

多重连接探针扩增技术在先天性心脏病 22q11 微缺失/微重复综合征诊断中的应用

杨月华¹, 胡娅莉², 朱湘玉², 莫绪明³, 王东进⁴, 姚金翠², 盛敏², 朱海燕², 李洁², 茹彤², 王志群²

(1. 南京医科大学鼓楼临床医学院; 2. 南京大学医学院附属鼓楼医院妇产科; 3. 南京医科大学附属南京儿童医院心胸外科; 4. 南京大学医学院附属鼓楼医院心胸外科, 江苏 南京 210008)

[摘要] 目的 染色体 22q11 区域基因拷贝数异常是先天性心脏病(CHD)的遗传病因之一,由其引起的CHD预后不良。该研究主要探讨多重连接探针扩增技术用于 CHD 22q11 微缺失或微重复遗传病因诊断的实用性,并了解 22q11 微缺失或微重复在 CHD 中的发生情况。**方法** 选择 25 个位于染色体 22q11 低重复拷贝序列 A-H 区域内、7 个位于其周围(CES、22q13)和 16 个位于 4、8、10、17 号染色体上的基因位点共计 48 个探针组成多重连接探针,对 181 例外科手术前的 CHD 儿童和 14 例严重 CHD 或包括 CHD 的多发性畸形胎儿进行了 22q11 微缺失或微重复的检测,并进行了染色体核型分析。**结果** 195 例患儿中,共检出 22q11 微缺失者 7 例(LCR A-D 区 6 例,LCR A-C 区 1 例),22q11 微重复 1 例(LCR B-D 区),涉及的 CHD 类型包括室间隔缺损、房室间隔缺损、肺动脉狭窄和法洛四联征。同时染色体核型分析还发现了 6 例异常:1 例 21q 部分缺失[46,XY,21q-],1 例嵌合性 8-三体[47,XY,+8/46,XY(1:2)],4 例 21-三体。其中 1 例 21-三体与 22q11 微重复同时存在。**结论** 染色体 22q11 区域高密度多重连接探针检测技术能快速、灵敏、精确定位诊断染色体 22q11 区域基因拷贝数异常,适合于 CHD 的遗传学诊断;此外,22q11 微缺失或微重复引起的 CHD 类型多种多样,建议所有 CHD 患者应常规进行遗传学检测。

[中国当代儿科杂志,2009,11(11):892-896]

[关键词] 22q11 微缺失;22q11 微重复;先天性心脏病;多重连接探针扩增;儿童;胎儿

[中图分类号] R541.1; R446 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2009)11-0892-05

Diagnosis of 22q11 deletion and duplication in congenital heart disease by multiplex ligation-dependent probe amplification

YANG Yue-Hua, HU Ya-Li, ZHU Xiang-Yu, MO Xu-Ming, WANG Dong-Jin, YAO Jin-Cui, SHENG Min, ZHU Hai-Yan, LI Jie, RU Tong, WANG Zhi-Qun. Gulou School of Clinical Medicine of Nanjing Medical University, Nanjing 210008, China (Hu Y-L, Email: yali_hu@hotmail.com)

Abstract: Objective To investigate the clinical utility of multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) for detecting 22q11 deletion and duplication in congenital heart disease (CHD) cases and to study the incidence of 22q11 deletion and duplication in different kinds of CHD. **Methods** Forty-eight probes of which 25 located in 22q11 low copy number region (LCR 22s A-H), 7 in 22q11 surrounding region (CES, 22q13) and 16 in chromosomes 4, 8, 10 and 17 were selected to detect 22q11 deletion and duplication in 181 preoperative children with CHD and 14 fetuses with serious CHD or CHD with multiple malformations. In these cases, karyotype analysis was also performed. **Results** MLPA demonstrated that 7 cases had 22q11 deletion [6 cases from CLTCL1 to LZTR1 (LCR A-D) and 1 case from CLTCL1 to PCQAP (LCR A-C)] and that 1 case had 22q11 duplication, spanning from ZNF74 to LZTR1 (LCR B-D). The phenotypes of heart defect included ventricular septal defect, atrioventricular septal defect, pulmonary stenosis and tetralogy of Fallot. Karyotype analysis showed that 1 case had 21q deletion [46, XY, 21q-], 1 case had mosaic trisomy 8 [47, XY, +8/46, XY(1:2)] and 4 cases had trisomy 21. One of the 4 cases with trisomy 21 had concurrent 22q11 duplication. **Conclusions** MLPA is a rapid, sensitive, site-specific and relatively inexpensive method for diagnosis of 22q11 deletion and duplication in CHD. 22q11 deletion and duplication may cause various kinds of CHD, suggesting that genetic detection should be performed routinely in CHD patients.

[Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (11):892-896]

Key words: 22q11 deletion; 22q11 duplication; Congenital heart disease; Multiplex ligation-dependent probe amplification; Child; Fetus

[收稿日期] 2009-03-18; [修回日期] 2009-04-21

[基金项目] 江苏省科技发展计划项目(BS2006012); 江苏省领军人才(LJ200628 江苏省“科教兴卫工程”母胎医学重点学科(XK200709); 江苏省生殖健康公共技术服务中心建设(NO. BM2008151)。

[作者简介] 杨月华,女,硕士研究生。主攻方向:产前诊断。

[通讯作者] 胡娅莉,女,教授,主任医师,南京大学医学院附属鼓楼医院妇产科,邮编:210008。

22q11 微缺失是先天性心脏病 (congenital heart disease, CHD) 较为常见且明确的遗传学病因^[1]。其引起的临床表现多种多样,除了 CHD 最容易早期发现外,其他异常(如低钙血症、细胞免疫功能缺陷、气管支气管畸形等)则相对隐匿。此类 CHD 患者如不能早期诊断与适当干预,手术时则可能发生难以预测的感染、心脏停搏、呼吸衰竭等,手术风险大大增加,预后不良^[2,3]。故 CHD 患儿手术前或 CHD 胎儿产前进行 22q11 微缺失诊断有着重要的临床意义。

我们曾选用 22q11 区域 5 个短串联重复 (short tandem repeats, STRs) 标记对等待手术的 CHD 患者进行 22q11 微缺失的检测^[4],在汉族人群中 5 个标记均有较高的杂合率,可用于多态性分析,并对荧光原位杂交技术 (FISH) 结果阴性的微小缺失和远端缺失有较好的检测效果。但因该方法必须有父母的 DNA 样品作对照,因此临床应用受到限制。多重连接探针扩增技术 (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA) 是近年来新兴发展的一项基因定性和定量的检测方法,仅需 20 ng/ μ L DNA,即可通过简单的杂合、连接、PCR 扩增及电泳步骤,在同一反应管中对 40 多个不同的靶基因进行定量分析,具有高通量、自动化、快速、灵敏等优点,可用于检测基因片段的缺失或重复。因此,本研究中我们采用 22q11 区域高密度分布的多重探针对外科手术前的 CHD 儿童及产前诊断为严重 CHD 或包括 CHD 的多发性畸形胎儿进行 22q11 微缺失或微重复检测,探讨 MLPA 用于 22q11 微缺失或微重复临床诊断的可行性,并了解 22q11 微缺失在 CHD 患儿中的发病及分布情况。

1 资料和方法

1.1 对象

研究对象来自于 2006 年 10 月至 2008 年 5 月南京大学医学院附属鼓楼医院、南京医科大学附属儿童医院心胸外科因 CHD 住院行心脏手术的儿童及南京鼓楼医院母-胎医学中心产前超声诊断为严重 CHD 或包括 CHD 的多发性畸形胎儿。所有病例均经超声心动图(或)血管造影、手术或尸检确诊,合计 195 例,其中男 113 例,女 82 例;胎龄 20~32 周 14 例,出生 1 个月~154 例,14~18 岁 27 例。CHD 类型及例数见表 1。此外,我们还选择 1 例经 FISH 和 STR-PCR 检测为正常的样本和 3 例经 FISH 和 STR-PCR 诊断为 22q11.2 微缺失(其中 2 例为 3Mb 缺失,1 例为 1.5Mb 缺失)的样本进行 MLPA

检测^[5]。本研究已征得患儿及(或)其监护人的知情同意。

表 1 195 例 CHD 的类型分布

类型	例数	%
室间隔缺损	87	44.6
房间隔缺损	21	10.8
房室间隔缺损	12	6.8
法洛四联征	31	16.0
肺动脉狭窄	4	2.1
动脉导管未闭	3	1.6
室间隔缺损 + 动脉导管未闭	5	2.5
室间隔缺损 + 肺动脉狭窄	5	2.5
室间隔缺损 + 肺动脉狭窄	3	1.5
房室间隔缺损 + 肺动脉狭窄	2	1.0
二尖瓣脱垂伴关闭不全	2	1.0
心脏肥大	2	1.0
肺静脉异常引流	2	1.0
其他	16	8.2

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、染色体核型分析 所有患儿的外周血或脐血按染色体制片常规操作^[5]。取 2 mL 血标本注入 1640 培养基(青岛莱佛公司)行淋巴细胞培养,66~72 h 后收获,常规 G 显带(400 条带)制成染色体片,每例计数 30 个以上核型,并分析 3~5 个核型,发现异常者则增加至 15 个核型分析。

1.2.2 基因组 DNA 提取 取上述 CHD 患儿静脉血或胎儿脐血 1~2 mL (EDTA 抗凝),采用酚-氯仿法提取全基因组 DNA^[6],用分光光度计法测定所提 DNA 在 260 nm 和 280 nm 处的吸光值,得出其浓度及纯度,并用 TE 溶液稀释至 50 ng/ μ L 的终浓度。

1.2.3 多重连接探针扩增 本研究采用 MRC-Holland 公司出品的 MLPA P250 试剂盒 (Lot 0907),共 48 个探针,22q11.2 LCR 缺失核心区探针分布如下:9 个位于 LCR A-B 区域,3 个位于 LCR B-C 区域,2 个位于 LCR C-D 区域,3 个位于 LCR D-E 区域,5 个位于 LCR E-F 区域,2 个位于 LCR F-G 区域,1 个位于 LCR G-H 区域。其余 23 个探针则分布于 22q11 CES 区域(5 个)、22q11.3 区域(2 个)及染色体 4q(2 个)、8p(3 个)、9q(2 个)、10p(5 个)、17p(4 个)作为对照。22q11.2 区域的探针分布情况见图 2。

MLPA 步骤:①多重探针杂交:取待测 DNA 150 ng 置于 PCR 管中,加 H₂O 至 5 μ L,于 PCR 仪上 98 $^{\circ}$ C 变性 5 min,快速降温,25 $^{\circ}$ C 维持。取出 PCR 管,加入多重探针及 MLPA 缓冲液各 1.5 μ L,充分混匀后,95 $^{\circ}$ C 变性 1 min,60 $^{\circ}$ C 杂交 16 h,54 $^{\circ}$ C 维持。②多重探针连接:在上述 PCR 管内加入连接酶-65

1 μL 及连接酶-65 缓冲液 A、B 各 3 μL ,再加入 H_2O 25 μL 配成 40 μL 反应体系,54 $^\circ\text{C}$ 反应 15 min,随后 98 $^\circ\text{C}$ 5 min 灭活连接酶-65。③多重 PCR 反应:取上述连接产物 10 μL ,分别加入 PCR 引物 2 μL 、聚合

酶 0.5 μL 及相应的缓冲液、 H_2O ,配成 30 μL 反应体系进行 PCR 扩增,扩增条件为:95 $^\circ\text{C}$ 30 s,60 $^\circ\text{C}$ 30 s,72 $^\circ\text{C}$ 60 s,35 个循环,72 $^\circ\text{C}$ 延伸 20 min,4 $^\circ\text{C}$ 维持。每批反应均有一正常样本作为对照。

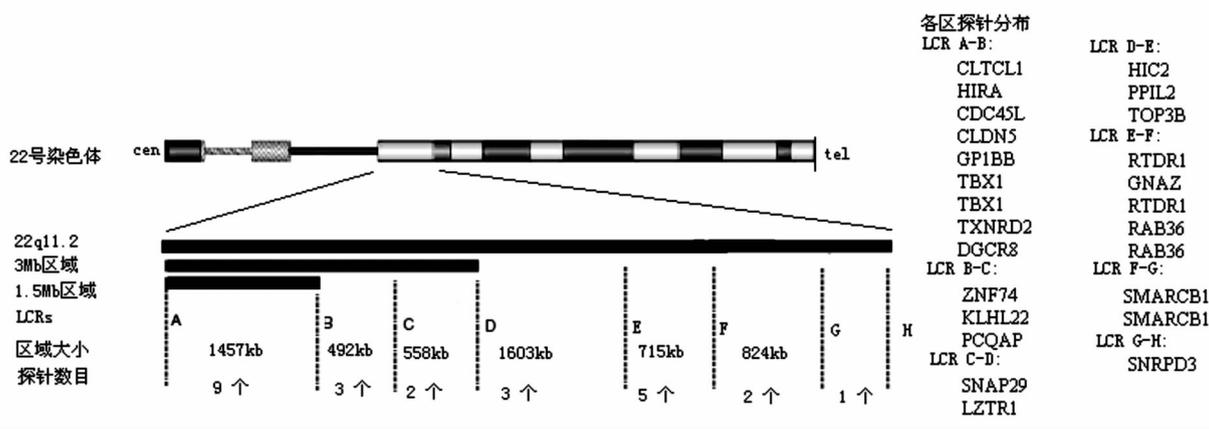


图2 22q11.2 LCR A-G 区域的大小及探针分布情况

1.2.4 MLPA 产物分析及结果判定 采用遗传分析仪(ABI 公司, Genetic Analyzer 3130)对扩增产物进行毛细管电泳和采集数据,并用 GeneMapper3.7 软件(ABI 公司)获得各探针位点峰高和峰面积。所采集数据通过 Coffalyser V7 软件(Holland-MRC 公司)进行分析,得出基因相对拷贝数比值。根据试剂盒说明书,以 0.7~1.3 之间者为正常,<0.7 者表明该基因存在缺失,>1.3 表明该基因存在重复^[7]。

本的缺失定位在 CLTCL1 ~ DGCR8 基因位点之间。

2 结果

2.3 待检样本的 MLPA 结果

2.1 染色体核型分析结果

分析 195 例 CHD 患儿的染色体核型,共检出 6 例染色体异常,其中 1 例为 21q 部分缺失[46 XY, 21q-],1 例为 8-三体嵌合型[47,XY,+8/46,XY(1:2)],4 例为 21-三体[47,XY,+21];在 400 条带水平未发现其他染色体结构异常。其中 21q 部分缺失发生在 1 例孕 20 周的室间隔缺损(VSD)胎儿,8-三体嵌合型发生在 1 例 14 岁的 VSD 患儿;4 例 21-三体患儿中,3 例 2 岁、1 例 1 岁,其中 2 例为 VSD,1 例为房室间隔缺损(AVSD),1 例为肺动脉狭窄(PS)。见表 2。

195 例 CHD 患儿中,共检出不同范围的 22q11 缺失 7 例和重复 1 例。所有阳性标本均由不同研究者进行了 3 次重复检测,所得结果一致(表 3)。7 例缺失病例中,3Mb 缺失占 6/7,2Mb 缺失占 1/7,包括 VSD 3 例,法洛血联征(TOF)2 例,AVSD 2 例;另 1 例小片段重复病例合并有 21-三体,CHD 类型为 PS。就年龄而言,22q11 微缺失在胎儿中 1 例,出生后 1 个月至 14 岁 6 例;微重复病例为 2 岁。见表 2。

2.2 4 例已知样本的 MLPA 结果

正常样本的 MLPA 结果未发现明显重复或缺失;MLPA 将 FISH、STR-PCR 证实为 3Mb 缺失样本(2 例)的缺失定位在 CLTCL1 ~ LZTR1 基因位点之间,将 FISH、STR-PCR 证实为 1.5Mb(1 例)缺失样

表 2 核型分析及 MLPA 检测异常者的临床资料及检测结果

标本编号	年龄	性别	心脏表型	核型	22q11 区域	范围
E2	1 月	男	TOF	46,XY	缺失	CLTCL1 ~ LZTR1
R0107	24 孕周	女	TOF	46,XX	缺失	CLTCL1 ~ LZTR1
er13	3 月	男	VSD	46,XY	缺失	CLTCL1 ~ LZTR1
er51	5 岁	女	AVSD	46,XX	缺失	CLTCL1 ~ PCQAP
er65	6 岁	男	VSD	46,XY	缺失	CLTCL1 ~ LZTR1
er96	6 岁	男	VSD	46,XY	缺失	CLTCL1 ~ LZTR1
er103	1 月	男	AVSD	46,XY	缺失	CLTCL1 ~ LZTR1
er60	2 岁	男	PS	47,XY,+21	重复	ZNF74 ~ LZTR1
er70	1 岁	女	AVSD	47,XY,+21	正常	正常
er71	2 岁	男	VSD	47,XY,+21	正常	正常
29	2 岁	女	VSD	47,XY,+21	正常	正常
14	14 岁	男	VSD	47,XY,+8/46,XY(1:2)	正常	正常
R0004	20 孕周	男	VSD	46,XY,21q-	正常	正常

表3 MLPA 阳性病例的基因相对拷贝数比值

22q11 区域基因	E2	R0107	er13	er51	er65	er96	er103	er60
CLTCL1	0.59	0.66	0.53	0.5	0.52	0.62	0.56	1.00
HIRA	0.56	0.58	0.49	0.7	0.63	0.59	0.55	0.98
CDC45L	0.58	0.52	0.65	0.5	0.45	0.58	0.6	1.00
CLDN5	0.49	0.62	0.45	0.64	0.59	0.55	0.58	0.89
GP1BB	0.62	0.48	0.53	0.49	0.41	0.49	0.51	1.13
TBX1	0.56	0.58	0.51	0.49	0.55	0.46	0.43	1.01
TBX1	0.64	0.55	0.53	0.48	0.58	0.69	0.18	0.93
TXNRD2	0.54	0.55	0.57	0.52	0.57	0.59	0.62	0.96
DGCR8	0.49	0.47	0.52	0.64	0.61	0.58	0.61	1.01
ZNF74	0.54	0.57	0.54	0.65	0.54	0.55	0.55	1.48
KLHL22	0.52	0.58	0.55	0.47	0.48	0.59	0.51	1.35
PCQAP	0.66	0.45	0.48	0.53	0.59	0.59	0.35	1.65
SNAP29	0.63	0.55	0.47	1.12	0.5	0.67	0.6	1.40
LZTR1	0.55	0.58	0.5	0.99	0.55	0.58	0.43	1.34
HIC2	1.77	1.22	1.1	1.05	0.81	1.02	0.75	1.20
PPIL2	1.04	0.96	1.02	1.27	1.06	0.99	1.07	0.90
TOP3B	1.25	0.95	1.05	0.92	0.87	1.04	1.16	1.07

注:基因拷贝数 <0.7 者表示基因缺失,连续基因缺失则为片段缺失;基因拷贝数比值 >1.3 者表示基因重复,连续基因重复则为片段重复。

3 讨论

MLPA 是新近发展的一种技术,其原理是针对不同的目的基因序列分别设计一对上下游探针,若待测 DNA 样本中含有正常序列,上下游探针则与其互补结合并通过连接酶连接成一条完整的探针,作为模板进行 PCR 反应;若目的基因有缺失,两条探针则不能连接,因而形成的模板减少,相应终产物的毛细管电泳峰高降低或峰面积减小;反之,目的基因有重复时则导致毛细管电泳峰高上升或峰面积增大。所以通过终产物电泳峰高或峰面积的变化可判定是否存在基因缺失或重复,如连续多个基因发生缺失或重复,则可判定为基因片段的缺失或重复^[8]。

目前,已有许多学者采用 MLPA P023 试剂盒进行 22q11 微缺失或微重复的研究^[9-11],但由于它的探针仅分布在 22q11 LCR A-D 区域,对邻近区域的小片段缺失或重复缺乏检测能力^[12]。在此基础上作改进,增加了 LCRD-H 区域探针的分布及 LCR A-D 区域的探针密度,该多重连接探针尚未见相关报道。本研究采用了新设计的探针(图 2),以了解高密度探针的 MLPA 技术用于检测 22q11 微缺失或微重复的优势。

在进行待测样本检测前,我们选择了 4 例已有 FISH、STR-PCR 检测结果的样本进行 MLPA 检测,

MLPA 不但证实了上述两种方法的检测结果,而且明确定位了缺失范围:原来的 2 例 3Mb 缺失在 CLTCL1 ~ LZTR1 基因(LCR A-D)之间,缺失片段不足 3 Mb,原来的 1 例 1.5 Mb 缺失在 CLTCL1 ~ DGCR8 基因(LCR A-B)之间。

通过对 195 例样本的检测,我们体会到高密度探针 MLPA 具有多种优势:①能精确定位缺失片段及判定其大小;②对 FISH 不能检测的远端缺失/重复(如 er60)有较强的检测能力;③设立的对照位点多使结果更加可靠。

本研究中,22q11 微缺失在外科手术前 CHD 儿童中的发生率为 3.3%(6/181),高于未经挑选的 CHD 人群的发生率(1.5%)^[1]。其中 3Mb 区域缺失占 5/6,而且涉及的 CHD 类型多种多样,并不局限于通常认为的圆锥动脉干畸形。

同时,MLPA 还检测出 1 例 22q11 微重复,阳性率为 0.55%(1/181)。由于 FISH 检测技术的限制和对 22q11 微重复认识的缺乏,迄今文献报道的 22q11 微重复仅 63 例,这些患者的临床表型与 22q11 微缺失相似,在多发畸形、轻微异常、正常者中均有分布,而这些患者中,CHD 发生率约为 20%^[12]。所以在多样性的表型中,CHD 可作为一项筛查指标进行 22q11 微重复的检测。此例微重复者所患 CHD 为 PS,与其他遗传异常所引起的 CHD 类型并无显著差异。所以加强 CHD 患者 22q11 微重复的检测,将对 22q11 微重复临床表型的认识和发病机制的研究有重要作用。

外科手术前 CHD 儿童中,除了 7 例 22q11 区域片段异常外,染色体核型分析还检测出 5 例染色体异常,其中 1 例为 21-三体合并 22q11 微重复。可见染色体核型分析使得 CHD 病因中染色体异常因素所占比例由 3.87%(7/181)增加至 6.08%(11/181)。所以常规的染色体核型分析和 22q11 微缺失或微重复的检测同样重要。

本研究同时对超声产前诊断为严重 CHD 和 CHD 合并其他畸形(小脑蚓部缺失、脊柱裂、腹裂等)的胎儿各 7 例进行了 MLPA 检测和染色体核型分析,发现 1 例 TOF 胎儿存在 22q11 微缺失,1 例 VSD 胎儿存在 46,XY,21q-。染色体异常在单纯性 CHD 胎儿中占 2/7,远高于本研究非胎儿期的发生率,这对临床产前咨询将有很大帮助:单从胎儿结构看,2 例胎儿都只是单纯性 CHD,由于疾病本身并不致死,只能建议在其出生后进行手术修补或矫正;但在明确胎儿有染色体异常后,应考虑到他们除患有 CHD 外,还将可能合并有智力障碍、精神心理异常、

免疫缺陷等表型,严重影响今后的生活质量,为此常推荐选择终止妊娠。因此,对那些胎儿超声心动图检查有异常、无论是否合并有心外畸形,均应当进行22q11微缺失检测或染色体核型分析,以帮助准确产前咨询,为孕妇决定终止妊娠提供全面充分的证据。

总之,对CHD患儿术前进行包括22q11微缺失或微重复和染色体核型分析在内的遗传学检测,尤其是CHD胎儿的产前遗传学诊断,对个人、家庭和社会均有着重要意义。MLPA是一种高通量、耗时短、相对价廉的检测方法,并具有精确的定位功能,值得在临床推广应用。

[参 考 文 献]

[1] Botto LD, May K, Fernhoff PM, Correa A, Coleman K, Rasmussen SA, et al. A population-based study of the 22q11.2 deletion; phenotype, incidence, and contribution to major birth defects in the population[J]. *Pediatrics*, 2003, 112(1 Pt 1):101-107.

[2] Kyburz A, Bauersfeld U, Schinzel A, Riegel M, Hug M, Tomaske M, et al. The fate of children with microdeletion 22q11.2 syndrome and congenital heart defect: clinical course and cardiac outcome[J]. *Pediatr Cardiol*, 2008, 29(1):76-83.

[3] Park IS, Ko JK, Kim YH, Yoo HW, Seo EJ, Choi JY, et al. Cardiovascular anomalies in patients with chromosome 22q11.2 deletion; a Korean multicenter study[J]. *Int J Cardiol*, 2007, 114(2):230-235.

[4] 许争峰,易龙,莫绪明,胡娅莉,王东进,朱瑞芳,等.先天性心脏病患者22q11微缺失检测及相关分析[J]. *中华医学遗传学*

杂志,2006,23(3):250-255.

[5] 许争峰,胡娅莉,张建伟,朱瑞芳,茹彤,刘启兰,等. 9例18三体综合征胎儿的产前诊断[J]. *中华围产医学杂志*, 2006, 9(5):291-293.

[6] 郑明明,胡娅莉,许争峰,王志群,史婷琦,叶晓东,等. 实时荧光定量聚合酶链反应技术在产前诊断唐氏综合征中的应用[J]. *中华妇产科杂志*, 2004, 39(10):678-681.

[7] Jalali GR, Vorstman JA, Errami A, Vijzelaar R, Biegel J, Shaikh T, et al. Detailed analysis of 22q11.2 with a high density MLPA probe set[J]. *Hum Mutat*, 2008, 29(3):433-440.

[8] Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification [J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(12):e57.

[9] Fernández L, Lapunzina P, Arjona D, López Pajares I, García-Guereta L, Elorza D, et al. Comparative study of three diagnostic approaches (FISH, STRs and MLPA) in 30 patients with 22q 11.2 deletion syndrome [J]. *Clin Genet*, 2005, 68(4):373-378.

[10] Stachon AC, Baskin B, Smith AC, Shugar A, Cytrynbaum C, Fishman L, et al. Molecular diagnosis of 22q11.2 deletion and duplication by multiplex ligation dependent probe amplification [J]. *Am J Med Genet A*, 2007, 143A(24):2924-2930.

[11] Shaikh TH, O'Connor RJ, Pierpont ME, McGrath J, Hacker AM, Nimmakayalu M, et al. Low copy repeats mediate distal chromosome 22q11.2 deletions; sequence analysis predicts breakpoint mechanisms [J]. *Genome Res*, 2007, 17(4):482-491.

[12] Courtens W, Schramme I, Laridon A. Microduplication 22q11.2: a benign polymorphism or a syndrome with a very large clinical variability and reduced penetrance? —Report of two families [J]. *Am J Med Genet A*, 2008, 146A(6):758-763.

(本文编辑:徐福兰)

· 消息 ·

脑电图与小儿癫痫诊治新进展学习班通知

国家继教项目(2010年备案项目编号2009-06-04-050):小儿脑电图与癫痫诊治新进展学习班将于2010年3月5日至11日在深圳市医学继续教育中心举行。本学习班将邀请北京大学林庆、秦炯、刘晓燕等教授授课。项目负责人:廖建湘。国家继教I类学分10分。欢迎儿科、脑电图、神经内、外科医护人员参加。详情请见网站 <http://www.epilepsy.org.cn> 国家继教通知栏目。报名联系:罗老师,白老师。传真:0755-25639935;电话:0755-25639350; Email:yxjxy@vip.163.com。