

別表2 NGSを用いた遺伝子解析において求められる分析的妥当性に関して考慮すべき事項（一般社団法人 日本衛生検査所協会 遺伝子関連検査受託倫理審査委員会）

※ 本別表は、遺伝子関連検査を実施する検査室の管理者および実務者向けにショートリードシーケンシング技術について、NGS解析の流れに沿う形で簡略的かつ網羅的に記載した。

検査工程	作業内容	確認事項	考慮すべき事項
検体採取	血液の採取	採取方法	・抗凝固剤入りの真空採血管を用いた真空採血を実施する。 ・不完全凝固のリスクを伴うような採血方法（シリジリ採血後、真空採血管への注入など）は極力回避する。 ・検査目的に応じた採血量を設定する（通常2~7mL、最大で20mL程度）。 ・検体採取前に、検査目的（生殖細胞系系／体細胞／RNA解析等）および必要検体種を確認する工程を設ける。 ・患者本人確認、採血管ラベリング、採取直後の転倒混和回数等の管理を行う。 ・採取時刻、抗がん剤投与歴、輸血歴・移植歴、採血部位等を確認・記録する。 ・骨髄移植後や高度白血球減少例では、必要に応じて口腔スワブ、爪、皮膚組織芽細胞等の代替検体の選択を検討する。 ・抗がん剤投与中の症例等では投与直後の採血は避け、24時間以上の間隔を空け次回投与前に採血を実施する。
	生殖細胞系系バリエーションを対象とした解析の際の代表材料。	採取容器	・体細胞遺伝子検査、遺伝学的検査に適した抗凝固剤入りの真空採血管を使用する。 ・抗凝固剤としてEDTAを使用する。 ・採血管は、細胞保護効果のある薬剤が添加されているものや核酸安定化剤が添加されたものなど、目的に応じた様々な種類の採血管が市販されており、こうした専用採血管の取扱い（採血後の検体保存など）は個々に異なるため、専用採血管の使用の有無等についても確認する。 ・採取容器の種類、ロット、使用期限を確認する。
	体細胞バリエーションを対象とした解析の際の正常対照として、また造血器腫瘍を対象とした解析の際の材料として用いられる。	採取後の対応（保管）	・採取後の冷蔵（2-8℃）保管を徹底する（採血後、高温下や室温に晒されるリスクの回避）。 ・EDTA採血管で血液を長期保管する場合、DNA解析用であれば凍結可能である。 ・不適切な性状（血液凝固や凍結融解など）の有無を確認する。 ・検査開始前の採血管理開封は厳禁とする（コンタミネーション／リスクの回避）。 ・遺伝子関連検査専用検体として保管する（他の血液学的検査項目との共用によるコンタミネーションの回避）。 ・長鎖DNAを用いて測定する場合は、採血後速やかな血液の凍結が必要な場合がある。 ・長鎖DNA解析やRNA解析では許容保管条件が異なるため、解析目的別に保管条件を設定する。
		収集すべき情報、記録	・患者名あるいは必要に応じて匿名化ID、年齢、性別、検体採取日、採取時刻、使用採血容器、保管温度、保管状況などについて記録する。 ※ 通常の臨床検査を行う際の内容に準ずる。 ・生殖細胞系系バリエーションを解析対象とする場合は、上記に加え臨床情報や必要に応じて家系情報、同意取得状況、二次的所見の取扱い方針等も記録する場合がある。
組織の採取 （生検材料・手術材料）	組織の採取	採取方法	・病理診断に支障を来さず、核酸・タンパク質等の変性が予測される出血・壊死等を回避し、適切な採取部位より組織を採取する。 ・生殖細胞系系バリエーションを解析対象とする場合、組織検体を正常対照として用いる際は腫瘍部位の混入を極力回避する。 ・体細胞バリエーションを解析対象とする場合、癌組織を採取する際には腫瘍部位と非腫瘍部位の双方から組織を採取する（推奨）。 ・体細胞バリエーションを解析対象とする場合、再生検や転移検からの検体採取の際は治療後変化を踏まえた採取部位の選択に留意する。 ・可及的速やかに採取するものとし、速やかに採取できない場合は手術検体を冷蔵（2-8℃）にて保管し、3時間以内を目安に組織検体を採取する。 ・半小指頭大（10cm程度、50-100mg程度）の組織を採取することが適切である。 ※ 病理診断に特段の支障がなく適切な採取部位が確保できる場合における採取量の目安である。
	体細胞バリエーションや造血器腫瘍を対象とした解析の際の代表材料。	採取容器	・滅菌済ポリスピッツ等を使用する。 ※ 耐低温性といった凍結保管に適した材質（ポリプロピレン製）や蓋が緩まないスクリーキャップ等を使用する。
	生殖細胞系系バリエーションを対象とした解析の際の材料として用いられることはまれである。	採取後の対応（保管）	・抽出・採取後30分以上室温で保持することは極力回避する。 ・採取後、必要に応じて2-3mm角程度の大きさに細切り、採取容器に入れる。 ・組織片は1チューブあたり1個保管を原則とし、不可能な場合はチューブの内壁に個々に離して貼付するようにしてチューブに入れる。 ・必要に応じ、適切な核酸底液剤を用いて組織片を浸漬し凍結処理を行う。その際は底液剤が組織に十分浸透するよう組織片を分割する。 ・手術材料の場合、抽出後30分以上に液体室系による急速凍結を推奨し、実施困難な場合はドライアイスセトンや超低温槽（-70℃以下）等を利用する。 ・保管に関しては、可能な限り液体室系下で保存し、困難な場合は超低温槽（-70℃以下）を用いる。 ・手術、生検により採取された組織をホルマリン固定・パラフィン包埋化（FFPE検体の作製）する場合は、組織の切除・採取後は速やかに固定液に浸漬し固定を行う。手術材料で速やかに固定が行えない場合は、抽出後は冷蔵庫など4℃で下で保管し、1時間以内、遅くとも3時間以内に固定を行う。 ・体細胞バリエーションを解析対象とする場合、特に生検組織では組織量が少なく、腫瘍細胞が存在しないサンプルが検査に供されないよう、腫瘍細胞の存在を予め形態学的に確認することが望ましい。
		収集すべき情報、記録	・患者名あるいは必要に応じて匿名化ID、年齢、性別、検体採取日、採取時刻、保管温度、保管状況などについて記録する。 ※ 通常の臨床検査を行う際の内容に準ずる。 ・上記に加え、病変の情報、臨床情報、採取臓器や採取部位、肉眼的所見、腫瘍部・非腫瘍部の有無、保管チューブ数などについても記録する（推奨）。
体液検体の採取 （cell free DNA、骨髄液、胸水、BAL、細胞診検過物、腹水、尿、喀痰 など）	体液検体の採取	採取方法	・採取部位に応じた適切な方法にて採取する。 ・検体種ごとの差異が大きいため、骨髄液、胸腹水、BAL、尿、喀痰、cfDNA等に分けて取扱いを整理・確認しておくことが望ましい。 ・骨髄液では、凝固防止、細胞数、末梢血混入、塗抹・フローサイトメトリ情報などに対応に留意する。
		採取容器	・滅菌済ポリスピッツ等を使用する。 ・骨髄液の場合は抗凝固剤（EDTAなど）入りの容器を使用する。 ・cell free DNAを解析する場合は、cell free DNA抽出専用専用採血管を使用する。 ・cfDNA専用採血管の使用の有無、遠心条件、血漿分離までの時間を確認・記録する。
		採取後の対応（保管）	・体液検体は、採取後の冷蔵（2-8℃）あるいは、遠心分離後の細胞ペレットを超低温（-70℃以下）にて凍結保存する。尿等の場合は、細胞ペレットの洗浄後凍結が望ましい。 ・cell free DNAを解析する場合は、採取後適切な条件で血漿を分離し、凍結保存を行う。専用採血管を使用する場合は仕様書に準じて保管を行う。
		収集すべき情報、記録	・患者名あるいは必要に応じて匿名化ID、年齢、性別、検体採取日、採取時刻、保管温度、保管状況などについて記録する。 ※ 通常の臨床検査を行う際の内容に準ずる。 ・上記に加え、病変の情報、臨床情報、採取臓器や採取部位、肉眼的所見、腫瘍部・非腫瘍部の有無、保管チューブ数などについても記録する（推奨）。
口腔粘膜の採取	口腔粘膜の採取	採取方法	・飲食または授乳後、30分以上経過してから採取する。食物や母乳などの影響を除くため、口腔内を水で十分にすすぎ、専用の綿棒（スワブ）を用いて頬と下歯肉の間に当て擦過する。 ・口腔粘膜採取は、歯茎からの出血により血液が混入する事が考えられるため注意が必要である。
	生殖細胞系系バリエーションを対象とした解析の際の材料。	採取容器	・専用保存容器やスワブが入る滅菌容器（滅菌スクリーキャップチューブやDNase/RNaseフリーチューブなど）を使用する。 ・核酸安定化剤を含む保存液入りの専用口腔スワブの使用も利用可能である。
	造血器腫瘍を対象とした解析の際の正常対照として用いられる。	採取後の対応（保管）	・採取後は直ちに乾燥（1時間以上）を推奨し、綿棒（スワブ）を乾燥させ、室温で保管する。長期保管する場合は冷蔵または凍結条件下にて保管する。 ・口腔粘膜採取後の綿棒（スワブ）を乾燥させずに密閉したビニール袋や試験管に保管する等、綿棒（スワブ）を湿潤な状態に放置すると、共存するDNaseの影響により口腔粘膜中のDNAは急速に分解するため、綿棒（スワブ）は直ちに乾燥させる。
		収集すべき情報、記録	・患者名あるいは必要に応じて匿名化ID、年齢、性別、検体採取日、採取時刻、保管温度、保管状況などについて記録する。 ※ 通常の臨床検査を行う際の内容に準ずる。 ・生殖細胞系系バリエーションを解析対象とする場合は、上記に加え臨床情報や必要に応じて家系情報、同意取得状況、二次的所見の取扱い方針等も記録する場合がある。
爪の採取	爪の採取	採取方法	・採取前に爪と指の隙間をよく洗い、垢やごみをできるだけ取り除き、他人由来の爪が混入しないよう、爪の先端の白い余剰部分を採取する。 ・他人由来の爪が混入しないよう、採取に使用する爪切りは新品（使い捨てなど）を使用する。
	生殖細胞系系バリエーションを対象とした解析の際の材料。	採取容器	・一般的には乾燥滅菌容器（ドライコンテナ）を使用するが、滅菌スクリーキャップチューブや乾燥プラスチック容器、DNase/RNaseフリーチューブの使用も可能である。 ・検体保存液等必要とせず、乾燥状態で保存することが原則である。
	造血器腫瘍を対象とした解析の際の正常対照として用いられる。	採取後の対応（保管）	・乾燥状態にて室温にて保管する。長期保管する場合は冷蔵保管が望ましいが、凍結保管も可能である。
		収集すべき情報、記録	・患者名あるいは必要に応じて匿名化ID、年齢、性別、検体採取日、採取時刻、保管温度、保管状況などについて記録する。 ※ 通常の臨床検査を行う際の内容に準ずる。 ・生殖細胞系系バリエーションを解析対象とする場合は、上記に加え臨床情報や必要に応じて家系情報、同意取得状況、二次的所見の取扱い方針等も記録する場合がある。
検体調製（FFPE検体）	組織のホルマリン固定	固定液	・ホルマリン固定液の組成は、酸性や非緩衝ではなく、中性緩衝ホルマリン溶液を用いる。 ・ホルマリン濃度は10%（3.7%ホルマリンアルデヒド）を用いる（特にがん遺伝子プロファイリング検査用の組織のホルマリン固定を行う場合）。 ・固定液の容量は、組織量に対し10倍量の固定液を用いる。
	病理検体を作製する際に必要な検体調製の工程。	固定時間	・組織のホルマリン固定は室温で行い、6-48時間程度の固定を行うとともに、生検材料ごとの微少な組織検体は固定時間を短縮する。 ・固定不良（固定不足・過固定）による核酸の品質劣化を回避する。 ・固定開始時刻、固定終了時刻、固定液交換の有無を記録することが望ましい。 ・未固定や過固定判定基準および再採取の検討基準を、各施設内で定めておくことが望ましい。
		固定後の対応	・推奨時間にて固定した組織は、速やかに切出し、パラフィン包埋を行う。
		収集すべき情報、記録	・患者名あるいは匿名化ID、年齢、性別、検体採取日、採取時刻などに加え、組織の固定に使用した固定液、固定日時、固定時間、保管温度・状況についても記録する。
	パラフィンブロック作製	組織の切出し	・肉眼観察（腫瘍部位、広がり、大きさ、形や色、硬さ、性状など）を行い、各種採取扱い規約に準じて固定組織の切出しを行う。 ・組織に含まれる骨成分や、石灰化を形成する石灰塩を除去する必要がある場合は、酸脱灰を行う。
	ホルマリン固定組織よりFFPE検体（パラフィンブロック）を作成する際に必要な検体調製の工程。	組織のプロセッシング パラフィン包埋	・組織プロセッサ（自動固定包埋装置）を使用し、病理学的検査を実施する際の方法に準じて実施する。 ※ 迅速型の組織プロセッサを使用する場合、十分にデータ検証を行った上で使用する。 ※ 組織プロセッサにて使用する試薬や交換頻度、コンタミネーションの影響等については十分なデータは得られていない。 ・コンタミネーションを防止するため、包埋時に使用するピンセットや包埋皿の取扱い、作業環境などには十分注意する。
		ブロック作製後の対応（保管）	・パラフィンブロックの保管は室温でよいが、多湿を避け冷蔵所に保管することが望ましい。 ※ NGSを用いた解析を目的としてパラフィンブロックを作製した場合は、当初から冷蔵下での保存が望ましい。 ・パラフィンブロックを実際のNGS解析に使用する場合は、3年以内に作製されたブロックを使用する。
		収集すべき情報、記録	・患者名あるいは匿名化ID、年齢、性別、検体採取日、採取時刻などに加え、パラフィンブロックの作製日、ブロックに記載されているID等の情報、保管温度・状況についても記録する。
未染スライド作製	未染スライド作製	パラフィンブロックの選択	・病理診断時に作製されたHE染色標本や病理診断報告書の記載内容を確認し、NGS解析に必要な腫瘍部位や腫瘍細胞割合を有するパラフィンブロックを選択する（原則、病理室による）。 ・出血や壊死、炎症細胞等の非腫瘍部位を多く含むパラフィンブロックの使用は極力回避する。
		薄切	・作業台を含め遺伝子検査用の薄切作業を開始する際は、作業環境の消毒等を実施するとともに、マイクロームの清掃を実施する。 ・マイクロームの刃は症例毎に未使用のものに交換するなど、他検体のコンタミネーションに十分注意する。 ・手袋等の着用によりコンタミネーション対策を実施し、可能な限り症例毎に交換するなど、核酸分解防止に努める。 ・薄液等が飛散しないよう、作業中の安全確保とともに、必要に応じてマスクを着用する。 ・NGS解析に供するパラフィン切片の厚さ・枚数の目安は5-10 μm厚で5-10枚程度（組織の大きさ等によっても変わってくる）。
	パラフィンブロックよりFFPE検体（未染スライド）を作製する際に必要な検体調製の工程。	拾い	・薄切工程における「考慮すべき事項」に準ずる形で作業を実施する。 ・薄切切片を拾う際には、他検体のコンタミネーションに十分注意する。 ・コンタミネーション防止の観点から、必要に応じて拾いを使用する水のグレード（滅菌水などの利用）や症例毎の交換等も考慮する。 ・パラフィン切片を浮かべる水槽やバット等の取扱いにも細心の注意を払う。
	未染スライドは体細胞バリエーションを対象とした解析の際の代表とも言える検体性状である。	伸展・乾燥	・パラフィン伸展は病理学的検査を実施する際の方法に準じて行う。 ・乾燥については、室温あるいは37℃での乾燥により水分を蒸発させ、切片が割れにくい状態となっていることを確認する。 ・パラフィン溶解機等を使用して乾燥する場合は、12時間程度で十分であり、長時間高温下での乾燥・パラフィン溶解は可能な限り避ける。
		作製後の対応（保管）	・未染スライド作製後は室温にて取り置きを続け、速やかに核酸抽出を行う。 ・未染スライドの形態で保管を行う場合は、低温保管やパラフィンコーティングなどの核酸品質劣化を防止する対応を行うことが望ましいが、原則、薄切後時間が経過した未染スライドの使用は避け、可能な限りパラフィンブロックから再薄切をすることが望ましい。
		収集すべき情報、記録	・患者名あるいは匿名化ID、年齢、性別、検体採取日、採取時刻などに加え、未染スライドの作製日、切片の厚さ、ブロックに記載されているID等の情報、保管温度・状況についても記録する。

別表2 NGSを用いた遺伝子解析において求められる分析的妥当性に関して考慮すべき事項（一般社団法人 日本衛生検査所協会 遺伝子関連検査受託倫理審査委員会）

※ 本別表は、遺伝子関連検査を実施する検査室の管理者および実務者向けにショートリードシーケンシング技術について、NGS解析の流れに沿う形で俯瞰的かつ網羅的に記載した。

検査工程	作業内容	確認事項	考慮すべき事項
検体搬送・移送・移送後対応	搬送・移送 外部委託先への提出等、検体を搬送する際の対応。	搬送手段	・検体採取/提出元医療機関と検体処理および解析機関が異なる場合は、外部委託先の集配システムや運送業者に検体の搬送を委託する。 ※ 検体種により、冷蔵・冷凍便を利用する。 ・搬送前の受渡し確認、到着確認、遅延時の連絡・展開手順を定める。 ・感染性物質の該当性、三重包装、輸送委託先要件、航空搭載可否等について予め整理・確認しておく。
		搬送時環境(温度等)	・検体の保存温度に準ずる環境下にて、適切に移送を行う。可能であれば、温度のログを記録する。 ※ 氷/氷リン固定組織、FFPE検体(パラフィンブロック、凍結スライド) 室温 血液、骨髓液：冷蔵(短鎖リードNGSを用いたDNA解析に供する場合、全血はEDTA入りの採血管を用いて室温搬送してもよい) その他の材料：凍結(-20℃以下であるいはドライアイス使用の有無を明記する) ・搬送に際しては、各種検体の保存温度が維持できるような非密閉移送容器等を(簡易的には発泡スチロール容器)使用する。 ・必要に応じて温度ログの使用の有無や造時判定基準、搬送時間上限を設定する。
		収集すべき情報、記録	・搬送する際の対象となる検体に関する情報に加え、複数検体を移送する場合は、検体数、検体種、保存温度等についても記録する。 また、作業担当者、受託先担当者、搬送日時等、検体授受に関しても検体受領搬送作業日誌といった法定帳票等を用いて記録する。 ・検体移送の手順については、各施設における標準作業手順書(SOP)等に準じて行う。
			・各種検体(血液、凍結組織、FFPE検体、体液検体など)の保存温度が適正に維持されているかを確認する。 ・依頼情報と検体情報について、受付システム等を用いて照合作業を行い、トレイやラベリが担保されていることを確認する。 ・受領時の外観確認に加え、依頼票との整合性確認や不一致時の受付保留・連絡・問合せ手順、受領不可基準(破損、漏出、ラベル不備、温度逸脱、凝固等)についても予め明確化しておく。
検体の受領	受領・受付	受領時の検体の状態	・各種検体(血液、凍結組織、FFPE検体、体液検体など)の保存温度が適正に維持されているかを確認する。 ・依頼情報と検体情報について、受付システム等を用いて照合作業を行い、トレイやラベリが担保されていることを確認する。 ・受領時の外観確認に加え、依頼票との整合性確認や不一致時の受付保留・連絡・問合せ手順、受領不可基準(破損、漏出、ラベル不備、温度逸脱、凝固等)についても予め明確化しておく。
		検体量	・検体数や検体量の過不足等を最低限目視レベルにて確認する。
		腫瘍細胞量	・検体受領時による目視レベルでの確認は困難なため、依頼情報等による確認を行う。
		検体の適正	・依頼内容に対し、指定された材料が否か、保存温度の適正、検体破損の有無等について確認を行う。
		収集すべき情報、記録	・施設情報、患者名あるいは匿名化ID、年齢、性別、検体採取日、採取時刻、保管温度、保管状況など依頼情報について記録する。 ※ 通常の臨床検査を行う際の順に準ずる形式でも良い。 ・受領対象となる検体に関する情報に加え、複数検体を受領した場合は、検体数、検体種、保存温度等についても記録する。また、作業担当者、委託先担当者、搬送日時等、検体授受に関しても検体受領搬送作業日誌といった法定帳票等を用いて記録する。 ・パラフィンブロック等、使用後の委託元への返却要否等についても確認し、必要に応じ記録する。 ・検体受領の手順については、各施設におけるSOP等に準じて行う。
			・施設情報、患者名あるいは匿名化ID、年齢、性別、検体採取日、採取時刻、保管温度、保管状況など依頼情報について記録する。 ※ 通常の臨床検査を行う際の順に準ずる形式でも良い。 ・受領対象となる検体に関する情報に加え、複数検体を受領した場合は、検体数、検体種、保存温度等についても記録する。また、作業担当者、委託先担当者、搬送日時等、検体授受に関しても検体受領搬送作業日誌といった法定帳票等を用いて記録する。 ・パラフィンブロック等、使用後の委託元への返却要否等についても確認し、必要に応じ記録する。 ・検体受領の手順については、各施設におけるSOP等に準じて行う。
検体前処理	血液検体	前処理方法	・核酸抽出までに時間を要する場合は、遠心操作によりハフィーコートを分取し、超低温(-70℃以下)にて凍結保存することも可能である。 ・全血を使用して核酸抽出処理を行う際は、前処理は特に不要のため、そのまま核酸抽出を実施する。 ・造血幹腫瘍や白血病治療等により白血球数に影響を及ぼすような患者由来の血液の場合は、白血球数の確認を行い、必要に応じてハフィーコートを分取するなどの前処理を実施する(「本表」検体採取・血液の採取・採取方法」の項参照)。 ・必要に応じて、検体識別用スライクインDNA等を用いた取り違えや相互汚染の検出・評価を考慮する。
	凍結組織	前処理方法	・必要に応じて、核酸抽出の際に作業がしやすいよう、組織を適切な大きさに細切・破砕する。
	液性検体	前処理方法	・cDNA抽出用専用採血管にて搬入された場合は、仕様書に準じて血漿の分離等を行い核酸抽出を行うが、核酸抽出まで時間を要する場合は凍結保管する。 ・cDNAでは血球由来DNA混入を防ぐため、採血から遠心までの時間上限、溶血判定、二段階遠心等を考慮する。
	口腔粘膜	前処理方法	・採取した綿棒には唾液や常在菌が付着しており、置ったまま密封保存すると、菌叢やカビが急速に繁殖してサンプルが腐敗し、ヒト由来のDNAが分解されたり、後続の試験(PCRやシーケンシング解析など)を阻害する物質が発生することがあるため、綿棒は室温で1時間程度乾燥させる。 ・細胞や液体中にはDNaseなどが含まれ、水分が存在する状態ではこれらの酵素が働きやすく、DNAが徐々に壊れていくリスクがある。 ・水分と温度(常温など)が長時間共存すると、化学的な加水分解によってDNAの鎖が切れやすくなるため、遺伝子検査に耐える長鎖のDNAを維持するには水分を取り除くことが不可欠である。
	爪	前処理方法	・核酸抽出に用いる爪は、予め小さく(1mm×1mm程度)切断し、蛋白分解酵素による検体の消化効率を上げることが推奨される(大きく切り取られた爪のまま核酸抽出を実施した場合、蛋白分解酵素処理において検体が完全に溶解せず、核酸収量が低下する可能性がある)。
	パラフィンブロック	前処理方法	・本表「検体調製(FFPE検体)・未染スライド作製」の項に準じて、未染スライドを作製する。 ・未染スライドを作製し、HE染色標本等による腫瘍部位の確認や、マーキング、腫瘍細胞割合の評価を行う(原則病理医による)。 ・パラフィンブロックが複数個入れられた場合は、「パラフィンブロックの選択」の項に準じてパラフィンブロックの選択を行う。
	未染スライド(パラフィン切片)	前処理方法	・核酸抽出を行う前に、必ずHE染色標本等による腫瘍部位の確認や、マーキング、腫瘍細胞割合の評価を行う(原則病理医による)。 ・腫瘍部位の確認等を行った後、核酸抽出対象となる部位をメス(カミソリ)を用いて削り取り、核酸抽出用のチューブに回収する。作業時は必ず手袋を着用し、症例毎にメス(カミソリ)や手袋を交換する。 ・核酸抽出用のチューブ内にて、パラフィン切片に対し脱パラフィンを実施する。 ・HE染色標本に基づくマーキング担当者、確認者、記録様式を定める。
	腫瘍部位の確認	HE染色	・NGS解析用に作製した未染スライドの一部を用いてHE染色標本を作製する。 ※ 病理診断時に作製されたHE染色標本を使用する場合も考えられるが、未染スライド作製時に薄切面が変わっている可能性を考慮する必要がある。 ・HE染色標本が解析対象未染スライドと同一ブロック・近接切片であることを確認する。
	腫瘍細胞割合の評価		・HE染色標本をもとに、原則病理医による腫瘍部位の確認やマーキング、腫瘍細胞割合の評価を行う。 ・腫瘍部位のマーキングはHE染色標本、未染スライドともに実施することが望ましい。 ・体細胞バリエーションを解析対象とする場合、腫瘍細胞割合の目安は以下の通りである。 → SNV(single nucleotide variant)検出：検出率1%以上 → CNA(copy number alteration)検出：検出率1%以上 ・測定に必要な腫瘍細胞割合は、測定対象や測定試薬(キット試薬)により異なるため、試薬添付文書等で確認することが望ましい。 ・本作業は、NGS解析の成否にも大きく影響を及ぼすことから、NGS解析を外部委託する際は、医療機関側で必ず確認を行ったうえで検体提出してもらうことが望ましい。
			・「腫瘍細胞割合の評価」の項に記載の基準に満たない場合は、腫瘍細胞の比率を上げるための措置として、マクロダイセクションによる腫瘍部位のトリミング(非腫瘍部位の除去)を実施する。 ※ 腫瘍部位が微小な場合はレーザー・マイクロダイセクションを行うことも想定されるが、労力や手間を考えると現実的ではない。 ・過剰なダイセクションによる核酸量不足のリスクを踏まえ、最小必要面積/トリミング基準を定めることが望ましい。
核酸抽出	DNA抽出 RNA抽出	ダイセクションの実施	・「腫瘍細胞割合の評価」の項に記載の基準に満たない場合は、腫瘍細胞の比率を上げるための措置として、マクロダイセクションによる腫瘍部位のトリミング(非腫瘍部位の除去)を実施する。 ※ 腫瘍部位が微小な場合はレーザー・マイクロダイセクションを行うことも想定されるが、労力や手間を考えると現実的ではない。 ・過剰なダイセクションによる核酸量不足のリスクを踏まえ、最小必要面積/トリミング基準を定めることが望ましい。
		ダイセクション方法	・マーキングされたHE染色標本や未染スライドを参照し、該当する部位を用手法にてトリミングを実施する。
	抽出試薬	抽出方法	・カラム法(シリカゲル膜使用)、磁気ビーズ法、フェノール/クロロホルム法、塩析法等により、DNA抽出を実施する。 ・アッセイの目的や用途、検体量に応じ適宜、手法、自動核酸抽出装置等の利用を選択する。 ・DNA抽出の際には、検体採取容器から検体を核酸抽出チューブに移し替える作業が発生するため、ID情報等の紐付けを確実に行う。
		抽出試薬	・市販されている核酸抽出キットを用いて、試薬添付文書の仕様に従いDNA抽出を実施する。 ・使用するNGS解析法に依り推奨されている核酸抽出キット等がある場合は、それを用いる。 ・NGS解析に使用する核酸抽出試薬は、診療での使用に適していることが当該診断薬メーカー等で検証された市販核酸抽出キットの使用が望ましい。 ・試薬ロット、使用期限、抽出バッチ、陰性抽出コントロールの有無を確認・記録する。
抽出核酸の品質チェック	品質チェック	濃度・収量	・一本鎖、二本鎖核酸を識別できる蛍光法あるいはA260やA280の紫外線吸収測定により濃度測定を実施する。 ・DNAについては蛍光法によるdsDNA濃度の測定を行い、分光光度計で測定したDNA濃度と比較することにより、dsDNA比率の評価を行う。 ※ DNAの濃度はライブラリー調製効率にも影響を及ぼすことから、可能な限り断片化の少ないdsDNAを正確に定量することが望ましい。 ・蛍光法、分光法、電気泳動法等の測定法ごとの採否・優先順位を施設基準として定める。 ・蛍光法による測定値やA260やA280の測定値から収量を算出し、十分な核酸量が確保できているか(量不足等はないか)を確認する。
		純度	・分光光度計等によりA260/A280比を測定し、核酸の純度について評価を行う。 ・純度の目安としては、A260/A280比が1.8～2.0(DNA)または1.8～1.9(RNA)の範囲であり、低値を示す場合はタンパク等の混入が考えられ注意を要する。 ※ FFPE検体の場合は、A260/A280比がDNAでは1.7～1.9、RNAでは1.8～2.1程度の範囲とされている。 ・他の混入物の確認のためA260/A280比やA220～A320間のスキニングについて確認を行うとともに、核酸抽出工程の成否を判定することが望ましい。 ・A260/A280比のみでは純度評価が不十分な場合があるため、A260/A280や蛍光法との組合せ評価を行うことが望ましい。
			・電気泳動法(マイクロチップ電気泳動やキャピラリー電気泳動など)やリアルタイムPCR法により、核酸の長さ(分解度)や核酸断片化の度合いを確認する。特に白血球以外の材料から核酸抽出を行う場合は、核酸断片化の度合いの確認は重要である。
	FFPE検体の核酸品質確認		・FFPE検体から核酸抽出を行う場合、FFPE検体が長期に渡り保管されている場合や過固定等による核酸の品質低下の可能性が考えられるため、核酸品質の確認を行うことが強く推奨される。 ※ Ct値/ΔCt値(DNA/RNAが対象)、DIN(DNAが対象)、RIN(RNAが対象)、Q-Value(DNAが対象)、DV200(RNAが対象) など
			・使用するNGS解析法により測定手順や使用する測定試薬が異なるため、適切なライブラリー調製方法を選択する。 ・試薬添付文書の仕様等に基づいて実施する。
			・アンプリコン法では、サンプル増幅やアダプターライゲーション、ライブラリー増幅の後にビーズ法等によるサンプル精製を実施する。 ・Long-PCRを実施するよう場合は、非特異産物が増幅されることがしばしば見受けられるため、必要に応じてアガロースゲル電気泳動を行い、増幅バンドの切り出しによる精製を実施すると改善される。
ライブラリー調製	Oアンプリコン法 サンプル増幅 増幅産物の精製 末端処理 アダプターライゲーション ライブラリーの増幅 増幅ライブラリーの精製 Oキャプチャー法 ゲノムDNAの断片化 アダプターライゲーション ハイブリダイゼーション反応 キャプチャーDNAの回収・濃縮	測定手順 使用試薬 使用機器	・ライブラリー調製は作業工程が複雑であるため、サンプル調製や試薬の分注時は可能な範囲で自動化機器等を使用することが望ましい。 ・アンプリコン法では、リアルタイムPCRやアダプター結合効率の影響など、設計上の限界に留意する。 ・ゲノムDNAの断片化の手法には、物理的方法(超音波破砕やネブライゼーションなど)や酵素的方法(DNase IやFragmentaseなどの利用)がある。
			・使用するNGS解析法により測定手順や使用する測定試薬が異なるため、適切なライブラリー調製方法を選択する。 ・試薬添付文書の仕様等に基づいて実施する。
ライブラリーの品質チェック	品質チェック	品質確認方法	・ライブラリー品質チェックは、ライブラリーに含まれるNGS解析に必要な末端配列を有するDNA濃度およびDNAサイズ分布を確認することにより、実施する。 ・ライブラリー濃度は、二本鎖特異的結合性の蛍光試薬を用いた蛍光強度測定あるいは、NGS解析に必要な末端配列を利用した定量PCRにより決定する。 ・DNAサイズの分布計測には電気泳動法が使用され、キャピラリーまたはマイクロチップ型の電気泳動装置がしばしば用いられる。 ・NGSリード数を制御するためには、定量PCRによるライブラリー濃度決定が有用である。 ・ライブラリーサイズ分布の異常やアダプターダイマー、ピークの多峰性等が生じた場合の対処法や再処理基準等を予め明確にしておく。
		品質指標	・ライブラリーの品質指標としては、ライブラリー濃度、ライブラリーサイズ、サイズ分布と均一性、アダプターダイマー率、ライブラリー収率などが挙げられる。 ・使用するNGS解析装置で求められる適正濃度に足りうるライブラリーが作製されているか、ライブラリーDNAのサイズ分布が期待されているものかどうかを評価する。 ・ライブラリーDNAのサイズ分布は各NGS機器メーカーが推奨するNGSランモードと整合していることが望ましい。

別表2 NGSを用いた遺伝子解析において求められる分析的妥当性に関して考慮すべき事項（一般社団法人 日本衛生検査所協会 遺伝子関連検査受託倫理審査委員会）

※ 本別表は、遺伝子関連検査を実施する検査室の管理者および実務者向けにショートリードシーケンシング技術について、NGS解析の流れに沿う形で簡潔かつ網羅的に記載した。

検査工程	作業内容	確認事項	考慮すべき事項
シーケンシング	NGSによるシーケンシング	測定手順 測定機器	・使用するNGS解析法（半導体チップを用いたプロトン測定法やSBS法など）により測定手順や測定機器が異なるため、目的に応じたものを選択し、機器の操作マニュアル等に準じてシーケンシングを実施する。 ・業務承認された遺伝子変異解析プログラム（医療機器）を使用する場合は、添付文書に従い実施する。
		シーケンス読取様式	・シーケンス読取様式にはシングルエンド法とペアエンド法があるが、目的に応じたものを選択する。
		測定条件（Run条件）	・解析目的や対象領域、サンプル数などにより測定条件が変わってくるため、目的に応じた測定条件を設定する。 ・測定条件についても事前に測定結果の正確性と再現性を担保できるよう、予め解析目的に応じた品質指標（標的領域の読み取り深度や統一性・網羅性などが挙げられる）や基準を設定し、その妥当性確認を実施する必要がある。 ・測定に際しては、目標深度、最小リード数、サンプル数、Index Hopping対策、PhiX混和の要否等について予め確認しておく。
データ解析	データの取得	データ形式	・FASTQファイルが用いられる。 ・FASTQファイルはシーケンサーから出力される生データ（Raw Data）であり、塩基配列（ATGC）や各塩基の品質値が含まれる。
		データの取得	・遺伝子配列情報を読み取ったシーケンスデータをはじめ、解析を実施した際のRun条件、標的領域の読み取り深度や均一性・網羅性、ベースコール品質スコアといった、品質指標に関連する情報をサンプル毎に漏れなく記録する。 ・NGS解析に使用したシーケンサーからの出力される解析レポートやQCレポート（QCサマリー）、サンプルシート等の付随情報についても記録することを強く推奨する。
		品質チェック	・期待された塩基配列量が得られているかどうかを確認する。 ・品質指標として、ベースコール品質スコアや総リード数、塩基の品質分布、GC率、アダプター混入率などのQCレポートを確認し、予め設定した指標や基準に対してサンプル毎に基準を満たしているか、問題ないかな等を確認する。
	マッピング	データ形式	・ゲノムへのマッピング結果としてはBAMファイルが用いられることが多い。 ・BAMファイルはリファレンスゲノム配列にマッピングしたアライメント情報であり、リードのマッピング位置やマッピング品質、重複情報等が含まれる。
		解析方法	・NGS測定機器付属の解析ソフトウェアやサードパーティーの市販ソフトウェア、オープンソース、ソフトウェア等を利用することで解析が可能である。 ・解析時に参照するヒトゲノムリファレンス配列などのデータベースや解析パイプラインは、随時アップデートされることを踏まえ最新版を使用することが望ましく、使用したバージョン等の情報を明示する。 ・参照するデータベースや解析パイプラインのバージョン等に変更が生じた場合は、再度、変更内容に応じた妥当性確認を必須事項として実施する。 ・参照データベースの更新手順、影響評価、切替時の再妥当性確認、変更管理記録を整備する。 ・ヒトリファレンスゲノム配列等のバージョン情報を記録する。
		品質チェック	・リードが正しくマッピングされているかなど、測定対象領域におけるアライメントの品質を定量的・定性的に評価する。 ・品質指標としては、標的領域の読み取り深度（平均深度や最小深度）や均一性・網羅性、マッピング率、マッピング品質、重複率、オンターゲット率などが挙げられ、予め設定した指標や基準に対してサンプル毎に基準を満たしているか、問題ないかな等を確認する。 ※ 例として、「カバーレッジ」に関しての品質チェックであれば、「設定したカバーレッジ以上であるかどうか」を確認する。
バリエーション アノテーション	バリエーション アノテーション	データ形式	・VCFファイルが用いられる。 ・VCFファイルはバリエーション情報であり、一塩基バリエーション（SNV）、挿入欠失（Indel）、連続する複数塩基の変化（MNV）の情報等が含まれる。
		解析方法	・解析目的により内容も様々であるが、代表的なものとしては一塩基バリエーション（SNV）、挿入欠失（Indel）、コピー数バリエーション（CNV）、コピー数変異（CNA）、融合遺伝子（Fusion）、マイクロサテライト不安定性（MSI）、腫瘍遺伝子変異量（TMB）などが挙げられる。 ・解析対象に応じて、SNV、Indel、CNV、SV、融合遺伝子、リビート伸長、mtDNA等の対象範囲を明確化する。 ・業務承認された遺伝子変異解析プログラム（医療機器）以外の解析パイプラインについては、解析時に必須となる品質指標や基準を事前に設定し、その妥当性確認を実施する必要がある。 ・解析パイプラインのバージョン等に変更が生じた場合は、再度、変更内容に応じた妥当性確認を必須事項として実施する。 ・解析パイプラインの妥当性確認に加え、再解析条件やソフトウェアの更新管理等についても予め確認事項。 ・参照データベースの更新手順、影響評価、切替時の再妥当性確認、変更管理記録を整備する。 ・遺伝子アノテーション、ClinVar、gnomAD、COSMIC等のアップデート情報を記録する。
		品質チェック	・検出されたバリエーション結果が妥当かどうかなど、バリエーションコーラーの品質管理機能も活用しながらバリエーション検出の品質（信頼性）を評価する。 ・品質指標としては、バリエーション部位の総リード数（Depth）、バリエーション頻度（VAF）、フィルター率（率）、ストランドバイアス（アーチファクトの除外）、マッピング品質、ベースコール品質などが挙げられ、予め設定した指標や基準に対してサンプル毎に基準を満たしているか、問題ないかな等を確認する。 ・体細胞バリエーションを解析対象とする場合、解析結果より推定されるバリエーション頻度（VAF）の妥当性を、解析前に評価した病理学的な腫瘍細胞割合と比較することが重要である。VAFと腫瘍細胞割合に大幅な乖離が認められるような場合は、癌組織の不均一性（heterogeneity）やヘテロ接合性喪失（LOH）などが疑われるため、組織像の見直しや形態学的手法（免疫組織化学染色など）による整合性の得られる所見の有無を確認する。 ・生殖細胞系バリエーションを解析対象とする場合、VAFが50%から大きく乖離する場合は、バリエーションコーラーの可能性やモザイク変異などが疑われるため、VAFバイアスの原因について出来る限り確認のうえVAFが通常の範囲を逸脱していることを報告することが望ましい。 ・造血器腫瘍を解析対象とする場合、検出された生殖細胞系を疑うVAFを示す病的バリエーションについては、確認のために口腔粘膜細胞や爪などの正常組織を採体として追加検査することがある（クローン造血の報告を考慮）。
			・FPPE検体を用いたNGS解析を実施する場合は、検体品質不良によるアーチファクト（バリエーションコールの品質不良など）に注意が必要である。FPPEアーチファクトに加え、VAFに影響を与える可能性がある一般的なIndex Hopping、PCR duplicate、strand bias、mapping artifact等にも注意する。 ・何らかの理由からアーチファクトの可能性を疑うバリエーションについては、報告前にサンガー法などによるシーケンス確認が推奨される。 ・解析パイプラインについては、「検出せず」「判定不能」とされている「同じ座位に報告対象外の変異が存在する」などの場合があるので、注意が必要である。 ・ショートリードNGSでのリシーケンシングによる検査では相同領域の存在などでNGS単独では正確なベースコールができない領域があるため、このような難読領域を検査対象として含んでいる場合は、報告前に異なる原理による方法での検出されたバリエーションの確認が必要である。
報告書（検査報告書）作成	報告書の作成	解析方法 品質チェック	・「解析結果の解釈付け」として、検出されたバリエーションの病原性判定の参考情報として、必要に応じてデータベース等による遺伝情報検索（ナンセンス、フレームシフト、ミスセンス等）バリエーションの種類・健康人におけるバリエーションの頻度・バリエーションの病原性に関するエビデンス などを検査として妥当な範囲の内容について行うことがある。 ・解析機関において、遺伝子バリエーションの詳細情報（疾患との関連や薬剤感受性など）や結果の解釈、疾患リスク、臨床的意義（病的変異やVUS）等についてデータ解析を行う場合は、専門家等に相談するなど、解析結果の妥当性を担保する必要がある。 ・体細胞バリエーションを解析対象とする場合、生殖細胞系列遺伝子バリエーションを疑う所見（二次的所見）が検出された際は、患者本人の血液サンプルを用いた確認や、他の手法を用いた再検査を行うなど、慎重な判断と対応を要する。
		報告書の仕様	・電子媒体（紙媒体を含む）等の報告書（別紙報告書を含む）を作成する。 ・特に必要に、測定生データについてクラウドへのアップロードや電子媒体等を添付する。 ・報告書様式は版管理を行い、旧版の誤使用防止策を講じる。
		報告内容	・主な報告内容としては、患者情報、依頼元情報（依頼医師名、施設）、検体種、検体採取日、採取部位、といった基本情報および「バリエーション内容」（遺伝子バリエーションの情報や二次的所見の有無など）に関する情報である。 ・NGS解析結果の報告の場合、上記に加え、解析対象領域、サンプルQCの情報（品質スコア・平均リード数・腫瘍細胞割合、バリエーション頻度など）、LOD/感度、検査方法、判定根拠、解析に使用したリファレンス配列、解析パイプラインの種類とそのバージョン、などの情報についても検査結果とともに報告書への記載が必要になる場合がある。 ・NGS解析結果は、最終的には医療機関におけるエキスパートパネル等で患者への報告内容を決定することが想定されるが、解析機関においても遺伝子バリエーションの詳細情報（疾患との関連や薬剤感受性など）や結果の解釈、疾患リスク、臨床的意義（病的変異やVUS）等の情報を付加して報告する場合もある。 ・NGS解析結果の報告内容に関しては明確な基準がないのが現状であるが、国内の法律に従う。
結果報告後の各種取扱い	報告書の取扱い	報告方法	・電子媒体による報告を行う場合は、誤送信防止や暗号化、セキュリティ管理、アクセス権限、受領確認などの報告手順や管理方法を明確化したうえで実施する。 ・紙媒体による報告を行う場合は、封を封じ（必要に応じ親展扱いとする）、郵送での報告を行うなど、検査結果が第三者に漏洩しないように十分に配慮した形で報告を行う。 ・体細胞バリエーションを解析対象とする場合は、本来目的としない二次的所見（主に生殖細胞系バリエーション）等が検出される可能性を考慮した措置をとる。 ・報告内容については検査依頼内容や解析結果との齟齬がないかな等の整合性を確認するとともに、品質管理手順に従い複数人での確認等を実施したうえで報告書をリリースする。
		保管方法 保管期間	・紙媒体のものはファイリング保管を行い、電子データはセキュリティ管理されたHDDやNAS、専用サーバにて厳重に保管する。 ・特に規定がない場合は、各施設の基準に準じて一定期間保管する。 ・報告書の保管期間については、法令や施設規程、認証要件に基づき明確化したうえで、改訂版等の差替え履歴も保管対象とする。
		各種データの保管と取扱い	・測定生データは多数存在するが、全てあるいは施設の基準に準じて適宜データを保管する。 ※ 生データに関しては、最低限FASTQ、BAM、VCFファイルの保存が推奨される。 ※ リファレンスゲノム等のバージョンが変わると、解析結果が変わることがあるので、データの保管にも注意を要する。 ※ BAMやVCFは最新のデータベース情報を用いての再解析も可能であるので、長期保存にはFASTQもしくはBAMの保管が推奨される。 ・測定生データの保存範囲、再解析可能期間、バックアップ頻度、災害復旧計画（DRP）との関係を明確にしておくことが推奨される。 ・報告書同様、紙媒体のものはファイリング保管を行い、電子データはセキュリティ管理されたHDDやNAS、専用サーバにて厳重に保管する。 ・特に規定がない場合は、各施設の基準に準じて一定期間保管する。
検査済検体取扱い	検査済検体取扱い	保管方法 保管期間 廃棄方法	・検査済検体としては、元検体（血液、組織、体液など医療機関から提出された一次サンプル）、中間生成物（核酸、PCR産物、ライブラリーなど）が挙げられる。 ・品質管理上問題なく測定結果が得られ再検査の必要がないと判断されるまでは、再検査等を考慮し、元検体、中間生成物ともに保管対象とする。 ・いずれの形状においても返却要望がある場合は速やかに検体返却を実施する（検体採取/提出医療機関と検体処理および解析機関が異なる場合）。 ・特に規定がない場合は施設の基準に準じて一定期間保管の後、感染性廃棄物として廃棄処理を行う。 ・保管・廃棄に関する状況についての記録を行うとともに、その証拠を保管する。 ・保管・廃棄の実施に際しては、同意内容、二次利用方針、個人情報保護方針との整合性を確認する。

別表2 NGSを用いた遺伝子解析において求められる分析的妥当性に関して考慮すべき事項（一般社団法人 日本衛生検査所協会 遺伝子関連検査受託倫理審査委員会）

※ 本別表は、遺伝子関連検査を実施する検査室の管理者および実務者向けにショートリードシーケンシング技術について、NGS解析の流れに沿う形で俯瞰的かつ網羅的に記載した。

検査工程	作業内容	確認事項	考慮すべき事項
工程全般に関わる事項	標準物質（精度管理試料）	精度管理試料の利用	・ 精度管理試料を利用することにより、実検体の測定結果の品質を担保する必要がある。 ・ 生殖細胞系列バリエーションを解析対象とする場合は、配列既知のリファレンスゲノムを標準物質として使用する（推奨）。 ・ 精度管理試料は、病的バリエーション（SNV、Indel、CNV、融合等）やVAF帯を考慮して選定する。
		精度管理試料の種類	・ 結果既知の変異を導入して人工的に作製したDNA等の市販の精度管理試料や配列既知のリファレンスゲノム等を使用する。
		使用方法	・ アッセイ毎など定期的に必ず実施し、測定結果に問題がないことを確認する。 ・ 定期実施に加え精度管理試料のロット変更時、測定機器更新時、データベースや解析パイプライン等の更新時、測定トラブル発生後にも追加実施する。
	精度管理	日常の精度管理	・ テストフラグメントやコントロールサンプルを用いて、アッセイ毎に精度管理を実施する。
		内部精度管理	・ 精度管理試料を用いてアッセイ毎等、定期的に測定し、測定結果の妥当性を評価するとともに継続的なモニタリングを行う。
		外部（施設間）精度管理	・ CAPサーベイや試薬メーカーとのクロスチェック、検査室間比較プログラム、外部精度管理調査、技能試験等に参加し、測定結果や測定結果の解釈が適正に行われているかについて評価する。 ・ 解析対象領域（体細胞バリエーション/生殖細胞系列バリエーション/造血系腫瘍）ごとに参加可能なプログラムがあることを踏まえ、必要に応じ施設間比較を代替手段として位置付ける。
		作業者の技能チェック	・ 月次で測定担当者に対する技能評価を実施する。 ・ 各種技術認定制度や専門資格の受験や学会・セミナー等の参加により、測定担当者の技能の維持・向上をはかる。
	作業環境	構造設備	・ 作業エリアの十分なスペースの確保や、法定機器の整備、プレ/ポスト PCRエリアの区分け等を行うといった、NGS解析に十分な設備環境を整えることにより、維持・管理を行う。
		コンタミネーション防止	・ 検体毎に作業机の上にあるモバイルを数くなど、コンタミネーション防止に努める。 ・ 作業中は手袋、マスク等を装着し、作業中の会話は必要最小限とする。 ・ 清潔なマイクロピペットを使用する。 ・ DNAse free やRNAse free のフィルター付きチップを使用する（高圧蒸気滅菌は行わない）。
		バイオセーフティ対策 差圧管理 など	・ 安全キャビネットやクリーンベンチの使用、作業エリアの空調管理を徹底することにより、バイオセーフティ対策や差圧管理を行う。
	品質管理	QMS/管理基準書	・ 検体採取から結果報告までの広範囲に渡る一連のプロセスにおいて、品質を担保するための品質マネジメントシステムを構築する。 ・ QMS文書には、変更管理、逸脱管理、不適合管理、CAPA、苦情対応、教育記録、リスクマネジメントなどを含めた形で記載する（推奨）。 ・ 品質維持のための各種管理基準書を作成し、運営する。
	文書管理	各種作業日誌・法定帳票 など	・ 検体受領搬送作業日誌、測定作業日誌、機器保守管理作業日誌、委託検査管理台帳、精度管理台帳、試薬管理台帳、検査結果報告台帳といった法定帳票や、工程管理表等の測定現場に即した帳票等を用いて、記録・保管を実施する。
		測定SOP・機器SOP など	・ 検体搬送や受領、測定の手順や機器の操作手順等に関しては、必ずSOPを作成し、定められた手順にて運用する。
	試薬管理	保管・ロット間差・温度管理 など	・ SOPに定められた手順・頻度にて、試薬管理台帳等を用いて試薬管理を行う。 ・ キット試薬、一般試薬、調製試薬のいずれにおいても、試薬名称、開封日、調製日、ロット等の確認・管理を行う。 ・ ロットが変更になる際にはロット間差の検証を行い、試薬に関する不具合等がないかを確認する。 ・ 新規に使用する測定試薬等については性能評価等の検証を行い、問題ないことを確認のうえ使用する。
	機器管理	検定・保守・メンテナンス など	・ SOPに定められた手順・頻度にて、機器管理を行う。 ・ 測定機器の日々の動作確認やメンテナンス、定期保守点検等、性能確認を行う。 ・ 機器管理には、IQ/OQ/PQ、校正、保守契約、故障時対応、更新時の再妥当性確認を含める。 ・ ピペットやボルテックスミキサー、タイマーといった汎用の機器についても日々の動作確認や校正・検定を行う。
	外部認証	ISO/CAP-LAP/CLIA	・ NGS解析に際しては、検体採取から結果報告までの広範囲に渡り、一連のプロセスにおいて品質を担保することが求められることから、ISO 15189やCAP-LAPといった第三者認定やCLIAの認証を取得し、要求事項を含めた形で品質保証体制を構築することが望ましい。PDCAサイクルを回すことによる品質マネジメントの維持は検査運営においては有用である。 ・ 認証取得の有無にかかわらず、本表に示す要件を満たすことが重要である。
	サイバーセキュリティ	PC/サーバー 管理 など	・ 電子化された情報を取扱うPC・サーバー等へのアクセス制限・管理を行う。 ・ 電子化情報を扱うPCの外部へのアクセス制限やシステム監視を行う。 ・ データのバックアップ体制を構築する。

【参考：NGSを用いた遺伝子解析に関する国内外の状況・動向について】

NGSを用いた遺伝子解析に関する海外の状況については、本邦に先駆けて学会や団体、規制当局など様々な組織からガイドライン、リコメンデーションをはじめとする関連文書が公開・発出されている。以下に示すので、上記と併せてNGS解析を行う際の一助となれば幸いである。なお、本邦における関連文書等については、日衛協「遺伝学的検査受託に関する倫理指針」に記載の「新たに公表された指針・ガイドライン等」を参照されたい。

○米国ニューヨーク州保健局	Oncology – Molecular and Cellular Tumor Markers Next-Generation Sequencing (NGS) guidelines for somatic genetic variant detection (January 2018) https://www.wadsworth.org/sites/default/files/WebDoc/3NextGenSeqONCOGuidelines%2012318.pdf
○米国食品医薬品局（FDA）	Considerations for Design, Development, and Analytical Validation of Next-Generation Sequencing (NGS) – Based In Vitro Diagnostics (IVDs) Intended to Aid in the Diagnosis of Suspected Germline Diseases (April 13, 2018) https://www.fda.gov/media/99208/download Use of Public Human Genetic Variant Databases to Support Clinical Validity for Genetic and Genomic-Based In Vitro Diagnostics (April 13, 2018) https://www.fda.gov/media/99200/download
○米国病理医協会（CAP）	Santani A, et al. Development and Validation of Targeted Next-Generation Sequencing Panels for Detection of Germline Variants in Inherited Diseases. Arch Pathol Lab Med 141: 787–797, 2017 Hegde M, et al. Development and Validation of Clinical Whole-Exome and Whole-Genome Sequencing for Detection of Germline Variants in Inherited Disease. Arch Pathol Lab Med 141: 798–805, 2017 Next-Generation Sequencing (NGS) Worksheets https://www.cap.org/member-resources/precision-medicine/next-generation-sequencing-ngs-worksheets
○米国分子病理学会/米国病理医協会（AMP/CAP）	Jennings LJ, et al. Guidelines for Validation of Next-Generation Sequencing–Based Oncology Panels: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. J Mol Diagn 19: 341–365, 2017 Roy S, et al. Standards and Guidelines for Validating Next-Generation Sequencing Bioinformatics Pipelines. A Joint Recommendation of the Association for Molecular Pathology and the College of American Pathologists. J Mol Diagn 20: 4–27, 2018
○米国分子病理学会/米国臨床腫瘍学会/米国病理医協会（AMP/ASCO/CAP）	Li MM, et al. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. J Mol Diagn 19: 4–23, 2017
○米国臨床遺伝・ゲノム学会（ACMG）	Bean, L. J. H. et al. Diagnostic gene sequencing panels: from design to report—a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet Med 22: 453–461, 2020 Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). Genet Med 22: 245–257, 2020 Rehder C, Bean LJH, Bick D, et al. Next-generation sequencing for constitutional variants in the clinical laboratory, 2021 revision: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet Med 23: 1399–1415, 2021
○欧州人類遺伝学会（ESHG）	Matthijs G, et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. Eur J Hum Genet 24: 2–5, 2016
○欧州臨床腫瘍学会（ESMO）	F. Mosele, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. Ann Oncol 31: 1491–1505, 2020
○カナダ遺伝医学学会（CCMG）	Hume S, et al. CCMG practice guideline: laboratory guidelines for next-generation sequencing. J Med Genet 56: 792–800, 2019
○The not-for-profit Global Alliance for Genomics and Health (GA4GH)	Zook JM, McDaniel J, Olson ND, et al. An open resource for accurately benchmarking small variant and reference calls. Nat Biotechnol 37: 561–566, 2019 Krusche P, Triegg L, Boubros PO, et al. Best practices for benchmarking germline small-variant calls in human genomes. Nat Biotechnol 37: 1–6, 2019 Zook JM, Hansen NF, Olson ND, et al. A robust benchmark for detection of germline large deletions and insertions. Nat Biotechnol 1–9, 2020 Xiao W, Ren L, Chen Z, et al. Toward best practice in cancer mutation detection with whole-genome and whole-exome sequencing. Nat Biotechnol 39: 1141–1150, 2021 Wagner J, Olson ND, Harris L, et al. Curated variation benchmarks for challenging medically relevant autosomal genes. Nat Biotechnol 1–9, 2022

平成30年12月01日 策定
令和03年04月01日 改定
令和06年06月01日 改定
令和08年06月01日 改定