

## \*T細胞サブセットキット コールタークローン

### I3-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	成分	分量(1回測定分)
モノクローナル抗体試薬 I3 (フルオレセインイソチオシアネート結合)	抗ヒト HLA-D/DR 関連抗原マウスモノクローナル抗体 I3 (フルオレセインイソチオシアネート結合)	15 µg

対象抗原: I3: HLA-DR/DQ/DP (分子量 34kD の  $\alpha$  鎖と 29kD の  $\beta$  鎖のダイマ) I3 抗原は、クラス II 主要組織適合抗原 (MHC class-II 抗原) である HLA-D/DR 抗原 (HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP) に共通する非多型性部位で、すべてのヒト B 細胞と樹状細胞、単球、マクロファージ、活性化 T 細胞に発現しています。末梢血単球の 75% 以上が I3 陽性であり、B 細胞及び B リンパ芽球由来の細胞株にも一様に発現しています。骨髄単核細胞中の 16% が I3 陽性であり、これには CFU-C も含まれています。一方で、活性化していない T 細胞や顆粒球、赤血球、血小板には反応しません。T 細胞への抗原提示において、クラス II MHC 分子はヘルパー T 細胞の CD4 分子と結合します。I3 抗体は、クラス II MHC 分子が関わる免疫反応 (抗原提示、リンパ球混合培養反応など) を阻害することができます。

クローン: I3: 9-49  
ヒト単球で免疫した BALB/cJ マウスの脾臓細胞とマウス NS/1-AG4 ミエローマ細胞の融合細胞から分離

Ig 構造: マウス IgG2a H 鎖及び  $\kappa$  L 鎖

細胞毒性: 補体依存性

原料及び精製法: マウス腹水よりイオン交換クロマトグラフィーで精製

標識: I3-FITC: FITC (Fluorescein Isothiocyanate)  
FITC/抗体タンパク比 : 3~10  
励起波長 : 468~509nm  
蛍光波長 : 504~541nm

試薬濃度: 溶解後の 1 パイアル (0.5mL) 中の抗体以外の成分の濃度は次のとおりです。

ゼラチン	: 0.2%
リン酸カリウム	: 0.01M
塩化ナトリウム	: 0.15M
アジ化ナトリウム	: 0.1%

#### 使用目的

全血中の HLA-D/DR 関連抗原陽性細胞の測定

#### 測定原理

測定方法はフローサイトメトリーを用いた直接免疫蛍光法です。すなわち、本品を細胞上の HLA-D/DR 抗原と同時に反応させ、細胞に波長 488nm の励起光を照射して緑色蛍光 (FITC) を発光させ、それぞれの蛍光を光電子増倍管で増幅し、その電気信号をコンピュータで解析、表示させることにより各抗体陽性細胞の計測を行います。

測定にはフローサイトメーターを用います。前方散乱光 (FS) と側方 (90° 方向) 散乱光 (SS) によるスキャッター・サイトグラム中の任意の領域にゲートをかけることにより、自動的に目的とする細胞集団のみを計測し、蛍光強度の解析ができます。また、解析細胞数も数千個と多いため、高精度で再現性の良い結果が得られます。

#### 操作上の注意

1. 抗凝固剤としては、EDTA、ヘパリン等を用いることができますが、いずれの場合でも採血後は室温で保存 (冷蔵しないでください) し、6 時間以内に染色してください。特に白血病細胞等では、保存によって急激に陽性率の低下を来す場合がありますので注意してください。
2. 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。
3. 凍結検体の場合、細胞のバイアビリティが 85% 以上でないと、誤った結果が得られるおそれがあります。
4. Ficoll-Paque 調製サンプルを用いる場合、分離条件により結果が異なることがあります。分離後の細胞が Ficoll-Paque 分離液に長時間接触するとバイアビリティが低下するため、分離後は 5 分以内に洗浄してください。
5. 全血検体を Ficoll-Paque 等で比重遠心分離した場合、分離して得られた単核細胞と分離前の全血検体とでリンパ球サブセットの比率が異なることがあります。この場合、白血球数が正常範囲内にあるような検体では比較的影響が少ないが、白血球減少症患者の検体では、特定のサブセットの選択的な喪失が測定結果の精度に影響を及ぼすことがあります。
6. 白血球の大きさが異常な検体や分離の操作が不適切な場合は、分離が不完全となる場合があります。分離後、明瞭な単核球層が認められなかったり、赤血球、赤血球破片、成熟顆粒球が多量に混入している場合は、分離をやり直すことをお勧めします。
7. Fc レセプタを介した抗体の非特異的結合が予想される検体の場合は、抗体試薬を反応させる 10~15 分前に、ヒトまたはマウスの  $\gamma$ -グロブリンを加えてください (終濃度 1mg/mL)。
8. 全血法の場合、溶血不良となるおそれがあるため、検体を試験管に分注する際は試験管の口や壁面に検体を付けないよう注意してください。付着した血液は、綿棒等で取り除いてください。
9. 有核赤血球、蛋白濃度の異常、ヘモグロビン合成異常などがみられる検体は、全血法で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をリンパ球としてカウントするために陽性率が実際よりも低くなるおそれがありますので注意してください。
10. 溶血時間が長すぎると白血球も影響を受けることがあります。
11. フローサイトメーターのレーザ光軸などの調整不良や不適切なゲート設定により、誤った結果が得られる場合があります。
12. HLA-D/DR 抗原は、単球にも発現しているため、リンパ球の測定では、単球の混入に注意が必要です。
13. I3 抗体は、HLA-DR 抗原以外に HLA-DQ 抗原及び HLA-DP 抗原とも反応するため、検体によっては HLA-DR のみと反応するコールタークローン I2 抗体とは異なる結果が得られることがあります。
14. 白血球中の特定の細胞集団の変動は、必ずしも病態と一致しないため、測定結果は他の臨床及び診断データと共に使用します。
15. 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。
16. モノクローナル抗体反応液の調製にあたっては、用法・用量を守り、過剰な希釈は行わないでください。正常検体では問題ない抗体濃度でも白血病検体等では陽性率の低下を来す場合があります。

#### 用法・用量 (操作方法)

##### 【試薬の調製】

##### <他に準備するもの>

蒸留水

血清加 PBS: PBS に次の試薬を溶解します。2~8°C で保存します。

NBS(新生仔ウシ血清)	2%
{または BSA(ウシ血清アルブミン)}	0.1%
アジ化ナトリウム	0.1%

### <抗体ストック液の調製>

モノクローナル抗体試薬(凍結乾燥品)を室温に戻し、1 バイアルにつき 500  $\mu$ L の蒸留水を加え、内容物が溶解するまで十分に転倒混和します。100,000  $\times$  g で 10 分間遠心分離(ベックマン・コルター卓上超遠心機または相当品を使用)して得られた上清を抗体ストック液とします。

### <抗体反応液の調製>

検体数に応じて必要量(1 検体あたり 5  $\mu$ L)の抗体ストック液を分取し、抗体ストック液 5  $\mu$ L につき 195  $\mu$ L の血清加 PBS を加えたものをモノクローナル抗体反応液として用います。モノクローナル抗体反応液は使用時に調製し、保存は避けてください。

### 【その他必要な試薬】

#### 1. PBS(リン酸緩衝生理食塩水)

PBS バッファ(製品番号 6603369)1 パックを蒸留水 500mL に溶解します。調製後の pH は 7.2 $\pm$ 0.2 で、防腐剤等は含んでいません。

必要に応じてアジ化ナトリウム(0.1%)等を添加します。

#### 2. 溶血剤(次の 1)、2)のいずれかを使用します)

##### 1) コルター全血ライジングキット(製品番号 6603152 300 テスト用)

PBS 24mL にイムノライズ\*1mL を加えます。

フィクサティブ\*\*はそのまま使用します。

\* イムノライズ:キット中の溶血試薬

\*\*フィクサティブ:キット中の固定剤

(医薬用外劇物:ホルムアルデヒドを 9.25%含有)

##### 2) 塩化アンモニウム溶血剤

蒸留水 1L に以下の試薬を溶かします。

塩化アンモニウム	8.26g
炭酸カリウム	1.0g
EDTA 4Na(または 2Na)	37mg

pH を 7.2~7.4 に調整し、密栓して室温保存します。(1 週間安定)。

注意: 1)、2)の各溶血剤は溶血に要する時間が異なります。コルター全血ライジングキットは 30 秒~2 分で溶血が完了します。一方、塩化アンモニウム溶血剤は溶血に 10~15 分必要ですが、細胞に与える作用は比較的緩徐で、溶血剤のまま 20~30 分放置しても結果に及ぼす影響は少ないとされています。

#### 3. コントロール試薬(アイソタイプ・コントロール抗体)

コルタークローン MslgG2a-FITC

製品番号 6602906 容量 100 テスト(溶解時 0.5mL)

#### 4. Propidium Iodide

Calbiochem 製品番号 53705 または相当品

0.01mg/mL または 0.05mg/mL に調整して使用します。

#### 5. Acridine orange

Baker 製品番号 A366-3 または相当品

0.005mg/mL で使用します。

#### 6. Ficoll-Paque 分離液

Pharmacia 製品番号 17-0840-03 または相当品

### 【検体の採取と調製】

検体には EDTA、ヘパリン等の抗凝固剤を用いて採血した末梢血を用います。

#### 1. 全血を検体とする場合

試験管 1 本につき 100  $\mu$ L の血液を用います。

染色に最適な白血球数の範囲は 3~10  $\times$  10<sup>3</sup>個/mm<sup>3</sup>であるため、白血球数が 10  $\times$  10<sup>3</sup>個/mm<sup>3</sup>を超える場合は検体を希釈します。逆に 3  $\times$  10<sup>3</sup>個/mm<sup>3</sup>より少ない場合は遠心して再浮遊させます。検体の希釈にはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)を用います。

注)検体は採血後室温(20~25 $^{\circ}$ C)で保存します。採血後 6 時間以内に操作を開始することをお勧めします。

### 細胞数の調整

#### a) 白血球数が多い検体(>10 $\times$ 10<sup>3</sup>個/mm<sup>3</sup>)

白血球数		希釈倍率
10~20	$\times$ 10 <sup>3</sup>	: 2 倍
20~30	$\times$ 10 <sup>3</sup>	: 3 倍
30~40	$\times$ 10 <sup>3</sup>	: 5 倍
40~60	$\times$ 10 <sup>3</sup>	: 6 倍
60~100	$\times$ 10 <sup>3</sup>	:10 倍
100~200	$\times$ 10 <sup>3</sup>	:20 倍

#### b) 白血球数が少ない検体(<3 $\times$ 10<sup>3</sup>個/mm<sup>3</sup>)

##### パフィーコート法

- (1) 検体を 25 $^{\circ}$ C で 500  $\times$  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) コルター-LH 700 シリーズ等の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) 細胞濃度を 10  $\times$  10<sup>3</sup>個/mm<sup>3</sup>に調整します。1 テストあたり 100  $\mu$ L を用い、以下の操作手順に従って処理します。

#### 2. Ficoll-Paque 調製サンプルを検体とする場合

- (1) 試験管に血液(抗凝固剤を含む)を 4mL 取り、ほぼ等量の PBS を加え、転倒混和します。
- (2) 別の試験管に Ficoll-Paque 分離液を 4mL 入れ、その上に(1)の希釈血液を重層します。
- (3) 2~8 $^{\circ}$ C で 400~450  $\times$  g、30 分間遠心分離します(遠心条件は分離液によって異なります)。
- (4) Ficoll-Paque 分離液と血漿の間の層をパスツールピペットで取り、別の試験管に移します。
- (5) 2~8 $^{\circ}$ C の PBS を加えてよく攪拌し、2~8 $^{\circ}$ C で 400~450  $\times$  g、8 分間遠心分離します。
- (6) 上清を吸引除去し、沈渣に PBS を加えてよく攪拌します。
- (7) 2~8 $^{\circ}$ C で 400~450  $\times$  g、4 分間遠心分離します。
- (8) 上清を吸引除去し、沈渣に PBS を加えてよく攪拌します。
- (9) 2~8 $^{\circ}$ C で 400~450  $\times$  g、3 分間遠心分離します。
- (10) 上清を吸引除去し、沈渣に PBS を加えて細胞濃度を 1  $\times$  10<sup>3</sup>個/mm<sup>3</sup>(1  $\times$  10<sup>6</sup>個/mL)程度に調整します。
- (11) 以下の a) または b)の方法を用いて、細胞のバイアビリティ(生存率)をチェックします。バイアビリティは 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。

#### a) フローサイトメトリー法によるバイアビリティの確認

- (12) 試験管に 1  $\times$  10<sup>6</sup>個(細胞濃度が 1  $\times$  10<sup>3</sup>個/mm<sup>3</sup>の場合 1mL)の細胞を分注します。
- (13) 2~8 $^{\circ}$ C の PBS を加え、2~8 $^{\circ}$ C で 400~450  $\times$  g、4 分間遠心分離します。
- (14) 上清を吸引除去し、0.05mg/mL の Propidium Iodide を 3 滴加えて攪拌し、1 分間放置します。
- (15) 2~8 $^{\circ}$ C の PBS を加えて攪拌し、2~8 $^{\circ}$ C で 400~450  $\times$  g、4 分間遠心分離した後、上清を吸引除去します。
- (16) (15)を再度繰り返します。
- (17) フローサイトメーターで測定します。バイアビリティが 85%未満の場合は、サンプルの調製をやり直すことをお勧めします。

#### b) 蛍光顕微鏡法によるバイアビリティの確認

- (12) スライドガラスに 25,000 個(細胞濃度が 1  $\times$  10<sup>3</sup>個/ $\mu$ Lの場合、25  $\mu$ L)の細胞を載せます。
- (13) Propidium Iodide(0.01mg/mL)を 10  $\mu$ L 載せ、マイクロピペットのチップの先で静かに攪拌します。
- (14) 30 秒間放置した後、Acridine orange(0.005mg/mL)を 10  $\mu$ L 載せ、マイクロピペットのチップの先で静かに攪拌して 3 秒間放置します。
- (15) カバーガラスをかけ、周囲をストップコック・グリスでシールし、ただちに蛍光顕微鏡で観察します。
- (16) 細胞を 100 個カウントします。生細胞は明るい緑色に、死細胞は赤色に観察されます。バイアビリティが 85%に満たない場合は、サンプルの調製をやり直すことをお勧めします。

### 【操作方法】

#### <他に準備するもの>

PBS、溶血試薬、コントロール試薬:「使用上または取扱上の注意」の項を参照してください。

血清加 PBS: PBS に次の試薬を溶解します(2~8°C保存)。  
 NBS(新生仔ウシ血清) 2%  
 [または BSA(ウシ血清アルブミン) 0.1%]  
 アジ化ナトリウム 0.1%

再浮遊用 PBS: PBS にアジ化ナトリウムを 0.1% 溶解します。  
 (2~8°C 保存)

## <サンプル調製手順>

### 1. 全血サンプルを用いた試験管法(全血法)

- (1) モノクローナル抗体反応用と対照用の試験管を用意してください。
- (2) それぞれの試験管に全血 100  $\mu$ L を分注します。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反応液 200  $\mu$ L を反応用の試験管に加え、対照用の試験管には、抗体試薬と同様に濃度調製したコントロール試薬(コールタークローン MS1gG2a-FITC、別売)の反応液を 200  $\mu$ L 加えます。
- (4) よく攪拌し、室温で 45 分間反応させます。
- (5) 以下の a)、b)のいずれかの方法で赤血球を溶血させます。
  - a) 塩化アンモニウム溶血剤を用いる場合  
調製した溶血剤 2mL を加えてよく攪拌し、溶血が完了する(サンプルの濁りが消える)まで 5~15 分間常温で放置します。
  - b) コールター全血ライジングキットを用いる場合  
PBS を 2~3mL 加えて攪拌し、400~450  $\times$  g、5 分間遠心分離した後、上清を吸引除去します。  
溶血剤(キット中の「イムノライズ」)を PBS で 25 倍希釈を 1mL 加えてよく攪拌し、30 秒~2 分間室温で放置します。  
溶血が完了(サンプルの濁りが消える)したら、直ちにキット添付の「フィクサティブ」を 250  $\mu$ L 加えて攪拌します。
- (6) PBS を 2mL 加え、攪拌します。
- (7) 400~450  $\times$  g、5 分間遠心分離した後、上清を吸引除去します。
- (8) (6)~(7)の操作を繰り返します。
- (9) 沈渣に適量(0.5~1mL)の再浮遊用 PBS を加え、よく攪拌します。
- (10) 以上の処理を行った後、EPICS<sup>®</sup>/Cytomics等のフローサイトメーターを用いてリンパ球領域の蛍光陽性率を測定します。検体はアイスパス中で遮光保存し、速やかに測定を行ってください。

### 2. Ficoll-Paque 調製サンプルを用いた試験管法

- (1) 抗体反応用と対照用に 12mm  $\phi$   $\times$  75mm の試験管を用意します。
- (2) 各々の試験管にFicoll-Paque調製サンプルを  $1 \times 10^6$ 個(細胞濃度が  $1 \times 10^3$ 個/mm<sup>3</sup>の場合 1mL)ずつ分注します。
- (3) 2~8°Cで 400~450  $\times$  g、4 分間遠心分離し、上清を注意深く吸引除去します。
- (4) モノクローナル抗体反応液 200  $\mu$ L を反応用の試験管に加え、対照用の試験管には、抗体試薬と同様に濃度調製したコントロール試薬(コールタークローン MS1gG2a-FITC、別売)の反応液を 200  $\mu$ L 加えます。
- (5) よく攪拌し、2~8°Cで 30 分間反応させます。
- (6) 血清加 PBS 1mL を加え、2~8°Cで 400~450  $\times$  g、4 分間遠心分離し、上清を吸引除去します。
- (7) (5)の操作を 2 回繰り返します。
- (8) 適量(0.5~1mL)の再浮遊用 PBS を加え、よく攪拌します。
- (9) 以上の処理を行った後、EPICS<sup>®</sup>/Cytomics等のフローサイトメーターまたは蛍光顕微鏡を用いて測定します。検体はアイスパス中で遮光保存し、速やかに測定を行ってください。

### 3. Ficoll-Paque 調製サンプルを用いたマイクロタイタープレート法

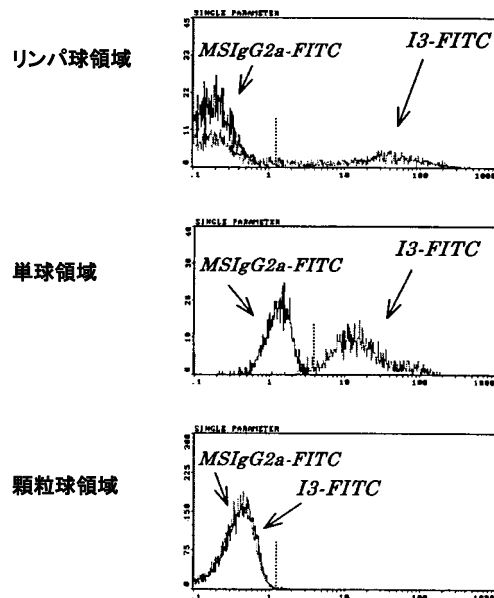
- (1) あらかじめ  $1 \times 10^6$ 個/200  $\mu$ L に調整したFicoll-Paque調製サンプルをU底 96 穴マイクロタイタープレートに 200  $\mu$ L 分注します。
- (2) プレートを 2~8°Cで 400~450  $\times$  g、5 分間遠心分離します。
- (3) ペレットをこわさないように注意して、上清を吸引除去します(先端を少し曲げたパスツールピペットを用いてください)。
- (4) プレートにふたをして、プレートの底にボルテックスミキサの先端をあてて、プレートの隅々までゆるやかにかつ十分に攪拌し、ペレットをほぐします。
- (5) モノクローナル抗体反応液 200  $\mu$ L を反応用のウェルに加え、対照用のウェルには、抗体試薬と同様に濃度調製したコントロール試薬(コールタークローン MS1gG2a-FITC、別売)の反応液を 200  $\mu$ L 加えます。

- (6) 2~8°Cで 30 分間反応させます。
- (7) プレートを 2~8°Cで 400~450  $\times$  g、5 分間遠心分離します。
- (8) (3)及び(4)の操作を行います。
- (9) 血清加 PBS を 200  $\mu$ L 加え、2~8°Cで 400~450  $\times$  g、5 分間遠心分離します。
- (10) (3)及び(4)の操作を行います。
- (11) 再浮遊用PBSを 200  $\mu$ L 加え、適当な試験管に移し、EPICS<sup>®</sup>/Cytomics等のフローサイトメーターまたは蛍光顕微鏡を用いて測定します。

## 測定結果の判定方法

1. 正しく調整し、適切にゲートをかけたフローサイトメーターを用いて細胞を測定します。
2. 全血サンプルの場合は、明瞭な三分画(リンパ球、単球、顆粒球領域)、Ficoll-Paque 調製サンプルの場合は、適切な位置にリンパ球集団が出現するようにスレッシュホールドと散乱光のゲインを調整します。
3. リンパ球領域など、目的とする細胞集団に解析ゲートを設定し、FITC 蛍光(Log スケール)の 1 パラメータ蛍光ヒストグラムを取得します。コントロール試薬を対照として設定されたカーソルの右側部分が、HLA-D/DR 陽性細胞となります。

図 ヒストグラム例(全血サンプル)



## 【測定条件の確認】

測定条件が正しいかどうかを確認するには、健常者検体を陽性コントロールとします。正常値は施設ごとに設定してください。

検体ごとに抗体の非特異的な結合を確認するため適切なアイソタイプ・コントロール試薬(コールタークローン MS1gG2a-FITC)を用います。健常者検体の場合、コントロール試薬の陽性率は通常 1~2% となります(2%を上回る場合、測定結果は誤差を含んでいるおそれがあります)が、腫瘍検体ではより高い値を示すことがあります。

## 臨床的意義

免疫機構の機能的中心であるリンパ球のうち、T 細胞は骨髄中の幹細胞を起源とし、胸腺における機能的成熟過程を経て末梢血、組織に現れます。T 細胞はその分化成熟段階に、あるいは機能的サブセットに特有の細胞表面抗原を有しています。コールタークローン モノクローナル抗体は、このような細胞表面抗原を検出することによって免疫機構をさらに詳しく解明する目的で、Harvard Medical School の Dr.S.F.Schlossman の研究グループと Coulter Immunology によって共同開発されました。

ヒト末梢血リンパ球ポピュレーションは T 細胞(胸腺由来)、B 細胞(骨髄由来)、ヌル細胞の 3 つの細胞タイプから成ります。これらの細胞タイプは、顕微鏡検査では形態学的に区別できませんが、細胞膜上の特有な抗原の違いによって同定が可能です。さらに、各々のポピュレーションの亜分画や分化段階も細胞表面抗原の違いから同定することができます。

また、血液細胞の腫瘍である白血病/リンパ腫の治療には、その腫瘍細胞の由来(細胞系統及び分化段階)を知ることが重要になります。

細胞系統を調べるには、形態学的情報及び細胞化学染色、遺伝子・染色体の分析とともに、細胞表面抗原の分析が非常に有用です。

コールタークローン I3-FITC は、ヒトのクラス II 主要組織適合抗原 (MHC class-II 抗原) である HLA-D/DR 抗原の非多型性部位を認識するモノクローナル抗体です。HLA-D/DR 抗原は単球などの抗原提示細胞や B 細胞に発現し、それらの細胞と CD4 陽性 T 細胞との細胞間協調に必要な分子です。この抗体は、白血病の分類やリンパ球の機能的サブセットの分析に有用です。

HLA-D/DR 抗原は、B 細胞由来の白血病/リンパ腫(急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ性白血病、非ホジキンリンパ腫など)や急性骨髄性白血病の分類に有用です。

HLA-D/DR 抗原は、CD3 など成熟 T 細胞マーカーとの組み合わせによって、活性化 T 細胞の同定及び定量に有用です。活性化 T 細胞の比率は、全身性エリテマトーデスなどの自己免疫疾患や感染性単核症などの急性期ウイルス感染症で上昇することが知られています。

## 性能

### 【特異性】

I3 は、クラス II 主要組織適合抗原 (MHC class-II 抗原) である HLA-D/DR 抗原 (HLA-DR、HLA-DQ、HLA-DP) に共通する非多型性部位を認識しており、すべてのヒト B 細胞と樹状細胞、単球、マクロファージ、活性化 T 細胞に反応します。活性化していない T 細胞や顆粒球、赤血球、血小板には反応しません。

### 【再現性】

本品で、末梢血リンパ球を 3 回以上繰り返し測定したとき、陽性率の変動係数 (%CV) は 7% 以下です。

### 【既承認品との相関性】

健常者または血液学的に異常を認めない外来患者の末梢血 50 検体 (全血法) における、本品と他社製既承認 HLA-DR 抗体との相関性は次のとおり良好です。

回帰直線  $y=0.95X+2.7$  相関係数  $r=0.938$

## 使用上または取扱上の注意

1. 本品は、アジ化ナトリウムを 0.1% (液状品及び凍結乾燥品の溶解時の濃度) 含んでいます。アジ化ナトリウムは酸性下で有毒なアジ化水素酸を産生するので、取り扱いには十分注意してください。また、アジ化物が金属性の排水管内に蓄積することによる爆発の危険性を避けるため、アジ化物の廃棄は多量の流水で希釈して行ってください。
2. 有効期限を過ぎた試薬を使用しないでください。
3. 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り扱い、適切な表示及び処理をした後に廃棄してください。
4. ピペットを口で吸引しないでください。皮膚や粘膜への検体の接触を避けてください。
5. 保管及びサンプル調製中に抗体試薬を強い光にさらさないでください。
6. 試薬が微生物に汚染されないよう注意してください。
7. 試薬の外観に変化がみられたり、コントロール検体による測定値に大きな変化がある場合は、試薬の劣化が考えられますので使用しないでください。溶解後の試薬の正常な外観は無色または淡黄色の透明な液体です。

## 貯法、有効期限、安定性

コールタークローン I3-FITC  
冷暗所 (2~8°C) 保存 製造後 24 箇月

1. 未開封の製品は、冷蔵 (2~8°C) で保存した場合に、各バイアルに明記してある有効期限まで使用できます。
2. 溶解後のコールタークローン I3-FITC の有効期間は次のとおり:

冷蔵 (2~8°C)	溶解後 6 箇月
冷凍 (0~-20°C)	溶解後 6 箇月
冷凍 (-70°C 以下)	溶解後 12 箇月

冷凍保存の場合、できるだけ小分けして凍結し、凍結融解を繰り返さないようにしてください。
3. 本品を長時間光にさらすことは避けてください。すべての試薬は使用する直前に室温 (20~25°C) に戻してください。

## 包装単位

コールタークローン I3-FITC  
製品番号 6603424 容量 100 テスト (0.5mL 溶解時)

## 主要文献

1. Todd RF, Meuer SC, Romain PL and Schlossman SF 1984: A monoclonal antibody that blocks class II histocompatibility-related immune interactions. Human Immunology 10:23.
2. Barclay AN, Birkeland ML, Brown MH, Beyers AD, Davis SJ, Somoza C and Williams AF, eds. 1993: The Leukocyte Antigen Facts Book. Academic Press, London: pp. 376-377.
3. Ko HS, Fu SM, Winchester RJ, Yu DTY and Kunkel HG. 1979: Ia determinants on stimulated human T lymphocytes. Occurrence on mitogen and antigen-activated T cells. J. Exp. Med. 150:246.
4. Koepke JA and Landay AL: 1989. Precision and accuracy of absolute lymphocyte counts. Clin Immunol Immunopathol 52:19-27.

## \*問い合わせ先

### ベックマン・コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明二丁目 5 番 7 号  
TEL: 0120-566-730  
FAX: 03-5530-2460

## 商標

COULTER、COULTER CLONE、CYTO-STAT、EPICS、FLOW-COUNT、Q-Prep、Multi-Q-Prep、TQ-Prep、及び XL は、Beckman Coulter, Inc. の登録商標または商標です。

本品を本来の目的以外に使用したり、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、保証の限りではありません。

## \*製造販売元

### ベックマン・コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明二丁目 5 番 7 号

