ICS 11.040.30
C 30

YY

中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1723—2020

高通量基因测序仪

High-throughput gene sequencer

2020-06-30 发布　　2021-12-01 实施

国家药品监督管理局　　发布

前　言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由国家药品监督管理局提出。

本标准由全国医用临床检验实验室和体外诊断系统标准化技术委员会(SAC/TC 136)归口。

本标准起草单位:中国食品药品检定研究院、深圳华大智造科技有限公司、广州市达瑞生物技术股份有限公司、北京市医疗器械检验所、东莞博奥木华基因科技有限公司、天津诺禾致源生物信息科技有限公司、杭州贝瑞和康基因诊断技术有限公司、安诺优达基因科技(北京)有限公司、宜曼达贸易(上海)有限公司。

本标准主要起草人:黄杰、蒋慧、吴英松、李达、黄铨飞、邹浩、张建光、刘三阳、张素芳、曲守方、于婷。

高通量基因测序仪

1 范围

本标准规定了高通量基因测序仪的要求、试验方法、标签和使用说明书、包装、运输和贮存。

本标准适用于半导体测序法、可逆末端终止测序法、联合探针锚定聚合测序法、联合探针锚定连接测序法、焦磷酸测序等技术为主要技术原理的并行测序高通量基因测序仪。

本标准不适用于桑格(Sanger)测序为主要技术原理的基因测序仪。

本标准不适用于全内反射显微镜、生物纳米孔、固态纳米孔技术等为主要技术原理的单分子测序的高通量基因测序仪。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 191 包装储运图示标志

GB 4793.1 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第1部分：通用要求

GB 4793.9 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第9部分：实验室用分析和其他目的自动和半自动设备的特殊要求

GB/T 14710 医用电器环境要求及试验方法

GB/T 18268.1 测量、控制和实验室用的电设备 电磁兼容性要求 第1部分：通用要求

GB/T 18268.26 测量、控制和实验室用的电设备 电磁兼容性要求 第26部分：特殊要求 体外诊断(IVD)医疗设备

GB/T 29791.3 体外诊断医疗器械 制造商提供的信息(标示) 第3部分：专业用体外诊断仪器

YY 0648 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第2-101部分：体外诊断(IVD)医用设备专用要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

基因测序 gene sequencing

对核酸分子不同碱基类型的测定，即测定组成核酸分子的腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胞嘧啶(C)和胸腺嘧啶(T)或者尿嘧啶(U)等碱基的组成或排列顺序。

注：改写 GB/T 30989—2014，定义 3.18。

3.2

测序通量 throughput of gene sequencing

单次测序可获得序列信息的基因片段数量或可测定的脱氧核糖核酸和核糖核酸(以碱基表示)数量。

[GB/T 30989—2014，定义 3.21]

3.3

测序有效通量　valid throughput of gene sequencing

单次运行质量合格的基因片段数或碱基数。

注：改写 GB/T 30989—2014，定义 3.23。

3.4

测序读长　read length of gene sequencing

单次运行可读取的质量合格的序列片段长度，通常以碱基数表示。

注：改写 GB/T 30989—2014，定义 3.24。

3.5

碱基识别　base calling

测序过程中从荧光信号或其他由于测序反应而产生的信号转换成序列信息的过程。

[GB/T 30989—2014，定义 3.26]

3.6

碱基识别质量　quality of base calling

衡量碱基正确识别的概率。通常以 ASCII 码直接表示。

注：改写 GB/T 30989—2014，定义 3.29。

3.7

高通量基因测序仪　high-throughput gene sequencer

具有明显区别于 Sanger 测序的基因测序仪，其特点主要表现在不必预先明确目的片段的引物区序列、基于片段化的 DNA、依赖于独立反应体系进行克隆扩增、能一次进行对几十万到几百万条核酸序列(DNA)分子并行序列测定和读长一般较短等技术特征为标志。

注：目前高通量基因测序仪大多按照通量大小和适宜进行人基因组、全外显子组、靶基因等临床用途来大致区分，如测序通量≥20 Gb/run 高通量基因测序仪、测序通量<20 Gb/run 且≥2 Gb/run 高通量基因测序仪以及测序通量<2 Gb/run 且≥100 Mb/run 高通量基因测序仪。

4　要求

4.1　外观要求

仪器外观符合如下要求：

——设备表面不应有明显的凹凸、划痕、脱漆、流痕，金属部位不应有锈蚀及机械损伤；

——开关、按键应灵活、可靠，紧固件应紧固、无松动；

——标志、符号应清晰、端正。

4.2　测序读长和通量

在规定的测序读长模式下，测序通量和测序有效通量应符合制造商规定的要求。

注：测序读长模式根据使用试剂的性能要求进行规定，如双端 150 bp、单端 200 bp 等。

4.3　碱基识别质量百分比

单次测序，统计碱基识别质量在规定阈值以上的比例，碱基识别质量百分比平均值应不低于制造商规定的要求。

注：不同原理的测序仪在碱基识别质量表述有差异，如 Q20、Q30 等。

4.4 性能指标

4.4.1 测序通量≥20 Gb/run 高通量基因测序仪

4.4.1.1 测序覆盖率和测序平均深度

制造商应规定检测国家参考品或标准品的测序覆盖率和测序平均深度。

注：本标准中涉及国家参考品说明参见附录 A。

4.4.1.2 测序准确率

在制造商规定的测序覆盖率和测序平均深度下，符合以下要求：

a) 检测人基因组(DNA)参考品或标准品，比对率应符合制造商的要求，与单碱基变异(SNP)、插入缺失变异(Indel)参考数据集比较，SNP、Indel 的准确率和灵敏度应符合制造商的要求；

b) 检测人基因组 DNA 参考品或标准品，比对率应符合制造商的要求，与人基因组 DNA 参考序列中指定 1 Gb 参考序列比对，测序一致序列准确率应不低于 99.0%；

c) 检测细菌和病毒 DNA 参考品，与对应参考序列比对，测序一致序列准确率应不低于 99.0%。

注 1：对限定只用于人基因组 DNA 检测的基因测序仪可只进行人基因组 DNA 参考品或标准品检测，即进行 a)和 b)的检测。

注 2：对限定只用于病原微生物检测的基因测序仪可只进行细菌和病毒 DNA 参考品检测，即进行 c)的检测。

注 3：对进行单链序列分析的基因测序仪可增加单倍型基因组 DNA 参考品的检测指标。

4.4.1.3 重复性

进行 3 次重复测序，均能符合 4.4.1.1 和 4.4.1.2 的要求。

4.4.2 测序通量<20 Gb/run 且≥2 Gb/run 高通量基因测序仪

4.4.2.1 测序覆盖率和测序平均深度

制造商应规定检测国家参考品或标准品的测序覆盖率和测序平均深度。

4.4.2.2 测序准确率

在制造商规定的测序覆盖率和测序平均深度下，符合以下要求：

a) 检测人基因组 DNA 参考品或标准品中指定的全外显子区域，比对率应符合制造商的要求，与指定全外显子区域 SNP、Indel 参考数据集比较，SNP、Indel 的准确率和灵敏度应符合制造商的要求；

b) 检测人基因组 DNA 参考品或标准品中指定的全外显子区域，比对率应符合制造商的要求，与人基因组 DNA 参考序列中指定的全外显子区域比对，测序一致序列准确率应不低于 99.0%；

c) 检测细菌和病毒 DNA 参考品，与对应参考序列比对，测序一致序列准确率应不低于 99.0%。

注 1：对限定只用于人基因组 DNA 检测的基因测序仪可只进行人基因组 DNA 参考品或标准品检测，即进行 a)和 b)的检测。

注 2：对限定只用于病原微生物检测的基因测序仪可只进行细菌和病毒 DNA 参考品检测，即进行 c)的检测。

注 3：对进行单链序列分析的基因测序仪可增加单倍型基因组 DNA 参考品的检测指标。

4.4.2.3 重复性

进行 3 次重复测序，应均能符合 4.4.2.1 和 4.4.2.2 的要求。

4.4.3 测序通量<2 Gb/run 且≥100 Mb/run 高通量基因测序仪

4.4.3.1 测序覆盖率和测序平均深度

制造商应规定检测国家参考品或标准品的测序覆盖率和测序平均深度。

4.4.3.2 测序准确率

在制造商规定的测序覆盖率和测序平均深度下，符合以下要求：

a) 检测人基因组 DNA 参考品或标准品中指定的 17 Kb 区域，比对率应符合制造商的要求，与指定 17 Kb 区域中指定的 10 个 SNP 位点，SNP 检测的准确率应不低于 90%；

b) 检测人基因组 DNA 参考品或标准品中指定的 17 Kb 区域序列比对，测序一致序列准确率应不低于 99.0%；

c) 检测细菌和病毒 DNA 参考品，与对应参考序列比对，测序一致序列准确率应不低于 99.0%。

注 1：对限定只用于人基因组 DNA 检测的基因测序仪可只进行人基因组 DNA 参考品或标准品检测，即进行 a)和 b)的检测。

注 2：对限定只用于病原微生物检测的基因测序仪可只进行细菌和病毒 DNA 参考品检测，即进行 c)的检测。

注 3：对进行单链序列分析的基因测序仪可增加单倍型基因组 DNA 参考品的检测指标。

4.4.3.3 重复性

进行 3 次重复测序，应均能符合 4.4.3.1 和 4.4.3.2 的要求。

4.5 软件功能

高通量基因测序仪软件功能应至少包含仪器运行控制功能和信号实时采集功能两部分：

a) 仪器运行控制软件应能引导完成仪器运行和控制，并符合制造商的要求；

b) 信号实时采集软件应能完成测序信号提取和处理，并符合制造商的要求。

4.6 安全要求

应符合 GB 4793.9、YY 0648 和 GB 4793.1 中相关规定。

4.7 电磁兼容性要求

应符合 GB/T 18268.1 和 GB/T 18268.26 中相关规定。

4.8 环境试验要求

应符合 GB/T 14710 中相关规定。

5 试验方法

5.1 外观

在自然光下，目测检查高通量基因测序仪外观，应符合 4.1 的要求。

5.2 测序读长和通量

按照各测序仪厂商提供的测序样品制备流程和测序操作进行待测样品处理、质控和测序，待测序反应完成后，测序仪使用测序信号收集器(根据标记信号的不同选用不同的收集器，如图像信号收集器中

的高精度 CMOS，电信号收集器中的半导体传感器，光谱信号收集器中的光谱成像仪等），对测序信号完成搜集。再通过信号分析软件，对采集得到的信号进行分析，将信号图转变成核苷酸序列信息。通常以序列数表示。单末端或双末端测序产生的一条序列信息，计为一条序列数。

根据测序通量所得到的序列数，统计所有序列数的碱基长度，计算序列数总长度。测序平均长度等于序列数总长度与序列数总数的比值，结果应符合 4.2 的要求。

5.3 碱基识别质量百分比

按照制造商提供的测序样品制备流程和测序操作进行待测样品处理、质控和测序。统计测序结果中错误率低于相应概率（如 Q20 或 Q30 对应的错误率）的碱基（base）占有比率，即为碱基识别质量百分比。结果应符合 4.3 的要求。

5.4 性能指标

5.4.1 测序通量≥20 Gb/run 高通量基因测序仪

5.4.1.1 测序覆盖率和测序平均深度

按照制造商提供的测序样品制备流程和测序操作进行国家参考品或标准品处理、质控和测序。根据式（1）和式（2）分别计算测序覆盖率值和测序平均深度值，结果应符合 4.4.1.1 的要求。

$$CVR=\frac{CVB}{GB}\times 100\% \qquad \cdots\cdots(1)$$

式中：

CVR ——测序覆盖率；

CVB ——覆盖到的基因组序列碱基数；

GB ——基因组全部碱基数。

$$DP=\frac{MB}{CVB} \qquad \cdots\cdots(2)$$

式中：

DP ——测序平均深度；

MB ——总比对碱基数；

CVB ——覆盖到的基因组序列碱基数。

5.4.1.2 测序准确率

依照操作和分析流程，得到样品的 SNP 和 Indel 变异信息，通过与标准品 SNP、Indel 参考数据集进行变异位点 SNP 和 Indel 的灵敏度与准确度计算。在制造商规定的测序覆盖率和测序平均深度下，依照操作和分析流程，统计测序结果和目标参考序列错配的碱基数。根据式（3）、式（4）和式（5）分别计算测序一致序列准确率、SNP 和 Indel 变异检测准确率、SNP 和 Indel 变异检测灵敏度，结果应符合 4.4.1.2的要求。

$$AC=\left(1-\frac{MS}{MB}\right)\times 100\% \qquad \cdots\cdots(3)$$

式中：

AC ——测序一致序列准确率；

MS ——错配碱基数；

MB ——指定目标区域基因组碱基数。

$$SE=\frac{TP}{TP+FN} \qquad \cdots\cdots(4)$$

式中：

SE——SNP 或 Indel 变异检测灵敏度；

TP——测序数据检出与标准品 SNP、Indel 参考数据集一致的变异位点总数；

FN——测序数据未能检出的标准品 SNP、Indel 参考数据集的变异位点总数。

$$PC=\frac{TP}{TP+FP} \quad \cdots\cdots(5)$$

式中：

PC——SNP 或 Indel 变异检测准确率；

TP——测序数据检出与标准品 SNP、Indel 参考数据集一致的变异位点总数；

FP——测序数据检出与标准品 SNP、Indel 参考数据集不一致的变异位点总数。

5.4.1.3 重复性

依照操作和分析流程进行不少于 3 次重复，分别统计相应技术指标，结果应符合 4.4.1.3 的要求。

5.4.2 测序通量＜20 Gb/run 且≥2 Gb/run 高通量基因测序仪

5.4.2.1 测序覆盖率和测序平均深度

按照制造商提供的测序样品制备流程和测序操作进行国家参考品或标准品处理、质控和测序。根据式(1)和式(2)计算测序覆盖率值和测序平均深度值，结果应符合 4.4.2.1 的要求。

5.4.2.2 测序准确率

依照操作和分析流程，得到样品的 SNP 和 Indel 变异信息，根据式(3)、式(4)和式(5)计算变异位点 SNP 和 Indel 的灵敏度与准确度，结果应符合 4.4.2.2 的要求。

5.4.2.3 重复性

依照操作和分析流程进行不少于 3 次重复，分别统计相应技术指标，结果应符合 4.4.2.3 的要求。

5.4.3 测序通量＜2 Gb/run 且≥100 Mb/run 高通量基因测序仪

5.4.3.1 测序覆盖率和测序平均深度

按照制造商提供的测序样品制备流程和测序操作进行国家参考品或标准品处理、质控和测序。根据式(1)和式(2)计算测序覆盖率值和测序平均深度值，结果应符合 4.4.3.1 的要求。

5.4.3.2 测序准确率

依照操作和分析流程，得到样品的 SNP 和 Indel 变异信息，根据式(3)、式(4)和式(5)计算变异位点 SNP 和 Indel 的灵敏度与准确度，结果应符合 4.4.3.2 的要求。

5.4.3.3 重复性

依照操作和分析流程进行不少于 3 次重复试验，分别统计相应技术指标，结果应符合 4.4.3.3 的要求。

5.5 软件要求

目视仪器用户界面及手动操作，应符合 4.5 的要求。

5.6 安全要求

按照 GB 4793.9、YY 0648 和 GB 4793.1 规定的方法进行，结果应符合 4.6 的规定。

5.7 电磁兼容性要求

按照 GB/T 18268.1 和 GB/T 18268.26 规定的方法进行，结果应符合 4.7 的规定。

5.8 环境试验要求

按照 GB/T 14710 规定的方法进行，结果应符合 4.8 的规定。

6 标签和使用说明书

应符合 GB/T 29791.3 的规定。

7 包装、运输和贮存

7.1 包装

7.1.1 每台基因测序仪应在明显位置固定铭牌，铭牌按 GB 4793.1 的有关规定，并标有下列内容：

a) 制造厂或供应商的名称或商标；

b) 型号、名称或能识别设备的其他方法。如果标有相同识别标志(型号)的设备是在一个以上的生产场地制造的，则对每一个生产场地制造的设备，其标志应当能识别出设备的生产场地；

c) 电源信息：电源性质、额定电源电压值或额定电源电压范围、额定频率、额定功率等。

7.1.2 基因测序仪应该按照 GB/T 191 的有关规定进行包装。

7.1.3 包装箱内应附有合格证、装箱单和产品使用说明书。

7.2 运输

高通量基因测序仪应按制造商的要求运输。

7.3 贮存

高通量基因测序仪应在制造商规定的条件下贮存。

附 录 A
（资料性附录）
测序仪性能评价用脱氧核糖核酸国家参考品说明

A.1 批号：360007-201802。

A.2 性状：DNA 样本，无色液体。

A.3 用途：本参考品为换代研制，包括 4 种基因组 DNA 样本，分别是人基因组 DNA 样本、大肠杆菌基因组 DNA 样本、高 GC 含量细菌基因组 DNA 样本、人乳头瘤病毒 11 型基因组 DNA 样本。用于一代、二代测序仪测序准确率、重复性等性能评价。

A.4 组成和规格：共计 12 支参考品样本。人全基因组 DNA、高 GC 含量细菌基因组 DNA、大肠杆菌基因组 DNA、人乳头瘤病毒 11 型基因各 3 支，见表 A.1。

表 A.1 参考品样本组成

名　　称	浓度/(ng/μL)	分装量/μL
大肠杆菌基因组 DNA	50	50
高 GC 含量细菌基因组 DNA	50	50
人全基因组 DNA	20	50
11 型 HPV 基因组 DNA	5	80
注：参考品说明书会根据参考品的批次进行变更。		

参 考 文 献

[1] GB/T 21415—2008 体外诊断医疗器械 生物样品中量的测量 校准品和控制物质赋值的计量学溯源性

[2] GB/T 29791.1—2013 体外诊断医疗器械 制造商提供的信息(标示) 第1部分:术语定义和通用要求

[3] GB/T 30989—2014 高通量基因测序技术规程

[4] YY/T 0316—2016 医疗器械风险管理对医疗器械的应用

[5] YY 0466.1—2016 医疗器械 用于医疗器械标签、标记和提供信息的符号 第1部分:通用要求