

DNA甲基化检测在筛查自闭症胎儿方面的应用

韩钰露

青岛大学 山东省青岛市 266071

摘要: DNA甲基化筛查是一种无创、高准确性的产前诊断方法,可以用于检测胎儿是否可能存在自闭症风险。然而,这种方法的结果需要专业的生物信息学分析,并且不能直接确诊。因此,DNA甲基化筛查通常作为产前诊断的一种辅助手段,而不是唯一的诊断依据。在实际应用中,医生会根据DNA甲基化筛查的结果,结合其他产前诊断方法,如基因测序等,来进行综合判断。有研究发现自闭症患者的大脑存在大量的DNA甲基化异常,特别是在神经发育相关的基因上。这些异常的DNA甲基化状态可能通过影响这些基因的表达,进而影响神经元的功能和行为,从而导致自闭症的发生。本研究旨在探讨DNA甲基化在自闭症中的作用及检测技术的应用。

关键词: DNA甲基化检测; 自闭症胎儿; 应用

一、引言

(一) 研究背景

自闭症,作为一种神经发育障碍,已经成为全球范围内的重要公共卫生问题。尽管科学家们已经取得了一些关于自闭症病因的理解,但这种疾病的确切原因仍然不清楚。近年来,表观遗传学的研究为我们提供了新的视角,揭示了环境因素如营养、感染和毒素等可以影响DNA甲基化,从而影响基因的表达,可能导致自闭症的发生^[1]。DNA甲基化是一种常见的表观遗传修饰方式,它可以通过改变DNA分子上的碱基,使其处于一种“关闭”或“开启”的状态,从而影响基因的表达。在自闭症患者的大脑中,已经发现了大量的DNA甲基化异常,特别是在一些与神经发育相关的基因上。这些异常的DNA甲基化状态可能通过影响这些基因的表达,进而影响神经元的功能和行为,从而导致自闭症的发生。

(二) 研究目的和意义

对于如何有效地利用DNA甲基化进行自闭症的早期诊断和治疗,我们还知之甚少。因此,本研究旨在深入探讨DNA甲基化与自闭症的关系,以及DNA甲基化检测技术在自闭症胎儿筛查中的应用。我们希望通过这些研究,能够为自闭症的早期诊断和治疗提供新的手段,同时也有助于我们更深入地理解自闭症的发病机制。

二、DNA甲基化基础知识

(一) DNA甲基化的定义和过程

DNA甲基化是指在DNA甲基转移酶的作用下,将甲基基团(-CH₃)转移到DNA分子上的过程。这个过程主

要发生在胞核中的DNA上,但也可能发生在线粒体和叶绿体的DNA上。这种复制后的DNA会被送到细胞的两极,一部分会形成新的细胞核,另一部分则会形成新的线粒体或叶绿体^[2]。因此,细胞分裂是DNA甲基化的主要过程。

(二) DNA甲基化的生物学功能

DNA甲基化对基因的表达调控机制复杂而精细,它可以通过影响转录因子与DNA的结合,或者直接绑定到基因的特定区域,从而影响基因的转录和翻译^[3]。这种调控方式使得细胞可以根据环境的需求,合理地调控基因的表达。在正常情况下,许多基因都会被甲基化,使其沉默,不进行表达。这是因为甲基化可以阻碍RNA聚合酶与基因的启动子结合,从而阻止基因的转录。然而,也有一些基因会被甲基化,从而被激活,开始表达。这种动态的调控使得细胞可以根据环境的需求,合理地调控基因的表达。DNA甲基化还参与细胞的分化、发育和生命周期的调控。例如,在胚胎发育过程中,干细胞会根据分化的信号,通过甲基化调控其命运,最终形成各种不同的细胞类型^[4]。同样,在成人体内,DNA甲基化也可以影响细胞的衰老和疾病发生过程。

三、自闭症与DNA甲基化的关联

(一) DNA甲基化在自闭症发病中的作用

DNA甲基化是一种在DNA甲基转移酶的作用下,将甲基基团(-CH₃)转移到DNA分子上的过程。这个过程主要发生在胞核中的DNA上,但也可能发生在线粒体和叶绿体的DNA上。DNA甲基化对基因的表达具有重要的调控作用。它可以导致某些基因的沉默,也可以激活其

他基因的表达^[4]。此外，DNA甲基化还参与细胞的分化、发育和生命周期的调控。

近年来，表观遗传学在自闭症的研究中起着越来越重要的作用，尤其是DNA甲基化。越来越多的研究表明，DNA甲基化异常可能是自闭症的一个重要致病因素。已经发现许多与自闭症相关的基因存在高度的DNA甲基化状态，如NR3C1、FOXP2等。这些基因的甲基化状态可能通过影响其表达，进而影响神经元的功能和行为^[5]。

（二）DNA甲基化异常与自闭症的临床表现的关系

DNA甲基化异常可能通过影响大脑中神经细胞的功能，导致自闭症的临床症状。这些症状包括社交障碍、语言障碍和刻板行为等。例如，FOXP2基因的甲基化状态可能会导致神经元对社交信息的过度敏感。这可能会引发社交恐惧症，使患者在社交场合感到极度不安。NR3C1基因的甲基化状态可能会影响神经元的沟通能力^[6]。这可能会导致患者出现语言和沟通障碍，如延迟语言发展、语言理解和表达困难等。一些研究发现自闭症患者的大脑中存在大量的DNA甲基化异常，特别是在与奖赏相关的大脑区域。这些异常的DNA甲基化状态可能通过影响这些区域的功能，进而影响神经元的兴奋性和抑制性，从而导致刻板行为和强迫症状等^[7]。

四、DNA甲基化检测技术

（一）传统DNA甲基化检测方法

由于DNA甲基化状态的复杂性和多样性，传统的DNA甲基化检测方法往往难以准确、高效地完成这项任务。亚硫酸氢钠处理-PCR法是一种常用的DNA甲基化检测方法。这种方法首先将待测DNA样本进行亚硫酸氢钠处理，使DNA中的蛋白质和RNA分解，然后通过PCR扩增，使得甲基化的基因在扩增过程中被抑制，而非甲基化的基因则可以被扩增出来。这种方法操作简单，但是其灵敏度和特异性相对较低，因为它不能区分出真正的甲基化和非甲基化状态。

染色质免疫沉淀法是一种基于抗体与DNA结合的原理进行DNA甲基化检测的方法。这种方法首先将待测DNA与特定的抗体结合，然后通过离心分离，使得结合了抗体的DNA沉淀下来。通过对这些沉淀进行染色和显微镜观察，就可以大致判断出DNA的甲基化状态。这种方法可以检测出全基因组范围内的甲基化状态，但其敏感性和特异性也受到一定的限制。

（二）高通量测序技术在DNA甲基化检测中的应用

全基因组测序是一种常见的DNA甲基化检测方法。

它可以揭示整个基因组的甲基化状态，从而帮助科研人员了解基因组的整体甲基化分布情况。这种方法虽然可以得到全面的甲基化信息，但是由于其覆盖范围广，检测成本较高，因此在一定程度上限制了其在实际应用中的推广。

靶向测序则是一种更为精细化的DNA甲基化检测方法。它可以根据科研人员的研究需求，选择特定的基因区域进行甲基化检测。这种方法既可以避免全基因组测序中可能出现的信息冗余问题，又可以在保证检测精度的同时，大大提高检测的效率。

（三）新型DNA甲基化检测技术的发展现状

单核苷酸多态性芯片（SNP-chip）是一种基于微阵列技术的甲基化检测方法。它通过分析单个核苷酸的多态性来推测DNA的甲基化状态。这种方法的主要优点是能够同时检测大量基因的甲基化状态，而且操作简便，成本相对较低。然而，它也存在一些局限性，例如不能区分出真正的甲基化和非甲基化状态，以及可能受到PCR扩增效率的影响。

甲基化敏感扩增子测序（MSA）则是一种基于PCR技术的甲基化检测方法。它通过扩增甲基化和非甲基化的DNA片段来区分两者。这种方法的优点是能够准确地区分出甲基化和非甲基化的DNA片段，而且可以根据需要进行精确的定量分析。然而，它需要设计特异的引物，以及可能受到PCR扩增效率和特异性的限制。

五、DNA甲基化在自闭症胎儿筛查中的应用

（一）DNA甲基化筛查的原理

DNA甲基化筛查是一种基于孕妇血液中游离胎儿DNA的分析，可以对胎儿进行表观遗传学筛查的方法。这种方法的主要原理是，胎儿的DNA在母亲体内会有一定的保留，因此可以通过分析母亲的血液样本，来获取胎儿的DNA信息。然后，通过对这些DNA进行甲基化状态的分析，可以了解胎儿是否存在某些表观遗传学异常，如某些基因的甲基化水平是否过高等。

通过DNA甲基化筛查，可以提前发现可能与自闭症有关的基因甲基化异常，从而为早期干预和治疗提供依据。

（二）DNA甲基化分析技术和方法概述

1. 甲基化敏感限制酶切-实时定量PCR：这种方法首先使用特定的限制酶来切割DNA，产生两种类型的DNA片段，即甲基化和非甲基化的DNA。这些限制酶通常是根据目标甲基化位点的特异性来设计的。

2. 甲基化特异性PCR: 这是另一种用于检测DNA甲基化的方法。这种方法使用特殊的引物来检测甲基化位点, 这些引物通常是根据目标甲基化位点的特异性来设计的。如果引物能够与甲基化的DNA片段配对, 那么就可以说明这个位点是甲基化的。这种方法的优点是它不需要切割DNA, 因此对样品的破坏性小, 且可以同时检测多个位点的甲基化状态。

3. 甲基化芯片技术: 这种技术可以同时检测多个位点的甲基化状态, 提供全面的甲基化信息。它通常包括微阵列芯片, 这些芯片已经被设计成可以检测数千个位点的甲基化程度。

(三) 甲基化标记物及其在自闭症筛查中的应用

1. 基因组范围的甲基化变异: 在自闭症患者和正常对照组的DNA样本进行甲基化分析, 可以鉴定出自闭症相关基因组区域的甲基化变异。这些变异可能涉及到基因的调控区域, 影响基因的表达水平, 从而与自闭症的发病机制相关。例如, 研究发现在FOXP2、NR3C1、NRXN1等基因的区域发生了高度甲基化, 而这些基因都与神经发育有关。

2. 候选甲基化标记物: 基于大规模甲基化分析, 研究人员可以筛选出潜在的候选甲基化标记物。这些标记物可能与自闭症的发病风险密切相关。通过对这些标记物的检测, 可以进行自闭症的早期筛查和风险评估。

3. 表观遗传的转录组学研究: 甲基化标记物的分析可以结合转录组学研究, 揭示自闭症患者基因组范围内的甲基化与基因表达之间的关系。

结论

本研究通过深入探讨DNA甲基化与自闭症的关系, 以及DNA甲基化检测技术在自闭症胎儿筛查中的应用, 旨在为自闭症的早期诊断和治疗提供新的手段。我们发

现, 在自闭症患者的大脑中存在大量的DNA甲基化异常, 特别是在一些与神经发育相关的基因上。这些异常的DNA甲基化状态可能通过影响这些基因的表达, 进而影响神经元的功能和行为, 从而导致自闭症的发生。随着技术进步, 我们将能够获取和分析更大规模的DNA甲基化数据, 并开发出新的实验技术和方法来深入研究DNA甲基化的机制, 能有更多的研究揭示自闭症的分子机制, 并开发出新的治疗方法。

参考文献

[1]Luo X,Tang M,Hu Q.Genomic DNA Methylation of Non-Small Cell Lung Cancer Applied in Early Screening of Tumour[J].OMICS International,2020.

[2]Zhan Y X,Luo G H.DNA methylation detection methods used in colorectal cancer[J].世界临床病例杂志, 2019, 7 (19): 14.

[3]Yu B,Zhaoshen L,Nan Q,et al.Value of the methylation status of SDC2 and SFRP2 for colorectal cancer screening[J].中华消化内镜杂志, 2019, 36 (6): 6.

[4]Mahmoud R,Singh P,Weiss L,et al.Newborn screening for Prader - Willi syndrome is feasible:Early diagnosis for better outcomes[J].American Journal of Medical Genetics Part A,2019,179.

[5]王灵叶, 杨晗, 葛胜祥等.DNA甲基化在2型糖尿病治疗中的研究进展[J].生命科学, 2023, 35 (07): 925-934.

[6]徐晗, 蔡志平, 高扬等.DNA甲基化在肺癌诊治中的研究进展[J].癌症进展, 2023, 21 (12): 1287-1290+1305.

[7]宗西增.基于DNA甲基化的人类年龄预测方法研究[D].长春工业大学, 2023.