

论著·基础研究

基于实时荧光定量 PCR 技术的唐氏综合征嵌合体小鼠嵌合率检测和分析

孟晓伟¹, 杨冠恒^{1,2}, 王云杰^{1,2}, 马晴雯^{1,2}

1. 上海交通大学附属儿童医院, 上海市儿童医院, 上海交通大学医学遗传研究所, 上海 200040; 2. 卫生部医学胚胎分子生物学重点实验室暨上海市胚胎与生殖工程重点实验室, 上海 200040

[摘要] **目的**·建立一种定量检测唐氏综合征嵌合体小鼠各脏器嵌合情况的方法, 并初步探究其不同器官中的嵌合规律。**方法**·分别针对唐氏综合征模型 Tc1 小鼠细胞 (三体细胞) 内人源 21 号染色体 (记为 Hsa21) 上 *SIM2* 基因和小鼠 15 号染色体 (记为 Mmu15) 上 *Der11* 基因设计引物, 采用实时荧光定量 PCR (quantitative real time PCR, qPCR) 技术对 *SIM2* 和 *Der11* 进行检测来反映 Hsa21 和 Mmu15 的比例, 并以此计算嵌合体小鼠各器官中 Tc1 小鼠细胞的嵌合占比。**结果**·所鉴定的小鼠中有 3 只为嵌合体小鼠。该 3 只小鼠心脏组织 Tc1 小鼠细胞嵌合率分别为 8.98%、21.71% 和 57.70%, 小脑组织分别为 5.62%、20.17% 和 40.43%, 大脑组织分别为 8.48%、15.35% 和 20.45%, 肝脏组织分别为 2.66%、6.50% 和 16.84%, 脾脏组织分别为 1.73%、3.80% 和 11.80%。**结论**·基于 qPCR 技术对不同染色体上的基因进行定量分析的方法可用于唐氏综合征嵌合体小鼠中三体细胞嵌合率的定量检测。Tc1 小鼠细胞在嵌合体小鼠的心脏、小脑、大脑、肝脏、脾脏均可发生嵌合, 心脏组织的嵌合率偏向最高。

[关键词] 唐氏综合征; 嵌合体; 小鼠模型; 实时荧光定量 PCR; 嵌合率

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2018.11.001 **[中图分类号]** Q331 **[文献标志码]** A

Identification and analysis of chimeric rates in Down syndrome chimeric mice by quantitative real time PCR

MENG Xiao-wei¹, YANG Guan-heng^{1,2}, WANG Yun-jie^{1,2}, MA Qing-wen^{1,2}

1. Shanghai Institute of Medical Genetics, Shanghai Children's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200040, China; 2. Key Laboratory of Embryo Molecular Biology, Ministry of Health; Shanghai Key Laboratory of Embryo and Reproduction Engineering, Shanghai 200040, China

[Abstract] **Objective**·To establish a method for identifying the chimeric rates in Down syndrome chimeric mice, and study the chimeric rules in different organs. **Methods**·The proportion of trisomic cells (Tc1 cells) in different organs was calculated by detecting the relative quantity of human chromosome 21 (Hsa21) and mouse chromosome 15 (Mmu15) in samples. The relative quantity of Hsa21 and Mmu15 was evaluated with specific primers for genes *SIM2* on Hsa21 and *Der11* on Mmu15, respectively, by quantitative real time PCR (qPCR) technology. **Results**·Three mice were chimeras and the chimeric levels of Tc1 cells were different in various tissues. The chimeric rates in hearts of these 3 mice were 8.98%, 21.71% and 57.70%; in cerebellums, the chimeric rates were 5.62%, 20.17% and 40.43%; in brains, the rates were 8.48%, 15.35% and 20.45%; in livers, the rates were 2.66%, 6.50% and 16.84%; and in spleens, the rates were 1.73%, 3.80% and 11.80%. **Conclusion**·The chimeric rate of trisomic cells in Down syndrome chimeric mice can be detected by qPCR technology by using primers for genes on specific chromosomes. The chimerism occurs in the hearts, cerebellums, brains, livers and spleens of the chimeric mice and the chimeric rate of Tc1 cells tends to be the highest in the hearts.

[Key words] Down syndrome; chimera; mouse model; quantitative real time PCR; chimeric rate

唐氏综合征 (Down syndrome, DS) 是目前最常见的染色体异常疾病, 由 21 号染色体 (记为 Hsa21) 重复所引起^[1], 因此又称 21 三体综合征; 其基础研究多涉及不同小鼠模型的建立和检测^[2]。该疾病主要有 3 种亚型^[3-4]: 完全型 (即 47, +21), 占 90% ~ 95%; 易位型, 主要为罗伯逊易位, 占 5% ~ 6%; 嵌合型 (即 47, +21/46), 占

2% ~ 3%。目前研究较多的是完全型 DS, 相关小鼠模型的种类最多, 研究最为广泛。嵌合型 DS 患者间的表型差异较大^[5], 且与患者体内 DS 三体细胞的嵌合程度密切相关。通过对嵌合型 DS 的研究, 或许可以找到减轻非嵌合型 DS 患者临床症状的方法, 同时对理解 DS 的发病机制和作用机制也具有重要的指导意义。

[基金项目] 国家重点研发计划项目 (2016YFC1000503) (National Key Research and Development Program of China, 2016YFC1000503)。

[作者简介] 孟晓伟 (1992—), 男, 硕士生; 电子邮箱: xwmeng_@sjtu.edu.cn。

[通信作者] 马晴雯, 电子邮箱: maqingwen@hotmail.com。

嵌合体动物指包含 2 种或 2 种以上不同遗传背景细胞的动物个体。自然状态的嵌合并不常见, 多为实验室通过胚胎融合、干细胞显微注射早期胚胎或者干细胞与早期胚胎共培养而产生^[6-7]。目前常见的嵌合体动物检测方法主要有毛色鉴别^[8]、荧光蛋白标记^[9]、荧光原位杂交^[10] (fluorescence in situ hybridization, FISH) 等。这些方法不仅对实验样本要求较高, 还存在检测不充分、效率低等问题。

本研究为弥补对嵌合型 DS 研究的不足, 前期构建了 DS 嵌合体小鼠模型, 应用实时荧光定量 PCR (quantitative real time PCR, qPCR) 技术^[11], 直接针对小鼠模型体内 2 种细胞中特定的差异基因设计引物并检测, 达到相对定量每种细胞占比的目的。该方法在对各组织脏器的嵌合水平进行精确评估的同时, 具有耗时短、样本量需求小、简便可行等优点, 其量化分析数据对研究三体细胞在不同脏器的嵌合规律也有一定的指导意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 小鼠和细胞 ICR 小鼠, 4 周龄, 清洁级, 购自上海斯莱克实验动物有限公司。Tc1 小鼠诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cell, iPSC) 由上海市胚胎与生殖工程重点实验室提供 (Tc1 小鼠^[12]为常用 DS 小鼠模型, 其体细胞相对正常小鼠多出一条人类 21 号染色体; 该小鼠由英国国立医学研究所 Tybulewicz 教授惠赠), 在体外验证具有多能性基因表达 (数据未显示)。以 Tc1 小鼠 iPSC 为供体细胞, ICR 小鼠囊胚为受体, 由上海市胚胎与生殖工程重点实验室参照经典方法^[13]制备 Tc1-ICR 嵌合体小鼠模型。共制备获得新生小鼠 6 只, 3 日龄, 分别标记为 1 ~ 6 号。本研究的实验动物均饲养于上海市儿童医院的实验动物屏障设施内, 使用许可证号为 SYXK (沪) 2013-0051。相关的动物实验已通过上海市儿童医院实验动物管理及伦理委员会的审查 (审查意见书编号为 2017015), 所有动物实验操作均符合该委员会的伦理要求并在其监督下进行。

1.1.2 试剂和引物 DNA 提取试剂盒购自德国 Qiagen 公司, r-Taq 酶购自日本 TaKaRa 公司, SYBR[®] 荧光定量 PCR 试剂购自美国 Roche 公司。qPCR 引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 组织、细胞样品基因组 DNA 提取和检测 取

10 mg 新鲜的 ICR 小鼠心脏组织和 Tc1-ICR 嵌合制备的小鼠心脏、肝脏、脾脏、小脑、大脑组织, 剪成约 1 mm³ 的小块后按 DNA 提取试剂盒方法进行基因组 DNA 的提取 (参见 Qiagen 公司 DNeasy Blood & Tissue Kit 说明书); Tc1 小鼠 iPSC 中加入 200 μL PBS 缓冲液后亦按照相同方法提取基因组 DNA。

1.2.2 引物设计和特异性检测 选取 Tc1 小鼠 Hsa21 上 SIM2 (SIM bHLH transcription factor 2) 基因和 ICR 小鼠 15 号染色体 (记为 Mmu15) 上 *Der11* (Der1-like domain family, member 1) 基因, 以 NCBI 的 BLAST 程序 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 进行比对, 确保 2 个基因间无同源性关系; 使用 Sigma 公司的在线 qPCR 引物设计软件 (<http://www.oligoarchitect.com/>) 对所选基因进行 qPCR 引物设计, 使用 BLAST 程序对引物序列进行比对。引物序列见表 1。

表 1 qPCR 引物序列
Tab 1 Primer sequences for qPCR

基因名称	序列	扩增长度 /bp	说明
SIM2	F: 5'-CCTCTCCTGTGCTTATGT-3'	189	Hsa21 特异性引物
	R: 5'-CAGTCCGACGCTACCTATT-3'		
Der11	F: 5'-CGTGGGATTAGGTGTGACT-3'	144	Mmu15 特异性引物
	R: 5'-TGGTGGCTGAGAAGAGATG-3'		

分别以 Tc1 DNA 和 ICR DNA 为模板, 用普通 PCR 方法对 qPCR 引物 (*SIM2* 和 *Der11*) 进行特异性验证。反应体系: 10 × r-Taq 缓冲液 2.5 μL, dNTP 0.2 μmol/L, 上、下游引物各 0.4 μmol/L, r-Taq 酶 1.25 U, DNA 模板 10 ng, 补 ddH₂O 至 25 μL。反应条件: 95 °C、5 min; 95 °C、30 s, 57 °C、30 s, 72 °C、18 s, 共 40 个循环; 72 °C、5 min。扩增产物用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.3 qPCR 定量检测方法的有效性和精确性验证 本实验采用 Tc1 DNA 和 ICR DNA 混合的方式模拟 Tc1-ICR 嵌合体小鼠的供体细胞, 以减少人为计算细胞数目可能造成的系统误差。将 Tc1 DNA 和 ICR DNA 分别按照 1:19、1:9、1:4、2:3、1:1、3:2、7:3、9:1 的比例混合, 模拟 Tc1 小鼠细胞占比分别为 5%、10%、20%、40%、50%、60%、70% 和 90% 的嵌合样本。

使用 SYBR[®] 荧光定量 PCR 试剂对预混 DNA 样品和 ICR DNA 样品 (阴性对照) 进行检测, 每份样品分别使用 *SIM2* 和 *Der11* 的引物进行扩增。每个 PCR 反应重

复 3 孔, 以减少组内误差; 每个实验重复 2 次, 以减少组间误差。反应体系参照试剂盒说明书。反应条件: 95 ℃、10 min 热激活 Taq 酶; 95 ℃、10 s, 57 ℃、10 s, 72 ℃、20 s, 共 40 个循环; 95 ℃、10 s, 57 ℃、60 s, 1 ℃/s 升温至 97 ℃, 每秒收集荧光信号 1 次; 37 ℃、30 s 冷却。使用 Roche LightCycler®96 SW1.1 软件 (Roche LightCycler®96 实时荧光定量 PCR 仪自带的分析软件, 可对检测样本进行绝对定量及相对定量分析、绘制熔解曲线等) 对 qPCR 结果进行相对定量分析, 比较得到 *SIM2* 基因和 *Der11* 基因的相对数量比。由于 *SIM2* 基因和 *Der11* 基因在 Hsa21 和 Mmu15 中均为单拷贝, Tc1 小鼠细胞中包含 1 条 Hsa21 和 2 条 Mmu15, ICR 小鼠细胞中仅包含 2 条 Mmu15, 因此嵌合小鼠组织中 Tc1 小鼠细胞占比计算公式:

$$\text{Tc1 小鼠细胞占比 (\%)} = \frac{2 \times \text{SIM2 起始拷贝数}}{\text{Der11 起始拷贝数}} \times 100\%.$$

1.2.4 普通 PCR 定性检测样品嵌合性 使用普通 PCR 扩增 *SIM2* 特异片段以对获得的 6 只 Tc1-ICR 嵌合制备小鼠的各组织嵌合情况进行定性分析。反应体系和反应条件详见 1.2.2 引物特异性检测部分, 扩增产物使用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.5 qPCR 定量检测各组织样品中 Tc1 小鼠细胞嵌合率 使用 SYBR® 荧光定量 PCR 试剂对普通 PCR 反应定性检测呈阳性的 3 只 Tc1-ICR 嵌合小鼠的心脏、肝脏、脾

脏、小脑和大脑组织以及 1 只普通 PCR 反应呈阴性的小鼠心脏组织 (阴性对照) 的嵌合情况进行定量分析, 使用 *SIM2* 引物和 *Der11* 引物进行扩增, 每份 DNA 样品重复检测 3 次, 反应体系参照试剂盒说明书; 反应条件和 Tc1 小鼠细胞嵌合率计算公式见 1.2.3。

2 结果

2.1 Tc1-ICR 嵌合体小鼠

本实验前期利用干细胞囊胚显微注射技术获得了 6 只新生小鼠。纯种的 Tc1 小鼠皮毛为黑色, ICR 小鼠皮毛为白色, 因此可采用毛色鉴别法对新生小鼠进行初步鉴别。如图 1 所示: 黑色箭头指向的 3 只小鼠皮肤表面有明显黑色掺杂, 可初步判断此 3 只小鼠为嵌合体小鼠; 其余 3 只小鼠未观测到毛色掺杂, 需要进一步检测以确定其嵌合性。

2.2 qPCR 引物的特异性验证

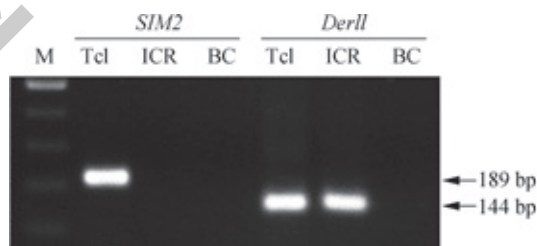
以条带完整、无降解、无 RNA 污染的 Tc1 DNA 和 ICR DNA 为模板对 *SIM2* 和 *Der11* 基因进行扩增, 结果如图 2 所示: *SIM2* 的引物仅能以 Tc1 DNA 为模板进行特异性扩增, 产物大小为 189 bp; *Der11* 的引物对 Tc1 DNA 和 ICR DNA 均能进行特异性扩增, 产物大小为 144 bp; *SIM2* 和 *Der11* 的引物特异性较好, 可用于 qPCR 检测。



注: 黑色箭头所指为小鼠皮肤表面有明显的黑色掺杂。

图 1 囊胚显微注射法获得的新生小鼠 (3 日龄)

Fig 1 Newborn mice obtained by blastocyst injection (3 days old)



注: M 为 100 bp 标志物; *SIM2* 表示用 *SIM2* 引物的检测; *Der11* 表示用 *Der11* 引物的检测; Tc1 表示以 Tc1 DNA 为模板; ICR 表示以 ICR DNA 为模板; BC 为空白对照 (水为模板)。

图 2 qPCR 引物特异性检测

Fig 2 Detection for specificity of qPCR primers

2.3 预混 DNA 样品的 qPCR 检测

使用 Roche LightCycler®96 SW1.1 软件对预混 DNA 样品 qPCR 检测结果进行分析。结果显示: 各样品中以 *Der11* 和 *SIM2* 为引物的特异性扩增产物熔解曲线紧密重

合, 无非特异性扩增。如图 3 所示, 各比例混合样品的 qPCR 相对定量结果呈阶梯状分布, 趋势与各样品实际混入 Tc1 DNA 比例一致; ICR DNA (阴性对照) 检测结果为阴性, 与普通 PCR 定性结果一致, 详情见表 2。



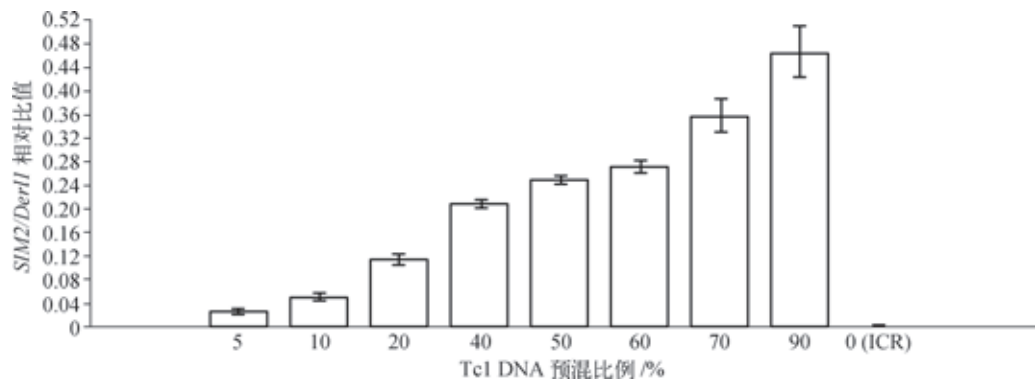


图 3 qPCR 检测混合 DNA 样品结果
Fig 3 qPCR results of artificial chimeric DNA samples

表 2 混合 DNA 样品中 Tc1 DNA 预混比例和 qPCR 检测比例结果
Tab 2 Detection of Tc1 DNA proportions in artificially premixed DNA samples

样品编号	Tc1 DNA 预混比例 /%	Tc1 DNA 检测结果 /%	相对误差 ^①
1	5.0	5.1	0.020
2	10.0	10.2	0.020
3	20.0	23.2	0.160
4	40.0	42.2	0.055
5	50.0	50.1	0.002
6	60.0	54.3	0.072
7	70.0	71.7	0.024
8	90.0	93.1	0.034
9	0	0	—

注: ^①相对误差 = $\frac{|\text{Tc1 DNA 预混比例} - \text{Tc1 DNA 检测结果}|}{\text{Tc1 DNA 预混比例}}$ 。

2.4 普通 PCR 定性分析嵌合制备小鼠的嵌合性

普通 PCR 定性分析 Tc1-ICR 嵌合制备小鼠的心脏、肝脏、脾脏、小脑和大脑组织嵌合情况如图 4 所示: 1、3、5 号小鼠各组织脏器未检测到 Tc1 小鼠细胞的嵌合, 2、4、6 号小鼠在心脏、肝脏、脾脏、小脑和大脑部位有不同程度的 Tc1 小鼠细胞嵌合。

2.5 qPCR 定量检测 Tc1-ICR 嵌合体小鼠中 Tc1 小鼠细胞嵌合率

使用 Roche LightCycler[®]96 SW1.1 软件对 Tc1-ICR 嵌合体小鼠 qPCR 检测结果进行分析。结果显示: 4 号小鼠中 Tc1 小鼠细胞整体嵌合程度最高, 2 号小鼠次之, 6 号小鼠最低; 就各脏器的嵌合水平来看, 各小鼠 Tc1 细胞嵌合率最高的脏器均为心脏 (图 5, 表 3)。3 号小鼠心脏组织 DNA 检测结果为阴性, 与普通 PCR 定性检测结果一致。



注: M 为 100 bp 标志物; PC 为阳性对照 (Tc1 DNA); NC 为阴性对照 (ICR DNA); BC 为空白对照。

图 4 各小鼠的普通 PCR 检测
Fig 4 Qualitative analysis of the mice by PCR

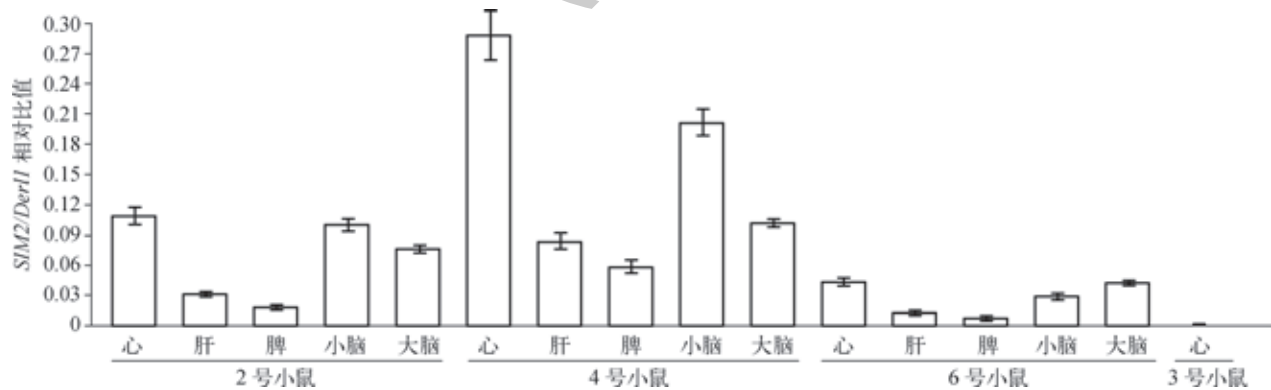


图 5 qPCR 检测 Tc1-ICR 嵌合体小鼠结果
Fig 5 qPCR results of Tc1-ICR chimeric mice

表 3 Tc1-ICR 嵌合体小鼠各组织 Tc1 小鼠细胞嵌合率
Tab 3 Chimeric rate of Tc1 cells in tissues of Tc1-ICR chimeric mice

小鼠编号	心脏 /%	肝脏 /%	脾脏 /%	小脑 /%	大脑 /%
2	21.71	6.50	3.80	20.17	15.35
4	57.70	16.84	11.80	40.43	20.45
6	8.98	2.66	1.73	5.62	8.48

3 讨论

在 DS 的研究历史中, 小鼠模型一直担当着重要角色, 自 1990 年第 1 只可用的 DS 小鼠模型——Ts65Dn^[14] 小鼠建立至今, 已发展出如 Ts1Rhr 小鼠^[15]、Tc1 小鼠和 Dp(16)1Yu 小鼠^[16] 等数种具有不同功能特点的 DS 小鼠模型。这些小鼠模型主要应用于完全型 DS 的表型模拟以及研究特定基因重复对 DS 相关表型的影响, 尚未有针对嵌合型 DS 的研究及相关小鼠模型的出现。本实验室前期研究通过显微注射的方式将 Tc1 小鼠 iPSC 注入 3.5 d 的 ICR 小鼠囊胚, 制备出同时包含 Tc1 小鼠三体细胞和 ICR 小鼠二倍体细胞的 DS 嵌合体小鼠模型, 对人类 DS 嵌合型患者体内的细胞嵌合状况进行了初步模拟, 在一定程度上为该研究方向的拓展提供了基础。

本研究根据 Tc1 小鼠细胞和正常 ICR 小鼠细胞(二倍体)染色体间的差异, 即 Tc1 小鼠细胞中多出了一条额外的 Hsa21, 在相关染色体上设计特异性引物并利用 qPCR 检测样品中不同染色体的数目比, 实现了对 Tc1 小鼠细胞嵌合率的精确检测。相比普通 PCR 只能得到嵌合与否的定性分析, 该方法使检测结果得以量化, 数据更为精确; 与毛色鉴别法、荧光蛋白标记、FISH 检测^[10, 17] 等经典方法相比, 该方法不仅做到了对任意组织嵌合情况的检测, 亦不存在荧光强度弱且不稳定的问题, 同时所需的样本

量更小, 实验更为简单。近年来使用短串联重复序列^[18-19] (short tandem repeats, STR) 和单核苷酸多态性^[20] (single nucleotide polymorphism, SNP) 分析的方法检测人类输血患者体内供体造血干细胞嵌合率变化的报道较多, 虽然这些方法也可用于检测包括 DS 在内的多种异倍体嵌合体不同遗传背景的细胞^[21-23], 但 STR 和 SNP 位点的选择和验证均相对复杂, 以其作为分子标志进行检测较为烦琐、耗时。

本研究对 3 只 Tc1-ICR 嵌合体小鼠心脏、大脑、肝脏等内部脏器的嵌合进行了检测, 结果发现 Tc1 小鼠细胞在小鼠个体水平的嵌合存在随机性, 3 只小鼠的整体嵌合情况各不相同; 同时 Tc1 小鼠细胞在同一只小鼠的不同脏器间的嵌合水平也存在差异, 总体而言, 心脏组织在所有样本中的嵌合程度最高, 小脑和大脑次之, 肝脏较脑部嵌合程度有所下降, 脾脏嵌合程度最低。Yokoyama 等^[24] 早期对 1 例患有先天性心脏病的 DS 嵌合体病例的研究显示: 该患者淋巴细胞中的三体细胞占比仅有 16%, 而心肌、肺和皮肤组织的三体细胞占比则分别为 90.5%、72.7% 和 33.3%。该现象与本实验心脏组织嵌合程度最高的结果具有一定相似性, 提示三体细胞在各脏器的嵌合可能存在偏向性。本研究未对皮肤组织进行检测是考虑到皮肤组织表面积过大, 各部位嵌合存在随机性与不均一性, 取局部组织进行检测并不能准确反映 Tc1 小鼠细胞的皮肤平均嵌合率。

综上所述, 本研究建立了 qPCR 定量检测 DS 嵌合体小鼠中 Tc1 小鼠细胞嵌合率的方法; 相比传统的检测, 所需样品量少, 结果更精确, 操作更简单。同时本研究结果初步显示 Tc1 小鼠细胞在小鼠各脏器的嵌合存在偏向性, 心脏组织的嵌合率偏向最高, 这对进一步研究 DS 嵌合型患者中不同器官嵌合阈值与病变发生和发展的关系具有重要意义。

参 考 文 献

[1] Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Study of somatic chromosomes from 9 mongoloid children[J]. C R Hebd Seances Acad Sci, 1959, 248(11): 1721-1722.
[2] Antonarakis SE. Down syndrome and the complexity of genome dosage imbalance[J]. Nat Rev Genet, 2017, 18(3): 147-163.
[3] Mazurek D, Wyka J. Down syndrome-genetic and nutritional aspects of accompanying disorders[J]. Roczniki Państwowego Zakładu Higieny, 2015, 66(3): 189-194.
[4] Vičić A, Hafner T, Bekavac Vlatković I, et al. Prenatal diagnosis of Down syndrome: a 13-year retrospective study[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2017, 56(6): 731-735.
[5] Papavassiliou P, York TP, Gursoy N, et al. The phenotype of persons having mosaicism for trisomy 21/Down syndrome reflects the percentage of trisomic cells present in different tissues[J]. Am J Med Genet A, 2009, 149A(4): 573-583.
[6] Mascetti VL, Pedersen RA. Contributions of mammalian chimeras to pluripotent stem cell research[J]. Cell Stem Cell, 2016, 19(2): 163-175.
[7] Lee KH. Generating chimeric mice from embryonic stem cells via vial coculturing or hypertonic microinjection[J]. Methods Mol Biol, 2014, 1194: 77-111.
[8] Lee AY, Evans K, Willis B, et al. Combining sperm plug genotyping and coat color chimerism predicts germline transmission[J]. Transgenic Res, 2013, 22(6): 1265-1272.
[9] 招霞, 马芸, 陈系古, 等. 绿色荧光蛋白嵌合体小鼠的建立和鉴定[J]. 动物学报, 2004, 50(5): 784-790.
[10] Su SY, Chueh HY, Li CP, et al. Interphase fluorescence *in situ* hybridization assisting in prenatal counseling for amniocentesis karyotyping-detected fetal mosaicism[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2015, 54(5): 588-591.
[11] Gadkar Vy, Filion M. New developments in quantitative real-time polymerase chain reaction technology[J]. Curr Issues Mol Biol, 2014, 16: 1-6.
[12] O'Doherty A, Ruf S, Mulligan C, et al. An aneuploid mouse strain carrying human chromosome 21 with Down syndrome phenotypes[J]. Science, 2005, 309(5743): 2033-2037.
[13] Behringer R, Gertsenstein M, Nagy K, et al. Manipulating the mouse embryo: a laboratory manual[M]. 4th ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory

- Press, 2014.
- [14] Davisson MT, Schmidt C, Akeson EC. Segmental trisomy of murine chromosome 16: a new model system for studying Down syndrome[J]. *Prog Clin Biol Res*, 1990, 360: 263-280.
- [15] Olson LE, Richtsmeier JT, Leszl J, et al. A chromosome 21 critical region does not cause specific Down syndrome phenotypes[J]. *Science*, 2004, 306(5696): 687-690.
- [16] Li Z, Yu T, Morishima M, et al. Duplication of the entire 22.9 Mb human chromosome 21 syntenic region on mouse chromosome 16 causes cardiovascular and gastrointestinal abnormalities[J]. *Hum Mol Genet*, 2007, 16(11): 1359-1366.
- [17] 章卫国, 张蔚卿, 戴美珍, 等. 荧光原位杂交技术及染色体核型分析在罗伯逊易位型 21-三体检测中的应用[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2013, 30(2): 210-213.
- [18] Han E, Kim M, Kim Y, et al. Practical informativeness of short tandem repeat loci for chimerism analysis in hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Clin Chim Acta*, 2017, 468: 51-59.
- [19] 张涛, 王芳, 朱素敏, 等. STR-PCR 在异基因造血干细胞移植中植入效果监测的应用[J]. *重庆医学*, 2015, 44(19): 2632-2634.
- [20] Taira C, Matsuda K, Yamaguchi A, et al. Rapid single nucleotide polymorphism based method for hematopoietic chimerism analysis and monitoring using high-speed droplet allele-specific PCR and allele-specific quantitative PCR[J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 445: 101-106.
- [21] Mačkić-Đurović M, Projić P, Ibrulj S, et al. A comparative analysis of the effectiveness of cytogenetic and molecular genetic methods in the detection of Down syndrome[J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2014, 14(2): 94-98.
- [22] Pergament E, Cuckle H, Zimmermann B, et al. Single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal screening in a high-risk and low-risk cohort[J]. *Obstet Gynecol*, 2014, 124(2): 210-218.
- [23] Dar P, Curnow KJ, Gross SJ, et al. Clinical experience and follow-up with large scale single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal aneuploidy testing[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2014, 211(5): 527.
- [24] Yokoyama Y, Narahara K, Kamada M, et al. Tissue-specific mosaicism for trisomy 21 and congenital heart disease[J]. *J Pediatr*, 1992, 121(1): 80-82.

[收稿日期] 2018-04-23

[本文编辑] 瞿麟平

学术快讯

上海交通大学附属儿童医院举办 2018 医学遗传国际学术论坛暨 第三届儿童精准医学国际论坛

2018 年 11 月 10 日, 由上海交通大学附属儿童医院和上海交通大学医学遗传研究所共同主办的 2018 医学遗传国际学术论坛暨第三届儿童精准医学国际论坛在上海交通大学医学院隆重举行。来自美国、英国、法国、意大利、日本等国家的 10 余位国际知名专家以及国内多名相关领域的专家出席论坛。

上海交通大学医学遗传研究所所长曾凡一做了遗传所 40 周年发展回顾的专题报告, 向国内外专家详细介绍了遗传所 40 年来取得的代表性成果。中国科学院杨焕明院士、周琪院士和来自美国的 Mark Greene 教授分别介绍了人类基因组计划的实施及影响、细胞治疗的发展现状、干细胞及再生医学在医学遗传学发展中的影响等国际学术前沿动态。Richard Finnell 教授、Nicholas Greene 教授、James Eberwine 教授和张学教授做了罕见病与单细胞基因组新技术及遗传病的治疗等方面的学术报告。Steven Gross、Brian Rudkin、Valentina Massa 和 Makoto Katsumata 等多位专家对个体化医学和精准医学的发展历程和现状进行了探讨。

儿童健康关系到国家的长远发展。精准医学时代的到来为人类疾病尤其是遗传病的治疗带来了新的希望, 同时也极大地促进了医学遗传学的发展。本次医学遗传国际学术论坛和儿童精准医学国际论坛, 为加强交流、深入合作、促进儿童健康事业的发展搭建了很好的平台。