

第5回白血病関連遺伝子検査外部精度管理の実施要綱

日本臨床検査自動化学会
遺伝子・プロテオミクス技術委員会 委員長 中山智祥
副委員長 糸賀 栄

はじめに

法改正に伴い外部精度管理の重要性が増している。しかしながら、ヒト遺伝子関連検査で大規模な外部精度管理が実施されておらず、その対策が急務である。日本臨床検査自動化学会遺伝子・プロテオミクス技術委員会では、Major *BCR-ABL1* mRNA 定量の外部精度管理を実施してきた(第3回、第4回)。第5回では、さらに、minor *BCR-ABL1*, *PML-RARA*, *WT1* mRNA 定量を加えた外部精度管理を実施する。これらの測定項目は、国際標準化キット、自家調製試薬法(LDT)、保険収載キットと多彩であり、今回の外部精度管理では、白血病関連遺伝子検査の施設間差の現状調査を目的とする。

1. 実施項目

Major *BCR-ABL1* mRNA 定量*
minor *BCR-ABL1* mRNA 定量*
PML-RARA (bcr1) mRNA 定量* (*定性検査での参加も可)
WT1 mRNA 定量

2. 実施スケジュール

- (1) 試料送付日：平成30年8月～9月
- (2) 測定期間：試料到着日から1か月以内

3. 外部精度管理試料と測定項目

試料#	測定項目
B1, B2, B3, B4, B5	Major <i>BCR-ABL1</i> mRNA定量
P1, P2, P3, P4, B5	<i>PML-RARA</i> (bcr1) mRNA定量
B5, P4	<i>WT1</i> mRNA定量
P4	minor <i>BCR-ABL1</i> mRNA定量



- ・参加項目に応じて外部精度管理試料の組合せをお送りします。
- ・1バイアルあたり 2×10^6 個の細胞を含みます。複数項目のご依頼の場合でも配布試料は1セットとなります。

4. 外部精度管理試料(凍結乾燥品)の取り扱い

冷凍(-20℃)保存で送りました B1～B5, P1～P4 の計9本の凍結乾燥品 (2×10^6 個)は、受領後直ちに、冷凍庫(-20℃以下)で保管し、早めに測定をお願い致します。

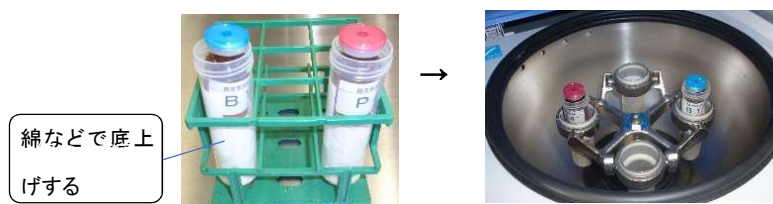
5. 凍結乾燥品試料のRNA抽出と定量値測定

- ①バイアルのゴム栓を外す際、内部の粉末が舞い上がることがあります。ゆっくりと少し

だけ開栓した後、バイアルを軽く叩いて底面に粉末を集めてからゴム栓を外して下さい。
 ②開栓したバイアルに直接、RNA 抽出試薬(または溶解液)^{注 1,3} を加え、ゴム栓を押さえて上下に転倒混和 (50 回程度)を行ってください。今回はボトルが大きく、非常に溶かしづらいです^{注 2}。

注 1 例) Isogen(ニッポンジーン社) 1ml や Buffer RLT(溶解液)(QIAGEN 社) 350 μ l などを加えて下さい。

注 2 溶解液に対してボトルが大きく、溶かしにくくなっています。十分にボトル内容物を溶解し溶解液を別チューブに移して下さい。溶解液を回収する際は、50mL 遠心管を使ってスピンドウンすると回収量を増やすことができます。



注 3 Isogen-LS など液体試料用の場合は、ISOGEN-LS 0.75mL を加えてから、最終容量が 1 mL になるように RNase フリー水を添加し、溶解操作を行ってください。

③溶解後、すみやかに各プロトコルに従い RNA 抽出を行ってください。

④貴施設の方法で参加項目の mRNA 定量値の測定をお願い致します。

6. 測定結果

添付の Excel ファイル^{注 4}に測定結果を入力し e-mail で返送して下さい。

後日、外部精度管理の集計結果を報告します。

報告欄の例)

ご施設名		
RNA抽出	試薬/キット名	
	メーカー名	
リアルタイム PCR	キット名 (LDIは測定原理)	
	装置名	
内部コントロール遺伝子(定量値、単位)		
報告値(単位)の補正式		

施設名	RNA濃度(ng/μL)					A260/A280比				
	B1	B2	B3	B4	B5	B1	B2	B3	B4	B5

施設名	Major BCR-ABL1 報告値					Major BCR-ABL1 (実測値)					内部コントロール遺伝子(実測値)				
	B1	B2	B3	B4	B5	B1	B2	B3	B4	B5	B1	B2	B3	B4	B5

7. アンケート調査

後日にお送りするアンケート調査(白血病関連遺伝子検査/全自動遺伝子解析装置)^{注 5}にもご協力をお願い致します。

注 4,5 外部精度管理試料を配布する際に添付します。

8. お問い合わせ・結果送付先

日本臨床検査自動化学会 遺伝子・プロテオミクス技術委員会

BCR-ABL1 mRNA 定量検査 WG (代表)

糸賀 栄

〒260-8670 千葉市中央区亥鼻 1-8-1 千葉大学医学部附属病院検査部

TEL: 043-222-7171(PHS 71053), FAX: 043-226-2367,

e-mail: sakae.itoga@chiba-u.jp