: 30 3 2003
Kor. J. Fertil. Steril., Vol. 30, No. 3, 2003, 9

# 형광직접보합법을 이용한 미배양 양수세포에서 산전 이수배수체 확인

서울대학교 의과대학 의학연구원 인구의학연구소[1], 산부인과학교실[2]

설혜원[1] · 고희정[1] · 송남희[1] · 김숙령[1] · 이화진[1] · 오선경[1,2]
박중신[2] · 전종관[2] · 윤보현[2] · 신희철[2] · 문신용[1,2]

# Prenatal Aneuploidy Detection in Uncultured Amniotic Fluid Interphase Cells by Fluorescence in situ Hybridization (FISH)

**Hye Won Seol[1], Hee Jung Ko[1], Nam Hee Song[1], Sook Ryoung Kim[1], Hwa Jin Lee[1], Sun Kyung Oh[1,2], Joong Shin Park[2], Jong Kwan Jun[2], Bo Hyun Yoon[2], Hee Chul Syn[2], Shin Yong Moon[1,2]**

*[1]Institute of Reproductive Medicine and Population, Medical Research Center, [2]Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea*

**Objective:** The aim of the present study was to evaluate the clinical efficiency of fluorescent in situ hybridization (FISH) in the prenatal diagnosis of chromosomal aneuploidy.

**Methods:** We reviewed data of 268 cases to identify women undergoing genetic amniocentesis at cytogenetic laboratory, from January 2000 to December 2002. Amniotic fluid was submitted for both rapid FISH on uncultured interphase amniocytes using a commercially available DNA probe for chromosome 13, 18, 21, X, Y and standard karyotyping on cultured metaphase amniocytes. Results from FISH and full karyotype were compared.

**Results:** There were 251 cases (84%) normal and 17 cases (16%) abnormal in FISH results. All 17 cases of trisomy 13, 18, 21 including two cases of mosaicism and sex chromosome aneuploidies which are detected by FISH were confirmed with conventional cytogenetics and there was no false positive result. Twenty two cases had karyotypically proven abnormalities that could not have been detected by the targeted FISH.

**Conclusion:** Interphase FISH analysis of uncultured amniotic fluid cells has been shown to be an effective and reliable technique for rapid fetal aneuploidy screening during pregnancy as an adjunctive test to conventional cytogenetics.

**Key Words:** Prenatal genetic diagnosis, Aneuploidy, FISH

임신 중 태아 염색체 이상의 산전 진단은 초음파 검사에서 이상 소견이 나타나거나 모체 혈청 검사 결과 양성 판정 및 산모의 고연령 등과 같은 사유로 시행된다. 태아의 염색체 검사는 환자가 임신중이기 때문에 그 결과가 확인되기까지 기다리는 동안 치료를 목적으로 하는 임신 종결 등이 요구되는

주관책임자: 문신용, 우) 110-744 서울특별시 종로구 연건동 28, 서울대학교 의과대학 산부인과학교실
Tel: (02) 760-2384, Fax: (02) 3672-7601, e-mail: shmoon@snu.ac.kr
이 논문은 1997년도 서울대학교병원 일반연구비 (04-97-020-0) 지원에 의하여 이루어진 것임.

경우 환자의 정신적 불안과 심적 부담이 매우 커서 시간의 단축이 중요하다. 그러나 분석 가능한 충분한 수의 세포 분열 중기세포를 획득하고 정확한 염색체 이상 판별을 시행하기 위해서는 적어도 7일에서 10일 이상 세포 배양 시간이 소요된다. 이에 많은 연구자들이 신속한 결과 확인을 위해 여러 가지 방법들을 연구하였고, 그 중 염색체 특이 형광 소식자 (probe)를 이용한 형광직접보합법 (Fluorescence in situ hybridization; 이하 FISH로 약함)이 태아 염색체 수적 이상의 산전 진단에 많이 이용되고 있다.

FISH는 임상 세포유전학에 분자유전학적 방법이 강화된 신속하고 정확한 분석 방법으로 소개되었다.[1,2] 1980년대 후반부터 1990년대 전반에는 이 분석 방법 이용에 적합한 특이 소식자 생산과 적절한 세포 형태의 결정 및 보다 효과적인 세포 준비 기술과 그 신호 확인 (signal detection)을 위한 연구가 활발하였다.[3] 이러한 노력의 결과로 상업적으로 이용 가능한 매우 특이적이고 정확한 소식자 생산 및 여러 색깔을 이용한 컴퓨터 분석 등의 기술적인 진보가 이뤄졌다.[4,5]

태어난 염색체 이상아의 65% 정도가 단지 5개의 염색체 즉 13, 18, 21, X와 Y 염색체의 이수성으로 보고되었다.[6-8] 그리고 FISH는 세포 분열 중기세포뿐만 아니라 간기세포에서 특별한 염색체 개수의 빠른 확인에 매우 효과적이라는 보고가 있었고,[9,10] 그 분석 방법의 신속성과 정확성으로 미배양 양수세포에서도 이용되어졌다.[11] 미배양 양수세포에서 13, 18, 21, X와 Y 염색체의 특이 소식자를 이용한 FISH 분석은 24시간 이내 80% 이상의 정확성으로 그 결과 확인이 가능하다.[12~15]

본 연구는 268예의 미배양 양수세포에서 시행된 FISH 결과와 양수세포 배양 후 시행된 일반적인 세포유전학적 검사 결과를 비교 분석하여 태아의 이수성 염색체 산전 진단에 FISH 적용의 유용성을 보고하고자 하였다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

2000년 1월부터 2002년 12월까지 모체 혈청 검사 양성 결과와 초음파 검사 결과 이상 소견 등의 사유로 태아의 이수성 염색체가 의심되어 FISH 분석이 의뢰되어진 268명의 산모를 연구 대상으로 하였다.

### 2. 연구 방법

#### 1) 세포유전학 분석

양수 20 ml을 두 개의 conical tube에 10 ml 씩 나누어 담은 뒤 1,000 rpm에서 8분간 원심분리한 후 flask 배양과 in situ 배양을 병행하였다. 원심분리 후 상층액을 제거한 뒤 한 tube의 침전물에는 3 ml의 배양액을 첨가하여 25 $cm^2$ cell culture flask에 분주하고 다른 하나의 tube에는 1.5 ml의 배양액을 첨가하여 섞어서 in situ dish에 분주하여 각각 37℃, 5% $CO_2$ 배양기에서 배양하였다.

Flask의 경우 일주일간 배양한 후 3일 간격으로 도립현미경 (inverted microscope, Olympus)에서 관찰하면서 배양액을 교환하거나 추가 배양하였다. In situ dish는 이틀 후 2 ml의 배양액을 첨가한 후 3일 간격으로 현미경하에서 확인하면서 배양액을 교환하거나 추가 배양하였다. 각각 colony가 3~4개 이상이고 세포 수가 충분해지면 계대 배양하거나 harvest를 시행하였다.

Harvest 시 flask는 colcemid 100 μl (10 μg/ml)을 점적하여 탄산가스 배양기에서 2시간 30분 동안 추가 배양하고 scraper를 이용하여 세포를 flask 바닥에서 긁어낸 후 세포 부유액을 만들어 원심분리하여 상층액을 제거하고 침전물에 0.075 M KCl 저장액을 넣고 20분간 중탕한 후 0.5 ml Canoy's 고정액 (Methanol : Acetic acid = 3 : 1)을 넣어 방치한 후 다시 원심분리하였다. 원심분리 후 상층액을 제거하고 침전물에 고정액을 넣어 잘 섞어주고 30분 이상 냉장보관하는 과정을 2회 반복하였다. 고정 후 얻은 세포로 슬라이드를 만들고 60℃ 건조기에서 1시간 건조시켰다.

In situ 배양의 경우 colcemid 용액 80 μl를 점적하여 50분간 탄산가스 배양기에서 추가 배양하였고, 0.0375 M KCl 저장액을 20분간 처리한 후 0.5 ml Canoy's 고정액을 2분간 처리하였다. 고정액으로 3회 고정하여 얻은 세포로 슬라이드를 만들어 건조기에서 1시간 건조시켰다. 준비된 슬라이드는 Giemsa (G bands by trypsin using Giemsa; GTG) 염색한

후 한 환자 당 30개 이상의 세포 분열 중기세포를 현미경하에서 핵형 분석하였고, 각 환자 당 3개에서 5개의 중기 핵형을 염색체 자동 분석 시스템 (Chips, GenDix, Korea)에서 핵형 분석하였다.

염색체 결과의 표기법은 1995년 International System for human Cytogenetic Nomenclature (ISCN)의 명명 규약을 따랐다.

2) 형광직접보합 분석

(1) 슬라이드 제작

양수 2 ml을 15 ml conical tube에 넣어 1,250 rpm에서 8분간 원심분리한 후 그 상층액은 제거하고 남은 침전물에 0.05% trypsin/EDTA 3 ml을 혼합하여 잘 섞어서 37℃ 배양기에서 약 20분간 중탕하였다. 중탕이 끝나면 1,250 rpm에서 8분간 원심분리하고, 상층액은 제거하고 침전물에 0.075 M KCl 저장액으로 섞어준 후 37℃ 배양기에서 약 20분간 중탕하였다. 시간이 지나면 Canoy's 고정액을 5 ml 넣어 부드럽게 위아래로 흔들어 잘 섞어준 후 1,250 rpm에서 8분간 원심분리하여 상층액을 제거하고 침전물은 고정액으로 강하게 섞어준 후 30분 이상 냉장보관하여 위의 고정 과정을 2회 반복하였다. 원심분리 후 상층액은 버리고 남은 침전물을 고정액으로 미리 씻어서 건조시킨 후 67℃ humid chamber에 넣어놓은 슬라이드 위에 25 μl 정도 떨구어 10분간 건조시켰다. 만들어진 슬라이드는 위상차 현미경 (Zeiss)에서 양수세포의 분포 정도를 확인한 후 56℃ heat block에서 30분 이내로 건조하였다.

(2) 슬라이드 전처리

준비된 슬라이드는 37℃의 2×SSC 용액에서 1시간 방치한 후에 37℃ pepsin 용액에서 13분, 상온의 PBS중에서 5분, post fixative formaldehyde (1%) 용액에서 5분, PBS에서 5분의 순서로 처리한 후 공기건조하였다. 슬라이드는 70%, 85%, 100%의 에탄올 용액에서 각각 1분씩 탈수 과정을 거쳐 다시 상온 건조하였다.

(3) 소식자 적용

확인하고자 하는 염색체 특이 소식자 혼합액을 두 개의 소식자일 경우 각각 0.5 μl, $H_2O$ 0.5 μl, 보합 완충액을 3.5 μl 넣은 총 5 μl를 준비하여 전처리가 끝난 준비된 슬라이드 위의 양수세포가 있는 부위를 표시한 위치에 떨어뜨리고 cover glass를 기포가 생기지 않도록 덮어준 후, rubber cement로 cover glass 주변을 처리하였다. 슬라이드 위의 형광 표식자와 염색체 변성 (denaturation) 및 보합 (hybridization)은 HYBrite™ Denaturation/Hybridization을 이용하였다. HYBrite는 양쪽 홈에 물에 젖은 거즈를 넣어 작동 시 습기가 일정하게 유지될 수 있도록 하였고, 변성은 75℃에서 2분, 보합은 37℃에서 16시간 이상 진행되도록 하였다.

본 연구에서는 VYSIS 회사의 13 (LSI 13 (13q14) SpectrumGreen), 18 (CEP 18 (alpha satellite D18Z1) SpectrumOrange), 21 (LSI 21 (D21S259, D21S341, D21S342) SpectrumOrange), X (CEP X SpectrumOrange/Green (alpha satellite))와 Y (CEP Y (satellite III) SpectrumGreen/Orange, LSI SRY (Yp11.3) SpectrumOrange) 염색체의 형광 소식자를 이용하였으며 의뢰 사유에 따라 소식자를 혼합하여 사용하였다.

(4) 형광 신호 확인

보합 과정이 끝나면 슬라이드 위의 보합되지 않고 남아있는 소식자 혼합물 및 그 외 다른 이물질의 제거 등을 위해 슬라이드 위의 cover glass를 제거하여 42℃의 50% formamide/2×SSC (pH 7.0) 용액으로 3회, 2×SSC/0.1% NP-40 용액으로 1회 각각 5분씩 슬라이드를 세척하였다. Antifade (5 μg/ml)-DAPI (20 μg/ml)로 counterstaining 한 후 형광현미경하에서 검경하였다. 실험 결과의 분석은 Chips-FISH (GenDix, Korea) 프로그램을 이용하였고, 50개 이상의 간기세포를 관찰하였다.

## 결 과

2000년 1월부터 2002년 12월까지 양수 검사가 의뢰된 경우는 모두 794예였고, 이중 268예에서 일반적인 세포유전학 검사와 FISH 분석이 함께 시행되었다. 일반적인 세포유전학 분석 결과는 핵형 분석이 가능한 충분한 수의 중기세포를 얻기 위해 양수세포를 배양해야 하기 때문에 7일에서 10일 정도의 시간이 소요되었고, FISH에 의한 간기세포에서의 이수성 염색체 확인은 대략 24시간 이내에 모두 확인되었다.

태아 염색체 검사 의뢰 당시 산모의 임신 주수는 17~18주가 268예 중 145예 (54%)로 가장 많았고,

그 다음으로 15~16주와 19~20주가 각각 53예로 대략 20% 정도였다 (Table 1).

FISH 분석이 시행된 염색체 검사 사유로는 모체 혈청 검사 결과 양성 판정의 경우가 135예로 50% 이상을 차지하였고, 다운 증후군 위험의 수치가 높은 경우가 87예로 32%, 이전 가족력이 33예로 12%, 초음파상 이상이 11예로 4%였다 (Table 2).

FISH로 확인된 염색체 수적 이상은 모두 17예 (6%)이었고, 이중 14예 (82%)가 21번 (7예), 18번 (6예), 13번 (1예)과 같은 상염색체 수적 이상이었고, 3예 (18%)가 47,XXY (2예)와 47,XYY (1예)의 성염색체 수적 이상이었다 (Table 3).

이와 같은 이수성 염색체 결과는 일반적인 세포유전학 핵형 분석에서 다시 확인되었고, 모두 정확한 결과임을 확인하였다. 하지만 세포유전학 검사에서는 FISH에서 확인된 13, 18, 21, X와 Y 염색체

**Table 1.** Gestational age at amniocentesis

| Gestational age | No. of cases (%) |
|---|---|
| 11~12 | 2 (0.74) |
| 13~14 | 3 (1.12) |
| 15~16 | 53 (19.78) |
| 17~18 | 145 (54.10) |
| 19~20 | 53 (19.78) |
| 21~22 | 6 (2.24) |
| 23~24 | 5 (1.87) |
| 25~26 | 0 (0.00) |
| 27~28 | 1 (0.37) |
| Total | 268 (100.00) |

**Table 2.** Indications for prenatal interphase FISH studies

| Indications | No. of cases (%) |
|---|---|
| Positive maternal serum screening | 135 (50.37) |
| High Down risk | 87 (32.46) |
| Previous anomaly | 33 (12.31) |
| Abnormal ultrasound findings | 11 (4.11) |
| Others | 2 (0.75) |
| Total | 268 (100.00) |

**Table 3.** Numerical chromosomal anomalies detected by FISH

| Numerical chromosomal anomalies | Indications | No. of cases | Total (%) |
|---|---|---|---|
| Autosome | | | 14 (82.35) |
| trisomy 21 | high Down risk | 4 | |
| | positive maternal serum screening | 2 | |
| trisomy 18 | abnormal ultrasonography | 3 | |
| | high Down risk | 1 | |
| | positive maternal serum screening | 1 | |
| trisomy 13 | positive maternal serum screening | 1 | |
| Mosaicism* | | | |
| trisomy 21 | abnormal ultrasonography | 1 | |
| trisomy 18 | abnormal ultrasonography | 1 | |
| Sex chromosome | | | 3 (17.65) |
| 47,XXY | positive maternal serum screening | 1 | |
| | high Down risk | 1 | |
| 47,XYY | positive maternal serum screening | 1 | |
| Total | | | 17 (100.00) |

*; detected as trisomy by FISH and confirmed as mosaicism by conventional karyotyping.

**Table 4.** Chromosomal anomalies and normal variants not detected by FISH in the uncultured amniotic fluid cells

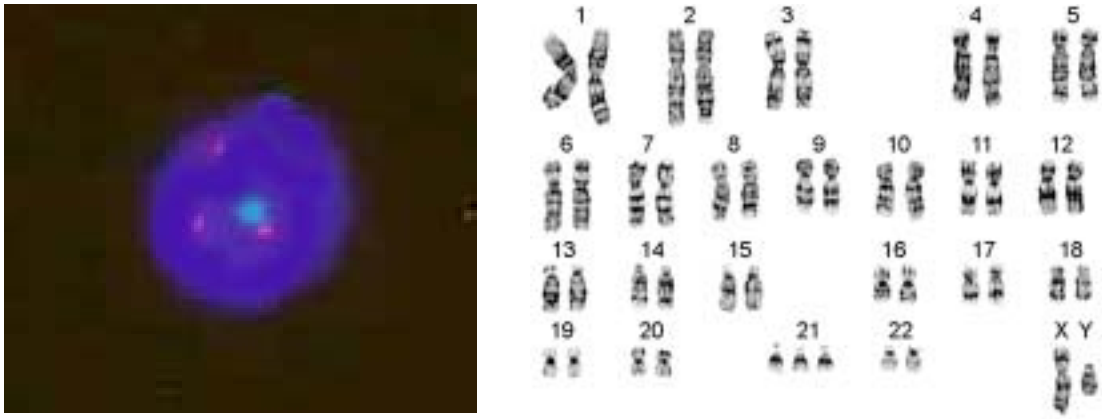
| Indications | Karyotype | FISH result | No. of cases | Total (%) |
|---|---|---|---|---|
| Positive maternal serum screening | | | | 14 (63.64) |
| | 46,XX,inv(9) | normal female | 8 | |
| | 46,XY,inv(9) | normal male | 1 | |
| | 46,XX,der(19)t(12;19) | normal female | 1 | |
| | 46,XY,inv(3) | normal male | 1 | |
| | 46,XY,t(6;12) | normal male | 1 | |
| | 46,XX,t(1;2) | normal female | 1 | |
| | 46,XY,t(4;6) | normal male | 1 | |
| Previous anomaly | | | | 4 (18.18) |
| | 46,XX,inv(9) | normal female | 1 | |
| | 47,XX,+mar | normal female | 1 | |
| | 46,XX,t(16;17) | normal female | 1 | |
| | 46,XY,t(1;11) | normal male | 1 | |
| High Down risk | | | | 4 (18.18) |
| | 46,XY,inv(9) | normal male | 2 | |
| | 46,XY,inv(2) | normal male | 1 | |
| | 46,XX,22s+ | normal female | 1 | |
| Total | | | 22 | 22 (100.00) |

의 수적 이상 이외에 22예의 각기 다른 여러 가지 염색체의 역위와 전좌와 같은 구조적 이상까지 확인되었다 (Table 4). 또한 1예에서 marker 염색체를 포함한 염색체 수적 이상과, FISH에서 trisomy 21과 trisomy 18로 확인되었던 각각의 1예에서 47,XX,+21/46,XX와 47,XX,+18/46,XX의 모자이시즘이 확인되었다.

Figure 1 (A)는 FISH에서 LSI 21 소식자를 이용한 trisomy 21 확인 결과이고, Figure 1 (B)는 같은 양수 세포의 세포유전학 분석 결과이다. Figure 2 (A)는 FISH에서 정상으로 확인되었지만, Figure 2 (B)에서는 염색체 상호 전좌가 확인된 결과이다.

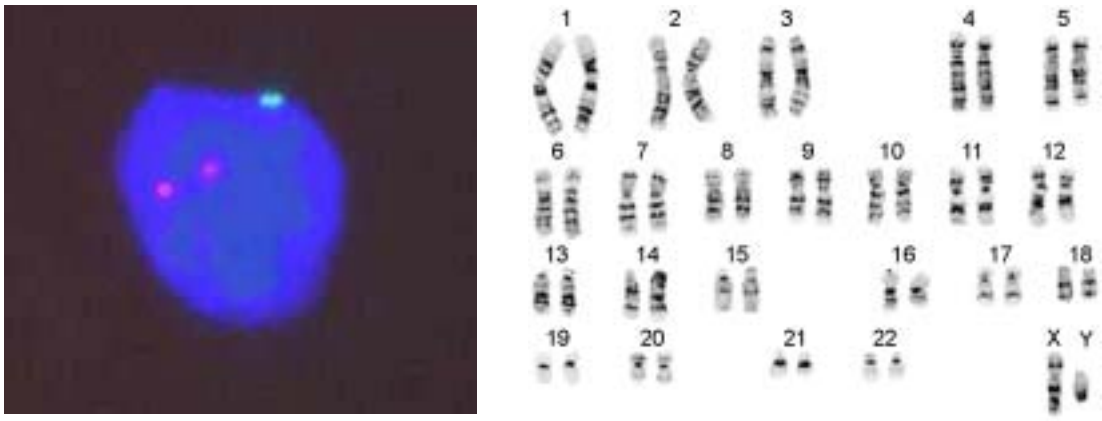
## 고 찰

일반적인 세포유전학 염색체 분석은 염색체 수적 이상 뿐만 아니라 재배열과 같은 구조적 이상까지 확인할 수 있기 때문에 임상적인 이상 소견의 원인 분석에 유용하다. 하지만 정확한 분석이 수행되기 위해서는 충분한 개수의 중기세포를 획득해야 하므로 오랜 기간의 세포 배양 시간이 소요된다. 따라서 태아의 산전 진단 시 치료를 목적으로 하는 어떠한 조치가 필요할 경우 어느 정도 치료 가능한 임신 주수에 임박한 산모는 정신적인 스트레스와 심리적 불안이 매우 크고, 염색체 검사를 의뢰한 의뢰자 또한 심리적 부담이 크다.[16] 미배양된 양수의 간기 세포와 특이 염색체 DNA 형광 소식자의 보합을 통한 FISH 분석법은 24시간에서 48시간 이내에 사용된 소식자에 의해 특이 염색체 개수를 분명하게 확인할 수 있어 신속한 태아의 산전 진단에 많이 이용되고 있다.[17~19] 특히 태아 이수배수체 이상의 대부분으로 알려져 있는 13, 18, 21, X와 Y 염색체의 경우 과거 실험실에서 소식자 자체 생산 및 적용 조건의 개발과 같은 여러 가지 어려움으로 그 실용화가 지연된 것을 극복하고 이제는 매우 다양한 염색체 특이 소식자들의 개발과 상업적 판매가 이루



A B

**Figure 1. (A)** Interphase nucleus of the uncultured amniotic fluid cell hybridized with a specific probe for chromosome 21 showing 3 red signals indicating trisomy 21. Green signal is chromosome X. **(B)** Result of chromosomal analysis for **(A)**: 47,XY,+21.



A B

**Figure 2. (A)** Interphase nucleus of the uncultured amniocyte after FISH shows two red (chromosome 21) signals and one green (chromosome X) signal. **(B)** Result of chromosomal analysis for **(A)**: 46,XY,t (1;3).

어져 의뢰 사유에 따라 적절한 형광 소식자를 혼합하여 사용할 수 있게 되었고, 산전 진단 이용율의 증가 및 산모들의 선호도도 증가하는 추세로 비교적 보편화되고 있다.[20~22]

그러나 미배양 양수세포에서 산전 진단을 위한 FISH의 이용 시 적어도 30개에서 50개 이상의 간기 세포에서 형광 신호를 확인해야 하고, 어떠한 치료적 조치를 행해야 하는 경우 FISH 결과 단독으로는 판단의 기준으로 부족하며 반드시 일반적인 세포유전학 분석이 수행되어 그 결과를 재확인한 후에 조치가 시행되어져야만 한다.[23]

Leung 등[16]은 FISH를 통한 태아 이수성 염색체 산전 진단과 산모의 임신 주수와의 관계를 보고하였는데 보통 14주부터 40주로 넓은 범주에서 이용되었으나 특히 18주에서 23주 사이가 많았고 그 중 22주가 가장 많았다. 이것은 아마도 FISH의 신속성을 이용하여 치료적 차원의 어떠한 조치가 가능한 임신 주수 내에서의 결과 확인을 위한 것으로 보여진다. 또한 이 보고에서는 초음파상 이상이 가장 많은 검사 의뢰 사유였고 역시 FISH를 통해 가장 많

은 비정상적인 이수배수체 결과가 이 사유 내에서 확인되었다. 이렇게 FISH에서 이수배수체가 확인된 산모의 52% (26/50)는 세포유전학 핵형 분석 결과를 확인하기 전 임신 종결을 원했고, 22% (11/50)가 세포유전학 검사 결과 확인 후 임신 종결하였다. 본 연구에서는 앞서 보고된 것과 다르게 17~18주(54%)의 산모에서 FISH 분석이 가장 많이 수행되었고, 그 의뢰 사유로는 모체 혈청 검사 결과 양성 판정이 50%로 가장 많았고, 초음파 검사 결과 이상은 4%이었다. 검사 의뢰 사유 중 다운 증후군 고위험도의 경우는 환자의 노산 및 가족력 등을 검사하여 의뢰자가 기록한 것을 정리한 것이다.

FISH에 의한 특이 염색체 이수배수체의 확인은 그 결과의 특이도가 거의 100%에 이르지만 이 분석법의 경우 확인하고자 하는 특이 염색체 소식자만을 사용하기 때문에 처음에 모든 염색체의 소식자를 사용하지 않는 경우는 염색체 전좌와 역위와 같은 구조적 이상을 판별하기가 어렵다.[24~26] 본 연구에서는 FISH와 세포유전학 분석을 병행하였고 그 결과 22예에서 FISH에서 분석되지 못한 염색체 전좌 및 역위와 염색체 다형성이 확인되었으며 그 중 marker 염색체를 포함한 47개의 염색체를 가진 1예가 확인되었다. 이 경우 부모 염색체 검사를 통해 동일한 marker 염색체가 아버지에게서 확인되었고 NOR 염색으로 satellite stalk으로 분석되었다. 추후 이 marker 염색체의 기원 염색체를 찾기 위해 acrocentric 염색체의 특이 소식자를 이용하여 FISH를 수행할 계획이다. 또한 핵형의 모자이시즘의 경우 되도록 많은 수의 간기 핵을 관찰해야만 정확한 진단이 가능하므로 FISH 시행 시 간기 핵의 개수도 중요하다고 할 수 있겠고, 염색체 특이 소식자의 교합 시 그 소식자의 질과 강도에 따라 false-positive 혹은 false negative의 결과를 보일 수 있기 때문에 결과 판독 시 유의해야 하겠다.[21] 본 연구에서도 trisomy 18과 trisomy 21에서 각각 1예씩의 모자이시즘이 FISH와 세포유전학 분석을 통해 정확하게 확인되었다.

본 연구실에서는 FISH를 통해 45,X나 marker 염색체를 가진 여자 환자에서 SRY 유전자를 확인한 경험이 있는데 이것은 통상적인 세포유전학적 염색체 검사에서는 알아낼 수 없는 결과로서 FISH 검사만이 가진 또 하나의 중요한 장점이라 할 수 있다. 또한 염색체 전좌와 같은 염색체 구조적 이상을 가진 환자들에게는 FISH를 이용한 착상 전 유전 진단(Preimplantation Genetic Diagnosis; PGD)을 통해 정상적인 임신이 가능하도록 한 바 있으며, 이에 관한 연구가 보고된 바 있다.[27,28]

이처럼 FISH는 그 결과 확인의 신속성과 정확성으로 산전 이수배수체 확인에 매우 유용할 뿐 아니라 Cri-du-chat 증후군 및 DiGeorge 증후군과 같은 미세 결손 증후군의 분석도 가능하다. 앞으로 좀더 다양한 특이 형광 소식자의 개발과 검사 방법의 단순화 및 한번에 더 많은 형광 소식자의 적용을 통한 분석으로 FISH는 태아 염색체 산전 진단에 특정 염색체 수 뿐만 아니라 또한 특이 유전 질환에 대한 독립적인 진단 검사법으로도 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

## 참 고 문 헌


1. Cremer T, Landegent J, Bruckner A, Scholl HP, Schardin M, Hager HD, et al. Detection of chromosome aberrations in the human interphase nucleus by visualization of specific target DNAs with radioactive and non-radioactive in situ hybridization techniques: diagnosis of trisomy 18 with probe L 1.84. Hum Genet 1986; 74: 346-52.
2. Julien C, Bazin A, Guyot B, Forestier F, Daffos F. Rapid prenatal diagnosis of Down syndrome with in-situ hybridization of fluorescence DNA probes. Lancet 1986; 2: 863-4.
3. Philip J, Bryndorf T, Christensen B. Prenatal aneuplodiy detection in interphase cells by fluorescence in situ hybridization (FISH). Prenat Diagn 1994; 14: 1203-15.
4. Divane A, Carter NP, Spathas DH, Ferguson-Smith MA. Rapid prenatal diagnosis of aneuploidy from uncultured amniotic fluid cells using five-colour fluorescence in situ hybridization. Prenat Diagn 1994; 14: 1061-9.
5. Jalal SM, Law ME, Carlson RO, Dewald GW. Prenatal detection of aneuploidy by directly labeled

multicolored probes and interphase fluorescence in situ hybridization. Mayo Clin Proc 1998; 73: 132-7.
6. Rhoads GG, Jackson LG, Schlesselman SE, de la Cruz FF, Desnick RJ, Golbus MS, et al. The safety and efficacy of chorionic villus sampling for early prenatal diagnosis of cytogenetic abnormalities. N Eng J Med 1989; 320: 609-17.
7. Robinson A, Bender BG, Linden MG, Salbenblatt JA. Sex chromosome aneuploidy: the Denver prospective study. Birth Defects 1990; 26: 59-115.
8. Whiteman DAH, Klinger K. Efficiency of rapid in situ hybridization methods for prenatal diagnosis of chromosome abnormalities causing birth defects. Am J Hum Genet 1991; 49: A1279.
9. Cremer T, Lichter P, Borden J, Ward DC, Manuelidis L. Detection of chromosome aberrations in metaphase and interphase tumor cells by in situ hybridization using chromosome-specific library probes. Hum Genet 1988; 80: 235-46.
10. Lichter P, Cremer T, Tang CC, Watkins PC, Manuelidis L, Ward DC. Rapid detection of human chromosome 21 aberrations by in situ hybridization. PNAS 1988; 85: 9664-8.
11. Klinger K, Landes G, Shook D, Harvey R, Lopez L, Locke P, et al. Rapid detection of chromosome aneuploidies in uncultured amniocytes by using fluorescence in situ hybridization (FISH). Am J Hum Genet 1992; 51: 55-65.
12. D'Alton ME, Malone FD, Chelmow D, Ward BE, Bianchi DW. Defining the role of fluorescence in situ hybridization on uncultured amniocytes for prenatal diagnosis of aneuploidies. Am J Obstet Gynecol 1995; 176: 769-76.
13. Eiben B, Trawicki W, Hammans W, Goebel R, Pruggmayer M, Epplen JT. Rapid prenatal diagnosis of aneuploidies in uncultured amniocytes by fluorescence in situ hybridization. Fetal Diagn Ther 1999; 14: 193-7.
14. Estabrooks LL, Sapeta M, Lytle C, et al. Prenatal interphases FISH using the AneuVysion probe set in over 10,000 samples. Am J Hum Genet 1999; 65: A162.
15. Evans MI, Henry GP, Miller WA, Bui TH, Snidjers RJ, Wapner RJ, et al. International, collaborative assessment of 146,000 prenatal karyotypes: expected limitations if only chromosome-specific probes and fluorescent in-situ hybridization are used. Hum Reprod 1999; 14: 1213-6.
16. Leung WC, Chitayat D, Seaward G, Windrim R, Ryan G, Barrett J, et al. Role of amniotic fluid interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) analysis in patient management. Prenat Diagn 2001; 21: 327-32.
17. Witters I, Devriendt K, Legius E, Matthijs G, Van Schoubroeck DV, Assche FA, et al. Rapid prenatal diagnosis of trisomy 21 in 5049 consecutive uncultured amniotic fluid samples by fluorescence in situ hybridization (FISH). Prenat Diagn 2002; 22: 29-33.
18. Lim HJ, Kim YJ, Yang JH, Kim EJ, Choi JS, Jung SH, et al. Amniotic fluid interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) for detection of aneuploidy; Experiences in 130 prenatal cases. J Korean Med Sci 2002; 17: 589-92.
19. Kim JI, Rhee JH. Role of multicolor fluorescence in situ hybridization (FISH) in simultaneous detection of probe sets for chromosome 18, X and Y in unculutred amniotic fluid cells. J Korean Med Sci 1999; 14: 438-42.
20. Graf MD, Gill P, Krew M, Schwartz S. Prenatal detection of structural abnormalities of chromosome 18: associations with interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) and maternal serum screening. Prenat Diagn 2002; 22: 645-8.
21. Feldman B, Ebrahim SAD, Hazan SL, Gyi K, Johnson MP, Johnson A, et al. Routine prenatal diagnosis of aneuploidy by FISH studies in high-risk pregnancies. Am J Med Genet 2000; 90: 233-8.
22. Pergament E, Chen PX, Thangavelu M, Fiddler M. The clinical application of interphase FISH in prenatal diagnosis. Prenat Diagn 2000; 20: 215-20.
23. American College of Medical Genetics. Prenatal

interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) policy statement. Am J Hum Genet 1993; 53: 526-7.
24. Fiddler M, Frederickson MC, Chen PX, Pergament E. Assessment of fetal status in multiple gestation pregnancies using interphase FISH. Prenat Diagn 2001; 21: 196-9.
25. Morris A, Boyd E, Dhanjal S, Lowther GW, Aitken DA, Young J, et al. Two year's prospective experience using fluorescence in situ hybridization on uncultured amniotic fluid cells for rapid prenatal diagnosis of common chromosomal aneuploidies. Prenat Diagn 1999; 19: 546-51.
26. Weremowicz S, Sandstrom DJ, Morton CC, Niedzwiecki CA, Sandstrom MM, Bieber FR. Fluorescence in situ hybridization (FISH) for rapid detection of aneuploidy: experience in 911 prenatal cases. Prenat Diagn 2001; 21: 262-9.
27. 임천규, 한미현, 전진현, 송견지, 김정욱, 박소연 등. 균형 전좌 또는 Robertsonian 전좌 보인자의 체외수정 및 배아이식술에서 형광직접보합법을 이용한 착상전 유전자진단의 임상적 적용. 대한산부회지 2000; 43: 1147-53.
28. 김진영, 임천규, 송인옥, 유근재, 양광문, 한국선 등. 유전질환 및 염색체 이상의 예방을 위한 착상전 유전진단의 결과. 대한불임학회잡지 2002; 29: 269-78.