

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПАТОГЕННЫХ CNV С ПОМОЩЬЮ ЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ПРИ НЕОБЪЯСНЕННЫХ ЗАДЕРЖКАХ РАЗВИТИЯ: ИССЛЕДОВАНИЕ СЕМЕЙНОГО ТРИО

© 2021 г. О. Ю. Наумова^{1,2,*}, П. В. Добрынин^{1,3}, Е. А. Гибитова³, М. А. Жукова^{2,4}, С. Ю. Рычков¹, О. В. Жукова¹, Е. Л. Григоренко^{2,4}

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

²Хьюстонский Университет, Хьюстон, Техас, 77204 США

³Университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, 197101 Россия

⁴Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 119034 Россия

*e-mail: oksana.yu.naumova@gmail.com

Поступила в редакцию 20.01.2021 г.

После доработки 25.03.2021 г.

Принята к публикации 26.03.2021 г.

На примере исследования отдельного семейного случая, показано успешное применение экзомного секвенирования семейных трио (ребенок-пробанд и родители) в качестве первого метода геномной диагностики множественных необъясненных нарушений и задержек развития, с целью скрининга на наличие патогенных одноклеотидных замен и структурных геномных вариантов (Copy Number Variation – CNV). В конкретном исследованном случае установлены клинически значимые структурные вариации *de novo* в геноме ребенка, связанные с синдромом дупликации 17p11.2, или синдромом Потоки–Люпски. Установленные геномные перестройки 17p11.2 были подтверждены методами FISH и MLPA в сертифицированных клинических лабораториях.

Ключевые слова: множественные нарушения развития, секвенирование экзома, семейный геномный анализ, структурные геномные вариации.

DOI: 10.31857/S0016675821110096

Публикации последних лет в области медицинской генетики предоставляют многочисленные свидетельства успешности и продуктивности применения полногеномного и экзомного секвенирования в клинической практике для персонализированной медицины [1]. Убедительно показана особая ценность геномного секвенирования в трио пробанд–родители, как эффективного диагностического инструмента первого выбора в случаях сложных и труднодиагностируемых заболеваний, таких как детские неврологические заболевания [2] и задержки развития [3]. Так, недавний метаанализ релевантной литературы показал бесспорные преимущества секвенирования над методами геномного скрининга с помощью ДНК-чипов [4]. С активным развитием технологий геномного секвенирования стоимость такого анализа ежедневно сокращается, что делает метод все более доступным для клинической практики. Это в свою очередь побуждает ряд стран к разработке основ и правил внедрения этого типа анализа в государственные медицинские программы. Одним из таких примеров является прошлогодняя публикация результатов исследования одной

из канадских организаций (Health Quality Ontario), разрабатывающих стандарты качества и рекомендации для здравоохранения, в которой представлена подробная оценка технологий здравоохранения относительно использования полногеномного секвенирования для пациентов с необъяснимыми нарушениями развития или множественными врожденными аномалиями [5].

В настоящем исследовании мы приводим одно из доказательств успешности применения геномного (в данном конкретном случае экзомного) секвенирования семейного трио – родителей и пробанда, в качестве первого метода геномного скрининга случаев множественных необъясненных нарушений и задержек развития ребенка. Кроме того, мы показываем, что экзомное секвенирование позволяет успешно идентифицировать как потенциально патогенные одноклеотидные варианты, так и клинически значимые структурные перестройки в геноме.

Участники исследования – семья славянского происхождения: родители и ребенок – девочка в возрасте 12 лет с нарушениями физического и

психического развития неизвестной этиологии. На момент рождения ребенка возраст матери и отца был 34 и 30 лет соответственно. Беременность проходила без осложнений. Однако роды, наступившие на 42-ой неделе беременности, проходили с некоторыми осложнениями: применялась искусственная стимуляция родовой деятельности, у плода было обнаружено замедленное сердцебиение и жидкость в легких. Оценка новорожденного по шкале Апгар составляла 7–8 баллов, вес при рождении – 2920 г, врожденных патологий отмечено не было. Мать с новорожденной были выписаны из родильного отделения на пятый день после родов.

С первых лет жизни у ребенка отмечались множественные нарушения и задержки физического и психического развития: замедленный рост, недостаток веса, задержка развития моторных функций, нарушение сна и кормления. В анамнезе ребенка присутствуют нарушения работы желудочно-кишечного тракта и дефекации, фебрильные судороги и афективно-респираторные приступы с потерей сознания, проблемы со зрением и слухом. Со стороны психоречевого развития у ребенка наблюдаются: сенсорно-моторная алалия, дислексия, синдром дефицита внимания и нарушения обучения. По результатам психологического тестирования уровень адаптивного поведения ребенка отстает от такового у сверстников, с наиболее выраженными проблемами в навыках самообслуживания. Значительное отставание было также отмечено в речевом и познавательном развитии, оцененными по шкалам PLS-5 [7] и MSEL [8] соответственно. В этих доменах общие показатели развития соответствовали пятилетнему уровню, т.е. на семь лет меньше биологического возраста ребенка.

Общая клиническая картина расстройств и задержек развития предполагала высокую долю генетической компоненты в этиологии нарушений. В семейной истории случаев патологий и нарушений развития не отмечено. Проведенный ранее анализ кариотипа ребенка патологий не выявил, был установлен нормальный женский кариотип 46,XX. Других типов молекулярной диагностики ребенку не назначалось; диагноз поставлен не был. Все это позволяло предположить наличие *de novo* микроизменений в геноме ребенка, не улавливаемых классическими цитогенетическими методами, что, в свою очередь, обуславливало необходимость полногеномного скрининга ребенка и родителей. Будучи заинтересованы в таком анализе, родители проявили инициативу стать участниками нашего исследовательского проекта, направленного на геномные исследования нарушений развития с помощью методов секвенирования. Семья предоставила свое информированное согласие на использование геномных данных и последующую публикацию результатов.

Источником ДНК являлись образцы слюны от родителей и ребенка. Геномный скрининг семейного трио проводился методом полноэкзомного секвенирования. Для приготовления библиотек использовалась панель и набор реагентов для экзомного обогащения Illumina TruSeq Exome. Секвенирование проводилось на базе ПЦ СПбГУ на платформе Illumina HiSeq4000. Для анализа данных секвенирования использовались хорошо апробированные и широко применяемые методы и инструменты. Контроль качества данных секвенирования выполнялся с помощью FastQC [9] и оценки распределения *k*-меров [10]. Выравнивание фрагментов и аннотирование к GRCh37/hg19 проводилось с использованием BWA [11] (версия 0.7.17-r1188) с последующей сортировкой, дупликацией и повторной калибровкой в соответствии со стандартами и рекомендациями GATK Best Practices [12]. Обнаружение однонуклеотидных вариантов (Single Nucleotide Variant, SNV) проводилось с помощью HaplotypeCaller с последующей рекалибровкой вариантов с помощью VariantRecalibrator, а определение *de novo* SNV – с помощью VariantAnnotator (GATK 4.1.6). Кроме того, на основе данных экзомного секвенирования и с помощью алгоритмов сегментации *cn.MOPS* [13] были идентифицированы структурные геномные вариации или вариации числа копий (Copy Number Variation, CNV).

По результатам анализа данных секвенирования и аннотирования к референсному геному в семейном трио было обнаружено свыше 30 тыс. SNV. С помощью инструментов ANNOVAR [14] была проведена фильтрация SNV на основе основных моделей наследования (аутосомно-доминантного, рецессивного и X-сцепленного), с последующей функциональной аннотацией и приоритизацией вариантов в контексте ассоциации с фенотипом задержки развития. Потенциальных вариантов-кандидатов обнаружено не было. Сходный результат был получен для анализа *de novo* SNV в геноме ребенка. Таковых было обнаружено 23 SNV в состоянии гетерозиготы, 10 из которых являлись миссенс-мутациями, но только две из них: rs77696629 и rs1255143876 – замены в 10-ом экзоне гена карбоксилэфирной липазы *CEL* и 26-ом экзоне муцина *MUC5B* соответственно, могут быть отнесены ко вредным мутациям (табл. 1). Оба варианта являются достаточно редкими (Minor allele frequency – MAF < 0.05) и затрагивают гены, мутации в которых известно ассоциированы с развитием таких заболеваний как MODY-диабет (*CEL*), заболеваний дыхательной системы – астма и идиопатический легочный фиброз (*MUC5B*). Однако следует отметить, что ни один из выявленных *de novo* SNV не являлся клинически значимым согласно результатам аннотации к релевантной базе данных ClinVar [15].

Таблица 1. Миссенс-замены *de novo*, выявленные у ребенка на основе данных экзомного секвенирования семейной триады

| Позиция (GRCh37) | Ген | Аллель | Код dbSNP | Замена | Значимость* | Частота** | |
|------------------|----------------|--------|--------------|--------------------------|-------------|-----------|--------|
| | | | | | | ExAC | gnomAD |
| chr4:145041720 | <i>GYP A</i> | A > G | rs7682260 | ex2:c.T59C:p.L20S | N | 0.0502 | 0.1846 |
| chr6:170627739 | <i>FAM120B</i> | G > C | rs17860761 | ex2:c.G1297C:p.A433P | N | 0.025 | 0.0105 |
| chr9:135946015 | <i>CEL</i> | T > C | rs77696629 | ex10:c.T1463C:p.I488T | D | 0.0163 | 0.0263 |
| chr11:1093412 | <i>MUC2</i> | C > T | rs113330607 | ex31:c.C5231T:p.T1744M | N | 0.2426 | 0.0746 |
| chr11:1260248 | <i>MUC5B</i> | G > A | rs1255143876 | ex26:c.G3445A:p.D1149N | D | | 0.0037 |
| chr17:78063996 | <i>CCDC40</i> | A > G | rs7210679 | ex18:c.A2891G:p.H964R | N | 0.2679 | 0.2652 |
| chr19:9025654 | <i>MUC16</i> | T > G | rs201931630 | ex15:c.A36800C:p.K12267T | N | 0.0019 | 0.0011 |
| chr19:56274503 | <i>RFPL4A</i> | T > G | rs140087406 | ex3:c.T826G:p.S276A | N | 0.0001 | 0.0005 |
| chr19:56274506 | <i>RFPL4A</i> | G > A | rs147984855 | ex3:c.G829A:p.A277T | N | 0.0011 | 0.0167 |
| chr19:56274507 | <i>RFPL4A</i> | C > G | rs149792632 | ex3:c.C830G:p.A277G | N | 0.0001 | 0.0514 |

Примечание. * – функциональная значимость SNV: нейтральный вариант – N, вредная мутация – D; определялась по результатам оценок шестью алгоритмами: SIFT [16], PolyPhen-2, PROVEAN [17], MutationTaster [18], M-CAP [19] и CADD [20]; статус D присуждался при условии, что три из шести алгоритмов предсказывают достоверно высокий уровень вредности мутации. ** – приведена частота варианта в европейской популяции по данным агрегаторов консорциумов gnomAD [25] и ExAC [26].

При фактическом отсутствии патогенных SNV анализ структурных вариаций позволил установить несколько потенциально клинически значимых перестроек в геноме ребенка. Всего в семейном трио было выявлено 54 CNV, из них 22 – в геноме ребенка, включая 11 микроделций и дупликаций *de novo*, отмеченных в восьми хромосомных сегментах (табл. 2). Большинство структурных вариаций может быть отнесено к распространенным полиморфным вариантам: например CNV в регионе сегментальной дупликации генов на хромосоме 1 (1q21.2) и в высокополиморфном локусе на хромосоме 6 (6p21.3), несущем гены главного комплекса гистосовместимости HLA. Однако микроделция 15q11.2 и дупликации 17p11.2 могут являться маркерами клинически значимых структурных вариаций генома. Также следует отметить, что в данных хромосомных сегментах было обнаружено по два блока делеций и дупликаций соответственно (табл. 2), что при условии дискретности экзомных данных в контексте покрытия генома может являться маркером гораздо более крупных перестроек в данных сегментах.

Будучи выявлены как микроперестройки, не затрагивающие основные синдромальные гены-кандидаты, делеции 15q11.2 и дупликации 17p11.2 тем не менее пересекаются с регионами и типами структурных изменений, связанными с одноименными синдромами (табл. 2), проявляющимися прежде всего как множественные нарушения и задержки развития. Так, делеция NC_000015.9:g.23444002_23600066del была отмечена в районе дупликации гена *HERC2*, фланкирующего консервативный участок BP1–BP2 (Break Point) критического региона Прадера–

Вилли/ Ангельмана 15q11-13. Делеция 300–500 тпн в этом участке, несущем неимпринтные гены *CYFIP1*, *NIPA1*, *NIPA2* и *TUBGCP5*, связана с синдромом микроделции 15q11.2. Выявленные инсерции 17p11.2 длиной 64 и 95 тпн пересекаются с CNV NC_000017.10:g.16757111-20219651dup, обуславливающим классический синдром дупликации 17p11.2, или синдром Потоки–Люпски (табл. 2). Следует отметить, что комплекс нарушений, как при синдроме микроделции 15q11.2 – неврологические дисфункции, задержка речевого и моторного развития и аутистическое расстройство, так и при синдроме Потоки–Люпски – задержка психо-физического развития, гипотонус мышц, проблемы с кормлением и расстройством поведения, в высокой степени соответствуют клиническому фенотипу исследованного ребенка.

Как следствие, CNV в 15q11.2 и 17p11.2 были рассмотрены в качестве ключевых для определения этиологии/диагностики данного случая нарушений развития. Полученные в результате нашего исследования данные позволили семье инициировать направленные клинические тесты. Было проведено молекулярно-цитогенетическое исследование хромосом 15 и 17 методом *in situ* FISH-гибридизации в одной из сертифицированных клинических лабораторий г. Москвы. Выявленные нами микроделции в локусе 15q11.2 FISH-методом подтверждены не были, тогда как наличие у ребенка дупликации района 17p11.2 было подтверждено как присутствие двух копий локуса *LIS* и трех копий локуса *RAI1* в каждом ядре [nuc ish(LISx2,RAI1x3)]; ДНК-зонд MD Miller-Dieker LIS (17p13)/MD Smith-Magenis RAI (17p11), KREATECH]. Помимо этого дупликация 17p11.2 была дополнительно валидиро-

Таблица 2. Структурные геномные вариации *de novo*, выявленные у ребенка на основе данных экзомного секвенирования семейной триады

| Хромосома, сегмент | Структурный вариант | Длина (п.о.) | Структурная перестройка | Гены |
|--------------------|---------------------------------------|--------------|-------------------------|---------------------------------------|
| 1q21.2 | NC_000001.10:g.144617148_144677049del | 59902 | Делеция | <i>NBPF8, NBPF9, NBPF20, PDE4DIP</i> |
| 6p21.33 | NC_000006.11:g.31083750_31106558del | 22809 | То же | <i>PSORSIC1, PSORSIC2, CDSN</i> |
| | NC_000006.11:g.31129221_31165659del | 36439 | » | <i>TCF19, POU5F1, PSORSIC3, HCG27</i> |
| 8p23.1 | NC_000008.10:g.12274164_12286409del | 12246 | » | <i>FAM66A, FAM86B2</i> |
| 8p11.22 | NC_000008.10:g.39311490_39349532del | 38043 | » | <i>ADAM3A</i> |
| 14q32.33 | NC_000014.8:g.106452668_106494604del | 41937 | » | Вариабельная область Ig |
| 15q11.1 | NC_000015.9:g.20636293_20663214del | 26922 | » | <i>HERC2P3</i> |
| 15q11.2* | NC_000015.9:g.20776030_20778064del | 2035 | » | <i>GOLGA8CP</i> |
| | NC_000015.9:g.23444002_23600066del | 156065 | » | <i>GOLGA8EP, HERC2P2</i> |
| 17p11.2** | NC_000017.10:g.18325571_18389514dup | 63944 | Дупликация | <i>KRT16P1, LGALS9C</i> |
| | NC_000017.10:g.18395987_18491218dup | 95232 | То же | <i>LGALS9C, USP32P2</i> |

Примечание. Звездочками отмечены хромосомные локусы, структуры перестройки в которых ассоциированы с клиническими фенотипами; приведено по данным интегрированной БД заболеваний и их аннотаций MalaCards [21]. * – синдром микроделеции 15q11.2: делеция 300–500 тпн в консервативном неимпринтном участке BP1–BP2 критического региона Прадера–Вилли/Ангельмана (NC_000015.9:g.22765628-23317514del), гены-кандидаты – *CYFIP1, NIPAI, NIPAI2* и *TUBGCP5* [15]. ** – синдром микродупликации 17p11.2, или синдром Потоки–Люпски: размер дупликации варьирует от 1.3 до 15.2 Мб, наиболее распространенный вариант дупликации ~3.5 Мб NC_000017.10:g.16757111_20219651 dup включает 49 генов, основные гены-кандидаты – *FLCN* и *RAI1* [15].

вана другой диагностической лабораторией методом мультиплексной амплификации лигированных зондов (MRC-Holland SALSA MLPA probe mix P369-A2). Таким образом, она установлена как дупликация g.(?_16852223)_ (20130903_?)dup (GRCh37/hg19), включающая гены *TNFRSF13B, COPS3, MIR33B, TOM1L2, DRC3, LGL1, PRPSAP2, MFAP4, ALDH3A1, AKAP10, SPECC1* и основные гены-кандидаты клинического фенотипа – *FLCN* и *RAI1*.

В результате, обследованному ребенку, на 13 году его жизни, был поставлен диагноз – вновь приобретенный синдром Потоки–Люпски, что для семьи означает определенность в прогнозах для здоровья и развития дочери и помощь в принятии решения о рождении второго ребенка. Потоки–Люпски (OMIM:610883) – это редкое (1:25 тыс. новорожденных) генетическое заболевание, впервые открытое в 1996 г. [22] и описанное в 2007 г. [23]. Прежде всего, оно связано с нарушением развития ЦНС и пороками сердца. Как многие другие генетические заболевания данная патология характеризуется вариативными клиническими фенотипами [24], что значительно усложняет диагностику в отсутствие генетического анализа.

Таким образом, нами еще раз показана успешность применения экзомного секвенирования для первичной диагностики множественных на-

рушений развития. Мы уверены, что в условиях постоянно снижающейся стоимости молекулярного и биоинформатического анализов, связанных с геномным секвенированием, подобное тестирование семейных трио в скором будущем найдет свое применение в широкой клинической практике. Также полагаем, что изложенные в данном сообщении результаты анализа CNV и значимости их валидации могут быть полезны для других коллективов, использующих в своих исследованиях методы таргетного экзомного секвенирования для выявления геномных вариаций.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ-17-29-02384, руководитель проекта Е.Л. Григоренко.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Tärnlungeanu D.C., Novarino G.* Genomics in neurodevelopmental disorders: an avenue to personalized medicine // *Ex. Mol. Med.* 2018. V. 50. № 8. P. 1–7. <https://doi.org/10.1038/s12276-018-0129-7>
2. *Bowling K.M., Thompson M.L., Amaral M.D. et al.* Genomic diagnosis for children with intellectual disability and/or developmental delay // *Genome Med.* 2017. V. 9. № 1. P. 43. <https://doi.org/10.1186/s13073-017-0433-1>
3. *Han J.Y., Lee I.G.* Genetic tests by next-generation sequencing in children with developmental delay and/or intellectual disability // *Clin. Exp. Pediatr.* 2020. V. 63. № 6. P. 195–202. <https://doi.org/10.3345/kjp.2019.00808>
4. *Srivastava S., Love-Nichols J.A., Dies K.A. et al.* Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: Exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders // *Genet. Med.* 2019. V. 21. № 11. P. 2413–2421. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0554-6>
5. *Ontario Health Q.* Genome-wide sequencing for unexplained developmental disabilities or multiple congenital anomalies: A health technology assessment // *Ont. Health Technol. Assess. Ser.* 2020. V. 20. № 11. P. 1–178.
6. *Sparrow S.S., Cicchetti D., Balla D.V.* Vineland Adaptive Behavior Scales. San Antonio, TX: Pearson Assessment, 2005.
7. *Zimmerman I.L., Steiner V.G., Pond R.A.* The Preschool Language Scale-5. San Antonio, TX, Pearson, 2011.
8. *Mullen E.M.* Mullen Scales of Early Learning. Circle Pines, MN: American Guidance Service Inc., 1995.
9. *Andrews S.* FastQC: A quality control tool for High Throughput Sequence Data [Online]. 2010. <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
10. *Marçais G., Kingsford C.* A fast, lock-free approach for efficient parallel counting of occurrences of k-mers // *Bioinformatics.* 2011. V. 27. № 6. P. 764–770. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr011>
11. *Li H., Durbin R.* Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform // *Bioinformatics.* 2009. V. 25. № 14. P. 1754–1760. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324>
12. *Van der Auwera G.A., Carneiro M.O., Hartl C. et al.* From FastQ data to high confidence variant calls: The Genome Analysis Toolkit best practices pipeline // *Curr. Protoc. Bioinformatics.* 2013. V. 43. № 1110. P. 11.10.1–11.10.33. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi1110s43>
13. *Klambauer G., Schwarzbauer K., Mayr A. et al.* cn.MOPS: Mixture of Poissons for discovering copy number variations in next-generation sequencing data with a low false discovery rate // *Nucl. Ac. Res.* 2012. V. 40. № 9. P. e69. <https://doi.org/10.1093/nar/gks003>
14. *Wang K., Li M., Hakonarson H.* ANNOVAR: Functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data // *Nucl. Ac. Res.* 2010. V. 38. № 16. P. e164. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq603>
15. *Landrum M.J., Lee J.M., Benson M. et al.* ClinVar: Improving access to variant interpretations and supporting evidence // *Nucl. Ac. Res.* 2018. V. 46. № D1. P. D1062–D1067. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1153>
16. *Kumar P., Henikoff S., Ng P.C.* Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm // *Nat. Protoc.* 2009. V. 4. № 7. P. 1073–1081. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.86>
17. *Choi Y., Sims G.E., Murphy S. et al.* Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 10. P. e46688. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046688>
18. *Schwarz J.M., Cooper D.N., Schuelke M., Seelow D.* MutationTaster2: Mutation prediction for the deep-sequencing age // *Nat. Methods.* 2014. V. 11. № 4. P. 361–362. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2890>
19. *Jagadeesh K.A., Wenger A.M., Berger M.J. et al.* M-CAP eliminates a majority of variants of uncertain significance in clinical exomes at high sensitivity // *Nat. Genet.* 2016. V. 48. № 12. P. 1581–1586. <https://doi.org/10.1038/ng.3703>
20. *Rentzsch P., Witten D., Cooper G.M. et al.* CADD: Predicting the deleteriousness of variants throughout the human genome // *Nucl. Ac. Res.* 2018. V. 47. № D1. P. D886–D894. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1016>
21. *Rappaport N., Twik M., Plaschkes I. et al.* MalaCards: An amalgamated human disease compendium with diverse clinical and genetic annotation and structured search // *Nucl. Ac. Res.* 2017. V. 45. № D1. P. D877–D887. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1012>
22. *Brown A., Phelan M.C., Patil S. et al.* Two patients with duplication of 17p11.2: The reciprocal of the Smith-Magenis syndrome deletion // *Am. J. Med. Genet.* 1996. V. 63. № 2. P. 373–377. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8628\(19960517\)63:2<373::AID-AJMG9>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8628(19960517)63:2<373::AID-AJMG9>3.0.CO;2-U)
23. *Potocki L., Bi W., Treadwell-Deering D. et al.* Characterization of Potocki–Lupski syndrome (dup(17)(p11.2p11.2)) and delineation of a dosage-sensitive critical interval that can convey an autism phenotype // *Am. J. Hum. Genet.* 2007. V. 80. № 4. P. 633–649. <https://doi.org/10.1086/512864>
24. *Potocki L., Neira-Fresneda J., Yuan B.* Potocki–Lupski Syndrome // *Gene Reviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 2017. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK447920/>
25. *Karczewski K.J., Francioli L.C., Tiao G. et al.* The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans // *Nature.* 2020. V. 581. P. 434–443. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2308-7>
26. *Lek M., Karczewski K.J., Minikel E.V. et al.* Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans // *Nature.* 2016. V. 536. P. 285–291. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw971>

Identification of Pathogenic CNVs in Unexplained Developmental Disabilities Using Exome Sequencing: A Family Trio Study

O. Yu. Naumova^{a, b, *}, P. V. Dobrynin^{a, c}, E. A. Gibitova^c, M. A. Zhukova^{b, d},
S. Yu. Rychkov^a, O. V. Zhukova^a, and E. L. Grigorenko^{b, d}

^a*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia*

^b*University of Houston, Houston, TX, 77204 USA*

^c*University of Information Technologies, Mechanics and Optics, Saint Petersburg, 197101 Russia*

^d*Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, 119034 Russia*

**e-mail: oksana.yu.naumova@gmail.com*

This short report on a family case-study provides evidence of the effectiveness of exome sequencing of family trios (proband-parents) as the first-tier test in genomic diagnostics of unexplained developmental disorders and delays, as a genomic screening for the pathogenic single-nucleotide variants and copy number variations (CNVs). Several clinically significant structural genomic variations *de novo* were identified in the proband's genome, specifically those associated with the 17p11.2 duplication (or Potocki–Lupski) syndrome. These genome rearrangements have been confirmed in the certified clinical laboratories using both FISH and MLPA techniques.

Keywords: unexplained developmental disorders and delays, family study, exome sequencing, structural genomic variation.