974,13: 3930-3937.
- [8] Miesfeld R, Krystal M, Arnheim N. A member of a new repeated sequence family that is conserved throughout eukaryotic evolution is found between the human delta and beta globin genes [J]. Nucl AcidsRes,1981,9:5931-5947.

- [9] Hamada H, Pit rino M T, Kakunaga. A novel repeated element with Z2DNA2 forming potential is widely found in evolutionarily diverse eukaryotic genomes [J]. Proc Natl Acad Sci USA,1982,79:6462-6469.
- [10] Tautz D, Renz M. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryote genomes [J]. Nucl Acids Res,1984, 12:4127-4138.
- [11] Sarkar G, Paynton C, Sommer S S. Segments containing alternating purine and pyrimidine dinucleotides: patterns of polymorphism in humans and prevalence throughout phylogeny [J]. Nucl Acids Res,1991,19:631-636.
- [12] 胡波,周新. 国外医学临床生物化学与检验学分册[J].2000,21(2):88-901.
- [13] Messier W, Li S, Stewart C. The birth of microsatellites [J]. Nature,1996,381:4831.
- [14] Ellegren H. Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference [J]. Trends Genet,2000,16: 551-558.
- [15] Beckmann J S, Weber J L. Survey of human and rat microsatellites [J].Genomics,1992,12:627-631.
- [16] Morgante M, Hanafey M, Powell W. Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plantgenomes [J]. Nat Genet,2002,30:194-200.
- [17] Sutherland G R, Baker E, Richards R I. Fragile sites still breaking [J]. Trends Genet,1998,14(12):501-506.
- [18] Toth G, Gaspari Z, Jerzy Jurka. Microsatellite in different eukaryotic genomes: survey and analysis [J]. Genome Res,2000, 10(7):967-815.
- [19] 杨述林,王志刚,樊斌,等.微卫星及其功能研究[J].湖北农业科学,2003(6):91-93.
- [20] 李明,亓小红.微卫星标记的基因组学研究进展[J].天津农学院学报,2006,13(1):47-51.
- [21] 高焕,于飞,阎斌论,等.微卫星技术路线的发展及在海洋生物中的应用[J].海洋湖沼通报,2008(4):129-136.
- [22] 管峰,杨利国,贾名威,等.微卫星的构成及其检测技术[J].生物学杂志,2004,21(2):1-4.