

基因芯片技术在产前诊断中的应用

邢娅 孙路明

(同济大学附属第一妇婴保健院 产前诊断中心, 上海 200040)

【摘要】 产前诊断是预防出生缺陷的有效手段。几十年来,对产前筛查高风险人群进行产前样本的染色体核型分析,从而检测胎儿的染色体异常是最主要的产前诊断手段。近年来发展的高分辨率的基因芯片技术逐渐被应用于产前诊断并显示了更高的诊断能力。基因芯片的固有设计原理使得该技术在产前基因组变异检测中存在着优势和不足,检出的大量基因组结构变异数据也带来临床意义解读与遗传咨询等挑战。本文概述了基因芯片技术对于产前染色体结构变异检测的优缺点,并着重探讨了基因芯片在产前诊断实际应用过程中的关键问题。

【关键词】 产前诊断;基因芯片;拷贝数变异;平衡性变异;不平衡变异;嵌合体;CNV 临床意义判读;遗传咨询

【中图分类号】 R394 **【文献标识码】** A

产前诊断是预防出生缺陷的有效手段。现阶段的产前诊断主要针对唐氏综合征以及少数其他染色体非整倍体异常,对高龄产妇以及影像学技术、血清学筛查提示为高风险的孕妇进行有创的产前样本取样、细胞培养和染色体核型分析。早在 1966 年,Steele 和 Breg^[1] 就发现羊水细胞经过体外培养获得足够的分裂中期细胞后可以用于核型分析,从而对胎儿的染色体进行检测。19 世纪 80 年代发展的绒毛膜绒毛核型分析技术使得产前染色体核型分析可以提前至孕早期进行。羊水和绒毛染色体核型分析可以对胎儿染色体数目和结构异常进行全面分析,作为产前诊断的重要手段一直沿用至今。受显带分辨率的限制,产前染色体核型分析可发现的结构异常长度都在 10Mb 以上,并且在进行染色体核型分析前一般需要进行细胞培养,检测结果一般在取样 2~3 周后才能得到。荧光原位杂交技术(FISH)是分子生物学与细胞遗传学的完美组合,将特定基因组序列用荧光标记作为探针与待检测样本的染色体进行杂交,即可对染色体的数目异常和结构异常进行检测。产前 FISH 检测一般只针对常见的非整倍体异常涉及到的 5 条染色体:13 号、18 号、21 号以及 2 条性染色体。由于无需进行细胞培养,FISH 检测只需 2 天即可完成。但 FISH 的局限性在于只

能定向地对一些染色体异常进行诊断,同时,每次反应所用的探针数目有限,无法进行高通量的检测。近年来发展的一些分子诊断方法如荧光定量 PCR、多重探针连接扩增技术(MLPA)等也逐渐应用于产前诊断中^[2]。但这类方法由于不能对全基因组进行诊断,都存在一定的残余风险。

基因芯片技术可以在全基因组范围进行高分辨率扫描,不仅能检出染色体不平衡性变异,而且能检出亚显微水平的拷贝数变异(CNV),即人类基因组中 DNA 片段大小从 1Kb 到数个 Mb 的亚微观结构改变,包括基因组片段的缺失、插入、重复等^[3,4]。按照探针设计原理的不同,基因芯片可以分为比较基因组杂交芯片和 SNP 芯片两种。比较基因组杂交芯片是由比较基因组杂交(CGH)技术发展而来,传统的 CGH 是用不同荧光分别标记患者和正常对照的基因组,均匀混合后与正常人处于分裂中期的固相染色体杂交,而比较基因组杂交芯片是用 Oligo 基因组芯片代替中期染色体作为杂交载体^[5]。SNP 芯片是基于人类基因组中广泛存在的单核苷酸多态性(SNP)位点进行探针设计,主要用于基因分型以及全基因组关联分型,也可以用于 CNV 的检测。但由于其探针设计受 SNP 分布的局限,不能做到全基因组覆盖,不能在全基因组范围内进行

CNV的检测,因此其后续产品中均加入了CNV探针来弥补这一不足。基因芯片的使用使得越来越多的CNV位点被发现,其中包括:在相同位点反复发生的具有相似临床表型的CNV位点即病理性CNV,由此一大批微缺失/微重复综合征被明确;在正常人类基因组广泛存在的没有临床意义的良性CNV/常见CNV^[4,6];现阶段对人类基因组认识不完全而无法明确其临床意义的新发CNV/罕见CNV。

1 基因芯片对产前异常的检出

1.1 平衡性染色体结构变异 染色体的平衡性变异,包括相互易位、倒位、插入等,由于并不涉及到遗传物质的缺失或增加,无法用基因芯片检出。对于这类异常,染色体核型分析技术和中期染色体的FISH技术仍然是最佳的检测手段,不但可以检出这类异常,还能提示其来源,分析再发风险并防止再次发生。平衡性染色体结构变异在新生儿中的发生率约为0.09%^[7],其中遗传自父母的平衡易位一般不会对胎儿造成任何表型,而新发性易位在新生儿中的发生率较低,约为0.0001%^[8],并且造成胎儿影像学异常的可能性较小。相反的,核型分析结果显示为平衡易位的胎儿实际上可能会在易位的断裂位点处发生微小缺失或重复,这类表面上“平衡”的异常则会在进行基因芯片检测时被检出。研究数据表明这类异常有6.7%的可能会引发胎儿的异常表型^[9]。另外,核型分析和比较基因组杂交芯片都无法检出杂合性缺失、单亲二体位点,SNP芯片基于基因分型的原理可以检出这类异常,这对于基因组中印迹基因相关疾病、常染色体隐性遗传疾病的诊断非常重要。

1.2 不平衡性染色体结构变异 相对于传统核型分析技术,基因芯片可以对染色体的不平衡变异进行更高分辨率的检测。对于核型分析技术可以检出的异常,基因芯片可以给出更精确的异常位点,这对于基因型表型关联分析有重要意义。对于核型分析技术中发现的衍生染色体以及标记染色体,基因芯片技术可以明确检出不明遗传物质的来源和性质,有助于进行更准确的遗传咨询。更重要的是,高分

辨率的基因芯片技术可以检出亚显微水平的微缺失/微重复,在产后病例中的大规模应用使得一大批微缺失/微重复综合征被发现。Menten等^[10]在2007年报道了3例由比较基因组杂交芯片检测到的12q14微缺失综合征患者,3名患者的共同表型有脆弱性骨硬化、身材矮小、智力低下以及相似的面部特征,此外还有15q13.3微缺失综合征、17q21.31微缺失综合征等^[11]。根据相同微缺失/微重复综合征患者中最小的CNV共同区域,可以定位并找到致病基因,近年来新克隆的常染色体致病基因有:Smith-Magenis综合征的致病基因RAI^[12]、12q14微缺失综合征中与身材矮小相关的基因HMGGA2^[13]、17q21微缺失综合征的致病基因MAPT^[14]。应用基因芯片技术进行产前诊断能有效避免这类患儿的出生。

1.3 嵌合体 嵌合体是指在同一个体中存在遗传物质不同的细胞系,甚至异常细胞在同一个体的不同组织、器官中所占的比例都不同。产前诊断中嵌合体存在真性嵌合和假性嵌合的情况,包括胚胎外组织和(或)胚胎组织的嵌合以及体外培养过程中人工造成的假性嵌合等。另外,由于培养过程中正常细胞相对异常细胞具有生长优势,经过培养后嵌合情况往往会降低从而不容易被检出。基因芯片技术可以直接使用未培养过的细胞进行检测从而得到更真实的检测结果。产前FISH检测同样可以直接对未培养过的细胞进行检测,但其检测结果只针对5条染色体,基因芯片则可以对全部染色体的嵌合情况进行检测。研究数据表明,基因芯片技术对嵌合体的诊断相对于核型分析技术有更高的灵敏度,可检出嵌合比例仅为10%甚至更低比例的嵌合体^[15]。也有报导称基因芯片对于嵌合体的检出需结合染色体核型分析结果,否则有可能将单纯的缺失/扩增与嵌合体的情况混淆^[16]。

2 基因芯片技术在产前诊断应用中的关键问题

2.1 样本的入选 传统产前诊断的入选标准常包含以下几点:有家族史的病例、高龄产妇、血清学筛查结果呈阳性、产前影像学检测结果异常。考虑到基因芯片的成本相对较高,目前大部分研究机构在

使用基因芯片进行产前诊断时会采用较严格的人选标准,主要针对死胎、流产或影像学检测提示结构异常的胎儿。入选标准越严格则检出率越高,Shaffer等^[17]对5003例产前病例进行基因芯片检测时,发现病理性CNV检出率在死胎或流产病例、核型正常影像学异常病例以及所有入选人群中(包括有家族史的、高龄产妇、血清学筛查阳性、影像学检测结果异常等)分别为8.2%,6.5%,和5.3%。影像学检测是产前对胎儿情况进行观测的有力手段,对于影像学检测结果异常但核型分析结果正常的样本进行基因芯片检测是各研究机构常用的一个入选标准^[18-21]。然而,产后病例中发现的一些与生长发育、智力低下等相关的微缺失/微重复综合征在进行产前影像学检测时往往不会有特异的表型,且发病概率与孕妇的年龄并无明显关系,由此部分研究机构认为应对所有进行有创产前诊断的样本都进行基因组芯片分析^[22,23]。但由于CNV临床意义判读的复杂性,如果没有影像学检测的异常结果作为前提,对那些目前临床意义尚不明确的CNV性质进行判定就更加困难。对于这类无明确临床指征的孕妇,选用低分辨率的或者只针对已知微缺失/微重复综合征的定制性芯片一方面可以对亚显微水平的已知致病位点进行检测,另一方面也规避了临床意义不明的CNV的检出。当然,使用定制芯片无法在全基因组范围进行拷贝数检测,当基因芯片数据不断积累、新的致病位点不断被发现时,需要重新设计定制芯片的探针位点。另外,母源样本的混入会影响芯片结果的判断,比如羊水穿刺过程中混入的母血以及CVS样本中很难全部去除的母亲子宫蜕膜,为了得到更准确的检测结果,入选样本在进行芯片检测前需采用STR位点分析或商业化试剂盒等进行母源污染检测^[24]。

2.2 芯片结果的分析与验证 分析芯片结果时首先需通过软件处理,将扫描的杂交荧光信号转化为芯片上各探针位点的杂交信号,以便于进行基因组的拷贝数分析。各芯片产品都带有配套的数据分析软件,将原始数据进行标准化之后再采用特定的数学算法计算得到样本的拷贝数情况^[25]。研究人员在使用分析软件时,可以按照自己的检测需求以及

原始的荧光数据质量来设定并调整分析软件的相关参数来调整检测结果的灵敏度和分辨率,从而得到最优的分析结果。对于软件参数的设定可以参考文献中报道的对同类芯片产品的使用经验同时结合自己的实验目的,通过对已知拷贝数异常样本的预实验检测以及逐渐积累的数据分析经验来选择本实验室的最佳参数。过滤参数的设定越严格则分析得到的CNV数量就越少,从而有可能导致漏检,越宽松则检出的CNV数量越多,但其中的小片段CNV、假阳性片段也会增加,这些CNV的检出会大大增加结果验证负担。根据CNV的致病原理,包含有相当遗传物质的CNV更有可能致病,对产后大规模的智力低下/先天畸形患儿的基因芯片检测结果表明致病性CNV的片段长度中值为1.5Mb^[26],且95%以上的致病性CNV片段大小在500Kb以上^[27-29]。包含多个探针的大片段CNV很容易判定其真实性,而涉及探针数较少、片段较小的CNV则有可能是假阳性结果,尤其是在芯片原始数据质控不佳时更应当注意。尽管各商家已经对芯片产品的试剂盒进行了多次优化,只要按照试剂盒的要求进行操作一般会达到质控要求,但实际操作中一些影响因素:样本制备、实验操作、实验条件等都有可能使得最终的实验结果质控数据不完美从而影响软件分析的准确性。对软件参数进行调整以及大量数据分析经验的积累都有助于避免大量片段较小、假阳性CNV的检出^[30]。

芯片检出的CNV需经过另外1~2种分子检测手段进行验证来明确其真实性,常用的方法包括上文提到的FISH、荧光定量PCR、多重探针连接扩增技术(MLPA)^[31]等。其中FISH是最直观的验证方法,可以在分裂中期染色体中明确标记出CNV所在位置以及CNV变异的方向(缺失/重复),但实际应用过程中商业化探针种类有限,一些CNV的验证需要实验室自制荧光探针;MLPA检测通量中等,一次反应可以对多处CNV进行验证,但该技术中杂交探针的设计位点对GC含量等有一定要求,不能在全基因组范围内灵活使用;荧光定量PCR方法的灵活度较高,是最常用的验证方法,但一次反应所覆盖的DNA片段较小(200-300bp),在验证片段较大的

CNV时,应在CNV内选取多个位点来进行验证。

2.3 检出CNV的临床意义分析 现阶段人们对人类基因组的结构变异认识还并不完全,一些CNV的临床意义尚不明确。研究表明,人类基因组可能在一定程度上对CNV存在耐受性,另外一些遗传调控因素或是外界环境因素的作用也使得一些综合征在临床症状上出现表型差异和不完全外显的情况^[32],此外,正常人群基因组中也存在着大量的拷贝数变异^[6],以上这些因素都使得CNV临床意义的分析更加复杂。考虑到产前诊断的责任重大,对于产前检出的CNV的临床意义分析更应慎重。正常人群基因组中存在的常见CNV或是良性CNV往往没有临床意义,为了避免对这类CNV进行耗时且没有意义的验证工作,在进行CNV临床意义分析前可以从检测结果中排除掉这类CNV。人类基因组变异数据库(database of genomic variants, DGV)中收集了各研究机构在正常人群中检测到的CNV,可以用于参考以排除检测结果中的常见CNV。但值得注意的是并非所有DGV数据库中所列出的CNV都是没有临床意义的,现在已经发现一些在DGV中收录的CNV区域其实是病理性CNV,会引发确定的临床表现,比如1q21.1和16p11.2等区域^[33,34],一些常见CNV有可能在纯和状态下致病^[35,36]。另外,研究表明CNV的存在是具有种族差异的,一项在高加索人和亚洲人群中进行CNV的检测,结果发现在总共检测到的3019个CNV中有109个在2个种族中有显著差异^[37]。为了更准确排除所研究人群中的常见CNV,一些研究机构会在进行患者CNV检测之前选取同种族的一批正常人进行同款芯片平台的检测,建立本实验室的常见CNV数据库。这样做既避免了不同种族间CNV差异带来的CNV临床意义的误判也消除了不同芯片操作过程中的误差。

病理性CNV常包含微缺失/微重复综合征的关键区域或是致病基因,在相同区域反复多次出现的CNV的基因型-表型关联研究使得越来越多的微缺失/微重复综合征被发现^[10,11,38]。DECIPHER数据库中收集了各种反复出现在同一区域并且导致相似表型的CNV,包括已经确认的综合征以及其他的

仅列出相关表型的病理性CNV。OMIM数据库收集了致病基因的相关功能研究和相关的综合征表型。可以参考这些数据库明确检测到的病理性CNV和潜在致病性CNV。当然,这些数据库中一些发生率低的罕见CNV有可能会随着芯片技术的广泛应用而在越来越多的正常人群中被检测到从而重新被划分为常见CNV。

在判断CNV临床意义过程中还应判断的一点就是所检测到的CNV是否为新发CNV,在收集产前样本时应同时收集胎儿父母的样本,以便于对检出的CNV立即进行来源分析。一般来说由表型正常的父母遗传而来的CNV在很大程度上不会对胎儿的表型造成影响。当然,这一论断并不是绝对的,因为人类基因组的复杂组成和调控机制,嵌合、不完全外显或是环境因素等都会导致表型的多变。近来报道的引起1q21和15q13.3微缺失综合征的CNV曾多次在患者表型正常的双亲中检测到^[34,36];微重复综合征的临床表现的外显程度更加多变,22q11.2微重复综合征患者的表现常常变化很大,也有很多患者是遗传自表型正常的父母^[39];另外涉及到X染色体的CNV如果是遗传自母亲,X染色体失活机制往往使得母亲携带者没有表型或是只有轻微表型^[40]。在参考胎儿父母中CNV的情况时仍要综合考虑公共数据库和已发表文献中的信息来对检出CNV的临床意义进行分析。

从长远看来,基因芯片的大规模使用会积累大批量的数据结果,在这过程中越来越多的CNV的临床意义会逐渐被明确。

2.4 临床咨询 CNV临床意义的复杂性使得产前芯片的临床咨询更具挑战性。在进行产前基因芯片检测之前,应做好胎儿父母的相关信息告知工作,使得胎儿父母充分了解芯片检测的潜在优势和技术不足、所有可能的检测结果以及采集父母的外周血的用途,提供详尽的知识讲解和非指示性的知情同意条款以供胎儿父母做出自主选择。知情同意书中应列出基因芯片可能检出结果:与产前影像学异常相对应的病理性CNV;与产前影像学异常无关的病理性CNV;临床意义尚不明确的新发性CNV;临床意义尚不明确的遗传性CNV;与某些迟发性疾病相关

的 CNV、某些疾病的易感性 CNV 等。在进行遗传咨询时,实验室技术人员与遗传咨询人员应做好交接工作,遗传咨询人员需对整个基因芯片操作、数据分析、结果验证等工作都有详细认识,通过查询相关数据库及相关文献,讨论并对检出数据的临床意义进行分析。对于明确的病理性 CNV(已知的微缺失/微重复综合征)的遗传咨询,应给出该 CNV(综合征)可能造成的临床表型和应进一步进行的检测(如有需要)。从伦理的角度出发,基因芯片检测有可能检出临床意义不明的 CNV、成年后才致病的 CNV、胎儿为某些疾病的携带者等情况^[41]。目前对这类数据是否应当报告给患者尚无一致看法,一些机构会让患者自主选择是否告知,较常用的方法是只对临床意义明确的病理性 CNV 出具报告,以免造成胎儿父母的不必要的恐慌情绪。

3 结 论

基因芯片技术相对于其他产前诊断技术在基因组结构变异检测中可以对全基因进行高分辨率的扫描,相对于传统核型分析大大提高了检出率。采用未培养过的细胞直接进行检测,避免了人工培养过程造成的异常,同时也缩短了检测时间。基于基因芯片的这些优势,越来越多的研究机构将基因芯片技术应用于产前诊断。基因芯片技术相对于其他产前诊断技术在基因组结构不平衡性变异检测中显示了极大的优势,但不足以检测平衡性变异,此外,实际产前诊断应用过程中的所有关键问题都应当有完善的处理方案,这样产前基因芯片诊断才能有效发挥其检测能力。

参 考 文 献

- [1] Steele MW, Breg WR Jr. Chromosome analysis of human amniotic-fluid cells[J]. *Lancet*, 1966,1(7434):383-385.
- [2] Shaffer LG, Dabell MP, Rosenfeld JA, et al. Referral patterns for microarray testing in prenatal diagnosis[J]. *Prenat Diagn*, 2012,32(4): 344-350.
- [3] Iafrate AJ, Feuk L, Rivera MN, et al. Detection of large-scale variation in the human genome[J]. *Nat Genet*, 2004, 36(9): 949-951.
- [4] Sebat J, Lakshmi B, Troge J, et al. Large-scale copy number polymorphism in the human genome[J]. *Science*, 2004, 305(5683): 525-528.
- [5] Pinkel D, Se Graves R, Sudar D, et al. High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays[J]. *Nat Genet*, 1998, 20(2): 207-211.
- [6] Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, et al. Global variation in copy number in the human genome[J]. *Nature*, 2006, 444(7118): 444-454.
- [7] Giardino D, Corti C, Ballarati L, et al. De novo balanced chromosome rearrangements in prenatal diagnosis[J]. *Prenat Diagn*, 2009, 29(3): 257-265.
- [8] Ahn JW, Mann K, Walsh S., et al. Validation and implementation of array comparative genomic hybridisation as a first line test in place of postnatal karyotyping for genomic imbalance[J]. *Mol Cytogenet*, 2010, 3: 9.
- [9] Warburton D. De novo balanced chromosome rearrangements and extra marker chromosomes identified at prenatal diagnosis: clinical significance and distribution of breakpoints[J]. *Am J Hum Genet*, 1991, 49(5): 995-1013.
- [10] Menten B, Buysse K, Zahir F, et al. Osteopoikilosis, short stature and mental retardation as key features of a new microdeletion syndrome on 12q14[J]. *J Med Genet*, 2007, 44(4): 264-268.
- [11] Slavotinek AM. Novel microdeletion syndromes detected by chromosome microarrays[J]. *Hum Genet*, 2008, 124(1): 1-17.
- [12] Slager RE, Newton TL, Vlangos CN, et al. Mutations in RAI1 associated with Smith-Magenis syndrome[J]. *Nat Genet*, 2003, 33(4): 466-468.
- [13] Buysse K, Reardon W, Mehta L, et al. The 12q14 microdeletion syndrome: additional patients and further evidence that HMGA2 is an important genetic determinant for human height[J]. *Eur J Med Genet*, 2009, 52(2-3): 101-107.
- [14] Shaw-Smith C, Pittman AM, Willatt L, et al. Microdeletion encompassing MAPT at chromosome 17q21. 3 is associated with developmental delay and learning disability[J]. *Nat Genet*, 2006, 38(9): 1032-1037.
- [15] Srebnik MI, Boter M, Oudesluijs GO, et al. Genomic SNP array as a gold standard for prenatal diagnosis of foetal ultrasound abnormalities[J]. *Mol Cytogenet*, 2012, 5(1): 14.
- [16] Schmid M, Stary S, Springer S, et al. Prenatal microarray analysis as second-tier diagnostic test: single-center prospective study[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2013, 41(3): 267-273.
- [17] Shaffer LG, Dabell MP, Fisher AJ, et al. Experience with microarray-based comparative genomic hybridization for pre-

- natal diagnosis in over 5000 pregnancies[J]. *Prenat Diagn*, 2012, 32(10): 976-985.
- [18] Faas BH, van der Burgt I, Kooper AJ, et al. Identification of clinically significant, submicroscopic chromosome alterations and UPD in fetuses with ultrasound anomalies using genome-wide 250k SNP array analysis[J]. *J Med Genet*, 2010, 47(9): 586-594.
- [19] Tyreman M, Abbott KM, Willatt LR, et al. High resolution array analysis: diagnosing pregnancies with abnormal ultrasound findings[J]. *J Med Genet*, 2009, 46(8): 531-541.
- [20] Kleeman L, Bianchi DW, Shaffer LG, et al. Use of array comparative genomic hybridization for prenatal diagnosis of fetuses with sonographic anomalies and normal metaphase karyotype[J]. *Prenat Diagn*, 2009, 29(13): 1213-1217.
- [21] Vialard F, Molina Gomes D, Leroy B, et al. Array comparative genomic hybridization in prenatal diagnosis: another experience[J]. *Fetal Diagn Ther*, 2009, 25(2): 277-284.
- [22] Strassberg M, Fruhman G, Van den Veyver IB. Copy-number changes in prenatal diagnosis[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2011, 11(6): 579-592.
- [23] Shaffer LG, Coppinger J, Alliman S, et al. Comparison of microarray-based detection rates for cytogenetic abnormalities in prenatal and neonatal specimens[J]. *Prenat Diagn*, 2008, 28(9): 789-795.
- [24] Fiorentino F, Kokkali G, Biricik A, et al. Polymerase chain reaction-based detection of chromosomal imbalances on embryos: the evolution of preimplantation genetic diagnosis for chromosomal translocations[J]. *Fertil Steril*, 2010, 94(6): 2001-2011, 2011 e1-6.
- [25] Wineinger NE, Kennedy RE, Erickson SW, et al. Statistical issues in the analysis of DNA Copy Number Variations[J]. *Int J Comput Biol Drug Des*, 2008, 1(4): 368-395.
- [26] Buysse K, Delle Chiaie B, Van Coster R, et al. Challenges for CNV interpretation in clinical molecular karyotyping: lessons learned from a 1001 sample experience[J]. *Eur J Med Genet*, 2009, 52(6): 398-403.
- [27] Fan YS, Jayakar P, Zhu H, et al. Detection of pathogenic gene copy number variations in patients with mental retardation by genomewide oligonucleotide array comparative genomic hybridization[J]. *Hum Mutat*, 2007, 28(11): 1124-1132.
- [28] Friedman JM, Baross A, Delaney AD, et al. Oligonucleotide microarray analysis of genomic imbalance in children with mental retardation[J]. *Am J Hum Genet*, 2006, 79(3): 500-513.
- [29] Wagenstaller J, Spranger S, Lorenz-Depiereux B, et al. Copy-number variations measured by single-nucleotide-polymorphism oligonucleotide arrays in patients with mental retardation[J]. *Am J Hum Genet*, 2007, 81(4): 768-779.
- [30] Brady PD, Vermeesch JR. Genomic microarrays: a technology overview[J]. *Prenat Diagn*, 2012, 32(4): 336-343.
- [31] Hills A, Ahn JW, Donaghue C, et al. MLPA for confirmation of array CGH results and determination of inheritance [J]. *Mol Cytogenet*, 2010, 3: 19.
- [32] de Ravel TJ, Balikova I, Thienpont B, et al. Molecular karyotyping of patients with MCA/MR: the blurred boundary between normal and pathogenic variation[J]. *Cytogenet Genome Res*, 2006, 115(3-4): 225-230.
- [33] Kumar RA, KaraMohamed S, Sudi J, et al. Recurrent 16p11.2 microdeletions in autism [J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(4): 628-638.
- [34] Brunetti-Pierri N, Berg JS, Scaglia F, et al. Recurrent reciprocal 1q21.1 deletions and duplications associated with microcephaly or macrocephaly and developmental and behavioral abnormalities[J]. *Nat Genet*, 2008, 40(12): 1466-1471.
- [35] Knijnenburg J, Oberstein SA, Frei K, et al. A homozygous deletion of a normal variation locus in a patient with hearing loss from non-consanguineous parents [J]. *J Med Genet*, 2009, 46(6): 412-417.
- [36] Breckpot J, Takiyama Y, Thienpont B, et al. A novel genomic disorder: a deletion of the SACS gene leading to spastic ataxia of Charlevoix-Saguenay[J]. *Eur J Hum Genet*, 2008, 16(9): 1050-1054.
- [37] Li J, Yang T, Wang L, Yan H, et al. Whole genome distribution and ethnic differentiation of copy number variation in Caucasian and Asian populations[J]. *PLoS One*, 2009, 4(11): e7958.
- [38] Zahir F, Firth HV, Baross A, et al. Novel deletions of 14q11.2 associated with developmental delay, cognitive impairment and similar minor anomalies in three children[J]. *J Med Genet*, 2007, 44(9): 556-561.
- [39] Ou Z, Berg JS, Yonath H, et al. Microduplications of 22q11.2 are frequently inherited and are associated with variable phenotypes[J]. *Genet Med*, 2008, 10(4): 267-277.
- [40] Van Esch H, Bauters M, Ignatius J, et al. Duplication of the MECP2 region is a frequent cause of severe mental retardation and progressive neurological symptoms in males[J]. *Am J Hum Genet*, 2005, 77(3): 442-453.
- [41] de Jong A, Dondorp WJ, Frints SG, et al. Advances in prenatal screening: the ethical dimension[J]. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(9): 657-663.

编辑:邹刚

(收稿日期:2013-09-23)