



T細胞キット サイトスタット 3A1-FITC

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

全般的な注意

1. 本品は、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないでください。
2. 診断はほかの関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
3. 添付文書等に記載した内容以外の方法で使用した場合には、保証しません。
4. ご使用にあたっては、測定装置の取扱説明書をよく読んでから使用してください。

形状・構造等(キットの構成)

構成試薬名: モノクローナル抗体試薬
成分: 抗ヒト CD7 マウスモノクローナル抗体 3A1
(フルオレセインイソチオシアネート結合)

使用目的

全血中のヒト白血病細胞(CD7 抗原陽性細胞)の分類

測定原理

フローサイトメトリーによる蛍光抗体法

測定には、488 nm で励起し、525(504~541) nm の蛍光を検出できるフローサイトメーターが必要です。

操作上の注意

1. 本品はフローサイトメトリー専用試薬です。蛍光顕微鏡には使用できません。
2. 本品は全血検体用に調製されており、新鮮又は凍結保存した分離単核球検体への使用は不適当です。
3. 抗凝固剤として EDTA のほかにヘパリン等も使用可能ですが、いずれを用いて採血した場合でも採血後は常温に保存し、24 時間以内に測定してください。
4. 末梢血検体の場合、細胞のバイアビリティ(生存率)は 90%以上が理想的ですが、異常検体ではこれを下回ることがあります。白血病細胞などでは、保存により急激に生存率の低下を来す場合があるため、注意が必要です。
5. 白血病検体など白血球数が 10,000 個/mm³ を超える検体は、同一患者の血漿を用いて白血球数が 10,000 個/mm³ 以下になるように希釈してください。
6. 全血法によるサンプル処理では、赤血球の溶血残渣や溶血されなかった赤血球が誤差要因となるので、溶血操作を確実に行ってください。試験管上部壁面に付着した血液飛沫は溶血操作の前に綿棒等で除去してください。
7. タンパク濃度が異常な場合や、有核赤血球、ヘモグロビン合成異常では赤血球の溶血が不完全となることがあります。この場合、溶血していない赤血球がリンパ球としてカウントされるために陽性率が実際よりも低くなるおそれがあるので注意してください。
8. 溶血時間が長いと、白血球にもダメージが及ぶ場合があります。
9. 白血病検体は、しばしば抗体タンパクの非特異的な結合が著しいため、対照には CYTO-STAT/COULTER CLONE MslgG2b-FITC などの陰性コントロール抗体試薬を使用してください。
10. フローサイトメーターのレーザー光軸の調整不良や感度及びゲートの不適切な設定により、誤った結果が得られる場合があります。
11. 白血病細胞など抗原の発現量に異常がみられる場合は、全ての試験管に PBS を 3 mL 加えて 400~450 × g で 5 分間遠心分離し、上清を除去した後、沈渣を適量の PBS に再浮遊させてから測定すると、解析が容易になります。

用法・用量(操作方法)

【試薬の調製】

各構成試薬は、全てそのまま使用します(1 テストあたり 10 μL)。

【そのほか必要な試薬】

1. 溶血試薬(イムノブレップ試薬システム)(別売)

製品番号 7546999 容量 300 テスト(TQ-Prep、Multi-Q-Prep 用)
製品番号 7546946 容量 100 テスト(Q-Prep 用)

イムノブレップ試薬システムは、自動サンプル処理装置専用の溶血・固定試薬で、以下の試薬から構成されています。

- ①イムノブレップ A(溶血試薬)
- ②イムノブレップ B(反応停止試薬)
- ③イムノブレップ C(固定試薬)

注) コールター全血ライジングキット(製品番号 6603152)など、ほかの溶血試薬を用いる場合は、溶血試薬の添付文書に従って調製、使用してください。

2. PBS(リン酸緩衝生理食塩水; 溶血後に洗浄が必要な場合に使用)(別売)
PBS バッファ(製品番号 6603369)1 バックを蒸留水 500 mL に溶解します。調整後の pH7.2±0.2 で、防腐剤等は含んでいません。
3. 陰性コントロール試薬(アイソタイプコントロール抗体)(別売)
CYTO-STAT/COULTER CLONE MslgG2b-FITC(3A1-FITC 用)
製品番号 6603853 容量 50 テスト(0.5 mL)

【検体の採取と白血球数の調整】

検体には抗凝固剤(EDTA 推奨)を用いて採血した末梢血を用います。試験管 1 本につき 100 μL の血液を用いるため、測定項目数+対照の試験管分と検体希釈のための自己血漿採取用として、通常 1 検体につき 1~2 mL の血液が必要となります。

白血球数が 3~10 × 10³ 個/mm³ であることが染色を行う上で望ましく、検体中の白血球数がこの範囲を外れる場合には、希釈*又はパフィーコート法などにより濃縮して白血球数を調整してください。

また、採血後の検体を保存する場合は室温(20~25℃)で保存し、できるだけ採血後 6 時間以内に操作を開始してください。

* 溶血試薬にイムノブレップ試薬システムを用いる場合は、検体の希釈や白血球数の調整には同一患者検体の血漿(自己血漿)を用いてください。

白血球数の調整

- a) 白血球数が多い検体の場合(>10 × 10³ 個/mm³)

白血球数	希釈倍数
10~20 × 10 ³	: 2 倍
20~30 × 10 ³	: 3 倍
30~40 × 10 ³	: 5 倍
40~60 × 10 ³	: 6 倍
60~100 × 10 ³	: 10 倍
100~200 × 10 ³	: 20 倍

- b) 白血球数が少ない検体の場合(<3 × 10³ 個/mm³)

パフィーコート法

- (1) 検体を 25℃で 500 × g、5 分間遠心します。
- (2) 白血球の層をパスツールピペットで採取します。この際、すべての白血球を確実に回収するため赤血球及び血漿も一部回収します。
- (3) 数回ピペッティングして、十分に懸濁させます。
- (4) ヘマトロジーアナライザーや血球計算板を用いて細胞濃度を測定します。
- (5) 自己血漿で細胞濃度を 3~10 × 10³ 個/mm³ に調整します。

【操作方法】

溶血試薬にイムノブレップ試薬システムを用いる方法(Q-Prep™法)

注) イムノブレップ試薬システム以外の溶血試薬を用いる場合は、溶血試薬の添付文書に従って操作してください。

- (1) テスト用と対照用に 12 mm φ × 75 mm の試験管を用意します。
- (2) それぞれの試験管に全血を 100 μL ずつ分注します。管壁に付着した血液は綿棒等で拭き取ります。
- (3) モノクローナル抗体試薬をテスト用の試験管に 10 μL 加えます。対照用の試験管にはコントロール試薬(CYTO-STAT/COULTER CLONE MslgG2b-FITC、別売)を 10 μL 加えます。
- (4) よく攪拌した後、室温で 10 分間反応させます。
- (5) 試験管を TQ-Prep(または Q-Prep)で溶血・固定処理します。
注 1) ベックマン・コールター社製フローサイトメーター以外の装置(前方散乱光を狭角で検出する装置)で測定する場合は、溶血後に脱イオン水または蒸留水を 0.5 mL 加えてください。
注 2) 白血病細胞など抗原の発現強度に異常がみられる検体を測定する場合は、【操作上の注意】の 11 を参照してください。
- (6) フローサイトメーターでリンパ球領域または白血病細胞が分布している領域の蛍光陽性率を測定します。
- (7) 調製したサンプルは、室温で 2 時間まで保存できます。2 時間を超えときは、2~8℃で遮光保存し、調製後 24 時間以内に測定してください。

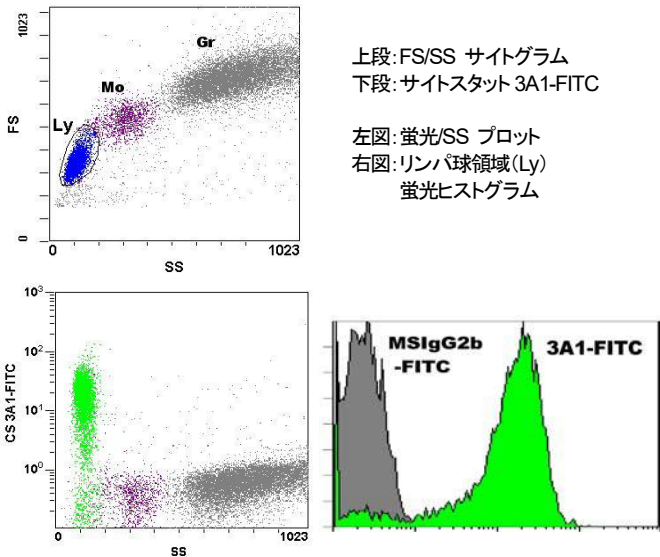
測定結果の判定法

- 1. 正しく調整されたフローサイトメーターを使用してください。
- 2. 前方散乱光 (FS) と側方 (90° 方向) 散乱光 (SS) のサイトグラム上で明瞭な白血球 3 分画 (リンパ球、単球、顆粒球) が得られるように FS のスレッシュホルドと散乱光のゲインを確認、調整します。
- 3. 白血球領域全体及びリンパ球、単球など任意の白血球集団に解析ゲートを設定し、Log FL1 (FITC 蛍光) の 1 パラメータ蛍光ヒストグラムを取得します。対照用のサンプルで蛍光陽性領域を設定します。

【ヒストグラム例】

本品による健常者末梢血測定ヒストグラム例
陰性コントロール抗体試薬:

CYT0-STAT/COULTER CLONE MslgG2b-FITC (3A1-FITC)
フローサイトメーター: EPICS® XL™



上段: FS/SS サイトグラム
下段: サイトスタット 3A1-FITC

左図: 蛍光/SS プロット
右図: リンパ球領域 (Ly)
蛍光ヒストグラム

【測定結果の判定方法】

- (1) 自社施設で測定した本品の正常参考値 (平均値 ± 1SD) は以下のとおりでした。
3A1-FITC 陽性率 (リンパ球領域): 76.7 ± 6.0% n=20
これはあくまでも期待値の一例であり、各施設で期待値を設定してください。
- (2) 正常な単球、顆粒球は CD7 陰性ですが、単球及び単球由来の白血病細胞は抗体試薬の非特異的な結合が起こりやすいので、結果の判定に注意してください。
- (3) ほかのマーカーの測定結果や臨床及びほかの診断データにも十分留意して測定結果を判定してください。

性能

用法用量欄の操作法によりフローサイトメーターを用いて、特異性、感度、再現性の各試験を行うとき、下記の規格値に適合します。

陰性の細胞株で特異性の確認が行われた既承認のモノクローナル抗体で CD7 陽性細胞の割合 (以下 CD7 陽性率) を求めたヒト全血検体、もしくは性能の各試験の規格に適合した有効期限内の本製品ロット (以下自社参照ロット) で CD7 陽性率を求めたヒト全血検体 (単球の白血球に占める割合が 5~11%、白血球数が 10,000 個/μL 以下) を管理用検体としたとき、以下の規格を満足します。

【感度試験】

被験モノクローナル抗体試薬を用いて上記管理用検体を測定するとき、CD7 陽性細胞分画の平均蛍光強度値は、自社参照ロットを用いて得られる CD7 陽性細胞分画の平均蛍光強度値の 14% 低値に相当する数値より大きいです。

【特異性試験】

被験モノクローナル抗体試薬を用いて上記管理用検体を測定するとき、CD7 陽性率は既知陽性率 ± 5% 以内です。

【再現性試験】

同一検体を 3 回以上測定するとき、CD7 陽性率の CV (変動係数) は 5% 以下です。

使用上又は取扱い上の注意

【取扱い上 (危険防止) の注意】

- 1. 本品には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれております。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着したりした場合に水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要であれば医師の手当てを受けてください。
- 2. 検査にあたっては感染の危険を避けるため、使い捨て手袋やゴーグルを着用し、また口によるビベッティングを行わないでください。
- 3. 試料は HIV、HBV、HCV 等の感染のおそれがあるものとして取り扱ってください。

【使用上の注意】

- 1. 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- 2. 試薬が微生物に汚染されないよう注意してください。
- 3. 保管及びインキュベーション中に試薬を強い光にさらさないでください。
- 4. 本品を凍結したり長時間光にさらしたりすることは避けてください。
- 5. すべての試薬は使用する前に室温 (20~25℃) に戻してください。
- 6. 試薬の外観に変化が見られたり、コントロール検体による測定値に大きな変化があったりする場合は、試薬の劣化が考えられるので使用しないでください。

【廃棄上の注意】

- 1. 試薬及び器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理してください。
- 2. 本品はアジ化ナトリウムを含んでいます。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の高い金属アジドを生成することがありますので、廃棄の際は大量の水と共に洗い流してください。
- 3. 検体又は検体を含む溶液が飛散した場合、感染防止のために 0.1% 濃度以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液等でふき取ってください。

貯蔵方法、有効期間

モノクローナル抗体試薬

貯蔵方法: 冷暗所 (2~8℃)

有効期間: 18 箇月

(使用期限は外装に記載しています。)

包装単位

サイトスタット 3A1-FITC

製品番号 6603824 容量 50 テスト (0.5 mL)

主要文献

1. Haynes BF, Martin ME, Kay HH, Kurtzberg J. 1988. Early events in human T cell ontogeny. Phenotypic characterization and immunohistologic localization of T cell precursors in early human fetal tissues. J Exp Med vol. 168: 1061-1080.

2. Haynes BF, Mann DL, Hemler ME, Schroer JA, Shelhamer JH, Eisenberth GS, Strominger JL, Thomas CA, Mostowski HS, Fauci AS. 1980. Characterization of a monoclonal antibody that defines an immunoregulatory T cell subset for immunoglobulin synthesis in humans. Proc Natl Acad Sci USA vol. 77: 2914-2918.

3. Haynes BF, Denning SM, Singer KH, Kurtzberg J. 1989. Ontogeny of T-cell precursors: a model for the initial stages of Human T-cell development. Immunology Today vol. 10: 87-91.

4. Pittaluga S, Raffeld M, Lipford EH, Cossman J. 1986. 3A1 (CD7) Expression precedes Tc gene rearrangements in precursor T (lymphoblastic) neoplasms. Blood vol. 68:134-139.

5. Bernard A, Boumsell L, Dausset J, Milstein C and Schlossman SF, eds. 1984. Leukocyte Typing. New York, NY: Springer-Verlag.

参考情報

詳細に関する情報は下記をご参照ください。
当社 Web サイト: サイトメトリードットコム
<https://www.bc-cytometry.com/>

問い合わせ先

ベックマン・コールター株式会社 お客様サポートセンター

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目 5 番 7 号 TOC 有明ウエストタワー
TEL: 0120-566-730

製造販売業者の氏名又は名称及び住所

ベックマン・コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目 5 番 7 号 TOC 有明ウエストタワー