

ANA CAROLINA DOS SANTOS FONSECA

**Caracterização de rearranjos cromossômicos
citogeneticamente equilibrados associados
a quadros clínicos**

**Characterization of karyotypically balanced
chromosomal rearrangements associated
with clinical features**

**Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade de São
Paulo, para a obtenção de Título de
Doutor em Ciências, na Área de
Biologia/Genética**

**São Paulo
2015**

ANA CAROLINA DOS SANTOS FONSECA

**Caracterização de rearranjos cromossômicos
citogeneticamente equilibrados associados
a quadros clínicos**

***Characterization of karyotypically balanced
chromosomal rearrangements associated
with clinical features***

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade de São
Paulo, para a obtenção de Título de
Doutor em Ciências, na Área de
Biologia/Genética

São Paulo
2015

Orientadora: **Dra. Angela M. Vianna Morgante**

DOS SANTOS FONSECA, ANA CAROLINA

Caracterização de rearranjos cromossômicos citogeneticamente equilibrados associados a quadros clínicos

292 páginas

Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo,
Departamento de Genética e Biologia Evolutiva

1. Rearranjos cromossômicos citogeneticamente equilibrados
2. *Mate-pair sequencing*
3. Hibridação genômica em *microarray*

Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências.
Departamento de Genética de Biologia Evolutiva

Comissão Julgadora

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a). Orientadora

Este trabalho foi realizado com auxílios financeiros da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo concedidos à orientadora (FAPESP CEPID 1998/14254-2; CEPID 2013/08028-1) e à aluna (FAPESP 2011/14293-4; 2013/01146-9).

A Deus

Aos meus familiares

Aos meus amigos

I. INTRODUÇÃO

I. Introdução

As anomalias cromossômicas ocorrem em cerca de seis a cada mil recém-nascidos. As mais comuns são as aneuploidias, porém as alterações cromossômicas estruturais representam cerca de 40% das alterações cromossômicas em recém-nascidos (Jacobs e Hassold, 1986).

As alterações cromossômicas, em sua maioria, constituem eventos esporádicos e, devido aos desequilíbrios de dose, o efeito fenotípico impede sua transmissão para a geração seguinte. Os rearranjos estruturais, entretanto, são predominantemente equilibrados e seus portadores geralmente não apresentam sinais ou sintomas clínicos. Esses rearranjos equilibrados podem, assim, ser transmitidos por seus portadores que, no entanto, possuem riscos reprodutivos aumentados; a segregação meiótica dos cromossomos participantes dos rearranjos e de seus homólogos normais pode levar à produção de gametas com o rearranjo estrutural em estado não equilibrado, resultando em abortos espontâneos, natimortos ou crianças nascidas vivas apresentando sinais clínicos. Estudos de casais com histórico de abortamento de repetição mostram que, em 3 a 6% daqueles que tiveram dois ou mais abortos consecutivos, um dos membros era portador de rearranjo equilibrado (Franssen et al., 2006).

I.1 Técnicas de estudo de alterações estruturais cromossômicas

Em 1956, Tjio e Levan mostraram que o número de cromossomos da espécie humana é 46. A partir desse momento foi possível associar anomalias cromossômicas específicas a doenças. Nos anos 70, foram desenvolvidos protocolos de coloração que produziam um padrão de bandas claras e escuras ao longo dos cromossomos (Caspersson et al., 1970; Drets e Shaw, 1971; Dutrillaux e Lejeune, 1971), totalmente reprodutível, permitindo a identificação de todos os pares de cromossomos, que eram anteriormente classificados apenas de acordo com o tamanho e a posição dos centrômeros. Alterações estruturais, como translocações, inversões, deleções e duplicações, passaram a ser identificadas com maior precisão.

Apesar dos avanços trazidos para a identificação dos cromossomos, as técnicas de bandamento aplicada a cromossomo metafásicos/prometafásicos permitem a detecção de alterações cromossômicas que afetem no mínimo 5 a 10 Mb. Mas o nível de resolução pode ser menor, dependendo do padrão de bandas do segmento afetado. O desenvolvimento de técnicas moleculares aplicadas à citogenética trouxe maior precisão

na caracterização dos rearranjos cromossômicos. Essas técnicas permitem a análise do genoma de forma global (*genome-wide*) ou alvo-dirigida, com diferentes graus de resolução (revisão em Speicher e Carter 2005; revisão em Feuk et al., 2006; Miller et al., 2010).

A técnica de hibridação *in situ* fluorescente (FISH), baseada na detecção de sondas de DNA hibridadas a sequências complementares em cromossomos, foi um avanço importante para os estudos citogenéticos. Nesse método, a sonda e o DNA alvo na lâmina são desnaturados, seguindo-se a hibridação das sequências complementares. Para visualização em microscópio de fluorescência, as sondas são ligadas diretamente a um fluorocromo ou são marcadas com um heptano (biotina ou digoxigenina), já conjugado a um fluorocromo ou reconhecido por um anti-heptano ligado a um fluorocromo. As sondas de DNA podem ser clonadas a partir de um cromossomo inteiro, no caso das bibliotecas cromossômicas ou a partir de um segmento específico, podendo ser sondas para sequências únicas ou repetitivas, como as centroméricas. No estudo de rearranjos cromossômicos equilibrados, a hibridação *in situ* fluorescente permite refinar a localização de pontos de quebra e identificar microdeleções ou duplicações nos cromossomos rearranjados.

A hibridação genômica baseada em *microarrays* constitui ferramenta efetiva para a detecção de perdas e ganhos de segmentos cromossômicos submicroscópicos em indivíduos com deficiência mental ou malformações congênitas (Miller et al., 2010). Na técnica de hibridação genômica comparativa baseada em *microarray* de DNA (a-CGH), o DNA controle e o DNA teste, marcados com fluorocromos diferentes, competem pela hibridação a sondas fixadas e organizadas na superfície de uma lâmina; perdas e ganhos de segmentos são indicadas pela diferença na intensidade da fluorescência dos fluorocromos. Os primeiros *arrays* utilizavam sondas clonadas em BACs (cromossomos artificiais de bactérias), porém plataformas mais recentes têm oligonucleotídeos como alvos de hibridação. Outro tipo de *microarray* tem sondas de SNP, que permitem não somente a avaliação de desequilíbrios cromossômicos, mas a genotipagem. Nessa abordagem, a amostra de um único paciente é hibridizada ao *array* e alterações no número de cópias são detectadas pela comparação com hibridações de controles realizados separadamente (Speicher e Carter, 2005). Além de perdas e ganhos de segmentos, os *arrays* de SNP têm a vantagem de detectar perdas de heterozigose e permitir a determinação da origem parental de rearranjos esporádicos (Miller et al., 2010). A hibridação em *microarrays* aumentou o poder de resolução da análise

cromossômica global do nível de megabase para kilobase; consequentemente desequilíbrios cromossômicos não detectáveis pelas técnicas de bandamento passaram a ser identificados.

A aplicação de aCGH na análise de rearranjos cromossômicos equilibrados evidenciou a presença de desequilíbrios submicroscópicos em cerca de 25% dos rearranjos estudados (Gribble et al., 2005, Sismani et al., 2008, Baptista et al., 2008, Higgins et al., 2008, De Gregori et al., 2007, Schluth-Bolard et al., 2009, Gijbers et al., 2010, Feenestra et al., 2011). Rearranjo citogeneticamente equilibrado, é portanto, o melhor termo para designar esse tipo de alteração cromossômica (Chiang et al., 2012). A aplicação de aCGH tem permitido não somente detectar alterações submicroscópicas nos pontos de quebra citogenéticos, mas também alterações distantes a ele nos cromossomos rearranjados (Gribble et al., 2005; Sismani et al., 2008), essa uma vantagem em relação à técnica alvo-específico de FISH. Ao investigar o genoma todo e não apenas os cromossomos rearranjados, o aCGH permite identificar também desequilíbrios de cromossomos que não participam do rearranjo, mas que podem ser a causa do fenótipo (Morales et al., 2009).

Nos últimos anos várias técnicas denominadas de *next generation sequencing* (NGS) têm sido desenvolvidas (Scouarnec e Gribble, 2012). Os sequenciadores de NGS têm a capacidade de processar a sequência de milhões de *reads* em paralelo, enquanto que os sequenciadores baseados em capilares processam, no máximo, 96 sequências simultaneamente (Mardis et al., 2008). Por meio desse tipo de sequenciamento, a sequência de milhões de moléculas de DNA é determinada simultaneamente, após a preparação de fragmentos obtidos a partir bibliotecas, permitindo assim a produção de *reads*. As *reads* são alinhadas em relação a um genoma de referência e, consequentemente, variações de bases, pequenas inserções/deleções (in/dels), variações de números de cópias (>50pb) e rearranjos equilibrados são detectados (Scouarnec e Gribble, 2012). A aplicação de NGS no estudo de rearranjos citogeneticamente equilibrados aumentou o poder de resolução da análise do nível de megabase (cariótipo) e dezenas a centenas de kilobases (FISH e aCGH) para o nível de pares de bases (Chen et al., 2008; Halgren et al., 2012; Slade et al., 2010; Sobreira et al., 2011, Talkowski et al., 2011; Chiang et al., 2012; Kloosterman et al., 2012; Schluth-Bolard et al., 2013; Suzuki et al., 2014; Utami et al., 2014). Inicialmente os cromossomos derivativos eram isolados por *flow-sorting* (Chen et al. 2008; Chen et al. 2010). Com a diminuição da relação custo benefício do sequenciamento do genoma todo, o isolamento dos

cromossomos derivativos por *flow sorting* deixou de ser necessário, e atualmente bibliotecas *whole-genome* são utilizadas para o estudo de rearranjos equilibrados (Scouarnec e Gribble, 2012; Slade et al., 2010).

A estratégia de NGS mais eficiente para caracterizar rearranjos cromossômicos tem sido o sequenciamento por *paired-end reads*, em que os pares de *reads* são sequências curtas de ambas as extremidades de cada um dos milhões de fragmentos de DNA (insertos) que compõem as bibliotecas (revisão em Le Scouarnec e Gribble, 2012). Assim, apenas as extremidades dos insertos são sequenciados. Quando alinhados ao genoma de referência, pares de *read* devem estar mapeados a distância correspondente ao tamanho do inserto gerado pela biblioteca (revisão em Scouarnec e Gribble, 2012). O *clustering* de pelo menos três pares de *reads* discordantes sugere a presença de rearranjo cromossômico (Korbel et al., 2007). As deleções são identificadas por pares de *reads* que no genoma de referência estão mais distantes uma da outra. Já em inserções e duplicações em *tandem*, os pares de *reads* estão mais distantes do que no genoma de referência. Pares de *reads* que mapeiam na mesma fita de DNA indicam inversões. Pares de *reads* que mapeiam em cromossomos diferentes indicam a presença de translocação. O alinhamento de pares de *reads* delimita a extensão do segmento que contém o ponto de quebra em poucos kb, ou até mesmo, pares de bases.

No mapeamento de rearranjos cromossômicos equilibrados por *mate-pair sequencing*, utilizam-se insertos de aproximadamente 3 kb de extensão, o que aumenta a probabilidade de o inserto conter o ponto de quebra (pares de *reads* mapeados em cromossomos diferentes, no caso de translocações, ou que contêm orientações inversas, nas inversões) (Berglund et al., 2011; Talkowski et al., 2011; Halgren et al., 2012). Outra estratégia recentemente desenvolvida para o estudo de rearranjos equilibrados foi o sequenciamento por *paired-end* de bibliotecas construídas a partir de insertos mais extensos, com 7 a 11 kb de extensão (Utami et al., 2014).

Os intervalos das quebras definidos pelo mapeamento de pares de *reads* permitem posterior sequenciamento das junções dos fragmentos pelo método de Sanger e assim chegar aos mecanismos de formação dos rearranjos. Ao identificar e sequenciar múltiplos pontos de quebra simultaneamente, o uso de NGS também permite analisar rearranjos cromossômicos complexos (CCR), que contêm três ou mais quebras. As análises de CCR revelaram grande complexidade, com a identificação de múltiplas quebras, várias delas identificadas apenas por NGS (Talkowski et al., 2011; Kloosterman et al., 2012). Com base nesses resultados, mecanismos novos, como

chromothripsis, têm sido propostos para explicar a formação desses rearranjos complexos (Kloosterman et al., 2012). A aplicação de NGS trouxe também maior eficiência na identificação de genes candidatos aos quadros clínicos dos portadores dos rearranjos citogeneticamente equilibrados (Chen et al., 2008; Halgren et al., 2012; Slade et al., 2010; Sobreira et al., 2011).

Talkowski et al. (2011) admitem que, futuramente, com uma melhor relação custo-benefício das técnicas de NGS, os rearranjos cromossômicos serão mapeados e sequenciados, em larga escala, no nível de resolução de pares de base. Esse é o objetivo do *International Breakpoint Mapping Consortium* (IBMC) que, por meio de colaborações entre laboratórios de vários países busca saturar o genoma humano com pontos de quebras de rearranjos equilibrados detectados em indivíduos clinicamente normais ou portadores de alterações fenotípicas (Tommerup et al., 2015). Um possível obstáculo para a análise em larga escala de rearranjos é que esse tipo de alteração cromossômica é identificado inicialmente por técnicas de bandamento. Recentemente o sequenciamento *low coverage*, aliado ao aprimoramento das estratégias de filtragem dos dados de NGS, permitiu identificar rearranjos equilibrados mesmo sem sua detecção *a priori* no cariótipo; essa pode ser a estratégia futura para a identificação desse tipo de alteração estrutural (Dong et al., 2014).

Mesmo com o aumento da resolução dos *microarray*, a técnica de hibridação genômica não revela a presença de rearranjos cromossômicos equilibrados, porém detecta perda ou ganho de segmentos a eles associados. A hibridação genômica baseada em *microarray* também não é capaz de determinar a localização de duplicações. Dessa forma, futuramente, as técnicas de sequenciamento de nova geração, capazes de detectar alterações estruturais equilibradas e não equilibradas, devem substituir os *microarrays* no estudo de indivíduos com malformações congênicas ou atraso de desenvolvimento neuropsicomotor ou deficiência intelectual (Vergult et al., 2014). A identificação das quebras no nível de pares de bases é outra vantagem do NGS em relação ao *microarray*.

I.2. Mecanismos de formação de alterações estruturais cromossômicas

Quebras na dupla fita do DNA ocorrem nas células devido a uma variedade de agentes endógenos (metabolismo oxidativo, recombinação VDJ) ou exógenos (radiações ionizantes, agentes químicos). As principais vias de reparo de quebras na dupla fita são os mecanismos de *Non Allelic Homologous Recombination* (NAHR) e *Non-Homologous End Joining* (NHEJ) (Symington e Gautier et al., 2011). Outro

mecanismo, similar ao NHEJ, é o e *microhomology-mediated end-joining* (MMEJ) (McVey et al., 2008)

O reparo das quebras na dupla fita do DNA pode originar alterações estruturais equilibradas e não equilibradas. No passado, os mecanismos de formação e as sequências participantes da maior parte dos rearranjos equilibrados eram pouco conhecidos devido às técnicas disponíveis para caracterizar as junções dos fragmentos (FISH, *Southern blotting*, *inverse-PCR* ou *long range PCR*) e permitir o sequenciamento pelo método de Sanger. O crescente conhecimento da sequência e da arquitetura do genoma humano e o desenvolvimento de técnicas de NGS tornaram factível a elucidação dos mecanismos de formação desses rearranjos cromossômicos.

A recombinação homóloga não alélica (NAHR) é o mecanismo responsável pela formação de alterações estruturais recorrentes. Esse é o mecanismo que origina a maioria das deleções e duplicações recorrentes, como a duplicação do cromossomo 17, que causa a doença de Charcot-Marie-Tooth do tipo 1A (CMT1A; MIM 601097), e a deleção do cromossomo 7, que resulta na síndrome de Williams-Beuren (WBS; MIM 194050). Em geral, a recombinação ocorre entre repetições de poucas cópias (*Low Copy Repeats*, LCR), que têm entre 10 e 500 kb de extensão e compartilham mais de 95% de identidade; representam 5% a 10% do genoma humano. Mais raramente, elementos repetidos (*Short Interspersed Nuclear Elements*, SINE; *Long Interspersed Nuclear Elements*, LINE) também podem ser substratos para a recombinação homóloga não alélica (revisão em Shaw e Lupski, 2004). O mecanismo de NAHR também foi proposto para a formação da translocação recíproca recorrente t(4;8)(p16;p23). Ambos os pontos de quebra ocorrem em *clusters* de genes de receptores olfativos, sugerindo que a recombinação entre esses loci em 4p16 e 8p23 seja responsável pela formação do rearranjo (Giglio et al., 2001). No caso das translocações Robertsonianas, o emparelhamento de sequências repetitivas pericentroméricas, que teriam homologia em cromossomos acrocêntricos, facilitariam a transferência de braços cromossômicos, pela troca entre sequências emparelhadas em disposição invertida (revisão em Shaffer e Lupski, 2000). As translocações Robertsonianas e a t(4;8)(p16;p23) formam-se preferencialmente na gametogênese materna (Page et al., 1997; Giglio et al., 2002).

Outro mecanismo que atua na formação de rearranjos cromossômicos é a junção de extremidades não homólogas (NHEJ). Ocorrendo mais de uma quebra na dupla fita de DNA em uma célula, o reparo por NHEJ pode unir extremidades que não estavam contíguas, originando rearranjos estruturais. Inicialmente, as extremidades quebradas

emparelham-se com base na homologia de alguns poucos pares bases e sua junção ocorre após adição ou perda de alguns pares de base, tornando as fitas compatíveis (Gu et al., 2008).

Estudos em que foram sequenciadas junções das quebras de rearranjos citogeneticamente equilibrados, em indivíduos com malformações congênicas graves ou atraso de desenvolvimento neuropsicomotor, mostraram que, raramente, são observadas sequências que, pela identidade compartilhada, poderiam ter mediado a formação do rearranjo por NAHR (Higgins et al., 2008; Lieber et al., 2010; Gohring et al., 2010) e depois da aplicação do NGS (Talkowski et al., 2011; Chen et al., 2008; Chen et al., 2011; Sobreira et al., 2011; Kloosterman et al., 2012; Chiang et al., 2012; Nazaryan et al., 2014; Schluth-Bolard et al., 2013; Suzuki et al., 2014; Utami et al., 2014). Por outro lado, nas junções dos rearranjos foram detectadas duplicações, inserções e deleções de poucos pares de base, uma indicação de NHEJ como mecanismo gerador do rearranjo. Esses trabalhos também evidenciaram que rearranjos equilibrados não recorrentes formam-se preferencialmente na espermatogênese (Borg et al., 2002; Ciccone et al., 2005; Thomas et al., 2010; Grossmann et al., 2010; Kloosterman et al. 2011).

Apesar de não ser encontrada homologia (>70pb) nas junções das quebras de rearranjos citogeneticamente equilibrados, em cerca de 30% deles, ocorre micro homologia de dois ou mais pares de bases entre as sequências participantes dos rearranjos (Chiang et al., 2012), sugerindo que mecanismos baseados em micro homologia (>70pb) possam contribuir também para a formação de alterações estruturais citogeneticamente equilibradas (Kloosterman et al., 2012). No entanto, micro homologia de 1 pb a 4 pb de extensão é frequentemente utilizada pelas enzimas do NHEJ e podem apenas refletir a ocorrência desse mecanismo (Ma et al., 2003; Lieber et al., 2010).

Um mecanismo de formação similar ao NHEJ, mas baseado em micro homologia é o MMEJ, em que o reparo de quebras de dupla fita do DNA requer micro homologia de 5 pb a 25 pb para alinhar as extremidades quebradas, antes de torná-las compatíveis (McVey et al., 2008). O processo de MMEJ sempre resulta em deleções, em geral maiores que as observadas no reparo por NHEJ (30-200pb; Kent et al., 2015); inserções também podem ocorrer, embora sejam raras.

A determinação das quebras no nível de pares de bases é necessária não somente para elucidar os mecanismos responsáveis pela sua formação, mas também para determinar a existência de estruturas secundárias do DNA que possam ter favorecido a

ocorrência das quebras. A translocação recíproca recorrente mais frequente, a t(11;22)(q23;q11), é um exemplo de rearranjo associado à formação de estruturas secundárias do DNA que criariam instabilidade genômica em loco específico (revisão em Kurahashi et al., 2010). Os pontos de quebra em 11q23 e 22q11 localizam-se em regiões ricas em AT, que formam estruturas palindrômicas denominadas, respectivamente, de PATRR11 e PATRR22 (*Palindromic AT-rich Repeats*, PATRR) (Kurahashi et al., 2000; Kurahashi et al., 2001; Kurahashi et al., 2007). A caracterização dos fragmentos de junção da t(11;22) localizou os pontos de quebras, em ambos os cromossomos, no centro das PATRR (Kurahashi et al., 2000). Pequenas regiões palindrômicas de DNA, como as PATRR, podem formar estruturas cruciformes de fita dupla que induziriam a instabilidade genômica, levando a quebra na dupla fita e formação das translocações (Kurahashi et al., 2004). A ausência de homologia e a presença de pequenas deleções nos pontos de quebra da t(11;22) sugerem que, após a quebra na dupla fita do DNA, o reparo é realizado via NHEJ (revisão em Shaffer e Lupski, 2000). A frequência relativamente alta da t(11;22) em espermatozoides de homens normais (Kurahashi et al., 2001b) e a origem paterna de t(11;22) esporádicas (Ohye et al., 2010) indicam que esse rearranjo se origina na espermatogênese.

Nos últimos anos, o uso de ferramentas, como a hibração genômica em *microarray* e o sequenciamento de nova geração, para a caracterização dos pontos de quebra e junção dos rearranjos cromossômicos, vem revelando sua complexidade e novos mecanismos têm sido propostos para explicar a formação desses rearranjos, como *chromotripsis* e mecanismos baseados em erros na duplicação do DNA, como *Fork Stalling and Template Switching* - FoSTeS (Lee et al., 2007) e *microhomology-mediated break-induced replication* (MMBIR; Hastings et al., 2009).

Ao identificar múltiplos pontos de quebras e fragmentos de junção simultaneamente, as técnicas de NGS permitiram determinar a estrutura dos rearranjos cromossômicos complexos citogeneticamente equilibrados (Stephens et al., 2011; Kloosterman et al., 2012; Chiang et al., 2012). A complexidade desses rearranjos levou à proposição de novos mecanismos para explicar sua formação. Inicialmente proposto como modelo para a formação de rearranjos somáticos complexos, formados a partir de mais de cem quebras, em tumores (Stephens et al., 2011), o mecanismo de *chromotripsis* também foi sugerido como responsável pela formação de rearranjos complexos na linhagem germinativa (Kloosterman et al. 2011; Chiang et al., 2012; Kloosterman et al. 2012; Nazaryan et al., 2014). Nesse mecanismo, em uma única

célula, agentes endógenos ou exógenos induziriam, simultaneamente, múltiplas quebras na dupla fita do DNA, resultando em fragmentação cromossômica. A união dos fragmentos seria feita por NHEJ ou MMEJ. O *clustering* de pontos de quebras sugeriu que os rearranjos não poderiam ter-se formado por eventos múltiplos e independentes, em subclones diferentes, hipótese apoiada pela análise estatística (Stephens et al., 2011). Extensa reorganização de segmentos é observada em rearranjos cromossômicos formados a partir *chromothripsis*. Rearranjos tumorais também estão associados a várias perdas e ganhos de segmentos, embora rearranjos originados na linhagem germinativa sejam predominantemente equilibrados. A análise por NGS de múltiplas linhagens celulares de diferentes tipos de câncer revelou sinais de *chromothripsis* em 2 a 3% das células estudadas, e em até 25% dos tumores de tecidos ósseos (Stephens et al., 2011). Por outro lado a frequência do mecanismo em rearranjos na linhagem germinativa ainda não está determinada, pois poucos rearranjos complexos foram investigados por NGS. Embora muitos aspectos a respeito do mecanismo de *chromotripsis* ainda não terem sido esclarecidos, evidências sugerem a participação de micronúcleos. Erros mitóticos que levam a atraso anafásico e erros na replicação do DNA podem levar à formação de micronúcleos de (Terradas et al., 2010; Crasta et al., 2012). Foi demonstrado experimentalmente que o isolamento de um ou alguns poucos cromossomos que sofreram atraso anafásico em micronúcleos pode facilitar a formação de rearranjos cromossômicos complexos, por mecanismo típico de *chromothripsis*. No interior dos micronúcleos, os cromossomos estariam mais suscetíveis a sofrer quebras, evidenciando a importância da arquitetura nuclear e do envelope nuclear para a manutenção da instabilidade genômica em células eucarióticas (Zhang et al., 2015).

Apesar de raramente estarem associados a rearranjos equilibrados, mecanismos baseados na replicação do DNA, como FoSTeS e MMBIR, estão sendo identificados como responsáveis pela formação de um número crescente de rearranjos complexos associados a doenças, conforme observado para os locos do *PLP1*, *MECP2*, *DMD*, entre outros (Zhang et al., 2009). Esses mecanismo decorre de trocas de forquilha, facilitadas por meio do *annealing* de sequências que compartilham micro homologia de 2 pb a 5 pb de extensão (Ottaviani et al., 2014). Em comum, os rearranjos cromossômicos formados a partir desses mecanismos, além da micro homologia, incluem múltiplos pontos de quebra e inserção de segmentos de DNA mapeados em outras regiões do genoma.

O primeiro mecanismo baseado na replicação DNA, proposto para a formação de rearranjos cromossômicos, foi o FoSTeS, para explicar rearranjos complexos

contendo segmentos duplicados interrompidos por segmentos intactos, triplicados ou deletados que incluíam o gene *PLP1* (*proteolipid protein 1*), em afetados pela doença de Pelizaeus-Merzbacher (PMD; MIM 312080) (Lee et al., 2007). FoSTeS baseia-se na correção da duplicação do DNA, interrompida por lesões ou formação de estruturas secundárias; diante da interrupção da forquilha de duplicação, a fita *lagging* invade outras forquilhas próximas e completa a duplicação na forquilha original. A mudança de forquilha exige a presença de micro homologia com os sítios invadidos para o *priming* da extremidade 3' reiniciar a replicação. Apesar de FoSTeS aparecer como explicação para formação de rearranjos complexos, como as deleções ou duplicações já associadas a síndromes, não há relatos de rearranjos citogeneticamente equilibrados que possam ter sido formados por FoSTeS. Outro mecanismo similar, proposto por Howarth et al. (2011), baseia-se em erros na replicação do DNA, para explicar a formação de translocações, nas quais ocorrem segmentos duplicados nas junções dos pontos de quebras, como na t(X;22)(q22;q13) que descrevemos (Fonseca et al., 2013). Nesse modelo, as duplicações são produzidas a partir de uma bolha de replicação do DNA, formada por duas forquilhas de replicação, com as sequências que estarão duplicadas, no centro. Quebras na dupla fita do DNA ou trocas de forquilhas em regiões específicas, seguidas de quebras no outro cromossomo, levariam à formação da translocação. Esse modelo pode explicar também deleções nos pontos de quebras de translocações.

O MMBIR também foi proposto como modelo para explicar a formação de rearranjos complexos, contendo segmentos duplicados ou deletados interrompidos por segmentos intactos, invertidos ou triplicados (Hastings et al., 2009). O MMBIR é baseado no mecanismo experimentalmente comprovado de replicação induzida por quebra (*break-induced replication*, BIR), responsável pela formação de rearranjos complexos em leveduras (Morrow et al., 1997). Para que ocorram, BIR e MMBIR necessitam de uma extremidade livre de dupla fita de DNA durante a replicação, que pode originar-se após o colapso de uma forquilha de replicação ou ainda por meio da erosão de telômeros. Após ressecção da extremidade 5' ocorre a exposição da extremidade 3' *overhang*, que pode invadir sucessivas vezes outras regiões de fita única no genoma e servir de *priming* para reiniciar a replicação nesses pontos. A presença de LCR pode favorecer a parada da forquilha de replicação, podendo assim iniciar o processo. Como ocorre no FoSTeS, múltiplas dissociações e invasões de novas fitas podem resultar em rearranjos extremamente complexos. Teoricamente o MMBIR

poderia formar translocações, se a fita invadida pertencer a outro cromossomo, embora não haja relatos na literatura.

I.3 Mecanismos patogênicos associados a rearranjos cromossômicos citogeneticamente equilibrados

Embora a maioria dos portadores de rearranjos cromossômicos citogeneticamente equilibrados serem clinicamente normais, 6% e 9,4%, respectivamente, das translocações e inversões aparecem associadas a alterações fenotípicas ao nascimento (Warburton, 1991). Estudos de indivíduos com deficiência intelectual e malformações congênicas evidenciaram que as translocações aparentemente equilibradas são mais frequentes nesse grupo do que na população geral (Tharapel et al., 1977; Fryns e van den Berghe, 1979).

Diferentes mecanismos têm sido identificados ou sugeridos para explicar a associação entre rearranjos cromossômicos citogeneticamente equilibrados e quadros clínicos: interrupção de genes pelas quebras cromossômicas (Tonkin et al., 2004; Vandeweyer et al., 2009); modificação da expressão de gene próximo aos pontos de quebra devido interrupção de região reguladora ou heterocromatização (Lettice et al., 2002; Kleinjan e Heyningen, 1998; Leipoldt et al., 2009; Fonseca et al., 2013); formação de gene híbrido (Nothwang et al., 2001; Backx et al., 2011) e dissomia uniparental (Liehr, 2010), principalmente no caso de rearranjos herdados (Dupont et al., 2002). A aplicação de hibridação genômica em *microarrays* ao estudo de rearranjos aparentemente equilibrados de ocorrência esporádica tem revelado que microdeleções e microduplicações nos pontos de quebra ou próximas a eles, podem explicar os fenótipos alterados de cerca de 25% dos pacientes (Baptista et al., 2008, Higgins et al., 2008, Gijbbers et al., 2010; Feenestra et al., 2011; Fonseca et al., 2012). Esses desequilíbrios submicroscópicos também foram identificados, como mutações *de novo*, em rearranjos equilibrados associados a patologias, mas que foram herdados de genitores fenotipicamente normais (Ciccone et al., 2005; Schluth-Bolard et al., 2009; South et al., 2010; Le Tanno et al., 2014). Outra possibilidade em rearranjos herdados é que o ponto de quebra pode ter inativado ou interrompido um gene, cuja haploinsuficiência não tenha consequências clínicas, mas que se manifeste na presença de alelo alterado herdado do outro genitor, num padrão recessivo de herança (Hearn et al., 2002; Lesnik Oberstein et al., 2006).

A aplicação de NGS ao estudo desses rearranjos tem agilizado a identificação de mecanismos patogênicos. O mapeamento de alta resolução dos rearranjos citogeneticamente equilibrados é determinante para a correlação genótipo-fenótipo, que depende dos genes ou regiões reguladoras que foram alteradas pelo rearranjo (Huang et al., 2010). Além da identificação de genes associados a doenças monogênicas, futuramente, a caracterização, em larga escala, de rearranjos equilibrados em indivíduos da população geral pode contribuir para elucidar os mecanismos genéticos responsáveis por doenças complexas e de manifestação tardia (Bache et al., 2006; Baptista et al., 2008; Talkowski et al., 2011).

Assim, a caracterização dos pontos de quebra de rearranjos cromossômicos citogeneticamente equilibrados pode levar à identificação de genes candidatos a serem responsáveis pelos quadros clínicos a eles associados. No entanto, é importante ressaltar que a associação entre fenótipo alterado e rearranjos equilibrados pode ser casual e indivíduos clinicamente normais portadores desses podem ter genes interrompidos pelos pontos de quebra (Baptista et al., 2008).

- ***Interrupção de genes pelas quebras cromossômicas***

A investigação de rearranjos citogeneticamente equilibrados em indivíduos com deficiência intelectual e malformações congênitas frequentemente identifica genes associados a doença, nas regiões das quebras, como no caso dos genes *TCF4* e *FOXP2*, (Nazaryan et al., 2014; Schluth-Bolard et al., 2013). Esses genes são sensíveis a dosagem e os quadros clínicos estão associados a haploinsuficiência, resultante da interrupção pelas quebras cromossômicas. Ao identificar novos genes candidatos interrompidos pelas quebras cromossômicas, o estudo de rearranjos equilibrados tem contribuído também para elucidar os mecanismos genéticos de doenças monogênicas.

A identificação do gene da distrofina foi um dos primeiros casos de mapeamento de um gene a partir de translocações. No início da década de 80 foram publicados trabalhos que descreveram mulheres afetadas por distrofia muscular do tipo Duchenne (DMD), que eram portadoras de translocações recíprocas entre o cromossomo X e um autossomo (Zatz et al., 1981, Boyd et al., 1986). Em todos esses casos, o ponto de quebra no cromossomo X ocorreu na banda Xp21, o que sugeria que o gene mutado na DMD estava localizado nesse segmento e que tinha sido interrompido pelas quebras que originaram as translocações. Esses resultados juntamente com a detecção de deleções em afetados permitiram a clonagem do gene da distrofina (Koenig et al., 1987). A

manifestação da DMD, que tem herança recessiva, nas mulheres foi resultado da inativação do cromossomo X normal. Em geral, esse padrão de inativação é observado em portadoras de translocações X-autossomo; o desvio da inativação casual decorre da seleção contrária às células que inativam o cromossomo X translocado, que não são equilibradas do ponto de vista funcional, pois apresentam dissomia parcial do cromossomo X e monossomia parcial do autossomo, por propagação da inativação. O estudo de translocações X-autossomo também tem sido importante para a identificação de genes candidatos a deficiência intelectual. Vandeweyer et al. (2009), em revisão sobre a associação de deficiência intelectual e translocações equilibradas, mostraram que esses rearranjos levaram à identificação de 11 novos genes relacionados a deficiência intelectual. Nesses casos, os resultados foram confirmados pela identificação de mutações em outros afetados.

O estudo de rearranjos equilibrados também auxiliou a identificação de genes responsáveis por várias doenças localizados em autossomos como o *NFI* [*neurofibromin1*; neurofibromatose tipo 1 (Schmidt et al., 1987; Ledbetter et al., 1989)], *NSD1* [*nuclear receptor binding SET domain protein 1*; síndrome de Sotos; (Kurotaki et al., 2002)], e *NIPBL* [*Nipped-B-like*; Cornelia de Lange (Tonkin et al., 2004)]. Um exemplo interessante é o do gene *DYRK1A* (*Dual-specificity tyrosine-(Y) phosphorylation regulated kinase1A*), localizado no cromossomo 21. O estudo de duas translocações com pontos de quebra em 21q22.2 levou à identificação do gene relacionado ao fenótipo de deficiência intelectual, microcefalia e retardo de crescimento (Moller et al., 2008). Posteriormente, em outro paciente com quadro clínico similar foi identificada uma mutação de perda de função no gene *DYRK1A* (van Bon et al. 2011), confirmando a haploinsuficiência do gene como responsável por nova forma de deficiência intelectual síndrômica. Outro exemplo é o gene *ARID1B* (*AT richinteractivedomain 1B*) localizado em 6q25.3. Por sequenciamento *mate-pair* foram mapeados os pontos de quebra de uma translocação t(1;6)(p31;q25), detectada em um paciente com autismo, atraso de desenvolvimento neuropsicomotor, ausência de fala e agenesia do corpo caloso (Halgren et al., 2012). O ponto de quebra do cromossomo 6 truncou o gene *ARID1B*. Outro paciente com quadro clínico similar, descrito anteriormente, era portador de translocação que também interrompia o gene *ARID1B* (Backx et al., 2011). Halgren et al., (2012) também mostraram a semelhança clínica entre os dois portadores de translocações e portadores de deleções que incluíam o *ARID1B*. Esses dados sugerem que o gene *ARID1B* tenha papel importante no

desenvolvimento do corpo caloso, e atuando sobre a fala. Recentemente uma inversão paracêntrica inv(2)(q14.3q34) caracterizada por NGS interrompeu o gene *PTH2R* (*parathyroid hormone 2 receptor*) em uma criança com craniossinostose não síndrômica (Kim et al., 2015). Outros pacientes portadores de alterações no gene devem ser descrito para confirmar a relação causal.

O estudo de rearranjos equilibrados também tem sido importante para identificar genes responsáveis pelo quadro clínico em síndromes de microdeleções conhecidas. Um exemplo é a síndrome da deleção terminal 22q13.3, caracterizada por grave atraso de linguagem, deficiência intelectual moderada, hipotonia e dismorfismos faciais (MIM 606232). Bonaglia et al. (2001) identificaram uma criança com quadro típico da síndrome, portadora de translocação equilibrada t(12;22)(q24.1;q13.3). O ponto de quebra no cromossomo 22 interrompia o gene *SHANK3* (*SH3 and multiple ankyrin repeat domains 3*), que é altamente expresso no córtex cerebral e no cerebelo. Os autores sugeriram que a haploinsuficiência desse gene seria responsável pela síndrome da deleção terminal em 22q13.3. Posteriormente, Wilson et al. (2003) identificaram uma região crítica de 130 kb comum a 46 pacientes com microdeleção, que incluía o gene *SHANK3*.

A comparação entre rearranjos citogeneticamente equilibrados em indivíduos afetados e clinicamente normais revelou que a proporção de rearranjos que interrompem genes foi maior no grupo controle do que nos rearranjos associados a quadros clínicos, embora haja predominância de genes que atuam no sistema nervoso entre os indivíduos afetados (Baptista et al., 2008). A detecção de genes interrompidos em rearranjos equilibrados em indivíduos normais pode, portanto, identificar genes cuja haploinsuficiência não tem efeito sobre o desenvolvimento (Bernheim et al., 2007). Por outro lado rearranjos equilibrados em indivíduos fenotipicamente normais também podem contribuir para elucidar mecanismos genéticos responsáveis por doenças complexas. Bache et al. (2006) avaliaram o potencial da associação entre translocações equilibradas e essas doenças. Para isso, investigaram a presença de várias doenças complexas em portadores de translocações equilibradas, sem histórico de doença de manifestação precoce. Foram consideradas como potencialmente associadas a doenças complexas, as translocações que segregavam com o quadro clínico, com *lod score* significativo, ou aquelas translocações cujos pontos de quebra estavam localizados em regiões que já haviam sido associadas às doenças. Os autores identificaram 42 pontos de quebra potencialmente associados a doenças complexas. A associação mais consistente

ocorreu entre um ponto de quebra em 1p36 em uma translocação t(1;18)(p36.1;q21) familiar que segregava com dislexia. O locus DYX8, também mapeado em 1p36, já havido sido associado à dislexia em estudo de ligação (Tzenova et al., 2004). Outra associação muito provável ocorreu entre uma translocação t(9;17)(q33;q25.3) e distúrbio bipolar familiar. A associação entre o segmento 17q25.3 e o distúrbio bipolar foi apoiada pela identificação, no mesmo trabalho, de dois pacientes com depressão e pontos de quebra de translocação nesse segmento. Em outro estudo (Baptista et al., 2008), uma translocação - t(4;16)(q35.1;p13.13), interrompia o gene *FAT* [tumor suppressor homolog 1 (*Drosophila*)]. Esse gene é pouco caracterizado em humanos, mas o ortólogo em *Drosophila* atua como supressor de tumor. Diante do aparecimento de prolactinoma aos 37 anos de idade na portadora do rearranjo, os autores sugerem que a interrupção do gene *FAT* possa ter contribuído para o desenvolvimento do tumor.

- **Formação de gene híbrido**

Os rearranjos cromossômicos podem formar genes híbridos, cujos produtos estão associados geralmente ao desenvolvimento de tumores. Para que ocorra a formação de transcrito híbrido, ambos os genes precisam estar orientados na mesma direção e o quadro de leitura deve ser preservado. O exemplo mais conhecido é o da leucemia mielóide crônica (MIM 608232), caracterizada pela presença da translocação t(9;22)(q34;q11) na linhagem tumoral (Rowley et al., 1973). No cromossomo 22 derivativo, o cromossomo Filadélfia, ocorre a justaposição dos genes *ABL* (*Breakpoint Cluster Region*, cromossomo 9) e *BCR* (*Abelson tyrosine kinase*, cromossomo 22), formando um gene híbrido que codifica um polipeptídeo similar ao produto do *ABL*. No entanto, a substituição da porção N-terminal de *ABL* pela porção N-terminal de *BCR* faz com que o produto híbrido tenha atividade desregulada e constitutiva de tirosina quinase. Essa proteína estimula a proliferação de células precursoras hematopoiéticas e impede que sofram apoptose.

Apesar de raros, existem relatos de formação de transcritos híbridos associados a translocações em afetados por deficiência intelectual e malformações congênitas (Nothwang et al., 2001, Ramocki et al., 2003, Backx et al., 2011; Bertelsen et al., 2015). Nessas translocações constitutivas, mesmo diante da formação de produtos híbridos, a haploinsuficiência de genes interrompidos pelas quebras cromossômicas parece ser a causa dos quadros clínicos. Entretanto, o ganho de função ou o efeito dominante negativo dos transcritos híbridos constitutivos não pode ser descartado.

- ***Efeito de posição***

O efeito de posição é definido como alteração da expressão gênica devida a mudança de posição do gene do seu ambiente cromossômico, não estando associado a mutação ou deleção intragênica, mantendo-se portanto, a unidade transcricional e o promotor intactos (Kleinjan e Heyningen, 1998). O efeito de posição pode estar associado a alterações fenotípicas por dois mecanismos principais: heterocromatização ou alteração da relação espacial do gene com elementos reguladores em cis. No último caso, o rearranjo pode afastar um gene de elementos reguladores próprios ou de um elemento de fronteira ou ainda pode aproximá-lo a elementos reguladores de outro gene. Kleinjan e Coutinho (2009) propuseram que doenças causadas por interrupção da arquitetura em cis da região reguladora de um loco gênico sejam chamadas de “*cis-ruption disorders*”. Com raras exceções, os genes já associados ao efeito de posição codificam fatores de transcrição que atuam no desenvolvimento, refletindo a importância do controle temporal e espacial da expressão desses genes. O estudo de rearranjos com pontos de quebra 3’ ou 5’ a esses genes tem contribuído para o entendimento da estrutura da região reguladora de genes que atuam no desenvolvimento em mamíferos (revisões em Kleinjan e Lettice, 2008; Bhatia e Kleinjan., 2014). O mapeamento de pontos de quebra de rearranjos, que supostamente afetam a região reguladora de genes, mostrou que podem interromper ou estar localizados nas proximidades de elementos não codificadores conservados (*conserved non-coding elements*, CNE). O estudo funcional dos CNE em camundongos transgênicos mostra que esses elementos atuam como *enhancers* (Benko et al., 2009; Brown et al., 2010; Klopocki et al., 2011). Quando um rearranjo equilibrado interrompe um desses elementos reguladores em cis ou o afasta do gene contribui para a alteração da expressão espacial ou temporal do gene.

A aplicação de técnicas capazes de determinar as interações de cromatina (3C, 4C, 5C, 6C e Hi-C) demonstrou que os genomas de *Drosophila*, camundongo e humano são segmentados em domínios funcionais e estruturais denominados de *topological associated domains* (TAD) (Sexton et al., 2012; Nora et al., 2012; Dixon et al., 2012). A importância dos TAD na regulação da expressão gênica tem sido intensamente debatida (De Laat and Duboule., 2013; Nora et al., 2013). As fronteiras dos domínios que constituem os TAD são enriquecidas de *insulator binding proteins* (CTCF), um importante sinal de que as fronteiras dos TAD correspondam a barreiras (Dixon et al.,

2012). Essas fronteiras são estáveis entre diferentes tipos celulares e conservadas nos genomas de humanos e camundongos. Essas características sugerem que as fronteiras dos TAD poderiam funcionar como barreiras, restringindo as interações cis do genoma aos domínios (De Laat and Duboule., 2013; Nora et al., 2013). Estudos demonstram que alterações estruturais cromossômicas em humanos, que removem as fronteiras dos TAD ou alteram a sua posição, causam quadros clínicos ao permitir a interação dos genes candidatos com *enhancers* localizados nos domínios vizinhos (Ibn-Salem et al., 2014; Giorgio et al., 2015; Lupiáñez et al., 2015). Além disso, as quebras de translocações, que supostamente afetam a região reguladora de genes, também ocorrem nos mesmos domínios topológicos dos genes cuja expressão foi alterada. Isso ocorre mesmo quando há grandes distâncias (~1Mb) entre os genes e as quebras, como no caso dos genes *SHH*, *SOX9* e *MAF* (Nora et al., 2013).

Um dos exemplos mais conhecidos do impacto clínico de rearranjos cromossômicos em decorrência de alteração de região reguladora é o locus do *SOX9* (*Sry-related hmg-box gene 9*), mapeado no braço longo do cromossomo 17. Mutações de perda de função do gene *SOX9* causam displasia campomélica (CD, MIM 114290), doença rara e frequentemente letal, caracterizada por alterações esqueléticas, entre as quais se destacam o encurvamento e a diminuição do comprimento dos ossos longos. Existem relatos de afetados que não possuem essas mutações, mas são portadores de rearranjos equilibrados cujos pontos de quebra se localizam entre 50 kb e 932 kb *upstream* ao *SOX9* (revisões em Gordon et al., 2009 e Fonseca et al., 2013). Duas translocações que supostamente afetam a região reguladora do *SOX9*, t(7;17)(p.13;q24) e t(17;20)(q24.3;q11.), foram por nós descritas (Fonseca et al., 2013). Os pontos de quebra no cromossomo 17 da t(7;17) e t(17;20) foram localizados por FISH, respectivamente, a 917 – 855 kb e 682 – 585 kb *upstream* ao gene *SOX9* (*Sry-related hmg-box gene 9*). Clinicamente, os dois pacientes apresentavam, em comum, alterações esqueléticas torácicas e craniofaciais compatíveis com mutações no *SOX9*. No entanto, a curvatura anormal dos ossos longos, característica principal da CD, está ausente em nossos pacientes e em outros portadores de rearranjos cujos pontos de quebra se localizam entre 585-932 kb *upstream* ao *SOX9*; nesses casos, a doença é chamada de displasia campomélica acampomélica (ACD). Com exceção do paciente portador da t(17;20) e de outro paciente descrito em trabalho anterior (Leipoldt et al., 2007), portadores de rearranjos com quebras mais distantes ao *SOX9* têm expectativa de vida normal. Em oposição, a maioria dos portadores de rearranjos que estão localizados até

350 kb *upstream* ao *SOX9*, assim como portadores de mutação no gene, têm grave comprometimento das vias respiratórias, em virtude das alterações esqueléticas. Rearranjos com pontos de quebra localizados a cerca de 1Mb *upstream* ao *SOX9* são identificados em afetados pela sequência de Pierre Robin (PRS; MIM 261800), caracterizada por fissura de palato, micrognatia e glossoptose. No entanto esses pacientes não apresentam outras alterações típicas de CD ou ACD. Baseando-se no espectro clínico de portadores de rearranjos próximos ao *SOX9*, supõe-se que a região reguladora do gene deva estender-se por cerca de 1Mb *upstream* ao *SOX9*, uma região desprovida de genes, altamente conservada em diferentes grupos de vertebrados (revisão em Fonseca et al., 2013). O afastamento ou interrupção de elementos reguladores distantes ao gene estariam associados aos fenótipos desses pacientes. Quanto mais próxima ao gene está a quebra do rearranjo, maior é o número esperado de *enhancers* com localização em cis alterada em relação ao *SOX9*, levando a maior gravidade do quadro clínico. Vários *enhancers* que controlam a expressão do gene já foram isolados, a maioria deles localizados até 350 kb *upstream* ao *SOX9* (Wunderle et al., 1998; Bagheri-Fam et al., 2006); dois *enhancers* mapeados a cerca de 1Mb *upstream* ao *SOX9* foram isolados (Benko et al., 2009). Indivíduos 46,XY, portadores de deleções e rearranjos cromossômicos *upstream* ao *SOX9*, principalmente aqueles com quebras até 350 kb distantes do gene, também apresentam alterações do desenvolvimento sexual (reversão sexual), refletindo a atuação do gene na determinação sexual. Um *enhancer* que ativa o *SOX9* na via de determinação sexual, denominado de TESCO, foi isolado (Sekido e Lovell-Badge, 2008). Baseando-se na ausência de alterações sexuais no portador da t(17;20) que descrevemos, propuzemos a existência de outro *enhancer*, que atua na determinação sexual, na região 517-595 kb *upstream* ao *SOX9* (Fonseca et al., 2013). Além de rearranjos equilibrados, deleções e duplicações *upstream* ao *SOX9* foram identificados em pacientes com ACD, Pierre Robin ou com alterações no desenvolvimento sexual, comprovando o impacto de alterações na região reguladora do *SOX9* no fenótipo dos portadores (Fonseca et al., 2013).

A compreensão da estrutura da região reguladora do gene *SHH* (*Sonic hedgehog*) também foi favorecida pelo estudo de rearranjos equilibrados *upstream* ao gene, identificados em pacientes com holoprosencefalia (Roessler et al., 1997) ou alterações de membros (Lettice et al., 2002). Esses rearranjos evidenciaram que a expressão do *SHH*, em diferentes tipos celulares, é controlada por elementos reguladores localizados ao longo da região de 1 Mb 3' ao gene (Amano et al., 2009). O

elemento regulador localizado a 1 Mb do gene, denominado de ZPA (*regulatory sequence ZRS*), foi identificado no estudo de uma translocação t(5;7)(q11,q36) associada a polidactilia preaxial (Lettice et al., 2002). Esse elemento localiza-se no intron 5 do gene *LMBR1* gene e sua interrupção teria causado as alterações de membros no portador da translocação. Esses resultados foram confirmados pela identificação de mutações de ponto no ZPA, que segregavam com o quadro de polidactilia em famílias (Gurnett et al., 2007). Além do ZPA, outros CNE localizados na região 1 Mb *upstream* ao *SHH* foram capazes de ativar, em *zebrafish*, a expressão gênica em sítios embrionários em que *SHH* se expressa (Woolfe et al., 2005; Goode et al., 2005).

Alterações na região reguladora do gene *PAX6* (*paired box 6*), mapeado em 11p13, estão associadas a aniridia (NA, MIM 106210). Já foram descritos indivíduos afetados que eram portadores de rearranjos cromossômicos com pontos de quebra *downstream* ao gene, o mais distal localizando-se a 125 kb do último exon do *PAX6* (Fantès et al., 1995; Lauderdale et al., 2000; Crolla e van Heyningen, 2002). Todos os pontos de quebra se localizavam no último intron do gene *ELP4* [*elongation protein 4 homolog (S. cerevisiae)*], que é expresso em todos os tecidos. Estudos em camundongos indicam que a interrupção do *ELP4* não contribui para o fenótipo.

Embora a interrupção da região reguladora seja o principal mecanismo proposto para rearranjos que afetam a expressão gênica, o rearranjo pode também aproximar o gene de elementos reguladores de outro gene e alterar a sua expressão. Esse mecanismo foi denominado de *enhancer adoption* (Lettice et al., 2011). Em uma inversão pericêntrica do cromossomo 7, foi demonstrado que a holoprosencefalia em seu portador foi resultado da interrupção da região reguladora do gene *SHH*. No entanto, o portador da inversão também apresentava alterações de membros que não eram compatíveis com a alteração de expressão do *SHH*. Os autores demonstraram que a nova localização do *SHH* em 7q22.1 aproximou o gene (~190 kb 3') de um CNE altamente conservado mapeado no intron do gene *EMID2*. Esse CNE atua como *enhancer* de membros em embriões de camundongos e foi capaz de induzir a expressão ectópica do *SHH*, recapitulando, em camundongos, o fenótipo de membros observado no portador da inversão. É importante ressaltar que para que o mecanismo de *enhancer adoption* ocorra é necessário que o gene candidato e o *enhancer* com o qual ele passa a interagir estejam no mesmo TAD (Giorgio et al., 2015). Outro exemplo de *enhancer adoption* é o do linfoma de Burkitt (BL; MIM 113970), caracterizado pela proliferação monoclonal de linfócitos-B5 e associado à translocação t(8;14)(q24;q32), presente na

linhagem tumoral, em 80% dos casos. No cromossomo derivativo 14, o gene *c-myc* [*v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian)*], translocado do cromossomo 8, está justaposto a genes de imunoglobulina e passa a estar sob o controle de seus reguladores, tendo sua expressão exacerbada. O gene *c-myc* atua em vários aspectos da biologia celular, incluindo proliferação, diferenciação, metabolismo e apoptose. A superexpressão do gene *c-myc* no cromossomo derivativo (14) altera essas funções e, conseqüentemente, desenvolve-se o tumor.

Além da alteração de elementos reguladores em cis, o rearranjo cromossômico pode influenciar a expressão de gene(s) próximo(s) ao ponto de quebra devido a alteração da estrutura da cromatina. A heterocromatização pode ocorrer quando o rearranjo aproxima uma região de eucromatina a uma de heterocromatina; o estado mais condensado do DNA da heterocromatina pode propagar-se para a região eucromática justaposta, silenciando genes, de forma aleatória, mas estável. Rees et al., (1994) descreveram uma translocação em mosaico, associada a β -talassemia, na qual o gene da cadeia β da hemoglobina foi translocado intacto do cromossomo 11 para o cromossomo 22, junto ao centrômero. Os autores sugerem que o gene estaria silenciado devido à proximidade com a região pericentromérica, de cromatina constitutiva. Finelli e colaboradores (2012) descreveram o primeiro caso de heterocromatização constitutiva em um portador da translocação t(15;16)(p11.2;q12.1), que apresentava grave atraso de desenvolvimento neuropsimotor e epilepsia. A translocação aproximou uma região heterocromática (satellite III) do cromossomo 15 a uma região eucromática do cromossomo 16, contendo o gene *ITFG1*, que foi interrompido. Os autores mostraram por real time PCR que houve perturbação na expressão de genes que permaneceram no der(16): o gene de região eucromática *NETO2/BTCL2*, mapeado em 16q12.1, estava silenciado, enquanto que os genes de região heterocromática *VPS35* e *SHCBP1*, mapeados em 16q11.2, estavam superexpressos; essa modificação na expressão de genes de região heterocromática, em decorrência de sua aproximação com segmento heterocromático pericentromérico, foi observada em *Drosophila*, desconhecendo-se o mecanismo (Baker et al., 1968). Não houve alteração na expressão de genes localizados no der(15).

Dissomia uniparental (UPD)

A dissomia uniparental (UPD) é definida pela presença no cariótipo de um par de cromossomos homólogos ou de segmentos cromossômicos homólogos com mesma

origem parental. É classificada como isodissomia uniparental, quando o mesmo cromossomo ou segmento cromossômico está presente em duplicata. Quando são herdados dois cromossomos homólogos diferentes ou parte deles de um mesmo genitor, tem-se uma heterodissomia uniparental.

Cerca de 30% dos casos de UPD estão associados a cariótipos anormais, sendo 8% rearranjos equilibrados (Liehr, 2010). No caso de um portador de translocação equilibrada, uma não disjunção meiótica pode originar um gameta dissômico, com os dois cromossomos derivativos e um dos normais que, ao se juntar a um gameta normal, formará um zigoto trissômico. A trissomia poderá ser corrigida pela perda do cromossomo homólogo normal do outro genitor e, nesse caso, o embrião terá uma heterodissomia uniparental. Outra possibilidade de heterodissomia é ocorrer a fertilização entre o gameta dissômico do portador da translocação e o do outro genitor, com a nulissomia correspondente. Caso o gameta do portador da translocação seja nulissômico, com apenas um dos cromossomos normais da translocação, a união com um gameta normal originará um embrião monossômico. O resgate da monossomia pode ocorrer por duplicação do cromossomo homólogo do genitor não portador da translocação. Essa pode ser também a origem de UPD em associação com rearranjos equilibrados esporádicos, que se originem na formação dos gametas (Robinson, 2000).

A relação entre dissomia uniparental e fenótipo alterado pode decorrer da homozigose quanto a alelos recessivos deletérios ou de *imprinting genômico*, ou seja, da expressão gênica dependente da origem parental (Wilkins et al., 2003).

Entre as doenças relacionadas a *imprinting genômico*, já foram descritos vários casos de UPD associada a rearranjos equilibrados. Dupont et al. (2002), por exemplo, descreveram uma menina afetada pela síndrome de Silver-Russell (SRS; MIM 180860), que herdou uma translocação equilibrada $t(7;16)(q21;q24)$ de sua mãe fenotipicamente normal; na criança foi detectada UPD materna do cromossomo 7, como causa da síndrome. Explica-se a UPD como decorrência de não disjunção, o gameta materno que originou o zigoto possuindo os cromossomos 7 normal e derivativo, determinando trissomia do cromossomo 7; o resgate dessa trissomia no embrião, com perda do cromossomo 7 paterno, levou à UPD7 materna e à SRS.

Entre as ocorrências esporádicas, existem vários exemplos de isocromossomos de braço longo ou translocações entre homólogos dos acrocêntricos 14 e 15, associados a síndromes bem caracterizadas de *imprinting* paterno e materno do cromossomo 14 e do cromossomo 15 (síndromes de Prader-Willi e de Angelman) (Robinson, 2000).

- ***Perdas e ganhos de segmentos submicroscópicos***

Os rearranjos cromossômicos citogeneticamente equilibrados são detectados por técnicas de citogenética clássica, dessa forma são considerados equilibrados aqueles rearranjos nos quais não são identificadas alterações maiores que 5 Mb, que podem ser visualizadas ao microscópio óptico. A partir de 2005, foram publicados trabalhos que aplicaram a-CGH no estudo de 216 rearranjos equilibrados associados a quadros clínicos (Gribble et al., 2005, De Gregori et al., 2007, Baptista et al., 2008; Fantès et al., 2008; Higgins et al., 2008; Sismani et al., 2008; Schluth-Bolard et al., 2009; Gijsbers et al., 2010, Feenestra et al., 2011). Esses estudos mostraram a presença de microdeleções e microduplicações nos cromossomos rearranjados em aproximadamente 25% dos pacientes (Tabela I.1). Cerca de 17% dos desequilíbrios foram encontrados nos pontos de quebras citogenéticos, mas 7,4% estavam em cis a essas quebras. O tamanho das deleções variou entre 100 kb e 15,3 Mb; os segmentos duplicados variaram entre 240 kb e 650 kb. Dessa forma, os desequilíbrios submicroscópicos nos pontos de quebra ou próximos a eles podem ser responsáveis por grande parte dos fenótipos clínicos em pacientes com rearranjos equilibrados.

Os rearranjos complexos estavam mais frequentemente associados a desequilíbrios, sendo detectados em 72% dos rearranjos com três ou mais quebras (Feenestra et al., 2011; Guilherme et al., 2013). Em seu estudo de 54 rearranjos citogeneticamente equilibrados Feenestra et al. (2011) ressaltaram que os desequilíbrios nos cromossomos rearranjados estavam presentes apenas naqueles indivíduos que apresentaram atraso de desenvolvimento neuropsicomotor. Assim, rearranjos complexos ou rearranjos associados a atraso de desenvolvimento têm maior probabilidade de não serem equilibrados no nível molecular.

Como no caso de rearranjos cromossômicos *de novo*, a análise por a-CGH mostra que rearranjos cromossômicos herdados também podem estar associados a desequilíbrios submicroscópicos nos cromossomos derivativos (Ciccone et al., 2005; Lybaek et al., 2008; Schluth-Bolard et al., 2009; Le Tanno et al., 2014). As microdeleções ou microduplicações podem originar-se de permuta desigual na meiose do genitor portador do rearranjo (Delahaye et al., 2007). A identificação de perdas ou ganhos no rearranjo presente propósito também pode revelar a complexidade do rearranjo presente no genitor fenotipicamente normal que, no nível do bandamento G, não pôde ser determinada (South et al., 2010).

A maioria dos desequilíbrios em rearranjos equilibrados são microdeleções (Fantes et al., 2008). Ganhos de segmentos nos cromossomos rearranjados foram descritos em alguns casos (Schluth-Bolard et al., 2009; Papadopoulou et al., 2010; Fonseca et al., 2013). Isso pode ser resultado do mecanismo de formação dos rearranjos, levando preferencialmente à perda de material. Por outro lado, esse resultado pode refletir a menor patogenicidade das duplicações, que assim não estariam presentes nos indivíduos selecionados para os estudos (Schluth-Bolard et al., 2009). Estudamos uma criança com manifestações clínicas compatíveis com a doença de Pelizaeus-Merzbacher (PMD), portadora de translocação equilibrada t(X,22)(q22;q13) (Fonseca et al., 2013). A maioria dos afetados por PMD são homens que apresentam duplicação do gene *PLP1* (*proteolipid protein 1*) (Woodward, 2008). As mulheres sintomáticas, em geral, apresentam quadro clínico leve da doença, de aparecimento tardio. A investigação da t(X;22) por a-CGH e FISH revelou a presença de duplicações de 490 kb e 570 kb, respectivamente, em 22q13 e Xq22. A análise por FISH mostrou que as cópias adicionais desses segmentos estavam localizadas nos pontos de quebra dos cromossomos derivativos X (segmento duplicado de 22q13) e 22 (segmento duplicado de Xq22). Um dos genes duplicados do cromossomo X é o *PLP1* e sua presença no der(22) garante duas cópias funcionais nas células da portadora do rearranjo, independentemente do padrão de inativação do cromossomo X. Essa é a primeira descrição de translocação constitutiva com duplicações de segmentos dos dois cromossomos derivativos. Na literatura, existe um único relato de duplicação num dos pontos de quebra de uma translocação equilibrada constitutiva, herdada da mãe da portadora (Cox et al., 2003).

Apesar de perda ou ganho de gene(s) ser a principal causa dos quadros clínicos, desequilíbrios submicroscópicos em rearranjos equilibrados podem alterar a região reguladora de genes próximos aos pontos de quebra. Em uma inv(7)(q21.3q35) familiar associada a perda auditiva e alterações craniofaciais foi detectada uma deleção de 5 kb no ponto de quebra do cromossomo 7 (Brown et al., 2010). A análise da deleção revelou a presença de um elemento conservado que pode atuar como um enhancer dos genes *DLX6* (*distal-less homeobox 6*) e *DLX5* (*distal-less homeobox 5*), localizados a 65 kb e 80kb do ponto de quebra do cromossomo 7 e que atuam no desenvolvimento das estruturas alteradas nos afetados.

Como a análise por hibridação genômica baseada em *microarrays* permite a investigação global do genoma, pode detectar, em portadores de rearranjos

citogeneticamente equilibrados, alterações em cromossomos que não participam desses rearranjos. Em determinados casos, os rearranjos cromossômicos e as alterações detectadas em outros cromossomos podem contribuir para o fenótipo. (Hayashi et al., 2007). Entretanto, o rearranjo pode estar de fato equilibrado e o fenótipo ser causado por perda ou ganho de segmentos de cromossomos que não participam dele (Morales et al., 2009).

Tabela I.1: Frequência de desequilíbrios submicroscópicos detectados por aCGH em portadores de rearranjos equilibrados esporádicos associados a comprometimento intelectual, atraso de desenvolvimento e malformações congênitas.

Estudo	Plataforma de aCGH	Número de rearranjos estudados	Pacientes portadores de desequilíbrios	Desequilíbrios no ponto de quebra	Desequilíbrios em cis ao ponto de quebra	Desequilíbrio não associado ao rearranjo
Gribble et al. (2005)	BAC PAC 3500 clones/array painting	10	4	1	1	2
De Gregori et al. (2007)	Oligo 44B/244K (Agilent)	27	11	7	1	3
Baptista et al. (2008)	Sanger 30K Whole Genome TilePath	14	4	3	0	1
Fantes et al. (2008)	1Mb 'CytoChip' BlueGnome	46	6	3	3	0
Higgins et al. (2008)	2600 BAC arrays/244K (Agilent)	11	6	2	3	1
Sismani et al. (2008)	Cytochip 1-Mb BlueGnome	12	3	1	1	1
Schluth-Bolard et al. (2009)	Oligo 44K/244K (Agilent)	33	16	7	4	5
Gijsbers et al. (2010)	262 K SNP, 238 K StyI SNP Affymetrix	9	7	2	2	3
Feenstra et al. (2011)	32k BAC, 105k or 244k oligo Agilent or 250k SNP Affymetrix	54	15	11	1	3
TOTAL		216	72 (33,3%)	37 (17,1%)	16 (7,4%)	19 (8,8%)

X. RESUMO E CONCLUSÕES

X. RESUMO E CONCLUSÕES

Este estudo teve como objetivos (a) identificar mecanismos pelos quais rearranjos cromossômicos citogeneticamente equilibrados possam estar associados de maneira causal a determinados quadros clínicos e (b) contribuir para a compreensão dos mecanismos de formação desses rearranjos. Para isso, foram estudados 45 rearranjos cromossômicos citogeneticamente equilibrados (29 translocações, 10 inversões e seis rearranjos complexos), detectados em pacientes que apresentavam malformações congênitas, comprometimento do desenvolvimento neuropsicomotor ou déficit intelectual. Foram 31 rearranjos cromossômicos esporádicos, três familiares que segregavam com o quadro clínico e mais 11 rearranjos cromossômicos herdados de genitores fenotipicamente normais. Inicialmente os pontos de quebra desses rearranjos foram mapeados por hibridação *in situ* fluorescente (FISH). A busca por microdeleções e duplicações genômicas foi realizada por a-CGH. A investigação dos pontos de quebra prosseguiu com a aplicação da técnica de *Mate-Pair Sequencing* (MPS), que permite localizar as quebras em segmentos de 100 pb – 1 kb, na maioria dos casos. Para obter os segmentos de junção das quebras no nível de pares de bases, os segmentos delimitados por MPS foram sequenciados pelo método de Sanger

A análise por aCGH revelou microdeleções ou microduplicações localizadas nos cromossomos rearranjados, em 12 dos 45 pacientes investigados (27%).

A análise de 27 rearranjos por MPS permitiu a caracterização dos pontos de junção das quebras. MPS expandiu o número de pontos de quebra, detectados por análise do cariótipo ou aCGH, de 114 para 156 (em resolução < 2kb, na maioria dos casos). O número de pontos de quebra/rearranjo variou de 2 a 20. Os 156 pontos de quebra resultaram em 86 variantes estruturais equilibradas e outras 32 variantes não equilibradas

Perdas e ganhos de segmentos submicroscópicos nos cromossomos rearranjados constituíram a principal causa ou, provavelmente, contribuíram para o quadro clínico de 12 dos 45 pacientes. Em cinco desses 12 rearranjos foram detectadas por MPS a interrupção de genes já relacionados à doença, ou provável alteração de sua região reguladora, contribuindo para o quadro clínico. Em quatro dos 33 rearranjos não associados a perdas ou ganhos de segmentos, a análise por MPS revelou a interrupção de genes que já foram anteriormente relacionados a doenças, explicando-se, assim, as

características clínicas dos portadores; outro rearranjo pode ter levado alteração da expressão gênica de gene sensível a dosagem e ao quadro clínico.

Um rearranjo cromossômico familiar, identificado na análise após bandamento G como uma translocação equilibrada, t(2;22)(p14;q12), segregava com quadro de atraso do desenvolvimento neuropsicomotor e dificuldade de aprendizado associados a dismorfismos. A combinação das análises por FISH, aCGH e MPS revelou que se tratava, na verdade, de rearranjo complexo entre os cromossomos 2, 5 e 22, incluindo 10 quebras. A segregação de diferentes desequilíbrios submicroscópicos em indivíduos afetados e clinicamente normais permitiu a compreensão da variabilidade clínica observada na família.

Rearranjos equilibrados detectados em indivíduos afetados, mas herdados de genitores clinicamente normais, são, em geral, considerados como não tendo relação com o quadro clínico, apesar da possibilidade de desequilíbrios cromossômicos gerados por permuta desigual na meiose do genitor portador do rearranjo. Neste trabalho, a investigação de 11 desses rearranjos por aCGH não revelou perdas ou ganhos de segmentos nos cromossomos rearranjados. No entanto, a análise por aCGH da portadora de um desses rearranjos - inv(12)mat - revelou deleção de 8,7 Mb no cromossomo 8, como causa de seu fenótipo clínico. Essa deleção estava relacionada com outro rearranjo equilibrado também presente em sua mãe, independente da inversão.

Para compreender os mecanismos de formação de rearranjos citogeneticamente equilibrados, investigamos os segmentos de junção no nível de pares de base. A análise por MPS que levou, na maioria dos casos, ao mapeamento dos pontos de quebras em segmentos <1kb permitiu o sequenciamento pelo método de Sanger de 51 segmentos de junções de 17 rearranjos. A ocorrência de *blunt fusions* ou inserções e deleções <10 pb, e a ausência de homologia ou a presença de micro homologia de 2 pb a 4 pb de extensão indicaram o mecanismo de junção de extremidades não homólogas (*non-homologous end joining*; NHEJ), na maioria das 51 junções caracterizadas. As características de três dos quatro rearranjos mais complexos, com 17-20 quebras, indicaram sua formação pelo mecanismo de *chromothripsis*.

Este estudo mostra a importância da análise genômica de variações de número de cópias por *microarray*, juntamente com o mapeamento dos pontos de quebra por MPS, para determinar a estrutura de rearranjos cromossômicos citogeneticamente equilibrados e seu impacto clínico. O mapeamento dos segmentos de junção por MPS,

permitindo o sequenciamento pelo método de Sanger, foi essencial para a compreensão de mecanismos de formação desses rearranjos.

XI. ABSTRACT AND CONCLUSIONS

XI. ABSTRACT

This study aimed at (a) identifying causative mechanisms of clinical features in carriers of karyotypically balanced chromosomal rearrangements (BCRs), and (b) disclosing the mechanisms of formation of these chromosomal rearrangements. Forty-five BCRs - 29 translocations, 10 inversions and six complex rearrangements, detected in patients with intellectual disability, developmental delay and/or congenital malformations were investigated. Thirty-one rearrangements were *de novo*, three were familial and segregated with the clinical phenotype, and 11 BCRs were inherited from phenotypically normal parents. Initially, the breakpoints of the rearrangements were mapped by using fluorescence in situ hybridization (FISH), and the presence of cryptic genomic imbalances was investigated by array comparative genomic hybridization (aCGH). Breakpoint-containing segments were narrowed down to approximately 100 pb – 1 kb, by using NGS-based mate-pair-sequencing (MPS). In order to investigate breakpoint junctions at the nucleotide level, breakpoint segments delimited by MPS were Sanger sequenced.

De novo microimbalances on the rearranged chromosomes were detected by aCGH in 12 out of the 45 patients investigated (27%).

MPS of 27 BCRs expanded the number of breakpoints, previously detected by karyotyping and aCGH, from 114 to 156 (breakpoint resolution < 2 kb, in most cases). The number of breakpoints/BCR ranged from 2 to 20. The 156 breakpoints resulted in 86 balanced and 32 unbalanced sample-specific structural variations (SVs).

In 12 out of the 45 patients investigated by aCGH, microimbalances on the rearranged chromosomes were responsible or likely contributed to the clinical features observed in the carriers. In five of these 12 rearrangements, truncated known disease genes or their regulatory regions also contributed to the clinical phenotype. MPS analysis revealed four out of the 33 rearrangements not associated with microimbalances, truncated known disease genes, thus explaining clinical features of carriers. Another balanced rearrangement might have truncated the regulatory region of a dosage sensitive gene, thus disturbing gene expression and leading to the clinical features of the carrier.

A karyotypically balanced translocation t(2;22)(p13;q12.2) associated with variable learning disabilities and dysmorphisms, was detected in six individuals in a three-generation family. Combined a-CGH, FISH and MPS revealed a ten-break

complex rearrangement, also involving chromosome 5. As the consequence of the segregation of the derivative chromosomes der(2), der(5) and der(22), different microimbalances were present in affected and clinically normal family members, thus contributing to the clinical variability.

Although, historically, BCRs inherited from phenotypically normal parents have not been considered as causally associated with clinical features of carriers, cryptic microimbalances on the rearranged chromosome have been reported that explained the clinical features of the affected carriers. In 11 such inherited BCRs ascertained through affected individuals, which were investigated in this work by using aCGH, no microimbalances were detected on the chromosomes involved. However, aCGH analysis in an affected girl, who carried an inv(12)mat, detected a likely pathogenic 8.7 Mb deletion on chromosome 8. This deleted chromosome derived from another maternal balanced rearrangement, not related to the inversion.

In order to investigate mechanisms of BCR formation, breakpoint junctions, mapped at intervals of approximately 1 kb by MPS, were narrowed down to the nucleotide level by Sanger sequencing. Fifty-one breakpoint junctions (BPJs) from 17 BCRs (nine translocations, three inversions and five complex rearrangements) were sequenced. The occurrence of blunt fusions or <10 bp deletions, insertions or duplications in the majority of the 51 BPJs, and the absence of homology or the presence of just 2 bp to 4 bp microhomology indicated non-homologous end joining (NHEJ). In three of the four most complex BCRs (17 to 20 breaks) indicated *chromothripsis* as the mechanism underlying their formation.

This study illustrates the importance of combining copy number variation analysis by *microarray* and breakpoint mapping by MPS, to determine the structure of karyotypically balanced chromosomal rearrangements, and to unravel their clinical impact. Mapping the breakpoint-junctions by MPS, followed by Sanger sequencing, was fundamental to determine the mechanism of formation of these rearrangements.

XII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

XII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akizu N, Cantagrel V, Zaki MS, Al-Gazali L, Wang X, Rosti RO, Dikoglu E, G AB, Rosti B, Vaux KK, Scott EM, Silhavy JL, Schroth J, Copeland B, Scharrer AE, Gordts PL, Esko JD, Buschman MD, Field SJ, Napolitano G, Abdel-Salam GM, Ozgul RK, Sagiroglu MS, Azam M, Ismail S, Aglan M, Selim L, Mahmoud IG, Abdel-Hadi S, Badawy AE, Sadek AA, Mojahedi F, Kayserili H, Masri A, Bastaki L, Temtamy S, Müller U, Desguerre I, Casanova JL, Dursun A, Gunel M, Gabriel SB, de Lonlay P, Gleeson JG. Biallelic mutations in SNX14 cause a syndromic form of cerebellar atrophy and lysosome-autophagosome dysfunction. **Nat Genet** **47**:528-34, 2015.
- Allan AM, Liang X, Luo Y, Pak C, Li X, Szulwach KE, Chen D, Jin P, Zhao X. The loss of methyl-CpG binding protein 1 leads to autism-like behavioral deficits. **Hum Mol Genet** **17**:2047-57, 2008.
- Allen RC, Zoghbi HY, Moseley AB, Rosenblatt HM, Belmont JW. Methylation of HpaII and HhaI sites near the polymorphic CAG repeat in the human androgen-receptor gene correlates with X chromosome inactivation. **Am J Hum Genet** **51**:1229-1239, 1992.
- Amano T, Sagai T, Tanabe H, Mizushina Y, Nakazawa H, Shiroishi T. Chromosomal dynamics at the Shh locus: limb bud-specific differential regulation of competence and active transcription. **Dev Cell** **16**:47-57, 2009.
- Antonini, 2005. Mapeamento de ponto de quebra em rearranjos cromossômicos. Pós-doutorado. Processo FAPESP: 01/03964-3.
- Aretz S, Stienen D, Uhlhaas S, Stolte M, Entius MM, Loff S, Back W, Kaufmann A, Keller KM, Blaas SH, Siebert R, Vogt S, Spranger S, Holinski-Feder E, Sunde L, Propping P, Friedl W. High proportion of large genomic deletions and a genotype phenotype update in 80 unrelated families with juvenile polyposis syndrome. **J Med Genet** **44**: 702–709, 2007.
- Aza-Carmona M, Shears DJ, Yuste-Checa P, Barca-Tierno V, Hisado-Oliva A, Belinchon A, Benito-Sanz S, Rodriguez JI, Argente J, Campos-Barros A, Scambler PJ, Heath KE. **Hum Mol Genet** **20**:1547-59, 2011
- Babbs C, Furniss D, Morriss-Kay GM, Wilkie AO. Polydactyly in the mouse mutant Doublefoot involves altered Gli3 processing and is caused by a large deletion in cis to Indian hedgehog. **Mech Dev** **125**:517-526, 2008.
- Bache I, Hjorth M, Bugge M, Holstebro S, Hilden J, Schmidt L, Brondum-Nielsen K, Bruun-Petersen G, Jensen PK, Lundsteen C, Niebuhr E, Rasmussen K, Tommerup N. Systematic re-examination of carriers of balanced reciprocal translocations: a strategy to search for candidate regions for common and complex diseases. **Eur J Hum Genet** **14**:410-7, 2006 .
- Backx L, Seuntjens E, Devriendt K, Vermeesch J, Van Esch H. A balanced translocation t(6;14)(q25.3;q13.2) leading to reciprocal fusion transcripts in a patient with intellectual disability and agenesis of corpus callosum. **Cytogenet Genome Res** **132**:135-43, 2011.
- Baker WK: Position-effect variegation. **Adv Genet** **14**:133-169, 1968.

- Bakkaloglu B, O'Roak BJ, Louvi A, Gupta AR, Abelson JF, Morgan TM, Chawarska K, Klin A, Ercan-Sencicek AG, Stillman AA, Tanriover G, Abrahams BS, Duvall JA, Robbins EM, Geschwind DH, Biederer T, Gunel M, Lifton RP, State MW. Molecular cytogenetic analysis and resequencing of contactin associated protein-like 2 in autism spectrum disorders. **Am J Hum Genet** **82**:165-73, 2008.
- Baptista J, Mercer C, Prigmore E, Gribble SM, Carter NP, Maloney V, Thomas NS, Jacobs PA, Crolla JA. Breakpoint mapping and array CGH in translocations: comparison of a phenotypically normal and an abnormal cohort. **Am J Hum Genet** **82**:927-36, 2008.
- Barbero JL. Genetic basis of cohesinopathies. **Appl Clin Genet** **6**:15-23, 2013.
- Becker W, Weber Y, Wetzel K, Eirmbter K, Tejedor FJ, Joost HG. Sequence characteristics, subcellular localization, and substrate specificity of DYRK related kinases, a novel family of dual specificity protein kinases. **J Biol Chem** **273**: 25893-902, 1998.
- Becker K, Di Donato N, Holder-Espinasse M, Andrieux J, Cuisset JM, Vallée L, Plessis G, Jean N, Delobel B, Thuresson AC, Annerén G, Ravn K, Tümer Z, Tinschert S, Schrock E, Jønch AE, Hackmann K. De novo microdeletions of chromosome 6q14.1-q14.3 and 6q12.1-q14.1 in two patients with intellectual disability - further delineation of the 6q14 microdeletion syndrome and review of the literature. **Eur J Med Genet** **55**:490-7, 2012.
- Belloso JM, Bache I, Guitart M, Caballin MR, Halgren C, Kirchhoff M, Ropers HH, Tommerup N, Tümer Z. Disruption of the CNTNAP2 gene in a t(7;15) translocation family without symptoms of Gilles de la Tourette syndrome. **Eur J Hum Genet** **15**:711-3, 2007.
- Benko S, Fantes JA, Amiel J, Kleinjan DJ, Thomas S, Ramsay J, Jamshidi N, Essafi A, Heaney S, Gordon CT, McBride D, Golzio C, Fisher M, Perry P, Abadie V, Ayuso C, Holder-Espinasse M, Kilpatrick N, Lees MM, Picard A, Temple IK, Thomas P, Vazquez MP, Vekemans M, Roest Crollius H, Hastie ND, Munnich A, Etchevers HC, Pelet A, Farlie PG, Fitzpatrick DR, Lyonnet S. Highly conserved non-coding elements on either side of SOX9 associated with Pierre Robin sequence. **Nat Genet** **41**:359-64, 2009.
- Berglund EC, Kiiialainen A, Syvänen AC. Next-generation sequencing technologies and applications for human genetic history and forensics. **Investig Genet** **2**:23, 2011.
- Bernheim A, Toujani S, Guillaud-Bataille M, Richon C, Waxin H, Dessen P, Berger R. Intragenic breakpoints localized by array CGH in a t(2;6) familial translocation. **Cytogenet Genome Res** **119**:185-90, 2007.
- Bhatia S, Kleinjan DA. Disruption of long-range gene regulation in human genetic disease: a kaleidoscope of general principles, diverse mechanisms and unique phenotypic consequences. **Hum Genet** **133**:815-45, 2014.
- Bijlsma EK, Knegt AC, Bilardo CM, Goodman FR. Increased nuchal translucency and split-hand/foot malformation in a fetus with an interstitial deletion of chromosome 2q that removes the SHFM5 locus. **Prenat Diagn** **25**: 39-44, 2005.
- Bonaglia MC, Giorda R, Borgatti R, Felisari G, Gagliardi C, Selicorni A, Zuffardi O. Disruption of the ProSAP2 gene in a t(12;22)(q24.1;q13.3) is associated with the 22q13.3 deletion syndrome. **Am J Hum Genet** **69**:261-8, 2001.

- Bonnet C, Leheup B, Béri M, Philippe C, Grégoire MJ, Jonveaux P. Aberrant GRIA3 transcripts with multi-exon duplications in a family with X-linked mental retardation. **Am J Med Genet A** **149A**:1280-9, 2009.
- Bonnet C, Masurel-Paulet A, Khan AA, Béri-Dexheimer M, Callier P, Mugneret F, Philippe C, Thauvin-Robinet C, Faivre L, Jonveaux P. Exploring the potential role of disease-causing mutation in a gene desert: duplication of noncoding elements 5' of GRIA3 is associated with GRIA3 silencing and X-linked intellectual disability. **Hum Mutat** **33**:355-8, 2012.
- Bonnet C, Ali Khan A, Bresso E, Vigouroux C, Béri M, Lejczak S, Deemer B, Andrieux J, Philippe C, Moncla A, Giurgea I, Devignes MD, Leheup B, Jonveaux P. Extended spectrum of MBD5 mutations in neurodevelopmental disorders. **Eur J Hum Genet** **21**:1457-61, 2013.
- Borg I, Squire M, Menzel C, Stout K, Morgan D, Willatt L, O'Brien PCM, Ferguson-Smith MA, Ropers HH, Tommerup N, Kalscheuer VM, Sargan DR. A cryptic deletion of 2q35 including part of the PAX3 gene detected by breakpoint mapping in a child with autism and a de novo 2;8 translocation. **J Med Genet** **39**:391-9, 2002.
- Bortolotto ZA, Clarke VR, Delany CM, Parry MC, Smolders I, Vignes M, Ho KH, Miu P, Brinton BT, Fantáske R, Ogden A, Gates M, Ornstein PL, Lodge D, Bleakman D, Collingridge GL. Kainate receptors are involved in synaptic plasticity. **Nature** **402**:297-301, 1999.
- Boulay JL, Ionescu MC, Sivasankaran B, Labuhn M, Dolder-Schlienger B, Taylor E, Morin P Jr, Hemmings BA, Lino MM, Jones G, Maier D, Merlo A. The 10q25.3-26.1 G protein-coupled receptor gene GPR26 is epigenetically silenced in human gliomas. **Int J Oncol** **35**:1123-1131, 2009.
- Breedveld GJ1, van Dongen JW, Danesino C, Guala A, Percy AK, Dure LS, Harper P, Lazarou LP, van der Linde H, Joosse M, Grüters A, MacDonald ME, de Vries BB, Arts WF, Oostra BA, Krude H, Heutink P. Mutations in TITF-1 are associated with benign hereditary chorea. **Hum Mol Genet** **11**:971-9, 2002.
- Brown KK, Reiss JA, Crow K, Ferguson HL, Kelly C, Fritsch B, Morton CC. Deletion of an enhancer near DLX5 and DLX6 in a family with hearing loss, craniofacial defects, and an inv(7)(q21.3q35). **Hum Genet.** **127**:19-31, 2010.
- Brussino A, Vaula G, Cagnoli C, Mauro A, Pradotto L, Daniele D, Di Gregorio E, Barberis M, Arduino C, Squadrone S, Abete MC, Migone N, Calabrese O, Brusco A. A novel family with Lamin B1 duplication associated with adult-onset leucoencephalopathy. **J Neurol Neurosurg Psychiatry** **80**:237-240, 2009.
- Cantagrel V, Lossi AM, Lisgo S, Missirian C, Borges A, Philip N, Fernandez C, Cardoso C, Figarella-Branger D, Moncla A, Lindsay S, Dobyns WB, Villard L. Truncation of NHEJ1 in a patient with polymicrogyria. **Hum Mutat** **28**:356-364, 2007.
- Carter AN, Cole CL, Playle AG, Ramsay EJ, Shervington AA. GPR26: a marker for primary glioblastoma? **Mol Cell Probes** **22**:133-137, 2008.
- Caspersson T, Zech L, Johansson C. Differential banding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. **Exp Cell Res** **60**:315-319, 1970.

- Chen W, Kalscheuer V, Tzschach A, Menzel C, Ullmann R, Schulz MH, Erdogan F, Li N, Kijas Z, Arkesteijn G, Pajares IL, Goetz-Sothmann M, Heinrich U, Rost I, Dufke A, Grasshoff U, Glaeser B, Vingron M, Ropers HH. Mapping translocation breakpoints by next-generation sequencing. **Genome Res** **18**:1143-9, 2008.
- Chen W, Ullmann R, Langnick C, Menzel C, Wotschovsky Z, Hu H, Döring A, Hu Y, Kang H, Tzschach A, Hoeltzenbein M, Neitzel H, Markus S, Wiedersberg E, Kistner G, van Ravenswaaij-Arts CM, Kleefstra T, Kalscheuer VM, Ropers HH. Breakpoint analysis of balanced chromosome rearrangements by next-generation paired-end sequencing. **Eur J Hum Genet** **18**:539-43, 2010.
- Chiang C, Jacobsen JC, Ernst C, Hanscom C, Heilbut A, Blumenthal I, Mills RE, Kirby A, Lindgren AM, Rudiger SR, McLaughlan CJ, Bawden CS, Reid SJ, Faull RL, Snell RG, Hall IM, Shen Y, Ohsumi TK, Borowsky ML, Daly MJ, Lee C, Morton CC, MacDonald ME, Gusella JF, Talkowski ME. Complex reorganization and predominant non-homologous repair following chromosomal breakage in karyotypically balanced germline rearrangements and transgenic integration. **Nat Genet** **44**:390-7, S1, 2012.
- Ciccione R, Giorda R, Gregato G, Guerrini R, Giglio S, Carrozzo R, Bonaglia MC, Priolo E, Laganà C, Tenconi R, Rocchi M, Pramparo T, Zuffardi O, Rossi E. Reciprocal translocations: a trap for cytogenetists? **Hum Genet** **117**:571-82, 2005.
- Cox JJ, Holden ST, Dee S, Burbridge JJ, Raymond FL. Identification of a 650 kb duplication at the X chromosome breakpoint in a patient with 46,X,t(X;8)(q28;q12) and non-syndromic mental retardation. **J Med Genet.** **40**:169-74, 2003.
- Crasta KI, Ganem NJ, Dagher R, Lantermann AB, Ivanova EV, Pan Y, Nezi L, Protopopov A, Chowdhury D, Pellman D. DNA breaks and chromosome pulverization from errors in mitosis. **Nature** **482**:53-8, 2012
- Crolla JA, van Heyningen V. Frequent chromosome aberrations revealed by molecular cytogenetic studies in patients with aniridia. **Am J Hum Genet** **71**: 1138-1149, 2002.
- Czarny-Ratajczak M, Lohiniva J, Rogala P, Kozłowski K, Perala M, Carter L, Spector TD, Kolodziej L, Seppanen U, Glazar R, Krolewski J, Latos-Bielenska A, Ala-Kokko L. A mutation in COL9A1 causes multiple epiphyseal dysplasia: further evidence for locus heterogeneity. **Am J Hum Genet** **69**: 969-980, 2001.
- Damseh N, Simonin A, Jalas C, Picoraro JA, Shaag A, Cho MT, Yaacov B, Neidich J, Al-Ashhab M, Juusola J, Bale S, Telegrafi A, Retterer K, Pappas JG, Moran E, Cappell J, Anyane Yeboa K, Abu-Libdeh B, Hediger MA, Chung WK, Elpeleg O, Edvardson S. Mutations in SLC1A4, encoding the brain serine transporter, are associated with developmental delay, microcephaly and hypomyelination. **J Med Genet** **52**:541-7, 2015.
- David D, Cardoso J, Marques B, Marques R, Silva ED, Santos H, Boavida MG. Molecular characterization of a familial translocation implicates disruption of HDAC9 and possible position effect on TGF beta2 in the pathogenesis of Peters' anomaly. **Genomics** **81**:489-503, 2003.

- Davis BN, Hilyard AC, Lagna G, Hata, A. SMAD proteins control DROSHA-mediated microRNA maturation. **Nature** **454**: 56-61, 2008.
- de Gregori M, Ciccone R, Magini P, Pramparo T, Gimelli S, Messa J, Novara F, Vetro A, Rossi E, Maraschio P, Bonaglia MC, Anichini C, Ferrero GB, Silengo M, Fazzi E, Zatterale A, Fischetto R, Previderé C, Belli S, Turci A, Calabrese G, Bernardi F, Meneghelli E, Riegel M, Rocchi M, Gueneri S, Lalatta F, Zelante L, Romano C, Fichera M, Mattina T, Arrigo G, Zollino M, Giglio S, Lonardo F, Bonfante A, Ferlini A, Cifuentes F, Van Esch H, Backx L, Schinzel A, Vermeesch JR, Zuffardi O. Cryptic deletions are a common finding in "balanced" reciprocal and complex chromosome rearrangements: a study of 59 patients. **J Med Genet** **44**: 750-62, 2007.
- de Laat W, Duboule D. Topology of mammalian developmental enhancers and their regulatory landscapes. **Nature** **502**:499-506, 2013.
- de Pontual L, Mathieu Y, Golzio C, Rio M, Malan V, Boddart N, Soufflet C, Picard C, Durandy A, Dobbie A, Heron D, Isidor B, and 12 others. Mutational, functional, and expression studies of the TCF4 gene in Pitt-Hopkins syndrome. **Hum Mutat** **30**: 669-676, 2009.
- Del Campo M, Jones MC, Veraksa AN, Curry CJ, Jones KL, Mascarello JT, Ali-Kahn-Catts Z, Drumheller T, McGinnis W. Monodactylous limbs and abnormal genitalia are associated with hemizygoty for the human 2q31 region that includes the HOXD cluster. **Am J Hum Genet** **65**: 104–110, 1999.
- Delahaye A, Pipiras E, Kanafani S, Touboul C, Vergnaud A, Encha-Razavi F, Sinico M, Benkhalifa M, Kasakyan S, Serero S, Wolf JP, Gérard-Blanluet M, Benzacken B. De novo subtelomeric deletion additional to an inherited apparently balanced reciprocal translocation. **Fetal Diagn Ther** **22**:306-12, 2007.
- DeLisi LE, Mesen A, Rodriguez C, Bertheau A, LaPrade B, Llach M, Riondet S, Razi K, Relja M, Byerley W, Sherrington R. Genome-wide scan for linkage to schizophrenia in a Spanish-origin cohort from Costa Rica. **Am J Med Genet** **114**:497–508, 2002.
- Dimitrov B, Balikova I, de Ravel T, Van Esch H, De Smedt M, Baten E, Vermeesch JR, Bradinova I, Simeonov E, DevriendtK, Fryns JP, Debeer P. 2q31.1 microdeletion syndrome: redefining the associated clinical phenotype. **J Med Genet** **48**:98-104, 2011.
- Dixon JR, Selvaraj S, Yue F, Kim A, Li Y, Shen Y, et al. Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions. **Nature** **485**:376-380, 2012.
- Dong Z, Jiang L, Yang C, Hu H, Wang X, Chen H, Choy KW, Hu H, Dong Y, Hu B, Xu J, Long Y, Cao S, Chen H, Wang WJ, Jiang H, Xu F, Yao H, Xu X, Liang Z. A robust approach for blind detection of balanced chromosomal rearrangements with whole-genome low-coverage sequencing. **Hum Mutat** **35**:625-36, 2014.
- Dowjat WK, Adayev T, Kuchna I, Nowicki K, Palmieriello S, Hwang YW, Wegiel J. Trisomy-driven overexpression of DYRK1A kinase in the brain of subjects with Down syndrome. **Neurosci Lett** **413**:77–8, 2007.

- Dreesen O, Chojnowski A, Ong PF, Zhao TY, Common JE, Lunny D, Lane EB, Lee SJ, Vardy LA, Stewart CL, Colman A. Lamin B1 fluctuations have differential effects on cellular proliferation and senescence. **J Cell Biol** **200**:605-617, 2013.
- Drets ME, & Shaw MW. Specific banding patterns of human chromosomes. **Proc Natl Acad Sci** **68**:2073-2077, 1971.
- Duba HC, Doll A, Neyer M, Erdel M, Mann C, Hammerer I et al. The elastin gene is disrupted in a family with a balanced translocation t(7;16)(q11.23;q13) associated with a variable expression of the Williams-Beurensyndrome. **Eur J Hum Genet** **10**:351-361, 2002.
- Dupont JM, Cuisset L, Cartigny M, Le Tessier D, Vasseur C, Rabineau D, Jeanpierre M. Familial reciprocal translocation t(7;16) associated with maternal uniparental disomy 7 in a Silver-Russell patient. **Am J Med Genet** **111**:405-8, 2002.
- Dutrillaux B, Lejeune J. Sur une nouvelle technique d'analyse du caryotype humain. **C R Acad Sci Paris** **272**:2638-2640, 1971.
- Edvardson S, Ashikov A, J alas C, Sturiale L, Shaag A, Fedick A, Treff NR, Garozzo D, Gerardy-Schahn R, Elpeleg O. Mutations in SLC35A3 cause autism spectrum disorder, epilepsy and arthrogryposis. **J Med Genet** **50**:733-9, 2013.
- Elliott B, Richardson C, Jasin M. Chromosomal translocation mechanisms at intronic alu elements in mammalian cells. **Mol Cell** **17**:885-94, 2005.
- Fantes J, Redeker B, Breen M, Boyle S, Brown J, Fletcher J, Jones S, Bickmore W, Fukushima Y, Mannens M, Danes S, van Heyningen V, Hanson I. Aniridia associated cytogenetic rearrangements suggest that a position effect may cause the mutant phenotype. **Hum Mol Genet** **4**:415-422, 1995.
- Fantes JA, Boland E, Ramsay J, Donnai D, Splitt M, Goodship JA, Stewart H, Whiteford M, Gautier P, Harewood L, Holloway S, Sharkey F, Maher E, van Heyningen V, Clayton-Smith J, Fitzpatrick DR, Black GC. FISH mapping of de novo apparently balanced chromosome rearrangements identifies characteristics associated with phenotypic abnormality. **Am J Hum Genet** **82**:916-26, 2008.
- Fazeli A, Dickinson SL, Hermiston ML, Tighe RV, Steen RG, Small CG, Stoeckli ET, Keino-Masu K, Masu M, Rayburn H, Simons J, Bronson RT, Gordon JI, Tessier-Lavigne M, Weinberg RA. Phenotype of mice lacking functional Deleted in colorectal cancer (Dcc) gene. **Nature** **386**:796-804, 1997.
- Feenstra I, Hanemaaijer N, Sikkema-Raddatz B et al. Feenstra I, Hanemaaijer N, Sikkema-Raddatz B, Yntema H, Dijkhuizen T, Lugtenberg D, Verheij J, Green A, Hordijk R, Reardon W, Vries B, Brunner H, Bongers E, Leeuw N, van Ravenswaaij-Arts C. **Eur J Hum Genet** **19**: 1152-1160, 2011.
- Feuk L, Carson AR, Scherer SW. Structural variation in the human genome. **Nat Rev Genet** **7**:85-97, 2006.
- Filges I, Shimojima K, Okamoto N, Röthlisberger B, Weber P, Huber AR, Nishizawa T, Datta AN, Miny P, Yamamoto T. Reduced expression by SETBP1 haploinsufficiency causes developmental and expressive language delay indicating a phenotype distinct from Schinzel-Giedion syndrome. **J Med Genet** **48**:117-22, 2011.
- Finelli P, Sirchia SM, Masciadri M, Crippa M, Recalcati MP, Rusconi D, Giardino D, Monti L, Cogliati F, Faravelli F, Natacci F, Zoccante L, Bernardina BD, Russo

- S, Larizza L. Juxtaposition of heterochromatic and euchromatic regions by chromosomal translocation mediates a heterochromatic long-range position effect associated with a severe neurological phenotype. **Mol Cytogenet** **5**:16, 2012.
- Finger JH, Bronson RT, Harris B, Johnson K, Przyborski SA, Ackerman SL. Netrin 1 receptors Unc5h3 and Dcc are necessary at multiple choice points for the guidance of corticospinal tract axons. **J Neurosci** **22**:10346-56, 2002.
- Foller M, Feil S, Ghoreschi K, Koka S, Gerling A, Thunemann M, Hofmann F, Schuler B, Vogel J, Pichler B, Kasinathan RS, Nicolay JP, Huber SM, Lang F, Feil R. Anemia and splenomegaly in cGKI-deficient mice. **Proc Nat Acad Sci** **18**: 6771-6776, 2008.
- Fonseca SAS. Alterações cromossômicas estruturais no mapeamento de regiões candidatas para quadros sindrômicos. **Tese de Doutorado**. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2005.
- Fonseca, ACS. Caracterização de rearranjos cromossômicos aparentemente equilibrados associados a quadros clínicos: mapeamento dos pontos de quebra e triagem de deleções e duplicações submicroscópicas. **Dissertação de mestrado**. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2011.
- Fonseca ACS, Bonaldi A, Costa SS, Freitas MR, Kok F, Vianna-Morgante AM. PLP1 duplication at the breakpoint regions of an apparently balanced t(X;22) translocation causes Pelizaeus-Merzbacher disease in a girl. **Clin Genet** **83**:169-174, 2013.
- Fonseca ACS, Bonaldi A, Bertola DR, Kim CA, Otto PA, Vianna-Morgante AM. The clinical impact of chromosomal rearrangements with breakpoints upstream of the SOX9 gene: two novel de novo balanced translocations associated with acampomelic campomelic dysplasia. **BMC Med Genet** **14**:50, 2013.
- Fontes, Larissa. Mapeamento dos pontos de quebra de translocações equilibradas na busca de genes candidatos aos quadros clínicos associados. **Dissertação de mestrado**. **Dissertação de mestrado**. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2007.
- Fotaki V, Dierssen M, Alcántara S, Martínez S, Martí E, Casas C, Visa J, Soriano E, Estivill X, Arbonés ML. Dyrk1A haploinsufficiency affects viability and causes developmental delay and abnormal brain morphology in mice. **Mol Cell Biol** **22**: 6636–6647, 2002.
- Franssen MT, Korevaar JC, van der Veen F, Leschot NJ, Bossuyt PM, Goddijn M. Reproductive outcome after chromosome analysis in couples with two or more miscarriages: index [corrected]-control study. **BMJ** **332**:759-63, 2006.
- Fryns JP, van den Berghe H. Possible excess of mental handicap and congenital malformations in autosomal reciprocal translocations. **Ann Genet** **22**:125-127, 1979.
- Gallione C, Aylsworth A, Beis, J, Berk, T, Bernhardt B, Clark RD, Clericuzio C, Danesino C, Drautz J, Fahl J, Fan Z, Faughnan ME, and 19 others. Overlapping spectra of SMAD4 mutations in juvenile polyposis (JP) and JP-HHT syndrome. **Am J Med Genet** **152A**: 333-339, 2010.
- Giglio S, Broman KW, Matsumoto N, Calvari V, Gimelli G, Neumann T, Ohashi H, Voullaire L, Larizza D, Giorda R, Weber JL, Ledbetter DH, Zuffardi O.

- Olfactory receptor-gene clusters, genomic-inversion polymorphisms, and common chromosome rearrangements. **Am J Hum Genet** **68**:874-883, 2001.
- Giglio S, Calvari V, Gregato G, Gimelli G, Camanini S, Giorda R, Ragusa A, Gueneri S, Selicorni A, Stumm M, Tonnies H, Ventura M, Zollino M, Neri G, Barber J, Wieczorek D, Rocchi M, Zuffardi O. Heterozygous submicroscopic inversions involving olfactory receptor-gene clusters mediate the recurrent t(4;8)(p16;p23) translocation. **Am J Hum Genet** **71**:276-285, 2002.
- Gijsbers AC, Bosch CA, Dauwerse JG, Giromus O, Hansson K, Hilhorst-Hofstee Y, Kriek M, van Haeringen A, Bijlsma EK, Bakker E, Breuning MH, Ruivenkamp CA. Additional cryptic CNVs in mentally retarded patients with apparently balanced karyotypes. **Eur J Med Genet** **53**:227-33, 2010.
- Giorgio E, Rolyan H, Kropp L, Chakka AB, Yatsenko S, Di Gregorio E et al. Analysis of LMNB1 duplications in autosomal dominant leukodystrophy provides insights into duplication mechanisms and allele-specific expression. **Hum Mutat** **34**:1160-1171, 2013.
- Giorgio E, Robyr D, Spielmann M, Ferrero E, Di Gregorio E, Imperiale D, Vaula G, Stamoulis G, Santoni F, Atzori C, Gasparini L, Ferrera D, Canale C, Guipponi M, Pennacchio LA, Antonarakis SE, Brussino A, Brusco A. A large genomic deletion leads to enhancer adoption by the lamin B1 gene: a second path to autosomal dominant adult-onset demyelinating leukodystrophy (ADLD). **Hum Mol Genet** **24**:3143-3154, 2015.
- Göhring I, Tagariello A, Endeley S, Stolt CC, Ghassibé M, Fisher M, Thiel CT, Trautmann U, Vikkula M, Winterpacht A, FitzPatrick DR, Rauch A. Disruption of ST5 is associated with mental retardation and multiple congenital anomalies. **J Med Genet** **47**:91-8, 2010.
- Goode DK, Snell P, Smith SF, Cooke JE, Elgar G. Highly conserved regulatory elements around the SHH gene may contribute to the maintenance of conserved synteny across human chromosome 7q36.3. **Genomics** **86**:172-81, 2005.
- Gordon CT, Tan TY, Benko S, Fitzpatrick D, Lyonnet S, Farlie PG. Long-range regulation at the SOX9 locus in development and disease. **J Med Genet** **46**:649-56, 2009.
- Goubau C, Devriendt K, Van der Aa N, Crepel A, Wieczorek D, Kleefstra T, Willemsen MH, Rauch A, Tzschach A, de Ravel T, Leemans P, Van Geet C, Buyse G, Freson K. Platelet defects in congenital variant of Rett syndrome patients with FOXP1 mutations or reduced expression due to a position effect at 14q12. **Eur J Hum Genet** **21**:1349-55, 2013.
- Gribble SM, Prigmore E, Burford DC, Porter KM, Ng BL, Douglas EJ, Fiegler H, Carr P, Kalaitzopoulos D, Clegg S, Sandstrom R, Temple IK, Youngs SA, Thomas NS, Dennis NR, Jacobs PA, Crolla JA, Carter NP. The complex nature of constitutional de novo apparently balanced translocations in patients presenting with abnormal phenotypes. **J Med Genet**. **42**:8-16, 2005.
- Grossmann V, Höckner M, Karmous-Benailly H, Liang D, Puttinger R, Quadrelli R, Röthlisberger B, Huber A, Wu L, Spreiz A, Fauth C, Erdel M, Zschocke J, Utermann G, Kotzot D. Parental origin of apparently balanced de novo complex chromosomal rearrangements investigated by microdissection, whole genome

- amplification, and microsatellite-mediated haplotype analysis. **Clin Genet** **78**:548-53, 2010.
- Gu W, Zhang F, Lupski JR. Mechanisms for human genomic rearrangements. **Pathogenetics** **1**:4, 2008.
- Guilherme RS, Cernach MC, Sfakianakis TE, Takeno SS, Nardoza LM, Rossi C, Bhatt SS, Liehr T, Melaragno MI. A complex chromosome rearrangement involving four chromosomes, nine breakpoints and a cryptic 0.6-Mb deletion in a boy with cerebellar hypoplasia and defects in skull ossification. **Cytogenet Genome Res** **141**:317-23, 2013.
- Gurnett CA, Bowcock AM, Dietz FR, Morcuende JA, Murray JC, Dobbs MB. Two novel point mutations in the long-range SHH enhancer in three families with triphalangeal thumb and preaxial polydactyly. **Am J Med Genet A** **143A**:27-32, 2007.
- Gurnett CA, Bowcock AM, Dietz FR, Morcuende JA, Murray JC, Dobbs MB. Two novel point mutations in the long-range SHH enhancer in three families with triphalangeal thumb and preaxial polydactyly. **Am J Med Genet A** **143A**:27-32, 2007.
- Haldeman-Englert CR, Chapman KA, Kruger H, Geiger EA, McDonaldMcGinn DM, Rappaport E, Zackai EH, Spinner NB, Shaikh TH. 2010. A de novo 8.8-Mb deletion of 21q21.1-q21.3 in an autistic male with a complex rearrangement involving chromosomes 6, 10 and 21. **Am J Med Genet A** **152A**:196-202, 2010.
- Halgren C, Kjaergaard S, Bak M, Hansen C, El-Schich Z, Anderson C, Henriksen K, Hjalgrim H, Kirchoff M, Bijlsma E, Nielsen M, den Hollander N, Ruivenkamp C, Isidor B, Le Caignec C, Zannolli R, Mucciolo M, Renieri A, Mari F, Anderlid BM, Andrieux J, Dieux A, Tommerup N, Bache I. Corpus callosum abnormalities, intellectual disability, speech impairment, and autism in patients with haploinsufficiency of ARID1B. **Clin Genet** **82**:248-55, 2012.
- Hämmerle B, Carnicero A, Elizalde C, Ceron J, Martínez S, Tejedor FJ Expression patterns and subcellular localization of the Down syndrome candidate protein MNB/DYRK1A suggest a role in late neuronal differentiation. **Eur J Neurosci** **17**:2277-86, 2003.
- Hancarova M, Vejvalkova S, Trkova M, Drabova J, Dleskova A, Vlckova M, Sedlacek Z. Identification of a patient with intellectual disability and de novo 3.7 Mb deletion supports the existence of a novel microdeletion syndrome in 2p14-p15. **Gene** **516**:158-61, 2013.
- Hastings PJ, Ira G, Lupski JR. A microhomology-mediated break-induced replication model for the origin of human copy number variation. **PLoS Genet** **5**:e1000327, 2009.
- Heimer G, Marek-Yagel D, Eyal E, Barel O, Oz Levi D, Hoffmann C, Ruzzo EK, Ganelin-Cohen E, Lancet D, Pras E, Rechavi G, Nissenkorn A, Anikster Y, Goldstein DB, Ben Zeev B. SLC1A4 mutations cause a novel disorder of intellectual disability, progressive microcephaly, spasticity and thin corpus callosum. **Clin Genet** **88**:327-35, 2015
- Hellemans J, Coucke PJ, Giedion A, De Paepe A, Kramer P, Beemer F, Mortier GR. Homozygous mutations in IHH cause acrocapitofemoral dysplasia, an autosomal

- recessive disorder with cone-shaped epiphyses in hands and hips. **Am J Hum Genet** **72**:1040-6, 2003.
- Helmbacher F, Schneider-Maunoury S, Topilko P, Tiret L, Charnay P. Targeting of the EphA4 tyrosine kinase receptor affects dorsal/ventral pathfinding of limb motor axons. **Development** **127**:3313-24, 2000.
- Higgins AW, Alkuraya FS, Bosco AF, Brown KK, Bruns GA, Donovan DJ, Eisenman R, Fan Y, Farra CG, Ferguson HL, Gusella JF, Harris DJ, Herrick SR, Kelly C, Kim HG, Kishikawa S, Korf BR, Kulkarni S, Lally E, Leach NT, Lemyre E, Lewis J, Ligon AH, Lu W, Maas RL, MacDonald ME, Moore SD, Peters RE, Quade BJ, Quintero-Rivera F, Saadi I, Shen Y, Shendure J, Williamson RE, Morton CC. Characterization of apparently balanced chromosomal rearrangements from the developmental genome anatomy project. **Am J Hum Genet** **82**:712-22, 2008.
- Himpel S, Panzer P, Eirnbter K, Czajkowska H, Sayed M, Packman LC, Blundell T, Kentrup H, Grötzinger J, Joost HG, Becker W. Identification of the autophosphorylation sites and characterization of their effects in the protein kinase DYRK1A. **Biochem J** **359**:497-505, 2001.
- Hoischen A, van Bon BW, Gilissen C, Arts P, van Lier B, Steehouwer M, de Vries P, de Reuver R, Wieskamp N, Mortier G, Devriendt K, Amorim MZ, Revencu N, Kidd A, Barbosa M, Turner A, Smith J, Oley C, Henderson A, Hayes IM, Thompson EM, Brunner HG, de Vries BB, Veltman JA. De novo mutations of SETBP1 cause Schinzel-Giedion syndrome. **Nat Genet** **42**:483-5, 2010.
- Howarth KD, Pole JC, Beavis JC, Batty EM, Newman S, Bignell GR, Edwards PA. Large duplications at reciprocal translocation breakpoints that might be the counterpart of large deletions and could arise from stalled replication bubbles. **Genome Res** **21**:525-34, 2011.
- Howe JR, Roth S, Ringold JC, Summers RW, Jarvinen HJ, Sistonen P, Tomlinson, IP. M, Houlston RS, Bevan S, Mitros FA, Stone EM, Aaltonen LA. Mutations in the SMAD4/DPC4 gene in juvenile polyposis. **Science** **280**: 1086-1088, 1998.
- Hussain MS, Baig SM, Neumann S, Nürnberg G, Farooq M, Ahmad I, Alef T, Hennies HC, Technau M, Altmüller J, Frommolt P, Thiele H, Noegel AA, Nürnberg P. A truncating mutation of CEP135 causes primary microcephaly and disturbed centrosomal function. **Am J Hum Genet** **90**:871-878, 2012.
- Ibn-Salem J, Köhler S, Love MI, Chung HR, Huang N, Hurles ME, Haendel M, Washington NL, Smedley D, Mungall CJ, Lewis SE, Ott CE, Bauer S, Schofield PN, Mundlos S, Spielmann M, Robinson PN. Deletions of chromosomal regulatory boundaries are associated with congenital disease. **Genome Biol** **15**:423, 2014.
- Ikeda T, Zhang J, Chano T, Mabuchi A, Fukuda A, Kawaguchi H, Nakamura K, Ikegawa S. Identification and characterization of the human long form of Sox5 (L-SOX5) gene. **Gene** **298**:59-68, 2012.
- Jacobs, PA, Hassold, TJ. Chromosome abnormalities: origin and etiology in abortions and livebirths. **Human Genetics: Proceedings of the 7th International Congress**: 234-244, 1986.

- Jamieson RV, Perveen R, Kerr B, Carette M, Yardley J, Heon E, Wirth MG, van Heyningen V, Donnai D, Munier F, Black GC.. Domain disruption and mutation of the bZIP transcription factor, MAF, associated with cataract, ocular anterior segment dysgenesis and coloboma. **Hum Mol Genet** **11**:33-42, 2002.
- Jorgez CJ, Rosenfeld JA, Wilken NR, Vangapandu HV, Sahin A, Pham D, Carvalho CM, Bandholz A, Miller A, Weaver DD, Burton B, Babu D, Bamforth JS, Wilks T, Flynn DP, Roeder E, Patel A, Cheung SW, Lupski JR, Lamb DJ. Genitourinary defects associated with genomic deletions in 2p15 encompassing OTX1. **PLoS One** **9**:e107028, 2014.
- Kalscheuer VM, Feenstra I, Van Ravenswaaij-Arts CMA, Smeets DFCM, Menzel C, Ullmann R, Musante L Ropers,H-H. Disruption of the TCF4 gene in a girl with mental retardation but without the classical Pitt-Hopkins syndrome. **Am J Med Genet** **146A**: 2053-2059, 2008.
- Kamps MP, Look AT, Baltimore D. The human t(1;19) translocation in pre-B ALL produces multiple nuclear E2A-Pbx1 fusion proteins with differing transforming potentials. **Genes Dev** **5**:358-68, 1991.
- Kim J, Won HH, Kim Y1, Choi JR, Yu N, Lee KA. Breakpoint mapping by whole genome sequencing identifies PTH2R gene disruption in a patient with midline craniosynostosis and a de novo balanced chromosomal rearrangement. **J Med Genet** **52**:706-9, 2015.
- Kleinjan DA, Lettice LA. Long-range gene control and genetic disease. **Adv Genet** **61**:339-388, 2008.
- Kleinjan DJ, Coutinho P. Cis-ruption mechanisms: disruption of cis-regulatory control as a cause of human genetic disease. **Brief Funct Genomic Proteomic** **8**:317-332, 2009.
- Kleinjan DJ, van Heyningen V. Position effect in human genetic disease. **Hum Mol Genet.** **7**:1611-8, 1998.
- Kloosterman WP, Guryev V, van Roosmalen M, Duran KJ, de Bruijn E, Bakker SC, Letteboer T, van Nesselrooij B, Hochstenbach R, Poot M, Cuppen E. Chromothripsis as a mechanism driving complex de novo structural rearrangements in the germline. **Hum Mol Genet** **20**:1916-24, 2011.
- Kloosterman WP, Tavakoli-Yaraki M, van Roosmalen MJ, van Binsbergen E, Renkens I, Duran K, Ballarati L, Vergult S, Giardino D, Hansson K, Ruivenkamp CA, Jager M, van Haeringen A, Ippel EF, Haaf T, Passarge E, Hochstenbach R, Menten B, Larizza L, Guryev V, Poot M, Cuppen E. Constitutional chromothripsis rearrangements involve clustered double-stranded DNA breaks and nonhomologous repair mechanisms. **Cell Rep** **1**:648-55, 2012.
- Klopocki E, Lohan S, Brancati F, Koll R, Brehm A, Seemann P, Dathe K, Stricker S, Hecht J, Bosse K, Betz RC, Garaci FG, Dallapiccola B, Jain M, Muenke M, Ng VC, Chan W, Chan D, Mundlos S. Copy-number variations involving the IHH locus are associated with syndactyly and craniosynostosis. **Am J Hum Genet** **88**:70-5, 2011.
- Ko SY, Dass CR, Nurgali K. Netrin-1 in the developing enteric nervous system and colorectal cancer. **Trends Mol Med** **18**:544-54, 2012.

- Koenig M, Hoffman EP, Bertelson CJ, Monaco AP, Feener C, Kunkel LM. Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and preliminary genomic organization of the DMD gene in normal and affected individuals. **Cell** **50**:509-517, 1987.
- Kohlhase J, Wischermann A, Reichenbach H, Froster U, Engel W. Mutations in the SALL1 putative transcription factor gene cause Townes-Brocks syndrome. **Nat Genet** **18**:81-3, 1998.
- Korbel JO, Urban AE, Affourtit JP, Godwin B, Grubert F, Simons JF, Kim PM, Palejev D, Carriero NJ, Du L, Taillon BE, Chen Z, Tanzer A, Saunders AC, Chi J, Yang F, Carter NP, Hurles ME, Weissman SM, Harkins TT, Gerstein MB, Egholm M, Snyder M. Paired-end mapping reveals extensive structural variation in the human genome. **Science** **318**:420-6, 2007.
- Kortüm F, Das S, Flindt M, Morris-Rosendahl DJ, Stefanova I, Goldstein A, Horn D, Klopocki E, Kluger G, Martin P, Rauch A, Roumer A, Saitta S, Walsh LE, Wiczorek D, Uyanik G, Kutsche K, Dobyns WB. The core FOXG1 syndrome phenotype consists of postnatal microcephaly, severe mental retardation, absent language, dyskinesia, and corpus callosum hypogenesis. **J Med Genet** **48**:396-406, 2011.
- Krepischi-Santos AC, Rajan D, Temple IK, Shrubbs V, Crolla JA, Huang S, Beal S, Otto PA, Carter NP, Vianna-Morgante AM, Rosenberg C. Constitutional haploinsufficiency of tumor suppressor genes in mentally retarded patients with microdeletions in 17p13.1. **Cytogenet Genome Res** **125**:1-7, 2009.
- Kurahashi H, Shaikh TH, Hu P, Roe BA, Emanuel BS, Budarf ML. Regions of genomic instability on 22q11 and 11q23 as the etiology for the recurrent constitutional t(11;22). **Hum Mol Genet** **9**: 1665-1670, 2000.
- Kurahashi H, Emanuel BS. Long AT-rich palindromes and the constitutional t(11;22) breakpoint. **Hum Mol Genet** **10**:2605-2617, 2001.
- Kurahashi H, Inagaki H, Hosoba E, Kato T, Ohye T, Kogo H, Emanuel BS. Molecular cloning of a translocation breakpoint hotspot in 22q11. **Genome Res** **17**: 461-469, 2007.
- Kurahashi H, Inagaki H, Ohye T, Kogo H, Tsutsumi M, Kato T, Tong M, Emanuel BS. The constitutional t(11;22): implications for a novel mechanism responsible for gross chromosomal rearrangements. **Clin Genet** **78**:299-309, 2010.
- Kurotaki N, Imaizumi K, Harada N, Masuno M, Kondoh T, Nagai T, Ohashi H, Naritomi K, Tsukahara M, Makita Y, Sugimoto T, Sonoda T, Hasegawa T, Chinen Y, Tomita HA, Kinoshita A, Mizuguchi T, Yoshiura Ki K, Ohta T, Kishino T, Fukushima Y, Niikawa N, Matsumoto N. Haploinsufficiency of NSD1 causes Sotos syndrome. **Nat Genet** **30**:365-6, 2002.
- Kwan KY1, Lam MM, Krsnik Z, Kawasawa YI, Lefebvre V, Sestan N. SOX5 postmitotically regulates migration, postmigratory differentiation, and projections of subplate and deep-layer neocortical neurons. **Proc Natl Acad Sci USA** **105**:16021-6, 2008.
- Laguna A, Aranda S, Barallobre MJ, Barhoum R, Fernandez E, Fotaki V, Delabar JM, de la Luna S, de la Villa P, Arbones ML. The protein kinase DYRK1A regulates

- caspase-9-mediated apoptosis during retina development. **Dev Cell** **15**:841–853, 2008.
- Lamb AN, Rosenfeld JA, Neill NJ, Talkowski ME, Blumenthal I, Girirajan S, Keelean-Fuller D, Fan Z, Pouncey J, Stevens C, Mackay-Loder L, Terespolsky D, Bader PI, Rosenbaum K, Vallee SE, Moeschler JB, Ladda R, Sell S, Martin J, Ryan S, Jones MC, Moran R, Shealy A, Madan-Khetarpal S, McConnell J, Surti U, Delahaye A, Heron-Longe B, Pipiras E, Benzacken B, Passemard S, Verloes A, Isidor B, Le Caignec C, Glew GM, Opheim KE, Descartes M, Eichler EE, Morton CC, Gusella JF, Schultz RA, Ballif BC, Shaffer LG. Haploinsufficiency of SOX5 at 12p12.1 is associated with developmental delays with prominent language delay, behavior problems, and mild dysmorphic features. **Hum Mutat** **33**: 728-740, 2012.
- Lasky-Su J, Neale BM, Franke B, Anney RJ, Zhou K, Maller JB, Vasquez AA, Chen W, Asherson P, Buitelaar J, Banaschewski T, Ebstein R, Gill M, Miranda A, Mulas F, Oades RD, Roeyers H, Rothenberger A, Sergeant J, Sonuga-Barke E, Steinhausen HC, Taylor E, Daly M, Laird N, Lange C, Faraone SV. Genome-wide association scan of quantitative traits for attention deficit hyperactivity disorder identifies novel associations and confirms candidate gene associations. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet** **147B**:1345-54, 2008.
- Latour P, Thauvin-Robinet C, Baudalet-Méry C, Soichot P, Cusin V, Faivre L, Locatelli MC, Mayençon M, Sarcey A, Broussolle E, Camu W, David A, Rousson R. A major determinant for binding and aminoacylation of tRNA(Ala) in cytoplasmic Alanine-tRNA synthetase is mutated in dominant axonal Charcot-Marie-Tooth disease. **Am J Hum Genet** **86**:77-82, 2010.
- Lauderdale JD, Wilensky JS, Oliver ER, Walton DS, Glaser T. 30 deletions cause aniridia by preventing PAX6 gene expression. **Proc Natl Acad Sci USA** **97**:13755-13759, 2000.
- Le Scouarnec S, Gribble SM. Characterising chromosome rearrangements: recent technical advances in molecular cytogenetics. **Heredity** **108**:75-85, 2012.
- Le Tanno P, Poreau B, Devillard F, Vieville G, Amblard F, Jouk PS, Satre V, Coutton C. Maternal complex chromosomal rearrangement leads to TCF12 microdeletion in a patient presenting with coronal craniosynostosis and intellectual disability. **Am J Med Genet A** **164A**:1530-6, 2014.
- Ledbetter DH, Rich DC, O'Connell P, Leppert M, Carey JC. Precise localization of NF1 to 17q11.2 by balanced translocation. **Am J Hum Genet** **44**:20-4, 1989.
- Lee JA, Carvalho CM, Lupski JR. A DNA replication mechanism for generating nonrecurrent rearrangements associated with genomic disorders. **Cell** **131**:1235-1247, 2007.
- Leipoldt M, Erdel M, Bien-Willner GA, Smyk M, Theurl M, Yatsenko SA, Lupski JR, Lane AH, Shanske AL, Stankiewicz P, Scherer G. Two novel translocation breakpoints upstream of SOX9 define borders of the proximal and distal breakpoint cluster region in campomelic dysplasia. **Clin Genet** **71**:67-75, 2007.
- Leroy O, Dhaenens CM, Schraen-Maschke S, Belarbi K, Delacourte A, Andreadis A, Sablonnière B, Buée L, Sergeant N, Caillet-Boudin ML. ETR-3 represses Tau exons 2/3 inclusion, a splicing event abnormally enhanced in myotonic dystrophy type I. **J Neurosci Res** **84**:852-859, 2006.

- Lesnik Oberstein SA, Kriek M, White SJ, Kalf ME, Szuhai K, den Dunnen JT, Breuning MH, Hennekam RC. Peters Plus syndrome is caused by mutations in B3GALTL, a putative glycosyltransferase. **Am J Hum Genet** **79**:562-6, 2006.
- Lettice LA, Daniels S, Sweeney E, Venkataraman S, Devenney PS, Gautier P, Morrison H, Fantes J, Hill RE, FitzPatrick DR. Enhancer-adoption as a mechanism of human developmental disease. **Hum Mutat** **32**:1492-9, 2011.
- Lettice LA, Horikoshi T, Heaney SJ, van Baren MJ, van der Linde HC, Breedveld GJ, Joosse M, Akarsu N, Oostra BA, Endo N, Shibata M, Suzuki M, Takahashi E, Shinka T, Nakahori Y, Ayusawa D, Nakabayashi K, Scherer SW, Heutink P, Hill RE, Noji S. Disruption of a long-range cis-acting regulator for Shh causes preaxial polydactyly. **Proc Natl Acad Sci USA** **99**:7548-7553, 2002.
- Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. **Bioinformatics** **25**:1754-1760, 2009.
- Li H, Yamagata T, Mori M, Yasuhara A, Momoi MY. Mutation analysis of methyl-CpG binding protein family genes in autistic patients. **Brain Dev** **27**:321-325, 2005.
- Li SY, Gibson LH, Gomez K, Pober BR, Yang-Feng TL. Familial dup(5)(q15q21) associated with normal and abnormal phenotypes. **Am J Med Genet** **75**:75-77, 1998.
- Lieber MR. NHEJ and its backup pathways in chromosomal translocations. **Nat Struct Mol Biol** **17**:393-5, 2010
- Liehr T. Cytogenetic contribution to uniparental disomy (UPD). **Mol Cytogenet** **3**:8, 2010.
- Lo Nigro C, Chong CS, Smith AC, Dobyns WB, Carrozzo R, Ledbetter DH. Point mutations and an intragenic deletion in LIS1, the lissencephaly causative gene in isolated lissencephaly sequence and Miller-Dieker syndrome. **Hum Mol Genet** **6**:157-64, 1997.
- Lowry RB1, Chernos JE, Connelly MS, Wyse JP. Interstitial deletions at 6q14.1q15 associated with developmental delay and a marfanoid phenotype. **Mol Syndromol** **4**:280-4, 2013.
- Luo R, Sanders SJ, Tian Y, Voineagu I, Huang N, Chu SH, Klei L, Cai C, Ou J, Lowe JK, Hurler ME, Devlin B, State MW, Geschwind DH. Genome-wide transcriptome profiling reveals the functional impact of rare de novo and recurrent CNVs in autism spectrum disorders. **Am J Hum Genet** **91**:38-55, 2012.
- Lupiáñez DG, Kraft K, Heinrich V, Krawitz P, Brancati F, Klopocki E, Horn D, Kayserili H, Opitz JM, Laxova R, Santos-Simarro F, Gilbert-Dussardier B, Wittler L, Borschiwer M, Haas SA, Osterwalder M, Franke M, Timmermann B, Hecht J, Spielmann M, Visel A, Mundlos S. Disruptions of topological chromatin domains cause pathogenic rewiring of gene-enhancer interactions. **Cell** **161**:1012-25, 2015
- Lybaek H, Øyen N, Fauske L, Houge G. A 2.1 Mb deletion adjacent but distal to a 14q21q23 paracentric inversion in a family with spherocytosis and severe learning difficulties. **Clin Genet** **74**:553-559, 2008.

- Ma JL, Kim EM, Haber JE, Lee SE. Yeast Mre11 and Rad1 proteins define a Ku-independent mechanism to repair double-strand breaks lacking overlapping end sequences. **Mol Cell Biol** **23**:8820-8, 2003.
- Maass PG, Rump A, Schulz H, Stricker S, Schulze L, Platzer K, Aydin A, Tinschert S, Goldring MB, Luft FC, Bähring S. A misplaced lncRNA causes brachydactyly in humans. **J Clin Invest** **122**:3990-4002, 2012.
- Mardis ER. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. **Trends Genet** **24**:133-41, 2008.
- Marlin S, Blanchard S, Slim R, Lacombe D, Denoyelle F, Alessandri JL, Calzolari E, Drouin-Garraud V, Ferraz FG, Fourmaintraux A, Philip N, Toubanc JE, Petit Townes-Brocks syndrome: detection of a SALL1 mutation hot spot and evidence for a position effect in one patient. **Hum Mutat** **14**:377-86, 1999.
- Marseglia G, Scordo MR, Pescucci C, Nannetti G, Biagini E, Scandurra V, Gerundino F, Magi A, Benelli M, Torricelli F. 372 kb microdeletion in 18q12.3 causing SETBP1 haploinsufficiency associated with mild mental retardation and expressive speech impairment. **Eur J Med Genet** **55**:216-21, 2012.
- Maruyama H, Morino H, Ito H, Izumi Y, Kato H, Watanabe Y, Kinoshita Y, Kamada M, Nodera H, Suzuki H, Komure O, Matsuura S, Kobatake K, Morimoto N, Abe K, Suzuki N, Aoki M, Kawata A, Hirai T, Kato T, Ogasawara K, Hirano A, Takumi T, Kusaka H, Hagiwara K, Kaji R, Kawakami H. Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis. **Nature** **465**:223-226, 2010.
- McLaughlin HM, Sakaguchi R, Giblin W, NISC Comparative Sequencing Program, Wilson TE, Biesecker L, Lupski JR, Talbot K, Vance JM, Züchner S, Lee YC, Kennerson M, Hou YM, Nicholson G, Antonellis A. A recurrent loss-of-function alanyl-tRNA synthetase (AARS) mutation in patients with Charcot-Marie-Tooth disease type 2N (CMT2N). **Hum Mutat** **33**:244-53, 2012.
- McMichael G1, Haan E, Garer A, Yap TY, Thompson S, Ouvrier R, Dale RC, Gecz J, Maclennan AH. NKX2-1 mutation in a family diagnosed with ataxic dyskinetic cerebral palsy. **Eur J Med Genet** **56**:506-9, 2013.
- McVey M, Lee SE. MMEJ repair of double-strand breaks (director's cut): deleted sequences and alternative endings. **Trends Genet** **24**:529-38, 2008.
- Meijer IA, Simoes-Lopes AA, Laurent S, Katz T, St-Onge J, Verlaan DJ, Dupré N, Thibault M, Mathurin J, Bouchard JP, Rouleau GA. A novel duplication confirms the involvement of 5q23.2 in autosomal dominant leukodystrophy. **Arch Neurol** **65**:1496-1501, 2008.
- Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, Church DM, Crolla JA, Eichler EE, Epstein CJ, Faucett WA, Feuk L, Friedman JM, Hamosh A, Jackson L, Kaminsky EB, Kok K, Krantz ID, Kuhn RM, Lee C, Ostell JM, Rosenberg C, Scherer SW, Spinner NB, Stavropoulos DJ, Tepperberg JH, Thorland EC, Vermeesch JR, Waggoner DJ, Watson MS, Martin CL, Ledbetter DH. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. **Am J Hum Genet** **86**:749-64, 2010.
- Mitter D, Chiaie BD, Lüdecke HJ, Gillessen-Kaesbach G, Bohring A, Kohlhase J, Caliebe A, Siebert R, Roepke A, Ramos-Arroyo MA, Nieva B, Menten B, Loeyes

- B, Mortier G, Wieczorek D. Genotype-phenotype correlation in eight new patients with a deletion encompassing 2q31.1. **Am J Med Genet A** **152A**:1213-24, 2010.
- Møller RS, Kübart S, Hoeltzenbein M, Heye B, Vogel I, Hansen CP, Menzel C, Ullmann R, Tommerup N, Ropers HH, Tümer Z, Kalscheuer VM. Truncation of the Down syndrome candidate gene DYRK1A in two unrelated patients with microcephaly. **Am J Hum Genet** **82**:1165-70, 2008.
- Morales C, Mademont-Soler I, Armengol L, Milà M, Badenas C, Andrés S, Soler A, Sánchez A. Characterization of a 5.8-Mb interstitial deletion of chromosome 3p in a girl with 46,XX,inv(7)dn karyotype and phenotypic abnormalities. **Cytogenet Genome Res** **125**:334-340, 2009.
- Morrow DM, Connelly C, Hieter P. "Break copy" duplication: a model for chromosome fragment formation in *Saccharomyces cerevisiae*. **Genetics** **147**:371-82, 1997.
- Motazacker MM, Rost BR, Hucho T, Garshasbi M, Kahrizi K, Ullmann R, Abedini SS, Nieh SE, Amini SH, Goswami C, Tzschach A, Jensen LR, Schmitz D, Ropers HH, Najmabadi H, Kuss AW. 2007. A defect in the ionotropic glutamate receptor 6 gene (GRIK2) is associated with autosomal recessive mental retardation. **Am J Hum Genet** **81**:792-798.
- Nazaryan L, Stefanou EG, Hansen C, Kosyakova N, Bak M, Sharkey FH, Mantziou T, Papanastasiou AD, Velissariou V, Liehr T, Syrrou M, Tommerup N. The strength of combined cytogenetic and mate-pair sequencing techniques illustrated by a germline chromothripsis rearrangement involving FOXP2. **Eur J Hum Genet** **22**:338-43, 2014
- Nora EP, Dekker J, Heard E. Segmental folding of chromosomes: a basis for structural and regulatory chromosomal neighborhoods? **Bioessays** **5**:818-28, 2013.
- Nothwang HG, Kim HG, Aoki J, Geisterfer M, Kübart S, Wegner RD, van Moers A, Ashworth LK, Haaf T, Bell J, Arai H, Tommerup N, Ropers HH, Wirth J. Functional hemizyosity of PFAH1B3 due to a PFAH1B3-CLK2 fusion gene in a female with mental retardation, ataxia and atrophy of the brain. **Hum Mol Genet** **10**:797-806, 2001.
- Oades RD, Lasky-Su J, Christiansen H, Faraone SV, Sonuga-Barke EJ, Banaschewski T, Chen W, Anney RJ, Buitelaar JK, Ebstein RP, Franke B, Gill M, Miranda A, Roeyers H, Rothenberger A, Sergeant JA, Steinhausen HC, Taylor EA, Thompson M, Asherson P. The influence of serotonin- and other genes on impulsive behavioral aggression and cognitive impulsivity in children with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): Findings from a family-based association test (FBAT) analysis. **Behav Brain Funct** **4**:48, 2008.
- Ohye T, Inagaki H, Kogo H, Tsutsumi M, Kato T, Tong M, Macville MV, Medne L, Zackai EH, Emanuel BS, Kurahashi H. Paternal origin of the de novo constitutional t(11;22)(q23;q11). **Eur J Hum Genet** **18**:783-787, 2010.
- Ottaviani D, LeCain M, Sheer D. The role of microhomology in genomic structural variation. **Trends Genet** **30**:85-94, 2014
- Ovcharenko I, Nobrega MA, Loots GG, Stubbs L. ECR Browser: a tool for visualizing and accessing data from comparisons of multiple vertebrate genomes. *Nucleic Acids Res* **32** (versão online): W280-W286, 2004.

- Padiath QS, Saigoh K, Schiffmann R, Asahara H, Yamada T, Koeppen A, Hogan K, Ptáček LJ, Fu YH. Lamin B1 duplications cause autosomal dominant leukodystrophy. **Nat Genet** **38**:1114-1123, 2006.
- Page SL, Shaffer LG. Nonhomologous Robertsonian translocations form predominantly during female meiosis. **Nat Genet** **15**:231-232, 1997.
- Papadopoulou E, Sismani C, Christodoulou C, Ioannides M, Kalmanti M, Patsalis P. Phenotype-genotype correlation of a patient with a "balanced" translocation 9;15 and cryptic 9q34 duplication and 15q21q25 deletion. **Am J Med Genet A** **152A**:1515-1522, 2010.
- Park J, Song WJ, Chung KC. Function and regulation of Dyrk1A: towards understanding Down syndrome. **Cell Mol Life Sci** **66**:3235-40, 2009
- Parris T, Nik AM, Kotecha S, Langston C, Helou K, Platt C, Carlsson P.. Inversion upstream of FOXF1 in a case of lethal alveolar capillary dysplasia with misalignment of pulmonary veins. **Am J Med Genet A** **161A**:764-70, 2013.
- Peretz A, Gil-Henn H, Sobko A, Shinder V, Attali B, Elson A. Hypomyelination and increased activity of voltage-gated K(+) channels in mice lacking protein tyrosine phosphatase epsilon. **EMBO J** **19**:4036-4045, 2000.
- Pescucci C, Caselli R, Grosso S, Mencarelli MA, Mari F, Farnetani MA, Piccini B, Artuso R, Bruttini M, Priolo M, Zuffardi O, Gimelli S, Balestri P, Renieri A. 2q24-q31 deletion: Report of a case and review of the literature. **Eur J Med Genet** **50**:21-32, 2007.
- Pickard BS, Malloy MP, Christoforou A, Thomson PA, Evans KL, Morris SW, Hampson M, Porteous DJ, Blackwood DH, Muir WJ. 2006. Cytogenetic and genetic evidence supports a role for the kainate-type glutamate receptor gene, GRIK4, in schizophrenia and bipolar disorder. **Mol Psychiatry** **11**:847-57, 2006.
- Pinto D, Delaby E, Merico D, Barbosa M, Merikangas A, Klei L, Thiruvahindrapuram B et al. Convergence of genes and cellular pathways dysregulated in autism spectrum disorders. **Am J Hum Genet** **94**:677-94, 2014.
- Quintela I, Fernandez-Prieto M, Gomez-Guerrero L, Resches M, Eiris J, Barros F, Carracedo A. A 6q14 1-q15 microdeletion in a male patient with severe autistic disorder, lack of oral language, and dysmorphic features with concomitant presence of a maternally inherited Xp22. **Clin Case Rep** **3**:415-23, 2015.
- Ramocki MB, Dowling J, Grinberg I, Kimonis VE, Cardoso C, Gross A, Chung J, Martin CL, Ledbetter DH, Dobyns WB, Millen KJ. Reciprocal fusion transcripts of two novel Zn-finger genes in a female with absence of the corpus callosum, ocular colobomas and a balanced translocation between chromosomes 2p24 and 9q32. **Eur J Hum Genet** **11**:527-34, 2003.
- Rauch A, Wiczorek D, Graf E, Wieland T, Ende S, Schwarzmayr T, Albrecht B, Bartholdi D, Beygo J, Di Donato N, Dufke A, Cremer K, Hempel M, Horn D, Hoyer J, Joset P, Röpke A, Moog U, Riess A, Thiel CT, Tzschach A, Wiesener A, Wohlleber E, Zweier C, Ekici AB, Zink AM, Rump A, Meisinger C, Grallert H, Sticht H, Schenck A, Engels H, Rappold G, Schröck E, Wieacker P, Riess O, Meitinger T, Reis A, Strom TM. Range of genetic mutations associated with severe non-syndromic sporadic intellectual disability: an exome sequencing study. **Lancet** **380**:1674-82, 2012.

- Rausch T, Zichner T, Schlattl A, Stütz AM, Benes V, Korbel JO. DELLY: structural variant discovery by integrated paired-end and split-read analysis. **Bioinformatics** **28**:i333-i339, 2012
- Robinson DO, Howarth RJ, Williamson KA, van Heyningen V, Beal SJ, Crolla JA. Genetic analysis of chromosome 11p13 and the PAX6 gene in a series of 125 cases referred with aniridia. **Am J Med Genet A** **146A**:558-69, 2008
- Robinson JT, Thorvaldsdóttir H, Winckler W, Guttman M, Lander ES, Getz G, Mesirov JP. Integrative genomics viewer. **Nat Biotechnol** **29**:24-26, 2011.
- Robinson WP. Mechanisms leading to uniparental disomy and their clinical consequences. **Bioessays** **22**:452-459, 2000.
- Rodenas-Cuadrado P1, Ho J2, Vernes SC3. Shining a light on CNTNAP2: complex functions to complex disorders. **Eur J Hum Genet** **22**:171-8, 2014.
- Roessler E et al. Cytogenetic rearrangements involving the loss of the Sonic Hedgehog gene at 7q36 cause holoprosencephaly. **Hum Genet** **100**:172-81, 1997.
- Ronan A, Fagan K, Christie L, Conroy J, Nowak NJ, Turner G. Familial 4.3 Mb duplication of 21q22 sheds new light on the Down syndrome critical region. **J Med Genet** **44**:448-51, 2007.
- Rosenbaum P1, Paneth N, Leviton A, Goldstein M, Bax M, Damiano D, Dan B, Jacobsson B. A report: the definition and classification of cerebral palsy April 2006. **Dev Med Child Neurol Suppl** **109**:8-14, 2007.
- Rowley. Letter: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. **Nature** **243**: 290–3, 1973.
- Rutsch, F, Gailus, S, Miousse, I R, Suormala, T, Sagne, C, Toliat, M R, Nurnberg, G, Wittkamp, T, Buers, I, Sharifi, A, Stucki, M, Becker, C, Baumgartner, M, Robenek, H, Marquardt, T, Hohne, W, Gasnier, B, Rosenblatt, D S, Fowler, B, Nurnberg, P. Identification of a putative lysosomal cobalamin exporter altered in the cblF defect of vitamin B12 metabolism. **Nature Genet** **41**: 234-239, 2009.
- Sarkozy A, Carta C, Moretti S, Zampino G, Digilio MC, Pantaleoni F, Scioletti AP, Esposito G, Cordeddu V, Lepri F, Petrangeli V, Dentici ML, Mancini GM, Selicorni A, Rossi C, Mazzanti L, Marino B, Ferrero GB, Silengo MC, Memo L, Stanzial F, Faravelli F, Stuppia L, Puxeddu E, Gelb BD, Dallapiccola B, Tartaglia M. Germline BRAF mutations in Noonan, LEOPARD, and cardiofaciocutaneous syndromes: molecular diversity and associated phenotypic spectrum. **Hum Mutat** **30**: 695-702, 2009.
- Schanze I, Schanze D, Bacino CA, Douzgou S, Kerr B, Zenker M. Haploinsufficiency of SOX5, a member of the SOX (SRY-related HMG-box) family of transcription factors is a cause of intellectual disability. **Eur J Med Genet** **56**:108-13, 2013.
- Schluth C, Gesny R, Borck G, Redon R, Abadie V, Kleinfinger P, Munnich A, Lyonnet S, Colleaux L. New case of interstitial deletion 12(q15-q21.2) in a girl with facial dysmorphism and mental retardation. **Am J Med Genet A** **146A**:93-6, 2008.
- Schluth-Bolard C, Delobel B, Sanlaville D, Boute O, Cuisset JM, Sukno S, Labalme A, Duban-Bedu B, Plessis G, Jaillard S, Dubourg C, Henry C, Lucas J, Odent S, Pasquier L, Copin H, Latour P, Cordier MP, Nadeau G, Till M, Edery P,

- Andrieux J. Cryptic genomic imbalances in de novo and inherited apparently balanced chromosomal rearrangements: array CGH study of 47 unrelated cases. **Eur J Med Genet** **52**:291-6, 2009.
- Schluth-Bolard C, Labalme A, Cordier MP, Till M, Nadeau G, Tevissen H, Lesca G, Boutry-Kryza N, Rossignol S, Rocas D, Dubruc E, Edery P, Sanlaville D. Breakpoint mapping by next generation sequencing reveals causative gene disruption in patients carrying apparently balanced chromosome rearrangements with intellectual deficiency and/or congenital malformations. **J Med Genet** **50**:144-50, 2013.
- Schmidt MA, Michels VV, Dewald GW. Cases of neurofibromatosis with rearrangements of Chromosome 17 involving band 17q11.2. **Am J Med Genet** **28**:771-7, 1987.
- Schmidt T, Bartels I, Liehr T, Burfeind P, Zoll B, Shoukier MA. Family with an Inverted Tandem Duplication 5q22.1q23.2. **Cytogenet Genome Res** **139**:65-70, 2013.
- Schmitz D, Mellor J, Nicoll RA. Presynaptic kainate receptor mediation of frequency facilitation at hippocampal mossy fiber synapses. **Science** **291**:1972-1976, 2001.
- Schuster J, Sundblom J, Thuresson AC, Hassin-Baer S, Klopstock T, Dichgans M, Cohen OS, Raininko R, Melberg A, Dahl N. Genomic duplications mediate overexpression of lamin B1 in adult-onset autosomal dominant leukodystrophy (ADLD) with autonomic symptoms. **Neurogenetics** **12**:65-72, 2011.
- Schutte M, Hruban RH, Hedrick L, Cho KR, Nadasdy GM, Weinstein CL, Bova GS, Isaacs WB, Cairns P, Nawroz H, Sidransky D, Casero RA Jr, Meltzer PS, Hahn SA, Kern SE. DPC4 gene in various tumor types. **Cancer Res** **56**:2527-30, 1996.
- Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. **Lancet** **2**:971-971971.
- Serafini T, Colamarino SA, Leonardo ED, Wang H, Beddington R, Skarnes WC, Tessier-Lavigne M. Netrin-1 is required for commissural axon guidance in the developing vertebrate nervous system. **Cell** **87**:1001-14, 1996.
- Sexton T, Yaffe E, Kenigsberg E, Bantignies F, Leblanc B, Hoichman M, Parrinello H, Tanay A, Cavalli G. Three-dimensional folding and functional organization principles of the Drosophila genome. **Cell** **148**:458-72, 2012.
- Shaffer LG, Lupski JR. Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans. *Annu Rev Genet* **34**:297-329, 2000.
- Shaw CJ, Lupski JR. Implications of human genome architecture for rearrangement-based disorders: the genomic basis of disease. **Hum Mol Genet** **13**:R57-R64, 2004.
- Shioda T, Lechleider RJ, Dunwoodie SL, Li H, Yahata T, de Caestecker MP, Fenner MH, Roberts AB, Isselbacher K J. Transcriptional activating activity of Smad4: roles of SMAD hetero-oligomerization and enhancement by an associating transactivator. **Proc Nat Acad Sci** **95**: 9785-9790, 1998.
- Shoichet SA, Kunde SA, Viertel P, Schell-Apacik C, von Voss H, Tommerup N, Ropers HH, Kalscheuer VM. Haploinsufficiency of novel FOXG1B variants in a patient

- with severe mental retardation, brain malformations and microcephaly. **Hum Genet** **117**:536-44, 2005.
- Sismani C, Kitsiou-Tzeli S, Ioannides M, Christodoulou C, Anastasiadou V, Stylianidou G, Papadopoulou E, Kanavakis E, Kosmaidou-Aravidou Z, Patsalis PC. Cryptic genomic imbalances in patients with de novo or familial apparently balanced translocations and abnormal phenotype. **Mol Cytogenet.** **1**:15, 2008.
- Skurat AV, Dietrich AD. Phosphorylation of Ser640 in muscle glycogen synthase by DYRK family protein kinases. **J Biol Chem** **279**:2490–2498, 2004.
- Slade I, Stephens P, Douglas J, Barker K, Stebbings L, Abbaszadeh F, Pritchard-Jones K; FACT collaboration, Cole R, Pizer B, Stiller C, Vujanic G, Scott RH, Stratton MR, Rahman N. Constitutional translocation breakpoint mapping by genome-wide paired-end sequencing identifies HACE1 as a putative Wilms tumour susceptibility gene. **J Med Genet** **47**:342-7, 2010.
- Slavin TP1, Kuruvilla K, Curtis CA, Christ LA, Mitchell AL. Isolated skeletal malformations in a child with a small mosaic ring microduplication of 18p11.21q11.2: genotype-phenotype correlations. **Am J Med Genet A** **155A**:618-2, 2011.
- Sobreira NL, Gnanakkan V, Walsh M, Marosy B, Wohler E, Thomas G, Hoover-Fong JE, Hamosh A, Wheelan SJ, Valle D. Characterization of complex chromosomal rearrangements by targeted capture and next-generation sequencing. **Genome Res** **21**:1720-7, 2011.
- South ST, Rector L, Aston E, Rowe L, Yang SP. Large clinically consequential imbalances detected at the breakpoints of apparently balanced and inherited chromosome rearrangements. **J Mol Diagn** **12**:725-9, 2010.
- Speicher MR, Carter NP. The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. **Nat Rev Genet** **6**:782-792, 2005.
- Srour M, Riviere JB, Pham JMT, Dube MP, Girard S, Morin S, Dion PA, Asselin G, Rochefort D, Hince P, Diab S, Sharafaddinzadeh N, Chouinard S, Theoret H, Charron F, Rouleau G. Mutations in DCC cause congenital mirror movements. **Science** **328**: 592, 2010.
- Srour M, Hamdan FF, Gan-Or Z, Labuda D, Nassif C, Oskoui M, Gana-Weisz M, Orr-Urtreger A, Rouleau GA, Michaud JL. A homozygous mutation in SLC1A4 in siblings with severe intellectual disability and microcephaly. **Clin Genet** **88**:e1-4, 2015
- Stephens PJ, Greenman CD, Fu B, Yang F, Bignell GR, Mudie LJ, Pleasance ED, Lau KW, Beare D, Stebbings LA, McLaren S, Lin ML, McBride DJ, Varela I, Nik-Zainal S, Leroy C, Jia M, Menzies A, Butler AP, Teague JW, Quail MA, Burton J, Swerdlow H, Carter NP, Morsberger LA, Iacobuzio-Donahue C, Follows GA, Green AR, Flanagan AM, Stratton MR, Futreal PA, Campbell PJ. Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development. **Cell** **144**:27-40, 2011.
- Strauss KA, Puffenberger EG, Huentelman MJ, Gottlieb S, Dobrin SE, Parod JM, Stephan DA, Morton DH. Recessive symptomatic focal epilepsy and mutant contactin-associated protein-like 2. **N Engl J Med** **354**:1370-7, 2006.

- Suzuki Y, Aoki Y, Ishida Y, Chiba Y, Iwamatsu A, Kishino T, Niikawa N, Matsubara Y, Narisawa K. Isolation and characterization of mutations in the human holocarboxylase synthetase cDNA. **Nature Genet** **8**: 122-128, 1994.
- Suzuki T, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Saitsu H, Takeda S, Matsumoto N. Precise detection of chromosomal translocation or inversion breakpoints by whole-genome sequencing. **J Hum Genet** **59**:649-54, 2014.
- Sweatt JD. Pitt-Hopkins Syndrome: intellectual disability due to loss of TCF4-regulated gene transcription. **Exp Mol Med** **45**:e21, 2013
- Symington LS, Gautier J. Double-strand break end resection and repair pathway choice. **Annu Rev Genet** **45**:247-71, 2011.
- Takenouchi T, Hashida N, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K. 1p34.3 deletion involving GRIK3: Further clinical implication of GRIK family glutamate receptors in the pathogenesis of developmental delay. **Am J Med Genet A** **164A**:456-60, 2014.
- Talkowski ME, Ernst C, Heilbut A, Chiang C, Hanscom C, Lindgren A, Kirby A, Liu S, Muddukrishna B, Ohsumi TK, Shen Y, Borowsky M, Daly MJ, Morton CC, Gusella JF. Next-generation sequencing strategies enable routine detection of balanced chromosome rearrangements for clinical diagnostics and genetic research. **Am J Hum Genet** **88**:469-81, 2011.
- Talkowski ME, Mullegama SV, Rosenfeld JA, van Bon BW, Shen Y, Repnikova EA, Gastier-Foster J, Thrush DL, Kathiresan S, Ruderfer DM, Chiang C, Hanscom C, Ernst C, Lindgren AM, Morton CC, An Y, Astbury C, Brueton LA, Lichtenbelt KD, Ades LC, Fichera M, Romano C, Innis JW, Williams CA, Bartholomew D, Van Allen MI, Parikh A, Zhang L, Wu BL, Pyatt RE, Schwartz S, Shaffer LG, de Vries BB, Gusella JF, Elsea SH. Assessment of 2q23.1 microdeletion syndrome implicates MBD5 as a single causal locus of intellectual disability, epilepsy, and autism spectrum disorder. **Am J Hum Genet** **89**:551-63, 2011.
- Tejedor F, Zhu XR, Kaltenbach E, Ackermann A, Baumann A, Canal I, Heisenberg M, Fischbach KF, Pongs O. Minibrain: a new protein kinase family involved in postembryonic neurogenesis in Drosophila. **Neuron**.14:287-301, 1995.
- Terradas M, Martín M, Tusell L, Genescà A. Genetic activities in micronuclei: is the DNA entrapped in micronuclei lost for the cell? **Mutat Res**.705:60-7, 2010.
- Tharapel AT, Summitt RL. A cytogenetic survey of 200 unclassifiable mentally retarded children with congenital anomalies and 200 normal controls. **Hum Genet** **37**:329-338, 1977.
- Theisen A, Rosenfeld JA, Shane K, McBride KL, Atkin JF, Gaba C, Hoo J, Kurczynski TW, Schnur RE, Coffey LB, Zackai EH, Schimmenti L, Friedman N, Zabukovec M, Ball S, Pagon R, Lucas A, Brasington CK, Spence JE, Sparks S, Banks V, Smith W, Friedberg T, Wyatt PR, Aust M, Tervo R, Crowley A, Skidmore D, Lamb AN, Ravnán B, Sahoo T, Schultz R, Torchia BS, Sgro M, Chitayat D, Shaffer LG. Refinement of the Region for Split Hand/Foot Malformation 5 on 2q31.1. **Mol Syndromol** **1**:262-271, 2010.
- Thomas NS, Morris JK, Baptista J, Ng BL, Crolla JA, Jacobs PA. De novo apparently balanced translocations in man are predominantly paternal in origin and

- associated with a significant increase in paternal age. **J Med Genet** 47:112-5, 2010.
- Thorwarth A, Schnittert-Hübener S, Schrupf P, Müller I, Jyrch S, Dame C, Biebermann H, Kleinau G, Katchanov J, Schuelke M, Ebert G, Steininger A, Bönnemann C, Brockmann K, Christen HJ9, Crock P, deZegher F, Griese M, Hewitt J, Ivarsson S, Hübner C, Kapelari K, Plecko B, Rating D, Stoeva I, Ropers HH, Grüters A, Ullmann R, Krude H. Comprehensive genotyping and clinical characterisation reveal 27 novel NKX2-1 mutations and expand the phenotypic spectrum. **J Med Genet** 51:375-87, 2014.
- Tommerup, N, Rasmussen MB, Mehrjouy MM, Bache I, Lind Thomsen A, Dos Santos Fonseca AC, Halgren C, Bak M, Jacky P. International Breakpoint Mapping Consortium (IBMC). Systematic Mapping of Chromosomal Breakpoints in the Context of Phenotypes and Nuclear Genome Organization. **Cancer Genetics** 208:359-360, 2015.
- Tonkin ET, Wang TJ, Lisgo S, Bamshad MJ, Strachan T. NIPBL, encoding a homolog of fungal Scc2-type sister chromatid cohesion proteins and fly Nipped-B, is mutated in Cornelia de Lange syndrome. **Nat Genet.** 36:636-41,2004.
- Tzenova J, Kaplan BJ, Petryshen TL, Field LL. Confirmation of a dyslexia susceptibility locus on chromosome 1p34-p36 in a set of 100 Canadian families. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet** 127B:117-124, 2004.
- Utami KH1, Hillmer AM, Aksoy I, Chew EG, Teo AS, Zhang Z, Lee CW, Chen PJ, Seng CC, Ariyaratne PN, Rouam SL, Soo LS, Yousoof S, Prokudin I, Peters G, Collins F, Wilson M, Kakakios A, Haddad G, Menuet A, Perche O, Tay SK, Sung KW, Ruan X, Ruan Y, Liu ET, Briault S, Jamieson RV, Davila S, Cacheux V. Detection of chromosomal breakpoints in patients with developmental delay and speech disorders. **PLoS One** 9:e90852, 2014.
- van Bon BW, Hoischen A, Hehir-Kwa J, de Brouwer AP, Ruivenkamp C, Gijsbers AC, Marcelis CL, de Leeuw N, Veltman JA, Brunner HG, de Vries BB. Intragenic deletion in DYRK1A leads to mental retardation and primary microcephaly. **Clin Genet** 79:296-9, 2011.
- Van Camp G, Snoeckx RL, Hilgert N, van den Ende J, Fukuoka H, Wagatsuma M, Suzuki H, Smets RME, Vanhoenacker F, Declau F, Van De Heyning P, Usami S. A new autosomal recessive form of Stickler syndrome is caused by a mutation in the COL9A1 gene. **Am J Hum Genet** 79: 449-457, 2006.
- Van Esch H, Rosser EM, Janssens S, Van Ingelghem I, Loeys B, Menten B. Developmental delay and connective tissue disorder in four patients sharing a common microdeletion at 6q13-14. **J Med Genet** 47:717-20, 2010.
- Vandeweyer G, Kooy RF. Balanced translocations in mental retardation. **Hum Genet** 126:133-47, 2009.
- Vega H, Waisfisz Q, Gordillo M, Sakai N, Yanagihara I, Yamada M, van Gosliga D, Kayserili H, Xu C, Ozono K, Jabs EW, Inui K, Joenje H. Roberts syndrome is caused by mutations in ESCO2, a human homolog of yeast ECO1 that is essential for the establishment of sister chromatid cohesion. **Nat Genet** 37:468-70, 2005.

- Vergult S, Krgovic D, Loeys B, Lyonnet S, Liedén A, Anderlid BM, Sharkey F, Joss S, Mortier G, Menten B. Nasal speech and hypothyroidism are common hallmarks of 12q15 microdeletions. **Eur J Hum Genet** **19**:1032-7, 2011.
- Vergult S, Van Binsbergen E, Sante T, Nowak S, Vanakker O, Claes K, Poppe B, Van der AN, van Roosmalen MJ, Duran K, Tavakoli-Yaraki M, Swinkels M, van den Boogaard MJ, van Haelst M, Roelens F, Speleman F, Cuppen E, Mortier G, Kloosterman WP, Menten B. Mate pair sequencing for the detection of chromosomal aberrations in patients with intellectual disability and congenital malformations. **Eur J Hum Genet** **22**:652-9, 2014
- Verkerk AJ, Mathews CA, Joosse M, Eussen BH, Heutink P, Oostra BA; Tourette Syndrome Association International Consortium for Genetics. CNTNAP2 is disrupted in a family with Gilles de la Tourette syndrome and obsessive compulsive disorder. **Genomics** **82**:1-9, 2003.
- Visel A, Minovitsky S, Dubchak I, Pennacchio LA. VISTA Enhancer Browser--a database of tissue-specific human enhancers. **Nucleic Acids Res** **35 (Database issue)**:D88-92, 2007
- Vortkamp A, Lee K, Lanske B, Segre GV, Kronenberg HM, Tabin CJ. Regulation of rate of cartilage differentiation by Indian hedgehog and PTH-related protein. **Science** **273**:613-622, 1996.
- Wang HT, Chang JW, Guo Z, Li BG. In silico-initiated cloning and molecular characterization of cortexin 3, a novel human gene specifically expressed in the kidney and brain, and well conserved in vertebrates. **Int J Mol Med** **20**:501-510, 2007.
- Warburton D. De novo balanced chromosome rearrangements and extra marker chromosomes identified at prenatal diagnosis: clinical significance and distribution of breakpoints. **Am J Hum Genet.** **49**: 995-1013, 1991.
- Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, Kirschner MW. A protein factor essential for microtubule assembly. **Proc Natl Acad Sci USA** **72**:1858-1862, 1975.
- Wenger SL, Steele MW, Boone LY, Lenkey SG, Cummins JH, Chen XQ."Balanced" karyotypes in six abnormal offspring of balanced reciprocal translocation normal carrier parents. **Am J Med Genet.****55**:47-52, 1995.
- Wentzel C, Lynch SA, Stattin EL, Sharkey FH, Annerén G, Thuresson AC.Interstitial Deletions at 6q14.1-q15 Associated with Obesity, Developmental Delay and a Distinct Clinical Phenotype. **Mol Syndromol** **1**:75-81, 2010.
- Wentzel C, Annerén G, Thuresson AC. A maternal de novo non-reciprocal translocation results in a 6q13-q16 deletion in one offspring and a 6q13-q16 duplication in another. **Eur J Med Genet** **7**:259-63, 2014.
- Wibom R, Lasorsa FM, Töhönen V, Barbaro M, Sterky FH, Kucinski T, Naess K, Jonsson M, Pierri CL, Palmieri F, Wedell A. N Engl J Med. AGC1 deficiency associated with global cerebral hypomyelination. 361:489-95, 2009.
- Wilkins JF, Haig D. What good is genomic imprinting: the function of parent-specific gene expression. **Nat Rev Genet** **4**:359-368, 2003.
- Wilson HL, Wong AC, Shaw SR, Tse WY, Stapleton GA, Phelan MC, Hu S, Marshall J, McDermid HE. Molecular characterisation of the 22q13 deletion syndrome

- supports the role of haploinsufficiency of SHANK3/PROSAP2 in the major neurological symptoms. **J Med Genet** **40**:575-584, 2003.
- Wohlleber E, Kirchhoff M, Zink AM, Kreiss-Nachtsheim M, Küchler A, Jepsen B, Kjaergaard S, Engels H. Clinical and molecular characterization of two patients with overlapping de novo microdeletions in 2p14-p15 and mild mental retardation. **Eur J Med Genet** **54**:67-72, 2011.
- Woolfe A, Goodson M, Goode DK, Snell P, McEwen GK, Vavouri T, Smith SF, North P, Callaway H, Kelly K, Walter K, Abnizova I, Gilks W, Edwards YJ, Cooke JE, Elgar G. Highly conserved non-coding sequences are associated with vertebrate development. **PLoS Biol** **3**:e7, 2005.
- Wu Y, Arai AC, Rumbaugh G, Srivastava AK, Turner G, Hayashi T, Suzuki E, Jiang Y, Zhang L, Rodriguez J, Boyle J, Tarpey P, Raymond FL, Nevelsteen J, Froyen G, Stratton M, Futreal A, Gecz J, Stevenson R, Schwartz CE, Valle D, Huganir RL, Wang T. Mutations in ionotropic AMPA receptor 3 alter channel properties and are associated with moderate cognitive impairment in humans. **Proc Natl Acad Sci USA** **104**:18163-8, 2007
- Wunderle VM, Critcher R, Hastie N, Goodfellow PN, Schedl A. Deletion of long range regulatory elements upstream of SOX9 causes campomelic dysplasia. **Proc Natl Acad Sci USA** **95**:10649–54, 1998.
- Wycisk KA, Zeitz C, Feil S, Wittmer M, Forster U, Neidhardt J, Wissinger B, Zrenne E, Wilke R, Kohl S, Berger W. Mutation in the auxiliary calcium-channel subunit CACNA2D4 causes autosomal recessive cone dystrophy. **Am J Hum Genet** **79**:973-7, 2006.
- Yu S, Graf WD. BRAF gene deletion broadens the clinical spectrum neuro-cardio-facial-cutaneous syndromes. **J Child Neurol** **26**:1593-6, 2011.
- Yuksel-Apak M, Bögershausen N, Pawlik B, Li Y, Apak S, Uyguner O, Milz E, Nürnberg G, Karaman B, Gülgören A, Grzeschik KH, Nürnberg P, Kayserili H, Wollnik B. A large duplication involving the IHH locus mimics acrocallosalsyndrome. **Eur J Hum Genet.** **20**:639-44, 2012.
- Zatz M, Vianna-Morgante AM, Campos P, Diament AJ. Translocation (X;6) in a female with Duchenne muscular dystrophy: implications for the localisation of the DMD locus. **J Med Genet.** **18**:442-447, 1981.
- Zeitouni B, Boeva V, Janoueix-Lerosey I, Loeillet S, Legoix-né P, Nicolas A, et al. SVDetect: a tool to identify genomic structural variations from paired-end and mate-pair sequencing data. **Bioinformatics** **26**:1895-1896, 2010..
- Zhang CZ, Spektor A, Cornils H, Francis JM, Jackson EK, Liu S, Meyerson M, Pellman D. Chromothripsis from DNA damage in micronuclei. **Nature** **522**:179-84, 2015
- Zhang F, Carvalho CM, Lupski JR. Complex human chromosomal and genomic rearrangements. **Trends Genet** **25**:298-307, 2009.
- Zhao X, Ueba T, Christie BR, Barkho B, McConnell MJ, Nakashima K, Lein ES, Eadie BD, Willhoite AR, Muotri AR, Summers RG, Chun J, Lee KF, Gage FH. Mice lacking methyl-CpG binding protein 1 have deficits in adult neurogenesis and hippocampal function. **Proc Natl Acad Sci USA** **100**:6777-6782, 2003.
- Zweier C, Peippo MM, Hoyer J, Sousa S, Bottani A, Clayton-Smith J, Reardon W, Saraiva J, Cabral A, Gohring I, Devriendt K, de Ravel T, Bijlsma EK,

Hennekam RC, Orrico A, Cohen M, Dreweke A, Reis A, Nurnberg P, Rauch A. Haploinsufficiency of TCF4 causes syndromal mental retardation with intermittent hyperventilation (Pitt-Hopkins syndrome). **Am J Hum Genet** 80:994-1001, 2007.

Recursos da Internet

Children's Hospital Oakland Research Institute, CHORI- <http://www.chori.org>

Database of Genomic Variants, DGV - <http://projects.tcag.ca/variation>

Database of Chromosomal Imbalances and Phenotype in Humans using Ensembl

Resources, DECIPHER - <http://www.sanger.ac.uk/PostGenomics/decipher>

Ensembl -<http://www.ensembl.org>

ECR browser - <http://ecrbrowser.dcode.org>

National Center for Biotechnology Information, NCBI - <http://www.ncbi.nih.gov>

VISTA Enhancer Browser: enhancer.lbl.gov

University of California, Santa Cruz, UCSC Genome Browser - <http://genome.ucsc.edu>