

【TypeStream Visual 3.0】簡易操作説明書

第 1 版(2022/6/6)

目次

【TypeStream Visual 3.0】簡易操作説明書	1
目次	2
PC の推奨スペック	3
基本設定	3
解析パラメータの設定	4
NGS データのインポート&解析スタート	4
解析結果の確認	5
データのアウプット	8

改訂履歴

2022/6/6 初版

PC の推奨スペック

※ソフトウェアのインストール方法については、インストールマニュアル(英語)を参照してください。

※Activation key は入力後 2 年間有効となります。新たに発行を希望される場合は、弊社にお問い合わせ下さい。

※アップグレードのインストーラーがある場合は 3.0 のインストール後、続けて実施してください。

ソフトウェア

- ・ Microsoft Windows™ 10.0, 64-bit OS
- ・ Microsoft .NET 4.8.1 Framework
- ・ Microsoft Visual C++ 2019 Redistributable package *1
- ・ SAP Crystal Reports 13.0.17 Runtime for .Net 4.6.1 *1
- ・ Microsoft SQL 2014 Express Server *1
- ・ WinZip

*1) ソフトウェアのインストール時に併せてインストールされます

ハードウェア(下記以上を推奨)

- ・ 8-bit グラフィックアダプターおよびディスプレイ (256 色対応)
- ・ マウスもしくは Windows pointing device 対応
- ・ 解像度 1920 x 1080 の VGA ディスプレイで動作するシステム
- ・ 4 コアプロセッサ(8 スレッド)
- ・ 16GB RAM

基本設定

解析用 Database の設定(TSV DB Utility 3.0)

設定方法はインストールマニュアルを参照してください。データベース名は英数字とアンダーバーを組み合わせして下さい。

User とパスワードの設定

データベースを新規作成した場合、初回立ち上げ時に User の設定が必要です。*の記載がある欄は必須項目です。登録した情報は Profile から確認できます。

ユーザーの権限は 2 種類あります。

Lab Supervisor: 一人目は必ず Lab Supervisor になります。すべての操作権限があります。

Lab Technologist: Reference database のアップデート、セッションやデータの削除等はできません。

各種セキュリティ設定変更については別資料を参照してください。

Reference database のインポート

※データベースは 3 カ月ごとに新しいバージョンがリリースされます。目的に応じてアップデートを行ってください。なお、IMGT Library は複数インポートすることが可能ですが、その他(Serology、NMDP などの code file)は各一種のみしかインポートできません。Library のバージョンと異なる Serology ファイル等を使用すると、当該ファイルを用いたアサインでエラーが起こる可能性があります。

※インターネットアクセス可能な PC では、「Auto Update」をクリックすると最新のファイルがインポートできます。手動でインポートする場合はファイルを「C:\¥OLI TSV¥data¥catalog」フォルダに保存してください。

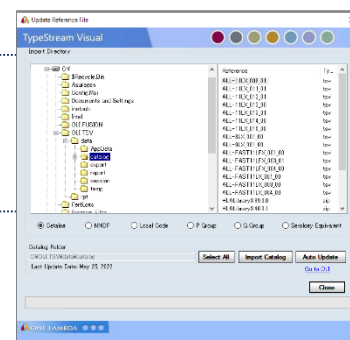
※インポートには時間がかかることがあります。PC がフリーズしているように見えますが、問題ありません。

Serology Reference file

1. Utilities → Update Reference → Update Reference file を選択
2. 「Serology Equivalent」を選択し、該当ファイルをインポート

NMDP, P and G code

1. Utilities → Update Reference → Update Reference file を選択
2. 「NMDP」「P Group」「G Group」を選択し、各ファイルをインポート



IMGT Library, Catalog

1. Utilities → Update Reference → Update Reference file を選択
2. 「Catalog」を選択し、適切なバージョンのアレルデータベースおよび試薬のロットに対応したカタログをインポート

解析パラメータの設定

Utilities → NGS Product Configuration

NGS Product Configuration

※設定後、「Save」をクリックすると、その後の解析に条件が反映されます(過去の解析データには反映されません)。

Assignment Settings

Final Assignment を実施する際の表示形式(アレルコード)を指定できます。「no code(2-8 桁)/NMDP/P Group/G Group/Local Code」が選択できます。Demographic では CWD などのファイルを指定することで、アレル頻度に基づきリストに無いアレルに「rare」表記が追加されます。解析結果画面で各サンプル・ローカス個別に変更することも可能です。各項目の詳細は別資料を参照してください。

Locus	Code	Field
A	No Code	3
B	NMDP Code	3
C	Local Code	3
DRB1	P Group	3
DRB345	G Group	3
DQB1	No Code	3
DPB1	No Code	3
DQA1	No Code	3
DPA1	No Code	3

Analysis Parameters

解析条件(使用するリード数、長さ、最大ミスマッチ数など)を設定できます。S5/Illumina 解析のデフォルトで入っている条件は TSV_DEFAULT、TSV_9Loci、TSV_WIDE_NET_PARAMETERS です。各項目の詳細は別資料を参照してください。

Configuration Name:	
Locus:	A,B,C,DRB1,DQB1,DPB1,DRB345,DQA1,DPA1
Min Read Length:	100
Max Insertion:	3
Max Deletion:	3
Max Mismatch Bases:	5
Min Base Read Depth:	20

Health Metric

解析結果の判定基準(アラート表示の基準値)を設定できます。自動コメント機能の ON/OFF も設定可能です。各項目の詳細は別資料を参照してください。

Health Level	Health Metric	Trigger Threshold	System Comment	Display Comment
2	Key Exon Coverage	< 100 %	Key exons not adequately covered.	<input checked="" type="checkbox"/>
1	Allele Balance	< 20	Alleles are not balanced.	<input checked="" type="checkbox"/>
2	Mismatch in Exon	> 0	Mismatch(es) in an exon.	<input checked="" type="checkbox"/>

Exclude Region

任意の遺伝子領域を結果に反映させずに解析することが可能です。設定方法については別資料を参照してください。

NGS データのインポート&解析スタート

インポートできるファイルについて

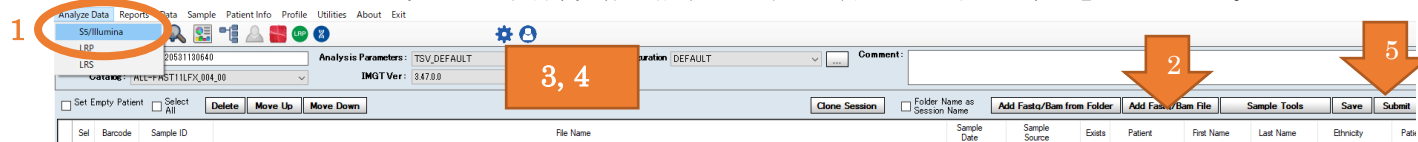
インポートできる NGS ファイルは Fastq か Bam ファイルです。以下のようなファイル名にすると、バーコード No、サンプル名が自動でインポートされます。

- IonPGM もしくは S5 の場合
IonXpress_barcode.samplename_otherinfo.bam
IonXpress_barcode.samplename_otherinfo.fastq
- Illumina MiSeq/MiniSeq/iSeq100 の場合
Samplename_S#_L###_R1_###.fastq
Samplename_S#_L###_R2_###.fastq

※NGS ファイルのパス(フォルダの場所)には全角文字を使わないでください。データを読み込みできないエラーが起こります。他各種パスにも全角文字は使わないようにしてください。

NGS データのインポート画面

1. Analyze Data → S5/Illumina
 2. Add Fastq/BamFile ボタンより、Fastq または Bam ファイルを選択
 3. Session Name を任意の名前に変更する
 4. 各種条件 (解析パラメータ、カタログファイル、IMGT データベースのバージョン) を選択する
 5. Submit をクリックして解析スタート (Home 画面に自動的に戻ります)
- ※Session Name が同じものが既にある場合、既存の結果の一部が上書きされますので、注意してください。

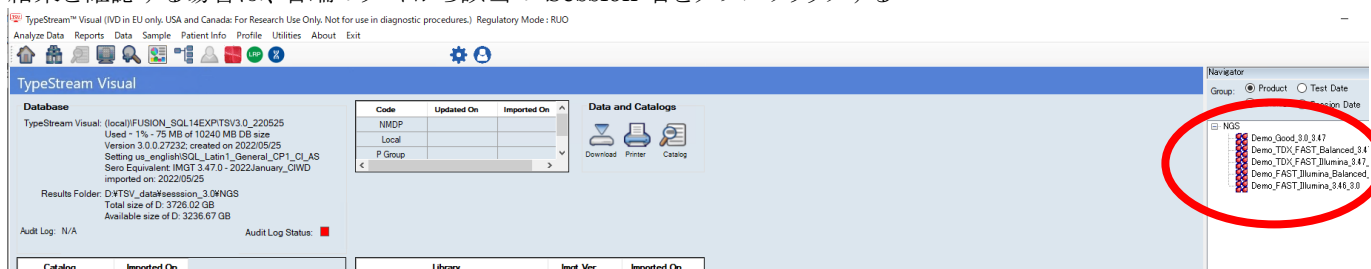


解析を中断したい場合、途中終了したい場合

Home 画面で Disable Job Manager をクリック。再開する場合は Enable Job Manager をクリック。
途中終了したい場合は Terminate をクリック。

解析結果の確認

結果を確認する場合は、右端のリストから該当の Session 名をダブルクリックする



Session Summary View

※解析途中でも表示することができます。ただし、不具合が起こる可能性もありますのでご注意ください。Analysis Status が「In Press」は解析中。「Not Submitted」は解析待ち。

Edit	Se	H	Barcode	Sample ID	Analysis Status	A	B	C	D
		1	31	26615	Confirmed	A*02:01:01 A*02:05:01	B*40:01:01 B*50:01:01	C*06:02:01 C*16:02:01	DI
		2	32	26715	Confirmed	A*02:01:01 A*02:05:01	B*50:01:01 B*51:08:01	C*06:02:01 C*16:02:01	DI
		3	33	8914	Reviewed	A*23:01:01 A*29:02:01:01	B*49:01:01 [+] B*58:01:01:01	C*07:01:01 [+] C*07:18:01:01	DI
		4	34	1214	Assigned	A*01:03:01 A*24:02:01	B*35:01:01 B*73:01:01	C*04:01:01 C*15:05:01	DI
		5	35	4214	Not Assigned	A*33:03:01:01 A*33:03:01:01	B*44:03:02:04 B*44:03:02:04	C*07:06:01:01 C*07:06:01:01	DI

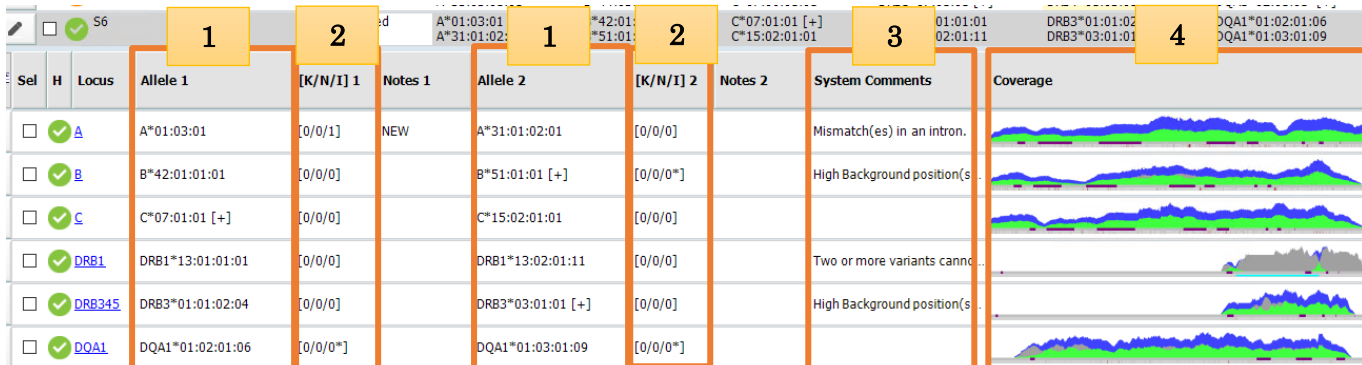
	表記	解説
1	Health Metric	解析結果の精度判定結果 (緑・オレンジ・赤の順で要注意度が上がる)
2	Analysis Status	アサイン状況 (Not assigned/Assigned/Reviewed/Confirmed) の表示。Reviewed の場合は緑背景に、Confirmed の場合は紫背景になる。
3	解析結果	各ローカスの解析結果 Assigned (アサイン中) : 黒太字、Reviewed (レビュー中) : 緑、Confirmed (アサイン完了) : 紫 Health Metric が緑以外のローカスは背景が黄色になる。 ※Analysis Status が変更されるとその段階のアサイン結果が表示される

表示項目のカスタマイズ

Edit ボタン左の  をクリックし、表示項目にチェックを入れ、変更を OK する。表示順はドラッグ&ドロップで可能。

Session Detail View

各サンプル左端の「+」をクリック



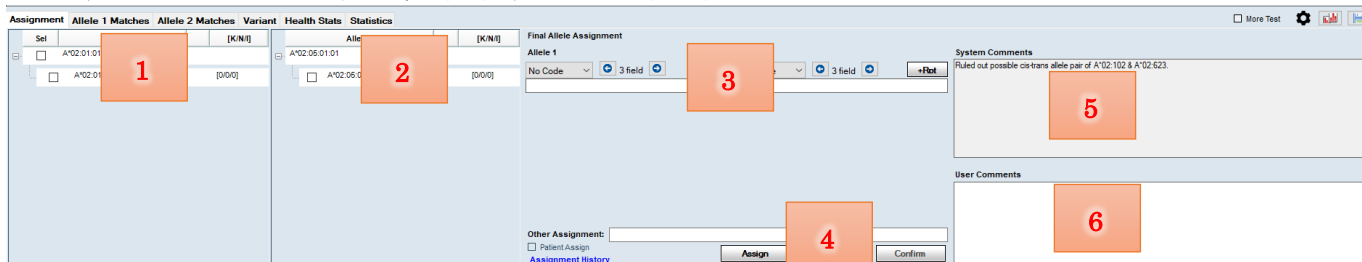
Sel	H	Locus	Allele 1	[K/N/I] 1	Notes 1	Allele 2	[K/N/I] 2	Notes 2	System Comments	Coverage
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	A	A*01:03:01	[0/0/1]	NEW	A*31:01:02:01	[0/0/0]		Mismatch(es) in an intron.	
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	B	B*42:01:01:01	[0/0/0]		B*51:01:01 [+]	[0/0/0*]		High Background position(s)	
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	C	C*07:01:01 [+]	[0/0/0]		C*15:02:01:01	[0/0/0]			
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	DRB1	DRB1*13:01:01:01	[0/0/0]		DRB1*13:02:01:11	[0/0/0]		Two or more variants cannot be assigned.	
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	DRB345	DRB3*01:01:02:04	[0/0/0]		DRB3*03:01:01 [+]	[0/0/0]		High Background position(s)	
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	DQA1	DQA1*01:02:01:06	[0/0/0*]		DQA1*01:03:01:09	[0/0/0*]			

	表記	解説
1	Allele 1 or Allele 2	アサインされたアレル。[+]は ambiguity があることを示す。※Phase ambiguity は結果部分が薄紫色の背景になる。
2	[K/N/I]	アレルのミスマッチ個数 K: Key Exon (Class I は Exon 2,3, Class II は Exon 2) のミスマッチ個数、N: Non Key Exon のミスマッチ個数、I: Intron/UTR のミスマッチ個数 *はアサインされたアレルに未登録配列 (サロゲイト配列) が含まれることを示す。
3	System Comments	解析ソフトによる自動コメント。Health Metric で表示変更可能
4	Coverage	領域ごとのリードのマッピング状況 緑: アレル 1、青: アレル 2、グレー: 共通、濃紫: Exon、水色: unphased 領域

Analysis Panel

Assignment タブ

アレル名の上でダブルクリックすると、画面下部にアレル画面が表示される



Assignment	Allele 1 Matches	Allele 2 Matches	Variant	Health Stats	Statistics
<input type="checkbox"/>	A*02:01:01:01	[0/0/0]			
<input type="checkbox"/>	A*02:01:01:01	[0/0/0]			

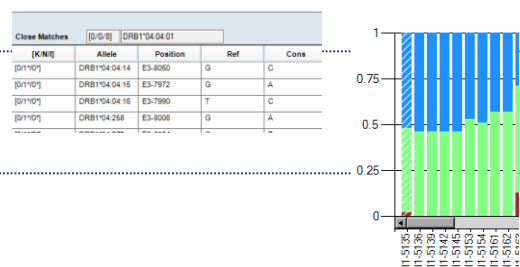
Final Allele Assignment	System Comments	User Comments
Allele 1 No Code 3 field	Ruled out possible cis-trans allele pair of A*02:102 & A*02:623.	

Other Assignment	Analysis Status
<input type="checkbox"/> Patient Assign <input type="checkbox"/> Assignment History	Assign Confirm

	表記	解説
1	Allele 1	アレル 1 の結果。チェックを入れたデータが Final Allele Assignment に反映。
2	Allele 2	アレル 2 の結果。チェックを入れたデータが Final Allele Assignment に反映。
3	Final Allele Assignment	アサインしたアレル。表示形式はプルダウンもしくは矢印で選択できる。
4	Analysis Status	アサイン状況の決定 (Assigned: 黒太字、Reviewed: 緑、Confirmed: 紫)。Undo で前の段階に戻ることも可能だが、not assigned には戻れない。
5	System Comments	Session Detail View 3 と同じ。
6	User Comments	ユーザーによる追記

Allele 1 Matches/Allele 2 Matches タブ

各アレルの close match の次に相同性の高いアレルリストを表示します。

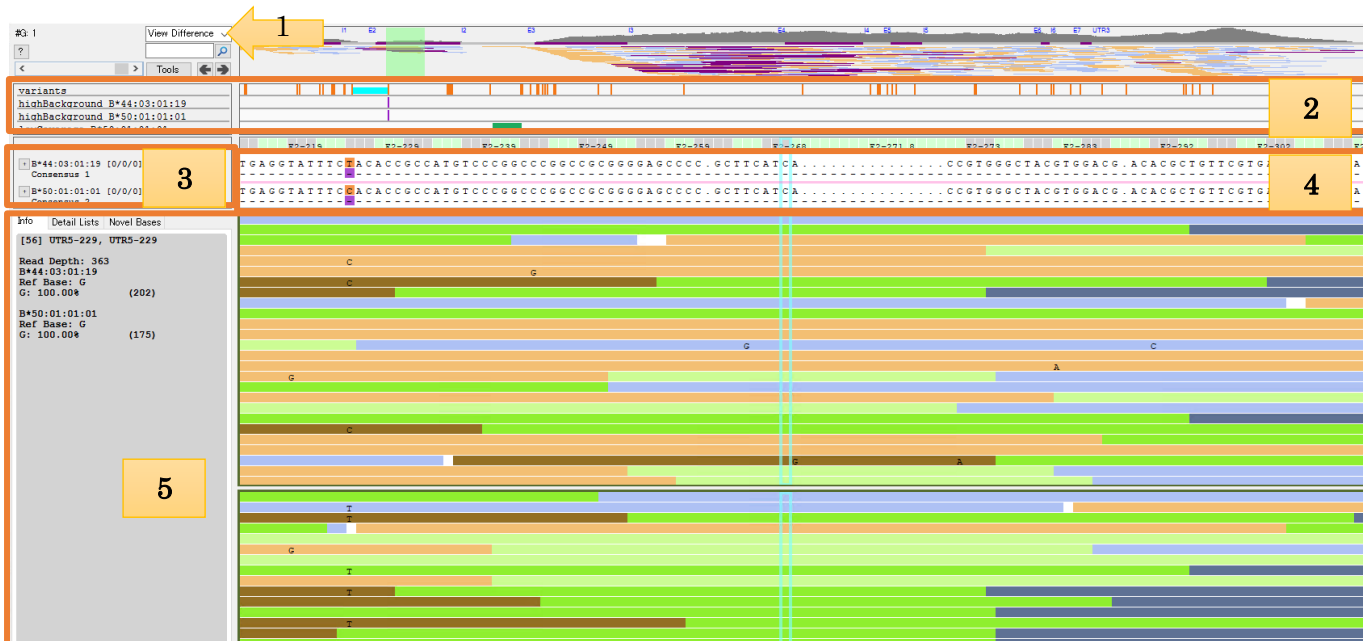


Variant タブ

アレル 1 と 2 で異なる塩基位置のリストを表示します。
棒グラフはその位置でのアレルバランスを表示します。

Reads View

Session Detail View で各ローカスのアルファベット (A など) をクリック



	解説
1	View Difference: 2 つのアレル間で異なる塩基のみ表示される View Base: すべての塩基が表示される View Raw Base:
2	アノテーション (詳細は後述)
3	Closet allele および Consensus sequence の表示。「+」から任意のアレルを打ち込んで検索すると、追加で塩基配列を表示することができる。
4	Closet allele および、サンプルから作成した Consensus sequence の塩基配列。 アレル間で異なる塩基: オレンジ色の背景、Depth が規定値以下の塩基: 緑色の背景、High background の塩基: 紫色の背景
5	4 のカーソルを合わせた塩基の詳細。その位置にマッピングされたリード数と塩基の種類が表示される。各リードにカーソルを合わせた場合はリードごとのミスマッチ数なども表示される。
6	各リードのマッピング状況。濃い色はアレル間、もしくはペアエンド (Illumina リードの場合) で共通するリード。詳細や色の変更はリードの位置で右クリック → Modify read colors で行える。

2 のアノテーションについて

名前	解説	色
Variants	ヘテロの位置	オレンジ
MismatchPos_ [Allele 1/2]	Allele1/2 のミスマッチの位置	赤
HighBackGround_ [Allele 1/2]	バックグラウンドが高い位置	紫もしくは水色
LowCoverage_ [Allele 1/2]	Coverage が低い (デフォルトだと 20 リード以下) 位置	緑

データの保存・アウトプット

セッションはすべて「C:\¥OLI TSV\data¥session¥NGS」に保存されています。セッションのデータが増えると、PC のストレージを圧迫し動作が遅くなる場合があります。

解析が終了した Session は、下記のいずれかの方法で管理することをお勧めします。

- ① セッションの Export: セッションの zip ファイルが作成されます。元のセッションファイルは保持されます。
- ② セッションの Archive: セッションの zip ファイルが作成されます。元のセッションファイルは削除されます。
- ③ セッションの Condense: セッション中の一部のファイルが圧縮されます。元のセッションファイルは保持されます。
- ④ セッションの Delete: セッションを消去します。復元はできません。

(注意)

- ・ Zip ファイルの名前を変えると Import/Unarchive ができなくなります。
- ・ Zip ファイルの保存場所を変更しても、Import は可能です。
- ・ Import/Unarchive すると、以前に行った「Confirm」や「Save」のステータスは消去されます。

The screenshot displays a web-based interface for managing sessions. On the left, there are input fields for Session ID, Patient or Donor ID, Specifier, Health, Family ID, Session Status, Catalog Type, Catalog ID, Text Date, Session Date, and Archived/Active. On the right, there are fields for Session Info, Catalog ID, Catalog Type, Trial Status, Sample Count, Analyzed Samples, Confirmed Samples, Archived, System Comment, and User Comment. At the bottom right, a row of buttons is circled in red: 'Condense Sessions', 'Import from Zip', 'Export to Zip', 'Archive', 'Unarchive', and 'Delete'.

①セッションの Export

1. Data を選択
2. session 名にチェックを入れ(複数でも可)、「Export to ZIP」をクリック
3. Export した ZIP ファイルは、C:\¥OLI TSV\data¥temp フォルダに入る

セッションの Import 方法 ※別の SQL データベースへの Import も可能です

1. Data を選択し、「Import from Zip」をクリック
2. Import したい Session の Zip ファイルを選択

②セッションの Archive

1. Data を選択
2. session 名にチェックを入れ(複数でも可)、「Archive」をクリック
3. Archive した ZIP ファイルは、C:\¥OLI TSV\data¥temp フォルダに入る

セッションの Unarchive 方法 ※別の SQL データベースでの Unarchive はできません

1. Archive した ZIP フォルダが C:\¥OLI TSV\data¥temp にあることを確認

2. Data を選択し、session 名にチェックを入れ「Unarchive」をクリック

③セッションの Condense

1. Data を選択
 2. session 名にチェックを入れ(複数でも可)、「Condense」をクリック
- ※session を確認したい場合は、通常通り Navigator から session 名をクリック(読み込みに多少時間がかかります)

④セッションの Delete

1. Data を選択
2. session 名にチェックを入れ(複数でも可)、「Delete」をクリック

解析結果のレポート

1. Reports を選択
 2. NGS もしくは Speciality から、出力したい形式を選択
(NGS から選択できる形式の例)
Genotype Summary .pdf および Genotype Summary Table .csv: 解析結果 (アレル、Final Assignment)、サンプル情報、リード情報など)
Genotype Summary Health .csv: Coverage Stats および Health Stats
 3. 出力したい Session またはサンプルにチェックを入れる
 4. (必要に応じて) 出力条件、追加データを選択する
 5. (形式により) 保存場所、保存フォーマットを選択
- ※自動的に出力される形式の場合、C:\¥OLI TSV¥data¥report に保存されます。

The screenshot shows the 'Reports' menu with 'NGS' and 'Speciality' options. The 'NGS' option is selected. Below the menu, there is a table of sessions. The table has columns: Session, Test Date, Catalog ID, IMG, Product Type, User, Session Status, and Session Date. The session 'Demo_FAST_Illumina_Balanced_3_46_3_0' is highlighted with a red circle.

Session	Test Date	Catalog ID	IMG	Product Type	User	Session Status	Session Date
Demo_Good_3_0_3_47	2022年05月	ALL-11LFX_000_01	3.47.0.0	NGS	1	PROCESSED	2022年05月31日
Demo_TDX_FAST_Balanced_3_47_3_0	2022年05月	ALL-FAST11LFX_003_01	3.47.0.0	NGS	1	PROCESSED	2022年05月26日
Demo_TDX_FAST_Illumina_3_47_3_0	2022年05月	ALL-FAST11LFX_003_01	3.47.0.0	NGS	1	PROCESSED	2022年05月26日
Demo_FAST_Illumina_Balanced_3_46_3_0	2022年05月	ALL-FAST11LFX_004_00	3.46.0.0	NGS	1	PROCESSED	2022年05月26日
Demo_FAST_Illumina_3_46_3_0	2022年05月	ALL-FAST11LFX_004_00	3.46.0.0	NGS	1	PROCESSED	2022年05月26日