Omixon Holotype HLA™

Omixon Holotype HLA は illumina Miseq を用いた NGS 出力データから HLA タイピングを行う試薬と型判定ソフトウェアからなるパッケージです。 アッセイ手法はフィラデルフィア小児病院からライセンスされており、複数の HLA loci をカバーする包括的な遺伝子増幅と ライブラリ調製試薬を提供します。タイピング用のソフトウェアとして Omixon HLA Twin が含まれます。 HLA Twin は 2 つの異なった HLA タイピングアルゴリズムにより独立した 2 回のバリデーションを行うことで高い精度と分解能を実現し、 繰り返しの試験を必要としません。

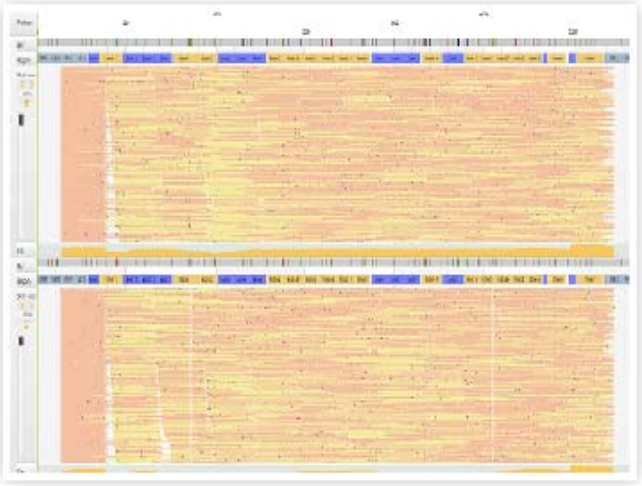
詳細と特徴

- カバーされるシーケンス領域は HLA-A、B、C、DQB1、DQA1 の全領域と HLA-DRB1、DPB1 の一部
- 2×250 bp illumina Pair-end シーケンスにより 99.8%のアレルペアであいまいさの残らないタイピング結果を出力
- Miseq 1 run あたり 8 から 96 サンプルまでスケールアップが可能
- allele、Locus、Sample 間でバランスの取れたカバレッジ
- ターゲット領域の全長をおおう深く均一なカバレッジ
- 独立した二つのアルゴリズムによる HLA タイピング
- タイピング結果は自動出力
- Double blind alpha study では型の分かっているサンプルの再解析で 100%の一致を達成

Holotype HLA 製品

Holotype HLA キットは7個から 11 個の Locus を増幅するキットで、96 サンプル用と 24 サンプル用が用意されています。
7-Locus の場合、7個の HLA Locus 遺伝子の増幅産物はプールされ、1 分子バーコードを付与されたひとつのシーケンスライブラリとなります。1 run あたりのサンプル数は 4 から 120 まで調節でき、一例として 24 サンプルの調整にかかる時間は 5 時間以下です。
サンプルごとに各 Locus を二つのアルゴリズムにより独立してタイピングすることで最も高い信頼性が得られます

キット種類	Loci	サンプル数	Samples per Run
5 locus	A,B,C,DRB1,DQB1	96	32-144
7 locus	A,B,C,DRB1,DQA1/B1,DPB1	24 又は 96	4-120
11 locus	A,B,C,DRB1/3/4/5,DQA1/B1,DPA1/B1	24 又は 96	4-96



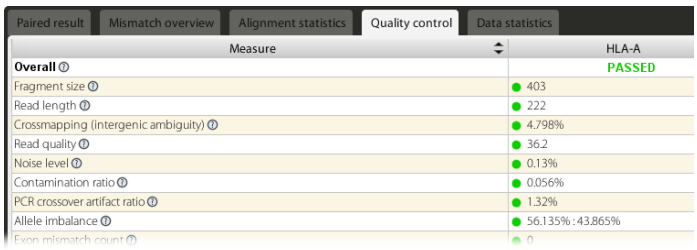
左図は HLA-C*07:01、12:03 のマッピングカバレッジの様子
Holotype HLA は全領域に渡って深く均一なカバレッジを同じ Locus であればアレル間で均一に提供する。

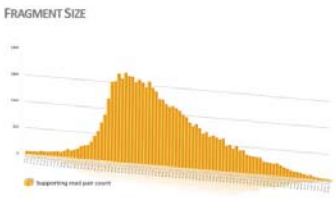
Omixon HLA Twin™

OOmixon HLA Twin は Omixon Holotype HLA のデータ解析用ソフトです。
Statistical Genotyping 法と Consensus Genotyping 法の二つのアルゴリズムを持ち、 database alignment と de novo assembly technique という独立した二つの手法により型判定を 2 回行います。 Consensus Genotyping 法は既知アレルの全長 consensus 配列を提供し、HLA データベースが利用できない場合で も null allele や de novo allele を第 3～4 領域で特定します。また、Statistical Genotyping 法はすべての Locus の Concordance check を 行う手法です。この2種類の判定により正確に HLA 型の判定を行います。Phase Ambiguity の解消はNGS技術を利用することにより 解消可能になります。

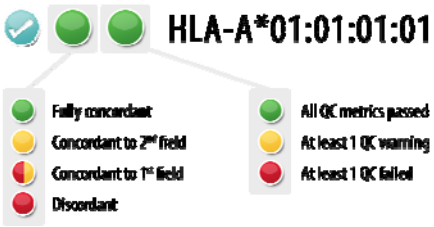
わかりやすい結果判定とその他特徴

- 結果は”ASHI” NGS standard および Omixon 独自の判定基準に従い評価され、HLA TwinTraffic Lights System （TLS）により結果判定をわかりやすく表示
- 判定結果は、サンプルおよび Locus ごとに、型判定の根拠となった信頼性（リード長、クォリティ、ノイズ比、コンセンサスカバレッジ、およびアレル不均衡、phasing、など）について詳細な判定結果を表示
- アレル間の増幅効率の違いをグラフィック上で確認可能
- タイピング結果は NMDP standard または HML 0.9.7 形式で出力
- データベースは IMGT からのデータを利用
- イルミナ MiSeq のシーケンス終了後、すぐにデータ処理を自動で実行可能





Statistical Genotyping 法および Consensus Genotyping 法で判定



2 つのアルゴリズム結が一致したことを確認
緑ライトは、結果が第 3 領域で一致していることを表示

Locus の品質確認 として HLA Twin は、15 の検査項目を評価し結果を表示
Traffic Lights の 1 個が黄ライトの QC warning だった場合は、データをマニュアルで精査することを推奨。緑ライトが 2 つは、遺伝子型判定で完全な信頼を持つことができマニュアルでの精査の必要がありません。

HLA Twin Server ハードウエア仕様

OS: Windows、Mac、Linux （64bit）
最小構成：4 core、8 GB メモリ
推奨構成：8 core、16 GB メモリ
ハードディスクは解析サンプル量に依存

株式会社ワールドフュージョン
TEL: 03-3662-0521
E-mail: techsupport@w-fusion.co.jp
URL: http://www.w-fusion.co.jp/