



今日から始めるHLA Vol.3 マイクロSSP入門

よくある質問、ケーススタディ

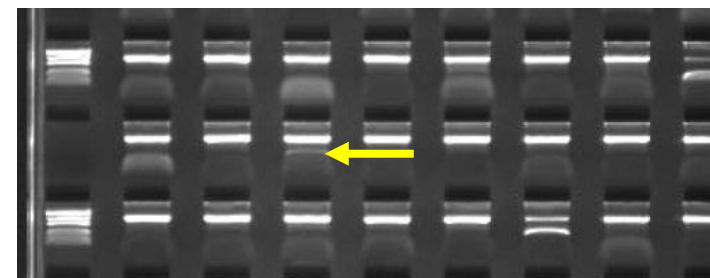
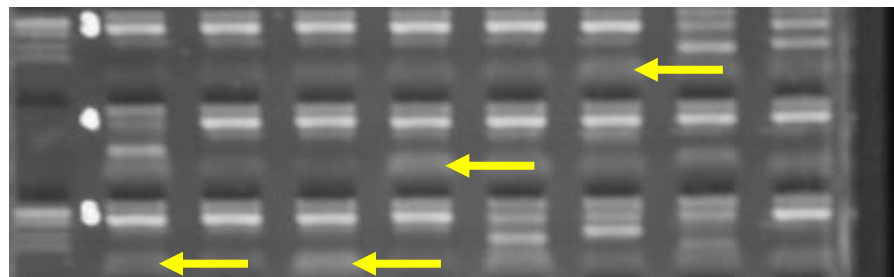
株式会社ベリタス

2023年12月6日

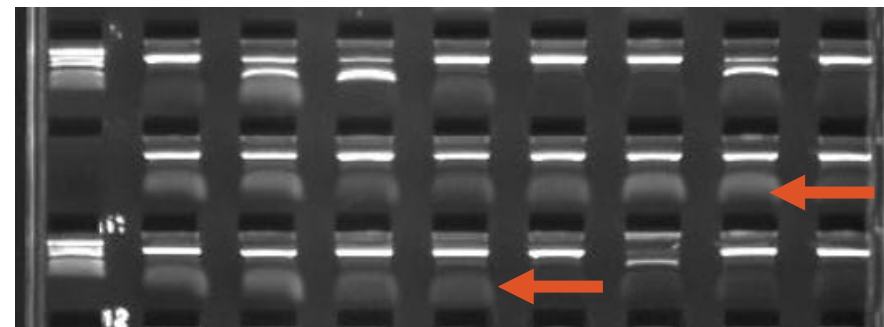
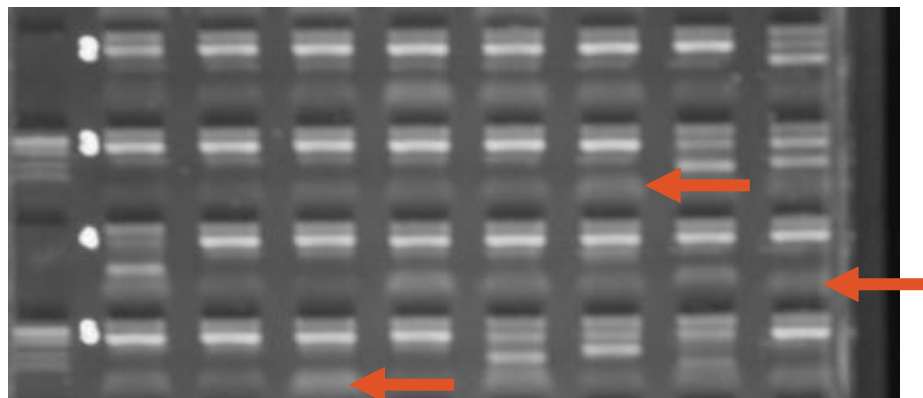
- DNA抽出の推奨キットはありますか？
 - メーカー推奨キットはありませんが、メーカーではフェノール/クロロホルム抽出あるいはQiagen社のキットを使用しています
- DNA抽出の注意点はありますか？
 - 抽出キット・手法に適した検体量を使用してください
 - DNA抽出前に検体を長期保存することは避けてください
 - 保存温度にも注意（全血の場合は4℃）
 - 最終的な溶出は滅菌蒸留水で行ってください
 - 抽出したDNAは冷凍保存をお勧めします
- DNA濃度が推奨範囲外ですが検査・判定に問題ありませんか？
 - コントロールバンド or 陽性バンドが明確に確認できれば問題ありません
 - コントロールバンドが薄く陽性バンドも無い、または増幅していないウェルがある場合は再検査をお願いいたします

電気泳動、バンドに関するご質問

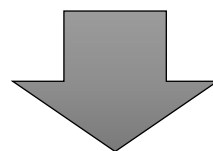
- ポジティブコントロールバンドが見えませんが問題ありませんか？
 - ネガティブコントロールウェルの場合には問題ありません
 - SSP JPN以外にはネガティブコントロールウェルがあります（通常1H）
 - バンドが無い＝コンタミネーションが無いことを確認できます
 - 増幅ウェルで陽性バンドが明確に確認できる場合は問題ありません
 - 陽性バンドが薄い・無い場合は増幅不良の可能性がありますが
- このバンドは陽性バンドでしょうか？
 - バンドサイズ・検出可能なアレルの情報をワークシートやHLA Fusionで確認してください



複数ウェルに出現するバンド



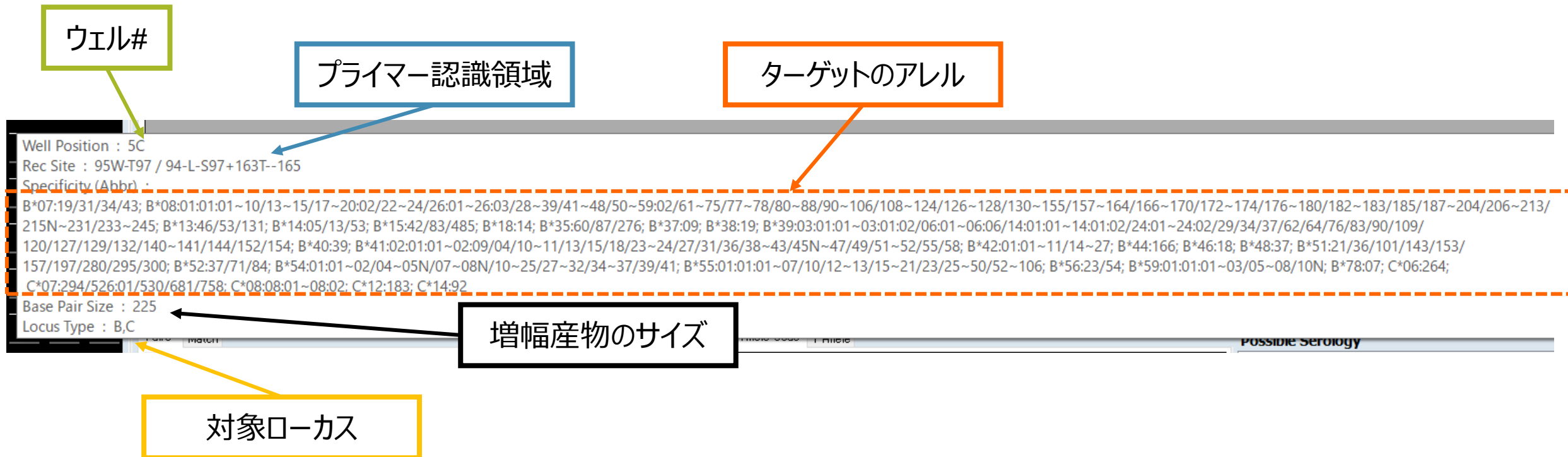
- サイズが短い（ゲルの下方）
- バンドが薄い、不明瞭（ぼやけている）
- 不特定多数のウェルに出現



残存プライマー同士の結合（プライマーダイマー）
陽性バンドではありません

参考) バンドサイズ・プライマー情報の確認

- ウェルごとにターゲットの抗原（アレル）、増幅産物のサイズは決まっています
- ゲル画像の各ウェルにカーソルを合わせると情報が確認できます



The screenshot shows a software interface for analyzing gel electrophoresis results. A mouse cursor is hovering over a well, which triggers a pop-up information box. The box contains the following details:

- Well #:** 5C
- Rec Site:** 95W-T97 / 94-L-S97+163T--165
- Specificity (Abbr):** B*07:19/31/34/43; B*08:01:01:01~10/13~15/17~20:02/22~24/26:01~26:03/28~39/41~48/50~59:02/61~75/77~78/80~88/90~106/108~124/126~128/130~155/157~164/166~170/172~174/176~180/182~183/185/187~204/206~213/215N~231/233~245; B*13:46/53/131; B*14:05/13/53; B*15:42/83/485; B*18:14; B*35:60/87/276; B*37:09; B*38:19; B*39:03:01:01~03:01:02/06:01~06:06/14:01:01~14:01:02/24:01~24:02/29/34/37/62/64/76/83/90/109/120/127/129/132/140~141/144/152/154; B*40:39; B*41:02:01:01~02:09/04/10~11/13/15/18/23~24/27/31/36/38~43/45N~47/49/51~52/55/58; B*42:01:01~11/14~27; B*44:166; B*46:18; B*48:37; B*51:21/36/101/143/153/157/197/280/295/300; B*52:37/71/84; B*54:01:01~02/04~05N/07~08N/10~25/27~32/34~37/39/41; B*55:01:01:01~07/10/12~13/15~21/23/25~50/52~106; B*56:23/54; B*59:01:01:01~03/05~08/10N; B*78:07; C*06:264; C*07:294/526:01/530/681/758; C*08:08:01~08:02; C*12:183; C*14:92
- Base Pair Size:** 225
- Locus Type:** B,C

Annotations on the image:

- A green box labeled "ウェル#" points to the well position "5C".
- A blue box labeled "プライマー認識領域" points to the "Rec Site" information.
- An orange box labeled "ターゲットのアレル" points to the "Specificity (Abbr)" list.
- A black box labeled "増幅産物のサイズ" points to the "Base Pair Size" value.
- A yellow box labeled "対象ローカス" points to the "Locus Type" information.

利用例①



5Bは陽性？

```
Well Position : 5B
Rec Site : {-9}-V[-8]+[44RE45 + 50-50]
Specificity (Abbr) :
B*07:271; B*13:97; B*15:506; B*18:37:01; B*27:01~05:07/05:09~25/30/
202/204~215N; B*35:49/361; B*44:130/210:01; B*55:102; B*56:05:01~
Base Pair Size : 325
Locus Type : B
```

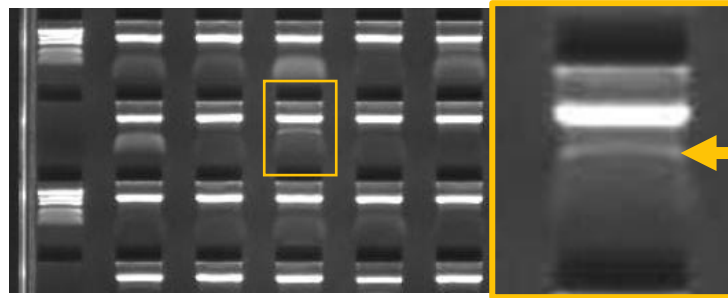
5B : ターゲットサイズ 325 bp

```
Well Position : 5C
Rec Site : 95W-T97 / 94-L-S97+163T--165
Specificity (Abbr) :
B*07:19/31/34/43; B*08:01:01:01~10/13~15/17~20:02/22~24/26:01~26:03/28~39/41~48/50~59:02/61~75/77~78/80~88/90~106/108~124/126~128/130~155/157~164/166~170/172~174/176~180/182~183/185/187~204/206~213/
215N~231/233~245; B*13:46/53/131; B*14:05/13/53; B*15:42/83/485; B*
120/127/129/132/140~141/144/152/154; B*40:39; B*41:02:01:01~02:09/
157/197/280/295/300; B*52:37/71/84; B*54:01:01~02/04~05N/07~08N/
C*07:294/526:01/530/681/758; C*08:08:01~08:02; C*12:183; C*14:92
Base Pair Size : 225
Locus Type : B,C
```

5C : ターゲットサイズ 225 bp

5Bの増幅産物のサイズは5Cより大きい = 陽性バンドであれば5Cよりも上部に出現
上の泳動図では5Cよりも下部にバンドがある
⇒5Bは陰性と判断できる

利用例②



6Fは陽性？

Well Position : 6F
Rec Site : [113HD-(S/Y/F)116 + 131S131]+156L156
Specificity (Abbr) :

ターゲットアレル : B7,B15,B18,B35,B39,B44,B51,B52,B53など

6F : ターゲットサイズ 125 bp

Base Pair Size : 125
Locus Type : B,C

B*07:235; B*13:04/26:01-26:02/35/72; B*14:23/56; B*15:03:01:01-03:09/93/95/98/103/108/114-115/119/123-124/127/131-134/136/138/151/275:02/281-282/288/290/292-294N/306-307/310-314/323/332/335/337-338/348/351/354/362/364/369/376/380N/382-383/388-389/393/397/402/407-408/414/426-427/433-434/436/439/444-445/447-449/451/455/475/487N/494/497/502-504/506/508-509/511/517/526-527/530/539; B*18:01:01:01-12:02/14-18:01:02/22-25/27-29/31-39/42-55/57:01-60/62-96/98-112/114-121/123-163/167/169-185; B*27:41/136; B*35:01:01:01-01:63/03:01:01-03:29/05:01:01-05:03/07/10-11:02/13/15:01-17:03/19-21/23-30/32:01-37/39-42:02/46-58/63/65Q/68:01-78/82/84-85/89-94/96-98/101:01-101:02/103-104/106-113/116/119-120/122-128/130N-131:01/132/134N/136-141/143-148/150:01-153/155/159-161/165N-168/170-171/173:01N-173:02N/175/177-181/186/188-191/193-200/202-204/207-210/212/216N-219/221-224/226-228/231/235-250/252-257/259/263/267-269/271-272/274-275/277-284/286-290/293-299/302-308/310/312-315/317-320/324-327/329-330/332/336/340/344/347-353/355/358-360/362-365/368-371/373/376/380:01:01-383/385/389/392-393/395/397-402/404-409/412/415-418/420-424/427N-430N/433-436/438-442/447-459N; B*38:29/52; B*39:07/15/29/43/49/55/91; B*44:43:01-43:02/107/276; B*46:08/13:01-13:03/19/21:01-21:02/25/33/43; B*48:02:01-02:03/25; B*49:04:01-04:02; B*51:37/45/90/92:01-92:02/135; B*52:12/75; B*53:01:01:01-01:02/03-04/05-06/07-08/09-10/11/12-13/14-15/16-17/18/19-20/21-22/23-24/25-26/27-28/29-30/31-32/33-34/35-36/37-38/39-40/41-42/43-44/45-46/47-48/49-50/51-52/53-54/55-56/57-58/59-60/61-62/63-64/65-66/67-68/69-70/71-72/73-74/75-76/77-78/79-80/81-82/83-84/85-86/87-88/89-90/91-92/93-94/95-96/97-98/99-100/101-102/103-104/105-106/107-108/109-110/111-112/113-114/115-116/117-118/119-120/121-122/123-124/125-126/127-128/129-130/131-132/133-134/135-136/137-138/139-140/141-142/143-144/145-146/147-148/149-150/151-152/153-154/155-156/157-158/159-160/161-162/163-164/165-166/167-168/169-170/171-172/173-174/175-176/177-178/179-180/181-182/183-184/185-186/187-188/189-190/191-192/193-194/195-196/197-198/199-200/201-202/203-204/205-206/207-208/209-210/211-212/213-214/215-216/217-218/219-220/221-222/223-224/225-226/227-228/229-230/231-232/233-234/235-236/237-238/239-240/241-242/243-244/245-246/247-248/249-250/251-252/253-254/255-256/257-258/259-260/261-262/263-264/265-266/267-268/269-270/271-272/273-274/275-276/277-278/279-280/281-282/283-284/285-286/287-288/289-290/291-292/293-294/295-296/297-298/299-300/301-302/303-304/305-306/307-308/309-310/311-312/313-314/315-316/317-318/319-320/321-322/323-324/325-326/327-328/329-330/331-332/333-334/335-336/337-338/339-340/341-342/343-344/345-346/347-348/349-350/351-352/353-354/355-356/357-358/359-360/361-362/363-364/365-366/367-368/369-370/371-372/373-374/375-376/377-378/379-380/381-382/383-384/385-386/387-388/389-390/391-392/393-394/395-396/397-398/399-400/401-402/403-404/405-406/407-408/409-410/411-412/413-414/415-416/417-418/419-420/421-422/423-424/425-426/427-428/429-430/431-432/433-434/435-436/437-438/439-440/441-442/443-444/445-446/447-448/449-450/451-452/453-454/455-456/457-458/459-460/461-462/463-464/465-466/467-468/469-470/471-472/473-474/475-476/477-478/479-480/481-482/483-484/485-486/487-488/489-490/491-492/493-494/495-496/497-498/499-500/501-502/503-504/505-506/507-508/509-510/511-512/513-514/515-516/517-518/519-520/521-522/523-524/525-526/527-528/529-530/531-532/533-534/535-536/537-538/539-540/541-542/543-544/545-546/547-548/549-550/551-552/553-554/555-556/557-558/559-560/561-562/563-564/565-566/567-568/569-570/571-572/573-574/575-576/577-578/579-580/581-582/583-584/585-586/587-588/589-590/591-592/593-594/595-596/597-598/599-600/601-602/603-604/605-606/607-608/609-610/611-612/613-614/615-616/617-618/619-620/621-622/623-624/625-626/627-628/629-630/631-632/633-634/635-636/637-638/639-640/641-642/643-644/645-646/647-648/649-650/651-652/653-654/655-656/657-658/659-660/661-662/663-664/665-666/667-668/669-670/671-672/673-674/675-676/677-678/679-680/681-682/683-684/685-686/687-688/689-690/691-692/693-694/695-696/697-698/699-700/701-702/703-704/705-706/707-708/709-710/711-712/713-714/715-716/717-718/719-720/721-722/723-724/725-726/727-728/729-730/731-732/733-734/735-736/737-738/739-740/741-742/743-744/745-746/747-748/749-750/751-752/753-754/755-756/757-758/759-760/761-762/763-764/765-766/767-768/769-770/771-772/773-774/775-776/777-778/779-780/781-782/783-784/785-786/787-788/789-790/791-792/793-794/795-796/797-798/799-800/801-802/803-804/805-806/807-808/809-810/811-812/813-814/815-816/817-818/819-820/821-822/823-824/825-826/827-828/829-830/831-832/833-834/835-836/837-838/839-840/841-842/843-844/845-846/847-848/849-850/851-852/853-854/855-856/857-858/859-860/861-862/863-864/865-866/867-868/869-870/871-872/873-874/875-876/877-878/879-880/881-882/883-884/885-886/887-888/889-890/891-892/893-894/895-896/897-898/899-900/901-902/903-904/905-906/907-908/909-910/911-912/913-914/915-916/917-918/919-920/921-922/923-924/925-926/927-928/929-930/931-932/933-934/935-936/937-938/939-940/941-942/943-944/945-946/947-948/949-950/951-952/953-954/955-956/957-958/959-960/961-962/963-964/965-966/967-968/969-970/971-972/973-974/975-976/977-978/979-980/981-982/983-984/985-986/987-988/989-990/991-992/993-994/995-996/997-998/999-1000/1001-1002/1003-1004/1005-1006/1007-1008/1009-1010/1011-1012/1013-1014/1015-1016/1017-1018/1019-1020/1021-1022/1023-1024/1025-1026/1027-1028/1029-1030/1031-1032/1033-1034/1035-1036/1037-1038/1039-1040/1041-1042/1043-1044/1045-1046/1047-1048/1049-1050/1051-1052/1053-1054/1055-1056/1057-1058/1059-1060/1061-1062/1063-1064/1065-1066/1067-1068/1069-1070/1071-1072/1073-1074/1075-1076/1077-1078/1079-1080/1081-1082/1083-1084/1085-1086/1087-1088/1089-1090/1091-1092/1093-1094/1095-1096/1097-1098/1099-1100/1101-1102/1103-1104/1105-1106/1107-1108/1109-1110/1111-1112/1113-1114/1115-1116/1117-1118/1119-1120/1121-1122/1123-1124/1125-1126/1127-1128/1129-1130/1131-1132/1133-1134/1135-1136/1137-1138/1139-1140/1141-1142/1143-1144/1145-1146/1147-1148/1149-1150/1151-1152/1153-1154/1155-1156/1157-1158/1159-1160/1161-1162/1163-1164/1165-1166/1167-1168/1169-1170/1171-1172/1173-1174/1175-1176/1177-1178/1179-1180/1181-1182/1183-1184/1185-1186/1187-1188/1189-1190/1191-1192/1193-1194/1195-1196/1197-1198/1199-1200/1201-1202/1203-1204/1205-1206/1207-1208/1209-1210/1211-1212/1213-1214/1215-1216/1217-1218/1219-1220/1221-1222/1223-1224/1225-1226/1227-1228/1229-1230/1231-1232/1233-1234/1235-1236/1237-1238/1239-1240/1241-1242/1243-1244/1245-1246/1247-1248/1249-1250/1251-1252/1253-1254/1255-1256/1257-1258/1259-1260/1261-1262/1263-1264/1265-1266/1267-1268/1269-1270/1271-1272/1273-1274/1275-1276/1277-1278/1279-1280/1281-1282/1283-1284/1285-1286/1287-1288/1289-1290/1291-1292/1293-1294/1295-1296/1297-1298/1299-1300/1301-1302/1303-1304/1305-1306/1307-1308/1309-1310/1311-1312/1313-1314/1315-1316/1317-1318/1319-1320/1321-1322/1323-1324/1325-1326/1327-1328/1329-1330/1331-1332/1333-1334/1335-1336/1337-1338/1339-1340/1341-1342/1343-1344/1345-1346/1347-1348/1349-1350/1351-1352/1353-1354/1355-1356/1357-1358/1359-1360/1361-1362/1363-1364/1365-1366/1367-1368/1369-1370/1371-1372/1373-1374/1375-1376/1377-1378/1379-1380/1381-1382/1383-1384/1385-1386/1387-1388/1389-1390/1391-1392/1393-1394/1395-1396/1397-1398/1399-1400/1401-1402/1403-1404/1405-1406/1407-1408/1409-1410/1411-1412/1413-1414/1415-1416/1417-1418/1419-1420/1421-1422/1423-1424/1425-1426/1427-1428/1429-1430/1431-1432/1433-1434/1435-1436/1437-1438/1439-1440/1441-1442/1443-1444/1445-1446/1447-1448/1449-1450/1451-1452/1453-1454/1455-1456/1457-1458/1459-1460/1461-1462/1463-1464/1465-1466/1467-1468/1469-1470/1471-1472/1473-1474/1475-1476/1477-1478/1479-1480/1481-1482/1483-1484/1485-1486/1487-1488/1489-1490/1491-1492/1493-1494/1495-1496/1497-1498/1499-1500/1501-1502/1503-1504/1505-1506/1507-1508/1509-1510/1511-1512/1513-1514/1515-1516/1517-1518/1519-1520/1521-1522/1523-1524/1525-1526/1527-1528/1529-1530/1531-1532/1533-1534/1535-1536/1537-1538/1539-1540/1541-1542/1543-1544/1545-1546/1547-1548/1549-1550/1551-1552/1553-1554/1555-1556/1557-1558/1559-1560/1561-1562/1563-1564/1565-1566/1567-1568/1569-1570/1571-1572/1573-1574/1575-1576/1577-1578/1579-1580/1581-1582/1583-1584/1585-1586/1587-1588/1589-1590/1591-1592/1593-1594/1595-1596/1597-1598/1599-1600/1601-1602/1603-1604/1605-1606/1607-1608/1609-1610/1611-1612/1613-1614/1615-1616/1617-1618/1619-1620/1621-1622/1623-1624/1625-1626/1627-1628/1629-1630/1631-1632/1633-1634/1635-1636/1637-1638/1639-1640/1641-1642/1643-1644/1645-1646/1647-1648/1649-1650/1651-1652/1653-1654/1655-1656/1657-1658/1659-1660/1661-1662/1663-1664/1665-1666/1667-1668/1669-1670/1671-1672/1673-1674/1675-1676/1677-1678/1679-1680/1681-1682/1683-1684/1685-1686/1687-1688/1689-1690/1691-1692/1693-1694/1695-1696/1697-1698/1699-1700/1701-1702/1703-1704/1705-1706/1707-1708/1709-1710/1711-1712/1713-1714/1715-1716/1717-1718/1719-1720/1721-1722/1723-1724/1725-1726/1727-1728/1729-1730/1731-1732/1733-1734/1735-1736/1737-1738/1739-1740/1741-1742/1743-1744/1745-1746/1747-1748/1749-1750/1751-1752/1753-1754/1755-1756/1757-1758/1759-1760/1761-1762/1763-1764/1765-1766/1767-1768/1769-1770/1771-1772/1773-1774/1775-1776/1777-1778/1779-1780/1781-1782/1783-1784/1785-1786/1787-1788/1789-1790/1791-1792/1793-1794/1795-1796/1797-1798/1799-1800/1801-1802/1803-1804/1805-1806/1807-1808/1809-1810/1811-1812/1813-1814/1815-1816/1817-1818/1819-1820/1821-1822/1823-1824/1825-1826/1827-1828/1829-1830/1831-1832/1833-1834/1835-1836/1837-1838/1839-1840/1841-1842/1843-1844/1845-1846/1847-1848/1849-1850/1851-1852/1853-1854/1855-1856/1857-1858/1859-1860/1861-1862/1863-1864/1865-1866/1867-1868/1869-1870/1871-1872/1873-1874/1875-1876/1877-1878/1879-1880/1881-1882/1883-1884/1885-1886/1887-1888/1889-1890/1891-1892/1893-1894/1895-1896/1897-1898/1899-1900/1901-1902/1903-1904/1905-1906/1907-1908/1909-1910/1911-1912/1913-1914/1915-1916/1917-1918/1919-1920/1921-1922/1923-1924/1925-1926/1927-1928/1929-1930/1931-1932/1933-1934/1935-1936/1937-1938/1939-1940/1941-1942/1943-1944/1945-1946/1947-1948/1949-1950/1951-1952/1953-1954/1955-1956/1957-1958/1959-1960/1961-1962/1963-1964/1965-1966/1967-1968/1969-1970/1971-1972/1973-1974/1975-1976/1977-1978/1979-1980/1981-1982/1983-1984/1985-1986/1987-1988/1989-1990/1991-1992/1993-1994/1995-1996/1997-1998/1999-2000/2001-2002/2003-2004/2005-2006/2007-2008/2009-2010/2011-2012/2013-2014/2015-2016/2017-2018/2019-2020/2021-2022/2023-2024/2025-2026/2027-2028/2029-2030/2031-2032/2033-2034/2035-2036/2037-2038/2039-2040/2041-2042/2043-2044/2045-2046/2047-2048/2049-2050/2051-2052/2053-2054/2055-2056/2057-2058/2059-2060/2061-2062/2063-2064/2065-2066/2067-2068/2069-2070/2071-2072/2073-2074/2075-2076/2077-2078/2079-2080/2081-2082/2083-2084/2085-2086/2087-2088/2089-2090/2091-2092/2093-2094/2095-2096/2097-2098/2099-2100/2101-2102/2103-2104/2105-2106/2107-2108/2109-2110/2111-2112/2113-2114/2115-2116/2117-2118/2119-2120/2121-2122/2123-2124/2125-2126/2127-2128/2129-2130/2131-2132/2133-2134/2135-2136/2137-2138/2139-2140/2141-2142/2143-2144/2145-2146/2147-2148/2149-2150/2151-2152/2153-2154/2155-2156/2157-2158/2159-2160/2161-2162/2163-2164/2165-2166/2167-2168/2169-2170/2171-2172/2173-2174/2175-2176/2177-2178/2179-2180/2181-2182/2183-2184/2185-2186/2187-2188/2189-2190/2191-2192/2193-2194/2195-2196/2197-2198/2199-2200/2201-2202/2203-2204/2205-2206/2207-2208/2209-2210/2211-2212/2213-2214/2215-2216/2217-2218/2219-2220/2221-2222/2223-2224/2225-2226/2227-2228/2229-2230/2231-2232/2233-2234/2235-2236/2237-2238/2239-2240/2241-2242/2243-2244/2245-2246/2247-2248/2249-2250/2251-2252/2253-2254/2255-2256/2257-2258/2259-2260/2261-2262/2263-2264/2265-2266/2267-2268/2269-2270/2271-2272/2273-2274/2275-2276/2277-2278/2279-2280/2281-2282/2283-2284/2285-2286/2287-2288/2289-2290/2291-2292/2293-2294/2295-2296/2297-2298/2299-2300/2301-2302/2303-2304/2305-2306/2307-2308/2309-2310/2311-2312/2313-2314/2315-2316/2317-2318/2319-2320/2321-2322/2323-2324/2325-2326/2327-2328/2329-2330/2331-2332/2333-2334/2335-2336/2337-2338/2339-2340/2341-2342/2343-2344/2345-2346/2347-2348/2349-2350/2351-2352/2353-2354/2355-2356/2357-2358/2

- 古い早見表やカタログファイルなどを使って解析しても問題ありませんか？
 - アレルの情報は更新されるため、最新のファイルを使用するようにしてください
 - ワークシート・カタログファイル・血清型ファイルは年2回、早見表は年1回の更新
 - ※HLA Fusion4.6.1からMSSP JPNは最新血清型ファイルでの解析・保存が可能となりました

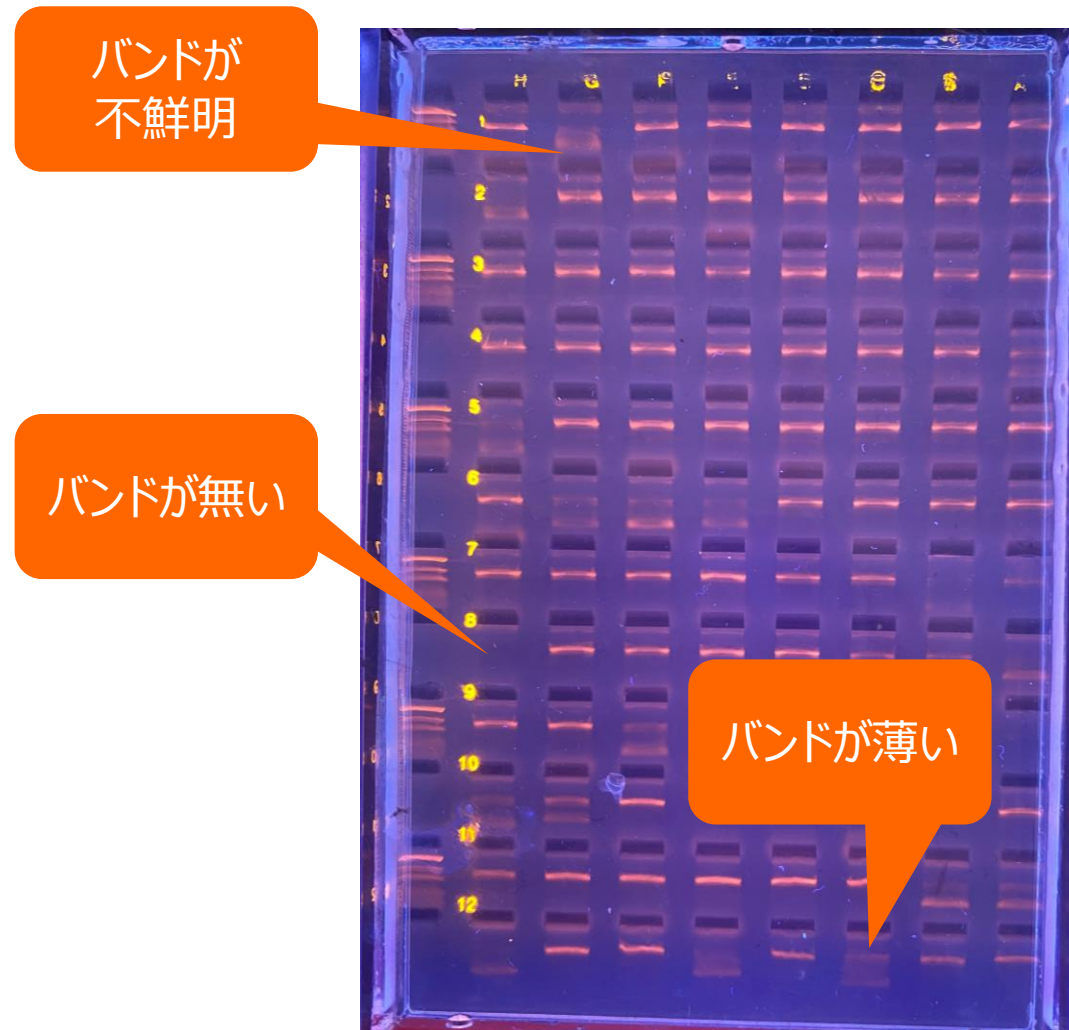
- HLA Fusionで解析しましたがNo solutionになります
 - まずはゲルの写真を再確認してください
 - 陽性・陰性判定は間違いないでしょうか？異なるウェルにチェックを入れていないでしょうか？
 - バンドが無い・薄いウェルは無いでしょうか？
 - 解析条件も確認してください
 - 製品と異なるカタログファイルを使用していないでしょうか？
 - (MSSP JPNの場合) 日本人集団以外の検体か確認

再検査の前にご確認ください

- バンドが不鮮明なウェルがある
 - アガロースの種類、ゲルの作製方法
 - TBEの状態や希釈濃度
 - 電気泳動後の保存時間
- バンドが無い/薄いウェルがある
 - DNA濃度や品質
 - 試薬 (Taq) の種類、D-Mixの状態
 - サーマルサイクラーの設定、状態
 - ゲルへの添加量
- 泳動時間が通常より遅い
 - 1 x TBEが少ない
 - ゲルボックスの電極の汚れ
 - パワーサプライの不具合

過去同様のケースがあるかもご確認ください

- ホモアレルでの偽陽性バンド、特定ウェルの増幅不良など
- 不明な点があればお問い合わせください



- 早見表の連鎖と異なるハプロタイプになります
 - まずは陽性・陰性判定を再度確認してください
 - 早見表に記載のない連鎖も存在する可能性があります
 - 日本人推定アレル頻度の高い連鎖に基づいて作成されているため
 - HLA Fusionの解析でも確認してください

アレル頻度、ハプロタイプの確認方法

- 国内
 - HLA研究所様ホームページ https://hla.or.jp/med/haplo_tools/
 - 造血幹細胞移植情報サービス 骨髄バンク統計資料
https://www.bs.jrc.or.jp/bmdc/donorregistrant/m2_03_00_statistics.html
- 全世界
 - Allele Frequency Net Database <http://www.allelefrequencies.net/hla.asp>

- 2桁（抗原型）レベルでambiguityとなりますが正しいですか？
 - 日本人推定アレル頻度が低いアレル、とくに近年追加されたアレルはambiguityとなる可能性があります
 - 両方の抗原型を報告してください
 - あるいは別キットや別法での確認検査を行ってください

- 日本人以外の検体でもSSP JPNは使用できますか？
 - 使用すること自体は可能です



ケーススタディでお示しします











• アレル情報

ローカス	A	B	C	DRB1	DQB1
シーケンス結果 (論文参照)	A*03:01 A*30:01	B*42:01 B*44:03	C*04:01 C*17:01	DRB1*03:02 DRB1*09:01	DQB1*02:02 DQB1*04:02

【B*42:01、DRB1*03:02】

- アフリカ系集団で頻度が高い
- CWD、CIWDでは「Common」
- 日本人推定アレル一覧表には含まれない (<0.001%)

MSSP JPNを使用してタイピングを実施

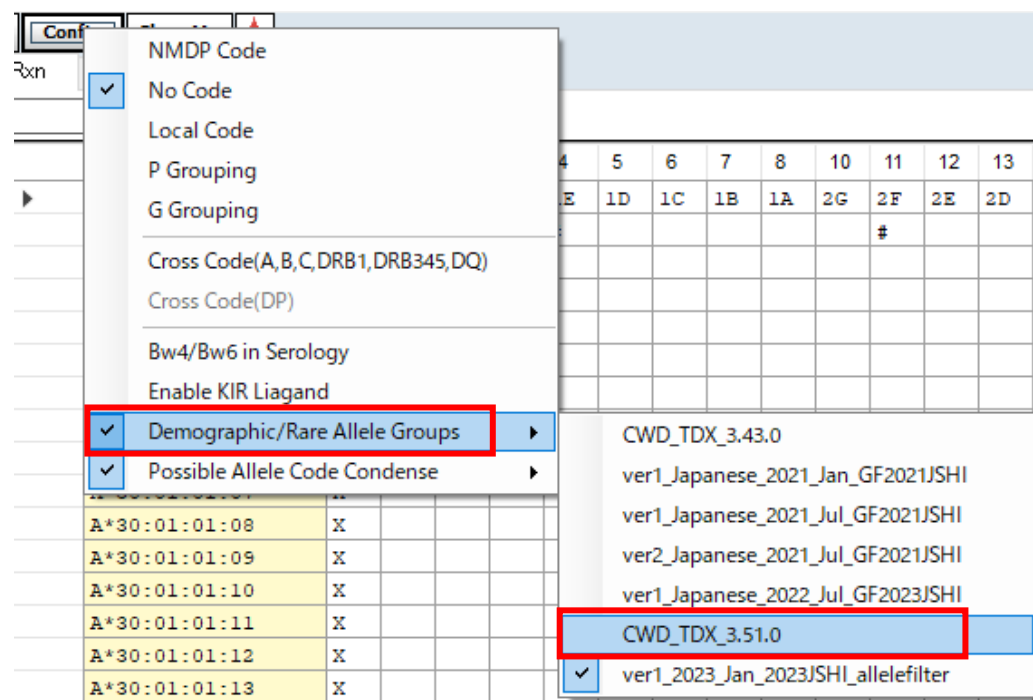
Line	Allele	Population	% of individuals that have the allele	Allele Frequency (in_decimals)
1	B*42:01	 Zambia Lusaka		0.1480 ■
2	B*42:01	 Mali Bandiagara		0.1380 ■
3	B*42:01	 Burkina Faso Mossi		0.1320 ■
4	B*42:01	 South Africa Natal Zulu	23.0	0.1200 ■
5	B*42:01	 Ghana Ga-Adangbe	22.1	0.1107 ■
1	DRB1*03:02	 Colombia West Cauca		0.2000 ■
2	DRB1*03:02	 Ghana Accre Asutuare Akan		0.1720 ■
3	DRB1*03:02	 Kenya, Nyanza Province, Luo tribe	22.0	0.1100 ■
4	DRB1*03:02	 Sao Tome Island Angolar		0.1090 ■
5	DRB1*03:02	 Colombia North Chimila Amerindians		0.0957 ■

Allele Frequency Net Database (AFND)
<http://www.allelefreqencies.net/default.asp>

日本人フィルタ⇒CWDフィルタの変更方法

- 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
 - 血清型ファイルをインポートした際に自動でインポートされる
- CWDとは
 - Common Well-Documentedの略で世界的に頻度の高いアレルが登録されている

解析結果画面の
Configより変更ができる



	H	G	F	E	D	C	B	A
01	1	1	8	1	1	1	1	1
02	8	1	1	1	1	1	1	1
03	1	1	8	1	1	1	1	1
04	1	1	8	1	1	1	1	1
05	1	1	1	1	1	8	1	1
06	1	1	1	1	1	1	1	1
07	8	8	1	8	8	8	8	1
08	1	1	8	1	8	1	1	1
09	1	1	8	1	1	1	1	1
10	1	1	1	1	1	1	1	1
11	1	1	1	8	1	1	8	8
12	8	1	1	8	1	1	1	8

日本人フィルタ使用
(G1のみ表示)



B、DRB1ローカスが
No Solution

```
Possible Allele Code 1 Allele
A*03:01:01:01/03:02:01:01
A*30:01:01:01/30:02:01:01/30:04:01:01
No Solution
C*04:01:01:01/04:03:01:01
C*04:01:01:01/04:03:01:01
C*04:01:01:01/04:03:01:01
C*17:01:01:02
No Solution
DRB3*01:01:02:01/01:01:05
DRB4*01:01:01:01/01:02:01:03:01:01/01:03:02:01
DRB3*02:02:01:01/02:02:04
DRB4*01:01:01:01/01:02:01:03:01:01/01:03:02:01
DRB3*03:01:01:01/03:01:03:01
DRB4*01:01:01:01/01:02:01:03:01:01/01:03:02:01
```

CWDフィルタ使用
(G1のみ表示)



No Solutionはないが
候補アレル多数

```
Possible Allele Code 1 Allele
A*03:01:01:01/03:01:01:03/03:01:02/03:01:03:01/03:02:01:01/01:01:01
A*30:01:01:01/30:02:01:01/30:03/30:04:01:01/30:08:01/30:09:01
A*30:01:01:01/30:02:01:01/30:03/30:04:01:01/30:08:01/30:09:01
A*74:13
B*42:01:01:01/42:02:01:01
B*44:03:01:01/44:03:02:01/44:07/44:29
C*04:01:01:01/04:03:01:01/04:04:01:01/04:05/04:06:01/04:07:01
C*04:01:01:01/04:03:01:01/04:04:01:01/04:05/04:06:01/04:07:01
C*04:01:01:01/04:03:01:01/04:04:01:01/04:05/04:06:01/04:07:01
C*07:26:01:01
C*04:01:01:01/04:03:01:01/04:04:01:01/04:05/04:06:01/04:07:01
C*17:01:01:02/17:03:01:01
```

• 結果のまとめ

ローカス	A	B	C	DRB1	DQB1
シーケンス結果 (論文参照)	A*03:01 A*30:01	B*42:01 B*44:03	C*04:01 C*17:01	DRB1*03:02 DRB1*09:01	DQB1*02:02 DQB1*04:02
日本人フィルタ使用	A*03:01/02 A*30:01/02/04	No solution	C*04:01/03 C*04:01/04:01/17:01	No solution	DQB1*02:01/02 DQB1*04:01/02
CWDフィルタ使用	A*03:01/03:02/03:05+ A*30:01/30:02/30:03+ 抗原レベルambiguity	B*42:01/02 B*44:03/07/29	C*04:01/04:03/04:04+ C*04:01/04:03/04:04+ 抗原レベルambiguity	DRB1*03:02/03:03/03:07+ DRB1*09:01/09:04/09:06+ 抗原レベルambiguity	DQB1*02:01/02/180 DQB1*04:01/02

日本人以外の検体でもフィルターを変更することでG1の結果が得られます
 ただしambiguityが多く生じる可能性があります
 日本人集団以外の検体の検査の際はご注意ください
 ※別法での確認検査もお勧めします

• 手技のポイント

DNAの
品質と濃度

試薬の
状態と量

DNAと試薬
の混合

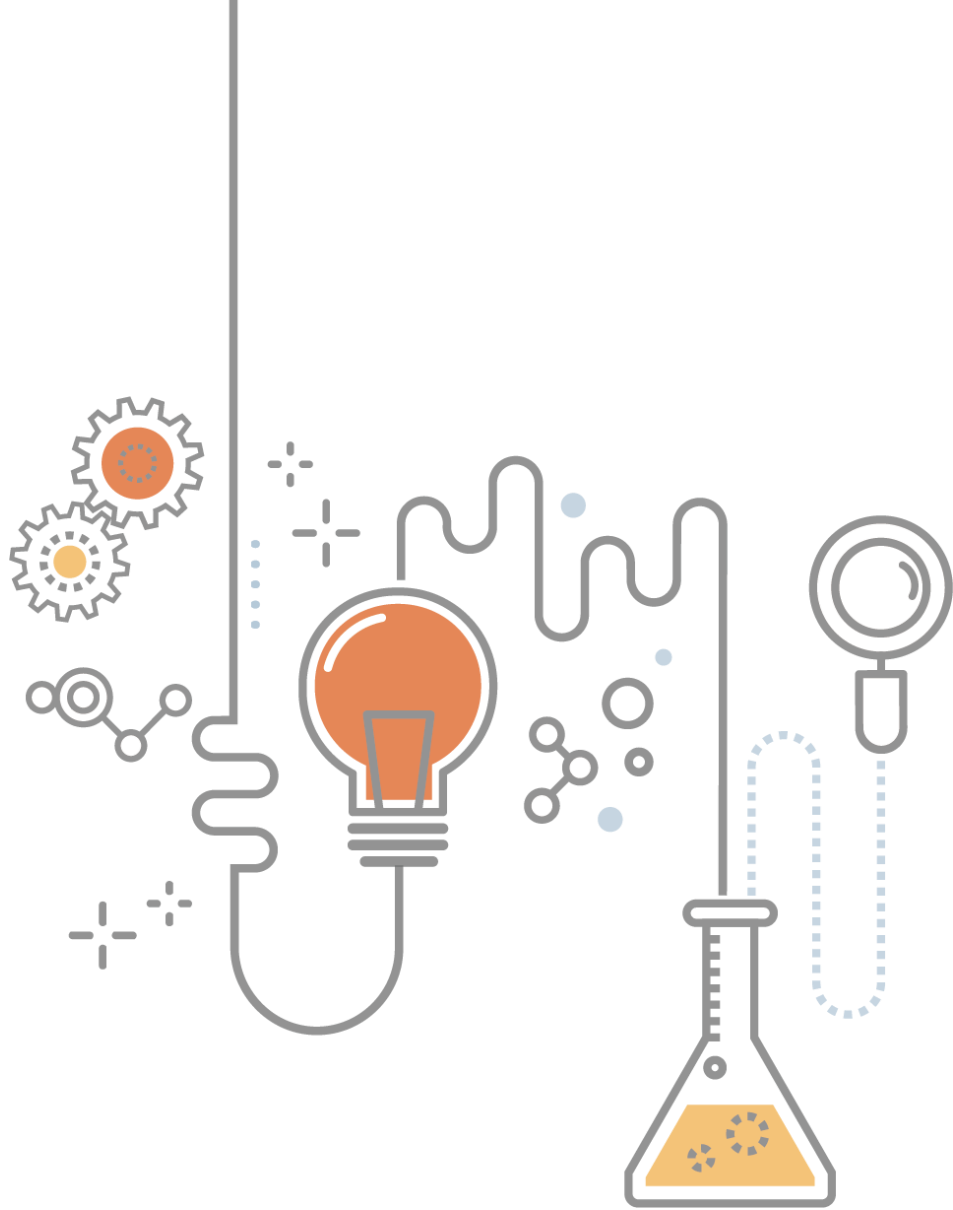
PCR条件

ゲル作成・
アプライ



• 解析のポイント

- 各ウェルの判定を確実に
- ハプロタイプと連鎖の確認を
 - あてはまらない場合もあることに注意
- HLAFusionでの確認・解析が便利です
 - フィルターの切り替えで日本人以外の検体にも対応



ご清聴ありがとうございました。
ご質問があればお知らせください。