

蛍光ビーズを用いたHLA抗体検査試薬の解析結果

WAKFlow HLA抗体クラス (MR)

平成19年 9月 9日 QCワークショップ集会

WAKFlow HLA抗体クラス (MR) について

目的：日本人に多く見られるHLA抗原およびハプロタイプを有するパネル細胞(EBVトランスフォーム細胞)を用いて、血小板輸血不応おけるHLA抗体検査および許容抗原の確認が簡便に出来る試薬として開発を行った。

パネル細胞の選択

【対象抗原】 日本人のおける遺伝子頻度が1%以上のHLA-Aまたは-B抗原

対象抗原数：HLA-A (8種類)、HLA-B(19種類) (現状、26種類のセルラインを使用)

【選択条件】

- ・ HLA-Bローカスの抗原の組合せが、交差抗原であるパネル細胞であること
HLA抗体検出感度を高める 許容抗原の確認を交差抗原群で可能にするため
(例：B54, B55 B60, B61 etc.)
- ・ 日本人に多く見られるHLAハプロタイプをホモ接合で保有するパネル細胞であること
(例：A24-B52-Cw12 A33-B44-Cw14、A24-B7-Cw7等)

WAKFlow HLA抗体クラス (MR)使用パネルセル

	A-1	A-2	B-1	B-2	Cw-1	Cw-2
1	A2	A11.2	B54	B55	Cw1	-
2	A11.1	A24	B54	B59	Cw1	-
3	A24	-	B54	-	Cw1	-
4	A24	A31	B7	B56	Cw4	-
5	A24	-	B7	-	Cw7	Cw1
6	A11.1	-	B54	B67	Cw1	Cw7
7	A2	A31	B7	B13	Cw10	Cw7
8	A24	-	B60	B61	Cw8	Cw10
9	A26	-	B61	-	Cw10	-
10	A2	A31	B48	B61	Cw10	Cw8
11	A26	A26	B51	B52	Cw10	Cw12
12	A24	-	B52	-	Cw1	-
13	A31	-	B51	-	Cw14	-

	A-1	A-2	B-1	B-2	Cw-1	Cw-2
14	A24	A26	B35	B46	Cw9	Cw10
15	A24	-	B62	B71	Cw7	Cw9
16	A11.1	-	B62	-	Cw4	-
17	A24	-	B62	B75	Cw9	-
18	A2	A33	B46	B58	Cw1	Cw10
19	A24	A31	B39	B67	Cw7	-
20	A2	-	B39	-	Cw1	-
21	A1	A33	B37	B44	Cw6	Cw14
22	A33	-	B44	-	Cw14	-
23	A3	A33	B44	B44	Cw5	-
24	A3	-	B44	-	Cw5	-
25	A26	-	B61	B44	Cw10	Cw14

B7&22

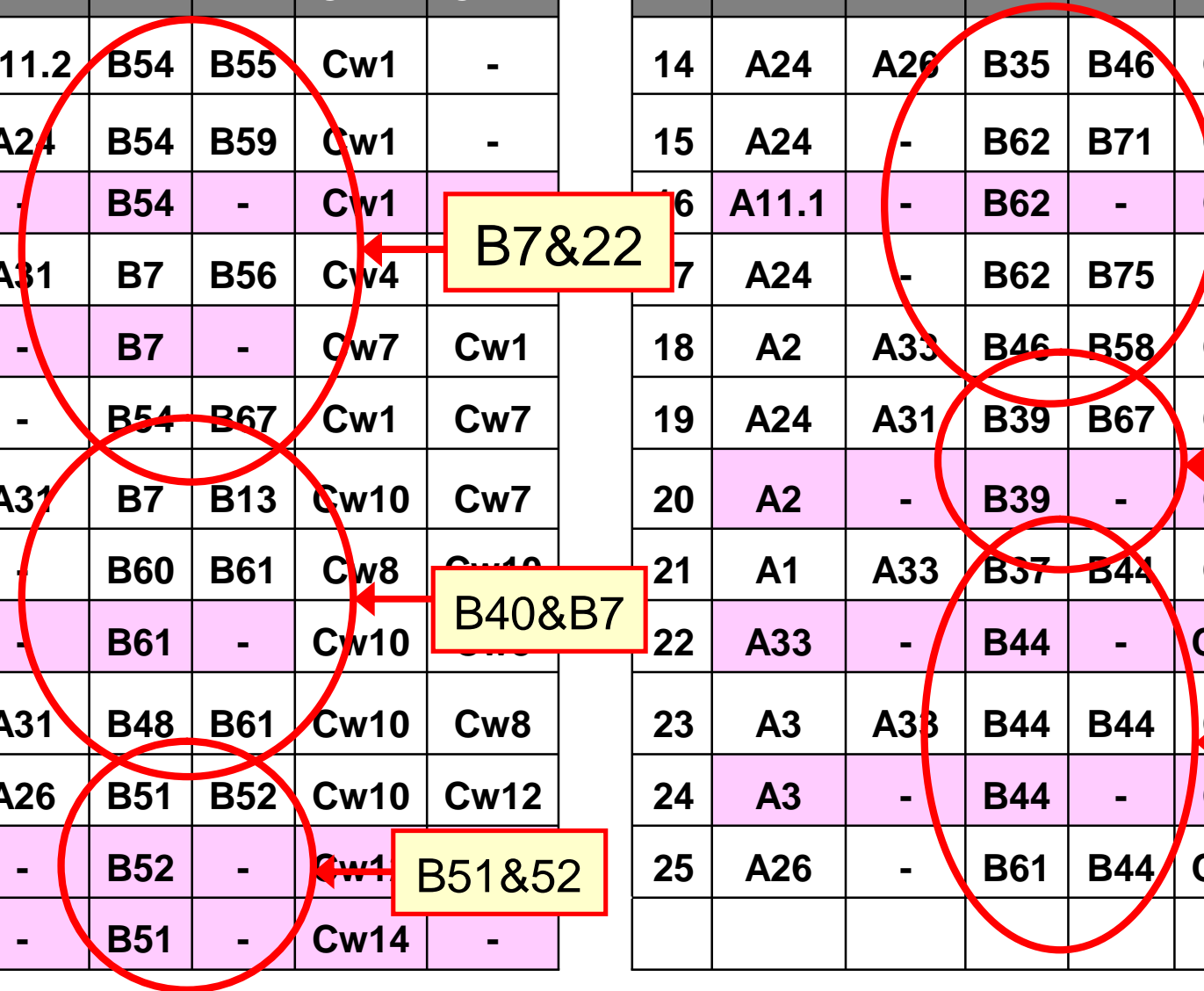
B62&35

B39&67

B40&B7

B44&37

B51&52



測定データの解析

Index値 (NBG Ratio) での判定

Index値の計算方法

$$\text{Index値} = \frac{\text{検体と \# ビーズとのシグナル} \div \text{検体と Blank ビーズとのシグナル}}{\text{NS*と \# ビーズとのシグナル} \div \text{NS*と Blank ビーズとのシグナル}}$$

NS: negative serum

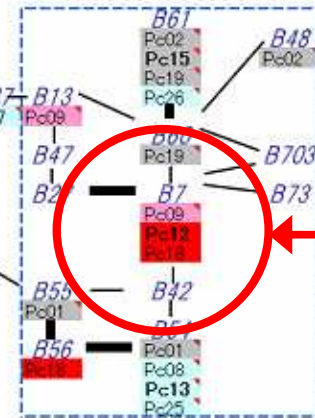
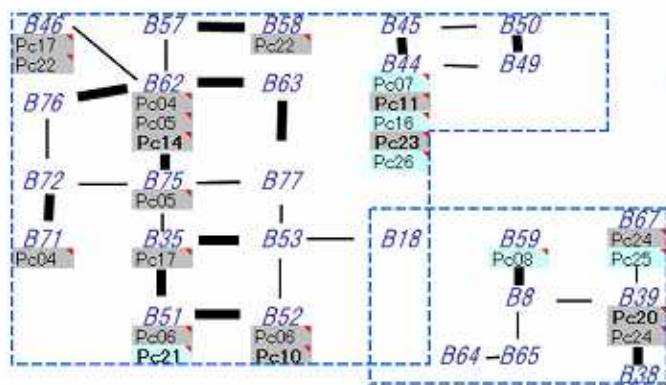
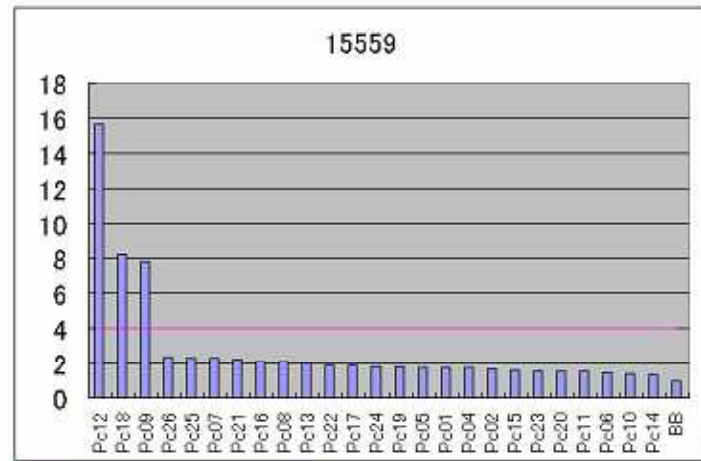
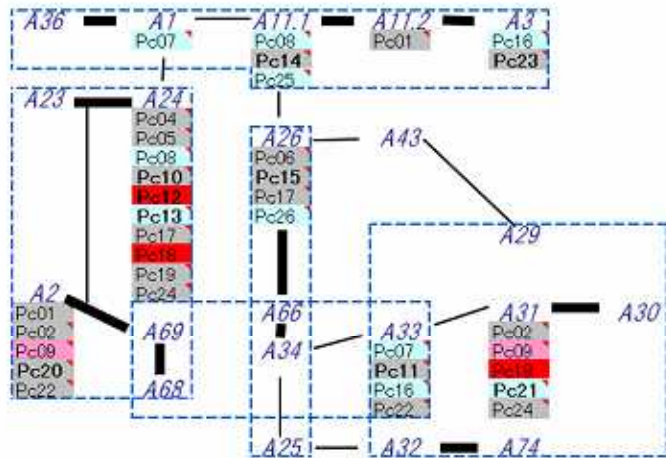
Cutoff 値 : 検体毎に交差反応性等を考慮し決定する必要がある。

(弱陽性の例では、indexが 2 以上で陽性と判定可能であった)

WAKFlow HLAクラス 抗体解析画面

	Pc12	Pc18	Pc09	Pc26	Pc25	Pc07	Pc21	Pc16	Pc08	Pc13	Pc22	Pc17	Pc24	Pc19	Pc05	Pc01	Pc04	Pc02	Pc15	Pc23	Pc20	Pc11	Pc06	Pc10	Pc14	BB	PB
蛍光値	1874	1232	1295	252	363	244	324	283	230	258	268	396	318	229	391	611	315	178	308	233	188	356	210	163	179	263	5990
Index	15.7	8.2	7.8	2.4	2.3	2.3	2.2	2.1	2.1	2.0	1.9	1.9	1.8	1.8	1.7	1.7	1.7	1.7	1.6	1.6	1.5	1.5	1.5	1.4	1.3	1.0	

許容抗原1 A1, A11.1, A11.2, A3, A26, A33, B61, B48, B46, B58, B44, B37, B62, B60, B75, B67, B71, B35, B59, B55, B39, B54, B51, B52,
 許容抗原2 A24, A2, A31,



Control panel for the HLA analysis interface:

- カutoff変更 (Cutoff Change)
- HLA型入力 (HLA Type Input)
- コメント (Comment)
- パネル別ポジネガ反転 (Panel-wise Pos/Neg Inversion)
- 陰性 < 2 (Negative < 2)
- 陰性 > 2 (Negative > 2)
- Index > 4 cutoff
- 印刷 (Print)
- 確定 (Confirm)

The B7 node is highlighted in a yellow box, with an arrow pointing to the 'Index > 4 cutoff' indicator.

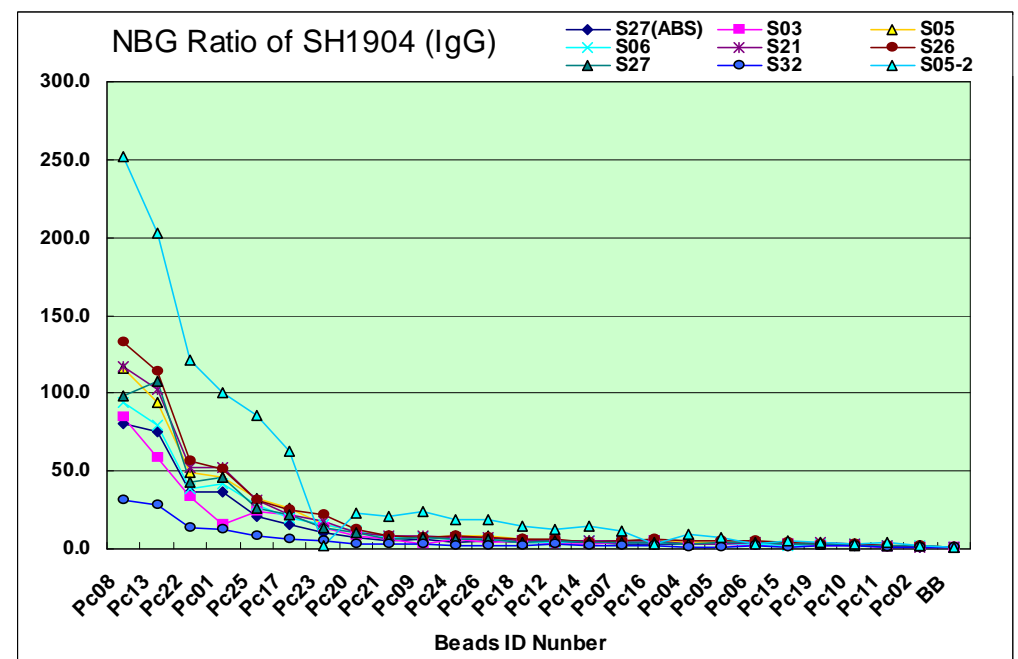
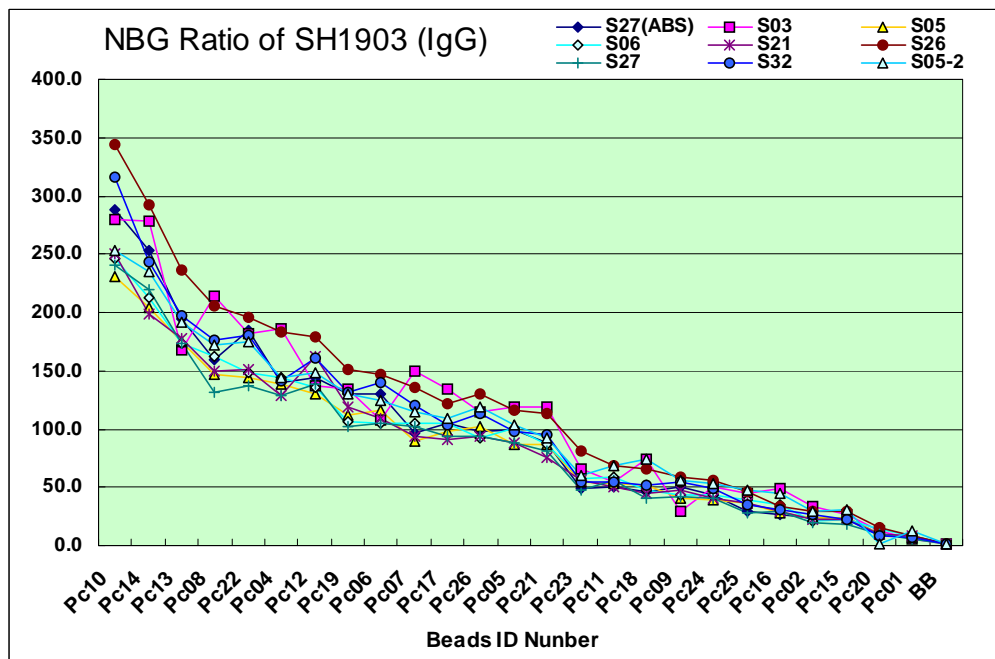
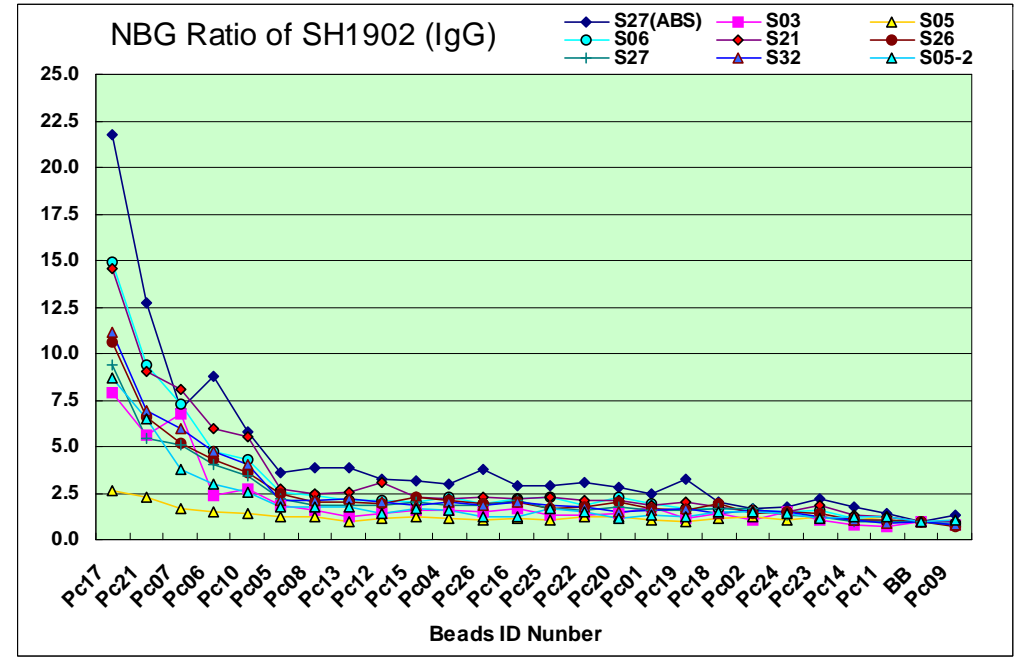
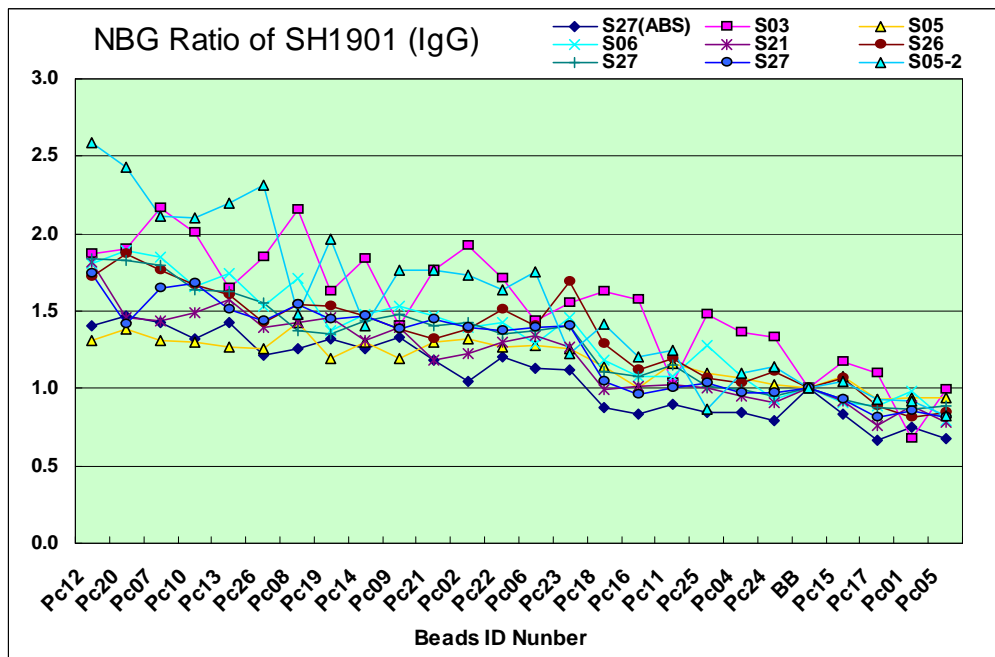
参加施設概要

WAKFlow HLAクラス 抗体 (MR)

参加施設数: 7 施設

Lab No.	IgG	二次抗体		IgM	二次抗体
		添付品	その他 (その他)		
19S003		-		-	
19S005			JA		SE, BI, CE
19S006			-		JA
19S021			-		-
19S026			-		-
19S027			- (吸収操作)		-
19S032			-		-

: データ提出 JA: Jackson SE: Serotec BI: Biosource CE: CellLab



WAK Flow解析画面 (SH19002、IgG)

	Pc17	Pc21	Pc07	Pc06	Pc10	Pc05	Pc08	Pc04	Pc25	Pc20	Pc16	Pc12	Pc13	Pc15	Pc01	Pc26	Pc22	Pc19	Pc18	Pc02	Pc23	Pc24	Pc14	BB	Pc11	
SH1902	蛍光値	1973	863	545	438	298	348	170	251	225	157	232	141	162	268	249	159	176	139	177	142	141	189	98	126	122
	Index	149	9.4	7.3	4.8	4.3	2.5	2.4	2.3	2.2	2.2	2.1	2.1	2.0	2.0	1.9	1.8	1.7	1.6	1.6	1.6	1.6	1.5	1.1	1.0	1.0

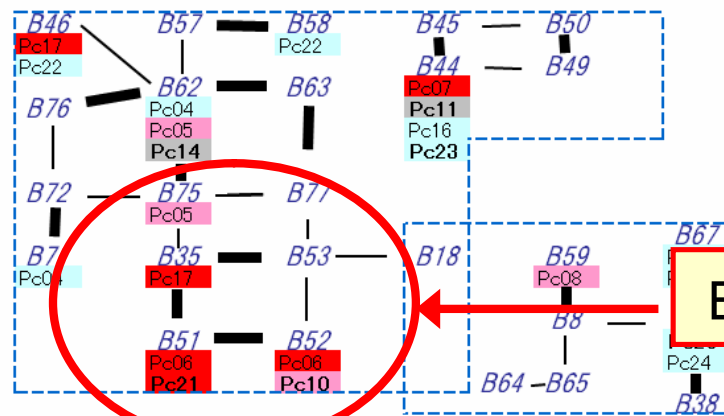
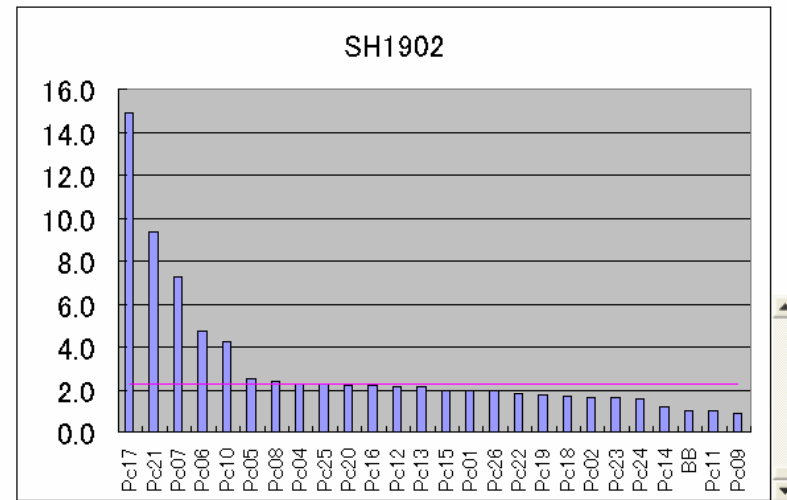
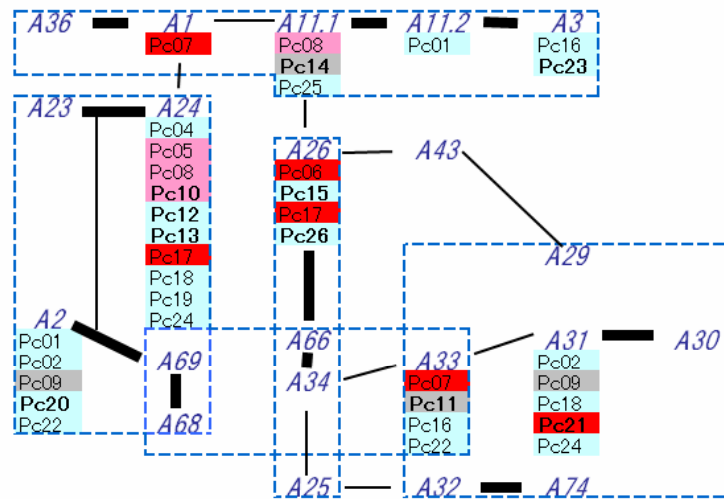
検体抗原

許容抗原1

A11.2, A3, A2, B61, B48, B58, B13, B60, B7, B67, B71, B55, B39, B56

許容抗原2

A11.1, A24, A26, A31, A33, B46, B44, B62, B54



B51+B52+B35+B75

カットオフ変更

HLA型
入力

コメント

パネル別
ポジネガ反転

結果検証

結果印刷

Index

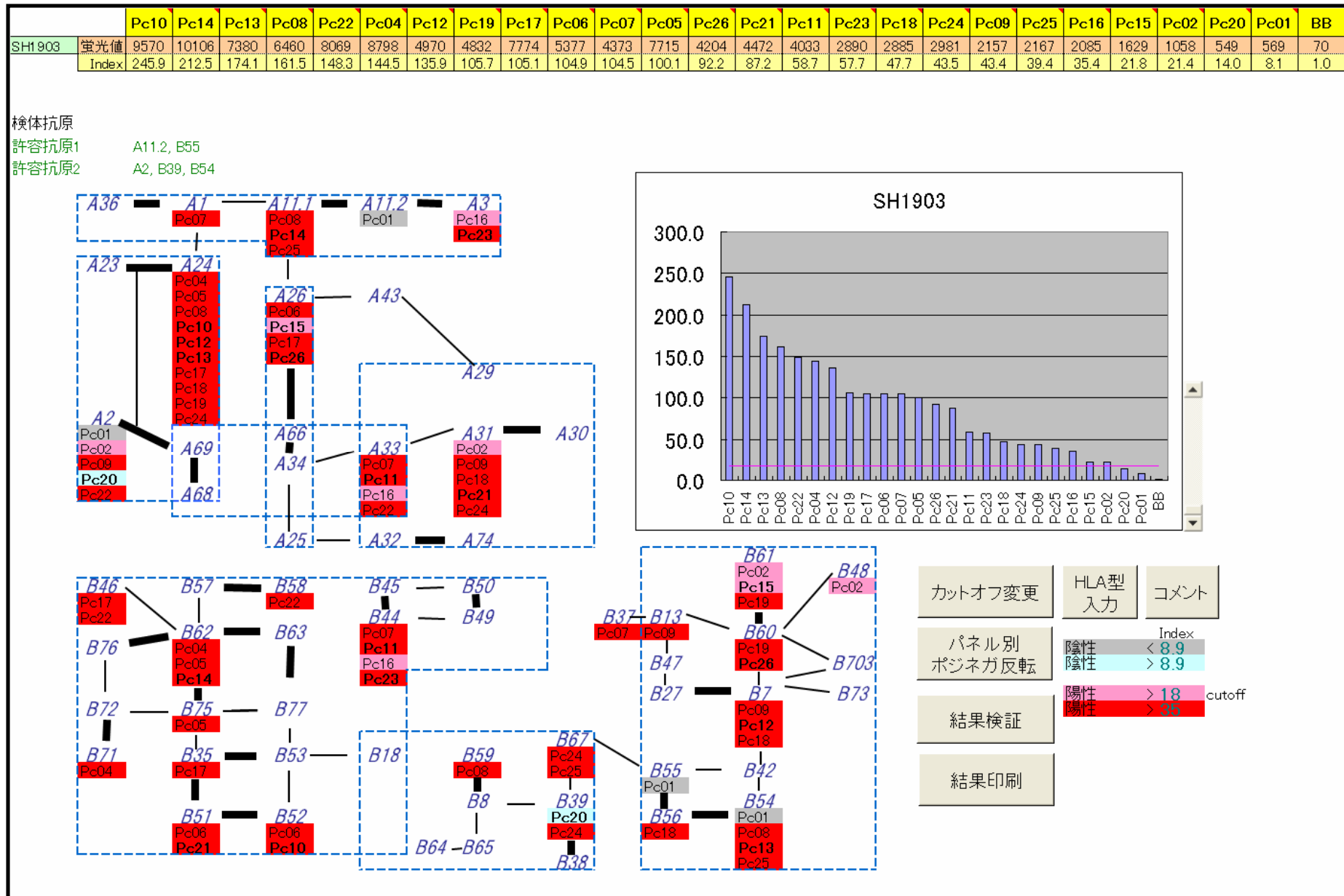
陰性 < 1.1

陰性 > 1.1

陽性 > 2.3

陽性 > 4.0 cutoff

WAK Flow解析画面 (SH19003、IgG)

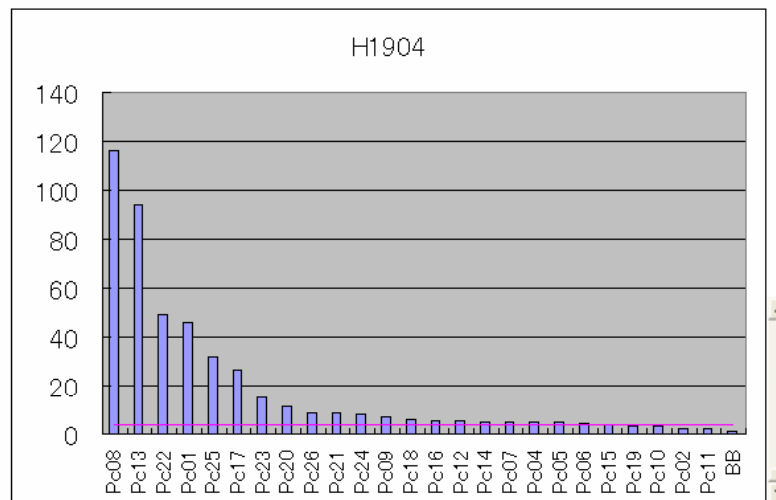
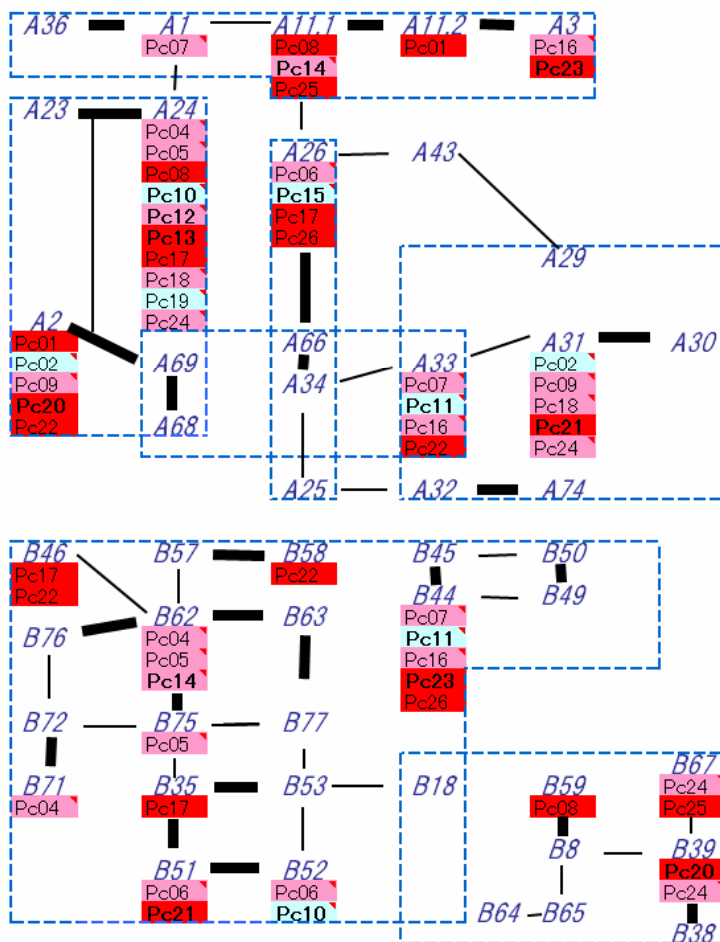


WAK Flow解析画面 (SH19004、IgG)

	Pc08	Pc13	Pc22	Pc01	Pc25	Pc17	Pc23	Pc20	Pc26	Pc21	Pc24	Pc09	Pc18	Pc16	Pc12	Pc14	Pc07	Pc04	Pc05	Pc06	Pc15	Pc19	Pc10	Pc02	Pc11	BB
H1904	蛍光値 3305	2634	1761	2378	1228	1327	509	334	235	289	366	249	252	232	126	158	155	201	238	137	179	96	80	79	97	50
	Index 116.0	94.1	49.1	46.2	32.0	26.2	15.2	11.5	8.8	8.8	8.0	7.2	6.2	5.4	5.2	4.8	4.8	4.6	4.6	4.3	3.7	3.2	3.0	2.4	2.2	1.0

許容抗原1
許容抗原2

B48, B60,
A24, A26, A2, A31, A33, B61, B44, B52,



陽性パネル反応性矛盾
Pc26

コントロール変更

HLA型 入力

コメント

パネル別 ポジネガ反転

結果検証

印刷 確定

Index

陰性 < 2

陽性 > 2

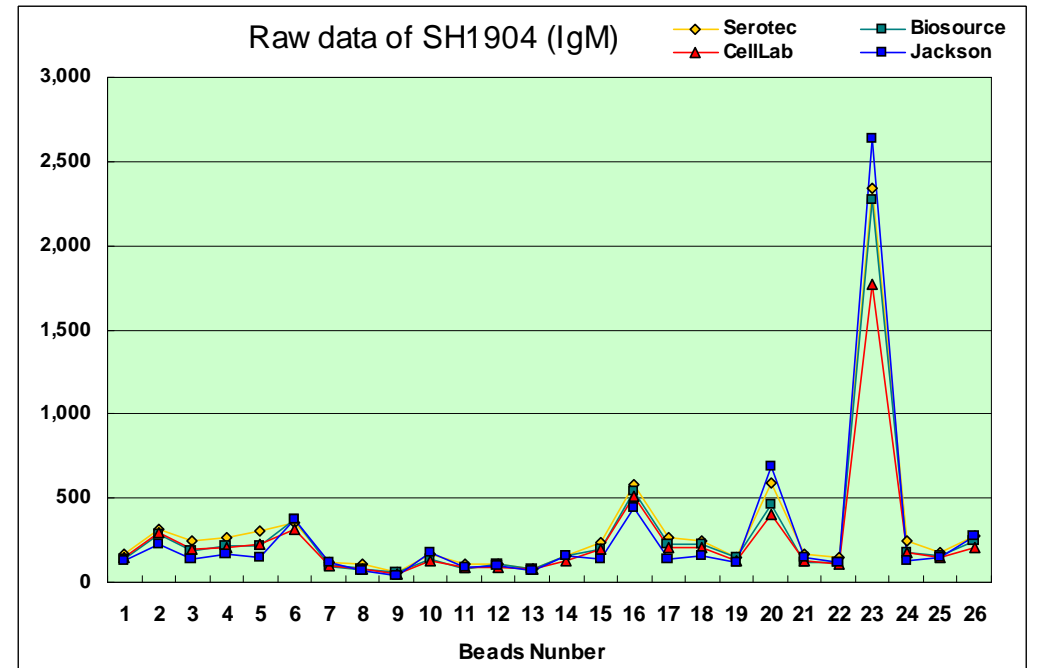
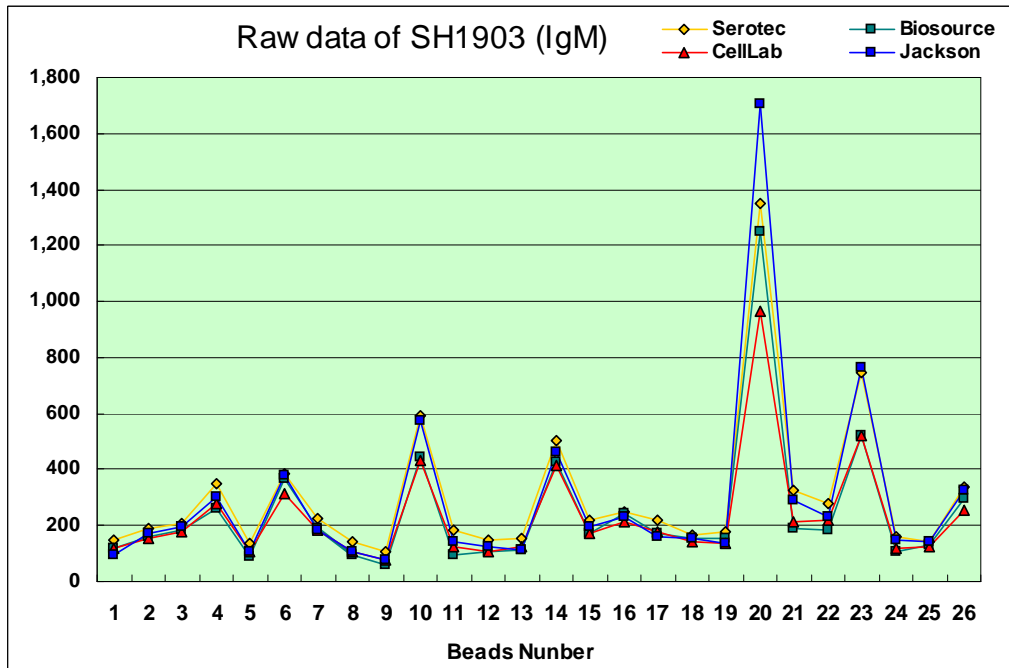
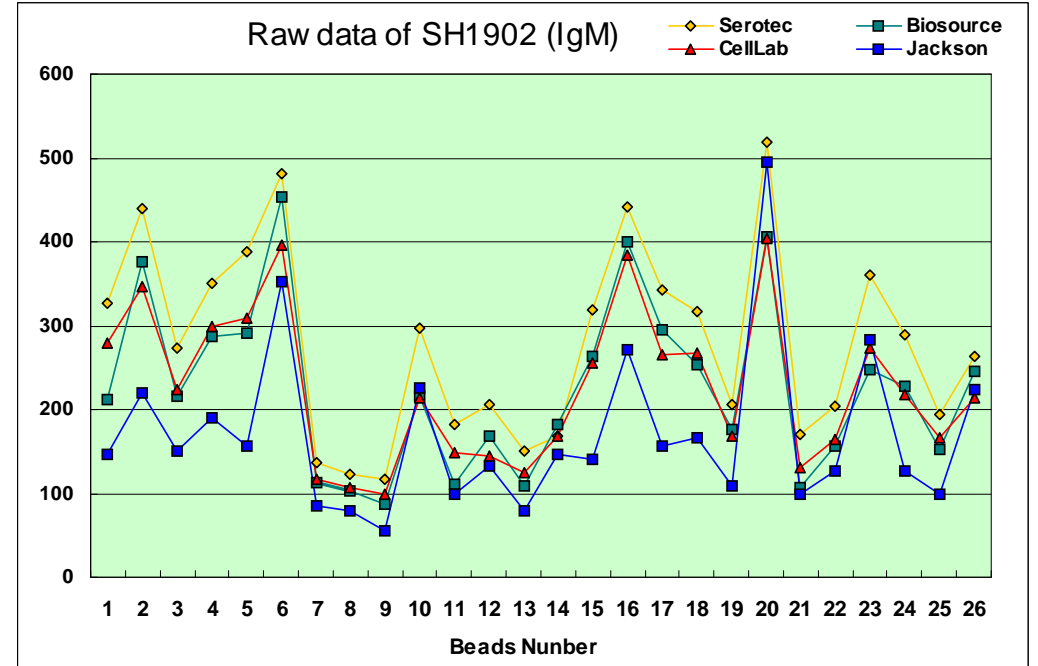
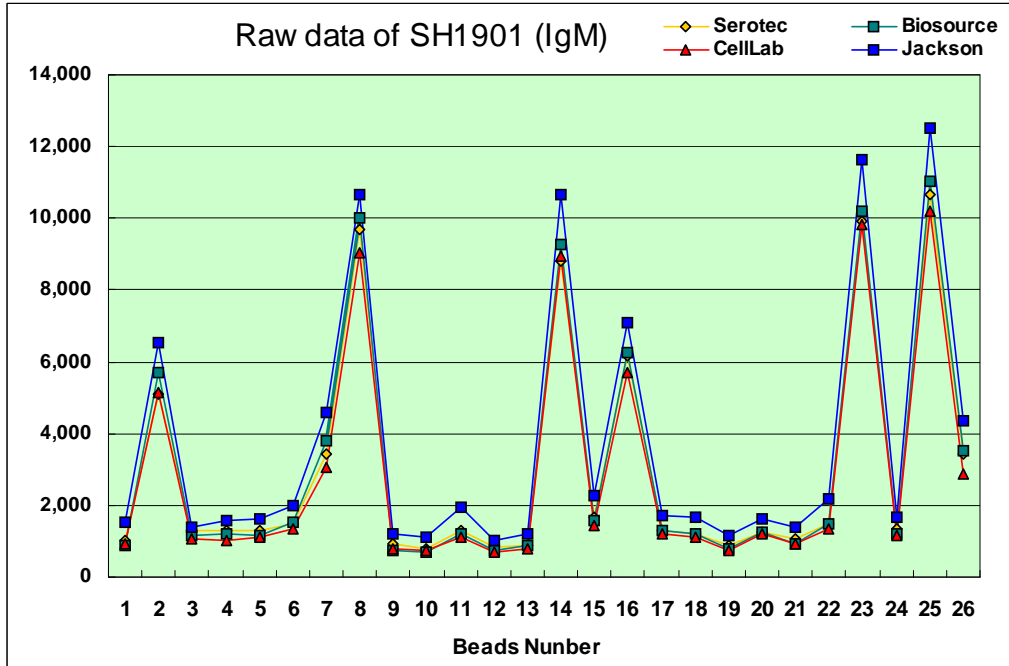
陽性 > 4 cutoff

陽性 > 6

WAK Flow 許容抗原判定結果

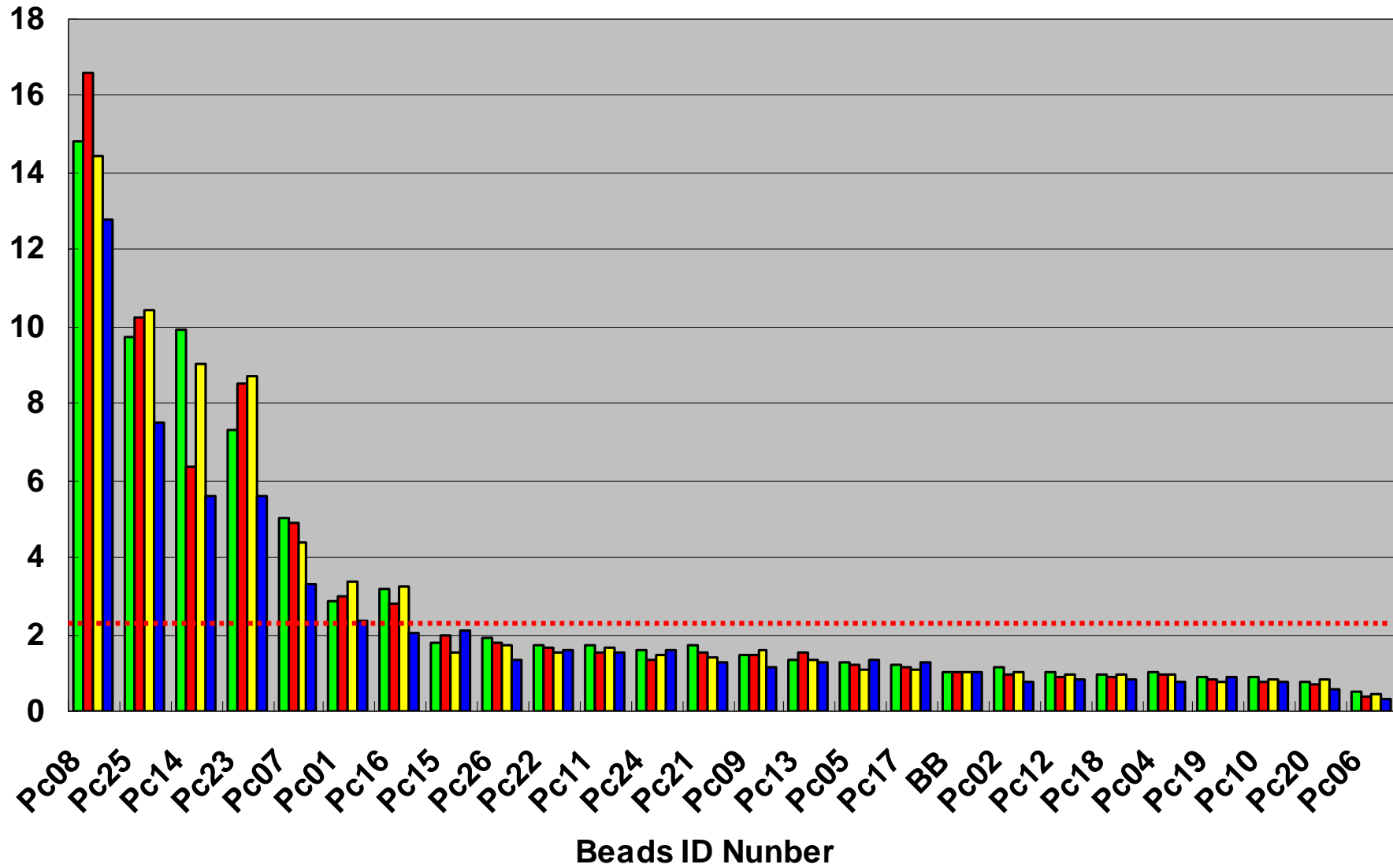
検体名	許容抗原 候補1	許容抗原 候補2
NC	陰性	陰性
SH1901	陰性	陰性
SH1902	A11.2, A3, A2, B61, B48, B58, B13, B60, B7, B67, B71, B55, B39, B56	A11.1, A24, A26, A31, A33, B46, B44, B62, B54
SH1903	A11.2, B55	A2, B39, B54
SH1904	B48	

許容抗原 候補1	対象となるHLA抗原を保有するパネル細胞が、 全て陰性反応 を示した場合
許容抗原 候補2	対象となるHLA抗原を保有するパネル細胞の 一部で陰性反応 を示した場合



NBG Ratio of SH1901 (IgM)

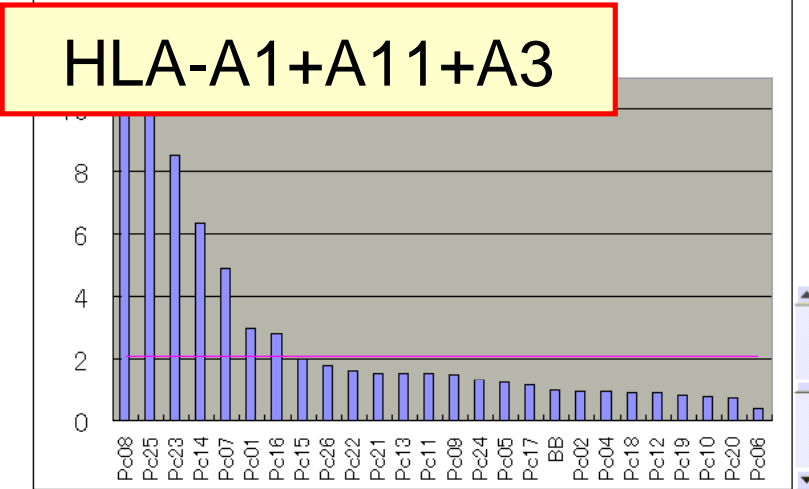
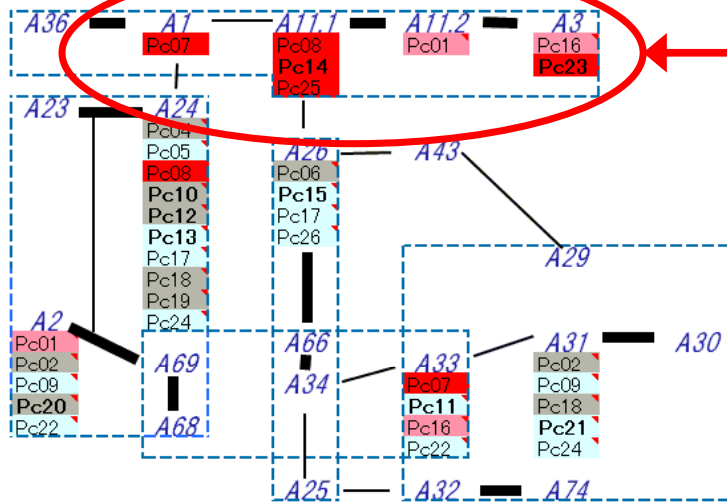
Serotec Biosource
CellLab Jackson



WAK Flow解析画面 (SH1901、IgM)

	Pc08	Pc25	Pc23	Pc14	Pc07	Pc01	Pc16	Pc15	Pc26	Pc22	Pc21	Pc13	Pc11	Pc09	Pc24	Pc05	Pc17	BB	Pc02	Pc04	Pc18	Pc12	Pc19	Pc10	Pc20	Pc06	
H1901	蛍光値	10024	11026	10196	9293	3815	5687	6245	1599	3538	1484	938	864	1184	758	1189	1144	1293	902	1166	1218	1186	755	777	714	1253	1541
	Index	16.6	10.2	8.5	6.3	4.9	3.0	2.8	2.0	1.8	1.6	1.6	1.5	1.5	1.5	1.3	1.2	1.2	1.0	0.9	0.9	0.9	0.9	0.8	0.8	0.7	0.4

許容抗原1 A26, A31, B61, B48, B46, B58, B13, B60, B7, B75, B71, B35, B39, B51, B52, B56,
 許容抗原2 A24, A2, A29, B44, B62, B67, B54,

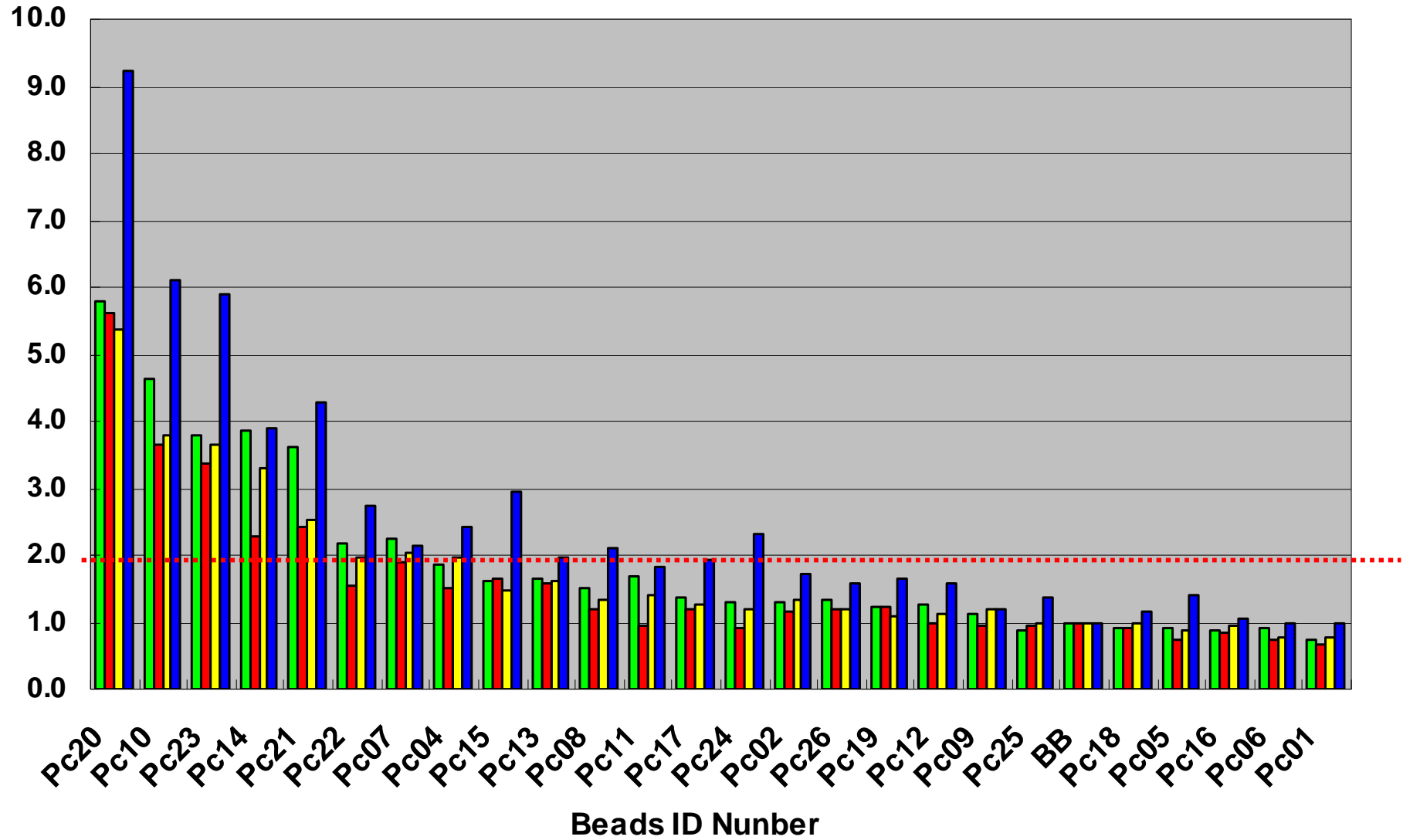


パネルの反応性に矛盾はありません。

カットオフ変更	HLA型 入力	コメント
パネル別 ポジネガ反転	陰性 < 1 陽性 > 1	Index
結果検証	陽性 > 2.1 陽性 > 4.2	cutoff
印刷	確定	

NBG Ratio of SH1903 (IgM)

Serotec Biosource
CellLab Jackson



WAK Flow解析画面 (SH1903、IgM)

	Pc20	Pc10	Pc23	Pc21	Pc14	Pc15	Pc22	Pc04	Pc24	Pc07	Pc08	Pc13	Pc17	Pc11	Pc02	Pc19	Pc12	Pc26	Pc05	Pc25	Pc09	Pc18	Pc16	BB	Pc06	Pc01	PB
SH1903M	1707	573	764	289	462	196	233	304	149	185	109	113	160	144	197	139	122	328	108	141	77	151	229	94	380	170	344
Index	9.2	6.1	5.9	4.3	3.9	2.9	2.7	2.4	2.3	2.1	2.1	2.0	1.9	1.8	1.7	1.6	1.6	1.6	1.4	1.4	1.2	1.2	1.1	1.0	1.0	1.0	

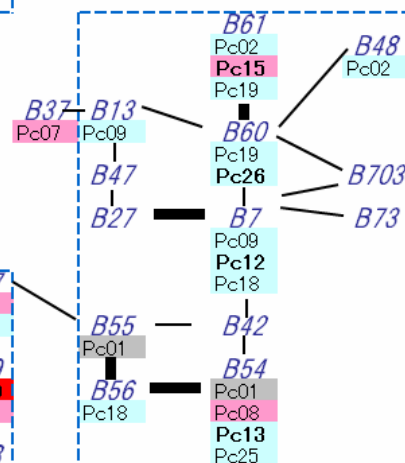
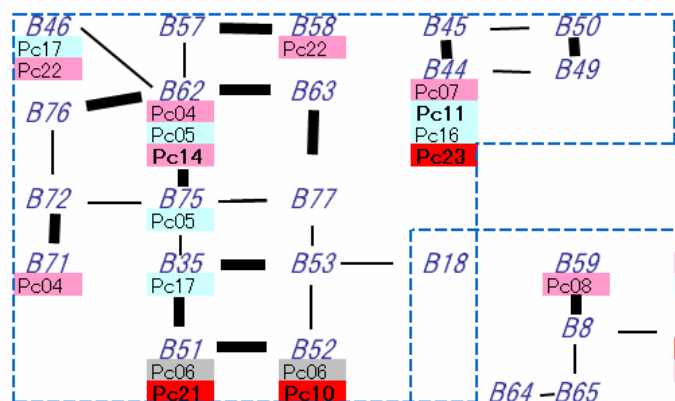
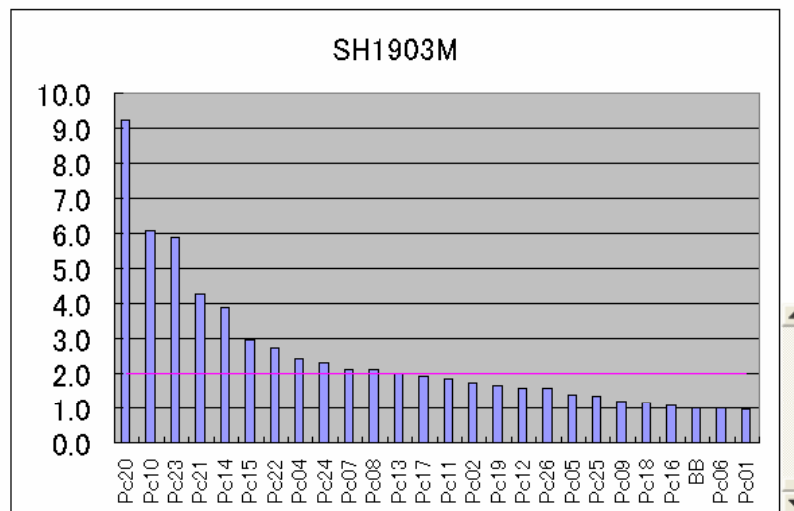
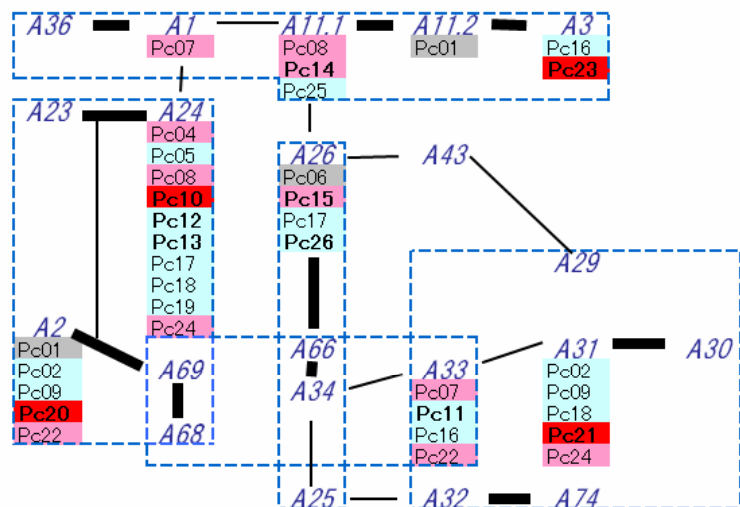
検体抗原

許容抗原1

A11.2, B48, B13, B60, B7, B75, B35, B55, B56

許容抗原2

A11.1, A3, A24, A26, A2, A31, A33, B61, B46, B44, B62, B67, B54, B51, B52



カットオフ変更

HLA型
入力

コメント

パネル別
ポジネガ反転

結果検証

結果印刷

Index

陰性 < 1

陰性 > 1

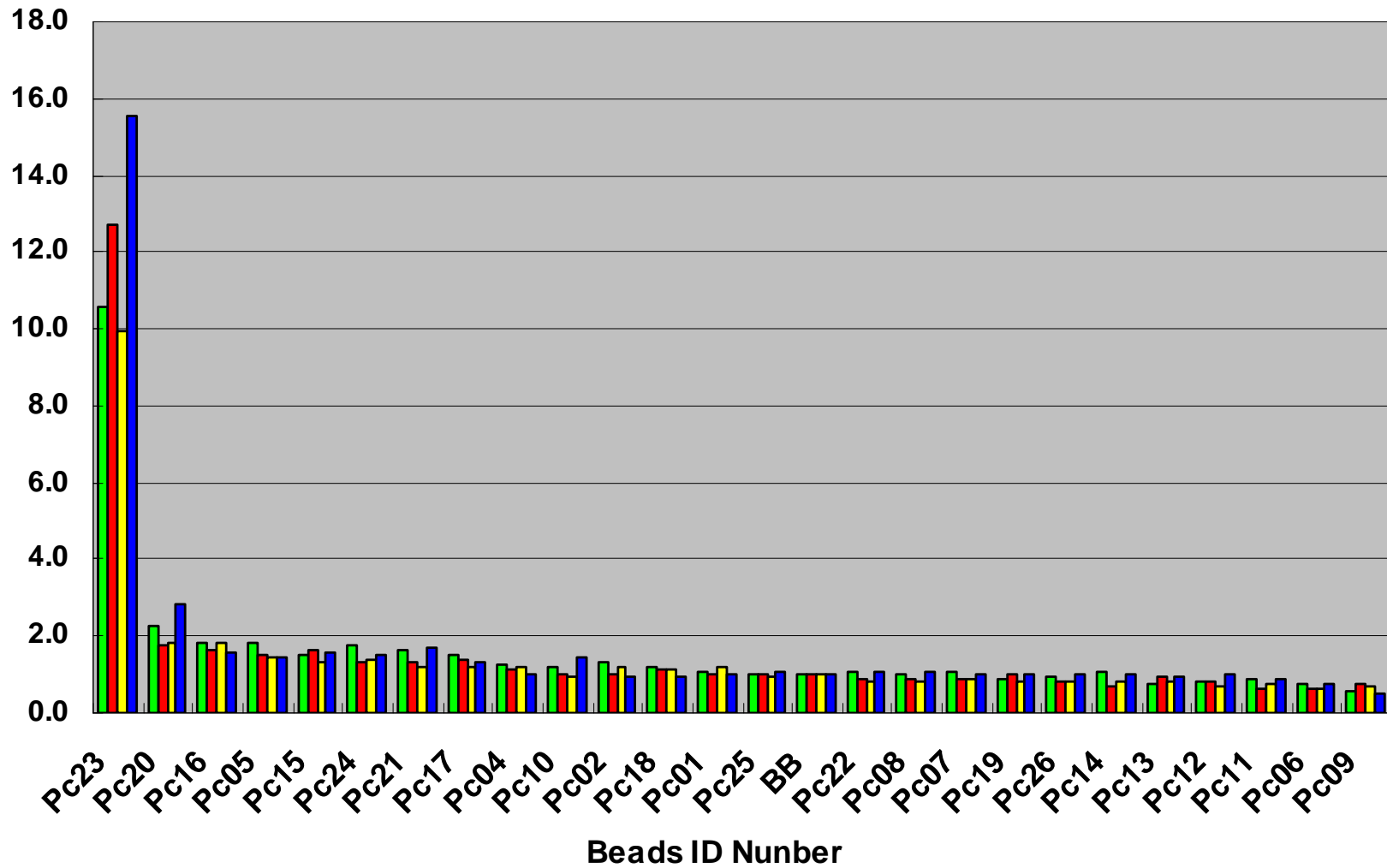
陽性 > 2

陽性 > 4

cutoff

NBG Ratio of SH1904 (IgM)

Serotec Biosource
CellLab Jackson



WAK Flow解析画面 (SH1904、IgM)

