
차세대염기서열분석 (Next Generation Sequencing) 체외진단용 의료기기의 성능평가 가이드라인 (민원인 안내서)

2019. 7.



식품의약품안전처



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

명칭

차세대염기서열분석(Next generation Sequencing) 체외진단용 의료기기의
성능평가 가이드라인(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 우선적 으로 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 · 안내 서 구분	<input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정 사무의 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 기술 하는 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.		
2019 년 7 월 31 일		
담당자 확 인(부서장)		이 용 경 이 원 규

이 안내서는 차세대염기서열분석(Next generation Sequencing) 체외진단용 의료기기의 성능평가 시 요구되는 신청서 작성 방법 및 제출자료 요건에 대하여 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 2019년 7월 31일 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 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 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 체외진단기기과에 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4652~63

팩스번호: 043-719-4650

제 · 개정 이력서

차세대염기서열분석(Next generation Sequencing)
체외진단용 의료기기의 성능평가 가이드라인(민원인 안내서)

제 · 개정 번호	승인일자	주요내용
B1-2016-5-018	‘16. 7. 29	차세대염기서열분석(Next generation Sequencing) 체외진단용 의료기기의 성능평가 가이드라인 제정
안내서-0658-01	‘17. 5.	「차세대염기서열분석(Next generation Sequencing) 체외진단용 의료기기의 성능평가 가이드라인(민원인 안내서)」 명칭 변경 및 제·개정 점검표 등 추가 [근거 「식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정」 개정, ‘17.5.1.]
안내서-0658-02	‘19. 7.	차세대염기서열분석을 이용한 종양관련 유전자검사시약의 심사방안을 추가하여 개정

목 차

I. 개요	1
1. 배경	1
2. 목적	2
3. 적용범위	2
II. 용어의 정의	4
III. 관련 규정	25
IV. 심사 대상 고려사항	26
1. 차세대염기서열분석기기(NGS platform)	26
2. NGS 체외진단용 시약	27
3. NGS 독립형 분석용 소프트웨어	29
4. 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기 평가의 일반적 의의	32
5. 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기 평가의 임상적 의의	34
1) NGS를 이용한 동등성 평가	35
2) NGS 분석법 검증 및 NGS 성능평가 항목	35
3) 임상적 유효성에 대한 고려사항	36
4) 사회·경제적 고려사항	37
6. 차세대염기서열분석(NGS) 임상검사실 인증 지침(안)	37
6-1. NGS 임상검사실 인증 지침(안) 성능평가 항목 예시	38
1) 인력 및 장비 등 현황(예시)	38
2) 성능 평가절차(예시)	38

목 차

V. 제조·수입허가 신청서 기재 항목 및 기술문서 제출자료	46
1. 제조·수입허가 신청서	46
2. 기술문서에 관한 자료	46
3. 허가 신청서 및 신고서 항목의 기재 요령	47
VI. 기술문서 등의 심사를 위한 제출자료	69
1. 원칙	69
2. 시험자료의 요건	69
3. 개발경위, 측정원리·방법 및 국내외 사용현황에 관한 자료	70
4. 원재료 및 제조방법에 관한자료	71
5. 사용목적에 관한 자료	72
6. 저장방법과 사용기간(유효기간)에 관한 자료	72
7. 성능시험에 관한 자료	73
8. 체외진단용 의료기기의 취급자 안전에 관한 자료	75
9. 이미 허가·인증받은 제품과 비교한 자료	75
10. 제품표준서(시험규격)	77
VII. 성능시험에 대한 상세사항	78
1. 분석적 성능시험 자료	78
2. 임상적 성능시험 자료	85
3. 완제품의 품질관리 시험성적서	88
4. 분석적 성능시험에 사용된 표준물질에 관한 자료	89
5. 검체보관 및 취급상(온도, 습도 등)의 조건 설정 근거자료	89
6. 상관성 평가	90
VIII. NGS기반 종양유전자검사시약의 심사 방안	92
IX. 참고문헌	98



차세대염기서열분석(Next Generation Sequencing, 이하 NGS) 기술의 발전으로 환자의 염기서열 분석이 용이해졌지만 이와 함께 기술적인 부분, 데이터 관리와 결과 분석적인 측면에서 많은 도전 과제들이 생겨나게 되었다. 아직 진단에 있어서 NGS의 안정성이 확실치는 않지만, NGS가 환자에게 제공하는 이점이 매우 많을 것으로 생각되므로 진단에서의 NGS 도입은 필수적일 것이다. 따라서 이 새로운 기술의 방법 및 파이프라인, 플랫폼에 대한 검증 또한 중요하다고 볼 수 있다.

차세대염기서열분석법은 여러 목적에 의해 사용될 수 있으며 이때 사용되는 각 분석 목적 및 방법에 따라 장단점을 가지고 있다. 가이드라인은 이러한 모든 목적 및 방법에 대해 포괄적인 부분을 고려하여야 하며 특히, 중요한 부분은 해당 테스트를 이용하는 이용자들(i.e. 임상의 또는 진단검사 센터)에게 진단에 있어 각 분석법 및 플랫폼의 한계점을 명확히 안내하는 것이라 할 수 있다. 이를 위하여 개인맞춤의료를 위한 차세대염기서열분석법을 이용한 체외진단용 의료기기의 성능평가 가이드라인을 발간하고자 한다.

1. 배경

최근 과학 기술이 발전함에 따라 환자의 유전자나 단백질 등의 발현량 또는 유전자의 돌연변이 등을 검사하고 이를 바탕으로 환자의 치료 방법을 선택하는 개인 맞춤 의료기술이 발달하고 있다. 그러나 유전적 다양성 때문에 질병의 원인으로서는 유전적 상태를 확인하는 것은 진단에 있어서 오랜 기간 동안 어려운 부분이었다. 유전자 해석기술은 나날이 급속한 진보를 거듭하고 있으며 그 중 차세대염기서열분석법(NGS)은 기존의 진단법에서 어려움이 있었던 부분을 해결해 줄 수 있는 획기적인 방법으로 평가받고 있다. 유전자 배열 결정의 속도와 비용 효율성을 고려한 성능은 혁신적으로 진화하고 있으며, 1000달러 정도의 예산으로 인간 전체 유전체를 해독하려는, 이른바 「1000달러 유전체 분석」 개념도 달성되고 있다. 과거 게놈 프로젝트에 거액의 연구비가 투입된 것을 생각해 보면, 엄청난 진보가 아닐 수 없다. 특히, 개인 맞춤 의료를 실현하기 위해서는, 인간 집단 내에서 높은 빈도로 출현하는 SNP(단일염기다형성, Single Nucleotide Polymorphism)의 타이핑에 근거한 진단 뿐만 아니라, 개인 유전체의 NGS 분석으로 발견되는 SNV(단일염기서열변이, Single Nucleotide Variant)에 주목하여 유전체를 진단하는 것이 바람직하다. 더불어, 당뇨병이나 류마티스 등의 다인자성 질환은 환경 요인 뿐만 아니라, 유전적 요인이 복수 존재하는 경우도 많다고 추정되고 있다. 또한, 암질환은 복수의 원인 변이에 의해 발병되고, 최근의 연구에 의해, 암의 원인 변이의 종류와 조합은 개인마다 다양성이 크다는 것도 알려지고 있다. 따라서 이처럼 방대한 수의 변이를 해석할 필요가 있는 질환의 진단에서는, NGS에 의한 유전체 진단이 효과적일 것이다. 또한 기기(platform)의 가격도 저렴해지고 있으며

벤치탑형 차세대 염기서열 분석(NGS)기기도 등장하였고, 반도체 NGS 기기를 비롯한 다양한 차세대염기서열분석(NGS)기기 등이 발전을 거듭해 나가고 있다. 이미 NGS는 역할이 잘 알려진 소수의 유전자를 대상으로 수행되는 Mutation detection이나 Targeted sequencing, 역할이 잘 알려지지 않은 유전적 결함을 발견하기 위해 수행되는 Exome sequencing 등 다양한 분야에 적용되고 있으며 진단을 위한 분석법도 빠르게 발전하고 있다. 특히, 2000년대 초까지 Microarray로 대표되었던 유전자 발현체 분석법은 NGS 기술의 발달로 현재 대부분 RNA-Seq으로 대체되고 있으며, 활발한 RNA-Seq을 통해 새로운 바이오마커의 개발과 더불어 연구가 까다로웠던 small RNA 등의 non-coding RNA의 분석도 가능해짐으로써 체외진단분야에 더 큰 발전을 가져올 것으로 기대된다. 그 외에도 DNA/RNA-protein interaction을 볼 수 있는 ChIP-Seq(Chromatin immunoprecipitation followed by sequencing)과 CLIP-Seq(Cross-linking immunoprecipitation sequencing), DNA methylation 기작을 연구할 수 있는 methylation sequencing 등도 개발되어 체외진단과 관련하여 많은 분야의 연구개발에 적용이 가능해 지고 있다. 하지만 이러한 발달은 진단에 있어 새롭게 고려해야 할 많은 부분들이 동반하게 되었다. 특히나 최근 들어 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 개발이 활발해지면서 해외의 관련 기관들은 이미 수년 이상 이러한 기술에 대한 평가 기준을 고민해오고 있다. 우리나라도 염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기에 대한 평가사항, 즉 허가·심사에 대한 평가기준이 필요한 상황이며 이러한 기술을 국내에 올바르게 정착하기 위해 염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단 의료기기 및 관련 체외진단 시약의 취급에 대한 합리적인 평가 시스템 및 인증/ 허가 기준의 구축이 필요한 실정이다. 따라서 제조사와 허가 당국 모두 참고 할 수 있는 차세대염기서열분석법을 이용한 체외진단용 의료기기의 성능평가 가이드라인 마련이 필요하다.

2. 목적

본 가이드라인은 차세대염기서열분석법(Next Generation Sequencing, ‘이하 NGS’)을 이용한 체외진단용 의료기기의 성능 평가 시 고려해야 할 사항 및 NGS를 이용한 체외진단용 의료기기의 허가를 득하는데 필요한 근거자료 마련 및 심사 시 요구되는 제출자료 작성을 위한 기초 가이드라인으로 활용하는 것을 목적으로 한다.

3. 적용범위

본 가이드라인은 아래와 같이 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기를 대상으로 하며, 허가심사 방법은 국제조화에 일치시키고자 하였다.

(1) 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 종류

1) 차세대염기서열분석기기(NGS platform) (분석기기 작동 및 보정에 사용되는 내장 소프트웨어 포함)

2) NGS 체외진단용 시약

- 특정 질병에 대한 진단 혹은 선별검사 등에 사용하기 위해 개발된 ‘질병표적 유전자 패널 (Targeted gene panel)’ 또는 ‘NGS를 이용한 체외진단용 시약(panel reaction kit)’

3) NGS를 이용한 독립형 분석용 소프트웨어

- 차세대염기서열분석기기(NGS platform)와 NGS 체외진단용 시약(특정질병에 대한 진단 혹은 선별검사 키트 또는 관련 시약 등)의 성능을 확인할 수 있는 독립된 분석용 소프트웨어
- * 독립형 분석용 소프트웨어는 NGS platform과 NGS 체외진단용 시약을 이용해 분석한 염기서열 또는 유전체 정보에 대해 알고리즘을 바탕으로 산출된 분석결과로부터 변이정보 등록, 데이터 통합 및 관리, 질병과의 연관성 분석, 진단 등을 위해 사용되는 개별 제품형태의 독립된 분석용 소프트웨어임

(2) 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기 신청제품별 구성 형태

1) NGS 관련 허가심사 신청제품의 구성은 아래와 같이 가)부터 라)까지 중 어느 하나의 구성 형태로 신청될 수 있다.

가) 차세대염기서열분석기기(NGS platform)만 구성 (NGS platform에 사용되는 유니버설 키트 포함)

나) 차세대염기서열분석기기(NGS platform) 및 NGS 체외진단용 시약으로 구성(분석용 소프트웨어는 NGS platform에 내장)

다) NGS 체외진단용 시약만으로 구성

- NGS 체외진단용 시약만 허가심사 신청 시에는 해당 시약은 특정질병에 대한 진단 혹은 선별검사에 사용하기 위해 NGS용으로 개발된 체외진단용 시약으로서 NGS platform에 대한 성능을 포함하여 함께 제시할 수 있어야 한다.

라) NGS를 이용한 개별 독립형 분석용 소프트웨어(NGS platform과 NGS 체외진단용 시약의 성능 포함)만 구성

- NGS platform으로부터 분석한 염기서열 또는 유전체 정보에 대하여 소프트웨어의 알고리즘 통해 분석결과를 해석하거나 재조합하는 등의 방식으로 질병과의 연관성, 진단 등에 활용할 수 있는 성능이어야 하며, 단순히 수식 또는 산출방법 등을 통해 분석한 결과(유전자 변이 확인, 염기서열 전위 확인 등)만을 제시하는 독립 형태의 소프트웨어는 본 가이드라인에서 제시하는 독립형 분석용 소프트웨어에 해당하지 않는다.

마) 상기의 가)에서 라)까지를 모두 포함한 세트 형태(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어)의 제품으로 구성



간섭(Interference)

분석물질의 농도나 강도가 명백함에도 검출시약이나 신호 자체에 비 특이적으로 반응하는 물질의 존재로 인해 일어나는 인위적인 증가나 감소

☞ 검출 시스템의 비 특이성에서 기인하기도 하고, 반응지시약 반응의 억제, 분석 대상(효소)의 억제 또는 검체에 의해 발생하는 바이어스의 다른 원인에 기인하기도 함

간섭물질(Interfering substances)

임상 검체에 존재하는 내부물질(예 : 혈액 구성요소, acidic polysaccharide) 또는 외부물질(예 : 항응고제 등)로 위양성 또는 위음성 결과를 야기할 수 있는 물질

강건성(Robustness)

검출될 수 있는 분석 물질의 최소량을 분석하는 과정에서 작지만 미묘한 파라미터의 변화가 생겼을 때 그것에 영향을 받지 않는 것을 의미하며 정상적으로 사용했을 경우 결과에 대한 신뢰성을 제공함

검출한계(Limit of detection, LoD)

검출될 수 있는 분석 물질의 최소량

게놈(Genome)

게놈 또는 유전체라고 하며, 한 개체의 유전자의 총 염기서열 즉, 한 생물종의 거의 완전한 유전정보의 총합을 일컬음

계놈 진단용 소프트웨어

기기에 부착된 소프트웨어뿐만 아니라, 독립 프로그램으로서 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외 진단 혹은 선별검사(Screening)용으로 이용되는 의료용 소프트웨어를 의미하며, 좁은 의미의 정의로 질병진단 지원용 소프트웨어를 지칭함

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 증합효소의 활성 또는 방해물질에 의한 증폭 방해 여부를 동정하기 위한 목적으로 사용

뉴클레오티드(Nucleotide)

DNA 혹은 RNA를 이루는 한 단위로 purine(adenine, guanine) 혹은 pyrimidine 염기(thymine(DNA), uracil(RNA), cytosine), 인산(phosphate) 그리고 오탄당분자(deoxyribose(DNA), ribose(RNA))로 구성됨

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

다형성 자리(Polymorphic site)

개체 내에서 적어도 둘 이상의 서로 다른 염기 배열인 대립형질(allele)이 발견되는 유전자 좌 내의 위치

단일말단 리드(Single End Read)

DNA 염기서열은 insert의 단일 가닥의 5'말단에서 얻어진다. 해당 리드는 일반적으로 1x “y”로 나타나며 “y”는 염기쌍에서의 한 번의 분석량을 의미 (예. 1x50bp, 1x75bp)

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

드노보 조립(De novo assembly)

리드 서열 간의 유사성 정보를 이용하여 리드를 하나의 큰 염기 서열로 조립해 내는 방식

드노보 시퀀싱 (De-Novo Sequencing)

드노보 조립(de novo assembly)방식을 이용하는 염기서열 분석법

대조물질(reference material)

시험물질과 비교할 목적으로 시험에 사용되는 물질

돌연변이(Mutation)

생물의 형질에 부모의 계통에 없던 새로운 비정상적 형질이 갑자기 출현하는 현상

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 복잡성 (Library Complexity)

시퀀싱 라이브러리에 포함된 고유 DNA 단편의 수

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 염기쌍 정보를 의미하는 것으로 염기서열분석으로 나온 출력데이터, 시퀀스(염기서열)의 조각

리드 길이(Read length)

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

멀티플렉싱 (Multiplexing)

두 개의 다른 검체 또는 그 이상의 샘플을 하나의 시퀀싱 레인 또는 칩에서 시퀀싱 할 수 있도록 이를 혼합하는 것을 말함. 혼합해야하는 검체는 혼합 전 바코드/인덱싱하여야 함

맵핑(Mapping)

개인(환자)의 염기서열 데이터(sequence read)를 표준 염기서열(Reference Genome)과 비교하는 작업

메이트 이중 리드 (Mate Pair Read)

"Paired-end" 및 "mate-pair" 라는 용어는 약간 다르게 사용된다. 어떤 분석기기의 시퀀싱에서는 library 크기는 100-500 bp 정도이며 주형 DNA의 양쪽 끝에서 생산되는 read를 "paired-end" read, library 크기가 약 2-5 Kb이면서 주형 DNA의 양쪽 끝에서 생산되는 read를 "mate-pair" read라고 한다. 기본적으로 2-5 Kb 크기의 DNA는 그 상태 그대로 sequencing 되는 것이 아니라 양 끝 부분을 서로 결합시켜 원형화 시킨 다음에 결합된 부분만 따로 분리하여 그 부분의 양쪽 끝을 시퀀싱하게 된다. Paired-end 및 mate-pair library는 일정 거리만큼 떨어진 DNA의 양쪽 끝을 시퀀싱한다는 점은 동일하나 library의 제작 방법에 있어 차이가 있다. 또다른 분석기기의 반도체 시퀀서에서는 "Paired-end" 가 아닌 기본적으로 Long-read의 Single-end 방식이 사용된다.

메틸레이션 시퀀싱(Methylation sequencing)

DNA methylation 변이 분석을 위한 시퀀싱 기법으로, 주로 특정 염기서열 군(CpG site)의 cytosine methylation 여부를 확인함으로써 특정 유전자의 발현조절을 연구할 수 있는 기법

바이어스(Bias)

검사 결과의 예상치와 허용된 기준치 사이의 차이

바코드(Barcode)

하나의 라이브러리 모아진 각각의 다른 샘플들을 구별할 수 있도록 하기 위한 고유한 염기서열 단편

발현(Expression)

유전자를 구성하는 유전 정보, 즉 유전자에 의해 생물을 구성하는 다양한 단백질이 형성되는 과정

방해물질(Interfering substances)

임상 검체에 존재하는 내부물질(예: 혈액 구성요소, acidic polysaccharides) 또는 외부물질(예: 항응고제 등)로 위양성 또는 위음성 결과를 야기할 수 있는 물질

베이트 (Baits)

표적농축 (target enrichment)을 수행하는데 있어 관심부위의 식별 및 결합을 담당하는 올리고 뉴클레오티드 서열(즉, 프로브)의 일반적인 명칭

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

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

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

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

보관 시 안정성(Storage stability)

최종 디자인(포장) 상태에서 시약의 유효기한

보정(Calibration)

특별한 조건하에서 측정 기기나 측정 시스템이 나타내는 값 또는 물질측정이나 참고물질에 의한 값과 표준물질에 상응하는 값 사이의 관계를 확립하는 일련의 조작

보정물질(Calibrator / Calibration material)

측정과정을 보정하기 위해서 또는 검체의 반응을 비교하기 위해서 사용되는 알려진 정량적/정성적 특성(예: 농도, 활성도, 강도, 반응성)을 갖는 물질

a) 보정물질에서 분석물질 양은 그의 제조과정에서 확인된 한계(limit) 내에 있으며, 분석법의 반응과 측정되는 특성과의 관계를 설정하는데 사용 가능

b) 보정물질은 국가 또는 국제 표준물질이나 참고물질에 소급성을 가져야 함

c) 분석물질의 다른 양을 갖는 보정물질은 보정 곡선을 설정하는데 사용 가능

d) “일차”와 “이차표준”이란 용어는 보정물질을 지칭하는 용어로 WHO와 ISO에서 사용

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

브릿지 증폭 (Bridge Amplification)

증폭분자가 칩의 양쪽에 어댑터로 부착된 칩에서 캡처한 단편의 증폭

비정밀도(Imprecision)

특별한 조건 하에서 얻어진 측정값의 독립적 결과들의 분산

☞ 표준편차나 변이계수 등의 숫자로 표시

사용 시 안정성(in - use stability)

제조사에서 제공한 용기를 개봉한 이후에 사용자의 작동 조건에서 시약의 유효기간내의 검사 수행 능력 정도

사전 캡처 라이브러리 (Pre-Capture Library)

특정 형태의 표적농축을 거치기 전 생성한 시퀀싱 라이브러리에 쓰이는 일반적인 명칭

사후 캡처 라이브러리 (Post-Capture Library)

특정 형태의 표적농축이 완료된 시퀀싱 라이브러리를 가리키는 일반적인 명칭

상관계수(Correlation coefficient, r)

측정된 데이터에 대한 두개의 무작위 변수의 공분산(covariance)과 그들의 표준편차의 곱의 비(ratio)

선별검사(Screening test)

특정질환의 증상이 없어 의학적 주의를 받지 못하는 사람들 중에 해당질환의 고 위험군을 발견하여 추가적인 관찰이나 직접적 예방 활동을 하기 위한 체계적인 검사

선형성(Linearity)

실험 검체에 있는 분석물질의 농도[양]에 정비례하는 결과를 제공할 수 있는 능력

세포주(Cell line)

세포 배양을 통해 지속적으로 수를 증가시킬 수 있는 세포들로, 세포주를 구성하는 세포들이 한 가지 클론에서 유래하므로 모두 동일한 유전형과 표현형을 가지며 배양 중 언제나 그 특성을 유지

☞ 암 세포주(Cancer cell line)는 불멸화된 질환세포이며, 동일한 질환 유전자 변이를 가지고 있기 때문에 질환유전자 연구에 주로 사용되는 세포주

수송 안정성 실험(Transport stability)

제품 운송 도중 발생 가능한 환경변화가 제품 성능에 미치는 영향을 평가하는 것

☞ 최악의 상황을 시험해야 함.

시퀀서(Sequencer)

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

시퀀싱(Sequencing)

생명체의 유전정보인 DNA 서열을 쭉 읽어서 밝혀내는 것이 그 생명체의 설계도를 읽는다는 의미를 가지게 되었고 이렇게 DNA 염기서열(시퀀스, sequence)을 순서대로 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 coverage라고도 함.

신뢰구간(Confidence interval)

평균, 분율, 비율 등의 변수의 참값이 정해진 확률 범위 내에서 분포할 것으로 예상되는 계산된 구간

실시간 안정성 실험(Real time stability)

시약을 추천하는 정상적인 보관과 사용 환경에 두고 그 안정성을 평가하는 실험

양성 예측도(Predictive valude 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)

암유전자(Oncogene)

암과 관련된 유전자, 대부분은 직접 혹은 간접적으로 세포의 성장 속도 조절과 관련이 있음.

어댑터 (Adaptors)

DNA/cDNA 단편(i.e. insert)의 양쪽 끝에 결합시키는 알고 있는 염기서열로 된 올리고뉴클레오티드를 말함. 해당 올리고뉴클레오티드는 DNA/cDNA 단편을 시퀀싱 하는데 사용되는 프라이머의 결합 부위를 제공하는 역할을 함.

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.

염색체(Chromosome)

자가 복제가 가능한 세포 내의 유전자적 구조를 뜻하며 뉴클레오티드(nucleotide)가 일렬로 배열된 DNA로 이루어져 있음

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 (방법)을 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 (Exome sequencing)

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

위양성(False positive, FP)

실제로는 질병이 없음에도 불구하고 질병이 있는 것처럼 양성으로 검사 결과가 나오는 것

☞ 예시 : 질환에 이환되지 않은 개체에서 비정상적으로 질환에 양성인 것으로 나온 결과

위음성 (False negative, FN)

실제로는 질병이 있음에도 불구하고 질병이 없는 것처럼 음성으로 검사 결과가 나오는 것

☞ 예시 : 질환에 이환된 개체에서 비정상적으로 질환에 음성인 것으로 나온 결과

음성 예측도(Predictive valude of negative result, NPV)

음성 결과를 가진 사람들 중 특정 질환을 가지지 않은 사람들의 비율

이중 말단 리드 (Paired End Read)

DNA 염기서열은 삽입(insert)의 이중 가닥 모두의 5'말단에서 얻어진다.

해당 리드는 일반적으로 2x “y”로 나타나며 “y”는 염기쌍에서의 한번에 읽을 수 있는 염기서열의 분석량(길이) (예. 2x100bp, 2x150bp)

인덱스/바코드 (Index/Barcode)

여러 검체가 단일 시퀀싱 레인/칩에서 함께 시퀀싱 될 때 검체 각각을 확인/라벨하기 위한 방법으로 사용되는 보통 6개 또는 그 이상의 뉴클레오티드로 이루어진 짧은 염기서열을 말함. 바코드는 일반적으로 시퀀싱 어댑터 내에 위치해 있음

인솔루션 캡처 (In-solution capture)

관심부위에 대한 검체를 선택하고 농축하기 위해 샘플을 미끼(bait)에 잡종화하는 표적농축을 수행하는 방법

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

전장 전사체 시퀀싱 (Whole Transcriptome Sequencing)

발현하는 RNA 전체에 대한 염기서열 해독과정을 말하며 RNA-Seq이라고도 불림.

재 시퀀싱 (Re-Sequencing)

대조 염기서열(reference sequence)을 사용한 유전물질의 시퀀싱

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

전사물 (transcript)

DNA에서 RNA 중합효소에 의해 합성되는 RNA

전위 (Translocation)

염색체의 일부가 위치를 변경하여 염색체상의 위치를 바꾸는 것

☞ 예시: 질환과 관련된 예를 들면, 만성골수백혈병 환자에서는 9번 염색체와 22번 염색체의 각각에서 일정 부분이 절단된 후 두 조각이 서로 위치를 바꾸어 이동하는 현상, 즉 전위 t(9;22)(q34;q11)에 의해서 생긴 필라델피아 염색체가 관찰됨

정량분석 (Quantitative assay)

검체에서 분석물질의 농도를 측정할 수 있는 시스템

- ☞ 정량 분석은 표준 참고 물질에 맞춘 보정곡선으로부터 동종 또는 이종 보간법 (Interpolation)¹⁾을 통해 이루어짐

¹⁾ 보간법 : 내삽이라고도 하며 그래프상의 알려진 두 값 사이의 특정값을 평균하여 추정하는 것을 의미

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

정성분석 (Qualitative assay)

분석물질의 농도가 아니라 단지 분석물질이 있고 없음을 알려주는 검사 시스템

- ☞ 양성 검사 결과는 검사신호가 분석 역치를 넘는 것만을 의미하고 판단 기준치(cut-off value)는 진단 민감도와 특이도의 인위적 조합에 의해 구해짐

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)

중합효소(polymerase)

핵산의 중합반응을 일으키는 효소

진단검사 (Diagnostic test)

특정 질환의 진단, 예방, 치료 또는 개개의 환자에서의 건강이나 건강의 손상 정도를 평가하기 위한 목적

☞ 진단적 검체의 측정 또는 검사를 칭함

진양성 (True positive, TP)

환자의 질병 상태와 검사의 양성판정이 일치하는 결과

진음성 (True negative, TN)

환자의 질병 상태와 검사의 음성판정이 일치하는 결과

질병표적 유전자 패널 (Disease targeted gene panels)

특정질병에 관여하는 유전자들을 한꺼번에 검사할 수 있도록 디자인 된 패널

차세대염기서열분석법 (차세대 시퀀싱, Next Generation Sequencing)

차세대염기서열분석법(NGS)은 Massive parallel sequencing을 일컫는 말로, 한국어로는 ‘대용량 염기서열분석법’, ‘대규모 병렬형 염기서열 분석법’ 등으로 번역되기도 함. 이 분석법의 기본 발상은 컴퓨터 공학에서 한 작업을 동시에 수행하는 것을 뜻하는 병렬 컴퓨팅(Massively parallel processing)과 유사한데, 하나의 유전체를 무수히 많은 조각으로 분해하여 각 조각을 동시에 읽어낸 뒤, 이렇게 얻은 데이터를 생물정보학적 기법을 이용하여 조합함으로써 방대한 유전체 정보를 빠르게 해독하고자 하기 위함임. 현재는 2세대에 해당하는 NGS 기술 발달에 힘입어 수십만 내지 수십억 개의 서로 다른 대용량 염기서열 분석 반응이 동시에 진행되고 판독되는 기술을 말함.

참조구간 (Reference interval)

상하 두 개의 참고 한계치 내의 간격

☞ 하한참고치와 상한참고치 간의 간격으로 명시되어 있다.

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 인증되고 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

참고 표준방법(Reference method)

하나 또는 그 이상의 특성값을 정확히 측정하기 위해 필요한 조건 및 과정이 정확하고 분명하게 기술되어 있고, 철저히 조사된 방법으로 동일한 특성값을 측정하는 다른 방법의 정확도를 평가하거나 참조물질에 대한 참조 방법의 값을 지정하기 위해 사용하는데 적합하게 정확도와 정밀도가 문서화되어 있는 방법

최소검출한계 (Limit of detection)

검출될 수 있는 분석 물질의 최소량

총 분석 오차 (Total analytical error)

특정 구성요소들로 구성되어 있으며 90 % 또는 95 % 신뢰구간으로 정량화

측정가능범위 (Analytical measurement range, AMR)

일상적인 측정 과정의 일부가 아닌 희석, 농축 또는 기타 전처리 없이 어떤 검사법이 검체에서 직접 측정할 수 있는 분석물질 값의 범위

출력용량 (Output Capacity)

시퀀싱에서의 리드 염기 수는 일반적으로 수천에서 수조의 염기 (kb, Mb, Gb, Tb)로 측정되며 실험, 칩, 장비 등과 관련될 수 있음

측정 시스템의 민감도 (Sensitivity of a measuring system)

측정 시스템 표시 도수의 변화 및 측정된 양의 값의 변화계수

☞ 측정시스템의 민감도는 측정된 양의 크기에 의존하며 측정된 양의 값 변경은 반드시 분해능 (resolution)에 비하여 큰 차이여야 함

친화력, 친화성 (Affinity)

면역학에서 한 개의 항원 결정기 부위와 한 개의 항체 사이에 작용하는 힘

칩 시퀀싱 (ChIP-Seq)

Chromatin Immunoprecipitation의 약자로 단백질에 결합된 DNA 서열을 분리해낸 후 DNA와의 상호 관계를 알기위한 목적으로 염기서열 분석하는 기법

콘택 (Contig)

보다 높은 구조(단편-> 콘티그)와 연관된 단편 염기서열의 첫 번째 레벨 (염기서열이 밝혀진 작은 DNA 조각. 이때 각 콘텍은 다른 콘텍들과 동일한 염기서열 부분을 함유)

커버리지 정도 (Depth of Coverage)

특정 관심 DNA 염기서열 범위의 염기서열 분석된 리드의 수를 말함. 이는 일반적으로 “yx”로 표시된다. “y”는 리드의 수를 의미하며, “x”는 커버리지 미터의 정도를 나타냄 (예. 5x, 10x, 20x, 100x)

탐색자 (Probe)

단일가닥 핵산으로 상보적 염기서열을 가지고 있는 특정 DNA나 RNA를 동정하는 목적으로 사용

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

판정기준치 (Cut-off value)

정성검사에서는 경계치 이상을 양성으로, 경계치 미만을 음성으로 보고할 수 있는 경계값을 말함. 정량검사에서는 측정 결과가 임상적 또는 분석적 결정점(Decision point)의 위 또는 아래에 있는지 (양성 또는 음성) 결정하는데 사용되는 측정물질의 정량값

표적농축 (Target Enrichment/Capture)

시퀀싱 하기 전 특정 유전자 또는 기타 관심부위를 DNA 또는 cDNA 라이브러리로부터 분리 및/또는 그 빈도를 증가시키기 위한 방법을 말함. 관심부위는 시퀀싱을 위해 유지하고 나머지 물질은 씻어 제거함

표적 시퀀싱 (Targeted sequencing)

전체 유전체 염기서열 중 관심부위(Target region)만을 분석하는 염기서열 분석기법

프라이머 (Primer)

oligonucleotide로 목표 DNA와 상보적 결합을 하여 DNA 중합효소와 nucleotide triphosphates를 같이 사용하여 DNA 합성을 시작할 수 있게 함

프로빗 분석(Probit analysis)

이 프로시저는 자극의 강도와 자극에 대해 특정 반응을 나타내는 케이스 비율 사이의 관계를 측정함. 이 프로시저는 일부 종속변수의 수준에 의해 영향을 받거나 이로 인해 유발되는 이분형 결과가 있는 상황에서 유용하며, 특히 실험용 데이터에 적절하다. 이 프로시저를 사용하면 특정 반응 비율을 감소시키는 데 필요한 자극의 강도(유효 처방 중앙값)를 추정할 수 있음.

☞ 예시: 새 살충제가 개미를 죽이는 데 얼마나 효과적이며 적절한 사용 농도는 얼마인가?
개미 표본에 다른 농도의 살충제를 사용하고 죽은 개미 수와 약에 노출된 개미 수를 기록하는 실험을 수행하고 이 데이터에 프로빗 분석을 적용하면 농도와 죽은 개미의 수 사이의 관계 강도를 판별하고, 살충제 투여 개미의 95 %를 확실히 죽이려는 경우에 필요한 살충제 농도를 판별할 수 있음

핵산추출 (Nucleic acid extraction)

핵산을 증폭하고 분석하기 위해 핵산을 생물학적 물질로부터 분리 얻어진 임상시험의 결과에 따라 의약품등의 개발 전략을 수정할 수 있음

Base Calling

염기서열분석 과정 중에 할당되는 하나하나의 염기를 실제 염기서열로 바꾸는 과정

Emulsion PCR

비드(bead)기반의 라이브러리 증폭기법을 말함. 하나의 어댑터가 결합되어 있는 염기서열 단편이 비드(bead)표면에 결합하게 되고 증폭에 필요한 시약이 비드-단편과 함께 오일 에멀전을 형성하여 단편을 증폭하게 되는 기법.

FASTQ

각 염기에 대한 개별 리드 염기서열과 이에 상응한 품질 지표를 가진 파일로 일반적인 일차 분석 결과

Incidental genetic findings (우발적인(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

InDels

유전체의 특정부위에서 삽입(insertion)과 결손(deletion)이 발생한 조합

Phred Quality Score

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

ROC (Receiver Operating Characteristic(Curve)) 분석

이 프로시저는 대상을 분류하는 두 개의 범주를 갖는 변수가 있는 분류 방법의 성능을 평가하는 유용한 방법으로 음성과 양성을 구분하는 경계값을 가능한 전 구간에서 변화시키면서 민감도와 위양성률(1-특이도)을 그래프로 그려 양성과 음성을 구분하는 검사법의 성능을 평가할 수 있게 보여주는 그래프

AUC 분석

이 프로시저는 대상을 분류하는 두 개의 범주를 갖는 변수가 있는 분류 방법의 성능을 평가하는 방법으로 ROC 곡선의 적분값으로 계산함.

F-measure

이 프로시저는 대상을 분류하는 두 개의 범주를 갖는 변수가 있는 분류 방법의 성능을 평가하는 방법으로 양성과 음성데이터의 불균형을 보정할 수 있음. 정확도와 민감도의 조화평균으로 나타냄.

Variant Calling

맵핑을 통해 개인과 표준 염기서열의 차이를 알아낸 후 이를 적당한 선택기준을 정해 신뢰할 수 있는 염기서열 변이 정보만을 추출하는 과정

VCF File (variant call file)

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

1000 유전체 프로젝트

전체 인구의 1 %에서 나타나는 모든 변이에 대해 조사하고자 하는 프로젝트

☞ 1000 유전체 프로젝트(1000 Genomes Project)는 2008년 1월에 영국, 미국, 중국이 합작하여 3년 내에 다양한 인종으로 구성된 인간 1000명의 유전체를 해독하는 국제 프로젝트. 인간 게놈 프로젝트 이후 가장 큰 규모의 유전체 프로젝트이며, 기존에 한두 명의 게놈 지도를 해석하는 것이 아니라, 빠른 속도로 많은 사람의 유전체를 한꺼번에 해석하여 변이체학의 기초를 이룰 수 있는 매우 귀중한 자료를 만들겠다는 것임. 또한, 이 자료는 일반인이 쉽게 찾을 수 있도록 공개되며, 이 프로젝트는 궁극적으로 \$1000 유전체 프로젝트나 \$0 유전체 프로젝트의 기초가 될 것으로 기대될 프로젝트로 알려져 있음. 유전학, 약리학, 의학, 생화학, 생물정보학 등에 도움을 줄 것으로 예상됨



- 「의료기기법」 제3조 (제조업의 허가의 신청 절차)
- 「의료기기법」 제10조 (임상시험계획의 승인 등)
- 「의료기기법」 제29조 (수입업 허가신청 등)
- 「의료기기법 시행규칙」 제5조 (제조허가의 절차)
- 「의료기기법 시행규칙」 제6조 (제조인증의 절차)
- 「의료기기법 시행규칙」 제7조 (제조신고의 절차)
- 「의료기기법 시행규칙」 제9조 (기술문서 등의 심사)
- 「의료기기법 시행규칙」 제20조 (임상시험계획의 승인 등)
- 「의료기기법 시행규칙」 제21조 (임상시험기관 지정기준 및 절차 등)
- 「의료기기법 시행규칙」 제30조 (수입허가 신청 등)
- 「의료기기법 시행규칙」 제42조 (용기 등의 기재사항)
- 「의료기기법 시행규칙」 제43조 (첨부분서의 기재사항)
- 「의료기기법 시행규칙」 제44조 (기재사항의 표시방법)
- 「의료기기 허가·신고·심사 등에 관한 규정」
- 「의료기기 품목 및 품목별 등급에 관한 규정」
- 「의료기기 안정성시험 기준」



차세대염기서열분석법(NGS)은 환자의 유전체 정보를 이용해 기존 의학과 맞춤의학의 경계를 허물 수 있는 신개념 의료기술로 DNA의 염기서열 결정방법은 날이 갈수록 비약적으로 발전하고 있다. 이미 환자의 조직이나 혈액으로부터 추출한 DNA나 RNA를 바탕으로, NGS에 의해 개인 게놈을 해석하는 연구가 전 세계적으로 활발하게 추진되고 있으며 특히, 미국에서는 이미 게놈 진단 혹은 선별검사(Screening)가 다수의 의료기관 및 검사기관에서 LDT(Laboratory Developed Tests)로서 시작되고 있다. 그러나 차세대염기서열분석법(NGS)은 생성될 수 있는 데이터의 양과 범위, 검출대상에 대한 정의의 불충분함, 단일 환자 샘플로부터 생성될 수 있는 결과에 대한 임상적 해석에 있어서 기존의 체외진단용 의료기기와는 차별화를 가지므로 차세대 염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기를 규제함에 있어 가장 효율적이고 가능성 있는 방법이 고려되어야 한다. 이를 위해 차세대 염기서열 분석법의 일반적인 분석 흐름에 따라 1. 차세대염기서열분석기기(NGS platform) 2. NGS 체외진단용 시약 3. NGS를 이용한 독립형 분석용 소프트웨어에 대해 기술하고자 한다.

1. 차세대염기서열분석기기(NGS platform)

가. 차세대염기서열분석기기(NGS platform) 및 동 분석기기 작동 및 보정에 사용되는 내장 소프트웨어를 포함하여 체외진단용 의료기기로 허가심사를 할 경우에는 의료기기의 안전하고 효율적인 사용을 보장하기 위해 해당 의료기기의 사용에 대한 위험도를 파악하여 해당 의료기기 품목 및 품목별 등급을 결정해야 하고, 그에 따른 적절한 분석적 및 임상적 성능을 고려하여 심사하여야 한다.

나. 차세대염기서열분석기기(NGS platform) 성능평가는 해당 분석기기가 유전자(DNA) 서열을 정확히 읽을 수 있는지를 검증하고 평가해야 한다. 방대한 양의 데이터가 차세대염기서열분석기기 (NGS platform)를 통해 생산되므로 분석기기가 분석하는 과정의 검증은 필수적으로 요구된다.

다. 차세대염기서열분석기기(NGS platform)는 특정 샘플(조직, 혈액, 체액 등)이 가지고 있는 모든 유전체 정보에 대해 검출이 가능하며, 이에 대한 방대한 양의 데이터를 만들어 낼 수 있으나, 기존의 체외진단용 의료기기 허가·심사 규제에 따라 정확하고 안정적으로 해당 분석기기에서 도출할 수 있는 모든 유전체 정보의 검출을 입증하는 데이터를 전부 제공하는 것은 불합리적이고 비실용적이다.

그렇기 때문에, 차세대염기서열분석기기(NGS platform)만을 체외진단용 의료기기로 신청하고자 하는 경우에는 해당 분석기기의 분석적 성능시험 입증자료로 분석방법에 따른 각각의 대표 유전체 정보(예, 변이, 전위 등)를 해당 방법에 대한 대표서브셋(representative subset)으로 설정하여 입증할 수 있고, 설정된 대표서브셋이 분석적 성능 입증에 적절한지에 대해 허가심사 시 입증자료의 타당성 등을 심사하게 된다. 여기서 대표서브셋이란 차세대염기서열분석법(NGS)을 통해 분석적 민감도(Analytical Sensitivity)와 위음성(false negative)비율, 분석적 특이도(Analytical Specificity)와 위양성(false positive)비율을 명확히 나타낼 수 있는 유전체 정보들로 구성되어야 한다.

차세대염기서열분석기기(NGS platform)의 분석적 성능을 평가할 때 표준물질(reference material), 표준방법(reference methods) 및 표준데이터(reference data)를 활용할 수 있다.

※ 차세대염기서열분석기기(NGS platform)만을 제품으로 신청하는 경우 ‘의료기기 허가·신고·심사 등에 관한 규정(식약처 제2015-114호, ’15.12.30)’ 및 ‘의료기기의 품목류별 인증·신고·심사 가이드라인(등록번호: B1-2016-5-001, ’16.2.24)’을 참고한다.

2. NGS 체외진단용 시약

가. 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 시약(이하 ‘NGS 체외진단용 시약’)을 체외진단용 의료기기로 허가심사를 할 경우에는 의료기기의 안전하고 효율적인 사용을 보장하기 위해 해당 의료기기의 진단 혹은 선별검사(Screening)에 대한 질병의 중증도 및 위해도를 파악하여 해당 의료기기 품목 및 품목별 등급을 결정해야 하고 그에 따른 적절한 분석적 및 임상적 성능을 고려하여 심사하여야 한다.

나. NGS 체외진단용 시약은 특정 질병에 대한 진단 혹은 선별검사 등에 사용하기 위해 개발된 ‘질병표적 유전자 패널(Targeted gene panel)’ 또는 ‘NGS를 이용한 체외진단용 시약(panel reaction kit)’으로 구분된다.

다. 특정 질병의 진단 혹은 선별검사(Screening)를 목적으로 개발된 NGS 체외진단용 시약은 목적하는 진단 혹은 선별검사(Screening)에 유용한 유전체 정보를 검출하도록 디자인되어야 하고, 사용되는 분석기기((NGS platform)를 통해 해당 시약의 성능이 반영된 분석 데이터가 도출될 수 있어야 한다.

라. NGS 체외진단용 시약만을 허가 신청하는 경우에도 시약의 성능을 확인하기 위하여 시약과 함께 사용되는 분석기기((NGS platform)의 성능을 제시할 수 있어야 하며, NGS platform에 내장된 분석용 소프트웨어의 성능은 분석결과의 신뢰성을 확인할 수 있는 입증자료로 제시되어야 한다.

- NGS 체외진단용 시약과 함께 사용되는 분석기기에 내장된 소프트웨어 및 소프트웨어의 분석 파이프라인은 demultiplexing, deduplication, calibration, mapping, variant calling, filtering, annotating 과정으로 이루어지며 내장 소프트웨어가 구동됨에 따른 데이터 생산 과정에서 FASTQ 파일, BAM 파일, variant call(vcf) 파일 등이 생산 될 수 있어야 한다. 해당 소프트웨어는 이러한 각 단계에 적합한 분석 기법과 데이터베이스를 사용하여 파이프라인을 구축해야 하며, 각 분석 단계별로 품질 및 성능평가를 위한 적합한 지수를 포함해야 한다. 아울러, NGS 체외진단용 시약의 목적에 따라 사용되는 분석기기((NGS platform)를 통해 동일한 결과가 도출될 수 있도록 분석한 raw data의 크기와 데이터의 coverage(depth), 시료의 양, 소요시간과 비용 등을 제시할 수 있어야 한다.

(1) 질병표적 유전자 패널(Disease targeted gene panels) : 유전자 panel에 포함될 유전자는 충분한 과학적 근거와 질병에서의 역할이 규명된 유전자에 한정되어야 하며, 하나의 panel이 여러 질병의 증상을 대변할 수 있어 각 질병 진단 혹은 선별검사(Screening)에 적용 가능한 경우에는 의도하지 않은 유전변이를 발견하는 것을 최소화하기 위한 대안을 제시할 수 있어야 한다. 유전자 panel의 분석적 성능을 위해 표적유전자 이외에 필요한 염기서열을 양성 및 음성 대조군(reference)으로 포함시킬 수 있다.

NGS 체외진단용 시약 개발에 있어 질병과 관련 있는 유전자 뿐 만 아니라 표적으로 하는 질병, 검사할 유전자명, 보고할 수 있는 범위, 분석적 민감도와 특이도, 검사된 유전자의 유전변이에 의해 발생할 수 있는 임상적 표현성과 관련이 없는 질병 등에 대해 명확히 제시할 수 있어야 한다. 특히, 현재의 게놈시퀀싱(Genome sequencing) 기술로도 전체 유전자 서열을 완벽히 분석하기엔 한계가 있으므로 질병 관련 유전변이가 엑손(exon) 지역 외에 있다면, 이런 부분들의 변이까지도 포함되도록 시약 개발 단계에서 디자인되어야 한다.

(2) NGS를 이용한 체외진단용 시약(panel reaction kit) : 특정 질병의 진단 또는 선별(screening)검사 결과에 직접적인 영향을 미치거나 또는 직접적인 영향을 주지 않고 사용목적이나 분석방법과는 관계없이 차세대염기서열분석기기(NGS platform)

또는 NGS 체외진단용 시약의 운영·유지·보정 등을 위해 공통적으로 사용되는 시약(이하 ‘유니버설 키트’)의 경우에도 해당 시약의 위해도를 파악하여 의료기기 품목 및 품목별 등급을 결정해야 하며 결정된 등급에 따라 적절한 분석적 및 임상적 성능을 고려하여 심사를 하여야 한다.

3. NGS를 이용한 독립형 분석용 소프트웨어

가. NGS를 이용한 독립형 분석용 소프트웨어를 체외진단용 의료기기로 허가심사를 할 경우에는 의료기기의 안전하고 효율적인 사용을 보장하기 위해 해당 의료기기의 사용 대상에 대한 질병의 중증도와 사용에 대한 위해도를 파악하여 해당 의료기기 품목 및 품목별 등급을 결정해야 하고, 그에 따른 적절한 기능을 고려하여 심사하여야 한다. 또한 의료용 소프트웨어 심사 가이드라인을 준수해야 한다. NGS를 이용한 독립형 분석용 소프트웨어는 NGS platform과 NGS 체외진단용 시약으로부터 분석한 염기서열 또는 유전체 정보에 대하여 소프트웨어의 알고리즘 통해 분석한 결과로부터 변이정보 등록, 데이터 통합 및 관리 등을 토대로 분석데이터를 해석하거나 재조합하는 등의 방식으로 특정 질병과의 연관성, 진단 등에 활용할 수 있는 성능이어야 하며, 단순히 수식 또는 산출방법 등을 통해 분석한 결과(유전자 변이 확인, 염기서열 전위 확인 등)만을 제시하는 독립 형태의 소프트웨어는 본 가이드라인에서 제시하는 독립형 분석용 소프트웨어에 해당하지 않는다.

나. NGS를 이용한 독립형 분석용 소프트웨어 및 해당 소프트웨어의 분석 파이프라인은 demultiplexing, deduplication, calibration, mapping, variant calling, filtering, annotating 과정으로 이루어지며 내장 소프트웨어가 구동됨에 따른 데이터 생산 과정에서 FASTQ 파일, BAM 파일, variant call(vcf) 파일 등이 생산 될 수 있어야 한다. 해당 독립형 분석용 소프트웨어는 이러한 각 단계에 적합한 분석 기법과 데이터베이스를 사용하여 파이프라인을 구축해야 하며, 각 분석 단계별로 품질 및 성능평가를 위한 적합한 지수를 포함해야 한다.

독립형 분석용 소프트웨어는 분석적 성능평가를 일반화하여 수립할 수 있는 컴퓨터를 사용하는 접근법을 포함해야 하며, 소프트웨어의 정도관리를 위해 각 주요 단계별로 서열분석 품질관리, Variant calling에서 서열 위치, Strand-bias, 및 특정 반복서열 영향도 평가, Variant calling 자체 성능 평가, 진단 성능 평가 등 평가를 위한 성능 지수 포함을

권고하며, 분류형의 경우 ROC기반 AUC와 F-measure를 통한 성능 지수 포함 및 회귀형의 경우 R^2 와 P-value를 성능 지수로 포함하는 것을 권장한다.

다. NGS를 이용한 개별 독립형 분석용 소프트웨어(NGS platform과 NGS 체외진단용 시약의 성능 포함)만으로 구성된 개별제품은 분석결과의 품질 및 결과 신뢰성 확보가 매우 중요하다. 인간 유전체 정보를 분석하여 진단의 목적으로 이용함에 있어 확정된 임상적 의의를 가지는 유전정보와의 비교 및 대조분석이 주된 방법이지만 NGS를 이용한 개별 독립형 분석용 소프트웨어(NGS platform과 NGS 체외진단용 시약의 성능 포함)의 분석결과는 아래에 열거하는 기능을 포함하고 있어야 한다.

- (1) 염기서열 정보 추출, 맵핑 해석결과 및 변이정보의 등록 : 일반적으로는 차세대염기서열분석기기(NGS platform) 내에 각 기기에 적합한 base-calling 알고리즘, 이후 염기서열 데이터의 품질검사와 저품질 염기서열데이터의 삭제과정을 수행하는 기능, 이렇게 큐레이트된 데이터를 레퍼런스 시퀀스(Reference sequence)와의 일치성을 기준으로 하여 배열하는 맵핑 기능, SNV 추출 기능 등이 설치 내장되어 있는 경우가 많다. 이러한 기능들은 정밀한 분석을 위해 기본적으로 포함하고 있을 수 있으나 필수 사항은 아니다. 그러나, 이러한 공정의 작업을 통해 취득되는 염기서열 정보, 맵핑(Mapping) 해석결과 및 변이정보를 등록하는 기능은 필수사항이다. 이 때, 변이 정보의 파일 형식은 파일의 구조와 데이터의 조직에 대한 정의가 포함되어 있어야만 한다. 가능하면, 표준포맷인 BAM파일과 VCF파일을 자동적으로 등록하고 저장할 수 있는 기능을 탑재하는 것이 바람직하다.
- (2) 전 세계적으로 공개되어 있는 각종 데이터베이스와의 대조와 데이터베이스 내 검색: 예를 들어, 암과 관련된 변이를 분석한다면, 환자의 결과에서 추출해낸 변이(SNVs)를 이미 알려진 암 관련 변이 데이터베이스 내에 수집되어 있는 결과와 대조하여 환자의 암 특이적인 변이를 동정하는 기능이 필요하다. 그리고 이미 알려진 변이와는 일치하지 않지만, 암 특이적인 유전자 내의 암 관련 변이후보를 검색하는 기능 등도 필요하다. 따라서 과거의 지식과 견해를 체계화한 데이터베이스와의 대조 기능이나 데이터베이스 내 검색기능을 충실히 가지고 있을 필요가 있다.
- (3) 복수의 기기 혹은 알고리즘(소프트웨어)에 의한 분석결과의 통합 : 1종류의 차세대염기서열분석 데이터만으로는, 질병의 진단 혹은 선별검사(Screening)에 충분한 정확도의 정보를 얻을 수 없는 위험도 있다. 이러한 관점에서 복수의 기기로부터의 혹은 알고리즘

(소프트웨어)을 통하여 분석 결과를 비교 분석하고 이를 통합할 수 있어야 한다. 그러나, 분석결과의 비교 분석 시 치우침(bias)결과가 발생할 가능성을 고려해야 한다.

- (4) 환자정보의 등록, 익명화 및 기타 진단 혹은 선별검사(Screening)정보 등의 의료정보와의 연계 : 차세대염기서열분석법을 이용한 체외진단용 의료기기로서 진단 혹은 선별(Screening)검사용 소프트웨어는, 환자의 진료목적으로 이용된다는 점에서, 환자 정보의 등록과 익명화 기능은 필수이다. 그 밖에, 환자 정보나 기타 진단 정보 등의 의료정보와의 연계분석도 가능한 것이 바람직하다. 따라서, 익명화 방안과 의료정보와의 연계 분석을 위한 보안 유지 방안을 제시할 필요가 있다.
- (5) 진료정보의 입력과 적절한 결과보고서 작성 기능 : 질병의 진단 혹은 선별(Screening)은, 의사가 차세대염기서열분석법을 이용한 체외진단용 의료기기로서 진단 혹은 선별검사(Screening)용 소프트웨어의 출력결과를 보면서, 기타 진단 혹은 선별검사(Screening)결과까지 반영하여 종합적으로 진단을 내리는 것이므로, 어디까지나 진단 지원을 위한 IT 시스템이다. 따라서 의사의 견해를 입력하고, 필요에 따라 적절한 결과 보고서를 출력할 수 있는 기능이 있는 것이 좋다. 또한, 차세대염기서열분석법을 이용한 체외진단용 의료기기로서 진단 혹은 선별검사(Screening)용 소프트웨어의 결과 보고서는 생물 정보학 종사자 이외에, 의사, 환자 및 가족 등 복수의 속성의 사용자가 이용 할 수 있으므로 사용자의 범위를 고려하여 각각의 속성에 맞는 인터 페이스와 알기 쉬운 진단 결과의 출력이 요구된다.
- (6) 네트워크설정, 보안 및 액세스 권한 : 위의 (5)항목을 실현하기 위해서는, 복수의 속성의 유저가 차세대염기서열분석법을 이용한 체외진단용 의료기기로서 진단용 소프트웨어를 이용한다는 점에서, 적절한 네트워크가 설정되고, 견고한 보안이 확보된 환경에서 데이터 통신이 이루어져야 한다. 더불어, 복수의 속성의 유저가 이용하기 때문에, 각각의 속성의 유저에 대해서 세심한 접근 제한을 설정할 수 있는 기능도 필수이다.
- (7) 에러의 검출 · 배제 : 입력데이터, 포맷, 입력항목 및 데이터 간 정합성 체크 등 에러의 발생을 미연에 방지하거나, 또는 에러를 검출하거나, 배제하는 기능이 필요하다. 또한, 조작자에 의한 오조작을 최소화 하는 기능도 필요할 것이다. 더불어, 각 작업공정을 관리하는 실험실 정보관리 시스템(Laboratory Information Management System) 기능도 요구된다. 이 실험실 정보관리 시스템에는 작업 기록 등의 로그정보가 저장되어, 작업이 정상적으로 이루어졌는지 확인할 수 있는 기능의 탑재도 필요하다.

- (8) 데이터 보존, 관리 : 최근, 「빅 데이터」라고 불리는 방대한 양의 데이터를 다루는 시대에 돌입하였다. NGS 데이터의 양은 지나치게 커서, 그 데이터를 문제없이 보존·관리하기가 쉽지 않다. 온라인에서 서버 내의 하드 디스크에 데이터를 보관하는 것은 필수지만, 서버나 하드 디스크의 고장 등에 대비하여, 기타 기록매체에 데이터나 해석 결과를 보관할 필요성도 있다. 또한, 이러한 방대한 양의 데이터를 온라인에서 보관하게 되면 경비도 많이 들기 때문에, 데이터의 압축기능과 데이터의 오프라인 보관 기능 및 백업기능도 필요해 질 것이다.

4. 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기 평가의 일반적 의의

- 가. 차세대염기서열분석법(NGS)은 개인 DNA의 큰 조각들과 심지어는 한 개인의 전체 게놈을 빠르게 분석할 수 있는 새로운 기술들의 모음으로 구성되어 있다. 일반적으로 제한된 조건 세트를 진단하는 단일 물질 또는 정의된 다수물질을 검출하는 다른 체외진단 검사와는 달리, 단일 차세대염기서열분석(NGS) 테스트는 개인의 다양한 다른 조건들이나 질병 위험의 가능성을 예측하거나 진단 혹은 선별할 수 있는 수천 또는 수백만개의 유전자 변이와 그 결과를 동정할 수 있어, 이미 연구 분야에서 광범위하게 확장되어 사용되고 빠르게 임상테스트에 접근하고 있다. 이에 공중 보건을 증진 및 보호하는 임무를 수행하기 위해 차세대염기서열분석(NGS) 검사법들 및 그것들의 빠른 진화 역량에 대해 엄격한 규제가 아닌 지속적인 발전의 기회를 약속하여야 한다. 이로써 NGS 기술 혁신을 촉진시켜야 하고, 대중이 새로 개발 된 테스트를 적시에 접근 할 수 있도록 허용하고, 테스트가 정확하고 신뢰할 수 있고 임상적으로 관련성이 있는지 반드시 확인해야 한다.
- 나. 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 활용은 기존의 유전자 진단법보다 더 많은 정보를 생산할 수 있으므로, 진단과 스크리닝 기능을 동시에 가지고 있다고 볼 수 있다. 따라서 이러한 검사는 신중한 고려없이 수행되어서는 안되며, 따라서 분석, 번역, 보고, 검사에 필요한 자원 등에 대한 윤리적, 법적 적용을 신중히 고려해야 한다. 특히, 현행 생명윤리 및 안전에 관한 법률에서 금지된 유전자 항목이 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 분석결과에 포함될 수 있으나 (예, exome sequencing, whole genome sequencing 등) 이러한 유전자 항목에 대해서는 결과 보고 시 특별하게 허가된 경우가 아니라면 제외시킬 수 있도록 조치해야 한다.

다. 환자와 임상 의에 대한 사전 동의 및 정보 제공에 대해 고려해야 한다. 모든 형태의 유전자 검사에서 사전 동의와 유전적 상담은 매우 중요하다. 유전자 검사의 핵심 원리는 차세대 염기서열분석법(NGS) 기반의 진단에도 적용되며, 환자는 해당 유전자 검사에 대한 사전 구두 상담을 받아야만 하고 필요할 경우에는 결과에 대한 사후 상담도 필요하다. 차세대 염기서열분석법(NGS) 기반의 진단은 다양한 플랫폼이 존재하므로 상담자는 이러한 플랫폼들의 장단점을 잘 알아야만 하며, 진단검사 적용은 샘플 추출 및 염기서열 분석 과정, 플랫폼, 데이터 필터링 과정과 정보 저장 등이 해당된다. 사전 및 사후 구두 상담과 관련된 과정은 모두 문서화 하는 것을 권장한다.

라. 차세대염기서열분석법을 이용한 체외진단용 의료기기로서 표적으로 하는 질병, 검사할 유전자의 이름, 보고할 수 있는 결과의 범위, 분석적 감수성과 특이성, 검사된 유전자의 유전변이에 의해 발생할 수 있는 임상적 표현성과 관련이 없는 질병 등의 정보를 제공하여야 하며, 허가받은 진단 혹은 선별(Screening) 목적의 결과에 부합하는 결과가 아닌 우발적인(의도하지 않은) 유전적 발견(Incidental genetic finding) 정보의 처리에 대해 고려하여야 한다. 예를 들면, 암 유전자 배열의 해석을 목적으로 한 경우, 당초 암 유전자 표적과는 다른 부위에 중요한 유전적 변이가 발견된 경우 등을 들 수 있다. 차세대염기서열분석법(NGS)에서는 대량으로 염기서열을 분석하기 때문에, 이른바 표적부위가 아닌 주목하지 않은 영역도 데이터로서 대량 취득함으로써, 당초 생각하지 못한 질환과의 관련이 판명되는 케이스도 있을 수 있다. 그것들이 유전적으로 치사에 이르거나 위독한 유전병을 의미할 경우 등도 충분히 예상할 수 있다. 이러한 경우에 대응하기 위해 우발적인(의도하지 않은) 유전적 발견(Incidental genetic finding)의 정보 처리에 대한 지침이 마련되어야 한다. 하나의 방안으로 몇 가지의 우발적인(의도하지 않은) 발견에 관해서는, 그 환자에게 이익이 된다고 생각되는 변이부위의 최소한의 리스트를 작성하여, 충분한 상담을 통해서 결과를 고지하는 방안을 제시할 수 있다.

마. 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용하여 임상샘플의 분석을 진행하면 차세대염기서열 분석법(NGS)의 뛰어난 분석 능력에 의해, 이미 알려진 변이와 더불어 신규 변이가 잇달아 발견될 수 있다. 이처럼 질환이나 유전자에 따라서 차세대염기서열분석법(NGS)로 분석할 수 있는 변이의 수가 방대하게 늘어날 수 있기 때문에 그들 하나하나의 임상적 의의에 대한 검증(Validation)이 어려울 수 있다. 또한 이러한 변이의 조합에 따라 병적 의의가 변화할 가능성도 있기 때문에 그에 대한 평가가 매우 어렵다고 할 수 있다. 그렇지만 질병과 연관되어 있는 병인일 가능성이 있어 간과해서는 안된다는 문제가 있다.

- 바. 진단 검사의 모든 항목은 사용 전에 검증되어야 한다. 차세대염기서열분석법(NGS) 기반의 진단 분석의 경우 정확도, 분석적 정밀성, 분석적 민감도, 특이도, 검사 결과의 보고 범위, 레퍼런스 범위가 경험적으로 결정되어야 하며, 검증 과정 중에 검증되어야만 한다.
- 사. 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 분석과정 및 일관적인 결과 도출에 대한 검증을 위해서는 표준화된 샘플(시료)을 사용하는 것이 전체 분석과정을 통제하고 신뢰도를 높이는 방향이 될 수 있다.
- 아. 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 진단 결과 보고서에 최소한으로 포함되어야 하는 정보를 정리하고, 차세대염기서열분석법(NGS) 결과를 보고하는 모델을 고려해야 한다.
- 자. 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기를 통해 분석한 결과에서 질병과 유전 변이체간의 연관성에 관한 정보 등의 임상적 성능을 입증하고 그에 관련된 데이터를 제공하기 위해서 고품질의 잘 정립된 공공의 유전자 데이터베이스를 이용하여 분석하는 것을 권장한다. 공공의 유전자 데이터베이스의 사용에 따른 분석 결과의 축적이야말로 더 견고한 분석 결과를 만들고 질병과의 연관성을 잘 입증할 수 있을 것이며 정밀의학(precision medicine)의 발전을 도모하여 환자 개개인뿐만 아니라 더 나아가 국민 보건 증진에 이바지 할 것으로 기대할 수 있다.
- 차. 개인정보 보호 및 윤리적인 문제에 대한 구체적인 방안은 추후 구체적인 지침이 마련될 필요가 있다.

5. 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기 평가의 임상적 의의

최근 발표된 연구에 의하면 단백질 코드 영역 내의 변이 가운데 약 73 % 또는 유해하다고 생각되는 변이 중 86 %가 과거 5000년~1만년 이내에 생긴 것으로 추정된다고 한다. 이것은, 인종이 나뉜 후에, 많은 질병과 관계된 변이가 발생했다는 것을 의미하고 있다. 이 사실을 통해, 개인별 맞춤 의료를 실현하기 위해서는, 인간 집단 내에서 높은 빈도로 출현하는 SNP의 타이핑에 근거한 진단보다, 개인 유전체를 한꺼번에 분석하는 차세대염기서열분석법(NGS)으로 발견되는 SNV에 주목하여 유전체 정보를 진단을 하는 것이 바람직하다. 더불어, 당뇨병이나 류마티스 등의 다인자성 질환은 환경 요인 뿐만 아니라, 유전적 요인도 복수 존재하는 경우도 많다고 추정된다. 또한, 암질환은 복수의 원인 변이에 의해 발병

된다고 보고 있으며 최근의 연구에 의해, 암의 원인 변이의 종류와 조합은 개인마다 다양성이 크다는 것도 알려지고 있다. 따라서, 이처럼 방대한 수의 변이를 해석할 필요가 있는 질환의 진단에서는 앞으로 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 유전체 진단이 효과적일 것이다. 또한 이러한 진단을 위해서는 생물정보학 분석이 필수적이 될 것이다.

1) 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 동등성 평가

같은 임상샘플에 대해 대조군으로 설정할 수 있는 기허가 받은 제품이나 외국에서 허가된 제품을 사용하여 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기간의 동등성 시험을 실시하여 임상시험이 가능하도록 한다.

- 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 동등성 시험 실시 시 유의 사항
차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 동등성 시험 시 임상시험 지원자를 모집하여 샘플을 수집하여 이용하는 것이 가장 적합하나, 피험자의 검체 수집이 어려운 경우, 해당 임상시험과 동등한 선택기준으로 채취·보존된 피험자 집단의 검체를 이용하여 동등성 시험을 별도로 실시할 수 있다. 다만, 이러한 경우 검체 채취 시기 및 병변의 질, 고정 상태 및 저장 상태 등의 관점에서 검체가 제대로 관리되고 있는지의 여부를 확인하여야 하며 변수를 잘 통제할 수 있도록 실험 디자인에 대해서도 사전에 식품의약품안전처와 상담하는 것이 바람직하다.
- 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 양성 일치율 또는 음성 일치율 등의 기준은 대상 질병의 특성과 대상 환자 수(현실적으로 확인 가능 기능 증례 수), 신뢰 구간 등을 감안하여 검토해야 한다.

2) 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 분석법 검증 (Analytical Validation) 또는 성능평가 (Analytical Performance)

차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기는 분석법 검증 또는 성능평가 시 평가 방법 및 결과의 타당성 제시를 위해 아래의 제반 사항 중 해당하는 항목에 대해 만족하는 결과를 도출할 수 있어야 한다.

- 정확도(Accuracy), 음성예측값(PNV, Predictive negative value)
- 정밀도(Precision), 양성예측도(PPV, Predictive positive value)

- 재현성(Repeatability)
 - 민감도(Sensitivity)
 - 특이도(Specificity)
 - 정량 범위 또는 검출 한계 등의 측정 범위 및 선형성(Linearity) 구간
 - 분석 컷오프 값 (Analytical Cut-off)
 - 참조 표준물질 및 내부 표준물질
 - 검체 채취 방법, 처리 방법, 저장 방법 등 채취하는 검체에 대한 정보
 - 반응 조건 등 분석 조건 및 비특이적 반응이 발생할 가능성과 그 억제 방법
(임상검사실 분석법 검증에 해당)
 - 오염에 의한 오판의 가능성과 그들을 제거하는 대책 (임상검사실 분석법 검증에 해당)
- 아울러 분석법 검증 또는 성능평가에 의해 규정된 측정(감지)계를 변경하는 경우에는 변경 전후 동일하게 측정/검출 가능하다는 필요 충분한 검증 또는 성능평가 항목(상기에 언급된 분석법 검증 또는 성능 평가 방법)의 성적을 제시해야 할 필요가 있다.

3) 임상적 유효성에 대한 고려사항

가. 변이의 종류 및 상태와 관련된 질병의 진단의 영향에 대한 직·간접적인 증거여부

질병의 진단이 미치는 영향을 판별하는데 이용된다. 이는 환자에게 양성 변이가 존재 하거나, 부재인 경우 일반적인 치료를 받았을 때의 결과 비교를 요구한다. 이는 기존의 다른 진단방법에서 임상적 유효성이 입증되어 있으면서 기존의 다른 진단방법과 차세대염기서열분석법이 분석면에서 동등하거나 우월하다면 이를 통하여 간접적으로 임상적 유효성이 입증되었다고 볼 수 있다.

나. 환자의 건강 결과에서 제시된 검사 영향에 대한 "직접적인 증거"

환자가 제시된 검사를 받는지 또는 받지 않는지에 대해 무작위로 선택이 되었는지, 그리고 제시된 의약품 또는 일반적인 치료에 대해 그리고 치료의 추가적 효과가 환자 건강 상태에 대해 적절히 할당 되었는지에 대해 확인하여야 한다.

다. 직접적인 양질의 증거 확보와 이를 통한 통계적 유의성 판단이 매우 중요하다. 이를 위해 임상 샘플 수에 대한 임상시험 설계에 의거한 통계적 근거자료를 제시함으로써 임상 안전성 및 유효성 모두를 평가하여야 한다.

4) 사회·경제적 고려사항

차세대염기서열분석법(NGS)을 이용하는 체외진단검사의 경우에는 특히, 제공하는 서비스의 결과는 검사기관의 보유시설이나 진단검사를 수행하는 검사자의 숙련도에 따라 큰 차이가 있을 수 있다. NGS 서비스 제공은 검사하여야 하는 다중변수 및 실증적으로 정의되어야 하는 여러 매개변수를 포함한다. 본 사항들은 진단적으로 수용(신뢰) 가능한 수준의 정확성에 도달하기 위해 시료 품질 관리, 라이브러리 제작(library preparation), 염기서열분석(sequencing), 소프트웨어를 이용한 생물정보학 분석, 해석 및 보고 등이 모두 포함된다. 검사자가 숙련된 자라 할지라도 체외진단용 의료기기로 허가를 받지 않은 자체개발검사법(LDTs)을 수행하거나, 체외진단용 의료기기로 허가받은 제품이라 할지라도 숙련되지 않은 검사자가 수행하게 될 경우 모두 사회·경제적으로 큰 문제를 야기할 가능성이 있다.

이러한 문제의 대안으로서 식품의약품안전처에서는 진단검사를 수행할 수 있는 시설과 자격을 갖추고 수행되는 검사결과가 철저하게 정도관리 될 수 있는 의료기관 및 전문 검사기관의 임상검사실에 인증을 부여하고, 차세대염기서열분석기기(NGS platform)를 사용함에 따라 야기될 수 있는 문제점을 미연에 방지하고자 한다.

6. 차세대염기서열분석(NGS) 임상검사실 인증 지침(안)

- 차세대염기서열분석(NGS) 임상검사실 인증 기준에 대한 사항은 “차세대염기서열분석(NGS) 임상검사실 인증 지침(안)”에 따른다.

6-1. 차세대염기서열분석(NGS) 임상검사실 인증 지침(안)의 성능평가 항목 예시

1) NGS 임상검사실 인력 현황 (예시)

분야			소속(부서) 및 직책	성명
실험 (wet experiment)		수행자		
		수행자		
		검토자		
데이터 분석 (BI)		수행자		
		검토자		
데이터 해석 (Interpretation)	기술적 해석	수행자		
		검토자		
	임상정보 해석	수행자		
		검토자		
보고 (Reporting)		작성자		
		승인자		

2) NGS 임상검사실 장비, 시약 및 소모품 현황 (예시)

번호	명칭			사용목적	제조원	
	제품명 (브랜드명)	품목명	모델명		제조국	제조사명
1	K00 Series	유전자서열 검사기	000	NGS 검사용 염기서열 분석	00	PPP
2	Bio00 System		***	핵산 정성 분석	00	ZZZ
3	000 ultra sonicators		XXX	핵산 단편화	FF	VVV
4	JJJ Real-Time PCR		HHH	Library 정량 분석	FF	000
5	-----	-----	-----	-----	----	-----

3) 성능평가 절차

3-1) 개요 : 000 Panel KKK version 1 (예시)

000 Panel KKK Ver 1은 암환자의 종양조직을 이용하여 000종 유전자의 돌연변이와 00

종 유전자의 전위를 표적 심층 염기서열(Targeted deep sequencing) 플랫폼임.

- 환자의 진단, 치료, 예후에 중요한 유전자들을 선별적으로 조합하여 최상의 임상적 의미가 있는 유전자군을 분석하며 정확도가 매우 높은 검사임(전체 조사 유전자 sensitivity >95%)
- 대부분의 병리검체(파라핀 조직, 생검 조직, 세침흡인 조직)에 적용 가능하며, 암유전체의 SNV, CNV, Indel, 염색체 전위를 조사하여 맞춤 항암치료에 최적화된 제품화된 검사 플랫폼임.

3-2) OOO Panel KKK version 1 타깃 유전자 패널 (예시)

OOO Panel KKK v1 (000 exons + 00 introns: 1.2Mb)					
OOO Panel KKK v1	Goal	Genes	Tiling	N baits	Bases Covered
Exon	Somatic mutations	164	5	22,174	467,016
Intron	translocations	36	2	6,730	479,863
SNPs	germline FP	45	2	124	7,560
	Total			51,175	954,439

3-3) OOO Panel KKK version 1의 NGS 검사 실험수행도 (예시)

방법	내용								
시료	기준시료 (H0000, Beas2B, HCC00 세포주 유전체)								
정량 (QC point 1)	<ol style="list-style-type: none"> Q000을 이용한 dsDNA 농도 정량. <ul style="list-style-type: none"> 상세 프로토콜은 별도 첨부되는 SOP 참조 다음 단계 진행 가능여부 확인을 위한 QC point 1 확인 <table border="1"> <tr> <th>QC point 결과</th><th>해석</th></tr> <tr> <td>Pass</td><td>다음 단계 진행</td></tr> <tr> <td>moderate</td><td>검사 의뢰의와 상의 후 최종 결정</td></tr> <tr> <td>Fail</td><td>중단</td></tr> </table> <ul style="list-style-type: none"> 상세 내용은 별도 첨부되는 NGS 검사과정 중 QC points (별첨** 참조) 	QC point 결과	해석	Pass	다음 단계 진행	moderate	검사 의뢰의와 상의 후 최종 결정	Fail	중단
QC point 결과	해석								
Pass	다음 단계 진행								
moderate	검사 의뢰의와 상의 후 최종 결정								
Fail	중단								
핵산 단편화 (Fragmentation) (QC point 2)	<ol style="list-style-type: none"> C000장비를 이용하여, 200~250bp 크기로 단편화 진행 Ampure bead를 이용하여, 해당 크기의 핵산 조각들만 순수분리 (1.6X) Q000을 이용한 dsDNA 농도 정량 다음 단계 진행 가능여부 확인을 위한 QC point 2 확인 <table border="1"> <tr> <th>QC point 결과</th><th>해석</th></tr> <tr> <td>Pass</td><td>다음 단계 진행</td></tr> <tr> <td>moderate</td><td>검사 의뢰자와 상의 후 최종 결정</td></tr> <tr> <td>Fail</td><td>중단</td></tr> </table> <ul style="list-style-type: none"> 상세한 프로토콜은 별도 첨부되는SOP 참조. 	QC point 결과	해석	Pass	다음 단계 진행	moderate	검사 의뢰자와 상의 후 최종 결정	Fail	중단
QC point 결과	해석								
Pass	다음 단계 진행								
moderate	검사 의뢰자와 상의 후 최종 결정								
Fail	중단								
단편화 핵산말단 교정 (End Repair)	<ol style="list-style-type: none"> 단편화된 핵산의 양 말단을, adapter와 결합할 수 있도록 교정 <ul style="list-style-type: none"> 3' 말단: DNA polymerase를 이용하여, sticky end를 blunt end로 교정 5' 말단: Polynucleotide kinase를 이용하여 인산화 기를 추가 상세한 프로토콜은 별도 첨부되는 SOP 참조 								

	2. Ampure bead를 이용하여, 교정된 핵산 조각들만 순수 분리 (1.8X)								
3' 말단에 A tailing	1. 양 말단이 교정된 핵산의 3' 말단에 ""A""염기 추가 ● 상세한 프로토콜은 별도 첨부되는 SOP 참조 2. Ampure bead를 이용하여, 교정된 핵산 조각들만 순수 분리 (1.8X)								
Adapter ligation	1. 각기 60~65mer 정도의 크기로 이루어진 두 종류의 oligonucleotides duplex를 전 단계에서 준비된 단편화/교정화 핵산의 양말단과 접합 반응: 각 Adapter별로 6mer로 이루어진 독특한 index 염기서열이 존재하며, 이 염기서열을 이용하여 barcoding 수행 ● 상세한 프로토콜은 별도 첨부되는 SOP 참조 2. Ampure bead를 이용하여, 교정된 핵산 조각들만 순수 분리 (1X)								
Limited PCR 증폭을 통한, library 제작	Adapter와 결합된 핵산을, adapter 상에 존재하는 염기서열과 상보적인 primer pair (P5, P7)으로 증폭하여 library 제작. ● 상세한 프로토콜은 별도 첨부되는 SOP 참조 1. Ampure bead를 이용하여, 증폭된 Library 산물 순수 분리 (1X) 2. 정량 및 정성분석: Qubit을 이용한 dsDNA 정량 분석과, Bioanalyzer를 이용한 library 크기의 정성 분석을 수행 3. 다음 단계 진행 가능여부 확인을 위한 QC point 3 확인. <table border="1"> <tr> <td>QC point 결과</td><td>해석</td></tr> <tr> <td>Pass</td><td>다음 단계 진행</td></tr> <tr> <td>moderate</td><td>검사 의뢰자와 상의 후 최종 결정</td></tr> <tr> <td>Fail</td><td>중단</td></tr> </table>	QC point 결과	해석	Pass	다음 단계 진행	moderate	검사 의뢰자와 상의 후 최종 결정	Fail	중단
QC point 결과	해석								
Pass	다음 단계 진행								
moderate	검사 의뢰자와 상의 후 최종 결정								
Fail	중단								
교잡반응을 통한 표적 유전자 library 농축 (Target selection using Hybridization)	특정 RNA bait로 구성된 probe와의 교잡반응을 통해, 전체 library pool에서 표적 유전자 부위만을 선별적으로 농축하여, 유전변이의 검출 민감도 향상을 꾀함. 1. 교잡반응(Hybridization): 전 단계에서 제작된 library 600ng을 표적 유전자 특이적 RNA bait와 교잡반응 수행. 이 때, 서로 다른 index 염기서열을 가지도록 생성된 libraries를 섞어서, 단일 교잡반응에 사용하면, library의 complexity를 높임과 동시에 시간/비용 절감 효과를 얻을 수 있음. 2. 포획반응(Capture): RNA bait만을 선택적으로 포획하여, 함께 교잡반응되어 있는 표적 유전자 부위에 대한 library만을 선별적으로 획득함. 3. 증폭(post-capture PCR): 선별적으로 획득된 표적 유전자 library를 adapter에 포함되어 있는 P5/P7 primer pair로 증폭. 이 때, complexity를 유지하기 위하여, 10 cycles 정도로 제한된 증폭 사이클을 수행함. 4. Ampure bead를 이용하여, 증폭된 library 순수 분리 (1.8X) 5. 정성 분석: Bioanalyzer를 이용한 증폭 library 크기의 정성 분석 수행 6. 정량: RQ-PCR 수행을 통한 정량을 통해, adapter가 양 말단에 모두 결합된 형태의, sequencing 가능 library 농도 확인 7. 다음 단계 진행 가능여부 확인을 위한 QC point 4 확인. ● 상세한 프로토콜은 별도 첨부되는 SOP 참조 <table border="1"> <tr> <td>QC point 결과</td><td>해석</td></tr> <tr> <td>Pass</td><td>다음 단계 진행</td></tr> <tr> <td>moderate</td><td>검사 의뢰자와 상의 후 최종 결정</td></tr> <tr> <td>Fail</td><td>중단</td></tr> </table>	QC point 결과	해석	Pass	다음 단계 진행	moderate	검사 의뢰자와 상의 후 최종 결정	Fail	중단
QC point 결과	해석								
Pass	다음 단계 진행								
moderate	검사 의뢰자와 상의 후 최종 결정								
Fail	중단								
M00 장비를 이용한 NGS 염기서열 분석	전 단계에서 준비된 농축 library 산물을, m00 장비에 적용 가능한 sequencing kit v3 (150 cycles)를 이용하여, NGS 염기서열 분석 반응 수행. 이 때, 전 단계에서 확보한 증폭 library의 정성분석 결과를 토대로, 14~18 pM 농도로 flowcell에 library를 분주하여 염기서열 분석을 진행함.								
정보처리 분석을	NGS 분석을 통해 확보한 raw data (T00 또는 B00 파일)를, 00병원에서 최적화								

통한 유전변이 검출 (BI analysis)	<p>한 정보처리 파이프라인으로 분석하여, 시료 별 유전변이 검출.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. F0000 파일 생성: 하나의 strand 별 염기서열 정보와 질 점수 포함 2. Alignment: 각 염기서열을 human reference (hg19)와 mapping 하여, chromosome상의 위치 정보 확인 3. PCR duplication 제거 및 re-alignment: PCR 증폭과정에서 생길 수 있는 오류 가능성과, indel 변이 분석의 오류 가능성을 낮추기 위한 단계 4. Alteration calling: 여러 분석 알고리즘을 이용하여, SNV, indel, structural variation 및 CNV candidates 검출 5. QC metrics 생성: 염기서열 분석 결과의 신뢰성을 확인할 수 있는 몇 가지 질 점수 생성 <ul style="list-style-type: none"> ● 상세한 프로토콜은 별도 첨부되는 SOP 참조
검출 유전변이 해석 (Interpretation)	<p>정보처리 분석을 통해 확인된 유전변이의 의미를 해석하기 위한, 기술적/임상적 리뷰 단계. 이 과정에서 위양성 및 위음성 유전변이가 확인될 수도 있으며, 이 단계를 통과한 유전변이가 임상외에게 전달됨. 이 단계에서 보다 의미 있는 분석을 진행하기 위해서는, 다양한 유전변이에 대한 임상적 의미가 과학적/임상적으로 잘 리뷰 되어 만들어진 knowledgebase database이 필요함.</p>
최종 유전변이 보고	<p>전 단계를 통과하여, 임상적 의의를 가지는 유전정보가 강조된 유전변이 보고서를 작성하고, 이를 병원 내 전산망에 업로드하여, 임상외가 환자치료에 도움이 될 수 있는 유전변이를 확인할 수 있도록 자문함.</p>

3-4) OOO Panel KKK version 1을 이용한 NGS 검사 실험수행 표준도 (예시)

	단계	내용	실험자 시간		장비 소요 시간
OOO_KKK v1 (9 DNA/flowcell)	Day 1	Slide, block searching	1.5	6	
	gDNA prep	FFPE block cutting	1		
		DNA prep	2		16
		Quantification & Normalization	1.5		1
	Day 2	Covaris Fragmentation	1	7.5	2
	Library_Prep	Size selection & Bioanalyzer QC	1.5		2
		End Repair & Adapter ligation	3		5
		Enrichment & Bioanalyzer QC	2		2
	Day 3	RNA bait hybridization	2	5	24
	Target_Capture	off-bead PCR amplification	1		1
		Purification & Bioanalyzer QC	1		1.5

		RQ-PCR Quantification	1		3
	Day 4	Flowcell loading	1	1.5	2
	Sequencing (m00)	clustering & sequencing			24
		washing	0.5		1.5
	Day 5	QC matrix	1	4.5	1
	Data Analysis & Reporting	Data analysis	0.5		10
		Reporting	3		

3-5) OOO Panel KKK version 1을 이용한 데이터 내부분석 평가-파이프라인 (예시)

- (1) OOO Panel KKK 시퀀싱 데이터의 분석 관련 설명 기재
- (2) Human reference genome에 맵핑 관련 설명 기재
- (3) PCR duplicates 제거 관련 설명 기재
- (4) 국소재정렬 관련 설명 기재
- (5) 퀄리티 스코어 재조정 관련 설명 기재
- (6) 변이 확인 관련 설명 기재
- (7) Sequencing data QC 관련 설명 기재 등

3-6) 성능평가 방법 (OOO Panel KKK version 1) (예시)

성능 지표	결 과				
민감도 (sensitivity) 및 특이도 (Specificity)	1. 민감도 : 특정 유전변이가 기존에 양성으로 확인된 시료를 NGS로분석하여, 동일한 양성 결과를 얻을 수 있는 비율	Sanger sequencing, FISH, RQ-PCR, MassArray등의 방법을 이용하여, 기존에 특정 유전자의 유전변이 유무가 확인된 case 105개를 대상으로, 민감도와 특이도를 조사한 결과, 아래 결과를 확보하였음.			
	2. 특이도 : 특정 유전변이가 기존에	Mutation		Translocation	
		기존에	양성	음성/위음성	양성 음성/위음성

	음성으로 확인된 시료를 NGS로 분석하여, 동일한 음성 결과를 얻을 수 있는 비율	확인된 결과	23		70/4		4		2/2		
		NGS 확인 결과	양성	음성	양성	음성	양성	음성	양성	음성	
			21	2	4	70	4	0	2	2	
		민감도	91.3%				100%				
		특이도			100 %				100%		
	3. 최소 검출한계 : Mutation이 검출될 수 있는 최소 mutant allele fraction.	EGFR_L858R, EGFR_T790M, PIK3CA_G118D, TP53_R273H 유전변이를 가지는 H0000 DNA를, 해당 유전변이를 가지지 않는 Beas2B DNA로 순차적으로 희석시켜, H0000 DNA가 얼마나 낮은 농도까지 해당 유전변이가 검출되는지를 확인 예정									
		H0000 DNA	Beas2B DNA	EGFR_L 858R	EGFR_T 790M	PIK3CA_G118D	TP53_R2 73H				
		50%	50%	**	**	**	**				
		10%	90%	**	**	**	**				
		5%	95%	**	**	**	**				
2.5%		97.5%	**	**	**	**					
1%		99%	**	**	**	**					
0%	100%	**	**	**	**						
정확도 (Accuracy)	1. somatic variation : NCI-H0000 세포주에서 추출한 DNA를 분석하여, 해당 DNA에 존재하는 것으로 보고된 변이 중, 검증된 SNV를 정확하게 검출여부: 100% 일치		EGFR	KRAS	BRAF	PIK3CA	TP53				
		검증된 변이	L858R, T790M	none	none	G118D, I391M	R273H				
		Detected	L858R, T790M	none	none	G118D, I391M	R273H				
	2. Translocation : HCC00 세포주에서 추출한 DNA를 분석하여, 해당 DNA에 존재하는 것으로 보고된 ROS1 전위의 검출여부: 검출됨	SLC34A2-ROS1 (chr4:25666627,chr6:117658309)									
		정확도 설정을 위해, 다음의 4개 지표에 대한 기준 이상의 질을 만족하여야 함: 만족함	Mean Target Coverage		% Target Not Covered	% Targets Bases Covered 30X		Quality Score			
		> 100x		< 1%	> 85%		Q30 > 85%				
정밀도 (Precision)	1.반복성 (단일 분석 내 정밀도): : 동일 시료를, 동일 조건에서 반복 실험하여, 90% 이상 일치하는 결과를 얻는지의 여부: 95% 일치	일별/분석건별	검사일	검사자	시료	검출 변이					
			20**/00/00	홍길동	H0000 DNA	두 번의 반복 분석에서 검출된 somatic alteration의 수는, 각각 000와 000개였으며, 이 중 000개가 정확하게 일치함. (95.5%, 97.3%)					
		20**/00/00	홍길동	H0000 DNA							
		단일 분석 내 시료별	20**/00/00	홍길동	15R1**	한번의 분석에 4개의 서로 다른 시료를 이용하여 분석을 진행하였을 경우, 총 00개의 체세포 유전변이가 확인되었으며, 1 site를 제외하고는 모두, 각 시료별 특이 유전변이였음. 이처럼, 서로간의 방해 없이, 각기 다른 유전변이가 확인되었음.					
					15R1**						
					15R1++						
					15R1*#						
	2.재현성 (분석 간 정밀도): : 동일 시료를, 동일	검사 시행자 별	20**/00/00	이**	13A***	동일 시료를 서로 다른 검사자가 독립적으로 분석하여 검출된 단일염기					

	조건에서 다수의 검사자가 반복 실험하여, 90% 이상 일치하는 결과를 얻는지의 여부: 93% 일치		20**/00/00	김**	13A***	변이 (SNV)의 수는, 각각 245였으며, 이 중 228개가 정확하게 일치함. (93.3%, 93.3%)
결과 보고범위 (Reportable range)	1. 000개 유전자의 Exon 영역에 대한 Somatic mutation, 36개 유전자의 intron이 관련된 translocation을 확인하고, 이에 대한 결과를 보고. 2. 해당 유전자의 list와 각 영역별 coverage 비율에 대한 자료 추가 3. 최종 보고 범위는 아래와 같음 - somatic SNV, - somatic indel - somatic CNV - Structural variation - 00곳의 SNP에 대한 Genotype					
참고범위 (기준구간) (Reference range or reference interval : 정상수치)	총 00개의 정상 DNA를 분석한 결과, C*** V000 database에 somatic variation으로 보고된 유전변이는 검출되지 않았음. 일부 검출된 variation은 기존에 germline variation으로 확인된 변이였음.					

3-7) 성능평가 결과 (OOO Panel KKK version 1) (예시)

○ 보고범위 (Reportable range)

- 1) 000종 암발생 관련 유전자의 엑손 부위 표적 심층 염기서열 분석 (targeted deep sequencing)

OOO Panel KKK version 1 (돌연변이 분석)						
ABL1	ABL2	AKT1	AKT2	AKT3	ALK	APC
AR	ARAF	ASCL1	ATM	ATR	AURKA	AURKB
AURKC	BAP1	BCL2	BRAF	BRCA1	BRCA2	BRD2
BRD3	BRD4	CBFB	CCND1	CCND2	외 000개	유전자

- 2) OOO Panel KKK version 1 (000종 유전자 돌연변이 엑손 분석 범위) (예시)

유전자	엑손 분석 범위 (갯수)	분석 정도(Coverage)
ABL1	12	100%
ABL2	14	97.5%
AKT1	14	100%
AKT2	17	100%

	외 000개 유전자	
--	------------	--

3) OOO Panel KKK version 1 (00종 유전자 전위 분석 범위) (예시)

OOO Panel KKK version 1 (유전자 전위 분석)						
ABL1	AKT3	ALK	BCL2	BCL6	BRAF	CIITA
EGFR	ERG	ETV1	EWSR1	FGFR1	FGFR2	외 00개 유전자

4) OOO Panel KKK version 1 (00종 유전자 전위 인트론 분석 범위) (예시)

유전자	인트론 분석 범위(갯수)	분석 정도(Coverage)
ABL1	2	80.3%
AKT3	2	92.5%
ALK	3	98.4%
BCL2	1	100%
BCL6	3	100%
BRAF	7	90.4%
	외 00개 유전자	

5) OOO Panel KKK version 1 (보고 가능한 유전자 변이 종류) (예시)

- Somatic single nucleotide variations
- Somatic insertions and deletions
- Somatic copy number variations

○ Bioinformatics 분석과정에 대한 레포트 (예시)

- Sequencing data QC를 위해 해당 모듈의 결과를 이용하여 최종 QC 매트릭스를 생성하고, QC의 주요평가 지표를 설정(예시 : Numbers of total reads, %PF reads, %selected bases, Mean target depth, %target not covered, %targets bases covered 30X, %duplication 등)하여 Bioinformatics 분석과정에 대한 QC 레포트를 작성



1 제조·수입허가 신청서

- 명칭(제품명, 품목명, 모델명)
- 분류번호(등급)
- 모양 및 구조
- 원재료
- 제조방법
- 사용목적
- 사용방법
- 사용 시 주의사항
- 포장단위
- 저장방법 및 사용기간
- 시험규격
- 제조원(수입 또는 제조공정 전부 위탁의 경우)
- 허가조건
- 비교

2 기술문서에 관한 자료

- 개발경위, 측정원리·방법 및 국내·외 사용현황에 관한 자료
- 원재료 및 제조방법에 관한 자료
- 사용목적에 관한 자료
- 저장방법과 사용기한(유효기한)에 관한 자료
- 성능시험에 관한 자료
- 체외진단용 의료기기의 취급자 안전에 관한 자료
- 이미 허가·인증받은 제품과 비교한 자료(별지제3호서식 및 별지제5호서식)

3 허가신청서 및 신고서 항목의 기재 요령

1. 명칭 (제품명, 품목명, 모델명)

○ NGS 관련 허가심사 신청제품의 구성은 아래와 같이 가)부터 마)까지 중 어느 하나의 구성 형태로 신청될 수 있으며, 신청하는 제품별로 아래의 작성요령에 따라 기재한다.

가) 차세대염기서열분석기기(NGS platform)만 구성 (NGS platform에 사용되는 유니버설 키트 포함)

나) 차세대염기서열분석기기(NGS platform) 및 NGS 체외진단용 시약으로 구성(분석용 소프트웨어는 NGS platform에 내장)

다) NGS 체외진단용 시약만으로 구성

- NGS 체외진단용 시약만 허가심사 신청 시에는 해당 시약은 특정질병에 대한 진단 혹은 선별검사에 사용하기 위해 NGS용으로 개발된 체외진단용 시약으로서 NGS platform에 대한 성능을 포함하여 함께 제시할 수 있어야 한다.

라) NGS를 이용한 개별 독립형 분석용 소프트웨어(NGS platform과 NGS 체외진단용 시약의 성능 포함)만 구성

- NGS platform으로부터 분석한 염기서열 또는 유전체 정보에 대하여 소프트웨어의 알고리즘 통해 분석결과를 해석하거나 재조합하는 등의 방식으로 질병과의 연관성, 진단 등에 활용할 수 있는 성능이어야 하며, 단순히 수식 또는 산출방법 등을 통해 분석한 결과(유전자 변이 확인, 염기서열 전위 확인 등)만을 제시하는 독립 형태의 소프트웨어는 본 가이드라인에서 제시하는 독립형 분석용 소프트웨어에 해당하지 않는다.

마) 상기의 가)에서 라)까지를 모두 포함한 세트 형태(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어)의 제품으로 구성

<작성요령>

제품명은 해당 의료기기의 브랜드명을 의미하며, 품목명은 「의료기기 품목 및 품목별 등급에 관한 규정」의 소분류명을 의미한다. 모델명은 심사대상의 모델명을 기재한다.

제조(수입)업소명·제품명, 품목명, 모델명을 각각 기재한다. 다만, 품목류 허가·신고 시에는 신청한 대표 제품의 모델명에 덧붙여 “등 동일제품군”이라는 문구를 기재한다.

가. 제품명을 기재하는 경우, “제조(수입)업소명·제품명”, “품목명”, “모델명”을 각각 기재한다. 이때, 제조(수입)업소명은 생략할 수 있고 제품명은 두 개 이상 인정한다.

나. 제품명을 기재하지 아니하는 경우, “제조(수입)업소명·품목명”, “모델명”을 각각 기재한다.

제품명은 이미 허가(신고)를 받거나 받았었던 의료기기의 제품명과 동일하여서는 아니 된다. 다만, 다음의 어느 하나에 해당하는 경우에는 그러하지 아니하다.

- (1) 허가(신고)가 취소된 의료기기와 사용목적, 작용원리 및 원재료 등이 동일한 의료기기로서 취소된 날부터 1년이 지난 경우
- (2) 동일한 제조(수입)업자가 허가(신고) 취하 후 동일한 제품을 허가(신고)하는 경우
- (3) 서로 다른 수입업자가 제조원이 같은 동일한 제품을 수입하는 경우에 수입업소명을 병기하여 구분하는 경우

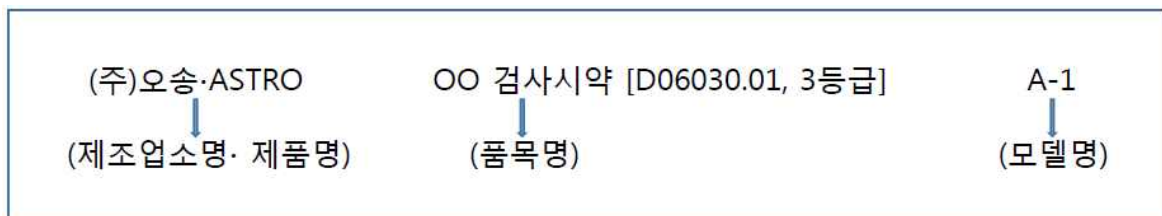
※ 조합의료기기 및 한벌구성의료기기의 경우, 주된 사용목적 및 상위등급에 따라 각각의 의료기기별로 제1항부터 제3항까지의 규정에 따라 기재한다.

※ 다만 허가를 받거나 신고한 그 제품과 유사한 사용목적에 해당하는 품목의 경우, 허가 받은 제품의 상품명에 문자, 단어 또는 숫자 등을 덧붙이거나 교체한 상품명(예: △△-에이 디 에스 등, △△-2)을 기재할 수 있다.

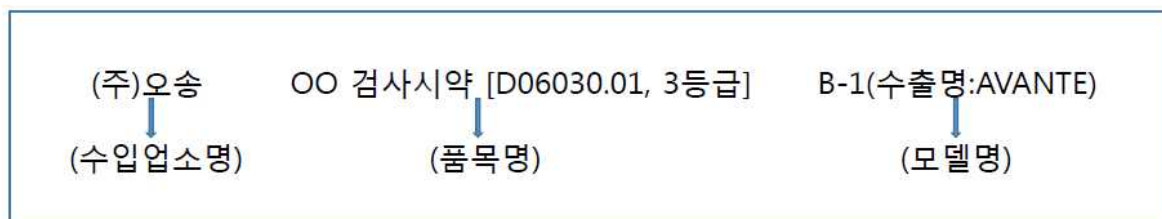
※ 동일한 제품에 대하여 두 개 이상의 다른 제품명을 부여할 수 있다.(모델명에는 적용되지 않는다.)

※ 수출명을 따로 기재할 필요가 있는 경우, 수출명: ○○○○”의 형식으로 괄호 안에 병기한다.

※ 예시:



※ 제품명 기재시, 제조 및 수입업소명은 생략 가능



2. 분류번호 (등급)

- (1) 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용하는 분석기기는 「의료기기 허가·신고·심사 등에 관한 규정(제2015-114호, ‘15.12.30)」 별표 1에서 정한 '품목류 인증·신고 대상 의료기기'에 해당하며 제품의 품목분류번호와 등급은 아래와 같다.

- 차세대염기서열분석(NGS) 체외진단용 의료기기의 품목명 및 품목 정의

품목 분류번호	품목명	영문명	등급	품목정의
A22500	유전자 분석 기구	-	-	-
A22530.01	유전자서열검사기	Gene analyser, sequencing	2	유전자(DNA 또는 RNA)의 특정 여러 위치에서 변이 등을 검출하기 위하여 차세대염기서열분석법(NGS, Next-generation sequencing)으로 유전자(DNA)서열 검사에 사용하는 장치

(2) NGS 체외진단용 시약은 「의료기기 품목 및 품목별 등급에 관한 규정」의 소분류명에 따르며 신청 제품의 품목분류번호와 등급 예시는 아래와 같다.

- NGS 체외진단용 시약 중 종양(BRCA1, BRCA2) 유전자 관련 체외진단용 의료기기의 품목명 및 품목 정의

품목 분류번호	품목명	영문명	등급	품목정의
D06000	분자유전 검사용 시약	IVD reagents for Molecular Genetics	-	-
D06020.01	종양관련유전자 검사용시약	IVD reagents for cancer related gene	3	Kits for BRAF gene mutation, PMP22 sequencing, BRCA1,2 , hMLH1,2 gene, RET gene, N-myc, p53, AML1/ETO, BCR/ABL, CBF β, MYH11, PML · RARA, TEL · AML1, MLL, FLT3-TKD · ITD, JAK2 gene, NPM1, K-ras, EGFR, PIK3CA 등 종양 관련 유전자 검사 시 사용되는 시약

(3) NGS를 이용한 개별 독립형 분석용 소프트웨어는 「의료기기 품목 및 품목별 등급에 관한 규정」의 해당 NGS 체외진단용 시약을 분석하기 위한 중분류명에 따르며 신청 제품의 품목분류번호와 등급 예시는 아래와 같다.

- NGS 체외진단용 시약 중 종양(BRCA1, BRCA2) 유전자 관련 중분류 품목명 및 품목 정의

품목 분류번호	품목명	영문명	등급	품목정의
D06000	분자유전 검사용 시약	IVD reagents for Molecular Genetics	2	-

3. 모양 및 구조 (작용원리 및 외형)

- ‘모양 및 구조’의 ‘작용원리’ 및 ‘외형’은 NGS 관련 허가심사 신청제품이 아래와 같이 가)부터 마)까지 중 어느 하나에 해당하는 경우 신청하는 제품에 따라 공통적으로 작성해야 하는 항목이며 작성은 아래의 작성요령에 따라 기재한다.

가) 차세대염기서열분석기기(NGS platform)만 구성 (NGS platform에 사용되는 유니버셜 키트 포함)

나) 차세대염기서열분석기기(NGS platform) 및 NGS 체외진단용 시약으로 구성(분석용 소프트웨어는 NGS platform에 내장)

다) NGS 체외진단용 시약만으로 구성

- NGS 체외진단용 시약만 허가심사 신청 시에는 해당 시약은 특정질병에 대한 진단 혹은 선별검사에 사용하기 위해 NGS용으로 개발된 체외진단용 시약으로서 NGS platform에 대한 성능을 포함하여 함께 제시할 수 있어야 한다.

라) NGS를 이용한 개별 독립형 분석용 소프트웨어(NGS platform과 NGS 체외진단용 시약의 성능 포함)만 구성

- NGS platform으로부터 분석한 염기서열 또는 유전체 정보에 대하여 소프트웨어의 알고리즘 통해 분석결과를 해석하거나 재조합하는 등의 방식으로 질병과의 연관성, 진단 등에 활용할 수 있는 성능이어야 하며, 단순히 수식 또는 산출방법 등을 통해 분석한 결과(유전자 변이 확인, 염기서열 전위 확인 등)만을 제시하는 독립 형태의 소프트웨어는 본 가이드라인에서 제시하는 독립형 분석용 소프트웨어에 해당하지 않는다.

마) 상기의 가)에서 라)까지를 모두 포함한 세트 형태(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어)의 제품으로 구성

<작성요령>

제품의 성상 등 제품의 외형 및 주요 작용원리를 기재하는 양식에 대해 설명하고 있으며, “작용원리, 외형”으로 나누어 기재한다.

가. 모양 및 구조 - 작용원리

차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 해당 체외진단용 의료기기에 적용되는 작용원리를 기재한다. 반드시 측정항목에 대한 임상적 배경을 포함한다.

- 1) 임상의의 : 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 해당 체외진단용 의료기기의 측정항목에 대한 진단적 임상 배경 등을 기재한다.

2) 작용원리 : 차세대염기서열분석법을 이용한 해당 체외진단용 의료기기의 작용원리를 기재한다.

※ 예시 : 본 제품의 측정은 아래와 같은 네 가지 주요 과정으로 이루어진다.

- ① DNA/RNA 추출 과정
- ② Library 제작 과정
- ③ 칩을 이용한 염기서열 분석 과정
- ④ 분석 소프트웨어(알고리즘)로 결과를 판정하는 과정

나. 모양 및 구조 - 외형

1) 구성 : 만일 차세대염기서열분석법을 이용한 체외진단용 의료기기와 별도의 구성품을 포함하고자 할 경우, 별도판매 구성품에 대하여 추가로 외관사진 및 구성표를 제시한다.

번호	명칭	세부구성	외관상 특징
1		단일구성	
2		단일구성	
3		단일구성	

2) 외관설명 : 고형의 구성제품에 대해서는 모양·구조·중량 등을, 액상 또는 분말의 시약에 대해서는 색, 성상, 액성, 냄새 등을 기재한다.

3) 외형사진 : 제품을 육안으로 식별할 수 있도록 제품의 전체 및 구성하는 체외진단용 의료기기를 확인할 수 있는 컬러사진을 첨부한다.

※ 신청제품이 분석기기(NGS platform)를 포함하여 구성된 경우는 분석기기(NGS platform)에 대한 전기·기계적 원리에 해당하는 아래의 각 내용을 기재한다.

- 모양·구조·중량·치수 및 각 부분의 기능
- 작동원리
- 전기적 정격
- 정격에 대한 보호형식 및 보호정도
- 안전장치
- 작동계통도
- 전기·기계적 안전성을 검증할 수 있는 절연부의 전기회로도(전원부, 장착부 등을 포함) 또는 전기절연도(Isolation Diagram)
- 내장 소프트웨어의 구조 또는 알고리즘 및 주요기능(진단·측정·분석 등에 사용되지 않는 내장 소프트웨어는 제외)

4. 원재료

가. 원재료는 다음 양식의 표를 사용하여 기재한다.

(1) 분석기기(NGS platform)만 구성된 경우 또는 독립형 분석용 소프트웨어인 경우(원재료 표 양식)

가. 부분품의 명칭란에는 해당 부분품의 일반명칭을 기재한다.

나. 부분품관리번호란에는 해당 부분품에 대해 모델명 또는 제조회사에서 관리하는 번호 등을 기재한다.

다. 규격 또는 특성란에는 해당 부분품에 대한 규격이 있는 경우에는 해당 규격(KS, IEC, ISO 등)을 기재하고, 규격이 없는 경우에는 부분품의 기술적 사양(specification)을 기재한다.

라. 수량란에는 각각의 부분품의 개수를 기재한다.

마. 인체에 접촉·삽입되거나 인체에 주입하는 혈액·체액 또는 약물 등에 접촉하거나, 의약품이 첨가되는 의료기기의 경우에는 제1호의 각목의 규정에 따라 기재한다.

바. 의료기기에 소프트웨어가 내장되거나 단독으로 사용될 경우에는 가목에 따라 소프트웨어의 모델명 또는 명칭, 버전, 운영환경 등을 기재한다.

예시 1) 내장형 소프트웨어 (예: 유방암 예후 위험도 측정)

일련번호	부분품의 명칭	부분품 관리번호	규격 또는 특성	수량	비고
1	유방암 예후 위험도 측정 내장형 소프트웨어	MFDS-IVDMIA-01	명칭 : MFDS-IVDMIA-01 버전 : 2.0	1EA	

예시 2) 독립형 분석용 소프트웨어 (예: 유방암 예후 위험도 측정)

일련번호	부분품의 명칭	부분품 관리번호	규격 또는 특성	수량	비고
1	유방암 예후 위험도 측정 독립형 소프트웨어	MFDS-IVDMIA-02	명칭 : MFDS-IVDMIA-02 버전 : 2.0 운영환경 - OS: Windows 7 64bit - CPU: Core2 Duo 30G 이상 - RAM: 4Gbyte - Network : 10/100Mbps	1EA	

(2) NGS 체외진단용 시약으로만 구성된 경우 (원재료 표 양식)

일련번호	명칭	배합목적	원재료명 또는 성분명	분량	규격	비고

※ 별도판매구성품이 있을 경우에는 원재료를 함께 기재한다.

1) 명칭

보조시약을 포함하여 해당 구성시약별로 일반명칭을 기재한다. 두 세트 이상이 함께 사용되어 하나의 사용목적에 달성하는 경우에는 세트별로 구분하여 기재한다.

2) 배합목적

차세대염기서열분석법을 이용한 체외진단용 의료기기의 특성에 맞게 각 성분의 배합목적에 기재한다.

※ 예시 : 주성분, 반응보조제, 보존제, 반응안정제, 반응정지제 등

3) 원재료명 및 성분명

각 구성 시약의 원재료명 또는 성분명을 기재한다.

4) 분량

분량란에는 각 성분의 분량(역가, 소요량 등) 및 단위(mL, mg, v/v, w/v, w/w 등)를 기재하고 범위를 설정할 수 있다. 주성분 (중합효소, 역전사효소, 프라이머 및 프로브 등)의 분량은 농도와 편차로 표시하되, 주성분 이외의 성분의 경우 “적량”으로 표시 가능하다. 특히, 중합효소의 경우, 활성도(U/uL 등)를 기재하고 단위의 정의도 제시한다.

5) 규격

규격란에는 원재료에 대한 규격이 있는 경우 당해 규격(KP, USP 등)을 기재하고, 규격이 없는 경우 자사규격 등을 기재한다.

※ PCR 프리믹스, 프라이머, 프로브, 어댑터 등은 원재료 표 하단에 “자사규격”의 상세 사항을 작성한다.

6) 비고

비고란에는 각 구성시약의 총량 및 수량 등을 기재한다.

(3) 모두 포함한 세트 형태(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어)의 제품으로 구성된 경우에는 상기의 (1) 및 (2)에 대한 원재료 표 양식을 모두 작성한다.

5. 제조방법

- ‘제조방법’은 NGS 관련 허가심사 신청제품별로 상관없이 신청하는 제품에 따라 공통적으로 작성해야 하는 항목이며 작성은 아래의 작성요령에 따라 기재한다.

<작성요령>

수입의 경우 ‘제조원의 제조방법에 따른다.’라고 기재하고, 제조의 경우 ‘자사의 제조방법에 따른다’라고 기재한다. 다만, 다음 각 호에 해당하는 경우에는 해당사항을 부가하여 기재한다.

- 가. 멸균의료기기의 제조방법의 경우 멸균방법은 식약처장이 인정하는 멸균의료기기의 멸균 방법(의료기기 허가·신고·심사 등에 관한 규정 또는 이와 동등이상 규격)을 참고하여 해당 규격을 기재한다.

※ 예시 : 무균처리(ISO13408-1, ISO13408-2에 따른다.)

멸균의료기기의 멸균방법(제10조제1호 관련)

- 나. 최종제품이 동물유래성분을 함유하거나 제조과정 중 동물유래성분을 사용하는 경우 동물의 명칭, 원산국, 연령, 사용부위, 처리공정, 성분명 등을 기재한다.

※ 예시 : 동물유래 원재료 처리공정에 대한 근거자료 제출 필요

6. 사용목적

- (1) 분석기기(NGS platform)만 구성된 경우 또는 독립형 분석용 소프트웨어인 경우

- 가. 사용목적은 성능을 포함하여 근거자료에 따라 적응증, 효능·효과 또는 사용목적을 기재 하며, 해당 제품이 표방하는 제품의 물리·화학, 전기·기계적 특성을 성능에 기재한다.

- 나. 분석기기(NGS platform)에 내장된 소프트웨어 또는 NGS를 이용한 독립형 분석용 소프트웨어 및 해당 소프트웨어의 분석 파이프라인은 demultiplexing, deduplication, calibration, mapping, variant calling, filtering, annotating 과정으로 이루어지며 내장 소프트웨어가 구 동됨에 따른 데이터 생산 과정에서 FASTQ 파일, BAM 파일, variant call(vcf) 파일 등이 생산 될 수 있어야 하며, 해당 소프트웨어가 각 단계에 적합한 분석 기법과 데이터베이스를 사 용하여 파이프라인 구축 및 분석 단계별로 품질 및 성능평가를 위한 적합한 지수를 포함하여 성능을 기재한다.

특히, 독립형 분석용 소프트웨어는 분석적 성능평가를 일반화하여 수립할 수 있는 컴퓨터를 사용하는 접근법을 포함해야 하며, 소프트웨어의 정도관리를 위해 각 주요 단계별로 서열

분석 품질관리, Variant calling에서 서열 위치, Strand-bias, 및 특정 반복서열 영향도 평가, Variant calling 자체 성능 평가, 진단 성능 평가 등 평가를 위한 성능 지수 포함하여 기재한다.

(2) NGS 체외진단용 시약으로만 구성된 경우

가. 사용목적은 해당 제품의 성능을 포함하여 그 제품의 실제 사용 목적을 기재한다. 수입의 경우 제조원의 매뉴얼 등 사용목적에 대한 자료를 근거로 기재한다.

나. 제조의 경우 제조사에서 표방하는 사용 목적을 기재한다.

다. 성능은 해당 제품이 표방하는 제품의 분석적 및 임상적 성능의 첨부 자료를 근거로 기재한다.

라. 사용목적에는 약 이름 및 검사대상, 검체 종류, 검사항목, 측정원리, 정성 또는 정량 등을 구체적으로 기재한다.

1) 검사 대상

2) 검체 종류 : 해당 제품의 적용이 가능한 검체의 종류를 기술한다.

예) Blood (whole blood, buffy coat, lymphocyte, plasma, serum), Tissue (Fresh, Frozen), FFPE (formalin-fixed, paraffin-embedded), Cultured cell, Bone marrow, FNA (Fine-needle aspiration), Buccal scrapes/swabs and mouthwash samples), Other (Semen, Urine, stool, saliva) 등

3) 검사항목

가) 검출하고자 하는 유전자 및 변이에 대해 기재한다.

나) 검출대상이 되는 물질(종양세포의 DNA 등)을 기재한다.

4) 측정원리

가) 측정에 사용된 검사 원리를 명시한다.

※ 예시: 차세대염기서열분석법

5) 검사 목적 및 해당 제품의 특성 등을 명확하게 기재한다.

※ 예시:

검사 목적 : 유전자(DNA 또는 RNA)의 특정 여러 위치에서 변이 등을 검출하기 위하여 차세대염기서열분석법(NGS, Next-generation sequencing)으로

유전자(DNA)서열 검사에 사용하는 장치

특성 : 분석기기는 구성품인 부속장비들 (PCR, 의료용원심분리기 등)을 이용해 샘플 준비

작업을 거친 후, DNA 염기서열 검사반응에서 각각의 뉴클레오타이드 결합 중 발생하는 수소이온을 반도체칩 (semi-conducting chip)을 이용하여 측정해 염기서열을 분석하는 염기서열검사기이다. 본 제품은 사람의 유전자 중 특정 여러 위치에서의 유전자 시퀀스 분석에 사용한다.

6) 임상적 의의: 진단 적용 질환명을 기재하여야 하며, 진단의 필요성을 기재한다.

(3) 모두 포함한 세트 형태(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어)의 제품으로 구성된 경우에는 상기의 (1) 및 (2)별로 사용목적(성능)을 모두 작성한다.

7. 사용방법

(1) 분석기기(NGS platform)만 구성된 경우 또는 독립형 분석용 소프트웨어인 경우

가. ‘사용방법’은 사용 전의 준비사항, 조작방법, 사용 후의 보관 및 관리 방법을 상세히 기재하되, 사용에 불편하지 않도록 알기 쉬운 용어로 기재하여야 한다. 또한, 의료기기에 소프트웨어가 내장되거나 단독으로 사용되는 경우에는 프로그램의 기능들을 확인할 수 있는 화면사진과 함께 그 기능에 대한 사용방법을 정확하게 기재한다.

나. 분석기기(NGS platform) 또는 독립형 분석용 소프트웨어 사용하기 위한 검체준비 및 저장방법, 검사 전 준비사항, 검사과정, 결과판정 및 정도관리 등을 포함하여 신청 제품의 사용방법을 구체적으로 사용 순서에 따라 기술한다.

(2) NGS 체외진단용 시약으로만 구성된 경우

가. NGS 체외진단용 시약의 사용방법 검체준비 및 저장방법, 검사 전 준비사항, 검사과정, 결과판정 및 정도관리, 장비(해당 장비의 제조사, 모델명) 등이 아래와 같이 신청 제품의 사용방법을 구체적으로 사용 순서에 따라 기술한다.

1) 검체준비 및 저장방법

샘플은 반드시 진단검사에 있어 적절한 관리 조건에서 채취, 식별(확인), 기록 및 보관되어야 한다.

○ 진단을 수행하기 전에 반드시 DNA 시료의 양과 품질을 확인해야만 한다.

- 체외진단용 의료기기는 효율적인 유전자 검사를 수행하기 위해 필요한 DNA 시료의 적절한 범위에 대하여 결정해야만 한다.
- 만약 적은 양의 조직이 차세대염기서열분석법(NGS)에 사용된다면, 전문가(병리전문의)를 통한 시료의 검증이 필요하다.
- 시료가 정확한 것인지, 오염되지는 않았는지 모니터링하기 위해서, 시료는 품질 관리 과정을 따라야만 한다.

가) 검체 대상 및 채취 방법 등

나) 사용되는 검체의 종류별 필요 분량

다) 검체 보관조건, 방법 및 사용기한 등

라) 냉동 및 해동된 검체의 사용 가능성 및 제한점

마) 원심분리 조건 등을 포함한 검체 전처리과정 등

※ 유전자검사의 경우, 유전자 추출에 사용되는 시약의 **상품명 및 신고번호** 제시 필요

2) 검사 전 준비사항

시험 전 시약 조제가 필요한 경우 조제 방법 및 조건, 검사에 필요한 기구 및 조건 등을 기재한다.

가) 적용되는 체외진단용 분석기기의 제조사 및 모델명 기재

나) 검사 시약(키트)의 사용조건(온도 또는 습도 등) 기재

다) 필요한 경우, 차세대염기서열분석법을 이용한 체외진단기기의 성능과 판정에 영향을 줄 수 있는 분석기기 및 소프트웨어의 회사명, 모델명 등을 기재

라) 필요한 경우, 보정물질에 대한 설명 및 방법에 대하여 기재

- 3) 제품의 검사과정에서 시험방법이나 구성제품이 구분되어 있는 경우 또는 특정 기기에 국한되지 않는 독립된 제품의 경우(시약, 소프트웨어 등)는 각각의 검사과정을 구분하여 해당되는 검사과정에 대해 상세하게 기재한다. 예) 라이브러리 제작(Library preparation), 바코딩(Barcoding), 표적 증폭(Target Enrichment), 시퀀싱(Sequencing), 미가공 데이터 추출(Base Calling(raw data)), 맵핑(Mapping), 변이정보 추출(Variant Calling), Copy number variation 분석, 변이 주석(Variant annotation), 변이의 필터링(Variant filtering), 기타 질병과 관련된 유전자의 결과값을 추출하거나 추출한 결과값을 이용한 분석과정(독립형 소프트웨어), 데이터 저장 및 보관 및 결과보고(양성 및 음성

결과 기록, 의도하지 않은 발견의 보고(Incidental findings), 소요시간, 방법 등)

※ 아래의 예시는 분석기기(NGS platform)만 구성된 경우 또는 독립형 분석용 소프트웨어인 경우 및 모두 포함한 세트 형태(NGS platform, NGS 제외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어)의 제품으로 구성된 경우에 신청하는 제품에 따라 공통적으로 작성해야 하는 사용방법 기재사항 상세 예시이다.

가) 라이브러리 제작(Library Preparation)

Library 제작은 특정 사이즈 범위의 무작위 DNA 조각을 생성한 뒤 양 끝에 adaptor sequence를 붙이는 과정을 말한다. Adaptor는 NGS 플랫폼과 sequencing primer에 상보적이다. DNA를 조각내는 방법에는 여러 가지가 있으며, 각각 장단점을 가지고 있다. 대부분의 플랫폼에서 library의 PCR 증폭과정은 sequencing 전 필수적인 과정이다.

- library 준비의 다양한 과정 중에 시료를 추적하기 위한 효율적인 시스템을 어떻게 가질 것인지 고려해야 한다.
- DNA fragmentation 과정의 적절성을 확인하기 위한 품질 관리 과정을 확보해야만 한다.
- target enrichment 과정에서 치명적인 allele bias나 allele dropout이 발생하지 않는다는 것을 보여주기 위한 품질 보장 측정을 수행해야만 한다.
- 검사실은 주형 제작에 사용되는 DNA library의 양과 품질을 측정하기 위한 품질 측정 방법을 가지고 있어야만 한다.
- 검사실은 주형 제작에 사용되는 clonal amplification의 적절성을 측정하기 위한 품질 측정 방법을 가지고 있어야만 한다.

나) 바코딩 (Barcoding)

Barcoding은 샘플에 분자 표지를 다는 것을 말하며, 주로 3개나 그 이상의 base로 이루어져있다. 이를 통해 여러 환자의 샘플을 섞어서 sequencing 할 수 있게 되고, 이로 인해 비용의 절감 효과를 얻을 수 있다. 한 번에 섞을 샘플의 수는 원하는 coverage에 따라 결정된다. Barcode는 adaptor의 일부에 포함될 수도 있고, PCR 과정 중에 들어갈 수도 있다.

다) 표적 증폭(Target Enrichment)

Whole genome sequencing을 수행하는 것이 아니라면, sequencing 전에 분석하고자 하는 지역을 선별하는 enrichment 과정이 필요하다. Target enrichment 방식은 크게 PCR을 기반으로 한 방법과, oligonucleotide hybridization을 기반으로 하는 방법으로 나눌 수 있다.

라) 염기서열분석과정, 시퀀싱 (Sequencing)

현재 이용 가능한 플랫폼들은 개별 제품의 분석에 따른 다양한 화학 반응을 동시에 수행하는 구조이다. 이러한 화학 반응들에는 sequencing by synthesis 또는 sequencing by ligation, bead capture, ion sensing 등이 있다. 각 플랫폼은 장비의 크기, 비용, 샘플 당 비용 등 다양한 지표들을 가지고 있다. 데이터를 생산함에 있어서 필요한 정보들, 예를 들어 sequence variants와 copy number changes 등을 정확히 검출하기 위해 경험적으로 필요한 coverage를 확립하여 제시해야 하며, 허위양성과 허위음성 확률을 최대한 정확히 제공해야 한다. 만약 여러 시료의 염기서열이 동시에 분석된다면, 생산된 데이터 결과가 잘못된 시료에 할당되지 않았다는 것을 보여주는 품질 보장 방법을 명시 한다. 환자 시료의 분석 과정 중 제품의 표준 수행 과정에서 벗어난 단계가 있다면 이를 반드시 기록해두어야 한다.

마) 미가공 데이터 추출

○ 데이터 품질 및 depth of coverage : 품질 측정치는 분석 과정의 여러 단계 (예를 들어 base 관련 quality score, the read, alignment, variant call 또는 strand bias)에서 생성된다. 허용 가능한 임계값은 검증 단계에서 결정되어야 한다.

다음 데이터 품질 마커가 감사 추적의 일환으로서 기록되는 것이 권고된다. 본 기술적 사항은 일반적으로 임상 보고서에 요구되지는 않지만 경우에 따라 결과설명을 위해 본 데이터의 일부를 포함하는 것이 유용할 수 있다.

- 분석에 사용되는 데이터에 대한 Phred quality score 값으로 각 위치(position)에 대한 평균 base call quality score. Downstream 분석에서의 read 또는 base 제외에 대한 필터링 또는 cut-off 기준.
- genome wide alignment이 수행되는 경우의 mapping quality scores
- 요구되는 맵핑된 read의 수와 요구되는 최소 coverage에서의 cover된 target percentage
- Alignment algorithm 및 alignment settings (seed length, mismatch tolerance,

mismatch penalties, gap penalties 및 gap extension penalties) 은 기록되어야 한다.

Coverage의 최소 depth는 요구되는 분석의 민감도, 표적/시퀀싱 방법, 검출된 돌연변이의 유형에 의해 결정된다. 최소 read depth는 근거를 기반하여야 하며 시험 검증 과정에서 확립된다. 요구된 read depth를 충족하지 않는 시퀀스 부위는 다른 방법, 예를 들어 생어 시퀀싱 (기존 생어 시험을 대체할 때 특히 중요하다)을 사용하여 시험할 수 있으며, 보고서에 low coverage로 설명되거나 명확한 병원성 변이 (또는 돌연변이)가 이미 확인된 경우 임상보고서에 요구되지 않을 수 있다.

○ Base Calling :단일 sequencing read의 각 위치에 어떠한 nucleotide가 존재하는지 확인하는 단계

(바) 맵핑(Mapping) : 짧은 DNA sequence read를 적절한 참조 염기서열(reference sequence)에 정확히 위치시키는 단계.

(사) 변이 정보 추출(Variant Calling) : 염기서열 변이 정보를 추출할 때나 추출 후에 임의의 선택기준을 정하여 선택기준을 만족하는 염기서열변이 정보만을 추출하는 과정에 대해 기술한다. 사용하는 소프트웨어의 정확한 버전 표시(versioning)는 필수적이며 각각의 소프트웨어의 업그레이드 시에는 재검증이 요구된다. 여러 세팅 옵션이 있으며 이는 시험 검증 단계에서 다시 한번 확정되어야 한다. 소프트웨어 업데이트의 검증은 기존의 데이터 세트를 사용하여 이루어질 수 있으며 추가적인 실험실 작업을 필요로 하지 않을 수 있다. 오픈 소스를 이용한 제품의 경우에는 자체적인 검증이 요구될 수 있다.

(아) Copy number variation analysis : 일부 표적 증폭 방법 (예) hybridization capture)의 경우, 하나의 primer binding site 또는 primer binding site 모두를 span하므로 생어 시퀀싱으로 검출할 수 없는 large deletions 또는 duplication을 검출하는 것이 가능하다. 이는 일반적인 대조물질과 환자샘플간의 비교 depth of coverage 분석을 통해 이루어진다. 하지만 임상 진단 세팅에서 오픈 소스 프로그램은 자체적인 검증이 요구될 수 있다.

(자) 변이 주석(Variation Annotation) : 염기서열 변이 정보를 추출할 때나 추출 후에 임의의 선택기준을 정하여 선택기준을 만족하는 염기서열변이 정보만을 추출하는 과정에 대해 기술한다. Human Genome Variation Society (HGVS) 권고사항에 따라 변이가 설명되는 것이 필수적이다. 참조 염기서열(Reference sequence, 필요한 경우 버전번호 포함)은 보고서에 포함되어야 한다. 다양한 참조 염기서열 데이터세트(reference

sequence dataset) 중 분석에 사용한 참조염기서열 배포 번호(hg build number, GRC number 등) 또한 기록되는 것이 필요하다. HGVS 가이드라인은 관심 유전자에 가능한 경우 LRG (Locus Reference Genomic sequence)을 사용할 것을 권고한다. LRGs는 용어의 표준화를 보장하기 위해 변경 없이 유지할 것을 목표로 한다. LRG가 부재할 경우 coding DNA에 참조 염기서열(reference sequence)을 사용할 수 있다. Coding sequence는 되도록이면 RefSeq 데이터베이스에서 생성되어야 한다. 보고서는 번역 개시 코돈(translation initiation codon) ATG의 A가 base 1임을 명시하여야 한다. 유전자 주석(annotate)을 달기 위한 전사체 버전(transcript version)도 반드시 명시되어야 한다.

(차) 변이의 필터링(Variation Filtering) : 임상적 의의가 없는 다형성을 제거하기 위한 변이 필터링 방법은 유전적 모드(inheritance mode)에 따라 달라진다. 예를 들어 영향을 받지 않은 성인에게서 보고된 heterozygous 변이는 선천성 장애를 가져올 가능성이 낮지만 영향을 받지 않은 성인에게서 발견된 또 다른 heterozygous 변이는 열성 돌연변이일 가능성이 있다. 다형성을 마이너 대립 유전자 빈도에 따라 필터링 하는 것이 적합할 수 있지만 임계값 세팅이 확립되어야 하며 일부 열성 돌연변이는 특정 집단에서 비교적 흔한 편이다. 다수의 변이 데이터베이스 (예) DMuDB, Exome Variants Server, 1000 genomes, dbSNP, HGMD, DECIPHER 및 in-house)가 있으며 이는 집단 (나이, 질병상태, 민족), 변이 유형, 데이터 품질 및 주석 (병원성 상태 포함)에 따라 차이가 있을 수 있다. 이를 효율적으로 사용하는데 있어 데이터베이스의 구조 및 내용의 이해는 필수적이다. 사용하는 변이 데이터베이스는 변이 파일 출력(export)을 통해 확립될 수 있다. (eg .vcf)

(카) 기타 질병과 관련된 유전자의 결과값을 추출하거나 추출한 결과값을 이용한 분석과정 (독립형 소프트웨어) : 자체적으로 개발한 분석 파이프라인 등에 의해 데이터를 분석하여 질병을 진단하거나 치료에 참고가 될 수 있는 정보를 도출하는 과정을 기술한다. 또한, 도출된 결과값의 의미에 대한 임상적 유용성은 입증되어야 한다.

(타) 데이터 저장 : 데이터 저장 방법과 저장 형태를 기술한다.

4) 결과판정

양성, 음성, 경계값(equivocal), 미확정(indeterminate), 무효(invalid) 등의 예측되는 모든 경우의 시험 결과를 판정하는 기준과 해석을 제시한다.

가) 경계값(equivocal), 미확정(indeterminate), 또는 무효(invalid) 결과를 어떻게 처리해야 하는지에 대한 지침을 제시한다.

(1) 그대로 보고 또는 재검사 필요 여부

(2) 재검사는 동일 검체로, 동일 원검체를 다시 처리, 또는 재채취하는 여부

(3) 처음의 결과와 재검 결과를 조합하여 결과를 판독하는 경우의 알고리즘을 제시

나) 환자 검체의 검사결과를 판독하기 전에 확인해야 할, 대조물질 및 보정결과 확인절차에 대해 제시한다.

다) 검사의 검출한계 또는 정량한계 등에 따른 보고가능범위에 대하여 제시하고, 정량검사인 경우, 정량값 판정 등의 기준을 제시한다.

라) 우발적인 유전적 발견(Incidental genetic findings)의 보고 최소범위를 지정하고 보고 기준을 제시한다. 우발적인 유전 변이의 발견은 해당 환자의 임상적 적용에 관련이 있을 수도, 없을 수도 있으며, 일부 환자는 그러한 정보를 받지 않기를 원할 수도 있다. 이러한 변이들은 분명한 임상적 적용이 없고, 혼란을 야기할 수 있으므로 무분별하게 환자에게 제공되어서는 안 된다. 하지만 일부분은 의료적 작용점을 충분히 가진 것으로 간주될 수도 있다. 따라서 제조사는 차세대염기서열분석법(NGS)를 이용하는 체외진단용 의료기기에 대해 이러한 정보들을 바탕으로 의도하지 않은 발견 보고에 대한 명확한 정책을 개발하여 제시해야 한다. 그리고 이러한 우발적인 유전적 발견 보고 시에는 그것이 체계적으로 검색되고 보고되어 제공된 것인지 혹은 의도하지 않게 발견된 것인지, 이 발견이 분석적 정확성을 확인하기 위해 반복적으로 확인된 것인지 또는 추후 검사를 통해 검증해야 하는 것인지, 어떤 종류의 발견인지 명확히 나눌 수 있는 기준 등의 정보를 명시하도록 해야 한다.

마) 임상적 타당성에 대한 충분한 근거 제공이 어려운 희귀변이나 새로운 유전자의 경우, 제출할 데이터와 정보를 생성한 데이터베이스(public DB 등), 문헌 또는 유효한 과학적 근거를 가진 다른 자료를 명확히 제시하여야 하며, 제조사는 제품에서 도출된 결과에서 확정된 임상적 의의를 가지는 몇 개의 개별적인 변이만을 보고할 것인지, 또는 임상적 의의가 확정되었는지 아닌지와 관계없이 해당 변이의 유무 존재만을 보고할 것인지에 대한 기준을 명확히 수립하여 기준에 합당한 자료를 작성하고 제출해야 한다.

5) 정도관리

가) 사용자가 정도관리를 할 수 있는 표준 시료 및 방법을 제시한다.

나) 제공하는 정도관리물질과 그 물질의 목표 값이 있을 경우, 제시된 기준 값에 적합함을 확인하는 과정을 제공한다.

다) 정도관리결과가 적합하지 않을 때 제시할 수 있는 대책을 제시한다.

6) 결과 보고서

모든 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 결과 보고서는 확인된 유전변이 리스트와 임상적 분류, 유전자 이름, Exon numbering과 transcript에 대한 정보 등이 어떤 데이터베이스 또는 국제 기준을 따르고 있는지 명시하여야 한다. 표적염기서열분석(Targeted NGS)을 이용하는 체외진단검사에서 1차적 발견을 보고할 때에는 높은 수준의 분석 결과가 제공되어야 한다. 또한 환자 검사 진단과 관련된 유전 변이들도 정리되어 있어야 하며 발견된 변이를 분류하기 위해 정리된 내용은 기존에 알려진 역할 혹은 질병에서 보고된 내용을 토대로 해야 한다. 또한 어떤 변이가 보고서에서 제외될지 결정하는 명확한 정책을 가지고 있어야 한다. 유전 변이 요소는 유전자 이름, zygosity, cDNA 명칭, 단백질 명칭, exon number, 임상적 주장이 포함되어 있어야 한다.

또한, 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 경우, 입증되지 않은 다양한 정보들이 함께 분석될 수 있고 이것이 환자나 의사에게 유용한 정보가 될 수도 있으므로 결과데이터를 투명한 방법으로 제공하거나 공유할 수 있도록 하는 방안을 제조사에서 수립하여 제시할 수 있다. 예를 들어, 결과보고서에는 임상적 유용성이 입증된 결과만 명시하도록 하고 그 외에 도출된 기초데이터는 의사가 요구할 경우 연구용으로 사용을 제한하여 제공하는 방안이나 또는 임상적 유용성이 입증되어 식품의약품안전처로부터 진단이나 치료에 도움이 될 수 있는 정보 제공용도로 허가를 받은 결과와 허가를 받지 않았으나 제공되는 결과를 구분하여 표시하고 허가를 받지 않은 정보에 대해서는 진단에 사용할 수 없도록 제한하여 보고하는 방안 등을 제시할 수 있다.

8. 사용 시 주의사항

아래의 예시는 분석기기(NGS platform)만 구성된 경우 또는 독립형 분석용 소프트웨어인 경우 및 모두 포함한 세트 형태(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어)의 제품으로 구성된 경우에 신청하는 제품에 따라 공통적으로 작성해야 하는 사용방법 기재사항 상세 예시이며, 신청 제품별로 별도의 특성이나 안전사고 예방에 따른 주의, 경고, 적용상의 문제 등에 따른 사용 시 주의사항이 추가될 수 있다

가. 다음의 사항을 포함하여 기재한다.

- 1) 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용으로 사용해야 함을 명시한다.
- 2) 일반적인 실험실 안전지침 및 생물학적 위험물질(검체, 감염 가능성 물질 및 폐기물 등) 취급 시 안전 등의 주의사항 및 경고사항 등에 대하여 기재한다.
- 3) 체외진단용 의료기기 중 유해물질이 포함될 경우 이에 대한 경고사항을 기재한다.
- 4) 사용한 검체 및 키트의 처리 및 폐기 방법 및 주의사항을 기재한다.
- 5) 경고사항을 포함하여 검체 및 키트 취급 및 보관상의 주의사항(온도, 습도의 영향 등)을 명시한다.
- 6) 임상 적용 대상 및 미적용 대상을 포함하여 적용상의 주의사항 및 결과 판정상 주의사항을 기재한다.
- 7) 검사에 영향을 미치는 내용(간섭 및 교차반응 물질, 위양성 및 위음성도)등을 기재한다.
- 8) 다른 의료기기와 결합하여 사용하는 경우, 적절한 조합에 대한 정보를 제공한다.
- 9) 제품이나 제품의 일부 구성품이 일회용의 경우 재사용하지 않도록 주의사항을 기재한다.

9. 포장단위

○ NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어별로 개별 신청하거나 모두 포함한 세트 형태(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어)의 제품으로 구성된 경우에 신청하는 제품과 상관없이 작성해야 하는 ‘포장단위’ 기재사항 상세 예시이다.

가. 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 포장단위는 신청 제품의 실제 포장단위를 기재하거나 취급상 용이한 최소 단위로 기재하되, 제조의 경우 ‘자사 포장

단위에 따른다', 수입의 경우는 '제조원 포장단위에 따른다'로 기재할 수 있다.

※ 예시: 취급상 용이한 최소 단위로 1 Set, 1 Box, 1대 등과 같이 정하여 기재할 수 있다.

10. 저장방법 및 사용기간(유효기간)

(1) 분석기기(NGS platform)만 구성된 경우 또는 독립형 분석용 소프트웨어인 경우

가. 저장방법은 신청 제품의 특성을 고려하여 안정성이 보장될 수 있도록 구체적인 보관조건(온도 등) 및 유의사항 등을 병기하여야 한다.

나. 사용기간 또는 유효기간은 멸균의료기기 또는 시간이 경과됨에 따라 원재료 등의 물리·화학적 변화로 인한 안전성 또는 성능의 변화가 예측되는 의료기기인 경우 「의료기기의 안정성 시험 기준」(식품의약품안전처 고시)에 따라 저장방법 및 사용기간 또는 유효기간을 설정하여 기재한다.

(2) NGS 체외진단용 시약으로만 구성된 경우

가. NGS 체외진단용 시약의 특성을 고려하여 안정성이 보장될 수 있도록 검증된 자료에 의한 구체적인 보관조건(온도, 습도, 차광, 밀폐 등), 사용기간(유효기간)등을 아래의 표에 따라 명기하여야 한다.

연번	구성시약 (명칭)	개봉여부	보관조건	사용기간 (제조일로부터)	비고

- 1) 키트 또는 세트의 제품인 경우, 구성품별로 보관조건을 기재하고, 사용기간(유효기간)이 서로 다른 경우 가장 짧은 기한으로 기재하며, 비고는 완제품, 기기장착후, 일회용 제품 등을 기재한다.
- 2) 일회용 체외진단용 의료기기가 아닐 경우, 개봉 후 시약의 저장방법(온도, 습도, 차광, 밀폐, 보관용기 등) 및 사용기한(유효기한) 등이 포함되도록 한다.
- 3) 시약의 조제가 필요할 경우 조제 후 보관조건 및 사용기간(유효기간)을 기재한다.
- 4) 전자민원 접수 시 '저장방법' 항 및 '사용기간' 항은 아래 표와 같이 저장방법과 사용기간(유효기간)을 기재한다.

① 저장방법은 의료기기의 특성을 고려하여 안정성이 보장될 수 있도록 구체적인 보관조건 (온도 등) 및 유의사항 등을 병기하여야 한다.

② 사용기간(유효기간)은 다음 각 호의 어느 하나에 해당하는 경우에는 식약처장이 고시한 「의료기기의 안정성시험 기준」(식품의약품안전처 고시)에 따라 저장방법 및 사용기간 (유효기간) 설정하여 기재한다.

가) 멸균의료기기

나) 체외진단용 의료기기

다) 시간이 경과됨에 따라 원재료 등의 물리화학적 변화로 인한 안전성 또는 성능의 변화가 예측되는 의료기기

③ 차세대염기서열분석법을 이용한 체외진단용 의료기기 중 키트 또는 세트 제품인 경우에는 구성품별 보관온도 등을 각각 기재하고 사용기한(유효기한)이 각각 다른 경우에는 가장 짧은 제품의 기한을 기재한다.

④ 차세대염기서열분석법을 이용한 체외진단용 의료기기 중 일회용 체외진단용 의료기기는 개봉 후 시약의 저장방법 및 사용기간(유효기간) 등이 포함되도록 기재한다. 다만, 일회용 으로서 날개 포장 되어있는 제품은 제외한다.

(3) 상기의 개별 제품을 모두 포함한 세트 형태(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어)의 제품으로 구성된 경우에는 상기의 (1) 및 (2)별로 저장방법 및 사용기간을 모두 작성한다.

11. 시험규격

(1) 분석기기(NGS platform)만 구성된 경우 또는 독립형 분석용 소프트웨어인 경우

시험규격은 해당 완제품의 품질관리(안전성 및 성능을 검증)에 적정을 기할 수 있도록 설정하는 시험항목, 시험기준 및 시험방법을 아래의 표에 따라 기재한다.

가. 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 품질관리에 적정을 기할 수 있도록 제품의 특성에 따라 성능 등을 고려하여, 제조단위별·제조단계별로 안전성·성능을 검증하기 위하여 적용할 수 있는 시험규격을 명시한다.

연번	시험항목	시험기준	시험방법

나. 전기를 사용하는 분석기기의 경우, 아래와 같이 의료기기의 안전성에 관한 시험을 설정하고, 확인할 수 있는 자료(시험성적서 포함)를 제출한다.

- 의료기기 전기·기계적 안전에 관한 시험은 ‘의료기기의 전기·기계적 안전에 관한 공통기준 규격에 따른다’ 또는 이와 동등한 국제 규격(IEC, ISO 등)을 기재한다.
- 의료기기 전자파 장애에 관한 시험은 ‘의료기기의 전자파 안전에 관한 공통기준규격에 따른다’ 또는 이와 동등한 국제 규격(IEC, ISO 등)을 기재한다.

(2) NGS 체외진단용 시약으로만 구성된 경우

가. 체외진단용 시약의 경우, 시험규격은 제조사의 품질관리시험 자료에 따라 자사가 설정한 시험항목, 시험기준, 시험방법을 아래의 표에 따라 기재한다.

연번	시험항목	시험기준	시험방법

1) 시험항목

가) 완제품의 최종 품질관리에 따른 성능시험을 포함한다.

나) 분석적 성능시험(민감도, 특이도, 정밀도 등)을 포함하는 것을 권장하고 그 외 자사가 설정한 시험항목을 설정할 수 있다.

2) 시험기준

가) 시험결과와 적부판정의 기준이 되는 기준치의 허용 범위를 명확히 기재하여야 하며 시험결과가 온도·습도 등 주위조건에 영향을 받는 경우에는 그 조건을 명시하여야한다.

3) 시험방법

가) 시험방법은 순서에 따라 시험결과를 정확히 산출할 수 있도록 구체적, 개조식으로 기재한다.

나) 참조표준물질이 사용된 경우, 분석 가능한 변이를 각각 최소 3개 이상 포함하는 참조 표준물질을 사용할 것을 권장하고 해당 참조표준물질명을 기재한다.

(1) 저농도 표준물질인 경우, 정량 및 정성검출한계를 근거로 하여 설정한다.

(2) 표준물질의 농도는 정밀도, 직선성, 최소검출한계를 고려하여 선정한다.

(3) 모두 포함한 세트 형태(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어)의 제품으로 구성된 경우에는 상기의 (1) 및 (2) 시험규격 표에 따라 동일하게 제품별 시험항목, 시험기준, 시험방법을 기재한다.

12. 제조원(수입 또는 제조공정 전부 위탁의 경우)

- ‘제조원’은 NGS 관련 허가심사 신청제품에 따라 공통적으로 작성해야 하는 항목이며 작성은 아래의 작성요령에 따라 기재한다.

<작성요령>

가. 수입제품은 제조원을 기재하여야 한다.

나. 제조제품 중 제조공정을 전부 위탁하는 경우 해당 제조소를 기재한다.

제조의뢰자와 제조자의 상호와 주소를 모두 기재한다. 다만, 제조자가 외국회사일 경우에는 제조국을 추가로 기재한다.

※ 예시

- 국내 A 제조업체가 B 제조업체에게 유전질환검사시약 제조를 전면 위탁 시 제조원은 다음과 같이 기재한다.

상호 (제조사 주소)

- 제조의뢰자 : A (A사 주소)
- 제조자 : B (B사 주소)

- 수입제품의 경우, 미국에 있는 C사가 아일랜드에 있는 D사에 OOO검사시약 제조를 전면 위탁 시 제조원은 다음과 같이 기재한다.

상호 (제조국/제조사 주소)

- 제조의뢰자 : C (미국 C사 주소)
- 제조자 : D (아일랜드 D사 주소)



1 원칙

1. 기술문서 등의 심사를 받고자 하는 자는 시행규칙 별지 제8호 서식에 따라 ‘의료기기 기술문서 등 심사의뢰서’를 작성하여야 한다.
2. 첨부 자료 등을 식품의약품안전처장이 정한 전용프로그램으로 작성된 전자적 기록매체(CD)와 함께 제출한다.
3. 해당 제품의 특성상 첨부 자료의 일부가 불필요한 경우, 그 사유를 구체적으로 기재하여야 한다.
4. 외국의 자료는 주요사항을 발췌한 한글요약문 및 원문을 첨부하여야 하며, 필요한 경우에 한하여 번역물을 요구할 수 있다. 다만, 영어 외의 외국어 자료는 공증된 전체 번역문을 첨부하여야 한다.

2 시험자료의 요건(임상시험 자료 요건은 별도 제시)

1. 인정범위

- 가. 식약처장이 지정한 시험검사기관에서 발급한 시험성적서
- 나. 해당 의료기기에 대하여 경제협력기구(OECD) 회원국에 허가 당시 제출되어 평가된 시험에 관한 자료로서 해당 정부 또는 정부가 허가 업무를 위임한 등록기관이 제출받아 승인하였음을 확인한 자료 또는 이를 공증한 자료
- 다. 「의료기기 제조·수입 및 품질관리기준」 또는 이와 동등 이상의 규격에 따른 제조사의 품질관리시스템 하에서 실시된 시험자료
- 라. 대학 또는 연구기관 등 국내·외의 전문기관에서 시험한 것으로서 해당 전문기관의 장이 발급하고 그 내용(전문기관의 시험시설 개요, 주요설비, 연구인력 구성, 시험자의 연구경력 등을 포함한다)을 검토하여 타당하다고 인정할 수 있는 시험자료

2. 기재내용

가. 업체명 및 주소

나. 시험성적서 일련번호 및 각 페이지와 전체 페이지번호

다. 시험검사품의 모델명, 상품명(해당 경우에 한함)

라. 시험일자 및 시험성적서 발급일자

마. 시험 책임자의 서명 또는 직인

바. 시험기준 및 시험방법 단, 규격이 없는 경우 이에 대한 설정 사유

사. 시험 검사품 채취 및 방법에 대한 사항(시험을 위한 별도의 전처리가 필요한 경우에 한함)

아. 시험환경요인(시험결과에 영향을 주는 경우에 한함)

3. 추가 기재내용(대학 또는 연구기관 등 국내외 전문기관에서 시험한 자료의 경우)

가. 시험시설개요

전문기관의 명칭, 주소, 인증현황, 검사기능 분야, 연구 인력구성, 주요설비 목록 등이 기재되어 있어야 함

나. 주요설비

시험검사에 사용된 장비명칭, 장비사양, 검·교정 기록서 등에 대한 사항이 기재되고 관련 증빙자료를 함께 제출하여야 함

다. 연구 인력구성

시험검사를 실시한 전문기관 담당부서에 속한 연구 인력들에 대한 정보가 기재되어야 함

라. 시험자의 연구경력

시험검사를 실시한 시험자가 해당 검사를 하기에 적합한 전공, 경력 등을 가지고 있는지에 대해 기재하고, 해당 전문기관에서 규정한 요건에 적합한 시험자가 시험하였는지에 대한 자료를 제출

3 개발경위, 측정원리·방법 및 국내외 사용 현황에 관한 자료

1. 개발경위

가. 측정하고자 하는 대상 또는 질병이나 증후군의 설명 및 개발배경이 포함된 논문, 문헌 등의 자료를 제출한다.

나. 유전자돌연변이 검사의 임상적 적용에 대한 설명 자료 및 개발배경이 포함된 논문, 문헌, 기초연구결과 등의 자료를 제출한다.

다. 해당 제품의 적응증에 준하여 연관 질병의 발생빈도, 치료 등을 구분하여 관련된 설명 자료를 첨부한다.

- 라. 어댑터, 프라이머, 프로브, 표적 등을 설정한 방법과 근거를 제시한다.
- 마. 분석 소프트웨어의 알고리즘 설정 근거를 제시한다.

2. 측정원리

- 가. 진단하고자 하는 질병과 관련이 있는 변이 등 검출하고자 하는 정보를 확보하는데 사용한 방법 및 측정원리를 설명하는 자료를 제출한다.
- 나. 제품개발 및 자사제품 성능에 관련된 문헌자료를 제출한다.
- 다. 제품 검사 원리에 대한 기술 및 관련 외국 규정 등의 자료를 제출한다.
- 라. 분석 소프트웨어의 알고리즘 설정방법을 제시한다.

3. 국내·외 사용현황

- 가. 국내·외에서 사용현황에 관해 제출할 자료는 다음의 사항을 포함한다.
 - (1) 외국의 판매 또는 허가현황 및 제조품목허가 경위 등과 관련된 자료
 - (2) 사용 시 보고된 측정오류: 외국에서 시판 중인 제품의 경우, 제품 안전성 및 성능과 관련된 유해사례보고 요약
 - (3) 제조국에서 사용되지 않는 경우는 그 사유

4 원재료 및 제조방법에 관한 자료

1. 원재료의 성분 또는 분량을 확인할 수 있는 근거자료

- 가. 해당 체외진단용 의료기기의 성분과 분량을 확인할 수 있는 자료
- 나. 원료물질의 주반응 시약 중 중합효소(bacteria) 혹은 역전사효소의 기원(AMV, M-MLV등) 및 활성도를 확인 할 수 있는 자료
- 다. 프라이머, 프로브에 대한 자료 (염기서열)
- 라. 원료물질의 품질 확인 근거자료

2. 제조공정의 흐름도를 포함한 제조공정에 관한 자료

- 가. 제조공정의 흐름을 파악할 수 있는 자료를 제출(제조공정상의 제조 단계별 시험 및 완제품 품질관리 시험의 단계를 확인할 수 있는 자료)
- 나. 원료물질의 제조방법을 간략하게 기술하고, 이를 구매한 경우 확인할 수 있는 자료를 제출한다.
- 다. 일부구성제품이 OEM제조품인 경우, 구성품의 제조원(제조자의 상호와 주소)을 확인할 수 있는 자료도 포함한다.

5 사용목적에 관한 자료

1. 분석기기(NGS platform) 및 독립형 분석용 소프트웨어는 해당 제품의 적응증, 사용목적(효능·효과)에 관한 자료를 제출하며, NGS 체외진단용 시약은 허가신청서에 기재한 해당 제품의 사용목적의 세부 사항(검사대상, 검체종류, 검사항목, 측정원리 및 정성 또는 정량 등)에 대한 근거자료를 제출한다.
2. 모두 포함한 세트 형태(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어)의 제품은 상기의 1.에 따른 사용목적을 확인할 수 있는 자료를 모두 제출한다.
2. 신청제품의 사용설명서(instructions for user)를 제출한다.

6 저장방법과 사용기간(유효기간)에 관한 자료

1. NGS 체외진단용 시약의 경우 완제품 및 개봉 후 의료기기의 안정성에 관한 자료로서 저장방법, 사용기한 등에 대한 시험 성적서를 제출한다.
2. 구성 제품별로 구분하여 안정성 시험 자료를 제출한다.
3. 시험성적서는 평가계획, 시험간격, 허용기준, 결과 등의 내용을 포함한다.
4. 안정성 시험 시에는 식약처 「의료기기의 안정성 시험 기준」의 내용을 참고한다.
5. 저장 및 사용기간(유효기간)에 대한 시험은 완제품 3 lots, 개봉 후 1 lot 이상의 시험성적서를 제출한다.
6. 일회용으로 날개 포장되어 있는 체외진단용 시약을 제외하고, 개봉 후(on-board, reconstitution, open vial/bottle stability) 안정성 자료를 포함한다.
7. 제품사용방법과 관련하여 해당되는 경우, 개봉후의 유효기한에 관한 자료를 포함한다(on-board, reconstitution, open vial/bottle).
8. 수송 조건(환경 및 운반조건 변화)을 고려한 안정성 자료의 제출을 권장한다.
9. 저장방법 및 사용기간(유효기간)에 대한 시험자료는 시험성적서의 인정범위 내의 자료이어야 한다.

- NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어와 같이 개별 제품의 형태 또는 이들을 모두 포함한 세트형태(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어)의 제품으로 구성된 경우에도 아래의 분석적 성능 및 임상적 성능을 확인할 수 있도록 제출자료의 요건을 모두 포함하여야 한다, 다만, 분석기기(NGS platform)의 경우에는 전기·기계적 안전에 관한 자료 및 전자파 안전에 관한 자료를 추가로 제출하여야 한다.

1. 성능시험에 관한 자료는 다음의 자료를 포함한다.

가. 분석적 성능시험자료(시험성적서)

분석적 성능시험자료에는 다음의 평가항목을 포함한다.

- 1) 분석적 민감도(판정기준치(cut-off value), 최소검출한계, 측정 범위 등)
- 2) 분석적 특이도
- 3) 정밀도(반복, 재현성 등)
- 4) 정확도
- 5) 교차반응

나. 임상적 성능시험자료

차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 성능 및 유효성을 입증하기 위하여 사람에서 유래된 검체를 대상으로 시험한 자료로서 다음의 평가항목을 포함한다.

다만, 민족적 요인의 차이가 있어 외국 임상적 성능 시험을 그대로 적용하기가 어렵다고 판단되는 경우, 식약처장은 국내에 거주하는 한국인으로부터 유래한 검체를 대상으로 한 자료를 추가 제출할 것을 요구 할 수 있다.

- 1) 임상적 민감도
- 2) 임상적 특이도

다. 완제품의 품질관리 시험성적서 또는 품질관리 시험에 관한 자료(3배치 1회 이상 또는 1 배치 3회 이상)

- 1) 시험규격설정에 관한 자료로 시험방법과 기준결과 값 등의 내용을 포함한다.
- 2) 제조사의 CoA 및 시험방법에 관한 자료 등을 포함한다.

라. 분석적 성능시험에 사용된 표준물질에 관한 자료

마. 검체 보관 및 취급상(온도, 습도 등)의 조건 설정 근거 자료

바. 국내·외 허가제품과의 상관성 시험에 대한 시험성적서

2. 분석기기(NGS platform)의 경우에는 전기·기계적 안전에 관한 자료 및 전자파 안전에 관한 자료로 아래의 요건에 해당하는 자료를 제출하여야 한다.

가. 전기를 사용하는 의료기기의 경우에 제출하여야 하며, 전기·기계적 안전에 관한 자료는 다음 중 어느 하나에 해당되는 자료로서 해당 제품과 모델명이 동일하여야 한다. 다만, 개발 시 명칭 등으로 자료상의 모델명과 해당 제품의 모델명이 동일하지 않은 경우에는 이를 입증하는 자료를 제출하여야 한다.

- 1) 식약처장이 지정한 시험·검사기관에서 발급한 시험성적서
- 2) 국제전기기술위원회(IEC)가 운영하는 국제전기기기인증제도(IECEE CB-Scheme)에 따라 국제공인시험기관(NCB : National Certification Body)에서 발급한 시험성적서
- 3) 한국인정기구(KOLAS: Korea Laboratory Accreditation Scheme)(이하 “KOLAS”라 한다)에서 인정한 의료기기 분야의 시험검사기관에서 인정된 규격코드로 적합하게 발급한 시험성적서
- 4) 해당 의료기기에 대하여 경제협력개발기구(OECD) 회원국에 허가 당시 제출되어 평가된 시험성적서로 해당 정부 또는 정부가 허가 업무를 위임한 등록기관이 제출받아 승인하였음을 확인한 자료 또는 이를 공증한 자료

나. 전자파 안전성이 요구되는 의료기기 또는 부분품의 경우 제출하여야 하며, 전자파 안전에 관한 자료는 다음 중 어느 하나에 해당되는 자료로서 해당 제품과 모델명이 동일하여야 한다. 다만, 개발 시 명칭 등으로 자료상의 모델명과 해당 제품의 모델명이 동일하지 않은 경우에는 이를 입증하는 자료를 제출하여야 한다.

- 1) 식약처장이 지정한 시험·검사기관에서 발급한 시험성적서
- 2) 국제전기기술위원회(IEC)가 운영하는 국제전기기기인증제도(IECEE CB-Scheme)에 따라 국제공인시험기관(NCB : National Certification Body)에서 발급한 시험성적서
- 3) KOLAS에서 인정한 의료기기 분야 시험검사기관에서 인정된 규격코드로 적합하게 발급한 시험성적서
- 4) 해당 의료기기에 대하여 경제협력개발기구(OECD) 회원국에 허가 당시 제출되어 평가된 시험성적서로 해당정부 또는 정부가 허가 업무를 위임한 등록기관이 제출받아 승인하였음을 확인한 자료 또는 이를 공증한 자료

8 체외진단용 의료기기의 취급자 안전에 관한 자료

1. NGS 체외진단용 시약의 경우 구성시약 중 인간혈액 유래물질이 포함되었을 경우에는 사람면역결핍 바이러스(HIV), C형간염바이러스(HCV), B형간염바이러스(HBV)가 음성 또는 불활성화하여 감염력이 없음을 입증하는 자료를 제출한다.
2. 유해물질(독성, 가연성 등) 등 취급자 안전 및 적합성을 확인한 자료를 제출한다.

9 이미 허가·인증받은 제품과 비교한 자료

1. 분석기기(NGS platform)만 구성된 경우 또는 독립형 분석용 소프트웨어인 경우 이미 허가·인증받은 제품과 명칭(제품명, 품목명, 모델명), 제조(수입)업소명, 제조원 및 소재지, 허가(인증)번호, 사용목적, 작용원리, 원재료, 성능, 시험규격, 사용방법을 비교한 별제 제3호서식의 비교표

[별지 제3호서식]

<본질적 동등품목 비교표>

번호	비교항목 ¹⁾	기허가 제품	신청제품	동등여부 ²⁾
1	품목명 (분류번호 및 등급)			
2	명칭(모델명)			
3	제조(수입)업소명			
4	제조원 및 소재지			
5	허가번호			
6	사용목적			예 <input type="checkbox"/> 아니오 <input type="checkbox"/>
7	작용원리			예 <input type="checkbox"/> 아니오 <input type="checkbox"/>
8	원재료			예 <input type="checkbox"/> 아니오 <input type="checkbox"/>
9	성능			예 <input type="checkbox"/> 아니오 <input type="checkbox"/>
10	시험규격			예 <input type="checkbox"/> 아니오 <input type="checkbox"/>
11	사용방법			예 <input type="checkbox"/> 아니오 <input type="checkbox"/>
위와 같이 동등함을 확인하였음. 년 월 일 신청자 (서명 또는 인)				

1) 기허가된 의료기기와의 차이가 명확하게 입증도록 필요한 항목을 기재하여야 한다.

2) 각 항목에 대한 정보가 기 허가된 의료기기와 동등한 경우 ‘예’에 체크하고, 동등하지 않을 경우 ‘아니오’란에 체크한다.

2. NGS 제외진단용 시약의 경우, 이미 허가·인증받은 제품과 명칭(제품명, 품목명, 모델명), 제조(수입)업소명, 제조원 및 소재지, 허가(인증)번호, 사용목적, 작용원리, 원재료, 성능을 비교한 별제 제5호서식의 비교표

[별지 제5호서식]

<체외진단용 의료기기의 본질적 동등품목 비교표>

번호	비교항목 ¹⁾	기 허가(인증) 제품	신청제품	동등여부 ²⁾	
1	명칭 (제품명, 품목명, 모델명)				
2	분류번호 및 등급				
3	제조(수입)업소명				
4	제조원 및 소재지				
5	허가(인증)번호				
6	사용목적			예	[]
				아니오	[]
7	작용원리			예	[]
				아니오	[]
8	원재료			예	[]
				아니오	[]
9	성능			예	[]
				아니오	[]
위와 같이 동등함을 확인하였음.					
<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> 년 월 일 신청자 (서명 또는 인) </div>					

1) 기 허가·인증된 의료기기와의 차이가 명확하게 입증토록 필요한 항목을 기재하여야 한다.

2) 각 항목에 대한 정보가 기 허가·인증된 의료기기와 동등한 경우 '예'에 체크하고, 동등하지 않을 경우 '아니오'란에 체크한다.

10 제품표준서(시험규격)

1. 제품표준서는 제조업체/수입업체가 제조/수입하고자 하는 의료기기의 품목별(모델별) 제품의 규격, 제조장비, 제조공정, 품질보증 절차, 표시기재사항 등에 관한 정보를 포함한다. 만약 의료기기 제조공정의 어느 일부분을 위탁하여 제조하는 경우에 이 제품표준서에는 위탁공정 까지 기술한다.
2. 제품표준서에는 작업자가 이 문서를 보고 해당 제품의 생산 및 품질관리 업무를 수행할 수 있도록 가급적 제조공정 및 품질기준 등에 관한 상세한 정보가 있어야 한다.
3. 제품표준서에는 해당 품목에 대한 표준문서로서 제조하기 이전에 작성되어야 하며, 허가 (신고)사항을 반영하여야 한다.
4. 제품표준서에는 제·개정번호와 유효일자를 반드시 기재해야 한다.
5. 제품표준서의 내용에는 가능한 작업자가 알기 쉽게 적절한 흐름도나 모양, 구성내용 등을 기술해야 한다.
6. 각 제품별 특성을 반영하여 아래의 항목을 작성하여야 한다.
 - 가. 개정이력서
 - 나. 제품개요
 - 다. 모양 및 구조
 - 라. 원재료
 - 마. 제조방법 및 공정검사
 - 바. 시설 및 환경
 - 사. 품질관리
 - 아. 사용방법 및 사용 시 주의사항
 - 자. 포장 및 표시기재 사항
 - 차. 첨부 - 제조기록서 양식



1 분석적 성능시험 자료

※ 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어와 같이 개별 제품의 형태 또는 이들을 모두 포함한 세트형태(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어)의 제품)는 분석법 검증 또는 성능평가 시 평가 방법 및 결과의 타당성 제시를 위해 아래와 같이 해당 분석적 성능 및 임상적 성능 시험항목에 대해 만족하는 결과를 도출할 수 있어야 하며, 이에 따른 성능시험 각 항목의 상세사항을 설명하고자 한다.

1. 분석적 민감도

가. 최소검출한계(Limit of detection)

1) 일반사항

가) 참조 표준물질, 국제 표준품을 이용하여 측정할 것을 권장하며 일관되게 검출되는 최소 농도값으로 설정할 수 있다. 일관성 있게 검출이 가능한 핵산 농도 및 전체 검체 중의 종양 돌연변이 비율을 최소검출한계로 설정하는 것이 보편적이다.

나) 표준물질, 국제표준품을 구할 수 없는 항목이나 아형의 경우에는 국내·외 허가된 체외 진단용 의료기기와의 비교 시험성적서 첨부를 권장한다.

다) 정량검사에서 최소정량한계와 최소검출한계가 같다면, 정량범위의 근거자료로 대체할 수 있다.

2) 시험물질

가) 유전형이 실험적으로 검증되어 있는 암세포주(cancer cell line)나 진단 목적에 적합한 특정 질환 세포주, 참조 표준물질 또는 국제 표준품 등을 사용하여 평가할 것을 권장한다.

나) 돌연변이를 가진 DNA 검체의 비율을 최소 5단계 이상 계대 희석한 검체를 검사하여 분석적 민감도를 판정한다.

다) 검체 희석 시에는 DNA의 성상이 안정적으로 유지될 수 있도록 일반적으로 DNA 추출에 사용되는 용액을 이용한다.

3) 시험방법

가) 추정되는 검출한계의 주변 농도 근처 농도 중의 최소 3개의 희석 검체는 검체 당 3회 이상 반복 검사한다.

나) 총 시험 건수 중 95 %에서 양성으로 판정될 수 있는 검체의 농도를 프로빗 분석 (probit analysis)으로 산정하여 최소검출한계를 결정한다. 계산된 값이 실제로 측정되지 않은 농도라면 실제 측정 농도 중 계산값과 가장 가까운 높은 값의 농도로 결정하거나, 계산값에 대해 95 % 검출되는지를 시험을 통해 재확인한다.

4) 결과제시

가) 통계적으로 유효한 검출 한계치와 설정에 사용된 검체의 종류, 검체수, 반복회수, 계산법을 함께 제시한다.

나) 검체 유형별(검체의 종류 및 양), 종류별로 설정된 최소검출한계를 제시한다.

다) 차세대염기서열분석법(NGS)를 이용한 체외진단용 의료기기의 최소검출한계는 ng/ml로 표기하는 것을 권장한다.

나. 측정범위(Measurement range)

1) 일반사항

가) 정성검사는 생략할 수 있다.

다. 판정기준치(cut-off value)

1) 양성결과에 대한 기대 판정기준치를 결정한 근거 자료를 제시한다.

예) 전체 read 중 hetero변이가 포함된 read의 비율 또는 변이의 발현빈도(MAF)에 따른 판정 기준치 수립 등

2) 측정항목, 측정원리, 판독방법 등에 따라 판정기준치의 설정 방법이 달라질 수 있으므로 전문가 그룹의 자문 등을 거칠 것을 권장한다.

3) 판정기준치가 최소검출한계의 산출을 근거로 설정된 경우에는 해당 자료로 대신할 수 있다

4) 판정기준치가 공란 한계의 산출을 근거로 설정된 경우 결과분포 및 설정방법을 명시한다.

5) 검사과정에서 판정기준치를 산정하는 방법을 명시한다.

6) 경계범위(gray zone 또는 equivocal zone)가 있을 경우 이를 설정한 근거를 제시한다.

※ 판정기준치의 설정이 임상적 판정기준치(민감도, 특이도)를 바탕으로 한 경우, 타당한 임상적 근거를 제시한다. (임상적 민감도 참고)

2. 분석적 특이도

가. 일반사항

- 1) 간섭반응을 일으킬 수 있는 물질에 대하여 시험한 뒤, 결과를 제시하고, 이를 주의사항에 반드시 기록하여야 한다.
- 2) 간섭반응은 검체의 유형, 측정항목, 측정원리, 처리시약 등에 따라 다양하므로 해당 검사의 잠재적 간섭 물질 등 시험 결과에 영향을 줄 수 있는 인자에 대해 검토하고, 자료를 제시하여야 한다.
- 3) 간섭 물질은 검체 내부 또는 외부 요인일 수 있다. 간섭 물질의 가능성이 있는 모든 물질의 목록을 제시하고 자료를 제공한다.
- 4) 종양 세포 또는 혈액 등 검체의 상태를 반영하는 지표를 포함하도록 한다.
- 5) 각 분석물질에 대한 각 간섭물질의 영향을 평가하기 위해 다음과 같은 4가지 형태의 세트를 준비한다.

가) 분석물질 약양성 검체 (간섭물질 없음)

나) 분석물질 약양성 검체 + 간섭물질

다) 분석물질 음성 검체 + 간섭물질

라) 분석물질 음성 검체 (간섭물질 없음)

나. 시험물질

- 1) 측정대상이 되는 검체와 동일한 기질의 검체를 이용하거나 임상 검체를 구하기 힘들 경우 임상 검체를 대체할 수 있는 상업적 표준물질을 활용할 수 있다.

다. 시험방법

- 1) 검체의 종류, 간섭물질의 종류, 간섭물질의 농도, 분석물질의 농도, 검체의 제조방법에 대한

실험프로토콜을 제공한다.

- 2) 사용 검체의 종류가 다양하다면 검체의 종류별로 자료를 제출한다.
- 3) 검체에 영향을 줄 수 있는 간섭물질의 목록을 작성하고 각 간섭물질별 자료를 제출한다.
- 4) 간섭물질을 함유한 검체와 간섭물질을 함유하지 않은 검체의 결과를 비교한다.
- 5) 분석물질(해당 항원·항체·표적 유전자 등)이 음성이고, 간섭물질을 포함한 검체도 검사하여 위양성 결과를 보이는지 확인한다.
- 6) 높은 농도의 간섭물질에 영향을 받지 않는 경우는 더 이상의 평가를 시행하지 않아도 되고 영향을 받는 경우는 간섭물질을 희석하여 재검사한다.
- 7) 각 검체별로 3번 반복검사를 시행한다.

라. 결과제시

- 1) 간섭물질을 함유한 검체와 간섭물질을 함유하지 않은 검체의 결과값을 제시한다.
- 2) 경향이 있다면 경향을 기술한다.(예: 높은 농도의 X물질은 분석물질의 결과를 감소시킴)

3. 정밀도(반복성, 재현성, 강건성 등)

가. 일반사항

- 1) 동일 검체를 일정기간 동안 반복 측정한 결과를 분석하여 정밀도 자료를 제시한다.
- 2) 단일 기관에서 실시한 정밀도(반복성)와 다수의 기관에서 실시한 재현성으로 구분하여 평가한다.
- 3) 각 평가 수행기관은 평가를 시행하기 전 검사방법에 익숙해진 후에 평가를 수행하도록 한다.

나. 반복성

1) 실험방법 및 기타 세부사항

- 가) 측정하고자 하는 물질을 포함하는 검체, 표준품에 준하는 물질을 사용할 수 있다.
- 나) 측정범위를 포함하는 두 가지 이상의 농도의 물질을 선택한다.
- 다) 정량검사의 경우 측정범위의 낮은값, 중간값, 높은값을 모두 포함하도록 한다.

라) 정성검사의 경우 음성, 양성, 판정기준치 주변값의 검체를 모두 포함하도록 한다.

2) 결과제시방법

가) 반복 측정된 결과의 일치도를 %로 표기하여 비교한다.

3) 시험물질

가) 측정하고자 하는 물질을 포함하는 임상 검체나, 표준품에 준하는 물질을 사용할 수 있다.

나) 임상 검체를 구할 수 없는 경우에는 측정하고자 하는 물질(유전자)을 포함하지 않는 혈장/혈청에 해당 물질을 일정 농도로 spiking하여 사용한다.

다) 측정범위를 포함하는 두 가지 이상의 농도의 물질을 선택한다.

라) 정량검사의 경우 측정범위의 낮은 값, 중간 값, 높은 값을 모두 포함하도록 한다.

마) 정성검사의 경우 음성, 양성, 판정기준치 주변 값의 검체를 모두 포함하도록 한다.

바) 제품 내에 포함된 정도관리물질을 이용한 평가를 포함하는 것을 권장한다.

4) 시험방법

가) 시행기관은 검사특성에 맞추어 일정기간동안 매일 반복 측정하는 계획을 수립하여 시행한다.

나) 특정 기간 동안 누적 측정횟수로 각 run 당 2회 이상 5 반복 측정 하는 것을 권장한다.

5) 결과제시

가) 시험결과 및 정밀도를 나타내는 다음 지표들을 제시한다.

반복성 혹은 동시재현성, 검사 간 정밀도, 일간 정밀도, 총 정밀도 등

나) 필요에 따라 통계처리 과정에서 로그변환을 할 수 있다.

다. 재현성

1) 시험물질: 반복성 평가와 동일하다.

2) 시험방법

가) 검사 장소(기관) 간, 장비 간, 검사자 간, 로트 간 정밀도 자료를 제시한다.

나) 장소 간 정밀도를 위해 두 군데 이상의 기관(제조사 포함)에서 평가한다.

다) 5일 이상, 매일 2회 이상, 매 검사마다 2회 이상 등과 같이 제품의 특성에 따른 반복 검사의 기준을 수립하고 반복 검사를 실시한다.

라) 각 장소마다 다수의 검사자가 평가에 참여하도록 한다.

마) 여러 추출법이 적용되는 경우 다양한 추출법이 평가에 포함되도록 계획을 수립한다.

3) 결과제시

가) 검사장소 간, 장비 간, 검사자 간, 로트 간 정밀도 자료를 제시한다.

나) 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기 특히, 소프트웨어의 경우 필요에 따라 통계처리 과정에서 로그 변환을 할 수 있다.

라. 강건성(robustness)

분석과정의 강건성은 방법적 변수의 고의적 변동에 대한 안정성을 보여줌으로써 일상적인 사용과정에 대한 신뢰도를 보여주는 지표가 된다.

1) 시험물질: 반복성 평가와 동일하다.

2) 시험방법

가) 시행기관의 특성에 맞게 20개 이상의 검체에 대해 1회 이상 평가한다.

나) 정상 검체에 비해 20 % 이상 높은 검체에 대해 1회 이상 검사를 실시한다.

다) 검사 시 양성과 음성을 교대로 배치하여 검증한다.

라) 원재료 (e.g., $MgCl_2$, primer, probe, dNTP, adaptor, etc) 농도 변동에 대해 1회 이상 검증한다.

마) 여러 추출법이 적용되는 경우 다양한 추출법이 평가에 포함되도록 계획을 수립한다.

3) 결과제시

가) 양성검체 농도, 교차오염 방지, 원재료 농도 변동 등에 대한 자료를 제시한다.

나) 유전자 분석용 시약의 경우 필요에 따라 통계처리 과정에서 로그 변환을 할 수 있다.

4. 정확도

- 가. WHO international reference standard 물질 등 국제 표준품, 상용 패널, 제조사 제조 표준물질 등 특성이 명시되어 있는 물질을 사용하여 평가할 것을 권장하며 최소 2회 반복 측정한다.
- 나. 참고 표준물질의 목표 결과와 실측 결과(정량검사의 경우 결과값과 bias)경우를 제시한다.
- 다. 시약의 표준화(standardization)를 위해 사용된 방법을 기술한다.
- 라. 보정물질(calibrator)의 설정농도, 소급성(traceability)에 대해 기술한다.
- 마. 양성 및 음성대조물질의 제조방법, 설정 농도 및 반복 측정 결과를 기술한다.
- 바. 알려진 변이에 대해서는 참조 표준물질 등을 이용하여 확인이 가능하나 신규 변이 또는 한국인 특이적인 변이 등은 다른 유전체 분석방법(예, Sanger Sequencing 등)으로 검증된 결과를 함께 제출하는 것이 바람직하다.

5. 교차반응

가. 일반사항

다른 관련성 있는 유전자와 측정의 대상이 되는 돌연변이 유전자와 상동성이 높은 유전형에 대한 교차반응에 대한 자료를 제공한다.

나. 시험물질

교차반응을 일으킬 수 있는 유전자를 포함하는 검체를 이용하여 교차반응성을 평가하며, 임상적으로 나타날 수 있는 고농도를 사용할 것을 권장한다.

다. 시험방법

- 1) 준비된 시험물질을 3회 반복 측정한다.
- 2) 위양성률을 계산한다. 위양성을 보이는 검체에 대해 원인을 분석 조사한다.

라. 결과제시

- 1) 교차반응 평가에 사용된 양성물질의 종류, 농도, 측정한 원시 자료를 제시한다.
- 2) 교차반응을 보이는 물질의 종류와 빈도를 제시한다.

2 임상적 성능시험 자료

- 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 성능 및 유효성을 입증하기 위하여 사람에서 유래된 검체를 대상으로 시험한 자료로서 임상적 민감도와 임상적 특이도를 평가한다.
- 판정기준치의 설정이 임상적 판정기준치(민감도, 특이도)를 바탕으로 한 경우, 타당한 임상적 근거를 제시한다. 이 경우, 실험 대상 인구에 대한 자료 (인구통계/ 선택기준/ 배제기준/ 전체 숫자)와 ROC 분석 등과 같은 통계적 방법 등을 제시한다. 가급적 독립적인 두 개 이상의 임상 시험을 근거로 설정될 것을 권장하며, 임상평가를 토대로 판정 기준치가 수정되었다면 수정된 판정 기준치를 이용하여 재평가가 필요하다.
- 질병의 진단이 검사의 주된 목적이 아니어서 임상적 민감도와 임상적 특이도를 평가하기 어려운 경우, 검사의 임상적 유효성을 보여주는 임상적 자료를 제출하도록 한다.
- 민족적 요인의 차이가 있어 외국 임상적 성능 시험을 그대로 적용하기가 어렵다고 판단되는 경우, 국내에서 한국인 유래의 검체를 대상으로 한 자료를 추가 제출해야 한다. 이러한 경우, 한국인 인구집단을 포함하여 수행한 결과이어야 하며 국내 유행률을 고려하여야 한다.
- 임상적 민감도 및 특이도 평가 중 결과가 불일치한 경우, 아래의 방법 등으로 불일치한 검체에 대한 원인을 분석하여야 한다.
 - 가. 추가 검사 수행
 - 나. 다른 방법이나 표지자의 이용
 - 다. 환자의 임상상태나 진단명 검토
 - 라. 추적 검사 수행
- 신선검체, 고정검체, 파라핀포매조직(FFPE)을 사용할 수 있다.
- 임상적 성능시험 자료는 다음 중 어느 하나에 해당하는 자료이어야 한다.
 - 가. 식품의약품안전처장이 지정한 임상시험기관에서 시험한 자료

나. 외국자료로서 그 내용을 검토하여 실시기관의 신뢰성이 인정되고 「의료기기 임상시험 관리기준」에 의하여 실시한 것으로 판단되는 자료.

다. 해당 의료기기에 대하여 경제협력개발기구(OECD) 회원국에 허가 당시 제출되어 평가된 임상 시험에 관한 자료로서 해당 정부 또는 정부가 허가 업무를 위임한 등록기관이 제출받아 승인하였음을 확인한 자료 또는 이를 공증한 자료

라. 과학논문인용색인(Science Citation Index)에 등재된 전문학회지에 게재된 자료

○ 임상적 성능시험 자료 중 식약처장이 지정한 임상시험기관 및 「의료기기 임상시험 관리기준」에 의해 실시되고 실시기관의 신뢰성이 인정되는 외국자료는 다음의 사항을 포함해야 한다.

가. 임상시험방법

- 1) 피험자의 선정기준, 제외기준 및 목표한 피험자의 수
- 2) 사용방법과 그 설정 사유
- 3) 비교시험용 의료기기를 사용하는 경우, 그 선택사유
- 4) 병용사용의 유무
- 5) 관찰항목, 측정항목, 임상검사항목, 측정기준 및 검사방법
- 6) 유효성 평가기준, 평가방법 및 해석방법

나. 임상결과

- 1) 임상시험의 성적(임상례 계획수, 실제 대상수, 완료된 수, 중도 탈락자 수 및 이유 등을 포함)
- 2) 증례기록 요약
- 3) 기타 임상시험성적의 확인에 필요한 자료

다. 임상평가

1. 임상적 민감도

○ 다양한 농도를 포함한 양성 임상 검체와 패널을 이용하여 평가한다.

- 판정기준치의 설정이 임상적 판정기준치(민감도, 특이도)를 바탕으로 한 경우, 타당한 임상적 근거를 제시한다. 이 경우, 실험 대상 인구에 대한 자료(인구통계/ 선택기준/ 배제기준/ 전체 숫자)와 ROC 분석 등과 같은 통계적 방법 등을 제시한다. 이 경우 가급적 독립적인 두 개 이상의 임상 시험을 근거로 설정되어야 하며, 임상평가를 토대로 판정기준치가 수정되었다면 수정된 판정기준치를 이용하여 재평가가 필요하다.
- 임상 검체인 경우, 양성 또는 음성임을 확인한 방법을 기술한 자료를 제출한다. (예, 기허가 진단제품 또는 확진검사방법 등으로 확인하였음을 기술한 자료나 양성임을 확인 가능한 서류 등)
- 임상적 민감도 평가를 위해 시험해야할 일반적인 권장 검사의 목적, 유병률을 고려하여 통계적으로 타당한 근거를 제시한다.

가. 시험물질

- 1) 양성 임상 검체를 이용하여 평가한다.
- 2) 양성 임상 검체인 경우, 이를 확인할 수 있는 자료를 제출한다. (예, 기허가 진단제품 또는 확진검사방법으로 확인된 자료나 양성임을 확인 가능한 서류 등)
- 3) 양성 검체는 각 질환의 다양한 임상단계 및 아형(유전자형, 변이체 등)이 포함되는 것을 권장한다.

※ 권장사항 : 종양의 모든 병기가 포함된 검체를 이용한 평가가 권장됨

나. 시험방법

- 1) 양성으로 규명된 검체를 양성으로 판정한 비율을 산정한다.
- 2) 피험자 선정/제외 기준, 검체 종류와 수, 시험 상 주의사항, 통계분석법 등을 미리 확립한다.
- 3) 평가 전에 결과 해석에 대한 알고리즘 및 불일치한 경우 추가 검사 등의 원인 분석 방법을 미리 확립하고 이를 명시한다.
- 4) 선택한 비교평가 방법을 명시하고, 선택한 사유를 기술한다.

다. 결과제시

- 1) 질환이 있음과 없음(“임상적 참값”)을 규명한 방법, 대상군(환자 선택 기준/배제기준, 환자 수), 질환단계, 아형(유전형, 변이체 등), 검체의 종류 등 검체에 대한 상세한 자료를 제공한다.
- 2) 시험방법, 통계방법 등에 대한 자세한 실험프로토콜을 제공한다.

- 3) 불일치한 검체에 대해 원인을 분석한 자료를 제출하고, 해석을 제시한다.
- 4) 계산된 민감도 및 95% 신뢰구간(측정원리상 95 % 이상 설정이 어려운 제품 등은 제외)을 제시한다.

2. 임상적 특이도

가. 시험물질

- 1) 무작위 헌혈자 또는 임상적으로 분석 대상 돌연변이가 없는 임상 검체를 이용하여 평가한다. 무작위 헌혈자 검체란, 확보할 수 있는 일련의 헌혈자 전체의 검체로, 임의의 기준으로 선택하거나 초회헌혈자를 배제해서는 안 된다는 것을 의미한다.
- 2) 검체는 적용하고자 하는 대상 인구집단을 반영하여야 한다.
- 3) 임상적 특이도 평가를 위해 시험해야할 일반적인 권장 검체 수는 검사의 목적, 유병율을 고려하여 통계적으로 타당한 근거를 제시한다.

나. 시험방법

- 1) 피험자 선정/제외 기준, 검체 종류와 수, 시험 상 주의사항, 통계분석법 등을 미리 확립한다.
- 2) 평가 전에 결과 해석에 대한 알고리즘 및 불일치한 경우 추가 검사 등의 원인 분석 방법을 미리 확립하고 이를 명시한다.
- 3) 선택한 비교평가 방법을 명시하고, 선택한 사유를 기술한다.
- 4) 양성 결과를 보인 경우 임상소견 확인 및 확진 검사를 시행하여 진양성 유무를 확인토록 한다.

다. 결과제시

- 1) 시험방법, 통계방법 등에 대한 자세한 실험 프로토콜을 제공한다.
- 2) 불일치한 검체에 대해 원인을 분석한 자료를 제출하고, 해석을 제시한다.
- 3) 계산된 특이도 및 95%의 신뢰구간(측정원리상 95% 이상 설정이 어려운 제품 등은 제외)을 제시한다.

3. 완제품의 품질관리 시험성적서

○ NGS 체외진단용 시약의 경우에는 완제품 품질관리 시험에 관한 시험성적서를 제출해야 하며, 아래의 사항을 포함한다.

1. 연속적인 3회(3배치 1회 이상 또는 1배치 3회)에 대해 시험규격에 따른 시험 성적서를 제출하여 제품의 균일성을 제시한다.

2. 시험규격 설정에 따른 시험 기준 및 방법에 관한 자료와 품질관리물질(표준물질 등)이 사용된 경우, 이에 관한 자료를 제출 한다(단, 표준물질에 관한 자료와 중복될 경우 이를 생략한다).
3. 시험항목은 품질의 동등성을 입증할 수 있는 항목(민감도, 특이도, 정밀도 등)을 권장한다.

4 분석적 성능시험에 사용된 표준물질에 관한 자료

1. NGS 체외진단용 시약의 경우 국제 표준물질 혹은 타사 표준물질을 구매하여 사용한 경우 아래의 자료를 제출한다.
가. 국제 표준품 또는 기타 사용된 표준물질의 확인서(certificate)
나. 출처 및 근거 자료
2. 자사 표준물질을 제작하여 사용할 경우, 다음의 자료를 제출한다.
가. 표준물질의 농도별 설정 기준을 입증할 수 있는 시험자료 및 결과 해석자료
나. 표준물질 관리방법 및 관리기록서(정도관리 포함)

5 검체보관 및 취급상(온도, 습도 등)의 조건 설정 근거자료

1. NGS 체외진단용 시약의 경우 시험결과를 근거로 하여, 검사에 이용할 수 있는 검체의 취급방법, 보관 조건 및 방법, 사용기한, 주의사항 등에 대하여 기재한다. 이는 원심분리 조건 등을 포함한 검체 전 처리 과정 및 냉동 및 해동된 검체의 사용 가능성 및 제한점 등을 포함한다.
2. 검체 취급 및 보관조건에 대한 시험 결과를 제시한다. 이는 제시된 시간, 온도, 습도 등의 항목에 대해 유효하다고 제시된 구간 중 몇 단계에 대해 동일한 검사 결과를 보임을 입증해야 한다. 이 시험은 제시된 구간의 양측 한계치 이상에서 평가된 결과이어야 하며 조건 변화에 따른 결과의 변화를 제시하고 평가에 사용된 만족기준을 함께 기록한다.
3. 시험에 사용된 방법, 검체 수, 검체 범위, 표준 농도, 계산법, 통계처리법, 허용기준, 결과 등을 요약하여 제시한다.

6 상관성 평가

1. 일반사항

- 가. 국내·외 허가된 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어와 같이 개별 제품의 형태 또는 이들을 모두 포함한 세트형태(NGS platform, NGS 체외진단용 시약, 독립형 분석용 소프트웨어)제품)와의 상관성을 확인할 수 있는 비교시험 성적서를 포함하여야 한다. 다만, 측정원리 및 측정항목이 새로운 경우 동일목적으로 사용되는 제품과 비교할 수 있다.
- 나. 성능시험 과정에서 기허가 제품과 비교검사를 실시하였다면 그 자료를 정리하여 상관성 시험의 결과로 제시할 수 있다.
- 다. 추가적으로 상관성 평가가 필요할 경우 아래의 원칙을 따른다.

2. 시험물질 검체

- 가. 다양한 역가의 표준물질과 통계적으로 해석 가능한 임상 검체수를 포함하여 비교시험을 수행한다.
- 나. 임상 검체는 기 허가된 방법이거나 여타 검증된 방법으로 검사되어 검체의 이력 등이 밝혀진 검체를 사용할 것을 권장한다.
- 다. 임상 검체의 경우 다양한 임상 상을 포함하는 검체를 포함하여 비교하도록 한다.
- 라. 정량검사의 임상 검체는 측정범위 내의 다양한 농도가 포함되도록 하고 최소 40개 이상의 검체를 시험하도록 권장한다.

3. 시험방법

- 가. 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기를 사용목적으로 하는 허가신청 제품은 기 허가된 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기 또는 외국의 허가된 차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기(국내 허가 제품이 없을 시)으로 상관성 비교시험을 실시할 수 있다.
- 나. 가능한 2개 이상의 회사 제품과 비교 시험할 것을 권장한다.
- 다. 비교 제품은 각 제품의 사용방법에 따라서 시험한다.

라. 정량검사의 경우 각 검사를 2회 이상 반복수행을 권장한다.

마. 결과가 불일치하는 경우 다른 검사를 통해 불일치의 원인을 분석하고 이에 대한 자료를 제공하여야 한다. 불일치의 원인을 분석할 때는 가능한 확인방법(기 허가된 체외진단용 의료기기 또는 외국에서 허가받은 동등제품으로 확인)과 비교한다.

※ 같은 진단목적의 차세대염기서열분석용 체외진단용 의료기기에 대해 국내·외 허가받은 제품이 없을 경우, 또는 비교시약만 있을 경우에 한하여 염기서열법등 기존의 유전체 분석 방법과 비교한 자료를 인정할 수도 있다.

4. 결과판독

차세대염기서열분석법(NGS)을 이용한 체외진단용 의료기기의 분석 소프트웨어를 이용하여 돌연변이가 검출되는 유무를 판정하는 기준과 그 결과 자료(raw data)를 제출한다.

5. 결과제시

가. 전체 결과 및 특이 환자 그룹이 있다면 그룹별 결과를 제시한다.

나. 정량검사에 대해서는 기울기, 절편(신뢰구간과 함께), 상관계수 및 의학적 결정치에서의 바이어스(bias)를 제시한다.

다. 정성 또는 반정량검사에 대해서는 양성과 음성 검체에 대한 비교검사와의 % 일치도를 제시(신뢰구간과 함께) 한다.

라. 결과가 불일치하는 경우 불일치의 원인분석에 대한 자료를 제출한다.



1 적용범위

- 본 심사방안은 종양관련유전자검사시약 중 종양(혈액암 포함) 조직 또는 혈액에서 NGS를 이용하여 체세포(somatic cell)와 생식세포계(germline cell line)의 돌연변이를 확인하는 제품에 한하여 적용된다. 본 심사방안에 명시하고 있지 않은 심사 자료의 요건 및 심사 자료의 종류는 「의료기기 허가·신고·심사 등에 관한 규정」 및 관련 민원인 안내서 등을 참고한다.

※ 이 심사 방안은 관련 전문가협의체(1차: '18.11.15 / 2차: '19.5.14)를 통해 마련('19.6.28)

2 심사원칙

- NGS 기반 종양유전자검사시약으로 분석하고자 하는 유전자의 임상적 중요도(특정 종양과의 연관성)에 따라 구분하고, 이에 따른 심사 방안을 마련하였다. 각 제품에 대한 정의는 다음과 같으며, 종양과의 연관성이 낮은 유전자는 아래의 종양유전자검사 또는 동반진단 제품과 동시 신청만 가능하다.

- 종양유전자검사 의료기기

국내·외 전문학술지와 관련 암학회에서 발간한 진료지침 등에서 종양과 연관성이 명확히 입증된 유전자 돌연변이 검사 제출

- 동반진단 의료기기

유전자의 돌연변이를 확인하여 특정 항암제 처방 환자를 선별하는 제품

- ※ 미국은 2018년에 유전자 돌연변이를 진단하는 제품의 허가과 관련하여 3단계 접근방식을 적용한 바 있으나, 1단계에 포함된 종양과의 임상적 연관성이 불명확한 경우를 포함하여 국내에 도입할 경우에는 해당 제품의 사용목적이 불명확하고(적응증을 표방할 수 없어 성능시험 자료의 범위도 불명확해짐), 국내 품목군과 일치하지 않는 현실적인 어려움이 있음.

3 신청서 기재방안

1. 사용목적

가. 종양유전자검사 의료기기

- 유전자 종류 및 hotspot 부위를 모두 기재한다. 유전자를 기재할 때는 유전자명과 transcript ID, 유전자별 hotspot을 기재한다.

나. 동반진단 의료기기

- 환자 선별의 지표가 되는 유전자명과 돌연변이 종류, 처방 의약품의 제품명(성분명)이 모두 포함되도록 기재한다.

다. 종양유전자검사와 동반진단 의료기기에 포함되는 유전자의 돌연변이 모두 확인할 수 있는 제품의 경우, 가와 나에 따라서 각각의 사용목적에 기재한다.

<예 시>

1. 종양유전자검사 의료기기

고형암 환자의 FFPE 검체에서 추출한 DNA에서 170개 유전자의 SNV, insertions, deletion을 NGS로 확인하여 분별진단에 도움을 주는 체외진단 의료기기

별첨 1. 유전자 목록

일련번호	유전자명	Transcript ID
1	APC	NM_000038
<중 략>		
170	PIK3CA	NM_006218

별첨 2. 유전자별 hotspot 목록

일련번호	유전자명	Codon
1	APC	S1234, I1307
<중 략>		
170	PIK3CA	Q5467, R1080

2. 동반진단 의료기기

비소세포성폐암 환자의 FFPE 검체서 추출한 DNA에서 EGFR 유전자 중 exon 19의 돌연변이를 NGS로 정성하고, 표적치료제인 Tarceva(erlotinib) 처방을 위한 환자 선별에 도움을 주는 체외진단 의료기기

- Tarceva(erlotinib) 처방을 위해 exon 19del, L858R 돌연변이 양성 환자를 선별한다.

3. 종양유전자검사 의료기기+동반진단 의료기기 혼합 제품

고형암 환자의 FFPE 검체에서 추출한 DNA에서 170개 유전자의 SNV, insertions, deletion을 NGS로 확인하여 분별진단에 도움을 주는 체외진단 의료기기

- 비소세포성 폐암 환자에서 EGFR 유전자 중 exon 19의 19del, L858R 돌연변이 양성을 정성하여

Tarceva(erlotinib) 처방 환자 선별

별첨 1. 유전자 목록

일련번호	유전자명	Transcript ID
1	APC	NM_000038
<중 략>		
170	PIK3CA	NM_006218

별첨 2. 유전자별 hotspot 목록

일련번호	유전자명	Codon
1	APC	S1234, I1307
<중 략>		
170	PIK3CA	Q5467, R1080

2. 성능

가. 임상적 성능시험에서 확인된 돌연변이와 분석적 성능시험에서만 확인된 돌연변이를 구분하여 기재한다.

나. 분석적 성능시험과 임상적 성능시험에서 돌연변이 확인에 사용한 소프트웨어 및 데이터베이스(버전 정보 포함)를 기재한다.

* 다만, NGS 장비 운용에 사용되는 소프트웨어는 제외

<예 시>

1. 분석적 성능시험

※ 기재된 분석적 성능시험은 NGS_Analysis_Software(version. 1.x)와 Somatic Mutation Database(Version. 3)을 이용하여 NGS 결과를 분석한 것이다.

1) 분석적 민감도

대표유전자인 000, △△△, □□□을 이용하여 mutation frequency를 0000 방법으로 측정한 결과, coverage를 100X로 하였을 때 000 (00%), △△△(00%), □□□(00%)로 확인되었다.

... 이하 생략 ...

2. 임상적 성능시험

※ 기재된 임상적 성능시험은 NGS_Analysis_Software(version. 1.x)와 Somatic Mutation Database(Version. 3)을 이용하여 NGS 결과를 분석한 것이다.

사람의 대장암의 FFPE 검체 1,000개에서 돌연변이를 기존의 NGS 제품과 확인한 결과는 유전자 A(hotspot)에 대한 일치도는 00%, 유전자B(hotspot C)에 대한 일치도는 00%, 유전자D(hotspot E)에 대한 일치도는 00%로 확인되었다.

... 이하 생략 ...

3. 사용 시 주의사항

가. 분석적 성능시험에서만 확인된 유전자에 대한 정보를 명확히 기재한다.

나. 종양과 임상적 연관성이 확실하지 않은 유전자에 대한 정보를 명확히 기재한다.

<예 시>

사용 시 주의사항

1. 체외진단용(전문가 사용)으로만 사용해야 한다.
2. 본 제품에서 돌연변이 결과 중 000, △△△, □□□는 분석적 성능시험에서만 평가되었다.
3. 본 제품에서 제시하는 돌연변이 결과 중 aaaa, bbbbb, ccccc 유전자는 종양과의 임상적 연관성 확실하지 않다. (비소세포성폐암 진단 및 진료 표준 지침에서 명시하고 있지 않음)

... 이하 생략 ...

4 심사방안

1. 분석적 성능시험에 관한 자료

가. 검체는 표준 세포주 또는 임상검체(상용검체 포함)을 사용할 수 있다.

나. 제품에서 평가하는 모든 유전자가 아닌 대표유전자를 선정하여 시험한 자료도 인정 가능하다. 단, 대표유전자 선정 사유 및 선정 근거자료를 함께 제출해야 한다.

※ 분석적 성능으로 확인된 대표유전자에 해당되는 관련 유전자 정보는 성능에 기재하며, 사용 목적에는 대표유전자와 관련 유전자의 갯수를 기재한다.

다. 표준물질 등을 이용한 정확도 시험자료를 포함하여야 한다.

2. 임상적 성능시험에 관한 자료

가. 종양유전자검사 의료기기

- 1) 필수 유전자 및 hotspot을 설정하고 다양한 종양 또는 특정 종양에서 대조기기와의 일치도를 확인한다. 단, 필수 유전자 및 hotspot 선정근거 자료를 함께 제출해야 한다.
- 2) 대조기기는 기 허가된 제품을 사용할 수도 있으며, 기존의 실험실적 방법(PCR, NGS 등)도 사용할 수 있다. 단, 실험실적 방법을 대조로 설정하는 경우 해당 시험방법의 타당성을 평가하기 위해 자체적으로 실시한 검증 계획서와 보고서를 제출해야 한다.

나. 동반진단 의료기기

- 1) 최초 허가된 동반진단 의료기기와 비교하여 임상적 성능시험을 수행해야 한다.
- 2) 특정 유전자와 해당 의약품에 대하여 개별로 임상적 성능시험을 평가해야 한다.
- 3) 최초 허가된 동반진단 의료기기가 실험실적 방법으로 인정된 경우에는 해당 실험방법의 타당성을 평가하기 위해 자체적으로 실시한 검증 계획서와 보고서를 제출해야 한다. 단, 외국에서 실험실 형태로 허가받은 제품의 경우 허가정보(제품의 성능 포함)를 제출할 수 있다.



1. 식품의약품안전처 홈페이지 (www.mfds.go.kr)
2. 의료기기안전국 홈페이지 (www.mfds.go.kr/medicaldevice)
3. 통계청 홈페이지 (www.kostat.go.kr)
4. 미국 식품의약품안전국 홈페이지 (www.fda.gov)
5. 캐나다 보건부 홈페이지 (www.hc-sc.gc.ca)
6. 미국 ClinGen (<http://iccg.org/about-theiccg/clingen>) .
7. 미국 ClinVar (<http://www.clinvar.com>)
8. Assay approval in oncology (New York State of Opportunity - Department of Health, http://www.wadsworth.org/labcert/TestApproval/forms/Oncology_Molecular_Checklist.pdf)
9. Continuing America's Leadership: Realizing the Promise of Precision Medicine for Patients, Jeffrey Shuren, M.D., J.D. Director, Center for Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services (미국 FDA 홈페이지)
10. FDA's Proposed Regulatory Framework for Laboratory Developed Tests, Mike Benecky(Senior Director, RA, GSK, World CDx regulation conference 2015)
11. Guidelines for diagnostic next generation sequencing (EuroGentest, 2014. 12)
12. Guidelines for Laboratory Accreditation of Massively Parallel Sequencing (Next Generation Sequencing)(NATA Technical Note 37—October2014, Issued: June 2014, Reissued October 2014)
13. Implementation of Massively Parallel Sequencing (The Royal College of Pathologists of Australasia, RCPA, 2014.05)
14. Oncology - Molecular and Cellular Tumor Markers “Next Generation” Sequencing (NGS) guidelines for somatic genetic variant detection (미국 New York State of Opportunity - Department of Health)
15. Optimizing FDA's Regulatory Oversight of Next Generation Sequencing Diagnostic Tests—Preliminary Discussion Paper (미국 FDA 홈페이지)

16. Practice guidelines for Targeted Next Generation Sequencing Analysis and Interpretation. (ACGS, Association for Clinical Genetic Science, 2014. 05)
17. Regulatory Considerations for NGS CDx Development from a Pharma Perspective, Erling Donnelly(Senior Director, Team Leader, IBRANCE and dacomitinib, Pfizer), World CDx regulation conference, 2015.05)
18. Reporting results from whole-genome and whole-exome sequencing in clinical practice: a proposal for Canada? (Zawati MH, et al. J Med Genet 2014;51:68 - 70. doi:10.1136/jmedgenet-2013-101934, 2015. 04)
19. 최근 차세대염기서열분석(NGS) 기술 발전과 향후 연구 방향 (국립과학수사연구원, 이수민, BRIC View 2014-T05)
20. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing (Heidi L. Rehm, PhD et al. American College of Medical Genetics and Genomics, Genetics in medicine, ACMG Practice Guidelines)
21. 차세대염기서열분석(NGS) 기반의 유전체 연구동향 - NGS와 유전체 활용 및 정보분석 - (김남신, 한국생명공학연구원 선임연구원, 생명공학정책연구센터)
22. Reporting results from whole-genome and whole-exome sequencing in clinical practice: a proposal for Canada? (Zawati MH, Parry D, Thorogood A, et al J Med Genet 2014;51:68 - 70.)
23. Assuring the quality of next-generation sequencing in clinical laboratory practice (volume 30 number 11 NOVEMBER 2012 nature biotechnology)
24. Bioinformatics for Clinical Next Generation Sequencing(Gavin R. Oliver et al., Clinical Chemistry 61:1 124 - 135 2015)
25. Next-Generation Sequencing in Clinical Oncology: Next Steps Towards Clinical Validation (Nigel C. Bennett et al., *Cancers* 2014, 6, 2296-2312)
26. Clinical application of amplicon-based next-generation sequencing in cancer (Fengqi Chang, Cancer Genetics 206 (2014) 413-419)
27. 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(Sue Richards, PhD et al., ACMG Standards and Guidelines Genetics in medicine

28. The integration of next-generation sequencing panels in the clinical cancer genetics practice: an institutional experience (Caitlin B. Mauer et al., Original Research Article Genetics in medicine | Volume 16 | Number 5 | May 2014)
29. Integrating Massively Parallel Sequencing into Diagnostic Workflows and Managing the Annotation and Clinical Interpretation Challenge (Karin S. Kassahn et al., HUMAN MUTATION, Vol. 35, No. 4, 413 - 423, 2014)
30. Sequencing depth and coverage: key considerations in genomic analyses(David Sims et al., NATURE REVIEWS | GENETICS VOLUME 15 | FEBRUARY 2014 | 121 - 132)
31. Best Practice Guidelines for the Use of Next-Generation Sequencing Applications in Genome Diagnostics: A National Collaborative Study of Dutch Genome Diagnostic Laboratories (Marjan M. Weiss et al., HUMAN MUTATION, Vol. 34, No. 10, 1313 - 1321, 2013)
32. FDA Fact Sheet. CDRH'S approach to tumor profiling next generation sequencing test.

[성능평가 가이드라인 전문협의회 위원]

소속기관	분 야	성 명	추천기관
삼성유전체연구소	학계 (유전체의학)	박웅양	(사)한국유전체학회
삼성유전체연구소	학계 (유전체의학)	홍성우	(사)한국유전체학회
삼성서울병원	학계 (외과병리)	최윤라	대한병리학회
고려대 구로병원	학계 (유방병리)	김정열	대한병리학회
삼성서울병원	학계 (분자진단)	기창석	대한진단검사의학회
연세대 강남세브란스병원	학계 (분자진단)	이경아	대한진단검사의학회
한양대 의과대학	학계 (생물정보학)	남진우	한국생물정보시스템생물학회
(유)라이프테크놀로지스코리아	수입 (약학)	김이준	의료기기산업협회
(주)녹십자엠에스	제조 (임상병리학)	문은주	한국의료기기공업협동조합
(주)랩지노믹스	제조 (분자유전학)	조대연	한국바이오협회 (체진협)
마크로젠	제조 (분자유전학)	박창원	한국바이오협회 (체진협)

[NGS기반 종양유전자검사시약 전문협의회 위원]

소속기관	분 야	성 명	추천기관
서울대학교 약학대학	학계	신영기	대한약학회
씨젠의료재단	학계	노경호	대한진단검사의학회
건국대학교병원	학계	윤여민	대한진단검사의학회
연세대학교 강남세브란스 병원	학계	이경아	대한진단검사의학회
씨모피서사이언티픽	수입	김이준	의료기기산업협회
일루미나코리아 유한회사	수입	박창원	의료기기산업협회
(주)랩지노믹스	제 조	조대연	바이오협회
(주)엔젠바이오	제 조	김광중	바이오협회

차세대염기서열분석(Next Generation Sequencing)
체외진단용 의료기기의 성능평가 가이드라인(민원인 안내서)

발행처	식품의약품안전평가원
발행일	2019년 7월
발행인	이동희
편집위원장	오현주
편집위원	<p><체외진단기기과> 이원규, 류승렬, 차지훈, 이용경, 서두원, 권용국, 정재연, 이정원, 김현홍, 백승엽, 손미진, 이율미, 김빛나, 정은지</p> <p><의료기기연구과> 박창원, 이창형, 유시형, 조은정, 김 산, 이정주, 이승열, 류지혜, 이승일, 이승노, 김형식</p>
문의처	<p>28159 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명 2로 187 오송 보건의료행정타운 식품의약품안전평가원 의료기기심사부 체외진단기기과 전화: 043-719-4652~63 팩스: 043-719-4650</p>



식품의약품안전처



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

(우 28159) 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187

오송보건의료행정타운

식품의약품안전평가원 의료기기심사부 체외진단기기과

TEL : 043-719-4652~63 FAX : 043-719-4650

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

“내가 지킨 청렴실천 모아지면 청렴사회”