

TruSight® HLA v2 シーケンスパネルを用いた IHWG リファレンスサンプルの HLA シーケンス

MiSeq® および MiniSeq™ システムによる国際組織適合性ワーキンググループ (IHWG) の 72 のリファレンスサンプルに対する複数回シーケンスの結果

はじめに

ヒト白血球抗原 (HLA) システムは主要組織適合複合体 (MHC) タンパク質をコードする遺伝子領域で、感染細胞、機能不全細胞および外来細胞の存在を免疫系に警告する機能をつかさどります。最も多様性に富んだゲノム領域であるため、遺伝子の他のどのファミリーよりもヒト集団における固有の HLA 配列が存在します。この高度な配列変動性は適応性の高い免疫系を微調整するために重要です。2016 年リリースの IPD-IMGT/HLA Database (ヒト MHC 複合体のシーケンスのための専門家向けデータベース) には、固有の HLA アリルシーケンス 14,473 が含まれます^{1,2}。

HLA 領域のシーケンスは組織、骨髄および幹細胞の移植における移植拒絶反応を理解するためによく用いられます。HLA 変異は多くの自己免疫疾患にも関与しており、そこでは免疫系は自己反応的になり、誤って健全な組織を攻撃してしまいます。こうした疾患には多発性硬化症、関節リウマチ、1 型糖尿病、セリアック病、グレーブス病、ループス、クローン病、乾癬などが含まれます³⁻⁶。HLA 系にはさらに HIV においても重要な役割があり、HIV に対して防衛的と考えられる HLA アリルもあれば、HIV を起こしやすいと考えられる HLA アリルもあります⁷。さらに、ある種の HLA アリルを有する人々は、HIV 抗レトロウイルス薬であるアバカビル⁸ に対して副作用があります。

HLA タイピングの結果、副作用が生じる薬剤はアバカビルに限りません。カルバマゼピン⁹ (発作、神経痛、および双極性障害の治療用)、フルクロキサシリン¹⁰ (抗生物質)、キシメラガトラン¹¹ (抗凝血薬)、β ラクタム系¹² (ペニシリン、アモキシシリンなどの抗生物質)、オキシカム系¹³ (疼痛の治療用)、さらにアスピリンは、特定の HLA タイプを有する人々に副作用を引き起こす場合があります¹⁴。

TruSight HLA v2 シーケンスパネルは、イルミナ次世代シーケンス (NGS) テクノロジーを用いて 11 の HLA 遺伝子座の高解像度シーケンス結果を生成します。一般的にタイピングされる HLA 遺伝子座はすべてカバーされ、さらに最近関連性が指摘されている遺伝子座も対象としています。このホワイトペーパーでは以下の内容を取り扱います。

- TruSight HLA v2 シーケンスパネルを用いた、72 の IHWG リファレンスサンプルの HLA シーケンスデータの提示
- タイピングが割り当てられなかったためにリファレンスタイピングと不一致である、マニュアル確認が必要な 5 つのアリルについての詳細な考察
- MiSeq および MiniSeq のシステムでシーケンスされたリファレンスサンプル HLA タイピング結果の比較

試験材料

本試験は IHWG リファレンスパネルの 72 のサンプル (補足表 1: IHWG サンプルおよびリファレンス) からの精製 DNA で行われました¹⁵。これらのサンプルは、よく用いられ、十分に立証されているもの (CWD)、稀なもの、さらに、ヌルアリル、アリルの組み合わせ、ホモ接合体およびヘテロ接合体といった幅広いサンプルを選定しました。72 サンプルの内訳は以下のとおりです。

- 第 10 回ワークショップで HLA ホモ接合体家系であることが同定された 48 サンプルのうちの細胞株で構成される IHWG 血縁リファレンスパネルから 11 サンプル
- 第 13 回ワークショップ時点で使用可能であった高解像度法によりタイピングされた、51 種の DNA サンプル (血縁リファレンスパネル由来の 4 サンプルを含む) の組合せである、IHWG シーケンス多型 (SP) リファレンスパネルのうちの 37 サンプル
- 世界の異なる地域に由来する 15 サンプル (SP リファレンスパネル由来の 10 サンプルも含む) からなる IHWG 人類学リファレンスパネルのうちの 13 サンプル
- 以上に加え、第 10 回 IHWG ワークショップから 1 サンプル、第 12 回 IHWG ワークショップから 4 サンプル、第 13 回 IHWG ワークショップから 11 サンプル、および IHWG ヌルサンプルリポジトリから 2 サンプルが選定されました。

72 サンプルのこのパネルには、CWD 2.0.0¹⁶ G グループ (表 1) の 87.5% (147 中 128) に相当するアリルが含まれており、287 の固有なアリルのリファレンスおよび合計 959 のリファレンスアリルが含まれています (表 2)。

表 1 : CWD 2.0.0G グループのカバレッジ

Table with 5 columns: 遺伝子座, グループ数, カバー対象, 比率, 対象外のグループ. Rows include A, B, C, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1, and 合計.

表 2 : 遺伝子座別リファレンスアレル数

Table with 3 columns: 遺伝子座, 固有のリファレンスアレル, リファレンスアレル合計. Rows include A, B, C, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1, and 合計.

本試験用に選定した IHWG パネルの 72 サンプルには、固有の HLA リファレンスアレル 287、リファレンスを有するアレル合計 959 がありません。

本製品の使用目的は研究に限られます。診断での使用はできません。

手法

ライブラリー調製

IHWG から得た DNA は、TruSight HLA v2 Sequencing Panel Library Preparation Kit を用いてシーケンス用に調製しました (図 1)。サンプル (HLA-A、-B、-C、-DRB1/3/4/5、-DQA1、-DQB1、-DPA1、および -DPB1) 毎にそれぞれ PCR 反応 (17.5 分のサイクルを 30 サイクル、合計約 9 時間) を行い、ロングレンジ PCR を実施しました (ステップ 1)。

このノーマライゼーションステップでは、各アンプリコンを一括でノーマライズすることができ、少数の数量化されたアンプリコンの平均に基づいたノーマライゼーションとは異なります。これが重要な理由は、増幅がサンプル毎、アレル毎に異なるためです。そのため、各反応をノーマライズすることにより、ライブラリー調製の DNA インプット量を均一にすることができ、十分に表現されないアレルやサンプルの漏れを防ぐことができます。

ノーマライズされたアンプリコンにイルミナ Nextera® テクノロジーを用いたタグメンテーション反応を行い、HLA シーケンス用に特異的に修飾し、各アンプリコンのフラグメント化とアダプターのタグ付けを同時に実施しました (ステップ 4)。次に、タグ付きの DNA をサンプル毎に単一ウェルにプールします (ステップ 5)。限定した PCR サイクル数により、タグ付き DNA を増幅し、シーケンスインデックスを付加しました (ステップ 6)。

同時に 12 サンプルを調製、保管した後、シーケンス前にプールしました。

Table with 4 columns: ステップ, 総時間, ハンズオン時間, スケジュール. Rows 1-8 describe the library preparation steps from HLA amplicon generation to PCR cleanup.

図 1 : TruSight HLA v2 Sequencing Panel ライブラリー調製プロトコール 通常、一日の終わりに TruSight HLA v2 ライブラリー調製を始めることで、サンプルの受け取り、アクセッション、および DNA 抽出のために十分な時間を確保することができます。DNA はサーマルサイクラーにロードし、オーバーナイトで増幅します。1 回の 12 サンプルのランには、2 日目のライブラリー調製が約 5 時間かかるため、シーケンサーには午後の早いうちにロードします。DNA からライブラリー調製、さらにはシーケンサーまでの時間は合計で約 16 時間で、そのうちのハンズオン時間は約 4 時間です。

シーケンス

ライブラリーは、MiSeq および MiniSeq システムでそれぞれランを行いました。両システムとも、150 bp × 2 のペアエンドの試薬を用いました。MiSeq システムでは、MiSeq Reagent Kit v2 Micro (300 サイクル) を用いて、24 サンプルをプールして、MiniSeq システムでは、MiniSeq High Output Reagent Kit (300 サイクル) で、72 サンプルすべてをプールしてランしました。MiSeq システムではラン 1 回あたり平均 19 時間、MiniSeq システムランではラン 1 回あたり平均 24 時間かかりました (表 3)。

表 3 : TruSight HLA v2 シーケンスパネルのための MiSeq および MiniSeq のシステム仕様

MiSeq System (4 色ケミストリー)				
試薬キット	最大クラスター	150 × 2 Output	150 × 2 ラン時間	最大サンプル数
v2 Nano	1M	300 Mb	17 時間	6
v2 Micro	4M	1.2 Gb	19 時間	24
V2 Standard	15M	4.5 Gb	24 時間	96
V3 Standard	25M	7.5 Gb	39 時間	144
MiniSeq System (2 色ケミストリー)				
試薬キット	最大クラスター	150 × 2 Output	150 × 2 ラン時間	最大サンプル数
中出力	8M	2.4 Gb	17 時間	48
高出力	25M	7.5 Gb	24 時間	144

データ解析

MiSeq および MiniSeq システムからの fastq.gz 圧縮ファイル (1 サンプルあたり 2 ファイル、リード 1 およびリード 2) 出力は、TruSight HLA Assign 2.0 (v2.0.0.920) ソフトウェアに直接インポートしました。IMGT/HLA バージョン 3.23 および CWD バージョン 2.0.0 ソフトウェアを用いて、結果の解析およびタイピングを行いました。Assign 2.0 ソフトウェアを使って、各リードのコンセンサスリファレンスシーケンスへのアライメントを行いました (HLA-DQB1 用の 2 つコンセンサスリファレンスシーケンスおよび HLA-DRB1 用の 4 つのコンセンサスリファレンスシーケンス)。

その後、このソフトウェアは個々のリードの下でペアリード内の塩基位置を用いて、ヘテロ接合体位置をすべてフェージングしました。多くの場合、直接フェージングできるように複数のリードペアを置く必要があります。この方法により、最長のシーケンス断片 (通常 1000~1300 塩基) と同じぐらい離れたヘテロ接合体位置をフェージングすることができます。こうしてフェーズされたアライメントにより、遺伝子座あたりの平均カバレッジ深度が 100 を超えるような各遺伝子座のコンセンサスシーケンスを生成することができます。推奨のサンプルマルチプレックス法では、平均カバレッジ深度は通常遺伝子座あたり 200x を上回ります。こうしたコンセンサスシーケンスが Assign 2.0 ソフトウェア内に構築された IMGT/HLA データベースと比較され、各遺伝子座の HLA タイプが生成されました。

結果 : MiSeq システム

リファレンスタイピングとの一致の評価

MiSeq システムを使用した 72 の IHWG サンプルのシーケンスの結果、1294 のアリルのコンセンサスシーケンスが得られ、それらのうちの 959 には比較用のリファレンスがありました。907 のアリル (94.58%) がリファレンスタイピングと一致しました。リファレンス配列と一致しなかった 52 のタイピング結果は、3 つのカテゴリに分類しました : 42 (リファレンスアリル合計の 4.38%) はリファレンスタイピングに変更が必要とされる不正確または不十分なリファレンスタイピングを有しており (表 4)、5 (リファレンスアリルの合計の 0.52%) は新規のエクソン変異を有しており、5 (リファレンスアリルの合計の 0.52%) にはタイプが割り当てられず、マニュアル操作が必要でした。

結果が一致したリファレンスタイピングを有するアリル、リファレンスタイピングが不正確と思われるアリル、および新規アリルを、TruSight HLA v2 シーケンスパネルの精度を算出するために用いました (図 2)。5 つのアリルは不正確であると考えられ、一致させるために合計 9 つの塩基の編集が必要でした。これら 5 つのアリルは、不正なタイピングに割り当てられたのではなく、タイピングされませんでした。

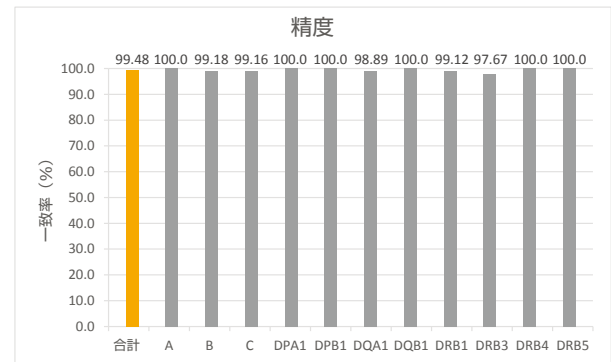


図 2 : MiSeq システムにおける TruSight HLA v2 シーケンスパネルの精度
精度はリファレンスである 959 のアリルを用いて算出しました。TruSight HLA v2 の結果が正確であると判断したのは、結果が完全に一致した場合 (907 アリル、94.58%)、結果がリファレンスの最新版に一致した場合 (42 アリル、4.38%)、およびアリルに新規変異が含まれていた場合 (5 アリル、0.52%) でした。これにより正確にコールされたアリルは合計 954 (99.48%) となりました。

HLA タイピングのアンビギュイティーの解消

1292 のシーケンスアリルには 41 のアンビギュイティーがありました (図 5)。これらのデータには 3 種類のアンビギュイティーがあります (表 5)。

アンプリコンのアンビギュイティー：こうしたアンビギュイティーはアンプリコン外で解消されており、DPB1*13:01:01/107:01 (13:01:01Gグループ)、DRB1*12:01:01/12:10 (12:01:01Gグループ) および DRB1*08:01:01/03 などがあります。これらのアンビギュイティー 3 つはすべて、それぞれの遺伝子座のエクソン 1 および DPB1 のエクソン 1 で解消されており、DRB1 は TruSight HLA v2 の対象外です。アンプリコンのアンビギュイティーは、41 のアンビギュイティーのうちの 8 つ (19.51%) を占めました。アンプリコンのアンビギュイティーは青色で強調表示されています。

条件付きのアンビギュイティー：このアンビギュイティーは、アリルの組み合わせに基づいて表示され、通常はアリル間のホモロジーが、フェージング用のヘテロ接合体塩基位置の大きなギャップになるため発生します。1 Kb 以上のギャップにより、フェーズが失われ、フェーズのアンビギュイティーとなります。これは、イントロン 2 が 4500 塩基長の DPB1 で最も多く発生し、ある組み合わせでは (例: DPB1*04:01:01 が DPB1*04:02:01 とペアになっている場合)、4 Kb 以上のギャップが見られます。こうした条件付きのアンビギュイティーはこのようなアリルが互いに結び付けられる場合に常に表示されますが、このアリルが異なる組み合わせの場合には必ずしも発生しません。条件付きのアンビギュイティーが 41 のアンビギュイティーのうちの 28 (68.29%) に生じており、13:01:01/107:01 を除いた DQB1 アンビギュイティーおよび DPB1 のアンビギュイティーのすべての原因となっています。条件付きのアンビギュイティーは緑色で強調表示されます。

1. **フェーズのアンビギュイティー：**このアンビギュイティーは稀に発生し、シーケンスランに特異的です。言い換えれば、同じサンプルとアリルの組み合わせでは、通常アンビギュイティーのないシーケンスが行えますが、時として、フェーズを解消するための適切なリード構造を持たない場合があります。3 つの遺伝子座 (41 アリル中 5 アリル、12.20%) でこうしたランが発生しており、ピンク色で強調表示されています。

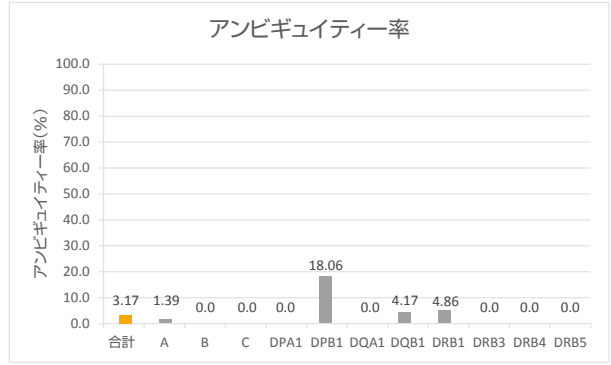


図 5： MiSeq システムでの TruSight HLA v2 シーケンスパネルのアンビギュイティー率。アンビギュイティー率は 1292 のシーケンスアリルを用いて算出し、これらのデータはリファレンスとは無関係に算出しました。アンビギュイティーを伴うアリルが合計 41 ありました。

表 5： MiSeq システムにおける TruSight HLA v2 シーケンスパネルのアンビギュイティー

サンプル ID	遺伝子座	アンビギュイティー
IHW01018	DRB1	08:01:01/03
IHW01040	DPB1	03:01:01/124:01
IHW01040	DRB1	04:01:01/350:01
IHW01040	DRB1	08:01:01/03
IHW01093	DPB1	04:01:01/105:01
IHW01093	DPB1	04:02:01/126:01
IHW01137	DPB1	04:01:01/105:01
IHW01137	DPB1	04:02:01/126:01
IHW01141	DPB1	04:01:01/105:01
IHW01141	DPB1	04:02:01/126:01
IHW01141	DRB1	12:01:01/12:10
IHW01174	DPB1	03:01:01/124:01
IHW01174	DPB1	04:01:01/350:01
IHW09044	DPB1	02:01:02/105:01
IHW09044	DPB1	04:02:01/416:01
IHW09045	DPB1	02:01:02/105:01
IHW09045	DPB1	04:02:01/416:01
IHW09045	DRB1	12:01:01/12:10
IHW09056	DPB1	13:01:01/107:01
IHW09013	DPB1	02:01:02/106:01
IHW09013	DPB1	19:01/414:01
IHW09114	DRB1	13:01:01/107:01
IHW09267	DQB1	06:03:01/06:39
IHW09267	DQB1	06:04:01/06:41
IHW09273	DRB1	12:01:01/12:10
IHW09267	DQB1	06:03:01/06:39
IHW09267	DQB1	06:04:01/06:41
IHW09273	DRB1	12:01:01/12:10
IHW09366	DQB1	06:02:01/06:39
IHW09366	DQB1	06:04:01/06:84
IHW09378	DQB1	06:03:01/06:41
IHW09378	DQB1	06:09:01/06:88
IHW09388	DPB1	04:01:01/105:01
IHW09388	DPB1	04:02:01/126:01
IHW09398	DRB1	08:04:01/08:20
IHW09398	DRB1	13:03:01/08:40
IHW09417	DPB1	04:01:01/105:01
IHW09417	DPB1	04:02:01/126:01
IHW09501	DPB1	04:04:01/133:01
IHW09501	DPB1	13:01:01/107:01/350:01
IHW09502	A	02:05:01/02:22:01
IHW09502	A	02:01:01/02:14
IHW09502	DPB1	03:01:01/124:01
IHW09502	DPB1	04:01:01/350:01

結果 : MiniSeq システム

リファレンスタイピングとの一致の評価

MiniSeq システムでの 72 の IHWG サンプルのシーケンスの結果、1292 アリルでコンセンサスシーケンスとなり、そのうち 959 には比較用のリファレンスがありました。906 (94.47%) はリファレンスタイピングと一致しました。リファレンス配列と一致しなかった 52 のタイピング結果は、3 つのカテゴリに分類しました: 42 (リファレンスアリル合計の 4.38%) はリファレンスデータベースの更新が必要とされる不正確または不十分なリファレンスタイピングを有しており (表 4)、5 (リファレンスアリルの合計の 0.52%) は新規エクソン変異を有しており、6 (リファレンスアリルの合計の 0.63%) では、マニュアル操作が必要でした。TruSight HLA v2 シーケンスパネルのタイピングに基づいて強調表示されたリファレンスの最新版 (表 4) に変化はありません。これは MiSeq システムによるシーケンスからのリファレンスタイピングが不正確または不完全なものがすべて、MiniSeq システムからのデータと同一であるためです。

結果が一致したリファレンスを有するアリル、リファレンスが不正確と思われるアリル、および新規アリルはすべて、TruSight HLA v2 シーケンスパネルの精度の算出に用いました (図 6)。6 つのアリルが、不正確であると考えられました。MiniSeq システムでの TruSight HLA v2 シーケンスパネルによるタイピングは、MiSeq システムの場合と比較して、類似した精度となりました (図 6)。

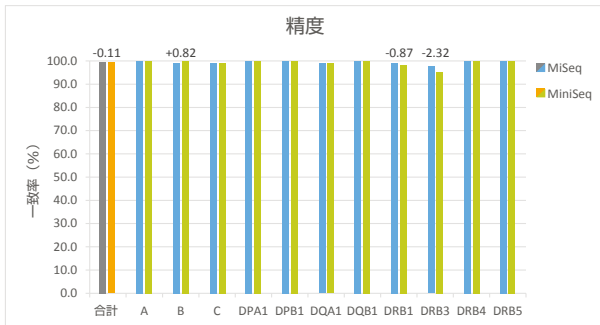


図 6 : MiniSeq システムにおける TruSight HLA v2 シーケンスパネルの精度
精度はリファレンスを有するアリル 959 を用いて算出しました。TruSight HLA v2 シーケンスパネルが正確であると判断されたのは、結果が完全に一致した場合 (906 アリル、94.47%)、結果がリファレンスの最新版に一致した場合 (42 アリル、4.38%)、およびアリルに新規変異があった場合 (5 アリル、0.52%) で、合計で 953 のアリルが (99.37%) が正確にコールされました。したがって、不正確と考えられるアリルが 6 つありました。MiniSeq システム (橙色 / 緑色のバー) および MiSeq システム (灰色 / 青色のバー) 間の総精度および各アリルの精度の差異が示されます。

MiniSeq システムでの HLA タイピングのアンビギュイティー

1292 のシーケンスアリルには 42 のアンビギュイティーがありました (図 7)。MiniSeq システムでの TruSight HLA v2 シーケンスパネルによるアンビギュイティーは、MiSeq システムの場合と概ね一致しています (表 5)。MiniSeq と MiSeq のシステム間で異なる遺伝子座が 8 つありました (表 6)。

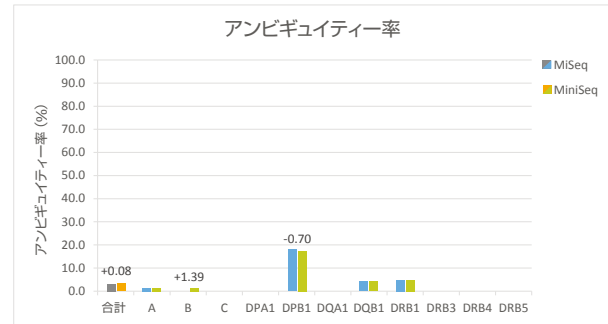


図 7 : MiniSeq システムでの TruSight HLA v2 シーケンスパネルのアンビギュイティー率
アンビギュイティー率は 1292 のシーケンスアリルを用いて算出し、これらのデータはリファレンスと無関係に算出しました。アンビギュイティーを伴うアリルが合計 42 ありました。MiniSeq システム (橙色 / 緑色のバー) および MiSeq システム (灰色 / 青色のバー) 間の総アンビギュイティーおよび各アリルのアンビギュイティーの差異を示します。

結論

TruSight HLA v2 シーケンスパネルは高解像度の HLA タイピングのための迅速で正確な手法です。この手法により、ラボでは HLA シーケンスを生成することができ、サンプルの入手から 48 時間未満で対応するタイピングが特定できます。タイピングの結果は、高精度（99.47%）かつ低アンビギュイティー率（3.17%）で、1 サンプルあたり最大 11 遺伝子座に対して提供されます。このレベルの性能が配列のマニュアル編集なしで得られます。さらに、TruSight HLA v2 ライブラリーの性能は、MiSeq システムと MiniSeq システムとの並列で評価され、4 色および 2 色ケミストリーで比較しました。これらのシステム間に有意差はなく、MiSeq および MiniSeq システムはいずれも高精度かつ低アンビギュイティー率で性能を発揮します。

追加リソース

HLA Sequencing of International Histocompatibility Working Group (IHWG) Reference Samples with TruSight HLA v2 Sequencing Panel Supplementary Tables（オンラインで利用可能）

TruSight HLA Assign 2.0 72-Sample Panel on MiSeq System Project File

TruSight HLA Assign 2.0 72-Sample Panel on MiniSeq System Project File

TruSight HLA v2 Sequencing Panel Reference Guide

TruSight HLA Assign 2.0 Reference Guide

詳細について

TruSight HLA v2 シーケンスパネルおよび TruSight HLA Assign 2.0 ソフトウェアについて詳しくは、<http://jp.illumina.com/clinical/hla-sequencing.html?scid=2014247PR1> をご参照ください。

参考文献

- Robinson J, Halliwell JA, Hayhurst JH, et al. The IPD and IMGT/HLA database: allele variant databases. *Nucleic Acids Res.* 2015;43:D423-431.
- Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF, et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. *Tissue Antigens.* 2010;75:291-455.
- Cough SCL and Simmonds MJ. The HLA region and Autoimmune Disease: Associations and Mechanisms of Action. *Curr Genomics.* 2007;8:453-465.
- Woodrow JC and Ilchysyn A. HLA antigens in psoriasis and psoriatic arthritis. *J Med Genetics.* 1985;22:492-495.
- Fogdell A, Hillert J, Sachs C, and Olerup O. The multiple sclerosis- and narcolepsy-associated HLA class II haplotype includes the DRB5*0101 allele. *Tissue Antigens.* 1995;46:333-336.
- Woodrow JC and Ilchysyn A. HLA antigens in psoriasis and psoriatic arthritis. *J Med Genetics.* 1985;22:492-495.
- Carrington M, Nelson GW, Martin MP, et al. HLA and HIV-1: Heterozygote Advantage and B*35-Cw*04 Disadvantage. *Sci.* 1999;283:1748-1752.
- Mallal S, Nolan D, Witt C, et al. Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet.* 2002;359:727-732.
- Ferrell PB and McLeod HL. Carbamazepine, HLA-B*1502 and risk of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: US FDA recommendations. *Pharmacogenomics.* 2008;9:1543-1546.
- Daly AK, Donaldson PT, Bhatnagar P, et al. HLA-B*5701 genotype is a major determinant of drug-induced liver injury due to flucloxacillin. *Nat Genetics.* 2009;41:816-819.
- Alfirevic A and Pirmohamed M. Predictive Genetic Testing for Drug-Induced Liver Injury: Considerations of Clinical Utility. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;92:376-380.
- Romano A, De Santis A, Romito A, et al. Delayed Hypersensitivity to Aminopenicillins Is Related to Major Histocompatibility Complex Genes. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1998;80:433-437.
- Lonjou C, Borot N, Sekula P, et al. A European study of HLA-B in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis related to five high-risk drugs. *Pharmacogenet and Genomics.* 2008;18:99-107.
- Dekker JW, Nizankowska E, Schmitz-Schumann M, et al. Aspirin-induced asthma and HLA-DRB1 and HLA-DPB1 genotypes. *Clin Exp Allergy.* 1997;27:574-577.
- International Histocompatibility Working Group Website, Reference Panels. <http://ihwg.org/reference/index.html>. Accessed April 18, 2016.
- Mack SJ, Cano P, Hollenbach JA, et al. Common and well-documented HLA alleles: 2012 update to the CWD catalogue. *Tissue Antigens.* 2013;81:194-203.
- Wittig M, Anmarkrud JA, Kassens JC, et al. Development of a high-resolution NGS-based HLA-typing and analysis pipeline. *Nucleic Acids Res.* 2015;43:e70.

イルミナ株式会社

〒108-0014 東京都港区芝 5-36-7 三田ベルジュビル 22 階

Tel (03) 4578-2800 Fax (03) 4578-2810

jp.illumina.com

 www.facebook.com/illuminakk

代理店

本製品の使用目的は研究に限定されます。 販売条件：jp.illumina.com/tc

© 2016 Illumina, Inc. All rights reserved.

Illumina, BaseSpace, BeadArray, BeadXpress, cBot, CSPro, DASL, Design Studio, GAllx, Genetic Energy, Genome Analyzer, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, Infinium, iSelect, MiSeq, Nextera, NextSeq, NuPCR, SeqMonitor, Solexa, TruSeq, TruSight, VeraCode, the pumpkin orange color, the Genetic Energy streaming bases design は、Illumina, Inc. の商標または登録商標です。その他の会社名や商品名は、各社の商標または登録商標です。予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。

Pub. No.070-2016-J012 09SEP2016



AGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATT
TCAACGTACCGTAACGAAACGTATCAATTGAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATT
CGAAGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATT
AAAGCTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATT
AGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATT
GATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATT
CGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATT