

推荐性国家标准

项目申报书

项目名称 : 高通量测序样品标签通用要求

技术归口单位(或技术委员会) : 全国医用临床检验实验室及体外诊断系统标准化技术委员会

提出日期 : 2024年8月15日

一、基本信息

中文名称	高通量测序样品标签通用要求		
英文名称	General requirements of high-throughput sequencing sample index		
标准性质	<input checked="" type="checkbox"/> 推荐性国家标准 <input type="checkbox"/> 指导性技术文件		
制定/修订	<input checked="" type="checkbox"/> 制定 <input type="checkbox"/> 修订	被修订标准号	/
是否采标	<input type="checkbox"/> 是 <input checked="" type="checkbox"/> 否	采标类型	/
采标号	/	采标中文名称	/
项目周期	<input type="checkbox"/> 12 个月 <input type="checkbox"/> 16 个月 <input checked="" type="checkbox"/> 18 个月		
上报单位	中国食品药品检定研究院		
技术归口单位 (或技术委员会)	全国医用临床检验实验室及体外诊断系统标准化技术委员会 (SAC/TC 136)		
主管部门	国家药品监督管理局		

二、论证评估报告

(一) 制修订推荐性国家标准的必要性、可行性

随着生物技术的飞速发展，基因测序作为生命科学的前沿技术之一，正逐步改变我们对生命本质、疾病机制及人类进化的理解。基因测序技术通过对生物体 DNA 或 RNA 序列的测定与分析，不仅为医学研究开辟了新的路径，也在农业、环境保护、法医学等多个领域展现出巨大的应用潜力和深远的意义。

高通量测序的出现，极大地提高了测序速度及数据产出。目前的测序仪已经可以在单个 Lane 上产出高至数百 G 至几个 T 的数据量。为最大化产出数据的使用效率，最常用的方法是多样本平行测序，文库构建的过程中在样本文库 DNA 序列中添加独特的标签序列。测序完成以后，通过标签序列将数据分配给相应的样本。然而高通量测序实验过程操作复杂步骤繁多，难以避免数据分配时出现少量错误，即标签串扰。在许多领域，诸如肿瘤早诊、液体活检等，用户希望检测到极低频的变异而进行超深度测序，而当标签串扰现象上升到一定水平，超深度测序优势将不再显著，甚至影响检测结果。

标签串扰现象普遍存在，是多种因素共同作用的结果，可主要归纳为以下几类：

1. 核酸合成引入的错误：标签序列通常是通过引物扩增或者接头连接的形式添加到目标序列两端。引物与接头序列在化学合成的过程中不可避免地存在一定比例的序列错配，截短等现象从而导致标签序列错误而产生标签串扰。
2. PCR 过程及测序过程引入的错误：样本标签会随目标序列一起经过文库构建和测序，通常包含多次 PCR 反应。由于 PCR 和测序过程中的随机产生低频错误，不可避免地形成错误的标签序列产生标签串扰。
3. 各环节的交叉污染：例如引物与接头合成过程的物料与设备共用，不同批次间残留的物料引起的交叉污染。文库纯化不充分，残留的接头与引物在测序过程中引起的交叉污染等。

为了尽量减少标签串扰对检测的影响，可以使用唯一性双端标签（样本标签可分为单端标签，组合型双端标签和唯一性双端标签），提高样本标签间序列差

异，优化化学合成与建库流程等。同时在使用样本标签前需要进行质量与性能评估十分重要，通常需要包含对标签序列设计及原材料质量。然而行业内并无统一的评价方法与规范，对临床使用上的风险不易把控，所以急需研制一个国家标准的性能评价规范。国家标准的制定将有助于规范高通量测序样本标签性能评价方法并统一标准。

(二) 主要技术要求

本文件规定了高通量测序样品标签的设计，合成和质量评价的要求。

本文件适用于基于高通量测序法中使用的样品标签。

本文件不适用于单分子测序法中使用的样品标签。

(三) 国内外标准情况、与国际标准一致性程度情况

目前国内外尚未发布有关高通量测序样本标签性能评估的标准。在国内《核酸引物探针质量要求》（GB/T 34797-2017）中规定了 DNA 引物探针的质量评价指标、技术要求、实验方法、包装运输和储存要求。该文件从引物探针合成端制定了技术要求和评价指标，但无法满足高通量测序技术对样本标签设计、标签串扰水平评估的需求。因此有必要建立一套标准指导靶高通量测序样本标签性能评估工作，描述如何设计及验证样本标签性能，以此填补该领域的空白。

(四) 与相关强制性标准、法律法规配套情况

无

(五) 标准所涉及的产品、过程或者服务目录

本标准涉及的产品清单如下：

深圳华大智造科技有限公司（MGI）：DNBSEQ-G99、DNBSEQ-E25、MGISEQ-200、MGISEQ-2000、DNBSEQ-T20x2, DNABSEQ-T10x4、DNBSEQ-T7
因美纳公司（Illumina）：MiniSeq、MiSeq、NextSeq、HiSeq、NovaSeq
赛默飞世尔科技公司（Thermo Fisher Scientific）：Ion GeneStudio S5、Ion Torrent Genexus

(六) 可能涉及的相关知识产权情况

本标准不涉及专利。

(七) 征求国务院有关部门或关联 TC 意见的情况

(八) 经费预算

总额：标准编制经费预算 20.0 万元，经费来源国家标准补助经费和单位自筹经费。其中，标准编制经费预算 10.0 万元；差旅/会议/国际合作与交流费 5.0 万元（用于标准编制过程中调研交通、住宿、伙食补助费、召开研讨会时场地和餐饮费、国际合作交流费）；专家咨询费 3.0 万元（用于会议邀请专家、标准审核专家的咨询费用）；出版文献/信息传播/知识产权事务费 2.0 万（用于资料查询、标准编制过程中资料印刷、文献购置等）。

(九) 项目进度安排

项目周期计划 18 个月，其中标准组织起草 10 个月，标准征求意见 2 个月，标准验证 1 个月，技术审查 1 个月，材料汇总送审 1 个月，主管部门审核 3 个月。

(十) 需要申报的其他事项

无