

团 体 标 准

T/SZAS XXXX—XXXX

CNV-seq 全流程检测及遗传分析规范

Standard Operating Procedures for Comprehensive CNV-seq Testing and Genetic
Analysis

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

深圳市标准化协会 发布

目 次

前言	II
引言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 缩略语	3
5 知情同意的告知内容和书面同意书签署规范	3
6 样本采集及运输要求	4
7 检测流程要求	4
8 数据分析流程规范要求	5
9 结果解读原则	9
10 报告规范	15
11 遗传咨询	16
附录 A（规范性） ACMG 指南建议 CNV 证据项及分值	17
参考文献	25

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由复旦大学附属妇产科医院提出。

本文件由深圳市标准化协会归口。

本文件起草单位：复旦大学附属妇产科医院、深圳华大基因股份有限公司、中国医学研究院北京协和医院、云南省第一人民医院、浙江大学医学院附属妇产科医院、南京市妇幼保健院、厦门市妇幼保健院、郑州大学第一附属医院、武汉大学中南医院、湖北省妇幼保健院、江西省妇幼保健院、武汉儿童医院、郑州大学第三附属医院、山东大学齐鲁医院、山东大学附属生殖医院、济南市妇幼保健院、深圳华大基因科技有限公司、广州金域医学检验集团股份有限公司、浙江博圣生物技术股份有限公司。

本文件主要起草人：黄荷凤、徐晨明、陈松长、戴文韬、肖红豆、吴昊、朱宝生、罗琼、许争峰、周裕林、葛运生、郭艺红、郑芳、宋婕萍、何学莲、刘艳秋、刘灵、孙平、高媛、金华、袁玉英、王岩琦、姜丹、周晓垂、李倩一、唐美芳。

引 言

随着基因组学技术的快速发展，拷贝数变异（Copy Number Variation, CNV）检测已广泛应用于产前产后遗传病诊断等多个领域。其中，拷贝数变异测序技术（Copy Number Variation Sequencing, CNV-seq）因其高分辨率、高通量、低成本等优势，逐渐成为临床检测染色体非整倍体及微缺失变异的主流方法，第三方检测行业一般可以做到 $\geq 100\text{Kb}$ 的精准度。然而，技术应用迅速扩张的同时，行业仍缺乏覆盖全流程、多场景应用的标准化质控规范，导致各实验室在实验操作、生物信息学分析流程、变异解读阈值及报告格式等关键环节存在显著差异，尤其是干实验质控差异最为显著。

美国医学遗传学与基因组学学会（American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG）/临床基因组资源联盟（Clinical Genome Resource, ClinGen）专家组于2019年发布了解读指南及国内相关产前检测共识，但全流程尤其是干实验技术标准在执行中仍受限于湿实验检测灵敏度、干实验质控参数、数据库更新频次、特别是致病性解读分类体系的标准差异，“同样本不同结果”的临床分歧仍不断发生。此外，分析流程标准化程度、灵敏度、特异性、假阳性（实际阴性但检测为阳性）/假阴性（实际阳性但检测为阴性）判定阈值标准及报告术语规范性亦缺乏统一要求，给临床医生以及受检者家庭带来临床诊疗与咨询的多方困扰。

因此，建立CNV-seq全流程检测及遗传解读技术标准，可通过统一实验规范、分析流程、解读规范与报告出具，实现从样本到报告的全流程质量控制，减少实验室间差异，提升检测结果的准确性、可重复性与一致性，推动行业规范化发展。

本文件旨在规范CNV-seq技术全流程检测操作与遗传变异解读体系，建立涵盖样本处理、测序分析、变异解读、报告出具过程中质控管理的统一技术标准。

CNV-seq 全流程检测及遗传分析规范

1 范围

本文件规定了开展CNV-seq的全流程技术操作与质量管理要求，包括样本采集处理、检测实施、数据分析、变异解读、报告出具及遗传咨询等环节的技术要求。

本文件适用于开展CNV-seq的医疗机构、产前诊断中心、遗传病诊断实验室及相关第三方检测机构，为产前诊断、流产查因、儿童发育迟缓/智力障碍/多发畸形、自闭症谱系障碍等不同临床场景提供技术依据。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 22576.1-2026 医学实验室 质量和能力的要求 第1部分：通用要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

拷贝数变异 copy number variation; CNV

长度为1Kb以上的基因组大片的拷贝数增加或减少。

3.2

拷贝数变异测序 copy number variation sequencing; CNV-seq

基于高通量测序（next generation sequencing, NGS）技术，通过低深度全基因组测序（low-pass whole-genome sequencing）及生物信息学分析，检测样本基因组中CNV的方法。

3.3

单倍剂量不足 haploinsufficiency; HI

单个等位基因功能缺失（如缺失或功能丧失性变异）导致基因产物剂量不足，进而引起表型异常的现象

3.4

三倍剂量敏感 triplosensitive; TS

基因或基因组区域拷贝数增加（如重复）导致基因产物过量表达，进而引起表型异常的现象。

3.5

非整倍体 aneuploidy

染色体数目偏离单倍体整数倍的异常状态，即细胞中一条或多条染色体出现额外增加或缺失（如21三体、18三体、特纳综合征等）。

3.6

新发变异 de novo variant

在患者个体中首次发生、未从父母任一方遗传的变异。

3.7

共分离 co-segregation

在遗传家系中，特定变异与疾病表型共同传递的现象。

3.8

不共分离 non-segregation

在遗传家系中，特定变异与疾病表型未共同传递的现象。

- 3.9
不完全外显 incomplete penetrance
携带致病基因变异的个体未全部表现相应疾病表型的现象。
- 3.10
拟表型 phenocopy
由环境因素或其他遗传因素导致的、表型上模拟遗传病的现象。
- 3.11
母源细胞污染 maternal cell contamination; MCC
胎儿样本中混入母体细胞的现象。
- 3.12
参考基因组 reference genome
经组装、注释的物种代表性基因组序列，作为测序数据比对的参照标准。
- 3.13
测序深度 sequencing depth
特定基因组区域被测序片段覆盖的平均次数。
- 3.14
拷贝率 copy ratio
待测样本与参考样本在特定基因组区域的测序深度比值。
- 3.15
有效序列数 unique reads; UR
原始测序数据经过质量过滤，保留唯一比对至参考基因组且不容错，用于后续分析的高质量测序序列数。
- 3.16
波动系数 coefficient of variation; CV
标准差与平均值的比值，用于衡量数据的相对离散程度。
- 3.17
阳性参考区间 positive reference range
经验证的、用于判定阳性结果的数值范围。
- 3.18
非翻译区 untranslated region; UTR
mRNA分子中不被翻译成蛋白质的区段，包括位于5'端的5'非翻译区（5' UTR）和位于3'端的3'非翻译区（3' UTR）。
[来源：GB/T 29859-2013，2.2.6，有修改]
- 3.19
外显子 exon
真核生物基因的一部分，在剪接后会被保留在成熟核糖核酸分子中的序列。
[来源：GB/T 29859-2013，2.2.8]
- 3.20
内含子 intron
真核生物基因的一部分，在剪接后未被保留在成熟核糖核酸分子中的序列。
[来源：GB/T 29859-2013，2.2.20]
- 3.21
转录本 transcript
基因转录形成的成熟mRNA分子。
- 3.22
无义介导的 mRNA 降解 nonsense-mediated mRNA decay; NMD
细胞中识别并降解含提前终止密码子的mRNA的监视机制。
- 3.23
NMD 逃逸区 NMD escape region

转录本中逃避无义介导的mRNA降解机制的区段。

3.24

先证者 proband

家系中首先被确诊或接受遗传学检测的患病个体。

3.25

携带者 carrier

携带隐性致病基因杂合变异（或X连锁致病基因半合子变异）但不表现疾病表型的个体。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

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

ClinGen: 临床基因组资源联盟 (Clinical Genome Resource)

DGV: 基因组变异数据库 (Database of Genomic Variants)

GRCh37: 人类基因组参考序列第37版 (Genome Reference Consortium human 37)

GRCh38: 人类基因组参考序列第38版 (Genome Reference Consortium human 38)

gnomAD: 基因组聚合数据库 (Genome Aggregation Database)

OMIM: 人类孟德尔遗传在线数据库 (Online Mendelian Inheritance in Man)

PVS1: 适用于单基因无效变异 (含CNV) 的最强证据项 (Pathogenicity Very Strong 1)

SNV: 单核苷酸变异 (Single Nucleotide Variant)

5 知情同意的告知内容和书面同意书签署规范

5.1 检测前遗传咨询

CNV-seq检测适用于产前超声提示结构异常、血清学筛查高风险或高龄妊娠等产前诊断人群，以及具有发育迟缓、智力障碍、自闭症谱系障碍或多发畸形的儿童/成人患者，亦可用于反复流产、死胎等不良孕产史的原因排查。样本采集前应进行遗传咨询，确认受检者送检主诉，送检医生指导受检者签署知情同意书，让受检者知晓技术检测范围、技术局限性、剩余风险、可能的意外发现及检测周期，并为受检者提供建议。

5.2 送检单填写规范

CNV-seq检测的送检单应包含但不限于以下内容：

- 受检者基本信息：姓名、年龄、孕周（精确到周+天）、联系方式、病历号等；
- 临床指征/病史信息：如高龄妊娠、血清学筛查高风险、超声异常、家族遗传病史、临床检测结果等；
- 送检样本信息：样本类型（如羊水、绒毛、脐带血、外周血等）、采样日期与时间、样本量；
- 检测项目：检测平台及方法；
- 临床医生信息：送检医生姓名、科室、临床诊断信息等。

送检单的填写应避免涂改，关键信息应双人核对。

5.3 知情同意书填写规范

CNV-seq检测的知情同意书应包含但不限于以下内容：

- 检测目的：清晰说明检测的意义（如排除染色体异常、遗传病等）；
- 检测局限性：注明技术局限性（如无法涵盖遗传病所有变异类型，包括嵌合体风险、UPD来源等）；
- 风险告知：应提示检测灵敏度以及特异性风险；
- 替代方案：告知其他可选检测方式及补充检测优势；
- 隐私与数据管理：明确样本和数据用途（仅限本次检测/科研应额外授权），注明剩余样本保存方式、检测结果保存期限及销毁方式；

- f) 自愿原则：强调孕妇/家属自愿选择，可随时撤回同意，应孕妇本人或监护人签字（禁止代签），并签署日期；
- g) 特殊情形：对于特殊情形应做额外说明，如多胎妊娠/检测失败，应单独说明检测准确性可能降低/告知可能应重新采样。

建议定期更新知情同意书模板以符合最新行业标准；若针对UPD或甲基化异常等复杂病例，注明特殊情形和建议送检标准。

6 样本采集及运输要求

6.1 样本采集要求

各实验室应根据检测范围及目的，确定应包含的样本类型，如外周血、羊水、流产组织及基因组DNA等。不同样本类型的采集要求建议参考表1。

表1 不同样本类型采集要求

样本类型	采集要求
外周血/脐带血	抗凝管采集；成人 $\geq 2\text{mL}$ ，新生儿/脐带血 $\geq 1\text{mL}$ ；运输温度 $\leq 4^{\circ}\text{C}$ 或干冰保存
基因组DNA	$\geq 500\text{ng}$ （最低 100ng ）； 1.5mL EP管；运输需足量干冰
胚胎/胎儿组织	专用容器保存； $\geq 100\text{mg}$ 组织；磷酸盐缓冲液（Phosphate Buffered Saline, PBS）冲洗；禁止固定/福尔马林处理；干冰运输（ $3\text{kg}/\text{天}$ ）
羊水	15mL 离心管； $5\sim 10\text{mL}$ ；防震包装+干冰运输（ $3\text{kg}/\text{天}$ ）

6.2 样本运输要求

样本运输过程除满足GB/T 22576.1-2026中7.2.5的要求外，还应随附受检者签署的清晰、完整的知情同意书，以及规范的样本编码、完整的送检信息，确保无混样风险，保障样本溯源及检测结果的准确性。

7 检测流程要求

7.1 样本质量控制要求

7.1.1 样本接收与拒收

7.1.1.1 各实验室应制定明确的样本接收标准，书面记录并通知拒收原因。

7.1.1.2 符合以下任一情形者应拒收：

- 采集不当：容器破损/开盖、标识不清、抗凝剂错误或信息不全；
- 储运违规：未按规定温度或时限保存、运输；
- 文件缺失：知情同意书填写不完整；
- 样本量不足：无法满足实验最低用量要求。

7.1.2 样本合格性判断

7.1.2.1 实验室应根据不同类型样本的特性，进行充分测试，建立并明确各样本类型的合格标准。CNV-seq检测应以DNA质量、浓度及母源细胞污染（MCC）为判定前提，结合样本类型特性综合评估，评估标准参考表2。

表 2 不同样本类型合格标准

样本类型	合格标准
外周血	全血样本呈鲜红色或暗红色，无显著溶血（血浆层非粉红色/红色）、无凝块、无脂血（乳糜微粒过多）
羊水	清亮无血染；离心后细胞沉淀足量；短串联重复序列（Short Tandem Repeat, STR）检测排除母源细胞污染
绒毛	显微镜下可见绒毛；STR 检测证实胎源性（与孕妇外周血 DNA 比对）
脐血	STR 检测或血红蛋白电泳证实胎源性（与孕妇外周血 DNA 比对）
流产/死胎组织	无严重腐败；未使用福尔马林；DNA 未降解；取材时间不明时以 DNA 质量为主要判定依据

7.1.2.2 所有产前诊断样本（羊水、绒毛、脐血）应通过 STR 或单核苷酸多态性（Single Nucleotide Polymorphism, SNP）分型技术排除母源污染，确保样本胎源性及其检测结果的准确性和可靠性。

7.1.3 不合格样本处置

7.1.3.1 对不符合检测标准的样本，应予以拒收或退回，记录不合格原因、处置方式及处置结果，相关记录应完整、可追溯并妥善保存。

7.1.3.2 不合格样本包括但不限于以下情形：

- a) 组织样本：严重腐败、福尔马林浸泡、DNA 无法提取；
- b) 绒毛/脐血：非胎源性、母源细胞污染无法去除、DNA 质量不合格；
- c) 抗凝剂干扰：使用肝素等影响聚合酶链式反应（Polymerase Chain Reaction, PCR）扩增的样本（含 PCR 步骤的检测）。

7.2 实验室室内质控及室间质评

7.2.1 室内质量控制要求

实验室的室内质控应满足以下要求：

- a) 人员管理：检测人员应经专业技术培训、能力评估后授权上岗，并定期进行能力再评估，以及必要时进行再培训考核。
- b) 设备与试剂管理：检测设备应按规定定期维护、校准、性能验证并记录；新投入使用设备应经检定/校准合格。试剂与耗材应执行验收、储存、使用、效期及批号全流程管理。
- c) 检测流程质控：严格按照批准的标准操作程序（SOP）开展检测，每批实验均应设置室内质控。关键步骤（样本前处理、DNA 提取、建库、扩增/上机检测等）应设置空白对照、阴性对照、阳性对照等质控措施。应建立覆盖样本前处理、检测、数据分析全过程的实验室特有的质控体系。
- d) 记录与追溯：实验过程关键数据、质控结果应实时、准确、完整记录，按规定归档保存，确保检测全过程可追溯。

7.2.2 室间质评要求

实验室应参加由权威机构组织的室间质量评价或能力验证计划（如国家卫健委临检中心组织的年度能力验证），保证检测结果的准确性、可重复性与有效性。对室间质评或能力验证结果进行记录、分析与评价，出现不满意结果时，应及时采取纠正措施并验证有效性。对于尚无室间质评的检测项目，应建立实验室间比对等替代质量评价方案。

8 数据分析流程规范要求

8.1 数据分析流程

8.1.1 信息分析流程的建立

CNV-seq信息分析流程主要是指从测序下机数据开始，经预处理、比对、统计、染色体非整倍体和CNV分析以及注释等步骤，输出质控数据和生信结果的过程；结果为后续展开遗传分析奠定了基础信息。

以纳米球测序技术平台为例，具体包括7个模块，分析流程图如图1所示：

- a) 预处理：对测序下机数据进行基本的信息获取及统计，包括样本编号、测序文库（经处理的DNA片段集合）号、测序泳道（Lane）号、原始序列数、原始碱基数、Q20（碱基质量值 ≥ 20 的碱基比例）、GC含量（鸟嘌呤和胞嘧啶占比）等；
- b) 比对：采用短寡核苷酸比对程序（Short Oligonucleotide Alignment Program, SOAP v2.21）将原始序列比对到人类参考基因组上，实现基因组定位；
- c) 基本信息统计：统计测序深度和覆盖度（测序片段覆盖的基因组区域占全基因组的比例）信息，并基于参照窗口文件统计每个窗口内的序列数、GC含量等信息；
- d) GC校正和群体校正：依据参考基因组GC分布，采用三次样条插值算法，对待检样本进行GC校正，并基于群体拷贝率对待检样本的拷贝率进行群体校正；
- e) 染色体非整倍体和CNV检测：分别采用Z检验（统计学假设检验）和二项分割算法进行染色体非整倍体和CNV检测；
- f) 结果整合：对不同片段长度的CNV检测数据进行整合；
- g) 变异注释：对检出变异结果进行注释。

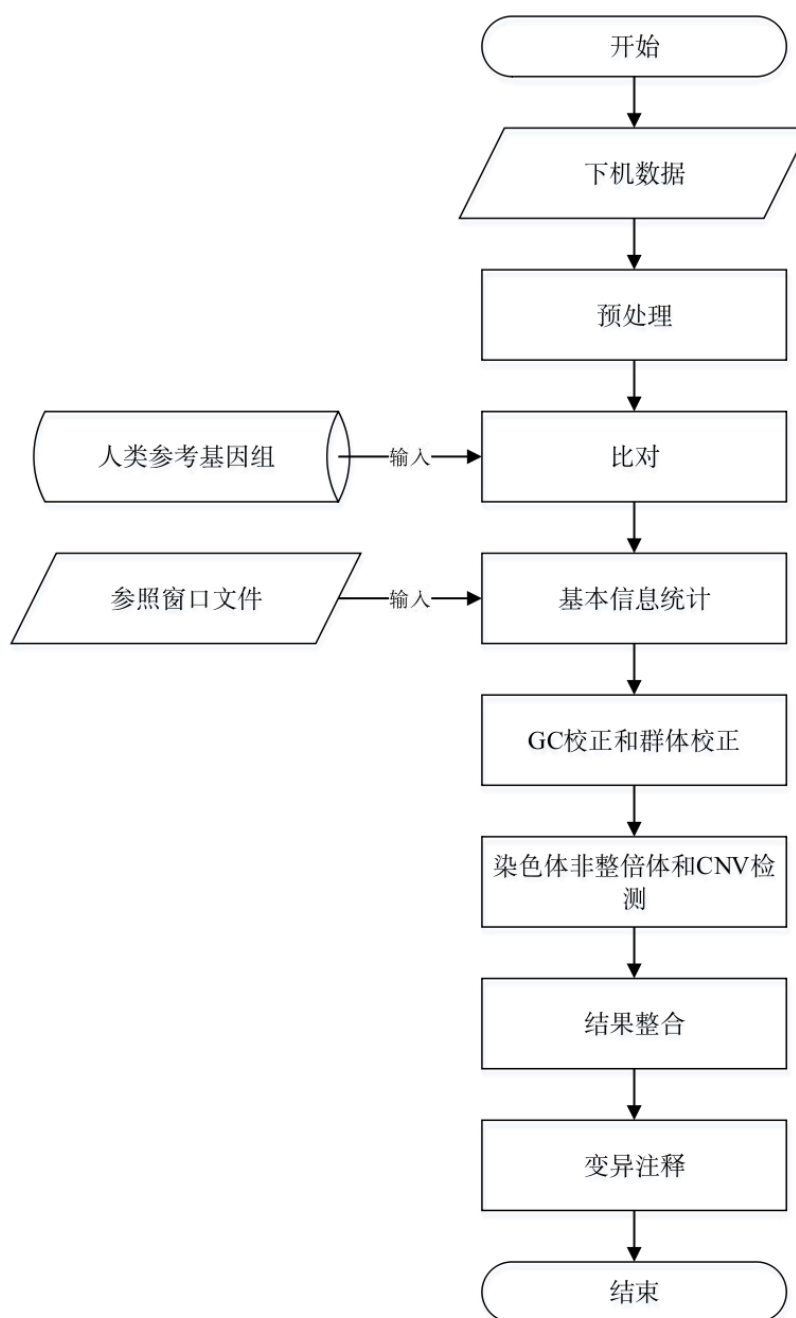


图1 生信分析流程图

8.1.2 生信分析流程阳性参考区间的确定

实验室应根据检测方法预期用途，针对染色体非整倍体变异及微缺失微重复变异，建立并验证阳性参考区间，保证检测性能满足预期要求。

以纳米球测序技术平台为例，选取不少于300例已知结果正常的样本（流产组织、全血、羊水各100例，每类样本中男性、女性各50例）进行检测，统计分析拷贝率分布。根据生物信息分析经验，一般情况下拷贝率过大、过小均属异常，即拷贝率小于参考区间下限时，为染色体单体；拷贝率大于参考区间上限时，为染色体三体，同理，针对微缺失微重复变异，若拷贝率小于参考区间下限时，为缺失；拷贝率大于参考区间上限时，为重复。即依据双侧置信区间确定该技术平台的阳性参考区间。

以纳米球测序技术平台为例，采用Kolmogorov-Smirnov正态性检验，依据P值判断拷贝率是否服从正态分布来确定阳性参考区间。具体流程如下：

- a) 拷贝率计算方法：将测序获得的数据比对到人类参考基因组（GRCh37 或 GRCh38），去除未比对、多重比对及重复序列后，使用唯一比对序列进行统计。以第 i 个窗口内序列数 N_i 为统计对象，对相邻窗口进行分析，获得各染色体拷贝率。
- b) 正态检验：采用 Kolmogorov-Smirnov D 检验对超过 300 例已知检测结果为正常对照样本的每条染色体的拷贝率进行正态性检验，根据正态分布直方图及 Kolmogorov-Smirnov 正态性检验判断数据是否服从正态分布。
- c) 阳性参考区间确定：依据正态性检验结果选择参考区间（99%置信区间）的计算方法：正态性检验时，若 $P > 0.05$ 表明数据呈正态分布，采用正态分布法（ $\bar{X} \pm 2.58SD$ ）计算参考区间；若 $P < 0.05$ 表明数据不呈正态分布，则采用百分位数法（P0.1 和 P99.9）计算参考区间。

8.2 数据质量控制

实验室应建立**经过验证并批准生效**的数据质控标准及SOP,明确各CNV-seq检测平台的数据合格的判定阈值。以纳米球测序技术平台为例，数据质量控制要求参考表3。

表 3 不同检测范围的数据质量控制要求

CNV 检测范围	数据质量控制要求
检测片段 $\geq 1M$	1、单样本有效序列数（Unique reads, UR） $\geq 4M$ 为最低合格标准 2、有效 GC 含量统计范围为 37%~42%之间为合格标准 3、各染色体序列数的归一化值的波动系数（coefficient of variation, CV） < 0.11 为合格标准
检测片段 $\geq 100K$	1、单样本有效序列数 $\geq 15M$ 为最低合格标准 2、有效 GC 含量统计范围为 38%~43%之间为合格标准 3、各染色体序列数的归一化值的波动系数 < 0.08 为合格标准

检测样本应通过规定的质量控制流程，质控合格后方可进入数据分析环节。质控结果接近阈值但经综合评估仍可用于检测分析的样本，应由至少两名具备相应资质的技术人员独立确认并完整记录。质控不合格样本，应重新进行样本前处理及DNA提取后复测；复测仍不合格时，实验室应与临床部门沟通评估，确定后续处置方案，相关记录应妥善保存。

8.3 分析阈值设置

实验室应根据检测平台建立并内部验证分析阈值（Cut-off值），且阈值标准应在文件中说明。以纳米球测序技术平台为例，不同的片段大小CNV的流程检出阈值不一样，参考表4。

表 4 CNV 检出阈值

CNV 片段大小	拷贝率阈值	
	Dup	Del
$< 1M$	≥ 1.325	≤ 0.675
$[1M, 5M)$	≥ 1.15	≤ 0.85
$\geq 5M$	≥ 1.075	≤ 0.925

以纳米球测序技术平台为例，非整倍性变异检出阈值如表5。

表5 非整倍性变异检出阈值

染色体	拷贝率阈值	
	三体	单体
chr19/chrX/chrY	≥ 1.05	≤ 0.95
其他染色体	≥ 1.025	≤ 0.975

8.4 结果判断

数据分析应严格按照产品说明书及实验室既定、验证通过的阈值标准进行结果判读，确保判读结果客观、一致、可重复。

8.5 特殊情形处理

对于质控结果处于临界区间的样本，实验室应建立多层级复核机制，确保分析结果可靠。所有分析流程、阈值设置、阈值调整及特殊样本处理均应完整记录并保存，确保全流程可溯源审查。

9 结果解读原则

9.1 总则

对于检出的非整倍体结果，建议直接进行报告及描述。

对于检出的CNV，建议进行致病性评估，并根据评估结果决定是否报告。

根据ACMG和ClinGen专家组在2019年提出的指南，CNV缺失涉及40项证据条目，具体条目及对应分值见附录A.1，CNV重复同样涉及40项证据条目，具体条目及对应分值见附录A.2。对CNV的致病性评估建议从以下五个部分进行：

- CNV 涉及的基因组内容物；
- CNV 是否包含剂量敏感基因或区域；
- CNV 包含的蛋白编码基因数量；
- CNV 相关的文献及数据库案例；
- CNV 遗传模式及患者家族史。

注：CNV缺失与重复的证据条目大部分通用，仅在第二部分评估中有差异，因此本文件在第二部分评估细则中，对缺失与重复变异不通用的证据条目将分别说明。其余部分如无特殊情形，不再对二者另行区分。

9.2 评估基因组内容物

本部分旨在对CNV基因组内容物进行初步评估。重点关注变异区域内是否包含蛋白编码基因或其他重要功能元件。建议使用UCSC、DECIPHER等数据库进行查询。CNV重要性初步评估应遵循以下原则：

- 待评估 CNV 包含蛋白编码基因或其他已知的重要功能元件（如增强子等调控区域），计0分。
- 待评估 CNV 不包含任何蛋白编码基因或已知的重要功能元件，或仅包含内含子序列、重复元件、假基因、ncRNA 等，计-0.6分。

9.3 评估基因或基因组区域重要性

9.3.1 基因或基因组区域重要性评估基本原则

本部分旨在对CNV与已知/预测的单倍剂量不足（HI）、三倍剂量敏感（TS）区域，以及与已知良性的基因/基因组区域的重叠情况进行评估。未经过ClinGen评估的区域或基因不适用本部分评估。待评估CNV的变异类型（缺失或重复）应与已知剂量敏感基因/区域的变异类型一致；对于ClinGen评估的剂量敏感基因/区域，应关注ClinGen最后一次评估日期，若日期较早，建议检索是否有新的证据支持或反对

ClinGen的评估结果。进行评估时，所涉及的基因建议采用MANE Select转录本，若无MANE Select转录本，可选择MANE Plus转录本或其他生物表达水平最高的转录本。

9.3.2 CNV 与已确定剂量敏感基因/区域重叠的评估

9.3.2.1 待评估 CNV 与已确定的剂量敏感基因/区域完全重叠，计 1 分。

9.3.2.2 待评估 CNV 与已确定的剂量敏感区域部分重叠，计 0 分。

9.3.2.3 完全重叠和部分重叠的判定，应遵循以下原则：

- a) 待评估 CNV 完全包含已确定的剂量敏感基因/区域，视为完全重叠；
- b) 待评估 CNV 与已确定剂量敏感区域的重叠部分占该区域的 80%以上，且重叠区域内蛋白编码基因与该区域一致，可视为完全重叠；
- c) 对于致病基因已明确的剂量敏感区域，待评估 CNV 完全包含该基因，可视为完全重叠；
- d) 对于致病基因已明确的剂量敏感区域，待评估 CNV 不包含该基因，应视为部分重叠；
- e) 对于致病基因未确定的剂量敏感区域，待评估 CNV 与该区域的重叠占比不足 80%，或重叠区域内蛋白编码基因与该区域不一致，应视为部分重叠。

9.3.3 CNV 缺失与明确的 HI 基因重叠的评估

9.3.3.1 待评估 CNV 一端断点位于 HI 基因内部，且覆盖 5' UTR 区域（不涉及 3' UTR），根据覆盖范围赋分：

- a) 覆盖部分编码区，计 0.9 分；
- b) 仅覆盖 5' UTR 区域：若该 5' UTR 区域有文献报道，计 0.45 分；若无文献报道，计 0 分；
- c) 文献报道应为覆盖 5' UTR 区域的缺失变异（部分覆盖即可），其他类型（如 SNV）不适用。

9.3.3.2 待评估 CNV 一端断点位于 HI 基因内部，且覆盖 3' UTR 区域（不涉及 5' UTR），根据覆盖范围赋分：

- a) 覆盖区域仅为非编码区，计 0 分；
- b) 覆盖区域位于最后一个外显子及倒数第二个外显子 3' 端 50bp 以内（即 NMD 逃逸区）：若有文献报道，计 0.9 分；若无文献报道，计 0 分；
- c) 覆盖区域包含倒数第二个外显子 3' 端 50bp 之前的区域，计 0.9 分；
- d) 文献报道的变异应为 NMD 逃逸区内的缺失变异，其他类型（如 SNV）不适用。

9.3.3.3 待评估 CNV 两端断点均位于同一 HI 基因内部（基因内 CNV），应参照 SNV 变异指南进行评估，建议参考 2015 年 ACMG/AMP 变异分级指南及其中文版、ClinGen 专家组的补充建议和共识以及 ACGS 变异分级实践指南中对于 PVS1 证据项的使用规则。赋分原则如下：

- a) 可使用 PVS1，计 0.9 分；
- b) 可使用 PVS1-Strong（强），计 0.45 分；
- c) 可使用 PVS1-Moderate（中等），计 0.3 分；
- d) 可使用 PVS1-Supporting（弱），计 0.15 分；
- e) PVS1 证据评级为 N/A，计 0 分。

9.3.4 CNV 重复与明确 HI 基因重叠的评估

9.3.4.1 待评估 CNV 完全包含一个 HI 基因，计 0 分。

9.3.4.2 待评估 CNV 两端断点均位于同一 HI 基因内部（基因内 CNV），应参照 SNV 变异指南进行评估，建议参考 2015 年 ACMG / AMP 变异分级指南及其中文版、ClinGen 专家组的补充建议和共识以及 ACGS 变异分级实践指南中对于 PVS1 证据项的使用规则。赋分原则如下：

- a) 可使用 PVS1，计 0.9 分；
- b) 可使用 PVS1-Strong，计 0.45 分；
- c) PVS1 证据评级为 N/A，计 0 分；
- d) 两端断点位于同一内含子内部，计 0 分。

9.3.4.3 待评估 CNV 一个断点位于 HI 基因内，且受检者表型与 HI 基因关联表型不一致或表型未知，计 0 分。

9.3.4.4 待评估 CNV 一个断点位于 HI 基因内，且受检者表型高度特异并与 HI 基因关联表型一致，计 0.45 分。

9.3.4.5 待评估 CNV 一个或两个断点位于临床意义未知基因内，计 0 分。

9.3.5 CNV 缺失变异单倍剂量不足预测的评估

9.3.5.1 对于 CNV 缺失变异，若 2 个及以上 HI 预测软件均预测待评估 CNV 内存在至少 1 个 HI 基因，计 0.15 分。

9.3.5.2 HI 预测的评估建议遵循以下原则：

- a) 若 CNV 未覆盖任何明确的 HI 基因/区域，应评估是否包含预测为 HI 的基因；
- b) 若 CNV 存在多个预测为 HI 的基因，得分仅计一次，不可累加；
- c) 仅针对关联疾病遗传模式为 X 连锁（X-Linked, XL）和常染色体显性（Autosomal Dominant, AD）的 OMIM-Morbid 基因进行预测；
- d) HI 预测软件建议同时参考 DECIPHER 的 pHaplo 值（ $\text{pHaplo} \geq 0.86$ ）和 gnomAD 的 pLI 值（ $\text{pLI} \geq 0.9$ ，性染色体 $o/e < 0.35$ 、常染色体 $o/e < 0.6$ ）。

9.3.6 CNV 与已知良性区域重叠评估

9.3.6.1 已知良性区域为 ClinGen 剂量敏感性评分为 40 分的区域。

9.3.6.2 待评估 CNV 小于已知良性区域，缺失变异计-1 分；重复变异应评估断点是否打断蛋白编码基因，未打断计-1 分，打断计 0 分。

9.3.6.3 待评估 CNV 大于已知良性区域，或与已知良性区域部分重叠，若重叠区域占待评 CNV 的 80% 以上，应进一步评估非重叠区域的内容：不包含蛋白编码基因，或包含的编码基因均为 ClinGen 评分为 40 分的基因，或非重叠区域在 DGV 金标准数据集或 gnomAD SV 数据集中的频率 $\geq 0.5\%$ ，均计-1 分；其余情况计 0 分。

9.4 评估蛋白编码基因数量

本部分旨在对 CNV 包含的蛋白编码基因数量进行评估。建议使用 UCSC、DECIPHER 等网站进行查询。CNV 中蛋白编码数量评估应遵循以下原则：

- a) 待评估 CNV 缺失，包含 0~24 个蛋白编码基因，计 0 分；包含 25~34 个，计 0.45 分；包含 35 个及以上，计 0.9 分；
- b) 待评估 CNV 重复，包含 0~34 个蛋白编码基因，计 0 分；包含 35~49 个，计 0.45 分；包含 50 个及以上，计 0.9 分；
- c) 基因簇/基因家族整体计为 1 个基因；若其中某一基因有文献报道与疾病相关，则该基因单独计数。

9.5 评估文献及数据库案例

9.5.1 文献及数据库案例评估基本原则

9.5.1.1 本部分应综合评估病例的 CNV 范围、遗传模式及表型信息，逐条进行判定。

9.5.1.2 案例检索范围包括文献报道，公共数据库（如 ClinGen、ClinVar、DECIPHER 等）以及实验室内部数据库。

9.5.1.3 评估时，应将 CNV 区域作为整体查询并核实案例。

9.5.1.4 CNV 案例选用建议遵循以下条件：

- a) 待评 CNV 与文献/数据库案例 CNV 的重叠区域占案例 CNV 的比例大于 80%；若为重复变异，还应同时满足重叠区域占待评 CNV 的比例大于 80%；
- b) 若为缺失变异，案例 CNV 的非重叠区域应不包含 OMIM Morbid 基因；
- c) 若为重复变异，案例 CNV 应不破坏 HI 基因；
- d) 案例有表型记录且不携带其他 CNV；
- e) 案例 CNV 区域无反对证据（如 DGV 记录、文献中有正常人记录并且无外显不全的记录等）；若为重复变异，还应排除案例 CNV 两端断点均位于同一基因内部的情况。

9.5.1.5 若待评估 CNV 本身不含 HI/TS 基因或区域，且难以找到内容物相同或相似的 CNV 案例，可通过评估 CNV 内特定基因的致病性来推断 CNV 的致病性；评估时应确保文献记录的突变类型与待评基因的致病机制一致。基因选择优先顺序如下：

剂量敏感评估分值未达到3分的基因>OMIM-Morbid基因>HI预测软件提示剂量敏感的基因>其他OMIM基因或有文献报道的基因（优先考虑显性遗传病基因）。

9.5.2 新发案例的评估

9.5.2.1 可使用案例表型高度特异且单一基因/区域相关，明确新发计 0.45 分/例，推测新发计 0.3 分/例。

9.5.2.2 可使用案例表型高度特异但非单一基因/区域相关，明确新发计 0.3 分/例，推测新发计 0.15 分/例。

9.5.2.3 可使用案例表型非高度特异和/或高度遗传异质性，明确新发计 0.15 分/例，推测新发计 0.1 分/例。

9.5.2.4 新发案例的评估应遵循以下原则：

- a) 特异性/非特异性表型的判定参考表 6；
- b) 未经生物学父母验证的案例按推测新发赋分；
- c) 待评估基因临床意义未明且预期表型不清时，应至少满足两个表型相似的新发病例，方可作为证据；
- d) 文献/数据库仅报道一例新发变异，且待评估 CNV 亦为新发，其表型与报道病例一致时，两病例可合并视为一个证据，第五部分评分不再重复计算；
- e) 累计得分最高为 0.9 分。

表 6 特异性/非特异性表型判断

表型	示例
高度特异性且单一基因/区域相关	瞳孔固定扩大（Gillespie 综合征） 胎儿肾上腺皮质细胞肿（Beckwith-Wiedemann 综合征） 特异性扫描结果、生化检测结果等
高度特异性但非单一基因/区域相关	脑白质营养不良 额骨骨嵴 骨骼发育不良 婴儿早期癫痫性脑病（并非简单的“癫痫发作”或“癫痫”） 一系列与 CHARGE 综合征相关的表现，例如缺损、心脏缺陷、后鼻孔闭锁、生长迟缓、生殖器异常和耳部异常
非高度特异和/或高度遗传异质性	智力障碍 发育迟缓 自闭症

9.5.3 表型不一致案例的评估

9.5.3.1 可使用案例表型与基因/基因组区域关联的表型不一致，或与大多数报道案例不一致，计 0 分或-0.3 分。

9.5.3.2 表型不一致案例的评估应遵循以下原则：

- a) 新发病例（来源文献/数据库）报告的表型与基因/区域关联的表型不一致，或仅与大多数报道案例不一致，推荐计 0 分；
- b) 应通过临床判断确定不同病例间表型不一致的证据是否充分，表型分析是否恰当，病例是否具有可比性。若证据充分，可计-0.15 分/例，最低-0.3 分。

9.5.4 遗传来源未知案例的评估

可使用案例表型与基因/基因组区域关联的表型一致，且高度特异，但变异遗传来源未知，赋分应遵循以下原则：

- a) 特异性/非特异性表型的判定参考表 6；
 - b) 表型特异案例，每例先证者计 0.1 分；
 - c) 智力发育迟缓、自闭症等非特异性表型案例，不计分；
- 以上累计得分最高 0.3 分。

9.5.5 家系共分离案例的评估

9.5.5.1 文献/数据库案例 CNV 与表型存在共分离时，按共分离数赋分：3~4 个，计 0.15 分；5~6 个，计 0.3 分；≥7 个，计 0.45 分。

9.5.5.2 共分离数计算应遵循以下原则：

- a) 共分离数不包含家系中的先证者；
- b) 仅同时具有基因型和表型，或根据家系关系确定为携带者的个体，方可计入共分离证据；
- c) 不同家系的分离数可累计。

注：表型在个体间可能存在表现度差异，但仍属同一表型谱。为避免“仅使用单一家系共分离证据”即可达到可能致病/致病分类的情况，本组证据最高计 0.45 分。若某些变异存在大量共分离证据，可考虑重新设定上限。

9.5.6 非共分离案例的评估

9.5.6.1 文献/数据库案例 CNV 与表型不共分离，表型特异，且在患者家系中另一相同表型患者中未检出，计 -0.45 分/家系。评分应遵循以下原则：

- a) 应考虑该非共分离是否存在生物学合理解释，如拟表型（环境影响所致表型）；
- b) 可能存在拟表型时，建议调整为 -0.15 分/家系。

累计最高 -0.9 分。

9.5.6.2 文献/数据库案例 CNV 与表型不共分离，表型特异，且在患者家系中无相同表型的家系成员中检出，计 -0.3 分/家系，累计最高 -0.9 分。

9.5.6.3 文献/数据库案例 CNV 与表型不共分离，表型非特异，且在患者家系中无相同表型的家系成员中检出，计 -0.15 分/家系，累计最高 -0.3 分。

9.5.6.4 携带者未表现相关表型时，以下情形不能判定为不共分离：

- a) 已知不完全外显或年龄依赖性外显；
- b) 表型特征临床识别困难（如亚临床表现、非典型特征）；
- c) 表型评估方法不充分（如未行影像学、生化检测等针对性检查）；
- d) 表现度差异；
- e) 基因组印记（基因表达受父母来源影响的表观遗传现象）或限性遗传（表型仅出现在某一性别）；
- f) 嵌合现象（同一个体由两种或多种遗传组成不同的细胞系构成的现象）。

9.5.7 对照和人群证据的评估

9.5.7.1 存在待评估 CNV 的病例对照研究，表型高度特异且具有显著性差异，计 0.45 分/项，累计最高 0.45 分。

9.5.7.2 存在待评估 CNV 的病例对照研究，表型非特异且具有显著性差异，计 0.3 分/项，累计最高 0.45 分。

9.5.7.3 存在待评估 CNV 的病例对照研究，变异在患者与对照组检出频率相近，且 CNV 人群频率 > 0.1%，计 -0.9 分。

9.5.7.4 显著性差异判定应遵循以下原则：

- a) 研究患者组总例数 ≥ 10；
- b) 与对照组相比 $p < 0.05$ ， $OR > 5$ ，且 95% 置信区间下限 > 1。

9.5.8 CNV 与常见人群变异重叠的评估

9.5.8.1 人群变异数据来源：DGV 金标准数据集、gnomAD SV 数据集或实验室内部构建的常见变异数据集。

9.5.8.2 单个人群数据集样本量应大于 1000。

9.5.8.3 待评估 CNV 与人群常见变异的重叠区域占待评估 CNV 的 80%以上，且非重叠区域不含 OMIM-Morbid 基因时，可采用该人群变异频率进行评估，赋分原则如下：

- a) $0.5\% \leq \text{频率} < 1\%$ ，计-0.9分；
- b) $0.1\% \leq \text{频率} < 0.5\%$ ，计-0.3分；
- c) $0.01\% \leq \text{频率} < 0.1\%$ ，计-0.15分；
- d) 使用多个数据集时，以最高频率为准。

9.5.8.4 若 CNV 相关疾病涉及不完全外显，则不适用本项评估。

9.6 评估遗传模式及病人的家族史

9.6.1 遗传模式及病人家族史评估基本原则

本部分旨在评估遗传模式及分析患者家族史。实际产前检测中，因产前样本临床表现及家系信息常不明确，该部分证据项使用受限，故建议送检家系以提高CNV评估精准度。评估应结合送检案例的表型及家系检出情况，包括患者表型、家族史和遗传方式；使用本部分证据项时，应考虑疾病是否存在不完全外显，若存在，则不减分。

9.6.2 CNV 为新发变异的评估

受检者检出CNV为新发，应在第四部分选择合适类别进行评分，最高0.45分。

9.6.3 CNV 为遗传变异的评估

9.6.3.1 受检者检出 CNV 为遗传，表型特异、可辨，无家族史，且遗传自表型正常父母，计-0.3分。

9.6.3.2 受检者检出 CNV 为遗传，表型非特异，无家族史，且遗传自表型正常父母，计-0.15分。

9.6.3.3 受检者检出 CNV 为遗传，家系中 CNV 与表型共分离，应在第四部分选择合适类别进行评分，最高 0.45 分。

9.6.4 CNV 与表型不共分离的评估

受检者检出CNV与表型不共分离，应在第四部分选择合适类别进行评分，最高-0.45分。

9.6.5 CNV 表型及遗传信息不全的评估

9.6.5.1 受检者遗传信息及表型信息均无法获得，计 0 分。

9.6.5.2 受检者遗传信息无法获得，表型非特异，且与已报道案例表型一致，计 0.1 分。

9.6.5.3 受检者遗传信息无法获得，表型特异，且与已报道案例表型一致，计 0.15 分。

9.7 致病性等级判断

根据CNV的类型选择相应评分细则进行评估，累加各部分得分，依据累计得分判定致病性等级。致病性等级分类及分值见表7。

表 7 CNV 致病性等级分类及相应分值

累加总得分	致病等级
累计得分 ≥ 0.99	致病
$0.90 \leq$ 累计得分 ≤ 0.98	疑似致病
$-0.89 \leq$ 累计得分 ≤ 0.89	临床意义未明
$-0.98 \leq$ 累计得分 ≤ -0.90	疑似良性
累计得分 ≤ -0.99	良性

10 报告规范

10.1 受检者信息

此部分内容应包含样本编号、姓名、社会学性别、送检原因、家系情况等与受检者相关的信息，确保信息真实、准确、可追溯。

10.2 产品检测信息

此部分应包含以下内容：

- a) 检测类型：明确产品能检测的变异类型；
- b) 检测方法：明确产品检测采用的方法（如低深度全基因组测序）。

10.3 变异信息

此部分内容应包含：

- a) 变异名称：CNV 结果的描述方式应符合人类细胞遗传学术语国际命名体制（International System for Human Cytogenomic Nomenclature, ISCN）或人类基因组变异协会（Human Genome Variation Society, HGVS）相关规范；
- b) 变异类型：明确标注为缺失（del）或重复（dup）；
- c) 变异遗传来源：明确为父亲、母亲、新发或未知；
- d) 变异结果描述：包括变异内容物（剂量敏感区域/基因、OMIM-Morbid 基因等）、患病人群数据库（如 DECIPHER）及正常人群频率数据库（如 DGV）中的相关记录、文献中患者的相关记录；
- e) 变异致病性的判定：明确判定为致病、疑似致病、临床意义未明；对于良性及疑似良性 CNV，因其在普通人群中携带率高，非致病相关因素，不纳入报告展示。
- f) 所有致病性变异均应在报告中展示；对于存在外显不全的致病性变异，应在结果说明部分明确说明其外显率及临床异质性。

10.4 检测局限性说明

报告应明确、全面描述检测局限性，该部分为遗传咨询的重要内容，应符合医学基因检测报告规范要求。CNV-seq 技术无法检出染色体高度重复、高度固缩区域（如近着丝粒、端粒区）、整倍性数目（如三倍体和其他异倍体）、易位和倒位及额外小标记染色体（small Supernumerary Marker Chromosome, sSMC）等染色体异常。对于复杂案例，应采用其它方法进行验证（如核型等方法），确保检测结果的可靠性。

10.5 测序图

报告中应呈现CNV对应的测序图，清晰展示CNV具体位置、拷贝数变化等关键信息。实验室应明确测序图纵坐标表示的类型（如copy ratio或copy number）；对于性染色体拟常染色体区域的缺失、重复情况，因其特殊性，应根据不同生物信息分析流程选择合适的展示形式，确保图形信息准确、可解读。

11 遗传咨询

11.1 检测前遗传咨询

11.1.1 送检前受检者（或监护人）应充分了解 CNV-seq 的检测范围和技术局限性，该技术对染色体高度重复、高度固缩区域的检测敏感性较低，无法准确检测 Y 染色体上无精子症因子 C 区（Azoospermia Factor C, AZFc）的 CNV。

11.1.2 受检者（或监护人）应提前知悉，检测可能报出致病性变异，且此类致病性变异可能在外显不全现象；受限于个体遗传背景差异及当前医疗水平，无法对该类变异的临床结局做出准确的预估。

11.1.3 受检者（或监护人）应提前知悉，检测可能报出临床意义未明变异；受限于当前医疗水平及数据库、文献记录，无法对该类变异做出准确的临床预估，其检出区域内基因与疾病的关联、疾病发病机制均未明确。

11.2 检测后遗传咨询

11.2.1 当检出致病或疑似致病变异时，应明确表型-基因型关联性（如心脏畸形、智力障碍等），以及家系共分离等全面信息综合讨论可能的预后及干预措施（如早期康复、专科随访），并告知再发风险（若为新发突变，排除父母一方为生殖嵌合后可确认再发风险低；若父母携带该变异，应根据父母临床主诉再次评估变异致病可能性以及复发风险）。

11.2.2 若变异存在外显不全，应结合临床表型及外显率进行评估（如某些 16p12.2 微缺失存在外显率不全），建议进一步验证（如父母 CNV-seq 检测）以明确变异来源。

11.2.3 对于性染色体上的变异，应关注男女表型差异：女性因性染色体随机失活可能导致临床表现轻重不一，但若变异位于拟常染色体区域，女性也可能出现较严重的临床表现。

11.2.4 若变异因为边界覆盖关键基因而被判定为致病，建议采用其他技术进行验证，如定量聚合酶链式反应（quantitative Polymerase Chain Reaction, qPCR）、SNP 芯片技术等。

11.2.5 当检出临床意义未明变异时，应向受检者（或监护人）解释变异的不确定性，避免过度解读；同时建议追踪相关文献及数据库更新（如 ClinVar、DECIPHER、OMIM 等），数据库更新可能导致变异致病性评估结果发生变化，另外还应进行家系共分离分析。

11.2.6 当检测结果提示存在第 6、7、11、14、15、20 号等 UPD 高发染色体区段时，应当推荐进行甲基化检测；若甲基化检测结果处于灰区，应选取羊水、脐带血等不同时期的样本进行染色体及甲基化验证，并平行比对分析结果。

附录 A

(规范性)

ACMG 指南建议 CNV 证据项及分值

A.1 ACMG 指南建议 CNV 缺失证据项及分值

ACMG指南建议CNV缺失证据项及分值见表A.1。

表 A.1 ACMG 指南建议 CNV 缺失证据项及分值

证据类型	证据项	评估分值
第一部分：基因组内容物的初步评估		
检出变异内容物	1A：包含蛋白质编码基因或其他已知的重要功能元件（如增强子等调节区）	0
	1B：不含蛋白质编码或任何已知的功能上重要的元件，或仅包含内含子序列、重复元件、假基因等的情况	-0.6
第二部分：与已知/预测的单倍剂量敏感（HI）或已知良性的基因/基因组区域重叠，若不满足则跳转至第三部分继续评估（若评分达到1分，则判为致病，不再继续往下评估。）		
与明确为单倍剂量敏感（HI）的基因或基因区域重叠并且考虑到诊断原因	2A：完全覆盖一个已知的 HI 基因/基因组区域	1
	2B：部分覆盖一个已知的 HI 基因组区域：	0
	CNV 未包含已知 HI 区域的关键基因或区域	
	不清楚已知 HI 区域的关键基因或区域是否受影响	
	HI 区域中无确定的关键基因或区域	0 或 0.45
	2C：覆盖 HI 基因的 5' UTR（不包括 3' UTR）	
	2C-1：5' UTR+部分编码区	
	2C-2：仅覆盖 5' UTR	

	2D: 覆盖 HI 基因的 3' UTR (不包括 5' UTR)	
	2D-1: 仅 3' UTR	0 或者 0.9
	2D-2: 仅覆盖最后一个外显子区域, 且最后一个外显子区域有致病突变报道	
	2D-3: 仅覆盖最后一个外显子区域, 且最后一个外显子区域无致病报道	
	2D-4: 除了最后一个外显子区域, 还包括其他外显子区域	
	2E: CNV 两端断点均在同一基因内部 (基因内 CNV; 基因水平序列变异)	0.9 (PVS1)、 0.45 (strong)、 0.3 (moderate)、 0.15 (supporting)
与已知的良性基因或基因组重叠	2F: 完全在一个已知的良性 CNV 区域内部	-1
	2G: 与已知良性 CNV 区域部分重叠, 但是还包括另外的基因组区域	0
单倍剂量不足预测	2H: 2 个或 2 个以上的 HI 预测软件预测出至少有一个 HI 基因	0.15
第三部分: 蛋白编码基因个数的评估		
蛋白编码基因个数	3A: 0-24 个基因	0
	3B: 25-34 个基因	0.45
	3C: 35+ 个基因	0.9
第四部分: 使用文献报道、公共数据库和/或实验室数据的案例对 CNV 进行详细案例评估		
个体病例证据-新发突变	4A: 所报道的表型是高度特异性的, 仅由某一特定的基因或者基因组区域引起	至多 0.9

	4B: 报告的表型与基因/基因组区域一致, 且是高度特异性的, 但不仅仅由某一特定的基因或者基因组区域引起	
	4C: 报道的表型与基因/基因组区域一致, 但不具有高度特异性和/或高度遗传异质性	
个体病例证据- 表型不一致	4D: 报道的表型与预期的基因/基因组区域不一致或总体上不一致	0 或-0.3
个体病例证据- 遗传来源未知	4E: 报道的表型与基因/基因组区域一致, 且是高度特异性的, 但是变异的遗传来源未知	0.1/案例, 至多 0.3
个体病例证据- 家系共分离	4F: 受影响家系成员 3-4	0.15
	4G: 受影响家系成员 5-6	0.3
	4H: 受影响的家系成员 7 或者更多	0.45
独立病例证据- 疾病和表型不共分离	4I: 未在先证者家族另一患者中检测到相同突变 (该病具有一致的、独特的、易辨认的表型, 且没有任何其它的拟表型)	-0.45/家族, 至多-0.9
	4J: 在先证者家系中正常人检测到相同突变 (该病具有一致的、独特的、易辨认的表型, 且没有任何其它的拟表型)	-0.30/家族, 至多-0.9
	4K: 在先证者家系中正常人检测到相同突变 (该病表型并不独特)	-0.15/家族, 至多-0.3
病例-对照和人 群证据	4L: 相比于对照组, 变异在患者中的统计学意义增加 (该病具有一致的、独特的表型)	0.45, 至多 0.45
	4M: 相比于对照组, 变异在患者中统计学意义增加 (该病不具有一致的、独特的表型或者表型未知)	0.3, 至多 0.45
	4N: 在患者及正常人中无统计学意义	-0.9
	4O: 与常见的人群变异重叠	至多-1.00

第 5 部分：评估遗传模式以及研究病人的家族史		
检出变异为新发变异	5A：在第 4 部分选择合适的分类进行评分	在第 4 部分（4A - 4D）进行选择评分
检出变异为遗传导致	5B：患者表型特异、可辨，无家族史。CNV 遗传自外观正常的父母	-0.3
	5C：患者表型不特异，无家族史。CNV 遗传自外观正常的父母	-0.15
	5D：在患者家系中 CNV 与表型共分离	在第 4 部分（4F-4H）进行选择评分
检出变异与表型不共分离	5E：在第 4 部分进行选择	在第 4 部分（4I-4K）进行选择评分
其它	5F：无法获得遗传信息	0
	5G：无法获得遗传信息，患者表型为非特异的，但是与已报道的相同案例表型一致	0.1
	5H：无法获得遗传信息，患者表型为特异的且与已报道的相同案例表型一致	0.15

A. 2 ACMG 指南建议 CNV 重复证据项及分值

ACMG指南建议CNV重复证据项及分值见表A. 2。

表 A. 2 ACMG 指南建议 CNV 重复证据项及分值

证据类型	证据项	评估分值
第一部分：基因组内容的初步评估		
检出变异内容物	1A：包含蛋白质编码基因或其他已知的重要功能元件，如增强子等调节区	0
	1B：不含蛋白质编码或任何已知的功能上重要的元件，或仅包	-0.6

	含内含子序列、重复元件、假基因等	
第二部分：与已知的三倍剂量敏感（TS）、单倍剂量不足（HI）或者良性基因/基因组区域重叠，若不满足则跳转至第三部分继续评估		
与已知的 TS 基因 或基因组区域重叠	2A: 完全覆盖；TS 基因或者最小的功能区域包含在拷贝数增加区域内	1
	2B: 部分覆盖一个已知的 TS 基因/基因组区域	0
	观察到的 CNV 不包含已知的致病基因或已确定的 TS 基因组的关键区域	
	或不清楚是否已知的致病基因或关键区域受到影响	
	或在这段 TS 基因组区域中没有确定的致病基因和功能区域	
与已知良性拷贝数 增加基因或基因组重叠	2C: 基因组组成与已知的良性拷贝数增加区域完全一致	-1
	2D: 小于已知的良性拷贝数增加区域，断点位置没有打断编码蛋白基因	-1
	2E: 小于已知的良性拷贝数增加区域，断点位置打断编码蛋白基因	0
	2F: 大于已知的良性拷贝数增加区域，但无新增的编码蛋白基因	-1
	2G: 与良性拷贝数增加区域重叠，但是包括另外的基因组区域	0
与已知的 HI 基因 重叠	2H: 完全包含 HI 基因	0
断点位于已知的 HI 基因内	2I: CNV 两端断点均在同一 HI 基因内部（基因内 CNV；可能造成 LOF）	0.9 (PVS1)、 0.45 (strong)
	2J: 一个断点位于 HI 基因内，患者（受检者）的表型与预期的 LOF 基因表型不一致或者未知	0

	2K: 一个断点位于 HI 基因内, 患者 (受检者) 的表型独特且与预期的 LOF 基因表型一致	0.45
断点位于其它基因内	2L: 一个或者两个断点位于临床意义未知的基因内	0
第三部分: 基因个数的评估		
蛋白编码基因个数	3A: 0-34 个基因	0
	3B: 35-49 个基因	0.45
	3C: 50+个基因	0.9
第四部分: 使用出版文献、公共数据库和/或内部实验室数据的案例对基因组内容进行详细评估。		
病例证据-新发突变	4A: 所报道的表型是高度特异性的, 仅只由某一特定的基因或者基因组区域引起	最高加 0.9 分
	4B: 报告的表型与基因/基因组区域一致, 且是高度特异性的, 但不仅仅由某一特定的基因或者基因组区域引起	
	4C: 报道的表型与基因/基因组区域一致, 但不具有高度特异性和/或高度遗传异质性	
独立病例证据-表型不一致	4D: 报道的表型与预期的基因/基因组区域不一致或总体上不一致	0 或 -0.3
独立病例证据-遗传来源未知	4E: 报道的表型与基因/基因组区域一致, 且是高度特异性的, 但是变异的遗传来源未知	0.10/案例, 至多 0.3
独立病例证据-家系共分离	4F: 受影响家系成员 3-4	0.15
	4G: 受影响家系成员 5-6	0.3
	4H: 受影响的家系成员 7 或者更多	0.45
独立病例证据-疾病	4I: 未在先证者家族另一患者中检测出相同突变 (该病具有一	-0.45/家族, 至多-0.9

病和表型没有共分离	致的、独特的、易辨认的表型，且没有任何其它的拟表型)	
	4J: 在先证者家系中正常人检测到相同突变(该病具有一致的、独特的、易辨认的表型，且没有任何其它的拟表型)	-0.3/家族，至多-0.9
	4K: 在先证者家系中正常人检测到相同突变(该病表型并不独特)	-0.15/家族，至多-0.3
病例-对照和人群证据	4L: 相比于对照组，变异在患者中有统计学意义地增加(该病具有一致的、独特的表型)	0.45
	4M: 相比于对照组，变异在患者中有统计学意义地增加(该病不具有一致的、独特的表型或者表型未知)	0.3，至多0.45
	4N: 在患者及正常人中该变异无统计学意义	-0.9
	4O: 与常见的人群变异重叠	最多-1
第5部分：评估遗传模式以及研究病人的家族史		
检出变异为新发变异	5A: 在第4部分选择合适的分类进行评分	在第4部分(4A-4D)进行选择评分
检出变异为遗传导致	5B: 患者表型特异、可辨，无家族史。CNV遗传自外观正常的父母	-0.3
	5C: 患者表型不特异，无家族史。CNV遗传自外观正常的父母	-0.15
	5D: 在患者家系中CNV与表型共分离	在第4部分(4F-4H)进行选择评分
检出变异与表型无共分离	5E: 在第4部分进行选择	在第4部分(4I-4K)进行选择评分
其它	5F: 无法获得遗传信息	0
	5G: 无法获得遗传信息，患者表型为非特异的，但是与已报道的相同案例表型一致	0.1

	5H: 无法获得遗传信息，患者表型为特异的且与已报道的相同 案例表型一致	0.15
--	---	------

参 考 文 献

- [1] T/GDPMAA 0001—2020 产前遗传学诊断拷贝数变异和纯合区域数据分析解读及报告规范
- [2] Riggs E R, Andersen E F, Cherry A M, 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)[J]. 2020.
- [3] Durkie M, Cassidy E J, Berry I, et al. ACGS Best Practice Guidelines for Variant Classification in Rare[J]. 2023.
- [4] 刘洪倩, 刘俊涛, 邬玲仟. 低深度全基因组测序技术在产前诊断中的应用专家共识[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(4): 293-296.
- [5] 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[J]. Genetics in medicine, 2015, 17(5): 405-423.
- [6] 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 Mar;20(3):351-359.
- [7] Abou Tayoun A N, Pesaran T, DiStefano M T, et al. Recommendations for interpreting the loss of function PVS1 ACMG/AMP variant criterion[J]. Human mutation, 2018, 39(11): 1517-1524.
- [8] Walker L C, de la Hoya M, Wiggins G A R, et al. Using the ACMG/AMP framework to capture evidence related to predicted and observed impact on splicing: Recommendations from the ClinGen SVI Splicing
-