

OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDxシステム



AKT1
PTEN
PIK3CA

検体作製ガイド

— 検体作製のポイントと注意点を掲載 —

OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDxシステムを用いた遺伝子検査

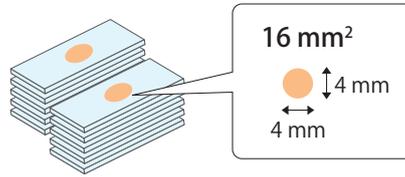
検体作製のポイント

■ 提出検体

- ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 腫瘍組織切片スライド

■ 推奨検体量

- 切片の厚さと枚数：5 μm × 10枚 (または10 μm × 5枚)
- 切片1枚当たりの組織面積：16 mm²程度



■ ホルマリン固定までの推奨時間

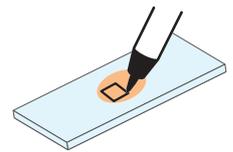
- 生検検体：速やかに固定液に浸漬する。
- 手術検体：1～3時間以内が望ましい (摘出後は固定まで4℃で保管)。

■ 推奨されるホルマリン固定条件

- 固定液：10%中性緩衝ホルマリン固定液
- 温度：室温 (20℃前後)
- 固定時間：6～48時間、検体の大きさを考慮して固定時間を設定 (微小な検体では6～24時間)
- 保存期間：パラフィンブロック作製後3年以内が望ましい。

■ 腫瘍細胞含有率

- 推奨40%以上
- 検査前に適切な病理学的評価を行い、腫瘍細胞が40%以上含まれていることをご確認ください。
- 腫瘍細胞含有率が40%未満の場合は、下記のガイドに従い、マクロダイセクションのご依頼 (腫瘍部位のマーキング) をご検討ください。ご依頼の際は、マクロダイセクション後の推定腫瘍細胞含有率が20%以上 (推奨40%以上) になるように、すべての未染色標本スライドの裏面から腫瘍部位をマーキングしてください。



未染色標本スライドの裏面から腫瘍部位をマーキング

【注意事項】

- ▶ **PTEN homozygous deletion**の検出には腫瘍細胞含有率40%以上が必要です。40%未満の場合は、偽陰性となる可能性があります。
- ▶ **AKT1、PIK3CA、PTENの変異 (SNV, Indel)** 検出においては腫瘍細胞含有率20%以上で検出可能です。
- ▶ 腫瘍細胞含有率が20～40%の場合は、PTEN homozygous deletionの検出が偽陰性となる可能性がありますので、マクロダイセクションの実施を推奨します。なお、組織サイズが小さく、十分な検体量の確保が困難な場合などはマクロダイセクションを実施しない条件 (マーキングなし) での依頼もご検討ください。

■ 腫瘍細胞含有率に応じた検体準備ガイド

	組織全体の腫瘍細胞含有率					
	40%以上	20%以上40%未満		20%未満		
スライド裏面からの腫瘍部位のマーキング (医療機関にて実施)	マーキング不要 マクロダイセクションを実施することも可能 (マーキング必要)	マーキング必要 	マーキングなし マーキングができない場合を含む	マーキング必要 	マーキング必要 	マーキングなし マーキングができない場合を含む
マーキングした領域内の腫瘍細胞含有率		マーキングした領域内の40%以上		マーキングした領域内の40%以上	マーキングした領域内の20%以上40%未満	
組織剥離作業 (理研ジェネシスにて実施)	そのまま 組織全面を剥離	マクロ ダイセクション*	そのまま 組織全面を剥離	マクロ ダイセクション*	マクロ ダイセクション*	
	推奨される検体	推奨される検体	提出可能な検体	推奨される検体	提出可能な検体	検査実施不可

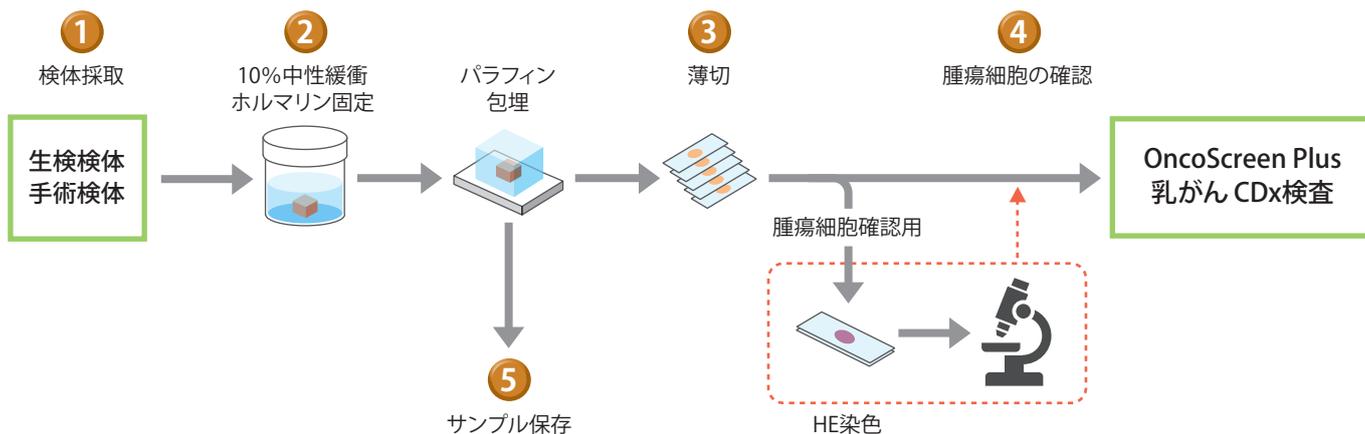
*マクロダイセクション：腫瘍部位のみの選択剥離作業

検体のご提出前に右記をご確認ください!

腫瘍細胞含有率が20%未満でマーキングがない検体はご提出できません。本ガイドをご確認の上、推奨される検体 (あるいは提出可能な検体) をご提出ください。

検体作製時の注意点

【FFPE組織検体の作製フロー】



【検体作製時の注意点】

<p>1 検体採取</p>	<ul style="list-style-type: none"> ■ 針生検検体の場合は、組織片2～5個程度の採取が望ましい。 ※検体量の目安 吸引式針生検／マンモトーム生検(10Gまたは12G)：2～3個、通常の生検針(16～18G)：4～5個
<p>2 10%中性緩衝ホルマリン固定 (固定前と固定後のプロセスを含む)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ■ 生検検体は、速やかに固定液に浸漬し固定を行うことが望ましい。 ■ 手術検体は、摘出後は速やかに4℃下で保管し、1時間以内、遅くとも3時間以内に固定を行うことが望ましい。なお、固定不良による核酸の分解を避けるため、大きな組織片では十分な固定が行える程度の厚みまで、固定前に入割することが推奨される。 ※ホルマリンの浸透速度は1 mm/時間程度であることを考慮し、十分な固定が行える程度の厚みまで、固定前に適切に入割する。 ■ 10%中性緩衝ホルマリン固定液にて、室温にて6～48時間の固定を行うことが望ましい。固定不良による品質劣化を回避するため、検体の大きさを考慮して適切な固定時間を設定する。 ※生検採取される微小な組織検体では、より短い固定時間で処理が完了するため、業務上支障のない範囲で固定時間の短縮化(たとえば6～24時間)に努めることが望ましい。 ■ 固定液の容量は、組織量に対し10倍量の固定液を用いることが望ましい。 ■ バット内でのクロスコンタミネーションを避けるため、必ず患者ごとに検体を隔離した状態で浸漬を実施する。 ■ 硬組織を含む検体の場合は、酸脱灰を回避し、EDTA脱灰を行うべきである。 ※酸脱灰された検体は、核酸の品質が著しく低下し、検査不能となる恐れがある。
<p>3 薄切</p>	<ul style="list-style-type: none"> ■ 薄切時は、操作者に起因・由来するヌクレアーゼ(DNase, RNase)が検体に混入しないようにグローブやマスクを着用するなど核酸分解防止に努める。また、検体毎にマイクローム刃を交換するなど、他の検体のコンタミネーションにも十分注意する。
<p>4 腫瘍細胞の確認 (マクロダイセクション範囲の指定)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ■ HE染色標本を病理医ないし、臨床検査技師が観察し、腫瘍細胞が40%以上含まれているかどうかを確認する。最終的な判断は、原則、病理医により行われることが望まれる。 ※組織サイズが小さく、十分な検体量の確保が困難な場合は、腫瘍細胞含有率が20%以上の検体の提出をご検討ください。 ■ 壊死や炎症細胞・間質細胞などの非腫瘍細胞が多い場合、血液成分を含む場合は、これらを避けてマクロダイセクションを実施するか、より適切な別のパラフィンブロックに変更することが望ましい。 ■ マクロダイセクションのために腫瘍を含む範囲を指示する場合は、ラインが腫瘍部位を完全に囲む(始点と終点が一致する)ようにマーキングする。 ※可能であれば削りやすいように直線的にマーキングするのが望ましい。
<p>5 サンプル保存</p>	<ul style="list-style-type: none"> ■ パラフィンブロックは、多湿を避け、冷暗所保存し、核酸の劣化を防ぐ。 ■ 長期間保存した検体(パラフィンブロック)を用いる場合、3年以内の検体を使用することが望ましい。 ■ 薄切後時間が経過した未染色FFPE標本の使用は避け、パラフィンブロックから再薄切をすることが望ましい。

FAQ

Q1 針生検の場合、本検査に提出するFFPE検体作製のために、どれくらいの組織を必要としますか。

- A1** 推奨検体量は、切片厚および枚数が $5\ \mu\text{m} \times 10$ 枚（または $10\ \mu\text{m} \times 5$ 枚）で、切片1枚あたりの面積が $16\ \text{mm}^2$ 程度となっておりますので、体積としては $0.8\ \text{mm}^3$ 程度が推奨となります。そのため、通常の生検針（16～18G）であれば4～5本程度、吸引式針生検/マンモトーム生検（10Gまたは12G）であれば2～3本程度が目安となります。ただし、検体にどの程度のがん組織が含まれているかが分からないため、必ず腫瘍細胞含有率をご確認の上、十分な割合（40%以上推奨）の検体をご選択ください。また、腫瘍細胞含有率が低い検体の場合は、マクロダイセクションを考慮し、腫瘍部位のマーキング部分の面積に応じてご提出枚数を増やしていただくことをお勧めします。

Q2 切片の厚さは $4\ \mu\text{m}$ でも問題ないですか。また、必要な切片枚数の目安もご教示ください。

- A2** $4\ \mu\text{m}$ 厚でも問題ございません。 $16\ \text{mm}^2$ 程度の組織面積であれば、13枚以上（合計 $50\ \mu\text{m}$ 厚以上）をご提出ください。

Q3 1枚のスライドガラスに複数の切片を載せて、提出することができますか？

- A3** 同じ採取部位から作製されたブロック由来の切片であれば、1スライドに2枚以上の切片を載せていただいても問題ございません。ただし、1枚のスライドガラスには連続した切片を載せた状態でご提出ください。また、異なるブロック由来の切片を1枚のスライドガラスに載せることをご検討の場合は、弊社担当者までお問い合わせください。

Q4 検査を依頼する際にマクロダイセクションを依頼することは可能ですか？

- A4** マクロダイセクションをご依頼いただくことは可能です。ご依頼の際は、マクロダイセクション後の推定腫瘍細胞含有率が20%以上（推奨40%以上）になるように、ご提出いただくすべての未染色標本スライドの裏面から腫瘍部位をマーキングしてください。

Q5 化学療法後の検体の提出は可能でしょうか。また、可能な場合、提出する際の留意点がありましたらご教示ください。

- A5** 化学療法後は、壊死、線維化、炎症細胞の浸潤が増え、腫瘍細胞割合の低下を招く可能性があります。そのため、これらの部位を避けて腫瘍部位をマーキングしマクロダイセクションをご依頼いただくか、腫瘍細胞の量が十分でない場合は、より適切な別のパラフィンブロックに変更していただくことを推奨いたします。

Q6 両側性乳がんの場合、どの検体を提出すればよいでしょうか。

- A6** 腫瘍発生部位の異なる検体が混在している場合（例：右側乳房由来のFFPE検体5枚＋左側乳房由来のFFPE検体5枚）、適切な検査結果が得られなくなる恐れがありますので、ご提出いただく検体につきましては、最も縮小を狙いたい部位等、先生方のご判断でご選択ください。

Q7 抽出されたDNAの量が基準値の100 ngに満たなかった場合、検体を再提出することは可能ですか？

- A7** DNAの量が基準値に満たない場合は検査中止となりますが、新しい（別の）検体を用いて、新規の検査として再提出いただくことは可能です。この場合は、お手数ですが新しい検査依頼書を用いて、再度ご依頼ください。

【お問い合わせ先】

株式会社理研ジェネシス 営業部

〒141-0032 東京都品川区大崎1-2-2 アートヴィレッジ大崎セントラルタワー 8階

TEL : 03-5759-6042 / FAX : 03-5759-6043 / URL : <https://www.rikengenesis.jp>

 rikengenesis



TM : 弊社または各社の商標です

D11-003-26C-02

製品ウェブサイト