

琼脂糖凝胶电泳、毛细管电泳及高分辨熔解曲线技术在 α -地中海贫血新生儿筛查中的应用

唐海深¹ 满婷婷¹ 江陵¹ 张金云² 李东至³

1. 中山市博爱医院 产前诊断中心, 广东 中山 528400;
2. 清远市人民医院 产前诊断中心, 广东 清远 511518;
3. 广州市妇女儿童医疗中心 产前诊断中心, 广东 广州 510623)

【摘要】 目的 比较毛细管电泳与琼脂糖凝胶电泳 2 种方法在 α -地中海贫血(α -地贫)新生儿筛查中的应用价值;探讨新生儿脐血 Hb Bart's 水平与 α -地贫基因型的关系;探讨高分辨熔解曲线(high resolution melting, HRM)技术用于筛查非缺失型 α -地贫的可行性。**方法** 对 1442 例新生儿脐血样本同时采用琼脂糖凝胶电泳及毛细管电泳技术进行血红蛋白定量分析,将其中任意一种方法检出 Hb Bart's 区带(其中毛细管电泳技术 Hb Bart's 定量最低为 0.1%)的样本全部挑出进行 Gap-PCR,若样本未检出异常则进一步行 HRM 分析,随后进行反向点杂交和基因测序。同时对 2 种电泳 Hb Bart's 均为阴性的样本进行 2 种常见静止型 α -地贫基因($-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$)的分子筛查。**结果** 1442 例样本中,2 种电泳方法 Hb Bart's 均为阳性的样本为 151 例,基因确诊 150 例。4 例琼脂糖凝胶电泳检测 Hb Bart's 阳性而毛细管电泳检测 Hb Bart's 阴性的样本,基因检测未见异常。7 例琼脂糖凝胶电泳检测 Hb Bart's 阴性而毛细管电泳检测 Hb Bart's 阳性的样本,基因检测均为静止型 α -地贫。1280 例两种电泳 Hb Bart's 均为阴性的样本检出 10 例静止型 α -地贫。HRM 技术将 3 种常见非缺失型 α -地贫全部检出。**结论** 与琼脂糖凝胶电泳相比,毛细管电泳技术定量分析 Hb Bart's 更为简便、准确。脐血 Hb Bart's 的含量随着 α -基因缺陷的个数的增加而升高,其中 α^+ -地贫中不同基因型的 Hb Bart's 水平亦存在差异。新生儿脐血毛细管电泳 Hb Bart's 含量 0.1%应作为区分正常人与 α -地贫携带者的指标。HRM 技术可作为非缺失型 α -地贫(尤其是 α^{CS} α 和 α^{QS} α)的一种筛查方法。

【关键词】 α -地中海贫血; Hb Bart's; 毛细管电泳; 琼脂糖凝胶电泳; 高分辨熔解曲线技术

【中图分类号】 R722.11 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective Comparison of automatic capillary electrophoresis (CE) with agarose gel electrophoresis in the value of neonatal screening for α -thalassemia. To investigate the correlation between the levels of Hb Bart's in cord blood and α -globin genotypes. Explore the feasibility of using HRM to detect the point mutation of non-deletion α -thalassemia. **Method** Agarose gel electrophoresis and CE were used to determinate Hb Bart's amount in cord blood of 1,442 newborns. Samples with the presence of Hb Bart's were selected for mutant analysis by Gap-PCR. High-resolution melting (HRM) analysis, reverse dot blotting and DNA sequencing was used for samples in which mutations was not detected by Gap-PCR. All of Hb Bart's negative were selected for genetic testing. **Results** 151 samples were found positive for Hb Bart's both agarose gel electrophoresis and CE, and 150 were confirmed by molecular analysis. 4 samples were confirmed normal, with positive for Hb Bart's by agarose gel electrophoresis but negative for CE. Another 7 samples were confirmed to be α^+ -thalassemia, witch positive for Hb Bart's by CE but

negative for agarose gel electrophoresis. In the 1280 cases of Hb Bart's negative, 10 samples were confirmed to be α^+ -thalassemia. All of common non-deletional mutations at the exons 3 of the α -globin genes were successfully detected by HRM analysis. **Conclusions** To screen for α -thalassemia, CE was proved to be more convenient and effective method as compared to agarose gel electrophoresis. The amount of Hb Bart's was increased with the number of the defective α -genes, and α^+ -thalassemia in different genotypes of Hb Bart's levels were different in different genotype α^+ -thalassemia. In CE testing, 0.1% Hb Bart's level can be used as a cut-off value for α -thalassemia diagnosis in newborns. HRM is a cheap, rapid and efficient screening method for non-deletional α -thalassemia.

【Key words】 α -thalassemia; Hb Bart's; capillary electrophoresis (CE); agarose gel electrophoresis; high-resolution melting (HRM) analysis

α -地中海贫血(简称 α -地贫)是由于 α -珠蛋白基因缺失或突变使 α -珠蛋白链的合成受到部分或完全抑制而引起的遗传性溶血性贫血。临床上分为静止型、标准型、HbH病和血红蛋白Bart's胎儿水肿综合征4种类型,其分子机制分别为1、2、3、4个 α 基因缺陷(缺失或突变)。血红蛋白Bart's胎儿水肿综合征(主要由—^{SEA}纯合子引起),胎儿一般在妊娠23~38周或出生后数小时死亡。因此在 α -地贫高危地区进行人群筛查,是识别高危人群、预防重型地贫患儿出生的重要手段。正常胎儿和新生儿的血红蛋白成分主要是HbF($\alpha_2\gamma_2$),若 α -珠蛋白链减少或缺乏会导致 γ -珠蛋白链的相对增多,聚合成HbBart's(γ_4),因此,脐血中HbBart's与 α -地贫直接相关。目前应用较多的HbBart's检测方法有:琼脂糖凝胶电泳、高效液相色谱法和毛细管电泳。本文同时应用毛细管电泳与琼脂糖凝胶电泳筛查新生儿 α -地贫,比较2种方法的价值。此外,本研究通过采用HRM技术筛查3种常见非缺失型 α -地贫以探讨该技术的实用价值。

1 资料和方法

1.1 研究对象 2010年6~12月在清远市人民医院产科分娩的1442例新生儿。

1.2 标本采集 新生儿分娩断脐后,从胎盘端脐带抽取2ml脐带血,放入EDTA-K2抗凝管,用于血红蛋白电泳及地贫基因检测。

1.3 琼脂糖凝胶电泳 HbBart's定量 采用美国Helena Laboratories公司的电泳仪进行脐带血琼脂凝胶Hb电泳分析,经染色后在Optiscan光密度扫

描仪上进行区带扫描定量。

1.4 毛细管电泳 HbBart's定量 脐血样品先3000转离心3分钟,取18 μ l血细胞溶于90 μ l的溶血素中充分混匀后上机检测。采用法国Sebia公司Capillarys 2全自动毛细管电泳仪及配套试剂,在9.8 kV电压、pH 9.4的碱性缓冲液条件下,在石英毛细管内进行血红蛋白电泳,用415 nm波长检测各种血红蛋白的百分比,从而定量HbBart's。电泳图谱分成15个区:不同的血红蛋白峰出现在特定的区域内:HbA₂=Z3, HbF=Z7, HbA=Z9, HbBart's=Z12, HbH=Z15^[1,2]。

1.5 基因分型

1.5.1 DNA提取 收集任意一种电泳方法筛查HbBart's阳性的样本,用富士quick genemini80DNA提取仪,按DNA提取试剂盒使用说明,提取新生儿脐血中白细胞的全基因组DNA。

1.5.2 gap-PCR技术检测3种常见缺失型 α -地贫基因 采用gap-PCR技术检测所有HbBart's阳性样本的3种常见缺失型 α -地贫基因(—^{SEA}、 $-\alpha^{3,7}$ 、 $-\alpha^{4,2}$)^[3]。

1.5.3 HRM技术筛查 α -基因的第三外显子 从UCSC基因组数据库(<http://genome.ucsc.edu>)获得 α -珠蛋白基因的DNA序列。用LightScanner Primer Design Software设计一对引物(正向引物:5'-CCGCACTGACCCTCTTCTCT-3',反向引物:5'-GCAACCGAGGCTCCAGC-3')。挑出gap-PCR技术未检测出异常的HbBart's阳性样本DNA,同时选取2例基因型分别为 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 和 $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$ 的阳性对照样本及16例基因测序验证为第三外显子无

突变的阴性对照样本 DNA, 利用 96 孔板, 加入 $1 \times$ LC Greens Plus, 扩增 α -基因 (包含 α_1 -和 α_2 -基因) 的第三外显子, PCR 扩增片段长度为 172 bp。PCR 扩增完成后, 将 96 孔板移至 LightScanner (Idaho Technology) 进行熔解曲线分析^[4]。

1.5.4 用反向点杂交 (RDB) 技术检测 3 种常见非缺失型 α -地贫基因 对 gap-PCR 未检出异常的样本, 用 HRM 技术筛查后, 应用反向点杂交 (RDB) 技术检测 3 种常见非缺失型 α -地贫基因 (Hb CS、Hb QS 和 Hb WS)^[5]。

1.5.5 直接测序法检测检测 α_1 -和 α_2 -基因全长 从 UCSC 数据库 (<http://genome.ucsc.edu>) 中获取 α -珠蛋白基因 (α_1 -和 α_2 -基因) 的 DNA 序列, 应用 LightScanner Primer Design 软件设计 2 对引物, 分别扩增 α_1 -和 α_2 -珠蛋白基因 (包含 3 个外显子及部分上游和下游序列), 引物序列详见表 1。对于未知基因型的 Hb Bart's 阳性样品, 用 PCR 产物直接测序法检测 α_1 -和 α_2 -基因的全长。

1.5.6 统计 采用 SPSS 16.0 软件进行统计学处理, 计量数据以“均数 \pm 标准差”表示, 均数的比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

表 1 α -珠蛋白基因全长测序所用的引物

α -基因	引物名称	引物序列 (5' \rightarrow 3')	片段长度
α_1	AF	TGGAGGGTGGAGACGTCCTG	1089 bp
	A ₁ R	GCCTGGCACGTTTGCTGAG	
α_2	AF	TGGAGGGTGGAGACGTCCTG	1085 bp
	A ₂ R	CCATTGTTGGCACATTCCGG	

2 结果

2.1 α -地贫基因的携带率 本研究共筛查 1442 例新生儿, 经基因分析, 167 例明确了 α -地贫基因型

(包括 165 例杂合子、2 例双重杂合子), 即本研究中共检出 α -地贫等位基因 169 个, 人群基因携带率为 11.72% (169/1442)。

2.2 α -地贫等位基因的组成 169 个 α -地贫等位基因中东南亚缺失型 ($-^{SEA}$) 112 例, 占总体的 66.3% (112/169); 3 种常见的缺失型 ($-^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$) 占 94.1% (159/169); 东南亚缺失型 ($-^{SEA}$) 占 3 种常见缺失型的 70.4% (112/159); 非缺失型 α -地贫基因也有相当的比重 (α^{CS} α 、 α^{QS} α 和 α^{WS} α 占 5.9%), 以 α^{CS} α 、 α^{QS} α 为主。

2.3 Hb Bart's 含量与 α -地贫基因型的关系 1442 例新生儿脐血样本中, 2 种电泳方法 Hb Bart's 均为阳性的样本 151 例 (琼脂糖凝胶电泳 Hb Bart's 含量为 0.5% ~ 18.6%, 毛细管电泳 Hb Bart's 含量为 0.1% ~ 21.6%), 基因确诊 150 例。4 例琼脂糖凝胶电泳检测 Hb Bart's 阳性 (Hb Bart's 含量 0.8% ~ 2.57%), 而毛细管电泳检测 Hb Bart's 阴性的样本, 基因检测未见异常。7 例琼脂糖凝胶电泳检测 Hb Bart's 阴性而毛细管电泳检测 Hb Bart's 阳性的样本 (毛细管电泳 Hb Bart's 含量 0.1% ~ 0.9%), 基因检测均为静止型 α -地贫。剩余 1280 例 2 种电泳 Hb Bart's 均为阴性的样本进行 2 种常见静止型 α -地贫基因 ($-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$) 的分子筛查, 查出 8 例 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$, 2 例 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 。2 种电泳方法筛查, 脐血 Hb Bart's 的含量均随着 α -基因缺陷 (缺失或突变) 的个数的增加而升高, HbH 病 (3 个 α -基因缺陷) 高于 α^0 -地贫 (2 个 α -基因缺陷) 及 α^+ -地贫 (1 个 α -基因缺陷), α^0 -地贫高于 α^+ -地贫。 α^+ -地贫中, 不同基因型的 Hb Bart's 水平亦存在差异, α^{CS} $\alpha/\alpha\alpha$ 高于其它基因型。详见表 2。

表 2 151 例 2 种电泳方法 Hb Bart's 均为阳性的样本基因诊断结果

	基因型	n	% Hb Bart's (琼脂糖凝胶电泳)	% Hb Bart's (毛细管电泳)
HbH 病	$-^{SEA}/-\alpha^{3.7}$	2	15.6; 18.6	18.6; 21.6
α^0 地贫	$-^{SEA}/\alpha\alpha$	110	4.92 \pm 1.22 (1.01 ~ 8.17)	3.44 \pm 0.81 (1 ~ 6.1)
	$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	21	1.06 \pm 0.31 (0.54 ~ 2.06)	0.49 \pm 0.21 (0.1 ~ 0.9)
	$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	7	0.99 \pm 0.17 (0.58 ~ 1.42)	0.51 \pm 0.13 (0.2 ~ 0.8)
α^+ 地贫	$\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$	7	2.05 \pm 0.44 (0.5 ~ 3.04)	1.53 \pm 0.28 (1.0 ~ 1.9)
	$\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$	2	1.15; 1.99	0.3; 0.6
	$\alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$	1	1.12	0.5
其他	$\alpha\alpha/\alpha\alpha^*$	1	1.47	0.5
总计		151		

注: * 电泳符合 α^+ -地贫, 但是基因检测未见异常。

2.4 2种电泳方法的筛查特异性比较 151例2种电泳方法 Hb Bart's 均为阳性的样本,基因确诊150例。4例琼脂糖凝胶电泳检测 Hb Bart's 阳性而毛细管电泳检测 Hb Bart's 阴性的样本,基因检测未见异常;7例琼脂糖凝胶电泳检测 Hb Bart's 阴性而毛细管电泳检测 Hb Bart's 阳性的样本,基因检测均为静止型 α -地贫,见表3。剩余1280例2种电泳 Hb Bart's 均为阴性的样本进行2种常见静止型 α 地贫基因($-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$)的分子筛查,查出8例 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$,2例 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$,见表4。

表3 11例仅一种电泳方法 Hb Bart's 阳性的样本基因诊断结果

基因型	n	%Hb Bart's (琼脂糖凝胶电泳)	%Hb Bart's (毛细管电泳)
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	5	0	0.1~0.8
$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	2	0	0.2;0.9
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	4	0.8~2.57	0
总计	11		

表4 1280例2种电泳方法 Hb Bart's 均为阴性的样本基因诊断结果

基因型	n	%Hb Bart's (琼脂糖凝胶电泳)	%Hb Bart's (毛细管电泳)
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	8	0	0
$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	2	0	0
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	1270	0	0
总计	1280		

2.5 HRM技术的敏感性及其特异性 Hb Bart's 阳性, gap-PCR 技术未检出异常的样本共15例,2例基因型分别为 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 和 $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$ 的阳性对照及12例基因测序验证为第三外显子无突变的阴性对照样本,总共29例,全部扩增成功,并获得HRM熔解曲线(图1)。29例样本共形成4簇明曲线:7例与已知基因型为 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 样本曲线集成一簇的待测样本基因确诊为 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$;3例与已知基因型为 $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$ 样本曲线集成一簇的待测样本基因确诊为 $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$;单独成一簇曲线与正常样本分开的1例待测样本基因确诊为 $\alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$;5例与正常样本集成一簇的待测样本,DNA 测序第三外显子未见突变。

3 讨论

人在不同发育时期血红蛋白组成不同,正常胎儿和新生儿的血红蛋白成分主要是 HbF($\alpha_2\gamma_2$);成人期血红蛋白组成为:HbA($\alpha_2\beta_2$):96.5%~97.5%,

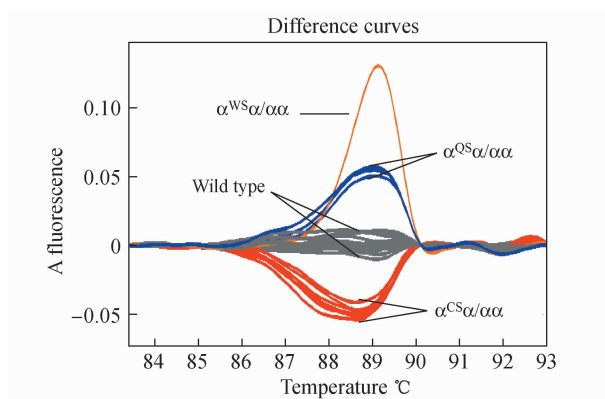


图1 HRM技术筛查 α -基因第三外显子的结果图

HbA2($\alpha_2\delta_2$): 2.5%~3.5%, HbF($\alpha_2\gamma_2$): 0~1.0%。若 α -珠蛋白链减少或缺乏会导致 γ -珠蛋白链的相对增多,未与 α -链结合的 γ -链聚合成 Hb Bart's(γ_4)。因此,脐血中 Hb Bart's 与 α -地贫直接相关。由于 Hb Bart's 于出生3~6个月后即消失,理论上 α -地贫的筛查最适合于新生儿期进行,以降低漏检率。本研究显示,清远市户籍人群总基因携带率达11.72%,高于广东省的平均水平8.53%^[6]。其中以缺失型 α -地贫1基因($-\alpha^{SEA}$)为主(66.3%),突变型 α -地贫基因也有相当的比重($\alpha^{CS}\alpha$ 、 $\alpha^{QS}\alpha$ 和 $\alpha^{WS}\alpha$ 占5.9%)。

近年来,随着全自动毛细管电泳技术的发展,克服了传统电泳技术的缺点。毛细管电泳在操作方便性、操作时间、少试剂耗材、解析能力、检测重复性及检测成果清晰度均大大优于琼脂糖凝胶电泳,分离、定量 Hb Bart's 更加简单、准确^[2]。本研究1442例样本中,151例2种电泳方法 Hb Bart's 均为阳性的样本,基因确诊150例。对于4例琼脂糖凝胶电泳检测 Hb Bart's 阳性而毛细管电泳检测 Hb Bart's 阴性的样本,基因检测未见异常。7例琼脂糖凝胶电泳检测 Hb Bart's 阴性而毛细管电泳检测 Hb Bart's 阳性的样本,基因检测均为静止型 α -地贫。1280例两种电泳 Hb Bart's 均为阴性的样本进行2种常见静止型 α 地贫基因($-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$)的分子筛查,查出8例 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$,2例 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 。可见,毛细管电泳分离定量 Hb Bart's 的灵敏度及特异度均大于琼脂糖凝胶电泳。因此,全自动毛细管电泳技术分离定量 Hb Bart's 具有简便、高效、准确的特点,在 α -地贫高发地区,该技术应常规应用于新生儿 α -地贫筛查,以减少出生缺陷,提高人口素质。

脐血 Hb Bart's 的含量与 α -基因缺陷(缺失或突变)的个数呈正相关。本研究显示,毛细管电泳 Hb Bart's 定量, α^0 -地贫的 Hb Bart's 的含量均大于 1%,HbH 病的 Hb Bart's 含量更高。而 α^+ -地贫中,除基因型为 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 的样本 Hb Bart's 含量均大于 1%以外,其他类型的 α^+ -地贫携带者 Hb Bart's 含量均小于 1%,其中 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 携带者的 Hb Bart's 含量最低为 0.1%。1280 例 2 种电泳 Hb Bart's 均为阴性的样本检出 8 例 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$,2 例 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 。因此以脐血 Hb Bart's 阳性为指标,对新生儿进行 α -地贫筛查,能较准确地筛查出 HbH 病、 α^0 地贫及 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$,但是,Hb Bart's 水平不宜作为 $\alpha^{CS}\alpha$ 以外的 α^+ -地贫的筛查指标。然而随着电泳技术的不断发展,静止型 α -地贫的检出率逐步提高。

本研究中,尚有 1 例毛细管电泳 Hb Bart's 阳性的样本未知基因型(Hb Bart's 含量为 0.30%),可能的原因有:已有研究发现,中国人群中存在 $-\alpha^{2.7}$ 缺失,累及 α_1 -基因,本研究只检测了 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$ 两种缺失型 α^+ -地贫,有可能存在罕见的缺失型 α^+ -地贫未检测到^[7];存在直接测序法检测 α_1 -和 α_2 -基因全长无法检测到的,影响 α 基因表达的上游突变;该峰为 Z12 区段非 Hb Bart's 的异常血红蛋白。

Munkongdee T 等^[1]对 587 例泰国新生儿脐血进行毛细管电泳电泳 Hb Bart's 定量筛查 α -地贫,研究显示:缺失 1、2、3 个 α -基因的 α -地贫携带者,其脐血 Hb Bart's 含量分别为 $0.5\% \pm 0.2\%$ 、 $4.6\% \pm 0.5\%$ 、 20.1% ;该研究还显示,正常人与 α^{+n} -地贫携带者之间的 Hb Bart's 含量相互重叠、不能区分,以 Hb Bart's 含量 0.2% 为界,区分正常人与 α^+ -地贫携带者的效率最高。何晓玲等^[8],亦用毛细管电泳电泳技术定量 Hb Bart's 的方法筛查中山市新生儿的 α -地贫。本研究结果中 Hb Bart's 的含量与基因缺陷个数的关系与 Munkongdee T 及何晓玲的研究相符,但是,本研究以 Hb Bart's 含量 0.1% 为界,区分正常人与 α -地贫携带者,Hb Bart's 阳性样本 151 例,缺失型 α^+ -地贫只检测了 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$ 两种基因型,即有 150 例经基因分析确诊为 α -地贫,另外 1 例 Hb Bart's 阳性的样品仍然存在未检测到的 α -基因缺陷。因此,我们认为将新生儿脐血毛细管电泳 Hb Bart's 含量 0.1% 作为区分正常人与 α -地贫携带者的指标更为理想。

与缺失型 HbH 病相比,非缺失型 HbH 病临床

表现更为严重,更有 $\alpha^{QS}\alpha/\alpha^{QS}\alpha$ 及 $-\alpha^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ 能引起水肿胎的报道^[9,10]。因此筛查 Hb CS 和 Hb QS 有利遗传咨询指导婚姻,对优生优育具有十分重要的意义。本研究显示,HRM 技术筛查非缺失型 α -地贫的敏感性和特异性亦均达 100%,结果与陆林苑等^[4]的研究相符。由于 PCR 扩增和 HRM 分析整个过程用时不超过 2 小时,HRM 分析法与普通 PCR 相比,只需在 PCR 反应体系中多加 1 种 DNA 饱和荧光染料,每个样本的试剂费用不超过 2 元。因此,HRM 技术可作为非缺失型 α -地贫(尤其是 $\alpha^{CS}\alpha$ 和 $\alpha^{QS}\alpha$)的一种筛查方法,且具有准确、高效、低成本的优点。

参 考 文 献

- [1] Munkongdee T, Pichanun D, Butthep P, et al. Quantitative analysis of Hb Bart's in cord blood by capillary electrophoresis system[J]. Ann Hematol, 2011, 90(7):741-746.
- [2] Keren DF, Hedstrom D, Gulbranson R, et al. Comparison of Sebia Capillarys capillary electrophoresis with the Primus high-pressure liquid chromatography in the evaluation of hemoglobinopathies[J]. Am J Clin Pathol, 2008, 130(5):824-831.
- [3] 李志玖,郑芳,燕平,等.跨越断裂位点 PCR 检测 α -地中海贫血基因缺失[J]. 邵阳医学院学报, 2009, 28(5):451-452,456.
- [4] 陆林苑,唐海深,李东至.高分辨率熔解曲线分析技术在非缺失型 α -地中海贫血新生儿筛查中的前瞻性应用[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(1):156-159.
- [5] 郭广洲,陈延娥,廖生赞,等.应用反向点杂交法检测 α -地中海贫血点突变[J]. 热带医学杂志, 2008(8):785-787.
- [6] Xu XM, Zhou YQ, Luo GX, et al. The prevalence and spectrum of alpha and beta thalassaemia in Guangdong Province: implications for the future health burden and population screening [J]. J Clin Pathol, 2004, 57(5):517-522.
- [7] 张俊武,龙桂芳.血红蛋白与血红蛋白病[M]. 南宁:广西科学技术出版社,2003:212-215.
- [8] 何晓玲,张翠梅,冯华俊.中山市 α -地中海贫血的新生儿筛查[J]. 右江民族医学院学报, 2010, 32(4):488-490.
- [9] Liao C, Li J, Li DZ. Fetal anemia and hydrops associated with homozygosity for hemoglobin Quong Sze [J]. Prenat Diagn, 2008, 28(9):862-864.
- [10] Li DZ, Liao C, Li J, et al. Hemoglobin H hydrops fetalis syndrome resulting from the association of the $-\alpha^{SEA}$ deletion and the alpha Quong Sze mutation in a Chinese woman [J]. Eur J Haematol, 2005, 75(3):259-261.

编辑:邹刚

(收稿日期:2013-04-30)