



МЕТОД СЕКВЕНИРОВАНИЯ И АЛГОРИТМ АНАЛИЗА ПРОФИЛЕЙ МЕТИЛИРОВАНИЯ НА ОСНОВАНИИ ДАННЫХ NGS-СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ОДНОРОДИТЕЛЬСКИХ ДИСОМИЙ

Павел Александрович Сучко¹, Дарья Алексеевна Некрасова², Максим Юрьевич Донников³, Олег Сергеевич Глотов^{4,5}, Лаврентий Глебович Данилов^{1✉}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

²ООО «Сербалаб», Санкт-Петербург, Россия

³Сургутский государственный университет, Сургут, Россия

⁴Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

⁵Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

Аннотация. Однородительская дисомия – аномалия, при которой обе гомологичные хромосомы наследуются от одного родителя. Патологические эффекты рассматриваемой аномалии связаны с нарушениями импринтинга и потерей гетерозиготности. Классические методы диагностики, такие как микросателлитный анализ и хромосомный матричный анализ, имеют ограничения при диагностике аномалии в неполных семьях и мозаичных случаях. Цель данного исследования – оценка потенциальной эффективности метода диагностики однородительских дисомий хромосом и нарушений импринтинга на основании профилирования метилирования ДНК по данным секвенирования нового поколения. В частности, был модифицирован метод пробоподготовки библиотек геномной ДНК с использованием метилзависимой эндонуклеазы Glal в сочетании с эндонуклеазой рестрикции Bst2UI для увеличения информативности анализа, а также разработан биоинформатический алгоритм обработки данных. Метод был протестирован на клиническом случае реципрокной транслокации (3;19)(q12;q13.3) по материнской линии с подозрением на сегментарную однородительскую дисомию у пробанда. Модификация протокола пробоподготовки позволила достичь охвата около 5 млн сайтов метилирования. Биоинформатический анализ включал определение статуса метилирования клинически значимых областей контроля импринтинга и поиск областей гомозиготности. Метод позволил охватить 2/3 потенциальных областей контроля импринтинга. Признаков однородительской дисомии у пробанда обнаружено не было, что согласуется с результатами хромосомного матричного анализа. Несмотря на то что подход представляет собой экономически эффективную альтернативу полногеномному бисульфитному секвенированию, остаются нерешенными проблемы с нормализацией получаемых относительных уровней метилирования. В дальнейшем планируется провести валидацию разработанного на биологических образцах с подтвержденными случаями однородительской дисомии, чтобы сделать однозначный вывод о его пригодности для идентификации рассматриваемых аномалий.

Ключевые слова: однородительская дисомия, метилирование ДНК, NGS, геномный импринтинг

Финансирование: работа выполнена при поддержке гранта №2023-569-05 Ханты-Мансийского автономного округа – Югры.

Шифр специальности: 3.3.3. Патологическая физиология.

Для цитирования: Сучко П. А., Некрасова Д. А., Донников М. Ю., Глотов О. С., Данилов Л. Г. Метод секвенирования и алгоритм анализа профилей метилирования на основании данных NGS-секвенирования для выявления однородительских дисомий // Вестник СурГУ. Медицина. 2025. Т. 18, № 1. С. 73–80. <https://doi.org/10.35266/2949-3447-2025-1-9>.

Original article

SEQUENCING METHOD AND ALGORITHM FOR ANALYZING METHYLATION PROFILES BASED ON NGS DATA TO IDENTIFY UNIPARENTAL DISOMY

Pavel A. Suchko¹, Darya A. Nekrasova², Maksim Yu. Donnikov³, Oleg S. Glotov^{4,5}, Lavrenty G. Danilov¹

¹Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

²LLC "Serbalab", Saint Petersburg, Russia

³Surgut State University, Surgut, Russia

⁴Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

⁵The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D. O. Ott, Saint Petersburg, Russia

Abstract. Uniparental disomy is an anomaly where both homologous chromosomes are inherited from the same parent. The pathological effects of this anomaly are associated with imprinting disorders and loss of heterozygosity. Traditional diagnostic methods, such as simple sequence repeats analysis and chromosomal microarray analysis, have limitations in diagnosing the anomaly in single-parent households and mosaic cases. The aim of this study is to evaluate the potential effectiveness of a diagnostic method for uniparental disomy and imprinting disorders based on DNA methylation profiling using next-generation sequencing data. In particular, a genomic DNA bank sample preparation was modified using the methyl-dependent endonuclease Glai in combination with the restriction endonuclease Bst2UI to improve its informativeness. In addition, bioinformatic analysis algorithm was developed. The method was tested on a clinical case of maternal reciprocal translocation (3;19)(q12;q13.3) with suspected segmental uniparental disomy in the proband. Modification of the bank sample preparation protocol provided the coverage of approximately 5 million methylation sites. Bioinformatic analysis included definition of methylation status in clinically significant imprinting control regions and the search for regions of homozygosity. The method enabled the coverage of 2/3 of potential imprinting control regions. No signs of uniparental disomy were found in the proband, which is consistent with the results of chromosomal microarray analysis. Although the approach represents a cost-effective alternative to genome-wide bisulfite sequencing, problems with normalizing the relative methylation levels remain. Further validation of biologically developed method on confirmed uniparental disomy cases is planned to definitively assess its suitability for identifying anomalies.

Keywords: uniparental disomy, DNA methylation, NGS, genomic imprinting

Funding: the work was supported by the grant No. 2023-569-05 of Khanty-Mansi Autonomous Okrug – Yugra.

Code: 3.3.3. Pathophysiology.

For citation: Suchko P. A., Nekrasova D. A., Donnikov M. Yu., Glotov O. S., Danilov L. G. Sequencing method and algorithm for analyzing methylation profiles based on NGS data to identify uniparental disomy. *Vestnik SurGU. Meditsina*. 2025;18(1):73–80. <https://doi.org/10.35266/2949-3447-2025-1-9>.

ВВЕДЕНИЕ

Однородительская дисомия (ОРД) хромосомы – аномалия, при которой обе гомологичные хромосомы или хромосомные сегменты унаследованы от одного родителя [1]. Хотя подобные случаи зафиксированы для всех аутосом человека и X-хромосомы [2], в качестве клинически значимых рассматриваются ОРД хромосом 6, 7, 11, 14, 15, и 20 [3]. По аллельному соотношению выделяют два типа данных аномалий: при изодисомии наследуется две идентичные копии хромосомы одного родителя, а при гетеродисомии наследуются две гомологичные хромосомы одного родителя [4].

Патологические последствия ОРД обусловлены потерей гетерозиготности, а также нарушениями геномного импринтинга, что является причиной синдромов Ангельмана, Прадера – Вилли, Беквита – Видемана, Сильвера – Рассела и др. [5]. Частота ОРД оценивается примерно в 1 на 2000 родов [6]. Помимо врожденной также встречается приобретенная ОРД

в соматических клетках, что является распространенной особенностью различных видов рака [7].

Характерной особенностью синдромов, связанных с ОРД, является множественность молекулярных причин заболевания: помимо рассматриваемой аномалии значительный вклад вносят делеции, мутации и aberrантное метилирование в областях контроля импринтинга (ICR), поэтому точное установление этиологии играет в этих клинических случаях ключевую роль [8]. Кроме того, тестирование на ОРД назначается при обнаружении структурных перестроек хромосом 14 и 15, а также при идентификации моносомного мозаицизма или трисомии в ходе пренатальной диагностики [1, 9].

Классическим методом диагностики ОРД является микросателлитное тестирование, но необходимость биоматериала обоих родителей пробанда (трио-анализ), трудности при выявлении сегментарных дисомий и анализе мозаичных случаев ограничивают его эффективность [1, 5]. В последние годы

преобладающими методами становятся хромосомный матричный анализ (ХМА) и экзомное секвенирование благодаря своей производительности и возможности выявления областей гомозиготности (ROH) различной протяженности, однако мозаицизм и потребность в родительском материале по-прежнему остаются значительной проблемой [10, 11]. В качестве дополнительных инструментов используются метил-специфическая ПЦР и метил-специфическая мультиплексная амплификация лигированных зондов для оценки статуса метилирования ICR [12]. Наибольшая эффективность достигается при комбинировании различных подходов, что существенно повышает стоимость тестирования и увеличивает сроки диагностики.

Перспективным инструментом для выявления однородительских дисомий и постановки дифференцированного диагноза при болезнях геномного импринтинга может стать сочетание профилирования метилирования ДНК и оценка ROH в рамках одного тестирования для выявления всего возможного комплекса аномалий, приводящих к дисрегуляции ICR. На текущий момент подобный подход был реализован с использованием адаптивного нанопорового секвенирования на платформе Oxford Nanopore и позволил идентифицировать различные молекулярные причины синдромов Ангельмана и Прадера – Вилли, в т.ч. однородительскую дисомию, однако его недостатком является чрезвычайная дороговизна [13, 14]. В качестве альтернативы могут рассматриваться методы, основанные на аффинном обогащении метилированных последовательностей или расщеплении геномной ДНК метил-чувствительными либо метилзависимыми эндонуклеазами, но на текущий момент в литературе отсутствуют свидетельства их применения для диагностики ОРД.

В рамках данной работы для разработки подхода к комплексному анализу ROH и паттернов метилирования ICR была осуществлена модификация метода высокопроизводительного секвенирования, основанного на фрагментации геномной ДНК метилзависимой эндонуклеазой Glal (R (5mC) ↑ GY), ограничением которого являлось малое количество охватываемых RCGY-сайтов [15].

Цель – оценка потенциальной эффективности метода диагностики однородительских дисомий хромосом и нарушений импринтинга на основании NGS-профилирования метилирования ДНК с использованием метилзависимой эндонуклеазы Glal.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выбор рестриктаз для последовательного гидролиза. Для расширения пула секвенируемых фрагментов был выбран ряд рестриктаз, нечувствительных к метилированию и с частым сайтом узнавания, не перекрывающим сайт RCGY: Bst2UI (CC↑WGG), HaeIII (GG↑CC), RsaI (GT↑AC). Для выбранных ферментов, а также для Glal было выполнено расщепление референсного генома hg38 *in silico* с использованием программного пакета ddRADseqTools [16]. Полученные фрагменты в формате fasta картировались на референсный геном с помощью BWA-MEM. Далее картированные фрагменты с помощью HTseq [17] сопоставлялись с аннотациями CCDS, промоторов, по-

второв и энхансеров, загруженных через USCS Table Browser.

Подбор пациентов и условий фрагментации геномной ДНК. Для отладки методики пробоподготовки были взяты образцы периферической крови от 7 пациентов-родственников, среди которых присутствовало 2 пары мать – ребенок. Отличительной особенностью рассматриваемой когорты является наличие семейной реципрокной транслокации (3;19) (q12; q13.3) по материнской линии, при этом у пробанда, мальчика 7 лет, страдающего задержками психомоторного и психоречевого развития, гиперактивностью, дефицитом витамина D, неуточненной энцефалопатией, была заподозрена врачом-генетиком сегментарная однородительская дисомия одной из затронутых транслокацией хромосом. Наличие транслокации подтверждено кариотипированием.

Геномная ДНК выделялась из периферической крови с использованием набора Nucleic Acid Extraction Kit (BGI, Китай). 1000 нг геномной ДНК фрагментировали 10 е.а. метилзависимой эндонуклеазой Glal (SibEnzyme, Россия) в течение 2 часов, далее производили очистку гидролизата с использованием набора Cleanup Mini (Евроген, Россия). Далее параллельно тестировался дополнительный гидролиз с 10 е.а. Bst2UI, HaeIII и RsaI (SibEnzyme, Россия) в течение 4 часов. Фрагментный состав полученных смесей анализировался на станции автоматизированного электрофореза TapeStation 4150 (Agilent Technologies, США). Отбор фрагментов в целевом диапазоне длин 100–600 п.н. осуществлялся для смеси Glal + Bst2UI с помощью магнитных частиц Hieff NGS DNA Selection Beads (Yeasten, Китай).

Подготовка библиотек и секвенирование. При подготовке библиотек использовали 100 нг продукта последовательного гидролиза ДНК Glal и Bst2UI. Пробоподготовка осуществлялась согласно протоколу производителя набора MGIEasy Universal DNA Library Prep Set (MGI, Китай). Секвенирование производилось на платформе DNBSEQ-G400 (MGI, Китай) с длиной прочтений 110 п.н.

Обработка данных секвенирования. Предварительная фильтрация прочтений с $Q \geq 30$ и обрезка адаптеров DNBSEQ выполнялась с использованием Trimmomatic. Контроль качества прочтений осуществлялся с помощью утилиты FastQC. Далее производилось картирование прочтений с использованием BWA-MEM. Из файлов bam с помощью специально разработанного скрипта на Python удалялись прочтения, не соответствующие сайту узнавания Glal.

Подсчет количества прочтений, пересекающих интервалы геномных аннотаций, осуществлялся с помощью HTseq. Координаты кандидатных ICR были загружены через геномный браузер HumanICR [18]. Для образцов, составляющих пару мать – ребенок, было выполнено аннотирование SNP с помощью snpEff, полученные vcf-файлы тестировались на однородительскую дисомию с использованием altAFplotter [19]. Отсутствие протяженных участков потери гетерозиготности ($> 3\,000\,000$ п.н.) подтверждено результатами ХМА экзонного уровня на генетическом анализаторе ГЕНОСКАН 3000 (ООО «Геноскан», Россия).

Получено согласие этического комитета Сургутского государственного университета на публикацию материала на заседании от 26 апреля 2024 г.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При расщеплении эталонного генома *in silico* эндонуклеазами Glal, HaeIII, Bst2UI и RsaI было подсчитано число фрагментов, потенциально образующихся в ходе гидролиза. Полученные данные представлены в табл. 1. Можно заметить, что наибольшее количе-

ство потенциальных фрагментов образуется с Bst2UI, и эта рестриктаза с наибольшей вероятностью способствует расширению пула захватываемых фрагментов при последовательном гидролизе после Glal. Ограничением расщепления *in silico* является отсутствие учета статуса метилирования расщепляемых сайтов, что в случае Glal приводит к несоответствию реальному паттерну расщепления. На рис. 1 показано распределение фрагментов *in silico* для Glal и Bst2UI.

Таблица 1

Число рестрикционных фрагментов *in silico*

Эндонуклеаза	Glal	Bst2UI	HaeIII	RsaI
Сайт узнавания	R (5mC) ↑GY	CC↑WGG	GG↑CC	GT↑AC
Общее число фрагментов	8 009 924	10 721 268	9 306 384	5 440 264
Число фрагментов 100–600 п. н.	3 590 852	5 050 756	4 145 252	2 546 112

Примечание: составлено авторами.

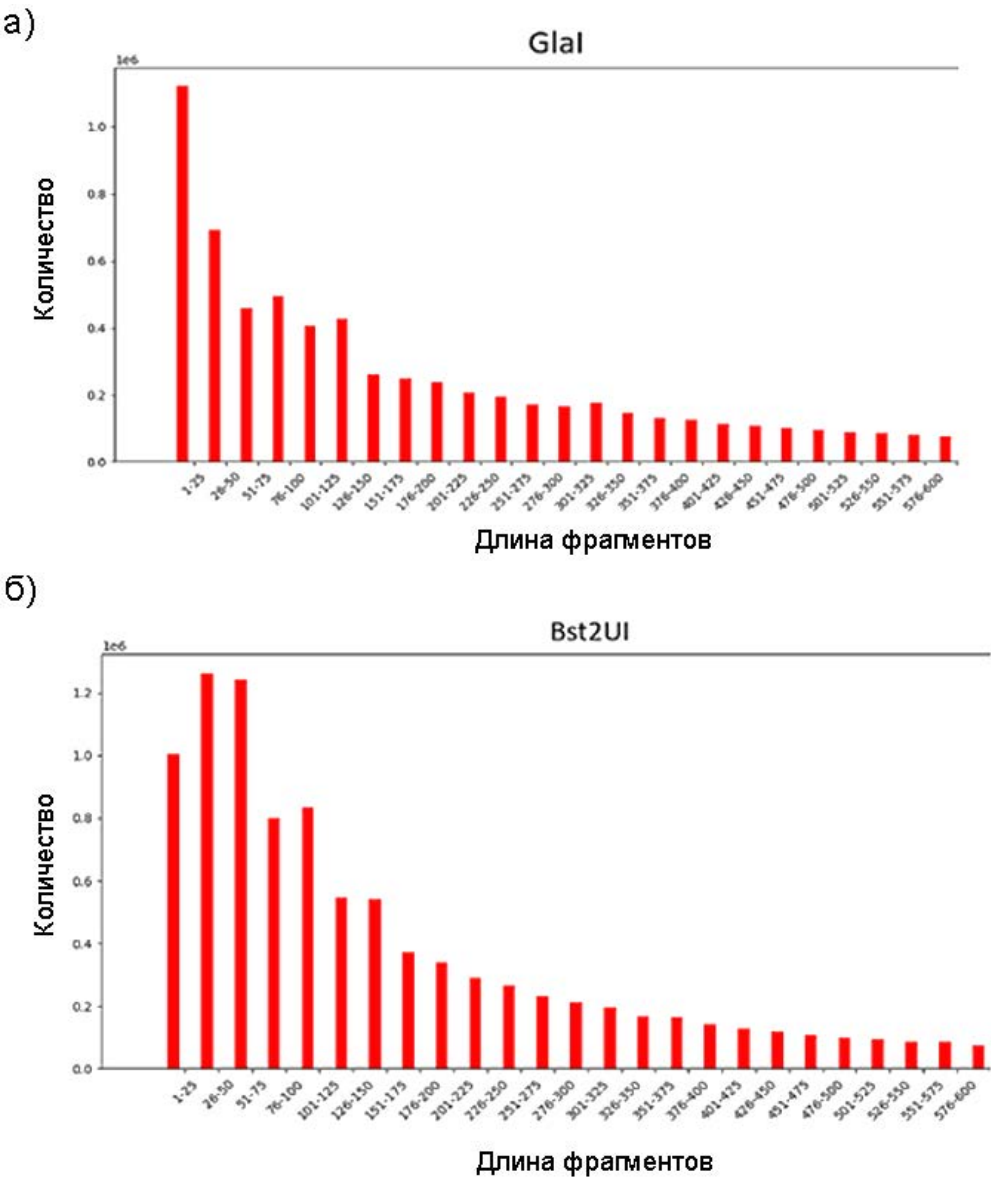


Рис. 1. Распределение фрагментов *in silico*:
а) распределение смоделированных фрагментов Glal;
б) распределение смоделированных фрагментов Bst2UI
Примечание: изображение авторов.

На рис. 2 показано реальное распределение фрагментов при последовательном двойном гидролизе и при обычном расщеплении геномной ДНК эндонуклеазой Glal (рис. 2 г). Наблюдаемое для Glal распределение не меняется при увеличении времени инкубации до 16 часов и согласуется с более ранней работой М. А. Abdurashitov и соавт. [15]. Таким обра-

зом, двойной последовательный гидролиз геномной ДНК с Glal и Bst2UI позволяет значительно расширить пул фрагментов для секвенирования. В то же время такой подход связан с сильным смещением в сторону CpG-бедных участков генома и вероятной потерей информации о регуляторных последовательностях, богатых CpG (в частности, промоторах и энхансерах).

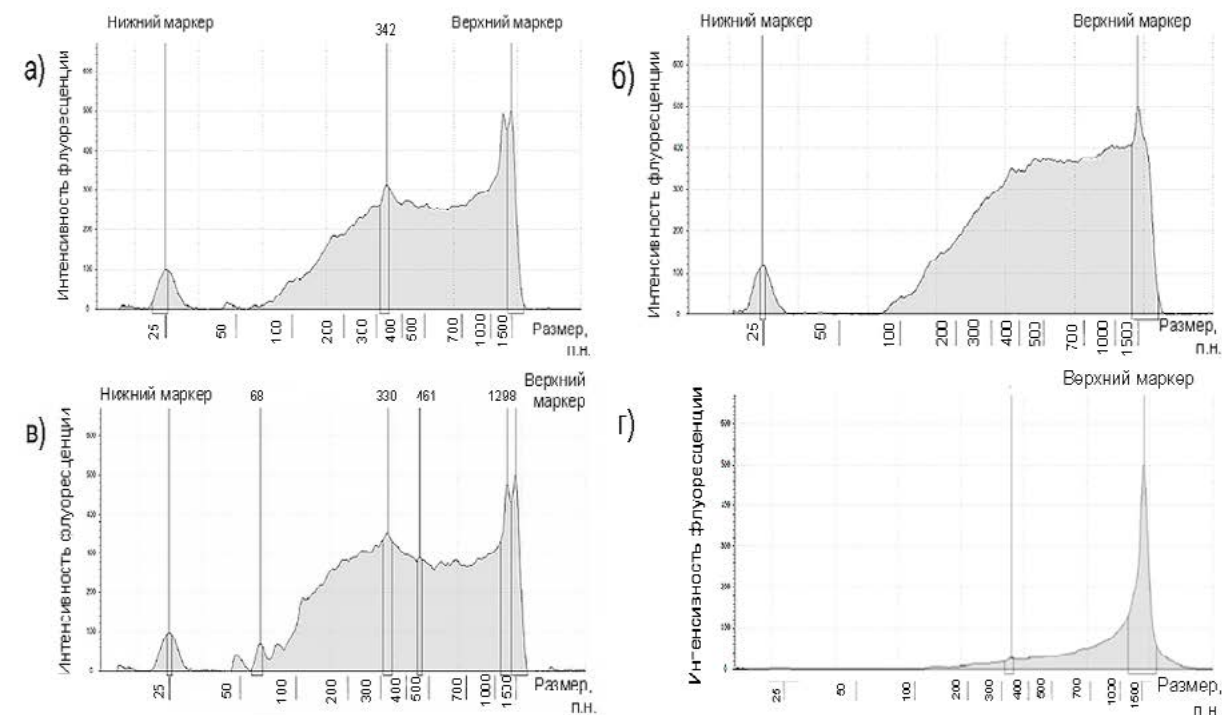


Рис. 2. Реальное распределение фрагментов (электрофореграмма с прибора TapeStation 4150):

а) распределение фрагментов после обработки геномной ДНК эндонуклеазами Glal и HaeIII;

б) распределение фрагментов после обработки геномной ДНК эндонуклеазами Glal и RsaI;

в) распределение фрагментов после обработки геномной ДНК эндонуклеазами Glal и Bst2UI;

г) распределение фрагментов после обработки геномной ДНК эндонуклеазой Glal

Примечание: изображение авторов.

В ходе секвенирования было получено в среднем 75,7 млн прочтений на образец ($Q \geq 30$), из которых 95% корректно картировались на референсный геном. В то же время лишь 25% из этих прочтений прошли фильтр по сайту узнавания Glal, что указывает на присутствие в смеси значительного количество фрагментов, являющихся продуктами расщепления только рестриктазы Bst2UI. Таким образом, по отношению к задаче определения сайтов метилирования 3/4 данных секвенирования являются нецелевыми. В то же время применительно к диагностике ОРД они могут способствовать увеличению чувствительности за счет дополнительных SNP, учитываемых altAFplotter при поиске ROH.

В результате подсчета индивидуальных сайтов метилирования было выявлено около 5 млн охватываемых CpG в составе RCGY-сайтов со средним покрытием 4-х из примерно 7,3 млн сайтов RCGY в референсном геноме. Ранее в работе М. А. Abdurashitov и соавт. удавалось охватить до 3,5 млн сайтов RCGY [15]. Таким образом, применение дополнительной рестриктазы позволяет значительно увеличить информативность анализа как для анализа паттернов метилирования, так и для детекции SNP. Однако подобная схема пробоподготовки приводит к уве-

личению затрат на секвенирование, особенно при необходимости достижения глубины 30-х за счет расширения покрываемой части референсного генома с 10–12 до 40%.

Для отфильтрованных по сайту узнавания Glal прочтений и фрагментов *in silico* было выполнено сопоставление с геномными аннотациями, результаты представлены в табл. 2.

По данным табл. 2 видно, что значительную часть прочтений составляют повторяющиеся элементы генома. По сравнению с фрагментами Glal *in silico*, при секвенировании продуктов двойного последовательного гидролиза происходит потеря существенной доли информации о регуляторных элементах генома (в частности, промоторов и энхансеров). Вероятно, это связано с высокой плотностью расположения сайтов гидролиза Glal и Bst2UI в этих участках.

На рис. 3 приведен пример покрытия хромосомы 15 как наиболее часто подверженной возникновению ОРД, а также импринтированного локуса SNRPN-SNURF.

Для данных, полученных в ходе апробации метода секвенирования, характерна неравномерность покрытия (рис. 3 а). Учитывая недостаточность количества прочтений на покрытую часть генома, на ос-

Таблица 2

Распределение прочтений в эксперименте/фрагментов *in silico* по геномным элементам (в %)

	Промоторы		CCDS		Энхансеры		Гены	Повторы
	от общего числа прочтений	от числа элементов аннотации	от общего числа прочтений	от числа элементов аннотации	от общего числа прочтений	от числа элементов аннотации	от общего числа прочтений	от общего числа прочтений
Реальные прочтения	1,1	12,4	13,3	85,5	0,9	18,0	15,7	39,1
Фрагменты Glal <i>in silico</i>	0,38	35,5	2,4	46,3	0,017	35,6	2,8	37,3
Фрагменты Glal + Bst2UI <i>in silico</i>	0,18	18,5	1,70	40,9	0,015	26,4	4,47	48

Примечание: составлено авторами.

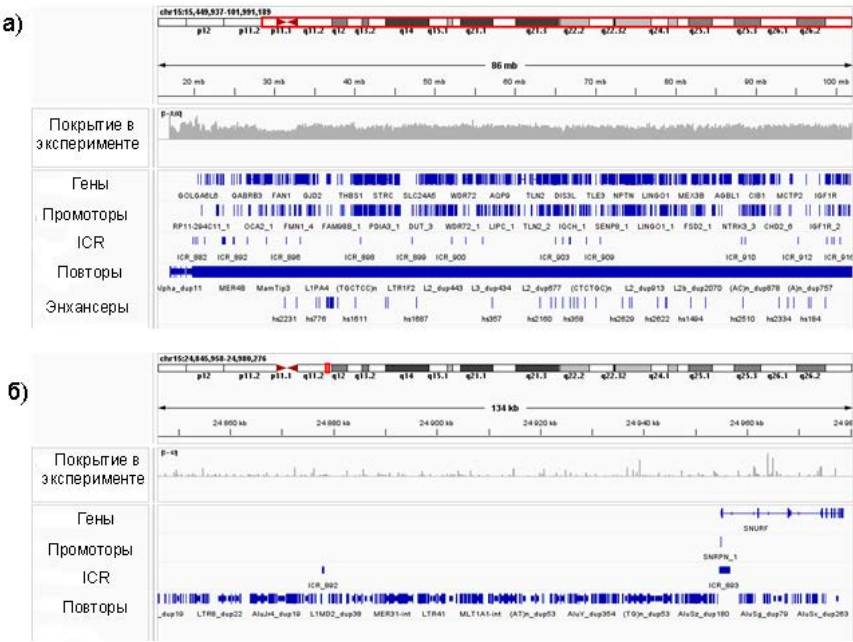


Рис. 3. Визуализация прочтений хромосомы 15 у пробанда в эксперименте:

- а) карта покрытия длинного плеча хромосомы 15;
- б) карта покрытия импринтированного локуса SNRPN-SNURF

Примечание: составлено авторами.

нове пилотного набора данных нет возможности сделать достоверный вывод о статусе ICR (рис. 3 б), вносящих вклад в фенотипическое проявление ОРД. С учетом объема данных секвенирования в пилотном запуске, для обеспечения высокого покрытия (около 30-х) необходимо около 300 млн прочтений, что делает метод в разы более экономичным, чем полногеномное бисульфитное секвенирование, являющееся золотым стандартом для анализа профилей метилирования. Следует отметить, что полученные прочтения охватывают сайты метилирования в 993 кандидатных ICR из 1488. При этом среди клинически значимых охвачены ICR, участвующие в патогенезе синдромов Прадера – Вилли, Ангельмана, Сильвера – Рассела и транзиторного неонатального сахарного диабета. По-видимому, сдвиг в сторону CpG-бедных участков генома оказывается не столь критичным для анализа ICR, что согласуется с данными о перекрытии 850 000 CpG в микрочипе Infinium Methylation EPIC (Illumina, США) сайтов CpG в ICR всего на 7 % [20]. Поскольку метилзависимые эндонуклеазы позволяют получать информацию об относительном уровне метилирования, а не абсолютном, как при бисульфитном секвенировании, для достоверного опреде-

ления статуса метилирования ICR критическое значение имеет нормализация полученных данных, либо сопоставление уровней метилирования в ICR в контрольной группе здоровых людей с уровнями метилирования у пациентов с ОРД.

Что касается анализа уровней метилирования в ICR на хромосомах 3 и 19, затронутых в данном клиническом случае реципрокной транслокацией, то при сопоставлении данных секвенирования пробанда и родственников без хромосомной перестройки установлена статистически значимая ($p > 0,05$) корреляция, ($p = 0,79$) по Спирмену, что указывает на высокое сходство паттернов метилирования у больного и здоровых родственников и вероятное отсутствие сегментарной ОРД. Кроме того, при анализе vcf-файлов не было выявлено протяженных областей гомозиготности, что также может указывать на отсутствие ОРД у пробанда.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы была проведена апробация подхода к диагностике однородительских дисомий на основе анализа профилей метилирования и областей гомозиготности по данным NGS в рамках одного те-

стирования. В рассмотренном клиническом случае не было получено данных, подтверждающих наличие ОРД у пробанда, что также соотносится с результатами хромосомного матричного анализа. При этом разработанный подход потенциально обладает большей чувствительностью, чем ХМА, за счет возможности оценки уровней метилирования в ICR, нарушающихся при ОРД и определяющих их фенотипическое проявление, а также анализа большего числа полиморфных генетических вариантов. В качестве недостатков подхода можно отметить сложность интерпретации данных секвенирования, высокие затраты биоматериала, а также высокую стоимость анализа, которая, тем не менее, почти вдвое ниже стоимости полногеномного секвенирования.

В дальнейшем планируется проведение дополнительного испытания разработанного подхода на образцах от пациентов с подтвержденными одно-

родительскими дисомиями и болезнями геномного импринтинга, однако основной трудностью в проведении подобного исследования является низкая частота данных заболеваний (менее 1 на 10 000 чел.), сложность молекулярно-генетического тестирования и низкая распространенность соответствующих методов диагностики. В случае успешности такого испытания описанный подход может стать инструментом первой линии для анализа клинических случаев с подозрением на ОРД и нарушения импринтинга, на основании результатов которого могут быть назначены более простые методы точечной диагностики наиболее вероятных молекулярных аномалий.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Del Gaudio D., Shinawi M., Astbury C. et al. Diagnostic testing for uniparental disomy: a points to consider statement from the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) // *Genetics in Medicine*. 2020, Vol. 22, no. 7. P. 1133–1141. <https://doi.org/10.1038/s41436-020-0782-9>.
2. Liehr T. 2025. Cases with uniparental disomy. URL: <https://cs-tl.de/DB/CA/UPD/0-Start.html> (дата обращения: 13.01.2025).
3. Benn P. Uniparental disomy: Origin, frequency, and clinical significance // *Prenatal Diagnosis*. 2021. Vol. 41, no. 5. P. 564–572. <https://doi.org/10.1002/pd.5837>.
4. Eggermann T., Soellner L., Buiting K. et al. Mosaicism and uniparental disomy in prenatal diagnosis // *Trends in Molecular Medicine*. 2015. Vol. 21, no. 2. P. 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2014.11.010>.
5. Chien S.-C., Chen C.-P., Liou J.-D. Prenatal diagnosis and genetic counseling of uniparental disomy // *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2022. Vol. 61, no. 2. P. 210–215. <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2022.02.006>.
6. Nakka P., Smith S. P., O'Donnell-Luria A. H. et al. Characterization of Prevalence and Health Consequences of Uniparental Disomy in Four Million Individuals from the General Population // *The American Journal of Human Genetics*. 2019. Vol. 105, no. 5. P. 921–932. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.09.016>.
7. Chen Q., Chen Y., Shi L. et al. Uniparental disomy: expanding the clinical and molecular phenotypes of whole chromosomes // *Frontiers in Genetics*. 2023. Vol. 14. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1232059>.
8. Liehr T. Uniparental disomy (UPD) in clinical genetics: A guide for clinicians and patients. Springer, 2014. 192 p.
9. Вашукова Е. С., Тарасенко О. А., Козюлина П. Ю. и др. Оценка эффективности полногеномного неинвазивного пренатального тестирования для выявления редких хромосомных аномалий на основе опыта ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта» // *Медицинская генетика*. 2022. Т. 21, № 11. С. 19–22.
10. Gonzales P. R., Andersen E. F., Brown T. R. et al. Interpretation and reporting of large regions of homozygosity and suspected consanguinity/uniparental disomy, 2021 revision: A technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) // *Genetics of Medicine*. 2022. Vol. 24, no. 2. P. 255–261. <https://doi.org/10.1016/j.gim.2021.10.004>.
11. Scuffins J., Keller-Ramey J., Dyer L. et al. Uniparental disomy in a population of 32,067 clinical exome trios // *Genetics of Medicine*. 2021. Vol. 23, no. 6. P. 1101–1107. <https://doi.org/10.1038/s41436-020-01092-8>.

REFERENCES

1. Del Gaudio D., Shinawi M., Astbury C. et al. Diagnostic testing for uniparental disomy: a points to consider statement from the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine*. 2020;22(7):1133–1141. <https://doi.org/10.1038/s41436-020-0782-9>.
2. Liehr T. 2025. Cases with uniparental disomy. URL: <https://cs-tl.de/DB/CA/UPD/0-Start.html> (accessed: 13.01.2025).
3. Benn P. Uniparental disomy: Origin, frequency, and clinical significance. *Prenatal Diagnosis*. 2021;41(5):564–572. <https://doi.org/10.1002/pd.5837>.
4. Eggermann T., Soellner L., Buiting K. et al. Mosaicism and uniparental disomy in prenatal diagnosis. *Trends in Molecular Medicine*. 2015;21(2):77–87. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2014.11.010>.
5. Chien S.-C., Chen C.-P., Liou J.-D. Prenatal diagnosis and genetic counseling of uniparental disomy. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2022;61(2):210–215. <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2022.02.006>.
6. Nakka P., Smith S. P., O'Donnell-Luria A. H. et al. Characterization of Prevalence and Health Consequences of Uniparental Disomy in Four Million Individuals from the General Population. *The American Journal of Human Genetics*. 2019;105(5):921–932. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.09.016>.
7. Chen Q., Chen Y., Shi L. et al. Uniparental disomy: expanding the clinical and molecular phenotypes of whole chromosomes. *Frontiers in Genetics*. 2023;14. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1232059>.
8. Liehr T. Uniparental disomy (UPD) in clinical genetics: A guide for clinicians and patients. Springer; 2014. 192 p.
9. Vashukova E. S., Tarasenko O. A., Kozyulina P. Yu. et al. Evaluation of the whole-genome non-invasive prenatal testing effectiveness for detection of rare chromosomal abnormalities based on the Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D. O. Ott experience. *Medical Genetics*. 2022;21(11):19–22. (In Russ.).
10. Gonzales P. R., Andersen E. F., Brown T. R. et al. Interpretation and reporting of large regions of homozygosity and suspected consanguinity/uniparental disomy, 2021 revision: A technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics of Medicine*. 2022;24(2):255–261. <https://doi.org/10.1016/j.gim.2021.10.004>.
11. Scuffins J., Keller-Ramey J., Dyer L. et al. Uniparental disomy in a population of 32,067 clinical exome trios. *Genetics of Medicine*. 2021;23(6):1101–1107. <https://doi.org/10.1038/s41436-020-01092-8>.

12. Саженова Е. А., Лебедев И. Н. Стандарты молекулярно-генетической ДНК-диагностики болезней геномного импринтинга на примере синдромов Прадера-Вилли и Энгельмана // Медицинская генетика. 2015. Т. 14, № 9. С. 3–10.
13. Yamada M., Okuno H., Okamoto N. et al. Diagnosis of Prader-Willi syndrome and Angelman syndrome by targeted nanopore long-read sequencing // *European Journal of Medical Genetics*. 2023. Vol. 66, no. 2. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2022.104690>.
14. Holthöfer L., Diederich S., Haug V. et al. A case of an Angelman syndrome caused by an intragenic duplication of UBE3A uncovered by adaptive nanopore sequencing // *Clinical Epigenetics*. 2024. Vol. 16. <https://doi.org/10.1186/s13148-024-01711-0>.
15. Abdurashitov M. A., Tomilov V. N., Gonchar D. A. et al. Comparative analysis of RCGY sites methylation in three human cell lines // *Epigenetic DNA diagnostics*. 2019. <https://doi.org/10.26213/SE.2019.76.40116>.
16. Mora-Márquez F., García-Olivares V., Emerson B. C. et al. ddRADseqTools: a software package for in silico simulation and testing of double-digest RADseq experiments // *Molecular Ecology Resources*. 2017. Vol. 17, no. 2. P. 230–246. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12550>.
17. Putri G. H., Anders S., Pyl P. T. et al. Analysing high-throughput sequencing data in Python with HTSeq 2.0 // *Bioinformatics*. 2022. Vol. 38, no. 10. P. 2943–2945. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac166>.
18. A resource for integrated genetical genomic analysis of the human Imprint Control Regions (ICRs). URL: <https://humanicr.org/> (дата обращения: 15.01.2025).
19. Radtke M., Moch J., Hentschel J. et al. altAFplotter: a web app for reliable UPD detection in NGS diagnostics // *BMC Bioinformatics*. 2024. Vol. 25. <https://doi.org/10.1186/s12859-024-05922-3>.
20. Jima D. D., Skaar D. A., Planchart A. et al. Genomic map of candidate human imprint control regions: the imprintome // *Epigenetics*. 2022. Vol. 17, no. 13. P. 1920–1943. <https://doi.org/10.1080/15592294.2022.2091815>.
12. Sazhenova E. A., Lebedev I. N. Standards of molecular genetic DNA diagnostics of genomic imprinting diseases on the example of Prader-Willi and Engelman syndromes. *Medical genetics*. 2015;14(9):3–10. (In Russ.).
13. Yamada M., Okuno H., Okamoto N. et al. Diagnosis of Prader-Willi syndrome and Angelman syndrome by targeted nanopore long-read sequencing. *European Journal of Medical Genetics*. 2023;66(2). <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2022.104690>.
14. Holthöfer L., Diederich S., Haug V. et al. A case of an Angelman syndrome caused by an intragenic duplication of UBE3A uncovered by adaptive nanopore sequencing. *Clinical Epigenetics*. 2024;16. <https://doi.org/10.1186/s13148-024-01711-0>.
15. Abdurashitov M. A., Tomilov V. N., Gonchar D. A. et al. Comparative analysis of RCGY sites methylation in three human cell lines. *Epigenetic DNA diagnostics*. 2019. <https://doi.org/10.26213/SE.2019.76.40116>.
16. Mora-Márquez F., García-Olivares V., Emerson B. C. et al. ddRADseqTools: a software package for in silico simulation and testing of double-digest RADseq experiments. *Molecular Ecology Resources*. 2017;17(2):230–246. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12550>.
17. Putri G. H., Anders S., Pyl P. T. et al. Analysing high-throughput sequencing data in Python with HTSeq 2.0. *Bioinformatics*. 2022;38(10):2943–2945. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac166>.
18. A resource for integrated genetical genomic analysis of the human Imprint Control Regions (ICRs). URL: <https://humanicr.org/> (accessed: 15.01.2025).
19. Radtke M., Moch J., Hentschel J. et al. altAFplotter: a web app for reliable UPD detection in NGS diagnostics. *BMC Bioinformatics*. 2024;25. <https://doi.org/10.1186/s12859-024-05922-3>.
20. Jima D. D., Skaar D. A., Planchart A. et al. Genomic map of candidate human imprint control regions: the imprintome. *Epigenetics*. 2022;17(13):1920–1943. <https://doi.org/10.1080/15592294.2022.2091815>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

П. А. Сучко – магистрант;
<https://orcid.org/0009-0000-7015-1208>, ya.pavel-125@yandex.ru

Д. А. Некрасова – биоинформатик;
<https://orcid.org/0000-0002-0028-9727>, nekrasovadasha22@yandex.ru

М. Ю. Донников – врач – лабораторный генетик, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник;
<https://orcid.org/0000-0003-0120-4163>, donnikov@gmail.com

О. С. Глотов – доктор биологических наук, заведующий отделом экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга;
<https://orcid.org/0000-0002-0091-2224>, olglotov@mail.com

Л. Г. Данилов – младший научный сотрудник;
<https://orcid.org/0000-0002-4479-3095>, ldanilov@spbu.ru✉

ABOUT THE AUTHORS

P. A. Suchko – Master's Degree Student;
<https://orcid.org/0009-0000-7015-1208>, ya.pavel-125@yandex.ru

D. A. Nekrasova – Bioinformatician;
<https://orcid.org/0000-0002-0028-9727>, nekrasovadasha22@yandex.ru

M. Yu. Donnikov – Laboratory Geneticist, Candidate of Sciences (Medicine), Leading Researcher;
<https://orcid.org/0000-0003-0120-4163>, donnikov@gmail.com

O. S. Glotov – Doctor of Sciences (Biology), Head of the Department of Experimental Medical Virology, Molecular Genetics and Biobanking;
<https://orcid.org/0000-0002-0091-2224>, olglotov@mail.com

L. G. Danilov – Junior Researcher;
<https://orcid.org/0000-0002-4479-3095>, ldanilov@spbu.ru✉