



Программа для обработки результатов
секвенирования нуклеотидных
последовательностей
«ДЕОНА»

Руководство пользователя
Профиль ВИЧ

Текущая версия: 1.7.0

Всего страниц, включая титульную: 31

Содержание

ВВЕДЕНИЕ	3
1.1. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ	3
1.2. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ	3
1.3. УРОВЕНЬ ПОДГОТОВКИ ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ	3
1.4. ГАРАНТИЯ И ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА	3
2. НАЗНАЧЕНИЕ И УСЛОВИЯ ПРИМЕНЕНИЯ	4
2.1. НАЗНАЧЕНИЕ ПРОГРАММЫ	4
2.2. СИСТЕМНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ	4
3. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ.....	4
3.1. СОДЕРЖАНИЕ ДИСТРИБУТИВА	4
3.2. ПОРЯДОК УСТАНОВКИ ПРОГРАММЫ И ДАННЫХ	4
4. НАЧАЛО РАБОТЫ.....	8
4.1. РЕГИСТРАЦИЯ ЛИЦЕНЗИИ	8
5. СБОРКА КОНСЕНСУСНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ	11
5.1. ЗАГРУЗКА ХРОМАТОГРАММ И СОЗДАНИЕ ПРОЕКТА	11
5.2. ОСНОВНОЕ ОКНО ПРОЕКТА	14
5.3. ОКНО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА	17
5.4. ОКНО МУТАЦИЙ	18
5.5. ОКНО ХРОМАТОГРАММЫ	19
5.6. ОКНО РЕФЕРЕНСОВ	19
5.7. РЕДАКТИРОВАНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ	19
5.8. МАСКИРОВАНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ	21
5.9. ВЫРАВНИВАНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ	21
5.10. ОКНО ВИРТУАЛЬНОЙ КЛАВИАТУРЫ IUPAC	22
6. АНАЛИЗ КОНСЕНСУСНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ	23
6.1. ГЕНЕРАЦИЯ ОТЧЕТА	23
6.2. БЛАНК ОТЧЕТА.....	24
6.2.1. Отчет по лекарственной устойчивости к препаратам	25
6.2.2. Отчет по спискам мутаций.....	25
6.2.3. Отчет контроля качества	28
6.3. ДАННЫЕ ОТЧЕТА.....	29
6.4. СОХРАНЕНИЕ ОТЧЕТА	30
7. СПРАВОЧНИК КОМАНД.....	30

Введение

1.1. Область применения

Основными конечными пользователями программного обеспечения (ПО) «Программа для обработки результатов секвенирования нуклеотидных последовательностей «ДЕОНА». Профиль ВИЧ» (ПО «ДЕОНА») являются лаборатории, проводящие анализ лекарственной устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам с помощью секвенирования методом капиллярного электрофореза на генетических анализаторах Applied Biosystems™.

1.2. Краткое описание возможностей

Основными возможностями ПО являются следующие:

1. Сборка секвенированных последовательностей, полученных при использовании набора реагентов, предназначенного для определения мутаций устойчивости ВИЧ с помощью секвенирования, в консенсусную последовательность.
2. Анализ качества сформированной консенсусной последовательности.
3. Редактирование отдельных хроматограмм и собранной консенсусной последовательности.
4. Выявление в консенсусной последовательности мутаций, ассоциированных с возникновением лекарственной устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам классов ингибиторов протеазы, обратной транскриптазы и интегразы.
5. Определение степени чувствительности ВИЧ к антиретровирусным препаратам методом виртуального фенотипирования через интеграцию с базой данных Стенфордского университета.
6. Определение тропизма ВИЧ.

1.3. Уровень подготовки пользователя

Для работы с ПО «ДЕОНА» необходимы базовые знания в области ПК и специализированное биологическое или медицинское образование.

1.4. Гарантия и техническая поддержка

Предоставляемые гарантии, срок работы ПО «ДЕОНА» и другие ограничения указаны в лицензионном соглашении и лицензии. Техническая поддержка доступна для всех вопросов пользователей по e-mail: deona@rmbit.ru. Юридический и фактический адрес АО «РМБит» - 111123, г. Москва, Шоссе Энтузиастов д.56, стр. 44, офис 601.

2. Назначение и условия применения

2.1. Назначение программы

Программа предназначена для помощи врачам-лаборантам или врачам-специалистам, которые проводят необходимый комплекс работ по анализу образцов на лекарственную устойчивость ВИЧ и тропизм ВИЧ, и выдаче результатов по ним.

2.2. Системные требования

Для использования ПО «ДЕОНА», рабочее место врача-лаборанта должно быть оснащено компьютером с установленной операционной Microsoft® Windows XP™ или выше, а также стабильно работающим выходом в сеть Internet.

3. Подготовка к работе

3.1. Содержание дистрибутива

В комплект программного обеспечения «ДЕОНА» входят:

- лицензионное ПО «ДЕОНА»¹;
- инструкция по установке (в формате PDF)¹;
- руководство пользователя (в формате PDF)¹;
- USB-ключ² (1 ключ на 1 рабочее место пользователя);
- лицензии², включающие в себя 20-значный активационный номер (по 1 лицензии на 1 ключевую позицию, разрешающую использование одного или нескольких профилей «ДЕОНА»).

3.2. Порядок установки программы и данных

3.2.1. Перед началом работы необходимо запустить установочную программу Autorun.exe с CD-диска (если она не запускается автоматически) (Рисунок 1). Для установки программы Ваша учетная запись должна обладать правами администратора (при установке с Windows 7 убедитесь, что запуск установочной программы произведен от имени Администратора).

3.2.2. При необходимости установки программы чтения PDF-документов выберите любую программу из пункта 1 и установите её, нажав кнопку «Старт».

Для прочтения инструкции по установке или данного руководства пользователя в электронном варианте, выберите п.2 или п.4.

Для инсталляции программы «ДЕОНА» выберите п.3.

¹ Расположены на инсталляционном носителе информации (дистрибутив в фирменной упаковке) или на сайте Изготовителя.

² Предоставляется по запросу по истечении срока годности для USB-ключа и пополнения числа доступных сборок для лицензии.

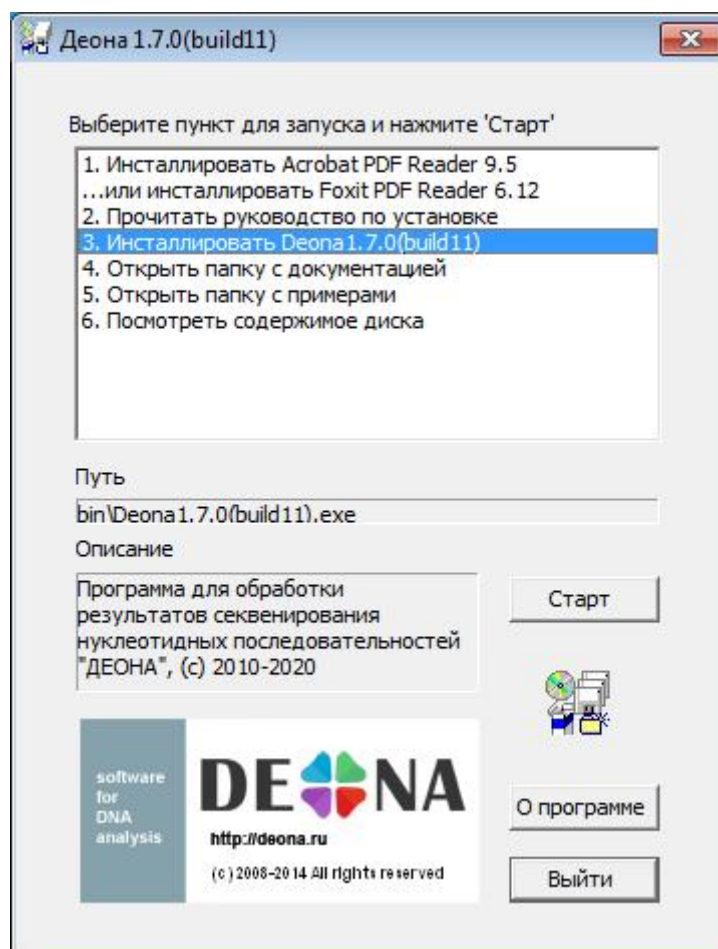


Рисунок 1. Запуск установочного диска³.

3.2.3. После запуска программы установки ДЕОНА необходимо выбрать язык интерфейса (Рисунок 2).

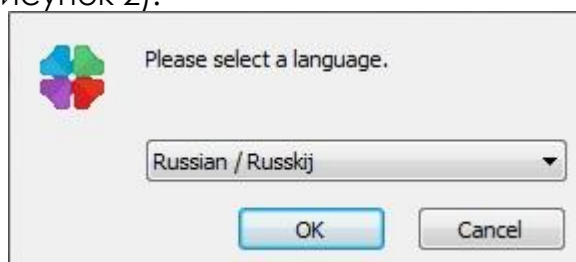


Рисунок 2. Выбор языка.

Выберите вариант русифицированной версии установки программы (Russian).

3.2.4. После принятия лицензионного соглашения программы выберите основные и дополнительные компоненты для установки (Рисунок 3).

³ Здесь и далее - версия на диске может быть более новая, чем приведено на рисунке в качестве примера

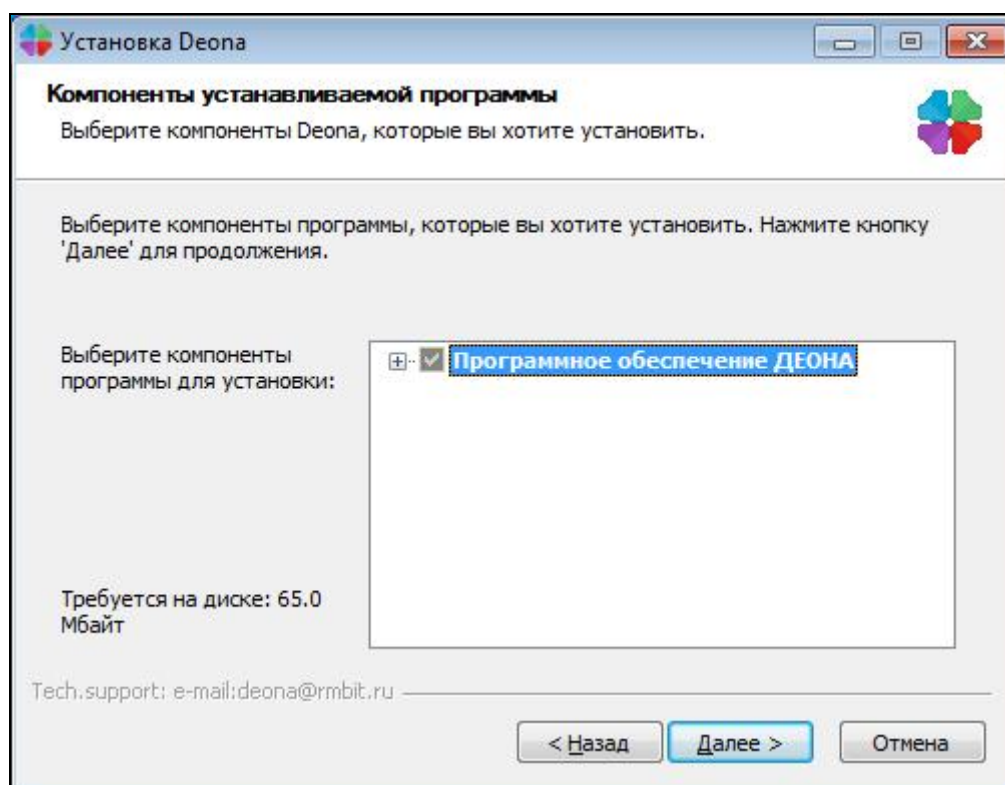


Рисунок 3. Выбор основных компонент.

Для профиля ВИЧ при установке базовой комплектации должны быть установлены компоненты:

- Модуль для секвенатора Applied Biosystems (для работы с данными секвенаторов торговой марки Applied Biosystems™);
- Профиль ВИЧ (Рисунок 4);

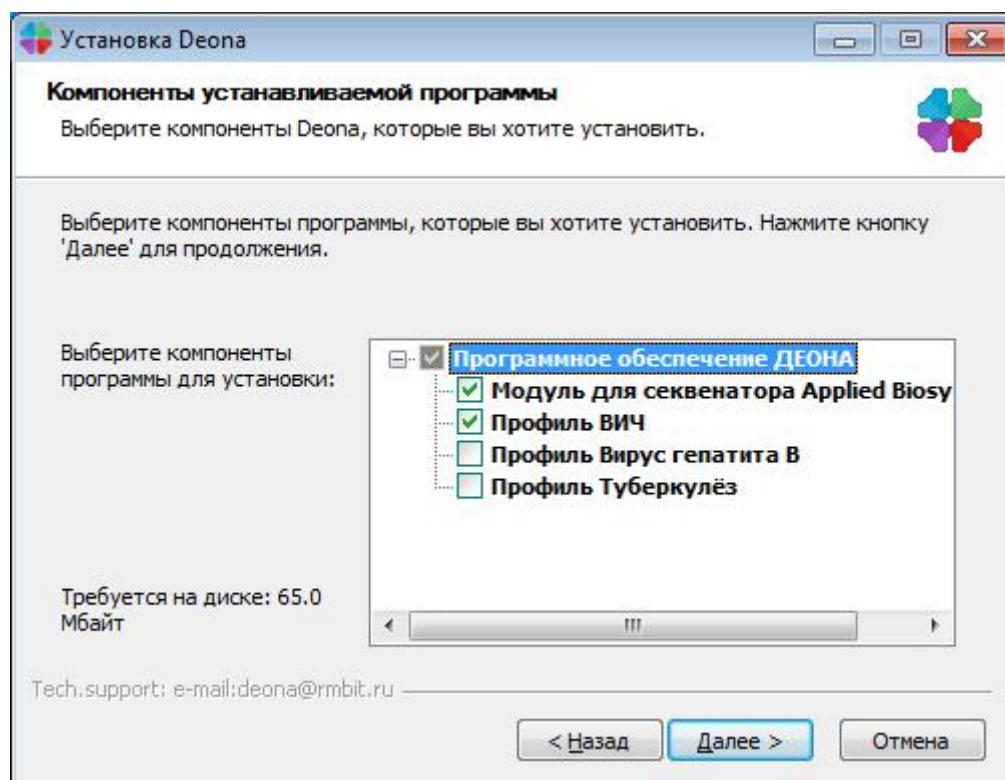


Рисунок 4. Выбор компонент базовой комплектации профиля ВИЧ.

3.2.5. Выберите путь для установки (Рисунок 5):

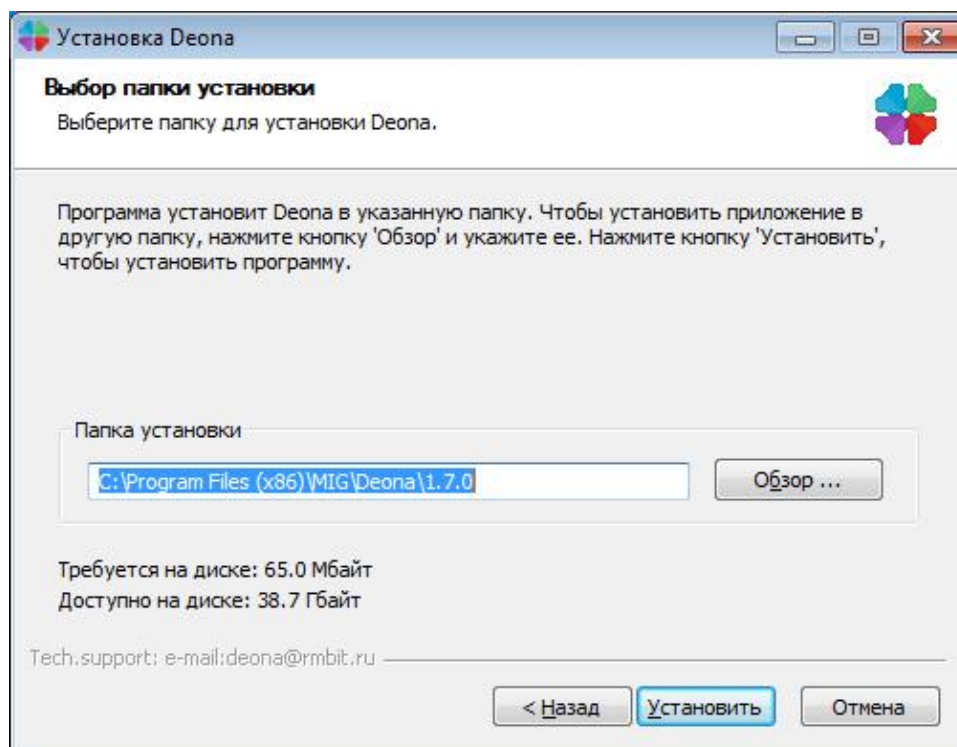


Рисунок 5. Выбор пути установки ПО «ДЕОНА».

3.2.6. Дождитесь окончания инсталляции (Рисунок 6). По завершении процесса установки нажмите кнопку «Заккрыть».

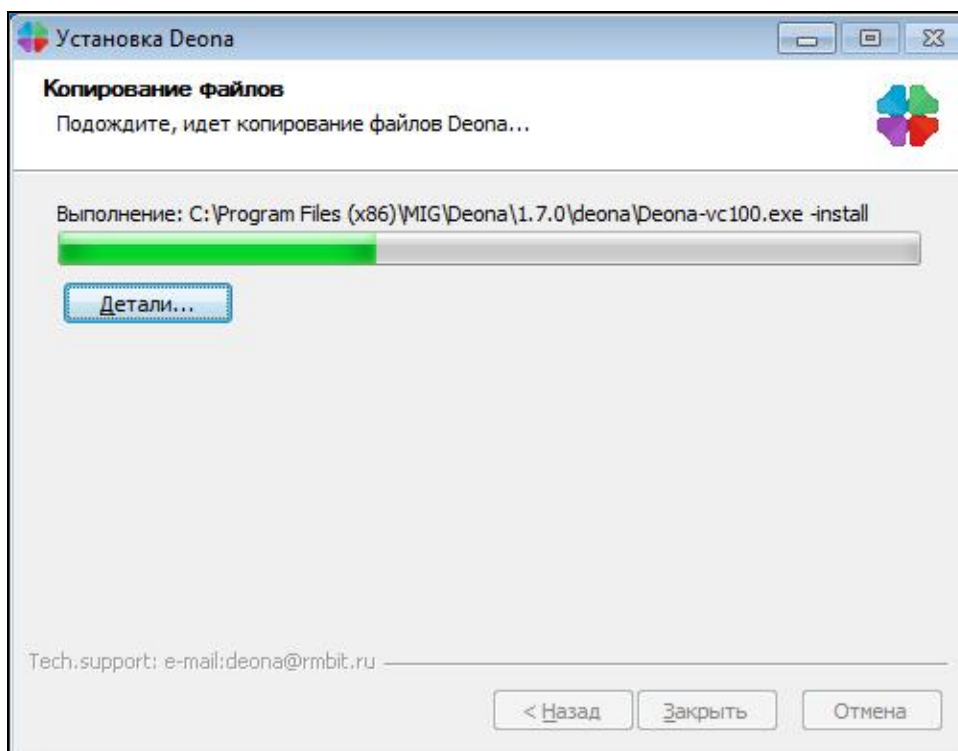


Рисунок 6. Процесс установки.

4. Начало работы

4.1. Регистрация лицензии

4.1.1. Вставьте USB-ключ в свободный USB-разъем. Подождите некоторое время (обычно не более 1 минуты), пока Windows не опознает USB-ключ (в правом нижнем углу появится информационное сообщение «Найдено новое оборудование. Новое оборудование установлено и готово к использованию»).

4.1.2. Запустите программу из меню «Пуск»/Программы/Deona<версия>⁴.

4.1.3. Введите серийный номер, который указан на USB-ключе.

4.1.4. Нажмите кнопку «Зарегистрировать ключ» (Рисунок 7).

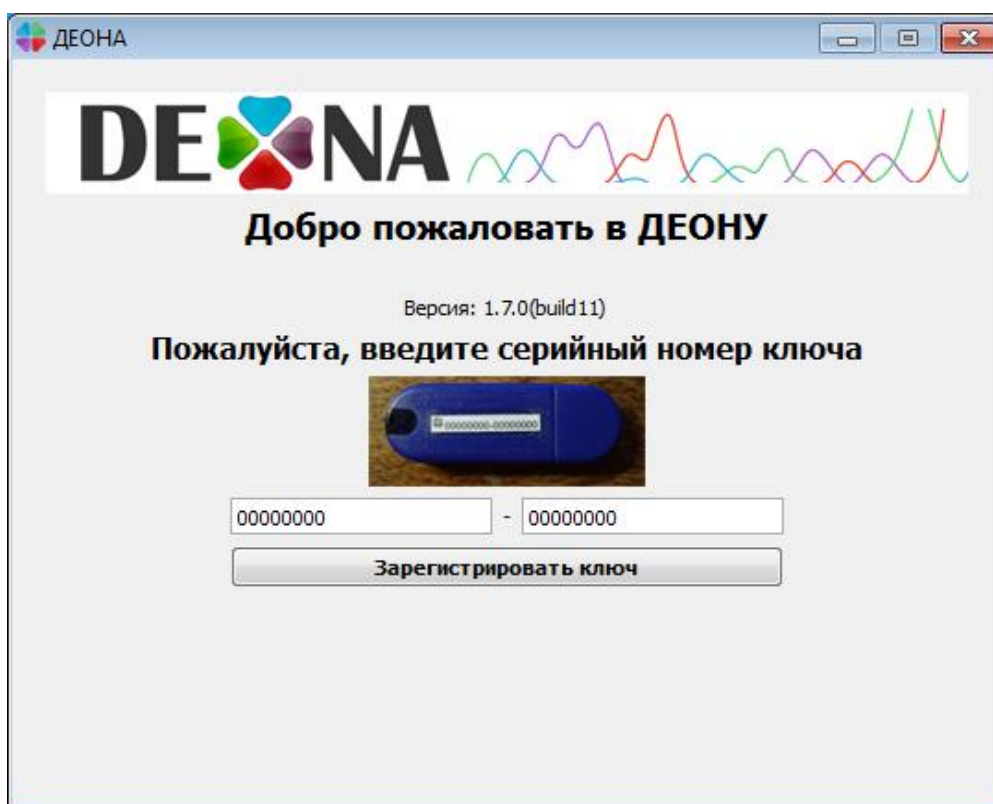


Рисунок 7. Регистрация ключа

4.1.5. После успешной регистрации USB-ключа вы увидите срок действия ключа и названия разрешенных групп ключевых позиций в левом нижнем углу (Рисунок 8). Для ВИЧ должна быть доступна группа «+ВИЧ», разрешающая использование профилей ВИЧ.

⁴ Текущая версия, например 1.7.0

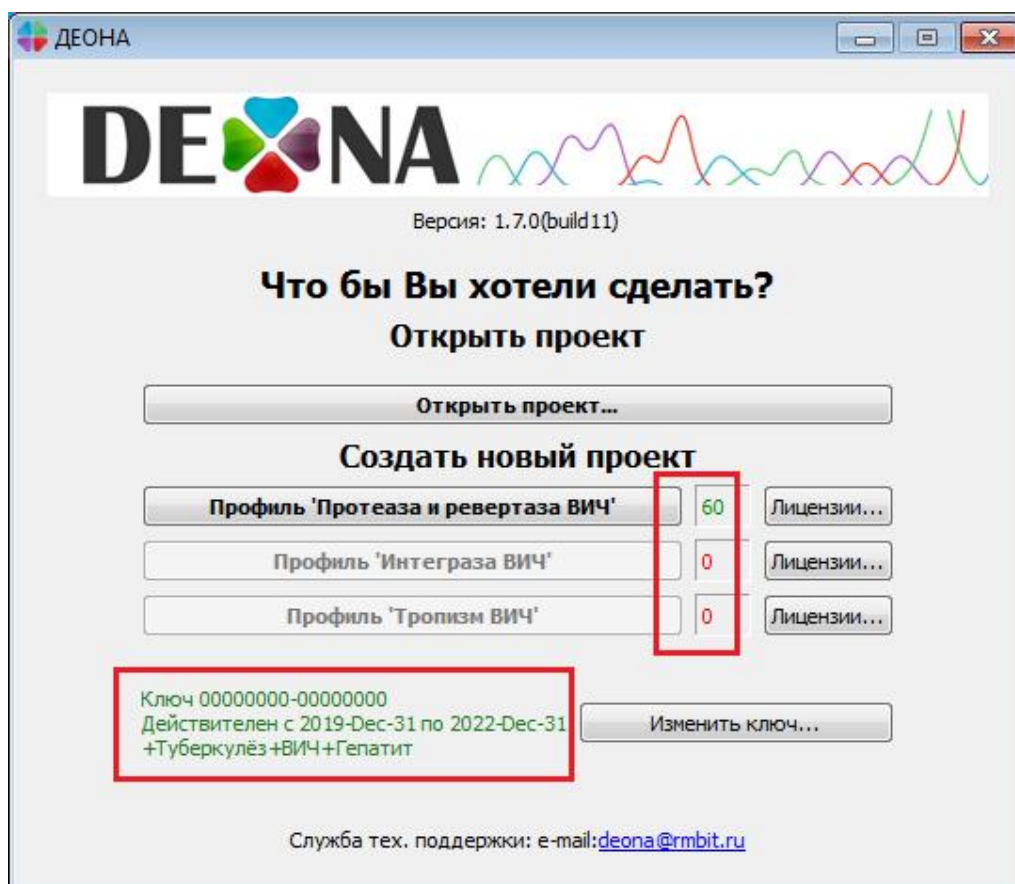


Рисунок 8. Окно запуска ПО «ДЕОНА» после успешной регистрации ключа и активации лицензий⁵.

Число доступных сборок проектов указывается напротив соответствующего профиля. Изменить номер ключа на новый можно при помощи кнопки «Изменить ключ».

4.1.6. Нажмите кнопку «Лицензии...» напротив соответствующего профиля для пополнения числа доступных сборок.

⁵ Параметры используемого Вами USB-ключа и набор доступных для работы профилей могут отличаться от приведенного на рисунке в качестве примера

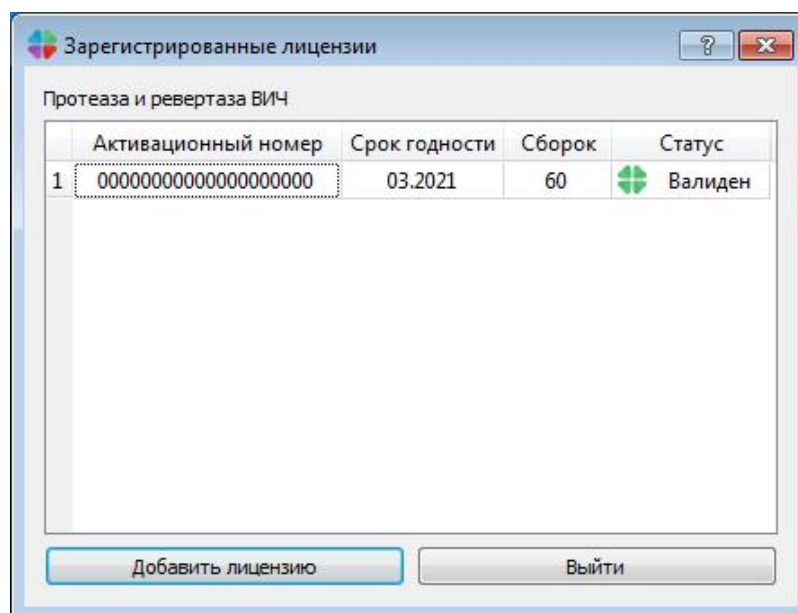


Рисунок 9. Регистрация лицензии.

4.1.7. В открывшемся окне нажмите кнопку «Добавить лицензию» (Рисунок 9). Вверху будет отображена ключевая позиция, на которую выписана лицензия. Ключевая позиция отвечает за активацию одного или нескольких профилей.

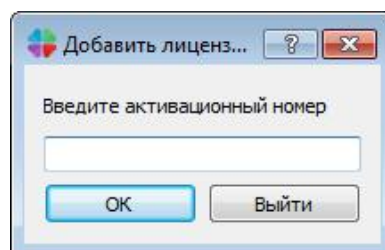



Рисунок 10. Окно ввода активационного номера.

4.1.8. Воспользуйтесь лицензией (Рисунок 11) и введите активационный номер (Рисунок 10) для указанной ключевой позиции.

ЛИЦЕНЗИЯ

Позиция: ВИЧ (протеаза ревертаза)
№: 0001
Срок действия: 02.2014
Количество сборок: 60
Активационный номер: 00000000000000000000



DEONA

<http://deona.ru>
тел. тех. поддержки:
+7(495)646-24-00

Рисунок 11. Пример лицензии.

При успешном вводе, число доступных сборок увеличится на число, указанное в лицензии. Если регистрация прошла успешно, можно начинать работу.

5. Сборка консенсусной последовательности

5.1. Загрузка хроматограмм и создание проекта

5.1.1. При запуске программы в разделе «Создать новый проект» выберите один из профилей (см. выше Рисунок 8):

- Протеаза и ревертаза ВИЧ;
- Интеграза ВИЧ;
- Тропизм ВИЧ;

В результате будет открыто рабочее окно, в котором справа внизу будет отображено название профиля и количество доступных сборок (Рисунок 12).

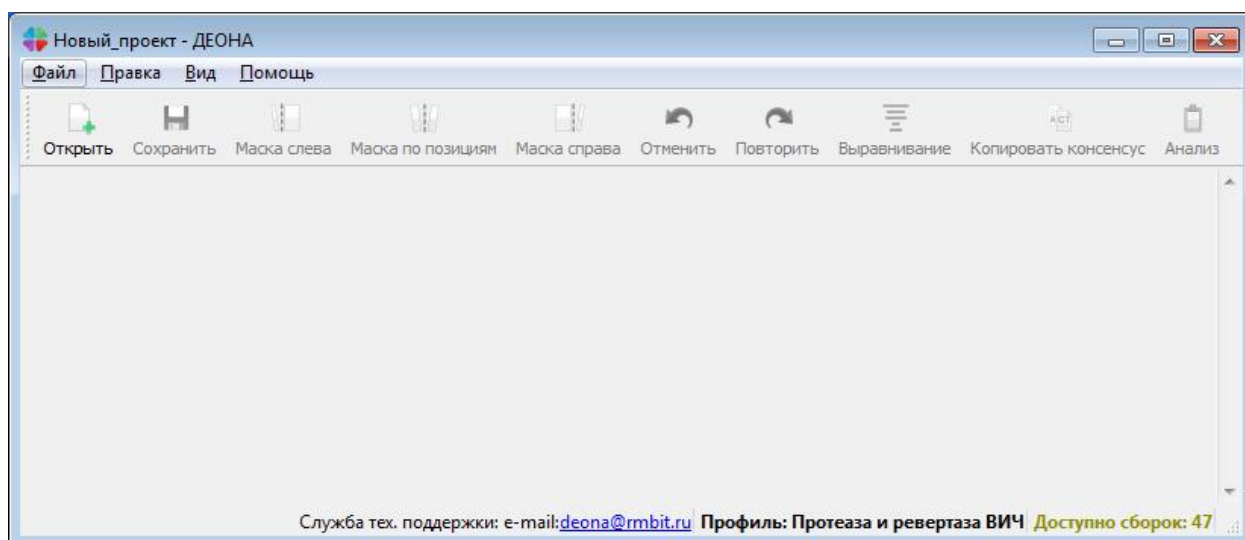


Рисунок 12. Начальная страница.

5.1.2. Для создания нового проекта в открытой программе воспользуйтесь кнопкой «Открыть» и загрузите один или несколько файлов хроматограмм с расширением *.ab1 или *.scf, полученных для одного образца (Рисунок 13).

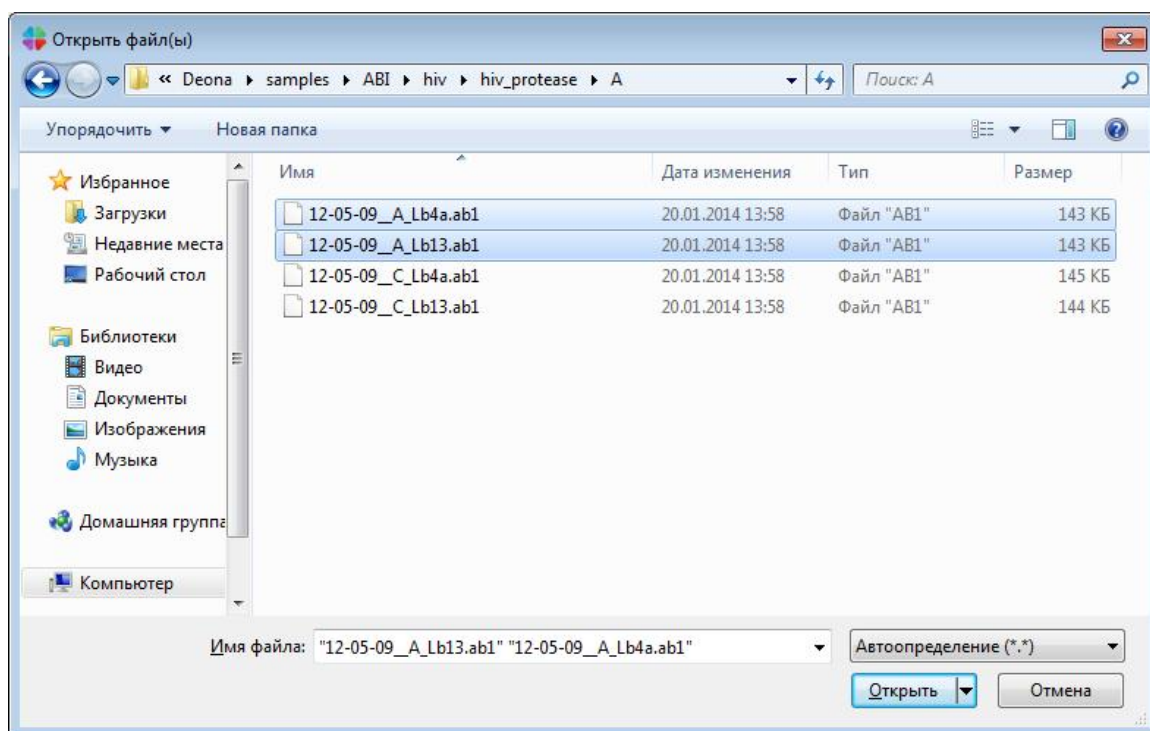


Рисунок 13. Открытие файлов.

Если открываемый файл имеет структуру вида «имя_комментарий», где две строки разделены двумя символами подчеркивания, то при открытии такого файла каталог будет просканирован на наличие других файлов с тем же префиксом, после чего можно будет выбрать, какие файлы включить в проект (Рисунок 14). Назовите проект, отметьте галочками нужные файлы и нажмите «ОК».

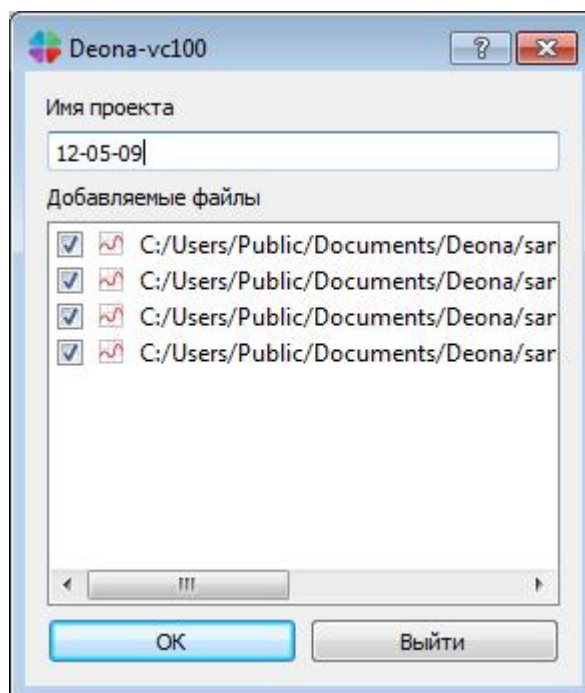


Рисунок 14. Создание проекта.

5.1.3. Выберите путь для сохранения файла проекта в формате «*.dnz» (Рисунок 15).

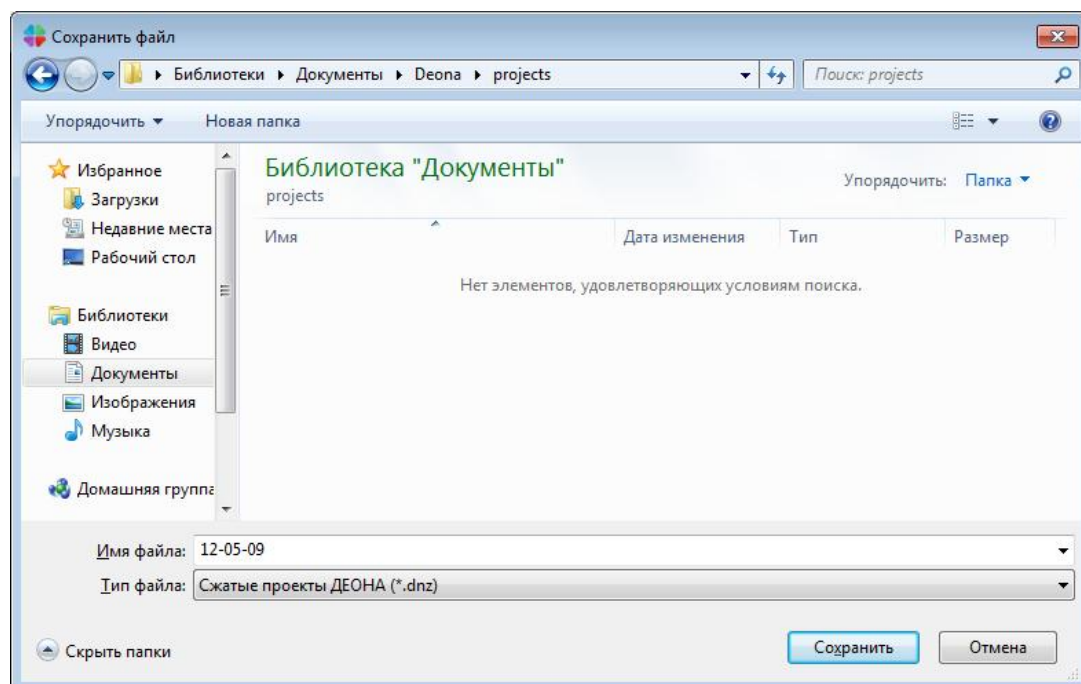


Рисунок 15. Сохранение проекта.

Файлы будут загружены в основное окно и проект будет успешно построен, можно приступать к редактированию проекта (Рисунок 16).

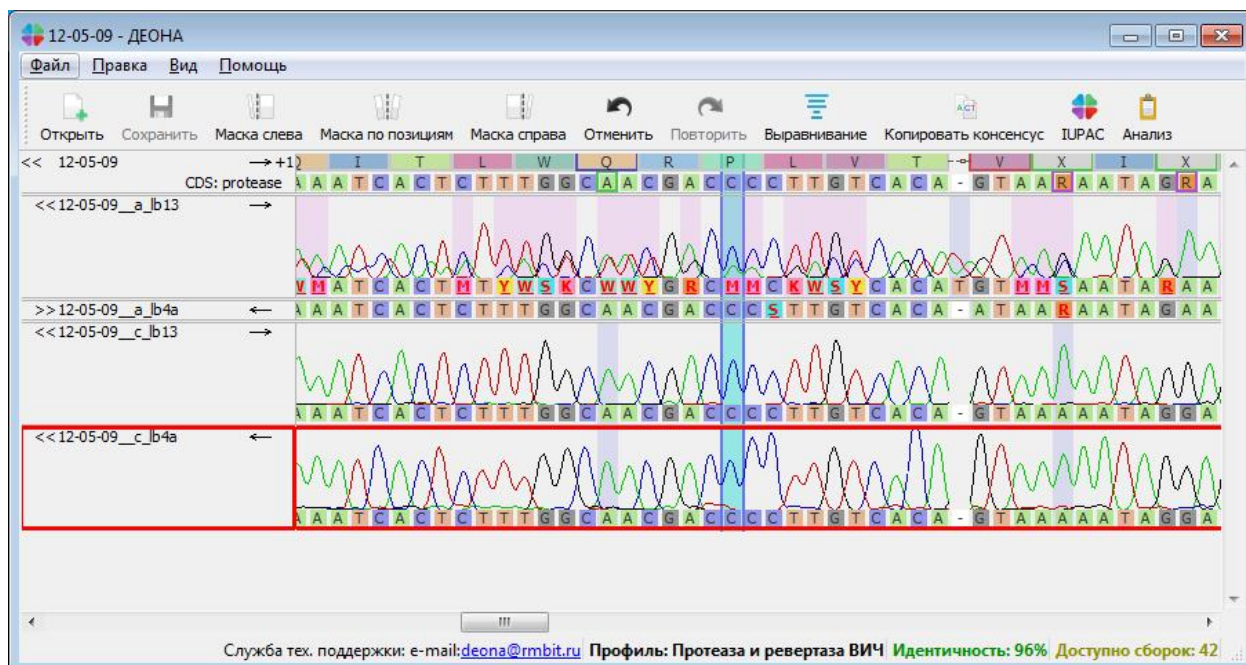


Рисунок 16. Основное окно проекта.

5.1.4. Для работы с ранее созданным и сохраненным проектом достаточно будет нажать в окне запуска ПО «ДЕОНА» соответствующую кнопку, либо кнопку «Открыть проект...» (Рисунок 17), после чего следует указать путь к файлу в формате «*.dnz».



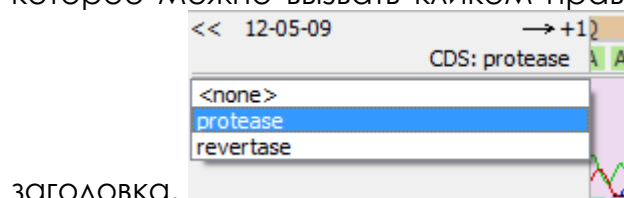
Рисунок 17. Открытие сохраненных проектов.

5.2. Основное окно проекта

После сборки проекта в основном окне отображаются загруженные хроматограммы, консенсусная последовательность и её трансляция в аминокислотную последовательность. Процент гомологии (идентичности) указан в правом нижнем углу (Рисунок 16). Помимо этого отображается позиция курсора и сопутствующая информация. Ниже приведены основные условные обозначения основного окна:

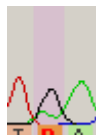
- **Позиция белка** - название линейки;
- **85 86** - линейка, в которой отображается нумерация аминокислот (АК) в гене;
- **<< 12-05-09 → +1**
CDS: protease - заголовок консенсусной последовательности или хроматограммы,
 - значок << или >> показывает, развернуто или свернуто поле отображения, каждая строка может быть развернута (свернута) простым кликом левой кнопкой мышки на этом поле;
 - **12-05-09** – название последовательности (для консенсусной последовательности – название образца);

- **стрелочка «→»** показывает, что последовательность получена секвенированием с прямого праймера в направлении от 5'конца к 3', обратная стрелка – последовательность получена с обратного праймера в направлении от 3' к 5'
- **CDS: protease** – отображается активный ген. В зависимости от позиции курсора происходит переключение с одного гена на другой, и, т.о., другой ген становится активным. Выбор активного гена может быть изменен при помощи выпадающего меню, которое можно вызвать кликом правой кнопки мышки на поле

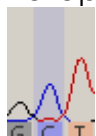


заголовка.

- **A T G C** - последовательность ДНК, для хроматограмм отображается под пиками;
- **A T G C** - позиции ДНК, в которые были внесены изменения;
- **C M S K W B D H Y** - полиморфные позиции;



- **T R A** - розовой подсветкой обозначаются полиморфные позиции, в которых, возможно, есть мутация;



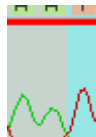
- **G C T** - синей подсветкой обозначаются позиции, отличные от референсной, в консенсусной последовательности также возможно появление мутации по этой позиции;



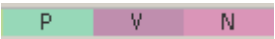











- **C A A** - бледными цветами отображаются маскированные области хроматограмм, не участвующих в построении консенсусной последовательности;



- **T T T** - выделение курсора активной позиции голубым фоном, красной рамкой обозначена активная строка хроматограммы или консенсусной последовательности;



- **A A T** - бледно-голубым фоном обозначены выделенные множественные позиции;

-  - трансляция активного гена;
- Обозначения аминокислотных мутаций:
 -  - аминокислотная мутация типа замены или вставки;
 -  - аминокислотная мутация типа делеции – обозначается удаленная аминокислота референсного белка;
 -  - критически-значимая (т.е. приводящая к устойчивости к лекарственным препаратам) аминокислотная мутация типа замены или вставки;
 -  - нетипичная аминокислотная мутация типа замены или вставки;
 -  - полиморфная аминокислотная мутация типа замены или вставки
 -  - полиморфная аминокислотная мутация типа замены или вставки, которая включает в себя критически-значимую альтернативу;
- Обозначения нуклеотидных мутаций:
 -  - нуклеотидная мутация в консенсусной последовательности типа замены или вставки;
 -  - нуклеотидная мутация типа делеции;
 -  - полиморфная нуклеотидная мутация типа замены или вставки;
 -  - критически-значимая нуклеотидная мутация типа вставки или инсерции;
 -  - нуклеотидная мутация в консенсусной последовательности типа делеции;
 -  - сбой рамки считывания по причине делеции;
 -  - рамки считывания по причине инсерции;

Описание выделенных в рамки позиций доступно при удерживании правой кнопки мышки на соответствующей позиции (Рисунок 18).

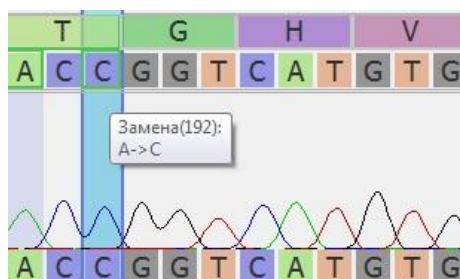


Рисунок 18. Описание выделенных в рамки позиций.

Для анализа полученных данных в дополнении к основному окну следует открыть окно контроля качества, окно мутаций, окно хроматограммы и окно референсов через меню «Вид», отметив галочками необходимые позиции (Рисунок 19).

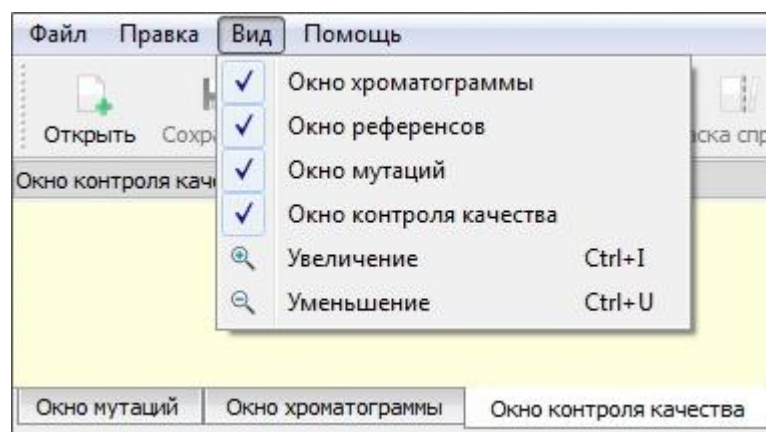


Рисунок 19. Меню «Вид».

5.3. Окно контроля качества

Окно контроля качества позволяет наглядно показать качество сборки консенсусной последовательности, отобразить покрытие интересующего участка вирусной ДНК хроматограммами, показать обнаруженные мутации и указать те из них, которые являются критически-значимыми (Рисунок 20).

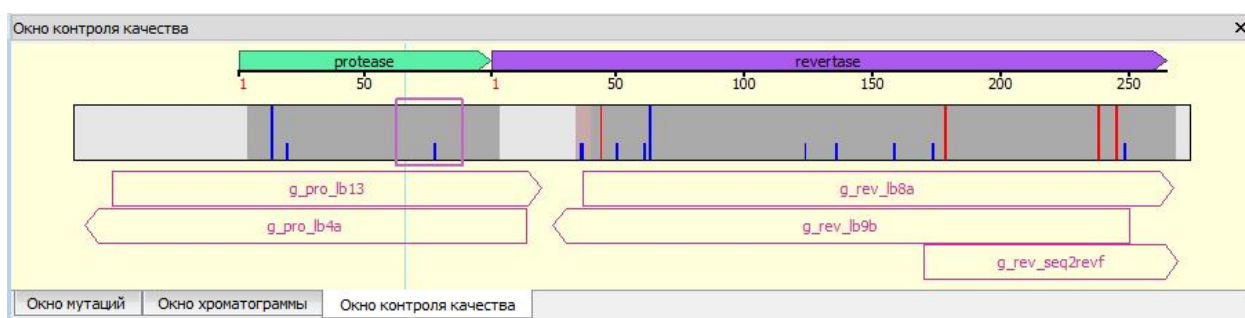
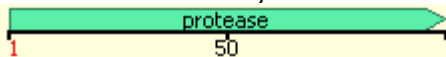
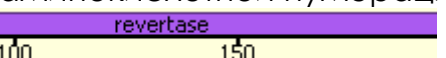







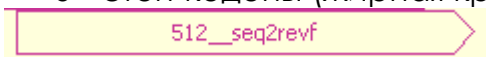






Рисунок 20. Окно контроля качества.

Проконтролируйте полученную сборку консенсус-последовательности, учитывая следующие обозначения:

-  - расположение гена протеазы ВИЧ с аминокислотной нумерацией;
-  - расположение гена ревертазы ВИЧ с аминокислотной нумерацией;
-  - участок консенсус-последовательности с покрытием, большим, чем одной хроматограммой;
-  - участок консенсус-последовательности с покрытием только одной хроматограммой;
-  - участок консенсус-последовательности, непокрытый хроматограммами;

-  - участок консенсус-последовательности вне области интереса;
-  - критически-значимая мутация из справочника мутаций;
-  - мутация полиморфизма;
-  - проблемная область, которая может соответствовать одному из нижеперечисленных случаев:
 - сбой рамки считывания;
 - нетипичные мутации;
 - стоп-кодона (жирная красная черта);
-  - обозначение хроматограммы и её расположение.
-  - замаскированная часть хроматограммы;
-  - проблемные области на хроматограммах, отвечающие множественному выражению (подряд идущие полиморфные позиции);
-  - текущее положение курсора;
-  - обозначение области просмотра референса;

5.4. Окно мутаций

В окне мутаций можно узнать информацию о каждой критически-значимой мутации, кликнув на ней правой кнопкой мыши (Рисунок 21). Все мутации разбиты на группы, отличающиеся цветами и относящиеся к разным участкам ДНК.



Рисунок 21. Окно мутаций.

Основные условные обозначения в окне мутаций:

- **L76V** **K65RN** **A98G** - критически-значимые замены;
- **T69In** - критически-значимые инсерции.

5.5. Окно хроматограммы

Окно хроматограммы отображает детальную информацию о форме сигналов выбранной хроматограммы и оценку качества назначенных оснований в каждой позиции (Рисунок 22). График можно растягивать при необходимости по ширине и высоте с помощью ползунков.

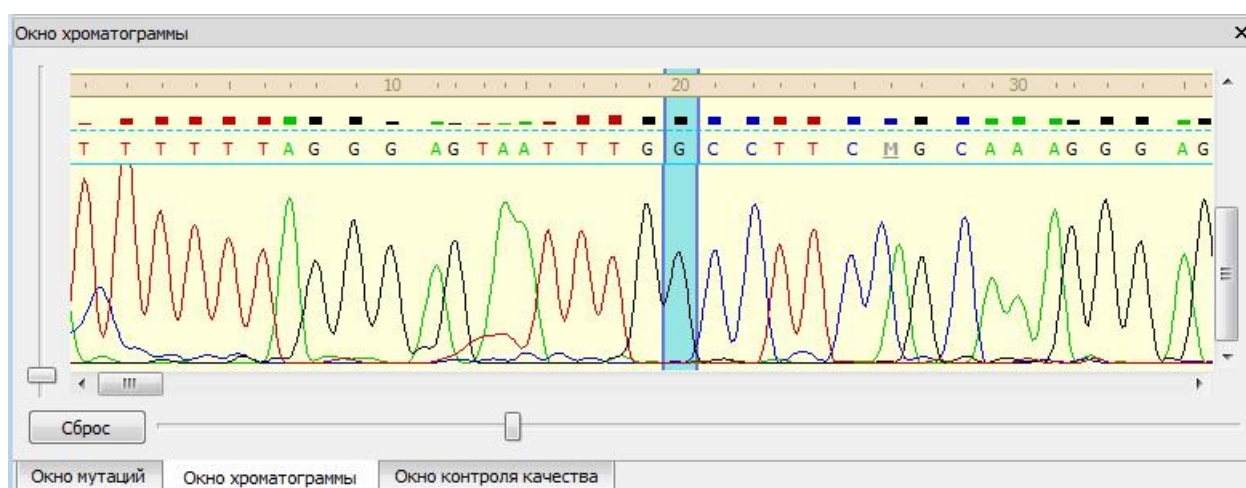


Рисунок 22. Окно хроматограммы.

5.6. Окно референсов

Окно референсов отображается в нижней части основного окна. В ПО «ДЕОНА» предусмотрен выбор ближайшего к консенсусу референса, наименование которого указывается слева от его последовательности (Рисунок 23). Процент гомологии (идентичности), который указан в нижнем правом углу, определяется по сходству с референсной последовательностью. Условные обозначения в референсах аналогичны п. 5.2.

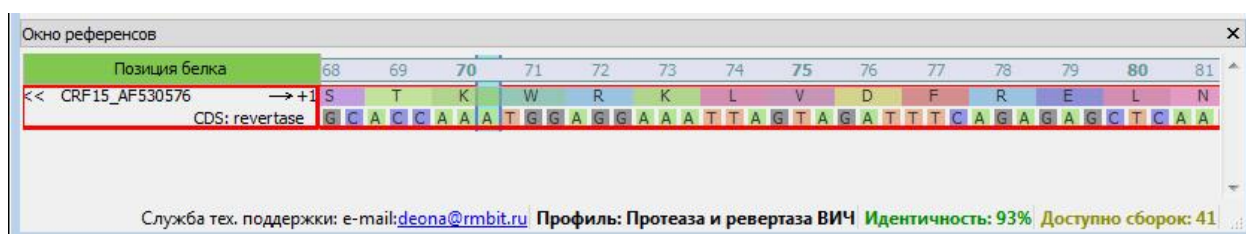


Рисунок 23. Окно референсов.

5.7. Редактирование последовательностей

Чтобы правильно собрать консенсусную последовательность, пользователю рекомендуется внимательно просмотреть каждую

хроматограмму на наличие полиморфных позиций и позиций, отличающихся от референса, и при необходимости скорректировать нужные позиции. При этом консенсусная последовательность перестраивается автоматически.

Внимание!


Проводить редактирование консенсусной последовательности напрямую возможно, однако после редактирования хроматограмм и/или повторного выравнивания эти изменения будут утеряны.

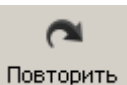
Для редактирования хроматограмм нужно кликнуть мышкой на нужных позициях и применить команду редактирования. Доступны следующие команды редактирования последовательности хроматограмм (Таблица 1):

Команда/цель	Назначение	Способ применения	Горячая клавиша
Перемещение курсора и выделение активных позиций	Прежде, чем что-либо отредактировать, нужно в нужное место выставить курсор (голубая подсветка)	Кликните левой кнопкой мыши по нужной позиции, после чего выделенная позиция подсветится голубым. Используйте клик мышки при нажатой клавише Ctrl или Shift для выделения множества активных позиций.	Ctrl+click – добавить/удалить позицию к выделению Shift+click – добавить/удалить множество позиций к выделению
Замена нуклеотидов	Замена нуклеотида на любой другой IUPAC символ	Доступны следующие варианты применения команды: 1. Используйте меню «Правка/последовательность/изменить сайт/<нужный символ>» 2. Нажмите соответствующую клавишу на клавиатуре. 3. Воспользуйтесь графической клавиатурой IUPAC Произведется замена всех выделенных позиций на заданный символ.	Любая из клавиш: A, C, G, T, R, Y, M, K, S, W, H, B, V, D, N, а также «звездочка» (стоп-кодон) и «тире» (делеция)
Вставка нуклеотидов	Вставка последовательности IUPAC-символов	Доступны следующие варианты применения команды: 1. Используйте меню «Правка/последовательность/вставить сайт/<нужный символ>» 2. Нажмите соответствующую клавишу на клавиатуре при нажатой клавише Shift. 3. Воспользуйтесь графической клавиатурой IUPAC, предварительно перейдя в режим вставок, нажав на ней «Ins» Произведется вставка заданного символа после каждой выделенной позиции.	Нажатая клавиша Shift + любая из клавиш: A, C, G, T, R, Y, M, K, S, W, H, B, V, D, N, а также «звездочка» (стоп-кодон) и «тире» (делеция)
Удаление нуклеотидов	Удаление последовательности нуклеотидов	Команда эквивалентна замене выделенной последовательности на символ делеции («-»)	Клавиша «тире» (делеция)
Восстановить первичный сайт	Замена последовательности в хроматограмме на первичные сайты	1. Используйте меню «Правка/последовательность/воссоздать сайт/восстановить первичный сайт» 2. Клавиша «1»	Клавиша «1»
Восстановить вторичный сайт	Замена последовательности в	1. Используйте меню «Правка/последовательность/воссоздать сайт/восстановить вторичный сайт»	Клавиша «2»

	хроматограмме на вторичные сайты	2. Клавиша «2»	
Восстановить полиморфный сайт (первичный в смеси со вторичным)	Замена последовательности в хроматограмме на смесь первичный+вторичный	1. Используйте меню «Правка/последовательность/воссоздать сайт/восстановить вторичный сайт» 2. Клавиша «7»	Клавиша «7»

Таблица 1. Список команд редактирования хроматограмм.

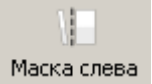

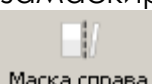
Любую команду редактирования можно отменить и действия откатить назад при помощи стандартной команды «Отменить» (кнопка  в панели инструментов или команда меню «Правка/Отменить»).

Повторение команды после ее отмены возможно при помощи стандартной команды «Повторить» (кнопка  в панели инструментов или команда меню «Правка/Повторить»).

5.8. Маскирование последовательностей

Помимо обычного редактирования последовательностей хроматограмм, имеется возможность замаскировать области, непригодные для анализа. В результате замаскированные области не будут учитываться при формировании результирующей последовательности.

Для этого существуют три основные команды:

-  **Маска слева** - маскирует все позиции влево от текущей позиции курсора на выбранной хроматограмме;
-  **Маска по позициям** - помечает все выделенные позиции как замаскированные (повторное нажатие снимает маскировку);
-  **Маска справа** - маскирует все позиции вправо от текущей позиции курсора на выбранной хроматограмме;

5.9. Выравнивание последовательностей

После того, как проведено существенное редактирование последовательностей и замаскированы области, непригодные для анализа, выравнивание последовательностей хроматограмм относительно результирующей последовательности может перестать быть оптимальным. Чтобы перевыровнять последовательности, можно воспользоваться

командой «Выравнивание» (кнопка  или команда меню «Правка/Выравнивание...»).


Внимание!

Важно помнить, что это действие является необратимым и после повторного выравнивания последовательностей история изменений будет стерта – невозможно будет отменить перевыравнивание и вернуться к старому.

5.10. Окно виртуальной клавиатуры IUPAC

Для редактирования последовательностей можно применить команду «Открыть/спрятать клавиатуру IUPAC», которую можно вызвать из панели



инструментов (кнопка ) или через меню «Вид/IUPAC». Данная команда открывает окно вспомогательной виртуальной клавиатуры IUPAC (Рисунок 24).

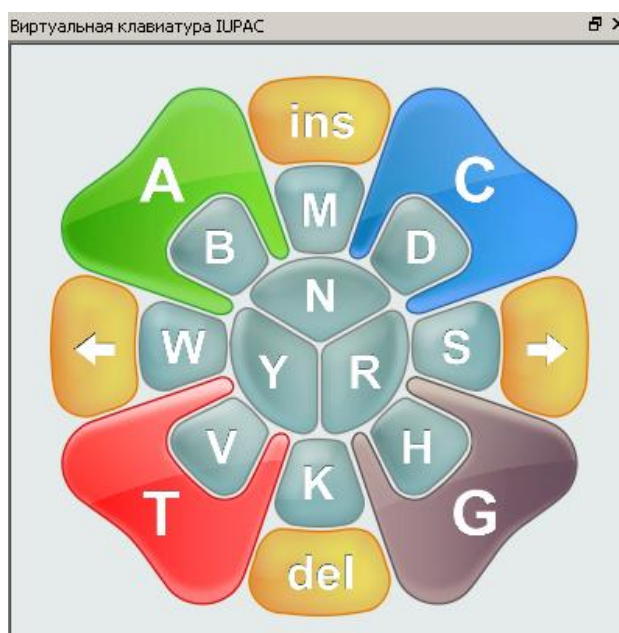


Рисунок 24. Окно виртуальной клавиатуры IUPAC.

Для замены выделенной последовательности на другой символ достаточно нажать мышкой на нужный символ. Для перехода в режим вставок и обратно используйте клавишу «Ins», для того, чтобы удалить выделенные сайты, нажмите кнопку «Del».

Клавиатура спроектирована таким образом, чтобы наглядно помочь исследователю выбрать нужный символ IUPAC обозначения нуклеотидов и их возможных сочетаний (Таблица 2).

Символ	Возможные сочетания нуклеотидов
A	A
C	C
G	G
T	T
M	A или C
S	C или G
K	T или G

W	A или T
Y	T или C
R	A или G
D	A или T или G (не C)
V	A или G или C (не T)
H	A или T или C (не G)
N	A или T или C или G

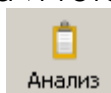
Таблица 2. Символы IUPAC.

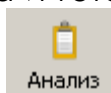
Важными кнопками на клавиатуре IUPAC являются кнопки стрелки вправо и влево, которые перемещают активный курсор к ближайшей позиции, отличной от референсной, на выделенной хроматограмме или выделенной последовательности.

6. Анализ консенсусной последовательности

6.1. Генерация отчета

После того, как все хроматограммы отредактированы, консенсусная последовательность собрана и готова для анализа, необходимо выполнить



команду «Анализ» (кнопка  на панели инструментов). В случае профилей «Протеаза и ревертаза ВИЧ» и «Интеграза ВИЧ», будет выполнен запрос к сервису базы данных лекарственной устойчивости HIVDB Стенфордского университета⁶. Сгенерированный отчет отобразится в основном окне (Рисунок 25). Возврат в режим редактирования последовательности производится нажатием кнопки «Вернуться к редактированию».

⁶ <https://hivdb.stanford.edu/>

12-05-09* - ДЕОНА

Отчет

Вернуться к редактированию

Данные отчета

Сохранить как PDF

Печатать отчет

Мини отчет

Стандартный отчет

Полный отчет

РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА

DEONA

Определение резистентности ВИЧ к ингибиторам протеазы и обратной транскриптазы

№

Дата взятия материала:

Вид материала:

ID пациента:

Номер истории болезни:

ФИО пациента:

Дата рождения:

Пол:

Направившая организация:

Отделение:

Наименование исследования	Результат
Определение резистентности ВИЧ к ингибиторам протеазы и обратной транскриптазы	Валидный

Тип препарата	Название препарата	Уровень устойчивости
Ингибиторы протеазы (Protease inhibitors)	Атазанавир (ATV/r)	Возможно-низкий уровень устойчивости
	Дарунавир (DRV/r)	Чувствителен
	Фосампренавир (FPV/r)	Возможно-низкий уровень устойчивости
	Индинавир (IDV/r)	Возможно-низкий уровень устойчивости
	Лопинавир (LPV/r)	Возможно-низкий уровень устойчивости
	Нелфинавир (NFV/r)	Средний уровень устойчивости
	Саквинавир (SQV/r)	Возможно-низкий уровень устойчивости
	Типранавир (TPV/r)	Чувствителен
Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы	Тенофовир (TDF)	Не определено
	Эмтрицитабин (FTC)	Не определено
	Зидовудин (AZT)	Не определено
	Ставудин (D4T)	Не определено

Служба тех. поддержки: e-mail: deona@rmbit.ru

Профиль: Протеаза и ревертаза ВИЧ

Идентичность: 96%

Доступно сборок: 41

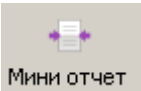
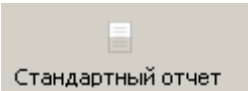
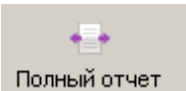
Рисунок 25. Сформированный отчет в основном окне программы.

6.2. Бланк отчета

Бланк отчета, генерируемого для врача, состоит из трех основных разделов:

- Шапка отчета, в которой указываются персональные данные пациента;
- Основной раздел – результаты выполненных исследований;
- Подпись организации.

При помощи переключающихся кнопок в панели инструментов можно генерировать три типа отчетов:

-  **Мини отчет** - одностраничный отчет с описанием выявленной лекарственной чувствительности ВИЧ к антиретровирусным препаратам;
-  **Стандартный отчет** - двухстраничный отчет с описанием выявленной чувствительности ВИЧ к антиретровирусным препаратам и списком обнаруженных мутаций;
-  **Полный отчет** - трехстраничный отчет с описанием выявленной чувствительности ВИЧ к антиретровирусным препаратам, списком обнаруженных мутаций и контролем качества проведенного исследования;

6.2.1. Отчет по лекарственной устойчивости к препаратам

На первой странице отчета генерируется таблица устойчивости к лекарственным препаратам (Рисунок 26). Варианты устойчивости могут быть пяти типов:

- Чувствителен;
- Возможно-низкий уровень устойчивости;
- Низкий уровень устойчивости;
- Средний уровень устойчивости;
- Высокий уровень устойчивости.

Ответы по всем видам лекарственных препаратов генерируются алгоритмами HIVDB.

6.2.2. Отчет по спискам мутаций

Списки мутаций на второй странице также формируются алгоритмами HIVDB, поэтому справочник мутаций, используемый в процессе работы, может отличаться от того, на основе которого формируется отчет (Рисунок 27). Мутации, попадающие в отчет, разделены на три основные группы:

- Основные мутации устойчивости;
- Минорные мутации устойчивости;
- Другие мутации (мутации полиморфизма).

В правой колонке таблицы через запятую перечисляются обнаруженные мутации.

РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА		DEONA
Определение резистентности ВИЧ к ингибиторам протеазы и обратной транскриптазы		
№		
Дата взятия материала:	Вид материала:	
ID пациента:	Номер истории болезни:	
ФИО пациента:		
Дата рождения:	Пол:	
Направившая организация:		
Отделение:		

Наименование исследования	Результат
Определение резистентности ВИЧ к ингибиторам протеазы и обратной транскриптазы	Валидный

Тип препарата	Название препарата	Уровень устойчивости
Ингибиторы протеазы (Protease inhibitors)	Атазанавир (ATV/r)	Возможно-низкий уровень устойчивости
	Дарунавир (DRV/r)	Чувствителен
	Фосампренавир (FPV/r)	Возможно-низкий уровень устойчивости
	Индинавир (IDV/r)	Возможно-низкий уровень устойчивости
	Лопинавир (LPV/r)	Возможно-низкий уровень устойчивости
	Нелфинавир (NFV/r)	Средний уровень устойчивости
	Саквинавир (SQV/r)	Возможно-низкий уровень устойчивости
	Типранавир (TPV/r)	Чувствителен
Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (Nucleoside RTI)	Тенофовир (TDF)	Не определено
	Эмтрицитабин (FTC)	Не определено
	Зидовудин (AZT)	Не определено
	Ставудин (D4T)	Не определено
	Диданозин (DDI)	Не определено
	Ламивудин (3TC)	Не определено
	Абакавир (ABC)	Не определено
Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (Non - Nucleoside RTI)	Рилпивирин (RPV)	Не определено
	Эфавиренц (EFV)	Не определено
	Этравирин (ETR)	Не определено
	Невирапин (NVP)	Не определено

Наименование организации:	Тел./факс:
Адрес:	
ФИО врача:	
Дата: 01.04.2020	Подпись:

deona.ru

1 из 3 стр.

Рисунок 26. Страница отчета по лекарственной устойчивости к препаратам.

РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА		DEONA
<p>Определение резистентности ВИЧ к ингибиторам протеазы и обратной транскриптазы</p> <p>№</p> <p>Дата взятия материала: ID пациента:</p> <p>ФИО пациента:</p>		
Мутации в гене протеазы		
Основные мутации устойчивости к ингибиторам протеазы (PI major resistance mutations)	M46MI	
Минорные мутации устойчивости к ингибиторам протеазы (PI minor resistance mutations)	Не обнаружено	
Мутации полиморфизма (PR other mutations)	I13V,K14KR,G16GE,E35D,M36I,R41K,H69K,V77VI,L89M,I93IL	
Мутации в гене обратной транскриптазы		
Мутации устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (NRTI resistance mutations)	Не определено	
Мутации устойчивости к ненуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (NNRTI resistance mutations)	Не определено	
Мутации полиморфизма в гене обратной транскриптазы (RT others mutations)	Не определено	
<p>Наименование организации: Тел./факс:</p> <p>Адрес:</p> <p>ФИО врача:</p> <p>Дата: 01.04.2020 Подпись:</p>		
deona.ru		2 из 3 стр.

Рисунок 27. Страница отчета по обнаруженным мутациям.

РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА		DEONA
Определение резистентности ВИЧ к ингибиторам протеазы и обратной транскриптазы		
Дата взятия материала:	№	ID пациента:
ФИО пациента:		
Ген протеазы		
Наименование проблем в качестве сиквенса	Номер кодона	
стоп-кодона		
множественные вырождения В, D, H, V, N		
нетипичные основания	7	
Количество электрофореграмм, которые покрывают участок последовательности*	Номер кодона	
0		
1		
2 и более	1-99	
Ген обратной транскриптазы		
Наименование проблем в качестве сиквенса	Номер кодона	
стоп-кодона		
множественные вырождения В, D, H, V, N		
нетипичные основания		
Количество электрофореграмм, которые покрывают участок последовательности*	Номер кодона	
0	31-265	
1		
2 и более		
<p>* - для достоверного анализа результата необходимо, чтобы каждый участок нуклеотидной последовательности был покрыт не менее, чем двумя электрофореграммами. Если участок последовательности покрыт одной электрофореграммой, то к анализу этого участка следует относиться особенно внимательно. Если участок нуклеотидной последовательности не покрыт ни одной электрофореграммой, то анализ данного участка проведен быть не может.</p>		
Внимание		
<p>Область значимых мутаций для гена протеазы - с 10 по 93 АК включительно. Область значимых мутаций для гена обратной транскриптазы - с 41 по 238 АК включительно. Для проведения достоверного анализа необходимо, чтобы результирующая нуклеотидная последовательность полностью покрывала область значимых мутаций.</p>		
Место сохранения проекта: C:\Users\Public\Documents\Deona\projects\12-05-09.dnz		
Наименование организации:		Тел./факс:
Адрес:		
ФИО врача:		
Дата: 01.04.2020		Подпись:
deona.ru		3 из 3 стр.

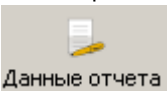
Рисунок 28. Страница отчета контроля качества.

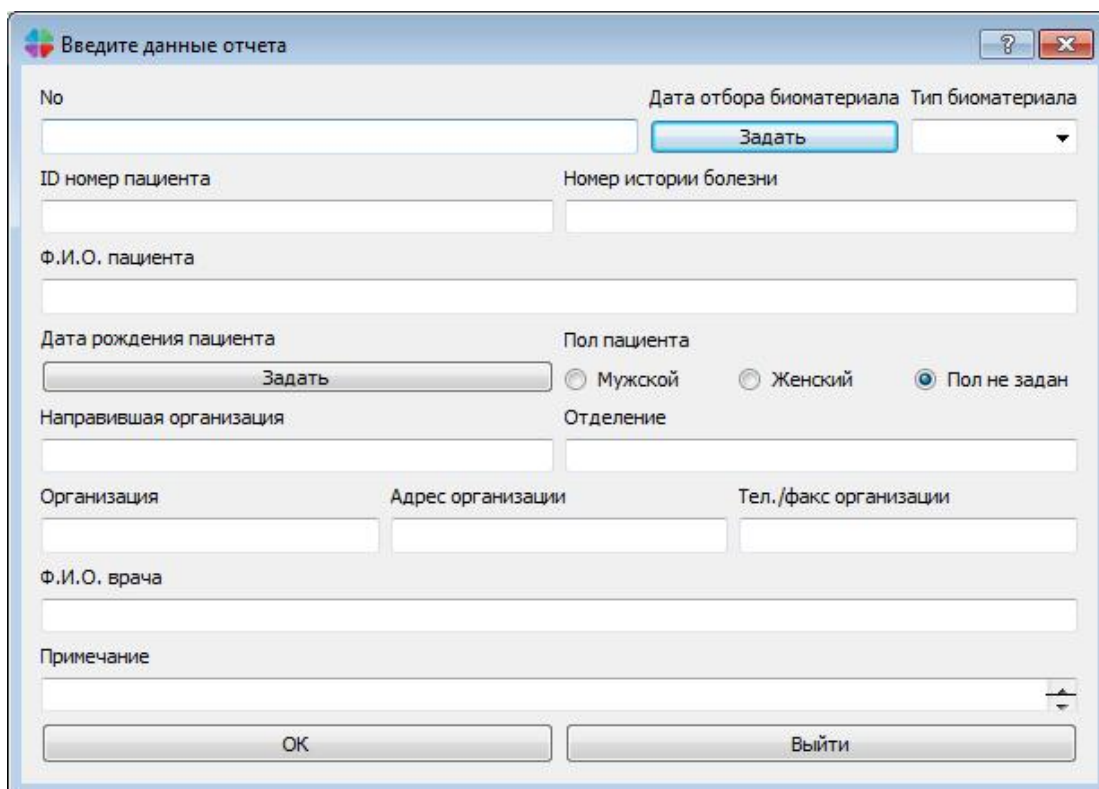
6.2.3. Отчет контроля качества

В окне отчета контроля качества отображаются следующие строки таблицы (Рисунок 28):

- Стоп-кодоны. В колонке «номер кодона» через запятую указываются номера АК референс-последовательности, в которых в соответствующих позициях консенсусной последовательности обнаружены стоп-кодоны.
- Множественные вырождения. Указываются номера АК, в которых обнаружены символы B, D, H, V, N.
- Нетипичные основания. Указываются номера АК, в которых обнаружены нетипичные мутации (в основном окне такие мутации отображаются синей обводкой).

6.3. Данные отчета

Редактирование полей отчета, внесение данных о пациенте и данных об организациях, проводится нажатием кнопки  **Данные отчета** или меню «Отчет/Данные отчета» (Рисунок 29).



Введите данные отчета

№ Дата отбора биоматериала Тип биоматериала

Задать

ID номер пациента Номер истории болезни

Ф.И.О. пациента

Дата рождения пациента Пол пациента

Задать Мужской Женский Пол не задан

Направившая организация Отделение

Организация Адрес организации Тел./факс организации

Ф.И.О. врача

Примечание

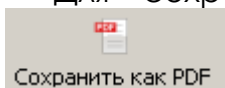
OK Выйти

Рисунок 29. Редактирование данных отчета.

Отредактируйте нужные поля и нажмите ОК.

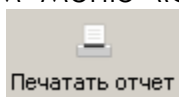
6.4. Сохранение отчета

Для сохранения отчета в формате PDF воспользуйтесь кнопкой



или пунктом меню «Отчет/Сохранить как PDF». Для печати

отчета используйте кнопку



или пункт меню «Отчет/Печать отчет».

7. Справочник команд

Описание элементов управления приведено ниже в таблице.

Элемент управления	Внешний вид кнопки	Назначение	Доступно (enabled)	Горячая клавиша
Меню «Новый проект» («New project»)		Создание нового проекта	Всегда	Ctrl+N
Команда «Открыть файл» («Open file»)		Открыть файл данных и добавить его в проект	Всегда	Ctrl+O
Команда «Сохранить» («Save»)		Сохранить проект	Всегда	Ctrl+S
Команда «Сохранить как» («Save As»)		Сохранить проект как...	Всегда	Ctrl+Alt+S
Команда «Закрыть проект» («Close project»)		Закрыть текущий проект	Проект создан или открыт	Alt+C
Команда «Выравнивание» («Mapping»)		Произвести множественное выравнивание последовательностей	Всегда	Ctrl+M
Команда «Найти предыдущий полиморфный сайт» («Find prev polymorph site»)		Перейти к предыдущему полиморфному сайту	Если выбрана хроматограмма и загружены полиморфизмы	Виртуальная клавиатура IUPAC
Команда «Найти следующий полиморфный сайт» («Find next polymorph site»)		Перейти к следующему полиморфному сайту	Если выбрана хроматограмма и загружены полиморфизмы	Виртуальная клавиатура IUPAC
Команда «Выбрать все полиморфные позиции»		Выбрать все полиморфные позиции	Если выбрана хроматограмма и	Ctrl+A











			загружены полиморфизмы	
Команда «Undo»		«Откат» действия на одну позицию назад	Если произведено редактирование последовательностей	Ctrl+Z
Команда «Redo»		«Накат» действия на одну позицию вперед	Если произведено Undo	Ctrl+Y
Команда «Копировать» ("Copy")		Копировать все выделенные сайты в буфер обмена	Выделены сайты	Ctrl+C
Команда «Маскирование слева» ("Trim left")		Подрезка плохо отсеквенированной части хроматограммы слева	Если выбрана хроматограмма	Ctrl+9
Команда «Маскирование справа» ("Trim right")		Подрезка плохо отсеквенированной части хроматограммы справа	Если выбрана хроматограмма	Ctrl+0
Команда «Маскирование по позициям» ("Trim")		Подрезка плохо отсеквенированной части хроматограммы (по выделению)	Если выбрана хроматограмма	Ctrl+8
Команда «Открыть/спрятать» окно IUPAC		Отображается или прячется окно виртуальной клавиатуры IUPAC	Если проект создан	
Команда «Увеличение» ("Zoom in")		Общее увеличение	Всегда	Ctrl+I
Команда «Уменьшение» ("Zoom out")		Общее уменьшение	Всегда	Ctrl+U
Команда «Выход» ("Exit")		Выход из программы	Всегда	Ctrl+Q

Таблица 3. Справочник основных команд.