検査方法の概略

アレイCGH法

蛍光標識したサンプル由来DNAと正常細胞由来DNAを比較することにより、ゲノムに生じる増幅や欠失などのコピー数変化(CNV)を検出するcomparative genomic hybridization (CGH)の原理とマイクロアレイの技術を組み合わせた方法です。

ウエスタンブロット法(Western blot)

目的とする蛋白質を電気泳動により分画し、電気的にニトロセルロース膜に転写して、目的の蛋白質に対する抗体を反応させた後、酵素で標識した抗体を2次反応させ、目的の蛋白質を検出する方法。イムノブロット法とも呼ばれる。

液相(核酸)ハイブリダイゼーション

液相中でrRNAを遊離させ、化学発光物質で標識したDNAプローブを用いてハイブリダイゼーションを行い、ハイブリッドを分離剤に吸着させた後、化学発光により検出する方法。

凝固時間法

測定対象となる因子の欠乏血漿とトロンボプラスチン、アクチン、塩化カルシウムを加え、凝固するまでの時間を測定する方法。

金コロイド法

金コロイド標識抗体を反応させ、抗原抗体反応により金コロイド粒子が凝集する色調変化を光学的に測定する方法。

原子吸光分析法

元素試料を化学炎中や加熱グラファイト管中などで元素の原子化を行い、この原子蒸気に元素固有の共鳴線をあてると原子蒸気中の原子の数に応じて吸収されることを利用して、吸光度から元素量を定量する方法。

酵素抗体法

目的とする抗原に対して、酵素で標識した抗体を用いて抗原抗体反応を行い、発色基質を加えて酵素活性を測定する方法。
酵素で標識した抗体を直接反応させる直接法と、抗原に対して未標識の抗体を反応させた後、酵素で標識した抗体を2次反応させる間接法がある。

酵素法

測定原理は比色法と同様で、測定物質を酵素を用いて特異的に測定する方法。

サザンブロットハイブリダイゼーション(Southern blot hybridization)

制限酵素で消化したDNAを電気泳動により分画し、1本鎖DNAに変性後、毛細管現象を利用してナイロンメンブレンに転写して、標的プローブとハイブリダイゼーションを行い、目的の遺伝子を検出する方法。DNAの量的、質的変化の異常を解析する場合に用いられる。

次世代シークエンス(NGS)法

次世代シーケンサーを用いて、膨大な数のDNA断片の塩基配列の決定を、同時並行的に行う方法。

ダイレクトシーケンス法

PCR法で増幅したDNAを鋳型として直接塩基配列を決定する方法。

超遠心法

超遠心機を用いて蛋白質の比重の差により分離し測定する方法。

電気泳動法

荷電粒子の浮遊する電解質溶液に通電すると、粒子は各粒子の荷電と逆の極側に移動する現象を利用し、移動度から目的の物質を測定する方法。
水溶液支持体にはセルロースアセテート膜、アガロースゲル、ポリアクリルアミドゲルなどが用いられる。

電極法

電極と溶液界面における電荷移行反応を利用した方法。
イオン選択電極は特定のイオンに応答し、イオンの活量の対数に比例して生じる電位差からイオンの濃度を測定する。

等温核酸増幅法

PCR法とは異なり、鎖置換型DNA合成酵素などを用いて、核酸を一定温度で増幅する方法。

ネフェロメトリー (Nephelometry)

抗原抗体反応による混濁物に光を照射させ、光の散乱強度を測定する方法。

発色性合成基質法

ヘパリンを加えてAT-Ⅲ-ヘパリン複合体を形成させ、そのトロンビン不活化能をトロンビンに対する発色性合成基質を用いて測定する方法。

比色法(Colorimetry)

測定物質を着色物質に変換後、可視部波長を照射して吸光度を測定して色調を標準液と比較する方法。

フローサイトメトリー (Flow cytometry)

蛍光色素で標識したモノクローナル抗体で染色した細胞を高速度で流しながらレーザー光を照射し、前方散乱光(細胞の大きさ)や90°散乱光(細胞の内部構造)と蛍光強度(細胞表面の対応抗原)から個々の細胞を解析する方法。
2種類の蛍光色素を用いて二重染色を行い解析する場合はTwo-colorフローサイトメトリーと呼ばれる。

プロトン核磁気共鳴(NMR)分光法

静磁場に置かれた物質の構成原子核がその核特有の周波数のラジオ波に共鳴して低エネルギーの核スピン状態から高エネルギーの核スピン状態に遷移することに伴いラジオ波を吸収する現象を利用したスペクトル測定法。

マルチプレックスPCR-フラグメント解析(Multiplex PCR Fragment Analysis)

複数の標的遺伝子を増幅後、PCR増幅産物をシーケンサーにてキャピラリー電気泳動を行う。
DNAのサイズに応じて分離され、増幅量に応じたピークを専用ソフトウエアーにより設定されたQMVR幅により解析、識別する方法。

メチレーションPCR

非メチル化シトシンがバイサルファイト処理でウラシルに変換されることを利用し、バイサルファイト処理後のメチル化シトシンと非メチル化シトシンの塩基配列の違いから対象領域のメチル化をPCRで確認する方法。

ラインブロット法(Line immunoassay)

抗原を機械的にメンブレン上に点着し、抗原に対する特異的抗体を反応させた後、酵素で標識した抗体を、2次反応させ、抗体の検出を行う方法。

リアルタイムPCR

PCR法を基本原理とする核酸増幅法の一種であり、分解により蛍光を発するオリゴヌクレオチドを利用することにより、PCRサイクルごとに蛍光シグナルを確認することでリアルタイムにターゲット核酸の定量が可能となる測定方法。

(各種)band

リンパ球または骨髄細胞を培養し、分裂中期の細胞を固定する。その後、色素で染色体上に縞模様(バンド)を染め出し、その分布と濃淡から分析を行う方法。
トリプシン溶液で処理後ギムザ染色を行うG-Banding、HCl、$Ba(OH)_2$、2×SCCで処理後ギムザ染色するC-Banding、キナクリン・マスタードで染色後、蛍光顕微鏡で観察するQ-Banding、分裂前期の終わりから分裂中期の始めの分裂像を用い、通常よりバンド数を増やして観察する高精度分染法などがある。

CF(Complement fixation)
補体結合反応

補体が抗原抗体複合体と結合することと溶血反応を引き起こすことを利用した方法。
赤血球に溶血素を結合した感作赤血球は補体が結合すると溶血を起こすが、抗原抗体複合体が存在すると補体が消費され溶血が阻止されることから、溶血の程度から抗体の存在を判定する。

CLEIA(Chemiluminescent enzyme immunoassay)
化学発光酵素免疫測定法

固相化した抗体に対して抗原を反応させた後、酵素標識した抗体を抗原に2次反応させ、化学発光基質を加えて発光強度を測定する方法。

CLIA(Chemiluminescent immunoassay)
化学発光免疫測定法

固相化した抗体に対して抗原を反応させた後、化学発光性物質で標識した抗体を抗原に2次反応させ、化学発光性物質の発光強度を測定する方法。

ECLIA(Electro chemiluminescence immunoassay)
電気化学発光免疫測定法

抗体を結合したビーズを用いて抗原と反応させた後、ルテニウムピリジン錯体で標識した抗体を抗原に2次反応させ、電気化学反応によりルテニウムピリジン錯体の発光強度を測定する方法。

EIA(Enzyme immunoassay)
酵素免疫測定法

測定原理はRIAと同様で、標識物質に酵素で標識した抗原または抗体を用いて抗原抗体反応を行い、発色基質を加えて酵素活性を測定する方法。

ELISA(Enzyme-Linked immunosorbent assay)
酵素免疫測定法

固相化した抗体に対して抗原を反応させた後、酵素標識した抗体を抗原に2次反応させ、発色基質を加えて酵素活性を測定する方法。

ELISPOT(Enzyme-Linked ImmunoSpot)

抗体を固相化したプレートに、分離細胞と特異抗原を加え培養し、細胞から産生されたタンパク質を発色基質と反応させ、スポットを得る方法。

FA(Fluorescent antibody method)
蛍光抗体法

IFA(Indirect Fluorescent antibody method)
間接蛍光抗体法

目的とする抗原に対して、蛍光色素で標識した抗体を用いて抗原抗体反応を行い、蛍光顕微鏡下で蛍光強度を測定する方法。
蛍光色素で標識した抗体を直接反応させる直接法と、抗原に対して抗体を反応させた後、蛍光色素で標識した抗体を2次反応させる間接法がある。

FEIA(Fluorescence enzyme immunoassay)
蛍光酵素免疫測定法

EIAの1つで、標識物質に酵素で標識した抗原または抗体を用いて抗原抗体反応を行い、蛍光基質を加えて蛍光強度を測定する方法。

FIA(Fluorescence Immunoassay)
蛍光免疫測定法

固相化した抗原に対して標的物質を反応させた後、蛍光物質で標識した抗体または抗原を2次反応させ、蛍光強度を測定する方法。

FISH(Fluorescence *in situ* hybridization)
蛍光 in situ ハイブリダイゼーション

蛍光色素で標識したプローブを用いて標的DNAとハイブリダイゼーションを行い、特定の波長で発色させた蛍光部位を染色体上のシグナルとして蛍光顕微鏡下で検出する方法。
蛍光色素で標識したプローブと標的DNAを直接結合させる直接法と、標識物質で標識したプローブと標的DNAを結合させた後に、標識プローブと蛍光物質を結合させて発色させる間接法がある。

HA(Hemagglutination)
赤血球凝集反応

赤血球の表面抗原と抗体を反応させ、抗原抗体反応による凝集の有無により抗体の存在を判定する方法。

HI(Hemagglutination inhibition)
赤血球凝集抑制反応

ウイルスのもつ赤血球凝集能が、ウイルスに対する抗体により抑制されることを利用した方法。抗原抗体複合体と赤血球を反応させ、凝集抑制の有無によりウイルスに対する抗体の存在を判定する。

検査方法の概略

HPLC(High performance liquid chromatography)
高速液体クロマトグラフィー

移動相に液体を用いる液体クロマトグラフィーで、高密度充填カラムと高圧ポンプを用いて高速かつ高精度に分離する方法。

IC(Immuno-Chromatography)
イムノクロマト法

検体中の抗原または抗体と、金コロイド粒子などで標識させた標識抗体または標識抗原が、メンブレンフィルター上を免疫複合体を形成しながら移動し、メンブレンフィルター上にあらかじめ固定化された抗体または抗原で免疫複合体が補足され、呈色し、目視などで結果判定する検出法。

IRMA(Immuno radio metric assay)
免疫放射定量法

RIAの1つで、固相化した抗体に対して抗原を反応させた後、放射性同位元素(RI)で標識した抗体を抗原に2次反応させる方法。
固相化抗体と標識抗体が抗原を挟む形で結合することから、サンドイッチ法とも呼ばれる。

KIMS(Kinetic Interaction of Microparticles in a Solution)

抗原または抗体を結合させたマイクロパーティクルを用いて抗原抗体反応を行い、抗原抗体反応による凝集の濁度を、光を照射させて透過率から測定する方法。

LA(Latex agglutination)
ラテックス凝集反応

抗原または抗体を吸着(結合)させたラテックス粒子(感作ラテックス粒子)を用いて抗原抗体反応を行い、抗原抗体反応による凝集の有無により抗体または抗原の存在を判定する方法。

LA(Latex agglutination immunoassay)
ラテックス凝集比濁法

抗原または抗体を吸着(結合)させたラテックス粒子を用いて抗原抗体反応を行い、抗原抗体反応による凝集の濁度を、光を照射させて透過率または光の散乱強度から測定する方法。

LAMP(Loop-Mediated Isothermal Amplification)

標的遺伝子の配列から6つの領域に対して4種類のプライマーを設定し、鎖置換反応を利用して一定温度で反応させる方法。

LC/MS(Liquid chromatography/mass spectrometry)
液体クロマトグラフィー質量分析法

目的物質を高速かつ高精度に分離するHPLCに、MS(質量分析)を検出器として結合させ、検出選択性・定性機能を更に向上させた方法。

LC/MS/MS(Liquid chromatography tandem mass spectrometry)
液体クロマトグラフィータンデム四重極型質量分析法

液体クロマトグラフで親和性の差を利用して目的とする物質の成分を分解し、質量分析計でさらに質量ごとに分離して特定の質量イオンを解離・フラグメント化させ、それらのイオンを検出する方法。

LPIA(Latex photometric immunoassay)
ラテックス近赤外免疫比濁法

抗原または抗体を結合させたラテックス粒子を用いて抗原抗体反応を行い、抗原抗体反応による凝集の濁度を、近赤外光を照射させて透過率を測定する方法。

MALDI-TOF-MS

レーザー光を吸収するマトリックスと分析物の混合物にレーザー照射し、タンパク質を分解させずにイオン化する方法(MALDI)と、生成されたイオンの質量電荷比によりイオンの飛行時間が異なることを利用して質量分析を行う方法(TOF-MS)を組み合わせた方法。
MALDI：Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization
マトリックス支援レーザー脱離イオン化
TOF-MS：Time-of-Flight Mass Spectrometry
飛行時間型質量分析法

MLPA(Multiplex ligation-dependent probe amplification)

共通PCRプライマー配列を融合させた特異プローブを標識領域にハイブリダイズ後、PCRを行い、その増幅産物の量的変化について、比較的大規模なゲノム欠失もしくは重複を検出する方法。

NT(Neutralization test)
中和反応

ウイルスがウイルスに対する抗体との反応により感染性が失われる(中和)ことを利用した方法。
ウイルスと抗体を反応させた後、ウイルスに感受性のある培養細胞に接種し、細胞変性効果(cytopathogenic effect:CPE)の有無により中和抗体の存在を判定する。

PA(Particle agglutination)
粒子凝集反応

抗原または抗体を吸着(結合)させたゼラチン粒子など(感作粒子)を用いて抗原抗体反応を行い、抗原抗体反応による凝集の有無により抗体または抗原の存在を判定する方法。

PCR(Polymerase chain reaction)

DNAが加熱により2本鎖から1本鎖に解離し、冷却することで2本鎖に戻ることを利用し、1本鎖DNAを鋳型として目的のプライマーを結合させ、DNAポリメラーゼの転写反応によりDNA合成を行うことを繰り返し、目的とするDNA領域を指数関数的に増幅させる方法。

PHA(Passive hemagglutination)
受身赤血球凝集反応

赤血球の表面に抗原を吸着(結合)させた感作赤血球を用いて抗体を反応させ、抗原抗体反応による凝集の有無により抗体の存在を判定する方法。

POT法(PCR-based ORF Typing)

菌株毎に保有状態が異なるORF(Open Reading Frame:遺伝子の読み枠)を選んでおき、それらの保有パターンをマルチプレックスPCRによって検出することで菌株の遺伝子型(POT型)を決定する方法。
POT型を比較することで菌株レベルの識別が可能となり、集団感染から得られた分離株は、多くの場合、同一POT型になります。

RIA(Radio immunoassay)
放射性免疫測定法

抗体に対して放射性同位元素(RI)で標識した抗原と検体中の抗原を競合的に抗原抗体反応を行い、抗体と結合した標識抗原(結合型：Bound)と抗体と結合していない標識抗原(遊離型：Free)を分離し、その割合を放射活性から抗原の濃度として測定する方法。
結合型と遊離型の分離方法(B/F分離)として、抗体を固相化しておく固相法、抗原抗体複合体に第2抗体を結合させて沈澱させる2抗体法、抗原抗体複合体を硫酸アンモニウム(硫安)で沈澱させる硫安塩析法、抗原抗体複合体を沈澱試薬で沈澱させるPEG法などがある。

RRA(Radio receptor assay)
ラジオレセプターアッセイ

測定原理はRIAと同様で、抗体の代わりにレセプター（受容体）を用いて、その反応性から生物活性を求める方法。

RT-PCR(Reverse transcriptase-polymerase chain reaction)

RNAが増幅対象の場合に、RNAを鋳型として逆転写酵素(reverse transcriptase:RT)により相補的なcDNAを合成してPCRを行う方法。

TIA(Turbidimetric immnoassay)
免疫比濁法

抗原抗体反応による混濁物に光を照射させ、透過率を測定する方法。

TMA(Transcription mediated amplification)

2種類の酵素と2種類のプライマーおよび基質を用いてRNAを増幅する方法。
抽出したRNAから逆転写酵素により2本鎖DNAを合成し、この2本鎖DNAを鋳型としてRNAポリメラーゼの転写反応によりRNAを合成することを繰り返し、目的とするRNA領域を増幅させる。

TRC(Transcription Reverse Transcription Concerted reaction)

インターカレーター性蛍光色素が標識されたDNAプローブと一定温度RNA増幅法を組み合わせて、RNAを1ステップで増幅・リアルタイム検出する方法。

UV法(Ultraviolet absorption spectrophotometry)
紫外部吸光光度分析

測定原理は比色法と同様で、紫外部波長を用いて測定する方法。
通常は200 ～ 400nmの近紫外部の波長が使われる。

^{3}H-サイミジン取り込み能(^{3}H-TdR uptake)

リンパ球が非自己抗原による刺激に反応して芽球化する現象を利用した方法。
リンパ球に刺激物質と^{3}H-サイミジンを加えて培養し、DNA合成により^{3}H-サイミジンが細胞に取り込まれる量を放射活性として測定する。刺激物質にはPHA、Con-A、薬剤などが用いられる。