E DIN ISO 20397-1:2026-04 (D/E)

Erscheinungsdatum: 2026-03-13

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

Biotechnology - Massively parallel sequencing - Part 1: Nucleic acid and library preparation (ISO 20397-1:2022); Text in German and English

Inhalt

Seite

Nationales Vorwort 4

Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise 5

Vorwort 6

Einleitung 7

1 Anwendungsbereich 8

2 Normative Verweisungen 8

3 Begriffe 8

4 Bewertung der Qualität von Nukleinsäureproben 9
4.1 Allgemeines 9
4.2 Quantifizierung von Proben 10
4.3 Reinheit von Proben 10
4.4 Probenintegrität 10
4.4.1 Allgemeines 10
4.4.2 Agarosegelelektrophorese 10
4.4.3 Kapillargelelektrophorese 10
4.4.4 Mikrofluidisches Analysesystem 10
4.4.5 PCR-Verfahren 11

5 Vorbereitung einer Nukleinsäurebibliothek 11
5.1 Allgemeines 11
5.2 Fragmentierung 11
5.2.1 Allgemeines 11
5.2.2 Mechanische Fragmentierung 12
5.2.3 Enzymatische Fragmentierung 12
5.2.4 Chemische Fragmentierung 12
5.2.5 Menge der fragmentierten Nukleinsäureproben 12
5.2.6 Reinheit der fragmentierten Nukleinsäureproben 12
5.2.7 Größenverteilung der fragmentierten Nukleinsäure 12
5.2.8 Reinigung fragmentierter Nukleinsäuren mittels Gelelektrophorese 12
5.3 Zugabe universeller Sequenzen 13
5.3.1 Reparatur 13
5.3.2 Ligation des Adapters 13
5.3.3 Barcoding/Indexierung 13
5.4 Größenselektion 14
5.5 Amplifikation 14
5.6 Verfahren der Reinigung und Aufreinigung 14
5.7 Quantifizierung der Bibliothek 14
5.7.1 Verfahren zur Quantifizierung der Bibliothek 14
5.7.2 Auswahl des Quantifizierungsverfahrens 15
5.8 Qualifizierung der Bibliothek 15
5.8.1 Allgemeines 15

5.8.2 Verfahren ... 15
6 Validierung ... 15
7 Referenzmaterialien oder Kontrollen ... 16
7.1 Allgemeines ... 16
7.2 Kontrollproben ... 16
7.3 Positivkontrolle ... 16
7.4 Negativkontrolle ... 17
7.5 Negativkontrolle ohne Template ... 17
7.6 Kontrolle mittels Aufstockung ... 17
7.7 Referenzmaterialien ... 17
8 Kontaminationen ... 17
8.1 Allgemeines ... 17
8.2 Bewertung der Primärprobe ... 18
8.3 Protokoll und Betriebsverfahren ... 18
Anhang A (informativ) Checkliste für die Bewertung der Probenqualität vor der Erstellung der Bibliothek ... 19
Anhang B (informativ) Beispiele für Qualitätskriterien für ausgewählte MPS-Plattformen und -anwendungen ... 20
Anhang C (informativ) Liste von Referenzmaterialien ... 23
Literaturhinweise ... 25

Tabellen

Tabelle B.1 — Beispiele für Kriterien der Qualitätsmetriken für ausgewählte MPS-Plattformen[a] [b] ... 20
Tabelle B.2 — Optimale Probenmengen und -konzentrationen je nach Anwendung[a] ... 21
Tabelle C.1 — Referenzmaterialien zur Beurteilung des Leistungsverhaltens von Sequenzierungsverfahren ... 23