体外診断用医薬品

この電子添文をよく読んでから使用してください。

＊＊2025年　8 月改訂　(第 12 版)
＊2025年　7 月改訂　(第 11 版)

製造販売承認番号: 30300EZX00076000

クラス III 免疫検査用シリーズ　80010003

EGFR 遺伝子変異検出キット　ALK 融合遺伝子検出キット　ROS1 融合遺伝子検出キット　BRAF 遺伝子変異検出キット
MET 遺伝子変異検出キット　KRAS 遺伝子変異検出キット　RET 遺伝子変異検出キット

AmoyDx®肺癌マルチ遺伝子PCRパネル

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用医薬品である。*EGFR*遺伝子変異、*ALK*融合遺伝子、*ROS1*融合遺伝子、*RET*融合遺伝子、*BRAF*遺伝子変異、*MET*遺伝子変異及び*KRAS* G12C遺伝子変異以外の遺伝子の検査目的には使用しないこと。
2. 検査結果に基づく臨床診断、使用目的欄に記載した医薬品の適用は、医師が臨床症状や他の検査結果を含めて総合的に判断すること。
3. 本電子添文に記載された使用目的、用法・用量（操作方法）に従って使用すること。記載以外の使用については、測定結果の信頼性を保証できない。
4. 本品は116種類のホットスポットを検出するように設計されている。対象外のホットスポットは検出できない。陰性結果判定の際に注意すること。
5. 本品の測定結果を正しく得るためには、検体を適切に取扱うこと。ゲノムDNA、トータルRNAの品質に注意すること。また、腫瘍検体は不均一であり、同じ腫瘍であっても部位により結果が一致しないことや、非腫瘍部位が含まれる場合があることに注意すること。
6. 本品の測定結果が、融合遺伝子／遺伝子変異陽性と判定された場合でも、PCR反応時のコンタミネーション、検体やLEG陽性対照を取扱う際のクロスコンタミネーションにより、偽陽性と判定されてしまう場合がある。検体や試薬取扱い時、判定時に注意すること。
7. 本品の測定は、臨床検査並びに使用する機器のトレーニングを受けた担当者が実施すること。本品及び測定装置の取扱説明書をよく読んでから使用すること。本品の取扱説明書については、製造販売元である株式会社理研ジェネシスのウェブサイトを参照すること。

＊, ＊＊8. 本品をゲフィチニブ、エルロチニブ塩酸塩、アファチニブマレイン酸塩、オシメルチニブメシル酸塩、又はアミバンタマブ（遺伝子組換え）及びラゼルチニブメシル酸塩水和物（以上*EGFR*遺伝子変異）、クリゾチニブ、アレクチニブ塩酸塩、ブリグチニブ、ロルラチニブ（以上*ALK*融合遺伝子）、クリゾチニブ、エヌトレクチニブ、レポトレクチニブ（以上*ROS1*融合遺伝子）、ダブラフェニブメシル酸塩及びトラメチニブジメチルスルホキシド付加物（以上*BRAF*遺伝子変異）、テポチニブ塩酸塩水和物、カプマチニブ塩酸塩水和物、グマロンチニブ水和物（以上*MET*遺伝子エクソン14スキッピング変異）、ソトラシブ（以上*KRAS* G12C遺伝子変異）、セルペルカチニブ（以上*RET*融合遺伝子）の適応を判定するための補助として用いる際には、当該医薬品の本邦における最新の添付文書を参照すること。

【形状・構造等（キットの構成）】

本品は全てが液剤からなる以下の構成試薬より構成される。

1. 試薬の構成

構成試薬名		数量
LEG反応ミックスA	LEG反応液A1	8チューブ×12
	LEG反応液A2	
	LEG反応液A3	
	LEG反応液A4	
	LEG反応液A5	
	LEG反応液A6	
	LEG反応液A7	
	LEG反応液A8	
LEG反応ミックスB	LEG反応液B1	8チューブ×12
	LEG反応液B2	
	LEG反応液B3	
	LEG反応液B4	
	LEG反応液B5	
	LEG反応液B6	
	LEG反応液B7	
	LEG反応液B8	
LEGRT反応ミックスI		220 µL/チューブ×1
LEGRT反応ミックスII		220 µL/チューブ×1
LEG逆転写酵素		16 µL/チューブ×1
LEG酵素ミックスA		45 µL/チューブ×1
LEG酵素ミックスB		45 µL/チューブ×1
LEG陽性対照		500 µL/チューブ×1

2. 反応系に関与する成分

＜dNTP混合物＞
dATP、dCTP、dGTP、dTTP、dUTP

＜プライマー＞
EML4-M1-F31、EML4-M2-F31、EML4-M2-F23、EML4-M3-F32、EML4-M6-F11、EML4-M7-F13、EML4-M8-F39、EML4-M17-F21、EML4-M20-F27、EML4-M21-F22、KIF5B-M1-F01、KIF5B-M2-F13、KCL1-M1-F01、TFG-M1-F02、ALK-20-R-39、ROS1-M1-F2-tag-EA、ROS1-M2-F2-tag-EA、ROS1-M3-F2-tag-EA、ROS1-M4-F2-tag-EA、ROS1-M5-F2-tag-EA、ROS1-M10-F2-tag-EA、ROS1-M1-R2-tag-EA、ROS1-M6-R2-tag-EA、ROS1-M11-F2-tag-EA、ROS1-M12-F2-Tag-EA、ROS1-M13-F2-Tag-EA、ROS1-M11-R2-Tag-EA、E-20-M2-F54、E-20-M2-R50、E-20-M2-R54、E-20-M2-R55、E-20-M2-R56、E-19-R4、E-19-M2-S51、E-19-M6-S50、E-19-M1-S50、E-19-M7-S11、E-19-M11-S31、E-19-M12-S30、E-19-M14-S17、E-21-M1-F51、E-21-R10、E-18-M2-FR16、E-18-M3-FR12、E-18-M-FF3、E-21-M2-S11、E-21-R10、E-20-M1-F127、E-20-M1-F130、E-20-R10、E-20-M4-S20、E-20-M8-S9、E-20-M10-F3、E-20-M14-F1、E-20-M19-F21、E-20-M44-F3、E-20-M51-F3、E-20-M3-R17、E-20-M32-R3、E-20-M35-R11、B-raf-M1-F10、B-raf-R3、E-20-M6-F3、E-20-M7-F3、E-20-M6-R3、ROS1-M1-R2、ROS1-M6-R2、ROS1-M11-R2、MET-IC-F2-5、MET-IC-R4、MET-M1-F1-4、MET-BL2、MET-M1-R1-3、K-M3-F25、K-M16-R11、KR-M1-F2、KR-M2-F2、KR-M3-F2、KR-M5-F2、KR-M8-F3、KR-M9-F1、LRET-M22-F1、LRET-M32-F3、LRET-M40-F3、LRET-M41-F2、LRET-M42-F2、LRET-M44-F1、LRET-M45-F4、LRET-M49-F1、LRET-M55-F2、LRET-M57-F1、KR-M1-R2

＜プローブ＞
MGB-ALK-20-P2、ROS1-M1-P2、ROS1-M6-P1、ROS1-M11-P2、E-20-M2-P16-VIC、E-19-P-C20、E-21-M1-P10-FAM、E-18-M3-FP6-HEX、E-18-M3-FP1-VIC、E-21-P-C23-HEX、E-20-P-C21、E-20-M1-P12、E-20-M2-P10-FAM、B-raf-P3-HEX、E-20-M6-P1-ROX、MET-M1-P2、K-P-C4-VIC、KR-M1-P2

＜タグプライマー＞
Tag-EA

＜ブロックプライマー＞
E-20-M2-Block2、E-19-Block2、E-21-M1-Block1、E-18-block-F1、E-20-M1-Block41、Braf-block1

＜逆転写酵素＞
2#M-MLV

＜DNAポリメラーゼ＞
Taq HS

【使用目的（臨床的意義）】

がん組織から抽出したDNA中の遺伝子変異（*EGFR*遺伝子変異、*BRAF*遺伝子変異（V600E）及び*KRAS*遺伝子変異（G12C））並びにRNA中の融合遺伝子（*ALK*融合遺伝子、*ROS1*融合遺伝子及び*RET*融合遺伝子）及び*MET*遺伝子エクソン14スキッピング変異の検出

＊・*EGFR*遺伝子変異：ゲフィチニブ、エルロチニブ塩酸塩、アファチニブマレイン酸塩、オシメルチニブメシル酸塩、又はアミバンタマブ（遺伝子組換え）及びラゼルチニブメシル酸塩水和物の非小細胞肺癌患者への適応を判定するための補助に用いる。

・*BRAF*遺伝子変異（V600E）：ダブラフェニブメシル酸塩及びトラメチニブジメチルスルホキシド付加物の非小細胞肺癌患者への適応を判定するための補助に用いる。

＊＊・*ALK*融合遺伝子：クリゾチニブ、アレクチニブ塩酸塩、ブリグチニブ又はロルラチニブの非小細胞肺癌患者への適応を判定するため

の補助に用いる。
・*ROS1*融合遺伝子：クリゾチニブ、エヌトレクチニブ又はレポトレクチニブの非小細胞肺癌患者への適応を判定するための補助に用いる。
・*MET*遺伝子エクソン14スキッピング変異：テポチニブ塩酸塩水和物、カプマチニブ塩酸塩水和物又はグマロンチニブ水和物の非小細胞肺癌患者への適応を判定するための補助に用いる。
・*KRAS*遺伝子変異（G12C）：ソトラシブの非小細胞肺癌患者への適応を判定するための補助に用いる。
・*RET*融合遺伝子：セルペルカチニブの非小細胞肺癌患者への適応を判定するための補助に用いる。

【測定原理】

本品は、リアルタイム PCR を反応原理として、ホルマリン固定パラフィン包埋（以下、FFPE：Formalin-Fixed Paraffin-Embedded）組織、新鮮凍結組織の各種ヒト非小細胞肺癌検体から抽出したゲノム DNA、トータル RNA 中の合計 7 遺伝子の遺伝子変異又は融合遺伝子を検出するキットである。
本品の構成試薬のうち LEG 反応ミックス A を融合遺伝子検出用、及び LEG 反応ミックス B を遺伝子変異検出用に用いる。
各LEG反応ミックス、各チューブの測定対象遺伝子と検出シグナルは表1の通り。

表1. 各LEG反応ミックスでの測定対象遺伝子とシグナル

チューブ番号	LEG反応ミックスA		LEG反応ミックスB	
	遺伝子名	検出シグナル	遺伝子名	検出シグナル
①	*ALK*	FAM	*EGFR*※	FAM、VIC
②	（NA）	FAM	*EGFR*※	FAM、VIC
③	（NA）	FAM	*EGFR*※	FAM、HEX
④	（NA）	FAM	*EGFR*※	FAM
	（内部コントロール）	HEX	（NA）	HEX
⑤	*ROS1*	FAM	*EGFR*※	FAM
			KRAS	VIC
⑥	*ROS1*	FAM	（NA）	FAM、HEX
⑦	*MET*	FAM	（NA）	FAM
			BRAF	HEX
			EGFR※	ROX
⑧	*RET*	FAM	（外部コントロール）	FAM、VIC、HEX、ROX
	（内部コントロール）	HEX		

（NA）：本品の測定対象遺伝子以外の融合遺伝子あるいは遺伝子変異
※：表 2 を参照のこと

表2. 各LEG反応ミックスBのチューブ番号と検出変異

LEG 反応ミックス B チューブ番号	陽性蛍光シグナルと遺伝子変異	
①	FAM : *EGFR* exon 19 del	VIC : *EGFR* exon 20 S768I
②	FAM : *EGFR* exon 21 L858R	VIC : *EGFR* exon 18 G719A, G719S, G719C
③	FAM : *EGFR* exon 20 T790M	HEX : *EGFR* exon 21 L861Q
④	FAM : *EGFR* exon 20 Ins	—
⑤	FAM : *EGFR* exon 20 Ins	VIC : *KRAS* G12C
⑦	ROX : *EGFR* exon 20 C797S	HEX : *BRAF* exon 15 V600E

融合遺伝子と遺伝子変異で測定原理が異なる。

1. 融合遺伝子及びエクソンスキッピング変異検出（RNA）

逆転写

FFPE 組織検体又は新鮮凍結組織検体から抽出した RNA を鋳型とし、逆転写酵素及びターゲット遺伝子ごとに設計されたプライマーにより標的 RNA の相補的 DNA（cDNA）を合成する。

PCR 反応（プライマー）

融合遺伝子の上流側の遺伝子と下流側の遺伝子に相補的になるように設計されたプライマーを用いて、測定対象の両方の遺伝子を隣合わせにもつ融合遺伝子及びエクソンスキッピング変異の場合のみ PCR 増幅産物を得る。

2. 遺伝子変異検出（DNA）

PCR 反応（プライマー）

ターゲット遺伝子変異ごとに設計されたプライマーを用いた Amplification Refractory Mutation System（ARMS）法による PCR 反応より、遺伝子変異が検出される。
本品の変異 DNA 検出用プライマーは 3′末端側が変異型塩基配列に相補的となるように設計されている。標的配列の塩基とこのプライマーの 3′末端の変異型の塩基配列が一致した場合のみ、プライマーの 3′末端側を起点として、標的配列に相補的な DNA 鎖が合成され、PCR 増幅産物が得られる。
一方、プライマーは野生型 DNA の 3′末端側とは相補鎖を形成することができず、プライマーの 3′末端側を起点とする伸長反応は起こらず、PCR 増幅産物は得られない。

3. 融合遺伝子検出（RNA）／遺伝子変異検出（DNA）（共通）

PCR 反応（プローブ）

蛍光標識されたプローブを用い、加水分解プローブ法で行う。5'末端を蛍光物質で、3'末端をクエンチャー物質で修飾したオリゴヌクレオチドをプローブとして用いる。増幅に応じてクエンチャーから解放された蛍光物質が増加し、その結果蛍光強度として測定される。

PCR 増幅産物の検出（Ct 値の算出）

リアルタイム PCR 装置を用いてサイクルごとの蛍光強度を測定し、蛍光強度が閾値を超えたサイクルを Ct 値（Threshold Cycle）とする。

本品の測定対象融合遺伝子変異及び最小検出感度

ALK

融合タイプと最小検出感度（コピー/μL）			
EML4 exon13;*ALK* exon20	25	*EML4* exon20;ins18 *ALK* exon20	25
EML4 exon6 ins33;*ALK* exon20※	25	*EML4* exon17del58;ins39 *ALK* exon20	25
EML4 exon20;*ALK* exon20	25	*EML4* exon17 ins65;*ALK* exon20	25
EML4 exon18;*ALK* exon20※	25	*EML4* exon17;ins30 *ALK* exon20	25
EML4 exon2;*ALK* exon20	25	*EML4* exon17 ins61;ins34 *ALK* exon20	25
EML4 exon17;ins68 *ALK* exon20	25	*EML4* exon3;ins53 *ALK* exon20※	25
EML4 exon2;ins117 *ALK* exon20※	25	*KIF5B* exon24;*ALK* exon20	25
EML4 exon13;ins69 *ALK* exon20	25	*KIF5B* exon17;*ALK* exon20	25
EML4 exon6;*ALK* exon20	25	*KLC1* exon9;*ALK* exon20	25
EML4 exon6;*ALK* exon19	25	*TFG* exon4;*ALK* exon20	25
EML4 exon6;ins18 *ALK* exon20	25	—	—

※：本品感度試験にて測定

ROS1

融合タイプと最小検出感度（コピー/μL）	
SLC34A2 exon4;*ROS1* exon32	25
SLC34A2 exon13 del2046;*ROS1* exon32	25
CD74 exon6;*ROS1* exon32	25
SDC4 exon2;*ROS1* exon32※	25
SDC4 exon4;*ROS1* exon32※	25
SLC34A2 exon4;*ROS1* exon34	25
SLC34A2 exon13 del2046;*ROS1* exon34	25
CD74 exon6;*ROS1* exon34※	25
SDC4 exon4;*ROS1* exon34	25
EZR exon10;*ROS1* exon34※	25
TPM3 exon8;*ROS1* exon35※	25
LRIG3 exon16;*ROS1* exon35※	25
GOPC exon8;*ROS1* exon35※	25

※：本品感度試験にて測定

MET

遺伝子	エクソン	変異タイプと最小検出感度（コピー/μL）	
MET	14	exon14 skipping※	25

※：本品感度試験にて測定

RET

融合タイプと最小検出感度（コピー/μL）			
CCDC6 exon1; *RET* exon12[18]	25	*KIAA1468* exon10; *RET* exon12[18]	25
NCOA4 exon6; *RET* exon12※[18]	25	*KIF13A* exon18; *RET* exon12[18], [21]	25
KIF5B exon15; *RET* exon12[18]	25	*MPRIP* exon19; *RET* exon12※[22]	25
KIF5B exon16; *RET* exon12[18]	25	*MYO5C* exon25; *RET* exon12※[23]	25
KIF5B exon23; *RET* exon12[18]	25	*PICALM* exon19; *RET* exon12[18], [24], [25]	25

融合タイプと最小検出感度（コピー/μL）			
KIF5B exon22; *RET* exon12[18]	25	*RUFY2* exon9; *RET* exon12※[26]	25
TRIM33 exon14; *RET* exon12[18], [19]	25	*TNIP2* exon5; *RET* exon12[27]	25
CUX1 exon10; *RET* exon12[18], [20]	25	*VAC* exon3; *RET* exon12	25

※：本品感度試験にて測定

本品の測定対象遺伝子変異及び最小検出感度

EGFR

エクソン	変異タイプ最小検出感度（変異率（%））		エクソン	変異タイプ最小検出感度（変異率（%））	
18	G719A※	1	20	D770_N771insG※	1
	G719S※	2		V769_D770insASV※	1
	G719C※	1		D770_N771insSVD	1
19	E746_A750del(1) ※	1		V769_D770insASV	5
	E746_A750del(2) ※	1		H773_V774insNPH	1
	L747_P753>S※	1		D770_N771insGF	1
	E746_T751>I	1		N771_P772insH	1
	E746_T751del	1		H773_V774insY	1
	E746_T751>A	1		H773_V774insPH	1
	E746_S752>A	1		V769_D770insGSV	1
	E746_S752>V	1		N771_P772insHH	1
	E746_S752>D	1		P772_H773insDNP	1
	L747_A750>P	1		D770>GY	1
	L747_T751>Q	1		D770_N771insGD	1
	L747_E749del	1		D770_N771insGL	1
	L747_T751del	1		N771>GF	1
	L747_S752del	1		N771_P772>SVDNR	1
	L747_P753>Q	1		D770_N771insGT	1
	L747_T751>S	1		N771>KL※	2
	L747_T751>P	1		N771_P772insVDN	1
	L747_S752>Q	1		P772_H773insTP	1
	L747_K754>QL	1		H773>PNPY	1
	E746_K754>EQHL	1		V774_C775insHV※	1
	L747_S752>Q	1		H773_V774insAH※	1
20	S768I※	1		P772_H773insV※	1
	T790M※	2			
	C797S※	1	21	L858R※	1
	H773_V774insH	1		L861Q※	1

※：本品感度試験にて測定

BRAF

遺伝子	エクソン	変異タイプと最小検出感度（変異率（%））	
BRAF	15	V600E※	1

※：本品感度試験にて測定

KRAS

遺伝子	エクソン	変異タイプと最小検出感度（変異率（%））	
KRAS	2	G12C※	1

※：本品感度試験にて測定

【操作上の注意】

1. 測定検体の性質、採取法

本品の測定検体には、非小細胞肺癌患者のFFPE組織、又は新鮮凍結組織から抽出したトータルRNA／ゲノムDNAを用いる。
FFPE組織を調製、使用する際には、次について注意する。

・組織採取の方法については標準的な手法で行い、組織の固定とパラフィン包埋は標準的な病理学的手法で行い、品質を保持すること。
・FFPE組織（ブロックと薄切スライド）は室温（15～25℃）で保存すること。
・脱パラフィンにはキシレン／エタノール法を使用すること。
・適切に保管し、2年以内に使用すること。
・本品に供される検体の腫瘍割合については、日本肺癌学会の「肺癌患者におけるEGFR遺伝子変異検査の手引き」等本邦の最新のガイドラインに基づいた使用を推奨する。

2. 検体の調製法（抽出）

抽出試薬の取扱説明書に従って、FFPE組織、又は新鮮凍結組織よりトータルRNA／ゲノムDNAを抽出する。

・トータルRNA／ゲノムDNAの抽出操作は、PCR増幅産物などを取扱う区域とは区別すること。
・抽出後のトータルRNAは、直ちに使用しない場合は、－20±5℃で保管し3ヵ月以内に使用すること。
・抽出後のゲノムDNAは、直ちに使用しない場合は、－20±5℃で保管し6ヵ月以内に使用すること。
・抽出後のトータルRNA／ゲノムDNAは、分光光度計で核酸濃度を確認すること（OD260/280値：1.7~2.1（推奨））。
・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、必ず手袋、専用の作業着、マスク、帽子を着用すること。核酸（DNA、RNA）が分解され、測定結果に誤りが生じる可能性がある。

3. PCR操作前工程

試薬／検体の調製、PCR反応の際は、クロスコンタミネーションに十分注意すること。検体チューブ、検体ラック、ピペットなどのPCRに使用する器具類は、プレPCR反応区域とポストPCR反応区域ではそれぞれ別のものを使用し、決して共用しないこと。検体のクロスコンタミネーションを避けるため、フィルター付きピペットチップを使用すること。

4. PCR反応・操作

溶液を取り扱う際には、粘度に注意してゆっくり操作すること。分注時には、ピペットチップ外に付着した試液や調製液が、試薬反応チューブに混和されないよう注意すること。
LEG反応ミックスA、LEG反応ミックスBはゆっくりと開栓すること。

5. その他の留意事項

・FFPE組織から抽出されたDNA/RNAは、長時間のホルマリン固定などにより断片化されたり二本鎖DNAがクロスリンクされたりすることでPCRの鋳型として機能しなくなる場合があるので注意すること。
・本品の測定に影響する可能性のある妨害物質について検討を行った結果、トリグリセリド混合物37 mmol/L、オキシヘモグロビン2 g/L、エタノール21.7 mmol/L、キシレン0.5%及び1%、プロテナーゼK 0.1%、パラフィン0.5%及び1%まで結果判定への影響は認められなかった。

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬／検体の調製方法（操作方法）

全ての構成試薬を各工程で使用する前に室温で解凍し、適切に混和したのち、そのまま用いる。

(1) 試薬／検体（核酸）調製工程

・LEG陽性対照を室温で解凍し、ボルテックスで混和後、5~10秒間遠心する。
・ヌクレアーゼフリー水（NTC）を準備する。
（トータルRNA調製用、品質管理用）
・抽出後の検体（トータルRNA／ゲノムDNA）を以下に従い確認後、必要時に調製する。

表3. 検体（トータルRNA）の調製：調製液はヌクレアーゼフリー水

検体種別	保存期間	RNA濃度（推奨）	使用方法
FFPE組織	2年以内	10~100 ng/μL	・RNAが100 ng/μLを超える場合：100 ng/μLに希釈
新鮮凍結組織	ー：保存期間は設定せず	2~30 ng/μL	・RNAが30 ng/μLを超える場合：30 ng/μLに希釈

＊表4. 検体（ゲノムDNA）の調製：調製液は1×TE緩衝液（pH8.0）

検体種別	保存期間	DNA濃度（推奨）	DNA量/反応（推奨）
FFPE組織	3ヵ月以内	1.5 ng/μL	7.5 ng
	3ヵ月～1年	2 ng/μL	10 ng
	1年～2年	2.5~3 ng/μL	12.5~15 ng
新鮮凍結組織	ー：保存期間は設定せず	0.5~1 ng/μL	2.5~5 ng

(2) 逆転写工程（トータルRNA用）

i. LEGRT反応ミックスI、LEGRT反応ミックスIIを室温で解凍しボルテックスで混和後、5~10秒間遠心する。
ii. LEG逆転写酵素は、使用前に5~10秒間遠心する。
iii. PCRチューブに、RNA検体6 μLに対して、LEG逆転写酵素0.5 μL、LEGRT反応ミックス（I又はII）18.5 μLを加え、ボルテックスで混和後、5~10秒間遠心する。LEGRT反応ミックスIを加えたものをRNA逆転写反応液I、LEGRT反応ミックスIIを加えたものをRNA逆転写反応液IIとする。
iv. RNA逆転写反応液I、及びRNA逆転写反応液IIを42℃で1時間インキュベート、95℃で5分加熱、氷上に移す（cDNAの調製）。

直ちにPCR前処理工程に進む。
直ちにPCR前処理工程に進まない場合は、調製後のcDNAを－20±5℃で保管し、3日以内に使用すること。

(3) PCR前処理工程
LEG酵素ミックスA、LEG酵素ミックスBは、使用前に5~10秒間遠心する。
以下に従って、PCR反応液を調製する

トータルRNA（cDNA）
i. 検体溶液の調製
・RNA逆転写反応液I及びIIそれぞれ25 μLにLEG酵素ミックスA 1.3 μLを加え、ボルテックスで混和後、5~10秒間遠心する。
・ヌクレアーゼフリー水（NTC）及びLEG陽性対照それぞれ45 μLに、LEG酵素ミックスA 2.34 μLを加え、ボルテックスで混和後、5~10秒間遠心する。
ii. PCR反応容器への分注
検体、NTC、LEG陽性対照の試験に必要な数のLEG反応ミックスA（8連チューブ）を取り出し遠心を行い、開栓する。LEG酵素ミックスAを加えたRNA逆転写反応液I 5 μLを①から④のチューブに、LEG酵素ミックスAを加えたRNA逆転写反応溶液II 5 μLを⑤から⑧のチューブに加え、閉栓する。LEG酵素ミックスAを加えたNTC及びLEG陽性対照はそれぞれ①から⑧のチューブに5 μLずつ加え、閉栓する。
（1本のLEG反応ミックスAの容器には、1種類の検体溶液を分注する）

ゲノムDNA
i. 検体溶液の調製
検体、NTC及びLEG陽性対照それぞれ45 μLにLEG酵素ミックスB 2.7 μLを加え、ボルテックスで混和後、5~10秒間遠心する。
ii. PCR反応容器への分注
検体、NTC、LEG陽性対照の試験に必要な数のLEG反応ミックスB（8連チューブ）を取り出し遠心を行い、開栓する。LEG酵素ミックスBを加えた検体、NTC、LEG陽性対照各5 μLを①から⑧のチューブに加え、閉栓する。
（1本のLEG反応ミックスBの容器には、1種類の検体溶液を分注する）
プレートレイアウトは別途取扱説明書を参考にする。

(4) PCR反応工程
表5又は表6のPCRパラメータで測定を実施する。PCR反応はリアルタイムPCR装置を用いて測定を行う。

表5. PCRパラメータ1

工程	サイクル数	温度	時間	蛍光測定ポイント
1	1	42℃	5分	－
		95℃	5分	－
2	10	95℃	25秒	－
		64℃	20秒	－
		72℃	20秒	－
3	36	93℃	25秒	－
		60℃	35秒	FAM、VIC、ROX
		72℃	20秒	－

表6. PCRパラメータ2

工程	サイクル数	温度	時間	蛍光測定ポイント
1	1	42℃	5分	－
		94℃	5分	－
2	10	94℃	25秒	－
		63℃	20秒	－
		71℃	20秒	－
3	36	92℃	25秒	－
		59℃	35秒	FAM、VIC（HEX）及びROX
		71℃	20秒	－

(5) 判定
・取扱説明書に従って、マニュアルモードでCt値を決定し、あらかじめ設定したカットオフ値（Ct値）に基づき判定を行う。
・チューブごとにLEG陽性対照と得られる変異が異なることに注意すること。
・検体の判定前に、NTC、LEG陽性対照、内部コントロール遺伝子、外部コントロール遺伝子のCt値を確認すること。**【測定結果の判定法】**の欄参照。

2. 別途必要な器具・器材、試料等
(1) リアルタイムPCR装置
(2) DNA／RNA抽出キット（推奨）：
・AmoyDx FFPE DNA/RNA Kit（Cat No.：8.02.23601X036G）：FFPE組織用
・AmoyDx Tissue DNA Kit（Cat No.：8.02.24301X036G）：新鮮凍結組織（DNA）用
・AmoyDx Tissue RNA Kit（Cat No.：8.02.24601X036G）：新鮮凍結組織（RNA）用
(3) DNA／RNA濃度測定用分光光度計（推奨）：
・NanoDrop1000　・NanoDrop2000
(4) 小型遠心機
(5) ヌクレアーゼフリーのPCRチューブ及びキャップ、遠心チューブ
(6) DNA/RNAを扱うための調整可能なピペッター及びフィルター付きピペットチップ
(7) チューブラック、パウダーフリー手袋
(8) DNAフリー、ヌクレアーゼフリー水（滅菌）
(9) 1×TE緩衝液（pH 8.0）

【測定結果の判定法】
1. トータル RNA／ゲノム DNA 共通
(1) 検体の判定前に、NTC、LEG陽性対照の各チューブ番号のシグナルのCt値を、基準（表7）と比較する。

表7. NTC、LEG陽性対照の基準（Ct値）

NTC：Ct値が36以上であること。
LEG反応ミックス（A1~A8）：FAM LEG反応ミックス（B1~B7）：FAM、VIC（HEX） LEG反応ミックス（B7）：ROX
LEG陽性対照：Ct値が25未満であること。
LEG反応ミックス（A1~A8）：FAM LEG反応ミックス（A4、A8）：VIC（HEX） LEG反応ミックス（B1~B8）：FAM、VIC（HEX） LEG反応ミックス（B7、B8）：ROX

(2) 上記基準を満たさない場合は判定不能である。再測定を推奨する。

2. トータル RNA　（*ALK*、*ROS1*、*MET*、*RET*）
(1) 判定前に、検体の内部コントロール遺伝子のCt値を確認する。
LEG 反応ミックス A（チューブ A4、A8）：VIC（HEX）
・両チューブ Ct＜33 かついずれか Ct＜27 ：次の手順に進む
・両チューブ Ct≧27 又はいずれか Ct≧33 ：検体量を増やすか再抽出後の再検査を推奨する。
検体の劣化、PCR 反応を阻害物質の存在が疑われる。
(2) 検体のカットオフCt値は28である。
同ウェルに測定対象融合遺伝子の融合タイプが複数含まれている場合、本品は融合タイプを特定できない。【測定原理】の記載を参照すること。
・Ct＜28 ：陽性
・Ct≧28 ：陰性

3. ゲノム DNA　（*EGFR*、*BRAF*、*KRAS*）
＊(1) 判定前に外部コントロール遺伝子のCt値を確認する。
LEG 反応ミックス B（チューブ B8）：FAM
・17.5≦Ct≦24 ：次の手順に進む
・Ct＜17.5 ：DNA 量を減らして再検査を推奨する。ただし、LEG 反応ミックス B（チューブ B1~B7）が陰性の場合は、陰性と判定する。
・Ct＞24 ：検体量を増やすか再抽出後の再検査を推奨する。
検体の劣化、PCR 反応の阻害物質の存在が疑われる。
(2) 検体のカットオフCt値は30である。
同ウェルに測定対象遺伝子変異の変異タイプが複数含まれている場合、本品は変異タイプを特定できない。【測定原理】の記載を参照すること。
・Ct＜30 ：陽性
・30≦Ct＜33 ：ΔCt※を算出し、表 8 と比較する。
・Ct≧33 ：陰性
※：ΔCt：検体の Ct 値 － 外部コントロール遺伝子（検体：チューブ B8）の Ct 値
検体及び外部コントロール遺伝子の Ct 値のシグナル（FAM、VIC（HEX）、ROX）は、同じシグナルを用いること。異なるシグナルを用いないように注意すること。

表 8. ΔCt 値のカットオフ

蛍光物質	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7
FAM	10	9	8	8	8	9	9
VIC（HEX）	8	8	9	8	8	8	9
ROX	/	/	/	/	/	/	9

ΔCt＜カットオフ ：陽性
ΔCt≧カットオフ ：陰性

(3) *KRAS*遺伝子変異間での一部交差反応性への対処
KRAS 遺伝子変異間で一部交差反応が起こりうるため、B5/VIC 及び B6/FAM の両方が陽性となった場合、次のように判定を行う。
a) B5/VIC の Ct 値が B6/FAM の Ct 値より小さい場合、B5/VIC 陽性と判定する。
b) B5/VIC の Ct 値が B6/FAM の Ct 値より大きい場合、ΔCt 値を算出する※。ΔCt 値が 5.58 未満の場合 B5/VIC 陽性、5.58 以上の場合陰性と判定する。
※：ΔCt 値は (2) と同様に算出する。

表9. 各遺伝子の検出に係る蛍光波長

	PCRパラメータ1		PCRパラメータ2	
	励起 (nm)	発光 (nm)	励起 (nm)	発光 (nm)
FAM	455-485	505-535	452.5-477.5	500-520
VIC (HEX)	510-530	546-570	535-545	570-590
ROX	570-590	609-637	535-545	600-620

HEXとVICは同一チャネルで検出する

［結果解釈上の注意］
(1) 検体の判定前に、NTC、LEG陽性対照、内部コントロール遺伝子（HPRT1）のCt値を確認すること。【測定結果の判定法】欄に示した規格を満たさない場合は、判定不能である。コンタミネーション、LEG陽性対照や試薬の入れ忘れ、キットの品質劣化、核酸量不足又は過剰である恐れがある。再検査をすること。
(2) 検体中に、PCRの妨害物質が存在すると正しい判定結果が出ない。内部／外部コントロール遺伝子のCt値を注意して確認すること。
(3) 検体中に標的となるトータルRNA ／ゲノムDNA が存在しても最小検出感度以下のため、陰性と判定されることがあるので注意すること。

【性能】

1. 品目仕様

1-1. 正確性試験

＜*EGFR/ALK/ROS1/BRAF*＞
・陰性管理物質（DNA/RNA）各10種類を試験したとき、すべて陰性に得られる。
・陽性管理物質（DNA/RNA）各2種類を試験したとき、対応する遺伝子項目に対してすべて陽性に得られる。
＜*MET*＞
・陰性管理物質（RNA）各10種類を試験したとき、すべて陰性に得られる。
＜*KRAS* G12C＞
・陰性管理物質（DNA）各10種類を試験したとき、すべて陰性に得られる。
＜*RET*＞
・陰性管理物質（RNA）各10種類を試験したとき、すべて陰性に得られる。
・陽性管理物質（RNA）1種類を試験したとき、すべて陽性に得られる。

1-2. 精度再現性試験

・精度再現性試験用管理物質（DNA）1種類を10回繰り返し測定したとき、全てのCt値が28未満に得られ、かつCt値の変動係数（CV%）が10%未満である。

1-3. 感度試験

＜*EGFR/ALK/ROS1/BRAF*＞
・融合遺伝子検出：感度試験用管理物質11種類*（各25コピー/μL）を試験したとき、すべて陽性に得られる。
・遺伝子変異検出：感度試験用管理物質18種類*（変異率：1、2、5%のいずれか：ゲノムDNA投入量10 ng）を試験したとき、すべて陽性に得られる。
＜*MET*＞（正確性試験も兼ねる）
・融合遺伝子検出：感度試験用管理物質1種類*（25コピー/μL）を試験したとき、すべて陽性に得られる。
＜*KRAS* G12C＞（正確性試験も兼ねる）
・遺伝子変異検出：感度試験用管理物質1種類*（変異率：1%：ゲノムDNA投入量10 ng）を試験したとき、すべて陽性に得られる。
＜*RET*＞
・融合遺伝子検出：感度試験用管理物質4種類*（各25コピー/μL）を試験したとき、すべて陽性に得られる。
※：【測定原理】の、本品の融合遺伝子変異一覧、遺伝子変異一覧を参照のこと

2. その他性能試験

2-1. 交差反応性

82 種類のインビトロ合成融合遺伝子 T7RNA、FFPE 組織由来野生型 RNA、また 85 種類の遺伝子変異陽性プラスミド、FFPE 組織由来野生型ゲノム DNA を使用して交差反応性を確認した。融合遺伝子検出、遺伝子変異検出ともに交差反応は認められなかった。

2-2. 相関性試験成績

(1) *EGFR*遺伝子変異、*ALK*融合遺伝子、*ROS1*融合遺伝子及び*BRAF*遺伝子変異
肺癌遺伝子スクリーニングネットワーク「LC-SCRUM-Japan」を基盤として行っている 3 つの臨床研究のうち、下記の遺伝子異常の有無が判明している計 580 例を対象とし、*EGFR* 遺伝子変異陽性（190 例）、*ALK* 融合遺伝子陽性（60 例）、*ROS1* 融合遺伝子陽性（50 例）、*BRAF* 遺伝子変異陽性（50 例）と判定された検体を用いた（計画時）。
以下に示す体外診断用医薬品を対照として一致率を検討した。結果は以下の通り。

表10. *EGFR*遺伝子変異

本　法	対照品（A 社 PCR 検査キット）		
	陽性	陰性	合　計
陽性	167	2	169
陰性	1	56	57
合　計	168	58	226

陽性一致率：99.4%（167/168）, 95%CI [96.7% – 100%]
陰性一致率：96.6%（56/58）, 95%CI [88.1% – 99.6%]
全体一致率：98.7%（223/226）, 95%CI [96.2% – 99.7%]
陽性的中率：98.8%（167/169）, 95%CI [95.8% – 99.9%]
陰性的中率：98.2%（56/57）, 95%CI [90.6% – 100%]

表11. *EGFR*遺伝子変異毎の一致率：対照品（A社PCR検査キット）

EGFR 変異型	陽性一致率	陰性一致率	全体一致率
ex19del	98.4%（63/64）	100%（58/58）	99.2%（121/122）
L858R	100%（47/47）	96.6%（56/58）	98.1%（103/105）
G719X	100%（21/21）	100%（58/58）	100%（79/79）
S768I	100%（6/6）	100%（58/58）	100%（64/64）
L861Q	100%（12/12）	100%（58/58）	100%（70/70）
T790M	100%（40/40）	100%（58/58）	100%（98/98）
ex20ins※	100%（28/28）	100%（58/58）	100%（86/86）

※：40 例を収集したが、12 例は対照品でカバーされていないバリアントであったため、28 例で算出した。

表12. *EGFR*遺伝子変異

本　法	対照品（B 社 NGS 検査）		
	陽性	陰性	合　計
陽性	140	3	143
陰性	0	191	191
合　計	140	194	334

陽性一致率：100%（140/140）, 95%CI [97.4% – 100%]
陰性一致率：98.5%（191/194）, 95%CI [95.5% – 99.7%]
全体一致率：99.1%（331/334）, 95%CI [97.4% – 99.8%]
陽性的中率：97.9%（140/143）, 95%CI [94.0% – 99.6%]
陰性的中率：100%（191/191）, 95%CI [98.1% – 100%]

表13. *EGFR*遺伝子変異毎の一致率：対照品（B社NGS検査）

EGFR 変異型	陽性一致率	陰性一致率	全体一致率
ex19del	100%（60/60）	98.5%（191/194）	98.8%（251/254）
L858R	100%（49/49）	100%（194/194）	100%（243/243）
G719X	100%（21/21）	100%（194/194）	100%（215/215）
S768I	100%（6/6）	99.5%（193/194）	99.5%（199/200）
L861Q	100%（12/12）	100%（194/194）	100%（206/206）
T790M	100%（40/40）	100%（194/194）	100%（234/234）
ex20ins	NE	NE	NE

NE: Not Evaluable

表14. *ALK*融合遺伝子

本　法	対照品（C 社 FISH 検査）		
	陽性	陰性	合　計
陽性	58	1	59
陰性	2	55	57
合　計	60	56	116

陽性一致率：96.7%（58/60）, 95%CI [88.5% – 99.6%]
陰性一致率：98.2%（55/56）, 95%CI [90.4% – 100%]
全体一致率：97.4%（113/116）, 95%CI [92.6% – 99.5%]
陽性的中率：98.3%（58/59）, 95%CI [90.9% – 100%]
陰性的中率：96.5%（55/57）, 95%CI [87.9% – 99.6%]

表15. *ALK*融合遺伝子

本　法	対照品（D 社 IHC 検査）		
	陽性	陰性	合　計
陽性	60	1	61
陰性	2	58	60
合　計	62	59	121

陽性一致率：96.8%（60/62）, 95%CI [88.8% – 99.6%]
陰性一致率：98.3%（58/59）, 95%CI [90.9% – 100%]
全体一致率：97.5%（118/121）, 95%CI [92.9% – 99.5%]
陽性的中率：98.4%（60/61）, 95%CI [91.2% – 100%]
陰性的中率：96.7%（58/60）, 95%CI [88.5% – 99.6%]

表16. *ALK*融合遺伝子

本　法	対照品（B 社 NGS 検査）		
	陽性	陰性	合　計
陽性	61	0	61
陰性	2	284	286
合　計	63	284	347

陽性一致率：96.8%（61/63）, 95%CI [89.0% – 99.6%]
陰性一致率：100%（284/284）, 95%CI [98.7% – 100%]
全体一致率：99.4%（345/347）, 95%CI [97.9% – 99.9%]
陽性的中率：100%（61/61）, 95%CI [94.1% – 100%]
陰性的中率：99.3%（284/286）, 95%CI [97.5% – 99.9%]

表17. *ROS1*融合遺伝子

本　法	対照品（E 社 PCR 検査）		
	陽性	陰性	合　計
陽性	58	0	58
陰性	2	67	69
合　計	60	67	127

陽性一致率：96.7%（58/60）, 95%CI [88.5% – 99.6%]
陰性一致率：100%（67/67）, 95%CI [94.6% – 100%]
全体一致率：98.4%（125/127）, 95%CI [94.4% – 99.8%]
陽性的中率：100%（58/58）, 95%CI [93.8% – 100%]
陰性的中率：97.1%（67/69）, 95%CI [89.9% – 99.6%]

表18. *ROS1*融合遺伝子

本　法	対照品（B 社 NGS 検査）		
	陽性	陰性	合　計
陽性	57	1	58
陰性	2	287	289
合　計	59	288	347

陽性一致率：96.6%（57/59）, 95%CI [88.3% – 99.6%]
陰性一致率：99.7%（287/288）, 95%CI [98.1% – 100%]
全体一致率：99.1%（344/347）, 95%CI [97.5% – 99.8%]
陽性的中率：98.3%（57/58）, 95%CI [90.8% – 100%]
陰性的中率：99.3%（287/289）, 95%CI [97.5% – 99.9%]

表19. *BRAF*遺伝子変異

本　法	対照品（B 社 NGS 検査）		
	陽性	陰性	合　計
陽性	49	0	49
陰性	0	324	324
合　計	49	324	373

陽性一致率：100%（49/49）, 95%CI [92.7% – 100%]
陰性一致率：100%（324/324）, 95%CI [98.9% – 100%]
全体一致率：100%（373/373）, 95%CI [99.0% – 100%]
陽性的中率：100%（49/49）, 95%CI [92.7% – 100%]
陰性的中率：100%（324/324）, 95%CI [98.9% – 100%]

(2) *KRAS* G12C遺伝子変異

AMG 510（ソトラシブ）の 20170543 試験の第Ⅱ相パートにて非小細胞肺癌被験者から収集された検体の内 *KRAS* G12C 遺伝子変異の有無が確認された陽性検体 32 例及びバイオバンクから調達した非小細胞肺癌患者由来の陰性検体 86 例の計 118 例の検体を用い、PCR 法を原理とした体外診断用医薬品を対照として一致率を検討した。結果は表 20 の通り。

表20. *KRAS*遺伝子変異

本　法	対照品（G 社 PCR 検査キット）		
	陽性	陰性	合　計
陽性	31	1	32
陰性	1	85	86
合　計	32	86	118

陽性一致率：96.9% (31/32), 95%CI [83.8% - 99.9%]
陰性一致率：98.8% (85/86), 95%CI [93.7% - 100%]
全体一致率：98.3% (116/118), 95%CI [94.0% - 99.8%]
陽性的中率：96.9% (31/32), 95%CI [83.8 - 99.9%]
陰性的中率：98.8% (85/86), 95%CI [93.7% - 100%]

＊＊(3) *ALK*遺伝子変異

非小細胞肺癌被験者から収集された検体の内、IHC 法を原理とした体外診断用医薬品を対照として *ALK* 融合遺伝子変異の有無が確認された 116 例の検体を用い、一致率を検討した。結果は表 21 の通り。

表21. *ALK*融合遺伝子

本　法	対照品（A 社 IHC 法）		
	陽性	陰性	合　計
陽性	43	0	43
陰性	4	69	73
合　計	47	69	116

陽性一致率：91.5%（43/47）, 95%CI [79.6% –97.6%]
陰性一致率：100%（69/69）, 95%CI [94.8% – 100%]
全体一致率：96.6%（112/116）, 95%CI [91.4% – 99.1%]
陽性的中率：100%（43/43）, 95%CI [91.8% – 100%]
陰性的中率：94.5%（69/73）, 95%CI [86.6% – 98.5%]

2-3. 臨床性能試験成績

(1) *MET*遺伝子エクソン14スキッピング変異

VISION 試験（テポチニブ塩酸塩水和物）にて *MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異の有無が確認された 127 例の検体を用い、NGS 法を原理とした既承認医療機器を対照として一致率を検討した。結果は表 22 の通り。

表22. *MET*遺伝子エクソン14スキッピング変異

本　法	対照品（F 社 NGS 検査）		
	陽性	陰性	合　計
陽性	39	2	41
陰性	0	86	86
合　計	39	88	127

陽性一致率：100% (39/39), 95%CI [91.0% – 100%]
陰性一致率：97.7% (86/88), 95%CI [92.0% – 99.7%]
全体一致率：98.4% (125/127), 95%CI [94.4% – 99.8%]
陽性的中率：95.1% (39/41), 95%CI [83.5% – 99.4%]
陰性的中率：100% (86/86), 95%CI [95.8% – 100%]

(2) *RET*融合遺伝子

LIBRETTO-001 試験（セルペルカチニブ）にて非小細胞肺癌被験者から収集された *RET* 融合遺伝子陽性検体及び購入した陰性検体の計 116 例の検体を用い、NGS 法を原理とした既承認医療機器を対照として一致率を検討した。結果は表 23 の通り。

表23. *RET*融合遺伝子

本　法	対照品（B 社 NGS 検査）		
	陽性	陰性	合　計
陽性	44	4	48
陰性	0	68	68
合　計	44	72	116

陽性一致率：100% (44/44), 95%CI [92.0% - 100%]
陰性一致率：94.4% (68/72), 95%CI [86.4% - 98.5%]
全体一致率：96.6% (112/116), 95%CI [91.4% - 99.1%]
陽性的中率：91.7% (44/48), 95%CI [80% - 97.7%]
陰性的中率：100% (68/68), 95%CI [94.7% - 100%]

(3) *MET*遺伝子エクソン14スキッピング変異

INC280（カプマチニブ塩酸塩水和物）の CINC280A2201 試験にて非小細胞肺癌被験者から収集された検体の内 MET 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異の有無が確認された 127 例の検体を用い、本試験の臨床試験測定法を対照として一致率を検討した。結果は表 24 の通り。

表 24. *MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異

本　法	対照品（臨床試験測定法）		
	陽性	陰性	合　計
陽性	36	0	36
陰性	3	88	91
合　計	39	88	127

陽性一致率：92.3% (36/39), 95%CI [79.1% - 98.4%]
陰性一致率：100% (88/88), 95%CI [95.9% - 100%]
全体一致率：97.6% (124/127), 95%CI [93.3% - 99.5%]
陽性的中率：100% (36/36), 95%CI [90.3% - 100%]
陰性的中率：96.7% (88/91), 95%CI [90.7% - 99.3%]

(4) *MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異

MET 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異陽性非小細胞肺癌患者に対するグマロンチニブ水和物の臨床試験成績の概略：
SCC244（グマロンチニブ水和物）の SCC244-108 試験（第Ⅱ相パート）において、本品で *MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異陽性が確認された進行性非小細胞肺癌患者 79 例（うち日本人患者 8 例）にグマロンチニブ水和物を投与した結果、主要評価項目である奏効率は 65.8%（95%信頼区間：54.3% -76.1%）であり、臨床的に意義のある抗腫瘍効果を示した[28]。

(5) *ROS1* 融合遺伝子

TPX-0005（レポトレクチニブ）の TRIDENT-1 試験にて非小細胞肺癌被験者から収集された検体の内、*ROS1* 融合遺伝子の有無が確認された 63 例の検体を用い、本試験の臨床試験測定法を対照として一致率を検討した。結果は表 25 の通り。

表 25. *ROS1* 融合遺伝子

本　法	対照品（臨床試験測定法）		
	陽性	陰性	合　計
陽性	35	0	35
陰性	2	26	28
合　計	37	26	63

陽性一致率：94.6% (35/37), 95%CI [81.8% - 99.3%]
陰性一致率：100% (26/26), 95%CI [86.8% - 100%]
全体一致率：96.8% (61/63), 95%CI [89.0% - 99.6%]
陽性的中率：100% (35/35), 95%CI [90% - 100%]
陰性的中率：92.9% (26/28), 95%CI [76.5% - 99.1%]

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上（危険防止）の注意

(1) 検体は、HBV、HIV、HCV等の感染の恐れがあるものとして取扱うこと。
(2) 検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用すること。
(3) ピペットは口で吸わないこと。
(4) 試薬が誤って皮膚及び粘膜に付着した場合は、直ちに大量の水で洗い流す等の処置をすること。
(5) 試薬をこぼした場合は水で希釈してから拭きとること。
(6) 抽出検体が床等にこぼれた場合、次亜塩素酸剤（有効塩素濃度5000 ppm, 0.5%）などの消毒液を使用して十分に拭き取ること。なお、拭き取る際には、ゴム製の手袋などにより手を保護する措置を講ずること。
(7) 検体及び本品を取扱う場所では飲食又は喫煙を避けること。

2. 使用上の注意

(1) 試薬及び消耗品は専用のものを使用し、その容器・付属品などはほかの目的に転用しないこと。
(2) 試薬は必ず貯蔵方法に従って保存し、指定の条件以外で保存したものや、使用期限を過ぎたものは使用しないこと。
(3) 本品は低温にて輸送し到着後は直ちに温度管理された冷凍庫に入れ、遮光して－20±5℃で保管すること。
(4) 本品の不必要な凍結融解の繰り返しは避け、5回を超えて凍結融解を行った試薬は使用しないこと。
(5) ロットの異なる試薬又は残った試薬を混ぜ合わせて使用しないこと。
＊(6) 本品内のDNAポリメラーゼ（LEG酵素ミックスA、LEG酵素ミックスBに含まれる）のみを使用し、別キットや別会社のDNAポリメラーゼは使用しないこと。
(7) 全ての試薬は、開封又は分注時にコンタミネーションしないよう注意すること。
(8) 増幅反応の準備は安全キャビネット内で行うこと。増幅反応を準備するエリアには増幅後のDNAを持ち込まないこと。また、検体の分注には疎水性フィルター付き使い捨てチップを使用すること。
(9) キャリーオーバーコンタミネーション防止のため増幅後の反応チューブの蓋を開けないこと。
(10) 検査区域の分割やピペットの専用化及び次亜塩素酸（有効塩素濃度5000 ppm, 0.5%）による器具、実験台の清掃を徹底して行うこと。

3. 廃棄上の注意

(1) 測定により生じた廃液については、検体などと同様に滅菌又は消毒の処置を行うこと。また、これらを廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従い、廃棄すること。
(2) PCR反応後のチューブは決して開閉しないこと。また、オートクレーブもしないこと。PCRキャリーオーバーコンタミネーションの原因となるおそれがある。反応後のチューブはそのままビニール袋を二重に施し、医療廃棄物として廃棄すること。
(3) 使用後の容器を廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従い、医療廃棄物又は産業廃棄物など区別して処理すること。
(4) 遺伝子検査後の核酸試料などは、次亜塩素酸剤を加えて、有効塩素濃度5000 ppm, 0.5%になるように混和後、一晩放置するなど、核酸を破壊してから、廃棄すること。
(5) 核酸を扱ったピペットチップ及びプラスチック容器などは、次亜塩素酸剤（有効塩素濃度5000 ppm, 0.5%）に一晩浸すなどにより核酸を破壊してから焼却処理又は医療廃棄物として処理すること。これらの作業中は十分に換気すること。

【貯蔵方法及び有効期間】

1. 貯蔵方法

・遮光して－20±5℃で保管すること。

2. 有効期間

・製造日から12ヶ月
使用期限は外箱に記載がある。

【包装単位】

12テスト用

【主要文献】

(1) Hirsch, F. R. and P. A. Bunn, Jr. （2009）. Lancet Oncol 10（5）: 432-433.
(2) Planchard, D., B. Besse, et al. （2016）. Lancet Oncol 17（7）: 984-993.
(3) Davies, H., G. R. Bignell, et al. （2002）. Nature 417（6892）: 949-954.
(4) Perner, S., P. L. Wagner, et al. （2008）. Neoplasia 10（3）: 298-302.
(5) Kwak, E. L., Y. J. Bang, et al. （2010）. N Engl J Med 363（18）: 1693-1703.
(6) Paik, J. H., G. Choe, et al. （2011）. J Thorac Oncol 6（3）: 466-472.
(7) Rodig, S. J., M. Mino-Kenudson, et al. （2009）. Clin Cancer Res 15（16）: 5216-5223.
(8) Takeuchi, K., M. Soda, et al. （2012）. Nat Med 18（3）: 378-381.
(9) Bergethon, K., A. T. Shaw, et al. （2012）. J Clin Oncol 30（8）: 863-870.
(10) Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. Nature 2014;511:543 550.
(11) Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers. Nature 2012;489:519 525.
(12) Wu YL, et al. （2017）. Cancer Treat Rev. 61: 70-81
(13) Pennacchietti S, et al. （2003）. Cancer Cell. 3: 347-361
(14) Canon J, Rex K, et al. （2019）. Nature 575: 217-23
(15) Skoulidis F, Li B.T., et al. （2021）. N Engl J Med 384: 2371-2381
(16) NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Version 7. 2019.
(17) 肺癌患者におけるEGFR遺伝子変異検査の手引き第4.3版（2020年4月1日）　日本肺癌学会
(18) 肺癌患者における RET 融合遺伝子検査の手引き 第1.0版（2022年6月18日）　日本肺癌学会
(19) Drilon A., et al. （2013）. Cancer Discov. 3(6) 630-635

(20) Lira M. E., et al. （2014）. J. Mol. Diagn. 16(2) 229-243
(21) Zhang X., et al. （2018）. Lung Cancer 118 27-29
(22) Fang P., et al. （2016）. J. Thorac. Oncol. 11(25)
(23) Lee S. H., et al. （2017）. Annals of Oncology 23 292-297
(24) Gautschi O., et al. （2017）. J. Clin. Oncol. 35(13) 1403-1412
(25) Drilon A., et al. （2018）. Nat Rev Clin Oncol. 15(3) 151-167
(26) Char R. and Philippe Pierre, （2020）. Front Cell Dev Biol. 8 Article 779
(27) Hartmaier R. （2017）. J. Cancer Res 77(9) 2464-2475
(28) Yu Y., et al. （2023） eClinicalMedicine. 59: 101952

【問い合わせ先】

株式会社理研ジェネシス
〒141-0032　東京都品川区大崎一丁目2番2号
アートヴィレッジ大崎セントラルタワー
電話番号：　03-5759-6041
FAX番号：　03-5759-6043

【製造販売元】

株式会社理研ジェネシス
〒141-0032　東京都品川区大崎一丁目2番2号
アートヴィレッジ大崎セントラルタワー
電話番号：　03-5759-6041
FAX番号：　03-5759-6043