

析中，虽然新一代测序结果不仅能给出具有很大大动态范围的基因丰度信息，同时还可提供剪切变异信息以及SNP数据，但是这些数据结果都需要进行不同的DNA微阵列分析才能获得。

那么，有没有什么方法可以解决这些问题呢？首先，相关的资金授予机构应该对生物信息学的发展予以与测序技术同等的关注；此外，由于生物信息学发展中的瓶颈已经限制了测序机器的销售，测序仪生产商也应该联合起来解决这一难题。同时，制造商应该致力于制定以研究领域为基础而不是以不同公司为基础的生物信息学解决方案。

因此，如果新一代测序平台真的能够带动基因组测序“普及化”——让基因组测序从大型测序中心走入每个研究人员的实验室或者小型研究小组，那么还需要研究人员付出更多努力，开发出经济实惠的分析软件以及数据管理系统。目前的状况是，与新一代测序技术相关的生物信息学分析工作仅仅掌握在少数人手里，但是这一具有重要价值的技术毫无疑问应该由大多数人掌握。如果数据处理问题不能得到有效解决，那么ABI公司的SOLiD系统、454公司的超高通量基因组测序系统——GS FLX、Illumina公司的GAII系统等新一代测序仪就永远无法真正出现在能够展现其价值的舞台上。

原文检索：Editorial. (2008) Prepare for the deluge. *Nature Biotechnology*, 26(10): 1099.



二、传统的DNA测序技术——Sanger测序法

自上世纪90年代初，所有的DNA测序操作几乎无一例外地全部采用半自动化毛细管电泳Sanger测序法（图1a）。而后来出现的高通量测序方法则首先采用以下两种方法中的一种对DNA进行预处理（表1）。

表1 对DNA进行预处理的两种方法

此法也可见于从头测序的鸟枪法（shotgun *de novo* sequencing），即先将大量随机切割产生的DNA小分子片段克隆到高拷贝数质粒（即松弛型质粒）中，随后再将这些质粒用于大肠杆菌转化；

此法是在对特定序列进行再次测序时使用的方法，即采用该特定序列的特异引物进行PCR扩增，从而获得该序列。

无论采用以上哪种方法处理后，我们均可以得到大量的待测序模板片段——质粒或PCR产物。随后，测序仪会进行“循环测序”反应。在每一轮测序反应的引物延伸步骤中，会随机引入已被四种不同颜色荧光分别标记的ddNTP（ddATP、ddTTP、ddGTP、ddCTP）以终止延伸反应。这样就形成了大量末端被荧光标记的、长短不一（终止位点不同）的延伸产物。接着，再用高分辨率的毛细管凝胶电泳分离这些延伸产物，通过对延伸产物末端四种不同荧光颜色的区分，计算机软件会自动“读出”DNA序列。不过，该方法在“读取”每一个碱基信息时都有可能出错。后续操作中，比如基因组组装或者找出变异位点等就是具体情况具体解决了。一般，这种高通量测序仪一次最多只能同时进行96个或384个样品测序。

Sanger DNA测序技术经过了30年的不断发展与完善，现在已经可以对长达1,000bp的DNA片段进行测序了，而且对每一个碱基的读取准确率高达99.999%。在高通量基因组鸟枪法测序操作当中，使用Sanger测序法的费用大约为0.5美元/1,000个碱基。

原文检索：Jay Shendure & Hanlee Ji. (2008) Next-generation DNA sequencing. *Nature Biotechnology*, 26(10):1135-1145.

