

# 基因组光学图谱技术在产前诊断中的应用

刘康<sup>1\*</sup> 孙璐鑫<sup>2</sup> 纪利<sup>1</sup>

1. 山东省济宁市第一人民医院 产科, 山东 济宁 272000; 2. 山东省第一医科大学(山东省医学科学院) 研究生部, 山东 济南 250000

**【摘要】** 在产前诊断工作中,染色体结构变异(structural variations, SVs)是导致胎儿发育异常的重要原因。近年来,基因组光学图谱技术(optical genome mapping, OGM)在产前诊断中的应用逐渐显现其优势,与传统技术相比,OGM可一次性检测全基因组范围内的结构和数目异常,包括染色体非整倍体、插入、缺失、重复、倒位、平衡易位以及复杂结构变异等,对于罕见单遗传病致病基因筛查、特定动态突变疾病同样有着巨大潜力,其具有高分辨率、全面的检测能力以及对断点的精细化分析的特点,填补了 Kb 级别到 Mb 级别的结构变异检测的空白。对基因组结构变异检测具有重大应用价值,本文综述了 OGM 的检测原理、方法及其与传统产前诊断方案的对比,并探讨了其在疾病相关 SVs 诊断中的应用,旨在为 OGM 在产前诊断领域的研究提供参考。

**【关键词】** 基因组光学图谱;染色体;微缺失/重复

**【中图分类号】** R715.5 **【文献标识码】** A

基因组光学图谱技术(optical genome mapping, OGM)是一种新型的超长单分子检测技术,通过对超高分子量 DNA(ultra-high molecular weight, uHMW)进行荧光特异性标记及线性化高分辨率成像,构建全基因组物理图谱<sup>[1]</sup>。OGM 以其大于 230 kb 的长读长,能够在单次检测中识别多种主要类型的 SVs,其最高分辨率可达 500 bp<sup>[2]</sup>。国际上已有大量回顾性研究评估 OGM 在产前诊断中的检测效能,但国内相关研究相对较少,尤其是大样本前瞻性研究。部分国内学者分析认为,OGM 在未涉及着丝粒的染色体变异检测中,其效能与常规方法相当<sup>[3]</sup>。本文探讨了 OGM 在产前诊断中的应用可行性,分析了其在各类染色体变异检测中的检测效能及优劣势。

## 1 产前诊断常用染色体结构变异检测方案及对比

SVs 是指基因组基因结构中的显著差异(通常大于 100 bp),包括拷贝数变异(copy number variation, CNV)和不改变基因组区域拷贝数的变

异,如倒位、平衡易位等<sup>[4]</sup>。目前,产前诊断中的主要临床检测方法包括染色体核型分析(karyotype analysis, KA)、荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)、单核苷酸多态性微阵列芯片(single nucleotide polymorphism arrays, SNP array)、染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)、基于二代测序(next generation sequencing, NGS)的基因组拷贝数变异测序(copy number variation sequencing, CNV-seq)、全外显子测序(whole exome sequencing, WES)和全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)等<sup>[5]</sup>。每种方法都有其独特的应用优势,具体分析如下:

1.1 染色体核型分析 作为诊断胎儿染色体结构异常的经典细胞学方法,广泛应用于产前诊断。它能识别染色体的数目异常或结构异常(如易位、倒位、缺失、重复等),且成本较低<sup>[6]</sup>。然而,染色体核型分析需要细胞培养,操作流程繁琐、周期长,且分辨率有限,难以检测 5~10 Mb 以下的染色体结构畸变<sup>[7]</sup>。

1.2 FISH 技术 是一种细胞水平上的分子分析

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2025.02.009

\* 通信作者:刘康, E-mail: liukang8887@126.com

技术,主要用于隐性易位/倒位及验证标记染色体等<sup>[1]</sup>。它能够检测低拷贝数的目标序列,并具有高序列特异性。通过使用不同颜色的荧光探针,可同时检测多个目标序列。然而,定量分析较为困难,且探针设计和制备较为复杂,成本较高,且无法检测未知位置及探针区域外的变异。

1.3 SNP array 技术 是一种基于单核苷酸多态性(SNP)的基因检测技术,能通过检测 DNA 中的 SNP 位点来确定基因型,在遗传病诊断、肿瘤基因组学、药物基因组学、法医学等多个领域应用广泛。除了能够检测 CNV,还可检测单亲二倍体(uniparental disomy, UPD)、杂合性缺失(loss of heterozygosity, LOH)和三倍体及一定水平的嵌合体,但对未知突变无法检测。此外,每次检测的样本数量和位点数有限,限制了其在大规模多样本研究中的应用<sup>[8]</sup>。

1.4 CMA 技术 近年来,CMA 技术逐渐发展,现已成为产前诊断中 CNV 的首选方法,分辨率达到 30 kb。它能检测染色体微缺失和微重复,并精确定位,提供准确的染色体异常信息。且无需细胞培养,适用于血液、羊水和绒毛膜绒毛样品,但不能检测拷贝数无异常的染色体结构异常(如平衡易位、罗伯逊易位、倒位、平衡插入)、点突变、串联重复序列扩增

导致的遗传病(如脆性 X 染色体综合征)及三倍体以上的多倍体<sup>[9]</sup>。

1.5 CNV-seq 技术 基于全基因组测序,CNV-seq 能够检测非整倍体、大片段缺失/重复及全基因组 CNVs。其优势在于广泛的检测范围和高通量,适合大规模筛查和临床应用。虽然其检测分辨率高、速度快且不依赖于探针密度,但仍无法检测染色体的平衡性异常,且经济性仍有待提高<sup>[10-11]</sup>。

1.6 OGM 技术 是一种高分辨率构建全基因组限制性内切酶图谱的方法,能够提供精确的 SVs 分析,并生成全基因组光学图谱进行对照。OGM 可以一次性检测多种结构变异,如小片段插入、缺失、拷贝数变异、平衡易位、倒位等,还能检测隐匿型平衡易位及复杂染色体重排等未知变异<sup>[12]</sup>。还能够识别非整倍体、微缺失、微重复、大型 CNV(>10 Mb)、等臂染色体、双着丝粒染色体、串联重复、四倍重复、复杂结构重排、纯合性区域和融合基因等<sup>[13]</sup>。此外,OGM 具有 500 bp 的高分辨率,能够精确定位变异断点,其标记信号覆盖全基因组约 5 万个位置<sup>[14]</sup>。作为新一代细胞遗传学技术,与传统产前诊断方案相比,OGM 在分辨率、检测范围和准确性上具有独特优势,使得它在实际应用中更为高效和可靠。具体对比如下(见表 1)。

表 1 染色体结构变异检测方法对比

类型	核型分析	FISH	CMA	CNV-seq	OGM
覆盖度	全基因组	单基因组	非连续全基因组	全基因组	全基因组
分辨率	5~10Mb	100kb~1Mb	30Kb	50Kb	500bp
非整倍体	√	×	√	√	√
三倍体	√	部分	√	√	√
环状染色体	>5~10Mb	√	×	×	>500Kb
缺失	>5~10Mb	√	>50Kb	√	>500bp
重复	>5~10Mb	√	>50Kb	√	>30Kp
插入	>5~10Mb	√	×	×	>500bp
倒位	>5~10Mb	×	×	×	>30Kp
平衡易位	>5~10Mb	×	×	×	>500bp
嵌合比例(%)	5	0.5	>30	25~70	2
动态突变	×	×	×	×	>500bp
AOH	×	×	√	√	>25Mb
细胞培养	需要	不需要	不需要	不需要	不需要
周期	2~3w	2~3d	3~5d	5~7d	3~5d

注:√:在检测范围;×:不在检测范围。

## 2 OGM 技术原理及步骤

### 2.1 OGM 技术原理<sup>[15]</sup>

#### 2.1.1 荧光标记 使用 DLE1 酶对超长片段 DNA

(>150kb)中的 CGTAAG 序列进行荧光标记,平均每 6kb 标记 1 个荧光分子。

#### 2.1.2 电泳与成像 标记后的 DNA 通过纳米孔道电泳,并进行荧光采集。荧光信号的间距反映了

标记序列在 DNA 分子中的分布,并将其映射到参考基因组。

2.1.3 分辨率提升 OGM 在人类基因组上标记的荧光位点约 50 万个,相对于 500 条带染色体核型分析,分辨能力提高约 1000 倍,可达到基因和外显子水平。

## 2.2 OGM 技术步骤<sup>[16]</sup>

2.2.1 超长分子 DNA 提取 从样本中提取高分子量 DNA,提取长度在 100kb 至数 Mb 之间的 DNA 分子。

2.2.2 特异荧光标记和 DNA 骨架染色 利用荧光转移酶 DLE-1 识别 DNA 上 CTTAAG 碱基序列,并用 DL-Green 荧光基团标记该序列位置。同时,使用蓝色染料对双链 DNA 分子骨架进行染色。

2.2.3 固定与拉直 将标记过的 DNA 分子载入 Saphyr 芯片,并在电泳低压电场作用下使其通过纳米通道阵列卷曲的 DNA 分子拉直。

2.2.4 光学成像 使用高分辨率荧光显微镜进行荧光成像,获得一系列带有荧光信号的长片段蓝色 DNA 分子图像。

2.2.5 图谱构建 利用光学成像技术对标记的 DNA 分子进行检测,生成基因组图谱。

2.2.6 光学图谱组装及数据分析 将所得图像与参考基因组序列进行比对,从而实现 CNV 和 SV 的检测。

## 3 OGM 技术对于染色体结构变异的效用

近年来,产前诊断中常使用联合检测方案,如 KA+CNV-seq 或逐步检测方案,这无疑增加了检测周期和成本。随着 OGM 技术在国内外的广泛研究,其在遗传病领域的优势逐渐凸显,成为遗传性疾病诊断的新思路和方法。在产前诊断中,越来越多的研究开始应用 OGM 技术。例如,许伊云等<sup>[17]</sup>对 60 例因软指标异常进行羊膜腔穿刺的病例进行了分析,采用 CMA 联合核型分析作为对照,并进行了 OGM 检测。结果表明,OGM 与 CMA 联合核型分析在非整倍体、CNV 和三倍体的检测效能相当,且 OGM 额外检出 6 例染色体微重复,明确了重复插入的位置及方向,还发现 2 例(3.3%)隐匿性易位。此外,郝娜等<sup>[18]</sup>对 10 例染色体核型检测异常的样本进行了 OGM 检测,并通过 FISH、SNP array 芯片或 CNV-seq 进行验证。结果显示,OGM 与传统

技术的检测结果一致,且能够精确定位断裂点位置,明确重复或插入片段的方向。然而,有 1 例断裂和重接位点位于着丝粒的易位样本未被检出。另一项研究<sup>[1]</sup>分析了 114 例经过 KA、FISH 和 CMA 检测的羊水样本,OGM 共鉴定出 101 个畸变,其中包括 29 个中间/末端缺失,28 个重复,26 个非整倍体,6 个杂合缺失(Allele Homozygosity, AOH),3 个三倍体,4 个等臂染色体,1 个易位。OGM 与传统细胞遗传学方法对多种类型的染色体变异(非整倍体、三倍体、缺失、重复、易位、等臂染色体、标记染色体和 AOH)的检测结果完全一致,同时 OGM 还额外检测出了 64 个 SVs,在这 64 个 SVs 中,有 26 个影响常染色体显性遗传的基因,而 22 个影响常染色体隐性遗传的基因。疾病/综合征包括无精子症、智力残疾、klippel-feil 综合征、脊髓小脑共济失调等,该研究表明 OGM 具有检测所有类型 SVs 的独特能力,包括非整倍体、缺失、重复、平衡和不平衡易位(易位、倒置和插入)、AOH 区域和三倍体。

基因组光学图谱技术作为一种新型分子检测方法,不仅能够发现拷贝数变异等非平衡性结构变异,还能检测易位、倒位等平衡性结构变异。更为重要的是,OGM 能够精确定位断裂点、确定重复或插入片段的方向,并明确重排模式和断点位置。这些优势使 OGM 有望成为 CMA 联合核型分析的可靠替代方案。然而,OGM 技术的局限性也较为明显,主要来源于该技术在长片段 DNA 分子上标记的特定荧光序列与人类基因组参考序列的差异。具体来说,OGM 在分析人类参考基因组中的空白区域(如染色体的端粒、着丝粒、D 组或 G 组染色体的短臂,以及常见的异染色质区域)时,可能导致漏诊<sup>[19]</sup>。因此,在产前诊断中,仍应考虑将 OGM 与其他检测方法联合使用。

## 4 OGM 技术对于罕见单遗传病致病基因筛查

在产前诊断中,当胎儿出现结构异常且传统细胞遗传学方法无法明确致病机制时,通常会提供 WES 检测方案,尽管这会增加检测周期和经济负担。然而目前罕见单基因疾病的诊断主要依赖于全外显子组或全基因组测序(WES/WGS),其诊断率为 26%~40%<sup>[20]</sup>。但由于 WES/WGS 依赖于短读长测序,其片段较短,无法全面覆盖染色体结构变异,可能遗漏关键的致病变异。而且 WES 仅覆盖

基因组的编码区,非编码区的覆盖较为薄弱,尤其在解析重复序列和高同源区域时存在困难。相比之下,OGM 技术能够有效识别 500bp 以上的插入和缺失变异,相对于短读长技术容易遗漏的变异,尤其是平衡性变异(如倒位、异位)所导致的单基因变异,OGM 技术能增加检出率,对于复杂变异(如复合杂合突变、染色体复杂重排)也有一定的解析能力,且能进行全基因组范围内的结构变异检测,包括非编码区的大片段异常,并精确定位结构变异的断裂点。因此,OGM 能够显著提高对罕见单基因疾病的诊断率。然而,OGM 的检测能力受标记信号的影响,且无法识别碱基序列,因此无法进行单核苷酸变异(single nucleotide variation, SNV)的诊断。为克服这一局限,部分学者提出将 OGM 与二代测序技术联合使用,以扩展检测范围并提高罕见遗传变异的检出率,从而为变异致病性评估提供更全面的信息。尽管如此,联合二代测序增加了产前诊断的时间和成本,影响了时效性。在此背景下,Shieh 等<sup>[21]</sup>开发了一种全基因组分析(full-genome analysis, FGA)方法,对 50 例遗传诊断未明的临床样本进行了分析。FGA 报告了 20 个诊断病例,诊断率为 40%。其中,8 例来自外显子诊断未明的病例(4 例为外显子测序遗漏的结构变异,3 例为缺乏注释的 SNV/Indels,1 例为疑似嵌合体的 Indel),诊断率为 35%。另外,12 例来自未经外显子诊断的病例,诊断率为 44%。该研究结合了长跨度组装、全基因组测序和光学作图,能够检测基因组上的小变异,并在断点分辨率上检测结构变异,进一步验证了 OGM 在罕见遗传病诊断中的潜力。

## 5 OGM 技术对于嵌合体疾病的诊断

OGM 技术在检测基因组结构变异方面具有高分辨率,但在嵌合体检测上可能存在局限。理论上,OGM 通过算法可以对嵌合体比例进行诊断,但由于其数据反映的是大量细胞的平均水平,无法像核型分析或 FISH 那样精确查看单个细胞的异常。因此,对于特殊比例的嵌合体(如 47,XXX/45,X 比为 1:1)以及低比例的嵌合体,OGM 可能存在漏诊风险。谢敏等的研究<sup>[13]</sup>分析了 204 例病例,结果表明,OGM 在检测非整倍体、微缺失/微重复和不平衡重排方面与 CMA 的检测结果一致性达 100%。然而,有 9 例 SVs 未能被 OGM 检测到,其中 2 例为

嵌合型非整倍体,OGM 未能识别。这表明,OGM 在低水平嵌合体检测方面的能力仍需进一步提升。

## 6 特定动态突变疾病的诊断

OGM 技术在动态突变疾病的诊断中展现了显著的优势,特别是在面肩肱型肌营养不良(facioscapulohumeral muscular dystrophy, FSHD) I 型和脆性 X 综合征(fragile X syndrome, FXS)全突变诊断中具有潜力。FSHD 是一种常染色体显性遗传病,由染色体大片段重复序列缺失或基因突变导致的,可分为两型,其中 FSHD I 型约占 95%,FSHD II 型约占 5%。FSHD I 型主要由 4q35.2 区域 D4Z4 重复序列的缺失或基因突变引起<sup>[22]</sup>。

传统的 FSHD I 型诊断依赖于 Southern 印记杂交技术,尽管该方法能够识别 D4Z4 区域的突变,但其依赖高技术水平且只能进行半定量分析。相比之下,OGM 技术通过独特的标记带型,可以清晰直观地显示 4qA 和 4qB 单体型,并能够识别嵌合现象,准确定位 D4Z4 序列的收缩情况,甚至在 4qA 单体型上发现不同的 D4Z4 收缩单位。这使得 OGM 成为 FSHD I 型诊断的有力工具<sup>[23]</sup>。FXS 是一种 X 连锁显性遗传病,主要由 FMR1 基因内的(CGG)<sub>n</sub> 重复序列扩展及其上游 CpG 岛异常甲基化导致。传统的 FXS 诊断方法多依赖分子遗传检测,但由于 FMR1 基因结构和遗传模式的特殊性,诊断具有挑战性。OGM 技术通过测量 FMR1 基因组上相邻标记的距离,可以准确判断重复序列的扩展情况,提供重复次数的估计、重复次数大于 200 的概率、可信区间及该区域的分子覆盖深度,从而减少单独进行脆性 X 检测的需求<sup>[24]</sup>。尽管目前 OGM 在 FXS 诊断中的应用报道较少,但其广泛的检测范围和高精度的优势,使其有望成为该类疾病诊断的新方案。

## 7 总结与展望

OGM 技术作为一种全新的超长单分子 DNA 检测分析技术,相较于传统方法具有明显优势。其高分辨率、全面的检测能力及对断点的精细化分析,使其能够一次性检测多种染色体结构异常,尤其在隐匿性染色体重排变异的检测中表现出独特优势。OGM 显著提高了检测效率,扩大了检测范围,有望成为产前诊断中 CMA 联合核型分析的可靠替代方案。然而,OGM 技术也存在一些局限。目前,其在

染色体端粒区、着丝粒及异染色质区的检测仍然不足,无法准确识别断裂点位于着丝粒等空白区域的平衡性结构变异。此外,OGM在罕见单基因遗传病致病基因筛查中对小规模点突变和小拷贝数变异(如几千碱基以下的变异)的检测能力有限,因此仍需配合额外的检测手段。同时,OGM的成本较高,对标本要求较高,且在产前诊断中的应用研究尚不充分,其检测效能和稳定性仍需进一步的研究数据支持。

#### 参 考 文 献

- [1] SAHAJPAL N S, MONDAL A K, FEE T, et al. Clinical validation and diagnostic utility of optical genome mapping in prenatal diagnostic testing[J]. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 2023, 25(4): 234-246.
- [2] ZHANG Q, WANG Y, XU Y, et al. Optical genome mapping for detection of chromosomal aberrations in prenatal diagnosis[J]. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 2023, 102(8): 1053-1062.
- [3] 许伊云,张沁欣,季修庆,等. 基因组光学图谱技术在产前诊断中的应用[J]. *临床检验杂志*, 2023, 41(7): 481-485.
- [4] HOLLOX E J, ZUCCHERATO L W, TUCCI S. Genome structural variation in human evolution [J]. *Trends in Genetics*, 2022, 38(1): 45-58.
- [5] 鲍芸,权静,肖艳群. 人类基因组结构变异检测方法及其临床应用[J]. *临床检验杂志*, 2023, 41(5): 355-358.
- [6] LI H, LI Y, ZHANG Y, et al. Evaluation the application of karyotype analysis and chromosome microarray in prenatal diagnosis[J]. *Iranian Journal of Public Health*, 2024, 53(4): 837.
- [7] 马娜,陈静,唐汪澜,等. 拷贝数变异测序技术在流产或引产胎儿亲代染色体易位辅助检测中的应用[J]. *中华妇产科杂志*, 2023, 58(9): 691-696.
- [8] KAMATH V, CHACKO M P, KIRUBAKARAN R, et al. Single nucleotide polymorphism array versus karyotype for prenatal diagnosis in fetuses with abnormal ultrasound: A systematic review and meta-analysis[J]. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2022, 271: 235-244.
- [9] SHREEVE N, SPROULE C, CHOY K W, et al. Incremental yield of whole-genome sequencing over chromosomal microarray analysis and exome sequencing for congenital anomalies in prenatal period and infancy: systematic review and meta-analysis [J]. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, 2024, 63(1): 15-23.
- [10] WAPNER R J, MARTIN C L, LEVY B, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis[J]. *New England Journal of Medicine*, 2012, 367(23): 2175-2184.
- [11] MA N, XI H, CHEN J, et al. Integrated CNV-seq, karyotyping and SNP-array analyses for effective prenatal diagnosis of chromosomal mosaicism [J]. *BMC Medical Genomics*, 2021, 14: 1-12.
- [12] DREMSEK P, SCHWARZ T, WEIL B, et al. Optical genome mapping in routine human genetic diagnostics—its advantages and limitations[J]. *Genes*, 2021, 12(12): 1958.
- [13] XIE M, ZHENG Z J, ZHOU Y, et al. Prospective investigation of optical genome mapping for prenatal genetic diagnosis[J]. *Clinical Chemistry*, 2024, 70(6): 820-829.
- [14] MOORE S, MCGOWAN-JORDAN J, SMITH A C, et al. Genome mapping nomenclature[J]. *Cytogenetic and Genome Research*, 2024, 163(5-6): 236-246.
- [15] 张建林,张俊荣,邓艳,等. 光学基因组图谱分析技术在不良生育史患者遗传学病因分析中的应用[J]. *中华妇产科杂志*, 2024, 59(6): 470-475.
- [16] 权静,肖艳群,卢大儒,等. 基因组光学图谱技术在疾病诊断中的应用与研究[J]. *遗传*, 2025, 47(4): 428-436.
- [17] 许伊云,张沁欣,胡平,等. 基因组光学图谱技术在遗传病诊断中的应用[J]. *现代妇产科进展*, 2023, 32(8): 636-638+640.
- [18] 郝娜,周京,李萌萌,等. 光学基因组图谱技术在染色体结构变异检出的效能及初步应用评估[J]. *中华预防医学杂志*, 2022, 56(5): 632-639.
- [19] SHI S, HUANG P, YAN R, et al. Identification of complex and cryptic chromosomal rearrangements by optical genome mapping[J]. *Molecular Cytogenetics*, 2023, 16(1): 5.
- [20] TILEMIS F N, MARINAKIS N M, VELTRA D, et al. Germline CNV detection through whole-exome sequencing (WES) data analysis enhances resolution of rare genetic diseases[J]. *Genes*, 2023, 14(7): 1490.
- [21] SHIEH J T, PENON-PORTMANN M, WONG K H Y, et al. Application of full-genome analysis to diagnose rare monogenic disorders[J]. *NPJ Genomic Medicine*, 2021, 6(1): 77.
- [22] GURUJU N M, JUMP V, LEMMERS R, et al. Molecular diagnosis of facioscapulohumeral muscular dystrophy in patients clinically suspected of FSHD using optical genome mapping[J]. *Neurology: Genetics*, 2023, 9(6): e200107.
- [23] HUANG M, ZHANG Q, JIAO J, et al. Comprehensive genetic analysis of facioscapulohumeral muscular dystrophy by Nanopore long-read whole-genome sequencing[J]. *Journal of Translational Medicine*, 2024, 22(1): 451.
- [24] 蒋祝,谭建新,谭娟,等. 脆性X综合征遗传学诊断方法研究进展[J]. *检验医学*, 2024, 39(2): 107-113.

(收稿日期:2025-04-18)

编辑:曲晓星