

【TypeStream Visual】簡易操作説明書

Ver.1.0.0

第 1 版

作 成 者	株式会社ベリタス
作 成 日	2018 年 3 月 2 日
最終更新日	2018 年 3 月 2 日

目次

【TypeStream Visual】簡易操作説明書	1
目次	2
ソフトウェアについて	3
推奨スペック	3
アクティベーションについて	3
基本設定	3
User の設定	3
Database の設定	3
リファレンスファイルインストール	4
NGS データのインポート&解析スタート方法	4
NGS データのインポート画面	4
インポートするファイルについて	5
解析操作	6
解析中の画面	7
ローカス画面	8
アリル画面	9
リード画面	11
データのアウトプット	12
セッションの Export 方法	12
セッションの import 方法	12
FAQ	13

ソフトウェアについて

推奨スペック

以下のパソコンのスペックを推奨する

- ・ Microsoft® Windows® 7.0, SP1 operating system, 64-bit
- ・ 8-core processor, or 4-core with hyperthreading
- ・ 16 GB RAM
- ・ 8-bit graphic adapter and display with 1280 x 960 screen resolution
- ・ Microsoft .NET 4.6.1 Framework (included in installation package)
- ・ Microsoft Visual C++ 2005 SP1 Redistributable package (included in installation package)
- ・ Microsoft SQL Express 2014 (included in installation package)
- ・ Crystal Reports 13.0.17 Runtime for .Net 4.6.1 (included in installation package)

※Windows10 でも動くことが確認されている

アクティベーションについて

このソフトウェアは、アクティベーションを行う必要があります。

コントロールパネル→システム内の「コンピューター名」を株式会社ベリタス テックサポート (techservice@veritastk.co.jp) までご連絡ください。

サポートから送られてきたファイルは、「C:\¥OLI TSV¥data¥temp」においてください。

(注意)

- ・ ライセンスファイルは、1年毎の更新となります。ライセンスが無効になる一ヶ月前に更新の警告がでますので、再度株式会社ベリタス テックサポートまでご連絡ください

基本設定

User の設定

User の確認・変更および新規作成は、以下の場所から行える

Profile → List User

また、権限は 2 種類ある

Lab Supervisor: すべての権限がある

Lab Technologist

Database の設定

年度ごと、プロジェクトごとなどというように、基本の Database を分けることが可能です。

詳細は、株式会社ベリタスまでお問い合わせください。

リファレンスファイルインストール

Serology Reference file

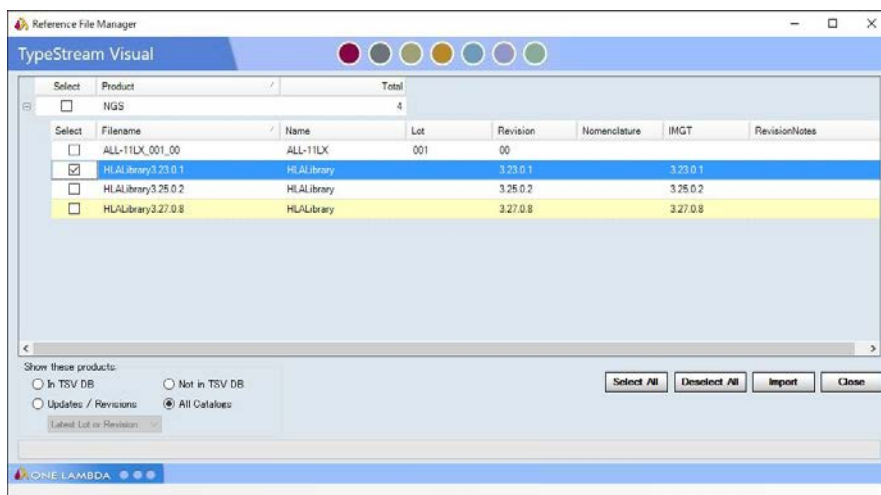
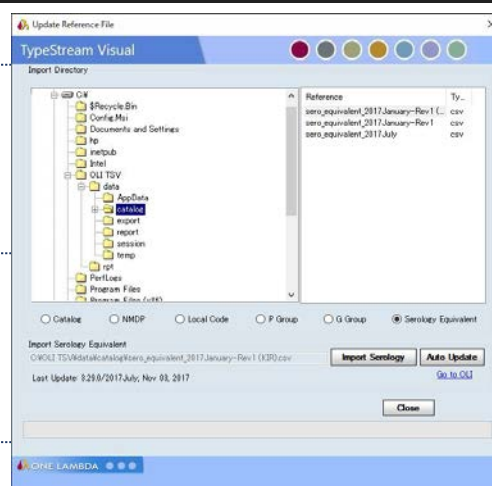
1. Utilities → Update Reference → Update Reference file を選択
2. 「Serology Equivalent」を選択し、「Auto Update」をクリック

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、「Auto Update」をクリック

IMGT Library

1. Utilities → Update Reference → Update Reference file を選択
2. 「Catalog」を選択し、「Auto Update」をクリック
3. 下段の「All Catalogs」を選択し、上段のインポートしたい Library にチェックを入れ、「import」をクリック。1 つずつしかインポートできないため、複数を入れたい場合は、この作業を繰り返す



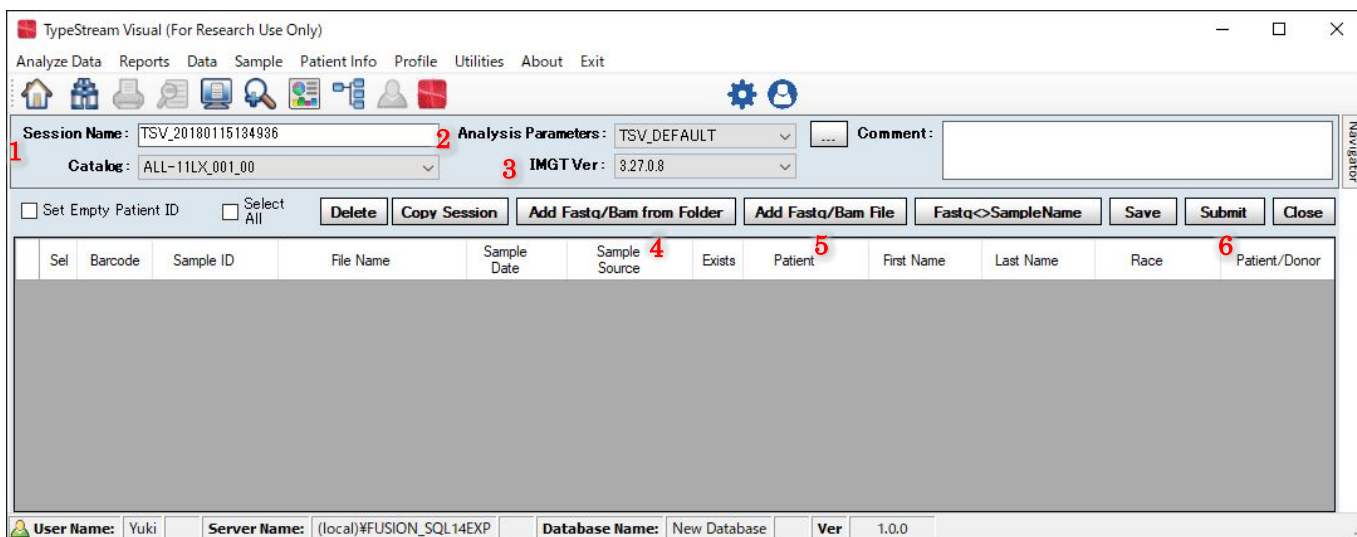
(注意)

- ・ 最初のインストール時には少し時間がかかることもあります。パソコンがフリーズしているように見えることもありますが、インストールは進んでいますので強制終了などはしないで下さい。

NGS データのインポート&解析スタート方法

NGS データのインポート画面

1. Analyze Data → NGS を選択
2. Add Fastq/BamFile ボタンより、Fastq または Bam ファイルを選択
3. Session Name を変更する
4. Analysis Parameters よりパラメーターを変更する
5. Submib により解析スタート



	表記	解説
1	Session Name	解析名
2	Analysis Parameter	デフォルトで入っている解析領域は次のとおり ・TSV_DEFAULT: A,B,C,DRB1,DRB345,DQB1,DPB1,DQA1,DPA1 ・TSV_9Loci: A,B,C,DRB1,DRB345,DQB1,DPB1 カスタマイズしたい場合は、Utilities → Analysis Parameter Config より変更できる
3	IMGT Ver	IMGT のバージョンを選べる
4	Add Fastq/Bam from Folder	1 つのフォルダに入っているすべての Fastq もしくは Bam ファイルを加える時に使用する
5	Add Fastq/Bam File	特定の Fastq もしくは Bam ファイルを加える時に使用する
6	Submit	解析スタート

インポートす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 ファイルである。
 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る。

IonPGM もしくは S5 の場合

IonXpress_barcode.samplename_otherinfo.bam
 IonXpress_barcode.samplename_otherinfo.fastq

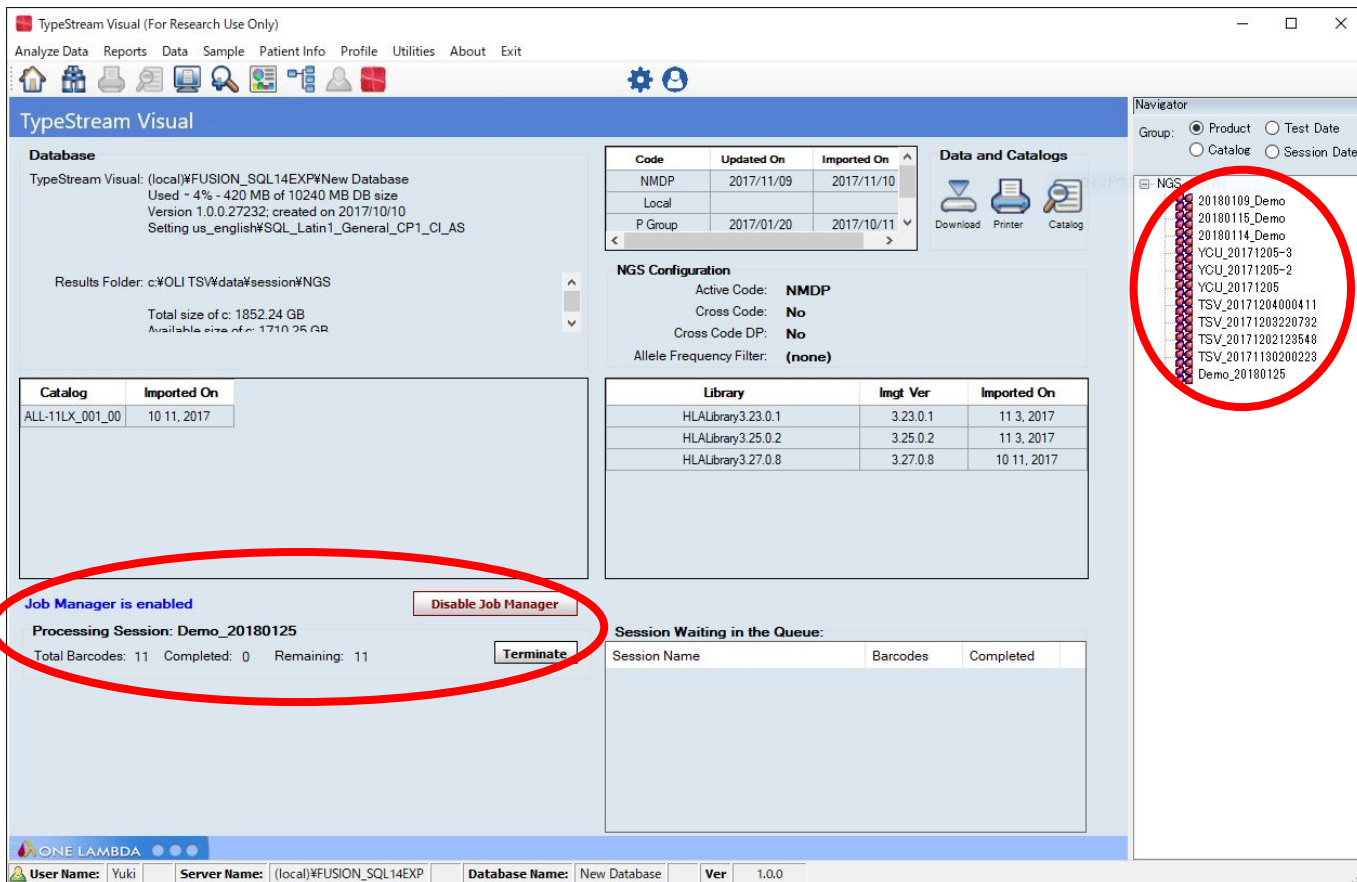
MiSeq の場合

Samplename_S#_L###_R1_###.fastq
 Samplename_S#_L###_R2_###.fastq

(注意)

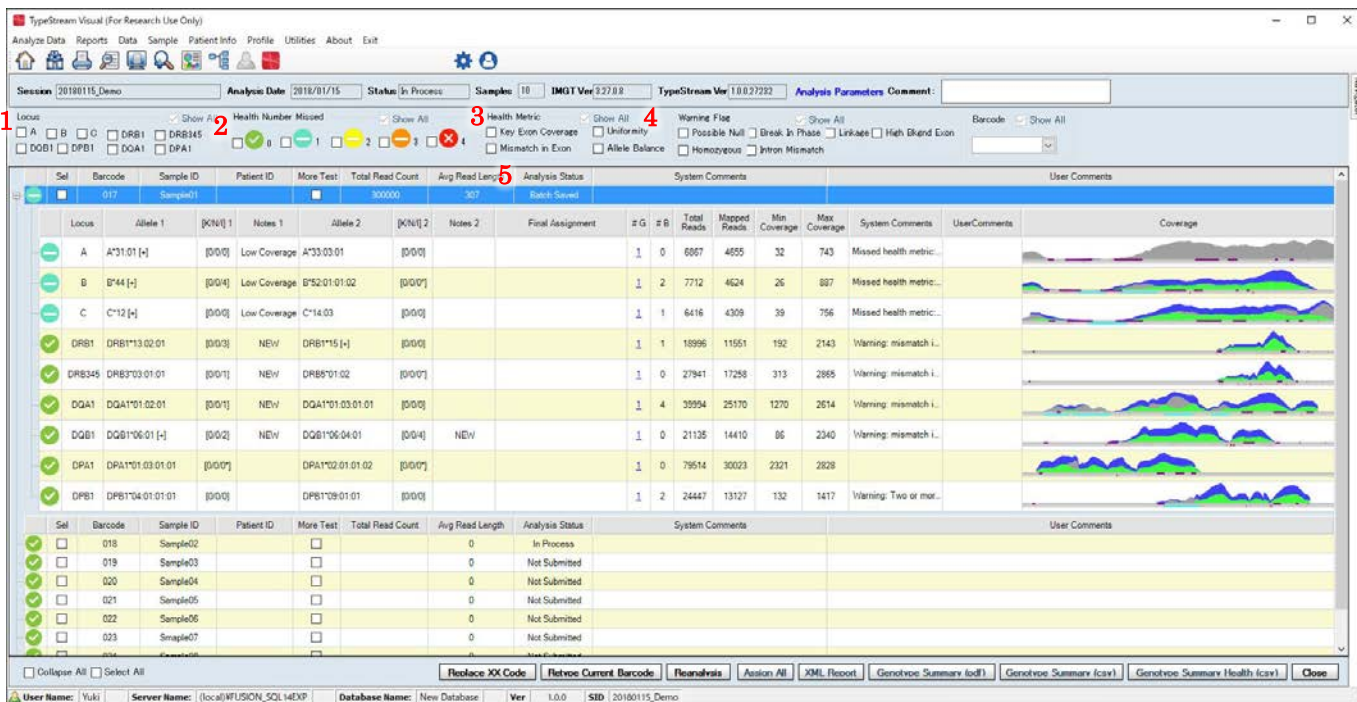
- Fastq/Bam ファイルを置く場所は、Fastq ファイルを置くフォルダに日本語が混じっていると、パスが通らず、解析ができないので、英語のみの場所とする

解析操作



解析を行うためには、右端の該当の Session 名をダブルクリック
 また、解析中の Session の進行具合は、左下の Job Manager is enabled の項目に表示される

解析中の画面



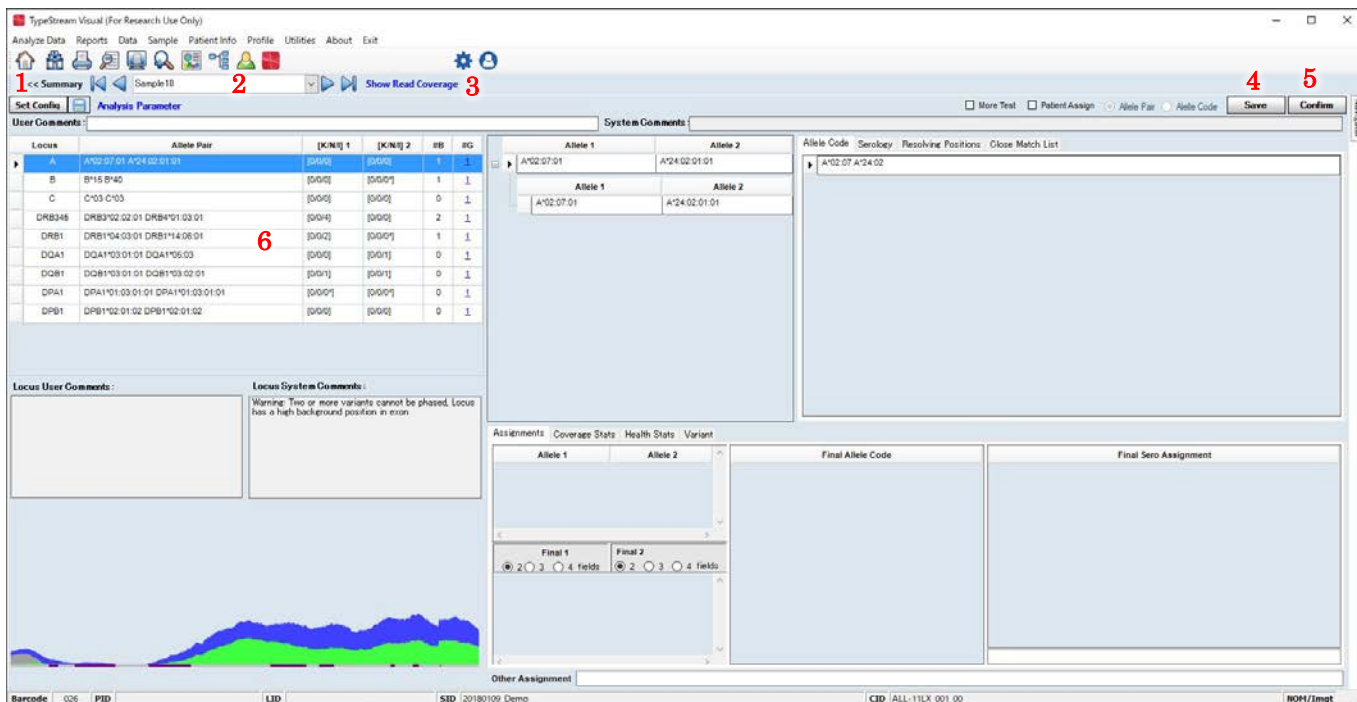
	表記	解説
1	Locus	遺伝子座ごとに、ソートが可能
2	Health Number Missed	ミスマッチの個数により、色分けで表している詳細は、ローカス画面の項目を参照
3	Health Metric	次の項目別にソートすることが可能 Key Exon Coverage: ClassI はエクソン 2,3、ClassII はエクソン 2 において、カバレレッジが 100%にならない場合 Mismatch in Exon: エクソン内にリファレンス配列と異なる塩基があった場合 Uniformity: リードのデプスが均一ではない場合 Allele Balance: 対立アレルのデプスのバランスが 0.3 以下の場合
4	Warning Flag	次の項目別にソートすることが可能 Possible Null: ヌルアレルをもつ可能性のある遺伝子座 Homozygous: ホモアレルの可能性のある遺伝子座 Break in Phase: 少なくとも 2 つ以上のアレルの組み合わせがある遺伝子座 Intron Mismatch: イントロン内にリファレンス配列と異なる塩基があった遺伝子座 Linkage: DRB1 と DRB345、DRB1 と DQB1 のリンゲージが既知の主なリンゲージと異なるサンプル High Background Exon: キーエクソンのバックグラウンドが高い遺伝子座
5	Analysis Status	Batch Saved: 解析終了。このサンプルに関しては、詳細を確認が可能。ただし、解析速度は遅くなる。 In Press: 解析中 Not Submitted: 解析待ち

ローカス画面

1	2	3	4	5	6											
Locus	Allele 1	[K/N/I] 1	Notes 1	Allele 2	[K/N/I] 2	Notes 2	Final Assignment	# G	# B	Total Reads	Mapped Reads	Min Coverage	Max Coverage	System Comments	User Comments	Coverage
✓ A	A*24:02:01:01	[0/0]		A*24:02:01:01	[0/0]			1	0	4482	2808	37	431	Warning: Locus is ho...		
⊖ B	B*07 [+]	[0/0]	Low Coverage	B*43:01:01 [+]	[0/0]			2	3	5443	3123	32	504	Missed health metric...		
✓ DRB1	DRB1*01:01:01	[0/0/1]	NEW	DRB1*04:03:01	[0/0/1]	NEW		1	0	18223	10467	256	1413	Warning: mismatch i...		
✓ DRB345	DRB4*01:03:01 [+]	[0/0/1]	NEW	DRB4*01:03:01 [+]	[0/0/1]	NEW		1	0	9196	5518	249	821	Warning: mismatch i...		
✓ DQA1	DQA1*01:01:01:01	[0/0/0]		DQA1*03:01:01	[0/0/1]	NEW		1	0	40922	23870	1958	5212	Warning: mismatch i...		
✓ DQB1	DQB1*03:02:01 [+]	[0/0/1]	NEW	DQB1*05:01:01 [+]	[0/0/2]	NEW		1	0	17824	11619	146	1971	Warning: mismatch i...		
✓ DPA1	DPA1*01:03:01:01	[0/0/0]		DPA1*01:03:01:05	[0/0/0]			1	3	78335	26010	2304	2918	Warning: Two or mor...		
✓ DPB1	DPB1*02:01:02 [+]	[0/0/2]	NEW	DPB1*04:02:01 [+]	[0/0/1]	NEW		2	2	21478	11720	140	1537	Warning: mismatch i...		

	表記	解説
1		「Full Exon Coverage」「Mismatch in Exon」「Uniformity」「Allele Balance」のうち、いくつかミスマッチがあるかを色分けで表している。 緑:0、水色:1つ、黄色:2つ、オレンジ:3つ、赤:4つ マウスを各フラグに合わせるとコメントが出る
2	[K/N/I]	アレルのミスマッチ個数 K: Key エクソン (ClassI はエクソン 2,3, ClassII はエクソン 2) のミスマッチ個数 N: NonKey エクソンのミスマッチ個数 I: イントロンのミスマッチ個数
3	Note	NEW, Low Coverage, NO CALL 等のコメントが入る New: 新規アレルの可能性がある場合 Low Coverage: Coverage が低い(デフォルトだと 20 リード以下) 場合 NO CALL: 該当するアレル候補がない場合
4	#G	アレル候補の個数 1: 左の表記の組み合わせのみ 2: Cis/Trans の組み合わせがある(ローカスの背景が緑色になる)
5	Comment	各アレルに関するコメントが表示される ホモと判定された場合も、注意喚起として、「Warning」と出る
6	Coverage	ダブルクリックすると、拡大される 緑色: Allele1 青色: Allele2 灰色: Allele1と Allele2の共通 紫色のバー: エクソン領域 水色のバー: 両アレルの共通配列領域
7	Allele 名 [+]	候補アレルが複数ある場合は、アレル名の後に [+] が出る。 [+] にマウスを合わせると、候補アレルが出る
	Allele 名 (r)	レアアレルが出た場合は、アレル名の後に (r) がつく
		アレル名の上で、ダブルクリックすると、アレル画面へ移動する

アレル画面



	表記	解説
1	Summary	サマリー(ローカス)画面に戻る
2	サンプル名	参照したいサンプルを選べる
3	Show Read Coverage	リード画面に移動する
4	Save	各アレルの組み合わせが決まれば、確定ボタンとして使用できる。確定すると、アレル名が緑背景になる。ただし、取り消しできない。(Lab Technologis, Lab Supervisor 共に権限がある)
5	Confirm	各アレルの組み合わせが決まれば、確定ボタンとして使用できる。確定すると、アレル名が紫背景になるただし、取り消しできない (Lab Supervisor のみ権限がある)
6	ローカス	ローカスをクリックすると、各ローカスの詳細に移動する

Resolving Positions タブ

リファレンス配列とのミスマッチを含む対立遺伝子について、ミスマッチ位置、その位置のリファレンス配列の塩基およびコンセンサス配列の塩基を表している。ミスマッチ位置をダブルクリックすると、リード画面が開き、ミスマッチ位置が示させる

Allele Code	Serology	Resolving Positions	Close Match List						
Allele 1		Allele 2							
DRB4*01:03:02		DRB4*01:03:02							
[K/N/I]	Allele	Position	Ref	Cons	[K/N/I]	Allele	Position	Ref	Cons
[0/0/1*]	DRB4*01:03:02	11-7695	T	C	[0/0/1*]	DRB4*01:03:02	11-7695	T	C

上記の例では、コンセンサス配列は Intron1-7695 の位置が C であり、候補のリファレンス配列である DRB4*01:03:02 は T である

Close Match List タブ

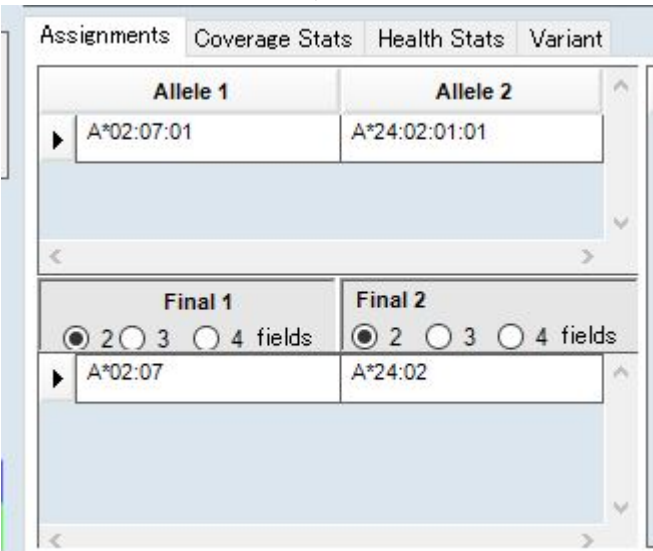
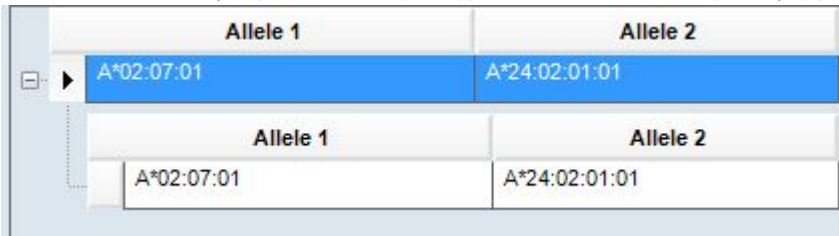
完全一致したアレルと近いアレルのリストを示す。表示方式は、Resolving Positions タブと同じ

Allele 1					Allele 2				
[0/0/0]	A*02:07:01				[0/0/0]	A*24:02:01:01			
[K/N/I]	Allele	Position	Ref	Cons	[K/N/I]	Allele	Position	Ref	Cons
[0/1*/0*]	A*02:07:02	E4-1721	T	C	[0/0/1]	A*24:02:01:02L	I2-708	A	G
[0/1*/0*]	A*02:07:03	E4-1781	A	G	[0/0/1]	A*24:02:01:04	I6-2678	T	C
[0/1*/0*]	A*02:07:04	E4-1757	A	G	[0/0/1*]	A*24:02:01:05	I3-1384	G	A
[0/1*/0*]	A*02:07:05	E4-1778	G	A	[0/0/1*]	A*24:02:01:06	I5-2410	G	C
[0/1*/0*]	A*02:07:07	E1-6	G	C	[0/0/1*]	A*24:02:01:07	I3-1565	T	G
[0/1*/0*]	A*02:15N	E4-1793	A	C	[0/0/1*]	A*24:02:01:08	I3-1248	T	C
[0/1*/0*]	A*02:265	E4-1666	G	T	[0/0/1*]	A*24:02:01:10	I5-2425	T	G
[0/1*/0*]	A*02:426	E4-1713	A	G	[0/0/3]	A*24:02:01:09	UTR3-3037	.	T
[0/1*/0*]	A*02:452	E4-1807	G	A			UTR3-3037.	T	.
							I3-1505.1	A	.

上記の例では、A*02:07:01 がタイピング結果であるが、近いアレルとして、A*02:07:02や A*02:07:03 などが挙げられ、異なる場所が表にあげられている。

Allele Assignment タブ

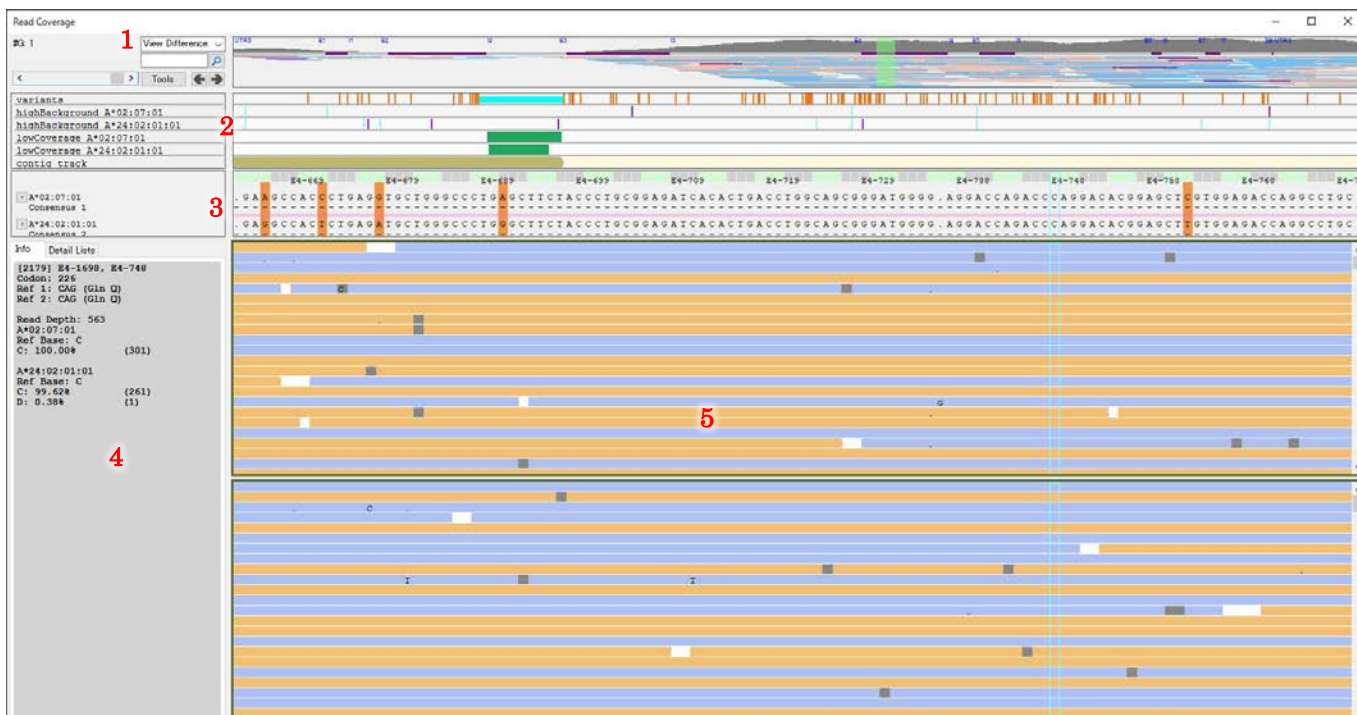
アレルが決定したら、上記のアレルの組み合わせをダブルクリックすると、下記の Assignment タブに決定アレルが入る



Final Allele Assignment の欄に色がついた場合は以下の通り

- 赤色: Key エクソン (ClassI はエクソン 2,3、ClassII はエクソン 2) にミスマッチがある
- 黄色: non-key エクソンにミスマッチがある
- 緑色: イントロンにミスマッチがある

リード画面



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	2つのアレル間で、異なる塩基の位置には、オレンジ色の背景がつく
4	5の画面のカーソルを合わせた位置の詳細
5	IonPGM/ IonS5 の場合
	MiSeq の場合
	オレンジ: Forward Reads 青: Reverse Reads グレー: その位置の直前に挿入塩基がある。マウスを合わせると、挿入塩基が表示される 濃い緑: オーバーラップしたペアエンドのリード 緑: gap between reads from paired-end 濃いオレンジ: cross allele 1 & 2 forward reads オレンジ: Forward Reads 青: Reverse Reads 濃い青: cross allele 1 & 2 reverse reads

アノテーションについて

リードの色は以下のとおり

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

データのアウトプット

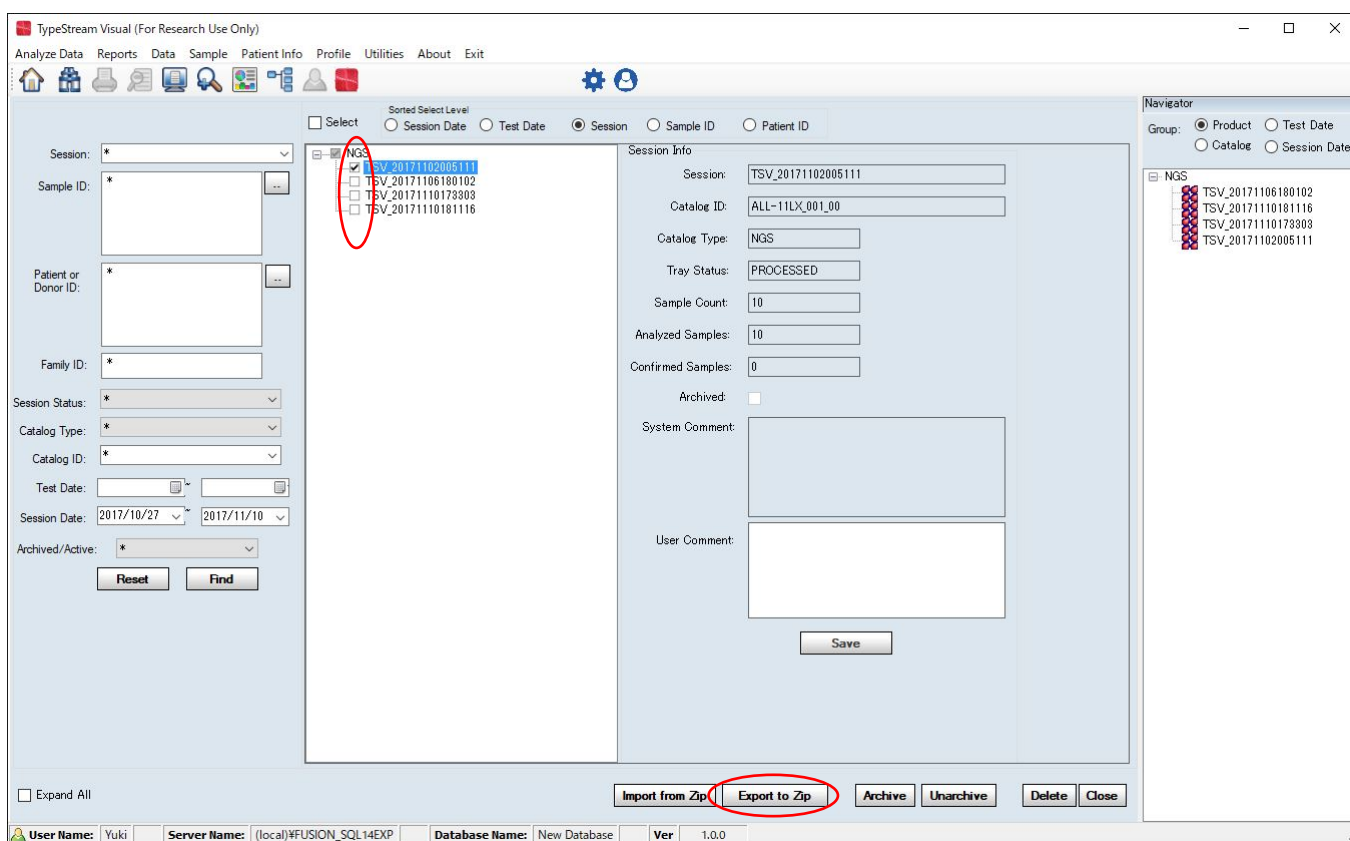
現状、TSV 上でフォルダ移動等を行うことは不可能ですが、終了等の解析分は、Export して管理することは可能です。また、一旦 Export したもので、再 Import し、再解析することも可能です。

セッションの Export 方法

1. Data を選択
2. Export したい 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

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



(注意)

- ・ ZIP ファイルの名前を変えると再 Import ができなくなる。
- ・ Zip ファイルの保存場所を変更しても、再 Import は可能。ただし、保存する場所のフォルダ名に日本語が混じっているとパスがおらないため、保存先には注意が必要。
- ・ 再 Import すると、以前に行った「Confirm」や「Save」は消える。

FAQ

Q: 再解析で現在の結果の上書きはできないのか？

A: できない。新たなセッションとして、再解析される

Q: 一旦インストールしたライブラリーを削除できるか？

A: The users can import any NMDP code prior to analyzing their barcodes through the 'Update Reference Update Reference File à NMDP', selecting their desired NMDP code and then importing or you can Archive or delete library files from Catalog management.

Q: Save もしくは Confirm を取り消すことはできるか？

A: できない。再度 Save や Confirm を行いたい場合は、再解析を行ってください。