

• 专家述评 •

# 全外显子组测序在遗传性疾病分子诊断中的应用

郑昭璟, 傅启华<sup>△</sup>

(上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心, 上海 200127)

**摘要:**全外显子组测序(WES)已经成为遗传性疾病实验诊断的主要技术。随着测序技术、测序仪器、生物信息学分析方法和基因组学的快速发展,以及大规模人群数据库的建立,WES对遗传性疾病的诊断效能持续提高。基于WES测序数据的拷贝数变异(CNV)分析及对嵌合变异的检测进一步提高了WES在遗传性疾病中的诊断能力。通过完善WES检测的性能验证、加强WES检测全程的质量控制及强化WES实验室持续的质量保证措施是保证WES检测质量的主要手段。人工智能技术的应用、高质量遗传变异数据库的建设及人类疾病表型的精细化等将进一步提升WES在遗传性疾病分子诊断中的应用水平。

**关键词:**全外显子组测序; 遗传性疾病; 分子诊断; 质量管理

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2020.07.001 **中图法分类号:**R681

**文章编号:**1673-4130(2020)07-0769-05

**文献标识码:**A

## Whole exome sequencing in molecular diagnosis of inherited diseases

ZHENG Zhaojing, FU Qihua<sup>△</sup>

(Shanghai Children's Medical Center, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200127, China)

**Abstract:** Whole exome sequencing(WES) has become a routine genetic testing for patients suspected of inherited diseases. Along with rapid advancements achieved in sequencing technology, bioinformatics and genomic medicine, and availability of population-scale genetic variants databases, the diagnostic utility and clinical utility of WES in laboratory diagnosis are continually improved. Furthermore, WES data-based copy number variation(CNV) prediction and improved detection of mosaic variants have resulted in a higher diagnostic yield of WES in inherited disorders. Optimized validation and stringent quality control and ongoing quality assurance program for the whole process of WES should be taken to consolidate the testing quality in laboratories providing WES testing service in clinical setting. In addition, application of artificial intelligence technology in data analysis, availability of high quality database of genetic variants, and refinement of human disease/phenotypes would significantly promote adaptation of WES diagnostics in human inherited disorders.

**Key words:** whole exome sequencing; inherited diseases; molecular diagnosis; quality management



遗传性疾病是影响人民群众、尤其是儿童健康的重要因素。遗传性疾病病种多、临床表现复杂多样、分子机制复杂,是临床诊疗工作中的一大挑战。截止2018年9月,人类孟德尔遗传在线数据库(OMIM)收录的已明确分子遗传机制的疾病/表型已达6259种,

涉及3961个基因<sup>[1]</sup>。分子诊断是遗传性疾病实验诊断的主要手段。目前传统分子诊断技术,如Sanger测序、qPCR等仍在遗传性疾病实验诊断工作中广泛应用。但随着下一代测序(NGS)技术的长足进步、测序成本大幅降低、生物信息学分析能力大幅提升及大规模人群遗传变异数据库的建立,多种高通量基因组学诊断技术,如全外显子组测序(WES)等在遗传性疾病的实验诊断中的应用日益广泛。

WES在临床诊断中的推广,一方面显著加快了疾病致病基因的发现<sup>[2]</sup>、促进了对遗传性疾病分子遗传机制的认识;另一方面也显著提升了遗传性疾病的

**专家简介:**傅启华,男,医学博士、教授、博士生导师,上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心副院长、上海交通大学医学院儿科转化医学研究所副所长、出生缺陷研究室主任,主要从事遗传性疾病分子诊断及致病机制研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: qihuafu@126.com。

**本文引用格式:**郑昭璟,傅启华.全外显子组测序在遗传性疾病分子诊断中的应用[J].国际检验医学杂志,2020,41(7):769-773.

诊断能力。但在临床实际应用过程中, WES 对不同疾病/表型的诊断效能、在不同类型遗传变异的检测性能上仍存在较大的差异。与此同时, 随着技术的进一步完善、特别是生物信息学算法的进展, WES 在遗传性疾病实验诊断中出现了许多新情况, 值得进一步关注。

## 1 WES 对各种类型基因变异的检测

### 1.1 单核苷酸变异 (SNV) 和小插入/缺失变异 (Indel)

据估计, 95% 致病性基因变异存在于人类基因组中包含的约 20 000 个蛋白编码基因序列中<sup>[3]</sup>, 因此 WES 可以高效地检测与遗传性疾病致病相关的罕见 SNV/Indel。迄今, 已有大量研究分析评估了 WES 的诊断效能, 发现 WES 对遗传性疾病的临床分子诊断率为 25%~50%, 在成年患者 (大于 18 岁) 中诊断率稍低<sup>[4-9]</sup>。由于技术的快速发展和新致病基因的快速发现, 对 WES 数据进行重分析能够进一步提升其诊断率<sup>[10-11]</sup>。

WES 检测 SNV/Indel 性能的高低除了受到实验因素的影响外, 还与生物信息学分析过程中所用的算法直接相关。Bowtie、BWA、Novoalign、SOAP 及 MOSAIK 等是临床 WES 数据分析中常用的比对软件, 而 GATK、SAMTools、FreeBayes 及 DeepVariant 等都是常用的变异识别软件。变异识别软件也与测序平台和数据类型有关, GATK 适合于 Illumina 平台测序数据<sup>[12]</sup>, 分析 WES 的数据表现最好<sup>[13]</sup>; 而 SAMTools 更适合 Ion Torrent 的测序数据<sup>[14]</sup>, 且更适合分析全基因组测序 (WGS) 数据<sup>[13]</sup>。在 WES 数据的实际分析过程中, 比对软件和变异识别软件组成一个完整的变异识别流程 (pipeline), 结合下游分析, 最后可得到针对每个患者的分子诊断结论。但迄今尚无任何一个比对软件和变异识别软件的组合能够对所有变异进行可靠的识别, 而盲目使用多种工具可能导致更多错误的结果<sup>[15]</sup>。因此, 正确评估各个工具的性能, 并将其组合成一个完整的变异识别流程对 WES 的总体检测性能来说就显得非常重要。KUMARAN 等<sup>[16]</sup> 研究发现, 针对 WES 检测 SNV/Indel 而言, BWA 及 Novoalign 与 DeepVariant 的工具组合表现出最佳的性能。

### 1.2 拷贝数变异 (CNV)

CNV 是发育迟缓、智力障碍、多发畸形及自闭症谱系障碍等疾病的重要致病原因, 已有多个国内外指南/专家共识建议染色体芯片分析 (CMA) 作为上述疾病的一线分子诊断方法<sup>[17-19]</sup>。随着 WES 在遗传性疾病分子诊断中的广泛应用, 基于 WES 测序数据进行 CNV 的检测已日益引起重视。迄今, 临床常用的软件/算法已超过 20 多种, 如 XHMM、CNVkit、Condors、ExomeDepth 等。

其中大多数算法工具均根据测序片段的测序深度实现 CNV 的检测, 主要包括以下几个主要步骤: 目标区域测序深度计算、归一化 (normalization)、片段化 (segmentation) 及 CNV 检测。研究表明, 任何一种算法尽管存在各自的优势和特点, 但总体而言其检测 CNV 的性能尚有较大的局限性<sup>[20-21]</sup>。

PFUNDT 等<sup>[22]</sup> 对 2 603 例遗传性疾病临床病例 WES 数据进行分析, 检出 123 个致病性 CNV, 大小从 727 bp 至 15.3 Mb 不等, 总体诊断率提高约 2%。MARCHUK 等<sup>[23]</sup> 研究表明, 利用 ExomeDepth 软件对 WES 数据分析 CNV, 对于高覆盖度区域的缺失型 CNV 检测灵敏度可达 89%, 重复型 CNV 则为 65%。672 例临床样本中, ExomeDepth 分析 CNV 可增加 1.6% 的诊断率。TSUCHIDA 等<sup>[24]</sup> 则发现在 WES 检测 SNV/Indel 结果阴性的癫痫患者中, 致病性 CNV 检出率高达 10.7% (18/168), 且最小的 CNV 大小在 10 kb 以下, 据此作者认为 CNV 分析应作为所有临床 WES 检测的有机组成部分。

各种工具对 CNV 分析受到多种因素的影响, 如参考样本的选择方法、参考样本的数量、测序深度的均一性、目标区域的 GC 含量等。KUSMIREK 等<sup>[25]</sup> 发现参考样本数据集正确选择与否将极大地影响 CNV 的检出率 (k 均数法优于基于 kNN 的算法)。他们的研究还表明, 通过适当减少参考样本的数量, 在不降低检测敏感性的同时将增加特异性。RETTNER 等<sup>[26]</sup> 发现有 10.3% 的样本噪音大, 检出的 CNV 数量异常增高, 具体原因不详。与手工法相比, 自动化测序文库制备可以保证实验条件更加均一和稳定, 提高杂交效率、减少信号偏倚, 能够更好保证 CNV 的检测。

值得注意的是, 较之 CMA, 基于 WES 数据分析可以检出大量临床意义未明 (VOUS) 的 CNV, 如基因启动子区、未翻译区、内含子区等的 CNV。此类 CNV 致病性的判断及明确其与临床疾病/表型的关系取决于大量数据的积累及针对此类 CNV 建立科学的分类判读标准和规则<sup>[27-28]</sup>。

### 1.3 嵌合变异

由于 Sanger 测序技术本身的局限性, 遗传性疾病中嵌合变异的检测一直是个难题, 而 WES 技术因其具有检测低丰度基因变异的能力显著提高了此类变异在遗传性疾病, 如神经发育性疾病<sup>[29]</sup>、先天性心脏病<sup>[30]</sup>、自闭症<sup>[31-32]</sup> 等中的检出率。ACUNA-HIDALGO 等<sup>[33]</sup> 通过对 50 个核心家系中检出的 107 个新生 (de novo) 变异进行分析后发现, 有 7 个 (6.5%) 的所谓“新生”胚系变异实为嵌合变异。同时通过进一步分析发现, 在 50 例先证者中存在的总计 4 081 个新生变异中 4 个变异同样能够在父母一

方中检出。据此作者认为,迄今有相当一部分新生变异可能是从其携带低水平嵌合变异的无症状父母遗传而来。CAO 等<sup>[34]</sup>通过对 12 000 个 WES 样本的系统研究发现,约有 1.5% 的阳性病例是由于嵌合变异而导致的,而在所有分析的家系中有 0.3% 的父母携带了嵌合变异。

## 2 遗传性疾病分子诊断中 WES 的性能验证和质量 管理

WES 属于高度复杂的实验诊断项目,主要可分为湿实验(wet bench)和干实验(dry bench)。湿实验是从样本基因组 DNA 提取纯化直至获得原始测序数据的过程,而干实验涵盖了原始测序数据分析处理直至过滤筛选出能够解释受检者临床表现/表型的候选致病性或可能致病性变异的环节。WES 应用于遗传性疾病实验诊断须进行充分的性能验证,同时执行严格的质量管理才能保证检测结果准确、可靠,才能为遗传性疾病临床诊疗提供保障。

**2.1 性能验证** 作为临床实验诊断项目,任何一个开展 WES 检测的实验室必须对其进行充分的性能验证以明确其特异度、敏感度、最低检测限、可报告范围等指标,提高 WES 检测的临床可信度<sup>[35-37]</sup>。WES 是高度复杂的实验诊断项目,涉及很多步骤,在项目开发阶段可根据试剂盒、仪器及软件说明书或文献进行经验性优化以实现其预设目标,但在性能验证阶段则需对 WES 的整个过程(湿实验和干实验)进行系统评估。湿实验方面,标准品 NA12878 可作为实验样本,该标准品的全基因组数据集已被充分研究并用于多个基于 NGS 的方法性能验证;干实验方面,除了 NA12878 的数据集,HapMap、1000 Genome 数据集及另一个全基因组数据集(NA19240)也可作为虚拟样本用于 WES 的性能验证。

**2.2 湿实验的质量管理** 随着近十年来 NGS 技术在临床的广泛应用,已初步探索建立了 NGS 技术应用的质量标准和规范<sup>[35-37]</sup>,这些标准和规范同样适用于 WES 技术。临床 WES 检测的质量管理主要分为日常质量控制和周期性实施的质量保证两部分。WES 日常质量控制中,在污染风险较高的实验步骤,如上机测序前的测序文库准备过程中可以设立无模板的空白对照防止环境 DNA 的污染。在实际工作中,通常在目标片段末端加上一段特异识别序列(barcode 或 index)以保证多个样本同时进行测序,但所用的特异识别序列应有一个以上的碱基差异,以避免在测序过程中发生错误导致样本混淆。在湿实验中,根本原则是要在整个 WES 过程中保证样本的完整和正确。为实现这个目的,常用的手段包括利用单核苷酸多态性(SNP)芯片<sup>[26]</sup>或利用其他技术通过对一组高

频 SNP 组合<sup>[38]</sup>进行基因分型从而完成样本“身份”验证。

通过参加实验室外部的能力验证(PT)活动或其他替代评估活动可以对 WES 检测进行周期性、持续性的质量保证。近两年来,国家卫生健康委员会临床检验中心(NCCL)已开展遗传病胚系变异检测的室间质评活动(EQA),这必将对促进临床实验室 WES 的质量管理发挥积极的促进作用。

**2.3 干实验的质量管理** 有效实施 WES 干实验的质量管理的基础是合理选择质量参数(quality metrics)并合理设置相应的阈值,如平均测序深度、最低测序深度、Q20、Q30 等<sup>[35-36]</sup>。对任何一个 WES 样本,日常质量控制的首要目标是评估其是否符合设定的质量参数阈值,由此可及时发现质量参数低于阈值的 WES 样本并及时增加测序数据量或重新实验以保证后续下游分析结果的准确可靠。目前已有多种软件工具可以帮助完成此类常规质控工作任务,如 ChronQC<sup>[39]</sup>。

WES 干实验的持续质量保证措施包括建立相应的工作程序进行软件版本管理并及时监控软件更新,对参考序列和数据库进行周期性审核以确保正确的分析结果,以及参与实验室外部的 PT 或 EQA 活动。目前,可以通过计算机模拟生成涵盖各种变异类型、数量不等的数据集用于干实验的 PT(即 in silico PT),这种形式的 PT 与传统 PT 相比,测试的变异数量和类型更多、更方便,成本也更低<sup>[40]</sup>。

## 3 不同 WES 捕获试剂的差异

已有大量的研究评估了 WES 在遗传性疾病分子诊断中的效能和个体实验室的检测性能表现,但对各实验室产生的数据质量很少进行过系统比较,这对全面了解临床实验室 WES 应用现状无疑是十分不利的。GOTWAY 等<sup>[41]</sup>的研究表明,来自于不同实验室的 WES 数据在基因覆盖质量上呈现出很大的不一致性。这种多个实验室间 WES 基因覆盖度一致性低的原因可能部分与不同的 WES 捕获试剂盒有关。该研究中 WES 数据来自 3 家不同的临床实验室,分别使用了罗氏 Nimblegen VCRome v2.0/IDT xGen Exome Research Panel v1.0、罗氏 Nimblegen VCRome v2.1 及安捷伦 SureSelect XT2 All Exon v4/安捷伦 Clinical Research Exome 捕获试剂盒。不同厂家的 WES 捕获试剂盒由于基因覆盖范围(侧翼序列长度、UTR)、探针类型及长度等的不同因此具有不同的侧重点,自然会导致检出的基因变异、数量、质量等方面存在差异<sup>[42]</sup>。GOTWAY 等<sup>[41]</sup>在研究中发现,在来自 3 家不同临床实验室的 36 个 WES 样本中,测序完整覆盖的 CCDS 基因数量最高可达 15 196 个,而最低

的基因数量仅为 3 139,覆盖最差的样本 CCDS 基因数量仅为覆盖较好样本基因数量的四分之一。因此,在 WES 临床实际应用中,特别是在 WES 检测结果阴性的时候,需要重点关注临床疾病/表型密切相关致病基因的覆盖水平,以免假阴性的发生。

#### 4 结论与展望

WES 对遗传性疾病的实验诊断发挥了巨大的提升作用,随着 WES 的临床应用日趋广泛和规范,需要更加深入的研究其诊断效能和临床效能。与此同时,CNV 分析、AOH/UPD 分析及短串联重复序列分析等基于 WES 测序数据的新型分析手段积极促进了 WES 总体诊断率的提升,但上述这些新型分析手段尚需进一步改善检测性能及深入的性能评估。

WES 作为遗传性疾病实验诊断方法,除了本身技术性能的进一步提升和系统评估外,还涉及系列基础设施的建设,如外显子水平的 CNV 数据库和知识库的建立、人工智能在基因变异过滤和筛选中的应用、人类疾病表型的精确特征化等。随着 WES 临床推广应用日益普及和精准诊断需求的持续攀升,WES 必将极大促进遗传性疾病实验诊断。

#### 参考文献

- [1] AMBERGER J S, BOCCHINI C A, SCOTT A F, et al. OMIM.org: leveraging knowledge across phenotype-gene relationships[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D1038-D1043.
- [2] POSEY J E, O'DONNELL-LURIA A H, CHONG J X, et al. Insights into genetics, human biology and disease gleaned from family based genomic studies[J]. *Genet Med*, 2019, 21(4): 798-812.
- [3] SHAMSELDIN H E, MADDIREVULA S, FAQEIH E, et al. Increasing the sensitivity of clinical exome sequencing through improved filtration strategy[J]. *Genet Med*, 2017, 19(5): 593-598.
- [4] YANG Y P, MUZNY D M, REID J G, et al. Clinical Whole-Exome sequencing for the diagnosis of mendelian disorders[J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(16): 1502-1511.
- [5] YANG Y P, MUZNY D M, XIA F, et al. Molecular findings among patients referred for clinical Whole-Exome sequencing[J]. *JAMA*, 2014, 312(18): 1870-1879.
- [6] FARWELL K D, SHAHMIRZADI L, EL-KHECHEN D, et al. Enhanced utility of family-centered diagnostic exome sequencing with inheritance model-based analysis: results from 500 unselected families with undiagnosed genetic conditions[J]. *Genet Med*, 2015, 17(7): 578-586.
- [7] RETTERER K, JUUSOLA J, CHO M T, et al. Clinical application of whole-exome sequencing across clinical indications[J]. *Genet Med*, 2016, 18(7): 696-704.
- [8] POSEY J E, ROSENFELD J A, JAMES R A, et al. Molecular diagnostic experience of whole-exome sequencing in adult patients[J]. *Genet Med*, 2016, 18(7): 678-685.
- [9] LEE H, DEIGNAN J L, DORRANI N, et al. Clinical exome sequencing for genetic identification of rare Mendelian disorders[J]. *JAMA*, 2014, 312(18): 1880-1887.
- [10] EPILEPSY GENETICS INITIATIVE. The epilepsy genetics initiative: systematic reanalysis of diagnostic exomes increases yield[J]. *Epilepsia*, 2019, 60(5): 797-806.
- [11] SALFATI E L, SPENCER E G, TOPOL S E, et al. Re-analysis of whole-exome sequencing data uncovers novel diagnostic variants and improves molecular diagnostic yields for sudden death and idiopathic diseases[J]. *Genome Med*, 2019, 11(1): 83.
- [12] YI M, ZHAO Y, JIA L, et al. Performance comparison of SNP detection tools with illumina exome sequencing data: an assessment using both family pedigree information and sample-matched SNP array data[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(12): e101.
- [13] LIU X, HAN S, WANG Z, et al. Variant callers for next-generation sequencing data: a comparison study[J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e75619.
- [14] HWANG S, KIM E, LEE I, et al. Systematic comparison of variant calling pipelines using Gold standard personal exome variants[J]. *Sci Rep*, 2015, 5(1): 17875.
- [15] PABINGER S, DANDER A, FISCHER M, et al. A survey of tools for variant analysis of next-generation genome sequencing data[J]. *Brief Bioinform*, 2014, 15(2): 256-278.
- [16] KUMARAN M, SUBRAMANIAN U, DEVARAJAN B. Performance assessment of variant calling pipelines using human whole exome sequencing and simulated data[J]. *BMC Bioinformatics*, 2019, 20(1): 342.
- [17] MANNING M, HUDGINS L, PROFESSIONAL PRACTICE AND GUIDELINES COMMITTEE. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities[J]. *Genet Med*, 2010, 12(11): 742-745.
- [18] MILLER D T, ADAM M P, ARADHYA S, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies[J]. *Am J Hum Genet*, 2010, 86(5): 749-764.
- [19] 中国医师协会医学遗传学分会, 中国医师协会青春期医学专业委员会临床遗传学组, 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组. 染色体基因组芯片在儿科遗传病的临床应用专家共识[J]. *中华儿科杂志*, 2016, 54(6): 410-413.
- [20] TAN R, WANG Y, KLEINSTEIN S E, et al. An evaluation of copy number variation detection tools from whole-exome sequencing data[J]. *Hum Mutat*, 2014, 35(7): 899-907.
- [21] YAO R, ZHANG C, YU T, et al. Evaluation of three

- read-depth based CNV detection tools using whole-exome sequencing data[J]. *Mol Cytogenet*, 2017, 10(1): 30.
- [22] PFUNDT R, DEL ROSARIO M, VISSERS L E L M, et al. Detection of clinically relevant copy-number variants by exome sequencing in a large cohort of genetic disorders[J]. *Genet Med*, 2017, 19(6): 667-675.
- [23] MARCHUK D S, CROOKS K, STRANDE N, et al. Increasing the diagnostic yield of exome sequencing by copy number variant analysis[J]. *PLoS One*, 2018, 13(12): e0209185.
- [24] TSUCHIDA N, NAKASHIMA M, KATO M, et al. Detection of copy number variations in epilepsy using exome data[J]. *Clin Genet*, 2018, 93(3): 577-587.
- [25] KUSMIREK W, SZMURŁO A, WIEWIÓRKA M, et al. Comparison of kNN and k-means optimization methods of reference set selection for improved CNV callers performance[J]. *BMC Bioinformatics*, 2019, 20(1): 266.
- [26] RETTERER K, SCUFFINS J, SCHMIDT D, et al. Assessing copy number from exome sequencing and exome array CGH based on CNV spectrum in a large clinical cohort[J]. *Genet Med*, 2015, 17(8): 623-629.
- [27] RIGGS E R, ANDERSEN E F, CHERRY A M, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants; a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen) [J]. *Genet Med*, 2020, 22(2): 245-257.
- [28] BRANDT T, SACK L M, ARJONA D, et al. Adapting ACMG/AMP sequence variant classification guidelines for single-gene copy number variants [J]. *Genet Med*, 2020, 22(2): 336-344.
- [29] STOSSER M B, LINDY A S, BUTLER E, et al. High frequency of Mosaic pathogenic variants in genes causing epilepsy-related neurodevelopmental disorders [J]. *Genet Med*, 2018, 20(4): 403-410.
- [30] MANHEIMER K B, RICHTER F, EDELMANN L J, et al. Robust identification of Mosaic variants in congenital heart disease [J]. *Hum Genet*, 2018, 137(2): 183-193.
- [31] FREED D, PEVSNER J. The contribution of Mosaic variants to autism spectrum disorder [J]. *PLoS Genet*, 2016, 12(9): e1006245.
- [32] LIM E T, UDDIN M, DE RUBEIS S, et al. Rates, distribution and implications of postzygotic Mosaic mutations in autism spectrum disorder [J]. *Nat Neurosci*, 2017, 20(9): 1217-1224.
- [33] ACUNA-HIDALGO R, BO T, KWINT M P, et al. Postzygotic point mutations are an underrecognized source of de novo genomic variation [J]. *Am J Hum Genet*, 2015, 97(1): 67-74.
- [34] CAO Y, TOKITA M J, CHEN E S, et al. A clinical survey of Mosaic single nucleotide variants in disease-causing genes detected by exome sequencing [J]. *Genome Med*, 2019, 11(1): 48.
- [35] MATTHIJS G, SOUCHE E, ALDERS M, et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing [J]. *Eur J Hum Genet*, 2016, 24(1): 2-5.
- [36] HUME S, NELSON T N, SPEEVAK M, et al. CCMG practice guideline; laboratory guidelines for next-generation sequencing [J]. *J Med Genet*, 2019, 56(12): 792-800.
- [37] AZIZ N, ZHAO Q, BRY L, et al. College of American pathologists' laboratory standards for next-generation sequencing clinical tests [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2015, 139(4): 481-493.
- [38] PENGELLY R J, GIBSON J, ANDREOLETTI G, et al. A SNP profiling panel for sample tracking in whole-exome sequencing studies [J]. *Genome Med*, 2013, 5(9): 89.
- [39] TAWARI N R, SEOW J J W, PERUMAL D, et al. ChronQC: a quality control monitoring system for clinical next generation sequencing [J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(10): 1799-1800.
- [40] DUNCAVAGE E J, ABEL H J, PFEIFER J D. In silico proficiency testing for clinical Next-Generation sequencing [J]. *J Mol Diagn*, 2017, 19(1): 35-42.
- [41] GOTWAY G, CROSSLEY E, KOZLITINA J, et al. Clinical exome studies have inconsistent coverage [J]. *Clin Chem*, 2019, 66(1): 199-206.
- [42] SHIGEMIZU D, MOMOZAWA Y, ABE T, et al. Performance comparison of four commercial human whole-exome capture platforms [J]. *Sci Rep*, 2015, 5(1): 12742.

(收稿日期: 2019-12-18 修回日期: 2020-02-10)