SNP 芯片识别导致体外受精失败的遗传性疾病

Human Karyomap-12 芯片可识别平衡易位携带者和囊胚中的易位异常，指导体外受精胚胎优选

简介

2016 年 1 月，上海集爱遗传与不育诊疗中心（GIVF）成为了中国首家见证采用核型定位结合体外受精（IVF）技术孕育婴儿的生殖中心。核型定位是一种先进的胚胎植入前基因诊断（PGD）技术，它可以在胚胎植入子宫之前评估特定的单基因病症。其目标是降低携带已知遗传性疾病夫妇生出受此疾病影响的孩子的风险。

在已知的遗传性疾病中，平衡易位（包括相互易位和罗伯逊易位）在普通人群中的患病率为 0.19%，但在有复发性流产史或反复 IVF 失败的 IVF 患者中升高至 2.2%。[1] 平衡易位不同于单基因疾病。携带者具有平衡形式的重排，但没有健康问题。

目前的 PGD 技术，例如改良的荧光原位杂交（FISH）和新一代测序（NGS），耗时较长，而且不能区分具有平衡和染色体结构正常的胚胎，也不能区分相互易位和罗伯逊易位携带者。[2–4]

2017 年，上海集爱的研究人员决定测试核型定位检测平衡易位的能力。他们使用 Human Karyomap-12 芯片对 11 个接受 IVF 的易位家庭进行了设盲临床研究。[5] 所有家族均有反复自然流产、不孕不育或染色体异常妊娠史。

iCommunity 采访了上海集爱团队的几位成员，包括上海集爱所长孙晓溪教授；遗传部主任张月萍教授；胚胎植入前基因诊断高级技术员张硕，探讨了此研究以及胚胎植入前单体型分析（PGH）在识别易位、限制其传递给后代中的价值。

Q：中国先天性出生缺陷和遗传病的发病率是多少？

孙晓溪教授：我国先天性疾病发病率很高。中国每年有超过 100 万的新生儿有出生缺陷，约占总出生人口的 5.6%。[6] 出生缺陷严重影响了儿童的生活质量和健康，也影响到其家庭和整个社会。出生缺陷的主要原因是复杂疾病和染色体疾病。通过核型定位，我们希望能确保 IVF 患者生出没有已知先天异常的孩子。

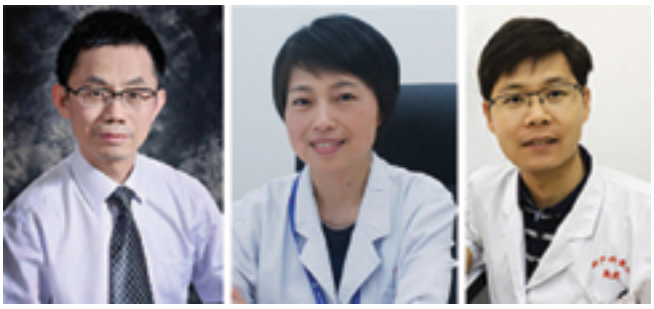
Q：您的实验室最初如何识别平衡易位？有什么困难？

张硕：在开发 PGH 方法之前，我们使用 FISH 分析平衡易位患者的胚胎，这种方法耗时较长。SNP 芯片等更快速的技术只能分析染色体拷贝数变异（CNV），不能检测二倍体胚胎中的染色体结构异常。

因此，诊断移植胚胎的平衡易位很困难。这对携带平衡易位的 IVF 患者来说是个问题。他们的孩子可能会有不平衡易位，并且出生时就有先天缺陷。他们的胚胎也有 50% 的可能携带与他们相同的染色体易位，这增加了将有害等位基因传递给后代的风险。

Q：你们如何开发新的 PGH 方法？

张硕：我们认为全基因组核型定位具有诊断染色体结构异常胚胎（例如相互易位和罗伯逊易位）的潜力。核型定位使用基于连锁的全基因组单倍型进行分析，可提供染色体的高密度图像以及遗传等位基因的信息。



中国上海集爱遗传与不育诊疗中心所长孙晓溪教授，遗传部主任张月萍教授，以及胚胎植入前基因诊断高级技术员张硕。

仅供研究使用。不得用于诊断。

首先，我们选择了用于研究的遗传标记物类型。短串联重复序列（STR）位点分析困难且耗时，尤其是针对多个 DNA 来源（家庭成员和胚胎）的分析。我们选择了 SNP 作为遗传标记物，它可以提供更快的一体化工作流程。利用 SNP，我们可以在亲本、参考样本和胚胎之间轻松进行连锁分析。我们研究了市场上多个 SNP 芯片，选择了具有 300,000 个 SNP 的 HumanKaryomap-12 芯片和 iScan™ 系统。它可以对每个胚胎同时进行分子单倍型分析和非整倍性筛查，包含了简便易用的 BlueFuse™ Multi 软件可进行数据分析。

> “HumanKaryomap-12 芯片可以同时进行分子单倍型分析和非整倍性筛查。”

Q：你们如何确定使用哪些 SNP 来检测平衡易位和结构正常的易位?

张硕：我们确定了用于建立单倍型（同时包括遗传的 DNA 变异）的信息丰富的 SNP。在我们的研究中，单倍型包括断裂点区域、涉及易位的整条染色体以及夫妻、参考（家庭成员或不平衡胚胎）和胚胎中相应的正常同源染色体。

选择标准是携带者的 SNP 应为杂合子，其配偶应为纯合子，且携带者父母或其他家族成员也为纯合子。此信息可确定携带者的两个单倍型中哪个与衍生染色体或正常染色体有关。区分平衡和染色体结构正常胚胎的预测标准，结合了断点区域的单倍型以及该区域中同源重组的情况。

Q：请描述一下平衡易位分析的 PGH 流程?

张月萍教授：该流程包括使用 Human Karyomap-12 芯片对 IVF 夫妻、其父母和胚胎的 DNA 样本进行全基因组 SNP 基因分型。我们使用了 BlueFuse Multi 软件进行连锁分析，构建了患者家族全基因组单倍型模型。如果携带者的平衡易位具有遗传性，构建家族单倍型还需分析近亲的 DNA 作为参考。如果它是新发的家族突变，我们使用具有不平衡易位的胚胎作为参考。

Q：测试此 PGH 方法识别平衡和结构正常胚胎的能力的研究结果如何?

张硕：研究纳入了 11 个易位家庭。除了准父母和某些近亲，还分析了 68 个囊胚，其中 42 个是不平衡的，26 个是平衡的。我们识别出 13 个染色体结构正常的胚胎，将它们移植回对应的 IVF 患者。在妊娠中期后对羊水细胞进行产前细胞遗传学分析。PGH 预测结果与细胞遗传学分析一致。

> “我们的方法可以识别染色体或全基因组断点区域的单倍型，鉴定任何类型的易位。”

Q：这种新的 PGH 方法有什么优点?

张硕：我们的 PGH 全基因组单倍型连锁分析方法有几个优点。它可以识别断点区域中的单倍型。它通过同时识别参与易位的两条完整染色体以及两条相应的正常同源染色体的单倍型，来检测断点区域的同源重组。它通过确定哪些胚胎携带了易位，同时筛选所有染色体的非整倍性，为提高临床妊娠率提供信息。最后，我们的方法可以识别染色体或全基因组断点区域的单倍型，鉴定任何类型的易位。

最重要的是，我们的 PGH 方法相对简单高效，适合常规临床应用。整个过程可在 48 小时内完成，其中数据分析用时不到 2 小时。

> “最重要的是，我们的 PGH 方法相对简单高效，适合常规临床应用。”

Q：你们现在会对每个胚胎样本进行核型定位吗?

张月萍教授：过去 2 年，我们只使用 HumanKaryomap-12 芯片鉴定胚胎活检样本中的单基因缺陷。我们现在会使用它鉴定所有潜在 IVF 胚胎的单基因缺陷和染色体结构异常，例如易位。

Q：这项检测平衡易位 IVF 患者的突破对临床诊断有什么意义?

孙晓溪教授：中国有数百万看似健康的染色体平衡易位患者，他们有可能将染色体异常遗传给后代。全基因组单倍型连锁分析技术的发展是我国在人工辅助生殖医学领域的一个重要突破，证明了我们在该领域的领先地位。它提高了 IVF 治疗，特别是反复流产患者治疗的成功率。对于平衡易位患者，该技术可确保他们不会将携带的染色体易位遗传给后代。

仅供研究使用。不得用于诊断。

了解有关本文提及的产品和系统的更多信息：

HumanKaryoMap-12 芯片，www.illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/human-karyomap.html

iScan 系统，www.illumina.com/systems/array-scanners/iscan.html

BlueFuse-Multi 软件，www.illumina.com/clinical/clinical_informatics/bluefuse.html

参考文献

1. Zhang S, Lei C, Wu J, et al. The establishment and application of preimplantation genetic haplotyping in embryo diagnosis for reciprocal and Robertsonian translocation carriers *BMC Med Genomics*. 2017; 10(1):60. doi: 10.1186/s12920-017-0294-x.
2. Weier HU, Munn S, Fung J. Patient-specific probes for preimplantation genetic diagnosis of structural and numerical aberrations in interphase cells. *J Assist Reprod Genet*. 1999; 16:182–191.
3. Lersch RA, Fung J, Munné S, et al. Case-Specific, Breakpoint-Spanning DNA Probes for Analysis of Single Interphase Cells. *Genet Test. 2000*; 4:273–278.
4. Hu L, Cheng D, Gong F, et al. Reciprocal Translocation Carrier Diagnosis in Preimplantation Human Embryos. *EBioMedicine*. 2016; 14:139–147.
5. Alfarawati S, Fragouli E, Colls P, et al. First births after preimplantation genetic diagnosis of structural chromosome abnormalities using comparative genomic hybridization and microarray analysis. *Hum Reprod.* 2011; 26:1560–1574.
6. Zhao W, Wu M, Chen F, et al. Robertsonian Translocations: An Overview of 872 Robertsonian Translocations Identified in a Diagnostic Laboratory in China. *PLoS One.* 2015; 10(5): e0122647.

仅供研究使用。不得用于诊断。

Illumina 中国

上海办公室 · 电话（021）6032-1066 · 传真（021）6090-6279
北京办公室 · 电话（010）8455-4866 · 传真（010）8455-4855
技术支持热线 400-066-5835 · techsupport@illumina.com · www.illumina.com.cn

仅供研究使用。不得用于诊断。

© 2018 Illumina, Inc. 保留所有权利。所有商标均为 Illumina 公司或其各自所有者的财产。
请访问 www.illumina.com/company/legal.html 获取具体商标的信息。Pub. No. 1570-2018-008 QB 6160

Illumina Academy

@Illumina

illumina®