

# AlloSeq Assign

## Instrucciones de uso

IFU094-ES

Número de versión del software: 1.0.5

Fecha de edición: Octubre de 2023



ASA1.0



CareDx Pty Ltd



CareDx Pty Ltd  
20 Collie Street  
Fremantle, WA 6160  
Australia



Qarad BV  
Cipalstraat 3  
2440 Geel  
Bélgica



Qarad Suisse S.A.  
World Trade Center, Avenue Gratta-Paille 2  
1018 Lausana  
Suiza  
CHRN: CHRN-AR-20002058

# Índice

<b>CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>3</b>
CONSULTE IFU095_ALLOSEQ Tx IFU CE IVD PARA OBTENER MÁS DETALLES SOBRE LOS KITS DE REACTIVOS ALLOSEQ Tx ASOCIADOS. ....	3
USO PREVISTO .....	3
BASES DE DATOS DE REFERENCIA .....	3
CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO .....	3
LIMITACIONES.....	4
<b>CAPÍTULO 2: REQUISITOS INFORMÁTICOS Y COMPATIBILIDAD</b> .....	<b>6</b>
SISTEMA OPERATIVO Y SOFTWARE INFORMÁTICO .....	6
RESOLUCIÓN DE PANTALLA .....	6
FORMATOS DE ARCHIVO DE DATOS COMPATIBLES .....	6
COMPATIBILIDAD RETROACTIVA CON CONFIGURACIONES ANTERIORES.....	6
<b>CAPÍTULO 3: INSTALACIÓN</b> .....	<b>6</b>
<b>CAPÍTULO 4: INICIO</b> .....	<b>7</b>
<b>CAPÍTULO 5: NAVEGACIÓN POR LA INTERFAZ</b> .....	<b>9</b>
MENÚ ARCHIVO .....	9
PESTAÑA INICIO .....	9
PANEL DE MUESTRAS .....	12
ASIGNAR REFERENCIAS .....	12
MUESTRAS Y LOCUS .....	12
JERARQUÍA DE REVISIÓN .....	12
OPCIONES DEL PANEL DE MUESTRAS.....	13
NAVEGADOR .....	13
NAVEGACIÓN BÁSICA .....	13
NAVEGACIÓN AVANZADA .....	14
SELECCIÓN DE BASE .....	14
LISTA DE DISCREPANCIAS.....	14
DETALLES DE INDEL.....	14
POSICIÓN DE NUCLEÓTIDOS POR REGIONES O GRUPOS .....	15
VISTAS .....	16
RESUMEN .....	16
PANEL RESUMEN DE TIPIFICACIÓN .....	16
MOTIVOS DE LA SECUENCIA .....	17
PANEL RESUMEN DE CALIDAD .....	17
PANEL RESUMEN DE COBERTURA.....	17
RESUMEN DE GENES.....	18
VISTA COBERTURA.....	19
GRÁFICO DE CONFIANZA, ESTRUCTURA DE LOCUS Y VISUALIZACIÓN DEL BLOQUE DE FASE.....	19
PANEL SECUENCIAS.....	20
SECCIÓN SECUENCIAS.....	20
VISTA LECTURAS .....	28
VISTA ALINEACIÓN Y VISTA REFERENCIA .....	29
<b>CAPÍTULO 6: GENERACIÓN DE INFORMES</b> .....	<b>30</b>
TIPOS DE INFORMES.....	30
<b>CAPÍTULO 7: ALLOSEQ ASSIGN LAUNCHER</b> .....	<b>36</b>
<b>CAPÍTULO 8: GLOSARIO</b> .....	<b>37</b>
<b>CAPÍTULO 9: ASISTENCIA Y DATOS DE CONTACTO</b> .....	<b>40</b>
<b>CAPÍTULO 10: HISTORIAL DE REVISIONES</b> .....	<b>41</b>

# Capítulo 1: Introducción

El software AlloSeq Assign (a partir de ahora descrito como "Assign") y AlloSeq Tx, un kit de secuenciación NGS de captura híbrida dirigida, constituyen en conjunto un sistema para el genotipado de genes que son importantes en la compatibilidad de los trasplantes. Estos genes incluyen los genes de la región MHC. Assign importa los datos de la secuencia desde los archivos fastq.gz generados por un instrumento de secuenciación de Illumina, crea una secuencia de consenso por locus para una muestra, permite la revisión y la edición de la llamada de la base y compara la secuencia de consenso con una biblioteca de secuencias de alelos de referencia. El software enumera los alelos mejor emparejados para ayudar al usuario a asignar un genotipo.

Assign tiene las siguientes características y funcionalidades:

- Importa secuencias de múltiples muestras y múltiples locus por muestra en una interfaz fácil de usar
- Permite visualizar los identificadores de las muestras, los encabezados de los locus, las lecturas de la secuencia, las llamadas de la base y las asignaciones de los alelos
- Un registro de auditoría de análisis completo
- Permite el análisis de los datos de los exones solamente o de los exones + no codificantes
- Genera informes que incluyen los alelos CWD, los grupos G y los grupos P.
- Datos de secuencias de fin de fase emparejado de bibliotecas AlloSeq secuenciadas en el sistema de secuenciación de Illumina

Consulte IFU095\_AlloSeq Tx IFU CE IVD para obtener más detalles sobre los kits de reactivos AlloSeq Tx asociados.

## Uso previsto

El uso previsto del software AlloSeq Assign es ayudar al usuario a asignar un genotipo tras el enriquecimiento selectivo y la secuenciación utilizando los kits de reactivos AlloSeq Tx. El software AlloSeq Assign importa los datos de la secuencia, realiza la alineación de la secuencia, permite la edición de la secuencia y luego compara una secuencia de consenso con una biblioteca de secuencias de alelos.

El producto está diseñado para ser utilizado por laboratorios debidamente regulados.

El software es para uso profesional únicamente y no debe utilizarse como única base para tomar decisiones clínicas. Los kits AlloSeq Tx y el software no se utilizan para el diagnóstico de enfermedades.

## Bases de datos de referencia

Assign compara una secuencia de la muestra con una biblioteca de secuencias de las bases de datos de referencia. Assign utiliza las bases de datos de IMGT/HLA para ayudar al usuario a asignar genotipos a las secuencias.

### Base de datos IMGT/HLA

La base de datos IMGT/HLA incluye secuencias aprobadas por el Comité de Nomenclatura de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para los factores del sistema HLA. La base de datos IMGT/HLA forma parte del proyecto internacional ImMunoGeneTics (IMGT) ([www.imgt.org](http://www.imgt.org)).

### CWD/CIWD

La base de datos CWD/CIWD recoge los alelos comunes, intermedios y bien documentados (CIWD). Consulte la sección Anotaciones para obtener más información.

## Características de rendimiento

Se pueden analizar 24 muestras en menos de 30 minutos utilizando un ordenador con unos requisitos informáticos mínimos. Consulte la siguiente tabla para conocer el rendimiento del tiempo de importación para diferentes

especificaciones de PC. Nota: Estos tiempos se proporcionan únicamente como una guía y pueden variar según la calidad de la muestra y otros procesos que se ejecuten en el ordenador.

Especificaciones del PC	Ensayo	N.º de muestras	Tiempo medio de importación
64 GB de RAM, procesador i7, 3,4 GHz	AlloSeq Tx	96	16 minutos
64 GB de RAM, procesador i7, 3,4 GHz	AlloSeq Tx	24	7 minutos
32 GB DE RAM	AlloSeq Tx	96	40 minutos
32 GB DE RAM	AlloSeq Tx	24	7 minutos
16 GB DE RAM	AlloSeq Tx	96	40 minutos

## Limitaciones

### Secuenciación con tecnología de secuenciación de lectura corta de secuenciadores de Illumina

AlloSeq Tx se ha optimizado para los secuenciadores de Illumina (ver IFU). La secuenciación de Illumina es una plataforma de secuenciación de "lectura corta" que secuencia 150 pb de ambos extremos de un fragmento de ADN que suele tener 500 pb de longitud. Para desfasar dos polimorfismos, la distancia entre estos polimorfismos debe estar dentro de la longitud de los fragmentos de ADN que se secuencian. Los polimorfismos fuera de esta región no serán desfasados. La incapacidad de desfasar aumenta el riesgo de un informe que incluya una ambigüedad heterocigótica. Un informe que enumera solo un genotipo cuando la secuencia genética no ha sido completamente desfasada refleja el número limitado de alelos en la biblioteca de referencia. Un par de alelos alternativos, aún por describir, puede tener la misma secuencia de consenso y, de hecho, puede ser la respuesta correcta.

### Limitaciones de los ensayos de captura híbridos para la tipificación de HLA/comparación genética de MHC

El MHC ha evolucionado tras la replicación y la diversificación de secuencias genéticas que incluyen HLA y otras secuencias. En consecuencia, el MHC contiene numerosos genes homólogos. Las sondas biotiniladas capturan fragmentos de secuencia que son hasta un 20 % diferentes de los locus objetivo, por lo que se capturan muchas secuencias no específicas. Assign filtra estas lecturas y las asigna al gen correcto. Sin embargo, en algunos casos, las lecturas se asignan al gen equivocado. Nuestra experiencia es que este problema es poco frecuente y, cuando ocurre en tal medida que la asignación incorrecta de las lecturas afecta al análisis, el informe de comparación no puede encontrar una coincidencia perfecta entre la secuencia de consenso de muestra y la biblioteca de referencia.

Tenga en cuenta que la asignación incorrecta de lecturas puede ser un síntoma de una especificidad reducida del ensayo causada por condiciones de ensayo subóptimas. Póngase en contacto con el equipo de soporte técnico si sospecha que existe este problema.

Un genetista de trasplante comprenderá que, aunque se han realizado pruebas exhaustivas, la naturaleza increíblemente diversa del MHC significa que no se pueden probar todos los escenarios y, como en todos los ensayos de tipificación de HLA, los artefactos específicos de la muestra pueden complicar el análisis y la asignación de un tipo de HLA.

### Limitaciones de la base de datos IMGT/HLA

Como se ha descrito anteriormente, Assign compara la secuencia de muestra con las secuencias de alelos de la base de datos IMGT/HLA y enumera los pares de alelos que mejor coinciden. La base de datos IMGT/HLA se actualiza con secuencias de alelos recién descritos cada tres meses, y los alelos mejor emparejados son relevantes solamente para la base de datos utilizada en ese momento. CareDx publicará archivos de referencia de Assign actualizados cada seis meses.

Se requiere que un experto en el campo de la genética de trasplantes/tipificación de HLA interprete estos datos para proporcionar el tipo de HLA más probable. Un experto comprenderá la limitación de la base de datos de secuencias de referencia.

No todos los alelos HLA reconocidos se han secuenciado en la misma medida. Todos los genes clásicos de HLA clase I han sido secuenciados en los exones 2+3, algunos han sido secuenciados en el exón 2+3+4, algunos tienen una secuencia de codificación completa y otros tienen una secuencia genética completa (según la definición del comité de nomenclatura de la OMS). Por lo tanto, un día puede cambiar el nombre de un tipo de HLA asignado a partir de una secuencia de referencia limitada, ya que las variantes se identifican en regiones que no se secuenciaron originalmente. Un ejemplo clásico es DRB1\*14:01. DRB1\*14:01 se definió por secuencia en el exón 2 del HLA-DRB1. Los investigadores secuenciaron el exón 2+3 y notaron que un polimorfismo exón 3 dividió DRB1\*14:01 en DRB1\*14:01 y DRB1\*14:54. Se determinó que el alelo recién nombrado DRB1\*14:54 era el más común de los 2 alelos en todas las poblaciones donde se identificó DRB1\*14:01. Por lo tanto, muchas muestras originalmente tipificadas como DRB1\*14:01 de la secuencia del exón 2 ahora pueden ser reconocidas como mal tipificadas. Es posible que los donantes y los pacientes que se consideran emparejados para DRB1\*14:01 sean de hecho no emparejados. Se desconocen las implicaciones de esta situación.

Lo más cercano que podemos llegar a un tipo de HLA preciso es informar de 2 alelos x que están completamente desfasados en todo el gen y que los alelos de referencia también se secuencien en todo el gen. Sin embargo, esto sigue estando restringido por los límites arbitrarios de los genes definidos por el comité de nomenclatura de la OMS y la falta de una definición de dónde comienza y termina un gen. Todavía es posible que existan variantes más allá de los límites.

### Tipificación en cuatro campos de genes de clase 2

Nota: La cobertura de intrones es incompleta para DPA1, DPB1, DQA1, DQB1, DRB1, DRB3, DRB4 y DRB5. La información de alelos de estos genes con una resolución de cuatro campos puede producir resultados que no concuerden con los genotipos derivados de la secuenciación completa del gen. Además, los alelos que no tienen una secuencia intrónica publicada en la base de datos IMGT pueden ser promovidos en la tabla de resultados, mientras que los alelos similares que han sido completamente caracterizados se enumeran más abajo en la tabla.

### Limitaciones generales

Assign se valida para su uso con datos de secuencia generados por los productos de Tx AlloSeq secuenciados en instrumentos validados. No se debe utilizar Assign para analizar los datos generados de ninguna otra forma. Los datos de mala calidad, incluidas las secuencias de consenso con ruido de fondo o una profundidad de cobertura de secuencia baja, pueden dar lugar a llamadas de la base de consenso incorrectas y a una tipificación incorrecta. Assign incluye una interfaz visual sencilla para ver la calidad de lectura y la profundidad de la cobertura de secuenciación, lo que permite identificar rápidamente la mala calidad de lectura y la baja profundidad de la cobertura de secuencia.

Assign alinea las lecturas de secuencia de un archivo fastq de ejemplo con la secuencia de consenso construida a partir de la base de datos IMGT para cada locus en cuestión. Para facilitar una alineación precisa, los alelos de los locus DRB1 se han dividido en diferentes grupos según las similitudes intrónicas (para obtener más información, consulte las secciones *Secuencia de consenso de locus* y *Panel de resumen de cobertura*). Por lo tanto, una muestra puede tener alelos DRB1 pertenecientes a dos grupos diferentes de DRB1 o puede tener dos alelos pertenecientes al mismo grupo de DRB1 o puede ser homocigota teniendo así dos copias del mismo alelo. Del mismo modo, el hecho de que la muestra contenga alelos para HLA-DRB3, -DRB4 o -DRB5 dependerá del haplotipo que lleve la muestra y, como tal, la muestra no puede contener alelos HLA-DRB3/DRB4/DRB5 en absoluto, puede tener un alelo para un locus, dos alelos para un solo locus o dos alelos para distintos locus. En los casos en los que haya un solo alelo para un locus, si la casilla de verificación Duplicar homocigotos está seleccionada en las opciones de informe, el software informará de dos copias del mismo alelo. Por lo tanto, se recomienda tener precaución al interpretar el informe de genotipo como un tipo de HLA.

# Capítulo 2: Requisitos informáticos y compatibilidad

Para garantizar un rendimiento óptimo, utilice los siguientes requisitos informáticos mínimos:

- Procesador Intel de cuatro núcleos de 64 bits a 1 GHz o superior, o equivalente
- 16 GB de RAM como mínimo
- 16 GB de espacio disponible en el disco duro

Los archivos de datos de secuencia se pueden almacenar localmente o en una ubicación de red. En función del rendimiento de la red, el software puede experimentar un retraso significativo en el procesamiento mientras se importan archivos desde una ubicación de red.

## Sistema operativo y software informático

Assign se ejecuta en Windows y está validado para los sistemas operativos Windows 10 o Windows Server 2012. Assign no es compatible con las siguientes versiones de Windows: Embedded (incluido Windows en el sistema de secuenciación de Illumina), RT, Starter, Mobile y Phone, o cualquier hardware que no admita un teclado, ratón y monitor estándar. Se requiere Microsoft Excel 97 o posterior para generar informes de Excel desde Assign.

## Resolución de pantalla

La resolución de pantalla recomendada es de 1920 x 1080 píxeles. Utilice varios monitores o aumente la resolución de pantalla en el monitor para ampliar el número de campos visibles para cada locus.

## Formatos de archivo de datos compatibles

Assign es compatible con el formato de archivo FASTQ, ya sea comprimido (\*.fastq.gz) o descomprimido (\*.fastq). El sistema de secuenciación de Illumina genera estos formatos de archivo. Para obtener más información sobre el formato de archivo FASTQ, por ejemplo, consulte la Guía de referencia del flujo de trabajo MiSeq Reporter Generate FASTQ (documento n.º 15042322).

## Compatibilidad retroactiva con configuraciones anteriores

El instalador de AlloSeq Assign v1.0.5 incluye el archivo de configuración Tx17.1 v1.0.2, Tx17.1 v1.0.3 y 1.0.4 para permitir a los usuarios abrir proyectos guardados con la configuración AlloSeq Assign. Debido a las diferencias en la forma en que el algoritmo maneja las indeles entre sesiones, al volver a abrir un proyecto analizado previamente con configuraciones de AlloSeq Assign anteriores, existe la posibilidad de que algunas inserciones se consideren discrepancias. Esto se puede corregir haciendo clic con el botón derecho del ratón en el locus afectado y seleccionando la opción para reanalizar.

Si un usuario selecciona la configuración Tx17.1 v1.0.1 o importa un proyecto analizado previamente con la configuración Tx17.1 v1.0.1 a AlloSeq Assign v1.0.5 y selecciona 'Por defecto' en la lista desplegable de campos, se mostrarán capas sin codificación para todos los locus.

# Capítulo 3: Instalación

CareDx recomienda el acceso del administrador al equipo antes de instalar Assign. Asegúrese de que el equipo está conectado a Internet para facilitar las actualizaciones del sistema con nuevas bibliotecas y otros archivos cuando sea necesario.

1. Haga doble clic en el archivo de instalación (\*.msi) y siga las instrucciones para instalar el software.

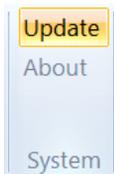
2. Lea el Contrato de licencia.
3. Si acepta los términos del Contrato de licencia, haga clic en **Next** para continuar.
4. Seleccione la ubicación de la carpeta de instalación. CareDx recomienda que acepte la ubicación por defecto. Haga clic en **Next**.
5. Seleccione las opciones de acceso directo y, a continuación, haga clic en **Next**.
6. Haga clic en **Install** para comenzar la instalación.
7. Una vez finalizada la instalación, haga clic en **Finish**.

## Capítulo 4: Inicio



1. Haga doble clic en el icono Assign del escritorio o en la ubicación de instalación.
2. En el cuadro de diálogo Inicio de sesión del operador, seleccione el operador en la lista desplegable. El operador por defecto es **admin**.
3. Introduzca la contraseña. La contraseña por defecto para el operador administrador es **cg01**.
4. Haga clic en **Sign in** para iniciar el software.

### Agregar licencia



1. En el grupo Sistema, haga clic en **Update**.
2. Busque el archivo de licencia de Assign suministrado por CareDx y, a continuación, haga clic en **Open**.
3. Haga clic en **Listo** y, a continuación, reinicie el software.
4. Las licencias también se pueden guardar en la carpeta de instalación del software.

**NOTA:** Las claves de licencia se proporcionan con un periodo de tiempo fijo (por ejemplo, 6 meses).

Para obtener una nueva clave de licencia, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de CareDx.

### Agregar operadores

1. Haga clic en **More** para expandir el cuadro de diálogo Inicio de sesión del operador y acceder a la sección Editar usuarios.
2. En el campo **Edit Operator**, introduzca un nuevo nombre de operador.
3. Introduzca una contraseña para el nuevo operador y vuelva a escribir la misma contraseña para su verificación.
4. En la lista desplegable **Default Settings**, seleccione el archivo de configuración adecuado para el ensayo utilizado.
5. Seleccione este ajuste para todos los operadores que analicen los datos de AlloSeq Tx. Los operadores con privilegios suficientes pueden modificar los ajustes directamente en Assign.
6. En la lista desplegable **Nivel de operador**, seleccione una de las opciones que se muestran en la tabla siguiente.
7. Haga clic en **Add/Update**.

#### Permisos de nivel de operador:

	<i>Primer revisor (solo edición)</i>	<i>Primer revisor (con acceso a los ajustes)</i>	<i>Revisor final (con acceso completo)</i>
Puede cambiar los ajustes	No	Sí	Sí
Puede editar secuencias que aún no ha sido aprobadas por un revisor final	Sí	Sí	Sí
Puede firmar la casilla de verificación de revisión final	No	No	Sí

## Referencias de actualización

CareDx proporciona referencias actualizadas dos veces al año que se pueden descargar del sitio web de CareDx. Los usuarios deben actualizar de acuerdo con la frecuencia determinada por sus requisitos normativos locales. Para actualizar:

- 1 Guarde los archivos y descompríalos en el escritorio o en una ubicación de red.
- 2 Después de iniciar sesión y agregar operadores, seleccione **Update** en el menú **Sistema** de la cinta.
- 3 Haga clic en Referencias y CWD.
- 4 Seleccione todos los archivos de referencia y haga clic en **Open**.
- 5 Seleccione todos los archivos CWD y haga clic en **Open**.
- 6 Después de importar las nuevas referencias y CWD, cierre el software y vuelva a iniciarlo, seleccione el nuevo archivo CWD en la lista desplegable y haga clic en **Update**.
- 7 A continuación, se aplicarán las nuevas referencias y los archivos CWD.

## Actualización de códigos NMDP [Opcional]

Los códigos NMDP compatibles con Assign se pueden descargar en <https://hml.nmdp.org/mac/files/numer.v3.zip>  
Para actualizar:

- 1 Guarde los archivos y descompríalos en el escritorio o en una ubicación de red.
- 2 Haga clic con el botón derecho del ratón en el archivo y seleccione Rename.
- 3 Elimine el archivo .v3 del nombre de archivo y guarde el archivo.
- 4 Inicie sesión en Assign y seleccione **Update** en el menú **Sistema** de la cinta.
- 5 Haga clic en **NMDP Codes**.
- 6 Seleccione el archivo y haga clic en **Open**.

## Importar y analizar secuencias

La importación de secuencias puede tardar de minutos a horas, según el número de archivos importados y el rendimiento del sistema informático. Durante la importación, Assign no está disponible y la barra de título de la aplicación indica que el software no responde. El software responde una vez completados la importación y el análisis. La primera importación tarda un poco más en analizarse después de la instalación inicial y después de una actualización de referencia debido a la actualización simultánea de los archivos del sistema.

Después de importar secuencias en Assign, el análisis comienza automáticamente. El análisis incluye la alineación de las lecturas, la llamada de la base de consenso, el desfase y una comparación de la secuencia de consenso con la biblioteca de referencia.

## Errores de importación

Los nombres de archivo de muestra FASTQ suelen tener el siguiente formato:

***nombre\_de\_muestra-HLA-fecha\_S1.FASTQ.gz***

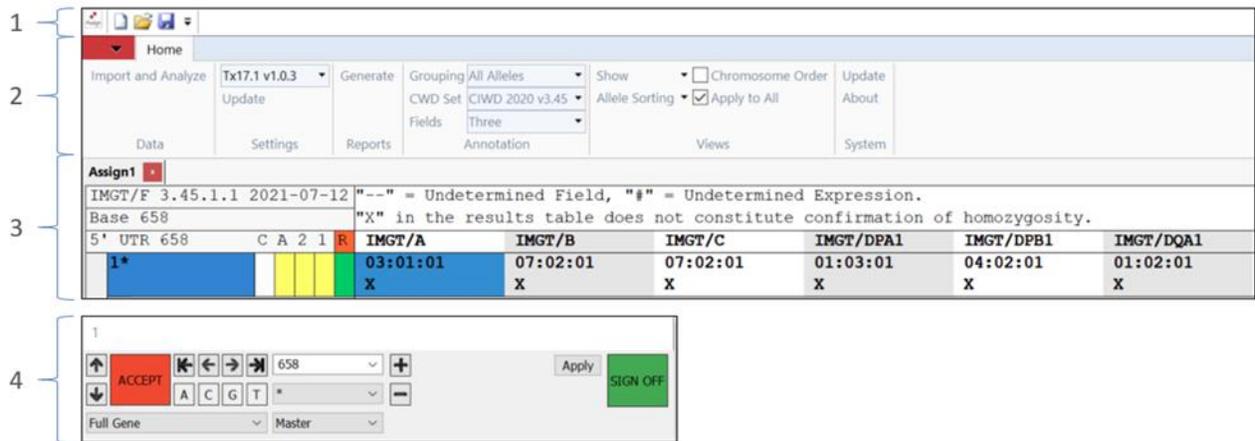
(Por ejemplo, 00001234-HLA-04262016\_S5\_L001\_R1\_001.fastq.gz, 00001234-HLA-04262016\_S5\_L001\_R2\_001.fastq.gz)

La parte "-HLA-" del nombre de la muestra es fundamental para la identificación y el análisis en Assign.

Una vez finalizado el análisis de las secuencias importadas, aparece cualquiera de las siguientes advertencias para indicar que los archivos no se han importado correctamente:

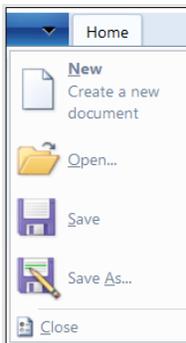
- No hay identificador/delimitador de muestra
- No hay guiones (-) en el nombre de archivo como se esperaba.
- No hay caracteres adecuados antes del primer guión para nombrar la muestra.
- No se ha identificado ningún objetivo/delimitador (es decir, falta HLA).
- No se pueden combinar uno o varios archivos finales emparejados.
- Solamente se ha importado una sola lectura para una o varias muestras.

# Capítulo 5: Navegación por la interfaz



- File menu:** permite crear secuencias nuevas, abrirlas y guardarlas en Assign.
- Home tab:** permite cambiar la configuración y las vistas.
- Sample panel:** enumera las muestras de un proyecto y realiza un seguimiento de los comentarios del revisor y de los análisis del laboratorio. Para obtener más información, consulte *Panel de muestras*.
- Navigator:** le ayuda a navegar hasta las posiciones base de interés. Para obtener más información, consulte *Navegador*.

## Menú Archivo



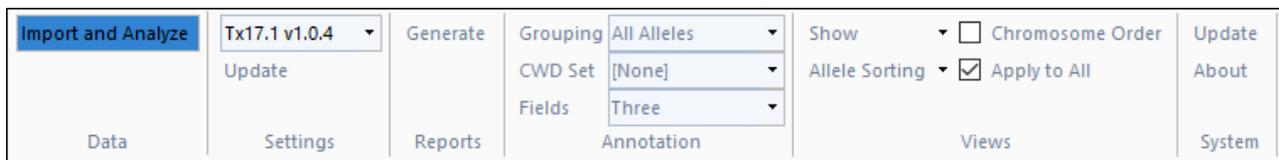
El menú Archivo se encuentra a la izquierda de la pestaña Inicio. Haga clic en la flecha hacia abajo para abrir el menú Archivo. Utilice el menú Archivo para crear, abrir y guardar proyectos nuevos.

Haga clic en **Save** o **Save as** para guardar las lecturas alineadas, la secuencia de consenso de muestra y las ediciones del usuario.

Se recomienda guardar los proyectos regularmente como mejor práctica.

## Pestaña Inicio

La pestaña Inicio se divide en los siguientes grupos: Datos, Configuración, Informes, Anotaciones, Vistas y Sistema.



## Datos

El grupo Datos permite importar y analizar datos de secuencia.

- 1 Haga clic en una pestaña de documento abierta para elegir el destino de importación. Para crear un documento, haga clic en el botón Archivo y seleccione **New** o presione **Ctrl+N**. En el grupo Datos, haga clic en **Import and Analyze**.
- 2 Desplácese a la carpeta que contiene los archivos FASTQ.
- 3 Utilice la tecla Ctrl para seleccionar archivos individuales o la tecla Mayúscula para seleccionar un grupo de archivos que desee importar y analizar. Utilice Ctrl + A para seleccionar todos los archivos de una carpeta. El cuadro de búsqueda situado en la parte superior derecha del cuadro de diálogo de importación también se puede utilizar para buscar una muestra o un locus concreto para el análisis.
- 4 Haga clic en **Open** para iniciar la importación y el análisis.

**NOTA:** Cada ejemplo genera un archivo FASTQ para Lectura 1 y Lectura 2. Asegúrese de seleccionar ambos archivos FASTQ.

Para un análisis óptimo, los archivos FASTQ de Lectura 1 y Lectura 2 se importan y analizan simultáneamente.

## Ajustes

**Configuración** permite la selección de archivos que contienen diferentes parámetros de análisis e informes. Es posible que este menú no contenga opciones de cambio. Al hacer clic en **Update**, se guardarán las opciones de visualización actuales como opciones por defecto, incluidos el panel actual, el número de campos y el conjunto de CWD.

**NOTA:** Cuando se utilizan archivos de configuración para versiones anteriores a la v1.0.3 con la v1.0.3 y posteriores, las muestras se analizarán con los genes capturados con el ensayo de AlloSeq Tx

## Informes

El grupo Informes le permite generar:

- Genotipado y datos de secuencia en formato FASTA.
- Los formatos de archivo de informe de genotipado son texto, Excel o XML.
- El informe Análisis de fragmentos.
- El informe HML.

Para obtener más información, consulte *Generación de informes*.

## Anotaciones

El grupo Anotaciones le permite ver e informar sobre las coincidencias de genotipo como:

- **G Groups** : consolida la lista del panel Resultados en G Groups.
- **P Groups**: consolida la lista del panel Resultados en P Groups.
- **All Alleles**: muestra todas las coincidencias de alelos en el panel Resultados.

El **CWD Set** muestra los alelos comunes, intermedios y bien documentados (CIWD) en negrita en el panel Resultados. Los archivos CIWD se generan a partir de una combinación de la versión 3.0.0 del catálogo CIWD<sup>1</sup> y la 2.0.0 del catálogo CWD<sup>2</sup>, y son editables para reflejar los alelos CIWD en su población. Los archivos CIWD se actualizan cada seis meses con la versión de referencia de IMGT para incluir todos los alelos que se han actualizado, lo que da como resultado una división de alelos. Los archivos CIWD se pueden editar abriendo los archivos incluidos en cada versión de referencia con un editor de texto como el Bloc de notas. El archivo cat 1 contiene los alelos comunes e intermedios, el archivo cat 1-2 contiene alelos comunes, intermedios y bien documentados.

**Importante:** Dado que los archivos CIWD pueden ser modificados por el usuario para incluir alelos específicos de la población, CareDx no acepta ninguna responsabilidad por la integridad de estos archivos CIWD una vez que se hayan

---

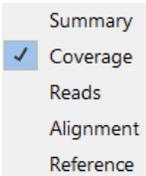
<sup>1</sup> Hurley, CK, Kempenich, J, Wadsworth, K, et al. Common, intermediate and well-documented HLA alleles in world populations: CIWD version 3.0.0. HLA. 2020; 95: 516– 531. <https://doi.org/10.1111/tan.13811>

<sup>2</sup> Mack et al. Common and well-documented HLA alleles: 2012 update to the CWD catalogue. *Tissue Antigens*, 81:194-203, March 20, 2013.

descargado del sitio web de CareDx. La lista desplegable **Fields** permite limitar la vista de los alelos de la lista de resultados al número de campos especificado. Si selecciona **Máximo**, la secuencia utilizada para la tipificación se amplía automáticamente a la cobertura máxima para todos los locus. Cuando se reduce el número de campos, los alelos pueden aparecer varias veces en la tabla de resultados. Pueden producirse pares de alelos idénticos porque hay diferencias de 3.º o 4.º campo con diferencias de discrepancia resultantes. Si selecciona **Default** y está marcada la opción para aplicar a todo, los locus de Clase I se mostrarán en 4 campos, la Clase II en 3 campos y MIC en 2 campos.

## Vistas

El grupo Vistas permite navegar entre los paneles para ver los datos de secuencia de diferentes maneras. Utilice la lista desplegable **Mostrar** para elegir la vista **Resumen**, **Cobertura**, **Lectura**, **Alineación** o **Referencia**.



**Resumen** consta de 4 paneles:

- Panel de resumen de tipificación: muestra los tipos asignados.
- Motivos
- Panel de resumen de calidad: muestra el porcentaje de llamadas de la base con calidad  $\geq$  Q30.
- Panel de resumen de cobertura: muestra la profundidad media de la cobertura de secuenciación.

**Cobertura** muestra la cobertura media y la composición de la llamada de la base a través del amplicón.

**Lecturas** muestra las lecturas utilizadas en la llamada de la base.

**Alineación** es una comparación de las listas Secuencia de consenso de muestra y pares de alelos del panel Resultados.

**Referencia** es una comparación de la Secuencia de consenso de muestra y las secuencias de referencia de un locus.

La lista desplegable **Clasificación de alelos** permite ordenar el panel Resultados por alelos con la mayor cobertura de secuencia de referencia (los alelos que tienen secuencia de genes completa se enumeran con prioridad sobre los alelos que solo tienen exones completos o limitados), o por el número de discrepancias.

## Sistema

El grupo Sistema le permite actualizar y ver información dentro del software Assign. Haga clic en **Update** para abrir un cuadro de diálogo que le permite importar claves, referencias, códigos NMDP y archivos CWD. Haga clic en **Acerca de** para abrir un cuadro de diálogo que proporciona la versión del software y la información de licencia.

## Panel de muestras

El panel de muestras visualiza los nombres de las muestras, los locus secuenciados para cada muestra, la versión de referencia IMGT/HLA y el estado de la revisión para cada locus.

The screenshot shows a table with the following structure:

Reference	Sample ID	C	A	1	2	R
IMGT/A 3.41.0.1 2020-07-13	Sample1* A					
Base 1668	B					
cDNA 121.1, Exon 3 90	C					
	DPA1					
	DPB1					
	DQA1					
	DQB1					
	DRB1G03					
	DRB1G04					
	DRB4					
	E					
	F					
	G					
	H					
	MICA					
	MICB					

- A Una referencia IMGT/HLA y una versión de la base de datos
- B ID de muestra y locus
- C Revisión de jerarquía, habilitación de informes y comentarios específicos del locus

## Asignar referencias

La primera fila del panel de muestras muestra la base de datos de referencia utilizada para la asignación de la nomenclatura de alelos a la secuencia de muestra. Para obtener más información, consulte *Bases de datos de referencia*. Para obtener información sobre la segunda fila, consulte *Coordenadas*. Los siguientes ejemplos indican información específica sobre las bases de datos:

### Referencia IMGT/HLA

#### IMGT/A 3.35.0.0 2019-01-23

- **IMGT** es la base de datos de referencia
- **A** es el nombre del gen
- **3.35.0.0**: los primeros 3 campos indican la versión de la base de datos IMGT/HLA; el cuarto campo indica la versión de la base de datos Assign.
- **2019-01-23** es la fecha de la versión de IMGT/HLA

## Muestras y locus

Haga clic en un locus para ver la información del locus seleccionado en los paneles Secuencias y Resultados.

## Jerarquía de revisión

La sección Jerarquía de revisión del panel de muestra incluye cinco columnas que permiten elegir varios niveles de revisión y comentarios para cada muestra y cada locus enumerados. Las columnas están etiquetadas como C, A, 1, 2 y R. Cada nivel de revisión es objeto de seguimiento y auditoría.

- **Columna C**: por defecto, el cuadro de la columna C es blanco. Haga clic con el botón derecho del ratón en el locus para agregar un comentario relacionado con la revisión. Cuando hay comentarios, el cuadro cambia a azul claro. Los comentarios añadidos en la columna C se incluyen en el informe completo de genotipado.
- **Columna A**: por defecto, el cuadro de la columna C es amarillo. Cuando la muestra se verifica en todas las posiciones indicadas en el navegador, el cuadro de la columna A cambia a verde automáticamente.

- **Columna 2:** por defecto, el cuadro de la columna 2 es amarillo. Una vez completada la segunda revisión, haga clic en el cuadro amarillo para cambiarlo a verde, indicando que la segunda revisión ha finalizado y bloqueando la muestra. No es posible realizar más modificaciones a menos que el cuadro se borre manualmente.
- **Columna 1:** por defecto, el cuadro de la columna 1 es amarillo. Una vez finalizada la primera revisión, haga clic en el cuadro amarillo o en el botón Sign Off del navegador. El cuadro cambia a verde, lo que indica que se ha completado la primera revisión.
- **Columna R:** un cuadro verde en la columna R indica que el locus está incluido en los informes generados. Haga clic en el cuadro para que se vuelva rojo y evitar la generación de informes en el locus.

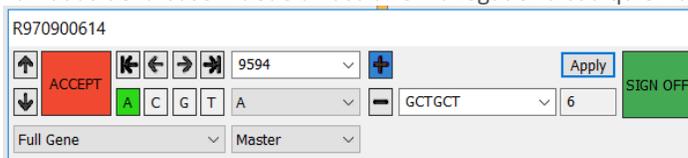
## Opciones del panel de muestras

Hay opciones adicionales disponibles para cualquier locus que aparezca en el panel de muestras. Para ver las opciones, haga clic con el botón derecho del ratón en el nombre de un locus. Están disponibles las siguientes opciones:

- **Show Comments:** muestra cualquier advertencia de calidad o comentario sobre un locus de muestra.
- **Edit Comments:** abre un campo para añadir o editar comentarios sobre la muestra seleccionada. Estos comentarios aparecen en el informe. Un cuadro azul claro en la columna C indica la existencia de un comentario.
- **Reanalyse:** elimina las ediciones y recortes realizados en el locus seleccionado.
- **Remove:** elimina el locus seleccionado del proyecto.

## Navegador

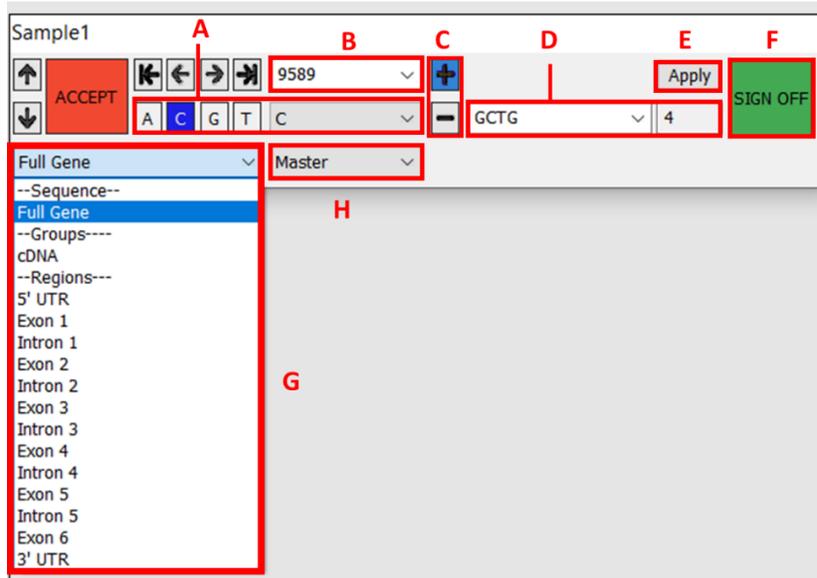
Utilice el navegador para navegar a una posición base de interés, confirmar llamadas de la base o realizar ediciones de llamadas de la base. Puede arrastrar el navegador a cualquier lugar de la pantalla.



## Navegación básica

Icono de navegación	Descripción
	Haga clic en las flechas arriba y abajo para desplazarse entre los locus del panel de muestras.
	Haga clic en <b>Accept</b> para confirmar una llamada de la base en una posición específica. Haga clic en <b>Reject</b> para cambiar una llamada de la base aceptada previamente.
	Utilice las flechas anterior y siguiente para desplazarse entre las posiciones que se van a auditar.
	Utilice las flechas primera y última para desplazarse hasta la primera y última posiciones de la base.
	Haga clic en <b>Sign Off</b> para confirmar que la revisión ha finalizado. Si no quedan posiciones por revisar, aparecerá este botón. Una vez que el primer revisor haya seleccionado Sign Off, la 1.ª columna de revisión de la jerarquía de revisión cambiará automáticamente a verde y el software pasará automáticamente al siguiente gen del proyecto.
	Haga clic en <b>Apply</b> para desplazarse a una posición o interés.

## Navegación avanzada



A Selección de base

B Posición de nucleótido activo y/o lista de discrepancias

C Selección de inserción y eliminación

D Detalles de inserción

E Aplicar inserción

F Sign Off

G Cambio de campo de posición de nucleótido

H Selección de capas

## Selección de base

La base resaltada indica la llamada de la base en la posición actual. Varias bases resaltadas indican que se ha identificado positivamente más de una base en la posición actual. Una  resaltada indica una inserción. Una  resaltada indica una eliminación.

1. La edición de llamadas de la base se realiza agregando o eliminando una base en la posición activa que sea coherente con la llamada de la base de consenso juzgada por el operador. Esto se realiza haciendo clic en **A**, **C**, **Go T**, **+ o -**, o seleccionando en la lista desplegable de selección de base.
2. Haga clic en **Accept** para aceptar la base seleccionada y pasar a la siguiente posición de confianza baja. Consulte en *Indicadores de confianza* los criterios de posiciones de baja confianza.
3. Si desea cambiar una llamada de la base aceptada previamente, haga clic en **Reject** para activar la edición.

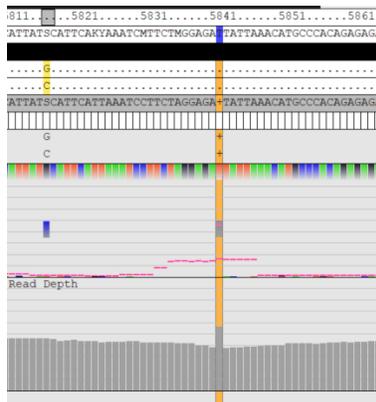
## Lista de discrepancias

La lista de discrepancias muestra la posición seleccionada. Seleccione la flecha hacia abajo para mostrar todas las posiciones de discrepancia para el par de alelos seleccionado en las columnas de discrepancia activas. Para mover el cursor a una posición seleccionada, introduzca un número en el campo Posición de nucleótido y haga clic en **Apply** o seleccione una opción de la lista para desplazarse a esa posición.

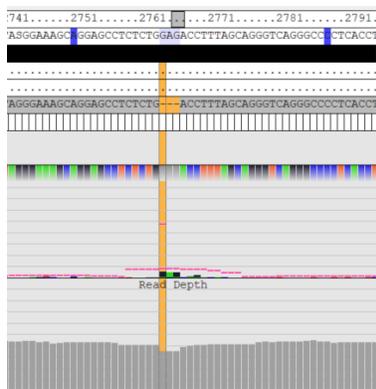
## Detalles de indel

En una posición en la que haya una inserción o una eliminación, el cuadro **+** (inserción) o **-** (eliminación) correspondiente se resalta en azul. La longitud de la inserción y las bases incluidas en ella se indican junto a los símbolos. Las bases insertadas se pueden editar en el cuadro y guardarse haciendo clic en **Apply** en el navegador.

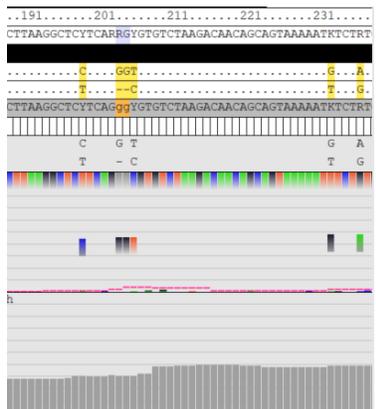
Las inserciones y las eliminaciones se representan en la secuencia de consenso de la siguiente manera:



Una inserción se representa mediante un signo + en la secuencia de consenso de muestra. La(s) base(s) insertada(s) cae(n) directamente antes del +. En el navegador, la secuencia insertada se puede ver en el cuadro de texto. Cuando ambos alelos tengan una inserción en la misma posición, utilice el cuadro desplegable para ver la secuencia insertada de ambos alelos.



Una eliminación homocigota se representa mediante – en la secuencia de consenso de muestra. El signo – indica que un alelo homocigota tiene una eliminación o que ambos alelos de una muestra heterocigota tienen la eliminación. Cuando hay una eliminación en ambos alelos, la eliminación no se mostrará en la capa de fase.



Una eliminación heterocigota se representa mediante letras minúsculas en la secuencia de consenso de muestra, lo que indica que un alelo tiene la eliminación y un alelo no. Solo la primera posición de la eliminación aparecerá en la capa de fase. Las eliminaciones solo contarán para una discrepancia en la capa de análisis.

## Posición de nucleótidos por regiones o grupos

- La numeración por defecto comienza en la primera base del gen. Utilice la lista desplegable para ver el sistema de numeración según la región o el grupo.
- **Gen completo:** posición en la secuencia génica basada en la secuencia de consenso del locus.
- **Regiones:** para una posición de interés determinada, elija la región del gen, introduzca la posición relativa en la lista de discrepancias y, a continuación, haga clic en **Apply**. Utilice esta función para una navegación rápida.
- **Grupos:** los grupos definen una cadena de regiones. El cDNA es un grupo de exones.

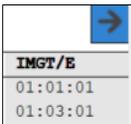
## Vistas

Al hacer clic en **Show**, podrá elegir entre los paneles Resumen, Cobertura, Lecturas, Alineación y Referencia.

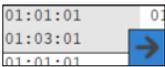
## Resumen

Los siguientes paneles de resumen están disponibles en la vista Resumen. Se accede a cada una de ellos como ventanas únicas, siendo la ventana por defecto el resumen de tipificación.

- Panel Resumen de tipificación
- Motivos de la secuencia
- Panel Resumen de calidad
- Panel Resumen de cobertura



Para moverse entre los paneles de Resumen, pase el ratón por encima del cuadro azul de la esquina superior derecha de una vista Resumen y haga clic en la flecha azul que aparece. Esta flecha recorre los paneles de Resumen.



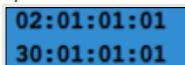
Si hay más locus de los que caben en la pantalla, pueden verse en la segunda página del panel Resumen haciendo clic en la flecha azul de la parte inferior derecha de la pantalla. Haga clic en la flecha azul de la parte inferior izquierda para volver al panel Resumen principal.

**NOTA:** Haga clic en Orden de cromosomas para cambiar el orden de los locus entre alfanumérico y cromosómico. Al cambiar el orden de los locus en la vista Resumen, también cambia el orden en el informe resumido. Para mantener esta configuración, haga clic en **Update** en la sección Configuración de la pestaña Inicio.

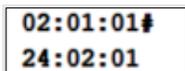
## Panel Resumen de tipificación

En el panel Resumen de tipificación aparecen las muestras y los alelos mejor emparejados asignados a cada locus para cada muestra.

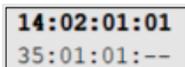
El panel Resumen de tipificación utiliza los siguientes marcadores:



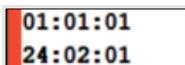
**Muestra activa:** un resaltado azul indica la muestra activa. Haga clic en el área resaltada para abrir la muestra y el locus en la vista Cobertura para una investigación adicional. Los campos completos indican un resultado de tipificación inequívoco.



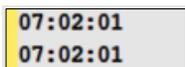
**Expresión ambigua:** un signo # indica una expresión ambigua en una tipificación alélica.



**Campos ambiguos:** un doble guión (--) indica un campo ambiguo en el resultado de la tipificación. Por ejemplo, --:01 indica una ambigüedad en el primer campo, 01:-- indica una ambigüedad en el segundo campo y 01:01:-- indica una ambigüedad en el tercer campo.



**Advertencia de confianza, rojo:** un recuadro rojo inmediatamente a la izquierda de un par de alelos indica un locus que podría justificar una investigación adicional. Este aviso puede indicar una calidad de lectura insuficiente, o una profundidad media de cobertura inferior a 100.



**Llamadas homocigotas duplicadas, amarillo:** un cuadro amarillo inmediatamente a la izquierda de un par de alelos indica que se ha marcado la casilla de llamadas homocigotas duplicadas en el cuadro de diálogo de informes y que la muestra es homocigota en el locus en cuestión. Si la casilla Llamadas homocigotas duplicadas no está marcada, el segundo alelo se mostrará como una X, como se describe a continuación. Para más información, consulte la sección Informes a continuación.

07:02:01  
X

**X mostrada para el segundo alelo:** una X mostrada para el segundo alelo indica que no se han detectado posiciones heterocigotas en la secuencia analizada. La presencia de una X en la pantalla de resumen no constituye una confirmación de homocigosidad.

15:03:01  
15:16:01

**Texto en negrita:** indica un alelo común y bien documentado (CIWD).

Low  
Coverage

**Cobertura baja:** indica una muestra con muy pocas lecturas para alinearse con las referencias. Normalmente, esta advertencia aparece con los controles negativos o las muestras que no cumplen con los parámetros de calidad.

34:02:01G  
68:02:01G

**G-only:** muestra todos los alelos de todos los locus en los que IMGT ha proporcionado la agrupación G como Grupos G.

34:02P  
68:02P

**P-only:** muestra todos los alelos para todos los locus en los que IMGT ha proporcionado la agrupación P como grupos P.

## Motivos de la secuencia

La pestaña de motivos de secuencia dentro de la pantalla de resumen indica la presencia de motivos definidos dentro de los archivos de referencia. Los motivos indicados en esta pestaña incluyen la presencia de motivos Bw4/Bw6 en HLA-A, -B y -C, el genotipo de la posición del SNP rs9277534 de DPB1 que codifica variantes de expresión, y otras posiciones del SNP que se han determinado como importantes. La lista completa de los motivos incluidos en las referencias figura en las Notas de publicación de referencias.

Sequence Motifs.									
IMGT/A	IMGT/B	IMGT/C	IMGT/DPA1	IMGT/DPB1	IMGT/DQA1	IMGT/DQB1	IMGT/DRB1	IMGT/DRB3	IMGT/DRB4
	Bw6	Bw6		rs9277534:AA					
Bw4	Bw4	Bw6		rs9277534:GG					
Bw4	Bw6	Bw6		rs9277534:AA					

## Panel Resumen de calidad

La puntuación de calidad, o puntuación Q, es la probabilidad de una llamada de la base incorrecta. Durante la secuenciación de Illumina, a cada base de una lectura se le asigna una puntuación Q. Una puntuación Q más alta indica una menor probabilidad de error. Por ejemplo, Q30, representa una probabilidad de 1 entre 1000 de que la llamada sea incorrecta, con una precisión de llamada correspondiente del 99,9 %. El panel Resumen de calidad muestra el porcentaje de llamadas de la base con puntuaciones Q30 o superiores para cada locus. Aparece una advertencia de confianza para los locus cuando el porcentaje de llamadas de la base con una puntuación Q30 es del 75 % o inferior.

Percent base calls with Q30 or better.									
IMGT/A	IMGT/B	IMGT/C	IMGT/DPA1	IMGT/DPB1	IMGT/DQA1	IMGT/DQB1	IMGT/DRB1	IMGT/DRB3	IMGT/DRB4
97%	96%	97%	97%	97%	97%	96%	97%	97%	

## Panel Resumen de cobertura

El panel Resumen de cobertura muestra la profundidad media de la cobertura de secuenciación para cada locus del proyecto. La profundidad de la cobertura de secuenciación es el número medio de bases en cada posición secuenciada en los datos de la secuencia. Hay advertencias cuando los locus no cumplen las especificaciones de cobertura media de 100x. Si los 2 alelos de un locus están divididos entre 2 grupos (por ejemplo, DRB1\*01 y DRB1\*03), aparece una advertencia cuando el grupo no cumple las especificaciones de 50x de cobertura media.

Average sample coverage.									
IMGT/A	IMGT/B	IMGT/C	IMGT/DPA1	IMGT/DPB1	IMGT/DQA1	IMGT/DQB1	IMGT/DRB1	IMGT/DRB3	IMGT/DRB4
224	231	221	201	171	214	202	196	201	



Muestra con avisos de cobertura mostrados en rojo.

## Resumen de genes

Pase el cursor del ratón por encima de la tipificación de un alelo para ver la siguiente información resumida.

**04:01:01**  
**07:01:01**

Min Depth : 24  
Mean Depth : 100  
Percent Q30: 94

**Min Depth:** cobertura mínima de la secuencia en las regiones cubiertas por el panel de sondas. Las advertencias mostradas como barras rojas junto a la métrica aparecen cuando la profundidad mínima está por debajo del umbral establecido en las referencias.

**01:01:01**  
**02:01:01**

Min Depth : 4  
Mean Depth : 72  
Percent Q30: 96

**Mean Depth:** cobertura media de la secuencia en las regiones cubiertas por el panel de sondas. Las advertencias mostradas como barras rojas junto a la métrica aparecen cuando la profundidad media es inferior a 100x de cobertura, o 50x para los alelos de los locus divididos.

**04:03:01**  
**09:01:02**

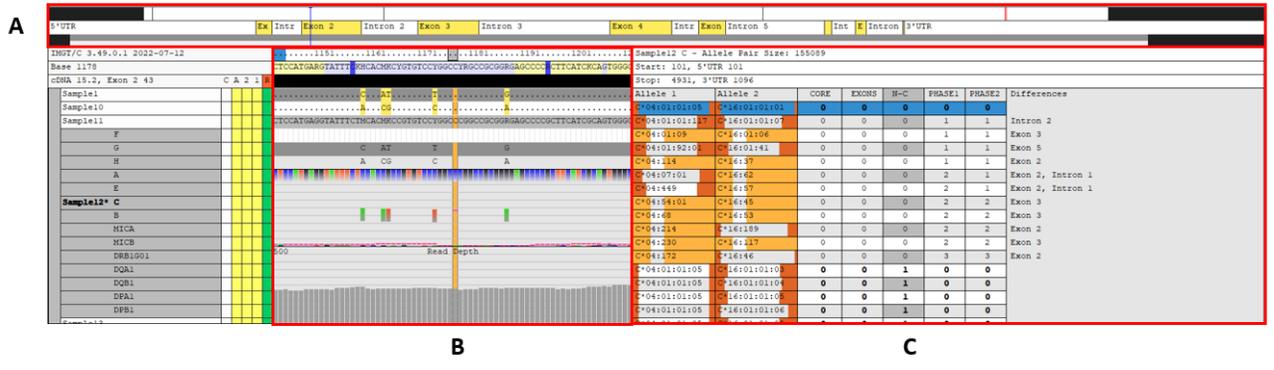
Min Depth : 40  
Mean Depth : 178  
Percent Q30: 93

**Porcentaje Q30:** porcentaje de bases > Q30.

**NOTA:** Cuando hay alelos de más de un grupo, el resumen muestra los resultados del primer alelo de la lista.

## Vista Cobertura

La vista Cobertura comprende el Gráfico de confianza, la Estructura de locus y la Visualización del bloque de fase, el panel Secuencias y el panel Resultados. Para acceder a la vista Cobertura, en el grupo Vistas, haga clic en **Show** y, a continuación, en **Coverage**.

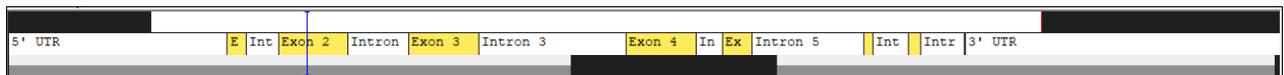


- Gráfico de confianza, Estructura de locus y Visualización del bloque de fase** muestra una vista de la estructura de locus de alto nivel, como las UTR, los intrones y los exones, indica la confianza y la posición de la llamada de la base e indica los bloques de secuencia desfasados.
- Panel Secuencias:** muestra la secuencia de referencia consensuada, la secuencia de la muestra, las llamadas de la base, la profundidad de la cobertura de la secuenciación, la calidad de las llamadas de la base y las lecturas de secuencias alternativas.
- Panel Resultados:** muestra las combinaciones de alelos que más se ajustan a la secuencia de la muestra, así como las discrepancias entre la secuencia de la muestra y la secuencia de referencia cuando están presentes.

Mueva el cuadro de desplazamiento Coordenadas en el panel Secuencias para encontrar las posiciones en las que la confianza de la llamada de la base es baja. Utilice el panel Resultados para encontrar discrepancias con los pares de alelos.

## Gráfico de confianza, Estructura de locus y Visualización del bloque de fase

Tres filas abarcan el ancho de la pantalla en la parte superior de la vista Cobertura.



Arriba: **Gráfico de confianza**

En el medio: **Estructura de locus**

Abajo: **Visualización del bloque de fase**

Haga clic en una fila para mover la línea azul, que indica la región a la vista en el panel Secuencias.

### Gráfico de confianza

El Gráfico de confianza utiliza colores para mostrar las posiciones en las que la confianza de la llamada de la base podría justificar una investigación adicional.



El color negro indica que no hay cobertura. Las razones más comunes para no tener cobertura son las siguientes:

- La región está fuera del área de cobertura de la sonda para el locus analizado
- La secuencia de referencia contiene una inserción o una supresión que está ausente en la muestra

Los tonos rojos crecientes indican cualquiera de las siguientes condiciones:

- La cobertura de la secuencia  $\geq$  Q30 está por debajo del umbral mínimo de profundidad para el locus.
- La puntuación media de la calidad de las llamadas de la base en esta posición es baja
- No se llama en consenso a una base por encima del umbral de ruido
- Se llama en consenso a una base por debajo del umbral de ruido

El color blanco indica una cobertura completa.

### Estructura de locus

La Estructura de locus utiliza el amarillo para indicar un exón/secuencia codificante y el blanco para indicar un intrón/secuencia no codificante.



**Amarillo:** exones que se encuentran en la columna Discordancia activa del panel Resultados.

**Blanco:** regiones no codificantes que se encuentran en la columna Discrepancia activa del panel Resultados.

**Gris:** regiones que no están en la columna Discrepancia activa del panel Resultados; por ejemplo, esto ocurre para los exones no cubiertos por el análisis de la capa del núcleo cuando solamente la capa del núcleo está activa.

### Visualización del bloque de fase

En Visualización del bloque de fase, las regiones son de color gris claro o negro.



**Gris claro:** regiones en las que las bases se encuentran en fase de ejecución

**Negro:** secciones en las que no se puede establecer la relación de fase entre las posiciones polimórficas.

En este ejemplo, hay 3x bloques de secuencia desfasada. El desfase puede no ser posible si los fragmentos están secuenciados o son más pequeños que la distancia entre las posiciones polimórficas.

## Panel Secuencias

El panel Secuencias de la vista Cobertura está compuesto por la sección Secuencias y la sección Llamadas de la base.

### Sección Secuencias

La sección Secuencias del panel Secuencias incluye información de las comparaciones de las secuencias de referencia con las secuencias de la muestra. Estas filas se actualizan cuando se seleccionan diferentes pares de alelos en el panel Resultados.

IMGT/B 3.49.0.1 2022-07-12		...1221.....1231.....1241.....1251.....1261.....1271.....1281.....1291....
Base 1273		RTATTGGGACSGGRASACACRGAWSWNSAAGVSCMSRRCRCAGACTKACCGAGWRRRCCCTGCGSAHCSYGCKCSGTACTAC
cDNA 77.2, Exon 2 229	C A 2 1 R	
A		.....A.C.....T.....A.....CA.....AG.....A.....G.G.....
Sample17* B		.....G.G.....G.....G.....GG.....GA.....C.....T.C.....
C		RTATTGGGACCGGRASACACAGATCTKCAAGRCCAASRCACAGACTGACCGAGAGRRCCCTGCGGAMCCTGCKCSGCTACTAC
DPF1		
DPB1		A C T A CA AG A G G
DQA1		G G G G GG GA C T C

- |                                      |                                      |
|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 1 Coordenadas                        | 5 Secuencia de referencia de alelo 2 |
| 2 Secuencia de consenso del locus    | 6 Secuencia de consenso del locus    |
| 3 Indicador de edición de secuencias | 7 Indicador de confianza             |
| 4 Secuencia de referencia de alelo 1 | 8 Seguimiento de fases               |

## 1. Coordenadas



A Coordenadas de genes

B Cuadro de desplazamiento de coordenadas: arrastre el cuadro gris para explorar a lo largo de las coordenadas

C Nombre de la muestra y locus

D Posición y ubicación de inicio

E Posición y ubicación de la parada

F Coordenada de base resaltada en el exón, intrón o UTR (del panel Secuencias)

G Coordenada del codón asociado a la base resaltada en el gen (del panel Secuencias)

## 2. Secuencia de consenso de locus

La Secuencia de consenso de locus representa una colección de variantes y motivos comunes. No se incluyen las variantes raras.

- El amarillo indica la secuencia exónica/codificante.
- El blanco indica la secuencia intrónica/no codificante.
- El azul claro indica las eliminaciones presentes en algunos alelos. El número de bases resaltadas indica el tamaño de la eliminación.
- El azul oscuro indica las inserciones presentes en algunos alelos. Las bases insertadas caen directamente antes de las bases resaltadas.

Para el HLA-DRB1, la secuencia de consenso de la muestra se compara con secuencias de alelos que se han dividido en grupos con una estructura de secuencia intrónica similar. Por lo tanto, la secuencia de consenso representa el consenso del grupo de alelos mejor emparejados. Los alelos HLA-DRB1 se dividen en 4 grupos: DRB1G01, DRB1G03, DRB1G04 y DRB1G07.

## 3. Indicador de edición de secuencias

La fila Indicador de edición de secuencias muestra un código de colores del estado de edición y del estado de aceptación de cada base de la secuencia. El estado de edición de la base cambia cuando se edita la secuencia originalmente llamada utilizando el navegador.

Código de colores	Estado de edición	Estado de aceptación
 Negro (por defecto)	No editado	No aceptado
 Verde	No editado	Aceptado
 Azul	Editado	No aceptado
 Azul/Verde	Editado	Aceptado

## 4. Secuencia de referencia de alelo 1

La Secuencia de referencia del alelo 1 muestra la referencia IMGT/HLA para un alelo en el par de alelos resaltado y seleccionado en el panel Resultados. Secuencia de referencia del alelo 1 está sombreado en gris oscuro.

- Se muestra una base en esta fila cuando la secuencia del alelo difiere de la secuencia de consenso de la muestra, o la posición es heterocigota.
- Las posiciones en blanco indican que falta la secuencia de referencia para el alelo seleccionado.
- Un punto (.) indica que la secuencia del alelo es idéntica a la secuencia observada en la posición seleccionada.
- Una estrella (\*) indica una secuencia sin información de intrones en la biblioteca de referencia.

## 5. Secuencia de referencia de alelo 2

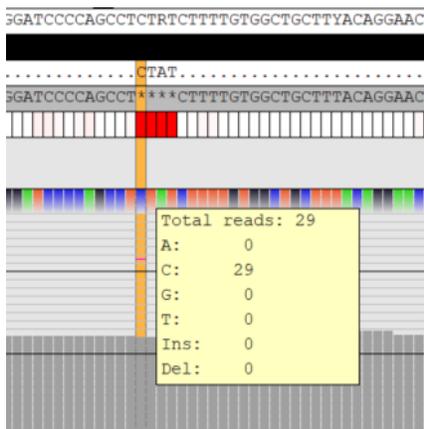
La Secuencia de referencia del alelo 2 muestra la referencia IMGT/HLA para un alelo en el par de alelos resaltado y seleccionado en el panel Resultados. Secuencia de referencia del alelo 2 está sombreado en gris claro.

- Se muestra una base en esta fila cuando la secuencia del alelo difiere de la secuencia de consenso de la muestra, o la posición es heterocigota.
- Las posiciones en blanco indican que falta la secuencia de referencia para el alelo seleccionado.
- Un punto (.) indica que la secuencia del alelo es idéntica a la secuencia observada en la posición seleccionada.
- Una estrella (\*) indica una secuencia sin información de intrones en la biblioteca de referencia.

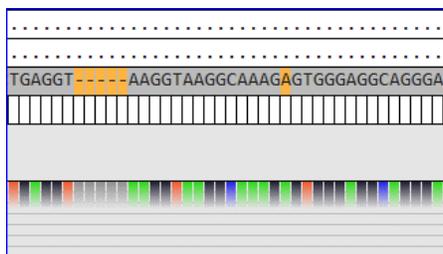
## 6. Secuencia de consenso de la muestra

La secuencia de consenso de la muestra permite visualizar la secuencia de consenso de la muestra secuenciada con el Panel de secuenciación AlloSeq Tx.

Las posiciones que estén por debajo del umbral mínimo de profundidad se excluirán de la secuencia de consenso de la muestra. Esto se indica con una estrella (\*), como se muestra en la imagen a continuación. Para la mayoría de los locus, el umbral mínimo de profundidad se establece en 30 lecturas. Consulte las notas de cada versión de referencia para conocer los umbrales.



El sombreado naranja en el consenso de la muestra indica un polimorfismo que no está incluido en la secuencia combinada para el gen.



## 7. Indicador de confianza

El Indicador de confianza es una representación por base del gráfico de confianza. La confianza de una llamada de la base en una posición determinada puede variar en función de varios factores, como el equilibrio de los alelos, el umbral de ruido, la profundidad de la cobertura y la calidad de la secuencia. El color blanco en el Indicador de confianza denota una llamada de la base de alta confianza. Un Indicador de confianza rojo denota llamadas de la base en las que se ha producido alguna de las siguientes condiciones:

- 1 <75 % de las lecturas tienen una puntuación de calidad de Q30 o superior
- 2 No se llama en consenso a una base por encima del umbral de ruido
- 3 Se llama en consenso a una base por debajo del umbral de ruido
- 4 Posiciones editadas

## 8. Seguimiento de fases

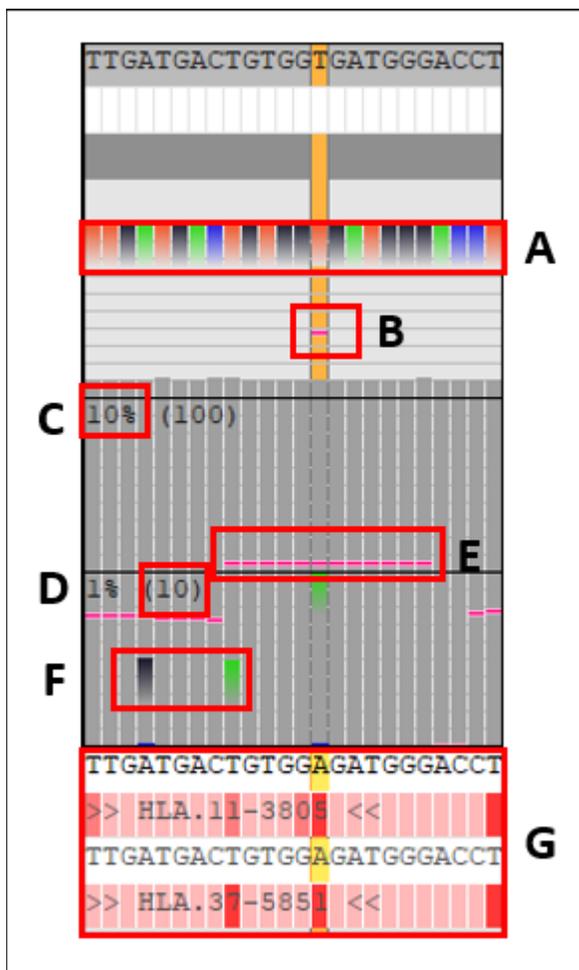
Para las combinaciones de alelos heterocigotos, las filas Seguimiento de fases muestran la relación de fase entre las bases conectadas por lecturas individuales o por lecturas emparejadas. Se realiza una asignación de fase solamente cuando la mayoría de las secuencias de fase son concordantes. El sombreado gris oscuro indica la fase relativa a Allele 1 y el gris claro indica la fase relativa a la fase 2.

## Resumen de la profundidad de la cobertura de la secuencia y llamada de la base

La ventana central muestra la información de la profundidad de cobertura de la secuencia (DoC) en forma de histogramas. Esta ventana resume las secuencias que contribuyen al consenso. Las barras grises indican el DoC en cada posición y el contenido de la secuencia se indica con los bloques de color. Los datos pueden mostrarse en forma lineal o logarítmica. La ubicación de los bloques coloreados indica el porcentaje de contribución de una base específica a la DoC.

CTRL + L permite cambiar entre la vista **logarítmica** y la **lineal**.

### Vista logarítmica



A Base primaria llamada. Los siguientes colores indican la llamada de la base más frecuente para una posición determinada.

A C G T

A: verde

C: azul

G: negro

T: rojo

B Proporción aproximada de alelos. Cuando se resalta una localización de la base, la línea rosa superior indica la proporción media aproximada de profundidad de lectura del segundo alelo presente en la muestra para los locus heterocigotos.

C Proporción de llamada de la base. Se muestra utilizando una escala logarítmica, de la siguiente manera:

- La sección más baja tiene una proporción entre el 0 % y el 1 %
- La sección intermedia tiene una proporción entre el 1 % y el 10 %
- La sección más alta tiene una proporción entre el 10 % y el 100 %

D Profundidad de la cobertura de secuenciación. Se muestra con barras grises para cada base utilizando la escala logarítmica entre paréntesis:

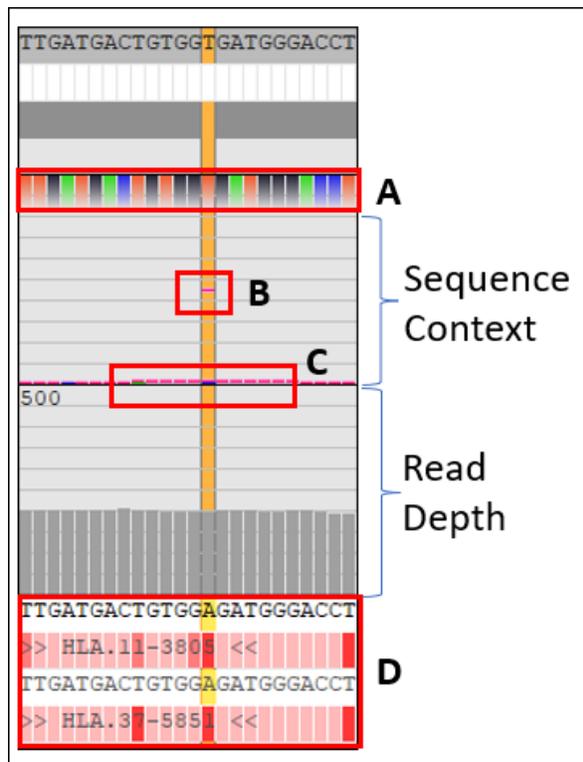
- La sección más baja muestra la profundidad de la cobertura entre 0x y 10x
- La sección intermedia muestra la profundidad de la cobertura entre 10x y 100x
- La sección más alta muestra la profundidad de la cobertura entre 100x y 1000x

**NOTA:** Si la cobertura es inferior a 30, no se muestra ninguna llamada.

- E Umbral de ruido aproximado. El ruido es un subproducto común de la especificidad, los errores de secuenciación y la alineación de secuencias. Assign establece dinámicamente un umbral de ruido en cualquier posición de la base. Una línea discontinua rosa indica el Umbral de ruido aproximado en todas las ubicaciones de la base. Normalmente, las llamadas de la base por debajo del umbral de ruido no se llaman.
- F Otras llamadas de la base. Muestra las llamadas de la base que difieren de la llamada de la base más frecuente para una posición determinada y utiliza los mismos indicadores de color utilizados en la sección Base primaria llamada.
- G Lecturas de secuencias que cubren esa posición de la base y que no se han incluido en la secuencia de consenso para la muestra

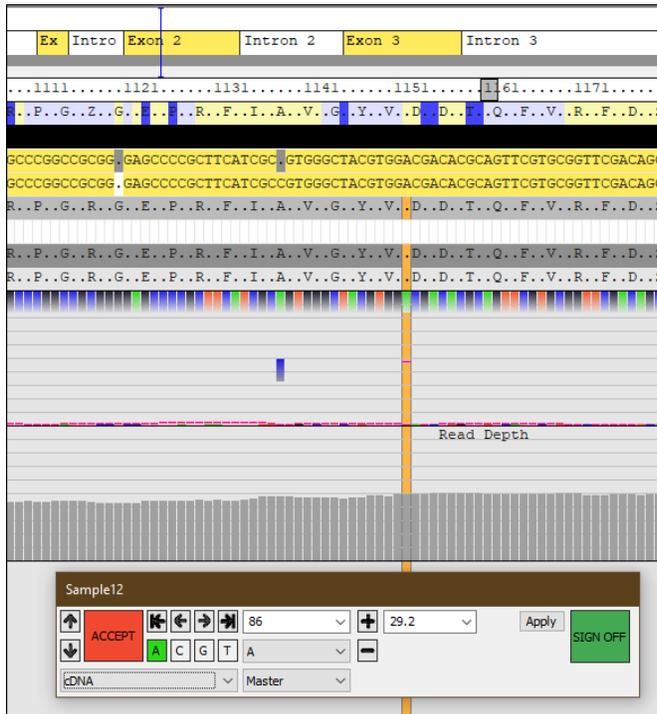
### Vista lineal

- A Base llamada con más frecuencia
- B Proporción aproximada de alelos
- C Umbral de ruido aproximado
- D Lecturas de secuencias que cubren esa posición de la base y que no se han incluido en la secuencia de consenso para la muestra. Cada línea en el Contexto de secuencia es el 10 %, cada línea en la Profundidad de lectura es 25 lecturas.



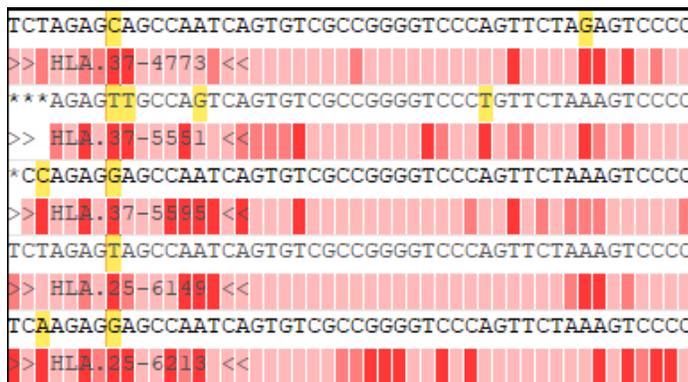
## Vista de aminoácidos

Para activar la vista Aminoácidos, seleccione cDNA en el desplegable del navegador, haga clic en cualquier exón y pulse **Ctrl + A**.



## Lecturas de secuencias

La sección Lecturas de secuencias contiene las llamadas que no están incluidas en la Secuencia de consenso de la muestra en la posición de la base resaltada.



La calidad de la llamada de la base para las lecturas alternativas, tal como se informa en el archivo FASTQ, se muestra debajo de la secuencia en un gradiente de color rojo.

- **Rojo oscuro:** llamada de la base de menor calidad.
- **Rosa claro:** llamada de la base de mayor calidad.

Haga clic con el botón derecho en una lectura para abrir un menú.

- **Copy Sequence:** coloca todas las bases de la lectura en el portapapeles
- **Copy Aligned:** coloca las bases utilizadas durante la alineación en el portapapeles
- **BLAST Sequence:** envía la secuencia completa a NCBI BLAST
- **Copiar par:** coloca la secuencia de un par de lectura en el portapapeles

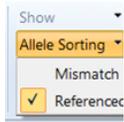
## Panel Resultados

El panel Resultados enumera todos los pares de alelos IMGT/HLA que mejor coinciden con la secuencia de consenso de la muestra. El panel Resultados también proporciona información para cada uno de los pares de alelos enumerados.

		A		B			C	
Allele 1	Allele 2	CORE	EXONS	N-C	PHASE1	PHASE2	Differences	
<b>A*02:01:01:01</b>	<b>A*30:01:01:01</b>	0	0	0	0	0		
A*02:24:01	A*30:74	0	0	0	1	1	Exon 3	
<b>A*02:34</b>	A*30:157	0	0	0	1	1	Exon 2	
A*02:90	<b>A*30:16</b>	0	0	0	1	1	Exon 2	
A*02:174	A*30:54	0	0	0	1	1	Exon 3	
A*02:327	A*30:136	0	0	0	1	1	Exon 4	
<b>A*02:35:01</b>	A*30:44	0	0	0	2	2	Exon 2	
<b>A*02:01:01:01</b>	<b>A*30:01:01:02</b>	0	0	1	0	0		

- A Columnas de alelos
- B Columnas de discrepancia de secuencias
- C Columna de diferencias
- D Los alelos CIWD se destacan en negrita

### Columnas Alelos



Por defecto, todos los pares de alelos aparecen en orden según el número de discrepancias que contienen al compararlos con la Secuencia de consenso de la muestra. Los pares de alelos sin discrepancias aparecen en la parte superior de las columnas, seguidos de los pares con un número creciente de discrepancias. Cuando la casilla Llamadas homocigotas duplicadas está desmarcada en la pestaña Informes, si no se detectan posiciones heterocigotas en la secuencia utilizada para la tipificación (por defecto son todos exones), la columna Alelo 2 contiene una X. La presencia de una X no constituye una confirmación de homocigosidad. Cuando se encuentra una posición heterocigota en la secuencia activa, se informa de un segundo alelo. Cuando la tabla de resultados o el informe se truncan a 2 o 3 campos, el segundo alelo puede aparecer idéntico. Al seleccionar Referenciados en el menú Orden de alelos, se ordenan los pares de alelos por los alelos más referenciados.

### Alelos comunes, intermedios y bien documentados (CIWD/CWD)

En el panel Resultados y en el panel de resumen, los alelos CIWD/CWD se muestran en negrita, como se ha descrito anteriormente.

### Cobertura de referencia IMGT/HLA

Los pares de alelos están anillados en blanco y gris alternando filas para facilitar su visualización. A veces, el alelo incluye el color naranja, que indica que falta una parte de la secuencia de referencia en la referencia IMGT/HLA para ese alelo. El naranja oscuro indica que el alelo tiene cobertura genómica en la base de datos IMGT y que la secuencia que falta se encuentra en la región no codificante, mientras que el naranja claro indica que el alelo solamente tiene cobertura de cDNA en la base de datos IMGT y que la secuencia que falta se encuentra en la región codificante. La anchura del contenedor de alelos es directamente proporcional a la longitud de la secuencia.

### Columnas de discrepancias

El número de discrepancias en las regiones seleccionadas aparece en las columnas a la derecha de los pares de alelos.

Allele 1	Allele 2	A	B	C	D	E
		CORE	EXONS	N-C	PHASE1	PHASE2
<b>B*35:12:01:01</b>	<b>B*35:43:01</b>	0	0	0	0	0
<b>B*35:12:01:02</b>	<b>B*35:43:01</b>	0	0	1	0	0
<b>B*35:12:01:01</b>	B*35:43:03	1	0	0	--	--
<b>B*35:12:01:01</b>	B*35:43:04	1	0	0	--	--
<b>B*35:12:01:01</b>	B*35:79	1	0	0	--	--

- A Discrepancias en los exones centrales; incluidas posiciones adicionales para las mutaciones de expresión no codificante que se conocen. Para los alelos de la clase I el "núcleo" son los exones 2-4 y los exones 2-3 para la clase II
  - B Discrepancias en los exones restantes
  - C Discrepancias en la secuencia no codificante (intrones y UTR)
  - D Discrepancias en el desfase del alelo 1
  - E Discrepancias en el desfase del alelo 2
- Los guiones en las capas de fase indican una discrepancia con la secuencia de referencia.

## Navegar por las columnas de discrepancias

De las 5 posibles columnas de discrepancias, las columnas de **Núcleo y Exones** se activan al realizar la importación. Cuando la visualización por defecto se establece como Máxima, la columna de no codificación estará presente para la Clase I pero no para la Clase II. Haga clic en el encabezado de la columna **Núcleo** para expandir o contraer la columna **Exones**. Haga clic en el encabezado de la columna **Exones** para expandir o contraer la columna **N-C**. Las columnas de discrepancias de fase están presentes solamente si es necesario, para resolver una ambigüedad de secuencia.

## Columna de diferencias

La columna de diferencias indica la ubicación de las diferencias entre los pares de alelos en relación con el primer par de alelos de la lista. Cuando existen ambigüedades, se indican en esta columna las regiones en las que podrían resolverse.

## Advertencias

En la vista en pantalla, al pasar el ratón sobre un alelo con un comentario, este se mostrará en un cuadro emergente.

Stop: 5012, 3' UTR 1245							Differences
Allele 1	Allele 2	CORE	EXONS	N-C	PHASE1	PHASE2	
A*02:01:01:01	A*02:07:01:01	0	0	0	0	0	
A*02:01:01:01	A*02:07:01:02	0	0	1	0	0	
A*02:01:01:01	A*02:07:01:03	0	0	1	0	0	
A*02:01:01:04	A*02:07:01:01	0	0	1	0	0	
A*02:01:01:05	A*02:07:01:01	0	0	1	0	0	
A*02:01:01:06	A*02:07:01:01	0	0	1	0	0	
A*02:01:01:07	A*02:07:01:01	0	0	1	0	0	
A*02:01:01:08	A*02:07:01:01	0	0	1	0	0	
A*02:01:01:09	A*02:07:01:01	0	0	1	0	0	

Warning! The allele A\*02:07:01:01 has been reported for your sample. This is a difficult allele to characterise so review with caution.

Si no hay advertencias, aparecerá otro mensaje al acceder a la sección de comentarios:

The screenshot shows a sequence alignment viewer with a context menu open over a specific allele. The context menu options are: Show Comments, Edit Comments, Reanalyze, and Remove. The 'Assign' dialog box is overlaid on the right, showing an information icon, the allele ID '00034007', and the text 'No warnings.' with an 'OK' button.

## Vista Lecturas

La vista Lecturas muestra las lecturas de la secuencia utilizadas en la llamada de la base para la posición seleccionada. Para acceder a la vista Lecturas, en el grupo Vistas, haga clic en **Show** y, a continuación, en **Reads**.

Sample18 A - Allele Pair Size: 1	
GGAGAGGCCAGGCGCCTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGG	Start: 1, 5' UTR 1
	Stop: 4635, 3' UTR 868
.....A.....	Allele 1
.....G.....	Allele 2
GGAGAGGCCAGGCGCCTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGG	A*02:06:01:01   A*11:01:01:01
	A*02:06:09   A*11:01:34
	A*02:06:12   A*11:01:106
GGAGAGGCCAGGCGCCTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGT	A*02:06:25   A*11:01:90
>> HLA.11-13 <<	A*02:79:01   A*11:73
GGAGAGGCCAGGCGCCTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGG	A*02:137   A*11:119:01
>> HLA.37-25 <<	A*02:331   A*11:06
*****CCAGGCGCCTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGG	A*02:358   A*11:103
>> HLA.37-67 <<	A*02:415   A*11:224
GGAGAGGCCAGGCGCCTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGG	A*02:142   A*11:24:02
>> HLA.37-187 <<	A*02:06:01:01   A*11:01:01:03
GGCCAGGCGCCTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGG	A*02:06:01:01   A*11:01:01:05
>> HLA.37-201 <<	A*02:06:01:01   A*11:01:01:06

**A** Secuencias de nucleótidos

**B** Calidad de las llamadas de la base del archivo FASTQ: la calidad se muestra en rosa claro (máxima calidad) a rojo oscuro (mínima calidad).

**C** Flechas de desplazamiento de lectura: utilice las flechas de desplazamiento para ver el siguiente lote de lecturas. También puede navegar pulsando Página arriba y Página abajo en su teclado para ocultar las lecturas de un nucleótido específico en la base seleccionada, pulse la tecla Mayúsculas y la letra del nucleótido al mismo tiempo. Las lecturas vuelven a aparecer utilizando las mismas teclas. Por ejemplo, pulse Mayúsculas + A para ocultar las lecturas que llaman a A en la posición seleccionada. Al hacer clic con el botón derecho del ratón en una secuencia, se abre un menú que incluye las opciones para copiar la secuencia en el portapapeles, enviar la secuencia a BLAST para su alineación o mostrar las advertencias de una muestra.

Las lecturas que contienen secuencia insertada cuando se comparan con la secuencia de referencia se indican con '+'. La secuencia insertada se muestra encima del + en la vista Lecturas. La secuencia insertada puede copiarse pulsando con el botón derecho del ratón sobre el + y seleccionando copiar inserción.

CCCTCGAATACTGATGAGTGGTCCCTTTGACACA+GCAGCAGCCTTGGGCCCGTGACTTTTCCTCTCAG	CACA
>> HLA.37-45 <<	
CCCTCGAATACTGATGAGTGGTCCCTTTGACACA+GCAGCAGCCTTGGGCCCGTGACTT*****	CACA
>> HLA.37-59 <<	
CCCTCGAATACTGATGAGTGGTCCCTTTGACACA+GCAGCAGCCTTGGGCCCGTGACTTTTCCTCTCAG	CACA
>> HLA.37-129 <<	
CCCTCGAATACTGATGAGTGGTCCCTTTGACACA+GCAGCAGCCTTGGGCCCGTGACTT*****	CACC
>> HLA.11-173 <<	
*****ATGAGTGGTCCCTTTGACACA+GCAGCAGCCTTGGGCCCGTGACTTTTCCTCTCAG	CACC
>> HLA.25-203 <<	

Los asteriscos (\*) en la vista Lecturas indican los enlaces entre pares de lectura.

```

CGCTTCCTCCGCGGGTACCGGAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGGACCGGGCGGACATGGCAGCTCAG*****
>> HLA.37-111 <<
CGCTTCCTCCGCGGGTACCGGAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGGACCGGGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCAC
>> HLA.37-25 <<
CGCTTCCTCCGCGGGTACCGGAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCTT*****
>> HLA.25-41 <<
CGCTTCCTCCGCGGGTACCGGAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGGAC
>> HLA.37-93 <<
CGCTTCCTCCGCGGGTACCGGAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGGACCGGGCGGACATGGCAGCTCAGATCACCAAGCGCAAGTGGG*****
>> HLA.37-95 <<
CGCTTCCTCCGCGGGTACCGGAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGGACCGGGCGGACATGGCAGCTCAG*****
>> HLA.37-109 <<
CGCTTCCTCCGCGGGTACCGGAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTG*****CTCTTGGACCGGGCGGACATGGCAGCTCAGATCACCAAGCACCAAGTGGGAGGCGGCCATGTGGCGGAGCAGTTGA
>> HLA.37-111 <<
CGCTTCCTCCGCGGGTACCGGAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGGACCGGGCGGACATGGCAGCTCAGATCACCAAGCGCAAGTGGGAG*****
>> HLA.37-119 <<
CGCTTCCTCCGCGGGTACCGGAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGGACCGGGCGGACATGGCAGCTC*****
>> HLA.37-191 <<
CGCTTCCTCCGCGGGTACCGGAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGGACCGGGCGGACATGGCAGCTCAGATCACCAAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCATGCGGGCGGAGCAGCAG
>> HLA.25-249 <<
*****SCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGGACCGGGCGGACATGGCAGCTCAGATCACCAAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCATGCGGGCGGAGCAGCAGA
>> HLA.11-277 <<
CGCTTCCTCCGCGGGTACCGGAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGGACCGGGCGGACATGGCAGCTC*****

```

## Vista Alineación y vista Referencia

La vista Alineación y la vista Referencia ofrecen comparaciones de la secuencia de consenso de la muestra y de sus datos con las secuencias de la IMGT.

### Vista Alineación

La vista Alineación muestra una comparación de las listas de secuencia de consenso de muestra y pares de alelos del panel Resultados. Haga clic en los encabezados **Alelo 1** o **Alelo 2** para añadir o eliminar la contribución de los alelos en esa columna. Para acceder a la vista Alineación, en el grupo Vistas, haga clic en **Show** y, a continuación, en **Alignment**.

### Vista Referencia

La vista Referencia muestra una comparación de la secuencia de consenso de la muestra y las secuencias de referencia de un locus. Para acceder a la vista Referencia, en el grupo Vistas, haga clic en **Show** y, a continuación, en **Reference**. Puede limitar los alelos de referencia que aparecen en la vista Referencia. Introduzca los alelos de referencia de interés en el campo inferior del navegador y, a continuación, haga clic en **Filtrar** a la derecha del campo de texto. Se muestran los alelos que contienen el texto introducido en la casilla. Puede introducir múltiples entradas, separadas por comas, en el campo Filtrar.

IMGT/A 3.35.0.1 2019-01-23	.. 2301.....2311.....2321.....2331. . . . . 2341.....2351.....2361.....2371
Base 2359	GTGGGCATCATTGCTGGCCTRGTTCTCTCTTGGAGCTRTGWTGTCCTGGAGCTGTGGTCCGCTGCGTGCYGTGAKGTGGAGGAG
cDNA 305.2, E... C A 2 1 R	GTGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCTCTCTTGGAGCTGTGATCACTGGAGCTGTGGTCCGCTGCCGTGATGTGGAGGAG
F	
G	
<b>A01269* A</b>	
E	
C	
B	
DRB3	
DRB5	
DRB1G01	
DQA1	
DQB1	
DPA1	

A01269

MM
  Var

# Capítulo 6: Generación de informes

## Tipos de informes

Assign genera un informe de genotipado, un informe FASTA o un informe HML.

- Informe de genotipado: informa sobre una sola muestra o locus o sobre todas las muestras y locus del proyecto.
- Informe de datos de secuencia en formato FASTA: produce un archivo fasta de la Secuencia de consenso de la muestra utilizando las designaciones IUPAC.
- Análisis de fragmentos: informes sobre la distribución de los fragmentos de ADN agrupados y leídos por el secuenciador de Illumina e importados a Assign.
- Informe HML: informa sobre una sola muestra o locus o sobre todas las muestras y locus del proyecto en formato HML.

Los informes pueden personalizarse con un logotipo, números de página, fecha y hora, y otras referencias sobre el informe. Para más información, consulte *Cambiar el logotipo del informe completo*.

## Informe de genotipado

Haga clic en **Generar** para iniciar la herramienta de informes.

The screenshot shows the 'Reports' window with the 'Genotyping' tab selected. The interface is organized into several sections:

- Filters:** 'Sample' and 'Locus' dropdown menus, both set to '\_All\_'. There is an 'Other' button next to the Locus dropdown.
- Report Options:** 'Full Report' is selected. Below it are dropdowns for 'Sample' (Summary), 'Auditing', and three 'Layers' (all set to Empty). 'Audit Options' includes checkboxes for Save, Confirm, P Groups, G Groups, Full allele list, and Differences. At the bottom of this section are radio buttons for 'Summary Table Report' and 'Single Page Report Per Sample'.
- Sort By:** Radio buttons for 'Name' (selected) and 'Locus'.
- Report Display Options:** Checkboxes for 'P Only', 'G Only', and 'Default' (checked).
- Additional Options:** Checkboxes for 'NMDP', 'Motifs', and 'Duplicate Homozygote Calls' (all checked).
- Output Format:** Radio buttons for 'Excel' (selected), 'Text', 'XML', and 'PDF'. A 'Page Breaks' checkbox is also present.
- Comments:** Three text input fields labeled 'Comment 1', 'Comment 2', and 'Comment 3'.
- Buttons:** 'Generate Report', 'Done', and 'Update'.

## Generar un informe completo

Un informe de genotipado completo incluye un encabezado con su logotipo preferido, los números de página, la fecha y la hora de creación, el nombre de la muestra y las referencias utilizadas, y el conjunto de CWD utilizado.

- 1 En la pestaña Genotipado, en la sección Filtros, utilice la lista **Muestra** para seleccionar las muestras que se incluirán en el informe. Seleccione **Todo** para incluir todas las muestras en el proyecto.
- 2 En la lista **Locus**, con la configuración Tx17, seleccione Todo, 6 Locus, 11 Locus, 17 Locus u Other.
  - a. Seleccione **Todo** para incluir todos los locus del proyecto en el informe.
  - b. Seleccione 6 Locus para incluir HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, -DPB1 en el informe del proyecto.

- c. Seleccione 11 Locus para incluir HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3/4/5, -DQB1, -DQA1, -DPB1, -DPA1 en el informe del proyecto.
  - d. Seleccione 17 Locus para incluir los 11 locus mencionados anteriormente más HLA-E, -F, -G, -H y MICA/MICB en el informe del proyecto.
  - e. Seleccionar Other permitirá al usuario elegir los locus para los que desea generar informes de la lista que se abre al seleccionar el botón Other.
- 3 En la sección Orden, seleccione **Name** (nombre de la muestra) o **Locus** para ordenar el informe.
  - 4 Seleccione el botón de opción **Informe completo**.
  - 5 En la sección Informe completo, utilice las listas **Muestra** para seleccionar **Summary** o **Auditing** de la lista. Seleccione **Empty** si no se necesita una lista de selección.
    - **Summary:** incluye cualquier advertencia sobre la tipificación y los pares de alelos que son compatibles con la Secuencia de consenso de la muestra (según se ha editado) para cada locus seleccionado en la sección Filtros. Las modificaciones adicionales de esta sección del informe están disponibles en Opciones de resumen.
    - **Auditing:** para cada locus seleccionado en la sección Filtros, el informe de auditoría incluye el estado del revisor como Aprobado o No aprobado y si todas las posiciones han sido confirmadas como Aprobadas o No aprobadas. El informe marca la fecha, la hora y el usuario de cada elemento aprobado. Las modificaciones adicionales de esta sección del informe están disponibles en Opciones de auditoría.
  - 6 En la sección Informe completo, utilice las listas **Capas** para seleccionar el nivel de detalle de las capas que se incluirán en el informe. Seleccione **Empty** si no se necesita una lista de selección.
    - **Sequences:** para cada locus seleccionado en los filtros, el informe Sequences imprime la Secuencia de consenso de la muestra (según se ha editado).
    - **Edit List:** para cada locus seleccionado en los filtros, el informe Edit List muestra las posiciones editadas, la edición realizada y el usuario que la ha realizado.
    - **Mismatch List:** para cada locus seleccionado en los filtros, Mismatch List muestra las mejores discrepancias con la muestra. Los límites de discrepancias se aplican a toda la secuencia del gen. Esta característica es útil para los nuevos alelos.
  - 7 En la sección Opciones de resumen, seleccione la casilla de verificación de cada opción que desee incluir en el informe.

Opción de resumen	Descripción
<b>Lista completa de alelos</b>	Incluye todos los alelos.
<b>P Groups</b>	Informa de alelos ambiguos para los grupos P, todos los restantes alelos para 2 campos. Para más información, consulte <a href="http://hla.alleles.org/alleles/p_groups.html">hla.alleles.org/alleles/p_groups.html</a> .
<b>G Groups</b>	Informa de alelos ambiguos para los grupos G, todos los restantes alelos para 3 campos. Para más información, consulte <a href="http://hla.alleles.org/alleles/g_groups.html">hla.alleles.org/alleles/g_groups.html</a> .
<b>NMDP</b>	Proporciona el código NMDP correspondiente al par de alelos coincidentes para un locus.
<b>Diferencias</b>	Incluye la información de la columna de diferencias del panel Resultados.
<b>Motivos</b>	Incluye las variantes de expresión Bw4/Bw6 y DPB1, así como otros motivos que figuran en las Notas de publicación de referencia.

**NOTA:** Si el resultado de una muestra es ambiguo, el software aplicará automáticamente la resolución del grupo G o P al nivel más alto de tipificación posible. Si no es posible condensar la ambigüedad como un grupo G o P, la lista de combinaciones de alelos ambiguos se enumerará en el informe en orden numérico. Además, las cadenas de ambigüedad se informarán en una nueva pestaña "Ambigüedades" en el informe resumido.

- 8 En la sección Opciones de auditoría, seleccione **Save** para generar un historial de eventos guardados y cargados. Seleccione **Confirm** para incluir un historial de confirmaciones de revisores.

Auditing	
First Review:	Fail
Final Review:	Pass
Confirmed All Positions:	Fail
Mar 01 2019 09:35	admin set the final review to pass
Mar 01 2019 09:36	admin saved the sample
Mar 01 2019 09:36	admin saved the sample

- 9 En la sección Formato de salida, seleccione uno de los siguientes formatos:
- **Text:** genera un informe de las opciones seleccionadas en formato de texto.
  - **Excel:** genera un informe de las opciones seleccionadas en una hoja de cálculo de Excel.
  - **XML:** genera un informe de las opciones seleccionadas en un archivo \*.xml etiquetado que es el más adecuado para la importación a una base de datos externa.
  - **PDF:** genera un informe de las opciones seleccionadas en formato PDF.
  - **Page Breaks:** añada saltos de página a la hoja de cálculo de Excel.
- 10 [Opcional] Seleccione **Duplicar llamadas homocigotas** para imprimir 2 alelos en lugar del alelo 1 y X para las muestras homocigotas putativas. Esta casilla también afectará a la forma en que se muestran las llamadas homocigotas en la vista Resumen y en los paneles de alelos. Para mantener esta preferencia, marque o desmarque la casilla según sea necesario, haga clic en Update en la pestaña Informes y luego en la sección Configuración de la cinta de Inicio.
- 11 Haga clic en **Generar informe**. Se generan los informes de Excel, que se abren automáticamente en Excel. Los informes de texto o XML se generan cuando se elige una ubicación donde guardarlos en el ordenador.

## Informe de tabla de resumen

Un informe de tabla de resumen incluye un encabezado con su logotipo preferido, los números de página, la fecha y la hora de creación, la versión del software, las referencias utilizadas, el conjunto de CWD utilizado y el operador que ha generado el informe. Los paneles Resumen se muestran en pestañas separadas del cuaderno de trabajo Excel.

- 1 En la pestaña Genotipado, en la sección Filtros, utilice la lista **Muestra** para seleccionar las muestras que se incluirán en el informe. Seleccione **Todo** para incluir todas las muestras en el proyecto.
- 2 En la lista **Locus**, con la configuración Tx17, seleccione Todo, 6 Locus, 11 Locus, 17 Locus u Other.
  - a. Seleccione **Todo** para incluir todos los locus del proyecto en el informe.
  - b. Seleccione 6 Locus para incluir HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, -DPB1 en el informe del proyecto.
  - c. Seleccione 11 Locus para incluir HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3/4/5, -DQB1, -DQA1, -DPB1, -DPA1 en el informe del proyecto.
  - d. Seleccione 17 Locus para incluir los 11 locus mencionados anteriormente más HLA-E, -F, -G, -H, MICA y MICB en el informe del proyecto.
  - e. Seleccionar Other permitirá al usuario elegir los locus para los que desea generar informes de la lista que se abre al seleccionar el botón Other.
- 3 Seleccione el botón de opción **Informe de tabla de resumen**.
- 4 En Additional Options, seleccione entre NMDP y Motifs si lo desea.
  - a. **IMPORTANTE:** Al seleccionar **Motifs/Additional Options**, se incluirá la información del motivo en la pestaña Resumen del informe de Excel. Esta línea adicional por muestra puede generar un formato de informe incompatible con algunos LIMS y utilidades de bases de datos. Si se produce esta incompatibilidad con su LIMS, se recomienda dejar la casilla Motifs sin seleccionar en las opciones de resumen (utilice la opción Update para conservar la configuración) y utilizar en su lugar la pestaña Motivos del informe de Excel.
- 5 Seleccione el formato de salida deseado: Text o Excel.
- 6 [Opcional] Seleccione **Duplicar llamadas homocigotas** para imprimir 2 alelos en lugar del alelo 1 y X para las muestras homocigotas putativas. Esta casilla también afectará a la forma en que se muestran las llamadas homocigotas en la vista Resumen y en los paneles de alelos. Para mantener esta preferencia, marque o

desmarque la casilla según sea necesario, haga clic en Update en la pestaña de informes y luego en la sección Configuración de la cinta de inicio.

- 7 Haga clic en **Generar informe**. Se generan los informes de Excel, que se abren automáticamente en Excel. Los informes de texto se generan cuando se elige una ubicación donde guardarlos en el ordenador.

### Informe de una sola página por muestra

El informe de una sola página muestra los alelos de cada gen, así como los grupos G y los grupos P en una sola página para cada muestra. También se indica el contenido genético de cada gen. Tenga en cuenta que, para los genes en los que se han seleccionado 4 campos y el contenido del gen es inferior a 98,5, el alelo de 4 campos no aparecerá en la lista.

- 1 En la pestaña Genotipado, en la sección Filtros, utilice la lista **Muestra** para seleccionar las muestras que se incluirán en el informe. Seleccione **Todo** para incluir todas las muestras en el proyecto.
- 2 En la lista **Locus**, con la configuración Tx17, seleccione Todo, 11 Locus, 17 Locus u Other.
  - a. Seleccione **Todo** para incluir todos los locus del proyecto en el informe.
  - b. Seleccione 11 Locus para incluir HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3/4/5, -DQB1, -DQA1, -DPB1, -DPA1 en el informe del proyecto.
  - c. Seleccione 17 Locus para incluir los 11 locus mencionados anteriormente más HLA-E, -F, -G, -H, MICA y MICB en el informe del proyecto.
  - d. Seleccionar Other permitirá al usuario elegir los locus para los que desea generar informes de la lista que se abre al seleccionar el botón Other.
- 3 Seleccione el botón de opción **Informe de una sola página por muestra**.
- 4 Seleccione el formato de salida deseado: Text, Excel, XML o PDF.
- 5 [Opcional] Seleccione **Duplicar llamadas homocigotas** para imprimir 2 alelos en lugar del alelo 1 y X para las muestras homocigotas putativas. Esta casilla también afectará a la forma en que se muestran las llamadas homocigotas en la vista Resumen y en los paneles de alelos. Para mantener esta preferencia, marque o desmarque la casilla según sea necesario, haga clic en la opción de actualización en la pestaña Informes y luego en la sección Configuración de la cinta de Inicio.
- 6 Haga clic en Report. Se generan los informes de Excel, que se abren automáticamente en Excel. Los informes de texto, XML o PDF se generan cuando se elige una ubicación donde guardarlos en el ordenador.

### Cambiar el logotipo del informe completo

Puede modificar la imagen editando directamente la plantilla de Excel que se incluye con Assign. Para cambiar el logotipo, abra Excel y elija el archivo de plantilla Genotyping.xlt. En una instalación por defecto, la plantilla se encuentra en C:\ProgramData\CareDx\AlloSeq v1.0.5\data\templates. Para una carpeta de instalación personalizada, vaya a la carpeta apropiada y luego seleccione data\templates\Genotyping.xlt. Para sustituir la imagen del logotipo, en Imprimir, vea Configuración de página y edite el encabezado y el pie de página.

### Cambiar el logotipo del informe PDF

Puede modificar la imagen sustituyendo la imagen .png que se incluye con Assign. Para cambiar el logotipo, guárdelo como "CareDx-logo.png" y sustituya la imagen ubicada en C:\ProgramData\CareDx\AlloSeq v1.0.5\data\templates. Se recomienda utilizar una imagen de aproximadamente 513 x 219 píxeles.

### Informe FASTA

El formato de archivo FASTA es un formato sencillo basado en texto que se ha convertido en una herramienta bioinformática estándar para representar secuencias genéticas. El formato FASTA comienza con una línea de descripción que incluye un símbolo mayor que (>) seguido del identificador único que podría ser el nombre de la muestra/locus/entrada. La siguiente línea en el FASTA es la secuencia de consenso de la muestra utilizando las designaciones de la IUPAC.

- 1 Haga clic en **Generar** para iniciar la herramienta de informes y seleccione la pestaña FASTA.
- 2 En la sección Filtros de salida y numeración, utilice la lista **Muestra** para seleccionar las muestras que se incluirán en el informe. Seleccione **Todo** para incluir todas las muestras. El nombre de la muestra se incluye automáticamente en la línea de descripción FASTA que precede a la secuencia.

- 3 En la lista **Locus**, seleccione un locus individual para informar sobre las muestras seleccionadas. Seleccione **Todo** para incluir todos los locus de las muestras seleccionadas. Seleccione la casilla para insertar el nombre del locus en el archivo FASTA (por ejemplo, > Nombre de la muestra\_IMGTA/A).
- 4 En la lista **Capas**, seleccione una sola capa para restringir la salida. Seleccione la casilla para insertar el nombre de la capa en el archivo FASTA.
- 5 En la lista **Grupo**, seleccione un grupo designado de regiones para restringir la salida.
- 6 En la lista **Región**, seleccione una región designada, como un exón. Seleccione la casilla para insertar el nombre de la región en el archivo FASTA.
- 7 En la sección Ordenar por, seleccione **Name** (nombre de la muestra) o **Locus** para ordenar el informe.
- 8 En la sección Opciones, seleccione la casilla **Pad Ends** para añadir N llamadas de la base a cada secuencia a fin de cubrir todo el amplicón.
- 9 Haga clic en **Generar informe** y, a continuación, elija una ubicación para guardarlo en su ordenador.

### Análisis de fragmentos

El análisis de fragmentos es un informe de Excel que proporciona detalles de la distribución de los tamaños de los fragmentos importados en Assign para cada muestra y locus.

- 1 Haga clic en **Informes** para iniciar la herramienta de informes.
- 2 En la pestaña de Análisis de fragmentos, realice una de las siguientes acciones:
  - a. Seleccione una sola muestra del proyecto y seleccione un solo locus o todos los locus en las listas desplegables
  - b. Seleccione todas las muestras y seleccione un solo locus o todos los locus en las listas desplegables
- 3 Haga clic en **Report** para generar el análisis de fragmentos.

El análisis de fragmentos se abre automáticamente en Excel.

### Informes de locus personalizados

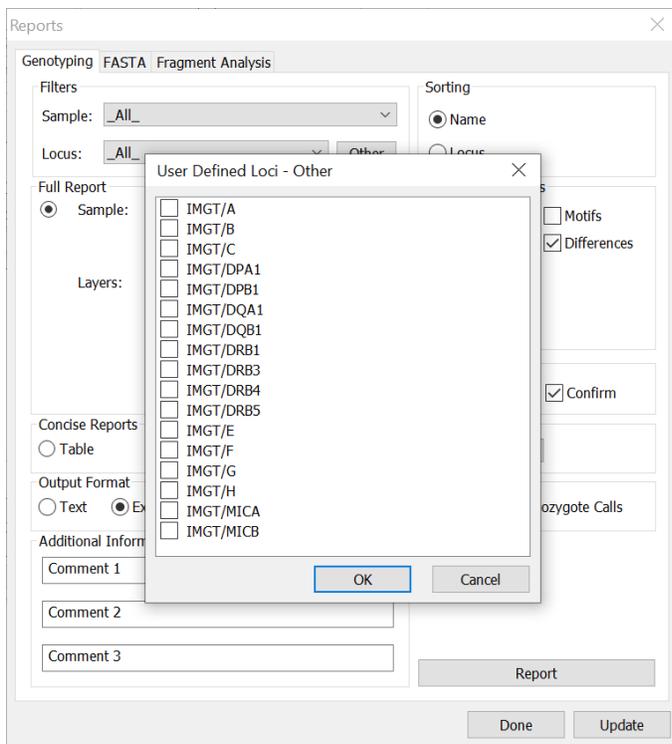
Hay dos conjuntos de locus predefinidos en la configuración de Tx17 (11 locus o 17 locus).

**11 Locus:** HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3/4/5, -DQB1, -DQA1, -DPB1, -DPA1

**17 Locus:** Los mencionados anteriormente más HLA-E, -F, -G, -H y MICA/MICB.

Si es necesario, se puede generar un informe para mostrar locus específicos:

- 1 Haga clic en **Informes** para iniciar la herramienta de informes.
- 2 En el cuadro de locus, seleccione **Other**.
- 3 Haga clic en el botón **Other**.
- 4 Seleccione los locus que desea informar marcando las casillas correspondientes y luego haga clic en **OK**.
- 5 Haga clic en **Update** en la pestaña **Informes** y en la sección **Configuración** de la cinta de Inicio para guardar esta configuración para su uso futuro.
- 6 Haga clic en **Report** para generar el informe.



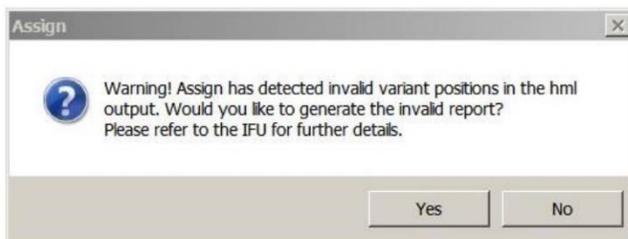
## Informe HML

La funcionalidad de informes HML se ha incluido en AlloSeq Assign v1.0.5 para permitir el envío de datos al IHIWS. El informe HML generado a partir de AlloSeq Assign es específico del esquema 1.0.1 proporcionado por NMDP. Para más información acerca de HML y el esquema utilizado, consulte <https://bioinformatics.bethematchclinical.org/hla-resources/hml/> y <http://schemas.nmdp.org/>.

Para generar el informe HML:

1. Haga clic en **Generar** para iniciar la herramienta de informes y seleccione la pestaña HML.
2. Utilice la lista **Muestra** para seleccionar las muestras que se incluirán en el informe. Seleccione **Todo** para incluir todas las muestras en el proyecto.
3. Haga clic en **Modify Additional Information** e introduzca los detalles. La información adicional se guardará después de cerrar la ventana de informes.
4. Por defecto, Assign generará un GLString por locus. Al seleccionar la opción **GLString sumativo**, se realizará un informe GLString para cada muestra.

**IMPORTANTE** Al generar el informe HML, AlloSeq Assign realiza una comprobación de validez de las posiciones de las variantes de cada gen para asegurarse de que no se informa de nucleótidos degenerados. Si un gen no supera esta comprobación de validez, Assign mostrará el siguiente mensaje de error:



Si selecciona No al mensaje, se generará un informe HML que no incluirá el gen impactado.

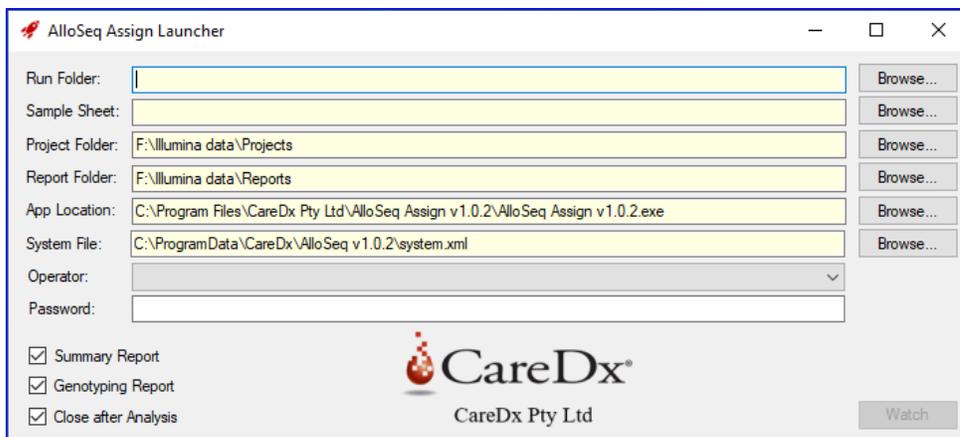
Para que los usuarios puedan editar y enviar el gen afectado, al seleccionar Yes se generarán 2 informes, uno sin el gen afectado y otro con las variantes no válidas. Tenga en cuenta que los archivos HML generados con variantes no válidas no pueden enviarse al IHIWS. Se han observado posiciones de variantes no válidas en 1/25.500 genes analizados, debido a la falta de fase en la que el software no puede atribuir la posición de la variante a ninguno de los alelos.

## Capítulo 7: AlloSeq Assign Launcher

El software AlloSeq Assign versión 1.0.2 y superior es compatible con AlloSeq Assign Launcher.

AlloSeq Assign Launcher es una aplicación independiente diseñada para iniciar automáticamente AlloSeq Assign una vez que los archivos fastq han sido creados por el secuenciador.

Consulte IFU098\_AlloSeq Assign Launcher para conocer los detalles sobre el uso de esta aplicación.



# Capítulo 8: Glosario

**CIWD/CWD:** Los alelos comunes, intermedios y bien documentados (CIWD) identifican el subconjunto de alelos HLA cuyas frecuencias son bien conocidas (comunes), o los alelos identificados múltiples veces mediante el uso de métodos de tipificación basados en la secuencia (bien documentados). Para más información sobre los alelos CIWD, consulte <https://www.ihw18.org/component-immunogenetics/download-common-and-well-documented-alleles-3-0/> O bien, para acceder a la lista de CWD, consulte <http://igdawg.org/cwd.html>

**Grupos G:** Alelos HLA que tienen secuencias de nucleótidos idénticas en los exones que codifican los dominios de unión al antígeno (exón 2 y 3 para el HLA clase I y exón 2 solamente para los alelos HLA clase II). Para obtener más información, consulte [http://hla.alleles.org/alleles/g\\_groups.html](http://hla.alleles.org/alleles/g_groups.html)

**Grupos P:** Alelos HLA que tienen secuencias de proteínas idénticas en los exones que codifican los dominios de unión al antígeno (codificados por exón 2 y 3 para el HLA clase I y exón 2 solamente para los alelos HLA clase II). Para obtener más información, consulte [http://hla.alleles.org/alleles/p\\_groups.html](http://hla.alleles.org/alleles/p_groups.html)

**Nomenclatura HLA:** Assign convierte las secuencias en la nomenclatura HLA versión 3.0, establecida en 2010, de acuerdo con el Comité de Nomenclatura de la OMS para los Factores del Sistema HLA ([www.imgt.org](http://www.imgt.org)).

La nomenclatura HLA utiliza el siguiente formato: **HLA-A\*02:01:01:02L**

<b>HLA</b>	El prefijo HLA
-	El guión separa el nombre del gen del prefijo HLA.
<b>A</b>	El nombre del gen.
*	El asterisco separa el nombre del gen de la información de la secuencia e indica la tipificación genética.
<b>02</b>	Campo 1: el grupo de alelos.
:	Los dos puntos separan los campos.
<b>01</b>	Campo 2: diferenciar los alelos con una secuencia proteica única.
:	Los dos puntos separan los campos
<b>01</b>	Campo 3: sustituciones sinónimas de ADN dentro de las regiones codificantes del gen.
:	Los dos puntos separan los campos.
<b>02</b>	Campo 4: diferencias en las regiones no codificantes del gen.
<b>L</b>	Este modificador de expresión está presente independientemente del número de campos que se comuniquen. Hasta la fecha, son posibles los siguientes modificadores: <ul style="list-style-type: none"><li>• N indica Null (nulo): un alelo que no se expresa.</li><li>• L indica Low (bajo): un alelo que codifica una proteína con una expresión significativamente reducida o baja en la superficie celular.</li><li>• S indica Secreted (secretado): un alelo que codifica una proteína que se expresa solamente como una molécula secretada.</li><li>• Q indica Questionable (cuestionable): un alelo con una mutación que se ha demostrado previamente que tiene un efecto significativo en la expresión de la superficie celular, pero que no está confirmado. Por lo tanto, su expresión sigue siendo cuestionable.</li></ul>

## Nomenclatura MICA/B:

La nomenclatura MICA/B utiliza el siguiente formato: **MICB\*002:01:01**

<b>MIC</b>	El prefijo MIC
<b>B</b>	El nombre del gen.
*	El asterisco separa el nombre del gen de la información de la secuencia e indica la tipificación genética.
<b>002</b>	Campo 1: diferencia los alelos con una secuencia proteica única.
:	Los dos puntos separan los campos.
<b>01</b>	Campo 2: sustituciones sinónimas de ADN dentro de las regiones codificantes del gen.
:	Los dos puntos separan los campos.
<b>01</b>	Campo 3: diferencias en las regiones no codificantes del gen.

**Designaciones de bases degeneradas:** Las filas de la secuencia de consenso en la sección de secuencias (filas 2 y 6) incluyen las designaciones de bases degeneradas de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC).

Código IUPAC	Bases	Descripción
W	A T	Débil
S	C G	Fuerte
M	A C	Amino
K	G T	Keto
R	A G	Purina
Y	C T	Pirimidina
B	G C T	no A
D	A G T	no C
H	A C T	no G
V	A C G	no T
N	A C G T	todas las bases
*		ninguna llamada de la base

**Motivos de la secuencia BW4/Bw6:** La funcionalidad del motivo de la secuencia en Assign informa de la presencia de motivos definidos basados en secuencias de nucleótidos o aminoácidos en la alineación de la secuencia. El reconocimiento de los motivos Bw4 y Bw6 que se ha comunicado desde Assign se basa en las secuencias de aminoácidos comunicadas por Gumperz et al.

Serological epitope	Class I locus	Class I position				
		77	80	81	82	83
Bw4	HLA-A,B	N	I	A	L	R
	HLA-B	N	T	A	L	R
	HLA-A	S	I	A	L	R
	HLA-B	S	T	L	L	R
	HLA-B	D	T	L	L	R
Bw6	HLA-B	S	N	L	R	G
	HLA-B	G	N	L	R	G

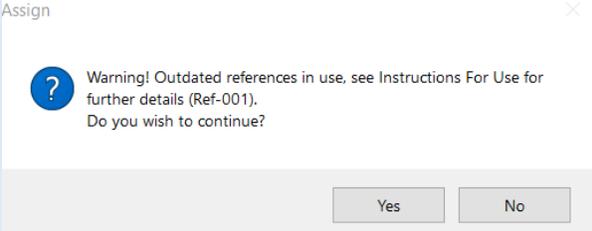
Figura 1: Motivos de secuencia HLA de clase I que determinan los epítomos serológicos Bw4 y Bw6.

<sup>1</sup>Gumperz, J., Litwin, V., Phillips, J., Lanier, L. and Parham, P. (1995). The Bw4 public epitope of HLA-B molecules confers reactivity with natural killer cell clones that express NKB1, a putative HLA receptor. *Journal of Experimental Medicine*, 181(3), pp.1133-114

**Teclas de acceso directo:**

Teclas	Descripción
Ctrl + L	Cambio de registro/lineal
Ctrl + M	Ocultar/mostrar el área del mapa
Ctrl + F	Encontrar la secuencia
Ctrl + A	Activar vista Aminoácidos
Mayúsculas + A/G/C/T	Filtrar por base
Flecha derecha	Mueve una base a la derecha
Ctrl + Flecha derecha	Pasa a la siguiente posición marcada
Ctrl + Mayúsculas + Flecha derecha	Se desplaza al final de la secuencia de consenso
Flecha izquierda	Mueve una base a la izquierda
Ctrl + Flecha izquierda	Cambia a la anterior posición marcada
Ctrl + Mayúsculas + Flecha izquierda	Se desplaza al inicio de la secuencia de consenso

<b>Flecha arriba</b>	Se desplaza a la muestra anterior
<b>Mayúsculas + Flecha arriba</b>	Reduce el tamaño de la visualización de profundidad de la cobertura de la secuencia
<b>Flecha abajo</b>	Se desplaza a la siguiente muestra
<b>Mayúsculas + Flecha abajo</b>	Incrementa el tamaño de la visualización de profundidad de la cobertura de la secuencia
<b>Tab</b>	Confirma la llamada de la base en la posición actual
<b>A/C/G/T/M/K/R/W/D/S/Y/B/V/H/N</b>	Edita la base en la posición actual
<b>Mayúsculas + I</b>	Alterna la información de lectura

Mensajes de error	Descripción
<b>Ref-001</b> 	<p>La versión 1.0.3 de AlloSeq Assign incluye una serie de cambios que dependen del uso de las versiones de referencia 3.45.1.1 y posteriores.</p> <p>El uso de referencias anteriores a esta puede dar lugar a problemas de desfase y ambigüedades adicionales con DQB1*03.</p>

### Dificultad para caracterizar la alerta alélica

Allele 1	Allele 2	CORE	EXONS	Differences
DRB4*01:01:01	X	0	0	
DRB4*01:01:01	DRB4*03:01N	0	0	
DRB4*03:01N	X	0	0	
DRB4*01:01:01	DRB4*01:156	0	1	

IMPORTANT!! The DRB4\*03:01N allele has been reported for your sample. This allele is difficult to characterise so caution is advised when reviewing.

Este mensaje de advertencia aparecerá en el panel de cobertura al pasar el ratón por encima de los alelos y en el informe completo cuando aparezcan como posibles resultados alelos difíciles de caracterizar. Estos alelos difíciles de caracterizar pueden informar incorrectamente como la mejor coincidencia debido a índices grandes.

Reference: **IMGT/DRB4 3.51.0.0 2023-01-12**

**Summary**

The allele pairs listed below are compatible with the consensus sequence.

DRB4*01:01:01	X
DRB4*01:01:01	DRB4*03:01N
DRB4*03:01N	X

IMPORTANT!! The DRB4\*03:01N allele has been reported for your sample. This allele is difficult to characterise so caution is advised when reviewing.

# Capítulo 9: Asistencia y datos de contacto

## **Fabricante:**

CareDx Pty Ltd,  
20 Collie Street, Fremantle, WA, Australia, 6160.  
Tel.: +61-8-9336-4212  
Correo electrónico: [orders-aus@caredx.com](mailto:orders-aus@caredx.com)  
Sitio web: <http://www.caredx.com>

## **Distribuido por:**

*Asia Pacífico (APAC)*  
CareDx Pty Ltd,  
20 Collie Street, Fremantle, WA, Australia, 6160.  
Tel.: +61-8-9336-4212  
Correo electrónico: [orders-aus@caredx.com](mailto:orders-aus@caredx.com)  
Sitio web: <http://www.caredx.com>

*Europa, Oriente Medio y África (EMEA)*  
CareDx AB,  
Franzégatan 5, SE-112 51 Estocolmo, Suecia.  
Tel.: +46-8-508 939 00  
Fax: +46-8-717 88 18  
Correo electrónico: [orders-se@caredx.com](mailto:orders-se@caredx.com)  
Sitio web: <http://www.caredx.com/>

*Continente americano*  
CareDx Lab Solutions Inc.,  
901 S. Bolmar St., Suite R, West Chester, PA 19382  
Tel.: 1-877-OLERUP1  
Fax: 610-344-7989  
Correo electrónico: [orders-us@caredx.com](mailto:orders-us@caredx.com)  
Sitio web: <http://www.caredx.com>

## **Asistencia técnica e información de incidentes graves:**

Correo electrónico: [techsupport-labproducts@caredx.com](mailto:techsupport-labproducts@caredx.com)

Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el producto se comunicará al fabricante y a la autoridad competente del estado miembro en el que esté establecido el usuario y/o el paciente.

Para más información, consulte el sitio web de CareDx (<https://www.caredx.com/contact-us/>).

## **Productos relacionados:**

AlloSeq Tx

## Capítulo 10: Historial de revisiones

Versión	Fecha	Modificación (cambios en comparación con la versión anterior IFU094)
1.0	06 abr 20	Primera edición de AlloSeq Assign IFU CE IVD. Editada por E. Naughton el 29 abr 20
1.1	11 may 20	Se han añadido detalles a Detalles de Indel e Indicadores de Confianza. Se han añadido instrucciones para generar un informe conciso. Se ha añadido Limitación del software. Se ha actualizado la sección Informes para incluir el formato PDF. JE actualizó las referencias de los grupos DRB1 en la sección Limitaciones
1.2	19 jun 20	Se ha añadido la sección Referencias a Limitaciones Reeditado por E. Naughton el 19 jun 20
2.0	04 dic 20	Se ha actualizado Limitaciones Reeditado por E. Naughton el 04 dic 20
3.0	30 mar 21	Se ha actualizado y revisado IFU para reflejar los cambios en la v1.0.2.1270: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Se ha añadido una referencia a AlloSeq Assign Launcher: Capítulo 7: AlloSeq Assign Launcher</li> <li>- Se ha añadido la descripción del sombreado naranja en el consenso de la muestra: Capítulo 5: Sección Secuencias</li> <li>- Se ha añadido una descripción adicional de la columna de diferencias: Capítulo 5: Columna de diferencias</li> <li>- Se ha añadido una referencia a la configuración de Tx8: Capítulo 4: Agregar operadores Capítulo 6: Generación de informes</li> <li>- Se ha añadido ABO y CCR5: Capítulo 1: Bases de datos de referencia, Capítulo 5: Pestaña Inicio y referencias de Assign Capítulo 6: Informes de locus personalizados Capítulo 8: Glosario</li> <li>- Se han actualizado las características de rendimiento con los tiempos de importación para diferentes ordenadores: Capítulo 1: Características de rendimiento</li> <li>- Se ha añadido la vista Aminoácidos: Capítulo 5: Sección Secuencias</li> <li>- Se ha añadido la referencia a AlloSeq Tx 8: Capítulo 1: Introducción y características de rendimiento</li> </ul> Reeditado L. Langley 31 mar 21
4.0	01 abr 21	Se ha añadido la exención de responsabilidad limitada para los archivos CIWD modificados por el usuario en el capítulo 5: Anotaciones. Reeditado L. Langley 01 abr 21
5.0	14 Dic 21	Se ha actualizado y revisado IFU para reflejar los cambios en la v1.0.3: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Se ha actualizado la sección de informes con una nueva captura de pantalla para la ventana de informes.</li> <li>- Se ha añadido un método para cambiar el logotipo del informe pdf.</li> <li>- Se han eliminado las referencias a informes concisos.</li> <li>- Se ha actualizado el proceso de informes completos en función de los cambios en la ventana de informes.</li> <li>- Se han actualizado los métodos Informe de tabla de resumen e Informe de una sola página por muestra.</li> <li>- Se ha añadido la sección de informes HML.</li> <li>- Se han añadido mensajes de error y atajos heredados al apéndice.</li> <li>- Se ha actualizado la compatibilidad con versiones anteriores.</li> <li>- Se ha añadido la tipificación de cuatro campos de genes de clase II a las limitaciones.</li> <li>- Cambiar de Qarad bvba a Qarad bv.</li> </ul>

		Reeditado por E. Naughton el 16-dic-21
6.0	15 Sep 2022	Actualización del logotipo de Assign (eliminación de marcas TM y R). Actualizar detalles de Qarad. Añadir número de versión Se ha eliminado la referencia a los kits AlloSeq Tx y se ha actualizado la referencia a AlloSeq Tx IFU para conocer los detalles de los kits AlloSeq Tx. Características de rendimiento que deben actualizarse para reflejar todas las SKU de AlloSeq Tx. Eliminación de toda referencia a Tx 8 y ABO/CCR5 en todo el texto. Sección 9: Incorporación de detalles sobre el fabricante y el distribuidor. Incorporación de los requisitos de información de vigilancia. Reeditado por L. Langley 12-oct-22
7.0	27 Feb 23	Actualización para v1.0.4: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Se ha actualizado la compatibilidad retroactiva.</li> <li>- Se ha actualizado la captura de pantalla de inicio.</li> <li>- Se ha eliminado la referencia a Tx17.1.</li> <li>- Se ha actualizado la captura de pantalla de la pestaña Inicio.</li> <li>- Capturas de pantalla de visualización de cobertura</li> <li>- Se han añadido detalles sobre el sombreado gris en las secuencias de referencia de los alelos, el mapa de cobertura y los seguimientos de desfase.</li> <li>- Se ha actualizado la secuencia de capturas de pantalla DOC.</li> <li>- Vista de aminoácidos</li> <li>- Se han actualizado las capturas de pantalla de la vista Lecturas, se ha eliminado la referencia al indicador de dirección de lectura, se ha añadido un nuevo indicador de inserción y las estrellas enlazan los pares de lecturas.</li> <li>- Se ha añadido una nota al informe de una sola página por muestra para describir el contenido genético y la limitación.</li> <li>- Se ha añadido la opción GLString sumativo a la sección de informes HML.</li> <li>- Se han eliminado las combinaciones de teclas duplicadas.</li> </ul>
8.0	15 Mayo 23	Se han actualizado las versiones de software de la sección "Compatibilidad con configuraciones anteriores".
9.0	29 Ago 23	Se ha añadido una sección de advertencias en el panel de resultados. Se ha eliminado una especificación errónea en la sección del historial de revisiones de la versión 8.0. Se ha actualizado a v1.0.5 en su totalidad. Se han añadido detalles a CH-REP.
10	09 Oct 23	Se han eliminado las instrucciones de uso de Ctrl+G y las instrucciones de uso del informe resumido solo P y solo G.