



**차세대염기서열분석(Next Generation Sequencing)
임상검사실 인증
검사분야별 가이드라인 - 생식세포(Germline)
[민원인 안내서]**

2018. 2.



식품의약품안전처



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

명칭

**차세대염기서열분석(NGS) 임상검사실 인증
검사분야별 가이드라인 - 생식세포(Germline)(민원인 안내서)**

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

등록대상 여부	<input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서 · 안내서 중 동일 · 유사한 내용의 지침서 · 안내서가 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서 · 안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서 · 안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 : _____)	
	<input type="checkbox"/> 법령(법 · 시행령 · 시행규칙) 또는 행정규칙(고시 · 훈령 · 예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시 · 명령에 해당하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서 · 안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.		
지침서·안내서 구분	<input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예(☞지침서) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 대내외적으로 법령 또는 고시 · 훈령 · 예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	<input checked="" type="checkbox"/> 예(☞안내서) <input type="checkbox"/> 아니오
기타 확인 사항	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설 · 강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	

상기 사항에 대하여 확인하였음.

2018 년 2 월 7 일

담당자
확 인(부서장)

손 미 정
신 준 수

이 안내서는 차세대염기서열분석(Next generation Sequencing, '이하 NGS') 임상검사실 인증 시 검사분야별 고려해야 할 사항 등을 구체적이고 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식 ('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다.

또한, 본 안내서는 2018년 2월 현재의 경험과 과학적·기술적 사실을 근거로 작성된 바, 새로운 과학적 사실이 밝혀지거나 관련 규정이 개정 될 경우 추후 변경되거나 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ "민원인 안내서"란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서 등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우, 식품의약품안전처 의료기기정책과에 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-3753 ~ 3779

팩스번호: 043-719-3750



목 차



I. 개요

- 1. 배경 6
- 2. 목적 6
- 3. 적용범위 7

II. 용어의 정의 8

III. 세부 평가 분야 및 기준

- 1. 품질관리체계 16
- 2. 숙련도 19
- 3. 검사성능 19

IV. 신청 및 평가 28

V. NGS 검사분야별 제출사항 체크리스트 29

VI. 참고문헌 30

1. 배경

미국의 경우 NGS 기법을 이용한 임상 검사는 CLIA(Clinical Laboratory Improvement Amendments) 제도를 기반으로 인증받은 검사실별로 허용되고 품질관리가 되고 있다. 우리나라에도 최근 유전질환에 대한 관심이 증대되고 유전자 분석을 통한 질병의 예측이 가능한 NGS 기술 시장이 지속 성장함에 따라, NGS 기술을 활용하여 한꺼번에 많은 유전자를 대상으로 하는 유전자 패널 검사가 필요해지면서 기존의 제도로는 한계를 맞이하게 되어 NGS 임상검사실 인증 제도가 도입되었다.

기존의 다른 검사기법들과는 달리, NGS는 수백만 개의 염기서열을 동시에 분석함으로써 다수 염기변이들을 1회의 검사시행으로 검출해낼 수 있다. 따라서, 검사 결과에 영향을 미칠 수 있는 단계별 요소들이 많이 분포하고 있어 NGS 검사가 환자에게 안전하고 정확하게 전달 될 수 있도록 이들 검사의 정확성과 임상적 유효성, 그리고 품질 유지를 담보하기 위한 검사분야별 특징을 고려하여 각 단계마다 적용할 수 있는 표준 검사기법의 필요성이 커졌다.

NGS 검사는 핵산 시료의 양과 질, 시약 및 장비의 조건 등이 검사 결과에 미치는 영향이 크므로 패널 구성자는 패널의 최적화 과정을 통하여 품질관리 기준을 정하고 이에 따른 표준수행지침서를 작성해야 한다. 정확한 NGS 검사 결과를 얻기 위해서는 종양으로부터 양질의 핵산이 추출되어야 하며 이를 위하여 핵산 추출 방법 및 시약을 최적화해야 하며, 핵산의 양, 길이, 균질도(integrity) 등에 대한 품질관리 기준을 확립하여야 한다.

또한, 정확한 NGS 검사 결과를 얻기 위해서는 표적농축과 라이브러리 제작이 효율적으로 진행되어야 한다. 따라서 표적농축 및 라이브러리 제작 방법 및 시약을 최적화해야 하며, 라이브러리 혹은 핵산증폭의 적절성을 평가하는 품질관리 기준을 확립하여야 한다. NGS 검사는 한 번의 검사에 여러 개의 검체를 검사할 수도 있으므로 이 경우에는 각 검체를 구별할 수 있는 표지자를 부착하여야 한다. 또한 이 과정에서 교차오염 방지를 위한 대책을 마련해야 한다.

2. 목적

본 가이드라인은 「의료기기 허가·신고·심사 등에 관한 규정」 제20조의2 및 「차세대염기서열 분석(NGS) 임상검사실 인증 가이드라인」에 따라 차세대 염기서열분석(Next Generation Sequencing, 이하 NGS) 임상검사실 인증 시, 생식세포 변이(Germline Variants) 검사를 실시하는 임상검사실이 품질관리체계, 숙련도, 검사성능을 평가하고 유지할 수 있도록 고려해야 할 사항 또는 권고사항을 제시하고 업무 관련자의 이해를 돕고자 하는데 그 목적이 있다.

3. 적용범위

본 가이드라인은 생식세포 변이로 인한 특정 질환이 의심되는 환자의 진단을 목적으로 NGS 유전자 패널 검사를 시행하는 유전자검사기관으로 신고된 NGS 임상검사실에 적용될 수 있다.

구조적 변이 (Structural variant)

단일염기다형성보다 큰 변이. DNA의 일정 구획의 삽입(insertion) 이나 결실(deletion), 역위(inversion), 자리 옮김(translocation), 또는 단위반복변이(copy-number difference)를 포함할 수 있음

공란한계 (Limit of blank, LoB)

blank 검체에서 관찰 가능한 가장 높은 측정치

내부 대조물질 (Internal control)

동일한 검체 튜브에 목표로 하지 않은 염기서열을 넣어서 목표로 하는 염기서열과 동시에 증폭되게 하여 thermal cycler의 오작동, 시약의 적절성 또는 중합효소의 활성 또는 방해물질에 의한 증폭 방해 여부를 동정하기 위한 목적으로 사용

다형성 (Polymorphism)

polymorphic site에서 흔히 발견되는(개체 내의 minor 대립 유전자에서 최소 1 %의 빈도로 나타나는) 염기서열의 변이, 다형성은 염기서열의 치환(substitutions), 삽입(insertion), 결손(deletion), microsatellite 등에 의해 나타나며 유전자 발현이나 단백질의 기능에 영향을 미칠 수도 있으며 혹은 그렇지 않을 수도 있음

단일염기다형성 (SNP, Single Nucleotide Polymorphism)

개체 간 유전체 상의 단일 염기서열 차이를 보이는 유전적 변화 또는 변이를 말하며 일반적으로는 인구 집단 내에서 1 % 이상 관찰되는 변이

단일염기서열변이 (SNV, Single Nucleotide Variant)

단일 염기의 차이를 보이는 변이를 말하며, 단일염기다형성(SNP, Single Nucleotide Polymorphism)과 점 돌연변이(point mutation)를 포함

단위반복변이 (CNV, Copy Number Variation)

유전체 단위반복변이, DNA의 구조적 변형, DNA의 긴 부위의 삽입 또는 결실을 말함

대조물질 (Reference material)

시험물질과 비교할 목적으로 시험에 사용되는 물질

돌연변이 (Mutation)

생물의 형질에 부모의 계통에 없던 새로운 비정상적 형질이 갑자기 출현하는 현상

대립유전자 빈도 (Variant allele frequency, VAF)

특정 유전자 위치(locus)에 대립 유전자가 나타나는 빈도. 인구 집단에서의 빈도를 나타낼 수도 있고 한 사람 안에서의 빈도를 나타낼 수도 있음.

라이브러리 (Library)

분석하고자 하는 DNA 또는 cDNA 단편에 어댑터(adaptor) 및 인덱스 서열(index sequence)을 결합한 뒤 증폭시켜 염기서열 분석에 들어갈 수 있도록 준비된 시료

라이브러리 조제 (Library Prep)

차세대염기서열분석을 위해 DNA 또는 RNA로부터 라이브러리를 조제하는 과정

리드 (Read)

염기서열분석(시퀀싱, sequencing) 라이브러리에 포함된 DNA 또는 cDNA 단편에서 생성한 분석량에 대한 염기 쌍 정보를 의미하는 것으로 염기서열분석으로 나온 출력 데이터, 시퀀스(염기서열)의 조각

리드 길이 (Read length)

염기서열분석으로 나온 출력데이터, 염기서열(시퀀스, sequence)의 조각의 길이를 말함. 보통 리드 전체의 평균 길이를 말하기도 함

맵핑 (Mapping)

짧은 DNA sequence read를 적절한 참조 염기서열(reference sequence)에 정확히 위치시키는 단계

바코드 (Barcode)

하나의 라이브러리로 모아진 각각의 다른 샘플들을 구별할 수 있도록 하기 위한 고유한 염기 서열 단편

맵파일 (BAM File, Binary Alignment/Map format File)

SAM 파일(Sequence Alignment/Map format File)의 바이너리(이진법)버전. 차세대 염기서열분석법 중 데이터분석의 두 번째 단계에서 얻어지는 일반적인 결과

분석물질 (Analyte)

검사실이 수행하는 검사의 물질 또는 구성요소

분석적 민감도 (Analytical Sensitivity)

양성(positive) 검체 중 검사 결과에 의해 정확히 양성으로 판정된 검체의 비율 또는 알려진 변이를 가진 생물학적 시료와 명확히 양성(positive)으로 분류된 시료의 비율

분석적 특이도 (Analytical specificity)

음성(negative) 검체 중 검사 결과에 의해 정확하게 음성으로 판정된 검체의 비율 또는 확인되지 않은 유전 변이를 가진 생물학적 시료와 명확히 음성(negative)으로 분류된 시료의 비율

샘파일 (SAM File, Sequence Alignment/Map format File)

서열이 레퍼런스의 특정 위치에 매핑된 정보를 포함하는 탭으로 구분된 텍스트 포맷의 파일로 헤더와 alignment 섹션으로 구성

생물정보학분석 과정 (dry bench process)

전산 알고리즘이나 소프트웨어 등을 이용하여 sequence alignment 또는 assembly, variant calling, variant annotation, 결과해석(interpretation) 등에 해당하는 과정

생식세포 변이 (Germline variant)

생식세포(germline), 즉, 난소와 정자에서 발생한 유전 변이. 이 변이들은 자손에게 전달 될 수 있음. 종양 조직을 시퀀싱하는 경우에는, 종양세포 특유의 변이가 아닌 환자가 가진 원래의 변이를 의미하는 용어로 사용됨.

시퀀서 (Sequencer)

DNA 샘플에서 서열을 읽어내어 사람이 읽을 수 있는, 또는 컴퓨터 전용 프로그램이 분석할 수 있는 염기서열로 출력해주는 장비

시퀀스 변이 (Sequence Variant) 혹은 유전변이 (Genetic Variant)

대다수 DNA 뉴클레오타이드 시퀀스와 다르게 서열 변경이 일어난 변이. “변이 (variant)”라는 용어는 양성(benign) 혹은 병원성(pathogenic) 혹은 중요도가 알려지지 않은(unknown significance) 경우 등 다양한 경우들에 모두 사용될 수 있음. 변이라는 용어가 돌연변이(mutation) 이라는 용어보다 더 많이 사용되는 추세임.

시퀀싱 (Sequencing)

생명체의 유전정보인 DNA 염기서열(시퀀스, sequence)을 순서대로 검출하고 읽는 것

시퀀싱 라이브러리 (Sequencing Library)

시퀀서로 염기서열분석을 실행(run)할 수 있는 양쪽 끝에 어댑터가 결합된 주어진 크기 범위의 DNA 또는 cDNA 단편의 모음. 라이브러리는 DNA 또는 cDNA일 수 있음(cDNA 라이브러리는 RNA-seq 수행 시 제조됨)

시퀀싱 정도 (Sequencing Depth)

특정 샘플을 시퀀싱 하였을 때 출력된 데이터에서 특정 염기에 대한 시퀀싱 결과의 중복된 횟수(리드의 개수)로 10X, 20X 등으로 표현함. coverage, depth of coverage라고 하기도 함.

양성 예측도(Predictive value of positive result, PPV)

검사에 의해 양성 결과를 보인 검체 중 표적질환(진단 정확도 기준에 의해 결정되는)을 가진 환자의 검체 비율(100을 곱한 값)

어셈블리 (Assembly)

상대적으로 짧은 DNA 염기서열들의 중복되는 부분을 배열하고 순서대로 결합시켜 생물체 내에 존재하는 원래의 긴 염기서열에 가깝도록 조합하는 과정으로 필요한 경우, 중복되는(overlap) 염기서열 또는 표준염기서열을 기반으로 하여 보다 높은 고차구조로 시퀀싱 된 리드 단편의 집합을 말함.

유전자 주석 (Annotation)

인간게놈(human genome)에서 유전자의 위치(locus), 기능(function) 등의 정보를 분석하는 과정

유전자 패널 (Gene Panels)

일종의 표적농축기술을 사용하여 캡처할 선정 관심부위(이는 유전자 또는 비유전자 부위일 수 있음)에 사용되는 명칭

앰플리콘 시퀀싱 (Amplicon sequencing)

시퀀싱 할 유전자 또는 기타 관심부위의 복제수를 증가시키기 위해 한 쌍 또는 그 이상의 PCR 프라이머를 사용하여 표적농축을 수행하는 방법으로 기존 PCR 방법을 사용하여 획득한 DNA 단편의 초고속(대용량) 시퀀싱

엑솜 (Exome)

전체 Genome에서 RNA로 전사된 후 splicing을 거쳐 완성되는 mature RNA에 해당하는 부분인 exon 전체

엑솜 시퀀싱 (Whole Exome sequencing)

전체 게놈에 존재하는 유전자의 엑손(exon) 부분만을 모아서 염기서열 분석하는 방법

염기순서 생성 과정 (Wet bench process)

검체 전처리, NGS 라이브러리 제작, 염기순서 분석 등에 해당하는 과정

임상적 민감도 (Clinical sensitivity)

특정질환을 가지고 있는 사람들 중 검사 결과가 양성으로 나오는 비율

임상적 보고가능범위 (Clinically reportable range, CCR)

분석측정범위를 연장하기 위해 검체에 대한 희석, 농축, 또는 기타 전처리를 하여 정량 결과 값으로 보고할 수 있는 분석물질 값의 범위

임상적 특이도 (Clinical specificity)

특정 질환을 가지고 있지 않은 사람들 중 검사 결과가 음성으로 나오는 비율

전장 유전체 분석 (Whole Genome Sequencing)

어떤 한 개체의 전체 게놈을 해독하는 염기서열 분석

재현성 (Reproducibility)

다른 측정조건에서 수행된 동일한 측정물의 결과값 사이의 일치도의 근접성

재현성 조건 (Reproducibility condition)

동일한 방법과 동일한 검사 품목으로 다른 검사실에서 다른 사용자가 다른 장비를 사용하여 검사 결과를 얻는 조건

정밀도 (Precision)

규정된 조건 하에서 얻어진 독립적인 검사결과들 가운데 일치도의 근접성

- ☞ 정밀도는 전형적으로 수치로 표현되지 않지만 비정밀도는 반복 측정값 결과들의 '표준편차' 또는 '변이계수'라는 용어로 정량적으로 표현

정확도 (Accuracy)

측정치와 참값 사이의 일치도

- ☞ 평가대상 검사법에 의한 다수의 연속적인 결과 값들에서 얻은 평균값과 공인된 참고값(accepted reference value)사이의 일치 근접도(closeness of agreement)

질병표적 유전자 패널 (Disease targeted gene panels)

특정질병에 관여하는 유전자들을 한꺼번에 검사할 수 있도록 디자인 된 패널

참고구간 (Reference interval)

검체를 제공한 환자가 속해있는 인구 집단 중, 질환에 이환되지 않은 사람들에게서 존재하는 염기서열변이들(the spectrum of sequence variants)

참고 표준물질/참조제작 (Reference material / Reference preparation, RM)

- 1) 하나 이상의 지정된 양에 대하여 충분히 균질하고 안정하여 측정 시스템의 교정이나 측정 절차의 평가, 또는 같은 종류의 다른 물질의 양의 값과 측정 불확도를 설정하는 데에 사용되는 물질
- 2) 인증참고물질(CRM) - 기술적으로 입증된 과정에 의해 공인되었고 인증서나 다른 인증기관에 의해 발행된 서류가 있거나 추적 가능한 하나 또는 그 이상의 값을 갖는 참고 물질

- ☞ a) 인증참고물질(CRM)은 “인증서가 있는 참고물질로서 하나 또는 그 이상의 특성 값이 절차에 따라 공인되며, 그 절차는 특성 값이 표현되는 단위의 정확한 구현에 대한 추적을 할 수 있고, 그것에 대해 각 공인된 값은 신뢰의 명시된 수준에서의 불확실성과 함께한다” 라고 정의
- b) 표준참고물질(SRM)은 인증참고물질(CRM)의 한 이름으로서 과거에 국립 표준원 (NBS)으로 알려졌던 미국정부기관으로, 국립표준기술 연구소(NIST)에 의해 인증 되고 배포되는 인증 참고물질의 상품명

참고 염기서열 (Reference Sequence)

염기서열분석(시퀀싱, sequencing)을 하고 mapping을 할 때 비교할 수 있는 이미 염기서열분석이 완료되어 공공 데이터베이스에 구축되어 있는 표준 염기서열

체세포 변이 (Somatic variant)

생식세포가 아닌 다른 세포에서 발생한 변이. 자손에게 전달 될 수 없음. 종양 조직을 시퀀싱 했을 때, 환자의 생식세포 변이와 다른 변이가 발견될 경우 종양 조직 특유의 체세포 변이가 발견된 것으로 추론할 수 있음.

최소검출한계 (Limit of detection, LoD)

신뢰성있게 검출될 수 있는 분석 물질의 최소량

커버리지 정도 (Depth of Coverage)

특정 관심 DNA 염기서열 범위의 염기서열 분석된 리드의 수를 말함. 이는 일반적으로 “yx”로 표시됨. “y”는 리드의 수를 의미하며, “x”는 커버리지 미터의 정도를 나타냄 (예. 5x, 10x, 20x, 100x). [시퀀싱 정도(Sequencing Depth)] 항목 참고.

커버리지 균일성 (Uniformity of coverage)

서열분석목표 범위인 염기서열에 대한 분석의 균일성/변동성(sequence coverage)

특이도 / 분석적 특이도 (Specificity / Analytical specificity)

정량검사에서 측정하고자 하는 물질만 측정되고 검체 내 다른 물질은 측정되지 않는 분석법의 능력

파이프라인 (Pipeline)

하나의 데이터 처리 단계 출력이 다음 단계 입력으로 이어지는 형태의 연결된 구조로 여러 프로그램을 입/출력을 연결하여 특정한 분석을 수행함

Base Calling

차세대염기서열분석 장비 검출기(sensor)로부터 얻어진 신호 정보를 개별의 염기로 변환시키는 과정. 이 과정에서 염기서열정보는 quality score와 함께 얻어짐

Incidental genetic findings (우발적인 또는 의도하지 않은 유전적 발견)

애초에 목적으로 한 검사와는 관계없는 질환 등의 관련 변이가 발견된 경우를 말함. 예를 들면, 암 유전자 배열의 해석을 목적으로 한 경우, 당초 암 유전자 표적과는 다른 부위에 중요한 유전적 변이가 발견된 경우 등이 있음

Phred Quality Score

염기서열분석에서 각 염기(base)의 신뢰성을 수치적으로 표시한 점수 즉, base calling 이 얼마나 정확한지를 수치적으로 표시하는 기준

VCF File (variant call file)

확인된 염기서열 변이와 대립인자의 빈도를 표시하는 파일. 데이터분석 두 번째 단계의 일반적인 결과를 말함

NGS 임상검사실의 일반적인 품질관리체계, 숙련도, 검사성능을 평가하기 위한 분야 및 기준은 「차세대염기서열분석(NGS) 임상검사실 인증 가이드라인」 및 「차세대염기서열분석(NGS) 체외진단용 의료기기의 성능평가 가이드라인」에 따르며, 생식세포 변이(Germline Variants) 검사 특성에 맞는 세부 평가 분야 및 기준 등에 대한 권고사항은 다음과 같다.

1. 품질관리체계

1-5 NGS 검사 및 검사결과 관련 요구사항

가. 검체 채취 및 취급, 검사의뢰 및 검체 접수 등을 포함한 검사 전 절차

- 검사결과의 타당성을 보장하기 위하여, 다음 사항을 포함하는 검사 전 업무 관련 절차를 문서화하고, 이를 준수하여야 한다.
 - 1) 검사 가능한 검체 종류 및 최소 필요 검체량에 대한 기준
 - 2) 검사 수행이 불가능한 부적합 검체에 대한 기준 및 처리 방법
 - 3) 검사 의뢰, 검체 수집 및 운송 절차
 - 4) 검사 동의서에는 다음의 사항을 포함할 것을 권장함
 - 가) 질환에 대한 서술
 - 나) 검사에 대한 서술
 - 다) 검사의 원리
 - 라) 검사에서 얻은 결과의 의미
 - 마) 검사의 한계점 설명
 - 바) 검사결과 수령인과 정보보호
 - 사) 동의서 작성 전과 작성 후에 실시하는 유전상담, 추가검사 및 이에 따른 추가 상담의 가능성

아) 검사대상물의 보관기관

※ 일정 기간 이후 폐기가 원칙이나, 추가 보관을 원하는 경우에는 별도로 요청사항을 명시해야 함. 이는 검사 시행에 대한 동의와는 별개사항임.

자) 서명

5) 잔여 검체의 보관 방법, 보관 기간, 폐기 절차

나. 검사절차의 선택과 검증 및 유효화, 검사지침서, 검사의 수행 등을 포함한 검사 절차

- 검사결과에의 타당성을 보장하기 위하여, 다음 사항을 포함하는 검사 업무 관련 절차를 문서화하고, 이를 준수하여야 한다.

1) 핵산 추출, 라이브러리 제작 등 검사 과정에 대한 절차

2) 라이브러리의 적절성 등 단계별 품질관리(질관리, quality control) 지표 및 관리 방법

3) 검사의 품질관리(질관리, quality control) 지표를 벗어난 검체에 대한 처리지침

4) 검사 과정 중 잠재적 생물학적 위해(biohazard) 등 문제가 발생할 경우 대응 방법

5) 결과 분석 및 해석 절차

가) 생물정보학분석 파이프라인의 검증, 구성체계 및 버전 정보 등

나) 변이 분석 및 해석에 이용되는 유전체 데이터베이스(Genome Database)의 종류와 특성, 구성체계 등

※ 종류 및 버전, 데이터베이스에서 사용한 인간 유전체 어셈블리의 버전 확인

다. 검사결과에의 검토, 검체의 보관·보유 및 절차 등을 포함한 검사 후 절차

- 검사결과에의 타당성을 보장하기 위하여, 다음 사항을 포함하는 검사 후 업무 관련 절차를 문서화하고, 이를 준수하여야 한다.

1) 필요시 양성, 음성, 민감도 대조물질을 사용하고, 결과를 확인하여 분석의 품질 관리를 시행함. 기준 및 빈도 등 절차 문서화

※ 양성/음성 대조물질 또는 표준물질 정보 포함

※ 대조물질의 사용법과 여러 대조물질을 순환식으로 사용하는 경우 알고리즘을 포함

- 2) 검사결과의 판정 기준, 검사실패의 기준을 포함한 검토 절차
- 3) 검사결과의 통계에 대한 검토 절차. 검사실 책임자는 이를 정기적으로 검토하도록 함
- 4) 잔여 검체의 보관 방법, 보관 기간, 폐기 절차

라. 검사결과의 보고 절차

- 검사결과의 보고 관련 절차를 문서화하고, 이를 준수하여야 한다.

- 1) 생식세포변이 임상검사 보고서에 포함되는 항목의 예시는 다음 등이 있음
 - 가) 검사명과 검사의뢰목적
 - 가) 검체정보(채취일, 수령일, 보고일, 고유번호, 환자정보, 검체유형)
 - 나) 검사와 관련된 정도관리 결과 및 분석 결과
 - 다) 보고의 이력, 각 보고서의 보고 내용이 추적 가능
 - 라) 검사 방법 : wet bench analysis / bioinformatics analysis
 - 마) 검사 결과 : HGVS nomenclature에 따른 표준명명법으로 검출된 변이의 목록을 표기
 - 바) 변이의 보고서 포함 혹은 불포함 기준
 - 사) 검출된 변이의 해석: 전문가 및 학회가 합의한 적절한 최신 지침/권고안을 적용하여 염기변이를 분류, 해석함.
 - 아) 검사의 한계점에 대한 설명

바. 임상검사실 정보관리(검사결과에 대한 개인정보 등의 처리절차 및 관리 등)

- 환자 정보, 검사 결과 등의 조회 및 수정을 포함하여 임상검사실의 정보관리에 대한 책임 및 권한 등을 규정하고 이를 준수하여야 한다.
 - 환자 정보의 비밀보호 유지를 보장하기 위한 절차 등을 문서화하고 이를 준수하여야 한다.
- 1) 검사 과정에서 생성된 시퀀싱 자료 및 검사 결과의 보관 방법, 보관 기간, 보안 유지 방법에 대한 지침

- 2) 검사실은 검사실에서 발견한 변이의 추적과 지속적인 변이 주석을 제공하는 내부 (in-house) 데이터베이스를 구축함. 이러한 내부 데이터베이스 구축 시 개인정보 유출 방지를 위한 방안이 반드시 마련되어야 함
- 3) 자료를 폐기하는 경우, 폐기 절차 등 포함

2. 숙련도

가. NGS 검사 및 검사결과의 해석에 적합한 숙련도평가 프로그램에 참가 여부

- NGS 검사 및 검사결과의 해석에 적합한 숙련도평가 프로그램이 없는 경우, 대체 프로그램을 마련하여야 한다.
 - 1) 유전자검사평가원, 대한병리학회, 대한진단검사의학회, CAP proficiency test, UK NEQAS 등의 국내외 숙련도 평가 및 정도관리 프로그램에 참가하거나, 또는
 - 2) 대체 프로그램으로 다른 검사실과 비교하는 방법(검사실간 비교, inter-laboratory proficiency test)을 권장하며, 검사실간 비교가 불가능한 경우에는 검사실 내에서 정기적(예: 연 1회 이상)으로 다른 검사 방법과의 비교 등의 방법으로 숙련도 평가 계획을 수립하고 시행할 수 있음

3. 검사성능

3-1 성능평가의 개요

가. 일반사항

- 1) 성능시험의 대조법은 해당 항목에 대해 성능이 잘 규명되어 있는 방법으로 함 (예: Sanger sequencing 방법으로 시행한 gene panel test 등).
- 2) 성능시험법은 실제 사용하는 검사법과 동일하게 시행함
- 3) 성능평가 결과 자료 중 다음을 별도 요약으로 명시함

- 가) 검사인력, 검사에 사용하는 장비, 소프트웨어 및 그 버전(variant calling, filtering, annotation 등 각 단계마다), 시약, 중요 소모품, 포함된 표준물질 등
- 나) 시험 Run 수
- 다) 시험 검체유형과 수(specimen type and number)
- 라) 시행 검사 수
- 마) 검사실이 설정한 시퀀싱 품질지표(quality metrics) 및 threshold 기준
- 바) QC 합격/불합격 여부

4) 성능평가 프로토콜을 작성함

나. 성능평가 프로토콜의 작성

- 1) 사용목적(intended use)에 대한 명시적인 설명으로 시작하여, 검사 가능한 검체의 유형과 성능평가 항목을 기재하여야 함

< 예시 : 성능평가 프로토콜 >

000 Panel KKK version 1 성능평가 프로토콜

- o 사용목적: 000 Panel KKK Ver 1은 생식세포 변이로 인한 유전질환 000의 진단을 위한 000종 원인 유전자의 질환 원인 돌연변이를 아래와 같은 범위를 대상으로 NGS 방법으로 검출하기 위한 패널임.
- o Panel KKK Ver 1에 포함된 분석 유전자 및 분석 범위
- o Panel KKK Ver 1의 검출 목표 변이 유형
- o 검사 대상 검체 유형
- o 성능 평가 항목
 - 정확도 (accuracy)
 - 정밀도 (precision)
 - 민감도 (sensitivity)
 - 특이도 (specificity)
 - 참조방법 (reference method)
 - 성능평가를 위한 검체 목록

다. 성능평가를 위한 검체 구성

- 1) 다음 각 분류의 검사 대상 물질을 평가 목적에 따라 사용함
 - 가) 참고 표준물질(reference material): 이는 국제 표준품, 상용 패널, 제조사 제조 표준물질 등으로, 그 특성과 세부 정보가 잘 확립되어 있고 공식 문서로 명시되어 있는 물질임.
 - 나) 검출 목표 부위에 변이가 없는 정상 대조군 임상 검체(normal clinical specimen)
 - 다) 검출 목표 부위에 변이가 있는 정상 대조군 임상 검체(clinical specimen with benign variant)
 - 라) 검출 목표 부위에 알려진 질환의 원인 돌연변이가 존재하는 환자 검체(patient specimen with pathogenic variant)
- 2) 인공 물질(artificial material)만을 사용하여 성능평가를 하는 경우, 임상 검체와 matrix가 영향을 배제할 수 없도록 다른 경우에 matrix effect에 대한 평가를 추가함
- 3) 생물정보학적 파일(In silico materials)은 생물정보학 과정(dry bench process, bioinformatic analysis)만을 평가하고자 할 때 사용할 수 있음
- 4) 검사에서 대상으로 정한 임상검체 유형(clinical specimen type) 각각에 대해 (예: 혈액, 조직) 시행함
- 5) 검사에서 대상으로 정한 유전물질 각각에 대해(예: DNA, RNA) 시행함
- 6) 검사의 검출 목표로 정한 변이 유형 각각을 성능 평가에 포함함(예: Single nucleotide variant, small indels, structural variants(e.g. large CNV) 등)
 - 성능 평가를 위한 검출 목표는 잘 알려진(relatively common) 변이 위치를 포함하도록 선정하는 것이 바람직함
 - 성능 평가를 위한 검출 목표는 wild type(reference sequence), hetero/compound hetero/homozygote 변이를 모두 포함하도록 선정하는 것이 바람직함
- 7) 적절한 검증을 위해 필요한 최소 샘플 수는 적절한 통계적 기법 또는 타당한 근거를 제시하고 설계하는 것이 바람직함.
- 8) 검체 수 설정과 성능평가 프로토콜 설계에 대해 검사실에서 참고할 수 있는 문헌은 다음 등의 예가 있음.

< 참고문헌 >

(유럽) A standardized framework for the validation and verification of clinical molecular genetic tests [Mattocks CJ et al. Eur J Hum Genet. 2010;18(12):1276-88]

- o 임상 분자진단검사에 대해 validation을 시행할 때, 통계학적으로 sample size가 대략 60개 이상이 되도록 구성하는 것이 좋다고 제안함

(미국) Guidelines for Validation Submissions of Next Generation Sequencing (NGS) assays under the NYS Testing Category of Genetic Testing - Molecular, July 2015

- o 뉴욕 주는 NGS 법에 의한 유전자 검사의 validation에 대한 가이드라인에서, 다음과 같이 검체 수와 설계를 지정하였음.

- (1) 수행능의 validation은, 검출 목표로 선정한 변이 유형들 (single nucleotide variants, indels, copy number variation) 각각에 대하여 수행되어야 하며, 검사 대상 검체 유형 (예: 전혈, 배양 세포) 각각에 대해서 수행되어야 함.
- (2) 검체 수에 대해서, 최초 검증시 최소 25개의 환자 검체를 사용할 것을 지정하고 있음. 이 환자 검체는 검사를 시행하는 임상 검체 유형 (specimen types)을 모두 포함하여야 하며, 변이 유형들은 대표성을 가져야 하고, 전체 분석대상 범위에 고르게 분포해야 함. 25개 혹은 그 이상 숫자 환자 검체의 검사는, 최소 3개의 독립적인 run을 통해 시행하도록 하고 있음.
- (3) 정확도 (Accuracy; sensitivity 와 specificity) 검증을 위해서는 최소 1개의 잘 규명된 검사대상물을 염기서열분석할 것을 추천하였음
- (4) Reproducibility 검증은 최소 3개의 서로 다른 검사대상물을 3회의 독립적인 run으로 시행하도록 하고 있음.
- (5) 검사에 barcoding이 포함되는 경우, 검체 간 crosstalk가 없음을 증명하는 결과를 제출하도록 하고 있음.
- (6) Targeted gene panel의 경우, 기존 validation이 완료된 panel에 분석유전자가 추가되면, 이에 대한 검증 계획을 제출하도록 하고 있음.

3-2 성능평가

가. 정확도(Accuracy)

1) 검체

가) 잘 확립된(well-characterized) 참고 표준물질(reference material) 또는 임상 검체

- 검출 목표 부위에 질환의 원인 돌연변이가 없는 잘 확립된 참고 표준물질 또는 임상 검체만을 사용하여 시험하는 경우에는 아래의 나)를 함께 시행함.
- 검출 목표 부위에 질환의 원인 돌연변이가 존재하는 잘 확립된 참고 표준물질 또는 임상 검체를 검출 목표 변이 유형별로(예; single nucleotide variant, small indels, CNVs) 모두 포함하도록 선정하여 시험하는 경우에는 아래의 나)를 시행할 필요없음.

나) 변이가(benign or pathogenic variant) 존재하는 임상 검체

- 검출 목표 부위에 변이가 있는 정상 대조군 임상 검체(clinical specimen with benign variant). 또는, 검출 목표 부위에 질환의 원인 돌연변이가 존재하는 환자 검체(patient specimen with pathogenic variant). 이 경우에는 검출 목표 변이 유형별로(예; single nucleotide variant, small indels, CNVs) 검출 목표 부위에 변이가(benign or pathogenic variant) 존재하는 검체를 적절한 통계적 기법 또는 타당한 근거에 따른 숫자로 포함하는 것을 권장함

다) 한번의 run이 아닌 서로 다른 run으로 시행하는 것을 권장함

2) 방법

양성일치율 (positive percent agreement, PPA), 음성일치율 (negative percent agreement, NPA), 양성예측도 (technical positive predictive value, TPPV) 값을 측정함.

가) 양성일치율 = [검사에서 검출된 known variant의 수(true positives)] / [검사에 사용된 known variant의 수(TP + false negatives)]

나) 음성일치율 = [검사에서 검출된 true negative의 수] / [검사에 사용된 wild type의 수 (TN + false positives)]

다) 양성예측도 = [TP] / [TP+FP]

3) 설명

가) 결과를 알고 있는 검체 또는 데이터를 분석하여 정확도 자료를 제시함

나) 검사의 정확도를 높이기 위해 다음 예시와 같은 지표 기준을 마련할 수 있음

< 예시 : 지표 기준 >

- Mean Target Coverage (>100X)
- % Target Not Covered (<1%)
- % Targets Bases Covered 20X (100%)
- Quality Score (Q30 > 85%)

다) 전체 표적 부위 중 최소 요구 depth 이상 되는 부위의 비율(%)을 염기 단위로 구하며 (per base depth of coverage), 이는 최소 98% 이상 되는 것이 바람직함.

나. 정밀도(Precision)

1) 검체

가) 검출 목표 변이 유형별 임상 검체

- 검출 목표 부위에 변이가 있는 정상 대조군 임상 검체(clinical specimen with benign variant). 또는, 검출 목표 부위에 질환의 원인 돌연변이가 존재하는 환자 검체(patient specimen with pathogenic variant).
- 검출 목표 변이 유형별로(예; single nucleotide variant, small indels, CNVs) 검출 목표 부위에 질환의 원인 돌연변이가 존재하는 환자 검체를 각각 포함 하도록 함

2) 방법

가) 검사 내(intra-assay): 동일 run 내에 최소 3회의 반복 검체를 검사함

나) 검사 간(inter-assay): 최소 3회의 서로 다른 run으로 시행함. 서로 다른 검사자가 있는 경우, 검사자를 달리하여 실시함

다) 반복 측정된 결과의 일치도를 %로 표기하여 비교함

3) 설명

가) 동일 검체를 일정기간 동안 반복 측정된 결과를 분석하여 정밀도 자료를 제시하며, 특히 NGS 과정 중 Wet bench process의 정밀도 확보가 중요함

- 나) 각 검사 수행 기관은 평가를 검사방법에 익숙해진 후에 성능평가를 수행함
- 다) 과정 상의 다양성/변동성 (variation)을 최소화하기 위해 각 시약, 장비, 인력은 자격을 갖추어야 하고 목적에 맞게 운영되어야 함
- 라) 정성검사의 경우 변이가 음성, 양성, heterozygous, homozygous 등 검체를 골고루 포함하도록 함
- 마) 일치도가 최소 95% 이상 되는 것이 바람직함.

다. 민감도(Sensitivity)

1) 검체

- 가) 핵산 최소 농도 측정: 검출 목표 변이 유형별로 서로 다른 변이가 포함된 참고 표준물질 또는 임상 검체(아래 예시 참조).
- 나) Mosaicism을 갖는 검체에 대한 최소 검출한계(limit of detection) 측정: 검출 목표 변이 유형별로 서로 다른 변이가 포함된 참고 표준물질 또는 임상 검체 (아래 예시 참조).
 - 참고 표준물질(reference material), 검출 목표 부위에 변이가 있는 정상 대조군 임상 검체(clinical specimen with benign variant), 또는 검출 목표 부위에 질환의 원인 돌연변이가 존재하는 환자 검체(patient specimen with pathogenic variant).
 - 검출 목표 변이 유형들을(예; single nucleotide variant, small indels, CNVs) 각각 포함 하도록 함

2) 방법

- 가) 핵산 최소 농도 측정: 검사의 정확도가 유지되면서 95%의 검사 run에서 검사 결과를 얻을 수 있는 핵산의 최소 농도를 측정함.
- 나) Mosaicism을 갖는 검체에 대한 limit of detection 측정: 변이를 가진 DNA 검체의 비율을 최소 5단계 이상 계대 희석한 검체를 검사하여 분석적 민감도를 판정함.
- 다) 검체 수, 농도, 반복회수, 계산법을 함께 제시함.

< 예시 : 검체 비율 >

- 변이있는 핵산: 변이 없는 핵산 = 1:1
- 변이있는 핵산: 변이 없는 핵산 = 1:3
- 변이있는 핵산: 변이 없는 핵산 = 1:7
- 변이있는 핵산: 변이 없는 핵산 = 1:15
- 변이있는 핵산: 변이 없는 핵산 = 1:31

3) 설명

- 가) 검체 희석 시에는 핵산의 성상이 안정적으로 유지될 수 있도록 일반적으로 핵산 추출에 사용되는 용액을 이용하거나 변이가 없는 다른 핵산과 희석할 수 있음.
- 나) 총 시험 건수 중 95%에서 양성으로 판정될 수 있는 검체의 농도를 프로빗 분석(probit analysis) 등으로 산정함. 계산된 최소검출한계가 실제로 측정되지 않은 농도라면 실제 측정 농도 중 계산값과 가장 가까운 높은 값의 농도로 결정하거나, 계산값에 대해 95% 검출되는지를 시험을 통해 재확인하는 것이 바람직함.

라. 특이도(Specificity)

1) 검체

- 잘 확립된(well-characterized) 참고 표준물질(reference material) 또는 임상 검체

2) 방법

- 가) 검사 run 당 위양성 빈도 산출 = NGS법에서 위양성으로 검출된 variant의 수 / 분석 대상 범위의 염기서열 총 길이
- 나) Pseudogene과 homologous region: 검사 패널의 분석 대상 유전자에 대해, 알려진 pseudogene과 homologous region이 존재하는 경우, NGS 검사의 분석적 특이도를 규명함

3) 설명

- 가) 특정 유전변이가 기존 방법으로 음성으로 확인된 시료를 NGS로 분석하여, 동일한 음성 결과를 얻을 수 있는 비율을 말하며 내부 또는 외부 요인에 의한 간섭 가능성이 있을 수 있음. (예: base-calling error, misalignment에 의한 error, variant calling errors에 의해 음성 결과가 양성으로 관찰되는 경우 위양성이 발생할 수 있음)
- 나) 참고 표준물질, 임상 검체, 또는 FASTQ, BAM, VCF 파일 등을 사용 가능함

3-3 임상적 유효성(Clinical Validity)

임상적 성능평가에는 생식세포 검사 NGS 패널의 내용, 검사의 목적, 잠재적인 임상적 민감도와 유용성 및 참고문헌(예: 동일 혹은 유사한 질환과 원인 유전자에 대해 시행하는 NGS 검사의 임상적 민감도에 대한 논문 기보고)과 이에 대한 검사실 자체 검토문서가 포함되어야 함

1. 신규 인증

NGS 임상검사실에 대한 신규 인증을 받고자 하는 경우, 「차세대염기서열분석(NGS) 임상검사실 인증 가이드라인」의 'V. 신청 및 평가'에 따른다.

2. 인증 재검토(갱신)

NGS 임상검사실 인증에 대한 재검토를 받고자 하는 경우, 인증 받은 사항에 대해 갱신된 사항을 제출한다. 이 경우 현장평가는 생략할 수 있다.

가. 품질관리체계

- NGS 검사에 관한 국내·외 검사실 인증(인정) 프로그램에 참여하여 평가되었음을 입증할 수 있는 자료
 - ※ 검사실 인증(인정) 프로그램의 유효기간(예: 1년)에 따라 새로 평가받은 자료를 제출하고, 신규 인증 시 현장평가를 통하여 평가받은 검사실의 품질매뉴얼, 업무지침서, 검사지침서 등에 변경사항이 있을 경우 해당 사항 제출

나. 숙련도

- 가목의 국내·외 인증(인정)프로그램에 참여하여 평가된 NGS 검사에 관한 숙련도 평가(외부정도관리) 결과서
 - ※ 매년 숙련도 평가 프로그램 등에 참여하여(예: 연 2~4회) 평가받은 자료

다. 검사성능

- 해당 임상검사실에서 인증 받은 후 실시한 임상검사 결과 등을 반영하여, 검사성능에 대해 재검증(revalidation)을 실시한 자료
 - ※ 인증 받은 후 실시한 임상검사 등이 없을 경우에는 이를 확인할 수 있는 자료(예: 공문 등)

번호	신규 인증	인증 갱신	제출사항
1	✓	✓	신청 공문 - 유전자검사기관명 및 NGS 임상검사실명 - 담당자(이메일, 전화번호, 팩스) - 검사분야(예: 체세포 변이/생식세포 변이/비침습적 산전 기형아 검사) - 검사명칭(예: ABCD 패널)
2	✓	✓	NGS 검사에 관한 국내·외 검사실 인증(인정) 프로그램 참여 및 평가 결과 - 한국인정기구(KOLAS)의 공인메디컬시험기관 인정서 - 진단검사의학재단의 우수검사실 신입 인증서 - 한국유전자검사평가원의 유전자검사 정확도 평가 인증서 - 대한병리학회의 질 관리 평가 인증서 - 해외 국가의 정부 또는 정부가 위임한 기관으로부터 국제기준(ISO 15189) 또는 국제기준에 동등이상인 기준에 따라 인증된 임상검사실 인증에 관한 자료
3	✓	✓	NGS 검사에 관한 숙련도평가(외부정도관리) 결과서
4	✓	✓	검사성능 평가 자료 - 성능평가계획(방법서), 성능평가 검체구성 - 성능평가결과 및 해석(표 형태의 요약 포함) - 임상적 유효성 ※ 「차세대염기서열분석 체외진단용 의료기기의 성능평가 가이드라인」 및 본 가이드라인을 참조하며, 각 평가항목에 대한 QC 기준 및 판정치 설정에 대한 근거 등 기재 ※ 인증 재검토(갱신) 신청 시, 검사성능에 대하여 재검증(revalidation)을 실시한 자료를 제출
5	✓		검사기기에 관한 자료 - 모양 및 구조, 사용목적, 사용방법, 사용 시 주의사항, 저장방법 및 사용기간, 장비점검 등 관리에 관한 자료, 제조원(소재지 포함) 등 - 인증 신청하고자 하는 NGS 장비의 일련번호 포함
6	✓	✓	유전자검사기관 신고증(변경) 사본
7		✓	검사실 조직도/인력현황과 검사실의 품질매뉴얼, 업무지침서, 검사지침서 등의 품질관리체계 문서 ※ 「차세대염기서열분석 임상검사실 인증 가이드라인」의 ‘II. 평가 분야 및 기준’을 만족하도록 함 ※ 인증 재검토(갱신) 신청 시 변경사항이 있는 경우, 변경대비표 및 변경된 자료를 포함하여 제출

<검사분야별 특징>

1. QIAamp DNA Blood Mini manual
2. Simbolo M, Gottardi M, Corbo V, Fassan M, Mafficini A, Malpeli G, Lawlor RT, Scarpa A. DNA qualification workflow for next generation sequencing of histopathological samples. PLoS One. 2013 Jun 6;8(6)
3. Qubit® 3.0 Fluorometer user guide
4. Agilent Genomic DNA ScreenTape Assay Quick Guide for 4200 TapeStation System
5. Agilent 2100 Bioanalyzer System Application fo DNA, RNA, Protein and Cell Analysis
6. End to End Sample Quality Control for Next Generation Sequencing Library Preparation and SureSelect Target Enrichment on the Agilent 2200 TapeStation System
7. OncoPrint™ BRCA Research Assay user guide
8. TruSight Cardio Sequencing Kit Protocol Guide
9. 우수검사실 신입인증 심사점검표 분자진단검사(진단검사의학재단)
10. 유전자검사실 현장실사 점검표 분자유전검사(한국유전자검사평가원)
11. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of ageL ten years of next-generation sequencing technologies. Nat Rev Genet 2016 17(6) 333-351
12. Jihun K, Woong-Yang P, Nayoung KDK, Se-Jin J, Sung-Min C, Chang-Ohk S, Jene C, Young-Hyeh K, Yoon-La C, Hyo Sub S, Jae-Kyung W. Good laboratory standards for clinical next-generation sequencing cancer panel tests. J Pathol Transl Med 2017 51 191-204

<생식세포변이 검사>

1. Mattocks CJ, Morris MA, Matthijs G, Swinnen E, Corveleyn A, Dequeker E, Muller CR, Pratt V, Wallace A; EuroGentest Validation Group. A standardized framework for the validation and verification of clinical molecular genetic tests. *Eur J Hum Genet.* 2010 Dec;18(12):1276-88.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute MM09-A2 Nucleic Acid Sequencing Methods in Diagnostic Laboratory Medicine, Approved guideline-2nd Edition, 2014
3. Rehm HL, Bale SJ, Bayrak-Toydemir P, Berg JS, Brown KK, Deignan JL, Friez MJ, Funke BH, Hegde MR, Lyon E; Working Group of the American College of Medical Genetics and Genomics Laboratory Quality Assurance Committee. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genet Med.* 2013 Sep;15(9):733-47.
4. Aziz N, Zhao Q, Bry L, Driscoll DK, Funke B, Gibson JS, Grody WW, Hegde MR, Hoeltge GA, Leonard DG, Merker JD, Nagarajan R, Palicki LA, Robetorye RS, Schrijver I, Weck KE, Voelkerding KV. College of American Pathologists' laboratory standards for next-generation sequencing clinical tests. *Arch Pathol Lab Med.* 2015 Apr;139(4):481-93.
5. DePristo MA, Banks E, Poplin R, Garimella KV, Maguire JR, Hartl C, Philippakis AA, del Angel G, Rivas MA, Hanna M, McKenna A, Fennell TJ, Kernytzky AM, Sivachenko AY, Cibulskis K, Gabriel SB, Altshuler D, Daly MJ. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nat Genet.* 2011 May;43(5):491-8.
6. Hardwick SA, Deveson IW, Mercer TR. Reference standards for next-generation sequencing. *Nat Rev Genet.* 2017 Aug;18(8):473-484.
7. Santani A, Murrell J, Funke B, Yu Z, Hegde M, Mao R, Ferreira-Gonzalez A, Voelkerding KV, Weck KE. Development and Validation of Targeted Next-Generation Sequencing Panels for Detection of Germline Variants in Inherited Diseases. *Arch Pathol Lab Med.* 2017 Jun;141(6):787-797
8. Guidelines for Validation Submissions of Next Generation Sequencing(NGS) assays under the NYS Testing Category of Genetic Testing - Molecular. July 2015.

차세대염기서열분석(Next Generation Sequencing) 임상검사실 인증
검사분야별 가이드라인 - 생식세포(민원인 안내서)

발행처 식품의약품안전처

발행일 2018년 2월

발행인 류영진

편집위원장 김진석

편집위원 <의료기기정책과>

신준수, 안명수, 이정애, 손미정, 박진숙, 박준모, 김병관, 방수영,
손혜경, 박선미, 홍정훈, 정형석, 우병걸, 이선주, 도미송, 김효진,
송민희, 신재련, 김아름, 김인혜, 윤 정, 류다영, 임지혜, 임준호

<체외진단기기과>

이원규, 류승렬, 안영욱, 우승민, 이용경, 서두원, 김현홍, 남미향,
손미진, 백승엽, 김빛나, 정은지

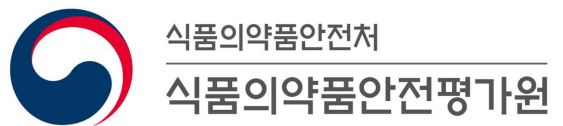
문의처 (우 28166) 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187

식품의약품안전처 의료기안전국 의료기기정책과

전화 : 043-719-3753~3779 팩스 : 043-719-3750

식품의약품안전평가원 의료기기심사부 체외진단기기과

전화 : 043-719-4652~4663 팩스 : 043-719-4650



(우 28159) 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187

식품의약품안전처 의료기기안전국 의료기기정책과

식품의약품안전평가원 의료기기심사부 체외진단기기과

<http://www.mfds.go.kr>