



Omixon Holotype HLA и Omixon HLA Twin

Известни ограничения на продукта

Версия 5

Публикувано на 14.1.2019 г.

1 История на редакциите и промените

Версия	Дата на одобряване	Автор	Обобщение на промените	Одобен от
v1	05 юли 2017 г.	Krisztina Rigó	Събрани ограничения за алгоритъма. Сливане на този документ и документа с конкретни за Holotype HLA ограничения.	Efithymia Melista, Zoltán Simon, Peter Meintjes, Gabriella Adlovits
v2	31 януари 2018 г.	Krisztina Rigó	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.	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits
v3	04 юли 2018 г.	Krisztina Rigó	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.	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits
v4	19 октомври 2018 г.	Krisztina Rigó	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. Засегнати версии: 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.	Márton Pogány, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits

Версия	Дата на одобряване	Автор	Обобщение на промените	Одобрен от
v5	📅 14 януари 2019 г.	Krisztina Rigó	<p>Ограниченията, свързани с базата данни IMGT/HLA са актуализирани, за да съответстват на IMGT/HLA v3.32.0. Премахната е информация, свързана с версии на IMGT/HLA, по-стари от 12+1 месеца. Засегнатата версия: IMGT/HLA 3.29.0.1_5.</p> <p>Разделите относно ограничението на анализа са допълнени със следната версия на анализ: Holotype HLA v3.0. В раздел „Неопределености, влияещи на експресията“ е променено форматирането и е добавен нов случай.</p> <p>Към раздел „Cis/Trans неопределеност“ на HLA-DPB1 е добавен допълнителен случай.</p> <p>Допълнителни малки промени и актуализации.</p>	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits

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, 2.1 и 3.0, 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 версии 3.30.0_5, 3.31.0_5 и 3.32.0_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 дизайн на анализите на Omixon Holotype HLA 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	Засегната версия(и) на IMGT/HLA	Ниво на неопределеност	Засегната версия(и) за анализ
DPB1*13:01:01	DPB1*107:01	HE	v3.30.0_5 v3.31.0_5 v3.32.0_5	Поле 1	v1, v2.1, v3.0
DPB1*105:01:01	DPB1*665:01	HE	v3.30.0_5 v3.31.0_5 v3.32.0_5	Поле 1	v1, v2.1, v3.0
DQB1*06:01:01	DQB1*06:01:15 ¹	HE	v3.30.0_5 v3.31.0_5 v3.32.0_5	Поле 3	v1
DRB1*09:01:02	DRB1*09:31	HE	v3.30.0_5 v3.31.0_5 v3.32.0_5	Поле 2	v1, v2.1, v3.0
DRB1*12:01:01	DRB1*12:10	HE	v3.30.0_5 v3.31.0_5 v3.32.0_5	Поле 2	v1, v2.1, v3.0
DRB1*15:02:01	DRB1*15:140	HE	v3.30.0_5 v3.31.0_5 v3.32.0_5	Поле 2	v1, v2.1, v3.0
DRB1*15:02:01	DRB1*15:149	HE	v3.32.0_5	Поле 2	v1, v2.1, v3.0

¹ 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

Групи алели с неопределености

- HLA-A*02:01:01:01/HLA-A*02:01:01:02L/HLA-A*02:01:01:16
- HLA-B*39:01:01:03/HLA-B*39:01:01:02L/HLA-B*39:01:01:05
- HLA-DQB1*03:01:01:01/03:01:01:10/03:01:01:20/03:276N¹

¹ Неопределеност е налице само за анализи с IMGT/HLA 3.32.0_5 или по-висока, с версия на анализ Holotype HLA v1, когато не се използва набор 1 от набори праймери, или когато има ниска амплификация.

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

3.2.1 Известни ограничения за алгоритъма за консенсусно генотипизиране

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.

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.

Липсващи индели на дълги нови признаци

Изключително рядко от Omixon HLA Twin не са докладвани инсерции или делеции на дълги нови признаци.

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.

Неправилно фазиране

В редки случаи консенсусните последователности са неправилно фазирани.

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.

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.

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

Не е докладван резултат, въпреки успешното генериране на консенсус (Коригираща версия: Omixon HLA Twin 3.1.1)

Режим на проблеми	Коригираща версия	Засегната версия(и) на софтуера
В някои редки случаи не се докладва извикване на алел, въпреки успешното генериране на консенсусна последователност	Twin 3.1.1	Twin 2.5.0, Twin 2.5.1 Twin 3.0.0 Twin 3.1.0

3.2.2 Известни ограничения за алгоритъма за статистическо генотипизиране

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

Неправилна консенсусна последователност вследствие на неефективно откриване на кръстосано картографиране

- В някои редки случаи се докладват резултати с неопределеност вследствие на частична загуба на консенсус в началото на консенсуса.
- Рядко се докладват грешни нови признаци вследствие на неправилна консенсусна последователност в близост до началото на консенсуса.

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	Засегнатата версия за анализ
В някои случаи 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
DPB1*02:01:02+ DPB1*04:02:01	Отсъствие на PHASE между EXON 2, интрон 2 (ако е приложимо) и ексон 3
DPB1*03:01:01+ DPB1*04:02:01	Отсъствие на PHASE между ексони 2 и 3
DPB1*04:01:01+ DPB1*04:02:01	Отсъствие на PHASE между ексони 2 и 3
DPB1*04:01:01+ DPB1*13:01:01 (DPB1*107:01)	Отсъствие на PHASE между ексони 2 и 3
DPB1*04:01:01+ DPB1*14:01:01	Отсъствие на PHASE между ексони 2 и 3
DPB1*04:02:01+ DPB1*17:01:01	Отсъствие на PHASE между EXON 2, интрон 2 (ако е приложимо) и ексон 3
DPB1*04:01:01+ DPB1*463:01	Отсъствие на PHASE между ексони 2 и 3
DPB1*05:01+ DPB1*13:01	Отсъствие на PHASE между ексони 2 и 4

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
DPB1*126:01+DPB1*665:01 DPB1*105:01+DPB1*126:01	DPB1*126:01+DPB1*665:01 DPB1*105:01+DPB1*126:01 DPB1*04:01+DPB1*04:02

8 Известни ограничения на продукта за HLA-DQB1

8.1 Конкретни ограничения за Holotype HLA

8.1.1 Алели, 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).

Алели с ниска амплификация	Компенсация в HLA Twin	Разделителна способност при откриване
DQB1*03	ДА	ДА ¹

¹ Предложение на база на неслучайно разпределение (LD) с DQA1

8.1.2 Ниска амплификация за праймери набор 1 Holotype HLA v1.

В някои случаи ампликонът, получен от праймери набор 1 Holotype HLA v1 проявява ниска амплификация.

9 Известни ограничения на продукта за HLA-DRB1

9.1 Технологични ограничения

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

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

Неопределеност HLA-DRB1*12:01 липсва в някои случаи

Резултат от Twin	Правилен резултат
DRB1*12:10	DRB1*12:10/DRB1*12:01:01

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*04:07:01/DRB1*04:92
- 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