

RFLP、ISSR、SSR 分子標誌簡介

分子標誌是生物技術在遺傳育種應用的最佳工具，除可做為辨認物種親緣關係之標誌外，更可提早從育種的子代中選取所需重要性狀的單株。目前常用的分子標誌是由數種不同技術發展出來，各有其特性。

RFLP (restriction fragment length polymorphism)最早被用於人類的遺傳圖譜上。其原理是將基因組以限制內切酵素切割後，利用專一的探針進行南方墨點法分析，比較個體間多型性的差異。RFLP 是共顯性的且可信度高，但是需大量高品質的 DNA。RAPD(random amplified polymorphic DNA)是將基因組以限制內切酵素切割後，以隨機引子進行聚合酵素連鎖反應，其花費較低。由微衛星 DNA 序列而建立的分子標誌，是目前最有效率的分子標誌，廣泛應用於遺傳形質的管理與保護以及分子育種等方面上。其可利用 PCR 配合及特定引子，只要少量的組織樣品即可進行測試，加上可以配合儀器自動分析、近年來人類親子鑑定即應用此種微衛星 DNA 序列來測試，由於可使用的基因座很多，鑑別性高，已成為發展快速 DNA 指紋分析技術的重要依據。具高度多型性的微衛星基因座作為高效率的分子標誌，可應用於重要作物品種鑑定之依據及篩選重要園藝性狀的分子育種，加速新品種的培育並達成開發偵測植物品種之分子檢測技術。

ISSR = 簡單序列重複區間 (Inter-Simple Sequence Repeat)

真核生物的染色體中散佈相當多的衛星序列(microsatellite)，或稱簡單重複序列(SSR)。以 SSR 為基礎所設計的引子(primer)進行 PCR 放大的 DNA 指紋分析技術稱為 ISSR 分子標誌。放大的 DNA 序列因位於兩段 SSR 之間，所以稱為 Inter-SSR。為提高鏈合時的專一性，使分析結果更可靠，在引子的 3'或 5'端加上 1 至 4 個核酸而設計成帶有錨 (anchor)，進行 PCR 反應，放大染色體組內兩段 SSR 之間的序列。由於鏈合位置的序列變異及 SSR 之間序列的插入與缺失所造成的長度變異，使得 PCR 放大的產物能表現出多型性。這些產物依分子量的不同，經過電泳後便被分離，藉由染色就可在紫外燈光下拍照記錄。植物的某些性狀易受環境的影響，例如花的顏色、植株高度、甜度、大小等，傳統分類學家在分類上感到困擾，而分子標誌因不易受到環境影響，且能直接反映出遺傳物質的差異，近來在作物品種鑑定，親緣關係及遺傳變異分析上已有良好的應用。

生物學上，同一性狀在不同個體間的變異性與多樣化稱為多型(polymorphism)，能作為鑑別同種或不同種生物多型性的遺傳標誌，大略可分形成態標誌(morphological markers)、生化標誌(biochemical markers)與分子標誌(molecular markers) (劉等，1998)。近年來分子標誌進步快速，應用亦最多。SSR 序列特點為在真核生物基因組中數量龐大且平均分布，無功能性以及序列重複數目差異的多型性可應用成為良好的分子標誌。

SSR(simple sequence repeat)分子標誌技術之種類

依操作方法不同，略分為三類：

1. 以 SSR 序列為 PCR-primer 的分子標誌技術
--ISSR-PCR 技術(inter simple sequence repeat PCR)

2. 以 SSR 序列為擴增目標產物的分子標誌技術
--STMS 技術 (sequence-[tagged](#) microsatellite sites)
3. 以 SSR 為雜合探針的分子標誌技術
--RAMPO 技術 (random amplified microsatellites polymorphic)

SSR 分子標誌於蔬菜作物之應用

- 1.分析族群歧異度與性狀或地理位置之相關性：SSR 分子標誌可於遺傳歧異度與性狀表現差異中做相關性解釋，應用在莖苔屬作物之型態特徵分群上，分子標誌與形態標誌分群上確有相關性。
- 2.指紋資料庫(Genomic fingerprinting)的建立:成功的多型性引子可在不同品種間擴增出相異條帶，獨特的專一性有如品種的指紋資料。
- 3.基因圖譜(Genome mapping)的建立：STMS 技術所得到之連鎖圖譜可對照及補充現今已有的 RFLP 遺傳與基因連鎖圖譜，協助了解作物的基因組及基因位置。如應用在大豆上，充實原有之基因連鎖圖譜。
- 4.協助育種工作—親本之篩選與育種目標：SSR 序列與某特定性狀緊密連鎖(如抗病性)，可藉 SSR 技術篩選目標性狀，或經歧異度分析後作為族群間親本選擇的參考訊息或作為 F1 族群純度測試。如在馬鈴薯抗晚疫病基因探討與甜瓜抗 ZYMV 性狀檢測上的使用。
- 5.種源的收集、利用與保存：可經由 SSR 分子標誌分析遺傳背景，收集最大的遺傳歧異並最少的重複物種。

<http://www.hort.ntu.edu.tw/seminar/article.php/101>

FROM:<http://tw.knowledge.yahoo.com/question/question?qid=1306060804283>