

日本国内で保険適用での診断が可能 CDx FLT3 変異検査

急性骨髄性白血病における治療薬ギルテリチニブフマル酸塩又はキザルチニブ塩酸塩の適用を判断するための FLT3 シグナル比変異解析用に国際的に標準化された唯一の FLT3 変異検査です。

使用目的

リユーコストラット CDx FLT3 変異検査は、PCRベースの体外診断用医薬品であり、急性骨髄性白血病と診断された患者の末梢血又は骨髄穿刺液中の単核細胞から抽出したゲノムDNAを用いて、FLT3 遺伝子の内部タンDEM重複 (ITD) 変異及びチロシンキナーゼドメイン (TKD) 変異D835及びI836を検出するようにデザインされています。

リユーコストラット CDx FLT3 変異検査は、ギルテリチニブフマル酸塩の急性骨髄性白血病患者への適用を判定するための補助に用います。

リユーコストラット CDx FLT3 変異検査は、キザルチニブ塩酸塩の急性骨髄性白血病患者への適用を判定するための補助に用います。

検査の概要と説明

一般的に急性骨髄性白血病の予後は不良です。通常の急性骨髄性白血病では、核型による FLT3 (fms 関連チロシンキナーゼ3) レセプター遺伝子の変異状態 (しばしば重度) の評価が疾病の予後を示す最も重要な指標であり、急性骨髄性白血病にみられる FLT3 の活性型変異は予後不良の前兆であることが多くの研究によって示されています^{1,2}。リユーコストラット CDx FLT3 変異検査は、内部タンDEM重複 (ITD)、並びにD835及びI836変異のようなチロシンキナーゼドメイン (TKD) 変異を同定するための FLT3 遺伝子の領域を標的としており、国際臨床試験においてその有効性が認められています。

リユーコストラット CDx FLT3 変異検査キットには、試薬の他に FLT3 変異の有無を判定するソフトウェアが含まれ、そのために必要な患者検体からの単核球の分離とDNAの抽出方法が記されています。

DNAはPCRにより増幅され、その増幅産物をキャピラリー電気泳動で検出します。リユーコストラット CDx FLT3 ソフトウェアを用いて、FLT3 の変異状態を判定します。変異型 対 野生型のシグナル比が0.05 のカットオフ値以上であった場合に、FLT3 のITD変異やTKD変異は陽性と報告されます。

検査方法の詳細

FLT3 ITD変異

リユーコストラット CDx FLT3 変異検査では、膜膜近傍傍 (JM) 領域の内部及び周辺領域にある蛍光標識したプライマーを使用します。本アッセイの測定によれば、野生型 FLT3 アレルでは 327±1 bp の産物が増幅されますが、ITD変異が含まれるアレルでは産物の長さが330±1 bpを超えます (図)。
図 1

FLT3 TKD変異

リユーコストラット CDx FLT3 変異検査では、TKD領域の両端を標的としたプライマーを使用します。FLT3 の標的領域をPCRによって増幅した後、EcoRV制限酵素による消化を行います。本アッセイの測定によれば、145±1 bp又は147±1 bpである最初の未消化増幅産物から得られた FLT3 遺伝子の野生型アレルの消化産物は79±1 bpですが、変異型アレルでは125±1 bp又は127±1 bpになります (図)。

Reference

- Murphy KM et al., A Clinical PCR/Capillary Electrophoresis Assay for the Detection of Internal Tandem Duplication and Point Mutation of the FLT3 Gene. *J. Mol. Diag.* 5:96-102 (2003).
- Yamamoto, Y., et al., Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. *Blood*, 97(8):2434-9 (2001).

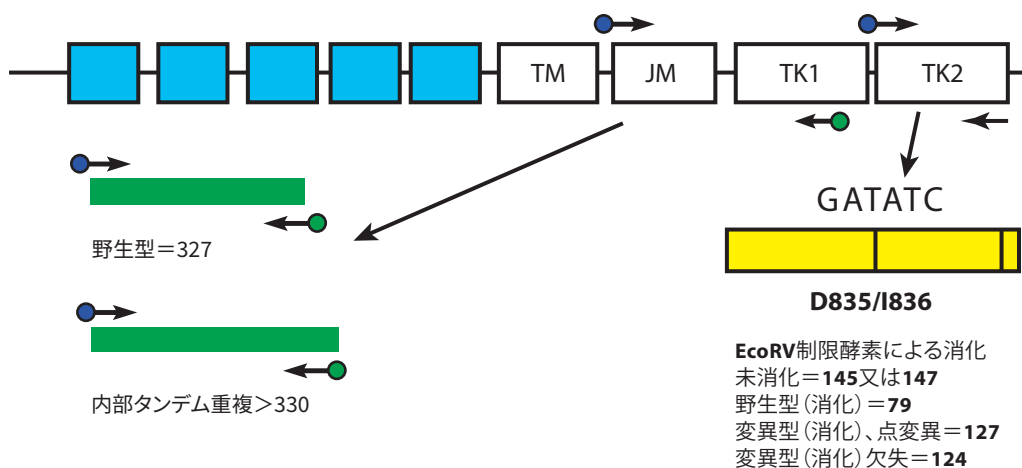


図1: *FLT3*膜近傍 (JM) 領域 (TM = 膜貫通) 及びチロシンキナーゼ (TK) ドメインの活性化ループの図示。黒の矢印は、ITDに対するJM領域の内部及び周辺領域を、又はTKDに対するキナーゼドメインの活性化ループを標的としたプライマーの相対的位置を示す。色つきの丸印は、標識プライマーの蛍光色素を表す。黄色のボックス内の黒い縦線はEcoRV制限酵素による消化部位の位置を示す。

試薬

構成試薬名	内容量
<i>FLT3</i> 抽出コントロール	1 x 1800 µL/バイアル
<i>FLT3</i> ITDマスターミックス	1 x 1500 µL/バイアル
<i>FLT3</i> TKDマスターミックス	1 x 1500 µL/バイアル
<i>FLT3</i> ITDポジティブコントロール	1 x 100 µL/バイアル
<i>FLT3</i> TKDポジティブコントロール	1 x 100 µL/バイアル
<i>FLT3</i> NTC (テンプレートを含まないコントロール)	1 x 200 µL/バイアル
Taq DNAポリメラーゼ	1 x 200 µL/バイアル
EcoRV酵素	1 x 200 µL/バイアル
NEBuffer r3.1	1 x 1250 µL/バイアル

試薬は全て、-15°C~-30°Cで保管すること。

カタログ番号	製品	数量
K-412-0331	リユーコストラットCDx <i>FLT3</i> 変異検査	33回検査用
K-412-0341	リユーコストラットCDx <i>FLT3</i> 変異検査ソフトウェア	Kitを購入すると、CD 1枚添付

jp.invivoscribe.com

Invivoscribe, Inc.
Tel +1 858.224.6600 | Fax +1 858.224.6601 | sales@invivoscribe.com

LabPMM 合同会社
電話 (日本国内) 044 281 1500 | Fax (日本国内) 03 6745 9346 | services@labpmm.co.jp

M-0067 Rev02 April 2024