この電子化された添付文書をよく読んでから使用してください。

体外診断用医薬品

製造販売認証番号： 226ADAMX00091000

＊＊2024 年 12 月改訂 （第５版）
＊2016 年 11 月改訂 （第４版）

B 細胞サブセットキット

ダコ Dual Color L 鎖κ/FITC+L 鎖λ/RPE

【全般的な注意】

1. 本製品は，体外診断用医薬品でありそれ以外の目的に使用しないこと。
2. 測定結果に基づく臨床診断は，臨床症状や他の検査結果，最新の所見等と併せて，担当医師が総合的に判断すること。
3. 電子添文に記載された使用方法及び使用目的以外の使用については，測定結果の信頼性を保証できないので，記載内容に従って使用すること。
4. 使用する機器の電子添文及び取扱説明書をよく読んでから使用すること。
5. 診断には他の検査も併用すること。
6. 一種類の蛍光標識抗体で判定のつかない場合は、複数の項目による検査も行うこと。

【形状・構造等（キットの構成）】

蛍光標識抗体	成分
L 鎖κFITC+L 鎖λ/RPE	Fluorescein isothiocyanate(FITC)標識 抗ヒトL鎖κ・ウサギポリクローナル抗体 、R-phycoerythrin(RPE)標識 抗ヒトL鎖λ・ウサギポリクローナル抗体

【使用目的】

全血又は単核細胞中の白血球細胞表面抗原の分析及びＢ細胞サブセットの測定

【測定原理】

本品は抗ヒトL鎖κ・ウサギポリクローナル抗体にFluorescein isothiocyanate(FITC)蛍光物質を結合させたものと抗ヒトL鎖λ・ウサギポリクローナル抗体にR-phycoerythrin(RPE)蛍光物質を結合させたものの抗体混合液である。本品は測定原理として、蛍光抗体直接法を用いている。検体に本品を加え、一定の条件のもとで反応させると、抗原抗体反応により、それぞれの抗体が目的とする細胞表面抗原の抗原決定基に本品が特異的に結合する。この細胞にフローサイトメーターを用いて490nm 近辺の励起光を照射し、530nm(FITC)および570nm(RPE)近辺の蛍光波長を測定して目的細胞を測定する。

【操作上の注意】

(1) 検体は新鮮なものを使用すること。
(2) 溶血しにくい検体が希に存在するので、この場合は単核球分離細胞を使用すること。
(3) 異常細胞や培養細胞は、正常細胞に比べて高密度に抗原を持っている場合がある。このような場合は、抗体量を増やして試験を行うこと。
(4) 正常細胞では問題のない抗体濃度でも白血病検体などでは陽性率の低下をきたす場合があるので、標識抗体は用法・用量を守って使用すること。
(5) 採血後は常温で保存し、６時間以内に試験を行うことが望ましい。全血検体 の冷所保存は避けること。とくに白血病細胞などは、保存によって急激に陽性率の低下をきたす場合があるので注意すること。
(6) 検体が多い場合は、試薬の汚染防止や効率の面から、試薬を先に分注し、後から検体を加える方法を勧める。
(7) 試薬の秤取量が少ないので、分注の際は確実に添加すること。
(8) 試薬の汚染を防ぐため、マイクロピペットのチップは１回ずつ取り替えること。
(9) 細胞を懸濁するときはできるだけ泡立てないように操作すること。
(10) 抗体染色後の試料は、遮光して２～８℃ で保存し、速やかに測定すること。
(11) 抗体染色後に固定した試料は、遮光して２～８℃で保存し、24 時間以内に測定すること。
(12) 蛍光物質は光に当てると蛍光が減衰するので、蛍光標識抗体の保管及びインキュベーションの際はアルミホイルで周りを包むなどして、遮光状態にすること。
(13) フローサイトメーターは、レーザー光軸、検出感度、蛍光補正（コンペンセーション）が適正になるように、予め調整してから使用すること。

【用法・用量（操作方法）】

1. 必要な器具及び試薬
(1)蛍光標識陰性コントロール
ウサギ Ig/FITC+ウサギ Ig/RPE などを使用する。
(2)赤血球溶血剤
Dako Easy-Lyse（Code No.S2364）など、市販のフローサイトメトリー用溶血試薬を使用する。
(3)PBS（リン酸緩衝生理食塩水、pH 7.4）
(4)2% BSA 加 PBS
(5)1%パラホルムアルデヒド加 PBS
(6)単核球分離液
市販のリンパ球分離液を使用する。
(7)ディスポーザブル試験管
測定機器に適した形状、材質のものを使用する。
(8)ディスポーザブル遠沈管
(9)マイクロピペット及びチップ、パスツールピペット、ピペット
(10)Vortex ミキサー
(11)血球計算盤
(12)遠心器
(13)アスピレーター
(14)アイスバス
(15)フローサイトメーター

2. 検体の取扱い
≪全血使用の場合≫
抗凝固剤入り採血管で採取した静脈血を検体とする。
≪単核球分離細胞使用の場合≫
(1)抗凝固剤入り採血管で採取した静脈血３mL を等量の PBS で希釈する。
(2)単核球分離液４mL を遠沈管に入れ、希釈した静脈血を分離液の上に重ねるように穏やかに加える。血液と分離液が混ざらないように注意する。
(3)単核球分離液の取扱説明書にしたがって遠心分離する。
(4)分離液が混ざらないように注意しながら、単核球層をピペットで採取する。
(5)採取した単核球を適量の 2%BSA 加 PBS に浮遊させる。
(6)300 ×g で５分間遠心分離する。
(7)アスピレーターで上清を吸引除去する。
(8)上記(5)～(7)の操作を２回繰り返す。
(9)適量の 2%BSA 加 PBS に単核球を浮遊させる。
(10)血球計算盤で細胞数を測定し、細胞濃度を約 10×10^6 個／mL に調整する。細胞浮遊液の調製後は２～８℃で保存し、速やかに抗体染色を行う。

3. 試薬の調製法，安定性
蛍光標識抗体は、そのまま希釈せずに使用する。また、使用前に常温に戻すこと。

4. 操作方法（抗体染色、測定）
≪全血使用の場合≫
(1)試験管に下記のようにピペットで分注する。

	試験管Ａ（抗体）	試験管Ｂ（対照）
検体	100μL	100μL
蛍光標識抗体	10μL	—
蛍光標識陰性コントロール	—	10μL

(2)穏やかに混和し、暗所にて 4℃、30 分間インキュベーションする。
(3)所定量の溶血試薬をそれぞれの試験管に加え、穏やかに撹拌する。
(4)所定の時間反応させた後、300×g で５分間遠心分離する。
(5)液量が約 50μL 残るように上清を吸引除去する。

(6) 2%BSA 加 PBS を 3mL 加え、穏やかに撹拌する。
(7) 300×g で５分間遠心分離する。
(8) 液量が約 50μL 残るように上清を吸引除去する。
(9) 適量の PBS（直ちに測定する場合）または１%パラホルムアルデヒド加 PBS を加えて撹拌し、測定まで２～８℃の暗所に保存する。
(10) フローサイトメーターで目的細胞を測定する。

≪単核球分離細胞使用の場合≫

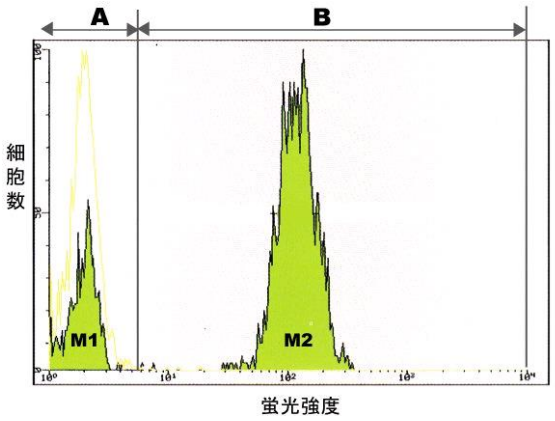
(1) 試験管を下記のようにピペットで採取する。

	試験管Ａ（抗体）	試験管Ｂ（対照）
検体	100μL	100μL
蛍光標識抗体	10μL	—
蛍光標識陰性コントロール	—	10μL

(2) 穏やかに混和し、暗所にて 4℃、30 分間インキュベーションする。
(3) 2%BSA 加 PBS を 3mL 加え、穏やかに撹拌する。
(4) 液量が約 50μL 残るように上清を吸引除去する。
(5) 上記(3)～(4)の操作を繰り返す。
(6) 適量の PBS（直ちに測定する場合）または１%パラホルムアルデヒド加 PBS を加えて撹拌し、測定まで２～８℃の暗所に保存する。
(7) フローサイトメーターで目的細胞を測定する。

【測定結果の判定法及び判定に係る注意事項】

1. 測定結果の判定法
(1) フローサイトメーターは、取扱説明書に従って調整、操作する。
(2) 散乱光ドットプロット上で､目的とする細胞領域 にゲートを設定する。
(3) 蛍光標識陰性コントロールを反応させた試料 （対照，試験管Ｂ ）を測定し、次に蛍光標識抗体を反応させた試料（抗体，試験管Ａ）を測定する。例として、次のようなヒストグラムが得られる。



(4) 対照試料の測定結果に基づいて、ヒストグラムの陰性領域（上図Ａ）と陽性領域（上図Ｂ）を設定する。
(5) 抗体試料の細胞総数（Ｍ１＋Ｍ２）に対する陽性細胞数（Ｍ２）の百分率を陽性率とする。

2.判定上の注意
(1) 検体は、あらかじめ肉眼で細胞を観察することを勧める。細胞数のみならず、細胞の形態、大きさ、生存率、赤芽球の出現などの情報は、ゲートを設定する際の参考になる。
(2) 造血器腫瘍検体の場合、必ずしも単核球領域に腫瘍細胞が存在するとは限らないので、適切な細胞領域にゲートを設定すること。
(3) 測定結果は、患者の年齢、性差、人種、喫煙習慣などの環境条件、紫外線照射、運動量、外傷、薬物投与の有無等の患者の状態及び検体の採取や保存方法、採取後の時間経過によっても変化する場合があるので、注意すること。
(4) 細胞の自家蛍光が強い検体は、バックグラウンドの上昇により正確な測定が困難な場合がある。
(5) 死細胞は細胞膜の透過性が亢進しており、細胞内部に蛍光標識抗体が浸透して偽陽性を呈することがある。

【性能】

「用法・用量（操作方法）」欄の操作方法により，感度，正確性及び同時再現性の各試験を行った結果，以下の規格に適合する。

1. 感度試験
蛍光標識抗体を未希釈、および 2 倍、4 倍希釈したものを用いて同一の陽性検体を 3 回同時に測定した場合、未希釈のＬ鎖κ及びＬ鎖λの陽性率の平均値を 100%とすると、2 倍、4 倍希釈した場合の陽性率の平均値は、それぞれいずれの場合も 75%以上 125%以下の範囲内にある。

2. 正確性試験
未希釈の蛍光標識抗体を用いて、陽性検体を測定した場合のＬ鎖κ及びＬ鎖λの陽性率は、それぞれ 2%以上 12%以下及び 1%以上 10%以下の範囲内にある。

3. 同時再現性試験
未希釈の蛍光標識抗体を用いて、同一の陽性検体を３回同時に測定した場合のＬ鎖κ及びＬ鎖λの陽性率のＣＶ値は、いずれの場合も 20%以下の範囲内にある。

4. 相関性試験
蛍光標識抗体と同一原理を採用している市販品と比較した場合、良好な相関性が得られた。

		検体数	相関係数	回帰式
市販品１	Ｌ鎖κ	52	0.9989	Y=1.0188X+0.4133
	Ｌ鎖λ	52	0.9992	Y=1.0236X+0.3969

【使用上又は取扱い上の注意】

取扱い上（危険防止）の注意

1. 検体には、HBV、HIV など、感染のおそれのあるものもあるので、取扱いには十分注意すること。
2. 検査にあたっては感染の危険を避けるため、使い捨て手袋を着用すること。
3. ピペッティングの際、試薬や検体を口で吸い上げないこと。
4. 試薬が皮膚や粘膜に直接接触することを避けること。万一触れた場合は、多量の水で洗い流すこと。
5. 製品中の容器・付属品等は他の目的に転用しないこと。
6. 試薬はアジ化ナトリウムを含んでいる。アジ化ナトリウムは鉛や銅と反応して起爆性の高い金属化合物を生成するため、容器の落下・衝撃による破損がないように丁寧に取り扱うこと。

使用上の注意

1. 試薬は 2～8℃で遮光して保存すること。
2. 試薬はなるべく早く使用し、使用期限を過ぎた試薬は使用しないこと。
3. 試薬は直接日光に当てないこと。
4. 試薬は微生物に汚染されないよう注意すること。
5. 異なるロットの試薬を混ぜて使用しないこと。
6. 同一ロットの試薬であっても試薬を注ぎ足さないこと。
7. 使用後はキャップを堅く締めておくこと。

廃棄上の注意

1. 試薬はアジ化ナトリウムを含んでいる。アジ化ナトリウムは鉛や銅と反応して起爆性の高い金属化合物を生成するため、廃棄の際は多量の水で希釈して廃棄すること。
2. 検体組織に接触した器具・試薬及び試薬容器等は感染の危険性があるものとし、オートクレーブで 121℃、20 分間滅菌処理するか、または１vol%次亜塩素酸などの消毒液に浸して一晩処理すること。
3. 使用後の容器を廃棄する場合には、廃棄物処理及び清掃に関する法律等の規定に従って処理すること。

【貯蔵方法、有効期間】

貯蔵方法：遮光して 2~8℃で保存

** 有効期間：3 年

【包装単位】

蛍光標識抗体	Code No.	包装単位
FITC 標識抗ヒトＬ鎖κ・ウサギポリクローナル抗体 +RPE 標識抗ヒトＬ鎖λ・ウサギポリクローナル抗体	FR481	0.5 mL（50 テスト）

【主要文献】

(1)Lal RB, Edison LJ, Chused TM. Fixation and long-term storage of human lymphocytes for surface marker analysis by flow cytometry. Cytometry 1988; 9:213 - 219

*【問い合わせ先】

アジレント・テクノロジー株式会社　カスタマーサポート
〒108-0023
東京都港区芝浦四丁目 16 番 36 号住友芝浦ビル
TEL：03-5232-9968

*【製造販売業者の名称及び住所】

アジレント・テクノロジー株式会社
〒108-0023
東京都港区芝浦四丁目 16 番 36 号住友芝浦ビル
TEL：03-5232-9970　　FAX：03-5232-9969