

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 I & II (MR)

平成20年 9月 19日 QCワークショップ

WAKFlow HLA抗体クラス I & II (MR)について

パネル細胞の選択

【対象抗原】

クラス I : 日本人における遺伝子頻度が、1%以上のHLA-Aまたは-B抗原

クラス II : HLA-DRおよびDQ座の公認抗原

【選択条件】

クラス I : ・ 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

目的: ・ HLA抗体検出感度を高める、 ・ 許容抗原を交差抗原群内の抗原で可能

・ 日本人に出現頻度の高いHLAハプロタイプをホモ接合で保有するパネル細胞

(例: A24-B52-Cw12, A33-B44-Cw14, A24-B7-Cw7のホモ接合)

クラス II : ・ 日本人で出現頻度の高いHLA抗原型をホモ接合で保有するパネル細胞

・ 解像度を上げるためにDR4およびDR8抗原型のサブタイプを保有するパネル細胞

WAKFlow HLA抗体クラス I (MR)使用パネルセル

	A-1	A-2	B-1	B-2	Cw-1	Cw-2
Pc01	A2	A11.2	B54	B55	Cw1	-
Pc02	A2	A31	B48	B61	Cw8	Cw10
Pc04	A24	-	B62	B71	Cw7	Cw9
Pc05	A24	-	B62	B75	Cw9	-
Pc06	A26	-	B51	B52	Cw10	Cw12
Pc07	A1	A33	B37	B44	Cw6	Cw14
Pc08	A11.1	A24	B54	B59	Cw1	-
Pc09	A2	A31	B7	B13	Cw7	Cw10
Pc10	A24	-	B52	-	Cw12	-
Pc11	A33	-	B44	-	Cw14	-
Pc12	A24	-	B7	-	Cw7	-
Pc13	A24	-	B54	-	Cw1	-
Pc14	A11	-	B62	-	Cw4	-

	A-1	A-2	B-1	B-2	Cw-1	Cw-2
Pc15	A26	-	B61	-	Cw10	Cw8
Pc16	A3	A33	B44	-	Cw5	Cw14
Pc17	A24	A26	B35	B46	Cw9	Cw10
Pc18	A24	A31	B7	B56	Cw4	Cw7
Pc19	A24	-	B60	B61	Cw8	Cw10
Pc20	A2	-	B39	-	Cw7	-
Pc21	A31	-	B51	-	Cw14	-
Pc22	A33	-	B46	B58	Cw1	Cw10
Pc23	A3	-	B44	-	Cw5	-
Pc24	A24	A31	B39	B67	Cw7	-
Pc25	A11.1	-	B54	B67	Cw1	Cw7
Pc26	A26	-	B61	B44	Cw10	Cw14

WAKFlow HLA抗体クラス II (MR)使用パネルセル

Pd01	DR1/-	DQ5/-	DPB1*0401/-
Pd02	DR15/-	DQ6/-	DPB1*0201/*1401
Pd03	DR16/-	DQ5/-	DPB1*0301/-
Pd04	DR3/-	DQ2/-	DPB1*0201/-
Pd05	DR4.1/-	DQ4/-	DPB1*0402/*0501
Pd06	DR4.2/-	DQ8/-	DPB1*0501/-
Pd08	DR7/-	DQ2/-	DPB1*1501/-
Pd09	DR8.1/-	DQ6/-	DPB1*0501/*0901
Pd10	DR9/-	DQ9/-	DPB1*0201/*0901
Pd11	DR11/-	DQ7/-	DPB1*0401/-
Pd12	DR12/-	DQ7/9	DPB1*0501/-
Pd13	DR13/-	DQ6/-	DPB1*0201/-
Pd14	DR14/-	DQ5/-	DPB1*0202/*2501
Pd15	DR14/-	DQ7/-	DPB1*0402/-
Pd16	DR1/7	DQ2/5	DPB1*0402/*1701

Pd17	DR1/10	DQ5/-	DPB1*0201/*0402
Pd18	DR4/10	DQ4/5	DPB1*0501/-
Pd19	DR4.1/4.2	DQ7/8	DPB1*0201/*0501
Pd20	DR8.1/9	DQ7/9	DPB1*0501/*1401
Pd21	DR8.1/15	DQ4/6	DPB1*0201/*0901
Pd22	DR8.2/15	DQ6/8	DPB1*0501/*0901
Pd23	DR8/1403	DQ7/8	DPB1*0501/-
Pd24	DR8/14	DQ7/8	DPB1*0201/*0501
Pd25	DR14/15	DQ7/6	DPB1*0501/*0901
Pd26	DR11/12	DQ7/-	DPB1*0501/*0601
Pd27	DR13/1403	DQ7/-	DPB1*0201/-
Pd28	DR4.1/16	DQ4/5	DPB1*0301/*0501
Pd29	DR15/3	DQ6/2	DPB1*0201/*1301
Pd30	DR1403/15	DQ6/7	DPB1*0501/*0901

ホモ接合パネル

HLA-DR4およびDR8抗原
サブタイプのパネル

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 I 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, B81, 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,

15559

カットオフ変更 HLA型入力 コメント

パネル別 Index
ポジネガ反転 陰性 < 2
陰性 > 2

印刷 確定

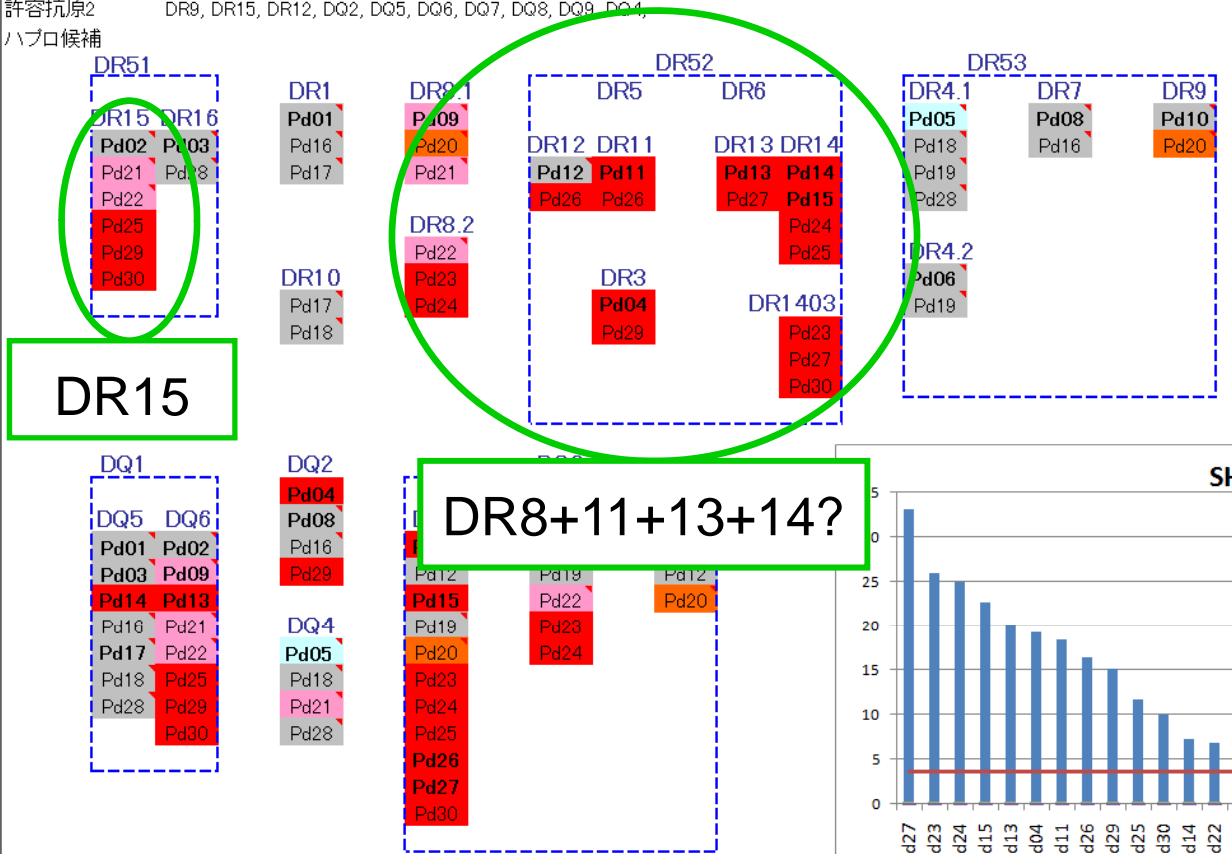
B7

WAKFlow HLAクラス II 抗体解析画面

	Pd27	Pd23	Pd24	Pd15	Pd13	Pd04	Pd11	Pd26	Pd29	Pd25	Pd30	Pd14	Pd22	Pd09	Pd21	Pd05	Pd20	Pd16	Pd12	Pd10	Pd18	Pd17	BB	Pd28	Pd08	Pd02	Pd03	Pd06	Pd19	Pd01	
SH2006	蛍光値	3696	3696	3745	3598	4524	3924	3066	2534	2905	2475	1892	2244	1359	1136	572	577	364	277	443	277	232	248	390	136	134	119	78	99	42	21
	Index	33.2	25.9	25.0	22.7	20.1	19.3	18.5	16.5	15.1	11.7	10.0	7.2	6.9	5.4	4.9	2.2	1.7	1.6	1.5	1.5	1.2	1.0	1.0	0.8	0.8	0.8	0.5	0.4	0.3	0.1

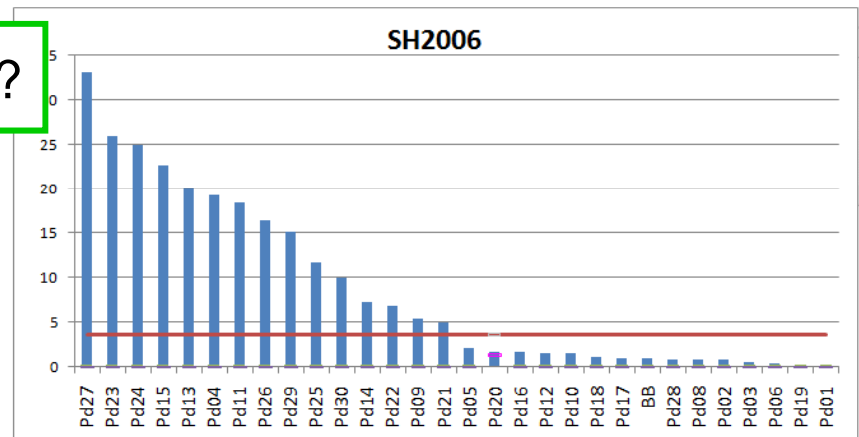
コメント

許容抗原1 DR1, DR4.1, DR7, DR16, DR4.2, DR10,
 許容抗原2 DR9, DR15, DR12, DQ2, DQ5, DQ6, DQ7, DQ8, DQ9, DQ4,
 ハプロ候補



カットオフ変更	HLA型	パネル表示
パネル別 ポジネガ反転	Index	コメント
結果検証	陰性 < 1.78	
印刷	陽性 > 1.78	
確定	陽性 > 3.56	cuttoff
	陽性 > 7.12	

パネルの反応性に矛盾はありません。



参加施設および検査内容

WAKFlow HLAクラス I & II 抗体 (MR)

参加施設数: 9 施設

Lab No.	クラス I			クラス II			備考
	二次抗体		吸収操作	二次抗体		吸収操作	
	添付品	IgM		添付品	IgM		
20S009	○	—	—	—	—	—	
20S015	○	—	—	○	—	○	
20S018	○	—	—	○	—	—	
20S020	○	—	○	○	—	○	
20S025	○	—	○	—	—	—	
20S027	○	—	○	○	—	○	
20S029	○	○	—	○	○	—	
20S030	○	—	○	○	—	○	
20S033	○	—	—	○	—	—	

添付品: 抗ヒト免疫グロブリン Fab鎖

WAKFlow HLAクラス I & II 抗体 (MR)

解析結果 図表リスト

図表	試薬	サブクラス	内容
Fig. 1~Fig. 13	Class I	IgG	Raw Data & Index グラフ
Fig. 14~Fig. 26	Class II	IgG	”
Table 1	Class I & II	IgG	Class I and Class II IgG antibodies
Fig. 27	Class I	IgM	Raw Data & Index グラフ
Fig. 28	Class II	IgM	”
Table 2	Class I & II	IgM	Class I and Class II IgM antibodies

Fig 1. Raw Data of SH2001 (Class I)

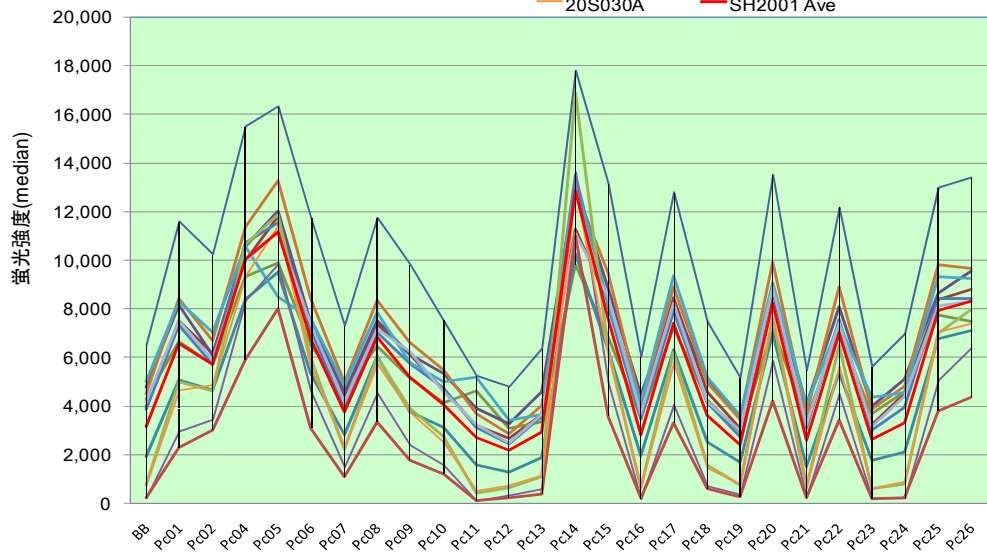


Fig 2. Index value of SH2001 (Class I)

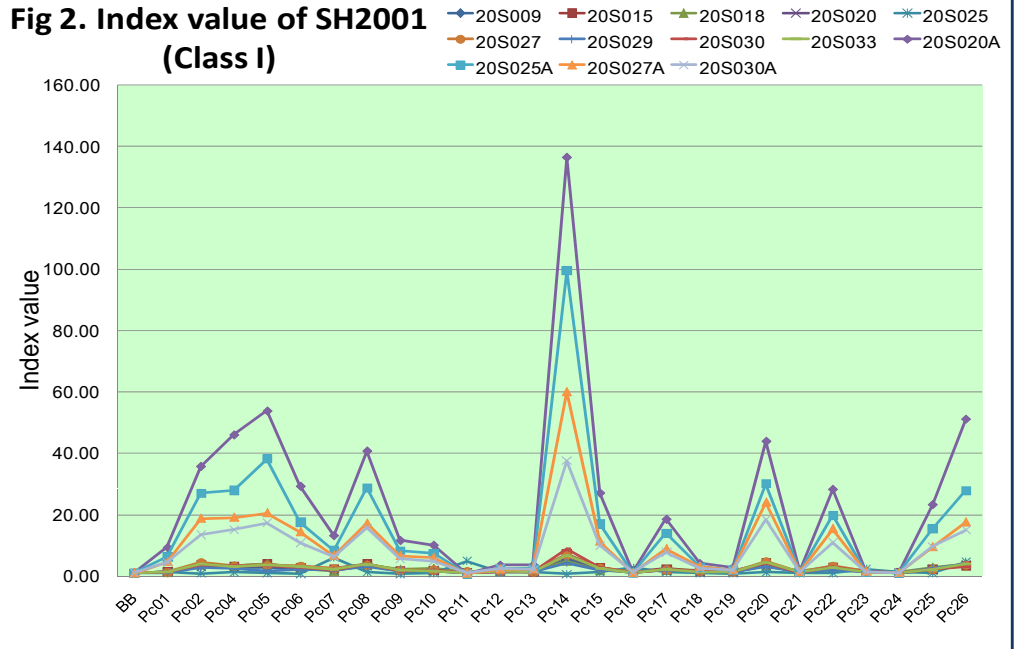


Fig. 3 Average of index value of absorbed and non-absorbed SH2001 sample (Class I)

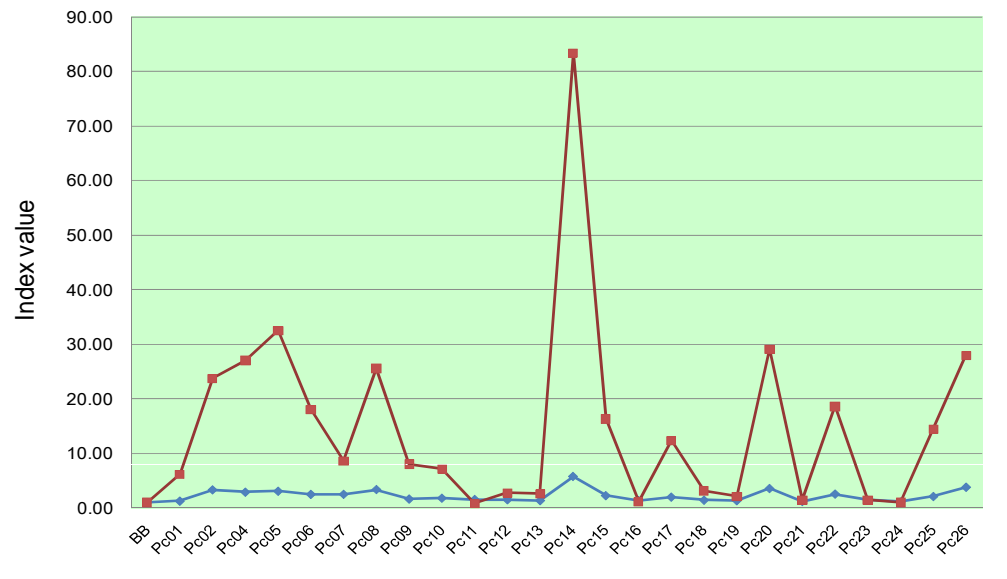


Fig. 4 Raw Data of SH2002 (Class I)

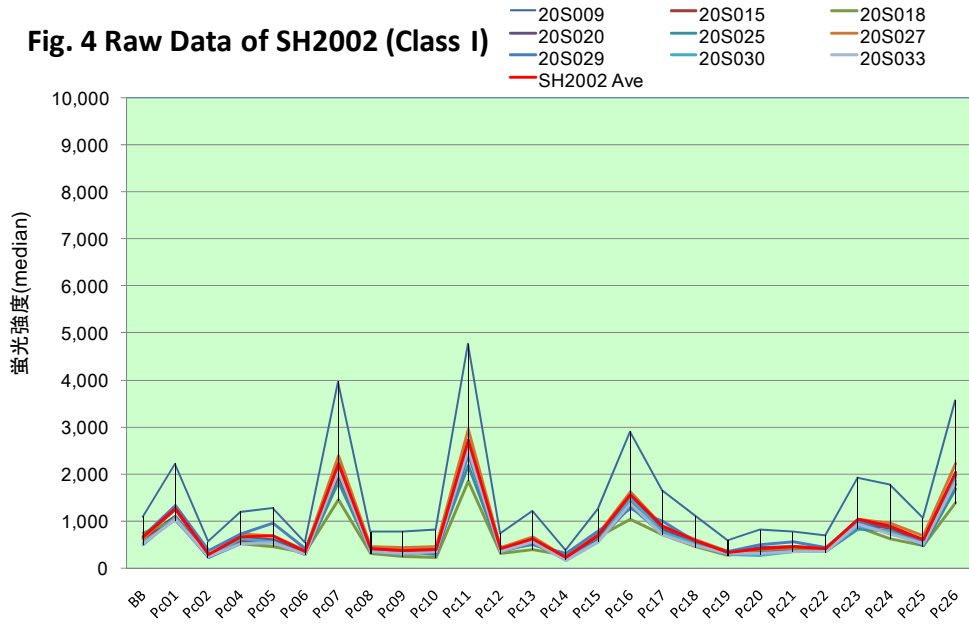


Fig. 5 Index value of SH2002 (Class I Ab)

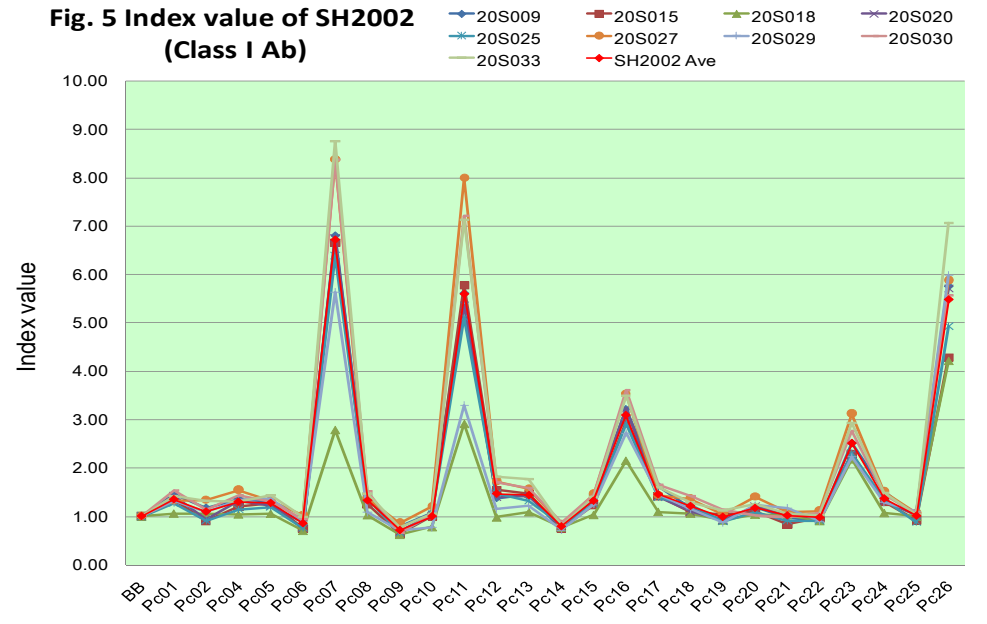


Fig. 6 Raw Data of SH2003 (Class I)

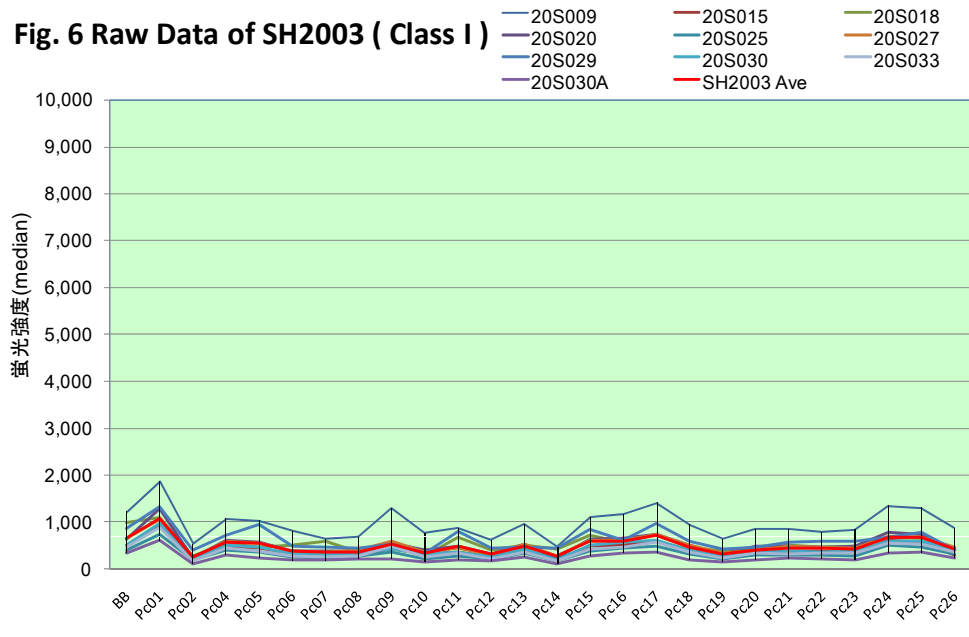


Fig. 7 Index value of SH2003 (Class I Ab)

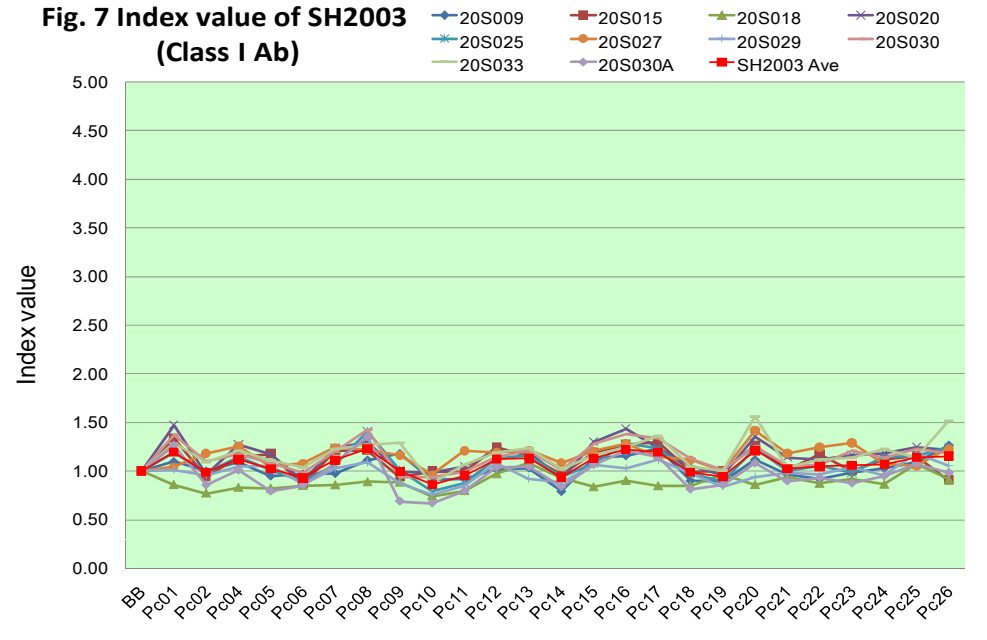


Fig. 8 Raw Data of SH2004 (Class I)

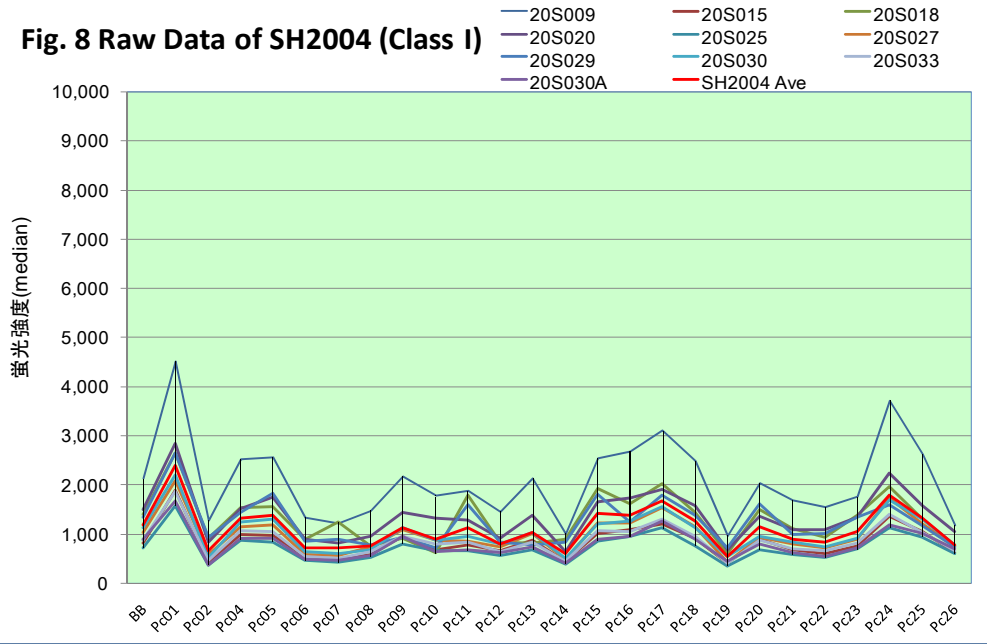


Fig. 9 Index value of SH2004 (Class I Ab)

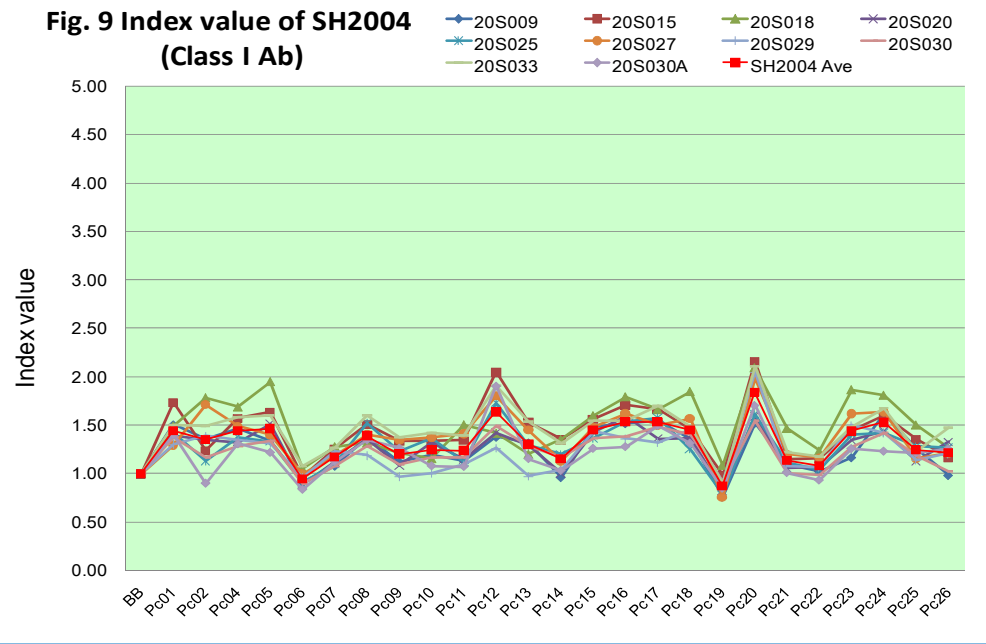


Fig. 10 Raw Data of SH2005 (Class I)

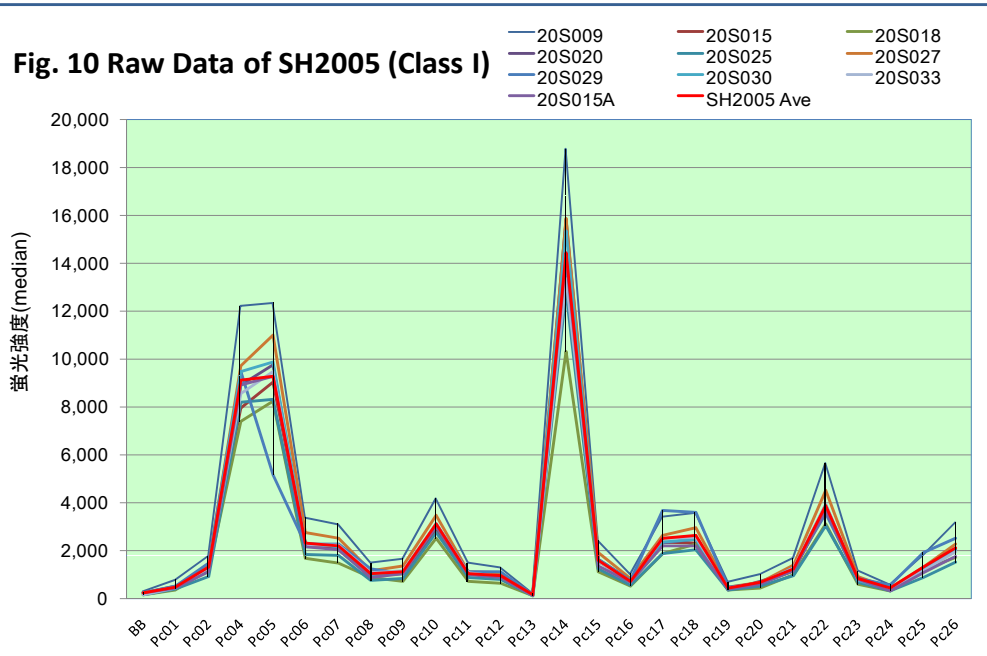


Fig. 11 Index value of SH2005 (Class I Ab)

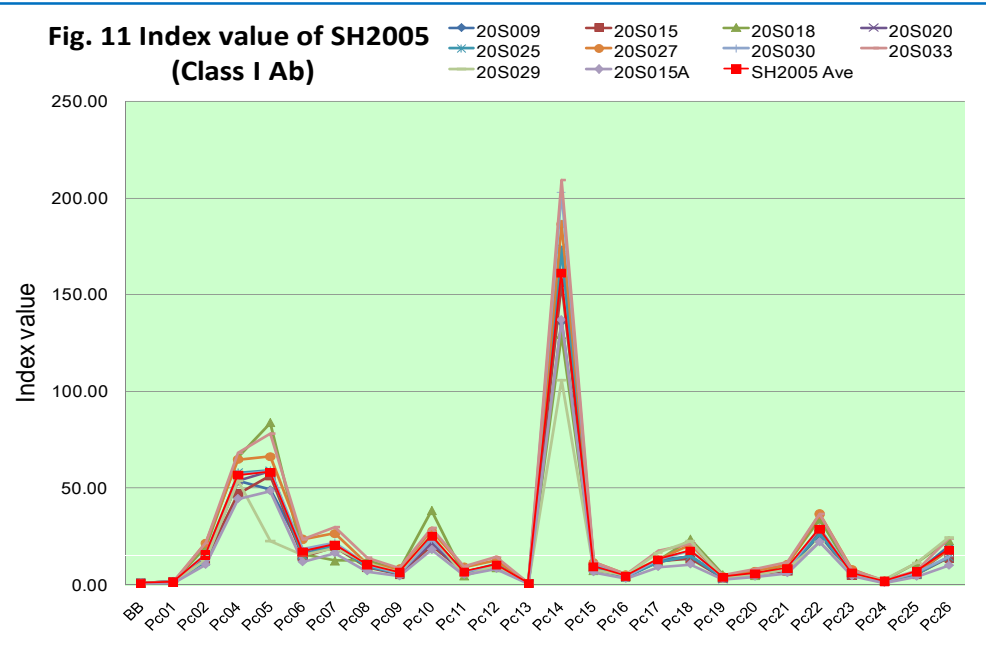


Fig. 12 Raw Data of SH2006 (Class I)

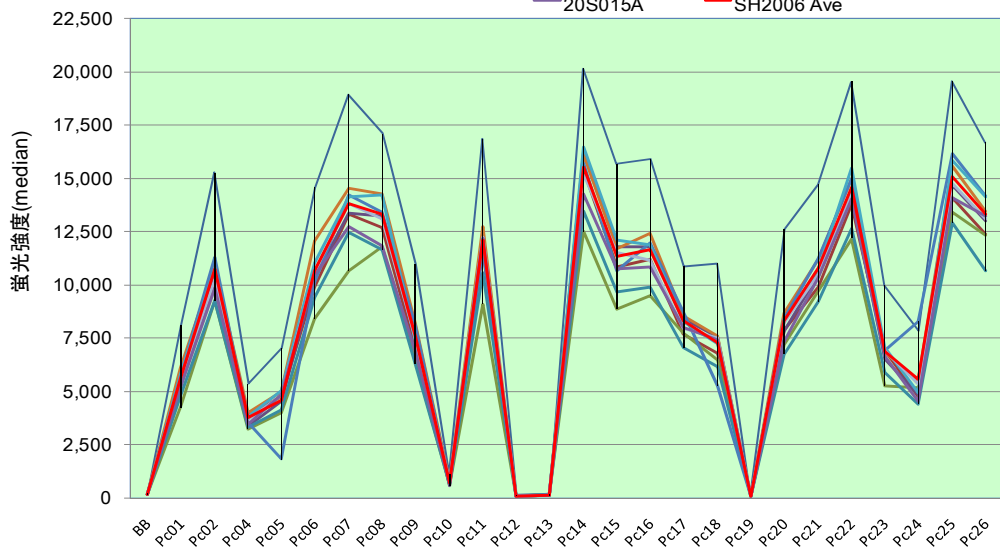


Fig. 13 Index value of SH2006 (Class I Ab)

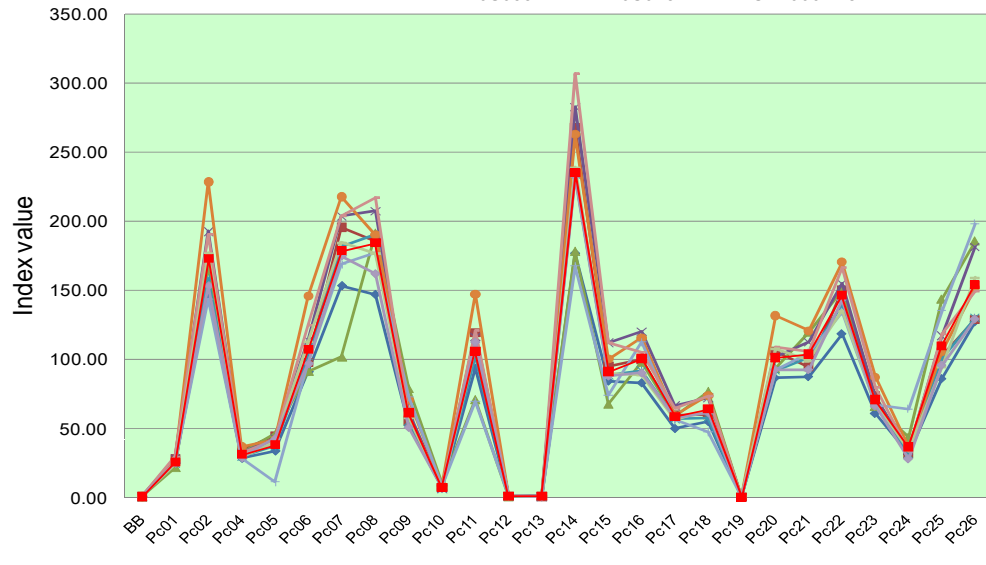


Fig. 14 Raw Data of SH2001 (Class II Ab.)

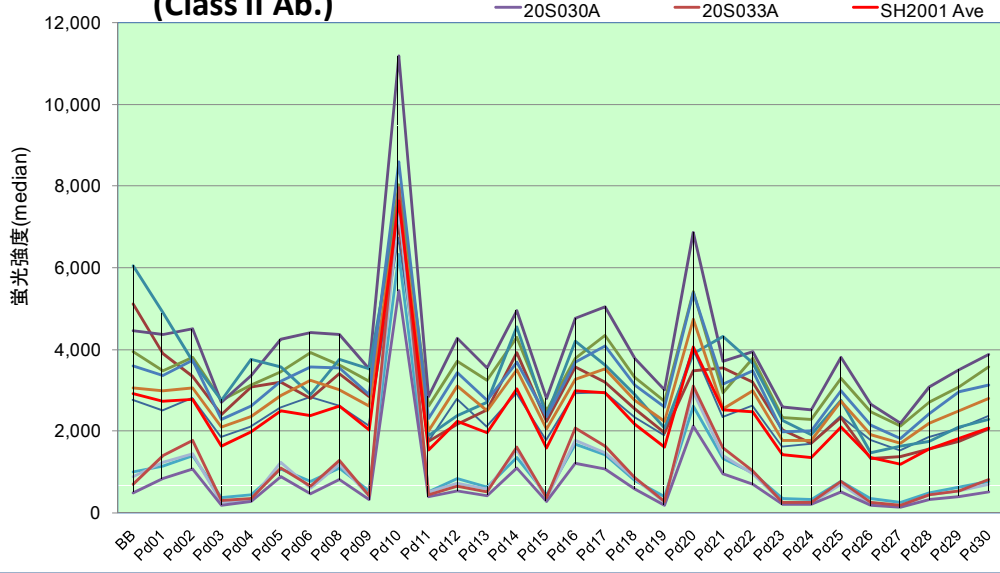


Fig. 15 Index value of SH2001 (Class II Ab.)

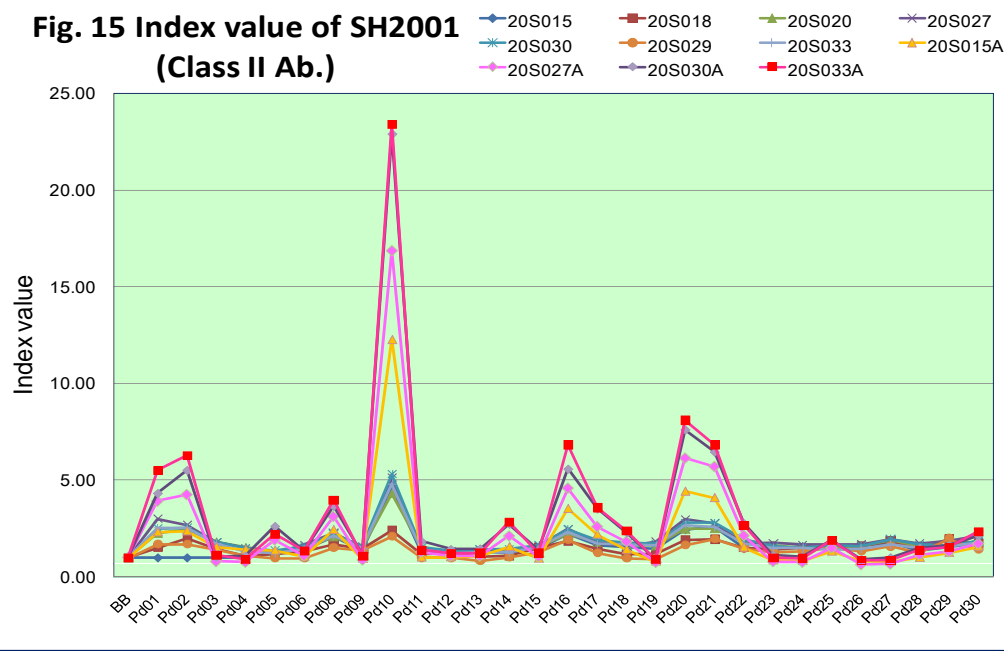
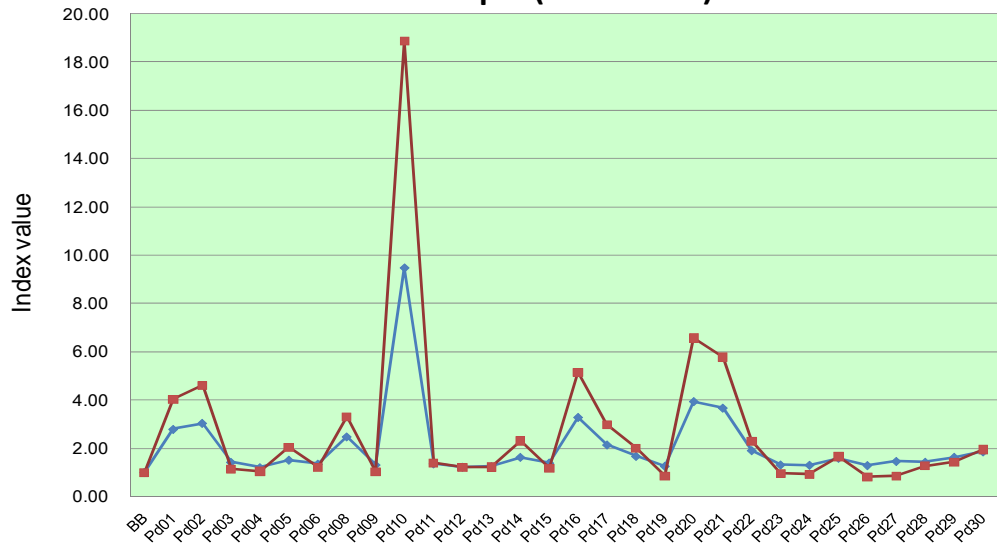


Fig. 16 Average of index value of absorbed and non-absorbed SH2001 sample (Class II Ab.)



Panel #	DR	DR51_52_53	DQ	DPB1
1 Pd01	DR1		DQ5	*0401
2 Pd02	DR15		DQ5	*0201 *1401
3 Pd03	DR16	DR51	DQ5	*0301
4 Pd04	DR3	DR52	DQ2	*0201
5 Pd05	DR4.1	DR53	DQ4	*0402 *0501
6 Pd06	DR4.2	DR53	DQ8	*0501
7 Pd08	DR7	DR53	DQ2	*1501
8 Pd09	DR8.1		DQ6	*0501 *0901
9 Pd10	DR9	DR53	DQ9	*0201 *0901
10 Pd11	DR11	DR52	DQ7	*0401
11 Pd12	DR12	DR52	DQ7 DQ9	*0501
12 Pd13	DR13	DR52	DQ6	*0201
13 Pd14	DR14	DR52	DQ5	*0202 *2501
14 Pd15	DR14	DR52	DQ7	*0402
15 Pd16	DR1	DR7	DQ2 DQ5	*0402 *1701
16 Pd17	DR1	DR10	DQ5	*0201 *0402
17 Pd18	DR4	DR10	DR53	DQ4 DQ5 *0501
18 Pd19	DR4.1	DR4.2	DR53	DQ7 DQ8 *0201 *0501
19 Pd20	DR8.1	DR9	DR53	DQ7 DQ9 *0501 *1401
20 Pd21	DR8.1	DR15	DR51	DQ4 DQ6 *0201 *0901
21 Pd22	DR8.2	DR15	DR51	DQ6 DQ8 *0501 *0901
22 Pd23	DR8	DR1403	DR52	DQ7 DQ8 *0501
23 Pd24	DR8	DR14	DR52	DQ7 DQ8 *0201 *0501
24 Pd25	DR14	DR15	DR51	DR52 DQ7 DQ6 *0501 *0901
25 Pd26	DR11	DR12	DR52	DR52 DQ7 *0501 *0601
26 Pd27	DR13	DR1403	DR52	DR52 DQ7 *0201
27 Pd28	DR4.1	DR16	DR51	DR53 DQ4 DQ5 *0301 *0501
28 Pd29	DR15	DR3	DR51	DR52 DQ6 DQ2 *0201 *1301
29 Pd30	DR1403	DR15	DR51	DR52 DQ6 DQ7 *0501 *0901

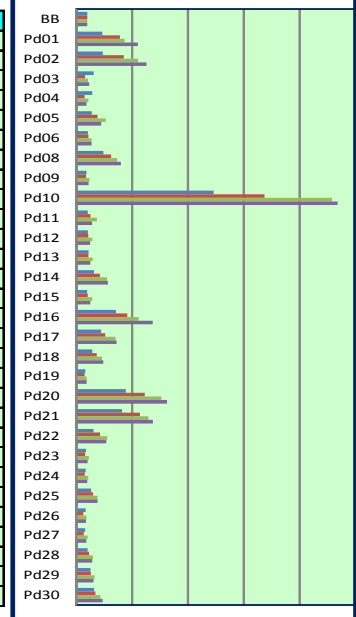


Fig. 17 Raw Data of SH2002 (Class II Ab.)

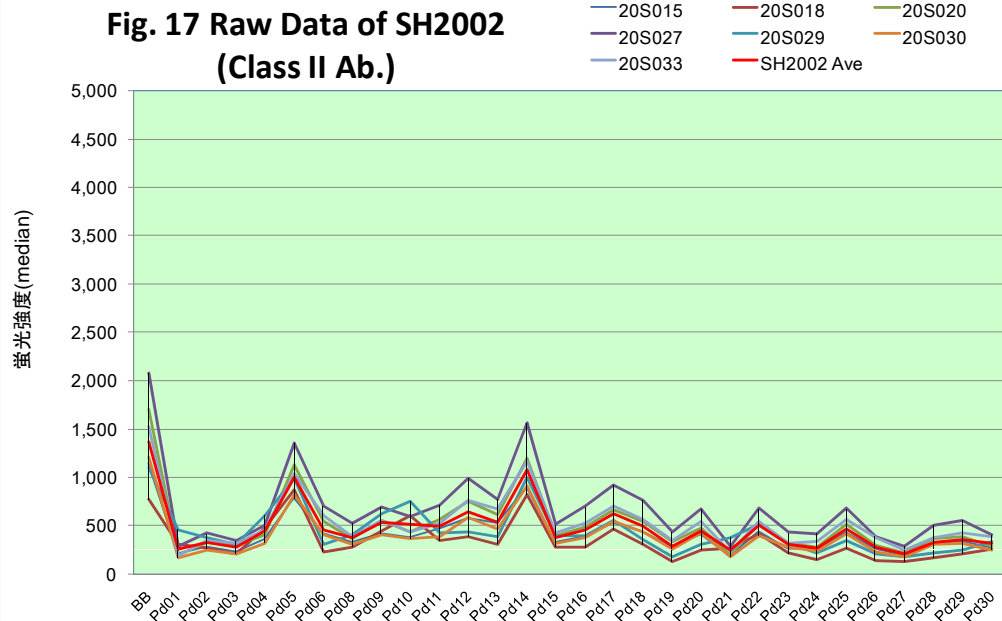
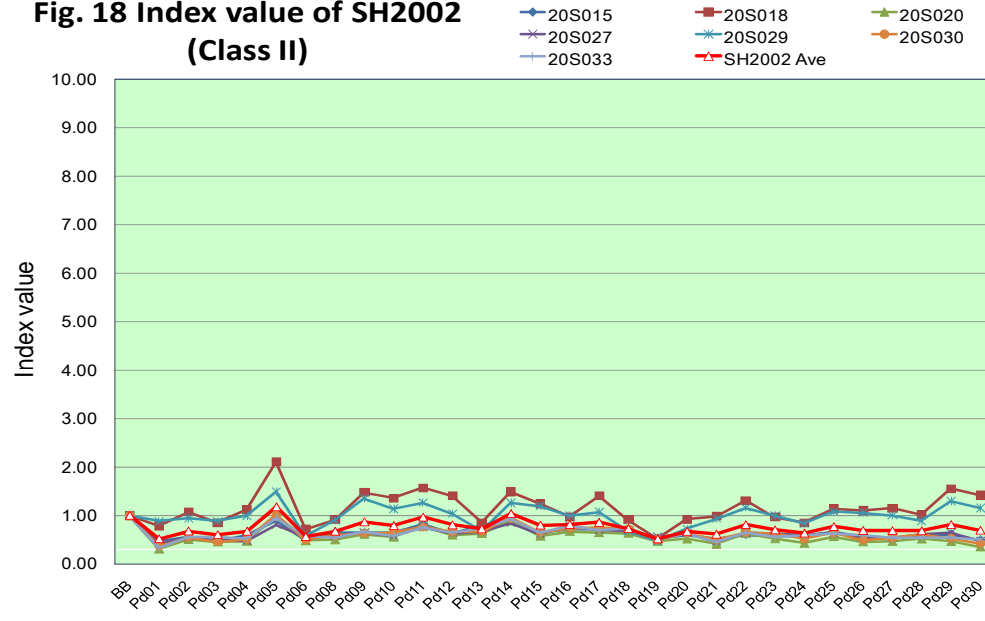
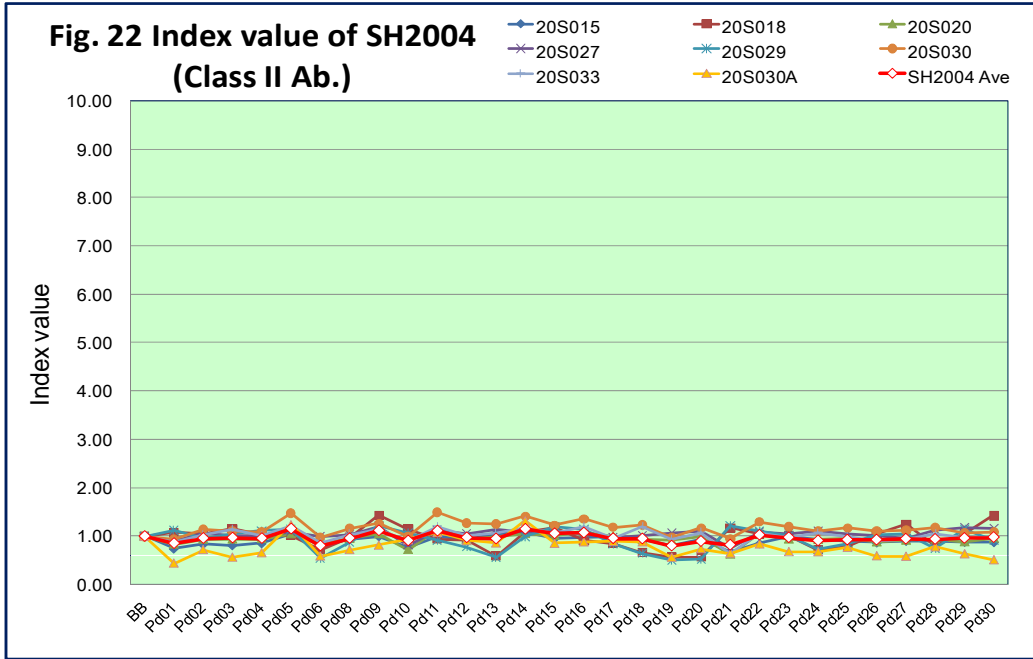
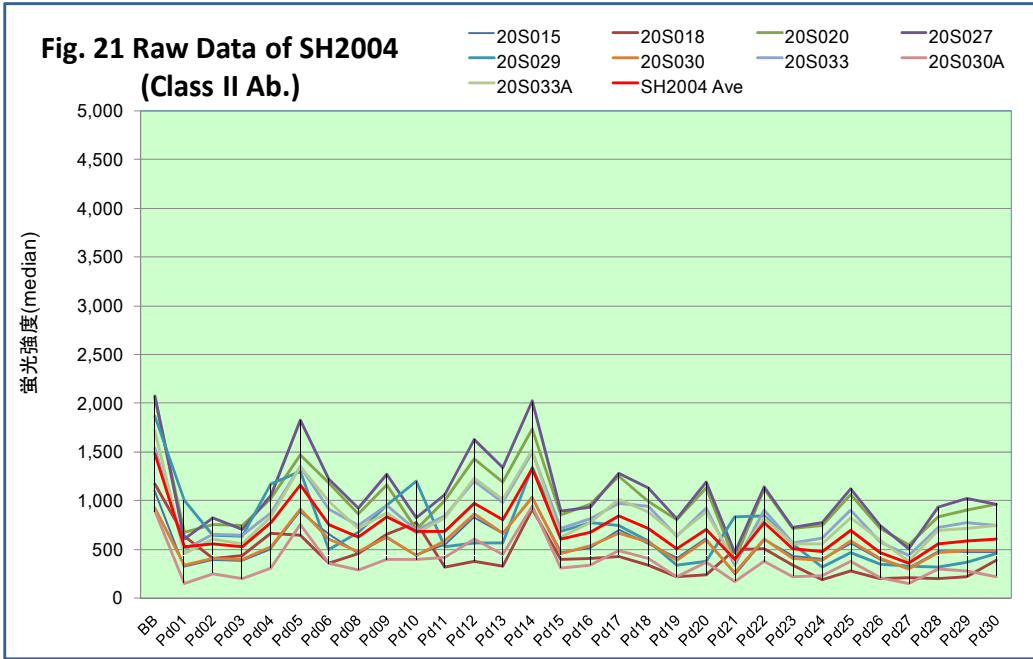
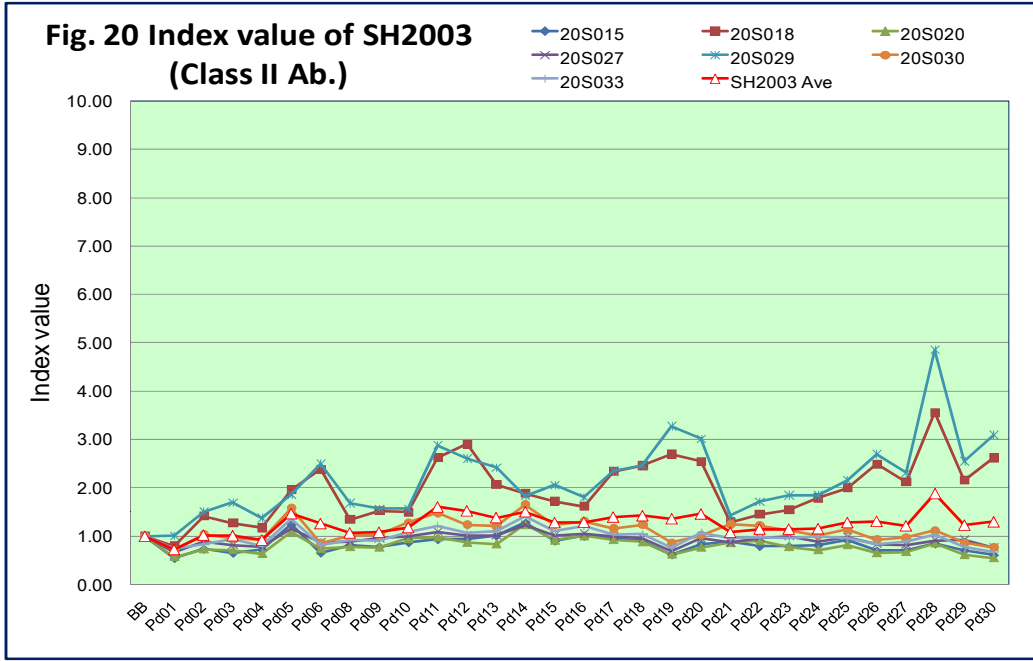
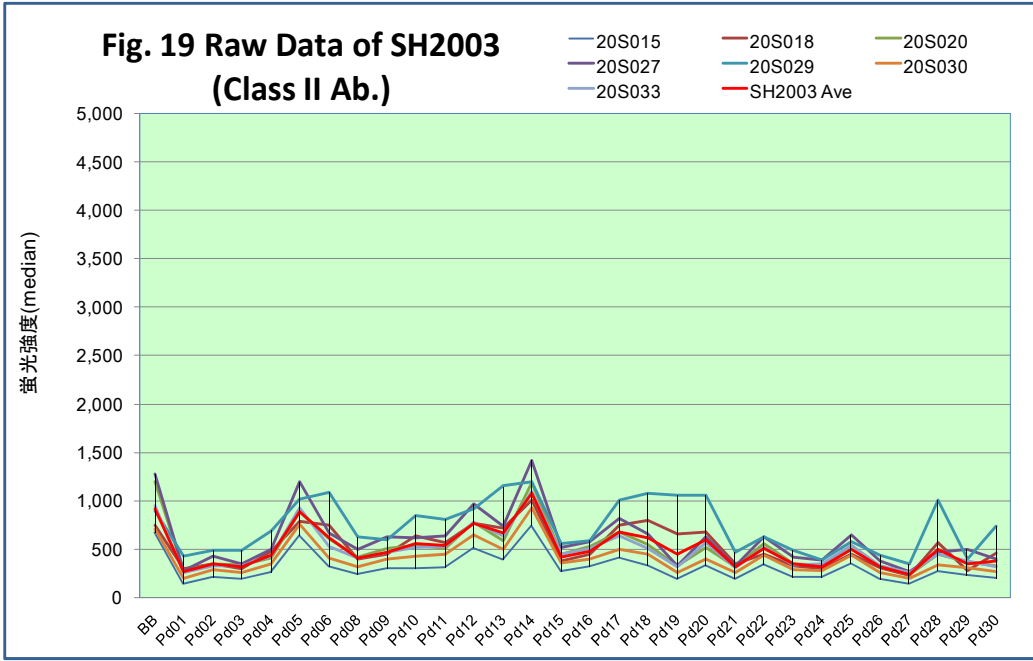
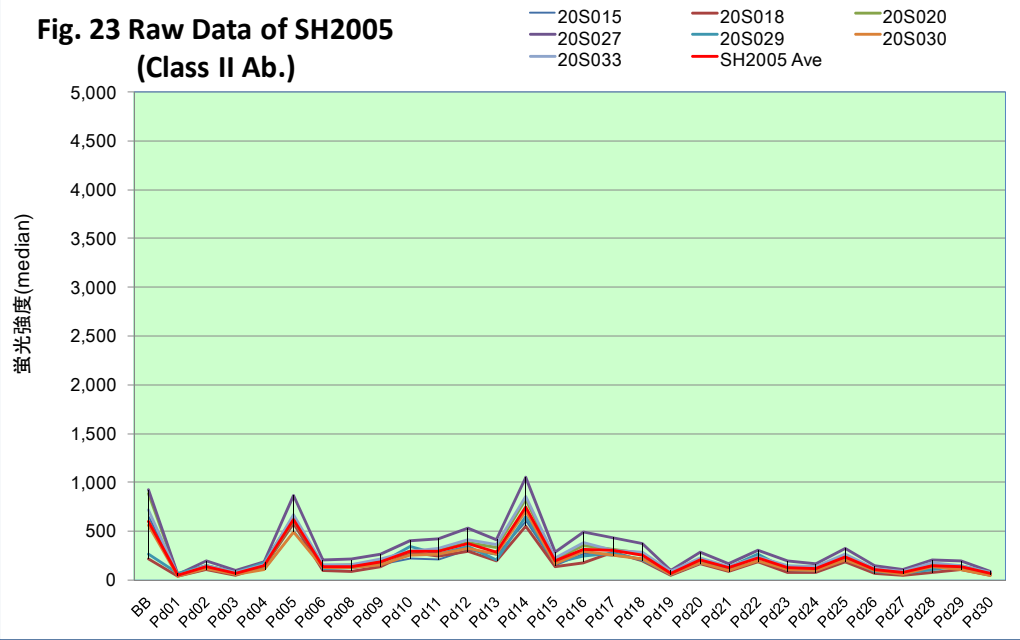


Fig. 18 Index value of SH2002 (Class II)

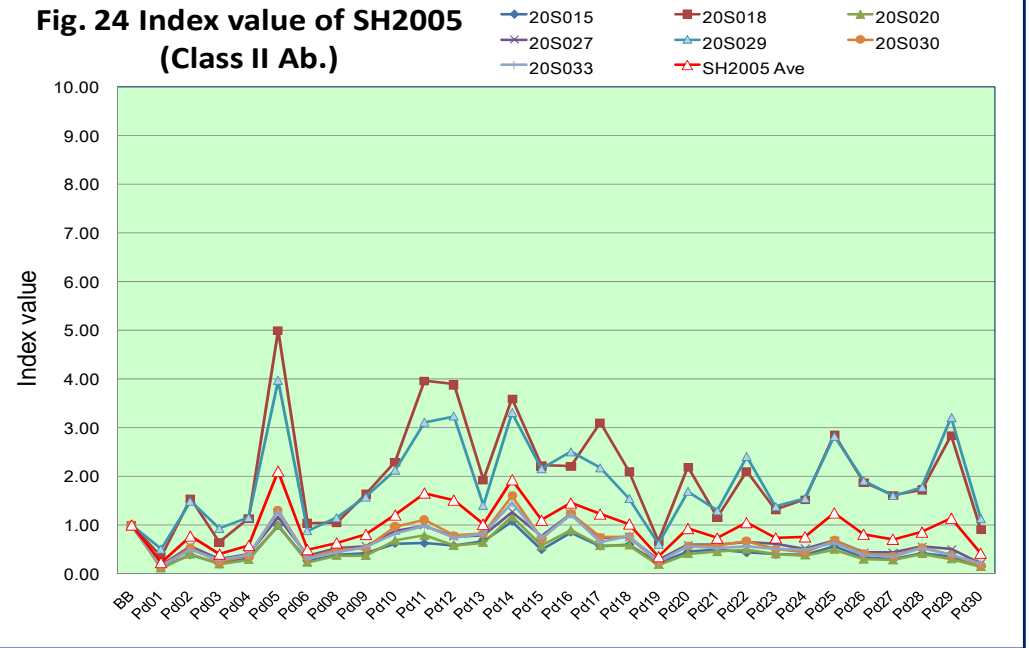




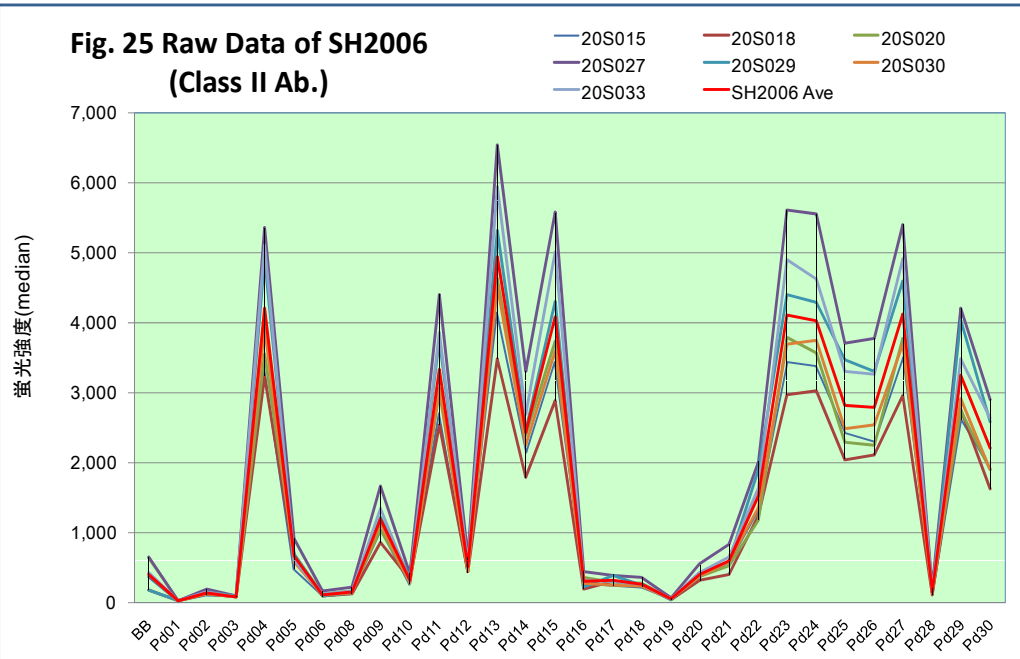
**Fig. 23 Raw Data of SH2005
(Class II Ab.)**



**Fig. 24 Index value of SH2005
(Class II Ab.)**



**Fig. 25 Raw Data of SH2006
(Class II Ab.)**



**Fig. 26 Index value of SH2006
(Class II Ab.)**

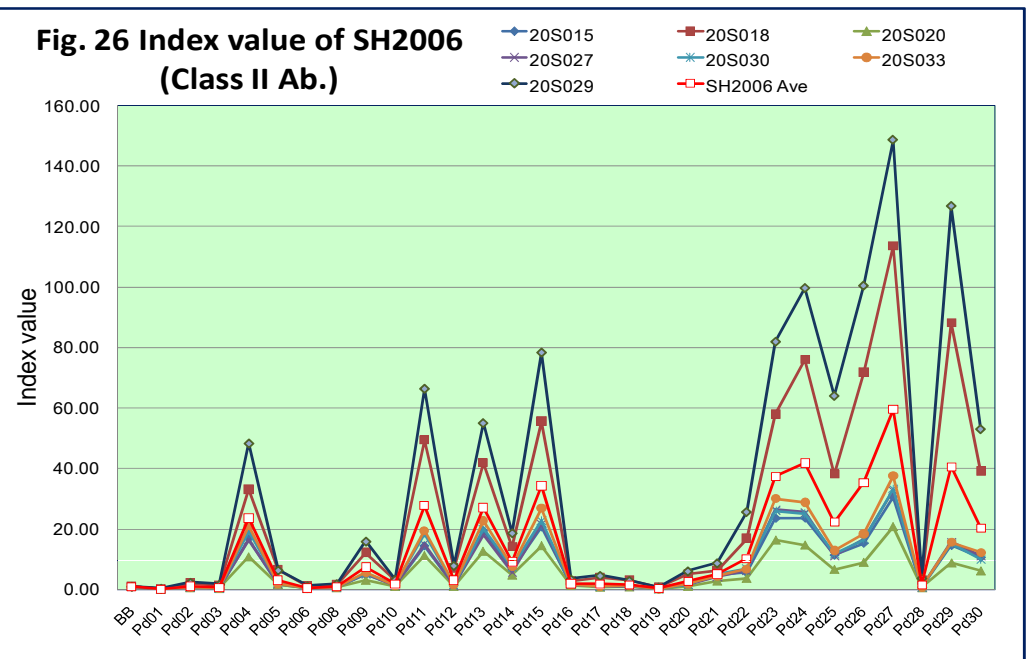


Table 1 Class I and Class II IgG antibodies (Positive: Index > 2.0)

Sample	Class I		Class II	
	Positive Panel #	Specificities	Positive Panel #	Specificities
SH2001	広範囲 (Pc21, 23, 16, 24, 11 (陰性))	広範囲 (HLA-A3, A24, A31, A33, B44, B67, B39, B51抗原陰性)	Pb10 (20, 21, 02, 01, 16, 08weak)	DR9+DR7w
SH2002	Pc07, 11, 26, 16, 23	B44	—	—
SH2003	—	—	—	—
SH2004	—	—	—	—
SH2005	広範囲 (Pc01, 13陰性)	広範囲 (A11.2, A2, A24, B54, B55抗原陰性)	—	—
SH2006	広範囲 (Pc10, 12, 13, 19 (陰性))	広範囲 (A24, B60, B61, B7, B54, B52抗原陰性)	Pb27, 23, 24, 15, 13, 04, 11, 26, 29, 25, 30, 14, 22, 09, 21	DR52+DR8.2?

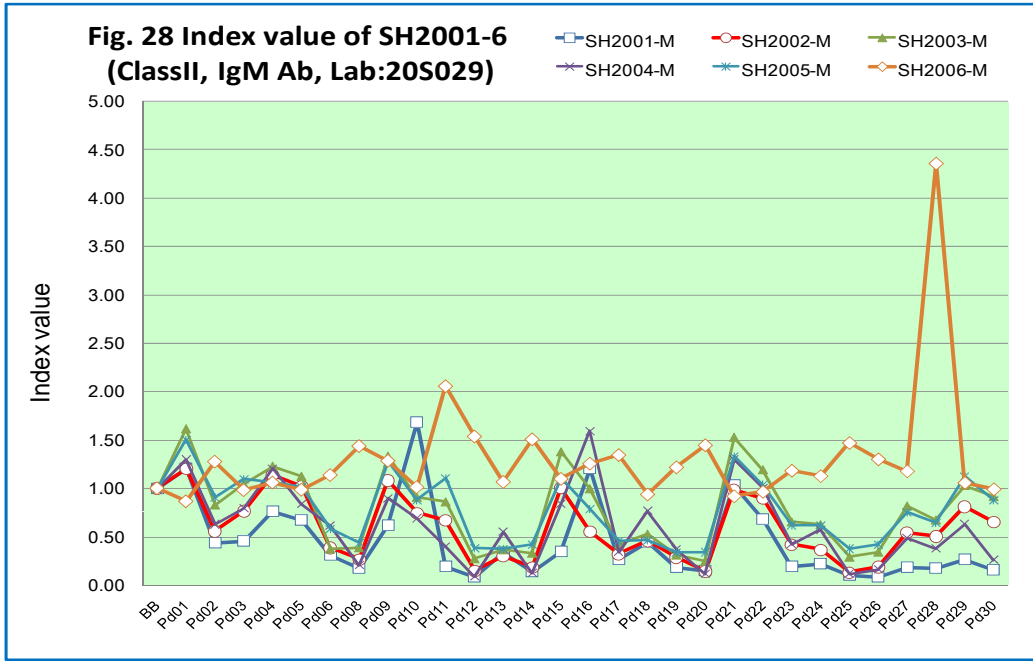
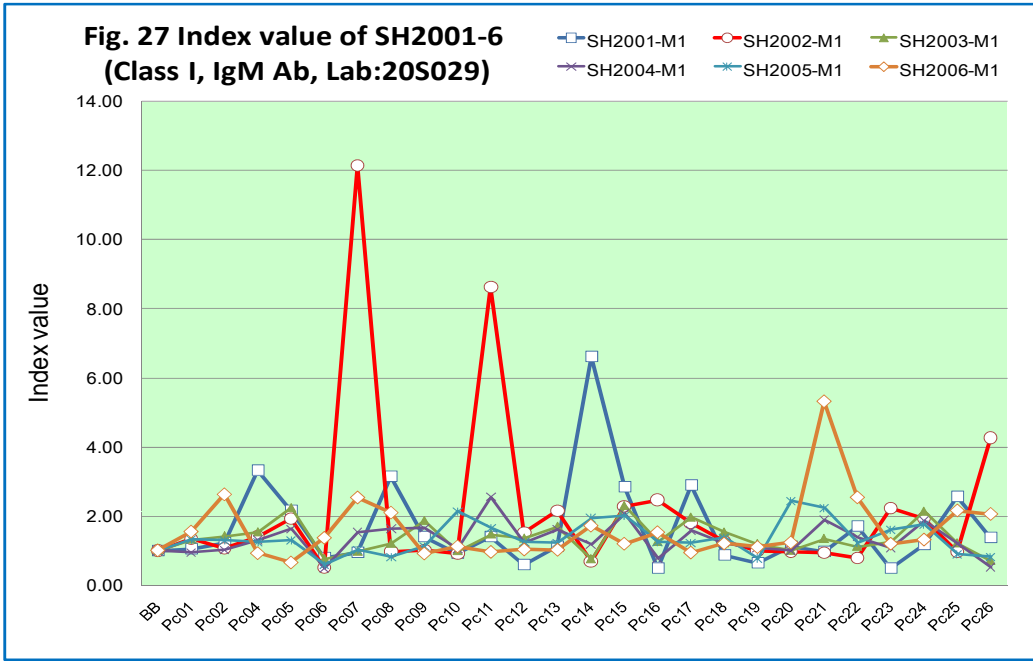


Table2 Class I & II IgM antibodies (Positive:Index > 2.0)

Sample	Class I		Class II	
	Positive Panel #	Specificities	Positive Panel #	Specificities
SH2001	14.(04, 05, 08, 17, 25 weak)	B62+(B71+B75)+B46+B35+A11	—	(DR9weak?)
SH2002	07,11,26,(13,16, 23 weak)	B44	—	—
SH2003	(05, 5,24 weak)	?	—	—
SH2004	(11 weak)	?	—	—
SH2005	(10,20,21weak)	?	—	—
SH2006	21(02, 07, 08, 22weak)	?	28(11weak)	?