

题也会造成很大的影响。要知道每一个科研工作者都很热衷于他们研究的那几个基因，这也正是为什么Church那里总有一堆问题的原因。随着基因组学技术正逐渐成为个性化医疗工作中的一个重要组成部分，这些问题也必须得到解决。Church说道：“对于对基因组当中某个与某种疾病相关区域非常感兴趣的科研人员来说，他们并不在乎人类基因组图谱是不是达到了99%的完整度，他们只在乎他们感兴趣的那个区域是不是得到了完整并且准确的测序。”

因此，尽管面临着种种质疑，GRC仍旧在平静地继续着他们的工作，将一些T改正为A或C或G。直到有一天，当我们在用目前使用的鸟枪测序法时不再需要参考序列来帮助我们拼接序列片段时，我们就可以深入研究人类基因组参考序列当中的基因组多样性问题了。2010年，GRC还将继续对小鼠基因组序列和斑马鱼基因组序列开展类似的工作。虽然这已经不可能成为头条新闻了，但是学术界的人还都非常清楚这项工作的价值。在美国纽约冷泉港实验室从事基因组结构变异问题研究的遗传学家Jonathan Sebat这样说道：“成立GRC组织本身就是一项非常明智的决定。这是非常显而易见的一件事情，很明显，一定得有一些人去解决人类基因组图谱当中存在的那些问题。”

原文检索: Elie Dolgin. (2009) The genome finishers. *Nature*, 462:843-845.



## 2. 隐藏在基因组当中的宝藏



科学家们预计，当他们完成了人类基因组项目之后应该能够发现一些与人体常见疾病和性状相关的遗传信息。但人类基因组图谱公布之后大家突然发现，现实与预期的完全不同，科学家们居然一无所获。但我们真的就不能从人类基因组图谱当中发现一点有价值的东西吗？在本文中，**Brendan Maher**将带领我们去探寻这些宝藏藏在人类基因组当中的藏身之所，至少**Brendan Maher**发现了六个藏宝洞。

如果你想知道你的孩子长大后能长多高，那么最好的办法就是站到镜子面前，看看你自己和你的另一半有多高。因为根据100多年前的研究结果显示，在影响子女身高的因素当中有80%~90%都来自遗传因素。按照这个理论，如果人群中身材最高的那群人比身材最矮的那些人平均高出29厘米，那么其中有27厘米都是因为遗传因素造成的。

2008年，有三个研究小组对大范围人群的基因组信息进行了筛查，其中规模最大的一项研究筛查了三万名志愿者，他们开展这些研究的目的是希望发现与人体身高有关的遗传信息。结果发现了40多个遗传位点与人体身高有关。

但是有一个问题，这些遗传位点所能发挥的作用都非常小。所有这些位点的影响力全部加起来也只能达到不到5%的影响率，也就是说如果按照平均29厘米的差距来计算，遗传只能影响到6厘米，这和理论中的27厘米差距甚远。鉴于此，上述三个研究小组之一的项目负责人，美国马萨诸塞州坎布里奇博大研究所（**Broad Institute**）的**Joel Hirschhorn**认为，虽然这些全基因组关联研究（**GWAS**）项目发现了几十个遗传位点与个体身高相关，但是我们要根据这些位点来预测个体的身高，那还不如根据他们父母的身高来判断来得准确。

身高并不是唯一一个不能用遗传因素来解释的人体性状，当然，这也不是最重要的一个性状。根据对同卵双生双胞胎和异卵双生双胞胎之间相似性的研究表明，遗传因素分别在自闭症（**autism**）和精神分裂症（**schizophrenia**）当中起到了超过90%和超过80%的作用。遗传因素也与各种机体紊乱或疾病，例如肥胖、糖尿病以及心脏病等等高度相关。在过去五年里被广泛应用的**GWAS**技术对于上述这些研究功不可没（详见知识框）。科学家们利用**GWAS**技术已经发现了多达40多个与各种常见人体性状或疾病相关的遗传位点。但是即便有几十个基因都与某个性状相关，它们各自的作用或者集体累加的作用也都非常微弱，根本无法用现有的遗传理论来解释。美国马里兰州贝塞斯塔美国国家人类基因组研究院（**NHGRI**）的前院长**Francis Collins**评论道：“这已经是目前遗传学领域里有关常见疾病研究方向最热门的话题了。这种大大出乎大家预料的结果让科学家们头疼不已。”

虽然遗传学家们被这种意想不到的结果弄得狼狈不堪，但他们仍然保持了乐观的心态，他们相信最终一定能够解决这个问题。**Hirschhorn**说：“现在这个研究方向才刚刚起步，我们还有很多工作可以做，说不定在明年或者后年我们就能找到答案了。”但是答案究竟藏在哪里呢？

## 知识框：回报究竟在哪里？

对于搜索隐藏在基因组当中的宝藏这样一份工作，我们取得的成绩要超出大家的期望。利用全基因组关联研究方法（GWAS）能够发现各种与常见疾病相关的基因突变，这给我们提供了很多有用的医疗信息，同时也证明，耗费30亿美元的巨资打造的人类基因组图谱，以及花费数百万美元的人类突变基因组图谱项目都是非常值得的。美国俄亥俄州克利夫兰凯斯西储大学（Case Western Reserve University）的遗传学家Joseph Nadeau说：“为什么我们要花这么多钱呢？就是因为这能帮助我们了解遗传现象。”

通过某人的基因来预测他的身高只是一个小游戏，但这也从另一个方面说明，将来的某一天，生命密码DNA将会参与到人类医学的各个领域。除了某些例外之外，比如人体免疫系统基因的突变会造成老年性黄斑变性（age-related macular degeneration），绝大部分的基因突变对于人体性状都只具有一定的影响作用。到目前为止，遗传学能告诉我们的东西还不如一份记录良好的家族史告诉我们的清晰和准确。而且利用遗传学来改善临床治疗也不是那么的一帆风顺。美国北卡罗来纳州达勒姆杜克大学（Duke University）的David Goldstein说：“我们会利用遗传学对每个人罹患大部分常见疾病的风险作出评估，还将利用遗传学发现更多的药物作用位点。不过这些在目前看起来还都只是美好的愿望而已。”

Francis Collins也认为目前看来，利用遗传学知识预测将来的患病情况希望比较渺茫，不过他对利用遗传学进行治疗还是比较乐观的。Collins说：“用GWAS技术发现的大部分突变基因都只能预示一个相对略高的患病风险，但是这绝不意味着基因就毫无用处了。利用突变基因进行临床治疗还是非常值得期待的。”

Peter Visscher是澳大利亚布里斯班澳大利亚昆士兰医学研究院（Queensland Institute of Medical Research）的遗传学家，他也表达了相似的观点。他说：“批评GWAS研究很容易，但是要发现与疾病相关的基因以及通路时，GWAS技术还是非常管用的。我希望GWAS技术能够推动遗传学更好地发展。”

不过利用GWAS技术所发现的那些突变基因对于疾病的影响还是因“病”而异的。有人会说我们太过关注临床应用价值了，难道一定要利用遗传学知识去预测患病风险、开发药物、或者进行个性化医疗吗？美国旧金山市加州大学（University of California）的Robert Nussbaum就非常坦率地说：“我们总是太过急躁地想将人类遗传学研究成果利用起来，但是要知道我们是在进行基础研究啊。”

我们没能找到答案可能是由于GWAS技术固有的限制性所致。因为目前所开展的这些研究项目主要都是在大范围的人群当中寻找与某种疾病或者性状共同出现的某些单碱基位点突变，即单核苷酸多态性（SNP）现象。但是实际上，一个SNP位点代表了很大一段DNA序列。比如有两个人在某个关键的遗传位点具有相同的变异，那么即使其中有一人携带有对身高更加具有决定意义、但是比较少见的遗传特征，我们也会认为他们具有相同的决定身高的遗传特征。NHGRI的人群基因组学办公室主任Teri Manolio认为，这种关联研究可能能够得到一些比较有价值的信息，但是在对数百人进行的大规模调查研究工作当中能得到好结果的几率是非常低的，因为即便有效果，也被这么多人给稀释了。

要找出这些隐藏起来发挥作用的遗传因素从理论上来说是比较容易的，因为只需要对我们手头上现有的基因进行一番仔细的筛查就应该能够成功了。但是Hirschhorn认为：“仅用这种高通量的密集筛查方法对现有遗传位点中的基因突变情况进行检测，很有可能让我们在DNA的迷宫中越陷越深。”科学家们应该对大样本人群（至少数千人）中大量的基因及其周围相关区域进行测序，这样才有可能发现更多与疾病相关的遗传因素。

美国达拉斯德克萨斯大学西南医学中心（University of Texas Southwestern Medical Center）的Helen Hobbs和Jonathan Cohen就采用了上述这种大样本筛查的方法。他们试图发现与人体内胆固醇浓度和甘油三酯浓度相关的ANGPTL4基因的所有变异体。Hobbs他们对达拉斯心脏研究中心（Dallas Heart Study）的3500名志愿者的ANGPTL4基因进行了测序，结果发现了一些新的变异体，而且这些新发现与血脂浓度高度相关。英国牛津大学糖尿病、内分泌和代谢中心（Oxford Centre for Diabetes, Endocrinology and Metabolism）的Mark McCarthy认为，这种研究就能帮助我们“揪出”那些隐藏起来发挥作用的遗传因素，但并非每位从事科研工作的人都有这种热情，能完成这么大规模的一项工作。不过随着测序技术的发展，测序费用的降低，将来可能会有越来越多的人进行这种研究。

答案就在每个人的鼻子下面





## 隐藏得更深的遗传因子

不过面对还有一些用GWAS方法不能发现的遗传因子我们现在也仍然毫无办法。在过去，用传统的遗传学研究方法对囊性纤维化病（cystic fibrosis）之类的遗传疾病进行研究只能发现很少数的突变基因，而且这些基因还必须是外显率（penetrance，即每一个携带该基因的人都会表现出相关的表型）非常高的基因。但是很快，科研人员们就发现并不是每种疾病背后都存在着这种高外显率的基因，因为它们在进化过程当中都被剔除了。

我们现在如此热衷于GWAS方法是因为大家都相信这样一个理论，即常见的疾病都是由各种常见的、低外显率的突变基因所导致的，当大量的这种基因同时存在于一名“倒霉的”人体内时，他就会患病。不过现在这种理论开始受到质疑，比如美国北卡罗来纳州杜伦美国杜克大学（Duke University）的遗传学教授David Goldstein就说道：“现实证实，对这些常见的、低外显率的突变基因进行筛查，效果并没有我们想象中的那么好。”

不过在各种遗传因子当中，除了能够被GWAS方法发现的非常明显的因子，以及非常普通的因子之外，还有一部分既不那么明显，又不那么普通的“中间分子”，它们的外显率也是不高不低，而且这部分中间分子比较少见，因此难以被发现。还有一种可能，那就是有很多比较常见的基因突变，但是它们的外显率比较低，因此无法被GWAS统计学方法将其与疾病联系起来，因此成为了漏网之鱼。

这些低外显率的突变基因给我们造成了一些麻烦。美国新泽西州普林斯顿大学（Princeton University）的生态学及进化生物学家Leonid Kruglyak说道：“你们现在正在讨论的是数千个突变，这在遗传当中已经占到了80%到90%，设想一下假如极端一点，基因组中每一个基因都有一个突变体，而这些突变体又能够影响到身高。我想没人会愿意面对这样一种情况。”

如果真的是这些低外显率或者比较低外显率的突变基因导致了大量的人体疾病或者性状，那么用现有的研究方法，只需要扩大样本量，应该就能够发现一些我们以前忽略掉的东西。澳大利亚布里斯班昆士兰医学研究所（Queensland Institute of Medical Research）的Peter Visscher介绍说，他们正在进行一项有10万人参与的研究，希望发现与人体身高相关的遗传因子。如果降低关联研究中的严谨性，可能会发现更多的突变基因，但是结果的可靠性也会随之降低。

在某些情况下不应该只针对SNP进行研究，而应该进行全基因组测序。Collins认为美国国家人类基因组研究院开展的千人基因组计划一旦完成，将帮助我们发现不少隐藏的致病突变基因。随着基因组测序费用的降低，将来会有越来越多的人接受全基因组测序检测。

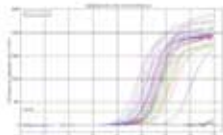
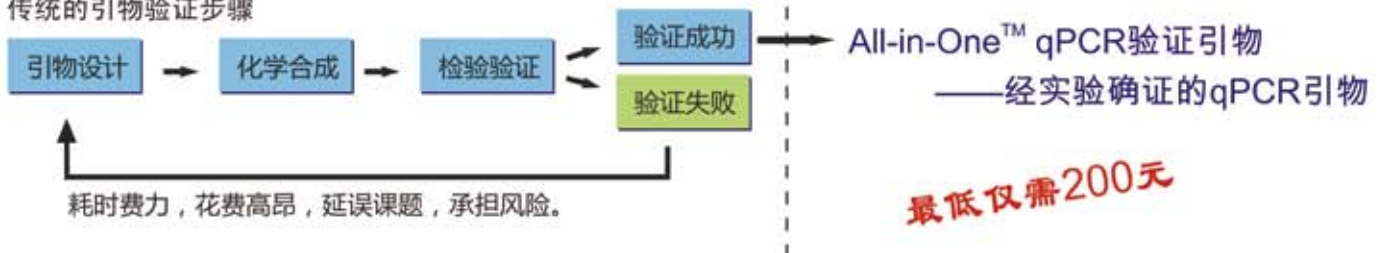
当然并非所有人都支持这种全基因组测序的研究方式。Goldstein就提醒大家，不要一味地对某种疾病的患者进行全基因组测序，而不去思考该如何设计一种更好、更合理的研究方法。Goldstein说：“我真的一点也不想用全基因组测序来替代GWAS方法。因为这会是一项大规模的、需要大量经费的科研活动。我认为我们需要冷静下来认真思考一下，究竟谁才需要进行再次测序。”

# All-in-One qPCR验证引物——提供验证报告

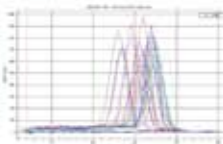
All-in-One™ qPCR Primer是由GeneCopoeia, Inc. 采用独特的算法设计, 适合基于SYBR Green I 的qPCR分析应用的引物。

**还在为您的研究做繁琐的前期准备吗?**

传统的引物验证步骤



图a. 45对引物以单链cDNA为模板进行qPCR的扩增曲线示意图(同时检测NTC)



图b. qPCR扩增后进行融解曲线分析的结果示意图



图c. qPCR扩增后进行电泳检测的示意图, 其中奇数号泳道为含cDNA样品测试结果, 偶数号泳道为对应的NTC (No Template Control)

**检验验证:** 经以cDNA为模板的qPCR实验验证。提供的产品包含有详细验证流程及验证结果的质控报告。无需再次验证, 仅需参看验证报告即可进行实验。

**方便经济:** 经实验验证确认的All-in-One™ qPCR Primer节约了研究者设计和验证引物的时间和成本, 价格合理。

**无需等待:** 提供人、小鼠、大鼠mRNA及全部人、小鼠miRNA验证引物, 有现货或一周内出货。

## 验证引物产品目录

All-in-One™ qPCR验证引物产品列表 **从即日起至2010年7月31日, 所有验证引物特价促销。**

产品类型	产品描述	促销价格
All-in-One™ qPCR Primer (200次反应量)	产品为人、小鼠、大鼠源基因上游和下游引物的混合液, 一周可取。	¥ 300
All-in-One™ qPCR Primer 内参引物(200次反应量)	人、小鼠、大鼠源各三个持家基因的qPCR 引物, 一周可取。	¥ 200
All-in-One™ miRNA qPCR Primer (200次反应量)	为人、小鼠特异的miRNA检测上游引物, 需配合All-in-One™ miRNA qPCR Detection Kit使用, 现货。	¥ 400
All-in-One™ miRNA qPCR 内参引物 (200次反应量)	人、小鼠或大鼠源snRNA U6的特异检测上游引物, 需配合All-in-One™ miRNA qPCR Detection Kit使用, 现货。	¥ 300

登录www.fulengen.com 选定你所需要的Array产品, 请按页面下方联系方式与我们的技术人员联系!



## 隐藏在结构变异突变当中

有很多研究者现在又开始转向研究基因拷贝数变异（CNV）问题了，因为有些人的基因组相比其他人会丢失或者多出（扩增）几十个甚至几百个碱基序列。这种变异情况可能能够解释遗传因素对诸如精神分裂症和自闭症一类疾病的影响作用，而常规的GWAS策略是无法发现基因拷贝数变异问题的。最近有两个小组正在对正常人和精神分裂症患者进行研究，他们主要针对数百种CNV突变，结果发现有好几种CNV突变都与精神分裂症高度相关。不过这些突变几乎都是“突然出现的”，即没有任何的家族史可查。

这种结构变异可能是导致人与人各不相同的主要遗传原因，也可能是那些用GWAS方法无法检测出的、“隐藏”的、中度外显率的突变问题。很多CNV都无法被检测出，这是因为它们并没有改变SNP序列。而且扩增的区域也是很难进行测序研究的。

有一种标准的方法可以发现CNV，那就是微阵列芯片比较型基因杂交法（array comparative genomic hybridization）。科学家们可以用这种方法来观察每个人的遗传物质与基因芯片杂交的情况，然后对结果进行比较，从而得出结论。如果在基因芯片上的某一点结合到了更多或者更少的DNA，那么这就说明可能存在CNV现象。这种芯片比较杂交方法以及其它几种方法都已经经过了英国剑桥维尔康姆基金会桑格研究所（Wellcome Trust Sanger Institute）基因拷贝数变异项目协会（the Copy Number Variation Project）的检验。该协会的主要任务就是尽可能多地发现人体基因组内的CNV现象，从而能够将CNV与人体疾病联系起来。McCarthy认为这些隐藏的CNV对于遗传的意义将在未来的半年至一年之内被揭示。但是Goldstein却持不同意见，他认为以目前的检测手段我们很难发现50个碱基以下的片段的CNV情况。Goldstein说：“我们现在发现的这些CNV都是很大片段的CNV，所以我们才能发现，但是毫无疑问，这些CNV绝对只是隐藏宝藏中的极小部分。”



## 隐藏在未知的网络之中

大部分的基因都不是“孤军奋战的”，因此我们可能很难发现某个基因孤立的作用。这也就是所谓的“上位性效应（epistasis）”，即某一个基因或者某几个基因的共同作用能够影响另一个基因的作用。比如有两个基因，每一个基因单独发挥作用时都能为个体的身高增加1厘米，但是他们共同发挥作用却可以增加5厘米。GWAS方法不能很好地处理上位性问题，要解决好这类问题首先需要非常了解基因间的相互作用。

Joseph Nadeau是美国俄亥俄州克利夫兰凯斯西储大学（Case Western Reserve University）的遗传学家，他认为哪怕在一些单基因疾病当中也有一些“修饰物”基因能够发挥直接的作用。Nadeau认为这就是一种非常典型的上位性效应。比如囊性纤维化病就是一种非常典型的单基因疾病，但是为什么很多囊性纤维化病患者的症状表现以及病情的严重性会各不相同

同呢？有人认为这就是因为有“修饰物”基因在发挥作用。

但是尽管经过好几年的研究，科学家们还是没能找出这些“修饰物”基因。美国费城宾夕法尼亚大学（University of Pennsylvania）的群体遗传学家（population geneticist）Sarah Tishkoff认为，这是因为大家还没有真正了解上位性效应。

遗传学要比单个基因、一种表型或者好几个基因一种表型复杂得多，这一点不奇怪，但是我们居然现在才意识到要从这种复杂的情况入手，实在是让科研工作者们感觉到有点不好意思。最近，Kruglyak等人用经典的遗传学研究方法发现，大部分酵母基因的表达都是受到好几种突变基因（通常都是5个以上）调控的。为了填补遗传学领域的各项空白，科学家们需要更好的、更多的模型来模拟整个基因调控网络，只有这样才能知道各个基因是如何相互协作、共同形成某种表型的。从某种角度来看，这有点像系统生物学的研究方法，的确如此，科学家们已经开始用这种系统的方法来研究人类和其它的生物了。Kruglyak说：“通过这么多年的研究，我们终于知道我们模型的复杂，要好好思考其中复杂的问题，而不是简单的问题。”



## 重大突破

如果我们最开始就错了该怎么办？我们对身高遗传率的计算方法是先计算出父母的平均身高，然后再与子女的身高进行比较。随着父母的平均身高在不断增加，研究人员发现子女的平均身高也在随之增加，也就是说身高遗传率达到了80%~90%。

不过环境因素，尤其是子女在生长发育期的营养状况或者有没有受到毒性物质的侵害也能极大地影响身高。还有研究人员对遗传背景一样的个体进行了实验，来观察环境因素的影响，比如将同卵双生双胞胎共同抚养或者分开抚养。大部分科学家都相信根据父母身高来估计子女身高是比较准确的。“我认为没有人会相信遗传对身高的影响力只有10%，而环境因素的影响力更大。我也不认为有人会这么认为。”Kruglyak这样说道。

但是环境的影响力究竟有多大呢？根据英国南安普顿大学（University of Southampton）David Barker的研究结果显示，宫内损伤有可能给胎儿的健康造成终生的影响。但是在这项研究当中共用的子宫（shared womb）是一项不能控制的因素。Manolio认为：“通过遗传来预测身高，实际上也是通过家族环境等因素来预测身高。”

表观遗传学，即基因表达模式的改变也是遗传的，但是它又与DNA序列突变无关，这让情况变得更加扑朔迷离。比如用某种饮食来饲养小鼠，不仅能够改变其子代的皮肤颜色，还能改变其孙代的皮肤颜色。这是因为控制小鼠皮肤颜色的基因受到一种被称为DNA甲基化修饰的机制的调控，但是我们仍旧不清楚为什么这种甲基化修饰能够被记忆，并被遗传给孙代。不过学术界对这种祖代的生长环境能够影响到孙代的观点还存在争议，这种效应应该被包括在基因的遗传率当中。

Nadeau说：“这让一切都变得复杂了。我们该如何知道祖辈甚至更早一些的先辈们年轻



时（育龄）的生存环境。”模式生物可能有一定的帮助意义。Nadeau对小鼠睾丸生殖细胞瘤（testicular germ-cell tumour）这种与在人体内遗传率非常高的肿瘤很类似的肿瘤进行了研究。结果发现了一个作用非常弱的促癌基因——Dnd1<sup>Ter</sup>基因。在肿瘤患者（鼠）体内，该基因的效应被其它几种突变基因大大加强了，而且这种增强效应在其它修饰基因不存在之后仍然能够持续下去，这也就解释了为什么肿瘤得以遗传的原因。Nadeau说：“我们推测这其中就有表观遗传学因素在发挥作用。”不过这一观点引起了不少争论，因为甲基化一类的表观遗传学机制是不太可能被遗传给子代的。不过Nadeau认为最有可能的机制是因为RNA随着DNA被卵子或精子遗传下去了。

不过Collins并不认为表观遗传学才是隐藏在人类基因组中的宝藏，他说：“我们不能仅凭一两个例子就做出判断。很难想象，其它的生物都使用一套机制，唯独我们人类使用了另外一套不同的机制。”



## 隐藏在临床诊断当中

在科学家们研究遗传现象的同时还存在一个担心，那就是实际上普通的疾病可能并不普通。在临床医疗实践当中很难把各种复杂的症状综合起来将其称为一种疾病。但是如果数千种罕见的突变都与某种疾病相关，那么每个人的表现可能就会多种多样了，这会是我們所认为的普通疾病吗？实际上我们会将这称之为各种不同的疾病。

GWAS方法已经被证明很难对此有所作为了，因为科学家们根本无法用GWAS方法在人群当中发现他们本来就没有或者很少有的共有易感基因。如果我们不能对遗传现象有更深入的了解，我们是不可能取得重大突破的。Tishkoff说：“在常见疾病当中可能只有很少的基因突变。但是这对于我们可是一个坏消息，因为我们将更难发现那些隐藏的突变基因了。”

对于那些我们还没有开始考虑的遗传现象，我们将有更多的理由去逃避问题。Kruglyak说：“对于某些问题，我们很有可能根本就是一无所知。对于这些问题，我们有没有思考和我们以前的思考是不是错了，这是完全不同的两码事。”

对于Kruglyak和其他众多的基础研究工作者们来说，问题依旧存在。Kruglyak说：“我们都很清楚，子女看起来和父母很像。尽管大家都在小学里学过科学课程，但是没人知道这究竟是怎么回事，为什么子女会看起来像他们的父母。”

原文检索：

Brendan Maher. (2008) The case of the missing heritability. *Nature*, 456:18-21.



YORK/编译

