

无创产前基因检测技术

李宓宓

17307130351

一、 技术原理

1. 简介

无创产前基因检测技术 (Non Invasive Prenatal Testing, 简称 NIPT) 是一项安全、准确、快速的新型胎儿染色体检测技术。

NIPT

Non invasive
Prenatal Test

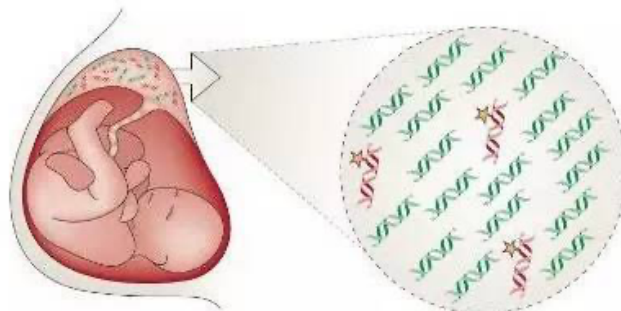


2. 发展历程

- 1) 1997 年, 香港中文大学教授卢煜明等通过常规聚合酶链式反应 (PCR) 扩增母体外周血血浆中的 Y 染色体特异 DNA 片段, 证实了母血浆中存在胎儿游离 DNA, 开辟了利用母血中胎儿游离 DNA (cell-free fetal DNA, cffDNA) 进行无创产前诊断的新途径
- 2) 2008 年, 香港学者 chiu 等以孕妇血中胎儿游离 DNA 为模板, 应用全基因组大规模平行基因组测序技术对胎儿 21 号染色体非整倍体进行了前瞻性研究, 开创了无创产前检测的先河

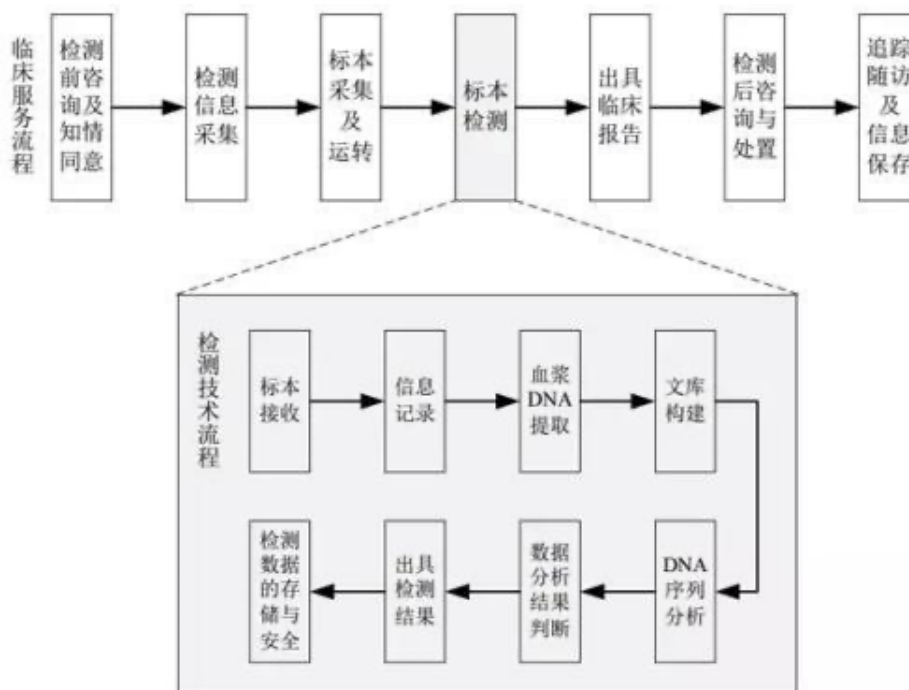
3. 技术原理

孕妇外周血血浆中的游离 DNA 为胎儿和母体游离 DNA 的混合物, 主要来源是母体自身细胞的降解, 少部分来源于凋亡的胎盘滋养层细胞, 这部分细胞释放的 DNA 是可以代表胎儿遗传物质的游离 DNA 片段。在妊娠 7 周胎盘循环建立后, 即可在孕妇外周血中检测到稳定的 cffDNA, 其浓度随孕周增大而升高, 平均半衰期为 16 min, 在正常分娩 2h 后在母体外周血中就无法检测到 cffDNA。基于胎儿 cffDNA 的以上特点, 使得利用孕妇外周血中胎儿游离 DNA 进行产前筛查成为可能。



通过提取孕妇外周血中的游离 DNA，进行大规模平行测序，然后利用生物信息分析技术将这些碱基序列定位到人类基因组参考图谱上进行比对。通过计算这些游离 DNA 片段的数量改变，可在全基因组范围内筛查到游离 DNA 来源的染色体片段拷贝数变异，这便是母血中胎儿游离 DNA 无创产前检测技术。

4. 实验流程



重点步骤解读：

1) NIPT 检测样本采集

采集孕妇外周血 5ml—10ml 后，将血液样本直接送到有检测资质的高通量测序实验室。NIPT 检测使用专用采血管，采集完血液样本后，需要在指定温度范围保存、运输。

2) NIPT 检测样本的接收和保存

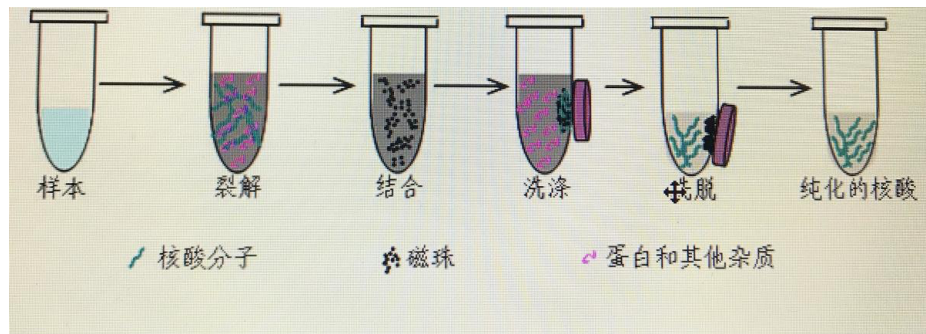
实验室接收血液样本后，需立即检查样本状态（温度是否合格、血液样本是否凝血等）、采血时间，采血量等。检查后，不合格样本及时通知对接人员或孕妇重新采集样本，合格样本继续进行低温低速离心处理。

离心完成后根据血浆颜色判断血液样本是否溶血，溶血、严重溶血样本属于不合格样本，需通知重新采集样本。

合格样本则分离出血浆、白细胞保存，保存期为3年到5年。

3) NIPT 检测样本的 DNA 的提取和纯化

将适量血浆常温融化，提取血浆中游离的 DNA 片段进行纯化，该步骤通常使用操作简单、耗时较短的磁珠法。磁珠充分吸附游离 DNA 片段，清洗掉蛋白质和其他杂质后洗脱出吸附在磁珠上的游离 DNA 片段，收集备用。



二、 技术应用

NIPT 是一种近乎于诊断水平的筛查手段，主要用于产前筛查胎儿染色体是否非整倍数异常，如，唐氏综合症 (T21)、爱德华氏综合征 (T18)、帕陶氏综合征 (T13)、性染色体非整倍体及部分染色体拷贝数变异，以达到优生优育的目的。

NIPT 适用于以下情况：

- (1) 孕早期、孕中期血清学筛查提示胎儿染色体非整倍体风险为临界高风险的孕妇
- (2) 处在感染性疾病活动期的介入性产前诊断禁忌证者
- (3) 习惯性流产、IVF 等原因的珍贵儿，在知情同意的情况下可以选择无创产前基因检测
- (4) 孕周过大错过目前产前诊断最佳时间的孕妇
- (5) 孕妇及家属对介入性产前诊断极度焦虑和恐惧

三、 技术优缺点

1. 技术优点

- 1) 准确性和敏感性高。研究验证 NIPT 检测 21、18 和 13 三体综合征时，检出率能达到 99.2%，假阳性率仅为 0.09%。而传统的胎儿染色体非整倍体疾病的产前筛查中血清学筛查检出率为 60%–70%，假阳性率在 5%左右
- 2) 相比羊水穿刺，静脉抽取外周血操作简单，风险较低，同时减少医疗资源的浪费
- 3) 减少孕妇焦虑
- 4) 减少漏诊，避免医疗纠纷
- 5) 检测孕周为 12–24 周，单胎、双胎、试管婴儿妊娠孕妇均可检测
- 6) 结果不受孕妇年龄、种族及是否患有糖尿病等妊娠相关疾病影响

2. 技术缺点

1) 技术本身：

- a) 目前不能检测染色体易位和嵌合体型唐氏综合征
- b) 不能筛查体细胞遗传病、线粒体遗传病、单基因和多基因遗传疾病
- c) 不能预测晚期妊娠并发症
- d) 当出现：（1）母体存在染色体异常或拷贝数变异。（2）限制性胎盘嵌合。（3）胎儿自身染色体拷贝数变异或嵌合。（4）双胎之一胎死宫内。（5）单亲二倍体。（6）胎儿游离 DNA 浓度低等。（7）孕妇本人罹患肿瘤。（8）孕妇体重超过 100kg 或体重指数超过 40 等情况时，NIPT 检测准确性会受到影响

2) 价格：

相比于传统的胎儿染色体非整倍体疾病的产前筛查，NIPT 价格较高且未入医保。目前 NIPT 价格约为 2000 元，而传统孕检约为 200 元