すぐに役立つHLA
Vol.3 マイクロSSP入門

マイクロSSPの解析

株式会社ベリタス

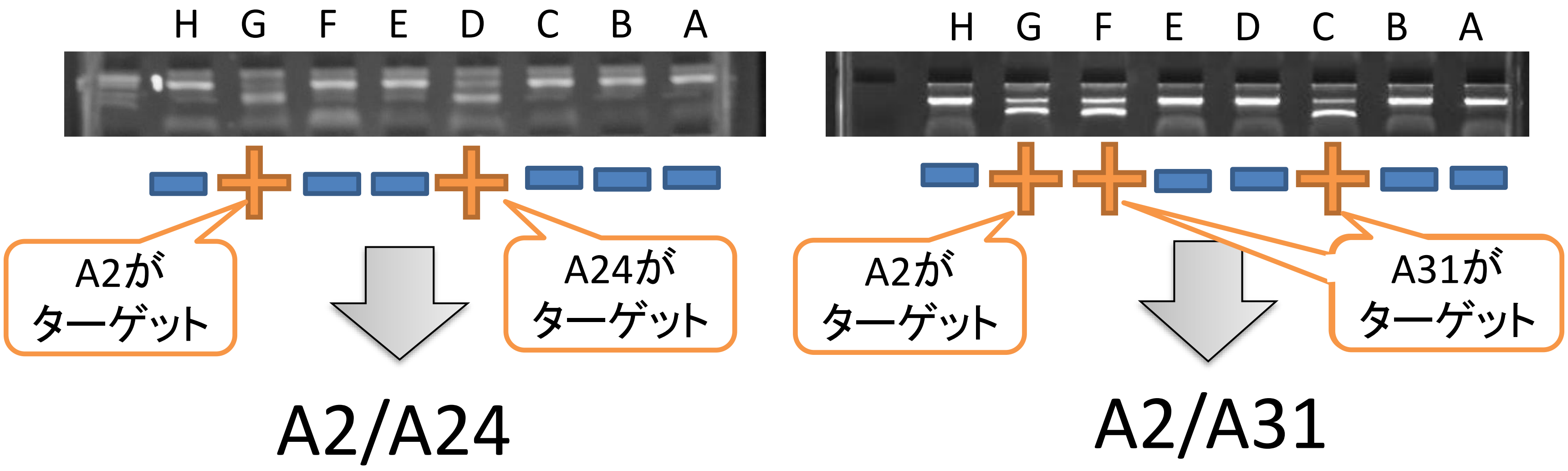
2022年12月7日

目次

- 判定原理と解析の流れ
- 各ツールの使い方
  - ワークシート
  - JPN早見表
  - HLAFusion
- HLAFusion活用方法

マイクロSSPの判定原理

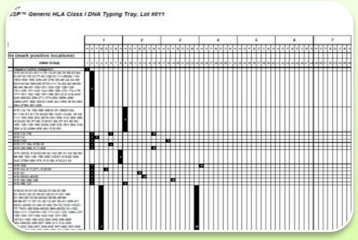
- 各ウェルの陽性/陰性パターンから抗原（アレル）の同定を行う



- 2アレル分の遺伝子が増幅
  - 増幅パターンから組み合わせを判定
- 陽性となるウェルの数はアレルによって異なる
- 陰性ウェルも判定に重要

*上記はイメージです
実際の結果とは異なります

解析に使う3つのツール

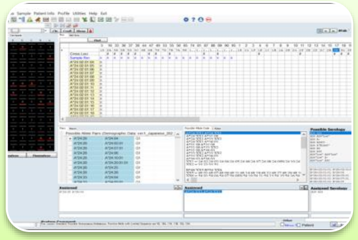


ワークシート（pdf）

- すべての製品でロットごとにOne Lambdaより提供
- 血清型ファイルの更新によりアップデート（年2回）

マイクロSSP JPN早見表（pdf）

- SSP JPN用、ベリタスにて作成・提供
- JSHI推定アレル表の更新によりアップデート（年1回）



HLA Fusion （ソフトウェア）

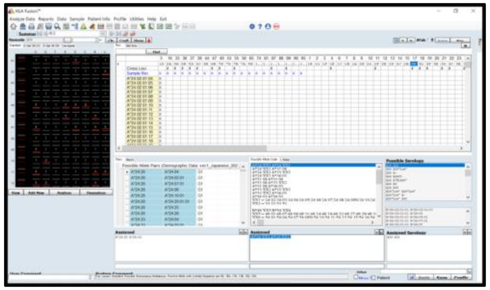
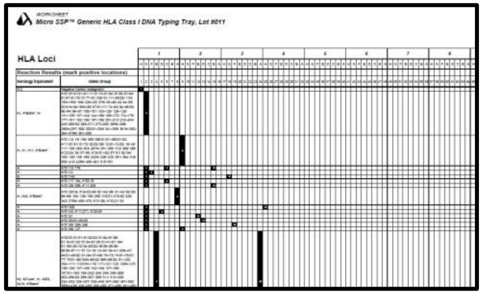
- マイクロSSPすべての製品に対応
- 解析用ファイルはロット・血清型ファイルの更新でアップデート

最新版の利用をお願いします

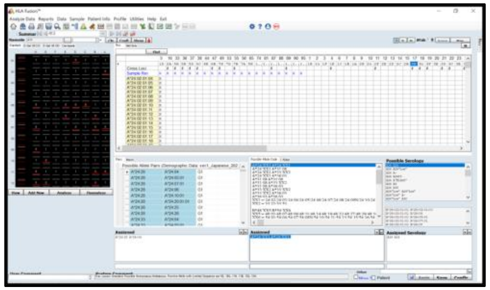
※JPNのソフトウェア解析には特定バージョンのファイルの使用を推奨

解析の流れ

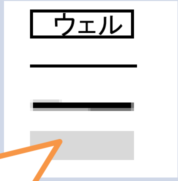
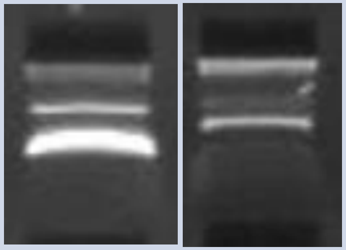
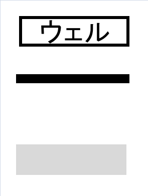
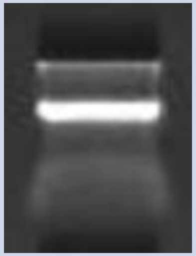
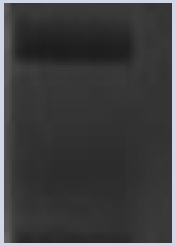
＜マイクロSSP JPN以外の場合＞
陽性・陰性ウェルを目視で判定
⇒HLA Fusionで解析・結果確認、必要に応じワークシートを併用

＜マイクロSSP JPNの場合＞
陽性・陰性ウェルを目視で判定
⇒早見表で結果の見当をつけた後、HLA Fusionで解析・結果確認

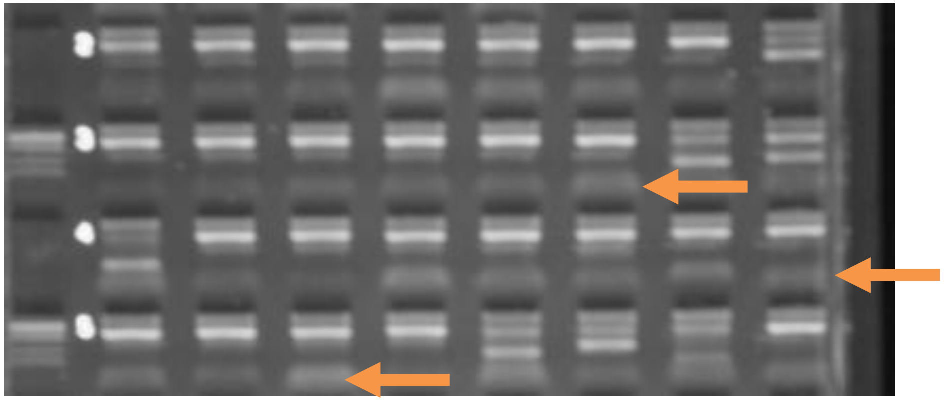


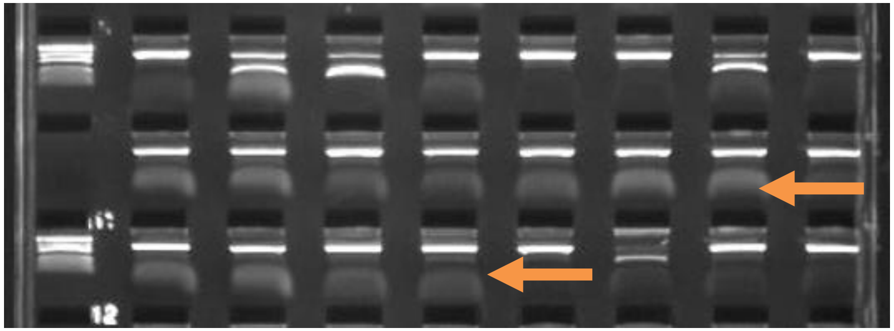
陽性ウェル・陰性ウェルの判定

	陽性	陰性	ネガティブコントロール（水） or 判定不能
インナーコントロールバンド	1本（薄い or 確認できない）	1本（濃くはっきりしている）	確認できない
ターゲットバンド	1本 or 複数 濃くはっきりしている	確認できない	確認できない
ゲル画像の例	 	 	

ゲルの作製条件、泳動条件、撮影条件に依存します
<u>プレート全体（ウェル全体）を見て判定してください</u>

バンドの判定について①

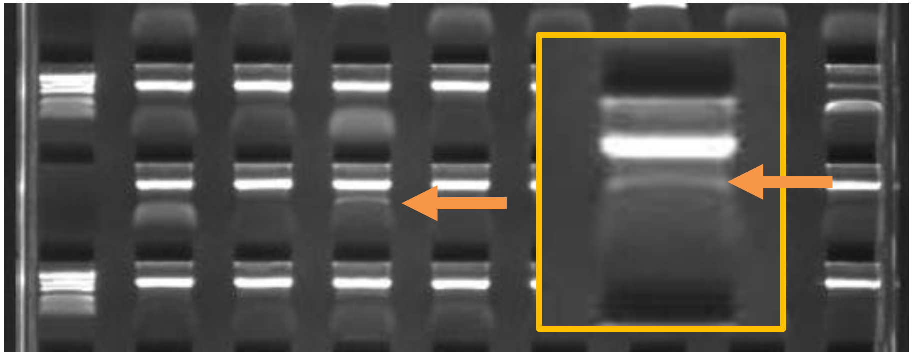


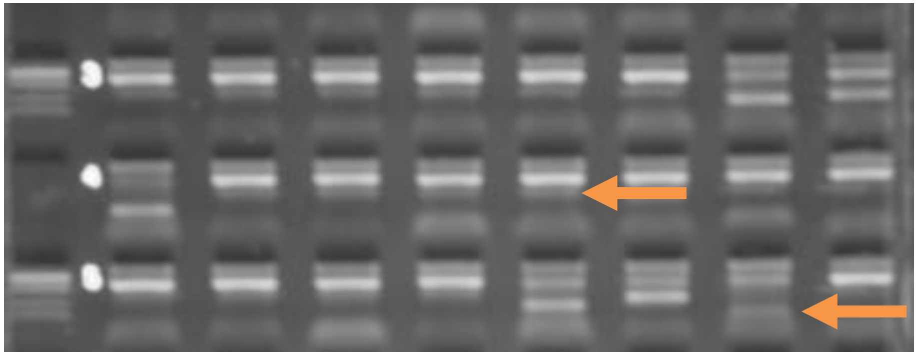


- サイズが短い（ゲルの下方）
- バンドが薄い、不明瞭
  （ぼやけている）
- 不特定多数のウェルに出現

残存プライマー同士の結合
（プライマーダイマー）
判定には使用しません

バンドの判定について②





- インナーコントロールバンドより薄い
- バンドは明瞭
- 特定のウェルに出現

増幅不良もしくは偽陽性の可能性
⇒バンドサイズ・検出可能なアレル情報の確認を
※過去の検査データの参照もお勧めします

バンドの判定について③

- 増幅が見られない
  - ネガティブコントロールウェルの場合は問題なし
    - マイクロSSP JPN以外のキット
  - サンプルウェルの場合
    - 他のウェルや過去の検査では増幅していますか？インナーコントロールバンドは増幅していますか？
      - ゲルへの充填ミス
      - サーマルサイクラーの温度制御
      - 圧力パッドの不備
    - 試薬は推奨条件のものを使用していますか？
      - Taq、D-Mix、EtBrの不備による増幅不良
    - DNAの状態は適正ですか？
      - 濃度、品質、EDTAを含む溶液に起因する増幅不良

各ツールの使い方

ワークシート

- 1枚目：各ウェルで増幅するPCR産物の長さ
  血清型ファイルのバージョン
- 2枚目：キットで検出できないアレルリスト
- 3枚目～：判定シート（パターン表）

	H	G	F	E	D	C	B	A	Tray Position
Well #	1	2	3	4	5	6	7	8	1
bps	750	200	200	150 - 250	250	200	200	175 - 225	
Well #	9	10	11	12	13	14	15	16	2
bps	200 / 225	75	175	75 / 100	125 / 150	175	100	200	
Well #	17	18	19	20	21	22	23	24	3
bps	175	200	100	175 / 200	150	175 / 200	350	175	
Well #	25	26	27	28	29	[illegible]	31	32	

複数の長さの増幅産物が含まれるウェルは「/」または「-」で示されます

ıe HLA alleles listed in the January 2022 update of the IMGT/HLA database release 3.47.0 (Rc
y complex" Nucleic Acids Research (2003), 31, 311-314). Complete update information is loca

血清型ファイルのバージョン

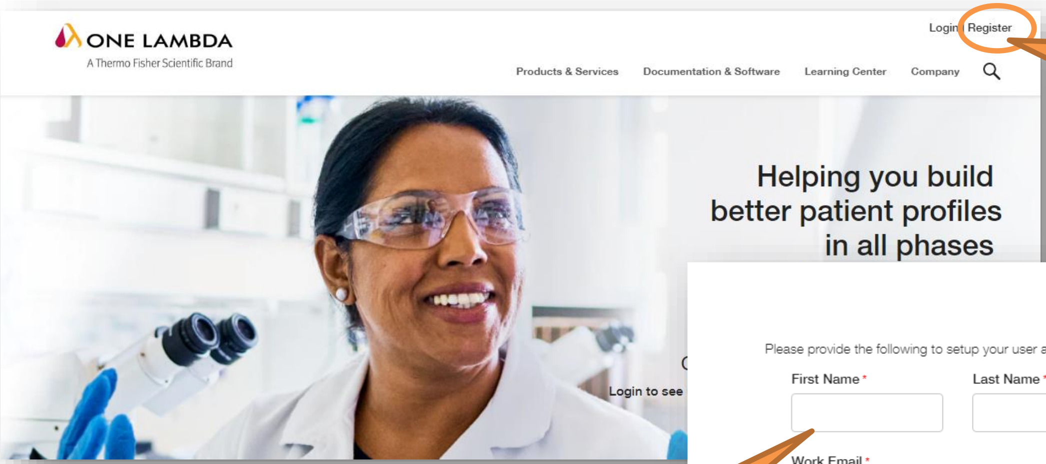
陽性となるウェルがアレルグループごとに黒で表示

Reaction Results (mark positive locations)

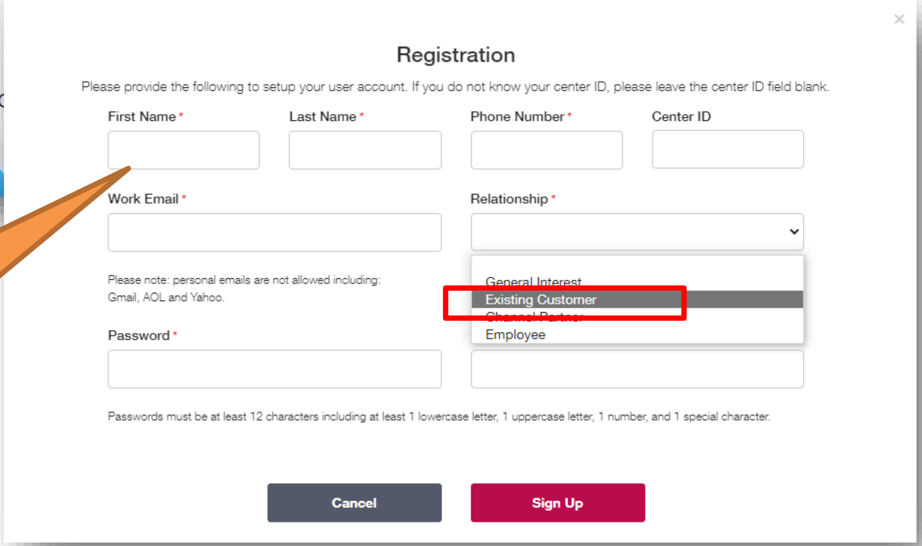
Serology Equivalent	Allele Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
A23, A-, A"Blank"	A*23:01:01:01~01:12 /01:14~01:29 /01:31~08N /10:01~13 /15~21 /23 /25~27 /29~33 /35~50 /53~56 /58~60 /62 /65 /67~79 /81~103N /106N~112 /114~120							7		9															
A23	A*23:01:13				4			7		9															
A23, A-	A*23:01:30 /22 /51 /61 /64 /80							7																	
A-	A*23:09 /28							7												19					
A-, A"Blank", A24, A24"Low", A2403, A9	A*23:104 /113N; A*24:02:01:01~02:05 /02:07~02:48 /02:50~02:57 /02:59~02:141 /02:143~07:04 /09N~13:02 /15~18 /20:01:01~23 /25~30 /32~41 /43 /45N~49 /53~56:02 /58~63 /66 /68~70 /72~76 /78~80 /83N~87 /90:01N~91 /95~103 /106~108 /110~119 /121~128 /130~137 /139~155N /157~173 /175~187 /189~190 /192~221 /223~227 /229~232N /234~259 /261~289 /292~303N /305~308 /311~314 /316~317 /319~323N /325 /327~339 /341 /343~355 /357N~369 /371~373 /375~390 /393~408N /410~411 /413~428N /430N~457 /459~474 /476~480 /482~514N /516~526 /528~550 /552~554 /556N /558~565								8	9															
A-	A*23:14:01~14:02 /105; A*24:71 /527							7	8	9															
A-	A*23:52							7		9															
A-	A*23:63							7		9															
A24, A-	A*24:02:06 /02:58 /391				4				8	9															
A-	A*24:109 /260								8	9				13											
A24, A-	A*24:14:01:01~14:01:04 /93 /324									9															24

ワークシートの取得方法①

- One Lambdaウェブページからのダウンロード
  - https://www.thermofisher.com/onelambda/wo/en/home.html
- 12/27よりファイルの取得にはアカウント登録が必要となります
  - メーカーでのアカウント認証作業のため12/20までの登録をおすすめします

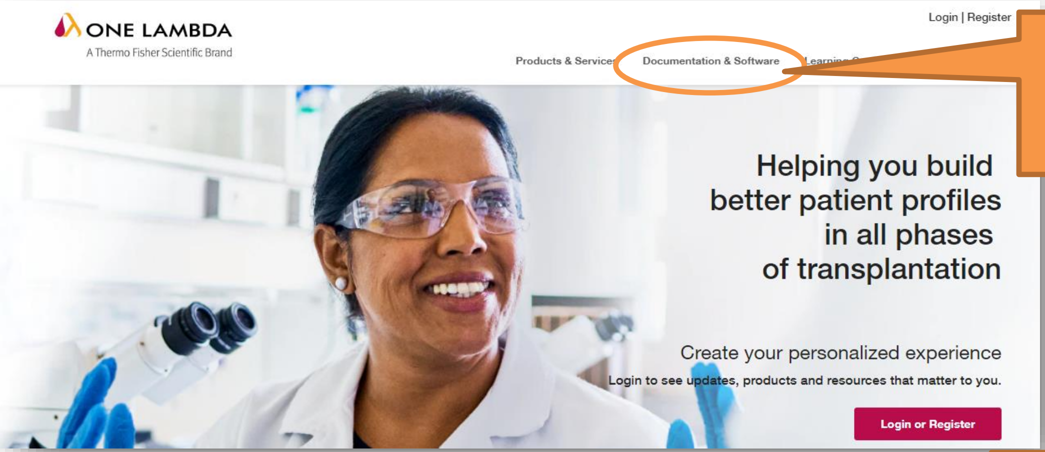


Register

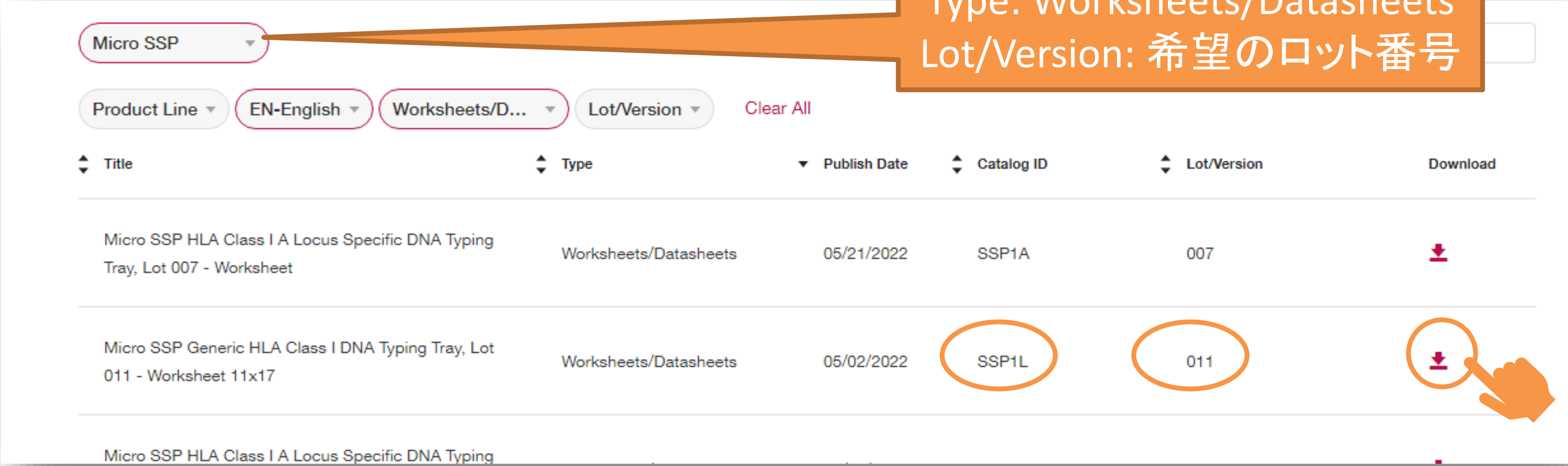


★マークを入力
（Center IDの入力は必要ありません）
RelationshipはExisting Customerを選択

ワークシートの取得方法②



Documentation & Software



Product Group: Micro SSP
Type: Worksheets/Datasheets
Lot/Version: 希望のロット番号

JPN早見表

- 陽性ウェルパターンとJSHI推定アレルリストが記載

推定アレルリスト
※JSHI推定アレル表に従った表記と
頻度が併記

陽性ウェルのパターン

特記事項

推定アレル AF≧0.001%	アレル表記 頻度順	推定アレルに基づく HLA型 読み替えAF≧0.001%	HLA型表記 頻度順	検査型 (HLA型)	頻度 (GF%)	1 H	1 G	1 F	1 E	1 D	1 C	1 B	1 A	2 H	2 G	2 F	2 E	2 D	2 C	備考
A*01:01	A*01:01	A1	A1	A1	0.44															
A*02:01,A*02:03,A*02:05,A*02:06,A*02:07,A*02:10,A*02:11,A*02:15N A*02:18,A*02:28,A*02:42,A*02:53N,A*02:59,A*02:72,	A*02:01/06/07/+	A2,A203,A210,Null	A2/210/203/+	A2	24.465															
A*03:01,A*03:02	A*03:01/02	A3	A3	A3	0.518															
A*11:01,A*11:02,A*11:13 A*34:01	A*11:01/11:02/34:01/+	A11,A34	A11/34	A11/34	9.083 0.008															JSHI2018年度版からA*34:01(0.009%)が加わったため、ambiguity となります。精査する場合、他のキットで検査してください。
A*23:01	A*23:01	A23	A23	A23	0.004															
A*24:02,A*24:03,A*24:04,A*24:05,A*24:07,A*24:08,A*24:10,A*24:20, A*24:25,A*24:28,A*24:46	A*24:02/20/08/+	A24,A2403	A24/2403	A24	37.093															
A*25:01	A*25:01	A25	A25	A25	0.001															
A*26:01,A*26:02,A*26:03,A*26:04,A*26:05,A*26:06	A*26:01/03/02/+	A26	A26	A26	12.053															(A*25,A*26) または (A*26,−) のタイプが考えられます。しかし、A*25は日本人での頻度は稀ですので、(A*26、−)と考える方がベターです。精査する場合、他のキットで検査してください。
A*29:01,A*29:02	A*29:01/02	A29	A29	A29	0.019															
A*30:01,A*30:02,A*30:04	A*30:01/04/02	A30	A30	A30	0.191															
A*31:01,A*31:11	A*31:01/11	A31	A31	A31	8.628															
A*32:01	A*32:01	A32	A32	A32	0.03															
A*33:01,A*33:03,A*33:08	A*33:03/01/08	A33	A33	A33	7.377															
A*66:01	A*66:01	A66	A66		0															日本人頻度が0%ですが、このタイプが考えられる場合は他の方法、他施設で確認してください。
A*68:01	A*68:01	A68	A68	A68	0.017															

JPN早見表②

- DRB1/DRB345/DQは連鎖も確認ができます

DRB1					DQB1				DRB3,4,5			
推定アレル AF≧0.001%	アレル表記頻度順	推定アレルに基づく HLA型 読み替え AF≧0.001%	HLA型表記	頻度(GF%)	推定アレルAF≧0.001%	アレル表記頻度順	推定アレルに基づく HLA型 読み替え AF≧0.001%	HLA表記型	推定アレルAF ≧0.001%	アレル表記頻度順	推定アレルに基づく HLA型 読み替え AF≧0.001%	HLA表記型
DRB1*01:01 DRB1*01:02	DRB1*01:01/02	DR1	DR1	5.647	DQB1*05:01 DQB1*05:02 DQB1*05:03	DQB1*05:01/03/02	DQ5	DQ5				
DRB1*15:01 DRB1*15:02 DRB1*15:04	DRB1*15:02/01/04	DR15	DR15	18.197	DQB1*06:01 DQB1*06:02 DQB1*06:03 DQB1*06:04 DQB1*06:09	DQB1*06:01/02/04/+	DQ6	DQ6	DRB5*01:01 DRB5*01:02 DRB5*02:02	DRB5*01:01/01:02/02:02	DR51	DR51
					DQB1*03:01	DQB1*03:01	DQ7	DQ7				
DRB1*16:01 DRB1*16:02	DRB1*16:02/01	DR16	DR16	0.817	DQB1*05:01 DQB1*05:02 DQB1*05:03	DQB1*05:01/03/02	DQ5	DQ5	DRB5*01:01 DRB5*01:02 DRB5*02:02	DRB5*01:01/01:02/02:02	DR51	DR51
DRB1*03:01	DRB1*03:01	DR17	DR17	0.136	DQB1*02:01 DQB1*02:02	DQB1*02:02/01	DQ2	DQ2	DRB3*01:01 DRB3*02:02 DRB3*03:01	DRB3*02:02/03:01/01:01	DR52	DR52
DRB1*04:01 DRB1*04:02 DRB1*04:03 DRB1*04:04 DRB1*04:07 DRB1*04:08	DRB1*04:03/01/07/+	DR4	DR4	4.868	DQB1*03:01	DQB1*03:01	DQ7	DQ7	DRB4*01:01 DRB4*01:02 DRB4*01:03	DRB4*01:03/02/01	DR53	DR53
					DQB1*03:02	DQB1*03:02	DQ8	DQ8				
DRB1*04:05 DRB1*04:06 DRB1*04:09 DRB1*04:10 DRB1*04:11	DRB1*04:05/06/10/+	DR4	DR4	18.82	DQB1*04:01 DQB1*04:02	DQB1*04:01/02	DQ4	DQ4				
					DQB1*03:02	DQB1*03:02	DQ8	DQ8				
					DQB1*03:01	DQB1*03:01	DQ7	DQ7				

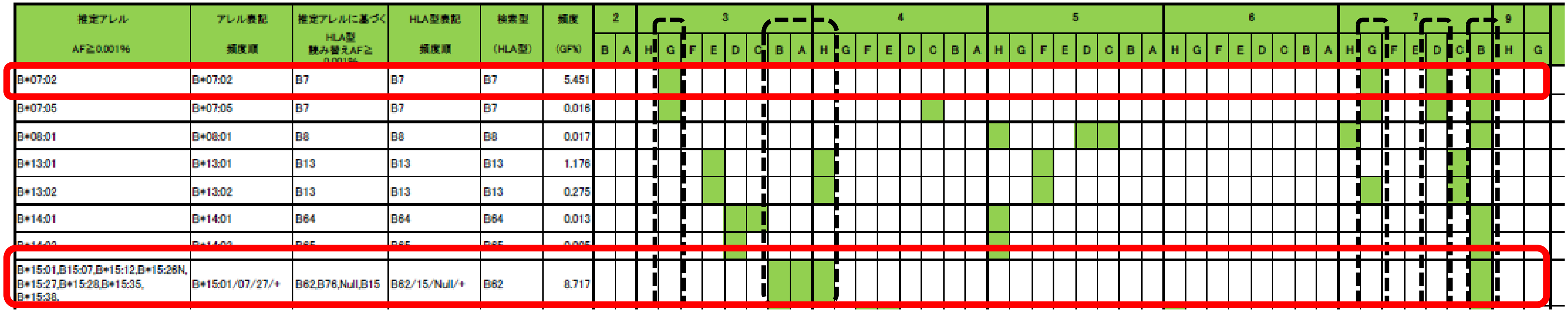
ワークシート、早見表の使い方

ウェルの陽性・陰性パターンに
一致するアレルを見つける

①陽性ウェルをチェック

②パターンが一致するアレルの組み合わせを見つける

例：SSP JPNで「3A、3B、3G、4H、7B、7D、7Gが陽性」の場合



推定アレル AF≧0.001%	アレル表記 頻度順	推定アレルに基づく HLA型 読み替えAF≧0.001%	HLA型表記 頻度順	検索型 (HLA型)	頻度 (GF%)
B*07:02	B*07:02	B7	B7	B7	5.451
B*07:05	B*07:05	B7	B7	B7	0.016
B*08:01	B*08:01	B8	B8	B8	0.017
B*13:01	B*13:01	B13	B13	B13	1.176
B*13:02	B*13:02	B13	B13	B13	0.275
B*14:01	B*14:01	B64	B64	B64	0.013
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
B*15:01,B15:07,B*15:12,B*15:26N, B*15:27,B*15:28,B*15:35, B*15:38,	B*15:01/07/27/+	B62,B76,Null,B15	B62/15/Null/+	B62	8.717

B*07:02　B*15:01/07/27/+

便利ツール

HLA Fusionでの解析方法

解析条件の設定

1. 血清型ファイル、日本人フィルタ、カタログファイルのインポート
2. 解析の設定
3. 検査情報の入力
4. 電気泳動結果の入力
5. 解析結果の確認

動画のご紹介 –HLA Fusionの使用方法

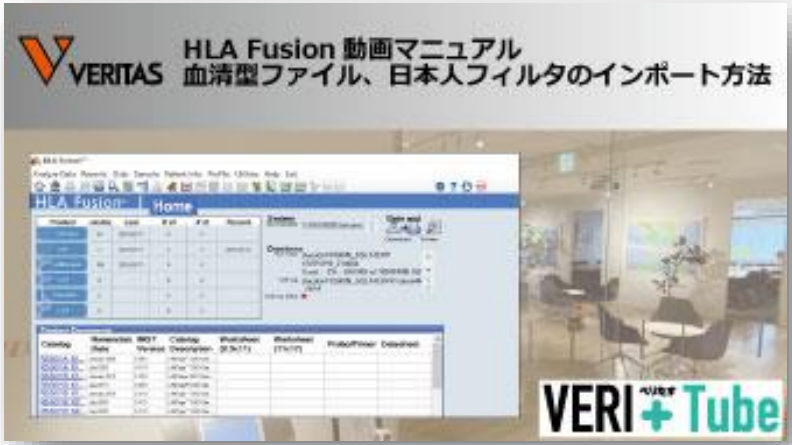
HLA Fusionの初期設定方法を中心に紹介

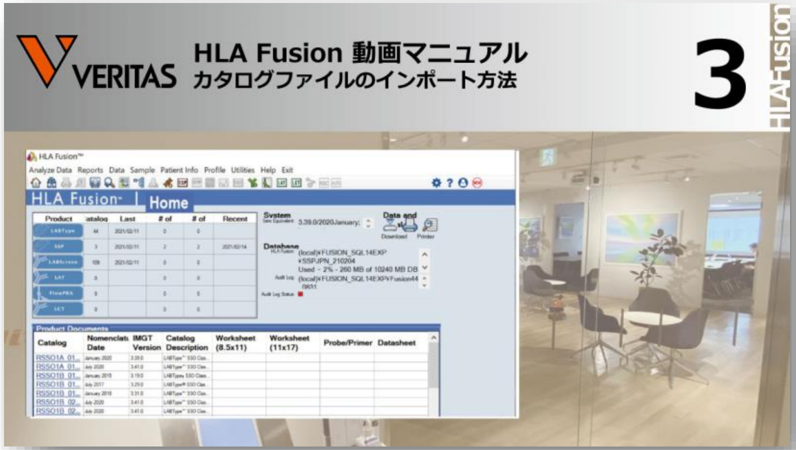
- Vol1～6が公開中

https://www.veritastk.co.jp/sciencelibrary/learning/hla-video-compilation.html

Vol.1:血清型ファイル、日本人フィルタのインポート

Vol.3:カタログファイルのインポート





解析に必要なファイル

- 血清型ファイル（アレルのデータベース）
  - 年2回（5月ごろ、11月ごろ）更新
- 日本人フィルタ（JSHI推定アレル表に基づくフィルタ）
  - SSP JPN用は年1回更新、その他は年2回更新
- カタログファイル（各ウェルで増幅するアレル情報）
  - ロットごとに提供
  - 年2回更新

次の最新版は12/8公開
詳細はメールニュースを
確認ください

現在の最新ファイル一覧

	JPN	JPN以外
血清型ファイル	sero_equivalent_2019July	sero_equivalent_2022January
日本人フィルタ	IMGT337_Japanese_2022JSHI	ver1_2022_Jan_2022JSHI_allelefilter
カタログファイル	SSPJPN_007_20	各製品の最新のファイル

血清型ファイルのバージョン

- 血清型ファイルにはIMGTのデータベースに登録されている全てのアレルがリストされています
- バージョン更新によってデータベースの変更があります
  - 新規アレルの追加
  - アレルの削除
  - アレル名称の修正（4桁⇒6桁、Null表記追加など）
- バージョンによって、表示されるタイピング結果が異なります
  - カタログファイル、フィルタのバージョンと合わせてください

sero_equivalent_2022January

A	B	C	D	E	F	G	
Official Name	My Name	Serologica	Bw	Local	v2 Format	IMGT/HLA 3.47.0	CIV
A*02:06:30		A2			A*02:06:30		
A*02:07	A0207	A2		1	A*0207		
A*02:07:01		A2		1	A*02:07:01		
A*02:07:01:01		A2		1	A*02:07:01:01		

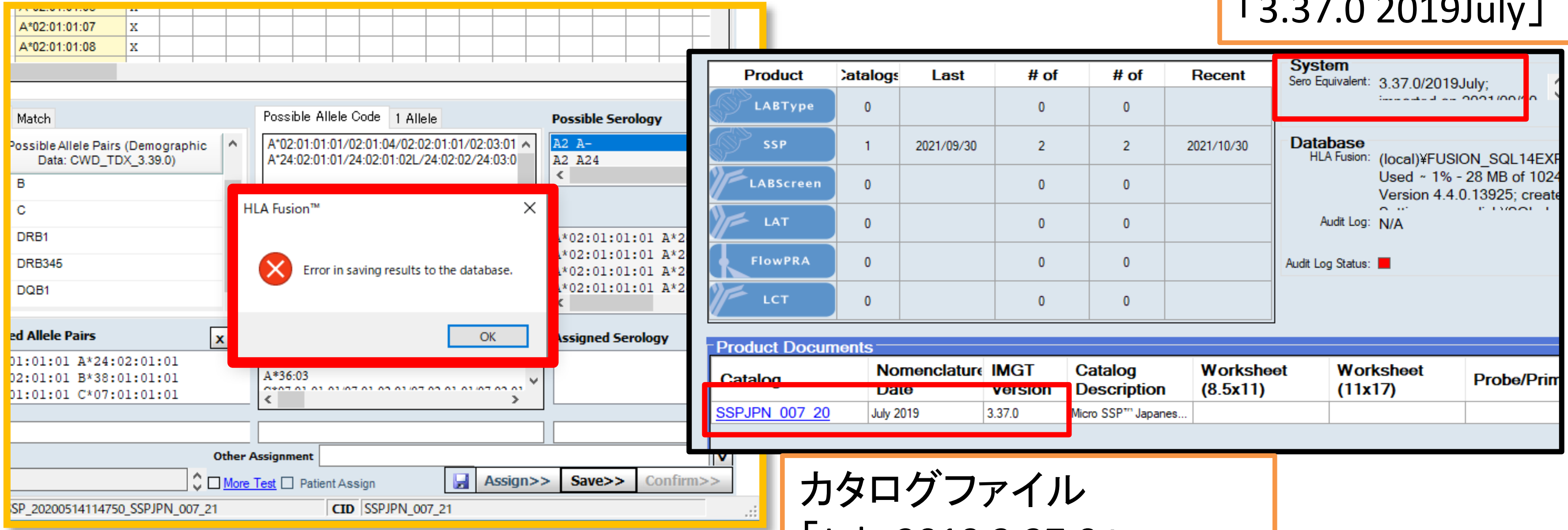
sero_equivalent_2019July

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	Official Name	My Name	Serologica	Bw	Local	v2 Format	IMGT/HLA 3.37.0	
776	A*02:06:28		A2			A*02:06:28		
777	A*02:07	A0207	A2		1	A*0207		
778	A*02:07:01		A2		1	A*02:07:01		
779	A*02:07:02		A2			A*02:07:02		
780	A*02:07:03		A2			A*02:07:03		

JPNの注意事項

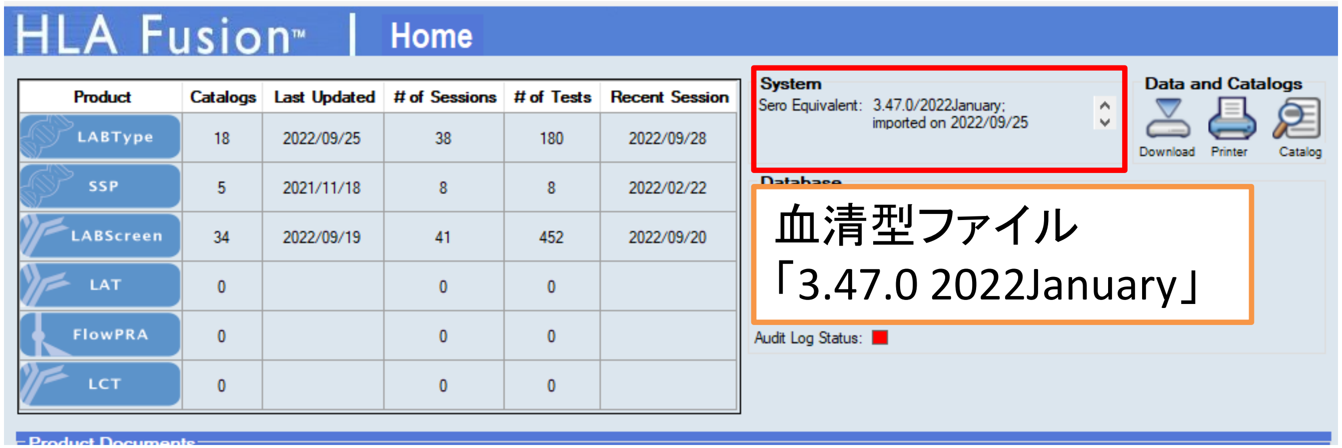
- 血清型ファイルのバージョンが3.39以降の場合、解析結果がSaveできないエラーが発生しております
  - 3.37（2019 July）の血清型ファイルはエラーが発生しません
  - JPN専用のデータベースで解析してください

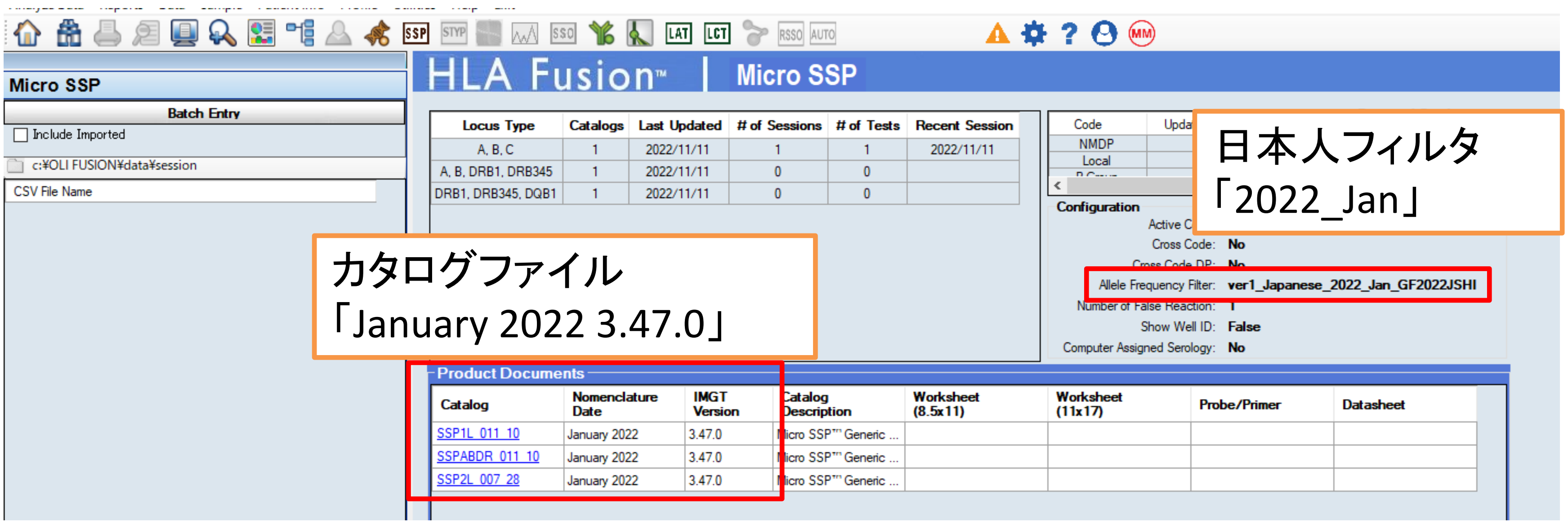
血清型ファイル
「3.37.0 2019July」



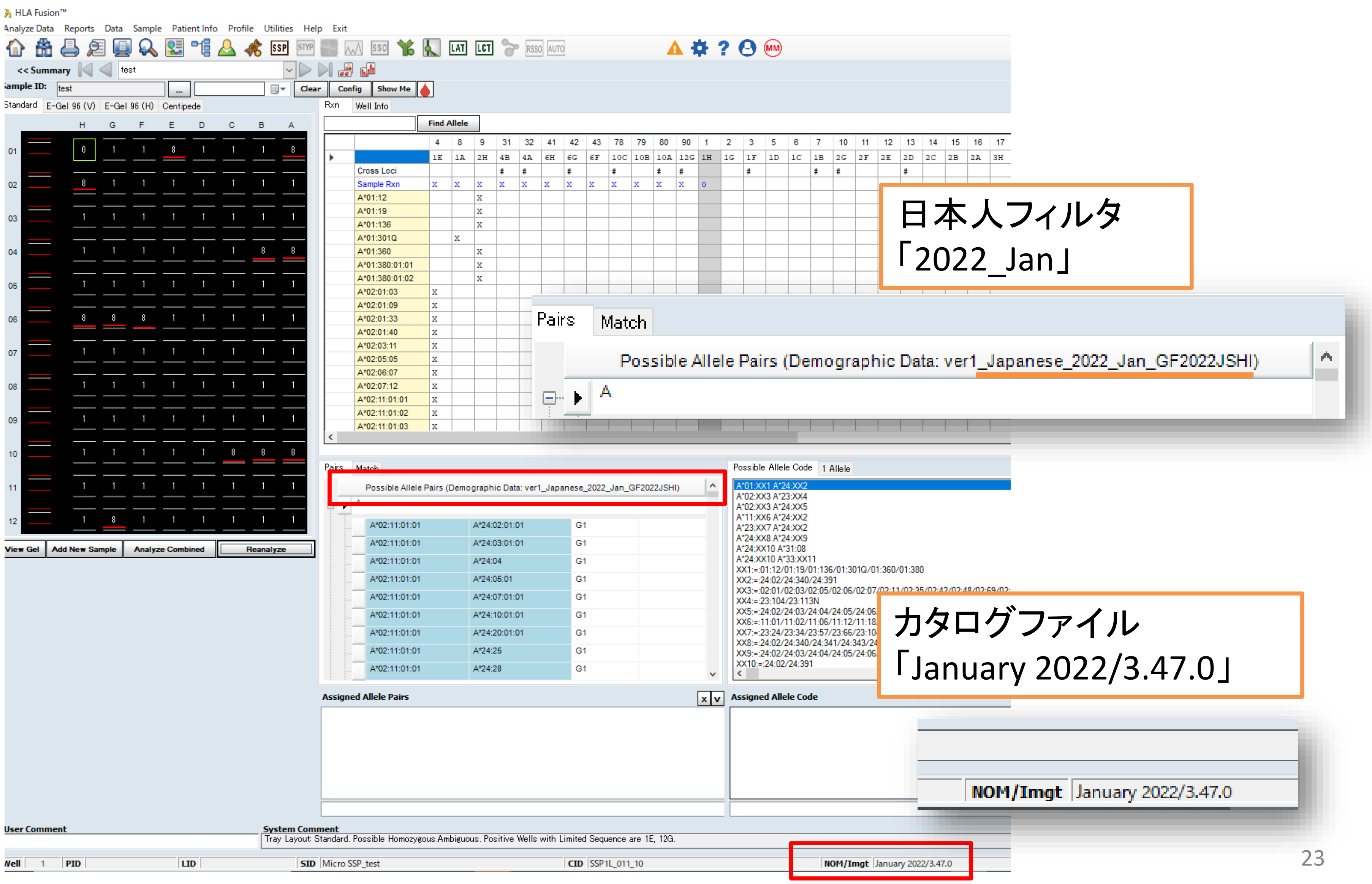
カタログファイル
「July 2019 3.37.0」

ファイルのバージョンの確認方法①



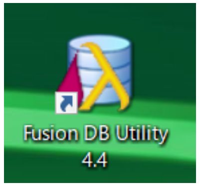


ファイルのバージョンの確認方法②

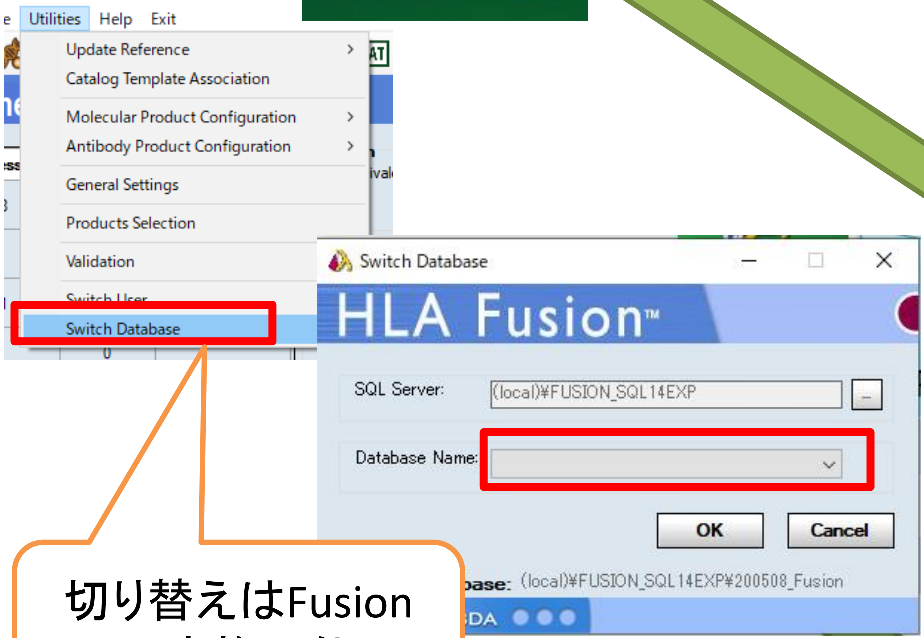


データベースの使い分け

LABScreen
LABType
JPN以外のマイクロSSP



血清型ファイル	sero_equivalent_2022January
日本人フィルタ	ver1_2022_Jan_2022JSHI_allelefilter
カタログファイル	各製品の最新のファイル



マイクロSSP JPN

血清型ファイル	sero_equivalent_2019July
日本人フィルタ	IMGT337_Japanese_2022JSHI
カタログファイル	SSPJPN_007_20

切り替えはFusionで実施可能

各種ファイルの取得方法①

- 血清型ファイル、日本人フィルタ、
  JPN･Class 1/2 Generic Typing kitのカタログファイル
  – 弊社ウェブページよりダウンロード

https://www.veritastk.co.jp/ にアクセス
HLA > 解析ソフト設定ファイル

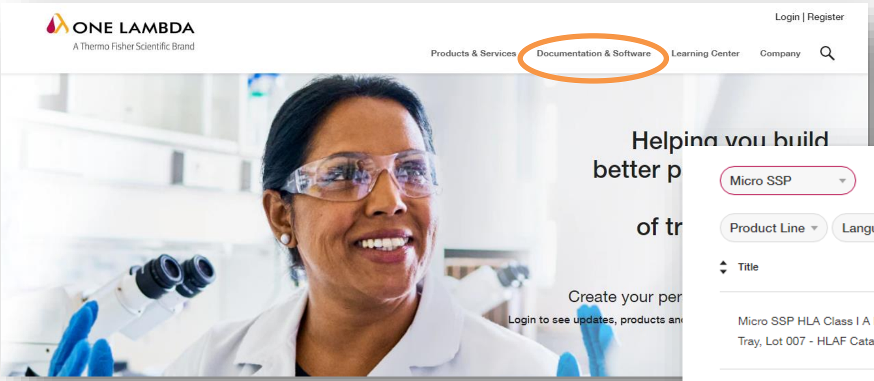
ページ下部に
SSP用カタログファイル

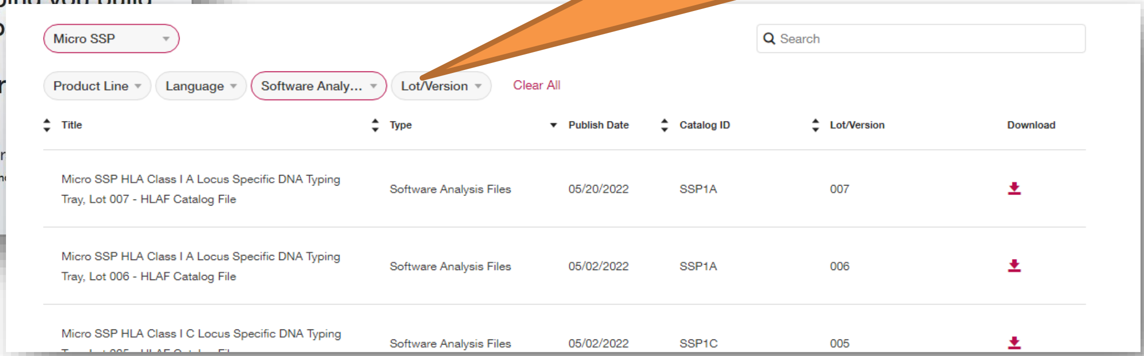
血清型ファイル、
日本人フィルタ

各種ファイルの取得方法②

- JPN･Class 1/2 Generic Typing kit以外のカタログファイル
  - One Lambdaウェブサイトよりダウンロード
    - 一部ファイルの取得にはアカウント登録が必要です

Product Group: Micro SSP
Type: Software Analysis Files
Lot/Version: 希望のロット番号

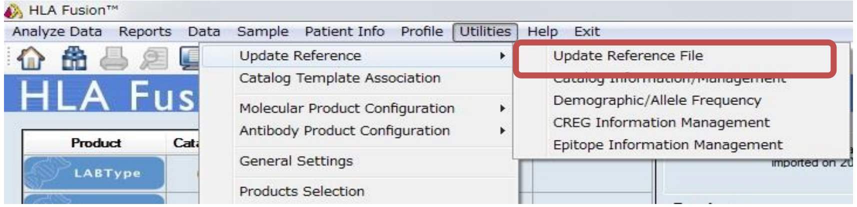




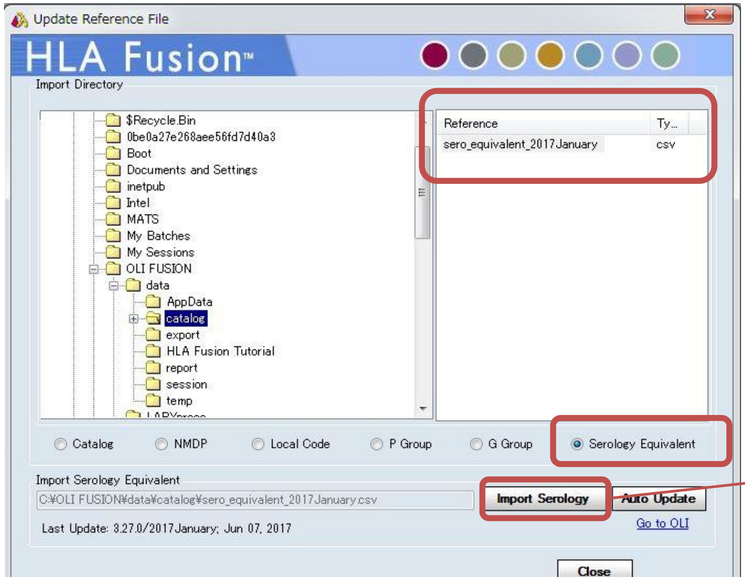
血清型ファイルのインポート

VERITAS

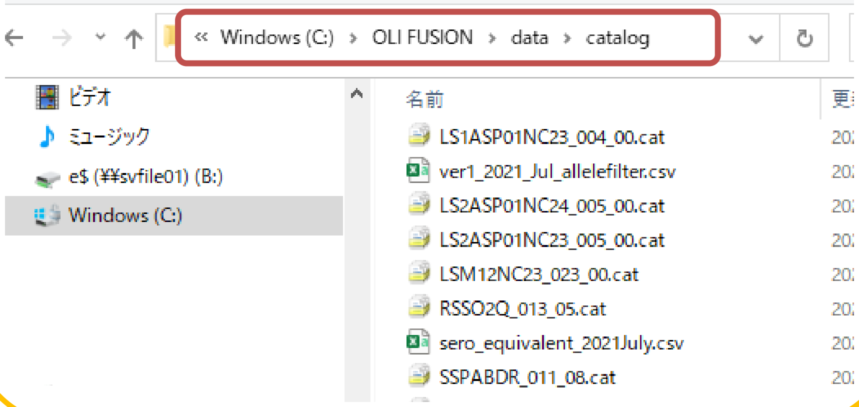
① Utilities→Update Reference→ Update Reference File

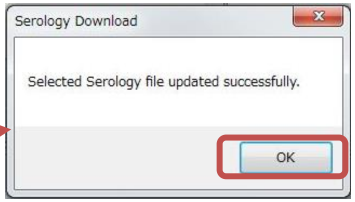


② Serology Equivalent→血清型ファイルを選択→import serology



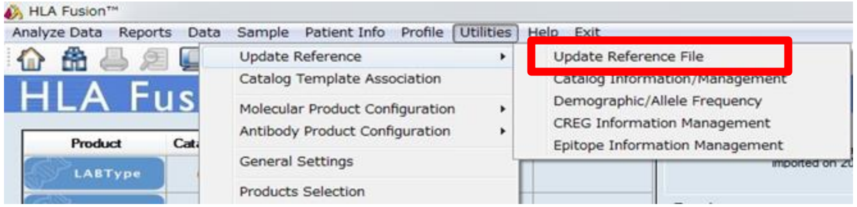
解析用ファイルの保存場所



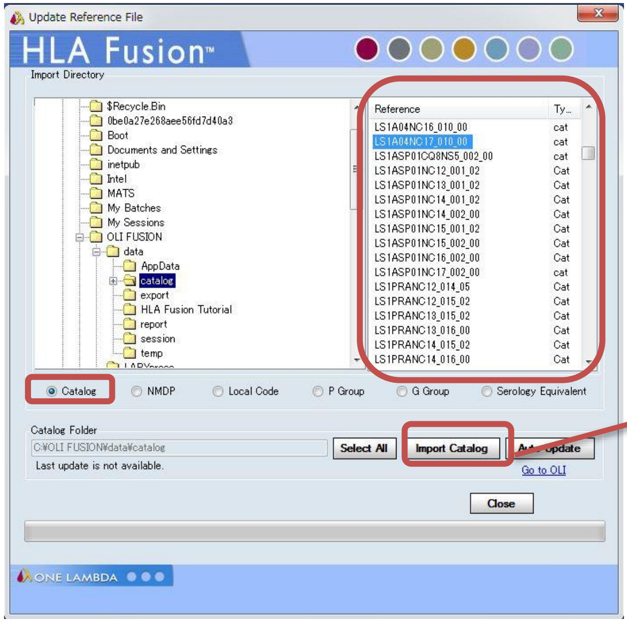


カタログファイルのインポート

①Utilities→Update Reference→Update Reference File



②Catalog→該当ファイルを選択→Import Catalog

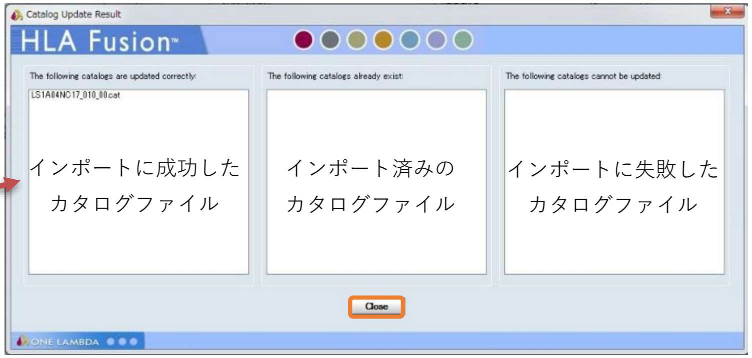


カタログファイルの名前

製品コード_ロット_バージョン

SSPJPN_007_20.cat

SSPABDR_011_08.cat



日本人フィルタ

- 日本組織適合性学会(JSHI)発表のHLA 推定アレル一覧表を元に弊社で作成
  - 推定アレル一覧表に含まれるかどうかによって、G1～G3分類される

日本人フィルタに含まれるアレルは青でハイライト表示されます

A*02:01:01:01	A*02:01:01:01	G1
A*02:01:01:01	A*02:03:01	G1
A*02:01:01:01	A*02:05:01:01	G1
A*02:01:01:01	A*02:06:01:01	G1
A*02:01:01:01	A*02:07:01:01	G1
A*02:01:01:01	A*02:10	G1
A*02:01:01:01	A*02:15N	G1
A*02:01:01:01	A*02:18	G1

A*02:01:01:01	A*02:01:01:03	G2
A*02:01:01:01	A*02:01:01:04	G2
A*02:01:01:01	A*02:01:01:05	G2
A*02:01:01:01	A*02:01:01:06	G2
A*02:01:01:01	A*02:01:01:07	G2
A*02:01:01:01	A*02:01:01:08	G2
A*02:01:01:01	A*02:01:01:09	G2
A*02:01:01:01	A*02:01:01:10	G2

A*02:01:01:02L	A*02:01:01:02L	G3
A*02:01:01:03	A*02:01:01:02L	G3
A*02:01:01:03	A*02:01:01:03	G3
A*02:01:01:03	A*02:01:01:04	G3
A*02:01:01:03	A*02:01:01:05	G3
A*02:01:01:03	A*02:01:01:06	G3
A*02:01:01:03	A*02:01:01:07	G3
A*02:01:01:03	A*02:01:01:08	G3

	HLA 推定アレル一覧表に含まれるかどうか	
	アレル1	アレル2
G1	○	○
G2	○	×
	×	○
G3	×	×

日本人フィルタ使用時の注意点

解析ファイルのバージョンを確認

- 血清型ファイル・日本人フィルタ・カタログファイルのバージョンを合わせてください
- 異なるバージョンを併用すると、G1に表示される結果が変わります

日本人以外の方のタイピングには非推奨

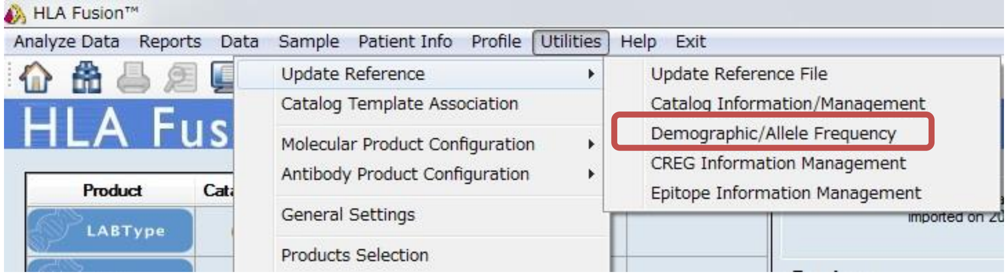
- ミスタイピングとなる可能性があります
- CWDフィルタを使用してください
  - 血清型ファイルと一緒に自動でインストールされます

JSHIアレル頻度表の更新と連動しています

- 前年G1となっていたアレルがG2になる可能性があります

日本人フィルタのインポート①

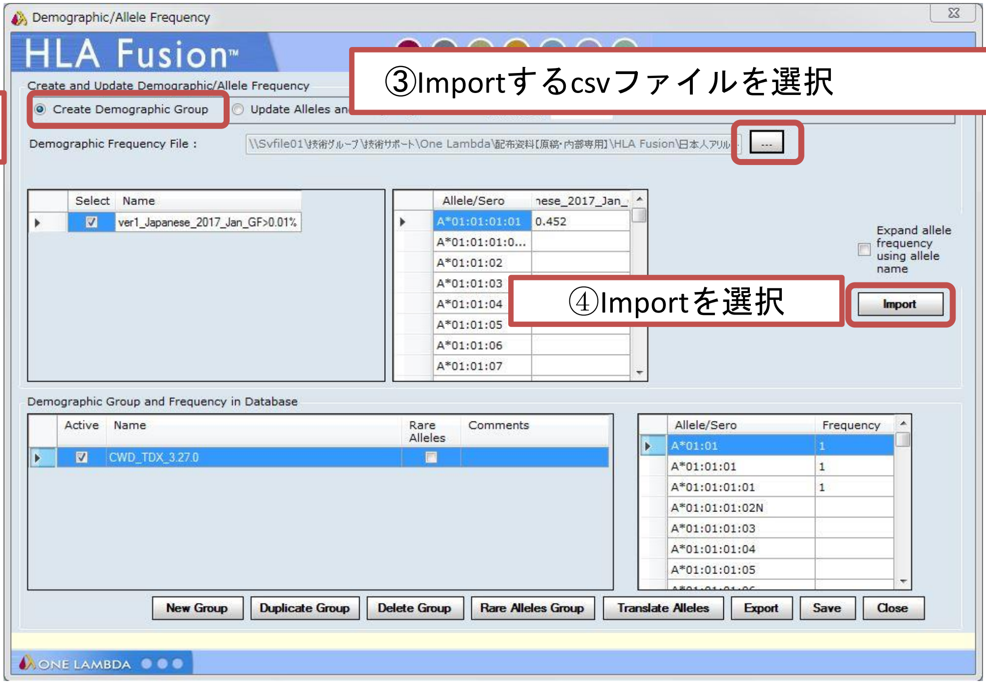
①Utilities＞Update Reference＞Demographic Allele



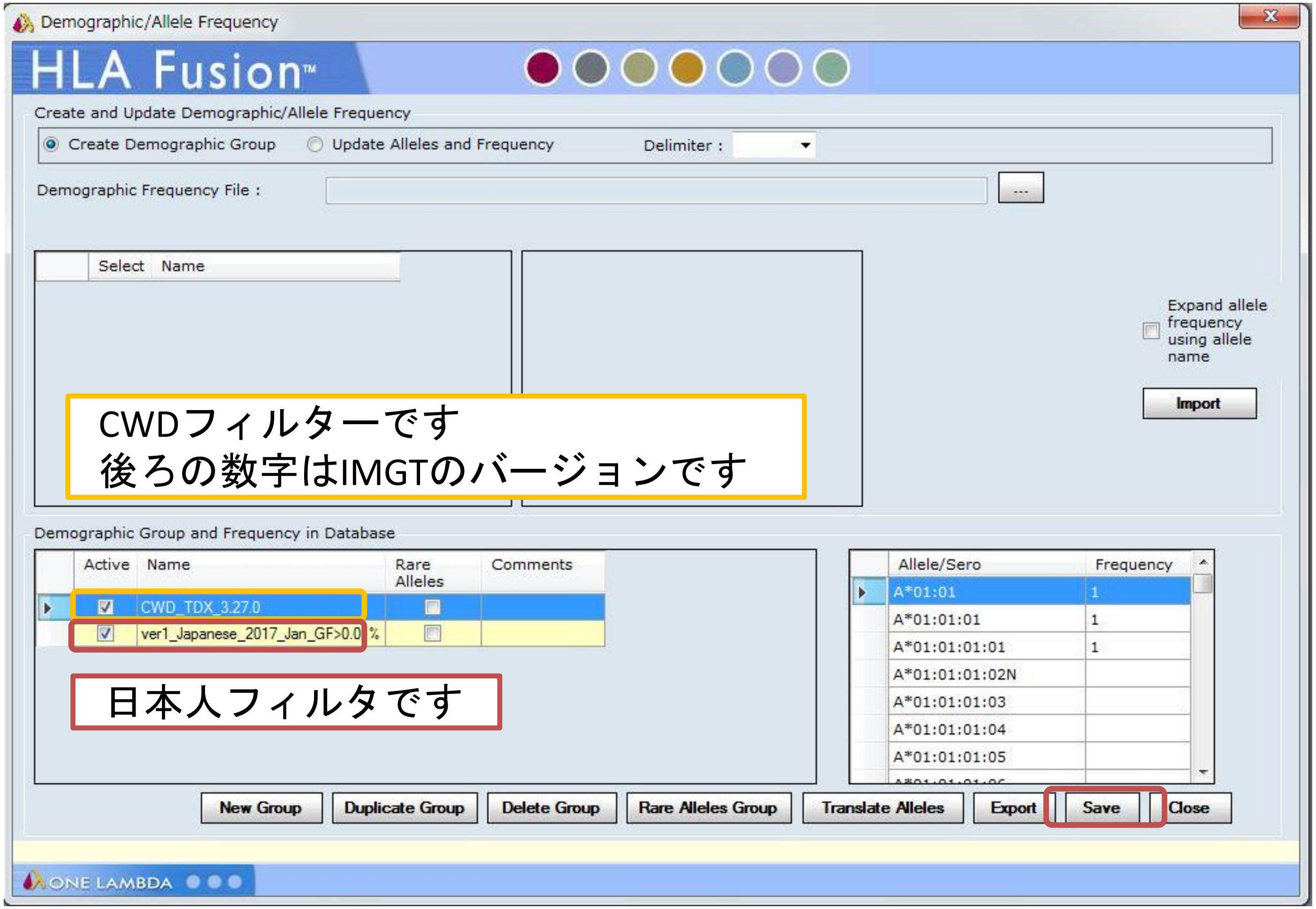
②Create…を選択

③Importするcsvファイルを選択

④Importを選択

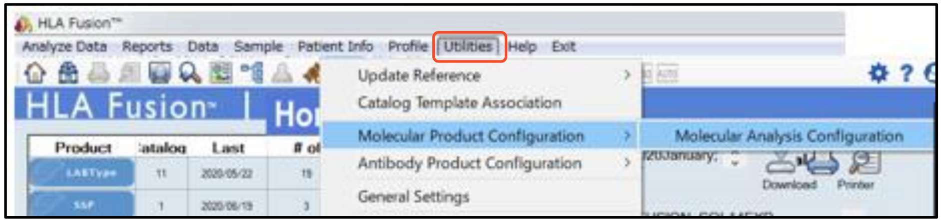


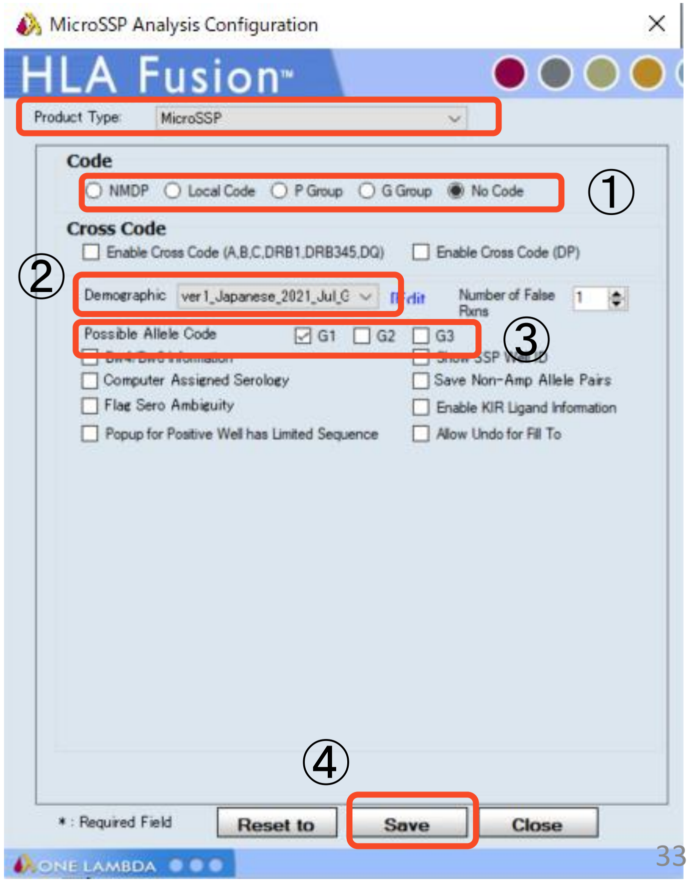
日本人フィルタのインポート②



一括設定方法

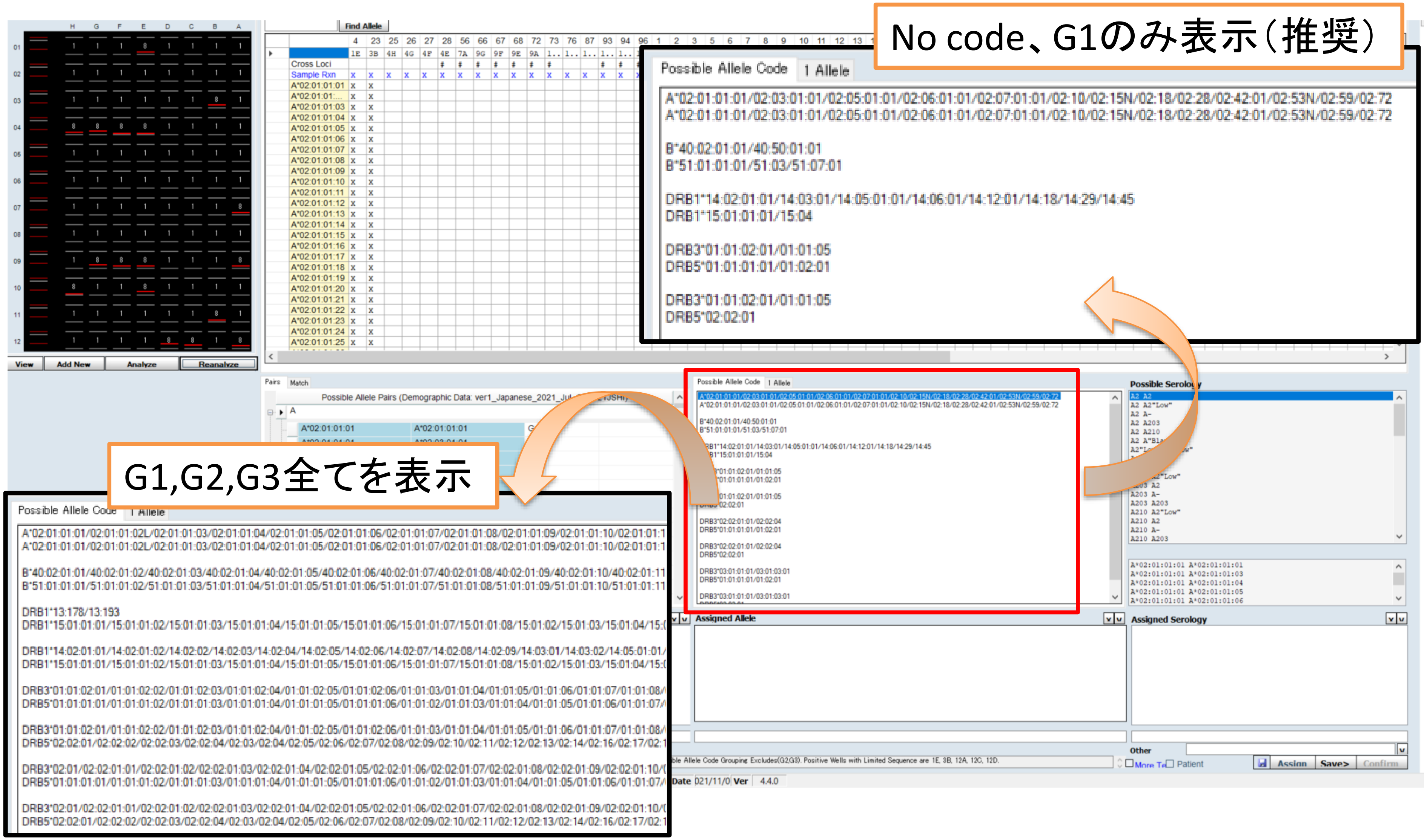
- 日本人フィルタ、結果表示の方法を設定します
- Utilities>Molecular Product Configuration>Molecular Analysis Configuration





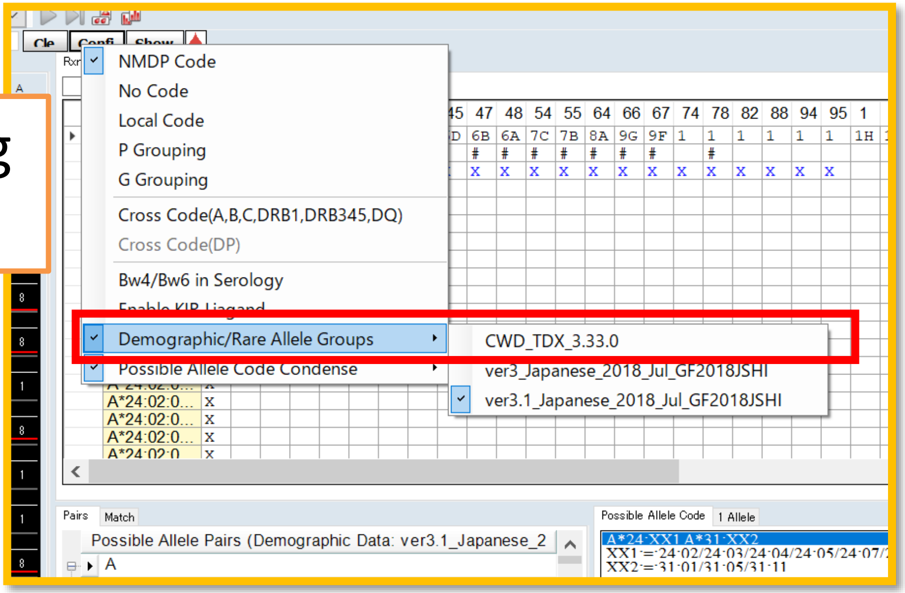
① Codeを「No Code」に設定
②日本人フィルタを設定
③結果表示するグループを設定
G1のみのチェックを推奨
④Save

設定による表示内容の違い



日本人フィルタ⇔CWDフィルタ

解析結果画面のConfig
より変更ができます



- CWD (Common Well-Documented)
  - Common: 世界的に頻度の高いアレル
    - 青色で表示
  - Well-Documented: 多く報告されているアレル
    - ピンク色で表示

HLA Fusionでの解析方法

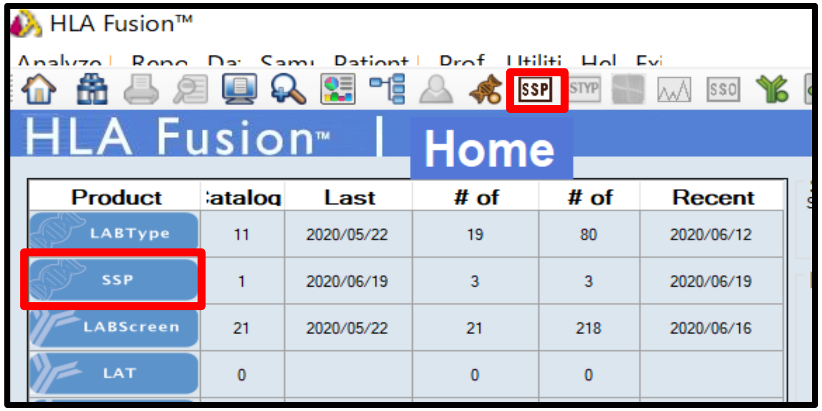
1. 血清型ファイル、日本人フィルタ、カタログファイルのインポート
2. 解析の設定

解析

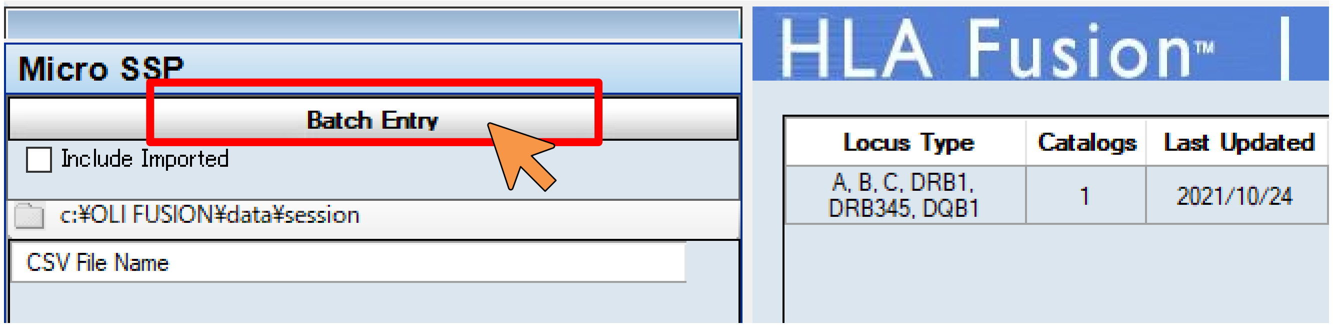
3. 検査情報の入力
4. 電気泳動結果の入力
5. 解析結果の確認

検査情報の入力

- TOP画面からSSPのアイコン（どちらでも可）をクリック



- 画面左上の「Batch Entry」のボタンをクリック
- セッション情報入力画面が出ます

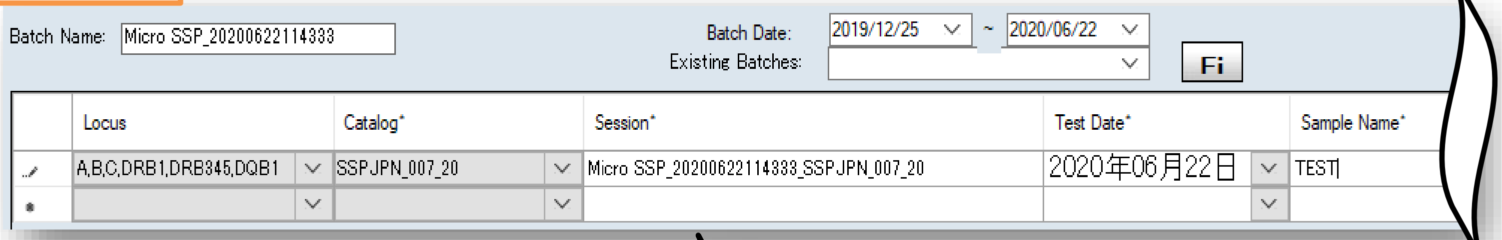


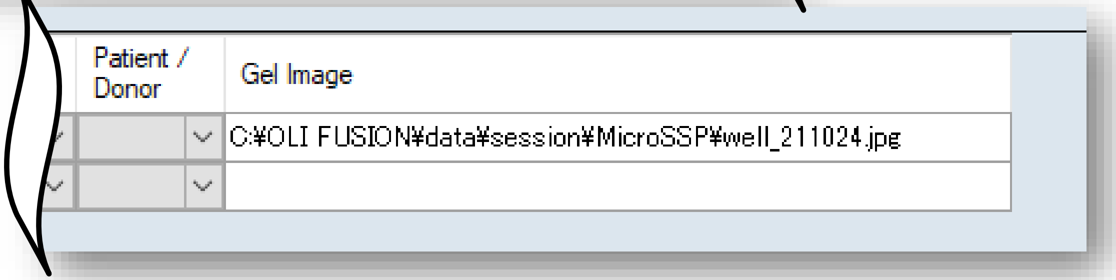
検査情報の入力

検査を行った条件を確認し入力

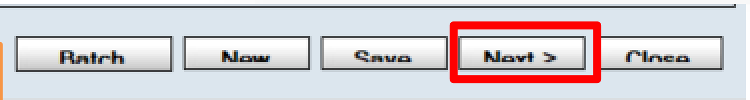
- キットのローカス
- カタログファイル
- Session名
- サンプル名
- （ゲルの写真）
- （Batch名）

入力例



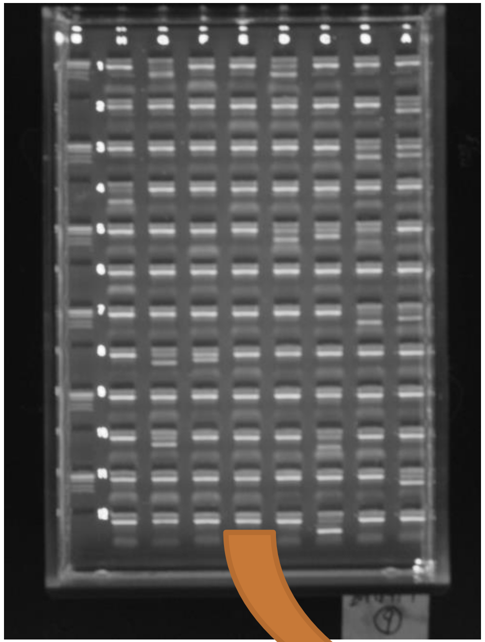


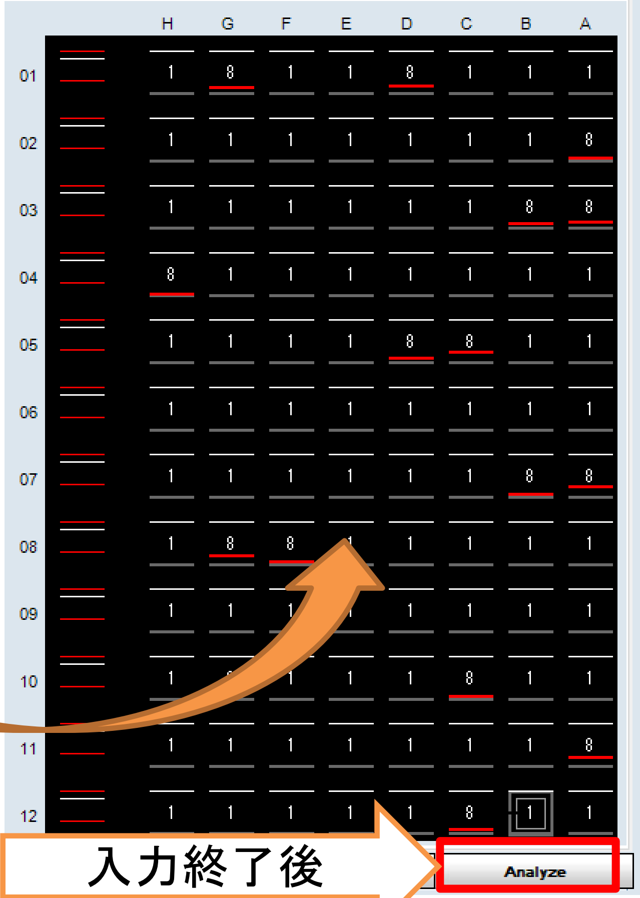
最後にNextをクリック



電気泳動結果の入力

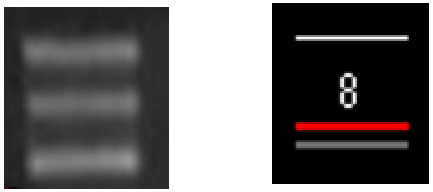
- 判定結果をクリックで入力（1⇒8⇒0⇒1）



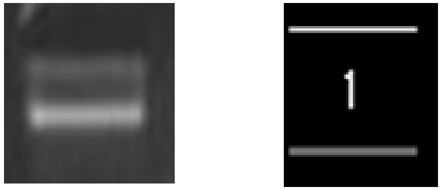


入力終了後

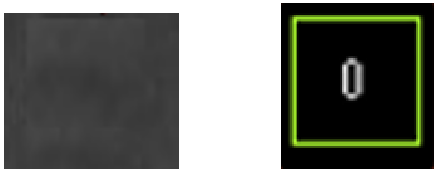
アレル特異的バンド（陽性）



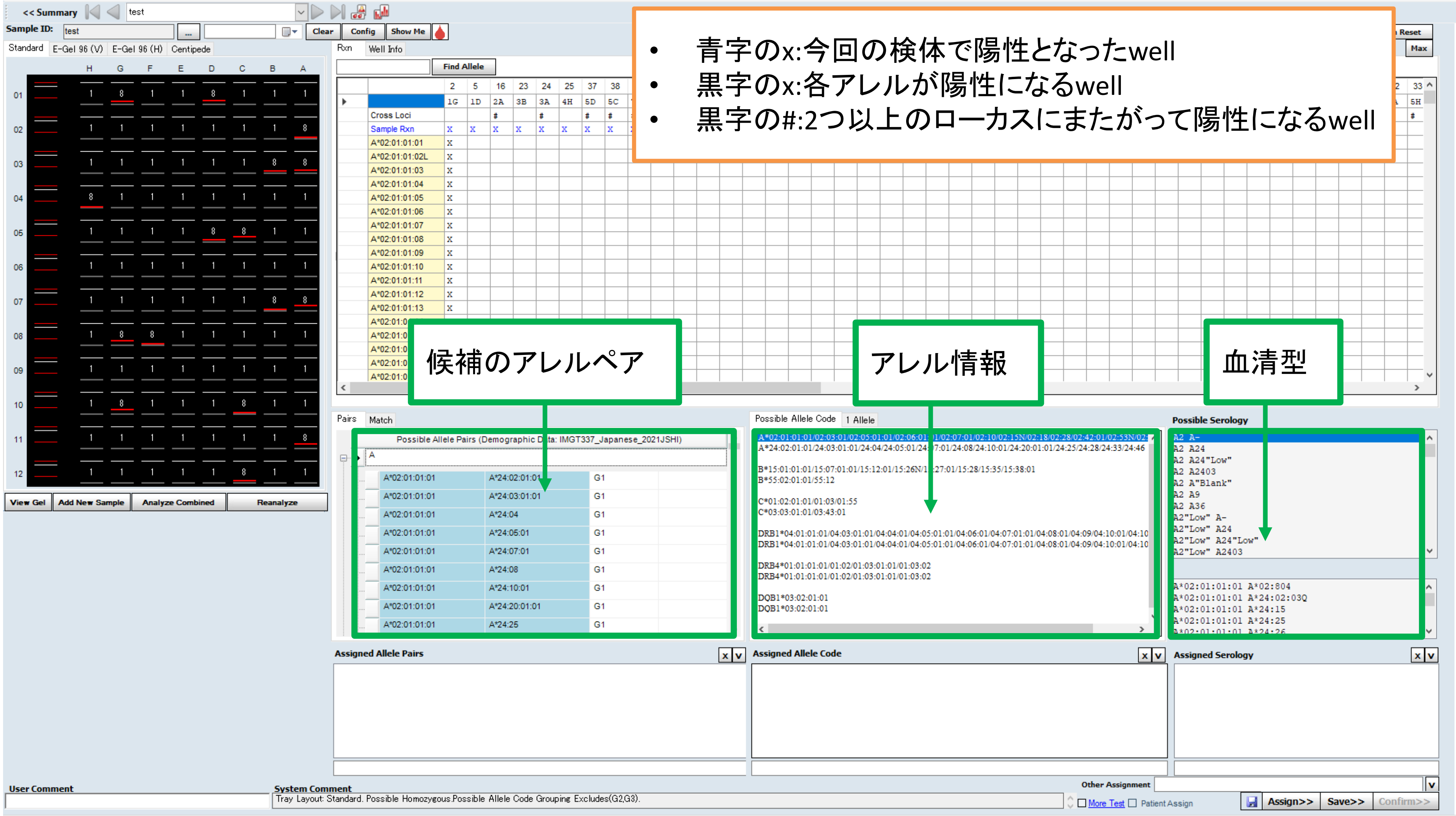
コントロールバンドのみ（陰性）



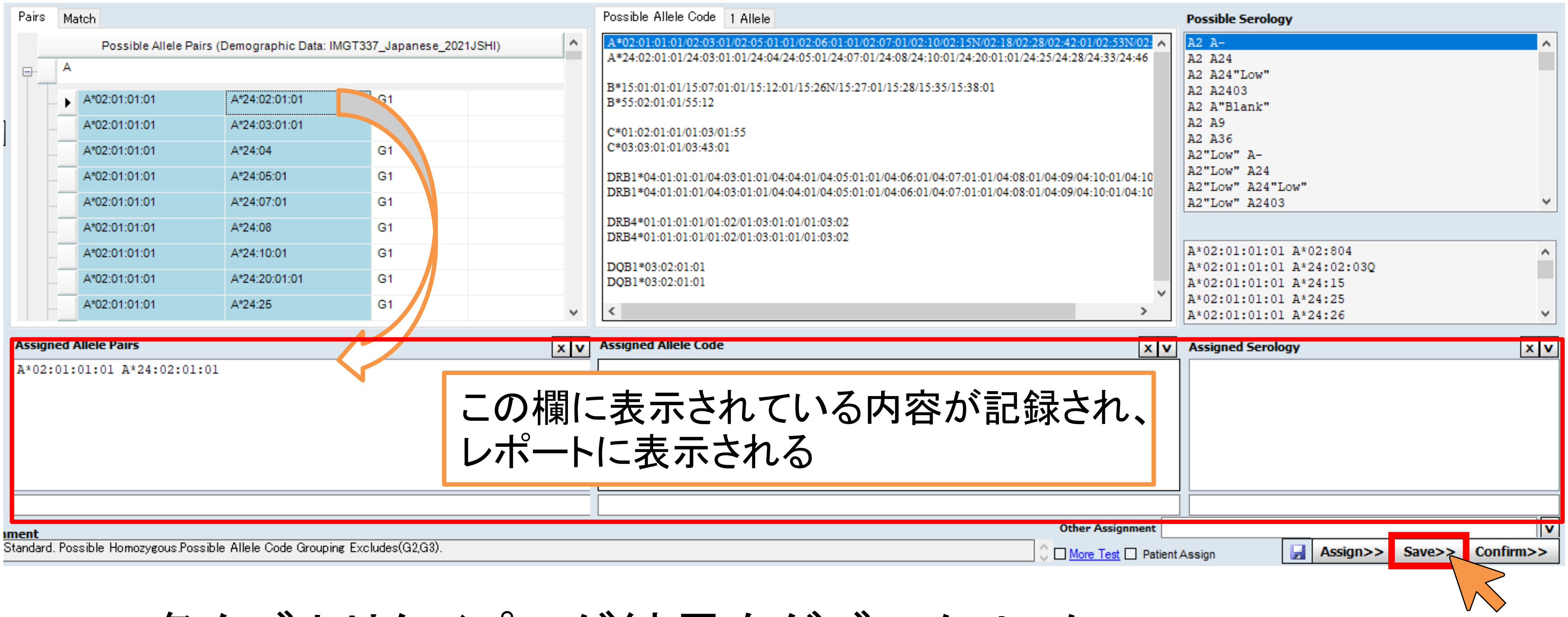
バンドなし（無反応）



解析結果画面


青字のx:今回の検体で陽性となったwell
黒字のx:各アレルが陽性になるwell
黒字の#:2つ以上のローカスにまたがって陽性になるwell
候補のアレルペア
アレル情報
血清型
Possible Allele Pairs
Possible Allele Code
Possible Serology
Assigned Allele Pairs
Assigned Allele Code
Assigned Serology
User Comment
System Comment

解析結果の記録



- 各タブよりタイピング結果をダブルクリック
  - Pairsタブ
  - （必要に応じて）Allele Codeタブ、Possible Serologyタブ
- Assignedの欄に表示される
- 解析終了後は必ずSave

Possible Serologyの表示について

- Cw12,Cw14などは日本独自で命名された抗原名のため表示されない
- 抗原名がないアレルは“blank”として表示

A	B		C	D	DR	DQ	DP
A1	B5	B49(21)	Cw1	Dw1	DR1	DQ1	DPw1
A2	B7	B50(21)	Cw2	Dw2	*DR103*	DQ2	DPw2
A203	*B703*	B51(5)	Cw3	Dw3	DR2	DQ3	DPw3
A210	B8	*B5102*	Cw4	Dw4	DR3	DQ4	DPw4
A3	B12	*B5103*	Cw5	Dw5	DR4	DQ5(1)	DPw5
A9	B13	B52(5)	Cw6	Dw6	DR5	DQ6(1)	DPw6
A10	B14	B53	Cw7	Dw7	DR6	DQ7(3)	
A11	B15	B54(22)	Cw8	Dw8	DR7	DQ8(3)	
A19	B16	B55(22)	Cw9(w3)	Dw9	DR8	DQ9(3)	
A23(9)	B17	B56(22)	Cw10(w3)	Dw10	DR9		
A24(9)	B18	B57(17)		Dw11(w7)	DR10		
A2403	B21	B58(17)		Dw12	DR11(5)		
A25(10)	B22	B59		Dw13	DR12(5)		
A26(10)	B27	B60(40)		Dw14	DR13(6)		
A28	*B2708*	B61(40)		Dw15	DR14(6)		
A29(19)	B35	B62(15)		Dw16	*DR1403*		
A30(19)	B37	B63(15)		Dw17(w7)	*DR1404*		
A31(19)	B38(16)	B64(14)		Dw18(w6)	DR15(2)		
A32(19)	B39(16)	B65(14)		Dw19(w6)	DR16(2)		
A33(19)	*B3901*	B67		Dw20	DR17(3)		
A34(10)	*B3902*	B70		Dw21	DR18(3)		
A36	B40	B71(70)		Dw22			
A43	*B4005*	B72(70)		Dw23	DR51		
A66(10)	B41	B73		Dw24	DR52		
A68(28)	B42	B75(15)		Dw25	DR53		
A69(28)	B44(12)	B76(15)		Dw26			
A74(19)	B45(12)	B77(15)					
A80	B46	B78					
	B47	B81					
	B48	B82					
		Bw4					
		Bw6					

JSHIの表記法ルールに沿って報告を
http://jshi.umin.ac.jp/standarization/file/JSHI-hyoki-2017_1.1.pdf

HLA タイピング結果のアレル表記法と結果報告の原則
(2017 年版)

日本組織適合性学会 HLA 標準化委員会
(2019 年 4 月 1 日改訂 1.1 版)

判定における注意事項

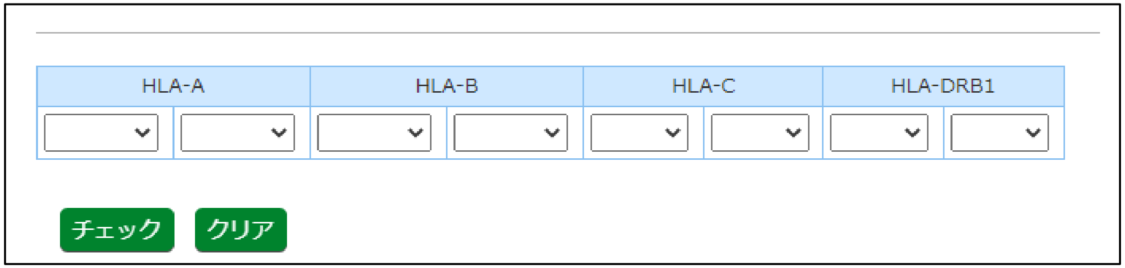
- ホモアレルの場合
  - ハプロタイプ、連鎖を確認
  - 陽性ウェルの見逃しがないことの確認を
  - 必要に応じて別法での確認検査を
- 検体特有の変異で偽陰性・偽陽性になる場合もあります
  - 別法での確認検査を

ハプロタイプの確認(日本人の場合)

VERITAS

- HLA研究所様のホームページ

https://hla.or.jp/med/haplo_tools/



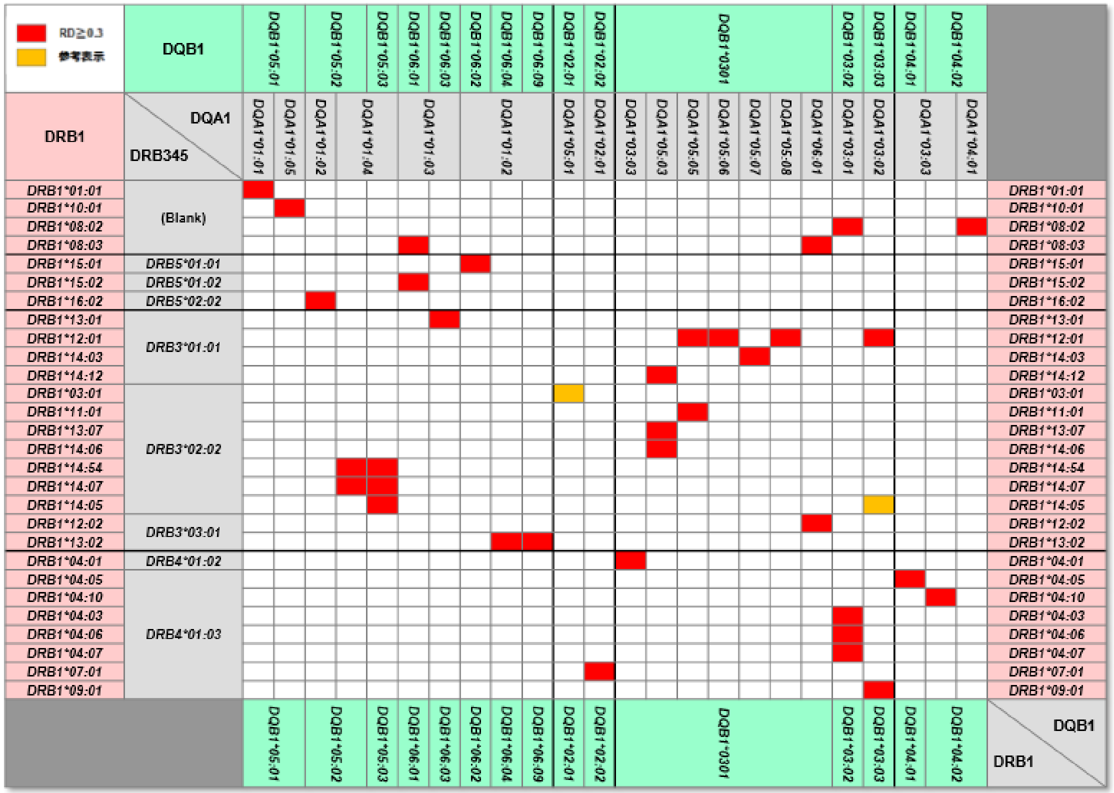
- 造血幹細胞移植情報サービス

https://www.bs.jrc.or.jp/bmdc/donorregistrant/m2_03_00_statistics.html

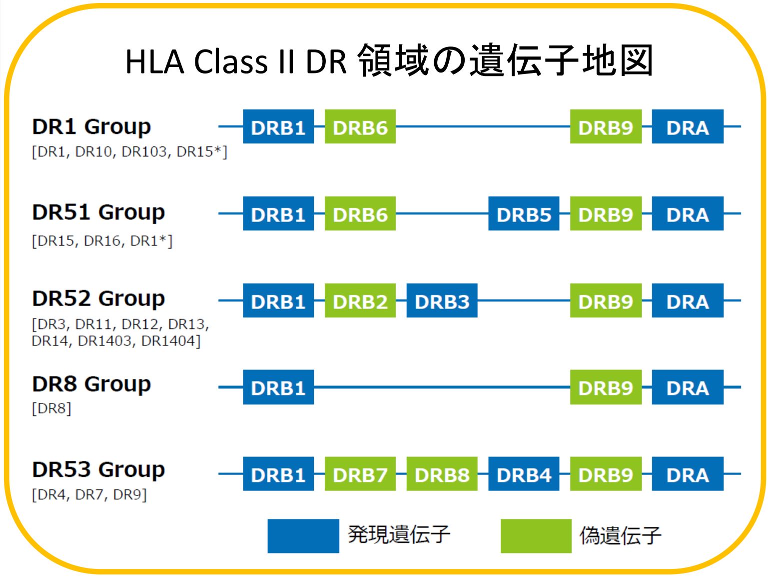
ドナー登録者のハプロタイプ頻度（A-B-C-DRB1）

- 地域別一覧（全国上位100タイプ） [Excel：79KB]

DR-DQの連鎖の確認(日本人の場合)

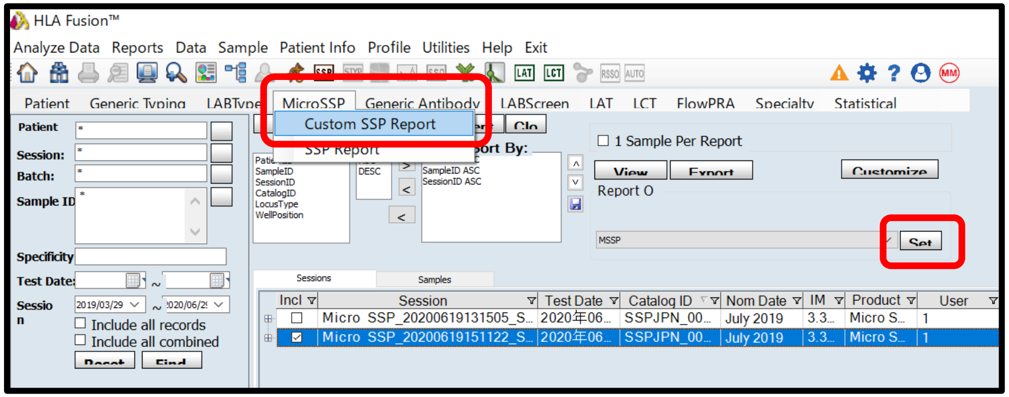


（HLA検査に必要なHLAの基礎知識 中島様講演会資料）



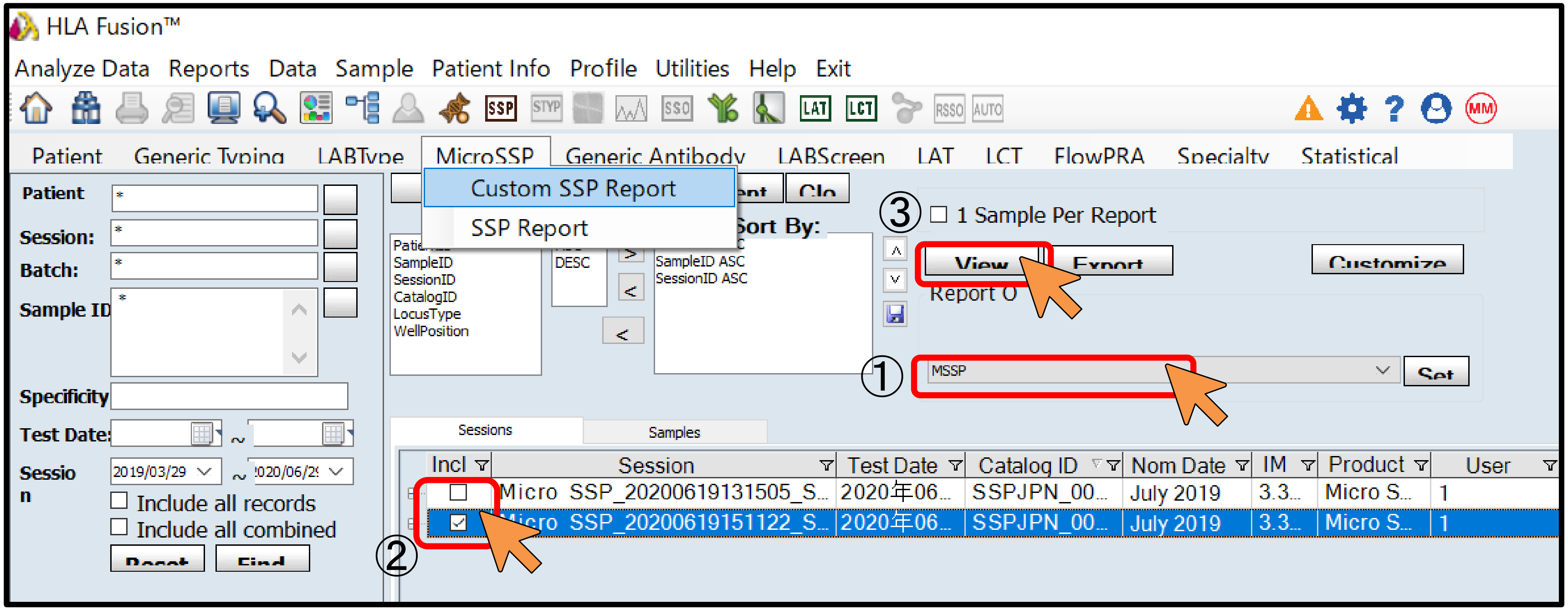
レポートの作成①

- Reports>MicroSSP>Custom SSP Report
- 初回のみSetよりレポートの出力内容を設定

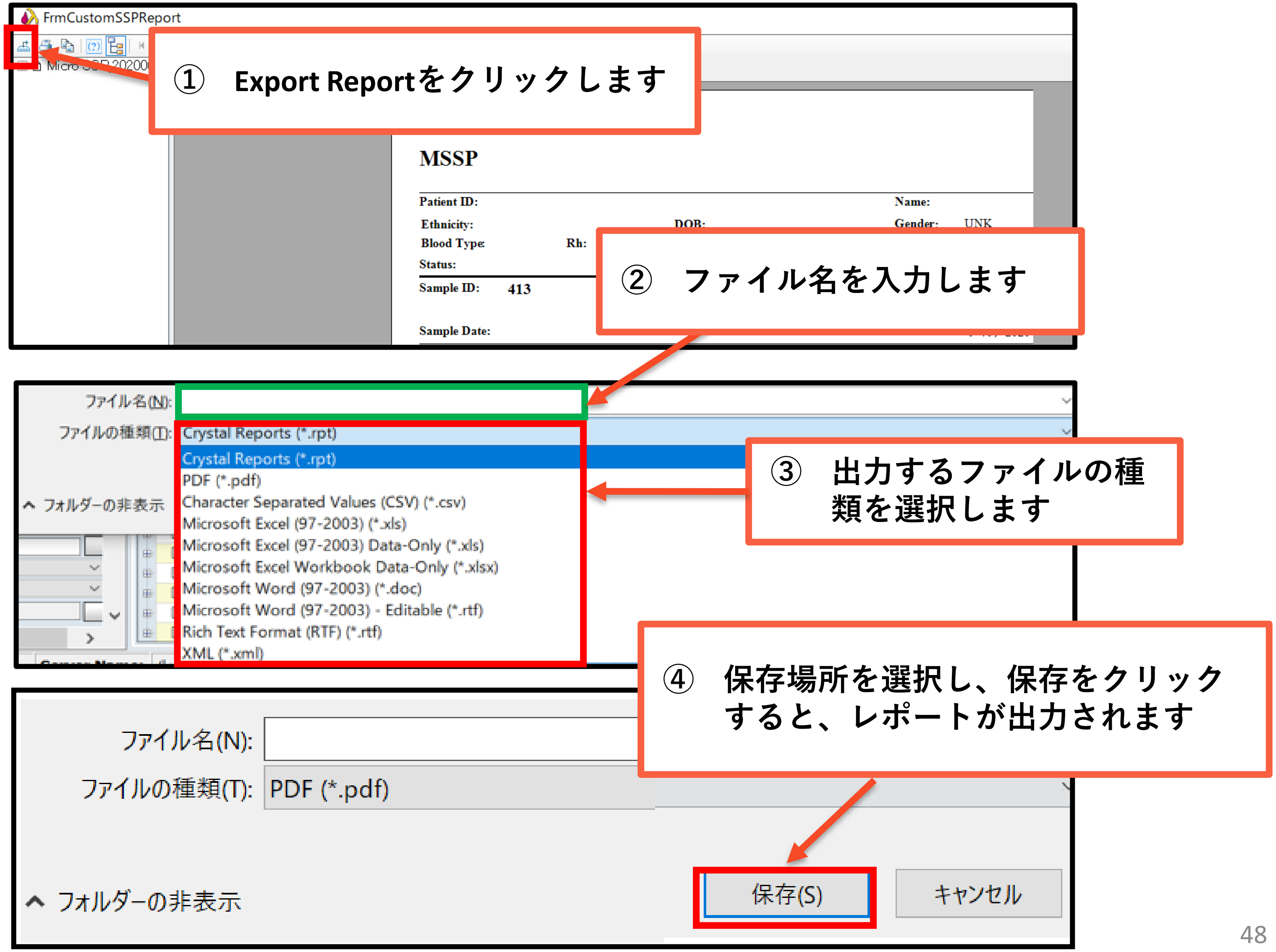


レポートの作成②

- Reports>MicroSSP>Custom SSP Reports
- レポート作成する結果に✓、View Report



レポートの出力


FrmCustomSSPReport
① Export Reportをクリックします
MSSP
Patient ID:
Name:
Ethnicity:
DOB:
Gender:
UNK
Blood Type:
Rh:
Status:
Sample ID:
413
Sample Date:
② ファイル名を入力します
ファイル名(N):
ファイルの種類(T):
Crystal Reports (*.rpt)
Crystal Reports (*.rpt)
PDF (*.pdf)
Character Separated Values (CSV) (*.csv)
Microsoft Excel (97-2003) (*.xls)
Microsoft Excel (97-2003) Data-Only (*.xls)
Microsoft Excel Workbook Data-Only (*.xlsx)
Microsoft Word (97-2003) (*.doc)
Microsoft Word (97-2003) - Editable (*.rtf)
Rich Text Format (RTF) (*.rtf)
XML (*.xml)
フォルダーの非表示
③ 出力するファイルの種類を選択します
ファイル名(N):
ファイルの種類(T):
PDF (*.pdf)
④ 保存場所を選択し、保存をクリックすると、レポートが出力されます
フォルダーの非表示
保存(S)
キャンセル

レポート見本

MSSP

Patient ID: Name:

Sample ID: VERITAS Local ID:

Sample Date: Test Date: 11 8, 2021

Possible Allele Code:
A*24:02:01:01/24:03:01:01/24:04/24:05:01/24:07:01/24:08/24:10:01/24:20:01:01/24:25/24:28/24:33/24:46
A*24:02:01:01/24:03:01:01/24:04/24:05:01/24:07:01/24:08/24:10:01/24:20:01:01/24:25/24:28/24:33/24:46
B*51:01:01:01/51:03/51:06:01/51:07:01
B*54:01:01
C*01:02:01:01/01:03
C*15:02:01:01/15:05:01:01
DRB1*04:05:01:01/04:06:01/04:09/04:10:01/04:10:03/04:11:01
DRB1*16:01:01/16:02:01:01
DRB4*01:01:01:01/01:02/01:03:01:01/01:03:02
DRB5*01:01:01:01/01:02
DRB4*01:01:01:01/01:02/01:03:01:01/01:03:02
DRB5*02:02:01
DQB1*04:01:01:01/04:02:01:01
DQB1*05:01:01:01/05:02:01:01/05:03:01:01

Assigned Serology:
A24 A-
B51 B54
Cw1 C-
DQ4 DQ5
DR4 DR16
DR53 DR51

	H	G	F	E	D	C	B	A
1	1	1	1	1	8	1	1	1
2	1	1	1	1	1	1	8	8
3	1	1	1	1	1	1	1	1
4	1	8	8	1	1	8	1	1
5	1	1	1	8	8	8	1	1
6	1	1	1	1	1	1	1	1
7	1	1	1	1	1	8	1	8
8	1	1	1	8	1	1	1	1
9	1	1	1	1	8	1	1	8
10	1	8	1	1	1	1	1	1
11	1	1	1	1	1	8	1	8
12	1	8	1	1	1	1	1	8

Sample ID: VERITAS Local ID:

HLAFusionの活用方法

HLA Fusionの活用

- 目視判定・ワークシートのダブルチェック
- 偽陽性・偽陰性の確認
  - FP/FNウェルの表示
  - バンドサイズ・プライマー情報（増幅アレル）の確認
- 頻度を考慮したタイピング結果の出力
  - 日本人フィルタ
  - CWDフィルタ

FP/FNウェルの表示

VERITAS

Possible Allele Pairs (Demographic Data: IMGT337_Japanese_2021JSHI)

A

B

B*15:01:25	B*55:102	FN# 4C
B*15:01:27	B*55:102	FN# 4C
B*15:01:49	B*55:102	FN# 4C
B*15:277	B*55:102	FN# 4C
B*15:430	B*55:102	FN# 4C
B*15:521	B*55:102	FN# 4C
B*15:01:25	B*55:01:15	FP# 5B
B*15:01:25	B*55:01:19	FP# 5B

偽陽性（FP）
偽陰性（FN）ウェルの表示

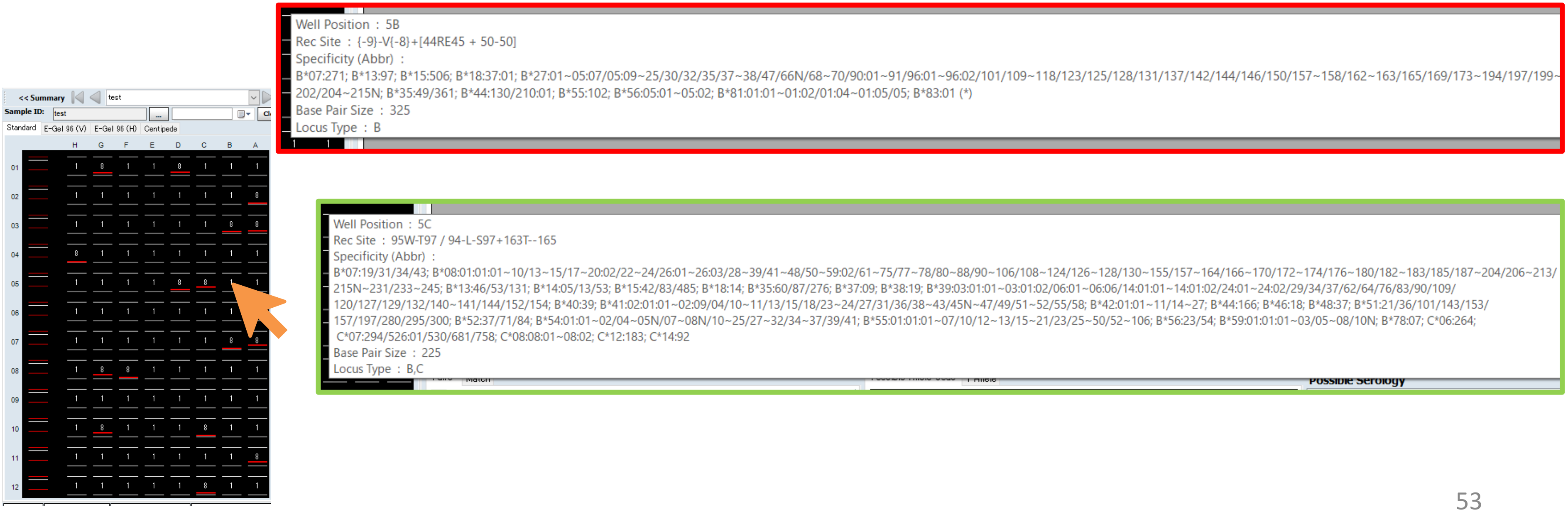
緑
偽陰性と判定

赤
偽陽性と判定

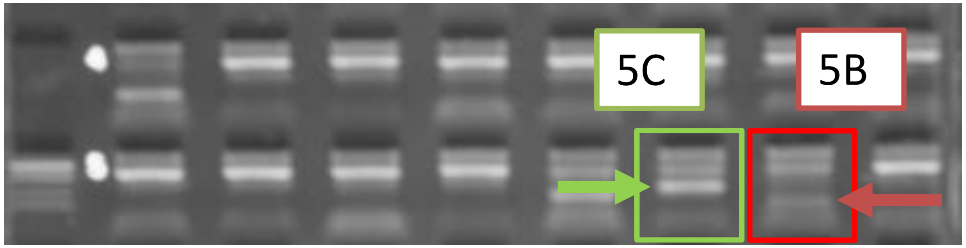
	23	24	25	16		37	38	39		2	5	56	58	59	74	78	88	94	1	3
	3B	3A	4H	2A	4C	5D	5C	5B	7B	1G	1D	7A	8G	8F	10G	10C	11A	12C	1H	1F
Cross Loci		#		#	#	#	#		#							#				
Sample Rxn	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
B*15:01:25	X	X	X																	
B*55:102				X	X	X	X	X	X											
A*02:01:01:01										X										

バンドサイズ・プライマー情報の確認

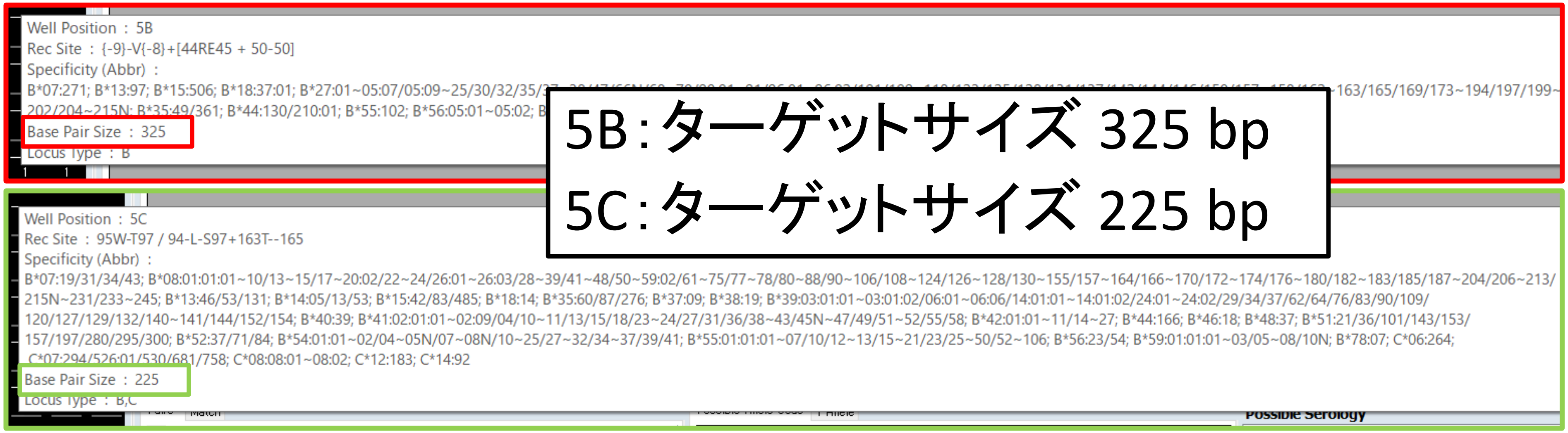
- ウェルごとにターゲットの抗原(アレル)、増幅する産物のサイズは決まっています
- ゲル画像の各ウェルにカーソルを合わせると情報が確認できます



利用例①



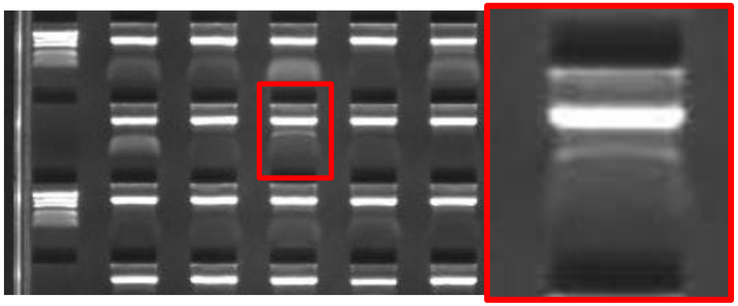
5Bは陽性？

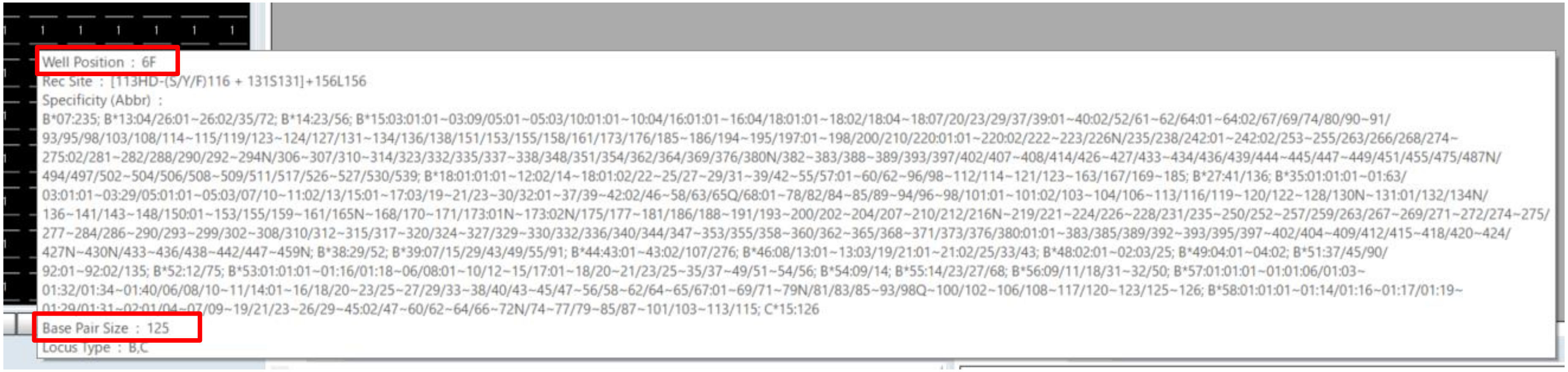


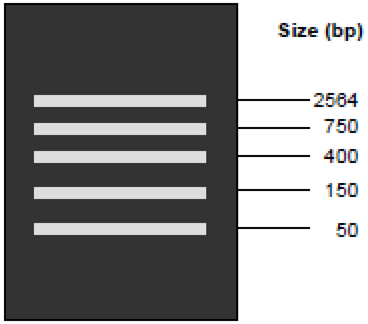
5B：ターゲットサイズ 325 bp
5C：ターゲットサイズ 225 bp

5Bのバンドサイズは5Cより大きい＝陽性バンドは上部に出現
泳動図は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



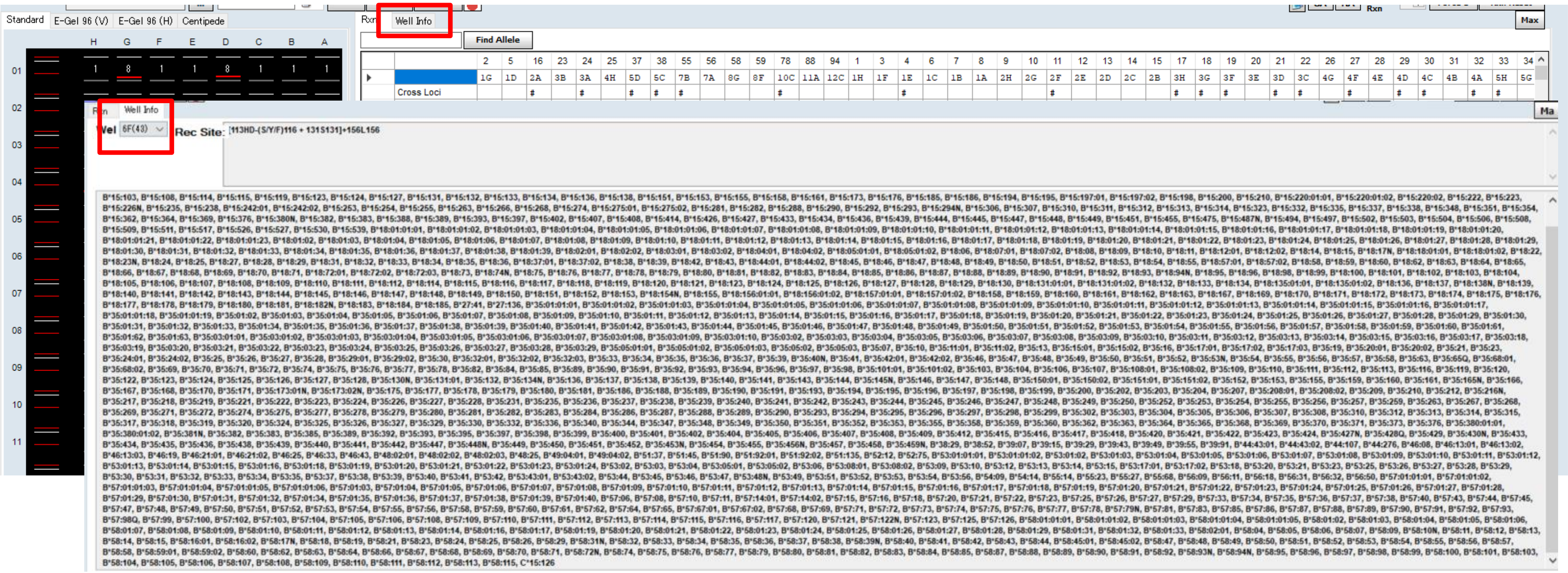




6F : ターゲットサイズ 125 bp

バンドの位置は違和感がない

利用例②



- Well Infoタブでプライマー情報を確認
  - 6FのウェルはB7,B15,B18,B35,B39,B44,B51,B52,B53など多くの抗原に対するプライマーが含まれる
  - ターゲットバンドが薄い場合は、偽陽性の可能性がある
  - 本検体はB52のホモアレル
    - 6FがターゲットとするB52アレルではなかったが、非特異的に増幅した可能性

最後に

- 手技のポイント

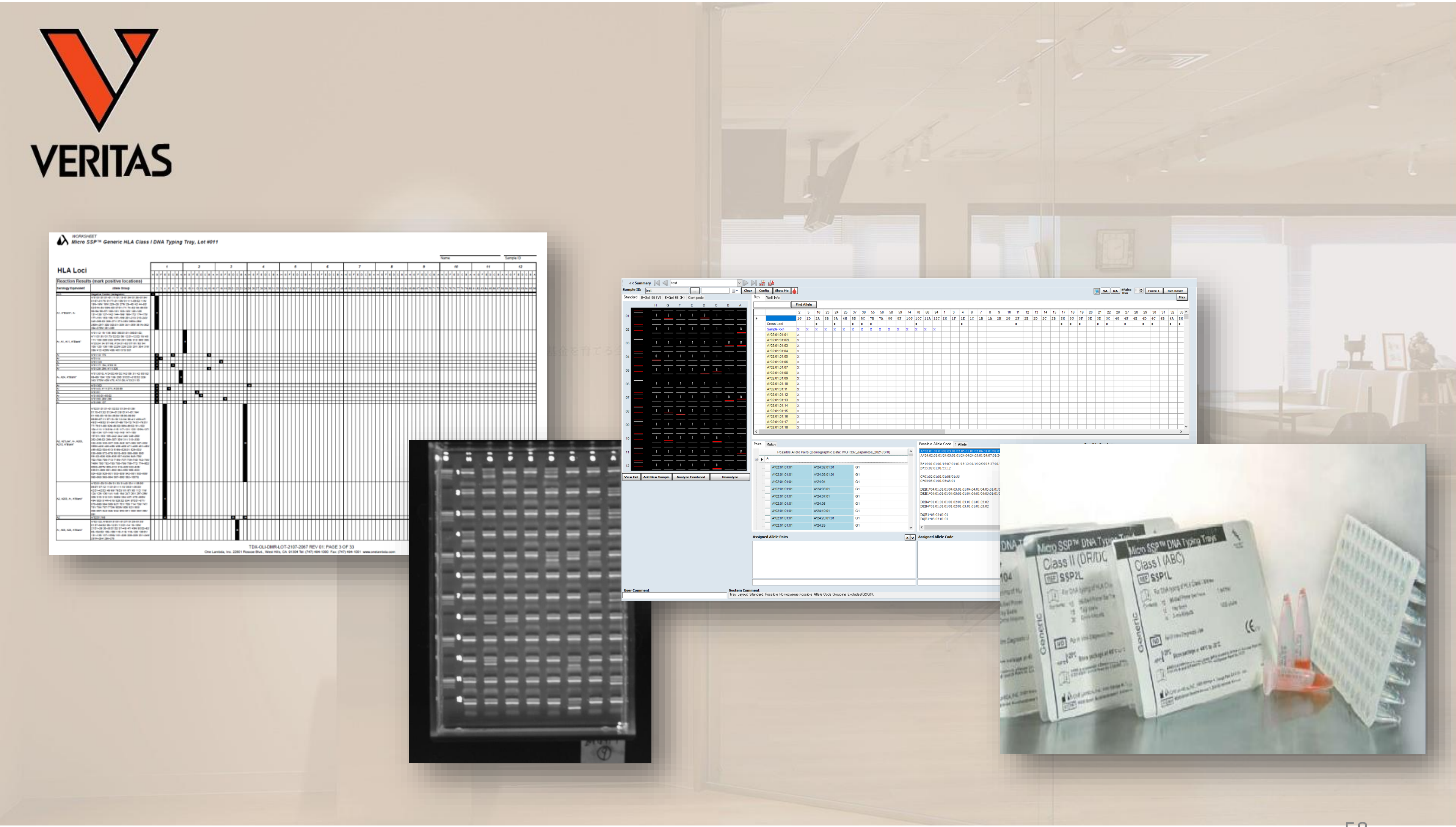
DNAの品質と濃度

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
  - ホモアレルの場合は要確認
    - ハプロタイプと連鎖の確認を忘れずに
  - HLAFusionでの確認・解析が便利です

ご清聴ありがとうございました