細胞室温放置による DNA 品質への影響

◎峯村 洋行 [1)]
石巻赤十字病院 [1)]

【目的】

従来は研究利用を意識して、FFPE 検体作製時に生じる核酸やタンパク等の変性を最小限にとどめることは医療機関では困難と考えられていた。しかし、NGS（次世代シークエンス法）などの新規技術の臨床導入を目前とし、診断目的の FFPE 検体に対して、ゲノム診断での利用に耐えうる一定水準以上の品質が求められるようになり、病理学会からゲノム診断用病理組織取扱い規定が発行され、これに従った組織の扱いなどへの対応が急務となっている。細胞診断のために採取された穿刺吸引や体腔液の一部からも、免疫染色や ISH,　FISH などの様々な検索のために、セルブロック（FFPE 検体）が作成されている。セルブロック化することで DNA の抽出も FFPE 検体と同様に行えるようになるため、細胞診検体でも腫瘍細胞の有無をチェックしつつ、網羅的な遺伝子解析へ利用されることが期待される。しかしながら、セルブロックの作成方法に関しては決まった指針となるものはいまだない。規定では組織は 30 以上室温で保持することは極力避けるように書かれているが、細胞診材料の扱いについては記載がなく、今後のゲノム診断利用も念頭においた浮遊細胞に対する適切な固定などの条件検討が必要と考えられる。今回我々は浮遊細胞を室温で放置した時間による DNA 品質への影響を検討した。

【方法】

ヒト単球由来浮遊細胞(THP-1)を細胞診検体の代わりに用いて検討を行った。培養液中から回収して PBS で再懸濁し、最大 72 時間室温で置いたものを用意した。温度による影響を見るために４℃で保持したものも用意した。放置後に DNA を抽出し、DNA の品質を評価し、時間と温度による影響を比較した。

【結語】

今回は室温放置による DNA の品質への影響という観点のみで実験を行ったが、固定条件や時間の検討と合わせて、セルブロックにしたときに、形態診断や免疫染色が問題なく行えるかなどの他の観点からも検討を行っていきたい。

(石巻赤十字病院 0225-21-7220)