

Applied Biosystems™ Minor Variant Finder MVF 分析软件

简明中文手册

(Software v1.X)



英潍捷基（上海）贸易有限公司
赛默飞世尔科技公司

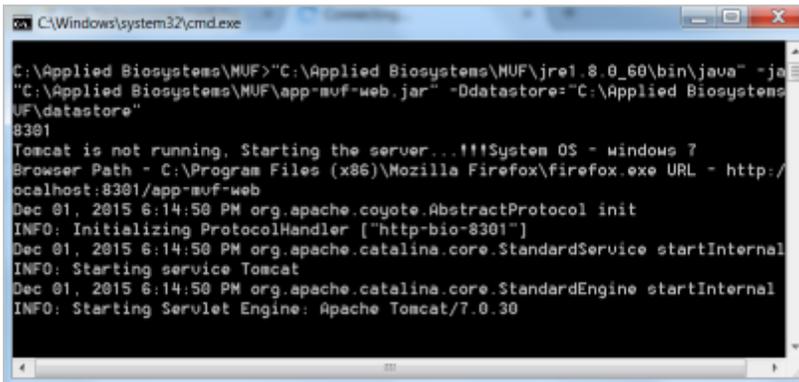
Applied Biosystems™ Minor Variant Finder 分析软件

1. 登陆 Minor Variant Finder 分析软件：

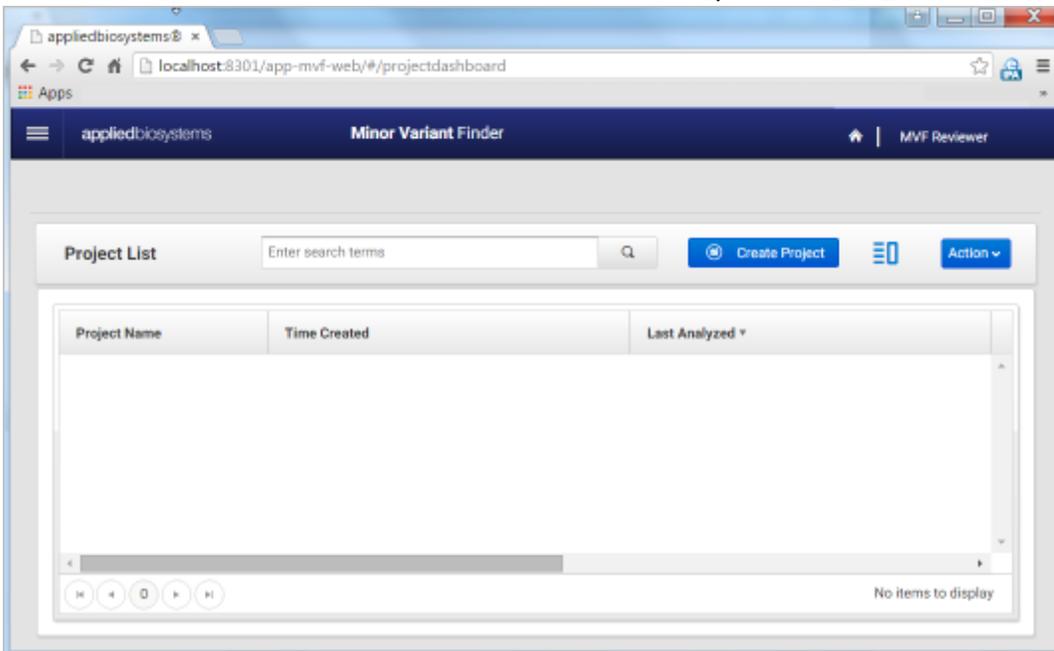
- 1.1 选择开始  -- All Programs -- Applied Biosystems -- MVF – MVF；或双击桌面快捷方式打开软件；



- 1.2 弹出服务器对话框，不需要关闭该窗口，保持其在后台正常运行即可

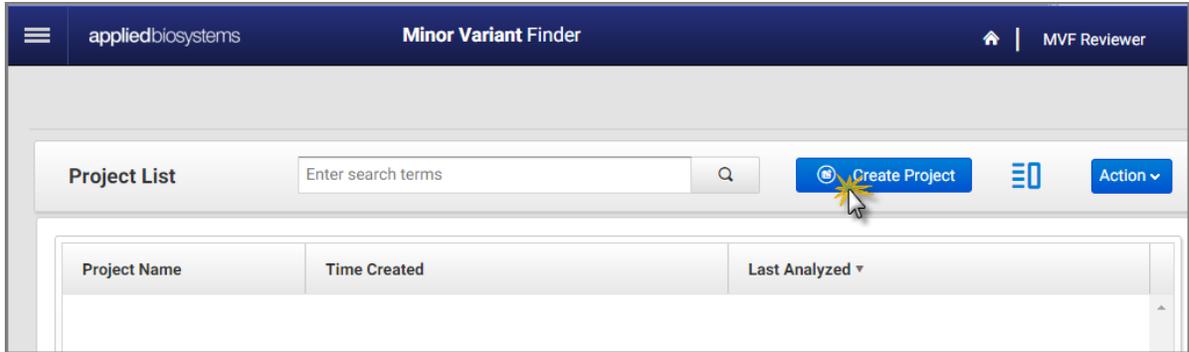


- 1.3 弹出网页版Minor Variant Finder软件主界面，准备创建项目组

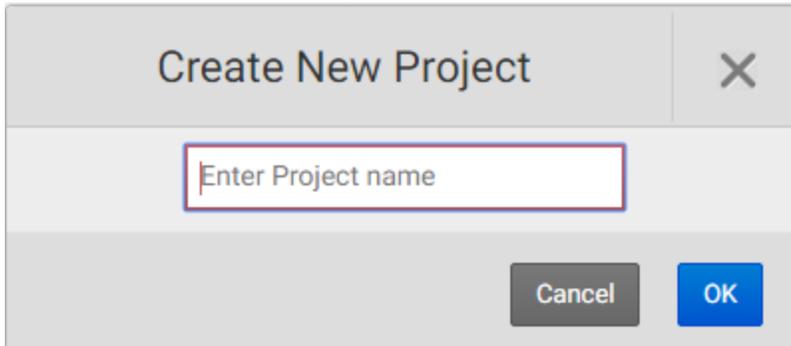


2. 创建新项目，导入数据：

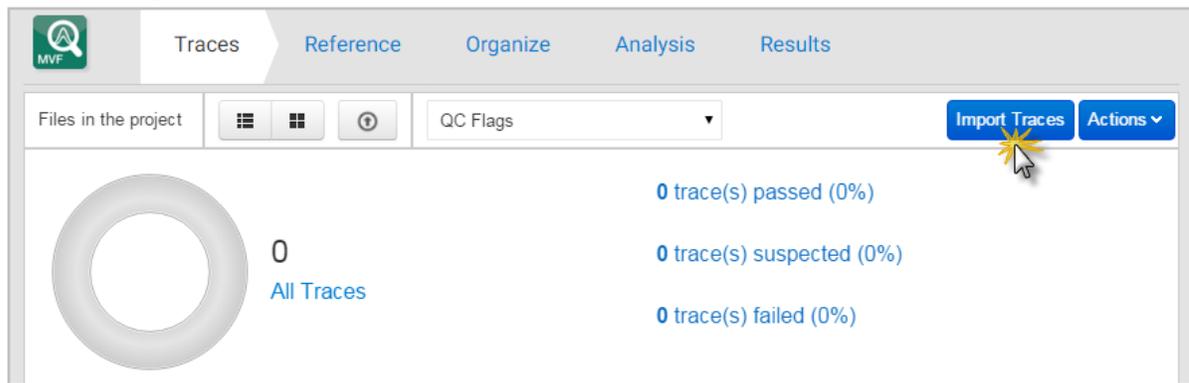
- 2.1 点击  Create Project ，创建新项目



2.2 在“Create New Project”对话框中输入项目名称（自定义），点击OK



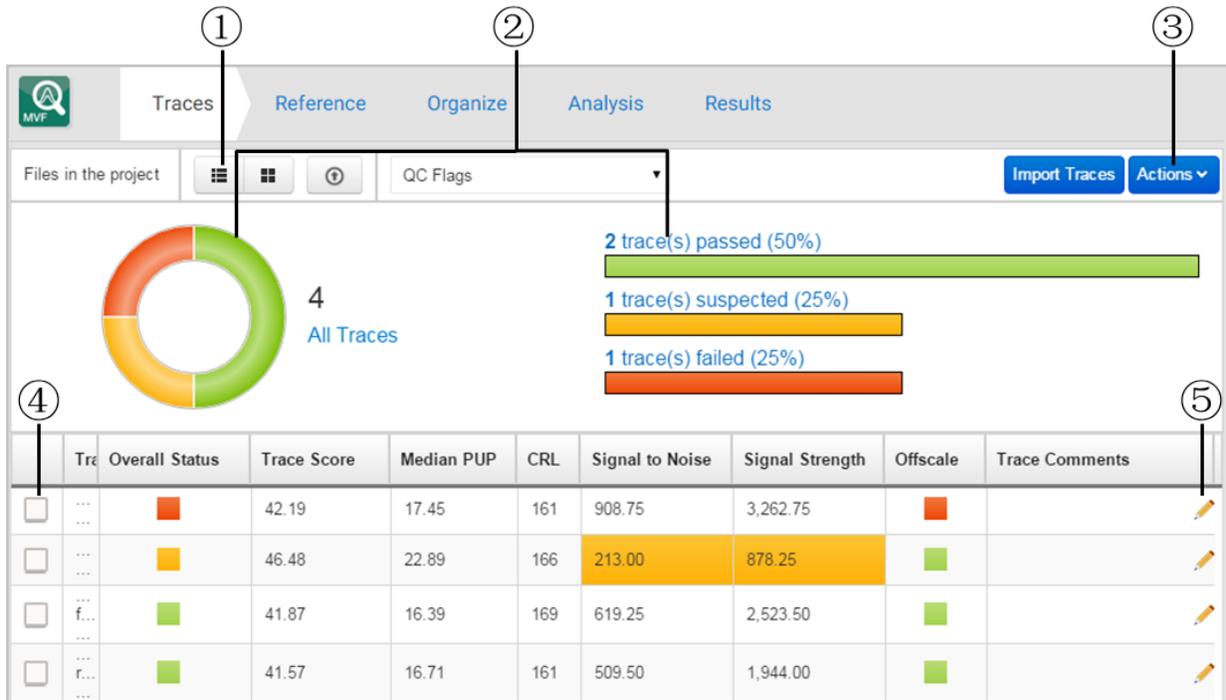
2.3 在“Trace”界面点击 **Import Traces**，导入待测样品和正常对照样品的正、反向测序数据文件（至少4个.ab1数据）



2.4 查看导入的各数据质量

① 查看数据文件列表和缩略图。

② 质控指标：不同的颜色代表在此项目中各数据各自的质量状态。绿色代表该数据通过质控阈值默认设置，黄色代表疑似通过质控阈值默认设置，红色代表该数据不通过质控阈值默认设置。



③ 点击“Actions”下拉菜单，选择“View Details”可查看数据图谱具体信息、选择“Export Traces”可导出数据图谱、选择“Remove Traces”可删除数据图谱、选择“Quality Flag Settings”可查看质控阈值默认设置或用户根据自身实验要求自行设置各质控阈值。[备注：通常对于数据评分值（Trace Score > 40）和信噪比（Signal to Noise > 180）较高的文件进行低频突变检测，可获得较为稳定的结果。]

④ 数据图谱选择框：点击可选择该数据，选择后可双击查看该数据具体信息。

⑤ 数据评论：点击后可对该数据进行备注。

3. 创建reference序列

3.1 点击界面中的“Reference”按钮，进入“Reference”界面

3.2 对于没有染色体reference信息时，请点击 Use control sequence. Skip to the Organize module, 然后跳过该步骤进行第4步Organize操作

3.3 对于有染色体reference信息或有二代测序验证信息时，请点击

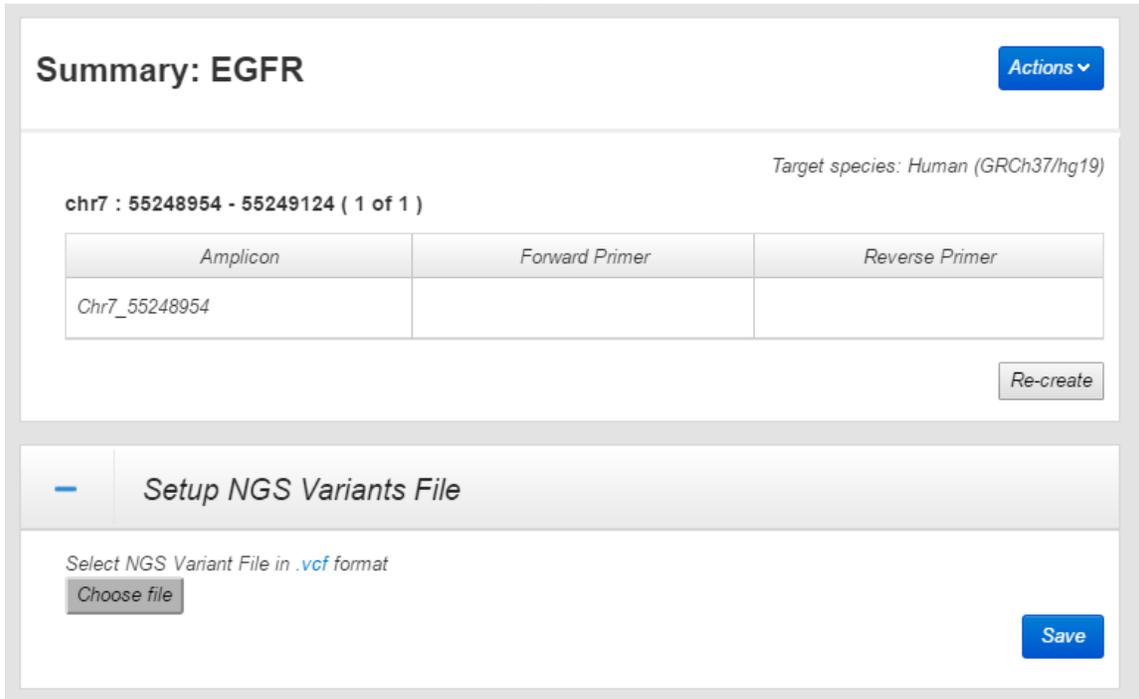
Create reference sequence and optionally upload NGS Variants File (vcf) ，在“Create reference”界面的name项输入任意名称（如EGFR），然后对感兴趣的区域根据下列选项选择一种方式导入reference信息：
 A) 导入从Primer Designer™ Tool 中生成的.txt或.csv格式文件的assay ID。
 B) 输入需要检索序列的染色体位置。
 C) 输入序列信息。

以第二种方式“输入需要检索序列的染色体位置”为例，如下图

The screenshot shows the 'Create Reference (Optional)' interface with the following details:

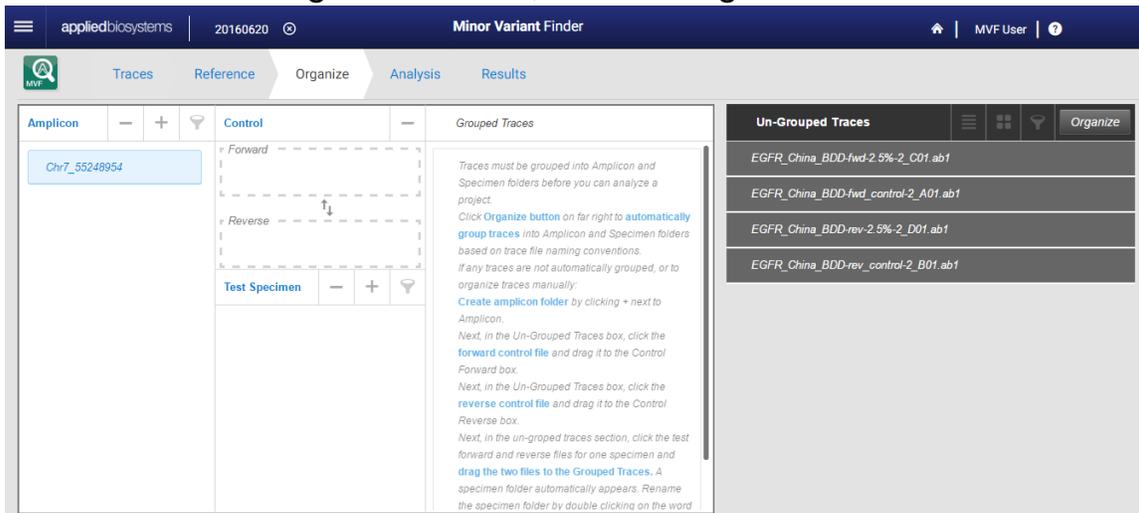
- Reference** | Organize | Analysis | Results
- Create Reference (Optional)**
 - Create reference sequence and optionally upload NGS Variants File (vcf)
 - Use control sequence. Skip to the Organize module
- Select reference from projects** (+)
- Create reference** (-)
- Name***: [Empty text box]
- Description**: [Empty text box]
- Regions of interest**
 - Select one:
 - Import Assay IDs from Primer Designer™ Tool in .txt or .csv format
 - Enter Chromosome Position to retrieve sequence
 - Target Species:
 - Human (GRCh37/hg19) ▼
 - Number: 7 ▼
 - Start Position: 55248954
 - Stop Position: 55249124
- Enter Sequence
- Save** [Icon]

3.4 点击“Save”保存后弹出对话框，然后进行下一步操作



4. 进行数据编组

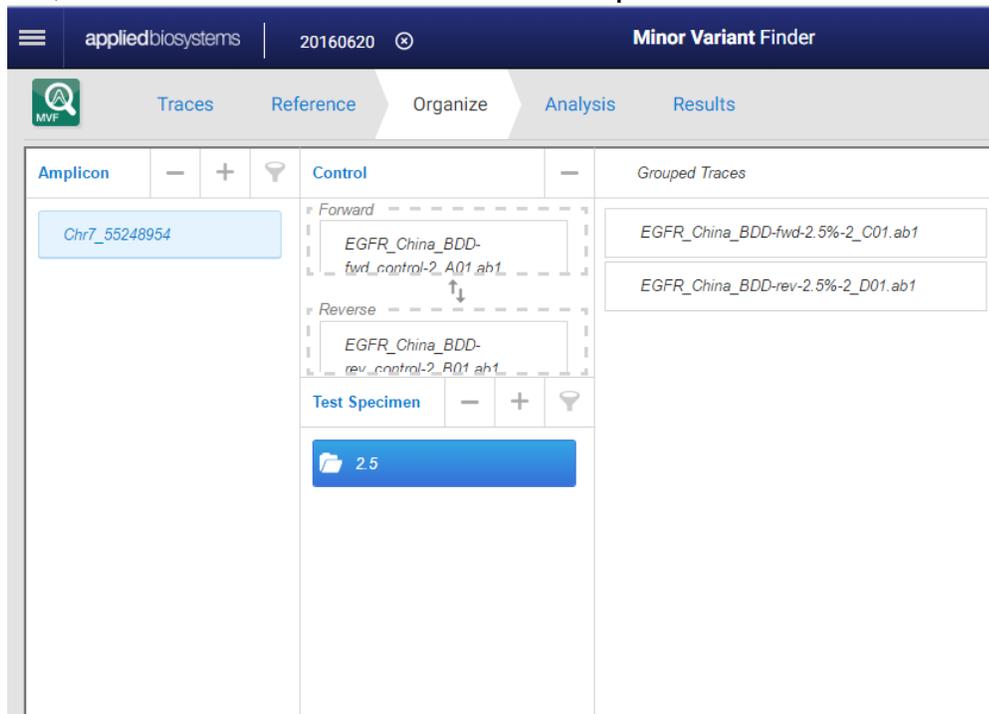
点击界面上的“Organize”按钮，进入“Organize”界面。



可通过两种途径管理进行数据编组：手动数据管理和自动化辅助管理

4.1 手动数据管理

4. 1. 1 在“Amplicon”对话框区域添加 (+) 或删除 (-) 待检测的amplicon。如已进行3.3-3.4步操作，此步骤可以省略。
4. 1. 2 在“Control”对话框区域添加或删除对照组正、反向测序数据组别。于“Un-Grouped Traces”对话框内分别选中对照组正、反向测序数据文件名，使用鼠标直接将其拖拽至“Forward”或“Reverse”框内。
4. 1. 3 在“Test Specimen”对话框区域添加 (+) 待检测的样品文件夹，并自定义命名，或点击“-”进行删除。
4. 1. 4 在“Grouped Traces”对话框区域添加或删除待测样品组正、反向测序数据组别。于“Un-Grouped Traces”对话框内选中样品组正、反向测序数据文件名，使用鼠标直接将其拖拽至“Grouped Traces”框内。



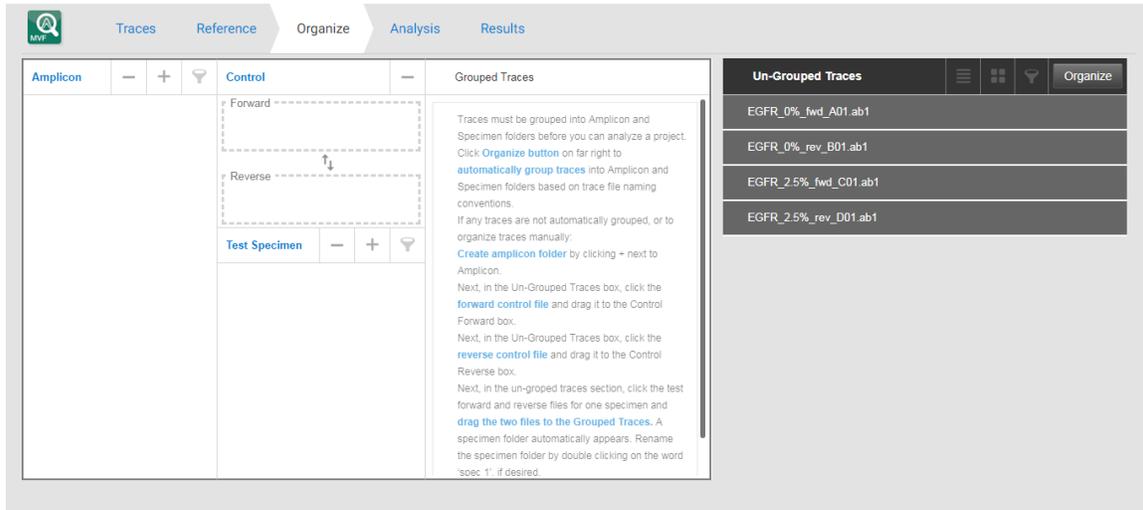
4. 2 自动化辅助数据管理

实现这一便捷的功能，需要按照以下格式来命名样本文件：扩增子ID_样本ID_fwd或rev_孔号（可选）.ab1

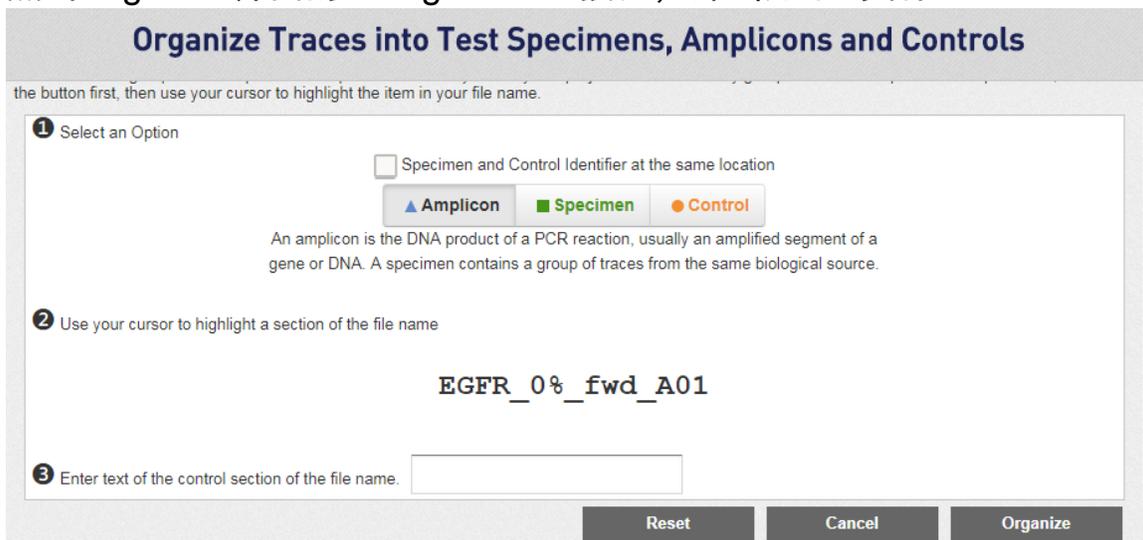
例如：

待测样本文件：EGFR_2.5%_fwf_C01.ab1和EGFR_2.5%_rev_D01.ab1

正常对照样本文件：EGFR_0%_fwd_A01.ab1和EGFR_0%_rev_B01.ab1



4. 2. 1 点击Organize界面的“Organize”按钮，弹出如下对话框



4.2.2 点击对话框中的“Amplicon”，用鼠标在显示的文件名中选中扩增子ID

② Use your cursor to highlight a section of the file name

EGFR_0%_fwd_A01
▲

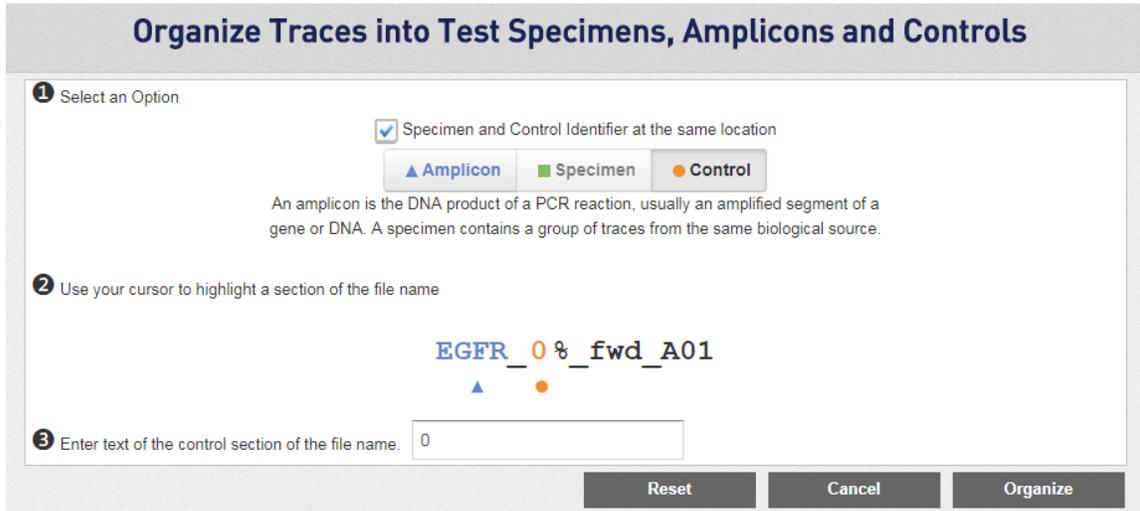
4.2.3 点击对话框中的“Specimen”，用鼠标在显示的文件名中选中样品ID

② Use your cursor to highlight a section of the file name

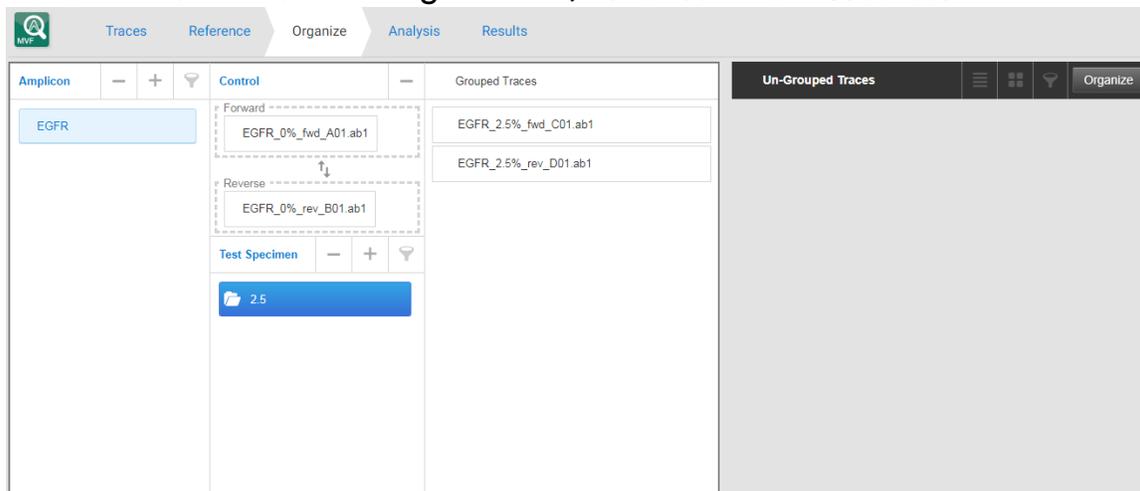
EGFR_0%_fwd_A01
▲ ■

当Specimen和Control在文件中处于相同的位置时，此步可以省略，直接进行下一步。

4.2.4 点击 Specimen and Control Identifier at the same location 后成打钩状态，然后点击对话框中的“Control”，用鼠标在显示的文件名中选中对照样品ID。



4.2.5 点击上述对话框中的“Organize”，软件将自动进行数据管理。



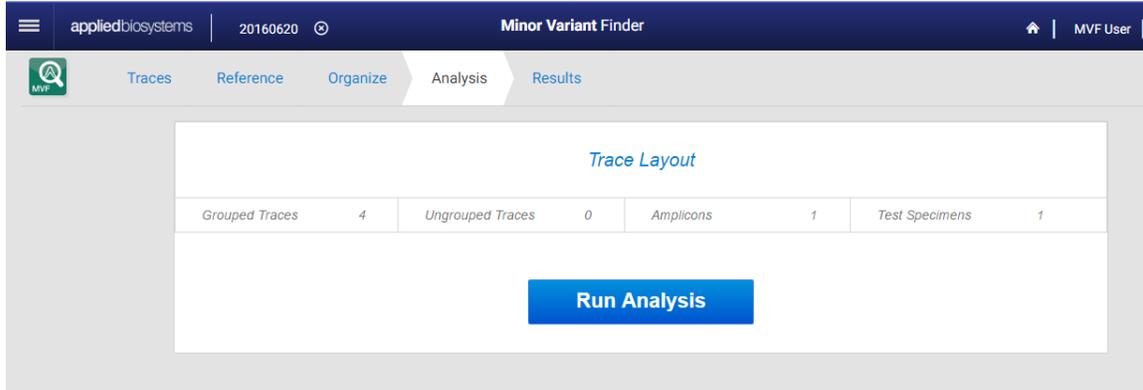
在“Amplicon”对话框区域会自动生成文件夹；正常对照样品正、反向测序数据将添加至“Control”对话框区域；在“Test Specimen”对话框区域自动生成待测的样品文件夹；待测样品组正、反向测序数据将添加至“Grouped Traces”对话框区域。

4.2.6 如有数据在“Un-Grouped Traces”对话框内未能自动归类，可以按照4.1步骤进行手动数据管理。

5. 数据分析

5.1 点击界面上的“Analysis”按钮，进入“Analysis”界面。

5.2 在弹出的对话框中点击“Run Analysis”进行数据分析。



5.3 分析完毕后自动跳转至“Results”界面。

6. 结果查看

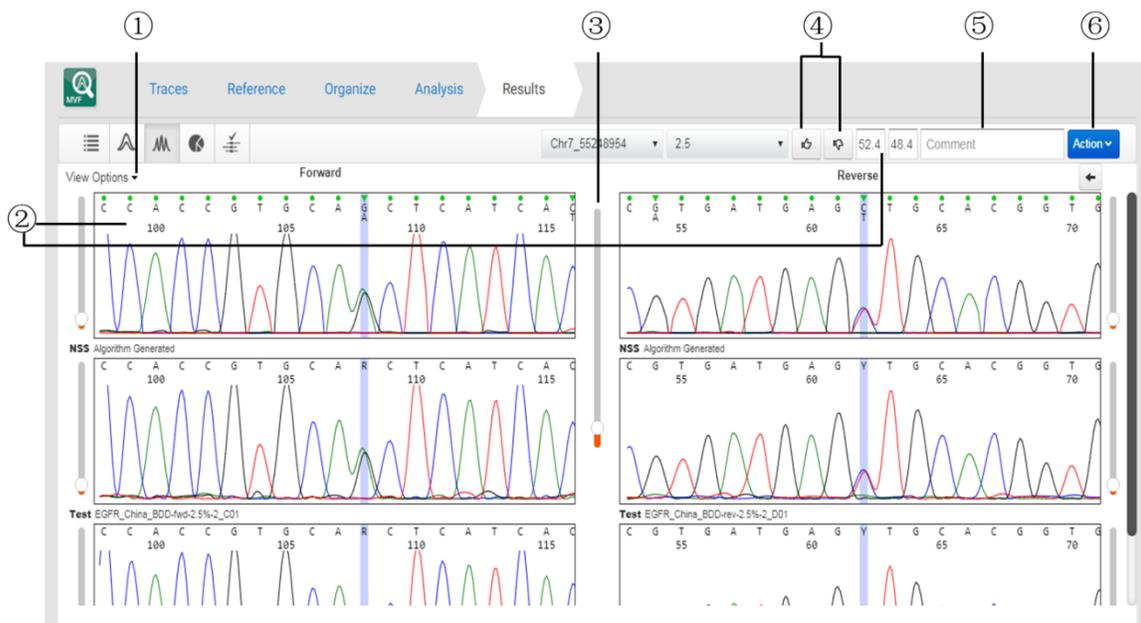
6.1 点击  按钮，可以进行数据概览。



6.2 点击  按钮，可以查看突变位点信息。

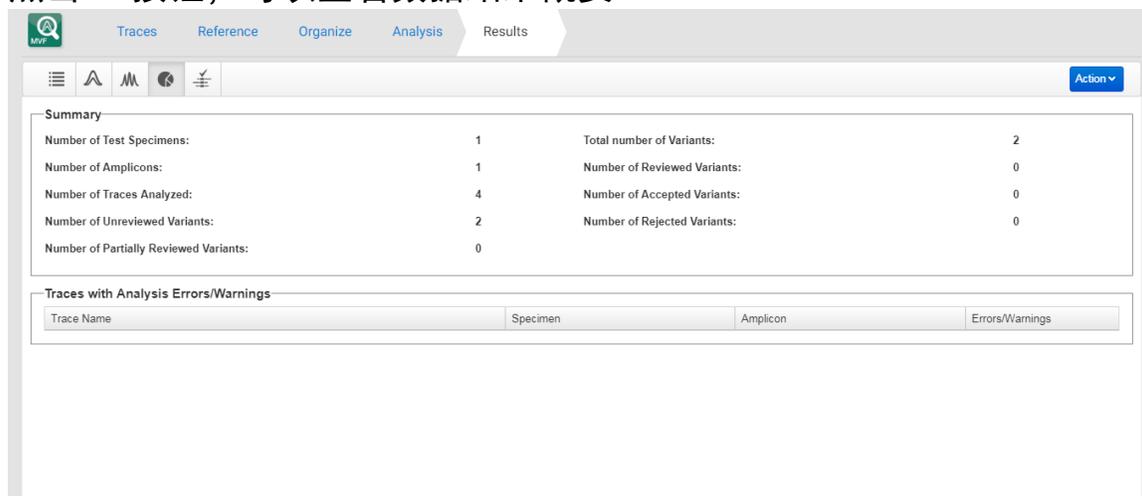
Amplicon	Test Specimen	Chromo...	Position	Variant	Edit...	Review status	Origin	Annotated Va...	Review L...	Forw...	Reve...	Type
Chr7_552489...	2.5	chr7	55249063	G -> A	N	None	Common	rs1050171		52.4	48.4	SNV
Chr7_552489...	2.5	chr7	55249071	C -> T	N	None	Common			5.7	3.9	SNV

6.3 点击  按钮，可以查看电泳图谱信息。

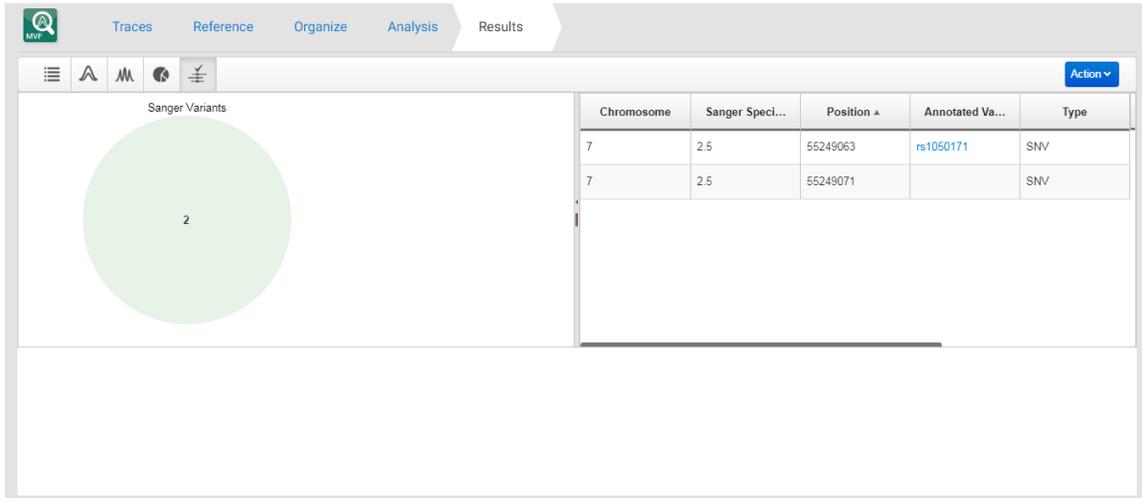


- ① View Options 下拉菜单对话框中可以根据个人需求选择需要显示的选项；
- ② 查看位于顶部扣除了背景噪音的正、反向电泳图谱中的突变位点，并检查突变峰高百分比；
- ③ 使用鼠标拖拽滑动条可以同时调节6个电泳图谱中的基线高低；
- ④ 点击  接受突变分析结果，点击  放弃突变分析结果；
- ⑤ 根据实际需求添加相关备注；
- ⑥ 点击“Action”下拉菜单，选择生成结果分析报告或导出突变结果信息；

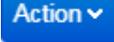
6.4 点击  按钮，可以查看数据结果概要。



6.5 点击  按钮，可以查看Sanger测序验证NGS测序发现的突变位点结果信息。



Chromosome	Sanger Speci...	Position ▲	Annotated Va...	Type
7	2.5	55249063	rs1050171	SNV
7	2.5	55249071		SNV

6.6 点击“Results”界面的 ，从下拉菜单中可以选择“Generate Report”生成结果分析报告。

applied biosystems
by Thermo Fisher Scientific

Report generated by
MVF Version 1.0

Project Name : 20160620 **Date :** 20 June 2016 10:43:11 AM

Total Number of Amplicons : 1 Total Number of Traces Analyzed : 4 Total Number of Un-Reviewed Variants : 2
 Total Number of Test Specimens : 1 Total Number of Variants found : 2 Total Number of Accepted Variants : 0
 Reference Name : EGFR

Variant Details									
Test Specimen	Review Status	Amplicons	Variants	Forward Percent	Reverse Percent	Edited Variant	Chr: Position	Annotated Variant	Origin
2.5	None	Chr7_55248954	G -> A	52.4	48.4	N	chr7:55249063	rs1050171	Common
2.5	None	Chr7_55248954	C -> T	5.7	3.9	N	chr7:55249071		Common

Variant Summary			
2.5	Amplicons	Chr: Position	Variant Comments
G -> A	Chr7_55248954	chr7:55249063	
C -> T	Chr7_55248954	chr7:55249071	

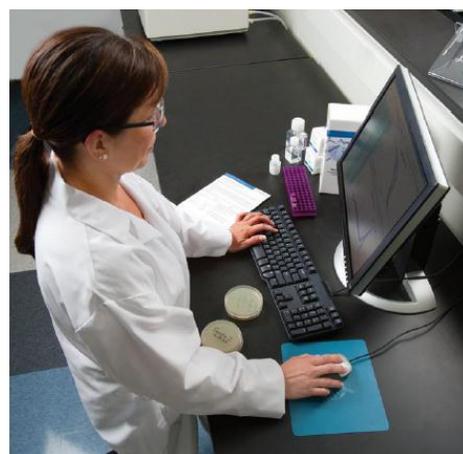
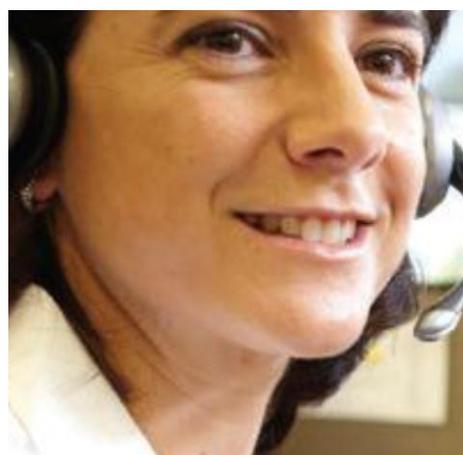
或选择“Export Variants”，导出.csv或.vcf格式文件的具体突变位点结果信息。





遍布全球的技术支持服务

我们在全球 60 多个国家和地区设立了办事处，拥有备受赞誉的技术支持团队以及现场服务工程师。您可以在我们的官方网站上订购产品、下载技术文件，以及寻找问题答案。也非常欢迎您通过电子邮件、电话、以及微信平台和我们联系获取信息。



Thermo Fisher Scientific

官方网站: <http://www.thermofisher.com>

免费热线电话: 8008208982/4008208982

技术支持邮箱: cntechsupport@lifetech.com

微信公众号: 赛默飞生命科学服务平台



© 2017 Thermo Fisher Scientific Inc.

ThermoFisher
SCIENTIFIC