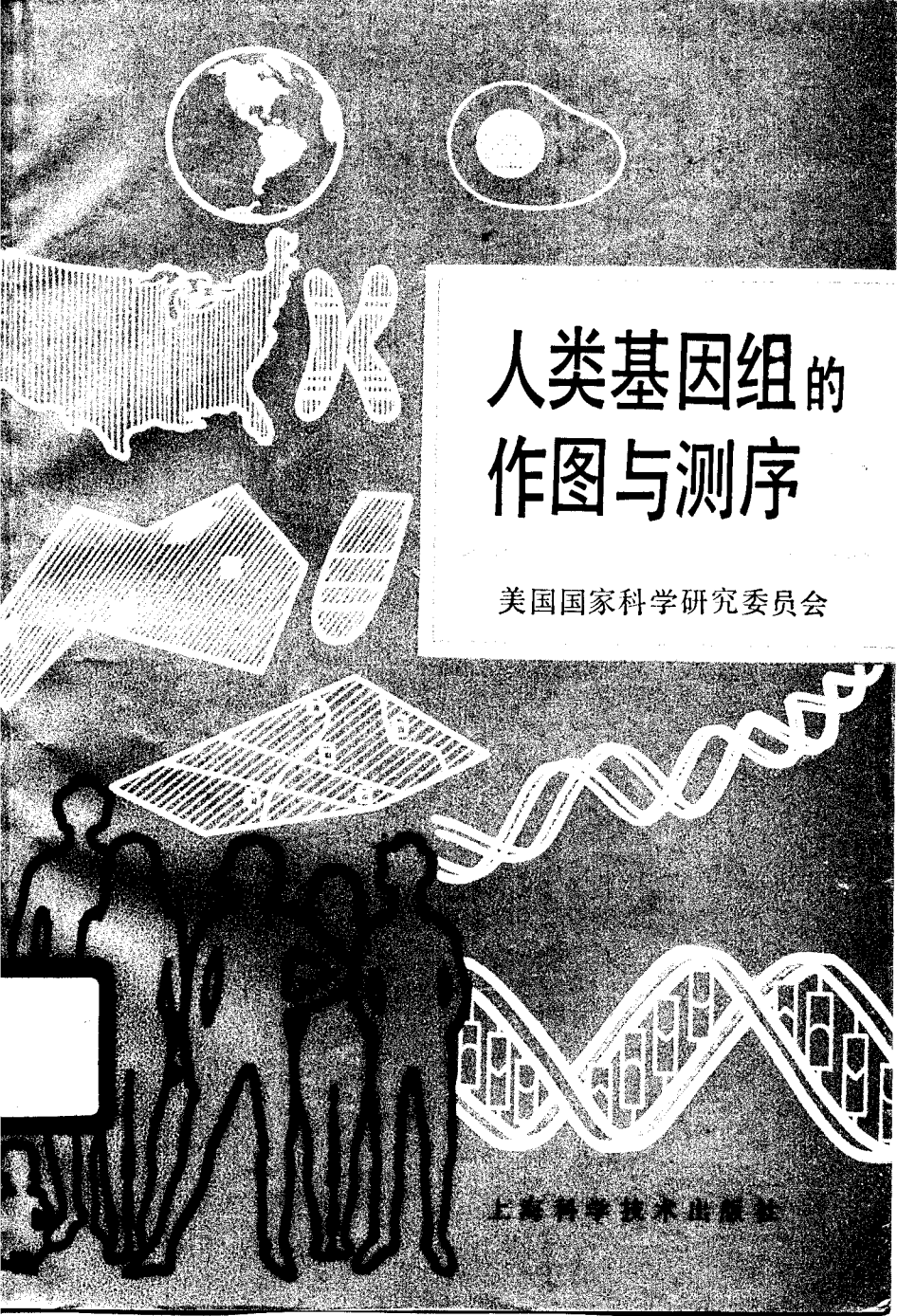




人类基因组的 作图与测序

美国国家科学研究委员会

上海科学技术出版社

National Research Council
**MAPPING AND SEQUENCING
THE HUMAN GENOME**
National Academy Press 1988

责任编辑 钱开鲁 周兆钧

人类基因组的作图与测序
朱景德 周 郑 张爱兰 译

上海科学技术出版社出版
(上海市瑞金二路 450 号)

本书由上海发行所发行 上海市印刷三厂印刷
开本 787×1092 1/32 印张 5.5 字数 115,000
1990年8月第1版 1990年8月第1次印刷
印 数 1—1300

ISBN 7-5323-2213-0/R·667 定价: 3.80 元

内 容 简 介

本书是美国国家科学研究委员会在有专家、管理人员以及公众参与下，历时三年多的多层次讨论后，对人类基因组图谱的制作和核苷酸顺序测定这一规模庞大的研究计划的意义、研究内容、前景和实施战略所作的全面阐述。这项连续十五年的庞大计划，已在美国实施了一年多，并取得了相当的进展。译者在序言中对此进展作了介绍。

本书可供生物学、医学、生物化学、遗传学、微生物、肿瘤学、农业等专业的科学工作者，高等、中等学校有关专业师生，以及这些领域的管理、决策部门的有关人员参考。

前言

在过去两年中，人们对“人类基因组的作图与测序”的计划给予了极大关注。为此已召开了各种会议，基础生物学委员会 (Board on Basic Biology) 对此也召开了一次会议，生物科学界对这一计划的得失开展了辩论。作为对生物学家质疑的反应，基础生物学委员会委托专家委员会对人类基因组的作图和测序计划的必要性和可行性进行审查，并在该计划确实可行的前提下，提出实施方案。

委员会由直接或间接地研究 DNA 和遗传机制的各个学科中的生物学家所组成。在对人类基因组研究的个人经历以及对这一计划的潜在兴趣上，他们彼此差异极大。鉴于人类基因组的作图和测序委员会成员对这项工作的现状知之尚少，调查研究的主要形式是有置身于有关研究中的非委员专家参加的专题讨论会(发言者见附录 C)。

委员会经深思熟虑后提出：对人类基因组的分析是否仍然完全限于传统的、不经协调的、然而却非常成功地资助着绝大多数生物医学研究的拨款制度？还是应建立一系列较为集中的及加以协调的拨款制度，以鼓励和加速人类基因组的作图和最终完成测序工作？倘择后者，怎样才能避免影响生物科学研究更主要的目标？这对理解人类基因组计划实施中所获结果来说是至关重要的。

随着对很多有关问题的了解，委员们取得了一致意见。

这篇报告陈述了这些共同见解。

委员会对作出贡献的人们和那些在会议中贡献其专长的人们深表谢意。我们尤其感谢资助此项研究的 James Mac-Donnell 基金会的 Michael Witunski, 他提供了卓越的见解, Water Gilbert 在委员会工作初期(作为委员)对众多议题的讨论作出了贡献。Eric Juengst 和 Albert Jonsen 对这一计划的伦理学及社会学方面的讨论给予了指导。委员会对生命科学委员会 (Commission on Life Sciences) 的工作人员 Farnes Walton, Caitilin Gordon, Robert Mathews 致谢, 他们的出色工作加速了报告的完成。尤应感谢的是基础生物委员会主席 John Burris, 他日以继夜的工作和杰出的指导, 使报告几经修改而完成。

人类基因组的作图与测序委员会

目 录

前 言	(I)
译者序	(IX)
第一章 概 要	(1)
一、基因组作图	(3)
二、基因组测序	(7)
三、信息和材料管理	(8)
四、实施战略	(9)
五、管理战略	(11)
第二章 导 言	(13)
一、基因组、基因和遗传图谱	(14)
(一)基因组由含有很多基因的 DNA 分子所组成	
.....	(14)
(二)人类基因组由 24 条不同的 DNA 分子组成	(16)
(三)人类基因组作图的多种方式	(20)
二、人类基因组精细图谱的医学价值	(23)
(一)对基础生物学的价值	(24)
(二)计划中将产生的技术进步及其对生物学研究	
的影响	(24)
(三)对小型研究组研究的影响	(25)
第三章 医学和科学价值	(28)
一、医学价值	(28)

(一)人类基因组图谱将大大地促进对特定疾病基因的确定·····	(28)
(二)对疾病基因的研究将为人类生物学提供重要的信息·····	(29)
(三)特殊的医学价值·····	(30)
(四)有关对癌症的认识·····	(31)
二、对基础生物学的影响·····	(32)
(一)有重要功能意义的基因组组构特征·····	(32)
(二)很多新的人类基因和蛋白质将会被确定·····	(33)
(三)生物是如何进化的·····	(34)
第四章 作 图·····	(36)
一、初期的细胞学作图是在光学显微镜下,通过对染色体的观察来进行的·····	(37)
(一)基因组作图的现代革命是以重组 DNA 技术为基础的·····	(38)
二、基因组作图的基本原理·····	(39)
(一)物理图谱是对染色体DNA分子进行作图,而遗传图谱是对遗传的模式进行作图·····	(39)
(二)物理作图的一个十分重要的副产品是:排序的 DNA 克隆库·····	(41)
(三)物理和遗传连锁作图均可在不同的分辨水平上进行·····	(42)
三、遗传连锁作图·····	(43)
(一)限制酶切片段长度多态性 (RFLP) 是连锁作图中的适用界标·····	(43)
(二)遗传连锁作图需要对大家族的许多成员进行分析后才能开展·····	(44)

(三) RFLPs 有助于将物理图谱和遗传连锁图谱	
联系起来·····	(46)
(四) 有参考价值的人类基因组的 RFLP 图谱,	
将是研究遗传性疾病的关键工具·····	(46)
四、物理作图·····	(48)
(一) 制备和分离大 DNA 分子的新方法, 将加速	
对中等分辨率的限制酶切图谱的绘制·····	(48)
(二) 进行高分辨的限制酶切作图, 需要使用排序	
的 DNA 克隆库·····	(50)
(三) 可用的指纹法对 DNA 克隆进行排序·····	(51)
(四) 以哪一种方法来制备排序 DNA 克隆库为	
佳·····	(52)
五、染色体图谱的直接应用·····	(53)
六、结论和建议·····	(54)
(一) 新近的突破性进展为大规模作图工作打下了	
基础·····	(54)
(二) 应同时开展方法不同的作图工作·····	(55)
(三) 物理作图技术的改进, 应与对人类基因组作	
图的尝试相联系·····	(56)
(四) 加速图谱的绘制和提高其价值所需的技术上	
的改进·····	(56)
第五章 测 序·····	(60)
一、为什么要测定基因组的全顺序·····	(61)
二、现有的 DNA 测序技术: 化学法和酶法·····	(64)
三、目前技术测定人类基因组全序列的困难·····	(69)
四、DNA 测序的精度·····	(70)
五、正在出现和将会出现的技术·····	(71)

六、选择和建议.....	(76)
(一)计划应以两类研究为起点.....	(77)
(二)充分利用人类基因组顺序的信息,将有赖于 多种新工具,如它种生物的基因组顺序的数 据库.....	(78)
(三)质量验收系统.....	(78)
第六章 信息和材料的收集、分析和分发.....	(80)
一、现有的信息处理机构.....	(82)
(一)GenBank/EMBL	(82)
(二)人类孟德尔遗传中心(MIM).....	(83)
(三)人类基因作图资料馆(HGML).....	(83)
(四)人类多态性研究中心(CEPH).....	(84)
二、人类基因组计划所需的图谱数据库.....	(85)
(一)扩充绘制 RFLP 图谱所需的合作性中心设 施.....	(85)
(二)全部图谱数据应由一个数据库分发.....	(86)
(三)建立收集和分发已排序的克隆 DNA 片段的 中心设施,是开始测序计划的重要一步.....	(86)
三、人类基因组计划所需的 DNA 顺序库.....	(88)
(一)测定人类基因组全顺序的合作计划将产生大 量DNA顺序的数据.....	(88)
(二)所有的数据必须以电子或磁的形式输入.....	(88)
(三)中心应开展初步的分析工作.....	(89)
(四)一个初步顺序分析的例子.....	(89)
(五)建立一个有效的计算机网络.....	(90)
(六)需要对数据分析方法进行研究.....	(90)
(七)预算.....	(90)

四、结论	(91)
第七章 实施和管理战略	(92)
一、资助人类基因组计划	(93)
(一)应优先资助那些有潜力显著地改进分析基因组技术的项目	(93)
(二)应对小型研究组和较大的多学科中心给以鼓励	(93)
(三)目前不宜建立单个大型生产中心	(94)
(四)资助应通过同行评议来决定	(95)
(五)人类基因组计划每年需约 2 亿美元新的专项拨款	(96)
(六)应加速并协调作图工作	(98)
(七)测序工作应逐步展开	(98)
(八)应通过国际合作实施这项计划	(98)
二、人类基因组计划的管理	(99)
(一)三个组织方案	(100)
(二)组织方案 A：领导机构和科学顾问委员会	(101)
(三)组织方案 B：联合机构委员会和科学顾问委员会	(103)
(四)组织方案 C：联合机构委员会、行政管理机构、科学顾问委员会	(104)
第八章 社会学问题	(106)
一、商业与法律方面	(106)
二、伦理和社会学方面	(107)
(一)基因组作图和测序计划的执行	(107)
(二)解释遗传信息的医学意义	(108)
(三)人类基因组图谱的合理使用与滥用	(109)

译后记.....	(112)
附 录.....	(125)
A. 辞 汇.....	(125)
B. 委员会成员的简要履历.....	(127)
C. 应邀作专题报告的科学家.....	(128)
D. 美国国会技术评估办公室对有关人类基因组计 划的评估报告的简介.....	(129)
英汉译名对照.....	(136)
内容索引.....	(147)

第一章

概 要

人类长期被支配自身及其它生物的力量所困惑。决定蓝眼、棕发和花型的蓝图到底是什么？一百多年以前，孟德尔发现这些遗传性状受控于以后称为基因的亚细胞单元。近年来，随着对组成基因的大分子（即 DNA）的分子生物学知识的积累，我们对基因的认识大大地深化了。新近发展起来的技术，使我们能将任一生物的基因在 DNA 上定位（作图），进而测出组成该基因的 DNA 结构单元——核苷酸的顺序（测序）。现在看来，彻底描述基因及 DNA 似是可能的。

随着越来越多基因被作图及其 DNA 被测序，这一数据库的价值日益增高。对生物化学、生理学、细胞生物学和医学研究来说，它是必不可少的。它将推动卫生保健和疾病预防工作的发展，并增进我们对细胞和生物的认识。全世界已对有组织地实施全部基因和基因间区（整套人类基因组）作图和测序的动议给予了极大的关注。

一些国家对开展这样的计划表示了极大的兴趣。国家研究委员会的生物科学学部的基础科学委员会成立了人类基因组的作图和测序委员会，对美国应该在这一领域中做些什么进行了讨论，本文阐述了委员会的意见。

在本报告中，委员会对怎样、何时及为何对人类基因组

的 DNA 作图和测序进行了探讨。经过研究，委员会得出下列结论：

1. 通过组织及资助这一专门计划，去获得人类基因组图谱、顺序及增进对它的理解是值得的。在今后 20 年内，该计划的实施将大大地加速人类生物学和医学的发展。

2. 与人类基因组作图和测序相关的技术问题是极为严峻的，从而只有通过多学科的协同和持久的努力，才有可能提高我们分析复杂的 DNA 分子的能力。虽说目前尚缺少所需的手段，但我们对发展这些技术的轮廓是清楚的。通过以试验性项目和技术发展为重点的专项计划的实施，发展所需的先进的 DNA 技术的前景是乐观的。技术的进步不仅将使人类基因组的作图及测序得以实现，且将对基础生物学和生物技术的其他众多领域作出重大的贡献。

3. 计划早期的重要目标是，作出高分辨率的人类基因组遗传连锁图谱、得到排序的克隆 DNA 库和一系列分辨率不同但互相补充的物理图谱。而最终目的是以排序的克隆 DNA 库为材料测出人类基因组的全顺序。实现这一目标需要在 DNA 操作及测序技术上有重大的突破。

4. 比较遗传学方法对解释人类基因组中的信息是至关重要的。所以，应同时深入研究那些可作为理解人类基因结构、功能及进化所需的、有价值的模型生物。

5. 作图和测序的计划应始于强调技术进步的竞争和同行评议工作。资助的对象应包括个人和由科学家及工程技术人员组成的中等大小的多学科的研究组。要达到大多数项目的目标，需要在技术上有重大改进，因此，委员会反对目前建立一个或几个大的测序中心。

6. 与目前开展的研究不同，人类基因组计划的子项目

在作图、测序、分析或解释人类基因组中的信息方面，应有把现有的效率和规模提高 5~10 倍的潜力。

7. 为达到上述目标，有必要建立资金充足的中心设施。这包括作图和测序工作中产生的克隆 DNA 片段的存储中心，和以计算机为基础的收集和分发大量 DNA 顺序信息的数据中心。委员会建议通过公开竞争来选择能提供这类服务的单位。

在上述结论的基础上，委员会建议：

考虑到这个计划的重要性和规模，建议追加高达每年 2 亿美元的资助。但这些资助绝不能从目前用于生物医学研究的国家预算中拨出。

绝大多数委员建议：

应有一联邦机构领导此项计划，接受和管理计划的资金，负责存储中心和数据中心的工作，并实施决定资助对象的同行评议系统。它应与科学顾问委员会 (Scientific Advisory Board) 紧密合作，提出和实施高标准的同行评议。主要由有关领域专家组成的顾问委员会应对同行评议、质量验收、国际合作、实验室间的协调和存储中心及数据中心的运行提供咨询。

报告就人类基因组计划的主要内容：基因组作图和测序、信息和材料的管理、实施和管理战略的概要依次作出了陈述。图 1 简示了人类基因组及其在人类生物科学中的中心地位。

一、基因组作图

有两大类人类基因组图谱：遗传连锁图谱和物理图谱。遗传连锁图谱主要通过家谱分析和测量不同性状一起遗传

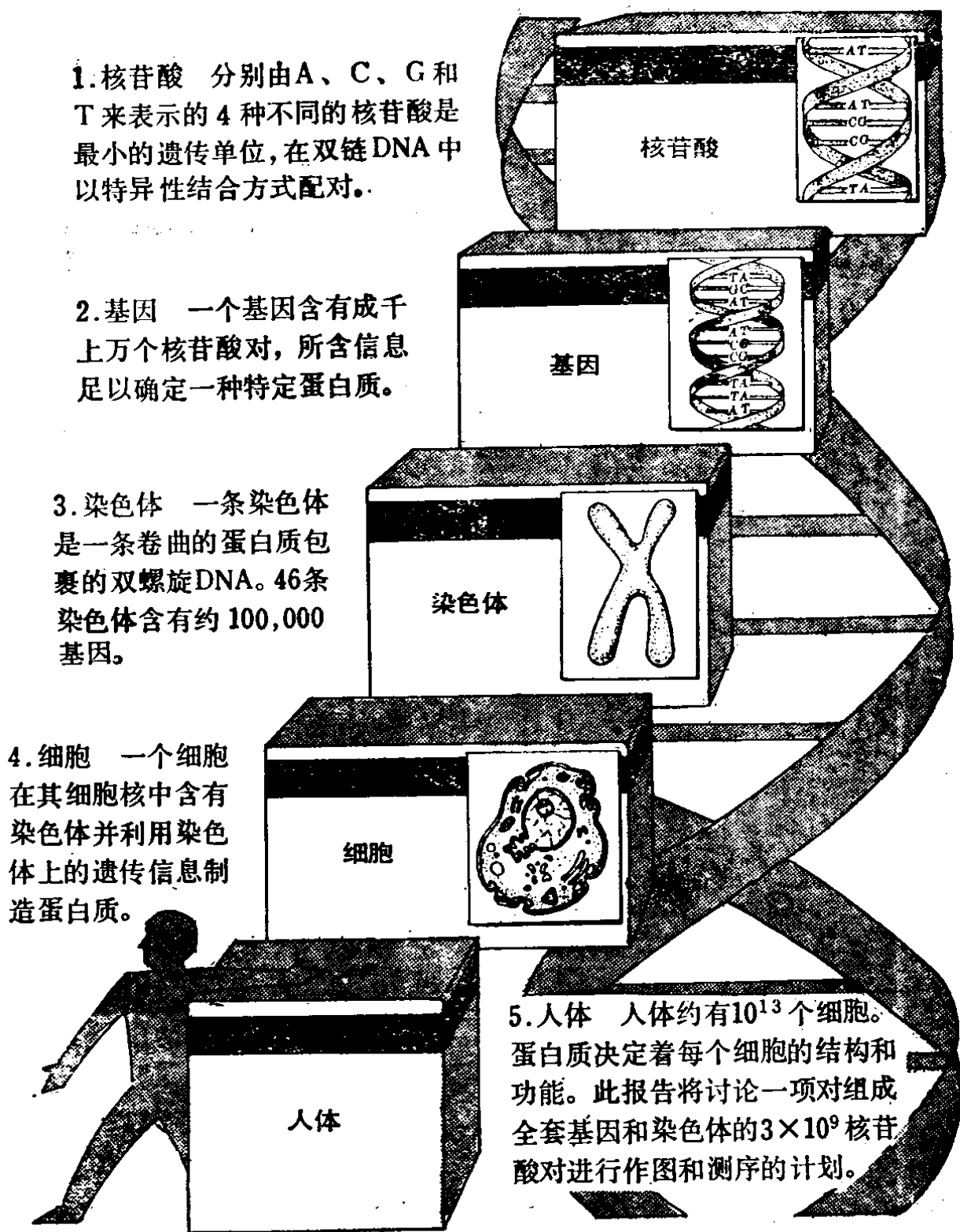


图 1 简示人类基因组及其在人类生物科学中的中心地位

(即连锁)的频率而建立的。物理图谱主要是通过对构成人类基因组的 DNA 分子的化学测度而绘制的。它有几种类型,即限制酶切图谱、排序的 DNA 克隆库以及对表达基因或无特征(功能不清楚)的 DNA 片段的低分辨图谱。后者是通过体细胞杂交或染色体的原位杂交来制作的。所有图谱的目标都是把有关基因的遗传信息,按其在每条染色体上相对位置线性地系统地排列出来。了解基因的位置及其相应的遗传性状,使我们能揭示人类基因组结构模式的功能意义,并将其与其它哺乳动物加以比较。精确的人类基因组图谱会立即给人类健康带来巨大好处。例如,随着与包括遗传性癌、早老性痴呆症 (Alzheimer's disease)、狂郁症 (manic-depressive illness)、亨廷顿氏舞蹈症 (Huntington's disease)、纤维性囊泡症 (cystic fibrosis) 在内的数种疾病有关的基因或 DNA 区域得以确定,新的诊断和治疗方法即会出现。同样重要的是,我们会对人类生物学有更好的理解。

委员会认为,应立即开始大规模的人类基因组的遗传连锁图谱和物理图谱的绘制。目前的作图方法是一个基因一个基因式的。鉴于每个基因仅是整套染色体 DNA 中极小的一部分,现今方法象是反复地从草堆中寻出一根针。相反,对整个人类基因组作图而言,克隆到的众多的 DNA 片断中每一个均是有用的,是将它们按其在基因组中的位置而排序的难题的已解决的一部分。从已排序的 DNA 克隆库中获得任一特定 DNA 克隆的费用相对为小。由此,这一计划将避免每一实验室为寻找所需克隆必须从建库做起的方法,从而节省了大量费用。

在作图方法学上,新近的几项突破使获取作图所需的精细资料成为可能。它们包括以 DNA 分离和操作为基础的物

理作图的改良方法和远为精确地分析以限制酶切片段多态性 (RFLP) 为基础的遗传连锁数据的数学方法。遗传连锁和物理作图方法的发展有着高度的协同性, 这使在相对短的时间内作成一精细的物理和遗传连锁图谱成为可能。这图谱本身就极有价值, 同时也为作出最终的物理图谱 (测出人类基因组全顺序) 奠定基础。

委员会确信, 在作图工作的早期就应强调技术的发展与完善。虽然技术已有很大的新的进展, 但物理作图方法仍需要进一步完善。例如, 一千万核苷酸对长 (人类基因组大小的 $1/300$) 的 DNA 片段进行操作虽有可能, 但仍相当困难。另外, 还无法对这样大的片段进行克隆。对其基因组不大于人类基因组 $1/50$ 的某些生物克隆库的排序工作已开始, 但尚未完成。象大 DNA 分子操作及其克隆新载体这样的先进技术, 势必会加速排序 DNA 克隆库的建立。因此, 在今后几年内, 应主要致力于现有作图技术的完善和更有效的技术发展。

委员会认为, 应重点支持打算对大的基因组进行作图的研究组, 并同时支持不同的作图方法。下述方法的改进将会加速图谱的绘制并使其更为有用。

1. 分离完整的人类染色体。
2. 分离及不失活地保存鉴定过的染色体片段。
3. 克隆表达基因, 特别是克隆那些表现为细胞、组织和发育阶段专一性的稀有的 mRNA 的互补 DNA (cDNA)。
4. 克隆大 DNA 片段。
5. 高分辨地分离及纯化大 DNA 片段。
6. 排出 DNA 库中克隆间的毗邻关系。
7. 包括 DNA 纯化和杂交分析、同时处理多个 DNA