

人类基因组计划进入最后阶段

李克

(汕头大学医学院, 汕头 515031)

1999年3月中旬, 美国政府和英国慈善机构 Wellcome Trust 宣布了几项巨额资助, 这将使人类基因组计划步入异常的加速阶段. 一年前, 即使是最为乐观的项目领导人也估计人类基因组序列至少要等到2005年才能获得. 然而, 在去年10月, 他们宣布, 到2001年底可以交出一份“草图”. 时隔不到半年, 现在他们又提出了一个新的最后期限——即2000年春季将确定人类遗传学编码中全部30亿个碱基的序列. 再一次把时间提前了18个月. 早期工作的成功和私人参与测序计划所引起的竞争使得人类基因组计划完成日期一次又一次提前.

1 私人参与测序引起巨大压力

早在1996年, 美国国家基因组研究所(以下简称NHGRI)就已开始资助一些实验室进行基因快速测定的可行性评价研究. 上述提出的新的测序目标可视为该项研究水到渠成之结果. 管理该项目的Lander认为, 三年前存在的技术限制已经完全解决, 现在有着非常可靠的方法可以对基因组进行精确地测序. 在实验期间, 又获得了许多人类基因组的数据, 并获得了某些生物体如酵母菌和丝状菌的完整序列, 更坚定了人们的热情和信心. 另一方面, 不同意见者担心测序进程太快可能会降低数据质量. 这些担心曾引起广泛争议, 直到1998年5月, 所发生的一系列事件使学院派研究者们开始感到巨大压力和时间的紧迫.

当时, Venter C J宣布与康涅狄州的Perkin-Elmer公司合作, 目的旨在2001年完成对人类基因组的序列测定, 他成立的新公司——位于马里兰州的Celera Genomics公司, 已预定了230台ABI 3700毛细管DNA分析仪(Perkin-Elmer公司最新产品), 而ABI 3700仪器的详细说明书中说, 用每天不到一个小时的人力工作时间, 就可以对768个样品进行测序. 假定每个样品可用的序列数据(即阅读长度)平均为400个碱基对(bp), 整个人类基因组的任何片段平均重复独立地阅读10次, 那么, Celera公司所需处理的7500万个样本就需要

100 000个ABI 3700仪工作日, 用230台仪器, 需要工作不到2年的时间, 即大约434天, 这样计算的时间还考虑了发生错误的情况. 在此计算下, 可以确保实现该公司的计划——在3年内将人类基因组全部3Gb (gigabases)的原始序列测出来. 学院派的研究者们开始担心Venter的新公司可能会取得人类遗传学密码的专利权. 于是, 人类基因组计划的参加者以加快工作速度作出反应, 以便与Venter的计划竞争.

2 挑战 Celera, 宣布明年春季完成人类基因组测序工作

NHGRI的Collins F和Wellcome Trust的Michael M等人认识到, 维持非盈利的学院和研究室的最好方法, 就是加大资助强度, 把资源集中在最有效率的中心. 于是, 在1999年3月15日, NHGRI宣布选择三个主要的研究中心来进行高速度高产量的测序工作, 在以后的10个月中, 将给予他们8160万美元的资助. 并打算在今后四年, 继续给予他们相当力度的资助. 获得这批资助者包括华盛顿大学的Waterston R的研究组(获3330万美元), 休斯顿Baylor医学院的Gibbs R的研究小组(1340万美元), 以及麻省剑桥生物医学白头(Whitehead)研究所Lander E的研究组(3490万美元).

与此同时, Wellcome Trust增加了对英国剑桥Sanger研究中心本年度的人类基因组测定的资助力度, 从原先的5700万美元提高到7700万美元. 这4个机构再加上美国能源部(DOE)的联合基因组研究所, 到2000年3月, 将允诺至少可以对90%的人类基因组序列进行5次重复的测定. 在此之后, 他们打算用二三年的时间, 对整个数据进行整理, 建立全部基因组的精确版本.

3 对新限期充满信心

这个由NHGRI的Collins和Wellcome Trust的

Morgan所宣布的新议程引起的反应喜忧参半。一些较小的测序中心将被淘汰，德国和日本的研究组没有包括在这个新的最后限期计划内。

三个获得NHGRI大力资助的研究组感到责任重大，他们主动与DOE和Sanger中心合作，每个星期五，他们通过电话会议召开实验室集中会议，共同分享关于毛细管自动化测序仪和有效管理等方面的见解。例如，Waterston的工作组正在辨别两套克隆的指纹，以便更有效地使用其中包含的DNA片段。采用这种方法，人类基因组计划可使用熟知的过程，探测基因组上每个克隆的位置。

Collins认为该方法可避免极为耗时的制作详细序列图谱过程。这种方法与Celera正采用的对整个基因进行的鸟枪随机测序法是相对立的。Collins和Morgan坚信，从明年的基因组草本中可以直接产生一个高度完善无错误的数据库版本。

参 考 文 献

- 1 Pennisi E. Academic sequencers challenge Celera in a sprint to the finish. *Science*, 1999, **283** (5409): 1822~ 1823
- 2 Mullikin J C, McMurray A A. Sequencing the genome, fast. *Science*, 1999, **283** (5409): 1867~ 1868

(上接第 610 页, Continued from page 610)

物的解吸附，因而使得测定具有良好的稳定性及高度的可重复性，与传统的ELISA方法相比，本方法的批内及批间变异系数均较低（分别为4.75%和7.80%）。该方法可应用于不同来源的酶标板，且经紫外线及戊二醛处理的酶标板可在较长时间内保持与抗原肽的结合能力，已包被的酶标板可在数月内保持稳定，这就大大方便了酶标板的批量处理和储存使用，为方法的推广应用创造了条件。

参 考 文 献

- 1 何涛, 陈曼玲 (He T, Chen M L). 胆囊收缩素酶联免疫测定法的研究. *华西医科大学学报 (J West China Univ Med Sci)*, 1998, **29** (2): 220~ 223
- 2 Tijssen P. *Practice and Theory of Enzyme Immunoassays*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1985. 298~ 299
- 3 Zouali M, David S B. A rapid ELISA for measurement of antibodies to nucleic acid antigens using UV-treated polystyrene microplates. *J Immunol Methods*, 1986, **90**: 105~ 110

Study on Covalent-attached Enzyme-linked Immunoassay for Polypeptide. HE Tao, CHEN Man-Ling (*Department of Biochemistry, West China University of Medical Science, Chengdu 610041, China*).

Abstract In order to study the mechanism of enzyme-linked immunoassay for octapeptide cholecystokinin (CCK-8), ELISA procedures were based on the pretreatment that polystyrene microplates were irradiated by ultraviolet and activated by glutaraldehyde prior to coating, and the binding nature of CCK-8 to microplates was revealed by different washing methods including dH₂O, PBS-T and SDS. The results showed that this pretreatment led to the covalent attachment of CCK-8 to the solid-phase steadily and fit to different sources of microplates. The treated microplates could be stored at least 4 weeks not to influence their ability of binding antigens. The intra- and inter- variation coefficients were 4.75% and 7.80% respectively. This polypeptide ELISA was characterized by covalent attachment between antigen and solid-phase carrier and was proved to be highly stable, reproducable and available.

Key words polypeptide, covalent attachment, enzyme-linked immunoassay, cholecystokinin