Published online: 2020-04-21

Thieme

Kriterien des Deutschen Konsortiums Familiärer Brust- und Eierstockkrebs zur Klassifizierung von Keimbahn-Sequenzvarianten in Risikogenen für familiären Brust- und Eierstockkrebs

Criteria of the German Consortium for Hereditary Breast and Ovarian Cancer for the Classification of Germline Sequence Variants in Risk Genes for Hereditary Breast and Ovarian Cancer

OPEN ACCESS

Autoren

Barbara Wappenschmidt[1], Jan Hauke[1], Ulrike Faust[2], Dieter Niederacher[3], Lisa Wiesmüller[4], Gunnar Schmidt[5], Evi Groß[6], Andrea Gehrig[7], Christian Sutter[8], Juliane Ramser[9], Andreas Rump[10], Norbert Arnold[11,12], Alfons Meindl[6,9]

Institute

1 Zentrum familiärer Brust- und Eierstockkrebs, Universitätsklinikum Köln, Köln
2 Institut für Medizinische Genetik und Angewandte Genomik, Universität Tübingen, Tübingen
3 Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Düsseldorf, Düsseldorf
4 Frauenklinik, Sektion Gynäkologische Onkologie, Uniklinik Ulm, Ulm
5 Institut für Humangenetik, Medizinische Hochschule Hannover, Hannover
6 Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Klinikum der Universität München, Campus Großhadern, München
7 Institut für Humangenetik, Universität Würzburg, Würzburg
8 Institut für Humangenetik, Universität Heidelberg, Heidelberg
9 Frauenklinik der Technischen Universität München, Klinikum rechts der Isar, München
10 Institut für klinische Genetik, Technische Universität Dresden, Dresden
11 Universitätsklinikum Kiel, Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Kiel
12 Institut für Klinische Molekularbiologie, Universitätsklinikum Kiel, Kiel

Schlüsselwörter

familiärer Brust-Eierstockkrebs, Klassifikation genetischer Varianten, Risikogene

Key words

hereditary breast/ovarian cancer, classification of genetic variants, risk genes

eingereicht 19.11.2019
revidiert 28.1.2020
akzeptiert 29.1.2020

Bibliografie

DOI https://doi.org/10.1055/a-1110-0909
Geburtsh Frauenheilk 2020; 80: 410–429 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York | ISSN 0016-5751

Korrespondenzadresse

Norbert Arnold
Universitätsklinikum Kiel, Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe
Arnold-Heller-Straße 3, Haus U18, 24105 Kiel
Norbert.Arnold@uksh.de

ZUSAMMENFASSUNG

Das Deutsche Konsortium für Familiären Brust- und Eierstockkrebs (GC-HBOC) etablierte vor über 10 Jahren eine Expertengruppe (VUS Task Force), um die von den einzelnen Zentren des GC-HBOC an die zentrale Datenbank in Leipzig gemeldeten Varianten hinsichtlich ihrer Klassifizierung zu überprüfen und ggf. nach aktueller Datenlage neu einzustufen. Die innerhalb der VUS-Task Force konsentierten Variantenbewertungen und resultierenden -klassifizierungen werden in einer zentralen Datenbank hinterlegt und sind als Grundlage zu berücksichtigen, um eine einheitliche Bewertung bereits bekannter wie auch neu identifizierter Varianten innerhalb der verschiedenen Zentren des GC-HBOC zu gewährleisten. Die standardisierte VUS-Bewertung durch die VUS Task Force ist ein zentrales Element des vom GC-HBOC ebenfalls etablierten Recall-Systems. Dieses dient der Weitergabe der Informationen an die in den Zentren betreuten Familien im Falle einer aufgrund neuer Erkenntnisse aktualisierten Neubewertung

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

von bereits klassifizierten Varianten. Die in Anlehnung an international etablierte Bewertungsverfahren (IARC, ACMG, ENIGMA) angepassten Bewertungsalgorithmen der VUS Task Force werden in diesem Artikel anhand der zugrundeliegenden Entscheidungskriterien präsentiert, die gemäß eines priorisierenden Fließschemas zum Klassifizierungsergebnis führen. Weiterhin werden genspezifische Regelungen und Besonderheiten, die für einzelne mit Brust- und/oder Eierstockkrebs assoziierte Risikogene zu berücksichtigen sind, in einzelnen Unterkapiteln dargelegt. Um dem Umfang und der Dynamik des aktuellen Wissens zur Variantenbewertung gerecht zu werden, sind neben umfangreichen Literaturverweisen insbesondere auch die URLs von relevanten Datenbanken angegeben. In Zukunft sollen an neue Erkenntnisse angepasste Kriterien auf der Webseite von GC-HBOC (https://www.konsortium-familiaerer-brustkrebs.de/) veröffentlicht werden.

ABSTRACT

More than ten years ago, the German Consortium for Hereditary Breast and Ovarian Cancer (GC-HBOC) set up a panel of experts (VUS Task Force) which was tasked with reviewing the classifications of genetic variants reported by individual centres of the GC-HBOC to the central database in Leipzig and reclassifying them, where necessary, based on the most recent data. When it evaluates variants, the VUS Task Force must arrive at a consensus. The resulting classifications are recorded in a central database where they serve as a basis for ensuring the consistent evaluation of previously known and newly identified variants in the different centres of the GC-HBOC. The standardised VUS evaluation by the VUS Task Force is a key element of the recall system which has also been set up by the GC-HBOC. The system will be used to pass on information to families monitored and managed by GC-HBOC centres in the event that previously classified variants are reclassified based on new information. The evaluation algorithm of the VUS Task Force was compiled using internationally established assessment methods (IARC, ACMG, ENIGMA) and is presented here together with the underlying evaluation criteria used to arrive at the classification decision using a flow chart. In addition, the characteristics and special features of specific individual risk genes associated with breast and/or ovarian cancer are discussed in separate subsections. The URLs of relevant databases have also been included together with extensive literature references to provide additional information and cover the scope and dynamism of the current state of knowledge on the evaluation of genetic variants. In future, if criteria are updated based on new information, the update will be published on the website of the GC-HBOC (https://www.konsortium-familiaerer-brustkrebs.de/).

Allgemeine Grundlagen

Die Kriterien des Deutschen Konsortiums Familiärer Brust- und Eierstockkrebs (http://www.konsortium-familiaerer-brustkrebs.de/) zur Klassifizierung von Keimbahn-Sequenzvarianten in Risikogenen für Brust-und Eierstockkrebs wurden durch die oben genannten Mitglieder des Expertengremiums zur Variantenbewertung (VUS Task-Force) des Deutschen Konsortiums Familiärer Brust- und Eierstockkrebs erarbeitet. Aufgabe dieser Expertengruppe ist es, innerhalb des Deutschen Konsortiums Familiärer Brust- und Eierstockkrebs verbindliche Kriterien für die Bewertung von Varianten vorzugeben und die Klassifizierung von Varianten zu überprüfen um eine einheitliche Bewertungen von Varianten innerhalb des Konsortiums sicherzustellen. Die vorliegenden Kriterien beruhen auf einem IARC[1] 5-Klassen-System für Hochrisikogene[2] basierend auf den Richtlinien des ENIGMA[3]-Konsortiums (ENIGMA *BRCA1/2* classification criteria Version 2.5.1, June 2017) sowie den ACMG[4]- und ACGS[5]-Richtlinien. Innerhalb dieses 5-Klassen-Systems erfolgt eine Bewertung von Sequenzvarianten der Keimbahn hinsichtlich ihrer Relevanz für einen Funktionsverlust des codierten Proteins (Class1: neutral, Class2: wahrscheinlich neutral, Class3: unklare Datenlage/keine sichere Bewertung, Class4: wahrscheinlicher relevanter Funktionsverlust, Class5: relevanter Funktionsverlust; Signifikanzlevel, siehe [4]). Für Gene mit hoher Penetranz (wie z. B. *BRCA1, BRCA2*), für die eine klinische Korrelation (Pathogenität) mit einem Funktionsverlust beschrieben ist, ergibt die funktionelle Klassifizierung eine Pathogenitätsbeurteilung entsprechend dem IARC-5-Klassensystem (Class1: not pathogenic bis Class5: pathogenic), siehe Anhang A 2, ▶ **Tab. 1**. Vorteil dieses strukturierten Vorgehens ist, dass zunächst Kriterien abgefragt werden, die eine schnelle und eindeutige Klassifizierung erlauben und erst im Anschluss eine umfangreiche Daten- und Literaturrecherche erfolgt (siehe Anhang A 2, ▶ **Tab. 2**: Übersicht relevanter Datenbanken und A 3, ▶ **Abb. 1**: Fließschema zu den Bewertungskriterien). Hinsichtlich der Klassifizierung von Sequenzvarianten der Gene *ATM, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, PALB2, RAD51C, RAD51D* und *TP53*, den sogenannten „Core"-Genen des TruRisk-Panels (Version 1/2018, siehe unter: Homepage des Deutschen Konsortiums, http://www.konsortium-familiaerer-brustkrebs.de/) sind die in Anhang A 5 aufgeführten Besonderheiten zu berück-

1 International Agency for Research on Cancer.

2 Hochrisikogene: mind. eine Sequenzvariante mit Odds Ratio für Brust- und/oder Eierstockkrebs OR > 5 (z. B. *BRCA1, BRCA2, RAD51C, PALB2, TP53, ATM*), siehe auch [1, 2].

3 Evidence based Network for the Interpretation of Germline Mutant Allels, http://enigmaconsortium.org/

4 American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG [3]).

5 Association for Clinical Genomic Science (ACGS, http://www.acgs.uk.com/).

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

sichtigen. Bei moderat/niedrig-penetranten Genen erfolgt dagegen lediglich eine Bewertung bezüglich ihrer Funktionalität (hier: Funktionsverlust nicht gleichzusetzen mit „Pathogenität"). Auch bei Hochrisikogenen können Varianten nachweislich nur mit einem intermediären Risiko einhergehen [5, 6].

Kriterien zur Interpretation von mRNA-Analysen

Die Kriterien des Deutschen Konsortiums familiärer Brust- und Eierstockkrebs zur Bewertung von Sequenzvarianten mit nachfolgender mRNA-Analyse beruhen ebenfalls auf den Richtlinien des ENIGMA-Konsortiums (siehe dazu auch [7]). Für die empirische, prädiktive Vorhersage von potenziellen Spleißvarianten mittels der 3 häufig verwandten Vorhersageprogramme sind in A 1 die entsprechenden Grenzwerte angegeben. Eine schematische Darstellung der von der VUS-Task-Force betrachteten Bereiche zur Bewertung von Spleißvarianten zeigt A 4 (▶ **Abb. 2**). Die mRNA-Analysen werden an Frischblut, kultivierten Lymphozyten, kultivierten lymphoblastoiden Zelllinien etc. durchgeführt und parallel mit mindestens 5 Kontrollen gleichen Materialtyps verglichen. Eine Sequenzvariante wird dann als pathogen bezeichnet, wenn diese wie folgt einen Effekt auf die mRNA-Transkription hat: Es werden ausschließlich ein oder mehrere aberrante Transkripte des varianten Allels nachgewiesen, welche zu einem Stopp-Codon oder einer In-Frame-Deletion führen und in der Zerstörung bekannter funktioneller Domänen resultieren. Zur Bestimmung der Transkriptmenge (semiquantitative oder quantitative Methoden) wird die Sequenzierung des Full-Length-Transkripts des varianten Allels oder bei Vorliegen einer intronischen Variante eines in *cis* liegenden Polymorphismus als ausreichend angesehen (Nachweis monoallelischer Expression). Varianten, die dagegen ein Transkriptmuster vergleichbar mit dem Mittelwert der Kontrollen zeigen, werden aufgrund einer fehlenden aberranten mRNA als neutral/nicht pathogen bewertet. Bezüglich des cDNA-Primer-Designs sollten die physiologischen Spleißvarianten/natürlich vorkommenden Isoformen berücksichtigt werden (siehe auch [8, 9]).

Cave: Bestimmte *BRCA1*- und *BRCA2*-Varianten ± 1, 2 bp von der Exongrenze entfernt, welche vorhergesagt oder nachgewiesen per Allel zu mindestens 20–30 % natürlich auftretender In-Frame-RNA-Isoformen führen, können vermutlich zu einer noch vorhandenen Restaktivität des Proteins führen (siehe auch [9–12]) und werden, wenn nicht anders nachgewiesen, als VUS Class3 bewertet (siehe auch Übersicht, Anhang 5, ▶ **Tab. 5**)

Vorgehensweise der VUS Task Force

Das Konsortium empfiehlt routinemäßig die Erstellung eines Genbefundes über 10 Gene (Stand 8/19), die evidenzbasiert mit Brust- und/oder Eierstockkrebs assoziiert werden konnten: *ATM, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, PALB2, RAD51C, RAD51D* und *TP53* (http://www.konsortium-familiaerer-brustkrebs.de/).

Zur konsentierten Klassifizierung von neu gemeldeten Sequenzvarianten sowie bei Evidenzen für eine Neubewertung bereits bekannter Varianten finden monatliche Telefonkonferenzen sowie ggf. Arbeitstreffen des „Expertengremiums des Konsortiums zur Bewertung von Varianten mit unklarer Signifikanz (VUS Task-Force) statt. Im Falle einer Neubewertung werden durch die zentrale Datenbank des Konsortiums alle Zentren über diese Neuklassifizierung in Kenntnis gesetzt (Recall-System).

Es wird weiterhin ausdrücklich darauf hingewiesen, dass sich die Bewertung von Varianten aufgrund neuer Erkenntnisse ändern kann und diese regelmäßig einer Überprüfung durch das Expertengremium unterzogen werden. Ebenso kann sich durch neuere Erkenntnisse die Liste der Kerngene ändern, für die, innerhalb des Deutschen Konsortiums für Brust- und Eierstockkrebs, eine Erstellung eines Befundes empfohlen wird. Dieses, wie auch die Einarbeitung neuerer Erkenntnisse in die hier vorgestellten Klassifizierungsregelungen, werden auf der Internetseite des Deutschen Konsortiums für Familiären Brust- und Eierstockkrebs (http://www.konsortium-familiaerer-brustkrebs.de/) veröffentlicht werden.

Klassifizierung von Sequenzvarianten hinsichtlich funktioneller Relevanz

1. **Class1 (funktionell nicht relevant/ohne Funktionsverlust) wenn eines der folgenden Kriterien erfüllt ist:**
   - 1.1 Allelfrequenz der Varianten ≥ 1 % (Minor Allele Frequency [MAF] ≥ 0,01) in den Großpopulationen z. B. Kaukasier, Afrikaner oder Asiaten. **Cave:** Eine Allelfrequenz ≥ 1 % in Subpopulationen mit wenig durchmischtem Genpool (Bsp.: finnische Population, Gründermutationen!) ist nicht ausreichend.
   - 1.2 Varianten mit einer multifaktoriell berechneten Wahrscheinlichkeit von < 0,001, pathogen zu sein.
     Cave: Gilt derzeit nur für die Hochrisikogene *BRCA1/2* (exemplarische Berechnung siehe [13]).
   - 1.3 Varianten in Hochrisikogenen welche in geeigneten Kollektiven von nicht erkrankten Personen (▶ **Tab. 1**) bei mindestens 10 Individuen auftreten.
2. **Class2 (wahrscheinlich ohne Funktionsverlust/funktionell nicht relevant) wenn eines der folgenden Kriterien erfüllt ist:**
   - 2.1 Allelfrequenz der Varianten 0,5–1 % (MAF 0,005–0,01) in den Großpopulationen z. B. Kaukasier, Afrikaner oder Asiaten. **Cave:** Eine Allelfrequenz von 0,5–1 % in Subpopulationen mit wenig durchmischtem Genpool (Bsp.: finnische Population, Gründermutationen!) ist nicht ausreichend.
   - 2.2 Exonische Varianten (A), die zur Substitution einer Aminosäure (Missense-Varianten) oder kleine In-Frame-Insertionen/Deletionen (Insertionen/Deletionen einer oder weniger Aminosäure[n]) führen und deren A-priori-Wahrscheinlichkeit für Pathogenität ≤ 2 % ist (A-GVGD Analyse, http://priors.hci.utah.edu/PRIORS/), intronische Varianten (B), die **mehr als − 20 bp, + 10 bp von der Exongrenze entfernt sind**, und synonyme Varianten (C), wenn diese Varianten (A–C) laut bioinformatischer Vorhersageprogrammen (siehe Anhang A 1) den Spleißmechanismus mit großer Wahrscheinlichkeit nicht verändern. Für die Nicht-*BRCA1/2*-Gene müssen die genannten Varianten in Großpopulationen mit einer Allelfrequenz von 0,001 ≤ MAF < 0,01 auftreten.

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

2.3 synonyme Substitutionen oder intronische Varianten, die keine mRNA-Aberrationen in Form von Exon-Deletionen/Duplikationen oder monoallelischer Expression des Wildtyp-Transkripts (wt) in „In-vitro"-Labortests zeigen auch wenn sie laut bioinformatischer Vorhersageprogramme (Programme und Schwellenwerte siehe Anhang A 1) den Spleißmechanismus mit großer Wahrscheinlichkeit verändern.

2.4 Varianten, die im gleichen Gen mit einer eindeutig pathogenen Variante in trans auftreten (Co-Occurrence), wenn gesichert ist, dass ein homozygoter oder compound heterozygoter Genotyp mit einem bekannten klinisch eindeutigen Phänotyp assoziiert ist.

2.5 Varianten mit einer multifaktoriell berechneten Wahrscheinlichkeit, pathogen zu sein, von 0,001–0,049.
Cave: Gilt derzeit nur für die Hochrisikogene *BRCA1/2* (exemplarische Berechnung siehe: [13]).

2.6 Exonische Varianten, die für denselben Aminosäureaustausch wie eine bereits als Class1 bewertete Sequenzvariante codieren, aber auf einen abweichenden Nukleotidaustausch beruhen, wenn sie keine auffällige Spleißvorhersage aufweisen.

2.7 Missense-Varianten, für welche Informationen aus funktionellen Analysen etc. vorliegen, die jedoch für eine multifaktorielle Klassifizierung nicht ausreichen, und durch Expertengremien (z. B. ENIGMA) als Class2 eingestuft werden.

3. Class3 (unklare funktionelle Relevanz), wenn eines der folgenden Kriterien erfüllt ist: Varianten, die nicht eindeutig Class1, Class2, Class4, oder Class5 zugeordnet werden können, z. B.:

3.1 Sonderfälle, die nach den Bewertungskriterien in einer der anderen Klassen eingeordnet werden könnten, aber im Anhang A 5 zu den Besonderheiten der einzelnen Kerngene oder in Tabelle 5, Appendix der *BRCA1/2* classification criteria Version 2.5.1, July 2017 (ENIGMA) aufgeführt sind (▸ **Tab. 5**).

3.2 Varianten mit widersprüchlicher Datenlage bezüglich ihrer Bewertung und noch ausstehenden weiterführenden Untersuchungen.

3.3 Varianten, die bis **−20 bp, +10 bp von der Exongrenze entfernt** sind, welche laut bioinformatischer Vorhersageprogrammen (siehe Anhang A 1) den Spleißmechanismus mit großer Wahrscheinlichkeit verändern, sofern eine In-vitro-mRNA-Analyse noch nicht vorliegt (siehe auch ▸ **Abb. 2**, Schematische Darstellung der Spleißstellen).

3.4 Exon-Duplikationen ohne weiterführende Analysen (z. B. Bruchpunktanalysen, cDNA-Analyse etc.).

3.5 Varianten mit einer multifaktoriell berechneten Wahrscheinlich, pathogen zu sein, von 0,05–0,949.
Cave: Gilt derzeit nur für die Hochrisikogene *BRCA1/2* (exemplarische Berechnung siehe [13]).

4. Class4 (wahrscheinlich mit Funktionsverlust/funktionell relevant), wenn eines der folgenden Kriterien erfüllt ist:

4.1 Varianten mit einer multifaktoriell berechneten Wahrscheinlich von 0,95–0,99, pathogen zu sein.
Cave: Gilt derzeit nur für die Hochrisikogene *BRCA1/2* (exemplarische Berechnung siehe Goldgar et al., 2004 [13]).

4.2 Varianten, welche einen frühzeitigen Stopp der Proteinbiosynthese codieren (Nonsense- oder Frame-Shift-Varianten) und welche nicht den Verlust bekannter klinisch relevanter funktioneller Proteindomänen bedingen, sofern die Stopp-Kodons nicht Downstream der Nonsense-mediated-Decay-(NMD-)relevanten Position, 50 Basenpaare vor dem Ende des vorletzten Exons, liegen.

4.3 Intronische Varianten an Position ± 1,2 oder G > Nicht-G an letzter Position des Exons: Wenn positive Spleißvorhersage (siehe Anhang A 1) vorliegt und die ersten 6 Basen im Intron nicht GTRRGT lauten, und eine aberrante In-vitro-mRNA-Analyse **noch nicht** vorliegt (d. h. durch Experten-Review [noch] nicht bestätigt oder z. B. Exonskipping oder allelspezifische Transkript-Expression, Loss-of-Function als Pathomechanismus nachgewiesen wurde).

Ausnahmen:

- Eine kryptische Spleißstelle (AG/GT) in der Nähe wird aktiviert und das (vorhergesagte) neue Exon wird In Frame gespleißt **(→ Class3)**
- Das (vorhergesagte) geskippte Exon (bzw. Exons) wird in relevantem Umfang alternativ gespleißt **(→ Class3)**.
- Das (vorhergesagte) geskippte Exon (bzw. Exons) wird In Frame gespleißt und enthält keine bekannte funktionelle Domäne **(→ Class3)**

4.4 Varianten, welche den gleichen Aminosäureaustausch wie eine bereits als Class5 bewertete, pathogene Missense-Variante codieren, aber durch einen anderen Nukleotid-Austausch bedingt sind, und wenn keine positive Spleißvorhersage (siehe Anhang A 1) vorliegt.

4.5 In-Frame-Deletionen (auch schon bei nur einer Aminosäure), welche zum Verlust einer bereits als Class5 bewerteten Missense-Variante und die zur Unterbrechung bekannter, funktionell wichtiger Domänen führen.

4.6 Große In-Frame-Deletionen, die zur Unterbrechung/Verlust bekannter, funktionell wichtiger Domänen führen.

4.7 Über In-vitro-mRNA-Analysen verifizierte In-Frame-Insertionen, die zur Unterbrechung funktionell wichtiger Domänen führen.

4.8 Varianten, welche zu einer Veränderung des Translationsinitiations-Codon (AUG, Methionin) führen und für die keine Evidenz (z. B. alternatives Start-Codon in unmittelbarer Nähe) für eine alternative Klassifikation vorliegt.

4.9 Varianten, für die Informationen aus funktionellen Analysen, klinische Daten etc. vorliegen, die jedoch für eine multifaktorielle Klassifizierung nicht ausreichen, und die durch Expertengremien (z. B. ENIGMA) als Class4 eingestuft werden.

5. Class5 (Funktionsverlust/funktionell relevant) wenn eines der folgenden Kriterien erfüllt ist:

5.1 Varianten, welche einen frühzeitigen Stopp der Proteinbiosynthese codieren (Nonsense- oder Frame-Shift-Varian-

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

ten), welche die Expression bekannter klinisch relevanter funktioneller Proteindomänen unterbindet.

5.2 Varianten mit einer multifaktoriell berechneten Wahrscheinlichkeit, pathogen zu sein, von > 0,99.
Cave: Gilt derzeit nur für die Hochrisikogene *BRCA1/2* (exemplarische Berechnung siehe Goldgar et al., 2004 [13]).

5.3 Spleiß-Varianten, bei denen im Rahmen einer In-vitro-mRNA-Analyse ein Frame-Shift-Effekt nachgewiesen wurde, der zu einem frühzeitigen Stopp der Proteinbiosynthese führt und die Expression bekannter klinisch relevanter funktioneller Proteindomänen unterbindet und für die ein Wildtyp-Transkript des mutierten Allels nicht nachweisbar ist (monoallelische Expression).

5.4 Spleiß-Varianten, bei denen im Rahmen einer In-vitro-mRNA-Analyse eine In-Frame-Deletion/Insertion nachgewiesen wurde, die zur Unterbrechung oder zum Verlust einer bekannten klinisch relevanten funktionellen Domäne oder zu einer funktionell inaktivierenden Änderung der Proteinstruktur führt und für die ein Wildtyp-Transkript des mutierten Allels nicht nachweisbar ist (monoallelische Expression).

5.5 Copy-Number Deletions-Varianten, die in der Unterbrechung oder dem Verlust einer oder mehrerer, bekannter klinisch relevanter funktioneller Domänen beinhaltender Exons resultieren oder in einer Leserasterverschiebung, welche laut Vorhersage zur Inaktivierung bekannter klinisch relevanter funktioneller Domänen führt.

5.6 Copy-Number Duplikations-Varianten jeglicher Größe, die durch Laboranalysen bestätigt wurden, welche ein oder mehrere Exons duplizieren und zu einer Leserasterverschiebung führen, welche laut Vorhersage in einer Inaktivierung bekannter klinisch relevanter funktioneller Domänen resultiert.

Anhang

A 1. Spleißvorhersageprogramme und deren Schwellenwerte

Als recht zuverlässig können die Spleißvorhersageprogramme MaxEntScan (MES), Splice Site Finder (SSF) Human Splicing Finder (HSF) betrachtet werden, deren Verwendung daher zur Bewertung von möglichen Effekten auf den Spleißprozess erfolgen sollte. MaxEnt Scan gilt als auffällig ab einer Abweichung von Delta ≥ 15 % [14], Human Splicing Finder ab einem Delta von ≥ 4,1 % [10] sowie Splice Site Finder ab einem Delta von ≥ 5 % [14]. Bei auffälliger Prädiktion (mindestens 2 der 3 unten genannten Programme) ist zur Abklärung eine mRNA-Analyse notwendig. Voraussetzung ist, dass die physiologische Spleißstelle von der jeweiligen Prädiktionssoftware mit folgenden Schwellenwerten erkannt wird.

Die Schwellenwerte (berechnet für *BRCA1/2* [14]) liegen bei:

1. MES > 3
2. SSF > 60
3. HSF > 80

Diese Schwellenwerte können in Annäherung auch für die weiteren Gene verwendet werden. Sollten spezifische Schwellenwerte definiert werden, sind diese zu verwenden.

A 2.

▶ **Tab. 1** und **2**.

▶ **Tab. 1** IARC 5-tiered classification system with accompanying recommendations for family management[a] (Auszug aus https://enigmaconsortium.org/wp-content/uploads/2018/10/ENIGMA_Rules_2017-06-29-v2.5.1.pdf).

Class	Quantitative measure: probability of pathogenicity	Predictive testing of at-risk relatives	Surveillance of at-risk relatives	Research testing of relatives
5: Pathogenic	> 0.99	Yes	Full high-risk guidelines for variant carriers	Not indicated
4: Likely pathogenic	0.95–0.99	Yes[b]	Full high-risk guidelines for variant carriers	Yes
3: Uncertain	0.05–0.949	No[b]	Based on family history & other risk factors	Yes
2: Likely not pathogenic or of little clinical significance	0.001–0.049	No[b]	Based on family history & other risk factors – treat as „no *BRCA1/2* pathogenic variant detected“ for this disorder	Yes
1: Not pathogenic or of no clinical significance	< 0.001	No[b]	Based on family history & other risk factors – treat as „no *BRCA1/2* pathogenic variant detected“ for this disorder	Not indicated

[a] Adapted for clarity from the original published tabular presentation (Plon et al., 2008 [4])

[b] Continued testing of proband for any additional available testing modalities available for BRCA1/2, e. g. rearrangements, is recommended.

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

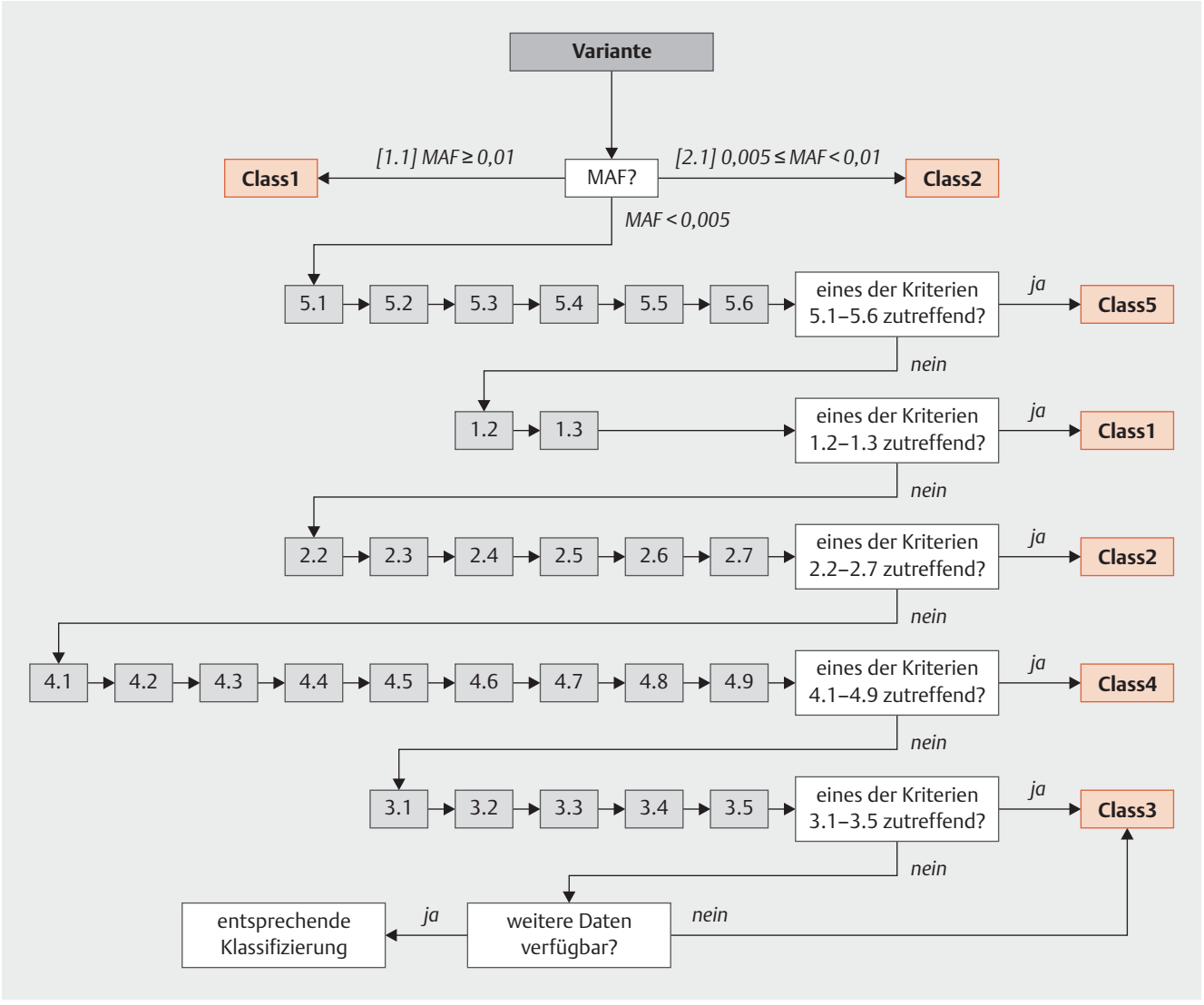
▶ **Tab. 2** Für die Bewertung relevante Literatur- und Datenbanken.

Datenbank	URL
1000Genomes	http://www.1000genomes.org/
ARUP *(BRCA1)*	http://arup.utah.edu/database/BRCA/Variants/BRCA1
ARUP *(BRCA2)*	http://arup.utah.edu/database/BRCA/Variants/BRCA2
BIC (**B**reast Cancer **I**nformation **C**ore)	http://research.nhgri.nih.gov/bic/
BRCA1 CIRCOS (via BIC oder, **Cave:** BIC-Nomenklatur angeben!)	https://research.nhgri.nih.gov/projects/bic/circos/search.shtml
BRCA Exchange	http://brcaexchange.org
ClinVar (ClinGen)	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/
Database of Functional Classifications of *BRCA1* Variants based on Saturation Genome Editing [15, 16]	https://sge.gs.washington.edu/BRCA1/
dbSNP	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp
EVS/ESP	http://evs.gs.washington.edu/EVS/
Exome Aggregation Consortium ExAC Browser	http://exac.broadinstitute.org/
exUV-LOVD (multifaktoriell reklassifizierte *BRCA1/2*-Varianten)	http://hci-exlovd.hci.utah.edu/home.php
FLOSSIES (**F**abulous **L**adies **O**ver **S**eventy: Keimbahnvarianten in 27 brustkrebsrelevanten Genen bei ca. 10 000 Frauen > 70 J., bisher nicht an Krebs erkrankt)	https://whi.color.com/
Genome Aggregation Database GnomAD	http://gnomad.broadinstitute.org/
Google Scholar	http://scholar.google.de/
HGMD Professional (Registrierung erforderlich)	https://portal.biobase-international.com/
IARC *TP53* Datenbank	http://p53.iarc.fr/
InSiGHT Consortium (Classification Database)	http://www.insight-database.org/classifications/
KAVIAR (Known VARiants, genomic)	http://db.systemsbiology.net/kaviar/cgi-pub/Kaviar.pl
LOVD (Leiden Open Variation Database, allgemein)	http://www.lovd.nl/3.0/home
LOVD-Datenbank, *ATM*	https://databases.lovd.nl/shared/genes/ATM
LOVD-Datenbank, *BRCA1*	https://databases.lovd.nl/shared/genes/BRCA1
LOVD-Datenbank, *BRCA2*	https://databases.lovd.nl/shared/genes/BRCA2
LOVD-Datenbank, *BRIP1*	http://databases.lovd.nl/shared/genes/BRIP1
LOVD-Datenbank, *CDH1*	http://databases.lovd.nl/shared/genes/CDH1
LOVD-Datenbank, *CHEK2*	https://databases.lovd.nl/shared/genes/CHEK2
LOVD-Datenbank, *PALB2*	http://databases.lovd.nl/shared/genes/PALB2
LOVD-Datenbank, *RAD51C*	https://databases.lovd.nl/shared/genes/RAD51C
LOVD-Datenbank, *RAD51D*	https://databases.lovd.nl/shared/genes/RAD51D
LOVD-Datenbank, *TP53*	https://databases.lovd.nl/shared/genes/TP53
PubMed	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/
TP53, PHANTM (Genotyp-Phenotyp-Korrelation)	http://mutantp53.broadinstitute.org/heatMap/login
UMD (**U**niv. **M**utation **D**atabase, LSDB: Locus Specific Databases)	http://www.umd.be/
UMD/BRCAshare-*BRCA1* (Registrierung erforderlich)	http://www.umd.be/BRCA1/
UMD/BRCAshare-*BRCA2* (Registrierung erforderlich)	http://www.umd.be/BRCA2/
UMD *TP53*	http://p53.fr/tp53-database
VarSeak	https://varseak.bio/
VarSome (automatisierte ACMG-Klassifizierung)	https://varsome.com/

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

A 3. Fließschema zu den Bewertungskriterien

▸ **Abb. 1**.

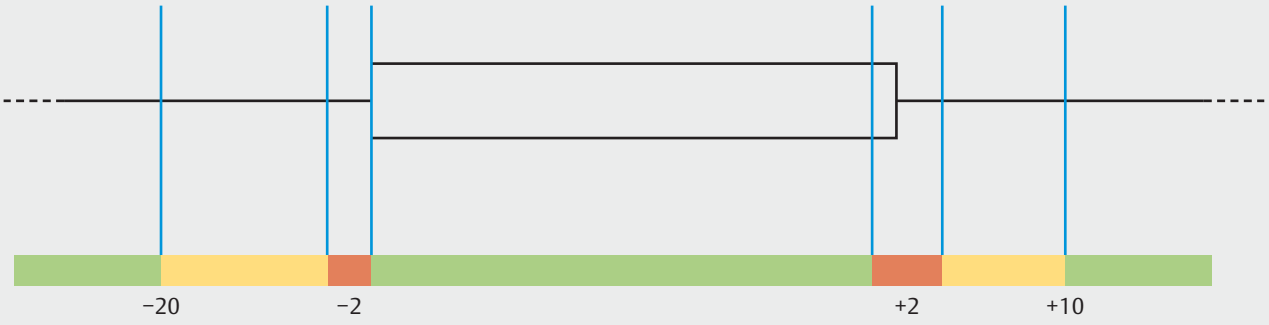


▸ **Abb. 1** VUS-Bewertungsschema 1.1.

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

A 4. Schematische Darstellung zu Varianten in der Nähe der Spleißstellen

▶ **Abb. 2**.



1. intronische Varianten weiter als −20/+10 vom Exon entfernt, wenn **Spleißvorhersage unauffällig: Class2**
2. exonische (synonyme) Varianten, wenn **Spleißvorhersage unauffällig** und MAF ≥ 0,001, aber < 0,01: **Class2**
3. für beide Fälle gilt: wenn die Spleißvorhersage auffällig ist: **Class3** und RNA-Analysen nötig

Varianten in diesem Bereich sollten insbesondere bei auffälliger Spleißvorhersage mittels RNA-Analyse untersucht werden: **Class3**

intronische Varianten an Position –1, –2/+1, +2 oder G>≠G an letzter Position des Exons: Wenn eine positive Spleißvorhersage vorliegt und die ersten 6 Basen im Intron nicht GTRRGT lauten auch ohne RNA-Analyse: **Class4**
Alle übrigen Varianten an diesen Positionen zunächst **Class3**, RNA-Analyse (im Konsortium) notwendig/verpflichtend!

Zusätzlich gilt: synonyme Substitutionen oder intronische Varianten mit auffälliger Spleißvorhersage, die aber keine mRNA-Aberrationen in Form von Exon-Deletionen/-Duplikationen oder monoallelischer Expression des wt-Transkripts in „in-vitro"-Labortests zeigen: **Class1**

▶ **Abb. 2** Klassifizierung von Varianten, die das Spleißen beeinflussen könnten.

Die Verwendung von Vorhersageprogrammen für mögliche Spleißeffekte ist für alle neuen Veränderungen auch bei Stopp-Mutationen obligat, da beispielsweise „Rescue"-Effekte durch alternative Transkripte auftreten können.

A 5. Besonderheiten der einzelnen Gene

Die oben genannten allgemeinen Bewertungskriterien sollen für alle Gene anwendbar sein. Jedoch bestehen Ausnahmen, Abweichungen und Besonderheiten für bestimmte Varianten und Regionen bei den einzelnen Genen, welche aus Gründen der Übersichtlichkeit erst im Folgenden aufgeführt sind.

A 5.1 *BRCA1/2*

Als Class3 sind zu bewerten: trunkierende *BRCA1*-Mutationen nach der Aminosäureposition 1854 sowie trunkierende *BRCA2*-Varianten nach Aminosäureposition 3308 (hier erfolgt jeweils keine Class1-Bewertung, da strukturelle Veränderungen nicht ausgeschlossen werden können). Ausnahme: Trunkierende Varianten nach dem polymorphen Stopp-Codon p.(Lys3326*) werden dagegen als verzichtbar/neutral gewertet (Class1) [17] und ENIGMA: p.(Lys3326*) ist ein häufig nachweisbarer Polymorphismus, welcher nicht mit einem höheren Risiko assoziiert ist, OR 1.3–1.5 abhängig von Brust- oder Ovarialkrebs. Somit werden Varianten, die stromabwärts von p.(Lys3326*) zu einem Stopp führen, ebenfalls nicht mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko assoziiert sein.

Als Class5 in *BRCA1/2* sind zu bewerten: Alle trunkierenden *BRCA1*-Varianten bis zur letzten eindeutig als pathogen beschriebenen Mutation an Aminosäureposition 1853 [18] sowie alle trunkierenden *BRCA2*-Varianten bis Aminosäureposition 3308, c.9924C>G [19]. Siehe ENIGMA *BRCA1,2* funktionelle Domänen, ▶ **Tab. 3** und **4**. **Cave:** NMD beachten; die letzten 50 bp im vorletzten Exon sowie Varianten im letzten Exon unterliegen in der Regel nicht dem NMD. Die Aussagen von RNA-Analysen im Blut sind möglicherweise beschränkt, da es sich nicht um das Zielgewebe handelt.

Weitere Besonderheiten sind im Anhang der Bewertungsrichtlinien des ENIGMA-Konsortiums aufgeführt, die unter folgendem Link abgerufen werden können: https://enigmaconsortium.org/wp-content/uploads/2018/10/ENIGMA_Rules_2017-06-29-v2.5.1.pdf, Tabellen 3, 4 und 6 (▶ **Tab. 3** bis **5**).

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

▶ **Tab. 3** Auszug aus https://enigmaconsortium.org/wp-content/uploads/2018/10/ENIGMA_Rules_2017-06-29-v2.5.1.pdf.

Table 3: Catalogue of BRCA1 conserved domains/motifs and currently known, clinically important amino acid residues, and relevance for classification of *BRCA1* in-frame and terminal exon sequence variants.

Domain/ Motif	AA start	AA end	AA alterations with demonstrated clinical importance[a]	Classification of in-frame deletions targeting domain/motifs	References and summary interpretation[a]
RING	1	101	L22S (c.65T>C [p.Leu22Ser]) T37K (c.110C>A [p.Thr37Lys]) C39R (c.115T>C [p.Cys39Arg]) H41R (c.122A>G [p.His41Arg]) C44S (c.130T>A [p.Cys44Ser]) C44Y (c.131G>A [p.Cys44Tyr]) C61G (c.181T>G [p.Cys61Gly])	Class5 if at least one clinically relevant residue is removed. Otherwise Class3.	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/15988069; http://hci-exlovd.hci.utah.edu; multifactorial analysis for H41R (c.122A>G [p.His41Arg]) (Whiley et al., 2014).
NES	81	99	None reported	Class3	Domain location description (Rodriguez and Henderson, 2000).
NLS1	503	508	None reported	Class3	Domain location description (Chen et al., 1996, Thakur et al., 1997).
NLS2	607	614	None reported	Class3	Domain location description (Chen et al., 1996, Thakur et al., 1997).
NLS3	651	656	None reported	Class3	Domain location description (Chen et al., 1996).
COILED-COIL	1391	1424	None reported	Class3	Domain location description (Hu et al., 2000).
BRCT DOMAINS	1650	1863	T1685A (c.5053A>G [p.Thr1685Ala]) T1685I (c.5054C>T [p.Thr1685Ile]) V1688del (c.5062_5064del [p.Val1688del]) R1699W (c.5095C>T [p.Arg1699Trp]) G1706E (c.5117G>A [p.Gly1706Glu]) A1708E (c.5123C>A [p.Ala1708Glu]) S1715R (c.5143A>C [p.Ser1715Arg]) G1738R (c.5212G>A [p.Gly1738Arg]) L1764P (c.5291T>C [p.Leu1764Pro]) I1766S (c.5297T>G [p.Ile1766Ser]) M1775K (c.5324T>A [p.Met1775Lys]) M1775R (c.5324T>G [p.Met1775Arg]) C1787S (c.5359T>A [p.Cys1787Ser]) G1788V (c.5363G>T [p.Gly1788Val]) V1838E (c.5513T>A [p.Val1838Glu])	Class5 if at least one clinically relevant residue is removed. Otherwise Class3.	Domain boundaries derived from X-ray crystallography data are aa1646-1863 (1T15, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/mmdb/mmdbsrv.cgi?uid=27907), and ENIGMA functional assay data (Monteiro, unpublished). Digestion data indicate aa1860-1863 are dispensable based on susceptibility to digestion (Lee et al., 2010), while pathogenic variant data indicate that 1855-1862 are dispensable (Hayes et al., 2000). Position 1854 is implicated as clinically important by the observation that Y1853X (c.5559C>G [p.Tyr1853Ter]) is a recognised high-risk pathogenic variant. These combined data indicate that position 1854 or 1855 is the C-terminal border of the BRCT/BRCA1 relevant for the clinical interpretation of sequence variants in exon 24 of BRCA1. That is, a variant predicted to disrupt expression of protein sequence only downstream* of position 1855 would not be considered clinically important.

[a] Missense substitutions in specific functional domains that are designated as Class5 pathogenic based on multifactorial likelihood of the posterior probability of pathogenicity > 0.99 (listed in http://hci-exlovd.hci.utah.edu or individual references), and which have no/little effect on the mRNA transcript profile, *unless* the variant results in an aberrant transcript that encodes a discrete in-frame deletion considered informative for the definition of clinically important domains.

* Typo was corrected in version 2.5.1.

Note: The following pathogenic exonic variants known to alter mRNA splicing have been excluded from Table 3 above, as justified below:

Variant	mRNA Change	Predicted protein change	Reason for exclusion
BRCA1 R1495M (c.4484G>T [p.Arg1495Met])	r.[4358_4484del, 4358_4675del]	p.(Ala1453Glyfs Ter10) – predominant transcript	Predominant alternate transcript is out of frame. Loss of function is assumed due to loss of full-length transcript from variant allele (Houdayer et al., 2012, Colombo et al., 2013, Santos et al., 2014).
BRCA1 E1559K (c.4675G>A [p.Glu1559Lys])	r.[4665_4675del]	p.(Gln1366Alafs Ter13)	Alternate transcript is out-of-frame. Level of full-length transcript not assessed (Wappenschmidt et al., 2012).
BRCA1 A1623G (c.4868C>G [p.Ala1623Gly])	r.[4868_4986del]	p.(Ala1623Aspfs Ter16)	Alternate transcript is out of frame. Variant allele produces some full-length transcripts (Walker et al., 2010).
BRCA1 D1692N (c.5074G>A [p.Asp1692Asn])	r.[4987_5074del, 5074_5075ins5074 +1_5074+153]	p.(Val1665Serfs Ter8) – predominant transcript	Predominant alternate transcript, based on minigene assay (Ahlborn et al., 2015), is out of frame.

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

▶ **Tab. 4** Auszug aus https://enigmaconsortium.org/wp-content/uploads/2018/10/ENIGMA_Rules_2017-06-29-v2.5.1.pdf.

Table 4: Catalogue of BRCA2 conserved domains/motifs and currently known clinically important amino acid residues, and relevance for classification of *BRCA2* in-frame and terminal exon sequence variants.

Domain/ Motif	AA start	AA end	AA alterations with demonstrated clinical importance[a]	Classification of in-frame deletions targeting domain/motifs	References and summary interpretation[a]
PALB2 Binding	10	40	None reported	Class3	Domain location description (Oliver et al., 2009, Xia et al., 2006)
BRC-1	1002	1036	None reported	Class3	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
BRC-2	1212	1246	None reported	Class3	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
BRC-3	1422	1453	None reported	Class3	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
BRC-4	1518	1549	None reported	Class3	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
BRC-5	1665	1696	None reported	Class3	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
BRC-6	1837	1871	None reported	Class3	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
BRC-7	1971	2005	None reported	Class3	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
BRC-8	2051	2085	None reported	Class3	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
DBD (DNA/ DSS1 binding domain – helical, OB1, OB2, OB3)	2481	3186	W2626C (c.7878G>C [p.Trp2626Cys]) I2627F (c.7879A>T [p.Ile2627Phe]) E2663V (c.7988A>T [p.Glu2663Val]) T2722R (c.8165C>G [p.Thr2722Arg]) D2723G (c.8168A>G [p.Asp2723Gly]) D2723H (c.8167G>C [p.Asp2723His]) G2748D (c.8243G>A [p.Gly2748Asp]) I2778_Q2829del (c.8332_8487del [p.Ile2778_Gln2829del]) R3052W (c.9154C>T [p.Arg3052Trp])	Class5 if at least one clinically relevant residue (or all of AA2778-2829) is removed. Otherwise Class3.	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2; http://hci-exlovd.hci.utah.edu. Pathogenic variant c.8486G>A (also recorded as Gln2829Arg) results in a transcript encoding an in-frame exon 19 deletion only (Houdayer et al., 2012), indicating that genetic variation encompassing loss of this entire exon (AA2778-2829) should be considered clinically important. The clinical impact of alteration/deletion of individual amino acids in exon 19 is not yet established.
NLS1	3263	3269	None reported	Class3	Domain local description (Guidugli et al., 2014)
BRC-9 or TR2	3265	3330	None reported	Class3	Note: although amino acids 3270-3305 within this fragment are reported to bind RAD51-DNA filaments (Davies and Pellegrini, 2007), there is no sequence conservation with the BRC repeats located between aa1002 and aa2014. Domain boundaries are derived from x-ray crystallography data are aa3265-3330 (Esashi et al., 2005, Esashi et al., 2007). Case-control and frequency data indicate that BRCA2 c.9976A>T (p.Lys3326Ter) does not confer a high risk of cancer (OR 1.3–1.5, dependent on breast or ovarian cancer subtype (Meeks et al., 2016), demonstrating that residues at and downstream of 3327 are likely dispensable. Position 3308 is implicated as clinically important by the observation that a nonsense variant c.9924C>G (p.Tyr3308Ter) is recognized as a high-risk pathogenic variant with known functional relevance ([Vallee et al., 2016]; Bayes score 1122 : 1 from a single large kConFab family, Spurdle unpublished data). There is currently no publicly available clinical information to support pathogenicity of nonsense or frameshift variants located between positions 3309 and 3325. These data combined suggest that the C-terminal border of the BRC-9 relevant to the clinical interpretation of sequence variants in exon 27 of BRCA2 lies between 3309 and 3325. That is, a variant predicted to disrupt expression only of protein sequence downstream of position 3325 would be considered unlikely to be clinically important. Further functional and clinical studies are underway to refine risk, if any, for predicted nonsense or frameshift variants downstream of position 3326.
NLS2	3381	3385	No	Class3	Domain location description (Guidugli et al., 2014). This domain is considered unlikely clinically relevant since it lies downstream of position 3326.

Fortsetzung nächste Seite

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

▶ **Tab. 4** Auszug aus https://enigmaconsortium.org/wp-content/uploads/2018/10/ENIGMA_Rules_2017-06-29-v2.5.1.pdf. *(Fortsetzung)*

[a] Missense substitutions in denoted functional domains that are designated as Class5 pathogenic based on multifactorial likelihood posterior probability of pathogenicity > 0.99, and for which there is no/little effect on mRNA transcript profile – ***unless*** the variant results in an aberrant transcript that encodes a discrete in-frame deletion considered informative to definition of clinically important domains. (Splicing aberrations are reported for *BRCA2* c.7988A>T [p.Glu2663Val] and c.8168A>G [p.Asp2723Gly] (Walker et al., 2010), but these did not lead to complete loss of function of the full length transcript), and missense alterations showed abrogation of functional activity using multiple assays (Walker et al., 2010). An additional conserved region not commonly recognized as a BRCA2 domain/motif is located AA 1110-1183, but no pathogenic missense substitutions have been recorded for this region.

Note – The following pathogenic exonic variants known to alter mRNA splicing have been excluded from Table 4 above, as justified below:

Variant	mRNA Change	Predicted protein change	Reason for exclusion
BRCA2 R2659K (c.7976G>A [p.Arg2659Lys])	r.[7806_7976del]	p.(Ala2603_Arg2659del)	Alternate transcript is in-frame but level of full length transcript not assessed (Farrugia et al., 2008)
BRCA2 R2659T (c.7976G>C [p.Arg2659Thr])	r.[7806_7976del]	p.(Ala2603_Arg2659del)	Alternate transcript is in-frame but level of full length transcript not assessed (Farrugia et al., 2008)
BRCA2 P3039P (c.9117G>A [p.Pro3039Pro])	r.[8954_9117del]	p.(Val2985Glyfs*4)	Allele-specific assay shows out-of-frame transcript (Houdayer et al., 2012)

▶ **Tab. 5** Auszug aus https://enigmaconsortium.org/wp-content/uploads/2018/10/ENIGMA_Rules_2017-06-29-v2.5.1.pdf.

Table 6: *BRCA1* and *BRCA2* exon boundary variants predicted or known to lead to naturally occurring in-frame RNA isoforms that may rescue gene functionality. *Variants at these positions should be considered Class3 Uncertain unless proven otherwise.**

Gene	Alternative splicing event	Variants implicated	Rationale
BRCA1	Δ8p	c.442-1 (IVS7-1) c.442-2 (IVS7-2)	*BRCA1* exon 8 acceptor site is an experimentally validated tandem acceptor site (NAGNAG) subject to alternative splicing (Colombo et al., 2014). c.442-1,-2 variants are predicted to inactivate the 5′ acceptor site, but not the 3′ acceptor site, thus producing Δ8p transcripts.
	Δ9,10	c.548-1 (IVS8-1) c.548-2 (IVS8-2) c.593 to non-G c.593+1 (IVS9+1) c.593+2 (IVS9+2) c.594+1 (IVS9-1) c.594-2 (IVS9-2) c.670 to non-G c.670+1 (IVS10+1) c.670+2 (IVS10+2)	Carriers of variants at these positions are predicted to produce normal (or increased) levels of *BRCA1* Δ(9,10), a major in-frame alternative splicing event (Colombo et al., 2014). The *BRCA1* variant c.594-2A>C (shown from ENIGMA research to co-occur in cis with c.641A>G), has been reported to demonstrate clinical characteristics inconsistent with a high risk of cancer expected for a pathogenic *BRCA1* variant (Rosenthal et al., 2015). The haplotype of c.[594-2A>C; 641A>G] has been shown from mRNA analysis in human samples to produce high levels of Δ10 transcripts (70 % of the overall expression, and **has been designated as Class1 Not Pathogenic** by the ENIGMA Consortium using multifactorial likelihood analysis that includes genetic (segregation, case-control analysis) and pathology data (de la Hoya et al., 2016).
	Δ11q, Δ11	c.4096 to non-G c.4096+1 (IVS11+1) c.4097+2 (IVS11+2)	Data collected by the ENIGMA consortium demonstrates that the *BRCA1* c.4096+1G>A variant, proven to result in the production of naturally occurring in-frame transcripts Δ11q (Bonatti et al., 2006) and also Δ11 (Radice, unpublished data), may not exhibit the clinical characteristics of a standard high-risk pathogenic *BRCA1* variant (Spurdle, unpublished data).
	Δ13p	c.4186-1 (IVS12-1) c.4186-2 (IVS12-2)	*BRCA1* exon 13 acceptor site is an experimentally validated tandem acceptor site (NAGNAG) subject to alternative splicing (Colombo et al., 2014). c.4186-1,-2 variants are predicted to inactivate the 5′ acceptor site, but not the 3′ acceptor site, thus producing Δ13p transcripts.
	Δ14p	c.4358-1 (IVS13-1) c.4358-2 (IVS13-2)	*BRCA1* exon 14 acceptor site is an experimentally validated tandem acceptor site (NAGNAG) subject to alternative splicing (Colombo et al., 2014). c.4358-1,-2 variants are predicted to inactivate the 5′ acceptor site, but not the 3′acceptor site, thus producing Δ14p transcripts.
BRCA2	Δ12	c.6842-1 (IVS11-1) c.6842-2 (IVS11-2) c.6937 to non-G c.6937+1 (IVS12+1) c.6937+2 (IVS12+2)	Carriers of these variants are predicted to produce exon 12 skipping. BRCA2 Δ12 is a naturally occurring in-frame splicing event (Fackenthal et al., 2016). BRCA2 exon 12 is functionally redundant (Li et al., 2009).

* This summary table does not yet capture the possibility of acceptor site changes leading to small in-frame deletions > 3 bp, e. g. due to NAG $(NNN)_n$ NAG sites. It is recommended that bioinformatic prediction analysis is carried out for variation in/near *all* donor and acceptor sites to assess the likelihood that a variant will or will not cause alternative splicing.

Fortsetzung nächste Seite

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

▶ **Tab. 5** Auszug aus https://enigmaconsortium.org/wp-content/uploads/2018/10/ENIGMA_Rules_2017-06-29-v2.5.1.pdf. *(Fortsetzung)*

Note: It could be argued that nonsense or frameshift variants in *BRCA1* exon 9, *BRCA1* exon 10, or *BRCA2* exon 12 may not be associated with high risk of cancer due to rescue by the expression of in-frame naturally occurring isoforms that bypass the premature termination codon and thus encode a functional protein. A review of multiple clinical and control datasets for the frequency of unique nonsense or frameshift variants – **adjusted for exon size** – does not provide strong support for this hypothesis at present (Spurdle, de la Hoya, unpublished data). Additional research is underway to further investigate the functional/clinical importance of germline nonsense or frameshift variants in these exons.

Moreover, further work is planned within ENIGMA (led by Paolo Radice) to document variants that have undergone splicing assays and are proven to be "leaky" variants, to provide a record of all spliceogenic variants for which additional research is necessary. This resource will identify variants that have already been classified using clinical data, as positive and negative controls for future quantitative mRNA studies.

A 5.2 *ATM*

Die Bewertungskriterien für *ATM* beruhen auf einer Kombination aus folgenden Kriterien:

- dem 5-Klassen-IARC-System für die Einschätzung der Pathogenität von *BRCA1*- und *BRCA2*-Varianten,
- dem 3-Klassen-System zur Einschätzung der Pathogenität von *ATM*-Varianten [20], welches In-silico-Analysen wie Align-GVGD mitberücksichtigt,
- den ACMG-Guidelines zur Variantenklassifizierung [3, 21],
- weiteren Literaturstellen: [22 – 28].

Class1:

- Bei Allelfrequenz ≥ 1 % (MAF ≥ 0,01) in den Großpopulationen Kaukasier, Afrikaner oder Asiaten oder Nachweis von homozygoten Variantenträgern in Kontrollpopulationen. Ist dies der Fall, wird die Variante immer als Class1 bewertet. Eine Allelfrequenz ≥ 1 % in Subpopulationen mit wenig durchmischtem Genpool (Bsp.: finnische Population, Gründermutationen!) ist nicht ausreichend.

Class2:

- Bei Allelfrequenz ≥ 0,5–<1 % (MAF ≥ 0,005–0,099) in den Großpopulationen Kaukasier, Afrikaner oder Asiaten wird die Variante immer als Class2 bewertet.
- Missense-Variante, die gemäß In-silico-Analyse (Align-GVGD, SIFT) mit hoher Wahrscheinlichkeit neutral ist und/oder außerhalb der funktionell kritischen Domäne (FATKIN) liegt.

Class3:

- Alle Varianten, die nicht in Class1, 2, 4 oder 5 eingeordnet werden können.

Class4:

- Varianten mit einer In-Frame-Deletion, die innerhalb der funktionell kritischen Domäne (FATKIN) liegt.
- Missense-Varianten, die innerhalb der funktionell kritischen Domäne (FATKIN) liegen, und gemäß In-silico-Analyse (Align-GVGD, SIFT) mit hoher Wahrscheinlichkeit schädigend und als funktionell inaktiv beschrieben wurden.

Class5:

- Trunkierende *ATM*-Varianten bis zur FATKIN-Domäne.
- Missense-Varianten, In-Frame-Deletion oder Spleißveränderungen, die eine Reduktion der ATM-Proteinexpression auf < 20 % für das mutierte Allel verursachen [28, 29].
- Varianten, die mit klassischer AT assoziiert sind.

Spleißvarianten: siehe *BRCA1* und *BRCA2*.
Funktionelle Domänen: FATKIN mit FAT; PI3K related Kinase; FATC ▶ **Tab. 6**.
Weitere Literaturstellen: [22 – 26, 28, 33, 35, 38].

▶ **Tab. 6** *ATM*, funktionelle Domänen und Relevanz für die Interpretation der klinischen Bedeutung von Sequenzvarianten – Katalog klinisch relevanter funktioneller Domänen und Aminosäuren.

Region	AA start	AA end	AA alterations with demonstrated clinical importance (AT) characterising known functional domains	References and summary interpretation
Substrate binding	91	97	None reported	Domain location description [30] Also contains p53- and BRCA1-binding domain
NLS	385	388	None reported	Domain location description [28, 31]
Leucine zipper	1218	1238	None reported	Domain location description [25, 28]
Proline rich	1373	1382	None reported	Domain location description [25, 28]
FATKIN	1893	3056	Yes, e.g. p.(Val2424Gly) p.(2546_2548del), in frame p.(Asp2625Glu) p.(Ala2626Pro) p.(Val2716Ala) p.(Ser2855_Val2856delinsArgIle)	AA alterations and in-frame deletions [26, 28, 29, 32 – 35] Domain location description [25, 27, 28, 36, 37] **Domains:** FAT: 1893-2612 KIN: 2612-3056 with ATP-binding: 2716-2730, substrate (nibrin and p53) binding: 2682-3012, FATC with TIP60 binding: 3034-3056 Domain location description

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

A 5.3 *PALB2*

- Die Veränderung p.(Leu939Trp) ist als Class2 zu werten [39].

Weitere Literaturstellen: [35, 38, 40 – 46].

▶ **Tab. 7**.

▶ **Tab. 7** *PALB2*, funktionelle Domänen und Relevanz für die Interpretation der klinischen Bedeutung von Sequenzvarianten – Katalog klinisch relevanter funktioneller Domänen und Aminosäuren.

Region	AA start	AA end	AA alterations with potential clinical importance	References and summary interpretation
BRCA1 interaction domain	9	43	Yes, e.g. p.(Leu35Pro)	Also covers oligomerisation domain/covers coiled-coiled motif Domain location description [47 – 49]; Amino acid alteration in VUS and functional analysis [50].
DNA-binding site	1	200	None reported	Domain location description [51]
RAD51 binding site	101	184	None reported	Domain location description [51, 52]
DNA-binding site	372	561	None reported	Covers also chromatin association motif (ChAM, 395-446) Domain location description [51, 53]
MRG15 (MORF4L1) interaction domain	611	764	None reported	Domain location description [48]
WD40 repeat	853	1186	Yes, e.g. p.(Thr1030Ile) p.(Leu1143Pro)	BRCA2 (1019-1098), RAD51C, XRCC3 and/or RAD51 complex formation Domain location description [51, 52, 54 – 57]. Amino acid alterations [48, 54, 58]

A 5.4 *CHEK2*

Im Bereich der Exons 11–15 hochhomologe, funktionsinaktive Sequenzbereiche (Pseudogene) auf verschiedenen anderen Chromosomen (2, 7, 10, 13, 15, 16, X, and Y) [59, 60], die relevante Sequenzbereiche überlagern können > Long Range PCR der Exons 11–15 und bioinformatische Herausfilterung der Pseudogenreads falls möglich.

Funktionelle Domänen: SQ/TQ-rich-Domäne*, Forkhead associated (FHA)**-Domäne, Kinase-Domäne***, nukleäres Lokalisationssignal (NLS) [61 – 63].

- In der SQ/TQ-rich-Domäne sind bisher nur trunkierende Varianten als pathogen eingestuft (▶ **Tab. 8**).
- Zahlreiche Missense-Varianten in der FHA-Domäne bekannt. **Cave:** Bei Bewertung Flossies-Datenbank berücksichtigen! (z. B. c.470C>T; p.Ile157Thr: Class2 [siehe § Fußnote ▶ **Tab. 8**]) oder mit unklarer klinische Relevanz (z. B. c.434G>A, p.Arg145Gln; c.422A>C, p.Lys141Thr).
- Missense-Varianten in der Kinase-Domäne mit unklarer klinischer Relevanz: z. B. c.1216C>T, p.Arg406Cys.
- In der NLS-Domäne sind bisher ebenfalls nur trunkierende Varianten als pathogen eingestuft (▶ **Tab. 8**).

Einen Überblick über identifizierte Mutationen innerhalb des *CHEK2*-Genbereichs findet sich in der Arbeit von Ow et al. [63]. Die Veröffentlichung von Roeb et al., 2012 beinhaltet einen schematischen Überblick der funktionellen Domänen sowie Ergebnisse der funktionellen Analyse von in diesen verschiedenen *CHEK2*-Domänen lokalisierten missense Mutationen [62].

A 5.5 *TP53*

- IARC *TP53*-Datenbank, funktionelle Analysen von Kato et al., 2003 und Monti et al., 2007, 2011 sind verlässlich [72 – 77].
- Funktionelle Domänen: Oligomerisierungs-Domäne, Core-Domäne (DNA-Bindung).
- Möglicher dominant negativer Effekt von Missense-Varianten und Stopp-Varianten, welche die Oligomerisierungsdomäne betreffen.
- Mosaikmutationen sowie klonale Hämatopoese sind möglich, daher bei NGS-Analysen besonders auf die Variant-Allel-Fraction achten und ggf. weitere Analysen zur Bestätigung von Keimbahnmutationen durchführen.

▶ **Tab. 9**.

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

▶ **Tab. 8** *CHEK2*, funktionelle Domänen und Relevanz für die Interpretation der klinischen Bedeutung von Sequenzvarianten – Katalog klinisch relevanter funktioneller Domänen und Aminosäuren.

Region	AA start	AA end	AA alterations with Potential Clinical Importance	References and summary interpretation
SQ/TQ-rich	19	69	e.g. c.85C>T,p.Gln29*	[62,65]
FHA	92 [115]	205 [175]	p.Arg117Gly, p.Arg145Trp, p.Gly167Arg	[61–63]
Kinase	212	501	c.1040A>C, p.Asp347Ala #; c.1100del; c.1164dup; p.Thr476Met, c.1169A>C, p.Tyr390Ser; c.1183G>T, p.Val395Phe#; c.1283C>T, p.Ser428Phe; c.1427C>T, p.Thr476Met	[61,62], #ClinVar
NLS	515	538	e.g. c.1547delC, p.Ser516Leufs#; c.1555C>T, p.Arg519Ter#;	[63], #ClinVar

* SQ/TQ consensus sites are sites phosphorylated by ATM/ATR [116]. e. g. phosphorylation of Thr-68 is important for CHEK2 activation and oligomerisation.

** The phosphorylated Thr-68 site of CHEK2 interacts with the FHA domain of another CHEK2 molecule and thus leads to the formation of CHEK2 oligomers [66].

*** [67]

§ The *CHEK2* c.470T>C p.Ile157Thr variant, although still present with various classifications (VUS/likely pathogenic/pathogenic) in ClinVar and other databases has been reclassified (date: 28.08.2018) as Class2/likely benign by the German Consortium on HBOC on the following basis:
It is frequently listed in large unaffected control cohorts (0.5%, gnomAD V. 2.1.1, non-cancer). The population frequency in Finnish Europeans is 2.5% (10 homozygous carriers). In addition, it is present in 47/7325 individuals (0.64%) in the FLOSSIES database (non-cancer female controls of European descent aged > 70 years). Although showing functionally impaired dimerisation and autophosphorylation [61,62,68], numerous large case-control studies show results indicating low or no increased breast cancer risk [64,69]: breast cancer OR = 1.58 (1.42–1.75), colon cancer OR = 1.67 (1.24–2.26) [70,71]. Additionally, it has been observed with a frequency of 2% in controls [2]. However, it may act as a polygenic risk allele.

▶ **Tab. 9** *p53*, funktionelle Domänen und Relevanz für die Interpretation der klinischen Bedeutung von Sequenzvarianten – Katalog klinisch relevanter funktioneller Domänen und Aminosäuren.

Region	AA start	AA end	AA alterations with demonstrated clinical importance (including conflicting interpretations of pathogenicity but criteria provided)	References and summary interpretation
Transcription activation	1	55	p.(Val10Ile) p.(Val31Ile) p.(Pro47Ser)	Amino acid alterations (ClinVar) Domain location description [78] Also binding site for numerous proteins including HDM2 (amino acids 15–29; IARC)
Proline-rich domain	61	94	p.(Pro82Leu) p.(Ala83Val)	Amino acid alterations (ClinVar) Domain location description [78]

▶ **Tab. 9** *p53*, funktionelle Domänen und Relevanz für die Interpretation der klinischen Bedeutung von Sequenzvarianten – Katalog klinisch relevanter funktioneller Domänen und Aminosäuren. *(Fortsetzung)*

Region	AA start	AA end	AA alterations with demonstrated clinical importance (including conflicting interpretations of pathogenicity but criteria provided)	References and summary interpretation
DNA-binding region	102	292	p.(Gly105Asp) p.(Lys120Glu) p.(Thr125Met) p.(Ser127Phe) p.(Asn131Tyr) p.(Cys141Tyr) p.(Pro151Ser) p.(Pro151Thr) p.(Pro152Leu) p.(Arg156His) p.(Arg158Cys) p.(Arg158His) p.(Tyr163Asp) p.(Tyr163Cys) p.(Arg175Leu) p.(Arg175His)	Amino acid alterations (ClinVar) Domain location description (IARC) Also binding site for numerous proteins including 53BP1 (IARC) and RAD51 amino acids 94–160 and 264–315 [79]

Fortsetzung nächste Seite

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

▶ **Tab. 9** *p53*, funktionelle Domänen und Relevanz für die Interpretation der klinischen Bedeutung von Sequenzvarianten – Katalog klinisch relevanter funktioneller Domänen und Aminosäuren. *(Fortsetzung)*

Region	AA start	AA end	AA alterations with demonstrated clinical importance (including conflicting interpretations of pathogenicity but criteria provided)	References and summary interpretation
			p.(Cys176Tyr) p.(His179Tyr) p.(Arg181Cys) p.(Arg181His) p.(Ala189Val) p.(His193Arg) p.(His193Leu) p.(Leu194Phe) p.(Ile195Thr) p.(Arg213Gln) p.(Val.216Met) p.(Tyr220Cys) p.(Tyr220Ser) p.(Ile232Thr) p.(Tyr234Cys) p.(Asn235Ser) p.(Tyr236Asp) p.(Met237Val) p.(Met237Ile) p.(Cys238Tyr) p.(Ser241Phe) p.(Cys242Tyr) p.(Gly245Asp) p.(Gly245Ser) p.(Gly245Cys) p.(Met246Val) p.(Met246Leu) p.(Met246Arg) p.(Arg248Gln) p.(Arg248Trp) p.(Ile251Leu) p.(Ile251Ser) p.(Thr256Ala) p.(Leu257Arg)	

▶ **Tab. 9** *p53*, funktionelle Domänen und Relevanz für die Interpretation der klinischen Bedeutung von Sequenzvarianten – Katalog klinisch relevanter funktioneller Domänen und Aminosäuren. *(Fortsetzung)*

Region	AA start	AA end	AA alterations with demonstrated clinical importance (including conflicting interpretations of pathogenicity but criteria provided)	References and summary interpretation
			p.(Glu258Lys) p.(Arg267Trp) p.(Arg267Gln) p.(Val272Leu) p.(Arg273Hisv p.(Arg273Cys) p.(Cys275Tyr) p.(Cys277Tyr) p.(Arg280Thr) p.(Asp281Val) p.(Asp281Gly) p.(Arg282Gly) p.(Arg282Leu) p.(Arg282Trp) p.(Arg283His) p.(Arg283Lys) p.(Glu286Lys)	
Oligomerisation region	325	356	p.(Gly325Val) p.(Arg337Leu) p.(Arg337Cys) p.(Glu339Lys) p.(Arg342Pro)	Amino acid alterations (ClinVar) Domain location description (IARC) Also binding site for numerous proteins Covering main nuclear localisation signal (amino acids 316-322) [80, 81]
Basic (repression of DNA-binding region)	369	388	None reported	Domain location description (IARC) Also binding site for numerous proteins including RAD54 [82]

A 5.6 *RAD51D*

Funktionelle Domänen: N-terminale Domäne und „ATP binding domain“ mit den hochkonservierten Walker A und B Motiven [83 – 85].

▶ **Tab. 10**.

Weitere Literaturstellen: [91 – 94]

A 5.7 *RAD51C*

Literatur: [91, 95 – 101]

Funktionelle Domänen: „DNA repair/recombination protein RecA-like ATP binding Domain“

▶ **Tab. 11**.

A 5.8 *BRIP1*

▶ **Tab. 12**.

Weitere Literaturstellen: [1, 102, 105 – 110]

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

▶ **Tab. 10** *RAD51D*, funktionelle Domänen und Relevanz für die Interpretation der klinischen Bedeutung von Sequenzvarianten – Katalog klinisch relevanter funktioneller Domänen und Aminosäuren.

Region	AA start	AA end	AA alterations with demonstrated clinical importance (including conflicting interpretations of pathogenicity)	References and summary interpretation
N-terminal region	1	83	None reported	N-terminal domain required for ssDNA-specific binding function [86]
Linker	60	78	None reported	Proper interaction with RAD51C and XRCC2 [85]
ATPase domain and RAD51B, RAD51C, and XRCC2 binding	99	274	p.(G112A) (disrupts binding of RAD51D to RAD51C [87]) p.(S207L) (disrupts RAD51D-XRCC2 interaction [85]) p.(A210V) (predicted to be potentially pathogenic [88, 89]) p.(R266C) [90], Meindl et al. (unpublished)	ATPase, AAA+ type Walker A and B motifs crucial for HR. These motifs are also implicated in binding to RAD51C and XRCC2.

▶ **Tab. 11** *RAD51C*, funktionelle Domänen und Relevanz für die Interpretation der klinischen Bedeutung von Sequenzvarianten – Katalog klinisch relevanter funktioneller Domänen und Aminosäuren.

Region	AA start	AA end	AA alterations with demonstrated clinical importance (including conflicting interpretations of pathogenicity)	References and summary interpretation
N-terminal region	1	66	None reported	Homology-derived putative DNA-binding domain [91]
ATPase domain and RAD51B, XRCC3, and RAD51D binding	79	376	p.(Gly125Val) p.(Cys135Tyr) p.(Leu138Phe) p.(Gly153Asp) p.(Asp159Asn) p.(Val169Ala) p.(Leu219Ser) p.(Arg258His) p.(Gly264Ser)	Amino acid alterations and functional consequences [95 – 98] Domain location description [91] ATPase domain includes Walker A nucleotide binding motif (amino acids 125–132) and Walker B nucleotide binding motif (amino acids 238–242) [91, 99]
Nuclear localisation signal	366	370	None reported	Domain location description [99]

▶ **Tab. 12** *BRIP1*, funktionelle Domänen und Relevanz für die Interpretation der klinischen Bedeutung von Sequenzvarianten – Katalog klinisch relevanter funktioneller Domänen und Aminosäuren.

Region	AA start	AA end	AA alterations with demonstrated clinical importance (including conflicting interpretations of pathogenicity)	References and summary interpretation
DEAD/DEAH box helicase domain	17	441		Domain location description [102]
Helicase superfamily c-terminal domain	697	851		Domain location description [102]
The BRCA1 interacting region of BRIP1	976	1006	Phosphorylation of FANCJ at Ser-990 is important for its interaction with BRCA1	[103]
MLH1 interaction			Lysines 141 and 142 are required for direct interaction of FANCJ with MLH1	[104]
Nuclear localisation signal	158	175	None reported	Domain location description [102]

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

A 5.9 CDH1

Literatur:
Vorwiegend auf die Molekulargenetik eingehend: [111]
Review funktionelle Analysen: [112]
Review des HDGC-Konsortiums: [113]
Review zu lobulärem Brustkrebs: [114]
Verteilung von pathogen Varianten über den *CDH1*-Locus [111]

Bisher bekannte pathogene CDH1-Varianten sind über den gesamten Locus verteilt und es kann daher keine klinisch relevante funktionelle Protein-Domäne definiert werden. Letzte bekannte trunkierende pathogene Variante im letzten Exon ist c.2506G>T (p.Glu836*) [115]. Alle trunkierenden Varianten Upstream müssten daher mindestens als Klasse 4 eingestuft werden.

Der Vorschlag des ClinGen-Konsortiums, abweichend von IARC Guidelines, Varianten mit einer MAF > 0,2% als Klasse 1 nach ACMG zu klassifizieren, ist derzeit Gegenstand der Diskussion.

CDH1 Rule Specifications for the ACMG/AMP Variant Curation Guidelines ClinGen (https://www.clinicalgenome.org/site/assets/files/8816/clingen_cdh1_acmg_specifications_v1.pdf).

Interessenkonflikt

Die Autorinnen/Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

[1] Couch FJ, Shimelis H, Hu C et al. Associations Between Cancer Predisposition Testing Panel Genes and Breast Cancer. JAMA Oncol 2017; 3: 1190–1196. doi:10.1001/jamaoncol.2017.0424

[2] Hauke J, Horvath J, Gross E et al. Gene panel testing of 5589 BRCA1/2-negative index patients with breast cancer in a routine diagnostic setting: results of the German Consortium for Hereditary Breast and Ovarian Cancer. Cancer Med 2018; 7: 1349–1358. doi:10.1002/cam4.1376

[3] 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: 405–424. doi:10.1038/gim.2015.30

[4] Plon SE, Eccles DM, Easton D et al. Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. Hum Mutat 2008; 29: 1282–1291. doi:10.1002/humu.20880

[5] Moghadasi S, Meeks HD, Vreeswijk MP et al. The BRCA1 c. 5096G>A p. Arg1699Gln (R1699Q) intermediate risk variant: breast and ovarian cancer risk estimation and recommendations for clinical management from the ENIGMA consortium. J Med Genet 2018; 55: 15–20. doi:10.1136/jmedgenet-2017-104560

[6] Shimelis H, Mesman RLS, Von Nicolai C et al. BRCA2 Hypomorphic Missense Variants Confer Moderate Risks of Breast Cancer. Cancer Res 2017; 77: 2789–2799. doi:10.1158/0008-5472.can-16-2568

[7] Walker LC, Whiley PJ, Houdayer C et al. Evaluation of a 5-tier scheme proposed for classification of sequence variants using bioinformatic and splicing assay data: inter-reviewer variability and promotion of minimum reporting guidelines. Hum Mutat 2013; 34: 1424–1431. doi:10.1002/humu.22388

[8] Whiley PJ, de la Hoya M, Thomassen M et al. Comparison of mRNA splicing assay protocols across multiple laboratories: recommendations for best practice in standardized clinical testing. Clin Chem 2014; 60: 341–352. doi:10.1373/clinchem.2013.210658

[9] Fackenthal JD, Yoshimatsu T, Zhang B et al. Naturally occurring BRCA2 alternative mRNA splicing events in clinically relevant samples. J Med Genet 2016; 53: 548–558. doi:10.1136/jmedgenet-2015-103570

[10] Colombo M, Blok MJ, Whiley P et al. Comprehensive annotation of splice junctions supports pervasive alternative splicing at the BRCA1 locus: a report from the ENIGMA consortium. Hum Mol Genet 2014; 23: 3666–3680. doi:10.1093/hmg/ddu075

[11] de la Hoya M, Soukarieh O, Lopez-Perolio I et al. Combined genetic and splicing analysis of BRCA1 c.[594-2A>C; 641A>G] highlights the relevance of naturally occurring in-frame transcripts for developing disease gene variant classification algorithms. Hum Mol Genet 2016; 25: 2256–2268. doi:10.1093/hmg/ddw094

[12] Li L, Biswas K, Habib LA et al. Functional redundancy of exon 12 of BRCA2 revealed by a comprehensive analysis of the c.6853A>G (p. I2285 V) variant. Hum Mutat 2009; 30: 1543–1550. doi:10.1002/humu.21101

[13] Goldgar DE, Easton DF, Deffenbaugh AM et al. Integrated evaluation of DNA sequence variants of unknown clinical significance: application to BRCA1 and BRCA2. Am J Hum Genet 2004; 75: 535–544. doi:10.1086/424388

[14] Houdayer C, Caux-Moncoutier V, Krieger S et al. Guidelines for splicing analysis in molecular diagnosis derived from a set of 327 combined in silico/in vitro studies on BRCA1 and BRCA2 variants. Hum Mutat 2012; 33: 1228–1238. doi:10.1002/humu.22101

[15] Findlay GM, Boyle EA, Hause RJ et al. Saturation editing of genomic regions by multiplex homology-directed repair. Nature 2014; 513: 120–123. doi:10.1038/nature13695

[16] Starita LM, Young DL, Islam M et al. Massively Parallel Functional Analysis of BRCA1 RING Domain Variants. Genetics 2015; 200: 413–422. doi:10.1534/genetics.115.175802

[17] Meeks HD, Song H, Michailidou K et al. BRCA2 Polymorphic Stop Codon K3326X and the Risk of Breast, Prostate, and Ovarian Cancers. J Natl Cancer Inst 2016; 108: pii: djv315. doi:10.1093/jnci/djv315

[18] Hayes F, Cayanan C, Barilla D et al. Functional assay for BRCA1: mutagenesis of the COOH-terminal region reveals critical residues for transcription activation. Cancer Res 2000; 60: 2411–2418

[19] Kuznetsov SG, Liu P, Sharan SK. Mouse embryonic stem cell-based functional assay to evaluate mutations in BRCA2. Nat Med 2008; 14: 875–881. doi:10.1038/nm.1719

[20] Goldgar DE, Healey S, Dowty JG et al. Rare variants in the ATM gene and risk of breast cancer. Breast Cancer Res 2011; 13: R73. doi:10.1186/bcr2919

[21] Maxwell KN, Hart SN, Vijai J et al. Evaluation of ACMG-Guideline-Based Variant Classification of Cancer Susceptibility and Non-Cancer-Associated Genes in Families Affected by Breast Cancer. Am J Hum Genet 2016; 98: 801–817. doi:10.1016/j.ajhg.2016.02.024

[22] Teraoka SN, Malone KE, Doody DR et al. Increased frequency of ATM mutations in breast carcinoma patients with early onset disease and positive family history. Cancer 2001; 92: 479–487

[23] Fernet M, Moullan N, Lauge A et al. Cellular responses to ionising radiation of AT heterozygotes: differences between missense and truncating mutation carriers. Br J Cancer 2004; 90: 866–873. doi:10.1038/sj.bjc.6601549

[24] Dörk T, Bendix-Waltes R, Wegner RD et al. Slow progression of ataxia-telangiectasia with double missense and in frame splice mutations. Am J Med Genet A 2004; 126A: 272–277. doi:10.1002/ajmg.a.20601

[25] Lavin MF, Scott S, Gueven N et al. Functional consequences of sequence alterations in the ATM gene. DNA Repair (Amst) 2004; 3: 1197–1205. doi:10.1016/j.dnarep.2004.03.011

[26] Renwick A, Thompson D, Seal S et al. ATM mutations that cause ataxia-telangiectasia are breast cancer susceptibility alleles. Nat Genet 2006; 38: 873–875. doi:10.1038/ng1837

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

[27] Tavtigian SV, Oefner PJ, Babikyan D et al. Rare, evolutionarily unlikely missense substitutions in ATM confer increased risk of breast cancer. Am J Hum Genet 2009; 85: 427–446. doi:10.1016/j.ajhg.2009.08.018

[28] Keimling M, Volcic M, Csernok A et al. Functional characterization connects individual patient mutations in ataxia telangiectasia mutated (ATM) with dysfunction of specific DNA double-strand break-repair signaling pathways. FASEB J 2011; 25: 3849–3860. doi:10.1096/fj.11-185546

[29] Gilad S, Chessa L, Khosravi R et al. Genotype-phenotype relationships in ataxia-telangiectasia and variants. Am J Hum Genet 1998; 62: 551–561. doi:10.1086/301755

[30] Fernandes N, Sun Y, Chen S et al. DNA damage-induced association of ATM with its target proteins requires a protein interaction domain in the N terminus of ATM. J Biol Chem 2005; 280: 15158–15164. doi:10.1074/jbc.M412065200

[31] Young DB, Jonnalagadda J, Gatei M et al. Identification of domains of ataxia-telangiectasia mutated required for nuclear localization and chromatin association. J Biol Chem 2005; 280: 27587–27594. doi:10.1074/jbc.M411689200

[32] Mitui M, Nahas SA, Du LT et al. Functional and computational assessment of missense variants in the ataxia-telangiectasia mutated (ATM) gene: mutations with increased cancer risk. Hum Mutat 2009; 30: 12–21. doi:10.1002/humu.20805

[33] Tavtigian SV, Oefner PJ, Babikyan D et al. Rare, evolutionarily unlikely missense substitutions in ATM confer increased risk of breast cancer. Am J Hum Genet 2009; 85: 427–446. doi:10.1016/j.ajhg.2009.08.018

[34] Barone G, Groom A, Reiman A et al. Modeling ATM mutant proteins from missense changes confirms retained kinase activity. Hum Mutat 2009; 30: 1222–1230. doi:10.1002/humu.21034

[35] Southey MC, Goldgar DE, Winqvist R et al. PALB2, CHEK2 and ATM rare variants and cancer risk: data from COGS. J Med Genet 2016; 53: 800–811. doi:10.1136/jmedgenet-2016-103839

[36] Khanna KK, Keating KE, Kozlov S et al. ATM associates with and phosphorylates p53: mapping the region of interaction. Nat Genet 1998; 20: 398–400. doi:10.1038/3882

[37] Gatei M, Scott SP, Filippovitch I et al. Role for ATM in DNA damage-induced phosphorylation of BRCA1. Cancer Res 2000; 60: 3299–3304

[38] Girard E, Eon-Marchais S, Olaso R et al. Familial breast cancer and DNA repair genes: Insights into known and novel susceptibility genes from the GENESIS study, and implications for multigene panel testing. Int J Cancer 2018. doi:10.1002/ijc.31921

[39] Catucci I, Radice P, Milne RL et al. The PALB2 p.Leu939Trp mutation is not associated with breast cancer risk. Breast Cancer Res 2016; 18: 111. doi:10.1186/s13058-016-0762-9

[40] Antoniou AC, Casadei S, Heikkinen T et al. Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. N Engl J Med 2014; 371: 497–506. doi:10.1056/NEJMoa1400382

[41] Antoniou AC, Foulkes WD, Tischkowitz M. Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. N Engl J Med 2014; 371: 1651–1652. doi:10.1056/NEJMc1410673

[42] Antoniou AC, Foulkes WD, Tischkowitz M. Breast cancer risk in women with PALB2 mutations in different populations. Lancet Oncol 2015; 16: e375–e376. doi:10.1016/s1470-2045(15)00002-9

[43] Southey MC, Teo ZL, Dowty JG et al. A PALB2 mutation associated with high risk of breast cancer. Breast Cancer Res 2010; 12: R109. doi:10.1186/bcr2796

[44] Tischkowitz M, Capanu M, Sabbaghian N et al. Rare germline mutations in PALB2 and breast cancer risk: a population-based study. Hum Mutat 2012; 33: 674–680. doi:10.1002/humu.22022

[45] Tischkowitz M, Sabbaghian N, Hamel N et al. Contribution of the PALB2 c.2323C>T [p. Q775X] founder mutation in well-defined breast and/or ovarian cancer families and unselected ovarian cancer cases of French Canadian descent. BMC Med Genet 2013; 14: 5. doi:10.1186/1471-2350-14-5

[46] Obermeier K, Sachsenweger J, Friedl TW et al. Heterozygous PALB2 c.1592delT mutation channels DNA double-strand break repair into error-prone pathways in breast cancer patients. Oncogene 2016; 35: 3796–3806. doi:10.1038/onc.2015.448

[47] Hayakawa T, Zhang F, Hayakawa N et al. MRG15 binds directly to PALB2 and stimulates homology-directed repair of chromosomal breaks. J Cell Sci 2010; 123: 1124–1130. doi:10.1242/jcs.060178

[48] Sy SM, Huen MS, Chen J. MRG15 is a novel PALB2-interacting factor involved in homologous recombination. J Biol Chem 2009; 284: 21127–21131. doi:10.1074/jbc.C109.023937

[49] Zhang F, Ma J, Wu J et al. PALB2 links BRCA1 and BRCA2 in the DNA-damage response. Curr Biol 2009; 19: 524–529. doi:10.1016/j.cub.2009.02.018

[50] Foo TK, Tischkowitz M, Simhadri S et al. Compromised BRCA1-PALB2 interaction is associated with breast cancer risk. Oncogene 2017; 36: 4161–4170. doi:10.1038/onc.2017.46

[51] Buisson R, Dion-Cote AM, Coulombe Y et al. Cooperation of breast cancer proteins PALB2 and piccolo BRCA2 in stimulating homologous recombination. Nat Struct Mol Biol 2010; 17: 1247–1254. doi:10.1038/nsmb.1915

[52] Dray E, Etchin J, Wiese C et al. Enhancement of RAD51 recombinase activity by the tumor suppressor PALB2. Nat Struct Mol Biol 2010; 17: 1255–1259. doi:10.1038/nsmb.1916

[53] Bleuyard JY, Buisson R, Masson JY et al. ChAM, a novel motif that mediates PALB2 intrinsic chromatin binding and facilitates DNA repair. EMBO Rep 2012; 13: 135–141. doi:10.1038/embor.2011.243

[54] Park JY, Singh TR, Nassar N et al. Breast cancer-associated missense mutants of the PALB2 WD40 domain, which directly binds RAD51C, RAD51 and BRCA2, disrupt DNA repair. Oncogene 2014; 33: 4803–4812. doi:10.1038/onc.2013.421

[55] Oliver AW, Swift S, Lord CJ et al. Structural basis for recruitment of BRCA2 by PALB2. EMBO Rep 2009; 10: 990–996. doi:10.1038/embor.2009.126

[56] Zhang F, Fan Q, Ren K et al. PALB2 functionally connects the breast cancer susceptibility proteins BRCA1 and BRCA2. Mol Cancer Res 2009; 7: 1110–1118. doi:10.1158/1541-7786.mcr-09-0123

[57] Caleca L, Catucci I, Figlioli G et al. Two Missense Variants Detected in Breast Cancer Probands Preventing BRCA2-PALB2 Protein Interaction. Front Oncol 2018; 8: 480. doi:10.3389/fonc.2018.00480

[58] Hellebrand H, Sutter C, Honisch E et al. Germline mutations in the PALB2 gene are population specific and occur with low frequencies in familial breast cancer. Hum Mutat 2011; 32: E2176–E2188. doi:10.1002/humu.21478

[59] Sodha N, Williams R, Mangion J et al. Screening hCHK2 for mutations. Science 2000; 289: 359

[60] Cybulski C, Gorski B, Huzarski T et al. CHEK2 is a multiorgan cancer susceptibility gene. Am J Hum Genet 2004; 75: 1131–1135. doi:10.1086/426403

[61] Cai Z, Chehab NH, Pavletich NP. Structure and activation mechanism of the CHK2 DNA damage checkpoint kinase. Mol Cell 2009; 35: 818–829. doi:10.1016/j.molcel.2009.09.007

[62] Roeb W, Higgins J, King MC. Response to DNA damage of CHEK2 missense mutations in familial breast cancer. Hum Mol Genet 2012; 21: 2738–2744. doi:10.1093/hmg/dds101

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

[63] Ow GS, Ivshina AV, Fuentes G et al. Identification of two poorly prognosed ovarian carcinoma subtypes associated with CHEK2 germ-line mutation and non-CHEK2 somatic mutation gene signatures. Cell Cycle 2014; 13: 2262–2280. doi:10.4161/cc.29271

[64] Muranen TA, Blomqvist C, Dork T et al. Patient survival and tumor characteristics associated with CHEK2:p.I157T – findings from the Breast Cancer Association Consortium. Breast Cancer Res 2016; 18: 98. doi:10.1186/s13058-016-0758-5

[65] Dong X, Wang L, Taniguchi K et al. Mutations in CHEK2 associated with prostate cancer risk. Am J Hum Genet 2003; 72: 270–280. doi:10.1086/346094

[66] Ahn J, Prives C. Checkpoint kinase 2 (Chk2) monomers or dimers phosphorylate Cdc25C after DNA damage regardless of threonine 68 phosphorylation. J Biol Chem 2002; 277: 48418–48426. doi:10.1074/jbc.M208321200

[67] Ahn J, Urist M, Prives C. The Chk2 protein kinase. DNA Repair (Amst) 2004; 3: 1039–1047. doi:10.1016/j.dnarep.2004.03.033

[68] Schwarz JK, Lovly CM, Piwnica-Worms H. Regulation of the Chk2 protein kinase by oligomerization-mediated cis- and trans-phosphorylation. Mol Cancer Res 2003; 1: 598–609

[69] Han FF, Guo CL, Liu LH. The effect of CHEK2 variant I157T on cancer susceptibility: evidence from a meta-analysis. DNA Cell Biol 2013; 32: 329–335. doi:10.1089/dna.2013.1970

[70] Kleibl Z, Havranek O, Novotny J et al. Analysis of CHEK2 FHA domain in Czech patients with sporadic breast cancer revealed distinct rare genetic alterations. Breast Cancer Res Treat 2008; 112: 159–164. doi:10.1007/s10549-007-9838-7

[71] Bak A, Janiszewska H, Junkiert-Czarnecka A et al. A risk of breast cancer in women – carriers of constitutional CHEK2 gene mutations, originating from the North – Central Poland. Hered Cancer Clin Pract 2014; 12: 10. doi:10.1186/1897-4287-12-10

[72] Kato S, Han SY, Liu W et al. Understanding the function-structure and function-mutation relationships of p53 tumor suppressor protein by high-resolution missense mutation analysis. Proc Natl Acad Sci U S A 2003; 100: 8424–8429. doi:10.1073/pnas.1431692100

[73] Mathe E, Olivier M, Kato S et al. Predicting the transactivation activity of p53 missense mutants using a four-body potential score derived from Delaunay tessellations. Hum Mutat 2006; 27: 163–172. doi:10.1002/humu.20284

[74] Soussi T, Kato S, Levy PP et al. Reassessment of the TP53 mutation database in human disease by data mining with a library of TP53 missense mutations. Hum Mutat 2005; 25: 6–17. doi:10.1002/humu.20114

[75] Leroy B, Fournier JL, Ishioka C et al. The TP53 website: an integrative resource centre for the TP53 mutation database and TP53 mutant analysis. Nucleic Acids Res 2013; 41: D962–D969. doi:10.1093/nar/gks1033

[76] Monti P, Ciribilli Y, Jordan J et al. Transcriptional functionality of germ line p53 mutants influences cancer phenotype. Clin Cancer Res 2007; 13: 3789–3795. doi:10.1158/1078-0432.ccr-06-2545

[77] Monti P, Perfumo C, Bisio A et al. Dominant-negative features of mutant TP53 in germline carriers have limited impact on cancer outcomes. Mol Cancer Res 2011; 9: 271–279. doi:10.1158/1541-7786.mcr-10-0496

[78] Saha T, Kar RK, Sa G. Structural and sequential context of p53: A review of experimental and theoretical evidence. Prog Biophys Mol Biol 2015; 117: 250–263. doi:10.1016/j.pbiomolbio.2014.12.002

[79] Buchhop S, Gibson MK, Wang XW et al. Interaction of p53 with the human Rad51 protein. Nucleic Acids Res 1997; 25: 3868–3874

[80] Liang SH, Clarke MF. The nuclear import of p53 is determined by the presence of a basic domain and its relative position to the nuclear localization signal. Oncogene 1999; 18: 2163–2166. doi:10.1038/sj.onc.1202350

[81] Shaulsky G, Goldfinger N, Ben-Ze'ev A et al. Nuclear accumulation of p53 protein is mediated by several nuclear localization signals and plays a role in tumorigenesis. Mol Cell Biol 1990; 10: 6565–6577

[82] Linke SP, Sengupta S, Khabie N et al. p53 interacts with hRAD51 and hRAD54, and directly modulates homologous recombination. Cancer Res 2003; 63: 2596–2605

[83] Pittman DL, Weinberg LR, Schimenti JC. Identification, characterization, and genetic mapping of Rad51 d, a new mouse and human RAD51/RecA-related gene. Genomics 1998; 49: 103–111. doi:10.1006/geno.1998.5226

[84] Cartwright R, Dunn AM, Simpson PJ et al. Isolation of novel human and mouse genes of the recA/RAD51 recombination-repair gene family. Nucleic Acids Res 1998; 26: 1653–1659

[85] Rivera B, Di Iorio M, Frankum J et al. Functionally Null RAD51D Missense Mutation Associates Strongly with Ovarian Carcinoma. Cancer Res 2017; 77: 4517–4529. doi:10.1158/0008-5472.Can-17-0190

[86] Kim YM, Choi BS. Structural and functional characterization of the N-terminal domain of human Rad51D. Int J Biochem Cell Biol 2011; 43: 416–422. doi:10.1016/j.biocel.2010.11.014

[87] Gruver AM, Miller KA, Rajesh C et al. The ATPase motif in RAD51D is required for resistance to DNA interstrand crosslinking agents and interaction with RAD51C. Mutagenesis 2005; 20: 433–440. doi:10.1093/mutage/gei059

[88] Gutierrez-Enriquez S, Bonache S, de Garibay GR et al. About 1% of the breast and ovarian Spanish families testing negative for BRCA1 and BRCA2 are carriers of RAD51D pathogenic variants. Int J Cancer 2014; 134: 2088–2097. doi:10.1002/ijc.28540

[89] Janatova M, Soukupova J, Stribrna J et al. Mutation Analysis of the RAD51C and RAD51D Genes in High-Risk Ovarian Cancer Patients and Families from the Czech Republic. PLoS One 2015; 10: e0127711. doi:10.1371/journal.pone.0127711

[90] Thompson ER, Rowley SM, Sawyer S et al. Analysis of RAD51D in ovarian cancer patients and families with a history of ovarian or breast cancer. PLoS One 2013; 8: e54772. doi:10.1371/journal.pone.0054772

[91] Miller KA, Sawicka D, Barsky D et al. Domain mapping of the Rad51 paralog protein complexes. Nucleic Acids Res 2004; 32: 169–178. doi:10.1093/nar/gkg925

[92] Loveday C, Turnbull C, Ramsay E et al. Germline mutations in RAD51D confer susceptibility to ovarian cancer. Nat Genet 2011; 43: 879–882. doi:10.1038/ng.893

[93] Wiese C, Hinz JM, Tebbs RS et al. Disparate requirements for the Walker A and B ATPase motifs of human RAD51D in homologous recombination. Nucleic Acids Res 2006; 34: 2833–2843. doi:10.1093/nar/gkl366

[94] Song H, Dicks E, Ramus SJ et al. Contribution of Germline Mutations in the RAD51B, RAD51C, and RAD51D Genes to Ovarian Cancer in the Population. J Clin Oncol 2015; 33: 2901–2907. doi:10.1200/jco.2015.61.2408

[95] Meindl A, Hellebrand H, Wiek C et al. Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene. Nat Genet 2010; 42: 410–414. doi:10.1038/ng.569

[96] Vaz F, Hanenberg H, Schuster B et al. Mutation of the RAD51C gene in a Fanconi anemia-like disorder. Nat Genet 2010; 42: 406–409. doi:10.1038/ng.570

[97] Clague J, Wilhoite G, Adamson A et al. RAD51C germline mutations in breast and ovarian cancer cases from high-risk families. PLoS One 2011; 6: e25632. doi:10.1371/journal.pone.0025632

[98] Osorio A, Endt D, Fernandez F et al. Predominance of pathogenic missense variants in the RAD51C gene occurring in breast and ovarian cancer families. Hum Mol Genet 2012; 21: 2889–2898. doi:10.1093/hmg/dds115

[99] French CA, Tambini CE, Thacker J. Identification of functional domains in the RAD51L2 (RAD51C) protein and its requirement for gene conversion. J Biol Chem 2003; 278: 45445–45450. doi:10.1074/jbc.M308621200

Supplementary Material – deutschsprachige Zusatzinformation! Zitierbar ist ausschließlich der englischsprachige Artikel.

[100] Jonson L, Ahlborn LB, Steffensen AY et al. Identification of six pathogenic RAD51C mutations via mutational screening of 1228 Danish individuals with increased risk of hereditary breast and/or ovarian cancer. Breast Cancer Res Treat 2016; 155: 215–222. doi:10.1007/s10549-015-3674-y

[101] Schnurbein G, Hauke J, Wappenschmidt B et al. RAD51C deletion screening identifies a recurrent gross deletion in breast cancer and ovarian cancer families. Breast Cancer Res 2013; 15: R120. doi:10.1186/bcr3589

[102] Ali AM, Singh TR, Meetei AR. FANCM-FAAP24 and FANCJ: FA proteins that metabolize DNA. Mutat Res 2009; 668: 20–26. doi:10.1016/j.mrfmmm.2009.04.002

[103] Yu X, Chini CC, He M et al. The BRCT domain is a phospho-protein binding domain. Science 2003; 302: 639–642. doi:10.1126/science.1088753

[104] Peng M, Litman R, Xie J et al. The FANCJ/MutLalpha interaction is required for correction of the cross-link response in FA-J cells. EMBO J 2007; 26: 3238–3249. doi:10.1038/sj.emboj.7601754

[105] Weber-Lassalle N, Hauke J, Ramser J et al. BRIP1 loss-of-function mutations confer high risk for familial ovarian cancer, but not familial breast cancer. Breast Cancer Res 2018; 20: 7. doi:10.1186/s13058-018-0935-9

[106] Castera L, Harter V, Muller E et al. Landscape of pathogenic variations in a panel of 34 genes and cancer risk estimation from 5131 HBOC families. Genet Med 2018. doi:10.1038/s41436-018-0005-9

[107] Li J, Meeks H, Feng BJ et al. Targeted massively parallel sequencing of a panel of putative breast cancer susceptibility genes in a large cohort of multiple-case breast and ovarian cancer families. J Med Genet 2016; 53: 34–42. doi:10.1136/jmedgenet-2015-103452

[108] Norquist BM, Harrell MI, Brady MF et al. Inherited Mutations in Women With Ovarian Carcinoma. JAMA Oncol 2016; 2: 482–490. doi:10.1001/jamaoncol.2015.5495

[109] Ramus SJ, Song H, Dicks E et al. Germline Mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN Genes in Women With Ovarian Cancer. J Natl Cancer Inst 2015; 107: pii: djv214. doi:10.1093/jnci/djv214

[110] Lilyquist J, LaDuca H, Polley E et al. Frequency of mutations in a large series of clinically ascertained ovarian cancer cases tested on multigene panels compared to reference controls. Gynecol Oncol 2017; 147: 375–380. doi:10.1016/j.ygyno.2017.08.030

[111] Hansford S, Kaurah P, Li-Chang H et al. Hereditary Diffuse Gastric Cancer Syndrome: CDH1 Mutations and Beyond. JAMA Oncol 2015; 1: 23–32. doi:10.1001/jamaoncol.2014.168

[112] Melo S, Figueiredo J, Fernandes MS et al. Predicting the Functional Impact of CDH1 Missense Mutations in Hereditary Diffuse Gastric Cancer. Int J Mol Sci 2017; 18: pii: E2687. doi:10.3390/ijms18122687

[113] Oliveira C, Pinheiro H, Figueiredo J et al. Familial gastric cancer: genetic susceptibility, pathology, and implications for management. Lancet Oncol 2015; 16: e60–e70. doi:10.1016/S1470-2045(14)71016-2

[114] Corso G, Intra M, Trentin C et al. CDH1 germline mutations and hereditary lobular breast cancer. Fam Cancer 2016; 15: 215–219. doi:10.1007/s10689-016-9869-5

[115] Krempely K, Karam R. A novel de novo *CDH1* germline variant aids in the classification of carboxy-terminal E-cadherin alterations predicted to escape nonsense-mediated mRNA decay. Cold Spring Harb Mol Case Stud 2018; 4: pii: a003012. doi:10.1101/mcs.a003012

[116] Matsuoka S, Rotman G, Ogawa A et al. Ataxia telangiectasia-mutated phosphorylates Chk2 in vivo and in vitro. Proc Natl Acad Sci U S A 2000; 97: 10389–10394. doi:10.1073/pnas.190030497