

揭开基因测序的“面纱”

2014年04月02日

2月9日,国家食品药品监管总局、国家卫计委联合发出《关于加强临床使用基因测序相关产品和技术管理的通知》,叫停了包括产前基因检测在内的基因测序相关产品。一石激起千层浪,褒贬之声沸沸扬扬。今年“两会”期间,多位代表委员联名呼吁打开基因检测限制之门。3月16日,国家卫生计生委下发《关于试点基因测序临床应用的通知函》,启动试点单位工作。基因测序是什么?其临床应用为何被叫停?我国的基因检测之路应该如何走?本报记者采访了业内有关专家和人士,特推出“关注基因测序系列报道”。

作为一门新兴产业,基因测序一般包括临床的基因检测、健康业的基因指导和工农业的基因运用等。专家指出,基因测序已被证明是一项非常有效的技术,尤其是第一代基因测序技术已经非常成熟,目前在临床中广泛应用,也是评估已知遗传疾病的最好方法。

技术发展迅猛

WHO遗传病社区控制合作中心主任、中国优生优育协会副会长、中国医学科学院基础医学研究所医学遗传学系黄尚志研究员介绍,每个人约有1万亿个细胞,每个细胞有23对染色体,这些染色体中包含的脱氧核糖核酸(DNA)由ATCG不同碱基序列构成,数量达30亿,这些基因序列可用于破解人类遗传信息的奥秘。基因测序就是通过大规模的计算分析,从海量的数据信息中辨识载有的基因及其序列,最终获取遗传信息。

“基因测序是基因检测技术的重要组成部分。基因检测技术包括最早的第一代测序技术、分子杂交技术、限制性内切酶片段多态性分析、聚合酶链式反应(PCR)技术,以及后来的荧光定量PCR技术,再到基因芯片技术、第二代测序技术等。”复旦大学生物医学研究院于文强教授解释。

基因测序技术最早可以追溯到上个世纪50年代,1954年Whitfeld等报道了用化学降解进行多聚核糖核苷酸测序的方法;1977年Sanger等发明了双脱氧核苷酸末端终止法,Gilbert等发明了化学降解法,标志着第一代测序技术的诞生,包括上个世纪90年代开始的人类基因组计划在内的现代分子生物学研究都是基于第一代DNA测序技术开展的。于文强谈到,自第一代技术出现后,基因测序经过30多年的发展不断进步。第一代测序技术一般测的是已知基因序列,针对的是某个特定疾病的突变基因。而第二代测序技术则不需要知道所测的基因序列是什么,即不知道哪个地方的基因发生了突变,而是采用随机测序的办法找出突变基因后,再与人类基因组参考序列进行比对,它是一种大规模快速发现基因突变的特殊办法。“人类基因组测序工作进行了十几年,而现在由于测序技术得到突飞猛进的发展,用十天半个月就可以完成”。

黄尚志则形象地打了个比方:“就像是看书,第一代测序技术是一个人一篇一篇地翻着看,即一个基因一个基因地测;而第二代测序技术则是将书拆开分给许多人一起同时看,一气呵成地看完,即所有的基因一起测,这样可以一次性地寻找出来整个基因组的所有突变位点,然后再用第一代测序技术加以验证,节省了人力、物力和财力。”

专家介绍,随着测序技术的不断进步,尤其是近年来新一代测序技术的快速发展,如Roche公司的454技术、Life Technology公司的SOLiD技术、Illumina公司的Solexa技

术等，使基因测序走进了临床。2012年1月10日，Illumina公司推出了最新的HiSeq 2500测序系统，使研究人员和临床医生能够在大约24小时内完成整个基因组的测序，即“一天的基因组”。专家表示，正是由于基因测序技术革命性的突破，临床基因组测序服务才迅速风靡全球。

临床应用广泛

自上个世纪80年代基因检测遗传病研究开始以来，基因检测疾病取得了长足的发展，特别是人类基因组计划完成之后，随着基因组学的迅猛发展，一批人类疾病相关的基因被揭示后，其被迅速用于疾病的风险评估、预防、诊断和治疗。近年来，随着新型测序技术的发展和應用，更多的遗传病和恶性肿瘤的基因诊断得到了迅速的推广和应用。

黄尚志谈到，至今，基因测序技术已经覆盖了产前诊断，包括染色体疾病、单基因病、多基因病的遗传病诊断，以及药物的个体化治疗等多个领域。尤其是第一代测序技术使用多年已经非常成熟，国际上普遍应用于临床，且一直作为基因诊断的金标准。

黄尚志和于文强详细介绍，基因测序临床应用最为广泛的是针对遗传性疾病的诊断，比如用于遗传病的产前诊断、筛查。以唐氏综合征（又称21三体综合征）的产前筛查为例，传统的抽血筛查只能将患病可能性较大的高危人群筛选出来，可靠性并不高；如要进一步诊断，则需要羊水穿刺进行染色体检查。羊水穿刺虽然仍是国内外诊断唐氏综合征的金标准，却存在0.5%的流产可能。而近年来备受欢迎的无创产前基因检测技术，只须抽取孕妇5毫升静脉血，就能检测出胎儿发生染色体非整倍体疾病的风险，准确度达99%以上。

黄尚志谈到，常见的红绿色盲、血友病等单基因遗传病是指受一对等位基因控制的遗传病，现已发现7000多种，并且能够进行基因诊断的疾病在以每年10~50种的速度递增。利用新一代测序技术结合序列捕获技术，可以对上百种单基因遗传病同时进行检测，为临床诊断和突变筛查提供参考。

黄尚志还表示，除了遗传病的诊断外，基因测序技术在肿瘤药物遗传学领域的运用也不可或缺。在临床肿瘤患者的靶向药物治疗中，通过基因检测来指导个体化用药，可以提高药效和安全性。比如对于非小细胞肺癌患者，选择厄洛替尼或者吉非替尼，则要进行K-ras、EGFR位点的基因多态性检测；对于慢性粒细胞白血病患者，是否可选择甲磺酸伊马替尼，则需要进行C-kit、PDGFR位点的基因检测。