

日本臨床検査医学会
臨床検査項目分類コード

第 10 回改訂(JLAC10)・第 2 版

測定法コード適用細則

[測定法コード適用細則]

1. 「ラジオイムノアッセイ(RIA)」(001～010)について
 - (1)「RIA 法」には IRMA 法, RIST 法, RAST 法等を含む。
 - (2)B/F 分離法において「固相法」にはビーズ固相法, 粒子固相法, チューブ固相法, ディスク固相法等を含む。
 - (3)「その他- ~ 」(007～010)は次のような場合に適用する。
 - i. 対象とする項目の B/F 分離法が分類コード 001～006 のいずれにも該当しない場合
[適用例] 007(RIA その他-) : 「抗ヒト IgG 法」
 - ii. 対象とする項目の測定法(試薬)が複数存在し且つ B/F 分離法の同一の例が含まれるものであって, 相互のデータ互換性が乏しい場合
[適用例] 001(RIA 二抗体法) : CEA 栄研(二抗体法)
006(IRMA 法) : CEA ダイナボット(ビーズ固相法)
007(RIA その他-) : CEA 第一 RI(ビーズ固相法)
008(RIA その他-) : CEA CIS(二抗体法)
2. 「エンザイムイムノアッセイ(EIA)」(021～030)について
 - (1)「EIA 法」には ELISA 法, IEMA(Immuno-enzymometric assay), EMIT 法(Enzyme multiplied immunoassay technique)等を含む。
3. 「蛍光抗体法」(161～162), 「酵素抗体法」(171)について
 - (1)免疫学的測定法「蛍光抗体法」(161～162), および「酵素抗体法」(171)は組織切片, 培養細胞等を抗原材料とし, 生体試料中の特異抗体を検出する手技を意味するものであり, 免疫組織染色としての「蛍光抗体法」および「酵素抗体法」は, 細胞学的, 病理学的測定法の当該項により分類する。
4. その他の免疫学的測定法について

「酵素免疫固定法」(181)とは抗原/抗体反応により標的物質を捕獲固定後, その物質自らの酵素活性を利用した染色 ないしは酵素反応生成物の比色定量を行うものであり, 「Immunoabsorbent assay(IAA)法」を含む。

「免疫不活化法」(186)とは被験試料中の特異抗体による標的抗原担体の失活を目視法等にて検出するものであり, 抗精子抗体検査における「不動化法」を含む。
5. 「クロマトグラフィー」(201～210)について
 - (1)「高速液体クロマトグラフィー」は蛍光光度計, 電気化学検出器(ECD)等の検出器の属性を問わず 204 に分類する。
 - (2)「その他のクロマトグラフィー」(210)には次のようなものを含む。

アフィニティークロマトグラフィー, ゲルクロマトグラフィー, イオン交換クラマトグラフィー, イオンクロマトグラフィー, 他
6. 遠心分離法

「コイルプラネット遠心法」(222)とは遠心軸 2 本を有する遠心器において遠心沈降管に相当するコイル内の浸透圧勾配に生ずる被験赤血球の溶血帯を記録する手法を意味するものであり, 次のような項目に適用する。

動的赤血球膜物性検査, 他
7. 「電気泳動分析」(231～240)について
 - (1)その他の電気泳動法(240)には次のようなものを含む。

等速電気泳動法, 細胞電気泳動法, 高圧電気泳動法, 他

[Detailed Regulation for The Methodology Code]

1. "Radioimmunoassay(RIA)"(001~010)

(1) "RIA method" includes the IRMA method, the RIST method, the RAST method, etc.

(2) As for B/F separation methods, "Solid phase method" includes the beads method, the particle method, the tube method, the disk method, etc.

(3) "Others-I to IV"(007~010) applies to the following cases.

i. Those cases in which the B/F separation method for the item concerned does not meet the criteria of any of the classification codes 001~006.

[application example] 007(RIA others-I): "Anti-human IgG method"

ii. Those cases in which several assay methods(reagents) are available for the item concerned, some of which employ the same B/F separation method, where the data obtained are not readily interchangeable.

[Application example]

001(RIA two-antibodies method): CEA Eiken(double antibodies method)

006(IRMA method): CEA Dinapot(beads solid phase method)

007(RIA others-I): CEA The First RI(beads solid phase method)

008(RIA others-II): CEA CIS(double antibodies method)

2. "Enzyme immunoassay(EIA)"(021~030)

(1) "EIA method" includes the ELISA method, the IEMA(Immunoenzymometric assay) method, and the EMIT (Enzyme multiplied immunoassay technique) method.

3. "Fluorescent antibody test"(161~162) and "Enzyme-labelled antibody test"(171)

(1) Immunological assay, including the "Fluorescent antibody test"(161~162) and the "Enzyme-labelled antibody test" (171), is a technique to detect antibodies specific to an antigen in biological samples such as tissue sections or cultured cells. Thus "Fluorescent antibody test" and "Enzyme-labelled antibody test" for immunohistological staining are each classified as a relevant item in the category of cytological and pathological assays.

4. Other immunological assays

"Enzyme immunofixation method"(181) is a method of staining or colorimetry dependent on the enzymatic activity of the target molecule itself which is displayed after it is captured and fixed by the antigen-antibody reaction. The "Immunoabsorbent assay (IAA) method" is included.

"Immobilization test"(186) is a method to detect the inactivation of an antigen carrier caused by the specific antibody in a test sample, with detection by eye, etc. The "Immobilization method" used for the anti-sperm antibody test is included.

5. "Chromatography"(201~210)

(1) "Highperformance liquid chromatography" is classified in 204 regardless of the attributes of the detectors employed such as fluorometer, electrochemical detector(ECD), etc.

(2) "Other chromatographies"(210) includes the following.

Affinity chromatography, Gel chromatography, Ion-exchange chromatography, Ion chromatography, etc.

6. Centrifugation

"Coil planet centrifuge method" (222) is a technique to record the band of hemolysis of the tested erythrocytes produced in an osmotic pressure gradient in the coil, which corresponds to the sedimentation tube, of a centrifuge having two axes of rotation, and this applies to the following items:

Dynamic physical test of erythrocyte membranes; etc.

7. "Electrophoresis analysis" (231 ~ 240)

(1) "Other electrophoresis" (240) includes the following:

Isotachopheresis method; Cell electrophoresis method; High voltage electrophoresis; etc.

8. 電気化学分析
 「その他の電気化学分析法」(270)：血液ガス分析装置にて酸素分圧，炭酸ガス分圧等一連を測定する場合は本項により分類する。
9. 「吸光光度分析」(271～276)について
 (1) 考案者の名を冠した各種比色法，酵素法は測定波長に基づいて「吸光光度分析」の所定の項に分類する。
 (2) 「EIA 法」は比色法の範疇から除外する。
 (3) 「結合蛋白サンドイッチ法」(276)とは特異的結合蛋白により標的物質を捕獲し，酵素標識等を介してこれを測定するものであり，次のような項目に適用する。
 ヒアルロン酸，他
10. 「発光光度分析」(281～283)について
 (1) 「EB(ethidium bromide)蛍光法によるリンパ球幼若化検査」は発光光度法(282)に分類する。
11. 物理化学的測定法/その他について
 (1) 「ゲル化反応[定性]」(296)とはエンドトキシン添加に伴うカプトガニ血球抽出物の凝集反応を視覚的に観察するものであり，次のような項目に適用する。
 リムルステスト
 (2) 「ゲル化反応」(297)とはエンドトキシン添加に伴うカプトガニ血球抽出物の液相内凝集反応における濁度変化を光学的に測定する場合に用いられるものであり，「比濁時間分析法」を含む。
12. 「血球算定」(301)について
 (1) 自動血球計数・分類装置を用いたヘモグロビン(Hb)，ヘマトクリット(Ht)，MCV，MCH，MCHC の測定はいずれも 301 に分類する。
13. 「凝固線溶因子測定法」(311～320)について
 (1) PT 法，APTT 法，SDA 法，Bethesda 法等，凝固時間測定に基づくものは用手法あるいは自動化装置使用の如何に拘らず，311 に分類する。
 (2) 「合成基質法」(315)は凝固線溶因子系検査に限り，適用する。
 (3) 「血小板凝集法」(316)とは血液凝固系関連因子検査においてその活性を血小板凝集能として測定する場合に用いられるものであり，次のような項目に適用する。
 von Willebrand 因子活性，他
14. 「染色体分析」(401～420)について
 (1) 染色の分析法は，原則として 403～407 の各項により分類するものとし，該当する項がないか，あるいは染色手技が特定されない場合に限り，「分染法」(402)に分類する。
 (2) 「二重染色法」には次のようなものを含む。
 QM/AMD 法，H33258/AMD 法，QM/CMA 法，H33258/CMA 法，DAPI/CMA 法，DAPI/AMD 法，CMA/MG 法，DA/DAPI 法，MG/DAPI 法，他
15. 「病理組織・細胞染色()」(431～650)について
 (1) 末梢血球の鉄染色としてベルリン青法を用いる場合，当該項目の分類は 529 による。
 なお，「鉄染色」(541)は黄血塩法あるいは触媒法等に基づく組織内鉄染色に適用する。
 (2) 「蛍光抗体法によるターミナルデオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼ(TdT)活性検査」は酵素染色の範疇として 618 に分類する。

8. Electrochemical analysis
- "Other electrochemical analysis"(270): Determination of oxygen partial pressure or carbon dioxide partial pressure, etc. by means of a blood gas analysis apparatus is classified in this category.
9. "Absorptiometry analysis"(271~276)
- (1) Various colorimetric methods and enzymatic methods with the prefix of the inventor's name are classified in the category "Absorptiometry analysis" as a relevant item, based on the wavelength measured.
 - (2) "EIA method" is excluded from the category of colorimetry.
 - (3) "Sandwich binding protein assay"(276) is a method in which a target molecule is captured by means of a specific binding protein and determination is accomplished by means of an enzyme-labelled probe, etc., and this applies to the following items:
Hyaluronic acid; etc.
10. "Luminescent photometric analysis"(281~283)
- (1) "Lymphocyte blastogenesis" test by the EB(ethidium bromide) fluorescence method is classified in the category "fluoro photometry"(282).
11. Physicochemical assay method/Others
- (1) "Gelation reaction[qualitative]"(296) is a method to detect visually the agglutination of an extract of Limulus hemocytes following the addition of endotoxin, and this applies to the following items:
Limulus test
 - (2) "Gelation reaction"(297) applies to those cases in which the agglutination of an extract of Limulus hemocytes following the addition of endotoxin in the liquid phase is optically determined as a change in turbidity, and "Turbidity time analysis" is included.
12. "Blood cell count"(301)
- (1) Determination of Hemoglobin(Hb), Hematocrit(Ht), MCV, MCH, and MCHC by means of an automated hematocytometer or classification apparatus is classified in 301.
13. "Coagulation and fibrinolytic factor assay"(311~320)
- (1) Assays based on determination of clotting time manually or by means of an automated apparatus such as the PT method, APTT method, SDA method, Bethesda method, etc. are classified in 311.
 - (2) "Synthetic(chromogenic) substrate method"(315) applies only to tests concerning coagulation and fibrinolytic factor systems.
 - (3) "Platelet agglutination test"(316) applies to tests concerning coagulation and fibrinolytic systems, in particular relating to platelet aggregation function, and this applies to the following items:
von Willebrand factor activity; etc.
14. "Chromosome analysis"(401~420)
- (1) Staining methods are classified in each corresponding item 403 to 407 in principle, and only those cases in which the relevant item does not exist or the staining technique is not specified are classified in "Differential staining"(402).
 - (2) "Double staining"(416) includes the following:
QM/AMD method; H33258/AMD method; QM/CMA method; H33258/CMA method; DAPI/CMA method; DAPI/AMD method; CMA/MG method; DA/DAPI method; MG/DAPI method; etc.
15. "Pathological tissue and cell staining (I)"(431~650)
- (1) Iron staining of peripheral blood cells using the Berlin Blue method is classified in 529. "Iron stain"(541) applies to the tissue iron staining based on the yellow prussiate of potash method, or catalytic method, etc.

- (2) "Test for terminal deoxynucleotidyl transferase(TdT) activity by the immunofluorescence method" is classified in 618 as a criterion of enzyme staining.

(3)「病理組織・細胞染色()・その他」(650)とは染色手技が 431～644 に掲げる各項のいずれにも該当せず、且つ、原理上免疫学的機序によらないものを意味し、次のような項目に適用する。

墨汁貪食試験，NBT 還元試験，他

16. 「病理組織・細胞染色()」(661～680)について

(1)「蛍光抗体法」(661)とは 431～644 に掲げる各項のいずれも該当しない組織あるいは細胞抗原の蛍光標識抗体を用いた免疫学的染色を意味し、次のような項目に適用する。

モノクローナル抗体によるリンパ球表面抗原解析，他

(2)「酵素抗体法」(666)の適用基準(1)に掲げる「蛍光抗体法」(661)のそれと同様である。

(3)病理組織あるいは細胞の電子顕微鏡的検索は、観察対象の別、重金属染色の手技等諸要件の如何に拘らず、「電顕法」(671)により分類する。

17. 「形態学的検査」(701～735)について

(1)「陰性染色」(720)とはスピロヘータや有莢膜菌の観察において視野の背景部分を染色することにより、菌体を浮き出させて観察するものであり、墨汁法、ニグロシン法、コンゴ赤法等を含む。

(2)「寄生虫・原虫染色」(723)はマラリア原虫、ミクロフィラリア、ニューモシスティス・カリニ原虫、赤痢アメーバ等の観察に適用されるものであり、次のようなものを含む。

ギムザ染色，アズール・エオジン染色，ヘマトキシリン・エオジン染色，トルイジン青○染色，グロコット染色(メセナミン銀染色)，ハイデンハイン染色，コーン染色，他

(3)「オルセイン染色」(724)及び「ピクトリア青染色」(725)は次のような項目に適用する。

HBs 抗原，他

18. 「培養検査」(741～750)について

(1)細胞培養検査において、好気性あるいは嫌気性の培養条件が明確であり、いずれか一方の方法にて項目設定がなされている場合は、742 あるいは 743 のいずれかに分類する。また、培養条件が明確でないか、または両培養条件の採用が見込まれている場合は、741 に分類する。

(2)「炭酸ガス培養」(744)とは一定量の炭酸ガス存在下に発育が促進される特殊目的菌検出に用いられるものであり、淋菌・髄膜炎菌・インフルエンザ菌・ブルセラ菌等の培養同定検査が該当する。

(3)「微好気性培養」(745)とは酸素分圧 5%前後の微好気性環境下に発育する特殊目的菌検出に用いられるものであり、キャンピロバクター等の培養同定検査が該当する。

(4)「シェルバイアル法」(748)とはカバースリップ上の単層培養細胞への臨床材料接種後の遠心操作に基づき微生物の迅速培養を行う手法を意味するものであり、次のような項目に適用する。

ウイルス分離同定，他

19. 「感受性試験」(761～770)について

(1)「光化学的測定法」(763)とは細菌浮遊液に光を通過させ、ここに生ずる透過光あるいは散乱光を検出することにより薬剤感受性を評価する手技を意味するものであり、主として自動機器に基づく薬剤感受性試験の場合に適用する。

20. 「微生物学的測定法・その他」(781)について

(1)「微生物学的測定法・その他」(781)には「ナイアシンテスト」等を含む。

- (3) "Pathological tissue and cell staining(I), Others"(650) is the category for those cases in which the staining technique does not meet the criteria of the items 431~644 and is not based on an immunological mechanism in principle. This applies to the following items:
 Indian ink phagocyte test; NBT reducing test; etc.
16. "Pathological tissue and cell staining(II)"(661~680)
- (1) "Fluorescent antibody method"(661) is an immunological staining method using fluorescent-labelled antibodies against tissue or cellular antigen which does not meet the criteria of any of the items 431~644. This applies to the following items:
 Lymphocyte surface antigen analysis using monoclonal antibody; etc.
- (2) Same as those of "Fluorescent antibody method"(661) described in the application criteria(1) of "Enzyme-labelled antibody method"(666).
- (3) Tests examining pathological tissues or cells by electron microscopy are classified in "electron microscopy"(671) regardless of the objects to be observed, the technique of heavy metal staining employed, and other conditions.
17. "Morphological test"(701~735)
- (1) "Negative staining"(720) is a method of observation based on staining the background, such as that of spirochetes or fenestrated bacterial membranes to visualize the cells in microscopy, and includes the Indian ink method, nigrocin method, Congo red method, etc.
- (2) "Stain for parasites"(723) applies to the observation of Plasmodium, Microfilaria, Pneumocystis carinii, Entamoeba histolytica, etc., and includes the following:
 Giemsa staining; azure-eosin staining; hematoxylin-eosin staining; toluidine blue O staining; Grocott staining methenamine-silver staining; Heidenhain's staining; etc.
- (3) "Orcein stain"(724) and "Victoria blue stain"(725) apply to the following items:
 HBs antigen; etc.
18. "Culture test"(741~750)
- (1) Tests performed by means of cell culture in which the conditions are clearly defined as aerobic or anaerobic and categorized as either aerobic or anaerobic culture methods are classified in 742 or 743. Those cases in which the culture conditions are not clarified or in which the existence of both conditions is expected are classified in 741.
- (2) "CO₂ culture"(744) is used for detection of those microorganisms whose growth is promoted in the presence of a certain amount of carbon dioxide. The identification tests conducted by means of cultivation of gonococcus, meningococci, Haemophilus influenzae, brucella, etc. are included.
- (3) "Microaerobic culture"(745) is used for detection of those microorganisms whose growth is promoted under microaerophilic conditions with a partial oxygen pressure of around 5%. The identification test conducted by means of cultivation of Campylobacter is included.
- (4) "Shell vial method"(748) is a technique of rapid cultivation of a microorganism based on a centrifugation procedure after inoculation of a monolayer of cultured cells on a cover slip with a clinical sample.
 Isolation and identification of virus, etc.
19. "Sensitivity test"(761~770)
- (1) "Photometric analysis"(763) is a technique to evaluate drug sensitivity by passing light through a bacterial suspension and detecting the resultant transmitted or scattered light. This mainly applies to the case of the drug sensitivity test based on the use of an automated

apparatus.

20. "Microbiological assay, Others"(781)

(1) "Microbiological assay, Others"(781) includes "Niacin test", etc.

21. 「アイソトープ標識法」(811～820)について

- (1) 核酸ハイブリダイゼーションに基づく検査は、アイソトープ標識プローブを用いるものであっても「アイソトープ標識法」(811～820)からは除外する。
- (2) 「ラジオレセプターアッセイ(RRA)」(811)は次のような項目に適用する。

1a, 25-(OH)₂ ビタミン D, TSH レセプター, ステロイドホルモンレセプター, 他

なお、「アセチルコリンレセプター抗体」検査におけるアイソトープ標識α-ブングアロトキシンはレセプターに対する特異結合蛋白ではないため、当該項目の分類は「その他のラジオアッセイ法」(820)による。
- (3) 「酵素アイソトープ法」(813)は酵素反応を介して被測定物質を標識する操作を意味するものであり、次のような項目に適用する。

カテコールアミン 3 分画, 他

なお、「アイソトープ標識基質を用いた酵素活性測定」の場合は「その他のラジオアッセイ法」により分類する。
- (4) 「その他のラジオアッセイ法」(820)はラジオイムノアッセイ(001～010), アイソトープ標識法(811～814)以外のラジオアッセイを意味し、次のような項目に適用する。

HBV-DNA ポリメラーゼ, 抗インスリン抗体, 抗 T₃ 抗体, 抗 T₄ 抗体, 他

22. 「遺伝子工学的測定法」(831～900)について

- (1) ヒトあるいは病原体の DNA 等を検出する項目にあつては、用いるプローブの標識物質が放射性、非放射性的のいずれであるかに拘らず、「遺伝子工学的測定法」(831～900)の各項により分類する。
- (2) 「ザンプロット法」(831)とは標的 DNA 断片を電気泳動によりその鎖長に応じて展開し、一本鎖 DNA に変性の後に泳動ゲルからフィルターに転写固定して標識プローブとハイブリダイズさせ、特定の塩基配列の存在あるいは当該 DNA 鎖長を判定するものをいう。
- (3) 「ノーザンプロット法」(832)とは標的 RNA を変性して高次構造を解消した上で電気泳動によりその断片長に応じて展開し、泳動ゲルからフィルターに転写固定して標識プローブとハイブリダイズさせ、特定の遺伝子 mRNA 鎖長あるいは発現量を判定するものをいう。
- (4) 「ウエスタンプロット法」(833)とは標的蛋白を電気泳動によりその分子量に応じて展開し、泳動ゲルからフィルターに転写固定して標識抗体と抗原抗体反応させ、免疫学的に同定するものをいう。
- (5) 「ドットプロット法」(834)とは標的 DNA あるいは RNA を抽出後、フィルター上に固定して標識プローブとハイブリダイズさせ、特定の遺伝子あるいは塩基配列の存在を同定するものであり、「スポットハイブリダイゼーション法」を含む。
- (6) 「スロットプロット法」(835)とは前項の「ドットプロット法」に準ずる手技にて標的 DNA あるいは RNA をフィルター上に固定するに際して、これを“短冊”様の形状とし、得られたシグナルの強度をデンストメトリー法にて計測するものをいう。
- (7) 「PRINS 法」(840) *primed in situ labelling* とは非標識 DNA プローブを標的遺伝子あるいは塩基配列を含む細胞内小器官・細胞・組織等に *in situ* にハイブリダイズさせた後、プローブ結合部位に隣接する配列を鋳型とし、DNA ポリメラーゼ反応により標識ヌクレオチドを伸長させる過程を介して副次的に標的遺伝子あるいは塩基配列を同定するものをいう。

21. "Isotope labeling method" (811 ~ 820)

- (1) The tests based on nucleic acid hybridization are excluded from "Isotope labeling method" (811 ~ 820), even if isotope-labeled probes are used in them.
- (2) Radioreceptor assay (RRA) (811) applies to the following items:
1 alpha; 25-(OH)₂ vitamin D; TSH receptor; steroid hormone receptor; etc.
As isotope-labeled alpha-bungarotoxin used in the "Acetylcholine receptor antibody test" is not a binding protein specific to the receptor; the said item is classified in "Other radioassays" (820).
- (3) "Radioenzymatic assay" (813) is a procedure to label the compound to be determined by means of an enzyme reaction, and applies to the following items:
three fractions of catecholamine; etc.
"Enzyme activity assay with isotope-labeled substrate" is classified in "Other radioassays".
- (4) "Other radioassays" (820) is radioassays other than radioimmunoassay (001 ~ 010) and isotope labeling method (811 ~ 814), and applies to the following items:
HBV-DNA polymerase; anti-insulin antibody; anti-T₃ antibody; anti-T₄ antibody; etc.

22. "Assay methods employing genetic engineering techniques" (831 ~ 900)

- (1) The assay methods for detection of human or pathogen-derived DNA are classified in each corresponding item in "Assay methods employing genetic engineering techniques" (831 ~ 900) regardless of whether the probe used is radioactive or non-radioactive.
- (2) "Southern blotting" (831) is a method for detection of target DNA fragments after fractionation according to chain length by electrophoresis, then denaturation of the DNAs to the single stranded form, transfer of the DNA from the electrophoresis gel to a filter, fixation of the DNA fragments, and hybridization of the DNA fragments with labeled probes to determine the presence of the specified sequence of nucleotides and the chain length of the said DNA fragments.
- (3) "Northern blotting" (832) is a method for detection of target RNA after denaturation to unfold the higher structure, then fractionation of RNA fragments according to chain length by electrophoresis, transfer of the fragments from the electrophoresis gel to a filter, fixation of the fragments, and hybridization of the fragments with labeled probes to determine the length of mRNA from the specified gene and the rate of the expression.
- (4) "Western blotting" (833) is a method for detection of the target protein after fractionation of proteins according to molecular weight by electrophoresis, transfer of the protein from the electrophoresis gel to a filter, fixation of the protein, and reaction with labeled antibodies to identify the protein immunologically.
- (5) "Dot blotting" (834) is a method in which the target DNA or RNA is extracted, fixed on a filter, and hybridized with labeled probes to determine the presence of a specified gene or nucleotide sequence, and this includes the "Spot hybridization method".
- (6) "Slot blotting" (835) is a method similar to the previous item "Dot blotting", but the target DNA or RNA is applied through a slot and fixed. Then the signal density obtained is integrated by the densitometric method.
- (7) "PRINS method" (840) Primed *in situ* labeling is a method in which after the *in situ* hybridization of an unlabeled DNA probe with the target gene or nucleotide sequence in intracellular organelles, cells or tissues,

etc., DNA elongation primed by the probe is conducted by means of DNA polymerase with labeled nucleotides using the sequence adjacent to the probe binding site as the template, which contributes to identification of the target gene or nucleotide sequence.

- (8)「*in situ* ハイブリダイゼーション法」(841)とは標的核酸を含む細胞内小器官・細胞・組織等の形態を保持したまま核酸ハイブリダイゼーションを行うものであり、標的核酸がヒトあるいは病原微生物のいずれの由来にあっても等しく本項により分類する。
- なお、染色体分析における「FISH法(fluorescent *in situ* hybridization)」も本項により分類する。
- (9)「液相ハイブリダイゼーション法」(842)とは標的核酸と相補的核酸プローブとのハイブリダイゼーション反応をプロットング等の固定操作を介さずに反応液相内にて行うものであり、そのシグナル検出法としての「HPA(hybridization protection assay)法」を含む。
- (10)「SSOP法」(843) sequence specific oligonucleotide probe とは標的核酸をフィルター上に固定し、10 数塩基長に設定した互いに異なる配列を含む複数種の標識プローブを一連としてハイブリダイズさせ、局所的遺伝子変異あるいは遺伝的多型の有無等を検索する手法をいうものであり、「ASO(allele-specific oligonucleotide)プローブを用いたドットプロット法」を含む。
- なお、互いに異なる塩基配列を含む複数種の核酸プローブを予めフィルターに固定した後、標的核酸を一連としてハイブリダイズさせる「リバースプロット法」ならびに固相をプレートとした「マイクロプレートハイブリダイゼーション法」による場合、あるいはそれらの実施に当たって「核酸増幅法」を併用する場合にあっても等しくこの項により分類するものである。
- (11)「塩基配列決定法」(848)には次のようなものを含む。
- Maxam-Gilbert 法, Sanger 法, ダイレクトシーケンス法, 他
- (12)「ミニシーケンス法」(849)とは PCR 法等による核酸増幅産物の塩基配列決定に際して、サブクローニングを介することなく、予め適切に設定したシーケンスプライマーを用いて直接シーケンスする場合を特に定め、本項により分類するものであり、「ELMA法(enzyme linked mini-sequence assay)」を含む。
- (13)「PCR法」(851) polymerase chain reaction とは標的 DNA を耐熱性 DNA ポリメラーゼ反応を介して増幅することにより検出するものであり、852～865 に掲げる各項目のいずれにも該当しない場合に適用する。
- 但し、標的核酸が RNA であって、予め逆転写酵素により相補的 DNA(cDNA)を合成し、これを PCR 反応に供する場合は 866～880 に掲げる各項目のいずれかにより分類する。
- なお、PCR 反応後の増幅産物の有無を酵素標識プライマーの化学発色として検出する「ED-PCR法(enzyme detection of PCR products)」はこの項により分類するものである。
- (14)「nested PCR法」(852)とは予め設定した一組のプライマーで PCR により標的 DNA を増幅した後、増幅領域の内側に設定したもう一組のプライマーで二段階の増幅を行うものをいうものであり、プライマーの一方のみを内側に設定した seminested PCR 法を含む。
- 但し、標的核酸が RNA であって、予め逆転写酵素により相補的 DNA(cDNA)を合成し、これを PCR 反応に供する場合は「nested RT-PCR法」(867)により分類する。
- (15)「multiplex PCR法」(856)とは領域の異なる複数のプライマー対を同時に用いて多重 PCR を行うものであり、引続いてこれらの増幅産物を電気泳動させ、泳動バンドのパターンから標的核酸の変異の有無等を判定する場合も含めて、本項により分類する。

- (8) "In situ hybridization"(841) is a method in which nucleic acid hybridization is performed under conditions such that the morphology of the intracellular organelles, cells or tissues, etc., which contain the target nucleic acid, is preserved. All of the said methods are classified in this item regardless of whether the target nucleic acid is derived from humans or a pathogenic microorganism
"FISH method(fluorescent *insitu* hybridization)" in chromosome analysis is classified in this item.
- (9) "Liquid hybridization"(842) is a method in which hybridization of the target nucleic acid with a complimentary nucleic acid probe is conducted in a reaction solution without implementation of a fixation process, like blotting, etc. "HPA(hybridization protection assay)" as the signal detection method is included.
- (10) "SSOP technique"(843) Sequence specific oligonucleotide probes technique is a method in which the target nucleic acid is fixed on a filter and hybridized with a series of several labeled probes differing in sequence, each with a fixed length of over 10 bases, to determine the location of a mutation in a gene or the presence of genetic polymorphism. The "Dot blot method using ASO(allele-specific oligonucleotide) probe" is included.
"Reverse blot method" in which several types of nucleic acid probes differing in nucleotide sequence are prefixed on a filter and hybridized with a series of target nucleic acids. The "Microplate hybridization method" which employs a plate as the solid phase, and those cases in which the "Nucleic acid amplification method" is used in combination are also classified in this item.
- (11) "Base sequencing analysis"(848) includes the following:
Maxam-Gilbert method; Sanger method; Direct sequencing method; etc.
- (12) "Enzyme linked mini-sequence assay"(849) For sequencing of PCR-amplified nucleic acid products, etc., the method of direct sequencing, without subcloning, using sequencing primers each of which has been defined appropriately in advance especially is classified in this item.
"ELMA(enzyme-linked mini-sequence assay)" is included.
- (13) "Polymerase chain reaction"(851) The polymerase chain reaction method is a method for detection of the target DNA by amplification through reaction with thermostable DNA polymerase, and applies to those cases which do not meet the criteria of any of item 852~865.
Those cases in which the target nucleic acid is RNA and the complimentary DNA(cDNA) is synthesized with reverse transcriptase in advance before the PCR reaction, are classified in the relevant item of 866~880.
"ED-PCR method(enzyme detection of PCR products)" which detects the presence of PCR products by means of the chemiluminescence of an enzyme-labeled primer is classified in this item.
- (14) "Nested PCR"(852) is a method in which a two step amplification is conducted using another set of primers inside of the amplified region after the first PCR of the target gene, and the semi-nested PCR method where only one set of primers is set inside is included.
Those cases in which the target nucleic acid is RNA and the complimentary DNA(cDNA) is synthesized with reverse transcriptase in advance before the PCR reaction, are classified in "Nested RT-PCR"(867).
- (15) "Multiplex PCR"(856) is a method in which multiple PCR are conducted at the same time using several pairs of primers corresponding to different regions, including those cases in which the amplified products are further electrophoresed to detect changes in the target nucleic acid as evident from the band pattern.

- (16)「IM-PCR法」(857) intercalation monitoring PCRとは二本鎖DNAにインターカレーション蛍光増感を示す物質(インターカレーター性蛍光物質)の存在下にPCRを行い、蛍光強度の測定により増幅の有無を判定し、さらには蛍光強度の経時変化から標的核酸の初期量を定量するものいう。
- (17)「変異部特異的核酸増幅法」(859)とは遺伝子変異の検出を目的として、既知の変異配列に特異的なプライマーによりPCRを行うものであり、次のようなものを含む。
MASA法(mutant-allele specific amplification), MSSA法(mutant site specific amplification), ARMS法(amplification refractory mutation system)
- (18)「*in situ* PCR法」(864)とは標的DNAを含む細胞内小器官・細胞・組織等の形態を保持したまま、その固定標本上でPCR反応により増幅を行うものであり、標的DNAがヒトあるいは病原微生物のいずれの由来にあっても等しく本項により分類する。
但し、標的核酸がRNAであって、予め逆転写酵素により相補的DNA(cDNA)を合成し、これをPCR反応に供する場合は「*in situ* RT-PCR法」(879)により分類する。
- (19)「その他のPCR法」(865)には次のようなものを含む。
immuno-PCR法, long PCR法, AP(arbitrarily primed)-PCR法, hot start PCR法, panhandle PCR法, anchored PCR法, one-sided PCR法, RACE法(rapid amplification of cDNA ends), TRAP法(telomerase repeat amplification protocol)。
- (20)「competitive RT-PCR法」(868)とはRNAを標的として、プライマー結合領域を一致させ、且つ塩基配列上も類似した既知量の内部標準核酸(competitor)とともに同一チューブ内で競合的にRT-PCR反応を行い、両者の濃度比より標的RNAの初期量を判定するものいう。
- (21)「multicyclic RT-PCR法」(869)とはRNAを標的として、初期量の異なる複数の標準物質を用いてPCRサイクル数に応じた増幅産物の濃度系列を設定することにより、標的RNAの初期量をRT-PCR反応後の増幅産物濃度と当該濃度系列との比較をもって判定するものいう。
- (22)「simultaneously & independently RT-PCR法」(870)とはRNAを標的として、プライマー結合領域のみ一致し、他の塩基配列は全く異なる既知量の内部標準核酸とともに同一チューブ内で非競合的にRT-PCR反応を行い、標的RNAの初期量を常に一定量が増幅される内部標準物質との増幅産物濃度比をもって判定するものいう。
- (23)「その他のRT-PCR法」(880)には次のようなものを含む。
DDRT(differential display RT)-PCR法, SNUPE法(single-nucleotide primer extension assay)
- (24)「LCR法」(881) ligase chain reactionとは標的DNAを、そのプラス鎖およびマイナス鎖にそれぞれ対応した二組のプライマー対を用い、耐熱性ポリメラーゼおよび耐熱性リガーゼの協同反応を介して増幅することにより検出するものいう。
- (25)「SDA法」(882) strand displacement amplificationとは特定の制限酵素認識部位を有するプライマーを用いた標的核酸の複製過程を介して、熱変性による二本鎖DNAから一本鎖DNAへの解離反応を要さず、制限酵素によるニック形成に続く特異プライマーの伸張・置換反応に基づいて核酸増幅を行うものいう。

- (16) "IM-PCR method"(857) Intercalation monitoring PCR is a method of PCR in the presence of a compound which shows enhanced fluorescence when intercalated into double stranded DNA(fluorescent intercalator). The extent of amplification is determined by measuring the fluorescent intensity, and from analysis of the time course of changes in fluorescent intensity, the initial amount of the target nucleic acid present is quantified.
- (17) "Mutation site-specific amplification"(859) is a method in which PCR is conducted using primers specific for known mutant sequences with the aim to detect a mutation in the gene, and includes the following:
 MASAMethod(mutant-allele specific amplification); MSSAMethod(mutant site specific amplification); ARMS method(amplification refractory mutation system)
- (18) "*In situ* PCR"(864) is a method of amplification by PCR in which the specimen is kept under conditions such that the morphology of the intracellular organelles, cells, or tissues, etc., which contain the target nucleic acid, is preserved. All the said methods are classified in this item regardless of whether the target nucleic acid is derived from humans or a pathogenic microorganism. Those cases in which the target nucleic acid is RNA and the complimentary DNA(cDNA) is synthesized with reverse transcriptase in advance before the PCR reaction, are classified in "*In situ* RT-PCR"(879).
- (19) "Other PCRs"(865) includes the following:
 Immuno-PCR method; Long PCR method; AP(arbitrarily primed)-PCR method; Hot start PCR method; Panhandle PCR method; Anchored PCR method; One-sided PCR; RACE method(rapid amplification of DNA ends); TRAP method(telomerase repeat amplification protocol)
- (20) "Competitive RT-PCR"(868) is a competitive RT-PCR in the same tube incubated with a known amount of internal standard nucleic acid(competitor) which has a primer binding region with a sequence identical to that of the target RNA and also a similar sequence in total. From the concentration ratio of the two products, the initial concentration of the target RNA is determined.
- (21) "Multicyclic RT-PCR"(869) By setting the serial concentration of amplified products corresponding to the PCR cycle number using a standard compound in several different initial amounts, the initial amount of the target RNA is determined by comparison between the concentration of amplified products after RT-PCR and the said serial concentration.
- (22) "Simultaneously & independently RT-PCR"(870) Non-competitive RT-PCR is conducted in the same tube with a known amount of internal standard nucleic acid, which has a sequence identical to only the primer binding region and quite different from the rest, and the initial amount of the target RNA is determined by comparison between the concentration of amplified products and that of the internal standard which is amplified in a constant rate.
- (23) "Other RT-PCRs"(880) includes the following:
 DDRT(differential display RT)-PCR method; SNUPE method(single-nucleotide primer extension assay)
- (24) "LCR method"(881) Ligase chain reaction is a method to detect target DNA amplified by a cooperative reaction of thermostable polymerase and thermostable ligase using a pair of primers corresponding to the plus and minus strands of the target DNA.
- (25) "SDA method"(882) Strand displacement amplification is a DNA amplification method based on the elongation and replacement of a specific primer following the generation of a nick by a restriction enzyme, through

replication of the target nucleic acid using a primer containing a specified restriction site. This amplification is done without heat denaturation of double stranded DNA to single stranded DNA.

- (26)「TMA法」(886) transcription-mediated amplificationとはRNAを標的として、逆転写酵素により合成した相補的DNAを鋳型にDNAポリメラーゼの複製活性に基づいて核酸増幅を行うものをいう。
- (27)「NASBA法」(887) nucleic acid sequence based amplificationとはRNAを標的として、逆転写酵素により合成した相補的DNAを鋳型にRNAポリメラーゼの転写活性に基づいて核酸増幅を行うものをいう。
- (28)「SSCP法」(891) single-strand conformation polymorphismとは一本鎖DNAの塩基配列に由来した固有の高次構造の違いを電気泳動後の移動度として検出することにより、塩基配列の多型・変異等を判定するものをいう。
 なお、本法実施に当たって「核酸増幅法」を併用する場合にあっても等しくこの項により分類するものである。
- (29)「DGGE法」(892) denaturing gradient gel electrophoresisとは変性剤による濃度勾配ゲル上の電気泳動における標的二本鎖DNAの一本鎖DNAへの解離，ならびに一本鎖DNAのランダムコイル形成に伴う移動度の低下を検出することにより、塩基配列の多型・変異等を判定するものをいう。
 なお、本法実施に当たって「核酸増幅法」を併用する場合にあっても等しくこの項により分類するものである。
- (30)「RFLP法」(894) restriction fragment length polymorphismとは予め選択した特定の制限酵素を用いて、標的DNAの切断パターンを電気泳動後の各断片の移動度として検出することにより、塩基配列の多型・変異等を判定するものをいう。
 なお、本法実施に当たって「核酸増幅法」を併用する場合にあっても等しくこの項により分類するものである。
- (31)「CFLP法」(895) cleavase fragment length polymorphismとはDNA鎖の高次構造上のループ形成部分を認識し、ループ連結部を特異的に切断するエキソヌクレアーゼを用いて、標的DNAの切断パターンを電気泳動後の各断片の移動度として検出することにより、塩基配列の多型・変異等を判定するものをいう。
 なお、本法実施に当たって「核酸増幅法」を併用する場合にあっても等しくこの項により分類するものである。
- (32)「PHFA法」(897) preferential homoduplex formation assayとは標識プライマーによる標的DNAのPCR増幅産物に過剰量の当該標的DNAに相当すべき“野生型”DNA鎖の非標識プライマーによる増幅産物を添加してランダムな二本鎖DNAを形成させ、二本鎖両端に標識を有するDNAのシグナルのみを選択的に検出することにより、標的DNAと野生型DNAとの塩基配列上の異同を判定するものをいう。
23. 「その他の分析法」(901～920)について
- (1)「バイオアッセイ法」(905)は培養細胞，組織あるいは動物個体を用いて被験物質の生物活性を測定するものであり，次のような項目に適用する。
 下垂体性ゴナドトロピン，他
 なお，培養細胞を用いるものであっても，その生物活性をcytopathic effectとして判定する場合，当該項目は「細胞障害試験」(907)により分類する。
- (2)「細胞障害試験」(907)は次のような項目に適用する。
 HK細胞活性，ADCC活性(⁵¹Cr-遊離法)，HLA(リンパ球障害試験)，抗白血球抗体(細胞毒試験)，インターフェロン(50%NR取り込み法)，他
- (3)「計算法」(919)とは他の単独ないし複数の検査値から計算により間接的に結果を得る場合に用いられる。

- (26) "TMA method"(886) Transcription-mediated amplification is a method of amplification of nucleic acid based on the replication activity of DNA polymerase with complimentary DNA as a template which is synthesized with reverse transcriptase from the target RNA.
- (27) "NASBA method"(887) Nucleic acid sequence based amplification is a method of amplification of nucleic acid based on the transcription activity of RNA polymerase with complimentary DNA as a template which is synthesized with reverse transcriptase from the target RNA.
- (28) "SSCP method"(891) Single-strand conformation polymorphism is a method to determine the polymorphism or mutation of a nucleotide sequence by detecting the difference in mobility upon electrophoresis resulting from the change in specific higher structure derived from the single strand DNA sequence.
Those cases in which the "Nucleic acid amplification method" is conducted in combination are also classified in this item.
- (29) "DGGE method"(892) Denaturing gradient gel electrophoresis is a method to determine the polymorphism or mutation of a nucleotide sequence by detecting the decrease in mobility on gradient gel electrophoresis resulting from the dissociation of the target double stranded DNA to single stranded DNA and that resulting from random coil formation of the single stranded DNA generated by the denaturant.
Those cases in which the "Nucleic acid amplification method" is conducted in combination are also classified in this item.
- (30) "RFLP method"(894) The restriction fragment length polymorphism method is a method to determine polymorphism or mutation of a nucleotide sequence by examining the cleavage pattern of the target DNA as determined by the mobility of each fragment in electrophoresis after digestion with specified restriction enzymes selected in advance.
Those cases in which "Nucleic acid amplification method" is conducted in combination are also classified in this item.
- (31) " CFLP method"(895) The cleavage fragment length polymorphism method is a method to determine polymorphism or mutation of a nucleotide sequence, by recognizing a loop forming region in the higher structure of the target DNA chain, by examining the cleavage pattern of the DNA as determined by the mobility of each fragment in electrophoresis after digestion with a specific exonuclease which cleaves in a unique style at the connecting site.
Those cases in which the "Nucleic acid amplification method" is conducted in combination are also classified in this item.
- (32) "PHFA method"(897) The preferential homoduplex formation assay is a method to determine the difference in nucleotide sequence between the target DNA and wild-type DNA by detecting selectively the signal displayed by DNA which has been labeled at both ends of the duplex, after random formation of a duplex between the PCR-amplified products of the target DNA and labeled primer in the presence of an excess amount of amplified products of the corresponding wild-type DNA and a non-labeled primer.
23. "Other analytical methods"(901~920)
- (1) "Bioassay"(905) is a method to determine the biological activity of the test compound using cultured cells, tissues or animals, and applies to the following items:
Hypophyseal gonadotropin; etc.
Those cases in which the biological activity is determined as a cytopathic effect are classified in "Cytotoxicity test"(907), even when cultured cells are used.
- (2) "Cytotoxicity test"(907) applies to the following items:
HK cell activity; ADCC activity(⁵¹Cr-release method);

HLA(lymphocytotoxicity test); anti-white blood cell
antibody(cytotoxicity test); Interferon(50% NR incorporation
method); etc.

- (3) "Calculation"(919) applies to those cases in which the results are
obtained indirectly by calculation from one or several test values.

(4)「その他の分析法・その他」(920)は次のような項目に適用する。

膠質反応，黄疸指数，クリオグロブリン，パイログロブリン等，目視法による検査，試験紙法を除く大部分の尿一般検査，糞便検査，胃液・十二指腸液検査，髄液検査，喀痰検査，穿刺液検査，精液検査。

なお，ここで「目視法による検査」とは肉眼または鏡検に基づき，形状，色調の観察あるいは計数等を行う検査を意味する。

(4) "Other analytical methods, Others"(920) applies to the following items:

Testing by visual observation such as the colloid reaction; jaundice index; cryoglobulin; pyroglobulin; etc.; most general urinalysis except the test paper method; fecal test; gastric juice/duodenal juice test; spinal fluid test; expectoration test; blood prick test; semen test. "Testing by visual observation" means observation of morphology and color or counting by means of the naked eye or by microscopy.