

ÁP DỤNG KỸ THUẬT KHUẾCH ĐẠI ĐA ĐẦU DÒ ĐẶC HIỆU METHYL HÓA (MS-MLPA) TRONG CHẨN ĐOÁN HỘI CHỨNG PRADER-WILLI

An Thùy Lan¹, Nguyễn Thị Phương Mai¹, Ngô Mạnh Tiến¹,
Đinh Thị Hồng Nhung¹, Lê Thị Liễu¹, Ngô Diễm Ngọc¹,
Vũ Chí Dũng¹, Phan Thị Hoan²

¹Bệnh viện Nhi Trung ương, ² Trường Đại học Y Hà Nội

Hội chứng Prader-Willi (Prader-Willi Syndrome - PWS) là hội chứng bệnh di truyền gây nên do mất hoạt động chức năng các gen trên nhánh dài gần tâm vị trí q11-q13 của nhiễm sắc thể (NST) số 15 có nguồn gốc bố. Các gen vùng này hoạt động theo cơ chế dấu ấn di truyền (genetic imprinting). MS-MLPA là một phương pháp bán định lượng, phát hiện thay đổi số lượng bản sao và tình trạng methyl hóa, kỹ thuật này chẩn đoán được > 99% các bệnh nhân mắc PWS ở các nhóm nguyên nhân di truyền sau: mất đoạn NST 15q11-q13 nguồn gốc bố, hai NST 15 nguồn gốc mẹ (mUPD), khiếm khuyết trung tâm dấu ấn di truyền ID. Áp dụng kỹ thuật MS-MLPA cho 14 bệnh nhân. Kết quả phát hiện được 4 bệnh nhân mất đoạn NST 15q11-q13 typ 1, 3 bệnh nhân mất đoạn NST 15q11-q13 typ 2, 1 bệnh nhân mất đoạn NST 15q11-q13 không điển hình, 6 bệnh nhân thuộc nhóm mUPD hoặc đột biến điểm vùng trung tâm dấu ấn di truyền IC, không phát hiện trường hợp nào mang đột biến mất đoạn trung tâm dấu ấn di truyền IC.

Từ khóa: Hội chứng Prader-Willi, MS-MLPA, NST 15q11-q13, mUPD, ID

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng Prader-Willi (Prader-Willi Syndrome - PWS) là hội chứng bệnh di truyền gây nên do mất hoạt động chức năng của các gen trên nhánh dài gần tâm vị trí q11-q13 của nhiễm sắc thể (NST) số 15 có nguồn gốc từ bố. Các triệu chứng thường gặp: giảm cử động thai, giảm trương lực cơ, bộ mặt bất thường, béo phì, chậm phát triển tâm thần vận động, tầm vóc thấp, chân tay nhỏ, thiếu năng sinh dục, và hầu hết đều vô sinh.

Tỷ lệ mắc PWS trong quần thể ước tính 1/10.000 - 1/30.000 [1].

Các gen trên NST 15 vùng q11-q13 gọi là vùng gen Prader-Willi (Prader-Willi Critical Region - PWCR) hoạt động theo cơ chế dấu ấn di truyền (genetic imprinting) - di truyền đơn alen (monoallelic), chỉ hoạt động trên NST 15 nguồn gốc bố, không hoạt động trên NST 15 nguồn gốc mẹ [2]. Các nguyên nhân gây PWS gồm: mất đoạn NST 15q11-q13 nguồn gốc bố; hai NST số 15 đều có nguồn gốc mẹ (maternal Uniparental Disomy - mUPD, khiếm khuyết dấu ấn di truyền (Imprinting defect - ID). Một số nghiên cứu chỉ ra biểu hiện lâm sàng của PWS phụ thuộc vào các biến đổi di truyền tương ứng [3].

Kỹ thuật khuếch đại đa đầu dò đặc hiệu methyl hóa (Methylation Specific Multiplex Liagation- dependent probe Amplification MS-MLPA), là phương pháp bán định lượng, phát hiện thay đổi số lượng bản sao và tình trạng

Tác giả liên hệ: An Thùy Lan,

Khoa Di truyền và Sinh học phân tử - Bệnh viện Nhi Trung ương

Email: anthuylan@gmail.com

Ngày nhận: 04/06/2019

Ngày được chấp nhận: 07/07/2019

methyl hóa [4; 5]. Nghiên cứu này với mục tiêu hoàn thiện kỹ thuật MS-MLPA trong chẩn đoán PWS: chẩn đoán xác định và phân loại các biến đổi di truyền trong PWS nhằm đưa ra tiên lượng bệnh trên lâm sàng và tư vấn di truyền, chẩn đoán trước sinh cho những trường hợp có nguy cơ sinh con mắc PWS ở những lần sinh sau. MS-MLPA chẩn đoán xác định được > 99% bệnh nhân PWS do mất sự hoạt động bình thường của các gen trên PWCR. Kỹ thuật này ưu việt hơn các kỹ thuật di truyền tế bào và phân tử dùng để chẩn đoán PWS đã được sử dụng phổ biến hiện nay như kỹ thuật FISH, MS-PCR: trong nhóm bệnh nhân PWS do mất đoạn phân loại được những trường hợp mất đoạn typ 1, typ 2, mất đoạn không điển hình; trong nhóm bệnh nhân PWS do khiếm khuyết dấu ấn di truyền ID phát hiện được các trường hợp đột biến mất đoạn trung tâm dấu ấn di truyền IC là những trường hợp có nguy cơ cao sinh con mắc PWS ở những lần sinh sau lên tới 50% [6]. Hạn chế của kỹ thuật MS-MLPA là không phân biệt được các trường hợp mUPD và khiếm khuyết vùng trung tâm dấu ấn di truyền ID do đột biến điểm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

14 bệnh nhân đã được chẩn đoán lâm sàng mắc PWS và được chẩn đoán xác định PWS tại Bệnh viện Nhi Trung ương bằng các kỹ thuật xét nghiệm di truyền tế bào và phân tử: kỹ thuật FISH, kỹ thuật MS-PCR.

Tiêu chuẩn lựa chọn

14 bệnh nhân đủ tiêu chuẩn chẩn đoán lâm sàng mắc PWS theo tiêu chuẩn Holm [7], trong đó:

- 7 bệnh nhân PWS do mất đoạn NST 15q11-q13 được xác định mất đoạn NST 15q11.2 bằng kỹ thuật FISH: 3 bệnh nhân mang chuyển đoạn NST 15 và 1 NST khác được xác

định bằng kỹ thuật phân tích NST băng G, 4 bệnh nhân còn lại lựa chọn ngẫu nhiên.

- 7 bệnh nhân xác định không mất đoạn NST 15q11.2 bằng kỹ thuật FISH và có bất thường methyl hóa bằng kỹ thuật MS-PCR, chẩn đoán xác định PWS thuộc nhóm mUPD hoặc ID, lựa chọn ngẫu nhiên.

Tiêu chuẩn loại trừ

Các bệnh nhân không được đánh giá đầy đủ các triệu chứng lâm sàng theo tiêu chuẩn Holm và chưa được chẩn đoán xác định PWS bằng các kỹ thuật xét nghiệm di truyền tế bào và phân tử.

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 6/2018 đến tháng 12/2018.

Địa điểm nghiên cứu: khoa Di truyền và Sinh học phân tử - Bệnh viện Nhi Trung ương.

2. Phương pháp

Kỹ thuật tách chiết DNA

2 ml máu ngoại vi chống đông EDTA, tách chiết DNA tổng số sử dụng kit Qiagen, đo nồng độ và tinh sạch, mẫu đạt tiêu chuẩn có nồng độ tối thiểu 10ng/μl, thể tích tối thiểu 20 μl.

Kỹ thuật MS-MLPA

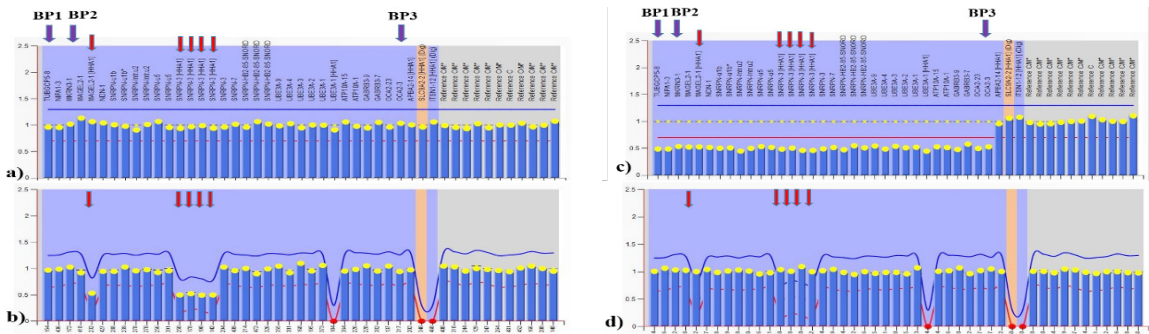
Sử dụng kit MS-MLPA thương mại ME028-C1 của MRC-Holland [4; 5; 8].

Quy trình kỹ thuật: 25ng DNA ủ 98°C trong 10 phút, đợi giảm nhiệt xuống 25°C, thêm 1,5μl dung dịch SALSA probemix và 1,5 μl dung dịch MLPA buffer, ủ 95°C trong 1 phút và 60°C trong 16 giờ. Phản ứng ghép nối: thêm 3 μl dung dịch đệm Ligase A và H₂O đến thể tích cuối cùng là 20 μl, chia đều vào 2 ống. Khi nhiệt độ giảm đến 49°C thêm 0,25 μl Ligase-65 (MRC-Holland), 5 U HhaI (promega) và 1,5 μl dung dịch đệm Ligase B vào ống 1, ống 2 thay thế 5 U HhaI bằng H₂O, trộn đều. Ủ 30 phút ở 49 °C, sau đó ủ 5 phút ở 98°C. Phản ứng PCR: 20 μl PCR master mix bao gồm 5 μl của sản phẩm ghép nối ở trên, PCR buffer, dNTPs, SALSA polymerase và PCR primer, thực hiện chu trình

nhệt sau: 95°C - 5 phút, 95°C - 40 giây, 65°C - 30 giây, 72°C - 60 giây, 32 chu kỳ.

Điện di và phân tích sản phẩm, sử dụng phần mềm Coffaluser.Net.

Nhận định kết quả:



Hình 1. Phân tích kết quả MS-MLPA

Hình a, b: kết quả MS-MLPA của người bình thường; hình c, d: kết quả MS-MLPA của bệnh nhân. So sánh hình a và c để đánh giá mất đoạn vùng gen 15q11-q13, hình a của người bình thường đỉnh tín hiệu của các gen vùng 15q11-q13 ở ngưỡng 1, hình c là mẫu của bệnh nhân mất đoạn 15q11-q13, các đỉnh tín hiệu của vùng gen này ở ngưỡng 0,5. Các mũi tên màu tím chỉ các vị trí đánh dấu BP1, BP2 dùng để phân loại bệnh nhân mất đoạn gen typ 1 (BP1 - BP3) và typ 2 (BP2 - BP3). So sánh hình b và d để đánh giá tình trạng methyl hóa của vùng gen 15q11-q13 tại các vị trí đầu dò gắn enzym HhaI (mũi tên chỉ màu đỏ), sau khi lai chỉ có chuỗi methyl hóa mới bị khuếch đại và có tín hiệu. Hình b của người bình thường tại các vị trí này có chuỗi không methyl hóa nguồn gốc bố và chuỗi methyl hóa nguồn gốc mẹ, các đỉnh tín hiệu ở ngưỡng 0,5; hình d là mẫu bệnh nhân chỉ có chuỗi methyl hóa nguồn gốc mẹ, các đỉnh tín hiệu ở ngưỡng 1.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ tuyệt đối các quy định về đạo đức trong nghiên cứu y sinh. Bố mẹ hoặc người bảo trợ của các đối tượng nghiên cứu tự nguyện đồng ý cho bệnh nhân tham gia nghiên cứu. Các thông tin cá nhân của bệnh nhân được thu thập đảm bảo tính bí mật, kết quả xét nghiệm MS-MLPA được thông báo cho gia đình bệnh nhân giúp cho các bác sỹ tư vấn di truyền, lựa chọn phác đồ điều trị phù hợp.

III. KẾT QUẢ

Trong 7 bệnh nhân được xác định mất đoạn NST 15q11.2 bằng kỹ thuật FISH, với kỹ thuật MS-MLPA phát hiện 4 trường hợp mất đoạn typ 1, 3 trường hợp mất đoạn typ 2.

Trong 7 bệnh nhân được xác định có bất thường methyl hóa bằng kỹ thuật MS-PCR,

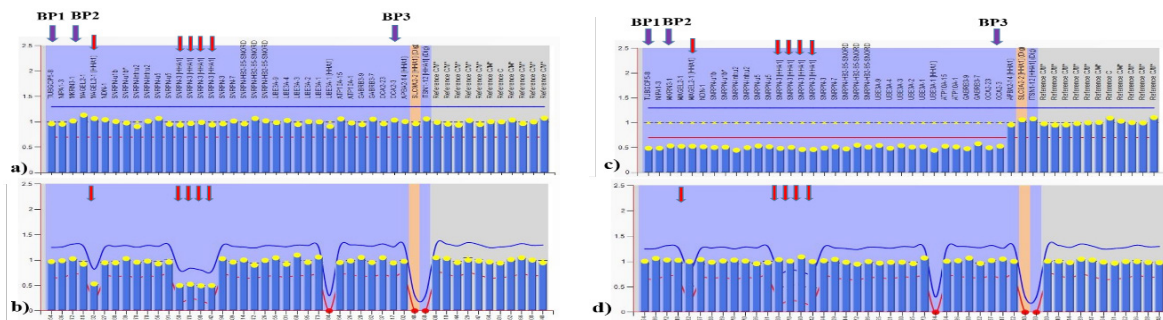
Bảng 1. Tổng hợp kết quả MS-MLPA của bệnh nhân

Kết quả MS-MLPA	n	%
Mất đoạn typ 1	4	28,6
Mất đoạn typ 2	3	21,4
Mất đoạn không điển hình	1	7,1
mUPD hoặc ID do đột biến điểm IC	6	42,9
Tổng	14	100

với kỹ thuật MS-MLPA phát hiện 1 trường hợp mang mất đoạn NST 15q11-q13 dạng không điển hình, kích thước đoạn mất rất nhỏ, bệnh nhân đã được thực hiện kỹ thuật FISH: không phát hiện mất đoạn NST 15q11.2, 6 bệnh nhân còn lại có bất thường methyl hóa thuộc nhóm mUPD hoặc khiếm khuyết dấu ấn di truyền ID

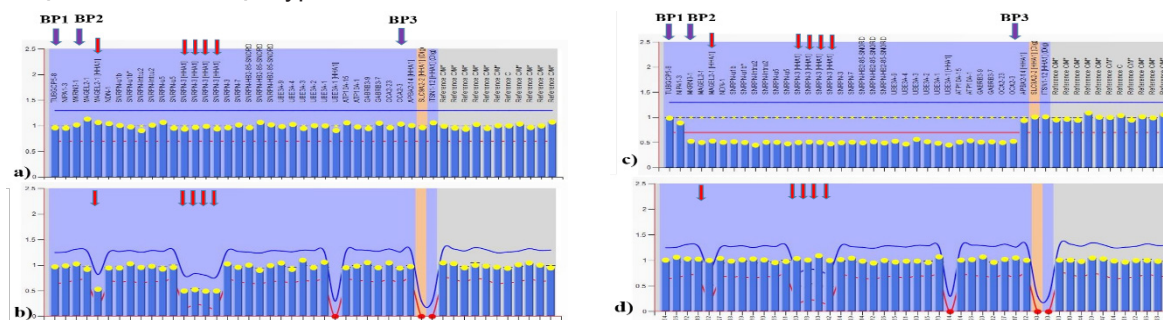
do đột biến điểm vùng trung tâm dấu ấn di truyền IC, không phát hiện trường hợp nào mang đột biến mất đoạn IC.

Kết quả xác định mất đoạn NST 15q11-q13 bằng kỹ thuật MS-MLPA



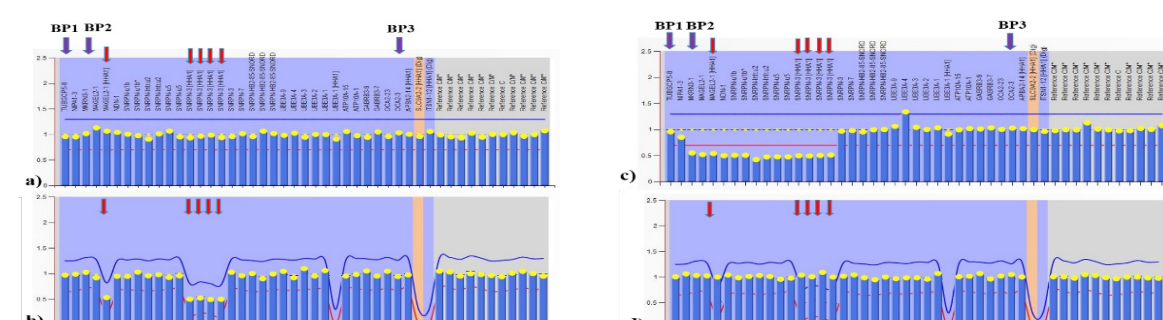
Hình 2. Kết quả bệnh nhân mất đoạn NST 15q11-q13 typ 1

Hình a, b là hình ảnh MS-MLPA của người bình thường; hình c, d là hình ảnh MS-MLPA của bệnh nhân. Hình c: mất đoạn NST 15q11-q13 typ 1 (BP1-BP3), đỉnh các tín hiệu ở ngưỡng 0,5; Hình d: bất thường methyl hóa, tại các vị trí mũi tên màu đỏ đỉnh các tín hiệu ở ngưỡng 1. Kết luận: bệnh nhân bị mất đoạn typ 1. 3 bệnh nhân mang chuyển đoạn NST 15 và 1 NST khác đều thuộc nhóm mất đoạn typ 1.



Hình 3. Kết quả bệnh nhân mất đoạn NST 15q11-q13 typ 2

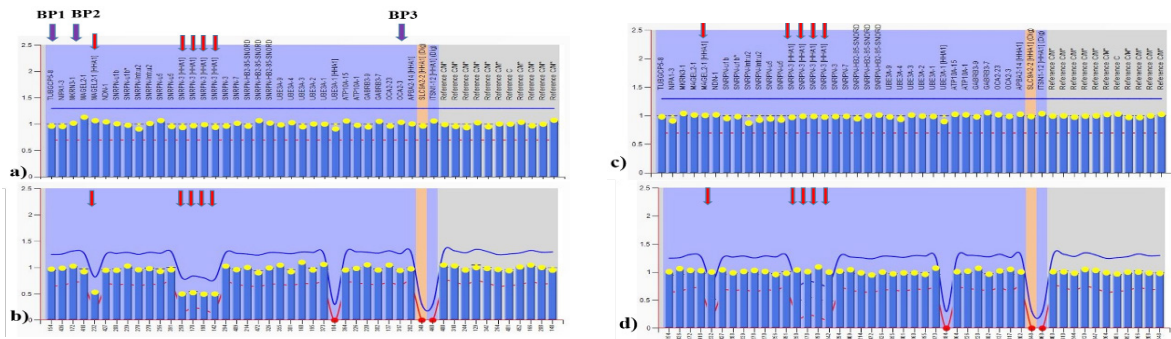
Hình a, b là hình ảnh MS-MLPA của người bình thường; hình c, d là hình ảnh MS-MLPA của bệnh nhân. Hình c: mất đoạn NST 15q11-q13 typ 2 (BP2-BP3), đỉnh các tín hiệu ở ngưỡng 0,5; Hình d: bất thường methyl hóa, tại các vị trí mũi tên màu đỏ đỉnh các tín hiệu ở ngưỡng 1. Kết luận: bệnh nhân bị mất đoạn typ 2.



Hình 4. Kết quả bệnh nhân mất đoạn NST 15q11-q13 không điển hình

Hình a, b là hình ảnh MS-MLPA của người bình thường; hình c, d là hình ảnh MS-MLPA của bệnh nhân. Hình c: mất đoạn NST 15q11-q13, đỉnh các tín hiệu ở ngưỡng 0,5 bao gồm các gen: MKRN3, MAGEL2, NDN, SNRPN tại vùng upstream (vùng trung tâm dấu ấn di truyền IC), intron 2, intron 5 và exon 3. Hình d: bất thường methyl hóa, tại các vị trí mũi tên màu đỏ đỉnh các tín hiệu ở ngưỡng 1. Kết luận: bệnh nhân mang mất đoạn NST 15q11-q13 dạng không điển hình.

Kết quả xác định bất thường methyl hóa bằng kỹ thuật MS-MLPA



Hình 5. Kết quả bất thường methyl hóa vùng NST 15q11-q13

Hình a, b là hình ảnh MS-MLPA của người bình thường, hình c, d là hình ảnh MS-MLPA của bệnh nhân. Hình c: không có mất đoạn NST 15q11-q13, giống hình a; Hình d: bất thường methyl hóa, đỉnh các tín hiệu ở các vị trí gần mũi tên màu đỏ đều ở ngưỡng 1. Kết luận: bệnh nhân thuộc nhóm PWS do mUPD hoặc đột biến điểm vùng trung tâm dấu ấn di truyền IC.

IV. BÀN LUẬN

Áp dụng kỹ thuật MS-MLPA chẩn đoán được > 99% các bệnh nhân mắc PWS do: mất đoạn NST 15q11-q13 nguồn gốc từ bố; hai NST 15 nguồn gốc từ mẹ mUPD; hay do khiếm khuyết dấu ấn di truyền ID.

Mất đoạn nhiễm sắc thể 15q11-q13

Trong nhóm bệnh nhân PWS do mất đoạn NST 15q11-q13, kỹ thuật MS-MLPA phân loại được các bệnh nhân mất đoạn typ 1, mất đoạn typ 2 và mất đoạn không điển hình.

Mất đoạn typ 1: từ điểm đứt gãy PB1 đến PB3, kích thước đoạn gen mất 6Mb; mất đoạn typ 2: từ điểm đứt gãy BP2 đến BP3, kích thước đoạn gen mất 5.5Mb. Các điểm đứt gãy BP (breakpoints) là những điểm có mật độ lặp lại các bản sao thấp (low copy repeat - LCR). Mất đoạn typ 1 và typ 2 thường là các đột biến mới de novo. Trong vùng BP1 đến BP2 có 4 gen không hoạt động theo cơ chế dấu ấn di truyền

gồm: *NIPA1*, *NIPA2*, *CYFIP1* và *GCP5*, vai trò của những gen này chưa được sáng tỏ, có thể liên quan đến phát triển bất thường về thần kinh và phát triển tâm thần vận động [9], [10]. Trong nghiên cứu này, số lượng bệnh nhân ít vì vậy chúng tôi chưa đưa ra được nhận xét về sự khác nhau về biểu hiện lâm sàng của hai nhóm bệnh nhân này.

Nghiên cứu sử dụng bộ kit ME028-C1 là bộ kit cập nhật nhất của MRC-Holland, bao gồm 47 đầu dò, số lượng đầu dò nhiều, do vậy có thể phát hiện được những trường hợp mất đoạn rất nhỏ có thể bị bỏ sót khi sử dụng kỹ thuật FISH là kỹ thuật đầu tay của nhiều labo di truyền dùng để chẩn đoán nhóm bệnh nhân PWS do mất đoạn NST15q11-q13.

Một số nghiên cứu thông báo những trường hợp bệnh nhân PWS do mất đoạn NST 15q11-q13 dạng không điển hình, là những

trường hợp rất hiếm gặp, kích thước đoạn mất có thể lớn hơn hoặc nhỏ hơn mất đoạn typ 1 hoặc typ 2 [11]. Trong nghiên cứu này, phát hiện 1 trường hợp bệnh nhân có mất đoạn NST 15q11-q13 không điển hình, đoạn mất rất nhỏ, nằm ngoài vùng đánh dấu của đầu dò sử dụng trong kỹ thuật FISH thông thường, do vậy nếu sử dụng kỹ thuật FISH sẽ bỏ sót bệnh nhân này.

Về biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân, ngoài những đặc điểm điển hình cho PWS như: tiền sử giảm trương lực cơ sau sinh, cần hỗ trợ cho ăn đồ thìa, ấn tinh hoàn hai bên. Bệnh nhân có chậm phát triển tâm thần mức độ nhẹ DQ = 70 điểm, bộ mặt điển hình PWS, bàn tay, bàn chân nhỏ. Tuy nhiên bệnh nhân có một số đặc điểm lâm sàng khác có xu hướng nhẹ hơn những bệnh nhân thuộc nhóm mất đoạn điển hình như: không có biểu hiện thừa cân, không giảm sắc tố da, tóc không nhạt màu, không có rối loạn hành vi, ngôn ngữ tốt, dáng đi bình thường, không cong vẹo cột sống, không có biểu hiện tự hại bản thân.

Hai nhiễm sắc thể 15 cùng nguồn mẹ (mUPD), khiếm khuyết dấu ấn di truyền ID

Trong 47 đầu dò của bộ kit sử dụng trong nghiên cứu này có các đầu dò đánh dấu tại vùng IC: U1B và U1B* tại exon 1 và exon 2 của gen *SNRPN*, như vậy trong nhóm bệnh nhân PWS do khiếm khuyết dấu ấn di truyền ID, thực hiện kỹ thuật MS-MLPA phát hiện được các trường hợp bệnh nhân PWS do mất đoạn IC. Đa số các trường hợp đột biến mất đoạn IC là các đột biến di truyền từ bố, một số ít còn lại là các đột biến mới (de novo). Bệnh nhân mang đột biến mất đoạn IC có nguồn gốc bố, nguy cơ sinh con mắc PWS trong gia đình đó là 50% [6], do vậy việc phát hiện các trường hợp này có ý nghĩa quan trọng trong tư vấn di truyền và chỉ định chẩn đoán trước sinh nhằm chủ động trong việc sinh con khỏe mạnh ở những gia đình này

trong những lần sinh tiếp theo. Trong nghiên cứu này, chúng tôi không phát hiện trường hợp nào có đột biến mất đoạn IC.

Những trường hợp mUPD và đột biến điểm vùng IC đều cho hình ảnh kết quả MS-MLPA là không mất đoạn vùng PWCR và có bất thường methyl hóa vùng PWCR, do vậy không phân biệt được hai nhóm này với nhau.

Mối liên hệ về đặc điểm lâm sàng và biến đổi di truyền

Nghiên cứu về sự khác nhau giữa đặc điểm lâm sàng và biến đổi di truyền ở hai nhóm PWS do mất đoạn NST 15q11-q13 và do mUPD, ID một số các nghiên cứu trên thế giới nhận thấy có sự khác biệt về triệu chứng thừa cân, béo phì, chậm phát triển tâm thần vận động, khả năng phát âm, rối loạn hành vi [3; 12]. Với việc áp dụng thành công kỹ thuật này, sẽ là tiền đề cho việc nghiên cứu về mối liên hệ giữa biểu hiện lâm sàng và biến đổi di truyền của các bệnh nhân PWS tại Bệnh viện Nhi Trung ương trong thời gian tới.

V. KẾT LUẬN

Áp dụng kỹ thuật MS-MLPA trong 14 bệnh nhân PWS, phát hiện 4 trường hợp mất đoạn NST 15q11-q13 typ1, 3 trường hợp mất đoạn NST 15q11-q13 typ2, 1 trường hợp mất đoạn NST 15q11-q13 dạng không điển hình, 6 trường hợp do mUPD hoặc đột biến điểm vùng IC, không phát hiện trường hợp nào có đột biến mất đoạn IC.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn các bệnh nhân và gia đình bệnh nhân, các bác sĩ khoa Nội tiết - Chuyển hóa - Di truyền, Khoa Di truyền và Sinh học phân tử - Bệnh viện Nhi Trung ương, Bộ môn Y sinh học Di truyền - Trường Đại học Y Hà Nội đặc biệt PSG.TS. Phan Thị Hoan đã nhiệt tình giúp đỡ tôi trong quá trình thăm khám

bệnh nhân, đóng góp quý báu về chuyên môn giúp tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Angulo M.A, Butler M.G and Cataletto M.E (2015).** Prader-Willi syndrome: a review of clinical, genetic, and endocrine findings. *J Endocrinol Invest*.
2. **Rocha C.F and Paiva C.L (2014).** Prader-Willi-like phenotypes: a systematic review of their chromosomal abnormalities. *Genet Mol Res*, **13(1)**, 2290-2298.
3. **Lu W., Qi Y., Cui B. et al. (2014).** Clinical and genetic features of Prader-Willi syndrome in China. *Eur J Pediatr*, **173(1)**, 81-86.
4. **Product description ME028-C1 PWS-AS.** Product Description version C1-02; Issued 17 December 2018.
5. **Schouten J.P, McElgunn C.J, Waaijer R. et al. (2002).** Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res*, **30(12)**, e57.
6. **Horsthemke B. and Buiting K. (2006).** Imprinting defects on human chromosome 15. *Cytogenet Genome Res*, **113(1-4)**, 292-299.
7. **Holm V.A, Cassidy S.B, Butler M.G et al. (1993).** Prader-Willi syndrome: consensus diagnostic criteria. *Pediatrics*, **91(2)**, 398-402.
8. **Nygren A.O, Ameziane N., Duarte H.M et al. (2005).** Methylation-specific MLPA (MS-MLPA): simultaneous detection of CpG methylation and copy number changes of up to 40 sequences. *Nucleic Acids Res*, **33(14)**, e128.
9. **Bittel D.C, Kibiryeva N. and Butler M.G (2006).** Expression of 4 genes between chromosome 15 breakpoints 1 and 2 and behavioral outcomes in Prader-Willi syndrome. *Pediatrics*, **118(4)**, 1276-1283.
10. **Butler M.G (2017).** Clinical and genetic aspects of the 15q11.2 BP1-BP2 microdeletion disorder. *J Intellect Disabil Res*, **61(6)**, 568-579.
11. **Kim S.J, Miller J.L, Kuipers P.J et al. (2012).** Unique and atypical deletions in Prader-Willi syndrome reveal distinct phenotypes. *Eur J Hum Genet*, **20(3)**, 283-290.
12. **Gillessen-Kaesbach G., Robinson W., Lohmann D. et al. (1995).** Genotype-phenotype correlation in a series of 167 deletion and non-deletion. *Hum Genet*, **96(6)**, 638-43.

Summary

APPLICATION OF METHYLATION SPECIFIC MULTIPLEX LIGATION - DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION (MS-MLPA) ANALYSIS FOR DIAGNOSING PRADER-WILLI SYNDROME

Prader-Willi syndrome (Prader-Willi Syndrome - PWS) is a multisystem, contiguous gene disorder caused by an absence of paternally expressed genes within the 15q11-q13 region via one of the three main genetic mechanisms: deletion of the paternally inherited 15q11-q13 region, maternal uniparental disomy (mUPD) and imprinting defect (ID). The deletion class is typically subdivided into type 1 and type 2 based on their proximal breakpoints (BP1-BP3 and BP2-BP3, respectively). Despite PWS being a well-characterized genetic disorder, the role of the specific genes contributing to various aspects of the phenotype are not yet well understood. Hence, we use the Methylationspecific multiplex ligation-dependent probe amplification (MS-MLPA), recently developed

technique, to detect copy number changes and aberrant DNA methylation in PWS syndrome in 14 patients. Result: 4 patients had deletion type 1, 3 patients had deletion type 2, 1 patient had atypical deletion, 6 patients has mUPD group or point mutation in the center of the genetic imprint IC, and there is no case of deletion mutation in the center of the genetic imprint IC found.

Keywords: Prader-Willi syndrome, MS-MLPA, NST 15q11-q13, mUPD, ID