

遺伝子変異検査におけるサーマルサイクラー機種間差の検討

◎林原 弘武¹⁾、藤井 旬子¹⁾、尾崎 めぐみ¹⁾、白柳 真麻¹⁾、馬場 未奈¹⁾、山本 章史¹⁾
地方独立行政法人大阪府立病院機構 大阪国際がんセンター¹⁾

【はじめに】 臨床検査で使用する機器には機種間差・機器間差があることが認められている。今回、MYD88^{L265P} 遺伝子変異検査を院内検査として導入するに伴い、サーマルサイクラーの機種間差について検討したので報告する。

【方法および試薬】 GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems、以下機器 A) と Thermal Cycler Dice (TaKaRa、以下機器 B) の 2 種類のサーマルサイクラーを検討に用いた。MYD88^{L265P} 遺伝子変異検査は、KOD-Multi & Epi- (東洋紡) を用いて Allele-specific PCR (AS-PCR) 法にて実施した。結果は、qBiomarker Somatic Mutation PCR Assays (キアゲン) を用いた real-time PCR 法の結果と照合した。

【対象】 2020 年 1 月から 2021 年 11 月までに検査を行った患者検体を検討に用いた。また、コントロールとして MYD88^{L265P} 遺伝子変異の有無が確定している患者検体を用いた。

【結果】 機器 A では「94°C 2 分 → [98°C 10 秒 → 65°C 10 秒 → 68°C 10 秒] x 40 サイクル」の条件が確立された。次に、機器 B にて同条件で PCR を行ったが、陽性コントロールの増幅

を認めなかったため、機器 B における条件を次のように変更した。

- ①熱変性・アニーリング・伸長の各段階を 15 秒間に延長する。
- ②アニーリング温度を 63°C に下げる。

陽性コントロールについて、条件①では増幅を認めなかったが、条件②では増幅を認めた。条件②で患者検体についても PCR を行ったところ、real-time PCR 法の結果と全て一致した。なお、機器 A にて条件②で増幅した結果、陰性コントロールで非特異的な増幅が認められた。

【考察】 機器 B において機器 A と同じ条件で陽性コントロールの増幅が認められなかった原因は、両機種間のランプ速度の差が挙げられる。また、機器 A にて条件②で陰性コントロールの増幅が認められた原因は、AS-PCR 法という検査の特性が考えられる。

【結語】 2 種類のサーマルサイクラーで機種間差が認められたため、それぞれについて温度条件を設定し、検査方法を確立した。

連絡先：06-6945-1181