



## การประยุกต์ใช้ไมโครอาร์เรย์ทางการแพทย์

จริยารณ จรัสสวัสดิ์

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สงขลา 90112

Email: cchariya@yahoo.com

ความก้าวหน้าทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในปัจจุบัน ทำให้มนุษย์พบว่าความไม่สมดุลของจีโนม (genomic imbalances) เช่น การมีโครโมโซมขาดหาย (deletion) หรือเกินมา (duplication) ซึ่งอาจจะเกิดขึ้นเพียงบางส่วนหรือทั้งแท่งโครโมโซม มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคหลายโรค ทั้งโรคที่ถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ และโรคที่เกิดจากการมีสารพันธุกรรมผิดปกติที่ไม่ถ่ายทอดจากรุ่นสู่รุ่น หลักฐานชิ้นแรกๆ ที่เชื่อมโยงระหว่างความไม่สมดุลของจีโนมกับการเกิดโรค คือการพบว่าเมื่อมนุษย์มีโครโมโซมคู่ที่ 21 เกินมา 1 แท่ง (trisomy 21) ทำให้เกิดกลุ่มอาการดาวน์ (Down syndrome) ต่อมา มีการค้นพบโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของโครโมโซมตามมาเป็นระยะๆ เช่น กลุ่มอาการเอ็ดเวิร์ด (Edward syndrome, trisomy 18) กลุ่มอาการเพทาว (Patau syndrome, trisomy 13) กลุ่มอาการไคลน์เฟลเตอร์ (Klinefelter, XXY syndrome) และการพบว่าความผิดปกติของโครโมโซมคู่ที่ 22 ที่เรียกว่า โครโมโซมฟิลาเดลเฟีย (Philadelphia chromosome) ซึ่งเป็นผลมาจากการแลกเปลี่ยนส่วนของปลายโครโมโซมคู่ที่ 9 กับปลายโครโมโซมคู่ที่ 22 มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดไมอีโลไสต์แบบเรื้อรัง (chronic myelocytic leukemia)

เซลล์พันธุศาสตร์ (cytogenetics) คือศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมในระดับโครโมโซม ความผิดปกติของโครโมโซมเป็นสาเหตุของความพิการแต่กำเนิด ซึ่งส่วนหนึ่งของผู้ป่วยอาจเสียชีวิตตั้งแต่อยู่ในครรภ์ นอกจากนี้โครโมโซมผิดปกติยังพบได้บ่อยมากในโรคมะเร็ง ปัจจุบันการตรวจโครโมโซมยังคงเป็นการตรวจมาตรฐานสำหรับผู้ป่วยที่สงสัยโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของพันธุกรรมดังกล่าว โดยผู้ป่วยอาจมีหรือไม่มีประวัติหรือลักษณะทางคลินิกที่จำเพาะเจาะจงกับกลุ่มอาการของโรคพันธุกรรมชัดเจน ข้อบ่งชี้ในการตรวจโครโมโซม ได้แก่ ผู้ป่วยที่มีพัฒนาการช้าไม่ทราบสาเหตุ ผู้ป่วยพิการทางสติปัญญา ผู้ป่วยพิการทางร่างกายแต่กำเนิด ผู้ป่วยออทิสติกสเปกตรัม คู่สมรสที่มีประวัติแท้งบ่อยหรือมีบุตรยาก หญิงตั้งครรภ์ที่มีอายุเกิน 35 ปี ณ วันกำหนดคลอด หรือหญิงตั้งครรภ์ที่ผลการตรวจคัดกรองของสารในเลือดมีค่าผิดปกติซึ่งบ่งชี้ว่ามีความเสี่ยงสูงขึ้นต่อการมีบุตรที่มีโครโมโซมผิดปกติ ความพิการของทารกในครรภ์ที่พบจากการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ผู้ป่วยที่สงสัยความผิดปกติของโครโมโซมเพศ เช่น ผู้หญิงที่ไม่เคยมีประจำเดือน ผู้ป่วยโรคมะเร็งหลายชนิดโดยเฉพาะมะเร็งของระบบโลหิต ซึ่งในกรณีหลังนอกจากการตรวจโครโมโซมจะช่วยในการวินิจฉัยโรคแล้ว ยังช่วยในการเลือกวิธีการรักษา การติดตามการรักษา เช่น การตอบสนองของโรคต่อยา และการพยากรณ์ของ การตรวจโครโมโซมยังเป็นการตรวจที่ช่วยในการวินิจฉัยและรักษา

เทคนิค G-banding เป็นเทคนิคมาตรฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเซลล์พันธุศาสตร์หลายแห่ง ข้อดีของ G-banding คือสามารถวิเคราะห์ความผิดปกติด้านจำนวน และโครงสร้างของทุกโครโมโซมได้ในคราวเดียวกันโดยสามารถตรวจความผิดปกติได้ทั้งแบบสมดุลและแบบไม่สมดุล ข้อเสียของ G-banding คือ ไม่สามารถตรวจพบความผิดปกติของโครโมโซมที่มีขนาดเล็กกว่า 3-5 Mb สิ่งส่งตรวจต้องมีเซลล์ที่มีชีวิตเนื่องจากต้องเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้เซลล์ในระยะเมทาเฟส การตรวจใช้เวลานาน ต้องอาศัยทักษะและประสบการณ์สูงในการการวิเคราะห์โครโมโซม นอกจากนี้ยังมีข้อจำกัดในกรณีที่ความผิดปกติเป็นแบบโมเสซิซึม (mosaicism) ที่เซลล์ผิดปกติมีปริมาณน้อยซึ่งทำให้การวิเคราะห์โครโมโซมจาก 20 เซลล์ อาจไม่พบความผิดปกติ จากข้อจำกัดของเทคนิค G-banding ดังกล่าว มีการนำเอาเทคนิค Fluorescent *in situ*

Hybridization (FISH) ซึ่งอาศัยหลักการทางอณูพันธุศาสตร์มาช่วยในการตรวจโครโมโซม เนื่องจากเทคนิค FISH ที่มีความจำเพาะสูงและมีความละเอียดสูง สามารถตรวจพบการขาดของโครโมโซมขนาดเล็กเพียง 50-100 Kb ได้ และให้ผลการตรวจเร็วกว่าเทคนิค G-banding เนื่องจากเทคนิค FISH สามารถตรวจหาความผิดปกติได้จากนิวเคลียสของเซลล์ในระยะอินเตอร์เฟส (interphase) โดยไม่จำเป็นต้องเพาะเลี้ยงเซลล์ จึงมีประโยชน์ในกรณีที่ต้องการผลการตรวจที่รวดเร็ว เช่น การตรวจคัดกรองหาความผิดปกติของโครโมโซมในตัวอ่อนก่อนการฝังตัวและในทารกก่อนคลอด (preimplantation and prenatal genetic screening/ diagnosis) เทคนิค FISH สามารถตรวจหาภาวะโมเสคิซึมที่มีเซลล์ที่ผิดปกติปริมาณน้อยๆ ได้ดีเนื่องจากสามารถเลือกเซลล์ในระยะอินเตอร์เฟสหลายร้อยเซลล์มาตรวจวิเคราะห์ได้ในระยะเวลาสั้น ข้อจำกัดของเทคนิค FISH คือ ต้องเลือกใช้โพรบ (probe) ให้เหมาะสม โดยอาศัยข้อมูลจากลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วย ซึ่งเป็นปัญหาในกรณีที่แพทย์ไม่มีความชำนาญทางด้านพันธุศาสตร์คลินิก นอกจากนี้โรคพันธุกรรมหลายโรคอาจมีอาการที่คล้ายคลึงกัน การส่งตรวจ FISH ให้จำเพาะจึงทำได้ยากหรืออาจต้องส่งหลายครั้ง การใช้ multicolor FISH เช่น multiplex FISH (M-FISH) หรือ spectral karyotyping (SKY) แม้ว่าจะใช้ในการดูความผิดปกติของโครโมโซมทั้ง 24 แท่งได้ในคราวเดียวกัน โดยเฉพาะในกรณีที่พบความผิดปกติด้านโครงสร้างที่ซับซ้อน เช่น complex translocation และการบอกลำดับของ marker chromosome แต่มีข้อจำกัดคือ ไม่สามารถตรวจพบความผิดปกติภายในตัวโครโมโซม (intrachromosomal aberration) เช่น การกลับทิศของโครโมโซมได้

เทคนิคไมโครอาร์เรย์ (microarray) ได้ถูกพัฒนาขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาและถูกนำมาใช้ในการตรวจหาความผิดปกติของโครโมโซมแพร่หลายมากขึ้นในปัจจุบัน โดยเทคนิคนี้ได้รวมเอาข้อดีของเทคนิค G-banding และเทคนิค FISH เข้าไว้ด้วยกัน ทำให้เทคนิคไมโครอาร์เรย์สามารถตรวจหาความผิดปกติของโครโมโซมทุกแท่งได้ที่มีความละเอียด (resolution) สูงกว่าเทคนิค G-banding อย่างน้อย 10 เท่า เทคนิคไมโครอาร์เรย์อาศัยหลักการไฮบริไดเซชัน (hybridization) ระหว่างดีเอ็นเอกับโพรบ (probe) ที่จำเพาะกับแต่ละตำแหน่งบนโครโมโซมที่นำมาเรียงกันบนวัสดุ เช่น แผ่นสไลด์แก้ว หรือแผ่นชิป (chip) การตรวจโครโมโซมด้วยเทคนิคไมโครอาร์เรย์จึงเทียบเท่ากับการตรวจด้วยเทคนิค FISH หลายๆ ครั้งในคราวเดียวกัน เทคนิคไมโครอาร์เรย์สามารถตรวจหาความไม่สมดุลของจีโนม (genome) ซึ่งเกิดจากความแปรผันของจำนวนซ้ำ (copy number variants, CNVs) ของบริเวณต่างๆ ในจีโนม ได้แก่ การลดลงของจำนวนซ้ำ (copy number loss) เช่นที่เกิดจาก deletion และการเพิ่มขึ้นของจำนวนซ้ำ (copy number gain) เช่นที่เกิดจาก duplication

ปัจจุบันเทคนิคไมโครอาร์เรย์ที่ใช้ในการตรวจโครโมโซมมีอยู่ 2 ชนิดใหญ่ คือ 1) array comparative genomic hybridization (array CGH) ซึ่งโพรบที่ใช้ทำมาจาก bacterial artificial chromosome (BAC) หรือ oligonucleotide ที่สังเคราะห์ขึ้น และ 2) single nucleotide polymorphism (SNP) array การพัฒนาเทคโนโลยีไมโครอาร์เรย์เป็นไปอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะอย่างยิ่งหลังจาก human genome project เสร็จสมบูรณ์ ทำให้การออกแบบโพรบทำได้ง่ายขึ้นและครอบคลุมทั่วทั้งจีโนม (tiling array) หรือครอบคลุมเฉพาะตำแหน่งที่สนใจ (targeted array) เช่น ตำแหน่งที่ทราบแน่ชัดว่าทำให้เกิด microdeletion และ microduplication syndromes และส่วน subtelomere ของโครโมโซม เทคนิค array CGH มีหลักการเช่นเดียวกับเทคนิค CGH แบบดั้งเดิม โดยการนำดีเอ็นเอของผู้ป่วยและดีเอ็นเอปกติในปริมาณที่เท่ากันมาติดฉลากด้วยสารฟลูออเรสเซนต์ที่สีต่างกันและให้ไฮบริดกับโพรบที่อยู่บนไมโครอาร์เรย์ (แทนที่จะไฮบริดกับโครโมโซมในระยะเมทาเฟสดังเช่นในเทคนิค CGH แบบดั้งเดิม) ข้อมูลที่ได้จะเป็นความเข้มของสารฟลูออเรสเซนต์ โดยเป็นค่า log ratio หรือ fold change เทียบกับดีเอ็นเอปกติ การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยซอฟต์แวร์ที่จำเพาะกับไมโครอาร์เรย์จะมีการควบคุมคุณภาพของข้อมูลเพื่อลดผลบวกปลอมก่อนที่จะประมวลผลเป็นค่าจำนวนซ้ำ สำหรับ SNP array ข้อดีของ SNP array นอกจากใช้ตรวจการเปลี่ยนแปลงของจำนวนซ้ำได้เช่นเดียวกับ array CGH แล้ว ยังใช้ตรวจหาบริเวณของจีโนมที่เรียกว่า long contiguous stretches of homozygosity (LCSs) ซึ่งอาจเกิดจาก 1) การแต่งงานในเครือญาติที่ไม่ทราบจากการซัก

ประวัติผู้ป่วย 2) uniparental disomy (UPD) แบบ isodisomic UPD SNP array จะตรวจ heterodisomic UPD ได้ก็ต่อเมื่อมี isodisomic block ปะปนอยู่ด้วย<sup>1</sup> 3) loss of heterozygosity (LOH) แบบ copy number neutral LOH ซึ่งมีจำนวนซ้ำปกติภาวะ LOH นี้พบได้บ่อยมากในโรคมะเร็ง

เทคนิคไมโครอาร์เรย์มีข้อดี คือ 1) เป็นการตรวจดีเอ็นเอ ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องเพาะเลี้ยงเซลล์ และใช้กับสิ่งส่งตรวจที่ไม่มีเซลล์ที่มีชีวิตได้ เช่น ชิ้นเนื้อในพาราฟิน ตัวอ่อนที่เริ่มเน่าแล้ว (macerated fetus) หรือ สิ่งส่งตรวจที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้โครโมโซมในระยะเมทาเฟส เช่น น้ำลาย 2) สามารถตรวจความผิดปกติและความแปรผันของจีโนมหลายๆ ตำแหน่งได้ในเวลาเดียวกัน 3) สามารถตรวจหาความผิดปกติของโครโมโซมขนาดเล็กๆ ที่มองไม่เห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์ ทำให้เทคนิคไมโครอาร์เรย์เพิ่มประสิทธิภาพในการวินิจฉัยโรคทางพันธุกรรมกว่าวิธีดั้งเดิม โดยพบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มีพัฒนาการช้า ผู้ป่วยที่มีความบกพร่องด้านสติปัญญาที่ไม่ทราบสาเหตุ ผู้ป่วยออทิสติกสเปกตรัม และผู้ป่วยที่มีความพิการแต่กำเนิดหลายอย่างร่วมกัน เมื่อตรวจด้วยเทคนิค G-banding จะพบความผิดปกติของโครโมโซมประมาณ 3-4% เมื่อตรวจด้วยเทคนิค G-banding ร่วมกับเทคนิค FISH ที่จำเพาะกับ subtelomere ของแต่ละโครโมโซม จะพบความผิดปกติของโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นประมาณ 7-9% และเมื่อตรวจด้วยไมโครอาร์เรย์อย่างเดียว จะพบความผิดปกติของโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นประมาณ 15-20% ขึ้นอยู่กับชนิดและความละเอียดของเทคนิคไมโครอาร์เรย์ที่ใช้<sup>1,2</sup> นอกจากนี้เมื่อเริ่มมีการตรวจโครโมโซมด้วยเทคนิคไมโครอาร์เรย์เพิ่มขึ้น มีรายงานการค้นพบโรคและกลุ่มอาการใหม่ๆ ที่เกิดจากความผิดปกติของโครโมโซมเพิ่มขึ้นตามมา เช่น 1q21.1 microdeletion syndrome, 17q21.31 microdeletion syndrome ซึ่งความผิดปกติเหล่านี้มักมีขนาดเล็กมากหรือมีภาวะโมเสซิซึม นอกจากนี้เทคนิคไมโครอาร์เรย์ยังช่วยให้นักวิจัยทราบข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับยีนหรือค้นพบยีนที่เกี่ยวข้องกับโรคหลายโรค เช่น การขาดหายไปของยีน *CHD7* ใน CHARGE syndrome และโรคในกลุ่ม complex disorder เช่น ออทิสติกสเปกตรัม ลมชัก อัลไซเมอร์ ช่วยในการ characterization และให้ข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับ genotype-phenotype correlation ข้อจำกัดของเทคนิคไมโครอาร์เรย์ คือ 1) ไม่สามารถตรวจความผิดปกติแบบสมดุลที่ไม่มีการขาดหรือเกินของโครโมโซม เช่น balanced translocation และ inversion 2) ไม่สามารถตรวจภาวะ polyploidy ยกเว้นการใช้ SNP array genotype data<sup>3</sup> 3) ไม่สามารถตรวจภาวะโมเสซิซึมที่มีโครโมโซมผิดปกติปริมาณน้อยๆ (low level mosaicism) เช่น น้อยกว่าร้อยละ 10-20<sup>4-6</sup> ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของไมโครอาร์เรย์ ซอฟต์แวร์และชนิดของตัวอย่าง ภาวะโมเสซิซึมของโครโมโซมที่พบแต่กำเนิดพบได้ไม่บ่อยและลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยมักจะแปรผันตรงกับปริมาณของเซลล์ที่ผิดปกติ<sup>1</sup> อย่างไรก็ตามภาวะโมเสซิซึมหรือ cellular admixture มีความสำคัญมากในการตรวจวินิจฉัยโรคมะเร็งเนื่องจากโรคมะเร็งมีลักษณะความผิดปกติที่หลากหลาย (heterogeneity) และมักพบเซลล์ที่มีการกลายพันธุ์ต่างชนิดกันปนอยู่ด้วยกันหรือปนอยู่กับเซลล์ที่ปกติ ซึ่งการตรวจพบเซลล์ที่ผิดปกติแม้เพียงไม่มากอาจมีผลต่อการวินิจฉัย การพยากรณ์โรค การรักษาและติดตามการรักษา ดังนั้นก่อนการนำเทคนิคไมโครอาร์เรย์มาใช้ในห้องปฏิบัติการ จึงควรทำการทดสอบเพื่อหาระดับต่ำสุดของโมเสซิซึมที่เทคนิคไมโครอาร์เรย์นั้นสามารถตรวจพบได้

ยิ่งเทคนิคไมโครอาร์เรย์มีความละเอียดมากยิ่งขึ้นมีโอกาสตรวจพบ CNVs มากขึ้น โดย CNVs ที่พบอาจเป็น 1) CNVs ที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic CNVs) เช่น CNVs ที่พบในฐานข้อมูลของคนที่เป็นโรค หรือ CNVs ที่มีขนาดใหญ่ (1-2 Kb) และอยู่ในตำแหน่งของยีน หรือ CNVs ที่เปลี่ยนแปลงจำนวนของยีน 2) CNVs ที่ไม่น่าจะก่อให้เกิดโรค (likely benign CNVs) เช่น CNVs ที่พบเหมือนกับในพ่อหรือแม่ที่ปกติและยังไม่มีรายงานมาก่อนในผู้ป่วยรายอื่นๆ และ 3) CNVs ที่ไม่ทราบความสำคัญทางคลินิก (variants of uncertain clinical significance)<sup>1</sup> ซึ่งอันสุดท้ายนี้อาจก่อให้เกิดความกังวลแก่ผู้ป่วยและแพทย์ การตรวจยืนยัน CNVs ที่พบในพ่อและแม่ การใช้ bioinformatics เพื่อพิจารณาความสำคัญของ CNVs การตรวจสอบกับฐานข้อมูล CNVs เช่น database of genomic variants (DGV) และรายงานการค้นพบ CNVs ในคนที่เป็นโรคและคนปกติ จะช่วยในการพิจารณาว่า CNVs นั้นเป็น pathogenic หรือ benign CNVs<sup>1,7</sup>

ขณะนี้ มีแนวทางปฏิบัติในการใช้เทคนิคไมโครอาร์เรย์สำหรับการตรวจวินิจฉัยหลังคลอดออกมาจากหลายแห่ง เช่น International Standard Cytogenomic Array (ISCA) ประเทศสหรัฐอเมริกา<sup>1,8</sup>, Canadian College of Medical Genetics<sup>9</sup>, Human Genetics Society of Australia<sup>10</sup> Italian society of Human Genetics (SIGU)<sup>11</sup> เป็นต้น ISCA แนะนำให้ใช้เทคนิคไมโครอาร์เรย์เป็นการตรวจอันดับแรกเพื่อหาความผิดปกติของโครโมโซมในผู้ป่วยที่มีพัฒนาการช้า ผู้ป่วยที่มีความบกพร่องด้านสติปัญญาที่ไม่ทราบสาเหตุ ผู้ป่วยออทิสติกและผู้ป่วยที่มีความพิการแต่กำเนิดหลายอย่างร่วมกัน สำหรับข้อแนะนำในการใช้เทคนิคไมโครอาร์เรย์เพื่อตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดนั้นมีการศึกษาเพิ่มมากขึ้น<sup>3,11,12</sup> SIGU แนะนำให้ใช้เทคนิคไมโครอาร์เรย์เป็นการตรวจอันดับสองหลังจากการตรวจแครีโอไทป์ด้วยเทคนิค banding โดยเฉพาะเมื่อผลตรวจอัลตราซาวด์พบว่าการตั้งครรภ์มีความพิการแต่กำเนิด การศึกษาล่าสุดพบว่าการตรวจด้วยเทคนิคไมโครอาร์เรย์ช่วยให้พบความผิดปกติของโครโมโซมเพิ่มจากการตรวจด้วยเทคนิค G-banding ประมาณ 5.3-6.4%<sup>3,11,13</sup> สำหรับในผู้หญิงตั้งครรภ์อายุมากหรือมีผลการตรวจคัดกรองจากเลือดมารดาเป็นบวก การตรวจด้วยเทคนิคไมโครอาร์เรย์ช่วยให้พบความผิดปกติของโครโมโซมเพิ่มเติมประมาณ 1.7%<sup>3</sup> นอกจากนี้การให้ข้อมูลกับผู้ป่วยควรต้องแจ้งล่วงหน้าเกี่ยวกับโอกาสที่จะพบ CNVs ที่ไม่ทราบความสำคัญทางคลินิก ซึ่งพบได้ประมาณ 0-4% เมื่อใช้ targeted microarray และ 9-12% เมื่อใช้ SNP microarray ที่มีความละเอียดสูง<sup>11</sup> นอกจากนี้เทคนิคไมโครอาร์เรย์ยังได้ถูกนำไปใช้ในการตรวจคัดกรองหรือวินิจฉัยก่อนการนำตัวอ่อนกลับเข้าไปฝังตัวในมดลูก<sup>14</sup>

ปัจจุบันเริ่มมีการใช้เทคนิคไมโครอาร์เรย์แพร่หลายมากขึ้นในการตรวจหาความผิดปกติของโครโมโซม แม้ว่ายังไม่ได้ใช้ในทุกลูกห้องปฏิบัติการโดยเฉพาะในประเทศไทยเนื่องจากมีราคาแพง ในอนาคตคาดว่าเมื่อเทคนิคไมโครอาร์เรย์มีราคาต่ำลง และเมื่อมีข้อมูลความสำคัญทางคลินิกของ CNVs มากขึ้น เทคนิคไมโครอาร์เรย์น่าจะเป็นเทคนิคที่มีบทบาทมากขึ้น เนื่องจากมีความคุ้มค่าในด้านการวินิจฉัย การรักษา และการวิจัยทางการแพทย์

## เอกสารอ้างอิง

1. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, Church DM, Crolla JA, Eichler EE, Epstein CJ, Faucett WA, Feuk L, Friedman JM, Hamosh A, Jackson L, Kaminsky EB, Kok K, Krantz ID, Kuhn RM, Lee C, Ostell JM, Rosenberg C, Scherer SW, Spinner NB, Stavropoulos DJ, Tepperberg JH, Thorland EC, Vermeesch JR, Waggoner DJ, Watson MS, Martin CL, Ledbetter DH. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet.* 2010; 86: 749-64.
2. Lu X, Shaw CA, Patel A, Li J, Cooper ML, Wells WR, Sullivan CM, Sahoo T, Yatsenko SA, Bacino CA, Stankiewicz P, Ou Z, Chinault AC, Beaudet AL, Lupski JR, Cheung SW, Ward PA. Clinical Implementation of Chromosomal Microarray Analysis: Summary of 2513 Postnatal Cases. *PLoS ONE* 2: e327.
3. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, Savage M, Platt LD, Saltzman D, Grobman WA, Klugman S, Scholl T, Simpson JL, McCall K, Aggarwal VS, Bunke B, Nahum O, Patel A, Lamb AN, Thom EA, Beaudet AL, Ledbetter DH, Shaffer LG, Jackson L. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med.* 2012; 367: 2175-84.
4. Ballif BC, Rorem EA, Sundin K, Lincicum M, Gaskin S, Coppinger J, Kashork CD, Shaffer LG, Bejjani BA. Detection of low-level mosaicism by array CGH in routine diagnostic specimens. *Am J Med Genet A* 2006, 140: 2757-67.

5. Neill NJ, Torchia BS, Bejjani BA, Shaffer LG, Ballif BC. Comparative analysis of copy number detection by whole-genome BAC and oligonucleotide array CGH. *Mol Cytogenet.* 2010; 2: 11.
6. Cross J, Peters G, Wu Z, Brohede J, Hannan GN. Resolution of trisomic mosaicism in prenatal diagnosis: estimated performance of a 50K SNP microarray. *Prenat Diagn.* 2007;27:1197-204.
7. Kearney HM , Thorland EC, Brown KK, Quintero-Rivera F, South ST, A Working Group of the American College of Medical Genetics (ACMG) Laboratory Quality Assurance Committee. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med* 2011: XX: 000–000. Online access at <http://www.acmg.net/StaticContent/SGs/CNV.pdf>
8. Manning. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. Online access at [http://www.acmg.net/StaticContent/PPG/CMA\\_2010.pdf](http://www.acmg.net/StaticContent/PPG/CMA_2010.pdf)
9. CCMG Guidelines for Genomic Microarray Testing. Online access at [www.ccmg-ccgm.org](http://www.ccmg-ccgm.org) 10. Best Practice Microarray Analysis Guidelines for Australasian Laboratories. Online access at <https://www.hgsa.org.au>
11. Novelli A, Grati FR, Ballarati L, Bernardini L, Bizzoco D, Camurri L, Casalone R, Cardarelli L, Cavalli P, Ciccone R, Clementi M, Dalprà L, Gentile M, Gelli G, Grammatico P, Malacarne M, Nardone AM, Pecile V, Simoni G, Zuffardi O, Giardino D. Microarray application in prenatal diagnosis: a position statement from the cytogenetics working group of the Italian Society of Human Genetics (SIGU), November 2011. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012. Online access at <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/uog.11092/citedby>
12. Savage MS; Mirella MJ; Ronald W. Evolving applications of microarray analysis in prenatal diagnosis. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2011; 23: 103-8.
13. Brady P, Ardui S, Vermeesch JT. The Future of Prenatal Cytogenetics: From Copy Number Variations to Non-invasive Prenatal Testing. *Curr Genet Med Rep* (2013) 1:91–98.
14. Brezina PR, Benner A, Rechitsky S, Kuliev A, Pomerantseva E, Pauling D, Kearns WG. Single-gene testing combined with single nucleotide polymorphism microarray preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy: a novel approach in optimizing pregnancy outcome. *Fertil Steril.* 2011; 95:1786.e5-8.