

产前外显子组测序遗传咨询和报告规范

A consensus recommendation for the
interpretation and reporting of exome
sequencing in prenatal genetic diagnosis

(本稿完成时间：2020-09-11)

2020-09-12 发布

2020-09-12 实施

广东省精准医学应用学会 发布

目 次

前 言	3
引 言	4
产前外显子组测序遗传咨询和报告规范.....	5
1 范围	5
2 规范性引用文件	5
3 术语和定义.....	5
4 缩略语	6
5 检测前咨询、知情同意书及产前诊断申请单要求.....	7
5.1 检测前咨询要求.....	7
5.2 知情同意书	7
5.3 产前外显子组测序申请单.....	8
6 产前 ES 样本质量评估标准.....	8
6.1 样本选择.....	8
6.2 样本合格性判断.....	8
6.3 羊水样本的处理.....	9
6.4 不合格样本处理方式	9
7 产前 ES 的实验操作标准化要求	9
8 产前 ES 的室内质控和室间质评要求.....	9
9 产前外显子组测序的数据分析规范.....	9
9.1 产前外显子组测序数据的质量控制	10
9.2 变异分类原则	10
9.2.1 总则.....	10
9.2.2 变异分类	10
9.2.3 变异分类依据.....	11
9.3 数据分析流程	18
10 变异结果报告建议.....	19
10.1 概述.....	19
10.2 对“范围内”基因变异的报告建议	19
10.2.1 对“致病”和“可能致病”变异的报告建议.....	19
10.2.2 对“临床意义不明确”变异的报告建议	20

10.2.3 对“良性”或“可能良性”变异的报告建议.....	20
10.3 对“范围外”基因变异的报告建议	20
10.3.1 对“致病”和“可能致病”变异的报告建议.....	20
10.3.2 对“临床意义不明确”变异的报告建议	20
10.3.3 对“良性”或“可能良性”变异的报告建议.....	20
10.4 几种特殊情况的报告建议	20
10.4.1 对嵌合体的报告建议.....	20
10.4.2 存在外显不全和表现度差异的变异的报告建议.....	21
10.4.3 涉及胎儿性别的变异报告建议.....	21
10.4.4 对涉及不符合孟德尔遗传规律的变异报告建议.....	21
10.5 对数据再分析和报告更新的建议.....	21
11 产前外显子组测序的报告撰写	21
12 报告发放后的工作建议及检测后咨询	22
12.1 随访	22
12.2 检测后咨询的要求	22
12.2.1 报告解释	22
12.2.2 再生育风险评估	22
12.2.3 心理干预	22
13 疑难病例的多学科会诊	22
附 录 A	24
附 录 B	26
附 录 C	27
附 录 D	31
附 录 E	37
参 考 文 献.....	38

前 言

本标准按GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由广东省妇幼保健院提出，由广东省精准医学应用学会归口。

本标准起草单位：广东省妇幼保健院、广州医科大学附属第三医院、中山大学附属第三医院、中山大学附属第一医院、深圳华大基因股份有限公司、嘉检医学、北京贝瑞和康生物技术有限公司、贝勒医学院、深圳市人民医院、深圳市妇幼保健院、深圳市龙岗区妇幼保健院、深圳南山区妇幼保健院、东莞市妇幼保健院、惠州市第一妇幼保健院、中山市博爱医院、江门市妇幼保健院、广东省人民医院、粤北人民医院、清远市人民医院、广州医科大学附属第一医院、暨南大学附属第一医院、南方医科大学珠江医院。

本标准主要起草人：尹爱华、张彦、刘维强、章钧、林少宾、黄辉、张巍、任志林、王游声、杨亚平；参与修改人：黎青、陈敏、郭辉、谢建生、魏凤香、张静、刘彦慧、何怡、陈剑虹、王德刚、唐佳、李萍、范舒舒、谭卫荷、何志晖、查庆兵、闫瑞玲、江凌晓、杨芳、丁红珂、刘畅、刘玲、齐一鸣、黄演林、张琪、曾玉坤、刘渊、余丽华、王兴旺、李发科。

本标准首次制定，将根据国内外行业最新发展陆续完善更新。

引 言

随着基因包(panel)测序、临床/医学外显子组测序(clinical/medical exome sequencing)、全外显子组测序(whole exome sequencing)甚至全基因组测序(whole genome sequencing)等下一代测序(Next Generation Sequencing, NGS)技术在临床的广泛应用,疾病诊断、治疗和预后都得到了更丰富、更精准的提示和建议。

在产前诊断领域,近年来也有逐渐增多的基于外显子组测序(exome sequencing, ES)技术的应用尝试。虽然国外针对这些技术的临床应用出台了相关指南、共识以及联合声明^[1-4],但目前国际上对这些技术在胎儿产前诊断应用中的很多方面,如检测方案、数据解读、结果报告等还处于摸索和循证阶段^[5-8]。在产前诊断领域,由于胎儿表型信息严重匮乏,针对临床意义不确定(variants of uncertain significant, VUS)的基因变异及与检测指征不相符的意外发现等,一般建议依照检测前咨询沟通意见形成的协议进行报告^[2]。

目前国内对ES的产前诊断应用缺乏专家共识或指南,针对具体操作过程中诸如知情告知的主要内容、数据分析的流程、结果的解读、报告的撰写及遗传咨询等方面均亟需细化。鉴于此,国内多家已经开展产前外显子组测序检测的产前诊断机构或实验室在以国内外最新指南和专家共识为参考的前提下,针对ES在产前诊断中的临床应用细节展开讨论,重点对产前外显子组测序的检测前咨询要点、数据分析流程、报告标准及内容和检测后咨询等提供技术层面建议,以期达到ES在产前诊断中规范应用的目的。

产前外显子组测序遗传咨询和报告规范

1 范围

本标准旨在规定产前遗传学诊断中外显子组测序（ES）的检测前咨询、知情同意书、数据分析流程、报告内容与要求以及检测后咨询。

本标准规定了产前遗传学诊断中，外显子组测序（ES）的应用前提、知情同意、检测前中后的质量控制、数据分析流程、报告内容及要求。

本标准适用于具备产前诊断资质（分子遗传）的医院或与其合作建立的大学分子诊断实验室以及独立医学检验所等机构在开展 NGS 测序技术（含各种基因包测序、医学外显子组测序、全外显子组测序以及全基因组测序）对胎儿样本进行人类基因组变异检测时进行全流程规范管理（包括但不限于数据分析、结果判读以及报告出具过程）。后文中涉及咨询和报告等对象主体除非特别说明，否则均为胎儿。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 29859-2013 生物信息学术语。

GB/T 34798-2017 核酸数据库序列格式规范。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

外显子 exon

基因序列中能够编码产生蛋白质氨基酸序列的部分，在人类基因组中往往呈不连续的片段分布。

3.2

外显子组测序 exome sequencing; ES

基于大规模并行测序的原理，在基因组范围内对某一部分编码序列或者全部编码序列进行相关检测，用于分析存在于基因组中的某些变异的一种测序技术。

3.3

临床/医学外显子组测序技术 clinical / medical exome sequencing; CES / MES

基于下一代测序技术，对目前已明确的与疾病相关的基因编码以及相关非编码序列进行打包检测，用于分析上述序列中与疾病相关的 DNA 序列变异或结构变异的一种检测技术。

3.4

全外显子组测序 whole exome sequencing; WES

基于下一代测序技术，对所有已知的人类基因编码序列进行打包检测的一种检测技术。

3.5

全基因组测序 whole genome sequencing; WGS

基于下一代测序技术，对整个人类基因组序列进行全覆盖检测的一种技术。

3.6

嵌合 (chimeric) 和镶嵌 (mosaic)

嵌合是指源自于不同受精卵的胚胎发生融合，产生了带有两种不同遗传物质的个体。镶嵌是指在胚胎发育的某个阶段的某一部分细胞发生了变异。由于英文翻译等历史原因，“嵌合”一词的使用更为广泛。本文沿用嵌合，但其内涵均为胚胎发育过程中产生的变异。

4 缩略语

以下缩略语适用于本文件。

ES——外显子组测序 (Exome Sequencing)

WES——全外显子组测序 (Whole Exome Sequencing)

WGS——全基因组测序 (Whole Genome Sequencing)

NT——颈项透明层 (Nuchal Translucency)

DNA——脱氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic Acid)

PCR——聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction)

chr——染色体 (Chromosome)

STR——短串联重复序列 (Short Tandem Repeat)

SNP——单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphism)

SOP——标准操作流程 (Standard Operation Procedure)

DECIPHER——人类基因组变异和表型数据库 (Database of genomic variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources)

OMIM——在线人类孟德尔遗传数据库 (Online Mendelian Inheritance in Man)

DGV——人类基因组结构变异数据库 (Database of Genomic Variants)

ACMG——美国医学遗传学与基因组学学会 (American College of Medical Genetics and Genomics)

ISCN——人类细胞遗传学术语国际命名体制 (International System for Human Cytogenomic Nomenclature)

HGVS——人类基因组变异协会 (Human Genome Variation Society)

CHPO——中文人类表型标准用语联盟 (Chinese Human Phenotype Ontology Consortium)

LDT——实验室自建方法检测 (Laboratory Developed Test)

LOF——丧失功能 (Loss of Function)

5 检测前咨询、知情同意书及产前诊断申请单要求

5.1 检测前咨询要求

鉴于检测技术和医学认知水平所限,目前ES的产前诊断应用仅限于超声检查或核磁共振等影像学检查发现胎儿存在结构畸形的情况进行相关遗传病因学筛查。对于有过不良孕产史但本次妊娠未见胎儿畸形的情况、孕妇或家属想排查遗传病以及缓减焦虑的情况,目前阶段暂不推荐使用该项检测。

鉴于检测周期和技术限制,产前ES的临床适宜时间段为孕12周至孕33周。此范围外的胎儿目前不建议进行ES检测。

胎儿表型信息主要以超声等影像学检查结果作为参考依据,因此超声检查指标及检测原因等信息收集极为重要。根据相关指南及专家共识,孕11-13⁺⁶周时超声测量的颈项透明层(Nuchal Translucency, NT)厚度 ≥ 3.0 毫米^[9]或有一个或多个器官结构异常或重度胎儿宫内生长发育受限(FGR, 小于第10百分位数)的胎儿建议行ES产前检测。常见的胎儿超声结构异常包括但不限于以下内容:心血管畸形、中枢神经系统畸形、囊状水瘤/积液、先天性颅面部/颈部畸形、腹壁缺损、消化道畸形、泌尿生殖系统畸形、肢体/指趾畸形、肺/胸/胸廓/膈畸形、内脏反转;此外,重度羊水过多(羊水最大暗区 $>15\text{cm}$ 或羊水指数 $>45\text{cm}$)、羊水过少(羊水最大暗区 $\leq 2\text{cm}$ 或羊水指数 $\leq 5\text{cm}$)、双侧脑室增宽(10-15mm)、脑积水等异常情况也建议进行胎儿ES。对于超声软指标异常(包括鼻骨缺如或发育不良、肠管回声增强、肾盂分离及单脐动脉等)等情况,ES不作为首选推荐,可根据临床具体沟通情况以及各实验室数据,交代残余风险后酌情建议^[8, 10-14]。

强烈建议胎儿与其母亲和父亲同时进行ES的家系检测,在检测前应当就报告范围进行告知和协商,对于成年期肿瘤以及与胎儿表型不相关的父母遗传病携带状态等意外发现情况是否需要报告进行约定。

咨询医生应当明确告知本实验室ES检测方法、检测范围、阳性率、各种可能的检测结果及后续应对策略,同时要告知目前ES在胎儿遗传疾病查因上的产前诊断局限性及残余风险。对于外单位已有的检测结果应当有应对和评估机制以及相关处理流程和SOP。

5.2 知情同意书

开展产前ES检测的知情告知同意书应至少涵盖以下内容:

- a) 遗传病、基因组及基因等基本概念简介;
- b) 检测方法、检测目的和内容;
- c) 技术优势和局限性;
- d) 临床适应证;
- e) 检测方案及报告周期(建议不超过4周,见附录A);
- f) 报告范围及可能出现的检测结果;

- g) 告知可能获得临床意义不明确的结果,可能需要进行家系验证,可能存在遗传/表型异质性、外显率和表现度的差异等特殊情况而导致对预后及表型预测的困难,以及可能存在检测失败退费情况;
- h) 可能检测到肿瘤易感性变异、迟发性疾病相关的基因、基因组变异,选择是否书面报告此类结果;
- i) 在不涉及病人隐私及利益的前提下,样本和数据有可能用于非盈利目的的医学研究及论著发表;
- j) 知情告知及拟开检查申请单的临床咨询医生、孕妇分别签字(知情同意书模板请见附录A)。

5.3 产前外显子组测序申请单

申请单应涵盖但不限于以下内容:

- a) 基本信息:申请单抬头、受检者姓名、性别、年龄、民族、唯一识别号(如诊疗卡号)、联系电话、申请科室、申请医生、申请日期、样本类型、临床初步诊断(如有)等;
- b) 病史信息:现病史、生育史、既往史、家族史及既往检测结果等;
- c) 胎儿超声或磁共振等影像学信息:尽可能详细、建议复印或拍照胎儿影像学详细检查报告随申请单一起送到实验室。胎儿超声结构异常的具体情况(按组织系统进行结构分类,建议以中文人类表型标准用语联盟 CHPO 标准术语描述表型信息),如有测量数值应当写明测量值对应孕周以及与正常范围的偏离程度。
- d) 样本信息:注明样本类型是绒毛、羊水、脐血、父母外周血等(流产组织属于产后样本,也可以用于畸形胎儿引产后查因);
- e) 检测内容:特定基因包、医学外显子组全外显子组或者全基因组测序;
- f) 样本的接收情况:实验室核对申请单及样本信息是否一致,判断样本采集是否合格,核查取样医生、取样时间及联系电话(申请单模板请见附录B)。

6 产前 ES 样本质量评估标准

6.1 样本选择

应当根据胎儿异常情况和孕周尽早决定检测方案和取材方式,如早孕期检出的胎儿结构畸形或 NT 增厚尽量取绒毛样本、中晚孕期检出的胎儿结构畸形应取羊水或脐带血样本,强烈建议胎儿和父母样本同时送检。

为避免细胞培养过程可能对不同类别细胞产生偏好性选择的影响^[10,11],原则上建议采用未培养原始样本(血性羊水可酌情采用培养后羊水细胞)检测。

6.2 样本合格性判断

判断产前样本是否合格的重要指标是提取后的 DNA 纯度和浓度以及有无母源 DNA 污染,同时可参考以下经验进行判断:

- a) 产前羊水样本:清亮,离心后细胞沉淀足量且无肉眼可见的血污染,STR 分型实验证实样本为胎源性;
- b) 产前绒毛样本:显微镜下可见绒毛分支,STR 分型实验证实样本为胎源性;

- c) 产前脐血样本：STR 分型实验或脐血血红蛋白电泳证实样本为胎源性；
- d) 如果畸形胎儿已引产，需要用流产或死胎组织样本查因，建议尽早取材，对死胎或流产时间未知的样本以提取的 DNA 是否严重降解及 DNA 质量来判断是否进行下一步检测。
- e) 虽然胎儿及父母 ES 可以分辨有无样本交叉污染，但鉴于成本和检测周期考虑，所有行 ES 的产前诊断样本均建议进行 STR 等检测方法以排除母源性 DNA 污染。

6.3 羊水样本的处理

产前羊水样本若有咖啡色样或肉眼可见血色，建议实验室与医生沟通，并由医生通知受检者，告知检测失败风险，必要时可采用培养后的羊水细胞提取 DNA 进行后续检测。

6.4 不合格样本处理方式

不合格的样本须退回或拒收，包括但不限于以下情形：

- a) 严重腐败的流产或死胎组织样本或使用福尔马林浸泡的样本，存在 DNA 严重降解或交联；
- b) 绒毛、脐血样本经检测存在严重的母源污染且无法去除；
- c) 非胎源性样本，如脐血中混有大量母血，绒毛中混有大量蜕膜；
- d) DNA 质量不合格，如总量不够或者纯度不够；
- e) 使用肝素钠抗凝等可能导致 PCR 扩增失败的样本（包含 PCR 步骤的实验）。

7 产前 ES 的实验操作标准化要求

在开展产前 ES 临床服务前，应对本实验室检测平台、检测方案和试剂盒进行方法学性能确认，以评估检测方案的精密度和准确度等指标，并制定现行有效的 SOP，如 SOP 有修改，应当重新进行方法学性能评估。

不同的 ES 检测方案、试剂盒以及实验平台，在操作流程上会存在细节差异，但针对每种方案、试剂盒和实验平台均应当建立相应的实验室 SOP，技术人员应当严格遵照现行有效的 SOP 执行实验操作。

产前样本原则上不建议培养后进行 ES 检测，因为细胞培养可能引起部分细胞优势生长且可能引入新的变异类型，对 ES 检测结果和数据分析造成干扰。

8 产前 ES 的室内质控和室间质评要求

在开展产前 ES 检测临床服务前，需对数据分析过程、实验方案、试剂盒、仪器平台以及数据分析流程进行性能确认^[12,13]。当使用无国家药品监督管理局（National Medical Products Administration, NMPA）医疗器械注册证的仪器和试剂开展检测时，应当依照 LDT^[14]进行项目管理。

要求参加每年度国家卫健委临检中心组织的室间质评，以评估实验室的数据检测、分析和解读能力。

9 产前外显子组测序的数据分析规范

产前ES下机数据应当进行两条独立的生信管线分析，采用两套不同开源软件、商业软件或自建算法进行含数据质控、过滤和注释等全流程双人双线独立分析，各自生成结果后再汇总报告。所采用的生信分析及分析流程必须经过临床应用前的性能确认，包括但不限于对已经过其他可靠方法（如Sanger测序）验证的变异位点的检出敏感性和特异性等指标的评估。评估分析生信管线的精密度、准确度等指标。

9.1 产前外显子组测序数据的质量控制

ES 的数据分析质控指标很多，应用于临床产前的 ES 数据分析对于数据质量要求应当更高。在进行每一步分析或过滤前应当对当前数据的关键质量指标进行评价。包括但不限于以下指标：Q30>85%，测序平台的相关测序错误率<7%、有效数据量（不同的检测方案数据量要求不同，全基因组测序单个样本的数据量应当>90Gb），覆盖情况（WES 20×以上>95%）；覆盖均一度（500kb 以上 CNV 分析）；变异位点测序深度（>30×）。

对于在临床使用的数据分析流程和相关数据质量关键指标，需要有足够阳性和阴性样本进行校正和验证（阳性样本>50 例）。需要对每个样本制定包括但不限于以上描述的数据质量关键指标来定义其敏感度（sensitivity）和特异度（specificity）。

每个报告的变异位点均需要经过遗传学（父母来源）或方法学（Sanger 测序或其他方法）的验证。对于有异常的数据质量关键指标，需要有明确的预警不合格通知，对于基因组内同源序列>90%的区域或基因（附录 E）发现的变异仅能作为提示，报告前需要经过其他方法验证。

9.2 变异分类原则

9.2.1 总则

按 ACMG / AMP、ClinGen 等发布的国际标准对变异进行五分类（致病、可能致病、临床意义不明确、可能良性、良性）^[15-17]。对变异分类判断的主要依据包括 SNV 和 CNV 是否影响蛋白编码基因或重要调控元件功能，受累基因或区域的剂量敏感性、文献报道、ClinVar、ClinGen、DECIPHER、OMIM、GeneReviews、UniProt 等数据库报道情况、实验室内部数据库收录情况、普通人群频率（DGV/DGV-gold/gnomAD）数据库收录情况、家系共分离情况、变异来源（新发或遗传自父母）等。

9.2.2 变异分类

9.2.2.1 致病

一个或多个可信来源（公共数据库或文献）已明确其为致病变异，即使该基因的变异存在外显不全和表现度差异也应判定为致病。需要特别注意，致病变异（pathogenic）并非临床表型相关性变异（disease causing），系指发病可能性超过 99%的基因变异^[18]。

9.2.2.2 可能致病

有较强证据表明其致病的可能性非常大（发病可能性 90-99%的基因变异^[18]），但目前的证据尚不足以完全确定其致病性。

9.2.2.3 良性

多篇文献已证实或权威数据库报道为良性变异，特别是良性特性已经非常明确或是常见的多态性变异。

9.2.2.4 可能良性

有较强证据表明该变异很可能与孟德尔遗传疾病不相关，但目前还没有达到“良性”分类的充分证据。

9.2.2.5 临床意义不明确

不符合以上任何一类的变异，是一个范围广泛的分类（发病可能性 10-90%的基因变异^[18]），其中一些可能在以后通过额外的证据将被证实为致病或良性的变异。

9.2.3 变异分类依据

对于各类变异的分类依据，建议遵循 ACMG / AMP 评分指南进行逐条评判。SNV 和 Indel 的分类依据参照 2015 年 ACMG / AMP 变异位点判读指南及其中文版^[15,17]，结合近年 ClinGen 等更新的补充建议和共识^[16,19,20]；基因内 CNV 分类依据 2019 年 ACMG / AMP 建议不涉及转录本间差异和疾病-基因相关性等方面的建议^[21]；涉及多个基因的 CNV 及 UPD 等结构变异的分类参见相关团体标准^[22]。

变异致病性证据链和良性证据链参见表 1，各级证据的强弱程度根据已有研究及文献报道可能进行升降级，本规范暂不引入证据的升降级体系，可自行参考文献进行实际操作。变异分类标准参见表 2。

表 1 变异致病性判定证据链

	证据链	证据链使用更新建议	基因内 CNV 证据链使用修改建议 ^[21]
1.致病	PVS1: 当一个疾病的致病机制为丧失功能 (LOF)时, 无功能变异 (无义突变、移码突变、经典±1 或 2 的剪接突变、起始密码子变异、单个或多个外显子缺失) 【注: 1) 该基因的 LOF 是否是导致该疾病的明确致病机制(如 <i>GFAP</i>,<i>MYH7</i>); 2) 3'端末端的功能缺失变异需谨慎解读; 3) 需注意外显子选择性缺失是否影响到蛋白质的完整性; 4) 考虑一个基因存在多种转录本的情况。】 PS1: 与先前已确定为致病的变异有相同的氨基酸改变。例如: 同一密码子, G>C 或 G>T 改变均可导致缬氨酸→亮氨酸的改变。注意剪切影响的改变 PS2: 患者的新发变异, 且无家族史(经双亲验证)。注: 仅仅确认父母还不够, 还需注意捐卵、代孕、胚胎移植的差错等情况 PS3: 体内、体外功能实验已明确会导致基因功能受损的变异。【注: 功能实验需要验证是有效的, 且具有重复性与稳定性。】	1.并非所有的移码均可以使用 PVS1, 鉴于该证据链对变异位点的分类具有重要影响, 需慎重使用。 2.建议遵照变异对蛋白功能的影响程度执行标准^[23], 遵照基因与疾病的关系(必须至少是“中等”相关以上, 否则不可使用 PVS1 证据)。 3.当 PVS1 用于经典剪切位点变异分类证据时, 不再同时使用 PM4 或 PP3; 4.用软件预测 LOF 变异的不计入本证据链, 归入 PP3。 5.已使用任意强度的 PVS1 时不能再同时使用 PM4。 1.位于相同密码子的“先前已知致病变异”需根据本标准评级, 经过评级确定其致病, 且对其评级时不使用 PS1 和 PM5 证据亦达到致病级别; 2.PS2 与 PM6 互相排斥, 只能取其一, 该项与表型相关, 表型越特异、越吻合, 证据强度越高; 3.新发变异的特殊情况: 对新发的 X 连锁变异的未患病母亲, 除了其儿子携带此变异且发病外, 其家族内其他男性亲	1.对于丧失功能致病基因的缺失 CNV 涉及所有编码外显子, 使用 PVS1_stand-alone 可以单独判为“致病”; 2.对于丧失功能致病基因的缺失 CNV 涉及蛋白重要功能域的多个(2 个以上)外显子且导致严重的蛋白功能异常, 建议使用 PVS1; 3.移码或涉及起始密码的缺失 CNV (无可替代起始密码) 建议使用 PVS1; 4.对于小于 2 个外显子的缺失, 如果涉及整码或 3' 端的缺失 CNV, 在确定导致蛋白严重异常时建议使用 PVS1, 影响不确定时建议使用 PM4; 5.对于重复型 CNV, 如确定为串联重复, 且已经明确导致蛋白严重异常, 建议使用 PVS1, 影响未知时建议使用 PM4, 预测可能有严重影响的视具体情况使用 PVS1 或 PM4; 6.不能明确是否为串联重复的 CNV 视情况使用 PVS1 或 PM4。 7.PS1 的使用可以扩展到类似变异

证据链

PS4: 变异出现在患病群体中的频率显著高于对照群体。【注: 1) 可选择使用相对风险值或者 OR 值来评估, 建议位点 OR 大于 5.0 且置信区间不包括 1.0 的可列入此项; 2) 极罕见的变异在病例对照研究可能无统计学意义, 原先在多个具有相同表型的患者中观察到该变异且在对照中未观察到可作为中等水平证据。】

PM1: 位于热点突变区域, 和/或位于已知无良性变异的关键功能域(如酶的活性位点)。

PM2: ESP 数据库、千人基因组数据库、ExAC 数据库中正常对照人群中未发现的变异(或隐性遗传病中极低频位点)。【注: 高通量测序得到的插入/缺失人群数据质量较差】

PM3: 在隐性遗传病中, 在反式位置上检测到致病变异。【注: 这种情况必须通过患者父母或后代验证】

PM4: 非重复区框内插入/缺失或终止密码子

证据链使用更新建议

属不携带此变异且不患病, 此时可用该证据; 常染色体隐性遗传基因中一个新发变异, 如果该基因中没有找到其他已知的致病或可能致病的变异时, 新发变异证据强度应下调; 明显的生殖腺嵌合(如连续生育多个携带相同变异的患儿, 父母检测变异为阴性), 可使用此证据, 但需确定变异的父系或母系来源; 3.mRNA 分析证明变异影响剪接时使用 PS3, 不能同时使用 PP3, 其他情况可同时使用 PS3 和 PP3。是否适合使用 PS3 建议依照 ClinGen 规范^[24]。

4.PS4 极少用到病例对照数据, 一般用先证者例数来计算^[20]对于常染色体隐性遗传病的变异, 该条证据链改用 PM3。该条证据链改用 PM3。

1.PM1 仅用于错义突变及读码框内的 Indel 变异, 对于截断变异和同义变异不可使用。建议引入本地统计数据, 根据数据库给出“热点”的频率; 得到公认的热点区域建议使用, 如 KCNQ4 基因第 271-292 氨基酸^[16]。

2.人群基因型频率应当有特定阈值, 不同类型遗传病不尽相同, 如常染色体显性和隐性耳聋的阈值分别设置为 0.002%和 0.07%^[16], 部分已经明确的高

基因内 CNV 证据链使用修改建议^[21]的 CNV, 涉及最后一个外显子的缺失, 如果有已知类似截短的致病变异时可以用; 已有小的致病整码缺失, CNV 预测为整码缺失时可用。

8.PM2/BA1/BS1 的使用, 可以参照 DGV、gnomAD^[31]和内部数据库。需要明确的是数据库的频率需要确认, 而且各类疾病的阈值并不一致。

9.当存在 DNA 转录本或蛋白水平上具有类似效应的致病变异时(如一个经典剪切预测相同外显子跳跃)使用 PM5。

证据链	证据链使用更新建议	基因内 CNV 证据链使用修改建议 ^[21]
丧失导致的蛋白质长度变化。 PM5: 新的错义突变导致氨基酸变化, 此变异之前未曾报道, 但是在同一位点, 导致另外一种氨基酸的变异已经确认是致病的, 如: 现在观察到的是 Arg156Cys, 而 Arg156His 是已知致病的, 注意剪切影响的改变。 PM6: 未经父母样本验证的新发变异。 PP1: 突变与疾病在家系中共分离 (在家系多个患者中检测到此变异)。【注: 如有更多的证据, 可作为更强的证据】 PP2: 对某个基因来说, 如果这个基因的错义变异是造成某种疾病的原因, 并且这个基因中良性变异所占的比例很小, 在这样的基因中所发现的新的错义变异 PP3: 多种统计方法预测出该变异会对基因或基因产物造成有害的影响, 包括保守性预测、进化预测、剪接位点影响等。【注: 由于做预测时许多生物信息学算法使用相同或非常相似的输入, 每个算法不应该算作一个独立的标准。PP3 在一个任何变异的评估中只能使用一次。】 PP4: 变异携带者的表型或家族史高度符合某种单基因遗传疾病 PP5: 有可靠信誉来源的报告认为该变异为致病的, 但证据尚不足以支持进行实验室独立	频致病位点应当列为实验室白名单; 3.PM4 不适用于移码变异、无义变异和剪切位点变异, 已使用 PVS1 时不能再同时使用 PM4; 涉及翻译起始位点的应当用 PVS1 评估。 1.符合 PM2 条件下使用 PP1, 要求至少在一个家系中看到有共分离现象, 不同的基因或疾病对于共分离的个体或家系要求不同。具体使用请参见 ClinGen 给出的部分基因对于该条证据链的使用示例^[25]。 2.PP2 可查询 gnomAD 数据库中的基因错义变异 Z-score (gene missense Z-score), 当 $Z\text{-score} \geq 3.09$ 时可认为适用 PP2 证据^[26]。 3.PP3 用于临床产前有需要格外小心, 如确需用到建议使用综合多种算法的软件, 目前建议参考对错义变异 REVEL 的评分, 当评分 >0.75 时可使用 PP3 证据 (Hearing loss 的 REVEL 值 ≥ 0.7)^[27]。 4.表型一般不用于判断位点致病性, 除非是相关疾病表型很特异, 且遗传方式与变异吻合, 且该基因很少见良性变异,	

	证据链	证据链使用更新建议	基因内 CNV 证据链使用修改建议 ^[21]
	评估。	可以用 PP4。	
2. 良性	BA1: ESP 数据库、千人基因组数据库、ExAC 数据库中等位基因频率>5%的变异。 BS1: 等位基因频率大于疾病发病率。 BS2: 对于早期完全外显的疾病, 在健康成年人中发现该变异(隐性遗传病发现纯合、显性遗传病发现杂合, 或者 X 连锁半合子)。 BS3: 在体内外实验中确认对蛋白质功能和剪接没有影响的变异。 BS4: 在一个家系成员中缺乏共分离。【注: 这部分需要考虑复杂疾病和外显率下降、性别依赖性外显、拟表型等问题】 BP1: 已知一个疾病的致病原因是由于某基因的截短变异, 在此基因中所发现的错义变异 BP2: 在显性遗传病中又发现了另一条染色体上同一基因的一个已知致病变异(反式位置), 或者是任意遗传模式遗传病中又发现了	独立证据。需要扣除已经明确的高频致病位点(白名单), 至少观察 2000 个等位基因位点。对于少数变异虽然等位基因频率大于 5%仍可能为致病变异, 需特别注意(涉及例外基因至少有 <i>ACAD9, GJB2, HFE, MEFV, PIBF1, ACAD5, BTD</i>)^[28] 1. ClinGen 变异解读工作组对不同疾病或基因的 BS1 应用频率有建议, 如 RASopathy, 等位基因频率>0.025%; <i>CDH1, PTEN</i> 等位基因频率>0.1%; 2. 注意 BS2 的应用条件, 对不完全外显疾病不能应用此证据; 3. 对于剪切位点, BS3 需要注意与软件结果的 PP3 冲突; 4. BS1 / BS2 / BA1 都涉及人群频率数据, 不同疾病应当有不同的阈值, 部分疾病的参考阈值建议参照已有研究数据设定^[29-30] 1. 当某基因的致病变异全部或绝大部分(>90%)为截短变异时, 该基因上发现的错义变异可用 BP1。 2. 应用 BP3 时可通过 UCSC 网站 RepeatMasker 工具栏查询重复区域位	

证据链	证据链使用更新建议	基因内 CNV 证据链使用修改建议 ^[21]
同一条染色体上同一基因的一个已知致病变异（顺式位置）	置。	
BP3: 功能未知重复区域内的缺失/插入，同时没有导致基因编码框改变	3.BP5 需要排除以下情况：常染色体隐性遗传病携带者、导致表型更严重的第二个变异、导致合并第二种遗传病、双基因遗传病和修饰基因。	
BP4: 多种统计方法预测出该变异会对基因或基因产物无影响，包括保守性预测、进化预测、剪接位点影响等。【注：由于做预测时许多生物信息算法使用相同或非常相似的输入，每个算法不应该算作一个独立的标准。BP4 在任何一个变异的评估中只能使用一次。】	4.BP6 已经弃用。	
BP5: 在已经有另一分子致病原因的病例中发现的变异	5.BP7 的使用需要慎重排除影响剪切。	
BP6: 有可靠信誉来源的报告认为该变异为良性的，但证据尚不足以支持进行实验室独立评估。		
BP7: 同义变异且预测不影响剪接。		

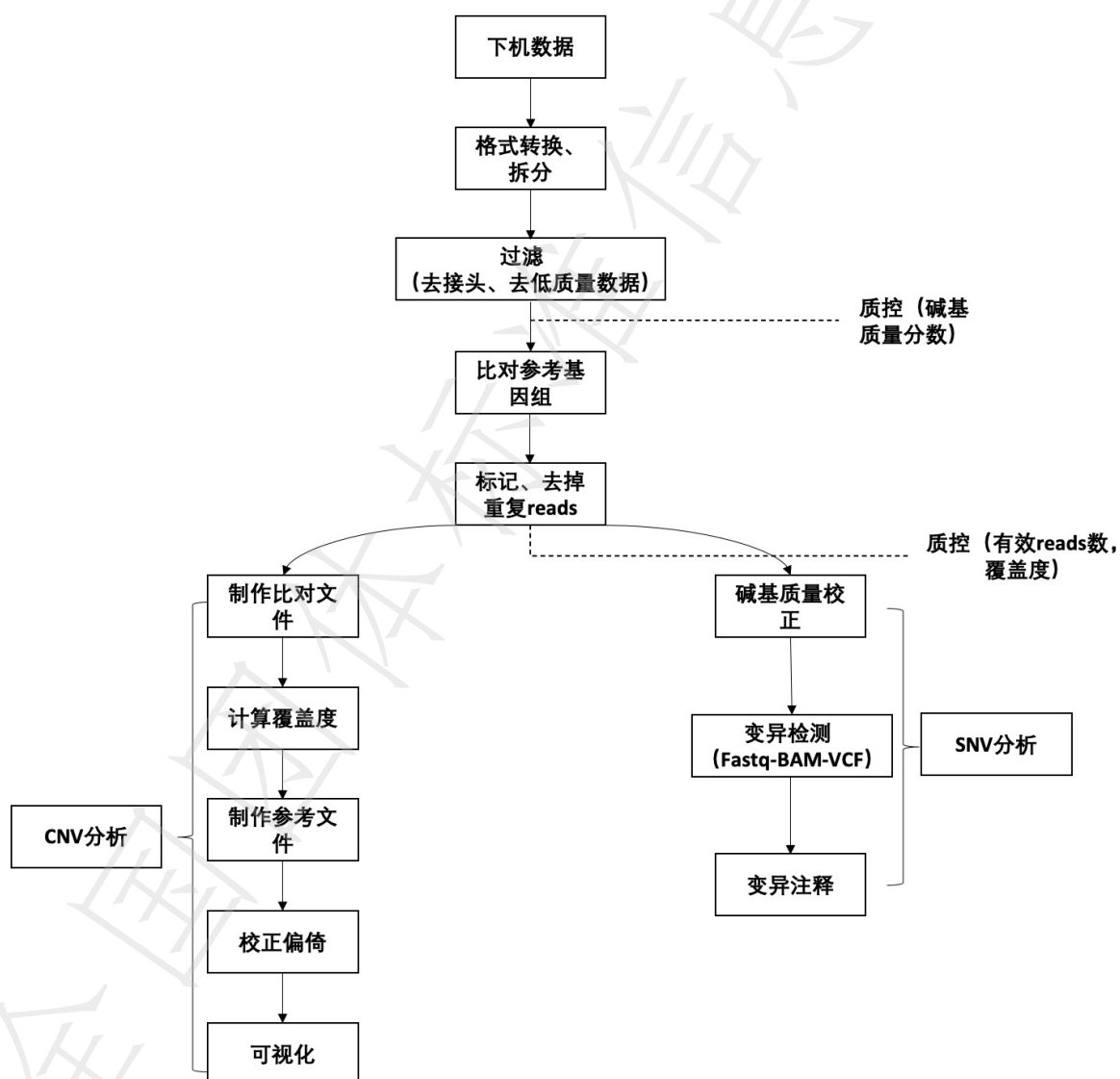
表 2 变异分类标准^[17]

变异分类	证据条件
致病	(i) 1 个非常强(PVS1)和 (a) ≥ 1 个强(PS1~PS4)或 (b) ≥ 2 个中等(PM1~PM6)或 (c) 1 个中等(PM1~PM6)和 1 个支持(PP1~PP5)或 (d) ≥ 2 个支持(PP1~PP5) (ii) ≥ 2 个强(PS1~PS4)或 (iii) 1 个强(PS1)和 (a) ≥ 3 个中等(PM1~PM6)或 (b) 2 个中等(PM1~PM6)和 ≥ 2 个支持(PP1~PP5)或 (c) 1 个中等(PM1~PM6)和 ≥ 4 个支持(PP1~PP5)
可能致病	(i) 1 个非常强(PVS1)和 1 个中等(PM1~PM6)或 (ii) 1 个强(PS1~PS4)和 1~2 个中等(PM1~PM6)或 (iii) 1 个强(PS1~PS4)和 ≥ 2 个支持(PP1~PP5)或 (iv) ≥ 3 个中等(PM1~PM6)或 (v) 2 个中等(PM1~PM6)和 ≥ 2 个支持(PP1~PP5)或 (vi) 1 个中等(PM1~PM6)和 ≥ 4 个支持(PP1~PP5)
良性	(i) 1 个独立(BA1)或 (ii) ≥ 2 个强(BS1~BS4)
可能良性	(i) 1 个强(BS1~BS4)和 1 个支持(BP1~BP7)或 (ii) ≥ 2 个支持(BP1~BP7)
临床意义不明确	(i) 不满足上述标准或 (ii) 良性和致病标准相互矛盾

9.3 数据分析流程

ES 下机数据分析前应当检查完善运行环境和必备数据库，以 illumina 测序平台为例，应当在数据分析前具备完整的运行环境，如 linux 操作系统，数据转换、拆分软件，参考基因组、基因组注释数据库、变异数据库等，各个软件和数据库应当备注版本号和日期。

ES 数据分析 SNV 和 Indel 有较强优势，对于 CNV 的检测和分析能力会根据不同的检测方案有较大差异，小至数个基因的 panel 到全外显子组均是针对特定基因组区域的不连续检测，因此在 CNV 检测时会面临信号不连续和断点不准确的问题，WGS 可以较为全面的检测 CNV。从下机数据到最后的变异列表的分析流程简图如下。



10 变异结果报告建议

10.1 概述

鉴于胎儿表型信息不足、胎儿的快速发育变化以及目前医学对于疾病的认知水平所限，产前ES的报告范围（含基因范围和变异范围）应该在检测前做好设定。原则上应当以保护胎儿为前提，将报告范围限定于表型—基因型关系证据充分的基因范围，如ClinGen评级Strong和Definitive的基因（查询网址：<https://search.clinicalgenome.org/kb/gene-validity>），其余基因上的发现应该在检测前知情同意书限定的范围内进行报告，且仅在结果附表中作为意外发现报告（如需报告）。如发现表型部分相似但表型—基因型关系证据尚不够充分的基因、明确的迟发性疾病致病基因型或者其他有明确临床意义的变异或可能产生其他后果的，应在检测前明确商定是否报告。

本规范依据ClinGen评级Strong和Definitive的基因清单（2020年8月3日检索）为基础，结合国情，增加部分重要基因形成第一版产前ES报告范围（附录D），在此范围内的基因变异如需报告则列入主要结果；此范围之外的基因变异如需报告则统一按照意外发现列入次要结果表。

结果描述中需写明基因名（规范名称，避免使用旧称）、转录本号、变异位置（须规范）和类型（编码区变异需注明氨基酸改变）。所有对基因变异的描述均应当依照人类基因组变异协会（HGVS）规范（HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update）进行；涉及CNV的描述应当依照人类细胞遗传学术语国际命名体制（ISCN）规范（ISCN 2016: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016)），变异应当写明新发或亲本来源。

每一个主要结果内的变异的临床意义均需要提供说明，含分类依据及代表性病例的相关产前产后临床表现，并给予书面咨询意见。

对于CNV，尤其是包含一个以上基因的CNV，报告规范参照已有标准共识^[22]，本文仅重点阐述SNV，Indel和基因内CNV的报告建议。

10.2 对“范围内”基因变异的报告建议

此处“范围内”基因是特指产前ES检测时可以进行预测性分析和报告的基因列表，需要在检测前拟定（如ClinGen评级Strong和Definitive的基因作为目标范围，参见附录D），并在检测前知情同意书中说明。“范围内基因”可以根据实际情况增补，建议动态更新并在检测前说明。

10.2.1 对“致病”和“可能致病”变异的报告建议

对“范围内”基因的变异位点，评价为“致病”和“可能致病”应当报告，写明基因名（规范名称，避免使用旧称）、转录本号、变异位置（须规范）和类型（编码区变异需注明氨基酸改变）。变异应当写明新发或亲本来源。

对“范围内”基因所检测到评价为“致病”和“可能致病”的涉及一个或数个外显子的CNV，在决定是否报告前必须用其他实验方法确认CNV的准确性。

需要对每一个变异的临床意义提供说明，含分类依据或代表性病例的相关产前产后临床表现并给与书面咨询意见，详见附录C。

10.2.2 对“临床意义不明确”变异的报告建议

对“范围内”基因的“临床意义不明确”的变异位点建议结合临床具体情况报告：（1）变异所涉及疾病的相关特异性表型（如“草莓头”、“臼齿征”）与胎儿超声或 MRI 表现高度吻合的位点，建议报告；（2）变异相关非特异性表型（如“肠管回声增强”、“脉络丛囊肿”）与胎儿超声或 MRI 表现部分吻合的，可以报告，但临床意义描述不可带有倾向性；如果变异与表型吻合度较低，且变异位点所在基因为隐性遗传致病方式，又未能发现另一个“致病”或“可能致病”或“意义不明确”位点的，建议不报告；（3）变异相关表型与胎儿超声或 MRI 表现不相符的，建议不报告。

10.2.3 对“良性”或“可能良性”变异的报告建议

对“范围内”基因的“良性”或“可能良性”的变异建议不报告。

10.3 对“范围外”基因变异的报告建议

此处“范围外”是特指产前 ES 方案已经完成检测、分析的基因，又不在报告“范围内”的基因列表。此类基因的变异如需报告，建议按照“意外发现”处理。

10.3.1 对“致病”和“可能致病”变异的报告建议

对“范围外”基因的“致病”和“可能致病”变异，建议以意外发现形式报告。以下情况需要结合临床具体情况报告。

- a) 儿童期发病的疾病（如代谢病）相关变异，建议报告。
- b) 成年后发病（如帕金森）或易感性疾病（如乳腺癌）相关变异不建议报告。

10.3.2 对“临床意义不明确”变异的报告建议

对“范围外”基因的“临床意义不明确”建议结合临床具体情况以意外发现形式报告。

- a) 变异相关特异性表型（如“*PIEZO1* 相关的胎儿贫血或水肿”）与胎儿超声或 MRI 表现高度吻合，建议报告；
- b) 变异相关非特异性表型（如“肠管回声增强”、“脉络丛囊肿”）与胎儿超声或 MRI 表现部分吻合，可以报告，但临床意义描述不可带有倾向性，如果变异-表型吻合度较低，且变异所在基因为隐性遗传致病方式，又未能发现另一个“致病”或“可能致病”或“意义不明确”位点的，可以不报告；
- c) 变异相关表型与胎儿超声或 MRI 表现不吻合，建议不报告。

10.3.3 对“良性”或“可能良性”变异的报告建议

对“范围外”基因的“良性”或“可能良性”建议不报告。

10.4 几种特殊情况的报告建议

10.4.1 对嵌合体的报告建议

此处“嵌合”系指发育过程中产生的变异，具体内涵及解释参见前文 3.5 描述。嵌合变异的报告与否遵照以上原则进行。需要注明嵌合比例、组织来源以及变异位点的测序深度。若区域测

序深度不够，不足以判断嵌合，不建议报告嵌合，应建议进一步深度测序。

10.4.2 存在外显不全和表现度差异的变异的报告建议

若需要报告的基因变异涉及外显不全和/或表现度差异，应当注明。有外显率数据的需要注明，并标注参考文献。

10.4.3 涉及胎儿性别的变异报告建议

产前 ES 可以在技术上检测胎儿性别，除非医学需要的性别鉴定，在鉴定资质及操作流程合格的情况下进行，否则不建议报告胎儿性别。如果涉及意外发现的伴性遗传致病变异及可能致病变异，建议报告。

10.4.4 对涉及不符合孟德尔遗传规律的变异报告建议

对于不符合遗传规律的变异案例，首先需要排除实验环节的问题，比如样本错误。

10.4.4.1 产前父母及胎儿同时进行 ES 检测时，在技术上可以判断一家三口的亲缘关系，涉及胎儿非生物学亲属的情况，不需要在报告中刻意体现。

10.4.4.2 当胎儿与父母间存在不符合孟德尔遗传规律的遗传现象时，如能证实为父母存在嵌合现象所致，证实后建议报告并明确说明嵌合情况。

10.5 对数据再分析和报告更新的建议

产前 ES 报告应当有随访结局，评估诊断吻合率。对阳性报告应该尽量获得完整的妊娠结局资料，如活产儿的表型；引产、流产物的表型、病理等资料。对 WES、WGS 的阴性报告应当建立定期重分析原始数据的机制，建议重分析间隔周期为一年，检测报告在必要时可根据临床需求进行更新。

11 产前外显子组测序的报告撰写

产前 ES 报告的规范撰写对咨询医师解读报告及后续的遗传咨询，对于孕妇及其家属对胎儿预后估计、妊娠结局选择及后续孕期管理等起着非常关键的作用。建议产前 ES 报告至少应该涵盖以下几个要点：

- a) 完整的报告抬头；
- b) 基本信息部分：样本编号；受检者姓名；孕妇年龄；唯一身份识别号；送检科室；申请医生；送检样本类型；送检时间；
- c) 临床诊断：超声或核磁共振等影像学信息，临床初步诊断的疾病名称（如有）；
- d) 家族史：家族中类似疾病发生情况（如有）；
- e) 报告内容：按 ISCN 和 HGVS 命名体系的报告 CNV 或 SNV 结果；
- f) 结果分析：应写明检测到的 CNV 或 SNV 的致病性分析。变异相关的主要临床表现，代表性参考文献；
- g) 报告结论：对检出的变异需明确其是致病、可能致病或临床意义不明确，相关结论的证据链应当作为报告附件一并提供。需要强调的是，致病变异可能由于遗传异质性、外显不

全或表现度差异并不一定会在个体上表现出疾病表型，需在报告中明确注明这一点；

- h) 遗传咨询意见：针对检测结果给出后续建议，如出生预后、治疗方案、疾病管理、再发风险或进一步检测手段等；应当结合检测方案、检测方法报告检测后的残余风险；
- i) 具有产前诊断分子遗传资质实验室技师、具有产前诊断资质且副高以上的遗传咨询医师签名、报告日期。产前 ES 报告应当至少有 3 名技术人员签字审核，含 2 名副高职称以上，其中 1 名为临床医师；
- j) 附录与声明：在报告最后，应该列出产前 ES 的检测范围，使用的平台，检测技术的局限性，对部分不报告结果的说明等。报告模板参见附录 C。

12 报告发放后的工作建议及检测后咨询

12.1 随访

建议建立完善的随访体系，追踪胎儿结局，记录活产儿或引产、流产物的详细表型。对携带临床意义不明确、外显不全和表现度差异类变异的胎儿应进行重点随访（包括但不限于妊娠结局、出生后的情况、智力发育和体格发育等）。建议至少在孕 24 周左右（三维彩超情况）、出生后 3-6 个月及 3 年进行三次随访，涉及幼儿发育问题的疾病应当设置更长的随访周期。如果孕妇终止妊娠或流产，尽量追踪到尸解报告等形态学资料。

12.2 检测后咨询的要求

12.2.1 报告解释

针对本机构出具的产前 ES 报告，医师应当耐心详细地解释检测结果以及咨询意见。首先需要再次告知检测范围和检测方法，阳性报告应对“致病”、“可能致病”和“临床意义不明确”的具体含义进行清楚告知；对于基因及变异，根据咨询者需求争取解释明白；咨询意见部分应当就涉及疾病的表型、一般病程、治疗方式及预后等方面进行解释。阴性报告应当给予下一步检测或干预策略建议。

无可避免的，医师会遇到咨询者携带外单位检测报告来寻求咨询。此时医师应当在保留足够的时间看清楚外单位报告所写内容的前提下进行咨询，必要时可预约下次咨询。外单位报告仅能就所写内容进行客观解释，不宜过分解读，如确有必要，可以建议重新分析数据^[32]。

12.2.2 再生育风险评估

医师应当就患胎状况的再发风险合理评估、充分解释。对于阴性报告应当告知残余风险；对于阳性报告，尤其涉及外显不全和嵌合变异位点的时候应当给予充分解释。

12.2.3 心理干预

妊娠患胎的孕妇很可能有心理焦虑的问题，尤其是多次妊娠出现问题的家庭。医师应当对心理焦虑给予足够的重视和疏导。注意咨询言语。

13 疑难病例的多学科会诊

产前 ES 的报告均应当经过检验人员、生信人员、医学遗传学专业技术人员以及临床医学专业、母胎医学专业医师的审核。对于复杂疑难病例，应当建立长效的会诊机制，由多个相关专业技术人员共同讨论。讨论组织者应当有权限获取胎儿及其家族所有病史资料。

建议实验室建立并定期更新内部和外部数据库，对阴性病例、可能致病和临床意义不明确的变异进行定期回顾分析。鼓励不同实验室间在保护就诊者隐私及个人信息安全的前提下共享数据。

附 录 A

(规范性附录)

产前外显子组测序知情同意书模板

****单位名**产前外显子组测序知情同意书**

遗传病是指由遗传物质发生改变而引起的疾病，种类繁多，致死、致残率高，大多缺乏有效地治疗手段。遗传病可能遗传自父母，也可能是胚胎发育过程中产生的变异。不同遗传病有多种不同的遗传方式，大都有可能遗传给下一代。基因检测能够帮助疾病诊断，提供相应的咨询意见。根据不同的疾病选择相关的一组基因进行捕获，然后进行高通量测序和生物信息学分析。根据返回的所有变异数据，结合当前国内外现有的研究和医学认知水平，找寻最可能与胎儿异常或家族先证者疾病相关的基因及变异位点。

【检测项目】 产前外显子组测序**【样品类型】 胎儿羊水、绒毛、脐带血；父母亲外周血****【检测方法】 高通量测序****【检测需知】**

1. 检测范围：本检测并非用于保证胎儿有或没有遗传病。检测仅针对基因组特定区域，如部分基因的编码区域、侧翼区域的点变异（±5bp）、微小插入缺失变异。
2. 本检测不包含 poly 结构、串联重复序列、甲基化异常、高 GC 含量区域以及存在同源相似序列（假基因），同时对 50bp 以上的插入/缺失(Indel)存在局限性；由于捕获技术局限，本检测不能保证覆盖 100%的外显子区域。
3. 本检测应用的 DNA 来自受检者血液或其他体细胞，而非生殖细胞，因此不能排除因生殖腺嵌合所致结果偏差。
4. 鉴于检测技术和医学认知水平所限，目前产前 ES 仅限于超声或核磁共振发现胎儿存在结构畸形的遗传学查因。对于有过不良孕产史但本次妊娠未见胎儿畸形的情况、孕妇或家属想排查遗传病以及缓减焦虑的情况，不推荐使用该项检测。
5. 本检测以家系(Trio)方式进行，适宜检测时间段为孕 12 周至孕 33 周。
6. 本检测仅依据医生或孕妇申请单上临床信息内容进行数据分析解读，提供完整且有效的临床信息，有利于提高数据分析的准确性和阳性率，如因信息提供不准确或不完整等情况将可能导致漏检和错检。
7. 本检测报告的基因范围有二：①与胎儿表型相关的 ClinGen 数据库提示具有“强证据（strong/definitive）”的基因；②OMIM 数据库中在相关词条中有产前（prenatal）或胎儿（fetus, fetal）记录，提及胎儿表型（三个独立案例以上）或有产前诊断案例（prenatal diagnosis）的基因；也包含了部分明确的致死致残疾病相关基因。针对这些基因的“致病”或“可能致病”变异进行报告；对“意义不明确”变异结合具体情况报告。“范围外”的基因的“致病”或“可能致病”变异以意外发现形式报出。对“意义不明确”变异需结合临床具体情况以意外发现形式报告。对于数据库或文献中认为的“良性/可能良性”变异不在报告中列出。
8. 对于检测到的肿瘤易感基因变异、迟发性疾病相关基因或基因组变异，☒ 是 ☐ 否 ☐ 需要报告（请选择打钩）。可能由于遗传 / 表型异质性、外显率和表现度差异等特殊情况下导致对预后及表型预测困难。
9. 本检测结果未检出明确致病位点并不代表胎儿排除遗传疾病的可能，检测结果检出致病变异位点也不代表胎儿出生后无其他异常，需要综合多项检测报告和胎儿影像信息进行综合评估、随访及遗传咨询，必要时可补充临床表型进行数据重分析。
10. 由于胎儿超声影像受到许多因素限制，胎儿遗传性疾病的基因型与表型相关性有限，变异与临床疾病相关性最终由临床医生结合胎儿表型进行综合评估。

11. 本检测仍然是一个不断发展的领域，变异解读受制于文献和数据库的及时性、新基因发现、疾病复杂程度、临床案例增加及医学科学发展的限制，同时变异位点的致病性可能会随着时间的推移而改变，后续可能需要进行位点致病性重分析或其他影像学或生化学上的辅助检查。随着国内外研究的进展，本单位保留更改、更新或修订检测结论的权利。

【其他约定】

1. 本检测结果仅供参考，不能作为最终临床诊断依据，请收到报告后，由临床医师进行专业的遗传咨询。
2. 由于不可抗拒因素（如采血管破裂、实验试剂异常、采样量过少等）所致样品损耗，受检者可能需要再次取样，也可能存在检测失败退费的情况。
3. 本检测相信所提供的临床信息全部准确、有效。
4. 本检测结果将以书面报告的形式告知受检者。涉及伦理问题的，交伦理委员会讨论。
5. 本检测拟发报告时间约 1 个月，可能因实验原因延长报告发放时间，特殊情况以电话通知为准。
6. 考虑到检测的复杂性和可能产生的影响，在检测过程中及知晓检测结果后，受检者可能会出现不同程度的精神压力和负担，需由受检者个人承担。
7. 检测机构可能会通过电话、短信、微信、在线软件、门诊咨询方式进行随访，受检者及其家属需配合相关工作。
8. 受检者同意在去掉所有个人信息后，检测数据可用于非盈利目的科研，相关样本允许医院及检测机构对检测涉及的血液和医疗废弃物等进行处理。

【受检者知情声明和承诺】

1. 我已阅读并在医生的解释下充分了解以上信息，已充分理解本检测的风险和可能性。
2. 我了解本检测的技术局限性，我并未得到该项检测技术百分之百准确的许诺，并且检测结果仅对本次送检样本有效。
3. 我已获得保证，个人信息将得到隐私保护；并同意在去掉所有个人信息后，检测数据可供医学研究参考。
4. 我自愿参与本次检测，并承诺提供的个人资料真实、可靠、完整并自愿承担因检测带来的相关风险。
5. 我自愿参与本次检测。对检测结果以及相应后续处理（若有），我将咨询临床医生结合各方面情况综合判断。

我已知晓并理解上述所有内容。明白即使结果正常仍然存在胎儿异常的残余风险。本人愿意进行该检测并同意接受回访。

请抄写以上划线部分文字：_____

受检者/法定监护人签名_____

医生签名：_____

与受检者关系（监护人填写）_____

日期：_____年____月____日

附录 B
(规范性附录)

产前外显子组测序申请单模板

****单位名**产前外显子组测序申请单**

实验室编号:

孕妇姓名: 年龄: 孕周: 诊疗卡号: 联系电话:
孕妇丈夫姓名: 年龄:
父母是否近亲结婚: ☐是 ☐否 有毒、有害物质接触史: ☐放射线 ☐农药 ☐铅 ☐汞

☐其它

胎儿主要表型/ 临床诊断 / 临床相关检查结果的电子文档或复印件:

家族史:

拟进行以下哪项检测 (可先与分子遗传实验室沟通):

- ☐全外显子组测序 (父母+胎儿) ☐全外显子组测序 (父母+双胎)
☐医学外显子组测序 (父母+胎儿) ☐医学外显子组测序 (父母+双胎)
☐基因包测序【单位根据实际情况定义, 如结节硬化症检测(父母+胎儿)】

胎儿/胚胎样本类型 (☐绒毛 ☐羊水 ☐脐血 ☐组织)

注: 家系信息的提供对于遗传病的致病变异分析至关重要, 请将先证者与其父母及家族其他患者 (若有) 的样本同时送检!!

家系图:

受检者/监护人陈述: 上述信息对基因检测结果具有重要意义, 我已如实告知医师并对上述信息准确性负责。

受检者/监护人签名:

年 月 日

送检医师签名:

年 月 日

附 录 C
(规范性附录)
产前外显子组测序报告模板
****单位**产前外显子组测序报告**

实验室编号: 920039403

孕妇姓名:*** 年龄:**岁 诊疗卡号/住院号:*****

送检科别/单位:*** 送检时间: 2020-05-19 样本类型: 脐血

检查目的:全外显子检测(父母子) 送检医生:***

临床诊断:*****

胎儿取材母体 DNA 污染鉴定结果:D13S305、D18S978、D21S11 等【根据实际情况列举部分位点】
STR 位点分析提示无母体 DNA 污染。

病史概要:超声提示胎儿 NF8.0mm。孕妇本人双下肢稍弯曲, 身高 130cm, 其丈夫身高 160cm, 孕妇母亲身高 155cm, 父亲 165cm, 姑姑 110cm, 弟弟 173cm, 两个姐姐均 160cm。

检测结果:

样本编号	受检者姓名	与先证者关系	检测结果
920039401	*****	父亲	未检测到与临床表型相关的基因明确致病变异
920039402	*****	母亲	未检测到与临床表型相关的基因明确致病变异
920039403	*****	—	可能治病: <i>RAF1</i> 基因 (NM_002880) c. 788T>A (p. V263D) 杂合【标注父母来源】

【遗传咨询意见】

1. 本次检测结果及遗传咨询意见均基于现有临床资料, 为了保证结果分析的顺利进行, 我们认为临床信息准确可靠。

2. *RAF1* 基因变异与 (1) 扩张型心肌病 1NN 型、(2) Leopard 综合征 2 型、(3) Noonan 综合征 5 型 (OMIM ID:615916/611554/611553) 相关, 呈 AD 遗传。(1) 临床表现主要为左心室射血分数降低, 二尖瓣反流, 室性心律失常和扩张型心肌病; (2) 临床表现主要为身材矮小, 雀斑样痣, 面部、眼部异常, 心肌或瓣膜异常等; (3) 临床表现主要为身材矮小, 面部、眼部异常, 先天性心脏病, 肥厚型心肌病, 发育迟缓, NT 增厚等。

3. 以上变异未见相关病例报道，请结合临床解释基因结果。建议孕妇家族成员行相应位点检测。

4. 建议进一步遗传咨询。

【核心结果解读】

1. 结果

根据美国医学遗传学与基因组学学会(ACMG)指南(Richards et al., 2015)，提示基因 *RAF1* 的 c. 788T>A 变异为可能致病变异位点，与常染色体显性遗传疾病 Noonan syndrome 5（努南综合征 5 型）相关。

2. 证据链

1) *RAF1*:NM_002880.3:exon7:c. 788T>A:p. V263D 变异：疑似致病（PS2+PM1+PM2+PP3）

强致病性证据 PS2：该变异为家系样本中经双亲验证的新发变异；

中等致病性证据 PM1：该变异发生于关键功能域[PMID:29493581]；

中等致病性证据 PM2：该变异在人类外显子数据库(ExAC)、参考人群千人基因组(1000G)和人群基因组突变频率数据库(gnomAD)中没有发现；

支持致病性证据 PP3：经 REVEL 等对其进行保守性预测，结果显示该位点进化上保守，具有潜在的功能影响；经 SIFT 和 Polyphen 等对其进行蛋白功能预测，结果显示为有害；

疾病特征与本案例表型相符度：部分相符；

经公共数据库查询，基因 *RAF1*(OMIM:164760)的突变会导致常染色体显性遗传疾病 Noonan syndrome 5（努南综合征 5 型）(OMIM:611553, Schulz et al., 2012)。Noonan syndrome 5（努南综合征 5 型）主要表现为：羊水过多、隐睾、宽嘴、巨头畸形、内眦赘皮、下颌前突、眼距过宽、低位耳、颈蹼、短颈、下斜脸裂、上睑下垂、胸骨异常、智力残疾、全面发育迟缓、羊水过多、房间隔缺陷、肥厚性心肌病、肺动脉狭窄、面部形状异常、卷曲样发、肘外翻、色素痣、身材矮小、鼻梁凹陷、前额突出、心律失常、厚嘴唇。

【其他部分意外发现位点结果】

基因	位点	染色体位置（参考基因组版本）	人群频率（数据库）	亲本来源

该表格是选择与表型相关或致病可能性较高的位点列出，结果仅供临床参考。

【检测范围及声明】

1. 本报告结果只对本次送检样品负责。
2. 本检测主要针对外显子组区域及剪切边界±5bp 范围内的单碱基变异 (SNVs) 和外显子区域 50bp 以内的插入/缺失 (Indel)、染色体非整倍体。【基因组拷贝数变异 (CNVs) 可能提示，各单位如报告需要提供父母来源并进行方法学验证】。
3. 本检测不包含 poly 结构、串联重复序列、富含 GC 区域以及存在同源序列（假基因），同时对 50bp 以上的插入/缺失 (Indel) 存在一定的局限性。
4. 由于外显子组捕获的技术局限性和基因组结构复杂性，目前外显子组检测不能保证覆盖 100% 的外显子区域。在有效捕获和测序区域内，本次检测及报告的每个变异位点均保证 30× 以上的覆盖度。
5. 报告结果不能排除漏检低比例嵌合的可能性，结果仅供临床参考。
6. 本检测报告的基因范围有二：①与胎儿表型相关的 ClinGen 数据库提示具有“强证据 (strong/definitive)”的基因；②OMIM 数据库中在相关词条中有产前 (prenatal) 或胎儿 (fetus, fetal) 记录，提及胎儿表型（三个独立案例以上）或有产前诊断案例 (prenatal diagnosis) 的基因；也包含了部分明确的致死致残疾病相关基因。针对这些基因的“致病”或“可能致病”变异进行报告；对“意义不明确”变异结合具体情况报告。“范围外”的基因的“致病”或“可能致病”变异以意外发现形式报出。对“意义不明确”变异需结合临床具体情况以意外发现形式报告。对于数据库或文献中认为的“良性/可能良性”变异不在报告中列出。
7. 对于检测到的肿瘤易感性变异、迟发性疾病相关基因、基因组变异，根据协商决定是否书面报告此类结果。可能因为遗传/表型异质性、外显率和表现度差异等特殊情况而导致对预后及表型预测困难的情况。
8. 本检测阴性结果不排除单亲二体 UPD；染色体平衡易位、倒位、环状；生殖细胞嵌合；表观遗传学；多基因病及其他非遗传因素（感染、药物、辐射等环境因素）等的可能性。
9. 检测数据分析仅依据医生或患者提供的临床信息，同时变异解读受制于文献和数据库的及时性，所报告的变异与临床疾病相关性需要由临床医生结合患者表型综合分析。
10. 不排除因为基因功能的研究进展而更改检测结果临床意义的可能。

检验者:**** 审核者:****

医师签名:**** 医师签名:****

报告日期:20**-**-**

备注: 此报告仅对本次送检样本负责! 结果仅供医生参考。由医师签名后此报告方能生效!

全国团体标准信息平台

附 录 D
(资料性附录)

产前外显子组测序报告范围（报告基因列表）

本附件拟初次圈定产前 ES 报告范围，所列基因有两个来源：1、ClinGen 校对基因-疾病相关证据强度 strong 以上清单（<https://search.clinicalgenome.org/kb/gene-validity> 2020 年 8 月 3 日检索，共 586 个），此处省略，请根据需要自行检索；2、未经 ClinGen 校对，但 OMIM 数据库中收录的基因（www.omim.org, 2020 年 8 月 3 日检索校对，共 468 个基因），且在相关词条中有产前（prenatal）或胎儿（fetus, fetal）记录，提及胎儿表型（三个独立案例以上）或有产前诊断案例（prenatal diagnosis）的基因；本清单中也包含了部分明确的致死致残疾病相关基因，罗列如下：

OMIM 基因号	基因名	OMIM 基因号	基因名	OMIM 基因号	基因名
100690	CHRNA1	600709	IARS1	607194	PTF1A
100720	CHRND	600722	PPT1	607261	EVC2
100730	CHRNA1	600725	SHH	607379	NF2
102545	ACTG2	600829	INPPL1	607423	POMT1
102610	ACTA1	600838	FOXN1	607439	POMT2
106150	AGT	600856	CDKN1C	607440	FKTN
106165	AGTR1	600857	SDHA	607465	CDAN1
107323	ALDH7A1	600890	HADHA	607542	KCNQ1
107400	SERPINA1	600900	SGCB	607585	ATM
107580	TFAP2A	600922	MYLK	607608	SMPD1
108370	ASNS	600993	SMAD4	607623	NPC1
108746	ATP6V1E1	601002	GSS	607759	ITGA2B
112264	BMP1	601015	NPC2	607783	MESD
114190	CALCRL	601019	SLC6A9	607800	ABCA12
117143	CENPE	601150	DDX11	607830	FRAS1
120120	COL7A1	601215	ATR	607839	GBE1
120130	COL4A1	601296	MUSK	608053	ETFA
120140	COL2A1	601309	PTCH1	608111	FANCL
120150	COL1A1	601313	PKD1	608124	XYLT1

OMIM 基因号	基因名	OMIM 基因号	基因名	OMIM 基因号	基因名
120160	COL1A2	601411	SGCD	608148	SATB2
120280	COL11A1	601428	RNU4ATAC	608160	SOX9
120436	MLH1	601570	WNT7A	608166	SEMA3E
121011	GJB2	601573	EZH2	608272	NEU1
123101	MSX2	601620	TBX5	608303	LGI4
124015	POR	601623	UBE3A	608307	CPS1
125647	DSP	601656	GATA6	608310	ASL
126340	ERCC2	601719	TBX4	608329	MYRF
126375	DNMT1	601728	PTEN	608441	SYNE1
126650	SLC26A3	601735	SMARCD1	608603	GLDN
130410	ETFB	601758	PEX12	608626	STRADA
133530	ERCC5	601785	PMM2	608667	NIPBL
134797	FBN1	601860	HSD17B4	608699	BMPER
134934	FGFR3	601897	ZNF148	608744	SLC25A24
136350	FGFR1	601902	ORC1	608750	ALG3
136352	FLT4	601920	JAG1	608755	TSEN54
136850	FH	602021	PPP1R12A	608786	PC
137167	GGCX	602023	CLCNKB	608801	GCDH
138250	ALDH18A1	602054	TBX1	608892	CHD7
141800	HBA1	602063	TALDO1	608945	FREM2
141900	HBB	602115	FGF10	608958	ADA
142200	HBG1	602136	PEX1	609058	MMUT
142250	HBG2	602149	PITX1	609309	MSH2
142994	MNX1	602346	CNTNAP1	609317	TRIM36
147370	IGF1R	602410	BRPF1	609332	TTC7A
147440	IGF1	602421	CFTR	609353	ESCO2
147470	IGF2	602486	POP1	609367	KIFBP
147556	ITGA6	602490	NRIP1	609382	IER3IP1
147557	ITGB4	602536	RAB3GAP1	609390	FIG4

OMIM 基因号	基因名	OMIM 基因号	基因名	OMIM 基因号	基因名
147570	IFNG	602630	TGIF1	609412	ERCC8
147670	INSR	602667	NBN	609413	ERCC6
147700	IDH1	602690	SDHD	609449	NDE1
150325	LAMB2	602694	NDUFS4	609575	ACADVL
150330	LMNA	602716	NPHS1	609577	CUL7
151443	LIFR	602744	GNPAT	609591	RIT1
153454	PLOD1	602769	DNMT3A	609712	PKLR
157660	RMRP	602775	SHOC2	609720	CRB2
159555	KMT2A	602858	DHCR7	609721	PKD1L1
160760	MYH7	602860	BUB1B	609797	BICD2
160775	MYH9	602880	GDF1	609855	COASY
161650	NEB	602937	CITED2	609883	MKS1
164757	BRAF	603051	AGPS	609884	TMEM67
164761	RET	603073	ZIC2	610000	CEP55
164770	CSF1R	603157	PIK3R2	610087	PRMT7
164790	NRAS	603197	PNPLA6	610107	OSGEP
164870	ERBB2	603287	PNPO	610178	KIAA0586
164874	FOXG1	603297	DYNC2H1	610308	B3GLCT
165240	GLI3	603371	GLE1	610326	RNASEH2B
167420	PRRX1	603381	FLNB	610339	P3H1
170993	PEX2	603464	CDK10	610436	RTTN
171760	ALPL	603474	RPS19	610516	GLYCTK
172400	GPI	603590	LARGE1	610693	HYLS1
172480	PSPH	603604	PLA2G6	610745	STRA6
173110	POU1F1	603647	BCS1L	610804	SLC35D1
173335	ENPP1	603707	MOCS1	610865	FLVCR2
173350	PLG	603711	CYP7B1	610936	PSAT1
173470	ITGB3	603714	SIX3	610937	RPGRIP1L
174763	POLG	603722	ELP1	611061	FAM20C

OMIM 基因号	基因名	OMIM 基因号	基因名	OMIM 基因号	基因名
176300	TTR	603729	SGPL1	611204	CCDC88C
176310	PBX1	603780	RECQL4	611254	KIF7
176730	INS	603785	MPDZ	611279	KIF14
176876	PTPN11	603799	CHST3	611458	GLB1
176943	FGFR2	603861	SLC25A15	611499	GUSB
179820	REN	603868	RAB27A	611565	KIAA1109
180901	RYR1	604063	ITGA8	611654	CSPP1
182279	SNRPN	604115	KCNQ1OT1	612013	CC2D2A
182282	SNRPB	604285	AGXT	612243	ADGRG6
182530	SOS1	604322	SLC17A5	612316	ATAD3A
185620	SURF1	604500	ZNHIT3	612325	ICK
188450	TG	604501	TRIP4	612349	PAH
188830	PRKAR1A	604505	TRIP11	612360	NDUFAF5
190020	HRAS	604580	FBLN5	612753	CCBE1
190151	ERBB3	604588	NEK1	613018	TAT
190990	TPM2	604592	TCIRG1	613111	CTSA
191092	TSC2	604597	GRIP1	613165	CANT1
191170	TP53	604610	BLM	613363	WDR34
194363	XRCC4	604613	TBX18	613441	TCN2
231675	ETFDH	604614	TBX19	613468	ASAHI
232000	PCCA	604766	NPHS2	613497	LIPA
232050	PCCB	604831	EVC	613524	SDCCAG8
238300	GLDC	604896	MKKS	613629	PIEZO2
238310	AMT	605010	SPINK5	613665	ACKR1
243305	INVS	605011	ADAMTS3	613742	G6PC
252800	IDUA	605031	PLK4	613815	CYP21A2
300005	MECP2	605073	TRIM37	613846	TCTN2
300011	ATP7A	605202	NANS	613899	FANCC
300017	FLNA	605248	MCOLN1	613915	ZBTB42

OMIM 基因号	基因名	OMIM 基因号	基因名	OMIM 基因号	基因名
300037	GPC3	605270	SGSH	614010	IMPAD1
300072	USP9X	605283	MAGEL2	614068	IFT43
300080	RBM10	605284	TSC1	614123	TMCO1
300121	DCX	605313	RBM8A	614140	SPECC1L
300126	DKC1	605427	TRPV4	614184	DIS3L2
300160	DDX3X	605481	ASPM	614215	ASCC1
300169	AIFM1	605490	LONP1	614218	WDR81
300170	OFD1	605497	CRTAP	614258	POLR3A
300188	MED12	605522	LMBR1	614295	BICC1
300197	ATP6AP1	605593	SF3B4	614423	TMEM237
300205	EBP	605610	PNKP	614571	C5ORF42
300248	IKBKG	605622	PCDH12	614631	CRPPA
300265	ZIC3	605802	ZEB2	614757	IFITM5
300275	NSDHL	605880	KAT6B	614783	POC1A
300292	FOXP3	605881	SLC35C1	614949	TMEM231
300294	MBTPS2	605925	PCNT	614982	SMCHD1
300371	ABCD1	605981	UBR1	615247	POMK
300377	DMD	605984	EED	615291	B3GALT6
300392	WAS	606034	RNASEH2A	615292	FAM111A
300394	TAZ	606045	IFT122	615316	IBA57
300401	PLP1	606097	PIGN	615322	NRROS
300403	NDUFB11	606144	RAB23	615340	KLHL40
300415	MTM1	606374	B3GAT3	615462	WDR60
300451	EDA	606418	DHCR24	615521	STAC3
300461	OTC	606463	GBA	615587	NUP188
300481	CYBB	606480	ZMPSTE24	615759	KIDINS220
300485	BCOR	606521	SLC25A19	615787	NADK2
300502	PDHA1	606596	FKRP	615944	C2CD3
300535	OCRL	606681	NSD1	615951	ZSWIM6

OMIM 基因号	基因名	OMIM 基因号	基因名	OMIM 基因号	基因名
300552	MID1	606692	TRAF7	616112	LMOD3
300629	AP1S2	606702	PKHD1	616144	WDR73
300658	NDP	606718	SLC26A2	616146	TGDS
300746	F9	606800	GAA	616215	CREB3L1
300823	IDS	606822	POMGNT1	616254	CLPB
300826	STAG2	606847	TCOF1	616365	SCYL2
300841	F8	606879	PHGDH	616615	CSGALNACT1
300897	ZC4H2	606938	UROS	617083	DYNC2LI1
300951	RNF113A	606941	ALG9	617094	IFT52
305371	GATA1	606979	COG8	617371	ZNF462
308000	HPRT1	607008	ACADM	617608	ALPK3
308840	L1CAM	600259	PMS2	618227	LRRC56
309550	FMR1	600359	KCNJ1	618570	TRIM71
309850	MAOA	600414	PEX5	600529	AUH
311770	PIGA	600463	ALDH1A3	600548	HSPA9
313700	AR	600509	ABCC8	600650	CPT2
600011	EPHB4	600098	RRAS2	600667	FZD2
600014	SMARCA2	600185	BRCA2	600678	MSH6
600024	LBR	600236	CENPF	607035	SUFU
600037	OTX2	607117	MCPH1	607093	MTHFR
607139	FANCA	607186	SEC24D	141850	HBA2

附 录 E

(资料性附录)

同源性>90%的基因组区域和涉及基因列表

基因组同源序列对于数据分析和结果报告有较大影响。对基因组同源区域测序数据分析的可靠性依赖于测序试剂盒读长、生信分析算法等多种因素。本文在全外显子组捕获测序、双端读长 150bp (PE150) 的实验条件下,分析基因组范围内已知约 1.9 万个基因的编码区。选择同源性超过 90%的区域进行本附录列表(涉及 3995 个基因或区域),需要注意的是同源序列的存在不代表测序结果和数据分析结果不可信,而是作为一种警示信号,提醒在报告前需要验证。

【3995 个基因及区域清单另附页及电子版 excel 表格】

参考文献

1. International Society for Prenatal Diagnosis; Society for Maternal and Fetal Medicine; Perinatal Quality Foundation. Joint Position Statement from the International Society for Prenatal Diagnosis (ISPD), the Society for Maternal Fetal Medicine (SMFM), and the Perinatal Quality Foundation (PQF) on the use of genome-wide sequencing for fetal diagnosis. *Prenat Diagn.* 2018;38(1):6-9. doi:10.1002/pd.5195
2. Monaghan KG, Leach NT, Pekarek D, Prasad P, Rose NC; ACMG Professional Practice and Guidelines Committee. The use of fetal exome sequencing in prenatal diagnosis: a points to consider document of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2020;22(4):675-680. doi:10.1038/s41436-019-0731-7
3. Bean LJH, Funke B, Carlston CM, et al. Diagnostic gene sequencing panels: from design to report—a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2020;22(3):453-461. doi:10.1038/s41436-019-0666-z
4. Edwards JG, Feldman G, Goldberg J, et al. Expanded carrier screening in reproductive medicine—points to consider: a joint statement of the American College of Medical Genetics and Genomics, American College of Obstetricians and Gynecologists, National Society of Genetic Counselors, Perinatal Quality Foundation, and Society for Maternal-Fetal Medicine. *Obstet Gynecol.* 2015;125(3):653-662. doi:10.1097/AOG.0000000000000666
5. Normand EA, Braxton A, Nassef S, et al. Clinical exome sequencing for fetuses with ultrasound abnormalities and a suspected Mendelian disorder. *Genome Med.* 2018;10(1):74. Published 2018 Sep 28. doi:10.1186/s13073-018-0582-x
6. Petrovski S, Aggarwal V, Giordano JL, et al. Whole-exome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies: a prospective cohort study. *Lancet.* 2019;393(10173):758-767. doi:10.1016/S0140-6736(18)32042-7
7. Lord J, McMullan DJ, Eberhardt RY, et al. Prenatal exome sequencing analysis in fetal structural anomalies detected by ultrasonography (PAGE): a cohort study. *Lancet.* 2019;393(10173):747-757. doi:10.1016/S0140-6736(18)31940-8
8. Stuurman KE, Joosten M, van der Burgt I, et al. Prenatal ultrasound findings of rasopathies in a cohort of 424 fetuses: update on genetic testing in the NGS era. *J Med Genet.* 2019;56(10):654-661. doi:10.1136/jmedgenet-2018-105746
9. Roozbeh N, Azizi M, Darvish L. Pregnancy Outcome of Abnormal Nuchal Translucency: A Systematic Review. *J Clin Diagn Res.* 2017;11(3):QC12-QC16. doi:10.7860/JCDR/2017/23755.9384
10. Chen CP, Ko TM, Chern SR et al. Prenatal diagnosis of low-level mosaicism for trisomy 2 associated with a favorable pregnancy outcome. *Taiwanese journal of obstetrics & gynecology;* 55:303-304, 2016.
11. Chen CP, Chen YY, Chern SR et al. Prenatal diagnosis of mosaic trisomy 2 associated with abnormal maternal serum screening, oligohydramnios, intrauterine growth restriction, ventricular septal defect, preaxial polydactyly, and facial dysmorphism. *Taiwanese journal of obstetrics & gynecology;* 52:395-400, 2013.
12. Jennings LJ, Arcila ME, Corless C, et al. Guidelines for Validation of Next-Generation Sequencing-Based Oncology Panels: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. *J Mol Diagn.* 2017;19(3):341-365. doi:10.1016/j.jmoldx.2017.01.011

13. Roy S, Coldren C, Karunamurthy A, et al. Standards and Guidelines for Validating Next-Generation Sequencing Bioinformatics Pipelines: A Joint Recommendation of the Association for Molecular Pathology and the College of American Pathologists. *J Mol Diagn.* 2018;20(1):4-27. doi:10.1016/j.jmoldx.2017.11.003
14. 国家卫生健康委员会,《肿瘤个体化治疗检测技术指南(试行)》,2015-7-30
15. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. 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;17(5):405-424. doi:10.1038/gim.2015.30
16. Oza AM, DiStefano MT, Hemphill SE, et al. Expert specification of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for genetic hearing loss. *Hum Mutat.* 2018;39(11):1593-1613. doi:10.1002/humu.23630
17. 王秋菊, 沈亦平, 邬伶仟等. 遗传变异分类标准与指南[J]. 中国科学(生命科学), 2017, 047(006):668-688.
18. Rivera-Muñoz EA, Milko LV, Harrison SM, et al. ClinGen Variant Curation Expert Panel experiences and standardized processes for disease and gene-level specification of the ACMG/AMP guidelines for sequence variant interpretation. *Hum Mutat.* 2018;39(11):1614-1622. doi:10.1002/humu.23645
19. ClinGen Variant Curation SOP Committee, ClinGen General Sequence Variant Curation Process Standard Operating Procedure, Version 1.0, April 2019
20. Brandt T, Sack LM, Arjona D, et al. Correction: Adapting ACMG/AMP sequence variant classification guidelines for single-gene copy-number variants. *Genet Med.* 2020;22(3):670-671. doi:10.1038/s41436-019-0725-5
21. 刘维强, 卢建, 章钧, 等, 产前遗传学诊断拷贝数变异和纯合区域的数据分析解读及报告规范化共识, 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(7):701-708
22. Brandt T, Sack LM, Arjona D, et al. Correction: Adapting ACMG/AMP sequence variant classification guidelines for single-gene copy-number variants. *Genet Med.* 2020;22(3):670-671. doi:10.1038/s41436-019-0725-5
23. Abou Tayoun AN, Pesaran T, DiStefano MT, et al. Recommendations for interpreting the loss of function PVS1 ACMG/AMP variant criterion. *Hum Mutat.* 2018;39(11):1517-1524. doi:10.1002/humu.23626
24. Brnich SE, Abou Tayoun AN, Couch FJ, et al. Recommendations for application of the functional evidence PS3/BS3 criterion using the ACMG/AMP sequence variant interpretation framework. *Genome Med.* 2019;12(1):3. Published 2019 Dec 31. doi:10.1186/s13073-019-0690-2
25. Harrison SM, Biesecker LG, Rehm HL. Overview of Specifications to the ACMG/AMP Variant Interpretation Guidelines. *Curr Protoc Hum Genet.* 2019;103(1):e93. doi:10.1002/cphg.93
26. Junyu Zhang, Yanyi Yao, Haixian He, et al. Clinical Interpretation of Sequence Variants. *Current Protocols in Human Genetics*, 2020; 106, e98. doi: 10.1002/cphg.98
27. Ioannidis, N. M., Rothstein, J. H., Pejaver, V., et al. (2016). REVEL: An ensemble method for predicting the pathogenicity of rare missense variants. *American Journal of Human Genetics*, 99(4), 877 - 885.
28. Rajarshi Ghosh, Steven M Harrison, Heidi L Rehm, et al., Updated recommendation for the benign stand-alone ACMG/AMP criterion. 2018 39(11):1525-1530.

29. Kelly MA, Caleshu C, Morales A, et al. Adaptation and validation of the ACMG/AMP variant classification framework for MYH7-associated inherited cardiomyopathies: recommendations by ClinGen's Inherited Cardiomyopathy Expert Panel. *Genet Med.* 2018; 20:351 – 359.
 30. Gelb BD, Cavé H, Dillon MW, et al. ClinGen's RASopathy Expert Panel consensus methods for variant interpretation. *Genet Med.* 2018;20: 1334 – 1345.
 31. Collins RL, Brand H, Karczewski KJ, et al. A structural variation reference for medical and population genetics. *Nature.* 2020;581(7809):444–451. doi:10.1038/s41586-020-2287-8
 32. Liu P, Meng L, Normand EA, et al. Reanalysis of Clinical Exome Sequencing Data. *N Engl J Med.* 2019;380(25):2478–2480. doi:10.1056/NEJMc1812033
-