



Original Article

## Detection of a Novel Mutation on the Gene *ESCO2* in a Pediatric Patient with Syndactyly

Nguyen Thy Ngoc<sup>1,2,\*</sup>, Le Thi Van Anh<sup>1</sup>, Nguyen Thuy Duong<sup>2,3</sup>, Nong Van Hai<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>University of Science and Technology of Hanoi, Vietnam Academy of Science and Technology,  
18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology,  
18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

<sup>3</sup>Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology,  
18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

Received 05 January 2020

Revised 24 April 2020; Accepted 25 April 2020

**Abstract:** Syndactyly is a congenital disease caused by the limb formation abnormalities during fetal development. In this research, we studied the genetic mutations in a pediatric patient with 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> fingers were fused together, symmetrically using the whole exome sequencing techniques based on Next generation sequencing. The obtained data revealed a novel mutation located in exon 11 of the gene *ESCO2*: c.1745A>G: p.582K>R. Sequence verification by Sanger sequencing confirmed the existence of this mutation in the patient as heterozygous form. *In silico* prediction using PredictSNP, PhD-SNP, PROVEAN or Polyphen-2 tools indicated that the mutation was likely to affect the structure and function of Acetyltransferase? (encoded by *ESCO2* gene). Further studies will be performed to analyze the effect of this mutations on the intracellular protein network associated with syndactyly.

**Keywords:** Congenital disorder, syndactyly. Genetic mutation, *ESCO2*, child, Vietnam.

\* Corresponding author.

Email address: [nguyen-thy.ngoc@usth.edu.vn](mailto:nguyen-thy.ngoc@usth.edu.vn)

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4988>

# Phát hiện đột biến mới trên gen *ESCO2* trên bệnh nhi mắc dị tật dính ngón bàn tay bẩm sinh

Nguyễn Thy Ngọc<sup>1,2,\*</sup>, Lê Thị Vân Anh<sup>1</sup>, Nguyễn Thùy Dương<sup>2,3</sup>, Nông Văn Hải<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

<sup>3</sup>Viện Nghiên cứu Hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 05 tháng 01 năm 2020

Chỉnh sửa ngày 24 tháng 4 năm 2020; Chấp nhận đăng ngày 25 tháng 4 năm 2020

**Tóm tắt:** Dính ngón bàn tay chân là một dị tật bẩm sinh gây ra do những rối loạn bất thường trong quá trình hình thành bàn tay, bàn chân ở giai đoạn phát triển phôi. Nghiên cứu này tập trung vào phát hiện các đột biến gen xảy ra ở một bệnh nhi bị dị tật dính ngón 3 và 4 đối xứng ở hai bên bàn tay bằng kỹ thuật giải trình tự hệ gen biểu hiện dựa trên công nghệ giải trình tự thế hệ mới. Dữ liệu cho thấy một đột biến sai nghĩa mới phát hiện thuộc exon 11 của gen *ESCO2*: c.1745A>G: p.582K>R. Kết quả kiểm tra lại trình tự chứa đột biến bằng giải trình tự Sanger đã xác nhận sự tồn tại của đột biến này trong hệ gen của bệnh nhân dưới dạng dị hợp tử. Các kết quả dự đoán *in silico* bằng các công cụ như PredictSNP, PhD-SNP, PROVEAN hay Polyphen-2 cho thấy amino acid bị thay thế có khả năng cao làm thay đổi cấu trúc của protein và giảm hoạt tính enzyme Acetyltransferases mà gen *ESCO2* mã hóa. Nghiên cứu này là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo nghiên cứu về ảnh hưởng của đột biến lên mạng lưới protein nội tế bào dẫn đến dị tật dính ngón.

**Từ khóa:** Dị tật bẩm sinh, dính ngón, đột biến gen, *ESCO2*, trẻ em, Việt Nam.

## 1. Mở đầu

Dính ngón bàn tay, bàn chân là một trong những dị tật tay bẩm sinh phổ biến nhất. Bệnh nhân mắc phải dị tật này có hai hoặc nhiều ngón ở các chi (bàn tay, bàn chân) bị dính chặt vào nhau. Tỷ lệ trẻ sơ sinh mắc phải dị tật dính ngón tay chân là 1 trong 2000—3000 trẻ sơ sinh trên toàn thế giới, trong đó trẻ nam dễ bị mắc phải hơn trẻ nữ [1]. Tùy thuộc vào từng phân nhóm, dị tật này có thể chỉ bao gồm các mô mềm ở các thể nhẹ. Ở các thể nặng hơn, phần mô ngón bị

dính liền có thể bao gồm cả sụn và xương. Các chi bị dính ngón có thể là hai chi đối xứng hoặc không đối xứng (chỉ có một bên chi bị dị tật). Dị tật này xảy ra do sự bất thường trong quá trình phát triển phôi thai vào khoảng tuần thứ bảy đến tuần thứ tám của thai kỳ. Ở các thai nhi phát triển bình thường, phần trung mô liên kết mô giữa các ngón tay và ngón chân bị chết theo chương trình (apoptosis) làm tan màng phân tách các chi bàn tay và bàn chân. Tuy nhiên ở những thai nhi bị dị tật dính ngón, quá trình này đã không xảy ra dẫn đến việc nhiều ngón tay, ngón chân vẫn dính

\* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: [nguyen-thy.ngoc@usth.edu.vn](mailto:nguyen-thy.ngoc@usth.edu.vn)

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4988>

liên với nhau một phần hoặc toàn phần cho đến khi sinh nở [2]. Cho đến nay, đã có chín loại dị tật dính ngón bàn tay – bàn chân không kèm theo hội chứng khác và hơn 300 loại dị tật dính ngón có kèm theo hội chứng, như hội chứng Apert, hội chứng Robert, hội chứng Ba Lan, hội chứng Jackson-Weiss hoặc hội chứng Saethre-Chotzen, đã được phát hiện [3,4].

Ở dị tật dính ngón bàn tay chân, nhân tố di truyền (đột biến gen, DNA) là nhân tố có vai trò chi phối quyết định. Phần lớn các đột biến gen gây ra dị tật dính ngón chân tay được di truyền theo mô hình đột biến dạng trội không liên kết với giới tính. Tuy nhiên, một số đột biến gen liên quan đến dị tật này di truyền theo dạng lặn không liên kết giới tính, và một số dạng đột biến gây bệnh khác có di truyền liên kết với nhiễm sắc thể giới tính X [4-6]. Một số gen đã được các nghiên cứu trên thể giới chỉ ra trực tiếp gây nên dị tật dính ngón chân tay và những bất thường khác ở bàn tay, bàn chân như: *HOXD13* [7], *LRP4* [8], *GJA1* [9] và nhiều gen khác. Gen *ESCO2* mã hóa cho protein N-acetyltransferase ESCO 2, vốn đóng vai trò rất quan trọng trong việc phân tách 2 nhiễm sắc thể chị em ở pha S trong chu kỳ phân bào của tế bào. Một vài nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng đột biến trên gen *ESCO2* có thể dẫn đến những dị thường ở phôi người trong giai đoạn mang thai, khiến trẻ em sinh ra mang đột biến này mắc phải hội chứng Roberts [10,11]. Đây là một hội chứng bệnh với các đặc điểm như dị dạng xương bàn tay, bàn chân, mặt và hộp sọ, bệnh nhân mắc hội chứng Robert thường mắc phải trạng thái suy giảm trí tuệ với mức độ nặng nhẹ khác nhau.

Bệnh dính ngón là một căn bệnh phức tạp bao gồm nhiều dạng, phân dạng khác nhau, dựa vào cấu trúc mô dính và các đặc điểm kiểu hình. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng kỹ thuật giải trình tự toàn bộ hệ gen biểu hiện bằng công nghệ giải trình tự thế hệ mới để khảo sát các đột biến gen ở một bệnh nhi mắc dị tật dính ngón chân tay dạng I-c. Kết quả của nghiên cứu này sẽ là tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo trên cỡ mẫu lớn hơn nhằm điều tra toàn diện hơn về những đột biến có thể liên quan đến bệnh dính ngón tay chân trên quần thể người Việt.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Bệnh nhân

Bệnh nhi là nam, 3 tuổi, bị dính ngón 3 và ngón 4 ở cả 2 bàn tay (đối xứng) đặc trưng ở bệnh dính ngón chân tay dạng I-c. Bệnh nhi được chọn hoàn toàn ngẫu nhiên khi đến khám và điều trị tại Khoa Chỉnh hình, Bệnh viện Nhi Trung ương là nơi nhóm nghiên cứu tiến hành lấy mẫu. Bệnh nhân có bố mẹ có kiểu hình bình thường, trong gia đình không có ai bị mắc phải căn bệnh này. Các mô dính liền bao gồm mô da, mô thịt và một phần mô xương. Bệnh nhi có bàn chân hoàn toàn bình thường, các phần khác trên cơ thể cũng không có dấu hiệu bất thường nào. Bệnh nhi đến khám và phẫu thuật tại Khoa Chỉnh hình, Bệnh viện Nhi Trung ương. Thủ tục lấy mẫu được tuân thủ đúng theo quy định của Bệnh viện Nhi Trung ương. Gia đình của bệnh nhi đã được thông báo về mục đích của nghiên cứu và ký vào giấy đồng ý tham gia nghiên cứu. Nghiên cứu đã được Hội đồng Y đức của Bệnh viện Nhi Trung ương cho phép tiến hành nghiên cứu theo Quyết định số 564/BVNTW-VNCSKTE ngày 18 tháng 4 năm 2018.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### *Thu thập mẫu máu tổng số*

Thủ tục lấy mẫu được tuân thủ theo quy định của Bệnh viện Nhi Trung ương về cách lấy mẫu trong nghiên cứu khoa học. Gia đình của bệnh nhi đã được thông báo về mục đích của nghiên cứu và ký vào giấy đồng ý tham gia nghiên cứu. Mẫu nghiên cứu là 2 ml máu toàn phần được lấy từ ven tĩnh mạch chân của bệnh nhân. Mẫu máu sau khi lấy được cất trong ống chứa chất chống đông chứa EDTA và bảo quản ở tủ đông -20 °C cho đến khi sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

#### *Thiết lập thư viện DNA và giải trình tự toàn bộ hệ gen biểu hiện*

DNA tổng số được tách từ mẫu máu toàn phần của bệnh nhi bằng kit tách DNA GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini kit (ThermoFisher Scientific, USA). Nồng độ và

chất lượng của DNA được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 0,8% và bằng phương pháp quang phổ trên máy Nanodrop Lite (ThermoFisher Scientific, USA). Thư viện hệ gen biểu hiện được chuẩn bị bằng kit SureSelectXT Library Prep Kit (Aligent Technology, USA) theo phương pháp của nhà sản xuất. Thư viện hệ gen biểu hiện này sau đó sẽ được giải trình tự thế hệ mới trên máy giải trình tự Illumina Novaseq 6000 (MacroGen) tạo thành các trình tự có độ dài 151 bp bắt cặp (paired – end).

*So sánh với ngân hàng gen, sàng lọc các đột biến*

Trình tự gen các đoạn đọc thu được được sắp xếp, căn chỉnh mà đánh dấu vị trí dựa trên bộ gen người tham chiếu phiên bản GRCh37/hg19 trên ngân hàng gen bằng phần mềm Burrows-Wheeler Aligner v0.7.17. Các đoạn đọc có chất lượng thấp hoặc không được đánh dấu vị trí được lọc bỏ bằng các phần mềm Trimmomatic v0.39 và Samtools v1.3. Các đoạn lặp khuếch đại do phản ứng PCR được đánh dấu và lọc bỏ bằng phần mềm Picard v2.18.7. Sau khi so sánh với ngân hàng gen, các điểm đa hình, đột biến sai khác được chỉ ra bằng phần mềm Genome Analysis Toolkit v4.1.0.0. Các đa hình phổ biến đã được công bố được lọc bỏ, những đột biến điểm còn lại được chú thích vị trí gen bằng phần mềm ANNOVAR.

*Kiểm tra lại đột biến bằng phương pháp giải trình tự Sanger*

Các đoạn DNA chứa đột biến cần nghiên cứu sẽ được khuếch đại bằng phản ứng PCR thể tích 20µl với thành phần bao gồm: 20 ng DNA tổng số, đệm PCR 1X, dNTP nồng độ 2,5 mM, nồng độ môi 0,2 µM và 1 U Taq DNA polymerase (Qiagen). Sản phẩm PCR đã được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,5% và tinh sạch bằng kit PCR Purification GeneJET (Thermo Science). Trình tự sản phẩm PCR tương ứng thu được theo phương pháp giải trình tự Sanger bằng kit đọc trình tự ABI Big Dye Terminator v3.1 (Applied Biosystems, CA) trên máy đọc trình tự ABI 3500 (Applied Biosystems).

*Dự đoán ảnh hưởng của đột biến lên chức năng của protein bằng các công cụ in-silico*

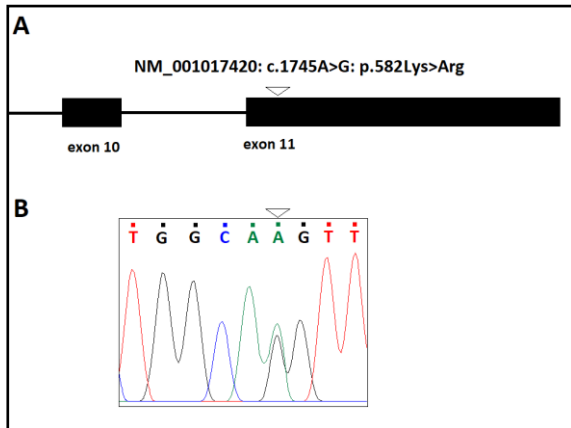
Tác động của đột biến gen sai nghĩa lên cấu trúc và chức năng của protein mà gen đó mã hóa được phân tích và dự đoán bằng các công cụ chuyên phân tích đột biến như PredictSNP, PhD-SNP, PROVEAN hay Polyphen-2. Mô hình di truyền (trội / lặn) của gen được nghiên cứu được đối chiếu cơ sở dữ liệu OMIM của Genecards. Độ bảo thủ của trình tự amino acid chứa điểm đột biến giữa các loài sinh vật khác nhau được phân tích dựa trên cơ sở dữ liệu của ngân hàng hệ gen UCSC Genome Browser.

### 3. Kết quả nghiên cứu

*3.1. Giải trình tự hệ gen biểu hiện và kiểm tra bằng phương pháp Sanger*

Từ mẫu máu toàn phần của bệnh nhi dính ngón tay, trình tự toàn bộ hệ gen biểu hiện đã được xác định theo phương pháp giải trình tự thế hệ mới của hãng Illumina. Kết quả giải trình tự thu được gần 80 triệu đoạn đọc (reads) ở hệ gen biểu hiện và các vùng lân cận, với độ bao phủ lên đến hơn 200X. Trong đó tỷ lệ các đoạn đọc cho chất lượng rất tốt (điểm chất lượng Q-score lớn hơn 30) chiếm 93%.

Từ dữ liệu giải trình tự này, chúng tôi tiến hành xử lý dữ liệu, so sánh với trình tự tham chiếu GRCh37/hg19 để tìm ra các điểm sai khác như đã trình bày trong phần phương pháp nghiên cứu. Sau khi lọc bỏ các đột biến không thuộc các gen đã công bố có liên quan đến dị tật dính ngón bàn tay chân, các đa hình đã được công bố trên ngân hàng dbSNP v151, chúng tôi đã tìm thấy một đột biến mới thuộc gen *ESCO2* có thể có liên quan đến dị tật dính ngón. Đây là đột biến sai nghĩa (missense mutation) nằm trên nhiễm sắc thể số 8, vị trí số 27660894 (vị trí 1745 trên cDNA của gen *ESCO2*), thay đổi nucleotide A thành G. Đột biến này làm thay đổi amino acid thứ 582 từ Lysine (K) thành Arginine (R). Đột biến tồn tại hệ gen của bệnh nhi mang dị tật dính ngón dưới dạng dị hợp tử (heterozygous). Vị trí đột biến này trên gen *ESCO2* và kết quả kiểm tra lại đột biến bằng phương pháp giải trình tự Sanger được thể hiện trên Hình 1.



Hình 1. Vị trí đột biến phát hiện được thuộc exon 11 của gen *ESCO2* (A) và kết quả phân tích trình tự Sanger kiểm tra lại đột biến (B).

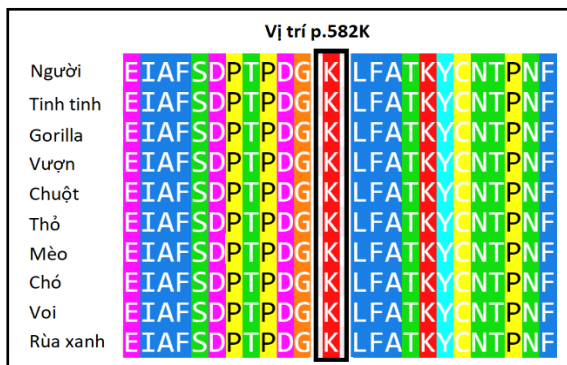
### 3.2. Dự đoán ảnh hưởng của đột biến thu được bằng các công cụ tin sinh học

Đột biến *ESCO2*: c.1745A>G: p.582K>R sau khi được phát hiện ở bệnh nhi dính ngón tay chân được đưa vào mô hình dự đoán của đột biến này lên cấu trúc và chức năng của enzyme Acetyltransferase *ESCO2* bằng các công cụ *in-silico*. Kết quả dự đoán bằng công cụ PredictSNP2 cho thấy đột biến này triệt tiêu hoạt tính của enzyme (deleterious) với độ chính xác 97%. Công cụ PROVEAN cũng cho kết quả tương tự với điểm dự đoán -2,805 (đột biến được cho là thay đổi hoạt tính protein khi có điểm dự đoán < -2,5). Các công cụ PolyPhen-2 và PhD-SNP cũng cho thấy kết quả tương tự (Bảng 1).

Bảng 1. Kết quả dự đoán ảnh hưởng của đột biến *ESCO2*: p.582Lys>Arg lên chức năng protein

Gen	Điểm đột biến	Công cụ dự đoán (Điểm dự đoán)			
		PredictSNP2	PolyPhen-2	PROVEAN	PhD-SNP
<i>ESCO2</i>	p.K582R	Deleterious (97%)	Probably damaging (1)	Deleterious (-2,805)	Disease (1)

Trình tự amino acid chứa điểm đột biến *ESCO2*: p.582 K>R được đưa vào so sánh trình tự bảo thủ giữa người và các động vật khác trên ngân hàng gen UCSC Genome Browser. Kết quả cho thấy trình tự này được bảo tồn (không thay đổi) giữa các loài: Từ người đến các loài động vật có vú lân cận con người và các loài động vật không lân cận như rùa xanh (Hình 2).



Hình 2. Kết quả so sánh độ bảo thủ của trình tự amino acid chứa đột biến *ESCO2*: p.582Lys>Arg giữa người và các động vật khác.

## 4. Thảo luận và kết luận

Đối với bệnh dính ngón chân tay dạng I-c, cho đến nay mới chỉ có một đột biến trên gen *HOXD13* c.917G > A (p.R306Q) được công bố phát hiện trên một phả hệ gia đình người Trung Quốc gồm 5 thành viên bị dính ngón dạng này [12]. Ngoài ra, một số gen cũng được phát hiện ở một vài gia đình có bệnh nhân dính ngón thuộc các dạng khác như gen *FBLN1* liên quan đến dính ngón dạng II [13], gen *LMBR1* liên quan đến dạng IV [14], hay gen *LRP4* liên quan đến dạng VII [15].

Trong công trình này, bằng kỹ thuật giải trình tự hệ gen biểu hiện theo phương pháp giải trình tự thế hệ mới, nhóm nghiên cứu đã phát hiện một đột biến thay thế mới *ESCO2*: c.1745A>G: p.582K>R trên bệnh nhi mắc dị tật dính ngón bàn tay 3 – 4 ở cả hai bàn tay. Ngoài ra, bệnh nhi không mắc phải đột biến nào thuộc các gen có liên quan đến bệnh dính ngón chân tay kể trên (*HOXD13*, *FBLN1*, *LMBR1*, *LRP4*). Đột biến

này hoàn toàn chưa từng được công bố trong các công trình nghiên cứu trước đây cả trong và ngoài nước. Bằng các công cụ phân tích in-silico, đột biến này được dự đoán sẽ làm giảm mạnh hoạt tính của acetyltransferase ESCO2. Vị trí của đột biến *ESCO2*: p.582K>R là bảo thủ giữa những loài động vật có xương sống gần gũi với con người cũng như những loài cách khá xa con người trên bản đồ tiến hóa. Điều này cho thấy điểm đột biến này ở một vị trí rất quan trọng có thể thay đổi cấu trúc và hoạt tính của protein nếu xảy ra biến đổi ở khu vực này.

Acetyltransferase ESCO1 và 2 là những enzyme đã được chỉ ra đóng vai trò tối quan trọng cho việc phân chia nhiễm sắc thể được xảy ra một cách bình thường trong phân bào ở người, chuột cũng như nhiều động vật khác [16,17]. Hai đột biến trên gen *ESCO2* (đột biến c.1131+1G>A và đột biến c.954\_955+2delAAGT) đã được chứng minh bằng phương pháp phân tích 3D-FISH gây ra sự biến đổi về cấu trúc nhiễm sắc thể ở một bào thai mắc phải hội chứng Robert so với các bào thai bình thường [18]. Biến đổi trên gen *ESCO2* cũng đã được chứng minh trên mô hình cá ngựa vằn gây nên rối loạn trong quá trình tự chết của tế bào (apoptosis), dẫn đến hội chứng Robert [19]. Tuy nhiên trong công trình này, lần đầu tiên đột biến sai nghĩa (làm thay đổi amino acid) thuộc gen *ESCO2* được phát hiện ở một bệnh nhân mắc dị tật dính ngón tay chân – không bao gồm hội chứng. Những nghiên cứu chức năng tiếp theo cần được tiến hành để nghiên cứu sự tương tác gen giữa *ESCO2* và *HOXD13* và các gen khác kể trên và ảnh hưởng của từng gen lên tính trạng bệnh dính ngón tay.

### Lời cảm ơn

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn gia đình bệnh nhi đã đồng ý cung cấp mẫu bệnh phẩm cho nghiên cứu này. Công trình này được Học viện Khoa học và Công nghệ (GUST) – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST) tài trợ kinh phí theo mã số đề tài GUST.STS.ĐT2017-SH04.

### Tài liệu tham khảo

- [1] H. Ahmed, H. Akbari, A. Emami, M.R. Akbari, Genetic Overview of Syndactyly and Polydactyly, Plastic and reconstructive surgery Global open 5, 11 (2017) e1549. <https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000001549>.
- [2] H. Deng, T. Tan, Advances in the Molecular Genetics of Non-syndromic Syndactyly, Current genomics 16, 3 (2015) 183-193. <https://doi.org/10.2174/1389202916666150317233103>.
- [3] D. Jordan, S. Hindocha, M. Dhital, M. Saleh, W. Khan, The epidemiology, genetics and future management of syndactyly, The open orthopaedics journal 6 (2012) 14-27. <https://doi.org/10.2174/1874325001206010014>.
- [4] S. Malik, Syndactyly: phenotypes, genetics and current classification, European journal of human genetics 20, 8 (2012) 817-824. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2012.14>.
- [5] S. Fujii, K. Yabe, Y. Kimura, Y. Ito, M. Rokukawa, M. Furukawa, K. Ito, M. Matsuura, M. Kiguchi, Syndactyly lethal: new mutation with multiple malformations occurring in Sprague Dawley rats, Congenital anomalies 49, 4 (2009) 262-268. <https://doi.org/10.1111/j.1741-4520.2009.00244.x>.
- [6] S.S. Chaudhry, J. Gazzard, C. Baldock, J. Dixon, M.J. Rock, G.C. Skinner, K.P. Steel, C.M. Kielty, M.J. Dixon, Mutation of the gene encoding fibrillin-2 results in syndactyly in mice, Human molecular genetics 10, 8 (2001) 835-843. <https://doi.org/10.1093/hmg/10.8.835>.
- [7] D.M. Ibrahim, N. Tayebi, A. Knaus, A.C. Stiege, A. Sahebzamani, J. Hecht, S. Mundlos, M. Spielmann, A homozygous *HOXD13* missense mutation causes a severe form of synpolydactyly with metacarpal to carpal transformation, American journal of medical genetics Part A 170, 3 (2016) 615-621. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37464>.
- [8] R. Sukenik Halevy, H.C. Chien, B. Heinz, M.J. Bamshad, D.A. Nickerson, M. Kircher, N. Ahituv, Mutations in the fourth beta-propeller domain of LRP4 are associated with isolated syndactyly with fusion of the third and fourth fingers, Human mutation 39, 6 (2018) 811-815. <https://doi.org/10.1002/humu.23417>.
- [9] G. You, H. Cai, L. Jiang, Z. Zheng, B. Wang, Q. Fu, J. Wang, A novel GJA1 mutation identified by whole exome sequencing in a Chinese family with autosomal dominant syndactyly, Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry 459 (2016) 73-78. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.05.024>.

- [10] E. Mengen, L.D. Kotan, S.A. Ucakurk, A.K. Topaloglu, B. Yuksel, A Novel Frameshift Mutation in ESCO2 Gene in Roberts Syndrome, *Journal of the College of Physicians and Surgeons* 28, 5 (2018) 403-405. <https://doi.org/10.29271/jcpsp.2018.05.403>.
- [11] H.H. Afifi, G.M. Abdel-Salam, M.M. Eid, A.M. Tosson, W.G. Shousha, A.A. Abdel Azeem, M.K. Farag, M.I. Mehrez, K.R. Gaber, Expanding the mutation and clinical spectrum of Roberts syndrome, *Congenital anomalies* 56, 4 (2016) 154-162. <https://doi.org/10.1111/cga.12151>.
- [12] H. Deng, T. Tan, Q. He, Q. Lin, Z. Yang, A. Zhu, L. Guan, J. Xiao, Z. Song, Y. Guo, Identification of a missense HOXD13 mutation in a Chinese family with syndactyly type I-c using exome sequencing, *Molecular medicine reports* 16, 1 (2017) 473-477. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6576>.
- [13] Y. Du, F. Chen, J. Zhang, Z. Lin, Q. Ma, G. Xu, D. Xiao, Y. Gui, J. Yang, S. Wan, A rare TTC30B variant is identified as a candidate for synpolydactyly in a Chinese pedigree, *Bone* 127 (2019) 503-509. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.07.012>.
- [14] L. Dai, H. Guo, H. Meng, K. Zhang, H. Hu, H. Yao, Y. Bai, Confirmation of genetic homogeneity of syndactyly type IV and triphalangeal thumb-polysyndactyly syndrome in a Chinese family and review of the literature, *European journal of pediatrics* 172, 11 (2013) 1467-1473. <https://doi.org/10.1007/s00431-013-2071-y>.
- [15] T.N. Khan, J. Klar, Z. Ali, F. Khan, S.M. Baig, N. Dahl, Cenani-Lenz syndrome restricted to limb and kidney anomalies associated with a novel LRP4 missense mutation, *European journal of medical genetics* 56, 7 (2013) 371-374. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2013.04.007>.
- [16] Y. Lu, X. Dai, M. Zhang, Y. Miao, C. Zhou, Z. Cui, B. Xiong, Cohesin acetyltransferase Esco2 regulates SAC and kinetochore functions via maintaining H4K16 acetylation during mouse oocyte meiosis, *Nucleic acids research* 45, 16 (2017) 9388-9397. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx563>.
- [17] R. Kawasumi, T. Abe, H. Arakawa, M. Garre, K. Hirota, D. Branzei, ESCO1/2's roles in chromosome structure and interphase chromatin organization, *Genes & development* 31, 21 (2017) 2136-2150. <https://doi.org/10.1101/gad.306084.117>.
- [18] C. Dupont, M. Bucourt, F. Guimiot, L. Kraoua, D. Smiljkovski, D. Le Tessier, C. Lebugle, B. Gerard, E. Spaggiari, P. Bourdoncle, 3D-FISH analysis reveals chromatid cohesion defect during interphase in Roberts syndrome, *Molecular cytogenetics* 2014, 7, 1 (2014) 59. <https://doi.org/10.1186/s13039-014-0059-6>.
- [19] R. Banerji, R.V. Skibbens, M.K. Iovine, Cohesin mediates Esco2-dependent transcriptional regulation in a zebrafish regenerating fin model of Roberts Syndrome, *Biology open* 6, 12 (2017) 1802-1813. <https://doi.org/10.1242/bio.026013>.