

文章编号: 1674 - 5566(2014)03 - 0345 - 06

许氏平鲈微卫星标记的开发及评价

贾超峰^{1,2}, 马海涛^{1,2}, 姜海滨^{1,2}, 刘相全^{1,2}, 薛蕊^{1,2}

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 山东省海洋资源与环境研究院 山东省海洋生态修复重点实验室, 山东 烟台 264006)

摘要: 采用磁珠富集法筛选具多态性的许氏平鲈微卫星标记,并用一个野生群体对其多态性进行了评价。三引物 PCR 法筛选出 58 个阳性克隆进行了测序,共得到 47 个含微卫星核心的 DNA 序列,筛选出 15 对具有多态性的微卫星引物。所有位点上共得到 66 个等位基因片段,每个位点的观测等位基因数 (A) 为 2~14 个,平均等位基因数为 4.4,观测杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e) 范围分别为 0.062 5~0.968 8、0.061 5~0.929 1。每个位点的多态信息含量 (PIC) 显示,有 6 个位点表现出高度或中度多态。经 Bonferroni 校正后, HJ2-32、HJ4-27、HJ4-45 和 HJ4-47 四个位点的等位基因频率显著偏离了 Hardy-Weinberg 平衡。连锁不平衡检测表明,各位点间无连锁不平衡现象。

研究亮点: 目前正式发表的许氏平鲈微卫星标记数量较少,远远不能满足其遗传连锁图谱构建、遗传评价等相关研究需要。本研究采用磁珠富集和三引物 PCR 法新开发了一批许氏平鲈微卫星标记,并证实了三引物 PCR 法确认阳性克隆的高效性,从而为其相关研究提供基础依据。

关键词: 许氏平鲈; 微卫星; 磁珠富集
中图分类号: S 917

文献标志码: A

许氏平鲈 (*Sebastes schlegeli*) 又称黑鲷,俗称黑寨、黑石鲷,属卵胎生鱼类,在我国东海、黄海、渤海以及韩国和日本的近海均有分布^[1]。具有肉质鲜美,营养丰富,生长速度快,抗逆性强等优点,是我国北方海区的一种重要海水养殖鱼类^[2]。

微卫星标记 (simple sequence repeats, SSR) 因具有多态性高、重复性好、易于检测、共显性等特性,被广泛应用于海洋鱼类的遗传结构分析、亲缘关系鉴定、遗传连锁图谱构建等研究中^[3-6]。

目前国内外关于许氏平鲈微卫星标记开发的研究还较少。日本学者 YOSHIDA 等^[7]在 2005 年用传统的插入片段法开发出了 6 对微卫星引物;韩国学者 AN 等^[8]和中国学者 BAI 等^[9]用磁珠富集的方法分别开发出了 14 和 18 对微卫星引物;YASUIKE 等^[10]用 454 测序法筛选了 17 对微卫星引物。另外,初冠因等^[4]也报道了 17 对许氏平鲈微卫星引物。这些引物远远不能满足其

遗传连锁图谱构建、遗传评价和分子标记辅助育种等相关研究的需要。本研究通过磁珠富集法从许氏平鲈基因组中开发出更多的微卫星标记,以满足其相关研究需要。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

采自山东烟台长岛附近海区,共 32 尾。活体采集鱼鳍样品后浸泡于 70% 乙醇中,暂存于 20 °C,并尽快用于基因组 DNA 的提取。

1.2 基因组 DNA 的提取和酶切

采用酚/氯仿抽提和乙醇沉淀的方法提取基因组 DNA。1% 琼脂糖电泳检测其完整性, NanoDrop2000 紫外分光光度计测其纯度和浓度后,选 4 个样本的基因组 DNA 等量混合,用限制性核酸内切酶 *Sau3AI* 对 5 μ g 的混合基因组 DNA 进行酶切,37 °C 酶切 3~5 h。电泳检测后切胶回收 400~1 000 bp DNA 片段。

收稿日期: 2014-01-02 修回日期: 2014-03-04

基金项目: 现代农业产业技术体系项目 (nycytx - 50); 烟台市科技发展计划 (2013ZH088)

作者简介: 贾超峰 (1988—), 男, 硕士研究生, 研究方向为海洋鱼类遗传育种。E-mail: chaofeng.124@163.com

通信作者: 姜海滨, E-mail: haibinjiang326@163.com

1.3 接头的制备和连接

两条寡核苷酸链制备含 *Sau*3AI 酶切位点的接头。50 $\mu\text{mol/L}$ 的寡核苷酸链 A 和 B 等体积混合后于 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min, 室温复性 5~6 h。最终形成的接头序列如下:

5'-GATCGTTCGACGGTACCGAATTCT-A

3'-CAGCTGCCATGGCTTAAGAACTG-B

用 T4 DNA 连接酶 16 $^{\circ}\text{C}$ 过夜连接酶切产物与双链接头。连接产物用生工生物 SanPrep 柱式 PCR 产物纯化试剂盒去除多余接头。

以连接产物作为模板,寡核苷酸链 A 为引物,建立 25 μL 反应体系,PCR 扩增产生足够具有接头的 DNA 片段。程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 58 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 25 个循环, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。PCR 产物纯化后浓缩至 30 μL 。

1.4 含微卫星核心片段的富集

生物素标记的探针与 DNA 片段杂交。建立 100 μL 杂交反应体系,即加入 10 $\mu\text{mol/L}$ 的生物素标记探针 (CA)₁₆ 和 (GA)₁₆ 各 1 μL , 50 $\mu\text{mol/L}$ 的 Primer A 5 μL , 20 \times SSC 30 μL , 10% SDS 1 μL , 灭菌水 37 μL 。混合均匀后在 58 $^{\circ}\text{C}$ 下预热。将连接扩增产物 25 μL 在 95 $^{\circ}\text{C}$ 下变性后加入预热的杂交混合液中, 58 $^{\circ}\text{C}$ 杂交 1 h。

4 $^{\circ}\text{C}$ 保存的磁珠充分混匀后取 100 μL 于 1.5 mL 的离心管中, 置于磁力架上, 用 200 μL binding & washing buffer 洗涤平衡 3~4 次, 使磁珠顺滑。将杂交反应液加入已平衡好的磁珠, 43 $^{\circ}\text{C}$ 搅动 5~6 h, 使生物素标记的探针和磁珠充分结合。

用 binding & washing buffer 和 washing solution 分步洗涤磁珠以减少非特异性杂交。向洗涤后的磁珠中加入 40 μL 0.1 \times TE, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min 后立即放入冰中静置 1~3 min, 于磁力架上吸出含有微卫星序列的单链 DNA。

对获得的单链 DNA 片段进行第二次 PCR 扩增, 反应体系和程序同探针杂交前 PCR, 并进行电泳检测和纯化浓缩。

1.5 富集片段的克隆及筛选

富集 DNA 片段与 pGEM-T Easy 载体 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜连接后, 42 $^{\circ}\text{C}$ 热激转入 DH5 α 感受态细胞, LB 液体培养基扩大培养, 涂板于含氨苄青霉素 (AMP) 的 LB 固体培养基中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 10~12

h, 即得到微卫星富集文库。

挑取克隆于含 AMP 的 LB 液体培养基中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 8~9 h。以菌液为模板, 使用三引物 PCR 法检测白斑重组质粒中是否含目的微卫星序列。PCR 引物包括载体序列引物 SP6 和 T7 及无生物素标记探针序列 (CA)₁₂ 或 (GA)₁₂。PCR 产物用 1.2% 的琼脂糖电泳检测, 克隆中若含微卫星核心序列, 电泳条带应为 2 条或 2 条以上。将筛选出的阳性克隆扩大培养后送至英潍捷基 (上海) 有限公司测序。

1.6 序列整理和引物设计

测序结果经人工整理去除载体序列, 利用软件 SSRHunter 1.3 查找微卫星核心序列, 查找标准是: 二碱基重复 5 次以上 (含 5 次); 三碱基重复 4 次以上 (含 4 次); 四碱基、五碱基和六碱基重复均在 3 次以上 (含 3 次)。选取侧翼序列长度和 GC 含量合适的序列用软件 Primer Premier 5.0 设计引物。引物长度控制在 18~22 bp 之间, GC 含量控制在 40%~60%, 正反引物相差不超 10%, T_m 值控制在 40~60 $^{\circ}\text{C}$, 正反引物相差不超 10 $^{\circ}\text{C}$, 产物长度控制在 100~500 bp 之间。设计好的引物送由生工生物 (上海) 有限公司合成。

1.7 引物的筛选

分别用 4 个个体模板对合成引物进行初步筛选, 选出能稳定扩增出目的条带的微卫星标记, 并通过温度梯度 PCR 优化引物退火温度。用 32 个长岛野生群体模板对初选引物进行 PCR 扩增, PCR 反应体系如下: 2 μL DNA 模板 (50 ng/ μL), 2.5 μL 10 \times buffer, 引物各 1 μL (50 $\mu\text{mol/L}$), 0.5 μL dNTP (10 mmol/L), 0.2 μL *Taq* DNA 聚合酶 (5 U/ μL), 用灭菌水补足 25 μL 。反应程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 退火 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 30 个循环, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。扩增产物用 12% (W/V) 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳和银染染色, 扫描仪扫描后检测其多态性, 选出具多态性的微卫星引物。

1.8 数据的统计和处理

统计各微卫星 DNA 带型, 估算条带分子量大小。统计结果输入 PopGene32 计算每个位点的等位基因数 (A), 观测杂合度 (H_o), 期望杂合度 (H_e) 和香农多样性指数 (I)。用 PIC Calc 0.6 计算多态信息含量 (polymorphic information

content, *PIC*)。GenePop 检验 Hardy-Weinberg 平衡和连锁不平衡情况。

2 结果

2.1 许氏平鲷微卫星引物筛选

三引物 PCR 法对 98 个菌落进行了检测,筛选得到 58 个阳性克隆,占 59.18%;测序显示其中 47 个克隆含微卫星核心序列,占 81.03%,筛选得到的微卫星核心序列大部分为 CA/GT 和 GA/CT 重复单元。根据 WEBER^[11] 在 1990 年提

出的标准,将已经获得的微卫星序列划分为完美型 (perfect)、非完美型 (imperfect)、复合型 (compound),其中完美型 21 个,非完美型 12 个,复合型 14 个,分别占 44.7%、25.5% 和 29.8%。去除因序列本身结构或核心侧翼序列过短不能设计引物的序列,采用 Primer Premier 5.0 软件设计并合成引物 42 对,其中 36 对均可有效扩增,15 对具有多态性,分别占总数的 85.71% 和 35.71% (表 1)。

表 1 许氏平鲷多态性微卫星位点信息
Tab. 1 Information of polymorphic microsatellite markers isolated from *Sebastes schlegelii*

位点	序列号	重复单元	引物序列(5'-3')	退火温度/℃	期望长度/bp
HJ2-32	KF697092	(AC) ₈	F:CGTATTATTGGCITTGGA R:TGTATGGGACTGCTTTTGT	50	281
HJ3-75	KF697093	(TC) ₅	F:GAGACGAGGCTGGTGGGTTT R:TGGCAGATGTTGAGGAGGG	60	137
HJ3-76	KF697094	(GA) ₄₇ (TC) ₁₇	F:GTGCTGTGGAGGTGTTGA R:TGCGTGGGCTGCTTCTT	50	437
HJ4-10	KF697095	(CA) ₅ ...(GT) ₅ ...(GT) ₈ ...(GT) ₁₁	F:TGAATCTGCACCCGTGAC R:CCCTTAGGCTGGACAAC	63	351
HJ4-27	KF697096	(CA) ₂₀	F:TGTAAGGTAATCTGAGGC R:AGAAGCAAGGATGAGGCT	63	253
HJ4-41	KF697097	(CA) ₅ ...(AC) ₇	F:GCACCACCCACATCACTT R:CAGGAAAGCCAAGAAGG	62	338
HJ4-45	KF697098	(GA) ₂₀ ...(GA) ₆ ...(GA) ₉ ... (GA) ₁₃ ...(GA) ₁₅ ...(GA) ₂₀	F:AGGTGATGTCAGGTGGAT R:AGAGCAGACCCGTGTAGAA	60	368
HJ4-47	KF697099	(AC) ₈	F:ATGGCCTCTTGGCCCTTGT R:CGCGCCCTTTTCATCTCA	60	161
HJ4-64	KF697100	(GT) ₁₀	F:TGGCGTGGTGTGCTGTCGTA R:AACCTGGCTCTGGTTCTGCTCC	63	191
HJ4-70	KF697101	(CA) ₈	F:CAAGAGGAGCTAGAAGGAGA R:CGGTAATCAGGAAGGGA	64	257
HJ4-93	KF697102	(TG) ₅ ...(GT) ₁₇ ...(GT) ₁₃	F:ACTTAGCTCGACCACCTT R:ACTCCGCACTGTAAAGCA	58	207
HJ4-103	KF697103	(TC) ₅ ...(ACT) ₄ G(CTA) ₄	F:ACACGCTGCTTTTCATTTT R:AGTTGGCACTCTGCTTTG	60	206
HJ4-114	KF697104	(GT) ₈ ...(GT) ₅ ...(GT) ₁₅	F:CTCCTAAAGGAGGGTATT R:AGGGAGGAAGTGAACAAA	52	386
HJ4-116	KF697105	(GT) ₇	F:CAGGCTTCTGCGTCTTTG R:CGTGCCACCGTATTAGGA	50	119
HJ4-119	KF697106	(CA) ₅ ...(CTCCT) ₅ ...(CCCT) ₃	F:TGTGGCAGGGATGAAAGG R:CGAGGGATGGAAGGACTGA	60	227

2.2 许氏平鲷微卫星引物评价

所有位点上共得到 66 个等位基因片段,每个位点的观测等位基因数(*A*)为 2~14 个,平均等位基因数为 4.4;观测杂合度(*H_o*)为 0.062 5~0.968 8,平均观测杂合度为 0.302 7;

期望杂合度(*H_e*)为 0.061 5~0.929 1,平均期望杂合度为 0.314 4;香农指数(*I*)为 0.139 1~2.539 2,平均香农指数为 0.762 7。每个位点的多态信息含量(*PIC*)为 0.058 6~0.908 1,其中高度(*PIC* > 0.5)和中度(0.25 < *PIC* < 0.5)多态位

点均为 3 个。经 Bonferroni 校正后,除 HJ2-32、HJ4-27、HJ4-45 和 HJ4-47 四个位点外,其余位点等位基因频率均符合 Hardy-Weinberg 平衡。连

锁不平衡检测表明,各位点间无连锁不平衡现象(表 2)。

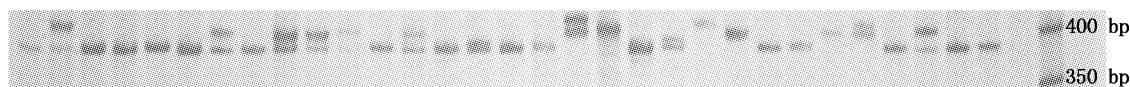


图 1 微卫星引物 HJ4-114 在许氏平鲷中扩增的电泳图谱

Fig. 1 Electrophoretic patterns of PCR products amplified by primer HJ4-114 in *Sebastes schlegelii*

表 2 许氏平鲷 15 对微卫星引物的评价

Tab. 2 Evaluation of 15 microsatellite primers of *Sebastes schlegelii*

位点	A	H_o	H_e	PIC	I	P 值
HJ2-32	4	0.438	0.550	0.450	0.908	0.0021 *
HJ3-75	3	0.125	0.121	0.116	0.277	1.0000
HJ3-76	3	0.125	0.121	0.116	0.277	1.0000
HJ4-10	3	0.188	0.177	0.166	0.371	1.0000
HJ4-27	7	0.969	0.823	0.786	1.796	0.0032 *
HJ4-41	2	0.313	0.268	0.229	0.433	1.0000
HJ4-45	7	0.478	0.863	0.824	1.899	0.0003 *
HJ4-47	4	0.094	0.449	0.379	0.768	0.0000 *
HJ4-64	3	0.094	0.149	0.142	0.327	0.0636
HJ4-70	4	0.094	0.092	0.089	0.241	1.0000
HJ4-93	14	0.875	0.929	0.908	2.539	0.0261
HJ4-103	3	0.125	0.121	0.114	0.269	1.0000
HJ4-114	5	0.406	0.476	0.432	0.923	0.1859
HJ4-116	2	0.156	0.146	0.134	0.274	1.0000
HJ4-119	2	0.063	0.062	0.059	0.139	1.0000
平均	4.4	0.303	0.356	0.329	0.763	0.6899

3 讨论

与其他微卫星开发方法相比,磁珠富集法具有简单高效的特点,理论上获得阳性克隆的比例可达 100%。影响富集文库中阳性克隆比例的一个重要因素是磁珠平衡洗脱的严谨度(主要包括洗脱的 pH 和洗脱时温度的控制),过高或过低的严谨度都可能造成富集文库构建的失败^[12-13],本研究获得的初次筛选阳性克隆的比例达到 59.18%,远高于传统法获得的阳性克隆比例(低于 10%),也略高于该方法所能达到的平均水平(50%左右),取得了较为理想的效果。在较高的富集力度下(阳性克隆率大于 85%),可以跳过富集文库阳性克隆确认的步骤直接进行测序^[14],本研究获得的富集文库阳性克隆率尚不能达到这一水平,若不进行确认直接测序将大大增加引物筛选成本。阳性克隆的确认一般有菌落原位杂

交和 PCR 扫描两种方法,菌落原位杂交法准确度高,但实验操作不易掌握;PCR 扫描方法简单,但过程繁琐,工作量过大。本研究采用更加简单易行的三引物 PCR 法确认阳性菌落,该方法简单、快速、高效,筛选到的阳性克隆含微卫星核心序列的比例达到 81.03%,可用于微卫星大规模开发中阳性克隆的确认。

不同生物基因组中各类型串联单元的含量不同,杂交探针的选择是影响富集效率的一个重要因素。海洋动物中含量较为丰富的是 GA/CT 和 CA/GT 重复单元^[5,15],因此本文选用了 (GA)₁₆ 和 (CA)₁₆ 作为筛选核心序列,取得了较为理想的效果。筛选得到的微卫星核心序列中 CA/GT 重复单元占 49.04%,GA/CT 占 28.85%,其他占 22.11%。另外其他学者使用富集法分离许氏平鲷基因组中微卫星序列均选用了 CA/GT 核心序列作为筛选探针^[7-9],都取得了良好的效果。说明在许氏平鲷基因组中 CA/GT 类型的重复序列含量较为丰富,此结果为富集法大规模开发其微卫星序列的探针类型选择提供参考。

微卫星核心序列突变相对较高,其多态性产生的原因是基于微卫星核心序列碱基重复的增加或减少^[16]。曲妮妮等^[17]认为,微卫星的核心序列越长、重复次数越多则其等位基因也就越多,即多态性越高。WEBER^[11]认为只有在双碱基重复序列重复次数大于 12 次时微卫星标记才有可能表现出较高 PIC 值。本次实验的结果也与这一观点相符。获得的 15 对具多态性的微卫星位点,序列重复次数绝大多数在 8 次以上,序列重复次数越多,表现出较高多态性的可能也更高,序列重复次数在 10 次以下的 6 个位点的观测等位基因数均小于 4。表现出高度多态性的三对引物 HJ4-27、HJ4-45 和 HJ4-93 序列重复次数在 20~85 次。

本研究筛选到的部分微卫星位点具有较高的多态性和信息含量,能用于相关遗传学分析,可为许氏平鲈亲权鉴定、遗传连锁图谱构建等研究提供支持。

参考文献:

- [1] 胡凡光, 王志刚, 吴志宏, 等. 黑鲷亲鱼培育技术研究[J]. 科学养鱼, 2010(4): 38-39.
- [2] 刘丽娟, 任利华, 姜向阳, 等. 黑鲷(*Sebastes schlegelii*)遗传多样性的等位酶研究[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(4): 479-483.
- [3] 王文琪, 张毅, 刘梦侠, 等. 许氏平鲈4个野生群体遗传多样性微卫星分析[J]. 海洋科学, 2012, 36(1): 10-16.
- [4] 初冠冠, 姜黎明, 于海洋, 等. 卵胎生鱼许氏平鲈(*Sebastes schlegelii*)雌亲家系的微卫星鉴定[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(3): 670-676.
- [5] ZHAN A B, BAO Z M, WANG X L, et al. Microsatellite markers derived from bay scallop *Argopecten irradians* expressed sequence tags[J]. Fisheries Science, 2005, 71(6): 1341-1346.
- [6] ZHAN A B, HU J J, HU X L, et al. Fine-scale population genetic structure of Zhikong scallop (*Chlamys farreri*): do local marine currents drive geographical differentiation? [J]. Marine Biotechnology, 2009, 11(2): 223-235.
- [7] YOSHIDA K, NAKAGAWA M, WADA S. Multiplex PCR system applied for analyzing microsatellite loci of Schlegel's black rockfish, *Sebastes schlegelii* [J]. Molecular Ecology Resources, 2005, 5(2): 416-418.
- [8] AN H S, PARK J Y, KIM M J, et al. Isolation and characterization of microsatellite markers for the heavily exploited rockfish *Sebastes schlegelii*, and cross-species amplification in four related *Sebastes* spp [J]. Conservation Genetics, 2009, 10(6): 1969-1972.
- [9] BAI C C, LIU S F, ZHUANG Z M. Isolation and characterization of microsatellite markers for the Korean rockfish, *Sebastes schlegelii* [J]. Genetics and Molecular Research, 2011, 10(3): 2065-2068.
- [10] YASUIKE M, NODA T, FUJINAMI Y, et al. Tri-, tetra- and pentanucleotide-repeat microsatellite markers for the Schlegel's black rockfish *Sebastes schlegelii*: the potential for reconstructing parentages [J]. Conservation Genetics Resources, 2013, 5(2): 577-581.
- [11] WEBER J L. Informativeness of human (dC-dA)_n · (dG-dT)_n polymorphisms [J]. Genomics, 1990, 7(4): 524-530.
- [12] CORDEIRO G M, MAGUIRE T L, EDWARDS K J, et al. Optimisation of a Microsatellite Enrichment Technique in *Saccharum* spp [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1999, 17(3): 225-229.
- [13] JAKSE J, JAVORNIK B. High throughput isolation of microsatellites in hop (*Humulus lupulus* L.) [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2001, 19(3): 217-226.
- [14] EDWARDS K J, BARKER J H, DALY A, et al. Microsatellite libraries enriched for several microsatellite sequences in plants [J]. Biotechniques, 1996, 20(5): 758-760.
- [15] ZHAN A B, BAO Z M, YAO B, et al. Polymorphic microsatellite markers in the Zhikong scallop *Chlamys farreri* [J]. Molecular Ecology Notes, 2006, 6(1): 127-129.
- [16] 刘志毅, 相建海. 微卫星 DNA 分子标记在海洋动物遗传分析中的应用 [J]. 海洋科学, 2001, 25(6): 11-13.
- [17] 曲妮妮, 龚世园, 黄桂菊, 等. 基于 FIASCO 技术的合浦珠母贝微卫星标记分离与筛选研究 [J]. 热带海洋学报, 2010, 29(3): 47-54.

Isolation and characterization of microsatellite markers for black rockfish *Sebastes schlegelii*

JIA Chao-feng^{1,2}, MA Hai-tao^{1,2}, JIANG Hai-bin^{1,2}, LIU Xiang-quan^{1,2}, XUE Rui^{1,2}

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shandong Provincial Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology, Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006, Shandong, China)

Abstract: Polymorphic microsatellite markers were developed from black rockfish (*Sebastes schlegelii*) with an enriched partial genomic library by magnetic beads and the polymorphisms of these loci were assessed in 32 individuals from a wild population. We screened 58 positive clones by three-primers PCR method and sequenced them, then 47 sequences were detected containing microsatellites, and 15 pairs of polymorphic microsatellite primers were obtained. A total of 66 alleles were detected, with the number of alleles ranging from 2 to 14 (averaging 4.4). The observed and expected heterozygosity values ranged from 0.062 5 to 0.968 8 and 0.061 5 to 0.929 1, respectively. The values of polymorphism information content indicated, six loci were highly or moderately polymorphic. HJ2-32, HJ4-27, HJ4-45 and HJ4-47 significantly deviated from Hardy-Weinberg equilibrium after Bonferroni correction and no significant linkage disequilibrium was found. The result demonstrates these markers will facilitate relevant research in *S. schlegelii*.

Key words: *Sebastes schlegelii*; microsatellite; enrichment by magnetic beads