



MVZ Ulm gemeinnützige GmbH · Helmholtzstraße 10 · 89081 Ulm

Dr. M. Musterarzt
Facharzt für Humangenetik
Musterstraße 1
11111 Musterstadt

Patient/in:	Musterfrau, Erika weiblich, (*DD.MM.YYYY)
Probeneingang:	DD.MM.YYYY
Material:	EDTA-Blut
Probenentnahme:	DD.MM.YYYY
Interne ID:	ABCDEFG2
Befunddatum:	DD.MM.YYYY

Molekulargenetischer Befund – Musterfrau, Erika (*DD.MM.YYYY)

Indikation: Familiäre Häufung der chronischen granulomatösen Erkrankung (CGD)

Auftrag: Molekulargenetische Untersuchung des *NCF1*-Gens

Ergebnis: Auffälliger Befund

Nachweis einer auffälligen Variante: Eine pathogene Variante in dem Gen *NCF1*.

Gen	Variante (HGVS)	Genomische Position (GRCh38)	Zygotie	Absolute Allelfrequenz	Bewertung
<i>NCF1</i>	NM_000265.7:c.75_76del (NP_000256.4:p.Tyr26HisfsTer26)	NC_000007.14:g.?_7477764 4delins75168315_?inv	het.	0.03292 %	pathogen

Informationen zur Interpretation der Tabellen können im Abschnitt *Ergänzende Informationen* eingesehen werden.

Interpretation:

Bei der untersuchten Person wurde die familiäre pathogene Variante im *NCF1*-Gen NM_000265.7:c.75_76del; p.Tyr26HisfsTer26 heterozygot nachgewiesen. Somit ergibt sich ein **heterozygoter Trägerstatus**. Die untersuchte Variante gilt als krankheitsursächlich für die autosomal-rezessive Form der septischen Granulomatose, führt in heterozygoter Form jedoch nicht zur Ausprägung der Erkrankung.

Einordnung für potentielle Nachkommen:

Für Nachkommen besteht eine 50 %ige Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines heterozygoten Trägerstatus. Sofern der Partner ebenfalls heterozygoter Träger einer pathogenen Variante im *NCF1*-Gen ist, beträgt das Risiko für gemeinsame Nachkommen 25% für eine Erkrankung, 50% für einen heterozygoten Trägerstatus und 25% für das Nichtvorliegen der pathogenen Varianten. Wenn beim Partner krankheitsverursachende *NCF1*-Varianten in beiden Genkopien vorliegen, beträgt das Risiko für gemeinsame Nachkommen 50 % für das Vorliegen der Erkrankung und 50 % für einen heterozygoten Trägerstatus.

Empfehlung:

Zur weiteren Einordnung des reproduktiven Risikos empfehlen wir bei Kinderwunsch eine molekulargenetische Untersuchung des Partners hinsichtlich pathogener Varianten im *NCF1*-Gen.

Paneldiagnostik | Musterfrau, Erika (*DD.MM.YYYY) | Probenentnahme DD.MM.YYYY | Befunddatum DD.MM.YYYY | Seite 1 von 4

Medizinisches Versorgungszentrum DRK-Blutspendedienst Ulm gemeinnützige GmbH, Helmholtzstraße 10, 89081 Ulm

Geschäftsführer:
Prof. Dr. med. Hubert Schrezenmeier
Dipl.-Wirtschaftsing. Wolfgang Rüstig

Sitz der Gesellschaft:
Ulm/Donau
Registergericht:
Amtsgericht Ulm
HRB 728229

USt-IdNr.
DE284993015

Bankverbindung:
Commerzbank AG
Konto-Nr. 113 623 300 (BLZ 662 400 02)
IBAN: DE87 6624 0002 0113 6233 00
BIC: COBADEFF662

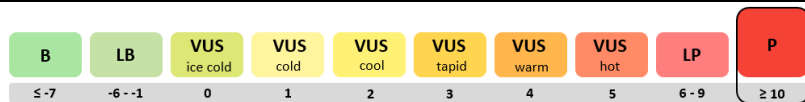
Varianten-Interpretation

***NCF1*, NM_000265.7:c.75_76del; NP_000256.4: p.Tyr26HisfsTer26, het.**

ACMG Kriterium	Punkte	Erklärung
PVS1 (Strong)	+4	Null-Variante (Nonsense, Frameshift, kanonische ± 1 - oder ± 2 -Spleißstellen, Startcodon, Deletion oder Duplikation eines einzelnen oder mehrerer Exons) in einem Gen, bei dem Loss-of-Function (LOF) ein bekannter Krankheitsmechanismus ist; sowie nicht-kanonische Spleißvarianten, bei denen RNA-Analysen eine abnorme Transkription bestätigen.
PS3 (Supporting)	+1	Gut etablierte in vitro- oder in vivo-Funktionsstudien, die eine schädigende Wirkung auf das Gen oder sein Genprodukt belegen.
PM2 (Supporting)	+1	Nicht in Kontrollpopulationen nachgewiesen (oder nur mit niedriger Häufigkeit, falls rezessiv) in großen Populationsdatenbanken z.B. der Genome Aggregation Database (gnomAD non-UKB).
PP1 (Strong)	+4	Co-Segregation der Erkrankung bei mehreren betroffenen Familienmitgliedern bei einem Gen, das eindeutig als Ursache der Erkrankung bekannt ist. (Literaturrecherche)
PS4 (Strong)	+4	Die Häufigkeit der Variante bei betroffenen Personen ist im Vergleich zur Häufigkeit in Kontrollpersonen deutlich erhöht.

ACMG/ ACGS
Klassifizierung:

+14



pathogen

Informationen zur Interpretation der Tabellen sowie zu den in der nachfolgenden Beschreibung zitierten Referenzen können im Abschnitt „Ergänzende Informationen“ eingesehen werden.

Das *NCF1*-Gen weist zwei hoch homologe Pseudogene (*NCF1B* und *NCF1C*) auf, wodurch die molekulargenetische Analyse dieser Genregion erschwert ist. Bei der vorliegenden Veränderung liegt wahrscheinlich eine pseudogenabgeleitete Sequenzübertragung in das funktionelle *NCF1*-Gen vor.

Aufgrund der hohen Sequenzhomologie im untersuchten Bereich ist eine eindeutige und zweifelsfreie Zuordnung zu einem der beiden Pseudogene erschwert; die vorliegende Variantenkonstellation im Intronbereich sind jedoch am ehesten mit einer Beteiligung von *NCF1C* vereinbar, wobei in diesem Fall von einer Übertragung in invertierter Orientierung auszugehen wäre. Der 3'-Bruchpunkt konnte erfasst werden, während der 5'-Bruchpunkt methodisch nicht sicher abgrenzbar war.

Funktionell resultiert aus der genomischen Veränderung ein Verlust kodierender Sequenz in Exon 2 des *NCF1*-Gens mit Nachweis der Variante c.75_76del, die zu einer Leserasterverschiebung und einem vorzeitigen Stopcodon führt (p.Tyr26HisfsTer26). Daraus ist ein Loss of Function des betroffenen Allels abzuleiten.

Für *NCF1* ist ein autosomal rezessiv vererbter Loss-of-Function-Mechanismus als krankheitsursächlich nachgewiesen.¹ Die hier nachgewiesene Veränderung gehört zu den häufigsten molekularen Ursachen der autosomal-rezessiven chronischen Granulomatose und wurde mehrfach bei Patienten nachgewiesen.^{2,3,4,5,6,7,8,9} Die funktionelle Relevanz der Variante ist durch Rekonstitutions- und Korrektorexperimente gut belegt. Die Expression von Wildtyp-*NCF1* in p47phox-defizienten Zellen führte zur Wiederherstellung der Superoxidbildung und des p47phox-Nachweises.¹⁰ In neueren Genkorrekturmodellen konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass die gezielte Korrektur der c.75_76del-Veränderung die p47phox-Expression, die NADPH-Oxidase-Aktivität sowie phagozytäre Effektorfunktionen einschließlich der bakteriellen Elimination wiederherstellt.^{11,12}

Insgesamt stützen diese Daten die Bewertung der vorliegenden Veränderung als pathogen.

Dieser genetische Befund stellt eine diagnostische Hilfestellung dar und ist nicht als alleinige Grundlage für eine gesicherte Diagnose geeignet. Die Interpretation der Ergebnisse sollte stets im klinischen Kontext erfolgen und mit den klinischen Symptomen, der Anamnese sowie gegebenenfalls weiteren diagnostischen Kriterien und Untersuchungen kombiniert werden, um eine belastbare diagnostische Bewertung zu ermöglichen.

Gemäß § 10 des Gendiagnostikgesetzes (GenDG) soll jede diagnostische genetische Untersuchung mit dem Angebot einer genetischen Beratung einhergehen. Bei gesicherter Diagnose einer genetischen Erkrankung ist eine genetische Beratung anzubieten.

Befund erstellt von:

Geprüft durch:

Dr. rer. nat. Wissenschaftler 1

Dr. rer. nat. Wissenschaftler 2

Medizinisch verantwortlich und validiert durch:

Geprüft durch:

Prof. Dr. med. David Messerer, MME, MHBA

Dr. med. Peter Schauwecker

Mit freundlichen Grüßen,

Dr. med. Peter Schauwecker

Ergänzende Informationen

Untersuchte Regionen

Für den/die oben genannten/genannte Patienten/Patientin wurden Varianten in den angeforderten Exons (± 10 Basenpaare) der im Auftrag angeforderten Gene (siehe Befundseite 1) untersucht.

Limitation der Untersuchung

Heterozygote Kopienzahlvarianten (CNVs) einzelner Exons oder ganzer Gene können mit dieser Methode meist nicht erfasst werden. Geringgradige Mosaikungen können unentdeckt bleiben. Die Ergebnisse der genetischen Untersuchung basieren auf dem derzeit verfügbaren Stand der wissenschaftlichen Erkenntnisse. Zukünftige Forschung kann zu einer veränderten Interpretation der bereits erhobenen genetischen Befunde führen.

Information Tabellen

Variante:

Die Benennung der identifizierten Varianten erfolgt gemäß den Empfehlungen der Human Genome Variation Society (HGVS) ohne Berücksichtigung der allelischen Zuordnung einzelner Varianten.

Chromosomale Position:

Die Angabe der chromosomalen Positionen basiert auf dem humanen Referenzgenom GRCh38.

Zygotie:

het. – heterozygot | hom. – homozygot | hemi. – hemizygot | XL – X-chromosomal

Absolute Allelfrequenz:

Die absolute Allelfrequenz entspricht dem Anteil des Alternativallels in der Gesamtpopulation des gnomAD-Datensatzes Version 4.1.0 (non-UKB). Sollte eine Variante in gnomAD nicht erfasst sein, wird die absolute Allelfrequenz mit n.r. (not reported) angegeben.

ACMG Klassifizierung/Bewertung:

B – benign (benign), **LB** – wahrscheinlich benign (likely benign), **VUS** – Variante unklarer Signifikanz (variant of uncertain significance), **LP** – wahrscheinlich pathogen (likely pathogenic), **P** – pathogen (pathogenic)

Sequenzierung

Isolierte DNA des Patientenmaterials wurde mittels der HotStarTaq DNA Polymerase (Qiagen) amplifiziert. Die anschließende Sequenzierung erfolgte auf einem Thermo Fisher Scientific 3730xl DNA Analyzer System unter der Verwendung der BigDye™ Terminator Version 3.1 Technologie der Firma Thermo Fisher Scientific.

Genetische Auswertung

Die Einordnung der detektierten Varianten erfolgt gemäß den aktuellen Empfehlungen des American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) und der Association for Molecular Pathology (AMP) (Richards et al. 2015; PMID: 25741868). Zur Unterstützung der ACMG-basierten Klassifikation werden etablierte Datenbanken und In-silico-Prädiktoren herangezogen (u. a. gnomAD, ClinVar, DECIPHER, SpliceAI, UCSC Genome Browser). Die abschließende Bewertung und Interpretation der Varianten erfolgt durch qualifiziertes Fachpersonal.

In die Bewertung einbezogen werden alle Sequenzvarianten (SNVs und Insertionen/Deletionen) mit einer Populationsfrequenz < 5 %, sofern sie innerhalb der kodierenden Regionen der angeforderten Gene oder in angrenzenden, intronischen Bereichen (± 10 Basenpaare) lokalisiert sind. Die Frequenzbewertung erfolgt anhand öffentlich zugänglicher Referenzdatenbanken (z. B. gnomAD) sowie einer internen Vergleichsdatenbank. Grundlage der Interpretation sind die zum Zeitpunkt der Analyse vorliegenden klinischen Angaben.

Im Befund berichtet werden Varianten, die als pathogen, wahrscheinlich pathogen oder als Variante unklarer Signifikanz (VUS) klassifiziert wurden. Die Nomenklatur erfolgt gemäß den Empfehlungen der Human Genome Variation Society (HGVS). Eine allelische Zuordnung („Phasing“) einzelner Varianten erfolgt in der Regel nicht, da diese meist nicht eindeutig bestimmbar ist.

Referenzen

- ¹ Leiding JW, Holland SM. Chronic Granulomatous Disease. 2012 Aug 9 [updated 2026 Jan 22]. In: Adam MP, Bick S, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Amemiya A, editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2026. PMID: 22876374.
- ² Roesler J, Curnutte JT, Rae J, Barrett D, Patino P, Chanock SJ, Goerlach A. Recombination events between the p47-phox gene and its highly homologous pseudogenes are the main cause of autosomal recessive chronic granulomatous disease. *Blood*. 2000 Mar 15;95(6):2150-6. PMID: 10706888.
- ³ Khan TA, Cabral-Marques O, Schimke LF, de Oliveira EB Jr, Amaral EP, D'Império Lima MR, Scancetti Tavares F, Costa Carvalho BT, Condino-Neto A. Tuberculosis in an autosomal recessive case of chronic granulomatous disease due to mutation of the NCF1 gene. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2016 May-Jun;44(3):276-9. doi: 10.1016/j.aller.2015.04.003. Epub 2015 Sep 26. PMID: 26409780.
- ⁴ Wolach B, Gavrieli R, de Boer M, van Leeuwen K, Berger-Achituv S, Stauber T, Ben Ari J, Rottem M, Schlesinger Y, Grisaru-Soen G, Abuzaitoun O, Marcus N, Zion Garty B, Broides A, Levy J, Stepansky P, Etzioni A, Somech R, Roos D. Chronic granulomatous disease: Clinical, functional, molecular, and genetic studies. The Israeli experience with 84 patients. *Am J Hematol*. 2017 Jan;92(1):28-36. doi: 10.1002/ajh.24573. Epub 2016 Nov 18. PMID: 27701760.
- ⁵ Colin de Verdière S, Noel E, Lozano C, Catherinot E, Martin M, Rivaud E, Couderc LJ, Salvator H, Bustamante J, Martin T. Respiratory Complications Lead to the Diagnosis of Chronic Granulomatous Disease in Two Adult Patients. *J Clin Immunol*. 2017 Feb;37(2):113-116. doi: 10.1007/s10875-017-0370-1. Epub 2017 Jan 27. PMID: 28130637.
- ⁶ Zhou Q, Hui X, Ying W, Hou J, Wang W, Liu D, Wang Y, Yu Y, Wang J, Sun J, Zhang Q, Wang X. A Cohort of 169 Chronic Granulomatous Disease Patients Exposed to BCG Vaccination: a Retrospective Study from a Single Center in Shanghai, China (2004–2017). *J Clin Immunol*. 2018 Apr;38(3):260-272. doi: 10.1007/s10875-018-0486-y. Epub 2018 Mar 20. PMID: 29560547.
- ⁷ Iwata M, Nunoi H, Yamazaki H, Nakano T, Niwa H, Tsuruta S, Ohga S, Ohmi S, Kanegasaki S, Matsuda I. Homologous dinucleotide (GT or TG) deletion in Japanese patients with chronic granulomatous disease with p47-phox deficiency. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994 Mar 30;199(3):1372-7. doi: 10.1006/bbrc.1994.1382. PMID: 8147881.
- ⁸ Roos D, de Boer M, Köker MY, Dekker J, Singh-Gupta V, Ahlin A, Palmblad J, Sanal O, Kurenko-Deptuch M, Jolles S, Wolach B. Chronic granulomatous disease caused by mutations other than the common GT deletion in NCF1, the gene encoding the p47phox component of the phagocyte NADPH oxidase. *Hum Mutat*. 2006 Dec;27(12):1218-29. doi: 10.1002/humu.20413. PMID: 16972229.
- ⁹ Kuhns DB, Alvord WG, Heller T, Feld JJ, Pike KM, Marciano BE, Uzel G, DeRavin SS, Priel DA, Soule BP, Zarembek KA, Malech HL, Holland SM, Gallin JI. Residual NADPH oxidase and survival in chronic granulomatous disease. *N Engl J Med*. 2010 Dec 30;363(27):2600-10. doi: 10.1056/NEJMoa1007097. PMID: 21190454; PMCID: PMC3069846.
- ¹⁰ Volpp BD, Lin Y. In vitro molecular reconstitution of the respiratory burst in B lymphoblasts from p47-phox-deficient chronic granulomatous disease. *J Clin Invest*. 1993 Jan;91(1):201-7. doi: 10.1172/JCI116171. PMID: 7678602; PMCID: PMC330015.
- ¹¹ Klatt D, Cheng E, Philipp F, Selich A, Dahlke J, Schmidt RE, Schott JW, Büning H, Hoffmann D, Thrasher AJ, Schambach A. Targeted Repair of p47-CGD in iPSCs by CRISPR/Cas9: Functional Correction without Cleavage in the Highly Homologous Pseudogenes. *Stem Cell Reports*. 2019 Oct 8;13(4):590-598. doi: 10.1016/j.stemcr.2019.08.008. Epub 2019 Sep 19. PMID: 31543470; PMCID: PMC6829751.
- ¹² Jack M Heath, Jacob Stuart Orenstein, Justin G Tedeschi, Allen Ng, Maria D Collier, Julia Kushakji, Alan J Wilhelm, Andrew Taylor, David P Waterman, Suk See De Ravin, Harry L Malech, Andrew V Anzalone, Jeremy S Duffield, Jennifer L Gori; Prime Editing Efficiently and Precisely Corrects Causative Mutation in Chronic Granulomatous Disease, Restoring Myeloid Function: Toward Development of a Prime Edited Autologous Hematopoietic Stem Cell Therapy. *Blood* 2023; 142 (Supplement 1): 7129. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2023-186365>

Appendix

Unser Labor ist nach DIN EN ISO 15189 durch die DAkkS akkreditiert (ML-D-19105-01). Im Falle der Nutzung der Befunde im Rahmen von Veröffentlichungen würden wir uns über ein gemeinsames Vorgehen freuen.

Dieser Befund wurde von unserer Seite dem Patienten nicht mitgeteilt. Laut Gendiagnostikgesetz sollen die Ergebnisse von genetischen Untersuchungen im Rahmen einer genetischen Beratung erläutert werden.

Die Kosten der Untersuchung entnehmen Sie bitte dem Bericht zum Quartalsende.