



T 細胞キット、B 細胞キット、NK 細胞キット、白血球キット

AQUIOS Tetra-2 T 細胞・B 細胞・NK 細胞パネル

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. 診断は他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了場合は、保証の対象とはなりません。
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ご使用ください。

形状・構造等(キットの構成)

1. 構成試薬

成分

- ①抗ヒト CD45 マウスモノクローナル抗体(FITC 結合)
- ④抗ヒト CD3 マウスモノクローナル抗体(PC5 結合)
- ②抗ヒト CD56+16 マウスモノクローナル抗体(RD1 結合)
- ③抗ヒト CD19 マウスモノクローナル抗体(ECD 結合)

FITC:フルオレセインイソシアナート

PC5:フィコエリスリンサイアニンファイブ

RD1:フィコエリスリン

ECD:フィコエリスリンテキサスレッド

2. 対象抗原

CD45(分子量 180/190/210/220 kD)

CD45 抗体は、白血球共通抗原(LCA)として知られている、CD45 ファミリー汎白血球抗原を認識します。CD45 抗原は、赤血球とその前駆細胞を除く、いずれの白血球にも発現しています^{1,2}。この抗原は、非造血組織の細胞には発現していません¹⁻⁴。

CD3(分子量 20 kD)

CD3 抗体は、TCR と複合体を形成している 5 つの CD3 抗原分子鎖のうちの ϵ 鎖を認識しています。この抗原は、系統特異的な“Pan-T 細胞”表面抗原で、成熟胸腺細胞と末梢血の休止期及び活性化 T 細胞(インデューサー及びサブレッサ/細胞障害の両方のサブセットを含む)に発現しています⁵⁻⁷。

CD56+16(分子量 135~220 kD)

CD56+CD16 抗体は、神経細胞接着分子(NCAM)のアイソフォームを認識します。オルタネートスプライシングと糖鎖付加の違いにより、NCAM の分子量は 135~220 kD の範囲になりますが、造血系細胞では、NK 活性を示すリンパ球亜集団のみに 104 kD のアイソフォームが発現しています。末梢血中で、TCR を介さずに細胞障害性を示すことのできるリンパ球のすべてが CD56+CD16 を発現しています。この亜集団には、NK 細胞(CD3 陰性/CD56+CD16 陽性)と少数の T 細胞サブセット(CD3 陽性/CD56+CD16 陽性)の両方が含まれています。CD56+CD16 は、その他の T 及び B リンパ球、単球、顆粒球、及び赤血球には発現していません。

CD19(分子量 95 kD)

CD19 抗原は、分化段階初期の B 細胞を含むすべての B 細胞に発現しており⁸、B 前駆細胞から分化段階の終末である形質細胞で消失するまで発現が継続します。濾胞樹状細胞や骨髄単球系前駆細胞にも発現が認められることがありますが、T 細胞、単球、顆粒球には検出されません⁹⁻¹¹。in vitro での研究で、CD19 は TAPA-1、CD21、CD81、Leu13 その他の分子を含む細胞表面シグナル伝達複合体の一部として、B 細胞活性化と増殖の調節に関与していることが示されています。

3. クローン

CD45: B3821F4A

ヒト CD45 cDNA トランスフェクタントで免疫した BALB/c マウスの脾臓細胞と NS-1 マウスミエローマ細胞の融合細胞から分離

CD3: UCHT1

セザリ病患者から得られた末梢血リンパ球及び胸腺細胞で免疫した BALB/c マウスの脾臓細胞と NS-1 マウスミエローマ細胞の融合細胞から分離

CD56: N901(NKH1)

ヒト慢性骨髄性白血病細胞で免疫した BALB/cJ マウスの脾臓細胞と NS-1 マウスミエローマ細胞の融合細胞から分離

CD16:3G8

ヒト慢性骨髄性白血病細胞で免疫した BALB/cJ マウスの脾臓細胞と SP2/O マウスミエローマ細胞の融合細胞から分離

CD19: J3-119

SKLY18 リンパ腫細胞株で免疫した BALB/cJ マウスの脾臓細胞と NS-1 マウスミエローマ細胞の融合細胞から分離

4. Ig 構造

マウス IgG2b-H 鎖及び κ -L 鎖(CD45)

マウス IgG1-H 鎖及び κ -L 鎖(CD3、CD56+16、CD19)

5. 原料及び精製法

マウス腹水よりアフィニティークロマトグラフィーで精製(CD45)

融合細胞の培養上清よりアフィニティークロマトグラフィーで精製

(CD3、CD19)

マウス腹水、融合細胞の培養上清よりアフィニティークロマトグラフィーで精製(CD56+16)

6. 標識

FITC: 励起波長 468~509 nm、蛍光波長 504~541 nm

PC5: 励起波長 486~580 nm、蛍光波長 660~680 nm

RD1: 励起波長 486~580 nm、蛍光波長 568~590 nm

ECD: 励起波長 486~580 nm、蛍光波長 610~635 nm

7. 抗体以外の各種成分と濃度

BSA :0.2% NaCl :0.15 M

リン酸カリウム:0.01 M

アジ化ナトリウム:0.1% 安定剤

使用目的

全血中のリンパ球表面抗原の分析及び T 細胞、B 細胞、NK 細胞の測定

測定原理

測定方法はフローサイトメトリによる直接免疫蛍光法です。

検体と本試薬を反応させた後、フローサイトメーターにより当該細胞に結合している蛍光物質を測定することにより、検体の細胞表面抗原の分析、測定を行う試薬です。

この分析方法は、特定の抗原決定基を発現した細胞の表面へのモノクローナル抗体の結合能に依存しています。全血にモノクローナル抗体を添加してインキュベーションすることにより、細胞を特異的に染色できます。抗体試薬は、5 種類のマウスモノクローナル抗体の組み合わせで、それぞれが特定の蛍光色素を結合し、それぞれ異なる細胞表面抗原に特異性を持ちます。

操作上の注意

1. 測定試料の性質、採取法

- 1) 本品は全血検体用に調製されています。
- 2) 検体は、採血後は室温で保存し、24 時間以内に染色してください。

*3) 小児使用の使用に対する性能試験は行っておりません。

2. 妨害物質・妨害薬剤

- 1) 静脈血検体の場合、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。
- 2) 有核赤血球、血漿タンパク濃度異常、ヘモグロビン合成異常が見られる検体では、赤血球の溶血が不完全となることがあります。
- 3) 抗体治療を受けている場合、治療抗体によるブロッキングにより特定の標識抗原が低下したり、欠落したりする場合があります。

3. その他

- 1) 本品の測定には、488 nm 励起で 4 カラー(525 nm、575 nm、620 nm、675 nm)の蛍光測定が可能なフローサイトメーター(AQUIOS 全自動クリニカルフローサイトメーター)が必要です。
- 2) フローサイトメーターのレーザー光軸の調整不良や蛍光感度とコンペンセーションの調整不良、不適切なゲート設定などにより、誤った結果が得られる場合があります。
- 3) 本品を凍結したり、長時間光にさらしたりしないでください。本品は使用する前に室温(18~26℃)に戻してください。
- 4) 試薬の外観に変化が見られたり、コントロール検体の測定値に大きな変化があったりした場合は、試薬の劣化が考えられるので使用しないでください。試薬の正常な外観は、ピンク色がかった透明な液体です。

用法・用量(操作方法)

1. 試薬の調製方法

本品はそのまま使用します。

2. 必要な器具・器材・試料等

- 1)AQUIOS 溶血試薬キット (製品番号:B23538)
 - 2)AQUIOS IMMUNO-TROL 細胞 (製品番号:B23535)
 - 3)AQUIOS IMMUNO-TROL Low 細胞 (製品番号:B25700)
3. 測定(操作)法
- 試料の取扱、装置への項目設定、測定結果解釈については、装置の取扱説明書等を参照してください。
- 検体の測定
- フローサイトメーターであるAQUIOS 全自動クリニカルフローサイトメーター及びこれと同等の性能を有する測定装置を使用してください。
- 1)検体 43 μ L をマイクロプレートに分注します。
 - 2)抗体試薬 10～15 μ L を加え、15 分 20～25℃で反応させます。
 - 3)ライジング液 A 320～340 μ L、ライジング液 B 100～130 μ L を加え、試料中の赤血球を溶血させます。
 - 4)波長 488 nm のレーザー光を使用し、各抗体に結合している蛍光色素を励起させ、それぞれの波長の光量をシグナル検出器で測定します。

測定結果の判定法

測定装置の取扱説明書等をあわせて参照してください。

1. 判定条件の確認
- 測定条件が正しいかを確認するには、AQUIOS IMMUNO-TROL 細胞、AQUIOS IMMUNO-TROL Low 細胞をコントロール検体として、検体と同様に測定します。CD3 の陽性率(%)と CD56+CD16 の陽性率(%)と CD19 の陽性率(%)の計が 100%になります^{12,13}。
2. 判定上の注意
- 1)CD3 は最も特異性の高い T 細胞マーカーですが、CD3 陽性の T 細胞は機能的に成熟した T 細胞であるため、胸腺細胞など未熟な T 細胞の検出には CD2、CD5 など他の T 細胞マーカーを併用してください。
- 2)臓器移植等の患者で、治療目的で CD3 抗体の投与を受けている場合は、CD3 陽性率(T 細胞)の測定に影響することがあるので、CD2、CD5 など他の T 細胞マーカーを併用してください。
- 3)CD19 はすべての B 細胞に陽性となります。T 細胞は CD19 陰性です。
- 4)CD56 陽性の細胞集団には、すべての NK 細胞(CD3 陰性)及び少数の T 細胞(CD3 陽性)が含まれます。CD56 陽性 T 細胞も NK 細胞と同様の機能を持っていることが知られています。
- 5)顆粒球及び赤血球は、CD3、CD19、CD56 のいずれも陰性です。
- 6)白血球はすべて CD45 陽性ですが、その蛍光強度はリンパ球>単球>顆粒球(好中球)の順で弱くなります。赤血球及び血小板は CD45 陰性です。
- 7)病態と特定の白血球ポピュレーションの変動とは必ずしも一致しないため、測定結果は臨床及び他の診断データと共に使用してください。
- 8)測定結果の解釈を行う場合には、測定条件及び供血者の年齢、性別、喫煙習慣等の影響も考慮してください。

性能

1. 感度試験／正確性試験
- 製造販売認証申請書の使用方法に従って、異なる2種類の既知濃度のコントロールを各 3 回測定したとき、コントロールの仕様書に示されている陽性率の範囲を示します。
2. 同時再現性試験
- 製造販売認証申請書の使用方法に従って、2 種類の既知濃度のコントロールを各 5 回測定したとき、%CV 値は 10%以下となります。
3. 相関性試験
- 健康者及び血液学的に異常を認めない末梢血を検体としたとき、本品と既承認試薬との相関性は以下のとおり良好でした。
- (検体数 n=136)
- CD45 : 回帰直線 $y=1.02x-40.1$ 相関係数 $r=0.997$
- CD56+16: 回帰直線 $y=1.05x-15.2$ 相関係数 $r=0.993$
- CD19 : 回帰直線 $y=1.05x-8.96$ 相関係数 $r=0.996$
- CD3 : 回帰直線 $y=0.98x-1.57$ 相関係数 $r=0.993$

使用上又は取扱い上の注意

1. 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います。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着したりした場合には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)検体及び検体に触れた器具類は感染の危険性があるものとして取扱い、適当な表示、処理をした上で廃棄してください。
- 3)感染を避けるために口でのビベッティングを行わないでください。
- 4)皮膚や粘膜に触れないように注意してください。
- 5)皮膚に接触した場合は、直ちに大量の水で洗い流してください。
- 6)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。
- 7)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してください。

2. 使用上の注意
- 1)本品は凍結しないでください。凍結した試薬は使用できません。
- 2)試薬を注ぎ足して使用しないでください。
- 3)有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- 4)本品が微生物に汚染されないように注意してください。
- 5)セプタム付きキャップに交換してから測定装置に搭載してください。
- 6)セプタム付きキャップに交換した後は、キャップを取り外さないでください。
3. 廃棄上の注意
- 1)試薬及び器具等を廃棄する場合には、医療廃棄物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)試薬類や検体が飛散した場合には、飛散した場所を洗浄液で拭き取った後、さらに 0.1%次亜塩素酸ナトリウム溶液などの適切な消毒剤で拭き取ってください。

貯蔵方法、有効期間

貯蔵方法 :2～8℃に遮光保存

有効期間 :12 箇月 使用期限は、外装に記載してあります。

包装単位

製品番号	製 品 名	包 装
B23534	AQUIOS Tetra-2 T 細胞・B 細胞・NK 細胞 パネル	50 テスト

主要文献

- 1.Coffman RL and Weissman IL. B220: A B cell specific member of the T-200 glycoprotein family. Nature, 1981, 289:681-693.
- 2.Dalchau R and Fabre JW. Identification with a monoclonal antibody of predominantly B lymphocyte specific determinant of the human leucocyte common antigen. J Exp Med, 1980, 153:753-757.
- 3.Omary MB, Trowbridge IS and Battifora HA. Human homologue of murine T-200 glycoprotein. J Exp Med, 1980, 152:842-852.
- 4.Dalchau R, Kirkley J and Fabre JW. Monoclonal antibody to a human leukocyte-specific membrane glycoprotein probably homologous to the leukocyte common (L-C) antigen of rat. Eur J Immunol, 1981, 10:737-744.
- 5.Reinherz EL and Schlossman SF. The differentiation and function of human T lymphocytes. Cell, 1980, 19:821-827.
- 6.Reinherz EL, Meuer S, Fitzgerald KA, Hussey RE, Levine H and Schlossman SF. Antigen recognition by human T lymphocytes is linked to surface expression of the T3 molecular complex. Cell, 1982, 30:735-743.
- 7.Meuer SC, Acuto O, Hussey RE, Hodgdon JC, Fitzgerald KA, Schlossman SF and Reinherz EL. Evidence for the T3-associated 90K heterodimer as the T-cell antigen receptor. Nature, 1983, 303:808-810.
- 8.McMichael AJ, ed. Leukocyte Typing III. Oxford: Oxford University Press, 1987, pp. 38, 40, 42, 43, 116, 167, 170-172, 176, 199, 202, 206, 302-308, 315, 475, 796-801.
- 9.Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, Ritz J, Shaw S, Silverstein R, Springer R, Tedder TF and Todd RF, eds. Leukocyte Typing V. Oxford, UK: Oxford University Press, 1995, Vol. 1. pp. 262, 263, 268, 270, 507-511; Vol. 2. pp. 1398-1400.
- 10.Barclay AN, Birkeland ML, Brown MH, Beyers AD, Davis SJ, Samoja C, Williams AF eds. The Leukocyte Antigen Facts Book. London: Academic Press, 1993, pp. 106-109.
- 11.Tedder TF and Isaacs CM. Isolation of a cDNA encoding the CD19 antigen of human and mouse B lymphocytes: a new member of the immunoglobulin superfamily. J Immunol, 1989, 143:712-717.
- 12.CDC: 1997 Revised Guidelines for Performing CD4+ T-Cell Determinations in Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus (HIV). MMWR 1997; 46 (RR-2); 1-29.
- 13.H42-A2 CLSI: Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry: Approved Guideline – 2nd Edition 2007.

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