

Ⅶ. 文章設問の解説

【評価対象問題】

遺伝子検査全般の基礎問題：設問 1～5

1. 核酸およびヌクレアーゼについて正しいものを2つ選んでください。

- ① DNA は細胞核内に存在し、長期間のホルマリン固定により断片化する。
- ② ヒトの成熟した赤血球には通常 DNA は存在しない。
- ③ RNase はオートクレーブ処理により容易に失活される。
- ④ 検体から抽出した核酸は-20℃保管が望ましい。
- ⑤ DNA を対象とする検査材料には、抗凝固剤であるヘパリンを使用する。

回答	回答施設数	割合 (%)
① DNA は細胞核内に存在し、長期間のホルマリン固定により断片化する。	7 施設	100.0
② ヒトの成熟した赤血球には通常 DNA は存在しない。		

- ③ DNase はオートクレーブ処理 (121℃2 気圧 20 分) により失活されるが、RNase は極めて熱耐性があり、180℃以上で 3～6 時間の加熱処理でなければ失活しない。
- ④ 核酸の保管は深凍結-80℃が望ましい。
- ⑤ ヘパリンは PCR 反応阻害を惹起するため、EDTA 等の他の抗凝固剤を使用する。

2. 各種遺伝子関連検査について、誤っているものを2つ選んでください。

- ① 単一遺伝子疾患の生殖細胞系列遺伝子検査は、その検査前後に患者本人とのカウンセリングが必要である。
- ② 病原体遺伝子検査は、生きた細菌やウイルスのみを検出する。
- ③ 体細胞遺伝子検査は、限局性の遺伝子変異を特異的に検出できるため、検査対象とする検体中の腫瘍割合を考慮しなくてよい。
- ④ 体細胞遺伝子検査の中には、血液検体を検査材料とすることがある。
- ⑤ 生殖細胞系列遺伝子検査の中には、血液検体を検査材料とすることがある。

回答	回答施設数	割合 (%)
② 病原体遺伝子検査は、生きた細菌やウイルスのみを検出する。	7 施設	100.0
③ 体細胞遺伝子検査は、限局性の遺伝子変異を特異的に検出できるため、検査対象とする検体中の腫瘍割合を考慮しなくてよい。		

- ② 病原体遺伝子検査は標的となる病原体の核酸を検出するが、病原体の生死は問わない。
- ③ 体細胞遺伝子検査は限局性の遺伝子変異を特異的に検出できるが、腫瘍割合が検出感度に影響を及ぼす。病理組織検体による検査では、腫瘍割合が少ない場合にはマクロダイセクションの工程により、腫瘍割合を高める必要がある。

3. PCR法におけるコンタミネーション防止として、正しいものを2つ選んでください。

- ① 試薬調整エリアでは、安全キャビネットを使用する。
- ② グローブの着脱回数が多いとコンタミネーションのリスクが上がるため、検査中は一貫して同じグローブを着用し続ける。
- ③ 核酸抽出エリア、試薬調整エリア、増幅と検出エリアで使用する器具は、それぞれのエリアごとの専用器具とする。
- ④ PCR増幅産物は、以後の検査に影響しないようにオートクレーブで処理する。
- ⑤ ピペットは、フィルター付きチップを装着して使用する。

回答	回答施設数	割合(%)
③ 核酸抽出エリア、試薬調整エリア、増幅と検出エリアで使用する器具は、それぞれのエリアごとの専用器具とする。	7施設	100.0
⑤ ピペットは、フィルター付きチップを装着して使用する。		

- ① 試薬調製エリアでは、清潔な環境である陽圧空調のクリーンベンチを使用する。
- ② グローブをはじめとする保護具は核酸抽出エリア、試薬調整エリア、増幅と検出エリアはそれぞれで着脱し、持ち込みを避ける。また、検体による保護具の汚染はコンタミネーションのリスクが上がるため、少しでも保護具の汚染が疑われる場合には新しい保護具を着用することが望ましい。
- ④ PCR増幅産物は、オートクレーブ処理によりエアロゾルが発生し、汚染の原因となるため、厳禁とされる。次亜塩素酸ナトリウム溶液で処理するか、2重密閉をして廃棄する。

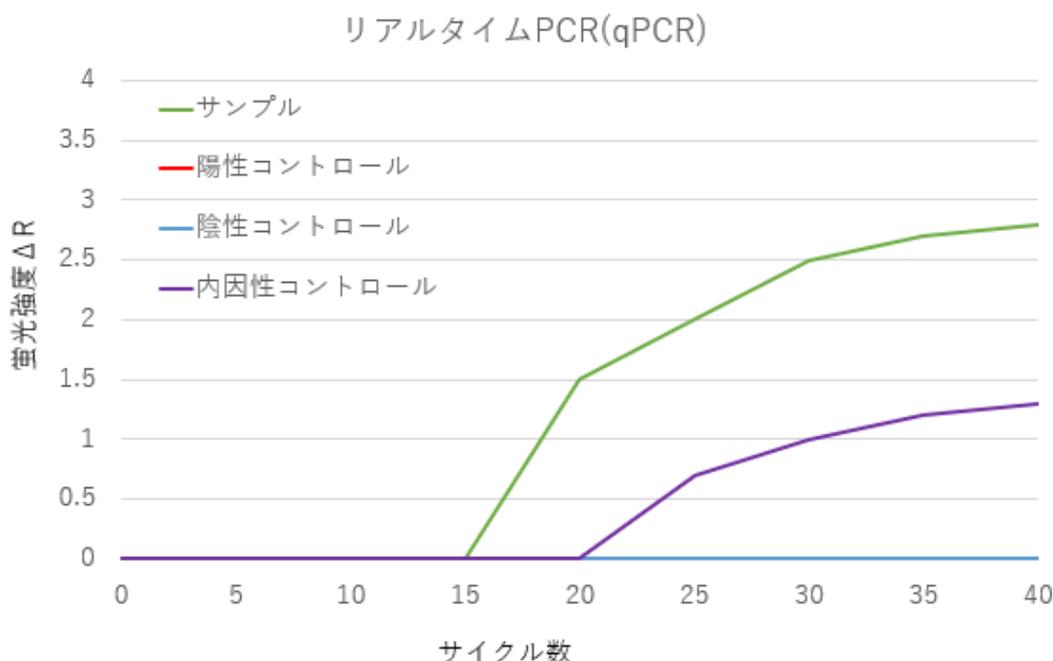
4. 遺伝子検査の精度管理として、誤っているものを2つ選んでください。

- ① 偽陰性を否定するためには、内部コントロールと陽性コントロールの結果を確認する。
- ② 偽陽性を否定するためには、陽性コントロールの結果を確認する。
- ③ 内部精度管理として、検体の他に陰性コントロールだけ測定すればよい。
- ④ 内部精度管理を実施することで、人為的エラーを発見できる。
- ⑤ 陽性コントロールは、検出下限域に調整したコントロールが用いるのが望ましい。

回答	回答施設数	割合(%)
② 偽陽性を否定するためには、陽性コントロールの結果を確認する。	7施設	100.0
③ 内部精度管理として、検体の他に陰性コントロールだけ測定すればよい。		

- ② 偽陽性を否定するためには、陰性コントロールの結果を確認する。
- ③ 内部精度管理は、検体の他に陽性コントロールと陰性コントロールを同時に測定する。これらに加えて、検体由来の反応阻害物質の影響がないか確認するため、内因性コントロールを測定することが望ましい。

5. ある対象遺伝子を定性検査するため、リアルタイムPCRを実施しました。下図の増幅曲線の解釈として正しいものを2つ選んでください。なお、閾値（Threshold）は蛍光強度 $\Delta R1.0$ とし、サイクル数が30未満で曲線が立ち上がった場合を陽性と判定します。また内因性コントロールでは35未満で立ち上がった場合、正しく増幅反応が行われていると判定します。



- ① 陰性コントロールの曲線が立ち上がっていないため、検査試薬の劣化などの問題が考えられる。
- ② 陽性コントロールの曲線が立ち上がっていないため、検査試薬の劣化などの問題が考えられる。
- ③ 検体中の内因性コントロール曲線が正しく立ち上がっているため、検体に由来する阻害物質による影響はなく、正しく増幅反応が行われていると判断できる。
- ④ 陰性コントロールと陽性コントロールの交差が考えられる。
- ⑤ 検体由来のコンタミネーションによる試薬の汚染が考えられる。

回答	回答施設数	割合 (%)
② 陽性コントロールの曲線が立ち上がっていないため、検査試薬の劣化などの問題が考えられる。	7施設	100.0
③ 検体中の内因性コントロール曲線が正しく立ち上がっているため、検体に由来する阻害物質による影響はなく、正しく増幅反応が行われていると判断できる。		

- ① 陰性コントロールの曲線が立ち上がらないことで妥当性の確認ができる。
- ④ 陰性コントロールと陽性コントロールの交差をみると、陰性コントロール曲線が立ち

上がり、陽性コントロール曲線は立ち上がらない。

- ⑤ サンプル曲線は陽性判定とされる曲線の立ち上がりである。この検体由来のコンタミネーションによる試薬の汚染があると、陰性コントロール曲線は立ち上がるといった陰性コントロール曲線に影響が認められる。

【評価対象問題】

感染症関連遺伝子検査の基礎知識・検体取り扱いに関する問題：設問6

6. SARS-CoV-2 の核酸増幅検査について、正しいものを2つ選んでください

- ① 検体採取後はなるべく早く検査し、すぐに検査できない場合は冷蔵保存が望ましい。
- ② 検出感度では、咽頭ぬぐい液が最も高い検査材料とされている。
- ③ 検査結果が陰性であっても感染は否定できない。
- ④ 核酸抽出液はヒトへ感染性があるため、感染対策が必要である。
- ⑤ 検査後は、作業台を消毒用エタノール溶液で清拭する。

回答	回答施設数	割合 (%)
① 検体採取後はなるべく早く検査し、すぐに検査できない場合は冷蔵保存が望ましい。	6 施設	85.7
③ 検査結果が陰性であっても感染は否定できない。	1 施設	14.3

- ① SARS-CoV-2 は RNA ウィルスであり、RNA は不安定で分解されやすい。時間経過や不適切な温度管理により RNA が劣化し、検出感度が低下する可能性がある。そのため、採取後は速やかに検査を行い、直ちに検査できない場合は冷蔵保存（2～8℃）することが推奨される。また、長期保存が必要な場合は凍結保存が用いられるが、凍結融解の反復は RNA の劣化を招くため避けるべきである。
- ② 検出感度では、鼻咽頭ぬぐい液が最も高い検査材料とされている。
- ④⑤ 抽出された核酸そのものには感染性はないが、抽出液や増幅物による環境汚染のリスクがあるため、検査後には作業台を次亜塩素酸ナトリウム液で清拭あるいは UV 照射が必要である。

【教育問題・評価対象外問題】

病理関連遺伝子検査の基礎知識・検体取り扱いに関する問題：設問7

7. ゲノム診療用病理組織検体取り扱いにおいて、正しいものを2つ選んでください。

- ① 固定に使用するホルマリン液は、容量が多いと過固定につながるため、固定する材料の容積の約2倍量にとどめる。
- ② 硬組織を含む検体を遺伝子検査に供する場合は、よく酸脱灰をする。
- ③ NGS の検査に供する場合、作製後5年以上経過後のホルマリン固定パラフィン包埋ブ

ロックを使用しても問題ない。

- ④ 薄切時には他検体のコンタミネーションを防止するため、1検体ごとにマイクロトームの刃を交換する。
- ⑤ ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから作製した未染色標本は経時劣化するため、長期間保管後の未染色標本は検査に使用せず、ブロックから再薄切することが望ましい。

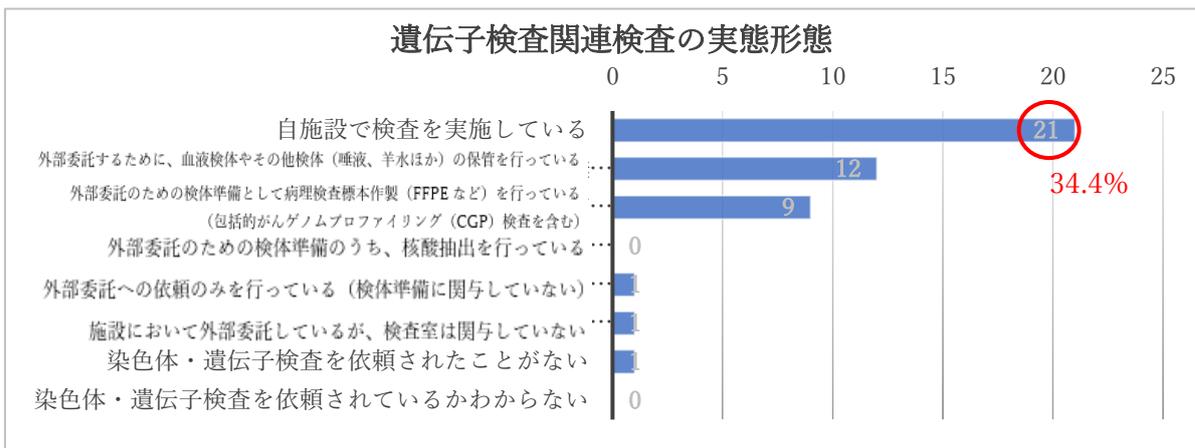
回答	回答施設数	割合(%)
④ 薄切時には他検体のコンタミネーションを防止するため、1検体ごとにマイクロトームの刃を交換する。	7施設	100.0
⑤ ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから作製した未染色標本は経時劣化するため、長期間保管後の未染色標本は検査に使用せず、ブロックから再薄切することが望ましい。		

- ① ホルマリン固定に使用する固定液の液量は、組織量に対し、10倍量の固定液を用いることが望ましい。それ以下であると固定不足となり、核酸品質の劣化をまねく。
- ② 酸脱灰をすることにより、核酸が加水分解され、遺伝子検査に大きな影響を及ぼす。硬組織を含む検体は酸脱灰を回避し、中性EDTA脱灰を行うべきである。
- ③ ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックの核酸品質は経年劣化していくことが明らかとなっている。特に作製後3～5年を境に劣化速度が進む。そのため、NGSの検査に供する場合、作製後3年未満のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックを使用することが望ましい。

VIII. アンケート調査結果

1. 遺伝子関連検査の実施形態

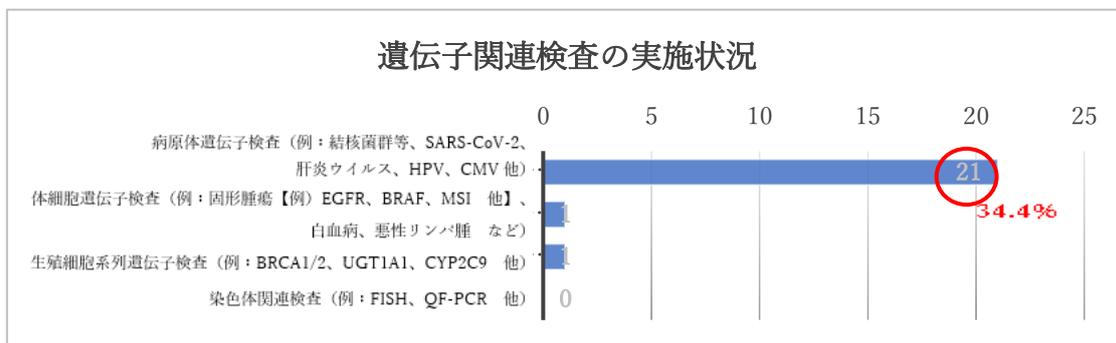
貴施設における染色体・遺伝子関連検査の実施形態をご選択ください。(複数回答可)



2. 遺伝子関連検査の実施状況について(対象:検査を実施している施設)

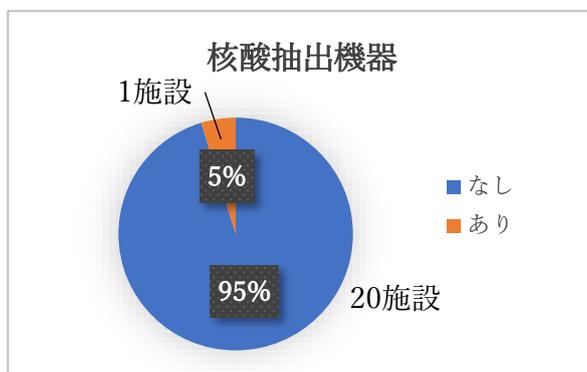
A) 院内において以下のいずれの染色体・遺伝子関連検査を実施していますか。

(複数回答可)



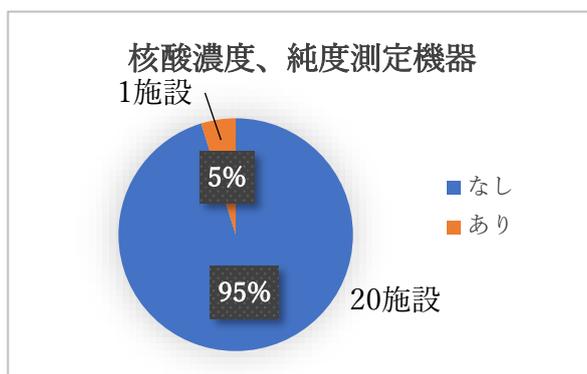
B) 使用機器についてご回答ください。

B-1) 核酸抽出機器



機器名・メーカー名	施設数
①King Fisher Duo Prime・Thermo Fisher	1
②Maxwell RSC Instrument・プロメガ株式会社	

B-2) 核酸濃度、純度測定機器



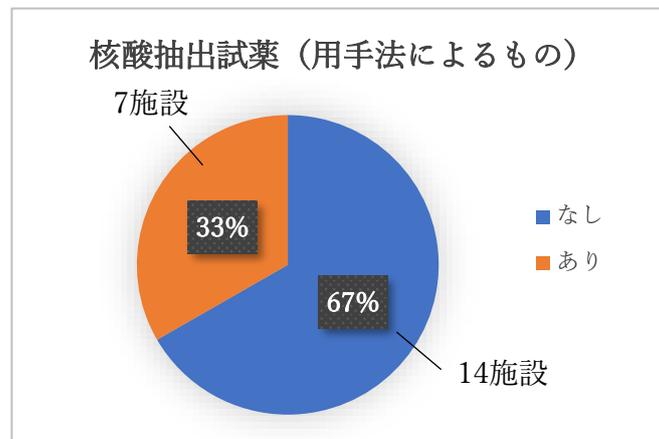
機器名・メーカー名	施設数
① Qubit4 Fluorometer・Thermo Fisher (濃度測定) ②2100 Bioanalyzer・Agilent (質の評価)	1

B-3) 解析機器（複数回答可）

解析器名	施設数
ID NOW	9
LoopampEXIA	6
スマートジーン	5
Gene Xpert	5
TRCReady®-80	4
FilmArray	3
cobas Liat	2
ミュータスワコーg1	2
CronoSTAR™ 96Real-TimePCR System	1
i-densy・アークレイ株式会社	1
Ion PGM Dx System・Thermo Fisher	1
Ion GeneStudio S5 Plus	1

C) 使用試薬についてご回答ください。

C-1) 核酸抽出試薬（用手法によるもの）



機器名・メーカー名	施設数
Loopamp PURE DNA 抽出キット・栄研化学	6
Ion Torrent Dx FFPE Sample Preparation kit・Thermo Fisher	1

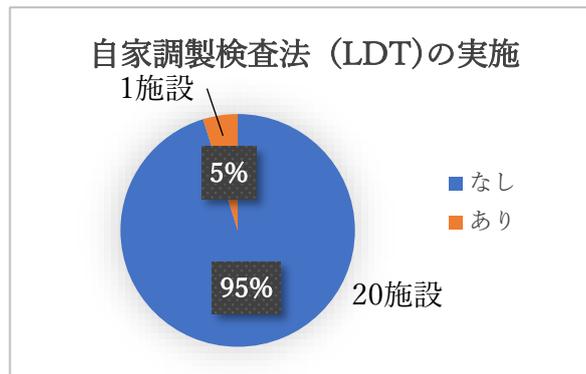
C-2) C-1 以外の試薬（複数回答可）

※緑色網掛けは SARS-CoV-2 検査 (17/21 施設)、黄色網掛けは結核菌群検査 (9/21 施設)

試薬名	施設数
SARS-cov 2 インストルメント新型コロナウイルス 2019 (ID NOW)	9
Loopamp 結核菌群検出試薬キット	6
SARS-CoV-2 (スマートジーン)	4
Xpert Xpress SARS-CoV-2 「セフィエド」	4
SARS-Cov-2i(TRCReady®-80)	3
FilmArray 呼吸器パネル 2.1	2
FilmArray 髄膜炎・脳炎パネル	2
ジーンキューブ HQ SARS-CoV-2/RSV2.0	1
ジーンキューブ マイコプラズマ・ニューモニエ	2
ジーンキューブ 百日咳	1
スマートジーン Myco	1
スマートジーン H.pylori G	1
BioFire 血液培養パネル 2	1
Xpert C.difficile 「セフェイド」	2
Xpert MRSA/SA BC 「セフェイド」	2
Xpert MTB/RIF 「セフェイド」	3
Xpert Norovirus	1
結核菌群 rRNA 検出試薬 TRCReadyMTB	2
MAC rRNA 検出試薬 TRCReadyMAC	2
ミュータスワコーg1 試薬キット	1
シカジーニアス分子疫学解析 POT キット	1
アイデンシーパック UGT1A1 (*28/*6)	1
i-densy Pack Multitype UNIVERSALCustomQP(Qprobe/Primer)mix	1
MSI 検査キット (FALCO)	1
Oncomine Dx Target Test Multi CDx	1
Oncomine Focus Assay Chef-Ready Library、 Ion AmpliSeq kit for Chef DL8、 Ion510 & Ion520 & Ion530kit Chef	1
Ion Library TaqMan Quantitation kit	1
MagMax FFPE DNA/RNA Ultra kit・・・核酸抽出用	1
Maxwell RSC Blood DNA・・・核酸抽出用	1
Maxwell RSC FFPE DNA・・・核酸抽出用	1
Qubit™1X dsDNA HS Assay kit・・・濃度測定用	1

Qubit™RNA HS Assay kit・・・濃度測定用	1
Ion Torrent™ Dx DNA Quantification kit・・・濃度測定用	1
Ion Torrent™ Dx RNA Quantification kit・・・濃度測定用	1
Agilent RNA6000 ピコキット・・・抽出核酸の質評価用	1
Agilent High Sensitivity DNA キット・・・抽出核酸の質評価用	1

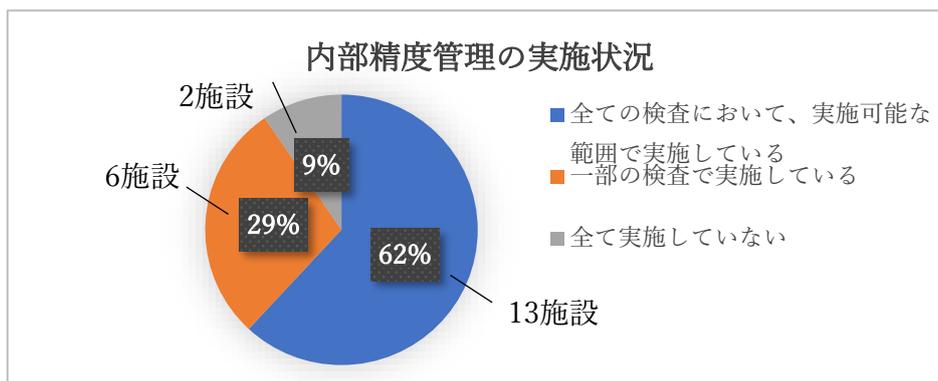
D) 体外診断用医薬品 (IVD: invitro diagnostics) 以外の自家調製検査法 (LDT: Laboratory Developed Test) を行っていますか。



機器名・メーカー名	施設数
Oncomine Focus Assay (OFA) ・ Thermo Fisher	1

3.内部精度管理の実施状況

(対象:検査を実施している/外部委託のための核酸抽出・病理標本の作製を行っている施設)
染色体・遺伝子関連検査において内部精度管理を実施していますか。



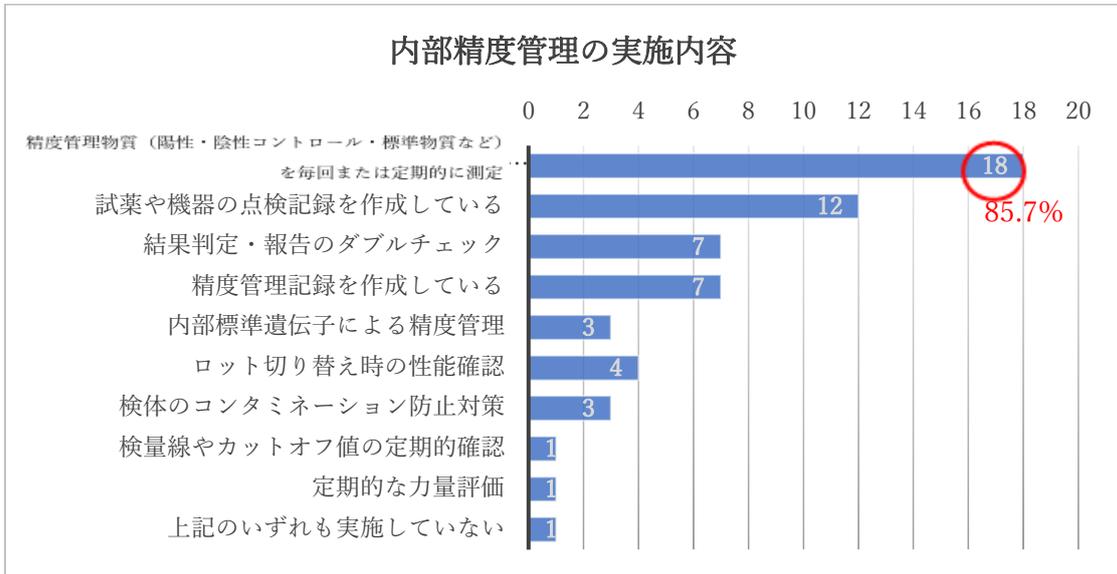
一部の検査で内部精度管理を実施していない項目	施設数
病理検体の外部委託検査	4
結核菌群	1
H.pylori(スマートジーン)	1

無回答	1
-----	---

4.内部精度管理の実施内容

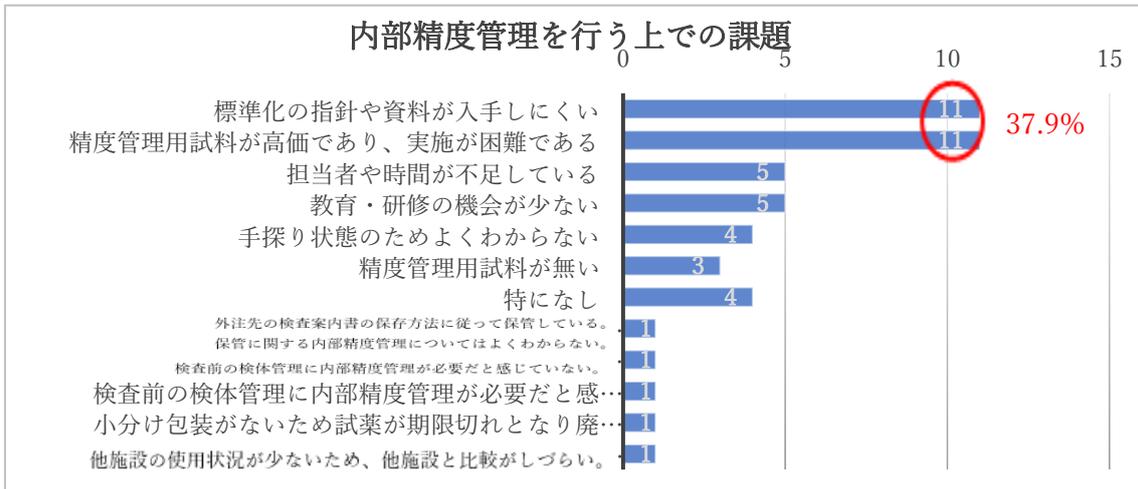
(対象:検査を実施している/外部委託のための核酸抽出・病理標本の作製を行っている施設)

以下の項目のうち、実施しているものをご選択ください。(複数回答可)



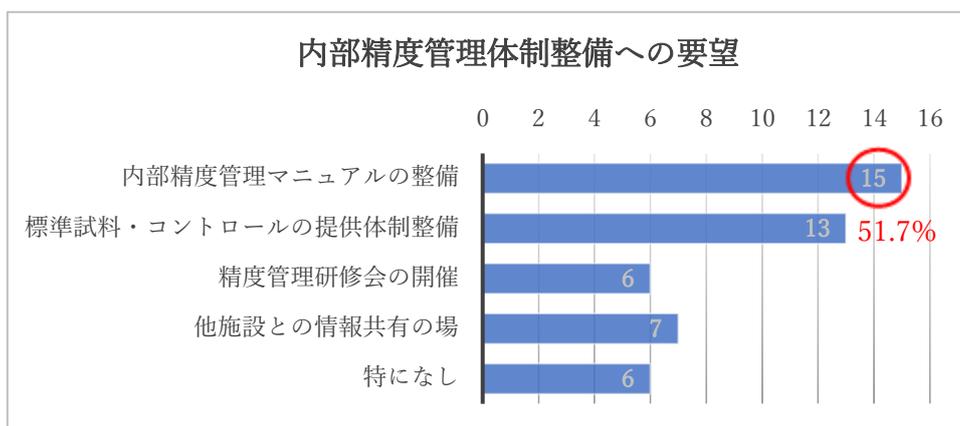
5.内部精度管理を行う上での課題

内部精度管理を行うにあたり (または行うとした場合) の課題と思われるものをご選択ください。(複数回答可)



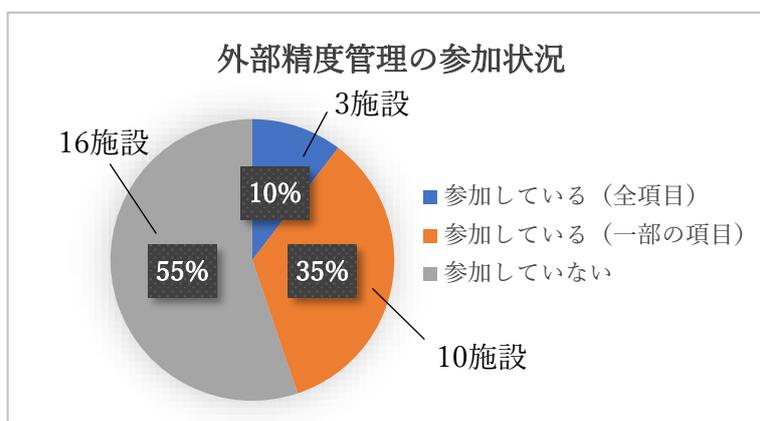
6.内部精度管理体制整備への要望 (複数回答可)

内部精度管理体制を整備するにあたり、どのような要望がありますか。



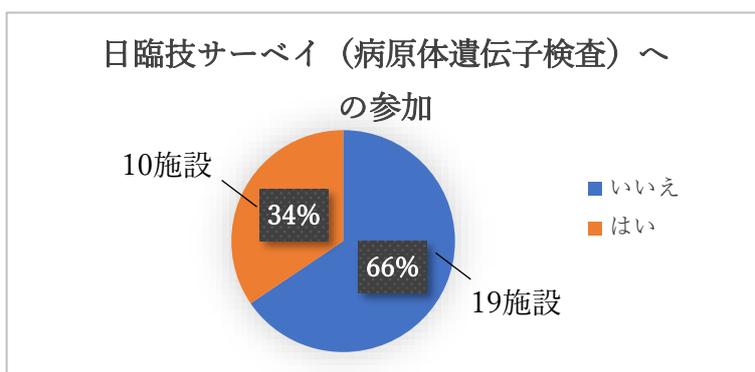
7. 外部精度管理（精度管理調査）の参加状況

A) 染色体・遺伝子検査において外部精度管理調査に参加していますか。



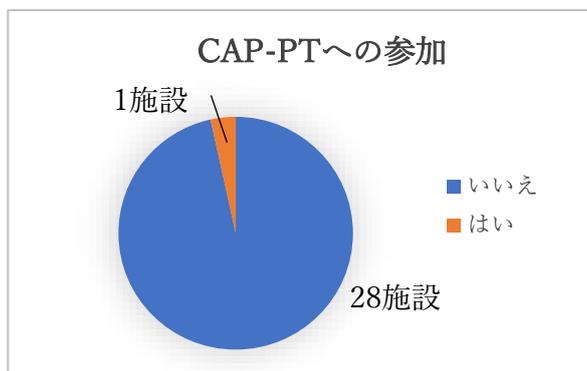
B) 参加している（全項目/一部の項目）施設 対象

B-1) 日臨技サーベイ（病原体遺伝子検査）に参加していますか。



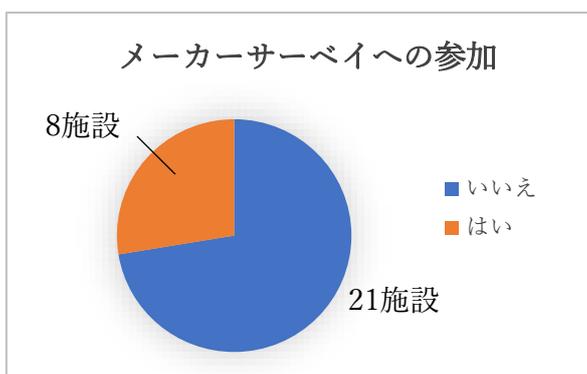
日臨技サーベイに参加している項目	施設数
SARS-CoV-2	6
結核菌群	8

B-2) CAP-PTに参加していますか。



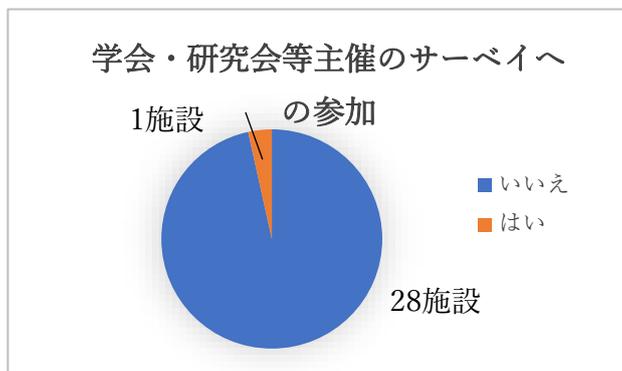
CAP-PTに参加している項目	施設数
NGSST	1

B-3) メーカーサーベイに参加していますか。



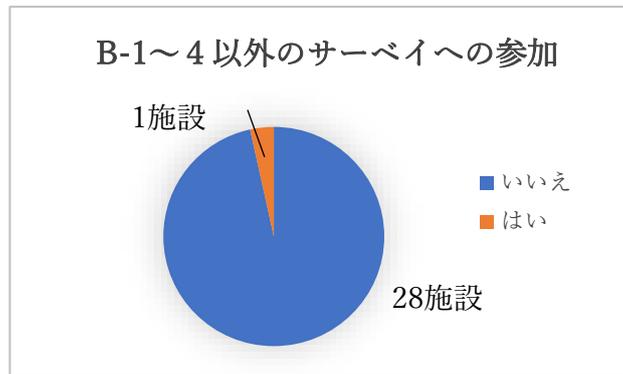
メーカーサーベイに参加している項目	施設数
SARS-Cov-2	3
マイコプラズマ・ニューモニエ	2
結核菌群	2
ARKRAY-QCS・UGT1A1	1

B-4) 学会・研究会等主催のサーベイに参加していますか。



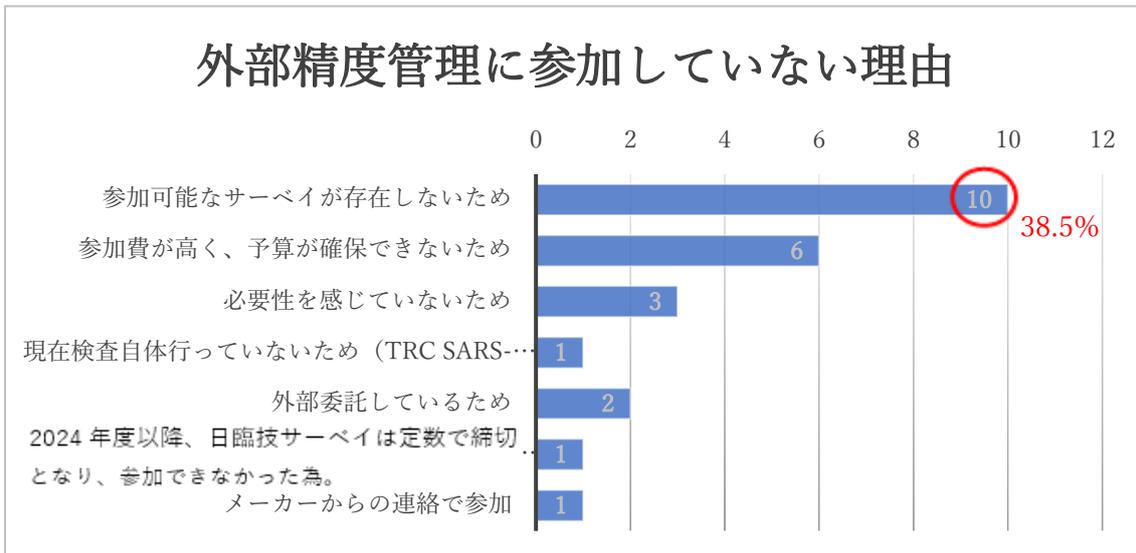
メーカーサーベイに参加している項目	施設数
遺伝子病理・検査診断研究会 外部精度管理調査（遺伝子検査） MPN、UGT1A1、ピペットサーベイ	1

B-5) B-1~4 以外のサーベイに参加していますか。



B-1~4 以外のサーベイに参加している項目	施設数
マイクロサテライト不安定性検査; MSI 参加可能なサーベイが無い、外部精度管理として検査室間比較を行っている	1

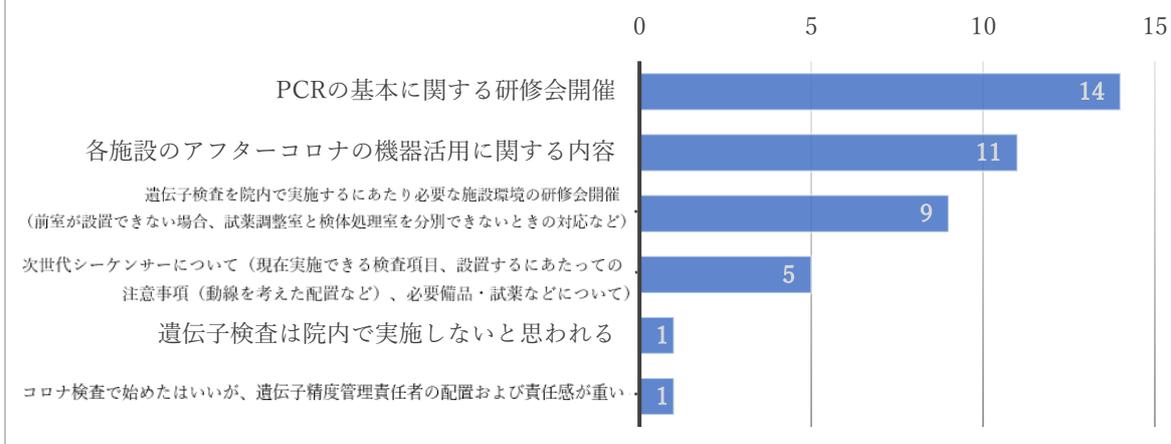
C) 参加している（一部の項目） / 参加していない 施設対象
参加していない理由を下記からご選択ください。（複数回答可）



8. (任意) 染色体・遺伝子検査において、現場で感じているご意見・ご要望をお聞かせください。（日常業務で疑問に思っていること、今後開催して欲しい研修会内容など）。

昨年度のアンケート結果を一部列挙しています。

遺伝子検査に関するご意見・ご要望



IX. 考察

染色体・遺伝子部門では、初めて文章設問による知識調査を行った。遺伝子検査の基礎的知識および検体の取り扱いに関する内容を出題し、計 7 施設より回答が得られた。概ね正解率は良好であり、設問 1~5 は正解率 100.0%、設問 6 は正解率 85.7% (不正解 1 施設)、非評価問題は正解率 100.0%であった。

設問 6 は感染症関連遺伝子検査に関する設問で、SARS-CoV-2 の核酸増幅検査について出題した。正解は①,③であるが、不正解であった施設は③,⑤と回答していた。①(検体採取後はなるべく早く検査し、すぐに検査できない場合は冷蔵保存が望ましい。)については、SARS-CoV-2 は RNA ウィルスであり、RNA は不安定で分解されやすい。時間経過や不適切な温度管理により RNA が劣化し、検出感度が低下する可能性がある。そのため、採取後は速やかに検査を行い、直ちに検査できない場合は冷蔵保存(2~8°C)することが推奨される。また、長期保存が必要な場合は凍結保存が用いられるが、凍結融解の反復は RNA の劣化を招くため避けるべきである。「新型コロナウイルス感染症(COVID-19)病原体検査の指針(第6版)」あるいは「新型コロナウイルス核酸増幅検査の精度管理ガイダンス」に記載されているため、参照していただきたい。また、⑤(検査後は、作業台を消毒用エタノール溶液で清拭する。)については、抽出液や増幅物による環境汚染のリスクがあるため、検査後には作業台を次亜塩素酸ナトリウム液で清拭あるいは UV 照射が必要である。専用機器による SARS-CoV-2 核酸増幅検査の実施は、核酸抽出~検出までの検査工程をほぼ全自動により機器内で完遂している状態であり、コンタミネーションの影響を軽視している可能性がある。特に、核酸増幅産物によるコンタミネーションは次回以降の検査に大きく影響するため、作業台の清拭のほか、廃棄の取り扱いにも十分配慮すべきである。

また、遺伝子検査の実施状況についてアンケート調査を行った。61 施設中 29 施設より回

答が得られた。自施設で検査を実施している施設は 61 施設中 21 施設 (34.4%) であり、同数が病原体遺伝子検査を実施していることがわかった。また、外部委託検査のため、血液やそのほかの検査の保管を行っている施設は 12 施設、病理検査標本作製を行っている施設は 9 施設であった。

精度管理実施状況については、内部精度管理を全ての検査において実施している施設は 21 施設中 13 施設 (61.9%)、一部の検査で実施している施設 (6 施設) を含めると 21 施設中 19 施設 (90.5%) であり、昨年度は 24 施設中 18 施設であった。また、精度管理の一部でも実施している施設は 24 施設中 18 施設 (75%) であった。対して、外部精度管理を全ての検査において参加している施設は 21 施設中 3 施設 (14.3%)、一部の検査で実施している施設 (10 施設) を含めると 21 施設中 13 施設 (44.8%) であり、昨年度は 24 施設中 14 施設であった。内部精度管理および外部精度管理の実施している施設数は昨年度とあまり変化はなかった。このような中で、内部精度管理を行う上での課題は、精度管理試料が高価なため実施困難であり (11 施設が回答)、市場における標準試料の供給体制の整備が求められる。また、標準化の指針や資料が入手しにくい (11 施設が回答)、内部精度管理マニュアルの整備への要望がある。こちらについては、「新型コロナウイルス核酸増幅検査の精度管理ガイドンス」がよくまとめられているため、こちらを参照いただきたい。さらに、アフターコロナの遺伝子検査機器の活用方法については、21 施設中 9 施設 (42.9%) で結核菌群の遺伝子検査として最も活用している状況であり、昨年度と同様の結果であった。他では施設独自の検査項目を採用している現状であり、今後の各施設での遺伝子検査導入の参考にしていただきたい。

遺伝子検査に関するご意見・ご要望については、昨年度と同様に PCR の基本に関する研修会の開催希望が多かったため、染色体・遺伝子部門では遺伝子検査の基本をテーマとし今年度の研修会を開催する。

X. まとめ

今回の青臨技染色体・遺伝子部門では、遺伝子検査の基礎的知識を問う文章設問、各施設における遺伝子検査の実施状況について把握するためのアンケート調査を実施した。来年度も引き続き、文章設問による調査を実施していきたい。また、アンケート調査結果から県内の状況を理解し、また各施設での状況を比較し、今後の遺伝子検査導入や既存導入している遺伝子検査のあり方について参考になれば幸いである。

XI. 参考文献

1. 一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会：JAMT 技術教本シリーズ 遺伝子・染色体検査技術教本, 丸善出版株式会社, 2019.
2. 日本臨床検査同学院：遺伝子検査技術—遺伝子分析化学認定士テキスト—改訂第 2 版, 宇宙堂八木書店, 2016.

3. 厚生労働省：新型コロナウイルス感染症（COVID-19）病原体検査の指針(第6版).
4. 公益社団法人日本臨床検査標準協議会（JCCLS）：新型コロナウイルス核酸増幅検査の精度管理ガイダンス, 2021.
5. 一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会：JAMT 技術教本シリーズ 品質保証・精度管理教本, 丸善出版株式会社, 2020.
6. 志保裕行, 他: これから始める臨床化学・遺伝子検査の精度保証—ISO15189 認定取得へ, 医歯薬出版株式会社, 2019.
7. 臨床検査振興協議会: がん遺伝子パネル検査の品質・精度の確保に関する基本的考え方(第2.0版), 2019.
8. 一般社団法人日本病理学会：ゲノム診療用病理組織検体取扱い規定, 2018.

XII. 問い合わせ先

〒031-8555

青森県八戸市田向三丁目 1-1

八戸市立市民病院 医療技術局 臨床検査科

高畑 英智

TEL：0178-72-5111（代表）

Email：byori8nohe@hospital.hachinohe.aomori.jp