

Probenidentifikation mit dem AmpliSeq™ for Illumina Sample ID Panel

Optionales Produkt zur Proben-
identifikation in Verbindung
mit beliebigen AmpliSeq
for Illumina-Panels



Einleitung

Das AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel ist eine optionale Komponente der AmpliSeq for Illumina-Sequenzierungslösung. Das Sample ID Panel ist mit allen AmpliSeq for Illumina-Human-DNA-Panels kompatibel und ermöglicht eine schnelle und genaue Probenidentifikation. Das AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel ist als Teil des Panel-Geninhalts in bestimmten festen AmpliSeq for Illumina-Panels enthalten. Für alle anderen Panels, einschließlich Community- und anwendungsspezifischer Panels, ist es als Zubehörprodukt erhältlich (Tabelle 1).

Panelinhalt

Das AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel besteht aus acht auf Einzelnukleotidpolymorphismus (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) ausgerichteten Primer-Paaren und einem geschlechtsspezifischen Primer-Paar (Tabelle 2). Vor der Matrizenamplifikation können Sample ID Panel-Primer-Paare hinzugefügt werden, um für jede Probe einen eindeutigen Fingerabdruck bzw. eine eindeutige Signatur zu generieren.

Leistung bei der Probenunterscheidung

Das AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel kann eine Probenunterscheidung von ca. 1:5.000 erzielen. Diese Unterscheidungsleistung setzt eine vollständige Unabhängigkeit zwischen SNPs sowie eine vollständige Übereinstimmung mit den Hardy-Weinberg-Annahmen voraus. Außerdem dürfen keine Proben-ID-Genotypisierungs-Calls fehlen oder falsch sein. Die tatsächliche Unterscheidungsleistung kann variieren. Bei Studien mit weniger als 5.000 unabhängigen, nicht verwandten Proben kann das Sample ID Panel jede Probe in der Studie genau identifizieren und unterscheiden.

Integrierter, optimierter Workflow

Das AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel erfordert nur zwei zusätzliche Schritte gegenüber einem beliebigen AmpliSeq for Illumina Panel-Workflow: das Spike-in vorbereiteter Sample ID Panel-Primer in die Zielamplifikationsreaktion sowie die Integration des Sample ID Panel in die Datenanalyse. Abgesehen von diesen zusätzlichen Schritten können Bibliotheksvorbereitung, Sequenzierung und Datenanalyse ohne weitere Änderungen am Workflow für das AmpliSeq for Illumina Panel fortgesetzt werden. Die Referenzhandbücher für alle Panels enthalten Anweisungen zur Verwendung des Sample ID Panel.

Tabelle 1: Überblick über die Verfügbarkeit des Sample ID Panel

Sample ID Panel enthalten	Sample ID Panel als Zubehör erhältlich
BRCA Panel	Cancer Hotspot Panel v2
Comprehensive Panel v3	Comprehensive Cancer Panel
Myeloid Panel	Focus Panel
	Community-DNA-Panels
	On-Demand-Panels
	Anwendungsspezifische DNA-Panels (human)

Interpretation der Daten

Das AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel weist jeder Probe eine Signatur zu, die durch einen neunstelligen Code dargestellt wird. Der erste Buchstabe des Codes gibt den Geschlechts-Call für die Probe an. Die restlichen Buchstaben im Code bezeichnen die Genotypen, die bei den acht SNPs im Panel aufgerufen werden (Tabelle 3). Beispielsweise würde der DNA-Probe NA12878 der Code FYGACRW und der DNA-Probe NA12877 der Code MCTGYRSAW zugewiesen.

Die Ausgabe der Sample ID Panel-Analyse kann in drei Formaten angezeigt werden: einer *.txt-Datei nur mit neunstelligen Codes, einer *.vcf-Datei mit detaillierteren Informationen für die zusätzliche nachgeschaltete Analyse und einer *.csv-Datei (mit Excel kompatibel) mit den Signaturcodes und detaillierten Informationen zur besseren Übersicht.

Genauere Probenidentifikation

Zum Nachweis der Genauigkeit des AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel wurden Bibliotheken aus 12 biologischen Proben (vier Replikate pro Probe) mit dem AmpliSeq for Illumina Comprehensive Cancer Panel mit Sample ID Panel-Spike-in während der Bibliotheksvorbereitung vorbereitet. Die Datenausgabe des Sample ID Panel ergab, dass alle Replikate für jede Probe wie erwartet die gleiche Signatur aufwiesen (Abbildung 1).

Tabelle 2: Inhalt des Sample ID Panel

Code-Nr.	Chromosom	Anfang	Ende	ID	REF-Allel	ALT-Allel
1	X	113114957	11315075	AMELX		
1	Y	6737913	6737999	AMELY		
2	3	193207380	193207380	rs6444724	T	C
3	4	169663615	169663615	rs6811238	T	G
4	5	178690725	178690725	rs338882	G	A
5	7	137029838	137029838	rs321198	T	C
6	10	17193346	17193346	rs3780962	A	G
7	12	6945914	6945914	rs2269355	C	G
8	18	9749879	9749879	rs9951171	G	A
9	22	33559508	33559508	rs987640	T	A

Tabelle 3: Sample ID Panel-Signaturecode

Genotyp-aufruf	Code (IUPAC)	Genotyp-aufruf	Code (IUPAC)
AC	M	GT	K
AG	R	AA	A
AT	W	CC	C
CG	S	GG	G
CT	Y	TT	T
No Call	N		
Geschlechts-Call	Code		
Männlich	M		
Weiblich	F		
No Call	N		

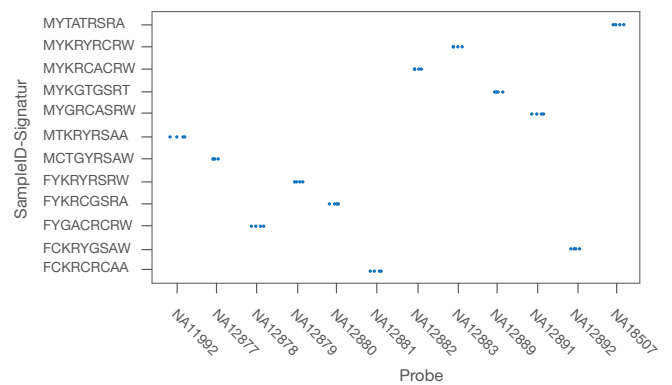


Abbildung 1: Präzise Probenidentifikation mit dem Sample ID Panel: Das Sample ID Panel wurde im Rahmen der Bibliotheksvorbereitung und Sequenzierung mit dem AmpliSeq for Illumina Comprehensive Cancer Panel hinzugefügt. Die Analyse zeigt, dass Replikate für jede der 12 biologischen Proben dieselbe Sample ID-Signatur aufweisen.

Sample ID Panel-Anwendungen

Das AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel ermöglicht die Probenverfolgung für verschiedene Sequenzierungsanwendungen, darunter:

- **Mehrere Proben derselben Person:** Das Sample ID Panel ermöglicht die Probenverfolgung für Proben aus mehreren Geweben, die von derselben Person entnommen wurden, oder für Längsschnittstudien, die über einen bestimmten Zeitraum entnommen wurden.
- **Proben von eng verwandten Personen:** Mit dem Sample ID Panel können Proben von eng verwandten Personen (z. B. Geschwistern) identifiziert und verfolgt werden, da die Signaturen sehr ähnlich sind.
- **Gepaarte Tumor-Normal-Proben:** Das Sample ID Panel kann zur Verifizierung und Nachverfolgung von Tumor- und Normalproben derselben Person verwendet werden. Mutationen in der Tumorseite können zu einer inkonsistenten Signatur führen.

Fehlerbehebung für das Sample ID Panel

Es wurden bestimmte potenzielle Probleme bei der Interpretation der Ergebnisse des Sample ID Panel antizipiert. Im Folgenden sind mögliche Lösungen aufgeführt (Tabelle 4).

Tabelle 4: Fehlerbehebung für das Sample ID Panel

Problem	Mögliche Ursache	Lösung
Zahlreiche „No Calls“ (Ns) in der Signatur	Für das Sample ID Panel wurde kein ordnungsgemäßer Spike-in in den Primer-Pool durchgeführt.	Die Bibliotheksvorbereitung mit ordnungsgemäßem Spike-in des Sample ID Panel wiederholen
	Die SampleID-Amplikons wiesen eine geringe Coverage auf.	Die Coverage in der *.csv-Datei für SampleID prüfen
Inkonsistente Signatur der Proben von derselben Person	Probenkontamination	Kreuzkontamination beim Hinzufügen oder Übertragen von Proben und während der PCR-Einrichtung vermeiden
	Geringe Coverage für SampleID-Amplikons	Die Coverage in der *.csv-Datei für SampleID prüfen
	Mutationen in der Tumorseite	Zusätzliche Sequenzierung zur Bestätigung

Zusammenfassung

Das AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel ist eine optionale Komponente der AmpliSeq for Illumina-Sequenzierungslösung. Das Sample ID Panel ist mit allen AmpliSeq for Illumina-Panels kompatibel und bietet einen integrierten, optimierten Workflow mit nur einem zusätzlichen Schritt während der Bibliotheksvorbereitung und der automatisierten Datenanalyse. Das AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel mit einer Unterscheidungsleistung von ca. 1:5.000 bietet einen Mehrwert für die Probenidentifikation und -verfolgung für verschiedene Sequenzierungsanwendungen.

Bestellinformationen

Bestellen Sie die AmpliSeq for Illumina-Produkte online unter illumina.com

Produkt	Katalog-Nr.
AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel (96 reactions)	20019162

Weitere Informationen

AmpliSeq for Illumina-Sequenzierungslösung: illumina.com/products/by-brand/ampliseq.html

Quellen

1. Pakstis AJ, Speed WC, Fang R, et al. [SNPs for a universal individual identification panel](#). *Hum Genet*. 2010;127(3):315-324. doi:10.1007/s00439-009-0771-1
2. Coriell Institute for Medical Research. coriell.org. Abgerufen im September 2018.



1 800 8094566 (USA, gebührenfrei) | +1 858 2024566 (Tel. außerhalb der USA)
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Inhaber. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html.

M-GL-01513 DEU v1.0