

## PHÁT HIỆN SỐ LƯỢNG BẢN SAO GEN *SMN1*/*SMN2* BẰNG CÁC KỸ THUẬT SINH HỌC PHÂN TỬ VÀ PHÂN TÍCH PHẢ HỆ

Nguyễn Thị Quyên, Ngô Mạnh Tiến, Nguyễn Thị Mai Hương, Phạm Thu Hương,  
Ngô Thị Tuyết Nhung, Nguyễn Ngọc Dũng, Trần Phương Thảo, Nguyễn Thanh Tâm,  
Nguyễn Thùy Trang, Bùi Phương Thảo, Nguyễn Ngọc Khánh, Cấn Thị Bích Ngọc,  
Nguyễn Thu Hà, Nguyễn Thị Hương Giang, Nguyễn Thị Phương Mai, Ngô Diễm Ngọc,  
Vũ Chí Dũng, Cao Việt Tùng, Trần Minh Điển  
Bệnh viện Nhi Trung ương

### TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Teo cơ tuỷ (SMA) là bệnh thần kinh cơ di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường do đột biến gene *SMN1* trên cánh dài nhiễm sắc thể số 5 (5q13.2). Kiểu gen của người bình thường có hai alen đều mang ít nhất một bản sao gen *SMN1* và một bản sao gen *SMN2*, tương ứng với kiểu gen 1+1. Người mang gen bệnh có một bản sao gen *SMN1* (kiểu gen 1+0) hoặc hai bản sao gen *SMN1* trên cùng một alen (kiểu gen 2+0).

**Mục tiêu:** Xác định kiểu gen *SMN1* trên người bệnh và các thành viên trong gia đình.

**Đối tượng nghiên cứu:** Các thành viên trong gia đình có tiền sử sinh con đầu mắc SMA.

**Phương pháp nghiên cứu:** Áp dụng kỹ thuật PCR-RFLP và MLPA để xác định kiểu gen *SMN1*/*SMN2*.

**Kết quả:** Xác định kiểu gen *SMN1*/*SMN2* cho các thành viên trong gia đình và chẩn đoán trước sinh cho các lần tiếp theo.

**Kết luận:** Ứng dụng các kỹ thuật sinh học phân tử trong xác định số lượng bản sao gen *SMN1*/*SMN2* là việc hết sức cần thiết. Đây là cơ sở cho tư vấn di truyền và xác định chính xác nguy cơ cho các lần chẩn đoán trước sinh với các gia đình đã có con mắc bệnh Teo cơ tuỷ.

**Từ khóa:** SMA, *SMN1*/*SMN2*, MLPA, PCR-RFLP

### DETECTION THE GENETIC ABNORMALITIES IN PATIENTS WITH DEVELOPMENTAL DELAY INTELLECTUAL DISABILITY BY ARRAY COMPARATIVE GENOMIC HYBRIDIZATION

Spinal muscular atrophy (SMA) is an inherited autosomal recessive neuromuscular disease caused by mutations in the *SMN1* gene located on the long arm of chromosome 5 (5q13.2). The wild-type which has at least one copy of the *SMN1* gene and one copy of the *SMN2* gene in each allele (genotype 1+1). The carrier has one copy of the *SMN1* gene (genotype 1+0) or two copies of the *SMN1* gene on the same allele (genotype 2+0).

**Objectives:** Detect the genotyping *SMN1*/*SMN2*.

**Patients:** Family members with a history of having a first child with SMA.

**Methods:** Applying PCR-RFLP and MLPA techniques to detect *SMN1*/*SMN2* genotype.

**Results:** Genotyping *SMN1*/*SMN2* for family members and prenatal diagnosis.

Nhận bài: 14-09-2023; Chấp nhận: 10-10-2023

Người chịu trách nhiệm: Nguyễn Thị Phương Mai

Email: [nguyenphuongmai@nch.org.vn](mailto:nguyenphuongmai@nch.org.vn)

Địa chỉ: Bệnh viện Nhi Trung ương

**Conclusion:** The application of molecular biology techniques in determining the copy number of *SMN1/SMN2* gene is very important. This is the basis for genetic counseling and accurate risk identification for prenatal diagnoses for families.

**Keywords:** SMA, *SMN1/SMN2*, MLPA, PCR-RFLP

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Teo cơ tủy (Spinal muscular atrophy – SMA) là bệnh thần kinh cơ di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường do đột biến gene *SMN1* nằm trên cánh dài nhiễm sắc thể số 5 (5q13.2). Bệnh SMA đặc trưng bởi sự thoái hóa của các tế bào sừng trước tủy sống, dẫn đến yếu cơ đối xứng gốc chi, giảm trương lực cơ và phản xạ gân xương, biến dạng lồng ngực và cứng khớp. Trên thế giới tần suất mắc bệnh Teo cơ tủy khoảng 1/6000-1/10000 trẻ đẻ sống và tần suất người mang gen bệnh chiếm 1/60-1/35 phụ thuộc vào quần thể [1, 2]. Bệnh SMA cũng là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong ở trẻ sơ sinh [3] và được chia thành bốn thể: I, II, III và IV dựa trên tuổi khởi phát và mức độ nghiêm trọng của bệnh [4].

Khoảng 94% bệnh nhân mắc bệnh SMA là do đồng hợp tử đột biến mất đoạn exon 7 và/hoặc mất đoạn exon 8 trên gen *SMN1* (kiểu gen 0+0); khoảng 6% bệnh nhân SMA có kiểu gen kết hợp giữa mất đoạn exon 7 gen *SMN1* và đột biến điểm trên gen *SMN1* (kiểu gen là 1D+0), hoặc đột biến điểm trên cả hai alen gen *SMN1* (kiểu gen là 1D+1D). Các kiểu gen này đều không tổng hợp được protein *SMN1* có chức năng [5]. Sự mất đoạn của gene *SMN2* được phát hiện ở 5 – 10% người không có biểu hiện lâm sàng của SMA, vì vậy mất đoạn gene *SMN2* không biểu hiện ra kiểu hình [6].

Họ gen SMN gồm hai gen *SMN1* và *SMN2* có độ tương đồng cao, chỉ khác nhau ở 5 nucleotide. Sự khác nhau tại vị trí nucleotide c.840C>T trên exon 7, tuy không làm biến đổi quá trình dịch mã nhưng ảnh hưởng tới quá trình hoàn thiện mRNA (từ intron 6 tới exon 8) nên chỉ 10% gen *SMN2* mã hóa đầy đủ chức năng của protein thần kinh vận động, 90% protein còn lại bị thoái hóa nhanh chóng trong tế bào. Do đó, protein SMN tổng hợp từ gen *SMN1* có chức năng đầy đủ còn protein tổng hợp từ gen *SMN2* có kích thước nhỏ hơn và dễ bị phân hủy.

Kỹ thuật PCR-RFLP và MLPA đã và đang được ứng dụng phổ biến trong chẩn đoán bệnh SMA và phát hiện người mang gen bệnh [7]. Trong chẩn đoán trước sinh, việc làm rõ tình trạng mang gen bệnh ở cả hai vợ chồng là rất quan trọng để không bỏ sót chẩn đoán và tiên lượng không chính xác tỷ lệ sinh con mắc bệnh.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi báo cáo một trường hợp gia đình có tiền sử sinh con mắc bệnh SMA. Các thành viên trong gia đình được làm xét nghiệm kiểu gen và chẩn đoán trước sinh cho các lần mang thai tiếp theo.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên một gia đình gồm bố, mẹ, con đầu mắc bệnh Teo cơ tủy. Người mẹ được chẩn đoán trước sinh cho hai lần mang thai tiếp theo.

Mẫu bệnh phẩm:

- Chẩn đoán sau sinh: Máu ngoại vi: 2 ml chống đông EDTA

- Chẩn đoán trước sinh: Dịch ối: 15 ml dịch ối

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện theo phương pháp Báo cáo ca bệnh

Các kỹ thuật thực hiện:

• Tách chiết DNA từ máu ngoại vi và từ dịch ối sau nuôi cấy:

- Mẫu bệnh phẩm dịch ối: 12-15 ml dịch ối đựng trong ống vô trùng. Quá trình chọc hút dịch ối được tiến hành tại Trung tâm chẩn đoán trước sinh - Bệnh viện Phụ sản Hà Nội.

- Nuôi cấy dòng tế bào ối: Mẫu dịch ối được nuôi cấy trong môi trường Amniomax Complete (Invitrogen). Dòng tế bào ối được thu hoạch sau hai tuần và rửa sạch bằng dung dịch PBS1X trước khi tiến hành tách DNA tổng số.

- Tách chiết DNA tổng số: DNA tổng số từ máu ngoại vi của các thành viên trong gia đình và DNA tổng số từ tế bào dịch ối được tách chiết bằng kit tách DNA (QIAamp DNA Blood Mini Kit, (Qiagen-Đức).

- Kỹ thuật PCR và cắt enzym:

Thực hiện phản ứng PCR: Trình tự mỗi cho exon 7 gene SMN được thiết kế theo Vander Steege và cs (R111 và X7-Dra)[8]. Chu trình nhiệt PCR được thực hiện trong điều kiện sau 95°C, 5 phút; [95°C, 30 giây; 55°C, 30giây; 72°C, 40 giây] x35 chu kỳ; 72°C, 7 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên thạch agarose 1%. Sản phẩm PCR có kích thước 194bp.

Cắt enzym: Sản phẩm PCR sau khi điện di kiểm tra sản phẩm, được tiến hành cắt bằng enzym giới hạn Dral (Invitrogen) để phân biệt exon 7 gene *SMN1* và *SMN2*. Sản phẩm sau khi cắt enzym là exon 7 gene *SMN1* (194bp) và exon 7 gene *SMN2* (171bp + 23bp). Tiến hành quá trình điện di trên thạch agarose 3% để nhận biết kích thước các sản phẩm.

- Kỹ thuật MLPA

Kỹ thuật MLPA thực hiện bằng cách sử dụng bộ đầu dò thương mại P060-B2 (MRC-Holland,

Hà Lan). 50-200ng DNA của mẫu pha loãng trong 5µL buffer AE được biến tính ở 98°C trong 5 phút, trộn với 3µL hỗn hợp đầu dò và MLPA buffer. Phản ứng lai: hỗn hợp DNA và đầu dò này sau đó được ủ tại 95°C trong 1 phút và 60°C trong 12 giờ hoặc qua đêm. Phản ứng nối: hỗn hợp DNA và đầu dò được cho thêm với 32µL hỗn hợp Ligase-65 và buffer ở 54°C trong 15 phút và bất hoạt ở 98°C trong 5 phút. Phản ứng PCR: sản phẩm sau nối được trộn kỹ với 30µL PCR buffer và mỗi, sau đó phản ứng PCR được thực hiện ở điều kiện luân nhiệt PCR. Các đầu dò nếu không được ghép nối với nhau thì chỉ mang một mỗi cho nên không được khuếch đại. Sản phẩm sau khuếch đại được điện di phân tách đoạn trên hệ thống ABI 3500. Dữ liệu được phân tích trên phần mềm Coffalyser.

Kết quả thu được dưới dạng các đỉnh tín hiệu ở các vị trí kích thước khác nhau được hiển thị dưới dạng bảng và dạng biểu đồ sóng. Mỗi đỉnh tín hiệu (peak) là sản phẩm của một đầu dò. Kích thước của mỗi đỉnh tín hiệu được xác định nhờ so sánh với thang kích thước và mẫu đối chứng để tính tỉ lệ tín hiệu cuối cùng (FR-Final ratio). Từ đó tính được số bản sao gen *SMN1* và *SMN2* tương ứng.

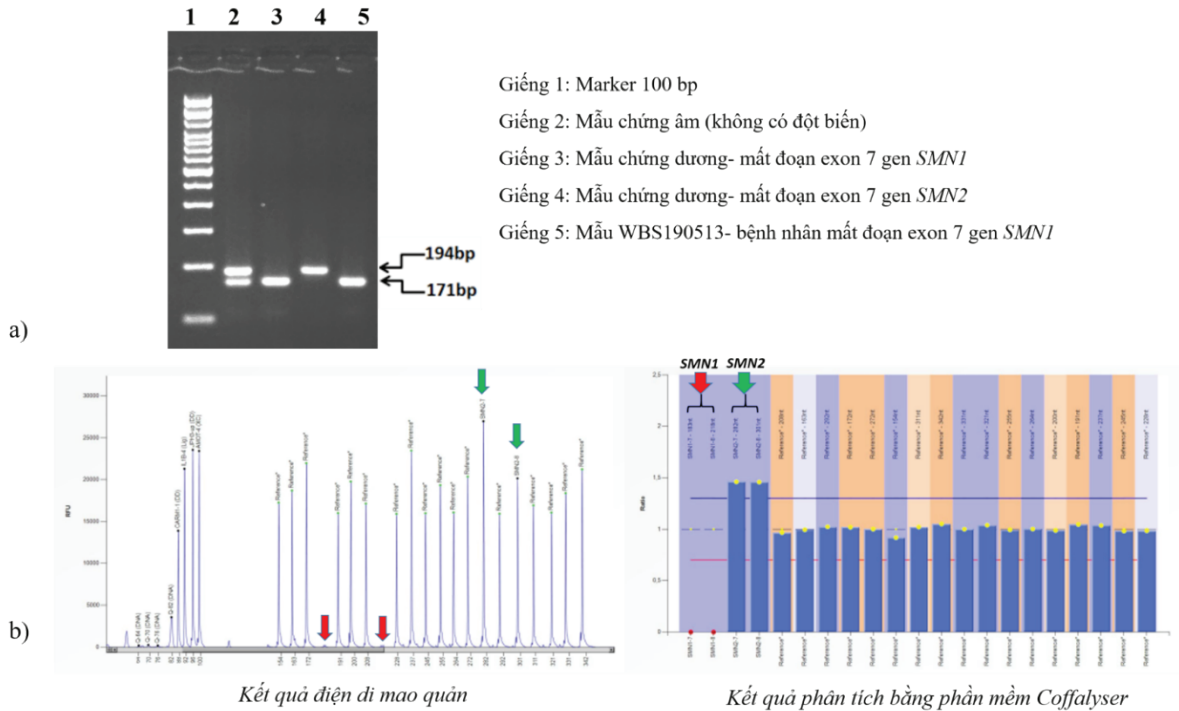
**Bảng 1.** Mối tương quan giữa tỷ lệ tín hiệu và số lượng bản sao exon 7-8 gen *SMN1/SMN2* (kit P060-B2)

Tỷ lệ tín hiệu (FR)	Số bản sao	Kiểu gen
0.8 < FR < 1.2	2	Không phát hiện đột biến
FR = 0 - 0.1	0	Đồng hợp tử mất đoạn
0.4 < FR < 0.65	1	Dị hợp tử mất đoạn
1.3 < FR < 1.65	3	Dị hợp tử lặp đoạn
1.75 < FR < 2.15	4	- TH1: alen 1: 1 bản sao; alen 2: 3 bản sao
- TH2: alen 1: 2 bản sao ; alen 2: 2 bản sao	38 (35-39)	38 (35-39)
FR > 2.15		Số bản sao không xác định

### III. KẾT QUẢ

#### 3.1. Kiểu gen của con đầu

Người con đầu được chẩn đoán mắc bệnh SMA được phân tích gen bằng kỹ thuật PCR-RFLP và kỹ thuật MLPA. Kết quả cho thấy bệnh nhân có kiểu gen: Đồng hợp tử mất đoạn exon 7-8 gen *SMN1* (0 bản sao gen *SMN1*) và 3 bản sao gen *SMN2* (Hình 1).

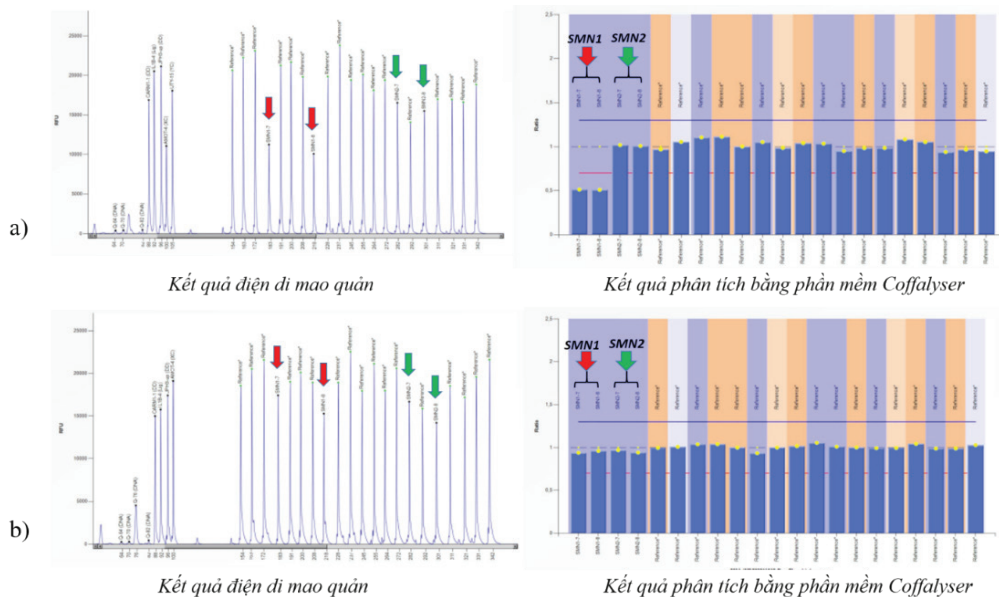


**Hình 1.** Kết quả bệnh nhân mã số WBS190513

a- Điện di sản phẩm PCR-RFLP, b-Kết quả MLPA (P060- B2)

**3.2. Kiểu gen của bố, mẹ**

Kết quả phân tích gen SMN (kit P060-B2) cho thấy, người bố có 1 bản sao gen *SMN1* (kiểu gen 1+0) và 2 bản sao gen *SMN2* và người mẹ có hai bản sao gen *SMN1* và 2 bản sao gen *SMN2* (Hình 2).

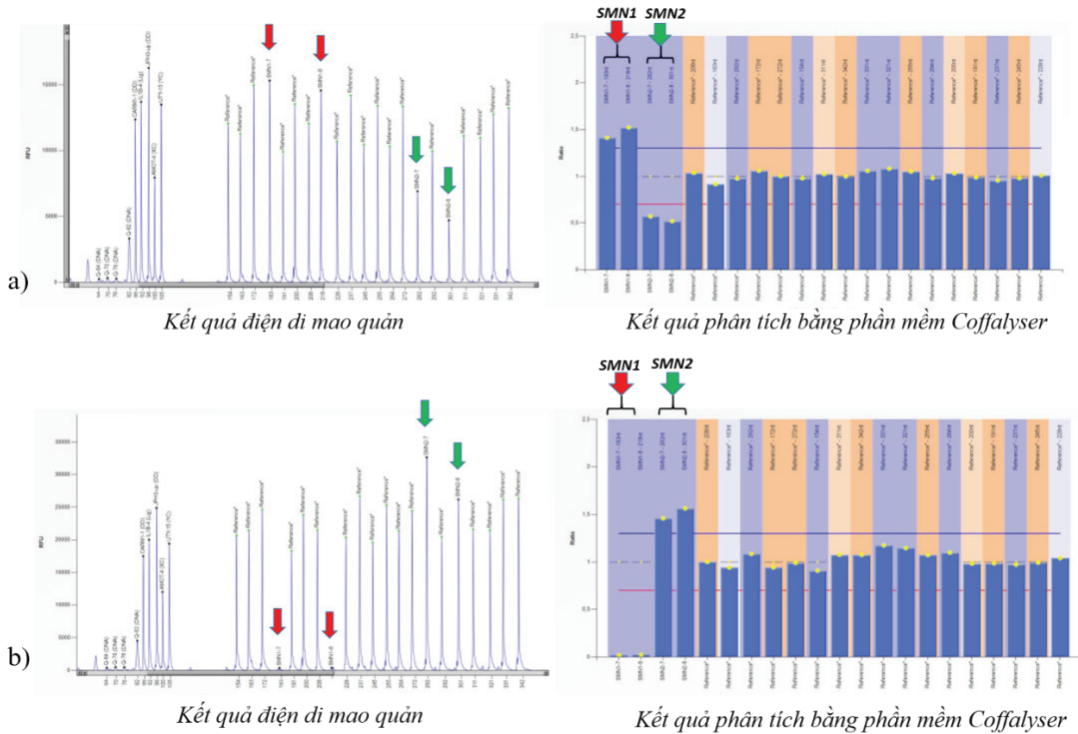


**Hình 2.** Kết quả MLPA (P060- B2)

a- Kiểu gen người Bố, b-Kiểu gen người Mẹ

**3.3. Kết quả chẩn đoán trước sinh**

Kết quả phân tích gen SMN (P060-B2) cho lần mang thai tiếp theo của người mẹ phát hiện thai nhi có 3 bản sao gen *SMN1* và dị hợp tử mất đoạn exon 7-8 gen *SMN2* (1 bản sao gen *SMN2*) (Hình 3a). Người mẹ tiếp tục mang thai lần thứ 3 và được chẩn đoán trước sinh, kết quả cho thấy thai có kiểu gen đồng hợp tử mất đoạn exon 7-8 gen *SMN1* (0 bản sao gen *SMN1*) và 3 bản sao gen *SMN2* (Hình 3b).



**Hình 3.** Kết quả chẩn đoán trước sinh bằng kỹ thuật MLPA (P060-B2)

a-Thai lần 2, b- Thai lần 3

**3.4. Số lượng bản sao gen SMN1/SMN2**

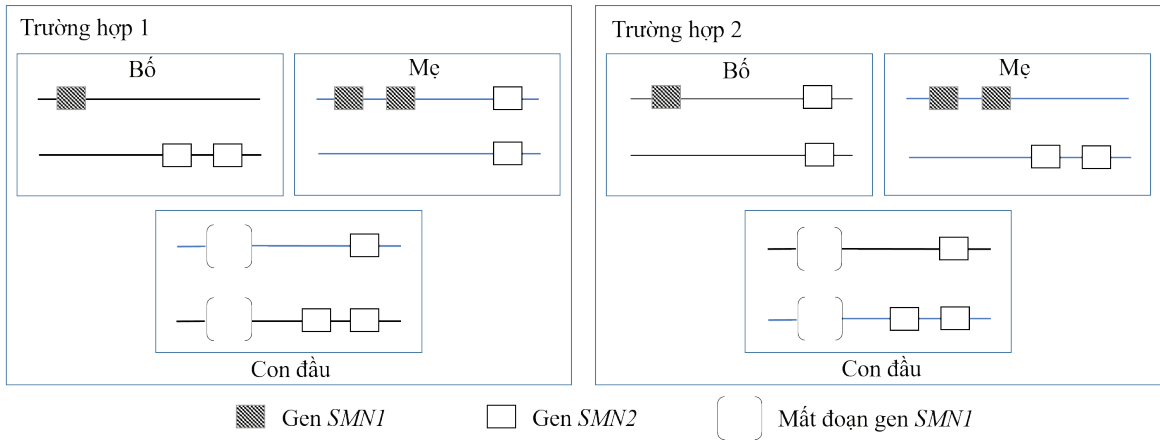
Số lượng bản sao gen *SMN1/SMN2* của các thành viên trong gia đình bằng phương pháp MLPA kit P060-B2 được thể hiện qua Bảng 2 như sau:

**Bảng 2.** Kiểu gen các thành viên trong gia đình

MSBN	Thể đột biến	Kiểu gen	Số bản sao gen SMN1	Số bản sao gen SMN2	Kiểu hình
WBSM211219	Bố	Dị hợp tử	N/del 1+0	2	Người lành mang gen bệnh
WBSM211218	Mẹ	?	N/del 2+0?	2	Người lành mang gen bệnh?
WBS190513	Con đầu	Đồng hợp tử	del/del 0+0	3	Người bệnh
AFS200403	Con thứ 2	Dị hợp tử	N/N 3+1	1	Người lành không mang gen bệnh
AFS211202	Con thứ 3	Đồng hợp tử	del/del 0+0	3	Người bệnh

*Chú thích:* MSBN: mã số bệnh nhân; del: mất đoạn; N: không mất đoạn; ?: hai bản sao gen *SMN1* (ngghi ngờ kiểu gen 2+0)

Kết hợp với phân tích phả hệ gia đình, kiểu gen của bố, mẹ có thể là một trong hai trường hợp sau (Hình 4):



**Hình 4.** Dự đoán kiểu gen của bố mẹ bệnh nhân

Trường hợp 1:

- Kiểu gen bố: alen thứ nhất có một bản sao gen *SMN1*, alen thứ hai có hai bản sao gen *SMN2*
- Kiểu gen mẹ: alen thứ nhất có hai bản sao gen *SMN1* và một bản sao gen *SMN2*; alen thứ hai có một bản sao gen *SMN2*.

Trường hợp 2:

- Kiểu gen bố: alen thứ nhất có một bản sao gen *SMN1* và một bản sao gen *SMN2*; alen thứ hai có một bản sao gen *SMN2*
- Kiểu gen mẹ: alen thứ nhất có hai bản sao gen *SMN1*, alen thứ hai có hai bản sao gen *SMN2*.

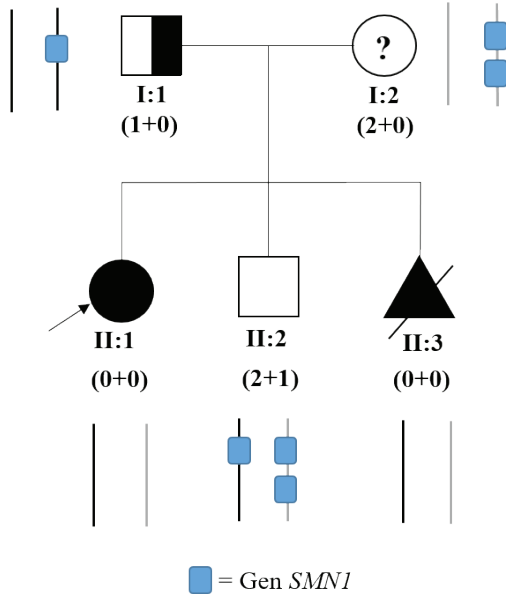
#### IV. BÀN LUẬN

Teo cơ tủy là bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường do đột biến trên gen *SMN1*. Người bố và người mẹ mang kiểu gen dị hợp tử đột biến tuy không biểu hiện bệnh nhưng sẽ có khả năng truyền gen bệnh thế hệ sau với tỉ lệ sinh con bị bệnh sẽ là 25%, người con hoàn toàn khỏe mạnh không mang gen bệnh là 25% và 50% con mang gen bệnh trong 1 lần mang thai. Trường hợp người bố hoặc người mẹ có kiểu gen 2+0, kết hôn với người có kiểu gen 1+0 thì cần phải đánh giá nguy cơ mắc bệnh SMA trong các thế hệ sau. Nếu bố hoặc mẹ mang hai bản sao gen *SMN1* có kiểu gen 2+0 thì nguy cơ sinh con mắc bệnh là 25%; nếu có kiểu gen 1+1 thì không loại trừ bệnh nhân SMA xảy ra đột biến gen SMN phát sinh trong quá trình hình thành giao tử (đột biến

de novo mutation) hoặc bố mẹ có khảm dòng tế bào có đột biến với tần số thấp.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân tích kiểu gen của một gia đình bao gồm bố, mẹ, con đầu và chẩn đoán trước sinh cho hai lần tiếp theo. Con đầu mắc bệnh SMA có kiểu gen đồng hợp tử mất đoạn exon 7-8 gen *SMN1* (0 bản sao gen *SMN1*). Thai lần hai có kiểu gen dị hợp tử lặp đoạn gen *SMN1* (ba bản sao gen *SMN1*) sẽ tương thích với việc nhận một alen có hai bản sao gen *SMN1* từ người mẹ và alen còn lại có một bản sao gen *SMN1* nhận từ người bố. Người con đầu (II:1) và người con thứ 3 (II:3) có đồng hợp tử mất đoạn gen *SMN1* tương đương với 0 bản sao gen *SMN1*, tương thích với việc bệnh nhân nhận alen mất đoạn gen *SMN1* từ cả người bố và mẹ. Kết hợp giữa các phương pháp phân tích phân tử và phân tích phả hệ cho thấy người bố có kiểu gen

dị hợp tử mất đoạn exon 7-8 gen *SMN1* (kiểu gen 1+0), người mẹ có thể là người mang gen thể ẩn có hai bản sao gen *SMN1* (kiểu gen 2+0) (Hình 5).



**Hình 5.** Phả hệ gia đình bệnh nhân

Tỷ lệ người mang gen bệnh thể ẩn với kiểu gen 2+0 trong dân số nói chung là khoảng 0,16%- 0,42% [9] và chiếm khoảng 4% tổng số người mang gen bệnh [10]. Kết quả một nghiên cứu trên người mang gen ở Bắc Mỹ đã đưa ra tỷ lệ người mang kiểu gen thể ẩn có sự khác nhau rõ rệt giữa các chủng tộc khác nhau: 1/632 ở người da trắng, 1/350 ở người Do Thái Ashkenazi, 1/628 ở người Châu Á, người Mỹ gốc Phi là 1/121, người Mỹ La Tinh là 1/1061 [1]. Cá thể có hai bản sao gen *SMN1* có xuất hiện biến thể g.27134T>G (intron 7) hoặc g.27706\_27707delAT (exon 8) (NG\_008691.1) được xác định có nguy cơ cao trở thành người mang gen bệnh thể ẩn [11]. Tại Việt Nam việc xác định kiểu gen 2+0 còn nhiều hạn chế nên hiện tại kết quả chỉ dừng lại ở mức nghi ngờ kiểu gen 2+0 và phải kết hợp với phân tích kiểu gen của các thành viên trong gia đình.

Kỹ thuật PCR-RFLP là kỹ thuật sinh học phân tử có độ đặc hiệu cao, thời gian thực hiện nhanh để phát hiện mất đoạn exon 7 gen *SMN1*. Tuy nhiên, kỹ thuật này chỉ phát hiện kiểu gen đồng hợp tử và không phát hiện người mang gen đột biến (carrier). Kỹ thuật MLPA với bộ kit P060 có thể phát hiện người có kiểu gen 1+0 nhưng

không phân biệt được kiểu gen 2+0. Vì vậy, trong tương lai cần phải ứng dụng các phương pháp khác như phân tích di truyền liên kết hoặc mở rộng phân tích phả hệ để đưa ra chẩn đoán xác định, tránh bỏ sót người mang gen thể ẩn trong cộng đồng.

## V. KẾT LUẬN

Áp dụng các kỹ thuật sinh học phân tử trong xác định số lượng bản sao gen *SMN1/SMN2* là việc hết sức cần thiết. Đây là cơ sở cho tư vấn di truyền và xác định chính xác nguy cơ cho các lần chẩn đoán trước sinh cho các gia đình đã có con mắc bệnh Teo cơ tủy. Ngoài ra, việc xác định số lượng bản sao gen *SMN2* còn là cơ sở cho việc lựa chọn thuốc điều trị bệnh SMA trong tương lai.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Hendrickson BC, Donohoe C, Akmaev VR et al.** Differences in *SMN1* allele frequencies among ethnic groups within North America. *J Med Genet* 2009;46(9):641-644. <https://doi.org/10.1136/jmg.2009.066969>
2. **Pearn J.** Classification of spinal muscular atrophies. *Lancet* 1980;1(8174):919-922. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(80\)90847-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(80)90847-8)
3. **Prior TW, Snyder PJ, Rink BD et al.** Newborn and carrier screening for spinal muscular atrophy. *Am J Med Genet A* 2010;152a(7):1608-1616. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.33474>
4. **Butchbach MER.** Copy Number Variations in the Survival Motor Neuron Genes: Implications for Spinal Muscular Atrophy and Other Neurodegenerative Diseases. *Front Mol Biosci* 2016;3:7. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2016.00007>
5. **Ogino S, Wilson RB.** Spinal muscular atrophy: molecular genetics and diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn* 2004;4(1):15-29. <https://doi.org/10.1586/14737159.4.1.15>
6. **Wirth B.** An update of the mutation spectrum of the survival motor neuron gene (*SMN1*) in autosomal recessive spinal muscular atrophy (SMA). *Hum Mutat*

- 2020;15(3):228-237. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-1004\(200003\)15:3<228::aid-humu3>3.0.co;2-9](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-1004(200003)15:3<228::aid-humu3>3.0.co;2-9)
7. **Scheffer H, Cobben JM, Matthijs G** *et al.* Best practice guidelines for molecular analysis in spinal muscular atrophy. *Eur J Hum Genet* 2001;9(7):484-491. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200667>
  8. **Steege G, Grootscholten PM, Vlies P** *et al.* PCR-based DNA test to confirm clinical diagnosis of autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Lancet* 1995;345(8955):985-986.
  9. **Verhaart IEC, Robertson A, Wilson IJ** *et al.* Prevalence, incidence and carrier frequency of 5q-linked spinal muscular atrophy - a literature review. *Orphanet J Rare Dis* 2017;12(1):124. <https://doi.org/10.1186/s13023-017-0671-8>
  10. **McAndrew PE, Parsons DW, Simard LR** *et al.* Identification of proximal spinal muscular atrophy carriers and patients by analysis of SMNT and SMNC gene copy number. *Am J Hum Genet* 1997;60(6):1411-22. <https://doi.org/10.1086/515465>
  11. **Luo M, Liu L, Peter I** *et al.* An Ashkenazi Jewish *SMN1* haplotype specific to duplication alleles improves pan-ethnic carrier screening for spinal muscular atrophy. *Genet Med* 2014;16(2):149-156. <https://doi.org/10.1038/gim.2013.84>