



HLAの世界へようこそ！ Vol.2

第3部 よくある質問

2025年11月26日

株式会社ベリタス

Q1. それぞれの前処理の効果を教えてください①

前処理法	原理	効果	備考
凍結融解	不純物（非特異タンパクなど）の除去、補体活性の阻害	NCビーズ値（バックグラウンド）の低下	必須
遠心・超遠心	不純物（非特異タンパクなど）の除去		遠心は必須
FBS	不純物（非特異タンパク）の除去		
Adsorb Out	ラテックス（ルミネックスビーズ）に対する抗体を吸着		メーカー推奨 （繰り返しは3回まで）
Presorb	ラテックス（ルミネックスビーズ）に対する抗体を吸着 HLA抗原以外の抗体の除去	・NCビーズ値（バックグラウンド）の低下 ・抗原ビーズの非特異反応（Cw、DR、DQ）の低下	マグネットを使用

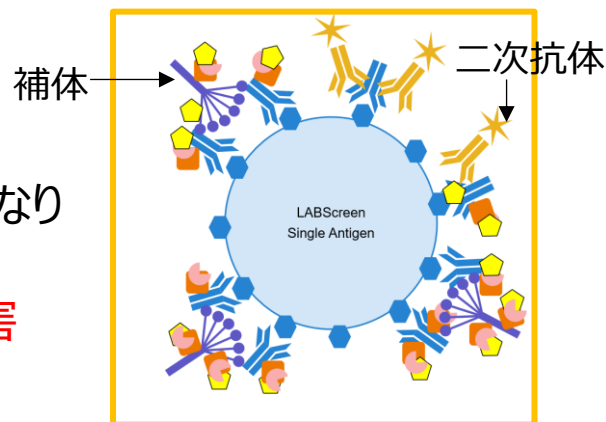
※Adsorb OutとPresorbの違いはこの後のスライドで紹介

Q1. それぞれの前処理の効果を教えてください②

前処理法	原理	効果	備考
EDTA	補体経路の阻害による補体の不活化 →二次抗体の結合が阻害されることを回避	PCビーズ値の上昇 抗原ビーズ値の上昇	メーカー推奨
DTT	IgM抗体の不活化 →二次抗体の結合が阻害されることを回避		
希釈	影響因子の濃度低下		PBS等を使用

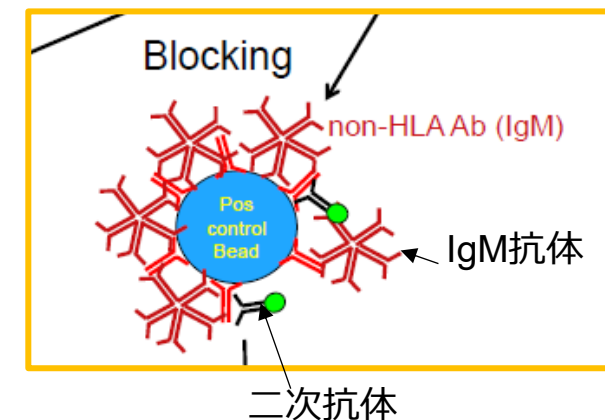
EDTA処理

補体活性が高い場合：
抗HLA抗体が補体と結合
⇒二次抗体が結合できなくなり
蛍光値が低下
EDTAで補体活性化を阻害



DTT処理

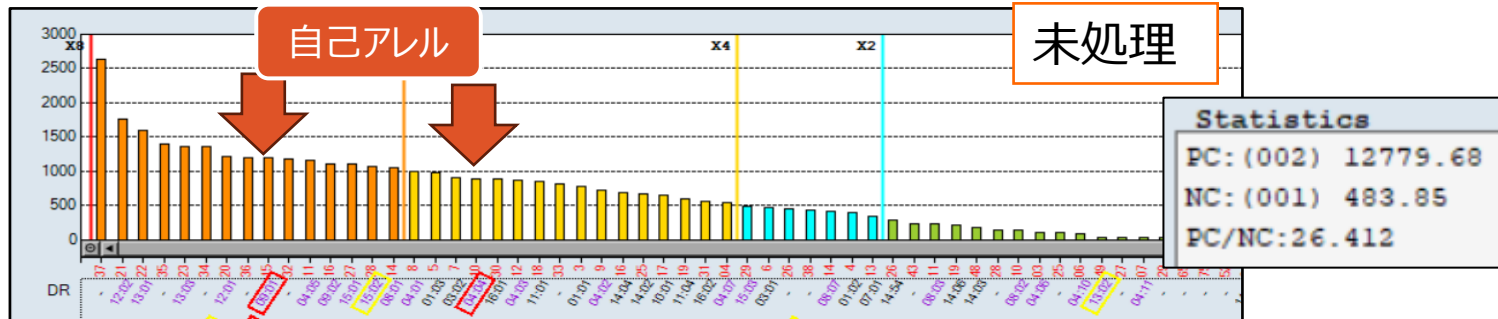
IgM抗体がある場合：
ビーズにIgM抗体が結合
⇒二次抗体が結合できなくなり
蛍光値が低下
DTTでIgMを不活化



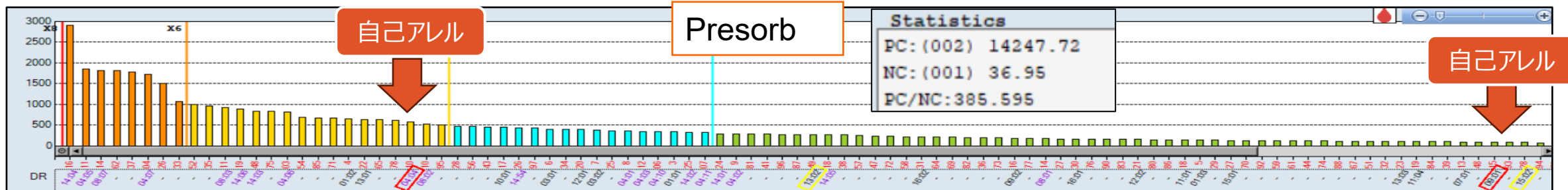
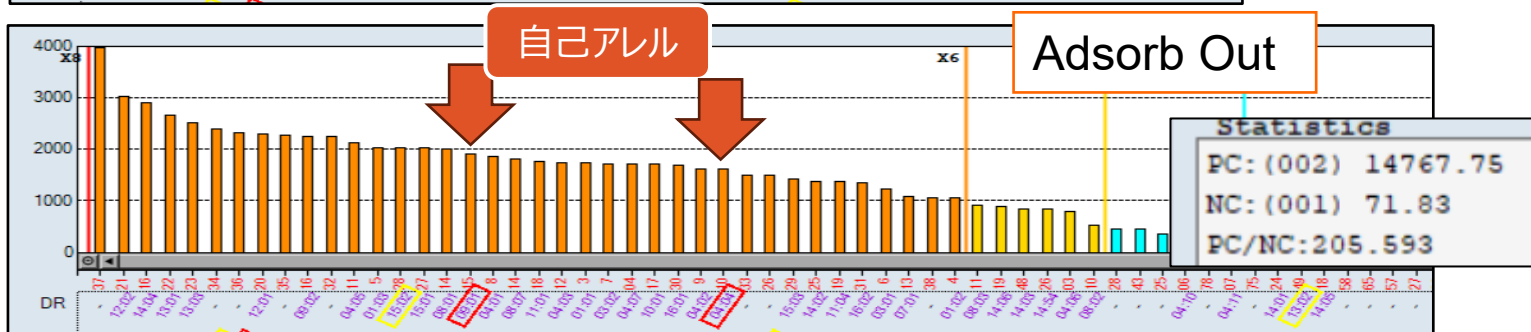
※どの前処理を行っても効果が低い検体もあるので注意

※Adsorb OutとPresorbの違い

- PresorbはNCビーズ値の低下 + 抗原ビーズの非特異反応を低減する効果
 - Cw1/12/15、DR、非特異のDQ



＜DRの非特異反応の例＞
Presorb処理で自己アレル
(DRB1*04:04, DRB1*09:01)
を含むDRビーズの反応が低下



Q2. LABScreen測定に影響があるものは何でしょうか？

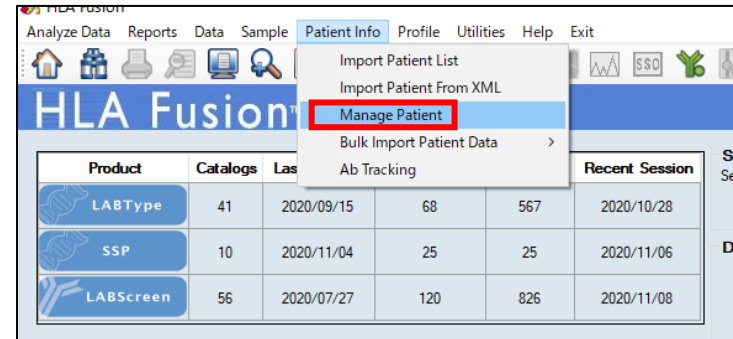
- 血清中の不純物
 - 非特異タンパク、抗HLA抗体以外の抗体、浮遊物など
 - 適切な前処理を行ってください
- 血漿交換や透析
 - NCビーズの値が極端に低くなる場合があります
 - 検査結果自体に大きな影響はありません
- 免疫抑制剤

薬剤	影響	対処法
サイモグロブリン	偽陽性	Dynabeadsによるサイモグロブリンの除去
IVIg	バックグラウンドの上昇 (例：全ビーズのnMFIが増加)	IVIg投与直後の測定を避ける

Q3. DSAを表示するにはどうすればいいですか？ ①

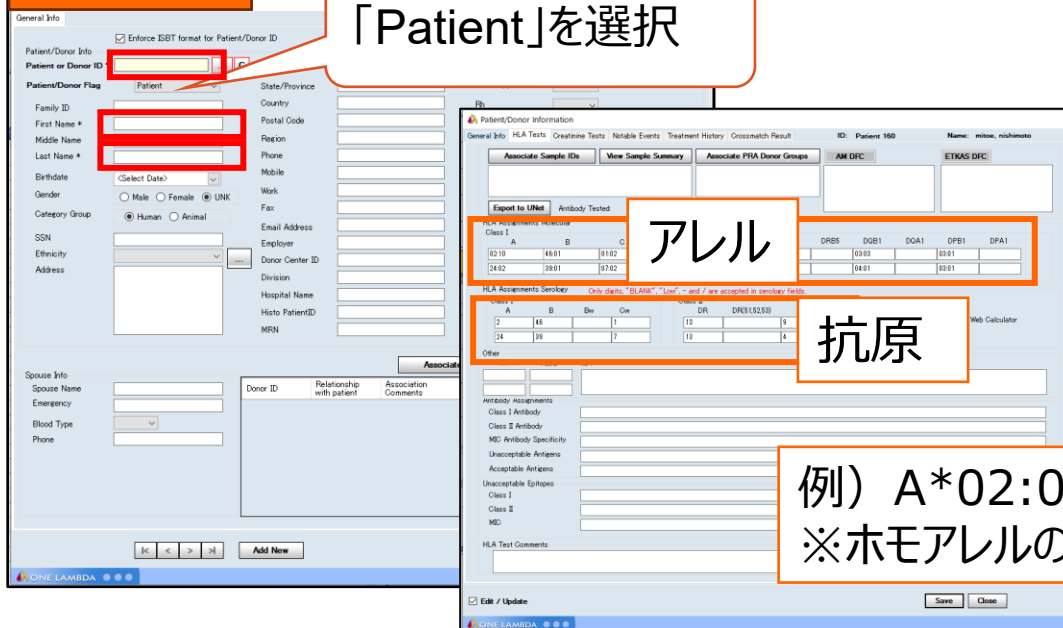
下記操作で表示できます

① Patient Info > Manage Patient



② 患者・ドナー情報を登録

患者情報

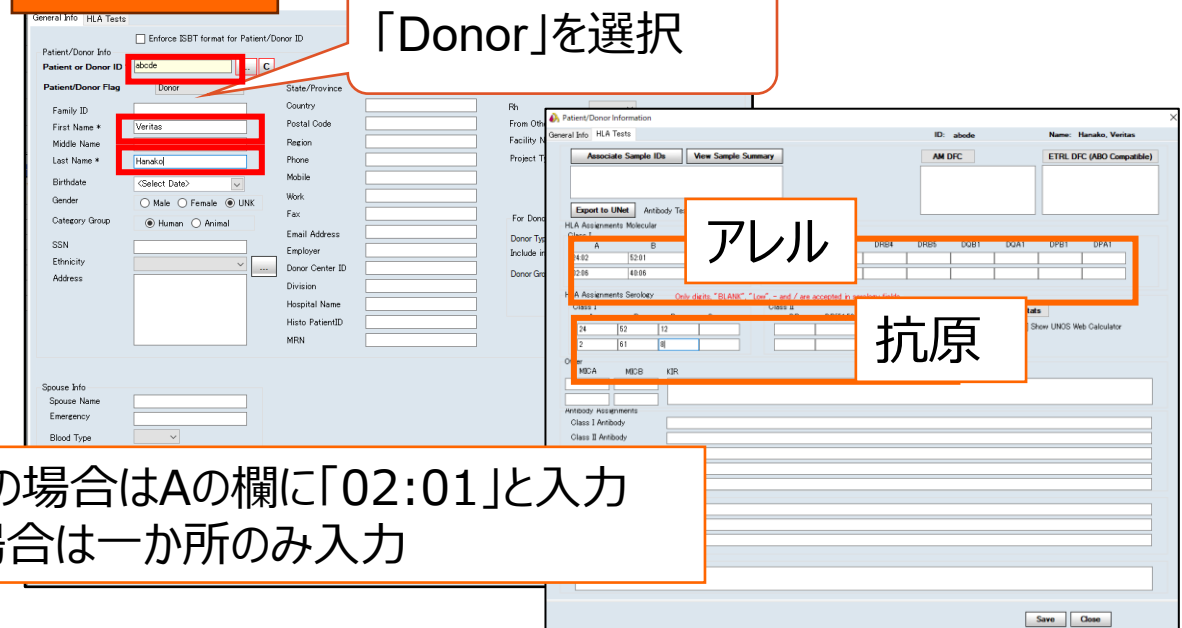


「Patient」を選択

アレル

抗原

ドナー情報



「Donor」を選択

アレル

抗原

例) A*02:01の場合はAの欄に「02:01」と入力
※ホモアレルの場合は一か所のみ入力

Q3. DSAを表示するにはどうすればいいですか？②

③患者情報にドナー情報を紐づけ

Associate Donor IDs

ドナーIDを選択し、右側に移動してOKをクリック

ドナーIDが表示⇒Save

④検体データに患者情報を紐づけ

検体データの患者ボタンをクリック

患者データを読み出し

Editにチェックを入れSave

患者名が検体データに表示

※csvファイルでまとめてインポートも可能です

Patient/Donor情報をまとめてインポートすることができます

- Associated DonorIDsにDonor IDを入力するとPatient情報とDonor情報の紐づけができます（②③が同時にできます）

	A	B	C	D	E	F	G	AF	AG	AH	AI	AJ
1	PatientID	CategoryG	FamilyID	FirstName	MiddleName	LastName	Ssn	RhBloodT	PatientDo	Associate	Associated DonorIDs	HLA1
2	Patient 1			John		Cha			Patient		Donor 1, Donor 2, Donor 3, Donor 4, Donor 5	A*03:0
3	Patient 2			Michael		Maz			Patient		Donor 1, Donor 2, Donor 3, Donor 4, Donor 5	A*11:0
4	Donor 1			Peter		Brescia			Donor			A*34:0
5	Donor 2			Ugene		Govender			Donor			A*23:1
6	Donor 3			Harry		Lopez			Donor			A*29:0
7	Donor 4			Katia		Goldmann			Donor			A*03:0
8												A*01:0
9												A*11:0
10												A*03:0

ID

名前

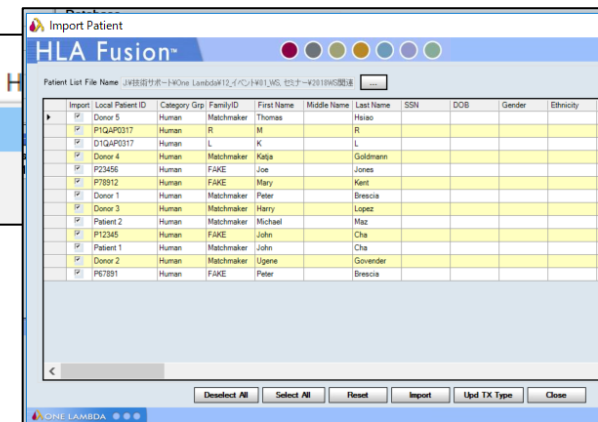
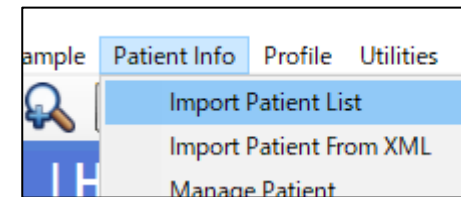
Donor/
Patient

Donor IDの紐づけ

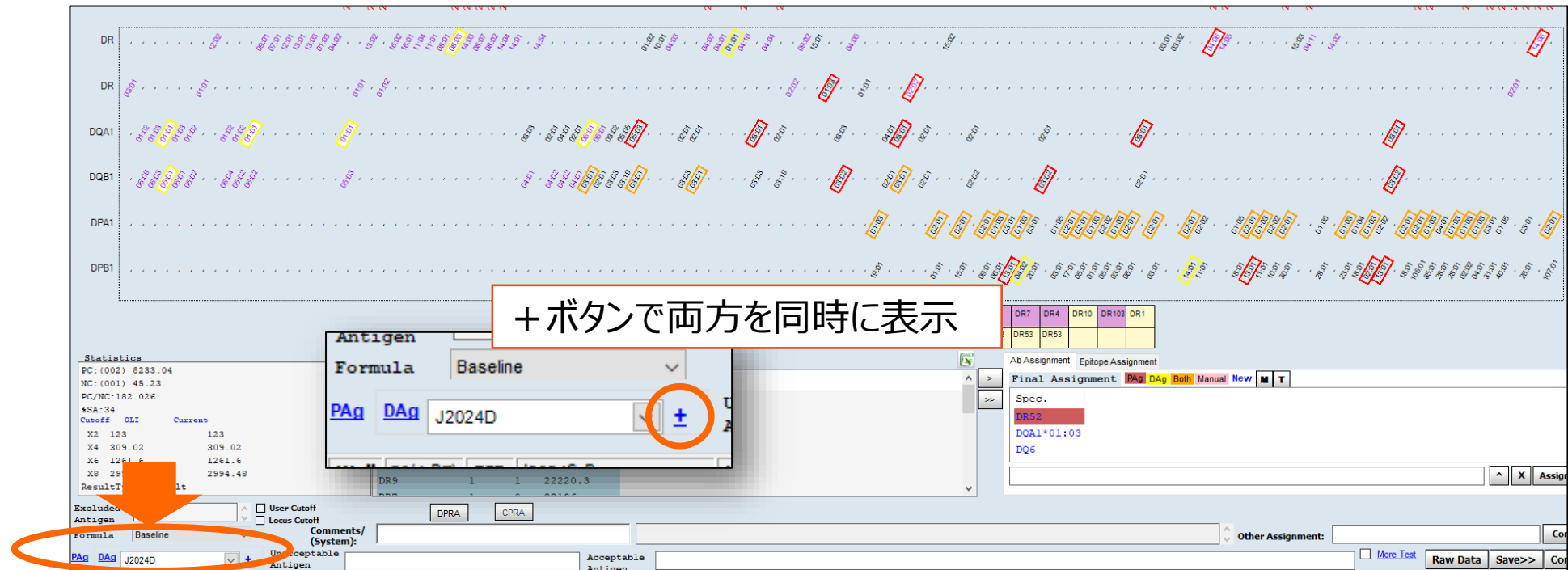
ひな型をご希望の方は
ご連絡ください

• インポート方法

- Patient Info > Import Patient List
- 「...」からインポートするファイルを選択し開く
- Importをクリックしてインポート



Q3. DSAを表示するにはどうすればいいですか？③



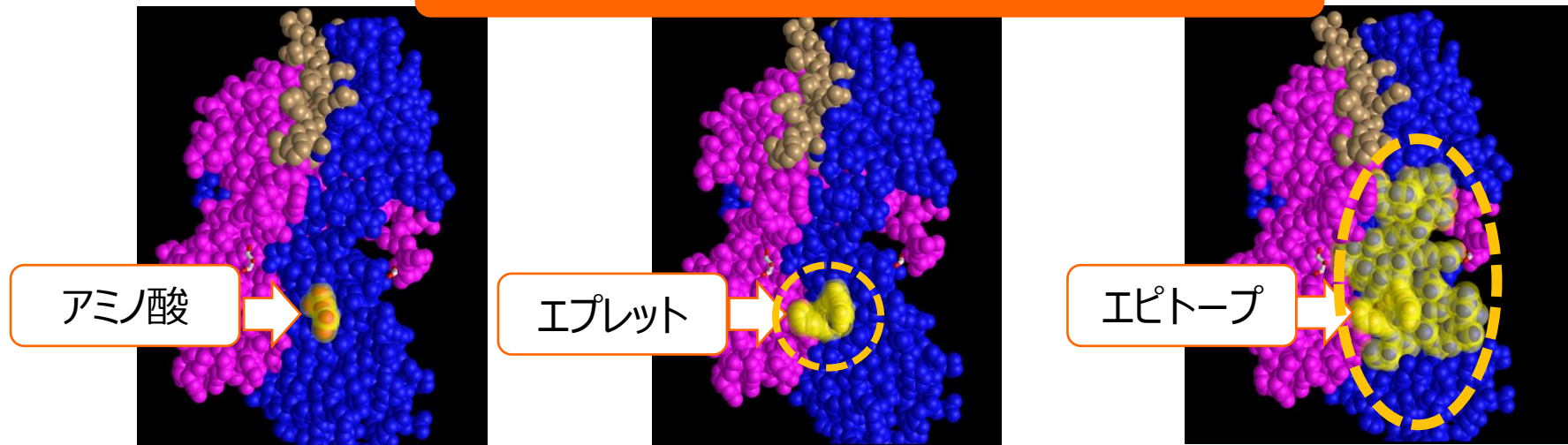
- PAg⇒患者アレル（自己抗体） 赤色
- DAg⇒ドナーアレル（DSA） 黄色
- 患者・ドナー共通アレルはオレンジ

※白抜き：Final Assignmentに保存したアレル

Q4. エプレットとエピトープの違いはなんですか？

- エプレット (Eplet)
 - 半径3Å (オームストロング) 程度の範囲内のアミノ酸配列で、**抗体が認識するコアの部位**のこと
 - これまでの「エピトープ解析」は一般的にエプレットが対象
- エピトープ (Epitope)
 - エプレットを含めて**抗体が結合する部位**のこと

アミノ酸、エピトープ、エプレットの違い (模式図)



Q5. エプレットと抗原抗体反応について教えてください

- 抗HLA抗体はHLA抗原の特異的な構造（= **エプレット**）に対して産生される
- 抗体は1つの抗原のみに結合するのではない
 - 共通エプレットを持つ複数の抗原に結合することがある

抗原とエプレット、抗HLA抗体反応の模式図



Q6. エプレットを活用した解析について教えてください

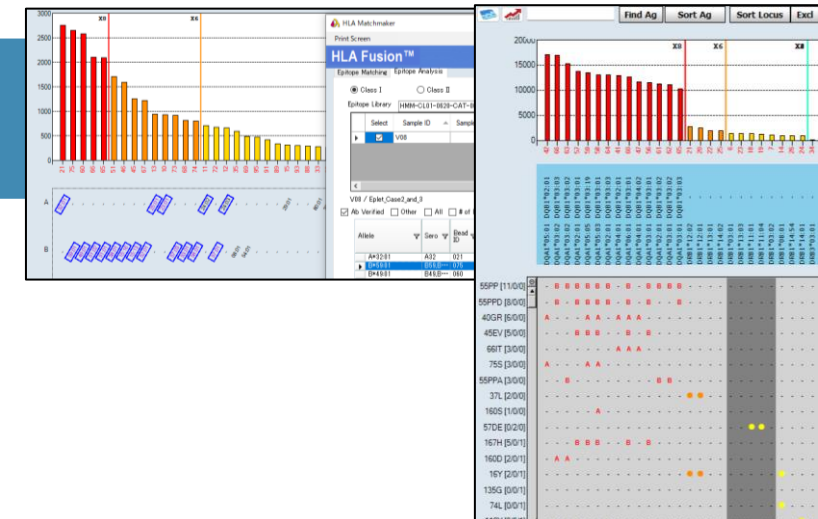
エプレットマッチング

- ドナーと患者のHLAアレルを比較し、エプレットレベルでのミスマッチをカウント
- 拒絶反応との関連性を評価

Patient	Donor	A Mismatch AbVerified	A # Mismatch	B Mismatch AbVerified	B # Mismatch	C Mismatch AbVerified	C # Mismatch
Tx386R A*02:06, A*02:07, B*15:01, B*37:01, C*03:03, C*06:02	Tx386D A*02:06, A*31:01, B*15:01, B*51:01, C*08:01, C*14:02	56R, 62QE, 65RNA, 138MI Alleles contributing to mismatch: A*31:01 (56R, 62QE, 65RNA, 138MI)	4	80I Alleles contributing to mismatch: B*51:01 (80I)	1	177KT Alleles contributing to mismatch: C*08:01 (177KT)	1

エプレット解析

- 抗体検査結果からどのエプレットに対する抗体が存在するかを推定
- DSAがカットオフ付近にある場合の反応性の予測
- 試薬にDSAのビーズが含まれない場合の反応性の予測

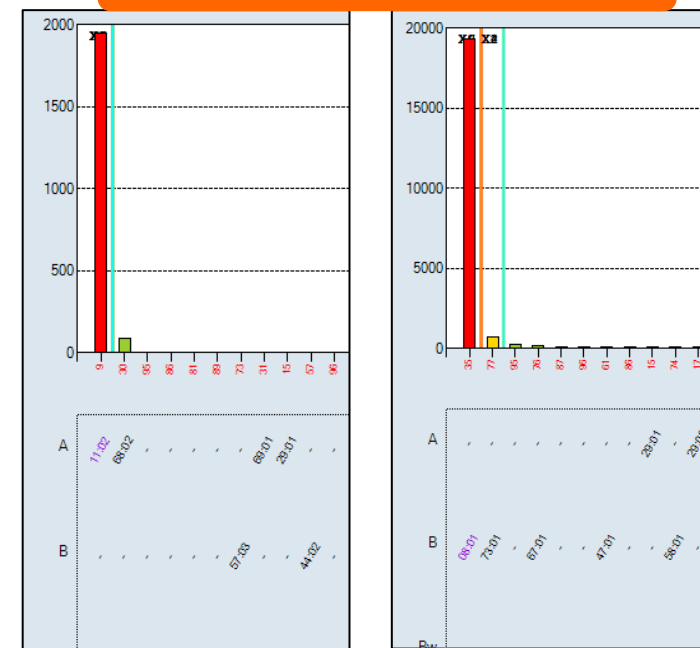


どちらもHLA Fusionを使用して実施可能です。マニュアルなど詳細は弊社にお問い合わせください

Q9. 自然抗体とはなんですか？

- HLA抗原以外（ウイルスや食物など）に対する抗体のことです
- HLA抗原と共通するエプレットをもつ場合があります
 - Single Antigenビーズ表面に変性抗原を含むことがあり、自然抗体が反応する場合がある

自然抗体と思われる反応の例



自然抗体



検索

※弊社用語集で自然抗体との反応が示されたアレルのリストが参照できます

細胞表面で発現しているHLA抗原

変性抗原の例

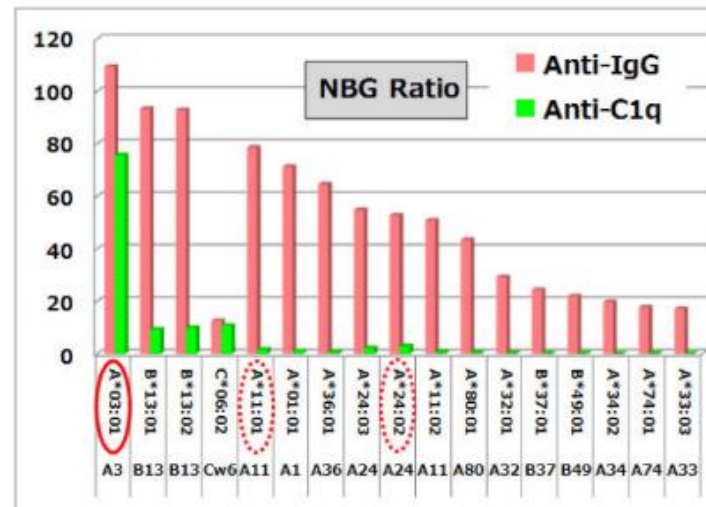
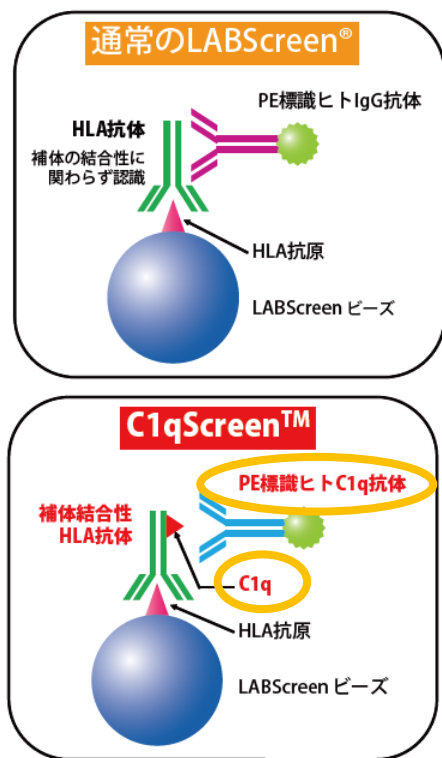
- 細胞内にある場所が露出している
- ペプチドやβ2Mが欠損している

ペプチド

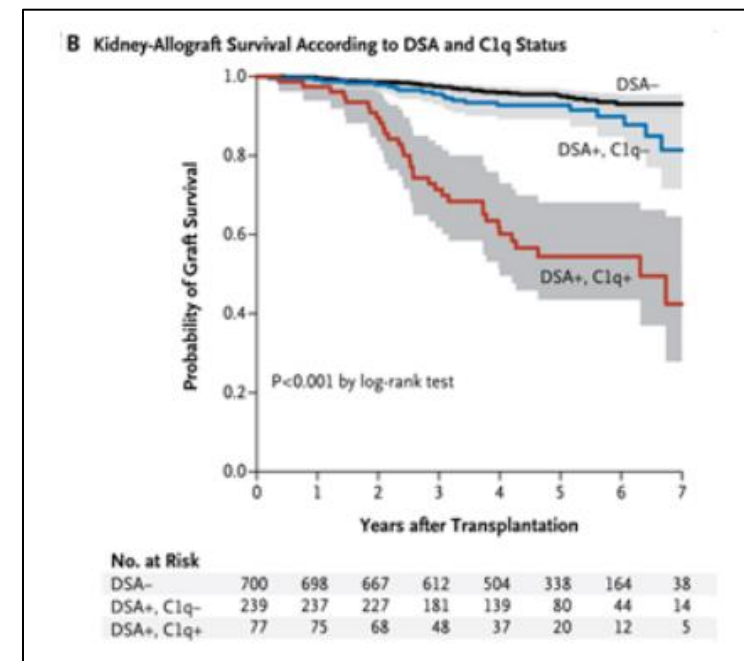
β2M

Q10. C1qScreen試薬について教えてください

- 補体依存性抗HLA抗体を検出する試薬です
 - LABScreenビーズと組み合わせて使用
 - 補体成分C1qと結合した抗HLA抗体のみを蛍光標識して検出
 - C1q陽性DSAの存在が臓器廃絶リスクの指標の一つになりうる可能性



HLA&Transplantationレター vol.5より抜粋



HLA&Transplantationレター vol.12より抜粋

測定や解析でお困りのことがあれば
お気軽にご相談ください

