



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105648043 A

(43) 申请公布日 2016.06.08

(21) 申请号 201410639462.8

(22) 申请日 2014.11.13

(71) 申请人 天津华大基因科技有限公司

地址 300308 天津市滨海新区空港经济区环  
河北路 80 号空港商务园东区 3 号楼  
101、201 室

申请人 深圳华大基因科技有限公司

(72) 发明人 张洁 阿叁 祝亚萍 曹飞

朱惠娟 潘惠 杨玲 易鑫

(74) 专利代理机构 北京清亦华知识产权代理事

务所(普通合伙) 11201

代理人 李志东

(51) Int. Cl.

C12Q 1/68(2006.01)

C12M 1/34(2006.01)

权利要求书4页 说明书14页 附图1页

(54) 发明名称

试剂盒及其在检测矮小相关基因中的用途

(57) 摘要

本发明提供了一种试剂盒、试剂盒在检测矮小症基因中的用途,一种检测矮小相关基因的方法以及一种检测矮小相关基因的装置。利用本发明试剂盒、方法和/或装置,能够一次性的全面的捕获矮小相关基因区域,检测矮小相关基因的变异情况。

1. 一种试剂盒,其包括芯片,所述芯片由探针固定在固相基质上构成,所述探针能够特异性识别以下 25 个基因的外显子区域:FMR1, BRCC3, WDR81, SATB2, VRK2, LSM14A, HOXD3, LH X1, RIMS1, MBP, HMX2, GJA8, MBD5, ELN, CHRM3, RPS7P5, FMN2, USP9Y, SRY, UTY, CHL1, LBR, RAI1, FGFR3 和 RUNX2;

任选地,所述探针能够特异性识别以下 53 个基因的外显子区域:PHOX, ENPP1, FGF23, C LCN5, SLC34A3, VDR, CYP2R1, CYP27B1, SLC37A4, AGL, PFKM, PHKA1, PHKB, PHKA2, ALDOA, PGAM2, G6PC, GALNS, IDUA, IDS, ARSB, HYAL1, GUSB, GLB1, GNPTG, GNPTAB, MAN2B1, MGAT2, SLC35C1, T MEM165, GPD1, GBA, SMPD1, MLYCD, CTSA, UROC1, FUCA1, PIGO, AGA, GK, CTNS, PHGDH, HGD, ATP7A, SLC17A5, MPO, MVK, ADA, PCCB, PLOD3, SLC6A19, ACADS 和 SUMF1;

任选地,所述探针能够特异性识别以下 44 个基因的外显子区域:SOX3, GHSR, GHRHR, GHR, BTK, GH1;SHH, SLC29A3, NDN, CEP57, ALMS1, SNRPN, NKX2-5, TSHB, THR A, PAX8, TSHR, IYD, TPO, TG, DUOXA2, DUOX2, SLC26A4, SLC5A5, GCM2, SECISBP2, THRB, TRHR, TR H, PROP1, OTX2, POU1F1, HESX1, LHX4, LHX3, PCNT, RNU4ATAC, IGF1R, GNAS, HSD11B2, B3GALTL, INSR, CYP11B1 和 CASR;

任选地,所述探针能够特异性识别以下 113 个基因的外显子区域:TRIP11, COL2A1, AR SE, PTH1R, IMPAD1, EBP, GNPAT, PEX7, AGPS, BMPR1B, RMRP, EXT1, PDE4D, PRKAR1A, GDF5, NPR2, ROR2, NOG, PTHLH, HOXD13, IHH, BMPR1B, HDAC4, SOX9, NEK1, WDR35, DYNC2H1, PIK3R2, AKT3, COL9A3, COL9A2, COL9A1, COMP, MATN3, SLC26A2, MMP13, COL10A1, MMP9, SERPINH1, CRTAP, BMP 1, FKBP10, LEPRE1, IFITM5, SERPINF1, PPIB, COL1A1, SP7, MMP13, PAPSS2, MATN3, TRAPPC2, KI F22, ACP5, DDR2, ACAN, COL2A1, CHST3, HES7, DLL3, MCPH1, ASPM, MYH3, TPM2, TNNT3, IFT43, SO ST, COL11A1, SEC23A, MMP2, ESCO2, RIN2, LMX1B, GHR, SLC35D1, EFN1, DYM, LIFR, GORAB, SH3B P2, FGFR1, TBX15, CANT1, TFAP2A, TMC01, CHRNA1, CTSK, FLNB, EVC, FBN1, B3GAT3, EFTUD2, EIF 2AK3, EVC2, CHRNG, CHRND, SMAD4, POC1A, TBX3, WNT7A, ERCC6, ERCC2, FBN1, ADAMTSL2, EXT2, TRPV4, SF3B4, CA2, WDR19, GDF6, FAM123B, TNFRSF11B 和 TNNT2;

任选地,所述探针能够特异性识别以下 5 个基因的外显子区域:ATP8B1, ABCB11, BUB1B, CASP8 和 CCBE1;

任选地,所述探针能够特异性识别以下 17 个基因的外显子区域:ATP6V0A2, LTBP4, PYC R1, ALDH18A1, DKC1, TERT, TINF2, ERCC3, GTF2H5, EXT1, TRPS1, PLEC1, PORCN, SLC39A4, C16orf57, IKBKG 和 ZMPSTE24;

任选地,所述探针能够特异性识别以下 36 个基因的外显子区域:SLC9A6, SMS, HCFC1, N SUN2, RAB40AL, CASK, KDM5C, RPS6KA3, CUL4B, CHMP1A, EXOSC3, AP4S1, AP4E1, AP4B1, GRM1, ZN F592, SEPN1, LARGE, SEPT9, RAPSN, COL6A2, RTTN, SOX3, NAA10, NF1, LRP5, ATM, SHROOM4, SIL1, SLC6A8, IGBP1, SHH, NDE1, IKBKAP, KIF1A 和 VLDLR;

任选地,所述探针能够特异性识别以下 11 个基因的外显子区域:BCOR, STRA6, OTX2, SM OC1, HCCS, SOX2, FOXI1, KCNJ10, SLC26A4, LTBP3 和 CLCN5;

任选地,所述探针能够特异性识别以下 18 个基因的外显子区域:FANCE, FANCC, FANCA, FANCG, FANCF, RAD51C, FANCD2, SLX4, HBB, HBA1, SLC19A2, RPS19, KLF1, GATA1, RARA, ATRX, RBM8A 和 UROS;

任选地,所述探针能够特异性识别以下 6 个基因的外显子区域:



RAB3GAP1、RAB3GAP2、RAB40AL、RAD21、RAD51C、RAF1、RAPSN、RARA、RBBP8、RBM8A、RECQL4、RIN2、RIPK4、RMRP、RNU4ATAC、ROR2、RPS19、RPS6KA3、RTTN、SBDS、SDHA、SEC23A、SECISBP2、SEMA3E、SEPN1、SEPT9、SERPINF1、SERPINH1、SF3B4、SH3BP2、SHH、SHROOM4、SIL1、SLC12A1、SLC16A2、SLC17A5、SLC19A2、SLC26A2、SLC26A4、SLC29A3、SLC34A1、SLC34A3、SLC35C1、SLC35D1、SLC37A4、SLC39A13、SLC39A4、SLC5A5、SLC6A19、SLC6A8、SLC9A6、SLX4、SMAD4、SMARCA2、SMARCAL1、SMC1A、SMC3、SMOC1、SMPD1、SMS、SNRPN、SOS1、SOST、SOX2、SOX3、SOX9、SP7、SPG20、SRCAP、STRA6、SUMF1、TAZ、TBCE、TBX1、TBX15、TBX3、TCTN3、TERT、TFAP2A、TG、THRA、THRB、TINF2、TMC01、TMEM165、TMEM237、TNFRSF11B、TNNI2、TNNT3、TP63、TPM2、TPO、TRAPPC2、TRH、TRHR、TRIM37、TRIP11、TRPS1、TRPV4、TSHB、TSHR、TWIST1、UBR1、UROCI、UROS、USB1、VDR、VLDLR、VPS13B、WDR19、WDR35、WFS1、WISP3、WNT5A、WNT7A、WRN、ZBTB16、ZEB2、ZMPSTE24 和 ZNF592。

3. 权利要求 1 或 2 的试剂盒,其特征在于,所述探针还能够特异性识别其能特异性识别的各个基因的外显子区域的上下游各 30bp 的内含子区域。

4. 权利要求 1 或 2 的试剂盒在检测矮小相关基因中的用途。

5. 一种检测矮小相关基因的方法,其特征在于,包括:

- (1) 获取受检者的核酸,所述核酸为基因组核酸和 / 或游离核酸片段;
- (2) 捕获所述核酸,获得矮小相关基因区域;
- (3) 对所述矮小相关基因区域进行序列测定,获得序列信息;
- (4) 基于所述序列信息检测所述矮小相关基因;

其中,(2) 是利用权利要求 1-3 任一试剂盒进行的。

6. 权利要求 5 的方法,其特征在于,(4) 包括基于所述序列信息同时检测所述矮小相关基因的 SNP 和微缺失微重复变异。

7. 权利要求 6 的方法,其特征在于,同时检测所述矮小相关基因的 SNP 和微缺失微重复变异,包括:

将所述序列信息与参考序列进行第一比对,获得第一比对结果;

将所述第一比对结果与所述参考序列的一部分进行第二比对,获得第二比对结果;

基于所述第一比对结果和所述第二比对结果,同时检测所述矮小相关基因的 SNP 和微缺失微重复变异。

8. 权利要求 7 的方法,其特征在于,所述第一比对为全局比对,所述第二比对为局部比对。

9. 权利要求 7 的方法,其特征在于,所述参考序列为 hg19。

10. 权利要求 7 的方法,其特征在于,所述参考序列的一部分包括与所述矮小相关基因区域对应的所述参考序列中的每个已知微缺失微重复位点,以及所述每个已知微缺失微重复位点上下游各 1000bp 的参考序列。

11. 权利要求 7 的方法,其特征在于,利用 GATK UnifiedGenotyper 软件同时检测所述矮小相关基因的 SNP 和微缺失微重复变异。

12. 一种检测矮小相关基因的装置,其特征在于,包括:

A. 核酸获取单元,用于获取受检者的核酸,所述核酸为基因组核酸和 / 或游离核酸片段;

B. 捕获单元,与 A 单元相连,用于捕获来自 A 单元中的核酸,以获得矮小相关基因区域;

C. 序列测定单元,与 B 单元相连,用于对来自 B 单元的矮小相关基因区域进行序列测定,以获得序列信息;

D. 检测单元,与 C 单元相连,用于基于来自 C 单元的序列信息检测所述矮小相关基因;其中, B 单元中的捕获是利用权利要求 1-3 任一试剂盒进行的。

## 试剂盒及其在检测矮小相关基因中的用途

### 技术领域

[0001] 本发明涉及基因检测领域,特别地,涉及试剂盒及其在检测矮小相关基因中的用途,更特别地,本发明涉及一种试剂盒,试剂盒在检测矮小相关基因中的用途,检测矮小相关基因的方法以及一种检测矮小相关基因的装置。

### 背景技术

[0002] 身材矮小(矮小)是指在相似生活环境下,身高较同种族、同性别、同年龄健康儿童身高均值低 2 个标准差(-2SD)以上或处于第 3 百分位数以下。矮小是儿科常见的临床主诉表征之一,人群中总体发生率为 3%左右,其导致因素包括生理性原因和病理性原因。其中,病理性矮小症(矮小症)约占矮小总体的 30%-40%,其病因包括慢性疾病、染色体异常、综合征、骨骼发育不良、生长激素缺乏和受体不敏感等等 [Kant SG, Wit JM, Breuning MH. Genetic analysis of short stature. Horm Res. 2003 ;60(4):157-65]。遗传缺陷(包括单基因突变)是引起矮小症的一个重要的因素。传统的矮小症基因检测方法依靠精确的临床诊断以及 Sanger 验证的方法 [Seaver LH1, Irons M; American College of Medical Genetics (ACMG) Professional Practice and Guidelines Committee. Genet Med. 2009 Jun ;11(6):465-70], 由于矮小症具有高度的临床和遗传异质性,多种综合征的临床表征重叠,传统的矮小症基因检测方法需要消耗大量的时间与成本。因此,开发高效、快捷、经济、可同时多个已知矮小致病基因进行突变检测的方法对矮小症的研究发展和临床诊断非常重要。

### 发明内容

[0003] 依据本发明的一方面,提供一种试剂盒,其包括芯片,所述芯片由探针固定在固相基质上构成,所述探针能够特异性识别以下 25 个基因的外显子区域:FMR1, BRCC3, WDR81, S ATB2, VRK2, LSM14A, HOXD3, LHX1, RIMS1, MBP, HMX2, GJA8, MBD5, ELN, CHRM3, RPS7P5, FMN2, US P9Y, SRY, UTY, CHL1, LBR, RAI1, FGFR3 和 RUNX2。这 25 个基因可作为染色体微缺失微重复的标识来标记 17 种由染色体的微缺失微重复导致的矮小症。

[0004] 任选地,试剂盒包含的芯片或者芯片上的探针还能够特异性识别以下 53 个基因的外显子区域: PHEX, ENPP1, FGF23, CLCN5, SLC34A3, VDR, CYP2R1, CYP27B1, SLC37A4, AGL, PF KM, PHKA1, PHKB, PHKA2, ALDOA, PGAM2, G6PC, GALNS, IDUA, IDS, ARSB, HYAL1, GUSB, GLB1, GNPT G, GNPTAB, MAN2B1, MGAT2, SLC35C1, TMEM165, GPD1, GBA, SMPD1, MLYCD, CTSA, URO1, FUCA1, PIGO, AGA, GK, CTNS, PHGDH, HGD, ATP7A, SLC17A5, MPO, MVK, ADA, PCCB, PLOD3, SLC6A19, ACADS 和 SUMF1。这 53 个基因的单核苷酸变异可导致 53 种与矮小症相关的代谢系统疾病。

[0005] 任选地,试剂盒包含的芯片或者芯片上的探针还能够特异性识别以下 44 个基因的外显子区域: SOX3, GHSR, GHRHR, GHR, BTK, GH1 ;SHH, SLC29A3, NDN, CEP57, ALMS1, SNRPN, N KX2-5, TSHB, THRA, PAX8, TSHR, IYD, TPO, TG, DUOXA2, DUOX2, SLC26A4, SLC5A5, GCM2, SECISBP 2, THRB, TRHR, TRH, PROP1, OTX2, POU1F1, HESX1, LHX4, LHX3, PCNT, RNU4ATAC, IGF1R, GNAS, HS

D11B2, B3GALTL, INSR, CYP11B1 和 CASR。这 44 个基因变异可导致 47 种与矮小症相关的内分泌系统疾病。

[0006] 任选地,试剂盒包含的芯片或者芯片上的探针还能够特异性识别以下 113 个基因的外显子区域:TRIP11, COL2A1, ARSE, PTH1R, IMPAD1, EBP, GNPAT, PEX7, AGPS, BMPR1B, RMRP, EXT1, PDE4D, PRKAR1A, GDF5, NPR2, ROR2, NOG, PTHLH, HOXD13, IHH, BMPR1B, HDAC4, SOX9, NEK1, WDR35, DYNC2H1, PIK3R2, AKT3, COL9A3, COL9A2, COL9A1, COMP, MATN3, SLC26A2, MMP13, COL10A1, MMP9, SERPINH1, CRTAP, BMP1, FKBP10, LEPRE1, IFITM5, SERPINF1, PPIB, COL1A1, SP7, MMP13, PAPSS2, MATN3, TRAPPC2, KIF22, ACP5, DDR2, ACAN, COL2A1, CHST3, HES7, DLL3, MCPH1, ASPM, MYH3, TPM2, TNNT3, IFT43, SOST, COL11A1, SEC23A, MMP2, ESCO2, RIN2, LMX1B, GHR, SLC35D1, EFNB1, DYM, LIFR, GORAB, SH3BP2, FGFR1, TBX15, CANT1, TFAP2A, TMC01, CHRNA1, CTSK, FLNB, EVC, FBN1, B3GAT3, EFTUD2, EIF2AK3, EVC2, CHRNG, CHRND, SMAD4, POC1A, TBX3, WNT7A, ERCC6, ERCC2, FBN1, ADAMTSL2, EXT2, TRPV4, SF3B4, CA2, WDR19, GDF6, FAM123B, TNFRSF11B 和 TNNT2。这 113 个基因变异以及前述的微缺失微重复会致矮小症的 FGFR3 和 RUNX2 基因,可导致 124 种与矮小症相关的骨骼系统疾病。

[0007] 任选地,试剂盒包含的芯片或者芯片上的探针还能够特异性识别以下 5 个基因的外显子区域:ATP8B1, ABCB11, BUB1B, CASP8 和 CCBE1。这 5 个基因可导致 5 种与矮小症相关的消化系统疾病。

[0008] 任选地,试剂盒包含的芯片或者芯片上的探针还能够特异性识别以下 17 个基因的外显子区域:ATP6V0A2, LTBP4, PYCR1, ALDH18A1, DKC1, TERT, TIN2, ERCC3, GTF2H5, EXT1, TRPS1, PLEC1, PORCN, SLC39A4, C16orf57, IKBKG 和 ZMPSTE24。这 17 个基因任一单核苷酸变异可导致与矮小症相关的皮肤疾病。

[0009] 任选地,试剂盒包含的芯片或者芯片上的探针还能够特异性识别以下 36 个基因的外显子区域:SLC9A6, SMS, HCFC1, NSUN2, RAB40AL, CASK, KDM5C, RPS6KA3, CUL4B, CHMP1A, EXOSC3, AP4S1, AP4E1, AP4B1, GRM1, ZNF592, SEPN1, LARGE, SEPT9, RAPSIN, COL6A2, RTTN, SOX3, NAA10, NF1, LRP5, ATM, SHROOM4, SIL1, SLC6A8, IGBP1, SHH, NDE1, IKBKAP, KIF1A 和 VLDLR。这 36 个基因可导致 36 种与矮小症相关的神经肌肉系统疾病。

[0010] 任选地,试剂盒包含的芯片或者芯片上的探针还能够特异性识别以下 11 个基因的外显子区域:BCOR, STRA6, OTX2, SMOC1, HCCS, SOX2, FOXI1, KCNJ10, SLC26A4, LTBP3 和 CLCN5。这 11 个基因可导致 11 种与矮小症相关的耳、鼻、喉五官系统疾病。

[0011] 任选地,试剂盒包含的芯片或者芯片上的探针还能够特异性识别以下 18 个基因的外显子区域:FANCE, FANCC, FANCA, FANCG, FANCF, RAD51C, FANCD2, SLX4, HBB, HBA1, SLC19A2, RPS19, KLF1, GATA1, RARA, ATRX, RBM8A 和 UROS。这 18 个基因加上前述的发生微缺失微重复会导致矮小症的 LBR 基因的变异可导致 19 种与矮小症相关的血液系统疾病。

[0012] 任选地,试剂盒包含的芯片或者芯片上的探针还能够特异性识别以下 6 个基因的外显子区域:LAMTOR2, LRBA, BTK, WISP3, ITCH 和 SMARCAL1。这 6 个基因的异常可导致 6 种与矮小症相关的免疫系统疾病。

[0013] 任选地,试剂盒包含的芯片或者芯片上的探针还能够特异性识别以下 145 个基因的外显子区域:CUL7, CCDC8, KCNJ1, SLC12A2, ERCC8, ERCC6, SMC1A, NIPBL, SMC3, HDAC8, RAD21, ADAMTS2, SLC39A13, COL1A2, B4GALT7, COL3A1, COL1A1, COL5A2, COL5A1, MYCN, MIR17HG, OR

C6, ORC1, CDT1, CDC6, ORC4, KRAS, RAF1, BRAF, SOS1, PTPN11, OFD1, TCTN3, WNT5A, ROR3, CREBBP, EP300, LIFR, HSPG2, ATR, RBBP8, CEP152, NIN, CEP63, CENPJ, ADAMTS17, FBN1, LTBP2, ADAMTS10, RAB3GAP1, RAB3GAP2, RAB18, FOXG1, MECP2, LRP2, NKX2-1, FGD1, KCNJ2, SBDS, L1CAM, AAAS, TWIST1, NBAS, SEMA3E, PQBP1, SPG20, G6PC3, HYLS1, NBN, IGF2, UBR1, OCRL, CHD7, GLA, CD96, LMNA, PHF6, HRAS, IFT140, SRCAP, CTC1, OTX2, ASXL1, FTO, ANKRD11, HSD17B4, MED12, KIF7, DHCR7, CTDP1, MYH8, DDX11, POR, KAT6B, ALDH3A2, TP63, SDHA, ALPL, MLL, WRN, MAP2K1, NSDHL, FAM20C, NSD1, H19, RECQL4, TRIM37, ZEB2, FOXE1, KANSL1, BANF1, BLM, VPS13B, RAB23, TBX1, HPRT1, SLC16A2, SMARCA2, COX4I2, MAP2K2, NOTCH2, CRLF1, WFS1, ZBTB16, ARX, DLX5, MGP, FGFR2, TAZ, PITX2, ACTB, PLOD2, SLC34A1, MBTPS2, TMEM237, TBCE, MKS1, GPC6, RIPK4, FLNA, GJB6, ERCC3, MPV17, ATPAF2 和 AQP2。这 145 个基因以及前述的发生微缺失微重复会导致矮小症的 BAI1 基因的异常可导致 153 种与矮小症相关的综合征。

[0014] 任选地,所述试剂盒包含的芯片或者芯片上的探针能够特异性识别以下 438 个基因的外显子区域:AAAS、ABCB11、ACADS、ACAN、ACP5、ACTB、ADA、ADAMTS10、ADAMTS17、ADAMTS2、ADAMTSL2、AGA、AGL、AGPS、AKT3、ALDH18A1、ALDH3A2、ALDOA、ALMS1、ALPL、FAM123B、ANKRD11、AP4B1、AP4E1、AP4S1、AQP2、ARSB、ARSE、ARX、ASPM、ASXL1、ATM、ATP6V0A2、ATP7A、ATP8B1、ATPAF2、ATR、ATRX、AVPR2、B3GALT1、B3GAT3、B4GALT7、BANF1、BCOR、BLM、BMP1、BMPR1B、BRAF、BTK、BUB1B、CA2、CANT1、CASK、CASP8、CASR、CCBE1、CCDC8、CD96、CDC6、CDSN、CDT1、CENPJ、CEP152、CEP57、CEP63、CHD7、CHMP1A、CHRNA1、CHRND、CHRNA1、CHRNA2、CHRNA3、CHRNA4、CHRNA5、CHRNA6、CHRNA7、CHRNA8、CHRNA9、CHRNA10、CHRNA11、CHRNA12、CHRNA13、CHRNA14、CHRNA15、CHRNA16、CHRNA17、CHRNA18、CHRNA19、CHRNA20、CHRNA21、CHRNA22、CHRNA23、CHRNA24、CHRNA25、CHRNA26、CHRNA27、CHRNA28、CHRNA29、CHRNA30、CHRNA31、CHRNA32、CHRNA33、CHRNA34、CHRNA35、CHRNA36、CHRNA37、CHRNA38、CHRNA39、CHRNA40、CHRNA41、CHRNA42、CHRNA43、CHRNA44、CHRNA45、CHRNA46、CHRNA47、CHRNA48、CHRNA49、CHRNA50、CHRNA51、CHRNA52、CHRNA53、CHRNA54、CHRNA55、CHRNA56、CHRNA57、CHRNA58、CHRNA59、CHRNA60、CHRNA61、CHRNA62、CHRNA63、CHRNA64、CHRNA65、CHRNA66、CHRNA67、CHRNA68、CHRNA69、CHRNA70、CHRNA71、CHRNA72、CHRNA73、CHRNA74、CHRNA75、CHRNA76、CHRNA77、CHRNA78、CHRNA79、CHRNA80、CHRNA81、CHRNA82、CHRNA83、CHRNA84、CHRNA85、CHRNA86、CHRNA87、CHRNA88、CHRNA89、CHRNA90、CHRNA91、CHRNA92、CHRNA93、CHRNA94、CHRNA95、CHRNA96、CHRNA97、CHRNA98、CHRNA99、CHRNA100、CHRNA101、CHRNA102、CHRNA103、CHRNA104、CHRNA105、CHRNA106、CHRNA107、CHRNA108、CHRNA109、CHRNA110、CHRNA111、CHRNA112、CHRNA113、CHRNA114、CHRNA115、CHRNA116、CHRNA117、CHRNA118、CHRNA119、CHRNA120、CHRNA121、CHRNA122、CHRNA123、CHRNA124、CHRNA125、CHRNA126、CHRNA127、CHRNA128、CHRNA129、CHRNA130、CHRNA131、CHRNA132、CHRNA133、CHRNA134、CHRNA135、CHRNA136、CHRNA137、CHRNA138、CHRNA139、CHRNA140、CHRNA141、CHRNA142、CHRNA143、CHRNA144、CHRNA145、CHRNA146、CHRNA147、CHRNA148、CHRNA149、CHRNA150、CHRNA151、CHRNA152、CHRNA153、CHRNA154、CHRNA155、CHRNA156、CHRNA157、CHRNA158、CHRNA159、CHRNA160、CHRNA161、CHRNA162、CHRNA163、CHRNA164、CHRNA165、CHRNA166、CHRNA167、CHRNA168、CHRNA169、CHRNA170、CHRNA171、CHRNA172、CHRNA173、CHRNA174、CHRNA175、CHRNA176、CHRNA177、CHRNA178、CHRNA179、CHRNA180、CHRNA181、CHRNA182、CHRNA183、CHRNA184、CHRNA185、CHRNA186、CHRNA187、CHRNA188、CHRNA189、CHRNA190、CHRNA191、CHRNA192、CHRNA193、CHRNA194、CHRNA195、CHRNA196、CHRNA197、CHRNA198、CHRNA199、CHRNA200、CHRNA201、CHRNA202、CHRNA203、CHRNA204、CHRNA205、CHRNA206、CHRNA207、CHRNA208、CHRNA209、CHRNA210、CHRNA211、CHRNA212、CHRNA213、CHRNA214、CHRNA215、CHRNA216、CHRNA217、CHRNA218、CHRNA219、CHRNA220、CHRNA221、CHRNA222、CHRNA223、CHRNA224、CHRNA225、CHRNA226、CHRNA227、CHRNA228、CHRNA229、CHRNA230、CHRNA231、CHRNA232、CHRNA233、CHRNA234、CHRNA235、CHRNA236、CHRNA237、CHRNA238、CHRNA239、CHRNA240、CHRNA241、CHRNA242、CHRNA243、CHRNA244、CHRNA245、CHRNA246、CHRNA247、CHRNA248、CHRNA249、CHRNA250、CHRNA251、CHRNA252、CHRNA253、CHRNA254、CHRNA255、CHRNA256、CHRNA257、CHRNA258、CHRNA259、CHRNA260、CHRNA261、CHRNA262、CHRNA263、CHRNA264、CHRNA265、CHRNA266、CHRNA267、CHRNA268、CHRNA269、CHRNA270、CHRNA271、CHRNA272、CHRNA273、CHRNA274、CHRNA275、CHRNA276、CHRNA277、CHRNA278、CHRNA279、CHRNA280、CHRNA281、CHRNA282、CHRNA283、CHRNA284、CHRNA285、CHRNA286、CHRNA287、CHRNA288、CHRNA289、CHRNA290、CHRNA291、CHRNA292、CHRNA293、CHRNA294、CHRNA295、CHRNA296、CHRNA297、CHRNA298、CHRNA299、CHRNA300、CHRNA301、CHRNA302、CHRNA303、CHRNA304、CHRNA305、CHRNA306、CHRNA307、CHRNA308、CHRNA309、CHRNA310、CHRNA311、CHRNA312、CHRNA313、CHRNA314、CHRNA315、CHRNA316、CHRNA317、CHRNA318、CHRNA319、CHRNA320、CHRNA321、CHRNA322、CHRNA323、CHRNA324、CHRNA325、CHRNA326、CHRNA327、CHRNA328、CHRNA329、CHRNA330、CHRNA331、CHRNA332、CHRNA333、CHRNA334、CHRNA335、CHRNA336、CHRNA337、CHRNA338、CHRNA339、CHRNA340、CHRNA341、CHRNA342、CHRNA343、CHRNA344、CHRNA345、CHRNA346、CHRNA347、CHRNA348、CHRNA349、CHRNA350、CHRNA351、CHRNA352、CHRNA353、CHRNA354、CHRNA355、CHRNA356、CHRNA357、CHRNA358、CHRNA359、CHRNA360、CHRNA361、CHRNA362、CHRNA363、CHRNA364、CHRNA365、CHRNA366、CHRNA367、CHRNA368、CHRNA369、CHRNA370、CHRNA371、CHRNA372、CHRNA373、CHRNA374、CHRNA375、CHRNA376、CHRNA377、CHRNA378、CHRNA379、CHRNA380、CHRNA381、CHRNA382、CHRNA383、CHRNA384、CHRNA385、CHRNA386、CHRNA387、CHRNA388、CHRNA389、CHRNA390、CHRNA391、CHRNA392、CHRNA393、CHRNA394、CHRNA395、CHRNA396、CHRNA397、CHRNA398、CHRNA399、CHRNA400、CHRNA401、CHRNA402、CHRNA403、CHRNA404、CHRNA405、CHRNA406、CHRNA407、CHRNA408、CHRNA409、CHRNA410、CHRNA411、CHRNA412、CHRNA413、CHRNA414、CHRNA415、CHRNA416、CHRNA417、CHRNA418、CHRNA419、CHRNA420、CHRNA421、CHRNA422、CHRNA423、CHRNA424、CHRNA425、CHRNA426、CHRNA427、CHRNA428、CHRNA429、CHRNA430、CHRNA431、CHRNA432、CHRNA433、CHRNA434、CHRNA435、CHRNA436、CHRNA437、CHRNA438、CHRNA439、CHRNA440、CHRNA441、CHRNA442、CHRNA443、CHRNA444、CHRNA445、CHRNA446、CHRNA447、CHRNA448、CHRNA449、CHRNA450、CHRNA451、CHRNA452、CHRNA453、CHRNA454、CHRNA455、CHRNA456、CHRNA457、CHRNA458、CHRNA459、CHRNA460、CHRNA461、CHRNA462、CHRNA463、CHRNA464、CHRNA465、CHRNA466、CHRNA467、CHRNA468、CHRNA469、CHRNA470、CHRNA471、CHRNA472、CHRNA473、CHRNA474、CHRNA475、CHRNA476、CHRNA477、CHRNA478、CHRNA479、CHRNA480、CHRNA481、CHRNA482、CHRNA483、CHRNA484、CHRNA485、CHRNA486、CHRNA487、CHRNA488、CHRNA489、CHRNA490、CHRNA491、CHRNA492、CHRNA493、CHRNA494、CHRNA495、CHRNA496、CHRNA497、CHRNA498、CHRNA499、CHRNA500、CHRNA501、CHRNA502、CHRNA503、CHRNA504、CHRNA505、CHRNA506、CHRNA507、CHRNA508、CHRNA509、CHRNA510、CHRNA511、CHRNA512、CHRNA513、CHRNA514、CHRNA515、CHRNA516、CHRNA517、CHRNA518、CHRNA519、CHRNA520、CHRNA521、CHRNA522、CHRNA523、CHRNA524、CHRNA525、CHRNA526、CHRNA527、CHRNA528、CHRNA529、CHRNA530、CHRNA531、CHRNA532、CHRNA533、CHRNA534、CHRNA535、CHRNA536、CHRNA537、CHRNA538、CHRNA539、CHRNA540、CHRNA541、CHRNA542、CHRNA543、CHRNA544、CHRNA545、CHRNA546、CHRNA547、CHRNA548、CHRNA549、CHRNA550、CHRNA551、CHRNA552、CHRNA553、CHRNA554、CHRNA555、CHRNA556、CHRNA557、CHRNA558、CHRNA559、CHRNA560、CHRNA561、CHRNA562、CHRNA563、CHRNA564、CHRNA565、CHRNA566、CHRNA567、CHRNA568、CHRNA569、CHRNA570、CHRNA571、CHRNA572、CHRNA573、CHRNA574、CHRNA575、CHRNA576、CHRNA577、CHRNA578、CHRNA579、CHRNA580、CHRNA581、CHRNA582、CHRNA583、CHRNA584、CHRNA585、CHRNA586、CHRNA587、CHRNA588、CHRNA589、CHRNA590、CHRNA591、CHRNA592、CHRNA593、CHRNA594、CHRNA595、CHRNA596、CHRNA597、CHRNA598、CHRNA599、CHRNA600、CHRNA601、CHRNA602、CHRNA603、CHRNA604、CHRNA605、CHRNA606、CHRNA607、CHRNA608、CHRNA609、CHRNA610、CHRNA611、CHRNA612、CHRNA613、CHRNA614、CHRNA615、CHRNA616、CHRNA617、CHRNA618、CHRNA619、CHRNA620、CHRNA621、CHRNA622、CHRNA623、CHRNA624、CHRNA625、CHRNA626、CHRNA627、CHRNA628、CHRNA629、CHRNA630、CHRNA631、CHRNA632、CHRNA633、CHRNA634、CHRNA635、CHRNA636、CHRNA637、CHRNA638、CHRNA639、CHRNA640、CHRNA641、CHRNA642、CHRNA643、CHRNA644、CHRNA645、CHRNA646、CHRNA647、CHRNA648、CHRNA649、CHRNA650、CHRNA651、CHRNA652、CHRNA653、CHRNA654、CHRNA655、CHRNA656、CHRNA657、CHRNA658、CHRNA659、CHRNA660、CHRNA661、CHRNA662、CHRNA663、CHRNA664、CHRNA665、CHRNA666、CHRNA667、CHRNA668、CHRNA669、CHRNA670、CHRNA671、CHRNA672、CHRNA673、CHRNA674、CHRNA675、CHRNA676、CHRNA677、CHRNA678、CHRNA679、CHRNA680、CHRNA681、CHRNA682、CHRNA683、CHRNA684、CHRNA685、CHRNA686、CHRNA687、CHRNA688、CHRNA689、CHRNA690、CHRNA691、CHRNA692、CHRNA693、CHRNA694、CHRNA695、CHRNA696、CHRNA697、CHRNA698、CHRNA699、CHRNA700、CHRNA701、CHRNA702、CHRNA703、CHRNA704、CHRNA705、CHRNA706、CHRNA707、CHRNA708、CHRNA709、CHRNA710、CHRNA711、CHRNA712、CHRNA713、CHRNA714、CHRNA715、CHRNA716、CHRNA717、CHRNA718、CHRNA719、CHRNA720、CHRNA721、CHRNA722、CHRNA723、CHRNA724、CHRNA725、CHRNA726、CHRNA727、CHRNA728、CHRNA729、CHRNA730、CHRNA731、CHRNA732、CHRNA733、CHRNA734、CHRNA735、CHRNA736、CHRNA737、CHRNA738、CHRNA739、CHRNA740、CHRNA741、CHRNA742、CHRNA743、CHRNA744、CHRNA745、CHRNA746、CHRNA747、CHRNA748、CHRNA749、CHRNA750、CHRNA751、CHRNA752、CHRNA753、CHRNA754、CHRNA755、CHRNA756、CHRNA757、CHRNA758、CHRNA759、CHRNA760、CHRNA761、CHRNA762、CHRNA763、CHRNA764、CHRNA765、CHRNA766、CHRNA767、CHRNA768、CHRNA769、CHRNA770、CHRNA771、CHRNA772、CHRNA773、CHRNA774、CHRNA775、CHRNA776、CHRNA777、CHRNA778、CHRNA779、CHRNA780、CHRNA781、CHRNA782、CHRNA783、CHRNA784、CHRNA785、CHRNA786、CHRNA787、CHRNA788、CHRNA789、CHRNA790、CHRNA791、CHRNA792、CHRNA793、CHRNA794、CHRNA795、CHRNA796、CHRNA797、CHRNA798、CHRNA799、CHRNA800、CHRNA801、CHRNA802、CHRNA803、CHRNA804、CHRNA805、CHRNA806、CHRNA807、CHRNA808、CHRNA809、CHRNA810、CHRNA811、CHRNA812、CHRNA813、CHRNA814、CHRNA815、CHRNA816、CHRNA817、CHRNA818、CHRNA819、CHRNA820、CHRNA821、CHRNA822、CHRNA823、CHRNA824、CHRNA825、CHRNA826、CHRNA827、CHRNA828、CHRNA829、CHRNA830、CHRNA831、CHRNA832、CHRNA833、CHRNA834、CHRNA835、CHRNA836、CHRNA837、CHRNA838、CHRNA839、CHRNA840、CHRNA841、CHRNA842、CHRNA843、CHRNA844、CHRNA845、CHRNA846、CHRNA847、CHRNA848、CHRNA849、CHRNA850、CHRNA851、CHRNA852、CHRNA853、CHRNA854、CHRNA855、CHRNA856、CHRNA857、CHRNA858、CHRNA859、CHRNA860、CHRNA861、CHRNA862、CHRNA863、CHRNA864、CHRNA865、CHRNA866、CHRNA867、CHRNA868、CHRNA869、CHRNA870、CHRNA871、CHRNA872、CHRNA873、CHRNA874、CHRNA875、CHRNA876、CHRNA877、CHRNA878、CHRNA879、CHRNA880、CHRNA881、CHRNA882、CHRNA883、CHRNA884、CHRNA885、CHRNA886、CHRNA887、CHRNA888、CHRNA889、CHRNA890、CHRNA891、CHRNA892、CHRNA893、CHRNA894、CHRNA895、CHRNA896、CHRNA897、CHRNA898、CHRNA899、CHRNA900、CHRNA901、CHRNA902、CHRNA903、CHRNA904、CHRNA905、CHRNA906、CHRNA907、CHRNA908、CHRNA909、CHRNA910、CHRNA911、CHRNA912、CHRNA913、CHRNA914、CHRNA915、CHRNA916、CHRNA917、CHRNA918、CHRNA919、CHRNA920、CHRNA921、CHRNA922、CHRNA923、CHRNA924、CHRNA925、CHRNA926、CHRNA927、CHRNA928、CHRNA929、CHRNA930、CHRNA931、CHRNA932、CHRNA933、CHRNA934、CHRNA935、CHRNA936、CHRNA937、CHRNA938、CHRNA939、CHRNA940、CHRNA941、CHRNA942、CHRNA943、CHRNA944、CHRNA945、CHRNA946、CHRNA947、CHRNA948、CHRNA949、CHRNA950、CHRNA951、CHRNA952、CHRNA953、CHRNA954、CHRNA955、CHRNA956、CHRNA957、CHRNA958、CHRNA959、CHRNA960、CHRNA961、CHRNA962、CHRNA963、CHRNA964、CHRNA965、CHRNA966、CHRNA967、CHRNA968、CHRNA969、CHRNA970、CHRNA971、CHRNA972、CHRNA973、CHRNA974、CHRNA975、CHRNA976、CHRNA977、CHRNA978、CHRNA979、CHRNA980、CHRNA981、CHRNA982、CHRNA983、CHRNA984、CHRNA985、CHRNA986、CHRNA987、CHRNA988、CHRNA989、CHRNA990、CHRNA991、CHRNA992、CHRNA993、CHRNA994、CHRNA995、CHRNA996、CHRNA997、CHRNA998、CHRNA999、CHRNA1000。

SEMA3E、SEPN1、SEPT9、SERPINF1、SERPINH1、SF3B4、SH3BP2、SHH、SHROOM4、SIL1、SLC12A1、SLC16A2、SLC17A5、SLC19A2、SLC26A2、SLC26A4、SLC29A3、SLC34A1、SLC34A3、SLC35C1、SLC35D1、SLC37A4、SLC39A13、SLC39A4、SLC5A5、SLC6A19、SLC6A8、SLC9A6、SLX4、SMAD4、SMARCA2、SMARCA1、SMC1A、SMC3、SMOC1、SMPD1、SMS、SNRPN、SOS1、SOST、SOX2、SOX3、SOX9、SP7、SPG20、SRCAP、STRA6、SUMF1、TAZ、TBCE、TBX1、TBX15、TBX3、TCTN3、TERT、TFAP2A、TG、THRA、THRB、TINF2、TMC01、TMEM165、TMEM237、TNFRSF11B、TNNT2、TNNT3、TP63、TPM2、TPO、TRAPPC2、TRH、TRHR、TRIM37、TRIP11、TRPS1、TRPV4、TSHB、TSHR、TWIST1、UBR1、UROCI、UROS、USB1、VDR、VLDLR、VPS13B、WDR19、WDR35、WFS1、WISP3、WNT5A、WNT7A、WRN、ZBTB16、ZEB2、ZMPSTE24 和 ZNF592。这 438 个单基因突变可导致 471 种与矮小症相关的单基因疾病,再加上前述选取的用以标记 17 种由染色体的微缺失微重复导致的矮小症的 25 个基因。这 463 个基因是发明人经过收集、多次筛选和组合试验获得的,能够全面展现或代表矮小症相关基因。这 463 个基因与 488 种矮小症相关的疾病相关,参照前述,463 个基因中,53 个基因的 SNP 变异可导致 53 种与矮小症相关的代谢系统疾病,44 个基因中发生的 SNP 可导致 47 种与矮小症相关的内分泌系统疾病,115 个基因的 SNP 可导致 124 种与矮小症相关的骨骼系统疾病,17 个基因的 SNP 可导致 17 种与矮小症相关的皮肤疾病,146 个基因可导致 153 种与矮小症相关的综合征,36 个基因可导致 36 种与矮小症相关的神经肌肉系统疾病,19 个基因可导致 19 种与矮小症相关的血液系统疾病,11 个基因可导致 11 种与矮小症相关的耳、鼻、喉五官系统疾病,6 个基因可导致 6 种与矮小症相关的免疫系统疾病,5 个基因可导致 5 种与矮小症相关的消化系统疾病。

[0015] 任选地,所述试剂盒包含的芯片或者芯片上的探针还能够特异性识别上述其能特异性识别的各个基因的外显子区域的上下游各 30bp 的内含子区域。这样有利于提高芯片或探针捕获时的特异性和效率。

[0016] 依据本发明的另一方面,还提供上述试剂盒在检测矮小相关基因中的用途。在检测矮小相关基因时,试剂盒可以用以特异性识别捕获矮小相关基因区域,以获得目标区域的相关数据信息。

[0017] 依据本发明的再一方面,提供一种检测矮小相关基因的方法,所述方法包括:(1) 获取受检者的核酸,所述核酸为基因组核酸和/或游离核酸片段;(2) 捕获所述核酸,获得矮小相关基因区域;(3) 对所述矮小相关基因区域进行序列测定,获得序列信息;(4) 基于所述序列信息检测所述矮小相关基因;其中,(2) 是利用本发明一方面及各个实施方式中的任一试剂盒进行的。前述关于本发明一方面的试剂盒或试剂盒的用途的优点及技术特征,同样适用本发明这一方面的方法。在本发明的一个实施例中,(4) 包括基于所述序列信息同时检测所述矮小相关基因的 SNP 和微缺失微重复 (INDEL) 变异,具体地,同时检测这两种变异包括:将所述序列信息与参考序列进行第一比对,获得第一比对结果;将所述第一比对结果与所述参考序列的一部分进行第二比对,获得第二比对结果;基于所述第一比对和所述第二比对结果,同时检测所述矮小相关基因的 SNP 和微缺失微重复变异。这里,所说的第一比对为全局比对,第二比对为局部比对,第一比对为常规比对,可利用但不限于 SOAP 或 BWA 等软件依照其默认设置进行,获得第一比对结果,第一比对结果包括序列信息在参考序列上的匹配位置及匹配情况信息,在本发明的一个实施例中,所说的参考序列为 hg19,第二比对所说的参考序列的一部分包括与所捕获的矮小相关基因区域对应的参

考序列中的每个已知 INDEL 位点,及所述每个已知 INDEL 位点上下游各 1000bp 的参考序列,进行第二比对即基于第一比对的结果对与所捕获的矮小相关基因区域对应的参考序列中的所有已知 INDEL 附近的所有序列信息 (reads) 进行局部重新比对,能够消除第一比对中的错误,提高后续变异检测的准确率,第二比对可利用 GATK 重比对软件 (<https://www.broadinstitute.org/gatk/>) 进行。在本发明的一个实施例中,同时检测所述 SNP 和 INDEL 变异,是通过 GATK UnifiedGenotyper 软件进行的,按照该软件检测出的 INDEL 有较多的假阳性,利用前面的第二比对即局部重比对有利于减少假阳性 INDEL。本发明的这一方面的方法是基于目标区域捕获结合第二代高通量测序技术,能够对矮症小相关的 463 个基因的编码区及侧翼  $\pm 30\text{bp}$  区域进行捕获测序,然后对这些基因变异进行检测和分析,是一种高效、快捷、经济的矮小症基因检测方法。可检测的突变范围包括点突变和小片段插入缺失。本发明的基于二代测序的矮小症基因检测方法,通过对测序检出的异常变异进行分析解读,明确受检者的致病突变,实现对矮小症疾病的准确诊断、针对性的治疗以及防止疾病在家族中复发。

[0018] 依据本发明的又一方面,提供一种检测矮小相关基因的装置,该装置能够用以执行实现前述本发明的方法的部分活全部步骤,该装置包括:A. 核酸获取单元,用于获取受检者的核酸,所述核酸为基因组核酸和/或游离核酸片段;B. 捕获单元,与 A 单元相连,用于捕获来自 A 单元中的核酸,以获得矮小相关基因区域;C. 序列测定单元,与 B 单元相连,用于对来自 B 单元的矮小相关基因区域进行序列测定,以获得序列信息;D. 检测单元,与 C 单元相连,用于基于来自 C 单元的序列信息检测所述矮小相关基因;其中, B 单元中的捕获是利用前述本发明一方面的以及各个实施方式中的任一芯片进行的。图 1 是本发明的一个实施例中的装置结构示意图。对本发明的方法的优点及技术特征的描述,同样适用本发明的装置,而且,本领域人员可以理解,本发明的装置中的全部或部分单元,可选择的、可拆卸的包含一个或多个子单元以执行或实现前述本发明方法的各个具体实施方式。

## 附图说明

[0019] 本发明的上述和/或附加的方面和优点从结合下面附图对实施方式的描述中将变得明显和容易理解,其中:

[0020] 图 1 是本发明的一个具体实施方式中的检测矮小相关基因的装置的示意图;

[0021] 图 2 是本发明的一个具体实施方式中的检测矮小相关基因的流程圖。

## 具体实施方式

[0022] 本申请描述中的基因名称均采用 NCBI-Gene 里的官方命名 (Official Symbol)。另外,描述中出现的错义突变 (missense) 是指,编码某种氨基酸的密码子经碱基替换以后,变成编码另一种氨基酸的密码子,从而使多肽链的氨基酸种类和序列发生改变。某些错义突变能使多肽链丧失原有功能,许多蛋白质的异常就是由错义突变引起的。

[0023] 依据一般方法,实现本发明的方法主要包括矮小相关基因检测芯片的设计,目标区域捕获测序技术以及分析流程的开发。

[0024] (1) 矮小症基因检测芯片设计

[0025] 染色体变异与单基因都可以导致矮小症,染色体变异又包括染色体数目、结构的

改变,单亲二倍体与嵌合现象也可以导致矮小症。以下仅示例利用本发明方法检测单基因以及部分染色体的微缺失与微重复导致的身材矮小。通过对 OMIM 数据库以及相关文献的查找,获得 438 个单基因导致的 471 种与矮小症相关的单基因疾病,选取了 25 个基因作为染色体微缺失微重复的 marker 来标记 17 种由染色体的微缺失微重复导致的矮小症。其中,53 个基因的 SNP 变异可导致 53 种与矮小症相关的代谢系统疾病,44 个基因中发生的 SNP 可导致 47 种与矮小症相关的内分泌系统疾病,115 个基因的 SNP 可导致 124 种与矮小症相关的骨骼系统疾病,17 个基因的 SNP 可导致 17 种与矮小症相关的皮肤疾病,36 个基因可导致 36 种与矮小症相关的神经肌肉系统疾病,19 个基因可导致 19 种与矮小症相关的血液系统疾病,11 个基因可导致 11 种与矮小症相关的耳、鼻、喉五官系统疾病,6 个基因可导致 6 种与矮小症相关的免疫系统疾病,5 个基因可导致 5 种与矮小症相关的消化系统疾病,以及 146 个基因可导致 153 种与矮小症相关的其它综合征。在这些基因中会出现 1 个基因导致多种疾病,这样,选取的基因共计 463 个,所对应 488 种疾病,具体如表 1 所示,表 1 中粗体显示的基因表示与多类疾病相关的基因,表 2 显示基因数目与对应的疾病数目信息。

[0026] 根据人类基因组 HG19,选取上述 463 个基因的外显子序列以及侧翼  $\pm 30\text{bp}$  区域进行探针芯片设计,可以这样设计探针序列:从 hg19 上获取上述 463 个基因的外显子序列以及侧翼  $\pm 30\text{bp}$  区域的各段参考序列,对每一段参考序列,都从一段参考序列的一端开始,依次拷贝预定长度的参考序列获得探针序列,使得最后总的探针能够覆盖该段参考序列至少一次,相邻探针序列之间可以重叠或不重叠,这边,预定长度为探针的长度,可为 50-250nt,接着按照合成仪说明书或者委托厂家合成探针制备芯片。获得的芯片大小约为 2.5M,该芯片上覆盖了丰富的捕获探针,探针覆盖区域达 98.83%,可以从复杂的基因组中富集目标 DNA 片段,在同一张芯片上以高特异性和高覆盖率捕获约为 2.5M 的基因组区域。

[0027] 表 1

[0028]

疾病分类	疾病名称	检测基因
与代谢系统相关的矮小疾病	佝偻病	<i>PHEX, ENPP1, FGF23, CLCN5, SLC34A3, VDR, CYP2R1, CYP27B1</i>
	溶酶体贮积症	<i>SLC37A4, AGL, PFKM, PIKA1, PIKB, PIKA2, ALDOA, PGAM2, G6PC, GALNS, IDUA, IDS, ARSB, HYAL1, GUSB, GLB1; GNPTG, GNPTAB, MAN2B1;</i>
	先天性糖基化紊乱	<i>MGAT2, SLC35C1, TMEM165;</i>
	其他	<i>GPD1, GBA, SMPD1, MLYCD, CTSA, UROCI, FUCA1, PIGO, AGA, GK, CTNS, PHGDH, HGD, ATP7A, SLC17A5, MPO, MVK, ADA, PCCB, PLOD3, SLC6A19, ACADS, SUMF1;</i>
与内分泌系统相关的矮小疾病	生长激素缺乏症	<i>SOX3, GHSR, GHRHR, GHR, BTK, GHI; SHH, SLC29A3, NDN, CEP57, ALMS1, SNRPN;</i>
	甲状腺功能减退	<i>NKX2-5, TSHB, THRA, PAX8, TSHR, IYD, TPO, TG, DUOX2, DUOX2, SLC26A4, SLC5A5; GCM2, SECISBP2, THRB, TRHR, TRIH;</i>
	甲状腺功能亢进	<i>TSHR</i>
	脑垂体激素联合缺乏症	<i>PROP1, OTX2, POU1F1, HESX1, LHX4, LHX3;</i>
	原始侏儒症	<i>PCNT, RNU4ATAC;</i>
与骨骼系统相关的矮小疾病	其他	<i>IGF1R, GNAS, HSD11B2, B3GALTL, INSR, CYP11B1, CASR;</i>
	软骨生成不全	<i>TRIP11, COL2A1;</i>
	软骨发育不良	<i>FGFR3;</i>
	点状软骨发育不良	<i>ARSE, PTH1R, IMPAD1, EBP, GNPAT, PEX7, AGPS, BMPR1B, RMRP</i>
	软骨肉瘤	<i>EXT1</i>
	肢端骨发育不全	<i>PDE4D, PRKARIA;</i>
	肢端肢中发育不全	<i>GDF5, NPR2;</i>
	短指	<i>GDF5, ROR2, NOG, PTHLH, HOXD13, IHH, BMPR1B, HDAC4, SOX9</i>
	多指	<i>NEK1, WDR35, DYNC2H1; PIK3R2; AKT3</i>
	多发性骨骺发育不良	<i>COL9A3, COL9A2, COL9A1, COMP, MATN3, SLC26A2</i>
	干骺端发育不良	<i>MMP13, COL10A1, MMP9;</i>
	成骨不全症	<i>SERPINH1, CRTAP, BMP1, FKBP10, COL1A2, LEPRE1, IFITM5, SERPINF1, PPIB, COL1A1, SP7;</i>
	脊椎干骺端发育不良	<i>MMP13, PAPSS2, MATN3, TRAPPC2, KIF22, ACP5, DDR2, ACAN, COL2A1, CHST3;</i>
	脊椎肋骨发育不全	<i>HES7, DLL3</i>
	原发性常隐小头畸形	<i>MCPHI, ASPM;</i>
	远端关节挛缩	<i>MYH3; TPM2; TNNT3;</i>
	颅骨骨干发育不全	<i>IFT43, SOST, WDR35, WDR19;</i>
	Stickler-综合征	<i>COL2A1, COL9A2, COL9A1, COL11A1;</i>
	其他	<i>SEC23A, MMP2, ESCO2, RIN2, LMX1B, GHR, SLC35D1, EFNBI, DYM, LIFR, GORAB, SH3BP2, FGFR1, TBX15, COMP, CANT1, TFAP2A, RUNX2, TMCO1, CHRNA1, CTSK, FLNB, EVC, FBNI, B3GAT3, EFTUD2, EIF2AK3, SLC26A2, EVC2, CHRNG, CHRND, SMAD4, POC1A, TBX3, WNT7A, ERCC6, ERCC2, FBNI, ADAMTSL2, EXT2, TRPV4, SF3B4, CA2, WDR19, GDF6, FAM123B, TNFRSF11B, TNNT2</i>
	与消	胆汁淤积

[0029]

化系 统相 关的 矮小 疾病	结肠直肠癌	<i>BUB1B</i>
	肝细胞癌	<i>CASP8</i>
	淋巴水肿综合征	<i>CCBE1</i>
与皮 肤相 关的 矮小 疾病	皮肤松弛症	<i>ATP6V0A2, LTBP4, PYCR1, ALDH18A1</i>
	先天性角化不良	<i>DKC1, TERT, TINF2</i>
	毛发硫营养不良 发、鼻、指(趾)综合征	<i>ERCC3, GTF2H5; EXT1, TRPS1</i>
	单纯性大疱性表皮松解症	<i>PLEC1</i>
	皮肤发育不全综合征	<i>PORCN</i>
	皮炎	<i>SLC39A4</i>
	皮肤异色症	<i>C16orf57</i>
	色素失调症	<i>IKBK</i>
	限制性皮肤病	<i>ZMPSTE24</i>
	与神 经肌 肉相 关的 矮小 疾病	智力迟缓综合征
脑桥小脑发育不全		<i>CHMP1A, EXOSC3</i>
痉挛性截瘫		<i>AP4S1, AP4E1, AP4B1</i>
脊髓小脑性共济失调		<i>GRM1, ZNF592</i>
肌肉萎缩症		<i>SEPN1, LARGE, SEPT9</i>
先天肌无力		<i>RAPSN</i>
肌硬化症		<i>COL6A2</i>
多小脑回		<i>RTN</i>
精神发育迟缓综合征		<i>SOX3</i>
其他		<i>NAA10, NFI, LRP5, ATM, SHROOM4, SIL1, SLC6A8, IGBP1, SHH, NDE1, IKBKAP, KIF1A, VLDLR</i>
与耳 鼻喉 五官 相关 的矮 小疾 病	小眼睛形	<i>BCOR, STRA6, OTX2, SMOC1, HCCS, SOX2</i>
	前庭水管扩大	<i>FOXJ1, KCNJ10</i>
	耳聋并伴有前庭水管扩大	<i>SLC26A4</i>
	先天性缺牙	<i>LTBP3</i>
	牙病	<i>CLCN5</i>
与血 液系 统相 关的 矮小 疾病	范可尼贫血	<i>FANCE, FANCC, FANCA, FANCG, FANCF, RAD51C, FANCD2, SLX4;</i>
	Heinz 小体溶血性贫血	<i>HBB, HBA1</i>
	贫血症	<i>SLC19A2, RPS19, KLF1, GATA1</i>
	白血病	<i>RARA</i>
	其他	<i>LBR, ATRX, RBM8A, UROS</i>
与免 疫系 统相 关的 矮小 疾病	免疫缺陷	<i>LAMTOR2, LRBA</i>
	丙种球蛋白缺乏血症	<i>BTK</i>
	假类风湿性关节炎	<i>WISP3</i>
	自身免疫疾病	<i>ITCH</i>
	其他	<i>SMARCA1</i>

[0030]

与矮小相关的其他综合征	3-M 综合征	<i>CUL7, CCDC8</i>
	Bartter 综合征	<i>KCNJ1, SLC12A2</i>
	Cockayne 氏综合征	<i>ERCC8, ERCC6</i>
	Cornelia de Lange 综合征	<i>SMC1A, NIPBL, SMC3, HDAC8, RAD21</i>
	Ehlers-Danlos 综合征	<i>ADAMTS2, SLC39A13, COL1A2, B4GALT7, COL3A1, COL1A1, COL5A2, COL5A1;</i>
	Feigold 综合征	<i>MYCN, MIR17HG</i>
	Meier-Gorlin 综合征	<i>ORC6, ORC1, CDT1, CDC6, ORC4</i>
	Noonan 综合征	<i>KRAS, RAF1, BRAF, SOS1, PTPN11</i>
	Oral-facial-digital 综合征	<i>OFD1, TCTN3</i>
	Robinow 综合征	<i>WNT5A, ROR3</i>
	Rubinstein-Taybi 综合征	<i>CREBBP, EP300</i>
	Schwartz-Jampel 综合征	<i>LIFR, HSPG2</i>
	Seckel syndrome 综合征	<i>ATR, RBBP8, CEP152, NIN, CEP63, CENPJ</i>
	Weill-Marchesani 综合征	<i>ADAMTS17, FBNI, LTBP2, ADAMTS10</i>
	Warburg micro 综合征	<i>RAB3GAP1, RAB3GAP2, RAB18</i>
Rett 综合征	<i>FOXG1, MECP2</i>	
其他综合征	<i>LRP2, NKX2-1, RAB3GAP2, FGD1, KCNJ2, SBDS, LICAM, AAAS, BRAF, TWIST1, NBAS, SEMA3E, PQBP1, SPG20, G6PC3, HYL51, NBN, RAI1, IGF2, UBR1, OCRL, CHD7, GLA, CD96, LMNA, PHF6, HRAS, IFT140, SRCAP, CTC1, OTX2, ASXL1, FTO, ANKRD11, HSD17B4, MED12, KIF7, DHCR7, CTDPL1, MYH8, DDX11, POR, KAT6B, ALDH3A2, TP63, SDHA, ALPL, MLL, WRN, MAP2K1, NSDHL, FAM20C, NSD1, H19, RECQL4, TRIM37, ZEB2, FOXE1, KANSL1, BANF1, BLM, VPS13B, RAB23, TBX1, HPRT1, SLC16A2, SMARCA2, COX4I2, MAP2K2, NOTCH2, CRLF1, WFS1, ZBTB16, ARX, DLX5, MGP, FGFR2, TAZ, PITX2, ACTB, PLOD2, SLC34A1, MBTPS2, TMEM237, TBCE, MKSI, GPC6, RIPK4, FLNA, GJB6, ERCC3, MPV17, ATPAF2, AQP2</i>	
Marker 基因	<i>FMRI, BRCC3, WDR81, SATB2, VRK2, LSM14A, HOXD3, LHX1, RIMS1, MBP, HMX2, GJA8, MBDS, ELN, CHRM3, RPS7P5, FMN2, USP9Y, SRY, UTY, CHL1, LBR, RAI1, FGFR3, RUNX2</i>	

[0031] 表 2

[0032]

疾病大类	基因数目 (个)	疾病数目 (种)
代谢系统	53	53
内分泌系统	44	47
骨骼系统	115	124
消化系统	5	5
皮肤系统	17	17
神经肌肉	36	36
耳、鼻、喉五官	11	11
血液	19	19
免疫	6	6
其他综合征	146	153
染色体微缺失微重复	25	17
合计	463	488

[0033] (2) 目标区域捕获测序及分析流程

[0034] 如图 2 试验及分析流程所示,从受检者全血中提取基因组 DNA,并将检测合格

的 DNA 同时进行 SNP 质谱检测和文库制备。文库制备是将 1  $\mu$ g 基因组 DNA 打断成主带为 200–300bp 小片段 DNA, 然后将打断后 DNA 片段进行末端补平, 在 3' 端加碱基“A”, 使得 DNA 片段能与 3' 端带有“T”碱基的特殊接头连接, 经 Non-Captured PCR (未捕获前扩增) 构建完成的文库, 通过矮小症基因检测芯片将选取的特定基因的 Exon 及侧翼  $\pm$ 30bp 区域进行富集, 再通过 PCR 扩增富集后产物, 最后通过杂交前后 PCR 产物 QPCR 检测获得序列捕获杂交效率。QPCR 检测合格后, 将一定数量的文库进行上机测序, 例如利用 HiSeq2000/2500, 对下机数据进行质控, 然后对数据进行分析 and 解读。其中, 文库制备一个样品周期为 5–7 天。信息分析采用自主开发的信息分析流程进行数据处理, 分析流程包含的未特别交待的软件、脚本等可通过深圳华大基因公开的网页或数据库来获取, 或者定制深圳华大基因的服务来进行该数据处理, 数据处理主要包括过滤、比对、去重复、重比对、质控、SNV (SNP) +INDEL 检测、注释等步骤。注释结果的解读, 主要基于 HGMD、BGI Gap 以及各大耳聋致病突变数据库及文献搜索查阅进行, 同时结合多个功能预测软件结果及受检者临床表征进行综合解读, 基本规则参考美国医学遗传学和基因组学学院 (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) 相关指南进行。

[0035] 传统的矮小症基因检测方法依赖临床医生的精确诊断, 通过对候选基因的 Sanger 验证来探寻患者的致病原因。若候选基因的 Sanger 验证为阴性, 需要重新对临床表征进行评估来寻找新的候选基因, 浪费大量的时间和成本。示例的本发明的方法基于二代测序技术的矮小症基因检测可以灵活挑选基因集, 而且性价比更高、针对性更强, 适合大规模的临床基因检测服务。本方法提供的矮小症基因检测基本上涵盖了目前已报道的单基因导致的矮小症, 可以对受检者进行准确诊断、针对性的治疗以及防止疾病在家族中复发。而且, 随着矮小症新相关基因的发现, 此芯片可以不断地升级, 加入新的基因, 从而不断提升矮小症芯片的检出率。

[0036] 以下结合具体个体样本对依据本发明的具体检测方法的运行结果进行详细的描述。下面示例, 仅用于解释本发明, 而不能理解为对本发明的限制。在本发明的描述中, 除非另有说明, “多个”的含义是两个或两个以上。

[0037] 除另有交待, 以下实施例中涉及的未特别交待的试剂、序列 (接头、标签和引物)、软件及仪器, 都是常规市售产品或者公开的, 比如购自 Illumina 公司的 HiSeq2000 测序平台建库相关试剂盒来进行文库构建等。

[0038] 实施例

[0039] 对 1 例非匀称性矮小, 骨骼异常 (先天性脊椎后凸、四肢短小), 面部特征异常, 先天性肝动脉门静脉瘘, 先天性脑积水的患者进行检测, 患者来自天津残疾人联合会。该患者在临床上无法确诊为哪种疾病, 经过上述结合矮小症相关基因芯片新一代目标区域捕获测序 (NGS Panel) 检测后, 发现在与软骨发育不良的 FGFR3 基因上发现了一个热点有害突变 c. 1138G>A (p. Gly380Arg), 最终患者确诊为软骨发育不良。

[0040] 用盐析法提取标本 DNA, 大片段 DNA 进行超声打断, 目前使用样品打断方法为 Covaris 打断法, 将样品 DNA 打碎至 100–700bp 范围的片段。(注: 打断效果一般以所要求制备文库 Insert 片段主带位置在 200–250bp 位置较为理想, 若打断效果不理想则需要重新打断。)

[0041] 1. 文库制备

[0042] 1.1 末端修复和纯化

[0043]

试剂名称	体积 ( $\mu\text{L}$ )
10X Polynucleotide Kinase Buffer(B904)	10
dNTP Solution Set	4
T4 DNA Polymerase	5
Klenow Fragment	1
T4 Polynucleotide Kinase(T4 PNK)	5

[0044] 将配置好的 mix 震荡混匀后, 每个反应加入 25  $\mu\text{L}$  酶反应混合液。反应条件 :20 $^{\circ}\text{C}$ , 30min。

[0045] 使用 180  $\mu\text{L}$  Ampure Beads 进行产物纯化, 回收的 DNA 溶于 30  $\mu\text{L}$  (其中 1.9  $\mu\text{L}$  为损耗) 的水中。

[0046] 1.2 末端加“A”(A-Tailing)

[0047]

试剂名称	体积 ( $\mu\text{L}$ )
10X Blue buffer	3.5
dATP(5mM)	1.4
Klenow(3'-5' exo-)	2

[0048] 将配置好的 mix 震荡混匀后, 每管加入 6.9  $\mu\text{L}$  酶反应混合液。反应条件 :20 $^{\circ}\text{C}$ , 30min。需要说明的是, 末端加“A”后可以不用纯化。

[0049] 1.3 Adapter 的连接和纯化

[0050]

试剂名称	体积 ( $\mu\text{L}$ )
10X Ligation buffer	1.5
Index PE Adapter(40 $\mu\text{M}$ )	1
ATP(10mM)	3.5
T4 DNA Ligase	3
ddH <sub>2</sub> O	6

[0051] 将配置好的 mix 震荡混匀, 每个反应加入 15  $\mu\text{L}$  酶反应混合液。反应条件 :16 $^{\circ}\text{C}$ , 12-16h(过夜)。使用 75  $\mu\text{L}$  Ampure Beads 进行产物纯化, 回收的 DNA 溶于 35  $\mu\text{L}$  (其中 2  $\mu\text{L}$  为损耗) 的水中。

[0052] 1.4 Non-Captured 样品 Pre-LM-PCR

[0053]

试剂名称	体积 ( $\mu\text{L}$ )
Index P1(10 $\mu\text{M}$ 公用引物)	8
10XPfx Amplification Buffer	10
dNTP (10mM)	4
MgSO <sub>4</sub> (50mM)	4
PCR Index primer2.0 (10 pmol/ $\mu\text{L}$ )	4
ddH <sub>2</sub> O	34

[0054] PCR 程序 :

[0055] 94 $^{\circ}\text{C}$  2min ;

[0056] 94 $^{\circ}\text{C}$  15s, 62 $^{\circ}\text{C}$  30s, 72 $^{\circ}\text{C}$  30s, 4cycles ;

[0057] 72 $^{\circ}\text{C}$  5min ;

[0058] 4℃ forever

[0059] 2. 芯片杂交, 目标区域捕获富集

[0060] 本实验中参照 NimbleGen 使用说明书进行杂交洗脱, 获取目的基因并 PCR 富集。

[0061] 3. 上机测序

[0062] 本实验采用 hiseq2000 或 hiseq2500PE101+8+101 程序进行上机测序。

[0063] 4. 信息分析

[0064] 4.1 从测序仪获取原始数据 (FASTQ 数据)。

[0065] 4.2 过滤 : 对原始 FASTQ 数据进行质量控制, 去除常规所说的低质量值数据。

[0066] 4.3 比对 : 利用 SOAP 软件及其默认参数设置, 使用 Hg19 参考序列进行比对, 并行化处理任务。

[0067] 4.4 去重复 : 基于 Picard 的 read 去重复算法, 并行化地从比对结果中找出重复 reads 并以 SAM/BAM 文件的 tag 方式进行标记。

[0068] 4.5 重比对 : 使用基于 GATK 重比对模型, 进行重比对。即, 在上一比对结果的基础上, 对 INDEL 附近的所有 reads 进行局部重新比对, 以消除比对的错误, 提高变异检测的准确率。

[0069] 4.6 检测 SNV INDEL : 使用在 GATK UnifiedGenotyper 基础上开发的基于 Hadoop 平台的并行化变异检测模块, 同时进行 SNP 和 Indel 的检测。比对完成后利用更完备的错误模型计算基因型似然值, 考虑了 PCR、碱基质量 (Base Quality) 和比对质量 (Mapping Quality) 等多种因素。UnifiedGenotyper 是集合多种变异检测方法而成的一种变异识别软件 (Variants Caller), UnifiedGenotyper 使用贝叶斯最大似然模型, 同时估计基因型和基因频率, 最后对每一个样本的每一个变异位点和基因型都会给出一个精确的后验概率。该软件能将输入 bam 文件中的样本进行变异检测, 最后生成一个 vcf 文件, vcf 文件中会包含所有样本的变异位点和基因型信息。从 vcf 文件得到的结果是最原始的、没有经过任何过滤和校正的 Variants 集合。这一步产生的变异位点会有很高的假阳性, 尤其是 indel, 因此, 我们在前面进行重比对以尽量减少该突变检测中的假阳性结果。

[0070] 4.7 注释 : 使用人类基因组数据库 NCBI 104, 频率数据库 dbSNP135、1000human、ESP6500, 以及 BGI 内部频率数据库进行注释 ; 使用 HGVS 对变异进行标准命名, 同时使用 OMIM、HGMD 疾病数据库, CGD 临床基因组数据库进行突变及疾病注释, 确定突变位点发生的基因、坐标、氨基酸改变等。生成与矮小症基因相关的突变数据列表。

[0071] 5. 结果分析

[0072] 表 3 是测序数据统计结果, 表 4 显示目标区域覆盖度统计信息, 表 5 显示检测结果。

[0073] 表 3

[0074]

样本 Sample	总读段数 Total	总碱基数 Total bases	目标区域读段数目 Reads	目标区域读段数所占
-----------	------------	------------------	----------------	-----------

[0075]

	Reads	(MB)	In Target	比例 Rate
14B0949037	10591516	1003249800	5295528	52.8%

[0076] 表 4

[0077]

样本Sample	平均测序深度 Average Depth	平均覆盖深度Average Coverage	测序深度 $\geq$ 4X所占 的比例	测序深度 $\geq$ 20X所占 的比例
14B0949037	195.51	98.61	98	96.26

[0078] 表 5

[0079]

基因	NM号	基因亚区	核苷酸改变	氨基酸改变	功能改变	纯合/杂合	Reads支持数
FGFR3	NM_000142.4	CDS8	c.1138G>A	p.Gly380Arg	Missense	杂合	A95/G107

[0080] 如表 5 所示,本次基因检测在与软骨发育不良 (Achondroplasia, ACH ;OMIM : 100800) 相关的 FGFR3 基因编码区检测到一个杂合已知致病突变 c. 1138G>A(p. Gly380Arg)。FGFR3 基因编码区的杂合错义突变 c. 1138G>A(p. Gly380Arg) 为最常见的软骨发育不良的致病突变,99%的软骨发育不良患者都是由 FGFR3 基因的突变所导致。Bellus 等 1995 年对 193 例软骨发育不良患者的研究中发现 187 例患者是由突变 c. 1138G>A 导致,占患者的 96.9%,5 例患者是由该位置的另一突变 c. 1138G>C 导致,占患者的 2.6% [Bellus, G. A., Hefferon, et al. Achondroplasia is defined by recurrent G380R mutations of FGFR3. Am. J. Hum. Genet. 1995 (56) :p. 368-373]。软骨发育不良为常染色体显性遗传病,杂合突变即可致病。因此, c. 1138G>A(p. Gly380Arg) 应是受检者骨骼异常相关病症的原因。

[0081] 另外,限于篇幅,列出本次检测出的部分其它变异的信息,如表 6 所示,表 6 中的变异都是数据库中频率<5%,且可能影响蛋白功能和 mRNA 剪接的变异类型(包括非同义突变、蛋白编码区的插入、缺失突变及剪接  $\pm$ 10bp 以内的变异)。

[0082] 表 6

[0083]

Gene	NM_ID	Mut_name	Function	rsID	Mut_type*	Fr.1*	Fr.2*	Fr.3*	Fr.4*	Condel*
COL3A1	NM_000090.3	c.3613A>G	missense	rs2271683	het	0.009789	0.0165	0.000154	0.0356	—
CRTAP	NM_006371.4	c.641T>C	missense	rs146124454	het	0.000594	0.0005	0.000231	0.0018	—
FLNB	NM_001164319.1	c.3661A>G	missense	—	het	—	—	—	0.0009	良性
CASR	NM_000388.3	c.1775A>G	missense	rs117375173	hom	0.008681	0.0073	0.000154	0.0258	—
ATR	NM_001184.3	c.325C>T	missense	rs146405935	het	0.0046	0.0046	—	0.0102	有害
FGFR3	NM_000142.4	c.1138G>A	missense	—	het	—	—	—	—	有害
WDR19	NM_025132.3	c.3416A>G	missense	rs75621037	het	0.0073	0.0073	—	—	良性
COL10A1	NM_000493.3	c.1682C>T	missense	rs201416912	het	0.0005	0.0005	—	—	—
FAM20C	NM_020223.3	c.653C>T	missense	rs200962622	het	0.0009	0.0009	—	—	—
GHRHR	NM_000823.3	c.673G>A	missense	rs28371560	het	0.005045	0.0142	0.000384	0.0414	有害
VPS13	NM_017890.1	c.9407A>G	missense	rs199704	het	0	—	—	—	良性

[0084]

B	4	>T	nse	158							
PLEC	NM_000445.	c.12865G	misse	rs142946	het	0.0055	0.00	0.0001	-	-	
	3	>A	nse	078			55	62			
ROR2	NM_004560.	c.986G>	misse	-	het	-	-	-	0.00	良性	
	3	A	nse						22		
LMX1B	NM_002316.	c.932C>	misse	-	het	-	-	-	-	良性	
	3	T	nse								
MLL2	NM_003482.	c.7144C>	misse	rs374162	het	0.0187	0.02	0.0037	0.00	-	
	3	T	nse	6		53	43	01	09		
TRPV4	NM_147204.	c.760G>	misse	-	het	-	-	0	0.00	-	
	2	C	nse						13		
TRIP11	NM_004239.	c.4139C>	misse	rs117748	het	0.0021	0.00	-	0.00	良性	
	3	T	nse	213		7	18		36		
ACAN	NM_013227.	c.1589G	misse	-	het	-	-	-	-	-	
	3	>A	nse								
SLX4	NM_032444.	c.3439G	misse	-	het	-	-	-	-	-	
	2	>A	nse								
DHODH	NM_001361.	c.1022C>	misse	rs617331	het	0.0242	0.02	0.0201	0.00	-	
	4	T	nse	29		81	24	03	22		
SERPIN1	NM_002615.	c.151G>	misse	rs150899	het	0.0016	0.00	0.0000	0.01	-	
	5	A	nse	084		33	46	77	02		
CTNS	NM_004937.	c.356G>	misse	-	het	-	-	0.0000	0.00	良性	
	2	A	nse					77	09		
RAI1	NM_030665.	c.3926C>	misse	-	het	-	-	-	-	-	
	3	A	nse								
ATPAF2	NM_145691.	c.35G>A	misse	rs149036	het	0.0119	0.01	0.0002	0.03	良性	
	3		nse	879			19	31	07		
KLF1	NM_006563.	c.325C>	misse	rs117351	het	0.0225	0.02	-	0.02	有害	
	3	T	nse	327		69	01		89		
MMP9	NM_004994.	c.59C>T	misse	rs180508	het	0.0271	0.03	0.0168	0.03	良性	
	2		nse	8		27	8	38	43		
TBX1	NM_005992.	c.928G>	misse	rs412988	hom	0.0107	0.01	-	0.03	-	
	1	A	nse	38		11	05		43		
FAM123B	NM_152424.	c.85G>A	misse	rs138399	hom	0.0035	0.01	0.0006	0.02	良性	
	3		nse	473		42	08	63	4		

[0085] \*hom/het:hom 表示此突变位点为纯合突变, het 表示此突变位点为杂合突变。

[0086] \*Fr. 1 :dbSNP 数据库中收录的关于此 SNP 的频率信息。

[0087] \*Fr. 2 :千人计划中全部测序样本中关于此 SNP 在亚裔人种中的频率信息。

[0088] \*Fr. 3 :ESP6500 数据库中收录的关于此 SNP 的频率信息。

[0089] \*Fr. 4 :本地数据库中关于此 SNP 的频率信息。

[0090] \*Condel :Condel 数据库预测结果。

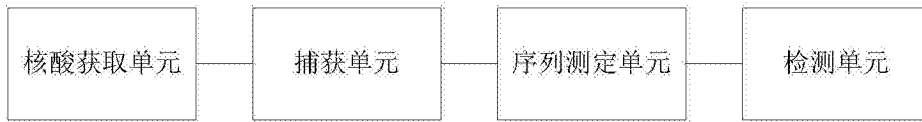


图 1

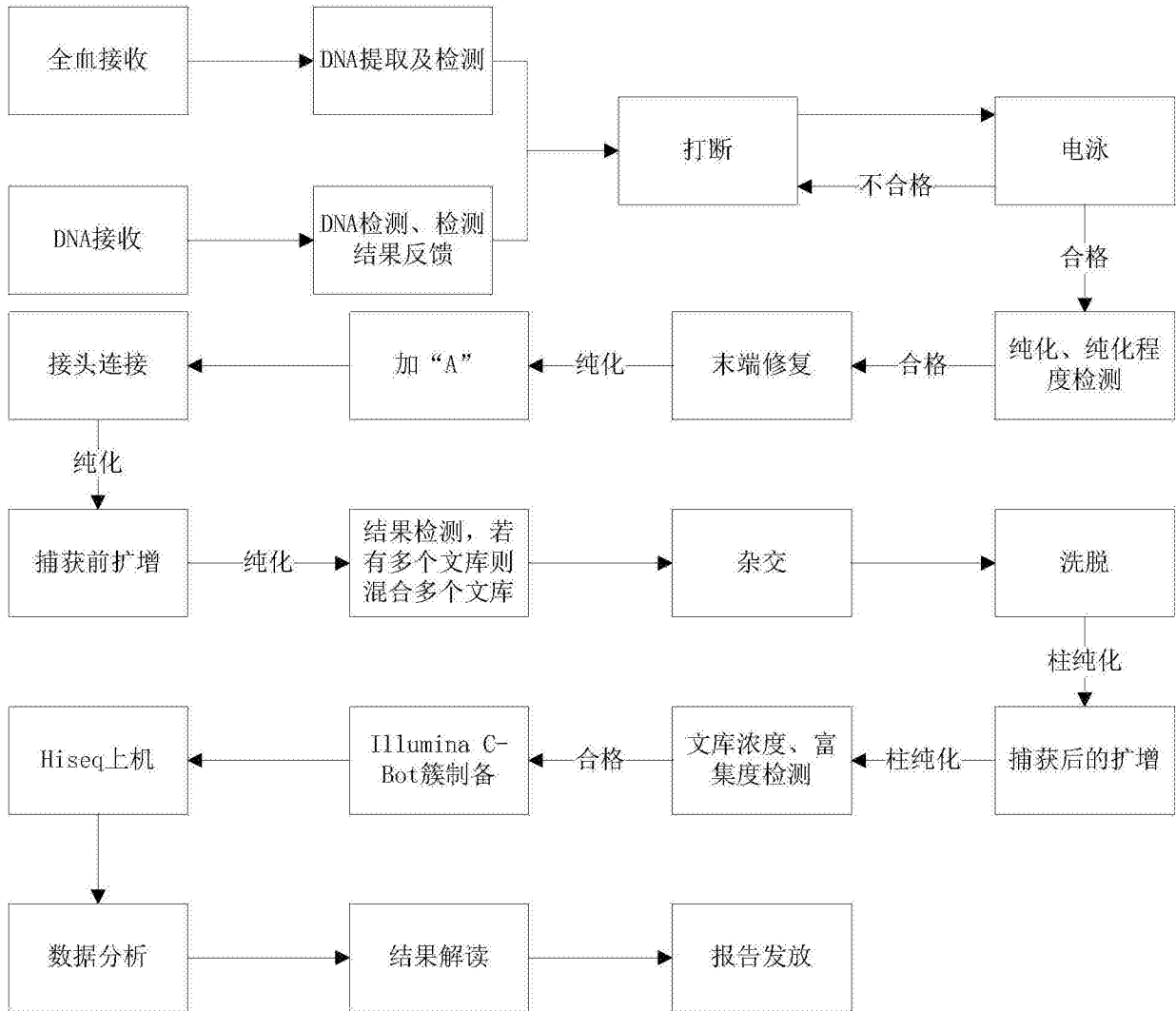


图 2