

C1qScreen 簡易マニュアル

注：この説明書は、英文添付文書の簡易訳です。英文マニュアルも必ずご確認ください。

● 製品：

商品コード	製品名	容量	保存温度	輸送温度
C1Q	C1qScreen	25 テスト	超冷凍 (-65°C)	超冷凍 (-65°C)

● 使用目的：

補体依存性抗 HLA 抗体を検出するための研究用試薬です。別途 LABScreen Single Antigen、測定機器 LABScan システム (Luminex) 等が必要となります。

● キット構成：

商品コード	製品名	容量	保存温度
PEPC1Q	C1q	25 µL	超冷凍 (-65°C) / 解凍後 -20°C 保存 (-20°C では凍らず液体のままです) 解凍後は 2 ヶ月以内に使用
PEPAC1Q	PE-labeled anti-C1q	125 µL	超冷凍 (-65°C) / 解凍後 2-8°C 遮光保存 (再凍結不可) 解凍後は 2 ヶ月以内に使用
PEPC1QPCB	C1q positive control beads	12.5 µL	超冷凍 (-65°C) / 解凍後 2-8°C 遮光保存 (再凍結不可) 解凍後は 2 ヶ月以内に使用
HEPBUF	HEPES buffer	100 µL	超冷凍 (-65°C) / 解凍後 2-8°C 保存 (再凍結不可) 解凍後は 2 ヶ月以内に使用

*上記の各試薬の単品販売はございません。

● キット以外に必要な試薬・機器・器具：

- (ア) 測定機器：LABScan システム/LABScan3D システム、その他周辺試薬
- (イ) 測定用プレート：UNIPLATE (Whatman 7701-3250 (white)) を推奨
- (ウ) トレーシール (SSPSEA300)
- (エ) その他機器：プレートシェーカー、ボルテックス、プレート遠心機 (メーカー不問)
- (オ) LABScreen 製品：LABScreen Single Antigen Class I (LS1A04)、Class II (LS2A01) 等
- (カ) PBS (-)：pH7.4、Ca²⁺、Mg²⁺を含まないもの。

● コントロール血清

商品コード	製品名	容量	保存温度
C1QS-NC	C1qScreen Negative Control Serum	100 µL	超冷凍 (-65°C)
C1QS-PC1	C1qScreen Class I Positive Control	100 µL	超冷凍 (-65°C)
C1QS-PC2	C1qScreen Class II Positive Control	100 µL	超冷凍 (-65°C)

カットオフの検討には、陰性コントロール血清 C1QS-NC 及び予め特異性の分かっている陽性サンプルをご利用ください。陽性コントロールは、二次抗体 (PEPAC1Q) が問題ない事を確認するために使用します。

● サンプルの種類：

- ヒト血清
- 血漿及び溶血した血液は使用しないでください。

● 操作上の注意点：

- 補体 (C1q：PEPC1Q) は温度の影響を受けて失活しやすい成分ですので、取り扱いには以下の点に十分注意してください。
 - (ア) 使用直前まで超冷凍で保存しておきます。使用する直前に C1q (PEPC1Q) を室温で 5-10 分程度融解させます。
 - (イ) およそ融解している事を確認したら氷上に置き (多少、氷の粒が残っている程度)、使用する分量を計算して (分量の計さんは、操作方法 2 (イ) を参照)、空のチューブに分注します。残りの使用しない C1q は、適当な容量に小分け分注します。

C1qScreen 簡易マニュアル

● 操作方法：

1. 血清の非動化

(ア) 1.5 mL チューブに 40 μ L の血清を加え、56 度 30 分でインキュベートします。

(イ) 8000-10000g で 10 分間遠心し、上清 30 μ L を別の新しいチューブに移し、氷上に置いておきます。

2. 多検体テストする場合（少数検体の場合はスキップ）：全て 10% 余分に予め調整します。

調整後の各溶液は氷上に置いておきます。

(ア) LABScreen ビーズに Positive Control ビーズを 10:1 の割合で加えます。

テスト数	LABScreen ビーズ (μ L)	Positive Control ビーズ (μ L)	計 (μ L)
4	22	2.2	24.2
5	27.5	2.75	30.25
6	33.3	3.33	36.63
...
N	5.5 x N	0.55 x N	6.05 x N

(イ) 溶かしておいた C1q (PEPC1Q) を HEPES Buffer で 5 倍希釈します。必要量は下記の表を参照してください。希釈後は氷上に置いておきます。

テスト数	C1q (μ L)	HEPES Buffer (μ L)	計 (μ L)
4	4.4	17.6	22
5	5.5	22	27.5
6	6.6	26.4	33
...
N	1.1 x N	4.4 x N	5.5 N

3. 血清と C1q の混合

(ア) 非動化した各血清サンプルを各ウェルに 5 μ L 分注します。

* オプションで、陰性/陽性コントロール血清を使用することも可能です。(1 ページ参照) なお、コントロール血清は、非動化処理は必要ありません。

(イ) 2. (イ) で予め 5 倍希釈した C1q を各ウェルに 5 μ L 分注します。(少数検体の場合は、各ウェルに HEPES Buffer を 4 μ L、C1q を 1 μ L ずつそれぞれ加えてください。)

4. 2 (ア) で調整したビーズミックスを 5 μ L ずつ各ウェルに追加します。(少数検体の場合は、LABScreen ビーズ 4.5 μ L と、Positive Control ビーズ 0.5 μ L を各ウェルにそれぞれ追加します。)

5. シールを張ってボルテックスし、室温で 20 分間、振とうしながら遮光インキュベートします。

6. PE conjugated anti-C1q (PEPAC1Q) を各ウェルに 5 μ L 加えトレーシールをし、ボルテックスします。(洗浄せずに、二次抗体を直接加えます。また、二次抗体は希釈しません。)

7. 室温で 20 分間、振とうしながら遮光インキュベートします。

8. トレーシールをはがし、80 μ L の PBS を各ウェルに入れ、1300g で 5 分間 又は 1500g で 3 分間遠心します。

9. フリッキングし、上清を除去します。(ドライボルテックスは行いません。)

10. 80 μ L の PBS を各ウェルに加え、しっかりとピペティングで攪拌します。

11. その後、LABScan システム (Luminex) で蛍光値を測定します。

12. 得られた測定データ (バッチ名.csv ファイル) は、HLA Fusion で測定します。



C1qScreen 簡易マニュアル

● LABScan システム (Luminex) による測定、及び HLA Fusion による解析

- 測定用テンプレートファイル (プロトコルファイル)
お使いの機械、測定ソフト、LABScreen の Lot に併せ選ぶファイルが異なります。該当ロットのファイルを One Lambda の公式ウェブサイトよりダウンロードしてください。

測定機械	測定ソフト	Template ファイルの種類/ファイル Title
LABScan システム (Luminex100/200)	xPONENT 3.1	.lxt ファイル/ (製品名) (Lot) - Luminex Template v3.1
LABScan システム (Luminex100/200)	xPONENT 4.2 または 4.3	.lxt ファイル/ (製品名) (Lot) - Luminex Template v3.1 LABScan システムはあくまで.lxt ファイルのみを認識しますので、インポートの際の Warning は無視して構いません。
LABScan3D システム (FlexMap3D)	xPONENT 4.2 または 4.3	.lxt2 ファイル/ (製品名) (Lot) Luminex Template v4.2

- HLA Fusion 解析用のカタログファイル
 - ① One Lambda の公式ウェブサイトよりダウンロードしてください。
Product and Service →LABScreen→LABScreen Single Antigen で Software Analysis Files を選択します。
 - ② Product and Service →LABScreen→LABScreen Single Antigen Supplement で Software Analysis Files を選択します。
 - ③ 以下のようなファイルが出てきます。

Title	Type	Lot/Version	Publish Date	Download
LABScreen Single Antigen HLA Class I - Combi, Lot 013 - CQ17NS9 - HLA Catalog File	Software Analysis Files	013	08/11/2021	
LABScreen Single Antigen HLA Class I - Combi, Lot 012 - CQ17NS9 - HLA Catalog File	Software Analysis Files	012	08/11/2021	

Title は

『製品名 + クラス + LABScreen の Lot + C1q のロット + C1q ネガコン血清のロット』の順に並んでおります。枠内のファイルは
・ LABScreen Single Antigen クラス I Lot013
・ C1q Screen Lot17
・ C1q Screen ネガティブコントロール血清 Lot9
を組み合わせたものです。

株式会社ベリタス

〒105-0013 東京都港区浜松町1丁目10-14 住友東新橋ビル3号館5階

TEL: 03-5776-0078 (代) FAX: 03-5776-0076

技術的なお問い合わせ: TEL 03-5776-0040 E-mail tech_support@veritastk.co.jp

C1qScreen 簡易マニュアル(ExPlex 用)

注：この説明書は、英文添付文書の簡易訳です。英文マニュアルも必ずご確認ください。

● 製品：

商品コード	製品名	容量	保存温度	輸送温度
C1Q	C1qScreen	25 テスト	超冷凍 (-65°C)	超冷凍 (-65°C)

● 使用目的：

補体依存性抗 HLA 抗体を検出するための研究用試薬です。別途 LABScreen Single Antigen、LABScreen Single Antigen ExPlex、測定機器 LABScan3D システム (Luminex) 等が必要となります。

● キット構成：

商品コード	製品名	容量	保存温度
PEPC1Q	C1q	25 µL	超冷凍 (-65°C) / 解凍後 -20°C 保存 (-20°C では凍らず液体のままです) 解凍後は 2 ヶ月以内に使用
PEPAC1Q	PE-labeled anti-C1q	125 µL	超冷凍 (-65°C) / 解凍後 2-8°C 遮光保存 (再凍結不可) 解凍後は 2 ヶ月以内に使用
PEPC1QPCB	C1q positive control beads	12.5 µL	超冷凍 (-65°C) / 解凍後 2-8°C 遮光保存 (再凍結不可) 解凍後は 2 ヶ月以内に使用
HEPBUF	HEPES buffer	100 µL	超冷凍 (-65°C) / 解凍後 2-8°C 保存 (再凍結不可) 解凍後は 2 ヶ月以内に使用

*上記の各試薬の単品販売はございません。

● キット以外に必要な試薬・機器・器具：

(ア) 測定機器：LABScan3D システム、その他周辺試薬

(イ) 測定用プレート：UNIPLATE (Whatman 7701-3250 (white)) を推奨

(ウ) トレーシール (SSPSEA300)

(エ) その他機器：プレートシェーカー、ボルテックス、プレート遠心機 (メーカー不問)

(オ) LABScreen 製品：LABScreen Single Antigen、LABScreen Single Antigen ExPlex 等

(カ) PBS (-)：pH7.4、Ca²⁺、Mg²⁺を含まないもの。

● コントロール血清

商品コード	製品名	容量	保存温度
C1QS-NC	C1qScreen Negative Control Serum	100µL	超冷凍 (-65°C)
C1QS-PC1	C1qScreen Class I Positive Control	100µL	超冷凍 (-65°C)
C1QS-PC2	C1qScreen Class II Positive Control	100µL	超冷凍 (-65°C)

カットオフの検討には、陰性コントロール血清 C1QS-NC 及び予め特異性の分かっている陽性サンプルをご利用ください。陽性コントロールは、二次抗体 (PEPAC1Q) が問題ない事を確認するために使用します。

● サンプルの種類：

- ヒト血清
- 血漿及び溶血した血液は使用しないでください。

● 操作上の注意点：

➢ 補体 (C1q：PEPC1Q) は温度の影響を受けて失活しやすい成分ですので、取り扱いには以下の点に十分注意して下さい。

(ア) 使用直前まで超冷凍で保存しておきます。使用する直前に C1q (PEPC1Q) を室温で 5-10 分程度融解させます。

(イ) およそ融解している事を確認したら氷上に置き (多少、氷の粒が残っている程度)、使用する分量を計算して (分量の計さんは、操作方法 2 (イ) を参照)、空のチューブに分注します。残りの使用しない C1q は、適当な容量に小分け分注します。

C1qScreen 簡易マニュアル (ExPlex 用)

● 操作方法：

1. 血清の非動化

- (ア) 1.5 mL チューブに 40 μ L の血清を加え、56°C、30 分でインキュベートします。
 (イ) 8000-10000g で 10 分間遠心し、上清 30 μ L を別の新しいチューブに移し、氷上に置いておきます。

2. 多検体テストする場合（少数検体の場合はスキップ）：全て 10% 余分に予め調整します。調整後の各溶液は氷上に置いておきます。

- (ア) LABScreen ビーズに Positive Control ビーズを 10:1 の割合で加えます。
LABScreen Single Antigen と LABScreen Single Antigen ExPlex を別々に調整します。

テスト数	LABScreen ビーズ (μ L)	Positive Control ビーズ (μ L)	計 (μ L)
4	22	2.2	24.2
5	27.5	2.75	30.25
6	33.3	3.33	36.63
...
N	5.5 x N	0.55 x N	6.05 x N

- (イ) 溶かしておいた C1q (PEPC1Q) を HEPES Buffer で 5 倍希釈します。必要量は下記の表を参照してください。希釈後は氷上に置いておきます。

テスト数	C1q (μ L)	HEPES Buffer (μ L)	計 (μ L)
4	4.4	17.6	22
5	5.5	22	27.5
6	6.6	26.4	33
...
N	1.1 x N	4.4 x N	5.5 N

3. 血清と C1q の混合

- (ア) 非動化した各血清サンプルを各ウェルに 10 μ L 分注します。
 * オプションで、陰性/陽性コントロール血清を使用することも可能です。(1 ページ参照) なお、コントロール血清は、非動化処理は必要ありません。
 (イ) 2. (イ) で予め 5 倍希釈した C1q を各ウェルに 5 μ L 分注します。(少数検体の場合は、各ウェルに HEPES Buffer を 4 μ L、C1q を 1 μ L ずつそれぞれ加えてください。)

4. 2 (ア) で調整したビーズミックスを LABScreen Single Antigen, ExPlex 各 5 μ L ずつをウェルに追加します。(少数検体の場合は、LABScreen ビーズ 4.5 μ L と、Positive Control ビーズ 0.5 μ L を各ウェルにそれぞれ追加します。)

5. シールを張ってボルテックスし、室温で 20 分間、振とうしながら遮光インキュベートします。

6. PE conjugated anti-C1q (PEPAC1Q) を各ウェルに 5 μ L 加えトレーシールをし、ボルテックスします。(洗浄せずに、二次抗体を直接加えます。また、二次抗体は希釈しません。)

7. 室温で 20 分間、振とうしながら遮光インキュベートします。

8. トレーシールをはがし 80 μ L の PBS を各ウェルに入れ、1300g で 5 分間 又は 1500g で 3 分間遠心します。

9. フリッキングし、上清を除去します。(ドライボルテックスは行いません。)

10. 80 μ L の PBS を各ウェルに加え、しっかりとピペティングで攪拌します。

11. その後、LABScan システム (Luminex) で蛍光値を測定します。

12. 得られた測定データ (バッチ名.csv ファイル) は、HLA Fusion で測定します。


C1qScreen 簡易マニュアル (ExPlex 用)

● LABScan システム (Luminex) による測定、及び HLA Fusion による解析

- 測定用テンプレートファイル (プロトコルファイル)
お使いの機械、測定ソフト、LABScreen 製品の Lot に併せ選ぶファイルが異なります。該当ロットのファイルを下 One Lambda の公式ウェブサイトよりダウンロードしてください。

測定機械	測定ソフト	Template ファイルの種類/ファイル Title
LABScan3D システム (FlexMap3D)	x PONENT 4.2	.lxt2 ファイル/ (製品名) (Lot) Luminex Template v4.2

- HLA Fusion 解析用のカタログファイル
 - ① One Lambda の公式ウェブサイトよりダウンロードしてください。
Product and Service → LABScreen → LABScreen Single AntigenExplex で Software Analysis Files を選択します。
 - ② 以下のように表示されます。

LABScreen Single Antigen HLA Class I ExPlex CQ17NC10, Software Analysis Files 005 10/26/2021 

Lot 005 - HLA Catalog File

Title は

『製品名+クラス+LABScreen の Lot+C1q のロット+C1q ネガコン血清のロット』

の順に並んでいます。枠内のファイルは

- ・ LABScreen Single Antigen クラス I ExPlex Lot005
- ・ C1q Screen Lot17
- ・ C1q Screen ネガティブコントロール血清 Lot10

を組み合わせたものです。

- ③ HLA Fusion で LABScreen Single Antigen と ExPlex のカタログファイルを結合してからデータをインポートします。

株式会社ベリタス

〒105-0013 東京都港区浜松町1丁目10-14 住友東新橋ビル3号館5階

TEL: 03-5776-0078 (代) FAX: 03-5776-0076

技術的なお問い合わせ: TEL 03-5776-0040 E-mail Tech_support@veritastk.co.jp