



HLAの世界へようこそ！ Vol.2

第1部 LABScreen試薬と手技

株式会社ベリタス

2025年11月26日

本日の内容

- LABScreen試薬の原理と種類
- LABScreen試薬の測定方法



LABScreen試薬の原理と種類

- DSA(Donor Specific Antibody)の存在は生存率に影響を及ぼす
- 移植前後で抗体の有無を検査することが患者様の予後向上につながる
- 移植前
 - 患者の体内にDSAが存在しないことの確認
 - 存在する場合は、必要な治療を行ったあとに移植をする
- 移植後
 - 定期的に抗体検査を行い、早期にDSAを検出することが重要

保険収載内容（2024/6更新）

- 臓器移植

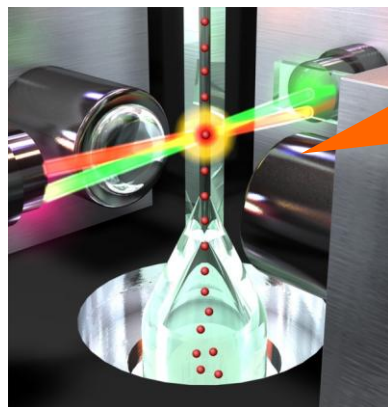
実施時期	検査内容	点数
移植前	スクリーニング検査 ＊日本臓器移植ネットワークに登録している患者で輸血例、妊娠歴等から抗体陽性が疑われる場合、1年に1回実施可能	1,000点
	抗体特異性同定検査 ＊スクリーニング検査が陽性の場合、陽性のアレルを同定する	4,850点
移植時	抗HLA抗体検査	4,000点
移植後	スクリーニング検査 ＊1年に1回実施可能	1,000点
	抗体特異性同定検査 ＊スクリーニング検査で陽性の場合、陽性のアレルを同定する	4,850点

- 造血幹細胞移植

- － 移植前に抗HLA抗体検査を実施した場合に4,000点

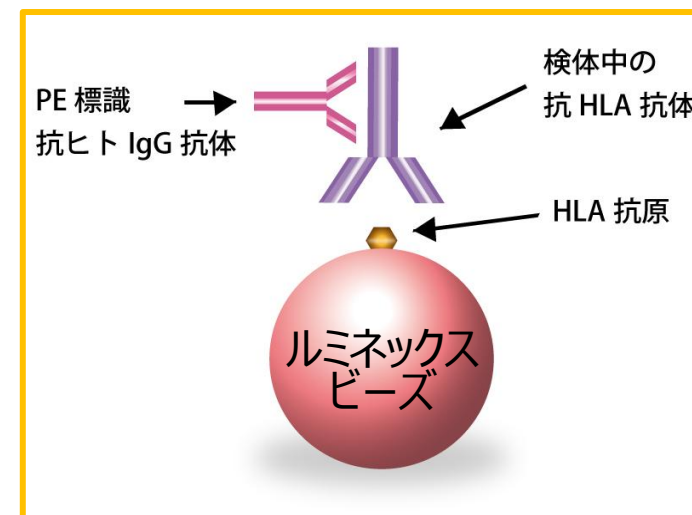
- 全ての検査において、検査方法・試薬の指定はない

- ルミネックスビーズにHLA抗原が結合している
 - 全てのビーズは異なる色で着色され、番号が付番されている
- 検体中の抗HLA抗体とビーズ上のHLA抗原が結合
- 蛍光標識した抗ヒトIgG抗体（二次抗体）と検体中の抗HLA抗体が反応
- 二次抗体が反応したビーズと蛍光強度をLuminex機器で測定



赤、緑の2色のレーザーを搭載

- 赤色：ビーズの番号を識別、数をカウント
- 緑色：PE蛍光強度の測定



試薬の種類

目的	試薬名
スクリーニング検査 抗体の有無の確認	LABScreen Mixed LABScreen PRA
特異性同定試薬 抗体の種類(アレル)の同定	LABScreen Single Antigen LABScreen Single Antigen Supplement LABScreen Single Antigen ExPlex

Mixed、PRA、Single Antigenの違い

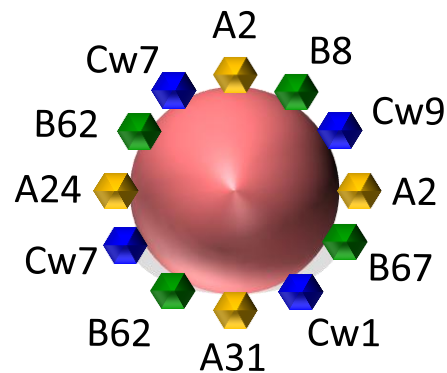
- ビーズに結合している抗原の種類と使用しているビーズの数が異なる

スクリーニング試薬

複数の細胞（パネル）の抽出抗原が結合

Mixed

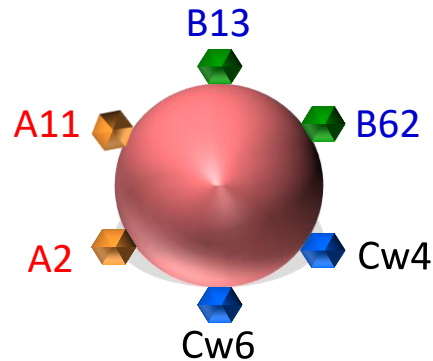
Class I: 3パネル/ビーズ
Class II: 5パネル/ビーズ



ビーズの種類：17種

PRA

1パネル/ビーズ



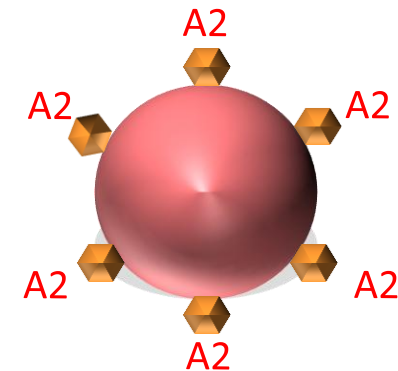
ビーズの種類：56種 (Class I)
35種 (Class II)

特異性同定試薬

1種類の精製抗原が結合

Single Antigen

1抗原/ビーズ

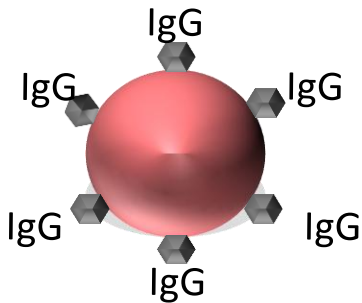
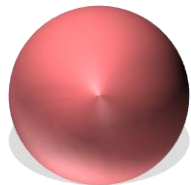


ビーズの種類：97種 (Class I)
95種 (Class II)

*1パネル = 1細胞分（1人分）のハプロタイプ

NCビーズとPCビーズについて

- 全ての試薬に共通して1番ビーズにNC、2番ビーズにPCを含む
- NCビーズ
 - HLA抗原が何も結合していない
 - 検査におけるバックグラウンドの補正
 - 検体に抗HLA抗体以外のタンパク質が含まれない場合は理論上ゼロとなる
- PCビーズ
 - 精製されたヒトIgGが結合しており、二次抗体が必ず結合する
 - 蛍光値が正しく検出されていることが確認できる



Beads ID	Ag. ID	Cell ID	Panel Typing								*Normalized Background Value
			A		B		Bw		C		
1	NC	NC	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
2	PC	PC	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	19569
-	-	G0229	A1	A80	B18	B50	BW6	NA	CW2	CW6	

試薬に含まれる抗原情報



- ロットごとのWorksheetに記載（One Lambda HPよりダウンロード可能）

Mixed
(Lot024)

Beads ID	Ag. ID	Cell ID	Panel Typing								*Normalized Background Value
			A		B		Bw		C		
1	NC	NC	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
2	PC	PC	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	19569
6	Class I - 1	G0229	A1	A80	B18	B50	BW6	NA	CW2	CW6	60
		E5732	A1	A29	B8	B45	BW6	NA	CW6	CW7	
		E41074	A1	A69	B8	B55	BW6	NA	CW1	CW7	
3番号	Class I - 2	細胞ID	A11	A24	B62	抗原情報			CW9	CW4	50
			A2	A24	B54				CW1	CW7	
			A2	A31	B62				CW7	NA	
	3	E12627	A2	A24	B60	B46	BW6	NA	CW1	CW10	

3パネル/ビーズ
(Class I)

ビーズ番号

細胞ID

抗原情報

1パネル/ビーズ

PRA
(Class I Lot020)

Bead ID	Antigen ID	Molecular Typing					
		A		B		C	
1	NC	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
2	PC	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
3	C4966	A*02:01	A*02:07	B*46:01	N/A	C*01:02	N/A
		A*01:01		B*49:01	B*55:01	C*03:03	C*07:01

ビーズ番号

細胞ID

抗原情報

Single Antigen
(Class I Lot014)

Bead ID	Antigen ID	Molecular Typing	Serological Typing	*W6/32	Results
1	NC	NA	N/A	56	
2	PC	NA	N/A	120	
3	rA0101	A*01:01	A1	24360	
			A2	23678	

ビーズ番号

抗原ID

抗原情報

1抗原/ビーズ

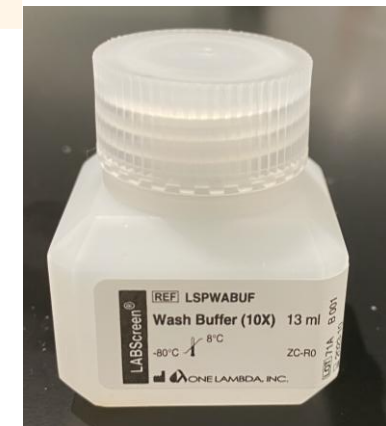


Veritas Corporation

LABScreen試薬の測定方法

キットに含まれる試薬

試薬名	注意点
Beads Bottle (ビーズ試薬)	✓ 開封後は冷蔵・遮光保存 ✓ 再凍結厳禁 ✓ 解凍後3か月以内に使用 ✓ 試薬の種類ごとに異なる
10X Wash Buffer	冷蔵保存 使用時に10倍希釈 全てのLABScreen試薬に共通

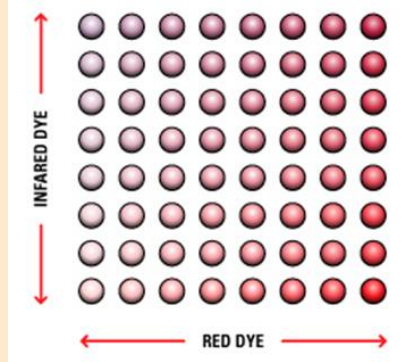
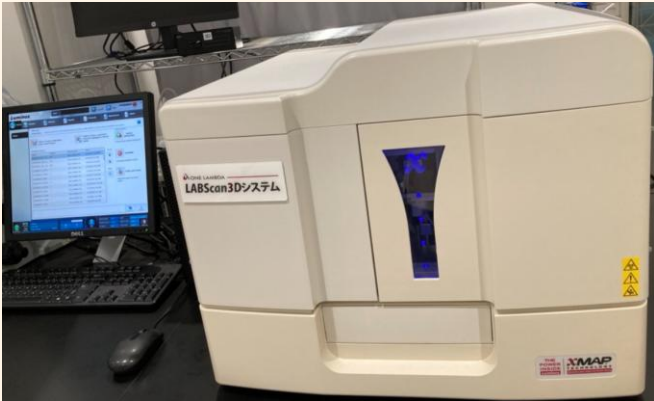
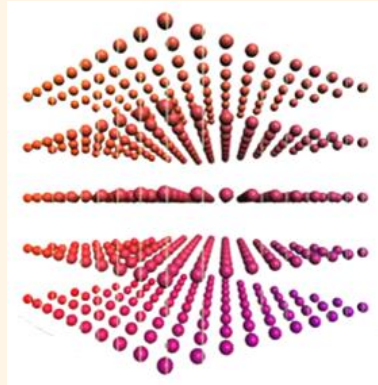


LABScreenキット以外に必要なもの

- PE–Conjugated Goat Anti-Human IgG
 - 二次抗体、蛍光標識されたIgG抗体
 - 開封前は冷蔵保存。滅菌水で希釈後、遮光で冷蔵保存し、6か月以内に使用。
- Negative Control Serum
 - 陰性コントロール血清。初回解凍時に小分け分注、-20℃以下で保存。
- PBS(Ca²⁺、Mg²⁺を含まない)
- 96 wellマイクロプレート (**V底を推奨**)
 - 参考商品：UNIPLATE (white) (7701-3250：Whatman)
- プレートシール
 - 参考商品：SSP Tray Seals (SSPSEA300：One Lambda)
- プレートシェーカー、チューブ遠心機、ボルテックス
- プレート遠心機 (**1,500G回転が必要**)



測定装置（LABScan/医療機器）

名称		検出ができるビーズ数	使用できる試薬
LABScan システム	 (届出番号：13B3X10148000010)	100色（10×10） 	Mixed PRA Single Antigen Single Antigen Supplement (ExPlexは不可)
LABScan 3Dシステム	 (届出番号：13B3X10148000020)	500色（10×10×5） 	全て使用可能

検体の前処理

抗HLA抗体とビーズの反応

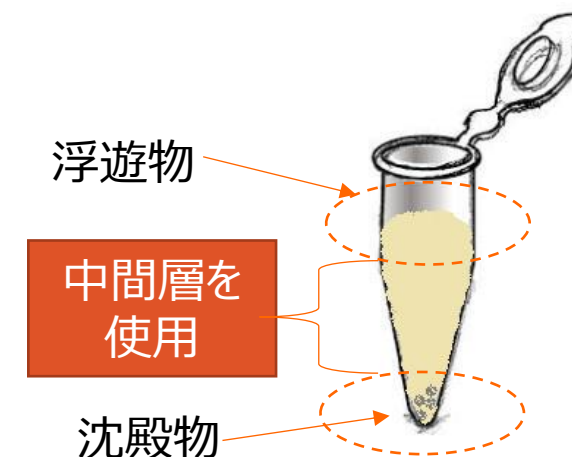
洗浄（3回）

二次抗体の結合、洗浄（2回）

LABScanで測定

検体の前処理

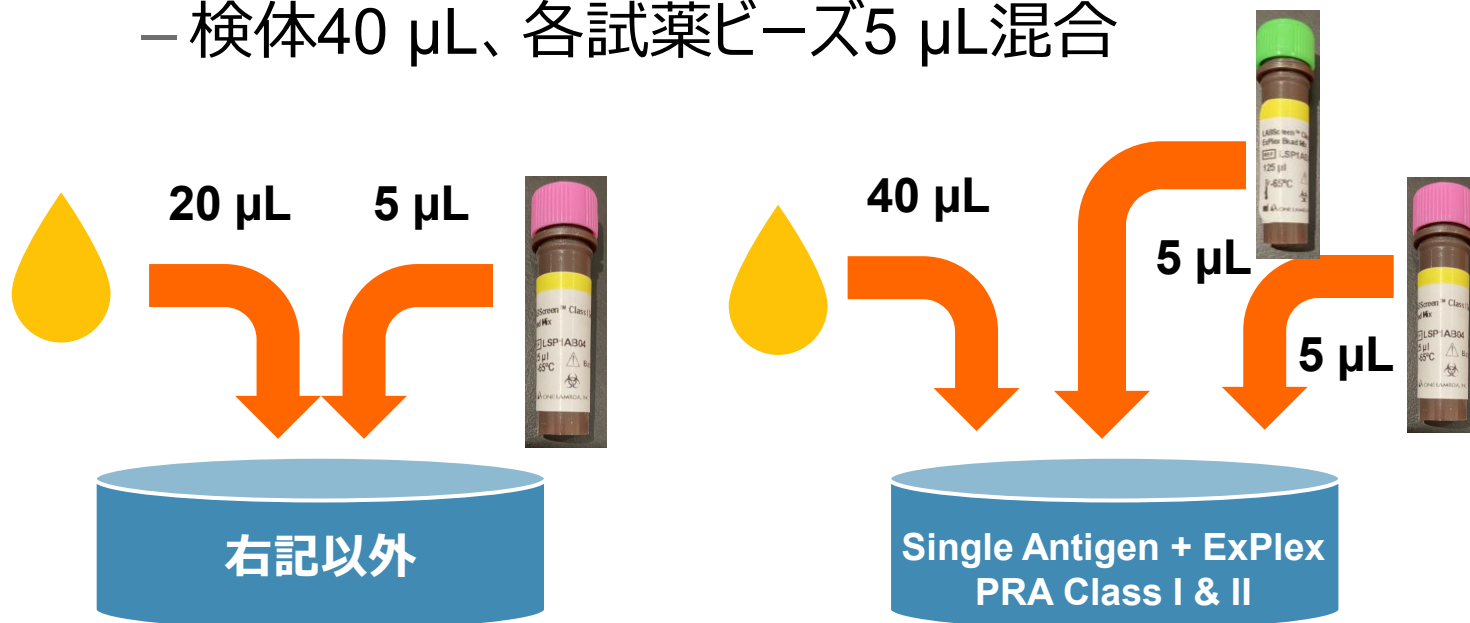
- 検体は血清を推奨（血漿の場合はACDまたはK-EDTA添加）
- 「凍結融解＋遠心」は必ず実施
 - 凍結後、室温で解凍、転倒混和
 - 遠心条件：8,000~10,000G、10分以上
 - 中間層より検体を採取する
- 必要に応じて他の前処理を追加する



方法（太字はOne Lambda推奨）	目的	結果に与える影響
Adsorb Out 、FBS、超高速遠心	非特異タンパクを取り除く	NCビーズの値を下げる
PreSorb	非特異タンパクを取り除く	抗原ビーズの非特異反応を除去 NCビーズの値が下がる検体もある
EDTA	補体活性の影響を取り除く	PCビーズの値を上げる
DTT	IgMを取り除く	PCビーズの値を上げる

抗HLA抗体とビーズの反応-1

- 1番最初のWellに陰性コントロール血清 20 μ L、2番目以降のWellに検体20 μ Lを分注
 - 陰性コントロール血清は試薬ごとに必要
- 各ウェルにビーズ試薬を5 μ L添加
- ※Single Antigen + Explex、またはPRA Class I+II の場合
 - 検体40 μ L、各試薬ビーズ5 μ L混合



- ビーズ試薬はボルテックス & ピペッティングでしっかり混合する

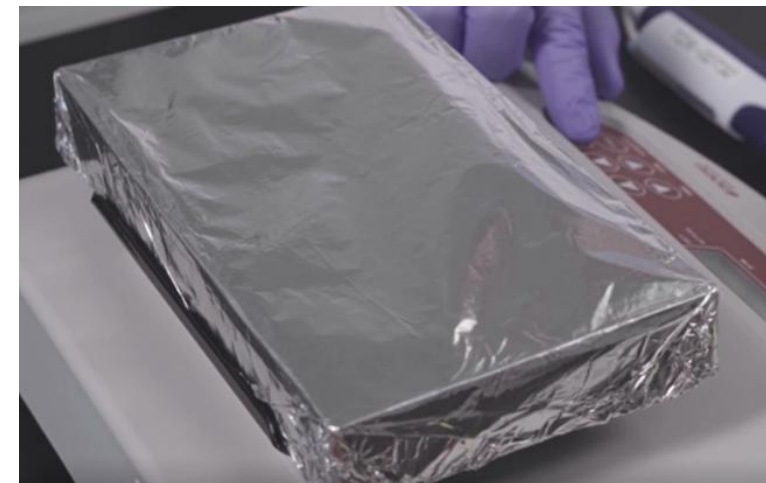
抗HLA抗体とビーズの反応-2

- プレートにシールを貼り、遮光する
- 室温（20-25℃）で振とうしながら30分間反応

反応時間は正確に

- 反応中に10 x Wash bufferを精製水で希釈する
 - 必要量：1ウェルあたり約1.1mL

洗浄液の作り置きはしない
常に同じ条件の洗浄溶液を使用

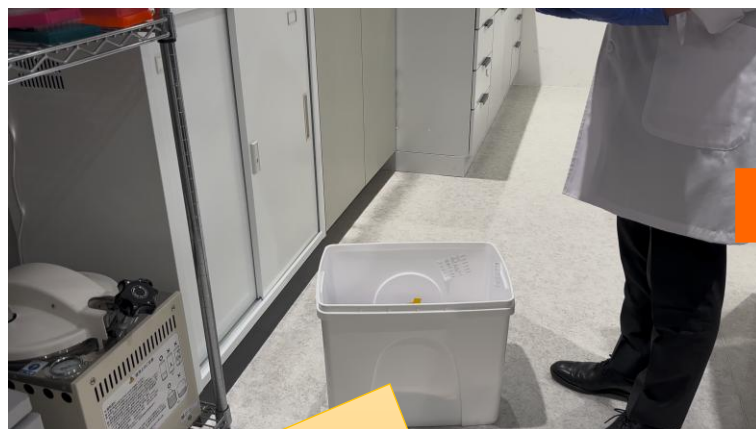


社内データ：冷蔵と室温の洗浄液で比較した結果、室温の方がnMFI、NBG Ratio共に高い
→洗浄液の温度が測定結果に影響を与える

洗浄（3回）

- 洗浄液を加える(1回目は150 μ L、2回目以降は200 μ Lを加える)
- 遠心（1,300G 5分、または1,500G 3分）
- フリッキング→タッピング→ドライボルテックス（3~5秒）
- 3回繰り返す

フリッキング



フリッキングは真下に1回のみ
終了後トレーは下向きのままにする

タッピング



数回キムタオルに押し付ける
（強く叩きつけない）

ドライボルテックス



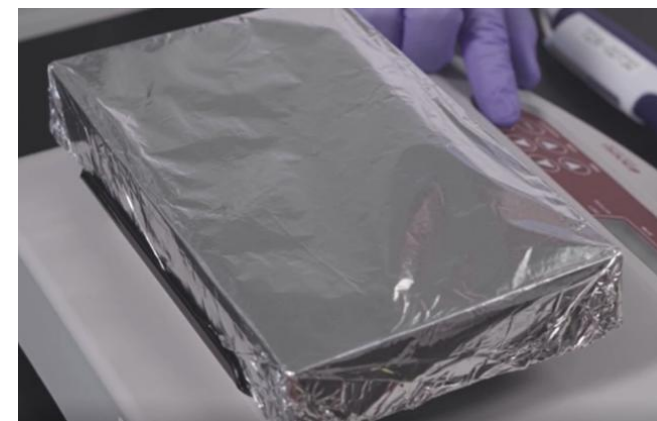
ドライボルテックスの時間は
常に一定に

二次抗体の結合

- 二次抗体を洗浄液で100倍希釈
 - 3回目の洗浄時に調整をする
- 各ウェルに100 μ Lずつ添加
- プレートにシールを貼り、アルミホイル等で遮光する
- 室温（20-25℃）で振とうしながら30分間反応



二次抗体の希釈液は作り置きはしない
希釈した後は使用まで遮光



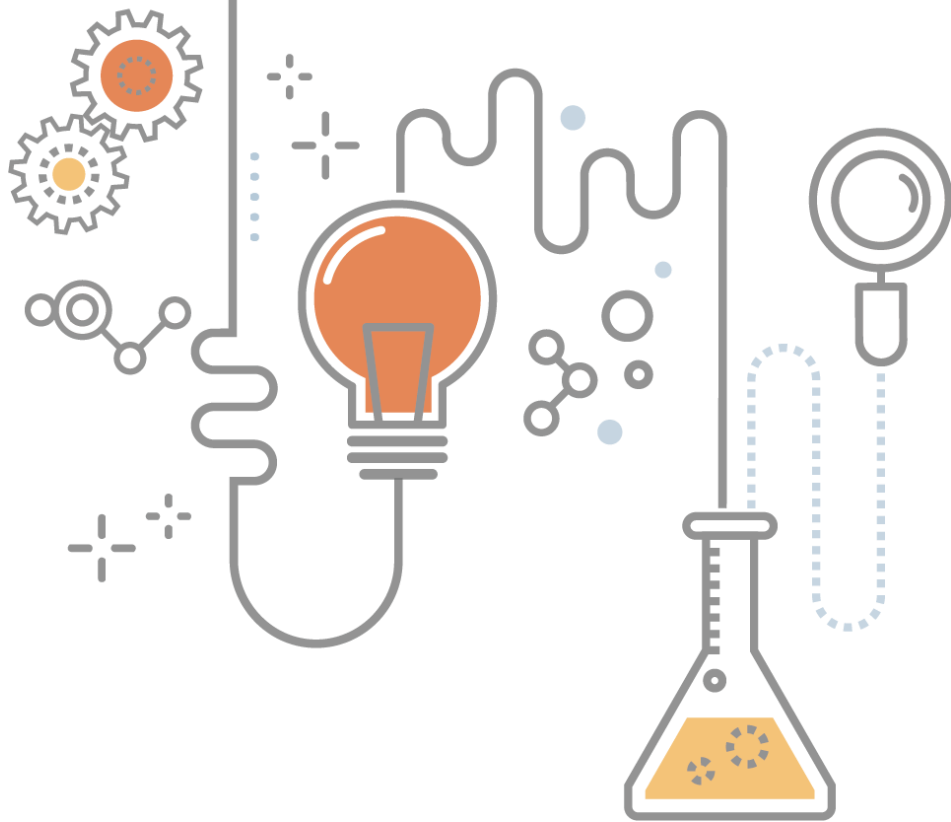
洗浄（3回）

- 1回目は洗浄液を加えずに遠心(1,300G 5分または1,500G 3分)
- フリッキング→タッピング→ドライボルテックス
- 2回目、3回目は洗浄液を200 μ L加えて遠心
- フリッキング→タッピング→ドライボルテックス
- 1 x PBSを各ウェルに80 μ Lずつ添加しLABScanで測定

LABScanによる測定

- 測定のためには、テンプレートファイルが必要
- 試薬の種類、ロットごとにテンプレートファイルが異なるため注意
 - おもな製品のテンプレートファイルは弊社ウェブページよりダウンロード可能
 - https://www.veritastk.co.jp/hla/soft_file.html
 - 1ウェルで複数試薬を使用する際は各製品のロットを確認
- xPONENTでバッチファイルを作成して測定
 - 複数試薬を測定する場合は試薬ごとにバッチを作成し、マルチバッチを作成
- HLA Fusionに読み込んで解析
- 検体調整後、すぐに測定が出来ない場合
 - プレートにシールを貼り遮光、冷蔵で24時間まで保存可能
 - 測定前に、ピペティングで混合する





ご清聴ありがとうございました。