· 个案分析 ·

利用下一代测序进行的罗氏易位携带者 1 例遗传学诊断*

邓　庆[1], 马　健[2]

(1. 锦江生殖成都西囡妇科医院检验科, 四川成都 610000; 2. 四川锦欣妇女儿童医院检验科, 成都 610000)

关键词: 遗传筛查;　植入前诊断;　染色体;　胚胎结构;　病例报告

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.10.032　　**中图法分类号:** R596.1; R394-33

文章编号: 1673-4130(2019)10-1276-05　　**文献标识码:** C

罗氏易位指 2 个近端着丝粒染色体在着丝处或其附近断裂后融合成为 1 个染色体, 导致染色体数减少, 长臂数不变, 短臂数减少 2 条的现象。罗氏易位发生在 5 条近端着丝粒染色体(13、14、15、21、22 号染色体)上, 罗氏易位携带者只有 45 条染色体, 缺少 1 条染色体[1]。其人群携带率为 1.23/1 000, 占不孕人群的 2%～3%[2]。

一般而言, 发生罗氏易位的 5 条染色体短臂的丢失不会对个体发育产生严重影响。虽然表型正常, 由于在第 1 次减数分裂过程中罗氏易位携带者生殖细胞易位染色体和相应 2 个正常染色体配对会形成 3 价染色体, 这种结构会导致交替、邻式和不常见 3∶0 3 种分裂方式的出现[3]。只有交替可产生正常或平衡的配子, 其他 2 种方式产生非平衡的配子, 一旦罗氏易位携带者与健康者婚配, 这种占大部分的非平衡配子可能会导致易位携带者出现妊娠困难或妊娠过程中反复流产, 甚至会导致 21-三体综合征、13-三体综合征等先天缺陷患儿的出生[4]。

罗氏易位是导致不孕及妊娠质量不高的一种家族遗传性疾病[5]。本研究选取一对有过胚胎停育和自然流产史、女方属高龄产妇、男方携带罗氏易位衍生染色体的夫妇, 通过对其体外受精得到的胚胎进行胚胎植入前遗传学检测, 通过一定的分析方法进行比对验证从而挑选出正常合适的胚胎进行移植, 可避免临床上罗氏易位携带者异常胚胎植入后的选择性终止妊娠, 大幅度降低了妇女身心痛苦和妊娠失败风险, 阻断罗氏易位疾病的垂直传播[6]; 减轻社会和家庭负担。

1　资料与方法

1.1　样本来源　女方 37 岁, 1 次胚胎停育, 3 次自然流产。男女双方染色体核型分析: 女方核型正常, 男方罗氏易位携带 45, XY, -13, -14, +Rob(13∶14)。申请胚胎植入前遗传学筛查(PGS)技术助孕, 采用促排卵方案后采卵 1 次, 体外受精得到囊胚 4 枚, 通过胚胎活检对 4 个囊胚期滋养外胚层细胞进行采样同时采取夫妻双方外周血基因组样本, 通过达瑞生殖 PGS 检测筛查出染色体不平衡胚胎, 并经伦理学审查和达瑞生殖技术性手段胚胎植入前遗传学诊断(PGD)来检测与构建受检胚胎的单体型。

1.2　仪器及耗材　REPLI-g® single Cell Kit(24)购自 QIAGEN 企业管理(上海)有限公司, Ion Ampliseq™ Library Kit 2.0 购自美国 life 公司, Agencourt AMPure XP 购自美国 BECKMAN 公司, Qubit™ dsDNA HS Assay Kit 购自美国 Life 公司, KAPA SYBR® FAST Universal qPCR Kit 购自美国 KAPA 公司, PCR 扩增反应试剂购自日本 TaKaRa, 所有引物合成自美国 invitrogen 公司, 测序试剂均购自美国 life 公司。Qubit® 3.0 Fluorometer 荧光计购自美国 Life 公司, 定性 PCR 仪(ABI3130)、实时荧光定量 PCR 仪(ABI7500)均购自美国 ABI 公司, DA8600 半导体测序仪购自美国 Life 公司。

1.3　方法

1.3.1　单细胞全基因组扩增　基于准随机引物线性扩增的原理并根据单细胞全基因组扩增试剂盒(REPLI-g® single Cell Kit)说明书对每个囊胚期滋养层细胞进行细胞裂解、预扩增、指数扩增和扩增产物纯化, 产物浓度稀释 10 倍后经荧光定量仪(Qubit 3.0)测浓度。

1.3.2　文库构建　100 ng DNA 经文库构建试剂盒(Ion Ampliseq™ Library Kit 2.0)构建文库 DNA。PCR 特异性扩增目的片段, 在 DNA 片段两端加上通用测序接头, PCR 扩增文库 DNA, 磁珠纯化去除杂质; 文库构建后 Qubit 3.0 测浓度。多重 PCR 所需引物 250 对均用 Ampliseq 网站设计, 由 invitrogen 公司合成。

1.3.3　高通量测序文库 qPCR 定量　根据 Qubit 3.

*　**基金项目:** 成都市卫生和计划生育委员会科研项目(2016046)。

本文引用格式: 邓庆, 马健. 利用下一代测序进行的罗氏易位携带者 1 例遗传学诊断[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(10): 1276-1280.

0 测定的浓度结果，取 2 μL 文库样品稀释至 200 pM。根据实时定量 PCR 试剂盒(KAPA SYBR® FAST Universal qPCR Kit)配制反应总体系。稀释后的文库样品和标准品各取 4 μL 进行定量。反应结束后根据循环数计算每个文库样本的实际浓度。

1.3.4　上机模板制备与测序　根据每个样本测序数据量和测序深度确定文库的混样个数进行模板制备，使用模板制备试剂盒(Ion PGMTM Template OT2 200 kit)制备测序模板；然后进行阳性模板的富集即去除杂质及扩增失败的测序模板；最后使用高通量测序试剂盒(Ion PGMTM Sequencing 200 kit v2)在 PGMTM 测序平台上进行测序。

1.4　数据处理　数据下机后进行生物信息分析。首先对下机的原始数据进行测序质量评估，去除接头序列，通过 Torrent Mapping Alignment Program 软件比对到人类基因组参考序列 hg19 上，通过 samtools 统计覆盖倍数，通过 GATK calling SNP 基因型分析，最后结合家系进行 SNP 连锁分析，对患者样本 13、14 号染色体进行单体型构建，进行结果判定。

2　结　　果

2.1　胚胎测序结果分析　下一代测序(NGS)检测结果汇总见表 1。F 为父亲样本，M 为母亲样本，F1、F2 为父亲样本 13 号染色体的 2 条染色体单体(其中 F1 为父亲携带的 13 号与 14 号发生了罗氏易位的衍生染色体)，M1、M2 为母亲样本 13 号染色体的 2 条染色体单体。1 号胚胎 7 号染色体有 26.12 Mb 的缺失且遗传了父亲的罗氏易位衍生染色体为罗氏易位携带胚胎；2 号胚胎 14 号染色体有 82.99 Mb 的缺失且为染色体不平衡胚胎；3 号胚胎染色体数目正常且没有遗传到父亲的罗氏易位衍生染色体，为正常胚胎；4 号胚胎染色体数目正常且遗传了父亲样本的罗氏易位衍生染色体，为罗氏易位携带胚胎。

2.2　13、14 号染色体单体型构建结果　父、母亲与 4 个受检胚胎 13、14 号染色体单体型构建的结果见表 2、3。遗传了罗氏易位衍生染色体 F1 的 1 号胚胎 13 号染色体上 20 个 SNP 位点与 14 号染色体上 28 个 SNP 位点信息与父亲样本的 F1 染色体相同；而同样遗传了罗氏易位衍生染色体 F1 的 4 号胚胎 13 号染色体上 20 个 SNP 位点与 14 号染色体上 27 个 SNP 位点信息与父亲样本的 F1 染色体相同；说明 1、4 号胚胎的罗氏易位衍生染色体确实来源于父亲。2 号胚胎 14 号染色体只有 1 条染色单体，为染色体缺失；3 号胚胎 13 号与 14 号染色体则遗传了父母双方的正常染色单体。

表 1　4 个胚胎的 NGS 结果汇总

样本	chr13(F1 为衍生染色体)		chr13(F1 为衍生染色体)		PGS 结果	备注
F	F1	F2	F1	F2	45,X,rob(13;14)(q10;q10)	罗氏易位携带
M	M1	M2	M1	M2	46,XX	正常
1	M1	F1	M1	F1	XX,-chr7{q32.3->q36.3(26.12Mb)}	罗氏易位携带
2	M2	F2	M2		XY,-chr14{q11.2->q32.33(82.99Mb)}	
3	M2	F2	M2	F2	XX	正常
4	M1	F1	M2	F1	XX	罗氏易位携带

表 2　13 号染色体单体型构建结果

名称	S17081801-F			S17081801-M			S17081801-1			S17081801-2			S17081801-3			S17081801-4		
	F1		F2	M1		M2	M1		F1	M2		F2	M2		F2	M1		F1
SNP_1	T	;	G	T	;	T	T	|	T	T	|	G	T	|	G	T	|	T
SNP_2	G	;	G	T	;	G	T	|	G	G	|	G	G	|	G	T	|	G
SNP_3	C	;	C	A	;	C	A	|	C	?	|	?	C	|	C	A	|	C
SNP_4	C	;	A	C	;	C	C	|	C	C	|	A	C	|	A	C	|	C
SNP_5	A	;	A	G	;	A	G	|	A	A	|	A	A	|	A	G	|	A
SNP_6	G	;	G	A	;	G	A	|	G	G	|	G	G	|	G	A	|	G
SNP_7	T	;	T	T	;	C	T	|	T	C	|	T	C	|	T	T	|	T
SNP_8	T	;	C	T	;	T	T	|	T	T	|	C	T	|	C	T	|	T
SNP_9	A	;	T	A	;	A	A	|	A	A	|	T	A	|	T	A	|	A
SNP_10	C	;	T	C	;	C	C	|	C	C	|	T	C	|	T	C	|	C
SNP_11	C	;	T	C	;	C	C	|	C	C	|	T	C	|	T	C	|	C
SNP_12	T	;	T	C	;	T	C	|	T	T	|	T	T	|	T	C	|	T

续表 2　13 号染色体单体型构建结果

名称	S17081801-F			S17081801-M			S17081801-1			S17081801-2			S17081801-3			S17081801-4		
	F1		F2	M1		M2	M1		F1	M2		F2	M2		F2	M1		F1
SNP_13	T	:	C	C	:	C	C	|	T	C	|	C	C	|	C	C	|	T
SNP_14	T	:	C	C	:	C	C	|	T	C	|	C	C	|	C	C	|	T
SNP_15	A	:	A	A	:	G	A	|	A	G	|	A	G	|	A	A	|	A
SNP_16	C	:	C	C	:	T	C	|	C	T	|	C	T	|	C	C	|	C
SNP_17	G	:	G	G	:	A	G	|	G	A	|	G	A	|	G	G	|	G
SNP_18	C	:	C	C	:	T	C	|	C	T	|	C	T	|	C	C	|	C
SNP_19	G	:	G	G	:	A	G	|	G	A	|	G	A	|	G	G	|	G
SNP_20	T	:	T	T	:	C	T	|	T	C	|	T	C	|	T	T	|	T

注：S17081801-F 表示父亲样本；S17081801-M 表示母亲样本；S17081801-1 表示 1 号受检胚胎；S17081801-2 表示 2 号受检胚胎；S17081801-3 表示 3 号受检胚胎；S17081801-4 表示 4 号受检胚胎；SNP_1～SNP_20 表示受检样本 13 号染色体上的 1 号 SNP 位点到 20 号 SNP 位点；“:”和“|”分别表示父母样本和子代样本同一条染色体相邻 2 个 SNP 的分隔符，均起到区分作用；“?”表示未知的结果或者是检测到 SND 但无法确定

表 3　14 号染色体单体型构建结

名称	S17081801-F			S17081801-M			S17081801-1			S17081801-2		S17081801-3			S17081801-4		
	F1		F2	M1		M2	M1		F1	M2		M2		F2	M2		F1
SNP_1	G	:	A	A	:	A	A	|	G	A	|	A	|	G	A	|	G
SNP_2	A	:	T	T	:	T	T	|	A	?	|	T	|	T	T	|	A
SNP_3	T	:	C	C	:	C	C	|	T	?	|	C	|	C	C	|	T
SNP_4	T	:	C	T	:	T	T	|	T	T	|	T	|	C	T	|	T
SNP_5	T	:	T	T	:	C	T	|	T	C	|	C	|	T	C	|	T
SNP_6	C	:	T	T	:	T	T	|	C	T	|	T	|	T	T	|	C
SNP_7	A	:	A	A	:	G	A	|	A	?	|	G	|	A	G	|	A
SNP_8	C	:	A	A	:	A	A	|	C	A	|	A	|	A	A	|	C
SNP_9	G	:	G	G	:	C	G	|	G	C	|	C	|	G	C	|	G
SNP_10	C	:	T	C	:	C	C	|	C	C	|	C	|	T	C	|	C
SNP_11	A	:	G	G	:	G	G	|	A	G	|	G	|	G	G	|	A
SNP_12	A	:	A	A	:	G	A	|	A	G	|	G	|	A	G	|	A
SNP_13	G	:	T	G	:	G	G	|	G	G	|	G	|	T	G	|	G
SNP_14	C	:	C	C	:	A	C	|	C	?	|	A	|	C	A	|	C
SNP_15	C	:	A	A	:	A	A	|	C	?	|	?	|	?	A	|	C
SNP_16	A	:	A	T	:	A	T	|	A	A	|	A	|	A	A	|	A
SNP_17	C	:	C	G	:	C	G	|	C	C	|	C	|	C	C	|	C
SNP_18	C	:	C	T	:	C	T	|	C	?	|	?	|	?	?	|	?
SNP_19	C	:	C	C	:	G	C	|	C	G	|	G	|	C	G	|	C
SNP_20	G	:	G	T	:	G	T	|	G	G	|	G	|	G	G	|	G
SNP_21	C	:	T	C	:	C	C	|	C	C	|	C	|	T	C	|	C
SNP_22	C	:	C	T	:	C	T	|	C	C	|	C	|	C	C	|	C
SNP_23	T	:	T	C	:	T	C	|	T	?	|	T	|	T	T	|	T
SNP_24	G	:	A	A	:	A	A	|	G	A	|	A	|	A	A	|	G
SNP_25	C	:	C	C	:	T	C	|	C	?	|	T	|	C	T	|	C
SNP_26	A	:	A	A	:	G	A	|	A	G	|	G	|	A	G	|	A
SNP_27	A	:	T	A	:	T	A	|	A	T	|	T	|	T	T	|	A
SNP_28	T	:	C	T	:	T	T	|	T	T	|	T	|	C	T	|	T

注：S17081801-F 表示父亲样本；S17081801-M 表示母亲样本；S17081801-1 表示 1 号受检胚胎；S17081801-2 表示 2 号受检胚胎；S17081801-3 表示 3 号受检胚胎；S17081801-4 表示 4 号受检胚胎；SNP_1～SNP_20 表示受检样本 14 号染色体上的 1 号 SNP 位点到 20 号 SNP 位点；“:”和“|”分别表示父母样本和子代样本同一条染色体相邻两个 SNP 的分隔符，均起到区分作用；“?”表示未知的结果或者是检测到 SND 但无法确定

3　讨　　论

胚胎植入前遗传学检测是在体外受精-胚胎移植基础上对卵母细胞或种植前胚胎进行活检，利用分子生物学手段进行检测，选择正常或遗传表型正常的胚

胎移植,从而有效降低流产率,提高活产率,避免选择性终止妊娠。

胚胎植入前遗传学检测主要包括 PGS 和 PGD 2 个方面,PGS 是对胚胎 23 对染色体非整倍体异常、微缺失、微重复异常进行筛查,选择没有发生染色体数目和结构异常的胚胎进行移植,有效降低早期流产风险,显著提高临床妊娠率。PGD 是针对不同的病因在胚胎着床之前即对配子或胚胎进行遗传物质分析,选择没有发生染色体数目和结构异常的胚胎进行移植,可有效阻断家族遗传病的垂直遗传。

对染色体罗氏易位携带者进行 PGD 检测,目前已被报道的检测技术主要包括荧光原位杂交技术(FISH)、微阵列比较基因组杂交(aCGH)及 NGS,这些检测技术均在对染色体易位的检测中发挥了重要作用,各有优势,同时,也均具有一定的局限性。

FISH 技术曾是 PGD 主要的遗传学方法之一,用以筛查染色体臂间倒位及易位,判定是否存在嵌合以及染色体异常[7]。其局限性主要表现在由于探针数量或染料种类的限制,FISH 技术无法全面检测 23 对染色体[8];2012、2013 年波兰学者 LUKASZUK 博士分别利用 FISH 技术和 NGS 作为技术手段对一对男方携带有 14、15 号染色体罗氏易位衍生染色体的夫妇进行 PGD 检测辅助生殖,2012 年 1 月进行 FISH 检测挑选后移植,但由于 FISH 技术无法对染色体数目进行全面筛查,所植入胚胎在第 10 个孕周时流产;2013 年 9 月该团队取样 10 枚囊胚期胚胎细胞,采用与本研究同样的 NGS 检测技术,经全基因组扩增利用 Ion PGM 测序仪及其配套 NGS 试剂进行测序,根据分析结果挑选 1 枚健康胚胎移植,成功辅助夫妇诞下一名健康婴儿[9]。说明了 NGS 技术可实现检测胚胎是否携带罗氏易位衍生染色体的同时还对染色体是否发生了非整倍体数目异常进行检测,首先排除会造成流产或先天性出生缺陷的染色体数目异常胚胎,实现更加全面的遗传学检测。

aCGH 技术是与 FISH 相关、能筛查出胚胎染色体数目异常的检测技术,但 aCGH 与本研究中应用的 NGS 在筛查染色体数目异常的准确率方面存在差异,2015 年 YANG 等[10]采用 NGS 技术进行了 79 例植入前遗传学检测,采用 aCGH 进行了 78 例植入前遗传学检测,采用 NGS 检测的流产率为 1.3%,采用 aCGH 检测的流产率为 2.6%;2016 年 NISSON 等[11]将 NGS 和 aCGH 进行了对比研究,结果显示,NGS 准确率为 95%,aCGH 准确率为 87%。故相对于 FISH,本研究采用的达瑞生殖基于 Ion PGM 测序仪在胚胎活检后进行 NGS 的检测方法在罗氏易位携带者检测方面在实现更加全面的检测同时在染色体数目异常检测的准确率方面优于 aCGH 技术,且通过一个配套的实验流程,使用同一套仪器设备能同时达到染色体数目筛查和罗氏易位衍生染色体检测的目的,让 PGD 检测更加全面、精确和便捷。

作为新型罗氏易位携带者 PGD 检测技术,NGS 本身也具有一定的局限性,如因单细胞全基因组扩增(WGA)过程中可能存在的等位基因脱扣有可能造成误诊或漏诊[12]。而本研究在 NGS 的数据分析中结合了核型分析的结果在 13 号染色体区域选了 20 个 SNP 位点、14 号染色体区域上选取了 28 个 SNP 位点进行家系单体型构建,再通过 SNP 连锁分析构建 4 号受检胚胎 13、14 号染色体的单体型,有效避免了等位基因脱扣对检测结果判读的影响;而在 2017 年 XU 等[13]采用同样基于 NGS 检测技术的等位基因映射识别携带者单体型技术对 3 对罗氏易位携带者夫妇的 12 例胚胎先后进行罗氏易位携带者 PGD 检测与分析,对特定区域选取了 6 个 SNP 位点进行连锁分析来构建单体型,其中 2 对夫妇各获得 1 个健康胚胎,进行植入后其中一对夫妇已成功诞下健康婴儿,另一对夫妇成功得到妊娠,羊水穿刺显示核型分析正常。与 2017 年 XU 等[13]研究结果比较,本研究在特定区域选取了更多的 SNP 位点进行连锁分析,能更好地避免等位基因脱扣造成误诊的问题,令胚胎染色体单体型构建可信度更高。

本研究采用 WGA 结合 NGS 和 SNP 连锁分析,通过单体型的构建可推断胚胎 2 条 DNA 链的来源,从而最终确定其是否为正常胚胎。根据本研究 4 个胚胎的检测结果,1、2 号胚胎均存在染色体异常,经构建 13、14 号染色体单体型,进一步进行 PGD 检测,鉴定 1、4 号胚胎均为罗氏易位携带者。由于罗氏易位衍生染色体携带者在表型上和正常核型的人并无差异[14],往往因为其子女患有某种疾病而确诊[15],没有发生染色体数目变异的 3、4 号胚胎均为可正常出生和发育成长的可移植胚胎;但罗氏易位携带者在生育时存在较高风险生出染色体异常的后代,3 号胚胎由于没有携带罗氏易位衍生染色体,故为优质胚胎。最后选择核型正常且没有致病基因携带的 3 号胚胎进行植入,阻断了罗氏易位衍生染色体的垂直遗传,有利于优生优育。

目前,国内外均可见到 NGS 用于 PGS/PGD 的文献报道,但由于当下 PGS、PGD 需对胚胎细胞进行活检取样,这个过程对胚胎本身的损伤也备受争议。近年来,对 PGS 和 PGD 的部分文献还报道了其存在子代安全性[16]及后天发育的问题[17],但目前缺乏这方面的样本积累及研究。近年来,无创胚胎染色体筛查技术已兴起,该技术应用游离在胚胎培养液中的微

量 DNA 通过单细胞全基因扩增技术实现对胚胎染色体的全面筛查[18],将从胚胎上提取细胞的活检形式改成从培养液中提取 DNA,保留了胚胎样本的完整性。相信随着科技的进步,PGS 和 PGD 会用于各种生殖遗传疾病方面的检测,对罗氏易位携带者的 PGD 技术会越来越成熟和可靠。

参考文献

[1] WANG B,NIE B,TANG D et al. Analysis of meiotic segregation patterns and interchromosomal effects in sperm from 13 robertsonian translocations[J]. Balkan J Med Genet,2017,20(1):43-50.

[2] XIE Y,XU Y,WANG J,et al. Preliminary analysis of numerical chromosome abnormalities in reciprocal and Robertsonian translocation preimplantation genetic diagnosis cases with 24-chromosomal analysis with an aCGH/SNP microarray[J]. J Assist Reprod Genet,2018,35(1):177-186.

[3] LAUDAT A,SERERO S,SERIDI I,et al. Trisomy 13 by robertsonian translocation rob (13;13)(q10;q10)+13:about one case[J]. Ann Biol Clin(Paris),2017,75(6):695-698.

[4] HUANG S,JUNEAU K,BOGARD P E et al. Identifying robertsonian translocation carriers by microarray-based DNA analysis[J]. Fetal Diagn Ther,2016,40(1):59-62.

[5] 白文俊,耿冲.男性因素与复发性流产[J].实用妇产科杂志,2016,32(2):94-95.

[6] SHA J,LIU F,ZHANG B,et al. Next-generation sequencing and karyotype analysis for the diagnosis of robertsonian translocation type trisomy 13:a case report[J]. Iran J Public Health,2017,46(6):848-851.

[7] 张月萍,朱赛娟,刘素英,等.胚胎植入前诊断中多轮荧光原位杂交效果及影响因素分析[J].中华医学遗传学杂志,2013,30(5):522-527.

[8] BEYER C E,WILLATS E. Natural selection between day 3 and day 5/6 PGD embryos in couples with reciprocal or Robertsonian translocations[J]. J Assist Reprod Genet,2017,34(11):1483-1492.

[9] LUKASZUK K,PUKSZTA S,OCHMAN K,et al. Healthy baby born to a robertsonian translocation carrier following next-generation sequencing-based preimplantation genetic diagnosis:a case report[J]. AJP Rep,2015,5(2):e172-175.

[10] YANG Z,LIN J,ZHANG J,et al. Randomized comparison of next-generation sequencing and array comparative genomic hybridization for preimplantation genetic screening:a pilot study[J]. BMC Med Genomics,2015,8:30

[11] NISSON H,KILTZ R,CEKLENIAK N,et al. Miscarriage rate comparison of PGS cycles performed with array comparative genome hybridization (aCGH) and next generation sequencing (NGS)[J]. Fertility and Sterility,2016,106(3):e162.

[12] 张雯珂,徐晓菲,李敏,等.染色体易位携带者胚胎植入前遗传学诊断进展[J].国际生殖健康/计划生育杂志,2015,34(4):324-327.

[13] XU J,ZHANG Z,NIU W,et al. Mapping allele with resolved carrier status of robertsonian and reciprocal translocation in human preimplantation embryos[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2017,114(41):E8695-8702.

[14] FRAGOULI E. Preimplantation genetic diagnosis:present and future[J]. J Assist Reprod Genet,2007,24(6):201-207.

[15] 徐宾,加米拉·热扎克,夏燕,等.维吾尔族罗伯逊易位型21三体综合征四例[J].中华医学遗传学杂志,2016,33(3):427.

[16] LIEBAERS I,DESMYTTERE S,VERPOEST W,et al. Report on a consecutive series of 581 children born after blastomere biopsy for preimplantation genetic diagnosis[J]. Hum Reprod,2010,25(1):275-282.

[17] SCHENDELAAR P,MIDDELBURG K J,BOS A F,et al. The effect of preimplantation genetic screening on neurological,cognitive and behavioural development in 4-year-old children:follow-up of a RCT[J]. Hum Reprod,2013,28(6):1508-1518.

[18] XU J,FANG R,CHEN L,et al. Noninvasive chromosome screening of human embryos by genome sequencing of embryo culture medium for in vitro fertilization[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2016,113(42):11907-11912.

(收稿日期:2018-10-15　修回日期:2019-01-28)

(上接第 1263 页)

国儿童保健杂志,2013,21(11):1139-1141.

[8] 贺钰磊,徐鸣,谢雅梅,等 四川地区 α 地中海贫血基因检测结果及分布特征分析[J].四川医学 2017,28(11):1303-1304.

[9] 张强,范歆,何升,等.广西地区缺失型 α 地中海贫血基因分布特征[J].中华血液学杂志,2014,35(10):941-943.

[10] 曾瑞萍,胡彬,金龙金.广东地区血红蛋白 H 病基因型分析及高危胎儿基因诊断[J].中华医学遗传学杂志,1996,13(5):266-268.

[11] 唐敏,邓正华,温先勇,等.川南地区 β 地中海贫血基因突变类型的分析[J].国际检验医学杂志,2015,36(15):2154-2155.

[12] 蔡永林,郑裕明,汤敏中,等.β-地中海贫血复合缺失型 α-地中海贫血双重杂合子的分子检测及血液学分析[J].中国实验血液学杂志,2007,15(1):195-197.

(收稿日期:2018-10-26　修回日期:2019-01-14)