

KIR-SSO Fusion Research 解析

解析

1. HLA Fusion Research ver 6.1 を開く
2. 画面左下の方法欄（あるいは上欄）から SSO を選択
3. 画面左上のファイル選択で測定済みルミネックスの3種類の output.csv ファイル(結果のデータ)を選択し、チェックを入れる
4. Catalog ID プルダウンより RSSOKIR の該当ロットのカタログを選択する。
5. Session ID を入力（デフォルトは3つ目の csv ファイル名になる）
6. Import をクリック
7. 右上の Navigator 欄にとりこまれる Import 済み Session が標示される
8. 目的の Session アイコンをクリックし、解析結果が表示される
9. Summary タブが標示される。
10. Beads Analysis タブをクリックする。各ビーズの cut off 値を確認する。まずビーズを>を押しながら Quality Control を見ながら詳細に確認していく。クリアカットに判定できるビーズはそのままのカットオフ値にする。左側の QC はほとんどネガティブであるが、今回の反応では全体的に棒グラフがなだらかだつたら、偽陽性である可能性が高い。Global Cut off Adjustment は表示されているビーズのすべてのサンプルのカットオフ値を変えることができる。ただし、これはまだ Genotype を決定していないサンプル (untouched) にしか通用しない。以上の操作を最後のビーズまで続ける。必要があれば Remark にコメントを加える。
11. 次に Summary タブに戻り、一番目のサンプルをクリックして Genotype を判定する（ソフトが自動的に判定する）。右下カラムの KIR Results の Summary 欄の KIR で陽性が黄色、陰性が白で標示される。KIR 遺伝子型が mismatch (橙色) の場合には、ビーズの反応性に矛盾があるので、そのサンプルのビーズを見て判断する。1locus に複数存在するプローブ（アリアル判定用のプローブも含む）のうち少なくとも1つでも矛盾するものがあつたら mismatch が標示される。当然 Novel アリルの可能性もある。右上カラムの Bead 番号を合わせて Mismatch で矛盾したビーズのパターンをみる。Cutoff 値を変更して mismatch を解消する。Lot4 の場合、Mismatch の原因になる微妙なものとしては No.20(2DL2), No.25(2DS4), No.27(2DS5), No.38(2DL5), No.55(2DL1)などがある。OK になれば右下の Save をクリックする（2回目の保存は Confirm をクリック）。次のサンプルに自動で移る。あるいは右上のバーの>で次のサンプルになる。
12. 解析が終わったら Summary に戻り Export する。Excell ファイルとなる
13. このファイルを用いてでフレームワーク(KIR3DL3,3DP1,2DL4, 3DL2)が陰性になっていないか、2DL2,2DS2が不一致かどうか、2DL1-2DL3-2DP1および2DS4-3DL1および2DS1-3DS1の組み合わせに不一致がないかを確認する。

1 4. KIR ハプロタイプの判定

A,B ハプロタイプ A(AA), Bx(AB,BB)の判定

活性化型 KIR(S)として KIR2DS4 のみをもつ A(AA), 日本人約半数

KIR2DS4 とともに他の活性化 KIR ももつ Bx(AB)

KIR2DS4-である (BB) 日本人はまれ

セントロメア側(Cen)

KIR2DL3+, KIR2DL2-, KIR2DS2- Cen A/A

KIR2DL3+, KIR2DL2+, KIR2DS2+ Cen A/B

KIR2DL3-, KIR2DL2+, KIR2DS2+ Cen B/B(ごくまれ)

テロメア側(Tel)

KIR3DL1+, KIR2DS4+, KIR2DS1-, KIR3DS1- Tel A/A

KIR3DL1+, KIR2DS4+, KIR2DS1+, KIR3DS1+ Tel A/B

KIR3DL1-, KIR2DS4-, KIR2DS1+, KIR3DS1+ Tel B/B

コメント

- ・ポジコンが強すぎると相対的に他の遺伝子のシグナルが小さくなる場合がある。
- ・ポジコンが弱いと全体的に弱くなる傾向がある。
- ・ポジコンが弱いと偽陽性を招く可能性があるから、プローブ反応に不一致があったら要注意であり、ポジコンのシグナルが弱すぎたら判定せずに再検の対象にする。
- ・ビーズが一つしかない 2DS2、3DS1、3DL1 などのローカスは特に注意してみる。
- ・3DL3、3DP1、2DL4、3DL2 はほとんどすべてで positive である (例外もわずかだがあるので注意)。
- ・2DL2 と 2DS2 は隣同志でハプロタイプが組んでいる場合が多く (例外あり)、プロファイルは一致する場合が多い。
- ・2DP1 と 2DL1 は隣同志でハプロタイプが組んでいる場合が多く、プロファイルは一致する場合が多い。その場合 KIR2DL3 も同じプロファイルを示す場合が多い。

Haplotype	Cen motif	Centromeric part									RS	Telomeric part							Tel motif	
		3DL3	2DS2	2DL2	2DL3	2DL5B	2DS3/5	2DP1	2DL1	3DP1		2DL4	3DL1	3DS1	2DL5A	2DS3/5	2DS1	2DS4		3DL2
A	Cen-A1																			Tel-A1
	Cen-A1																			Tel-B1
B	Cen-B1																			Tel-A1
	Cen-B2																			Tel-A1
	Cen-B1																			Tel-B1
	Cen-B2																			Tel-B1

Cooley et al Blood 2010

Genotype		KIR														n	Frequency %				
		3DL3	2DS2	2DL2	2DL3	2DP1	2DL1	3DP1	2DL4	3DL1	3DS1	2DL5	2DS3	2DS5	2DS1		2DS4	3DL2	n=132	n=41	
1	AA																		78	59.1	56.0
2																			25	18.9	19.5
3																			12	9.1	7.3
4																			6	4.5	4.8
5																			4	3.0	4.8
6	AB																		2	1.5	-
7																			1	0.8	2.4
8																			1	0.8	2.4
9																			1	0.8	-
10																			1	0.8	-
11	BB																		1	0.8	2.4

2DS2	2DL2/2DL3	%	2DL1	%	2DL4	%	3DL1/3DS1	%	2DL5	%	2DS3	%	2DS5	2DS1	2DS4	3DL2	%		
001	2DL3*001	87.1	00302	89.7	00102	44.9	10A F	01502	45.7	001	11.2	002	6.5	002	00101	50.4	F	002	46.1
	2DL2*003	3.9	002	6.5	005	17.1	10A F	3DS1*013	16.7	005	4.7	001	0.9		004	12.9	D	010	12.1
	2DL3*002	3.9	Blank	3.0	011	12.8	9A D	007	12.8	002	2.6	Blank	92.7		007	12.9	D	007	11.6
	2DL2*001	2.2	004	0.9	00602	12.8	10A F	005	12.8	Blank	81.5				003	6.0	D	008	10.8
	2DL3*007 #	2.2			00103	6.0	10A F	001	6.0						Blank	17.7		001	7.8
	nd	0.8			00801	6.0	9A D	020	6.0									00902	6.9
					00105	0.4	10A F											015	2.6
																		014	1.3
																		016	0.4
																		nd	0.4

日本人集団 KIR 頻度 (Yawata et al. JEM 2006;203:633)

Table 3. KIR genotype analysis of patient and donor of the cohort (n=374)

Haplotype	Profile	Patient														Donor		KIR number**						
		2DL1	2DL2	2DL3	2DL4	2DL5	2DS1	2DS2	2DS3	2DS4	2DS5	3DL1	3DL2	3DL3	3DS1	2DP1	3DP1	Number	Frequency	Number	Frequency	Inhibitory	Activating	Total
A	#1	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	95	0.51	92	0.49	6	1	7
B	#2	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	24	0.13	35	0.19	7	4	11
B	#3	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	13	0.07	9	0.05	7	2	9
B	#4	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	0.06	4	0.02	7	4	11
B	#5	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	8	0.04	8	0.04	6	3	9
B	#6	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	6	0.03	5	0.03	6	0	6
B	#7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6	0.03	5	0.03	8	6	14
B	#8	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	4	0.02	3	0.02	7	3	10
B	#9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	4	0.02	3	0.02	8	5	13
B	#10	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	2	0.01	2	0.01	7	5	12
	Others*																	13	0.07	21	0.11			
	Patient	0.99	0.16	1.00	1.00	0.38	0.37	0.17	0.17	0.88	0.25	0.94	1.00	1.00	0.35	1.00	1.00							
	Donor	0.99	0.14	0.98	1.00	0.41	0.39	0.16	0.14	0.87	0.32	0.93	1.00	0.99	0.37	0.99	1.00							
	Total	0.99	0.15	0.99	1.00	0.39	0.38	0.16	0.15	0.87	0.28	0.93	1.00	1.00	0.36	0.99	1.00							

* Combined profiles < 1% frequency; ** Not include pseudo-gene.

JMDP 移植患者ドナー KIR 頻度 (Yabe et al. Biol Blood and Marrow Transp.;2007:14:75)