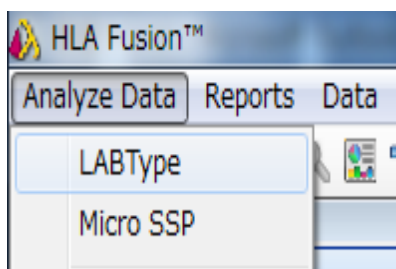
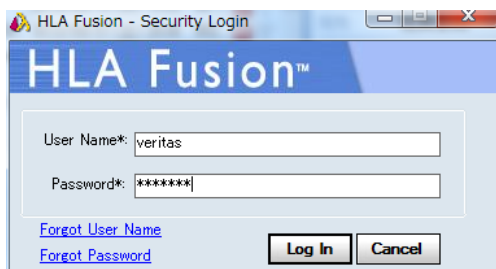


HLA Fusion 3 の LABType 簡易解析マニュアル

- インポート手順

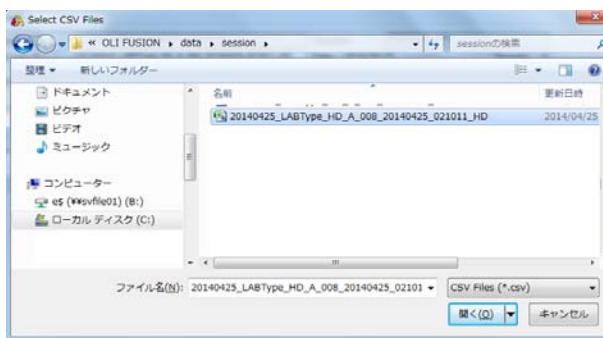
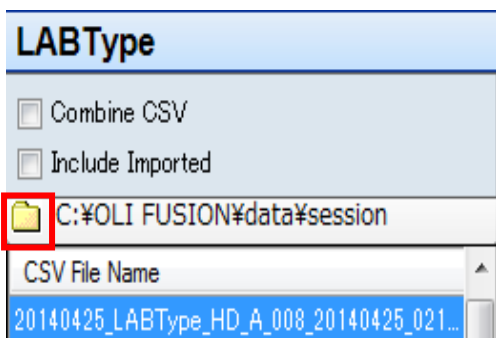
1. デスクトップから、「HLA Fusion 3.0」アイコン  をダブルクリックします。

2. ユーザー名、パスワードを入力、ログイン後、左上の Analyze Data>LABType をクリックします。



3. 画面左側からフォルダ形アイコンをクリック、解析用 CSV ファイルを選択し「開く」をクリックします。

*解析用ファイルの保存場所等、詳細設定に関しては、P8 をご参照ください。



*

4. Current タブにて、Catalog ID が正しいかを確認し、Import を押します。

Catalog ID 例 : 「RSSOH1A_008_05」 = 「製品コード_ロット_バージョン」

Current


Luminex : LX100/LX200/xPONENT - 3.1971.0 Template : RSSOH1A_008
 Session ID : 20140425_LABType_HD_A_008_20140425_021011_HD Date : 2014/04/25 Samples : 4
 File Path : C:\OLI FUSION\data\session\20140425_LABType_HD_A_008_20140425_021011.csv
 Catalog ID : RSSOH1A_008_05 NOM/Imgt: July 2013/3.13.1

Set empty Patient ID Auto Analysis

| Well | Sample | Sample Date | PC Values | Luminex Min Bead Cnt | Exist In DB | Patient ID | First Name | Last Name |
|----------|--------|-------------|-----------|----------------------|-------------|------------|------------|-----------|
| 49(1,A7) | H2601 | | 2489 | 100 | Y | | | |
| 50(1,B7) | H2602 | | 1987 | 100 | Y | | | |
| 51(1,C7) | H2603 | | 2155 | 100 | Y | | | |
| 52(1,D7) | H2604 | | 2180 | 100 | Y | | | |

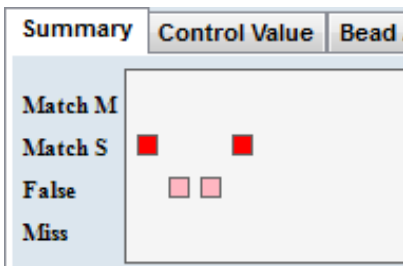
Navigator

Group: Product Test Date
 Catalog Session Date

2014/06/16
 20140425_LABType_HD_A_008_05
 2014/06/12
 2014/06/03
 2014/05/30
 2014/05/12
 2014/05/09
 2014/04/28
 2014/04/25
 2014/04/18
 2014/04/17

5. 画面左「Navigator」にインポートした Session ID 名が青文字で表示されますのでクリックします。

6. Summary タブ画面で、全検体の自動判定結果が表示されます。



- ◇ Match M : 2桁レベルでアンビギュイティがある検体
- ◇ Match S : 2桁レベルでアンビギュイティがない検体
- ◇ False : 偽陽性、偽陰性反応がある検体
- ◇ Miss : 自動判定によるタイピングでできない検体

7. 解析したい検体のコラムをダブルクリックします。

Session : 20140425_LABType_HD_A_008_20140425_021011_HD_02 Catalog : RSSOH1A_008_05 NOM:

| Position | Sample | NC | Exon2 | Exon3 | Possible Allele Code 1 | Possible Allele Code 2 | Cod Defi |
|----------|--------|----|-------|-------|------------------------|------------------------|----------|
| 49(1,A) | H2601 | 13 | 4123 | 2488 | A*26:XX1 | A*31:XX2 | XX80 |
| 50(1,B) | H2602 | 9 | 2868 | 1987 | | | |
| 51(1,C) | H2603 | 9 | 3033 | 2155 | | | |
| 52(1,D) | H2604 | 10 | 3781 | 2179 | A*24:XX1 | A*26:02 | XX176/2 |

● 解析画面：以下の4つのセクション (I~IV) があります。

The screenshot shows the HLA Fusion software interface with four analysis sections highlighted by red boxes:

- Section I:** A bar chart showing the distribution of probe signals for a specific probe (ID # 062, Probe ID # A333).
- Section II:** A bar chart showing the distribution of bead signals for a specific bead (ID # 062).
- Section III:** A bar chart showing the distribution of allele signals for a specific allele (A*26:01:01).
- Section IV:** A table showing the assigned allele pairs and sero assignments for the sample.

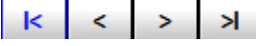
The interface also includes a menu bar, a toolbar, and a status bar at the bottom.

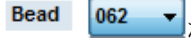
I. メーカーQC情報の表示：同一番号ビーズの全QCサンプルの結果)

青色棒グラフ：各メーカーQC検体の反応、黒横線：陽性/陰性カットオフライン

II. 各ビーズの測定結果の表示：各ビーズ反応が表示されます。カットオフラインの変更等が可能です。

赤色棒グラフ：解析中の検体、緑色棒グラフ：他の検体、黒横線：陽性/陰性カットオフライン

見たいビーズ番号を  ボタンで変更できます。

プルダウン  から、直接ビーズ番号を選択する事も可能です。

III. 全ビーズの測定結果の表示：同一サンプルの全種類のビーズの反応が表示されます。

ピンク色棒グラフ：陽性コントロールの蛍光値

グラフ縦軸：陽性コントロールを100%とした時の反応の比率 (%)

グラフ横軸：各ビーズ番号 (番号が小さい順番)

青色棒グラフ：陰性ビーズ、赤色棒グラフ：陽性ビーズ、◆マーク：各ビーズのカットオフ値

IV. 自動判定によるタイピング結果の表示

Pairs タブ：6桁～8桁レベルでのアレルペアの表示

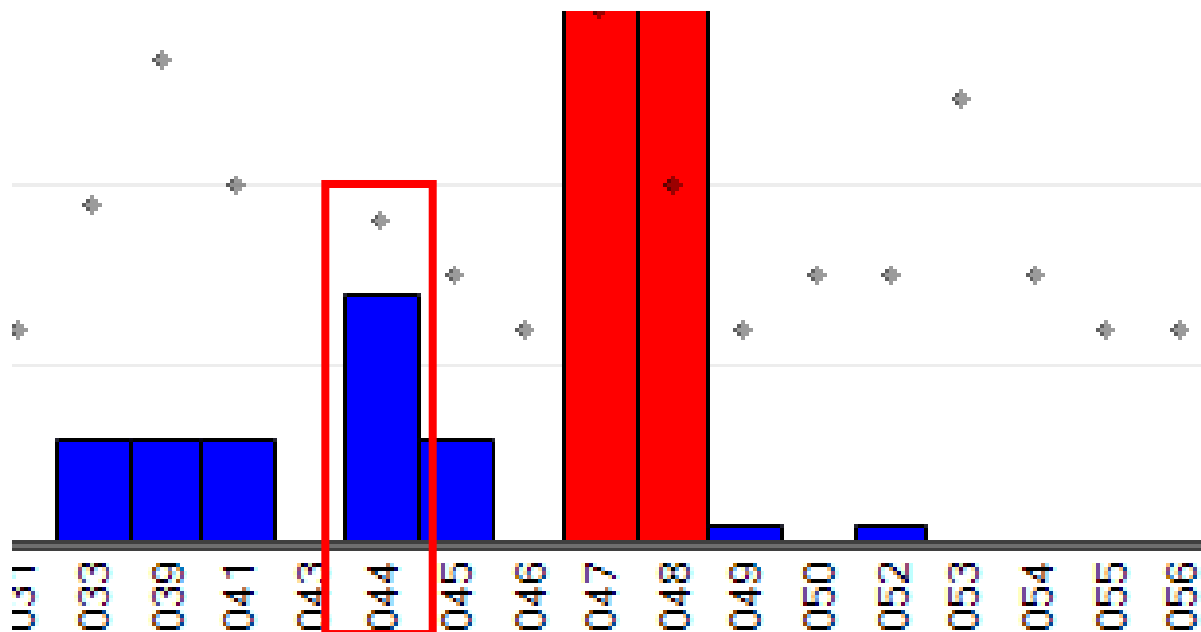
Type/SubType タブ：4桁レベルでのアレルペアの表示、Sero タブ：抗原型の表示

Possible Allele Code：4桁レベルのアレルペアの省略コード表記 (NMDP コード)

● 解析手順

1. セクション III から陽性/陰性コントロールの反応、及び全ビーズの反応性を確認します。カットオフに近い反応のビーズを順番にクリックします。

例：44番ビーズをクリック

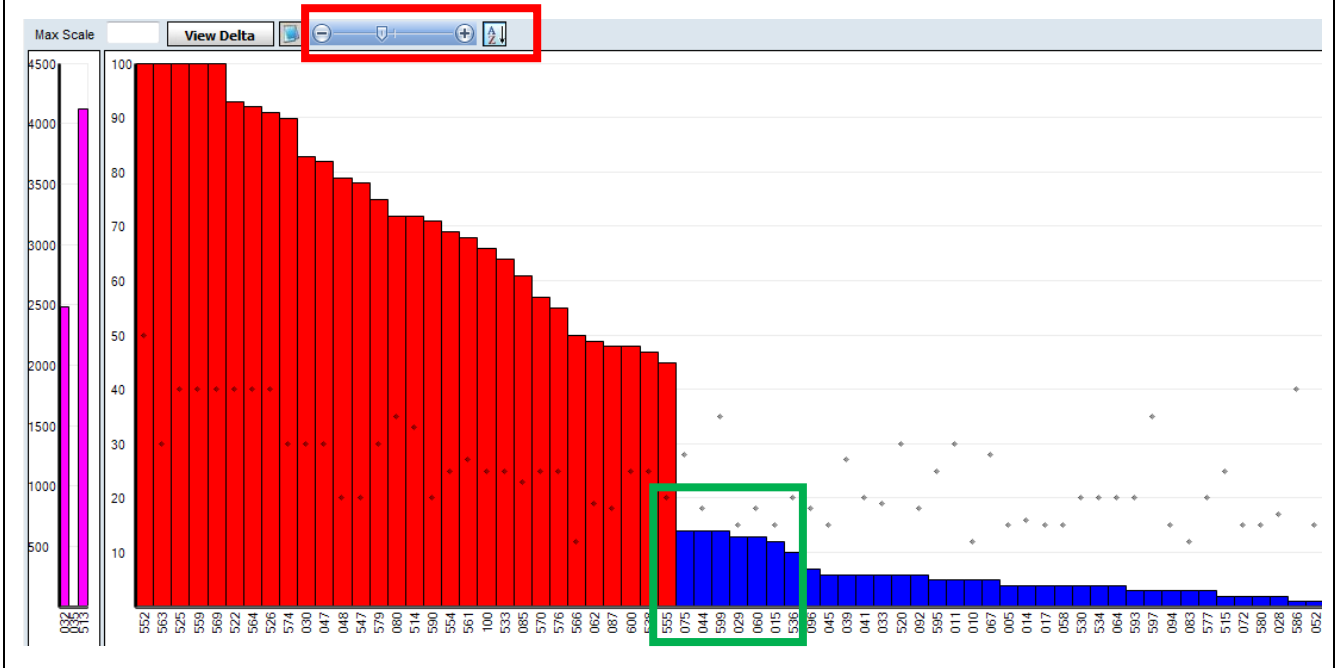


🚩 グラフのソーティング機能： HLA Fusion 3.3 以降のバージョンの新機能です。

📄 ボタン： ビーズ反応の強さで昇順/降順でグラフを並べ替えられます。

🔍 : グラフの横軸のスケールを変更できます。

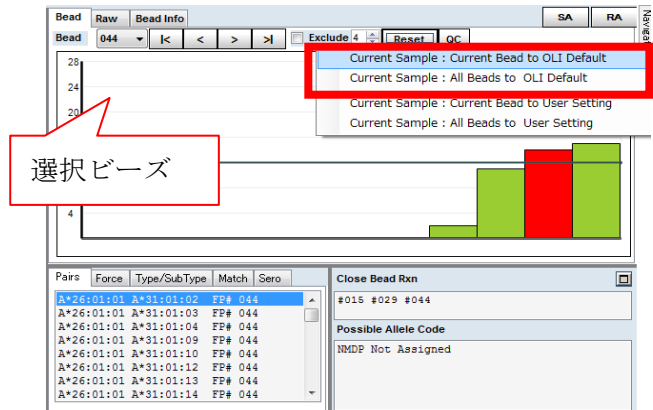
🚩 緑色で囲んだ部分、陽性ビーズと陰性ビーズの境界付近がカットオフに近いビーズが多く集まっていますので、ここを重点的に解析すると効率的です。



2. 1.で選択したビーズを、セクション I と II で比較します。II の赤色の棒グラフが現在解析中の検体です。セクション I と II の反応性が大きく異なる場合には、カットオフ変更を検討します。カットオフを変更する場合には、カットオフラインをマウスでドラッグして上下に動かします。



変更したカットオフラインを元に戻したい場合には、画面左上の **Reset** ボタンを押します。選択中の番号のビーズをリセットする場合は「Current Beads to OLI Default」全てのビーズをリセットする場合は、「All Beads to OLI Default」をクリックします。



3. 解析結果の確認を行います。解析結果は、画面中央の **Pairs** のタブに表示されます。ここには、6-8 桁レベルで可能性のある全てのアイルペアの候補が表示されます。

- 日本人フィルターを使用している場合、頻度情報で並びかえできます。

G1 (Group 1) : 両方のアイルが日本人頻度で 0.01% 以上のアイルペア
G2 (Group 2) : 片方のアイルのみ日本人頻度で 0.01% 以上のアイルペア
G3 (Group 3) : 両方のアイルが日本人頻度で 0.01% 以下のアイルペア
 日本人検体の場合は、ほぼ G1 となりますので、G1 でない場合は、カットオフの検討を行って下さい。稀に G2、G3 となる場合もあります。

| Pairs | Force | Type/SubType | Match | Sero |
|--------------------------------------|-------|--------------|-------|------|
| Local Demographic Data [ver1_2013Ja] | | | | |
| ----- | | | | |
| Group 1: frequent on both alleles | | | | |
| ----- | | | | |
| A*26:01:01 A*31:01:02 (G1) | | | | |
| Group 2: frequent on one allele | | | | |
| ----- | | | | |
| A*26:01:01 A*31:01:03 (G2) | | | | |
| A*26:01:01 A*31:01:04 (G2) | | | | |
| A*26:01:01 A*31:01:09 (G2) | | | | |

- 反応パターンに問題がある場合は、**FP#** (偽陽性ビーズ番号)、**FN#** (偽陰性ビーズ番号) が表示されますので、カットオフ値変更を検討します。New Allele の場合、カットオフを変更しても FP、FN が消えない場合もあります。4 つ以上ビーズを変更しなければタイプが決まらない場合は、「No solution」と表示されます。この場合は、検査が上手く行われていない可能性がありますので、再検査をお勧めします。

| Pairs | Force | Type/SubType | Match | Sero |
|------------|------------|--------------|-------|------|
| A*26:01:01 | A*31:01:02 | FP# | 044 | |
| A*26:01:01 | A*31:01:03 | FP# | 044 | |
| A*26:01:01 | A*31:01:04 | FP# | 044 | |
| A*26:01:01 | A*31:01:09 | FP# | 044 | |
| A*26:01:01 | A*31:01:10 | FP# | 044 | |
| A*26:01:01 | A*31:01:12 | FP# | 044 | |
| A*26:01:01 | A*31:01:13 | FP# | 044 | |
| A*26:01:01 | A*31:01:14 | FP# | 044 | |
| A*26:01:01 | A*31:01:15 | FP# | 044 | |
| A*26:01:01 | A*31:01:16 | FP# | 044 | |
| A*26:01:01 | A*31:01:17 | FP# | 044 | |

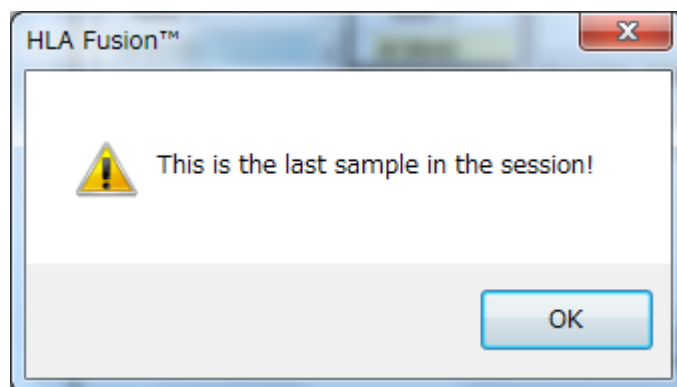
4. Pairs タブ中で最も確からしいアレル (G1 のアレル等) をダブルクリックし、Assigned Allele Paris の欄にアサインします。同様に、対応する血清型を右側の Sero タブから、Possible Allele Code 欄より Allele Code をそれぞれ一つずつダブルクリックします。

The screenshot shows the 'Pairs' and 'Sero' tabs. The 'Pairs' tab displays 'Local Demographic Data [ver1_2013Japanes]' with 'Group 1: frequent on both alleles' and 'Group 2: frequent on one allele'. The selected allele pair is 'A*26:01:01 A*31:01:02 (G1)'. The 'Sero' tab shows 'Possible Allele Code' with 'A*26:XX1 A*31:XX2' selected. Below, the 'Assigned Allele Pairs' field contains 'A*26:01:01 A*31:01:02', the 'Assigned Sero' field contains 'A26 A31', and the 'Assigned Code' field contains 'A*26:XX1 A*31:XX2'.

4 桁レベルのアンビギュイティを確認する場合は、Type/Sub Type タブを選択します。Allele 1 のアレルをクリックすると、対応する対立遺伝子が黄色で、Allele2 に表示されます。これらのアンビギュイティをコード表記したものが、Possible Allele Code に表示されます。

| Allele 1 | Allele 2 |
|----------|----------|
| A*26:01 | A*31:01 |
| A*26:24 | A*31:06 |
| A*26:26 | A*31:14N |
| A*26:56 | A*31:23 |
| A*26:77 | A*31:46 |
| A*26:79 | A*31:48 |
| A*26:80 | A*31:55 |
| A*26:82 | A*31:56 |
| A*26:85 | A*31:59 |
| | A*31:60N |

5. 解析終了後は、必ず画面左下の Save ボタンを押します。Save を押すと自動的に次の検体の解析に進みます。最後のサンプルの場合は、以下の画面が出ますので OK を押します。



● 簡易レポート作成



1. 画面上部の <Summary をクリックします。
2. 下記の Summary 画面で、測定バッチのタイピング結果が一覧で表示されます。画面右下の Export より Excel 形式で表示内容をそのまま Export できます。表示内容を変更する場合は左上のボタンを押します。

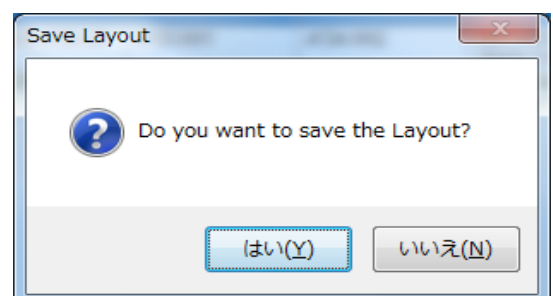
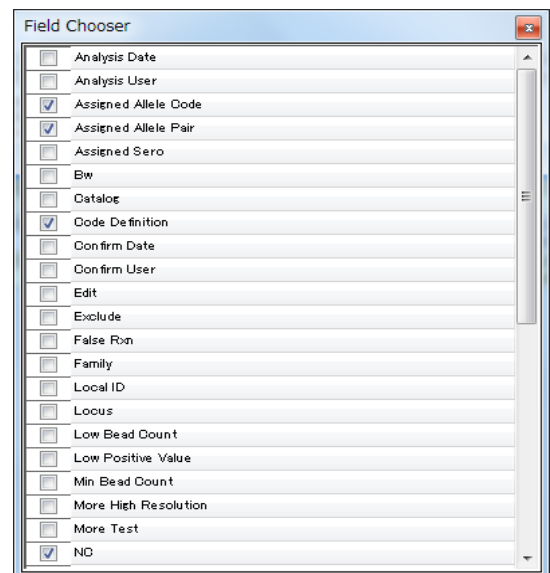
| Summary | | | | | | |
|--|---------------|----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|--|
| Control Value | | Bead Analysis | | | | |
| Match M | | | | | | |
| Match S | ■ ■ ■ ■ | | | | | |
| False | | | | | | |
| Miss | | | | | | |
| Session : 20140425_LABType_HD_A_008_20140425_021011_HD Catalog : RSSOH1A_008_05 NOM: July 2013 | | | | | | |
| Position | Sample | Assigned Allele Code | Assigned Allele Pair | Possible Allele Code 1 | Possible Allele Code 2 | |
| 49(1) | Well Position | A*26:XX1 A*31:XX2 | A*26:01:01 A*31:01:02 | A*26:XX1 | A*31:XX2 | |
| 50(1,B) | H2602 | A*02:XX1 A*24:20 | A*02:07:01 A*24:20 | A*02:XX1 | A*24:20 | |
| 51(1,C) | H2603 | A*03:XX1 A*24:XX2 | A*03:01:01:01 A*24:20 | A*03:XX1 | A*24:XX2 | |
| 52(1,D) | H2604 | A*24:XX1 A*26:02 | A*24:02:01:01 A*26:02 | A*24:XX1 | A*26:02 | |

3. 右の様な Field Chooser の画面が開きますので、表示したい内容にチェックします。

以下のチェックをお勧めします。

- Assigned Allele Code
アサインしたアレルコード
- Assigned Allele Pair
アサインしたアレルペア
- Assigned Sero
アサインした血清型
- Code Definition
アレルコードの詳細
- Possible Allele Code 1、2
可能性のある全てのアレルコード
- System Coment
カットオフ値の変更等の自動コメント

設定を保存する場合には画面を閉じ、左の画面で はい (Y) を選択します。



- 詳細レポート作成

1. 画面上部 Report を選択し、Generic Typing>Molecular Custom を選択します。
2. 画面右側Set upボタンを押します。レポート名を入力し、出力したい項目にチェックを入れます。最後に Saveを押して設定を保存します。

お勧めは、 Sample Session Info、 System Comments、 Nomenclature /IMGT、 Cutoff Summary
 Allele Pairs Assignment、 Allele Code Assignment、 Serology Assignment、 Suggested Allele Codes、 PC NC values です。

3. 左側より、レポート出力したいサンプルを様々な条件で検索します。

Patient or Donor ID: * ...
Session: * ...
Batch: * ...
Sample ID: * ...
Specificity:
Test Date: ~
Session Date: 2014/04/02 ~ 2014/07/01
 Include all records for samples
 Include all combined samples

Patient or Donor ID : 患者/ドナー ID、
 Session ID : セッション名
 Sample ID : サンプル名
 Specificity : アリル名等 A*24:02
 Session Dates : 解析日

必要情報を入力して、**Find** を押すと、画面右側に該当データが検索されます。

条件を消去する場合は **Reset** を押します。

4. 出力したいデータにチェックを入れ、画面右側の View Report をクリックします。

レポートは、そのままプリントアウトもしくは、ファイル（PDF、ワード形式等）に保存が可能です。

Sort By: SessionID ASC, PatientID ASC, SampleID ASC

| Includ | Session | Test Date | Product Type |
|-------------------------------------|---|---------------|--------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | 20140425_LT_HD_A_008_20140424_220157_HD | 2014年04月24... | LABType |
| <input type="checkbox"/> | 20140425_LT_Exon4-7_003_20140424_222328 | 2014年04月24... | LABType |

LABType

Sample ID: H2601 **Local ID:**
Sample Date: **Test Date:** 4 24, 2014

Session ID: 20140425_LT_HD_A_008_20140424_220157_HD **Catalog:** RSSOH1A_008_05 **Locus:** A **Test Pos:** 1(1,A1)

Luminex: xPONENT - 3.1.971.0 **Nom. Date:** July 2013 **Imgt Ver:** 3.13.1

Comment: Auto Sero.Adjust Bead#044:28(18)#060:27(18).Sero Ambiguity.

Control Values

| | | | | | |
|---------|---------------|------|------|------|------|
| Exon2 | A/B/C/DR 3171 | DQA1 | DQB1 | DPA1 | DPB1 |
| Exon3 | A/B/C/DR 608 | DQA1 | DQB1 | DPA1 | DPB1 |
| Exon4&5 | A | B | C | | |
| Exon6&7 | C | | | NC | 12 |

Interpretation

Assigned Allele Code: A*26:XX1 A*31:XX2
Possible Allele Code: A*26:XX1 A*31:XX2
 XX1 := 2601/2624/2626/2656/2677/2679/2680/2682/2685
 XX2 := 3101/3106/3114/3123/3146/3148/3155/3156/3159/3160/3168/3169/3170/3171/3172/3173

Assigned Serology: A26.A31
Assigned Allele Pairs: A*26:01:01 A*31:01:02

Cutoff Summary:

| | | | | | |
|----------------|---------|-----------|-------------------------|---------|-----------|
| Global: Bead#: | Cut off | (Default) | Sample Specific: Bead#: | Cut off | (Default) |
| | | | 044 | 28 | (18) |

A) LABType の解析に必要なデータと場所

| キット種類 | ファイル種類 | 保存場所 (Luminex 用 PC) | Luminex |
|-------------------------|-------------------|---|-------------|
| LABType RSSO (DQ 以外) | バッチ名.csv | C:\¥My Batch¥Output | IS2.2.2/2.3 |
| | | C:\¥My Session | xPONENT |
| LABType | バッチ名フォルダ 丸ごと | C:\¥My Batch | IS2.2.2/2.3 |
| HD&DQ | バッチ名.csv | C:\¥My Session | xPONENT |
| | バッチ名_rcsv フォルダ丸ごと | C:\ProgramData¥Luminex¥xPonent31¥Batch* | |

*もし該当フォルダが見当たらない場合は、隠しファイルを表示させる設定が必要です。

1. Windows ボタン>Control Panel (コントロールパネル) をクリック
2. Folder Options>View (表示) タブ> Show hidden files, folders, and drives にチェック
3. Apply (適用) >OK 以上で設定完了です。

B) HLA Fusion 測定用初期設定：初回のみ必要な設定

➤ まず初めに、デスクトップ上に Fusion HD files というフォルダを新しく作成します。

- ✧ このフォルダに、HLA Fusion で LABType HD の解析データをインポートした際に、自動的に変換ファイル (バッチ名_HD.csv) がエクスポートされるようにこれから設定します。
- ✧ エクスポートされた変換ファイルは、バッチ名.csv fileと各Runfileが結合し、単独で解析できます。ベリタスやJSHIのQCでデータを送信する際は、この変換ファイルを送信可能です。

(ア) Luminex と接続している PC の HLA Fusion で解析する場合

1. HLA Fusion 3.0 を開きます。Utilities>General Settings>Paths を選択します。
2. Sessions/Batch の右側の□をクリックします。
 - xPONENT の場合、通常 C:\¥My Session を選択します。
 - IS2.2.2/2.3 の場合、通常 C:\¥My Batch¥Output を選択します。
3. (xPONENT の場合のみ) Run files (for xPONENT/EXMAP) の右側の□をクリックして、C:\ProgramData¥Luminex¥xPonent31¥Batch を選択します。
4. Converted HD Files の右側の□をクリックし、デスクトップ上に作成した Fusion HD files フォルダを選択します。
5. 最後に、Save ボタンを押して Close します。

(イ) Luminex に接続していない PC の HLA Fusion で解析する場合

1. 解析用 PC の C ドライブの中に新たにフォルダを作製します。例) C:\¥xPONENT¥Batches
2. 上記 ア) 1.~5.と同様に、HLA Fusion の設定を行います。ただし、ア) 2.、3 で選択するフォルダは、1.で作成したフォルダ (例: C:\¥xPONENT¥Batches) を指定してください。

解析する度に、Luminex 用 PC から、必要なデータを全て USB 等にコピーし、1.で作成したフォルダにファイルを保存します。(必要なデータは、A) を参照)