

ICS 点击此处添加 ICS 号

CCS 点击此处添加 CCS 号

YY

中华人民共和国医药行业标准

YY/T XXXXX—XXXX

HRR 基因变异解读规范和数据库建立的通用要求

General Requirement for the Interpretation Guidelines and Database Establishment of
HRR Gene Variants

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

草案版次选择

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

国家药品监督管理局 发布

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。

本文件由××××提出。

本文件由××××归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

HRR 基因变异解读规范和数据库建立的通用要求

1 范围

本文件规定了 HRR（同源重组修复）基因变异解读的规范和数据库建立的通用要求。

本文件适用于各种肿瘤基因检测技术中 HRR 基因胚系或体细胞突变结果的解读规范指导和数据库建立。

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。

3 术语和定义

3.1 同源重组修复（Homologous Recombination Repair, HRR）

同源重组修复（HRR）是一种高保真度的 DNA 修复机制，主要负责修复双链 DNA 断裂（Double-Strand Breaks, DSBs）。HRR 利用同源序列作为模板进行修复，确保了遗传信息的准确恢复。该过程涉及多个关键基因和蛋白质，包括 BRCA1、BRCA2、RAD51 等，这些基因通常为抑癌基因，致病机制通常为蛋白的功能丧失。

3.2 变异注释（Variant Annotation）

变异注释是指对基因变异的详细描述和信息收集的过程。包括但不限于变异的位置（如基因组坐标、外显子或内含子位置）、类型（如点突变、插入、缺失、复制、复杂重排）、频率信息（在不同人群和数据库中的出现频率）和功能影响（如潜在的致病性或保护性作用）。变异注释需要参考多个数据库和文献，如 gnomAD、1000 Genomes、ExAC、ClinVar 和 COSMIC 等。

3.3 变异分类（Variant Classification）

变异分类是基于注释信息对基因变异进行致病性等分类的过程。常见的分类体系包括美国医学遗传学与基因组学会（American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG）指南，变异通常分为致病（Pathogenic）、可能致病（Likely Pathogenic）、意义未明（Variant of Uncertain Significance, VUS）、可能良性（Likely Benign）和

良性（Benign）五类。分类依据包括家族史、功能研究、共存性研究和遗传学研究等证据。

3.4 数据库（Database）

数据库是用于存储、检索和共享基因变异信息的系统。一个标准化的 HRR 基因变异数据库应具备数据收集、存储、检索和共享的功能，确保数据的安全性和完整性。常见的数据库包括 ClinVar、COSMIC、OncoKB 等，这些数据库提供了变异的注释、分类和临床相关性信息。

3.5 BRCA1 基因

BRCA1 基因（Breast Cancer 1, Early Onset）是参与同源重组修复的重要基因之一。BRCA1 蛋白在 DNA 损伤修复、细胞周期检查点控制和基因组稳定性维护中起关键作用。BRCA1 基因突变与乳腺癌、卵巢癌等多种癌症的高发病风险相关。

3.6 BRCA2 基因

BRCA2 基因（Breast Cancer 2, Early Onset）也是参与同源重组修复的重要基因。BRCA2 蛋白通过介导 RAD51 的加载，促进 DNA 修复的进行。BRCA2 基因突变同样与乳腺癌、卵巢癌以及其他癌症的风险增加有关。

3.7 PALB2 基因

PALB2 基因（Partner and Localizer of BRCA2）编码的蛋白质与 BRCA2 合作在同源重组修复中发挥重要作用。PALB2 的功能丧失会显著增加乳腺癌的风险，并可能与其他癌症相关。

3.8 RAD51 基因

RAD51 基因编码的 RAD51 蛋白在同源重组修复过程中介导 DNA 链交换，是 DNA 修复的关键参与者。RAD51 与 BRCA1、BRCA2 等蛋白相互作用，确保 DNA 修复的准确性。RAD51 基因突变可能影响 DNA 修复能力，增加癌症风险。

3.9 致病性（Pathogenicity）

致病性是指基因变异对个体健康的潜在影响。致病性评估包括考虑变异在功能研究中的表现、家族史中共存情况、临床数据和生物信息学预测。致病性分类帮助临床医生和研究人员理解变异的潜在风险。

3.10 变异的功能影响 (Functional Impact of Variants)

变异的功能影响是指基因变异对蛋白质功能或基因表达的具体作用。功能影响的评估包括实验室研究（如功能实验）、生物信息学分析和临床观察结果。功能影响有助于理解变异如何导致疾病或影响健康。

3.11 基因组坐标系统 (Genomic Coordinate System)

基因组坐标系统用于描述变异在基因组上的具体位置。常见的坐标系统包括 GRCh37/hg19 和 GRCh38/hg38。基因组坐标系统确保变异位置的标准化描述，便于数据共享和比较。

3.12 HGVS 命名规范 (HGVS Nomenclature)

HGVS (Human Genome Variation Society) 命名规范是一套用于标准化描述基因变异的系统。HGVS 命名包括变异的基因、核苷酸位置、变异类型等信息。HGVS 命名规范确保变异描述的一致性和可重复性。

3.13 抑癌基因 (Tumor Suppressor Gene)

抑癌基因是指那些能够抑制肿瘤发生的基因。这些基因编码的蛋白质在细胞周期调控、DNA 修复和细胞凋亡中发挥重要作用。抑癌基因的功能丧失或突变会导致细胞失去对生长和分裂的控制，增加肿瘤形成的风险。BRCA1 和 BRCA2 是典型的抑癌基因，其他例子包括 TP53 和 RB1。

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会 (American College of Medical Genetics and Genomics)

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

ACGS: 英国临床基因组学学会 (Association for Clinical Genomic Science)

CANVIG-UK: 英国癌症变异解读小组 (Cancer Variant Interpretation Group UK)

ClinVar: 临床变异数据库 (Clinical Variants Database)

COSMIC: 癌症突变目录 (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer)

EMQN: 欧洲分子遗传学质量网络 (European Molecular Genetics Quality Network)

EQA: 外部质量评估 (External Quality Assessment)

ExAC: 外显子聚合体数据库 (Exome Aggregation Consortium)

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

HGVS: 人类基因组突变学会 (Human Genome Variation Society)

OncoKB: 癌症知识库 (Oncology Knowledge Base)

HRR: 同源重组修复 (Homologous Recombination Repair)

VUS: 意义未明的变异 (Variant of Uncertain Significance)

5. 技术要求

5.1 变异注释的标准化方法

包括对变异的详细描述和信息收集, 如变异的位置、类型、频率和软件预测影响、数据库信息等。参考 ACMG 和 ClinGen 的指南和推荐, 确保注释信息的准确性和一致性。

位置描述: 变异的位置应使用标准的基因组坐标系统 (如 GRCh37/hg19 或 GRCh38/hg38) 进行描述, 并注明具体的外显子或内含子位置。

类型描述: 包括点突变、插入、缺失、复制和复杂重排等类型。使用 HGVS (Human Genome Variation Society) 命名规范。

频率信息: 报告变异在不同人群和数据库中的出现频率, 参考数据库如 gnomAD、1000 Genomes 和 ExAC 等

软件预测信息: 针对蛋白功能影响, 使用 SIFT、PolyPhen-2、MutationTaster、CADD 等生物信息学工具预测, 推荐使用综合性预测工具如 REVEL; 使用 spliceAI、MaxEntScan、Human Splicing Finder 等工具预测变异对 RNA 剪接的影响, 评估变异是否可能引起异常的 mRNA 剪接。

数据库的信息: 包括公共数据库和自有数据库, 基因组学公共数据库提供的注释结果是非常重要的参考信息。这些数据库的注释包括对临床意义和致病性的评估, 如 ClinVar、LOVD (Leiden Open Variation Database)、OncoKB (Oncology Knowledge Base); 内部数据库为检测机构特有数据: 包含在该机构内检测到的变异及其注释结果, 可补充公共数据库中的信息不足, 提供更详细的临床背景和个案数据。

5.2 变异分类的标准化方法

大多数 HRR 基因属于抑癌基因，如 BRCA1、BRCA2、PALB2、RAD51C、RAD51D 等，关于胚系和体细胞 BRCA1/2 变异的解读，按照《BRCA1/2 数据解读中国专家共识（2021 版）》建议，胚系按照 ACMG（2015）指南，分成 1-5 类（良性、可能良性、意义未明、可能致病、致病）进行报告；对于肿瘤 BRCA1/2 基因变异，建议在前述 BRCA1/2 基因变异致病性分类的基础上，结合目前国内外的批准情况及临床诊疗指南共识推荐，将肿瘤 BRCA1/2 变异根据临床意义分为 4 级（I 级，II 级，III 级，IV 级），因此无论是胚系变异还是体细胞的 BRCA 变异，都需要先采用 ACMG（2015）指南进行致病性分类。该原则同样适用于其他的 HRR 基因，因此本标准在变异解读规范性方面，主要是以 ACMG 指南为基础，结合 ClinGen 及 Canvigo-UK 对证据的细化，形成本土化的 HRR 基因变异解读规范。

基于 ACMG 指南的证据框架，变异分类的证据来源以下几个方面，每个模块的证据标签在定义具体规则时，都宜根据 ClinGen 及 Canvigo-UK 的推荐进行细化和更新，以确保证据使用的准确性和科学性。

人群频率证据：以 **BA1** 和 **BS1** 的阈值确定为例，可根据 Whiffin et al.（2017）在 PMID 28518168 中提出的建议，根据基因对应疾病的流行率、外显率与遗传异质性，或通过对应的在线应用 allele Frequency App 计算相关基因的最大预期变异频率，作为基因的 BA1 或 BS1 的阈值。该做法目前也被 Canvigo-UK、ACGS、ClinGen SVI 的专家组采纳和运用。

软件预测证据：以 PVS1、PP3/BP4 为例，

PVS1 的使用：宜参考 Tayoun 2018 年发表的关于 PVS1 使用方法推荐，主要内容如下：判定疾病机制：

PVS1 标准仅适用于功能丧失（LoF）是相关基因/疾病机制的情况。该标准应在基因/疾病关联的临床有效性分类为“强”或“明确”时使用，并且需要至少三个未使用 PVS1 标准的致病功能缺失变异。

变异类型考虑：

无义变异和移码变异：首先确定新的终止密码子在最生物学相关的转录本中的位置。重要的是判断是否会发生无义介导的 mRNA 降解（NMD）。

±1,2 核苷酸剪接位点变异：通常假设这些变异会导致功能丧失，但需要避免与 PP3 标准（使用计算机预测的剪接影响）重复计数。

起始密码子变异：功能研究表明，起始密码子丧失后的再启动可能会非常强大，因此一般不推荐对起始丧失变异应用 PVS1 或 PVS1_强。

外显子缺失：阅读框和 NMD 的考虑与 ±1,2 剪接位点变异类似。对于已知单倍剂量不足基因的全基因缺失，如果没有冲突的证据，则可以使用 PVS1 标签。

评估 NMD 的预测：判断无义变异或移码变异是否会导致 NMD 的发生，并结合变异对蛋白质功能的影响进行综合评估。

替代转录本的考虑：在应用 PVS1 标准之前，必须评估替代剪接对主要或最生物学相关转录本的影响。

PP3 和 BP4 的使用：根据 Pejaver 2022 发表的《校准错义变异致病性分类的计算工具及 ClinGen 对 PP3/BP4 标准的建议》，以下是 PP3 和 BP4 标签的使用方法：

PP3（支持致病性的计算机预测）：

计算机预测工具可以提供支持致病性的证据，但需要经过校准以确保其预测准确性。

各种预测工具应根据其局部阳性预测值进行校准，以确定对应不同证据强度（支持、中等、强、非常强）的分数阈值。

BP4（支持良性变异的计算机预测）：

与 PP3 类似，计算机预测工具可以提供支持良性变异的证据。

工具应进行相应的校准，以确保在不同证据强度下的分数阈值的准确性。

综合使用多个工具：

建议使用多个计算机预测工具，并且所有工具的预测结果一致时才能作为证据使用。

工具之间的一致性标准尚未完全统一，因此实验室需要遵循标准化的校准方法。

疾病表型证据：在表型证据的使用方面，使用到了贝叶斯打分系统对证据进行了量化，目前 clingen 公示了三个文件来指导 PS2/PM6、PM3、PP1/BS4、PP4 的正确使用。

PS2（支持致病性的 de novo 变异证据）和 PM6（中等强度的 de novo 变异证据）

证据的评估参数：1）确认或假设的亲子关系；2）表型的一致性；3）de novo 观察次数。

评分系统：根据表型的一致性和确认的亲子关系状态，为每个携带 de novo 变异的个体分配点数。将所有 de novo 发生的点数加总，确定适用的证据强度级别。例如，如果某变异在一名患者中 de novo 且亲子关系得到确认，则获得 2 分。

表型一致性：

高度特异的表型：如果表型与基因高度一致，则每个患者在确认亲子关系的情况下获得 2 分，未确认亲子关系的情况下获得 1 分。

一致但不高度特异的表型：如果表型与基因一致但不高度特异，则每个患者在确认亲子关系的情况下获得 1 分，未确认亲子关系的情况下获得 0.5 分。

一致但高遗传异质性的表型：如果表型与基因一致但遗传异质性高，则每个患者在确认亲子关系的情况下获得 0.5 分，未确认亲子关系的情况下获得 0.25 分。

不一致的表型：如果表型与基因不一致，则不获得点数。

证据强度级别：

支持（Supporting）：总分为 0.5 分（PS2_Supporting 或 PM6_Supporting）。

中等（Moderate）：总分为 1 分（PS2_Moderate 或 PM6）。

强（Strong）：总分为 2 分（PS2 或 PM6_Strong）。

非常强（Very Strong）：总分为 4 分（PS2_VeryStrong 或 PM6_VeryStrong）。

PM3（反式变异的证据）：PM3 标准仅适用于在受影响个体中检测到反式（in trans）的致病或可能致病变异。

评分系统：每个反式个体根据变异的分相情况和另一等位基因上变异的分类来分配点数。

将所有反式个体的点数加总，并确定适用的证据强度级别。例如，如果某个变异在一个个体中与可能致病变异 c.1301C>A 反式（确认反式）存在，则获得 1.0 分。

点数分配：

确认反式：如果与致病或可能致病变异确认反式存在，则每个个体获得 1.0 分（致病）或 0.5 分（可能致病）。

未确定分相：如果未确定分相，但存在致病或可能致病变异，则每个个体获得 0.5 分（致病）或 0.25 分（可能致病）。

纯合发生：如果是纯合发生（最大 1.0 分），则获得 0.5 分。

不确定意义的变异：如果与不确定意义的变异在反式存在（最大 0.5 分），则每个个体获得 0.25 分。

证据强度级别：

支持（Supporting）：总分为 0.5 分。

中等（Moderate）：总分为 1.0 分。

强（Strong）：总分为 2.0 分。

非常强（Very Strong）：总分为 4.0 分。

使用 PM3 标准时的考虑因素：1）等位基因频率：PM3 的应用取决于被评估变异和另一等位基因上变异的等位基因频率是否足够低（满足 PM2 阈值），以避免将高频率变异错误地应用于 PM3 标准。2）分相确认：如果无法确定分相，建议至少需要两个不同的可能致病或致病变异（取决于分类）共同存在，以等同于一个确认反式存在的变异。3）变异分类：当另一等位基因上的变异为不确定意义时，应减少加权，因为更大的基因更可能由于偶然因素出现第二个变异（默认 0.25 分）。如果另一等位基因上的变异被分类为致病

或可能致病，加权取决于分相情况（确认反式为 1.0 分，未确定分相分别为 0.5 分和 0.25 分）。

为避免循环论证，在所有情况下（无论分相是否确认），另一等位基因上变异的分类不应使用被调查变异的证据。4）纯合发生：对于纯合发生，默认权重为 0.5 分，因为罕见的纯合发生可能是由于近亲婚配造成的。建议所有纯合病例的总分不超过 1.0 分，以防止在没有额外数据的情况下过度分类纯合发生。

功能试验证据：根据《ClinGen 关于功能证据 PS3/BS3 标准的建议》，以下是 PS3 和 BS3 标签的具体使用方法：

定义疾病机制：确定基因-疾病关联的机制，如功能缺失（loss-of-function）或功能获得（gain-of-function），以指导功能试验的选择。

评估实验类型：识别和记录使用的功能试验类型和模型系统，包括实验方法和评估的功能结果。评估这些试验如何模型化疾病机制，并考虑不同模型系统的相对优势和劣势。

评估具体实验：对具体的实验实例进行评估，确保实验方法、控制和重复性符合标准。

确保实验包含阴性（正常或野生型）和阳性（异常或无效）对照，以及技术和/或生物重复。

应用证据到个体变异解释：如果实验显示变异导致功能异常且与疾病机制一致，可以根据验证的程度应用 PS3 标准。

如果实验显示变异功能正常，可以应用 BS3 标准。

证据强度级别：支持（Supporting），适用于包含实验对照和重复但验证对照少于 11 个的实验。中等（Moderate），适用于至少包含 11 个验证对照（包括致病和良性变异）的实验。强（Strong），适用于通过严格统计分析计算病理性概率（OddsPath）并确定为强证据的实验。非常强（Very Strong），适用于计算出极高病理性概率（OddsPath）的实验。

实验控制和验证

实验控制：每个实验应包括内部对照，以显示实验的动态范围，并进行正常化处理。技术重复和生物重复应被包括，以确保结果的重现性和可靠性。

临床验证对照：使用已知致病和良性变异作为验证对照，确保实验结果的预测值。确定实验读数的正常、异常和不确定阈值。

使用示例：

RAD51C 基因变异：

在 RAD51C 基因中，一个变异在含有至少 11 个已知致病和良性对照的实验中显示功能异常，并且通过统计分析计算出高致病性概率，可以应用 PS3_Strong。

PALB2 基因变异：

PALB2 基因中的一个变异在实验中显示功能正常，且实验包含足够的验证对照，可以应用 BS3_Moderate。

通过严格评估和验证功能试验的结果，可以为基因变异的临床解释提供强有力的证据。

PS3 和 BS3 标签的应用需根据实验的验证程度和统计分析结果，确保功能证据在变异分类中的准确性和一致性。这些指导方针帮助减少不同实验室之间的解释差异，提高遗传变异分类的可靠性。

证据标签组合规则：准确分类癌症易感基因变异对于正确估计癌症风险和患者管理至关重要。误分类可能导致过度管理（如不必要的手术）或分类不足（如错失治疗机会）。2015 年 ACMG 框架提供了一套系统，用于结合不同类型的证据进行变异分类。然而，证据元素的组合在不同实验室之间仍存在不一致性。基于 Tavtigian 贝叶斯元结构，创建一个数值“评分”系统，可以对证据进行量化，确定具体证据组合的合理性，还能定义出不同于 ACMG 2015 年的新的证据组合，同时为有冲突证据的变异建立一致的分类标准。具体方案为，引入“贝叶斯指数评分系统”，根据证据强度分配分数：非常强（8 分）、强（4 分）、中等（2 分）、支持（1 分）。对抗良性证据的评分为：强（-4 分）、支持（-1 分）。累积指数分数确定变异分类：6-9 分为“可能致病”， ≥ 10 分为“致病”，-1 到 -5 分为“可能良性”， ≤ -6 分为“良性”。通过指数评分系统，确认原始 ACMG 框架中部分组合的合法性，并识别出 9 种新的致病性证据组合和 3 种新的可能致病性证据组合。

而针对有冲突证据存在的情况下，通过建立规则，限制变异的分类类别，确保不会过度分类。通过引入指数评分系统和定义新的证据组合，有助于改进癌症易感基因变异分类的一致性和准确性。这些建议有助于减少变异分类中的不一致性，提供更准确的癌症风险评估和患者管理。

针对其他有 ClinGen 专家组的 HRR 基因，宜考虑使用专家组定义的规则进行变异解读，针对暂时无国内外专家组的 HRR 基因，建议可以结合上述证据模块中定义的规则，进行细化。

5.3 变异报告规范

制定统一的报告格式和内容，确保变异解读结果的清晰和准确。报告应包括变异的位置、类型、注释和分类信息。

报告格式：包括变异的位置、类型、注释和分类等信息，使用标准化的报告模板。

内容要求：报告内容应包括变异的详细描述、分类依据和参考文献。

质量控制：确保报告的准确性和一致性，定期进行内部和外部质量评估。

5.4 数据库的建立和维护

建立系统化、标准化的 HRR 基因变异数据库。借鉴 OncoKB 等国际数据库的建设经验，整合国内外已有的 HRR 基因变异数据，同时基于 ACMG 证据标签，形成变异的证据库，定期对数据库进行更新，确保数据库的全面性和科学性。

数据收集：收集并整合国内外 HRR 基因变异数据，确保数据的全面性和准确性。

数据存储：采用安全、高效的数据存储技术，确保数据的安全性和完整性。

数据检索：提供便捷的检索功能，支持多种检索方式，如基因名、变异位置和类型等。

数据共享：建立数据共享机制，促进数据的广泛使用和交流，遵循相关法律法规和伦理规范。

5.5 质量控制措施和认证流程

采用 EMQN 和 GenQA 的外部质量评估（EQA）方法，确保解读过程中的质量控制。EQA 计划覆盖样本处理、检测、结果解读到最终报告的全过程。

内部质量控制：定期进行内部质量评估，确保实验室的操作规范和数据准确性。

外部质量评估：参加 EMQN 和 GenQA 的外部质量评估计划，确保实验室的解读结果与国际标准接轨。

认证流程：建立实验室认证流程，确保实验室符合国际质量标准。

6. 数据库管理和数据共享

数据库应具备数据收集、存储、检索和共享机制，确保数据的安全性和完整性。数据共享应遵循相关法律法规和伦理规范。

数据管理：建立完善的数据管理系统，确保数据的安全性和完整性。

数据共享：制定数据共享政策，促进数据的广泛使用和交流。

法律法规：遵循相关法律法规和伦理规范，确保数据共享的合法性和合规性。

7. 教育培训和持续改进

定期举办教育培训和网络研讨会，提升相关人员的变异解读能力和数据库维护水平。通过持续的科研和临床实践，不断更新和优化变异分类和注释标准。

教育培训：定期举办培训课程，提升相关人员的专业知识和技能。

网络研讨会：通过网络研讨会交流最新的研究成果和技术进展。

持续改进：结合最新的科研和临床实践，不断更新和优化变异分类和注释标准。

参 考 文 献

1. ClinGen_BRCA1BRCA2_ACMG_Specifications_BRCA1_v1.1.0.
2. ClinGen_BRCA1BRCA2_ACMG_Specifications_BRCA2_v1.1.0.
3. ClinGen_CDH1_ACMG_Specifications_CDH1_v3.1.0.
4. ClinGen_HBOP_ACMG_Specifications_ATM_v1.2.0.
5. ClinGen_HBOP_ACMG_Specifications_PALB2_v1.1.0.
6. ClinGen_PTEN_ACMG_Specifications_PTEN_v3.0.0.
7. ClinGen_TP53_ACMG_Specifications_TP53_v1.4.0.
8. PP5BP6 Recommendation for reputable source PP5 and BP6 ACMGAMP criteria
9. 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
10. PM3 Recommendation for in trans Criterion PM3 Version 1.0.
11. PS2 PM6–Recommendation for de novo PS2 and PM6 ACMG AMP criteria Version 1.1.
12. 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
13. Pejaver V, Byrne AB, Feng BJ, et al. Calibration of computational tools for missense variant pathogenicity classification and ClinGen recommendations for PP3/BP4 criteria. *Am J Hum Genet.* 2022;109(12):2163–2177. doi:10.1016/j.ajhg.2022.10.013
14. Walker LC, de la Hoya M, Wiggins GAR, et al. APPLICATION OF THE ACMG/AMP FRAMEWORK TO CAPTURE EVIDENCE RELEVANT TO PREDICTED AND OBSERVED IMPACT ON SPLICING: RECOMMENDATIONS FROM THE CLINGEN SVI SPLICING SUBGROUP. Preprint. medRxiv. 2023;2023.02.24.23286431. Published 2023 Feb 26. doi:10.1101/2023.02.24.23286431
15. Biesecker LG, Byrne AB, Harrison SM, et al. ClinGen guidance for use of the PP1/BS4 co-segregation and PP4 phenotype specificity criteria for sequence variant pathogenicity classification. *Am J Hum Genet.* 2024;111(1):24–38. doi:10.1016/j.ajhg.2023.11.009
16. Garrett A, Durkie M, Callaway A, et al. Combining evidence for and against pathogenicity for variants in cancer susceptibility genes: CanVIG-UK consensus recommendations. *J Med Genet.* 2021;58(5):297–304. doi:10.1136/jmedgenet-2020-107248