

ホルマリン固定時間の違いによる FFPE-RNA の量・質と NGS QC への影響

◎雨宮 健司¹⁾

地方独立行政法人山梨県立病院機構 山梨県立中央病院ゲノム解析センター¹⁾

【目的】

本邦では2019年6月よりがん遺伝子パネル検査が保険適応となっている。2023年8月にはDNAだけでなくRNAも使用する初めてのがんパネル検査としてGenMineTOPがゲノムプロファイリング検査が保険適用承認を受けたばかりであり、FFPE検体からのRNAの検体精度管理がますます重要になってきている。ホルマリン固定時間の違いによるFFPE検体からのRNAの量と質を調査し、次世代シーケンシング(NGS)のホルマリンでQuality dataを比較した。

【方法】

肝細胞癌(HCC)手術組織を10%中性緩衝ホルマリンで固定し(1~240時間)、FFPEブロックを作製した。RNAを抽出し、NanoDrop、Qubit、Bioanalyzerを用いて量と質を評価した。シーケンスライブラリーを調製した後、各ライブラリーの濃度を測定後、Oncomine Dx Multi-CDxシステムでNGSを行いQuality dataを比較した。またFFPE保管期間によるRNAの量・質への影響を検討するために500日後に同一FFPE検体を用いて同様の検討を行った。

【結果】

全サンプルのRNA収量はNGSに必要な閾値を満たしていたが、固定時間が長いと収量と長いRNA断片(>200 nt)収量が減少した。NGS解析では、固定時間が長いRNAから得られた内部コントロール遺伝子のシーケンスリードが少ないことが示された。500日間保存されたFFPE検体から抽出されたRNAは、FFPE作成後すぐに抽出したRNAと比較して、RNA収量と質が低下していた。

【結論】

固定時間が短いほどRNA量と質は高かったがFFPE長期保管後のRNAへの量・質への影響が大きかった。短時間固定や過剰固定はシーケンス品質に悪影響を及ぼすだけでなく、免疫染色などの他検査への影響を考えると避けるべきである。切り出し時にできるだけ薄く切り出すなど工夫をしたうえで固定プロセスは、推奨されるガイドライン(6-48時間)内で、適切な固定が迅速に終了できるように努めるべきである。

055-253-7111 (8991)