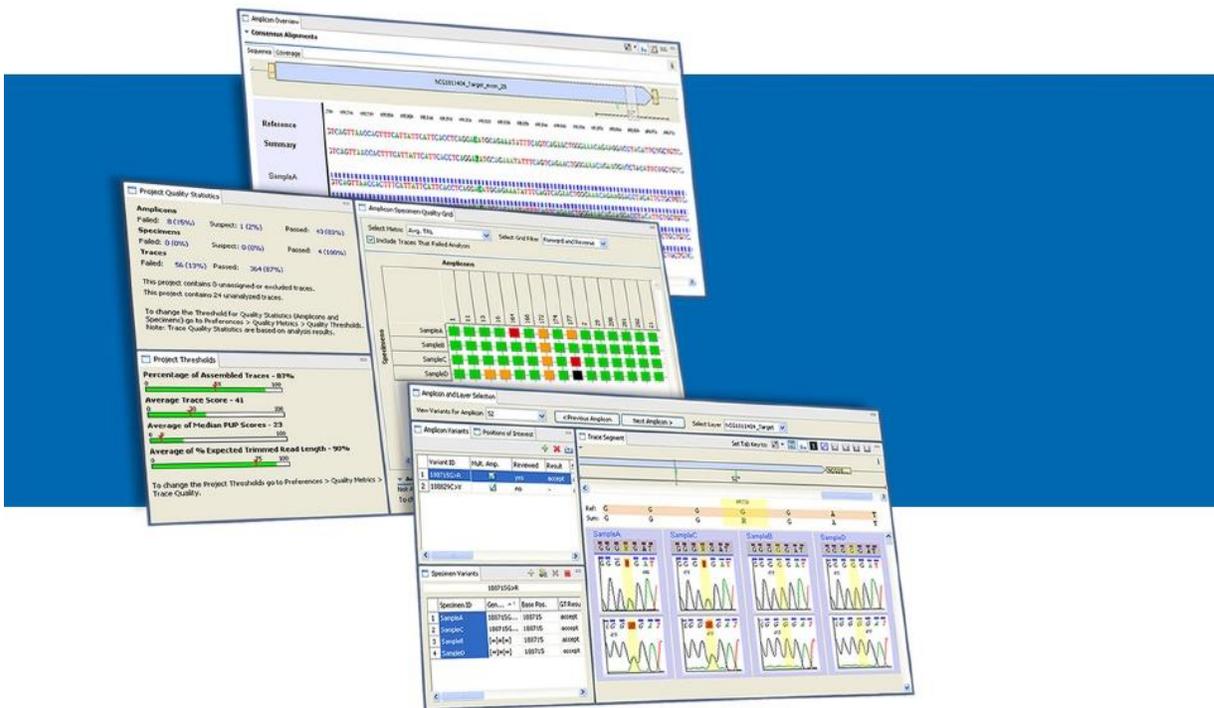


Applied Biosystems Variant Reporter™ Software (V2.0)

简明中文操作手册



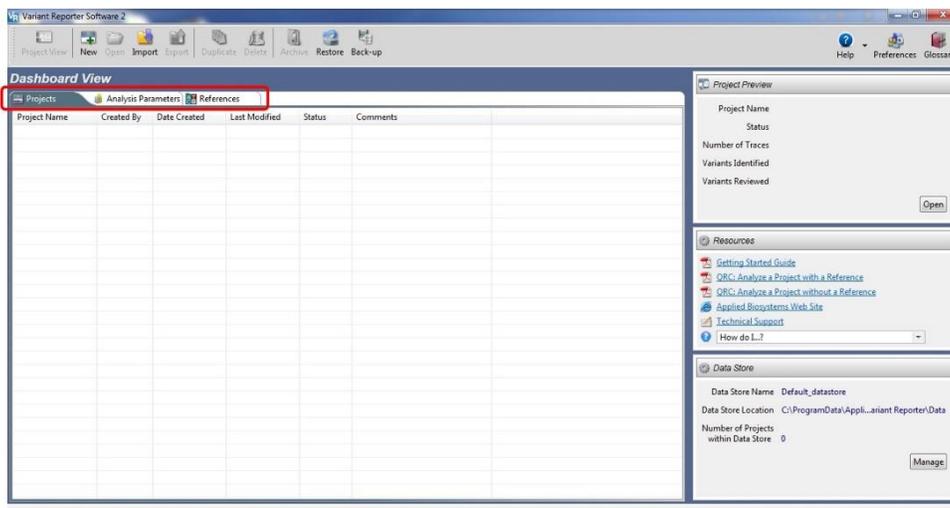
英潍捷基（上海）贸易有限公司
赛默飞世尔科技公司

目录

1. 启动 Variant Reporter™ 2.0 软件	1
2. 创建分析项目	1
3. 导入分析序列	2
4. 分析参数设定	5
5. 参照序列设定	5
5.1. 无需参照序列	5
5.2. 需要导入参照序列	5
6. 结果分析	11
7. 导出分析报告	15
附录: 3500 Data collection 软件中对测序文件名称的设置方法	16

1. 启动 Variant Reporter™ 2.0 软件

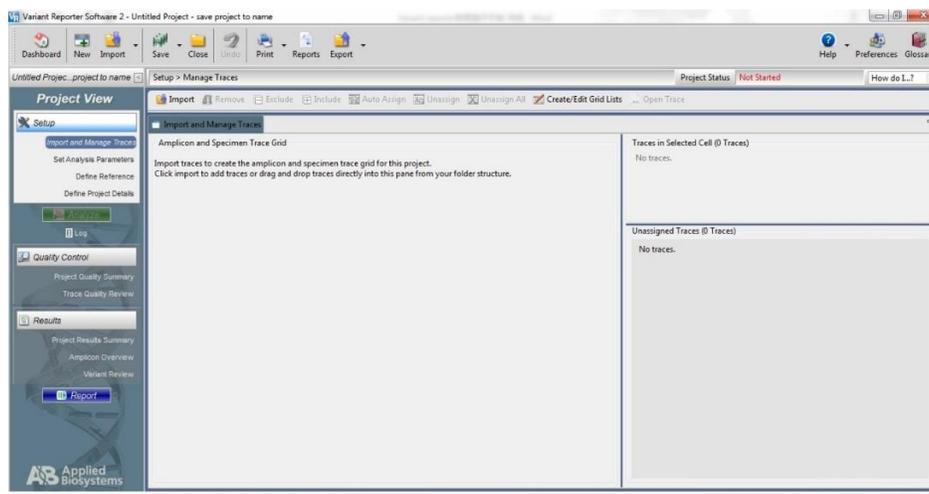
双击桌面快捷方式  启动 Variant Reporter™ 2.0 后进入 Dashboard 界面（Dashboard view）：



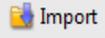
Dashboard 界面会列出用户已经保存的分析项目（Projects）、分析参数（Analysis Parameters）以及参照序列（References）（见上图红色方框）。可分别点击这三个标签逐一进行查看。

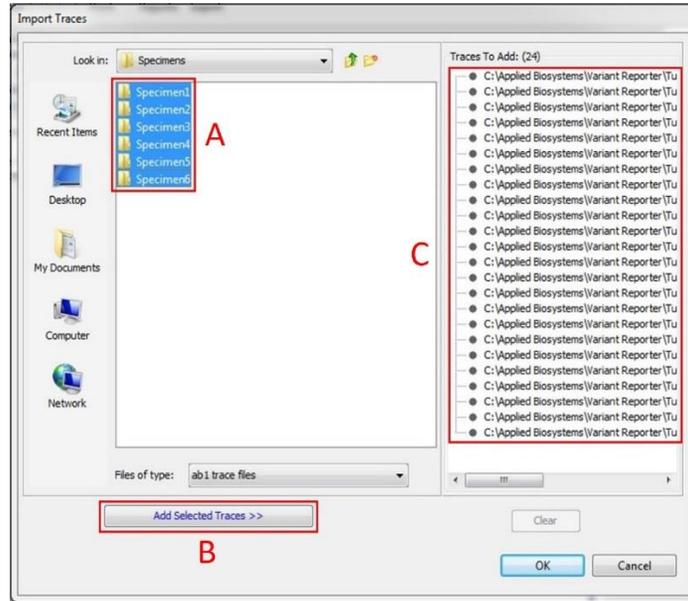
2. 创建分析项目

单击软件上方菜单栏中的  按钮创建新项目：



3. 导入分析序列

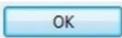
3.1. 在 Import and manage traces 子界面中点击  按钮，在弹出的窗口中导入序列：

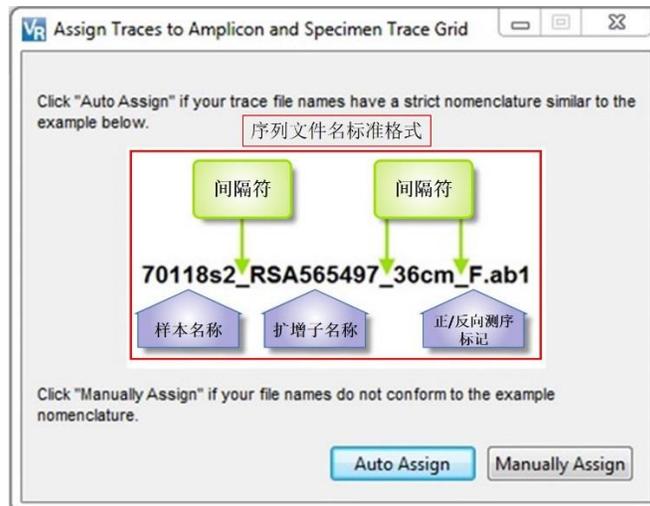


A. 选中分析序列所在文件夹（可选中一个或多个文件夹）或进入文件夹内选择所需的序列文件，序列文件的类型为 ab1

B. 点击  按钮导入序列。

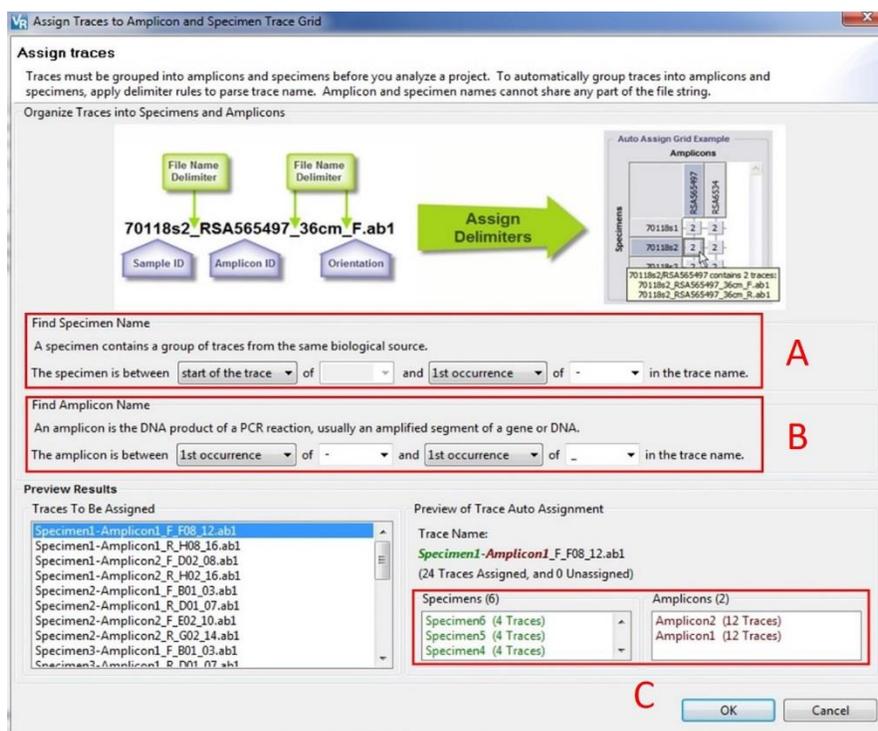
C. 导入的序列显示在右侧列表中。

3.2. 点击对话框中的  按钮，此时软件弹出提示框：



提示框中给出了序列文件的文件名格式示例，若文件名符合【“样本名称”+“间隔符”+“扩增子名称”+“间隔符”+“其他编号”】的格式，则可点击 **Auto Assign** 按钮，软件将自动根据样本和扩增子名称对序列进行分类（见章节 3.2.1）。若文件名不符合此格式，则点击按钮 **Manually Assign** 手动对序列样本和扩增子进行指定和分类（见章节 3.2.2）。

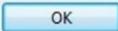
3.2.1 点击 **Auto Assign** 按钮，软件弹出对话框：

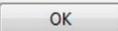


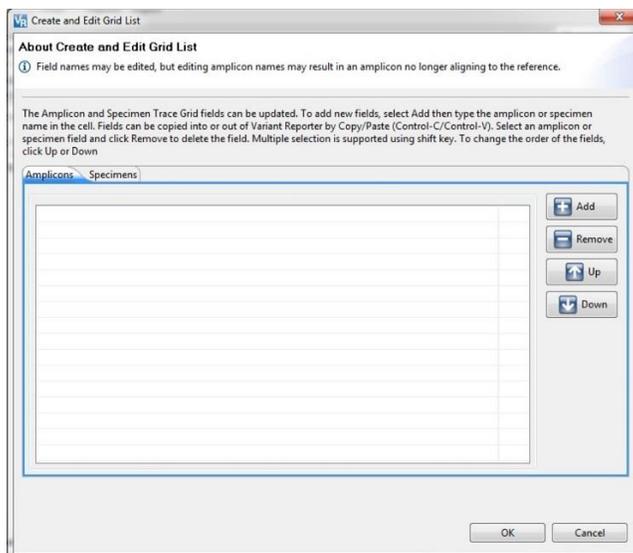
对话框提示输入间隔符及其出现位置完成对序列的归类，以确定需要纳入同一组进行比对的序列。

- A.** 文件名中样品名称的识别：样品名称默认为从文件名开始至第一个间隔符“-”之间所含的字符，即文件名中第一个间隔符“-”之前的字符串为样品名称。可以根据实际名称更改间隔符类型（如：“-”或者“_”），也可在下拉框中更改间隔符出现的位置，从而准确定义样品名称。

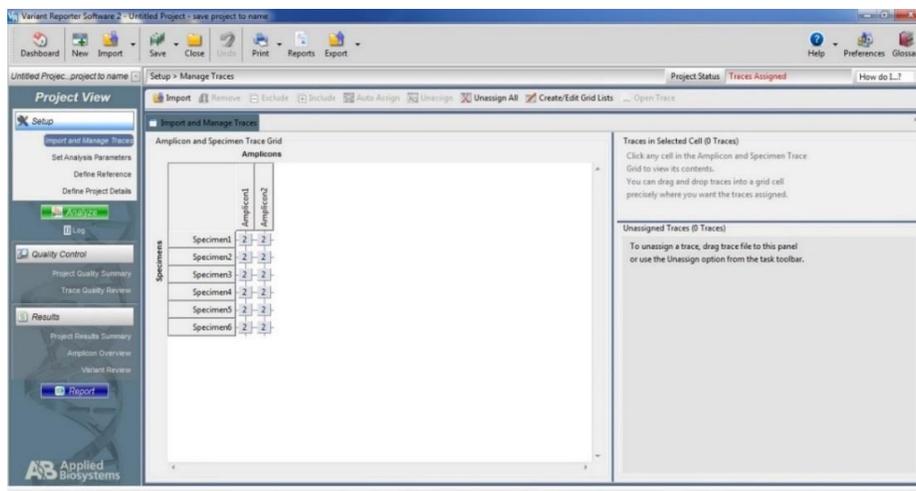
B. 文件名中扩增子名称的识别：扩增子名称默认为从第一个间隔符“-”至第一个间隔符“_”之间所包含的所有字符。同样可以通过修改间隔符类型和出现位置进行定义。

C. 序列按样本和扩增子分类后的结果显示在列表中。点击  按钮。

3.2.2 若文件名不符合示例的文件名格式，点击  按钮进入编辑界面，手动添加样品（Specimens）和扩增子（Amplicons）名称。完成后点击  按钮。



3.3. 定义样品名称和扩增子名称后，软件完成对样本名称和扩增子名称的识别：



可在对样本进行测序前，即对结果文件的名称进行定义。使得到的序列文件在测序完成时即符合 Variant Reporter 对文件名称的要求。3500 测序仪对测序文件名称的定义见附录。

4. 分析参数设定

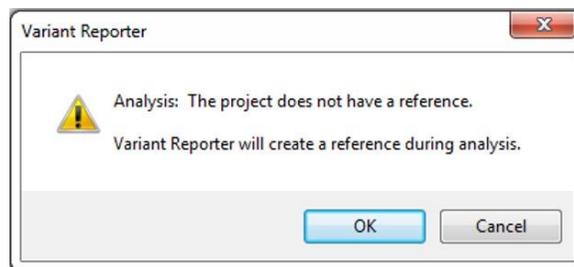
点击左侧 Setup 菜单栏中的 **Set Analysis Parameters** 按钮，进入分析参数设定界面。若无特殊需求，可保持默认设置。

5. 参照序列设定

根据分析需要确定是否导入参照序列。

5.1. 无需参照序列

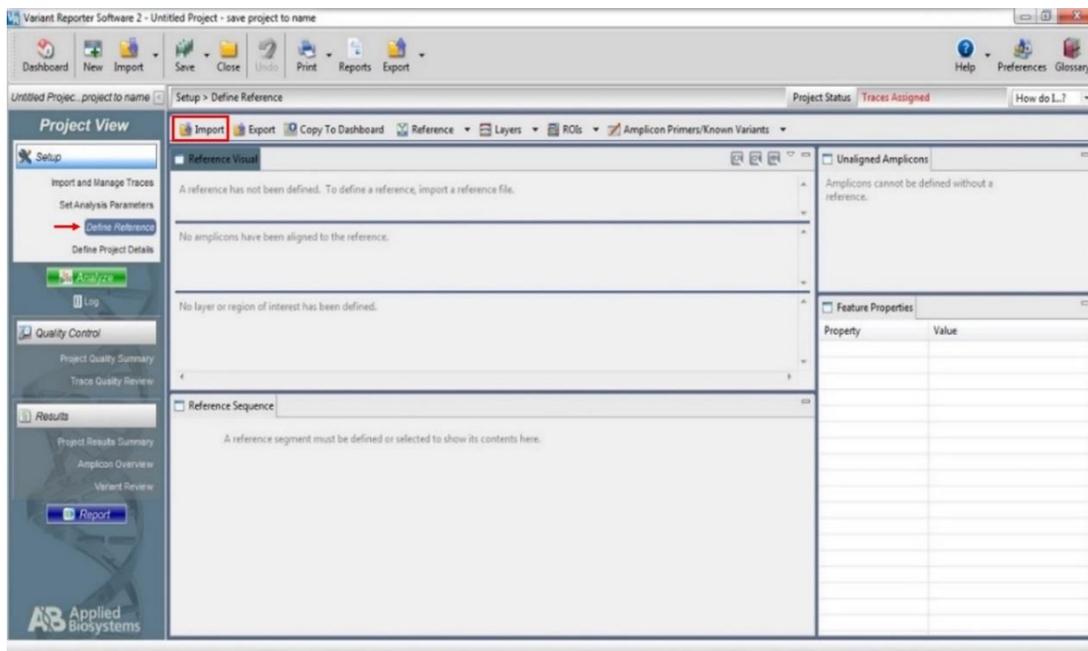
5.1.1. 点击左侧菜单栏中的 **Analyze** 按钮。此时软件弹出对话框：



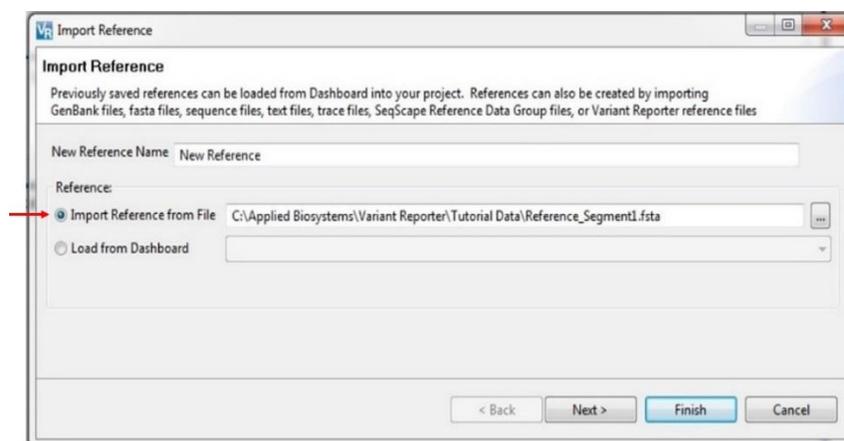
5.1.2. 点击 **OK** 按钮，完成序列分析。直接进入“6. 结果分析”部分。

5.2. 需要导入参照序列

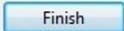
5.2.1. 点击左侧 Setup 菜单栏中的 **Define Reference** 按钮，进入参照序列设定子界面：

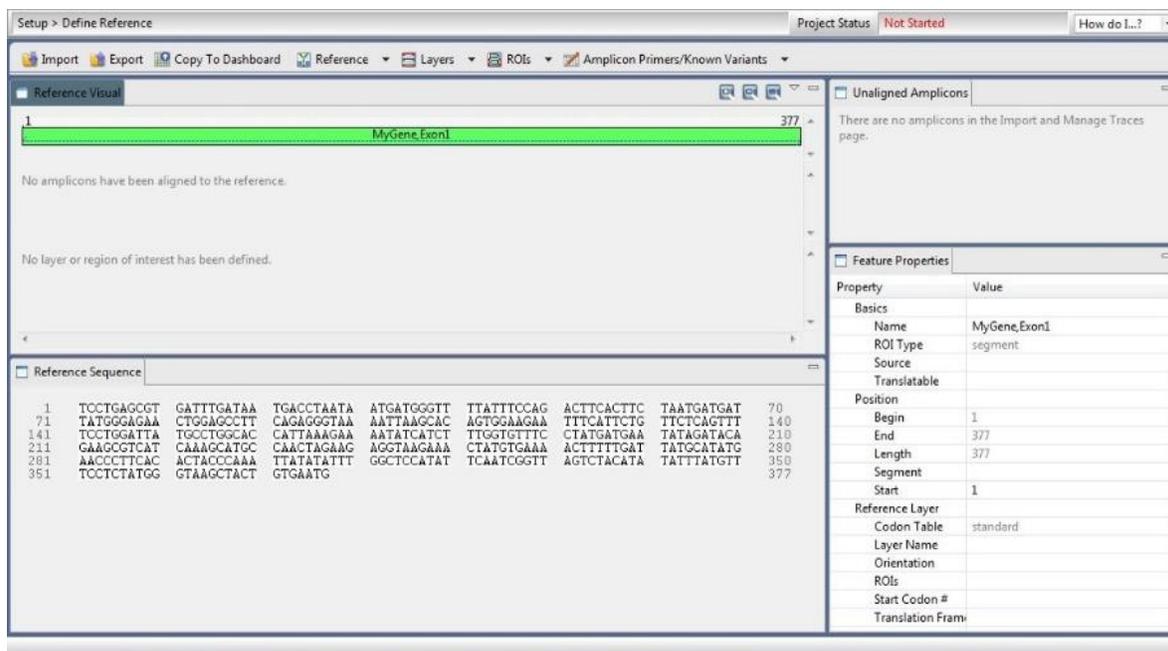


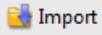
5.2.2. 点击 Define Reference 子界面上方工具栏中的  按钮（上图红色方框处），在弹出的对话框中选择需要导入的参照序列：

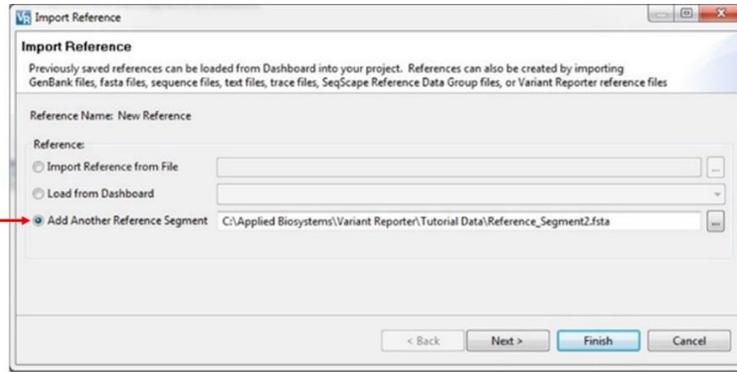


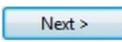
5.2.3. 在对话框中选择“Import Reference from file”选项（上图箭头处），选择对应文件导入即可。参照序列文件格式可以为：vrr、fasta、fasta、txt、seq、ab1、gb、rdg 或 ctf。

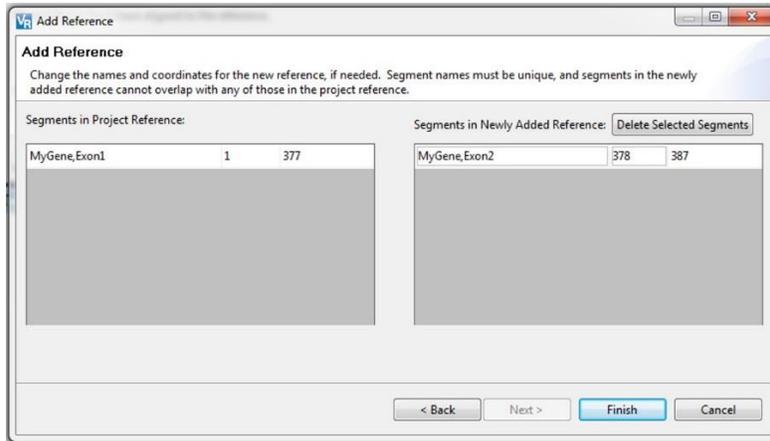
5.2.4. 点击对话框中的  按钮，软件显示导入的参照序列信息：

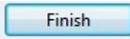


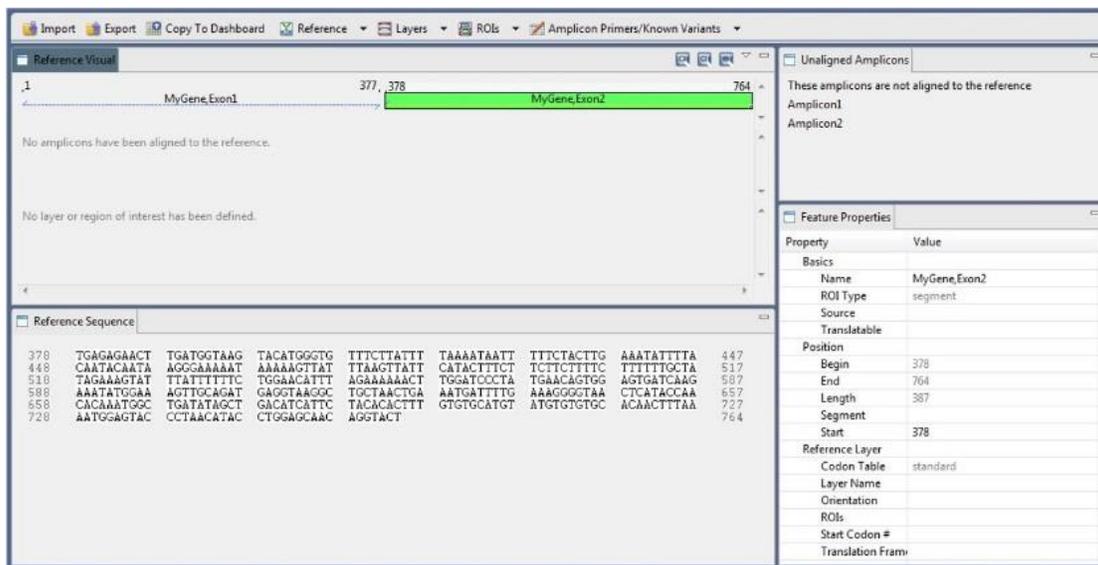
5.2.5. 如需要导入另一条参考序列，可再次点击工具栏中的  按钮，在弹出的对话框中选择“Add Another Reference Segment”选项（下图箭头处）。



5.2.6. 点击右侧  按钮，选择添加相应文件后，点击  按钮。软件列出导入的参照序列。



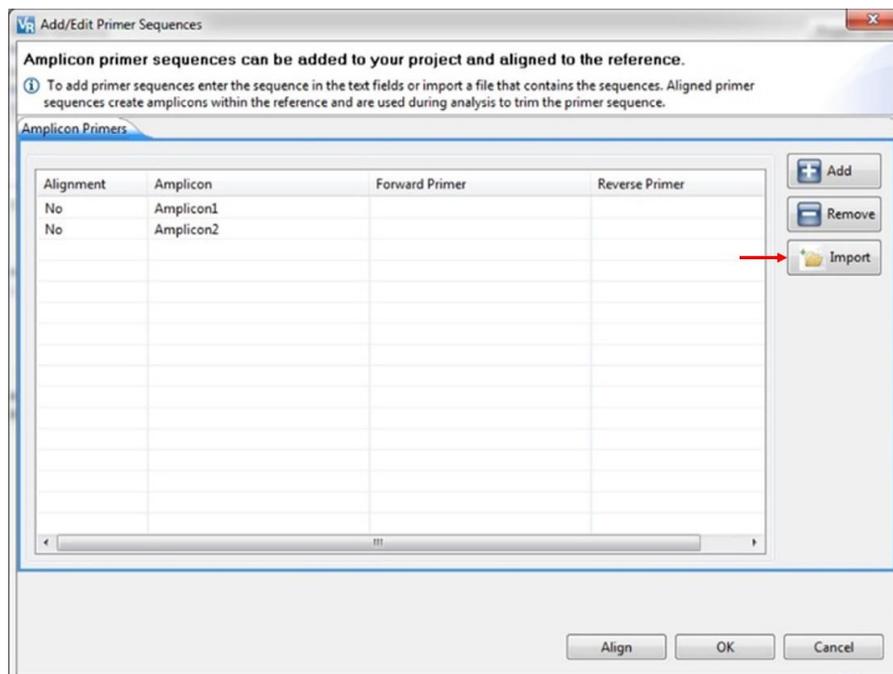
5.2.7. 点击对话框中的  按钮，完成参考序列的导入。



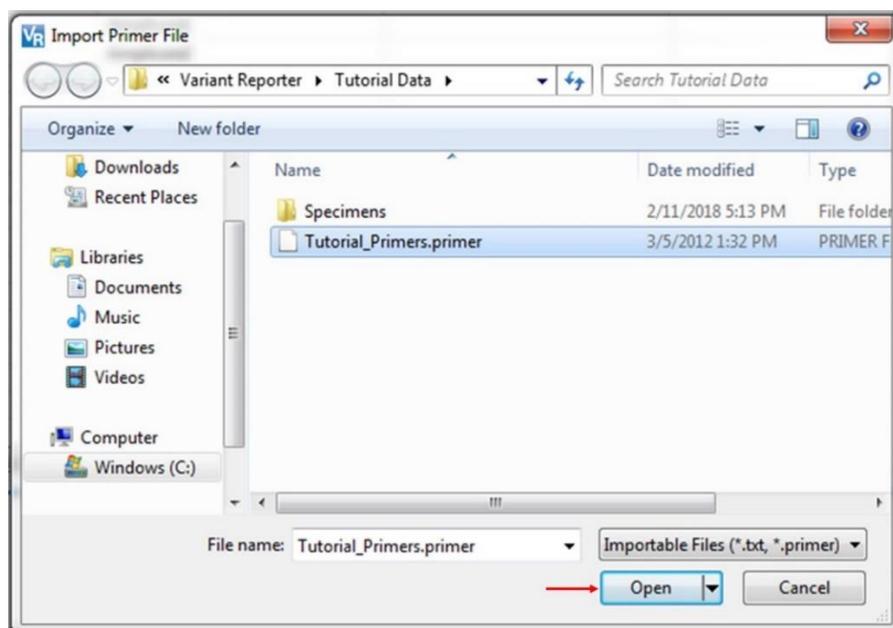
5.3. 导入引物信息

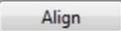
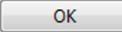
5.3.1. 在主界面工具栏中点击  **Amplicon Primers/Known Variants** 按钮，在下拉菜单中选择

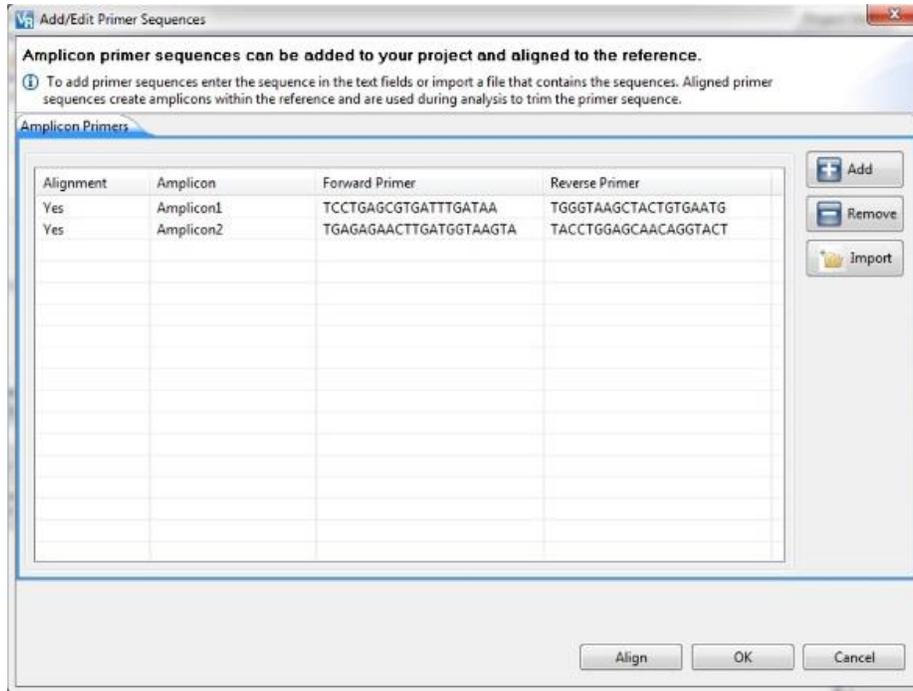
Add/Edit Primer Sequences 选项。此时弹出引物序列编辑对话框。



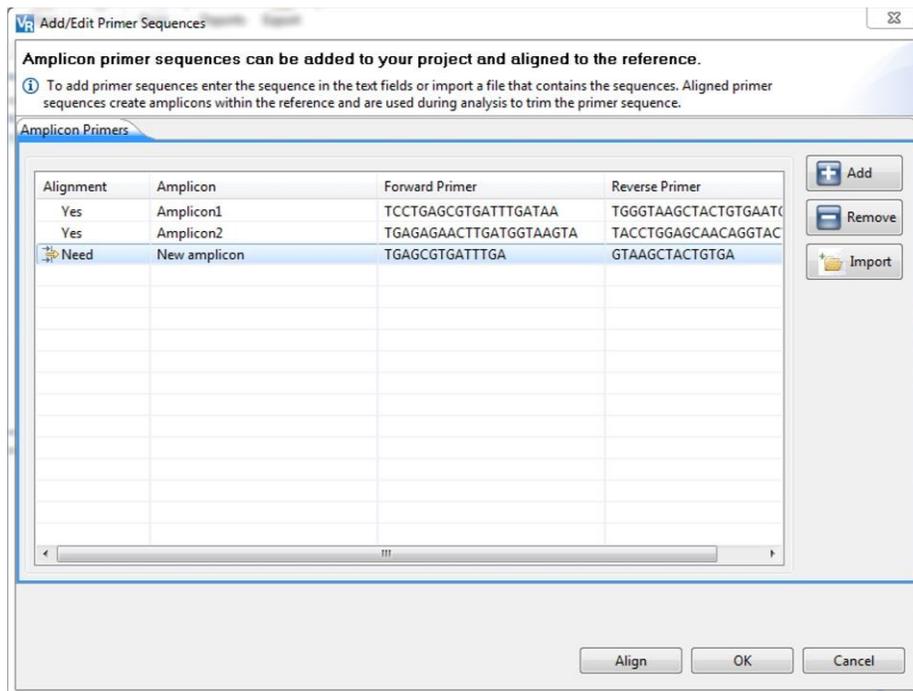
5.3.2. 点击窗口右侧  **Import** 按钮（上图红色箭头处），选择对应.primer 或.txt 文件。



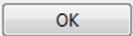
5.3.3. 点击  按钮导入引物序列，并点击引物编辑对话框下方的  按钮完成引物比对。完成后点击  按钮。

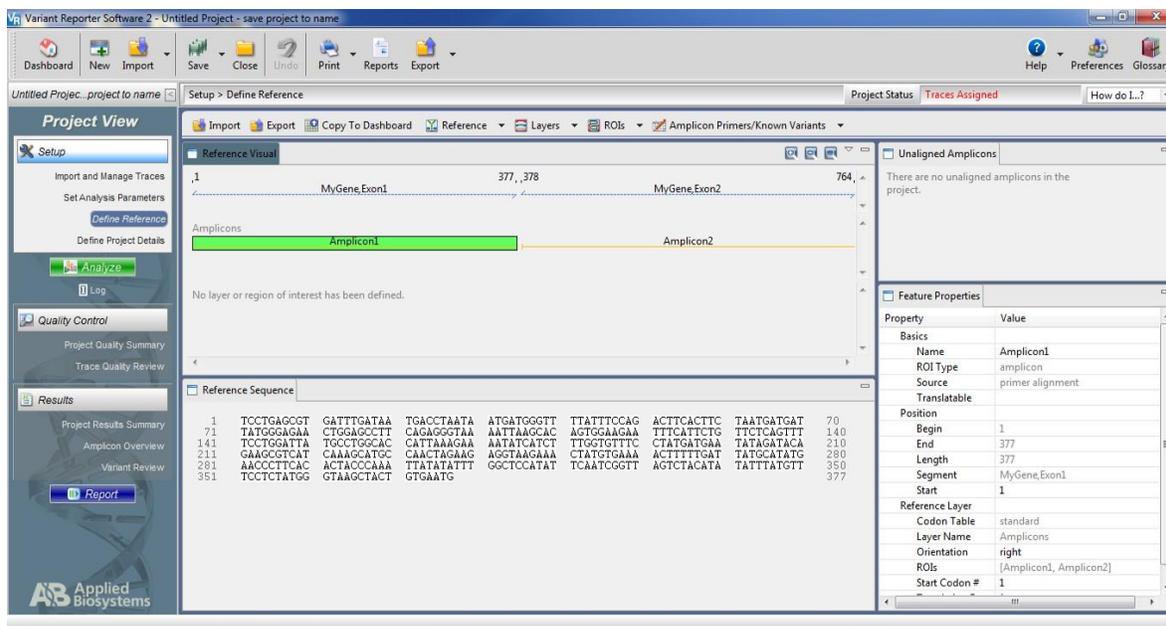


5.3.4. 也可通过引物编辑对话框右侧的  和  按钮手动添加引物序列。

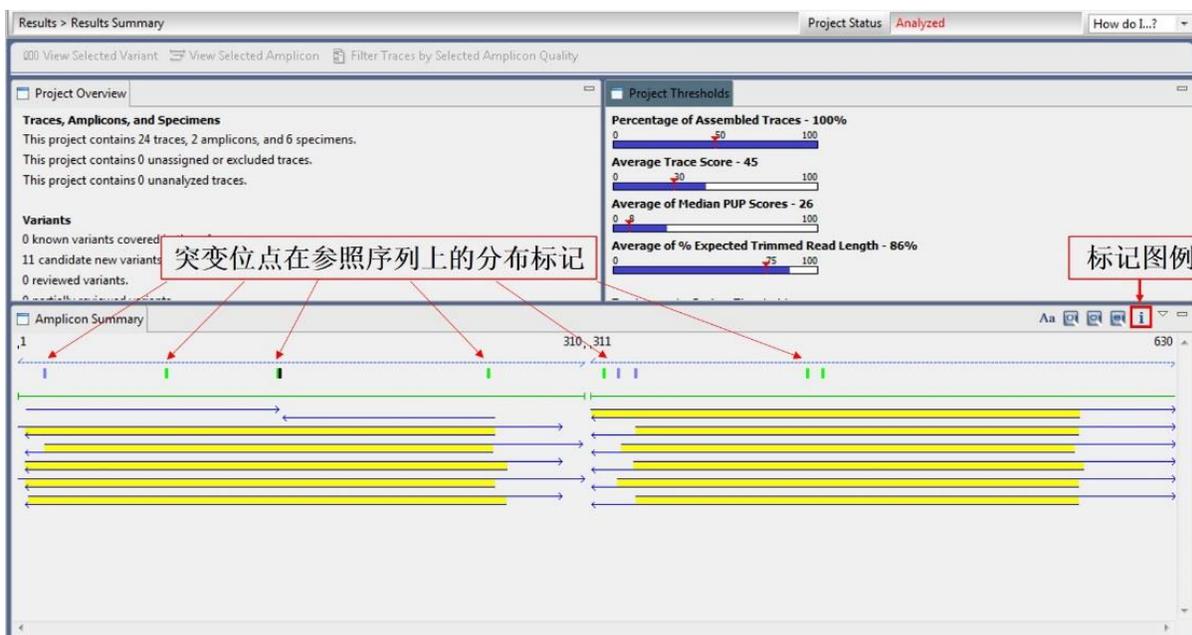


5.3.5. 手动输入引物序列后，点击对话框下方的  按钮即可完成引物比对。完成后点击

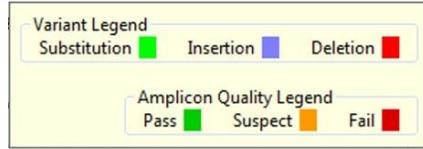
 按钮。



5.3.6. 点击软件左侧菜单栏中的  按钮对导入序列进行比对，显示分析结果概况。

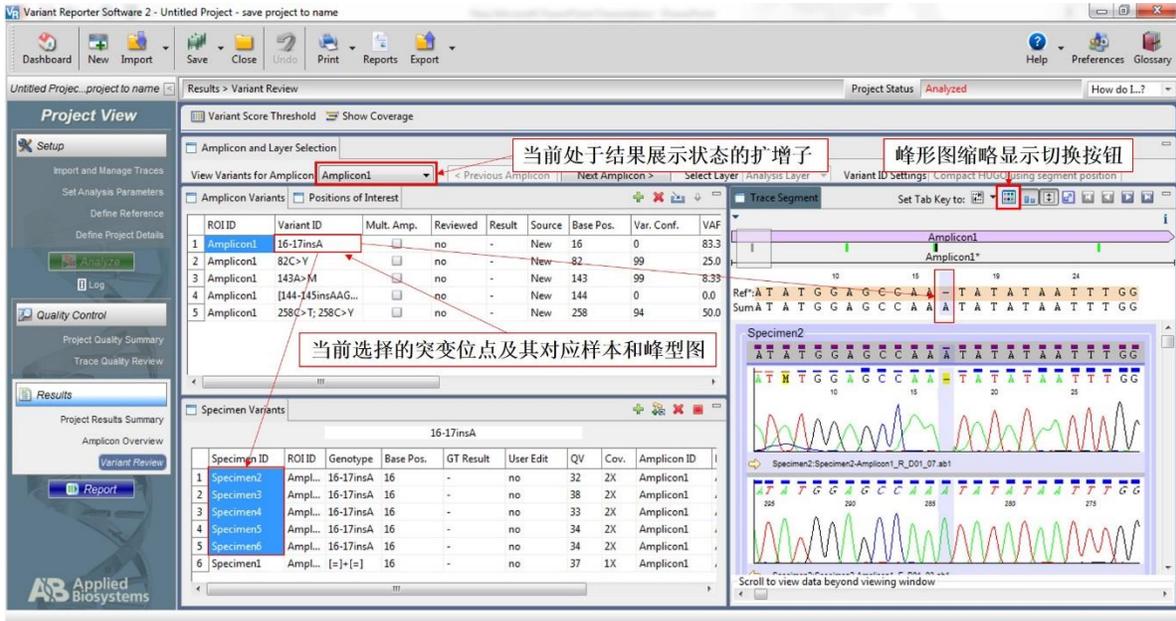


软件列出突变位点在参照序列上的分布位置，以颜色标记突变类型，可点击右侧  图标进行查看。



6. 结果分析

6.1. 点击软件左侧菜单栏中的 **Variant Review** 按钮查看突变位点分析结果。



6.2. 点击 按钮（缩略显示切换按钮）切换不同样本突变位点展示界面。



6.3. 通过峰型图界面查看每一个突变位点，并可通过点击子界面菜单栏上的 和 按钮选择接受或拒绝此突变。处理结果显示在列表“Result”和“GT Result”两列中。

ROI ID	Variant ID	Mult. Amp.	Reviewed	Result	Source	Base Pos.	Var. Conf.	VAF %	Type
1	Ampl... 16-17insA	<input checked="" type="checkbox"/>	no	accept	New	16	0	83.33	ins
2	Ampl... 82C>Y	<input type="checkbox"/>	partial	reject	New	82	99	NA	sub
3	Ampl... 143A>M	<input type="checkbox"/>	no	-	New	143	99	8.33	sub
4	Ampl... [144-145ins...	<input type="checkbox"/>	no	-	New	144	0	0.0	ins
5	Ampl... 258C>T; 25...	<input type="checkbox"/>	no	-	New	258	94	50.0	sub

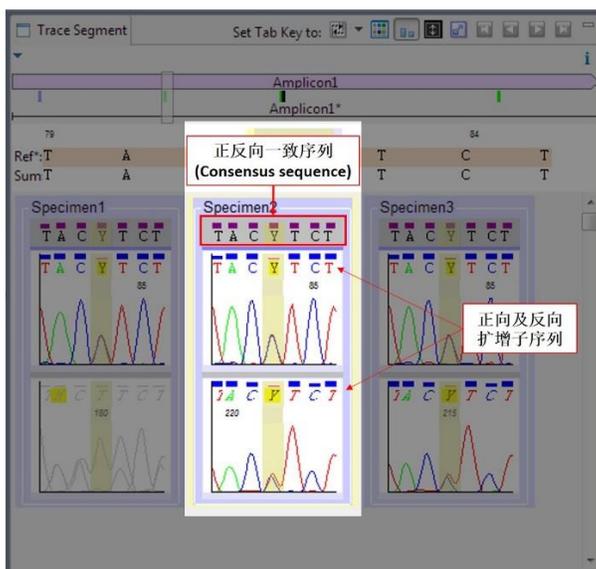
Specimen ID	ROI ID	Genotype	Base Pos.	GT Result	User Edit	QV	Cov.	Amplicon ID
1 Specimen2	Ampl... 16-17insA	16-17insA	16	-	no	32	2X	Amplicon1
2 Specimen3	Ampl... 16-17insA	16-17insA	16	-	no	38	2X	Amplicon1
3 Specimen4	Ampl... 16-17insA	16-17insA	16	-	no	33	2X	Amplicon1
4 Specimen5	Ampl... 16-17insA	16-17insA	16	-	no	34	2X	Amplicon1
5 Specimen6	Ampl... 16-17insA	16-17insA	16	-	no	34	2X	Amplicon1
6 Specimen1	Ampl... [=]+[=]	[=]+[=]	16	-	no	37	1X	Amplicon1

6.4. 编辑序列

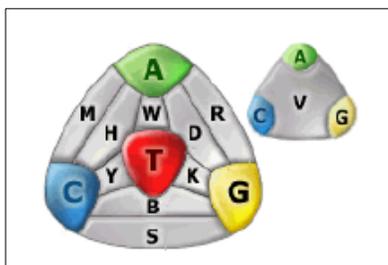
软件提供了在峰型图界面中对序列碱基进行编辑的功能，可根据需要进行选择。

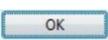
6.4.1. 替换碱基

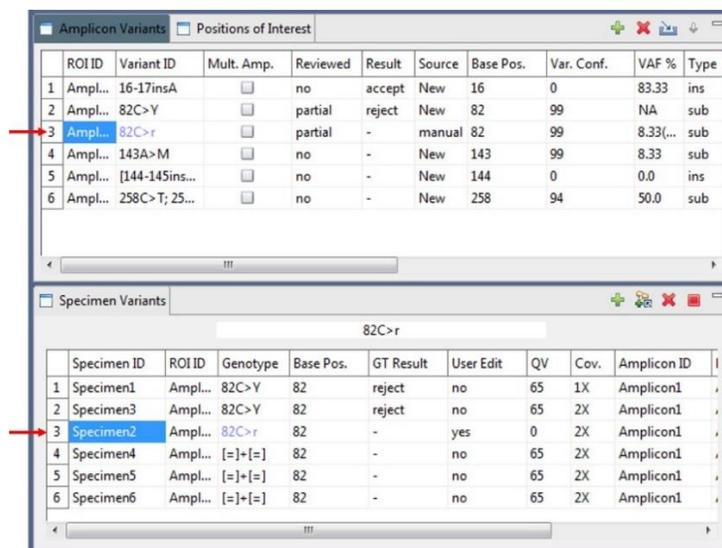
- 1) 于右侧峰型图界面中，选择样本来源和 Consensus sequence 上需要替换的位点。碱基被选择后，其背景呈黄色加亮显示（下图显示的为来自样本 Specimen2 的 82Y 位点）。



- 2) 参考下列兼并碱基符号图，直接在键盘上点击需要输入的新碱基。此时软件弹出突变位点变化提示框。



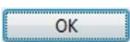
3) 点击  按钮后，新增加突变位点被添加至列表中。



6.4.2. 删除碱基

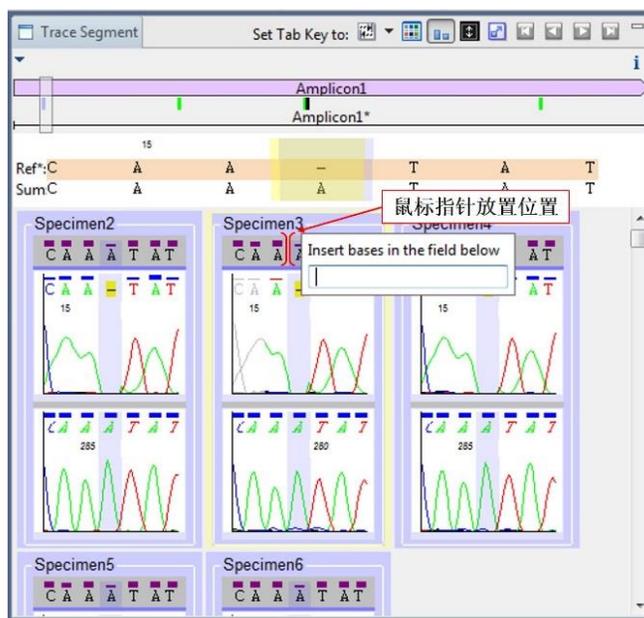
1) 与替换碱基相似，在样本的 Consensus sequence 上选中需要删除的碱基后，点击键盘上的“Delete”键。此时软件弹出对话框，提示突变位点将删除。



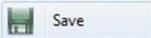
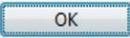
2) 点击  完成碱基删除。

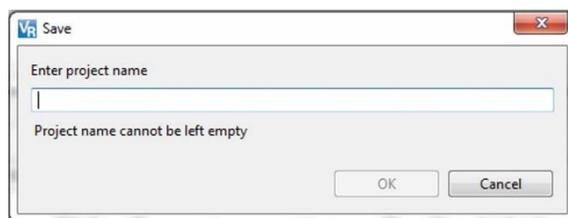
6.4.3. 插入碱基

点击选中需要修改的 Consensus sequence 样本，鼠标指针置于需要插入的两碱基之间，单击鼠标。在弹出的对话框中输入需要插入的碱基。点击键盘回车键完成碱基插入。

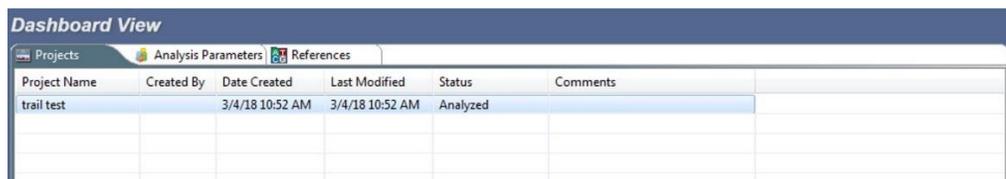


6.5. 保存项目

6.5.1. 项目序列编辑完成后，点击软件上方工具栏中的  按钮，在弹出的下拉菜单中选择  选项。在弹出的对话框中输入项目名称后，点击  按钮确认。

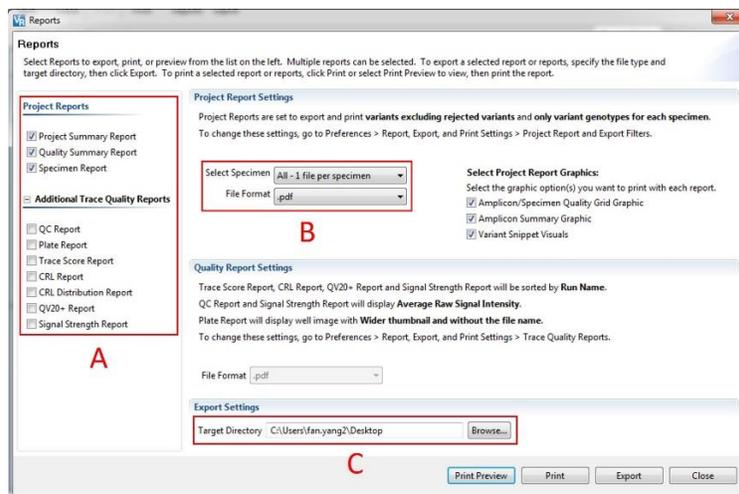


6.5.2. 可点击软件上方工具栏中的  按钮，在 Dashboard 界面中查看保存的项目。在列表中双击即可打开该项目。



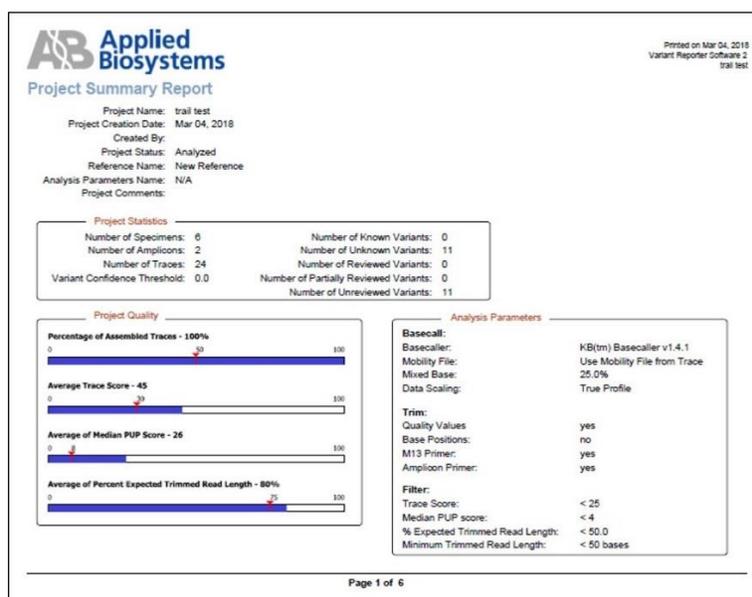
7. 导出分析报告

7.1. 点击软件左侧菜单栏中的  按钮，软件弹出对话框。



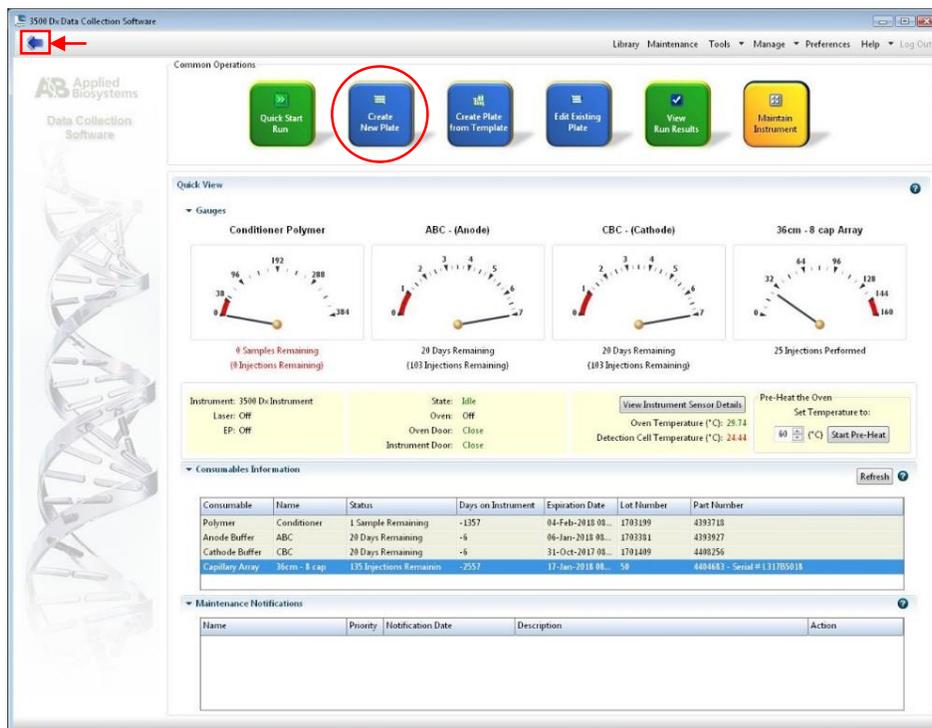
- A. 勾选需要导出的项目内容。
- B. 在下拉框中选择需要导出报告的样本或选择将所有样本的报告全部导出（“All-1 file per specimen”选项）。导出报告的文件类型为 pdf。
- C. 选择报告文件的导出位置。点击  按钮导出项目报告。

7.2. 双击报告文件，查看报告。

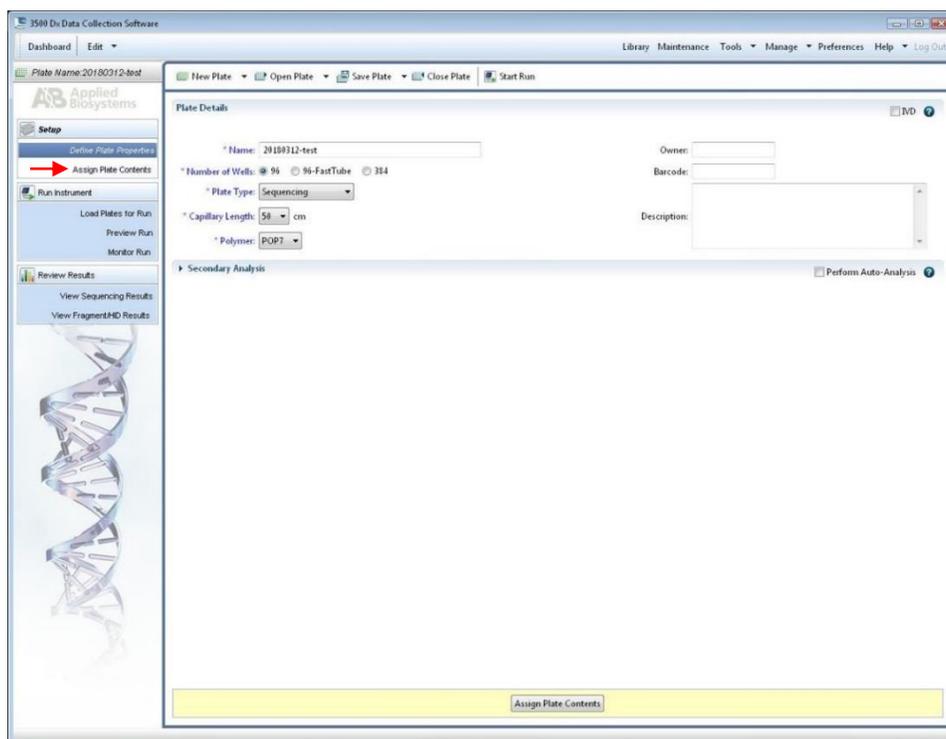


附录：3500 Data collection 软件中对测序文件名称的设置方法

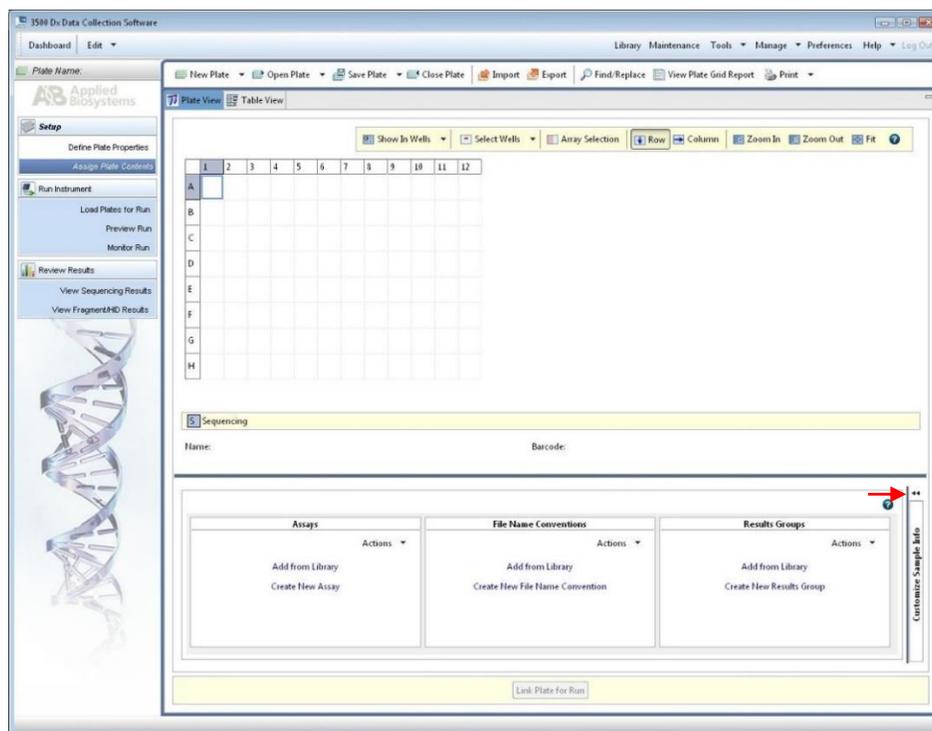
1. 双击桌面快捷方式启动 3500 Data Collection Software 3.0 软件，输入密码后进入软件主界面。



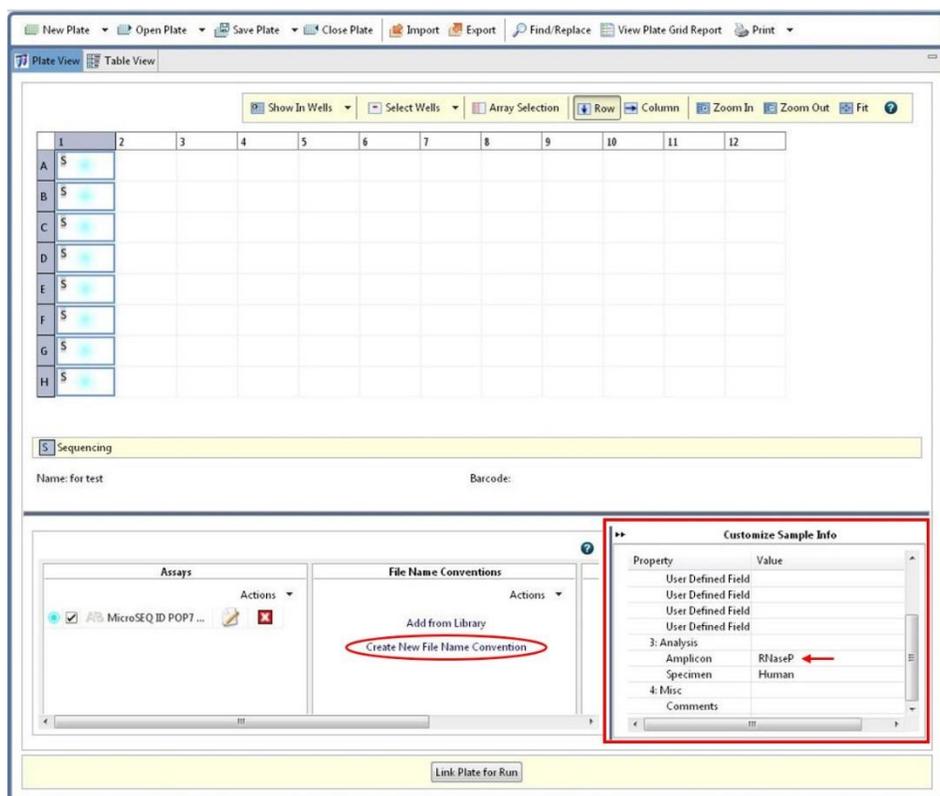
2. 点击界面左上角 按钮（上图箭头处）或者点击“Create New Plate”按钮（上图圆圈处）进入 workflow 设置界面。



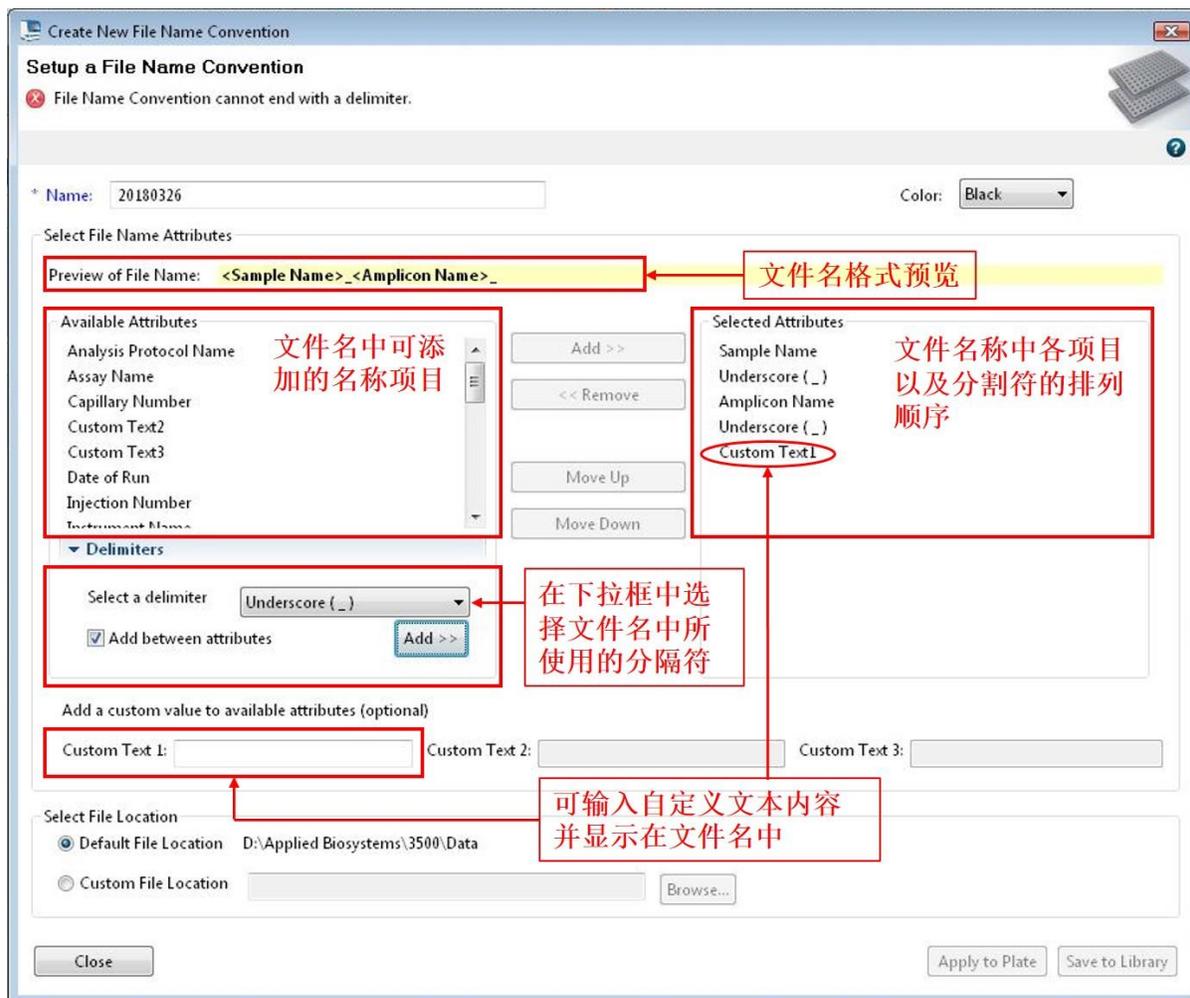
3. 点击左侧 Setup 菜单中的 **Assign Plate Contents** 按钮，进入样品设置界面。



4. 对样品板进行定义时，点击右侧双箭头按钮（上图箭头处）显示样品信息。在界面上侧选中测序样本后，在下图箭头处输入扩增子信息。



- 在界面下方的 File Name Conventions 设置框内点击“Create New Name Convention”标签（上图红色圆框内），进入输出文件名称编辑对话框，对自动生成的文件名称格式进行编辑。



- 在对话框将文件名称格式设置为 Variant Reporter 2 软件可以自动识别的的格式。点击对话框右下角 **Apply to Plate** 或 **Save to Library** 按钮对设置进行套用或保存。至此，3500 测序生成的结果文件（ab1 文件）名称已经符合 Variant Reporter2 的要求，可直接导入并进行分析。