



マイクロSSPのいろは

Q&A集

2021/12/13

株式会社ベリタス

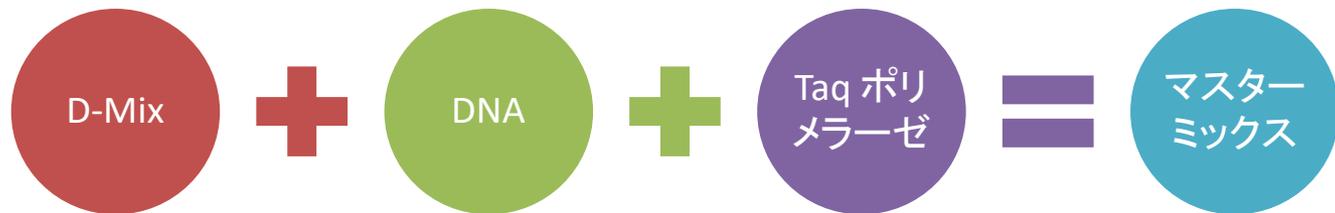
手技について①

- DNA抽出キットの推奨はありますか？
 - 推奨されているキットはございません。メーカーではフェノール/クロロホルム抽出あるいはQiagen社のキットを使用しています。
- DNA抽出のコツはありますか？
 - マイクロSSPのみに限った注意事項はございませんが、下記をご確認ください。
 - 濃度・純度が低い場合は再度抽出するか、抽出キットを変える。
 - DNA抽出前に検体を保存する場合、保存温度に注意する(全血の場合は4°C)。長期保存は行わない。
 - もしリンパ球濃度の高いバフィコートから抽出しているときは、バフィコートの量を減らしてみる。
 - 抽出のステップで除去の操作がある場合、取り残しに注意する。
※試薬の持ち越しにより吸光度(純度)が下がる場合があります。
 - 最終的な溶出は滅菌蒸留水で行う。
- PCR後に溶液が黄色となっている場合は問題でしょうか？
 - PCR後でしたら問題ございません。

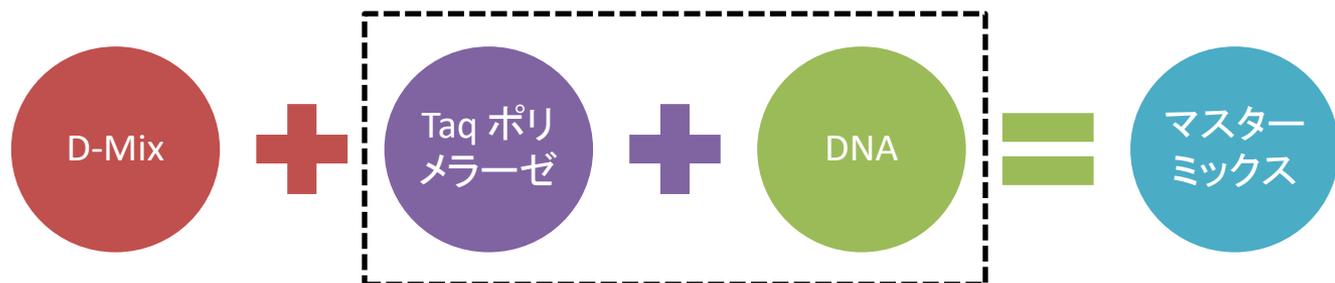
手技について②

- 本講習会で紹介した手技のポイント(試薬の混合、PCR前の操作、ゲル作製、サンプルのアプライなど)はJPNキットを例としていますが、他のキットでも推奨されますか？
 - 基本的には他のキットでも推奨している内容となります。
 - ただし、DNAと試薬の混合順・レシピは異なります。
 - JPNキットの場合、①D-Mix②DNA③ポリメラーゼの順となります。
 - JPN以外のキットの場合、①D-Mix②ポリメラーゼ③DNAの順となります。
 - ①②をネガティブコントロールのウェルにアプライしてから③を混合します。
 - 混合レシピについてはメーカー資料をご確認ください。

JPNキットの場合



JPN以外のキットの場合



解析について(バンドの確認)

- DNA濃度が推奨濃度に満たない場合でも、電気泳動でコントロールバンドが確認できれば問題ないでしょうか。
 - コントロールバンドがはっきり確認できていれば問題ございません。
 - 陰性と思われるがコントロールバンドが薄い、または増幅していないウェルがあるなどの不備がある場合は再検査をお願いいたします。

解析について (HLA Fusionの設定①)

- HLA Fusion用の解析ファイルのバージョンについて、設定の間違いを防ぐ方法がありますか？
 - Home画面、フィルタ設定画面で各ファイルの現在のバージョンを確認してください。
 - 弊社からのアップデートのお知らせの際にまとめてインポートいただくことをお勧めします。
 - もし血清型よりも古いバージョンのカタログをインポートしようとした場合、ポップアップで注意が出ますので確認してください。
 - 最新版のファイルが不明な場合は弊社にお問い合わせください。

参考：ファイルのバージョンの確認方法

HLA Fusion™ Home

| Product | Catalogs | Last | # of | # of | Recent |
|-----------|----------|------------|------|------|------------|
| LABType | 25 | 2021/11/07 | 1 | 5 | 2021/09/16 |
| SSP | 3 | 2021/11/07 | 2 | 2 | 2021/10/01 |
| LABScreen | 29 | 2021/11/04 | 33 | 131 | 2021/11/04 |
| LAT | 0 | | 0 | 0 | |
| FlowPRA | 0 | | 0 | 0 | |
| LCT | 0 | | 0 | 0 | |

System
Sero Equivalent: 3.45.1/2021July;

Database
HLA Fusion: (local)\FUSION_SQL14EXP\210909
_FUSION44
Used - 2% - 260 MB of 10240 MB DB size
Audit Log: N/A
Audit Log Status: ■

血清型ファイルの確認

HLA Fusion™ Micro SSP

Batch Entry

Include Imported

c:\OLI FUSION\data
CSV File Name

| Locus Type | Catalogs | Last | # of | # of | Recent |
|------------|----------|------|------|------|--------|
| | | | 0 | 0 | |
| | | | 0 | 0 | |
| | | | 0 | 0 | |

Code: NMDP
Updated On: Local
Imported On:

Alele Frequency Filter: **ver1_Japanese_2021_Jul_GF2021.**

Number of False Positives: 1
Show Well ID: False
Computer Assigned Serology: No

| Catalog | Nomenclature Date | IMGT Version | Catalog Description | Worksheet (8.5x11) | Worksheet (11x17) | Probe/Primer | Datasheet |
|--------------------------------|-------------------|--------------|------------------------|--------------------|-------------------|--------------|-----------|
| SSP1L_011_09 | July 2021 | 3.45.1 | Micro SSP™ Generic ... | | | | |
| SSPABDR_011_09 | July 2021 | 3.45.1 | Micro SSP™ Generic ... | | | | |
| SSP2L_007_27 | July 2021 | 3.45.1 | Micro SSP™ Generic ... | | | | |

IMGTのバージョンが
同じことを確認

日本人フィルタの確認

カタログファイルの確認

解析について (HLA Fusionの設定②)

- データベースを複数作成してもPCには影響がありませんか？
 - データベースの数はPCの動作に影響は与えません。
 - ただし、データベース内のデータ量が増えてくると解析や操作が遅くなる場合があります。
 - データ量が70%を超えたら、DB Utilityで新しいデータベースを作成し、使用するデータベースを切り替えてください。

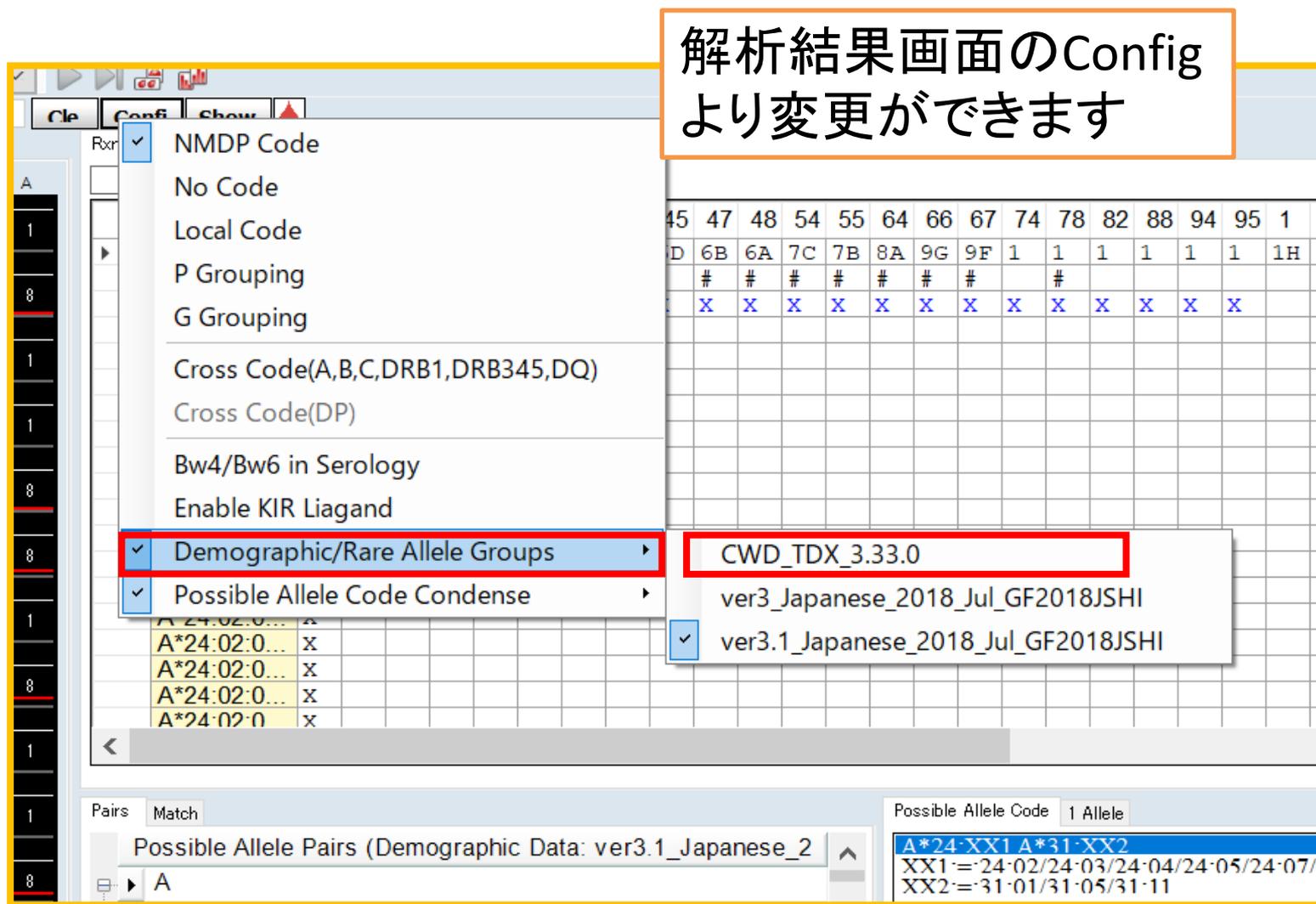
- 日本人以外の人種のタイピングにJPNキットを使用しても良いでしょうか？
 - 使用すること自体は可能です。ただし、日本人以外のタイピングをJPNキットで行う場合、ambiguityが生じ判定が困難になる可能性が高くなります。このためJPNキット以外の製品の使用をお勧めいたします。
 - もしJPNキットで実施される場合、アレルフィルターを日本人フィルタからCWDフィルタに変更してください。

参考：CWDフィルタについて

- Common Well-Documentedの略
 - アレルをCommon/Well-Documented/その他に分類
 - グローバルで高頻度に検出されるアレル(Common)
 - 論文で議論されるような重要なアレル(Well-Documented)
- HLA Fusionにはデフォルトでインストールされています
 - 海外の方のタイピングを行う場合はCWDフィルタの使用を推奨

参考:フィルタの変更方法

解析結果画面のConfigより変更ができます



The screenshot shows a software interface with a configuration menu on the left and a data table on the right. The menu is open to 'Demographic/Rare Allele Groups', which has a sub-menu showing 'CWD_TDX_3.33.0', 'ver3_Japanese_2018_Jul_GF2018JSHI', and 'ver3.1_Japanese_2018_Jul_GF2018JSHI'. The table below shows columns for various allele codes (45, 47, 48, 54, 55, 64, 66, 67, 74, 78, 82, 88, 94, 95, 1) and rows for different allele groups (D, 6B, 6A, 7C, 7B, 8A, 9G, 9F, 1, 1, 1, 1, 1, 1H). The 'ver3.1_Japanese_2018_Jul_GF2018JSHI' option is selected in the sub-menu.

| | 45 | 47 | 48 | 54 | 55 | 64 | 66 | 67 | 74 | 78 | 82 | 88 | 94 | 95 | 1 |
|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| D | 6B | 6A | 7C | 7B | 8A | 9G | 9F | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1H |
| | # | # | # | # | # | # | # | | # | | | | | | |
| | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | |

Possible Allele Pairs (Demographic Data: ver3.1_Japanese_2) | Possible Allele Code | 1 Allele

A*24-XX1 A*31-XX2
XX1 := 24-02/24-03/24-04/24-05/24-07/...
XX2 := 31-01/31-05/31-11