

• 临床检验研究论著 •

## 应用 aCGH 技术检测额外小标记染色体\*

马 聪, 占 杰, 马梦亚, 夏炎枝<sup>△</sup>

(华中科技大学生命科学与技术学院, 湖北武汉 430074)

**摘 要:**目的 探讨联合运用核型分析和微阵列比较基因组杂交(aCGH)技术在检测胎儿额外小标记染色体致病性中的临床价值。**方法** 通过染色体 G 显带技术进行胎儿羊水细胞核型分析,对诊断出的 1 例胎儿携带小标记染色体(染色体核型为 47, XY, +Mar)标本进行 aCGH 分析,通过全基因组高分辨率扫描确定小标记染色体的大小及具体来源区域。**结果** aCGH 分析结果显示该胎儿染色体在 15q11.1-q11.2 区带存在 2.03 Mb 的重复。**结论** aCGH 技术能够在基因组水平上确定额外小标记染色体的来源和具体区域范围,结合传统的核型分析技术,可以为判断标记染色体的遗传学效应和产前诊断提供帮助。

**关键词:**微阵列比较基因组杂交技术; 额外小标记染色体; 产前诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.08.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)08-0952-02

## Application of aCGH technology in diagnosing small supernumerary marker chromosome\*

Ma Cong, Zhan Jie, Ma Mengya, Xia Yanzhi<sup>△</sup>

(College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430074, China)

**Abstract:**Objective To explore the clinical application of array comparative genomic hybridization (aCGH) and karyotype analysis in the prenatal evaluation of fetal with small supernumerary marker chromosome (SSMC). **Methods** One case was indentified with de novo small supernumerary marker chromosome. G-banding analysis indicated that the fetus had a karyotype of 47, XY, +Mar. aCGH was used to define the precise location and size of de novo chromosome. **Results** aCGH revealed that there was 2.03 Mb duplication from 15q11.1-q11.2 in the fetus. aCGH revealed the presence of small supernumerary marker chromosome. **Conclusion** The technologies of aCGH can be used for identifying the origin of small supernumerary marker chromosome and defining the loci of the chromosome. Combined with the karyotype analysis, it can be applied to genetics analysis and prenatal diagnosis.

**Key words:** aCGH technology; small supernumerary marker chromosome; prenatal diagnosis

额外小标记染色体(sSMC)是指通过常规细胞遗传学显带技术可以辨认,但无法确定结构,大小通常等于或小于同一分裂相 20 号染色体片段<sup>[1]</sup>。在胎儿中, sSMC 的发生率为 0.075%,在新生儿中为 0.044%,在智力低下儿中为 0.3%,不孕不育和不良生育史人群中为 0.171%<sup>[2]</sup>。sSMC 的表型效应,取决于它的来源、片段大小和常染色质所占比例。由于 sSMC 本身形态结构异常,无法用传统 G 显带技术判断其来源,在对于 G 显带发现的 sSMC 的诊断和遗传咨询中,临床工作者常加做 C 显带和微阵列比较基因组杂交(array comparative genomic hybridization, aCGH)检测,以鉴定其染色体的来源和片段大小,分析其表型效应。

基因组拷贝数变异(CNVs)是指与基因组参考序列相比,基因组中大于 1 kb 的 DNA 片段插入、缺失和(或)扩增,及其互相组合衍生出的复杂变异及染色体畸变等<sup>[3]</sup>。最近的研究表明在许多人类疾病(如遗传性疾病、肿瘤、糖尿病及心血管疾病)的发生和发展中 CNVs 起了重要作用<sup>[4]</sup>。

许多细胞遗传分析技术,如染色体显带技术(G 显带及 C 显带等)、荧光原位杂交(FISH)和比较基因组杂交(CGH)等都能用于 sSMC 和 CNVs 的检测,但这些技术有其各自的局限,限制了其在临床上的应用。例如:染色体显带技术由于分辨率低,难以检测亚显微的 CNVs,更难以确定 sSMC 和 CNVs 的大小和断裂点;FISH 则因探针的限制,检测的位点非常有限;CGH 由于通量低、杂交区域少、灵敏度不够,仅能对有限的基因组位点进行分析,无法对整个基因组进行筛查。最近,得益

于人类基因组工程(HGP)的完成、DNA 微阵列平台的出现,以及计算机科学和光电化学的进步, aCGH 作为一种新型的细胞遗传分析方法,为细胞遗传诊断和研究提供了一个新的平台。与传统的 CGH 相比, aCGH 用吸附于固体载体(如玻片)上的大量 DNA 探针取代了中期染色体,杂交区域、通量和灵敏度都达到了空前的高度。因此,一次 aCGH 检测相当于对基因组同时进行了成千上万个独立的 FISH。aCGH 的出现,使 sSMC 和 CNVs 的检测分析成为可能。本研究应用 aCGH 成功对 1 例羊水细胞来源的 sSMC 进行了产前诊断。

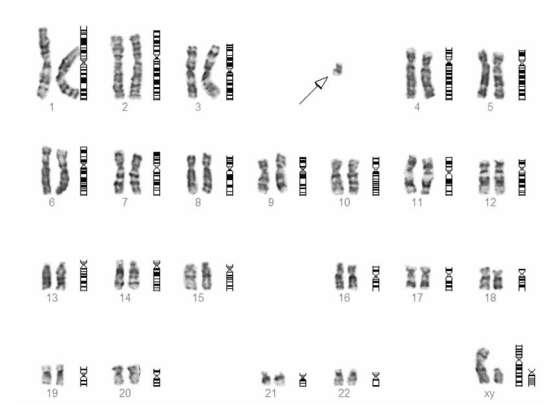
## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 孕妇, 29 岁, 博士在读, 丈夫为高校教师, 双方常规体检均未见异常。因孕 21 周, 唐氏筛查高风险(1:90)来本院行羊水穿刺检查, 经细胞培养, G 显带检测, 显示胎儿染色体核型为 47, XY, +Mar。见图 1。因 G 显带核型分析无法确定 sSMC 的来源, 遂查其夫妻双方外周血染色体, 结果均正常, 排除平衡易位可能。为确定胎儿 sSMC 的来源, 遂行夫妻双方外周血及羊水细胞 aCGH 检查。

**1.2 全基因组 DNA 提取** 抽取夫妻双方外周血及孕妇羊水, 根据外周血及羊水基因组 DNA 提取试剂盒(武汉奥特公司)说明书抽提基因组 DNA 并测定 DNA 浓度。

**1.3 aCGH 检测** 选用 Human Cyto Bead Chip Kits(Illuminate 公司, 美国)芯片, 对 3 份标本进行比较基因组杂交, 该芯片分辨率为 50 kb。采用 iscan 扫描系统进行数据采集, 结果采用 Karyostudio(美国 Illuminate 公司)软件进行分析。

\* 基金项目:国家基础学科人才培养基金(J1103514);华中科技大学 2013 年大学生创新基金项目(2013 年第二批-184)。 作者简介:马聪,男,本科三年级在读,主要从事细胞和分子生物学研究工作。 <sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: bioxia@163.com。



箭头所示为 sSMC。

图 1 胎儿染色体核型图(×1 000)

## 2 结 果

孕妇及其丈夫的 aCGH 检测结果均未见异常,胎儿羊水细胞 aCGH 检测提示:15 号染色体长臂存在 2.03 Mb 重复(q11.1-q11.2),CNVs 数据库显示此区段重复为健康人染色体多态性。检测结果没有发现其他更大片段的重复,见图 2(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。因光镜下可见的 sSMC 肯定大于 2.03 Mb,所以,Marker 染色体不是全部来源于常染色质区,而是一部分来源于常染色质区(15 号染色体长臂 q11.1-q11.2),另一部分来自于异染色质区(芯片探针未覆盖的区域)。

来自异染色质区的 Marker 染色体通常是不致病的,而常染色质区 15q11.1-q11.2 的重复也是健康人染色体的多态性,结合核型分析结果和各项产检结果,作者判断:此胎儿的遗传物质无致病性异常,出生后表型应无异常。

## 3 讨 论

标记染色体在细胞遗传学分析中能识别其存在,但由于传统的核型分析技术(G 显带及 C 显带等)无法识别其来源,所以必须依靠其他分子细胞遗传学技术以明确诊断,如 BACs-on-Beads 技术、多重连接介导的探针扩增技术(MLPA)、光谱核型分析技术(spectral karyotyping, SKY)、aCGH 技术等<sup>[5-7]</sup>。本例中,应用 aCGH 技术对 sSMC 进行检测。

aCGH 结合了比较 CGH、微阵列芯片技术(micro-array)的优势,能够在整个基因组范围内检测出染色体不平衡,包括染色体非整倍体、微缺失和微重复。它的原理与 CGH 技术相似,但其最大的特点是将基因芯片替代了中期核染色体,这使 aCGH 技术的分辨率可达 50 kb,而 CGH 技术最大分辨率为 5~10 Mb,二者的灵敏度相差 100 倍。aCGH 能把成千上万个分散的位点整合在一张可以同时分析的微阵列芯片上,相当于同时进行了成千上万个独立的 FISH。目前检测染色体微缺失的芯片一般用分辨率为 50 kb,含有 6 万条探针的 aCGH 芯片。好的芯片在检测有临床意义的染色体非平衡改变有很高的敏感性。在产前诊断领域,aCGH 技术将成为确定染色体异常首选的诊断方法,因为它对于遗传物质不平衡改变的患者有非常高的检出率<sup>[8-9]</sup>。目前在产前诊断领域,常用的方法是羊水细胞的核型分析和 FISH。较之核型分析,aCGH 方法的优势在于分辨率高和报告周期短。由于 aCGH 技术无需细胞培养,故没有培养过程中污染和培养可能导致突变的隐患。

人类基因组中拷贝数的复制或丢失十分常见。基于 aCGH 的高分辨率,越来越多的 CNVs 将被发现,在产前诊断

的过程中,要分辨这些 CNVs 是单纯多态性还是存在致病性<sup>[10]</sup>。在既往的产前诊断中,对 sSMC 胎儿的预后评估比较困难,其结果常导致不适当的终止妊娠<sup>[11-12]</sup>。对于本例诊断出的染色体重复,通过对 Genomic Variants 数据库的查询得知,该区段的重复一部分是健康人染色体的多态性,另一部分为异染色质区域。结合核型分析结果和各项产检结果,作者得出的判断是:此胎儿的遗传物质无致病性异常,出生后表型应无异常。现该幼儿已满 6 个月,在本院儿内科各项体检结果均未见异常。

本研究应用传统 G 显带染色体核型分析技术以及 aCGH 技术对 1 例 sSMC 进行了分析,染色体核型分析证实 sSMC 的存在,aCGH 技术检测结果显示小标记染色体来源于不致病的染色质区。

综上所述,传统的细胞遗传学技术(细胞培养、核型分析)及 FISH 技术已不能满足日益复杂的病例检测需要,新的分子技术在诊断 sSMC 病例上具有快速、准确的特点,有利于指导遗传学分析和产前诊断。

## 参考文献

- [1] 文娟,梁德生,廖希,等. 2 例 Turner 综合征患者微小额外标记染色体来源鉴定[J]. 中华医学遗传学杂志,2009,26(6):5.
- [2] Liehr T, Ewers E, Kosyakova N, et al. Handling small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnostics[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2009, 9(4):317-324.
- [3] Lee C, Iafrate J, Brothman R. Copy number variations and clinical cytogenetic diagnosis of constitutional disorders[J]. Nat Genet, 2007, 39(7 Suppl):S48-54.
- [4] Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, et al. Global variation in copy number in the human genome[J]. Nature, 2006, 444(7118):444-454.
- [5] 廖灿,潘敏,李东至,等. 光谱核型分析技术在标记染色体诊断中的应用[J]. 中华妇产科杂志,2008,43(5):321-324.
- [6] Van Opstal D, Boter M, Noomen P, et al. Multiplex ligation dependent probe amplification(MLPA) for rapid distinction between unique sequence positive and negative marker chromosomes in prenatal diagnosis[J]. Mol Cytogenet, 2011, 4:2.
- [7] Bi W, Breman AM, Venable SF, et al. Rapid prenatal diagnosis using uncultured amniocytes and oligonucleotide array CGH[J]. Prenat Diagn, 2008, 28(10):943-949.
- [8] Shaffer LG, Bejjani BA. Medical applications of array CGH and the transformation of clinical cytogenetics[J]. Cytogenet Genome Res, 2006, 115(3/4):303-309.
- [9] Taylor KM, Wolfinger HL, Brown MG, et al. Origin of a small metacentric chromosome: familial and cytogenetic evidence[J]. Clin Genet, 1975, 8(5):364-369.
- [10] Friedman JM, Baross A, Delaney AD, et al. Oligo nucleotide microarray analysis of genomic imbalance in children with mental retardation[J]. Am J Hum Genet, 2006, 79(4):500-513.
- [11] 张菁菁,李瑞,李定远,等. 应用 MLPA 技术和 aCGH 技术检测额外小标记染色体[J]. 南京医科大学学报:自然科学版,2013,33(2):201-205.
- [12] 刘晗,李东至. 分子细胞遗传学技术应用于产前诊断的新进展[J]. 中国产前诊断杂志,2010,2(3):27-30.