

10. 遺伝子検査

測定方法と判定基準

造血器腫瘍核酸増幅同定検査

検査項目	材料	測定方法	判定基準
HTLV-1 Southern blot	末梢血 (EDTA) 骨髄血 リンパ節 胸水 腹水 組織	•DIG標識 whole HTLV-1 •Southern blotting - 化学発光法 使用制限酵素 <i>EcoRI</i> : クロナリティの検索 <i>PstI</i> : defective typeの検索	腫瘍化に伴うHTLV-1 provirusの clonal integrationをバンドとして検出
HTLV-1定量		•LightCycler (real-time PCR) 法	HTLV-1 provirus loadを定量
WT-1定量		•LightCycler (real-time PCR) 法	WT-1 mRNA 定量 単位: copy/μg total RNA
bcr-abl	末梢血 (EDTA) 骨髄血	•定性: RT-PCR法 •定量: LightCycler (real-time PCR) 法	bcr-ablキメラ遺伝子のバンド検出 (Major, minor, micro bcr-ablを検出) bcr-abl (Major, minor) キメラ遺伝子 定量 単位: copy/μg total RNA
bcr-abl mutation		•ダイレクトシーケンス法	bcr-ablキメラ遺伝子のabl塩基変異検出
PML-RAR α		•定性: RT-PCR法 •定量: LightCycler (real-time PCR) 法	PML-RAR αキメラ遺伝子のバンド検出 PML-RAR αキメラ遺伝子 定量 単位: copy/μg total RNA
RUNX1-RUNX1T1 (AML1-MTG8)		•LightCycler (real-time PCR) 法	RUNX1-RUNX1T1キメラ遺伝子 定量 単位: copy/μg total RNA
JAK2 V617F mutation		•Melting Curve Analysis法	陽性: Wild Typeと異なる融解曲線 パターンを検出

備考: HTLV-1 Southern blot

ゲノムDNA 10~15μg/assay 使用

検出感度: 1.56% (単核球画分中) 以上

bcr-abl mutation

bcr-ablキメラ遺伝子が少ない場合は、検査実施できません。

免疫関連遺伝子再構成検査

検査項目	材料	測定方法	判定基準
IgH Southern blot	末梢血 (EDTA) 骨髄血 リンパ節 胸水 腹水 組織	•DIG標識 JH probe •制限酵素 ① <i>HindIII</i> ② <i>HindIII</i> + <i>BamHI</i> •DIG標識 Cμ probe •制限酵素 ① <i>HindIII</i> ② <i>BamHI</i>	germ lineとの対比
TCR γ 再構成		•PCR法	T細胞性腫瘍のクロナリティをバンドとして検出
IgH (CDRIII) 再構成		•PCR法	B細胞性腫瘍のクロナリティをバンドとして検出
BCL2/IgH (PCR法)		•PCR法	陽性: BCL2-IgH融合バンドの検出
BCL1/IgH (PCR法)		•PCR法	陽性: BCL1-IgH融合バンドの検出
BCL6/IgH (PCR法)		•RT-PCR法	陽性: BCL6-IgH融合バンドの検出
C-myc/IgH (PCR法)	•LD-PCR法	陽性: C-myc-IgH融合バンドの検出	

悪性腫瘍遺伝子検査

検査項目	材料	測定方法	判定基準
K-ras point mutation (codon 12,13)	脾液、胆汁、 血清、血漿、 胸水、腹水	•PCR-RFLP法	陽性: 制限酵素で切断されない場合
		•Melting Curve Analysis法	陽性: Wild Typeと異なる融解曲線 パターンを検出
K-ras point mutation (codon 12,13)	スライド標本 (大腸癌関連)	•Pyrosequence法	codon12,13の塩基変異検出