



Omixon Holotype HLA and Omixon HLA Twin

Известные ограничения продукта

Version 7

Published on 06/04/2019



1 Назначение данного документа

Настоящий документ содержит подробный список известных ограничений для продуктов Holotype HLA и Omixon HLA Twin. В текущей версии документа собраны ограничения для Holotype HLA версий 1, 2.1 и 3.0, а также Omixon HLA Twin версий 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 версий 3.32.0_5, 3.32.0_7, 3.33.0_7, 3.34.0_8 и 3.35.0_8. Если отдельно не указано обратное, перечисленные ограничения относятся ко всем версиям анализов, программного обеспечения и баз данных, описываемых в настоящем документе.

Обзор предшествующих версий и изменений данного документа см. в разделе «История версий и изменений».

2 Обзор известных ограничений продукта

2.1 Ограничения, относящиеся к Holotype HLA

2.1.1 Неоднозначности, относящиеся к Holotype HLA

В этом разделе описаны неоднозначности, вызванные конструкцией анализов в Omixon Holotype HLA и техническими ограничениями NGS (т. е. расположением и последовательностью участков связывания с праймером и распределением размеров фрагментов при использовании метода выбора размера, используемого в протоколе). Такие неоднозначности неразрешимы и присутствуют во всех версиях программного обеспечения.

Создано множественное выравнивание последовательностей для каждого локуса, содержащего все последовательности аллелей и последовательности праймеров Holotype. Тогда это выравнивание усекается до целевой области (т.е. участка связывания с праймером, когда отбрасываются все позиции за пределами этого участка). Затем получившиеся последовательности проверяются на точные дубликаты и предпоследовательные связи, и выбираются все неоднозначности для трех полей и более низкого разрешения или без разрешения, но влияющие на аллели с нестандартными уровнями экспрессии.

2.1.2 Неоднозначности по первому, второму и третьему полям

Рекомендации по отображению: отображать как неоднозначность

Неоднозначности, влияющие на все версии голотипа Holotype HLA

Неоднозначные аллели		Затронутые версии IMGT/HLA	Уровень неоднозначности
DPB1*13:01:01	DPB1*107:01	Все ¹	1-е поле
DPB1*105:01:01	DPB1*665:01	Все ¹	1-е поле
DPB1*584:01:01	DPB1*584:01:02	v3.35.0_8	3-е поле
DRB1*03:01:01	DRB1*03:147	v3.34.0_8 v3.35.0_8	2-е поле
DRB1*09:01:02	DRB1*09:31	Все ¹	2-е поле
DRB1*09:21	DRB1*09:31	Все ¹	2-е поле

Неоднозначные аллели		Затронутые версии IMGT/HLA	Уровень неоднозначности
DRB1*12:01:01	DRB1*12:10	Все ¹	2-е поле
DRB1*15:02:01	DRB1*15:140/ DRB1*15:149	Все ¹	2-е поле/ 2-е поле

¹ Все: Затронуты все версии базы данных, попадающие под действие данного документа.

Неоднозначности, влияющие только на голотип Holotype HLA версии 1

Эти неоднозначности можно снять, если использовать праймеры DQB1 набора 1.

Неоднозначные аллели		Затронутые версии IMGT/HLA	Уровень неоднозначности
DQB1*02:02:01	DQB1*02:02:06	v3.34.0_8 v3.35.0_8	3-е поле
DQB1*03:01:01	DQB1*03:297/ DQB1*03:01:41	v3.33.0_7 v3.34.0_8 v3.35.0_8	2-е поле/ 3-е поле
DQB1*03:01:01	DQB1*03:01:43	v3.35.0_8	3-е поле
DQB1*03:02:01	DQB1*03:289	v3.34.0_8 v3.35.0_8	2-е поле
DQB1*06:01:01	DQB1*06:01:15	Все ¹	3-е поле

¹ Все: Затронуты все версии базы данных, попадающие под действие данного документа.

2.1.3 Неоднозначности, влияющие на экспрессию

Рекомендации по отображению: Аллели с низкой экспрессией по результатам 2-го поля

Неоднозначные группы аллелей

- 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 Неоднозначность присутствует в анализах IMGT/HLA 3.32.0_5 версий v2 и v3, но не влияет на базы данных IMGT/HLA v3.33.0 и выше. Holotype HLA v1 влияет на все версии базы данных выше 3.31.0.

2.1.4 Неоднозначности цис-транс

Неоднозначности цис-транс (т.е. неоднозначности идентификации аллелей, где разные пары аллелей различаются только фазированием цис-транс) могут быть вызваны несколькими первопричинами. Большинство этих неоднозначностей выдается из-за технических ограничений и ограничений, связанных с базой данных IMGT/HLA.

Рекомендации по отображению: Каждая лаборатория самостоятельно решает, сообщать ли о неоднозначностях группы G и о неоднозначностях конкретных пар аллелей.

2.2 Список известных ограничений для Omixon HLA Twin



2.2.1 Известные ограничения алгоритма консенсусного генотипирования

Введение

Все перечисленные ниже ограничения основываются на наблюдениях, сделанных при использовании Holotype HLA или во время внутренней валидации и регрессивного тестирования. Обратите внимание, что до конца 2018 года эти наблюдения были сделаны по почти 100 000 образцам наборов Holotype HLA, проданных по всему миру.

Идентификация неизвестных фрагментов

Иногда HLA Twin выдает неизвестные фрагменты конечному пользователю. Обратите внимание, что большинство случаев, когда фрагменты были ошибочно расценены как неизвестные ранее, можно устранить ручной проверкой результатов в Omixon HLA Twin опытным пользователем.

2.2.2 Неоднозначности не выдаются для неизвестных аллелей

Алгоритм консенсусного генотипирования выдает только одиночные неизвестные аллели. В очень редких случаях могут быть обнаружены несколько в равной степени возможных неизвестных аллелей, но только один из этих вариантов идентифицируется алгоритмом.

Пропущенные новые вставки или пропуски

В исключительно редких случаях новые вставки или пропуски не включаются в отчет Omixon HLA Twin.

Неправильное фазирование

В редких случаях консенсусные последовательности фазируются неверно.

Выявление неправильно фазированных консенсусных последовательностей

Неправильное фазирование цис-транс можно заподозрить в тех случаях, когда имеется один или несколько следующих признаков.

- Выдаются две неизвестные аллели в одной паре наилучшего соответствия.
- Выдаются одна неизвестная аллель и одна частично определенная аллель.
- Выдаются одна или две редкие аллели.
- Имеется несколько неизвестных позиций.

Если есть подозрение на неправильное фазирование, пользователю рекомендуется проверить результаты алгоритма статистического генотипирования.

Неоднозначность цис-транс из-за неэффективного фазирования

В некоторых редких случаях неоднозначности уровня второго и третьего поля выдаются из-за неэффективного фазирования. В этом случае рекомендуется выполнить повторный анализ затронутого локуса с дополнительными чтениями.

Выдается неправильный результат QC

Режим сбоя	Версия исправления	Затронутые версии ПО
Соотношения точечного шума назначены неправильным позициям консенсуса	Twin 3.0.0	Twin 2.5.1



2.2.3 Результаты не выдаются несмотря на успешную генерацию консенсуса (версия исправления: Omixon HLA Twin 3.1.1)

Режим сбоя	Версия исправления	Затронутые версии ПО
В некоторых случаях идентификация аллелей не выдается даже в случае успешной генерации консенсусной последовательности	Twin 3.1.1	Twin 2.5.1 Twin 3.0.0 Twin 3.1.0

2.2.4 Известные ограничения алгоритма статистического генотипирования

Некоторые экзонные последовательности определяются неверно при анализе только экзонов (версия исправления: Omixon HLA Twin 3.1.0)

Режим сбоя	Версия исправления	Затронутая версия ПО
Из-за некоторой несогласованности в базе данных IMGT/HLA и методов работы с ней, реализованных в Twin 3.1.0, последовательности некоторых областей определяются неверно при анализе только экзонов.	Twin 3.1.0	Twin 3.0.0

3 Известные ограничения продукта для HLA-A

3.1 Ограничения, относящиеся к Omixon HLA Twin

3.1.1 Известные ограничения алгоритма статистического генотипирования

Известные неверные идентификации алгоритма статистического генотипирования

Из-за схожести экзонных последовательностей в некоторых парах аллелей алгоритм статистического генотипирования в некоторых случаях выдает неверные аллели для следующих групп аллелей:

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

4 Известные ограничения продукта для HLA-B

4.1 Ограничения, относящиеся к Holotype HLA

4.1.1 Аллели, которые могут показывать низкую амплификацию

Низкая амплификация означает, что сгенерированного числа чтений для аллели недостаточно для генотипирования. В исключительных случаях аллель не может быть выдана вообще (выпадает).

Аллели с низкой амплификацией	Компенсация в HLA Twin	Разрешение обнаружения
B*51:01:02	ДА	ДА

4.2 Ограничения, относящиеся к Omixon HLA Twin

4.2.1 Известные ограничения алгоритма консенсусного генотипирования

Неверная консенсусная последовательность из-за неэффективного обнаружения скрещивания



- В отдельных редких случаях могут быть выданы неоднозначные результаты из-за частичной потери консенсуса в его начале.
- В редких случаях ложные неизвестные фрагменты выдаются из-за неверной консенсусной последовательности в области начала консенсуса.

Неверная идентификация HLA-B*15:01

В отдельных редких случаях аллели, относящиеся к группе, могут вызвать неверную идентификацию, и информация об аминокислотах может оказаться неверной из-за несогласованности в базе данных:

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

4.2.2 Известные ограничения алгоритма статистического генотипирования

Некоторые аллели HLA-B неправильно идентифицируются из-за присутствия идентичной экзонной последовательности в HLA-C

Группа аллелей HLA-B (несколько аллелей HLA-B*44 и HLA-B*47:04) имеет последовательность экзона 2, идентичную HLA-C*16:85. Из-за этого сходства возможна неверная идентификация этих аллелей при использовании алгоритма статистического генотипирования.

5 Известные ограничения продукта для HLA-C

5.1 Ограничения, относящиеся к Omixon HLA Twin

5.1.1 Известные ограничения алгоритма статистического генотипирования

Распространенные ошибки идентификации алгоритма статистического генотипирования

Из-за схожести экзонных последовательностей в некоторых парах аллелей алгоритм статистического генотипирования в некоторых случаях выдает неверные аллели для следующих групп аллелей:

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

6 Известные ограничения продукта для HLA-DPB1

6.1 Ограничения, относящиеся к Holotype HLA

6.1.1 Низкая амплификация или ее отказ для HLA-DPB1 в DP-multiplex

Режим сбоя	Затронутые версии анализов
В некоторых случаях HLA-DPB1 показывает низкую амплификацию или отказ амплификации	Конфигурация локуса Holotype HLA v1 – 11



6.2 Ограничения, относящиеся к Omixon HLA Twin

6.2.1 Известные ограничения алгоритма консенсусного генотипирования

Неоднозначность не выдается

В редких случаях неоднозначности цис-транс уровня группы G не выдаются.

7 Известные ограничения продукта для HLA-DQB1

7.1 Ограничения, относящиеся к Holotype HLA

7.1.1 Аллели, которые могут показывать низкую амплификацию

Низкая амплификация означает, что сгенерированного числа чтений для аллели недостаточно для генотипирования. В некоторых случаях аллель может не выдаться совсем (выпадает).

Аллели с низкой амплификацией	Компенсация в HLA Twin	Разрешение обнаружения
DQB1*03	ДА	ДА ¹

¹ Предложение основано на неравновесном сцеплении генов (LD) с DQA1

7.1.2 Аллели, которые не амплифицируются

DQB1*03:276N: из-за длинного пропуска, покрывающего участок связывания с праймером 5', эта аллель не амплифицируется.

7.1.3 Низкая амплификация для праймеров Holotype HLA v1 набора 1

В некоторых случаях ампликон, произведенный праймерами Holotype HLA v1 набора 1, показывает низкую амплификацию.

8 Известные ограничения продукта для HLA-DRB1

8.1 Технические ограничения

Умеренный аллельный дисбаланс может возникнуть для аллелей, длина которых значительно превышает среднюю (например некоторых аллелей HLA-DRB1*04). В редких случаях может возникнуть значительный аллельный дисбаланс. Время от времени могут возникать выпадения аллелей.

8.2 Ограничения, относящиеся к Holotype HLA

8.2.1 Неконкретная амплификация

Режим сбоя	Возможные эффекты	Затронутые версии анализов
В редких случаях может возникнуть дополнительный ампликон во второй половине гена (от интрона 4 и далее до 3'UTR).	Если аспецифический ампликон присутствует только в одной из аллелей, то могут возникнуть ложные срабатывания для интрона 4.	v1

8.2.2 Низкая амплификация



В некоторых случаях аллельный дисбаланс от умеренного до высокого может возникнуть для аллелей HLA-DRB1*07. В очень редких случаях может возникнуть выпадение аллелей.

8.3 Ограничения, относящиеся к Omixon HLA Twin

8.3.1 Известные ограничения алгоритма консенсусного генотипирования

В некоторых случаях пропускается неоднозначность в HLA-DRB1*12:01

Результат, идентифицированный Twin	Правильный результат
DRB1*12:10	DRB1*12:10/ DRB1*12:01:01

8.3.2 Известные ограничения алгоритма статистического генотипирования

Распространенные ошибки идентификации алгоритма статистического генотипирования

Из-за схожести экзонных последовательностей некоторых пар аллелей алгоритм статистического генотипирования выдает неверные аллели или не выдает существенные неоднозначности в некоторых случаях для следующих групп аллелей:

- 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 Известные ограничения продукта для HLA-DRB3

9.1 Ограничения, относящиеся к Holotype HLA

9.1.1 Неконкретная амплификация

Режим сбоя	Возможные эффекты	Затронутые версии анализов
В редких случаях может возникнуть дополнительный ампликон во второй половине гена (от интрона 4 и далее до 3'UTR).	Если аспецифический ампликон присутствует только в одной из аллелей, то могут возникнуть ложные срабатывания для интрона 4.	v1

10 Известные ограничения продукта для HLA-DRB4

10.1 Ограничения, относящиеся к Holotype HLA

10.1.1 Аллели, которые могут показывать низкую амплификацию



Низкая амплификация означает, что сгенерированного числа чтений для аллели недостаточно для генотипирования. В исключительных случаях аллель не может быть выдана вообще (выпадает). Низкая амплификация и выпадения аллелей часто возникают для HLA-DRB4*01:01. В редких случаях выпадения аллелей возникают для аллелей HLA-DRB4*01:03. В обоих случаях присутствие аллели предлагается исходя из неравновесного сцепления в Omixon HLA Twin.

10.1.2 Другие ограничения, связанные с анализом

Ложные замеры положительной концентрации для HLA-DRB4

В некоторых образцах может возникнуть высокая концентрация ампликонов даже несмотря на то, что:

- пациент не имеет копии гена HLA-DRB4 либо
- пациент имеет одну или две копии гена HLA-DRB4, но амплификация не была успешной.

10.2 Ограничения, относящиеся к Omixon HLA Twin

10.2.1 Известные ограничения алгоритма консенсусного генотипирования

Неоднозначность не выдается

Результат, идентифицированный Twin	Правильный результат
DRB4*01:02N	DRB4*01:02N/DRB4*01:03N
DRB4*01:01:01:01	DRB4*01:01:01:01/DRB4*01:03N

11 История изменений

Версия	Дата утверждения	Автор	Сводка изменений	Утверждено
v1	5 июля 2017	Кристина Риго	Собраны алгоритмические ограничения. Документ объединен с документом по ограничениям, относящимся к Holotype HLA.	Эфитимия Мелиста, Золтан Шимон, Петер Мейнтйеш, Габриэла Адлович
v2	31 января 2018	Кристина Риго	Ограничения, связанные с базой данных IMGT/HLA, обновлены до версий IMGT/HLA v3.28.0 и v3.29.0.1. Раздел о программных ограничениях расширен до следующих версий программного обеспечения: Twin 2.1.3, Twin 2.1.4 и Twin 2.5.0.	Эфитимия Мелиста, Гергей Тёлдеши, Габриэла Адлович
v3	4 июля 2018	Кристина Риго	Добавлены дополнительные случаи, связанные с фазированием. Добавлено краткое руководство по определению неправильного фазирования. Ограничения, связанные с базой данных IMGT/HLA, обновлены до версии IMGT/HLA v3.30.0. Раздел о программных ограничениях расширен до следующих версий программного обеспечения: Twin 2.5.1 и Twin 3.0.0.	Эфитимия Мелиста, Гергей Тёлдеши, Габриэла Адлович
v4	19 октября 2018	Кристина Риго	Ограничения, связанные с базой данных IMGT/HLA, обновлены до версии IMGT/HLA v3.31.0. Раздел о программных ограничениях расширен до следующих версий программного обеспечения: Twin 3.1.0 и Twin 3.1.1. Удалена информация, относящаяся к ПО и версиям IMGT/HLA старше 12+1 месяцев. Затронутые версии: Omixon HLA Twin 2.1.3 и 2.1.4, IMGT/HLA 3.28.0_4. Исключены некоторые примеры из-за проблем доказуемости особенностей аллелей. Добавлены дополнительные ограничения для алгоритма статистического генотипирования.	Мартон Погань, Гергей Тёлдеши, Габриэла Адлович

Версия	Дата утверждения	Автор	Сводка изменений	Утверждено
v5	14 января 2019	Кристина Риго	<p>Ограничения, связанные с базой данных IMGT/HLA, обновлены до версии IMGT/HLA v3.32.0.</p> <p>Удалена информация, связанная с версиями IMGT/HLA старше 12+1 месяцев. Затронутая версия: IMGT/HLA 3.29.0.1_5.</p> <p>Разделы об ограничениях метода дополнена следующей версией продукта: Holotype HLA v3.0.</p> <p>В разделе «Неоднозначности, влияющие на экспрессию» изменено форматирование и добавлен новый случай.</p> <p>Добавлен новый случай в раздел HLA-DPB1 «Неоднозначности цис-транс».</p> <p>Другие незначительные изменения и дополнения.</p>	Эфитимия Мелиста, Гергей Тёлдеши, Габриэла Адлович
v6	26 марта 2019	Кристина Риго	<p>Ограничения, связанные с базой данных IMGT/HLA, обновлены до версий IMGT/HLA 3.32.0_7, 3.33.0_7 и 3.34.0_8.</p> <p>Раздел программных ограничений расширен до следующей версии программного обеспечения: Twin 3.1.3.</p> <p>Удалена информация, относящаяся к ПО и версиям IMGT/HLA старше 12+1 месяцев. Затронутые версии: Omixon HLA Twin 2.5.0, IMGT/HLA 3.30.0_5 и 3.31.0_5.</p> <p>Изменены и дополнены версии продукта, затронутые неоднозначностью DQB1*03:276N.</p> <p>Исключены некоторые примеры из раздела неоднозначностей цис-транс HLA-DPB1.</p> <p>Другие незначительные изменения и дополнения.</p>	Эфитимия Мелиста, Гергей Тёлдеши, Габриэла Адлович



Версия	Дата утверждения	Автор	Сводка изменений	Утверждено
v7	26 апреля 2019	Кристина Риго	<p>Ограничения, связанные с базой данных IMGT/HLA, обновлены до версии IMGT/HLA 3.35.0_8.</p> <p>Были обновлены ограничения алгоритма статистического генотипирования, вызванные идентичными последовательностями областей в разных локусах.</p> <p>Известные ограничения алгоритма консенсусного генотипирования, связанные с новыми вставками или пропусками, были обновлены.</p> <p>Раздел «Неоднозначности по первому, второму и третьему полям» был реструктурирован.</p>	Эфитимия Мелиста, Гергей Тёлдеши, Габриэла Адлович