

“基于母血浆深度测序的胎儿亚显微染色体异常无创伤性检测”点评

胡平

(南京医科大学附属南京妇幼保健院,江苏 南京 210004)

1 原文摘要

The purpose of this study was to determine the deep sequencing and analytic conditions needed to detect fetal subchromosome abnormalities across the genome from a maternal blood sample. Cell-free (cf) DNA was isolated from the plasma of 11 pregnant women carrying fetuses with subchromosomal duplications and deletions, translocations, mosaicism, and trisomy 20 diagnosed by metaphase karyotype. Massively parallel sequencing (MPS) was performed with 25-mer tags at approximately 10^9 tags per sample and mapped to reference human genome assembly hg19. Tags were counted and normalized to fixed genome bin sizes of 1Mb or 100 kb to detect statistically distinct copy-number changes compared to the reference. All seven cases of microdeletions, duplications, translocations, and the trisomy 20 were detected blindly by MPS, including a microdeletion as small as 300 kb. In two of these cases in which the metaphase karyotype showed additional material of unknown origin, MPS identified both the translocation breakpoint and the chromosomal origin of the additional material. In the four mosaic cases, the subchromosomal abnormality was not demonstrated by MPS. This work shows that in nonmosaic cases, it is possible to obtain a fetal molecular karyotype by MPS of maternal

plasma cfDNA that is equivalent to a chromosome microarray and in some cases is better than a metaphase karyotype. This approach combines the advantage of enhanced fetal genomic resolution with the improved safety of a noninvasive maternal blood test.

2 论文核心内容及点评

该文章于2013年2月发表于《The American Journal of Human Genetics》杂志。在该研究中,作者主要评估了采用孕母血浆高通量测序进行胎儿全基因组范围内染色体微缺失/微重复无创产前检测的技术条件及其检测效果。主要内容如下:

已有的研究表明,与常规G显带技术相比,染色体微阵列芯片技术(chromosome microarrays, CMA)用于产前诊断可以显著提高染色体异常检出率,尤其是G显带无法检出的微缺失/微重复。因此CMA具有着良好的临床应用价值,在一些国家已被推荐成为一线检测技术。但是该技术仍需要通过侵入性的手段进行胎儿细胞取材,必须配备临床取材经验丰富的妇产科医生,并可能导致胎儿流产。那么,是否有一种技术可以实现非侵入性的胎儿染色体微缺失/微重复无创检测呢?

通过母体血浆游离DNA高通量测序检测胎儿常见染色体非整倍体异常(21、13、18)已有大量的研究报道,并逐渐成为临床上一种替代侵入性检查的新型方案。这种方法是否可能实现全基因组范围内的染色体亚显微异常检测呢?作者认为,这种方法理论上是可行的。事实上,关于微缺失/微重复的无创产前检测研究已有5例成功的病例报道。第一篇

研究报道通过母体血浆游离 DNA 高通量测序在一位 35 孕周孕妇血浆中成功检测出 1 例 4.2 Mb 大小的 12p11.22-12.1 微缺失;另一个研究小组的报道采用该技术检测出了 2 例 22q11.2 微缺失;在该作者前期研究中也报道了 1 例 11q21-23 微缺失和 6q 重复的无创产前诊断。

该研究内容分为 2 部分。第一部分是方法学验证,血浆 DNA 的测序深度和胎儿 DNA 浓度对于胎儿染色体无创性检测效果具有重要意义,作者为了确定所选择的测序深度是否可以检出全基因组范围内的微缺失/微重复及孕妇血浆中胎儿 DNA 相对浓度,采用了“人为掺入”策略模拟出胎儿染色体异常的孕妇血浆 DNA 样本。将确诊的染色体异常男性患儿及其母亲基因组 DNA 打断为 200 bp 大小的短片段,以模拟血浆中的游离 DNA 长度,并制备成患儿 DNA/总 DNA = 5% 和 10% 两种浓度混合 DNA 样本共 4 组,进行了高通量测序测试。测序采用的是 36bp 的单向测序,获得的 reads 数目(400~750) × 10⁶,4 例标本包括 21 三体、7 号染色体部分缺失、22 号染色体部分重复、嵌合型 15 号染色体部分重复各一例,这 4 例检测结果均与 arrayCGH 结果一致,且所测得的胎儿 DNA 相对浓度与实际掺入浓度基本一致。

第二部分是阳性孕妇血浆样本的双盲实验。作者选取怀有染色体异常胎儿的孕妇血浆 11 例,采用的是 25 bp 的单向测序,每个标本获得的 reads 数目(0.6~1.3) × 10⁹。标本中包括 1 例 20 号染色体三体,染色体缺失 5 例、重复 4 例,涉及到 3、6、7、8、10、15、17、X 号染色体,包括嵌合体标本 4 例,其中亚显微缺失/重复 4 例。检测结果:7 例标本被成功检出,所检出的最小 CNV 为 300 kb;2 例含有不明染色体来源的标本被准确检出;1 例嵌合型微缺失检出,3 例嵌合型微缺失无法检出。

本研究结果的几个方面具有重要的价值:①该技术可以检出除嵌合型之外的全基因组范围染色体微缺失/微重复异常,检测效果与胎儿细胞 DNA 的微阵列比较基因组杂交效果接近;②25 bp 测序长度和 10⁹ 的测序深度条件已经可以达到 100 kb 的检测分辨率,显著高于常规侵入性染色体 G 显带检查,加大测序深度可继续提高检测分辨率;③当前条件下,25 bp 和 10⁹ 检测成本低于 1000 美元,但将来随着测序成本降低会达到微阵列比较基因组杂交接近的价格;④另外,作者认为该技术也可用于其他混合 DNA 样本的检测,如癌症患者血浆游离 DNA 中的 CNV 检测。

《中国产前诊断杂志》网上投稿通知

为进一步加强本刊信息化建设,加快稿件处理速度,提高编辑工作效率和刊物质量,更好地服务于广大作者,扩展作者与编者,作者与读者之间的联系和交流。自 2012 年 1 月起,本刊将正式启用网上投稿办公系统(网址为:<http://www.chinjpgd.com>,对应于我刊的英文网名缩写 Chin J Pren Diag),请作者尽可能使用网上投稿系统投稿及查询稿件处理情况。

您只需要在首次投稿时经过简单的注册,便可以永久使用。投稿成功后,系统会自动发送邮件和手机短信通知您稿件各阶段的进展程度,您也可以随时登录系统自助查询稿件处理情况。注册时,请用您常用的电子邮箱作为注册帐号,注册成功后,系统会自动把登录密码发送到您的 Email 中,请到您的 Email 中查看登录密码并登录系统,完善自己的个人信息。如果忘记密码可点击找回密码,系统会自动将用户名和密码发到您的邮箱中。如有疑问请与编辑部宋文颖联系,电话:021-54030916。

欢迎您投稿,提出宝贵意见!感谢您对《中国产前诊断杂志》的支持!