

**WHOLE EXOME SEQUENCING
IDENTIFIED A NOVEL HOMOZYGOUS
FRAMESHIFT MUTATION
C.1077_1078INSA (P.GLY360ARGFS*8)
IN CFAP97 GENE CAUSING MALE
INFERTILITY**

M.I. SHAH¹, J. KHAN^{1*}, S. SIRAJ², M. SHAFIQ³,
Y.U. HOTI⁴

¹ Institute of Biological Sciences, Gomal University,
Dera Ismail Khan, Pakistan

² Institute of Biomedical Sciences, Khyber Medical University,
Peshawar, KP, Pakistan

³ Medical Teaching Institute, Gomal Medical College,
Dera Ismail Khan, Pakistan

⁴ Punjab Institute of Neurosciences (PINS), Lahore, Punjab, Pakistan

Address for correspondence: Khan J., e-mail: jabbarkhan@gu.edu.pk

*Mutations in a number of genes are now known to cause susceptibility to male infertility. In Pakistan, very little is known about the genetic spectrum of male infertility. So, the main aim of the current genetic study was to investigate the single Saraiki origin consanguineous Pakistani family segregating infertility. Methodology for genetic analysis includes whole-exome sequencing (WES) and Sanger sequencing. Semen analysis was also done; however, in silico functional analysis was done using I-TASSER (for 3D structure modeling and Cluspro tool (for Protein-Protein interaction). Affected members were found to have severe oligozoospermia. Additionally, Analysis of exome data identified a novel homozygous frameshift mutation c.1077_1078insA:(p.Gly360Argfs*8) in the CFAP97 gene segregating in the family with the disease phenotype. Based on these findings, we suggest developing a molecular diagnostic test that may be used for premarital and prenatal screening of families at risk of infertility.*

Key words: CFAP97, Mutation, Infertility, Male, Pakistan.

ПОВНОЕКЗОМНЕ СЕКВЕНУВАННЯ ВИЯВИЛО
НОВУ ГОМОЗИГОТНУ МУТАЦІЮ ЗСУВУ
РАМКИ ЗЧИТУВАННЯ C.1077_1078INSA
(P.GLY360ARGFS*8) У ГЕНІ CFAP97,
ЩО СПРИЧИНЯЄ ЧОЛОВІЧЕ БЕЗПЛІДДЯ

© ІНСТИТУТ КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИЧНОЇ
ІНЖЕНЕРІЇ НАН УКРАЇНИ, 2026

Наразі відомо, що мутації в ряді генів спричиняють схильність до чоловічого безпліддя. У Пакистані про генетичний спектр чоловічого безпліддя відомо дуже мало. Тому основною метою цього генетичного дослідження було вивчення однієї єдинокровної пакистанської родини сараїкського походження, в якій спостерігається безпліддя. Методологія генетичного аналізу охоплює повноекзомне секвенування (WES) та секвенування за методом Сенгера. Також було проведено аналіз сперми, а функціональний аналіз *in silico* було здійснено за допомогою I-TASSER (для 3D-моделювання структури) та інструменту Cluspro (для взаємодії білок-білок). У членів сім'ї, які мали безпліддя, було виявлено тяжку олігозооспермію. Крім того, аналіз даних екзому виявив нову гомозиготну мутацію зсуву рамки зчитування c.1077_1078insA:(p.Gly360Argfs*8) у гені CFAP97, що сегрегує в родині з фенотипом захворювання. На основі цих результатів ми пропонуємо розробити молекулярний діагностичний тест, який можна використовувати для дошлюбного та пренатального скринінгу сімей, що мають ризик безпліддя.

Ключові слова: CFAP97, мутація, безпліддя, чоловіки, Пакистан.

REFERENCES

- Abbasi, F., Kodani, M., Emori, C., Kiyozumi, D., Mori, M., Fujihara, Y., and Ikawa, M., CRISPR/Cas9-mediated genome editing reveals Oosp family genes are dispensable for female fertility in mice, *Cells*, 2020, vol. 9, p. 821
- Bhasin, S., De Kretser, D.M., and Baker, H.W.G., Pathophysiology and natural history of male infertility, *Endocr. Rev.*, 1994, vol. 15, pp. 635–665
- Boivin, J., Bunting, L., Collins, J.A., and Nygren, K.G., International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: Potential need and demand for infertility medical care, *Hum. Reprod.*, 2007, vol. 22, pp. 1506–1512
- Bojesen, A., Juul, S., and Gravholt, C.H., Prenatal and postnatal prevalence of Klinefelter syndrome: A national registry study, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003, vol. 88, pp. 622–626
- Cox, C.M., Thoma, M.E., Tchangelova, N., Mburu, G., Bornstein, M.J., Johnson, C.L., and Kiarie, J., Infertility prevalence and the methods of estimation from

- 1990 to 2021: A systematic review and meta-analysis, *Reprod. Health*, 2022, vol. 19, p. 211
- Fujihara, Y., Miyata, H., and Ikawa, M., Factors controlling sperm migration through the oviduct revealed by gene-modified mouse models, *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, vol. 19, p. 327
- Hopps, C.V., Mielnik, A., Goldstein, M., Palermo, G.D., Rosenwaks, Z., and Schlegel, P.N., Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb, and AZFc regions, *Hum. Reprod.*, 2003, vol. 18, pp. 1660–1665
- Kent, W.J., Sugnet, C.W., Furey, T.S., Roskin, K.M., Pringle, T.H., Zahler, A.M., and Haussler, D., The human genome browser at UCSC, *Genome Res.*, 2002, vol. 12, pp. 996–1006
- Khan, S.N., Hasan, F., Sollaino, C., Perseu, L., and Riazuddin, S., Molecular characterization of α -thalassemia in Pakistan, *Hemoglobin*, 2003, vol. 27, pp. 161–166
- Kozakov, D., Hall, D.R., Xia, B., Porter, K.A., Padhorny, D., Yueh, C., Beglov, D., and Vajda, S., The ClusPro web server for protein-protein docking, *Nat. Protoc.*, 2017, vol. 12, pp. 255–278
- Krausz, C., and Casamonti, E., Spermatogenic failure and the Y chromosome, *Hum. Genet.*, 2017, vol. 136, pp. 637–655
- Lengauer, C., Kinzler, K.W., and Vogelstein, B., Genetic instabilities in human cancers, *Nature*, 1998, vol. 396, pp. 643–649
- Nagase, T., Kikuno, R., Ishikawa, K.I., Hirose, M., and Ohara, O., Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XVI. The complete sequences of 150 new cDNA clones from brain which code for large proteins *in vitro*, *DNA Res.*, 2000, vol. 7, pp. 65–73
- Oura, S., Kazi, S., Savolainen, A., Nozawa, K., Castaceda, J., Yu, Z., Miyata, H., Matzuk, R.M., Hansen, J.N., Wachten, D., Matzuk, M.M., and Prunskaitė-Hyyryläinen, R., Cfp97d1 is important for flagellar axoneme maintenance and male mouse fertility, *PLoS Genet.*, 2020, vol. 16, p. e1008954
- Punab, M., Poolamets, O., Paju, P., Vihlajev, V., Pomm, K., Ladvá, R., Korrovits, P., and Laan, M., Causes of male infertility: A 9-year prospective monocentre study on 1,737 patients with reduced total sperm counts, *Hum. Reprod.*, 2017, vol. 32, pp. 18–31
- Salzano, A., D'Assante, R., Heaney, L.M., Monaco, F., Rengo, G., Valente, P., Pasquali, D., Bossone, E., Gianfrilli, D., Lenzi, A., Cittadini, A., Marra, A.M., and Napoli, R., Klinefelter syndrome, insulin resistance, metabolic syndrome, and diabetes: Review of literature and clinical perspectives, *Endocrine*, 2018, vol. 61, pp. 194–203
- Soulavie, F., Piepenbrock, D., Thomas, J., Vieillard, J., Duteyrat, J.L., Cortier, E., Laurençon, A., Göpfert, M.C., and Duranda, B., Hemingway is required for sperm flagella assembly and ciliary motility in *Drosophila*, *Mol. Biol. Cell*, 2014, vol. 25, pp. 1276–1286
- Sun, M., Zhang, Y., Yang, J., Wang, Y., Tan, H., Wang, H., Lei, T., Li, X., Zhang, X., Xiong, W., Dou, K., and Ma, Y., Novel compound heterozygous DNAH2 mutations cause primary ciliary dyskinesia in a Han Chinese family, *J. Assist. Reprod. Genet.*, 2020, vol. 37, pp. 2393–2401
- Untergasser, A., Cutcutache, I., Koressaar, T., Ye, J., Faircloth, B.C., Remm, M., and Rozen, S.G., Primer3 – new capabilities and interfaces, *Nucleic Acids Res.*, 2012, vol. 40, p. e115
- Vander Borght, M. and Wyns, C., Fertility and infertility: Definition and epidemiology, *Clin. Biochem.*, 2018, vol. 62, pp. 2–10
- World Health Organization, *Global recommendations on physical activity for health*, Geneva: WHO, 2010
- World Health Organization, *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*, Geneva: WHO, 2021
- Yang, J., Yan, R., Roy, A., Xu, D., Poisson, J., and Zhang, Y., The I-TASSER suite: Protein structure and function prediction, *Nat. Methods*, 2014, vol. 12, pp. 7–8
- Yao, Z., Zeng, J., Zhu, H., Zhao, J., Wang, X., Xia, Q., Li, Y., and Wu, L., Mutation analysis of the TUBB8 gene in primary infertile women with oocyte maturation arrest, *J. Ovarian Res.*, 2022, vol. 15, p. 84
- Zhu, Y.T., Luo, C., Li, Y., Li, H., Quan, S., Deng, Y.J., Yang, Y., Hu, Y.H., Tan, W.L., and Chu, Q.J., Differences and similarities between extremely severe oligozoospermia and cryptozoospermia in intracytoplasmic sperm injection, *Asian J. Androl.*, 2016, vol. 18, pp. 639–644

Received January 21, 2025

Received March 04, 2025

Accepted January 18, 2026