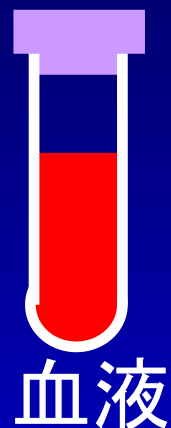


日本獣医臨床病理学会2008年大会
(埼玉県さいたま市、大宮ソニックシティ)

リンパ腫の遺伝子診断における ホルマリン固定の影響

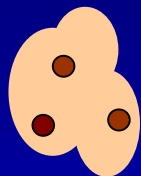
有限会社ケーナインラボ

はじめに



血液

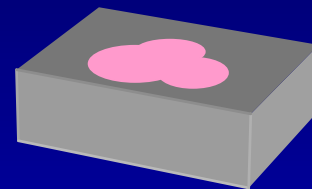
or



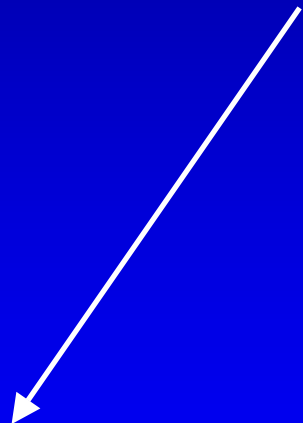
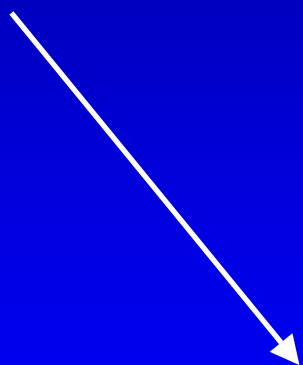
未固定
組織



ホルマリン
固定組織



パラフィン包埋
組織



クローナリティー解析

目的

未固定サンプルとホルマリン固定サンプル
におけるPCRの検出感度を確認

材料と方法

1: 脾臓



組織を10%ホルマリン液にて浸潤固定

1日

2日

3日

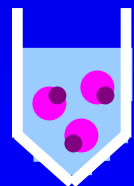
1週間

3週間

6週間

β -actinにて確認

2: PCRにてT細胞性腫瘍及びB細胞性腫瘍と診断された細胞サンプル



細胞を10%ホルマリン液にて浸潤固定

1週間

3週間

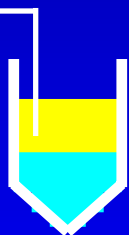
6週間

TCR、IgH、 β -actinにて確認

方法



フェノール/クロロホルム/イソアミル アルコール
を加え遠心

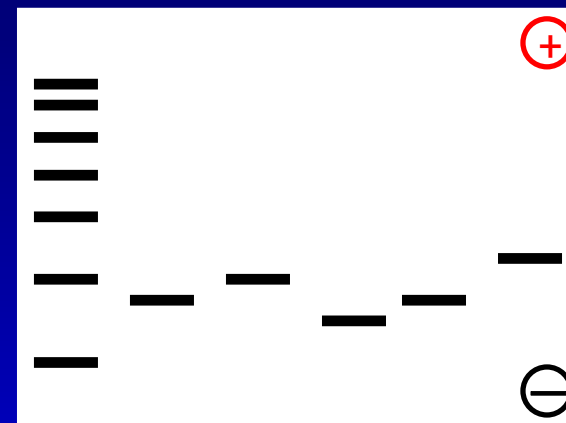


上清をイソプロピルアルコールに添加



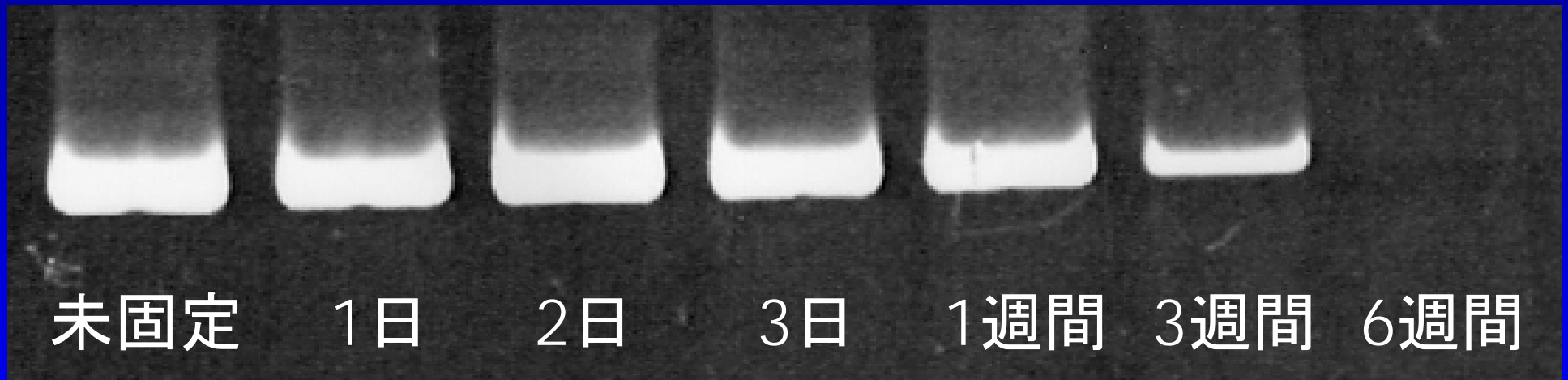
析出したDNAを溶解 → PCRにてDNAを増幅

電気泳動(アクリルアミドゲル)



組織におけるホルマリン固定の影響

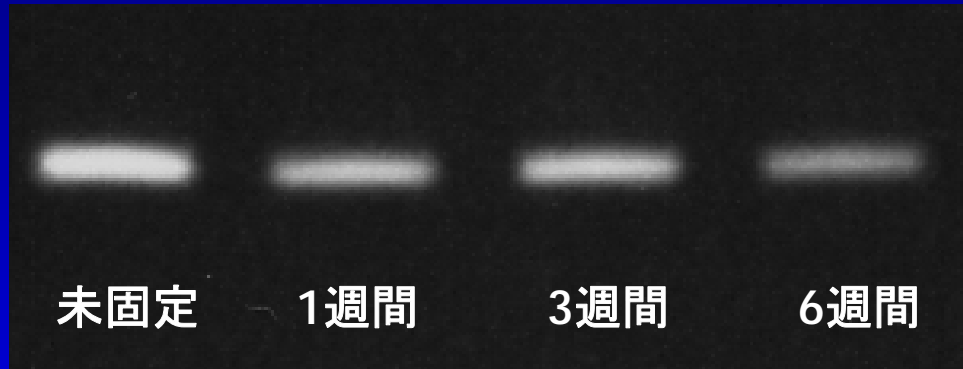
β -actin



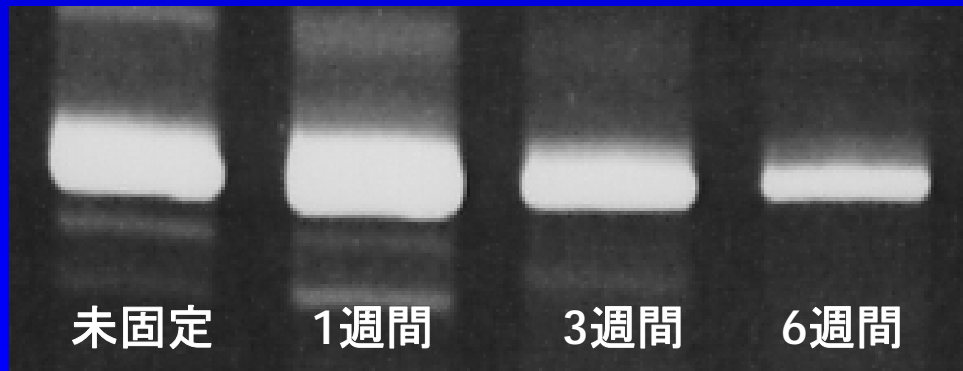
細胞におけるホルマリン固定の影響

T細胞性腫瘍

TCR

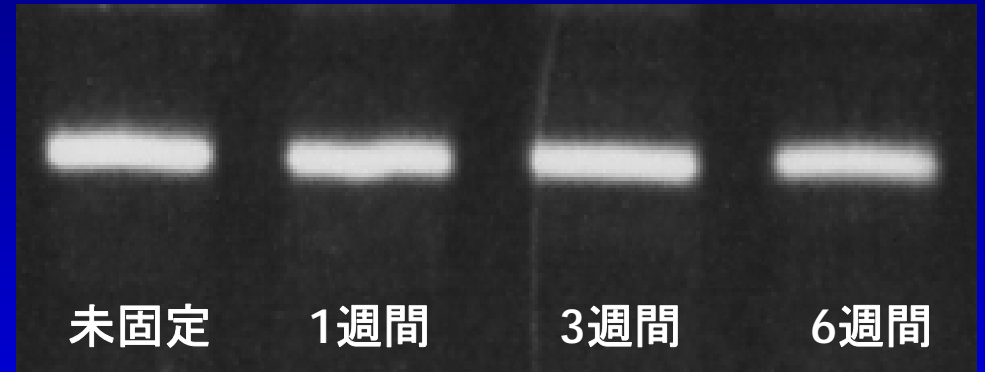


β -actin

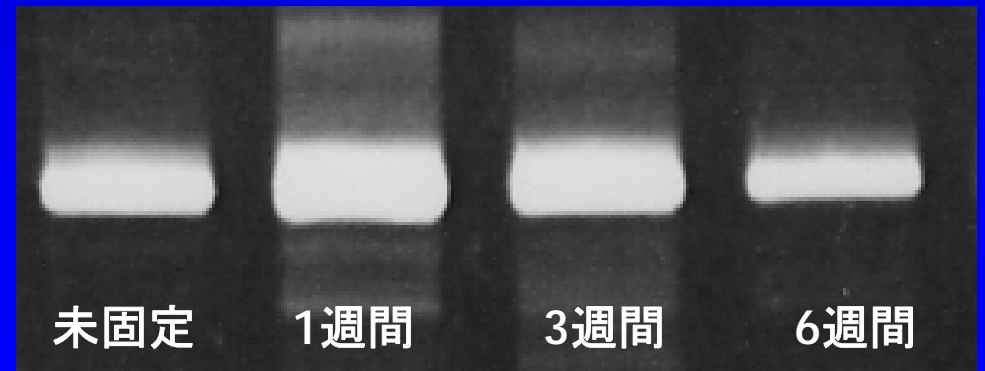


B細胞性腫瘍

IgH



β -actin



結論

- 組織：固定3日まで検出感度低下せず
固定1週間から検出感度低下
細胞：固定1週間から検出感度低下
- 信頼性の高いデータを得るためには出来る限りホルマリン固定を行わない方がよい。
- ホルマリン固定サンプルを用いてクローナリティー解析を行う場合は β -actinなどを指標としてホルマリン固定の影響を考慮する必要がある。