



# Omixon Holotype HLA и Omixon HLA Twin

## Известни ограничения на продукта

Версия 4

Публикувано на 19.10.2018 г.

## 1 История на редакциите и промените

Версия	Обобщение на промените
v1	Събрани ограничения за алгоритъма. Сливане на този документ и документа с конкретни за Holotype HLA ограничения.
v2	Ограниченията, свързани с базата данни IMGT/HLA са актуализирани, за да съответстват на IMGT/HLA v3.28.0 и v3.29.0.1. Разделът за софтуерните ограничения е допълнен, за да отговаря на следните софтуерни версии: Twin 2.1.3, Twin 2.1.4 и Twin 2.5.0.
v3	Добавени са допълнителни случаи, свързани с фазиране. Добавено е кратко ръководство за идентифициране на неправилно фазиране. Ограниченията, свързани с базата данни IMGT/HLA са актуализирани, за да съответстват на IMGT/HLA v3.30.0. Разделът за софтуерните ограничения е допълнен, за да отговаря на следните софтуерни версии: Twin 2.5.1 и Twin 3.0.0.
v4	Ограниченията, свързани с базата данни IMGT/HLA са актуализирани, за да съответстват на IMGT/HLA v3.31.0. Разделът за софтуерните ограничения е допълнен, за да отговаря на следните софтуерни версии: Twin 3.1.0 и Twin 3.1.1. Премахната е информация, свързана с версии на софтуер и IMGT/HLA, по-стари от 12+1 месеца. Засегната версия: Omixon HLA Twin 2.1.3 и 2.1.4, IMGT/HLA 3.28.0_4. Премахнати са специфични примери за проблеми, при които специфичността на алела не може да бъде доказана. Добавени са допълнителни ограничения за алгоритъма за статистическо генотипизиране.

## 2 Обхват на този документ

Предназначението на този документ е да предостави нагледен списък на известни ограничения на продукта за Holotype HLA и Omixon HLA Twin. Текущата версия (v4) на този документ е асемблирана с използване на Holotype HLA версии 1 и 2.1 и Omixon HLA Twin версии 2.5.0 (CE&RUO), 2.5.1 (CE&RUO), 3.0.0 (RUO), 3.1.0 (RUO), и 3.1.1 (CE&RUO) с IMGT/HLA 3.29.0.1\_5, 3.30.0\_5 и 3.31.0\_5. Ако не е специфицирано нещо друго, посочените ограничения влияят на всички анализи и версии на софтуера и на базите данни в обхвата на този документ.

## 3 Преглед на известни ограничения на продукта

### 3.1 Конкретни ограничения за Holotype HLA

#### 3.1.1 Конкретни неопределености за Holotype HLA

Този раздел съдържа неопределености, предизвикани от дизайна на анализите на Omixon Holotype и от технологичните ограничения за секвениране от следващо поколение (Next Generation Sequencing – NGS) – (напр. местоположението и последователността на участъците за свързване с праймер, и разпределението на фрагментите по размери, получено при използването на метода в протокола). Тези неопределености не може да бъдат решени и присъстват във всички версии на софтуера.

Създадено е изравняване на множество последователности за всеки локус, който съдържа всички последователности от алели и последователностите на Holotype праймер. После това изравняване е било съкратено до целевия участък (тоест до участъците на праймер и всички места извън участъците на праймер са били съкратени). Получените като резултат последователности след това са били проверени за точни дубликати и последващи връзки, като всички неопределености в трите полета или при ниска резолюция, или при каквато и да било резолюция, но въздействащи на алелите с нестандартни въздействащи върху експресията нива, са били събрани.

### 3.1.2 Неопределености в първото, второто и третото полета

**Указания за докладване:** Докладва се като неопределеност

Алели с неопределености		Въздействие върху експресията	Засегнатата версия(и) на IMGT/HLA	Ниво на неопределеност	Засегнатата версия(и) за анализ
DPB1*13:01:01	DPB1*107:01	HE	v3.29.0.1_5 v3.30.0_5 v3.31.0_5	Поле 1	v1, v2.1
DPB1*105:01:01	DPB1*665:01	HE	v3.30.0_5 v3.31.0_5	Поле 1	v1, v2.1
DQB1*06:01:01	DQB1*06:01:151	HE	v3.29.0.1_5 v3.30.0_5 v3.31.0_5	Поле 3	v1
DRB1*09:01:02	DRB1*09:31	HE	v3.29.0.1_5 v3.30.0_5 v3.31.0_5	Поле 2	v1, v2.1
DRB1*12:01:01	DRB1*12:10	HE	v3.29.0.1_5 v3.30.0_5 v3.31.0_5	Поле 2	v1, v2.1
DRB1*15:02:01	DRB1*15:140	HE	v3.29.0.1_5 v3.30.0_5 v3.31.0_5	Поле 2	v1, v2.1

<sup>1</sup> Неопределеността се решава чрез използване на праймери DQB1 набор 1

### 3.1.3 Неопределености, влияещи на експресията

**Указания за докладване:** Докладвани алели с ниска експресия като резултат за поле 2

Общи три първи полета в групата алели с неопределеност	Поле 4 в групата алели с неопределеност
A*02:01:01	01, 02L, 16
B*39:01:01	03, 02L, 05

### 3.1.4 Cis/Trans неопределеност

За Cis/Trans неопределеност (т.е. позовавания на алели с неопределеност, когато различните двойки се различават само по cis/trans фазиране) може да има няколко основни причини. Повечето от тези неопределености са докладвани като причинени от ограничения в технологията и базата данни IMGT/HLA.

## 3.2 Списък на известни ограничения за Omixon HLA Twin

## 3.3 Известни ограничения за алгоритъма за консенсусно генотипизиране

### 3.3.1 Въведение

Всички посочени по-долу ограничения се основават на наблюдения, докладвани от клиенти на Holotype HLA, или извършени по време на вътрешно валидиране и регресионно тестване. Трябва да се отбележи, че до края на 2018 г. тези наблюдения са получени от над 100 000 проби от комплекти Holotype HLA, продадени в целия свят.

### 3.3.2 False Novelty Called (Извикан неистински нов признак)

HLA Twin рядко може да докладва на крайния потребител за неистински нов признак. Забележете, че преобладаващото мнозинство от тези неистински нови признаци могат да бъдат елиминирани чрез ръчна проверка на резултатите в Omixon HLA Twin, извършена от обучен потребител.

### 3.3.3 Липсващи индели на дълги нови признаци

Наблюдавани са два случая, при които инсерции или делеции на дълги нови признаци не са докладвани от Omixon HLA Twin.

### 3.3.4 Не са докладвани двойни нови признаци SNP (Коригираща версия: Omixon HLA Twin 2.5.1)

Наблюдаван е единичен случай, в който две последователни SNP с нови признаци не са докладвани.

### 3.3.5 Неправилно фазиране

Наблюдаван е малък брой случаи на неправилно фазиране на консенсусни последователности.

#### Идентифициране на неправилно фазирани консенсусни последователности

Неправилно cis/trans фазиране може да бъде предположено, ако се наблюдават една или повече от следните характеристики:

- Два алела с нови признаци се докладват в една двойка с най-добро съвпадение.
- Докладват се един алел с нови признаци и един частично определен алел.
- Докладват се един или два редки алела.
- Има няколко позиции с нови признаци.

Ако се подозира неправилно фазиране, е препоръчително потребителят да провери резултатите от алгоритъма за статистическо генотипизиране.

### 3.3.6 Cis/trans неопределеност поради неефикасно фазиране

В редки случаи се докладват неопределености на ниво второ или трето поле вследствие на неефикасно фазиране. В тези случаи се предлага повторен анализ на засегнатите локуси с повече показания.

### 3.3.7 Докладван неправилен резултат за контрол на качество

Режим на проблеми	Коригираща версия	Засегната версия(и) на софтуера
Стойностите на точковия шум понякога са присвоени на неправилни консенсусни положения	Twin 3.0.0	Twin 2.5.0, Twin 2.5.1

### 3.4 Известни ограничения за алгоритъма за статистическо генотипизиране

#### 3.4.1 Някои последователности на екسونи, определени неправилно в анализи само на екسونи (Коригираща версия: Omixon HLA Twin 3.1.0)

Режим на проблеми	Коригираща версия	Засегната версия на софтуера
Поради някои несъответствия в базата данни IMGT/HLA и метода за работа с база данни IMGT/HLA, въведен в Twin 3.1.0, някои последователности на участъци са неправилно определени за анализи само на екسونи.	Twin 3.1.0	Twin 3.0.0

## 4 Известни ограничения на продукта за HLA-A

### 4.1 Конкретни ограничения за Omixon HLA Twin

#### 4.1.1 Известни ограничения за алгоритъма за статистическо генотипизиране

Известни неправилни наименования от алгоритъма за статистическо генотипизиране

Поради подобие на ексонните последователности в някои двойки алели, в някои случаи алгоритъмът за статистическо генотипизиране докладва неправилни алели за следните групи алели:

- A\*24:02/A\*24:253

## 5 Известни ограничения на продукта за HLA-B

### 5.1 Конкретни ограничения за Holotype HLA

#### 5.1.1 Алели, които показват ниска амплификация

Ниска амплификация означава, че генерираният брой отчитания за даден алел не е достатъчен за генотипизиране. В крайни случаи алелът може изобщо да не бъде докладван (отпадане на алел).

Алели с ниска амплификация	Компенсация в HLA Twin	Разделителна способност при откриване
B*51:01:02	ДА	ДА

### 5.2 Конкретни ограничения за Omixon HLA Twin

#### 5.2.1 Известни ограничения за алгоритъма за консенсусно генотипизиране

Докладвани неопределени резултати поради липса на консенсус за един от алелите

Засегнат алел	Допълнително докладвани алели
B*08:01:01	B*08:182, B*08:01:20
B*40:01:02	B*40:01:45
B*35:01:01	B*35:347, B*35:01:23, B*35:42:01

## Погрешно извикване на HLA-B\*15:01

В редки случаи алели, принадлежащи към следната група алели, могат да бъдат неправилно именувани:

- HLA-B\*15:01:01:01,
- HLA-B\*15:01:01:02N,
- HLA-B\*15:NEW

## 5.2.2 Известни ограничения за алгоритъма за статистическо генотипизиране

HLA-B\*44:02:01 и HLA-B\*44:03:01 са погрешно извикани поради присъствието на идентична екзон последователност в HLA-C

Резултат от статистическо генотипизиране	Правилен резултат
HLA-B*40:01:02+HLA-B*44:188/HLA-B*44:46	HLA-B*40:01:02+HLA-B*44:03:01
HLA-B*45:01:01+HLA-B*44:188/HLA-B*44:46	HLA-B*45:01:01+HLA-B*44:03:01

## 6 Известни ограничения на продукта за HLA-C

### 6.1 Конкретни ограничения за Omixon HLA Twin

#### 6.1.1 Известни ограничения за алгоритъма за статистическо генотипизиране

Чести неправилни наименования от алгоритъма за статистическо генотипизиране

Поради подобие на ексонните последователности в някои двойки алели, в някои случаи алгоритъмът за статистическо генотипизиране докладва неправилни алели за следните групи алели:

- C\*04:01/C\*04:09N
- C\*07:02/C\*07:01/C\*07:18

## 7 Известни ограничения на продукта за HLA-DPB1

### 7.1 Конкретни ограничения за Holotype HLA

#### 7.1.1 Слаба или неуспешна амплификация за HLA-DPB1 в DP мултиплекс

Режим на проблеми	Засегната версия за анализ
HLA-DPB1 показва ниска амплификация или няма амплификация	Holotype HLA v1 – 11 локус конфигуриране

#### 7.1.2 Cis/Trans неопределеност

**Указания за докладване:** Конкретната лаборатория определя дали да докладва за неопределеност с използване на G групи, или да докладва конкретните двойки алели, за които има неопределеност.

Алели с неопределености		Причина за неопределеността	Разлика в 2-те полета
DPB1*02:01:02+ DPB1*04:02:01	DPB1*105:01+ DPB1*416:01	Отсъствие на PHASE между EXON 2, интрон 2 (ако е приложимо) и екзон 3	ДА
DPB1*03:01:01+ DPB1*04:02:01	DPB1*351:01+ DPB1*463:01	Отсъствие на PHASE между екسونи 2 и 3	ДА

Али с неопределености		Причина за неопределеността	Разлика в 2-те полета
DPB1*04:01:01+ DPB1*04:02:01	DPB1*105:01 / DPB1*665:01 + DPB1*126:01	Отсъствие на PHASE между екسونи 2 и 3	ДА
DPB1*04:01:01+ DPB1*13:01:01 (DPB1*107:01)	DPB1*133:01+ DPB1*350:01	Отсъствие на PHASE между екسونи 2 и 3	ДА
DPB1*04:01:01+ DPB1*14:01:01	DPB1*350:01+ DPB1*651:01	Отсъствие на PHASE между екسونи 2 и 3	ДА
DPB1*04:02:01+ DPB1*17:01:01	DPB1*105:01+ DPB1*460:01	Отсъствие на PHASE между EXON 2, интрон 2 (ако е приложимо) и ексон 3	ДА
DPB1*04:01:01+ DPB1*463:01	DPB1*105:01+ DPB1*350:01	Отсъствие на PHASE между екسونи 2 и 3	ДА

## 7.2 Конкретни ограничения за Omixon HLA Twin

### 7.2.1 Известни ограничения за алгоритъма за консенсусно генотипизиране

Не е докладвана неопределеност

Резултат от Twin	Правилен резултат	Засегната версия(и) на IMGT/HLA
DPB1*126:01+DPB1*665:01   DPB1*105:01+DPB1*126:01	DPB1*126:01+DPB1*665:01   DPB1*105:01+DPB1*126:01   <b>DPB1*04:01+DPB1*04:02</b>	v3.30.0_5, v3.31.0_5

## 8 Известни ограничения на продукта за HLA-DQB1

### 8.1 Конкретни ограничения за Holotype HLA

#### 8.1.1 Алили, които показват ниска амплификация

Ниска амплификация означава, че генерираният брой отчитания за даден алел не е достатъчен за генотипизиране. В някои случаи алелът може изобщо да не бъде докладван (отпадане на алел).

Алили с ниска амплификация	Компенсация в HLA Twin	Разделителна способност при откриване
DQB1*03	ДА	ДА1

<sup>1</sup> Предложение на база на неслучайно разпределение (LD) с DQA1

## 9 Известни ограничения на продукта за HLA-DRB1

### 9.1 Технологични ограничения

Умерен дисбаланс на алили може да бъде наблюдаван за алили със значително по-дълги от средното последователности (напр. някои HLA-DRB1\*04 алили). В редки случаи може да се наблюдава висок дисбаланс на алили. Спорадично могат да бъдат очаквани отпадания на алили.

## 9.2 Конкретни ограничения за Holotype HLA

### 9.2.1 Неспецифична амплификация

Режим на проблеми	Възможни ефекти	Засегната версия(и) за анализ
В редки случаи може да се наблюдава допълнителен ампликон във втората половина на гена (от интрон 4 през 3'UTR).	Ако неспецифичен ампликон присъства само за един от алелите, некоректни несъответствия може да се докладват за интрон 4.	v1

### 9.2.2 Ниска амплификация

В някои случаи може да се наблюдава среден до висок дисбаланс на алели HLA-DRB1\*07. Изключително рядко могат да бъдат очаквани отпадания на алели.

## 9.3 Конкретни ограничения за Omixon HLA Twin

### 9.3.1 Известни ограничения за алгоритъма за консенсусно генотипизиране

HLA-DRB1\*12:01 без неопределеност

Резултат от Twin	Правилен резултат	Засегната версия(и) на IMGT/HLA
DRB1*12:10	DRB1*12:10/DRB1*12:01:01	v3.29.0.1_5, v3.30.0_5, v3.31.0_5

### 9.3.2 Известни ограничения за алгоритъма за статистическо генотипизиране

Чести неправилни наименования от алгоритъма за статистическо генотипизиране

Поради подобие на ексонните последователности в някои двойки алели, в някои случаи алгоритъмът за статистическо генотипизиране докладва неправилни алели или не докладва присъщи неопределености за следните групи алели:

- DRB1\*08:01:01/DRB1\*08:77
- DRB1\*09:01:02/DRB1\*09:31/DRB1\*09:21
- DRB1\*15:02:01/DRB1\*15:140

## 10 Известни ограничения на продукта за HLA-DRB3

### 10.1 Конкретни ограничения за Holotype HLA

#### 10.1.1 Неспецифична амплификация

Режим на проблеми	Възможни ефекти	Засегната версия(и) за анализ
В редки случаи може да се наблюдава допълнителен ампликон във втората половина на гена (от интрон 4 през 3'UTR).	Ако неспецифичен ампликон присъства само за един от алелите, некоректни несъответствия може да се докладват за интрон 4.	v1



## 11 Известни ограничения на продукта за HLA-DRB4

### 11.1 Конкретни ограничения за Holotype HLA

#### 11.1.1 Алели, които показват ниска амплификация

Ниска амплификация означава, че генерираният брой отчитания за даден алел не е достатъчен за генотипизиране. В крайни случаи алелът може изобщо да не бъде докладван (отпадане на алел). За HLA-DRB4\*01:01 често са наблюдавани ниска амплификация и отпадания на алели. В редки случаи за алели HLA-DRB4\*01:03 са докладвани отпадания на алели. И в двата случая се предполага наличие на алела на базата на неслучайно разпределение от Omixon HLA Twin.

#### 11.1.2 Други ограничения, свързани с анализа

Некоректни положителни измервания на концентрация за HLA-DRB4

Може да се наблюдават високи концентрации на ампликон в някои проби, въпреки че:

- лицето няма копие на гена HLA-DRB4 или
- лицето има едно или две копия на гена HLA-DRB4, но амплификацията не е била успешна.

### 11.2 Конкретни ограничения за Omixon HLA Twin

#### 11.2.1 Известни ограничения за алгоритъма за консенсусно генотипизиране

Неопределеност не е докладвана

Резултат от Twin	Правилен резултат
DRB4*01:02N	DRB4*01:02N/DRB4*01:03N
DRB4*01:01:01:01	DRB4*01:01:01:01/DRB4*01:03N