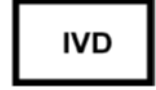


모델명: SGSAA1

[사용설명서]



체외 제허- 20-297 호

SPMED™ Genotyping Kit

: CYP2D6

본 제품은 체외진단 의료기기임

제조사	(주) 에스피메드		
주소	(46508) 부산광역시 북구 효열로 111 611, 612호 (금곡동, 부산지식산업센터)		
대표전화	(051) 362-1101	FAX	(051) 361-1102
E-mail	help@spmed.kr	홈페이지	www.spmed.kr

목 차

1. 개요.....	4
2. 사용목적.....	4
3. 검사 원리.....	5
4. 제품의 구성.....	7
5. 보관 및 취급방법.....	7
6. 검사 전 준비사항 (별도 준비 시약 및 장비).....	9
7. 제품의 특징.....	11
8. 사용 시 주의사항 -.....	13
9. 제품보증 및 책임사항.....	15
10. 안전경고 및 응급조치 요령.....	15
11. 사용방법.....	16
12. 결과분석.....	20
13. 참고문헌.....	30
14. 심볼정보.....	31

* 사용 전 반드시 사용설명서에 있는 모든 내용들을 정독 후 사용하시기 바랍니다.

1. 개요

CYP2D6 유전자는 22 번 염색체에 위치하며, Cytochrome P450 군에 속합니다. CYP2D6 는 정신과, 마취과, 중양내·외과, 순환기 내과, 감염 질환 등에서 널리 사용되고 있는 Amitriptyline, Atomoxetine, Clozapine, Risperidone 등의 약물의 대사에 관여하며, CYP2D6 유전자검사는 해당 약물의 처방 전·후에 약물의 선택 및 용량 조절 등에 도움을 줍니다. 본 검사는 인체 내 약의 작용과 관련된 유전자 (약물유전자)를 검사하여 약의 효과와 용량 예측 및 질병예방을 할 수 있도록 개개인 최적의 맞춤형치료를 위한 검사입니다.

2. 사용목적

본 제품은 사람의 전혈에서 추출한 핵산(DNA)으로부터 CYP2D6 의 100C>T, 1023C>T, 1611T>A, 1707delT, 1758G>A, 1846G>A, 1887insTA, 2549delA, 2573_2574insC, 2615_2617delAAG, 2850C>T, 2988G>A, 3183G>A, 3877G>A, 4125_4133dup GTGCCACT, 결손(Deletion), 중복(Duplication)을 단일염기확장법(Single Base Extension, SBE)으로 정성하는데 도움을 주는 체외진단용 의료기기입니다.

3. 검사 원리

3.1 제품의 배경 (개발배경)

약물반응에 대한 개인적 차이의 원인 중 하나는 유전적 요소에 기인하는 것으로 알려져 있고, 표준약물치료 (standard pharmacotherapy)에도 불구하고 그 효과를 얻지 못하거나 이상약물반응을 겪는 등 개인마다 그 효과가 다르게 나타나기도 합니다. 최근 약물 유전학의 급속한 발전으로 유전자 검사를 통한 개인 맞춤형 약물 처방이 가능해지고 있습니다. 현재 요구되고 있는 약물유전자 검사는 안정성과 유효성을 확보해 각 개인 환자들에게 최적의 약물치료법을 적용하고 의약품 개발에 유용한 정보를 제공할 수 있습니다. CYP2D6 유전자는 22번 염색체에 위치하며, Cytochrome P450군에 속합니다. CYP2D6 유전자검사는 정신과, 마취과, 중양내·외과, 순환기 내과, 감염 질환 등에서 널리 사용되고 있는 Amitriptyline, Atomoxetine, Clozapine, Risperidone 등의 약물 처방 전 후에 약물의 선택 및 용량 조절, 심각한 부작용을 예측·예방하는데 도움을 줍니다. 본 검사는 인체 내 약의 작용과 관련된 유전자(약물유전자)를 검사하여 약의 효과와 용량 예측 및 질병예방을 할 수 있도록 개개인 최적의 맞춤형약물치료를 위한 검사입니다.

3.2 제품의 구성 및 작용 원리

본 제품은 CYP2D6의 17가지 돌연변이의 특이 염기서열을 증폭 및 분석하여 CYP2D6 돌연변이의 존재 유무와 특정 핵산 서열을 확인함으로써 유전형을 결정하기 위해 제작되었습니다. CYP2D6 specific primer로 유전자를 증폭한 후, CYP2D6의 특정 SNP를 검출하기 위한 100C>T, 1023C>T, 1611T>A, 1707delT, 1758G>A, 1846G>A, 1887insTA, 2549delA, 2573_2574insC, 2615_2617delAAG, 2850C>T, 2988G>A, 3183G>A, 3877G>A, 4125_4133dup GTGCCCAT, 결손(Deletion), 중복(Duplication) 특이적인 primer를 사용하여 SNaPshot 반응을 수행합니다. SNaPshot 반응을 통해 얻은 산물의 SNP를 피크로 확인할 수 있으며, 각 피크의 색깔로 SNP의 변이를 확인할 수 있습니다. 본 제품은 Single-base extension (SBE, 단일염기확장법)의 검사 원리를 사용하며, 증폭된 CYP2D6 산물, ddNTP를 포함한 형광물질, 돌연변이 직전까지로 제작된 프라이머가 결합하여 피크 형태로 돌연변이를 확인할 수 있는 정성분석 체외진단용 의료기기입니다. CYP2D6 돌연변이 유무는 제품에 포함된 Wild Type DNA의 분석 결과에 근거하여 결정됩니다. CYP2D6의 돌연변이를 보유한 샘플은 Wild Type DNA와 비교하여 뚜렷한 색깔 및 높이의 차이가 있는 피크를 보여, CYP2D6의 돌연변이를 정확하게 검출할 수 있습니다. CYP2D6 돌연변이 확인은 CYP2D6에 의해 대사되는 약물의 선택, 용량 조절 등에 도움을 줄 수 있습니다.

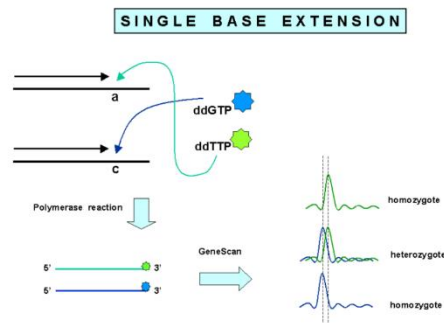
본 제품을 이용한 PCR은 구성품 중 하나인 2X PCR Amplification Mix와 3가지 프라이머 (APM1, APM2, APM3)로 진행되며, 94°C에서 human genomic DNA 이중 가닥을 분리 후 64°C에서 CYP2D6 specific primer 3종류를 사용하여 유전자를 증폭시킵니다. 그리고 구성품 중 하나인 SNaPshot Multiplex Reagent와 CYP2D6 100C>T, 1023C>T, 1611T>A, 1707delT, 1758G>A, 1846G>A, 1887insTA, 2549delA, 2573_2574insC, 2615_2617delAAG, 2850C>T, 2988G>A, 3183G>A, 3877G>A, 4125_4133dupGTGCCCAT, 결손(Deletion), 중복(Duplication) 특이적인 SNaPshot primer (SPM1, SPM2)를 이용하여 SNaPshot 반응을 진행합니다. 반응이 끝난 산물을 genetic analyzer (sequencer) 로 분석하면 형광 표지된 각 SNP를 피크로 확인할 수 있습니다.

표1 CYP2D6 SNP detected by SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6

No.	CYP2D6 SNP	
	SPM1	SPM2
1	100C>T	1023C>T
2	1611T>A	1707delT
3	1758G>A	1846G>A
4	1887insTA	2549delA
5	2573_2574insC	2615_2617delAAG
6	2850C>T	3183G>A
7	2988G>A	Duplication
8	3877G>A	
9	4125_4133dupGTGCCCACT	
10	Deletion	

* 단일염기확장법

단일염기확장법(Single-base extension, SBE)은 SNaPshot 방법으로 불리며 한번에 다수의 돌연변이를 검사하기 위해 이용하는 방법이다. 단일염기확장법은 돌연변이 바로 앞까지 프라이머를 제작하여 돌연변이의 상보적인 부위에 결합시키고, 한 개의 염기만 확장하여 형광 표지, 질량 표지로 유전자 검사를 하는 방법이다. 기타 Sequencing 등의 유전자 검사 방법에 비해 실험에 소요되는 비용이 적고 다수의 돌연변이를 다중검사 할 수 있다는 장점이 있다.



4. 제품의 구성

No.	명칭	구성	용량	수량
1	2X PCR Amplification Mix	DNA를 증폭시킬 수 있는 중합효소	800 μ l	1EA
2	CYP2D6 Amplification Primer Mix 1	CYP2D6 유전자를 증폭하기 위한 올리고머	100 μ l	1EA
3	CYP2D6 Amplification Primer Mix 2	CYP2D6 유전자를 증폭하기 위한 올리고머	100 μ l	1EA
4	CYP2D6 Amplification Primer Mix 3	CYP2D6 유전자를 증폭하기 위한 올리고머	100 μ l	1EA
5	SNaPshot Multiplex Reagent	CYP2D6의 SNP을 증폭하기 위한 중합효소	50 μ l	1EA
6	CYP2D6 SNaPshot Primer Mix 1	CYP2D6 유전자 변이를 검출하기 위한 올리고머	25 μ l	1EA
7	CYP2D6 SNaPshot Primer Mix 2	CYP2D6 유전자 변이를 검출하기 위한 올리고머	25 μ l	1EA
8	Wild Type DNA	야생형 DNA를 포함한 시약	100 μ l	1EA
9	Nuclease Free Water	멸균 증류수	1ml	1EA

5. 보관 및 취급방법

- 5.1 SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6는 자외선 또는 태양광을 피한 -25°C ~ -15°C의 온도에서 냉동 보관해야 하며, 모든 구성품은 유효기간까지 아래의 보관조건에 따라 저장되었을 경우에만 안정성을 보증합니다.
- 5.2 제품의 유효기간은 개봉 전 제조일로부터 12개월이며, 각 구성품은 개봉일로부터 6개월 이내에 사용하여야 합니다. 유효기간이 지난 제품은 사용하지 않는 것을 권장합니다.
- 5.3 제품의 냉·해동은 5회를 초과하지 마십시오. 제품의 냉동과 해동이 반복되면 효소 활성 저하 등의 제품 품질에 이상이 생길 수 있으므로 자주 사용할 경우 일정 양을 분주하여 보관 및 사용하십시오.
- 5.4 고온, 다습한 장소는 피하고 외부와의 출입이 차단될 수 있는 곳에서 보관하여야 합니다.
- 5.5 화학약품이나 기타 이물질이 혼입되는 장소는 피합니다.
- 5.6 운송상의 문제 등으로 제품 포장에 손상이 되었을 경우에는 대리점에 연락하여 문제를 해결하시기 바랍니다.

5.7 사용기한

No	구성품	개봉여부	저장방법	유효기간
1	2X PCR Amplification Mix	미개봉	-25~ -15°C	제조일로부터 12개월
		개봉		개봉 후 6개월
2	CYP2D6 Amplification Primer Mix 1	미개봉	-25~ -15°C	제조일로부터 12개월
		개봉		개봉 후 6개월
3	CYP2D6 Amplification Primer Mix 2	미개봉	-25~ -15°C	제조일로부터 12개월
		개봉		개봉 후 6개월
4	CYP2D6 Amplification Primer Mix 3	미개봉	-25~ -15°C	제조일로부터 12개월
		개봉		개봉 후 6개월
5	SNaPshot Multiplex Reagent	미개봉	-25~ -15°C	제조일로부터 12개월
		개봉		개봉 후 6개월
6	CYP2D6 SNaPshot Primer Mix 1	미개봉	-25~ -15°C	제조일로부터 12개월
		개봉		개봉 후 6개월
7	CYP2D6 SNaPshot Primer Mix 2	미개봉	-25~ -15°C	제조일로부터 12개월
		개봉		개봉 후 6개월
8	Wild Type DNA	미개봉	-25~ -15°C	제조일로부터 12개월
		개봉		개봉 후 6개월
9	Nuclease Free Water	미개봉	-25~ -15°C	제조일로부터 12개월
		개봉		개봉 후 6개월

6. 검사 전 준비사항 (별도 준비 시약 및 장비)

6.1 유전자 추출시약

No.	시약	허가번호	제조사
1	QIAamp DSP DNA Mini Kit	서울 수신 14-251 호	QIAGEN

6.2 유전자증폭장비

No.	장비	허가번호	제조사
1	Veriti 96-Well Thermal Cycler	수허 12-258 호	Applied Biosystems

6.3 전기영동

No.	시약
1	Agarose
2	0.5X TAE 또는 TBE buffer
3	1kb DNA ladder marker

6.4 Clean Up 효소

No.	시약	Cat.No.	제조사
1	ExoSAP-IT	78201	Applied Biosystems
2	Shrimp Alkaline Phosphatase	783901000UN	Applied Biosystems

6.5 SNaPshot 반응

No.	시약	조성
1	1/2 term buffer	200mM Tris-HCl, 5Mm MgCl ₂ , pH9.0

6.6 염기서열분석 시약

No.	시약	Cat.No.	제조사
1	GeneScan™ 120 LIZ™ Size Standard	4324287	Applied Biosystems
2	Hi-Di™ Formamide	4311320	Applied Biosystems
3	Cathode Buffer Container 3500 Series each	4408256	Applied Biosystems
4	Anode Buffer Container 3500 Series each	4393927	Applied Biosystems
5	Conditioning Reagent 3500 Series each	4393718	Applied Biosystems
6	POP-7™ Polymer 3500 series each	4393714	Applied Biosystems
7	3500 Genetic Analyzer 8-Capillary Array, 50 cm	4404685	Applied Biosystems
8	96-well Plate Septa	4315933	Applied Biosystems

6.7 염기서열분석기 및 결과분석 소프트웨어

No.	장비	허가번호	제조사
1	3500Dx Genetic Analyzer	수허 15-482 호	Applied Biosystems
2	GeneMapper® Software	Version 5 권장	Applied Biosystems

6.8 장비 및 소모품

No.	장비
1	Pipettes
2	Vortex
3	Centrifuge
4	PCR tube 및 cap
5	Gel tray 및 전기영동장치
6	Gel documentation 장비

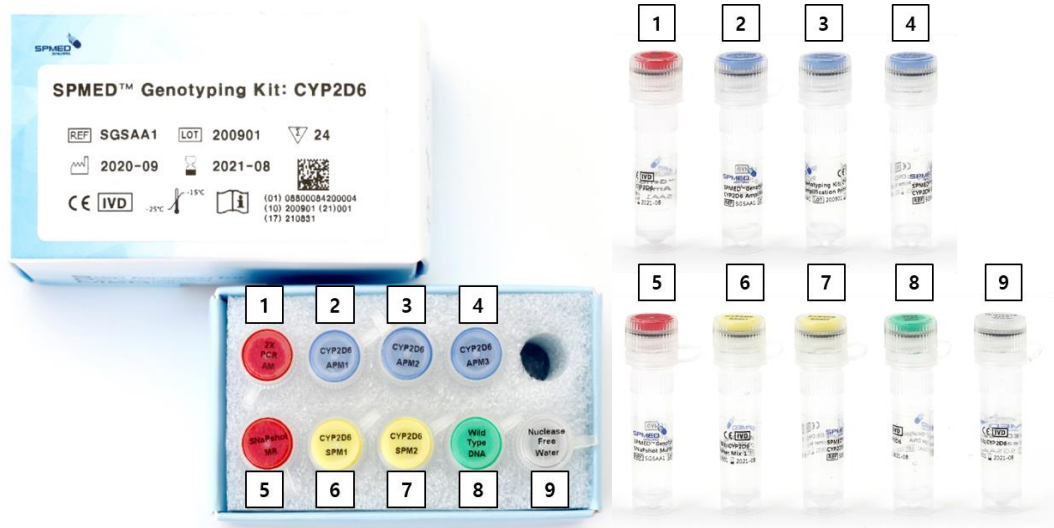
6.9 본 제품은 해당 유전자 추출시약 (QIAGEN, QIAamp DSP DNA Mini Kit (서울 수신 14-251호), Thermocycler (Applied Biosystems, Veriti 96-Well Thermal Cycler (수허12-258호)) 및 sequencer (Applied Biosystems 3500Dx Genetic Analyzer (수허 15-482호)) 장비 및 결과분석 소프트웨어 (Applied Biosystems, GeneMapper® Software Version 5)를 사용하여 개발되었습니다. 개발된 조건으로 사용하기를 권장하며, 기타 제품 및 조건의 경우 사용자 별도의 검증이 필요합니다.

6.10 시약의 성능과 판정에 영향을 줄 수 있는 기기

No.	기기	목적
1	Applied Biosystems 3500Dx Genetic Analyzer	본 제품을 통하여 얻어진 산물을 이용하여 염기서열분석을 구동하게 하는 장비
2	Applied Biosystems GeneMapper® Software Version 5	검사결과를 통해 각 유전자의 유전형을 결정하는데 도움을 주는 소프트웨어

7. 제품의 특징

7.1 외관사진



7.2 세부구성

일련 번호	명칭	세부구성	외관상 특징
1	2X PCR Amplification Mix	DNA를 증폭시킬 수 있는 중합효소	투명한 2ml의 플라스틱 튜브에 담겨 있는 무색 무취의 액체 (빨간색 뚜껑)
2	CYP2D6 Amplification Primer Mix 1	CYP2D6 유전자를 증폭하기 위한 올리고머	투명한 2ml의 플라스틱 튜브에 담겨 있는 무색 무취의 액체 (파란색 뚜껑)
3	CYP2D6 Amplification Primer Mix 2	CYP2D6 유전자를 증폭하기 위한 올리고머	투명한 2ml의 플라스틱 튜브에 담겨 있는 무색 무취의 액체 (파란색 뚜껑)
4	CYP2D6 Amplification Primer Mix 3	CYP2D6 유전자를 증폭하기 위한 올리고머	투명한 2ml의 플라스틱 튜브에 담겨 있는 무색 무취의 액체 (파란색 뚜껑)
5	SNaPshot Multiplex Reagent	CYP2D6의 SNP를 증폭하기 위한 올리고머와 중합효소	투명한 2ml의 플라스틱 튜브에 담겨 있는 분홍색 무취의 액체 (빨간색 뚜껑)
6	CYP2D6 SNaPshot Primer Mix 1	CYP2D6 유전자 변이를 검출하기 위한 올리고머	투명한 2ml의 플라스틱 튜브에 담겨 있는 무색 무취의 액체 (노란색 뚜껑)
7	CYP2D6 SNaPshot Primer Mix 2	CYP2D6 유전자 변이를 검출하기 위한 올리고머	투명한 2ml의 플라스틱 튜브에 담겨 있는 무색 무취의 액체 (노란색 뚜껑)
8	Wild Type DNA	야생형 DNA를 포함한 시약	투명한 2ml의 플라스틱 튜브에 담겨 있는 무색 무취의 액체 (초록색 뚜껑)
9	Nuclease Free Water	멸균 증류수	투명한 2ml의 플라스틱 튜브에 담겨 있는 무색 무취의 액체(무색 뚜껑)

7.3 성능

번호	항목	시험 방법 및 결과
1	분석적 민감도 (최소검출한계)	SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6의 최소검출한계 (Limit of Detection, LoD)를 측정하기 위하여 17개의 표준물질을 농도별 5단계로 희석하여, CYP2D6 돌연변이를 21회 이상 반복하여 시험 결과 95% 이상을 양성으로 판정할 수 있는 검체량을 확인한 결과 SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6의 최소 검출한계는 100ng/reaction으로 확인되었다.
2	분석적 민감도 (판정기준치)	SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6의 판정기준치 (Cut-off Value)를 측정하기 위하여 17개의 표준물질을 농도별 5단계로 희석하여 CYP2D6 돌연변이 17종을 각 276회 반복 검사한 결과, 최소검출한계 (LoD)로 확인된 100ng/reaction에서 CYP2D6 돌연변이 17종의 결과가 미리 설정한 판정기준치인 피크 범위, 피크 색깔, 피크 높이 기준과 일치하며 CYP2D6 SNP 별 분석결과가 100% 일치하였으므로 판정기준치가 적합한 것으로 확인되었다.
3	정확도 (일치도)	SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6의 정확도를 측정하기 위하여 CYP2D6 돌연변이 17종을 포함하는 17개의 표준물질을 이용하여 SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6 검사 결과와 참고방법으로 gold standard 염기서열분석법인 sanger sequencing으로 검사한 결과를 비교하였다. 참고방법과 유전형 분석 결과를 비교한 결과 SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6의 100% 정확도(일치도)를 확인하였다.
4	분석적 특이도 (교차반응)	SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6의 분석 특이도(교차반응)를 측정하기 위하여 CYP2D6 wild type 표준물질과 11종의 병원성 세균 및 바이러스 핵산 등의 교차물질을 이용하여 확인한 결과, SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6는, 교차물질의 영향이 없는 것으로 확인되었다.
5	분석적 특이도 (간섭반응)	SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6의 분석 특이도(간섭반응)를 측정하기 위하여 sequencing으로 유전형을 확인한 2개의 표준물질과 6종의 내/외인성 간섭물질을 이용하여 확인한 결과, SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6는 간섭물질의 영향이 없는 것으로 확인되었다.
6	정밀도 (반복성)	SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6의 정밀도(반복성)를 확인하기 위하여 3개의 농도로 희석한 CYP2D6 wild type 표준물질을 이용하여 정해진 조건으로 반복 측정 한 결과 SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6의 정밀도(반복성)는 100%임을 확인하였다.
7	정밀도 (재현성)	SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6의 정밀도(재현성)를 확인하기 위하여 CYP2D6 wild type 표준물질을 이용하여 2개의 검사실 간의 정밀도를 비교하였고, 검사실 내 2명의 검사자 간의 정밀도를 측정하였다. 정해진 조건으로 시험한 결과 SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6의 정밀도(재현성)는 100%를 보였다.
8	임상적 민감도/특이도	인체유래물은행에서 분양 받은 276개의 검체로 SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6의 임상적 유효성(민감도, 특이도)을 평가하였다. 276개의 CYP2D6 wild, heterozygote, homozygote mutant type의 검체를 대상으로 SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6를 사용하여 임상적 유효성 평가를 실시하였고, gold standard 염기서열분석(sequencing), CYP2D6 deletion 확인을 위한 allele specific PCR (ASP), CYP2D6 duplication을 확인하기 위한 restriction fragment length polymorphism (RFLP) 검사 결과와 비교하여 임상적 민감도, 특이도를 측정하였다. 측정된 결과 SPMED™ Genotyping Kit: CYP2D6의 임상적 민감도(양성 일치율)와 특이도(음성 일치율)는 100%를 보였다.



8. 사용 시 주의사항

8.1 일반적 주의사항

- 8.1.1 본 제품은 반드시 체외진단용으로만 사용하며, 이외의 목적으로 사용하지 않도록 합니다.
- 8.1.2 검사용 시약은 열 뿐만 아니라 습기에 민감하므로 사용 직전에 개봉하고, 개봉 후 즉시 사용합니다.
- 8.1.3 미개봉 제품은 냉동조건 (-25~-15°C)에서 12개월, 개봉 제품은 냉동조건 (-25~-15°C)에서 6개월까지 안정하므로, 이를 초과하여 사용하지 않는다.
- 8.1.4 제품의 냉.해동 반복 횟수는 5회를 초과하지 않도록 한다. 필요할 경우 시약을 분주하여 보관하도록 한다.
- 8.1.5 제품의 유효기간은 패키지 겉면에 표기되어 있으며 유효 기간이 경과한 제품은 사용하지 않는다.
- 8.1.6 패키지가 파손되었거나 밀봉이 벗겨진 경우 사용하지 않는다.
- 8.1.7 사용되는 시약은 직사광선에 노출되지 않도록 유의하고, 저장방법에 따라 보관한다.
- 8.1.8 시약의 사용은 본 사용설명서에 기재된 사용방법에 따라 사용하며, 기재된 사용방법 및 사용목적 이외의 사용에 대해서는 측정치의 신뢰성을 보장할 수 없다.
- 8.1.9 시험에 사용하는 검체의 냉.해동 반복 횟수는 전혈 (whole blood)의 경우 3회, DNA의 경우 5회를 초과하지 않도록 한다.
- 8.1.10 시험에 사용되는 검체 (전혈, DNA)는 냉동조건 (-25~-15°C)에서 12개월까지 보관이 가능하다.
- 8.1.11 반드시 숙련된 전문가가 제품 설명서를 숙지한 후 검사를 진행해야 정확한 결과를 얻을 수 있다.
- 8.1.12 본 제품은 CYP2D6 유전형 검사를 통해 CYP2D6에 의해 대사되는 약물의 선택, 용량 조절에 도움을 주는 체외진단용 의료기기로, 본 시험 결과만으로 진단할 수는 없으며, 측정결과에 근거한 임상판단은 다른 검사결과와 함께 전문의의 판단에 의하여 최종 진단을 내려야 한다.

8.2 사용자 주의사항

- 8.2.1 교차 오염에 의한 잘못된 검사 결과를 방지하기 위해 각 검체마다 일회용 피펫 팁을 교체하여 사용한다.
- 8.2.2 검체를 취급할 때 음식물 섭취나 흡연을 하지 않는다.
- 8.2.3 시약이나 검체가 주변에 튀지 않도록 주의한다.
- 8.2.4 검체나 시약을 흘린 경우, 적절한 살균제(소독제)를 사용하여 깨끗이 닦아낸다.
- 8.2.5 다른 검체와 혼합하여 사용하지 않는다.
- 8.2.6 검체를 다룰 때에는 보호용 장갑을 착용하도록 하고, 취급 후에는 손을 깨끗하게 씻도록 한다
- 8.2.7 시험 종료 후 사용했던 검체 또는 오염 가능한 물질은 감염성 폐기함에 수거하여 폐기한다.
- 8.2.8 인간 유래물질을 포함하는 검체는 감염의 가능성이 있으므로 각 지역의 법적 요구사항에 따라 의료 폐기물로 처리한다.

- 8.2.9 샘플 및 시약으로 작업을 할 때는 항상 보편적인 안전 예방법을 따른다.
- 8.2.10 혈액 유래 물질을 포함하는 모든 제품은 감염원으로 취급하여 조심스럽게 다룬다. 알려지지 않은 테스트나 방법은 인간 혈액 유래물질에 의해 감염 요소를 전달하지 않는지 확인해야 한다.
- 8.2.11 키트 구성 요소는 자극의 원인이 될 수 있으므로 눈 피부 옷 등에 접촉되지 않도록 한다.
- 8.2.12 시약이 잘못하여 눈이나 입, 피부에 닿은 경우에는 즉시 흐르는 물로 충분히 씻어내고 필요한 경우 의사의 치료를 받는다.
- 8.2.13 테스트가 끝난 후 즉시 작업 공간뿐만 아니라 오염된 곳을 주의하여 청소한다.
- 8.2.14 결과는 돌연변이의 식별을 위해서만 사용할 수 있으며, 임상 의사의 판단 하에 환자의 임상적 상황을 고려하여 적절히 활용할 수 있다.

8.3 실험실 안전 주의사항

8.3.1 기본적인 수칙

- 8.3.1.1 실험대, 후드, 안전 통로 등은 항상 깨끗하게 유지한다. 또한 실험대는 항상 잘 정비되어 있는지 확인한다.
- 8.3.1.2 위험화학물질은 절대 벽장, 후드, 냉장고에 보관하지 않으며, 안전 캐비닛에 보관하도록 한다.
- 8.3.1.3 유해물질이 누출되었을 경우, 싱크대나 일반쓰레기통에 버리지 않도록 하며 폐액 수거용기에 안전하게 버리도록 한다.
- 8.3.1.4 실험실의 전반적인 구조를 숙지하고 비상시 대피로를 확인한다.
- 8.3.1.5 소화기는 눈에 잘 띄는 위치에 비치하고, 사용법을 숙지한다.
- 8.3.1.6 응급장비를 갖추도록 한다. (비상 샤워시설, 눈세척기, 구급함, 소화기)
- 8.3.1.7 비상 대피 시 안전지대로 대피하여야 하며, 뜨거운 열기나 연기가 나오는 문을 닫고 비상 출구로 이용할 수 있는 문은 개방하여야 한다. 만약 연기가 찬 통로를 지나가야 할 때 좀 더 깨끗하고 시원한 공기가 있는 바닥에 낮은 자세로 기어서 가며, 엘리베이터를 사용하지 않도록 한다.

8.3.2 실험실 종사자 안전수칙

- 8.3.2.1 유해물질, 방사선물질 등을 취급하는 실험실에서는 실험복, 보안경, 보호장갑, 마스크 등을 착용하도록 한다.
- 8.3.2.2 유해물질 등 시약은 절대로 입에 대거나 냄새를 맡지 말아야 하며, 절대로 입으로 피펫을 빨면 안된다.
- 8.3.2.3 유해물질을 취급할 때에는 후드 내에서 실시한다.
- 8.3.2.4 음식물을 실험실 내 시약 저장 냉장고에 보관하지 말고, 또한 실험실 내에서는 음식물 섭취를 금한다.
- 8.3.2.5 실험실에서는 반드시 앞쪽이 막혀 있는 신발을 착용하고 가급적 바지를 입고 실험하도록 한다.
- 8.3.2.6 실험실에서 나갈 때는 비누로 손을 씻는다.
- 8.3.2.7 실험장비는 사용법을 확실히 숙지한 상태에서 작동시킨다.
- 8.3.2.8 위험한 실험을 하는 경우에는 반드시 2인 이상이 실험실에 있을 경우만 수행한다.
- 8.3.2.9 안전을 위하여 실험실 내에서 화장품 사용 및 콘택트렌즈 사용을 자제한다.

8.3.2.10 주위 사람들의 안전에 대해서도 고려한다.

8.3.2.11 불안정한 행동을 하는 사람이 있을 경우 안전한 행동을 하도록 주지시켜야 한다.

8.3.2.12 화재 또는 사고 시에는 주위 사람에게 알리도록 한다.

9. 제품보증 및 책임사항

9.1 당사는 제품의 유효기간 내 사용된 제품에 대해 제품의 품질을 보증하며, 이는 제조일로부터 12개월이며, 각 구성품은 개봉 후 6개월 이내 사용하여야 합니다.

9.2 사용설명서 지침에 따라 제품을 사용하였을 경우에만 제품 성능 결과를 보증하며, 본 제품의 사용목적 이외의 용도로는 사용하지 않아야 합니다.

9.3 실험자의 잘못된 사용이나 부주의로 인해 문제가 발생하였을 경우에는 교환이 되지 않습니다.

9.4 당사는 본 사용설명서에 제시된 사용법과 다른 방법을 사용하여 발생한 문제에 대해서는 책임을 지지 않습니다. 효율적인 시장보고 및 처리를 위하여 고객은 문제가 발생한 날로부터 30일 이내에 당사에 문제점에 대해 상세하게 전달하여야 합니다.

9.5 제품의 냉·해동 반복은 5회를 초과하여 사용하지 마십시오.

10. 안전경고 및 응급조치 요령

10.1 눈, 호흡기, 피부 접촉을 피하여야 합니다.

10.2 눈에 들어갔을 때는 흐르는 물로 눈을 씻어내야 하며, 자극이 지속되면 의사의 진료를 받아야 합니다.

10.3 피부에 접촉했을 때는 접촉된 부위를 비누와 물로 충분히 씻어내야 하며, 자극이 지속되면 의사의 진료를 받아야 합니다.

11. 사용방법

11.1 검체의 준비 및 보관

11.1.1 검체 준비

11.1.1.1 전혈의 경우 항응고제(EDTA 또는 heparin)가 포함되어 있는 튜브에 혈액을 채혈한 다음 항응고제와 혈액이 충분히 섞이도록 하여 혈액의 응고를 방지합니다.

11.1.1.2 핵산(DNA)의 추출은 상용화된 DNA 추출 키트를 사용하여, 아래에 표기된 키트의 사용을 권장합니다. 추출 방법은 제조사의 사용설명서를 참고합니다.

No.	시약	허가번호	제조사
1	QIAamp DSP DNA Mini Kit	서울 수신 14-251 호	QIAGEN

11.1.1.3 DNA 추출 키트와 추출 방법에 따라 DNA의 수율이 달라질 수 있으며, 이로 인해 시험 결과에 영향을 미칠 수 있습니다.

11.1.2 검체 보관

11.1.2.1 검체를 당일 사용하지 않을 경우에는 적절한 양으로 분주하여 시험 전까지 냉동(-25~-15°C) 조건에서 보관하여야 합니다.

11.1.2.2 단, 12개월을 초과하여 보관하지 않습니다.

11.1.2.3 검체의 냉·해동하여야 할 경우, 전혈은 3회, DNA는 5회를 초과하지 않도록 제한하며, 빈번하게 사용될 경우 적정량을 분주하여 사용하는 것을 권장합니다.

11.2 제품을 이용한 시험방법

11.2.1 증폭

11.2.1.1 다음과 같이 20 μ l의 혼합액을 만든다

PCR	조성	용량
CYP2D6 Amplification Primer Mix 1	Genomic DNA	100ng
	2X PCR Amplification Mix	10 μ l
	CYP2D6 Amplification Primer Mix 1	4 μ l
	Nuclease Free Water	적량
	총량	20μl
CYP2D6 Amplification Primer Mix 2	Genomic DNA	100ng
	2X PCR Amplification Mix	10 μ l
	CYP2D6 Amplification Primer Mix 2	4 μ l
	Nuclease Free Water	적량
	총량	20μl
CYP2D6 Amplification Primer Mix 3	Genomic DNA	100ng
	2X PCR Amplification Mix	10 μ l
	CYP2D6 Amplification Primer Mix 3	4 μ l
	Nuclease Free Water	적량
	총량	20μl

11.2.1.2 만들어진 혼합액은 1~2초간 Spin Down 후, 2~3초간 Vortex 하여, 5초간 Spin Down 한다.

11.2.1.3 PCR은 아래의 온도 조건으로 행한다.

PCR 조건	
(1) Initial denaturation: 94°C, 5분 (2) Denaturation: 98°C, 20초 (3) Annealing: 64°C, 30초 (4) Extension: 72°C, 3분 (5) Final extension: 72°C, 5분	(2)번에서 (4)번 과정은 35cycle 반복한다.

11.2.1.4 완료된 PCR 산물은 즉시 전기영동하여 확인하거나, 전기영동 시행 시까지 일주일 미만일 경우 2~8°C, 일주일 이상일 경우 -25~-15°C에 보관한다.

11.2.2 전기영동

11.2.2.1 CYP2D6 Amplification Primer 1-3의 PCR 산물은 1% agarose gel에 전기영동한다. 전기영동은 기기 제조사의 권장사항에 따른다.

11.2.2.2 Ethidium Bromide 최종 농도가 0.5 μ g/ml로 되게 하여 agarose gel을 염색시킨다.

11.2.2.3 전기영동 완충용액은 agarose Gel을 만든 완충용액과 동일하게 사용한다.

11.2.2.4 각 PCR 산물은 적절한 양의 6x loading dye와 섞어 agarose Gel에 넣는다.

11.2.2.5 전기영동은 전체 agarose Gel의 하단 2/3 부위에 아래 loading Dye (Two Dye System)가 위치할 때까지 한다.

11.2.2.6 전기영동이 완료되면 UV transilluminator로 positive control DNA로 증폭한 PCR 산물과 비교 확인한다. 각 밴드는 Wild Type DNA로 증폭한 PCR 산물과 동일한 사이즈, 90% 이상 유사한 굵기여야 한다.

11.2.3 PCR Clean Up

11.2.3.1 다음과 같이 7.5 μ l의 혼합액을 만든다.

PCR 산물	조성	총량
CYP2D6 APM1, APM2의 PCR 산물 (for CYP2D6 SPM 1)	Exo-SAP IT	2.5 μ l
	CYP2D6 APM1 PCR 산물	2 μ l
	CYP2D6 APM2 PCR 산물	3 μ l
	총량	7.5μl
CYP2D6 APM1, APM3의 PCR 산물 (for CYP2D6 SPM 2)	Exo-SAP IT	2.5 μ l
	CYP2D6 APM1 PCR 산물	2 μ l
	CYP2D6 APM3 PCR 산물	3 μ l
	총량	7.5μl

11.2.3.2 만들어진 혼합액은 1~2초간 Spin Down 후, 5초 이상 충분히 Vortex 하여, 5초간 Spin Down 한다.

11.2.3.3 다음 조건으로 PCR Clean UP 과정을 행한다.

PCR Clean up 조건
(1) 37°C, 35분
(2) 80°C, 15분

11.2.4 SNaPshot 반응

11.2.4.1 다음과 같이 혼합액을 만든다.

PCR Clean Up 산물	조성	총량
CYP2D6 APM1, APM2의 PCR 산물 (for CYP2D6 SPM 1)	1/2 term buffer	4 μ l
	SNaPshot Mutiplex Reagent	1 μ l
	PCR Clean Up 산물	7.5 μ l
	CYP2D6 SNaPshot Primer Mix 1	1 μ l
	총량	13.5μl
CYP2D6 APM1, APM3의 PCR 산물 (for CYP2D6 SPM 2)	1/2 term buffer	4 μ l
	SNaPshot Mutiplex Reagent	1 μ l
	PCR Clean Up 산물	7.5 μ l
	CYP2D6 SNaPshot Primer Mix 2	1 μ l
	총량	13.5μl

11.2.4.2 다음 조건으로 SNaPshot 반응과정을 행한다.

SNaPshot 조건	
(1) 96°C, 10초 (2) 50°C, 5초 (3) 60°C, 30초	모든 과정은 40cycle 반복한다.

11.2.5 SNaPshot Clean up

11.2.5.1 다음과 같이 15 μ l의 혼합액을 만든다.

조성	용량
SAP	1.5 μ l
SNaPshot 산물	13.5 μ l
총량	15 μ l

11.2.5.2 만들어진 혼합액은 1~2초간 Spin Down 후, 5초 이상 충분히 Vortex 하여, 5초간 Spin Down 한다.

11.2.5.3 다음 조건으로 SNaPshot clean up 과정을 행한다.

SNaPshot Clean up 조건
(1) 37°C, 60분 (2) 60°C, 15분

11.2.5.4 완료된 SNaPshot clean up 산물은 즉시 염기서열분석기를 활용한 시퀀싱 전기영동 준비과정을 진행한다. 염기서열분석기를 활용한 시퀀싱 전기영동 진행시 까지 일주일 미만 보관할 경우 2~8°C, 일주일 이상 보관할 경우 -25~-15°C에 보관한다.

11.2.6 염기서열분석기를 활용한 전기영동 준비

11.2.6.1 다음과 같이 혼합액을 만든다.

조성	용량
SNaPshot Clean Up 산물	1 μ l
Hi-Di™ Formamide	8.5 μ l
GeneScan™-120LIZ size standard	0.5 μ l
총량	10 μ l

11.2.6.2 다음 조건으로 열변성과정을 행한다.

열변성 과정
95°C, 5분

11.2.6.3 열변성 과정 후, 즉시 ice 상태에서 충분히 식힌 후, 염기서열분석기를 활용한 전기영동을 진행한다. 염기서열분석기의 구동은 기기제조사에 권장사항에 따른다.

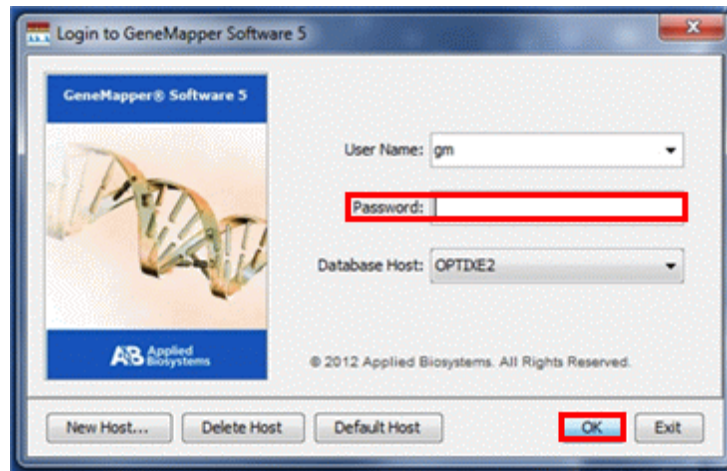
12. 결과분석

12.1.1 GeneMapper® Software Version 5를 활용한 결과분석

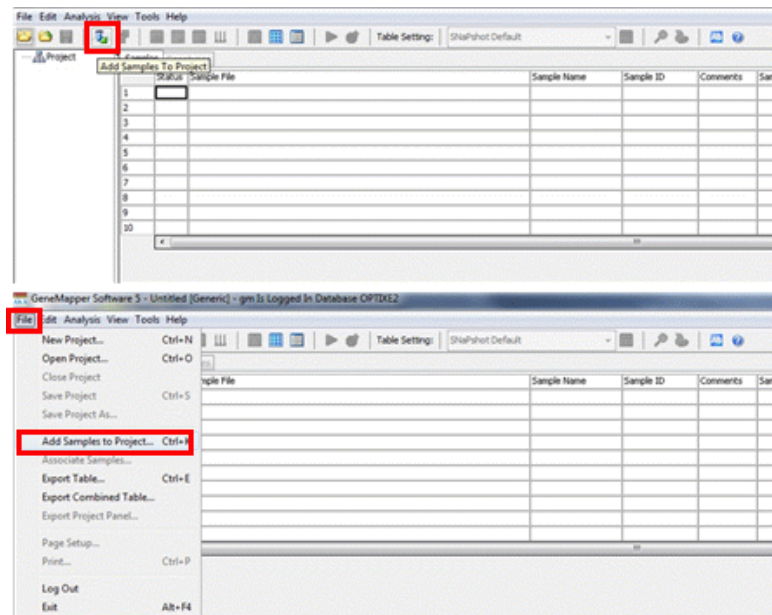
12.1.1.1 아래의 GeneMapper 5 아이콘을 더블 클릭하여 활성화시킨다.



12.1.1.2 활성화되면 아래와 같은 암호창이 나타난다. Password를 입력한 후 우측 하단에 있는 OK를 클릭한다.

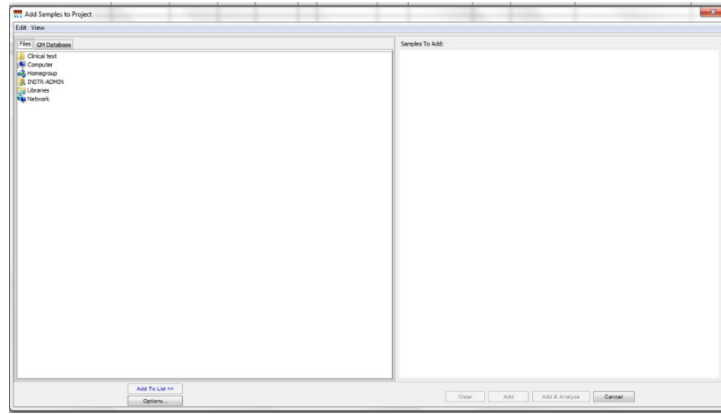


12.1.1.3 메뉴 상단에 있는 File을 클릭 후 Add Samples to Project를 클릭한다.

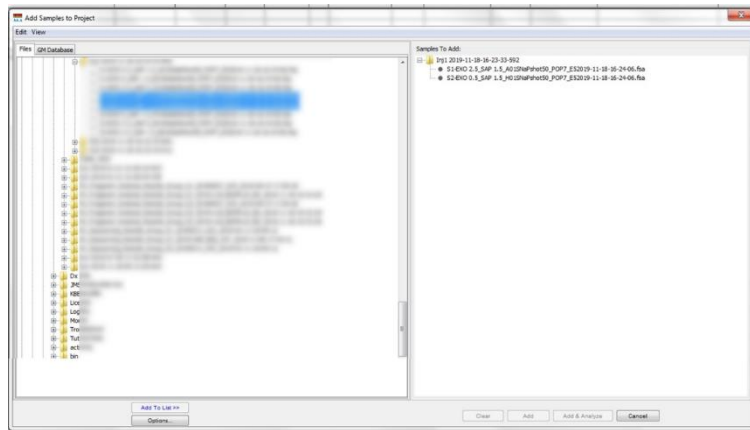


12.1.1.4 아래와 같은 저장된 데이터를 불러올 수 있는 경로를 지정하는 화면이 나타

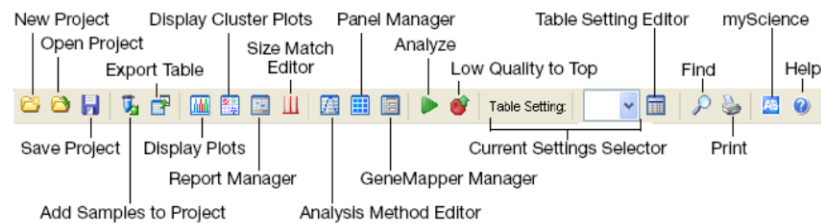
난다.



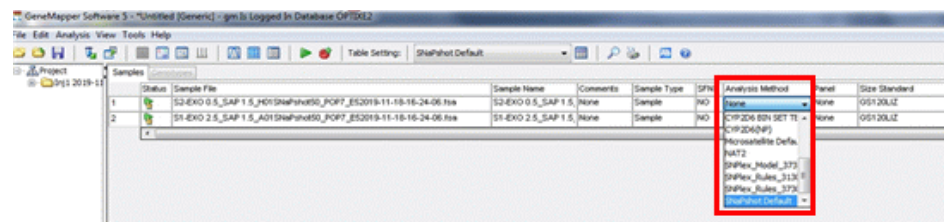
12.1.1.5 개인 폴더 안의 raw data를 찾아 클릭한 후 좌측 하단에 있는 Add to List를 클릭하고, 오른쪽 화면에 raw data list가 추가되었는지 확인한다. 확인 후 우측 하단에 있는 Add를 클릭한다.



12.1.1.6 메뉴 상단의 각 아이콘은 아래와 같은 의미를 나타낸다.

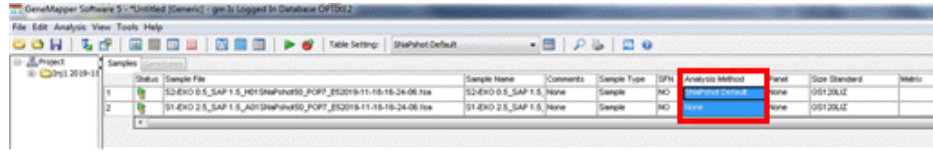


12.1.1.7 불러온 Raw data가 추가되었는지 확인하고, Analysis Method를 클릭하여 SNaPshot Default를 선택한다.

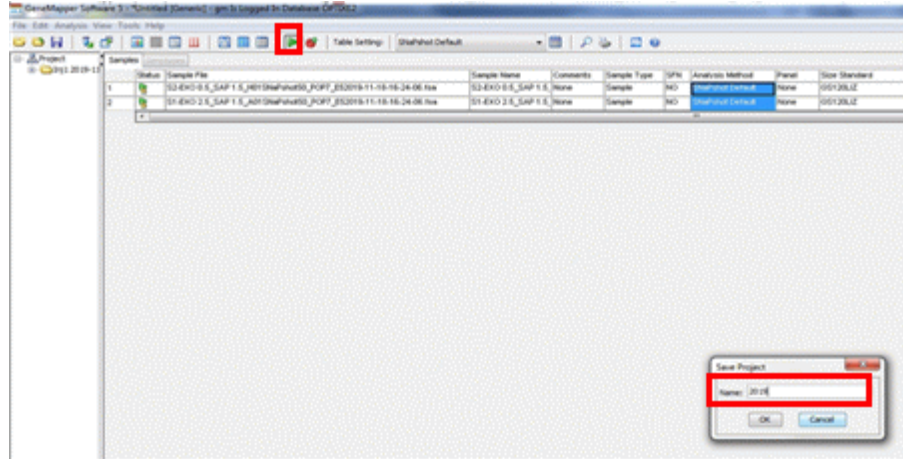


12.1.1.8 Analysis method를 마우스와 Ctrl 버튼을 사용하여 컬럼 전체를 선택한 후

Ctrl+D를 눌러 모든 파일에 일괄 적용한다.



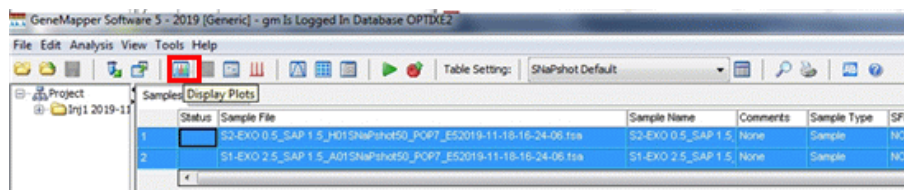
12.1.1.9 메뉴 상단에 있는 Analyze 아이콘을 클릭하면 아래와 같이 Project를 저장하라는 경고 창이 나타난다. 적절한 이름을 입력한 후 OK를 클릭한다.



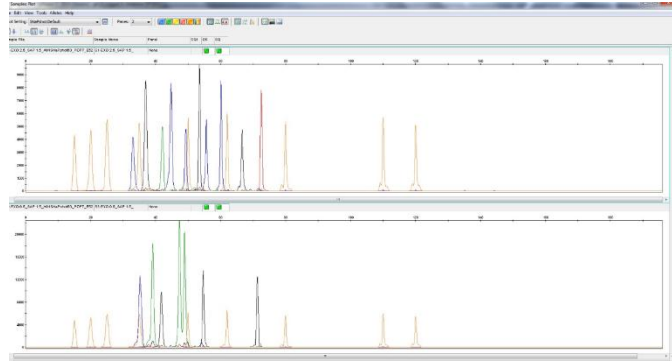
12.1.1.10 분석이 완료되면, 오른쪽에 사각형 초록색, 삼각형 노란색, 원 빨간색 등이 나타난다. 사각형 초록색은 분석이 정상적으로 완료된 상태, 삼각형 노란색은 분석이 완료되었으나 질적인 면에서 부족함이 있는 상태, 원 빨간색은 분석이 실패한 경우이다. SFNF은 Sample file not found의 줄임 말로 sample file을 찾지 못한 경우이다. MNF는 matrix not found의 줄임 말로 이 분석의 경우 matrix를 따로 설정하지 않았기 때문에 무시해도 무방하다. SNF는 size standard not found의 줄임 말로 size standard를 찾지 못한 경우이다. OS는 Off Scale의 줄임 말로 각 peak의 signal이 size standard 밖 쪽으로 나타났을 경우이다. SQ는 Sizing Quality의 줄임 말로 sizing이 제대로 되지 않은 경우이다.

Run Name	Instrument Type	Run Date & Time	REF	SFI	SFNF	MNF	SNF	OS	SQ	UD1	UD2	UD3	Lane	Well
njl 2019-11-18-16-23-33-592	ABI3500	2019-11-18 16:24:4C			■	■	■	■	■				8	H01
njl 2019-11-18-16-23-33-592	ABI3500	2019-11-18 16:24:4C			■	■	■	■	■				1	A01

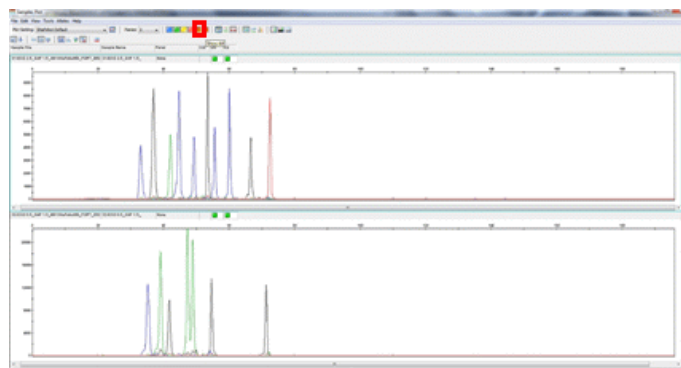
12.1.1.11 마우스를 이용하여 분석할 파일을 선택한 후 메뉴 상단의 Display Plots을 클릭한다.



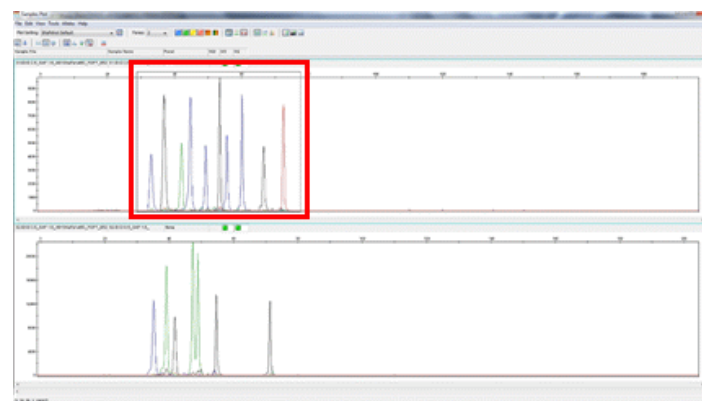
12.1.1.12 Display plots을 클릭하면 아래와 같은 화면이 나타난다. 각 peak는 A는 초록색, T는 빨간색, G는 파란색, C는 검은색으로 나타나고, 주황색 peak는 GS120LIZ (size standard)이다. 아래의 빨간색 박스로 표시한 부분은 각 peak의 색깔에 해당하는 부분을 없애고 추가할 때 쓰는 아이콘이다. 파란색은 G peak, 초록색은 A peak, 노란색은 검은색 C peak, 빨간색은 T peak, 주황색은 GS120LIZ, 마지막 아이콘은 peak을 없애고 추가할 때 사용한다.



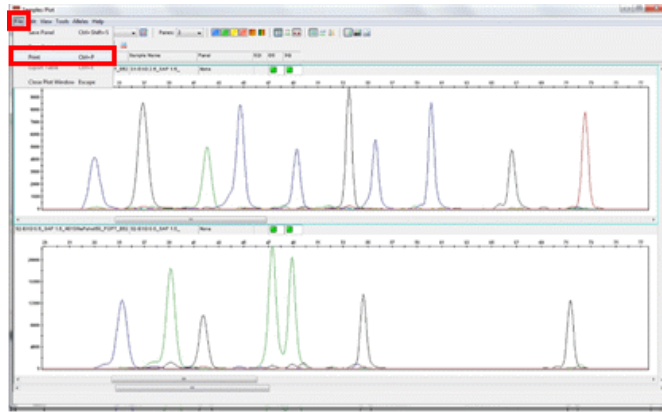
12.1.1.13 Size standard 피크를 확인하여 각 CYP2D6 피크가 알맞은 사이즈에 위치하였는지 확인 후 주황색 GS120LIZ를 클릭하여 size standard peak를 비활성화시킨다.



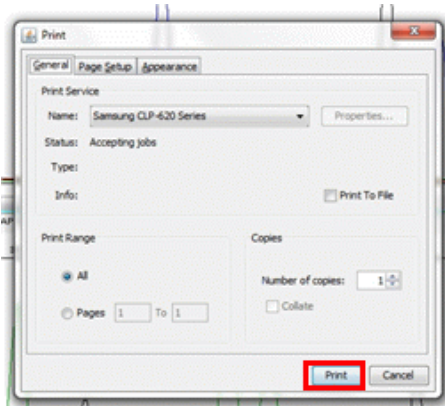
12.1.1.14 분석의 편의를 위하여 필요한 부분만큼 마우스를 이용하여 확대한다.



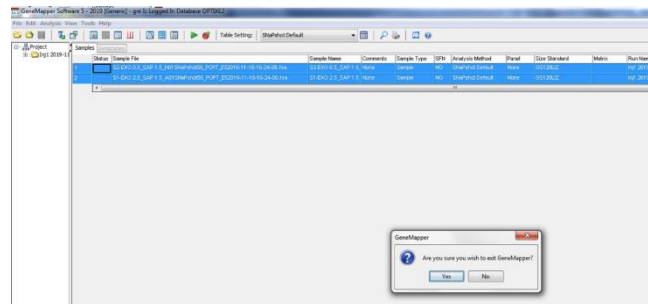
12.1.1.15 각 확인된 peak을 프린트하려면, 상단의 메뉴의 File -> Print를 클릭한다.



12.1.1.16 Print를 누르면 아래와 같은 화면이 나타나고, 컴퓨터에 연결된 프린터기를 확인 후 print를 누른다.



12.1.1.17 모든 과정이 완료되면, 우측 상단에 있는 X를 눌러 종료시킨다. X를 누르면 아래와 같은 경고 창이 나타난다. Yes를 누른 후 소프트웨어를 종료한다.



12.1.2 피크 결과는 SPM1, SPM2로 나누어 분석하며, 각 SPM에 해당하는 CYP2D6 SNP의 피크순서는 아래와 같다. Wild Type DNA 검사결과와 비교하여 분석샘플의 검사결과를 도출해야 하며, Wild Type DNA의 결과는 아래 모든 돌연변이에서 Wild Type이다.

SNaPshot Set	SNP	Type	Peak color	Genotype
SPM1	1758G>A	Wild type	Blue	G/G
		Heterozygous mutant type	Blue/Green	G/A
		Homozygous mutant type	Green	A/A
	100C>T	Wild type	Black	C/C
		Heterozygous mutant type	Black/Red	C/T
		Homozygous mutant type	Red	T/T
	1611T>A	Wild type	Green	T/T
		Heterozygous mutant type	Green/Red	T/A
		Homozygous mutant type	Red	A/A
	2573_2574 insC	Wild type	Blue	-/-
		Heterozygous mutant type	Blue/Black	-/C
		Homozygous mutant type	Black	C/C
	2988G>A	Wild type	Blue	G/G
		Heterozygous mutant type	Blue/Green	G/A
		Homozygous mutant type	Green	A/A
	3877G>A	Wild type	Black	G/G
		Heterozygous mutant type	Black/Red	G/A
		Homozygous mutant type	Red	A/A
	4125_4133 dupGTGCCCACT	Wild type	Blue	-/-
		Heterozygous mutant type	Blue/Red	-/GTGCCCACT
		Homozygous mutant type	Red	GTGCCCACT /GTGCCCACT
	2850C>T	Wild type	Blue	C/C
		Heterozygous mutant type	Blue/Green	C/T
		Homozygous mutant type	Green	T/T
	1887insTA	Wild type	Black	-/-
		Heterozygous mutant type	Black/Red	-/TA
		Homozygous mutant type	Red	TA/TA
Deletion	Wild type	Red	-/-	
	Heterozygous mutant type	Red/Black	-/DEL	
	Homozygous mutant type	Black	DEL/DEL	

SNaPshot Set	SNP	Type	Color	Genotype
SPM2	1846G>A	Wild type	Blue	G/G
		Heterozygous mutant type	Blue/Green	G/A
		Homozygous mutant type	Green	A/A
	2549delA	Wild type	Green	A/A
		Heterozygous mutant type	Green/Blue	-/A
		Homozygous mutant type	Blue	-/-
	1023C>T	Wild type	Black	C/C
		Heterozygous mutant type	Black/Red	C/T
		Homozygous mutant type	Red	T/T
	2615_2617delAAG	Wild type	Green	AAG/AAG
		Heterozygous mutant type	Green/Blue	-/AAG
		Homozygous mutant type	Blue	-/-
	1707delT	Wild type	Green	T/T
		Heterozygous mutant type	Green/Black	-/T
		Homozygous mutant type	Black	-/-
	3183G>A	Wild type	Black	G/G
		Heterozygous mutant type	Black/Red	G/A
		Homozygous mutant type	Red	A/A
	Duplication	Wild type	Black	-/-
		Heterozygous mutant type	Black/Red	-/DUP
		Homozygous mutant type	Red	DUP/DUP

12.1.3 CYP2D6 유전형 분석

12.1.3.1 CYP2D6 APM1, CYP2D6 APM2 (CYP2D6 SPM1) 부위 분석

- 1) 1758G>A 피크는 CYP2D6*14B가 wild type일 때 파란색, heterozygous mutant type일 때 파란색과 초록색, homozygous mutant type일 때 초록색으로 나타난다.
- 2) 100C>T 피크는 CYP2D6*4, *10B, *49, *52가 wild type일 때 검은색, heterozygous mutant type일 때 검은색과 빨간색, homozygous mutant type일 때 빨간색으로 나타난다.
- 3) 1611T>A 피크는 CYP2D6*49가 wild type일 때 초록색, heterozygous mutant type일 때 초록색과 빨간색, homozygous mutant type일 때 빨간색으로 나타난다.
- 4) 2573_2574insC 피크는 CYP2D6*21B가 wild type일 때 파란색, heterozygous mutant type일 때 파란색과 검은색, homozygous mutant type일 때 검은색으로 나타난다.
- 5) 2988G>A 피크는 CYP2D6*41이 wild type일 때 파란색, heterozygous mutant type일 때 파란색과 초록색, homozygous mutant type일 때 초록색으로 나타난다.

- 6) 3877G>A 피크는 CYP2D6*52가 wild type일 때 검은색, heterozygous mutant type일 때 검은색과 빨간색, homozygous mutant type일 때 빨간색으로 나타난다.
- 7) 4125_4133dupGTGCCCACT 피크는 CYP2D6*18이 wild type일 때 파란색, heterozygous mutant type일 때 파란색과 빨간색, homozygous mutant type일 때 빨간색으로 나타난다.
- 8) 2850C>T 피크는 CYP2D6*2, *14B, *17, *21B, *29, *41이 wild type일 때 파란색, heterozygous mutant type일 때 파란색과 초록색, homozygous mutant type일 때 초록색으로 나타난다.
- 9) 1887insTA 피크는 CYP2D6*60이 wild type일 때 검은색, heterozygous mutant type일 때 검은색과 빨간색, homozygous mutant type일 때 빨간색으로 나타난다.
- 10) Deletion 피크는 CYP2D6*5가 wild type일 때 빨간색, heterozygous mutant type일 때 빨간색과 검은색, homozygous mutant type일 때 검은색으로 나타난다.

12.1.3.2 CYP2D6 APM1, CYP2D6 APM3 (CYP2D6 SPM2) 부위 분석

- 1) 1846G>A 피크는 CYP2D6*4가 wild type일 때 파란색, heterozygous mutant type일 때 파란색과 초록색, homozygous mutant type일 때 초록색으로 나타난다.
- 2) 2549delA 피크는 CYP2D6*3이 wild type일 때 초록색, heterozygous mutant type일 때 초록색과 파란색, homozygous mutant type일 때 파란색, homozygous mutant type일 때 파란색으로 나타난다.
- 3) 1023C>T 피크는 CYP2D6*17이 wild type일 때 검은색, heterozygous mutant type일 때 검은색과 빨간색, homozygous mutant type일 때 빨간색으로 나타난다.
- 4) 2615_2617delAAG 피크는 CYP2D6*9가 wild type일 때 초록색, heterozygous mutant type일 때 초록색과 파란색, homozygous mutant type일 때 파란색으로 나타난다.
- 5) 1707delT 피크는 CYP2D6*6이 wild type일 때 초록색, heterozygous mutant type일 때 초록색과 검은색, homozygous mutant type일 때 검은색으로 나타난다.
- 6) 3183G>A 피크는 CYP2D6*29가 wild type일 때 검은색, heterozygous mutant type일 때 검은색과 빨간색, homozygous mutant type일 때 빨간색으로 나타난다.
- 6) CYP2D6 duplication 피크는 CYP2D6 *1XN, *2XN, *4X2, *10X2 등이 wild type일 때 검은색, heterozygous mutant type일 때 검은색과 빨간색, homozygous mutant type일 때 빨간색 피크가 나타난다. Duplication의 방향에 대한 결정은 추가적인 검사가 필요하다.

12.1.3.3 CYP2D6 유전형의 결정

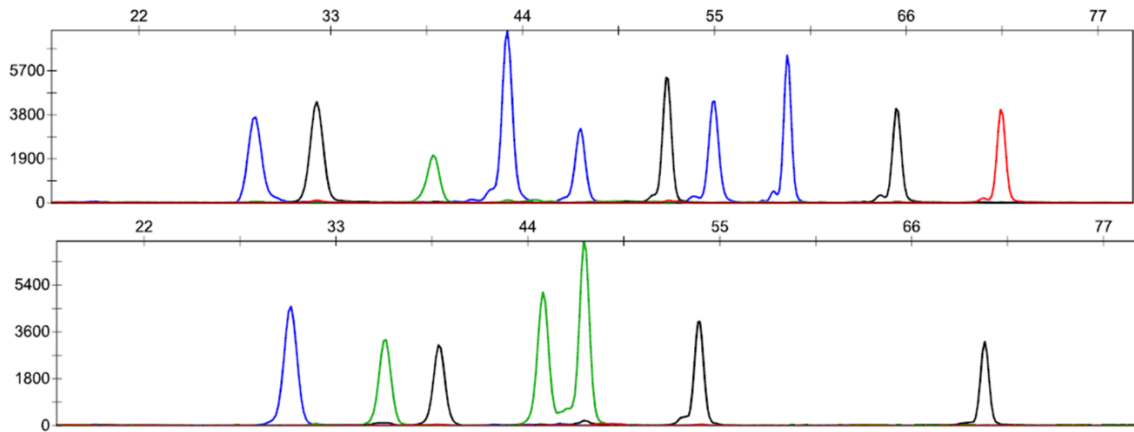
1) 각 17가지의 돌연변이의 결과를 확인하여 아래와 같은 기준으로 CYP2D6의 유전형을 결정한다. 유전형의 결정은 CYP2D6 Allele Nomenclature (<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm>)에 따른다.

Haplotype	Allele	*14	*10B	*49	*21	*41	*52	*18	*2	*60	*3	*4	*6	*9	*17	*29	*5	*XN
A.A change	G169R		P34S	F120I	267 frameshift	Splicing defect	E418K	468_470dup VPT	R296C	S183X	259 frameshift	Splicing defect	118 frameshift	K281del	T107I	V338M	-	-
N.T change	1758G>A		100C>T	1611T>A	2573_2574insC	2988G>A	3877G>A	4125_4133 dupGTGCCCTACT	2850C>T	1887msTA	2599delA	1846G>A	1707delT	2615_2617 delAAG	1023C>T	3183G>A	Deletion	Duplication
Wild type	G	G	C	T	G	G	G	G	C	G	A	G	T	A	C	G	A	G
Mutant type	A	A	T	A	C	A	A	T	T	A	G	A	G	G	T	A	G	A
*1		G	C	T	G	G	G	G	C	G	A	G	T	A	C	G	A	G
*1XN		G	C	T	G	G	G	G	C	G	A	G	T	A	C	G	A	A
*2		G	C	T	G	G	G	G	T	G	A	G	T	A	C	G	A	G
*2XN		G	C	T	G	G	G	G	T	G	A	G	T	A	C	G	A	A
*3		G	C	T	G	G	G	G	C	G	G	G	T	A	C	G	A	G
*4		G	T	T	G	G	G	G	C	G	A	A	T	A	C	G	A	G
*4X2		G	T	T	G	G	G	G	C	G	A	A	T	A	C	G	A	A
*5																	G	
*6		G	C	T	G	G	G	G	C	G	A	G	G	A	C	G	A	G
*9		G	C	T	G	G	G	G	C	G	A	G	T	G	C	G	A	G
*10B		G	T	T	G	G	G	G	C	G	A	G	T	A	C	G	A	G
*10BX2		G	T	T	G	G	G	G	C	G	A	G	T	A	C	G	A	A
*14B		A	C	T	G	G	G	G	T	G	A	G	T	A	C	G	A	G
*17		G	C	T	G	G	G	G	T	G	A	G	T	A	T	G	A	G
*17XN		G	C	T	G	G	G	G	T	G	A	G	T	A	T	G	A	A
*18		G	C	T	G	G	G	T	C	G	A	G	T	A	C	G	A	G
*21B		G	C	T	C	G	G	G	T	G	A	G	T	A	C	G	A	G
*29		G	C	T	G	G	G	G	T	G	A	G	T	A	C	A	A	G
*41		G	C	T	G	A	G	G	T	G	A	G	T	A	C	G	A	G
*49		G	T	A	G	G	G	G	C	G	A	G	T	A	C	G	A	G
*52		G	T	T	G	G	A	G	C	G	A	G	T	A	C	G	A	G
*60		G	C	T	G	G	G	G	C	A	A	G	T	A	C	G	A	G

A.A change: Amino acid change. N.T change: Nucleotide change

12.1.3.4 Peak 결과 예시

1) Wild Type DNA: CYP2D6*1/*1



12.2 정도관리

- 12.2.1 검체의 PCR 결과를 Wild Type DNA PCR 산물과 비교하여야 하며, 크기와 밴드의 굵기가 90% 이상 유사한지 확인 후 다음 단계의 시험을 진행한다.
- 12.2.2 모든 검사 결과는 대조군(Negative Control: Nuclease Free Water)에서 밴드 및 높이 100 이상의 피크가 검출되지 않아야 한다.
- 12.2.3 각 돌연변이 피크가 육안 상으로, 예상한 색깔로 나타나는지 확인한다. 다른 색깔의 peak가 나타나면 해당 검체를 재검사한다.
- 12.2.4 Wild Type DNA로 제시된 대조군에서 밴드 및 피크가 검출되지 않으면 검사결과는 무효로 하고 해당 검체를 재검사한다.
- 12.2.5 Wild Type DNA 시험 결과가 적합하게 분석되었는지 확인한다.
- 12.2.6 검사결과를 확인하기 위하여 본 검사를 시행하는 검사실의 정도관리 기준상 더 빈번한 컨트롤 대조군 사항이 요구될 경우에는 검사실에 정해진 기준을 근거로 실시한다.


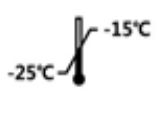










12.3 결과 판정상의 주의 사항

- 12.3.1 검체의 농도에 따라 밴드 및 피크의 정도가 결정된다. 즉 검체의 농도가 낮은 검체일 경우 밴드 및 피크가 희미할 수 있으므로 반드시 수행해야 하는 검사일 경우 결과 판정 시에는 2인 이상이 판독하거나, 다른 검사 방법으로 확인한다.
- 12.3.2 본 제품은 CYP2D6 유전형을 분석하는 키트로, 해당 결과만을 기초로 최종 진단을 해서는 안 되며 다른 검사방법과 임상소견에 근거한 전문의의 판단에 의하여 최종 진단을 내려야 한다.

13. 참고문헌

- 13.1 Sequence-based CYP2D6 genotyping in the Korean population. Lee SY¹, Sohn KM, Ryu JY, Yoon YR, Shin JG, Kim JW. *Ther Drug Monit.* 2006 Jun;28(3):382-7.
- 13.2 Genetic polymorphism of hepatocyte nuclear factor-4alpha influences human cytochrome P450 2D6 activity. Lee SS, Cha EY, Jung HJ, Shon JH, Kim EY, Yeo CW, Shin JG. *Hepatology.* 2008 Aug;48(2):635-45.
- 13.3 Visualization of CYP2D6 genotype to phenotype correlation in Korean. Kim EY, Jung HJ, Lee SS, Shon JH, Shin SG, Shin JG. *AMIA Annu Symp Proc.* 2007 Oct 11:1009-10.
- 13.4 Auto-interpreter for CYP2D6 SNaPshot genotyping. Ong S, Jeong HE, Lee SS, Shon JH, Shin JG, Kim EY. *AMIA Annu Symp Proc.* 2008 Nov 6:1006.
- 13.5 Discovery of novel functional variants and extensive evaluation of CYP2D6 genetic polymorphisms in Koreans. Lee SJ, Lee SS, Jung HJ, Kim HS, Park SJ, Yeo CW, Shin JG. *Drug Metab Dispos.* 2009 Jul;37(7):1464-70.
- 13.6 Robust CYP2D6 genotype assay including copy number variation using multiplex single-base extension for Asian populations. Kim EY, Lee SS, Jung HJ, Jung HE, Yeo CW, Shon JH, Shin JG. *Clin Chim Acta.* 2010 Dec 14;411(23-24):2043-8
- 13.7 Association between genetic polymorphisms of CYP2D6 and outcomes in breast cancer patients with tamoxifen treatment. Park HS, Choi JY, Lee MJ, Park S, Yeo CW, Lee SS, Shin JG, Park BW. *J Korean Med Sci.* 2011 Aug;26(8):1007-13.
- 13.8 CYP2D6 genotype and adjuvant tamoxifen: meta-analysis of heterogeneous study populations. Province MA, Goetz MP, Brauch H, Flockhart DA, Hebert JM, Whaley R, Suman VJ, Schroth W, Winter S, Zembutsu H, Mushiroda T, Newman WG, Lee MT, Ambrosone CB, Beckmann MW, Choi JY, Dieudonné AS, Fasching PA, Ferraldeschi R, Gong L, Haschke-Becher E, Howell A, Jordan LB, Hamann U, Kiyotani K, Krippel P, Lambrechts D, Latif A, Langsenlehner U, Lorzio W, Neven P, Nguyen AT, Park BW, Purdie CA, Quinlan P, Renner W, Schmidt M, Schwab M, Shin JG, Stingl JC, Wegman P, Wingren S, Wu AH, Ziv E, Zirpoli G, Thompson AM, Jordan VC, Nakamura Y, Altman RB, Ames MM, Weinshilboum RM, Eichelbaum M, Ingle JN, Klein TE; International Tamoxifen Pharmacogenomics Consortium. *Clin Pharmacol Ther.* 2014 Feb;95(2):216-27. doi: 10.1038/clpt.2013.186. Epub 2013 Sep 23.
- 13.9 Resolution of a clinical AmpliChip CYP450 Test™ no call: discovery and characterization of novel CYP2D6*1 haplotypes. Gaedigk A, Garcia-Ribera C, Jeong HE, Shin JG, Hernandez-Sanchez J. *Pharmacogenomics.* 2014 Jun;15(9):1175-84.

14. 심볼정보

심볼	의미	예시	심볼	의미
	보관온도			주의
	유효기간			사용설명서 참고
	생산배치 표기 Lot 번호			체외진단 의료기기
	Catalogue 번호			
	제조사	