使用に際してはこの電子添文をよくお読みください。
また、必要な時に読めるように保管しておいてください。

＊＊ 2026年10月改訂(第4版)
＊ 2025年11月改訂(第3版)

A1K04T

体外診断用医薬品

製造販売承認番号:30600EZX00024000

組織検査用FGFR遺伝子変異検出キット

AmoyDx® FGFR2 Gene Break-apart FISH プローブキット

【全般的な注意】

1. 本品は、体外診断用であり、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果などと併せて担当医師が総合的に判断してください。
3. この添付文書に記載された使用方法に従って使用してください。記載された使用方法および使用目的以外の使用については、検査結果の信頼性を保証しかねます。
4. 本測定で使用する試薬類には、ヒト由来成分が含まれているものがあり、感染の危険があるので感染性があるものとして取り扱ってください。詳細は、【形状・構造等(キットの構成)】または【用法・用量(操作方法)】を参照してください。
5. 本品は、FISH法の操作について十分な経験を有する専門家以外の方は使用しないでください。
6. 本品の使用に当たっては、蛍光顕微鏡及およびスライド変性・ハイブリダイゼーションシステム等が必要です。蛍光顕微鏡および器具等の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)】

① LSP FGFR2 Break-apart Probe Mix
FGFR2　3'Probe
FGFR2　5'Probe
(他の含有物:ホルムアミド、生理食塩水クエン酸ナトリウム(SSC)、デキストラン硫酸、ブロッキングDNA(ヒト由来))

② DAPI Counterstain Ⅱ
(主な含有物:DAPI(4',6-ジアミジノ-2-フェニルインドール)、グリセロール、退色防止剤)

【使用目的】

がん組織中の*FGFR2*融合遺伝子の検出
(タスルグラチニブコハク酸塩の胆道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】

*FGFR2*遺伝子は10番染色体10q26.13に存在し、多くの遺伝子と融合遺伝子を形成します。

本品は、FISH(Fluorescence in situ hybridization)法によりがん組織中の*FGFR2*融合遺伝子を検出するキットです。

FISH法は、蛍光標識した相補的なプローブを用いて、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)スライド標本の染色体上の核酸配列を顕微鏡下で可視化する技術により、特定の遺伝子の数的異常や転座などの構造異常を検出できる方法です。

標的配列に相補的な蛍光標識プローブ存在下で、細胞中の標的DNAが変性されて一本鎖になると、プローブとハイブリダイゼーションし、細胞DNA中のプローブと目的とする遺伝子座がプローブの蛍光物質により標識されます。

これを核に特異的に反応するDAPIで対比染色した後に、蛍光顕微鏡下で観察することにより目的とする遺伝子座を可視化し直接検出します。

本品には以下のプローブが含まれています。

・FGFR2　3'Probe
*FGFR2*遺伝子の切断点領域に近位のセントロメア側の配列に相補的な橙色の蛍光シグナルを持つCy3標識DNAプローブ(約350kb)

・FGFR2　5'Probe
*FGFR2*遺伝子の切断点領域に遠位のテロメア側の配列に相補的な緑色蛍光シグナルを持つFITC標識DNAプローブ(約300kb)

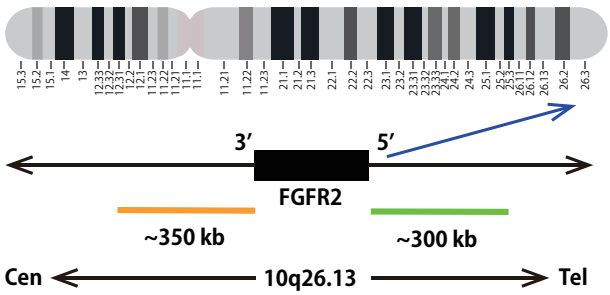


図1　10番染色体とプローブマップ

【操作上の注意】

測定試料の性質,採取法

1. 本品による検査には、胆道癌患者のFFPE検体を使用してください。FFPE検体は、がん組織検体(外科組織や生検組織)を用いてください。
2. 組織標本のFFPE検体は各種FFPE検体取扱いガイドライン(例: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、等)に従って適切に取り扱ってください。
3. FFPE検体は3～5μmの厚さに薄切し、接着用スライドグラスに貼りつけてください。すぐに測定できない場合は、薄切後、10～30℃で保存し、12箇月以内に使用してください。FFPEブロックは10～30℃で保存し、5年以内に作製されたものを使用してください。
4. 本品による検査を行う場合は、同時に陽性・陰性が既知のスライドの染色を行い、染色操作が適切に行われていることを確認することを推奨します。
5. ホルマリン固定が過固定(72時間を超えた場合)のFFPE検体は検査に適さない可能性が高いため、適切な検体を用意してください。

【用法・用量(操作方法)】

試薬の調製方法

そのまま用いる

必要な器具・器材・試料等

＜器具・器材＞

1. 蛍光顕微鏡:Cy3(橙色シグナル:励起波長550nm、蛍光波長570nm)とFITC(緑色シグナル:励起波長495nm、蛍光波長520nm)のフィルターが装着されたもの
2. スライド変性・ハイブリダイゼーションシステム(ThermoBriteまたはHybridizer)
3. ホットプレート
4. ヒーター
5. 接着用スライドグラス(正電荷処理された顕微鏡用スライドグラス)
6. カバーグラス
7. 蓋付き恒温水槽(37～99℃で温度調整可能なもの)
8. コプリンジャー(染色瓶)
9. ホットスターラー

＜試薬＞

1. キシレン
2. 無水エタノール
3. 1M塩酸
4. 接着剤(ペーパーボンドなど)
5. 滅菌脱イオン水または滅菌精製水
6. ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色液
7. ネイルエナメル(オプション)

＊＊ ＜別売品＞

AmoyDx® FFPE FISH前処理キット(製品番号:120029)

① Pretreatment Solution(pH7.0)	1,000mL×1
② Proteinase K Solution	1mL×1
③ 20 × SSC Solution(pH7.0)	250mL×1
④ Pepsin	0.2g×1
⑤ NP-40	3mL×1

AmoyDx® FGFR2 Gene Break-apart コントロールスライド
(製品番号:120036)

・FGFR2 BA NC(陰性コントロールスライド) 10枚
(主な含有物:培養細胞(ヒト由来))
・FGFR2 BA PC(陽性コントロールスライド) 10枚
(主な含有物:培養細胞(ヒト由来))

測定（操作）法

1. 前処理方法
(1)スライドを脱パラフィン処理する。
(2)スライドをプロテアーゼで前処理し、エタノールで脱水し乾燥させる。

2. 操作方法
(1)LSP FGFR2 Break-apart Probe Mix 10μL を前処理して乾燥させたスライドに添加する。
(2)85℃で 5 分間変性させる。
(3)37℃で 12～24 時間ハイブリダイゼーションさせる。
(4)洗浄液にスライドを浸漬する。
(5)スライドを乾燥させ、DAPI Counterstain Ⅱ 10μLをスライドに添加する。
(6)蛍光顕微鏡で細胞 50 個のシグナルを計数する。

＜操作手順＞

1. スライド作製
ミクロトームで 3～5μm 厚に薄切した FFPE 検体を接着用スライドグラスに貼り付けます。1 枚をHE 染色し、腫瘍細胞が 100 細胞以上あることが確認できた検体を使用してください。

2. 前処理試薬の準備
(1)2×SSC溶液(pH7.0)
20×SSC Solution(pH7.0)を滅菌脱イオン水で10倍希釈し、pH7.0に調整します。密封して 2～8℃で保存し、12 箇月以内に使用してください。濁りやコンタミネーションがある場合は使用しないでください。
(2)洗浄液
NP-40 を 2×SSC 溶液(pH7.0)に溶解して 0.1％NP-40 溶液を調製します。密封して 2～8℃で保存し、12 箇月以内に使用してください。濁りやコンタミネーションがある場合は使用しないでください。
(3)70%、85%エタノール
無水エタノール700mLおよび 850mLを滅菌脱イオン水で希釈し、それぞれ 1000mLに調製します。密封して10～30℃で保存し、1箇月以内に使用してください。濁りやコンタミネーションがある場合または 20スライド操作後は使用しないでください。

以下の操作は、Proteinase K を使用する場合は(4)、ペプシンを使用する場合は(5)～(7)を準備してください。

(4)Proteinase K 希釈溶液 （用時調製）
2×SSC 溶液(pH7.0) 40mL をコプリンジャーに入れて 37℃で 20分以上加温しておきます。この溶液に20mg/mL Proteinase K Solution 100μLを添加し、0.05mg/mL Proteinase K 希釈溶液を調整します。
(5)100mg/mL ペプシン溶液
Pepsin 0.2gに滅菌脱イオン水 2mLを添加し、穏やかに振って溶解し、1.5mLチューブに160μLずつ分注してください。
-25℃～-15℃で保存し、12箇月以内に使用してください。
(6)ペプシン希釈用緩衝液(用時調製)
1M 塩酸 0.4mL を滅菌脱イオン水 39.6mL に添加し、混和します。
(7)0.4mg/mL ペプシン希釈溶液 (用時調製)
ペプシン希釈用緩衝液 40mLをコプリンジャーに入れ、37℃で 20分以上加温しておきます。この溶液に100mg/mLペプシン溶液160μLを添加します。

3. 装置の準備
(1)測定開始前
恒温水槽を37℃に温めておきます。2×SSC 溶液(pH7.0) 40mL またはペプシン希釈用緩衝液40mLをコプリンジャーに入れて、37℃で 20分以上、予熱しておきます。
(2)熱処理前
Pretreatment Solution(pH7.0) をホットスターラーで加温した湯浴またはヒーターで沸騰するまで加温しておきます。
(3)洗浄前
恒温水槽を46℃に調整し、洗浄液40mL をコプリンジャーに入れて20分間以上、予熱しておきます。

4. 検体前処理
(1)未染色スライドを 56℃のホットプレートまたは 58℃のパラフィンオーブンで15～30 分間ベーキングします。
(2)脱パラフィンするため、ドラフトチャンバー内で、キシレンを入れたコプリンジャーにスライドを10分間浸漬します。コプリンジャーを交換して 2 回繰り返します。
(3)残ったキシレンを除くため、無水エタノールを入れたコプリンジャーにスライドを入れて 2 分間浸漬します。
コプリンジャーを交換して、2 回繰り返します。
(4)85% エタノール、70% エタノール、滅菌脱イオン水の順番に各コプリンジャーにスライドを1分間浸漬します。
(5)沸騰させた Pretreatment Solution(pH7.0)に標本を上向きにした状態のスライドを20分間浸漬します。
(6)スライドを滅菌脱イオン水で 1 分間洗浄します。
(7)スライドを 2×SSC 溶液(pH7.0)で 1分間洗浄します。
(8)酵素処理(次の1)または 2)どちらかを実施してください。)
1)スライドを 0.05 mg/mL Proteinase K 希釈溶液または、0.4mg/mLペプシン希釈溶液に37℃で2～15 分間浸漬します。1 つのコプリンジャーに同時に8スライド以上入れないでください。
2)スライドをホットプレートまたはスライド変性・ハイブリダイゼーションシステム(以下変性ハイブリ装置) に置き、0.05mg/mL Proteinase K 希釈溶液または0.4mg/mL ペプシン希釈溶液を500μL 添加し、37℃で 2～15 分間処理します。

注) 酵素処理が過剰または不十分であった場合は、処理時間を変更して再試験を行ってください。

(9)スライドを2×SSC溶液(pH7.0)で1分間洗浄します。
(10)スライドを70%エタノール、85%エタノール、無水エタノールの順に各3分間浸漬します。
(11)スライドを風乾させてください。

5. 変性・ハイブリダイゼーション(暗所で実施)
(1)スライドの裏面に検体エリアをマークします。
(2)変性ハイブリ装置に水で湿らせた調湿用カード(Humidity card または Hybridizer Humidity Control Strips)を所定の位置にセットします。
(3)LSP FGFR2 Break-apart Probe Mix(以下、Probe Mix) をボルテックスミキサーで混和した後、卓上遠心機等で 2～5 秒間遠心しスピンダウンします。
(4)変性ハイブリ装置で変性 85℃ 5分間、ハイブリダイゼーション 37℃ 12～16 時間(最長24時間まで)にプログラムをセットします。
(5)各スライドの検体エリアの中央に Probe Mix 10μLを添加し、直ちにカバーグラスを被せて、Probe Mixで検体が覆われるようにしてください。カバーグラスをかける前に Probe Mix に気泡がないことを確認しておきます。
(6)接着剤でカバーグラスを密封します。
(7)変性ハイブリ装置にスライドをセットし、(4)のプログラムを開始します。

6. 洗浄 （暗所で実施）
(1)ハイブリダイゼーション終了後、変性ハイブリ装置からスライドを取り出し、カバーグラスを動かさないように注意しながら、ピンセットで接着剤を外します。
(2)スライドを2×SSC溶液(pH7.0)に10～30℃で5分間浸漬して、カバーグラスを外します。
(3)スライドを 46℃に加温した洗浄液で 7分間浸漬します。
(4)スライドを 70%エタノール、85%エタノールおよび無水エタノールの順に各1分間浸漬します。
(5)スライドを取り出し、ドラフトチャンバーまたはクリーンベンチ内で完全に風乾させてください。

7. 対比染色 （遮光）
(1)スライドの裏面に検体エリアをマークします。
(2)DAPI Counterstain Ⅱ 10μLを各スライドの検体エリアの中央に添加し、直ちにカバーグラスを被せます。カバーグラスを被せる前に気泡がないことを確認してください。
(3)10～30℃で15分間(遮光)染色します。

8. スライドの観察
(1)適切なフィルターをセットした蛍光顕微鏡で、スライドを観察します。
(2)観察が終了したスライドは、-25℃～ -15℃で遮光して保管します。染色後のスライドは、ネイルエナメル等で封入した場合、-25℃～ -15℃ (遮光) で 3 箇月まで保存できます （オプション)。

9. スライド評価
(1)10 倍または 20倍の対物レンズを用いて、組織があるエリアを観察し、腫瘍細胞が集中しているエリアを特定します。
(2)100 倍の油浸対物レンズと指定されたフィルターを使用して (1) で選択したエリアの各細胞のシグナルを観察します。図 2 陽性シグナルパターンおよび図 3 陰性シグナルパターンを参考に解析し、分離シグナルのある細胞 (陽性) と通常細胞 (陰性)を計数し記録します。

(3)50 細胞を計数するまで(2)を繰り返します。分離シグナルのある細胞（橙色と緑色の輝点数）と通常細胞をそれぞれ記録し、観察した全細胞数に対する分離シグナルのある細胞の割合を求めます。
1)分離シグナルのある細胞(陽性)：橙色と緑色のシグナルが、シグナルの直径の 2 倍以上離れている。
2)通常細胞（陰性）：橙色と緑色のシグナルが重なりあっている、またはシグナルの直径の 2 倍未満で隣接している。重なりあっているシグナルは黄色のシグナルとして見える場合があります。
3)核内には、1 つ以上の融合シグナルと分離シグナルのセット、1 つ以上の単一の橙色または緑色のシグナルが含まれる場合があります。
4)以下の【測定結果の判定法】に従って結果を判定します。

【測定結果の判定法】

1. 判定法
(1)細胞 50 個中、分離シグナルのある細胞の割合が＞50％(25/50) の場合は、*FGFR2* 遺伝子の再配列（分離）が認められ、陽性と判定する。
(2)細胞 50 個中、分離シグナルのある細胞の割合が＜10％(5/50) の場合は、*FGFR2* 遺伝子は正常であり、陰性と判定する。
(3)細胞 50 個中、分離シグナルのある細胞の割合が 10～50％(5/50～25/50) の場合は、判定保留とし、さらに 50 個の細胞について計測する。≧15％ (15/100) の場合は陽性、それ以外は陰性と判定する。

2. 判定上の注意
(1)病理医により腫瘍細胞が集中していると識別されたエリアのみを判定してください。
(2)橙色と緑色の両方のシグナルがある細胞を計測してください。明るく、識別可能で、判定しやすいシグナルであること。
(3)ネクローシスの領域や、核の境界がはっきりと区別できず重なっている部分は避けてください。
(4)ハイブリダイゼーションが不均一な領域の判定は無効です。
(5)バックグラウンドが暗すぎてシグナル計数に影響を及ぼすような領域は避けてください。
(6)弱いシグナルの核が 25％以上の領域、または細胞質が 10％以上染色されている領域は避けてください。
(7)オレンジ／グリーンデュアルバンドフィルターセットを備えた蛍光顕微鏡の使用を推奨します。

図 2 陽性シグナルパターン

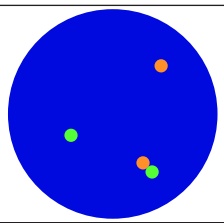
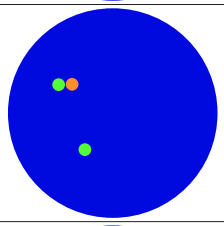
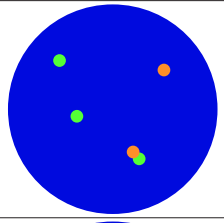
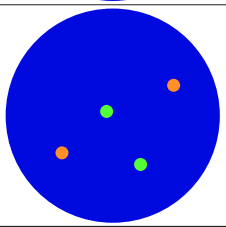
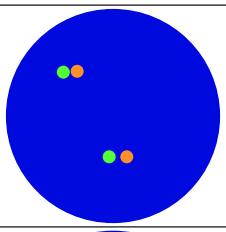
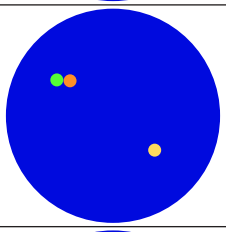
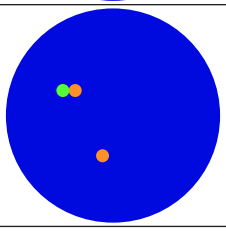
	核内に 1 組以上の融合シグナルと 1 組以上の分離シグナルが存在する。
	核内に 1 組以上の融合シグナルと単独の緑色シグナルが存在する。
	同じ核内に融合シグナル、分離シグナル、緑色又は橙色の単独シグナルがある。
	核内のシグナルは 2 組とも分離している。

図 3 陰性シグナルパターン

	核内に 1 つ以上の融合シグナルとシグナルの直径の 2 倍未満の距離で隣接したシグナルが存在する。
	核内に 1 つ以上の融合シグナルのみが存在する。 ※重なり合ったシグナルは黄色に見える場合がある
	核内に 1 つ以上の融合シグナルに加えて、単独の橙色シグナルが存在する。

【臨床的意義】

本品は FISH 法を用いて、*FGFR2* 融合遺伝子を検出する体外診断用医薬品です。FGFR 阻害剤（タスルグラチニブコハク酸塩）による治療の適用を判断することを目的として用います。

[*FGFR2* 融合遺伝子陽性胆管癌に関するタスルグラチニブコハク酸塩の治験成績概略]

臨床試験情報：国際共同第Ⅱ相試験（E7090-J000-201試験）

化学療法歴があり、本品を用いて *FGFR2* 融合遺伝子陽性と判定された治癒切除不能な胆管癌（肝内胆管癌または肝門部胆管癌）患者 63 例（うち日本人患者 28 例）に、タスルグラチニブコハク酸塩 140mg を 1 日 1 回空腹時に経口投与した結果、主要評価項目である RECIST ver.1.1に基づく独立評価判定による奏効率（%）は、30.2（90%信頼区間：20.7～41.0）であった。

【性能】

性能

【用法・用量（操作方法）】の記載に従い試験を行った場合、下記の規格値に適合する。

1. プローブシグナル強度
リンパ球スライド 1 枚、*FGFR2* 分離シグナル陰性組織 FFPE スライド 5 枚および *FGFR2* 分離シグナル陽性組織 FFPE スライド 5 枚を試験するとき、橙色蛍光シグナルと緑色蛍光シグナルが可視化できる。

2. プローブの品質（感度・特異性）
(1)感度
リンパ球スライド 1 枚を試験し、分裂中期細胞（計50 個）の染色体 100 個を観察するとき、10 番染色体に橙色蛍光シグナルと緑色蛍光シグナルが認められる割合は 98％(98/100) 以上である。
(2)特異性
リンパ球スライド 1 枚を試験し、分裂中期細胞（計 50 個）の染色体 100 個を観察するとき、10 番染色体の *FGFR2* 遺伝子座の 3’（セントロメア近傍）領域に橙色蛍光シグナル、*FGFR2* 遺伝子座の 5’（テロメア近傍）領域に緑色蛍光シグナルが認められる割合は 98％(98/100) 以上である。

3. プローブの有効性
FGFR2 分離シグナル陰性組織 FFPE スライド 5 枚を試験するとき、いずれのスライドにおいても陰性と判定される。
FGFR2 分離シグナル陽性組織 FFPE スライド 5 枚を試験するとき、いずれのスライドにおいても陽性と判定される。

4. 同時再現性
FGFR2 分離シグナル陰性組織 FFPE スライド 1 枚と *FGFR2* 分離シグナル陽性組織 FFPE スライド 2 枚を 3 回繰り返し試験するとき、陰性検体は陰性と判断され、陽性検体は陽性と判断される。

＜管理用物質＞
・リンパ球スライドは、末梢血リンパ球の分裂中期細胞から作製する。
・*FGFR2* 分離シグナル陰性組織 FFPE スライドおよび *FGFR2* 分離シグナル陽性組織 FFPE スライドは、あらかじめ陽性陰性が確認されているヒト胆管癌組織から作製する。

【使用上又は取扱い上の注意】

取扱い上(危険防止)の注意

(1)ヒト検体を用いて測定を行うため検体は、HIV、HBV、HCV 等の感染の恐れがあるものとして取り扱ってください。検査にあたっては感染の危険を避けるため、専用の着衣、眼鏡、使い捨て手袋およびマスクを着用し、またロによるピペッティングを行わないでください。
(2)キシレンはドラフトチャンバー内で扱ってください。
(3)試薬が誤って目や口に入った場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
(4)検体の前処理を行う AmoyDx® FFPE FISH 前処理キット(製品番号:120029)の構成品⑤ NP-40 には危険有害性物質が含まれています。取扱い方法は最新の安全データシート(SDS)を参照してください。
(5)安全データシート(SDS)は問合せ先から入手してください。

使用上の注意

(1)使用の前に本品の添付文書をよく読み、各構成試薬およびその使用方法をよく理解し、決められた条件を守って使用してください。また、使用する機器等の添付文書および取扱説明書をよく読み、記載に従って使用してください。
(2)本品、前処理キットおよびコントロールスライドは指定された条件で保管し、使用期限を過ぎたものは使用しないでください。
(3)異なる製造番号の試薬または残った試薬を注ぎ足して使用しないでください。
(4)試薬は使用前に十分混合してから使用してください。
(5)試薬に沈殿物や濁りが認められた場合は廃棄し、新たに試薬を用意してください。
(6)蛍光プローブは光に暴露されると容易に退色するため、検体の前処理以外の工程は、できるだけ暗所で取り扱ってください。
(7)検体や試薬を扱う際は、専用の着衣、使い捨て手袋を着用し、汚染防止および保護のため手袋は適宜交換してください。
(8)検体や試薬を扱う際は、汚染防止のためマイクロピペット、フィルター付きチップを使用してください。
(9)本品はドライアイス存在下で輸送しないでください。

廃棄上の注意

(1)検体中には HIV、HBV、HCV 等の感染性のものが存在する恐れがありますので、廃液、使用済み器具などは次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素濃度 1,000ppm、1時間以上浸漬) またはグルタールアルデヒド(2%、1時間以上浸漬)による消毒処理あるいはオートクレーブ(121℃、20 分以上)による滅菌処理を行ってください。
(2)試薬および器具等を廃棄する場合は、廃棄物の処理および清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って適切に処理してください。
(3)使用済みの検体および検体に使用した器具などの廃棄処理を行う場合は、感染の危険を避けるため、専用の着衣、眼鏡、使い捨て手袋およびマスクを着用してください。
(4)検査後は、75%エタノールまたは 10%次亜塩素酸などの適切な消毒剤で使用したエリアをよく拭いてください。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法

-25℃～-15℃
指定された温度で遮光保存してください

有効期間

製造日から12箇月(使用期限は外装に表示しています)

＊＊【包装単位】

AmoyDx® FGFR2 Gene Break-apart FISH プローブキット
(10テスト用)
① LSP FGFR2 Break-apart Probe Mix : 100μL×1
② DAPI Counterstain Ⅱ : 1,000μL×1
製品番号:120012

＜別売品＞

AmoyDx® FFPE FISH 前処理キット
(10 テスト用)
製品番号:120029
貯蔵方法:10～30℃
有効期間:製造日から 12 箇月
(使用期限は外装に表示しています)

AmoyDx® FGFR2 Gene Break-apart コントロールスライド
(10 テスト用)
製品番号:120036
貯蔵方法:10～30℃
有効期間:製造日から 24 箇月
(使用期限は外装に表示しています)

＊【主要文献】

主要文献

Lin S, Huaxin D, T Kuwahata. et al. (2025) Tasurgratinib (E7090) for cholangiocarcinoma with fibroblast growth factor receptor 2 fusions/rearrangements:a multicenter ,open-label,Phase 2 study. Jpn J Clin Oncol, 55 (11),1229- 1236. doi:10.1093/jjco/hyaf119

【問合せ先】

日本ステリ株式会社
〒 107-0052
東京都港区赤坂一丁目 8 番 1 号
TEL : 0120-052490

【製造販売元】

日本ステリ株式会社
〒 107-0052
東京都港区赤坂一丁目 8 番 1 号
TEL : 070-4885-5366