

体外診断用医薬品	
日本標準商品分類番号	877449
承認番号	30300EZ00056000

※2025年6月改訂(第4版)
 ※2022年10月改訂(第3版)

※ ご使用の際は、この電子添文をよく読んでから使用してください。

minor BCR-ABL mRNA キット

minor BCR-ABL mRNA 測定キット「オーツカ」

TI25538904

【全般的な注意】

1. 本キットは体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないでください。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
3. 電子添文以外での使用方法については保証をいたしません。
4. 使用する機器の電子添文及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。

【形状・構造等(キットの構成)】

	構成試薬名	容量・本数	成分
1	RT-PCR 用ミックス液 (R1)	700μL×1 本	HawkZ05 Fast Master Mix、minor BCR-ABL フォワードプライマー、minor BCR-ABL リバースプライマー、minor BCR-ABL プロローブ、ABL フォワードプライマー、ABL リバースプライマー、ABL プロローブほか
2	金属イオン溶液 (R2)	200μL×1 本	酢酸マンガンほか
3-1	minor BCR-ABL 標準液 1 (STD1)	100μL×1 本	minor BCR-ABL RNA :1×10 ⁶ copies/μL、ABL RNA :1×10 ⁶ copies/μL ほか
3-2	minor BCR-ABL 標準液 2 (STD2)	100μL×1 本	minor BCR-ABL RNA :1×10 ⁴ copies/μL、ABL RNA :1×10 ⁴ copies/μL ほか
3-3	minor BCR-ABL 標準液 3 (STD3)	100μL×1 本	minor BCR-ABL RNA :1×10 ² copies/μL、ABL RNA :1×10 ³ copies/μL ほか
3-4	minor BCR-ABL 標準液 4 (STD4)	100μL×1 本	minor BCR-ABL RNA :1×10 ¹ copies/μL、ABL RNA :1×10 ² copies/μL ほか
4	陰性コントロール (NC)	100μL×1 本	緩衝剤ほか

minor BCR-ABL 標準液 1、2、3、4 は標準液 1、2、3、4 と略します。

【使用目的】

末梢血白血球又は骨髓液有核細胞より抽出した RNA 中の minor BCR-ABL mRNA/ABL mRNA 比の測定

(minor BCR-ABL を有するフィラデルフィア染色体 (Ph) 陽性急性リンパ性白血病 (ALL) の診断補助及び治療効果のモニタリング)

【測定原理】

minor BCR-ABL mRNA 測定キット「オーツカ」(以下、本キット)は、末梢血白血球又は骨髓液有核細胞より抽出した RNA を検体として用いる minor BCR-ABL mRNA の測定キットです。

本キットは、逆転写酵素と蛍光標識プロローブによる増幅・測定を連続して行うワンステップ定量リアルタイム RT-PCR を測定原理としており、逆転写反応(図 1 i、ii)に続く 2 本鎖 cDNA の合成を含む PCR (図 1 iii ~ viia、viib)を連続的に行います。

まず、測定試料に含まれる増幅対象遺伝子 (minor BCR-ABL mRNA 及び ABL mRNA) に相補的な配列を持つリバースプライマーが結合します(図 1 i)。このリバースプライマー (minor BCR-ABL リバースプライマー及び ABL リバースプライマー) を起点として、HawkZ05 Fast Master Mix 中の逆転写酵素活性を有する DNA ポリメラーゼが、増幅対象遺伝子に特異的な

第 1 鎖 cDNA を合成します(図 1 ii)。続いて、合成した第 1 鎖 cDNA に相補的な配列を持つフォワードプライマー (minor BCR-ABL フォワードプライマー及び ABL フォワードプライマー) を起点として、2 本鎖 cDNA を合成します(図 1 iii、iv)。合成された 2 本鎖 cDNA を鋳型とする PCR を繰り返すことにより、目的とする mRNA 由来の cDNA を増幅します(図 1 iv ~ viia、viib)。この増幅過程において、2 本鎖 cDNA の片方に結合した蛍光標識プロローブ (minor BCR-ABL プロローブ及び ABL プロローブ) が、HawkZ05 Fast Master Mix 中の DNA ポリメラーゼの 5'-3' エキソヌクレアーゼ活性により分解され、遊離したレポーター色素の蛍光強度をサイクル毎に測定することにより、目的とする mRNA 由来の cDNA 量の増加をリアルタイムに測定します(図 1 viia)。

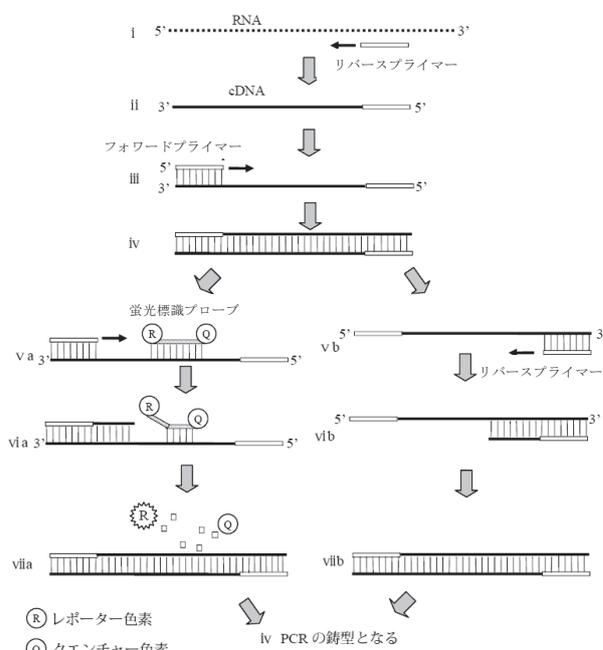


図 1 測定原理

【操作上の注意】

1. 検体に関する事項

- (1) 検体の RNA 濃度は 100 ng/μL に調整してください。なお、25~300 ng/μL の範囲で測定可能です。
- (2) 検体は、-70℃以下で保存してください。
- (3) 検体の凍結融解は、5 回までは測定に影響がありませんでした。
- (4) ヒトの末梢血白血球又は骨髓液有核細胞より抽出した RNA 以外のものを検体として用いないでください。
- (5) 市販の RNA 抽出試薬のキャリーオーバーに注意してください。
- (6) 検体の増幅サイクル数が標準液 1 の増幅サイクル数を下回った場合、RNase free 水を用いて検体の RNA 濃度を 25 ng/μL まで希釈し、測定に用いてください。

2. 操作に関する事項

- (1) RT-PCR 用ミックス液 (R1) は、光による影響を受けやすいため、反応を行うまで遮光して保存してください。

- (2)RT-PCR 用ミックス液 (R1) と金属イオン溶液 (R2) を混和した反応液は、操作方法に従って反応直前に調製し、速やかに使用してください。なお、25℃で反応液を調製後、60 分以内に使用すれば測定に影響はありませんでした。
- (3)反応液に測定試料を添加後、25℃で 60 分以内に測定を開始すれば影響はありませんでした。
- (4)本キットを使用する際には、陰性コントロール (NC) を少なくとも 1 ウェル測定し、minor *BCR-ABL* mRNA 測定及び *ABL* mRNA 測定で蛍光増幅が検出されないことを確認してください。陰性コントロール (NC) のウェルに蛍光増幅が検出された場合、その測定はコンタミネーションの可能性があるので、再測定を行ってください。
- (5)各標準液を測定した場合の増幅サイクル数が表 1 に示した規格を満たさない場合、その測定は正しく行えていない可能性がありますので、再測定を行ってください。

表 1 標準液の規格

minor <i>BCR-ABL</i> mRNA 測定	1)標準液 4 の増幅サイクル数が 37 サイクル以下
	2)標準液 1 と標準液 4 の増幅サイクル数の差が 15~21 サイクル
<i>ABL</i> mRNA 測定	1)標準液 4 の増幅サイクル数が 33 サイクル以下
	2)標準液 1 と標準液 4 の増幅サイクル数の差が 11~17 サイクル

- (6)検体や試薬間のコンタミネーションを避けるため、検体や試薬類の分注に際してはフィルターチップを使用し、十分注意して行ってください。
- (7)コンタミネーションを避けるため、操作は紫外線照射装置の装備されたクリーンベンチ内で行ってください。また、クリーンベンチ内では、反応終了後のプレートシールは剥がさないでください。器具及びクリーンベンチ内は次亜塩素酸ナトリウム溶液による清掃を行ってください。
- (8)本キットを取り扱う際には、微生物や核酸分解酵素が混入しないよう操作してください。汗や唾液に含まれる RNase が少量でも検体や本キットに混入すると、RNA が分解され判定結果に誤りが生じる可能性があるため、ディスポーザブルゴム手袋 (パウダーフリー) 及びマスクを着用してください。
- (9)PCR 反応用プレート及びプレートシールは機器の取扱説明書に従って選択してください。
- (10)プレートシールによる密閉が不十分な場合、反応中に反応液が蒸発してしまうため注意してください。
- (11)プレートシールによる密閉後、溶液をウェルの底に集めるためにスピンドウンを行ってください。
- (12)本キットの構成試薬は、混和してから使用してください。また、検体や試薬の混合時は試験管ミキサーを使用して、混合させてください。

※(13)本キットの取扱説明書を必ず参照して操作を実施してください。

【用法・用量 (操作方法)】

1. 必要器具、機器等

- (1)卓上遠心機 (2000×g)
- (2)プレート遠心機 (500×g)
- (3)試験管ミキサー
- (4)分光光度計
- (5)マイクロチューブ (DNase・RNase free、例：1.5 mL)
- (6)マイクロピペット (0.5~1000 µL を採取することのできる、各容量に対応したマイクロピペット)
- (7)フィルターチップ (滅菌済、フィルター付き、DNase・RNase free)
- ※(8)リアルタイム PCR 装置 (アプライドバイオシステムズ 7500 Fast Dx (ライフテクノロジーズジャパン株式会社)、アプライドバイオシステムズ QuantStudio 5 Dx リアルタイム PCR 装置 (ライフテクノロジーズジャパン株式会社))
- (9)PCR 反応用プレート、プレートシール (機器専用の各消耗品)
- (10)RNase free 水 (DNase・RNase free の精製水)
- (11)ディスポーザブルゴム手袋 (パウダーフリー)、マスク
- (12)クリーンベンチ

2. 検体及び試薬の調製方法

(1)RNA の抽出

RNA の抽出は、全血中の白血球又は骨髄液中の有核細胞より市販の RNA 抽出キットを用いて行います。なお、操作方法は、RNA 抽出キットの取扱説明書に従ってください。

(2)検体の RNA 濃度調整

抽出した RNA の一部を適量の RNase free 水にて希釈後、260nm における吸光度 (OD₂₆₀) を分光光度計にて測定します。次式により RNA 濃度を算出した後、RNase free 水を添加し 100 ng/µL に調整します。濃度調整された RNA を測定試料とします。

$$\text{RNA 濃度 (ng/µL)} = \text{OD}_{260} \times 1/0.025^a$$

^a0.025: RNA 1ng/µL における光路長 1cm の OD₂₆₀

(3)試薬の調製方法

各構成試薬は 20~30℃に戻し、混和後スピンドウンして使用してください。

なお、スピンドウンとは、チューブ又はプレート内の少量の検体や試薬をチューブの底に集めるための操作であり、遠心機で約 5 秒間遠心することを指します。

1) 標準液 1~4 (STD1~4) 及び陰性コントロール (NC) の調製

スピンドウン後、そのまま使用します。

2) 反応液の調製

1 反応あたり、RT-PCR 用ミックス液 (R1) 12 µL 及び金属イオン溶液 (R2) 3 µL の割合で混和したものを反応液とします。測定試料数に応じ必要な量を調製します。

3. 測定操作

※操作方法を以下に示し、その概略を図 2 に示します。

(1)機器専用の 96 ウェルの PCR 反応用プレートを用意します。

(2)各ウェルに反応液を 15 µL 分注します。

(3)各ウェルに標準液 1~4 (STD1~4)、陰性コントロール (NC) 及び検体をそれぞれ 10 µL ずつ加え、皺が入らないようにプレートにシールをしてスピンドウンします。

※(4)リアルタイム PCR 装置にセットし、RT-PCR 反応を行います。フィルター選択及び蛍光波長は以下のとおりです。

・Passive Reference は、ROX に設定

・minor *BCR-ABL* (HEX) は、Reporter を VIC、Quencher を None に設定

・*ABL* (FAM) は、Reporter を FAM、Quencher を None に設定

minor *BCR-ABL* : 最大蛍光波長 556 nm (最大吸収波長 535 nm)

ABL : 最大蛍光波長 525 nm (最大吸収波長 494 nm)

(5)標準液 1~4 (STD1~4) より作成した標準曲線を用いて、検体の minor *BCR-ABL* mRNA 測定値及び *ABL* mRNA の測定値を算出します。

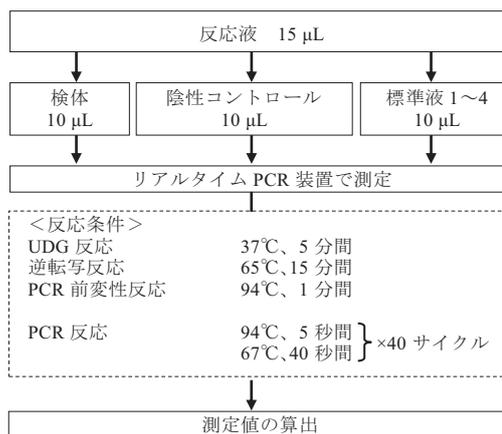


図 2 操作方法概略

表 2 標準液の入力値

標準液の種類	入力値 (copy/test)
標準液 1	minor <i>BCR-ABL</i> :1e7(10,000,000) <i>ABL</i> :1e7(10,000,000)
標準液 2	minor <i>BCR-ABL</i> :1e5(100,000) <i>ABL</i> :1e5(100,000)
標準液 3	minor <i>BCR-ABL</i> :1e3(1,000) <i>ABL</i> :1e4(10,000)
標準液 4	minor <i>BCR-ABL</i> :1e2(100) <i>ABL</i> :1e3(1,000)

濃度算出方法

既知濃度の標準液と未知濃度の検体を同時に増幅し、横軸に増幅サイクル数、縦軸にレポーター色素の蛍光強度（対数変換値）をプロットした minor *BCR-ABL* mRNA 及び *ABL* mRNA それぞれの蛍光増幅曲線を作成します（図3）。蛍光強度（対数変換値）が直線となる指数関数的増幅領域（定量領域）の中心付近に横軸と平行な線（crossing line）を引き、そのラインと増幅曲線の交点である増幅サイクル数を求めます。横軸に各標準液の濃度（対数変換値）、縦軸に標準液の増幅サイクル数をプロットした標準曲線を作成します（図4）。この標準曲線上に検体の増幅サイクル数を当てはめ、濃度を算出します。なお、minor *BCR-ABL* mRNA 測定値及び *ABL* mRNA 測定値の算出は、リアルタイム PCR 装置の取扱説明書に従って行ってください。

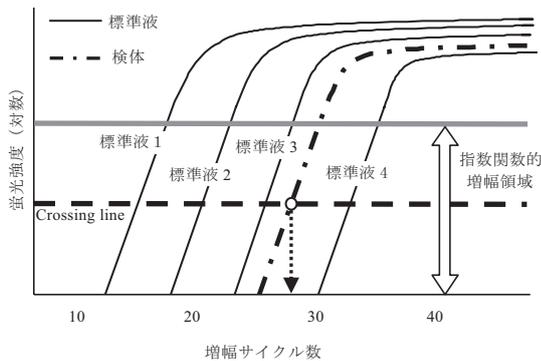


図3 蛍光増幅曲線（例）

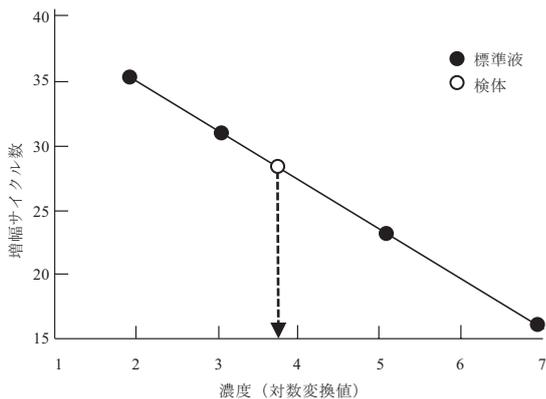


図4 標準曲線（例）

4. minor *BCR-ABL* mRNA/*ABL* mRNA 比の算出方法

minor *BCR-ABL* mRNA/*ABL* mRNA 比は、minor *BCR-ABL* mRNA 測定値を *ABL* mRNA 測定値で除し、百分率で算出します。

minor *BCR-ABL* mRNA/*ABL* mRNA 比(%)

$$= \frac{\text{minor } BCR-ABL \text{ mRNA 測定値(copy/test)}}{\text{ABL mRNA 測定値(copy/test)}} \times 100$$

【測定結果の判定法】

1. 成人の急性リンパ性白血病（Acute Lymphoblastic Leukemia：以下、ALL）患者、ALL 以外の患者及び健康人より治療開始前に採取された骨髄液（153 検体）及び末梢血（193 検体）の minor *BCR-ABL* mRNA/*ABL* mRNA 比について分布図を示します（図5、図6）。なお、本キットの最小検出感度（minor *BCR-ABL* mRNA/*ABL* mRNA 比 0.00151% 又は minor *BCR-ABL* mRNA 測定値 13.58 copies/test）未満を 0.0001% としてプロットしました（minor *BCR-ABL* mRNA/*ABL* mRNA 比を図では *BCR-ABL/ABL*(%) で表します）。また、各測定結果において最小検出感度以上を陽性、最小検出感度未満を陰性とししました。

骨髄液 153 検体（図5）では、minor *BCR-ABL* を有するフィラデルフィア染色体（Philadelphia 染色体：以下、Ph）陽性 ALL 患者（29 検体）はすべて陽性（最大値 78.2% 及び平均

値 55.0%）、Ph 陰性 ALL 患者（42 検体）はすべて陰性でした。一方、Major *BCR-ABL* を有する Ph 陽性 ALL 患者（6 検体）はすべて陽性でしたが、最大値 0.0822% 及び平均値 0.0356% となり、低値を示しました。また、ALL 以外の患者（76 検体）のうち陽性は、minor *BCR-ABL* を有する急性骨髄性白血病（Acute Myeloid Leukemia：以下、AML）及び慢性骨髄性白血病（Chronic Myelogenous Leukemia：以下、CML）患者がそれぞれ 1 例（7.64% 及び 37.9%）、その他は Major *BCR-ABL* を有する CML 患者で、最大値 0.0326% 及び平均値 0.0166% と低値を示しました。

また、末梢血 193 検体（図6）では、minor *BCR-ABL* を有する Ph 陽性 ALL 患者（30 検体）はすべて陽性（最大値 83.8% 及び平均値 53.5%）、Ph 陰性 ALL 患者（43 検体）及び健康人（25 検体）はいずれもすべて陰性でした。一方、Major *BCR-ABL* を有する Ph 陽性 ALL 患者（8 検体）はすべて陽性でしたが、最大値 0.0355% 及び平均値 0.0199% となり、低値を示しました。また、ALL 以外の患者（87 検体）のうち陽性は minor *BCR-ABL* を有する AML 及び CML 患者がそれぞれ 1 例（28.4% 及び 46.9%）、その他は Major *BCR-ABL* を有する CML 患者で、最大値 0.0490% 及び平均値 0.0173% と低値を示しました。

Major *BCR-ABL* を有する ALL 又は CML 患者において、本キットで低値を示したこの現象は共発現ではなく、Major *BCR-ABL* を有する Ph 陽性患者において高い頻度で確認され、Major *BCR-ABL* mRNA が大量に転写される際にまれに起こる選択的スプライシングと解釈されます。

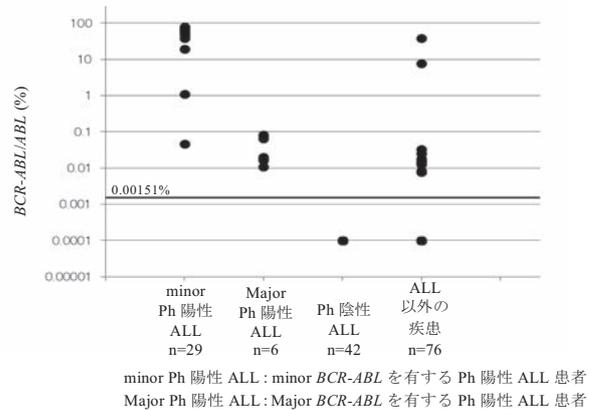


図5 本キットによる minor *BCR-ABL/ABL*(%)の分布（骨髄液）

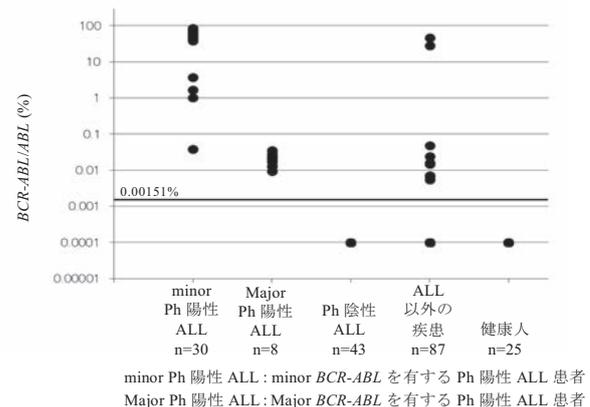


図6 本キットによる minor *BCR-ABL/ABL*(%)の分布（末梢血）

2. 治療開始前から強化地固め療法終了後までに採取された検体における本キットの minor *BCR-ABL* mRNA/*ABL* mRNA 比の最小検出感度以上の結果は、骨髄液及び末梢血それぞれにおいて 0.00485%～78.2% 及び 0.00761%～83.8% でした。

判定上の注意

- (1)本キットで「最小検出感度未満」の場合でも minor *BCR-ABL* mRNA の存在を否定するものではありません。臨床診断においては、他の検査結果や臨床所見と合わせて総合的に判断してください。
- (2)minor *BCR-ABL* の転写産物である融合 mRNA は、e1a2 及び e1a3 の 2 種類が報告されています。本キットでは、e1a2 の測定はできますが、e1a3 の融合 mRNA の測定はできません。また、e1a2 の融合 mRNA においてもプライマー及びプローブが結合する領域に変異がある場合には、minor *BCR-ABL* mRNA の測定ができないことがあります。
- (3)AML 患者及び CML 患者の一部では Ph が認められるため、ALL 患者以外の症例においても本キットの測定値が上昇することがあります。
- (4)*ABL* mRNA 測定値が 10,000 copies/test 未満の場合には、評価できる結果算出のための十分な感度を有していない可能性があります。
- (5)本キットで「最小検出感度未満」と判定された場合、minor *BCR-ABL* mRNA/*ABL* mRNA 比が 0.00151%未満と判断することはできません。minor *BCR-ABL* mRNA/*ABL* mRNA 比の算出結果は、*ABL* mRNA 測定値によるため、治療効果のモニタリングのためには、*ABL* mRNA 測定値を確認してください。参考として minor *BCR-ABL* mRNA 測定値の最小検出感度 (13.58 copies/test) と *ABL* mRNA 測定値 (例示) から算出した minor *BCR-ABL* mRNA/*ABL* mRNA 比を表 3 に示します。

表 3 minor *BCR-ABL* mRNA 測定値、*ABL* mRNA 測定値 (例示) と minor *BCR-ABL* mRNA/*ABL* mRNA 比

minor <i>BCR-ABL</i> mRNA 測定値 (copy/test)	<i>ABL</i> mRNA 測定値 (copy/test) (例示)	minor <i>BCR-ABL</i> mRNA/ <i>ABL</i> mRNA 比
13.58	100,000	0.0136%
	200,000	0.00679%
	400,000	0.00340%

【臨床的意義】

ALL は、骨髄において前駆 B 細胞又は前駆 T 細胞が腫瘍性に増殖した疾患です。ALL における予後不良因子として、Ph の存在が挙げられます。Ph は、22 番染色体の q11 に局在する *BCR* 遺伝子が 9 番染色体の q34 に局在する *ABL1* 遺伝子と結合する染色体転座が生じ、*BCR-ABL1* 融合遺伝子が形成されたものです。Ph 陽性 ALL では、2 つの型の *BCR-ABL1* 融合遺伝子の存在が知られており、およそ 70% が minor *BCR-ABL* と呼ばれる転座様式、残り 30% が CML で確認される Major *BCR-ABL* と報告されています¹⁾。

臨床現場では、minor *BCR-ABL* mRNA の検出には白血病関連キメラ遺伝子スクリーニング検査等、測定は自家調製試薬又は研究用試薬により実施されています。

本キットは、骨髄液有核細胞又は末梢血白血球より抽出した RNA 中の minor *BCR-ABL* mRNA を定量リアルタイム RT-PCR にて測定するキットです。臨床性能試験では Ph 陽性 ALL 患者の minor *BCR-ABL* mRNA/*ABL* mRNA 比は、骨髄液及び末梢血それぞれにおいて 0.00485%~78.2%及び 0.00761%~83.8% に分布しており、minor *BCR-ABL* mRNA の推移をモニタリングすることができます。また、Ph 陰性 ALL 患者及び健康人は最小検出感度 (minor *BCR-ABL* mRNA/*ABL* mRNA 比 0.00151%又は minor *BCR-ABL* mRNA 測定値 13.58 copies/test) 未満であったことから、minor *BCR-ABL* を有する Ph 陽性 ALL における診断補助としても使用することができます²⁾。

【性能】

1.性能

(1)感度試験

minor *BCR-ABL* mRNA

- 1)標準液 4 の増幅サイクル数は 37 サイクル以下を示します。
- 2)標準液 1 と標準液 4 の増幅サイクル数の差は 15~21 サイクルを示します。

ABL mRNA

- 1)標準液 4 の増幅サイクル数は 33 サイクル以下を示します。
- 2)標準液 1 と標準液 4 の増幅サイクル数の差は 11~17 サイクルを示します。

(2)正確性試験

minor *BCR-ABL* mRNA

- 1)管理試料 N を測定するとき、蛍光増幅が検出されません。
- 2)管理試料 2 種 (L、H) を測定するとき、測定値は既知濃度の 1/3~3 倍の値を示します。

ABL mRNA

- 1)管理試料 N を測定するとき、蛍光増幅が検出されません。
- 2)管理試料 2 種 (M、H) を測定するとき、測定値は既知濃度の 1/3~3 倍の値を示します。

(3)同時再現性試験

minor *BCR-ABL* mRNA

- 1)管理試料 N を同時に 3 回測定するとき、すべて蛍光増幅が検出されません。
- 2)管理試料 2 種 (L、H) を同時に 3 回測定するとき、測定値を対数変換した値の変動係数は 10%以下です。

ABL mRNA

- 1)管理試料 N を同時に 3 回測定するとき、すべて蛍光増幅が検出されません。
- 2)管理試料 2 種 (M、H) を同時に 3 回測定するとき、測定値を対数変換した値の変動係数は 10%以下です。

(4)測定範囲 (例示)

RNA 濃度 100 ng/μL (培養細胞からの抽出 RNA) のとき

1)測定範囲

minor *BCR-ABL* mRNA : 13.58~1.00×10⁷ copies/test
ABL mRNA : 24.20~1.00×10⁷ copies/test

2)最小検出感度

minor *BCR-ABL* mRNA : 13.58 copies/test
ABL mRNA : 9.84 copies/test

minor *BCR-ABL* mRNA/*ABL* mRNA 比 : 0.00151%

2.臨床性能試験成績

(1)成人

- 1)本キットと白血病関連キメラ遺伝子スクリーニング検査の一致率

ALL 疑い患者より採取した骨髄液 153 検体及び末梢血 161 検体を用いて、白血病関連キメラ遺伝子スクリーニング検査 (対照検査) と本キットの全体一致率について検討しました。本キットは、最小検出感度以上を陽性、最小検出感度未満を陰性とししました。また、対照検査は、最小検出感度 (250 コピー/μg RNA) 以上を陽性、最小検出感度未満を陰性とししました。

骨髄液 153 検体を対象とした場合は、陽性一致率 100% (38/38)、陰性一致率 93.9% (108/115) 及び全体一致率 95.4% (146/153) でした (表 4)。また、末梢血 161 検体を対象とした場合は、陽性一致率 97.4% (38/39)、陰性一致率 93.4% (114/122) 及び全体一致率は 94.4% (152/161) でした (表 5)。

表 4 本キットと対照検査の一致率 (骨髄液)

		対照検査			
		陽性	陰性	合計	
本 キ ッ ト	陽性	38	7	45	陽性一致率 100% (38/38)
	陰性	0	108	108	陰性一致率 93.9% (108/115)
	合計	38	115	153	全体一致率 95.4% (146/153)

表 5 本キットと対照検査の一致率 (末梢血)

		対照検査			
		陽性	陰性	合計	
本 キ ッ ト	陽性	38	8	46	陽性一致率 97.4% (38/39)
	陰性	1	114	115	陰性一致率 93.4% (114/122)
	合計	39	122	161	全体一致率 94.4% (152/161)

考察:

不一致例はすべて Major *BCR-ABL* を有する ALL 又は CML の患者検体でした。minor *BCR-ABL* に関して、対照検査で陰性、本キットで陽性となった検体は骨髄液 7 検体及び末梢血 8 検体で、いずれも対照検査の Major *BCR-ABL* に対して本キットの minor *BCR-ABL* は低値を示しました。これは、【測定結果の判定法】に前述した選択的スプライシングと解釈されます。

- 2) minor *BCR-ABL* を有する Ph 陽性 ALL 患者における本キットと対照試薬 A の相関

minor *BCR-ABL* を有する Ph 陽性 ALL 患者を対象に、本キットの結果が最小検出感度以上、かつ登録衛生検査所の

自家調製試薬（以下、対照試薬 A）で測定された結果が 50 コピー/ μg RNA 以上であった骨髄液 63 検体及び末梢血 155 検体について相関性を検討しました（図 7、図 8）。その結果、骨髄液における両測定値の相関係数は $r=0.89$ を示しました。また、末梢血においても相関係数は $r=0.90$ を示しました。

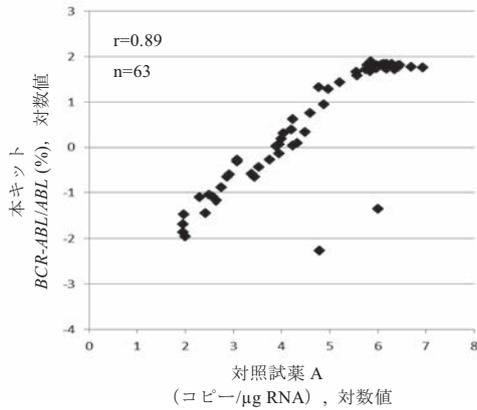


図 7 本キットと対照試薬 A による測定値の相関図（骨髄液）

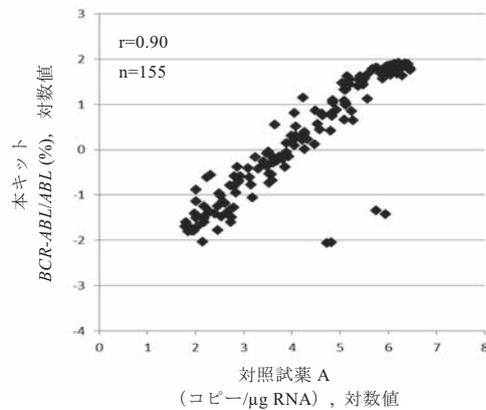


図 8 本キットと対照試薬 A による測定値の相関図（末梢血）

考察：

一部の検体で両測定結果間での乖離を生じましたが、いずれも同一症例の検体でした。Sanger Sequencing 法による塩基配列の解析を実施した結果、この症例はプライマーの設定領域の異なる本キットでは検出できない *el*a3 タイプを有することが確認されました³。この症例の検体を除外し、骨髄液又は末梢血における本キットと対照試薬 A の相関を検討した結果、骨髄液で相関係数 $r=0.98$ ($n=61$)、末梢血で相関係数 $r=0.97$ ($n=151$) の相関を示しました。

3) minor *BCR-ABL* を有する Ph 陽性 ALL 患者における本キットと対照試薬 B の相関

minor *BCR-ABL* を有する Ph 陽性 ALL 患者を対象に、本キットの結果が最小検出感度以上、かつ市販の研究用試薬（以下、対照試薬 B）で数値が得られた骨髄液 61 検体及び末梢血 149 検体について相関性を検討しました（図 9、図 10）。

その結果、骨髄液及び末梢血における両測定値の相関係数は、いずれも $r=0.99$ を示しました。

なお、対照試薬 B は、minor *BCR-ABL* mRNA 測定値を *ABL* mRNA 測定値で除しパーセント(%)で算出された値です。

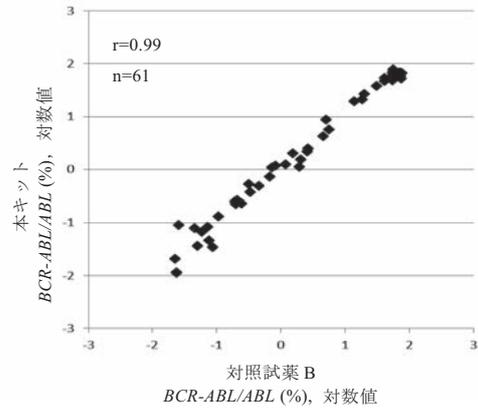


図 9 本キットと対照試薬 B による測定値の相関図（骨髄液）

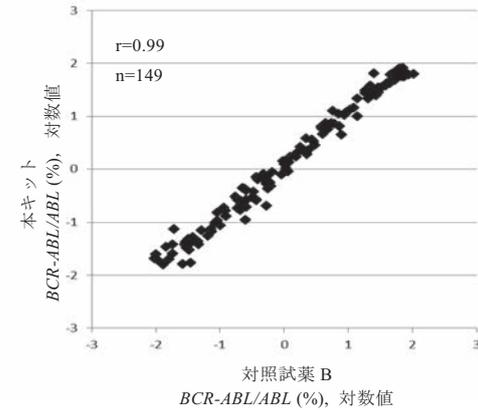


図 10 本キットと対照試薬 B による測定値の相関図（末梢血）

4) minor *BCR-ABL* を有する Ph 陽性 ALL 患者の個別症例における本キット、対照試薬 A 及び対照試薬 B から得られた minor *BCR-ABL* mRNA の推移比較

2 点以上継続して測定結果を有した 30 例の minor *BCR-ABL* を有する Ph 陽性 ALL 患者について、本キット、対照試薬 A 及び対照試薬 B から得られた minor *BCR-ABL* mRNA の推移を比較しました。図 11 から図 14 に 2 例の推移を代表として骨髄液及び末梢血についてそれぞれ示しました。本キットの測定結果は、対照試薬 A 及び対照試薬 B と同様の推移を認めました。

対照試薬 A の最小検出感度（50 コピー/ μg RNA）未満は 1 コピー/ μg RNA に、本キットの最小検出感度未満及び対照試薬 B で未検出又は計算不能となった検体は 0.0001% としてプロットしました。

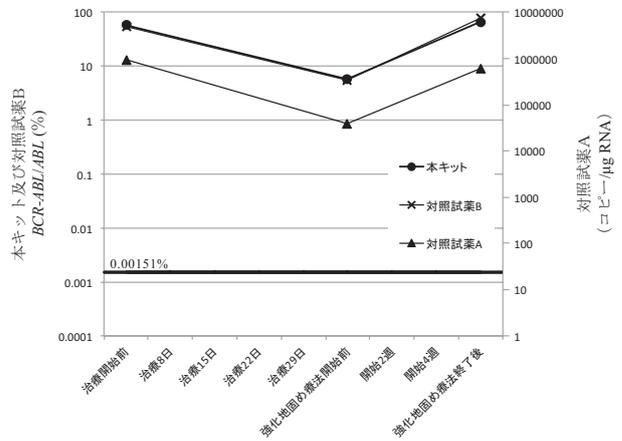


図 11 症例 1（骨髄液）

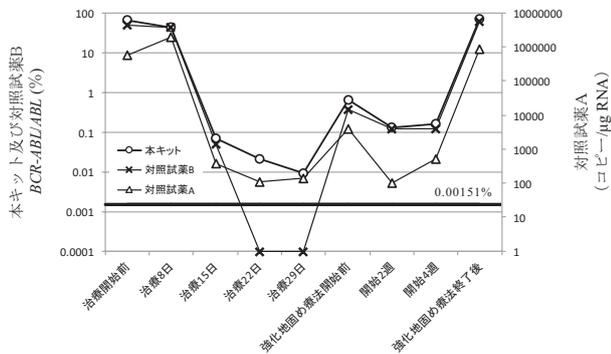


図 12 症例 1 (末梢血)

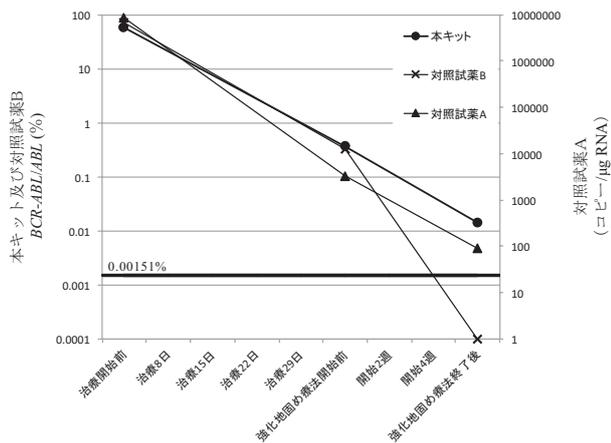


図 13 症例 2 (骨髄液)

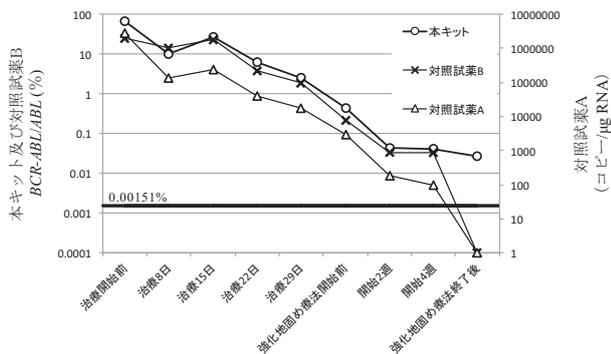


図 14 症例 2 (末梢血)

(2)小児

- 1) 本キットと白血病関連キメラ遺伝子スクリーニング検査の一致率
骨髄液 27 検体を対象とした場合、対照検査と本キットの陽性一致率、陰性一致率及び全体一致率はそれぞれ 66.7% (2/3)、100% (24/24) 及び 96.3% (26/27) でした。
考察：
サブタイプ e1a3 の融合 mRNA を有していることが確認された 1 例を除外したときの陽性一致率、陰性一致率及び全体一致率はいずれも 100% を示しました。
- 2) minor BCR-ABL を有する Ph 陽性 ALL 患者における本キットと対照試薬 A の相関
本キット及び対照試薬 A の両測定法で数値が得られた骨髄液 9 検体及び末梢血 24 検体について相関性を検討した結果、骨髄液における両測定値の相関係数は $r=0.97$ 、また、末梢血においても相関係数 $r=0.95$ を示しました。
- 3) minor BCR-ABL を有する Ph 陽性 ALL 患者における本キットと対照試薬 B の相関
本キット及び対照試薬 B の両測定法で数値が得られた骨髄液 8 検体及び末梢血 22 検体について相関性を検討した結果、骨髄液における両測定値の相関係数は $r=1.00$ 、また、末梢血においても相関係数 $r=0.99$ を示しました。

- 4) minor BCR-ABL を有する Ph 陽性 ALL 患者の個別症例における本キット、対照試薬 A 及び対照試薬 B から得られた minor BCR-ABL mRNA の推移比較
- 2 測定法以上で測定結果を得た 8 例の minor BCR-ABL を有する Ph 陽性 ALL 患者について、骨髄液及び末梢血を対象とした本キットの測定結果は、いずれも対照試薬 A 及び対照試薬 B と同様の推移を認めました。

3. 校正用基準物質

合成 minor BCR-ABL RNA 及び合成 ABL RNA

【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) 検体及び本キットを取り扱うときには、マスク、フェイスボーズ、ガブゴム手袋 (パウダーフリー)、実験着及び保護眼鏡を着けて操作し、試薬が皮膚、目及び粘膜等に触れないように注意してください。また、取扱い後は手をよく洗ってください。
- (2) 検体は常に感染の危険性を伴うものとして取扱いには十分注意してください。検体に接触したチップ等の器具やそれらの残液及びその容器等も同様に扱ってください。
- ** (3) 試薬が誤って目や口に入った場合や手等に触れた場合には、水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当等を受けるようにしてください。

2. 使用上の注意

- (1) 本キットは、 -20°C 以下で保存してください。
- (2) 使用期限を過ぎたキットは使用しないでください。使用期限はキット外箱に表示しています。
- (3) 製造番号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でください。
- (4) 本キットの分割使用は 4 回までとしてください。

3. 廃棄上の注意

- (1) 検体及び本キットを取り扱う際に使用した器具類や残液は感染の危険があるものとし、オートクレーブ (121°C 、20 分) で滅菌処理するか、又は次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素濃度 1.0% 以上) に 1 時間以上浸してから処理し、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物又は産業廃棄物等区別して処理してください。
- (2) 誤って試料をこぼした場合は、保護具を着用し試料が飛び散らないようにペーパータオルなどで静かに拭き取ってください。拭き取った後は、次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素濃度 1.0% 以上) で浸すように拭き取り、その後水拭きしてください。
- (3) PCR 産物は、コンタミネーションを避けるため、シールを剥がさずに焼却処理又は密閉できるビニール袋を 2 重に施し廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物として処理してください。なお、PCR 産物は、飛散を防止するためオートクレーブによる処理は行わないでください。
- (4) 試薬及び器具を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理してください。

【貯蔵方法、有効期間】

貯蔵方法

-20°C 以下

有効期間

製造日より 18 ヶ月

(使用期限はラベル及び外箱に記載しています。)

【包装単位】

48 テスト用

【主要文献】

1. Melo JV, et al. : Blood. 1993; 81: 2488-2491.
2. 社内資料：臨床性能試験成績, 2021.
3. 社内資料：試験報告書, 2021.

【問い合わせ先】

主要文献に記載の社内資料につきましても下記にご請求ください。

大塚製薬株式会社 医薬情報センター
〒108-8242 東京都港区港南 2-16-4
品川グランドセントラルタワー
電話 0120-189-840
FAX 03-6717-1414

【製造販売元】

 **大塚製薬株式会社**
Otsuka 東京都千代田区神田司町2-9