



Omixon Holotype HLA and Omixon HLA Twin

Известни ограничения на продукта

Version 7

Published on 06/04/2019

1 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 на този документ е асемблирана с използване на Holotype HLA версии 1, 2.1 и 3.0, и Omixon HLA Twin версии 2.5.1 (CE&RUO), 3.0.0 (RUO), 3.1.0 (RUO), 3.1.1 (CE&RUO) и 3.1.3 (RUO) с IMGT/HLA версии 3.32.0_5, 3.32.0_7, 3.33.0_7, 3.34.0_8 и 3.35.0_8. 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.

За преглед на предишните версии и промените в този документ вж. раздел „История на редакциите и промените“.

2 Преглед на известни ограничения на продукта

2.1 Конкретни ограничения за Holotype HLA

2.1.1 Конкретни неопределености за Holotype HLA

Този раздел съдържа неопределености, предизвикани от дизайна 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.

2.1.2 Неопределености в първото, второто и третото полета

Указания за докладване: Докладва се като неопределеност

Неопределености, влияещи на всички версии на Holotype HLA

Алели с неопределености		Засегната версия(и) на IMGT/HLA	Ниво на неопределеност
DPB1*13:01:01	DPB1*107:01	Всички ¹	Поле 1
DPB1*105:01:01	DPB1*665:01	Всички ¹	Поле 1
DPB1*584:01:01	DPB1*584:01:02	v3.35.0_8	Поле 3
DRB1*03:01:01	DRB1*03:147	v3.34.0_8 v3.35.0_8	Поле 2
DRB1*09:01:02	DRB1*09:31	Всички ¹	Поле 2
DRB1*09:21	DRB1*09:31	Всички ¹	Поле 2

Алели с неопределености		Засегната версия(и) на IMGT/HLA	Ниво на неопределеност
DRB1*12:01:01	DRB1*12:10	Всички ¹	Поле 2
DRB1*15:02:01	DRB1*15:140/ DRB1*15:149	Всички ¹	Поле 2/ Поле 2

¹ Всички: Засегнати са всички версии на базата данни в обхвата на този документ.

Неопределености, влияещи само на v1 на Holotype HLA

Тези неопределености могат да се решат чрез използване на праймери DQB1, набор 1.

Алели с неопределености		Засегната версия(и) на IMGT/HLA	Ниво на неопределеност
DQB1*02:02:01	DQB1*02:02:06	v3.34.0_8 v3.35.0_8	Поле 3
DQB1*03:01:01	DQB1*03:297/ DQB1*03:01:41	v3.33.0_7 v3.34.0_8 v3.35.0_8	Поле 2/ Поле 3
DQB1*03:01:01	DQB1*03:01:43	v3.35.0_8	Поле 3
DQB1*03:02:01	DQB1*03:289	v3.34.0_8 v3.35.0_8	Поле 2
DQB1*06:01:01	DQB1*06:01:15	Всички ¹	Поле 3

¹ Всички: Засегнати са всички версии на базата данни в обхвата на този документ.

2.1.3 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/**02:01:01:02L**/02:01:01:16/02:01:01:50
- HLA-B*39:01:01:03/**39:01:01:02L**/39:01:01:05/39:01:01:09
- HLA-DQB1*03:01:01:01/03:01:01:10/03:01:01:20/03:01:41/03:01:43/**03:276N**¹

¹ Неопределеност е налице при IMGT/HLA 3.32.0_5 версии на анализ v2 и v3, но не засяга бази данни IMGT/HLA версия v3.33.0 и по-високи. Holotype HLA v1 е засегнат при всички версии на база данни, по-високи от 3.31.0.

2.1.4 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.

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.

2.2 Списък на известни ограничения за Omixon HLA Twin

2.2.1 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.

2.2.2 Неопределеност не е докладвана за алели с нови признаци

По дизайн от алгоритъма за консенсусно генотипизиране е докладван само един алел с нови признаци. В много редки случаи могат да бъдат идентифицирани няколко еднакво вероятни алели с нови признаци, но само един от тези варианти се докладва от алгоритъма.

Липсващи нови признаци

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

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 са присвоени на неправилни консенсусни положения	Twin 3.0.0	Twin 2.5.1

2.2.3 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 2.5.1 Twin 3.0.0 Twin 3.1.0

2.2.4 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

3 Известни ограничения на продукта за HLA-A

3.1 Конкретни ограничения за Omixon HLA Twin

3.1.1 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

4 Известни ограничения на продукта за HLA-B

4.1 Конкретни ограничения за Holotype HLA

4.1.1 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

4.2 Конкретни ограничения за Omixon HLA Twin

4.2.1 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 и информацията за аминокиселини може да е неправилна вследствие на несъответствия в базата данни:

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

4.2.2 Известни ограничения за алгоритъма за статистическо генотипизиране

Някои HLA-B алели са погрешно извикани поради присъствието на идентична екзон последователност в HLA-C

Група от HLA-B алели (няколко HLA-B*44 алели и HLA-B*47:04) има последователност на екзон 2, идентична с HLA-C*16:85. Поради това подобие тези алели могат да бъдат погрешно извикани от алгоритъма за статистическо генотипизиране.

5 Известни ограничения на продукта за HLA-C

5.1 Конкретни ограничения за Omixon HLA Twin

5.1.1 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

6 Известни ограничения на продукта за HLA-DPB1

6.1 Конкретни ограничения за Holotype HLA

6.1.1 Слаба или неуспешна амплификация за HLA-DPB1 в DP мултиплекс



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

6.2 Конкретни ограничения за Omixon HLA Twin

6.2.1 Известни ограничения за алгоритъма за консенсусно генотипизиране

Не е докладвана неопределеност

В някои редки случаи не се докладват cis/trans неопределености от ниво на G-група.

7 Известни ограничения на продукта за HLA-DQB1

7.1 Конкретни ограничения за Holotype HLA

7.1.1 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

7.1.2 Алели, които не са амплифицирани

DQB1*03:276N – вследствие на дълга делеция, обхващаща мястото на 5' амплификационен праймер, този алел не е амплифициран.

7.1.3 Ниска амплификация за праймери набор 1 Holotype HLA v1.

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

8 Известни ограничения на продукта за HLA-DRB1

8.1 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.

8.2 Конкретни ограничения за Holotype HLA

8.2.1 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

8.2.2 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.

8.3 Конкретни ограничения за Omixon HLA Twin

8.3.1 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

8.3.2 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

9 Известни ограничения на продукта за HLA-DRB3

9.1 Конкретни ограничения за Holotype HLA

9.1.1 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

10 Известни ограничения на продукта за HLA-DRB4

10.1 Конкретни ограничения за Holotype HLA

10.1.1 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.

10.1.2 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.

10.2 Конкретни ограничения за Omixon HLA Twin

10.2.1 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

11 История на редакциите и промените

Версия	Дата на одобряване	Автор	Резюме на измененията	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	Резюме на измененията	Одобрен от
v5	14 януари 2019 г.	Krisztina Rigó	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. Засегната версия: IMGT/HLA 3.29.0.1_5. 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. Към раздел „Cis/Trans неопределеност“ на HLA-DPB1 е добавен допълнителен случай. Допълнителни малки промени и актуализации.	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits
v6	26 март 2019 г.	Krisztina Rigó	Ограниченията, свързани с базата данни IMGT/HLA са актуализирани, за да съответстват на IMGT/HLA 3.32.0_7, 3.33.0_7 и 3.34.0_8. Разделът за софтуерните ограничения е допълнен, за да отговаря на следната софтуерна версия: Twin 3.1.3. Премахната е информация, свързана с версии на софтуер и IMGT/HLA, по-стари от 12+1 месеца. Засегнати версии: Omixon HLA Twin 2.5.0, IMGT/HLA 3.30.0_5 и 3.31.0_5. Продуктовите версии, засегнати от неопределеността DQB1*03:276N, са коригирани и актуализирани. От раздела за HLA-DPB1 Cis/Trans неопределености са махнати конкретни примери. Допълнителни малки промени и актуализации.	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits



Версия	Дата на одобряване	Автор	Резюме на измененията	Одобрен от
v7	26 април 2019 г.	Krisztina Rigó	Ограниченията, свързани с базата данни IMGT/HLA са актуализирани, за да съответстват на IMGT/HLA 3,35.0_8. Актуализирано е ограничение на алгоритъма за статистическо генотипизиране, предизвикано от идентични последователности на участъци в различни локуси. Актуализирано е ограничение на алгоритъма за консенсусно генотипизиране, свързано с нови признаци. Преструктуриран е разделът „Неопределености в първото, второто и третото полета“.	Efithymia Melista, Gergely Tölgyesi, Gabriella Adlovits