

Table SI. List and the coverage of the 30 candidate genes included in the NGS panel.

Gene	Regions	Amplicons	Total bases	Covered bases	Total coverage
<i>BCHE</i>	3	13	1959	1959	100.00
<i>DUOX2</i>	33	45	4977	4910	98.65
<i>EZH2</i>	19	24	2446	2446	100.00
<i>GLI3</i>	14	34	4883	4883	100.00
<i>GLIS3</i>	10	22	3293	3293	100.00
<i>IYD</i>	7	8	1109	1109	100.00
<i>IGSF1</i>	19	32	4278	4278	100.00
<i>KAT6B</i>	16	44	6862	6852	99.85
<i>NEFL</i>	5	11	1882	1882	100.00
<i>NEFM</i>	3	17	2901	2901	100.00
<i>NKX2-1</i>	3	9	1356	1356	100.00
<i>NKX2-5</i>	4	9	1142	1142	100.00
<i>NSD1</i>	22	57	8311	8311	100.00
<i>PAX8</i>	11	14	1463	1463	100.00
<i>PHTF1</i>	18	27	3189	3189	100.00
<i>POU1F1</i>	6	9	1014	1014	100.00
<i>SERPINA7</i>	4	10	1448	1448	100.00
<i>SH2B3</i>	8	17	1934	1934	100.00
<i>SLC26A4</i>	20	24	2543	2543	100.00
<i>SLC5A5</i>	15	20	2082	2082	100.00
<i>SECISBP2</i>	17	28	3415	3415	100.00
<i>DUOXA2</i>	6	10	1263	1263	100.00
<i>TG</i>	48	71	8787	8784	99.97
<i>FOXE1</i>	1	7	1172	1172	100.00
<i>LHX4</i>	6	13	1473	1473	100.00
<i>TPO</i>	16	24	2962	2962	100.00
<i>TRHR</i>	2	7	1217	1217	100.00
<i>TSHB</i>	2	4	464	464	100.00
<i>TSHR</i>	11	20	2538	2538	100.00
<i>UBR1</i>	47	57	5720	5720	100.00

Table SII. Clinical features and genotypical data in 78 patients with congenital hypothyroidism.

Patient ID	Sex	Age ^b (day)	Screening	Diagnostic					Thyroid Morphology	Gene	Nucleotide Change	Amino Acid Change	Zygosity	Variant Classification
			Heel Blood TSH (μIU/mL)	Serum TSH (μIU/mL)	FT4 (pmol/L)	FT3 (pmol/L)	T4 (nmol/L)	T3 (nmol/L)						
1	Male	9	82.31	>100	2.44	2.22	17.2	1.09	Normal	<i>DUOX2</i>	c.3329G>A	p.Arg1110Gln	Het	P
										<i>DUOX2</i>	c.3616G>A	p.Ala1206Thr	Het	P
2	Male	121	24.11	>100	NA	NA	NA	NA	Normal	<i>DUOX2</i>	c.1428C>A	p.Asn476Lys	Het	VUS
										<i>TG</i>	c.5854C>T	p.Arg1952Trp	Het	VUS
3	Female	19	17.41	72.64	10.98	5.96	86.42	3.12	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.1268C>T	p.Thr423Ile	Het	VUS
										<i>GLIS3</i>	c.1982del	p.Lys661SerfsTer145	Het	LP
4	Male	16	12.61	>100	6.18	3.87	46.53	2	Normal	<i>DUOX A2</i>	c.738C>G	p.Tyr246Ter	Het	P
5 ^c	Female	16	43.11	>100	4.03	3.33	29.2	1.74	Normal	<i>SLC5A 5</i>	c.1499C>T	p.Pro500Leu	Het	VUS
6	Male	7	71.11	>100	3.27	3.03	27.05	1.64	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
										<i>DUOX2</i>	c.4537G>C	p.Gly1513Arg	Het	VUS
7	Male	85	10.31	10.09	16.15	4.87	63.95	1.28	Normal	<i>TG</i>	c.3641G>A	p.Arg1214Gln	Het	VUS
8 ^a	Male	42	11.41	23.76	11.46	7.11	78.32	3.05	Normal	<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
										<i>TSHR</i>	c.2272G>A	p.Glu758Lys	Het	VUS
9	Male	12	14.51	67.59	11.53	4.43	71.31	1.79	Normal	<i>TSHR</i>	c.740T>C	p.Val247Ala	Het	VUS
10 ^a	Female	7	121.81	>100	5.59	6.21	41.6	2.96	Goiter	<i>TG</i>	c.635A>G	p.Asn212Ser	Het	VUS
11	Female	17	12.5	99.49	5.58	3.79	30.02	1.3	Normal	<i>DUOX2</i>	c.3632G>A	p.Arg1211His	Het	VUS
12 ^c	Male	63	22.01	>100	3.58	2.1	24.65	1.07	Normal	<i>GLIS3</i>	c.1982del	p.Lys661SerfsTer145	Het	LP
13	Male	17	17.31	64.15	8.36	4.85	53.88	1.94	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
										<i>DUOX2</i>	c.2291G>A	p.Arg764Gln	Het	VUS
										<i>DUOX2</i>	c.3689C>T	p.Ala1230Val	Het	VUS
										<i>SECISB P2</i>	c.1212+4C>T	IVS8+4C>T	Het	VUS
14	Male	8	24.6	>100	5.09	3.87	35.17	1.58	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.1300C>T	p.Arg434Ter	Het	P

										<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
										<i>SLC26A4</i>	c.919-2A>G	IVS7-2A>G	Het	P
15	Male	6	25.31	>100	7.95	3.09	58.3	1.44	Normal	<i>TPO</i>	c.2017G>A	p.Glu673Lys	Het	VUS
										<i>TPO</i>	c.2268dup	p.Glu757Ter	Het	P
16	Male	11	12.37	49.57	7.65	4.15	53	1.67	Normal	<i>DUOX2</i>	c.1310G>C	p.Gly437Ala	Het	VUS
										<i>DUOX2</i>	c.4561G>T	p.Gly1521Ter	Het	VUS
17	Male	9	48.61	>100	2.49	2.3	22.67	1.11	Normal	<i>DUOX2</i>	c.3329G>A	p.Arg1110Gln	Het	P
18	Female	9	200.01	>100	10.29	3.3	58.27	1.22	Normal	<i>TSHR</i>	c.394G>C	p.Gly132Arg	Hom	VUS
19	Male	23	14.01	>100	3.75	4.5	27.55	1.79	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.2101C>T	p.Arg701Ter	Het	P
										<i>DUOX2</i>	c.1946C>A	p.Ala649Glu	Het	VUS
20	Female	17	19.9	>100	5.71	4.78	44.7	2.33	Normal	<i>DUOX2</i>	c.1295G>A	p.Arg432His	Het	VUS
21	Male	19	13.71	>100	3.85	2.74	28.81	1	Normal	<i>DUOX2</i>	c.3689C>T	p.Ala1230Val	Het	VUS
										<i>KAT6B</i>	c.1025T>C	p.Ile342Thr	Het	VUS
22	Male	19	35.21	>100	6.31	5.16	43.65	2.19	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.2048G>T	p.Arg683Leu	Het	VUS
										<i>DUOX2</i>	c.3251G>A	p.Arg1084Gln	Het	VUS
23	Female	355	17.81	35.43	9.99	5.6	63.22	2.4	Normal	<i>DUOX2</i>	c.2635G>A	p.Glu879Lys	Het	LP
24	Male	15	20.21	>100	3.28	5.56	23.24	2.34	Normal	<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
25	Female	29	16.71	58.4	11.04	5.31	74.86	2.07	Normal	<i>DUOX2</i>	c.2635G>A	p.Glu879Lys	Het	LP
26	Female	10	66.91	>100	4.15	3.56	33.23	1.76	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.2048G>T	p.Arg683Leu	Het	VUS
27	Female	6	81.21	>100	4.38	3.7	37.28	1.76	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.2048G>T	p.Arg683Leu	Het	VUS
										<i>DUOX2</i>	c.2104_2106del	p.Gly702del	Het	VUS
28	Male	23	19.9	28.4	11.69	6.57	74.92	2.5	Normal	<i>DUOX2</i>	c.4348T>C	p.Tyr1450His	Het	VUS
29 ^a	Male	19	26.11	98.72	2.18	5.14	NA	NA	Normal	<i>DUOX2</i>	c.3595C>G	p.Leu1199Val	Het	VUS
30 ^c	Male	35	48.61	>100	7.28	3.51	49.25	1.46	Normal	<i>DUOX2</i>	c.505C>T	p.Arg169Trp	Het	VUS
31	Female	19	15.71	48.21	NA	NA	NA	NA	NA	<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Hom	LP
										<i>TG</i>	c.1597G>A	p.Gly533Arg	Het	VUS
32	Female	33	12.11	12.43	11.15	5.99	80.4	2.43	Normal	<i>DUOX2</i>	c.2048G>T	p.Arg683Leu	Het	VUS
										<i>TG</i>	c.5512del	p.Asp1838ThrfsTer14	Het	LP
										<i>TPO</i>	c.2603C>T	p.Thr868Met	Het	VUS

33	Female	15	17.21	70.4	8.05	4.62	42.94	1.77	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
										<i>DUOX2</i>	c.2654G>A	p.Arg885Gln	Het	P
34	Male	14	11.01	56.95	7.93	4.88	61.69	2.06	Normal	<i>DUOX2</i>	c.2335-25T>C	IVS18-25T>C	Het	VUS
										<i>IYD</i>	c.688-7G>A	IVS4-7G>A	Het	VUS
35	Male	28	12.81	75.22	5.25	4.48	37.38	1.78	Normal	<i>IYD</i>	c.380C>T	p.Pro127Leu	Het	VUS
36	Female	24	12.21	>100	2.29	2.36	20.16	1.18	Goiter	<i>TPO</i>	c.2146G>T	p.Glu716Ter	Het	LP
37 ^c	Female	76	18.11	59.26	7.54	2.31	55.44	0.88	Normal	<i>KAT6B</i>	c.1025T>C	p.Ile342Thr	Het	VUS
38	Male	25	11.31	68.45	8.65	6.08	71.07	3.03	Normal	<i>TSHR</i>	c.823G>A	p.Ala275Thr	Het	VUS
39	Female	29	19.91	>100	3.54	2.8	28.89	1.36	Normal	<i>DUOX2</i>	c.1304A>G	p.Asp435Gly	Het	VUS
										<i>DUOX2</i>	c.3329G>A	p.Arg1110Gln	Het	P
										<i>GLIS3</i>	c.1843G>A	p.Ala615Thr	Het	VUS
40 ^c	Male	99	1.8	4.33	8.24	1.56	45.44	0.72	NA	<i>POUIF1</i>	c.744-6C>A	IVS5-6C>A	Het	VUS
										<i>TG</i>	c.958C>T	p.Arg320Cys	Het	VUS
41	Male	9	113.11	>100	1.85	2.24	15.74	0.97	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.2104_2106del	p.Gly702del	Het	VUS
42	Female	10	15.41	48.55	10.96	3.98	71.78	1.68	Normal	<i>DUOX2</i>	c.1708C>T	p.Gln570Ter	Het	LP
										<i>DUOX2</i>	c.3693+1G>T	IVS28+1G>T	Het	P
43	Female	9	15.81	81.62	5.71	4.83	43	2.18	Normal	<i>DUOX2</i>	c.2048G>T	p.Arg683Leu	Het	VUS
										<i>DUOX2</i>	c.4408C>T	p.Arg1470Trp	Het	VUS
44	Female	8	30.21	>100	6.91	5.5	46.75	2.27	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
										<i>DUOX2</i>	c.2635G>A	p.Glu879Lys	Het	LP
										<i>SLC26A4</i>	c.2086C>T	p.Gln696Ter	Het	P
45	Male	15	28.211	>100	6.62	4.46	48.5	1.93	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
										<i>DUOX2</i>	c.3329G>A	p.Arg1110Gln	Het	P
46	Female	11	41.41	87.17	9.49	6.21	75.66	2.59	Goiter	<i>NKX2-5</i>	c.773G>C	p.Gly258Ala	Het	VUS
										<i>DUOX2</i>	c.1268C>T	p.Thr423Ile	Het	VUS
										<i>LHX4</i>	c.970G>A	p.Ala324Thr	Het	VUS
										<i>TSHR</i>	c.915T>A	p.Ser305Arg	Het	VUS
47	Female	8	24.21	>100	5.36	4.48	46.09	1.88	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.1268C>T	p.Thr423Ile	Het	VUS
										<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP

										<i>LHX4</i>	c.1127C>T	p.Thr376Ile	Het	VUS
48 ^a	Female	21	30.01	126.64	6	5.65	NA	NA	Normal	<i>DUOX2</i>	c.1855G>T	p.Val619Leu	Het	VUS
49	Male	16	23.01	44.67	11.76	4.91	82	1.96	Athyreosis	<i>GLIS3</i>	c.2723C>T	p.Ala908Val	Het	VUS
50 ^a	Male	13	21.31	>100	2.4	1.48	11.57	0.65	Normal	<i>DUOX2</i>	c.2048G>T	p.Arg683Leu	Het	VUS
										<i>DUOX2</i>	c.364C>A	p.Pro122Thr	Het	VUS
51	Female	29	17.21	>100	5.4	4.73	NA	NA	Normal	<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
52	Male	23	16.51	>100	4.15	5.11	NA	NA	Normal	<i>DUOX2</i>	c.596del	p.Ser199TrpfsTer122	Het	LP
										<i>DUOX2</i>	c.903G>T	p.Trp301Cys	Het	VUS
53	Male	16	13.91	>100	4.97	3.54	NA	NA	Normal	<i>DUOX2</i>	c.2412C>G	p.Cys804Trp	Het	VUS
54 ^a	Female	19	12.21	37.13	6.12	3.7	NA	NA	Normal	<i>DUOX2</i>	c.2048G>T	p.Arg683Leu	Het	VUS
										<i>DUOX2</i>	c.655_656delinsTC	p.Leu219Ser	Het	VUS
										<i>DUOX2</i>	c.646_647insTTTC CCCCG	p.Gln216delinsLeuSerProGlu	Het	VUS
										<i>DUOX2</i>	c.647_658del	p.Gln216_Leu219del	Het	VUS
55	Female	26	22.6	>100	4.95	5.04	NA	NA	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
										<i>DUOX2</i>	c.477del	p.Glu160ArgfsTer16	Het	LP
										<i>TPO</i>	c.2536C>T	p.Arg846Trp	Het	VUS
56	Female	11	38.81	>150	4.96	4.83	NA	NA	Goiter	<i>IGSF1</i>	c.584G>C	p.Gly195Ala	Het	VUS
										<i>SLC26A4</i>	c.269C>T	p.Ser90Leu	Het	P
										<i>TG</i>	c.3040G>A	p.Asp1014Asn	Het	VUS
57	Female	45	25.21	>100	6.61	4	45.99	1.78	Normal	<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
58	Female	14	27.01	>100	4.9	4.16	NA	NA	Normal	<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
										<i>DUOX2</i>	c.3693+1G>T	IVS28+1G>T	Het	P
59	Male	15	27.31	24.8	10.79	6.79	67.63	3.56	Normal	<i>DUOX2</i>	c.1310G>C	p.Gly437Ala	Het	VUS
										<i>DUOX2</i>	c.2654G>A	p.Arg885Gln	Het	P
60	Male	24	19.41	55.95	11.33	4.69	NA	NA	Normal	<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
										<i>DUOX2</i>	c.602dup	p.Gln202ThrfsTer99	Het	P
61	Male	12	137.61	267.005	0.71	4.4	NA	NA	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.3329G>A	p.Arg1110Gln	Het	P
62 ^c	Female	14	3.23	27.57	11.08	6.05	71.66	2.64	Normal	<i>DUOX</i>	c.413dup	p.Tyr138Ter	Het	LP

										A2				
										TG	c.7753C>T	p.Arg2585Trp	Het	VUS
63 ^c	Male	35	16.61	53.79	9.29	5.29	NA	NA	Normal	DUOX2	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
										DUOX2	c.3632G>A	p.Arg1211His	Het	VUS
64 ^a	Female	17	24.41	>100	6.1	4.18	48.45	2.23	Normal	DUOX2	c.2654G>A	p.Arg885Gln	Het	P
65	Male	15	206.61	>100	4.27	0.83	NA	NA	Normal	DUOX2	c.2921G>A	p.Arg974His	Het	VUS
										DUOX2	c.3329G>A	p.Arg1110Gln	Het	P
66	Female	9	241.61	>100	12.9	3.54	NA	NA	Normal	DUOX2	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
67 ^a	Male	13	17.61	66.42	10.43	4.68	NA	NA	Normal	TSHR	c.1492G>A	p.Gly498Ser	Het	VUS
										TSHR	c.694G>C	p.Asp232His	Het	VUS
68	Male	15	21.81	59.21	10.29	5.66	75.15	2.87	Normal	DUOX2	c.1127G>A	p.Arg376Gln	Het	VUS
										DUOX2	c.514-2A>G	IVS5-2A>G	Het	LP
69	Female	17	7.9	62.75	9.78	4.73	65.28	2.34	NA	DUOX2	c.3374A>G	p.Asp1125Gly	Het	VUS
										DUOX2	c.4375G>A	p.Asp1459Asn	Het	VUS
										DUOX2	c.2048G>T	p.Arg683Leu	Het	VUS
70	Male	15	13.81	>100	7.06	4.48	NA	NA	Normal	DUOX2	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
										DUOX2	c.1310G>C	p.Gly437Ala	Het	VUS
71	Male	28	19.31	95.2	5.24	4.08	22.56	1.81	Goiter	DUOX2	c.3329G>A	p.Arg1110Gln	Het	P
										DUOX2	c.2048G>T	p.Arg683Leu	Het	VUS
72	Male	28	12.31	51.25	10.22	4.62	NA	NA	Normal	DUOX2	c.3632G>A	p.Arg1211His	Het	VUS
										DUOX2	c.2894C>T	p.Ser965Leu	Het	VUS
										TG	c.8205del	p.Gln2736SerfsTer10	Het	VUS
										TSHR	c.1960A>T	p.Ile654Phe	Het	P
73 ^a	Female	20	170.51	>100	3.48	2.59	26.89	0.99	Normal	DUOX2	c.3329G>A	p.Arg1110Gln	Het	P
										DUOX2	c.3285_3286del	p.Ile1097LeufsTer24	Het	LP
74 ^a	Male	12	22.3	>100	7.1	4.68	46.83	2.48	Normal	DUOX2	c.3693+1G>T	IVS28+1G>T	Het	P
										DUOX2	c.596del	p.Ser199TrpfsTer122	Het	LP
75	Female	10	238.41	>100	1.14	1.2	<5.4	<0.3	Normal	DUOX2	c.3693+1G>T	IVS28+1G>T	Het	P
										DUOX2	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
76	Male	9	10.91	25.69	10.81	5.15	NA	NA	Normal	DUOX2	c.1393C>A	p.Pro465Thr	Het	VUS
										TPO	c.1367G>A	p.Arg456Lys	Het	VUS

77	Male	16	14.4	>100	6.67	5.99	NA	NA	NA	<i>DUOX2</i>	c.2048G>T	p.Arg683Leu	Het	VUS
										<i>DUOX2</i>	c.505C>T	p.Arg169Trp	Het	VUS
78	Male	21	94.51	>100	8.83	2.93	72.1	1.32	Goiter	<i>DUOX2</i>	c.3693+1G>T	IVS28+1G>T	Het	P
										<i>DUOX2</i>	c.1588A>T	p.Lys530Ter	Het	LP
										<i>TG</i>	c.925A>G	p.Thr309Ala	Het	VUS
										<i>SLC26A4</i>	c.-3-46C>T	IVS1-46C>T	Het	VUS
										<i>SLC26A4</i>	c.697G>C	p.Val233Leu	Het	VUS
										<i>TRHR</i>	c.504T>G	p.Ile168Met	Het	VUS

^aPatient with a family history of thyroid disease; ^bAge at diagnosis; and ^cPatient is premature. NA, data not available; Het, heterozygous; Hom, homozygous; P, pathogenic; LP, likely pathogenic; VUS, variants of uncertain significance; normal heel blood TSH: <10 µIU/ml; normal serum TSH: 0.27-4.2 µIU/ml; normal FT4: 12-22 pmol/l; normal FT3: 2.8-7.1 pmol/l; normal T4: 68-181 nmol/l; normal T3: 1.3-3.1 nmol/l.