



前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国生化检测标准化技术委员会(SAC/TC 387)提出并归口。

华大基因科技有限公司、中国食品药品检定研究院。

本标准主要起草人：杨旆明、徐迅、蔺慧、章立群、唐同、王旭、谭喜力、谢强、杜佳璇、李倩、李代怡。

高通量基因测序结果评价要求

1 范围

本标准规定了高通量基因测序结果评价要求涉及的术语和定义、高通量基因测序结果评价的评价

指标和判定依据。

本标准适用于非单分子测序的基于 DNA 序列研究的连接酶法测序和聚合酶法测序的结果评价。

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 30989 高通量基因测序技术规程

3 术语和定义及缩略语

3.1 术语和定义

GB/T 30989 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1.1

高通量基因测序结果 high-throughput gene sequencing result

测序仪器所产生的数据结果,又称为测序结果。

3.1.2

测序平均长度 average read length of sequencing

测序仪器单次测序能达到的平均读长。

注:通常以碱基数表示。

3.1.3

测序通量 sequencing throughput

测序仪器单次测序可获得的序列数量。

注:通常以序列数(Reads)表示。

3.1.4

碱基测序准确率 sequencing accuracy

对已知序列的参考品进行测序,经过碱基识别后比对到已知序列上,统计比对正确的碱基数占测序获得的总碱基数比例。

3.1.5

聚合酶法测序 sequencing by synthesis

基于碱基互补原理,在聚合酶参与下的基因测序方法。

3.1.6

3.2 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

DNA——脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid)

PCR——聚合酶链式反应(polymerase chain reaction)

4 高通量基因测序结果评价指标

4.1 评价指标与分类

高通量基因测序过程中参数指标统计与分析,按照测序方法的不同,对高通量基因测序结果评价分为

连接酶法测序评价和聚合酶法测序评价,选择测序通量、碱基测序准确率、测序平均长度这三个能够反映单次测序结果进行评价。

4.2 连接酶法测序结果评价要求

连接酶法测序结果评价如表 1 所示。

表 1 连接酶法测序结果评价要求

评价指标	要求
------	----

5.2 碱基测序准确率

对已知序列的参考品进行测序,经过碱基识别后比对到已知序列上,统计比对正确的碱基数占测序获得的总碱基数比例,通常以百分数表示。

5.3 测序平均长度

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。

6 结果评价程序

测序仪输出序列信息后,统计测序通量和测序平均长度,并对测序过程中加入的测序参考品进行分

析,将测序参考品得到的原始序列比对到参考品的标准基因组序列,统计基于碱基(base)测序准确率。测序数据处理标准流程如图 1 所示,处理完成后输出碱基测序准确率指标。测序参考品的测序过程,参见附录 A。

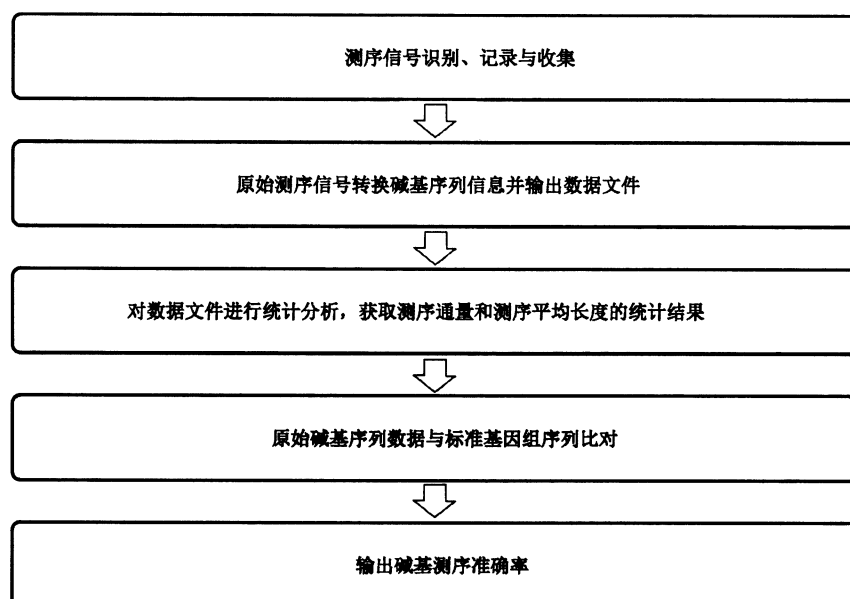


图 1 高通量基因测序仪测序数据处理流程图

附 录 A
(资料性附录)
测序参考品测序过程

A.1 测序参考品的选择

测序参考品的选择通则:宜采用来源稳定、溯源信息完备和参考序列信息已知的核酸样本,样例如表 A.1 所示。

表 A.1 国家药品标准物质参考品样例

品种编号	品种名称	成分序号	成分名称	来源
360007	测序仪性能 评价用脱氧 核糖核酸国	1	人全基因组 DNA	正常男性外周血白细胞构建永生细胞系
		2	大肠杆菌基因组 DNA	DH5 α 感受态培养细胞
		3	高 GC 含量细菌基因组 DNA	人肠道中分离筛选鉴定后培养厌氧菌

A.2 参考品测序流程

有短序列标签结构的文库或者标签文库。

A.2.2.4 文库扩增

将接头连接后的文库进行扩增放大得到待测序文库或者标签文库。

A.2.3 待测序基因文库质量控制

将待测序文库或者标签文库进行质量控制检测。宜按照 SN/T 2497.21 方法或者 Q-PCR 方法进行文库质控,建库过程中宜设置阴性对照与阳性对照。

A.2.4 测序

按照测序仪厂商提供的标准测序流程进行测序操作。

参 考 文 献

- [1] SN/T 2497 2.1 进出口危险化学品安全试验方法 第 21 部分, 琼脂糖凝胶电泳试验

中华人民共和国
国家标准
高通量基因测序结果评价要求
GB/T 35537—2017

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

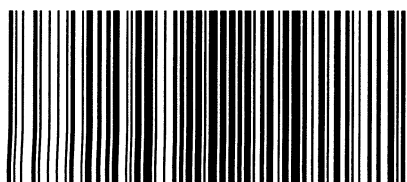
*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 14 千字
2017年12月第一版 2017年12月第一次印刷

*

书号: 155066·1-59198 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



GB/T 35537-2017