

# PAH 유전자의 R53H 유전자변이를 보인 양성 고페닐알라닌혈증 10례

순천향대학교 의과대학 소아과학교실

이지윤 · 이정호 · 이동환

## Ten Cases of R53H Variant of PAH Gene in Benign Hyperphenylalaninemia

Jiyun Lee, Jeongho Lee, Dong Hwan Lee

Department of Pediatrics, Soonchunhyang University Hospital Seoul, Soonchunhyang University College of Medicine, Republic of Korea

**Purpose:** Phenylketonuria (PKU) results from a deficiency of phenylalanine hydroxylase (PAH). The mutation of the PAH gene results in decreased phenylalanine hydroxylase enzyme activity in hyperphenylalaninemia (HPA) patients. This study reports ten cases of patients with the benign HPA genotype c.158G>A (p.Arg53His, R53H) variant in the PAH gene and aims to evaluate the clinical significance of the R53H variant.

**Methods:** Ten Korean patients with the HPA genotype the R53H variant were included in this study. A retrospective medical record review was conducted. We characterized the phenotypes of the patients with HPA with the R53H variant using the following system: classic PKU, moderate PKU, mild PKU, Mild HPA, and benign HPA.

**Results:** Five patients had the R53H variant with the "Pathogenic" variants (R413P, R241C, Y356\*, c.442-1G>A, Y325\*), Two patients had the "Likely pathogenic" variants (W187\*, A259T), Two patients had the "Uncertain significance" variants (R53H, G344D), and One patient had the "Not provided" variant (c.1066-14C>G). Nine patients genotyped with the R53H variant were the patient with benign HPA and One patient genotyped with the R53H homozygote was within normal range of plasma phenylalanine. None of the ten patients required dietary restriction of phenylalanine or pharmacotherapy to maintain their plasma phenylalanine levels and showed no clinical symptoms of HPA.

**Conclusion:** Ten patients with HPA genotype the R53H variant were the patient with benign HPA and showed no clinical symptoms of HPA. Thus, the R53H variant, which was previously classified as an "Uncertain significance" mutation in HPA patients, should be re-classified as "Benign."

**Key words:** Phenylketonuria, Hyperphenylalaninemia, Phenylalanine, PAH

### 서 론

페닐케톤뇨증(Phenylketonuria, PKU, OMIM 26

1600)은 방향족 아미노산의 하나인 페닐알라닌(Phenylalanine, Phe)의 대사장애가 발생하는 유전성 대사 질환이다<sup>1,2)</sup>. 페닐케톤뇨증 환자는 필수 아미노산인 페닐알라닌을 타이로신으로 변환하는 페닐알라닌 수산화효소(Phenylalanine hydroxylase, PAH, EC 1.14.16.1)의 활성 저하 혹은 결핍으로 인해 체내에 페닐알라닌과 그 대사 산물인 아세트산 페닐(Phenylacetate)

책임저자: 이동환, 서울특별시 용산구 한남동 대사관길 22  
순천향대학교 의과대학 소아과학교실  
Tel: 02) 709-9341, Fax: 02) 709-9135  
E-mail: ldh@schmc.ac.kr

과 젓산 페닐(Phenylactate)이 축적되며<sup>1-5)</sup>, 치료받지 않은 페닐케톤뇨증 환자들은 신경계 손상으로 비가역적인 지적 장애, 행동 장애, 운동 장애, 경련 등 신경계 증상이 나타나며, 담갈색 모발, 피부의 색소 결핍, 피부습진 등의 증상도 나타나게 된다<sup>2,5)</sup>.

페닐케톤뇨증은 상염색체 열성 유전 질환으로, 대부분의 경우는 12q24.1에 위치한 *PAH* 유전자 변이에 의해 발생한다<sup>6)</sup>. *PAH* 유전자는 13개의 exon과 필수 requisite intron으로 구성되어 있는데<sup>7)</sup>, 1986년 Di-Lella AG 등에 의해 페닐케톤뇨증 환자에서 *PAH* 유전자 변이가 최초로 밝혀진 이후로<sup>8)</sup>, 현재까지 500가지 이상의 *PAH* 유전자 변이가 밝혀졌다<sup>9)</sup>. 이러한 *PAH* 유전자 변이는 페닐알라닌 수산화효소의 기능에 영향을 주며 남아 있는 페닐알라닌 수산화효소의 기능에 따라 효소의 기능이 거의 없는 전형적 PKU (Classic PKU) 부터 치료가 필요하지 않은 양성 고페닐알라닌혈증(Benign hyperphenylalaninemia)까지 페닐케톤뇨증 환자의 표현형(Phenotype)을 결정하게 된다<sup>2)</sup>.

최근 차세대 염기서열분석법(Next generation sequencing technology, NGS)의 등장으로 짧은 시간 내에 다양한 유전적 변이들을 발견해 낼 수 있게 되었으며 이에 따라 유전적 변이와 임상적 증상과의 관계를 해석하는 것이 중요해졌다<sup>10,11)</sup>. 이에 따라 2015년 American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)와 Association for Molecular Pathology (AMP)에서는 최근 이러한 유전적 변이를 해석하는데 필요한 기준과 가이드라인을 만들었으며, 이를 통해 유전성 질환에 대해 처치를 할 때, 유전적인 검사 정보가 도움이 될 수 있도록 하였다<sup>12)</sup>. 현재 ACMG/AMP 가이드라인은 유전적 변이의 임상적 중요도(Clinical significance)를 “병적인(Pathogenic)”, “병적일 수 있는(Likely pathogenic)”, “양성일 수 있는(Likely benign)”, “양성(Benign)”, “중요도가 확실하지 않은(Uncertain significance)”의 다섯 가지로 분류하고 있다<sup>12)</sup>.

*PAH* 유전자의 c.158G>A (p.Arg53His, p.R53H, rs118092776) 변이는 이전에 한국인 전형적 페닐케톤뇨증 환자에서 최초로 보고되었다<sup>13)</sup>. 이 유전자 변이는 추가적인 연구와 사례에서 몇몇 보고에서는 전형적 페닐케톤뇨증 혹은 Tetrahydrobiopterin (BH4) 반응성

페닐케톤뇨증과 관계가 있는 것으로 생각되었으나, 결과가 서로 일치하지 않는 문제가 있다<sup>4,13-22)</sup>. 그 결과 현재 2015 ACMG/AMP 가이드라인에서 c.158G>A (p.R53H) 변이는 “중요도가 확실하지 않은(Uncertain significance)” 변이로 분류되어 있다<sup>12)</sup>.

본 연구에서는 유전자 검사에서 c.158G>A (p.R53H) 변이가 확인된 10명의 고페닐알라닌혈증을 보인 환자들을 분석하였다. 이를 통해 2015 ACMG/AMP 가이드라인 기준에 따라 c.158G>A (p.R53H) 변이에 대한 임상적 해석을 해보고자 하였다.

## 대상 및 방법

2010년 5월부터 2017년 5월 까지 순천향대학교 서울병원에서 추적 관찰하고 있는 고페닐알라닌혈증 환자 중 유전자 검사를 통해 c.158G>A (p.R53H) 변이를 보인 10명의 환자들의 의무기록을 검토하여 후향적 연구를 시행하였다. 10명의 환자 중 무증상의 38세 남자 환자를 제외한 9명의 환자는 신생아 선별검사를 통해 고페닐알라닌혈증을 진단 받았다. 상기 환자들의 임상 증상, 혈중 페닐알라닌 농도, 치료 유무 등 임상 양상을 확인하였으며, 환자들을 혈중 페닐알라닌 농도에 따라 혈중 페닐알라닌 농도가 1,200  $\mu\text{mol/L}$ 를 초과하는 경우를 전형적 페닐케톤뇨증(Classic PKU), 900-1,200  $\mu\text{mol/L}$ 인 경우를 중등도 페닐케톤뇨증(Moderate PKU), 600-900  $\mu\text{mol/L}$ 인 경우를 경증 페닐케톤뇨증(Mild PKU), 360-600  $\mu\text{mol/L}$ 인 경우를 경중 고페닐알라닌혈증(Mild hyperphenylalaninemia, Mild HPA), 120-360  $\mu\text{mol/L}$ 인 경우를 양성 고페닐알라닌혈증(Benign HPA)으로 분류하였다<sup>2,14,23)</sup>.

또한 유전자 변이에 대해서 2015 ACMG/AMP 가이드라인을 적용하여 “병적인(Pathogenic)”, “병적일 수 있는(Likely pathogenic)”, “양성일 수 있는(Likely benign)”, “양성(Benign)”, “중요도가 확실하지 않은(Uncertain significance)”의 다섯 가지로 유전자 변이를 해석하였다<sup>12)</sup>. 이를 통해 유전자 변이의 해석과 임상 양상의 상관관계를 알아보고자 하였다. 본 연구는 헬싱키 선언을 준수하였고 본원 윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다.

## 결 과

연구 기간 동안, 총 10명의 환자들이 c.158G>A (p.R53H) 유전자 변이를 보였다. 환자들의 유전자 변이와 ACMG/AMP 가이드라인에 따른 유전자 변이의 임상적 중요도는 Table 1에 정리하였다. 환자들 중 Case 6의 38세 남자 환자는 신생아 선별검사를 통해 고페닐알라닌혈증으로 진단된 Case 5의 3세 여자 환자의 아버지로 부모의 돌연변이를 확인하기 위해 시행한 유전자 검사에서 c.158G>A (p.R53H) 동형 접합자 변이가 있는 것으로 확인되었다. Case 1의 c.1238G>C (p.R413P), Case 2의 c.721C>T (p.R241C), Case 3의 c.1068C>A (p.Y356\*), Case 4의 c.442-1G>A, Case 5의 c.975C>G (p.Y325\*) 변이는 임상적 중요도가 “병적인”으로 확인 되었다. Case 8의 c.721C>T (p.W187\*) 과 Case 9의 c.775G>A (p.Y356\*)은 “병적일 수 있는”으로 밝혀졌고 Case 10의 c.1066-14C>G는 아직까지 중요도가 평가되지 않았다.

환자들의 혈중 페닐알라닌 농도와 임상 증상 및 징후, 치료 유무와 생화학적 표현형(Biochemical phenotype)은 Table 2에 정리하였다. Case 6의 38세 남자 환자를 제외한 9명의 환자들은 혈중 페닐알라닌 수치가 120-360 μmol/L에 해당하는 양성 고페닐알라닌혈증으로 진단 되었다. Case 6의 c.158G>A (p.R53H) 동형 접합자 변이를 가진 환자는 특이 증상 및 징후는 없었으며 혈중 페닐알라닌 농도 역시 103.1 μmol/L로 정상범위 내였다. 상기 환자를 포함하여 모든 환자들은

특이 임상 증상 및 징후를 보이지 않았으며, 저페닐알라닌 식사가 아닌 정상 식사를 진행하였으며, BH4 등을 이용한 특이 약물치료는 시행하지 않았다. Fig. 1은 추적 관찰을 하는 동안 환자들의 혈중 페닐알라닌 농도를 나타낸 것으로 환자들은 정상 식사 진행에도 불구하고 혈중 페닐알라닌 농도의 증가는 보이지 않았다.

## 고 찰

PAH 유전자의 c.158G>A (p.R53H) 변이는 1998년 한국인 전형적 페닐케톤뇨증 환자에서 처음으로 보고되었다<sup>13)</sup>. 당시 환자는 흰 피부, 노란 모발, 쥐 오줌 냄새가 나서 생후 45일째 전형적 진단받았다. 환자는 c.158G>A (p.R53H) 변이와 함께 c.1162G>T (p.

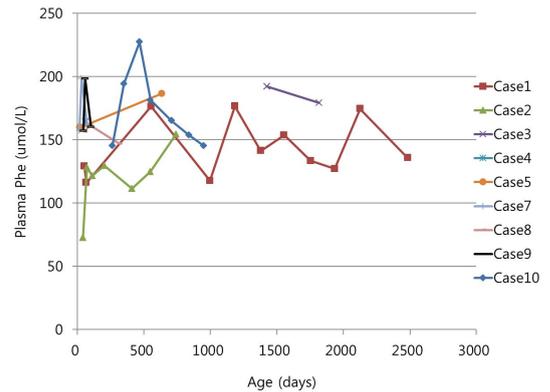


Fig. 1. Plasma phenylalanine concentration. 10 patients who presented genetic variant c.158G>A (p.R53H) did not need specific therapy to maintain phenylalanine level.

Table 1. Genetic Characteristics of Korean Hyperphenylalaninemia Patients with the c.158G>A (p.R53H) Variant

ID No.	Sex	Age (yrs)	cDNA change	Protein change	Clinical significant
1	F	7	c.[158G>A];[1238G>C]	p.[R53H];[R413P]	Uncertain significance;Pathogenic
2	F	3	c.[158G>A];[721C>T]	p.[R53H];[R241C]	Uncertain significance;Pathogenic
3	M	6	c.[158G>A];[1068C>A]	p.[R53H];[Y356*]	Uncertain significance;Pathogenic
4	F	3 m	c.[158G>A];[442-1G>A]	p.[R53H];[?]	Uncertain significance; Pathogenic
5	F	3	c.[158G>A];[975C>G]	p.[R53H];[Y325*]	Uncertain significance;Pathogenic
6	M	38	c.[158G>A];[158G>A]	p.[R53H];[R53H]	Uncertain significance;Uncertain significance
7	M	5 m	c.[158G>A];[1031G>A]	p.[R53H];[G344D]	Uncertain significance;Uncertain significance
8	F	10 m	c.[158G>A];[721C>T]	p.[R53H];[W187*]	Uncertain significance;Likely pathogenic
9	F	7 m	c.[158G>A];[775G>A]	p.[R53H];[A259T]	Uncertain significance;Likely pathogenic
10	F	4	c.[158G>A];[1066-14C>G]	p.[R53H];[?]	Uncertain significance;Not provided

**Table 2. Clinical Manifestations of Korean Hyperphenylalaninemia Patients with the c.158G>A (p.R53H) Variant**

ID No.	Sex	Age (yrs)	Phe on DBS (μmol/L)		Plasma Phe (μmol/L)		Clinical symptoms & signs	Management	Biochemical phenotype
			Min.	Max.	Min.	Max.			
1	F	7	18.2	169.5	116.3	176.7	None	Normal diet	Benign HPA
2	F	3	6.1	181.6	72.6	154.5	None	Normal diet	Benign HPA
3	M	6	109.0	242.1	179.4	192.3	None	Normal diet	Benign HPA
4	F	3 m	30.3	157.4	164.2		None	Normal diet	Benign HPA
5	F	3	48.4	273.4	159.9	186.7	None	Normal diet	Benign HPA
6	M	38	-	-	103.1		None	Normal diet	Benign HPA
7	M	5 m	54.5	168.3	157.3	198.7	None	Normal diet	Benign HPA
8	F	10 m	30.3	102.9	147.2	162.1	None	Normal diet	Benign HPA
9	F	7 m	42.4	133.2	157.3	198.7	None	Normal diet	Benign HPA
10	F	4	42.3	161.0	145.3	227.4	None	Normal diet	Benign HPA

Reference range of phenylalanine on dried blood spot is <120 μmol/L.

Reference range plasma phenylalanine is 28-115 μmol/L.

Abbreviations: DBS, Dried blood spot; Phe, Phenylalanine; HPA, Hyperphenylalaninemia.

V388L) 변이가 동반되어 있었으며, 이는 이전에 P. Guldberg에 의해 보고된 적이 있는 유전자 변이로 현재 임상적 중요도는 “병적일 수 있는”으로 분류되어 있다<sup>24)</sup>.

이 후 c.158G>A (p.R53H) 변이에 대한 몇몇 보고에서는 전형적 페닐케톤뇨증 혹은 BH4 반응성 페닐케톤뇨증과 관계가 있는 것으로 생각되었으나, 결과가 서로 일치하지 않았다<sup>4,9,13-22)</sup>. Tianwen Zhu 등의 272 명의 중국인 페닐케톤뇨증 환자를 대상으로 한 PAH 유전자 변이와 표현형의 상관관계에 대한 연구에서는 3명의 c.158G>A (p.R53H) 변이가 포함되었다<sup>20)</sup>. 그들의 연구에서는 c.1222C>T (p.R408W) 변이가 동반된 1명은 전형적 페닐케톤뇨증, c.842+2T>A 변이가 동반된 1명은 중등도 페닐케톤뇨증이었으며, c.728G>A (p.R243Q) 변이가 동반된 1명은 양성 고페닐알라닌혈증이였다. 그러나 Bercovich 등의 연구에서는 180 명의 페닐케톤뇨증 환자 중 c.158G>A (p.R53H) 변이가 있는 환자는 2명이었으며, 2명의 환자는 모두 양성 고페닐알라닌혈증이였다<sup>22)</sup>. 이는 본 연구결과와 일치하는 연구 결과이다.

Sang-Wun Kim 등의 보고에 따르면 c.158G>A (p.R53H) 변이는 잔여 PAH 효소 활성도는 평균 79%였으며 BH4 반응성 검사에서 PAH 활성이 139% 까지 상승하는 BH4 반응성을 보이는 것으로 나타났다<sup>4)</sup>. 이들은 c.158G>A (p.R53H) 변이는 페닐알라닌 수산

화 효소의 BH4-결합 포켓(BH4-binding pocket)의 반대쪽에 위치하며, 인공 페닐알라닌 수산화효소 4합체 (PAH tetramer) 모델에서 이 변이는 이합체(Dimer)의 접점에 가까이 위치하는데, 이는 이합체의 안정성을 떨어트리게 되며, BH4 농도의 상승은 이합체를 안정화시키게 되며 결과적으로 효소의 활성도가 정상화 된다고 설명하였다<sup>4)</sup>. 따라서 c.158G>A (p.R53H) 변이는 효소의 활성도는 떨어트리지만 질병을 유발할 정도는 아닌 갈락토스혈증의 Duarte 변이와 비슷하다고 생각된다<sup>25)</sup>.

본 연구에서는 현재 “중요도가 확실하지 않은”으로 임상적 중요도가 분류 되어 있는 c.158G>A (p.R53H) 변이를 가진 10명의 환자들의 임상 양상을 확인하였다. Case 6의 38세 남자 환자는 c.158G>A (p.R53H) 동형 접합자 변이를 가진 환자를 제외한 9명의 환자들은 모두 혈중 페닐알라닌 수치가 120-360 μmol/L에 해당하는 양성 고페닐알라닌혈증으로 진단 되었으며 식요소법 및 약물요법 등 특이 치료를 하지 않았음에도 혈중 페닐알라닌 농도의 증가는 보이지 않았다. Case 6의 환자는 c.158G>A (p.R53H) 동형접합자 변이를 가지고 있었으며, 환자는 정상 발달을 하였으며 정상 생활을 하던 중 우연히 딸이 양성 고페닐알라닌혈증을 진단받아 시행한 검사에서 상기 변이가 확인되었으며, 시행한 검사상 혈중 페닐알라닌농도도 정상범위 내였다. 이를 고려하였을 때, c.158G>A (p.R53H) 변이는 임

상적 중요도가 “병적인” 것이 아니라 “양성인” 혹은 “양성일 수 있는” 변이로 생각된다.

몇몇 페닐케톤뇨증 환자에서는 PAH 유전자의 복잡한 인트론 변화, 삭제(Deletion), 복제(Duplication), 혹은 대형 재배치(Rearrangement)가 발생하는데, 이는 기존의 생어염기서열 분석법(Sanger sequencing)으로는 밝혀내기 어렵다<sup>26-30)</sup>. 따라서 이전에 보고된 전형적 페닐케톤뇨증 혹은 BH4 반응형 페닐케톤뇨증을 보였던 c.158G>A (p.R53H) 변이가 있는 환자들은 c.158G>A (p.R53H) 변이 이외에 다른 진정한 병적인 변이가 성공적으로 밝혀지지 않았을 가능성이 있다.

전형적 페닐케톤뇨증은 신경계 손상으로 비가역적인 지적 장애, 행동장애, 운동장애, 경련 등을 일으켜 건강에 심각한 영향을 주는 질환이다. 따라서 정확한 진단과 적절한 치료가 중요하데, 차세대 염기서열 분석법의 등장으로 쉽게 유전자 검사가 가능하게 되었으며, 이를 통한 페닐케톤뇨증의 표현형에 대한 진단이 페닐케톤뇨증에 대한 적절한 치료를 시행하는데 많은 도움이 되었다. 본 연구에서는 이전 연구들에서 전형적 페닐케톤뇨증 혹은 BH4 반응성 페닐케톤뇨증과 관련이 있는지 결론이 일치하지 않는 c.158G>A (p.R53H) 변이를 가진 10명의 양성 고페닐알라닌혈증 환자들의 임상 양상을 알아보았다. 상기 환자들은 모두 혈중 페닐알라닌 수치가 120-360  $\mu\text{mol/L}$ 에 해당하는 양성 고페닐알라닌혈증으로 진단 되었으며 식요소법 및 약물요법 등 특이 치료를 하지 않았음에도 혈중 페닐알라닌 농도의 증가는 보이지 않았다. 이는 c.158G>A (p.R53H) 변이가 정상 변이 혹은 페닐알라닌 수산화효소의 기능저하는 유발하지만 질병을 유발할 정도는 아닌 것일 가능성이 높음을 의미하는 것이며 이형접합으로 병적변이를 가진 사람들이 환자가 아니라 보인자 일 수 있음을 의미한다. 따라서 현재 “중요도를 알 수 없는”로 분류되어 있는 상기 변이는 “양성인” 혹은 “양성일 수 있는” 변이로 분류되어야 할 것이다.

## 요 약

**서론:** 페닐케톤뇨증은 방향족 아미노산의 하나인 페닐알라닌의 대사장애가 발생하는 유전성 대사질환이다.

양성 고페닐알라닌혈증은 페닐알라닌 수산화효소(PAH) 유전자 변이가 발견되는 페닐케톤뇨증 환자에서 저페닐알라닌 식사 치료가 필요 없이 정상적인 성장 및 발달이 가능한 질환이다. 최근 PAH 유전자의 R53H 변이는 병적이라기 보다 양성에 가까운 것으로 생각되었으며 저자들은 양성 고페닐알라닌혈증 환자들에서 R53H 유전자변이를 보인 10례를 경험하였기에 보고하는 바이다.

**방법:** 2010년 4월부터 2017년 5월까지 순천향대학교 서울병원에서 추적관찰하고 있는 양성 고페닐알라닌혈증 환자 중 R53H변이를 가진 10명의 한국인 환자의 의무기록을 검토하였다. 환자들은 혈중 아미노산 분석을 통해 고페닐알라닌혈증을 진단받았으며, 모든 환자들은 PAH 유전자 검사를 통해 유전자 변이를 진단받았다. 환자들의 의무기록 검토를 통해 환자의 동반 유전자 변이, 증상 및 혈중 페닐알라닌 농도, 치료여부 등을 분석하였다.

**결과:** 상기 환자들 중 5명은 R53H와 함께 “병적인” 유전자를 보였으며(R413P, R241C, Y356\*, c.442-1G>A, Y325\*), 2명에서는 “병적일 수 있는” 유전자 변이를 보였다(W187\*, A259T). “중요도가 확실하지 않은” 유전자 변이를 가진 환자는 2명이었으며(R53H, G344D), 이 중 35세 남성 1명은 R53H의 동형접합자였다. 1명의 환자에서는 아직 밝혀지지 않은 인트론(intron) 변이가 발견 되었다. 환자들은 혈중 페닐알라닌 수치가 103.1  $\mu\text{mol/L}$  였던 R53H 동형접합체인 35세 남자 환자를 제외하고는 모두 양성 고페닐알라닌혈증으로 진단되었다. 모든 환자에서 정상 식사를 진행하였으며, 약물 치료는 시행하지 않았다. 모든 환자에서 페닐케톤뇨증의 증상은 없었다.

**결론:** 본 연구의 R53H 유전자 변이를 가진 환자 10명은 특별한 치료 없이도 정상적인 성장 및 발달을 보였다. 이는 이전에 양성 고페닐알라닌혈증으로 진단된 환자들의 R53H 변이가 정상 변이일 가능성이 높음을 의미하는 것이며 이형접합으로 병적변이를 가진 사람들이 환자가 아니라 보인자 또는 정상인일 수 있음을 의미한다. 따라서 현재 “중요도가 확실하지 않은”으로 분류되어있는 R53H변이는 “양성”으로 분류되어야 할 것이다.

## 참고문헌

- 1) Al Hafid N, Christodoulou J. Phenylketonuria: a review of current and future treatments. *Translational pediatrics* 2015;4:304-17.
- 2) Blau N, van Spronsen FJ, Levy HL. Phenylketonuria. *Lancet (London, England)* 2010;376:1417-27.
- 3) Mitchell JJ, Trakadis YJ, Scriver CR. Phenylalanine hydroxylase deficiency. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* 2011;13:697-707.
- 4) Kim SW, Jung J, Oh HJ, Kim J, Lee KS, Lee DH, et al. Structural and functional analyses of mutations of the human phenylalanine hydroxylase gene. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 2006;365:279-87.
- 5) Paine RS. The variability in manifestations of untreated patients with phenylketonuria (phenylpyruvic aciduria). *Pediatrics* 1957;20:290-302.
- 6) Erlandsen H, Stevens RC. The structural basis of phenylketonuria. *Molecular genetics and metabolism* 1999;68:103-25.
- 7) Woo SL, Lidsky AS, Guttler F, Chandra T, Robson KJ. Cloned human phenylalanine hydroxylase gene allows prenatal diagnosis and carrier detection of classical phenylketonuria. *Nature* 1983;306:151-5.
- 8) DiLella AG, Kwok SC, Ledley FD, Marvit J, Woo SL. Molecular structure and polymorphic map of the human phenylalanine hydroxylase gene. *Biochemistry* 1986;25:743-9.
- 9) Scriver CR. The PAH gene, phenylketonuria, and a paradigm shift. *Human mutation* 2007;28:831-45.
- 10) Amendola LM, Dorschner MO, Robertson PD, Salama JS, Hart R, Shirts BH, et al. Actionable exomic incidental findings in 6503 participants: challenges of variant classification. *Genome research* 2015;25:305-15.
- 11) Dorschner MO, Amendola LM, Turner EH, Robertson PD, Shirts BH, Gallego CJ, et al. Actionable, pathogenic incidental findings in 1,000 participants' exomes. *American journal of human genetics* 2013;93:631-40.
- 12) Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, 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. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* 2015;17:405-24.
- 13) Park YS, Seoung CS, Lee SW, Oh KH, Lee DH, Yim J. Identification of three novel mutations in Korean phenylketonuria patients: R53H, N207D, and Y325X. *Human mutation*. 1998;Suppl 1:S121-2.
- 14) Guldberg P, Levy HL, Hanley WB, Koch R, Matalon R, Rouse BM, et al. Phenylalanine hydroxylase gene mutations in the United States: report from the Maternal PKU Collaborative Study. *American journal of human genetics*. 1996;59:84-94.
- 15) Bercovich D, Elimelech A, Yardeni T, Korem S, Zlotogora J, Gal N, et al. A mutation analysis of the phenylalanine hydroxylase (PAH) gene in the Israeli population. *Annals of human genetics* 2008;72(Pt 3):305-9.
- 16) Lee DH, Koo SK, Lee KS, Yeon YJ, Oh HJ, Kim SW, et al. The molecular basis of phenylketonuria in Koreans. *Journal of human genetics* 2004;49:617-21.
- 17) Pey AL, Stricher F, Serrano L, Martinez A. Predicted effects of missense mutations on native-state stability account for phenotypic outcome in phenylketonuria, a paradigm of misfolding diseases. *American journal of human genetics* 2007;81:1006-24.
- 18) Lee YW, Lee DH, Kim ND, Lee ST, Ahn JY, Choi TY, et al. Mutation analysis of PAH gene and characterization of a recurrent deletion mutation in Korean patients with phenylketonuria. *Experimental & molecular medicine* 2008;40:533-40.
- 19) Polak E, Ficek A, Radvanszky J, Soltsova A, Urge O, Cmelova E, et al. Phenylalanine hydroxylase deficiency in the Slovak population: genotype-phenotype correlations and genotype-based predictions of BH4-responsiveness. *Gene* 2013;526:347-55.
- 20) Zhu T, Ye J, Han L, Qiu W, Zhang H, Liang L, et al. Variations in genotype-phenotype correlations in phenylalanine hydroxylase deficiency in Chinese Han population. *Gene* 2013;529:80-7.
- 21) Li N, Jia H, Liu Z, Tao J, Chen S, Li X, et al. Molecular characterisation of phenylketonuria in a Chinese mainland population using next-generation sequencing. *Scientific reports* 2015;5:15769.
- 22) Bercovich D, Elimelech A, Zlotogora J, Korem S, Yardeni T, Gal N, et al. Genotype-phenotype correlations analysis of mutations in the phenylalanine hydroxylase (PAH) gene. *Journal of human genetics* 2008;53:407-18.
- 23) Camp KM, Parisi MA, Acosta PB, Berry GT, Bilder DA, Blau N, et al. Phenylketonuria Scientific Review Conference: state of the science and future research needs. *Molecular genetics and metabolism* 2014;112:87-122.
- 24) Guldberg P, Henriksen KF, Guttler F. Molecular analysis of phenylketonuria in Denmark: 99% of the mutations detected by denaturing gradient gel electrophoresis. *Genomics* 1993;17:141-6.

- 25) Fridovich-Keil JL, Gambello MJ, Singh RH, Sharer JD. Duarte Variant Galactosemia. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, et al., editors. GeneReviews (R). Seattle (WA): University of Washington, Seattle University) Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.; 1993.
- 26) Sullivan SE, Moore SD, Connor JM, King M, Cockburn F, Steinmann B, et al. Haplotype distribution of the human phenylalanine hydroxylase locus in Scotland and Switzerland. American journal of human genetics 1989;44:652-9.
- 27) Avigad S, Cohen BE, Bauer S, Schwartz G, Frydman M, Woo SL, et al. A single origin of phenylketonuria in Yemenite Jews. Nature 1990;344:168-70.
- 28) Okano Y, Asada M, Kang Y, Nishi Y, Hase Y, Oura T, et al. Molecular characterization of phenylketonuria in Japanese patients. Human genetics 1998;103:613-8.
- 29) Bosco P, Ceratto N, Cali F, Goltsov AA, Eisensmith RC, Novelli G, et al. RFLP discordance in a PKU family due to a deletion in the PAH gene. The Turkish journal of pediatrics 1996;38:497-504.
- 30) Gable M, Williams M, Stephenson A, Okano Y, Ring S, Hurtubise M, et al. Comparative multiplex dosage analysis detects whole exon deletions at the phenylalanine hydroxylase locus. Human mutation 2003;21: 379-86.