

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2007109

论著·临床研究

全外显子测序技术在危重症新生儿遗传病中的应用价值

陈玉兰^{1,2} 张又祥^{1,3} 杨秀芳² 陈简² 李晓彤² 黄慕华² 阮静维² 林菁²

(1. 广州医科大学, 广东 广州 510000; 2. 中山市人民医院新生儿科, 广东 中山 528400;
3. 广州市第一人民医院, 广东 广州 510000)

[摘要] **目的** 探讨全外显子组测序(WES)技术在危重新生儿遗传病中的应用价值。**方法** 选取于该院新生儿重症监护室治疗的66例疑似遗传病或诊断不明的危重新生儿为研究对象。收集患儿临床资料,采集患儿及其父母静脉血行WES检测,完成遗传病诊断。结合患儿的临床表现寻找相关的致病基因变异。**结果** 66例疑似遗传病或诊断不明的危重新生儿中,男34例,女32例,其中通过WES检测出有基因变异14例(21%);1例患儿经WES检测未见有基因变异,但因临床表现高度怀疑为色素失禁症,联合多重连接酶探针依赖扩增技术,检测到*IKBKG*基因4~10号外显子的杂合缺失变异。15例检测出基因变异的患儿中,致病性基因变异10例(67%);可疑致病性基因变异1例(7%);基因变异意义未明4例(27%)。15例患儿中有13例行染色体检查,只有1例染色体异常。**结论** 染色体检查不能作为遗传病的确诊手段,WES检测技术是寻找疑似或诊断不明的危重新生儿遗传病的重要工具,然而WES技术有一定的局限性,可联合其他测序方法进行检测。

[中国当代儿科杂志, 2020, 22(12): 1261-1266]

[关键词] 遗传病;全外显子测序;染色体;新生儿

Application value of whole exome sequencing in critically ill neonates with inherited diseases

CHEN Yu-Lan, ZHANG You-Xiang, YANG Xiu-Fang, CHEN Jian, LI Xiao-Tong, HUANG Mu-Hua, RUAN Jing-Wei, LIN Qiang. Guangzhou Medical University, Guangzhou 510000, China (Zhang Y-X, Email: youxiangz@163.com)

Abstract: Objective To study the application value of whole exome sequencing (WES) in critically ill neonates with inherited diseases. **Methods** A total of 66 critically ill neonates with suspected inherited diseases or unclear clinical diagnosis who were admitted to the neonatal intensive care unit were enrolled as subjects. The clinical data of the neonates were collected, and venous blood samples were collected from the neonates and their parents for WES. The clinical manifestations of the neonates were observed to search for related pathogenic gene mutations. **Results** Among the 66 critically ill neonates with suspected inherited diseases or unclear clinical diagnosis (34 boys and 32 girls), 14 (21%) were found to have gene mutations by WES. One neonate had no gene mutation detected by WES but was highly suspected of pigment incontinence based on clinical manifestations, and multiplex ligation-dependent probe amplification detected a heterozygous deletion mutation in exons 4-10 of the *IKBKG* gene. Among the 15 neonates with gene mutations, 10 (67%) had pathogenic gene mutation, 1 (7%) was suspected of pathogenic gene mutation, and 4 (27%) had gene mutations with unknown significance. Among the 15 neonates, 13 underwent chromosome examination, and only 1 neonate was found to have chromosome abnormality. **Conclusions** Chromosome examination cannot be used as a diagnostic method for inherited diseases, and WES detection technology is an important tool to find inherited diseases in critically ill neonates with suspected inherited diseases or unclear clinical diagnosis; however WES technology has some limitation and it is thus necessary to combine with other sequencing methods to achieve an early diagnosis.

[Chin J Contemp Pediatr, 2020, 22(12): 1261-1266]

Key words: Inherited disease; Whole exome sequencing; Chromosome; Neonate

[收稿日期] 2020-07-15; [接受日期] 2020-10-27

[作者简介] 陈玉兰, 女, 硕士研究生, 副主任医师。现工作单位: 中山市人民医院新生儿科, 邮编: 528400。

[通信作者] 张又祥, 男, 主任医师。Email: youxiangz@163.com。

遗传病（先天畸形、生理缺陷或代谢异常等）是婴幼儿期或围生期患儿死亡的主要原因，占总病死率的40%，且遗传病患者数量呈逐年上升趋势，是影响我国人口素质的重要因素，因此遗传病的诊疗在新生儿科医生的临床工作中显得尤为重要^[1]。活产新生儿中患有不同种类遗传病者约4%~5%，其中单基因病1%，多基因病2%~3%，染色体病0.5%，其他0.5%~1.0%^[2]。然而，许多出生缺陷相关的遗传病在新生儿时期的临床表现并不典型，且这些通常是危重新生儿，临床诊断难度大^[3]。在过去几十年，染色体核型分型是诊断染色体畸变的标准手段，但无法检测染色体基因重排、染色体基因材料失衡等先天异常，很难检测到遗传物质微小缺失、变异和重复。目前全外显子组测序（whole exome sequencing, WES）得到广泛认可，为临床医生对遗传病诊断提供了重要的工具^[4]。全外显子大约包含了2.2万个基因，WES包含了其中的2万个基因。WES是利用液相探针捕获技术或多重PCR扩增技术对基因组中的外显子区域进行富集，再通过高通量测序技术对富集的序列进行突变位点检测。WES具有非常优秀的均一性，可以精准地检测覆盖范围内的绝大多数（约98%）点突变，以及大多数的拷贝数变异，为寻找疾病的致病基因提供了一种全新的且相对全面的检测方法。本文就近3年WES在我院新生儿重症监护室的危重症新生儿遗传病中的临床应用进行回顾性分析，为其早期诊断、治疗及遗传咨询提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年1月至2020年6月入住中山市人民医院新生儿重症监护室的疑似遗传病或诊断不明的危重新生儿^[5]作为研究对象。患儿均在新生儿时期发病，临床表现有黄疸持续不退、喂养困难、胆汁淤积、反复抽搐、皮肤缺失、皮肤色素异常、肌张力异常、不明原因呼吸困难、内脏异位、生殖器异常等；部分检查结果显示有酸中毒、难纠正的低血糖、高乳酸、高血氨、电解质紊乱、多器官功能紊乱、心脏结构严重异常、血或尿串联质谱遗传代谢病筛查结果异常等。

1.2 标本采集

采集患儿及其父母的静脉血1~3 mL，EDTA/柠檬酸盐抗凝，不得用肝素，于2~8℃环境中冷藏保存。填写患儿及其父母的基本信息、临床表现及相关辅助检查结果，将标本快递至广州金域医学检验中心进行高通量WES检测。新生儿监护人均签署知情同意书。

1.3 检测方法

WES以IDT xGen Exome Research panel v1为捕获探针，对全外显子组进行捕获测序。IDT xGen Exome Research panel v1探针针对人基因组中43 Mb的外显子区域进行设计，涵盖19396个基因的外显子区域，由于该探针的GC含量较高，因此对于外显子组中高GC含量的区域捕获效果较好，在一定程度上削减了由于GC含量差异所导致的覆盖不均一的测序偏差。本检测通过WES测序，分析DNA序列中存在的单核苷酸变异（single nucleotide variations, SNV）、插入和缺失（insertion and deletion, Indel）和拷贝数变异（copy number variation, CNV）等变异，主要应用于复杂遗传疾病相关分析。

经WES检测出的基因变异位点及父母相关基因位点进行一代Sanger测序加以验证，并采用十分庞大的数据作为对照，其中既包含了国外多个人群的数据，也包含了大量中国人群的数据。金域实验室采用的突变/变异数据库主要包括：金域数据库，以中国人遗传病患者为主；人类基因突变数据库（HGMD，专业版），以病人为主的变异数据库；ClinVar数据库（综合性），与疾病相关的人类基因组变异数据库；ESP6500数据库（美国国家心脏、肺和血液研究所外显子组测序计划），以一般人群为主，主要用于心、肺、血液相关疾病的研究；G1000数据库（千人基因组计划），以一般人群为主；单核苷酸多态性数据库（dbSNP），以一般人群为主，是单碱基替换及短插入、删除多态性的资源库。综合考虑多方面的证据评估所检测到的基因变异是否有临床意义，临床医生结合患儿的表型及WES检测结果综合分析解读，参考美国医学遗传学和基因组学会（ACMG）指南最后给出报告。

1.4 其他辅助检查

血常规、尿常规、肝肾功能、血糖、血气分析、

血氨、血乳酸、胰岛素、同型半胱氨酸、串联质谱、X片、心脏彩超、头颅MRI、脑电图等。

2 结果

2.1 一般情况

共纳入研究的新生儿有66例，其中男34例（52%），女32例（48%），发病年龄1~28 d，确诊为基因遗传病的新生儿有15例（阳性率23%），其中男11例，女4例，平均确诊年龄为（37±9）d。

2.2 临床资料

66例患儿经WES检测出有基因变异14例，阳性率为21%；1例患儿经WES检测未见有基因

变异，但因临床表现高度怀疑为色素失禁症，联合多重连接酶探针依赖扩增技术检测出基因变异。根据检测出的基因变异位点与疾病的相关性，结合一代Sanger测序加以验证，再辅以ClinVar数据库、OMIM数据库、基因编码蛋白的结构域分析、家族史、大样本量调查所获得的变异频率及生物信息学软件对某些变异位点的分析结果进行评估，临床医生结合患儿的表型及WES检测结果综合分析解读，最终确诊为基因遗传病患儿有15例。主要临床诊断存在皮肤、颅骨及神经遗传病5例；存在内分泌和代谢系统疾病7例；心血管系统疾病2例；染色体病1例。15例确诊基因遗传病患儿中有13例行染色体检查，其中只有1例染色体异常，其余12例染色体检查无异常。见表1。

表1 15例确诊基因遗传病患儿的基因突变信息及相关疾病名称

序号	疾病	主要临床表现及阳性实验室检查结果	染色体检查	染色体位置	基因	cDNA 水平改变
1	先天性皮肤缺损	皮肤缺失	(-)	17q25	<i>ITGB4</i>	NM_001005731.1(Exon8): c.794dupC NM_001005731.1(Exon15): c.1860G>A
2	色素失禁症	皮肤色素不均匀	(-)	9q34 21q22	<i>CARD9</i> <i>ITGB2</i> <i>IKBKKG</i>	NM_052813.4(Exon8): c.1118G>C NM_000211.4(Exon6): c.715G>A 4~10号外显子缺失
3	结节性硬化症	心室、视网膜、大脑多发结节	(-)	16p13	<i>TSC2</i>	NM_000548.3(Exon41): c.5181_5182del
4	Prader Willi 综合征	小阴唇、肌张力低	(-)	15q11-13 片段丢失		
5	新生儿低血糖症	早产、低血糖	(-)	1q41 2p21 8q12	<i>GJC2</i> <i>LRPPRC</i> <i>CHD7</i>	NM_020435.3(Exon2): c.1199C>A NM_020435.3(Exon2): c.1066C>A NM_133259.3(Exon32): c.3430C>T NM_133259.3(Exon28): c.2965C>T NM_017780.3(Exon4): c.2233G>T
6	甲基丙二酸血症伴同型半胱氨酸血症	抽搐	(-)	1p34.1 Xq28	<i>MMACHC</i> <i>ABCD1</i>	NM_015506.2(Exon4): c.609G>A NM_015506.2(Exon4): c.658_660del NM_000033.3(Exon9): c.1903G>A
7	Beckwith-Wiedeman 综合征	早产儿、巨舌	(-)	11p15.4	<i>CDKN1C</i>	NM_000076.2(Exon1): c.183G>C
8	瓜氨酸血症Ⅱ型	皮肤黄染、胆汁淤积	未查	7q21.3	<i>SLC25A13</i>	NM_014251.2(Exon9): c.852_855del NM_014251.2(Intron6): c.616-11A>G
9	肉碱缺乏	早产，串联质谱检查示肉碱减少	未查	11p15.1	<i>ABCC8</i>	NM_000352.4(Intron36): c.4412-13G>C
10	Kartagener 综合征	全内脏反位	(-)	15q22.2	<i>TPM1</i>	NM_001018005.1(Exon6): c.583G>A
11	甲基丙二酸血症	嗜睡、喂养困难	(-)	chr6	<i>MUT</i>	c.914(Exon5)T>C p.L305S(NM_000255) c.1151(Exon6)C>T p.S384F(NM_000255)
12	13- 三体综合征	胎儿期检查染色体异常	47、XY、+13	+13; Xq21	<i>ATRX</i>	NM_000489.4(Exon32): c.6896C>T
13	结节性硬化症	心脏彩超示心室横纹肌瘤	(-)	16p13.3 18q12.1	<i>TSC2</i> <i>DTNA</i>	NM_000548.4(Exon18): c.1864C>T NM_001390.4(Exon8): c.1000G>A
14	Kabuki 综合征	腭裂、黄疸	(-)	12q13.12	<i>KMT2D</i>	NM_003482.3(Exon31): c.7288_7289del
15	Adams-Oliver 综合征	头皮及颅骨缺失	(-)	15q15.1		

表1 (续)

序号	合子类型	致病性分类	遗传方式	父亲	母亲
1	Het	致病性	AR/AD	(-)	Het
	Het	意义未明	AR/AD	Het	(-)
	Het	意义未明	AR		
2	Het	意义未明	AR	未查	未查
	Het	致病性	XD		
3	Het	致病性	AD	(-)	(-)
4		致病性		未查	未查
5	Het	意义未明	AR/AD	验证失败	(-)
	Het	意义未明	AR/AD		Het
	Het	意义未明	AR	(-)	Het
	Het	意义未明	AR	Het	(-)
	Het	意义未明	AD	Het	(-)
6	Het	致病性	AR		
	Het	致病性	AR	未查	未查
	Hemi	意义未明	XR		
7	Het	致病性	AD	未查	未查
8	Het	致病性	AR	VP22D03154 Het	VP22D03155 (-)
	Het	可疑致病	AR	VP22D03154 (-)	VP22D03155 Het
9	Het	可疑致病	AR/AD	VP22D02227 Het	VP22D02226 (-)
10	Het	意义未明	AD	未查	未查
11	Het	致病性	AR	Het	野生型
	Het	可疑致病	AR	野生型	Het
12	Hemi	意义未明	XR	未查	未查
13	Het	意义未明	AD	(-)	Het
	Het	意义未明	AD	(-)	Het
14	嵌合	致病性	AD	(-)	(-)
15		致病性		未查	未查

注: [Het] 杂合子; [Hemi] 半合子; [AR] 常染色体隐性遗传; [AD] 常染色体显性遗传; [XR] X-连锁隐性遗传; [XD] X-连锁显性遗传。第4、15病例存在基因区带大片缺失, 第15病例缺失部分包括基因功能区 DLL4。

2.3 基因遗传病患儿的基因突变信息

在基因遗传患儿基因变异分类中, 致病性基因变异 10 例, 占 67% (10/15); 可疑致病性基因变异 1 例, 占 7% (1/15); 基因变异意义未明 4 例, 27% (4/15)。其中有 1 例患儿 WES 检测未见有致病性基因, 因临床表现高度怀疑为色素失禁症, 再应用多重连接酶探针依赖扩增技术, 检测样本特定基因的各个外显子, 检测到 *IKBKG* 基因 4~10 号外显子的杂合缺失突变 (表 1)。临床意义未明的变异为目前没有报道, 无相关数据库表明其临床意义, 但未来在临床过程中可能有意义;

且临床意义未明的变异是否会引起患者的疾病, 尚有待科学的发展、数据的积累及更深入的功能研究。

在含有致病性基因变异的 10 例患儿中, 常染色体隐性遗传病 4 例 (40%), 常染色体显性遗传病 3 例 (30%), X-连锁显性遗传病 1 例 (10%), 基因片段缺失 2 例 (20%)。其中有 3 例常染色体隐性遗传患儿父母杂合携带致病基因; 2 例常染色体显性遗传患儿父母不携带致病基因, 该变异可能为新发变异, 同时不排除其父母为生殖细胞嵌合型携带者的可能; 另 5 例患儿父母未做相应基因检查。见表 1。

3 讨论

全外显子组是指基因组当中被认为具有最重要功能的基因组区域的总和, 约占人类整个基因组的 3%。遗传病的大多数病因都发生在外显子区。有文献报道 85% 的人类致病基因变异发生于外显子区^[6]。据国外统计, 新生儿重症监护室死亡患儿中约 1/4 为遗传性疾病, 国内规模较大的医学院校附属医院儿科也出现类似趋势^[2]。因此, WES 技术对全外显子组一次性进行分析, 被认为可以高效地分析绝大多数的遗传病, 为寻求疾病的致病性基因及易感性基因提供了一个全新且重要的方法, 并在疑难性疾病的研究中有明显优势^[7]。在新生儿重症监护室的疑似遗传病或诊断不明确的危重新生儿中开展 WES 对临床诊疗工作具有更为重要的意义。

近年来, 将 WES 技术应用于儿科疑难病或危重症患儿中已经取得了很多的进展, 例如在遗传性疾病中发现了新的致病基因, 或是将已知的致病基因与新的表型相联系^[8]。谢华等^[9]使用 WES 技术检测一组不明原因的神经发育障碍患儿, 检测出致病性单核苷酸变异 14 个、致病性基因组拷贝数变异 3 个, 检出率为 48.6%。国外有学者使用 WES 技术检测到 102 例单基因遗传病患儿, 检出率为 36.7%^[10]。齐志业等^[5]用 WES 技术确诊新生儿单基因遗传病患儿 12 例, 诊断阳性率为 27%。

临床遗传学的快速发展及分子遗传学新技术的应用, 使很多过去不认识的遗传性疾病的诊断、治疗、预防成为可能, 使很多遗传病的产前诊断

得以解决。通过儿科遗传病的咨询服务,使患有遗传病的个人得到及时诊治,减少伤残,并采取预防措施,在家庭成员配合下,预防患同样遗传性疾病的婴儿再出生。近3年来入住我院新生儿重症监护室的疑似遗传病或诊断不明的危重新生儿进行WES检测,其中1例联合多重连接酶探针依赖扩增技术,最后15例确诊基因遗传病(阳性率23%),较文献报道的低,可能与本研究纳入样本数较少有关。其中有5例患儿父母亲完善相应基因检测,有3例患儿父母杂合携带致病基因,有2例患儿父母未携带致病基因。然而这15例确诊基因遗传病患儿中,有13例完善染色体检查,只有1例患儿检测出染色体异常,充分说明染色体检查很难检测到遗传物质微小缺失、变异和重复。

新生儿时期的遗传病较难诊断。遗传病在新生儿时期的临床症状多不典型^[11],且遗传病一旦在新生儿时期发病,通常进展迅速,病死率高,因此早诊断对改善遗传病的预后至关重要^[10]。本研究中纳入新生儿的临床症状也存在不典型性及多样性,最常见的内分泌及代谢系统疾病也仅占11%(7/66),确诊基因遗传病的15例患儿中确诊年龄为(37±9)d。WES可以在短时间内找到临床诊断不明且需快速明确病因的严重疾病的致病原因^[12];对于可以通过治疗改善预后的疾病,早诊断早治疗至关重要^[10];并能提供遗传咨询,做到优生优育。其中有1例先天性皮肤缺损患儿的母亲在怀孕下一胎时,其绒毛膜基因测序结果同先证者,最终母亲做了引产手术,目前正在做试管婴儿。研究中有1例甲基丙二酸血症伴同型半胱氨酸血症患儿,确诊后一直予口服维生素B₁₂、左旋肉碱、L-Carnitine特殊配方饮食,生后有反复代谢性酸中毒、精神运动发育迟缓,不会翻身、抬头,肌张力低下,多次住院治疗,直到6个月大时因“小儿肠炎、代谢性酸中毒”住院,家属考虑到患儿为基因遗传性疾病,无法根治,预后差,选择放弃治疗,最终死亡。基因检测对很多疑难病找到原因,对患儿长期预后的判断有很大价值,然而其阳性结果对家属救治态度的影响及对医疗决策的影响也是不容忽视的。

WES技术检测存在一定的局限性,检测并非能覆盖到所有的基因突变。主要包括^[4]:(1)同源的基因组区域或高度重复区域在与参考基因组

比对时可能存在不唯一性,且这些区域存在活跃的重组,增加了比对难度,因此对这些区域的检测结果分析的准确性不高。(2)在mtDNA变异识别方面存在局限性,是因为线粒体基因组变异有杂质性^[13]。(3)人类基因组参考序列只是来自于有限个体,人类部分基因组区域存在参考序列的空缺,会导致变异识别不准确。(4)由于基因组构型较复杂,对高鸟嘌呤和胞嘧啶含量区域的覆盖可能不全面。本研究中有1例高度怀疑色素失禁症患儿,WES检测未见有致病性基因,另应用多重连接酶探针依赖扩增技术,检测到与表型相符的基因杂合缺失突变。然而WES的这些局限性可以通过技术及算法的改进而得到解决,已有通过下一代测序方法检测某些涉及高度同源基因的疾病文献报道^[14]。还有因为报告解读者对患儿表型没有充分理解与利用,或临床医生未完整提供临床表现,导致WES检测结果未提示表型与变异基因相联系。有学者研究显示^[15],有15.5%的疑似遗传病患者,在对其WES检测结果重新分析后,获得了新的遗传病诊断,其中大部分原因是解读者对临床表型认识不充分或患者出现了新的临床症状而漏诊。所以,WES检测结果需要经验丰富的专业遗传工作者的解读和临床医生充分结合患者的临床表现分析,才能更大化地发现临床表现与变异基因的联系。对于WES技术不能覆盖的基因变异,而临床表现高度怀疑遗传病的患儿,可联合其他测序方法进行检测。有文献报道全基因组测序(WGS)能覆盖几乎全部基因的外显子序列、内含子序列和基因间序列,WGS有望应用于临床遗传检测从而提高诊断率^[16]。

WES这项技术既为危重新生儿遗传病的临床决策提供信息,也会使临床决策受到一定困扰。例如:在检测过程中有可能受到假基因的影响,部分基因的测序结果可能是不可靠的;部分文献中报道的致病突变/病理性变异经过综合分析,也可能被重新定义为良性的变异;阳性结果患儿的父母会有相当程度的焦虑和情绪负担,以至于做出消极的决定。因此,临床医生始终需要带着批判的眼睛看待基因测序对患儿预后的预测价值,需结合临床表型及严密追踪随访,综合判断其预后。

综上所述,染色体检查很难检测到遗传物质微小缺失、变异和重复,WES技术在疑似遗传病

或诊断不明确的危重新生儿中的应用具有重要的诊断价值。然而 WES 技术有一定的局限性,对于临床表现高度怀疑遗传病的患儿, WES 技术又不能覆盖该表型的基因变异,可联合其他测序方法进行检测,且需临床医生结合患儿的临床表型综合分析,并追踪随访观察其预后。有效应用 WES 技术,做到不漏诊、不误诊,早诊断、早治疗,减轻或避免不可逆的器官损伤,有效降低遗传病导致的伤残率及病死率,并可以提供遗传咨询,达到优生优育的目的。

[参 考 文 献]

- [1] 孙丽雅,邢清和,贺林. 中国出生缺陷遗传学研究的回顾与展望[J]. 遗传, 2018, 40(10): 800-813.
- [2] 邵肖梅,叶鸿瑁,丘小汕. 实用新生儿学[M]. 第5版. 北京: 人民卫生出版社, 2019: 940-978.
- [3] 王慧君,周文浩. 精准医疗时代新生儿遗传病临床干预面临的机遇与挑战[J]. 中华儿科杂志, 2018, 56(4): 244-246.
- [4] 中国医师协会医学遗传医师分会,中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组,中国医师协会青春期医学专业委员会临床遗传学组,等. 全基因组测序在遗传病检测中的临床应用专家共识[J]. 中华儿科杂志, 2019, 57(6): 419-423.
- [5] 齐志业,段江,贺湘英,等. 全组测序在危重症新生儿单基因遗传病中的临床应用[J]. 中国当代儿科杂志, 2019, 21(7): 640-643.
- [6] Choi M, Scholl UI, Ji WZ, et al. Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(45): 19096-19101.
- [7] 饶书权,杜廷福,许琪. 外显子组测序在人类疾病中的应用[J]. 遗传, 2014, 36(11): 1077-1086.
- [8] 杨琳,董辰,魏泽峻,等. 基于快速和常规全外显子组分析技术对遗传性疾病的诊断程序比较[J]. 中国循证儿科杂志, 2016, 11(2): 131-136.
- [9] 谢华,吕凌云,高志杰,等. 探索全外显子测序在儿童神经发育障碍中的诊断价值[J]. 中华检验医学杂志, 2017, 40(8): 623-629.
- [10] Meng LY, Pammi M, Saronwala A, et al. Use of exome sequencing for infants in intensive care units: ascertainment of severe single-gene disorders and effect on medical management[J]. JAMA Pediatr, 2017, 171(12): e173438.
- [11] Smith LD, Willig LK, Kingsmore SF. Whole-exome sequencing and whole-genome sequencing in critically ill neonates suspected to have single-gene disorders[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2015, 6(2): a023168.
- [12] Miller NA, Farrow EG, Gibson M, et al. A 26-hour system of highly sensitive whole genome sequencing for emergency management of genetic diseases[J]. Genome Med, 2015, 7: 100.
- [13] Zhang W, Cui H, Wong LJ. Comprehensive one-step molecular analyses of mitochondrial genome by massively parallel sequencing[J]. Clin Chem, 2012, 58(9): 1322-1331.
- [14] Feng YM, Ge XY, Meng LY, et al. The next generation of population-based spinal muscular atrophy carrier screening: comprehensive pan-ethnic SMN1 copy-number and sequence variant analysis by massively parallel sequencing[J]. Genet Med, 2017, 19(8): 936-944.
- [15] Basel-Salmon L, Orenstein N, Markus-Bustani K, et al. Improved diagnostics by exome sequencing following raw data reevaluation by clinical geneticists involved in the medical care of the individuals tested[J]. Genet Med, 2019, 21(6): 1443-1451.
- [16] Lionel AC, Costain G, Monfared N, et al. Improved diagnostic yield compared with targeted gene sequencing panels suggests a role for whole-genome sequencing as a first-tier genetic test[J]. Genet Med, 2018, 20(4): 435-443.

(本文编辑: 万静)