

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2022.03.03

· “迈瑞杯”临检发展专栏 ·

芯片捕获二代测序技术在新生儿疾病筛查中的应用*

王欣, 孙云, 王彦云, 洪冬洋, 管贤伟, 蒋涛, 许争峰(南京医科大学附属妇产医院 & 南京市妇幼保健院遗传医学中心, 南京 210004)

摘要:目的 探讨芯片捕获二代测序技术在新生儿疾病筛查中的临床应用价值。方法 收集新生儿遗传代谢病筛查干血滤纸片样本, 采用芯片捕获二代测序技术对 169 种常见疾病致病基因的已报道致病位点进行检测, 检出位点采用 Sanger 测序验证。结果 150 例样本中有 4 例为可疑阳性患者(阳性率为 2.67%), 88 例为致病基因携带者(携带率为 58.67%), 58 例未检测到致病基因变异。其中, 携带 1 个致病基因变异的样本高达 40.7%, 最多可见携带 4 个不同的致病基因变异。携带频率最高的致病基因为 *GJB2* 和 *SLC26A4*, 其次为 *PAH*、*SLC22A5*、*DUOX2*、*SLC12A3*、*USH2A* 及 *ACADS*。结论 基于芯片捕获二代测序技术的新生儿疾病筛查扩大了筛查病种, 与传统生化筛查结果进行结合和分析, 可有效降低筛查假阳性率, 提高阳性预测值, 具有重要的临床价值。

关键词: 基因筛查; 芯片捕获二代测序; 遗传代谢病; 新生儿筛查

中图分类号: R446; R722.11

文献标志码: A

Clinical application of newborn screening based on chip capture second-generation sequencing technology

WANG Xin, SUN Yun, Wang Yanyun, HONG Dongyang, Guan Xianwei, JIANG Tao, Xu Zhengfeng (Women's Hospital of Nanjing Medical University & Nanjing Maternity and Child Health Care Hospital Genetic Medicine Center, Nanjing 210004, Jiangsu, China)

Abstract: **Objective** To explore the clinical value of newborn screening based on the targeted capture-based NGS. **Methods** Using the retrospective dry blood spot samples on the foot of the newborns and the targeted capture-based NGS method, the reported pathogenic sites of the pathogenic genes that cause the 169 common inherited diseases of the newborns were detected, and the pathogenic sites were verified by sanger sequencing. **Results** It was found that 4 out of 150 samples were suspected positive samples, and the positive rate was 2.67%. 88 cases were pathogenic genes carriers, and the carrying rate of pathogenic genes was about 58.67%. There are no pathogenic gene variants detected in the residual 58 cases. Among them, as many as 40.7% of the samples carrying 1 pathogenic gene variant, and up to 4 different pathogenic gene variants been carried also can be seen. The most frequently carried pathogenic genes were deafness genes *GJB2* and *SLC26A4*, followed by *PAH*, *SLC22A5*, *DUOX2*, *SLC12A3*, *USH2A* and *ACADS*. **Conclusion** Newborn screening based on targeted capture-based NGS can expanded the screening of diseases. In addition, the combination and analysis with traditional biochemical screening results can effectively reduce the traditional false-positive rate and improve the positive predictive value which play an important role in clinic.

Key words: genetic screening; targeted capture-based NGS; inherited metabolic diseases; newborn screening

新生儿疾病筛查指在新生儿期对某些危害严重的遗传代谢性疾病、先天性疾病进行群体筛查, 以早期诊断和治疗, 从而避免或减轻疾病带来的危害^[1]。传统的生化筛查受限于检测方法, 检测病种有限, 且假阳性率较高, 甚至存在漏筛^[2-3]。随着测序技术的发展, 基于基因检测的新生儿疾病筛查方法价值凸显^[4]。本研究初步设计 169 种常见且危害严重的新生儿疾病组合, 利用芯片捕获二代测序技术对 150 例干血滤纸片样本进行检测, 以期为临床开展基因筛查积累经验。

1 对象和方法

1.1 研究对象 由南京医科大学附属妇产医院遗传医学中心新生儿筛查室随机收集 2021 年 1 月至 8 月南京地区出生的新生儿干血滤纸片样本共 150 例, 其中串联质谱技术初筛阳性样本 98 例, 初筛阴性样本 52 例。本研究通过南京医科大学附属妇产医院医学伦理委员会审核批准(No.2021KY-071), 所有新生儿家属均签署知情同意书。

1.2 主要仪器及试剂 NanoDrop 分光光度计(美国 Thermo Scientific 公司), Covaris LE220 超声破碎

* 基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC1002400); 南京医科大学科技发展基金(NMUB2019215, NMUB2020122)。

作者简介: 王欣, 1991 年生, 女, 技师, 博士研究生, 从事新生儿遗传代谢病筛查及遗传代谢病机制研究。

通信作者: 许争峰, 主任技师, E-mail: zhengfeng_xu_nj@163.com。

仪(美国 Covaris 公司), Agilent 2100 生物分析仪(美国 Agilent 公司), MGISEQ-2000 高通量测序仪(深圳华大智造科技公司), ABI Prism 3500XL 高通量基因分析仪(美国 Thermo Fisher 公司)。QIAamp 血液 DNA 提取试剂盒(批号:51185, 北京天根生化科技公司), 高保真 DNA 聚合酶(Phanta Max Master Mix)、打断酶(VAHTS Universal Plus Fragmentation Module)购自南京诺唯赞公司, PCR 纯化试剂盒(美国 Invitrogen 公司)。

1.3 方法

1.3.1 DNA 提取 按照 QIAamp 血液 DNA 提取试剂盒说明书提取干血斑中基因组 DNA, NanoDrop 分光光度计测量 DNA 样本浓度。用于后续实验的 DNA 浓度 $\geq 1.6 \text{ ng}/\mu\text{L}$, 剩余 DNA 样本置于 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存。

1.3.2 基因筛查 Panel 设计 新生儿疾病筛查病种的选择严格参照世界卫生组织(WHO)新筛病种准入标准^[5], 包括:(1)疾病危害严重, 早期症状可能不明显;(2)有一定发病率, 不及时干预预后不良;(3)筛查疾病可治疗;(4)适合大规模开展。Panel 涵盖临床常见遗传病共 169 种, 包括耳聋 24 种(氨基糖苷类药物诱导性耳聋、常染色体隐性耳聋等)、氨基酸代谢病 21 种(苯丙氨酸羟化酶缺乏症、四氢生物蝶呤缺乏症等)、有机酸代谢病 18 种(甲基丙二酸血症、3-甲基巴豆酰辅酶 A 羧化酶缺乏症等)、糖代谢病 16 种(糖原累积病、半乳糖血症等)、脂质代谢障碍 11 种(短链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症、中链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症等)、溶酶体贮积症 13 种(法布雷病、尼曼-匹克病 A/B 型等)、血液系统疾病 8 种(α 地中海贫血、 β 地中海贫血等)、骨骼神经系统疾病 12 种(杜氏肌营养不良、脊髓型肌萎缩症等)、内分泌系统疾病 13 种(11- β -羟化酶缺乏性先天性肾上腺皮质增生症、17- α 羟化酶缺乏性先天性肾上腺皮质增生症等)、免疫缺陷病 10 种(常染色体隐性重症联合免疫缺陷、X 连锁淋巴增殖综合征等)、其他代谢病 13 种(肝豆状核变性、家族性高胆固醇血症 1 型等)以及其他遗传病 10 种(Gitelman 综合征、Leber 遗传性视神经病变等), 对应的致病基因共计 172 个。

1.3.3 芯片捕获二代测序 利用二代测序技术对致病基因的所有编码区进行捕获测序。利用打断酶将提取质控合格的基因组 DNA 均一化后打断成 100~500 bp 的 DNA 小片段。通过磁珠双选分离 200~250 bp 的 DNA 片段, 双选后进行接头连接和

产物纯化, 对纯化后的产物进行扩增和纯化, 经 TE 回溶后完成 DNA 文库构建。文库经 BMG 进行片段浓度检测, 质控合格后, 可用于杂交。利用定制的 IDT xGen 探针对目标区域序列进行捕获, 将杂交文库进行 pooling、定量; 然后将 pooling 文库进行单链环化和滚环复制, 环化后的文库在制得 DNA 纳米球后, 利用 MGISEQ-2000 高通量基因测序仪进行测序, 测序类型为 PE100+10, 测序完成后, 得到原始测序数据。核基因组有效测序深度 $\geq 100\times$, 线粒体基因有效测序深度 $\geq 300\times$, 目标区域的 20 \times 覆盖度 $\geq 95\%$ 。

1.3.4 生物信息学分析 利用 Illumina bcl2fastq 软件将原始高通量测序数据从 Bcl 格式转换为 Fastq 格式。在过滤低质量读数后, 测序读数与 NCBI 人类参考基因组(*hg19/GRCh37*)对齐。健康人群中变异位点的频率来自 dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>)、1000 基因组计划(1000 Genome Project) (<http://browser.1000genomes.org>) 和外显子组聚合联盟(Exome Aggregation Consortium, ExAC) (<http://exac.broadinstitute.org/>)。根据美国医学遗传学学会(American College of Medical Genetics, ACMG)^[6]的指南和基于支持致病性的证据水平的文献^[7-9]搜索解释变异。通过 OMIM (<http://www.omim.org>)、ClinVar (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>) 和 Human Gene 变异数据库 (<http://www.hgmd.org>) 等数据库确定致病基因和致病位点并将其与疾病相关联。SIFT (<http://sift.jcvi.org>)、Variant Taster (<http://www.varianttaster.org>)、PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2>) 和 PROVEAN (<http://provean.jcvi.org/index.php>) 等软件用于预测受变异影响的生物学功能。

1.3.5 Sanger 测序验证 采用特定引物扩增 DNA 目标区域, 利用 Phanta Max Master Mix 高保真 DNA 聚合酶进行扩增反应。PCR 结束后取 5 μL PCR 产物和 1 μL 6 \times DNA loading buffer 混匀, 经 20 g/L 琼脂糖凝胶电泳, 验证 PCR 产物大小及质量(条带单一, 无引物二聚体)。利用 PCR 纯化试剂盒纯化 PCR 产物, 采用 ABI Prism 3500XL 高通量基因分析仪进行测序和分析。

2 结果

2.1 可疑患者检出情况 150 例样本中共检出 4 例可疑患病, 阳性率为 2.67%(4/150), 涉及疾病分别为氨基糖苷类药物诱导性耳聋 1 例, 常染色体隐

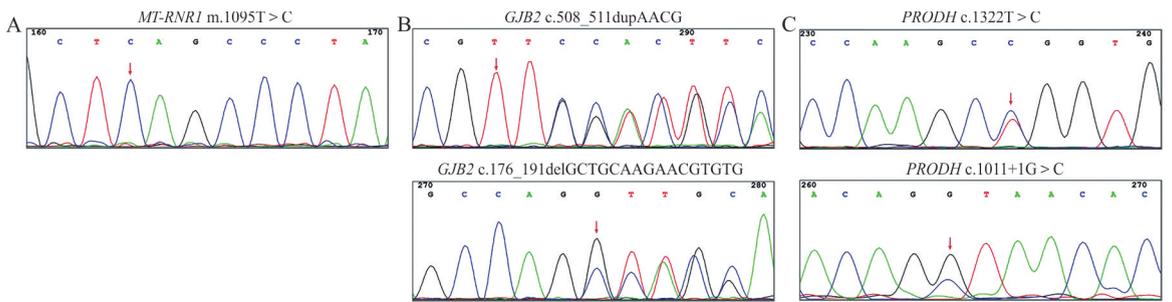
性遗传耳聋 1 例, α 地中海贫血 1 例, 高脯氨酸血症 I 型 1 例, 患者具体临床情况见表 1, Sanger 验证结果见图 1。其中, 高脯氨酸血症 I 型病例的串联

质谱筛查结果为脯氨酸 (Proline): 482.08 $\mu\text{mol/L}$ (参考区间: 86 ~ 330 $\mu\text{mol/L}$), 该例患儿家长拒绝召回复查。

表 1 可疑患者情况

可疑患者	疾病	致病基因(转录本)	外显子/内含子号	核苷酸改变	基因型	致病性
1	氨基糖苷类药物诱导性耳聋	<i>MT-RNR1</i> (NC_012920.1)	EX1E	m.1095T>C	同质性	P
2	常染色体隐性遗传耳聋	<i>GJB2</i> (NM_004004.5)	EX2E/EX2E	c. 508_511dupAACG/c. 176_191delGCTGCAAGAACGTGTG	复合杂合	P
3	α 地中海贫血	<i>HBA1/HBA2</i> (NM_000558.3/NM_000517.4)		- α 3.7/ -SEA	复合杂合	P
4	高脯氨酸血症 I 型	<i>PRODH</i> (NM_016335.4)	EX12/IVS9	c.1322T>C/c.1011+1G>C	复合杂合	P/LP

注: P, 致病; LP, 可疑致病。



注: 箭头标注变异所在位置或起始位置及碱基。

图 1 Sanger 测序验证可疑患者 1(A)、可疑患者 2(B) 和可疑患者 4(C) 致病基因变异位点

2.2 致病基因携带情况 共检出 88 例致病基因携带者, 致病基因携带率为 58.67% (88/150), 在致病基因携带者中, 携带有 1 个致病基因变异的样本数高达 40.7% (61/150), 最多可见携带有 4 个不同的致病基因变异, 占 0.7% (1/150)。对于已检出可能患有某疾病的 4 例可疑患者, 发现仍携带其他基因的致病变异(表 2)。排除可疑患者后, 携带频率最高的为耳聋基因 *GJB2* 和 *SLC26A4*, 其次分别是

PAH、*SLC22A5*、*DUOX2*、*SLC12A3*、*USH2A*、*ACADS* 基因(表 3)。其余 58 例未检测出致病基因变异。

2.3 与传统生化筛查(串联质谱技术)检出率对比 在病种相同情况下, 基因筛查 150 例中筛查出可疑阳性 1 例并确诊, 初筛阳性率为 0.66%, 阳性预测值为 100%。当扩展至 169 个遗传病病种时, 可疑阳性 4 例, 并通过 Sanger 测序法明确诊断, 即初筛阳性率为 20%, 阳性预测值为 100%。

表 2 致病基因携带数

分组	致病基因携带数				可疑患者致病基因携带数	
	1 个	2 个	3 个	4 个	1 个	2 个
总数 [n(%)]	61(40.7)	16(10.7)	10(6.7)	1(0.7)	3(2.0)	1(0.7)
男 (n)	33	7	3	0	1	0
女 (n)	28	9	7	1	2	1

表 3 致病基因携带情况

序号	致病基因	疾病	变异位点	携带频数
1	<i>GJB2</i>	常染色体隐性耳聋 1A 型	c.109G>A	17
			c.235del	6
			c.427C>T	1
			c.187G>T	1
			c.299_300del	1
2	<i>SLC26A4</i>	常染色体隐性耳聋前庭水管扩大 4 型	c.1173C>A	3
			c.919-2A>G	3
			c.1229C>T	1
			c.2009T>C	1
			c.2168A>G	1
			c.1547_1548insC	1
3	<i>PAH</i>	高苯丙氨酸血症	c.611A>G	2
			c.728G>A	1
			c.516G>T	1
			c.510T>A	1
			c.1174T>A	1
			c.1238G>C	1
			c.442-1G>A	1
4	<i>SLC22A5</i>	原发性肉碱缺乏症	c.1400C>G	2
			c.51C>G	2
			c.338G>A	1
			c.760C>T	1
5	<i>DUOX2</i>	甲状腺分泌障碍 6 型	c.1588A>T	3
			c.2202G>A	1
			c.3693+1G>T	1
			c.514-2A>G	1
6	<i>SLC12A3</i>	Gitelman 综合征	c.179C>T	2
			c.1732G>A	2
			c.911C>T	1
			c.1456G>A	1
			c.2209C>T	2
7	<i>USH2A</i>	Usher 综合征 II A 型	c.6325+1G>A	1
			c.8559-2A>G	1
			c.1241dupA	1
			c.9570+1G>A	1
			c.1031A>G	4
			c.164C>T	1
9	<i>MCCC1</i>	3-甲基巴豆酰辅酶 A 羧化酶缺乏症 1 型	c.639+2T>A	2
			c.1315G>A	1
			c.1074G>A	1
			c.1157delT	1
10	<i>DUOXA2</i>	甲状腺分泌障碍 5 型	c.738C>G	2
			c.413dupA	2
11	<i>UNC13D</i>	家族性嗜血细胞性淋巴组织细胞增多症 3 型	c.2588G>A	3
			c.640C>T	1
12	<i>ETFDH</i>	多种酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症	c.770A>G	2
			c.1211T>C	1
13	<i>PRF1</i>	家族性嗜血细胞性淋巴组织细胞增多症 2 型	c.98G>A	2
			c.503G>A	1
14	<i>PRODH</i>	高脯氨酸血症 I 型	c.1322T>C	3
15	<i>SMN1</i>	脊髓型肌萎缩症	EX7 DEL	3
16	<i>ASS1</i>	瓜氨酸血症 I 型	c.794G>A	1
			c.190delG	1
17	<i>BCKDHB</i>	枫糖尿症 I b 型	c.853C>T	1
			c.550del	1
18	<i>CFTR</i>	囊性纤维化	c.1001G>A	1

续表

序号	致病基因	疾病	变异位点	携带频数
19	COL4A4	COL4A4 相关 Alport 综合征	c.2374C>T	1
			c.4715C>T	1
			c.407delC	1
20	MMUT	甲基丙二酸血症 MUT 型	c.323G>A	1
			c.1741C>T	1
21	HBA1/HBA2	α 地中海贫血	-α3.7	1
	HBA2	α 地中海贫血	c.427T>C	1
22	ABCB11	进行性家族性肝内胆淤积症 2 型	c.908+1G>A	1
23	ABCG5	谷固醇血症 2 型	c.1336C>T	1
24	ACADSB	2-甲基丁酰甘氨酸尿症	c.655G>A	1
25	ALDH7A1	吡哆醇依赖性癫痫	c.1004G>A	1
26	ALDOB	遗传性果糖不耐受	c.160_164dup	1
27	ALPL	低磷酸酯酶症	c.407G>A	1
28	ATP7B	肝豆状核变性	c.1708-1G>C	1
29	CPS1	氨甲酰磷酸合成酶 I 缺乏症	c.1933_1940delGTCACGTG	1
30	G6PC	糖原累积病 I a 型	c.648G>T	1
31	GAA	糖原累积病 II 型	c.2132_2133delCAinsGG	1
32	GALC	Krabbe 病	c.1592G>A	1
33	HSD3B7	先天性胆汁酸合成障碍 1 型	c.1094delC	1
34	MAT1A	高蛋氨酸血症	c.188G>T	1
35	MEFV	家族性地中海热	c.863C>A	1
36	MMACHC	甲基丙二酸血症 cb I C 型	c.617G>A	1
37	RAG1	常染色体隐性重症联合免疫缺陷	c.2918G>A	1
38	SLC25A15	高鸟氨酸血症-高氨血症-同型瓜氨酸尿症	c.535C>T	1
39	SMPD1	尼曼-匹克病 A/B 型	c.995C>G	1
40	TH	酪氨酸羟化酶缺乏症	c.698G>A	1
41	TMC1	常染色体隐性耳聋 7 型	c.375delA	1

3 讨论

本研究通过对 150 例回顾性样本检测,最终检出 4 例可疑阳性患者(常染色体隐性遗传耳聋 1 例,α 地中海贫血 1 例,高脯氨酸血症 I 型 1 例及氨基糖苷类药物诱导性耳聋 1 例);检出 88 例致病基因携带者。携带频率最高的致病基因为 *GJB2* 和 *SLC26A4*,其次是 *PAH*、*SLC22A5*、*DUOX2*、*SLC12A3*、*USH2A* 及 *ACADS*,致病基因携带率与临床患病率一致。筛查病种从传统生化筛查约 40 种遗传代谢病拓展至 169 种,筛查病种的拓展能够尽早发现患儿并及时给予干预,也为罕见病的流行病学研究提供了有效信息,为临床诊断与治疗提供研究群体及实验依据。

国内基于串联质谱技术的传统生化筛查初筛阳性率约为 1.88%~4.02%,阳性预测值约为 1.05%~2.68%^[10-11]。在本研究的 150 例样本中,传统筛查初筛阳性样本(指标高于筛查截断值)共 98 例,最终仅确诊 1 例高脯氨酸血症患儿,阳性预测值为 1.02%。在病种相同的情况下,150 例样本基因筛查的初筛阳性率为 0.66%,阳性预测值高达 100%。传统生化筛查易受多因素影响,初筛假阳

性率较高^[12],召回人数众多造成筛查成本增加,且产妇及家属易产生不必要的心理负担。而基因筛查基于遗传学基础明确基因变异信息,能够从源头上排除假阳性,有效降低筛查假阳性率,提高阳性预测值,同时,减少不必要的召回,进而缩短诊断周期。考虑到本研究样本数量有限,仍需进一步累积样本量对该初步结论进行深入验证。

笔者对基因筛查的临床应用尚有几点思考。(1)对于检测方法的选择。本研究采用的是芯片捕获二代测序方法,除该方法外,还有多重 PCR 富集二代测序法、外显子组测序法以及全基因组测序等可供选择^[13]。多重 PCR 富集二代测序成本较低^[14],但受限于多重 PCR 扩增技术,将上百个基因的全部编码区进行多重 PCR 扩增较为困难,更适用于热点突变的检测,而热点突变的检测容易造成致病位点的遗漏。外显子测序与全基因组测序检测位点较为全面,但成本过高,操作复杂,检测周期长,且对于意义未明突变位点的解读较为复杂^[15],不适用于新生儿筛查项目。因此,笔者认为芯片捕获二代测序方法成本低廉,操作较简单,检测周期适中^[16],更适用于新生儿筛查。(2)筛查方案的选

择,即基因筛查作为一线筛查方案还是二阶筛查。二阶筛查是针对传统筛查检出的初筛阳性样本,利用原血片进行基因筛查。许多疾病尚缺乏生化筛查的标志物,如地中海贫血、耳聋等,因此具有较多病种的漏筛风险。作为一线筛查,目前的基因筛查项目仅判读已报道的致病变异及可疑致病变异。在临床表型不明确的前提下,对意义未明变异位点致病性的解读较为复杂。因此,将基因筛查与传统生化筛查相结合,在基因型和表型 2 个层面进行评估,则可在提高检出率的同时也可避免临床风险,目前可能是更合适的临床方案。(3)已有研究报道的基因筛查项目纳入病种不尽相同^[17-18],与疾病存在地域或人种的差异以及部分疾病的发病率、干预效果未知等有关。发病率是根据临床诊断的患者数及该地区婴儿出生数统计获得,往往会低估发病率。本研究中,150 例样本中有 2 例囊性纤维化致病基因携带者,提示许多尚未有流行病学报道的疾病在我国有一定的发病率。随着研究的深入,基因筛查病种组合也会随之调整和完善,进而完善相应疾病的流行病学信息。(4)新生儿基因筛查还应注意伦理学问题,尤其是对于筛查阳性家庭成员的遗传咨询、心理疏导也很重要。

新生儿基因筛查是出生缺陷防治领域的崭新课题,国内外零星报道均处于研究阶段,尚未真正转化应用于临床。本研究仅为初步探索,纳入样本较少,研究结果较为受限,但已可初步反映出基因筛查的重要临床价值和应用前景,有待进一步深入积累和探索。

4 参考文献

- [1] 应艳琴, 罗小平. 新生儿遗传代谢病筛查与基因诊断的现状与展望[J]. 中华围产医学杂志, 2021, 24(2): 85-88.
- [2] 周婧瑶, 张钰, 胡琦, 等. 影响新生儿氨基酸代谢的多因素分析[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2020, 35(23): 1773-1776.
- [3] Lin Y, Liu Y, Zhu L, *et al.* Combining newborn metabolic and genetic screening for neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency[J]. *J Inher Metab Dis*, 2020, 43(3): 467-477.
- [4] 张满分, 王燕敏, 田国力. 实验室筛查与诊断新技术在遗传代谢病中的应用[J]. 临床检验杂志, 2020, 38(5): 359-362.
- [5] Wilson JM, Jungner YG. Principles and practice of mass screening for disease[J]. *Boletin De La Oficina Sanit Panam Pan Am Sanit Bureau*, 1968, 65(4): 281-393.
- [6] Nykamp K, Anderson M, Powers M, *et al.* Sherlock: a comprehensive refinement of the ACMG-AMP variant classification criteria[J]. *Genet Med*, 2017, 19(10): 1105-1117.
- [7] MacArthur DG, Manolio TA, Dimmock DP, *et al.* Guidelines for investigating causality of sequence variants in human disease[J]. *Nature*, 2014, 508(7497): 469-476.
- [8] Gelman H, Dines JN, Berg J, *et al.* Recommendations for the collection and use of multiplexed functional data for clinical variant interpretation[J]. *Genome Med*, 2019, 11(1): 85.
- [9] Rehder C, Bean LJH, Bick D, *et al.* Next-generation sequencing for constitutional variants in the clinical laboratory, 2021 revision: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)[J]. *Genet Med*, 2021, 23(8): 1399-1415.
- [10] 孙云, 王彦云, 马定远, 等. 南京地区 175 767 例串联质谱技术新生儿筛查结果分析[J]. 中华围产医学杂志, 2020, 23(4): 224-231.
- [11] 封纪珍, 贾立云, 王熙, 等. 石家庄地区 128 399 例新生儿多种遗传代谢病串联质谱筛查结果分析[J]. 临床检验杂志, 2020, 38(5): 344-349.
- [12] Ryckman KK, Berberich SL, Shchelochkov OA, *et al.* Clinical and environmental influences on metabolic biomarkers collected for newborn screening[J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(1-2): 133-138.
- [13] Katsanis SH, Katsanis N. Molecular genetic testing and the future of clinical genomics[J]. *Nat Rev Genet*, 2013, 14(6): 415-426.
- [14] Zakrzewski F, Gieldon L, Rump A, *et al.* Targeted capture-based NGS is superior to multiplex PCR-based NGS for hereditary *BRCA1* and *BRCA2* gene analysis in FFPE tumor samples[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 396.
- [15] Adhikari AN, Gallagher RC, Wang Y, *et al.* The role of exome sequencing in newborn screening for inborn errors of metabolism[J]. *Nat Med*, 2020, 26(9): 1392-1397.
- [16] Mu WB, Li B, Wu ST, *et al.* Detection of structural variation using target captured next-generation sequencing data for genetic diagnostic testing[J]. *Genet Med*, 2019, 21(7): 1603-1610.
- [17] Roman TS, Crowley SB, Roche MI, *et al.* Genomic sequencing for newborn screening: results of the NC NEXUS project[J]. *Am J Hum Genet*, 2020, 107(4): 596-611.
- [18] Hao CJ, Guo RL, Hu XY, *et al.* Newborn screening with targeted sequencing: a multicenter investigation and a pilot clinical study in China[J]. *J Genet Genom*, 2021: S1673-8527(21)00280-0.

(收稿日期:2021-08-25)

(本文编辑:许晓蒙)