ICS 11.100
CCS C 05

团 体 标 准

T/SZAS 117—2026

罕见病诊断变异临床解读规范

Specification for clinical interpretation of variants in rare disease diagnosis

2026－10－21 发布 2026－10－29 实施

深圳市标准化协会 发 布

目　　次

前言 II
1　范围 1
2　规范性引用文件 1
3　术语和定义 1
4　缩略语 1
5　罕见病诊断解读流程 2
6　变异解读原则 2
7　致病性分类 11
8　罕见病诊断报告通则 12
9　解读人员资质管理 12
参考文献 14

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。

本文件由中国医学科学院北京协和医院提出。

本文件由深圳市标准化协会归口。

本文件起草单位：中国医学科学院北京协和医院、武汉华大医学检验所有限公司、北京华大医学检验所有限公司、深圳华大基因股份有限公司、深圳华大基因科技有限公司、广州金域医学检验中心有限公司、北京贝瑞和康医学检验实验室有限公司、杭州博圣医学检验实验室有限公司、北京智因东方转化医学研究中心有限公司。

本文件主要起草人：张抒扬、刘雅萍、王薇、邱正庆、睢瑞芳、田庄、马明圣、吴南、田欣伦、聂敏、赵秀丽、蒋宇林、郭丹、金晔、陈雨、戴文韬、唐红钰、谢莉君、吴昊、潘丹丹、王凯、吴亚、袁玉英、姜丹、周晓垂、江晓丽、李倩一、王娟飞、肖锐、范宁、谷为岳、祝娟娟。

罕见病诊断变异临床解读规范

1 范围

本文件规定了罕见病诊断解读流程、变异解读原则、致病性分类、罕见病诊断报告通则、解读人员资质管理。

本文件适用于开展遗传病诊断与相关基因检测的医疗机构、医学实验室及其专业技术人员，用于孟德尔遗传疾病相关变异的临床评估与解读工作。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

无功能变异 null variant

导致基因产物（蛋白质或 RNA）的正常生物学功能完全丧失或显著减弱的基因序列改变，又称功能丧失变异。

3.2

错义变异 missense variant

基因编码区中，一个碱基被替换成另一个碱基，最终导致蛋白质中相应位置的氨基酸被另一种氨基酸取代。

3.3

起始密码子变异 initiation codon variant

基因编码区中，负责翻译起始的甲硫氨酸密码子（ATG）序列改变。

3.4

反式 in trans

同一基因的两个变异分别位于不同等位基因上的排列方式。

3.5

顺式 in cis

同一基因的两个变异位于相同等位基因上的排列方式。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

ACGS：临床基因组科学协会（Association for Clinical Genomic Science）

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

AD：常染色体显性遗传（Autosomal Dominant Inheritance）

AMP：分子病理学协会（Association for Molecular Pathology）

AR：常染色体隐性遗传（Autosomal Recessive Inheritance）

B：良性的（Benign）

CHPO：中文人类表型标准用语（Chinese Human Phenotype Ontology）

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

DECIPHER：人类染色体不平衡与表型数据库（Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources）

ESP：外显子组测序项目（Exome Sequencing Project）

ExAC：外显子组聚合联盟（Exome Aggregation Consortium）
GenCC：基因策展联盟（Gene Curation Coalition）
gnomAD：基因组聚合数据库（Genome Aggregation Database）
HPO：人类表型标准用语（Human Phenotype Ontology）
LB：可能良性的（Likely benign）
LOD：优势比的对数（Logarithm of the Odds）
LOF：功能丧失（Loss of Function）
LP：可能致病的（Likely pathogenic）
MANE：美国国家生物技术信息中心与欧洲分子生物学实验室欧洲生物信息学研究所匹配注释项目（Matched Annotation from NCBI and EMBL-EBI）
MCR：错义约束区域（Missense constraint region）
mRNA：信使RNA（Messenger RNA）
OE：观察值/期望值（Observed / Expected）
OR：优势比（Odds Ratio）
P：致病的（Pathogenic）
REVEL：罕见外显子组变异集成学习器（Rare Exome Variant Ensemble Learner）
RNA：核糖核酸（Ribonucleic Acid）
STR：短串联重复序列（Short Tandem Repeat）
SVI：序列变异解读（Sequencing Variation Interpretation）
UCSC：加利福尼亚大学圣克鲁兹分校（University of California, Santa Cruz）
VUS：意义未明的变异（Variant of uncertain significance）
XL：X连锁遗传（X-Linked Inheritance）

5 罕见病诊断解读流程

罕见病诊断解读流程以实验室自建数据库为基础，依次开展表型匹配与候选变异筛选、变异致病性解读、检测报告规范撰写等核心技术环节，详见表 1。

表 1 罕见病诊断解读流程描述

核心流程	类型描述
表型匹配与候选变异筛选	宜采用 HPO 或 CHPO 词条标准化处理临床表型信息，进行表型匹配及位点筛选，筛选临床表型相符，家族史或遗传模式相符，致病性评级较高的变异。
变异致病性分类解读	根据人群频率、文献信息、家系共分离情况、软件预测信息等，按照 ACMG/AMP 序列变异解读指南规则完成变异致病性分类。
检测报告规范撰写	结合样品信息、产品信息、报告规则、变异相关信息、技术局限性完成诊断报告出具；为保障报告质量，宜采纳自动化解读报告系统。

6 变异解读原则

6.1 通则

本文件制定过程中参考了ACMG/AMP序列变异解读指南、ClinGen序列变异解读工作小组（SVI）发布的相关文件、ACGS变异分级实践指南等国际指南制定。若上述国际指南或ClinGen SVI工作小组发布的专病基因解读指南发生重大修订或更新，应以最新版本的标准规范为准；其中，SVI专病指南中针对特定疾病基因的相关解读原则，应以该专病指南为准。

按照人群数据、计算预测数据、功能数据、共分离数据、等位基因数据、数据库数据等，ACMG/AMP序列变异解读指南设定了26项证据条目，主要分为两类，详见表2。

表 2　ACMG 指南证据项分类描述

证据项分类	类型描述
致病性证据项	非常强（very strong，PVS1），强（strong，PS1～PS4），中等（moderate，PM1～PM6），或支持性证据（supporting，PP1～PP4）
良性证据项	独立（stand-alone，BA1），强（strong，BS1～BS4），或支持性证据（supporting，BP1～BP5，BP7）

6.2　致病性证据项等级分类通则

变异致病性的证据项详见表 3，各致病性证据的等级依据现有研究予以升降级，证据升降级体系的具体细则详见各证据项的相关规定。

表 3　致病性证据项分类通则

致病性证据	分类
非常强	PVS1：在已知疾病机制为功能丧失（LOF）的基因中的无功能变异（无义变异、移码变异、经典±1 或±2 的剪接变异、起始密码子变异、单个或多个外显子缺失，以及 RNA 剪接实验结果提示导致异常剪接的变异）。
强	PS1：与已确定的致病或可能致病变异具有相同的氨基酸改变，或剪接供体/受体基序内的变异（影响剪接）具有相同的剪接预测影响。 PS2：经父母亲缘关系验证的新发变异(*de novo*)，无家族史。 PS3：体内、体外功能实验已明确该变异会导致基因功能受损（不包括 RNA 剪接实验）。 PS4：变异出现在患病群体中的频率显著高于对照群体。
中等	PM1：位于已知无良性变异的关键功能域和/或位于功能未知的变异热点区域。 PM2：ESP、ExAC、gnomAD 等数据库中正常对照人群频率收录为低频甚至未收录。 PM3：在隐性遗传病中，在患者待分类变异反式或相位未知位置上检测到另外一个致病或可能致病或意义未明的变异。 PM4：非重复区域框内插入/缺失或终止密码子丢失导致的蛋白长度发生变化的变异。 PM5：与已确定的致病或可能致病的错义变异处于同一个氨基酸位置，但不同氨基酸改变的变异。 PM6：未经父母亲缘关系验证的新发变异。
支持	PP1：变异与疾病在家系中共分离。 PP2：该错义变异位于一个良性错义变异频率较低，且错义变异为其常见致病机制的基因。 PP3：计算证据支持对基因或基因产物的有害影响（保守、进化、剪接影响等）。 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。
注1：无义变异：基因编码区中，原本编码氨基酸的密码子突变为终止密码子（UAA、UAG、UGA）的序列改变。 **注2**：移码变异：基因编码区中，因插入或缺失的核苷酸数目非3的整数倍，导致翻译阅读框被破坏的变异。 **注3**：经典±1或±2的剪接变异：位于剪接供体位点+1/+2位或剪接受体位点-1/-2位的变异。	

6.3　良性证据项等级分类通则

良性变异的分类详见表 4，各良性证据的等级依据现有研究予以升降级，证据的升降级细则见各证据项细则。

表 4　良性证据项分类通则

良性证据	分类
独立证据	BA1：一个变异在任何一个超过 2000 个等位基因的人群中频率>5%。
强	BS1：该变异等位基因频率高于该疾病的预期频率。 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：体内、体外功能实验已明确该变异不会对蛋白功能产生破坏性影响。 BS4：在一个家系成员中不符合遗传共分离。
支持	BP1：该错义变异位于一个已知主要由截短变异致病的基因。 BP2：在完全外显的显性遗传病中，检出与同一基因的另一个已知致病变异反式排列，或者在任意遗传模式中，检出与同一基因的另一个已知致病变异顺式排列。 BP3：功能未知重复区域内的缺失/插入，且未导致基因编码框改变。 BP4：多种计算证据表明变异对基因或基因产物无影响。 BP5：在已经有另一致病原因的病例中发现的变异。 BP7：同义变异或内含子变异预测对剪接没有影响。 注：BP7 只有满足 BP4 时才适用。

6.4 证据项细则

6.4.1 PVS1

本证据项适用于致病机制为功能丧失（LOF）的无功能变异，结合 ACMG/AMP 序列变异解读指南、ClinGen 序列变异解读工作小组（SVI）发布的相关文件、ACGS 变异分级实践指南等相关分类标准与指南进行证据项等级调整，可辅助参考相关预测工具（如 PVS1Pro 无功能变异注释软件，https://pvs1pro.bgi.com）。

PVS1 证据项使用应符合以下要求：

a) 应参考 ClinGen、GenCC 等数据库确认基因－疾病有效性，且所适用疾病的致病机制为功能丧失（LOF）；

b) 转录本应参考 MANE select（精选）或 MANE plus（扩展）转录本，若不同转录本对应的变异致病性预测结果不一致，应对本证据项等级进行降级应用；

c) 提前终止变异若位于 NMD 逃逸区，应结合变异是否影响基因关键功能域，对本证据项等级进行调整；

注1：NMD（Nonsense-mediated mRNA decay）——无义介导的mRNA降解：真核生物中高度保守的mRNA质量监控与转录后调控机制，通过识别并快速降解开放阅读框内携带提前终止密码子的mRNA转录本，阻止截短类或潜在毒性蛋白的合成，同时参与调控部分正常生理mRNA的表达与稳定性。

注2：NMD逃逸区：mRNA开放阅读框内的特定区域，该区域内的提前终止密码子无法有效触发无义介导的mRNA降解（NMD）通路，导致携带提前终止密码子的mRNA得以稳定存在并翻译产生截短型蛋白的基因组/转录本区域。基因3’端NMD逃逸区位于该基因最后一个外显子以及倒数第二个外显子的最后50～55个核苷酸范围内，5’端NMD逃逸区位于该基因前100个核苷酸范围内，可参考DECIPHER数据库中各基因NMD逃逸区的具体位置。

d) 非无功能变异（内含子变异、同义变异等）应依据 RNA 剪接实验数据对是否适用 PVS1 证据项进行评估；

e) 任何使用 PVS1 证据的变异，不应再使用 PM1，PM4，PP2，PP3。

6.4.2 PS1

根据2015年ACMG/AMP指南、ClinGen SVI工作小组更新的建议共识，对已知的相同氨基酸改变及剪接供体/受体基序不同位置变异的致病性，进行PS1证据项等级调整。

PS1证据项使用应符合以下要求：

a) 剪接供体/受体基序变异评估 PS1 时，待分类变异与已知致病或可能致病变异的预测剪接事件应完全一致，详见表 5、表 6；

注1：剪接供体基序：外显子最后3个碱基及紧邻外显子的3～6个内含子核苷酸。

注2：剪接受体基序：外显子首个碱基以及外显子边界上游3～20个核苷酸。

b) 已知致病或可能致病的变异应有临床证据（文献）支持；

c) PS1 不应与 PM4 联用。

表 5 PS1 同一氨基酸残基/核苷酸改变解读规则建议

<table>
<tr><th>类型</th><th colspan="2">待分类变异</th><th>分值/每例</th></tr>
<tr><td rowspan="6">PS1</td><td colspan="2">待分类变异所在的氨基酸位置已存在相同氨基酸改变的致病变异</td><td rowspan="3">4</td></tr>
<tr><td colspan="2">待分类变异为起始密码子变异，其所在的氨基酸位置已存在致病变异</td></tr>
<tr><td colspan="2">待分类变异为非编码 RNA 基因变异，其所在的核苷酸位置已存在致病变异</td></tr>
<tr><td colspan="2">待分类变异所在的氨基酸位置已存在相同氨基酸改变的可能致病变异</td><td rowspan="3">2</td></tr>
<tr><td colspan="2">待分类变异为起始密码子变异，其所在的氨基酸位置已存在可能致病变异</td></tr>
<tr><td colspan="2">待分类变异为非编码 RNA 基因变异，其所在的核苷酸位置已存在可能致病变异</td></tr>
<tr><td colspan="4">PS1 分值对应等级</td></tr>
<tr><td colspan="2">PS1_Moderate</td><td colspan="2">PS1</td></tr>
<tr><td colspan="2">2</td><td colspan="2">4</td></tr>
</table>

表 6　PS1 剪接供体/受体基序变异（影响剪接）解读规则建议

与已知致病或可能致病变异具有相同剪接预测时的 PS1 应用				
正在评估的变异（VUA）	适用于 VUA 的预测证据	已知变异相对于 VUA 的位置	适用于 VUA 的 PS1 等级	
			已知变异为 P	已知变异为 LP
位于剪接供体/受体±1,2 位之外	PP3	相同核苷酸	PS1	PS1_Moderate
	PP3	位于同一剪接供体/受体基序内（包括±1,2 位）	PS1_Moderate	PS1_Supporting
位于剪接供体/受体±1,2 位	PVS1	位于同一剪接供体/受体±1,2 位	PS1_Supporting	N/A
	PVS1	位于同一的剪接供体/受体基序内,但在±1,2 位之外	PS1_Supporting	PS1_Supporting
	PVS1_Strong PVS1_Moderate PVS1_Supporting	位于同一剪接供体/受体±1,2 位	PS1	N/A
	PVS1_Strong PVS1_Moderate PVS1_Supporting	位于同一的剪接供体/受体基序内,但在±1,2 位之外	PS1_Moderate	PS1_Supporting

6.4.3　PS2/PM6

PS2适用于经父母亲缘关系验证的新发变异(*de novo*)，且患者的家族史符合新发变异的特征，患者的表型与变异基因异常引起的表型相吻合；未经父母亲缘关系验证的新发变异适用于PM6，证据项等级详见表7、表8。

PS2/PM6证据项使用应符合以下要求：

a)　X 连锁遗传相关疾病：若变异在先证者母亲中证实为新发（母亲无明显临床受累）；且除其患病儿子外，母亲无患病兄弟或其他患病男性亲属，可应用新发变异证据；

b)　常染色体隐性遗传相关疾病：若在与常染色体隐性遗传疾病相关基因中发现新发变异，但未检出另一个致病或可能致病变异，则新发变异证据应下调一个等级；

c)　疑似生殖系嵌合：多个同胞受累且双亲外周血均未检出该变异，在亲子关系得到确认后，可应用新发变异判定标准；

d)　存在捐卵、代孕、胚胎移植等情形时，应审慎使用该证据；

e)　产前样本表型信息有限、胎儿处于快速发育阶段，且当前医学对相关疾病认知存在局限，该证据项应谨慎使用；

f)　PS2/PM6 证据项的应用遵循表型一致性原则，应审慎联用 PP4 证据。

表 7　新发变异单例计分值

表型一致性	分值/先证者	
	明确新发（确认生物学父母）	假定新发（未确认生物学父母）
表型与基因高度特异	2	1
表型与基因一致，但非高度特异	1	0.5
表型与基因一致，但非高度特异，且遗传异质性高（最高得分为 1 分）	0.5	0.25
表型与基因不一致	0	0

表 8　不同案例计分对应的新发证据（PS2/PM6）等级的调整建议

Supporting (PS2_Supporting or PM6_Supporting)	Moderate (PS2_Moderate or PM6)	Strong (PS2 or PM6_Strong)	Very Strong (PS2_VeryStrong or PM6_VeryStrong)
0.5	1	2	4

6.4.4 PS3/BS3

PS3证据项适用于经体内、体外功能实验明确证实可导致基因功能受损的变异；反之，功能实验证实基因功能未受损的变异，适用BS3证据项。证据项等级主要依据致病性几率（odds of pathogenicity，OddsPath）判定，详见表9；若无法获取Odds值，可结合酶活实验、动物敲除模型等功能研究结果调整证据项等级。

PS3/BS3证据项使用应符合以下要求：

a) 功能实验应确保有效性与重复性，应设置阴、阳性对照，并开展技术重复与生物学重复验证；
b) 应匹配疾病发病机制与实验方法适用性，明确功能实验范畴不含 RNA 剪接实验。

表 9 PS3/BS3 证据项等级

OddsPath 值	证据项等级
<0.053	BS3
<0.23	BS3_Moderate
<0.48	BS3_Supporting
0.48-2.1	不确定
>2.1	PS3_Supporting
>4.3	PS3_Moderate
>18.7	PS3
>350	PS3_VeryStrong

6.4.5 PS4

当变异在患病群体中的携带频率显著高于对照群体时，可根据OR值（文献中有病例－对照研究结果，OR值＞5且95%置信区间不包含1）或计算先证者案例数量，对该证据项的等级进行调整。

PS4证据项使用应符合以下要求：

a) OR 值计算：针对待分类变异，若文献中存在病例－对照研究结果，OR 值＞5 且 95%置信区间(95% CI)不包含 1，可适用 PS4；
b) 计算先证者案例数：应满足以下任一条件：
   1) 待分类变异关联常染色体显性遗传或 X 连锁遗传疾病，且文献中无病例－对照研究数据；
   2) OR 值计算不满足上述适用规则，但该变异在多例具有相同典型表型的先证者中均被检出。具体详见表 10。

表 10 PS4 证据项等级的使用建议

证据项等级	PS4	PS4_Moderate	PS4_Supporting
先证者数量	≥15	6～14	2～5

应用先证者案例数量使用PS4证据项时，应满足：

a) 待分类变异频率满足低频；
b) 同一先证者（不同文献中）不应重复计数。

6.4.6 PM1

若蛋白关键结构域无良性变异，已发现的错义变异均被证实为致病或可能致病变异，则位于该关键结构域的错义或整码变异可采用PM1证据项。若基因中未明确功能的区域存在多个致病或可能致病变异，且发生于变异热点区域，同时其一个或多个相邻氨基酸中存在较高频率已知致病或可能致病变异，亦可采用PM1证据项。相关判定可参考gnomAD、UCSC等数据库的预测结果，如gnomAD中MCR missense OE参数，当0＜OE≤0.2112时，使用PM1；当0.2112＜OE≤0.3747时，使用PM1_Supporting。若missense OE值不满足条件，可根据数据库收录或文献报道的蛋白关键结构域，结合变异具体位置，使用PM1证据。

6.4.7 PM2/BA1/BS1/BS2

根据ESP、ExAC、gnomAD等数据库的正常对照人群频率数据，开展PM2/BA1/BS1/BS2证据项的应用。PM2/BA1/BS1/BS2使用应符合以下要求：

a) 待评估变异在正常对照人群中的频率为低频或未被收录时，可适用 PM2 证据项。ClinGen SVI 工作小组建议将 PM2 证据项的权重调整为 PM2_Supporting；
b) 变异在任一超过 2000 个等位基因的人群队列中频率＞5%，可适用 BA1；
c) 等位基因在对照人群中的频率高于对应疾病的发病率，可适用 BS1；
d) 对于早发且完全外显的疾病，若该变异在健康成人中以隐性遗传（纯合子）、显性遗传（杂合子）或 X 连锁遗传（半合子）形式存在，可适用 BS2。

6.4.8 PM3/BP2

在隐性遗传病中，相同基因另一个变异的相位状态（反式排列或相位未知），对当前待分类变异的致病性判定具有重要影响。依据ClinGen SVI工作小组建议的PM3评分规则（见表11和表12），对PM3证据项进行等级调整。

表 11 SVI 专家组建议的 PM3 评分规则

其他变异的分类/合子状态	先证者得分	
	确认反式	相位未知
致病或可能致病变异	1.0	0.5（P） 0.25（LP）
纯合 （最高 1 分）	0.5	N/A
意义未明的变异 （最高 0.5 分）	0.25	0.0

表 12 不同案例计分对应的 PM3 证据项等级的调整建议

PM3_Supporting	PM3	PM3_Strong	PM3_Very Strong
0.5	1	2	4

相反，当已知致病变异与另一个待分类变异呈顺式分布时，这可以作为待分类变异的良性支持证据项(BP2)。

6.4.9 PM4/BP3

PM4证据项适用于非重复区域框内插入/缺失或终止密码子丢失导致蛋白长度改变的变异；BP3证据项适用于功能未知重复区域内（如常见STR重复区均不适用BP3或PM4）的框内插入/缺失多个氨基酸的变异（重复区域的判定可参考UCSC数据库中的重复标签）。对于功能获得效应基因，其最后一个外显子中的截短变异，若经预测或证实导致功能获得效应，应采用PM4证据项。

6.4.10 PM5

本证据项适用于相同的氨基酸残基位置，存在已知致病或可能致病的其他变异，且该变异与待评估变异导致不同氨基酸改变。PM5证据项的等级调整详见表13、表14。

PM5使用应符合以下要求：

a) 应评估待评估变异是否影响基因剪接功能；若可能导致异常剪接，应审慎使用本证据项；
b) 已知明确致病变异或可能致病变异进行致病性评级时，不得依赖 PM5 证据项，以避免证据项循环引用；
c) 已知致病或可能致病变异应有临床证据（文献）支持。

表 13　PM5 解读规则

类型	评估相同密码子的其他变化	分值/每例
PM5	变异所在的氨基酸位置，已存在导致不同氨基酸改变的致病错义变异，且评估变异的 Revel 或 Grantham 评分≥已知致病变异的 Revel 或 Grantham 评分	2
	框内缺失或重复与已知致病变异重叠一个或多个氨基酸残基	
	变异所在的氨基酸位置，已存在导致不同氨基酸改变的可能致病错义变异，且评估变异的 Revel 或 Grantham 评分≥已知的可能致病变异的 Revel 或 Grantham 评分	1
	框内缺失或重复与可能致病变异重叠一个或多个氨基酸残基	

PM5 证据项等级的使用建议		
PM5_Supporting	PM5	PM5_Strong
1	2	4

表 14　Grantham distance

Arg	Leu	Pro	Thr	Ala	Val	Gly	Ile	Phe	Tyr	Cys	His	Gln	Asn	Lys	Asp	Glu	Met	Trp	
110	145	74	58	99	124	56	142	155	144	112	89	68	46	121	65	80	135	177	Ser
	102	103	71	112	96	125	97	97	77	180	29	43	86	26	96	54	91	101	Arg
		98	92	96	32	138	5	22	36	198	99	113	153	107	172	138	15	61	Leu
			38	27	68	42	95	114	110	169	77	76	91	103	108	93	87	147	Pro
				58	69	59	89	103	92	149	47	42	65	78	85	65	81	128	Thr
					64	60	94	113	112	195	86	91	111	106	126	107	84	148	Ala
						109	29	50	55	192	84	96	133	97	152	121	21	88	Val
							135	153	147	159	98	87	80	127	94	98	127	184	Gly
								21	33	198	94	109	149	102	168	134	10	61	Ile
									22	205	100	116	158	102	177	140	28	40	Phe
										194	83	99	143	85	160	122	36	37	Tyr
											174	154	139	202	154	170	196	215	Cys
												24	68	32	81	40	87	115	His
													46	53	61	29	101	130	Gln
														94	23	42	142	174	Asn
															101	56	95	110	Lys
																45	160	181	Asp
																	126	152	Glu
																		67	Met

注：Grantham distance是一种用于计算两种氨基酸之间进化距离的方法，基于三个关键的化学性质：组成、极性和分子体积。这种方法被用来评估错义变异的影响，距离越大，预期的置换越有害。

6.4.11　PP1/BS4

PP1证据项适用于变异与疾病在家系中呈现共分离。应用PP1证据项时，待评估变异应为低频变异（即满足PM2_Supporting）。该证据项的等级应根据共分离次数计算LOD值，并参照表15～17进行判定（不同家系的LOD值可累加）。受累个体的共分离次数以减数分裂次数计算，即家系中存在共分离的患者数量减1。若家系成员中未观察到共分离，则应使用BS4证据项。

在应用过程中，应核实家系成员的生物学亲缘关系，排除收养、精子/卵子捐赠及其他非生物学亲缘关系；同时应考虑疾病的不完全外显、表型异质性及年龄或性别等依赖性外显率。对于推测基因型，以及不完全外显或年龄依赖型疾病，可结合具体疾病及家系特征考虑应用相关共分离证据。

表 15　PP1 证据项等级的使用建议

PP1	PP1_Moderate	PP1_Strong
0.6≤LOD<1.2	1.2≤LOD<1.5	LOD≥1.5

表 16　AD/XL 疾病 LOD 值对应表

显性共分离次数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
LOD 值	0.3	0.6	0.9	1.2	1.5	1.8	2.1	2.4	2.7	3.0	3.3	3.6	3.9	4.2	4.5

表 17　AR 疾病 LOD 值对应表

		一般建议										
		非患者隐性分离										
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
患者共分离	0	0	0.12	0.25	0.37	0.5	0.62	0.75	0.87	1	1.12	1.25
	1	0.6	0.73	0.85	0.98	1.1	1.23	1.35	1.48	1.6	1.73	1.85
	2	1.2	1.33	1.45	1.58	1.7	1.83	1.95	2.08	2.2	2.33	2.45
	3	1.81	1.93	2.06	2.18	2.31	2.43	2.56	2.68	2.81	2.93	3.06
	4	2.41	2.53	2.66	2.78	2.91	3.03	3.16	3.28	3.41	3.53	3.66
	5	3.01	3.14	3.26	3.39	3.51	3.63	3.76	3.88	4.01	4.13	4.26
	6	3.61	3.74	3.86	3.99	4.11	4.24	4.36	4.49	4.61	4.74	4.86
	7	4.21	4.34	4.46	4.59	4.71	4.84	4.96	5.09	5.21	5.34	5.46
	8	4.82	4.94	5.07	5.19	5.32	5.44	5.57	5.69	5.82	5.94	6.07
	9	5.42	5.54	5.67	5.79	5.92	6.04	6.17	6.29	6.42	6.54	6.67
	10	6.02	6.15	6.27	6.4	6.52	6.65	6.77	6.9	7.02	7.15	7.27

6.4.12　PP2/BP1

PP2证据项应参考gnomAD数据库中Missense Z值：当Missense Z值≥3.09时，可应用PP2证据项。若截短型或无功能变异为某基因已知的唯一致病变异类型，则该基因上的新发错义变异可应用良性证据BP1。此外，PP2不应与PM1联用。

6.4.13　PP3/BP4/BP7

当多种生物信息学预测方法评估变异对基因或基因产物产生有害效应或影响时，可应用生物信息学预测类证据项。可结合REVEL、BayesDel、SpliceAI等工具的预测结果，对相关证据项的等级进行调整。

PP3/BP4/BP7使用应符合以下要求：

a)　BayesDel 是针对错义变异的综合性预测工具，其结果作为 PP3/BP4 的支持性参考证据使用，不与其他预测算法叠加计数，详见图 1；

b)　经典剪接位点之外的变异，依据 SpliceAI 评分规则使用 PP3/BP4/BP7，详见图 2；

c)　RNA 研究表明对剪接无影响的内含子变异和同义变异使用 BP7(RNA)。通过适当的体外实验证实某种替换对剪接无影响时，可将 BP7 权重提升至 BP7_Strong(RNA)，详见图 3，BP7 证据项仅适用于非肿瘤组织样本的剪接检测结果；

d)　PM1 与 PP3 的组合贝叶斯分值不应超过 4 分。

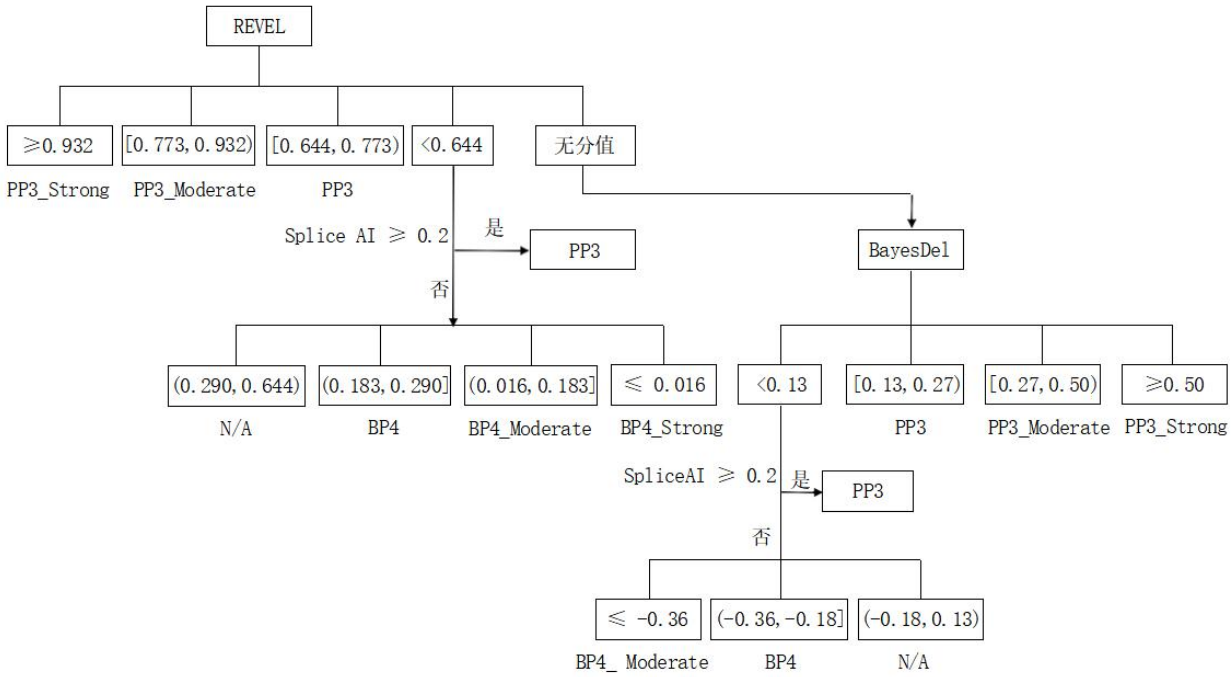

图 1　错义变异 PP3/BP4 判断阈值

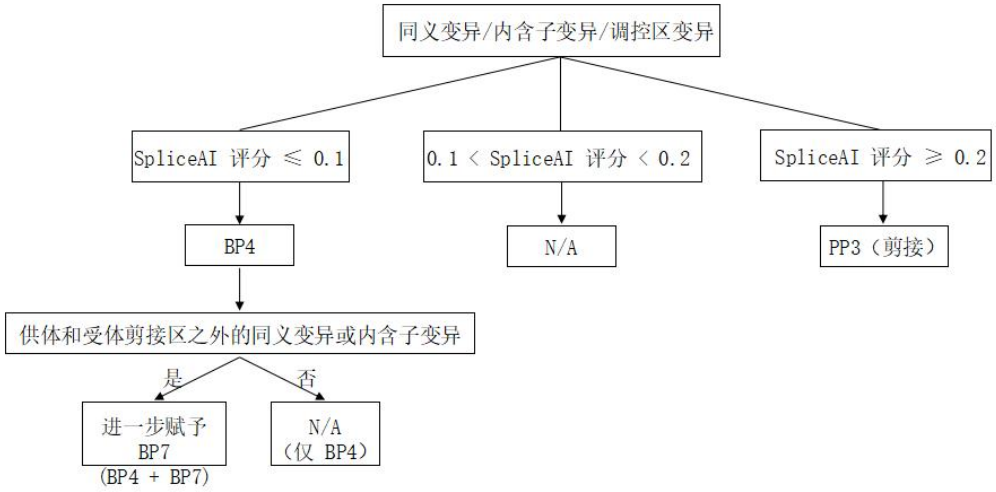

图 2　SpliceAI 判断阈值

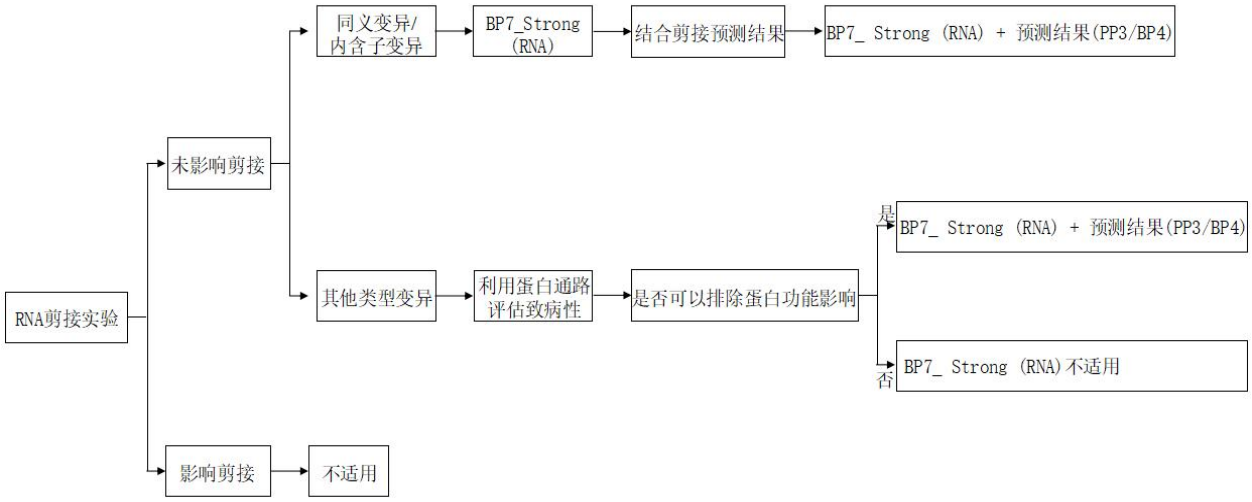

图 3　RNA 剪接实验流程图

6.4.14　PP4

本证据项适用于变异携带者的表型或家族史与某种单基因遗传疾病高度相符的情形。当家族史与疾病遗传方式一致时，可应用PP4证据项；该证据项应适用于表型高度特异的疾病或经临床医师明确诊断的疾病。产前样本表型信息有限、胎儿处于快速发育阶段，该证据项应谨慎使用。

6.4.15　BP5

在已经有另一分子致病原因的病例中发现的变异，应适用BP5证据项。

7　致病性分类

7.1　通则

变异分类指收集变异致病性或良性的证据，并综合这些证据进行等级分类。变异分类等级分为以下5级：致病、可能致病、意义未明、可能良性和良性。

7.2　贝叶斯致病性分类

宜使用贝叶斯评分系统评估变异分类等级，证据项等级的分值设定见表18，基于分值的变异分类等级见表19。

表 18　证据项等级的分值设定

证据项等级	分值（致病性）	分值（良性）
Supporting	1	-1
Moderate	2	-2
Strong	4	-4
Very Strong	8	-8
注1：BA1为独立良性证据，不计算分值。 注2：Richards等未对中等、极高等级的良性证据项作出明确界定，但本评分体系仍可直接支持此类准则的增补工作。		

表 19　基于分值的致病性分类等级

分类等级	分值范围
致病（P）	≥10
可能致病（LP）	6～9
意义未明（VUS）	0～5
可能良性（LB）	－1～－6
良性（B）	≤－7
注1：待分类变异存在两个及以上致病性证据项时，才可以被判定为致病或可能致病。 注2：待分类变异存在两个及以上良性证据项时，才可以被判定为良性或可能良性。 注3：待分类变异只存在一个证据项时，判定为意义未明（如仅有PVS1证据）。 注4：待分类变异存在BA1时判定为良性。	

7.3　ACMG/AMP 致病性分类

ClinGen专家组针对部分特殊基因的变异解读指南，其等级分类遵循序列变异分类的标准整合规则，见ACMG/AMP序列变异解读指南。

8　罕见病诊断报告通则

8.1　罕见病诊断报告内容

检测结果应经过至少两轮独立分析及人工复核流程，确保结果准确性及解读规范性。报告内容应全面涵盖辅助临床诊断的重要信息，包括但不限于以下内容：

a)　受检者基本信息；
b)　检测样本类型；
c)　样本接收及检测报告的日期；
d)　检测项目；
e)　检测结果；
f)　咨询建议等。

8.2　罕见病诊断检测结果分类

罕见病诊断检测结果可分为主要检测结果、次要检测结果、ACMG二级发现及其他变异附表四类：

a)　主要检测结果：解释受检者主要表型，与疾病对应的遗传模式相符合的致病或可能致病变异或≥4 分且与受检者表型高度相关的意义未明变异；
b)　次要检测结果：可能解释受检者主要表型，与疾病对应的遗传模式相符合，但分值较低（0～4分）的意义未明的变异；与受检者表型高度相关，与疾病对应的遗传模式不符合的致病或可能致病变异；
c)　ACMG 二级发现：依据受检者意愿考虑报出 ACMG SF（ACMG Secondary Findings）所列基因的符合遗传模式的致病或可能致病变异；
d)　其他变异附表：可根据临床需求以及临检单位的报告规范自主定义。

9　解读人员资质管理

9.1　人员资质要求

从事变异解读的人员应符合以下要求：

a)　应具备临床医学、医学遗传学、分子生物学、生物信息学或相关专业本科及以上学历；
b)　应经过专业技术培训，经考核合格后开展变异解读工作；
c)　应实行分级授权管理，依据人员资质与经验分配相应难度的解读任务。

9.2 培训与质量管理

定期对解读人员进行培训及能力评估，包括但不限于：

a） 应建立年度培训计划，内容涵盖变异解读理论及案例实操，并留存培训记录；

b） 应实行定期考核制度，包括理论知识与典型案例分析；

c） 应建立质量指标，定期抽查解读报告准确率、一致性及规范性，结果纳入人员绩效评估；

d） 应建立解读人员能力矩阵图，动态跟踪每位解读人员的资质级别、培训完成情况及质控表现。

参 考 文 献

[1] 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.

[2] Durkie M, Cassidy EJ, Berry I, et al. ACGS Best Practice Guidelines for Variant Classification in Rare Disease 2024[J]. J Med Genet. 2024, 61:1-46.

[3] 王秋菊,沈亦平,邬玲仟,等.遗传变异分类标准与指南[J].中国科学:生命科学, 2017, 47(6):668-688.

[4] ClinGen Sequence Variant Interpretation Working Group. ClinGen Sequence Variant Interpretation Work Group Recommendations for ACMG[J]. AMP Guideline Criteria Code Modifications Nomenclature, 2017.

[5] 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.

[6] 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 Subgroup[J]. The American Journal of Human Genetics, 2023, 110(7): 1046-1067.

[7] ClinGen Sequence Variant Interpretation Working Group. SVI Recommendation for De Novo Criteria (PS2 & PM6): Version 1.1[EB/OL]. (2018)[2026-10-10]. https://clinicalgenome.org/site/assets/files/3461/svi_proposal_for_de_novo_criteria_v1_1.pdf

[8] Brnich S E, Abou Tayoun A N, Couch F J, et al. Recommendations for application of the functional evidence PS3/BS3 criterion using the ACMG/AMP sequence variant interpretation framework[J]. Genome medicine, 2020, 12: 1-12.

[9] Kelly M A, 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[J]. Genet Med, 2018 , 20(3): 351-359.

[10] Chao K R, Wang L, Panchal R, et al. The landscape of regional missense mutational intolerance quantified from 125,748 exomes[J]. bioRxiv, 2024.

[11] ClinGen Sequence Variant Interpretation Working Group. SVI Recommendation for Absence/Rarity (PM2): Version 1.0[EB/OL].(2020)[2026-10-10]. https://clinicalgenome.org/site/assets/files/5182/pm2_-_svi_recommendation_-_approved_sept2020.pdf

[12] Ghosh R, Harrison S M, Rehm H L, et al. Updated recommendation for the benign stand‐alone ACMG/AMP criterion[J]. Human mutation, 2018, 39(11): 1525-1530.

[13] ClinGen Sequence Variant Interpretation Working Group. SVI Recommendation for in trans Criterion (PM3): Version 1.0[EB/OL]. (2019)[2026-10-10]. https://www.clinicalgenome.org/site/assets/files/3717/svi_proposal_for_pm3_criterion_-_version_1.pdf

[14] Grantham R. Amino acid difference formula to help explain protein evolution[J]. science, 1974, 185(4154): 862-864.

[15] Biesecker L G, Byrne A B, Harrison S M, et al. ClinGen guidance for use of the PP1/BS4 co-segregation and PP4 phenotype specificity criteria for sequence variant

pathogenicity classification[J]. The American Journal of Human Genetics, 2024, 111(1): 24-38.

[16] Oza A M, DiStefano M T, Hemphill S E, et al. Expert specification of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for genetic hearing loss[J]. Hum Mutat, 2018, 39(11): 1593-1613.

[17] Pejaver V, Byrne A B, Feng B J, et al. Calibration of computational tools for missense variant pathogenicity classification and ClinGen recommendations for PP3/BP4 criteria[J]. The American Journal of Human Genetics, 2022, 109(12): 2163-2177.

[18] Biesecker L G, Harrison S M. The ACMG/AMP reputable source criteria for the interpretation of sequence variants[J]. Genetics in Medicine, 2018, 20(12): 1687-1688.

[19] Tavtigian S V, Harrison S M, Boucher K M, et al. Fitting a naturally scaled point system to the ACMG/AMP variant classification guidelines[J]. Human mutation, 2020, 41(10): 1734-1737.