

3B-EXOME, Proband

환자 기본 정보 (PATIENT INFORMATION)

Unique ID	[Unique ID]	담당의	[담당의]	샘플 타입	Buccal swab
3billion ID	EPH23-XXXX	분과	Pediatrics	샘플채취일	2023-08-25
생년월일 / 성별	2016-08-08 / Male	의뢰기관	[의뢰기관]	검사등록일	2023-08-25
인종	Latino/Admixed American			샘플접수일	2023-08-28

임상 정보 (CLINICAL INFORMATION)

증상	Intellectual disability, Atrial septal defect, Cryptorchidism
----	---

결과 요약 (RESULT SUMMARY)

POSITIVE

PTPN11 유전자에서 de novo heterozygous pathogenic 변이가 발견되었습니다. PTPN11 유전자는 autosomal dominant Noonan syndrome 1 (OMIM:163950)의 원인 유전자입니다.

Noonan syndrome 1 (OMIM: <a href="#">163950</a> )		
Gene	Variant	Classification
PTPN11	Genomic Position 12-112910827-A-G (GRCh37)	Pathogenic
	cDNA NM_001330437.1:c.836A>G	
	Protein p.Tyr279Cys	
	Zygosity Heterozygous	

3B-EXOME, Proband

결과 해석 (RESULTS INTERPRETATION)

PTPN11 NM_001330437.1:c.836A>G	
Population Data	The variant is observed at an extremely low frequency in the gnomAD v2.1.1 dataset (total allele frequency: 0.001%).
Predicted Consequence / Location	Missense changes are a common disease-causing mechanism.
Segregation Data	None
Computation and Functional Data	Functional studies provide strong evidence of the variant having a damaging effect on the gene or gene product (PMID: 14974085, 15987685, 19509418, 20308328). In silico tool predictions suggest damaging effect of the variant on gene or gene product (REVEL: 0.84; 3Cnet: 0.94).
Previously Reported Variant Data	Same nucleotide change resulting in same amino acid change has been previously reported as pathogenic/likely pathogenic with strong evidence (ClinVar ID: <a href="#">VCV000013326</a> / PMID: <a href="#">11704759</a> / 3billion dataset). The variant has been previously reported as de novo in at least two similarly affected unrelated individuals (PMID: <a href="#">11704759</a> , <a href="#">20979190</a> , <a href="#">22465605</a> ). The variant has been observed in at least two similarly affected unrelated individuals (3billion dataset). The variant has been reported to co-segregate with the disease in at least 7 similarly affected relatives/individuals in at least two unrelated families (PMID: <a href="#">11992261</a> ). Different missense changes at the same codon (p.Asn308Ser, p.Asn308Thr) have been reported as pathogenic/likely pathogenic with strong evidence (ClinVar ID: <a href="#">VCV000013327</a> , <a href="#">VCV000040535</a> / PMID: <a href="#">11992261</a> , <a href="#">15001945</a> / 3billion dataset).
Disease Association	Noonan syndrome 1 (OMIM: <a href="#">163950</a> )
Validation	Not performed as the variant was considered high-quality
Variant Classification	Pathogenic

# 3B-EXOME, Proband

## 별도로 요청된 유전자 (REQUESTED GENE FINDINGS)

의뢰 시 제공하신 의심되는 유전자 목록의 분석결과는 마지막 페이지의 부록을 확인해 주시기 바랍니다.

## 2차 발견 결과 (SECONDARY FINDINGS)

[GeneName] 유전자에서 heterozygous [pathogenic/likely pathogenic] 변이가 발견되었습니다. [GeneName] 유전자는 [DiseaseName (OMIM:163950)]의 원인 유전자입니다. [GeneName]은 American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)에서 발행한 가이드라인에서 권장하는 의학적으로 조치 가능한 81개의 '2차 발견 유전자 (Secondary Finding)' 중 하나입니다. Li-Fraumeni syndrome (OMIM: 151623)은 상염색체 우성 질환으로, 영향을 받는 개인이 조기에 발병하는 비부위 특이적 종양에 걸리기 쉽습니다. TP53(OMIM: 191170)의 병원성 변이를 가진 개인은 유방암과 연조직 육종부터 백혈병과 흑색종에 이르기까지 다양한 소아 및 성인 악성 종양에 걸릴 위험이 높습니다. 유전 상담과 임상 관리가 필요합니다.

Myopathy, mitochondrial and ataxia (OMIM: 61675)		
Gene	Variant	Classification
MSTO1	Genomic Position X-100656682-C-T (GRCh37)	Pathogenic
	cDNA NM_000169.3:c.485G>A	
	Protein NP_000160.1:p.Trp162Ter	
	Zygosity Heterozygous	

## 3B-EXOME, Proband

### 참고 데이터베이스 (RESOURCES)

- Online Mendelian Inheritance in Man®: This report contains information from the Online Mendelian Inheritance in Man® (OMIM®) database, which has been obtained under a license from Johns Hopkins University. This report does not represent the entire, unmodified OMIM® database, which is available in its entirety at <http://omim.org/downloads>.
- gnomAD (genome Aggregation Database): [gnomad.broadinstitute.org](http://gnomad.broadinstitute.org)
- ClinVar (National Center for Biotechnology Information ClinVar Database): [ncbi.nlm.nih.gov/clinvar](http://ncbi.nlm.nih.gov/clinvar)
- HGVS (Human Genome Variation Society): [varnomen.hgvs.org](http://varnomen.hgvs.org)
- HGMD (The Human Gene Mutation Database) Professional
- MITOMAP (A human mitochondrial genome database): <https://www.mitomap.org/MITOMAP>

### 참고문헌 (REFERENCES)

1. Richards S et al. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med. 2015 May;17(5):405-24. PMID: 25741868.
2. Erin R et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). Genet Med. 2020 Feb;22(2):245-257.
3. Elizabeth M et al. Specifications of the ACMG/AMP standards and guidelines for mitochondrial DNA variant interpretation. Hum Mutat. 2020 Dec;41(12):2028-2057.
4. Seo GH et al. Diagnostic yield and clinical utility of whole exome sequencing using an automated variant prioritization system, EVIDENCE. Clin Genet. 2020 Dec;98(6):562-570. PMID: 901917.
5. Miller, D.T., Lee, K., Abul-Husn N. et al. ACMG SF v3.2 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet Med. 2023 Jun;15;100866 PMID 37347242.
6. Dhong-Gun Won et al. 3Cnet: pathogenicity prediction of human variants using multitask learning with evolutionary constraints. Bioinformatics. 2021 Jul 16;btab529. PMID: 34270679.
7. McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A. et al. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. Genome Res. 2010 Sep;20(9):1297-303. PMID: 20644199
8. Krumm N, Sudmant PH, Ko A, O'Roak BJ, Malig M, et al. Copy number variation detection and genotyping from exome sequence data. Genome Res. 2012 Aug;22(8):1525-32. PMID: 22585873
9. Dolzhenko E, Deshpande V, Schlesinger F, et al. ExpansionHunter: a sequence-graph-based tool to analyze variation in short tandem repeat regions. Bioinformatics. 2019 Nov 15;35(22):4754-6. PMID: 31134279
10. Quinodoz M, Peter VG, Bedoni N, et al. AutoMap is a high performance homozygosity mapping tool using next-generation sequencing data. Nat Commun. 2021 Jan 22;12(1):518. PMID: 33483490

# 3B-EXOME, Proband

## 참고사항 (NOTES)

1. 결과 요약: 결과는 Positive, inconclusive, 그리고 negative 세가지로 분류됩니다.

Category	Explanation
Positive	<ul style="list-style-type: none"><li>AD/XL 질환의 원인 유전자에서 P/LP variant 가 확인되는 경우</li><li>AR 질환의 원인 유전자에서 2개 이상의 P/LP variant 가 확인되는 경우 (proband only 의 경우 phasing study 가 시행되지 않았습니다.)</li></ul>
Inconclusive	<ul style="list-style-type: none"><li>AD/XL 질환의 원인 유전자에서VUS가 확인되는 경우</li><li>AR 질환의 원인 유전자에서 1개이상의 VUS가 확인 되는 경우</li><li>AR 질환의 원인 유전자에서 오직 개의 P/LP variant 가 확인 되는 경우</li><li>환자의 임상 증상과 상응하는 GUS 에서 variant 가 확인되는 경우</li></ul>
Negative	<ul style="list-style-type: none"><li>임상적으로 관련된 의미있는 변이가 확인되지 않는 경우</li></ul>

Abbreviation: AD; autosomal dominant, AR; autosomal recessive, XL; X-linked, P; Pathogenic, LP; likely pathogenic, VUS; variant of uncertain significance, GUS; gene of uncertain significance.

2. 변이 분류 (Variant Classification): ACMG guideline (PMID 25741868)에서 제시한 evidence type [population data, computational and predictive data, functional data, segregation data, de novo data, allelic data] 별로 각 evidence의 강도 [very strong (VS), strong (S), moderate (M), supporting (P)]를 결정하여 각 변이를 판독하고 분류 (classify)합니다.

## 권장사항 (RECOMMENDATIONS)

- 검사 결과에 대한 유전 상담이 필요합니다.
- 이 검사는 대부분의 유전체 영역에서 단일염기서열 변이 (single nucleotide variant)와 작은 삽입/결실 변이 (small INDEL(<50bp)), 복제수변이 (CNV), 역위 (inversion), 전위 (translocation)를 포함한 구조적 변이(SV), 미토콘드리아 지놈 변이 (mitochondrial genome variant)를 높은 정확도로 검출할 수 있습니다. 상염색체와 성염색체에서의 저수준 모자이크 (low level mosaicism) 변이가 의심되는 경우, 해당 유형의 변이를 검출하도록 설계된 다른 검사를 수행하는 것을 권장 합니다. 가성 유전자 (pseudogenes)와 같이 염기서열 유사성이 높은 지역의 (highly homologous regions)에 있는 변이는 검출이 어렵거나 정확도가 떨어질 수 있습니다. 코딩 엑손 외의 영역에 있는 인트론 (intronic) 변이, 후성유전학적 변이 (epigenetic factors)나 regulatory region에 있는 변이는 판독이 불가할 수 있습니다.
- 본 검사 결과는 제공된 검사대상자의 임상 정보와 가족력을 기반으로 한 전장유전체 분석에 대한 해석입니다. 제공된 검사대상자에 대한 임상 정보가 부정확 하거나 불충분한 경우 신뢰성 있는 결과를 제공하지 못 할 수도 있습니다. 본 검사 결과가 검사대상자의 임상 정보와 상관 관계가 약한 경우, 주치의의 판단에 따라 추가 검사가 필요할 수 있습니다. 변이의 segregation을 확인하기 위해서 생물학적 부모 또는 다른 가족 구성원에 대한 전장유전체시퀀싱 또는 생어 시퀀싱 검사를 하는 것이 권장됩니다. 복제수변이(CNV)를 포함한 구조적 변이 (SV)의 경우, 정확한 breakpoint가 확인된 변이만 생어 시퀀싱으로 검사할 수 있습니다. 미토콘드리아 지놈 변이의 경우, 저수준 (low heteroplasmic level, <20%) 변이는 생어 시퀀싱으로 검사할 수 없습니다.
- 본 검사는 유전 변이의 분류를 위해서, 결과 보고 당시 공개된 임상의학 전문 데이터베이스와 관련 문헌을 참조하기 때문에, 새로운 의학적/과학적 후속 연구 결과가 추가될 경우, 참조된 데이터들이 유전 상담시에는 최신 정보가 아닐 수 있습니다.
- 본 검사 결과에서 의미있는 변이가 보고되지 않았을 경우, 유전 질환이 없다는 것을 의미하는 것이 아니며, 새로운 정보가 추가됨에 따라, 변이 분류 및 진단이 변경될 수 있습니다. 재분석이 요청된 경우, 새로운 정보를 사용하여 재분석을 시행하고, 재분석 결과지를 발행합니다. 담당의는 환자에게 새롭게 나타난 증상 정보를 추가하여 재분석에 사용되도록 할 수도 있습니다. 생명윤리 및 안전에 관한 법률 제53조 (검사대상물의 제공과 폐기 등)를 준수하기 위해 본 검사기관 은 1차 검사 후에 모든 검체를 폐기하기 때문에, 환자가 새로운 검체를 제공하지 않는 한, 재분석에서 확인된 변이에 대해서는 생어 시퀀싱으로 확인할 수 없습니다.

## 3B-EXOME, Proband

### 검사방법 (METHODS)

표준작업지침서에 따라 buccal swab를 사용하여 채취된 전혈 검체에서 genomic DNA를 추출했습니다. xGen human mtDNA panel과 xGen Custom Hyb Panel v1이 추가된 xGen Exome Research Panel v2 (Integrated DNA Technologies, Coralville, Iowa, USA)를 사용하여 exome capture를 수행하였고, NovaSeq 6000 system (Illumina, San Diego, CA, USA)을 사용하여 sequencing을 수행하였습니다. 생성된 총 11,185,129,911개의 염기 서열 데이터는 Genome Reference Consortium Human Build 37 (GRCh37)과 인간미토콘드리아 DNA의 Revised Cambridge Reference Sequence (rCRS)에 align되었습니다. Target한 exome 영역은 34,412,807개의 염기 서열이며, 이는 RefSeq 기반 단백질 코딩 영역의 약 99.3%에 해당합니다. 해당 영역은 141.39x mean depth-of-coverage로 시퀀싱 되었고, 약 99.10%의 서열이 20x 이상으로 시퀀싱되었습니다. 나머지 0.90%는 coverage가 충분하지 않았지만 (자세한 내용은 권장사항 참조), 이 수치는 고품질 전장엑솜 시퀀싱 데이터의 특성에 부합하며, 분석에 적합한 것으로 간주됩니다. 특정 유전자 및 유전체 영역에 대한 depth-of-coverage (DOC) 정보는 요청 시 제공됩니다. 총 67,757개의 단일염기서열 변이(SNV)와 12,509개의 작은 삽입 및 결실 변이 (small INDEL)이 확인되었습니다. 시퀀싱 데이터 분석 및 변이 해석은 쓰리빌리언에서 개발된 자동변이 해석 시스템인 EVIDENCE v4.1 (Clin Genet. 2020;98:562-570)을 사용하여 수행하였습니다. EVIDENCE는 SNV/small INDEL 검출을 위해 GATK best practices (GATK v3.8, Genome Res. 2010;20:1297-303)를 사용하고, copy number variant (CNV)와 aneuploidy 검출을 위해, DOC 정보를 기반으로 자체 개발한 프로그램인 3bCNV v23.0818과 CoNIFER v0.2.2 (Genome Res. 2012;22:1525-32)을 통합하여 사용하였습니다. 또한 repeat expansion 변이 검출을 위해 ExpansionHunter v5.0.0 (Bioinformatics. 2019;35:4754-6)를 사용하였고, regions of homozygosity (ROH) 영역 검출을 위해 AutoMap v1.2(Nat Commun. 2021;12:518)를 사용하였습니다. 변이 주석을 위해서는 Variant Effect Predictor v104.2 (VEP, Ensembl, Genome Biology 2016;17:122.)를 사용되었습니다. 유전 변이의 선별 및 분류는 American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) 및 Association for Molecular Pathology (AMP)에서 권장하는 지침 (Genet Med. 2015;17:405-424, Genet Med. 2020;22:245-257, Hum Mutat. 2020;41:2028-2057)에 따라, 환자의 표현형, 가족력, 그리고 이전에 시행되었던 검사 결과를 기반으로 수행되었습니다. 변이 해석 시점에 임상적으로 유의미하고 환자의 표현형과 관련이 있다고 간주되는 변이만 보고됩니다. 전장엑솜시퀀싱 검사의 변이 검출 정확도를 검증하는 내부 연구에 근거하여, 신뢰도가 낮은 변이만 생어 시퀀싱을 통해 확인합니다. 요청 시, FASTQ 파일, VCF 파일, 또는 주석이 달린 small variant 목록을 제공 합니다.

## 3B-EXOME, Proband

### 면책조항 (Disclaimer)

본 검사는 단백질을 코딩하는 대부분의 엑손 영역 내에서, 단일염기서열 변이 (single nucleotide variant, SNV) 및 작은 삽입/결실 변이 (small insertion and deletion, small INDEL)과 큰 복제수 변이 ( $\geq 3$  연속 엑손을 포함하는 copy number variant, CNV)를 검출하기 위해 쓰리빌리언에서 개발되었습니다. 본 검사는 College of American Pathologists (CAP#:8750906)와 Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA#: 99D2274041)로부터 고난이도 임상검사를 수행할 수 있는 자격을 인증 받았습니다. 검사 방법의 분석적 유효성과 임상적 유효성 검증은 한국 유전자 검사 평가원 및 미국 의학 유전학 및 유전체학회 (ACMG)의 기술표준 및 가이드라인 섹션 G <https://www.acmg.net/PDFLibrary/Standards-Guidelines-Clinical-Molecular-Genetics.pdf>에 따라 수행되었습니다. 본 검사는 단백질을 코딩하는 대부분의 엑손 영역 내에서 SNV, small INDEL (<50 bp) 및 큰 복제수 변이 ( $\geq 3$  연속 엑손)만 높은 신뢰도로 검출할 수 있습니다. 역위 (inversion), 전위 (translocation), 저수준 모자이크 변이 (low level mosaicism), 저수준 미토콘드리아 지놈 변이 (low level heteroplasmic mitochondrial genome variant)와 같은 변이가 의심되는 경우, 해당 유형의 변이를 높은 신뢰도로 검출하도록 설계된 다른 검사를 수행하는 것을 권장합니다. 또한 중폭, 시퀀싱 및 정렬의 기술적 어려움으로 인해 불완전하게 시퀀싱 되는 영역이 존재합니다. 이러한 영역 내 변이가 의심되는 경우, 해당 영역의 염기 서열을 높은 신뢰도로 분석하도록 설계된 대체 검사를 수행할 것을 권장합니다. 이 보고서의 일부를 복사하거나 복제할 수 없습니다. 이 보고서는 진단 참고용 보고서이며, 검사 결과를 진단에 활용하기 위해서는 반드시 임상 표현형과의 상관관계 확인 등의 추가적인 검증이 필요합니다.

### Accreditations and Certifications

**CAP License #**

8750906, AU-ID# 2052626

**CLIA ID #**

99D2274041

이 레포트는 의사, 유전학자, 정보학자로 구성된 임상팀이 종합적으로 검토했습니다.

Report electronically signed by:



**Go Hun Seo, M.D, Ph.D.**

Chief Medical Officer & Laboratory Director

3B-EXOME, Proband

요청된 유전자 결과 (REQUESTED GENE FINDINGS)

요청된 유전자는 충분히 시퀀싱 되었습니다. 각 유전자에 대한 커버리지 정보는 아래 보충표를 참조하세요. 요청된 유전자에서 임상적으로 유의미한 변이가 확인 되지 않았습니다. 그러나 요청된 유전자에서 다음과 같은 variant of uncertain significance 가 확인되었습니다.

Gene	Variant		Classification
PTPN11	NM_000169.3:c.485G>A (NP_000160.1:p.Trp162Ter)		VUS
	Zygosity	Heterozygous	
	Inheritance	Maternal	

요청된 유전자 커버리지 정보

Gene	% bp >=20x	Gene	% bp >=20x	Gene	% bp >=20x
a	99	c	99	e	99
b	199	d	199	f	199