

# 罗氏推出第二代超高通量测序系统

## GS FLX 引领快速基因组测序时代的到来

DNA测序技术上的快速发展,加快了我们对不同物种和生物体的基因组序列和结构的研究步伐。2005年底,罗氏诊断公司和454生命科学公司推出了基于焦磷酸测序法的超高通量基因组测序系统 - Genome Sequencer 20 System (GS20)。自问世以来,已经被世界上几乎所有顶级测序实验室配备使用, Nature、Science、PNAS、Cell 等世界知名期刊上发表的应用文章就已经近五十篇。在2007年,罗氏诊断公司收购454公司后不断加大创新投入,又推出了通量更大、读长更长、准确性更高的第二代基因组测序系统 - Genome Sequencer FLX System (GS FLX),相信它的出现,必将掀起测序技术的进一步革命;对整个基因组学的研究将产生巨大的推动作用。

### GS FLX 系统高通量测序技术原理

GS FLX 系统测序技术是一种依靠生物发光进行DNA序列分析的新技术,在DNA聚合酶、ATP硫酸化酶、荧光素酶和双磷酸酶的协同作用下,将每一个dNTP的聚合与一次化学发光信号的释放偶联起来(图1)。通过检测化学发光信号的有无和强度,就可以达到实时测定DNA序列的目的。此技术不需要荧光标记的引物或核酸探针,也不需要进行电泳,具有分析结果快速、准确、高灵敏度和自动化程度高的特点。

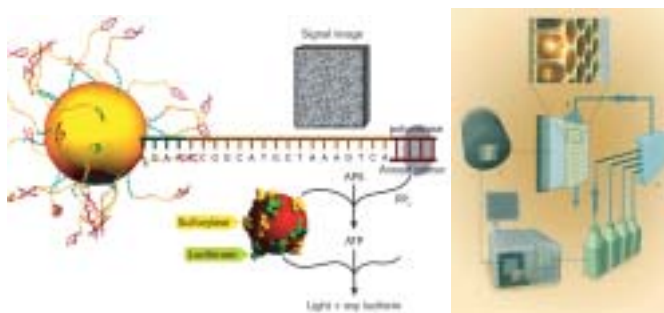
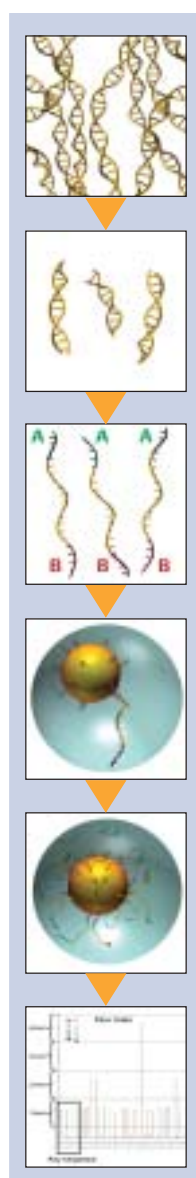


图1: GS FLX 高通量测序方法原理示意图

### GS FLX 系统操作过程

GS FLX 系统提供了从样品制备到后续的生物信息学分析完整的解决方案。



**1) 样品种类:** GS FLX 系统支持各种不同种类的样品测序: 包括基因组DNA、PCR产物、BAC、cDNA、小分子RNA等等。

**2) 打断样品DNA:** 样品DNA或者BAC等被打断成300 - 800bp的片段; 对于小分子非编码RNA,这一步骤并不需要。短的PCR产物可以利用GS融合引物扩增后直接进行步骤4)的工作。

**3) 衔接子连接:** 利用标准的分子生物学技术,将A和B衔接子连接到DNA片段上,衔接子也将在纯化、扩增和测序步骤中用到。这里仅显示了后续步骤中要用到的单链DNA片段。

**4) 一条DNA片段=一个磁珠:** 衔接子使成百上千条DNA片段结合到它们各自唯一的磁珠上,磁珠被单个油水混合小滴包被后,进行独立的扩增,没有其他的竞争性或污染序列影响;所有DNA片段进行平行扩增。

**5) 一个磁珠=一条读长:** PCR扩增后每个磁珠上的DNA片段拥有了成千上万个相同的拷贝。经富集后,油水混合小滴被打碎,携带DNA片段的磁珠,可放入到PTP板中供测序反应使用。

**6) 数据读取和分析工具:** GS FLX 系统在7.5小时的运行当中可获得40多万条读长,三种不同的生物信息学工具可对测序数据进行分析,用于不同的应用: 多达3GB序列的重测序; 对比已知参考序列进行的扩增产物差异分析; 及120MB的从头测序工作。

图2: GS FLX 的工作流程

## GS FLX 系统技术优势

### 卓越的系统性能：

- 一个测序反应耗时 7.5 个小时，产出超过一亿的碱基数据。
- 单个序列的读长更长，平均可达到 300bp。
- 通量更高，每个反应可以得到超过 40 万个序列读长，成本大大降低。
- 读长超过 200bp 时，单一读长的准确性可以超过 99.5%。
- 测序结果一致性超过 99.99%。

### 具备完整的软件包是 GS FLX 的一大特色：

- 简单易用的图形界面，可以用来进行作图，拼接和扩增产物差异检测等研究。
- 利用项目管理软件工具，可以把多次测序反应得到的数据进行成组分析，并且可以添加已完成的测序反应数据来进行其他方面的分析
- 利用新一代的算法得到高度可信的结果 - 无论是碱基识别、拼接和作图，还是差异分析，都是如此。

## GS FLX 系统的应用

自从 2005 年底 GS 高通量基因组测序系统问世以来，已经相继在世界上各大测序实验室成功落户。这项技术的第一个“试验品”就是来自有“DNA 之父”之称的 James D Watson，他向 454 公司提供了自己的血液样本。目前 GS 系统的用户在 Nature, Science, PNAS 等世界顶级的期刊杂志上已经发表了五十多篇的学术论文。

与 GS 20 系统相比较，硬件配置和软件系统方面的革新改进，使得 GS FLX 系统具有了广泛的应用：

### 全基因组测序

- 多达 120 Mb 的未知基因组测序
  - 生成基因组结构草图

- 基因筛查：寻找新基因，定位和功能
- 研究 DNA 序列的组织，分布和信息
- 和其他基因组进行比较研究
- 全基因组进行从头鸟枪法测序，例如微生物基因，BAC 和 YAC 克隆测序
- 比较基因组研究
  - 识别单碱基突变
  - 进行流行病学分析
  - 识别突变热点和保守区域
  - 了解工业生产菌株和它们的亲代菌株序列上的差异，作为进行工业生产菌株开发的遗传基础
  - 识别插入或者缺失的基因
  - 断定基因型和表型之间的相关关系（比如，研究药物抗性的遗传基础）
  - 进行环境基因组（metagenomics）研究
  - 基于基因测序变化进行毒性预测
  - 古代化石 DNA 测序研究
- 利用配对末端方法（Paired-End Tag）将 Contigs 拼接成 Scaffolds。

### 转录组和基因调节研究

- 基于短 Tags, ESTs, ChIP, 或者 GIS-PET 序列的高通量转录组分析, 或者 miRNA 序列的基因组范围识别, 小分子和非编码 RNA 的测序
- 研究 DNA 的甲基化模式来进行基因调节的研究

### 扩增产物分析

- PCR 产物的超精细测序（应用于医学研究的重测序）
  - 在混合的肿瘤样本中识别体细胞突变
  - 在群体水平上发现高可信度的 SNP 位点



详细的产品信息，发表文献和多媒体资料等，请登陆：  
[www.genome-sequencing.com](http://www.genome-sequencing.com)