

• 专题研究:生殖医学 •

江苏地区3 591例捐精者染色体核型分析结果与意义

林法喜¹,王家雄²,闫静³,孙红勇¹,王增军^{1*}

¹南京医科大学第一附属医院人类精子库,江苏 南京 210029; ²苏州市立医院生殖与遗传中心,江苏 苏州 215002; ³南京医科大学康本检验所,江苏 南京 211112

[摘要] 目的:分析南京医科大学附属第一医院精子库10余年来捐精志愿者染色体遗传学特征,探讨精子库染色体核型分析在避免供精治疗后不良妊娠结局中的作用。方法:回顾性统计2012年1月—2023年12月于南京医科大学附属第一医院人类精子库进行供精筛选的捐精者共计3 591例的染色体检查结果,分类染色体核型异常分布与类型。结果:3 591例捐精志愿者中,染色体核型出现异常者共62例(1.73%),其中最常见的是臂间倒位(30/62),其次为次缢痕区加长(13/62),再次为染色体短臂加长(7/62)、染色体易位(6/62)。此外,还有随体加长3例,双随体1例,着丝粒增大1例,标记染色体1例。结论:鉴于核型异常对妊娠结局与子代健康已知或潜在的不良影响,精子库必须对捐精志愿者进行严格的细胞遗传学筛查,以规避后续供精治疗的失败风险,达到助孕优生的社会作用。

[关键词] 精子库;捐精者;染色体核型分析

[中图分类号] R714.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2025)03-295-07

doi: 10.7655/NYDXBNSN240842

Results and significance of chromosomal karyotype analysis of 3 591 sperm donors in Jiangsu Province

LIN Faxi¹, WANG Jiexiong², YAN Jing³, SUN Hongyong¹, WANG Zengjun^{1*}

¹Human Sperm Bank, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029; ²Center for Reproduction and Genetics, Suzhou Municipal Hospital, Suzhou 215002; ³Kangben Laboratory, Nanjing Medical University, Nanjing 211112, China

[Abstract] **Objective:** To analyze the genetic characteristics of chromosomes of sperm donor volunteers in human sperm bank of the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, for more than ten years, and to explore the role of sperm bank chromosomal karyotypes analysis and screening in avoiding adverse pregnancy outcomes after sperm donor treatment. **Methods:** The chromosomal karyotypes examination results of 3 591 sperm donors, who underwent sperm screening at the Human Sperm Bank of the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University from January 2012 to December 2023, were retrospectively analyzed to classify the distribution and types of chromosomal karyotypes abnormalities. **Results:** Among the 3 591 sperm donors, there were 62 cases of karyotype abnormalities, accounting for 1.73% of all volunteers, of which the most common were pericentric inversions (30/62), followed by secondary constriction region enlargement (13/62), and then short-arm enlargement (7/62) and translocation (6/62). In addition to this, there were 3 cases of satellite enlargement, 1 case of double enlargement, 1 case of enlarged centromere, and 1 case of marker chromosome. **Conclusion:** In view of the known or potential adverse effects of karyotype abnormalities on pregnancy outcomes and offspring health, sperm banks are required to conduct rigorous cytogenetic screening of sperm donor volunteers to circumvent the risk of failure of subsequent sperm donor treatments and to fulfil the societal role of assisted conception and eugenics.

[Key words] sperm bank; sperm donor; karyotype analysis

[J Nanjing Med Univ, 2025, 45(03): 295-300, 326]

[基金项目] 江苏省科教能力提升工程项目(ZDXK202219)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: zengjunwang2002@sina.com (ORCID: 0000-0002-7583-4750)

近年来,随着不孕不育发病率的不断上升,生殖问题逐渐变成了一个不容忽视的问题。辅助生殖技术经过多年发展,已经可以满足许多不孕不育患者的需求,为其带去健康的子代,有报道称澳大利亚2017年的出生人口中有6.7%的新生儿是通过辅助生殖受孕的^[1]。部分患者无法顺利孕育自身后代,进而将希望转移到供精治疗上,虽然也有很多研究着眼于精子的体外发生,但是目前精子库的作用仍无法替代^[2]。随着生殖健康知识的普及、精子冷冻技术的提升、患者日益增长的诊疗需求,精子库所承担的角色越来越重要,如何筛选合格捐精者摆在了研究人员面前。虽然许多捐精者体格检查、精子质量检测、传染病检测的结果均很理想,但是遗传疾病就像潜伏在水面下的冰山,影响深远但无法轻易察觉。研究发现,染色体异常男性在多项临床结局上与对照组存在显著差异,异常组精子质量明显更差,胎儿畸形率、自然流产率更高^[3]。虽然目前产前筛查^[4]与产前诊断技术^[5]在不断发展,但是将胎儿的遗传异常阻断在受精之前是最安全与高效的。因此,精子库针对可能存在的染色体异常,遵循《人类精子库基本标准和技术规范》要求^[6],对捐精志愿者行外周血染色体核型分析,可在一定程度上阻断潜在的遗传缺陷对用精家庭未来的影响。本研究统计南京医科大学附属第一医院精子库十余年捐精志愿者中筛查出的核型异常,为同行提供参考,并讨论对捐精志愿者进行遗传学分析的意义。

1 材料和方法

1.1 材料

选取2012年1月—2023年12月于南京医科大学附属第一医院人类精子库进行供精筛选的捐精者共计3 591例,年龄20~35岁。捐精者传染病及病原体筛查结果符合要求,其精子质量通过实验室检测后满足捐精要求。本研究获得南京医科大学附属第一医院伦理委员会审查批准(编号:2013-SZ-012/2019-SZ-01),捐精者均签署捐精供精知情同意书。

染色体成像阅片系统(南京众信科技发展有限公司);外周血淋巴细胞培养基;秋水仙素(广州达晖生物技术股份有限公司);胰蛋白酶(生工生物工程股份有限公司,德国);吉姆萨染色液(西格玛奥德里奇贸易有限公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 样本收集与细胞培养

抽取通过捐精初筛男性的外周血0.5 mL,接种

于外周血淋巴细胞培养基,37℃恒温箱培养72 h,在细胞收获前滴入0.1 mL 10 μg/mL的秋水仙素再培养2.5 h,将细胞周期阻断于分裂中期。之后1 500 r/min离心10 min收获细胞,加入0.075 mol/L氯化钾低渗液8~10 mL,于37℃水浴箱中低渗25 min,经固定液(甲醇:冰醋酸=3:1),1 500 r/min离心10 min,吸去上清,两次固定后置于37℃恒温箱中,显带前再置于80℃烤箱中烤2~3 h。用吉姆萨染色液染色后观察。

1.2.2 核型分析

通过G显带,每例计数20个中期分裂相,分析5个核型,怀疑嵌合体计数100个核型。参照《人类细胞遗传学国际命名体制》(ISCN2020)的规定进行核型描述。计数各类异常的构成与出现频率。

1.3 统计学方法

采用SPSS 19.0软件进行统计分析。统计指标包括染色体结果异常率以及构成比例。结果均以百分率(%)表示。

2 结果

2.1 染色体核型分析异常结果

在2012—2023年共3 591例捐精志愿者中,染色体核型出现异常者共为62例,占有所有志愿者的1.73%(62/3 591),其中最常见的是臂间倒位(30例),约占所有异常的一半,其中以9号染色体臂间倒位最为突出(27/30),而核型46,XY,inv(9)(p12;q13)在所有异常中出现频率最高(21/30),占有所有志愿者的0.58%(21/3 591),占有异常的33.87%(21/62)。除去臂间倒位,异常中最多见的是染色体的次缢痕区加长(13例),占有异常的20.97%(13/62),具体表现为1、16、21和Y染色体上出现异常,其中以1号染色体次缢痕区加长最为常见(8/13)。染色体短臂加长为第3位的异常(7例),占有异常的11.29%(7/62),其中以21号染色体短臂加长最多(4/7)。第4位为染色体易位(6例),占有异常的9.68%(6/62)。除此之外还有体加长3例,双随体1例,着丝粒增大1例,标记染色体(marker chromosome, mar)1例(表1)。

通过分析受累染色体频次发现,9号染色体异常(29例)远高于其他染色体,其次为1号染色体(10例)与21号染色体(6例),其余染色体异常的分布较为平均(图1),部分罕见染色体核型见图2。

2.2 染色体核型分析异常志愿者精液质量

经过初次筛选,对精液量 ≥ 2 mL、精子浓度 $\geq 60 \times 10^6$ /mL、前向运动精子百分率(ratio of forward motile sperm, PR) $\geq 60\%$ 、精子正常形态率 $\geq 4\%$ 、冷冻

表1 3 591例捐精志愿者中62例异常患者详细核型缺陷
Table 1 Detailed karyotype defects in 62 abnormal patients among 3 591 sperm donor volunteers

Karyotype	Note	Cases (n)	Percentage of total volunteers(%)
Numerical anomaly			
47, XY, +mar		1	0.03
Translocation			
46, XY, t(7; 14)(p22; q22)	Translocation of chromosome 1, 14	1	0.17
46, XY, t(7; 13)(p11; q12)	Translocation of chromosome 7, 13	1	
46, XY, t(12; 21)(p11; p11)	Translocation of chromosome 12, 21	1	
46, XY, t(3; 9)(q27; q22)	Translocation of chromosome 3, 9	1	
46, XY, t(1; 3)(p22; p21)	Translocation of chromosome 1, 3	1	
46, XY, t(5; 7)(q22; q34)	Translocation of chromosome 5, 7	1	
Secondary constriction area lengthening			
46, XY, 1qh+	Secondary constriction area lengthening of chromosome 1	8	0.36
46, XY, 16qh+	Secondary constriction area lengthening of chromosome 16	3	
46, XY, 21ph+	Secondary constriction area lengthening of chromosome 21	1	
46, XY, Ygh+	Secondary constriction area lengthening of chromosome Y	1	
Chromosome short arm lengthening			
46, XY, Yp+	Short arm lengthening of chromosome Y	1	0.19
46, XY, 21p+	Short arm lengthening of chromosome 21	4	
46, XY, 22p+	Short arm lengthening of chromosome 22	1	
46, XY, 15p+	Short arm lengthening of chromosome 15	1	
Chromosomal centromere enlargement			
46, XY, 22cenh+	Centromere enlargement of chromosome 22	1	0.03
Extension of satellite			
46, XY, 22pstk+	Extension of satellite in chromosome 22	1	0.08
46, XY, 14pstk+	Extension of satellite in chromosome 14	1	
46, XY, 15pstk+	Extension of satellite in chromosome 15	1	
Dual satellites			
46, XY, 15pss	Dual satellites of chromosome 15	1	0.03
Pericentric inversion			
46, XY, inv(9)(p12; q13)	Pericentric inversion of chromosome 9	21	0.84
46, XY, inv(9)(p12; q12)	Pericentric inversion of chromosome 9	1	
46, XY, inv(9)(p12; q21)	Pericentric inversion of chromosome 9	6	
46, XY, inv(Y)(q11; q12)	Pericentric inversion of chromosome Y	1	
46, XY, inv(10)(q21; q22)	Pericentric inversion of chromosome 10	1	
Total		62	1.73

后精子浓度 $\geq 40 \times 10^6/\text{mL}$ 、PR $\geq 40\%$ 的志愿者进行染色体常规筛查(表2)。以上结果表明,本研究所统计的染色体异常不会导致精液质量和精子形态异常。

3 讨论

染色体是细胞在有丝分裂或减数分裂时DNA

存在的特定形式,所以其结构可以初步反映是否存在严重遗传缺陷。染色体核型检测是不孕不育患者必要的评估项目,因为染色体异常是造成遗传缺陷的最常见原因,也是导致生殖问题、自然流产和胎儿死亡的重要原因^[7]。不育男性的染色体异常发生率为1.1%~7.2%,而不育女性的发生率约为

10.0%^[8]。染色体异常中较为严重的是数目异常,如21三体,13三体,16三体,47,XXY、47,XYY、45,X0等,这类异常通常伴有明显表型,不会出现在捐精志愿者群体中。此次统计中仅有1例数目异常(47,XY,+mar),标记染色体是一种结构异常的染色体,这种染色体的任何部分都无法通过传统细胞遗传学

显带方法识别^[9]。额外小标记染色体(small marker chromosome, sMC)在发育迟缓的患者中发生率高达0.288%,在不孕症患者中的发生率为0.125%^[10]。产前检测到sMC的妊娠中,有30%~50%被终止妊娠^[11],因此精子库需要筛除此类异常的精子。

本研究中的异常除了一例标记染色体外,其余

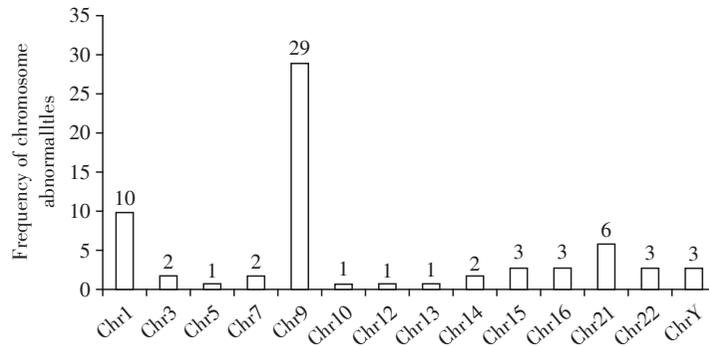
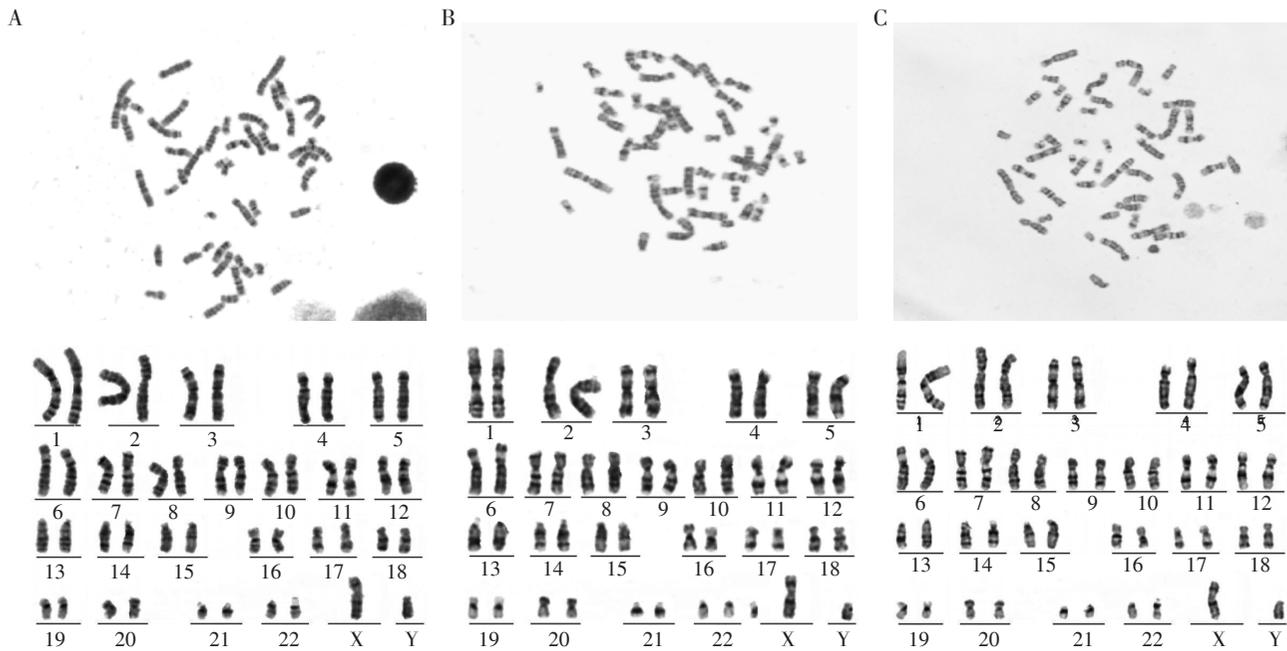


图1 受累染色体频次统计

Figure 1 Frequency statistics of chromosomes involved



A: 46, XY, 22pstk+. B: 47, XY, +mar. C: 46, XY, 22cenh+.

图2 染色体核型分析

Figure 2 Chromosomal karyotype analysis

表2 62例染色体异常志愿者精液质量结果分析

Table 2 Analysis of semen quality results from 62 volunteers with chromosomal abnormalities (n=62)

Variable	Minimum value	Maximum value	Average value	Standard deviation
Sperm concentration($\times 10^6$ /mL)	40	273	107.85	44.540
Progressive sperm(%)	48	82	68.19	8.053
Sperm morphology analysis(%)	4	21	10.65	4.197

均为染色体多态结构。其中最多的为染色体臂间倒位,尤以9号染色体臂间倒位最为突出。9号染色体的臂间倒位被认为是最常见的染色体结构变异之一,这是由于9号染色体极易发生结构重排,特别是中心周围倒置,inv(9)是由于2条染色体断裂,然后重新插入180°旋转的断裂碎片导致的。研究者认为,具有不同断点的inv(9)可能是几种表观异常的原因,许多报道认为,inv(9)与复发性自然流产、不孕、先天性畸形和特发性生殖衰竭密切相关^[12-13],还有研究者总结了前人文献,发现inv(9)与生长迟缓和癌症相关^[14];但也有研究则认为它是一种良性变异,并没有很大影响,一项生殖中心的回顾分析发现,在第1个体外受精或胞浆内单精子注射周期中,伴侣中1例存在9号染色体臂间倒位的患者有令人满意的辅助生殖结局^[15]。虽然对于inv(9)是否有害的争论始终存在,但是鉴于精子库筛选的目的,对于如此常见的染色体多态异常还是需要去除。此外,本研究中还存在inv(10)与inv(Y)各1例,此前有研究报告了2例患有10号染色体倒位的男性携带者,并回顾了26例已报道的病例,有9例不育,而另外19例则与不良妊娠或无精子症有关,其中q21的断点与孕前不育有关,而q21、q22的断点与不良妊娠或正常无精子症有关^[16],对本研究报道的46,XY,inv(10)(q21;q22)有参考价值。尽管10号染色体倒位携带者可能会自然生育健康的后代,但是精子库应剔除此类样本。对于本研究统计的46,XY,inv(Y)(q11;q12),此前有研究通过产前羊水穿刺诊断报道过1例,这个变异来源于表型正常的父亲,胎儿存在部分生殖器官异常,但是作者总结前人文献后认为该异常与此臂间倒位无关^[17]。尽管如此,精子库仍然需要剔除此类精子。

本研究出现频率第2的为次缢痕区加长,分别在1、16、21、Y染色体上。次缢痕区指染色体上的1个缢缩部位,由各种串联重复的DNA序列混合组成,其数量、位置和大小是某些染色体重要形态特征^[18]。在人类染色体中,1、9、16号次缢痕区染色体质区是易发生自发和诱发断裂的部位,它的增加或减少也可能影响到着丝粒-动粒复合体,减数分裂时引起染色体不分离而导致染色体异常,并引起一系列临床效应。有研究认为次缢痕区的异常未必会对健康有明显影响^[19],但是在个别报道中,研究者收集的2例1号染色体次缢痕区内出现G阴性条带的病例都有语言发育迟缓表型^[20]。国内文献多数认为次缢痕区的异常仍然存在潜在危害,如有可能影

响生殖细胞在减数分裂时的染色体配对联合,乃至影响配子的形成,从而引起生殖异常^[21]。因此精子库也必须重视该类异常。

本研究出现频率第3的为染色体短臂加长,人类D组(13、14、15)和G组(21、22)染色体是近端着丝粒染色体,这些染色体上存在核仁组织区(nucleolus organizer region, NOR),即参与形成核仁时的染色质区。这些染色体的短臂是个高度可变区,多见的就是短臂加长,原因可能是NOR的高度重复^[22]。而这些染色体短臂的延长可能会导致不良的妊娠结局,国内有研究报道了40例此类短臂延长的患者,表现出习惯性流产、不孕不育及胚胎发育异常,作者将其归咎于D/G组染色体短臂部分区域的高度重复,导致近端着丝粒染色体不分离,胚胎发生非整倍体率上升,进而引起了妊娠异常与胎儿畸形^[22]。

其余常见的多态异常是染色体易位,本研究中的易位均为平衡易位,平衡易位约占新生儿出生比例的0.2%,平衡易位通常没有表型影响,但配子不平衡和后代异常的风险很高,在配偶染色体结构正常的情况下,理论上平衡易位患者孕育的后代仅有1/18完全正常、1/18为易位携带者,而其余的16/18均为异常^[22]。易位染色体形成的异常四价或三价结构可能会对其他染色体的分离造成物理干扰,导致未参与易位的染色体出现非整倍体,即染色体间效应^[22]。研究发现染色体易位患者接受辅助生殖治疗后,正常胚胎和胚胎整倍体率显著降低,非整倍体和染色体畸变发生率升高。而与罗伯逊易位携带者相比,相互易位的携带者正常胚胎的发生率降低,完全异常和染色体畸变的胚胎百分比增加,而对结果而言,女方的染色体易位影响高于男方^[22]。因此,精子库必须筛除染色体易位。

本研究仍存在一些不足,由于样本取材于精子库,该类染色体异常的捐精者已被筛选,因此无法像临床生殖中心一样,收集并研究这些染色体异常对后续辅助生殖的影响,只能通过已有文献进行归纳总结。即便如此,本研究中的许多染色体异常已有报道对生育会产生不良影响。近年来,有国内的研究者通过大规模的调查问卷发现患者对供体基因检测的需求有所增加,仅通过核型分析排除遗传疾病不足以满足这些需求,建议对捐赠者和接受者进行更大规模的基因检测,并聘请受过专业培训的遗传学家担任遗传咨询师,以便向捐赠者解释基因检测的结果及其影响^[23]。因此,精子库对于捐精志愿者的遗传学检测仍然是重中之

重,随着遗传疾病的不断被揭示,遗传检测手段的不断发展,笔者相信,对于捐精志愿者的遗传学检测要求会更上一个台阶。

利益冲突声明:

所有作者声明无利益冲突。闫静与本期刊出版部隶属于南京医科大学,但审稿过程遵循双盲原则,评审和编辑决策完全独立,确保了评审的客观性和公正性。

Conflict of Interests:

All authors declare no conflicts of interests. YAN Jing and the journal itself are affiliated with Nanjing Medical University. However, the peer review process followed a double-blind principle, with the review and editorial decisions being completely independent, ensuring the objectivity and fairness of the review.

作者贡献声明:

林法喜、王家雄负责文献检索、论文撰写;闫静负责数据、文献整理归纳;孙红勇负责研究指导;王增军负责研究指导、经费支持。

Author's Contributions:

LIN Faxi and WANG Jiexiong were responsible for literature search and paper writing; YAN Jing was responsible for data and literature collation; SUN Hongyong was responsible for the research guidance; WANG Zengjun was responsible for research guidance and financial support.

[参考文献]

- [1] CHOI S K Y, VENETIS C, LEDGER W, et al. Population-wide contribution of medically assisted reproductive technologies to overall births in Australia: temporal trends and parental characteristics [J]. *Hum Reprod*, 2022, 37(5): 1047-1058
- [2] 郭雪江. 人类精子体外发生的研究展望[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2021, 41(2): 157-159
GUO X J. Prospects of studies of human in vitro spermatogenesis [J]. *Journal of Nanjing Medical University (Natural Sciences)*, 2021, 41(2): 157-159
- [3] CHEN C, JIANG J Y, YANG Q, et al. The relationship between chromosomal polymorphism and male reproductive abnormalities [J]. *Reprod Sci*, 2024, 31(8): 2425-2432
- [4] 黄晓莉, 孙丽洲. 无创产前检测在胎儿性染色体疾病筛查中应用的临床研究 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2022, 42(7): 1018-1024
HUANG X L, SUN L Z. Clinical study on the use of noninvasive prenatal testing in screening for fetal sex chromosome disorders [J]. *Journal of Nanjing Medical University (Natural Sciences)*, 2022, 42(7): 1018-1024
- [5] 韦世录, 余奇松, 侯伟, 等. 611例双胎孕妇羊水染色体核型结果分析 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2020, 40(8): 1202-1205
WEI S L, YU Q S, HOU W, et al. Analysis of amniotic fluid karyotype results in 611 twin pregnancies [J]. *Journal of Nanjing Medical University (Natural Sciences)*, 2020, 40(8): 1202-1205
- [6] 中华人民共和国卫生部. 人类精子库基本标准和技术规范 [J]. *中国生育健康杂志*, 2004, 15(2): 68-71
Ministry of Health of the People's Republic of China. Basic standards and technical specifications for human sperm banks [J]. *Chinese Journal of Reproductive Health*, 2004, 15(2): 68-71
- [7] 丁洁, 施海建, 梁喜, 等. 胎儿左头臂静脉走行异常的超声诊断及其与染色体异常相关性的初步研究 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2023, 43(1): 84-87
DING J, SHI H J, LIANG X, et al. Ultrasonographic diagnosis of fetal left cephalic brachial vein alignment anomalies and a preliminary study of its correlation with chromosomal abnormalities [J]. *Journal of Nanjing Medical University (Natural Sciences)*, 2023, 43(1): 84-87
- [8] ABBASPOUR S, ISAZADEH A, HEIDARI M, et al. Prevalence of chromosomal abnormalities in Iranian patients with infertility [J]. *Arch Iran Med*, 2023, 26(2): 110-116
- [9] YANG Y, HAO W. Molecular and cytogenetic analysis of small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnosis [J]. *Mol Cytogenet*. 2023, 16(1): 23
- [10] LIEHR T, EWERS E, HAMID A B, et al. Small supernumerary marker chromosomes and uniparental disomy have a story to tell [J]. *J Histochem Cytochem*, 2011, 59(9): 842-848
- [11] ARMANET N, TOSCA L, BRISSET S, et al. Small supernumerary marker chromosomes in human infertility [J]. *Cytogenet Genome Res*, 2015, 146(2): 100-108
- [12] MOTTA F, SANTONASTASO M, RONGA V, et al. Polymorphic rearrangements of human chromosome 9 and male infertility: new evidence and impact on spermatogenesis [J]. *Biomolecules*, 2023, 13(5): 729
- [13] NARDELLI A, LASKOSKI L, LUIZ A, et al. Occurrence of mosaic trisomy 22 and pericentric inversion of chromosome 9 in a patient with a good prognosis [J]. *BMC Med Genomics*. 2023, 16(1): 286
- [14] MOHSEN-POUR N, TALEBI T, NADERI N, et al. Chromosome 9 inversion: pathogenic or benign? A comprehensive systematic review of all clinical reports [J]. *Curr Mol Med*, 2022, 22(5): 385-400
- [15] LIANG S S, YANG J Z, WU H X, et al. Effects of chromosome 9 inversion on IVF/ICSI: a 7-year retrospective cohort study [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2019, 7(9): e856
- [16] ZHANG X Y, SHI Q Y, LIU Y H, et al. Fertility problems in males carrying an inversion of chromosome 10 [J]. *Open Med*, 2021, 16(1): 316-321

(下转第326页)

- influenza vaccines: opportunities and challenges [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(4): 239–252
- [12] 李春令, 刘增祥, 温成丽, 等. 基于3R原则探讨动物实验中人道终点的判定与应用[J]. *药学研究*, 2023, 42(10): 825–829
- LI C L, LIU Z X, WEN C L, et al. Exploring the determination and application of humane end point in animal experiments based on 3R principles [J]. *Journal of Pharmaceutical Research*, 2023, 42(10): 825–829
- [13] NEUMANN G. Influenza reverse genetics-historical perspective [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2021, 11(4): a038547
- [14] HOFFMANN E, NEUMANN G, KAWAOKA Y, et al. A DNA transfection system for generation of influenza A virus from eight plasmids [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(11): 6108–6113
- [15] AMATO K A, HADDOCK L A, BRAUN K M, et al. Influenza A virus undergoes compartmentalized replication *in vivo* dominated by stochastic bottlenecks [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 3416
- [16] 孙 瑾, 石岩刚, 董铭心, 等. 反向遗传学技术在流感病毒减毒活疫苗研究中的应用进展[J]. *生物技术通讯*, 2020, 31(3): 314–318
- SUN J, SHI Y G, DONG M X, et al. Application progress of reverse genetic technique on development of live attenuated influenza virus vaccine [J]. *Letters in Biotechnology*, 2020, 31(3): 314–318
- [17] FUJII Y, GOTO H, WATANABE T, et al. Selective incorporation of influenza virus RNA segments into virions [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(4): 2002–2007
- [18] MOSTAFA A, KANRAI P, PETERSEN H, et al. Efficient generation of recombinant influenza A viruses employing a new approach to overcome the genetic instability of HA segments [J]. *PLoS One*, 2015, 10(1): e0116917
- [19] BHAT S, BIALY D, SEALY J E, et al. A ligation and restriction enzyme independent cloning technique: an alternative to conventional methods for cloning hard-to-clone gene segments in the influenza reverse genetics system [J]. *Virology*, 2020, 17(1): 82
- [20] MALIK T, KLENOW L, KARYOLAIMOS A, et al. Silencing transcription from an influenza reverse genetics plasmid in *E. coli* enhances gene stability [J]. *ACS Synth Biol*, 2023, 12(2): 432–445
- [21] WILLE M, HOLMES E C. The ecology and evolution of influenza viruses [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2020, 10(7): a038489
- [22] ENGELHARDT O G. Many ways to make an influenza virus-review of influenza virus reverse genetics methods [J]. *Influenza Other Respir Viruses*, 2013, 7(3): 249–256
- [23] World Health Organization. WHO expert committee on biological standardization: sixty-ninth report [R]. Geneva: World Health Organization, 2019: 179–182
- [收稿日期] 2024-08-20
(本文编辑: 陈汐敏)

(上接第300页)

- [17] AIELLO V, ASTOLFI N, GRUPPIONI R, et al. Paracentric inversion of Yq and review of the literature [J]. *Genet Couns*, 2007, 18(4): 379–382
- [18] MUSILOVA P, KADLICKOVA D, HRADSKA H, et al. Chromosome damage in regions with different levels of air pollution [J]. *Environ Mol Mutagen*, 2023, 64(6): 326–334
- [19] XIE X, LI F, TAN W, et al. Analysis of the clinical features of pericentric inversion of chromosome 9 [J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(9): 300060520957820
- [20] VERMA R S, KLEYMAN S M, CONTE R A. An unusual G-negative band within Iqh region a rare variant or an abnormality? [J]. *Ann Genet*, 1997, 40(4): 229–231
- [21] 詹绪新, 朱红丽, 张 祥, 等. 染色体多态性对体外受精-胚胎移植患者助孕结局的影响 [J]. *中华男科学杂志*, 2023, 29(10): 916–921
- ZHAN X X, ZHU H L, ZHANG X, et al. Effect of chromosomal polymorphisms on reproductive outcomes of in vitro fertilization-embryotransfer [J]. *National Journal of Andrology*, 2023, 29(10): 916–921
- [22] MARTÍNEZ-PASTOR F, MATA-CAMPUZANO M, ALVAREZ-RODRÍGUEZ M, et al. Probes and techniques for sperm evaluation by flow cytometry [J]. *Zuchthygiene*, 2010, 45(Suppl 2): 67–78
- [23] HUANG C, WANG Q L, WU H L, et al. Genetic testing of sperm donors in China: a survey of current practices [J]. *Front Endocrinol*, 2023, 14: 1230621
- [收稿日期] 2024-08-13
(本文编辑: 戴王娟)