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