

DIN ISO 20397-1:2026-10 (D)

Biotechnologie - Massiv-parallele Sequenzierung - Teil 1: Nukleinsäure- und Verzeichnisvorbereitung (ISO 20397-1:2022)

Inhalt	Seite
Nationales Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich.....	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Bewertung der Qualität von Nukleinsäureproben	8
4.1 Allgemeines	8
4.2 Quantifizierung von Proben.....	9
4.3 Reinheit von Proben.....	9
4.4 Probenintegrität	9
4.4.1 Allgemeines	9
4.4.2 Agarosegelelektrophorese	9
4.4.3 Kapillargelelektrophorese	9
4.4.4 Mikrofluidisches Analysesystem	9
4.4.5 PCR-Verfahren	10
5 Vorbereitung einer Nukleinsäurebibliothek.....	10
5.1 Allgemeines	10
5.2 Fragmentierung	10
5.2.1 Allgemeines	10
5.2.2 Mechanische Fragmentierung.....	11
5.2.3 Enzymatische Fragmentierung	11
5.2.4 Chemische Fragmentierung.....	11
5.2.5 Menge der fragmentierten Nukleinsäureproben.....	11
5.2.6 Reinheit der fragmentierten Nukleinsäureproben	11
5.2.7 Größenverteilung der fragmentierten Nukleinsäure	11
5.2.8 Reinigung fragmentierter Nukleinsäuren mittels Gelelektrophorese	11
5.3 Zugabe universeller Sequenzen.....	12
5.3.1 Reparatur.....	12
5.3.2 Ligation des Adapters	12
5.3.3 Barcoding/Indexierung.....	12
5.4 Größenselektion	13
5.5 Amplifikation	13
5.6 Verfahren der Reinigung und Aufreinigung	13
5.7 Quantifizierung der Bibliothek.....	13
5.7.1 Verfahren zur Quantifizierung der Bibliothek	13
5.7.2 Auswahl des Quantifizierungsverfahrens	14
5.8 Qualifizierung der Bibliothek.....	14
5.8.1 Allgemeines	14
5.8.2 Verfahren	14
6 Validierung.....	14
7 Referenzmaterialien oder Kontrollen	15
7.1 Allgemeines	15

7.2	Kontrollproben	15
7.3	Positivkontrolle	15
7.4	Negativkontrolle	16
7.5	Negativkontrolle ohne Template	16
7.6	Kontrolle mittels Aufstockung	16
7.7	Referenzmaterialien	16
8	Kontaminationen	16
8.1	Allgemeines	16
8.2	Bewertung der Primärprobe	17
8.3	Protokoll und Betriebsverfahren	17
Anhang A (informativ) Checkliste für die Bewertung der Probenqualität vor der Erstellung der Bibliothek		18
Anhang B (informativ) Beispiele für Qualitätskriterien für ausgewählte MPS-Plattformen und -anwendungen		19
Anhang C (informativ) Liste von Referenzmaterialien		22
Literaturhinweise		24

Tabellen

Tabelle B.1 — Beispiele für Kriterien der Qualitätsmetriken für ausgewählte MPS-Plattformen ^{a b}	19
Tabelle B.2 — Optimale Probenmengen und -konzentrationen je nach Anwendung ^a	20
Tabelle C.1 — Referenzmaterialien zur Beurteilung des Leistungsverhaltens von Sequenzierungsverfahren	22