

# KL-BoBs 联合 QF-PCR 技术对流产组织检测的临床应用评估

苏杭<sup>1,2</sup>, 朱红梅<sup>1,2</sup>, 李玲萍<sup>1,2</sup>, 杜泽<sup>1,2</sup>, 曾杨<sup>1,2</sup>, 胡婷<sup>1,2</sup>, 张竹<sup>1,2</sup>, 刘珊玲<sup>1,2</sup>, 王和<sup>1,2,△</sup>

1. 四川大学华西第二医院 妇产科 产前诊断中心(成都 610041);

2. 出生缺陷与相关妇科疾病教育部重点实验室(四川大学)(成都 610041)

**【摘要】** 目的 通过用核型细菌人工染色体标记-微球鉴别/分离法(KL-BoBs)对早孕期流产组织进行遗传学检测,评估 KL-BoBs 联合荧光定量 PCR 技术(QF-PCR)对流产组织进行遗传学检测的准确性。方法 收集 2016 年 5~8 月在四川大学华西第二医院产前诊断中心进行染色体微阵列分析(CMA)检测的 81 例早孕期流产组织样本(61 例胎盘绒毛组织,19 例胎儿肌肉组织,1 例胎儿肝脏组织),用 KL-BoBs 及 QF-PCR 技术对样本进行检测,将检测结果与 CMA 检测结果进行对比,评估 KL-BoBs 与 QF-PCR 联合检测的准确性。结果 在 81 例流产组织样本中,70 例样本经 KL-BoBs 检测的结果与其 CMA 检测结果一致,包括 36 例正常核型、34 例异常核型(非整倍体);KL-BoBs 不能检出胎儿三倍体(结果显示为 2 例正常核型和 5 例非整倍体),CMA 和 QF-PCR 均检出;KL-BoBs 不能检出较小片段的拷贝数变异。CMA 检测出 4 例样本拷贝数变异。KL-BoBs 联合 QF-PCR 方法与 CMA 阳性诊断的符合率为 91.1%(41/45),阴性诊断的符合率为 100%(36/36)。KL-BoBs 的检测准确率为 86.4%(70/81),假阳性率为 0%,假阴性率为 13.3%(6/45),如果同时进行 KL-BoBs 和 QF-PCR 检测,可将准确率提高到 95.1%(77/81)。结论 KL-BoBs 联合 QF-PCR 检测早孕期流产组织准确率高,可作为流产组织染色体异常的一线检测方法。

**【关键词】** 细菌人工染色体标记-微球鉴别/分离法 荧光定量 PCR 流产组织 非整倍体异常

**Clinical Application Assessment of KaryoLite BoBs Combined with QF-PCR in the Detection of Products of Conception**  
SU Hang<sup>1,2</sup>, ZHU Hong-mei<sup>1,2</sup>, LI Ling-ping<sup>1,2</sup>, DU Ze<sup>1,2</sup>, ZENG Yang<sup>1,2</sup>, HU Ting<sup>1,2</sup>, ZHANG Zhu<sup>1,2</sup>, LIU Shan-ling<sup>1,2</sup>, WANG He<sup>1,2,△</sup>. 1. Department of Prenatal Diagnosis of Obstetrics and Gynecology, West China Second University Hospital, Chengdu 610041, China; 2. Key Laboratory of Birth Defects and Related Diseases of Women and Children, Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: wanghe\_cd@126.com

**【Abstract】 Objective** To assess the accuracy and discuss the feasibility of KaryoLite bacterial artificial chromosome on beads (KL-BoBs) and quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR) in genetic testing of products of conception (POC) by comparing with the chromosomal microarray analysis (CMA) test results. **Methods** Eighty-one cases of abortion samples were collected in the prenatal diagnosis center of West China Second University Hospital in Sichuan University from May to August 2016, including 61 cases of placenta tissues, 19 cases of fetal muscle tissues and 1 case of fetal liver tissue. KL-BoBs and QF-PCR were used to detect the samples. The results were compared with those of CMA test to evaluate the accuracy of KL-BoBs and QF-PCR. **Results** Of the 81 POC samples, the results of 70 samples tested by KL-BoBs was consistent with that of CMA. Among them, 36 cases were normal karyotype and 34 cases were abnormal karyotypes (aneuploidy). Triploid could not be detected by KL-BoBs (the results were shown 2 cases were normal karyotype and 5 cases were aneuploidy), whereas CMA and QF-PCR could be detected. Copy number variation of small segments could not be detected by KL-BoBs. Four cases of copy number variation were detected by CMA. Compared with CMA, the positive coincident rate of KL-BoBs combined with QF-PCR was 91.1% (41/45), the negative coincidence rate was 100% (36/36). The accuracy rate of KL-BoBs was 86.4% (70/81), the false positive was 0% and the false negative was 13.3% (6/45). Whereas both KL-BoBs and QF-PCR were simultaneously detected, the accuracy rate would be improved to 95.1% (77/81). **Conclusion** The accuracy rate of KL-BoBs combined with QF-PCR was high for testing early pregnancy abortion tissue. It can be used as a first-tier test.

**【Key words】** Bacterial artificial chromosome on beads Quantitative fluorescent polymerase chain reaction Products of conception Aneusomies

临床上约有 10%~15% 的妊娠会发生流产,且大多数流产出现在早孕期。研究表明约 50% 的流产是由于胎儿染色体异常所致<sup>[1-4]</sup>。对胎儿组织进行基因检测可以为寻找流产发生的根本原因提供重要信息,也可以为再发风险的遗传咨询提供依据。

传统细胞遗传学分析的金标准是组织培养和染色体 G 显带核型分析。研究表明组织培养由于各种原因,约 50% 的组织样本会培养失败<sup>[5]</sup>。剩下的样本由于细胞生长缓慢,从收到样本到出报告大概需要 1 月。G 显带核型分析可检出染色体数目和结构异常,但分辨率低,传统的细胞遗传学技术还依赖于熟练的技术人员,并且母体组织的污染也并不少见。因此,现已有多种分子技术开始用于检测流产组织样本,如染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)、荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)、多重连接探针扩增技术(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)、荧光定量 PCR 技术(quantitative fluorescent polymerase chain reaction, QF-PCR),以规避细胞遗传学分析的局限性<sup>[6-8]</sup>。CMA 可以检测染色体微缺失和微重复,也无需细胞培养,但成本相对昂贵,且检测结果可能出现临床意义不明的拷贝数变异(copy number variant, CNV)<sup>[9-10]</sup>。近年来利用核型细菌人工染色体标记-微球鉴别/分离法(bacterial artificial chromosome on beads, BoBs)技术进行染色体检测逐渐增多<sup>[11-15]</sup>。BoBs 检测分为 Prenatal BoBs 和 KaryoLite BoBs (KL-BoBs)两种,Prenatal BoBs 针对染色体非整倍体和 9 种微缺失进行检测,KL-BoBs 可检出 24 条染色体的非整倍体改变,由于其探针位点不同于 Prenatal BoBs 技术,KL-BoBs 不能检测微缺失综合征。文献报道,染色体数目异常占流产组织染色体异常总数的 90%,结构异常占 6%,其他为嵌合体<sup>[11]</sup>。本研究通过 KL-BoBs 对 81 例流产组织样本进行检测,并与同时行 CMA 检测的结果进行对比,评估 KL-BoBs 联合 QF-PCR 对流产组织进行遗传学检测的准确性,探讨此种新的检测方法在临床实践中应用的可行性。

## 1 材料与方法

### 1.1 流产组织样本

收集 2016 年 5~8 月送至四川大学华西第二医院产前诊断中心的 81 例妊娠早期(孕周 4~12 周)流产组织样本,样本均于生理盐水中 4 °C 保存,其中

61 例为胎盘绒毛组织,19 例为胎儿肌肉组织,1 例为胎儿肝脏组织。本研究获得伦理委员会批准并取得患者知情同意。

### 1.2 主要试剂

QIAamp DNA Mini Kit extraction reagents for tissues,购自 Qiagen 公司;Karyo Lite™ BoBs™ 试剂盒,购自芬兰 Perkin Elmer Life and Analytical Science(PE)公司。试剂盒包含 3 个试剂包:试剂包 1(P1)、试剂包 2(P2)、试剂包 3(P3)。P1 内包含随机引物溶液、生物素-脱氧核糖核苷三磷酸混合物、聚合酶和杂交缓冲液,P1 存放于-30~-16 °C;P2 内包含样本稀释液、细菌人工染色体微球(BAC-on-Beads)混合物、报告分子浓缩液、报告分子稀释液、洗涤缓冲液 1 和洗涤缓冲液 2,P2 存放温度为 2~8 °C;P3 内包含生物素化脱氧核糖核酸提纯孔板,P3 存放温度为室温。CMA 检测采用美国 Affymetrix 公司 750K 芯片试剂盒,包括 αCGH 和 SNP 探针。达瑞 21 三体 and 性染色体多倍体检测试剂盒购自达瑞公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 样本 DNA 提取** 按 QIAamp DNA Mini Kit extraction reagents for tissues 试剂盒操作步骤进行操作。使用微量紫外分光光度计(Nanodrop 2000)测定 DNA 浓度。

**1.3.2 KL-BoBs 技术及操作步骤** BACs-on-Beads 混合试剂中的 BAC 可与其靶位区域的基因组进行杂交。杂交到特定 BAC 探针的样本 DNA 平均荧光强度与杂交到同一特定 BAC 探针的参考 DNA 平均荧光强度相比较。尽管每个区域有多种探针,但其比值数据均为分开计算。当染色体臂拷贝数发生变化时,位于同一目标区域的多个 BAC 探针也应作出类似反应,并显示偏离正常的 1.0 比值。

KL-BoBs 试验按 Karyo Lite™ BoBs™ 试剂盒操作步骤进行操作。首先标记基因组 DNA。将标记后的 DNA 进行纯化,然后进行 DNA 杂交。将杂交后的 DNA 清洗和报告分子进行连接。最后上机检测,信号强度在 Luminex 200 仪器系统(美国 Luminex 公司)上读取,使用 BoBsoft 1.0 软件进行数据分析,BoBsoft 分析软件可读取 Luminex 200 仪器系统输出的文件,并对样本和参考品的信号强度进行对比,从而鉴定目标区域的 DNA 拷贝数变化情况<sup>[12]</sup>。

**1.3.3 CMA 检测** 按试剂盒说明书进行操作。通过采取样本、核酸提取、反转录、扩增放大、样品标

记、杂交反应、洗脱后,进行结果判读<sup>[13]</sup>。

**1.3.4 QF-PCR** 对 CMA 分析检测结果显示为三倍体的 7 例样本在四川大学华西第二医院产前诊断中心进行 QF-PCR 检测。按试剂盒说明书进行操作。通过标本采集、DNA 提取及定量、STR 扩增后,进行结果判读<sup>[9]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 KL-BoBs 与 CMA 核型检测结果比较

在 81 例流产组织样本中,70 例样本的核型检测结果 KL-BoBs 与其 CMA 检测结果一致,包括 36 例胎儿正常核型和 34 例胎儿异常核型(表 1)。其中最常见异常核型为胎儿 X 单体,占全部检测样

表 1 KL-BoBs 核型检测结果与 CMA 检测结果一致的 70 例样本

Table 1 Results of KL-BoBs in concordance with the CMA reports in 70 cases

Group	Karyotype	Case
Normal karyotype	46,XX	17
	46,XY	19
Abnormal karyotype	47,XY+2	2
	47,XX+4 or 47,XY+4	4
	47,XX+6	1
	47,XY+10	1
	47,XX+11	1
	47,XY+13	1
	47,XX+14	4
	47,XX+15 or 47,XY+15	3
	47,XX+16 or 47,XY+16	5
	47,XX+20 or 47,XY+20	2
	47,XX+21	1
	47,XX+22 or 47,XY+22	2
	45,X0	7

表 3 4 例拷贝数变异的 KL-BoBs 和 CMA 检测结果及所涉及疾病

Table 3 The KL-BoBs and CMA test results of 4 copy number variation and related diseases

No.	KL-BoBs	CMA	DECIPHER and DGV database retrieval results
Case 6	46,XY	Gain arr[hg19]2q11.1q11.2(95,372,685-100,601,321)x3 (5 229 kb) arr[hg19]2p22.2p11.2(37,480,248-87,053,152)hmz (49 573 kb)	Cognitive impairment, intellectual disability, global developmental delay (DGV-) DECIPHER pathogenicity: probably pathogenic
Case 24	46,XY	Loss of heterozygosity arr[hg19]22q11.21(18,631,364-21,800,471)x1 (3 169 kb)	Velocardiofacial/ diGeorge syndrome(DGV-) DECIPHER pathogenicity: definitely pathogenic
Case 40	46,XX	Gain arr[hg19]Xp22.31(8,099,035-8,614,406)x3 (515 kb)	Intellectual disability, global developmental delay (DGV+) DECIPHER pathogenicity: probably pathogenic
Case 66	46,XY	Gain arr[hg19]15q11.2(22,770,421-23,288,350)x3 (518 kb)	Cerebral palsy, intellectual disability (DGV+) DECIPHER pathogenicity: probably pathogenic

DECIPHER database: Database of genomic variation and phenotype in humans using ensembl resources; DGV database: Database of genomic variants

见表 4。可见 KL-BoBs 联合 QF-PCR 能检出正常核型、非整倍体、三倍体核型,不能检出染色体拷贝数变异。与 CMA 阳性诊断的符合率为 91.1% (41/45),阴性诊断的符合率为 100% (36/36),KL-

本的 8.6% (7/81),其次为胎儿 16-三体,占全部检测样本的 6.17% (5/81)。

### 2.2 KL-BoBs、CMA 与 QF-PCR 检测胎儿三倍体结果比较

CMA 共检出 7 例胎儿三倍体,胎儿三倍体占所有检测样本的 8.6% (7/81),占所有胎儿染色体异常样本的 15.6% (7/45)。KL-BoBs 不能检出胎儿三倍体。7 例胎儿三倍体样本的 KL-BoBs 检测结果显示为 2 例正常核型和 5 例非整倍体(表 2)。7 例胎儿三倍体均经 QF-PCR 检出。

### 2.3 KL-BoBs 与 CMA 检测拷贝数变异结果比较

CMA 共检出 4 例拷贝数变异,拷贝数变异占所有检测样本的 4.9% (4/81),占所有染色体异常样本的 8.9% (4/45)。KL-BoBs 不能检出较小片段的拷贝数变异。4 例样本的 KL-BoBs 检测结果均显示为正常核型(表 3)。4 例拷贝数变异中,1 例为明确综合征,其余为致病性不明确或可在正常变异数据库中查见 DGV(+),表示即使存在这些拷贝数变异但并不一定致病,或在正常人也查见有这些拷贝数变异。

### 2.4 KL-BoBs 联合 QF-PCR 与 CMA 比较

表 2 7 例胎儿三倍体的 KL-BoBs、CMA 及 QF-PCR 检测结果

Table 2 KL-BoBs, CMA and QF-PCR test results of 7 triploid cases

No.	KL-BoBs	QF-PCR	CMA
Case 2	46,XX	Triploidy	Triploidy
Case 8	46,XY	Triploidy	Triploidy
Case 10	Trisomy 5	Triploidy	Triploidy
Case 18	Trisomy 19 and trisomy 22	Triploidy	Triploidy
Case 36	Trisomy 6 and sex chromosome abnormalities	Triploidy	Triploidy
Case 70	Sex chromosome abnormalities	Triploidy	Triploidy
Case 79	Sex chromosome abnormalities	Triploidy	Triploidy

BoBs 的检测准确率为 86.4% (70/81),假阳性率为 0%,假阴性率为 13.3% (6/45)。如果同时进行 KL-BoBs 和 QF-PCR 检测,可将准确率提高到 95.1% (77/81)。

表 4 KL-BoBs 联合 QF-PCR 与 CMA 比较

Table 4 KL-BoBs combined with QF-PCR vs. CMA

Result	Case	CMA	KL-BoBs	KL-BoBs combined with QF-PCR
Normal karyotype	36	+	+	+
Aneuploidy	34	+	+	+
Triploidy	7	+	-	+
Copy number variation	4	+	-	-

### 3 讨论

染色体异常被认为是导致孕 20 周之前自然流产的主要原因, 占有流产的 50%<sup>[1,5]</sup>。多为染色体数目异常, 其次为染色体结构异常。数目异常有三体、三倍体及 X 单体等; 结构异常有染色体断裂、倒置、缺失和易位。染色体异常的胚胎多数结局为流产, 极少数可能继续发育成胎儿, 但出生后也会发生某些功能异常或合并畸形。其余为环境因素和母体因素等所致。因此对流产组织进行染色体检测可帮助寻找流产发生的原因, 以判断是否为遗传因素所致, 对下一次妊娠有指导意义<sup>[14-15]</sup>。

分子技术是检测妊娠早期流产组织染色体异常最可靠的方法。FISH、MLPA、QF-PCR 都成功的应用于流产组织检测<sup>[16-17]</sup>。这些方法所能检测出的染色体异常类型较少, 均不如 CMA 全面。但另一方面, 进行 CMA 检测的价格很昂贵, 而且不适用于所有人群。之前的一些研究证明了 KL-BoBs 是检测染色体异常的有效方法<sup>[18-20]</sup>。该技术针对每条染色体的长臂和短臂各有 2 个独立的微球覆盖区域, 无短臂的 13、14、15、21 和 22 号染色体的长臂上有 3 个微球覆盖区域。该分析基于细菌人工染色体标记-微球鉴别/分离技术, 该技术将 DNA 探针固定在经过荧光编码的 Luminex<sup>®</sup> 微球表面, 其中 DNA 探针由经过 PCR 扩增的所选细菌人工染色体 (BAC) 制成。90 种探针固定于聚苯乙烯微球上, 探针由 3 种不同的 BACs 构成。该分析由带标记样本和参考 DNA 与互补的 BACs-on-Beads<sup>™</sup> 探针进行杂交构成。样本 DNA 杂交以单孔运行, 但参照品却以复孔杂交, 因为参照 DNA 要进行两个标记反应。杂交后, 信号强度在 Luminex<sup>™</sup> 200<sup>™</sup> 仪器系统上读取, 该仪器系统需要安装有 IS 2.3 或 xPONENT<sup>®</sup> 3.1 软件。BoBsoft<sup>™</sup> 分析软件可读取 Luminex<sup>®</sup> 200<sup>™</sup> 仪器系统输出的文件, 并对样品和参照品的信号强度进行对比, 从而鉴定目标区域的 DNA 拷贝数变化<sup>[12]</sup>。本研究用 KL-BoBs 对妊娠早期流产组织进行检测, 以评价 KL-BoBs 是否为实用的检测流产组织染色体异常的方法, 并得出更多

关于 KL-BoBs 技术和其适用人群的信息。

在本研究中, 36 例样本的染色体 CMA 和 KL-BoBs 检测结果均为正常核型, 45 例为异常核型, 即此组孕早期自然流产中染色体异常胚胎占 55.6% (45/81), 44.4% 为正常胚胎, 这部分正常胚胎流产为其他原因所致。在 81 例样本中, 染色体非整倍体异常占 42.0% (34/81), 三倍体占 8.6% (7/81), 拷贝数变异占 4.9% (4/81)。而在所有染色体异常的样本中非整倍体异常占 75.6% (34/45), 三倍体占 15.6% (7/45), 拷贝数变异占 8.9% (4/45)。与文献报道的比例一致<sup>[11-13,18-20]</sup>。70 例样本的核型 KL-BoBs 检测结果与其基因芯片检测结果一致, 包括 36 例正常核型和 34 例非整倍体核型; 11 例样本核型 KL-BoBs 检测结果与 CMA 的检测不一致, 包括 7 例三倍体和 4 例拷贝数变异, 其中 7 例三倍体可通过 QF-PCR 方法检出。KL-BoBs 检出了所有的流产组织染色体非整倍体异常, 检出率为 100%。4 例结构异常样本的核型 KL-BoBs 检测结果均显示为正常核型, 7 例三倍体样本的核型 KL-BoBs 检测结果显示为 2 例正常核型和 5 例非整倍体, 假阳性率为 0%, 假阴性率为 13.3% (6/45)。KL-BoBs 的检测准确率为 86.4% (70/81), 如果同时进行 KL-BoBs 和 QF-PCR 检测, 可将准确率提高到 95.1% (77/81)。尽管流产组织中 16、22 三体比例高, 但如只做可检测 7 条染色体 (13/16/18/21/22/X/Y) 的 FISH 检测, 则可能漏检 52.9% (18/34) 的染色体数目异常样本。

KL-BoBs 优势在于可以快速准确的得出结果, 检测用时只需 2 d。并且与 CMA 相比, KL-BoBs 成本较低。当样本中嵌合细胞大于 20%~30% 时, KL-BoBs 可检出嵌合体。由于方法设计的局限性, KL-BoBs 无法检测多倍体, 但这方面可以被 QF-PCR 所弥补。因此, 在本实验中, 我们将 KL-BoBs 与 QF-PCR 联合应用, 弥补了单独用 KL-BoBs 对流产组织染色体进行检测时不能检出三倍体的弊端。有文献报道, 在染色体非整倍体异常的检测上, KL-BoBs 的检测结果显示与 CMA 的检测结果显示 100% 符合<sup>[20]</sup>, 这与我们的研究结果一致。不过, CMA 的分辨率更高, 而 KL-BoBs 对非整倍体的敏感性非常高。

总的来说, KL-BoBs 是检测流产组织染色体异常的敏感方法, 并且成本较低, 其最大的局限性是不能检测三倍体, 但如与 QF-PCR 联合应用, 准确率可达 95.1%, 可将 KL-BoBs 与 QF-PCR 联合作为

流产组织染色体异常检测的首选方法。

### 参 考 文 献

- [1] WARREN JE, TUROK DK, MAXWELL TM, *et al.* Array comparative genomic hybridisation for genetic evaluation of fetal loss between 10 and 20 weeks of gestation. *Obstet Gynecol*, 2009, 114(5):1093-10102.
- [2] BAXTER L, ADAYAPALAM N. A comparative study of standard cytogenetic evaluation and molecular karyotyping for products of conception. *Diagn Mol Pathol*, 2013, 22(4):228-235.
- [3] RODGERS CS, CREAMY MR, FITCHETT M, *et al.* Solid tissue culture for cytogenetic analysis: a collaborative survey for the association of clinical cytogenetics. *J Clin Pathol*, 1996, 49(8):638-641.
- [4] SHEARER BM, THORLAND EC, CARLSON AW, *et al.* Reflex fluorescent *in situ* hybridization testing for unsuccessful product of conception cultures: a retrospective analysis of 5555 samples attempted by conventional cytogenetics and fluorescent *in situ* hybridization. *Genet Med*, 2011, 13(6):545-552.
- [5] MENASHA J, LEVY B, HIRSCHHORN K, *et al.* Incidence and spectrum of chromosome abnormalities in spontaneous abortions: new insights from a 12-year study. *Genet Med*, 2005, 7(4):251-263.
- [6] MILLER DT, ADAM MP, ARADHYA S, *et al.* Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet*, 2010, 86(5):749-764.
- [7] CHOY KW, SETLUR SR, LEE C, *et al.* The impact of human copy number variation on a new era of genetic testing. *BJOG*, 2010, 117(4):391-398.
- [8] BRUNO DL, BURGESS T, REN H, *et al.* High-throughput analysis of chromosome abnormality in spontaneous miscarriage using an MLPA subtelomere assay with an ancillary FISH test for polyploidy. *Am J Med Genet A*, 2006, 140(24):2786-2793.
- [9] DONAGHUE C, MANN K, DOCHERTY Z, *et al.* Combined QF-PCR and MLPA molecular analysis of miscarriage products: an efficient and robust alternative to karyotype analysis. *Prenat Diagn*, 2010, 30(2):133-137.
- [10] WAPNER RJ, LEWIS D. Genetics and metabolic causes of stillbirth. *Semin Perinatol*, 2002, 26(1):70-74.
- [11] PÉREZ-DURÁN J, NÁJERA Z, TRUJILLO-CABRERA Y, *et al.* Aneusomy detection with Karyolite-Bac on Beads? is a cost-efficient and high throughput strategy in the molecular analyses of the early pregnancy conception losses. *MolCytogenet*, 2015, 8: 63 [2016-05-10]. <https://molecularcytogenetics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13039-015-0168-x>. doi:10.1186/s13039-015-0168-x.
- [12] GRATI FR, GOMES DM, GANESAMOORTHY D, *et al.* Application of a new molecular technique for the genetic evaluation of products of conception. *Prenat Diagn*, 2013, 33(1):32-41.
- [13] 袁海明, 陈梦帆, 邓小燕, 等. 染色体微阵列技术在自然流产病因诊断中的应用. *中华医学遗传学杂志*, 2016, 33(4):442-446.
- [14] CARAMINS MC, SAVILLE T, SHAKESHAFT R, *et al.* A comparison of molecular and cytogenetic techniques for the diagnosis of pregnancy loss. *Genet Med*, 2011, 13(1):46-51.
- [15] JOBANPUTRA V, ESTEVES C, SOBRINO A, *et al.* Using FISH to increase the yield and accuracy of karyotypes from spontaneous abortion specimens. *Prenat Diagn*, 2011, 31(8):755-759.
- [16] CIRIGLIANO V, EJARQUE M, CAÑADAS MP, *et al.* Clinical application of multiplex quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR) for the rapid prenatal detection of common chromosome aneuploidies. *Mol Hum Reprod*, 2001, 7(10):1001-1006.
- [17] MANN K, FOX SP, ABBS SJ, *et al.* Development and implementation of a new rapid aneuploidy diagnostic service within the UK National Health Service and implications for the future of prenatal diagnosis. *Lancet*, 2001, 358(9287):1057-1061.
- [18] SHEATH KL, DUFFY L, ASQUITH P, *et al.* Bacterial artificial chromosomes (BACs)-on-Beads™ as a diagnostic platform for the rapid aneuploidy screening of products of conception. *Mol Med Rep*, 2013, 8(2):650-654.
- [19] CAMPOS-GALINDO I, GARCÍA-HERRERO S, MARTÍNEZ-CONEJERO JA, *et al.* Molecular analysis of products of conception obtained by hysteroembryoscopy from infertile couples. *J Assist Reprod Genet*, 2015, 32(5):839-848.
- [20] PAXTON CN, BROTHMAN AR, GEIERSBACH KB. Rapid aneusomy detection in products of conception using the KaryoLite™ BACs-on-Beads™ assay. *Prenat Diagn*, 2013, 33(1):25-31.

(2017-09-13 收稿, 2017-11-17 修回)

编辑 沈进