

DNA 测序技术（Sanger 法测序）

黄铂琛 15302010029

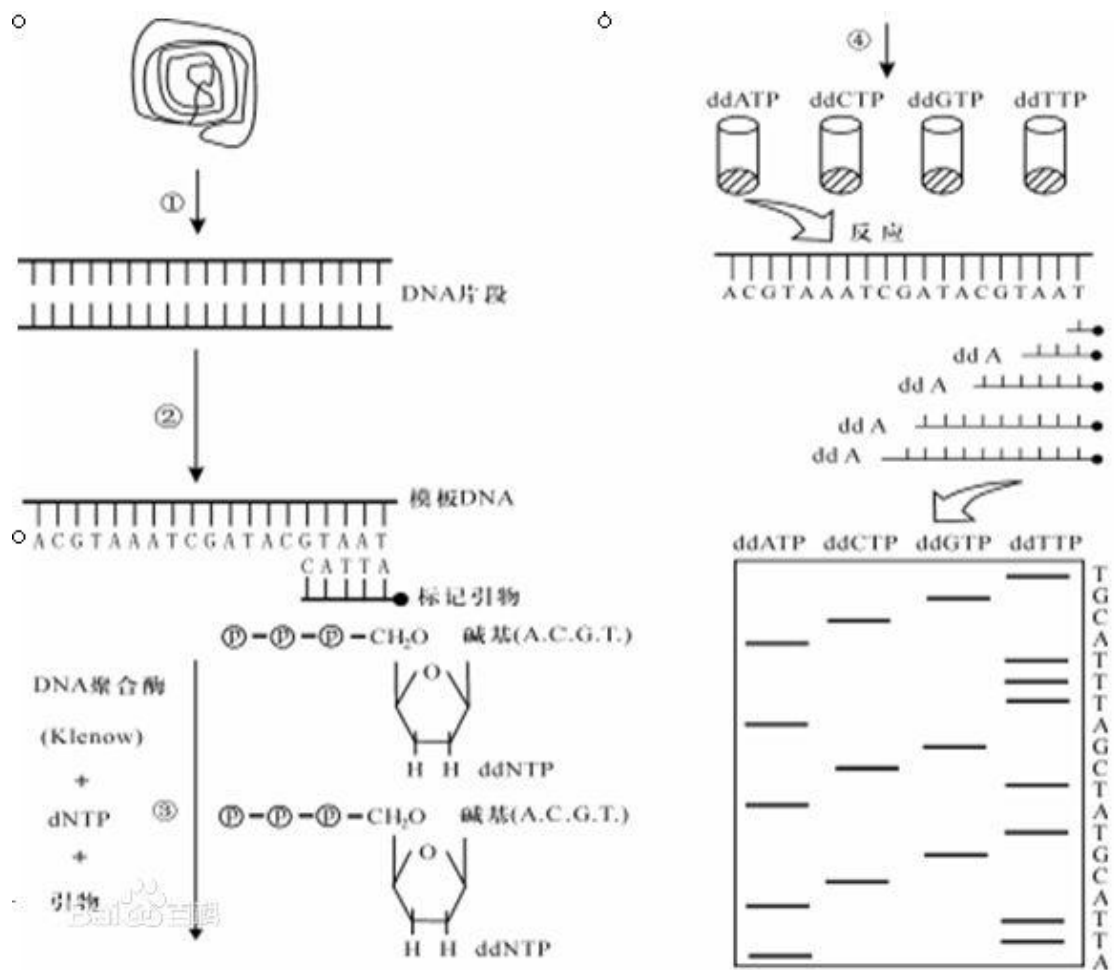
DNA 诊断技术是应用分子生物学方法检测患者体内遗传物质的结构或表达水平的变化而做出的或辅助临床诊断的技术。而常用的 DNA 诊断基本技术中就包括 DNA 测序技术。

在分子生物学研究中，DNA 的序列分析是进一步研究和改造目的基因的基础。目前用于测序的技术主要有双脱氧链末端终止法和化学降解法。两者中，由 Sanger 等发明的双脱氧链末端终止法得到了更广泛的应用。



Sanger 法测序的原理就是利用一种 DNA 聚合酶来延伸结合在特定序列模板上的引物。直到掺入一种链终止核苷酸为止。每一次序列测定由一套四个单独的反应构成，每个反应含有所有四种脱氧核苷酸三磷酸，并混入限量的一种不同的双脱氧核苷三磷酸。由于双脱氧核苷三磷酸缺乏延伸所需要的 3-OH 基团，使延长的寡聚核苷酸选择性

地在 G、A、T 或 C 处终止。终止点由反应中相应的双脱氧而定。每一种 dNTPs 和 ddNTPs 的相对浓度可以调整，使反应得到一组长几百至几千碱基的链终止产物。它们具有共同的起始点，但终止在不同的核苷酸上，可通过高分辨率变性凝胶电泳分离大小不同的片段，凝胶处理后可用 X-光胶片放射自显影或非同位素标记进行检测。



DNA 测序技术可应用于未知基因组的测序、全基因组重测序、深度扩展子测序和转录组测序中，能够检测关联突变，对病毒抗药性和传染病源快速检测，测定疾病相关区域。此外，对环境基因组学和微生物多样性，以及考古学也有广泛的应用。

对于 Sanger 法测序来说，因测序读长长、准确性高的优点，一直占据着 DNA 测序技术的统治地位。该法特别适用于单基因病的基因诊断和产前诊断。且常被用作标准的鉴定方法以及最终确定突变的确切位点和突变性质的手段。检测的突变类型包括错义突变、无义突变、同义突变(含 SNP)、拼接突变、小缺失、小插入、大缺失、大插入、插入伴缺失、复杂重排、重复变异等，准确率 100%。

然而，不管是 Sanger 的双脱氧链终止法还是化学裂解法，都需要放射性同位素标记，操作繁琐且不能自动化，故无法满足大规模测序的要求。另外，毛细管微阵列 DNA 测序在成本与耗时方面也远远满足不了基因组学发展的需要。测序成本高(据估算，用该法完成人类基因组计划，需花 30 亿美元)，数据分析量大，自动化程度不高或需手工操作，一些 PCR 产物不能被分析而需制备单克隆。诸如此类种种原因，也阻碍了 Sanger 法测序的进一步发展。

飞速发展的 DNA 测序技术还在帮助科学家不断地从 DNA 序列中挖出更多的秘密，未来怎样难以预料。诚如人类基因组研究的知名专家、美国塞莱拉公司首席科学家克雷格·文特尔所言：“破译基因组密码的意义就如同在刚发现电的那个时代，没有人能想象出个人电脑、互联网一样。”