

Метод мультиплексной амплификации лигированных зондов в диагностике синдрома Марфана

Гусина А.А., Мясников С.О., Гусина Н.Б.

ГУ Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Беларусь, asya.gusina@mail.ru

Приведены результаты использования метода мультиплексной амплификации лигированных зондов в молекулярно-генетической диагностике синдрома Марфана.

Ключевые слова: синдром Марфана, мультиплексная амплификация лигированных зондов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Multiplex ligation-dependent probe amplification in diagnosis of Marfan syndrome

Gusina A.A., Miasnikov S.O., Gusina N.B.

Belorussian State Scientific Practical Center «Mother and child», Minsk, Belarus

The results of multiplex ligation-dependent probe amplification in molecular-genetic diagnosis of Marfan syndrome are reported.

Key words: Marfan syndrome, multiplex ligation-dependent probe amplification.

Синдром Марфана (СМ) — это системное заболевание соединительной ткани с аутосомно-доминантным типом наследования. Распространенность СМ составляет 2—3:10000 [1]. При классической форме СМ поражаются, главным образом, зрительная, сердечно-сосудистая и скелетно-мышечная системы.

В 1991 г. было показано, что причиной СМ являются мутации в гене фибриллина 1 (*FBNI*) [2]. Ген *FBNI* кодирует синтез белка фибриллина 1, который является компонентом микрофибрилл экстрацеллюлярного матрикса. *FBNI* расположен на длинном плече хромосомы 15 в сегменте q21.1. Это один из самых крупных генов человека: полная копия гена включает в себя 65 экзонов, соответствующий транскрипт имеет размер около 10 000 п.н.

Позднее мутации в гене *FBNI* были обнаружены не только при СМ, но и при других наследственных заболеваниях со сходными фенотипическими проявлениями, что позволило объединить все эти нозологии в единую группу с общим названием фибриллинопатии типа 1 [1]. Необходимость дифференциальной диагностики СМ от других фибриллинопатий типа 1 обусловлена высокой вероятностью развития угрожающих жизни осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы (расслаивающей аневризмы аорты) у пациентов с этой патологией. Диагностика СМ основывается на Гентских критериях, последний пересмотр которых состоялся в 2010 году [3]. В соответствии с пересмотренной Гентской нозологией, обнаружение мутаций в гене *FBNI* является столь же значимым критерием для установления диагноза СМ, как и выявление основных клинических признаков синдрома: эктопии хрусталика и расширения аорты.

Для детекции мутаций в гене *FBNI* используют различные методы, ориентированные, прежде всего, на поиск и идентификацию точковых мутаций. Это, несомненно, обосновано, поскольку большинство известных повреждений гена представляет собой однонуклеотидные замены. Вместе с тем, эти методы не позволяют выявлять делеции и дупликации экзонов гена, которые также могут быть причиной СМ.

Метод мультиплексной амплификации лигированных зондов (MLPA) был разработан для детекции крупных перестроек, затрагивающих один или несколько экзонов одного гена или соседних генов. Метод успешно используется для диагностики заболеваний, обусловленных делециями-дупликациями экзонов, таких, как спинальная мышечная атрофия и мышечная дистрофия Дюшенна—Беккера.

В этой работе мы представляем опыт использования метода MLPA для диагностики крупных перестроек гена *FBNI*.

Материал и методы

Группу обследованных составили 62 пациента. У 17 пациентов клинические проявления заболевания полностью удовлетворяли Гентским критериям от 2010 года, у остальных — частично соответствовали Гентской нозологии.

Молекулярную диагностику крупных делеций-дупликаций гена *FBNI* выполняли методом MLPA с применением наборов реагентов P065 (MRC-Holland, lot 0506, 0305, 0205) и P066-A2 (MRC-Holland, lot 0508) в соответствии с рекомендациями производителя. В качестве

материала для исследования использовали образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов методом солевой экстракции [4]. Фрагментный анализ MLPA-продуктов выполняли на генетическом анализаторе ABI Prism 310 (Applied Biosystems). Компьютерную обработку данных проводили относительно референсных образцов ДНК, полученных от здоровых лиц, с использованием программного обеспечения Coffalyser v8 (MRC-Holland). Для исключения мутаций в сайтах лигирования MLPA зондов выполняли прямое секвенирование экзонов гена *FBN1*. Для того чтобы выяснить, являются ли обнаруженные повреждения гена *FBN1* новыми, проводили поиск в базе данных о мутациях гена *FBN1*.

Результаты

По результатам проведенного исследования у двух обследованных пациентов были выявлены делеции экзонов 3 и 49 гена *FBN1*. Данные программы Coffalyser по двум образцам с делециями и по 10 другим образцам представлены в табл. 1 и 2.

Пациент, у которого была обнаружена делеция экзона 3 гена *FBN1*, обратился для уточнения диагноза наследственной дисплазии соединительной ткани в возрасте 17 лет в связи с высоким ростом, арахнодактилией, килевидной деформацией грудной клетки, пролапсом митрального клапана. Симптомы заболевания у этого пациента

Таблица 1

Результаты молекулярной диагностики наличия крупных делеций-дупликаций гена *FBN1* с использованием набора реагентов P065 (MRC-Holland, lot 0506, 0305, 0205)

Проба	Количественное соотношение величин исследуемых и контрольных фрагментов в исследуемых образцах										
	1*	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
TGFBR2 экон 01	1,1	0,91	0,99	1,09	1,12	1,1	0,92	1,11	0,9	1	1,05
TGFBR2 экон 02	1,03	0,96	1,08	0,98	1,02	0,99	1,01	1,03	0,96	0,98	0,97
TGFBR2 экон 03	0,85	0,98	0,94	1,01	0,99	0,97	1	1	0,97	0,97	0,87
TGFBR2 экон 04	0,87	0,96	1,01	1	0,99	0,9	1,03	0,96	0,99	1	0,89
TGFBR2 экон 05	0,84	1	1,09	1	0,99	0,88	0,94	0,97	0,88	0,96	0,87
TGFBR2 экон 06	0,93	0,96	1,01	1,01	1,05	1,1	1,03	1,17	1	1,02	0,91
TGFBR2 экон 07	0,89	0,99	1,09	0,96	0,99	1,09	0,96	1,09	0,94	1	0,88
FBN1 экон 01B	1,04	1,03	0,96	0,94	1,01	1,07	1,04	1,2	1	0,96	0,96
FBN1 экон 03	0,64	0,97	1,05	0,97	0,99	1,02	1	1,12	1	0,99	0,81
FBN1 экон 06	0,83	0,97	0,95	0,96	0,99	0,99	0,97	1,05	0,93	0,97	0,84
FBN1 экон 12	0,9	1	1,01	1,03	1,02	0,97	1,06	1,06	0,99	1,01	0,94
FBN1 экон 14	0,79	0,87	0,96	1,01	0,99	0,9	0,86	1,01	0,91	0,88	0,83
FBN1 экон 15	0,99	0,96	1,03	1,11	0,98	0,94	0,98	0,95	1,02	0,99	0,96
FBN1 экон 18	0,91	1	0,88	1,07	1,01	0,92	1	0,98	1,01	1	0,94
FBN1 экон 19	0,97	1,12	1,09	1,2	1,11	0,99	1,1	1,01	1,12	1,07	1,07
FBN1 экон 21	1,05	0,95	0,96	0,96	1,01	1,06	0,99	1,13	0,93	0,98	1,01
FBN1 экон 24	0,74	1	1,09	0,98	1	1,05	0,96	1,07	0,97	0,98	0,86
FBN1 экон 25	0,93	0,96	1,04	0,96	0,96	0,97	0,92	1,06	0,93	0,93	0,9
FBN1 экон 26	0,94	1,02	1,08	1,01	1,01	0,98	1,01	1,07	0,99	0,99	0,97
FBN1 экон 30	0,85	0,96	1,07	0,97	0,96	0,93	0,93	0,96	0,93	0,97	0,86
FBN1 экон 31	1,03	0,98	1,02	0,98	0,96	0,91	0,93	0,92	0,93	0,96	0,97
FBN1 экон 34	0,94	1,03	1,05	1,05	0,98	0,93	0,97	0,97	0,99	1,02	0,97
FBN1 экон 36	0,89	1,07	1,14	1,06	1,02	0,92	1,04	0,94	1,05	1,07	0,93
FBN1 экон 40	1,07	0,97	1,03	0,94	0,98	1,03	0,93	1,05	0,93	0,96	1,01
FBN1 экон 42	0,94	0,98	1,11	0,99	1,03	1,09	1,02	1,11	1	1,01	0,91
FBN1 экон 46	0,86	0,91	1,03	0,94	0,96	0,95	0,94	1,02	0,93	0,94	0,87
FBN1 экон 47	0,97	0,93	0,97	0,97	0,94	0,91	0,95	0,98	0,94	0,96	0,93
FBN1 экон 50	0,93	0,99	1,1	0,97	0,96	0,94	1,01	0,95	0,99	1,02	0,96
FBN1 экон 53	0,96	1,03	1,08	0,99	0,98	0,91	1,05	0,96	1,01	1,04	0,98
FBN1 экон 56	0,97	1,06	0,8	1,14	1,08	1,06	1,04	1,13	1,11	1,05	0,97

Обсуждение

не удовлетворяли полностью требованиям Гентской классификации. Пациентка, у которой была обнаружена делеция экзона 49, была направлена на обследование в возрасте 25 лет в связи с аневризмой аорты, пролапсом митрального клапана 2—3 степени с признаками миксоматозных изменений створок клапана, пролапсом трикуспидального клапана и гипертрофией миокарда преимущественно задней стенки левого желудочка в сочетании с подвывихом хрусталиков обоих глаз и миопией высокой степени. У пациентки также отмечены высокий рост, характерные дисморфии, «килевидная» грудная клетка, плосковальгусные стопы. Диагноз синдрома Марфана у этой пациентки соответствовал Гентским критериям от 2010 г.

В течение длительного времени крупные перестройки гена *FBN1* считались крайне редкой причиной СМ. В частности до 2007 г. было описано лишь 4 таких случая [5]. В 2002 году были опубликованы первые сведения об МЛРА, технологии предназначенной для детекции делеций-дупликаций экзонов [6]. В 2007 г. Matyas и соавт. впервые использовали этот метод для идентификации мутаций в гене *FBN1* у тех лиц с СМ, у кого поиск точковых мутаций оказался безуспешным, и обнаружили делеции у двух пациентов [7]. С этого момента число сообщений о протяженных делециях-дупликациях в гене *FBN1* постоянно возрастает. В настоящее время база данных о мутациях гена

Таблица 1 (окончание)

Проба	Количественное соотношение величин исследуемых и контрольных фрагментов в исследуемых образцах										
	1*	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>FBN1</i> экон 62	1,09	1,08	1,11	1,13	1	0,94	1,21	0,92	1,14	1,11	1,09
<i>FBN1</i> экон 63	0,92	1,09	1,18	0,98	0,95	1,04	1,06	0,98	1,04	1,08	0,93
с	0,98	0,88	1	1,16	1,12	1,27	0,87	1,08	0,87	1,1	0,98
с	1,03	0,97	1	0,99	0,96	0,89	1	0,85	1,08	1	1,11
с	1,09	0,99	0,89	1,04	0,96	0,84	0,9	1,03	0,96	0,95	1,13
с	0,88	1,04	1,07	1,02	0,97	0,97	1,03	0,93	1,03	1,06	0,92
с	1,26	1,05	1,04	0,96	0,98	1	1,07	0,97	1,04	1,02	1,18
с	1,1	1,01	1,21	0,96	1,04	1,13	1	1,12	1	1,03	1,06
с	0,87	1	0,93	1	1,03	1,1	1,03	1,14	1,01	0,98	0,83
с	0,87	0,96	0,98	1,05	1,02	0,87	0,94	1	0,91	0,99	0,89
с	1	1	1,07	1	1,03	1,12	1,06	1,18	1	0,99	1
с	0,85	1,04	0,91	1,05	1	0,99	0,96	0,99	0,99	0,97	0,87
с	1	0,91	0,99	1,09	1,12	1,1	0,92	1,11	0,9	1	1,04

Примечание. * — образец с делецией экзона 3, с — контрольный фрагмент

Таблица 2

Результаты молекулярной диагностики наличия крупных делеций-дупликаций гена *FBN1* с использованием набора реагентов P066-A2 (MRC-Holland, лот 0508)

Проба	Количественное соотношение величин исследуемых и контрольных фрагментов в исследуемых образцах										
	1*	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>FBN1</i> экон 01	1,01	1	0,95	0,92	1,1	0,97	0,99	1,06	0,99	0,99	1,02
<i>FBN1</i> экон 02	1	1	0,97	0,9	1,08	1,02	0,99	1,03	1,01	1,05	1,02
<i>FBN1</i> экон 04	1,02	1,04	0,96	0,91	1,02	0,98	1	1,01	0,99	1	1,06
<i>FBN1</i> экон 05	0,99	1,05	1	0,92	0,98	0,95	0,98	1,05	0,97	1,03	1,03
<i>FBN1</i> экон 06	0,91	1,01	1,01	1	1,01	0,91	0,96	1	0,99	0,96	0,97
<i>FBN1</i> экон 07	0,95	0,94	1	1	0,99	0,98	0,97	1,05	1,03	0,97	1,05
<i>FBN1</i> экон 08	1,08	0,97	0,98	0,94	1,02	1,04	1,04	0,98	0,99	1,07	1
<i>FBN1</i> экон 09	1,06	1,02	0,99	0,98	1	1,02	0,99	0,99	1,01	1	1,04
<i>FBN1</i> экон 13	0,98	0,91	1,01	1,03	1	1,03	1,04	1	1,02	0,98	1
<i>FBN1</i> экон 16	1,17	1,03	1,04	1,03	0,98	0,98	0,98	0,93	0,94	1,11	1,04
<i>FBN1</i> экон 17	0,87	0,86	1,08	1,12	0,84	0,91	0,94	0,88	1,02	0,89	0,89

FBN1 (UMD-FBN1 mutations database) [8, 9] содержит сведения о 3077 повреждениях, в том числе о 51 крупной перестройке, затрагивающей один или несколько экзонов гена. Таким образом, по сравнению с 2007 годом число известных крупных делеций-дупликаций гена *FBN1* выросло более чем в 10 раз. На долю крупных перестроек приходится 1,7% всех зарегистрированных в UMD-FBN1 mutations database повреждений гена *FBN1*. В исследовании Franken и соавторов процент таких мутаций еще выше — 5,8% [10]. Наиболее частой крупной поломкой гена *FBN1* является его полная делеция, которая может затрагивать и соседние гены. По данным Franken и соавторов, эта мутация обнаруживается у 1,3% пациентов с СМ [10].

Согласно сведениям UMD-FBN1 mutations database, делеции экзона 3 зарегистрированы у 10 пациентов с СМ. В 9 случаях речь идет о протяженных делециях, затрагивающих, в том числе экзон 3, и в одном случае об изолированной делеции экзона 3. Об этом повреждении сообщили Ogawa и соавторы в 2011 г. [11]. UMD-FBN1 mutations database также содержит сведения о шести пациентах с делецией экзона 49 гена *FBN1*. Во всех случаях это крупные перестройки, включающие соседние экзоны.

Крупные поломки в гене *FBN1*, как правило, приводят к развитию классического фенотипа СМ. Однако среди лиц с такими мутациями описаны как пациенты

Таблица 2 (окончание)

Проба	Количественное соотношение величин исследуемых и контрольных фрагментов в исследуемых образцах										
	1*	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>FBN1</i> экон 23	0,99	0,92	1	1,05	0,94	1,01	0,99	0,93	1,02	0,97	0,96
<i>FBN1</i> экон 28	1,02	1	1,03	1,04	0,86	0,96	0,91	0,9	1	0,97	0,99
<i>FBN1</i> экон 29	0,94	0,99	1	1,12	0,89	1,05	0,93	0,86	1,09	0,89	1
<i>FBN1</i> экон 33	1,1	1,02	0,96	1,03	1,05	1,09	1,03	1,01	1	1,02	1,07
<i>FBN1</i> экон 35	1,15	1,07	0,99	0,88	1,09	1,03	1,01	1,05	0,9	1,14	1,08
<i>FBN1</i> экон 38	1,1	1,06	0,96	0,9	1,04	1,04	1	1,06	0,99	1,05	1,11
<i>FBN1</i> экон 41	1,1	1,05	0,97	0,93	1,02	1	1,02	1,04	0,99	1,07	1,06
<i>FBN1</i> экон 43	1,15	1	0,91	0,87	1,15	1,09	1,08	1,02	0,96	1,13	1,03
<i>FBN1</i> экон 44	1,1	1,07	0,98	0,96	1,06	0,99	1,01	1,01	0,95	1,05	1,01
<i>FBN1</i> экон 45	1,05	1,02	1,03	1,03	0,9	0,98	1	0,92	1,01	1,01	1,06
<i>FBN1</i> экон 49	0,44	0,97	1,03	1	0,88	0,88	0,93	1,01	1,02	0,93	0,94
<i>FBN1</i> экон 52	1,04	1	0,99	1	1,01	0,99	1,01	1,01	0,98	1	0,97
<i>FBN1</i> экон 54	0,73	0,92	1,1	1,05	0,81	0,96	0,89	0,99	1,13	0,75	1,01
<i>FBN1</i> экон 55	0,71	0,91	1,1	1,07	0,79	0,85	0,88	0,95	1,11	0,83	0,92
<i>FBN1</i> экон 57	1,05	0,94	1	0,94	0,91	1	1,01	0,91	0,97	1,03	0,98
<i>FBN1</i> экон 58	1,11	1,01	1,01	1,03	1	1,11	1,04	0,98	1,05	1,02	1,04
<i>FBN1</i> экон 60	1,28	1,12	0,91	0,88	1,23	1,24	1,21	1,03	0,95	1,21	1,15
<i>FBN1</i> экон 64	0,98	0,98	1,02	1,09	0,9	1,05	1,01	0,95	1,12	0,92	0,99
<i>FBN1</i> экон 65	0,87	0,88	1,06	1,11	0,83	0,98	0,97	0,9	1,06	0,89	0,94
с	1	0,99	0,94	1,01	1,05	1,08	1,1	0,97	1,01	1,02	0,92
с	1,3	1,06	0,86	0,87	1,28	1,22	1,23	1,03	0,93	1,19	1,04
с	0,83	0,89	1,1	1,14	0,84	0,97	0,93	0,91	1,05	0,84	0,9
с	1,06	1,04	0,92	0,84	1,03	1,01	1,01	1,04	0,92	1,07	1,03
с	1,1	1,02	0,94	0,97	1,12	1,09	1,07	1	0,99	1,08	1
с	0,99	0,97	1,06	1,03	0,87	1,02	0,99	0,92	0,97	1,02	0,92
с	0,85	0,98	1,09	1,16	0,82	0,91	0,89	0,89	1,07	0,9	0,93
с	0,99	0,98	0,87	0,87	1,09	1,04	1,03	1,05	1	1	0,99
с	0,84	0,96	1,02	1,11	0,87	0,98	0,96	0,93	1,07	0,92	0,85
с	0,98	1,03	0,97	0,99	1,04	1,11	1,04	0,99	1,05	0,99	0,98
с	0,84	0,95	1	0,91	1	0,97	1	1,03	0,94	0,98	0,97

Примечание. * — образец с делецией экзона 49, с — контрольный фрагмент

с неонатальным СМ, так и пациенты, лишь частично удовлетворяющие Гентской нозологии [12].

Третий экзон гена *FBN1* кодирует синтез первого EGF-like (epidermal growth factor-like) домена белка. Всего в молекуле фибриллина 1 три таких домена, которые расположены последовательно в N-концевой части белка. У обсуждаемого пациента с делецией экзона 3 гена *FBN1* клинические проявления заболевания относительно мягкие с преимущественным поражением скелета и минимальными изменениями со стороны сердечно-сосудистой системы. Сходную клиническую картину описали Li и соавторы при делеции третьего EGF-like домена фибриллина 1 [12]. Эту мутацию исследователи обнаружили у пациента 49 лет, у которого симптомами заболевания были высокий рост, долихостеномия, арахнодактилия, высокое небо, скученность зубов, гипермобильность суставов и эктопия хрусталиков. В нашем случае последний признак отсутствует, что может быть обусловлено юным (17 лет) возрастом пациента. Подвывих хрусталиков при СМ может развиваться в период от рождения до 30 лет, в частности Lally и Monsonego сообщили о возникновении эктопии хрусталиков у пациентки с СМ в возрасте 27 лет [13].

Сорок девятый экзон гена *FBN1* кодирует синтез 35-го cbEGF-like (calcium-binding EGF) домена фибриллина 1. Этот домен — последний во второй протяженной последовательности cbEGF-like доменов в молекуле белка. Повреждения в этой области характеризуются ранним и выраженным поражением скелета и сердечно-сосудистой системы. В частности, делеции 32-35 и 34-35 cbEGF-like доменов описаны у пациентов с неонатальным СМ. Таким образом, клинические проявления классического СМ и тяжелое течение заболевания с ранним развитием аневризмы аорты и значительными изменениями со стороны клапанов сердца, с вовлечением скелета и органов зрения у пациентки с делецией экзона 49 представляются вполне ожидаемыми и закономерными.

Относительная простота и быстрота детекции делеций-дубликаций генов — несомненные достоинства метода MLPA, обеспечившие этому методу широкое распространение в практике молекулярно-генетических исследований. К сожалению, методом MLPA невозможно определить точную локализацию и протяженность крупной перестройки, охарактеризовать «точки разрыва». Результаты, полученные методом MLPA, необходимо подтверждать другими методами, особенно в случае выявления делеций одного экзона. Эта рекомендация разработчиков метода и производителей реагентов поддерживается исследователями, использующими MLPA [7, 12]. Вместе с тем, в доступных нам публикациях, освещающих результаты применения MLPA для поиска крупных поломок гена *FBN1*, упоминания об ошибках, случаях, когда выявленные методом MLPA перестройки не были верифицированы, отсутствуют.

Заключение

Молекулярно-генетическая диагностика СМ — сложная задача, поскольку при этом заболевании мутации гена *FBN1* не имеют преимущественной локализации в специфических точках гена или явной фенотипической ассоциации. Базы данных о мутациях гена *FBN1* содержат сведения о более чем 3000 повреждений. В большинстве случаев эти мутации представлены единичными наблюдениями или уникальны. Идентификация точковых мутаций гена *FBN1* даже при использовании технологий секвенирования нового поколения остается сложным, длительным и дорогостоящим процессом. Метод MLPA существенно расширяет возможности выявления повреждений гена *FBN1*. Мы полагаем, что молекулярно-генетическую диагностику СМ целесообразно начинать с анализа крупных перестроек методом MLPA, поскольку такой подход позволяет избежать значительных затрат времени и ресурсов, связанных с поиском точковых мутаций в гене *FBN1*.

Список литературы

- Loeys BL, Matthys DM, de Paepe AM. Genetic fibrillinopathies: new insights in molecular diagnosis and clinical management. *Acta Clin Belg.* 2003; 58 (1): 3-11.
- Dietz HC, Cutting GR, Pyeritz RE, et al. Marfan syndrome caused by a recurrent de novo missense mutation in the fibrillin gene. *Nature.* 1991; 352: 337-339.
- Loeys BL, Dietz HC, Braverman AC, et al. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *J Med Genet.* 2010; 47:476-485, doi:10.1136/jmg.2009.072785
- Salah MA, Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Res.* 1997; 25 (22): 4692-4693.
- Singh KK, Elligsen D, Liersch R, et al. Multi-exon out of frame deletion of the *FBN1* gene leading to a severe juvenile onset cardiovascular phenotype in Marfan syndrome. *J Mol Cell Cardiol.* 2007; 42 (2): 352-356.
- Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, et al. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res.* 2002; 30 (12): e57, doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gnf056>.
- Matyas G, Alonso S, Patrignani A, et al. Large genomic fibrillin-1 (*FBN1*) gene deletions provide evidence for true haploinsufficiency in Marfan syndrome. *Hum Genet.* 2007; (1): 23-32.
- The UMD-*FBN1* mutations database. [доступ от 24.07.2017]; Available from <http://www.umd.be/FBN1/>.
- Collod-Beroud S, Le Bourdelles L, Ades L, et al. Update of the UMD-*FBN1* mutation database and creation of an *FBN1* polymorphism database. *Hum Mutat.* 2003; 22: 199-208.
- Franken R, Heesterbeek ThJ, de Waard V, et al. Diagnosis and genetics of Marfan syndrome. *Expert Opin. Orphan Drugs.* 2014; 2(10): 1049-1062.
- Ogawa N, Imai Y, Takahashi Y, et al. Evaluating Japanese patients with the Marfan syndrome using high-throughput microarray-based mutational analysis of fibrillin-1 gene. *Am J Cardiol.* 2011; 108: 1801-1807.
- Li J., Wu W., Chaoxia Lu Ch., et al. Gross deletions in *FBN1* results in variable phenotypes of Marfan syndrome. *Clinica Chimica Acta.* 2017; doi: 10.1016/j.cca.2017.08.023.
- Lally D., Monsonego J. Ectopia Lentis in Marfan's Syndrome. *NEJM.* 2014; doi: 10.1056/NEJMicm1314140.