

SOP 작성 가이드

분변 시료 내 생균치료제 gDNA 추출 및 정량 방법

[Guide for Preparing a Standard Operating Procedure for Genomic
DNA Extraction and Quantification from Stool Samples]

2025. 10. 31.

주관연구개발기관 : 가톨릭대학교 산학협력단
공동연구개발기관 : 연세대학교 산학협력단
고려대학교 산학협력단
(주) 입셀
(주) 지놈앤컴퍼니
(주) 세라트젠
(주) 애임스바이오사이언스

스마트임상시험신기술개발연구사업단

- 본 지침서/안내서는 보건복지부의 재원으로 국가임상시험지원재단 스마트임상시험신기술개발연구사업단의 지원을 받아 수행한 「첨단 바이오 분야 초기 임상시험 관련 기술 개발」 (과제고유번호: RS-2023-KH141565)의 결과물로 제작되었습니다.
- 본 지침서는 보건복지부, 식품의약품안전처 등 관련 기관의 제도 및 정책과 상이할 수 있으며, 어떠한 법적 구속력 및 책임을 가지지 않으므로 참고용으로만 활용하시기 바랍니다.
- 본 지침서의 내용은 현재의 과학적·기술적 근거 등을 토대로 작성되었으며, 향후 과학기술의 발전 및 관련 법규정의 개정 및 구체적인 사실 관계의 변화 등에 따라 내용이 달라질 수 있습니다.
- 본 저작물에 대한 권한은 ((주)지놈앤컴퍼니) 에 있으며, 무단으로 지침서의 내용을 수정하여 재배포하는 것을 금합니다. 또한, 본 지침서의 전부 또는 일부를 인용·활용할 경우 반드시 출처를 명시하여야 합니다.


| | | | | | |
|-------|--|-------|-----|-----|--------------|
| 문서 제목 | SOP 작성 가이드 – 분변 시료 내 생균치료제 gDNA 추출 및 정량 방법 | | | | |
| 문서 번호 | EM-3-10 | 문서 버전 | 1.0 | 발효일 | 2025. 10. 31 |
| 품목 분류 | 생균치료제 | 주무 부서 | | 페이지 | 1/9 |

가이드 제목 **SOP 작성 가이드 – 분변 시료 내 생균치료제 gDNA 추출 및 정량 방법**
(Guide for Preparing a Standard Operating Procedure for Genomic DNA Extraction and Quantification from Stool Samples)

| | |
|--------|--------------|
| 가이드 번호 | EM-3-10 |
| 가이드 버전 | 1.0 |
| 승인일 | 2025. 10. 31 |
| 품목 분류 | 생균치료제 |

본 SOP template 는 세포외소포체 개발 연구진 또는 기업의 중복적 업무를 완화하고, 과학적/규제적으로 요구되는 표준적 절차에 따라 제품 개발을 수행할 수 있도록 하기 위한 목적으로 개발 되었습니다. 이 template 는 스마트임상시험신기술개발연구사업단에서 수행한 “스마트 임상시험 신기술 개발연구” 중 “첨단바이오 분야 초기 임상시험 관련 기술 개발 (주관연구책임자: 민창기)” 과제의 성과물로서 확보 되었음을 밝힙니다.

규제 대응 및 각종 신약개발 전문성 공급기관



연세대학교 약학대학
YONSEI UNIVERSITY COLLEGE OF PHARMACY



AIMS BioScience

임상 전문성 제공 및 기술 임상 실증 기관



가톨릭대학교
서울성모병원




세브란스병원
SEVERANCE HOSPITAL



고려대학교안암병원
KOREA UNIVERSITY ANAM HOSPITAL

첨단 바이오 제품 보유 및 기술 개발 기관

엑소좀




YiPSCell

마이크로바이옴

GENOME & CO

오가노이드



cellArtgen

용어 및 약어 (본 가이드를 이용하여 문서 작성 후 정의하여 활용하세요.)

| 용어 | 설명 |
|----|----|
|----|----|

| | | | | | |
|-------|--|-------|-----|-----|--------------|
| 문서 제목 | SOP 작성 가이드 - 분변 시료 내 생균치료제 gDNA 추출 및 정량 방법 | | | | |
| 문서 번호 | EM-3-10 | 문서 버전 | 1.0 | 발효일 | 2025. 10. 31 |
| 품목 분류 | 생균치료제 | 주무 부서 | | 페이지 | 3 / 9 |

목차

| | |
|---|---|
| 1. 가이드의 목적 (Purpose of this Guide) | 4 |
| 2. SOP 작성의 개념 | 4 |
| 2.1. SOP의 정의 | 4 |
| 2.2. 생균치료제 분변 시료 SOP의 특수성 | 4 |
| 3. SOP 기본 구성과 각 항목별 작성 가이드 | 4 |
| 3.1. 제목 및 문서번호 (Title & Document Control Information) | 4 |
| 3.2. 목적 (Purpose) | 5 |
| 3.3. 적용 범위 (Scope) | 5 |
| 3.4. 책임과 역할 (Responsibilities) | 5 |
| 3.5. 절차 (Procedure) | 5 |
| 3.5.1. 시료 전처리 (Sample Pre-processing) | 5 |
| 3.5.2. 세포파쇄 (Cell Lysis) | 6 |
| 3.5.3. DNA 정제 (DNA Purification) | 6 |
| 3.5.4. gDNA 정량 (DNA Quantification) | 7 |
| 3.5.5. 결과 검증 (Result Verification) | 7 |
| 3.6. 품질관리 및 문서화 (Quality Control & Documentation) | 8 |
| 3.7. 안전관리 (Safety) | 8 |
| 3.8. 부록 (Appendices) | 8 |
| 4. 표현 및 기술 원칙 | 8 |
| 5. 특화 고려사항 요약 | 9 |

| | | | | | |
|-------|--|-------|-----|-----|--------------|
| 문서 제목 | SOP 작성 가이드 - 분변 시료 내 생균치료제 gDNA 추출 및 정량 방법 | | | | |
| 문서 번호 | EM-3-10 | 문서 버전 | 1.0 | 발효일 | 2025. 10. 31 |
| 품목 분류 | 생균치료제 | 주무 부서 | | 페이지 | 4 / 9 |

본문

1. 가이드의 목적 (Purpose of this Guide)

이 문서는 분변 시료로부터 생균치료제(Live Biotherapeutic Product, LBP)의 genomic DNA(gDNA)를 추출하고 정량하는 SOP를 작성하고자 하는 연구자 및 개발사를 위한 작성 지침이다.

목표는 다음과 같다:

- 인체 분변 시료 내 생균치료제 및 공생 미생물의 gDNA를 재현성 있게 추출·정량하기 위한 표준화 절차 확립
- 미생물 군집의 복잡한 구조와 세포벽 차이를 고려하여 분리 효율과 정량 정확도를 향상
- SOP 작성 시 필수 포함 항목과 예시 문체를 제시하여 품질보증(QA) 및 규제 대응(MFDS, GLP)에 부합하는 문서를 작성하도록 지원

※ 본 가이드의 모든 절차, 시약, 수치, 장비 정보는 예시(example)로 제시되며, 실제 SOP에는 기관 검증된 값 또는 내부 기준을 입력해야 한다.

2. SOP 작성의 개념

2.1. SOP의 정의

SOP(Standard Operating Procedure)는 “누가, 언제, 무엇을, 어떻게 수행해야 하는지”를 규정한 표준 문서이다. 생균치료제 관련 분변 시료의 gDNA 추출 과정은 시료의 다양성과 세균 생리적 특성에 따라 결과의 편차가 크므로, 시료 처리, 균질화, 세포파쇄, 정제, 정량 단계의 일관성을 확보하기 위한 문서화 표준화가 필수적이다.

2.2. 생균치료제 분변 시료 SOP의 특수성

- LBP는 살아있는 균주이므로 생물안전성(BSL-2 이상) 확보가 필요함
- 숙주세포 및 공생균 DNA 혼입 가능성이 높아 비특이적 오염 방지 절차가 포함되어야 함
- 세포벽 강도 차이에 따른 추출 효율 편차 존재
- 효소 활성 억제 및 불활화 과정이 반드시 포함되어야 함

3. SOP 기본 구성과 각 항목별 작성 가이드

| 구분 | 포함 항목 | 작성 의도 |
|----|------------|-------------------|
| 1 | 제목 및 문서번호 | 문서 식별 및 관리 체계 확립 |
| 2 | 목적 | 절차의 필요성과 기대 효과 명시 |
| 3 | 적용 범위 | 시료, 단계, 한계 정의 |
| 4 | 책임과 역할 | 수행자·검토자·승인자 구분 |
| 5 | 절차 | 단계별 수행 내용 및 기준 |
| 6 | 품질관리 및 문서화 | 검증, 기록, 보관 방식 |
| 7 | 안전관리 | 생물·화학적 안전 확보 |
| 8 | 부록 | 서식·용어집·점검표 등 |

3.1. 제목 및 문서번호 (Title & Document Control Information)

[작성 원칙]

- 문서 식별번호, 버전, 제·개정일, 시행일, 작성자·검토자·승인자 명시
- 제목은 “시료 + 대상(생균치료제) + 분석 목적 + 행위” 구조로 작성

| | | | | | |
|-------|--|-------|-----|-----|--------------|
| 문서 제목 | SOP 작성 가이드 - 분변 시료 내 생균치료제 gDNA 추출 및 정량 방법 | | | | |
| 문서 번호 | EM-3-10 | 문서 버전 | 1.0 | 발효일 | 2025. 10. 31 |
| 품목 분류 | 생균치료제 | 주무 부서 | | 페이지 | 5 / 9 |

[예시]

- 제목: “분변 시료 내 생균치료제 gDNA 추출 및 정량 방법”
- 문서번호: _____
- 버전: _____
- 보관 위치: _____

3.2. 목적 (Purpose)

[작성 원칙]

SOP의 목적을 기능 중심으로 간결히 기술하며, 생균치료제 특성(균주 확인, 정량 정확도, 오염 방지)을 포함한다.

[예시]

“본 SOP는 분변 시료로부터 생균치료제 균주의 genomic DNA를 추출 및 정량하기 위한 표준 절차를 규정한다. 이 절차는 생균 및 공생 미생물의 DNA를 구분·정확히 분석함으로써, 생균치료제의 분변 내 잔존량 및 배출 특성을 평가하는 데 목적이 있다.”

3.3. 적용 범위 (Scope)

[작성 원칙]

- 시료 적용 시료, 장비, 한계를 구체적으로 명시한다.
- LBP 및 공생균 분석 구분 명시.

[예시]

- 적용 대상: 임상 또는 비임상 시험에서 채취된 분변 시료
- 적용 장비: 자동화 핵산 정제 시스템
- 시료 조건: 냉동 보관된 시료를 해동 후 처리
- 비적용 범위: RNA 추출, 시퀀싱, PCR 분석

※ 위 항목은 예시이며, 실제 SOP에서는 프로젝트별 조건과 장비 사양에 맞게 수정해야 한다.

3.4. 책임과 역할 (Responsibilities)

[작성 원칙]

각 담당자의 역할과 승인 체계를 표로 구분한다.

| 직무 | 역할 | 주요 업무 |
|--------|--------------------|-----------------------|
| 시험 담당자 | Sample Operator | 시료 해동, 균질화, 추출, 정량 수행 |
| QC 담당자 | Quality Controller | 장비 및 시약 점검, QC 데이터 검증 |
| QA 담당자 | Quality Assurance | SOP 준수 여부 점검, 변경 관리 |
| 분석 책임자 | Principal Analyst | 결과 승인 및 이상 조치 결정 |

필요 시 “생균치료제 균주 식별 책임자” 등의 추가 역할을 포함할 수 있다.

3.5. 절차 (Procedure)

[작성 원칙]

절차 항목은 SOP의 핵심으로, “누가, 언제, 무엇을, 어떻게” 수행하는지를 구체적 순서로 기술해야 한다. 모든 조건은 기관 검증값 또는 내부 기준에 따라 기입하며, 아래 내용은 작성 형식을 보여주는 서술 예시(example)이다.

3.5.1. 시료 전처리 (Sample Pre-processing)

[목적]

분변 시료의 균질성을 확보하고, DNA 분해효소(DNase) 활성으로부터 gDNA를 보호하기 위한 준비 단계이다.

| | | | | | |
|-------|--|-------|-----|-----|--------------|
| 문서 제목 | SOP 작성 가이드 - 분변 시료 내 생균치료제 gDNA 추출 및 정량 방법 | | | | |
| 문서 번호 | EM-3-10 | 문서 버전 | 1.0 | 발효일 | 2025. 10. 31 |
| 품목 분류 | 생균치료제 | 주무 부서 | | 페이지 | 6 / 9 |

[작성 시 포함할 내용]

- 시료 해동 방식: 냉장 또는 상온 중 선택 근거 명시
- 균질화 방법: 사용 장비(예: vortex mixer, bead homogenizer 등)와 완충액 종류
- 불활성화 시약 또는 안정화 buffer의 사용 이유
- 시료의 재동결 방지 조치

[예시 서술]

“시험 담당자는 냉동된 분변 시료를 지정된 조건에서 해동한 후, 균질화 용기에 옮겨 완충용액을 첨가하고 균질화한다. 균질화 직후, DNA 안정화를 위해 효소활성 억제용 buffer를 첨가하여 시료 내 gDNA의 분해를 방지한다. 처리 완료된 시료는 즉시 다음 단계로 진행하며, 잔여 시료는 재동결하지 않는다.”

[주의점]

- 시료를 물리적으로 너무 강하게 처리하면 세포막 파괴로 인한 오염 증가 가능
- 완충용액의 pH, 염 농도 등이 downstream 효율에 영향을 주므로 SOP에서 명시해야 함

3.5.2. 세포파쇄 (Cell Lysis)

[목적]

LBP 및 공생균의 세포벽을 파쇄하여 내부 DNA를 방출시키는 단계이다.

[작성 시 포함할 내용]

- 사용 장비(예: bead homogenizer, mechanical disruptor 등)
- 파쇄 방법(기계적/화학적/효소적 병행 여부)
- 처리 횟수 및 사이클 구조(예: 1분 처리 후 냉각)
- 과도한 파쇄로 인한 DNA 단편화 방지 조치 방지 조치

[예시 서술]

“시험 담당자는 균질화된 시료를 bead homogenizer에 장착하고, 규정된 속도와 시간 조건으로 세포를 파쇄한다. 필요 시, Gram-positive 균주의 세포벽 특성을 고려하여 효소 전처리(예: Proteinase K)를 병행한다. 파쇄 후 시료는 즉시 냉각시켜 DNA의 열 손상을 방지한다.”

[주의점]

- 장비별 속도·시간 설정은 SOP에 명확히 표기해야 함
- 세포파쇄 후 과도한 거품이나 점도가 생기면 추출 효율 저하 가능

3.5.3. DNA 정제 (DNA Purification)

[목적]

세포 잔여물, 단백질, 다당류 등 불순물을 제거하고 고순도의 gDNA를 회수하는 단계이다.

[작성 시 포함할 내용]

- 사용 키트 또는 정제 방식(자동화 vs 수동)
- 결합(buffer binding) 및 세척(washing) 순서
- Elution 조건 및 보관 온도
- 교차오염 방지 절차

[예시 서술]

| | | | | | |
|-------|--|-------|-----|-----|--------------|
| 문서 제목 | SOP 작성 가이드 - 분변 시료 내 생균치료제 gDNA 추출 및 정량 방법 | | | | |
| 문서 번호 | EM-3-10 | 문서 버전 | 1.0 | 발효일 | 2025. 10. 31 |
| 품목 분류 | 생균치료제 | 주무 부서 | | 페이지 | 7 / 9 |

“시험 담당자는 정제 키트를 이용하여 시료 내 DNA 를 결합시키고, 지정된 순서로 세척 과정을 수행한다. 세척 후 DNA 를 Elution buffer 로 회수하여 규정된 온도에서 보관한다. 정제 장비 사용 전·후에는 장비 표면과 노즐을 소독하여 교차오염을 방지한다.”

[주의점]

- Elution 단계의 부피나 buffer 조성은 DNA 농도에 직접 영향을 미침
- 정제 후 DNA의 농도 범위와 순도(A260/280 비율) 확인 절차를 SOP에 명시해야 함

3.5.4. gDNA 정량 (DNA Quantification)

[목적]

추출된 DNA 의 농도와 순도를 확인하여 분석 적합성을 평가한다.

[작성 시 포함할 내용]

- 정량 방법(형광 기반, 흡광 기반 등)
- 사용 장비와 파장 정보
- 표준곡선 작성 및 QC 시료 처리 방법
- 분석 재현성 확인 항목(CV, R² 등)

[예시 서술]

“시험 담당자는 형광 기반 정량법을 이용하여 시료의 gDNA 농도를 측정한다. 표준 DNA 용액을 이용해 표준곡선을 작성하고, QC 시료와 공백(blank)을 함께 측정한다. 측정값의 변동계수가 허용 기준을 초과할 경우, 장비 재점검 또는 시료 재측정을 수행한다.”

[주의점]

- 장비 감도에 따라 검출한계(LOD, LOQ)를 SOP에 정의해야 함
- 시료 농도가 검출 한계 이하일 경우, 농축 절차 또는 재추출 절차를 명시

3.5.5. 결과 검증 (Result Verification)

[목적]

분석 데이터의 신뢰성을 확보하고, 품질 기준을 충족하지 못한 시료를 식별하기 위한 검증 단계이다.

[작성 시 포함할 내용]

- 표준곡선의 선형성 기준 (R²)
- QC 시료 간 일관성 기준 (CV)
- 부적합 데이터 처리 및 재시험 절차
- 보고 시 반올림 기준 및 단위 통일

[예시 서술]

“QC 담당자는 표준곡선의 결정계수(R²)와 QC 시료의 변동계수(CV)가 허용 기준을 만족하는지 확인한다. 기준을 초과하는 경우, 재시험을 수행하거나 원인 분석(CAPA)을 실시한다. 검증 완료 후 결과를 분석 책임자가 최종 승인한다.”

[주의점]

- 허용 기준은 SOP의 '품질관리 항목'과 동일하게 유지해야 함
- 재시험 조건(예: 반복 횟수, 승인 절차)을 명확히 기술해야 함

[작성 시 유의사항 요약]

| 구분 | 작성 시 포인트 | 필수 포함 내용 |
|----|----------|----------|
|----|----------|----------|

| | | | | | |
|-------|--|-------|-----|-----|--------------|
| 문서 제목 | SOP 작성 가이드 - 분변 시료 내 생균치료제 gDNA 추출 및 정량 방법 | | | 발효일 | 2025. 10. 31 |
| 문서 번호 | EM-3-10 | 문서 버전 | 1.0 | 페이지 | 8 / 9 |
| 품목 분류 | 생균치료제 | 주무 부서 | | | |

| | | |
|---------|------------------|----------------------|
| 시료 전처리 | 시료 균질화 및 안정화 | 해동 방식, 완충액, 안정화 시약 |
| 세포파쇄 | LBP 및 공생균 세포벽 파괴 | 장비, 속도, 시간, 효소 병용 여부 |
| DNA 정제 | 불순물 제거, DNA 회수 | 키트명, 세척 순서, 보관 온도 |
| gDNA 정량 | 농도 및 순도 확인 | 정량법, QC, 허용 기준 |

3.6. 품질관리 및 문서화 (Quality Control & Documentation)

[작성 원칙]

품질 확인 항목을 표로 정리하고, 모든 허용 기준은 내부 품질관리 규정에 따라 설정한다.

[작성 시 유의사항 요약]

| 항목 | 허용 기준 | 점검 방법 |
|----------|------------|----------------|
| 시료 보관 온도 | 기관 기준에 따름 | 온도기록지 확인 |
| 장비 교정 상태 | 주기적 검교정 수행 | 교정 로그 점검 |
| 용매 Batch | 동일 제조일자 사용 | Batch Sheet 기록 |
| QC 시료 CV | 내부 기준 이하 | 반복 측정 평균 검증 |

- 제조· 모든 기록은 "시료 전처리 및 정량 기록서"에 기입한다.
- 전자기록(ELN) 병행 시 원본 데이터 백업 경로를 명시한다.

3.7. 안전관리 (Safety)

[작성 원칙]

분변 시료 및 생균치료제의 생물안전(BSL-2) 수준을 유지한다.

[예시]

- PPE 착용: 장갑, 마스크, 보안경, 실험복
- 작업대 및 장비 소독: 70% 에탄올 또는 차아염소산
- 폐기물 처리: 감염성 폐기물 전용 용기 사용
- 밀폐형 튜브로 aerosol 발생 방지
- 사고 발생 시 즉시 상급자 및 안전담당자에게 보고한다.

3.8. 부록 (Appendices)

[작성 원칙]

본문과 직접 연결되는 실무 양식을 첨부하며, 모든 양식은 예시임을 명시한다.

[예시]

- 부록 1. 시료 전처리 및 정량 기록서 (예시 양식)
- 부록 2. QC 체크리스트 (예시)
- 부록 3. 장비 점검 기록표 (예시)
- 부록 4. 표준곡선 작성 Sheet (예시)
- 부록 5. 용어 및 약어 정의집 (예시)

4. 표현 및 기술 원칙

| 항목 | 권장 방식 | 예시 |
|----|---|---------------------------------|
| 단위 | SI 단위(μ L, $^{\circ}$ C, rpm 등) 사용 | "시료를 지정된 속도에서 일정 시간 동안 원심분리한다." |

| | | | | | |
|-------|--|-------|-----|-----|--------------|
| 문서 제목 | SOP 작성 가이드 - 분변 시료 내 생균치료제 gDNA 추출 및 정량 방법 | | | | |
| 문서 번호 | EM-3-10 | 문서 버전 | 1.0 | 발효일 | 2025. 10. 31 |
| 품목 분류 | 생균치료제 | 주무 부서 | | 페이지 | 9 / 9 |

| | | |
|-------|------------------|-------------------------------|
| 수치 | ± 허용범위 명시 | "적정 온도 범위 내에서 보관한다." |
| 문체 | 능동태·현재시제 | "시험 담당자는 수행한다." |
| 용어 | 문서 내 일관성 유지 | "LBP", "gDNA", "PBS" 등 |
| 예시 표기 | '예시(example)' 명시 | "예시: 자동화 정제 장비를 이용한 정제 절차 수행" |

5. 특화 고려사항 요약

| 고려 항목 | 설명 |
|----------|-------------------------------|
| 시료 균질성 | 분변 내 섬유질·이물질 제거 후 균질화 단계 포함 |
| 생균 안정성 | 채취 즉시 냉동 보관, 해동 횟수 제한 |
| 세포파쇄 효율 | bead-beating 및 효소 병용 절차 병기 |
| DNA 정제 | 비특이적 결합 최소화를 위한 정제 조건 검증 |
| 교차오염 방지 | blank 및 negative control 병행 |
| batch 관리 | QC 시료를 batch 당 일정 비율 이상 포함 |
| 안전관리 | BSL-2 환경 유지, 장비 소독 및 폐기 절차 포함 |

발행기관 (주) 지놈앤컴퍼니
발행일 2025년 10월 31일
발행인 김혜림
편집위원장 민창기
편집위원 한승훈, 박성수, 김혜림
감수위원 분과위원회 위원 중 검토 의견서를 제출한 위원(희망자에 한함)

문의처 (우편번호) 서울특별시 마포구 마포대로 137 KPX빌딩 6층
전화번호 : 02-398-5082
이메일 : scrc@konect.or.kr

본 지침서/안내서는 보건복지부의 재원으로 국가임상시험지원재단 스마트임상시험신기술개발연구사업단의 지원을 받아 수행한 「과제명 첨단 바이오 분야 초기 임상시험 관련 기술 개발」(과제고유번호: RS-2023-KH141565)의 결과물로 제작되었음을 밝힙니다.