

# 天津医科大学理论课教案首页

(共3页、第1页)

课程名称：系统生物学 课程内容/章节：基因组学（测序技术简介） / 第2章

教师姓名：伊现富 职称：讲师 教学日期：2016年9月12日 13:30-15:30

授课对象：生物医学工程与技术学院 2013 级生信班（本） 听课人数：28

授课方式：理论讲授 学时数：2 教材版本：系统生物学，第1版

教学目的与要求（分掌握、熟悉、了解、自学四个层次）：

- 掌握 Sanger 测序、Illumina/Solexa 测序的主要原理和基本步骤，外显子组测序的实验流程和分析过程。
- 熟悉化学测序法、Roche/454 测序、ABI/SOLiD 测序的主要原理和基本步骤。
- 了解 tSMS、SMRT、FRET、Nanopore 等第三代测序技术。
- 自学第三代测序技术的主要原理和基本步骤。

授课内容及学时分配：

- (5') 引言与导入：介绍测序的基本概念，总结三代测序技术的发展历程。
- (10') 第一代测序技术：介绍第一代测序技术，讲解化学测序法和 Sanger 测序法的主要原理。
- (40') 第二代测序技术：介绍第二代测序技术，讲解 Roche/454、Illumina/Solexa、ABI/SOLiD 三种测序技术的主要原理和基本步骤，介绍 Ion Torrent 测序技术，对第二代测序技术进行比较与总结。
- (20') 第三代测序技术：介绍第三代测序技术，讲解 tSMS、SMRT、FRET、Nanopore、TEM 等技术的主要原理，对第三代测序技术进行比较与总结。
- (10') 测序技术比较：对三代测序技术进行总结，从通量、读长、准确性、优缺点等方面对常见的测序技术进行比较。
- (10') 外显子组测序：简单介绍 exome、WES、WGS 等概念，讲解外显子组测序的实验步骤和生物信息学分析流程。
- (5') 总结与答疑：总结授课内容中的知识点与技能，解答学生疑问。

教学重点、难点及解决策略：

- 重点：Illumina/Solexa 测序技术的原理和步骤，各种测序技术的优缺点，外显子组测序的分析流程。
- 难点：Illumina/Solexa 测序技术的原理和步骤。
- 解决策略：通过实例讲解和比较类比帮助学生理解、记忆，播放动画视频帮助学生直观理解复杂原理。

专业外语词汇或术语：

|                                       |                                      |
|---------------------------------------|--------------------------------------|
| DNA 测序 (DNA sequencing)               | 边连接边测序 (sequencing by ligation)      |
| 焦磷酸测序 (pyrosequencing)                | 外显子组测序 (whole exome sequencing,      |
| 乳液 PCR (emulsion PCR, emPCR)          | WES)                                 |
| 桥式扩增 (bridge amplification)           | 基因组测序 (whole genome sequencing, WGS) |
| 边合成边测序 (sequencing by synthesis, SBS) |                                      |

辅助教学情况：

- 多媒体：主要测序技术的原理和过程，测序技术的发展和比较。
- 板书：外显子组测序的分析流程。

复习思考题：

- 阐述 Sanger 测序的主要原理。
- 列举第二代测序技术的常见技术。
- 阐述 Illumina/Solexa 测序技术的主要原理。
- 列举第三代测序技术的常见技术。
- 比较三代测序技术中常见的常见技术。
- 总结外显子组测序的分析流程。

参考资料：

- 维基百科等网络资源。

主任签字：

年 月 日

教务处制

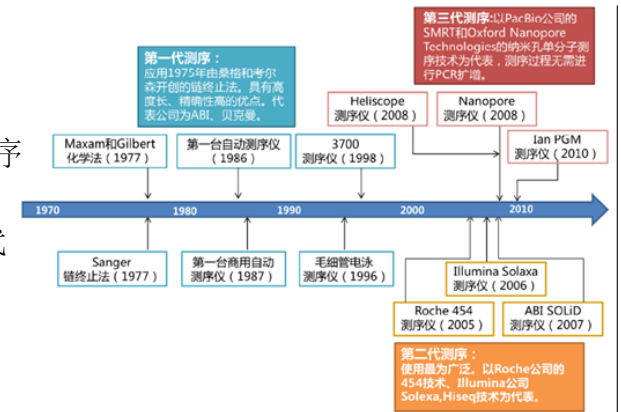
## 一、引言与导入 (5 分钟)

### 1. 基本概念

- DNA 测序：分析 ACGT 的排列方式
- RNA 测序：RNA  $\Rightarrow$  cDNA  $\Rightarrow$  DNA 测序

### 2. 测序历史

- 历史发展：第一代  $\Rightarrow$  第二代  $\Rightarrow$  第三代
- 第一代测序：毛细管电泳测序
- 第二代测序：高通量测序
- 第三代测序：单分子测序



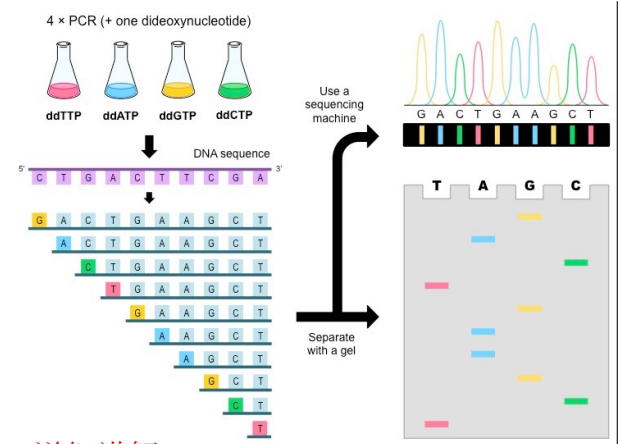
## 二、第一代测序技术 (10 分钟)

### 1. 化学测序法：化学变性

- 1977, Gilbert & Maxam
- 化学测序法 (Maxam-Gilbert 法)

### 2. Sanger 测序法：ddNTP, “黄金标准”

- 1975, Sanger & Coulson
- Sanger 测序法 (双脱氧链终止法)



## 三、第二代测序技术 (40 分钟)

### 1. Roche/454

- 扩增：乳液 PCR
- 测序：焦磷酸测序

### 2. 【重点、难点】Illumina/Solexa (动画演示, 详细讲解)

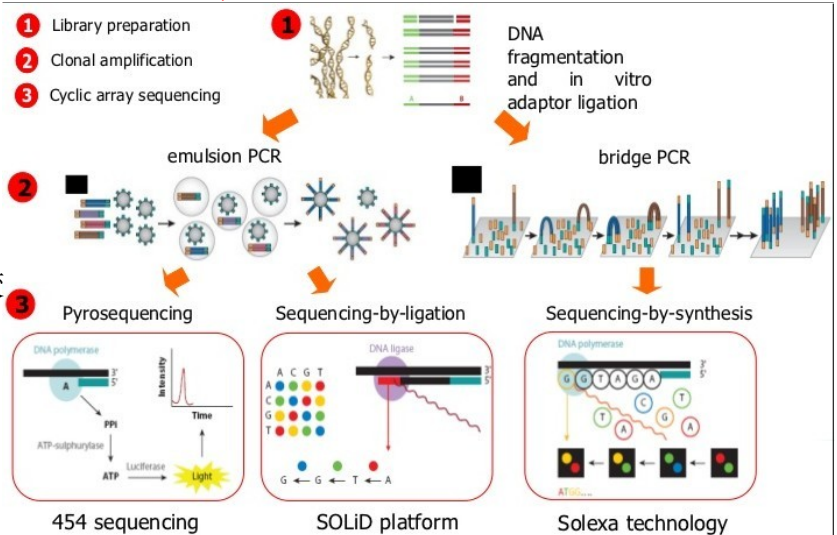
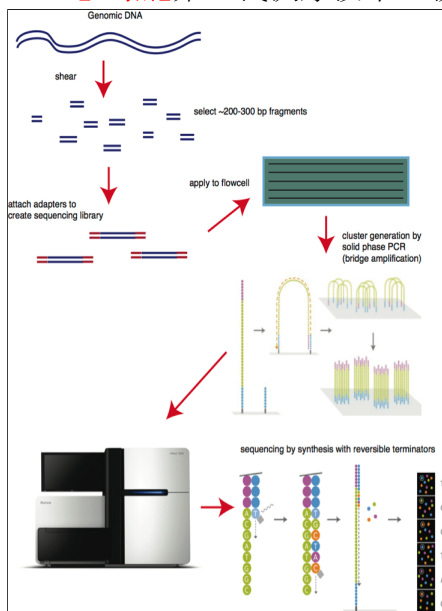
- 扩增：桥式扩增
- 测序：边合成边测序

### 3. ABI/SOLiD

- 扩增：乳液 PCR
- 测序：边连接边测序

### 4. 离子半导体测序

### 5. 【重点】第二代测序技术比较



| Roche 454   | Illumina   | SOLiD  |
|---|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Long fragments</li> <li>• Low throughput</li> <li>• Expensive</li> <li>• Poly nts errors</li> </ul>    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Short fragments</li> <li>• High throughput</li> <li>• Cheap</li> <li>• GC bias</li> </ul>                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Short fragments</li> <li>• High throughput</li> <li>• Cheap</li> <li>• Color-space</li> </ul> |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• De novo sequencing</li> <li>• Amplicon sequencing</li> <li>• Metagenomics</li> <li>• RNASeq</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resequencing</li> <li>• De novo sequencing</li> <li>• ChipSeq</li> <li>• RNASeq</li> <li>• MethylSeq</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resequencing</li> <li>• ChipSeq</li> <li>• RNASeq</li> <li>• MethylSeq</li> </ul>             |

## 四、 第三代测序技术 (20 分钟)

1. tSMS
2. SMRT
3. FRET
4. Nanopore
5. TEM
6. 第三代测序技术比较

| 测序方法 | 代表仪器平台  | 测序原理          | 分析方法                | 定量属性           |           |       |      | 优势                             | 劣势                             | 应用场景   |
|------|---|---------------|---------------------|----------------|-----------|-------|------|--------------------------------|--------------------------------|--|
|      |   |               |                     | 通量             | 读长        | 测序时间  | 准确性  |                                |                                |  |
| 一代测序 | ABI/LIFE3730<br>ABI/LIFE3500  | Sanger 双脱氧终止法 | 毛细管电泳、荧光检测          | 0.2Mb          | 400-900bp | 1.6h  | >99% | 读长准确<br>仪器运转成本                 | 通量<br>每个碱基的测序成本                | 常规测序<br>各种确认性测序<br>引物步查<br>配合二代测序检测<br>复杂基因组 |
| 二代测序 | Illumina HiSeq<br>Illumina Genome<br>Analyzer<br>LifeSolid<br>Roche/454 GS 系列 | 边合成边测序, 可逆终止法 | 文库制备, 桥式 PCR        | 400Mb<br>-1.8T | 50-300bp  | 2h-3d | >99% | 通量<br>每个碱基成本                   | 仪器成本<br>仪器运转成本<br>读长<br>样本制备要求 | 二次测序<br>突变位点分析<br>变异分析<br>染色体免疫共沉淀<br>RNA 测序 |
| 三代测序 | PACB PacBio RS<br>Oxford Nanopore   | 单分子合成测序       | 无需 PCR, 直接转移到测序芯片测序 | 0.2-30<br>Gb   | >1000bp   | 2h    | <90% | 读长<br>运行时间<br>样本制备要求<br>仪器运转成本 | 通量<br>仪器成本<br>准确性              | 微生物测序<br>复杂基因组                               |

## 五、 【重点】测序技术比较(10 分钟)

## 六、 外显子组测序 (10 分钟)

1. 基本概念
  - exome: genome  $\Rightarrow$  1%, 30Mb
  - WES: exome  $\Rightarrow$  sequencing
  - WGS: genome  $\Rightarrow$  sequencing
2. 【重点】流程: 实验 + 分析

## 七、 总结与答疑 (5 分钟)

1. 知识点
  - 测序技术: 第一代, 第二代, 第三代
  - Sanger 测序: 原理与过程
  - Illumina/Solexa 测序: 原理与过程
  - 测序技术比较: 优缺点
  - 外显子组测序: 实验与分析流程
2. 技能
  - 外显子组测序: 数据分析

