CeGaT GmbH | Paul-Ehrlich-Str. 23 | D-72076 Tübingen | Germany

Dr. med. Jane Doe
Paul-Ehrlich-Straße 23
72076 Tübingen

Patient	Roe. Richard
ID #	männlich (*TT.MM.JJJJ)
Probeneingang	xxx
Material	EDTA-Blut
Externe ID	#
Befunddatum	TT.MM.JJJJ
Befund-ID	R#

Molekulargenetischer Befund – Roe, Richard (*TT.MM.JJJJ)

Indikation Verdacht auf Spondyloepiphysäre Dysplasie Tarda; Kleinwuchs (150 cm)

Auftrag Panel-Diagnostik: Skelettdysplasie: metaphysäre und epiphysäre Dysplasie mit und ohne Beteiligung der Wirbelsäule und Osteogenesis imperfecta und weitere Skelettdysplasien mit reduzierter Knochendichte (ExomeXtra® Anreicherung)

Ergebnis: Auffälliger Befund

- **Nachweis einer pathogenen Variante im Gen *TRAPPC2*, die ursächlich für eine Spondyloepiphysäre Dysplasie Tarda (SEDT) bei Ihrem Patienten ist.**
- Es wurden keine genomischen Zugewinne oder Verluste gefunden, die nach derzeitigem Kenntnisstand für die Erkrankung Ihres Patienten ursächlich sind.

Gen	Variante	Zygotie	Erbgang	MAF (%)	Bewertung
TRAPPC2	**c.191_192delTG; p.Val64Gly*fs**24** **chrX:13734698-13734700 CCA>C (hg19)**	**hemi.**	**XL**	**-**	**pathogen**

Informationen zur Interpretation dieser Tabelle können im Abschnitt *Ergänzende Informationen* eingesehen werden.

Empfehlung

Wir empfehlen eine weiterführende klinische Diagnostik und Versorgung entsprechend dem aktuellen Protokoll für eine Spondyloepiphysäre Dysplasie Tarda (Tiller, aktualisiert 2023, PMID: 20301324, GeneReviews).

Um festzustellen, ob die Variante im Gen *TRAPPC2 de novo* entstanden ist, empfehlen wir zunächst die Untersuchung der Mutter des Patienten hinsichtlich dieser Veränderung.

Eine Testung asymptomatischer Familienangehöriger mütterlicherseits hinsichtlich der nachgewiesenen Veränderung c.191_192delTG; p.Val64Gly*fs**24 im Gen *TRAPPC2* kann erst nach humangenetischer Beratung erfolgen.

Humangenetische Relevanz

Der Patient ist hemizygoter Träger einer pathogenen Variante im Gen *TRAPPC2*, die für die Familienplanung und auch für Verwandte relevant sein kann. Wir weisen darauf hin, dass das veränderte *TRAPPC2*-Allel an jeden weiblichen Nachkommen vererbt wird. Töchter sind daher Überträgerinnen und können selbst klinische Zeichen der Erkrankung zeigen (Tiller, aktualisiert 2023, PMID: 20301324, GeneReviews). Männliche Nachkommen erben dieses Allel hingegen nicht.

Klinische Information und Varianten-Interpretation

***TRAPPC2*, NM_001011658.4**

OMIM / Referenz	Phänotyp	Erbgang
313400	**Spondyloepiphysäre Dysplasie Tarda (SEDT)**	**XL**

Das Gen ***TRAPPC2*** kodiert für die "Trafficking Protein Particle Complex 2"-Untereinheit (auch bekannt als Sedlin), die am intrazellulären Transport von Vesikeln beteiligt ist (OMIM *300202; GeneCards *TRAPPC2*). Charakteristisch für die X-chromosomal rezessiv vererbte Spondyloepiphysäre Dysplasie Tarda (SEDT) ist ein progressiver, disproportionierter Kleinwuchs mit kurzem Rumpf und einer Dysplasie der großen Gelenke. Männliche Betroffene haben bei Geburt eine unauffällige Körpergröße und die Wachstumsretardierung beginnt im Alter von etwa 6-8 Jahren. Progressive Gelenks- und Rückenschmerzen mit einer Osteoarthritis sind typisch. Weibliche Trägerinnen einer pathogenen Variante im *TRAPPC2*-Gen sind phänotypisch unauffällig, milde Symptome einer Osteoarthritis wurden jedoch berichtet (Tiller, aktualisiert 2023, PMID: 20301324, GeneReviews).

TRAPPC2*, c.191_192delTG; p.Val64Gly*fs24 (hemi.), ClinVar ID: 11508**

ACMG/ACGS Kriterium	Punkte	Erklärung
PVS1	+8	Die Veränderung führt wahrscheinlich zum Verlust (oder Trunkierung) des Proteins und entspricht somit dem bekannten Pathomechanismus für eine *TRAPPC2*-assoziierte Erkrankung.
PS4 (moderate)	+2	Die Variante wurde bei einem weiteren bzw. mehreren anderen betroffenen Patienten mit vereinbarer assoziierter Symptomatik nachgewiesen. Tiller, aktualisiert 2023, PMID: 20301324, GeneReviews
PM2	+2	Die Variante ist nicht in der Populationsdatenbank gnomAD gelistet.
ACMG/ACGS Klassifizierung: pathogen	+12	B (≤ -7) | LB (-6 – -1) | VUS (Ice Cold) (0) | VUS (Cold) (1) | VUS (Cool) (2) | VUS (Tepid) (3) | VUS (Warm) (4) | VUS (Hot) (5) | LP (6 – 9) | **P (≥ 10)**

Für jede genetische Diagnostik wird eine genetische Beratung empfohlen, insbesondere wenn eine genetische Erkrankung diagnostiziert wurde.

Befund erstellt von: XXX

Geprüft durch: XXX

Validiert durch: XXX

CeGaT GmbH | Paul-Ehrlich-Str. 23 | 72076 Tübingen
Tel: 07071 565 44 55 | Fax: 07071 565 44 56 | info@cegat.de | www.cegat.de
Amtsgericht Stuttgart - HRB 729958 | Ust-IdNr: DE265504070
Volksbank in der Region eG | IBAN: DE73 6039 1310 0543 4480 02 | SWIFT / BIC: GENODES1VBH
Geschäftsführer: Dr. Dr. Saskia Biskup, Dr. Dirk Biskup

CAP ACCREDITED COLLEGE of AMERICAN PATHOLOGISTS
CLIA CERTIFIED ID: 99D2130225
Akkreditiert durch das College of American Pathologists

DAkkS Deutsche Akkreditierungsstelle D-ML-13206-01-00
Akkreditiert nach DIN EN ISO 15189:2014

Mit freundlichen Grüßen

Dr. med. Berit Kerner

Fachärztin für Humangenetik

Ergänzende Informationen

CeGaT ExomeXtra®-basierte Diagnostik

Die genetische Analyse wurde mit der von der CeGaT entwickelten ExomeXtra®-Anreicherung (Version 5) durchgeführt. Diese enthält:

- alle etwa 20.000 proteinkodierenden Gene
- mehr als 38.000 intergenische und intronische Positionen, die mit genetischen Erkrankungen assoziiert sind
- das gesamte mitochondriale Genom mit hoher Abdeckung
- ausgewählte klinisch relevante RNA-Gene
- genomweites CNV-calling mit einer array-CGH-ähnlichen Auflösung von ca. 50 kb und höherer Auflösung von CNVs in kodierenden Regionen
- pharmakogenetische Varianten mit hoher Evidenz

Bitte beachten Sie, dass die Datenauswertung auf dem angegebenen Phänotyp basiert. Daher sind nicht alle der oben genannten Merkmale für jeden Fall relevant und die Befundung ist auf phänotypisch relevante Varianten beschränkt. Weitere methodische Informationen zur spezifischen Diagnostik für diesen Patienten finden Sie nachfolgend.

Untersuchte Regionen

Die Analyse wurde auf die folgenden Regionen fokussiert:

ALPL, ANO5, B3GALT6, B4GALT7, BMP1, CCDC134, COL1A1, COL1A2, COPB2, CREB3L1, CRTAP, FKBP10, IFIH1, IFITM5, KDELR2, LRP5, MBTPS2, MESD, NBAS, P3H1, P4HB, PLOD2, PLS3, PPIB, SEC24D, SERPINF1, SERPINH1, SGMS2, SLC34A1, SP7, SPARC, TAPT1, TENT5A, TMEM38B, TNFRSF11B, WNT1, XYLT2 (Osteogenesis imperfecta und weitere Skelettdysplasien mit reduzierter Knochendichte)

ACAN, ACP5, AIFM1, ANKH, B3GALT6, B3GAT3, B4GALT7, BGN, BPNT2, CANT1, CCN6, CDKN1C, CFAP410, CHST3, COL10A1, COL11A1, COL11A2, COL27A1, COL2A1, COL9A1, COL9A2, COL9A3, COMP, CSGALNACT1, DDR2, DDRGK1, DNAJC21, DYM, EFL1, EIF2AK3, ERI1, EXOC6B, EXTL3, FGFR3, FLNB, FN1, GPX4, GZF1, HSPA9, HSPG2, IARS2, INPPL1, KIF22, LBR, LONP1, LTBP3, MATN3, MBTPS1, MMP13, MMP9, NANS, NEPRO, NKX3-2, NPR2, PAPSS2, PCYT1A, PISD, POLE, POP1, PTH1R, RAB33B, RMRP, RNU4ATAC, RPL13, RSPRY1, RUNX2, SBDS, SFRP4, SLC10A7, SLC26A2, SLC39A13, SMARCAL1, SRP54, TMEM165, TONSL, TRAPPC2, TRIP11, TRPS1, TRPV4, UFSP2, XYLT1 (Skelettdysplasie: metaphysäre und epiphysäre Dysplasie mit und ohne Beteiligung der Wirbelsäule)

Allgemeine Hinweise

Varianten in nicht untersuchten Bereichen der analysierten Gene (z.B. Introns, untranslatierte Regionen (UTRs), Promotor oder Enhancer), in Bereichen mit multiplen Kopien hoher Sequenzhomologie, Repeat-Expansionen sowie Kopienzahlveränderungen einzelner Exons oder eines gesamten Gens können nicht sicher erfasst und somit nicht ausgeschlossen werden. Des Weiteren können Mosaike mit geringem Frequenzanteil nicht sicher erfasst und somit ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. Aufgrund neuer Erkenntnisse oder verbessertem wissenschaftlichen Verständnis kann sich die Einschätzung von Varianten zu einem späteren Zeitpunkt verändern.

Information zur Interpretation der Tabellen

Erbgang: AD – autosomal dominant; AR – autosomal rezessiv; XL – X-chromosomal; mito – mitochondrial

MAF: Die ***minor allele frequency*** gibt Auskunft über die Seltenheit einer Variante in der Bevölkerung. Für Varianten, die auf der mitochondrialen DNA kodiert sind, wird die Frequenz homoplasmatischer Träger in einer Referenzpopulation angegeben (gnomAD).

Bewertung: Die Klassifizierung von Varianten basiert auf den Richtlinien der ACMG, der ACGS-2024v1.2 sowie der ClinGen SVI WG (Richards et al., 2015, PMID: 25741868; Durkie et al., 2024, Association for Clinical Genomic Science; https://clinicalgenome.org/working-groups/sequence-variant-interpretation/). Sofern anwendbar, wird das im Folgenden beschriebene Vorgehen genutzt. Die Gewichtung der Kriterien bzw. deren Modifikation erfolgt nach den aktuellen Empfehlungen der ACGS in den Stärken *Very Strong* (+ 8), *Strong* (+/- 4), *Moderate* (+/- 2), sowie *Supporting* (+/- 1). Entsprechend der jeweiligen Kategorie (pathogen, benigne) und Kriteriumsstärke werden oben genannte positive oder negative Punkte vergeben (Tavtigian et al., 2020, PMID: 32720330). Varianten unklarer Signifikanz (VUS) werden nach ihrer Wahrscheinlichkeit zukünftig eine pathogene Klassifikation zu erreichen einem Temperaturgradienten folgend in *hot*, *warm*, *tepid*, *cool*, *cold* und *ice cold* VUS subkategorisiert. Die A-posteriori-Wahrscheinlichkeit nimmt in dieser Reihenfolge von 90 % bis 10 % ab (Durkie et al., 2024, Association for Clinical Genomic Science). Erreicht eine Variante die Klasse pathogen, werden, nach Prüfung aller benignen Kriterien, nicht zwingend alle weiteren anwendbaren Kriterien aufgeführt.

Die chromosomalen Positionen der im Befund aufgeführten Varianten beziehen sich auf das humane Referenzgenom hg19.

Methoden

Sequenzierung: Die kodierenden Bereiche sowie die angrenzenden Intronbereiche und weitere nicht kodierende, krankheitsrelevante Regionen wurden mittels in-solution-hybridization Technologie angereichert und anschließend mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung auf dem Illumina NovaSeq 6000/NovaSeq X Plus System analysiert.

NGS basiertes CNV-Calling: CNVs (*copy number variations*) wurden auf Basis von Sequenzen, die eindeutig einer genomischen Position zugeordnet werden konnten, unter Verwendung einer intern entwickelten Methode basierend auf der Sequenzierungstiefe berechnet (nicht anwendbar auf das mitochondriale Genom). Es wurden Referenzproben verwendet, um ein Modell der erwarteten Abdeckung zu erstellen, das sowohl mögliche Abweichungen im Laborprozess als auch Variation zwischen Proben generell widerspiegelt. Das *CNV-Calling* wurde durchgeführt, indem die normalisierte Abdeckung jeder Probe und deren Abweichung von der erwarteten Abdeckung berechnet wurden. Genomische Regionen werden als Variante bezeichnet, wenn sie signifikant von der erwarteten Abdeckung abweichen. Die Bezeichnung der nachgewiesenen Kopienzahlveränderungen erfolgt nach den Richtlinien der aktuellen ISCN. Kopienzahlneutrale strukturelle Veränderungen wie z.B. balancierte Translokationen, Inversionen, uniparentale Heterodisomien sowie niedrigprozentige Mosaike können mit dieser Methode nicht erkannt werden. Kopienzahlveränderungen innerhalb der pseudoautosomalen Regionen können nicht mit hoher Genauigkeit erfasst werden. Das NGS-basierte CNV-Calling erlaubt keine Aussage über den Integrationsort von Duplikationen.

Bitte beachten Sie, dass die auf *Next-Generation Sequencing* basierende Detektion von Kopienanzahlveränderungen eine geringere Sensitivität/Spezifität aufweist als beispielsweise eine MLPA. Kopienzahlneutrale strukturelle Aberrationen können mit der durchgeführten Methode nicht detektiert werden (z.B. balancierte Translokationen und balancierte Inversionen). Sämtliche befundeten CNVs wurden, wenn möglich, mit Hilfe einer zweiten Methode validiert. Im Rahmen des Befundes nicht berichtete CNVs garantieren letztlich nicht das generelle Fehlen von CNVs.

Bioinformatik: Die Sequenzierdaten wurden mit Illumina bcl2fastq2 aufbereitet. Mitsequenzierte Adaptersequenzen wurden mit Skewer entfernt und die so erhaltenen Sequenzen durch den Burrows Wheeler Aligner gegen das humane Referenzgenom (hg19) aligniert. Sequenzen, die nicht eindeutig einer genomischen Position zugeordnet werden konnten, wurden entfernt, ebenso Sequenzduplikate, die wahrscheinlich auf die Amplifikation zurückzuführen sind. Anhand der verbleibenden Sequenzen hoher Qualität wurden Sequenzvarianten (Einzelnukleotidaustausche und kurze Insertionen/Deletionen) bestimmt. Diese wurden mit verschiedenen internen und externen Datenbanken annotiert.

Genetische Datenauswertung: Die Klassifizierung von Varianten basiert auf den ACMG/ACGS-2024v1.2 Richtlinien (Richards et al., 2015, PMID: 25741868, Durkie et al., 2024, Association for Clinical Genomic Science).

Bewertet werden nur Varianten (SNVs/Small Indels) mit einer Populationsfrequenz (MAF) < 1,5 % innerhalb der kodierenden Regionen sowie in flankierenden intronischen Regionen (±8 bp). Bekannte krankheitsauslösende Varianten (laut HGMD) werden in flankierenden Regionen bis zu ±30 bp und bis zu einer MAF < 5 % bewertet. Ausnahmen sind möglich, z.B. für Risikofaktor-Varianten und hypomorphe Allele.

CeGaT GmbH | Paul-Ehrlich-Str. 23 | 72076 Tübingen
Tel: 07071 565 44 55 | Fax: 07071 565 44 56 | info@cegat.de | www.cegat.de
Amtsgericht Stuttgart - HRB 729958 | Ust-IdNr: DE265504070
Volksbank in der Region eG | IBAN: DE73 6039 1310 0543 4480 02 | SWIFT / BIC: GENODES1VBH
Geschäftsführer: Dr. Dr. Saskia Biskup, Dr. Dirk Biskup

CAP ACCREDITED
COLLEGE of AMERICAN PATHOLOGISTS
CLIA CERTIFIED ID: 99D2130225
Akkreditiert durch das
College of American Pathologists

DAkkS Deutsche Akkreditierungsstelle D-ML-13206-01-00
Akkreditiert nach
DIN EN ISO 15189:2014

Populationsfrequenzen werden anhand öffentlicher Datenbanken (z.B. gnomAD) sowie einer internen Datenbank ermittelt. Unsere Qualitätskriterien erfordern bei Nichterreichen einer informativen Sequenziertiefe mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung eine lokale Re-Sequenzierung mittels herkömmlicher Sanger-Technologie. Sämtliche für den gegebenen Fall relevanten und nach obigem Vorgehen identifizierten CNVs werden manuell evaluiert. Potenziell pathogene Ergebnisse werden ggf. mit einer zweiten diagnostischen Methode, wie beispielsweise MLPA, validiert.

Identifizierte Varianten wurden unter Berücksichtigung des angegebenen Phänotyps beurteilt.

Im vorliegenden Fall wurde mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung eine Sequenziertiefe von min. 30X für 97,81 % der kodierenden Bereiche erreicht. **Für die Beurteilung der Varianten wurden die klinischen Informationen herangezogen, die uns zum Zeitpunkt der Auswertung vorlagen.** Befundet werden nur Varianten, die entsprechend der aktuellen Datenlage nicht als benigne oder wahrscheinlich benigne eingestuft wurden. Synonyme Varianten in mitochondrial kodierten Genen werden als benigne bewertet. Zur *in silico*-Vorhersage wurden die Programme MetaLR (Dong et al., 2015, PMID: 25552646), PrimateAI (Sundaram et al., 2018, PMID: 30038395) sowie SpliceAI (Jaganathan et al., 2019, PMID: 30661751) verwendet. In Einzelfällen kann diese Prädiktion durch zusätzliche *in silico*-Vorhersagen ergänzt werden.

Die Nomenklatur gefundener Varianten erfolgt nach den Richtlinien der HGVS, jedoch ohne Berücksichtigung der allelischen Zuordnung einzelner Varianten, da diese meist nicht bekannt ist.

Die Probe hat die bei uns geltenden Qualitätskriterien nach Probeneingang und den jeweiligen analytischen Bearbeitungsschritten im Labor eingehalten.

Bei dem oben beschriebenen Verfahren handelt es sich um einen inhouse entwickelten und validierten Test (Laboratory developed test; LDT).

Bezüglich Mitteilung, Weitergabe und wissenschaftlicher Verwendung dieses Befundes gelten die Bestimmungen des GenDG.

CeGaT GmbH | Paul-Ehrlich-Str. 23 | 72076 Tübingen
Tel: 07071 565 44 55 | Fax: 07071 565 44 56 | info@cegat.de | www.cegat.de
Amtsgericht Stuttgart - HRB 729958 | Ust-IdNr: DE265504070
Volksbank in der Region eG | IBAN: DE73 6039 1310 0543 4480 02 | SWIFT / BIC: GENODES1VBH
Geschäftsführer: Dr. Dr. Saskia Biskup, Dr. Dirk Biskup

CAP ACCREDITED
COLLEGE of AMERICAN PATHOLOGISTS
CLIA CERTIFIED ID: 99D2130225
Akkreditiert durch das
College of American Pathologists

DAkkS Deutsche Akkreditierungsstelle D-ML-13206-01-00
Akkreditiert nach
DIN EN ISO 15189:2014