



GenMine Labs

## 検体作製ガイド

# GenMineTOP

## がんゲノムプロファイリングシステム

高度管理医療機器 プログラム1 疾病診断用プログラム

遺伝子変異解析プログラム

(がんゲノムプロファイリング検査用)



監修

国立がん研究センター中央病院 病理診断科 科長 谷田部 恭 先生

東京大学大学院医学系研究科 人体病理学・病理診断学分野 教授 牛久 哲男 先生



国立がん研究センター中央病院  
病理診断科 科長

**谷田部 恭 先生**

### GenMineTOPを使用してみても

2019年にがんゲノム医療がスタートしました。教科書に記載されているさまざまな遺伝子変異が日々診断している標本の中に見て取れることを、大きな喜びをもって実感しました。それから4年、遺伝子パネル検査で何でもわかると考えられていた時代から、遺伝子パネル検査の限界もわかってきました。GenMineTOPは、DNAに加えてRNAもその検査対象になっています。融合遺伝子の検出しやすさに加え、これまでに得られなかったたくさんの情報を得ることができます。例えば、バイオリンプロットと共に示される遺伝子発現量、TMBスコア高値における塩基置換パターン、参考情報の全コピー数グラフ及びアレル別コピー数グラフで示される領域性のコピー数変化等、これらは解析結果を読み解くツールとして用いることができ、それが解析の醍醐味にもつながります。この冊子ではそれらの一端が紹介されていますが、ぜひそれぞれのご施設でGenMineTOPの豊富な情報を活用し、その応用法を編み出してみてください。



東京大学大学院医学系研究科  
人体病理学・病理診断学分野 教授

**牛久 哲男 先生**

### GenMineTOPに寄せる期待

がん遺伝子パネル検査の最大の役割は標準治療終了後の患者さんに対し、次の有力な治療の選択肢を示すことです。従来のがん遺伝子パネル検査では、対応薬剤が存在する遺伝子変異が検出される頻度は1～2割と報告されています。この中には既存の検査法で検出可能な異常も多く含まれ、がん遺伝子パネル検査でないと発見できないものはさらに限られます。こうした中、がん遺伝子パネル検査の意義を高めるためには、遺伝子変異に対応した薬を増やすことはもちろん、治療薬につながる遺伝子変異をより高精度に検出することが不可欠です。これがまさにGenMineTOPに期待される役割です。700を超えるがん関連遺伝子のT/NペアDNA解析に加え、RNAパネルを搭載した最先端のシステムにより、これまで検出困難だったゲノム異常が同定され、個別化医療の推進及び患者さんのQOL (Quality of Life) 向上に貢献することを期待しています。



国立がん研究センター中央病院 病理診断科 加島 淳平 先生



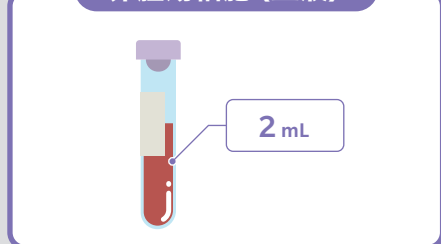
# 検体準備・作製の注意点

## 1 検体の準備

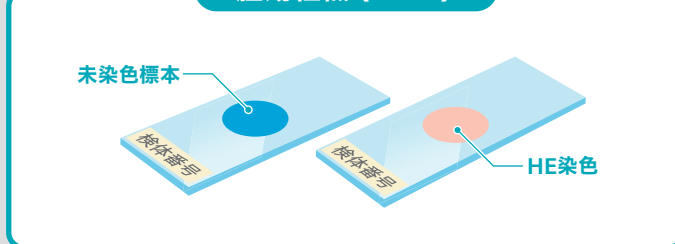
### ご準備いただく検体

同一患者さんより2種類の検体をご準備ください。

#### 非腫瘍細胞（血液）



#### 腫瘍組織（FFPE）



### ■ 検体提出時の注意点

1) 他者の遺伝情報が混在する検体は解析困難なため提出を差し控えてください。

- ・腫瘍組織：妊娠性絨毛がん由来の腫瘍組織、移植臓器由来の腫瘍組織等
- ・非腫瘍細胞：同種造血幹細胞移植を受けた患者の全血等

2) 再生不良性貧血を認める血液検体は解析結果に影響を及ぼす可能性があります。

3) 白血球数が極端に減少した検体は解析結果に影響を及ぼす可能性があります。

- ・抗がん剤治療後に採血した検体等

当社で抽出するDNA量から計算すると、白血球数は1000 cells/ $\mu$ L以上の検体でご提出ください。それを下回る場合はお問い合わせください。輸血を受けた場合は、輸血後3～4週間以降の採血を推奨しております。

## 2 非腫瘍細胞（血液）

### ■ 採血管及び採血後の取扱い

非腫瘍細胞（血液）検体として、有核細胞由来のDNAを検査に使用します。

☒ 採血管：EDTA-2K入り（真空採血量2 mL）

※2mL採血管（外径13mm程度）を必ずご使用ください。

☒ 採血量：2 mL

注意：直ちに十分な転倒混和を行い、各種検体取扱いガイドラインに記載の条件に基づいて適切にお取り扱いください。

## 3 腫瘍組織（FFPE） FFPE作製

### ■ FFPEブロックの取扱い

FFPEブロック作製における固定条件は、検査全体に最も大きな影響を与えます。FFPEブロック作製においては、各種ガイドライン（「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程（日本病理学会作成）」や「がんゲノム検査全般に関する指針（日本病理学会・日本臨床検査医学会）」等）に記載された条件に従い、適切にお取り扱いください。

☒ 固定液の種類：10%中性緩衝ホルマリン溶液

☒ 固定液量：組織量の10倍以上

☒ 固定時間：6時間～48時間

☒ FFPEブロックの保管期間：3年以内

※FFPEブロック作製からの時間経過とともに検査成功率が下がるため、採取日の新しい検体のご提出をお願いします。

# 検体準備・作製の注意点

## 4 腫瘍組織 (FFPE) 薄切標本作製

### ■ 未染色標本及びHE染色標本の準備

- ✓ 未染色標本 10 枚以上 \*1枚のスライドガラスに複数の切片を載せてご提出いただけます。(Q&A.13を参照)

✓ 切片の合計体積:  $0.8 \text{ mm}^3$  以上  
合計体積  $0.8 \text{ mm}^3$  未満でご提出いただいた場合でも、核酸抽出まで検査工程を進めます。マクロダイセクションを希望される場合は、マーキング内の合計体積が  $0.8 \text{ mm}^3$  以上となる様にご提出ください。

✓ 切片の表面積:  $16 \text{ mm}^2$  以上  
 $16 \text{ mm}^2$  未満の場合は、切片の合計体積が  $0.8 \text{ mm}^3$  以上になるように、切片の枚数を追加してください。例: 表面積  $4 \text{ mm}^2$ 、厚さ  $5 \mu\text{m}$  の場合、40枚以上必要

✓ 切片の厚さ:  $5 \mu\text{m}$   
 $10 \mu\text{m}$  薄切の場合は、未染色標本を5枚以上ご用意ください。

- ✓ HE染色標本 1 枚

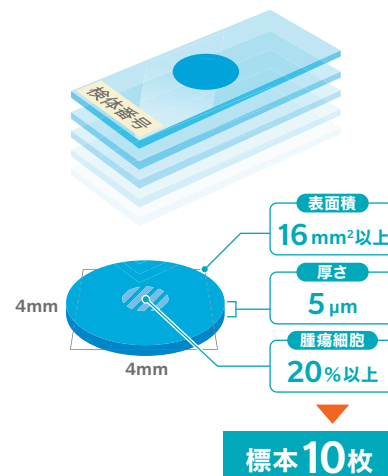
- ✓ 十分な有核細胞数を含む標本

\*特に生検検体では腫瘍率が高くても有核細胞が少ないと QC fail することがあります。  
有核細胞を多く含む部分をマーキングし、マクロダイセクションを希望してください。

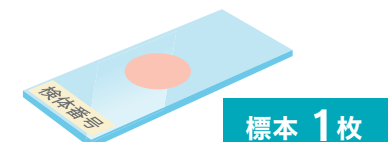
### ■ コンタミネーションの防止

- ✓ 検体ごとに余分な薄切片を清掃し、新たなマイクロームブレードを使用してください。
- ✓ 手袋は頻繁に交換してください。

#### 未染色標本

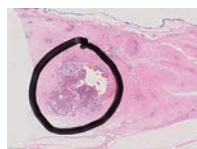


#### HE染色標本



### ■ HE染色標本の注意点

- ✓ マクロダイセクション希望ありの場合



腫瘍細胞が20%以上となるよう、HE染色標本の腫瘍部をマーキングしていただき、ポータル上で検査依頼作成時、マクロダイセクション「あり」にチェックしてください。  
スライドガラス上に切片が複数ある場合はマクロダイセクションが必要な切片にマーキングしてください。

ポータル画面

必須 マクロダイセクション ☐ なし ☒ あり

必須 腫瘍率  %

※マクロダイセクションを実施する場合はマクロダイセクション後の腫瘍率を記載下さい。

- ✓ マクロダイセクション希望なしの場合



HE染色標本にマーキングは不要です。標本上の全組織から核酸を抽出します。  
ポータル上で検査依頼作成時、マクロダイセクション「なし」にチェックをしてください。

ポータル画面

必須 マクロダイセクション ☒ なし ☐ あり

必須 腫瘍率  %

※マクロダイセクションを実施する場合はマクロダイセクション後の腫瘍率を記載下さい。

## 検査工程とQC基準

### 衛生検査所

#### 1 検体確認

検体・依頼内容に  
不備等があれば  
医療機関へ確認

#### 2 DNA・RNA 抽出

品質基準未満

#### 3 ライブラリー 調製

調製不可

#### 4 シーケンス

検査結果報告

**\*DNA・RNA（核酸）抽出工程の確認で、当社の品質基準を満たさなかった場合は医療機関へご連絡いたします。下記のいずれかをご判断ください。**

##### 検体再提出

必要に応じて、FFPEの別ブロックからのご提出もご検討ください。再提出の場合、検査依頼書の2枚目（再提出用）をご使用ください。

##### 検査継続

当社基準を満たさない場合でも、医療機関のご判断により検査を進めることは可能です。ただし、一部又はすべての結果が参考値となる場合や、次工程以降で検査不能となる可能性があります。

##### 検査中止

検査中止を希望された場合、DNA・RNA抽出後であれば、QC 報告書を送付します。

**\*ライブラリー調製以降の工程では、基本的に医療機関へご連絡いたしません。**

##### 検査不能

DNA、RNAいずれのライブラリーも得られなかった場合は検査不能となり、QC 報告書を送付します。

#### QC基準値未満による参考値報告

下記の場合、検査結果は参考値報告となります。

- ・各検体の核酸収量が QC 基準値半分未満の場合
- ・ライブラリー量が当社の基準を満たさなかった場合
- ・シーケンスの総リード数が当社の基準を満たさなかった場合

## 1 検体確認

検体受付時に以下を確認します。

☒ 未染色標本の枚数とその腫瘍体積

☒ 採血量、採血管の種類

☒ HE染色標本の有無

☒ マクロダイセクション希望の有無とマーキングの有無

検体・依頼内容の不足・不備等がある場合は、内容確認のために医療機関へご連絡し、検体再提出、検査継続、検査中止をご判断いただきます。

## 2 DNA・RNA抽出

未染色標本からDNAとRNA、血液検体からDNAを抽出します。核酸抽出後に以下を確認します。

☒ 血液 DNA量：100.0 ng 以上

☒ 腫瘍 DNA量：200.0 ng 以上 / 腫瘍 RNA量：400.0 ng 以上

☒ 腫瘍 DNAの品質： $\Delta\Delta Cq < 5.0$  / 腫瘍 RNA の品質：DV200 $\geq 30.0$  %

品質基準に満たない場合は、医療機関へご連絡し、検体再提出、検査継続、検査中止をご判断いただきます。

## 3 ライブラリー調製

DNAからDNAライブラリー、RNAからcDNAを合成し、RNAライブラリーを調製します。

両ライブラリー調製後に以下を確認します。

☒ ライブラリー量：DNA 187.5 ng 以上 / RNA 187.5 ng 以上

DNAライブラリー、RNAライブラリーのいずれか一方でも解析可能なライブラリーが得られれば、次の工程へ進みます。

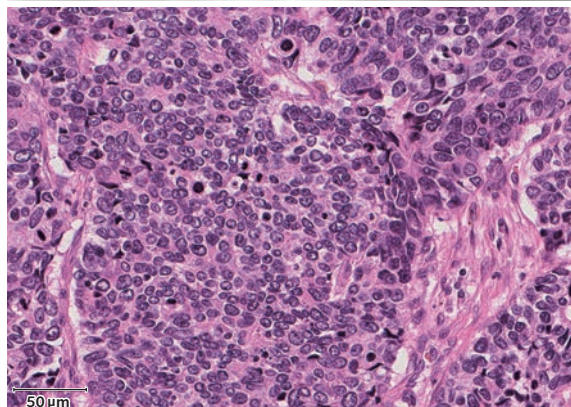
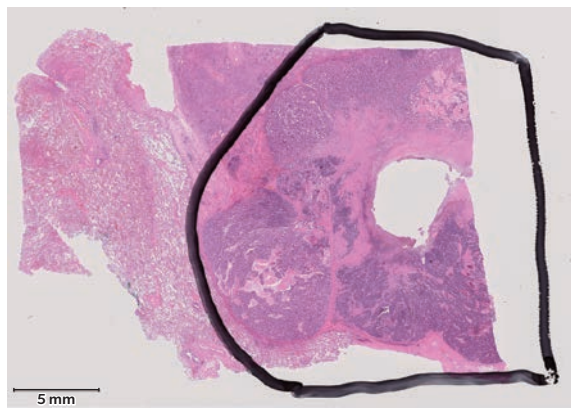
## 4 シーケンス (次世代シーケンサーを用いて解析)

シーケンス後に以下を確認します。

☒ シーケンスQC (総リード数等)

総リード数：非腫瘍細胞DNA 20,000kリード以上 / 腫瘍組織DNA 40,000kリード以上 / 腫瘍組織RNA 20,000kリード以上

## 症例1:手術検体



上段の写真の黒線は実際の解析のために行ったマーキングです。  
ご提出の際には同様にマーキングをお願いします。

## 検体

|            |                                                 |
|------------|-------------------------------------------------|
| がん種        | 混合型小細胞肺癌                                        |
| 組織体積       | 9.7 mm <sup>3</sup> (242 mm <sup>2</sup> , 4 枚) |
| 腫瘍率        | 70%                                             |
| 検体採取後の保存期間 | 約 3 か月                                          |
| 核酸収量       | DNA : 6,528 ng   RNA : 20,988 ng                |
| 核酸分解度      | ΔΔCq 値 : 1.8   DV200 : 80%                      |

## 結果

## DNA解析：体細胞変異

## 一塩基置換及び塩基の挿入/欠失

|      |                                |
|------|--------------------------------|
| BRD4 | c.3712G>C, p.E1238Q            |
| EGFR | c.2236_2250del, p.E746_A750del |
| RB1  | c.2325+1G>A                    |
| TP53 | c.641A>G, p.H214R              |

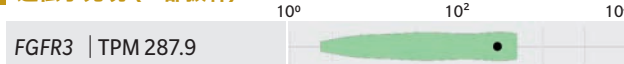
TMB 5.9 mut/Mb

## RNA解析

## 融合遺伝子

FGFR3-TACC3

## 遺伝子発現（一部抜粋）



\*TPM: Transcripts per Million 遺伝子発現量はTPMを算出。

\*正常細胞における発現量をパイオリンプロットで、本検体の各遺伝子の発現量はドット(・)で示されます。

## 監修者からのコメント

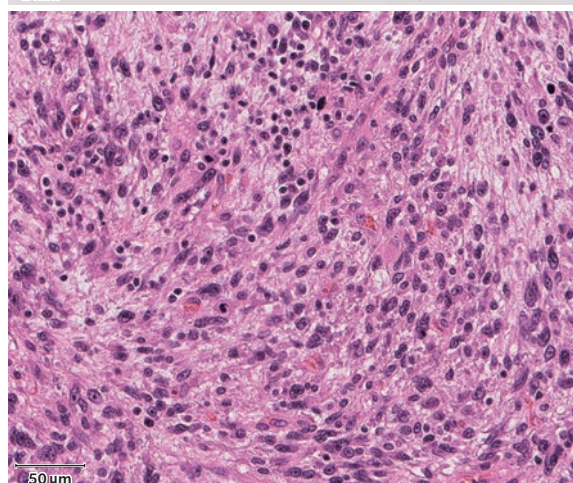
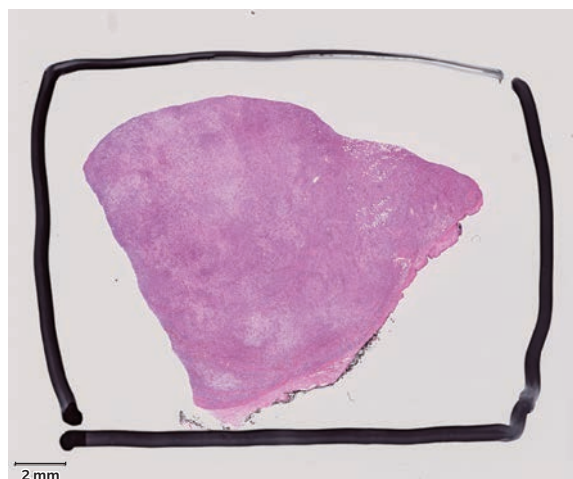
- ・ 本症例は既にEGFR変異が検出され、EGFR-TKIによる治療が施された症例であった。
- ・ 既知のEGFR変異だけでなく、小細胞がん転化に関連するとされるRB1, TP53変異が検出された。
- ・ FGFR3-TACC3の融合遺伝子が検出され、耐性機序に関連すると考えられるとともに、治療薬の候補を挙げることができた。
- ・ FGFR3発現量は高値を示しており、FGFR3-TACC3融合遺伝子によるものと考えられた。

## 核酸分解度の指標解説

ΔΔCq : 腫瘍組織由来のDNAのみ測定し、DNAの断片化（分解度）の程度を示します。この数値が大きいほど断片化が進んでいることを示します。断片化が進んだDNAを用いてライブラリー調製工程に進んでも解析に十分なライブラリー量が得られないため、ΔΔCqが基準値である5.0より小さいことを確認してからライブラリー調製工程へ進みます。

DV200 : RNAの断片化（分解度）の程度を示す数値で、200塩基以上のRNAの割合を示しています。この数値が小さいほど断片化が進んでいることを示します。DNAと同様に、断片化が進んだRNAを用いてライブラリー調製工程に進んでも解析に十分なライブラリー量が得られないため、DV200が基準値である30.0 % 以上であることを確認してからライブラリー調製工程へ進みます。

## 症例2:手術検体



## 検体

|            |                                                 |
|------------|-------------------------------------------------|
| がん種        | 脱分化型脂肪肉腫                                        |
| 組織体積       | 5.1 mm <sup>3</sup> (128 mm <sup>2</sup> , 4 枚) |
| 腫瘍率        | 70%                                             |
| 検体採取後の保存期間 | 約 1 年 3 か月                                      |
| 核酸収量       | DNA : 2,074 ng   RNA : 38,778 ng                |
| 核酸分解度      | ΔΔCq 値 : 1.6   DV200 : 44%                      |

## 結果

## DNA解析:体細胞変異

TMB 1.1 mut/Mb

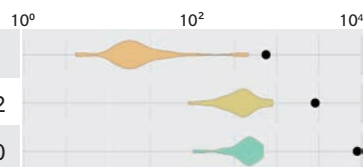
## コピー数異常 (増幅)

|                |         |          |
|----------------|---------|----------|
| • CD274(PD-L1) | • JAK2  | • TERT   |
| • CDK4         | • MDM2  | • TRIP13 |
| • GOLGA5       | • PTPRB | • WWTR1  |
| • IGF1R        | • TEK   |          |

## RNA解析

## 遺伝子発現 (一部抜粋)

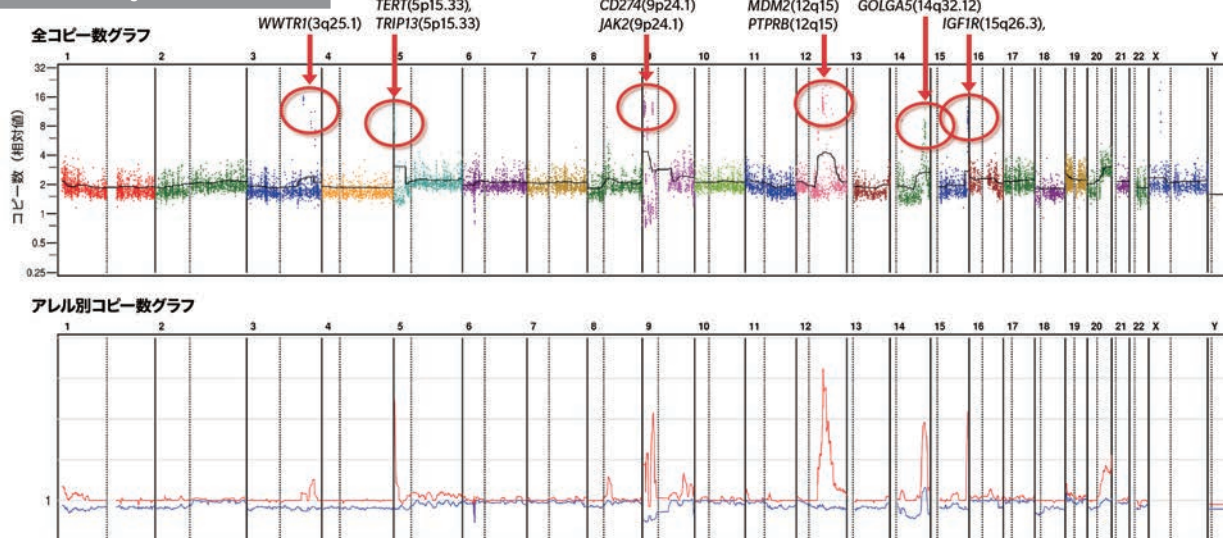
|              |             |
|--------------|-------------|
| CD274(PD-L1) | TPM 741.0   |
| CDK4         | TPM 2,389.2 |
| MDM2         | TPM 8,938.0 |



## 監修者からのコメント

- 脂肪肉腫に特徴的なCDK4, MDM2の増幅が確認され、治療薬の候補を挙げることができた。
- 点変異が少なく、diploid、遺伝子増幅が多く検出されるパターンは脂肪肉腫に典型的であった。
- CD274, CDK4, MDM2の増幅の結果として、それぞれの遺伝子の発現量も高値を示していた。
- 全コピー数グラフから、コピー数異常が確認された9p24,12q15領域の増幅が確認できた。また、アレル別コピー数グラフから、9p24, 12q15領域の増幅は一方のアレルにのみ生じていることが示唆された。

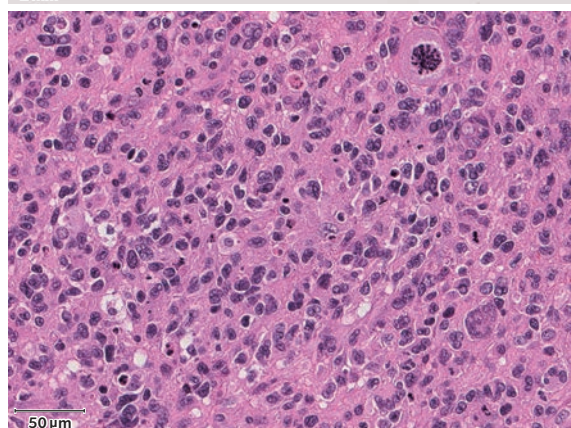
## Supplementary Information※



※Supplementary Informationは承認範囲に含まれない情報です。本情報だけを基にエキスパートパネルで議論することは差し控えてください。

※実際のSupplementary Informationには遺伝子名は表示されません。

## 症例3:手術検体



## 検体

|            |                                                  |
|------------|--------------------------------------------------|
| がん種        | 星細胞腫                                             |
| 組織体積       | 3.0 mm <sup>3</sup> (75.3 mm <sup>2</sup> , 4 枚) |
| 腫瘍率        | 90%                                              |
| 検体採取後の保存期間 | 約 1 年 6 か月                                       |
| 核酸収量       | DNA : 2,239 ng   RNA : 35,880 ng                 |
| 核酸分解度      | ΔΔCq 値 : 1.2   DV200 : 44%                       |

## 結果

## DNA解析: 体細胞変異

## 一塩基置換及び塩基の挿入/欠失 (一部抜粋)

|              |                   |
|--------------|-------------------|
| H3-3A(H3F3A) | c.83A>T, p.K28M   |
| PDGFRA       | c.863A>G, p.Y288C |
| TP53         | c.473G>C, p.R158P |

TMB 3.7 mut/Mb

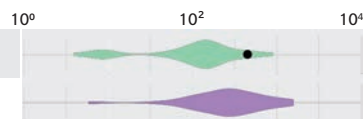
## コピー数異常 (増幅)

- KIT
- PDGFRA

## RNA解析

## 遺伝子発現 (一部抜粋)

|        |              |
|--------|--------------|
| KIT    | TPM 447.0    |
| PDGFRA | TPM 19,992.6 |

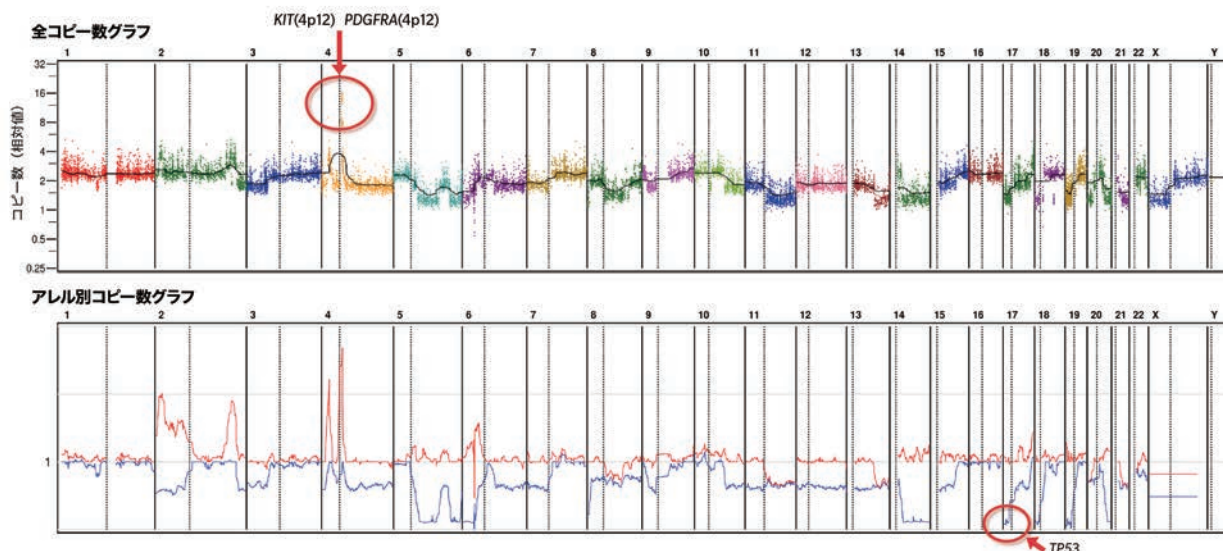


※PDGFRAの発現量は図示できないほど高値であった。

## 監修者からのコメント

- ・ CNS tumorの症例で、IDH1の変異は検出されず、H3-3Aの変異が検出されたため、Grade4に分類される。
- ・ KIT, PDGFRAの増幅が検出され、治療薬の候補を挙げることができた。
- ・ TP53の変異アレル頻度が86.4%であり、H3-3Aの変異アレル頻度は48.3%であった。アレル別コピー数グラフ及び上記を考慮すると、TP53領域でLOHが生じていると考えられる。

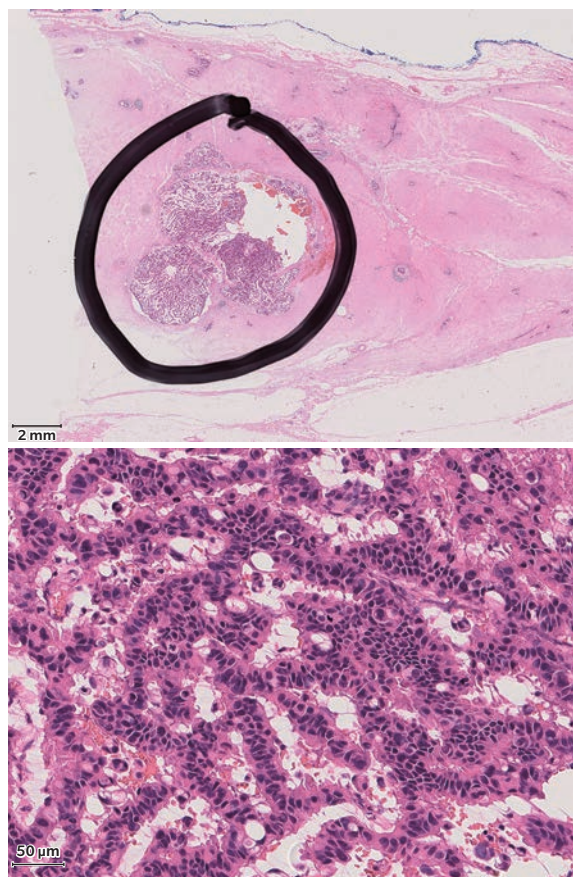
## Supplementary Information※



※Supplementary Informationは承認範囲に含まれない情報です。本情報だけを基にエキスパートパネルで議論することは差し控えてください。

※実際のSupplementary Informationには遺伝子名は表示されません。

## 症例4:手術検体



上段の写真の黒線は実際の解析のために行ったマーキングです。  
ご提出の際には同様にマーキングをお願いします。

## 検体

|            |                                                    |
|------------|----------------------------------------------------|
| がん種        | 浸潤性乳管がん                                            |
| 組織体積       | 10.6 mm <sup>3</sup> (70.6 mm <sup>2</sup> , 15 枚) |
| 腫瘍率        | 80%                                                |
| 検体採取後の保存期間 | 約 2 年 6 か月                                         |
| 核酸収量       | DNA : 3,636 ng   RNA : 3,933 ng                    |
| 核酸分解度      | ΔΔCq 値 : 1.5   DV200 : 43%                         |

## 結果

## DNA解析: 体細胞変異

## 一塩基置換及び塩基の挿入/欠失 (一部抜粋)

MAP2K4 | c.676A>T, p.I226F

TMB 2.7 mut/Mb

## コピー数異常 (増幅)

• CDK12 • FLNA • RAD51C  
• ERBB2(HER2) • PPM1D • RNF43

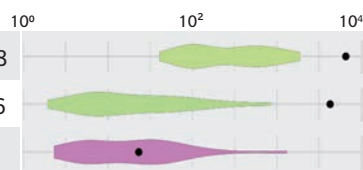
## RNA解析

## 遺伝子発現 (一部抜粋)

ERBB2(HER2) | TPM 6,556.8

ESR1(ER) | TPM 4,274.6

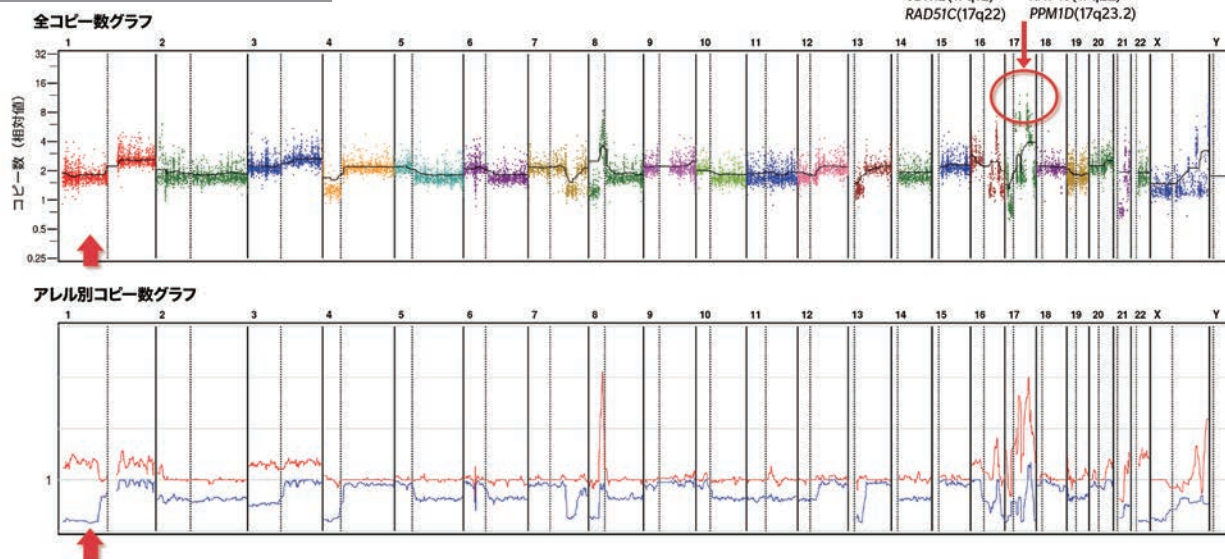
PGR | TPM 23.1



## 監修者からのコメント

- 組織診断ではER(Allred 5+3=8), PgR(Allred 0+0=0), HER2 Score 2+, FISH HER2/CEP17=3.8、HER2の細胞当たりのコピー数は10.8コピーであった。
- ERBB2のコピー数異常が検出されたこと、ERBB2及びESR1発現量は高値を示したがPGRは標準的な値であったことから、本検査結果は組織診断の結果を支持する結果であった。
- 1番染色体の短腕において、全コピー数グラフでは約2コピーであったが (上段矢印)、アレル別コピー数グラフでは片側アレルの増加及び片側アレルの減少が確認されているため (下段矢印)、UPD (Uniparental Disomy) が生じている可能性がある。

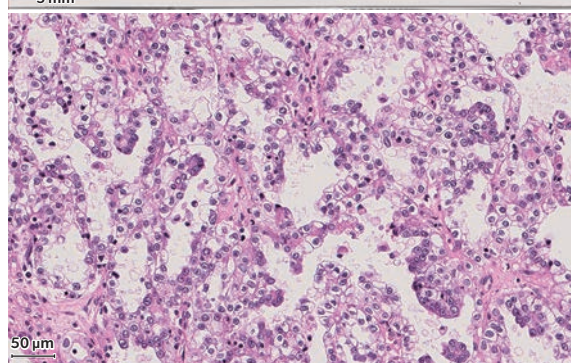
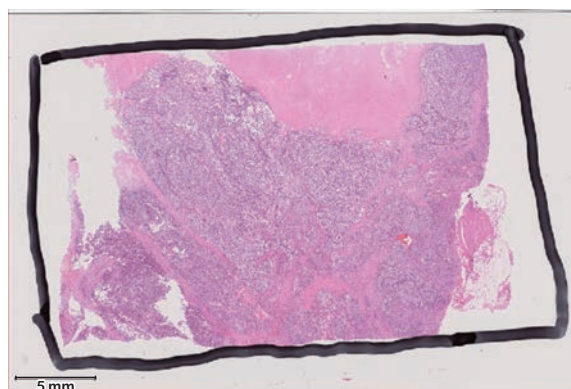
## Supplementary Information※



※Supplementary Informationは承認範囲に含まれない情報です。本情報だけを基にエキスパートパネルで議論することは差し控えてください。

※実際のSupplementary Informationには遺伝子名は表示されません。

## 症例5:生検検体



## 検体

|            |                                                 |
|------------|-------------------------------------------------|
| がん種        | 卵巣明細胞がん                                         |
| 組織体積       | 9.3 mm <sup>3</sup> (463 mm <sup>2</sup> , 2 枚) |
| 腫瘍率        | 60%                                             |
| 検体採取後の保存期間 | 約 2 年                                           |
| 核酸収量       | DNA : 5,868 ng   RNA : 4,784 ng                 |
| 核酸分解度      | ΔΔCq 値 : 3.4   DV200 : 47%                      |

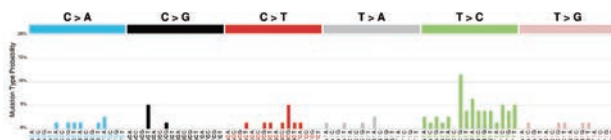
## 結果

## DNA解析: 体細胞変異

## 一塩基置換及び塩基の挿入/欠失 (一部抜粋)

|               |                                 |
|---------------|---------------------------------|
| ABCB4         | c.609_610insT, p.A204Cfs*39     |
| ARID1A        | c.2402_2403insG, p.Q802Sfs*15   |
| CHUK          | c.1400A>G, p.N467S              |
| KMT2B         | c.424C>T, p.R142*               |
| MRE11(MRE11A) | c.1225+2T>C                     |
| NOTCH3        | c.4556T>C, p.L1519P             |
| POLD1         | c.2959_2960insG, p.D987Gfs*41   |
| POLQ          | c.4290_4291insTT, p.K1431Lfs*13 |
| PTEN          | c.828T>A, p.N276K               |
| RUNX1T1       | c.446G>A, p.R149H               |

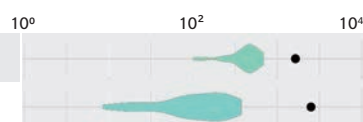
## TMB 28.8 mut/Mb



## RNA解析

## 遺伝子発現 (一部抜粋)

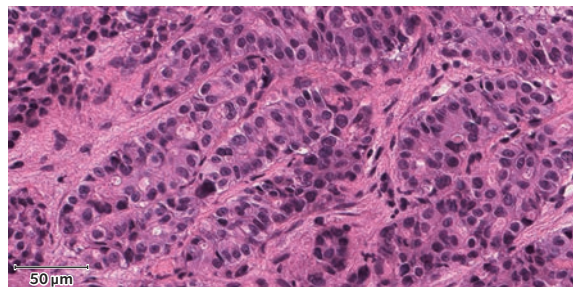
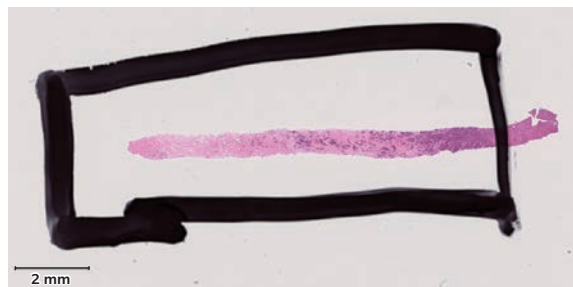
|      |             |
|------|-------------|
| MDM2 | TPM 1,639.5 |
| MET  | TPM 2,510.9 |



## 監修者からのコメント

- ・ POLD1の変異に伴うと考えられるSNV、単塩基挿入による変異が多く見いだされ、TMBは高値であった。
- ・ 卵巣がんで頻度の高いPOLE/POLD1複合変異ではなくPOLQ変異が認められた。
- ・ 塩基置換パターンが特徴的であり、この腫瘍の遺伝子修復機構と関与している可能性が示唆された。
- ・ 卵巣明細胞がんで頻度の高いARID1Aの変異が検出された。
- ・ POLE/POLD1変異腫瘍は予後の良い腫瘍として知られているが、TMBスコア高値であったため、治療薬の候補を挙げる事ができた。

## 症例6:生検検体



上段の写真の黒線は実際の解析のために行ったマーキングです。  
ご提出の際には同様にマーキングをお願いします。

## 監修者からのコメント

- 針生検検体であり、組織体積は十分でなかったものの、解析に十分な核酸収量が得られた。
- 核酸の分解度はやや高めではあったものの、その後の解析に問題はなく、検査結果が得られた。

## 検体

|            |                                                  |
|------------|--------------------------------------------------|
| がん種        | 肝内胆管がん                                           |
| 組織体積       | 0.9 mm <sup>3</sup> (6.2 mm <sup>2</sup> , 15 枚) |
| 腫瘍率        | 80%                                              |
| 検体採取後の保存期間 | 約 1 年                                            |
| 核酸収量       | DNA : 253 ng   RNA : 403 ng                      |
| 核酸分解度      | ΔΔCq 値 : 4.6   DV200 : 30%                       |

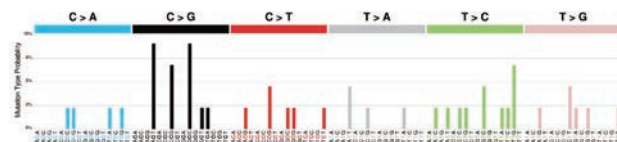
## 結果

## DNA解析: 体細胞変異

## 一塩基置換及び塩基の挿入/欠失 (一部抜粋)

NRAS | c.182A>G, p.Q61R PRSS1 | c.367G>A, p.V123M  
PIK3CA | c.1034A>G, p.N345S TP53 | c.1036G>T, p.E346\*

## TMB 11.2 mut/Mb

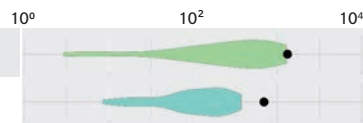


## RNA解析

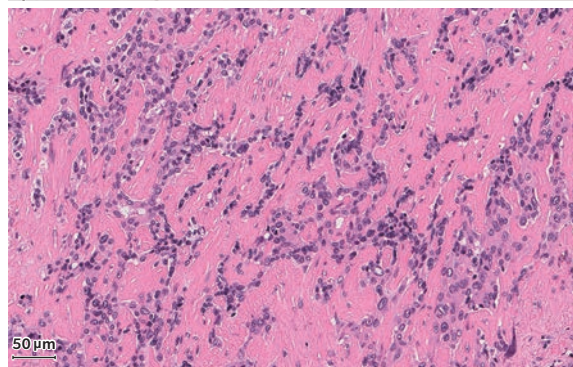
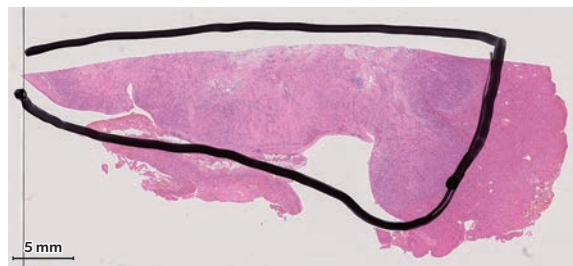
## 遺伝子発現 (一部抜粋)

FGFR2 | TPM 1,318.4

MET | TPM 694.9



## 症例7:手術検体



上段の写真の黒線は実際の解析のために行ったマーキングです。  
ご提出の際には同様にマーキングをお願いします。

## 監修者からのコメント

- FGFR2-BICC1の融合遺伝子が検出され、治療薬の候補を挙げる事ができた。
- FGFR2遺伝子の融合は肝内胆管がんでは比較的頻度が高いドライバーである。
- FGFR2発現量は高値を示していた。これはFGFR2-BICC1融合遺伝子によるものと考えられた。

## 検体

|            |                                                 |
|------------|-------------------------------------------------|
| がん種        | 肝細胞がん・肝内胆管がん混合                                  |
| 組織体積       | 9.1 mm <sup>3</sup> (304 mm <sup>2</sup> , 3 枚) |
| 腫瘍率        | 80%                                             |
| 検体採取後の保存期間 | 約 1 年 4 か月                                      |
| 核酸収量       | DNA : 4,680 ng   RNA : 9,177 ng                 |
| 核酸分解度      | ΔΔCq 値 : 1.6   DV200 : 47%                      |

## 結果

## DNA解析: 体細胞変異

## TMB 1.1 mut/Mb

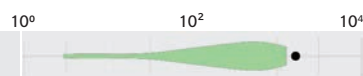
## RNA解析

## 融合遺伝子

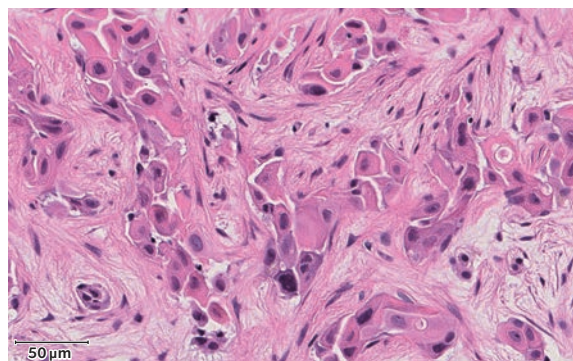
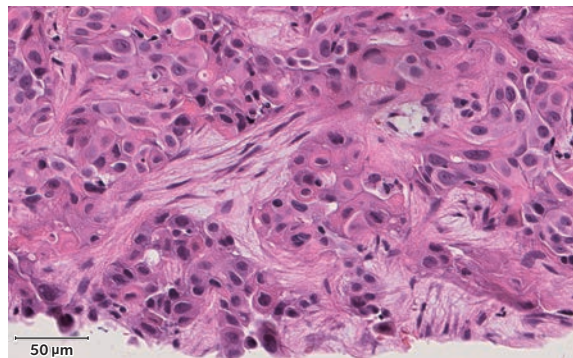
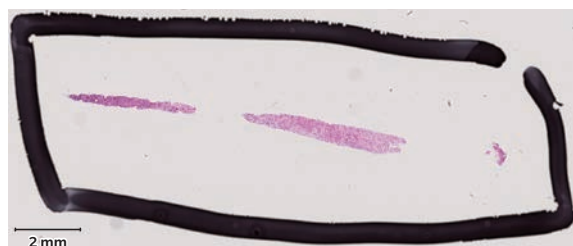
FGFR2-BICC1

## 遺伝子発現 (一部抜粋)

FGFR2 | TPM 1,660.8



## 症例8:検体量不足



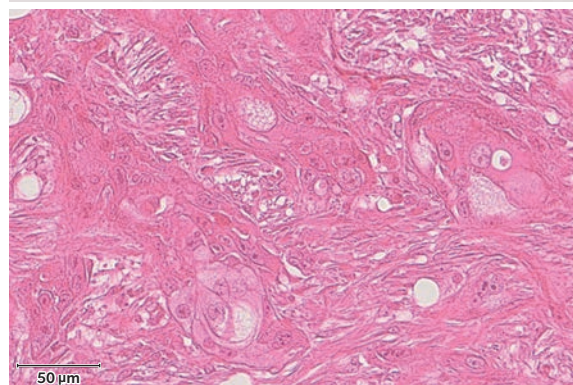
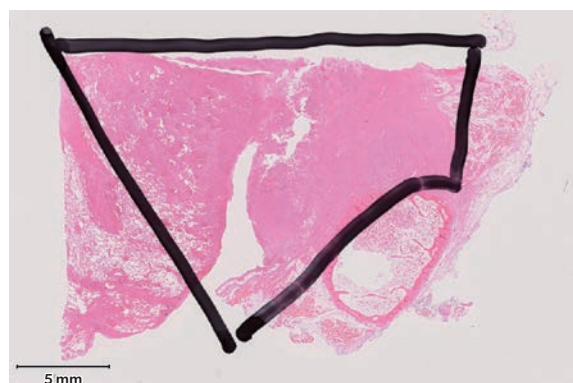
## 検体

|            |                                                  |
|------------|--------------------------------------------------|
| がん種        | 肝内胆管がん                                           |
| 組織体積       | 0.7 mm <sup>3</sup> (4.4 mm <sup>2</sup> , 16 枚) |
| 腫瘍率        | 70%                                              |
| 検体採取後の保存期間 | 約 8 か月                                           |
| 核酸収量       | DNA : 15 ng   RNA : 168 ng                       |
| 核酸分解度      | ΔΔCq 値 : 4.1   DV200 : 42%                       |

## 監修者からのコメント

- ・ 組織体積が少なかったため、十分な核酸量が得られず不適となった。細胞密度が高い場合は十分な核酸量が得られる可能性があるが、推奨以下の組織体積では核酸量不足になる可能性が高くなる。
- ・ 特に、このような針生検では、最初と最後の薄切標本で腫瘍含有量が大きく異なることがあるため、最初と最後の標本のHE染色を実施し、それらの腫瘍含有量を確認してから検査に依頼することが望ましい。

## 症例9: 酸脱灰処理による不良



## 検体

|            |                                                  |
|------------|--------------------------------------------------|
| がん種        | 肺扁平上皮がん (胸壁浸潤)                                   |
| 組織体積       | 10.2 mm <sup>3</sup> (169 mm <sup>2</sup> , 6 枚) |
| 腫瘍率        | 30%                                              |
| 検体採取後の保存期間 | 約 10 か月                                          |
| 核酸収量       | DNA : 検出限界未満   RNA : 検出限界未満                      |
| 核酸分解度      | ΔΔCq 値 : 測定不可   DV200 : 測定不可                     |

## 監修者からのコメント

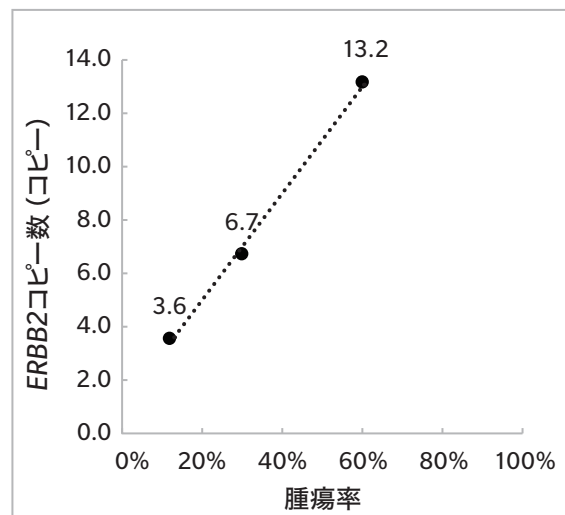
- ・ 組織体積、腫瘍率は十分であるが、十分な核酸量が得られず不適となった。酸脱灰処理によってDNA、RNAが分解されてしまったものと考えられた。
- ・ ゲノム診療用の検体作製においては、酸脱灰処理は避け、「ゲノム診療用病理組織検体採取規程」等に従った手順で適切に検体を作製する必要がある。

## 腫瘍率及び核酸分解度の影響

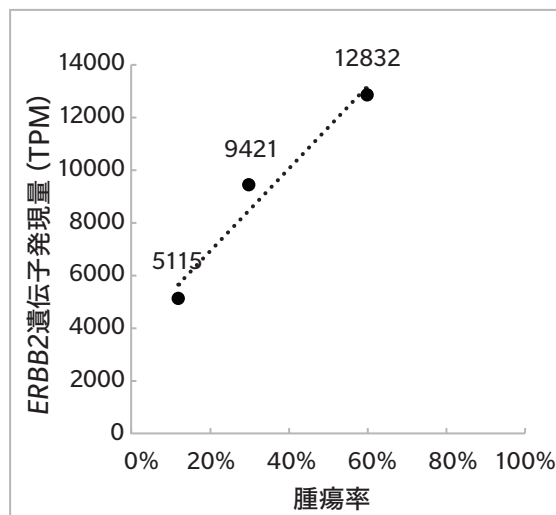
### ■ 腫瘍率が解析に及ぼす影響について

ERBB2 CNA陽性検体（腫瘍率60%）について、正常検体で2倍希釈（腫瘍率30%）、5倍希釈（腫瘍率12%）して腫瘍率を人工的に下げた場合のコピー数及び遺伝子発現量を解析した。

CNA解析



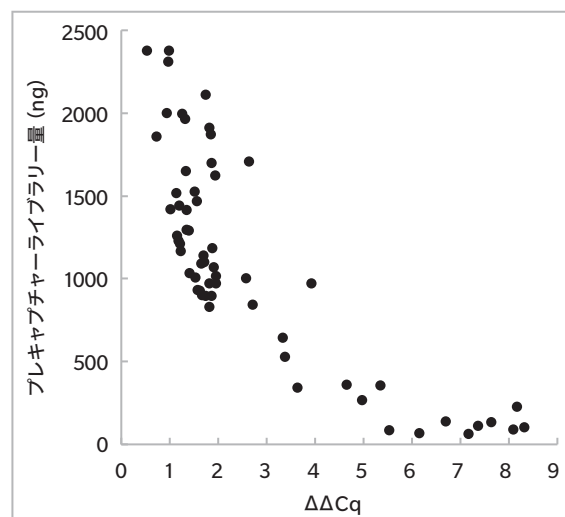
発現量解析



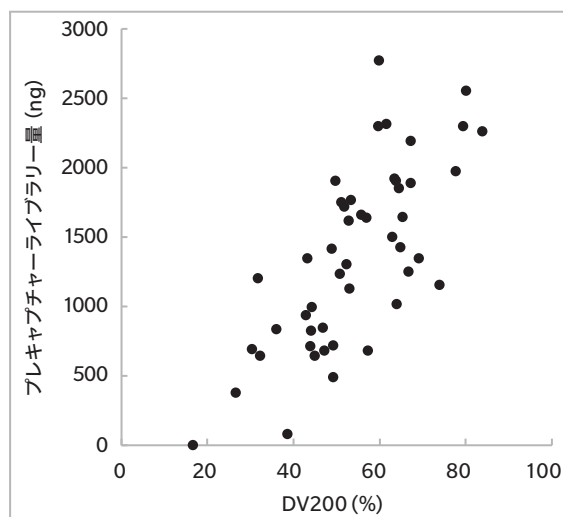
腫瘍率を減少させると、ERBB2のコピー数、遺伝子発現量は共に減少した。

腫瘍率が低い検体を使用すると、DNAの変異率が低下するだけでなく、コピー数や遺伝子発現量にも影響します。したがって、検出感度を高めるためには腫瘍率が非常に重要です。FFPE標本の提出に際しては、腫瘍率が極力高くなるように腫瘍部にマーキングしてからご提出ください。

### ■ 核酸の分解度とプレキャプチャーライブラリー量の相関



ΔΔCqが低値であるほどプレキャプチャーライブラリー量が増加する傾向にあった。



DV200が高値であるほどプレキャプチャーライブラリー量が増加する傾向にあった。

GenMineTOPではΔΔCq < 5.0, DV200 ≥ 30.0 %を核酸品質の目安としております。

## 全般

### Q1 化学療法等治療後の検体は検査可能ですか。

**A** 治療後の検体も受け付け可能です。ただし、治療によって腫瘍細胞が少なくなることが想定されますので、十分な組織量・腫瘍細胞含有量が含まれていることをご確認ください。また、放射線治療や薬物治療を受けた腫瘍細胞では何らかの遺伝子の変化が生じている可能性も考えられます。血液は治療直後においては血球数が低下している可能性があります。血液検体に関しては、白血球数が十分あること（白血球数は1000 cells/ $\mu$ L以上）を確認した上でご提出ください。

## 血液検体に関して

### Q2 血液検体は採血後、何日間の保存が可能でしょうか。検体の保存条件はありますか。

**A** 採血後、速やかなご提出をお願いします。当社では冷蔵で1か月保管した血液において、DNA解析結果が変わらないことを確認しておりますが、検体提出まで時間がかかる場合は搬送日数等も考慮し、冷蔵保管の上、2週間以内にご提出ください。

### Q3 血液を1mLずつ2本の採血管に入れて提出しても良いですか。

**A** 基本的に2mL採血管1本でのご提出をお願いします。規定量のご提出が困難な場合や複数本の採血管のご提出を希望される場合等、検体提出に際してのご不明点は、委託元検査会社へお問い合わせください。

### Q4 凍結した血液もしくはそれを融解した血液を提出してもいいですか。

**A** 凍結した血液検体は受け付けておりません。

## FFPE標本に関して

### Q5 検体採取後、ホルマリン固定の注意点はありますか。

- A** 日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」において、摘出後可及的速やかに固定液に浸漬し固定を行い、難しい場合は冷蔵庫（4℃）等に保管し3時間以内に固定を行うことが推奨されております。固定は室温で行い、加温はしないでください。

### Q6 手術検体、生検検体それぞれの固定に関して気を付けるべきことはありますか。

- A** 手術検体に関しては、摘出後速やかに冷蔵庫で保管し、1時間以内に固定を行ってください。固定時間は18～36時間以内としてください。固定液の注入や割を入れるなどの作業を行い、固定液を速やかに浸透させ、固定液の浸透がよい部分をご提出ください。生検検体に関しては、速やかに固定を行ってください。固定時間は6～24時間以内としてください。

### Q7 FFPEブロックの保管年数による制限はありますか。

- A** 保管年数による制限はありませんが、可能な限り作製後3年以内のFFPE検体をご用意ください。日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」では保管期間が長くなるほど解析の成功率が低下することが示されており、ブロック作製から3年以内の検体が推奨されております。本検査ではDNAだけでなく、分解されやすいRNAも解析に使用するため、ブロック作製から2年以内の検体をご提出いただけますと解析成功率が高くなると考えられます。

### Q8 未染色標本スライドは薄切から何日間の保存が可能ですか。保存の推奨温度条件はありますか。

- A** 薄切後、1か月程度の保存であれば解析に問題がないことを当社で確認しておりますが、薄切後は核酸の品質保持のため速やかなご提出をお願いします。薄切後の常温での保存は8時間までとし、それを越える場合は冷蔵保管をお願いします。なお長期間保存された薄切検体については、日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」に記載のとおり、本検査への使用を避け、再薄切してからご提出ください。

### Q9 線維化した検体でも解析可能ですか。

- A** 線維化すると有核細胞が少なくなります。なるべく線維化していない部分の割合が高い検体をご提出いただくか、有核細胞の多い部分にマーキングし、マクロダイセクションを希望いただいた上、検体量を多めにご提出ください。

### Q10 EUS-FNAの検体で注意することはありますか。

- A** EUS-FNA等の血液の多い検体は有核細胞が多い部分にマーキングし、規定体積量になるよう標本枚数をご提出ください。

## Q11 肝細胞の検体に注意点はありますか。

**A** 肝細胞の検体の場合、正常肝細胞は多くの場合DNA量が2倍以上となります。そのため、できる限り正常肝細胞が入らないようにマーキングをお願いします。正常肝細胞が入ってしまう場合は、腫瘍細胞由来の核酸割合が腫瘍細胞より低くなりますので、少なくとも腫瘍率40%以上の検体をご提出ください。

## Q12 FFPE標本の1枚当たりの組織面積が小さいため、規定体積を満たすためには多くの枚数を提出することになりますが問題がありますか。

**A** ご提出いただく検体の枚数が増えることは構いません。薄切の最初と最後で腫瘍含有率が異なることがありますので、未染色標本が50枚程度を超える場合は、最初と最後のHE染色標本もご提出ください。

## Q13 1枚のスライドに複数の切片が載っていても検査は可能ですか。

**A** 「同一 FFPE ブロック由来の検体を同一スライドに複数載せる場合（図1）」、あるいは「同一部位から同一タイミングで採取された生検検体の別 FFPE ブロックから作成した切片が1枚のスライドに載せられている場合（図2）」は、1枚のスライドに複数の切片が載っていても検査は可能です。

複数の切片を載せて検体をご提出される場合は、同様のHE染色スライドをご用意ください。

図1 同一FFPEブロック由来の検体を  
同一スライドに複数載せる場合

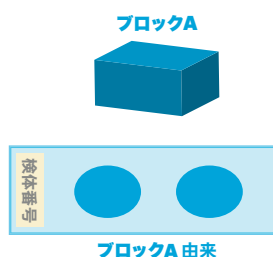
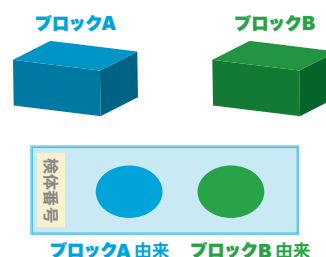


図2 同一部位から同一タイミングで  
採取された生検検体の複数ブロック



一方で、異なる部位（異なる臓器や異なる転移巣）や異なるタイミングで採取された検体から作製した切片を、1枚のスライドに載せることは避けてください。異なる部位等から採取された場合、腫瘍の不均一性などの影響により、結果に影響を及ぼすもしくは解釈が困難となる場合があります。

## Q14 脱灰処理について、推奨する条件はありますか。

**A** 可能な限り、脱灰処理をせずに検体を作製ください。やむを得ず脱灰処理をする際には、日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」に記載のとおり、EDTA脱灰を推奨します。

## Q15 FFPE標本由来の核酸量が足りなかった場合、不足分のみを追加提出すべきか、新たにまた規定枚数を提出すべきか教えてください。

**A** 新たに規定枚数をお送りください。本検査では核酸の混合使用を実施しておりません。

### その他

**Q16** 検査依頼後に検査を中止したい場合、どのような手続きが必要ですか。

**A** 中止することが確定した時点で委託元検査会社へお問い合わせください。

---

**Q17** 検体は返却可能ですか。

**A** HE標本及び未使用標本等、全ての検体について返却不可としています。受け入れ工程で不備がある等検体を検査に使用していない場合、かつやむを得ない事由がある場合については返却できる可能性がありますので、委託元検査会社へお問い合わせください。

## GenMineTOP Webページのご案内

<https://genmine-labs.jp/jp/>



GenMineTOP がんゲノムプロファイリングシステムを正しくご理解、  
ご使用いただくためのWebページがございます。  
本サイトでは、本品に関する基本情報、検査フロー、関連ニュース等の  
情報をご案内しております。

### GenMineTOP がんゲノムプロファイリングシステム お問い合わせ先/製造販売元

#### 製品に関するお問い合わせ

株式会社GenMine Labs

カスタマーサービス

電話：0120-427-367（受付時間：平日9：00～17：00）

メールアドレス：CS-JAPAN@genmine-labs.jp

#### 製造販売元

株式会社GenMine Labs

#### GenMineTOPポータルの操作、検査受託に関するお問い合わせ

株式会社LSIメディエンス

インフォメーション

電話：03-5994-2111（受付時間：平日9：00～17：45）

URL：<https://www.medience.co.jp/>

GenMine、GenMineTOP、GenMine Labsは、株式会社GenMine Labsの登録商標または商標です。