

GBP高通量基因组分型技术



金力^{1, 2}, 覃振东¹, 严实², 蒋跃明¹

1) 复旦大学生物技术中心, 2) 中科院上海生命科学研究院计算生物学研究所

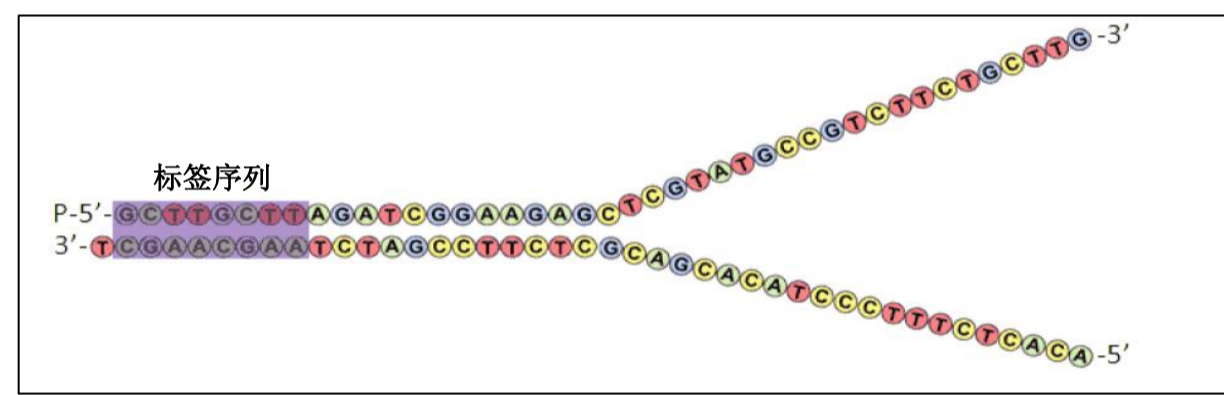


摘要

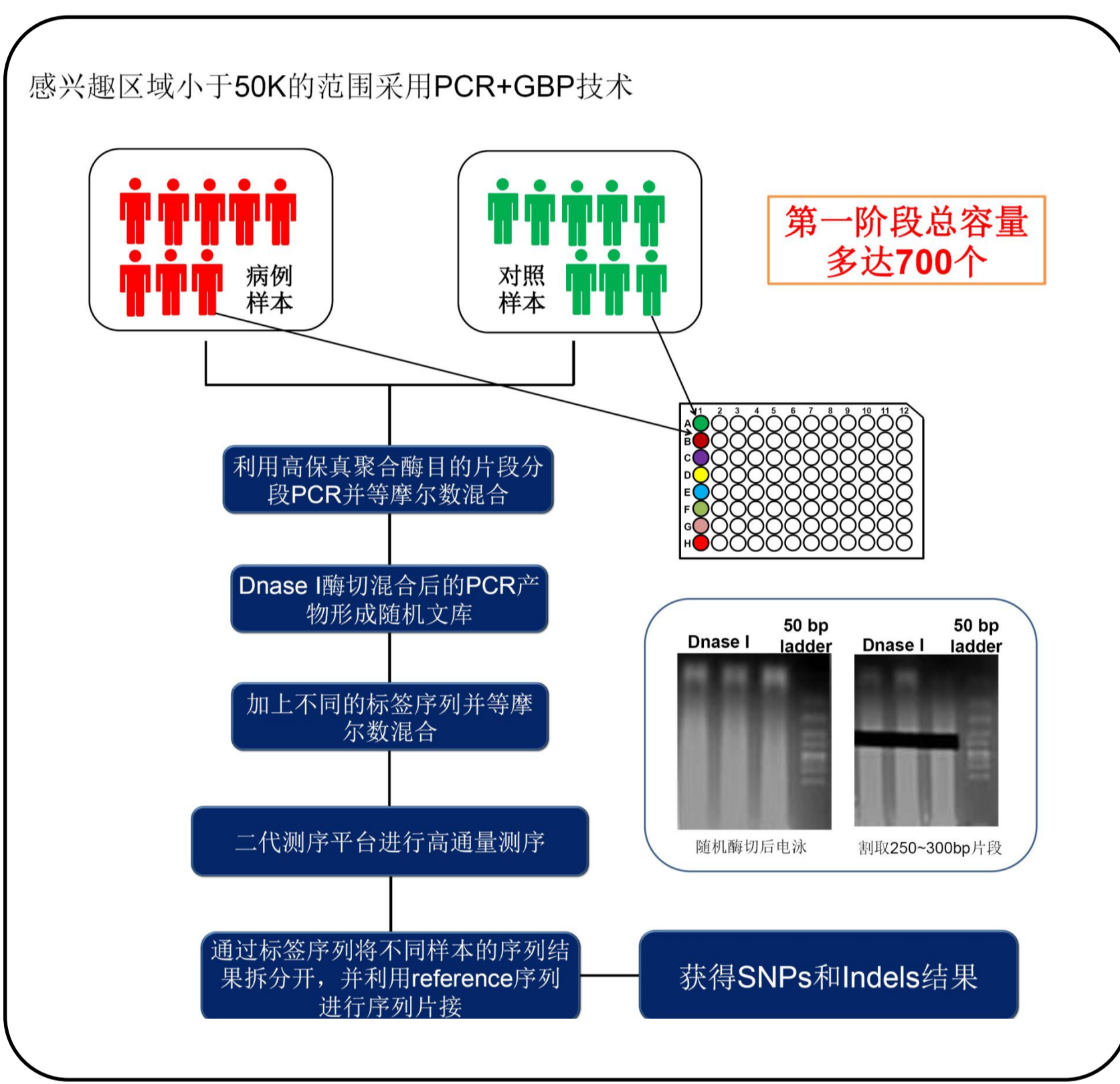
GBP(Genotyping-By-Pooling)高通量基因组分型技术(以下简称GBP技术)的基本原理是通过大量(数百至数千)样本混合后同时测序, 取代目前单个样本测序的方法, 从而达到大规模提高效率、降低成本的目的。该技术以测序取代传统的分型技术, 以达到高准确率和高可靠性。该技术在分型的基础上可对每个样本高精度定量, 从而取代目前广泛使用的以分型或基因表达的基因芯片。

背景 人类个体间的差异主要源于基因组序列上的差异。通过对个体基因组差异的检测(基因组分型), 可用于对疾病的诊断、预测、预防和治疗。在过去10多年里, 基因检测技术经历了单个个体单个碱基的基因分型技术, 到单个个体上百万个碱基的基因芯片技术, 再到到目前单个个体的全基因组测序技术的巨大发展。目前, 测序技术正在逐渐取代基因芯片技术。但由于成本昂贵(数万美元一位)、效率低(数天乃至数周), 仍无法用于疾病的诊断市场, 为普罗大众所享受。

序列标签 标签技术是样本混合后的识别的关键。GBP标签技术以其独特的设计思想, 将标签的数量从目前国际先进的数十个提高到数千, 才使得大量样本的混合成为可能, 从而使基因组分型的效率大幅度提高、成本大幅度下降。



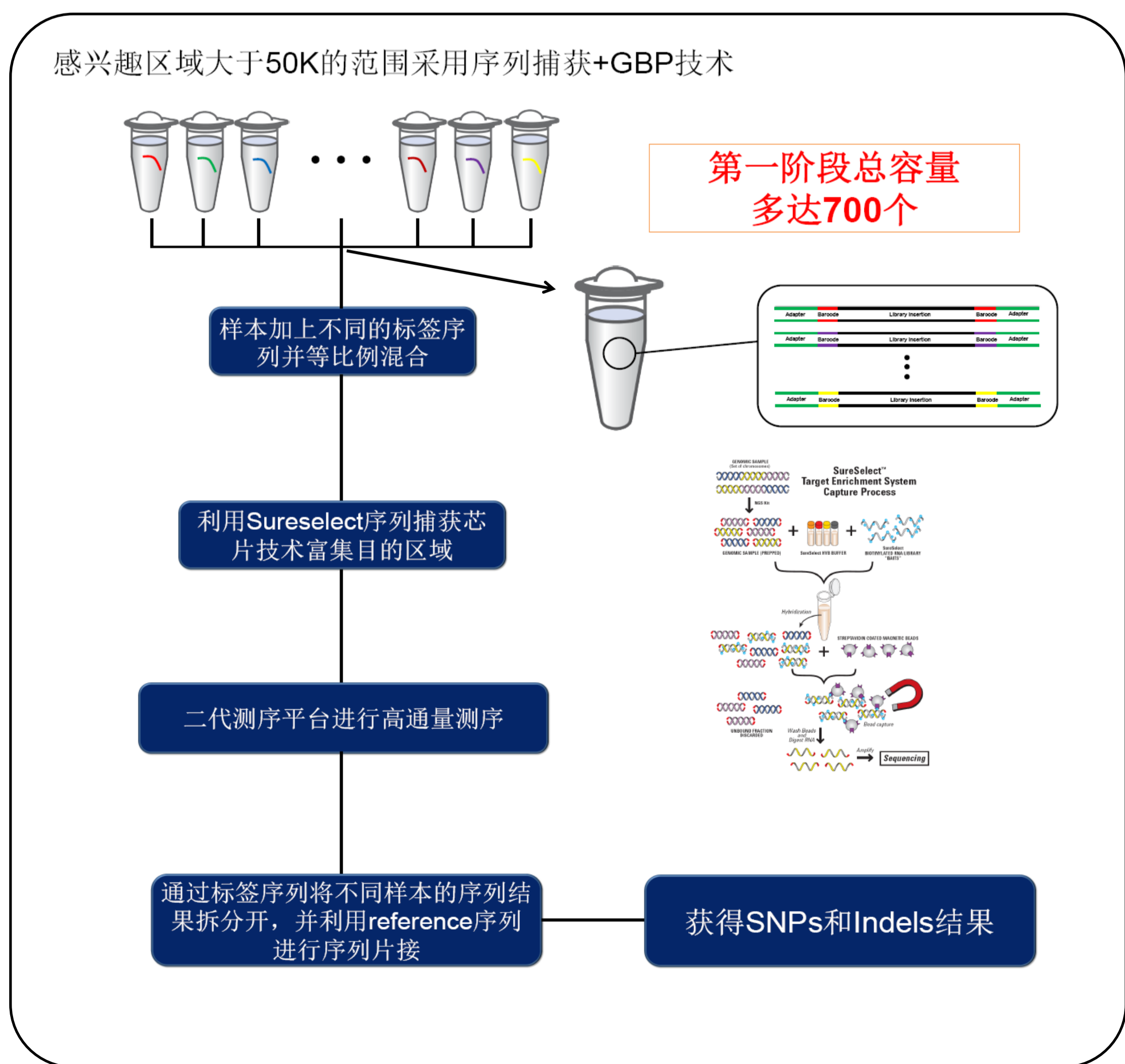
GBP分型方法 I



PCR技术是对基因组中目的片段富集最为有效和成本最低的方法。但是由于单次PCR的长度有限, 过大的目标区域会造成PCR工作量的大幅增加。我们推荐在目标区域片段小于50kb时采用PCR富集+GBP技术。

值得注意的是PCR产物在进行超声随机打断后会产生大量的引物区片段, 影响最后的测序结果。利用Dnase I核酸内切酶的随机酶切活性可以避免这种情况的出现。

GBP分型方法 II



Sureselect序列捕获试剂对样本DNA浓度有一定的要求, 每个样本总量大于1微克就能够得到较好地结果

GBP技术的主要应用

1) 科研服务

经过近十年的疾病基因关联研究(association study), 人们发现关联研究似乎很难直接找到疾病的致病位点。散发突变(somatic mutation)和罕见突变(rare mutation)在疾病成因中的地位开始逐渐受到重视。研究这种类型突变的唯一方法就是重测序(ressequencing)。结合了高通量测序的GBP技术则非常适合于这种类型的研究。它极大地降低了重测序的费用和时间。研究者可以根据自己的需求选定感兴趣的基因组区域, 对近千份的样本进行重测序。

2) 高通量基因检测服务

GBP技术可以同时检测数百个基因上的未知突变, 相对于传统的基因检测, 具有高通量低成本的特点。目前重点开发了GBP在新生儿出生缺陷筛查、药物基因组基因检测、移植配型基因检测等方面的应用。

GBP技术第二阶段研发目标:

- 1) 将序列标签的种类提升到数千种, 以满足更大规模的科研项目 and 公众基因检测需求;
- 2) 研发具有自主知识产权的基因组目的片段富集方法和试剂。

联系方式:

复旦大学生命科学学院生物技术中心

电话: 021-55664474 & 021-65642419

Email: zhendong.qin@gmail.com & jiangyue@sohu.com