

基因测序 吹尽狂沙始见金

□国泰君安 胡博新 丁丹

基因测序产业新浪潮

基因测序也称DNA测序,是现代生物学研究中重要的手段之一。基因测序技术经过了三个发展阶段。第一代DNA测序技术是1975年由桑格(Sanger)和考尔森(Coulson)提出的链终止法。第一代技术准确率高,读取长,是至今唯一可以进行“从头至尾”测序的方法,但存在成本高、速度慢等方面的不足,并不是最理想的测序方法。使用第一代Sanger测序技术完成的人类基因组计划,花费了30亿美元巨资,用了十三年的时间。

随后的二、三代测序技术以高通量为共同特征,也被称为“新一代测序技术(NGS)”。Roche公司的454测序平台,Illumina公司的Solexa测序系统以及ABI公司的SOLiD测序系统标志着第二代测序技术诞生。尽管各系统在高通量水平、测序准确度、存储格式、技术方法上各有差异,但共同特征是大大降低了测序成本并极大地提高了测序速度,完成一个人的基因组测序只需一周左右时间。然而第二代测序技术在测序前要通过PCR段对待测片段进行扩增,增加了测序的错误率。而且二代测序产生的测序结果长度较短,需要对测序结果进行人工拼接,因此比较适合于对已知序列的基因组进行重新测序,而在对全新的基因组进行测序时还需要结合第一代测序技术。

近期出现的Helicos公司的Heliscopes单分子测序仪、Pacific Biosciences公司的SMRT技术、Oxford Nanopore Technologies公司正在研究的纳米孔单分子技术,被认为是第三代测序技术。与前两代技术相比,其最

大的特点是单分子测序。第三代测序技术解决了错误率的问题,通过增加荧光的信号强度及提高仪器的灵敏度等方法,使测序不再需要PCR扩增这个环节,实现了单分子测序并继承了高通量测序的优点。

新一代测序技术可以一次性检测大量基因,并且速度更快,成本更低。根据NIH的统计,自2001年起尤其是2006年新一代测序技术推出以来,DNA测序成本以超“摩尔定律”的速度不断降低,从每个基因组1亿美元下降到2013年的5000美元。2014年Illumina宣布,其新产品HiSeqXTen可以实现单基因组测序成本降到1000美元以下。

更为快速、低廉的新一代测序技术的出现,极大地拓宽了基因测序的应用范围,尤其促进了分子诊断方法的革新。分子诊断作为体外诊断的手段之一,是将分子生物学原理和技术应用于疾病实验诊断的新兴检验医学技术,其核心是基因诊断技术。常用的基因诊断技术包括聚合酶链式反应(PCR)、转录介导的扩增(TMA)、荧光原位杂交(FISH)、基因测序以及基因芯片技术。

目前使用比较广泛的基因表达检测手段依然是PCR和基因芯片技术。PCR一次只能检测单个或少量基因,而基因芯片虽然可以检测大量基因,但假阳性率高,准确性不足。新一代测序具有高通量、准度高的优点,既可以一次性检测大量基因,准确率又高于基因芯片。长期来看,如果测序的成本可以下降到有足够竞争力,基因芯片的市场将不可避免地被侵占。

寡头垄断上游设备与耗材

基因测序(DNA测序)产业近些年得到迅猛发展。来自BBCresearch的数据显示,全球基因测序市场总量从2007年的794.1万美元增长至2013年的45亿美元,预计未来几年全球市场仍将继续保持快速增长,2018年达到117亿美元,CAGR达21.2%。

伴随着市场整体的飞速发展,产业内部分工逐步明确,形成了以产业链为纵向,以终端用户为横向的立体化网络,相互关联、彼此渗透。纵向来看,设备和耗材供应商、第三方测序服务提供商以及新兴的生物信息分析服务商构成了产业链的上下游;横向来看,实现了面向科研机构、临床诊断、药企和CRO、个人用户这些不同终端用户的专业化分工。

从市场规模和增长情况来看,设备和耗材市场仍是产业链最大的一环,但测序服务的增速最为迅猛,以生物信息分析为主的工作流产品,基数小上升空间大。

目前市场上主流新一代测序平台主要有美国Illumina、IonTorrent、ThermoFisher收购)、454LifeSciences/Roche、Pacific Biosciences几大生产商制造。Illumina占据全球设备市场三分之二的份额,其生产的下一代高通量测序仪HiSeq系列一直是市场上最为畅销的产品。LifeTechnoloiges凭借小巧轻便的台式测序仪IonPGM和IonProton分割了20%以上的市场份额,而Roche曾收购454成为第一个进入高通量测序市场的公司,近几年却因新产品匮乏导致市场份额不断收缩。

在测序仪国产化方面,华大基因(BGI)于2013年收购了美国Complete Genomics公司(简称“CG”),将其测序仪更名为BGISEQ,并向国家食品药品监督管理局(CFDA)提出了申报。CG使用的测序平台采用DNA纳米阵列与组合探针锚定连接测序法,具有自主专利。其产品之前只应用于人类全基因组测序,与华大的测序业务结合之后,能切分到多大的市场份额仍未可知。

4月15日紫鑫药业公告,中国科学院北京基因组研究所就合作开发第二代高通量测序系统与吉林中科紫鑫科技有限公司签订产业转化意向书,共同开发基因测序仪项目。该平台建立在焦磷酸测序的技术机理上,类似于罗氏454测序技术。据生物谷新一代测序论坛信息,此测序平台仍处于原型机阶段,即使投入量产后,仪器也还需试用以及优化改进,成熟的产品投放市场尚需漫长时日。

此外根据贝瑞和康网站信息,Illumina和贝瑞和康双方已经合作开发了一款适用于中国无创产前检测市场需求的测序仪,这款测序仪在中国的贝

瑞和康自有医疗设备制造工厂生产,并且只在中国市场进行销售。

国产测序仪的前景如何目前还很难断言。Frost&Sullivan的调查显示,测序成本、数据质量、读取长度、通量大小、适用范围是选购新测序仪时最主要的考虑因素。

根据2010年绘制的高通量测序平台分布地图,中国拥有量仅次于美国,如今二者的差距很可能已经非常小。全世界规模最大的基因组研究中心有多个在中国,其中华大基因(BGI)拥有世界上最多的新一代测序仪,产能约占全球的10%-20%(按Illumina、Life等销量计算)。由于测序服务技术壁垒较低,而且主要面向科研市场,国家缺乏准入标准和质量控制规范,众多碎片化的小企业呈现疯狂生长的状态,仅提供一代测序服务的企业就有上百家。

受益于测序服务的迅速增长,中国的基因测序产业成全球发展速度最快的地区之一。据Markets and markets预计,2012年-2017年间CAGR达到20%-25%。

基因测序所生成的原始数据必须通过专业人员进行分析和解读,利用计算机科学和信息技术揭示大量而复杂的生物数据所赋有的规律,对于整个基因测序行业尤为重要。然而,现今的生物信息分析涉及的数据存储、解读及共享是整个基因测序行业面临的最大难题,主要原因一是数据量庞大,二是数据的复杂性。

Ebiotrade调查结果显示,普遍认为数据分析是使用基因测序的一大难题。目前仅有25%的受访者选择外包给专业的生物信息公司,大部分使用者选择用现有软件自行分析。但随着未来数据量越来越庞大,外包给专业化的生物信息公司将成为一种趋势。提供相关产品和服务的公司主要有CLCbio(丹麦)、Biomatters(新西兰)、Partek(美国)、Genomatix(德国)、Knome(美国)、DNASTAR(美国)、诺和致源(中国)。目前这一市场份额基数较小,蕴含着巨大的市场潜力。

目前互联网巨头Google已涉足这一领域,例如Google和DNAnexus一起打造的开放式DNA数据库,用来取代美国政府的国家生物技术信息中心(NCBI),后者因为政府预算吃紧即将关闭。双方将一起继续为科研人员免费提供DNA数据库信息。

亚马逊数据云的公共信息平台上也有类似的数据库共享。另外,Google和比尔·盖茨还投资了一家提供癌症全基因组测序及分析的公司Foundation Medicine。鉴于Google、苹果等公司对于医疗健康行业日渐增长的兴趣,一旦此领域显示出巨大的发展潜力,互联网公司凭借自身技术和资源的优势进驻该领域可能成为一种趋势。

测序技术的飞跃发展,检测成本的大幅下降,为基因测序商业化应用奠定了基础。从产前无创筛查到肿瘤的个性化

用药,新一代测序技术的应用范围正逐步拓宽。作为传统治疗与健康管理方式的革新,基因测序正孕育着巨大的市场空间。据BBCResearch预测,2018年全球市场将达到117亿美元,5年期间年均复合增长率达21.2%。

基因测序产业链中,上游为设备和耗材供应商,目前被少数外资凭借技术垄断市场;中游为第三方测序服务供应商,需依赖设备投入、运营管理与终端维护开发,是目前中国企业最具优势的一环;下游为生物信息分析服务商,现处于起步阶段。目前数据分析的技术瓶颈凸显,不过待发掘的市场潜力也最大。



临床应用领域逐步拓宽

之一,在欧美等发达国家普遍开展。

新生儿单基因遗传病检测。单基因病是指由一对等位基因控制的疾病或病理性状。常见的单基因病有短指症、地中海贫血症、白化病、苯丙酮尿症、色盲、血友病、CGPD(葡萄糖-6-磷酸脱氢酶)缺乏症等。已知的单基因病的致病基因及遗传方式大部分已经明确。通过先进的二代高通量测序技术可以对上千种由于基因变异(基因突变、平衡异位、微缺失等)导致的遗传病进行检测,并且可以在早期通过胎儿的脱落细胞或者绒毛膜进行检测,在产前确认胎儿是否患有遗传病,为遗传病携带者或者已经生育遗传儿的家庭提供明确的遗传咨询和产前检测,从而做到优生,提高人口素质。

国内无创产检有待政策完善,行业整体的技术壁垒相对较低,随着参与竞争的企业越来越多,市场准入许可、成本控制和渠道管理将成为市场角力的关键。

市场准入方面,前期国家卫计委、CFDA联合叫停无创产筛,要求相关仪器试剂按照规定进行注册认证,是对行业和市场的规范,使之脱离灰色地带,真正在阳光下运行。这一举动对行业的促进作用和洗牌作用兼而有之,使真正有实力的企业获得合法身份,有利于市场的良性发展和竞争,并对市场先行者形成一定保护。

市场体量方面,无创产检每例收费1800-3000元,中位数2400元。根据百嘉公司的数据,中国每年新增产妇数量1600万,35岁以上的高龄孕妇占20%有320万人,国家《母婴保健法实施办法》中明确规定强制进行产前检测。

无创产前筛查最早在美国大规模推广,基因测序设备没有获得FDA认

新一代测序技术在药物研发中的具体应用

应用	作用
靶点识别和验证	研究肿瘤组织与正常组织间表达差异,找到理论上重要基因,用以选择药物干预的靶点
药物毒性成分筛选	探究某类候选药物化学成分,分析其可能不良反应成分,通过测序从化学库中(筛选种化库)筛选特定化学成分
生物标志物	一批化合物或生物体信息的测定,包括基因组水平、转录水平、转录后修饰,蛋白质表达水平(蛋白质组学),同时更整合这些信息等逐步筛选药物
个性化药物	根据患者的遗传差异筛选合适的药物,发现新型最小副作用的药物
药代药动	很多药物反应和基因相关,根据体外细胞对药物的代谢信息与体内药代动力学和非药物型,可以可寻集药物更小,花费更少的临床试验
预后评估	根据已知药物成分和代谢,筛选、代谢物排出信息,结合病人的基因信息,可以预测药物的不良反应

资料来源: Drug Discovery Today, 国际药安注册研究

国内基因检测相关政策文件

时间	文件名称	政策条款	主要内容
2013年1月	《关于促进生物产业发展的若干意见》	《关于促进生物产业发展的若干意见》	明确基因检测在医药、农业、工业、环境等领域的应用,鼓励企业开展基因检测技术研发,支持企业开展基因检测技术研发,鼓励企业开展基因检测技术研发,鼓励企业开展基因检测技术研发
2013年5月	《关于促进生物产业发展的若干意见》	《关于促进生物产业发展的若干意见》	明确基因检测在医药、农业、工业、环境等领域的应用,鼓励企业开展基因检测技术研发,支持企业开展基因检测技术研发,鼓励企业开展基因检测技术研发,鼓励企业开展基因检测技术研发
2013年5月	《关于促进生物产业发展的若干意见》	《关于促进生物产业发展的若干意见》	明确基因检测在医药、农业、工业、环境等领域的应用,鼓励企业开展基因检测技术研发,支持企业开展基因检测技术研发,鼓励企业开展基因检测技术研发,鼓励企业开展基因检测技术研发

证并不妨碍该项技术在美国应用于临床。在美国,无创产前筛查项目通过参比实验室途径(CLIA)进入临床,不受FDA限制。政府对这些CLIA认证的实验室有严格的质量控制,而且要求实验室管理人员有相应的执照。

目前国家开放基因检测试点申请效仿的即是美国CLIA制度,基因检测试点的选拔标准对决定企业能否取得合法身份尤为重要。国内企业开展基因检测业务现有两种途径,一方面按照国家规定积极申请试点实验室资格,另一方面对进口仪器进行国产贴牌,向CFDA申请注册新型基因检测设备。目前已经向CFDA申请批文的产品分别是华大基因的BGISEQ1000(基于CG的测序平台)和BGISEQ100(基于LifeTechnologies公司的IonProton测序平台)、贝瑞和康和Illumina联合开发的新型测序仪、达安基因的DA8600(基于LifeTechnologies公司的IonProton测序平台)。尽管批复进展暂未可知,但可以预测随着基因测序试点的开放,生育健康领域的相关业务将陆续恢复。

华大基因和贝瑞和康是最早进入市场的国内企业,渠道布局已完成,占有绝对优势。其他区域性渠道构建能力强的企业,或者与终端医院有其他合作基础的也可能分得一杯羹。

肿瘤的个体化治疗方面,肿瘤临床表现多种多样,且发病率逐年升高,迄今尚无简单的治疗方法或使用单一药物能治愈所有的肿瘤。循证医学、诊疗规范化 and 个体化已经成为肿瘤治疗的公认趋向。基因测序技术对于肿瘤个体化治疗主要有两方面应用:一是检测患者携带的肿瘤基因,二是检测肿瘤靶向药的靶点。

利用目前的研究结果和DNA测序技术,可以对肿瘤患者高通量测序检测确认导致患者患病的基因或者受检者是否携带有肿瘤易感基因;寻找患者适宜的肿瘤靶向治疗药物或者其他适宜的治療手段。

近年来,肿瘤治疗领域进展最快的是分子靶向治疗。分子靶向治疗就是有针对性的瞄准一个靶位来设计相应的药物进行治疗。这样就可以实现针对肿瘤细胞与正常细胞之间的差异,只攻击肿瘤细胞,对正常细胞影响非常小。但是靶向药物治疗费用昂贵,并且只对靶点携带者有效。因此在使用药物之前进行靶向药物靶点检测,以提高用药效率,达到最佳疗效并减少治疗费用。

然而,基于新一代测序技术的肿瘤个体化医疗,要实现临床常规化目前还面临诸多困难。由于新一代测序技术步骤复杂,对操作者要求高,目前对于二代测序的标准化和质量控制尚未定义,经常需要一代测序和IPCR后处理验证,这也是FDA一直未批准基于新一代测序的基因检测相关产品的重要原因之一;癌症致病机理也不甚明确,大部分是基因和环境的共同作用结果;临床操作面临难度,肿瘤基因经常会产生抗药突变,此时肿瘤病人尤其是肺癌病人已无法满足癌组织取样活检的用量和频率,动态检测患者的病情困难重重;缺乏规范的临床使用指导方案。

近几年新发现的癌症驱动基因和相关靶向药不断涌现,推动了癌症个体化治疗时代的到来。血液中循环肿瘤细胞(CTC)的发现,使未来基于CTC单细胞测序技术的新型肿瘤诊断监测技术有望成为继无创产检之后的另一个重量级应用。

生物制药开启新路径

近几年兴起的直接面向用户的个人DNA信息咨询产业其实是基因检测市场化产物,基本模式是利用互联网和快递寄送,将检测试剂盒送至用户手中,再由其将采集的唾液及时送回公司,并可从中提取用户的DNA,检测结果也可直接从网上查询获取。

目前这些公司绝大部分只能对已知的目标基因进行检测,靠大量的数据统计结果计算百分比,生物学意义和临床意义都不大,但随着基因与人类疾病健康关系的深入揭示,以及全基因组测序的普及,个人的遗传信息对临床个体化治疗将越来越具有指导意义。

现代医学观念变化之一是从“治疗”向“预防”转变,实现这一目标的有效手段之一就是建立个人遗传健康档案以及重大疾病预警机制。要达到及早预防的目的,必须充分了解基因与人类疾病健康的关系,这还需依赖临床数据库的不断积累,并通过生物

信息解读展开充分发掘。

监管规范与基础生物学仍是目前制约新一代测序技术应用的主要瓶颈。监管与规范化问题有望随着试点审批以及相关注册法规逐步完善而解决,技术相对成熟的生物健康领域将最先恢复发展,重回快速增长的轨道。

生物信息学的发展,关于人类健康与基因大数据的研究过程相对漫长,有赖于大数据等新技术的应用的支持,但对每一个病种或者每一个基因研究的突破都将打开一片新的市场空间,当大量生物信息大数据被解读,基因测序市场将与疾病预防相结合,开启新的技术时代。

巨大的市场前景吸引着大量资本进入,二代测序企业如雨后春笋般涌现。暂停基因检测之前,产前无创筛查主要被华大基因和贝瑞和康所瓜分,2014年3月CFDA开放申请后,申报企业的数量众多,市场存在再分配的机会。