(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 113557308 B
(45)授权公告日 2024.08.16

(21)申请号 202080017116.X
(22)申请日 2020.01.24
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113557308 A
(43)申请公布日 2021.10.26
(30)优先权数据
62/796,384 2019.01.24 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.08.26
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/015059 2020.01.24
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/154665 EN 2020.07.30
(73)专利权人 梅约医学教育与研究基金会
地址 美国明尼苏达州
专利权人 精密科学公司
(72)发明人 威廉·R·泰勒 约翰·B·基谢尔
道格拉斯·W·马奥尼
大卫·A·阿尔奎斯特
哈特姆·T·阿拉维
玛丽亚·贾库莫普洛斯
(74)专利代理机构 成都超凡明远知识产权代理有限公司 51258
专利代理师 王晖 刘书芝
(51)Int.Cl.
C12Q 1/6844(2006.01)
(56)对比文件
US 2016017430 A1,2016.01.21
WO 2015153283 A1,2015.10.08
Rui-Lan Huang;Po-Hsuan Su;Yu-Ping Liao;Tzu-I Wu;Ya-Ting Hsu;Wei-Yu Lin;Hui-Chen Wang;Yu-Chun Weng;Yu-Che Ou;Tim Hui-Ming Huang;Hung-Cheng Lai.Integrated Epigenomics Analysis Reveals a DNA Methylation Panel for Endometrial Cancer Detection Using Cervical Scrapings.Clinical Cancer Research.2016,第23卷(第1期),摘要.
审查员 崔力方

权利要求书1页 说明书114页
序列表123页 附图14页

(54)发明名称

检测子宫内膜癌

(57)摘要

本文提供了筛查子宫内膜癌(EC)的技术,并且特别但不仅仅是检测子宫内膜癌和各种子宫内膜癌亚型的存在的方法、组合物和相关用途。

CN 113557308 B

1.以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂和EMX2OS特异性引物组在制备通过测定EMX2OS的甲基化水平来评估从受试者获得的样品中子宫内膜癌的试剂盒中的用途。

2.如权利要求1所述的用途,其中所述以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂包含甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂中的一种或多种。

3.如权利要求1所述的用途,其中测定EMX2OS的甲基化水平包括使用甲基化特异性PCR、定量甲基化特异性PCR、甲基化特异性DNA限制酶分析、定量亚硫酸氢盐焦磷酸测序、瓣状核酸内切酶测定、PCR-瓣测定和/或亚硫酸氢盐基因组测序PCR。

4.如权利要求1所述的用途,其中所述样品包含血浆样品、血液样品或组织样品中的一种或多种。

5.如权利要求4所述的用途,其中所述组织样品为子宫内膜组织样品。

6.如权利要求1所述的用途,其中所述EMX2OS特异性引物组包括SEQ ID NO:81和82,or SEQ ID NO:119和120。

7.如权利要求1所述的用途,还包括测量选自B3GALT6 DNA和β-肌动蛋白DNA的至少一种参考标志物。

8.如权利要求1所述的用途,还包括测定选自以下的至少一种额外的基因的甲基化水平:CYTH2、C17orf107、DIDO1、GDF6、NBPF8、MAX.chr14.103021656-103021718、JSRP1、GATA2、SFMBT2、ARL5C、FAIM2、GYPC、LYPLAL1、MAX.chr10.22624479-22624553、OBSCN、SPDYA、TSPYL5和ZNF506。

9.如权利要求8所述的用途,其中:

CYTH2特异性引物组包括SEQ ID NO:31和32;

C17orf107特异性引物组包括SEQ ID NO:115和116;

DIDO1特异性引物组包括SEQ ID NO:41和42,或SEQ ID NO:117和118;

GDF6特异性引物组包括SEQ ID NO:43和44;

NBPF8特异性引物组包括SEQ ID NO:87和88;

MAX.chr14.103021656-103021718特异性引物组包括SEQ ID NO:65和66;

JSRP1特异性引物组包括SEQ ID NO:63和64,或SEQ ID NO:125和126;

GATA2特异性引物组包括SEQ ID NO:33和34;

SFMBT2特异性引物组包括SEQ ID NO:1和2,或SEQ ID NO:151和152;

ARL5C特异性引物组包括SEQ ID NO:177和178;

MAX.chr10.22624479-22624553特异的引物组包括SEQ ID NO:55和56;

OBSCN特异性引物组包括SEQ ID NO:39和40,或SEQ ID NO:145和146;

SPDYA特异性引物组包括SEQ ID NO:153和154;

TSPYL5特异性引物组包括SEQ ID NO:221和222;并且

ZNF506特异性引物组包括SEQ ID NO:9和10。

10.如权利要求1所述的用途,其中所述试剂盒的用途包括:

使用以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂处理所述样品中的基因组DNA;

使用EMX2OS特异性引物组扩增处理后的基因组DNA;以及

使用聚合酶链式反应、核酸测序、质谱法、甲基化特异性核酸酶、基于质量的分离和/或靶标捕获来确定EMX2OS的甲基化水平。

检测子宫内膜癌

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2019年1月24日提交的美国临时专利申请No.62/796,384的优先权,其以引用的方式整体并入本文中。

技术领域

[0003] 本文提供了筛查子宫内膜癌(EC)的技术,并且特别但不仅仅是检测子宫内膜癌和各种子宫内膜癌亚型的存在的方法、组合物和相关用途。

背景技术

[0004] 尽管子宫内膜癌(EC)是美国和许多其它发达国家最常见的妇科恶性肿瘤,但缺乏早期检测EC的方法(参见Siegel,R.L.等人,Cancer statistics,2016.CA Cancer J Clin,2016.66(1):第7-30页;Parkin,D.等人,Global cancer statistics,2002.CA Cancer J Clin.,2005.55(2):第74-108页)。虽然低风险的早期EC预后良好,5年总生存率(OS)>95%,但被诊断为III期或IV期时的5年OS分别变为68%和17%(参见Fridley,B.L.等人,PLoS ONE,2010.5(9):第e12693页)。大多数EC都是低级别子宫内膜样组织学,并且之前都有增生前体;然而,更具侵袭性的3级子宫内膜样、浆液性、透明细胞和癌肉瘤组织学占新诊断的EC的10-15%,并且可能是高度致命的(参见Felix,A.S.等人,Cancer Causes Control,2010.21(11):第1851-6页;Moore,K.N.和A.N.Fader,Clin Obstet Gynecol,2011.54(2):第278-91页;Cancer Genome Atlas Research,N.等人,Nature,2013.497(7447):第67-73页;Hussein,Y.R.等人,Int J Gynecol Pathol,2016.35(1):第16-24页)。早期检测可增加治愈的机会(参见Mariani,A.等人,Gynecologic Oncology,2008.109(1):第11-18页)。

[0005] 需要改进检测EC和各种EC亚型的方法。

[0006] 本发明满足了这些需要。

发明内容

[0007] 已经将甲基化DNA作为大多数肿瘤类型组织中潜在的一类生物标志物进行研究。在许多情况下,DNA甲基转移酶在胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤(CpG)岛位点处添加甲基至DNA,作为基因表达的表观遗传控制。在生物学上有吸引力的机制中,认为肿瘤抑制基因启动子区域中的获得性甲基化事件会使表达沉默,从而促进肿瘤发生。DNA甲基化可能是比RNA或蛋白质表达更具有化学和生物学稳定性的诊断工具(Laird(2010)Nat Rev Genet 11:191-203)。此外,在如散发性结肠癌等其它癌症中,甲基化标志物提供了极好的特异性,并且比单独DNA突变具有更广泛的信息和更灵敏(Zou等人(2007)Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:2686-96)。

[0008] 当应用于动物模型和人类细胞系时,对CpG岛的分析产生了重要的发现。例如,Zhang和同事发现来自同一CpG岛的不同部分的扩增子可能具有不同的甲基化水平(Zhang等人(2009)PLoS Genet 5:e1000438)。此外,甲基化水平在高度甲基化与未甲基化序列之

间呈双峰分布,这进一步证明了DNA甲基转移酶活性的二元开关样模式(Zhang等人(2009)PLoS Genet 5:e1000438)。对鼠体内组织和体外细胞系的分析表明,只有约0.3%的高CpG密度启动子(HCP,定义为在300个碱基对区域内具有>7%CpG序列)被甲基化,而低CpG密度区域(LCP,定义为在300个碱基对区域内具有<5%CpG序列)往往以动态组织特异性模式频繁甲基化(Meissner等人(2008)Nature 454:766-70)。HCP包括普遍存在的看家基因和高度调控的发育基因的启动子。在>50%甲基化的HCP位点中,有几个已建立的标志物,例如Wnt 2、NDRG2、SFRP2和BMP3(Meissner等人(2008)Nature 454:766-70)。

[0009] 已经将DNA甲基转移酶在胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤(CpG)岛位点处对DNA的表观遗传甲基化作为大多数肿瘤类型组织中潜在的一类生物标志物进行研究。在生物学上有吸引力的机制中,认为肿瘤抑制基因启动子区域中的获得性甲基化事件会使表达沉默,从而促进肿瘤发生。DNA甲基化可能是比RNA或蛋白质表达更具有化学和生物学稳定性的诊断工具。此外,在如散发性结肠癌等其它癌症中,异常的甲基化标志物比单独DNA突变具有更广泛的信息和更灵敏,并且提供了极好的特异性。

[0010] 有几种方法可用于搜索新的甲基化标志物。虽然基于微阵列的CpG甲基化询问是一种合理的高通量方法,但这种策略偏向于已知的感兴趣区域,主要是已确立的肿瘤抑制启动子。在过去十年中,已经开发了用于全基因组DNA甲基化分析的替代方法。有三种基本方法。第一种采用通过识别特定甲基化位点的限制酶消化DNA,然后是几种可能的分析技术,这些技术提供的甲基化数据仅限于酶识别位点或用于在定量步骤中扩增DNA的引物(例如甲基化特异性PCR;MSP)。第二种方法使用针对甲基胞嘧啶或其它甲基化特异性结合结构域的抗体富集基因组DNA的甲基化部分,然后进行微阵列分析或测序以将片段映射至参考基因组。这种方法不提供片段内所有甲基化位点的单核苷酸分辨率。第三种方法首先是对DNA进行亚硫酸氢盐处理,将所有未甲基化的胞嘧啶转化为尿嘧啶,然后是限制酶消化,并在与接头配体偶联后对所有片段进行完整测序。限制酶的选择可以富集CpG密集区域的片段,减少在分析过程中可能映射至多个基因位置的冗余序列的数目。

[0011] 在中高读取覆盖率下RRBS在单核苷酸分辨率下产生所有CpG岛的80-90%和大多数肿瘤抑制启动子的CpG甲基化状态数据。在癌症病例对照研究中,对这些读数的分析可鉴定差异甲基化区域(DMR)。在之前对胰腺癌样本的RRBS分析中,发现了数百个DMR,其中许多从未与致癌作用相关联,并且许多未注释。对独立组织样品集的进一步验证研究证实了在性能方面具有100%灵敏度和特异性的标志物CpG。

[0012] EC自发脱落肿瘤细胞(参见Chin,A.B.等人,American Journal of Obstetrics and Gynecology,2000.182(6):第1278-1282页)并且通过微创方法检测EC生物标志物是一种很有前景的方法(参见Kinde,I.等人,Science Translational Medicine,2013.5(167):第167ra4页;Bakkum-Gamez,J.N.等人,Gynecologic Oncology,2015.137(1):第14-22页;Wentzensen,N.等人,International Journal of Cancer,2014.135(8):第1860-1868页;Fiegl H,G.C.等人,Cancer Epidemiol Biomarkers Prev,2004.13(5):第882-8页);然而,需要优化标志物、标准化收集方法和提高特异性。DNA甲基化是EC致癌作用的早期事件(参见Tao,M.H.和J.L.Freudenheim,Epigenetics,2010.5(6):第491-8页);在与EC相邻的看起来形态正常的子宫内膜中RASSF1甲基化(参见Fiegl H,G.C.等人,Cancer Epidemiol Biomarkers Prev,2004.13(5):第882-8页;Pijnenborg,J.等人,Annals of Oncology,

2007.18(3):第491-497页;Suehiro,Y.等人,Clinical Cancer Research,2008.14(11):第3354-3361页;Arafa,M.等人,Histopathology,2008.53(5):第525-532页);MLH1甲基化发生在非典型增生中(参见Suehiro,Y.等人,Clinical Cancer Research,2008.14(11):第3354-3361页;Horowitz,N.等人,Gynecologic Oncology,2002.86(1):第62-68页;Xiong,Y.等人,Gynecologic Oncology,2006.103(1):第321-328页;Banno K,Y.M.等人,Oncol Rep,2006.16(6):第1189-96页;Zighelboim,I.等人,Clinical Cancer Research,2007.13(10):第2882-2889页;Guida M,S.F.等人,Eur J Gynaecol Oncol.,2009.30(3):第267-70页)。这些和其它基因被确定为在EC中甲基化(参见Fiegl H,G.C.等人,Cancer Epidemiol Biomarkers Prev,2004.13(5):第882-8页;Suehiro,Y.等人,Clinical Cancer Research,2008.14(11):第3354-3361页;Zighelboim,I.等人,Clinical Cancer Research,2007.13(10):第2882-2889页;Wentzensen,N.等人,International Journal of Cancer,2014:页码[电子出版比印刷先进];Tao MH,F.J.,DNA methylation in EC.Epigenetics,2010.5(6):第491-8页;Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma.Nature,2013.497(7447):第67-73页;Huang,Y.-W.等人,Gynecologic Oncology,2010.117(2):第239-247页;Xiong,Y.等人,Gynecologic Oncology,2005.99(1):第135-141页;Sasaki,M.等人,Cancer Research,2001.61(1):第97-102页;Sasaki,M.等人,Molecular and Cellular Endocrinology,2003.202(1-2):第201-207页),并且从坏死肿瘤细胞释放的游离甲基化DNA是一个有吸引力的目标,并已在各种生物体液中检测到,包括唾液、血浆、腹膜液、粪便、乳头抽吸物、尿液、胰液和阴道液(参见Bakkum-Gamez,J.N.等人,Gynecologic Oncology,2015.137(1):第14-22页;Fiegl H,G.C.等人,Cancer Epidemiol Biomarkers Prev,2004.13(5):第882-8页;Duffy MJ,N.R.等人,Eur J Cancer,2009.45(3):第335-46页;Ahlquist,D.A.等人,Gastroenterology,2012.142(2):第248-256页;Duffy,M.J.等人,Eur J Cancer,2009.45(3):第335-46页;Kisiel,J.B.等人,Clinical Cancer Research,2015.21(19):第4473-4481页)。

[0013] 本文提供了筛查EC的技术,并且特别但不仅仅是检测EC和各种EC亚型(例如透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC)的存在的方法、组合物和相关用途。

[0014] 实际上,如实施例I、II和III中所述,在鉴定本发明实施方案的过程中进行的实验鉴定了一组新的差异甲基化区域(DMR),用于区分子宫内膜癌来源的DNA与非肿瘤对照DNA。

[0015] 这类实验列出并描述了499种新的DNA甲基化标志物,可将EC组织(以及EC组织的各种亚型)与良性子宫内膜组织区分开来(参见表1、8和21,实施例1、2和3)。

[0016] 从这499种新的DNA甲基化标志物中,进一步的实验鉴定了以下能够区分EC组织与良性子宫内膜组织的标志物和/或标志物组:

[0017] • AFF3、AIM1_A、AMIGO3_A、BMP4_B、C17orf107_A、C1orf70_B、C5orf52、CLDN7、DIDO1_A、EEF1A2、EMX2OS、FEV、FKBP11_A、GDF6、GDF7_A、JSRP1_A、KCTD15_A、KLHL21、LRRC8D_A、NBPF8、MAX.chr10.130339363-130339534、MAX.chr10.22624479-22624553、MAX.chr14.103021656-103021718、MAX.chr8.145103829-145103992、MAX.chr8.145104263-145104422、MDFI_B、MIAT_A、MMP23B、NDRG2、OBSCN_A、PCOLCE、PYCARD、SEPT9_B、SLC6A3_A、SLC8A3_B、SQSTM1、VILL、ZNF302、ZNF323_A、ZNF506和ZNF90(参见表2,实施例1);

[0018] • EMX2OS、CYTH2、C17orf107_A、DIDO1_A、GDF6、NBPF8、MAX.chr14.103021656-103021718、JSRP1_A、GATA2_B和SFMBT2_B(参见表3,实施例1);

[0019] • SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A(参见表15,实施例1);以及

[0020] • EMX2OS、CYTH2、NBPF8、MAX.chr10.22624479-22624553(参见表20,实施例1)。

[0021] 从这499种新的DNA甲基化标志物中,进一步的实验鉴定了以下标志物和/或标志物组,用于检测血液样品(例如,血浆样品、全血样品、白细胞样品、血清样品)中的EC:

[0022] • ANKRD35、ARL5C、ARRB1、BCL2L11_A、BCL2L11_B、BCL2L11_C、BZRAP1、C16orf54、C17orf101、C6orf132、CACNA2D4、DEDD2、EPS15L1、FAIM2、FAM125B、FAM189B、FAM78A、FOXP4、GYPC_A、GYPC_B、IFFO1_A、IFFO1_B、ITPKA、KLF16、LIMD2、LOC389333、LOC440925_A、LOC646278、LYL1、LYPLAL1、MAX.chr11.32355226-32355251、MAX.chr14.102172621-102172686、MAX.chr14.105512122-105512239、MAX.chr15.95128144-95128248、MAX.chr16.11327016-11327312、MAX.chr3.187676577-187676668、MAX.chr4.174430676-174430847、MAX.chr8.145900783-145900914、MAX.chr8.80804237-80804301、N4BP3、NCOR2、NFATC1_A、NFATC1_B、NKX2-6、NR2F6、OSM、PALLD_C、PIK3CD、PRKAR1B、RAD52、STX16_A、SUCLG2、TNFRSF1B、TNFRSF4、ZDHHC18和ZNF671_A(参见表9,实施例1)。

[0023] 从这499种新的DNA甲基化标志物中,进一步的实验鉴定了以下能够区分透明细胞EC组织与良性子宫内膜组织的标志物和/或标志物组:

[0024] • DIDO1_A、NDRG4、MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、EMX2OS、SEPT9_B、NBPF8、EEF1A2、AIM1_A、BMP4_B、MAX.chr8.145103829-145103992、OBSCN、PYCARD、GDF6、MDFI_B、MIAT_A、SCL8A3、ZNF323_A、SQSTM1、AFF3、C1orf70、GDF7_A、JSRP1_A、LRRC8D_A、FEV和MAX.chr8.145104263-145104422(参见表4,实施例1);

[0025] • ZNF323_A、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、DIDO1_A、MDFI_B、MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、SEPT9_B和STX16_A(参见表11,实施例1);

[0026] • SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MDFI_B、GDF7_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、SEPT9_B、EEF1A2、LRRC41_C、VILL和MPZ_A(参见表16,实施例1);以及

[0027] • MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和OBSCN_B(参见表24,实施例3)。

[0028] 从这499种新的DNA甲基化标志物中,进一步的实验鉴定了以下标志物和/或标志物组,用于检测血液样品(例如,血浆样品、全血样品、白细胞样品、血清样品)中的透明细胞EC:

[0029] • SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、MDFI_B、DLL4、GDF7_A、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2、MMP23B、EMX2OS、MAX.chr17.73073716-

73073814、NBPF8、SEPT9_B、LOC440925_A、STX16_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C和NFIC。

[0030] 从这499种新的DNA甲基化标志物中,进一步的实验鉴定了以下能够区分癌肉瘤EC组织与良性子宫内膜组织的标志物和/或标志物组:

[0031] • EMX2OS、DIDO1_A、SBNO2、AMIGO3_A、PCOLCE、CLDN7、CYTH2、OBSCN_A、AHSA2、DLL4、EMX2、MAX.chr14.74100620-74100870、LRRC4、PPP2R5C_A、SQSTM1、MAX.chr17.73073716-73073814、CYP11A1、ACOXL_A和AIM1_B(参见表5,实施例1);

[0032] • EMX2OS和LRRC34(参见表13,实施例1);

[0033] • ZNF506、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和VILL(参见表18,实施例1);以及

[0034] • TRH、MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和ST3GAL2_B(参见表24,实施例3)。

[0035] 从这499种新的DNA甲基化标志物中,进一步的实验鉴定了以下标志物和/或标志物组,用于检测血液样品(例如,血浆样品、全血样品、白细胞样品、血清样品)中的癌肉瘤EC:

[0036] • SFMBT2_B、SMTN、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC和VILL(参见表13,实施例1)。

[0037] 从这499种新的DNA甲基化标志物中,进一步的实验鉴定了以下能够区分浆液性EC组织与良性子宫内膜组织的标志物和/或标志物组:

[0038] • EMX2OS、KANK1、C1orf70_B、AMIGO3_A、DIDO1_A、LRRC41_C、NFIC、FKBP11_A、C17orf107_A、SMTN、LRRC41_B、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr7.104624356-104624730、MIAT_B(参见表7,实施例1);

[0039] • MAX.chr7.104624356-104624730、EMX2OS和LRRC41_C(参见表12,实施例1);

[0040] • MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、EMX2OS、LRRC41_C和VILL(参见表17,实施例1);以及

[0041] • EMX2OS和LRRC41_D(参见表24,实施例3)。

[0042] 从这499种新的DNA甲基化标志物中,进一步的实验鉴定了以下标志物和/或标志物组,用于检测血液样品(例如,血浆样品、全血样品、白细胞样品、血清样品)中的浆液性EC:

[0043] • SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、CYP11A1、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、GDGF6、DLL4、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MIAT_B、KANK1、EMX2OS、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C、NFIC、VILL、MPZ_A(参见表12,实施例1)。

[0044] 从这499种新的DNA甲基化标志物中,进一步的实验鉴定了以下能够区分子宫内膜样EC组织与良性子宫内膜组织的标志物和/或标志物组:

[0045] • MAX.chr10.130339363-130339534、SFMBT2_C、CYTH2、SLC6A3、VILL、EMX2OS、

MAX.chr10.22624479-22624553、GDF6、ZNF90、ZNF506、JSRP1_A、c5orf52、SFMBT2_B、NBPF8、RHBDL1_A、DIDO1_A、KANK1和GATA2_B(参见表6,实施例1);

[0046] • MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、SBNO2、NBPF8和VILL(参见表14,实施例1);以及

[0047] • SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A(参见表19,实施例1)。

[0048] 从这499种新的DNA甲基化标志物中,进一步的实验鉴定了以下标志物和/或标志物组,用于检测血液样品(例如,血浆样品、全血样品、白细胞样品、血清样品)中的子宫内膜样EC:

[0049] • SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、KANK1、SBNO2、c5orf52、EMX2O6、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC、VILL和MPZ_A(参见表14,实施例1)。

[0050] 从这499种新的DNA甲基化标志物中,进一步的实验鉴定了以下能够区分子宫内膜样EC 1级组织与良性子宫内膜组织的标志物和/或标志物组:

[0051] • TSPYL5、TRH、JAM3、FAM19A5、PTGDR、SFMBT2_E、JSRP1_B和ARL5C(参见表25,实施例3)。

[0052] 从这499种新的DNA甲基化标志物中,进一步的实验鉴定了以下能够区分子宫内膜样EC 2级组织与良性子宫内膜组织的标志物和/或标志物组:

[0053] • TSPYL5、MPZ_B、TRH、CNTN4、FAM19A5、GLT1D1、RYR2_F、PTGDR、EMX2OS、MAX.chr10:22624470-22624553、SPDYA_B、SFMBT2_E和JSRP1_B(参见表25,实施例3)。

[0054] 从这499种新的DNA甲基化标志物中,进一步的实验鉴定了以下能够区分子宫内膜样EC 3级组织与良性子宫内膜组织的标志物和/或标志物组:

[0055] • TSPYL5、MPZ_B、TRH和PTGDR(参见表25,实施例3)。

[0056] 如本文所述,这项技术提供了对EC总体和各种类型EC(例如透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC)具有高辨别力的许多甲基化DNA标志物和其子集(例如,2种、3种、4种、5种、6种、7种或8种标志物的集合)。实验将选择过滤器应用于候选标志物以鉴定提供高信噪比和低背景水平,从而为EC筛查或诊断提供高特异性的标志物。

[0057] 在一些实施方案中,这项技术涉及评估生物样品(例如子宫内膜组织样品、血液样品)中本文鉴定的一种或多种标志物的存在和甲基化状态。这些标志物包含如本文所讨论,例如,如表1、8和21中提供的一个或多个差异甲基化区域(DMR)。在这项技术的实施方案中评估甲基化状态。因此,在测量基因甲基化状态的方法中不限制本文提供的技术。例如,在一些实施方案中,通过基因组扫描方法测量甲基化状态。例如,一种方法涉及限制性界标基因组扫描(Kawai等人(1994)Mol.Cell.Biol.14:7421-7427)并且另一实例涉及甲基化敏感性随机引物PCR(Gonzalgo等人(1997)Cancer Res.57:594-599)。在一些实施方案中,特定CpG位点处甲基化模式的变化通过用甲基化敏感性限制酶消化基因组DNA,随后对感兴趣区

域进行DNA分析(Southern analysis)(消化-DNA法)来监测。在一些实施方案中,分析甲基化模式的变化涉及基于PCR的方法,所述方法涉及在PCR扩增之前用甲基化敏感性限制酶或甲基化依赖性限制酶消化基因组DNA(Singer-Sam等人(1990)Nucl.Acids Res.18:687)。此外,已报告利用亚硫酸氢盐处理DNA作为甲基化分析的起点的其它技术。这些包括甲基化特异性PCR(MSP)(Herman等人(1992)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 93:9821-9826)和从亚硫酸氢盐转化的DNA扩增的PCR产物的限制酶消化(Sadri和Hornsby(1996)Nucl.Acids Res.24:5058-5059;以及Xiong和Laird(1997)Nucl.Acids Res.25:2532-2534)。已开发PCR技术用于检测基因突变(Kuppuswamy等人(1991)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:1143-1147)和定量等位基因特异性表达(Szabo和Mann(1995)Genes Dev.9:3097-3108;以及Singer-Sam等人(1992)PCR Methods Appl.1:160-163)。这类技术使用内部引物,其与PCR生成的模板退火并紧邻待测定的单个核苷酸的5'端终止。如美国专利No.7,037,650中所述的使用"定量Ms-SNuPE测定"的方法用于一些实施方案中。

[0058] 在评估甲基化状态时,甲基化状态通常表示为在特定位点(例如,在单个核苷酸、特定区域或基因座、更长的感兴趣序列,例如,高达约100-bp、200-bp、500-bp、1000-bp的DNA子序列或更长序列)处甲基化的单个DNA链相对于包含该特定位点的样品中的DNA总群体的分数或百分比。传统上,未甲基化核酸的量是通过PCR使用校准器来确定。然后,用亚硫酸氢盐处理已知量的DNA,并使用实时PCR或其它指数扩增,例如QuARTS测定(例如,由美国专利No.8,361,720以及美国专利申请公布No.2012/0122088和2012/0122106提供,以引用的方式并入本文中)来确定所得到的甲基化特异性序列。

[0059] 例如,在一些实施方案中,方法包括通过使用外部标准来生成未甲基化靶标的标准曲线。标准曲线由至少两个点构建,并将未甲基化DNA的实时Ct值与已知的定量标准相关联。然后,由至少两个点和外部标准构建甲基化靶标的第二条标准曲线。这个第二条标准曲线将甲基化DNA的Ct与已知的定量标准相关联。接着,确定甲基化和未甲基化群体的测试样品Ct值,并根据前两个步骤产生的标准曲线计算DNA的基因组当量。感兴趣位点处的甲基化百分比由甲基化DNA的量相对于群体中DNA的总量计算,例如(甲基化DNA的数目)/(甲基化DNA的数目+未甲基化DNA的数目)×100。

[0060] 本文还提供了用于实施所述方法的组合物和试剂盒。例如,在一些实施方案中,对一种或多种标志物具有特异性的试剂(例如,引物、探针)单独或成组提供(例如,用于扩增多个标志物的引物对组)。还可提供用于进行检测测定的额外试剂(例如,用于进行QuARTS、PCR、测序、亚硫酸氢盐或其它测定的酶、缓冲液、阳性和阴性对照)。在一些实施方案中,试剂盒含有能够以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如,甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂)。在一些实施方案中,提供了含有一种或多种对于实施方法而言必需的、足够的或有用的试剂的试剂盒。还提供了含有试剂的反应混合物。还提供了含有多种试剂的预混试剂组,这些试剂可以相互添加和/或添加至测试样品中以完善反应混合物。

[0061] 在一些实施方案中,本文所述的技术与可编程机器相关联,该可编程机器被设计用于执行由本文所述的方法提供的一系列算术或逻辑运算。例如,这项技术的一些实施方案与计算机软件和/或计算机硬件相关联(例如,在其中执行)。在一个方面,这项技术涉及一种计算机,该计算机包括一种形式的存储器、用于执行算术和逻辑运算的元件以及用于

执行一系列指令(例如,本文提供的方法)以读取、操作和存储数据的处理元件(例如,微处理器)。在一些实施方案中,微处理器是系统的一部分,用于:确定甲基化状态(例如,一种或多种DMR,例如表1、8和21中提供的DMR 1-499);比较甲基化状态(例如,一种或多种DMR,例如表1、8和21中提供的DMR 1-499);生成标准曲线;确定Ct值;计算甲基化的分数、频率或百分比(例如,一种或多种DMR,例如表1、8和21中提供的DMR 1-499);鉴定CpG岛;确定测定或标志物的特异性和/或灵敏度;计算ROC曲线和相关的AUC;序列分析;皆如本文所述或本领域已知。

[0062] 在一些实施方案中,微处理器或计算机在算法中使用甲基化状态数据来预测癌症部位。

[0063] 在一些实施方案中,软件或硬件组件接收多个测定的结果并基于多个测定的结果确定单个值结果以向用户报告,指示癌症风险(例如,确定如表2、18和26中提供的多个DMR的甲基化状态)。相关实施方案基于来自多个测定的结果的数学组合(例如加权组合、线性组合)计算风险因子,例如确定多个标志物(例如,如表1、8和21中提供的多个DMR)的甲基化状态。在一些实施方案中,DMR的甲基化状态定义了一个维度并且可以在多维空间中具有值并且由多个DMR的甲基化状态定义的坐标是例如向用户报告的结果,例如与癌症相关风险。

[0064] 一些实施方案包含存储媒体和存储器组件。存储器组件(例如,易失性和/或非易失性存储器)可用于存储指令(例如,如本文提供的方法的实施方案)和/或数据(例如工件,例如甲基化测量、序列和与之相关的统计描述)。一些实施方案涉及还包括CPU、图形卡和用户界面(例如,包括例如显示器的输出装置和例如键盘的输入装置)中的一个或多个的系统。

[0065] 与这项技术相关的可编程机器包括常规的现存技术和正在开发或有待开发的技术(例如,量子计算机、化学计算机、DNA计算机、光学计算机、基于自旋电子学的计算机等)。

[0066] 在一些实施方案中,这项技术包含用于传输数据的有线(例如,金属电缆、光纤)或无线传输媒体。例如,一些实施方案涉及通过网络(例如,局域网(LAN)、广域网(WAN)、自组织网络、互联网等)进行数据传输。在一些实施方案中,可编程机器作为对等体存在于这样的网络上,并且在一些实施方案中可编程机器具有客户端/服务器关系。

[0067] 在一些实施方案中,数据存储在例如硬盘、闪存、光学媒体、软盘等计算机可读存储媒体上。

[0068] 在一些实施方案中,本文提供的技术与协同操作以执行如本文所述的方法的多个可编程装置相关联。例如,在一些实施方案中,多台计算机(例如,通过网络连接)可以并行工作以收集和处理数据,例如,在集群计算或网格计算或一些其它依赖于完整计算机(具有板载CPU、存储器、电源、网络接口等)通过常规网络接口(例如以太网、光纤)或无线网络技术连接到网络(私有、公共或互联网)的分布式计算机架构的执行中。

[0069] 例如,一些实施方案提供了一种包括计算机可读媒体的计算机。该实施方案包括耦合到处理器的随机存取存储器(RAM)。处理器执行被存储在存储器中的计算机可执行程序指令。这样的处理器可以包括微处理器、ASIC、状态机或其它处理器,并且可以是多种计算机处理器中的任一种,例如来自Santa Clara(California)的Intel公司和Schaumburg(Illinois)的Motorola公司的处理器。这样的处理器包括或可以与媒体,例如计算机可读媒体通信,所述媒体存储指令,在由处理器执行时,这些指令使处理器执行本文所述的步

骤。

[0070] 计算机可读媒体的实施方案包括但不限于能够为处理器提供计算机可读指令的电子、光学、磁性或其它存储或传输装置。合适媒体的其它实例包括但不限于软盘、CD-ROM、DVD、磁盘、存储芯片、ROM、RAM、ASIC、配置的处理器、所有光学媒体、所有磁带或其它磁性媒体,或计算机处理器可以从中读取指令的任何其它媒体。此外,各种其它形式的计算机可读媒体可以向计算机传输或携带指令,包括路由器、私有或公共网络、或其它有线和无线传输装置或信道。指令可以包含来自任何合适的计算机编程语言的代码,包括例如C、C++、C#、Visual Basic、Java、Python、Perl和JavaScript。

[0071] 在一些实施方案中,计算机连接到网络。计算机还可能包括许多外部或内部装置,例如鼠标、CD-ROM、DVD、键盘、显示器或其它输入或输出装置。计算机的实例是个人计算机、数字助理、个人数字助理、蜂窝电话、移动电话、智能电话、寻呼机、数字平板电脑、膝上型计算机、互联网设备和其它基于处理器的装置。一般来说,与本文提供的技术的各方面相关的计算机可以是在任何操作系统上操作的任何类型的基于处理器的平台,例如Microsoft Windows、Linux、UNIX、Mac OS X等,能够支持一个或多个包含本文提供的技术的程序。一些实施方案包括执行其它应用程序(例如,应用程序)的个人计算机。应用程序可以含在存储器中并且可以包括例如文字处理应用程序、电子表格应用程序、电子邮件应用程序、即时消息应用程序、演示应用程序、因特网浏览器应用程序、日历/组织器应用程序和任何其它能够由客户端装置执行的应用程序。

[0072] 本文所述的与这项技术相关联的所有这类组件、计算机和系统可以是逻辑的或虚拟的。

[0073] 因此,本文提供了与从受试者获得的样品中筛查EC和/或各种形式的EC(例如,透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC)的方法相关的技术,所述方法包括测定从受试者获得的样品(例如子宫内膜组织)(例如血液样品)中标志物的甲基化状态,并且当标志物的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的标志物的甲基化状态时,将所述受试者鉴定为患有EC和/或特定形式的EC,其中标志物包含差异甲基化区域(DMR)中的碱基,所述DMR选自由表1、8和21中提供的DMR 1-499组成的组。

[0074] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有EC:AFF3、AIM1_A、AMIGO3_A、BMP4_B、C17orf107_A、C1orf70_B、C5orf52、CLDN7、DIDO1_A、EEF1A2、EMX2OS、FEV、FKBP11_A、GDF6、GDF7_A、JSRP1_A、KCTD15_A、KLHL21、LRRC8D_A、NBPF8、MAX.chr10.130339363-130339534、MAX.chr10.22624479-22624553、MAX.chr14.103021656-103021718、MAX.chr8.145103829-145103992、MAX.chr8.145104263-145104422、MDFI_B、MIAT_A、MMP23B、NDRG2、OBSCN_A、PCOLCE、PYCARD、SEPT9_B、SLC6A3_A、SLC8A3_B、SQSTM1、VILL、ZNF302、ZNF323_A、ZNF506和ZNF90(参见表2,实施例1)。

[0075] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有EC:EMX2OS、CYTH2、C17orf107_A、DIDO1_A、GDF6、NBPF8、MAX.chr14.103021656-103021718、JSRP1_A、GATA2_B和SFMBT2_B(参见表3,实施例1)。

[0076] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有EC:SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A(参见表15,实施例1)。

[0077] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有EC:EMX2OS、CYTH2、NBPF8、MAX.chr10.22624479-22624553(参见表20,实施例1)。

[0078] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是血液样品(例如,血浆样品、全血样品、白细胞样品、血清样品)并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有EC:ANKRD35、ARL5C、ARRB1、BCL2L11_A、BCL2L11_B、BCL2L11_C、BZRAP1、C16orf54、C17orf101、C6orf132、CACNA2D4、DEDD2、EPS15L1、FAIM2、FAM125B、FAM189B、FAM78A、FOXP4、GYPC_A、GYPC_B、IFFO1_A、IFFO1_B、ITPKA、KLF16、LIMD2、LOC389333、LOC440925_A、LOC646278、LYL1、LYPLAL1、MAX.chr11.32355226-32355251、MAX.chr14.102172621-102172686、MAX.chr14.105512122-105512239、MAX.chr15.95128144-95128248、MAX.chr16.11327016-11327312、MAX.chr3.187676577-187676668、MAX.chr4.174430676-174430847、MAX.chr8.145900783-145900914、MAX.chr8.80804237-80804301、N4BP3、NCOR2、NFATC1_A、NFATC1_B、NKX2-6、NR2F6、OSM、PALLD_C、PIK3CD、PRKAR1B、RAD52、STX16_A、SUCLG2、TNFRSF1B、TNFRSF4、ZDHHC18和ZNF671_A(参见表9,实施例1)。

[0079] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有透明细胞EC:DIDO1_A、NDRG4、MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、EMX2OS、SEPT9_B、NBPF8、EEF1A2、AIM1_A、BMP4_B、MAX.chr8.145103829-145103992、OBSCN、PYCARD、GDF6、MDFI_B、MIAT_A、SCL8A3、ZNF323_A、SQSTM1、AFF3、C1orf70、GDF7_A、JSRP1_A、LRRC8D_A、FEV和MAX.chr8.145104263-145104422(参见表4,实施例1)。

[0080] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有透明细胞EC:ZNF323_A、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、DIDO1_A、MDFI_B、MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、SEPT9_B和STX16_A(参见表11,实施例1)。

[0081] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有透明细胞EC:SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MDFI_B、GDF7_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、SEPT9_B、EEF1A2、LRRC41_C、VILL和MPZ_A(参见表16,实施例1)。

[0082] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有透明细胞EC:MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和OBSCN_B(参见表24,实施例3)。

[0083] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是血液样品(例如,血浆样品、全血样品、白细胞样品、血清样品)并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有透明细胞EC:SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、MDFI_B、DLL4、GDF7_A、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2、MMP23B、EMX2OS、MAX.chr17.73073716-73073814、NBPF8、SEPT9_B、LOC440925_A、STX16_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C和NFIC。

[0084] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有癌肉瘤EC:EMX2OS、DIDO1_A、SBNO2、AMIGO3_A、PCOLCE、CLDN7、CYTH2、OBSCN_A、AHSA2、DLL4、EMX2、MAX.chr14.74100620-74100870、LRRC4、PPP2R5C_A、SQSTM1、MAX.chr17.73073716-73073814、CYP11A1、ACOXL_A和AIM1_B(参见表5,实施例1)。

[0085] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有癌肉瘤EC:EMX2OS和LRRC34(参见表13,实施例1)。

[0086] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有癌肉瘤EC:ZNF506、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和VILL(参见表18,实施例1)。

[0087] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有癌肉瘤EC:TRH、MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和ST3GAL2_B(参见表24,实施例3)。

[0088] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是血液样品(例如,血浆样品、全血样品、白细胞样品、血清样品)并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有癌肉瘤EC:SFMBT2_B、SMTN、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC和VILL(参见表13,实施例1)。

[0089] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中

的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有浆液性EC:EMX2OS、KANK1、C1orf70_B、AMIGO3_A、DIDO1_A、LRRC41_C、NFIC、FKBP11_A、C17orf107_A、SMTN、LRRC41_B、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr7.104624356-104624730、MIAT_B(参见表7,实施例1)。

[0090] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有浆液性EC:MAX.chr7.104624356-104624730、EMX2OS和LRRC41_C(参见表12,实施例1)。

[0091] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有浆液性EC:MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、EMX2OS、LRRC41_C和VILL(参见表17,实施例1)。

[0092] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有浆液性EC:EMX2OS和LRRC41_D(参见表24,实施例3)。

[0093] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是血液样品(例如,血浆样品、全血样品、白细胞样品、血清样品)并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有浆液性EC:SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、CYP11A1、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、GDGF6、DLL4、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MIAT_B、KANK1、EMX2OS、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C、NFIC、VILL、MPZ_A(参见表12,实施例1)。

[0094] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有子宫内膜样EC:MAX.chr10.130339363-130339534、SFMBT2_C、CYTH2、SLC6A3、VILL、EMX2OS、MAX.chr10.22624479-22624553、GDF6、ZNF90、ZNF506、JSRP1_A、c5orf52、SFMBT2_B、NBPF8、RHBDL1_A、DIDO1_A、KANK1和GATA2_B(参见表6,实施例1)。

[0095] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有子宫内膜样EC:MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、SBNO2、NBPF8和VILL(参见表14,实施例1)。

[0096] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有子宫内膜样EC:SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A(参见表19,实施例1)。

[0097] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是血液样品(例如,血浆样品、全血

样品、白细胞样品、血清样品)并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有子宫内膜样EC:SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、KANK1、SBNO2、c5orf52、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC、VILL和MPZ_A(参见表14,实施例1)。

[0098] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有子宫内膜样1级EC:TSPYL5、TRH、JAM3、FAM19A5、PTGDR、SFMBT2_E、JSRP1_B和ARL5C(参见表25,实施例3)。

[0099] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有子宫内膜样2级EC:TSPYL5、MPZ_B、TRH、CNTN4、FAM19A5、GLT1D1、RYR2_F、PTGDR、EMX2OS、MAX.chr10:22624470-22624553、SPDYA_B、SFMBT2_E和JSRP1_B(参见表25,实施例3)。

[0100] 在一些实施方案中,其中从受试者获得的样品是子宫内膜组织并且以下标志物中的一种或多种的甲基化状态不同于在未患EC的受试者中测定的一种或多种标志物的甲基化状态指示所述受试者患有子宫内膜样3级EC:TSPYL5、MPZ_B、TRH和PTGDR(参见表25,实施例3)。

[0101] 这项技术涉及鉴定和区分EC和/或各种形式的EC(例如,透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC)。一些实施方案提供了包括测定多种标志物,例如包括测定2种至11种至100种或120种或499种标志物的方法。

[0102] 这项技术不限于所评估的甲基化状态。在一些实施方案中,评估样品中标志物的甲基化状态包括确定一种碱基的甲基化状态。在一些实施方案中,测定样品中标志物的甲基化状态包括确定多种碱基的甲基化程度。此外,在一些实施方案中,标志物的甲基化状态包含相对于标志物的正常甲基化状态增加的标志物甲基化。在一些实施方案中,标志物的甲基化状态包含相对于标志物的正常甲基化状态减少的标志物甲基化。在一些实施方案中,标志物的甲基化状态包含相对于标志物的正常甲基化状态不同的标志物甲基化模式。

[0103] 此外,在一些实施方案中,标志物是100个或更少碱基的区域,标志物是500个或更少碱基的区域,标志物是1000个或更少碱基的区域,标志物是5000个或更少碱基的区域,或在一些实施方案中,标志物是一个碱基。在一些实施方案中,标志物在高CpG密度启动子中。

[0104] 这项技术不受样品类型的限制。例如,在一些实施方案中,样品是粪便样品、组织样品(例如子宫内膜组织样品)、血液样品(例如血浆、白细胞、血清、全血)、排泄物或尿液样品。

[0105] 此外,在用于确定甲基化状态的方法中不限制这项技术。在一些实施方案中,分析包括使用甲基化特异性聚合酶链式反应、核酸测序、质谱法、甲基化特异性核酸酶、基于质量的分离或靶标捕获。在一些实施方案中,测定包括使用甲基化特异性寡核苷酸。在一些实

施方案中,这项技术使用大规模平行测序(例如,下一代测序)来确定甲基化状态,例如,边合成边测序、实时(例如,单分子)测序、珠乳液测序(bead emulsion sequencing)、纳米孔测序等。

[0106] 这项技术提供了用于检测DMR的试剂,例如,在一些实施方案中提供了一组寡核苷酸,其包含由SEQ ID NO:1-499提供的序列(参见表1、8和21)。在一些实施方案中,提供了包含与在DMR中具有碱基的染色体区域互补的序列的寡核苷酸,例如对DMR的甲基化状态敏感的寡核苷酸。

[0107] 这项技术提供了用于鉴定EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:AFF3、AIM1_A、AMIGO3_A、BMP4_B、C17orf107_A、C1orf70_B、C5orf52、CLDN7、DIDO1_A、EEF1A2、EMX2OS、FEV、FKBP11_A、GDF6、GDF7_A、JSRP1_A、KCTD15_A、KLHL21、LRRC8D_A、NBPF8、MAX.chr10.130339363-130339534、MAX.chr10.22624479-22624553、MAX.chr14.103021656-103021718、MAX.chr8.145103829-145103992、MAX.chr8.145104263-145104422、MDFI_B、MIAT_A、MMP23B、NDRG2、OBSCN_A、PCOLCE、PYCARD、SEPT9_B、SLC6A3_A、SLC8A3_B、SQSTM1、VILL、ZNF302、ZNF323_A、ZNF506和ZNF90(参见表2,实施例1)。

[0108] 这项技术提供了用于鉴定EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:EMX2OS、CYTH2、C17orf107_A、DIDO1_A、GDF6、NBPF8、MAX.chr14.103021656-103021718、JSRP1_A、GATA2_B和SFMBT2_B(参见表3,实施例1)。

[0109] 这项技术提供了用于鉴定EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A(参见表15,实施例1)。

[0110] 这项技术提供了用于鉴定EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:EMX2OS、CYTH2、NBPF8、MAX.chr10.22624479-22624553(参见表20,实施例1)。

[0111] 这项技术提供了用于鉴定EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:ANKRD35、ARL5C、ARRB1、BCL2L11_A、BCL2L11_B、BCL2L11_C、BZRAP1、C16orf54、C17orf101、C6orf132、CACNA2D4、DEDD2、EPS15L1、FAIM2、FAM125B、FAM189B、FAM78A、FOXP4、GYPC_A、GYPC_B、IFFO1_A、IFFO1_B、ITPKA、KLF16、LIMD2、LOC389333、LOC440925_A、LOC646278、LYL1、LYPLAL1、MAX.chr11.32355226-32355251、MAX.chr14.102172621-102172686、MAX.chr14.105512122-105512239、MAX.chr15.95128144-95128248、MAX.chr16.11327016-11327312、MAX.chr3.187676577-187676668、MAX.chr4.174430676-174430847、MAX.chr8.145900783-145900914、MAX.chr8.80804237-80804301、N4BP3、NCOR2、NFATC1_A、NFATC1_B、NKX2-6、NR2F6、OSM、PALLD_C、PIK3CD、PRKAR1B、RAD52、STX16_A、SUCLG2、TNFRSF1B、TNFRSF4、ZDHHC18和ZNF671_A(参见表9,实施例1)。

[0112] 这项技术提供了用于鉴定透明细胞EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:DIDO1_A、NDRG4、MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、EMX2OS、SEPT9_B、NBPF8、EEF1A2、AIM1_A、BMP4_B、

MAX.chr8.145103829-145103992、OBSCN、PYCARD、GDF6、MDFI_B、MIAT_A、SCL8A3、ZNF323_A、SQSTM1、AFF3、C1orf70、GDF7_A、JSRP1_A、LRRC8D_A、FEV和MAX.chr8.145104263-145104422(参见表4,实施例1)。

[0113] 这项技术提供了用于鉴定透明细胞EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:ZNF323_A、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、DIDO1_A、MDFI_B、MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、SEPT9_B和STX16_A(参见表11,实施例1)。

[0114] 这项技术提供了用于鉴定透明细胞EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MDFI_B、GDF7_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、SEPT9_B、EEF1A2、LRRC41_C、VILL和MPZ_A(参见表16,实施例1)。

[0115] 这项技术提供了用于鉴定透明细胞EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和OBSCN_B(参见表24,实施例3)。

[0116] 这项技术提供了用于鉴定透明细胞EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、MDFI_B、DLL4、GDF7_A、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2、MMP23B、EMX2OS、MAX.chr17.73073716-73073814、NBPF8、SEPT9_B、LOC440925_A、STX16_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C和NFIC(参见表11,实施例1)。

[0117] 这项技术提供了用于鉴定癌肉瘤EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:EMX2OS、DIDO1_A、SBNO2、AMIGO3_A、PCOLCE、CLDN7、CYTH2、OBSCN_A、AHSA2、DLL4、EMX2、MAX.chr14.74100620-74100870、LRRC4、PPP2R5C_A、SQSTM1、MAX.chr17.73073716-73073814、CYP11A1、ACOXL_A和AIM1_B(参见表5,实施例1)。

[0118] 这项技术提供了用于鉴定癌肉瘤EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:EMX2OS和LRRC34(参见表13,实施例1)。

[0119] 这项技术提供了用于鉴定癌肉瘤EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:ZNF506、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和VILL(参见表18,实施例1)。

[0120] 这项技术提供了用于鉴定癌肉瘤EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:TRH、MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和ST3GAL2_B(参见表24,实施例3)。

[0121] 这项技术提供了用于鉴定癌肉瘤EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:SFMBT2_B、SMTN、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、

MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC和VILL(参见表13,实施例1)。

[0122] 这项技术提供了用于鉴定浆液性EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:EMX2OS、KANK1、C1orf70_B、AMIGO3_A、DIDO1_A、LRRC41_C、NFIC、FKBP11_A、C17orf107_A、SMTN、LRRC41_B、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr7.104624356-104624730、MIAT_B(参见表7,实施例1)。

[0123] 这项技术提供了用于鉴定浆液性EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:MAX.chr7.104624356-104624730、EMX2OS和LRRC41_C(参见表12,实施例1)。

[0124] 这项技术提供了用于鉴定浆液性EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、EMX2OS、LRRC41_C和VILL(参见表17,实施例1)。

[0125] 这项技术提供了用于鉴定浆液性EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:EMX2OS和LRRC41_D(参见表24,实施例3)。

[0126] 这项技术提供了用于鉴定浆液性EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、CYP11A1、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、GDGF6、DLL4、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MIAT_B、KANK1、EMX2OS、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C、NFIC、VILL、MPZ_A(参见表12,实施例1)。

[0127] 这项技术提供了用于鉴定子宫内膜样EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:MAX.chr10.130339363-130339534、SFMBT2_C、CYTH2、SLC6A3、VILL、EMX2OS、MAX.chr10.22624479-22624553、GDF6、ZNF90、ZNF506、JSRP1_A、c5orf52、SFMBT2_B、NBPF8、RHBDL1_A、DIDO1_A、KANK1和GATA2_B(参见表6,实施例1)。

[0128] 这项技术提供了用于鉴定子宫内膜样EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、SBNO2、NBPF8和VILL(参见表14,实施例1)。

[0129] 这项技术提供了用于鉴定子宫内膜样EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A(参见表19,实施例1)。

[0130] 这项技术提供了用于鉴定子宫内膜样EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、KANK1、SBNO2、c5orf52、EMX2O6、LRRC34、NBPF8、

LOC440925_A、ITPKA、NFIC、VILL和MPZ_A(参见表14,实施例1)。

[0131] 这项技术提供了用于鉴定子宫内膜样1级EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:TSPYL5、TRH、JAM3、FAM19A5、PTGDR、SFMBT2_E、JSRP1_B和ARL5C(参见表25,实施例3)。

[0132] 这项技术提供了用于鉴定子宫内膜样2级EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:TSPYL5、MPZ_B、TRH、CNTN4、FAM19A5、GLT1D1、RYR2_F、PTGDR、EMX2OS、MAX.chr10:22624470-22624553、SPDYA_B、SFMBT2_E和JSRP1_B(参见表25,实施例3)。

[0133] 这项技术提供了用于鉴定子宫内膜样3级EC的各种标志物组,例如,在一些实施方案中,标志物包含具有如下注释的染色体区域:TSPYL5、MPZ_B、TRH和PTGDR(参见表25,实施例3)。

[0134] 提供了试剂盒实施方案,例如一种试剂盒,所述试剂盒包括能够以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如,甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂);以及对照核酸,所述对照核酸包含来自选自由DMR 1-499(来自表1、8和21)组成的组的DMR的序列并且具有与未患EC的受试者相关的甲基化状态。在一些实施方案中,试剂盒包括亚硫酸氢盐试剂和如本文所述的寡核苷酸。在一些实施方案中,试剂盒包括能够以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如,甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂);以及对照核酸,所述对照核酸包含来自选自由DMR 1-499(来自表1、8和21)组成的组的DMR的序列并且具有与患有EC的受试者相关的甲基化状态。一些试剂盒实施例包括用于从受试者获得样品(例如,粪便样品;子宫内膜组织样品;血液样品)的样品收集器;能够以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如,甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂);以及如本文所述的寡核苷酸。

[0135] 这项技术涉及组合物(例如,反应混合物)的实施方案。在一些实施方案中,提供了一种组合物,所述组合物包含:包含DMR的核酸,以及能够以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如,甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂)。一些实施方案提供包含核酸的组合物,所述核酸包含DMR和如本文所述的寡核苷酸。一些实施方案提供包含核酸的组合物,所述核酸包含DMR和甲基化敏感性限制酶。一些实施方案提供包含核酸的组合物,所述核酸包含DMR和聚合酶。

[0136] 提供了额外的相关方法实施方案,用于筛查从受试者获得的样品(例如,子宫内膜组织样品;血液样品;粪便样品)中的EC和/或各种形式的EC(例如,透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC),例如一种方法,所述方法包括确定样品中的标志物的甲基化状态,所述标志物包含如DMR 1-499(来自表1、8和21)中的一个或多个的DMR中的碱基;将来自受试者样品的标志物的甲基化状态与来自未患EC(例如,EC、透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC)的受试者的正常对照样品的标志物的甲基化状态进行比较;以及确定受试样品和正常对照样品的甲基化状态差异的置信区间和/或p值。在一些实施方案中,置信区间为90%、95%、97.5%、98%、99%、99.5%、99.9%或99.99%,并且p值为0.1、0.05、0.025、0.02、0.01、0.005、0.001或0.0001。方法的一些实施方案提供了使包含DMR的核酸与能够以甲基化特异性方式修饰核酸的试剂(例如,甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂)反应的步骤,以产生例如以甲基化特异性方式修饰的核酸;对以甲基

化特异性方式修饰的核酸进行测序,以提供以甲基化特异性方式修饰的核酸的核苷酸序列;将以甲基化特异性方式修饰的核酸的核苷酸序列与来自未患EC和/或一种形式的EC的受试者的包含DMR的核酸的核苷酸序列进行比较,以鉴定这两个序列的差异;以及当存在差异时,将受试者鉴定为患有EC(例如,EC和/或一种形式的EC:透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC)。

[0137] 这项技术提供了用于筛查从受试者获得的样品中的EC的系统。系统的示例性实施方案包括例如用于筛查从受试者获得的样品(例如子宫内膜组织样品;血浆样品;粪便样品)中的EC和/或和/或EC类型(例如透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC)的系统,该系统包括:分析组件,所述分析组件被配置用于确定样品的甲基化状态;软件组件,所述软件组件被配置用于将样品的甲基化状态与数据库中记录的对照样品或参考样品甲基化状态进行比较;以及警报组件,所述警报组件被配置用于向用户发出关于EC相关的甲基化状态的警报。在一些实施方案中,警报由软件组件确定,所述软件组件接收多个测定的结果(例如,确定多种标志物,如例如表1、8和21中提供的DMR的甲基化状态)并基于多个结果计算值或结果以进行报告。一些实施例提供与本文提供的每个DMR相关联的加权参数的数据库,用于计算值或结果和/或警报以向用户(例如,如医师、护士、临床医生等)报告。在一些实施方案中,报告了来自多个测定的所有结果,并且在一些实施方案中,一个或多个结果用于提供评分、值或结果,所述评分、值或结果基于来自多个测定的一个或多个结果的复合物,其指示受试者中的癌症风险。

[0138] 在系统的一些实施方案中,样品包含含有DMR的核酸。在一些实施方案中,该系统还包括用于分离核酸的组件、用于收集样品的组件,例如用于收集粪便样品的组件。在一些实施方案中,系统包含含有DMR的核酸序列。在一些实施方案中,数据库包含来自未患EC和/或特定类型EC(例如,透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC)的受试者的核酸序列。还提供了核酸,例如一组核酸,每个核酸具有包含DMR的序列。在一些实施方案中,该组核酸中每个核酸具有来自未患EC和/或特定类型EC的受试者的序列。相关系统实施方案包括如所述的一组核酸和与该组核酸相关的核酸序列数据库。一些实施方案还包括能够以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如,甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂)。并且,一些实施方案还包括核酸测序仪。

[0139] 在某些实施方案中,提供了用于表征来自人类患者的样品(例如,子宫内膜组织样品;血液样品;粪便样品)的方法。例如,在一些实施方案中,这类实施方案包括从人类患者的样品获得DNA;测定DNA甲基化标志物的甲基化状态,所述DNA甲基化标志物包含选自由表1、8和21的DMR 1-499组成的组的差异甲基化区域(DMR)中的碱基;以及将一种或多种DNA甲基化标志物的所测定的甲基化状态与未患EC和/或特定类型EC(例如,透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC,浆液性EC)的人类患者的一种或多种DNA甲基化标志物的甲基化水平参考进行比较。

[0140] 这类方法不限于来自人类患者的特定类型的样品。在一些实施方案中,样品是子宫内膜组织样品。在一些实施方案中,样品是血浆样品。在一些实施方案中,样品是粪便样品、组织样品、子宫内膜组织样品、血液样品(例如白细胞样品、血浆样品、全血样品、血清样品)或尿液样品。

[0141] 在一些实施方案中,这类方法包括测定多种DNA甲基化标志物。在一些实施方案

中,这类方法包括测定2至11种DNA甲基化标志物。在一些实施方案中,这类方法包括测定12至120种DNA甲基化标志物。在一些实施方案中,这类方法包括测定2至499种DNA甲基化标志物。在一些实施方案中,这类方法包括测定样品中的一种或多种DNA甲基化标志物的甲基化状态,包括确定一种碱基的甲基化状态。在一些实施方案中,这类方法包括测定样品中的一种或多种DNA甲基化标志物的甲基化状态,包括确定多种碱基处的甲基化程度。在一些实施方案中,这类方法包括测定正向链的甲基化状态或测定反向链的甲基化状态。

[0142] 在一些实施方案中,DNA甲基化标志物是100个或更少碱基的区域。在一些实施方案中,DNA甲基化标志物是500个或更少碱基的区域。在一些实施方案中,DNA甲基化标志物是1000个或更少碱基的区域。在一些实施方案中,DNA甲基化标志物是5000个或更少碱基的区域。在一些实施方案中,DNA甲基化标志物是一个碱基。在一些实施方案中,DNA甲基化标志物在高CpG密度启动子中。

[0143] 在一些实施方案中,分析包括使用甲基化特异性聚合酶链式反应、核酸测序、质谱法、甲基化特异性核酸酶、基于质量的分离或靶标捕获。

[0144] 在一些实施方案中,测定包括使用甲基化特异性寡核苷酸。在一些实施方案中,甲基化特异性寡核苷酸选自由SEQ ID NO:1-499(表1、8和21)组成的组。

[0145] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:AFF3、AIM1_A、AMIGO3_A、BMP4_B、C17orf107_A、C1orf70_B、C5orf52、CLDN7、DIDO1_A、EEF1A2、EMX2OS、FEV、FKBP11_A、GDF6、GDF7_A、JSRP1_A、KCTD15_A、KLHL21、LRRC8D_A、NBPF8、MAX.chr10.130339363-130339534、MAX.chr10.22624479-22624553、MAX.chr14.103021656-103021718、MAX.chr8.145103829-145103992、MAX.chr8.145104263-145104422、MDFI_B、MIAT_A、MMP23B、NDRG2、OBSCN_A、PCOLCE、PYCARD、SEPT9_B、SLC6A3_A、SLC8A3_B、SQSTM1、VILL、ZNF302、ZNF323_A、ZNF506和ZNF90(参见表2,实施例1)。

[0146] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:EMX2OS、CYTH2、C17orf107_A、DIDO1_A、GDF6、NBPF8、MAX.chr14.103021656-103021718、JSRP1_A、GATA2_B和SFMBT2_B(参见表3,实施例1)。

[0147] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A(参见表15,实施例1)。

[0148] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:EMX2OS、CYTH2、NBPF8、MAX.chr10.22624479-22624553(参见表20,实施例1)。

[0149] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:ANKRD35、ARL5C、ARRB1、BCL2L11_A、BCL2L11_B、BCL2L11_C、BZRAP1、C16orf54、C17orf101、C6orf132、CACNA2D4、DEDD2、EPS15L1、FAIM2、FAM125B、FAM189B、FAM78A、FOXP4、GYPC_A、GYPC_B、IFFO1_A、IFFO1_B、ITPKA、KLF16、LIMD2、LOC389333、LOC440925_A、LOC646278、LYL1、LYPLAL1、MAX.chr11.32355226-32355251、MAX.chr14.102172621-102172686、MAX.chr14.105512122-105512239、MAX.chr15.95128144-95128248、MAX.chr16.11327016-11327312、MAX.chr3.187676577-187676668、MAX.chr4.174430676-

174430847、MAX.chr8.145900783-145900914、MAX.chr8.80804237-80804301、N4BP3、NCOR2、NFATC1_A、NFATC1_B、NKX2-6、NR2F6、OSM、PALLD_C、PIK3CD、PRKAR1B、RAD52、STX16_A、SUCLG2、TNFRSF1B、TNFRSF4、ZDHHC18和ZNF671_A(参见表9,实施例1)。

[0150] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:DIDO1_A、NDRG4、MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、EMX2OS、SEPT9_B、NBPF8、EEF1A2、AIM1_A、BMP4_B、MAX.chr8.145103829-145103992、OBSCN、PYCARD、GDF6、MDFI_B、MIAT_A、SCL8A3、ZNF323_A、SQSTM1、AFF3、C1orf70、GDF7_A、JSRP1_A、LRRC8D_A、FEV和MAX.chr8.145104263-145104422(参见表4,实施例1)。

[0151] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:ZNF323_A、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、DIDO1_A、MDFI_B、MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、SEPT9_B和STX16_A(参见表11,实施例1)。

[0152] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MDFI_B、GDF7_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、SEPT9_B、EEF1A2、LRRC41_C、VILL和MPZ_A(参见表16,实施例1)。

[0153] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和OBSCN_B(参见表24,实施例3)。

[0154] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、MDFI_B、DLL4、GDF7_A、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2、MMP23B、EMX2OS、MAX.chr17.73073716-73073814、NBPF8、SEPT9_B、LOC440925_A、STX16_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C和NFIC(参见表11,实施例1)。

[0155] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:EMX2OS、DIDO1_A、SBNO2、AMIGO3_A、PCOLCE、CLDN7、CYTH2、OBSCN_A、AHSA2、DLL4、EMX2、MAX.chr14.74100620-74100870、LRRC4、PPP2R5C_A、SQSTM1、MAX.chr17.73073716-73073814、CYP11A1、ACOXL_A和AIM1_B(参见表5,实施例1)。

[0156] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:EMX2OS和LRRC34(参见表13,实施例1)。

[0157] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:ZNF506、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和VILL(参见表18,实施例1)。

[0158] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:TRH、MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和ST3GAL2_B(参见表24,实施例3)。

[0159] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:SFMBT2_B、SMTN、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC和VILL(参见表13,实施例1)。

[0160] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:EMX2OS、KANK1、C1orf70_B、AMIGO3_A、DIDO1_A、LRRC41_C、NFIC、FKBP11_A、C17orf107_A、SMTN、LRRC41_B、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr7.104624356-104624730、MIAT_B(参见表7,实施例1)。

[0161] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:MAX.chr7.104624356-104624730、EMX2OS和LRRC41_C(参见表12,实施例1)。

[0162] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、EMX2OS、LRRC41_C和VILL(参见表17,实施例1)。

[0163] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:EMX2OS和LRRC41_D(参见表24,实施例3)。

[0164] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、CYP11A1、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、GDGF6、DLL4、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MIAT_B、KANK1、EMX2OS、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C、NFIC、VILL、MPZ_A(参见表12,实施例1)。

[0165] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:MAX.chr10.130339363-130339534、SFMBT2_C、CYTH2、SLC6A3、VILL、EMX2OS、MAX.chr10.22624479-22624553、GDF6、ZNF90、ZNF506、JSRP1_A、c5orf52、SFMBT2_B、NBPF8、RHBDL1_A、DIDO1_A、KANK1和GATA2_B(参见表6,实施例1)。

[0166] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、SBNO2、NBPF8和VILL(参见表14,实施例1)。

[0167] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A(参见表19,实施例1)。

[0168] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、

KANK1、SBNO2、c5orf52、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC、VILL和MPZ_A(参见表14,实施例1)。

[0169] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:TSPYL5、TRH、JAM3、FAM19A5、PTGDR、SFMBT2_E、JSRP1_B和ARL5C(参见表25,实施例3)。

[0170] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:TSPYL5、MPZ_B、TRH、CNTN4、FAM19A5、GLT1D1、RYR2_F、PTGDR、EMX2OS、MAX.chr10:22624470-22624553、SPDYA_B、SFMBT2_E和JSRP1_B(参见表25,实施例3)。

[0171] 在一些实施方案中,具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域构成DNA甲基化标志物:TSPYL5、MPZ_B、TRH和PTGDR(参见表25,实施例3)。

[0172] 在一些实施方案中,这类方法包括确定两种DNA甲基化标志物的甲基化状态。在一些实施方案中,这类方法包括确定在表1、8和/或21的一行中提供的一对DNA甲基化标志物的甲基化状态。

[0173] 在某些实施方案中,这项技术提供了用于表征从人类患者获得的样品(例如,子宫内膜组织样品;白细胞样品;血浆样品;全血样品;血清样品;粪便样品)的方法。这类方法包括确定样品中的DNA甲基化标志物的甲基化状态,所述DNA甲基化标志物包含选自由表1、8或21的DMR 1-499组成的组的DMR中的碱基;将来自患者样品的DNA甲基化标志物的甲基化状态与来自未患EC和/或特定形式EC(例如,透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC)的人类受试者的正常对照样品的DNA甲基化标志物的甲基化状态进行比较;以及确定人类患者和正常对照样品的甲基化状态差异的置信区间和/或p值。在一些实施方案中,置信区间为90%、95%、97.5%、98%、99%、99.5%、99.9%或99.99%,并且p值为0.1、0.05、0.025、0.02、0.01、0.005、0.001或0.0001。

[0174] 在某些实施方案中,这项技术提供了用于表征从人类受试者获得的样品(例如,子宫内膜组织样品;白细胞样品;血浆样品;全血样品;血清样品;粪便样品)的方法,所述方法包括使包含DMR的核酸与能够以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如,甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂)反应,以产生以甲基化特异性方式修饰的核酸;对以甲基化特异性方式修饰的核酸进行测序,以提供以甲基化特异性方式修饰的核酸的核苷酸序列;将以甲基化特异性方式修饰的核酸的核苷酸序列与来自未患EC的受试者的包含DMR的核酸的核苷酸序列进行比较,以鉴定这两个序列的差异。

[0175] 在某些实施方案中,这项技术提供了用于表征从人类受试者获得的样品(例如,子宫内膜组织样品;血浆样品;粪便样品)的系统,所述系统包括:分析组件,所述分析组件被配置用于确定样品的甲基化状态;软件组件,所述软件组件被配置用于将样品的甲基化状态与数据库中记录的对照样品或参考样品甲基化状态进行比较;以及警报组件,所述警报组件被配置用于基于甲基化状态的组合确定单个值并向用户发出关于EC相关的甲基化状态的警报。在一些实施方案中,样品包含含有DMR的核酸。

[0176] 在一些实施方案中,这类系统还包括用于分离核酸的组件。在一些实施方案中,这类系统还包括用于收集样品的组件。

[0177] 在一些实施方案中,样品是粪便样品、组织样品、子宫内膜组织样品、血液样品(例如血浆样品、白细胞样品、全血样品、血清样品)或尿液样品。

[0178] 在一些实施方案中,数据库包含含有DMR的核酸序列。在一些实施方案中,数据库包含来自未患EC的受试者的核酸序列。

[0179] 基于本文所含的教导内容,额外实施方法对于相关领域的技术人员来说将是显而易见的。

附图说明

[0180] 图1:交叉验证的3-MDM图源自于rPART模拟(EMX2OS、NBPF8、SFMBT2),其以97%特异性和97%灵敏度以及0.98的AUC区分总体EC与BE。数据以热矩阵格式绘制,允许互补性可视化。

[0181] 图2:用于61个甲基化标志物的标志物染色体区域(例如区分EC组织与正常子宫内膜组织的甲基化区域)和相关引物和探针信息。

[0182] 定义

[0183] 为了便于理解本发明的技术,以下定义了多个术语和短语。在整个详细描述中阐述了另外的定义。

[0184] 在整个说明书和权利要求书中,除非上下文另外清楚规定,否则以下术语采用与本文明确相关的含义。如本文所用,短语“在一个实施方案中”不一定指相同的实施方案,尽管其可能是这样。此外,如本文所用,短语“在另一个实施方案中”不一定指不同的实施方案,尽管其可能是这样。因此,如下所述,在不脱离本发明的范围或精神下,可以容易地组合本发明的各种实施方案。

[0185] 另外,除非上下文另外清楚规定,否则如本文所用,术语“或”是包括性的“或”运算符并且等同于术语“和/或”。除非上下文另外清楚规定,术语“基于”不是排他性的,并且允许基于未描述的另外的因素。另外,在整个说明书中,“一(a/an)”和“所述”的含义包括复数个提及物。“在……中”的含义包括“在……中”和“在……上”。

[0186] 如在本申请中的权利要求书中使用的过渡短语“基本上由……组成”将权利要求的范围限于所说明的材料或步骤,“以及实质上不影响所要求的发明的基本和新颖特征的那些材料或步骤”,如In re Herz,537F.2d 549,551-52,190USPQ 461,463(CCPA 1976)中所论述。举例来说,“基本上由所列举元素组成的”组合物可以含有一定水平的未列举的污染物,使得污染物尽管存在,但与纯组合物,即“由所列举组分组成”的组合物相比,不会改变所列举组合物的功能。

[0187] 如本文所用,“核酸”或“核酸分子”一般是指任何核糖核酸或脱氧核糖核酸,其可以是未修饰的或修饰的DNA或RNA。“核酸”包括不限于单链和双链核酸。如本文所用,术语“核酸”还包括含有一个或多个修饰碱基的如上所述的DNA。因此,具有出于稳定性或其它原因而进行修饰的主链的DNA是“核酸”。如本文所用,术语“核酸”涵盖这样的化学、酶促或代谢修饰形式的核酸,以及病毒和细胞(包括例如简单和复杂细胞)特征性的DNA化学形式。

[0188] 术语“寡核苷酸”或“多核苷酸”或“核苷酸”或“核酸”是指具有两个或更多个,优选地超过三个和通常超过十个脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸的分子。确切的大小将取决于许多因素,而这些因素又取决于寡核苷酸的最终功能或用途。寡核苷酸可以通过任何方式产生,包括化学合成、DNA复制、逆转录或它们的组合。DNA的典型脱氧核糖核苷酸是胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶和鸟嘌呤。RNA的典型核糖核苷酸是尿嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶和鸟嘌呤。

[0189] 如本文所用,术语核酸的“基因座”或“区域”是指核酸的亚区域,例如染色体上的基因、单个核苷酸、CpG岛等。

[0190] 术语“互补”和“互补性”是指通过碱基配对规则相关的核苷酸(例如1个核苷酸)或多核苷酸(例如核苷酸序列)。例如,序列5'-A-G-T-3'与序列3'-T-C-A-5'互补。互补性可以是“部分的”,其中仅一些核酸碱基根据碱基配对规则匹配。或者,核酸之间可能存在“完全”或“全部”互补。核酸链之间的互补程度影响核酸链之间杂交的效率和强度。这在依赖于核酸之间的结合的扩增反应和检测方法中特别重要。

[0191] 术语“基因”是指包含产生RNA或多肽或其前体所必需的编码序列的核酸(例如DNA或RNA)序列。功能性多肽可由全长编码序列或由编码序列的任何部分编码,只要保留多肽的所需活性或功能特性(例如酶活性、配体结合、信号转导等)即可。当在提及基因时使用时术语“部分”是指该基因的片段。片段的大小可以在几个核苷酸至整个基因序列减去一个核苷酸的范围内变化。因此,“包含基因至少一部分的核苷酸”可以包含基因片段或整个基因。

[0192] 术语“基因”还涵盖结构基因的编码区,并包括在5'和3'末端与编码区相邻,例如在任一个末端相距约1kb的序列,使得基因对应于全长mRNA(例如包含编码、调控、结构和其它序列)的长度。位于编码区5'并且存在于mRNA上的序列称为5'非翻译或未翻译序列。位于编码区3'或下游并且存在于mRNA上的序列称为3'非翻译或3'未翻译序列。术语“基因”涵盖基因的cDNA与基因组形式。在一些生物体(例如真核生物)中,基因的基因组形式或克隆含有被称为“内含子”或“插入区”或“插入序列”的非编码序列中断的编码区。内含子是转录成核RNA(hnRNA)的基因区段;内含子可以含有调控元件,例如增强子。内含子从核转录本或初级转录本中移出或“剪除”;因此,在信使RNA(mRNA)转录本中不存在内含子。mRNA在翻译期间发挥作用,以指定新生多肽中氨基酸的序列或次序。

[0193] 除含有内含子外,基因的基因组形式还可以包括位于RNA转录本上存在的序列的5'和3'末端的序列。这些序列被称为“侧接”序列或区域(这些侧接序列位于mRNA转录本上存在的非翻译序列的5'或3')。5'侧接区域可以含有调控序列,例如启动子和强化子,其控制或影响基因的转录。3'侧接区域可以含有指导转录终止、转录后裂解和多腺苷酸化的序列。

[0194] 在提及基因时术语“野生型”是指具有从天然存在的来源分离的基因特征的基因。在提及基因产物时术语“野生型”是指具有从天然存在的来源分离的基因产物特征的基因产物。如应用于物体的术语“天然存在”是指可以在自然界中发现物体的事实。例如,存在于生物体(包括病毒)中的可以从自然界来源分离并且未经实验室人员有意修饰的多肽或多核苷酸序列是天然存在的。野生型基因通常是在群体中最常观察到的基因或等位基因,因此被任意指定为基因的“正常”或“野生型”形式。相比之下,在提及基因或基因产物时术语“修饰的”或“突变的”分别是指与野生型基因或基因产物相比显示序列和/或功能特性修饰(例如特征改变)的基因或基因产物。注意,可以分离天然存在的突变体;这些通过它们与野生型基因或基因产物相比特征改变的事实来鉴定。

[0195] 术语“等位基因”是指基因的变异;所述变异包括但不限于变体和突变体、多态基因座和单核苷酸多态基因座、移码和剪接突变。等位基因可能在群体中天然存在,或者其可能在群体中任何特定个体的一生中出现。

[0196] 因此,在提及核苷酸序列时使用时术语“变体”和“突变体”是指与另一个通常相关

的核苷酸序列相差一个或多个核苷酸的核酸序列。“变异”是两个不同核苷酸序列之间的差异;典型地,一个序列是参考序列。

[0197] “扩增”是涉及模板特异性的核酸复制的特定情况。其与非特异性模板复制(例如依赖用模板但不依赖于特定模板的复制)形成对比。在这里模板特异性不同于复制保真度(例如合成适当多核苷酸序列)和核苷酸(核糖或脱氧核糖)特异性。模板特异性常根据“靶标”特异性来描述。在设法从其它核酸中分选出来的意义上,靶序列是“靶标”。扩增技术主要是为这种分选而设计的。

[0198] 在核酸背景下术语“扩增(amplifying或amplification)”是指典型地从少量多核苷酸(例如单个多核苷酸分子)开始,产生多拷贝的多核苷酸或多核苷酸的一部分,其中扩增产物或扩增子一般是可检测的。多核苷酸的扩增涵盖多种化学和酶促过程。在聚合酶链式反应(PCR)或连接酶链式反应(LCR;参见例如美国专利No.5,494,810;以引用的方式整体并入本文中)期间从靶标或模板DNA分子的一个或几个拷贝产生多个DNA拷贝是扩增的形式。另外类型的扩增包括(但不限于)等位基因特异性PCR(参见例如美国专利No.5,639,611;以引用的方式整体并入本文中)、装配PCR(参见例如美国专利No.5,965,408;以引用的方式整体并入本文中)、解旋酶依赖性扩增(参见例如美国专利No.7,662,594;以引用的方式整体并入本文中)、热启动PCR(参见例如美国专利No.5,773,258和5,338,671;各以引用的方式整体并入本文中)、序列间特异性PCR、反向PCR(参见例如Triglia等人(1988)Nucleic Acids Res.,16:8186;以引用的方式整体并入本文中)、连接介导的PCR(参见例如Guilfoyle,R.等人,Nucleic Acids Research,25:1854-1858(1997);美国专利No.5,508,169;各以引用的方式整体并入本文中)、甲基化特异性PCR(参见例如Herman等人,(1996)PNAS 93(13)9821-9826;以引用的方式整体并入本文中)、微型引物PCR、多重连接依赖性探针扩增(参见例如Schouten等人,(2002)Nucleic Acids Research 30(12):e57;以引用的方式整体并入本文中)、多重PCR(参见例如Chamberlain等人,(1988)Nucleic Acids Research 16(23)11141-11156;Ballabio等人,(1990)Human Genetics 84(6)571-573;Hayden等人,(2008)BMC Genetics 9:80;各以引用的方式整体并入本文中)、巢式PCR、重叠延伸PCR(参见例如Higuchi等人,(1988)Nucleic Acids Research 16(15)7351-7367;以引用的方式整体并入本文中)、实时PCR(参见例如Higuchi等人,(1992)Biotechnology 10:413-417;Higuchi等人,(1993)Biotechnology 11:1026-1030;各以引用的方式整体并入本文中)、逆转录PCR(参见例如Bustin,S.A.(2000)J.Molecular Endocrinology 25:169-193;以引用的方式整体并入本文中)、固相PCR、热不对称交错PCR和降落PCR(参见例如Don等人,Nucleic Acids Research(1991)19(14)4008;Roux,K.(1994)Biotechniques 16(5)812-814;Hecker等人,(1996)Biotechniques 20(3)478-485;各以引用的方式整体并入本文中)。多核苷酸扩增也可以使用数字PCR来完成(参见例如Kalinina等人,Nucleic Acids Research.25;1999-2004,(1997);Vogelstein和Kinzler,Proc Natl Acad Sci USA.96;9236-41,(1999);国际专利公布No.WO05023091A2;美国专利申请公布No.20070202525;各以引用的方式整体并入本文中)。

[0199] 术语“聚合酶链式反应”(“PCR”)是指K.B.Mullis的美国专利No.4,683,195、4,683,202和4,965,188的方法,其描述了一种增加基因组或其它DNA或RNA的混合物中的靶序列区段的浓度的方法,不进行克隆或纯化。这种扩增靶序列的过程由以下组成:将大量过量

的两种寡核苷酸引物引入含有所需靶序列的DNA混合物中,接着在DNA聚合酶存在下进行精确的热循环序列。两种引物与它们各自的双链靶序列的链互补。为了实现扩增,使混合物变性,然后使引物与它们在靶分子内的互补序列退火。在退火之后,将引物用聚合酶延伸以便形成一对新的互补链。变性、引物退火和聚合酶延伸的步骤可以重复多次(即,变性、退火和延伸构成一个"循环";可以存在多个"循环")以获得高浓度的所需靶序列的扩增区段。所需靶序列的扩增区段的长度由引物彼此之间的相对位置决定,因此,该长度是一个可控参数。由于所述过程的重复方面,所述方法称为"聚合酶链式反应"("PCR")。因为靶序列的所需扩增区段变成混合物中的主要序列(根据浓度),所以它们被称为"PCR扩增"并且是"PCR产物"或"扩增子"。本领域的技术人员将理解,术语"PCR"涵盖使用例如实时PCR、巢式PCR、逆转录PCR(RT-PCR)、单引物和随机引物PCR等最初描述的方法的许多变体。

[0200] 大部分扩增技术是通过选择酶来实现模板特异性的。扩增酶是在使用它们的条件下将仅加工核酸的异质混合物中的特定核酸序列的酶。例如,在Q-β复制酶的情况下,MDV-1RNA是复制酶的特定模板(Kacian等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,69:3038[1972])。其它核酸不会被这种扩增酶复制。类似地,在T7 RNA聚合酶的情况下,这种扩增酶对其自身的启动子具有严格的特异性(Chamberlin等人,Nature,228:227[1970])。在T4 DNA连接酶的情况下,酶不会连接两种寡核苷酸或多核苷酸,其中寡核苷酸或多核苷酸底物与模板之间在连接点处存在错配(Wu和Wallace(1989)Genomics 4:560)。最终,发现依赖于热稳定模板的DNA聚合酶(例如Taq和Pfu DNA聚合酶)由于它们能够在高温下发挥作用,而对由引物限制并因此由引物界定的序列显示高特异性;高温产生有利于引物与靶序列杂交而不利于与非靶序列杂交的热力学条件(H.A.Erlich(编辑),PCR Technology,Stockton Press[1989])。

[0201] 如本文所用,术语"核酸检测测定"是指测定感兴趣核酸的核苷酸组成的任何方法。核酸检测测定包括但不限于DNA测序法、探针杂交法、结构特异性裂解测定(例如INVADER测定(Hologic公司),并描述于例如美国专利No.5,846,717、5,985,557、5,994,069、6,001,567、6,090,543和6,872,816;Lyamichev等人,Nat.Biotech.,17:292(1999);Hall等人,PNAS,USA,97:8272(2000)和美国专利No.9,096,893,各以引用的方式整体并入本文中以达成所有目的);酶错配裂解法(例如Variagenics,美国专利No.6,110,684、5,958,692、5,851,770,以引用的方式整体并入本文中);上述聚合酶链式反应(PCR);分支杂交法(例如Chiron,美国专利No.5,849,481、5,710,264、5,124,246和5,624,802,以引用的方式整体并入本文中);滚环复制(例如美国专利No.6,210,884、6,183,960和6,235,502,以引用的方式整体并入本文中);NASBA(例如美国专利No.5,409,818,以引用的方式整体并入本文中);分子信标技术(例如美国专利No.6,150,097,以引用的方式整体并入本文中);电子传感器技术(Motorola,美国专利No.6,248,229、6,221,583、6,013,170和6,063,573,以引用的方式整体并入本文中);循环探针技术(例如美国专利No.5,403,711、5,011,769和5,660,988,以引用的方式整体并入本文中);Dade Behring信号放大法(例如美国专利No.6,121,001、6,110,677、5,914,230、5,882,867和5,792,614,以引用的方式整体并入本文中);连接酶链式反应(例如Baranay Proc.Natl.Acad.Sci USA 88,189-93(1991));和夹心杂交法(例如美国专利No.5,288,609,以引用的方式整体并入本文中)。

[0202] 术语"可扩增核酸"是指可以通过任何扩增方法扩增的核酸。预期"可扩增核酸"通常包含"样品模板"。

[0203] 术语“样品模板”是指源自针对“靶标”(定义如下)的存在进行分析的样品的核酸。相反,“背景模板”用于指代样品中可能存在或不存在的除样品模板以外的核酸。背景模板通常是无意的。它可能是交叉污染的结果,或者可能是由于存在试图从样品中净化掉的核酸污染物。例如,来自生物体的除待检测核酸之外的核酸可能作为测试样品中的背景存在。

[0204] 术语“引物”是指当置于诱导与核酸模板链互补的引物延伸产物合成的条件下(例如在核苷酸和诱导剂如DNA聚合酶存在下以及在合适温度和pH值下)时能够充当合成起始点的寡核苷酸,无论天然存在,如例如来自限制消化液的核酸片段,还是合成产生。引物优选是单链的,以获得最大的扩增效率,但也可以是双链的。如果是双链,那么引物在用于制备延伸产物之前首先进行处理以分离其链。优选地,引物是寡脱氧核糖核苷酸。引物必须足够长以在诱导剂存在下引发延伸产物的合成。引物的确切长度取决于许多因素,包括温度、引物来源和方法的使用。

[0205] 术语“探针”是指能够与另一感兴趣寡核苷酸杂交的寡核苷酸(例如核苷酸序列),无论天然存在,如纯化的限制消化液中,还是合成、重组或通过PCR扩增产生。探针可以是单链或双链的。探针可用于检测、鉴定和分离特定基因序列(例如,“捕获探针”)。预期本发明中使用的任何探针在一些实施方案中都可以用任何“报告分子”标记,以便在任何检测系统中可检测,包括但不限于酶(例如,ELISA,以及基于酶的组织化学分析)、荧光、放射性和发光系统。并不意图将本发明限于任何特定的检测系统或标记。

[0206] 如本文所用,术语“靶标”是指设法例如通过探针结合、扩增、分离、捕获等从其它核酸中分选出的核酸。例如,当用于聚合酶链式反应时,“靶标”是指由用于聚合酶链式反应的引物结合的核酸区域,而当用于不扩增靶DNA的测定时,例如在侵入性裂解测定的一些实施方案中,靶标包括探针和侵入性寡核苷酸(例如,INVADER寡核苷酸)结合形成侵入性裂解结构的位点,以便可以检测到靶核酸的存在。“区段”定义为靶序列内的核酸区域。

[0207] 如本文所用,“甲基化”是指胞嘧啶的C5或N4位置的胞嘧啶甲基化、腺嘌呤的N6位置或其它类型的核酸甲基化。体外扩增的DNA通常未甲基化,因为典型的体外DNA扩增方法不会保留扩增模板的甲基化模式。然而,“未甲基化的DNA”或“甲基化的DNA”也可以分别指原始模板未甲基化或甲基化的扩增DNA。

[0208] 因此,如本文所用,“甲基化核苷酸”或“甲基化核苷酸碱基”是指核苷酸碱基上存在甲基部分,其中甲基部分不存在于公认的典型核苷酸碱基中。例如,胞嘧啶在其嘧啶环上不含甲基部分,但5-甲基胞嘧啶在其嘧啶环的5位含有甲基部分。因此,胞嘧啶不是甲基化核苷酸,5-甲基胞嘧啶是甲基化核苷酸。在另一个实例中,胸腺嘧啶在其嘧啶环的5位含有甲基部分;然而,就本文而言,当存在于DNA中时,胸腺嘧啶不被视为甲基化核苷酸,因为胸腺嘧啶是DNA的典型核苷酸碱基。

[0209] 如本文所用,“甲基化核酸分子”是指含有一个或多个甲基化核苷酸的核酸分子。

[0210] 如本文所用,核酸分子的“甲基化状态”、“甲基化概况”和“甲基化状况”是指核酸分子中一个或多个甲基化核苷酸碱基的存在或不存在。例如,含有甲基化胞嘧啶的核酸分子被认为是甲基化的(例如,核酸分子的甲基化状态是甲基化的)。不含任何甲基化核苷酸的核酸分子被认为是未甲基化的。

[0211] 特定核酸序列(例如,如本文所述的基因标志物或DNA区域)的甲基化状态可以指示序列中每个碱基的甲基化状态,或者可以指示序列内碱基子集(例如,一个或多个胞嘧

啶)的甲基化状态,或者可以指示关于序列内区域甲基化密度的信息,提供或不提供序列内发生甲基化的位置的精确信息。

[0212] 核酸分子中核苷酸基因座的甲基化状态是指核酸分子中特定基因座处甲基化核苷酸的存在或不存在。例如,当核酸分子中第7个核苷酸处存在的核苷酸为5-甲基胞嘧啶时,核酸分子中第7个核苷酸处胞嘧啶的甲基化状态是甲基化的。类似地,当核酸分子中第7个核苷酸处存在的核苷酸为胞嘧啶(而非5-甲基胞嘧啶)时,核酸分子中第7个核苷酸处胞嘧啶的甲基化状态是未甲基化的。

[0213] 甲基化状况可以任选地由“甲基化值”(例如,代表甲基化频率、分数、比率、百分比等)表示或指示。例如,可以通过量化在用甲基化依赖性限制酶进行限制性消化后完整核酸的量,或通过比较亚硫酸氢盐反应后的扩增概况,或通过比较经过亚硫酸氢盐处理和未处理的核酸的序列来产生甲基化值。因此,值,例如甲基化值,代表甲基化状况并且因此可以用作跨基因座的多个拷贝的甲基化状况的定量指标。当需要将样品中序列的甲基化状况与阈值或参考值进行比较时,这特别有用。

[0214] 如本文所用,“甲基化频率”或“甲基化百分比(%)”是指分子或基因座被甲基化的实例数相对于分子或基因座未甲基化的实例数。

[0215] 因此,甲基化状态描述了核酸(例如,基因组序列)的甲基化状态。此外,甲基化状态是指与甲基化相关的特定基因组基因座处的核酸区段的特征。这类特征包括但不限于,该DNA序列中的任何胞嘧啶(C)残基是否被甲基化、甲基化C残基的位置、甲基化C在核酸任何特定区域中的频率或百分比,以及由于例如等位基因来源的差异而导致的甲基化的等位基因差异。术语“甲基化状态”、“甲基化概况”和“甲基化状况”还指生物样品中核酸的任何特定区域中甲基化C或未甲基化C的相对浓度、绝对浓度或模式。例如,如果核酸序列内的胞嘧啶(C)残基被甲基化,那么可以将其称为“高甲基化”或“甲基化增加”,而如果DNA序列内的胞嘧啶(C)残基未甲基化,那么可以将其称为“低甲基化”或“甲基化降低”。同样,如果与另一核酸序列(例如,来自不同区域或来自不同个体等)相比,核酸序列内的胞嘧啶(C)残基被甲基化,那么认为该序列与其它核酸序列相比是高甲基化的或甲基化增加。可替代地,如果与另一核酸序列(例如,来自不同区域或来自不同个体等)相比,DNA序列内的胞嘧啶(C)残基未被甲基化,那么认为该序列与其它核酸序列相比是低甲基化的或甲基化降低。此外,如本文所用的术语“甲基化模式”是指核酸区域上甲基化和未甲基化核苷酸的集合位点。当整个区域中甲基化和未甲基化核苷酸的数量相同或相似但甲基化和未甲基化核苷酸的位置不同时,两个核酸可能具有相同或相似的甲基化频率或甲基化百分比但具有不同的甲基化模式。当序列的甲基化程度(例如一个的甲基化相对于另一个增加或减少)、频率或模式时有差异时,称其为“差异甲基化”或具有“甲基化差异”或具有“不同甲基化状态”。术语“差异甲基化”是指与癌症阴性样品中的核酸甲基化水平或模式相比,癌症阳性样品中的核酸甲基化水平或模式的差异。它还可能指手术后癌症复发的患者与未复发的患者之间水平或模式的差异。差异甲基化和DNA甲基化的特定水平或模式是预后和预测性生物标志物,例如,一旦确定了正确的截止或预测特征。

[0216] 甲基化状态频率可以用于描述个体群体或来自单一个体的样品。例如,甲基化状态频率为50%的核苷酸基因座在50%的情况下被甲基化,在50%的情况下未甲基化。例如,这种频率可以用于描述个体群体或一批核酸中核苷酸基因座或核酸区域被甲基化的程度。

因此,当核酸分子的第一个群体或库中的甲基化不同于核酸分子的第二个群体或库中的甲基化时,第一个群体或库的甲基化状态频率将不同于第二个群体或库的甲基化状态频率。例如,这种频率还可以用于描述单一个体中核苷酸基因座或核酸区域被甲基化的程度。例如,这种频率可以用于描述来自组织样品的一组细胞在核苷酸基因座或核酸区域被甲基化或未甲基化的程度。

[0217] 如本文所用,“核苷酸基因座”是指核苷酸在核酸分子中的位置。甲基化核苷酸的核苷酸基因座是指甲基化核苷酸在核酸分子中的位置。

[0218] 典型地,人类DNA的甲基化发生在包括相邻鸟嘌呤和胞嘧啶的二核苷酸序列上,其中胞嘧啶位于鸟嘌呤的5’(也称为CpG二核苷酸序列)。CpG二核苷酸内的大多数胞嘧啶在人类基因组中被甲基化,但是一些在特定的富含CpG二核苷酸的基因组区域(称为CpG岛)中保持未甲基化(参见例如Antequera等人(1990)Cell 62:503-514)。

[0219] 如本文所用,“CpG岛”是指基因组DNA的富含G:C的区域,其含有相对于总基因组DNA数量增加的CpG二核苷酸。CpG岛的长度可以是至少100、200或更多个碱基对,其中该区域的G:C含量至少为50%,并且观察CpG频率与预期频率的比率为0.6;在某些情况下,CpG岛的长度可以为至少500个碱基对,其中该区域的G:C含量至少为55%并且观察CpG频率与预期频率的比率为0.65。可以根据Gardiner-Garden等人(1987)J.Mol.Biol.196:261-281中提供的方法计算相比于预期频率的观察CpG频率。例如,相比于预期频率的观察CpG频率可以根据公式R=(A×B)/(C×D)计算,其中R是观察CpG频率与预期频率的比值,A是分析序列中的CpG二核苷酸的数量,B是分析序列中的核苷酸总数,C是分析序列中的C核苷酸总数,D是分析序列中的G核苷酸总数。典型地在CpG岛中,例如在启动子区域确定甲基化状态。应了解尽管人类基因组中的其它序列易于发生DNA甲基化,例如CpA和CpT(参见Ramsahoye(2000)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 97:5237-5242;Salmon和Kaye(1970)Biochim.Biophys.Acta.204:340-351;Grafstrom(1985)Nucleic Acids Res.13:2827-2842;Nyce(1986)Nucleic Acids Res.14:4353-4367;Woodcock(1987)Biochem.Biophys.Res.Commun.145:888-894)。

[0220] 如本文所用,“甲基化特异性试剂”是指根据核酸分子的甲基化状态修饰核酸分子的核苷酸的试剂,或甲基化特异性试剂是指能够以反映核酸分子的甲基化状态的方式改变核酸分子的核苷酸序列的化合物或组合物或其它剂。用这种试剂处理核酸分子的方法可以包括使核酸分子与试剂接触,如果需要,再加上额外的步骤,以实现核苷酸序列的所需改变。这类方法可以以将未甲基化的核苷酸(例如,每个未甲基化的胞嘧啶)修饰成不同核苷酸的方式应用。例如,在一些实施方案中,这种试剂可以使未甲基化的胞嘧啶核苷酸脱氨基,产生脱氧尿嘧啶残基。这种试剂的实例包括但不限于甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂。

[0221] 甲基化特异性试剂对核酸核苷酸序列的改变也可能产生每个甲基化核苷酸被修饰为不同的核苷酸的核酸分子。

[0222] 术语“甲基化测定”是指用于确定核酸序列内的一个或多个CpG二核苷酸序列的甲基化状态的任何测定。

[0223] 术语“MS AP-PCR”(甲基化敏感性随机引物聚合酶链式反应)是指本领域公认的技术,这项技术允许使用富含CG的引物对基因组进行全局扫描,重点关注最有可能含有CpG二

核苷酸的区域,并由Gonzalgo等人(1997)Cancer Research 57:594-599描述。

[0224] 术语“MethyLight™”是指Eads等人(1999)Cancer Res.59:2302-2306描述的本领域公认的基于荧光的实时PCR技术。

[0225] 术语“HeavyMethyl™”是指一种测定,其中覆盖扩增引物之间的CpG位置或被扩增引物覆盖的甲基化特异性阻断探针(本文也称为阻断剂)能够实现核酸样品的甲基化特异性选择性扩增。

[0226] 术语“HeavyMethyl™MethyLight™”测定是指HeavyMethyl™MethyLight™测定,它是MethyLight™测定的变体,其中MethyLight™测定与覆盖扩增引物之间的CpG位置的甲基化特异性阻断探针组合。

[0227] 术语“Ms-SNuPE”(甲基化敏感性单核苷酸引物延伸)是指由Gonzalgo和Jones(1997)Nucleic Acids Res.25:2529-2531描述的本领域公认的测定。

[0228] 术语“MSP”(甲基化特异性PCR)是指由Herman等人(1996)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 93:9821-9826和由美国专利No.5,786,146描述的本领域公认的甲基化测定。

[0229] 术语“COBRA”(联合亚硫酸氢盐限制分析)是指由Xiong和Laird(1997)Nucleic Acids Res.25:2532-2534描述的本领域公认的甲基化测定。

[0230] 术语“MCA”(甲基化CpG岛扩增)是指由Toyota等人(1999)Cancer Res.59:2307-12和WO 00/26401A1中描述的甲基化测定。

[0231] 如本文所用,“选定核苷酸”是指核酸分子中四种典型存在的核苷酸中的一种核苷酸(DNA为C、G、T和A,RNA为C、G、U和A),并且可以包括典型存在的核苷酸的甲基化衍生物(例如,当C是选定核苷酸时,甲基化和未甲基化的C都包括在选定核苷酸的含义内),而甲基化的选定核苷酸特指甲基化的典型存在的核苷酸并且未甲基化的选定核苷酸特指未甲基化的典型存在的核苷酸。

[0232] 术语“甲基化特异性限制酶”是指根据核酸识别位点的甲基化状态选择性消化核酸的限制酶。在识别位点未甲基化或半甲基化下特异性切割的限制酶的情况下(甲基化敏感性酶),如果在一条或两条链上识别位点甲基化,那么切割不会发生。在只有识别位点甲基化时才特异性切割的限制酶的情况下(甲基化依赖性酶),如果识别位点未甲基化,那么切割不会发生(或会发生,但效率显著降低)。优选的是甲基化特异性限制酶,其识别序列含有CG二核苷酸(例如识别序列如CGCG或CCCGGG)。对于一些实施方案进一步优选的是如果该二核苷酸中的胞嘧啶在碳原子C5处被甲基化则不会切割的限制酶。

[0233] 如本文所用,“不同核苷酸”是指化学上与选定核苷酸不同的核苷酸,通常使得不同核苷酸具有不同于选定核苷酸的沃森-克里克碱基配对(Watson-Crick base-pairing)特性,其中与选定核苷酸互补的典型存在的核苷酸不同于与不同核苷酸互补的典型存在的核苷酸。例如,当C是选定核苷酸时,U或T可以是不同核苷酸,例如C与G的互补性和U或T与A的互补性。如本文所用,与选定核苷酸互补或与不同核苷酸互补的核苷酸是指在高严格条件下以比互补核苷酸与四种典型存在的核苷酸中的三种进行碱基配对高的亲和力与选定核苷酸或不同核苷酸进行碱基配对的核苷酸。互补性的一个实例是DNA(例如A-T和C-G)和RNA(例如A-U和C-G)中的沃森-克里克碱基配对。因此,例如,在高严格条件下,G与C碱基配对的亲和力高于G与G、A或T碱基配对,因此,当C是选定核苷酸时,G是与选定核苷酸互补的

核苷酸。

[0234] 如本文所用,给定标志物(或一起使用的标志物组)的“灵敏度”是指报告DNA甲基化值高于区分赘生物与非赘生物样品的阈值的样品的百分比。在一些实施方案中,阳性定义为报告DNA甲基化值高于阈值(例如,与疾病相关的范围)的组织学确认的瘤形成,并且假阴性定义为报告DNA甲基化值低于阈值(例如,与无疾病相关的范围)的组织学确认的瘤形成。因此,灵敏度值反映了从已知患病样品获得的给定标志物的DNA甲基化测量值在疾病相关测量值范围内的概率。如这里所定义,计算出的灵敏度值的临床相关性表示对当将给定标志物应用于患有临床疾患的受试者时将检测到该疾患存在的概率的估计。

[0235] 如本文所用,给定标志物(或一起使用的标志物组)的“特异性”是指报告DNA甲基化值高于区分赘生物与非赘生物样品的阈值的非赘生物样品的百分比。在一些实施方案中,阴性定义为报告DNA甲基化值低于阈值(例如,与无疾病相关的范围)的组织学确认的非赘生物样品,并且假阳性定义为报告DNA甲基化值高于阈值(例如,与疾病相关的范围)的组织学确认的非赘生物样品。因此,特异性值反映了从已知非赘生物样品获得的给定标志物的DNA甲基化测量值在非疾病相关测量值范围内的概率。如这里所定义,计算出的特异性值的临床相关性表示对当将给定标志物应用于未患临床疾患的受试者时将检测到该疾患不存在的概率的估计。

[0236] 如本文所用,术语“AUC”是“曲线下面积”的缩写。其尤其是指接受者操作特征(ROC)曲线下面积。ROC曲线是针对诊断测试的不同可能切点的真阳性率与假阳性率的关系图。它显示了取决于所选切点的灵敏度与特异性之间的平衡(灵敏度的任何增加都将伴随着特异性的降低)。ROC曲线下面积(AUC)是衡量诊断测试准确性的量度(面积越大越好;最佳值为1;随机测试的ROC曲线位于对角线上,面积为0.5;参考:J.P.Egan.(1975)Signal Detection Theory and ROC Analysis,Academic Press,New York)。

[0237] 如本文所用,术语“赘生物”是指组织的任何新的异常生长。因此,赘生物可以是癌前赘生物或恶性赘生物。

[0238] 如本文所用,术语“赘生物特异性标志物”是指可用于指示赘生物存在的任何生物物质或要素。生物物质的实例包括但不限于核酸、多肽、碳水化合物、脂肪酸、细胞成分(例如细胞膜和线粒体)和全细胞。在一些情况下,标志物是特定核酸区域(例如,基因、基因内区域、特定基因座等)。作为标志物的核酸区域可称为例如“标志基因”、“标志物区域”、“标志序列”、“标志基因座”等。

[0239] 如本文所用,术语“腺瘤”是指腺来源的良性肿瘤。虽然这些生长是良性的,但随着时间的推移,它们可能会发展为恶性。

[0240] 术语“癌前”或“赘生物前”和其等同术语是指任何正在发生恶性转化的细胞增殖性疾病。

[0241] 赘生物、腺瘤、癌症等的“部位”是受试者体内赘生物、腺瘤、癌症等所在的组织、器官、细胞类型、解剖区域、身体部位等。

[0242] 如本文所用,“诊断”测试应用包括检测或鉴定受试者的疾病状态或疾患,确定受试者感染给定疾病或疾患的可能性,确定患有疾病或疾患的受试者将对疗法作出反应的可能性,确定患有疾病或疾患的受试者的预后(或其可能的进展或消退),以及确定治疗对患有疾病或疾患的受试者的影响。例如,诊断可用于检测受试者感染赘生物的存在或可能性,

或这类受试者将对化合物(例如药品,例如药物)或其它治疗产生有利反应的可能性。

[0243] 术语“分离的”如在“分离的寡核苷酸”中当与核酸相关使用时是指从至少一种在天然来源中通常相关联的污染核酸中鉴定并分离的核酸序列。分离的核酸以不同于在自然界中发现的形式或设置存在。相比之下,未分离的核酸,如DNA和RNA,在它们存在于自然界中的状态下被发现。未分离的核酸的实例包括:在宿主细胞染色体上与邻近基因相邻的给定DNA序列(例如,基因);RNA序列,例如编码特定蛋白质的特定mRNA序列,在细胞中发现其呈与许多其它编码多种蛋白质的mRNA的混合物。然而,编码特定蛋白质的分离的核酸包括例如在通常表达蛋白质的细胞中的这种核酸,其中该核酸在与天然细胞不同的染色体位置中,或者另外由不同于自然界中发现的核酸侧接。分离的核酸或寡核苷酸可以单链或双链形式存在。当分离的核酸或寡核苷酸用于表达蛋白质时,该寡核苷酸将至少包含有义链或编码链(即寡核苷酸可以是单链的),但可以同时含有有义链和反义链(即,寡核苷酸可以是双链的)。分离的核酸在从其天然或典型环境分离后,可以与其它核酸或分子组合。例如,分离的核酸可以存在于宿主细胞中,在该宿主细胞中放置该核酸,例如用于异源表达。

[0244] 术语“纯化的”是指从其天然环境中移出、分离或分离出的分子,核酸或氨基酸序列。因此,“分离的核酸序列”可以是纯化的核酸序列。“基本上纯化的”分子至少60%不含,优选至少75%不含,更优选至少90%不含与它们天然相关的其它组分。如本文所用,术语“纯化的”或“进行纯化”还指从样品中去除污染物。污染蛋白质的去除引起样品中感兴趣的多肽或核酸的百分比增加。在另一个实例中,重组多肽在植物、细菌、酵母或哺乳动物宿主细胞中表达,并且通过去除宿主细胞蛋白质来纯化多肽;从而增加了样品中重组多肽的百分比。

[0245] 术语“包含”给定多核苷酸序列或多肽的“组合物”泛指含有给定多核苷酸序列或多肽的任何组合物。该组合物可包含含有盐(例如NaCl)、去污剂(例如SDS)和其它组分(例如登哈特溶液(Denhardt’ssolution)、奶粉、鲑鱼精DNA等)的水溶液。

[0246] 术语“样品”以其最广泛的含义使用。在某种意义上,它可以指动物细胞或组织。在另一种意义上,它是指从任何来源获得的样本或培养物,以及生物和环境样品。生物样品可以从植物或动物(包括人类)获得,并且涵盖流体、固体、组织和气体。环境样品包括环境材料,例如表面物质、土壤、水和工业样品。这些实例不应被解释为限制适用于本发明的样品类型。

[0247] 如本文所用,在一些情况下使用的“远程样品”涉及从不是样品的细胞、组织或器官来源的部位间接收集的样品。

[0248] 如本文所用,术语“患者”或“受试者”是指要经受这项技术提供的各种测试的生物体。术语“受试者”包括动物,优选哺乳动物,包括人。在一个优选的实施方案中,受试者是灵长类动物。在一个更优选的实施方案中,受试者是人。进一步关于诊断方法,优选的受试者是脊椎动物受试者。优选的脊椎动物是温血动物;优选的温血脊椎动物是哺乳动物。优选的哺乳动物最优选是人。如本文所用,术语“受试者”包括人和动物受试者。因此,本文提供了兽医治疗用途。因此,本发明的技术提供了对哺乳动物(例如人类)以及以下动物的诊断:那些因濒危而重要的哺乳动物(例如东北虎);具有经济重要性的动物,例如在农场饲养供人类食用的动物;和/或对人类具有社会重要性的动物,例如作为宠物或在动物园饲养的动物。这种动物的实例包括但不限于:食肉动物,例如猫和狗;猪科动物,包括猪、肉猪和野猪;

反刍动物和/或有蹄类动物,如牛、公牛、绵羊、长颈鹿、鹿、山羊、野牛和骆驼;鳍足类动物;和马。因此,还提供了家畜的诊断和治疗,包括但不限于家养猪、反刍动物、有蹄类动物、马(包括赛马)等。当前公开的主题还包括用于诊断受试者的肺癌的系统。例如,该系统可作为市售试剂盒提供,该试剂盒可用于筛查已收集生物样品的受试者患肺癌的风险或诊断其患肺癌。根据本发明的技术提供的示例性系统包括评估本文所述的标志物的甲基化状态。

[0249] 如本文所用,术语"试剂盒"是指递送材料的任何递送系统。在反应测定的情况下,这类递送系统包括允许存储反应试剂(例如适当容器中的寡核苷酸、酶等)和/或支持材料(例如,缓冲液、关于进行测定的书面说明书等)、将其从一个位置运输或递送至另一个位置的系统。例如,试剂盒包括含有相关反应试剂和/或支持材料的一个或多个外壳(例如,盒)。如本文使用,术语"零散试剂盒"是指包括两个或更多个单独容器的递送系统,每个容器含有全部试剂盒组分的子部分。这些容器可共同或单独递送至预定接受者。例如,第一个容器可含有用于测定中的酶,而第二个容器含有寡核苷酸。术语"零散试剂盒"意图涵盖含有受联邦食品、药品和化妆品法案第520(e)节监管的分析物特定试剂(ASR)的试剂盒,但不限于此。事实上,包含各自含有全部试剂盒组分的子部分的两个或更多个单独容器的任何递送系统均包括在术语"零散试剂盒"中。相比之下,"组合试剂盒"是指在单一容器中(例如,容纳每个所需组分的单一盒中)含有反应测定的所有组分的递送系统。术语"试剂盒"包括零散试剂盒和组合试剂盒。

[0250] 如本文所用,术语"信息"是指任何事实或数据的集合。在提及使用计算机系统(包括但不限于互联网)存储或处理的信息时,该术语是指以任何格式(例如,模拟、数字、光学等)存储的任何数据。如本文所用,术语"与受试者相关的信息"是指与受试者(例如,人、植物或动物)有关的事实或数据。术语"基因组信息"是指与基因组有关的信息,包括但不限于核酸序列、基因、甲基化百分比、等位基因频率、RNA表达水平、蛋白质表达、与基因型相关的表型等。"等位基因频率信息"是指与等位基因频率有关的事实或数据,包括但不限于等位基因身份、等位基因的存在与受试者(例如人类受试者)的一种特征之间的统计相关性、个体或群体中等位基因的存在或不存在、在具有一种或多种特定特征的个体中存在等位基因的可能性百分比等。

具体实施方式

[0251] 在各种实施方案的详细描述中,为了解释的目的,阐述了许多具体细节以提供对所公开的实施方案的透彻理解。然而,本领域技术人员将理解,可以在有或没有这些具体细节的情况下实践这些各种实施方案。在其它情况下,结构和装置以框图形式展示。此外,本领域技术人员可以容易地理解,其中呈现和执行方法的特定顺序是例示性的,并且预期这些顺序可以变化并且仍然保持在本文公开的各种实施方案的精神和范围内。

[0252] 本文提供了筛查EC的技术,并且特别但不仅仅是检测EC和/或EC特定形式(例如透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC)的存在的方法、组合物和相关用途。如这项技术在本文中所描述,使用的章节标题仅仅是出于组织的目的,而不应视为以任何方式限制主题。

[0253] 实际上,如实施例1、2和3中所述,在本发明的实施方案的鉴定过程期间进行的实验鉴定了一组499个新颖的差异甲基化区域(DMR),用于区分源自子宫内膜癌的DNA与非赘

生物对照DNA。从这499个新颖的DNA甲基化标志物中,进一步的实验鉴定出能够区分不同EC类型与正常子宫内膜组织的标志物。例如,单独的DMR组被确定能够区分1)EC与正常子宫内膜组织;2)透明细胞EC与正常子宫内膜组织;3)浆液性EC与正常子宫内膜组织;4)癌肉瘤EC与正常子宫内膜组织;以及5)子宫内膜样EC与正常子宫内膜组织。

[0254] 尽管这里的公开内容涉及某些例示的实施方案,但是应当理解,这些实施方案是作为示例而不是作为限制来呈现的。

[0255] 在具体方面,本发明的技术提供了用于鉴定、确定和/或分类例如EC的癌症的组合物和方法。所述方法包括确定从受试者分离的生物样品(例如,粪便样品、子宫内膜组织样品、血浆样品)中至少一种甲基化标志物的甲基化状况,其中该标志物的甲基化状态的变化指示EC的存在、类别或部位。具体实施方案涉及包含差异甲基化区域(DMR,例如DMR 1-499,参见表1、8和21)的标志物,所述标志物用于诊断(例如筛查)EC和各种EC类型(例如,透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC)。

[0256] 除了分析包含本文所提供和表1、8和21中所列出的DMR(例如DMR,例如DMR 1-499)的至少一种标志物、标志物区域或标志物的碱基的甲基化分析的实施方案以外,这项技术还提供了包含含有DMR的至少一种标志物、标志物区域或标志物的碱基的标志物组,用于检测癌症、尤其是EC。

[0257] 这项技术的的一些实施方案是基于对包含DMR的至少一种标志物、标志物区域或标志物的碱基的CpG甲基化状况的分析。

[0258] 在一些实施方案中,本发明的技术提供了以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂)的用途,所述试剂与一种或多种甲基化测定组合,用于确定包含DMR(例如DMR 1-499,参见表1、8和21)的至少一种标志物内的CpG二核苷酸序列的甲基化状况。基因组CpG二核苷酸可以是甲基化或未甲基化的(可替代地分别称为高甲基化和低甲基化)。然而,本发明的方法适合于分析非均质性的生物样品,例如在偏远样品(例如血液、器官流出物或粪便)的背景内的低浓度的肿瘤细胞或从中获得的生物材料。因此,当分析这类样品内CpG位置的甲基化状况时,可使用定量测定来确定具体CpG位置的甲基化水平(例如百分比、分数、比率、比例或程度)。

[0259] 根据本发明的技术,对包含DMR的标志物中CpG二核苷酸序列的甲基化状况的确定可用于诊断和表征例如EC的癌症。

[0260] 标志物的组合

[0261] 在一些实施方案中,这项技术涉及评估包含来自表1、8和21的DMR(例如DMR编号1-499)的标志物的组合的甲基化状态。在一些实施方案中,评估超过一种标志物的甲基化状态增加用于鉴定受试者中的赘生物(例如EC)的筛查或诊断法的特异性和/或灵敏度。

[0262] 利用例如如通过与预测特异性和灵敏度有关的统计技术鉴定的标志物的多种组合预测多种癌症。这项技术提供了鉴定一些癌症的预测组合和验证预测组合的方法。

[0263] 测定甲基化状态的方法

[0264] 在某些实施方案中,用于分析核酸中5-甲基胞嘧啶的存在的方法涉及用以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂处理DNA。这种试剂的实例包括(但不限于)甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂。

[0265] 常用于分析核酸中5-甲基胞嘧啶的存在的方法是基于Frommer等人描述的用于检

测DNA中的5-甲基胞嘧啶的亚硫酸氢盐方法(Frommer等人(1992)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:1827-31,明确地以引用的方式整体并入本文中以达成所有目的)或其变体。定位5-甲基胞嘧啶的亚硫酸氢盐方法是基于如下观测结果:胞嘧啶与亚硫酸氢盐离子(又名亚硫酸氢盐)反应,而5-甲基胞嘧啶不反应。反应通常根据以下步骤进行:首先,胞嘧啶与亚硫酸氢盐反应,形成磺化胞嘧啶。然后,磺化的反应中间体自发脱氨基,产生磺化尿嘧啶。最终,磺化尿嘧啶在碱性条件下脱磺酸,形成尿嘧啶。检测是可能的原因在于尿嘧啶碱基与腺嘌呤配对(因此,行为如胸腺嘧啶一样),而5-甲基胞嘧啶碱基与鸟嘌呤配对(因此,行为如胞嘧啶一样)。这使得通过例如以下区分甲基化胞嘧啶与非甲基化胞嘧啶成为可能:亚硫酸氢盐基因组测序(Grigg G和Clark S,Bioessays(1994)16:431-36;Grigg G,DNA Seq.(1996)6:189-98)、如例如美国专利No.5,786,146中公开的甲基化特异性PCR(MSP)或使用包含序列特异性探针裂解的测定,例如QuARTS瓣状核酸内切酶测定(参见例如Zou等人(2010)“Sensitive quantification of methylated markers with a novel methylation specific technology”Clin Chem 56:A199;以及美国专利No.8,361,720;8,715,937;8,916,344;和9,212,392。

[0266] 一些常规技术涉及如下方法,所述方法包括将待分析的DNA封装在琼脂糖基质中,从而防止DNA的扩散和复性(亚硫酸氢盐仅与单链DNA反应),并用快速透析代替沉淀和纯化步骤(Olek A等人,(1996)“A modified and improved method for bisulfite based cytosine methylation analysis”Nucleic Acids Res.24:5064-6)。因此可以分析单个细胞的甲基化状况,这说明了该方法的实用性和灵敏度。Rein,T.等人,(1998)Nucleic Acids Res.26:2255概述了检测5-甲基胞嘧啶的常规方法。

[0267] 亚硫酸氢盐技术典型地包括在亚硫酸氢盐处理后扩增已知核酸的短的特定片段,然后通过测序(Olek和Walter(1997)Nat.Genet.17:275-6)或引物延伸反应(Gonzalgo和Jones(1997)Nucleic Acids Res.25:2529-31;WO 95/00669;美国专利No.6,251,594)分析产物以分析单个胞嘧啶位置。一些方法使用酶消化(Xiong和Laird(1997)Nucleic Acids Res.25:2532-4)。本领域也描述了通过杂交进行的检测(Olek等人,WO 99/28498)。此外,已经描述了使用亚硫酸氢盐技术检测单个基因的甲基化(Grigg和Clark(1994)Bioessays 16:431-6;Zeschnigk等人(1997)Hum Mol Genet.6:387-95;Feil等人(1994)Nucleic Acids Res.22:695;Martin等人(1995)Gene 157:261-4;WO 9746705;WO 9515373)。

[0268] 根据本发明的技术,各种甲基化测定程序可以与亚硫酸氢盐处理结合使用。这些测定允许确定核酸序列内的一个或多个CpG二核苷酸(例如CpG岛)的甲基化状态。这类测定除其它技术外还涉及经过亚硫酸氢盐处理的核酸的测序、PCR(用于序列特异性扩增)、DNA印迹分析(Southern blot analysis)和甲基化特异性限制酶如甲基化敏感性或甲基化依赖性酶的使用。

[0269] 例如,通过使用亚硫酸氢盐处理,已简化基因组测序供分析甲基化模式和5-甲基胞嘧啶分布(Frommer等人(1992)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:1827-1831)。此外,对从经过亚硫酸氢盐转化的DNA扩增的PCR产物的限制酶消化可用于评估甲基化状态,例如,如Sadri和Hornsby(1997)Nucl.Acids Res.24:5058-5059所述或如在称为COBRA(联合亚硫酸氢盐限制分析)的方法中所体现(Xiong和Laird(1997)Nucleic Acids Res.25:2532-2534)。

[0270] COBRA™分析是一种定量甲基化测定,可用于确定少量基因组DNA中特定基因座的DNA甲基化水平(Xiong和Laird,Nucleic Acids Res.25:2532-2534,1997)。简单地说,限制酶消化用于揭示经过亚硫酸氢钠处理的DNA的PCR产物的甲基化依赖性序列差异。根据Frommer等人(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:1827-1831,1992)描述的程序,首先通过标准亚硫酸氢盐处理将甲基化依赖性序列差异引入基因组DNA。然后使用对感兴趣的CpG岛具有特异性的引物对经过亚硫酸氢盐转化的DNA进行PCR扩增,接着进行限制性内切酶消化、凝胶电泳,并使用特定的标记的杂交探针进行检测。原始DNA样品中的甲基化水平由在广泛的DNA甲基化水平范围内呈线性定量方式的消化和未消化的PCR产物的相对量表示。此外,这项技术可以可靠地应用于从显微解剖的石蜡包埋组织样品中获得的DNA。

[0271] 用于COBRA™分析的典型试剂(例如,可在典型的基于COBRA™的试剂盒中找到)可能包括但不限于:针对特定基因座(例如,特定基因、标志物、DMR、基因区域、标志物区域、经过亚硫酸氢盐处理的DNA序列、CpG岛等)的PCR引物;限制酶和适当的缓冲液;基因杂交寡核苷酸;对照杂交寡核苷酸;寡核苷酸探针的激酶标记试剂盒;和标记的核苷酸。此外,亚硫酸氢盐转化试剂可能包括:DNA变性缓冲液;磺化缓冲液;DNA回收试剂或试剂盒(如沉淀、超滤、亲和柱);脱磺酸缓冲液;和DNA回收组分。

[0272] 如“MethyLight™”(一种基于荧光的实时PCR技术)(Eads等人,Cancer Res.59:2302-2306,1999)、Ms-SNuPE™(甲基化敏感性单核苷酸引物延伸)反应(Gonzalgo和Jones,Nucleic Acids Res.25:2529-2531,1997)、甲基化特异性PCR(“MSP”;Herman等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 93:9821-9826,1996;美国专利No.5,786,146)和甲基化CpG岛扩增(“MCA”;Toyota等人,Cancer Res.59:2307-12,1999)等测定单独使用或与这些方法中的一种或多种组合使用。

[0273] “HeavyMethyl™”测定技术是一种基于经过亚硫酸氢盐处理的DNA的甲基化特异性扩增来评估甲基化差异的定量方法。覆盖扩增引物之间的CpG位置或被扩增引物覆盖的甲基化特异性阻断探针(本文也称为阻断剂)能够实现核酸样品的甲基化特异性选择性扩增。

[0274] 术语“HeavyMethyl™MethyLight™”测定是指HeavyMethyl™MethyLight™测定,它是MethyLight™测定的变体,其中MethyLight™测定与覆盖扩增引物之间的CpG位置的甲基化特异性阻断探针组合。HeavyMethyl™测定也可以与甲基化特异性扩增引物结合使用。

[0275] 用于HeavyMethyl™分析的典型试剂(例如,可在典型的基于MethyLight™的试剂盒中找到)可以包括但不限于:针对特定基因座(例如,特定基因、标志物、基因区域、标志物区域、经过亚硫酸氢盐处理的DNA序列、CpG岛或经过亚硫酸氢盐处理的DNA序列或CpG岛等)的PCR引物;阻断寡核苷酸;优化的PCR缓冲液和脱氧核苷酸;以及Taq聚合酶。

[0276] MSP(甲基化特异性PCR)允许评估CpG岛内几乎任一组CpG位点的甲基化状况,而无需使用甲基化敏感性限制酶(Herman等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA 93:9821-9826,1996;美国专利No.5,786,146)。简单地说,亚硫酸氢钠对DNA进行修饰,将未甲基化而非甲基化的胞嘧啶转化为尿嘧啶,随后使用对甲基化与未甲基化DNA具有特异性的引物扩增产物。MSP只需要少量的DNA,对给定CpG岛基因座的0.1%甲基化等位基因敏感,并且可以对从石蜡包埋样品中提取的DNA进行分析。用于MSP分析的典型试剂(例如,可在典型的基于MSP的试剂盒中找到)可以包括但不限于:针对特定基因座(例如,特定基因、标志物、基因区域、标志物区域、经过亚硫酸氢盐处理的DNA序列、CpG岛等)的甲基化和未甲基化PCR引物;优化的PCR

缓冲液和脱氧核苷酸;以及特定的探针。

[0277] MethyLight™测定是一种高通量的定量甲基化测定,它利用基于荧光的实时PCR(例如TaqMan®),在PCR步骤后无需进一步操作(Eads等人,Cancer Res.59:2302-2306,1999)。简单地说,MethyLight™过程从基因组DNA的混合样品开始,该样品在亚硫酸氢钠反应中根据标准程序转化为甲基化依赖性序列差异的混合库(亚硫酸氢盐过程将未甲基化的胞嘧啶残基转化为尿嘧啶)。然后在"偏向"反应中例如使用与已知的CpG二核苷酸重叠的PCR引物进行基于荧光的PCR。序列区分发生在扩增过程的水平和荧光检测过程的水平下。

[0278] MethyLight™测定用作核酸,例如基因组DNA样品中甲基化模式的定量测试,其中序列区分发生在探针杂交水平下。在定量型式中,PCR反应在存在与特定假定甲基化位点重叠的荧光探针的情况下提供甲基化特异性扩增。引物和探针都不覆盖任何CpG二核苷酸的反应提供了对所述量的输入DNA的无偏向控制。可替代地,通过使用不覆盖已知的甲基化位点的对照寡核苷酸(例如,HeavyMethyl™和MSP技术的基于荧光的型式)或使用覆盖潜在甲基化位点的寡核苷酸探测偏向的PCR池,实现基因组甲基化的定性测试。

[0279] MethyLight™过程与任何合适的探针(例如"TaqMan®"探针、Lightcycler®探针等)一起使用。例如,在一些应用中,双链基因组DNA用亚硫酸氢钠处理并使用TaqMan®探针,例如使用MSP引物和/或HeavyMethyl阻断剂寡核苷酸和TaqMan®探针进行两组PCR反应中的一组。TaqMan®探针使用荧光"报告基因"和"猝灭剂"分子进行双重标记,并且设计成对相对较高GC含量的区域具有特异性,以便它在PCR循环中比正向或反向引物高约10℃的温度下熔化。这允许TaqMan®探针在PCR退火/延伸步骤期间保持完全杂交。当Taq聚合酶在PCR过程中酶促合成一条新链时,它最终将到达退火的TaqMan®探针。然后,Taq聚合酶5'至3'核酸内切酶活性将置换TaqMan®探针,它是通过消化探针以释放荧光报告分子,从而使用实时荧光检测系统对其现在未淬灭的信号进行定量检测。

[0280] 用于MethyLight™分析的典型试剂(例如,可在典型的基于MethyLight™的试剂盒中找到)可以包括但不限于:针对特定基因座(例如,特定基因、标志物、基因区域、标志物区域、经过亚硫酸氢盐处理的DNA序列、CpG岛等)的PCR引物;TaqMan®或Lightcycler®探针;优化的PCR缓冲液和脱氧核苷酸;以及Taq聚合酶。

[0281] QM™(定量甲基化)测定是基因组DNA样品中甲基化模式的替代定量测试,其中序列区分发生在探针杂交水平下。在这种定量型式中,PCR反应在存在与特定假定甲基化位点重叠的荧光探针的情况下提供无偏向的扩增。引物和探针都不覆盖任何CpG二核苷酸的反应提供了对所述量的输入DNA的无偏向控制。可替代地,通过使用不覆盖已知的甲基化位点的对照寡核苷酸(HeavyMethyl™和MSP技术的基于荧光的型式)或使用覆盖潜在甲基化位点的寡核苷酸探测偏向的PCR池,实现基因组甲基化的定性测试。

[0282] 在扩增过程中,QM™过程可以与任何合适的探针,例如"TaqMan®"探针、Lightcycler®探针一起使用。例如,双链基因组DNA用亚硫酸氢钠处理,并经受无偏向引物和TaqMan®探针。TaqMan®探针使用荧光"报告基因"和"猝灭剂"分子进行双重标记,并且设计成对相对较高GC含量的区域具有特异性,以便它在PCR循环中比正向或反向引物

高约10℃的温度下熔化。这允许TaqMan®探针在PCR退火/延伸步骤期间保持完全杂交。当Taq聚合酶在PCR过程中酶促合成一条新链时,它最终将到达退火的TaqMan®探针。然后,Taq聚合酶5'至3'核酸内切酶活性将置换TaqMan®探针,它是通过消化探针以释放荧光报告分子,从而使用实时荧光检测系统对其现在未淬灭的信号进行定量检测。用于QM™分析的典型试剂(例如,可在典型的基于QM™的试剂盒中找到)可以包括但不限于:针对特定基因座(例如,特定基因、标志物、基因区域、标志物区域、经过亚硫酸氢盐处理的DNA序列、CpG岛等)的PCR引物;TaqMan®或Lightcycler®探针;优化的PCR缓冲液和脱氧核苷酸;以及Taq聚合酶。

[0283] Ms-SNuPE™技术是一种用于评估特定CpG位点的甲基化差异的定量方法,该方法基于DNA的亚硫酸氢盐处理,然后是单核苷酸引物延伸(Gonzalgo和Jones,Nucleic Acids Res.25:2529-2531,1997)。简单地说,基因组DNA与亚硫酸氢钠反应,将未甲基化的胞嘧啶转化为尿嘧啶,同时保持5-甲基胞嘧啶不变。然后使用对经过亚硫酸氢盐转化的DNA具有特异性的PCR引物进行所需靶序列的扩增,并且分离所得产物并用作感兴趣CpG位点的甲基化分析的模板。可以分析少量的DNA(例如,显微解剖病理切片),并且避免使用限制酶来确定CpG位点的甲基化状况。

[0284] 用于Ms-SNuPE™分析的典型试剂(例如,可在典型的基于Ms-SNuPE™的试剂盒中找到)可能包括但不限于:针对特定基因座(例如,特定基因、标志物、基因区域、标志物区域、经过亚硫酸氢盐处理的DNA序列、CpG岛等)的PCR引物;优化的PCR缓冲液和脱氧核苷酸;凝胶提取试剂盒;阳性对照引物;针对特定基因座的Ms-SNuPE™引物;反应缓冲液(针对Ms-SNuPE反应);和标记的核苷酸。此外,亚硫酸氢盐转化试剂可能包括:DNA变性缓冲液;磺化缓冲液;DNA回收试剂或试剂盒(如沉淀、超滤、亲和柱);脱磺酸缓冲液;和DNA回收组分。

[0285] 简化代表性亚硫酸氢盐测序(RRBS)从对核酸进行亚硫酸氢盐处理以将所有未甲基化的胞嘧啶转化为尿嘧啶开始,然后进行限制酶消化(例如,通过识别包括CG序列的位点的酶,如MspI)以及在与接头配体偶联后对片段进行完整测序。限制酶的选择可以富集CpG密集区域的片段,减少在分析过程中可能映射至多个基因位置的冗余序列的数目。因此,RRBS通过选择限制性片段的子集(例如,通过使用制备型凝胶电泳的大小选择)用于测序来降低核酸样品的复杂性。与全基因组亚硫酸氢盐测序相反,限制酶消化产生的每个片段都含有至少一个CpG二核苷酸的DNA甲基化信息。因此,RRBS富集样品中在区域内具有高频率的限制酶切割位点的启动子、CpG岛和其它基因组特征,从而提供了一种评估一个或多个基因组基因座的甲基化状态的测定法。

[0286] RRBS的典型方案包括使用限制酶(如MspI)消化核酸样品、填充悬垂和A尾、连接接头、亚硫酸氢盐转化和PCR的步骤。参见例如等人(2005)"Genome-scale DNA methylation mapping of clinical samples at single-nucleotide resolution"Nat Methods 7:133-6;Meissner等人(2005)"Reduced representation bisulfite sequencing for comparative high-resolution DNA methylation analysis"Nucleic Acids Res.33:5868-77。

[0287] 在一些实施方案中,使用定量等位基因特异性实时靶标和信号放大(QuARTS)测定来评估甲基化状态。在每个QuARTS测定中依次发生三个反应,包括初级反应中的扩增(反应

1)和靶探针裂解(反应2);以及次级反应中的FRET裂解和荧光信号生成(反应3)。当使用特定引物扩增目标核酸时,带有瓣序列的特定检测探针与扩增子松散地结合。靶结合位点处特定侵入性寡核苷酸的存在引起5'核酸酶,例如FEN-1核酸内切酶,通过在检测探针和瓣序列之间切割来释放瓣序列。瓣序列与相应FRET盒的非发夹部分互补。因此,瓣序列充当FRET盒上的侵入性寡核苷酸,并在FRET盒荧光团与猝灭剂之间实现裂解,产生荧光信号。裂解反应可以每个靶标切割多个探针,从而每个瓣释放多个荧光团,提供指数信号放大。QuARTS可以通过使用带有不同染料的FRET盒来检测单个反应孔中的多个靶标。参见例如Zou等人(2010)"Sensitive quantification of methylated markers with a novel methylation specific technology"Clin Chem 56:A199),和美国专利No.8,361,720;8,715,937;8,916,344;以及9,212,392,每一个都通过引用的方式并入本文中,以达成所有目的。

[0288] 术语"亚硫酸氢盐试剂"是指包含亚硫酸氢盐(bisulfite)、亚硫酸氢盐(disulfite)、亚硫酸氢盐(hydrogen sulfite)或其组合的试剂,如本文所公开,其用于区分甲基化与未甲基化的CpG二核苷酸序列。所述处理方法是本领域已知的(例如PCT/EP2004/011715和WO2013/116375,各自通过引用的方式整体并入)。在一些实施方案中,亚硫酸氢盐处理在变性溶剂例如但不限于正烷二醇或二乙二醇二甲醚(DME)的存在下,或在二噁烷或二噁烷衍生物的存在下进行。在一些实施方案中,变性溶剂以介于1%与35%(v/v)之间的浓度使用。在一些实施方案中,亚硫酸氢盐反应在清除剂存在下进行,所述清除剂例如但不限于色烷衍生物,例如6-羟基-2,5,7,8,-四甲基色烷2-甲酸或三羟基苯甲酸和其衍生物,例如没食子酸(参见:PCT/EP2004/011715,以引用的方式整体并入)。在某些优选的实施方案中,亚硫酸氢盐反应包括用亚硫酸氢铵处理,例如,如WO 2013/116375中所述。

[0289] 在一些实施方案中,使用根据本发明的引物寡核苷酸组(例如参见表10、19和20)和扩增酶扩增处理过的DNA的片段。几个DNA区段的扩增可以在同一个反应容器中同时进行。通常,使用聚合酶链式反应(PCR)进行扩增。扩增子的长度通常为100至2000个碱基对。

[0290] 在该方法的另一个实施方案中,可以通过使用甲基化特异性引物寡核苷酸来检测在包含DMR(例如DMR 1-499,表1、8和21)的标志物内或附近的CpG位置的甲基化状况。这种技术(MSP)已在Herman的美国专利No.6,265,171中描述。使用甲基化状况特异性引物扩增经过亚硫酸氢盐处理的DNA可以区分甲基化与未甲基化的核酸。MSP引物对含有至少一种与经过亚硫酸氢盐处理的CpG二核苷酸杂交的引物。因此,所述引物的序列包含至少一个CpG二核苷酸。对未甲基化的DNA具有特异性的MSP引物在CpG的C位置处含有"T"。

[0291] 通过扩增获得的片段可以带有直接或间接的可检测标记。在一些实施方案中,标记是荧光标记、放射性核素或具有可在质谱仪中检测到的典型质量的可分离分子片段。在所述标记是质量标记的情况下,一些实施方案提供标记的扩增子具有单个正或负净电荷,从而允许在质谱仪中具有更好的可检测性。可以通过例如基质辅助激光解吸/电离质谱法(MALDI)或使用电喷雾质谱法(ESI)来进行检测和可视化。

[0292] 适用于这些测定技术的分离DNA的方法是本领域已知的。具体地说,一些实施方案包括分离核酸,如通过引用的方式整体并入本文中的美国专利申请序列号13/470,251("Isolation of Nucleic Acids")中所述。

[0293] 在一些实施方案中,本文所述的标志物可用于对粪便样品进行的QUARTS测定。在

一些实施方案中,提供了产生DNA样品的方法,特别是产生如下DNA样品的方法,所述DNA样品包含小体积(例如,小于100微升、小于60微升)的高度纯化的低丰度核酸并且基本上和/或实际上不含抑制用于测试DNA样品的测定(例如,PCR、INVADER、QuARTS测定等)的物质。这类DNA样品可在定性检测在取自患者的样品中存在的基因、基因变体(例如等位基因)或基因修饰(例如甲基化)的存在或定量测量其活性、表达或数量的诊断分析中使用。例如,一些癌症与特定突变等位基因或特定甲基化状态的存在相关,因此检测和/或定量这类突变等位基因或甲基化状态在癌症的诊断和治疗中具有预测价值。

[0294] 许多有价值的遗传标志物以极低的量存在于样品中,并且产生这类标志物的许多事件非常罕见。因此,即使是灵敏的检测方法(例如PCR)也需要大量DNA来提供足够的低丰度靶标,以满足或代替测定的检测阈值。此外,即使是少量抑制物质的存在也会损害这些旨在检测如此少量靶标的测定的准确性和精确度。因此,本文提供了对体积和浓度提供必要管理以产生这类DNA样品的方法。

[0295] 在一些实施方案中,样品包含血液、血清、白细胞、血浆或唾液。在一些实施方案中,受试者是人。这类样品可以通过本领域已知的,例如熟练技术人员显而易见的多种方法获得。可以通过使样品经受本领域技术人员已知的各种技术,包括但不限于离心和过滤来获得无细胞或基本上无细胞的样品。尽管通常优选不使用侵入性技术来获得样品,但获得样品例如组织匀浆、组织切片和活检标本仍可能是优选的。这项技术不限于用于制备样品和提供用于测试的核酸的方法。例如,在一些实施方案中,使用直接基因捕获,例如,如美国专利No.8,808,990和9,169,511以及WO 2012/155072中所详述,或通过相关方法,从粪便样品或血液或血浆样品中分离DNA。

[0296] 标志物的分析可以单独或与一个测试样品中的另外的标志物同时进行。例如,可以将几个标志物组合到一个测试中以有效处理多个样品并潜在地提供更高的诊断和/或预后准确性。此外,本领域技术人员会认识到测试来自同一受试者的多个样品(例如,在连续时间点)的价值。这类系列样品测试可以鉴定标志物甲基化状态随时间的变化。甲基化状态的变化以及甲基化状态没有变化可以提供有关疾病状态的有用信息,包括但不限于鉴定事件发生的大致时间、可挽救组织的存在和数量、药物疗法的适当性、各种疗法的有效性以及对受试者结果的鉴定,包括未来事件的风险。

[0297] 生物标志物的分析可以呈多种物理格式进行。例如,可以使用微量滴定板或自动化来促进大量测试样品的处理。可替代地,可以开发单一样品格式以促进以及时方式进行即刻治疗和诊断,例如在非卧床运输或急诊室环境中。

[0298] 预期以试剂盒的形式提供这项技术的实施方案。试剂盒包含本文所述的组合物、装置、设备等的实施方案,以及试剂盒的使用说明书。这类说明书描述了用于从样品制备分析物,例如用于收集样品和从样品制备核酸的合适方法。试剂盒的各个组分被包装在合适的容器和包装(例如,小瓶、盒子、泡罩包装、安瓿、广口瓶、瓶子、管等)中并且这些组分被一起包装在合适的容器(例如,一个盒子或多个盒子)中以方便试剂盒的用户存储、运输和/或使用。应当理解,液体组分(例如,缓冲液)可以呈冻干形式提供以供用户复原。试剂盒可以包括用于评估、验证和/或确保试剂盒性能的对照或参考。例如,用于测定样品中存在的核酸量的试剂盒可以包括对照,其包含已知浓度的用于比较的相同或另一种核酸,并且在一些实施方案中,对对照核酸具有特异性的检测试剂(例如引物)。试剂盒适用于临床环境,并

且在一些实施方案中,适用于用户家中。在一些实施方案中,试剂盒的组件提供用于从样品制备核酸溶液的系统的功能。在一些实施方案中,系统的某些组件由用户提供。

[0299] 方法

[0300] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0301] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:AFF3、AIM1_A、AMIGO3_A、BMP4_B、C17orf107_A、C1orf70_B、C5orf52、CLDN7、DIDO1_A、EEF1A2、EMX2OS、FEV、FKBP11_A、GDF6、GDF7_A、JSRP1_A、KCTD15_A、KLHL21、LRRC8D_A、NBPF8、MAX.chr10.130339363-130339534、MAX.chr10.22624479-22624553、MAX.chr14.103021656-103021718、MAX.chr8.145103829-145103992、MAX.chr8.145104263-145104422、MDFI_B、MIAT_A、MMP23B、NDRG2、OBSCN_A、PCOLCE、PYCARD、SEPT9_B、SLC6A3_A、SLC8A3_B、SQSTM1、VILL、ZNF302、ZNF323_A、ZNF506和ZNF90,以及

[0302] 2)检测EC(例如以大于或等于80%的灵敏度和大于或等于80%的特异性提供)。

[0303] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0304] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:EMX2OS、CYTH2、C17orf107_A、DIDO1_A、GDF6、NBPF8、MAX.chr14.103021656-103021718、JSRP1_A、GATA2_B和SFMBT2_B,以及

[0305] 2)检测EC(例如以大于或等于80%的灵敏度和大于或等于80%的特异性提供)。

[0306] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0307] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A,以及

[0308] 2)检测EC(例如以大于或等于80%的灵敏度和大于或等于80%的特异性提供)。

[0309] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0310] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:EMX2OS、CYTH2、NBPF8、MAX.chr10.22624479-22624553,以及

[0311] 2)检测EC(例如以大于或等于80%的灵敏度和大于或等于80%的特异性提供)。

[0312] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0313] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从血液样品(例如,血浆样品、全血样品、白细胞样品、血清样品)分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:ANKRD35、ARL5C、ARRB1、BCL2L11_A、BCL2L11_B、BCL2L11_C、BZRAP1、

C16orf54、C17orf101、C6orf132、CACNA2D4、DEDD2、EPS15L1、FAIM2、FAM125B、FAM189B、FAM78A、FOXP4、GYPC_A、GYPC_B、IFFO1_A、IFFO1_B、ITPKA、KLF16、LIMD2、LOC389333、LOC440925_A、LOC646278、LYL1、LYPLAL1、MAX.chr11.32355226-32355251、MAX.chr14.102172621-102172686、MAX.chr14.105512122-105512239、MAX.chr15.95128144-95128248、MAX.chr16.11327016-11327312、MAX.chr3.187676577-187676668、MAX.chr4.174430676-174430847、MAX.chr8.145900783-145900914、MAX.chr8.80804237-80804301、N4BP3、NCOR2、NFATC1_A、NFATC1_B、NKX2-6、NR2F6、OSM、PALLD_C、PIK3CD、PRKAR1B、RAD52、STX16_A、SUCLG2、TNFRSF1B、TNFRSF4、ZDHHC18和ZNF671_A,以及

[0314] 2)检测EC(例如以大于或等于80％的灵敏度和大于或等于80％的特异性提供)。

[0315] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0316] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:DIDO1_A、NDRG4、MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、EMX2OS、SEPT9_B、NBPF8、EEF1A2、AIM1_A、BMP4_B、MAX.chr8.145103829-145103992、OBSCN、PYCARD、GDF6、MDFI_B、MIAT_A、SCL8A3、ZNF323_A、SQSTM1、AFF3、C1orf70、GDF7_A、JSRP1_A、LRRC8D_A、FEV和MAX.chr8.145104263-145104422,以及

[0317] 2)检测透明细胞EC(例如以大于或等于80％的灵敏度和大于或等于80％的特异性提供)。

[0318] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0319] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:ZNF323_A、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、DIDO1_A、MDFI_B、MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、SEPT9_B和STX16_A,以及

[0320] 2)检测透明细胞EC(例如以大于或等于80％的灵敏度和大于或等于80％的特异性提供)。

[0321] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0322] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MDFI_B、GDF7_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、SEPT9_B、EEF1A2、LRRC41_C、VILL和MPZ_A,以及

[0323] 2)检测透明细胞EC(例如以大于或等于80％的灵敏度和大于或等于80％的特异性提供)。

[0324] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0325] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少

一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和OBSCN_B,以及

[0326] 2)检测透明细胞EC(例如以大于或等于80%的灵敏度和大于或等于80%的特异性提供)。

[0327] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0328] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从血液样品(例如,血浆样品、全血样品、白细胞样品、血清样品)分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、MDFI_B、DLL4、GDF7_A、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2、MMP23B、EMX2OS、MAX.chr17.73073716-73073814、NBPF8、SEPT9_B、LOC440925_A、STX16_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C和NFIC,以及

[0329] 2)检测透明细胞EC(例如以大于或等于80%的灵敏度和大于或等于80%的特异性提供)。

[0330] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0331] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:EMX2OS、DIDO1_A、SBNO2、AMIGO3_A、PCOLCE、CLDN7、CYTH2、OBSCN_A、AHSA2、DLL4、EMX2、MAX.chr14.74100620-74100870、LRRC4、PPP2R5C_A、SQSTM1、MAX.chr17.73073716-73073814、CYP11A1、ACOXL_A和AIM1_B,以及

[0332] 2)检测癌肉瘤EC(例如以大于或等于80%的灵敏度和大于或等于80%的特异性提供)。

[0333] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0334] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:EMX2OS和LRRC34,以及

[0335] 2)检测癌肉瘤EC(例如以大于或等于80%的灵敏度和大于或等于80%的特异性提供)。

[0336] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0337] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:ZNF506、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和VILL,以及

[0338] 2)检测癌肉瘤EC(例如以大于或等于80％的灵敏度和大于或等于80％的特异性提供)。

[0339] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0340] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:TRH、MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和ST3GAL2_B,以及

[0341] 2)检测癌肉瘤EC(例如以大于或等于80％的灵敏度和大于或等于80％的特异性提供)。

[0342] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0343] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从血液样品(例如,血浆样品、全血样品、白细胞样品、血清样品)分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:SFMBT2_B、SMTN、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC和VILL,以及

[0344] 2)检测癌肉瘤EC(例如以大于或等于80％的灵敏度和大于或等于80％的特异性提供)。

[0345] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0346] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:EMX2OS、KANK1、C1orf70_B、AMIGO3_A、DIDO1_A、LRRC41_C、NFIC、FKBP11_A、C17orf107_A、SMTN、LRRC41_B、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr7.104624356-104624730、MIAT_B,以及

[0347] 2)检测浆液性EC(例如以大于或等于80％的灵敏度和大于或等于80％的特异性提供)。

[0348] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0349] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:MAX.chr7.104624356-104624730、EMX2OS和LRRC41_C,以及

[0350] 2)检测浆液性EC(例如以大于或等于80％的灵敏度和大于或等于80％的特异性提供)。

[0351] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0352] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:MAX.chr8.145103829-

145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、EMX2OS、LRRC41_C和VILL,以及

[0353] 2)检测浆液性EC(例如以大于或等于80％的灵敏度和大于或等于80％的特异性提供)。

[0354] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0355] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:EMX2OS和LRRC41_D,以及

[0356] 2)检测浆液性EC(例如以大于或等于80％的灵敏度和大于或等于80％的特异性提供)。

[0357] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0358] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从血液样品(例如,血浆样品、全血样品、白细胞样品、血清样品)分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、CYP11A1、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、GDGF6、DLL4、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MIAT_B、KANK1、EMX2OS、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C、NFIC、VILL、MPZ_A,以及

[0359] 2)检测浆液性EC(例如以大于或等于80％的灵敏度和大于或等于80％的特异性提供)。

[0360] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0361] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:MAX.chr10.130339363-130339534、SFMBT2_C、CYTH2、SLC6A3、VILL、EMX2OS、MAX.chr10.22624479-22624553、GDF6、ZNF90、ZNF506、JSRP1_A、c5orf52、SFMBT2_B、NBPF8、RHBDL1_A、DIDO1_A、KANK1和GATA2_B,以及

[0362] 2)检测子宫内膜样EC(例如以大于或等于80％的灵敏度和大于或等于80％的特异性提供)。

[0363] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0364] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、SBNO2、NBPF8和VILL,以及

[0365] 2)检测子宫内膜样EC(例如以大于或等于80％的灵敏度和大于或等于80％的特异性提供)。

[0366] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0367] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述

标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A,以及

[0368] 2)检测子宫内膜样EC(例如以大于或等于80%的灵敏度和大于或等于80%的特异性提供)。

[0369] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0370] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从血液样品(例如,血浆样品、全血样品、白细胞样品、血清样品)分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、KANK1、SBNO2、c5orf52、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC、VILL和MPZ_A,以及

[0371] 2)检测子宫内膜样EC(例如以大于或等于80%的灵敏度和大于或等于80%的特异性提供)。

[0372] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0373] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:TSPYL5、TRH、JAM3、FAM19A5、PTGDR、SFMBT2_E、JSRP1_B和ARL5C,以及

[0374] 2)检测子宫内膜样1级EC(例如以大于或等于80%的灵敏度和大于或等于80%的特异性提供)。

[0375] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0376] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:TSPYL5、MPZ_B、TRH、CNTN4、FAM19A5、GLT1D1、RYR2_F、PTGDR、EMX2OS、MAX.chr10:22624470-22624553、SPDYA_B、SFMBT2_E和JSRP1_B,以及

[0377] 2)检测子宫内膜样EC 2级(例如以大于或等于80%的灵敏度和大于或等于80%的特异性提供)。

[0378] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0379] 1)使从受试者获得的核酸(如例如从子宫内膜组织分离的基因组DNA)与区分至少一种标志物内的甲基化与非甲基化CpG二核苷酸的至少一种试剂或一系列试剂接触,所述标志物选自具有选自由以下组成的组的注释的染色体区域:TSPYL5、MPZ_B、TRH和PTGDR,以及

[0380] 2)检测子宫内膜样EC 3级(例如以大于或等于80%的灵敏度和大于或等于80%的特异性提供)。

[0381] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0382] 1)通过用以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如其中所述试剂亚硫酸氢盐试剂、甲基化敏感性限制酶或甲基化依赖性限制酶)处理人类个体的生物样品中的基因组DNA,测量所述生物样品中一种或多种基因的甲基化水平,其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0383] (i)AFF3、AIM1_A、AMIGO3_A、BMP4_B、C17orf107_A、C1orf70_B、C5orf52、CLDN7、DIDO1_A、EEF1A2、EMX2OS、FEV、FKBP11_A、GDF6、GDF7_A、JSRP1_A、KCTD15_A、KLHL21、LRRC8D_A、NBPF8、MAX.chr10.130339363-130339534、MAX.chr10.22624479-22624553、MAX.chr14.103021656-103021718、MAX.chr8.145103829-145103992、MAX.chr8.145104263-145104422、MDFI_B、MIAT_A、MMP23B、NDRG2、OBSCN_A、PCOLCE、PYCARD、SEPT9_B、SLC6A3_A、SLC8A3_B、SQSTM1、VILL、ZNF302、ZNF323_A、ZNF506和ZNF90;

[0384] (ii)EMX2OS、CYTH2、C17orf107_A、DIDO1_A、GDF6、NBPF8、MAX.chr14.103021656-103021718、JSRP1_A、GATA2_B和SFMBT2_B;

[0385] (iii)SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A;

[0386] (iv)EMX2OS、CYTH2、NBPF8、MAX.chr10.22624479-22624553;以及

[0387] (v)ANKRD35、ARL5C、ARRB1、BCL2L11_A、BCL2L11_B、BCL2L11_C、BZRAP1、C16orf54、C17orf101、C6orf132、CACNA2D4、DEDD2、EPS15L1、FAIM2、FAM125B、FAM189B、FAM78A、FOXP4、GYPC_A、GYPC_B、IFFO1_A、IFFO1_B、ITPKA、KLF16、LIMD2、LOC389333、LOC440925_A、LOC646278、LYL1、LYPLAL1、MAX.chr11.32355226-32355251、MAX.chr14.102172621-102172686、MAX.chr14.105512122-105512239、MAX.chr15.95128144-95128248、MAX.chr16.11327016-11327312、MAX.chr3.187676577-187676668、MAX.chr4.174430676-174430847、MAX.chr8.145900783-145900914、MAX.chr8.80804237-80804301、N4BP3、NCOR2、NFATC1_A、NFATC1_B、NKX2-6、NR2F6、OSM、PALLD_C、PIK3CD、PRKAR1B、RAD52、STX16_A、SUCLG2、TNFRSF1B、TNFRSF4、ZDHHC18和ZNF671_A;

[0388] 2)使用一组针对所选择的一种或多种基因的引物扩增经过处理的基因组DNA;以及

[0389] 3)通过聚合酶链式反应、核酸测序、质谱法、甲基化特异性核酸酶、基于质量的分离以及靶标捕获确定所述一种或多种基因的甲基化水平。

[0390] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0391] 1)通过用以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如其中所述试剂亚硫酸氢盐试剂、甲基化敏感性限制酶或甲基化依赖性限制酶)处理人类个体的生物样品中的基因组DNA,测量所述生物样品中一种或多种基因的甲基化水平,其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0392] (i)DIDO1_A、NDRG4、MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、EMX2OS、SEPT9_B、NBPF8、EEF1A2、AIM1_A、BMP4_B、MAX.chr8.145103829-145103992、OBSCN、PYCARD、GDF6、MDFI_B、MIAT_A、SCL8A3、ZNF323_A、SQSTM1、AFF3、C1orf70、GDF7_A、JSRP1_A、LRRC8D_A、FEV和MAX.chr8.145104263-145104422;

[0393] (ii)ZNF323_A、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、DIDO1_A、MDFI_B、

MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、SEPT9_B和STX16_A;

[0394] (iii)SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MDFI_B、GDF7_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、SEPT9_B、EEF1A2、LRRC41_C、VILL和MPZ_A;

[0395] (iv)MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和OBSCN_B;以及

[0396] (v)SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、MDFI_B、DLL4、GDF7_A、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2、MMP23B、EMX2OS、MAX.chr17.73073716-73073814、NBPF8、SEPT9_B、LOC440925_A、STX16_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C和NFIC;

[0397] 2)使用一组针对所选择的一种或多种基因的引物扩增经过处理的基因组DNA;以及

[0398] 3)通过聚合酶链式反应、核酸测序、质谱法、甲基化特异性核酸酶、基于质量的分离以及靶标捕获确定所述一种或多种基因的甲基化水平。

[0399] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0400] 1)通过用以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如其中所述试剂亚硫酸氢盐试剂、甲基化敏感性限制酶或甲基化依赖性限制酶)处理人类个体的生物样品中的基因组DNA,测量所述生物样品中一种或多种基因的甲基化水平,其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0401] (i)EMX2OS、DIDO1_A、SBNO2、AMIGO3_A、PCOLCE、CLDN7、CYTH2、OBSCN_A、AHSA2、DLL4、EMX2、MAX.chr14.74100620-74100870、LRRC4、PPP2R5C_A、SQSTM1、MAX.chr17.73073716-73073814、CYP11A1、ACOXL_A和AIM1_B;

[0402] (ii)EMX2OS和LRRC34;

[0403] (iii)ZNF506、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和VILL;

[0404] (iv)TRH、MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和ST3GAL2_B;以及

[0405] (v)SFMBT2_B、SMTN、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC和VILL;

[0406] 2)使用一组针对所选择的一种或多种基因的引物扩增经过处理的基因组DNA;以及

[0407] 3)通过聚合酶链式反应、核酸测序、质谱法、甲基化特异性核酸酶、基于质量的分离以及靶标捕获确定所述一种或多种基因的甲基化水平。

[0408] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0409] 1)通过用以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如其中所述试剂亚硫酸氢盐试

剂、甲基化敏感性限制酶或甲基化依赖性限制酶)处理人类个体的生物样品中的基因组DNA,测量所述生物样品中一种或多种基因的甲基化水平,其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0410] (i)EMX2OS、KANK1、C1orf70_B、AMIGO3_A、DIDO1_A、LRRC41_C、NFIC、FKBP11_A、C17orf107_A、SMTN、LRRC41_B、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr7.104624356-104624730、MIAT_B;

[0411] (ii)MAX.chr7.104624356-104624730、EMX2OS和LRRC41_C;

[0412] (iii)MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、EMX2OS、LRRC41_C和VILL;

[0413] (iv)EMX2OS和LRRC41_D;以及

[0414] (v)SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、CYP11A1、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、GDGF6、DLL4、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MIAT_B、KANK1、EMX2OS、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C、NFIC、VILL、MPZ_A;

[0415] 2)使用一组针对所选择的一种或多种基因的引物扩增经过处理的基因组DNA;以及

[0416] 3)通过聚合酶链式反应、核酸测序、质谱法、甲基化特异性核酸酶、基于质量的分离以及靶标捕获确定所述一种或多种基因的甲基化水平。

[0417] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0418] 1)通过用以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如其中所述试剂亚硫酸氢盐试剂、甲基化敏感性限制酶或甲基化依赖性限制酶)处理人类个体的生物样品中的基因组DNA,测量所述生物样品中一种或多种基因的甲基化水平,其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0419] (i)MAX.chr10.130339363-130339534、SFMBT2_C、CYTH2、SLC6A3、VILL、EMX2OS、MAX.chr10.22624479-22624553、GDF6、ZNF90、ZNF506、JSRP1_A、c5orf52、SFMBT2_B、NBPF8、RHBDL1_A、DIDO1_A、KANK1和GATA2_B;

[0420] (ii)MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、SBNO2、NBPF8和VILL;

[0421] (iii)SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A;

[0422] (iv)SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、KANK1、SBNO2、c5orf52、EMX2O6、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC、VILL和MPZ_A;

[0423] (v)TSPYL5、TRH、JAM3、FAM19A5、PTGDR、SFMBT2_E、JSRP1_B和ARL5C;

[0424] (vi)TSPYL5、MPZ_B、TRH、CNTN4、FAM19A5、GLT1D1、RYR2_F、PTGDR、EMX2OS、MAX.chr10:22624470-22624553、SPDYA_B、SFMBT2_E和JSRP1_B;以及

[0425] (vii)TSPYL5、MPZ_B、TRH和PTGDR;

[0426] 2)使用一组针对所选择的一种或多种基因的引物扩增经过处理的基因组DNA;以及

[0427] 3)通过聚合酶链式反应、核酸测序、质谱法、甲基化特异性核酸酶、基于质量的分离以及靶标捕获确定所述一种或多种基因的甲基化水平。

[0428] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0429] 1)测量来自样品的DNA中至少一种甲基化标志基因的量,其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0430] (i)AFF3、AIM1_A、AMIGO3_A、BMP4_B、C17orf107_A、C1orf70_B、C5orf52、CLDN7、DIDO1_A、EEF1A2、EMX2OS、FEV、FKBP11_A、GDF6、GDF7_A、JSRP1_A、KCTD15_A、KLHL21、LRRC8D_A、NBPF8、MAX.chr10.130339363-130339534、MAX.chr10.22624479-22624553、MAX.chr14.103021656-103021718、MAX.chr8.145103829-145103992、MAX.chr8.145104263-145104422、MDFI_B、MIAT_A、MMP23B、NDRG2、OBSCN_A、PCOLCE、PYCARD、SEPT9_B、SLC6A3_A、SLC8A3_B、SQSTM1、VILL、ZNF302、ZNF323_A、ZNF506和ZNF90;

[0431] (ii)EMX2OS、CYTH2、C17orf107_A、DIDO1_A、GDF6、NBPF8、MAX.chr14.103021656-103021718、JSRP1_A、GATA2_B和SFMBT2_B;

[0432] (iii)SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A;

[0433] (iv)EMX2OS、CYTH2、NBPF8、MAX.chr10.22624479-22624553;以及

[0434] (v)ANKRD35、ARL5C、ARRB1、BCL2L11_A、BCL2L11_B、BCL2L11_C、BZRAP1、C16orf54、C17orf101、C6orf132、CACNA2D4、DEDD2、EPS15L1、FAIM2、FAM125B、FAM189B、FAM78A、FOXP4、GYPC_A、GYPC_B、IFFO1_A、IFFO1_B、ITPKA、KLF16、LIMD2、LOC389333、LOC440925_A、LOC646278、LYL1、LYPLAL1、MAX.chr11.32355226-32355251、MAX.chr14.102172621-102172686、MAX.chr14.105512122-105512239、MAX.chr15.95128144-95128248、MAX.chr16.11327016-11327312、MAX.chr3.187676577-187676668、MAX.chr4.174430676-174430847、MAX.chr8.145900783-145900914、MAX.chr8.80804237-80804301、N4BP3、NCOR2、NFATC1_A、NFATC1_B、NKX2-6、NR2F6、OSM、PALLD_C、PIK3CD、PRKAR1B、RAD52、STX16_A、SUCLG2、TNFRSF1B、TNFRSF4、ZDHHC18和ZNF671_A;

[0435] 2)测量DNA中的至少一种参考标志物的量;以及

[0436] 3)将在DNA中测量的至少一种甲基化标志基因的量的值计算为在DNA中测量的参考标志基因的量的百分比,其中该值指示在样品中测量的至少一种甲基化标志DNA的量。

[0437] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0438] 1)测量来自样品的DNA中至少一种甲基化标志基因的量,其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0439] (i)DIDO1_A、NDRG4、MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、EMX2OS、SEPT9_B、NBPF8、EEF1A2、AIM1_A、BMP4_B、MAX.chr8.145103829-145103992、OBSCN、PYCARD、GDF6、MDFI_B、MIAT_A、SCL8A3、ZNF323_A、SQSTM1、AFF3、C1orf70、GDF7_A、JSRP1_A、LRRC8D_A、FEV和MAX.chr8.145104263-145104422;

[0440] (ii)ZNF323_A、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、DIDO1_A、MDFI_B、

MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、SEPT9_B和STX16_A;

[0441] (iii)SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MDFI_B、GDF7_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、SEPT9_B、EEF1A2、LRRC41_C、VILL和MPZ_A;

[0442] (iv)MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和OBSCN_B;以及

[0443] (v)SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、MDFI_B、DLL4、GDF7_A、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2、MMP23B、EMX2OS、MAX.chr17.73073716-73073814、NBPF8、SEPT9_B、LOC440925_A、STX16_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C和NFIC;

[0444] 2)测量DNA中至少一种参考标志物的量;以及

[0445] 3)将在DNA中测量的至少一种甲基化标志基因的量的值计算为在DNA中测量的参考标志基因的量的百分比,其中该值指示在样品中测量的至少一种甲基化标志DNA的量。

[0446] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0447] 1)测量来自样品的DNA中至少一种甲基化标志基因的量,其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0448] (i)EMX2OS、DIDO1_A、SBNO2、AMIGO3_A、PCOLCE、CLDN7、CYTH2、OBSCN_A、AHSA2、DLL4、EMX2、MAX.chr14.74100620-74100870、LRRC4、PPP2R5C_A、SQSTM1、MAX.chr17.73073716-73073814、CYP11A1、ACOXL_A和AIM1_B;

[0449] (ii)EMX2OS和LRRC34;

[0450] (iii)ZNF506、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和VILL;

[0451] (iv)TRH、MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和ST3GAL2_B;以及

[0452] (v)SFMBT2_B、SMTN、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC和VILL;

[0453] 2)测量DNA中至少一种参考标志物的量;以及

[0454] 3)将在DNA中测量的至少一种甲基化标志基因的量的值计算为在DNA中测量的参考标志基因的量的百分比,其中该值指示在样品中测量的至少一种甲基化标志DNA的量。

[0455] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0456] 1)测量来自样品的DNA中至少一种甲基化标志基因的量,其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0457] (i)EMX2OS、KANK1、C1orf70_B、AMIGO3_A、DIDO1_A、LRRC41_C、NFIC、FKBP11_A、C17orf107_A、SMTN、LRRC41_B、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr7.104624356-104624730、MIAT_B;

[0458] (ii)MAX.chr7.104624356-104624730、EMX2OS和LRRC41_C;

[0459] (iii)MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、EMX2OS、LRRC41_C和VILL;

[0460] (iv)EMX2OS和LRRC41_D;以及

[0461] (v)SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、CYP11A1、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、GDGF6、DLL4、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MIAT_B、KANK1、EMX2OS、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C、NFIC、VILL、MPZ_A;

[0462] 2)测量DNA中至少一种参考标志物的量;以及

[0463] 3)将在DNA中测量的至少一种甲基化标志基因的量的值计算为在DNA中测量的参考标志基因的量的百分比,其中该值指示在样品中测量的至少一种甲基化标志DNA的量。

[0464] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0465] 1)测量来自样品的DNA中至少一种甲基化标志基因的量,其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0466] (i)MAX.chr10.130339363-130339534、SFMBT2_C、CYTH2、SLC6A3、VILL、EMX2OS、MAX.chr10.22624479-22624553、GDF6、ZNF90、ZNF506、JSRP1_A、c5orf52、SFMBT2_B、NBPF8、RHBDL1_A、DIDO1_A、KANK1和GATA2_B;

[0467] (ii)MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、SBNO2、NBPF8和VILL;

[0468] (iii)SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A;

[0469] (iv)SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、KANK1、SBNO2、c5orf52、EMX2O6、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC、VILL和MPZ_A;

[0470] (v)TSPYL5、TRH、JAM3、FAM19A5、PTGDR、SFMBT2_E、JSRP1_B和ARL5C;

[0471] (vi)TSPYL5、MPZ_B、TRH、CNTN4、FAM19A5、GLT1D1、RYR2_F、PTGDR、EMX2OS、MAX.chr10:22624470-22624553、SPDYA_B、SFMBT2_E和JSRP1_B;以及

[0472] (vii)TSPYL5、MPZ_B、TRH和PTGDR;

[0473] 2)测量DNA中至少一种参考标志物的量;以及

[0474] 3)将在DNA中测量的至少一种甲基化标志基因的量的值计算为在DNA中测量的参考标志基因的量的百分比,其中该值指示在样品中测量的至少一种甲基化标志DNA的量。

[0475] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0476] 1)通过用亚硫酸氢盐以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂)处理人类个体的生物样品中的基因组DNA,测量所述生物样品中一种或多种基因的CpG位点的甲基化水平;

[0477] 2)使用一组针对所选择的一种或多种基因的引物扩增经过修饰的基因组DNA;以

及

[0478] 3)通过甲基化特异性PCR、定量甲基化特异性PCR、甲基化敏感性DNA限制酶分析、定量亚硫酸氢盐焦磷酸测序或亚硫酸氢盐基因组测序PCR确定所述CpG位点的甲基化水平;

[0479] 其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0480] (i)AFF3、AIM1_A、AMIGO3_A、BMP4_B、C17orf107_A、C1orf70_B、C5orf52、CLDN7、DIDO1_A、EEF1A2、EMX2OS、FEV、FKBP11_A、GDF6、GDF7_A、JSRP1_A、KCTD15_A、KLHL21、LRRC8D_A、NBPF8、MAX.chr10.130339363-130339534、MAX.chr10.22624479-22624553、MAX.chr14.103021656-103021718、MAX.chr8.145103829-145103992、MAX.chr8.145104263-145104422、MDFI_B、MIAT_A、MMP23B、NDRG2、OBSCN_A、PCOLCE、PYCARD、SEPT9_B、SLC6A3_A、SLC8A3_B、SQSTM1、VILL、ZNF302、ZNF323_A、ZNF506和ZNF90;

[0481] (ii)EMX2OS、CYTH2、C17orf107_A、DIDO1_A、GDF6、NBPF8、MAX.chr14.103021656-103021718、JSRP1_A、GATA2_B和SFMBT2_B;

[0482] (iii)SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A;

[0483] (iv)EMX2OS、CYTH2、NBPF8、MAX.chr10.22624479-22624553;以及

[0484] (v)ANKRD35、ARL5C、ARRB1、BCL2L11_A、BCL2L11_B、BCL2L11_C、BZRAP1、C16orf54、C17orf101、C6orf132、CACNA2D4、DEDD2、EPS15L1、FAIM2、FAM125B、FAM189B、FAM78A、FOXP4、GYPC_A、GYPC_B、IFFO1_A、IFFO1_B、ITPKA、KLF16、LIMD2、LOC389333、LOC440925_A、LOC646278、LYL1、LYPLAL1、MAX.chr11.32355226-32355251、MAX.chr14.102172621-102172686、MAX.chr14.105512122-105512239、MAX.chr15.95128144-95128248、MAX.chr16.11327016-11327312、MAX.chr3.187676577-187676668、MAX.chr4.174430676-174430847、MAX.chr8.145900783-145900914、MAX.chr8.80804237-80804301、N4BP3、NCOR2、NFATC1_A、NFATC1_B、NKX2-6、NR2F6、OSM、PALLD_C、PIK3CD、PRKAR1B、RAD52、STX16_A、SUCLG2、TNFRSF1B、TNFRSF4、ZDHHC18和ZNF671_A。

[0485] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0486] 1)通过用亚硫酸氢盐以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂)处理人类个体的生物样品中的基因组DNA,测量所述生物样品中一种或多种基因的CpG位点的甲基化水平;

[0487] 2)使用一组针对所选择的一种或多种基因的引物扩增经过修饰的基因组DNA;以及

[0488] 3)通过甲基化特异性PCR、定量甲基化特异性PCR、甲基化敏感性DNA限制酶分析、定量亚硫酸氢盐焦磷酸测序或亚硫酸氢盐基因组测序PCR确定所述CpG位点的甲基化水平;

[0489] 其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0490] (i)DIDO1_A、NDRG4、MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、EMX2OS、SEPT9_B、NBPF8、EEF1A2、AIM1_A、BMP4_B、MAX.chr8.145103829-145103992、OBSCN、PYCARD、GDF6、MDFI_B、MIAT_A、SCL8A3、ZNF323_A、SQSTM1、AFF3、C1orf70、GDF7_A、JSRP1_A、LRRC8D_A、FEV和MAX.chr8.145104263-145104422;

[0491] (ii)ZNF323_A、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、DIDO1_A、MDFI_B、MAX.chr14.103021656-103021718、MMP23B、SEPT9_B和STX16_A;

[0492] (iii)SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、MDFI_B、GDF7_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、SEPT9_B、EEF1A2、LRRC41_C、VILL和MPZ_A;

[0493] (iv)MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和OBSCN_B;以及

[0494] (v)SFMBT2_B、SQSTM1、ZNF323_A、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、NDRG2、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、MDFI_B、DLL4、GDF7_A、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、EMX2、MMP23B、EMX2OS、MAX.chr17.73073716-73073814、NBPF8、SEPT9_B、LOC440925_A、STX16_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C和NFIC。

[0495] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0496] 1)通过用亚硫酸氢盐以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂)处理人类个体的生物样品中的基因组DNA,测量所述生物样品中一种或多种基因的CpG位点的甲基化水平;

[0497] 2)使用一组针对所选择的一种或多种基因的引物扩增经过修饰的基因组DNA;以及

[0498] 3)通过甲基化特异性PCR、定量甲基化特异性PCR、甲基化敏感性DNA限制酶分析、定量亚硫酸氢盐焦磷酸测序或亚硫酸氢盐基因组测序PCR确定所述CpG位点的甲基化水平;

[0499] 其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0500] (i)EMX2OS、DIDO1_A、SBNO2、AMIGO3_A、PCOLCE、CLDN7、CYTH2、OBSCN_A、AHSA2、DLL4、EMX2、MAX.chr14.74100620-74100870、LRRC4、PPP2R5C_A、SQSTM1、MAX.chr17.73073716-73073814、CYP11A1、ACOXL_A和AIM1_B;

[0501] (ii)EMX2OS和LRRC34;

[0502] (iii)ZNF506、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和VILL;

[0503] (iv)TRH、MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B和ST3GAL2_B;以及

[0504] (v)SFMBT2_B、SMTN、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、CYP11A1、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、DIDO1_A、GDF6、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、EMX2OS、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC和VILL。

[0505] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0506] 1)通过用亚硫酸氢盐以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂)处理人类个体的生物样品中的基因组DNA,测量所述生物样品中一种或多种基因的CpG位点的甲基化水平;

[0507] 2)使用一组针对所选择的一种或多种基因的引物扩增经过修饰的基因组DNA;以及

[0508] 3)通过甲基化特异性PCR、定量甲基化特异性PCR、甲基化敏感性DNA限制酶分析、

定量亚硫酸氢盐焦磷酸测序或亚硫酸氢盐基因组测序PCR确定所述CpG位点的甲基化水平;

[0509] 其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0510] (i)EMX2OS、KANK1、C1orf70_B、AMIGO3_A、DIDO1_A、LRRC41_C、NFIC、FKBP11_A、C17orf107_A、SMTN、LRRC41_B、LRRC8D_A、OBSCN_A、MAX.chr7.104624356-104624730、MIAT_B;

[0511] (ii)MAX.chr7.104624356-104624730、EMX2OS和LRRC41_C;

[0512] (iii)MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、LRRC8D_A、OBSCN_A、DIDO1_A、EMX2OS、LRRC41_C和VILL;

[0513] (iv)EMX2OS和LRRC41_D;以及

[0514] (v)SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、MAX.chr7.104624356-104624730、CYP11A1、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、GDGF6、DLL4、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MIAT_B、KANK1、EMX2OS、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、EEF1A2、FEV、LRRC41_C、NFIC、VILL、MPZ_A。

[0515] 在这项技术的一些实施方案中,提供包括以下步骤的方法:

[0516] 1)通过用亚硫酸氢盐以甲基化特异性方式修饰DNA的试剂(例如甲基化敏感性限制酶、甲基化依赖性限制酶和亚硫酸氢盐试剂)处理人类个体的生物样品中的基因组DNA,测量所述生物样品中一种或多种基因的CpG位点的甲基化水平;

[0517] 2)使用一组针对所选择的一种或多种基因的引物扩增经过修饰的基因组DNA;以及

[0518] 3)通过甲基化特异性PCR、定量甲基化特异性PCR、甲基化敏感性DNA限制酶分析、定量亚硫酸氢盐焦磷酸测序或亚硫酸氢盐基因组测序PCR确定所述CpG位点的甲基化水平;

[0519] 其中所述一种或多种基因选自以下组中的一组:

[0520] (i)MAX.chr10.130339363-130339534、SFMBT2_C、CYTH2、SLC6A3、VILL、EMX2OS、MAX.chr10.22624479-22624553、GDF6、ZNF90、ZNF506、JSRP1_A、c5orf52、SFMBT2_B、NBPF8、RHBDL1_A、DIDO1_A、KANK1和GATA2_B;

[0521] (ii)MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、DIDO1_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、SBNO2、NBPF8和VILL;

[0522] (iii)SFMBT2_B、ZNF90、MAX.chr8.145103829-145103992、CYTH2、MAX.chr8.145104263-145104422、OBSCN_A、MAX.chr10.22624479-22624553、JSRP1_A、EMX2OS、NBPF8和MPZ_A;

[0523] (iv)SFMBT2_B、SMTN、SQSTM1、ZNF506、ZNF90、CLDN7、LRRC41_B、FKBP11_A、MAX.chr8.145103829-145103992、AHSA2、CYTH2、GATA2_B、LRRC8D_A、MAX.chr8.145104263-145104422、DIDO1_A、GDF6、MAX.chr10.130339363-130339534、DLL4、MAX.chr10.22624479-22624553、MIAT_A、PYCARD、BMP4_B、JSRP1_A、MAX.chr14.103021656-103021718、MIAT_B、KANK1、SBNO2、c5orf52、EMX2O6、LRRC34、NBPF8、LOC440925_A、ITPKA、NFIC、VILL和MPZ_A;

[0524] (v)TSPYL5、TRH、JAM3、FAM19A5、PTGDR、SFMBT2_E、JSRP1_B和ARL5C;

[0525] (vi)TSPYL5、MPZ_B、TRH、CNTN4、FAM19A5、GLT1D1、RYR2_F、PTGDR、EMX2OS、MAX.chr10:22624470-22624553、SPDYA_B、SFMBT2_E和JSRP1_B;以及

[0526] (vii)TSPYL5、MPZ_B、TRH和PTGDR。

[0527] 优选地,这类方法的灵敏度为约70%至约100%,或约80%至约90%,或约80%至约85%。优选地,特异性为约70%至约100%,或约80%至约90%,或约80%至约85%。

[0528] 基因组DNA可以通过任何方式分离,包括使用市售试剂盒。简单地说,当感兴趣的DNA被细胞膜包裹时,生物样品必须通过酶促、化学或机械方式进行破坏和溶解。然后可以例如通过用蛋白酶K消化来清除DNA溶液中的蛋白质和其它污染物。然后从溶液中回收基因组DNA。这可以通过多种方法进行,包括盐析、有机萃取或将DNA结合到固相载体上。方法的选择将受到几种因素的影响,包括时间、费用和所需的DNA数量。包含赘生物或肿瘤发生前物质的所有临床样品类型都适用于本发明的方法,例如细胞系、组织切片、活检、石蜡包埋组织、体液、粪便、乳腺组织、子宫内膜组织、白细胞、结肠流出物、尿液、血浆、血清、全血、分离的血细胞、从血液中分离的细胞以及它们的组合。

[0529] 这项技术不限于用于制备样品和提供用于测试的核酸的方法。例如,在一些实施方案中,使用直接基因捕获,例如,如美国专利申请序列号61/485386中所详述,或通过相关方法,从粪便样品或血液或血浆样品中分离DNA。

[0530] 然后用至少一种试剂或一系列试剂处理基因组DNA样品,所述试剂区分包含DMR(例如DMR 1-499,如表1、8和21所提供)的至少一种标志物内的甲基化与未甲基化的CpG二核苷酸。

[0531] 在一些实施方案中,试剂将在5'-位置未甲基化的胞嘧啶碱基转化为尿嘧啶、胸腺嘧啶或在杂交行为方面与胞嘧啶不同的另一碱基。然而,在一些实施方案中,试剂可以是甲基化敏感性限制酶。

[0532] 在一些实施方案中,基因组DNA样品通过如下方式进行处理,使得将在5'-位置未甲基化的胞嘧啶碱基转化为尿嘧啶、胸腺嘧啶或在杂交行为方面与胞嘧啶不同的另一碱基。在一些实施方案中,这种处理是用亚硫酸氢盐(亚硫酸氢盐、亚硫酸氢盐),然后碱水解进行的。

[0533] 然后分析处理过的核酸以确定靶基因序列(来自包含DMR,例如至少一种选自DMR 1-499(例如,如表1、8和21中提供)的DMR的标志物的至少一种基因、基因组序列或核苷酸)的甲基化状态。分析方法可选自本领域已知的那些,包括本文所列的那些,例如本文所述的QuARTS和MSP。

[0534] 异常甲基化,更具体地,包含DMR(例如,DMR 1-499,例如,如表1、8和21所提供)的标志物的高甲基化与EC和/或一种EC类型(例如,透明细胞EC,癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC)相关。

[0535] 这项技术涉及与EC相关的任何样品的分析。例如,在一些实施方案中,样品包含从患者获得的组织和/或生物流体。在一些实施方案中,样品包含分泌物。在一些实施方案中,样品包含血液、血清、血浆、胃分泌物、胰液、胃肠活检样品、来自乳房活检的显微解剖细胞和/或从粪便中回收的细胞。在一些实施方案中,样品包含子宫内膜组织。在一些实施方案中,受试者是人。样品可以包括来自子宫内膜、乳房、肝脏、胆管、胰腺、胃、结肠、直肠、食道、小肠、阑尾、十二指肠、息肉、胆囊、肛门和/或腹膜的细胞、分泌物或组织。在一些实施方案中,样品包含细胞液、腹水、尿液、粪便、胰液、在内窥镜检查期间获得的流体、血液、粘液或唾液。在一些实施方案中,样品是粪便样品。在一些实施方案中,样品是子宫内膜组织样品。

[0536] 这类样品可以通过本领域已知的,例如熟练技术人员显而易见的多种方法获得。

例如,尿液和粪便样品很容易获得,而血液、腹水、血清或胰液样品可以通过使用例如针头和注射器以肠胃外方式获得。可以通过使样品经受本领域技术人员已知的各种技术,包括但不限于离心和过滤来获得无细胞或基本上无细胞的样品。尽管通常优选不使用侵入性技术来获得样品,但获得样品例如组织匀浆、组织切片和活检标本仍可能是优选的。

[0537] 在一些实施方案中,这项技术涉及一种治疗患者(例如,患有EC、早期EC或可能发展为EC的患者)(例如,患有透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC的患者)的方法,该方法包括确定如本文提供的一种或多种DMR的甲基化状态并基于确定甲基化状态的结果对患者进行治疗。治疗可以是施用药物化合物、疫苗、进行手术、对患者进行成像、进行另一测试。优选地,所述使用是在临床筛查方法、预后评估方法、监测疗法结果的方法、鉴定最可能对特定治疗性治疗有反应的患者的方法、对患者或受试者进行成像的方法以及药物筛查和开发的方法中。

[0538] 在这项技术的一些实施方案中,提供了一种用于诊断受试者中的EC的方法。如本文所用,术语“诊断(diagnosing)”和“诊断(diagnosis)”是指熟练技术人员可以估计甚至确定受试者是否患有给定疾病或疾患或将来是否可能显现给定疾病或疾患的方法。熟练技术人员通常基于一种或多种诊断指标做出诊断,所述诊断指标例如生物标志物(例如,如本文公开的DMR),其甲基化状态指示疾患存在、严重性或不存在。

[0539] 连同诊断一起,临床癌症预后涉及确定癌症的侵袭性和肿瘤复发的可能性,以规划最有效的疗法。如果可以做出更准确的预后,或者甚至可以评估显现癌症的潜在风险,则可以为患者选择适当的疗法,在某些情况下,可以选择不太严重的疗法。癌症生物标志物的评估(例如,确定甲基化状态)可用于将不需要疗法或需要有限疗法的具有良好预后和/或显现癌症风险低的受试者与更可能显现癌症或遭受癌症复发的受益于更深入的治疗的受试者分开。

[0540] 因此,如本文所用,“做出诊断”或“诊断”还包括确定显现癌症的风险或确定预后,这可以基于本文公开的诊断生物标志物(例如,DMR)的测量预测临床结果(有或没有医学治疗)、选择适当的治疗(或治疗是否有效)或监测当前治疗并可能改变治疗。此外,在本公开主题的一些实施方案中,可以随时间对生物标志物进行多次测定以促进诊断和/或预后。生物标志物的时间变化可用于预测临床结果、监测EC的进展和/或监测针对癌症的适当疗法的功效。例如,在这样的实施方案中,可能期望在有效疗法过程期间的时间内看到生物样品中的一种或多种本文公开的生物标志物(例如DMR)(以及可能的一种或多种额外生物标志物,如果被监测)的甲基化状态的变化。

[0541] 在一些实施方案中,本发明公开的主题还提供了一种用于确定是否在受试者中开始或继续癌症的预防或治疗的方法。在一些实施方案中,该方法包括在一段时间内提供来自受试者的一系列生物样品;分析该系列生物样品以确定每个生物样品中至少一种本文公开的生物标志物的甲基化状态;以及比较每个生物样品中一种或多种生物标志物的甲基化状态的任何可测量变化。一段时间内生物标志物甲基化状态的任何变化都可用于预测显现癌症的风险、预测临床结果、确定是否开始或继续癌症的预防或疗法,以及当前疗法是否有效治疗癌症。例如,可以在开始治疗之前选择第一时间点并且可以在开始治疗之后的某个时间选择第二时间点。甲基化状态可以在取自不同时间点的每个样品中测量,并记录定性和/或定量差异。来自不同样品的生物标志物水平的甲基化状态的变化可与受试者中的EC

风险、预后、确定治疗功效和/或癌症进展相关。

[0542] 在优选的实施方案中,本发明的方法和组合物用于在早期阶段,例如在疾病症状出现之前治疗或诊断疾病。在一些实施方案中,本发明的方法和组合物用于在临床阶段治疗或诊断疾病。

[0543] 如所述,在一些实施方案中,可以对一种或多种诊断或预后生物标志物进行多次测定,并且可以使用标志物的时间变化来确定诊断或预后。例如,可以在初始时间确定诊断标志物,并在第二时间再次确定。在这样的实施方案中,标志物从初始时间到第二时间的增加可以诊断癌症的特定类型或严重程度,或给定的预后。同样,标志物从初始时间到第二时间的减少可以指示癌症的特定类型或严重程度,或给定的预后。此外,一种或多种标志物的变化程度可能与癌症的严重程度和未来的不良事件有关。技术人员将理解,虽然在某些实施方案中可以在多个时间点对相同的生物标志物进行比较测量,但也可以在一个时间点测量给定的生物标志物,并在第二个时间点测量第二种生物标志物,并且比较这些标志物可以提供诊断信息。

[0544] 如本文所用,短语“确定预后”是指熟练技术人员可以预测受试者的疾患的进程或结果的方法。术语“预后”并不是指能够以100%的准确度预测疾患的进程或结果,甚至不是基于生物标志物(例如DMR)的甲基化状态大概预测给定的进程或结果发生的可能性。相反,熟练技术人员会理解,术语“预后”是指某个过程或结果发生的可能性增加;也就是说,与未表现出给定疾患的那些个体相比,表现出疾患的受试者更可能发生过程或结果。例如,在未表现出疾患(例如,具有一种或多种DMR的正常甲基化状态)的个体中,给定结果(例如,患有EC)的机会可能非常低。

[0545] 在一些实施方案中,统计分析将预后指标与不利结果的倾向相关联。例如,在一些实施方案中,与从未患癌症的患者获得的正常对照样品中的甲基化状态不同的甲基化状态可以表示受试者比水平更类似于对照样品中的甲基化状态的受试者更可能患上癌症,如由统计显著性水平确定。此外,甲基化状态相对于基线(例如,“正常”)水平的变化可以反映受试者的预后,并且甲基化状态的变化程度可以与不良事件的严重程度相关。通常通过比较两个或更多个群体并确定置信区间和/或p值来确定统计显著性。参见例如Dowdy和Wearden,Statistics for Research,John Wiley&Sons,New York,1983,以引用的方式整体并入本文中。本发明主题的示例性置信区间为90%、95%、97.5%、98%、99%、99.5%、99.9%和99.99%,而示例性p值为0.1、0.05、0.025、0.02、0.01、0.005、0.001和0.0001。

[0546] 在其它实施方案中,可以建立本文公开的预后或诊断生物标志物(例如,DMR)的甲基化状态变化的阈值程度,并且简单地比较生物样品中生物标志物的甲基化状态变化程度与甲基化状态变化的阈值程度。本文提供的生物标志物的甲基化状态的优选阈值变化为约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约50%、约75%、约100%和约150%。在其它实施方案中,可以建立“列线图”,通过该“列线图”,预后或诊断指标(生物标志物或生物标志物的组合)的甲基化状态与给定结果的相关倾向直接相关。熟练技术人员熟悉使用这类列线图来关联两个数值,并理解该测量中的不确定度与标志物浓度中的不确定度相同,因为参考的是单个样品测量值,而不是总体平均值。

[0547] 在一些实施方案中,对照样品与生物样品同时分析,使得从生物样品获得的结果可以与从对照样品获得的结果进行比较。此外,预期可提供标准曲线,生物样品的测定结果

可与之进行比较。如果使用荧光标记,则这类标准曲线将生物标志物的甲基化状态呈现为测定单位的函数,例如荧光信号强度。使用取自多个供体的样品,可以提供正常组织中一种或多种生物标志物的对照甲基化状态,以及取自具有化生的供体或具有EC的供体的组织中一种或多种生物标志物的“风险”水平的标准曲线。在该方法的某些实施方案中,在从受试者获得的生物样品中鉴定本文提供的一种或多种DMR的异常甲基化状态后,受试者被鉴定为具有化生。在该方法的其它实施方案中,在从受试者获得的生物样品中检测到一种或多种这类生物标志物的异常甲基化状态引起该受试者被鉴定为具有癌症。

[0548] 标志物的分析可以单独或与一个测试样品中的另外的标志物同时进行。例如,可以将几个标志物组合到一个测试中以有效处理多个样品并潜在地提供更高的诊断和/或预后准确性。此外,本领域技术人员会认识到测试来自同一受试者的多个样品(例如,在连续时间点)的价值。这类系列样品测试可以鉴定标志物甲基化状态随时间的变化。甲基化状态的变化以及甲基化状态没有变化可以提供有关疾病状态的有用信息,包括但不限于鉴定事件发生的大致时间、可挽救组织的存在和数量、药物疗法的适当性、各种疗法的有效性以及对受试者结果的鉴定,包括未来事件的风险。

[0549] 生物标志物的分析可以呈多种物理格式进行。例如,可以使用微量滴定板或自动化来促进大量测试样品的处理。可替代地,可以开发单一样品格式以促进以及时方式进行即刻治疗和诊断,例如在非卧床运输或急诊室环境中。

[0550] 在一些实施方案中,如果与对照甲基化状态相比,样品中至少一种生物标志物的甲基化状态存在可测量的差异,则受试者被诊断为具有EC。相反,当在生物样品中未鉴定出甲基化状态的变化时,可以鉴定受试者为未患EC、没有患癌症的风险或具有低的患癌症的风险。在这点上,患有癌症或其风险的受试者可以与患有低至基本上没有癌症或其风险的受试者相区分。那些有显现EC风险的受试者可以进行更密集和/或定期的筛查计划,包括内窥镜监测。另一方面,那些具有低至基本上没有风险的受试者可以避免接受额外的EC测试(例如,侵入性程序),直到例如未来的筛查,例如根据本发明的技术进行的筛查表明在那些受试者中出现了EC风险的时间。

[0551] 如上所述,根据本发明的技术方法的实施方案,检测一种或多种生物标志物的甲基化状态的变化可以是定性测定,也可以是定量测定。因此,将受试者诊断为患有EC或有显现EC风险的步骤表明进行了某些阈值测量,例如,生物样品中一种或多种生物标志物的甲基化状态不同于预定的对照甲基化状态。在该方法的一些实施方案中,对照甲基化状态是生物标志物的任何可检测的甲基化状态。在对照样品与生物样品同时测试的方法的其它实施方案中,预定甲基化状态是对照样品中的甲基化状态。在该方法的其它实施方案中,预定甲基化状态基于标准曲线和/或由标准曲线鉴定。在该方法的其它实施方案中,预定甲基化状态是特定状态或状态范围。因此,可以在本领域技术人员显而易见的可接受限度内,部分地基于所实践的方法的实施方案和期望的特异性等来选择预定甲基化状态。

[0552] 进一步关于诊断方法,优选的受试者是脊椎动物受试者。优选的脊椎动物是温血动物;优选的温血脊椎动物是哺乳动物。优选的哺乳动物最优选是人。如本文所用,术语“受试者”包括人和动物受试者。因此,本文提供了兽医治疗用途。因此,本发明的技术提供了对哺乳动物(例如人类)以及以下动物的诊断:那些因濒危而重要的哺乳动物(例如东北虎);具有经济重要性的动物,例如在农场饲养供人类食用的动物;和/或对人类具有社会重要性

的动物,例如作为宠物或在动物园饲养的动物。这种动物的实例包括但不限于:食肉动物,例如猫和狗;猪科动物,包括猪、肉猪和野猪;反刍动物和/或有蹄类动物,如牛、公牛、绵羊、长颈鹿、鹿、山羊、野牛和骆驼;和马。因此,还提供了家畜的诊断和治疗,包括但不限于家养猪、反刍动物、有蹄类动物、马(包括赛马)等。

[0553] 本发明公开的主题还包括用于诊断受试者中的EC和/或特定EC形式(例如,透明细胞EC、癌肉瘤EC、子宫内膜样EC、浆液性EC)的系统。例如,该系统可作为市售试剂盒提供,该试剂盒可用于筛查已收集生物样品的受试者患EC的风险或诊断其患EC。根据本发明的技术提供的示例性系统包括评估如表1、8和21中提供的DMR的甲基化状态。

[0554] 实施例

[0555] 实施例I.

[0556] 本实施例描述了通过全甲基化分析选择发现和验证用于检测子宫内膜癌(EC)和EC组织学亚型(例如,浆液性EC、透明细胞EC、癌肉瘤EC和子宫内膜样EC)的新颖DNA甲基化标志物。

[0557] 使用样品制备、测序、分析管道和过滤器的专有方法来鉴定差异甲基化区域(DMR)并将其缩小到那些可以精确定位EC和各种EC组织学亚型(例如,浆液性EC、透明细胞EC、癌肉瘤EC和子宫内膜样EC)并在临床测试环境中表现出色的DMR。

[0558] 从组织到组织分析,鉴定了318个高甲基化EC DMR(表1)。表2展示了与表1中列举的标志物的EC对照相比较的曲线下面积和倍数变化。

[0559] 表1.已鉴定的将子宫内膜癌组织与正常子宫内膜组织区分开来的甲基化区域。

[0560]

DMR编号	基因注释	染色体编号	染色体上的区域(起始碱基-终止碱基)
1	ACCN1	17	31619687-31619729
2	ACOXL_A	2	111875367-111875453
3	ADAL_A	15	43622287-43622368
4	ADAL_B	15	43622411-43622462
5	ADAL_C	15	43622604-43622732
6	AES	19	3061334-3061694
7	AFF3	2	100721707-100721817
8	AGBL2	11	47736766-47736965
9	AGRN_A	1	975957-976051
10	AHSA2	2	61405232-61405286
11	AIM1_A	6	106960032-106960380
12	AIM1_B	6	106960531-106960593
13	AMIGO3_A	3	49756685-49756736
14	AMIGO3_B	3	49757071-49757168
15	ANKAR	2	190539103-190539193
16	ANKRD33B	5	10563557-10563627
17	ANO8	19	17439445-17439539
18	ARHGAP20_A	11	110582609-110582670
19	ARHGAP20_B	11	110583216-110583345
20	ARL10	5	175792690-175792780
21	ARMC4	10	28287932-28287982
22	ATP10A	15	26108587-26108685
23	BCAT1	12	25102116-25102197

[0561]

24	BCL6	3	187456434-187456528
25	BMP4_A	14	54421048-54421118
26	BMP4_B	14	54421619-54421918
27	C14orf169	14	73957777-73957867
28	C17orf107_A	17	4802544-4802828
29	C18orf18_A	18	5237508-5237617
30	C18orf18_B	18	5237862-5237960
31	C18orf18_C	18	5238088-5238139
32	C1orf103	1	111506798-111506903
33	C1orf177	1	55266904-55266944
34	C1orf70_A	1	1475622-1475650
35	C1orf70_B	1	1475957-1476127
36	C1QL3	10	16563604-16563702
37	C21orf58	21	47743021-47743081
38	C2orf43	2	21022503-21022588
39	C2orf62	2	219232460-219232543
40	C5orf52	5	157098189-157098379
41	C7orf51	7	100091227-100091353
42	C8orf73_A	8	144650834-144650918
43	CABP7	22	30116807-30116866
44	CACNA1A	19	13318767-13318855
45	CCDC102A	16	57571055-57571105
46	CCDC48	3	128720910-128720950
47	CCDC85B	11	65658914-65658969
48	CCND2_A	12	4380216-4380297
49	CCND2_B	12	4384302-4384354
50	CCNI2	5	132082878-132082968
51	CD14	5	140012292-140012386
52	CELSR3	3	48693776-48694065
53	CES4A	16	67034701-67034744
54	CHMP2A	19	59066468-59066653
55	CLDN7	17	7164898-7164949
56	CLIP4	2	29338393-29338448
57	CYP11A1	15	74658391-74658452
58	CYP2R1	11	14912680-14912762
59	CYTH2	19	48984043-48984140
60	DAB2IP_A	9	124461305-124461390
61	DAB2IP_B	9	124461600-124461696
62	DEM1	1	40974518-40974785
63	DIDO1_A	20	61560557-61560728
64	DLEC1_A	3	38080673-38080754
65	DLEC1_B	3	38080864-38081010
66	DLEC1_C	3	38081058-38081100
67	DLL4	15	41218290-41218501
68	DNAJC6	1	65731433-65731660
69	DPP7	9	140008731-140008820
70	DSCAML1	11	117667818-117667979
71	DSEL	18	65184250-65184305

[0562]

72	DTX1	12	113494626-113494665
73	DTX3L	3	122283010-122283080
74	EDARADD	1	236558654-236558751
75	EEF1A2	20	62119741-62119795
76	EGR2	10	64574899-64574948
77	EME2	16	1821271-1821566
78	EMILIN2_A	18	2906050-2906082
79	EMILIN2_B	18	2906258-2906313
80	EMX2	10	119297161-119297228
81	EMX2OS	10	119294950-119295039
82	EPN3	17	48619601-48619768
83	FAM109B	22	42470299-42470599
84	FAM89A	1	231175193-231175307
85	FER1L4_A	20	34189084-34189184
86	FER1L4_B	20	34189488-34189566
87	FEV	2	219849013-219849064
88	FKBP11_A	12	49318865-49319221
89	FLJ22184	19	7933862-7934065
90	FLJ22536	6	21666442-21666683
91	FLJ42875	1	2985432-2985534
92	FLJ43390	14	62584120-62584204
93	FLOT1	6	30711556-30711726
94	FUT11	10	75532571-75532762
95	GABBR2_A	9	101471226-101471281
96	GABBR2_B	9	101471435-101471481
97	GABBR2_C	9	101471498-101471518
98	GALR3	22	38214828-38214926
99	GATA2_A	3	128211202-128211292
100	GATA2_B	3	128216370-128216468
101	GBGT1	9	136039231-136039283
102	GDF6	8	97157670-97157756
103	GDF7_A	2	20866007-20866400
104	GHITM	10	85899387-85899545
105	GNB2	7	100273805-100273883
106	GNE	9	36258402-36258585
107	GPR135	14	59931440-59931647
108	GPX1_A	3	49394997-49395054
109	GPX1_B	3	49395134-49395366
110	GRASP	12	52400510-52400570
111	GSTM4	1	110198575-110198883
112	HLA-A	6	29910301-29910371
113	HNRNPF	10	43892386-43892538
114	HOPX_A	4	57521826-57521992
115	HOXB2	17	46621333-46621372
116	HOXC8	12	54403025-54403114
117	HS3ST3B1_A	17	14202739-14202781
118	HS3ST3B1_B	17	14203182-14203258
119	IL12RB2	1	67773620-67773674

[0563]

120	IL13	5	131992171-131992245
121	ITGA4_A	2	182322199-182322409
122	ITGB2	21	46352018-46352116
123	ITPKB	1	226925140-226925336
124	JSRP1_A	19	2253201-2253345
125	JUN	1	59247951-59248035
126	KANK1	9	706956-707230
127	KBTBD11_A	8	1949493-1949584
128	KCNA3	1	111217656-111217716
129	KCNK17	6	39281347-39281518
130	KCNK9	8	140716494-140716600
131	KCNQ5	6	73331959-73332019
132	KCTD15_A	19	34288324-34288423
133	KCTD15_B	19	34288611-34288741
134	KLHL21	1	6663497-6663683
135	KREMEN1	22	29467629-29467716
136	KRT86	12	52702379-52702559
137	LHFPL2_A	5	77806193-77806291
138	LOC100192379_A	4	122686333-122686376
139	LOC100507463	6	32811543-32811624
140	LOC157627_A	8	9763927-9763997
141	LOC157627_B	8	9764220-9764309
142	LOC338799	12	122243001-122243268
143	LOC402778	11	1770349-1770441
144	LOC729678	5	180258409-180258505
145	LRRC32	11	76381971-76382070
146	LRRC34	3	169530340-169530527
147	LRRC41_A	1	46767677-46767761
148	LRRC41_B	1	46767939-46768016
149	LRRC41_C	1	46768188-46768283
150	LRRC41_D	1	46768830-46768913
151	LRRC41_E	1	46769340-46769650
152	LRRC8D_A	1	90308856-90308955
153	LRRK2	12	40618745-40618814
154	LRRN1	3	3841364-3841692
155	MACROD1	11	63767975-63768042
156	MAST1	19	12978432-12978558
157	MATK	19	3786252-3786339
158	MAX.chr1.110627072-110627257	1	110627072-110627257
159	MAX.chr1.111098121-111098213	1	111098121-111098213
160	MAX.chr1.116710856-116710945	1	116710856-116710945
161	MAX.chr1.148000592-148000777	1	148000592-148000777
162	NBPF8	1	148247951-148248032
163	MAX.chr1.61519712-61519821	1	61519712-61519821
164	MAX.chr10.102497246-102497372	10	102497246-102497372
165	MAX.chr10.130339363-130339534	10	130339363-130339534
166	MAX.chr10.22541502-22541587	10	22541502-22541587
167	MAX.chr10.22624479-22624553	10	22624479-22624553

[0564]

168	MAX.chr11.123301058-123301153	11	123301058-123301153
169	MAX.chr11.8040594-8040647	11	8040594-8040647
170	MAX.chr12.125534393-125534458	12	125534393-125534458
171	MAX.chr12.133485161-133485240	12	133485161-133485240
172	MAX.chr12.133485417-133485505	12	133485417-133485505
173	MAX.chr12.133485542-133485675	12	133485542-133485675
174	MAX.chr14.103021656-103021718	14	103021656-103021718
175	MAX.chr14.103557994-103558154	14	103557994-103558154
176	MAX.chr14.103558061-103558154	14	103558061-103558154
177	MAX.chr14.74100620-74100870	14	74100620-74100870
178	MAX.chr17.29335358-29335628	17	29335358-29335628
179	MAX.chr17.46089738-46089851	17	46089738-46089851
180	MAX.chr17.73073716-73073814	17	73073716-73073814
181	MAX.chr19.31210519-31210593	19	31210519-31210593
182	MAX.chr19.37288607-37288752	19	37288607-37288752
183	MAX.chr2.102867766-102867826	2	102867766-102867826
184	MAX.chr2.127783244-127783311	2	127783244-127783311
185	MAX.chr2.233283604-233283736	2	233283604-233283736
186	MAX.chr2.43038072-43038159	2	43038072-43038159
187	MAX.chr2.96192422-96192520	2	96192422-96192520
188	MAX.chr2.96192422-96192610	2	96192422-96192610
189	MAX.chr20.37302903-37302984	20	37302903-37302984
190	MAX.chr21.30375011-30375136	21	30375011-30375136
191	MAX.chr21.38936278-38936494	21	38936278-38936494
192	MAX.chr22.42679801-42679979	22	42679801-42679979
193	MAX.chr3.128336893-128336988	3	128336893-128336988
194	MAX.chr3.18486889-18486958	3	18486889-18486958
195	MAX.chr3.44038012-44038064	3	44038012-44038064
196	MAX.chr4.186049532-186049660	4	186049532-186049660
197	MAX.chr5.177371520-177371612	5	177371520-177371612
198	MAX.chr5.42950901-42951088	5	42950901-42951088
199	MAX.chr5.64398959-64399179	5	64398959-64399179
200	MAX.chr6.130687108-130687268	6	130687108-130687268
201	MAX.chr6.26171901-26172479	6	26171901-26172479
202	MAX.chr6.26172225-26172432	6	26172225-26172432
203	MAX.chr6.30923280-30923382	6	30923280-30923382
204	MAX.chr7.104624356-104624730	7	104624356-104624730
205	MAX.chr8.142216090-142216173	8	142216090-142216173
206	MAX.chr8.143532758-143532822	8	143532758-143532822
207	MAX.chr8.145103829-145103992	8	145103829-145103992
208	MAX.chr8.145104263-145104422	8	145104263-145104422
209	MAZ	16	29818932-29819149
210	MBLAC1	7	99725558-99725690
211	MDFI_A	6	41606074-41606165
212	MDFI_B	6	41606379-41606439
213	MFSD2B	2	24232924-24233011
214	MIAT_A	22	27053316-27053559
215	MIAT_B	22	27068733-27069240

[0565]

216	MIDN	19	1252654-1252814
217	MIR155HG	21	26934273-26934466
218	MMP23B	1	1567450-1567633
219	MRPS21	1	150266158-150266227
220	MRPS33	7	140714767-140714925
221	MYOZ3	5	150036505-150036584
222	N4BP2L1_A	13	33001508-33001672
223	N4BP2L1_B	13	33001696-33001851
224	NCKIPSD	3	48723553-48723614
225	NCRNA00085	19	52207418-52207571
226	NDRG2	14	21493523-21494033
227	NEAT1_A	11	65189991-65190140
228	NEAT1_B	11	65190826-65190987
229	NEK9	14	75593252-75593340
230	NFIC	19	3361080-3361200
231	NR1I2	3	119528931-119529062
232	NTRK3_A	15	88799070-88799125
233	NTRK3_B	15	88799973-88800085
234	OBSCN_A	1	228463593-228463692
235	OLFM1	9	137979377-137979461
236	PALLD_A	4	169753101-169753185
237	PALLD_B	4	169753319-169753406
238	PCOLCE	7	100202395-100202728
239	PDGFRA	4	55092628-55092682
240	PHLDB1_A	11	118481753-118481830
241	PISD	22	32026307-32026516
242	PODN	1	53528224-53528302
243	PPP2R5C_A	14	102247689-102247929
244	PPP2R5C_B	14	102248127-102248216
245	PTCH2	1	45285985-45286035
246	PTPRN2	7	157361644-157361762
247	PXMP4	20	32307913-32308002
248	PYCARD	16	31213623-31213709
249	RAI1	17	17627101-17627256
250	RBM20	10	112432331-112432394
251	RFTN1	3	16554709-16554808
252	RHBDL1_A	16	725291-725617
253	RIMS2	8	104512743-104512831
254	RLTPR	16	67678899-67678952
255	RTN4RL2	11	57244132-57244225
256	SBNO2	19	1131812-1132072
257	SEPT11	4	77869938-77870029
258	SEPT9_A	17	75447455-75447554
259	SEPT9_B	17	75447656-75448049
260	SERPINB9	6	2903415-2903513
261	SFMBT2_A	10	7450743-7450831
262	SFMBT2_B	10	7451000-7451098
263	SFMBT2_C	10	7451771-7451869

[0566]

264	SFMBT2_D	10	7452346-7452367
265	SIGIRR	11	407086-407183
266	SIX4	14	61188239-61188329
267	SLC12A8	3	124860700-124860798
268	SLC13A5_A	17	6616764-6616852
269	SLC43A3	11	57194548-57194650
270	SLC6A3	5	1445562-1445659
271	SLC8A3	14	70654774-70654899
272	SLCO4C1	5	101632152-101632237
273	SMTN	22	31481122-31481208
274	SNTG2	2	946417-946458
275	SPOCK2_A	10	73847389-73847446
276	SPOCK2_B	10	73847890-73848209
277	SPON1	11	13985007-13985088
278	SQSTM1	5	179243864-179243955
279	ST3GAL2_A	16	70415734-70415777
280	SV2A	1	149889374-149889466
281	TBX1	22	19754292-19754349
282	TCF3	19	1651268-1651408
283	TECR	19	14667597-14667690
284	TEPP	16	58018744-58018831
285	TFR2	7	100230996-100231069
286	THAP4	2	242549705-242549757
287	TICAM2	5	114937802-114937980
288	TMCO1_A	1	165737880-165737973
289	TMCO1_B	1	165738121-165738246
290	TMEM130	7	98467740-98467817
291	TMEM163	2	135475828-135475890
292	TMEM63B	6	44119717-44119780
293	TNFRSF10D	8	23021299-23021396
294	TRIM71_A	3	32859463-32859793
295	TSHZ3_A	19	31839967-31840038
296	TSHZ3_B	19	31840244-31840330
297	TSHZ3_C	19	31841427-31841476
298	TSPAN2	1	115632183-115632276
299	TTBK1	6	43242971-43243178
300	TTC14	3	180320089-180320177
301	UST_A	6	149068948-149069040
302	VILL	3	38035645-38035743
303	WNT1	12	49373374-49373532
304	WNT7B	22	46366771-46366866
305	ZMIZ1_A	10	81002372-81002568
306	ZMIZ1_B	10	81002818-81003006
307	ZMIZ1_C	10	81002928-81002991
308	ZNF167	3	44596832-44596885
309	ZNF292	6	87861730-87861807
310	ZNF302	19	35168826-35168915
311	ZNF304	19	57862463-57862983

[0567]

312	ZNF323_A	6	28303870-28304162
313	ZNF354C	5	178487210-178487466
314	ZNF506	19	19932386-19932525
315	ZNF568_A	19	37407197-37407284
316	ZNF586_B	19	58281309-58281368
317	ZNF880	19	52873064-52873107
318	ZNF90	19	20189032-20189134

[0568] 表2.与表1中列举的标志物的EC对照相比较的EC组织的曲线下面积、倍数变化和p值。

[0569]

DMR编号	基因注释	EC 对比 EC 对照的 AUC	EC 对比 EC 对照的倍数变化	EC 对比 EC 对照的 p 值
1	ACCN1	0.6618	21.88	0.0005565
2	ACOXL_A	0.8597	50.89	0.007356
3	ADAL_A	0.6656	110	0.006193
4	ADAL_B	0.6627	21.39	0.0005691
5	ADAL_C	0.7773	47.72	0.0001428
6	AES	0.6948	83.12	4.00E-08
7	AFF3	0.9188	31.72	2.95E-09
8	AGBL2	0.6667	375.3	3.74E-05
9	AGRN_A	0.863	597.6	1.36E-05
10	AHSA2	0.8978	59.27	0.001032
11	AIM1_A	0.9408	369.2	5.34E-06
12	AIM1_B	0.7828	21.43	0.0003948
13	AMIGO3_A	0.9306	40	0.00008386
14	AMIGO3_B	0.6818	101.4	0.003578
15	ANKAR	0.703	99.07	0.001126
16	ANKRD33B	0.6869	143	3.54E-05
17	ANO8	0.765	5.712	0.001607
18	ARHGAP20_A	0.6516	33.86	0.000001454
19	ARHGAP20_B	0.7344	23.35	0.0004238
20	ARL10	0.8325	255.7	1.05E-07
21	ARMC4	0.7164	17.89	0.005436
22	ATP10A	0.7597	66.21	0.0002969
23	BCAT1	0.8932	47.95	1.49E-07
24	BCL6	0.7222	30.29	0.002576
25	BMP4_A	0.6585	21.31	0.0003743
26	BMP4_B	0.9408	33.04	1.179E-08
27	C14orf169	0.6655	90.03	0.00124
28	C17orf107_A	0.907	93.14	6.96E-12
29	C18orf18_A	0.75	15.49	2.14E-05
30	C18orf18_B	0.7507	66.92	0.00001497
31	C18orf18_C	0.8582	107	0.00003015
32	C1orf103	0.6555	15.58	4.442E-08
33	C1orf177	0.6508	506.2	0.001782
34	C1orf70_A	0.7483	97.16	2.41E-07
35	C1orf70_B	0.9134	252.1	1.56E-07
36	C1QL3	0.852	43.14	1.45E-07

[0570]

37	C21orf58	0.7227	23.94	9.62E-05
38	C2orf43	0.677	7.064	0.0004705
39	C2orf62	0.8221	41.27	2.974E-07
40	C5orf52	0.9047	165.5	1.655E-07
41	C7orf51	0.8093	29.63	0.0001685
42	C8orf73_A	0.8768	48.29	7.25E-07
43	CABP7	0.821	490	0.003538
44	CACNA1A	0.745	32.19	5.80E-05
45	CCDC102A	0.7417	13.76	8.518E-10
46	CCDC48	0.6835	20.97	0.003088
47	CCDC85B	0.6688	17.2	0.0002735
48	CCND2_A	0.7801	12.08	7.18E-06
49	CCND2_B	0.6608	9.469	8.33E-06
50	CCNI2	0.6574	16.09	0.0006968
51	CD14	0.6903	458.2	0.003672
52	CELSR3	0.8034	33.68	0.00002479
53	CES4A	0.6623	22.78	0.0006918
54	CHMP2A	0.7432	123.8	0.001936
55	CLDN7	0.913	61.86	0.005037
56	CLIP4	0.6758	72.6	0.004004
57	CYP11A1	0.8646	60.77	0.001696
58	CYP2R1	0.6638	61.08	6.43E-05
59	CYTH2	0.8351	10.35	0.00007307
60	DAB2IP_A	0.7647	287.3	0.0005537
61	DAB2IP_B	0.7273	48.72	3.44E-05
62	DEM1	0.7546	307.8	0.003765
63	DIDO1_A	0.9809	238.3	5.6E-12
64	DLEC1_A	0.6568	34.04	7.97E-06
65	DLEC1_B	0.7992	99.03	3.00E-05
66	DLEC1_C	0.6941	551.8	2.79E-05
67	DLL4	0.8963	16.68	0.0001774
68	DNAJC6	0.8065	70.75	7.229E-07
69	DPP7	0.8643	97.69	2.89E-05
70	DSCAML1	0.6913	37.53	1.26E-06
71	DSEL	0.6707	45.39	0.001035
72	DTX1	0.7321	865.9	0.001687
73	DTX3L	0.6583	152.6	4.39E-05
74	EDARADD	0.7337	236.2	0.005977
75	EEF1A2	0.9532	67.76	0.000003221
76	EGR2	0.7083	25.5	0.000008596
77	EME2	0.6861	139.5	0.00005428
78	EMILIN2_A	0.7266	265	8.81E-05
79	EMILIN2_B	0.6722	102.4	5.74E-07
80	EMX2	0.6606	160.6	6.34E-05
81	EMX2OS	0.9709	235.4	1.486E-07
82	EPN3	0.6991	47.75	0.0005864
83	FAM109B	0.8416	56.4	0.000003558
84	FAM89A	0.7633	119.1	0.005136
85	FER1L4_A	0.8381	115.3	1.34E-06
86	FER1L4_B	0.8457	418.6	0.0001132
87	FEV	0.9004	14.43	1.075E-09
88	FKBP11_A	0.9091	721.9	0.001236
89	FLJ22184	0.7844	53.15	8.099E-08

[0571]

90	FLJ22536	0.7792	49.09	6.41E-05
91	FLJ42875	0.6562	64.58	0.000001282
92	FLJ43390	0.6647	13.09	0.001351
93	FLOT1	0.7566	34.14	1.308E-08
94	FUT11	0.6861	1144	0.004405
95	GABBR2_A	0.7711	58.41	0.00001818
96	GABBR2_B	0.7276	24.2	0.0001021
97	GABBR2_C	0.6635	30.79	0.0000827
98	GALR3	0.8157	169.5	0.009018
99	GATA2_A	0.7206	6.751	0.0006726
100	GATA2_B	0.888	24.4	9.709E-09
101	GBGT1	0.6765	32.52	0.001294
102	GDF6	0.929	38.04	7.975E-07
103	GDF7_A	0.9133	53.71	2.737E-08
104	GHITM	0.6536	76.28	0.0037
105	GNB2	0.7125	93.16	1.05E-05
106	GNE	0.7	360.7	0.001421
107	GPR135	0.6529	106.8	8.52E-05
108	GPX1_A	0.7786	61.03	1.89E-06
109	GPX1_B	0.7716	42.37	0.0008024
110	GRASP	0.7014	53.88	0.004852
111	GSTM4	0.6722	73.93	0.001751
112	HLA-A	0.6709	123	0.003296
113	HNRNPF	0.8736	533.7	0.007898
114	HOPX	0.6616	33.21	0.000002593
115	HOXB2	0.7143	45.08	0.000256
116	HOXC8	0.6599	21.32	0.000192
117	HS3ST3B1_A	0.7727	7.377	0.0005749
118	HS3ST3B1_B	0.8182	12.17	2.44E-06
119	IL12RB2	0.701	445.5	0.005105
120	IL13	0.8421	85.78	0.009485
121	ITGA4	0.6935	53.03	0.00001091
122	ITGB2	0.7078	9.851	0.000122
123	ITPKB	0.8362	105.4	1.38E-05
124	JSRP1_A	0.907	72.11	5.16E-10
125	JUN	0.6875	59.16	0.000889
126	KANK1	0.8884	135.4	0.000001051
127	KBTBD11_A	0.8143	278.1	0.0001492
128	KCNA3	0.7775	45.7	0.000001416
129	KCNK17	0.7758	21.29	5.81E-06
130	KCNK9	0.8312	54.29	0.00002916
131	KCNQ5	0.7401	17.31	0.0006638
132	KCTD15_A	0.9266	27.56	0.002706
133	KCTD15_B	0.87	64.21	0.0003926
134	KLHL21	0.9277	115.9	0.0003778
135	KREMEN1	0.7411	49.03	0.0005224
136	KRT86	0.6819	47.5	0.002128
137	LHFPL2_A	0.8115	928.7	0.001375
138	LOC100192379_A	0.6905	41.04	0.00005452
139	LOC100507463	0.6883	24.82	6.97E-05
140	LOC157627_A	0.6999	22.5	0.00001095
141	LOC157627_B	0.7064	25.83	0.001724
142	LOC338799	0.6984	108.8	0.001105

[0572]

143	LOC402778	0.7145	79.33	0.0002123
144	LOC729678	0.7667	113.4	0.00001356
145	LRRC32	0.7805	10.73	1.389E-07
146	LRRC34	0.7909	155.5	0.00003603
147	LRRC41_A	0.7716	29.68	3.37E-09
148	LRRC41_B	0.7955	237	6.97E-07
149	LRRC41_C	0.789	69.55	3.11E-08
150	LRRC41_D	0.7677	133.1	4.95E-06
151	LRRC41_E	0.7316	479.6	5.30E-05
152	LRRC8D_A	0.9026	27.37	9.12E-05
153	LRRK2	0.7284	53.89	0.005952
154	LRRN1	0.7202	14.85	0.00000822
155	MACROD1	0.7012	200.4	0.0003994
156	MAST1	0.7232	50.03	0.00318
157	MATK	0.6571	21.21	0.00007402
158	MAX.chr1.110627072-110627257	0.8366	36.7	1.23E-07
159	MAX.chr1.111098121-111098213	0.7737	166	0.004094
160	MAX.chr1.116710856-116710945	0.8219	22.41	0.0000407
161	MAX.chr1.148000592-148000777	0.7051	77.72	0.00004245
162	NBPF8	0.9697	53.41	1.606E-08
163	MAX.chr1.61519712-61519821	0.7167	43.36	2.02E-08
164	MAX.chr10.102497246-102497372	0.7528	18.98	1.14E-05
165	MAX.chr10.130339363-130339534	0.9709	29.28	0.000001534
166	MAX.chr10.225415022-22541587	0.6588	11.22	0.001261
167	MAX.chr10.226244479-22624553	0.9172	62.87	1.417E-10
168	MAX.chr11.123301058-123301153	0.6975	28.22	4.74E-06
169	MAX.chr11.8040594-8040647	0.8311	40.67	0.00003799
170	MAX.chr12.125534393-125534458	0.8414	23.5	7.617E-07
171	MAX.chr12.133485161-133485240	0.7591	40.03	0.0001313
172	MAX.chr12.133485417-133485505	0.7125	57.66	0.0001017
173	MAX.chr12.133485542-133485675	0.6853	40.55	0.00001341
174	MAX.chr14.103021656-103021718	0.9766	127	5.89E-07
175	MAX.chr14.103557994-103558154	0.7488	113.7	0.0001156
176	MAX.chr14.103558061-103558154	0.6882	49.76	0.0003841

[0573]

177	MAX.chr14.74100620-74100870	0.8808	49.39	0.0005545
178	MAX.chr17.29335358-29335628	0.8279	201.5	0.002438
179	MAX.chr17.46089738-46089851	0.7339	287.6	0.0001518
180	MAX.chr17.73073716-73073814	0.8737	394.1	1.38E-05
181	MAX.chr19.31210519-31210593	0.6504	41.46	0.00398
182	MAX.chr19.37288607-37288752	0.811	88.11	0.000003103
183	MAX.chr2.102867766-102867826	0.6968	28.75	0.0002521
184	MAX.chr2.127783244-127783311	0.7289	30.07	0.00003288
185	MAX.chr2.233283604-233283736	0.875	45.08	0.0001526
186	MAX.chr2.43038072-43038159	0.6579	40.43	0.005182
187	MAX.chr2.96192422-96192520	0.667	9.372	0.003974
188	MAX.chr2.96192422-96192610	0.827	37.66	1.602E-08
189	MAX.chr20.37302903-37302984	0.7703	19.49	0.00000328
190	MAX.chr21.30375011-30375136	0.6519	118.9	0.002865
191	MAX.chr21.38936278-38936494	0.6512	34.05	0.0002117
192	MAX.chr22.42679801-42679979	0.8457	46.57	5.42E-07
193	MAX.chr3.128336893-128336988	0.8505	207.8	3.97E-05
194	MAX.chr3.18486889-18486958	0.875	45.35	1.268E-07
195	MAX.chr3.44038012-44038064	0.7214	26.7	0.00005333
196	MAX.chr4.186049532-186049660	0.7656	31.4	0.000865
197	MAX.chr5.177371520-177371612	0.8	33.61	0.002158
198	MAX.chr5.42950901-42951088	0.8615	28.06	0.00005216
199	MAX.chr5.64398959-64399179	0.6882	27.48	0.00001
200	MAX.chr6.130687108-130687268	0.7631	53.84	0.0002403
201	MAX.chr6.26171901-26172479	0.7333	14.26	0.0004651
202	MAX.chr6.26172225-26172432	0.6614	82.29	0.004157
203	MAX.chr6.30923280-30923382	0.8799	35.99	1.61E-05

[0574]

204	MAX.chr7.104624356-104624730	0.8723	1101	1.93E-05
205	MAX.chr8.142216090-142216173	0.7464	100.8	0.0007861
206	MAX.chr8.143532758-143532822	0.741	5.751	0.0001482
207	MAX.chr8.145103829-145103992	0.9351	26.27	6.522E-08
208	MAX.chr8.145104263-145104422	0.9004	51.51	0.0001458
209	MAZ	0.7927	125.9	0.0002086
210	MBLAC1	0.7812	15.75	2.83E-08
211	MDFI_A	0.7424	13.66	0.0003535
212	MDFI_B	0.9286	80.17	3.453E-07
213	MFSD2B	0.8432	53.41	0.0003069
214	MIAT_A	0.9264	68.47	4.28E-07
215	MIAT_B	0.8605	47.34	0.0000377
216	MIDN	0.7849	21.42	0.000005938
217	MIR155HG	0.733	36.79	0.008797
218	MMP23B	0.974	87.98	4.161E-10
219	MRPS21	0.6753	11.41	0.001936
220	MRPS33	0.7068	33.47	0.0004814
221	MYOZ3	0.7949	74.89	0.0002419
222	N4BP2L1_A	0.7495	1311	0.0008957
223	N4BP2L1_B	0.704	1324	0.002896
224	NCKIPSD	0.7162	126	0.0009659
225	NCRNA00085	0.6889	194.7	0.000006047
226	NDRG2	0.9789	83.94	1.082E-07
227	NEAT1_A	0.6898	188.9	0.006251
228	NEAT1_B	0.6891	59.78	0.001232
229	NEK9	0.7791	33.3	0.00255
230	NFIC	0.8041	74.17	3.33E-06
231	NR1I2	0.777	46.68	0.0001105
232	NTRK3_A	0.6654	54.09	0.001975
233	NTRK3_B	0.7374	83.81	0.00007934
234	OBSCN_A	0.9324	436.3	5.79E-08
235	OLFM1	0.6928	53.72	0.0005697
236	PALLD_A	0.6628	70.25	0.0001169
237	PALLD_B	0.673	43.51	0.00002727
238	PCOLCE	0.9136	41.3	0.0009516
239	PDGFRA	0.6522	20.49	0.000009416
240	PHLDB1	0.8075	295.8	0.002509
241	PISD	0.8139	209.3	1.30E-06
242	PODN	0.697	119.7	6.84E-06
243	PPP2R5C_A	0.8799	168.5	0.00006792
244	PPP2R5C_B	0.7177	315.6	0.003545
245	PTCH2	0.8664	27.51	0.0009989
246	PTPRN2	0.6926	19.93	7.26E-05
247	PXMP4	0.788	222.5	0.000004164
248	PYCARD	0.9302	335.8	0.0004632
249	RAI1	0.8198	17.29	6.111E-07
250	RBM20	0.7132	500.5	0.0003599
251	RFTN1	0.7375	23.01	0.0005169

[0575]

252	RHBDL1_A	0.8988	51.18	0.00001338
253	RIMS2	0.6754	5.933	0.009377
254	RLTPR	0.7173	109.6	1.75E-06
255	RTN4RL2	0.7675	20.03	0.0001403
256	SBNO2	0.817	116	0.0001235
257	SEPT11	0.6992	32.13	0.000554
258	SEPT9_A	0.8474	318.8	0.006383
259	SEPT9_B	0.9704	101.2	0.000001335
260	SERPINB9	0.7617	83.53	0.007034
261	SFMBT2_A	0.803	7.161	0.003198
262	SFMBT2_B	0.8359	21.85	1.30E-06
263	SFMBT2_C	0.8994	23.85	3.37E-07
264	SFMBT2_D	0.6765	32.88	0.0006383
265	SIGIRR	0.6811	47.57	0.004517
266	SIX4	0.8312	19.08	2.91E-05
267	SLC12A8	0.7944	19.75	0.0003137
268	SLC13A5_A	0.6719	353	0.0006269
269	SLC43A3	0.7455	27.29	5.534E-08
270	SLC6A3_A	0.9318	24.27	1.074E-07
271	SLC8A3_B	0.9239	55.38	1.944E-09
272	SLCO4C1	0.6786	112.2	0.00007596
273	SMTN	0.8052	42.68	5.47E-05
274	SNTG2	0.7862	14.28	0.0004986
275	SPOCK2_A	0.8486	68.87	2.41E-09
276	SPOCK2_B	0.6956	45.22	1.64E-05
277	SPON1	0.7247	25.58	0.000003926
278	SQSTM1	0.9228	145.7	4.725E-10
279	ST3GAL2_A	0.838	40.37	0.0007039
280	SV2A	0.8137	15.68	7.13E-05
281	TBX1	0.6667	127.2	0.0005607
282	TCF3	0.7783	22.84	7.97E-06
283	TECR	0.6767	203.8	0.001696
284	TEPP	0.8578	33.96	0.00000822
285	TFR2	0.6812	169.5	0.006637
286	THAP4	0.6528	62.88	0.0005633
287	TICAM2	0.6943	35.39	0.001777
288	TMCO1_A	0.7368	27.29	0.00008104
289	TMCO1_B	0.6972	141.8	0.002057
290	TMEM130	0.6622	11.02	0.0001735
291	TMEM163	0.6844	12.78	0.0000597
292	TMEM63B	0.8026	20.36	6.39E-06
293	TNFRSF10D	0.6775	15.68	0.002517
294	TRIM71_A	0.74	18.84	1.78E-05
295	TSHZ3_A	0.8161	13.38	3.93E-05
296	TSHZ3_B	0.8312	30.94	0.001939
297	TSHZ3_C	0.661	71.41	0.007574
298	TSPAN2	0.6647	72.46	0.000005262
299	TTBK1	0.79	29.97	3.99E-05
300	TTC14	0.779	481.4	0.006875
301	UST	0.7114	157.8	0.0004509
302	VILL	0.9293	66.67	5.346E-11
303	WNT1	0.8359	33.69	5.21E-06
304	WNT7B	0.8895	26.27	1.23E-06

[0576]

305	ZMIZ1_A	0.7273	38.92	0.001658
306	ZMIZ1_B	0.7707	111.2	1.06E-09
307	ZMIZ1_C	0.7664	60.43	0.003325
308	ZNF167	0.722	132.9	0.0002713
309	ZNF292	0.815	531.8	0.008253
310	ZNF302	0.9	46.65	1.08E-05
311	ZNF304	0.8604	142.2	0.0006362
312	ZNF323_A	0.9232	364.4	0.00005473
313	ZNF354C	0.7944	56.82	4.34E-05
314	ZNF506	0.9142	71.02	9.384E-10
315	ZNF568_A	0.7041	73.74	0.0002323
316	ZNF586_B	0.7045	19.73	4.81E-08
317	ZNF880	0.6615	33.53	1.739E-07
318	ZNF90	0.9149	103.9	0.00003791

[0577] 这类EC DMR包括EC特定区域、EC亚型特定区域以及针对更通用癌症谱的那些区域。

[0578] 表3中示出了区分EC与正常子宫内膜组织的最高总DMR。表4中示出了区分透明细胞EC与正常子宫内膜组织的最高总DMR。表5中示出了区分癌肉瘤EC与正常子宫内膜组织的最高总DMR。表6中示出了区分子宫内膜样EC与正常子宫内膜组织的最高总DMR。表7中示出了区分浆液性EC与正常子宫内膜组织的最高总DMR。表4、5、6和7中某些基因上的灰度红色阴影指示与多个亚型重叠的DMR。

[0579] 表3.区分子宫内膜癌组织与正常子宫内膜组织的最高甲基化区域。

[0580]

基因名称	DMR编号	AUC	FC
EMX2OS	81	0.9309	264
CYTH2	59	0.8856	20.37
C17orf107_A	28	0.8328	64.08
DIDO1_A	63	0.8777	126.3
GDF6	102	0.8772	22.97
NBPF8	162	0.8718	42.83
MAX.chr14.103021656-103021718	174	0.8679	100.9
JSRP1_A	124	0.8642	38.78
GATA2_B	100	0.8639	19.23
SFMBT2_B	262	0.8431	18.31

[0581] 表4.区分透明细胞EC与正常子宫内膜组织的最高总DMR。

[0582]

基因名称	DMR编号	AUC	FC	p值
DIDO1_A	63	0.98	238	5.6E-12
NDRG2	226	0.98	84	1.08E-07
MAX.chr14.103021656-103021718	174	0.98	127	5.89E-07
MMP23B	218	0.97	88	4.16E-10
EMX2OS	81	0.97	235	1.49E-07
SEPT9_B	259	0.97	101	1.34E-06
NBPF8	162	0.97	53	1.61E-08

EEF1A2	75	0.95	68	3.22E-06
AIM1_A	11	0.94	369	5.34E-06
BMP4_B	26	0.94	33	1.18E-08
MAX.chr8.145103829-145103992	207	0.94	26	6.52E-08
OBSCN_A	234	0.93	436	5.79E-08
PYCARD	248	0.93	336	0.000463
GDF6	102	0.93	38	7.98E-07
MDFI_B	212	0.93	80	3.45E-07
MIAT_A	214	0.93	68	4.28E-07
SLC8A3	271	0.92	55	1.94E-09
ZNF323_A	312	0.92	364	5.47E-05
SQSTM1	278	0.92	146	4.73E-10
AFF3	7	0.92	32	2.95E-09
C1orf70	34	0.91	252	1.56E-07
GDF7_A	103	0.91	54	2.74E-08
JSRP1_A	124	0.91	72	5.16E-10
LRRC8D_A	152	0.90	27	9.12E-05
FEV	87	0.90	14	1.08E-09
MAX.chr8.145104263-145104422	208	0.90	52	0.000146

[0583] 表5.区分癌肉瘤EC与正常子宫内膜组织的最高总DMR。

[0584]

基因名称	DMR编号	AUC	FC	p值
EMX2OS	81	0.94	323	4.11E-05
DIDO1_A	63	0.94	143	1.84E-06
SBNO2	256	0.94	129	0.003217
AMIGO3_A	13	0.93	40	8.39E-05
PCOLCE	238	0.91	41	0.000952
CLDN7	55	0.91	62	0.005037
CYTH2	59	0.91	19	4.92E-06
OBSCN_A	234	0.90	159	0.007225
AHSA2	10	0.90	59	0.001032
DLL4	67	0.90	17	0.000177
EMX2	80	0.89	308	0.007177
MAX.chr14.74100620-74100870	177	0.88	49	0.000555
LRRC34	146	0.88	150	0.002837
PPP2R5C_A	243	0.88	169	6.79E-05
SQSTM1	278	0.88	102	0.005911
MAX.chr17.73073716-73073814	180	0.87	586	0.008309
CYP11A1	57	0.86	61	0.001696
ACOXL_A	2	0.86	51	0.007356

AIM1_B	12	0.86	95	0.001099

[0585] 表6.区分子宫内膜样EC与正常子宫内膜组织的最高总DMR。

[0586]

基因名称	DMR编号	AUC	FC	p值
MAX.chr10.130339363-130339534	165	0.97	29	1.53E-06
SFMBT2_C	263	0.95	33	6.01E-08
CYTH2	59	0.94	25	2.18E-08
SLC6A3	270	0.93	24	1.07E-07
VILL	302	0.93	67	5.35E-11
EMX2OS	81	0.92	299	9.02E-06
MAX.chr10.22624479-22624553	167	0.92	63	1.42E-10
GDF6	102	0.92	28	7.96E-07
ZNF90	318	0.91	104	3.79E-05
ZNF506	314	0.91	71	9.38E-10
JSRP1_A	124	0.91	70	1.24E-10
C5orf52	40	0.90	166	1.66E-07
SFMBT2_B	262	0.90	36	2.01E-09
NBPF8	162	0.90	66	2.95E-07
RHBDL1_A	252	0.90	51	1.34E-05
DIDO1_A	63	0.90	90	1.81E-08
KANK1	126	0.89	135	1.05E-06
GATA2_B	100	0.89	24	9.71E-09

[0587] 表7.区分浆液性EC与正常子宫内膜组织的最高总DMR。

[0588]

基因名称	DMR编号	AUC	FC	p值
EMX2OS	81	1.00	277	3.71E-10
KANK1	126	0.94	65	3.2E-07
C1orf70_B	35	0.94	49	5.25E-06
AMIGO3_A	13	0.92	23	2.81E-05
DIDO1_A	63	0.92	127	3.83E-07
LRRC41_C	149	0.91	50	7.06E-08
NFIC	230	0.91	46	7.52E-05
FKBP11_A	88	0.91	722	0.001236
C17orf107_A	28	0.91	93	6.96E-12
SMTN	273	0.90	87	2.18E-06
LRRC41_B	148	0.90	93	9.19E-06
LRRC8D_A	152	0.89	59	3.13E-06
OBSCN_A	234	0.87	128	2.48E-05
MAX.chr7.104624356-104624730	204	0.86	403	0.000153
MIAT_B	215	0.86	47	3.77E-05

[0589] 组织对白细胞(血沉棕黄层)分析产生了129个高甲基化子宫内膜组织DMR,其中

WBC中的噪音小于1％(表8)。表9示出了与EC血沉棕黄层对照相比较的表8中列举的标志物的曲线下面积、倍数变化和p值。

[0590] 表8.WBC中噪声小于1％的高甲基化子宫内膜组织DMR

DMR编号	基因注释	染色体编号	染色体上的区域(起始碱基-终止碱基)
319	ACOXL_B	2	111875309-111875359
320	ACTG1	17	79478295-79478468
321	ANKRD35	1	145562791-145562906
499	ARL5C	17	37321564-37321723
322	ARRB1	11	75063559-75063646
323	BCL2L11_A	2	111876440-111876609
324	BCL2L11_B	2	111876958-111877258
325	BCL2L11_C	2	111876624-111876822
326	BEST4	1	45250035-45250159
327	BZRAP1	17	56409702-56409821
328	C14orf169_B	14	73958204-73958363
329	C14orf169_C	14	73958382-73958475
330	C14orf80	14	105954029-105954198
331	C16orf54	16	29757319-29757405
332	C17orf101	17	80358847-80358919
333	C18orf1	18	13641597-13641678
334	C6orf132	6	42072052-42072186
335	C9orf171	9	135285696-135285783
336	CACNA2D4	12	1906260-1906350
337	CCDC61	19	46519515-46519568
338	DEDD2	19	42703469-42703790
339	DGKE	17	54912117-54912243
340	EGFL7	9	139559853-139559951
341	EMB	5	49736982-49737041
342	EOMES	3	27763388-27763413
343	EPS15L1	19	16482437-16482520
344	FAIM2	12	50297582-50297690
345	FAM125B	9	129233651-129233705
346	FAM159A	1	53099143-53099216
347	FAM189B	1	155220306-155220399
348	FAM78A	9	134151289-134151464
349	FMNL1	17	43298726-43298774
350	FOXP4	6	41528837-41528899
351	GAL3ST4	7	99769426-99769470

[0591]

[0592]

352	GATA2_C	3	128216774-128216891
353	GP1BB	22	19706153-19706187
354	GYPC_A	2	127413698-127413901
355	GYPC_B	2	127414106-127414189
356	HAAO	2	43019891-43019972
357	HAND2	4	174450783-174450843
358	HDAC7	12	48206687-48206801
359	HOPX_B	4	57522083-57522182
360	HOXA7	7	27196352-27196425
361	HOXB4	17	46659392-46659496
362	HRH2	5	175085144-175085212
363	IFFO1_A	12	6664616-6664694
364	IFFO1_B	12	6664873-6665023
119	IL12RB2	1	67773620-67773674
365	IQSEC3_A	12	187211-187344
366	IQSEC3_B	12	187115-187194
367	ITGA4_B	2	182321830-182321917
368	ITPKA	15	41787637-41787780
369	KLF16	19	1856980-1857037
370	LIMD2	17	61778259-61778367
371	LOC100129726_A	2	43452130-43452229
382	LOC100192379_B	4	122686329-122686394
373	LOC339529	1	244080908-244080979
374	LOC389333	5	138728189-138728287
375	LOC440925_A	2	171570158-171570471
376	LOC646278	15	29077327-29077423
377	LTBP2	14	75078651-75078687
378	LYL1	19	13210058-13210180
379	LYPLAL1	1	219347185-219347277
380	MAX.chr1.228651512-228651589	1	228651512-228651589
381	MAX.chr1.8014264-8014320	1	8014264-8014320
382	MAX.chr10.22541719-22541758	10	22541719-22541758
383	MAX.chr10.94459281-94459353	10	94459281-94459353
384	MAX.chr11.32355226-32355251	11	32355226-32355251
385	MAX.chr11.8041275-8041318	11	8041275-8041318
385	MAX.chr11.8041275-8041318	11	8041275-8041318
386	MAX.chr14.102172621-102172686	14	102172621-102172686
387	MAX.chr14.105512122-105512239	14	105512122-105512239
388	MAX.chr15.65186405-65186481	15	65186405-65186481

[0593]

389	MAX.chr15.95128144-95128248	15	95128144-95128248
390	MAX.chr16.11327016-11327312	16	11327016-11327312
391	MAX.chr17.77789297-77789347	17	77789297-77789347
392	MAX.chr19.13266870-13266980	19	13266870-13266980
393	MAX.chr19.42028466-42028519	19	42028466-42028519
394	MAX.chr2.231693015-231693073	2	231693015-231693073
395	MAX.chr2.73511979-73512039	2	73511979-73512039
396	MAX.chr3.187676577-187676668	3	187676577-187676668
397	MAX.chr4.174430676-174430847	4	174430676-174430847
398	MAX.chr5.77147757-77147813	5	77147757-77147813
399	MAX.chr6.130088620-130088690	6	130088620-130088690
400	MAX.chr6.42738968-42739055	6	42738968-42739055
401	MAX.chr8.145900783-145900914	8	145900783-145900914
402	MAX.chr8.80804237-80804301	8	80804237-80804301
403	MAX.chr9.33524209-33524289	9	33524209-33524289
404	MPZ_A	1	161275561-161275996
405	N4BP2L1_C	13	33001374-33001575
406	N4BP3	5	177543694-177543863
407	NCOR2	12	124941781-124942044
408	NFATC1_A	18	77159542-77159614
409	NFATC1_B	18	77159813-77159893
410	NKX2-6	8	23564281-23564374
411	NR2F6	19	17346567-17346673
412	NR3C1_A	5	142784971-142785160
413	NR3C1_B	5	142784614-142784698
414	NTN1	17	9143174-9143253
415	OSM	22	30662648-30662807
416	PALLD_C	4	169799226-169799423
417	PHLDB1_B	11	118481753-118481814
418	PIK3CD	1	9777870-9777967
419	PLCL2	3	16925870-16925914
420	PNMAL2	19	46996933-46996985
421	PRDM13	6	100061723-100061766
422	PRKAR1B	7	644126-644332
423	RAD52	12	1059296-1059503
424	SEPT9_C	17	75447656-75447714
425	SNN	16	11763081-11763138
426	SPDYA_A	2	29033287-29033484
427	SPON2	4	1161228-1161298
428	ST8SIA1	12	22487403-22487492

[0594]

429	STX16_A	20	57224620-57224975
430	SUCLG2	3	67706348-67706568
431	TJP2	9	71788863-71788954
432	TLE4	9	82188097-82188284
433	TNFRSF1B	1	12227425-12227514
434	TNFRSF4	1	1148413-1148487
435	TNRC18	7	5436900-5436991
436	TSPAN33	7	128809205-128809241
437	UST_B	6	149068833-149068925
438	VENTX	10	135050110-135050178
439	WDR86	7	151078576-151078610
440	XKR6	8	11058545-11058598
441	ZDHHC18	1	27160118-27160221
442	ZNF227	19	44711531-44711781
315	ZNF568_A	19	37407197-37407284
443	ZNF586_C	19	58281020-58281200
444	ZNF671_A	19	58238740-58238799

[0595] 表9.EC与EC血沉棕黄层对照相比较的表8中列举的标志物的曲线下面积、倍数变化和p值。

[0596]

DMR编号	基因注释	EC对比EC血沉棕黄层对照的AUC	EC对比EC血沉棕黄层对照的倍数变化	EC对比EC血沉棕黄层对照的p值
319	ACOXL_B	0.6786	26080000	0.991
320	ACTG1	0.709	34560000	0.9928
321	ANKRD35	1	627.5	0.005999
499	ARL5C	0.9614	137.5	0.0001678
322	ARRB1	0.9044	59100000	0.9902
323	BCL2L11_A	1	237.1	0.0004125
324	BCL2L11_B	0.9975	370.4	0.002033
325	BCL2L11_C	1	342.4	0.002845
326	BEST4	0.7845	38650000	0.9902
327	BZRAP1	0.9918	2116	0.0002676
328	C14orf169_B	0.7045	71770000	0.9904
329	C14orf169_C	0.7045	141100000	0.9914

[0597]

330	C14orf80	0.875	162800000	0.9914
331	C16orf54	1	542.3	7.39E-05
332	C17orf101	1	2.27E+09	0.9918
333	C18orf1	0.7738	19.55	0.009107
334	C6orf132	1	593.2	0.001901
335	C9orf171	0.7321	36790000	0.9896
336	CACNA2D4	0.9338	80450000	0.9891
337	CCDC61	0.7109	63800000	0.9915
338	DEDD2	1	527.9	6.12E-08
339	DGKE	0.7426	24970000	0.9924
340	EGFL7	0.7344	72630000	0.9928
341	EMB	0.86	189900000	0.9916
342	EOMES	0.6633	50060000	0.9913
343	EPS15L1	1	725500000	0.99
344	FAIM2	0.9828	330.1	0.00851
345	FAM125B	0.9394	7.61E+08	0.9899
346	FAM159A	0.6889	100800000	0.9924
347	FAM189B	0.995	135.3	0.003158
348	FAM78A	1	1404	9.92E-06
349	FMNL1	0.8333	75120000	0.9918
350	FOXP4	0.9776	582200000	0.9892
351	GAL3ST4	0.8167	90980000	0.9908
352	GATA2_C	0.8492	109200000	0.9901
353	GP1BB	0.7119	42170000	0.9924
354	GYPC_A	0.9924	770700000	0.9901
355	GYPC_B	0.9397	664100000	0.9906
356	HAAO	0.8889	1.53E+08	0.9906
357	HAND2	0.7923	46610000	0.9895
358	HDAC7	0.7537	50550000	0.9898
359	HOPX_B	0.6983	70210000	0.9914
360	HOXA7	0.7404	83950000	0.9909
361	HOXB4	0.697	42010000	0.9915
362	HRH2	0.7419	78270000	0.9913
363	IFFO1_A	0.9692	92880000	0.9902
364	IFFO1_B	0.9701	744200000	0.9913
119	IL12RB2	0.6953	16740000	0.9928
365	IQSEC3_A	0.7576	29400000	0.9894

[0598]

366	IQSEC3_B	0.7302	45010000	0.9926
367	ITGA4_B	0.7647	129900000	0.992
368	ITPKA	1	499.2	0.003773
369	KLF16	0.9083	165100000	0.9921
370	LIMD2	0.9603	493100000	0.9911
371	LOC100129726_A	0.6692	29650000	0.9887
382	LOC100192379_B	0.6667	3.10E+07	0.9939
373	LOC339529	0.8273	115200000	0.9902
374	LOC389333	0.9545	393300000	0.9917
375	LOC440925_A	0.9959	274.8	0.007478
376	LOC646278	0.9016	86610000	0.9898
377	LTBP2	0.7636	65880000	0.9912
378	LYL1	0.9887	545.8	0.006049
379	LYPLAL1	0.9846	2.10E+09	0.9917
380	MAX.chr1.228651512-228651589	0.7734	51900000	0.9889
381	MAX.chr1.8014264-8014320	0.8929	188300000	0.9925
382	MAX.chr10.22541719-22541758	0.8871	139100000	0.992
383	MAX.chr10.94459281-94459353	0.8364	1.26E+08	0.9927
384	MAX.chr11.32355226-32355251	0.9731	471.5	0.008476
385	MAX.chr11.8041275-8041318	0.6562	50170000	0.9949
386	MAX.chr14.102172621-102172686	0.9224	380600000	0.9916
387	MAX.chr14.105512122-105512239	0.9924	512600000	0.989
388	MAX.chr15.65186405-65186481	0.7769	134800000	0.9917
389	MAX.chr15.95128144-95128248	0.9678	126.9	0.003344
390	MAX.chr16.11327016-11327312	0.9984	837.5	1.85E-05
391	MAX.chr17.77789297-77789347	0.8689	82590000	0.9919
392	MAX.chr19.13266870-13266980	0.7077	104900000	0.993
393	MAX.chr19.42028466-42028519	0.8727	246200000	0.9902
394	MAX.chr2.231693015-231693073	0.6932	71170000	0.9936

	395	MAX.chr2.73511979-73512039	0.6778	95180000	0.9931
	396	MAX.chr3.187676577-187676668	0.9984	677.2	1.78E-05
	397	MAX.chr4.174430676-174430847	0.9877	105.5	0.00112
	398	MAX.chr5.77147757-77147813	0.6596	31920000	0.9924
	399	MAX.chr6.130088620-130088690	0.7281	75460000	0.9915
	400	MAX.chr6.42738968-42739055	0.6923	41460000	0.9921
	401	MAX.chr8.145900783-145900914	1	1127	2.26E-05
	402	MAX.chr8.80804237-80804301	0.9519	83590000	0.9922
	403	MAX.chr9.33524209-33524289	0.7653	68470000	0.9939
	404	MPZ_A	0.8914	26.19	0.0129
	405	N4BP2L1_C	0.675	43500000	0.9929
	406	N4BP3	1	284.9	0.003001
	407	NCOR2	0.9992	334.7	0.002568
	408	NFATC1_A	0.9886	360.7	0.003405
[0599]	409	NFATC1_B	0.9385	73470000	0.9885
	410	NKX2-6	0.9889	452800000	0.9932
	411	NR2F6	0.9403	1.10E+09	0.9931
	412	NR3C1_A	0.7687	42200000	0.9904
	413	NR3C1_B	0.6846	41810000	0.9926
	414	NTN1	0.8361	100500000	0.9909
	415	OSM	0.9906	894.1	0.0004214
	416	PALLD_C	1	369.1	0.001153
	417	PHLDB1_B	0.6786	42240000	0.9894
	418	PIK3CD	0.9731	82.97	0.0002239
	419	PLCL2	0.7705	67150000	0.9898
	420	PNMAL2	0.8433	117600000	0.9914
	421	PRDM13	0.7347	35550000	0.9914
	422	PRKAR1B	1	537	0.003643
	423	RAD52	0.9252	71.45	0.002206
	424	SEPT9_C	0.6909	30860000	0.991
	425	SNN	0.71	49210000	0.994
	426	SPDYA_A	0.8696	113700000	0.9899

[0600]

427	SPON2	0.7803	64470000	0.9911
428	ST8SIA1	0.6939	61890000	0.9932
429	STX16_A	1	889.9	0.0002353
430	SUCLG2	1	4174	0.001157
431	TJP2	0.6923	64420000	0.9901
432	TLE4	0.6667	65910000	0.9928
433	TNFRSF1B	0.9196	99080000	0.9908
434	TNFRSF4	0.9615	205500000	0.9893
435	TNRC18	0.8906	186900000	0.9914
436	TSPAN33	0.8125	96600000	0.9903
437	UST_B	0.6885	29650000	0.9931
438	VENTX	0.8016	32390000	0.9904
439	WDR86	0.8939	184500000	0.9874
440	XKR6	0.8021	47230000	0.9913
441	ZDHHC18	0.9926	5.61E+09	0.9902
442	ZNF227	0.7132	51410000	0.9916
315	ZNF568_A	0.6967	59100000	0.9923
443	ZNF586_C	0.7188	42520000	0.9877
444	ZNF671_A	0.9167	200800000	0.9923

[0601] 从这些标志物组中选择了56个候选标志物作为初始试点。开发了甲基化特异性PCR测定并在两轮样品上进行了测试;那些被测序的样品和更大的独立队列。短扩增子引物(<150bp)被设计成靶向DMR中最具辨别力的CpG,并在对照上进行测试以确保完全甲基化的片段以线性方式稳健地扩增,而未甲基化和/或未转化的片段不会扩增。表10列出了56个候选标志物的112个引物序列和退火温度。

[0602] 表10.

[0603]

基因注释	DMR编号	正向引物 5'-3'	Seq ID	反向引物 5'-3'	Seq ID	退火温度℃/最终
SFMBT2_B	262	GCG CGC GGT TTT GGG AGA TAA GTA C	1	AAA AAA AAC AAC CCC TCG CCT CGA C	2	70

	SMTN	273	AGG TTT TTA GGA TAT TTA GTT GAG TGG CGG	3	ACC TCG ATC CCG AAT TCG AAT TCG AC	4	70
	SQSTM1	278	GTT TTC GGT TAT TCG GTG ACG G	5	AAA AAA CTA AAA AAC GAA TCG CGC T	6	65
	ZNF323_A	312	TTT AAT GAT CGA TTA ATC GTA AAG GTC GG	7	AAC CAA TAA ACT CAA AAC GAC TAA CGC A	8	65
	ZNF506	314	TTA GGT TTT TAG GGG GTT TCG GCG T	9	ATC GTC TTC ACT ACT CTA TAC CGT C	10	65
	ZNF90	318	AAT TGG GTA AGG AGA AGT CGG TCG T	11	ATA ACG AAA CTT AAA CCT CCC CGC A	12	70
	ACOXL_A	2	AGT TAA GTT TTA ACG GGT GTG GCG G	13	AAA CGT CGA TAA AAC GAA CGT CGT A	14	70
	CLDN7	55	TAT CGT TGT TTC GAG TCG GGG ACG A	15	AAC CGA AAT TCC GAC GAC TAC ACG T	16	65
	LRRC41_B	148	GGT TCG GAG CGG TTT AAA TAA GCG A	17	CTT AAC CCT TCC CGC CTA TCC GTC	18	70
	MAX.chr7.104624356-104624730	204	TTG GGG GTT GTC GGT TTT TGG AGA C	19	CCG ATC TAA ATA CCC CAA ACG AAA TCG AA	20	70
[0604]	NDRG2	226	CGT TTT TAG ATT TAG TGG TGG GAA TCG G	21	TCG AAC GAA AAA AAT CGA ACT CGT A	22	60
	CYP11A1	57	TTT TTC GCG GGT CGT TTA TTT TCG T	23	AAA CGA ATA AAC TCG AAC TAT ATC GAA	24	65
	FKBP11_A	88	TTA CGA TCG GAT TAT AGG GGT TAC GG	25	TAC CGA ATC TAA AAA CGA AAA CGA A	26	65
	MAX.chr8.145103829-145103992	207	GGG GAG TTA TAG GGG TGA AGG TCG C	27	GCC TCC GCC AAA CTC GCT ACG TC	28	70
	AHSA2	10	TAT TTG GCG CGT GGG GAG AGG TC	29	TCC CTT CCG AAA ATT CTA CGA CGA A	30	65
	CYTH2	59	TTT TAG GGT AAA TAG CGG GTT TCG T	31	CGA CCG CCC TAC ATA CAA TTC ATC CG	32	65
	GATA2_B	100	GTG TGA TAG ACG TTA GAG CGG CGG	33	CGT TTT AAT CAA AAA AAT CTC CCG TA	34	65
	LRRC8D_A	152	GGG AGA ATT CGA GTA GTA GTT GTA AAC GG	35	AAT AAC CTC GCT ACC AAC CAC CCG C	36	65
	MAX.chr8.145104263-145104422	208	GGG CGT TGT TTC GTT TTT TTT ATC GT	37	GAA ACG CGC TTA CCC GTC GAA	38	70

[0605]

OBSCN_A	234	GTT CGT TAT CGT TTG GTT TTG TAT AAC GT	39	TAT ATC TTA TCA TCC GAC GTC TCG CA	40	65
DIDO1_A	63	TAT TTG GGA TTT AGA GAG GTA GCG G	41	CCA AAA ACC GAA ACC TAA ACG CT	42	70
GDF6	102	TTT TAT TTC GTA GAC GAT TTT TCG T	43	GAA AAA ACC GCA ACT CCG CGC	44	65
MAX.chr10.130339363-130339534	165	AAT AAT AGG AAT TAG AGG TTG TCG G	45	AAA TAA CAA ACT CCG CGC GCG AA	46	65
MDFI_B	212	TAC GGT TCG TAC GAG TGA GTG GAC GT	47	ACG CCG AAA ACG AAC AAA AAA CGA T	48	70
DLL4	67	TTT TTC GTA GCG ATC GTA GCG GCG T	51	ACC TAC TAA ACA AAC CAA AAA CGA A	52	65
GDF7_A	103	TTC GTT TAG AAG GCG GGT GGA AGG TC	53	AAA AAA TCT CGC GCG AAA ATA CGC T	54	65
MAX.chr10.22624479-22624553	167	GGA AGG TTA GGG GGA AAT TTG TAT TTC GT	55	CGT AAC ATC GTC ATT TCT TAA CCG CGA T	56	70
MIAT_A	214	TTT CGT ATT AAA ATT TTA TGG GCG T	57	TCT AAT CCC GCG AAC GCA ACC G	58	60
PYCARD	248	TAG TTT TGT TTA GGG GTA GGA GGA ATA GAA AGC G	59	ACA CCA ACG CTT ACC CCG CGA A	60	65
BMP4_B	26	TTT TCG ATC GTG GAT GTT CGG AGT C	61	GAA AAC CGC GCG ACT CTT ACC GAA	62	70
JSRP1_A	124	GGG AGG GGT CGT AGG AGT GTT TTC G	63	ATA ACG TTC TAC CGC CTT TCC CCT ACG C	64	70
MAX.chr14.103021656-103021718	174	GAA AGC GAA ACG GTT TCG GCG TC	65	CAA ACT TCC GAA TCC TAC CCC CGC	66	70
MIAT_B	215	TCG AGA GAG GTC GGT TTT TTT TAT CGT	67	AAA CTT CCG ATC ACG ACC CCA CGT C	68	70
RHBDL1_A	252	TCG TTG GTA AAT GGA GTT ACG G	69	GAA AAA ACT ATA AAA AAA CGA ACG AT	70	60
EMX2	80	GTA TTT ATC GCG TTT TCG AGT TCG A	71	TAT AAC GCG ACC CCA ACG CT	72	70
KANK1	126	GTA GTC GGA GGG AGA TTT CGT CGG	73	ATA AAC TTA ACC GAC CAC GCT CGA A	74	65
MMP23B	218	CGG GTT GTA ATT CGA GTC GTC GA	75	CAA AAC CTC CGA AAA AAA TCC GAA	76	65

[0606]

SBNO2	256	GTA TAG GGC GTC GTT TTT AGT TCG A	77	AAA AAA TCT ACC GAA AAA TTC CGA A	78	60
C5orf52	40	TTG GTT TAA TTC GTT ATT CGT TTC GT	79	AAC AAA CCT TTT CCG CTT CGA CGT A	80	65
EMX2OS	81	CGA AGT TCG GGT AGG GTA AGC GTT GC	81	CGA CGT AAA AAT ACG AAA CGC ACG AA	82	65
LRRC34	146	GTG AGG CGG TTA TAC GAG TTT CGG C	83	CAA AAA ACC TCC ACA AAA TAA ACG AT	84	65
MAX.chr17.73073716-73073814	180	TTT TTC GAG TCG TTT TAT TTC GCG G	85	GAA CTC CGA ACG CCG CTT AAA CGT A	86	70
NBPF8	162	CGC GTA GGT GTT TAA CGT GAT TAG CGC	87	CTT ACA TCC TCA AAA CCC GCC CGA C	88	65
SEPT9_B	259	TTA TGG TGG CGG TGT CGG GAG TTA C	89	CCC TCT CCT AAA AAC CCC GCT CGA T	90	70
LOC440925_A	375	AGT TCG CGT TCG GTT TTT TTG TTC G	91	GTC CGT CCC GAT CGC AAT ACG A	92	65
STX16_A	429	CGC GTT GCG CGG AAG TTA GAG TC	93	CCA CAT AAA ATC GAA AAA ACC GCG AA	94	65
ITPKA	368	GGG TTT ATA AGT TCG GAG GTC GA	95	CAC CCA ACA CCT AAC GAC GA	96	65
AIM1_A	11	AGC GTT TTT AGG GAG TTC GGC GTT C	97	AAT CGA AAA AAC GAA AAA AAT CGC A	98	65
EEF1A2	75	TAG GTC GTT TCG TCG TGC GC	101	ATA ACC TTA CCG ACG CCG CCG CT	102	70
FEV	87	TTT TTG AAG AGA TCG TTT TCG ACG G	103	CCC CCT TAA ACC TTA ACC CGA A	104	65
LRRC41_C	149	GGC GTT TCG ATT TTT TCG TTC GG	105	CCG AAA CTC CAA CAT CTA CCT AAC ACG CC	106	65
NFIC	230	CGT AAT TTT TGG CGA GCG ACG TTT GC	107	CAA CCT TCG AAA TCC CCC ATC CGC T	108	70
VILL	302	GGT TTT GGG GGA TTT AGG GTT CGG	49	TCC GCG AAA ACC CCT ACC TAA CGT C	50	70
MPZ_A	404	GGG GCG TAT ATA TTA GTT ATC GAG CGA	99	AAA AAA AAC CCT AAA AAC CGC CGA A	100	65

[0607] 对第一轮验证的结果进行逻辑分析以确定AUC和倍数变化。从以前的工作中认识到,器官内癌症亚型的表观遗传学不同,并且最好的组来自亚型标志物的组合。组织和血沉棕黄层对照的分析是分开进行的。在表11(透明细胞EC与血沉棕黄层)、12(浆液性EC与血沉棕黄层)、13(癌肉瘤EC与血沉棕黄层)和14(子宫内膜样EC与血沉棕黄层)中突出显示结果。

某些基因上的灰度红色阴影指示与多个亚型重叠的DMR。灰度红色阴影的程度指示标志物测定的辨别强度。许多测定在EC与血沉棕黄层样品具有100％的辨别率,并且在EC与良性子宫内膜比较中接近100％。

[0608] 表11.区分1)透明细胞EC与血沉棕黄层和2)透明细胞EC与正常子宫内膜和正常宫颈阴道组织的DMR

[0609]

DMR编号	基因名称	AUC/血沉棕黄层	FC/血沉棕黄层	AUC/正常子宫内膜和正常宫颈阴道组织	FC/正常子宫内膜和正常宫颈阴道组织
262	SFMBT2_B	0.97	1179.65	0.72	11.52
273	SMTN	0.89	199.57	0.51	7.59
278	SQSTM1	0.91	201.30	0.87	18.50
312	ZNF323_A	1.00	422080.20	0.98	343.83
314	ZNF506	0.94	451.38	0.70	8.09
318	ZNF90	0.93	44.22	0.50	1.77
2	ACOXL_A	0.81	122.93	0.61	1.43
55	CLDN7	0.97	15.54	0.73	0.65
148	LRRC41_B	0.97	142.56	0.68	6.81
204	MAX.chr7.104624356-104624730	0.93	187.02	0.93	100.90
226	NDRG2	0.95	285.41	0.91	111.93
57	CYP11A1	0.94	101.29	0.59	1.83
88	FKBP11_A	0.83	17.00	0.65	4.46
207	MAX.chr8.145103829-145103992	0.93	1107.83	0.74	18.09
10	AHSA2	0.88	61.87	0.72	5.77
59	CYTH2	0.99	152.59	0.81	3.59
100	GATA2_B	0.89	518.49	0.67	12.96
152	LRRC8D_A	0.92	323.21	0.74	11.32
208	MAX.chr8.145104263-145104422	0.96	258.53	0.67	12.62
234	OBSCN_A	1.00	2614.39	0.89	30.04
63	DIDO1_A	0.97	918.19	0.91	16.37
102	GDF6	0.99	203.64	0.62	4.22

165	MAX.chr10.130339363-130339534	0.92	18.64	0.75	3.52
212	MDFI_B	0.94	1749.15	0.90	42.70
67	DLL4	0.96	12.73	0.60	0.31
103	GDF7_A	0.92	224.96	0.84	27.86
167	MAX.chr10.22624479-22624553	0.85	2399.57	0.75	24.84
214	MIAT_A	0.93	1055.89	0.83	98.21
248	PYCARD	0.94	106.61	0.57	6.24
26	BMP4_B	0.95	127.50	0.56	7.73
124	JSRP1_A	0.98	81.87	0.78	4.52
174	MAX.chr14.103021656-103021718	0.98	2953.08	0.97	184.74
215	MIAT_B	0.87	99.67	0.38	3.32
252	RHBDL1_A	0.71	20.30	0.76	12.49
80	EMX2	0.92	422.01	0.85	35.48
126	KANK1	0.73	23.85	0.64	6.84
218	MMP23B	0.97	640.18	0.92	25.53
256	SBNO2	0.83	8.43	0.57	0.51
40	C5orf52	0.59	59.11	0.65	0.68
81	EMX2OS	0.98	154.84	0.89	5.95
146	LRRC34	0.81	62.10	0.61	2.27
180	MAX.chr17.73073716-73073814	1.00	283.78	0.87	22.84
162	NBPF8	0.97	69.67	0.85	7.68
259	SEPT9_B	0.99	1751.41	0.94	70.17
375	LOC440925_A	1.00	304.06	0.49	1.04
429	STX16_A	0.90	173.42	0.94	53.85
368	ITPKA	1.00	1509.47	0.58	0.96
11	AIM1_A	0.79	15826.65	0.78	307.38
75	EEF1A2	0.97	289.12	0.83	41.35
87	FEV	0.94	537.52	0.84	19.39
149	LRRC41_C	0.98	392.66	0.72	18.82
230	NFIC	0.95	107.52	0.69	6.95
302	VILL	0.88	49.58	0.44	3.39
404	MPZ_A	0.85	1112.98	0.61	6.77

[0610]

[0611] 表12.区分1)浆液性EC与血沉棕黄层和2)浆液性EC与正常子宫内膜和正常宫颈阴道组织的DMR

[0612]

DMR编号	基因名称	AUC/血沉棕黄层	FC/血沉棕黄层	AUC/正常子宫内膜和正常宫颈阴道组织	FC/正常子宫内膜和正常宫颈阴道组织

[0613]

262	SFMBT2_B	0.91	594.75	0.65	5.81
273	SMTN	1.00	235.25	0.70	8.95
278	SQSTM1	1.00	155.56	0.80	14.30
312	ZNF323_A	0.88	400850.18	0.88	326.53
314	ZNF506	0.81	181.26	0.62	3.25
318	ZNF90	1.00	124.47	0.63	4.97
2	ACOXL_A	0.87	4248.44	0.63	49.40
55	CLDN7	1.00	15.07	0.58	0.63
148	LRRC41_B	1.00	170.65	0.82	8.15
204	MAX.chr7.104624356-104624730	0.94	435.76	0.94	235.10
226	NDRG2	0.73	108.35	0.75	42.49
57	CYP11A1	0.91	420.04	0.73	7.61
88	FKBP11_A	0.92	153.12	0.84	40.21
207	MAX.chr8.145103829-145103992	1.00	886.56	0.72	14.47
10	AHSA2	0.94	33.32	0.69	3.11
59	CYTH2	0.97	137.39	0.70	3.23
100	GATA2_B	0.81	481.98	0.68	12.05
152	LRRC8D_A	0.98	681.74	0.85	23.87
208	MAX.chr8.145104263-145104422	1.00	236.41	0.70	11.54
234	OBSCN_A	0.93	2837.86	0.76	32.61
63	DIDO1_A	0.83	1663.93	0.80	29.67
102	GDF6	1.00	172.69	0.67	3.58
165	MAX.chr10.130339363-130339534	0.87	5.69	0.61	1.07
212	MDFI_B	0.74	926.85	0.75	22.63
67	DLL4	0.94	34.95	0.62	0.85
103	GDF7_A	0.71	335.86	0.68	41.60
167	MAX.chr10.22624479-22624553	0.77	2245.78	0.65	23.25
214	MIAT_A	0.84	378.27	0.61	35.18
248	PYCARD	1.00	29.18	0.40	1.71
26	BMP4_B	0.97	51.17	0.46	3.10
124	JSRP1_A	0.99	78.15	0.65	4.31
174	MAX.chr14.103021656-103021718	0.76	2225.70	0.65	139.24
215	MIAT_B	0.90	325.27	0.69	10.85
252	RHBDL1_A	0.78	32.70	0.76	20.12
80	EMX2	0.68	439.81	0.71	36.98
126	KANK1	0.91	54.42	0.88	15.60
218	MMP23B	0.77	139.13	0.80	5.55
256	SBNO2	0.78	32.10	0.50	1.93
40	C5orf52	0.74	54.72	0.56	0.63
81	EMX2OS	1.00	286.88	0.91	11.02
146	LRRC34	0.72	316.99	0.60	11.61
180	MAX.chr17.73073716-73073814	0.80	151.03	0.74	12.16
162	NBPF8	0.99	101.15	0.79	11.15
259	SEPT9_B	0.72	508.74	0.64	20.38
375	LOC440925_A	1.00	347.38	0.51	1.18

[0614]

429	STX16_A	0.76	159.65	0.80	49.58
368	ITPKA	1.00	1869.01	0.50	1.18
11	AIM1_A	0.71	2731.20	0.70	53.05
75	EEF1A2	0.93	59.07	0.63	8.45
87	FEV	0.90	648.38	0.76	23.39
149	LRRC41_C	1.00	530.59	0.94	25.43
230	NFIC	0.92	165.59	0.73	10.71
302	VILL	0.96	120.29	0.66	8.23
404	MPZ_A	0.94	3826.67	0.89	23.28

[0615] 表13.区分1)癌肉瘤EC与血沉棕黄层和2)癌肉瘤EC与正常子宫内膜和正常宫颈阴道组织的DMR

[0616]

DMR编号	基因名称	AUC/血沉棕黄层	FC/血沉棕黄层	AUC/正常子宫内膜和正常宫颈阴道组织	FC/正常子宫内膜和正常宫颈阴道组织
262	SFMBT2_B	0.99	1428.99	0.68	13.95
273	SMTN	1.00	377.39	0.76	14.36
278	SQSTM1	0.62	284.30	0.58	26.13
312	ZNF323_A	0.85	485857.78	0.86	395.78
314	ZNF506	0.97	536.08	0.79	9.60
318	ZNF90	1.00	114.78	0.77	4.58
2	ACOXL_A	0.73	7752.33	0.64	90.14
55	CLDN7	0.98	115.79	0.46	4.87
148	LRRC41_B	1.00	66.45	0.62	3.17
204	MAX.chr7.104624356-104624730	0.84	745.78	0.85	402.36
226	NDRG2	0.68	29.19	0.69	11.45
57	CYP11A1	0.93	140.16	0.66	2.54
88	FKBP11_A	0.85	25.24	0.73	6.63
207	MAX.chr8.145103829-145103992	0.95	2543.71	0.66	41.53
10	AHSA2	0.96	226.81	0.77	21.16
59	CYTH2	1.00	263.29	0.85	6.19
100	GATA2_B	0.98	576.22	0.61	14.40
152	LRRC8D_A	0.96	776.27	0.75	27.18
208	MAX.chr8.145104263-145104422	0.94	497.10	0.64	24.27
234	OBSCN_A	0.99	3188.04	0.83	36.63
63	DIDO1_A	1.00	2258.45	0.88	40.27
102	GDF6	1.00	298.43	0.79	6.18
165	MAX.chr10.130339363-130339534	0.87	24.92	0.60	4.71

[0617]

212	MDFI_B	0.62	282.92	0.65	6.91
67	DLL4	1.00	42.28	0.68	1.03
103	GDF7_A	0.76	455.11	0.71	56.37
167	MAX.chr10.22624479-22624553	0.93	4917.08	0.82	50.91
214	MIAT_A	0.80	60.34	0.59	5.61
248	PYCARD	0.98	55.62	0.51	3.25
26	BMP4_B	0.98	270.79	0.52	16.41
124	JSRP1_A	1.00	57.52	0.61	3.18
174	MAX.chr14.103021656-103021718	0.91	4012.26	0.88	251.00
215	MIAT_B	0.92	196.61	0.77	6.56
252	RHBDL1_A	0.64	22.37	0.68	13.76
80	EMX2	0.85	485.41	0.86	40.81
126	KANK1	0.82	194.54	0.79	55.77
218	MMP23B	0.43	102.68	0.57	4.09
256	SBNO2	0.89	297.56	0.73	17.85
40	C5orf52	0.76	3076.88	0.59	35.54
81	EMX2OS	1.00	383.68	0.99	14.74
146	LRRC34	1.00	634.47	0.90	23.23
180	MAX.chr17.73073716-73073814	0.89	618.49	0.83	49.78
162	NBPF8	0.98	115.64	0.86	12.75
259	SEPT9_B	0.64	233.76	0.60	9.37
375	LOC440925_A	1.00	450.23	0.57	1.53
429	STX16_A	0.64	296.41	0.73	92.04
368	ITPKA	1.00	4030.59	0.69	2.55
11	AIM1_A	0.81	5230.38	0.78	101.58
75	EEF1A2	0.85	59.43	0.54	8.50
87	FEV	0.87	295.29	0.68	10.65
149	LRRC41_C	0.84	168.11	0.58	8.06
230	NFIC	1.00	141.82	0.70	9.17
302	VILL	0.99	171.70	0.88	11.74
404	MPZ_A	0.84	2691.51	0.66	16.38

[0618] 表14.区分1)子宫内膜样EC与血沉棕黄层和2)子宫内膜样EC与正常子宫内膜和正常宫颈阴道组织的DMR

[0619]

DMR编号	基因名称	AUC/血沉棕黄层	FC/血沉棕黄层	AUC/正常子宫内膜和正常宫颈阴道组织	FC/正常子宫内膜和正常宫颈阴道组织
262	SFMBT2_B	0.99	4102.95	0.87	40.06
273	SMTN	1.00	177.04	0.72	6.74

	278	SQSTM1	1.00	152.79	0.84	14.04
	312	ZNF323_A	0.89	767729.43	0.89	625.39
	314	ZNF506	0.94	1764.70	0.87	31.61
	318	ZNF90	1.00	286.45	0.84	11.44
	2	ACOXL_A	0.72	1420.62	0.62	16.52
	55	CLDN7	1.00	18.78	0.55	0.79
	148	LRRC41_B	1.00	137.20	0.52	6.55
	204	MAX.chr7.104624356-104624730	0.80	189.27	0.81	102.12
	226	NDRG2	0.69	189.12	0.72	74.17
	57	CYP11A1	0.89	356.99	0.60	6.46
	88	FKBP11_A	0.96	63.66	0.83	16.72
	207	MAX.chr8.145103829-145103992	1.00	4309.89	0.93	70.36
	10	AHSA2	0.93	99.00	0.76	9.24
	59	CYTH2	1.00	443.30	0.94	10.42
	100	GATA2_B	0.91	1201.79	0.68	30.04
	152	LRRC8D_A	0.96	1104.73	0.76	38.68
	208	MAX.chr8.145104263-145104422	1.00	1291.27	0.82	63.05
	234	OBSCN_A	0.89	2144.25	0.73	24.64
	63	DIDO1_A	0.99	1143.24	0.90	20.39
	102	GDF6	1.00	182.30	0.73	3.78
	165	MAX.chr10.130339363-130339534	0.92	40.14	0.69	7.59
[0620]	212	MDFI_B	0.83	545.42	0.85	13.31
	67	DLL4	0.98	17.08	0.52	0.42
	103	GDF7_A	0.59	343.11	0.57	42.50
	167	MAX.chr10.22624479-22624553	0.97	12943.30	0.92	134.01
	214	MIAT_A	0.91	1058.99	0.66	98.50
	248	PYCARD	1.00	47.75	0.55	2.79
	26	BMP4_B	0.99	194.14	0.68	11.76
	124	JSRP1_A	1.00	136.00	0.91	7.51
	174	MAX.chr14.103021656-103021718	0.93	3958.93	0.89	247.66
	215	MIAT_B	0.94	436.40	0.73	14.56
	252	RHBDL1_A	0.89	35.39	0.86	21.78
	80	EMX2	0.75	196.50	0.75	16.52
	126	KANK1	0.93	171.50	0.88	49.17
	218	MMP23B	0.44	43.50	0.59	1.73
	256	SBNO2	1.00	270.32	0.90	16.21
	40	C5orf52	0.90	10081.84	0.88	116.45
	81	EMX2OS	1.00	413.19	0.88	15.88
	146	LRRC34	0.94	1405.18	0.81	51.45
	180	MAX.chr17.73073716-73073814	0.88	297.35	0.73	23.93
	162	NBPF8	1.00	281.71	0.99	31.05
	259	SEPT9_B	0.62	839.24	0.57	33.62
	375	LOC440925_A	1.00	370.18	0.46	1.26
	429	STX16_A	0.81	147.65	0.83	45.85

[0621]

368	ITPKA	1.00	3924.69	0.73	2.48
11	AIM1_A	0.67	1141.81	0.65	22.18
75	EEF1A2	0.87	127.52	0.60	18.24
87	FEV	0.89	2127.53	0.77	76.74
149	LRRC41_C	0.85	340.27	0.56	16.31
230	NFIC	0.99	47.68	0.68	3.08
302	VILL	1.00	477.74	0.94	32.67
404	MPZ_A	0.96	9032.17	0.86	54.96

[0622] 这些结果为用于独立样品测试的高性能候选者提供了丰富的来源。在最初的56个MDM中,选择33个。大多数都在0.90-1.00的AUC范围内,但包括具有极高FC数(非常少的背景)的MDM和/或表现出与其它MDM的互补性的那些MDM。所有MDM测定都展示了高分析性能-线性、效率、序列特异性(使用熔化曲线分析评估)和强扩增。

[0623] 在第2轮验证中,与上一步一样,进行的实验是在一个批次中的整个样品和标志物组上运行。每个标志物运行约10ng FFPE来源的样品DNA-总共350个。表15、16、17、18和19中列出EC总体和亚型对比正常组织(组合)的结果。与BE(良性子宫内膜)相比,多个MDM在所有EC组织学中都显示出显著的甲基化倍数变化(10至>1000)。表20中列出了交叉验证的AUC。

[0624] 表15.区分EC与正常子宫内膜组织的DMR。

[0625]

DMR 编号	基因注释	AUC (所有 EC 与正常子宫内膜组织)	FC (所有 EC 与正常子宫内膜组织)
262	SFMBT2_B	0.86194	22.62
278	SQSTM1	0.74307	50.73
312	ZNF323_A	0.69116	481.00
314	ZNF506	0.81957	19.51
318	ZNF90	0.86506	6.43
204	MAX.chr7.104624356-104624730	0.6905	10.48
207	MAX.chr8.145103829-145103992	0.87773	22.51
59	CYTH2	0.8939	16.18
100	GATA2_B	0.8156	170.63
152	LRRC8D_A	0.84946	17.70
208	MAX.chr8.145104263-145104422	0.82487	7.05

[0626]

234	OBSCN_A	0.85683	14.72
63	DIDO1_A	0.84704	214.16
212	MDFI_B	0.66076	47.95
103	GDF7_A	0.71296	32.35
167	MAX.chr10.22624479-22624553	0.88605	77.62
124	JSRP1_A	0.8661	3.73
174	MAX.chr14.103021656-103021718	0.79749	94.45
80	EMX2	0.79196	8.63
126	KANK1	0.76775	47.74
40	C5orf52	0.7391	69.44
81	EMX2OS	0.94827	29.31
146	LRRC34	0.77664	52.44
162	NBPF8	0.92492	14.57
259	SEPT9_B	0.70265	165.86
375	LOC440925_A	0.5348	1.29
429	STX16_A	0.694	1.50
368	ITPKA	0.77882	2.01
11	AIM1_A	0.59943	41.13
75	EEF1A2	0.62411	14.11
149	LRRC41_C	0.77683	9.42
302	VILL	0.84232	7.49
404	MPZ_A	0.85494	112.07

[0627] 表16.区分透明细胞EC与正常子宫内膜组织的DMR。

[0628]

DMR编号	基因注释	AUC（透明细胞EC对比组织）
262	SFMBT2_B	0.93333
278	SQSTM1	0.90431
312	ZNF323_A	0.9
314	ZNF506	0.60902
318	ZNF90	0.90353
204	MAX.chr7.104624356-104624730	0.76549
207	MAX.chr8.145103829-145103992	0.9302
59	CYTH2	1
100	GATA2_B	0.76549
152	LRRC8D_A	0.89725
208	MAX.chr8.145104263-145104422	0.79373
234	OBSCN_A	0.98745
63	DIDO1_A	0.91922
212	MDFI_B	0.95059
103	GDF7_A	0.93059
167	MAX.chr10.22624479-22624553	0.87843
124	JSRP1_A	0.92471
174	MAX.chr14.103021656-103021718	0.96627
80	EMX2	0.80863
126	KANK1	0.69098

40	C5orf52	0.70275
81	EMX2OS	0.96863
146	LRRC34	0.90588
162	NBPF8	0.85647
259	SEPT9_B	0.96784
375	LOC440925_A	0.72784
429	STX16_A	0.79608
368	ITPKA	0.7702
11	AIM1_A	0.71216
75	EEF1A2	0.95373
149	LRRC41_C	0.89647
302	VILL	0.89725
404	MPZ_A	0.9098

[0629]

[0630] 表17.区分浆液性EC与正常子宫内膜组织的DMR。

DMR编号	基因注释	AUC（浆液性EC对比组织）
262	SFMBT2_B	0.78321
278	SQSTM1	0.66049
312	ZNF323_A	0.80716
314	ZNF506	0.75012
318	ZNF90	0.82074
204	MAX.chr7.104624356-104624730	0.78667
207	MAX.chr8.145103829-145103992	0.87654
59	CYTH2	0.89827
100	GATA2_B	0.74963
152	LRRC8D_A	0.8716
208	MAX.chr8.145104263-145104422	0.77235
234	OBSCN_A	0.91407
63	DIDO1_A	0.94321
212	MDFI_B	0.58346
103	GDF7_A	0.63259
167	MAX.chr10.22624479-22624553	0.84049
124	JSRP1_A	0.79407
174	MAX.chr14.103021656-103021718	0.72444
80	EMX2	0.78815
126	KANK1	0.73728
40	C5orf52	0.45728
81	EMX2OS	0.99802
146	LRRC34	0.75506
162	NBPF8	0.85728
259	SEPT9_B	0.57926
375	LOC440925_A	0.56815
429	STX16_A	0.55111
368	ITPKA	0.74617
11	AIM1_A	0.6079
75	EEF1A2	0.68049

[0631]

[0632]

149	LRRC41_C	0.9437
302	VILL	0.86963
404	MPZ_A	0.80296

[0633] 表18.区分癌肉瘤EC与正常子宫内膜组织的DMR。

[0634]

DMR编号	基因注释	AUC（癌肉瘤EC对比组织）
262	SFMBT2_B	0.73095
278	SQSTM1	0.80786
312	ZNF323_A	0.61357
314	ZNF506	0.94381
318	ZNF90	0.90048
204	MAX.chr7.104624356-104624730	0.74429
207	MAX.chr8.145103829-145103992	0.85667
59	CYTH2	0.83048
100	GATA2_B	0.81048
152	LRRC8D_A	0.86429
208	MAX.chr8.145104263-145104422	0.83524
234	OBSCN_A	0.8519
63	DIDO1_A	0.83119
212	MDFI_B	0.56571
103	GDF7_A	0.73905
167	MAX.chr10.22624479-22624553	0.9381
124	JSRP1_A	0.86714
174	MAX.chr14.103021656-103021718	0.82905
80	EMX2	0.75619
126	KANK1	0.8681
40	C5orf52	0.79095
81	EMX2OS	0.95762
146	LRRC34	0.80643
162	NBPF8	0.93429
259	SEPT9_B	0.74738
375	LOC440925_A	0.60571
429	STX16_A	0.64143
368	ITPKA	0.75238
11	AIM1_A	0.54857
75	EEF1A2	0.46333
149	LRRC41_C	0.73667
302	VILL	0.87667
404	MPZ_A	0.83143

[0635] 表19.区分子宫内膜样EC与正常子宫内膜组织的DMR。

[0636]

DMR编号	基因注释	AUC（子宫内膜样3级对比组织）

262	SFMBT2_B	0.9177
278	SQSTM1	0.66575
312	ZNF323_A	0.7
314	ZNF506	0.79977
318	ZNF90	0.8708
204	MAX.chr7.104624356-104624730	0.64276
207	MAX.chr8.145103829-145103992	0.94253
59	CYTH2	0.8731
100	GATA2_B	0.8092
152	LRRC8D_A	0.80598
208	MAX.chr8.145104263-145104422	0.8777
234	OBSCN_A	0.88736
63	DIDO1_A	0.81655
212	MDFI_B	0.67172
103	GDF7_A	0.71517
167	MAX.chr10.22624479-22624553	0.88138
124	JSRP1_A	0.91218
174	MAX.chr14.103021656-103021718	0.80598
80	EMX2	0.81195
126	KANK1	0.80276
40	C5orf52	0.83264
81	EMX2OS	0.9269
146	LRRC34	0.72552
162	NBPF8	0.96874
259	SEPT9_B	0.69425
375	LOC440925_A	0.42759
429	STX16_A	0.70851
368	ITPKA	0.84276
11	AIM1_A	0.67218
75	EEF1A2	0.58713
149	LRRC41_C	0.71908
302	VILL	0.84483
404	MPZ_A	0.87034

[0637]

[0638] 表20.

DMR 编号	基因注释	AUC	AUC.下限	AUC.上限
	最佳适应组	0.9797	0.9618	0.9976
81	EMX2OS	0.9079	0.8693	0.9465
59	CYTH2	0.885	0.8398	0.9302
162	NBPF8	0.8791	0.835	0.9231
167	MAX.chr10.22624479-22624553	0.8529	0.804	0.9017
404	MPZ_A	0.8387	0.786	0.8914
262	SFMBT2_B	0.8366	0.7849	0.8884
318	ZNF90	0.8308	0.7771	0.8845
100	GATA2_B	0.8231	0.7693	0.8769
63	DIDO1_A	0.8134	0.7577	0.8691
124	JSRP1_A	0.8041	0.7483	0.8599
234	OBSCN_A	0.804	0.7478	0.8602
207	MAX.chr8.145103829-145103992	0.8028	0.7467	0.8588
126	KANK1	0.7859	0.7276	0.8442

[0639]

[0640]

174	MAX.chr14.103021656-103021718	0.7821	0.7233	0.841
314	ZNF506	0.7707	0.7103	0.8312
152	LRRC8D_A	0.7631	0.7016	0.8246
368	ITPKA	0.7587	0.6952	0.8221
302	VILL	0.7471	0.6835	0.8108
40	C5orf52	0.741	0.6762	0.8058
312	ZNF323_A	0.7311	0.6662	0.796
103	GDF7_A	0.7182	0.6523	0.7842
259	SEPT9_B	0.7131	0.6443	0.782
146	LRRC34	0.7107	0.6436	0.7779
208	MAX.chr8.145104263-145104422	0.704	0.6365	0.7715
80	EMX2	0.6805	0.6115	0.7495
149	LRRC41_C	0.6747	0.6055	0.744
428	ST8SIA1	0.6465	0.5744	0.7186
429	STX16_A	0.6282	0.5561	0.7004
278	SQSTM1	0.623	0.5502	0.6959
75	EEF1A2	0.5977	0.5233	0.6722
212	MDFI_B	0.5898	0.5155	0.664
204	MAX.chr7.104624356-104624730	0.5781	0.5033	0.6528
11	AIM1_A	0.5764	0.5011	0.6517
375	LOC440925_A	0.4754	0.4	0.5507

[0641] 接着,数据以热矩阵格式绘制,允许互补性可视化。交叉验证的3-MDM图源自于rPART模拟(EMX2OS、NBPF8、SFMBT2),其以97％特异性和97％灵敏度以及0.98的AUC区分总体EC与BE(参见图1)。

[0642] 一些MDM区分透明细胞组织学与BE和所有其它EC组织学(MDFI、GDF7_A、SEPTIN9、EEF1A2)并且C5orf52区分子宫内膜样组织学(G1/2E、G3E)与BE和所有其它EC组织学。

[0643] 总之,全甲基化组测序、严格的过滤标准和生物学验证得出针对EC的出色候选MDM。一些MDM以相对较高的灵敏度区分所有EC组织学与BE,而另一些则准确地区分组织学。

[0644] 实施例II.

[0645] 本实施例描述了实施例I的材料和方法。

[0646] 样品:

[0647] 组织和血液从Mayo Clinic生物样本库获得,并接受机构IRB监督。样本的选择严格遵守主题研究授权和纳入/排除标准。癌症亚型包括1)浆液性EC,2)透明细胞EC,3)癌肉瘤EC,和4)子宫内膜样EC。对照包括非赘生物组织和全血来源的白细胞。对组织进行宏观解剖并由专门的GI病理学家审查组织学。样品经过年龄性别匹配,随机化并且是盲样。使用QIAamp DNA Tissue Mini试剂盒(冷冻组织)、QIAamp DNA FFPE Tissue试剂盒(FFPE组织)和QIAamp DNA Blood Mini试剂盒(血沉棕黄层样品)(Qiagen,Valencia CA)纯化来自113个冷冻组织(16个1/2级子宫内膜样(G1/2E)、16个3级子宫内膜样(G3E)、11个浆液性、11个透明细胞EC、15个子宫癌肉瘤、44个良性子宫内膜(BE)组织(14个增生、12个萎缩、18个增生紊乱)、70个福尔马林固定石蜡包埋(FFPE)宫颈癌(CC)(36个鳞状细胞癌、34个腺癌)和18个无癌女性的血沉棕黄层)的DNA。DNA用AMPure XP珠(Beckman-Coulter,Brea CA)重新纯化,并通过PicoGreen(Thermo-Fisher,Waltham MA)定量。使用qPCR评估DNA完整性。

[0648] 测序:

[0649] RRBS测序文库是按照Meissner协议(参见Gu等人Nature Protocols 2011)并经过

修改制备的。样品以4重形式合并,并通过Mayo Genomics Facility在Illumina HiSeq 2500仪器(Illumina,San Diego CA)上进行测序。读数由Illumina管道模块处理,用于图像分析和碱基判读。使用Mayo开发的生物信息学套件SAAP-RRBS进行二次分析。简单地说,使用Trim-Galore清理读数,并与使用BSMAP构建的GRCh37/hg19参考基因组比对。对于覆盖率≥10X并且碱基质量得分≥20的CpG,甲基化比率通过计算C/(C+T)或对于映射到反向链的读数,相反地,计算G/(G+A)来确定。

[0650] 生物标志物选择:

[0651] 单个CpG按高甲基化比率排序,即给定基因座的甲基化胞嘧啶数量占该基因座总胞嘧啶计数的比率。对于病例,要求比率≥0.20(20%);对于组织对照,≤0.05(5%);对于血沉棕黄层对照,≤0.01(1%)。不符合这些标准的CpG被丢弃。随后,候选CpG通过基因组定位被分入DMR(差异甲基化区域),范围在大约60-200bp,每个区域的最小截止值为5个CpG。CpG密度过高(>30%)的DMR被排除在外,以避免在验证阶段出现GC相关的扩增问题。对于每个候选区域,创建了一个2D矩阵,将样品中的单个CpG与病例和对照的样品方式进行比较。分析总体EC与所有良性子宫内膜和/或无癌血沉棕黄层,以及亚型比较。然后将这些CpG矩阵与参考序列进行比较,以评估在初始过滤过程中是否丢弃了基因组连续的甲基化位点。从这个区域子集中,最终选择要求在每个样品水平上跨DMR序列的单个CpG协调和连续的高甲基化(在病例下)。相反,对照样品的甲基化程度必须至少比病例低10倍,并且CpG模式必须更加随机且不那么协调。要求亚型队列中至少10%的癌症样品对DMR内的每个CpG位点具有至少50%的高甲基化比率。

[0652] 在单独的分析中,利用专有的DMR鉴定管道和回归包,根据CpG的平均甲基化值推导出DMR。比较EC病例、组织对照和血沉棕黄层对照之间平均甲基化百分比的差异;每个映射的CpG的100个碱基对内的平铺阅读框用于鉴定对照甲基化<5%的DMR;仅当覆盖的总深度为每个受试者平均10个读数并且亚组间的差异>0时才分析DMR。假设比值比的生物学相关增加>3x并且覆盖深度为10个读数,在双侧检验中,在5%的显著性水平和假设二项式方差膨胀因子为1下,每组需要≥18个样品才能达到80%的功效。

[0653] 回归后,DMR按p值、接受者操作特征曲线下面积(AUC)和病例与所有对照之间的倍数变化差异排序。由于事先计划了独立验证,因此在此阶段没有对错误发现进行调整。

[0654] 生物标志物验证:

[0655] 选择DMR的一个子集进行进一步开发。标准主要是逻辑推导的ROC曲线下面积度量,它提供了对该区域辨别潜力的性能评估。选择0.85的AUC作为截止值。此外,计算甲基化倍数变化比(平均癌症高甲基化比率/平均对照高甲基化比率),组织与组织比较采用下限10,并且组织与血沉棕黄层比较采用下限20。要求p值小于0.01。DMR必须在平均和单个CpG选择过程中列出。使用MethPrimer(Li LC和Dahiya R.MethPrimer:designing primers for methylation PCRs.Bioinformatics 2002年11月;18(11):1427-31PMID:12424112)为候选区域设计定量甲基化特异性PCR(qMSP)引物,并且对20ng(6250当量)的阳性和阴性基因组甲基化对照进行QC检查。测试多个退火温度以获得最佳辨别。在qMSP的两个阶段中进行验证。第一个阶段由重新测试已测序的DNA样品组成。这样做是为了验证DMR是真正具有辨别力的,而不是过度拟合极大的下一代数据集的结果。第二个阶段使用了更大的独立样品集:

[0656]

组	N
子宫内膜癌-癌肉瘤	36
子宫内膜癌-透明细胞	22
子宫内膜癌-子宫内膜样1/2级	36
子宫内膜癌-子宫内膜样3级	36
子宫内膜癌-浆液性	32
良性子宫内膜-分泌	5
良性子宫内膜-增生	32
良性子宫内膜-萎缩	28
良性子宫内膜-增生紊乱	19
宫颈癌-鳞癌	36
宫颈癌-腺癌	36

[0657] 这些组织像以前一样通过专家临床和病理审查进行鉴定。如前所述进行DNA纯化。EZ-96DNA甲基化试剂盒(Zymo Research,Irvine CA)用于亚硫酸氢盐转化步骤。在Roche 480LightCyclers(Roche,Basel Switzerland)上使用SYBR Green检测扩增10ng转化的DNA(每个标志物)。连续稀释的通用甲基化基因组DNA(Zymo Research)用作定量标准。CpG不可知的ACTB(β-肌动蛋白)测定用作输入参考和标准化对照。结果表示为甲基化拷贝(特定标志物)/ACTB拷贝。

[0658] 统计学:

[0659] 对单个MDM(甲基化DNA标志物)性能的结果进行逻辑分析。对于标志物的组合,使用两种技术。首先,将rPart技术应用于整个MDM集并仅限于3个MDM的组合,在此基础上计算出rPart预测的癌症概率。第二种方法使用随机森林回归(rForest),它生成500个单独的rPart模型,这些模型与原始数据的boot strap样品拟合(大约2/3数据用于训练)并用于估计整个MDM组的交叉验证误差(1/3数据用于测试),并重复500次,以避免低估或高估真实交叉验证度量的虚假分开。然后将结果在500次迭代中取平均值。

[0660] 实施例III.

[0661] 本实施例描述了用于检测乳腺癌的子宫内膜癌组织标志物和血浆标志物的鉴定。

[0662] 通过EC组织样品与正常子宫内膜组织样品的RRBS鉴定用于检测EC、透明细胞EC、浆液性EC、癌肉瘤EC和子宫内膜样EC的候选甲基化标志物。为了鉴定甲基化DNA标志物,每个患者组165个样品(即,19个良性、34个腺癌、36个鳞状细胞癌、15个癌瘤子宫内膜癌、11个透明细胞子宫内膜癌、5个子宫内膜样子宫内膜癌1级、11个子宫内膜样子宫内膜癌2级、16个子宫内膜样子宫内膜癌3级和18个正常血沉棕黄层)进行RRBS过程,然后与经过亚硫酸氢盐转化的人类基因组进行比对。选择子宫内膜癌中相对于正常子宫内膜和血沉棕黄层的甲基化比率高的CpG区域并映射到它们的基因名称。

[0663] 通过RRBS选择标志物后,共鉴定出61个甲基化标志物,并设计和订购了富集靶标的长探针定量放大信号测定(通用技术参见例如WO2017/075061和美国专利申请序列号15,841,006)。表21示出了用于61个甲基化标志物的标志物染色体区域。表22和23示出了标志物的引物信息和探针信息。图2还提供了用于61个甲基化标志物的标志物染色体区域以及相关的引物和探针信息。

[0664] 表21.所鉴定的区分EC组织与正常子宫内膜组织的甲基化区域。

DMR 编号	基因注释	染色体上的区域(起始碱基-终止碱基)
445	AGRN_B	chr1:975957-976046
446	AIM1_C	chr6:106960288-106960380
447	AKR7A3	chr1:19615293-19615389
448	C17orf107_B	chr17:4802690-4802828
449	DIDO1_B	chr20:61560628-61560728
81	EMX2OS	chr10:119294950-119295039
450	FKBP11_B	chr12:49319059-49319168
451	GDF7_B	chr2:20866007-20866135
452	JSRP1_B	chr19:2253227-2253345
453	LHFPL2_B	chr5:77806193-77806301
454	LOC100129726_B	chr2:43452148-43452235
150	LRRC41_D	chr1:46768830-46768913
455	LRRC8D_B	chr1:90308856-90308965
456	MAX.chr10:22624470-22624553	chr10:22624470-22624553
457	MAX.chr14:103021654-103021725	chr14:103021654-103021725
458	MAX.chr7:104624356-104624513	chr7:104624356-104624513
459	MAX.chr7:104624386-104624529	chr7:104624386-104624529
212	MDFI_B	chr6:41606379-41606439
460	OBSCN_B	chr1:228463593-228463689
461	RHBDL1_B	chr16:725588-725658
462	SEPT9_D	chr17:75447656-75447829
463	SFMBT2_E	chr10:7451008-7451110
464	SPDYA_B	chr2:29033347-29033484
465	ST3GAL2_B	chr16:70415003-70415106
302	VILL	chr3:38035645-38035743
466	ZNF323_B	chr6:28303870-28303974
467	SLC13A5_B	chr17:6616765-6616852
468	ZMIZ1_D	chr10:81002927-81003006
469	MAX.chr8:145103900-145103993	chr8:145103900-145103993
470	C8orf73_B	chr8:144650834-144650919
471	KBTBD11_B	chr8:1949507-1949586
472	LOC100192379_C	chr4:122686300-122686377
473	TRIM71_B	chr3:32859592-32859712
474	LOC440925_B	chr2:171570323-171570444
499	ARL5C	chr17:37321564-37321723
475	STX16_B	chr20:57224681-57224845
368	ITPKA	chr15:41787637-41787780

476	IRF4	chr6:393188-393284
477	CNTN4	chr3:2140464-2140527
478	GRIN2A	chr16:10277158-10277320
479	NOTCH3	chr19:15306498-15306625
480	PAX1	chr20:21683741-21683893
481	ZNF521	chr18:22929721-22929795
482	VSX1	chr20:25065266-25065458
483	CRHR2	chr7:30721989-30722099
484	FAM19A5	chr22:48885810-48885908
485	ASCL1	chr12:103352059-103352157
486	GLT1D1	chr12:129338254-129338322
487	T	chr6:166581961-166582112
488	CAPN2	chr1:223936903-223937040
489	RYR2_F	chr1:237205546-237205717
490	SIM2	chr21:38119993-38120059
491	TRH	chr3:129693484-129693575
492	JAM3	chr11:133938908-133939011
493	BARX1	chr9:96721498-96721597
494	ZNF671_B	chr1:161275554-161276006
495	TSPYL5	chr8:98290016-98290134
496	MPZ_B	chr1:161275554-161276006
497	CXCL12	chr10:44881200-44881315
498	PTGDR	chr14:52735270-52735400

[0666]

[0667] 表22.表21中所示的标志物的引物信息。

DMR编号	基因注释	正向引物 5'-3'	Seq ID	反向引物 5'-3'	Seq ID
445	AGRN_B	GGTTGCGAGTACGGTAAGGTTT	109	AAAACTCAAAATACCGAAACGCC	110
446	AIM1_C	TTGAGAGCGTTGTTAGGGACGAC	111	CGCGTTTAACGCCACCTC	113
447	AKR7A3	CGGGTTTCGTTTATCGGCGG	113	AACGTAAAATCGAACTCGTAAACGAC	114
448	C17orf107_B	CGAAGTTTTATTTCGATTCGGGTTGTATCG	115	CCACGCCATATCCCCGC	116
449	DIDO1_B	AGGTTATCGGGTAGCGTTTAGG	117	CGTACCCCTCCCCCGCTAC	118
81	EMX2OS	GTCGTTTACGCGAGCGACG	119	CTCGAACAAAACAAACGCTACGTAAC	120
450	FKBP11_B	GGTTTTTATTTGGAGGGTTCGGAC	121	ACTACTCAATACGACGATATACCGAAC	122
451	GDF7_B	TCGTTCGTTTTTTCGGTTTTTGGTC	123	CCTTCTAAACGAAAACAACGACTAACGAAA	124

[0668]

[0669]

452	JSRP1_B	TAGCGTTTTGTCGTTTTTTTTTGCGT	125	CGCAAAAATACCCCCGAAAAAC	126
453	LHFPL2_B	GGAGGGCGGTTAGTAGCGT	127	ACGATATCGCTACGCGACGAAA	128
454	LOC100129726_B	GTTGTGGTGTAATTTGGGTCGC	129	ACACGCGCGATACGTTACAC	130
150	LRRC41_D	CGTTCGTATAGTTCGAATAGGGCG	131	CGACGCCAACGAAAAACTC	132
455	LRRC8D_B	GGAGAATTCGAGTAGTAGTTGTAAACGGA	133	CAACCACCCGCCCGCC	134
456	MAX.chr10:22624470-22624553	TGTTTACGTGGTATCGTTATTTTTTAATCGC	135	CGACGACCGCGAAAAAAAAAAACC	136
457	MAX.chr14:103021654-103021725	TCGTGGGGAATAGTAGGACGGC	137	CCTCCCGACAAATAAACGCGA	138
458	MAX.chr7:104624356-104624513	GGAGGTAGGTTCGCGCGG	139	CCAACTCAATTCCTCCTCCGC	140
459	MAX.chr7:104624386-104624529	GAGGAGGAATTGAGTTGGCGC	141	CAACCCATAATCCGATCCTATCTTCGA	142
212	MDFI_B	TTCGTACGAGTGAGTGGACG	143	CAAAAAACGATTCCCCCGCAAA	144
460	OBSCN_B	TGGAGATTTACGTCGAGGGC	145	CCACGATCGACAAAACCTACGT	146
461	RHBDL1_B	GCGCGTGTTTTGGTCGC	147	TCGTCCGCCTACCCGCCC	148
462	SEPT9_D	GGAGTTACGTTGTTTTTGGGTTTCG	149	CTCTCCTAAAAACCCCGCTC	150
463	SFMBT2_E	GGATCGGGATCGAAGTTTGGAGAA	151	CTTATCTCCCAAAACCGCGC	152
464	SPDYA_B	TTGGTTGTTTAATCGAAGGGAAGTAAAC	153	CTACCTCCCTTAAACACGTCTCG	154
465	ST3GAL2_B	GGGCGTAGTTATTTTATAGCGC	155	CACCAAAAAAAAACGATCGCTACGAAA	156
302	VILL	CGGGGAAGACGGAGGTG	157	AAACCCCTACCTAACGTCTCCC	158
466	ZNF323_B	CGGGGTTGTAGTATTTTAATGATCGA	159	CTTCAACCAATAAACTCAAAACGACTAACG	160
467	SLC13A5_B	GGCGTTTTTTCGCGGTTTTG	161	GCGTCCCACAAACCCCG	162
468	ZMIZ1_D	CGTAGGGTGGGTGGTTACGTTC	163	AACTTCCCACGACCCG	164
469	MAX.chr8:145103900-145103993	GTTACGCGGTTTTTATTTTTGTGATTTTTCG	165	CTCATTAACTTCCAAAAAACAAACTAACTCGTC	166
470	C8orf73_B	GAGTTCGACGGTCGAGGCG	167	ACTACGCCCTCCCACGC	168
471	KBTBD11_B	TCGTTTTAGCGGCGGAAGG	169	CCGCGAACCACCGC	170
47	LOC100192379	GGTTGTAGTTGGAG	17	CGAAACGCCCTCGCG	17

[0670]

2	_C	GGCGAG	1	A	2
473	TRIM71_B	GTTGTGTAAGGAGATGTGCGGTTC	173	AAACGACGACGCGAACGAA	174
474	LOC440925_B	CGTAGTGCGTTTTCGCGAGTC	175	CGCCCTAAAACATTAAAAATACGAAACCG	176
499	ARL5C	GTTTCGGGGTTTGTTAAGAGACG	177	ACTACTACGAATTTCCTACGATTATAACTTCG	178
475	STX16_B	AGTTTTTAGTTCGGTTCGCGC	179	CCCGAAAACGCTTCGCAACG	180
368	ITPKA	GATAAGGTAGGGAAGTTGTGGCG	181	CCTCTAATATCACTAACAAACCCCATCG	182
476	IRF4	CGCGGTGAGTTGCGGTAAC	183	CGAAATACTTACCGCTATCGATCTAATCGA	184
477	CNTN4	GGTAGTTCGAATTTCGGCGC	185	CTCCCTCCCGACGCTCG	186
478	GRIN2A	GTAGTTTTTCGGCGGCGACG	187	CCTTATTTACCGCCGTACGCT	188
479	NOTCH3	GGTCGCGTTTTGTTTGGCG	189	CGCGCGTCGAAAAAAAACGCG	190
480	PAX1	CGATCGTGTAGAAGGTTGTAGCG	191	TTTCCCGCAACCAACTATACGCG	192
481	ZNF521	CGGGATTTAGCGGGTTCGG	193	CCCGAAAACGAAAAACAAAAAACGAC	194
482	VSX1	TCGGGGTGTTTTCGTAGTTGTTAAATTTAC	195	CATTCTTTTAACCGCCAAAACGCG	196
483	CRHR2	GGGTTTTGGTTTTCGTTAGTTTAGTTTC	197	ACAACTCTAAACGACCGAAAATAACG	198
484	FAM19A5	GCGGTCGGAGTTTAGTTAGCG	199	ACCTACGACTACCTCCTAAACGCG	200
485	ASCL1	GTCGTAGTTTTAGTAGTTTTTTTTGTCGTTCG	201	CGACCGCCGCGACTAC	202
486	GLT1D1	GACGCGGGGCGTTTAGT	203	CGACTCGAAACGACCCCGA	204
487	T	GGAGTTTTAGGCGGCGTTACG	205	ACCGCGAAAACACCCGAC	206
488	CAPN2	GTTCGCGCGGTTTTACGGT	207	CGCCCTTCTCCTCCCGC	208
489	RYR2_F	GGAGGTTTCGCGTTTCGATTA	209	CGAACGATCCCCGCCTAC	210
490	SIM2	GGTTTAGCGCGGGTTTTTCG	211	CCCCGAACTTCCCGAACT	212
491	TRH	TTTTCGTTGATTTTATTCGAGTCGTC	213	GAACCCTCTTCAAATAAACCGC	214
492	JAM3	TGGTCGTTTTAGCGTTATGTCG	215	CGAAAACTACAAACCGCGC	216
493	BARX1	CGTTAATTTGTTAGATAGAGGGCG	217	TCCGAACAACCGCCTAC	218
494	ZNF671_B	GTTGTCGGGAGCGGTAGG	219	CCAATATCCCGAAACGCGTCT	220
495	TSPYL5	TTTGTTTCGGTTTTTGGCG	221	CGCCACCATAAACGACC	222
49	MPZ_B	GGTTAGGGGTGGAG	22	ACTCCGAACTCTACTC	22

[0671]

6		TTCGTTA	3	ATCCTTTC	4
497	CXCL12	TCGGCGGTTTTTAGTAAAAGCG	225	AAATCTCCCGTCCCACTCC	226
498	PTGDR	GGGTTCGGGGATTTATAATTACGG	227	CTAAATCACCTCCTACTACTAACGCTAATAAC	228

[0672] 表23.表21中所示的标志物的探针信息。

[0673]

DMR编号	基因注释	探针序列	Seq ID
445	AGRN_B	CGCGCCGAGG CCGTACCCACGTCCA/3C6/	229
446	AIM1_C	AGGCCACGGACG CGTCGTCGAACACCG/3C6/	230
447	AKR7A3	CGCGCCGAGG CGTCGAACACCTTCGAC/3C6/	231
448	C17orf107_B	AGGCCACGGACG CGACTACGCCACGTAAA/3C6/	232
449	DIDO1_B	CGCGCCGAGG GTTTCGGTTTTTGGGAGG/3C6/	233
81	EMX2OS	AGGCCACGGACG CGACAACTAAAACTCCGTACG/3C6/	234
450	FKBP11_B	CGCGCCGAGG CGGGATTTTCGGTTTCGA/3C6/	235
451	GDF7_B	AGGCCACGGACG CGTTTACGTATATAGTCGGTAGT/3C6/	236
452	JSRP1_B	CGCGCCGAGG CGCTCACGAACTAAACGATCC/3C6/	237
453	LHFPL2_B	AGGCCACGGACG TCGTTAGGTTTCGTTTCGT/3C6/	238
454	LOC100129726_B	*CGCGCCGAGG CGGTTTTCGCGGGA/3C6/*	239
150	LRRC41_D	AGGCCACGGACG CGACCTCGAACCCCAA/3C6/	240
455	LRRC8D_B	CGCGCCGAGG CCGCTCGCTCACAA/3C6/	241
456	MAX.chr10:22624470-22624553	AGGCCACGGACG CGGTTTTACGAAATGTAAATTT/3C6/	242
457	MAX.chr14:103021654-103021725	CGCGCCGAGG CGTCGAGGTCGTTTCG/3C6/	243
458	MAX.chr7:104624356-104624513	AGGCCACGGACG GCGGAAGTGCGTT/3C6/	244
459	MAX.chr7:104624386-104624529	CGCGCCGAGG CGCGGGTTAGTTGTT/3C6/	245
212	MDFI_B	AGGCCACGGACG ATACGCGCCTCCCA/3C6/	246
460	OBSCN_B	*CGCGCCGAGG CGTTCGTTATCGTTTGGTTT/3C6/*	247
461	RHBDL1_B	AGGCCACGGACG CCTACCGCACACGC/3C6/	248
462	SEPT9_D	CGCGCCGAGG	249

[0674]

		CGATCCTACCGACCTCGA/3C6/	
463	SFMBT2_E	AGGCCACGGACG CGCTCCCGCCCTTCT/3C6/	250
464	SPDYA_B	CGCGCCGAGG CGGTTTTAACGTAAGTTTGATTG/3C6/	251
465	ST3GAL2_B	AGGCCACGGACG CGGTCGAGGTGGGA/3C6/	252
302	VILL	CGCGCCGAGG GCGGGTGGAGAAGG/3C6/	253
466	ZNF323_B	AGGCCACGGACG GCGGGTGGAGAAGG/3C6/	254
467	SLC13A5_B	AGGCCACGGACG GCATTTCCGACCTTTACGA/3C6/	255
468	ZMIZ1_D	CGCGCCGAGG GAAAAATAACCCCGCCC/3C6/	256
469	MAX.chr8:145103900-145103993	AGGCCACGGACG CGTAGGGTTCGCGAG/3C6/	257
470	C8orf73_B	CGCGCCGAGG CGATACATCCGCGCG/3C6/	258
471	KBTBD11_B	AGGCCACGGACG GCGGATTGAGTTTCGTG/3C6/	259
472	LOC100192379_C	AGGCCACGGACG GCGCGGTTATTTTTTCGT/3C6/	260
473	TRIM71_B	CGCGCCGAGG GCGCGTCGTTCGTATATTT/3C6/	261
474	LOC440925_B	AGGCCACGGACG CGTCGGCGTCGTTTT/3C6/	262
499	ARL5C	*CGCGCCGAGG GCGTTAAAAACCTCGCG/3C6/*	263
475	STX16_B	CGCGCCGAGG GCGTTATACTCTTTCTCTAAACAC/3C6/	264
368	ITPKA	AGGCCACGGACG CGGCGATTTAGTTTTTTGTCG/3C6/	265
476	IRF4	CGCGCCGAGG GACCTCCGAACTTATAAACCC/3C6/	266
477	CNTN4	AGGCCACGGACG CGGGAAGTTTCGTTAGTGG/3C6/	267
478	GRIN2A	CGCGCCGAGG CGTTAGGTTTTTTTAGTCGTCG/3C6/	268
479	NOTCH3	AGGCCACGGACG TCTCGAAACGAATAACCGC/3C6/	269
480	PAX1	CGCGCCGAGG GCTACGCTAAACGCCG/3C6/	270
481	ZNF521	AGGCCACGGACG GATCGAAAACACACAACCC/3C6/	271
482	VSX1	CGCGCCGAGG GGCGGGCGTATTAGT/3C6/	272
483	CRHR2	AGGCCACGGACG CGGGTCGCGTTTAGG/3C6/	273
484	FAM19A5	AGGCCACGGACG CGATTTTTCGGGTAGTTTTTGG/3C6/	274
485	ASCL1	CGCGCCGAGG GGTTTTTCGGTCGAGATG/3C6/	275
486	GLT1D1	AGGCCACGGACG	276

[0675]

		CGACCGTAACAAAAAAACAAAC/3C6/	
487	T	CGCGCCGAGG ACGCGACTAAAAAAAACCTAAC/3C6/	277
488	CAPN2	AGGCCACGGACG CGCCGAAACAAACTAATCC/3C6/	278
489	RYR2_F	CGCGCCGAGG CGCGAAACTTCAAAAATACGA/3C6/	279
490	SIM2	AGGCCACGGACG ATTCGCGTTCGAGCG/3C6/	280
491	TRH	AGGCCACGGACG GCGGTAGTGGTCGTAG/3C6/	281
492	JAM3	AGGCCACGGACG CGTTTGGCGTAGATATAAGC/3C6/	282
493	BARX1	AGGCCACGGACG CCGCGCTACCGCTA/3C6/	283
494	ZNF671_B	CGCGCCGAGG CCGCGCTACCGCTA/3C6/	284
495	TSPYL5	AGGCCACGGACG CGAAAAATCCCACGC/3C6/	285
496	MPZ_B	CGCGCCGAGG GCGTTTCGATCGGGG/3C6/	286
497	CXCL12	AGGCCACGGACG GCGGGAGGATTTTCGATTTC/3C6	287
498	PTGDR	CGCGCCGAGG CGTAACTCCATCTCGATAACC/3C6/	288

[0676] 所有开发的测定都与向Quasar670报告的参考测定B3GALT6三联(参见表26)。对156个具有以下分布和亚型的良性和癌症样品进行测定:21个宫颈癌腺癌、20个宫颈癌鳞癌、13个癌肉瘤子宫内膜癌、11个透明细胞子宫内膜癌、10个浆液性子宫内膜癌、4个子宫内膜样子宫内膜癌1级、9个子宫内膜样子宫内膜癌2级,16个子宫内膜样子宫内膜癌3级、16个良性宫颈阴道、6个子宫内膜良性萎缩、3个子宫内膜良性增生紊乱、6个子宫内膜良性增生、子宫内膜良性分泌、4个无异型性的复杂子宫内膜增生、10个有异型性的复杂子宫内膜增生综合征以及2个无异型性的单纯子宫内膜增生。

[0677] 每个甲基化标志物的灵敏度以每个亚型的95%截止值计算并列于表24和25中。表24示出了表21中所示标志物对于癌肉瘤EC、透明细胞EC和浆液性EC的95%的子宫内膜组织灵敏度。表25示出了表21中所示标志物对于子宫内膜样EC 1级、子宫内膜样EC 2级和子宫内膜样EC 3级的95%的子宫内膜组织灵敏度。

[0678] 表24.表21中所示标志物对于癌肉瘤EC、透明细胞EC和浆液性EC的95%的子宫内膜组织灵敏度。

[0679]

DMR 编号	标志物	癌肉瘤 EC	透明细胞 EC	浆液性 EC
495	TSPYL5	77%	55%	70%
496	MPZ_B	46%	27%	70%
491	TRH	85%	55%	50%
497	CXCL12	8%	27%	10%
476	IRF4	38%	45%	40%
477	CNTN4	8%	45%	30%
478	GRIN2A	15%	45%	20%
479	NOTCH3	62%	9%	20%
480	PAX1	23%	45%	20%
481	ZNF521	8%	55%	30%
482	VSX1	23%	55%	30%
492	JAM3	15%	27%	20%
483	CRHR2	23%	45%	10%
484	FAM19A5	15%	36%	10%
485	ASCL1	23%	45%	10%
486	GLT1D1	15%	36%	10%
487	T	23%	45%	10%
488	CAPN2	31%	55%	40%
489	RYR2_F	8%	45%	10%
498	PTGDR	54%	73%	60%
493	BARX1	31%	18%	10%
494	ZNF671_B	54%	55%	80%
490	SIM2	46%	18%	0%
472	LOC100192379_C	0%	0%	30%
446	AIM1_C	31%	55%	40%
445	AGRN_B	38%	82%	60%
459	MAX.chr7:104624386-104624529	92%	91%	80%
81	EMX2OS	100%	91%	90%
449	DIDO1_B	85%	91%	80%
451	GDF7_B	46%	64%	60%
450	FKBP11_B	85%	64%	80%
453	LHFPL2_B	62%	55%	10%
447	AKR7A3	38%	64%	20%
150	LRRC41_D	31%	64%	90%
454	LOC100129726_B	62%	9%	30%
448	C17orf107_B	69%	55%	80%
456	MAX.chr10:22624470-22624553	46%	64%	30%
455	LRRC8D_B	62%	64%	60%
458	MAX.chr7:104624356-104624513	69%	64%	70%
457	MAX.chr14:103021654-103021725	46%	82%	40%
212	MDFI_B	15%	55%	20%
464	SPDYA_B	54%	73%	50%
461	RHBDL1_B	46%	36%	60%
460	OBSCN_B	69%	91%	60%
463	SFMBT2_E	23%	45%	10%
462	SEPT9_D	38%	82%	10%
465	ST3GAL2_B	92%	27%	20%
452	JSRP1_B	46%	82%	70%

[0680]

368	ITPKA	8%	0%	0%
466	ZNF323_B	62%	55%	40%
302	VILL	54%	18%	40%
468	ZMIZ1_D	23%	64%	20%
467	SLC13A5_B	23%	45%	0%
470	C8orf73_B	38%	82%	40%
469	MAX.chr8:145103900-145103993	38%	64%	30%
471	KBTBD11_B	8%	9%	20%
499	ARL5C	69%	73%	80%
472	LOC100192379_C	15%	0%	40%
475	STX16_B	15%	27%	40%
474	LOC440925_B	54%	36%	30%
473	TRIM71_B	23%	36%	40%

[0681] 表25.表21中所示标志物对于子宫内膜样EC 1级、子宫内膜样EC 2级和子宫内膜样EC 3级的95%的子宫内膜组织灵敏度。

[0682]

DMR编号	标志物	子宫内膜样 EC 1级	子宫内膜样 EC 2级	子宫内膜样 EC 3级
495	TSPYL5	100%	89%	94%
496	MPZ_B	75%	89%	88%
491	TRH	100%	89%	88%
497	CXCL12	0%	22%	25%
476	IRF4	50%	67%	63%
477	CNTN4	75%	89%	63%
478	GRIN2A	50%	78%	50%
479	NOTCH3	0%	0%	0%
480	PAX1	75%	78%	38%
481	ZNF521	50%	22%	31%
482	VSX1	75%	67%	63%
492	JAM3	100%	67%	38%
483	CRHR2	50%	78%	50%
484	FAM19A5	100%	89%	56%
485	ASCL1	50%	67%	38%
486	GLT1D1	75%	89%	56%
487	T	50%	67%	44%
488	CAPN2	50%	67%	31%
489	RYR2_F	75%	89%	63%
498	PTGDR	100%	89%	94%
493	BARX1	75%	56%	56%
494	ZNF671_B	50%	56%	69%
490	SIM2	0%	44%	38%
472	LOC100192379_C	25%	33%	31%
446	AIM1_C	0%	0%	19%
445	AGRN_B	0%	22%	38%
459	MAX.chr7:104624386-104624529	0%	44%	69%
81	EMX2OS	75%	89%	81%
449	DIDO1_B	0%	44%	81%
451	GDF7_B	25%	44%	44%

[0683]

450	FKBP11_B	25%	56%	69%
453	LHFPL2_B	0%	11%	25%
447	AKR7A3	0%	33%	44%
150	LRRC41_D	0%	11%	25%
454	LOC100129726_B	25%	11%	44%
448	C17orf107_B	0%	56%	44%
456	MAX.chr10:22624470-22624553	75%	89%	75%
455	LRRC8D_B	25%	56%	50%
458	MAX.chr7:104624356-104624513	0%	11%	38%
457	MAX.chr14:103021654-103021725	50%	67%	56%
212	MDFI_B	25%	33%	25%
464	SPDYA_B	75%	89%	81%
461	RHBDL1_B	0%	56%	63%
460	OBSCN_B	0%	22%	56%
463	SFMBT2_E	100%	89%	63%
462	SEPT9_D	0%	22%	19%
465	ST3GAL2_B	0%	33%	38%
452	JSRP1_B	100%	100%	75%
368	ITPKA	0%	0%	0%
466	ZNF323_B	0%	11%	50%
302	VILL	50%	67%	81%
468	ZMIZ1_D	0%	67%	31%
467	SLC13A5_B	50%	78%	31%
470	C8orf73_B	0%	56%	56%
469	MAX.chr8:145103900-145103993	50%	78%	69%
471	KBTBD11_B	25%	33%	31%
499	ARL5C	100%	78%	75%
472	LOC100192379_C	25%	56%	38%
475	STX16_B	0%	11%	6%
474	LOC440925_B	25%	11%	19%
473	TRIM71_B	25%	22%	31%

[0684] 对于这类测试,设置并完成了多重PCR反应。每个多重PCR反应都使用中间引物混合物设置,所述中间引物混合物含有每个标志物2μM正向引物和2μM反向引物。多重PCR反应1由以下每个标志物组成:AIM1_C、AGRN_B、C17orf107_B、MAX.chr7:104624386-104624529、EMX2OS、DIDO1_B、GDF7_B、FKBP11_B、LHFPL2_B、AKR7A3、LRRC41_D、LOC100129726_B和B3GALT6。多重PCR反应2由以下每个标志物组成:MAX.chr10:22624470-22624553、LRRC8D_B、MAX.chr7:104624356-104624513、MAX.chr14:103021654-103021725、MDFI_B、SPDYA_B、RHBDL1_B、OBSCN_B、SFMBT2_E、SEPT9_D、ST3GAL2_B、JSRP1_B、ITPKA和B3GALT6。多重PCR反应3由以下每个标志物组成:ZNF323_B、VILL、ZMIZ1_D、SLC13A5_B、C8orf73_B、MAX.chr8:145103900-145103993、KBTBD11_B、ARL5C、TRIM71_B、LOC100192379_C、STX16_B、LOC440925_B和B3GALT6。多重PCR反应4由以下每个标志物组成:TSPYL5、MPZ_B、TRH、CXCL12、IRF4、CNTN4、GRIN2A、NOTCH3、PAX1、ZNF521、VSX1、JAM3和B3GALT6。多重PCR反应5由以下每个标志物组成:CRHR2、FAM19A5、ASCL1、GLT1D1、T、CAPN2、RYR2_F、PTGDR、BARX1、ZNF671_B、SIM2和B3GALT6。

[0685] 每个多重PCR反应的最终浓度为0.2μM反应缓冲液、0.075μM引物混合物、0.025μM Hotstart Go Taq(5U/μL),产生25μL预混液,其与50μL DNA模板组合,最终反应体积为75μL。多重PCR的热分布需要12个循环,即95°5分钟的预孵育阶段,95°30秒、64°60秒的两步扩增阶段,以及4°冷却阶段,无限进行。多重PCR完成后,使用Te将PCR产物按1:10稀释,随后每个LQAS反应使用10μL。每个LQAS测定都以三重形式开发,由2个甲基化标志物和B3GALT6作为参考基因组成。每个LQAS测定都是使用每个甲基化标志物和B3GALT6的每个引物2μM、5μM每个甲基化标志物探针、每个带有2500μM dNTP的FRET盒5μM构建的。

[0686] 从多重PCR产物1开始,运行以下6个LQAS测定(参见表26):(1.)AIM1_C、AGRN_B、B3GALT6;(2.)C17orf107_B、MAX.chr7:104624386-104624529、B3GALT6;(3.)EMX2OS、DIDO1_B、B3GALT6;(4.)GDF7_B、FKBP11_B、B3GALT6;(5.)LHFPL2_B、AKR7A3、B3GALT6;(6.)LRRC41_D、LOC100129726_B、B3GALT6。从多重PCR产物2中,运行以下7个LQAS测定(参见表26):(1.)MAX.chr10:22624470-22624553、LRRC8D_B、B3GALT6;(2.)MAX.chr7:104624356-104624513、MAX.chr14:103021654-103021725、B3GALT6;(3.)MDFI、SPDYA_B、B3GALT6;(4.)RHBDL1_B、OBSCN_B、B3GALT6;(5.)SFMBT2_E、SEPT9_D、B3GALT6;(6.)ST3GAL2_B、JSRP1_B、B3GALT6;(7.)ITPKA、B3GALT6。从多重PCR产物3,运行以下6个LQAS测定(参见表26):(1.)ZNF323_B、VILL、B3GALT6;(2.)ZMIZ1_D、SLC13A5_B、B3GALT6;(3.)C8orf73_B、MAX.chr8:145103900-145103993、B3GALT6;(4.)KBTBD11_B、ARL5C、B3GALT6;(5.)TRIM71_B、LOC100192379_C、B3GALT6;(6.)STX16_B、LOC440925_B和B3GALT6。从多重PCR产物4,运行以下6个LQAS测定(参见表26):(1.)TSPYL5、MPZ_B、B3GALT6;(2.)TRH、CXCL12、B3GALT6;(3.)IRF4、CNTN4、B3GALT6;(4.)GRIN2A、NOTCH3、B3GALT6;(5.)PAX1、ZNF521、B3GALT6;(6.)VSX1、JAM3和B3GALT6。从多重PCR产物5,运行以下5个LQAS测定(参见表26):(1.)EMX1、ARHGEF4、BTACT;(2.)OPLAH、CYP26C1、BTACT;(3.)ZNF781、DLX4、BTACT;(4.)PTGDR、KLHDC7B、BTACT;(5.)GRIN2D、chr17_737和BTACT。从多重PCR产物6,运行以下6个LQAS测定(参见表27):(1.)CRHR2、FAM19A5、B3GALT6;(2.)ASCL1、GLT1D1、B3GALT6;(3.)T、CAPN2、B3GALT6;(4.)RYR2_F、PTGDR、B3GALT6;(5.)BARX1、ZNF671_B、B3GALT6;(6.)SIM2和B3GALT6。

[0687] 表26.LQAS三重测定

[0688]

DMR编号	标志物	LQAS 三重测定
445	AGRN_B	AIM1_C-AGRN_B-B3GALT6
446	AIM1_C	
448	C17orf107_B	C17orf107_B-MAX.chr7:104624386-104624529-B3GALT6
459	MAX.chr7:104624386-104624529	
81	EMX2OS	EMX2OS-DIDO1_B-B3GALT6
449	DIDO1_B	
451	GDF7_B	GDF7_B-FKBP11_B-B3GALT6
450	FKBP11_B	
453	LHFPL2_B	LHFPL2_B-AKR7A3-B3GALT6
447	AKR7A3	
150	LRRC41_D	LRRC41_D-LOC100129726_E-B3GALT6

[0689]

454	LOC100129726_B	
456	MAX.chr10:22624470-22624553	MAX.chr10:22624470-22624553-LRRC8D_B-B3GALT6
455	LRRC8D_B	
458	MAX.chr7:104624356-104624513	MAX.chr7:104624356-104624513-MAX.chr14:103021654-103021725-B3GALT6
457	MAX.chr14:103021654-103021725	
212	MDFI_B	MDFI_B-SPDYA_B-B3GALT6
464	SPDYA_B	
461	RHBDL1_B	RHBDL1_B-OBSCN_B-B3GALT6
460	OBSCN_B	
463	SFMBT2_E	SFMBT2_E-SEPT9_D-B3GALT6
462	SEPT9_D	
465	ST3GAL2_B	ST3GAL2_B-JSRP1_B-B3GALT6
452	JSRP1_B	
368	ITPKA	ITPKA-B3GALT6
466	ZNF323_B	ZNF323_B-VILL-B3GALT6
	VILL	
468	ZMIZ1_D	ZMIZ1_D-SLC13A5_B-B3GALT6
467	SLC13A5_B	
470	C8orf73_B	C8orf73_B-MAX.chr8:145103900-145103993-B3GALT6
469	MAX.chr8:145103900-145103993	
471	KBTBD11_B	KBTBD11_B-ARL5C-B3GALT6
35	ARL5C	
473	TRIM71_B	TRIM71_B-LOC100192379_C-B3GALT6
472	LOC100192379_C	
475	STX16_B	STX16_B-LOC440925_B-B3GALT6
474	LOC440925_B	
495	TSPYL5	TSPYL5-MPZ_B-B3GALT6
496	MPZ_B	
491	TRH	TRH-CXCL12-B3GALT6
497	CXCL12	
476	IRF4	IRF4-CNTN4-B3GALT6
477	CNTN4	
478	GRIN2A	GRIN2A-NOTCH3-B3GALT6
479	NOTCH3	
480	PAX1	PAX1-ZNF521-B3GALT6
481	ZNF521	
482	VSX1	VSX1-JAM3-B3GALT6
492	JAM3	
483	CRHR2	CRHR2-FAM19A5-B3GALT6
484	FAM19A5	
485	ASCL1	ASCL1-GLT1D1-B3GALT6
486	GLT1D1	
487	T	T-CAPN2-B3GALT6
488	CAPN2	
489	RYR2_F	RYR2_F-PTGDR-B3GALT6
498	PTGDR	
493	BARX1	BARX1-ZNF671_B-B3GALT6
494	ZNF671_B	
490	SIM2	SIM2-B3GALT6

[0690]

[0691] 所有LQAS测定均采用先前公布的标准条件进行设置和运行。

[0692] 现在已经充分描述了本发明，本领域技术人员应理解，本发明可以在不影响本发明或其任何实施方案的范围下在广泛并等同范围的条件、制剂和其它参数内进行。本文中引用的所有专利、专利申请和公布都完全以引用的方式整体并入本文。

[0693] 以引用的方式并入

[0694] 本文中所提及的每一个专利文献和科技文章的全部公开内容都出于全部目的以引用的方式并入。

[0695] 等效方案

[0696] 在不脱离本发明的精神或基本特征的情况下，本发明能以其它具体形式来实施。因此，前述实施方案在所有方面都应被视为说明性的，而非是对本文中描述的本发明的限制。因此，本发明的范围是由随附权利要求书而非由上述描述所指示，并且属于权利要求书的等效含义和范围内的所有变化都意图包括在其中。

[0001] 序列表

[0002] <110> 梅约医学教育与研究基金会(MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH)

[0003] 精密科学发展有限责任公司(EXACT SCIENCES DEVELOPMENT COMPANY, LLC)

[0004] <120> 检测子宫内膜癌

[0005] <130> EXCTM-37456.601

[0006] <140> PCT/US2020/015059

[0007] <141> 2020-01-24

[0008] <150> US 62/796,384

[0009] <151> 2019-01-24

[0010] <160> 589

[0011] <170> PatentIn version 3.5

[0012] <210> 1

[0013] <211> 25

[0014] <212> DNA

[0015] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0016] <220>

[0017] <223> 合成

[0018] <400> 1

[0019] gcgcgcggtt ttgggagata agtac 25

[0020] <210> 2

[0021] <211> 25

[0022] <212> DNA

[0023] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0024] <220>

[0025] <223> 合成

[0026] <400> 2

[0027] aaaaaaaaca acccctcgcc tcgac 25

[0028] <210> 3

[0029] <211> 30

[0030] <212> DNA

[0031] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0032] <220>

[0033] <223> 合成

[0034] <400> 3

[0035] aggtttttag gatatttagt tgagtggcgg 30

[0036] <210> 4

[0037] <211> 26

[0038] <212> DNA

[0039] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0040] <220>

[0041] <223> 合成

[0042] <400> 4

[0043] acctcgatcc cgaattcgaa ttcgac 26

[0044] <210> 5

[0045] <211> 22

[0046] <212> DNA

[0047] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0048] <220>

[0049] <223> 合成

[0050] <400> 5

[0051] gttttcggtt attcggtgac gg 22

[0052] <210> 6

[0053] <211> 25

[0054] <212> DNA

[0055] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0056] <220>

[0057] <223> 合成

[0058] <400> 6

[0059] aaaaaactaa aaaacgaatc gcgct 25

[0060] <210> 7

[0061] <211> 29

[0062] <212> DNA

[0063] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0064] <220>

[0065] <223> 合成

[0066] <400> 7

[0067] tttaatgatc gattaatcgt aaaggtcgg 29

[0068] <210> 8

[0069] <211> 28

[0070] <212> DNA

[0071] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0072] <220>

[0073] <223> 合成

[0074] <400> 8

[0075] aaccaataaa ctcaaaacga ctaacgca 28

[0076] <210> 9

[0077] <211> 25

[0078] <212> DNA

[0079] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0080] <220>

[0081] <223> 合成

[0082] <400> 9

[0083] ttaggttttt agggggtttc ggcgt 25

[0084] <210> 10

[0085] <211> 25

[0086] <212> DNA

[0087] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0088] <220>

[0089] <223> 合成

[0090] <400> 10

[0091] atcgtcttca ctactctata ccgtc 25

[0092] <210> 11

[0093] <211> 25

[0094] <212> DNA

[0095] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0096] <220>

[0097] <223> 合成

[0098] <400> 11

[0099] aattgggtaa ggagaagtcg gtcgt 25

[0100] <210> 12

[0101] <211> 25

[0102] <212> DNA

[0103] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0104] <220>

[0105] <223> 合成

[0106] <400> 12

[0107] ataacgaaac ttaaacctcc ccgca 25

[0108] <210> 13

[0109] <211> 25

[0110] <212> DNA

[0111] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0112] <220>

[0113] <223> 合成

[0114] <400> 13

[0115] agttaagttt taacgggtgt ggcgg 25

[0116] <210> 14

[0117] <211> 25

[0118] <212> DNA

[0119] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0120] <220>

[0121] <223> 合成

[0122] <400> 14

[0123] aaacgtcgat aaaacgaacg tcgta 25

[0124] <210> 15

[0125] <211> 25

[0126] <212> DNA

[0127] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0128] <220>

[0129] <223> 合成

[0130] <400> 15

[0131] tatcgttgtt tcgagtcggg gacga 25

[0132] <210> 16

[0133] <211> 25

[0134] <212> DNA

[0135] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0136] <220>

[0137] <223> 合成

[0138] <400> 16

[0139] aaccgaaatt ccgacgacta cacgt 25

[0140] <210> 17

[0141] <211> 25

[0142] <212> DNA

[0143] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0144] <220>

[0145] <223> 合成

[0146] <400> 17

[0147] ggttcggagc ggtttaaata agcga 25

[0148] <210> 18

[0149] <211> 24

[0150] <212> DNA

[0151] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0152] <220>

[0153] <223> 合成

[0154] <400> 18

[0155] cttaaccctt cccgcctatc cgtc 24

[0156] <210> 19

[0157] <211> 25

[0158] <212> DNA

[0159] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0160] <220>

[0161] <223> 合成

[0162] <400> 19

[0163] ttggggttg tcggtttttg gagac 25

[0164] <210> 20

[0165] <211> 29

[0166] <212> DNA

[0167] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0168] <220>

[0169] <223> 合成

[0170] <400> 20

[0171] ccgatctaaa taccccaaac gaaatcgaa 29

[0172] <210> 21

[0173] <211> 28

[0174] <212> DNA

[0175] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0176] <220>

[0177] <223> 合成

[0178] <400> 21

[0179] cgtttttaga tttagtggtg ggaatcgg 28

[0180] <210> 22

[0181] <211> 25

[0182] <212> DNA

[0183] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0184] <220>

[0185] <223> 合成

[0186] <400> 22

[0187] tcgaacgaaa aaaatcgaac tcgta 25

[0188] <210> 23

[0189] <211> 25

[0190] <212> DNA

[0191] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0192] <220>

[0193] <223> 合成

[0194] <400> 23

[0195] tttttcgcgg gtcgtttatt ttcgt 25

[0196] <210> 24

[0197] <211> 27

[0198] <212> DNA

[0199] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0200] <220>

[0201] <223> 合成

[0202] <400> 24

[0203] aaacgaataa actcgaacta tatcgaa 27

[0204] <210> 25

[0205] <211> 26

[0206] <212> DNA

[0207] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0208] <220>

[0209] <223> 合成

[0210] <400> 25

[0211] ttacgatcgg attatagggg ttacgg 26

[0212] <210> 26

[0213] <211> 25

[0214] <212> DNA

[0215] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0216] <220>

[0217] <223> 合成

[0218] <400> 26

[0219] taccgaatct aaaaacgaaa acgaa 25

[0220] <210> 27

[0221] <211> 25

[0222] <212> DNA

[0223] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0224] <220>

[0225] <223> 合成

[0226] <400> 27

[0227] ggggagttat aggggtgaag gtcgc 25

[0228] <210> 28

[0229] <211> 23

[0230] <212> DNA

[0231] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0232] <220>

[0233] <223> 合成

[0234] <400> 28

[0235] gcctccgcca aactcgctac gtc 23

[0236] <210> 29

[0237] <211> 23

[0238] <212> DNA

[0239] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0240] <220>

[0241] <223> 合成

[0242] <400> 29

[0243] tatttggcgc gtggggagag gtc 23

[0244] <210> 30

[0245] <211> 25

[0246] <212> DNA

[0247] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0248] <220>

[0249] <223> 合成

[0250] <400> 30

[0251] tcccttccga aaattctacg acgaa 25

[0252] <210> 31

[0253] <211> 25

[0254] <212> DNA

[0255] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0256] <220>

[0257] <223> 合成

[0258] <400> 31

[0259] ttttagggta aatagcgggt ttcgt 25

[0260] <210> 32

[0261] <211> 26

[0262] <212> DNA

[0263] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0264] <220>

[0265] <223> 合成

[0266] <400> 32

[0267] cgaccgccct acatacaatt catccg 26

[0268] <210> 33

[0269] <211> 24

[0270] <212> DNA

[0271] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0272] <220>
[0273] <223> 合成
[0274] <400> 33
[0275] gtgtgataga cgttagagcg gcgg 24
[0276] <210> 34
[0277] <211> 26
[0278] <212> DNA
[0279] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0280] <220>
[0281] <223> 合成
[0282] <400> 34
[0283] cgttttaatc aaaaaaatct cccgta 26
[0284] <210> 35
[0285] <211> 29
[0286] <212> DNA
[0287] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0288] <220>
[0289] <223> 合成
[0290] <400> 35
[0291] gggagaattc gagtagtagt tgtaaacgg 29
[0292] <210> 36
[0293] <211> 25
[0294] <212> DNA
[0295] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0296] <220>
[0297] <223> 合成
[0298] <400> 36
[0299] aataacctcg ctaccaacca cccgc 25
[0300] <210> 37
[0301] <211> 26
[0302] <212> DNA
[0303] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0304] <220>
[0305] <223> 合成
[0306] <400> 37
[0307] gggcgttgtt tcgttttttt tatcgt 26
[0308] <210> 38
[0309] <211> 21
[0310] <212> DNA

[0311] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0312] <220>

[0313] <223> 合成

[0314] <400> 38

[0315] gaaacgcgct tacccgtcga a 21

[0316] <210> 39

[0317] <211> 29

[0318] <212> DNA

[0319] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0320] <220>

[0321] <223> 合成

[0322] <400> 39

[0323] gttcgttatc gtttggtttt gtataacgt 29

[0324] <210> 40

[0325] <211> 26

[0326] <212> DNA

[0327] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0328] <220>

[0329] <223> 合成

[0330] <400> 40

[0331] tatatcttat catccgacgt ctcgca 26

[0332] <210> 41

[0333] <211> 25

[0334] <212> DNA

[0335] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0336] <220>

[0337] <223> 合成

[0338] <400> 41

[0339] tatttgggat ttagagaggt agcgg 25

[0340] <210> 42

[0341] <211> 23

[0342] <212> DNA

[0343] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0344] <220>

[0345] <223> 合成

[0346] <400> 42

[0347] ccaaaaaccg aaacctaaac gct 23

[0348] <210> 43

[0349] <211> 25

[0350] <212> DNA
[0351] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0352] <220>
[0353] <223> 合成
[0354] <400> 43
[0355] ttttatttcg tagacgattt ttcgt 25
[0356] <210> 44
[0357] <211> 21
[0358] <212> DNA
[0359] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0360] <220>
[0361] <223> 合成
[0362] <400> 44
[0363] gaaaaaaccg caactccgcg c 21
[0364] <210> 45
[0365] <211> 25
[0366] <212> DNA
[0367] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0368] <220>
[0369] <223> 合成
[0370] <400> 45
[0371] aataatagga attagaggtt gtcgg 25
[0372] <210> 46
[0373] <211> 23
[0374] <212> DNA
[0375] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0376] <220>
[0377] <223> 合成
[0378] <400> 46
[0379] aaataacaaa ctccgcgcgc gaa 23
[0380] <210> 47
[0381] <211> 26
[0382] <212> DNA
[0383] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0384] <220>
[0385] <223> 合成
[0386] <400> 47
[0387] tacggttcgt acgagtgagt ggacgt 26
[0388] <210> 48

[0389] <211> 25
[0390] <212> DNA
[0391] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0392] <220>
[0393] <223> 合成
[0394] <400> 48
[0395] acgccgaaaa cgaacaaaaa acgat 25
[0396] <210> 49
[0397] <211> 24
[0398] <212> DNA
[0399] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0400] <220>
[0401] <223> 合成
[0402] <400> 49
[0403] ggttttgggg gatttagggt tcgg 24
[0404] <210> 50
[0405] <211> 25
[0406] <212> DNA
[0407] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0408] <220>
[0409] <223> 合成
[0410] <400> 50
[0411] tccgcgaaaa cccctaccta acgtc 25
[0412] <210> 51
[0413] <211> 25
[0414] <212> DNA
[0415] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0416] <220>
[0417] <223> 合成
[0418] <400> 51
[0419] tttttcgtag cgatcgtagc ggcgt 25
[0420] <210> 52
[0421] <211> 25
[0422] <212> DNA
[0423] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0424] <220>
[0425] <223> 合成
[0426] <400> 52
[0427] acctactaaa caaaccaaaa acgaa 25

[0428] <210> 53

[0429] <211> 26

[0430] <212> DNA

[0431] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0432] <220>

[0433] <223> 合成

[0434] <400> 53

[0435] ttcgtttaga aggcgggtgg aaggtc 26

[0436] <210> 54

[0437] <211> 25

[0438] <212> DNA

[0439] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0440] <220>

[0441] <223> 合成

[0442] <400> 54

[0443] aaaaaatctc gcgcgaaaat acgct 25

[0444] <210> 55

[0445] <211> 29

[0446] <212> DNA

[0447] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0448] <220>

[0449] <223> 合成

[0450] <400> 55

[0451] ggaaggttag ggggaaattt gtatttcgt 29

[0452] <210> 56

[0453] <211> 28

[0454] <212> DNA

[0455] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0456] <220>

[0457] <223> 合成

[0458] <400> 56

[0459] cgtaacatcg tcatttctta accgcgat 28

[0460] <210> 57

[0461] <211> 25

[0462] <212> DNA

[0463] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0464] <220>

[0465] <223> 合成

[0466] <400> 57

[0467] tttcgtatta aaattttatg ggcgt 25

[0468] <210> 58

[0469] <211> 22

[0470] <212> DNA

[0471] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0472] <220>

[0473] <223> 合成

[0474] <400> 58

[0475] tctaatcccg cgaacgcaac cg 22

[0476] <210> 59

[0477] <211> 34

[0478] <212> DNA

[0479] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0480] <220>

[0481] <223> 合成

[0482] <400> 59

[0483] tagttttgtt taggggtagg aggaatagaa agcg 34

[0484] <210> 60

[0485] <211> 22

[0486] <212> DNA

[0487] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0488] <220>

[0489] <223> 合成

[0490] <400> 60

[0491] acaccaacgc ttaccccgcg aa 22

[0492] <210> 61

[0493] <211> 25

[0494] <212> DNA

[0495] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0496] <220>

[0497] <223> 合成

[0498] <400> 61

[0499] ttttcgatcg tggatgttcg gagtc 25

[0500] <210> 62

[0501] <211> 24

[0502] <212> DNA

[0503] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0504] <220>

[0505] <223> 合成

[0506] <400> 62

[0507] gaaaaccgcg cgactcttac cgaa 24

[0508] <210> 63

[0509] <211> 25

[0510] <212> DNA

[0511] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0512] <220>

[0513] <223> 合成

[0514] <400> 63

[0515] gggaggggtc gtaggagtgt tttcg 25

[0516] <210> 64

[0517] <211> 28

[0518] <212> DNA

[0519] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0520] <220>

[0521] <223> 合成

[0522] <400> 64

[0523] ataacgttct accgcctttc ccctacgc 28

[0524] <210> 65

[0525] <211> 23

[0526] <212> DNA

[0527] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0528] <220>

[0529] <223> 合成

[0530] <400> 65

[0531] gaaagcgaaa cggtttcggc gtc 23

[0532] <210> 66

[0533] <211> 24

[0534] <212> DNA

[0535] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0536] <220>

[0537] <223> 合成

[0538] <400> 66

[0539] caaacttccg aatcctaccc ccgc 24

[0540] <210> 67

[0541] <211> 27

[0542] <212> DNA

[0543] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0544] <220>

[0545] <223> 合成

[0546] <400> 67

[0547] tcgagagagg tcggtttttt ttatcgt 27

[0548] <210> 68

[0549] <211> 25

[0550] <212> DNA

[0551] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0552] <220>

[0553] <223> 合成

[0554] <400> 68

[0555] aaacttccga tcacgacccc acgtc 25

[0556] <210> 69

[0557] <211> 22

[0558] <212> DNA

[0559] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0560] <220>

[0561] <223> 合成

[0562] <400> 69

[0563] tcgttggtaa atggagttac gg 22

[0564] <210> 70

[0565] <211> 26

[0566] <212> DNA

[0567] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0568] <220>

[0569] <223> 合成

[0570] <400> 70

[0571] gaaaaaacta taaaaaaacg aacgat 26

[0572] <210> 71

[0573] <211> 25

[0574] <212> DNA

[0575] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0576] <220>

[0577] <223> 合成

[0578] <400> 71

[0579] gtatttatcg cgttttcgag ttcga 25

[0580] <210> 72

[0581] <211> 20

[0582] <212> DNA

[0583] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0584] <220>

[0585] <223> 合成

[0586] <400> 72

[0587] tataacgcga ccccaacgct 20

[0588] <210> 73

[0589] <211> 24

[0590] <212> DNA

[0591] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0592] <220>

[0593] <223> 合成

[0594] <400> 73

[0595] gtagtcggag ggagatttcg tcgg 24

[0596] <210> 74

[0597] <211> 25

[0598] <212> DNA

[0599] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0600] <220>

[0601] <223> 合成

[0602] <400> 74

[0603] ataaacttaa ccgaccacgc tcgaa 25

[0604] <210> 75

[0605] <211> 23

[0606] <212> DNA

[0607] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0608] <220>

[0609] <223> 合成

[0610] <400> 75

[0611] cgggttgtaa ttcgagtcgt cga 23

[0612] <210> 76

[0613] <211> 24

[0614] <212> DNA

[0615] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0616] <220>

[0617] <223> 合成

[0618] <400> 76

[0619] caaaacctcc gaaaaaaatc cgaa 24

[0620] <210> 77

[0621] <211> 25

[0622] <212> DNA

[0623] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0624] <220>

[0625] <223> 合成

[0626] <400> 77

[0627] gtatagggcg tcgtttttag ttcga 25

[0628] <210> 78

[0629] <211> 25

[0630] <212> DNA

[0631] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0632] <220>

[0633] <223> 合成

[0634] <400> 78

[0635] aaaaaatcta ccgaaaaatt ccgaa 25

[0636] <210> 79

[0637] <211> 26

[0638] <212> DNA

[0639] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0640] <220>

[0641] <223> 合成

[0642] <400> 79

[0643] ttggtttaat tcgttattcg tttcgt 26

[0644] <210> 80

[0645] <211> 25

[0646] <212> DNA

[0647] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0648] <220>

[0649] <223> 合成

[0650] <400> 80

[0651] aacaaacctt ttccgcttcg acgta 25

[0652] <210> 81

[0653] <211> 26

[0654] <212> DNA

[0655] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0656] <220>

[0657] <223> 合成

[0658] <400> 81

[0659] cgaagttcgg gtagggtaag cgttgc 26

[0660] <210> 82

[0661] <211> 26

[0662] <212> DNA
[0663] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0664] <220>
[0665] <223> 合成
[0666] <400> 82
[0667] cgacgtaaaa atacgaaacg cacgaa 26
[0668] <210> 83
[0669] <211> 25
[0670] <212> DNA
[0671] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0672] <220>
[0673] <223> 合成
[0674] <400> 83
[0675] gtgaggcggt tatacgagtt tcggc 25
[0676] <210> 84
[0677] <211> 26
[0678] <212> DNA
[0679] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0680] <220>
[0681] <223> 合成
[0682] <400> 84
[0683] caaaaaacct ccacaaaata aacgat 26
[0684] <210> 85
[0685] <211> 25
[0686] <212> DNA
[0687] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0688] <220>
[0689] <223> 合成
[0690] <400> 85
[0691] tttttcgagt cgttttattt cgcgg 25
[0692] <210> 86
[0693] <211> 25
[0694] <212> DNA
[0695] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0696] <220>
[0697] <223> 合成
[0698] <400> 86
[0699] gaactccgaa cgccgcttaa acgta 25
[0700] <210> 87

[0701] <211> 27
[0702] <212> DNA
[0703] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0704] <220>
[0705] <223> 合成
[0706] <400> 87
[0707] cgcgtaggtg tttaacgtga ttagcgc 27
[0708] <210> 88
[0709] <211> 25
[0710] <212> DNA
[0711] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0712] <220>
[0713] <223> 合成
[0714] <400> 88
[0715] cttacatcct caaaacccgc ccgac 25
[0716] <210> 89
[0717] <211> 25
[0718] <212> DNA
[0719] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0720] <220>
[0721] <223> 合成
[0722] <400> 89
[0723] ttatggtggc ggtgtcggga gttac 25
[0724] <210> 90
[0725] <211> 25
[0726] <212> DNA
[0727] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0728] <220>
[0729] <223> 合成
[0730] <400> 90
[0731] ccctctccta aaaaccccgc tcgat 25
[0732] <210> 91
[0733] <211> 25
[0734] <212> DNA
[0735] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0736] <220>
[0737] <223> 合成
[0738] <400> 91
[0739] agttcgcgtt cggttttttt gttcg 25

[0740] <210> 92
[0741] <211> 22
[0742] <212> DNA
[0743] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0744] <220>
[0745] <223> 合成
[0746] <400> 92
[0747] gtccgtcccg atcgcaatac ga 22
[0748] <210> 93
[0749] <211> 23
[0750] <212> DNA
[0751] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0752] <220>
[0753] <223> 合成
[0754] <400> 93
[0755] cgcgttgcgc ggaagttaga gtc 23
[0756] <210> 94
[0757] <211> 26
[0758] <212> DNA
[0759] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0760] <220>
[0761] <223> 合成
[0762] <400> 94
[0763] ccacataaaa tcgaaaaaac cgcgaa 26
[0764] <210> 95
[0765] <211> 23
[0766] <212> DNA
[0767] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0768] <220>
[0769] <223> 合成
[0770] <400> 95
[0771] gggtttataa gttcggaggt cga 23
[0772] <210> 96
[0773] <211> 20
[0774] <212> DNA
[0775] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0776] <220>
[0777] <223> 合成
[0778] <400> 96

[0779] cacccaacac ctaacgacga 20

[0780] <210> 97

[0781] <211> 25

[0782] <212> DNA

[0783] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0784] <220>

[0785] <223> 合成

[0786] <400> 97

[0787] agcgttttta gggagttcgg cgttc 25

[0788] <210> 98

[0789] <211> 25

[0790] <212> DNA

[0791] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0792] <220>

[0793] <223> 合成

[0794] <400> 98

[0795] aatcgaaaaa acgaaaaaaa tcgca 25

[0796] <210> 99

[0797] <211> 27

[0798] <212> DNA

[0799] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0800] <220>

[0801] <223> 合成

[0802] <400> 99

[0803] ggggcgtata tattagttat cgagcga 27

[0804] <210> 100

[0805] <211> 25

[0806] <212> DNA

[0807] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0808] <220>

[0809] <223> 合成

[0810] <400> 100

[0811] aaaaaaaacc ctaaaaaccg ccgaa 25

[0812] <210> 101

[0813] <211> 20

[0814] <212> DNA

[0815] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0816] <220>

[0817] <223> 合成

[0818] <400> 101

[0819] taggtcgttt cgtcgtgcgc 20

[0820] <210> 102

[0821] <211> 23

[0822] <212> DNA

[0823] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0824] <220>

[0825] <223> 合成

[0826] <400> 102

[0827] ataaccttac cgacgccgcc gct 23

[0828] <210> 103

[0829] <211> 25

[0830] <212> DNA

[0831] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0832] <220>

[0833] <223> 合成

[0834] <400> 103

[0835] tttttgaaga gatcgttttc gacgg 25

[0836] <210> 104

[0837] <211> 22

[0838] <212> DNA

[0839] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0840] <220>

[0841] <223> 合成

[0842] <400> 104

[0843] ccccccttaaa ccttaacccg aa 22

[0844] <210> 105

[0845] <211> 23

[0846] <212> DNA

[0847] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0848] <220>

[0849] <223> 合成

[0850] <400> 105

[0851] ggcgtttcga ttttttcgtt cgg 23

[0852] <210> 106

[0853] <211> 29

[0854] <212> DNA

[0855] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0856] <220>

[0857] <223> 合成

[0858] <400> 106

[0859] ccgaaactcc aacatctacc taacacgcc 29

[0860] <210> 107

[0861] <211> 26

[0862] <212> DNA

[0863] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0864] <220>

[0865] <223> 合成

[0866] <400> 107

[0867] cgtaattttt ggcgagcgac gtttgc 26

[0868] <210> 108

[0869] <211> 25

[0870] <212> DNA

[0871] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0872] <220>

[0873] <223> 合成

[0874] <400> 108

[0875] caaccttcga aatcccccat ccgct 25

[0876] <210> 109

[0877] <211> 22

[0878] <212> DNA

[0879] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0880] <220>

[0881] <223> 合成

[0882] <400> 109

[0883] ggttgcgagt acggtaaggt tt 22

[0884] <210> 110

[0885] <211> 23

[0886] <212> DNA

[0887] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0888] <220>

[0889] <223> 合成

[0890] <400> 110

[0891] aaaactcaaa ataccgaaac gcc 23

[0892] <210> 111

[0893] <211> 23

[0894] <212> DNA

[0895] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0896] <220>

[0897] <223> 合成

[0898] <400> 111

[0899] ttgagagcgt tgttagggac gac 23

[0900] <210> 112

[0901] <400> 112

[0902] 000

[0903] <210> 113

[0904] <211> 18

[0905] <212> DNA

[0906] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0907] <220>

[0908] <223> 合成

[0909] <400> 113

[0910] cgcgtttaac gccacctc 18

[0911] <210> 114

[0912] <211> 26

[0913] <212> DNA

[0914] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0915] <220>

[0916] <223> 合成

[0917] <400> 114

[0918] aacgtaaaat cgaactcgta aacgac 26

[0919] <210> 115

[0920] <211> 30

[0921] <212> DNA

[0922] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0923] <220>

[0924] <223> 合成

[0925] <400> 115

[0926] cgaagtttta tttcgattcg ggttgtatcg 30

[0927] <210> 116

[0928] <211> 17

[0929] <212> DNA

[0930] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0931] <220>

[0932] <223> 合成

[0933] <400> 116

[0934] ccacgccata tccccgc 17

[0935] <210> 117

[0936] <211> 22

[0937] <212> DNA

[0938] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0939] <220>

[0940] <223> 合成

[0941] <400> 117

[0942] aggttatcgg gtagcgttta gg 22

[0943] <210> 118

[0944] <211> 19

[0945] <212> DNA

[0946] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0947] <220>

[0948] <223> 合成

[0949] <400> 118

[0950] cgtacccctc ccccgctac 19

[0951] <210> 119

[0952] <211> 19

[0953] <212> DNA

[0954] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0955] <220>

[0956] <223> 合成

[0957] <400> 119

[0958] gtcgtttacg cgagcgacg 19

[0959] <210> 120

[0960] <211> 26

[0961] <212> DNA

[0962] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0963] <220>

[0964] <223> 合成

[0965] <400> 120

[0966] ctcgaacaaa acaaacgcta cgtaac 26

[0967] <210> 121

[0968] <211> 24

[0969] <212> DNA

[0970] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0971] <220>

[0972] <223> 合成

[0973] <400> 121

[0974] ggtttttatt tggagggttc ggac 24

[0975] <210> 122

[0976] <211> 27

[0977] <212> DNA

[0978] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0979] <220>

[0980] <223> 合成

[0981] <400> 122

[0982] actactcaat acgacgatat accgaac 27

[0983] <210> 123

[0984] <211> 25

[0985] <212> DNA

[0986] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0987] <220>

[0988] <223> 合成

[0989] <400> 123

[0990] tcgttcgttt tttcggtttt tggtc 25

[0991] <210> 124

[0992] <211> 30

[0993] <212> DNA

[0994] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0995] <220>

[0996] <223> 合成

[0997] <400> 124

[0998] ccttctaaac gaaaacaacg actaacgaaa 30

[0999] <210> 125

[1000] <211> 27

[1001] <212> DNA

[1002] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1003] <220>

[1004] <223> 合成

[1005] <400> 125

[1006] tagcgttttg tcgttttttt tttgcgt 27

[1007] <210> 126

[1008] <211> 22

[1009] <212> DNA

[1010] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1011] <220>

[1012] <223> 合成

[1013] <400> 126
[1014] cgcaaaaata cccccgaaaa ac 22
[1015] <210> 127
[1016] <211> 19
[1017] <212> DNA
[1018] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1019] <220>
[1020] <223> 合成
[1021] <400> 127
[1022] ggagggcggt tagtagcgt 19
[1023] <210> 128
[1024] <211> 22
[1025] <212> DNA
[1026] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1027] <220>
[1028] <223> 合成
[1029] <400> 128
[1030] acgatatcgc tacgcgacga aa 22
[1031] <210> 129
[1032] <211> 22
[1033] <212> DNA
[1034] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1035] <220>
[1036] <223> 合成
[1037] <400> 129
[1038] gttgtggtgt aatttgggtc gc 22
[1039] <210> 130
[1040] <211> 20
[1041] <212> DNA
[1042] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1043] <220>
[1044] <223> 合成
[1045] <400> 130
[1046] acacgcgcga tacgttacac 20
[1047] <210> 131
[1048] <211> 24
[1049] <212> DNA
[1050] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1051] <220>

[1052] <223> 合成

[1053] <400> 131

[1054] cgttcgtata gttcgaatag ggcg 24

[1055] <210> 132

[1056] <211> 19

[1057] <212> DNA

[1058] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1059] <220>

[1060] <223> 合成

[1061] <400> 132

[1062] cgacgccaac gaaaaactc 19

[1063] <210> 133

[1064] <211> 29

[1065] <212> DNA

[1066] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1067] <220>

[1068] <223> 合成

[1069] <400> 133

[1070] ggagaattcg agtagtagtt gtaaacgga 29

[1071] <210> 134

[1072] <211> 16

[1073] <212> DNA

[1074] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1075] <220>

[1076] <223> 合成

[1077] <400> 134

[1078] caaccacccg cccgcc 16

[1079] <210> 135

[1080] <211> 31

[1081] <212> DNA

[1082] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1083] <220>

[1084] <223> 合成

[1085] <400> 135

[1086] tgtttacgtg gtatcgttat tttttaatcg c 31

[1087] <210> 136

[1088] <211> 24

[1089] <212> DNA

[1090] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1091] <220>
[1092] <223> 合成
[1093] <400> 136
[1094] cgacgaccgc gaaaaaaaaa aacc 24
[1095] <210> 137
[1096] <211> 22
[1097] <212> DNA
[1098] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1099] <220>
[1100] <223> 合成
[1101] <400> 137
[1102] tcgtggggaa tagtaggacg gc 22
[1103] <210> 138
[1104] <211> 21
[1105] <212> DNA
[1106] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1107] <220>
[1108] <223> 合成
[1109] <400> 138
[1110] cctcccgaca aataaacgcg a 21
[1111] <210> 139
[1112] <211> 18
[1113] <212> DNA
[1114] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1115] <220>
[1116] <223> 合成
[1117] <400> 139
[1118] ggaggtaggt tcgcgcgg 18
[1119] <210> 140
[1120] <211> 21
[1121] <212> DNA
[1122] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1123] <220>
[1124] <223> 合成
[1125] <400> 140
[1126] ccaactcaat tcctcctccg c 21
[1127] <210> 141
[1128] <211> 21
[1129] <212> DNA

[1130] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1131] <220>
[1132] <223> 合成
[1133] <400> 141
[1134] gaggaggaat tgagttggcg c 21
[1135] <210> 142
[1136] <211> 27
[1137] <212> DNA
[1138] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1139] <220>
[1140] <223> 合成
[1141] <400> 142
[1142] caacccataa tccgatccta tcttcga 27
[1143] <210> 143
[1144] <211> 20
[1145] <212> DNA
[1146] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1147] <220>
[1148] <223> 合成
[1149] <400> 143
[1150] ttcgtacgag tgagtggacg 20
[1151] <210> 144
[1152] <211> 22
[1153] <212> DNA
[1154] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1155] <220>
[1156] <223> 合成
[1157] <400> 144
[1158] caaaaaacga ttccccccgca aa 22
[1159] <210> 145
[1160] <211> 20
[1161] <212> DNA
[1162] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1163] <220>
[1164] <223> 合成
[1165] <400> 145
[1166] tggagattta cgtcgagggc 20
[1167] <210> 146
[1168] <211> 22

[1169] <212> DNA
[1170] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1171] <220>
[1172] <223> 合成
[1173] <400> 146
[1174] ccacgatcga caaaacctac gt 22
[1175] <210> 147
[1176] <211> 17
[1177] <212> DNA
[1178] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1179] <220>
[1180] <223> 合成
[1181] <400> 147
[1182] gcgcgtgttt tggtcgc 17
[1183] <210> 148
[1184] <211> 18
[1185] <212> DNA
[1186] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1187] <220>
[1188] <223> 合成
[1189] <400> 148
[1190] tcgtccgcct acccgccc 18
[1191] <210> 149
[1192] <211> 25
[1193] <212> DNA
[1194] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1195] <220>
[1196] <223> 合成
[1197] <400> 149
[1198] ggagttacgt tgtttttggg tttcg 25
[1199] <210> 150
[1200] <211> 20
[1201] <212> DNA
[1202] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1203] <220>
[1204] <223> 合成
[1205] <400> 150
[1206] ctctcctaaa aaccccgctc 20
[1207] <210> 151

[1208] <211> 24
[1209] <212> DNA
[1210] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1211] <220>
[1212] <223> 合成
[1213] <400> 151
[1214] ggatcgggat cgaagtttgg agaa 24
[1215] <210> 152
[1216] <211> 20
[1217] <212> DNA
[1218] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1219] <220>
[1220] <223> 合成
[1221] <400> 152
[1222] cttatctccc aaaaccgcgc 20
[1223] <210> 153
[1224] <211> 28
[1225] <212> DNA
[1226] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1227] <220>
[1228] <223> 合成
[1229] <400> 153
[1230] ttggttgttt aatcgaaggg aagtaaac 28
[1231] <210> 154
[1232] <211> 23
[1233] <212> DNA
[1234] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1235] <220>
[1236] <223> 合成
[1237] <400> 154
[1238] ctacctccct taaacacgtc tcg 23
[1239] <210> 155
[1240] <211> 22
[1241] <212> DNA
[1242] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1243] <220>
[1244] <223> 合成
[1245] <400> 155
[1246] gggcgtagtt attttatagc gc 22

[1247] <210> 156
[1248] <211> 27
[1249] <212> DNA
[1250] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1251] <220>
[1252] <223> 合成
[1253] <400> 156
[1254] caccaaaaaa aaacgatcgc tacgaaa 27
[1255] <210> 157
[1256] <211> 17
[1257] <212> DNA
[1258] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1259] <220>
[1260] <223> 合成
[1261] <400> 157
[1262] cggggaagac ggaggtg 17
[1263] <210> 158
[1264] <211> 22
[1265] <212> DNA
[1266] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1267] <220>
[1268] <223> 合成
[1269] <400> 158
[1270] aaacccctac ctaacgtctc cc 22
[1271] <210> 159
[1272] <211> 26
[1273] <212> DNA
[1274] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1275] <220>
[1276] <223> 合成
[1277] <400> 159
[1278] cggggttgta gtattttaat gatcga 26
[1279] <210> 160
[1280] <211> 30
[1281] <212> DNA
[1282] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1283] <220>
[1284] <223> 合成
[1285] <400> 160

[1286] cttcaaccaa taaactcaaa acgactaacg 30

[1287] <210> 161

[1288] <211> 20

[1289] <212> DNA

[1290] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1291] <220>

[1292] <223> 合成

[1293] <400> 161

[1294] ggcgtttttt cgcggttttg 20

[1295] <210> 162

[1296] <211> 17

[1297] <212> DNA

[1298] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1299] <220>

[1300] <223> 合成

[1301] <400> 162

[1302] gcgtcccaca aaccccg 17

[1303] <210> 163

[1304] <211> 22

[1305] <212> DNA

[1306] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1307] <220>

[1308] <223> 合成

[1309] <400> 163

[1310] cgtagggtgg gtggttacgt tc 22

[1311] <210> 164

[1312] <211> 16

[1313] <212> DNA

[1314] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1315] <220>

[1316] <223> 合成

[1317] <400> 164

[1318] aacttcccac gacccg 16

[1319] <210> 165

[1320] <211> 31

[1321] <212> DNA

[1322] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1323] <220>

[1324] <223> 合成

[1325] <400> 165
[1326] gttacgcggt ttttattttt gtgatttttc g 31
[1327] <210> 166
[1328] <211> 33
[1329] <212> DNA
[1330] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1331] <220>
[1332] <223> 合成
[1333] <400> 166
[1334] ctcattaact tccaaaaaac aaactaactc gtc 33
[1335] <210> 167
[1336] <211> 19
[1337] <212> DNA
[1338] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1339] <220>
[1340] <223> 合成
[1341] <400> 167
[1342] gagttcgacg gtcgaggcg 19
[1343] <210> 168
[1344] <211> 17
[1345] <212> DNA
[1346] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1347] <220>
[1348] <223> 合成
[1349] <400> 168
[1350] actacgccct cccacgc 17
[1351] <210> 169
[1352] <211> 19
[1353] <212> DNA
[1354] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1355] <220>
[1356] <223> 合成
[1357] <400> 169
[1358] tcgttttagc ggcggaagg 19
[1359] <210> 170
[1360] <211> 14
[1361] <212> DNA
[1362] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1363] <220>

[1364] <223> 合成

[1365] <400> 170

[1366] ccgcgaacca ccgc 14

[1367] <210> 171

[1368] <211> 20

[1369] <212> DNA

[1370] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1371] <220>

[1372] <223> 合成

[1373] <400> 171

[1374] ggttgtagtt ggagggcgag 20

[1375] <210> 172

[1376] <211> 16

[1377] <212> DNA

[1378] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1379] <220>

[1380] <223> 合成

[1381] <400> 172

[1382] cgaaacgccc tcgcga 16

[1383] <210> 173

[1384] <211> 24

[1385] <212> DNA

[1386] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1387] <220>

[1388] <223> 合成

[1389] <400> 173

[1390] gttgtgtaag gagatgtgcg gttc 24

[1391] <210> 174

[1392] <211> 19

[1393] <212> DNA

[1394] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1395] <220>

[1396] <223> 合成

[1397] <400> 174

[1398] aaacgacgac gcgaacgaa 19

[1399] <210> 175

[1400] <211> 21

[1401] <212> DNA

[1402] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1403] <220>
[1404] <223> 合成
[1405] <400> 175
[1406] cgtagtgcgt tttcgcgagt c 21
[1407] <210> 176
[1408] <211> 29
[1409] <212> DNA
[1410] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1411] <220>
[1412] <223> 合成
[1413] <400> 176
[1414] cgccctaaaa cattaaaaat acgaaaccg 29
[1415] <210> 177
[1416] <211> 23
[1417] <212> DNA
[1418] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1419] <220>
[1420] <223> 合成
[1421] <400> 177
[1422] gtttcggggt ttgttaagag acg 23
[1423] <210> 178
[1424] <211> 32
[1425] <212> DNA
[1426] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1427] <220>
[1428] <223> 合成
[1429] <400> 178
[1430] actactacga atttcctacg attataactt cg 32
[1431] <210> 179
[1432] <211> 21
[1433] <212> DNA
[1434] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1435] <220>
[1436] <223> 合成
[1437] <400> 179
[1438] agtttttagt tcggttcgcg c 21
[1439] <210> 180
[1440] <211> 20
[1441] <212> DNA

[1442] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1443] <220>
[1444] <223> 合成
[1445] <400> 180
[1446] cccgaaaacg cttcgcaacg 20
[1447] <210> 181
[1448] <211> 23
[1449] <212> DNA
[1450] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1451] <220>
[1452] <223> 合成
[1453] <400> 181
[1454] gataaggtag ggaagttgtg gcg 23
[1455] <210> 182
[1456] <211> 28
[1457] <212> DNA
[1458] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1459] <220>
[1460] <223> 合成
[1461] <400> 182
[1462] cctctaatat cactaacaaa ccccatcg 28
[1463] <210> 183
[1464] <211> 19
[1465] <212> DNA
[1466] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1467] <220>
[1468] <223> 合成
[1469] <400> 183
[1470] cgcggtgagt tgcggtaac 19
[1471] <210> 184
[1472] <211> 30
[1473] <212> DNA
[1474] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1475] <220>
[1476] <223> 合成
[1477] <400> 184
[1478] cgaaatactt accgctatcg atctaatcga 30
[1479] <210> 185
[1480] <211> 20

[1481] <212> DNA
[1482] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1483] <220>
[1484] <223> 合成
[1485] <400> 185
[1486] ggtagttcga atttcggcgc 20
[1487] <210> 186
[1488] <211> 17
[1489] <212> DNA
[1490] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1491] <220>
[1492] <223> 合成
[1493] <400> 186
[1494] ctccctcccg acgctcg 17
[1495] <210> 187
[1496] <211> 20
[1497] <212> DNA
[1498] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1499] <220>
[1500] <223> 合成
[1501] <400> 187
[1502] gtagtttttc ggcggcgacg 20
[1503] <210> 188
[1504] <211> 21
[1505] <212> DNA
[1506] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1507] <220>
[1508] <223> 合成
[1509] <400> 188
[1510] ccttatttac cgccgtacgc t 21
[1511] <210> 189
[1512] <211> 19
[1513] <212> DNA
[1514] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1515] <220>
[1516] <223> 合成
[1517] <400> 189
[1518] ggtcgcgttt tgtttggcg 19
[1519] <210> 190

[1520] <211> 21
[1521] <212> DNA
[1522] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1523] <220>
[1524] <223> 合成
[1525] <400> 190
[1526] cgcgcgtcga aaaaaaacgc g 21
[1527] <210> 191
[1528] <211> 23
[1529] <212> DNA
[1530] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1531] <220>
[1532] <223> 合成
[1533] <400> 191
[1534] cgatcgtgta gaaggttgta gcg 23
[1535] <210> 192
[1536] <211> 23
[1537] <212> DNA
[1538] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1539] <220>
[1540] <223> 合成
[1541] <400> 192
[1542] tttcccgcaa ccaactatac gcg 23
[1543] <210> 193
[1544] <211> 19
[1545] <212> DNA
[1546] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1547] <220>
[1548] <223> 合成
[1549] <400> 193
[1550] cgggatttag cgggttcgg 19
[1551] <210> 194
[1552] <211> 26
[1553] <212> DNA
[1554] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1555] <220>
[1556] <223> 合成
[1557] <400> 194
[1558] cccgaaaacg aaaaacaaaa aacgac 26

[1559] <210> 195
[1560] <211> 30
[1561] <212> DNA
[1562] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1563] <220>
[1564] <223> 合成
[1565] <400> 195
[1566] tcggggtgtt ttcgtagttg ttaaatttac 30
[1567] <210> 196
[1568] <211> 24
[1569] <212> DNA
[1570] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1571] <220>
[1572] <223> 合成
[1573] <400> 196
[1574] cattctttta accgccaaaa cgcg 24
[1575] <210> 197
[1576] <211> 28
[1577] <212> DNA
[1578] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1579] <220>
[1580] <223> 合成
[1581] <400> 197
[1582] gggttttggt tttcgttagt ttagtttc 28
[1583] <210> 198
[1584] <211> 26
[1585] <212> DNA
[1586] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1587] <220>
[1588] <223> 合成
[1589] <400> 198
[1590] acaactctaa acgaccgaaa ataacg 26
[1591] <210> 199
[1592] <211> 21
[1593] <212> DNA
[1594] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1595] <220>
[1596] <223> 合成
[1597] <400> 199

[1598] gcggtcggag tttagttagc g 21
[1599] <210> 200
[1600] <211> 24
[1601] <212> DNA
[1602] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1603] <220>
[1604] <223> 合成
[1605] <400> 200
[1606] acctacgact acctcctaaa cgcg 24
[1607] <210> 201
[1608] <211> 32
[1609] <212> DNA
[1610] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1611] <220>
[1612] <223> 合成
[1613] <400> 201
[1614] gtcgtagttt tagtagtttt ttttgtcgtt cg 32
[1615] <210> 202
[1616] <211> 16
[1617] <212> DNA
[1618] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1619] <220>
[1620] <223> 合成
[1621] <400> 202
[1622] cgaccgccgc gactac 16
[1623] <210> 203
[1624] <211> 17
[1625] <212> DNA
[1626] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1627] <220>
[1628] <223> 合成
[1629] <400> 203
[1630] gacgcggggc gtttagt 17
[1631] <210> 204
[1632] <211> 19
[1633] <212> DNA
[1634] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1635] <220>
[1636] <223> 合成

[1637] <400> 204
[1638] cgactcgaaa cgaccccga 19
[1639] <210> 205
[1640] <211> 21
[1641] <212> DNA
[1642] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1643] <220>
[1644] <223> 合成
[1645] <400> 205
[1646] ggagttttag gcggcgttac g 21
[1647] <210> 206
[1648] <211> 18
[1649] <212> DNA
[1650] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1651] <220>
[1652] <223> 合成
[1653] <400> 206
[1654] accgcgaaaa cacccgac 18
[1655] <210> 207
[1656] <211> 19
[1657] <212> DNA
[1658] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1659] <220>
[1660] <223> 合成
[1661] <400> 207
[1662] gttcgcgcgg ttttacggt 19
[1663] <210> 208
[1664] <211> 17
[1665] <212> DNA
[1666] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1667] <220>
[1668] <223> 合成
[1669] <400> 208
[1670] cgcccttctc ctcccgc 17
[1671] <210> 209
[1672] <211> 21
[1673] <212> DNA
[1674] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1675] <220>

[1676] <223> 合成

[1677] <400> 209

[1678] ggaggtttcg cgtttcgatt a 21

[1679] <210> 210

[1680] <211> 18

[1681] <212> DNA

[1682] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1683] <220>

[1684] <223> 合成

[1685] <400> 210

[1686] cgaacgatcc ccgcctac 18

[1687] <210> 211

[1688] <211> 20

[1689] <212> DNA

[1690] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1691] <220>

[1692] <223> 合成

[1693] <400> 211

[1694] ggtttagcgc gggtttttcg 20

[1695] <210> 212

[1696] <211> 18

[1697] <212> DNA

[1698] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1699] <220>

[1700] <223> 合成

[1701] <400> 212

[1702] ccccgaactt cccgaact 18

[1703] <210> 213

[1704] <211> 26

[1705] <212> DNA

[1706] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1707] <220>

[1708] <223> 合成

[1709] <400> 213

[1710] ttttcgttga ttttattcga gtcgtc 26

[1711] <210> 214

[1712] <211> 22

[1713] <212> DNA

[1714] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1715] <220>
[1716] <223> 合成
[1717] <400> 214
[1718] gaaccctctt caaataaacc gc 22
[1719] <210> 215
[1720] <211> 22
[1721] <212> DNA
[1722] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1723] <220>
[1724] <223> 合成
[1725] <400> 215
[1726] tggtcgtttt agcgttatgt cg 22
[1727] <210> 216
[1728] <211> 19
[1729] <212> DNA
[1730] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1731] <220>
[1732] <223> 合成
[1733] <400> 216
[1734] cgaaaactac aaaccgcgc 19
[1735] <210> 217
[1736] <211> 24
[1737] <212> DNA
[1738] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1739] <220>
[1740] <223> 合成
[1741] <400> 217
[1742] cgttaatttg ttagatagag ggcg 24
[1743] <210> 218
[1744] <211> 17
[1745] <212> DNA
[1746] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1747] <220>
[1748] <223> 合成
[1749] <400> 218
[1750] tccgaacaac cgcctac 17
[1751] <210> 219
[1752] <211> 18
[1753] <212> DNA

[1754] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1755] <220>
[1756] <223> 合成
[1757] <400> 219
[1758] gttgtcggga gcggtagg 18
[1759] <210> 220
[1760] <211> 21
[1761] <212> DNA
[1762] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1763] <220>
[1764] <223> 合成
[1765] <400> 220
[1766] ccaatatccc gaaacgcgtc t 21
[1767] <210> 221
[1768] <211> 19
[1769] <212> DNA
[1770] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1771] <220>
[1772] <223> 合成
[1773] <400> 221
[1774] tttgtttcgg tttttggcg 19
[1775] <210> 222
[1776] <211> 17
[1777] <212> DNA
[1778] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1779] <220>
[1780] <223> 合成
[1781] <400> 222
[1782] cgccaccata aacgacc 17
[1783] <210> 223
[1784] <211> 21
[1785] <212> DNA
[1786] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1787] <220>
[1788] <223> 合成
[1789] <400> 223
[1790] ggttaggggt ggagttcgtt a 21
[1791] <210> 224
[1792] <211> 24

[1793] <212> DNA
[1794] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1795] <220>
[1796] <223> 合成
[1797] <400> 224
[1798] actccgaact ctactcatcc tttc 24
[1799] <210> 225
[1800] <211> 22
[1801] <212> DNA
[1802] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1803] <220>
[1804] <223> 合成
[1805] <400> 225
[1806] tcggcggttt ttagtaaaag cg 22
[1807] <210> 226
[1808] <211> 19
[1809] <212> DNA
[1810] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1811] <220>
[1812] <223> 合成
[1813] <400> 226
[1814] aaatctcccg tcccactcc 19
[1815] <210> 227
[1816] <211> 24
[1817] <212> DNA
[1818] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1819] <220>
[1820] <223> 合成
[1821] <400> 227
[1822] gggttcgggg atttataatt acgg 24
[1823] <210> 228
[1824] <211> 32
[1825] <212> DNA
[1826] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1827] <220>
[1828] <223> 合成
[1829] <400> 228
[1830] ctaaatcacc tcctactact aacgctaata ac 32
[1831] <210> 229

[1832] <211> 25
[1833] <212> DNA
[1834] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1835] <220>
[1836] <223> 合成
[1837] <400> 229
[1838] cgcgccgagg ccgtacccac gtcca 25
[1839] <210> 230
[1840] <211> 27
[1841] <212> DNA
[1842] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1843] <220>
[1844] <223> 合成
[1845] <400> 230
[1846] aggccacgga cgcgtcgtcg aacaccg 27
[1847] <210> 231
[1848] <211> 27
[1849] <212> DNA
[1850] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1851] <220>
[1852] <223> 合成
[1853] <400> 231
[1854] cgcgccgagg cgtcgaacac cttcgac 27
[1855] <210> 232
[1856] <211> 29
[1857] <212> DNA
[1858] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1859] <220>
[1860] <223> 合成
[1861] <400> 232
[1862] aggccacgga cgcgactacg ccacgtaaa 29
[1863] <210> 233
[1864] <211> 28
[1865] <212> DNA
[1866] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1867] <220>
[1868] <223> 合成
[1869] <400> 233
[1870] cgcgccgagg gtttcggttt ttgggagg 28

[1871] <210> 234
[1872] <211> 33
[1873] <212> DNA
[1874] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1875] <220>
[1876] <223> 合成
[1877] <400> 234
[1878] aggccacgga cgcgacaact aaaactccgt acg 33
[1879] <210> 235
[1880] <211> 28
[1881] <212> DNA
[1882] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1883] <220>
[1884] <223> 合成
[1885] <400> 235
[1886] cgcgccgagg cgggattttc ggtttcga 28
[1887] <210> 236
[1888] <211> 35
[1889] <212> DNA
[1890] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1891] <220>
[1892] <223> 合成
[1893] <400> 236
[1894] aggccacgga cgcgtttacg tatatagtcg gtagt 35
[1895] <210> 237
[1896] <211> 31
[1897] <212> DNA
[1898] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1899] <220>
[1900] <223> 合成
[1901] <400> 237
[1902] cgcgccgagg cgctcacgaa ctaaacgatc c 31
[1903] <210> 238
[1904] <211> 31
[1905] <212> DNA
[1906] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1907] <220>
[1908] <223> 合成
[1909] <400> 238

[1910] aggccacgga cgtcgttagg tttcgtttcg t 31
[1911] <210> 239
[1912] <211> 24
[1913] <212> DNA
[1914] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1915] <220>
[1916] <223> 合成
[1917] <400> 239
[1918] cgcgccgagg cggttttcgc ggga 24
[1919] <210> 240
[1920] <211> 28
[1921] <212> DNA
[1922] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1923] <220>
[1924] <223> 合成
[1925] <400> 240
[1926] aggccacgga cgcgacctcg aaccccaa 28
[1927] <210> 241
[1928] <211> 24
[1929] <212> DNA
[1930] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1931] <220>
[1932] <223> 合成
[1933] <400> 241
[1934] cgcgccgagg ccgctcgctc acaa 24
[1935] <210> 242
[1936] <211> 34
[1937] <212> DNA
[1938] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1939] <220>
[1940] <223> 合成
[1941] <400> 242
[1942] aggccacgga cgcggtttta cgaaatgtaa attt 34
[1943] <210> 243
[1944] <211> 26
[1945] <212> DNA
[1946] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1947] <220>
[1948] <223> 合成

[1949] <400> 243
[1950] cgcgccgagg cgtcgaggtc gtttcg 26
[1951] <210> 244
[1952] <211> 25
[1953] <212> DNA
[1954] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1955] <220>
[1956] <223> 合成
[1957] <400> 244
[1958] aggccacgga cggcggaagt gcgtt 25
[1959] <210> 245
[1960] <211> 25
[1961] <212> DNA
[1962] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1963] <220>
[1964] <223> 合成
[1965] <400> 245
[1966] cgcgccgagg cgcgggttag ttgtt 25
[1967] <210> 246
[1968] <211> 26
[1969] <212> DNA
[1970] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1971] <220>
[1972] <223> 合成
[1973] <400> 246
[1974] aggccacgga cgatacgcgc ctccca 26
[1975] <210> 247
[1976] <211> 30
[1977] <212> DNA
[1978] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1979] <220>
[1980] <223> 合成
[1981] <400> 247
[1982] cgcgccgagg cgttcgttat cgtttggttt 30
[1983] <210> 248
[1984] <211> 26
[1985] <212> DNA
[1986] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1987] <220>

[1988] <223> 合成

[1989] <400> 248

[1990] aggccacgga cgcctaccgc acacgc 26

[1991] <210> 249

[1992] <211> 28

[1993] <212> DNA

[1994] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[1995] <220>

[1996] <223> 合成

[1997] <400> 249

[1998] cgcgccgagg cgatcctacc gacctcga 28

[1999] <210> 250

[2000] <211> 27

[2001] <212> DNA

[2002] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2003] <220>

[2004] <223> 合成

[2005] <400> 250

[2006] aggccacgga cgcgctcccg cccttct 27

[2007] <210> 251

[2008] <211> 33

[2009] <212> DNA

[2010] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2011] <220>

[2012] <223> 合成

[2013] <400> 251

[2014] cgcgccgagg cggttttaac gtaagtttga ttg 33

[2015] <210> 252

[2016] <211> 26

[2017] <212> DNA

[2018] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2019] <220>

[2020] <223> 合成

[2021] <400> 252

[2022] aggccacgga cgcggtcgag gtggga 26

[2023] <210> 253

[2024] <211> 24

[2025] <212> DNA

[2026] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2027] <220>
[2028] <223> 合成
[2029] <400> 253
[2030] cgcgccgagg gcgggtggag aagg 24
[2031] <210> 254
[2032] <211> 26
[2033] <212> DNA
[2034] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2035] <220>
[2036] <223> 合成
[2037] <400> 254
[2038] aggccacgga cggcgggtgg agaagg 26
[2039] <210> 255
[2040] <211> 31
[2041] <212> DNA
[2042] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2043] <220>
[2044] <223> 合成
[2045] <400> 255
[2046] aggccacgga cggcatttcc gacctttacg a 31
[2047] <210> 256
[2048] <211> 27
[2049] <212> DNA
[2050] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2051] <220>
[2052] <223> 合成
[2053] <400> 256
[2054] cgcgccgagg gaaaaataac cccgccc 27
[2055] <210> 257
[2056] <211> 27
[2057] <212> DNA
[2058] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2059] <220>
[2060] <223> 合成
[2061] <400> 257
[2062] aggccacgga cgcgtagggt tcgcgag 27
[2063] <210> 258
[2064] <211> 25
[2065] <212> DNA

[2066] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2067] <220>
[2068] <223> 合成
[2069] <400> 258
[2070] cgcgccgagg cgatacatcc gcgcg 25
[2071] <210> 259
[2072] <211> 29
[2073] <212> DNA
[2074] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2075] <220>
[2076] <223> 合成
[2077] <400> 259
[2078] aggccacgga cggcggattg agtttcgtg 29
[2079] <210> 260
[2080] <211> 30
[2081] <212> DNA
[2082] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2083] <220>
[2084] <223> 合成
[2085] <400> 260
[2086] aggccacgga cggcgcggtt atttttcgt 30
[2087] <210> 261
[2088] <211> 29
[2089] <212> DNA
[2090] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2091] <220>
[2092] <223> 合成
[2093] <400> 261
[2094] cgcgccgagg gcgcgtcgtt cgtatattt 29
[2095] <210> 262
[2096] <211> 27
[2097] <212> DNA
[2098] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2099] <220>
[2100] <223> 合成
[2101] <400> 262
[2102] aggccacgga cgcgtcggcg tcgtttt 27
[2103] <210> 263
[2104] <211> 27

[2105] <212> DNA
[2106] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2107] <220>
[2108] <223> 合成
[2109] <400> 263
[2110] cgcgccgagg gcgttaaaaa cctcgcg 27
[2111] <210> 264
[2112] <211> 34
[2113] <212> DNA
[2114] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2115] <220>
[2116] <223> 合成
[2117] <400> 264
[2118] cgcgccgagg gcgttatact ctttctctaa acac 34
[2119] <210> 265
[2120] <211> 33
[2121] <212> DNA
[2122] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2123] <220>
[2124] <223> 合成
[2125] <400> 265
[2126] aggccacgga cgcggcgatt tagttttttg tcg 33
[2127] <210> 266
[2128] <211> 31
[2129] <212> DNA
[2130] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2131] <220>
[2132] <223> 合成
[2133] <400> 266
[2134] cgcgccgagg gacctccgaa cttataaacc c 31
[2135] <210> 267
[2136] <211> 31
[2137] <212> DNA
[2138] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2139] <220>
[2140] <223> 合成
[2141] <400> 267
[2142] aggccacgga cgcgggaagt ttcgttagtg g 31
[2143] <210> 268

[2144] <211> 32
[2145] <212> DNA
[2146] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2147] <220>
[2148] <223> 合成
[2149] <400> 268
[2150] cgcgccgagg cgttaggttt ttttagtcgt cg 32
[2151] <210> 269
[2152] <211> 31
[2153] <212> DNA
[2154] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2155] <220>
[2156] <223> 合成
[2157] <400> 269
[2158] aggccacgga cgtctcgaaa cgaataaccg c 31
[2159] <210> 270
[2160] <211> 26
[2161] <212> DNA
[2162] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2163] <220>
[2164] <223> 合成
[2165] <400> 270
[2166] cgcgccgagg gctacgctaa acgccg 26
[2167] <210> 271
[2168] <211> 31
[2169] <212> DNA
[2170] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2171] <220>
[2172] <223> 合成
[2173] <400> 271
[2174] aggccacgga cggatcgaaa acacacaacc c 31
[2175] <210> 272
[2176] <211> 25
[2177] <212> DNA
[2178] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2179] <220>
[2180] <223> 合成
[2181] <400> 272
[2182] cgcgccgagg ggcgggcgta ttagt 25

[2183] <210> 273
[2184] <211> 27
[2185] <212> DNA
[2186] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2187] <220>
[2188] <223> 合成
[2189] <400> 273
[2190] aggccacgga cgcgggtcgc gtttagg 27
[2191] <210> 274
[2192] <211> 34
[2193] <212> DNA
[2194] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2195] <220>
[2196] <223> 合成
[2197] <400> 274
[2198] aggccacgga cgcgattttt cgggtagttt ttgg 34
[2199] <210> 275
[2200] <211> 28
[2201] <212> DNA
[2202] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2203] <220>
[2204] <223> 合成
[2205] <400> 275
[2206] cgcgccgagg ggtttttcgg tcgagatg 28
[2207] <210> 276
[2208] <211> 34
[2209] <212> DNA
[2210] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2211] <220>
[2212] <223> 合成
[2213] <400> 276
[2214] aggccacgga cgcgaccgta acaaaaaaac aaac 34
[2215] <210> 277
[2216] <211> 32
[2217] <212> DNA
[2218] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2219] <220>
[2220] <223> 合成
[2221] <400> 277

[2222] cgcgccgagg acgcgactaa aaaaaaccta ac 32

[2223] <210> 278

[2224] <211> 31

[2225] <212> DNA

[2226] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2227] <220>

[2228] <223> 合成

[2229] <400> 278

[2230] aggccacgga cgcgccgaaa caaactaatc c 31

[2231] <210> 279

[2232] <211> 31

[2233] <212> DNA

[2234] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2235] <220>

[2236] <223> 合成

[2237] <400> 279

[2238] cgcgccgagg cgcgaaactt caaaaatacg a 31

[2239] <210> 280

[2240] <211> 27

[2241] <212> DNA

[2242] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2243] <220>

[2244] <223> 合成

[2245] <400> 280

[2246] aggccacgga cgattcgcgt tcgagcg 27

[2247] <210> 281

[2248] <211> 28

[2249] <212> DNA

[2250] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2251] <220>

[2252] <223> 合成

[2253] <400> 281

[2254] aggccacgga cggcggtagt ggtcgtag 28

[2255] <210> 282

[2256] <211> 32

[2257] <212> DNA

[2258] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2259] <220>

[2260] <223> 合成

[2261] <400> 282
[2262] aggccacgga cgcgtttggc gtagatataa gc 32
[2263] <210> 283
[2264] <211> 26
[2265] <212> DNA
[2266] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2267] <220>
[2268] <223> 合成
[2269] <400> 283
[2270] aggccacgga cgccgcgcta ccgcta 26
[2271] <210> 284
[2272] <211> 24
[2273] <212> DNA
[2274] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2275] <220>
[2276] <223> 合成
[2277] <400> 284
[2278] cgcgccgagg ccgcgctacc gcta 24
[2279] <210> 285
[2280] <211> 27
[2281] <212> DNA
[2282] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2283] <220>
[2284] <223> 合成
[2285] <400> 285
[2286] aggccacgga cgcgaaaaat cccacgc 27
[2287] <210> 286
[2288] <211> 25
[2289] <212> DNA
[2290] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2291] <220>
[2292] <223> 合成
[2293] <400> 286
[2294] cgcgccgagg gcgtttcgat cgggg 25
[2295] <210> 287
[2296] <211> 32
[2297] <212> DNA
[2298] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2299] <220>

[2300] <223> 合成

[2301] <400> 287

[2302] aggccacgga cggcgggagg attttcgatt tc 32

[2303] <210> 288

[2304] <211> 31

[2305] <212> DNA

[2306] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2307] <220>

[2308] <223> 合成

[2309] <400> 288

[2310] cgcgccgagg cgtaactcca tctcgataac c 31

[2311] <210> 289

[2312] <211> 90

[2313] <212> DNA

[2314] <213> 智人(Homo sapiens)

[2315] <400> 289

[2316] gggctgcgag cacggcaagg tctctcaggc ttgtggacgt gggtacgggc gtctcggcac 60

[2317] cctgagcttt ctcccctacc cgccccagcg 90

[2318] <210> 290

[2319] <211> 90

[2320] <212> DNA

[2321] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2322] <220>

[2323] <223> 合成

[2324] <400> 290

[2325] gggttgcgag tacggtaagg ttttttaggt ttgtggacgt gggtacgggc gtttcggtat 60

[2326] tttgagtttt tttttttatt cgttttagcg 90

[2327] <210> 291

[2328] <211> 22

[2329] <212> DNA

[2330] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2331] <220>

[2332] <223> 合成

[2333] <400> 291

[2334] ggttgcgagt acggtaaggt tt 22

[2335] <210> 292

[2336] <211> 23

[2337] <212> DNA

[2338] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2339] <220>
[2340] <223> 合成
[2341] <400> 292
[2342] aaaactcaaa ataccgaaac gcc 23
[2343] <210> 293
[2344] <211> 25
[2345] <212> DNA
[2346] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2347] <220>
[2348] <223> 合成
[2349] <400> 293
[2350] cgcgccgagg ccgtacccac gtcca 25
[2351] <210> 294
[2352] <211> 93
[2353] <212> DNA
[2354] <213> 智人(Homo sapiens)
[2355] <400> 294
[2356] cgcggacgcc gagctccctg agagcgctgc cagggacgac gcggtgttcg acgacgaggt 60
[2357] ggcgccaaac gcggccagcg ataacgcctc ggc 93
[2358] <210> 295
[2359] <211> 93
[2360] <212> DNA
[2361] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2362] <220>
[2363] <223> 合成
[2364] <400> 295
[2365] cgcggacgtc gagtttttg agagcgttgt tagggacgac gcggtgttcg acgacgaggt 60
[2366] ggcgttaaac gcggttagcg ataacgtttc ggt 93
[2367] <210> 296
[2368] <211> 23
[2369] <212> DNA
[2370] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2371] <220>
[2372] <223> 合成
[2373] <400> 296
[2374] ttgagagcgt tgttagggac gac 23
[2375] <210> 297
[2376] <211> 18
[2377] <212> DNA

[2378] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2379] <220>

[2380] <223> 合成

[2381] <400> 297

[2382] cgcgtttaac gccacctc 18

[2383] <210> 298

[2384] <211> 27

[2385] <212> DNA

[2386] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2387] <220>

[2388] <223> 合成

[2389] <400> 298

[2390] aggccacgga cgcgtcgtcg aacaccg 27

[2391] <210> 299

[2392] <211> 97

[2393] <212> DNA

[2394] <213> 智人(Homo sapiens)

[2395] <400> 299

[2396] gagacgggct cgggccccgc ccaccggcgg gtgcagctga gggcgcggcc gaaggtgccc 60

[2397] gacgccgccc acgagctcga ctccacgctc ggctact 97

[2398] <210> 300

[2399] <211> 97

[2400] <212> DNA

[2401] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2402] <220>

[2403] <223> 合成

[2404] <400> 300

[2405] gagacgggtt cgggtttcgt ttatcggcgg gtgtagttga gggcgcggtc gaaggtgttc 60

[2406] gacgtcgttt acgagttcga ttttacgttc ggttatt 97

[2407] <210> 301

[2408] <211> 20

[2409] <212> DNA

[2410] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2411] <220>

[2412] <223> 合成

[2413] <400> 301

[2414] cgggtttcgt ttatcggcgg 20

[2415] <210> 302

[2416] <211> 26

[2417] <212> DNA
[2418] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2419] <220>
[2420] <223> 合成
[2421] <400> 302
[2422] aacgtaaaat cgaactcgta aacgac 26
[2423] <210> 303
[2424] <211> 27
[2425] <212> DNA
[2426] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2427] <220>
[2428] <223> 合成
[2429] <400> 303
[2430] cgcgccgagg cgtcgaacac cttcgac 27
[2431] <210> 304
[2432] <211> 139
[2433] <212> DNA
[2434] <213> 智人(Homo sapiens)
[2435] <400> 304
[2436] ggcggggctt aggggacgag gttagtacga agccccaccc cgacccgggc tgcaccgccc 60
[2437] cctccgcgct tacgtggcgc agccgcgggg acatggcgtg ggtggtgggc gtccgctggg 120
[2438] acacgttgag cacgatgac 139
[2439] <210> 305
[2440] <211> 139
[2441] <212> DNA
[2442] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2443] <220>
[2444] <223> 合成
[2445] <400> 305
[2446] ggcggggttt aggggacgag gttagtacga agttttattt cgattcgggt tgtatcgttt 60
[2447] ttttcgcgtt tacgtggcgt agtcgcgggg atatggcgtg ggtggtgggc gttcgttggg 120
[2448] atacgttgag tacgatgat 139
[2449] <210> 306
[2450] <211> 30
[2451] <212> DNA
[2452] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2453] <220>
[2454] <223> 合成
[2455] <400> 306

[2456] cgaagtttta tttcgattcg ggttgtatcg 30

[2457] <210> 307

[2458] <211> 17

[2459] <212> DNA

[2460] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2461] <220>

[2462] <223> 合成

[2463] <400> 307

[2464] ccacgccata tccccgc 17

[2465] <210> 308

[2466] <211> 29

[2467] <212> DNA

[2468] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2469] <220>

[2470] <223> 合成

[2471] <400> 308

[2472] aggccacgga cgcgactacg ccacgtaaa 29

[2473] <210> 309

[2474] <211> 101

[2475] <212> DNA

[2476] <213> 智人(Homo sapiens)

[2477] <400> 309

[2478] gccgaggcca ccgggcagcg tccaggtctc ggcctttggg aggggagcag cgggggaggg 60

[2479] gcacggggag gggcgagggc ggggcgcgcc tgggcctcgg c 101

[2480] <210> 310

[2481] <211> 101

[2482] <212> DNA

[2483] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2484] <220>

[2485] <223> 合成

[2486] <400> 310

[2487] gccgaggtta tcgggtagcg tttaggtttc ggtttttggg aggggagtag cgggggaggg 60

[2488] gtacggggag gggcgagggc ggggcgcgtt tgggtttcgg t 101

[2489] <210> 311

[2490] <211> 22

[2491] <212> DNA

[2492] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2493] <220>

[2494] <223> 合成

[2495] <400> 311
[2496] aggttatcgg gtagcgttta gg 22
[2497] <210> 312
[2498] <211> 19
[2499] <212> DNA
[2500] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2501] <220>
[2502] <223> 合成
[2503] <400> 312
[2504] cgtacccctc ccccgctac 19
[2505] <210> 313
[2506] <211> 28
[2507] <212> DNA
[2508] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2509] <220>
[2510] <223> 合成
[2511] <400> 313
[2512] cgcgccgagg gtttcggttt ttgggagg 28
[2513] <210> 314
[2514] <211> 90
[2515] <212> DNA
[2516] <213> 智人(Homo sapiens)
[2517] <400> 314
[2518] cgctgtgagt cgcccacgcg agcgacgtgg ggatacgggg cgcacggagt ctcagctgcc 60
[2519] gccacgcagc gcttgccctg cccgagcttc 90
[2520] <210> 315
[2521] <211> 90
[2522] <212> DNA
[2523] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2524] <220>
[2525] <223> 合成
[2526] <400> 315
[2527] cgttgtgagt cgtttacgcg agcgacgtgg ggatacgggg cgtacggagt tttagttgtc 60
[2528] gttacgtagc gtttgttttg ttcgagtttt 90
[2529] <210> 316
[2530] <211> 19
[2531] <212> DNA
[2532] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2533] <220>

[2534] <223> 合成

[2535] <400> 316

[2536] gtcgtttacg cgagcgacg 19

[2537] <210> 317

[2538] <211> 26

[2539] <212> DNA

[2540] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2541] <220>

[2542] <223> 合成

[2543] <400> 317

[2544] ctcgaacaaa acaaacgcta cgtaac 26

[2545] <210> 318

[2546] <211> 33

[2547] <212> DNA

[2548] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2549] <220>

[2550] <223> 合成

[2551] <400> 318

[2552] aggccacgga cgcgacaact aaaactccgt acg 33

[2553] <210> 319

[2554] <211> 110

[2555] <212> DNA

[2556] <213> 智人(Homo sapiens)

[2557] <400> 319

[2558] tgagggtcgg gactatctcc tcaccagggt ctccacttgg agggtccgga cgggactttc 60

[2559] ggtttcgagc ccagcctcag cccggcacac cgccgcactg agcagcagca 110

[2560] <210> 320

[2561] <211> 110

[2562] <212> DNA

[2563] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2564] <220>

[2565] <223> 合成

[2566] <400> 320

[2567] tgagggtcgg gattattttt ttattagggt ttttatttgg agggttcgga cgggattttc 60

[2568] ggtttcgagt ttagttttag ttcggtatat cgtcgtattg agtagtagta 110

[2569] <210> 321

[2570] <211> 24

[2571] <212> DNA

[2572] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2573] <220>
[2574] <223> 合成
[2575] <400> 321
[2576] ggtttttatt tggagggttc ggac 24
[2577] <210> 322
[2578] <211> 27
[2579] <212> DNA
[2580] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2581] <220>
[2582] <223> 合成
[2583] <400> 322
[2584] actactcaat acgacgatat accgaac 27
[2585] <210> 323
[2586] <211> 28
[2587] <212> DNA
[2588] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2589] <220>
[2590] <223> 合成
[2591] <400> 323
[2592] cgcgccgagg cgggattttc ggtttcga 28
[2593] <210> 324
[2594] <211> 129
[2595] <212> DNA
[2596] <213> 智人(Homo sapiens)
[2597] <400> 324
[2598] gccatcccgg ggctctgcgc cgtccgctct cccggctcct ggccgctcac gcacacagcc 60
[2599] ggtagctggt tttcgttagc cgctgccctc gcccagaagg cgggtggaag gtcgccagtt 120
[2600] ggacgcaca 129
[2601] <210> 325
[2602] <211> 129
[2603] <212> DNA
[2604] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2605] <220>
[2606] <223> 合成
[2607] <400> 325
[2608] gttatttcgg ggttttgcgt cgttcgtttt ttcggttttt ggtcgtttac gtatatagtc 60
[2609] ggtagttggt tttcgttagt cgttgttttc gtttagaagg cgggtggaag gtcgttagtt 120
[2610] ggacgtata 129
[2611] <210> 326

[2612] <211> 25
[2613] <212> DNA
[2614] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2615] <220>
[2616] <223> 合成
[2617] <400> 326
[2618] tcgttcgttt tttcggtttt tggtc 25
[2619] <210> 327
[2620] <211> 30
[2621] <212> DNA
[2622] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2623] <220>
[2624] <223> 合成
[2625] <400> 327
[2626] ccttctaaac gaaaacaacg actaacgaaa 30
[2627] <210> 328
[2628] <211> 35
[2629] <212> DNA
[2630] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2631] <220>
[2632] <223> 合成
[2633] <400> 328
[2634] aggccacgga cgcgtttacg tatatagtcg gtagt 35
[2635] <210> 329
[2636] <211> 119
[2637] <212> DNA
[2638] <213> 智人(Homo sapiens)
[2639] <400> 329
[2640] gtagcgttct gccgcctttc ccctgcgccc tctctgggga ccgctcagct cgtgagcgcc 60
[2641] ccccgggggc actcctgcga cccctccctt gctaggggcc tcctacagcc cgtggtcgg 119
[2642] <210> 330
[2643] <211> 119
[2644] <212> DNA
[2645] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2646] <220>
[2647] <223> 合成
[2648] <400> 330
[2649] gtagcgtttt gtcgtttttt ttttgcgttt tttttgggga tcgtttagtt cgtgagcgtt 60
[2650] tttcgggggt atttttgcga ttttttttt gttaggggtt ttttatagtt cgtggtcgg 119

[2651] <210> 331
[2652] <211> 27
[2653] <212> DNA
[2654] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2655] <220>
[2656] <223> 合成
[2657] <400> 331
[2658] tagcgttttg tcgttttttt tttgcgt 27
[2659] <210> 332
[2660] <211> 22
[2661] <212> DNA
[2662] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2663] <220>
[2664] <223> 合成
[2665] <400> 332
[2666] cgcaaaaata cccccgaaaa ac 22
[2667] <210> 333
[2668] <211> 31
[2669] <212> DNA
[2670] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2671] <220>
[2672] <223> 合成
[2673] <400> 333
[2674] cgcgccgagg cgctcacgaa ctaaacgatc c 31
[2675] <210> 334
[2676] <211> 109
[2677] <212> DNA
[2678] <213> 智人(Homo sapiens)
[2679] <400> 334
[2680] cggacccaga gcaccgcctg cggcctcacc taggggagag ggagggcggt tagcagcgcc 60
[2681] gccaggcccc gccccgcctt cccgccgcgc agcgacaccg tccaagtcc 109
[2682] <210> 335
[2683] <211> 109
[2684] <212> DNA
[2685] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2686] <220>
[2687] <223> 合成
[2688] <400> 335
[2689] cggatttaga gtatcgtttg cggttttatt taggggagag ggagggcggt tagtagcgtc 60

[2690] gttaggtttc gtttcgtttt ttcgtcgcgt agcgatatcg tttaagttt 109

[2691] <210> 336

[2692] <211> 19

[2693] <212> DNA

[2694] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2695] <220>

[2696] <223> 合成

[2697] <400> 336

[2698] ggagggcggt tagtagcgt 19

[2699] <210> 337

[2700] <211> 22

[2701] <212> DNA

[2702] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2703] <220>

[2704] <223> 合成

[2705] <400> 337

[2706] acgatatcgc tacgcgacga aa 22

[2707] <210> 338

[2708] <211> 31

[2709] <212> DNA

[2710] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2711] <220>

[2712] <223> 合成

[2713] <400> 338

[2714] aggccacgga cgtcgttagg tttcgtttcg t 31

[2715] <210> 339

[2716] <211> 88

[2717] <212> DNA

[2718] <213> 智人(Homo sapiens)

[2719] <400> 339

[2720] cgacgggaag cccgagaagc tgaggctgtg gtgcaacttg ggccgcggct cccgcgggaa 60

[2721] gcccaggtgc aacgcatcgc gcgtgcca 88

[2722] <210> 340

[2723] <211> 88

[2724] <212> DNA

[2725] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2726] <220>

[2727] <223> 合成

[2728] <400> 340

[2729] cgacgggaag ttcgagaagt tgaggttgtg gtgtaatttg ggtcgcggtt ttcgcgggaa 60
[2730] gtttaggtgt aacgtatcgc gcgtgtta 88
[2731] <210> 341
[2732] <211> 22
[2733] <212> DNA
[2734] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2735] <220>
[2736] <223> 合成
[2737] <400> 341
[2738] gttgtggtgt aatttgggtc gc 22
[2739] <210> 342
[2740] <211> 20
[2741] <212> DNA
[2742] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2743] <220>
[2744] <223> 合成
[2745] <400> 342
[2746] acacgcgcga tacgttacac 20
[2747] <210> 343
[2748] <211> 24
[2749] <212> DNA
[2750] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2751] <220>
[2752] <223> 合成
[2753] <400> 343
[2754] cgcgccgagg cggttttcgc ggga 24
[2755] <210> 344
[2756] <211> 84
[2757] <212> DNA
[2758] <213> 智人(Homo sapiens)
[2759] <400> 344
[2760] gctcaccgcc cgcccgcaca gctcgaacag ggcgggggga gcgttggggc ccgaggccga 60
[2761] gctcttcgct ggcgccgcct cccg 84
[2762] <210> 345
[2763] <211> 84
[2764] <212> DNA
[2765] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2766] <220>
[2767] <223> 合成

[2768] <400> 345

[2769] gtttatcgtt cgttcgtata gttcgaatag ggcgggggga gcgttggggt tcgaggtcga 60

[2770] gtttttcgtt ggcgtcgttt ttcg 84

[2771] <210> 346

[2772] <211> 24

[2773] <212> DNA

[2774] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2775] <220>

[2776] <223> 合成

[2777] <400> 346

[2778] cgttcgtata gttcgaatag ggcg 24

[2779] <210> 347

[2780] <211> 19

[2781] <212> DNA

[2782] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2783] <220>

[2784] <223> 合成

[2785] <400> 347

[2786] cgacgccaac gaaaaactc 19

[2787] <210> 348

[2788] <211> 28

[2789] <212> DNA

[2790] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2791] <220>

[2792] <223> 合成

[2793] <400> 348

[2794] aggccacgga cgcgacctcg aaccccaa 28

[2795] <210> 349

[2796] <211> 110

[2797] <212> DNA

[2798] <213> 智人(Homo sapiens)

[2799] <400> 349

[2800] cggcggagga agcgtggagt ccattgatct aggtacttgt ggggagggga gaacccgagc 60

[2801] agcagctgca aacggaaggg ctgtgagcga gcgggcgggc gggtggctgg 110

[2802] <210> 350

[2803] <211> 110

[2804] <212> DNA

[2805] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2806] <220>

[2807] <223> 合成

[2808] <400> 350

[2809] cggcggagga agcgtggagt ttattgattt aggtatttgt ggggagggga gaattcgagt 60

[2810] agtagttgta aacggaaggg ttgtgagcga gcgggcgggc gggtggttgg 110

[2811] <210> 351

[2812] <211> 29

[2813] <212> DNA

[2814] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2815] <220>

[2816] <223> 合成

[2817] <400> 351

[2818] ggagaattcg agtagtagtt gtaaacgga 29

[2819] <210> 352

[2820] <211> 16

[2821] <212> DNA

[2822] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2823] <220>

[2824] <223> 合成

[2825] <400> 352

[2826] caaccacccg cccgcc 16

[2827] <210> 353

[2828] <211> 24

[2829] <212> DNA

[2830] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2831] <220>

[2832] <223> 合成

[2833] <400> 353

[2834] cgcgccgagg ccgctcgctc acaa 24

[2835] <210> 354

[2836] <211> 87

[2837] <212> DNA

[2838] <213> 智人(Homo sapiens)

[2839] <400> 354

[2840] cttgtctacg tggcatcgtc atttcttaac cgcggtttta cgaaatgcaa atttcccccc 60

[2841] ggccttcctc ctccgcggcc gtcgacc 87

[2842] <210> 355

[2843] <211> 87

[2844] <212> DNA

[2845] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2846] <220>
[2847] <223> 合成
[2848] <400> 355
[2849] tttgtttacg tggtatcgtt atttttaat cgcggtttta cgaaatgtaa atttttttt 60
[2850] ggtttttttt tttcgcggtc gtcgatt 87
[2851] <210> 356
[2852] <211> 31
[2853] <212> DNA
[2854] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2855] <220>
[2856] <223> 合成
[2857] <400> 356
[2858] tgtttacgtg gtatcgttat tttttaatcg c 31
[2859] <210> 357
[2860] <211> 24
[2861] <212> DNA
[2862] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2863] <220>
[2864] <223> 合成
[2865] <400> 357
[2866] cgacgaccgc gaaaaaaaaa aacc 24
[2867] <210> 358
[2868] <211> 34
[2869] <212> DNA
[2870] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2871] <220>
[2872] <223> 合成
[2873] <400> 358
[2874] aggccacgga cgcggtttta cgaaatgtaa attt 34
[2875] <210> 359
[2876] <211> 72
[2877] <212> DNA
[2878] <213> 智人(Homo sapiens)
[2879] <400> 359
[2880] ccgccccgtg gggaacagca ggacggcgcc gaggccgttt cgctttcctc cgcgcccatt 60
[2881] tgccgggagg gg 72
[2882] <210> 360
[2883] <211> 72
[2884] <212> DNA

[2885] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2886] <220>

[2887] <223> 合成

[2888] <400> 360

[2889] tcgtttcgtg gggaatagta ggacggcgtc gaggtcgttt cgttttttt cgcgtttatt 60

[2890] tgtcgggagg gg 72

[2891] <210> 361

[2892] <211> 22

[2893] <212> DNA

[2894] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2895] <220>

[2896] <223> 合成

[2897] <400> 361

[2898] tcgtggggaa tagtaggacg gc 22

[2899] <210> 362

[2900] <211> 21

[2901] <212> DNA

[2902] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2903] <220>

[2904] <223> 合成

[2905] <400> 362

[2906] cctcccgaca aataaacgcg a 21

[2907] <210> 363

[2908] <211> 26

[2909] <212> DNA

[2910] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[2911] <220>

[2912] <223> 合成

[2913] <400> 363

[2914] cgcgccgagg cgtcgaggtc gtttcg 26

[2915] <210> 364

[2916] <211> 131

[2917] <212> DNA

[2918] <213> 智人(Homo sapiens)

[2919] <400> 364

[2920] cggcctagga cgcgccctgc gtggaggcag gcccgcgcgg cggaagtgcg tttctggggc 60

[2921] tcctcctgaa gaatgcggag gaggaactga gctggcgcgc gggccagctg tcctctcttc 120

[2922] tgatcccgaa g 131

[2923] <210> 365

[2924] <211> 131
[2925] <212> DNA
[2926] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2927] <220>
[2928] <223> 合成
[2929] <400> 365
[2930] cggtttagga cgcgttttgc gtggaggtag gttcgcgcgg cggaagtgcg tttttggggt 60
[2931] tttttttgaa gaatgcggag gaggaattga gttggcgcgc gggttagttg ttttttttt 120
[2932] tgatttcgaa g 131
[2933] <210> 366
[2934] <211> 18
[2935] <212> DNA
[2936] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2937] <220>
[2938] <223> 合成
[2939] <400> 366
[2940] ggaggtaggt tcgcgcgg 18
[2941] <210> 367
[2942] <211> 21
[2943] <212> DNA
[2944] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2945] <220>
[2946] <223> 合成
[2947] <400> 367
[2948] ccaactcaat tcctcctccg c 21
[2949] <210> 368
[2950] <211> 25
[2951] <212> DNA
[2952] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2953] <220>
[2954] <223> 合成
[2955] <400> 368
[2956] aggccacgga cggcggaagt gcgtt 25
[2957] <210> 369
[2958] <211> 144
[2959] <212> DNA
[2960] <213> 智人(Homo sapiens)
[2961] <400> 369
[2962] gcccgcgcgg cggaagtgcg tttctggggc tcctcctgaa gaatgcggag gaggaactga 60

[2963] gctggcgcgc gggccagctg tcctctcttc tgatcccgaa gacaggatcg gattatgggt 120
[2964] tgttaccggc ttgtgcggcc ctgg 144
[2965] <210> 370
[2966] <211> 144
[2967] <212> DNA
[2968] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2969] <220>
[2970] <223> 合成
[2971] <400> 370
[2972] gttcgcgcgg cggaagtgcg tttttggggt ttttttgaa gaatgcggag gaggaattga 60
[2973] gttggcgcgc gggttagttg ttttttttt tgatttcgaa gataggatcg gattatgggt 120
[2974] tgttatcggt ttgtgcggtt ttgg 144
[2975] <210> 371
[2976] <211> 21
[2977] <212> DNA
[2978] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2979] <220>
[2980] <223> 合成
[2981] <400> 371
[2982] gaggaggaat tgagttggcg c 21
[2983] <210> 372
[2984] <211> 27
[2985] <212> DNA
[2986] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2987] <220>
[2988] <223> 合成
[2989] <400> 372
[2990] caacccataa tccgatccta tcttcga 27
[2991] <210> 373
[2992] <211> 25
[2993] <212> DNA
[2994] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2995] <220>
[2996] <223> 合成
[2997] <400> 373
[2998] cgcgccgagg cgcgggttag ttgtt 25
[2999] <210> 374
[3000] <211> 61
[3001] <212> DNA

[3002] <213> 智人(Homo sapiens)

[3003] <400> 374

[3004] cggctcgcac gagtgagtgg acgtgggagg cgcgcatctg cgggggaatc gccccttgcc 60

[3005] c 61

[3006] <210> 375

[3007] <211> 61

[3008] <212> DNA

[3009] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3010] <220>

[3011] <223> 合成

[3012] <400> 375

[3013] cggttcgtac gagtgagtgg acgtgggagg cgcgtatttg cgggggaatc gttttttgtt 60

[3014] t 61

[3015] <210> 376

[3016] <211> 20

[3017] <212> DNA

[3018] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3019] <220>

[3020] <223> 合成

[3021] <400> 376

[3022] ttcgtacgag tgagtggacg 20

[3023] <210> 377

[3024] <211> 22

[3025] <212> DNA

[3026] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3027] <220>

[3028] <223> 合成

[3029] <400> 377

[3030] caaaaaacga ttccccccgca aa 22

[3031] <210> 378

[3032] <211> 26

[3033] <212> DNA

[3034] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3035] <220>

[3036] <223> 合成

[3037] <400> 378

[3038] aggccacgga cgatacgcgc ctccca 26

[3039] <210> 379

[3040] <211> 97

[3041] <212> DNA
[3042] <213> 智人(Homo sapiens)
[3043] <400> 379
[3044] cgggaaagaa cgtggagatc cacgccgagg gcgcccgcca ccgcctggtt ctgcacaacg 60
[3045] taggttttgc cgaccgtggc ttctttggct gcgagac 97
[3046] <210> 380
[3047] <211> 97
[3048] <212> DNA
[3049] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3050] <220>
[3051] <223> 合成
[3052] <400> 380
[3053] cgggaaagaa cgtggagatt tacgtcgagg gcgttcgtta tcgtttggtt ttgtataacg 60
[3054] taggttttgt cgatcgtggt ttttttggtt gcgagat 97
[3055] <210> 381
[3056] <211> 20
[3057] <212> DNA
[3058] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3059] <220>
[3060] <223> 合成
[3061] <400> 381
[3062] tggagattta cgtcgagggc 20
[3063] <210> 382
[3064] <211> 22
[3065] <212> DNA
[3066] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3067] <220>
[3068] <223> 合成
[3069] <400> 382
[3070] ccacgatcga caaaacctac gt 22
[3071] <210> 383
[3072] <211> 30
[3073] <212> DNA
[3074] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3075] <220>
[3076] <223> 合成
[3077] <400> 383
[3078] cgcgccgagg cgttcgttat cgtttggttt 30
[3079] <210> 384

[3080] <211> 73
[3081] <212> DNA
[3082] <213> 智人(Homo sapiens)
[3083] <400> 384
[3084] gcgtgcaggg tgcgcgcgtg tcttggccgc gcgtggcggc gtgtgcggca ggggcgggca 60
[3085] ggcgggcgac tcg 73
[3086] <210> 385
[3087] <211> 73
[3088] <212> DNA
[3089] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3090] <220>
[3091] <223> 合成
[3092] <400> 385
[3093] gcgtgtaggg tgcgcgcgtg ttttggtcgc gcgtggcggc gtgtgcggta ggggcgggta 60
[3094] ggcgggcgat tcg 73
[3095] <210> 386
[3096] <211> 17
[3097] <212> DNA
[3098] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3099] <220>
[3100] <223> 合成
[3101] <400> 386
[3102] gcgcgtgttt tggtcgc 17
[3103] <210> 387
[3104] <211> 18
[3105] <212> DNA
[3106] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3107] <220>
[3108] <223> 合成
[3109] <400> 387
[3110] tcgtccgcct acccgccc 18
[3111] <210> 388
[3112] <211> 26
[3113] <212> DNA
[3114] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3115] <220>
[3116] <223> 合成
[3117] <400> 388
[3118] aggccacgga cgcctaccgc acacgc 26

[3119] <210> 389
[3120] <211> 174
[3121] <212> DNA
[3122] <213> 智人(Homo sapiens)
[3123] <400> 389
[3124] gggggctctc aggtggcgcg gccgcgaggc ggaccctgat ggccatggtg gcggtgccgg 60
[3125] gagccacgct gtccctgggc cccggcccga ggccggcagg accgagcggg gtccccagga 120
[3126] gaggggtggc ggggagctcg atctccacgc ggggaccaga ttttcggcct caaa 174
[3127] <210> 390
[3128] <211> 174
[3129] <212> DNA
[3130] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3131] <220>
[3132] <223> 合成
[3133] <400> 390
[3134] gggggttttt aggtggcgcg gtcgcgaggc ggattttgat ggttatggtg gcggtgtcgg 60
[3135] gagttacgtt gtttttgggt ttcggttcga ggtcggtagg atcgagcggg gtttttagga 120
[3136] gaggggtggc ggggagttcg atttttacgc ggggattaga ttttcggttt taaa 174
[3137] <210> 391
[3138] <211> 25
[3139] <212> DNA
[3140] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3141] <220>
[3142] <223> 合成
[3143] <400> 391
[3144] ggagttacgt tgtttttggg tttcg 25
[3145] <210> 392
[3146] <211> 20
[3147] <212> DNA
[3148] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3149] <220>
[3150] <223> 合成
[3151] <400> 392
[3152] ctctcctaaa aaccccgctc 20
[3153] <210> 393
[3154] <211> 28
[3155] <212> DNA
[3156] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3157] <220>

[3158] <223> 合成

[3159] <400> 393

[3160] cgcgccgagg cgatcctacc gacctcga 28

[3161] <210> 394

[3162] <211> 103

[3163] <212> DNA

[3164] <213> 智人(Homo sapiens)

[3165] <400> 394

[3166] gaggtggggg accgggaccg aagcttggag aagaccaaag tggtggtggt ggtggtgggg 60

[3167] tggggcagaa gggcgggagc gcgcggctct gggagacaag cac 103

[3168] <210> 395

[3169] <211> 103

[3170] <212> DNA

[3171] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3172] <220>

[3173] <223> 合成

[3174] <400> 395

[3175] gaggtggggg atcgggatcg aagtttggag aagattaaag tggtggtggt ggtggtgggg 60

[3176] tggggtagaa gggcgggagc gcgcggtttt gggagataag tat 103

[3177] <210> 396

[3178] <211> 24

[3179] <212> DNA

[3180] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3181] <220>

[3182] <223> 合成

[3183] <400> 396

[3184] ggatcgggat cgaagtttgg agaa 24

[3185] <210> 397

[3186] <211> 20

[3187] <212> DNA

[3188] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3189] <220>

[3190] <223> 合成

[3191] <400> 397

[3192] cttatctccc aaaaccgcgc 20

[3193] <210> 398

[3194] <211> 27

[3195] <212> DNA

[3196] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3197] <220>
[3198] <223> 合成
[3199] <400> 398
[3200] aggccacgga cgcgctcccg cccttct 27
[3201] <210> 399
[3202] <211> 138
[3203] <212> DNA
[3204] <213> 智人(Homo sapiens)
[3205] <400> 399
[3206] aaccacgctg tgcccgcgtg tgccgggcgg ggaggggagg ccgcagcccc agccccgggg 60
[3207] gcctggttgt ctaatcgaag ggaagtaaac ggccccaacg caagcctgac tgcgagacgt 120
[3208] gcccaaggga ggtaggtc 138
[3209] <210> 400
[3210] <211> 138
[3211] <212> DNA
[3212] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3213] <220>
[3214] <223> 合成
[3215] <400> 400
[3216] aattacgttg tgttcgcgtg tgtcgggcgg ggaggggagg tcgtagtttt agtttcgggg 60
[3217] gtttggttgt ttaatcgaag ggaagtaaac ggttttaacg taagtttgat tgcgagacgt 120
[3218] gtttaaggga ggtaggtt 138
[3219] <210> 401
[3220] <211> 28
[3221] <212> DNA
[3222] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3223] <220>
[3224] <223> 合成
[3225] <400> 401
[3226] ttggttgttt aatcgaaggg aagtaaac 28
[3227] <210> 402
[3228] <211> 23
[3229] <212> DNA
[3230] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3231] <220>
[3232] <223> 合成
[3233] <400> 402
[3234] ctacctccct taaacacgtc tcg 23
[3235] <210> 403

[3236] <211> 33
[3237] <212> DNA
[3238] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3239] <220>
[3240] <223> 合成
[3241] <400> 403
[3242] cgcgccgagg cggttttaac gtaagtttga ttg 33
[3243] <210> 404
[3244] <211> 104
[3245] <212> DNA
[3246] <213> 智人(Homo sapiens)
[3247] <400> 404
[3248] cgcaggaagc cctgggggcg cagccatccc acagcgcggc cgaggtggga ctgggggtcc 60
[3249] cgcagcgacc gcttttcttt ggtgggtctg cacgcaccta tccg 104
[3250] <210> 405
[3251] <211> 104
[3252] <212> DNA
[3253] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3254] <220>
[3255] <223> 合成
[3256] <400> 405
[3257] cgtaggaagt tttgggggcg tagttatttt atagcgcggt cgaggtggga ttgggggttt 60
[3258] cgtagcgatc gttttttttt ggtgggtttg tacgtattta ttcg 104
[3259] <210> 406
[3260] <211> 22
[3261] <212> DNA
[3262] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3263] <220>
[3264] <223> 合成
[3265] <400> 406
[3266] gggcgtagtt attttatagc gc 22
[3267] <210> 407
[3268] <211> 27
[3269] <212> DNA
[3270] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3271] <220>
[3272] <223> 合成
[3273] <400> 407
[3274] caccaaaaaa aaacgatcgc tacgaaa 27

[3275] <210> 408
[3276] <211> 26
[3277] <212> DNA
[3278] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3279] <220>
[3280] <223> 合成
[3281] <400> 408
[3282] aggccacgga cgcggtcgag gtggga 26
[3283] <210> 409
[3284] <211> 99
[3285] <212> DNA
[3286] <213> 智人(Homo sapiens)
[3287] <400> 409
[3288] cgggtgtttg tgtatatgtg ttgcggggaa gacggaggtg cgggtggaga aggggaggat 60
[3289] gtaccaaggg ccatggggag acgctaggca ggggcttcc 99
[3290] <210> 410
[3291] <211> 99
[3292] <212> DNA
[3293] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3294] <220>
[3295] <223> 合成
[3296] <400> 410
[3297] cgggtgtttg tgtatatgtg ttgcggggaa gacggaggtg cgggtggaga aggggaggat 60
[3298] gtattaaggg ttatggggag acgttaggta ggggttttt 99
[3299] <210> 411
[3300] <211> 17
[3301] <212> DNA
[3302] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3303] <220>
[3304] <223> 合成
[3305] <400> 411
[3306] cggggaagac ggaggtg 17
[3307] <210> 412
[3308] <211> 22
[3309] <212> DNA
[3310] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3311] <220>
[3312] <223> 合成
[3313] <400> 412

[3314] aaacccctac ctaacgtctc cc 22

[3315] <210> 413

[3316] <211> 24

[3317] <212> DNA

[3318] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3319] <220>

[3320] <223> 合成

[3321] <400> 413

[3322] cgcgccgagg gcgggtggag aagg 24

[3323] <210> 414

[3324] <211> 105

[3325] <212> DNA

[3326] <213> 智人(Homo sapiens)

[3327] <400> 414

[3328] cggcaagcta cggaacaggt ggcggggctg cagcacccca atgaccgatc aaccgcaaag 60

[3329] gccggaaatg cgtcagccgt tctgagccca ctggctgaag ccagg 105

[3330] <210> 415

[3331] <211> 105

[3332] <212> DNA

[3333] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3334] <220>

[3335] <223> 合成

[3336] <400> 415

[3337] cggtaagtta cggaataggt ggcggggttg tagtatttta atgatcgatt aatcgtaaag 60

[3338] gtcggaaatg cgttagtcgt tttgagttta ttggttgaag ttagg 105

[3339] <210> 416

[3340] <211> 26

[3341] <212> DNA

[3342] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3343] <220>

[3344] <223> 合成

[3345] <400> 416

[3346] cggggttgta gtattttaat gatcga 26

[3347] <210> 417

[3348] <211> 30

[3349] <212> DNA

[3350] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3351] <220>

[3352] <223> 合成

[3353] <400> 417
[3354] cttcaaccaa taaactcaaa acgactaacg 30
[3355] <210> 418
[3356] <211> 31
[3357] <212> DNA
[3358] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3359] <220>
[3360] <223> 合成
[3361] <400> 418
[3362] aggccacgga cggcatttcc gacctttacg a 31
[3363] <210> 419
[3364] <211> 88
[3365] <212> DNA
[3366] <213> 智人(Homo sapiens)
[3367] <400> 419
[3368] ccccgcacgg gggcgcctcc ccgcggccct ggggcggggc cacccctcgg ggtctgtggg 60
[3369] acgcgcctgc ccccaattct gccacccg 88
[3370] <210> 420
[3371] <211> 88
[3372] <212> DNA
[3373] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3374] <220>
[3375] <223> 合成
[3376] <400> 420
[3377] tttcgtacgg gggcgttttt tcgcggtttt ggggcggggt tatttttcgg ggtttgtggg 60
[3378] acgcgtttgt ttttaatttt gttattcg 88
[3379] <210> 421
[3380] <211> 20
[3381] <212> DNA
[3382] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3383] <220>
[3384] <223> 合成
[3385] <400> 421
[3386] ggcgtttttt cgcggttttg 20
[3387] <210> 422
[3388] <211> 17
[3389] <212> DNA
[3390] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3391] <220>

[3392] <223> 合成

[3393] <400> 422

[3394] gcgtcccaca aaccccg 17

[3395] <210> 423

[3396] <211> 27

[3397] <212> DNA

[3398] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3399] <220>

[3400] <223> 合成

[3401] <400> 423

[3402] cgcgccgagg gaaaaataac cccgccc 27

[3403] <210> 424

[3404] <211> 80

[3405] <212> DNA

[3406] <213> 智人(Homo sapiens)

[3407] <400> 424

[3408] gcgggcacac gcagggtggg tggtcacgcc cgcagggtcc gcgagcgcgg cgcagagcgc 60

[3409] gggccgtggg aagtttctcc 80

[3410] <210> 425

[3411] <211> 80

[3412] <212> DNA

[3413] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3414] <220>

[3415] <223> 合成

[3416] <400> 425

[3417] gcgggtatac gtagggtggg tggttacgtt cgtagggttc gcgagcgcgg cgtagagcgc 60

[3418] gggtcgtggg aagttttttt 80

[3419] <210> 426

[3420] <211> 22

[3421] <212> DNA

[3422] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3423] <220>

[3424] <223> 合成

[3425] <400> 426

[3426] cgtagggtgg gtggttacgt tc 22

[3427] <210> 427

[3428] <211> 16

[3429] <212> DNA

[3430] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3431] <220>
[3432] <223> 合成
[3433] <400> 427
[3434] aacttcccac gacccg 16
[3435] <210> 428
[3436] <211> 27
[3437] <212> DNA
[3438] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3439] <220>
[3440] <223> 合成
[3441] <400> 428
[3442] aggccacgga cgcgtagggt tcgcgag 27
[3443] <210> 429
[3444] <211> 94
[3445] <212> DNA
[3446] <213> 智人(Homo sapiens)
[3447] <400> 429
[3448] gtgccacgcg gccttcaccc ctgtgactcc ccgcagctcg cgcggatgca ccgacgagtc 60
[3449] agcttgtcct ctggaagcca atgagtctcc ccgg 94
[3450] <210> 430
[3451] <211> 94
[3452] <212> DNA
[3453] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3454] <220>
[3455] <223> 合成
[3456] <400> 430
[3457] gtgttacgcg gtttttattt ttgtgatttt tcgtagttcg cgcggatgta tcgacgagtt 60
[3458] agtttgtttt ttggaagtta atgagttttt tcgg 94
[3459] <210> 431
[3460] <211> 31
[3461] <212> DNA
[3462] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3463] <220>
[3464] <223> 合成
[3465] <400> 431
[3466] gttacgcggt ttttatttt gtgatttttc g 31
[3467] <210> 432
[3468] <211> 33
[3469] <212> DNA

[3470] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3471] <220>
[3472] <223> 合成
[3473] <400> 432
[3474] ctcattaact tccaaaaaac aaactaactc gtc 33
[3475] <210> 433
[3476] <211> 25
[3477] <212> DNA
[3478] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3479] <220>
[3480] <223> 合成
[3481] <400> 433
[3482] cgcgccgagg cgatacatcc gcgcg 25
[3483] <210> 434
[3484] <211> 86
[3485] <212> DNA
[3486] <213> 智人(Homo sapiens)
[3487] <400> 434
[3488] cggcgcacca gagtcccaag gagcccgacg gccgaggcgc ggattgagtc ccgtgtctgc 60
[3489] gtgggagggc gcagtcaggg caggcg 86
[3490] <210> 435
[3491] <211> 86
[3492] <212> DNA
[3493] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3494] <220>
[3495] <223> 合成
[3496] <400> 435
[3497] cggcgtatta gagttttaag gagttcgacg gtcgaggcgc ggattgagtt tcgtgtttgc 60
[3498] gtgggagggc gtagttaggg taggcg 86
[3499] <210> 436
[3500] <211> 19
[3501] <212> DNA
[3502] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3503] <220>
[3504] <223> 合成
[3505] <400> 436
[3506] gagttcgacg gtcgaggcg 19
[3507] <210> 437
[3508] <211> 17

[3509] <212> DNA
[3510] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3511] <220>
[3512] <223> 合成
[3513] <400> 437
[3514] actacgccct cccacgc 17
[3515] <210> 438
[3516] <211> 29
[3517] <212> DNA
[3518] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3519] <220>
[3520] <223> 合成
[3521] <400> 438
[3522] aggccacgga cggcggattg agtttcgtg 29
[3523] <210> 439
[3524] <211> 80
[3525] <212> DNA
[3526] <213> 智人(Homo sapiens)
[3527] <400> 439
[3528] cgccgcagtc cctcgcctca gcggcggaag gcgcggccac ctccccgccc tccagcggtg 60
[3529] gcccgcgggt ggtggagcgg 80
[3530] <210> 440
[3531] <211> 80
[3532] <212> DNA
[3533] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3534] <220>
[3535] <223> 合成
[3536] <400> 440
[3537] cgtcgtagtt tttcgtttta gcggcggaag gcgcggttat tttttcgttt tttagcggtg 60
[3538] gttcgcgggt ggtggagcgg 80
[3539] <210> 441
[3540] <211> 19
[3541] <212> DNA
[3542] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3543] <220>
[3544] <223> 合成
[3545] <400> 441
[3546] tcgttttagc ggcggaagg 19
[3547] <210> 442

[3548] <211> 14
[3549] <212> DNA
[3550] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3551] <220>
[3552] <223> 合成
[3553] <400> 442
[3554] ccgcgaacca ccgc 14
[3555] <210> 443
[3556] <211> 30
[3557] <212> DNA
[3558] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3559] <220>
[3560] <223> 合成
[3561] <400> 443
[3562] aggccacgga cggcgcggtt atttttcgt 30
[3563] <210> 444
[3564] <211> 78
[3565] <212> DNA
[3566] <213> 智人(Homo sapiens)
[3567] <400> 444
[3568] gcgggctgca gctggagggc gagcgcgccg cccgcacacc cacctcccgc actcccgccc 60
[3569] ctcgcgaggg cgtcccgc 78
[3570] <210> 445
[3571] <211> 78
[3572] <212> DNA
[3573] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3574] <220>
[3575] <223> 合成
[3576] <400> 445
[3577] gcgggttgta gttggagggc gagcgcgtcg ttcgtatatt tatttttcgt attttcgttt 60
[3578] ttcgcgaggg cgtttcgt 78
[3579] <210> 446
[3580] <211> 20
[3581] <212> DNA
[3582] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3583] <220>
[3584] <223> 合成
[3585] <400> 446
[3586] ggttgtagtt ggagggcgag 20

[3587] <210> 447
[3588] <211> 16
[3589] <212> DNA
[3590] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3591] <220>
[3592] <223> 合成
[3593] <400> 447
[3594] cgaaacgccc tcgcga 16
[3595] <210> 448
[3596] <211> 29
[3597] <212> DNA
[3598] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3599] <220>
[3600] <223> 合成
[3601] <400> 448
[3602] cgcgccgagg gcgcgtcgtt cgtatattt 29
[3603] <210> 449
[3604] <211> 121
[3605] <212> DNA
[3606] <213> 智人(Homo sapiens)
[3607] <400> 449
[3608] ccgatttcca gatctgcttg ctgtgcaagg agatgtgcgg ctcgccggcg ccgctctcct 60
[3609] ccaactcgtc cgcgtcgtcg tcctcctcgc agacgtccac gtcgtcgggg ggcggcggcg 120
[3610] g 121
[3611] <210> 450
[3612] <211> 121
[3613] <212> DNA
[3614] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3615] <220>
[3616] <223> 合成
[3617] <400> 450
[3618] tcgattttta gatttgtttg ttgtgtaagg agatgtgcgg ttcgtcggcg tcgttttttt 60
[3619] ttaattcgtt cgcgtcgtcg ttttttttcgt agacgtttac gtcgtcgggg ggcggcggcg 120
[3620] g 121
[3621] <210> 451
[3622] <211> 24
[3623] <212> DNA
[3624] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3625] <220>

[3626] <223> 合成

[3627] <400> 451

[3628] gttgtgtaag gagatgtgcg gttc 24

[3629] <210> 452

[3630] <211> 19

[3631] <212> DNA

[3632] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3633] <220>

[3634] <223> 合成

[3635] <400> 452

[3636] aaacgacgac gcgaacgaa 19

[3637] <210> 453

[3638] <211> 27

[3639] <212> DNA

[3640] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3641] <220>

[3642] <223> 合成

[3643] <400> 453

[3644] aggccacgga cgcgtcggcg tcgtttt 27

[3645] <210> 454

[3646] <211> 122

[3647] <212> DNA

[3648] <213> 智人(Homo sapiens)

[3649] <400> 454

[3650] ggccgagctc cggcggccac tccgcagtgc gctctcgcga gccggggccg cgaggcctcc 60

[3651] aacgcggttc cgcaccccta atgccccagg gcggtgagca ccccgcggtt ccccgcccgc 120

[3652] ct 122

[3653] <210> 455

[3654] <211> 122

[3655] <212> DNA

[3656] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3657] <220>

[3658] <223> 合成

[3659] <400> 455

[3660] ggtcgagttt cggcggttat ttcgtagtgc gttttcgcga gtcggggtcg cgaggttttt 60

[3661] aacgcggttt cgtattttta atgttttagg gcggtgagta tttcgcggtt tttcgttcgt 120

[3662] tt 122

[3663] <210> 456

[3664] <211> 21

[3665] <212> DNA
[3666] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3667] <220>
[3668] <223> 合成
[3669] <400> 456
[3670] cgtagtgcgt tttcgcgagt c 21
[3671] <210> 457
[3672] <211> 29
[3673] <212> DNA
[3674] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3675] <220>
[3676] <223> 合成
[3677] <400> 457
[3678] cgccctaaaa cattaaaaat acgaaaccg 29
[3679] <210> 458
[3680] <211> 27
[3681] <212> DNA
[3682] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3683] <220>
[3684] <223> 合成
[3685] <400> 458
[3686] cgcgccgagg gcgttaaaaa cctcgcg 27
[3687] <210> 459
[3688] <211> 160
[3689] <212> DNA
[3690] <213> 智人(Homo sapiens)
[3691] <400> 459
[3692] cggtggaaaa gacagctgag cccccacctc ccttcacatt ccagaaaagt gtctgaaagg 60
[3693] cccggggcgc ttcggggctt gccaagagac ggtgtttaga gaaagagcat aacgcgaagt 120
[3694] cacaatcgca ggaaactcgc agcagccccc catccccgcc 160
[3695] <210> 460
[3696] <211> 160
[3697] <212> DNA
[3698] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3699] <220>
[3700] <223> 合成
[3701] <400> 460
[3702] cggtggaaaa gatagttgag tttttatttt tttttatatt ttagaaaagt gtttgaaagg 60
[3703] ttcggggcgt ttcggggttt gttaagagac ggtgtttaga gaaagagtat aacgcgaagt 120

[3704] tataatcgta ggaaattcgt agtagttttt tattttcgtt 160

[3705] <210> 461

[3706] <211> 23

[3707] <212> DNA

[3708] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3709] <220>

[3710] <223> 合成

[3711] <400> 461

[3712] gtttcggggt ttgttaagag acg 23

[3713] <210> 462

[3714] <211> 32

[3715] <212> DNA

[3716] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3717] <220>

[3718] <223> 合成

[3719] <400> 462

[3720] actactacga atttcctacg attataactt cg 32

[3721] <210> 463

[3722] <211> 34

[3723] <212> DNA

[3724] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3725] <220>

[3726] <223> 合成

[3727] <400> 463

[3728] cgcgccgagg gcgttatact ctttctctaa acac 34

[3729] <210> 464

[3730] <211> 165

[3731] <212> DNA

[3732] <213> 智人(Homo sapiens)

[3733] <400> 464

[3734] ctgcagcctc cagcccggcc cgcgcggcga cccagtcccc tgtcgcccga atcttccacc 60

[3735] gctgcgaagc gtccccgggc gagcgccctg ctctccgcgc tgcgcggaag ccagagccgg 120

[3736] tcctcacagt gaactcgccc agccctgctc gcggctctct cgatt 165

[3737] <210> 465

[3738] <211> 165

[3739] <212> DNA

[3740] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3741] <220>

[3742] <223> 合成

[3743] <400> 465

[3744] ttgtagtttt tagttcggtt cgcgcggcga tttagttttt tgtcgttcga atttttatc 60

[3745] gttgcgaagc gttttcgggc gagcgttttg tttttcgcgt tgcgcggaag ttagagtcgg 120

[3746] tttttatagt gaattcgttt agttttgttc gcggtttttt cgatt 165

[3747] <210> 466

[3748] <211> 21

[3749] <212> DNA

[3750] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3751] <220>

[3752] <223> 合成

[3753] <400> 466

[3754] agtttttagt tcggttcgcg c 21

[3755] <210> 467

[3756] <211> 20

[3757] <212> DNA

[3758] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3759] <220>

[3760] <223> 合成

[3761] <400> 467

[3762] cccgaaaacg cttcgcaacg 20

[3763] <210> 468

[3764] <211> 33

[3765] <212> DNA

[3766] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3767] <220>

[3768] <223> 合成

[3769] <400> 468

[3770] aggccacgga cgcggcgatt tagtttttg tcg 33

[3771] <210> 469

[3772] <211> 144

[3773] <212> DNA

[3774] <213> 智人(Homo sapiens)

[3775] <400> 469

[3776] cgcacaatcg gctgggacaa ggcagggaag ctgtggcgac ctgcaggggt tcacaagccc 60

[3777] ggaggccgat ggggtttgtc agtgacacca gaggggaaaa gcctcacaga gcaggaacac 120

[3778] cccccgccgc caggtgctgg gtgc 144

[3779] <210> 470

[3780] <211> 144

[3781] <212> DNA

[3782] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3783] <220>

[3784] <223> 合成

[3785] <400> 470

[3786] cgtataatcg gttgggataa ggtagggaag ttgtggcgat ttgtaggggt ttataagttc 60

[3787] ggaggtcgat ggggtttgtt agtgatatta gaggggaaaa gttttataga gtaggaatat 120

[3788] ttttcgtcgt taggtgttgg gtgt 144

[3789] <210> 471

[3790] <211> 23

[3791] <212> DNA

[3792] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3793] <220>

[3794] <223> 合成

[3795] <400> 471

[3796] gataaggtag ggaagttgtg gcg 23

[3797] <210> 472

[3798] <211> 28

[3799] <212> DNA

[3800] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3801] <220>

[3802] <223> 合成

[3803] <400> 472

[3804] cctctaatat cactaacaaa ccccatcg 28

[3805] <210> 473

[3806] <211> 31

[3807] <212> DNA

[3808] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3809] <220>

[3810] <223> 合成

[3811] <400> 473

[3812] cgcgccgagg gacctccgaa cttataaacc c 31

[3813] <210> 474

[3814] <211> 97

[3815] <212> DNA

[3816] <213> 智人(Homo sapiens)

[3817] <400> 474

[3818] cggcatgagc gcggtgagct gcggcaacgg gaagctccgc cagtggctga tcgaccagat 60

[3819] cgacagcggc aagtaccccg ggctggtgtg ggagaac 97

[3820] <210> 475

[3821] <211> 97
[3822] <212> DNA
[3823] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3824] <220>
[3825] <223> 合成
[3826] <400> 475
[3827] cggtatgagc gcggtgagtt gcggtaacgg gaagtttcgt tagtggttga tcgattagat 60
[3828] cgatagcggt aagtatttcg ggttggtgtg ggagaat 97
[3829] <210> 476
[3830] <211> 19
[3831] <212> DNA
[3832] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3833] <220>
[3834] <223> 合成
[3835] <400> 476
[3836] cgcggtgagt tgcggtaac 19
[3837] <210> 477
[3838] <211> 30
[3839] <212> DNA
[3840] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3841] <220>
[3842] <223> 合成
[3843] <400> 477
[3844] cgaaatactt accgctatcg atctaatcga 30
[3845] <210> 478
[3846] <211> 31
[3847] <212> DNA
[3848] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3849] <220>
[3850] <223> 合成
[3851] <400> 478
[3852] aggccacgga cgcgggaagt ttcgttagtg g 31
[3853] <210> 479
[3854] <211> 64
[3855] <212> DNA
[3856] <213> 智人(Homo sapiens)
[3857] <400> 479
[3858] ggcagcccga actccggcgc gccaggtttt tccagccgcc gcgagcgccg ggagggaggg 60
[3859] cagc 64

[3860] <210> 480
[3861] <211> 64
[3862] <212> DNA
[3863] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3864] <220>
[3865] <223> 合成
[3866] <400> 480
[3867] ggtagttcga atttcggcgc gttaggtttt tttagtcgtc gcgagcgtcg ggagggaggg 60
[3868] tagt 64
[3869] <210> 481
[3870] <211> 20
[3871] <212> DNA
[3872] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3873] <220>
[3874] <223> 合成
[3875] <400> 481
[3876] ggtagttcga atttcggcgc 20
[3877] <210> 482
[3878] <211> 17
[3879] <212> DNA
[3880] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3881] <220>
[3882] <223> 合成
[3883] <400> 482
[3884] ctccctcccg acgctcg 17
[3885] <210> 483
[3886] <211> 32
[3887] <212> DNA
[3888] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3889] <220>
[3890] <223> 合成
[3891] <400> 483
[3892] cgcgccgagg cgttaggttt ttttagtcgt cg 32
[3893] <210> 484
[3894] <211> 163
[3895] <212> DNA
[3896] <213> 智人(Homo sapiens)
[3897] <400> 484
[3898] cgcagtccct cggcggcgac gcggagcgcg gccacccgtt ccgagagcgc acggcggcaa 60

[3899] ataaggccag gataggtggc tggctggcga cgggggcgcc tgcggcggcg cgcgctgctg 120

[3900] tccgtggtgt tggaaccacg ctctccgccc gctcccgggc gtc 163

[3901] <210> 485

[3902] <211> 163

[3903] <212> DNA

[3904] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3905] <220>

[3906] <223> 合成

[3907] <400> 485

[3908] cgtagttttt cggcggcgac gcggagcgcg gttattcgtt tcgagagcgt acggcggtaa 60

[3909] ataaggttag gataggtggt tggttggcga cgggggcgtt tgcggcggcg cgcgttgttg 120

[3910] ttcgtggtgt tggaattacg tttttcgttc gttttcgggc gtt 163

[3911] <210> 486

[3912] <211> 20

[3913] <212> DNA

[3914] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3915] <220>

[3916] <223> 合成

[3917] <400> 486

[3918] gtagtttttc ggcggcgacg 20

[3919] <210> 487

[3920] <211> 21

[3921] <212> DNA

[3922] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3923] <220>

[3924] <223> 合成

[3925] <400> 487

[3926] ccttatttac cgccgtacgc t 21

[3927] <210> 488

[3928] <211> 31

[3929] <212> DNA

[3930] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3931] <220>

[3932] <223> 合成

[3933] <400> 488

[3934] aggccacgga cgtctcgaaa cgaataaccg c 31

[3935] <210> 489

[3936] <211> 128

[3937] <212> DNA

[3938] <213> 智人(Homo sapiens)

[3939] <400> 489

[3940] cgcccggggc gtcgggaggg ggcccgcgcg ggtcgcgccc tgcctggcgg tgggaccagc 60

[3941] tatcctcggc gcccagcgca gcgcgccccc tcccgacgcg cggtcggggc cgcagtggtc 120

[3942] gccctgcg 128

[3943] <210> 490

[3944] <211> 128

[3945] <212> DNA

[3946] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3947] <220>

[3948] <223> 合成

[3949] <400> 490

[3950] cgttcggggc gtcgggaggg ggttcgcgcg ggtcgcgttt tgtttggcgg tgggattagt 60

[3951] tattttcggc gtttagcgta gcgcgttttt tttcgacgcg cggtcggggt cgtagtggtc 120

[3952] gttttgcg 128

[3953] <210> 491

[3954] <211> 19

[3955] <212> DNA

[3956] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3957] <220>

[3958] <223> 合成

[3959] <400> 491

[3960] ggtcgcgttt tgtttggcg 19

[3961] <210> 492

[3962] <211> 21

[3963] <212> DNA

[3964] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3965] <220>

[3966] <223> 合成

[3967] <400> 492

[3968] cgcgcgtcga aaaaaaacgc g 21

[3969] <210> 493

[3970] <211> 26

[3971] <212> DNA

[3972] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[3973] <220>

[3974] <223> 合成

[3975] <400> 493

[3976] cgcgccgagg gctacgctaa acgccg 26

[3977] <210> 494
[3978] <211> 153
[3979] <212> DNA
[3980] <213> 智人(Homo sapiens)
[3981] <400> 494
[3982] agctcgggaa cccgcgatac ccggccgggg gacgacaggg ggcgacaaac tgtaaggttt 60
[3983] tccctatgcc cgaccgtgca gaaggctgca gcgagggctg tgtgctcccg atcgcgcaca 120
[3984] gctggctgcg ggaaaggggc caggattgag acg 153
[3985] <210> 495
[3986] <211> 153
[3987] <212> DNA
[3988] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3989] <220>
[3990] <223> 合成
[3991] <400> 495
[3992] agttcgggaa ttcgcgatat tcggtcgggg gacgataggg ggcgataaat tgtaaggttt 60
[3993] tttttatgtt cgatcgtgta gaaggttgta gcgagggttg tgtgttttcg atcgcgtata 120
[3994] gttggttgcg ggaaaggggt taggattgag acg 153
[3995] <210> 496
[3996] <211> 23
[3997] <212> DNA
[3998] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3999] <220>
[4000] <223> 合成
[4001] <400> 496
[4002] cgatcgtgta gaaggttgta gcg 23
[4003] <210> 497
[4004] <211> 23
[4005] <212> DNA
[4006] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4007] <220>
[4008] <223> 合成
[4009] <400> 497
[4010] tttcccgcaa ccaactatac gcg 23
[4011] <210> 498
[4012] <211> 31
[4013] <212> DNA
[4014] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4015] <220>

[4016] <223> 合成

[4017] <400> 498

[4018] aggccacgga cggatcgaaa acacacaacc c 31

[4019] <210> 499

[4020] <211> 75

[4021] <212> DNA

[4022] <213> 智人(Homo sapiens)

[4023] <400> 499

[4024] gggccgcgcg gacctcggcg ggacccagcg ggcccgggcg ggcgcaccag ccgccctttg 60

[4025] tcctccgcct ccggg 75

[4026] <210> 500

[4027] <211> 75

[4028] <212> DNA

[4029] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4030] <220>

[4031] <223> 合成

[4032] <400> 500

[4033] gggtcgcgcg gatttcggcg ggatttagcg ggttcgggcg ggcgtattag tcgtttttg 60

[4034] tttttcgttt tcggg 75

[4035] <210> 501

[4036] <211> 19

[4037] <212> DNA

[4038] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4039] <220>

[4040] <223> 合成

[4041] <400> 501

[4042] cgggatttag cgggttcgg 19

[4043] <210> 502

[4044] <211> 26

[4045] <212> DNA

[4046] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4047] <220>

[4048] <223> 合成

[4049] <400> 502

[4050] cccgaaaacg aaaaacaaaa aacgac 26

[4051] <210> 503

[4052] <211> 25

[4053] <212> DNA

[4054] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4055] <220>
[4056] <223> 合成
[4057] <400> 503
[4058] cgcgccgagg ggcgggcgta ttagt 25
[4059] <210> 504
[4060] <211> 193
[4061] <212> DNA
[4062] <213> 智人(Homo sapiens)
[4063] <400> 504
[4064] gtctgcaaga gataaaaagc tagcccacga tccacccaca atcctcgtgt ccccggggtg 60
[4065] ccctcgcagt tgccaaacct acgggccgcg tttaggggaa gcctccgcgt cctggcggcc 120
[4066] aaaagaatgg gctccttcca gcttcccccc accggatacc acctgcaaat ctattgccag 180
[4067] aggcgcagct ccc 193
[4068] <210> 505
[4069] <211> 188
[4070] <212> DNA
[4071] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4072] <220>
[4073] <223> 合成
[4074] <400> 505
[4075] gtttgtaaga gataaaaagt tagtttacga tttatttata attttcgtgt tttcggggtg 60
[4076] ttttcgtagt tgttaaattt acgggtcgcg tttaggggaa gttttcgcgt tttggcggtt 120
[4077] aaaagaatgg gtttttttta gttttttttt atcggatatt atttgtaaat ttattgttag 180
[4078] aggcgtag 188
[4079] <210> 506
[4080] <211> 30
[4081] <212> DNA
[4082] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4083] <220>
[4084] <223> 合成
[4085] <400> 506
[4086] tcggggtgtt ttcgtagttg ttaaatttac 30
[4087] <210> 507
[4088] <211> 24
[4089] <212> DNA
[4090] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4091] <220>
[4092] <223> 合成
[4093] <400> 507

[4094] cattctttta accgccaaaa cgcg 24

[4095] <210> 508

[4096] <211> 27

[4097] <212> DNA

[4098] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4099] <220>

[4100] <223> 合成

[4101] <400> 508

[4102] aggccacgga cgcgggtcgc gtttagg 27

[4103] <210> 509

[4104] <211> 111

[4105] <212> DNA

[4106] <213> 智人(Homo sapiens)

[4107] <400> 509

[4108] gcggggtcct ggccccgcc agcccagccc cgatctcccg ggcagccttt gggcgccacc 60

[4109] tccggtcgcc cagagctgtc aagtggggac cttcccggag aggagccgcc g 111

[4110] <210> 510

[4111] <211> 111

[4112] <212> DNA

[4113] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4114] <220>

[4115] <223> 合成

[4116] <400> 510

[4117] gcggggtttt ggttttcgtt agtttagttt cgatttttcg ggtagttttt gggcgttatt 60

[4118] ttcggtcgtt tagagttgtt aagtggggat tttttcggag aggagtcgtc g 111

[4119] <210> 511

[4120] <211> 28

[4121] <212> DNA

[4122] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4123] <220>

[4124] <223> 合成

[4125] <400> 511

[4126] gggttttggt tttcgttagt ttagtttc 28

[4127] <210> 512

[4128] <211> 26

[4129] <212> DNA

[4130] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4131] <220>

[4132] <223> 合成

[4133] <400> 512
[4134] acaactctaa acgaccgaaa ataacg 26
[4135] <210> 513
[4136] <211> 34
[4137] <212> DNA
[4138] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4139] <220>
[4140] <223> 合成
[4141] <400> 513
[4142] aggccacgga cgcgattttt cgggtagttt ttgg 34
[4143] <210> 514
[4144] <211> 99
[4145] <212> DNA
[4146] <213> 智人(Homo sapiens)
[4147] <400> 514
[4148] cggcggtcgg agcccagcca gcggcttccc ggccgagatg cgcgctcagg aggcagccgc 60
[4149] aggtcgcgga gggcgggcgg cgctgccggg gtgtctgcg 99
[4150] <210> 515
[4151] <211> 99
[4152] <212> DNA
[4153] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4154] <220>
[4155] <223> 合成
[4156] <400> 515
[4157] cggcggtcgg agtttagtta gcggtttttc ggtcgagatg cgcgtttagg aggtagtcgt 60
[4158] aggtcgcgga gggcgggcgg cgttgtcggg gtgtttgcg 99
[4159] <210> 516
[4160] <211> 21
[4161] <212> DNA
[4162] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4163] <220>
[4164] <223> 合成
[4165] <400> 516
[4166] gcggtcggag tttagttagc g 21
[4167] <210> 517
[4168] <211> 24
[4169] <212> DNA
[4170] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4171] <220>

[4172] <223> 合成

[4173] <400> 517

[4174] acctacgact acctcctaaa cgcg 24

[4175] <210> 518

[4176] <211> 28

[4177] <212> DNA

[4178] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4179] <220>

[4180] <223> 合成

[4181] <400> 518

[4182] cgcgccgagg ggtttttcgg tcgagatg 28

[4183] <210> 519

[4184] <211> 99

[4185] <212> DNA

[4186] <213> 智人(Homo sapiens)

[4187] <400> 519

[4188] ggccagcagc cccagccgca gccccagcag cccttcctgc cgcccgcagc ctgtttcttt 60

[4189] gccacggccg cagccgcggc ggccgcagcc gccgcagcg 99

[4190] <210> 520

[4191] <211> 99

[4192] <212> DNA

[4193] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4194] <220>

[4195] <223> 合成

[4196] <400> 520

[4197] ggttagtagt tttagtcgta gttttagtag tttttttttgt cgttcgtagt ttgttttttt 60

[4198] gttacggtcg tagtcgcggc ggtcgtagtc gtcgtagcg 99

[4199] <210> 521

[4200] <211> 32

[4201] <212> DNA

[4202] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4203] <220>

[4204] <223> 合成

[4205] <400> 521

[4206] gtcgtagttt tagtagtttt ttttgtcgtt cg 32

[4207] <210> 522

[4208] <211> 16

[4209] <212> DNA

[4210] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4211] <220>
[4212] <223> 合成
[4213] <400> 522
[4214] cgaccgccgc gactac 16
[4215] <210> 523
[4216] <211> 34
[4217] <212> DNA
[4218] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4219] <220>
[4220] <223> 合成
[4221] <400> 523
[4222] aggccacgga cgcgaccgta acaaaaaaac aaac 34
[4223] <210> 524
[4224] <211> 69
[4225] <212> DNA
[4226] <213> 智人(Homo sapiens)
[4227] <400> 524
[4228] gggacccggg gacgcggggc gctcagccag gccccctcca gccgcgccgg ggccgtcccg 60
[4229] agccgcgcg 69
[4230] <210> 525
[4231] <211> 69
[4232] <212> DNA
[4233] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4234] <220>
[4235] <223> 合成
[4236] <400> 525
[4237] gggattcggg gacgcggggc gtttagttag gttttttta gtcgcgtcgg ggtcgtttcg 60
[4238] agtcgcgcg 69
[4239] <210> 526
[4240] <211> 17
[4241] <212> DNA
[4242] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4243] <220>
[4244] <223> 合成
[4245] <400> 526
[4246] gacgcggggc gtttagt 17
[4247] <210> 527
[4248] <211> 19
[4249] <212> DNA

[4250] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4251] <220>

[4252] <223> 合成

[4253] <400> 527

[4254] cgactcgaaa cgaccccga 19

[4255] <210> 528

[4256] <211> 32

[4257] <212> DNA

[4258] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4259] <220>

[4260] <223> 合成

[4261] <400> 528

[4262] cgcgccgagg acgcgactaa aaaaaaccta ac 32

[4263] <210> 529

[4264] <211> 152

[4265] <212> DNA

[4266] <213> 智人(Homo sapiens)

[4267] <400> 529

[4268] ggtgcacctg tccccacacg tccctcgccc acggagcccc aggcggcgtt acgcacaccc 60

[4269] aggatcgtgg atcagcctgc cccggcgtcg ggtgtccccg cggctctcac catctggaaa 120

[4270] aggaaggtcc gcgcgcagag agggaaatgg ac 152

[4271] <210> 530

[4272] <211> 152

[4273] <212> DNA

[4274] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4275] <220>

[4276] <223> 合成

[4277] <400> 530

[4278] ggtgtatttg tttttatacg tttttcgttt acggagtttt aggcggcgtt acgtatattt 60

[4279] aggatcgtgg attagtttgt ttcggcgtcg ggtgttttcg cggtttttat tatttggaaa 120

[4280] aggaaggttc gcgcgtagag agggaaatgg at 152

[4281] <210> 531

[4282] <211> 21

[4283] <212> DNA

[4284] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4285] <220>

[4286] <223> 合成

[4287] <400> 531

[4288] ggagttttag gcggcgttac g 21

[4289] <210> 532
[4290] <211> 18
[4291] <212> DNA
[4292] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4293] <220>
[4294] <223> 合成
[4295] <400> 532
[4296] accgcgaaaa cacccgac 18
[4297] <210> 533
[4298] <211> 31
[4299] <212> DNA
[4300] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4301] <220>
[4302] <223> 合成
[4303] <400> 533
[4304] aggccacgga cgcgccgaaa caaactaatc c 31
[4305] <210> 534
[4306] <211> 138
[4307] <212> DNA
[4308] <213> 智人(Homo sapiens)
[4309] <400> 534
[4310] gggcccgcgc ggccccacgg tggtccagtt tacactcggg ccccgcactc ctgaagttcc 60
[4311] gcgcgggagg agaagggcgt ccctttcgca gctcgggcgc cgggtgcgcc gcgctgccac 120
[4312] ctggtggccg cagtggcc 138
[4313] <210> 535
[4314] <211> 138
[4315] <212> DNA
[4316] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4317] <220>
[4318] <223> 合成
[4319] <400> 535
[4320] gggttcgcgc ggttttacgg tggtttagtt tatattcggg tttcgtattt ttgaagtttc 60
[4321] gcgcgggagg agaagggcgt ttttttcgta gttcgggcgt cgggtgcgtc gcgttgttat 120
[4322] ttggtggtcg tagtggtt 138
[4323] <210> 536
[4324] <211> 19
[4325] <212> DNA
[4326] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4327] <220>

[4328] <223> 合成

[4329] <400> 536

[4330] gttcgcgcgg ttttacggt 19

[4331] <210> 537

[4332] <211> 17

[4333] <212> DNA

[4334] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4335] <220>

[4336] <223> 合成

[4337] <400> 537

[4338] cgcccttctc ctcccgc 17

[4339] <210> 538

[4340] <211> 31

[4341] <212> DNA

[4342] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4343] <220>

[4344] <223> 合成

[4345] <400> 538

[4346] cgcgccgagg cgcgaaactt caaaaatacg a 31

[4347] <210> 539

[4348] <211> 172

[4349] <212> DNA

[4350] <213> 智人(Homo sapiens)

[4351] <400> 539

[4352] tgcggggctg cttccccgcg tcctccgggc ccgggccgcc ctcctcccgc acagtgcgga 60

[4353] gcagggaggc cccgcgcctc gaccacccgc gcccgagcgt ccgcgcctcc tcctccgctc 120

[4354] tgcaggcggg gaccgcccgg cgctcggcac ccggcagcgc ggccccctcc ag 172

[4355] <210> 540

[4356] <211> 172

[4357] <212> DNA

[4358] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4359] <220>

[4360] <223> 合成

[4361] <400> 540

[4362] tgcggggttg ttttttcgcg tttttcgggt tcgggtcgtt tttttttcgt atagtgcgga 60

[4363] gtagggaggt ttcgcgtttc gattattcgc gttcgagcgt tcgcgttttt tttttcgttt 120

[4364] tgtaggcggg gatcgttcgg cgttcggtat tcggtagcgc ggtttttttt ag 172

[4365] <210> 541

[4366] <211> 21

[4367] <212> DNA
[4368] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4369] <220>
[4370] <223> 合成
[4371] <400> 541
[4372] ggaggtttcg cgtttcgatt a 21
[4373] <210> 542
[4374] <211> 18
[4375] <212> DNA
[4376] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4377] <220>
[4378] <223> 合成
[4379] <400> 542
[4380] cgaacgatcc ccgcctac 18
[4381] <210> 543
[4382] <211> 27
[4383] <212> DNA
[4384] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4385] <220>
[4386] <223> 合成
[4387] <400> 543
[4388] aggccacgga cgattcgcgt tcgagcg 27
[4389] <210> 544
[4390] <211> 67
[4391] <212> DNA
[4392] <213> 智人(Homo sapiens)
[4393] <400> 544
[4394] gggcccagcg cgggctcctc gcggtagtgg ccgcagctcg ggaagctcgg gggcgcggtg 60
[4395] tcctcgc 67
[4396] <210> 545
[4397] <211> 67
[4398] <212> DNA
[4399] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4400] <220>
[4401] <223> 合成
[4402] <400> 545
[4403] gggtttagcg cgggtttttc gcggtagtgg tcgtagttcg ggaagttcgg gggcgcggtg 60
[4404] ttttcgt 67
[4405] <210> 546

[4406] <211> 20
[4407] <212> DNA
[4408] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4409] <220>
[4410] <223> 合成
[4411] <400> 546
[4412] ggtttagcgc gggtttttcg 20
[4413] <210> 547
[4414] <211> 18
[4415] <212> DNA
[4416] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4417] <220>
[4418] <223> 合成
[4419] <400> 547
[4420] ccccgaactt cccgaact 18
[4421] <210> 548
[4422] <211> 28
[4423] <212> DNA
[4424] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4425] <220>
[4426] <223> 合成
[4427] <400> 548
[4428] aggccacgga cggcggtagt ggtcgtag 28
[4429] <210> 549
[4430] <211> 92
[4431] <212> DNA
[4432] <213> 智人(Homo sapiens)
[4433] <400> 549
[4434] ggccgcgacc cctccccgct gacctcactc gagccgccgc ctggcgcaga tataagcggc 60
[4435] ggcccatctg aagagggctc ggcaggcgcc cg 92
[4436] <210> 550
[4437] <211> 92
[4438] <212> DNA
[4439] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4440] <220>
[4441] <223> 合成
[4442] <400> 550
[4443] ggtcgcgatt ttttttcgtt gattttattc gagtcgtcgt ttggcgtaga tataagcggc 60
[4444] ggtttatttg aagagggttc ggtaggcgtt cg 92

[4445] <210> 551
[4446] <211> 26
[4447] <212> DNA
[4448] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4449] <220>
[4450] <223> 合成
[4451] <400> 551
[4452] ttttcgttga ttttattcga gtcgtc 26
[4453] <210> 552
[4454] <211> 22
[4455] <212> DNA
[4456] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4457] <220>
[4458] <223> 合成
[4459] <400> 552
[4460] gaaccctctt caaataaacc gc 22
[4461] <210> 553
[4462] <211> 32
[4463] <212> DNA
[4464] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4465] <220>
[4466] <223> 合成
[4467] <400> 553
[4468] aggccacgga cgcgtttggc gtagatataa gc 32
[4469] <210> 554
[4470] <211> 104
[4471] <212> DNA
[4472] <213> 智人(Homo sapiens)
[4473] <400> 554
[4474] gagccggagt cgcggtggcc gcctcagcgc catgtcgagg gttgctgagg ggccagcggc 60
[4475] agcgcggcgc ggcttgtagt ccccgcgcgc atgcgcccag cctg 104
[4476] <210> 555
[4477] <211> 104
[4478] <212> DNA
[4479] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4480] <220>
[4481] <223> 合成
[4482] <400> 555
[4483] gagtcggagt cgcggtggtc gttttagcgt tatgtcgagg gttgttgagg ggttagcggt 60

[4484] agcgcggcgc ggtttgtagt tttcgcgcgt atgcgtttag tttg 104

[4485] <210> 556

[4486] <211> 22

[4487] <212> DNA

[4488] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4489] <220>

[4490] <223> 合成

[4491] <400> 556

[4492] tggtcgtttt agcgttatgt cg 22

[4493] <210> 557

[4494] <211> 19

[4495] <212> DNA

[4496] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4497] <220>

[4498] <223> 合成

[4499] <400> 557

[4500] cgaaaactac aaaccgcgc 19

[4501] <210> 558

[4502] <211> 26

[4503] <212> DNA

[4504] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4505] <220>

[4506] <223> 合成

[4507] <400> 558

[4508] aggccacgga cgccgcgcta ccgcta 26

[4509] <210> 559

[4510] <211> 24

[4511] <212> DNA

[4512] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4513] <220>

[4514] <223> 合成

[4515] <400> 559

[4516] cgcgccgagg ccgcgctacc gcta 24

[4517] <210> 560

[4518] <211> 100

[4519] <212> DNA

[4520] <213> 智人(Homo sapiens)

[4521] <400> 560

[4522] ggcccggggc cgcctgggcc cctaggggct ggacgtcaac ctgttagata gagggcgtgg 60

[4523] gacccccccgc aggcggctgc tcggacgacc gcatccggag 100

[4524] <210> 561

[4525] <211> 100

[4526] <212> DNA

[4527] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4528] <220>

[4529] <223> 合成

[4530] <400> 561

[4531] ggttcggggt cgtttgggtt tttaggggtt ggacgttaat ttgttagata gagggcgtgg 60

[4532] gatttttcgt aggcggttgt tcggacgatc gtattcggag 100

[4533] <210> 562

[4534] <211> 24

[4535] <212> DNA

[4536] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4537] <220>

[4538] <223> 合成

[4539] <400> 562

[4540] cgttaatttg ttagatagag ggcg 24

[4541] <210> 563

[4542] <211> 17

[4543] <212> DNA

[4544] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4545] <220>

[4546] <223> 合成

[4547] <400> 563

[4548] tccgaacaac cgcctac 17

[4549] <210> 564

[4550] <211> 27

[4551] <212> DNA

[4552] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4553] <220>

[4554] <223> 合成

[4555] <400> 564

[4556] aggccacgga cgcgaaaaat cccacgc 27

[4557] <210> 565

[4558] <211> 117

[4559] <212> DNA

[4560] <213> 智人(Homo sapiens)

[4561] <400> 565

[4562] ccgtgggcgc ggacagctgc cgggagcggc aggcgtctcg atcggggacg caggcacttc 60
[4563] cgtccctgca gagcatcaga cgcgtctcgg gacactgggg acaacatctc ctccgcg 117
[4564] <210> 566
[4565] <211> 117
[4566] <212> DNA
[4567] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4568] <220>
[4569] <223> 合成
[4570] <400> 566
[4571] tcgtgggcgc ggatagttgt cgggagcggt aggcgtttcg atcggggacg taggtatttt 60
[4572] cgtttttgta gagtattaga cgcgtttcgg gatattgggg ataatatttt tttcgcg 117
[4573] <210> 567
[4574] <211> 18
[4575] <212> DNA
[4576] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4577] <220>
[4578] <223> 合成
[4579] <400> 567
[4580] gttgtcggga gcggtagg 18
[4581] <210> 568
[4582] <211> 21
[4583] <212> DNA
[4584] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4585] <220>
[4586] <223> 合成
[4587] <400> 568
[4588] ccaatatccc gaaacgcgtc t 21
[4589] <210> 569
[4590] <211> 25
[4591] <212> DNA
[4592] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4593] <220>
[4594] <223> 合成
[4595] <400> 569
[4596] cgcgccgagg gcgtttcgat cgggg 25
[4597] <210> 570
[4598] <211> 109
[4599] <212> DNA
[4600] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[4601] <220>
[4602] <223> 合成
[4603] <400> 570
[4604] ttagcgggcc gggcgggga tcgggggtta ggggtggagt ccgccaaagg cccaaaggtg 60
[4605] atggtcatcg agatggagct acgaaaggat gagcagagcc cggagctcc 109
[4606] <210> 571
[4607] <211> 109
[4608] <212> DNA
[4609] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4610] <220>
[4611] <223> 合成
[4612] <400> 571
[4613] ttagcgggtc gggcgggga tcgggggtta ggggtggagt tcgttaaagg tttaaaggtg 60
[4614] atggttatcg agatggagtt acgaaaggat gagtagagtt cggagtttt 109
[4615] <210> 572
[4616] <211> 21
[4617] <212> DNA
[4618] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4619] <220>
[4620] <223> 合成
[4621] <400> 572
[4622] ggttaggggt ggagttcgtt a 21
[4623] <210> 573
[4624] <211> 24
[4625] <212> DNA
[4626] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4627] <220>
[4628] <223> 合成
[4629] <400> 573
[4630] actccgaact ctactcatcc tttc 24
[4631] <210> 574
[4632] <211> 31
[4633] <212> DNA
[4634] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4635] <220>
[4636] <223> 合成
[4637] <400> 574
[4638] cgcgccgagg cgtaactcca tctcgataac c 31
[4639] <210> 575

[4640] <211> 116
[4641] <212> DNA
[4642] <213> 智人(Homo sapiens)
[4643] <400> 575
[4644] aaggcgccgg cggctctcag taaaagcgaa tgtagccttt gtacttccga cctctcaatg 60
[4645] gtgaaatgag ctaatcacag gcccaccccg cggagtggga cgggagattc aatgag 116
[4646] <210> 576
[4647] <211> 116
[4648] <212> DNA
[4649] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4650] <220>
[4651] <223> 合成
[4652] <400> 576
[4653] aaggcgtcgg cggtttttag taaaagcgaa tgtagttttt gtattttcga ttttttaatg 60
[4654] gtgaaatgag ttaattatag gtttatttcg cggagtggga cgggagattt aatgag 116
[4655] <210> 577
[4656] <211> 22
[4657] <212> DNA
[4658] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4659] <220>
[4660] <223> 合成
[4661] <400> 577
[4662] tcggcggttt ttagtaaaag cg 22
[4663] <210> 578
[4664] <211> 19
[4665] <212> DNA
[4666] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4667] <220>
[4668] <223> 合成
[4669] <400> 578
[4670] aaatctcccg tcccactcc 19
[4671] <210> 579
[4672] <211> 36
[4673] <212> DNA
[4674] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4675] <220>
[4676] <223> 合成
[4677] <400> 579
[4678] cgcgccgagg cgcgaaataa acctataatt aactca 36

[4679] <210> 580
[4680] <211> 119
[4681] <212> DNA
[4682] <213> 智人(Homo sapiens)
[4683] <400> 580
[4684] gcctttgccc cggtttttgg cgcgggagga ctttcgaccc cgacttcggc cgctcatggt 60
[4685] ggcggcggag gcagcttcaa agacacgctg tgaccctgcg gctcctgacg ccagctctc 119
[4686] <210> 581
[4687] <211> 119
[4688] <212> DNA
[4689] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4690] <220>
[4691] <223> 合成
[4692] <400> 581
[4693] gtttttgttt cggtttttgg cgcgggagga ttttcgattt cgatttcggt cgtttatggt 60
[4694] ggcggcggag gtagttttaa agatacgttg tgattttgcg gtttttgacg ttagttttt 119
[4695] <210> 582
[4696] <211> 19
[4697] <212> DNA
[4698] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4699] <220>
[4700] <223> 合成
[4701] <400> 582
[4702] tttgtttcgg tttttggcg 19
[4703] <210> 583
[4704] <211> 17
[4705] <212> DNA
[4706] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4707] <220>
[4708] <223> 合成
[4709] <400> 583
[4710] cgccaccata aacgacc 17
[4711] <210> 584
[4712] <211> 12
[4713] <212> DNA
[4714] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4715] <220>
[4716] <223> 合成
[4717] <400> 584

[4718] aggccacgga cg 12
[4719] <210> 585
[4720] <211> 107
[4721] <212> DNA
[4722] <213> 智人(Homo sapiens)
[4723] <400> 585
[4724] gcctcggggc ccggggactc acaattacgg gcagagaaca catagtgaag agcacggtca 60
[4725] tcagcgccag cagcaggagg tgatccagct cctccagggg ctgaggg 107
[4726] <210> 586
[4727] <211> 107
[4728] <212> DNA
[4729] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4730] <220>
[4731] <223> 合成
[4732] <400> 586
[4733] gtttcggggt tcggggattt ataattacgg gtagagaata tatagtgaag agtacggtta 60
[4734] ttagcgttag tagtaggagg tgatttagtt tttttagggg ttgaggg 107
[4735] <210> 587
[4736] <211> 24
[4737] <212> DNA
[4738] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4739] <220>
[4740] <223> 合成
[4741] <400> 587
[4742] gggttcgggg atttataatt acgg 24
[4743] <210> 588
[4744] <211> 32
[4745] <212> DNA
[4746] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4747] <220>
[4748] <223> 合成
[4749] <400> 588
[4750] ctaaatcacc tcctactact aacgctaata ac 32
[4751] <210> 589
[4752] <211> 35
[4753] <212> DNA
[4754] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[4755] <220>
[4756] <223> 合成

[4757] <400> 589

[4758] cgcgccgagg ccgtactctt cactatatat tctct 35

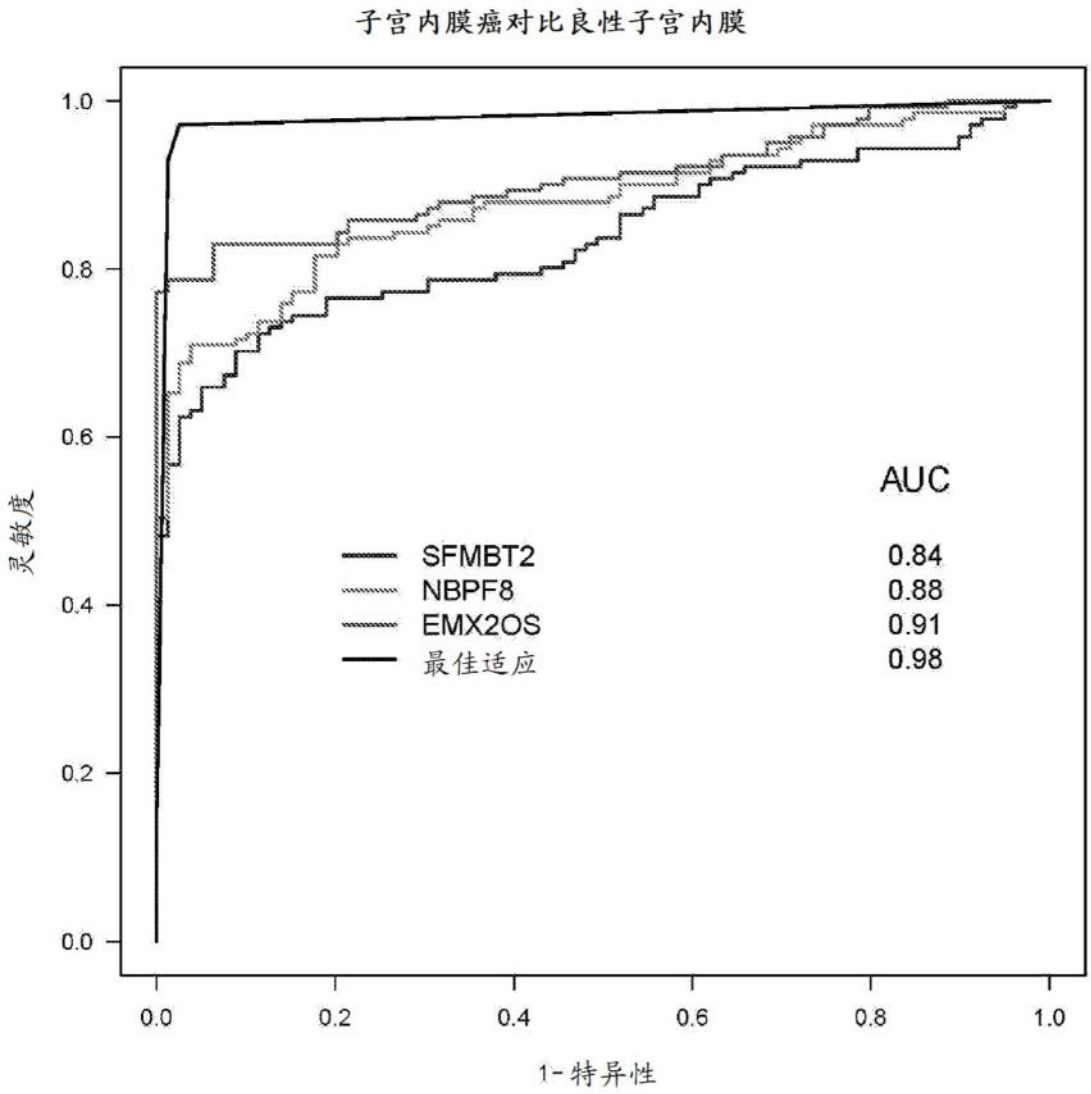

子宫内膜癌对比良性子宫内膜
灵敏度
1-特异性
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
AUC
SFMBT2 0.84
NBPF8 0.88
EMX2OS 0.91
最佳适应 0.98

图1

1. AGRN
2. AIM1
3. AKR7A3
4. C17orf107
5. DIDO1
6. EMX2OS
7. FKBP11
8. GDF7
9. JSRP1
10. LHFPL2
11. LOC100129726
12. LRRC41
13. LRRC8D
14. MAX.chr10.2262
15. MAX.chr14.1030
16. MAX.chr7.10462
17. MAX.chr7.10462B
18. MDFI
19. OBSCN
20. RHBDL1
21. SEPT9
22. SFMBT2
23. SPDYA
24. ST3GAL2
25. VILL
26. ZNF323
27. SLC13A5
28. ZMIZ1
29. MAX.chr8.1451
30. C8orf73
31. KBTBD11
32. LOC100192379
33. TRIM71
34. LOC440925
35. ARL5C
36. STX16
37. ITPKA
38. IRF4
39. CNTN4
40. GRIN2A
41. NOTCH3
42. PAX1
43. ZNF521
44. VSX1
45. CRHR2
46. FAM19A5
47. ASCL1
48. GLT1D1
49. T
50. CAPN2
51. RYR2_F
52. SIM2
53. TRH
54. JAM3
55. BARX1
56. ZNF671
57. TSPYL5
58. MPZ_5554
59. CXCL12
60. PTGDR

AGRN
>hg19_dna 范围=chr1:975957-976046 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGGCTGCGAGCACGGCAAGGTCTCTCAGGCTTGTGGACGTGGGTACGGGCGTCTCGGCACCCTGAGCTTTCTCCCCTACCCGCCCCAGCG
(SEQ ID NO:289)
BST:
CGGTTGCGACTACGGTAAGGTTTTTTAGGTTTGTGGACGTGGGTACGGGCGTTTCGGTATTTTGAGTTTTTTTTTTTTATTCGTTTTAGCG
(SEQ ID NO:290)
AGRN_FP CGTTGCGAGTACGGTAAGGTTT (SEQ ID NO:291)
AGRN_RP AAAACTCAAAATACCGAAACGCC (SEQ ID NO:292)
AGRN_Pb_A1 CGCGCCGAGG CCGTACCCACGTCCA/3C6/ (SEQ ID NO:293)

图2

AIM1
>hg19_dna 范围=chr6:106960288-106960380 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGCGGACGCCGAGCTCCCTGAGAGCGCTGCCAGGGACGACGCGGTGTTCGACGACGAGGTGGCGCCAAACGCGGCCAGCGATAACGCCTCGGC
(SEQ ID NO:294)

BST:
CGCGGACGTCGAGTTTTTTGAGAGCGTTGTTAGGGACGACGCGGTGTTCGACGACGAGGTGGCGTTAAACGCGGTTAGCGATAACGTTTCGGT
(SEQ ID NO:295)
AIM1_FP TTGAGAGCGTTGTTAGGGACGAC (SEQ ID NO:296)
AIM1_RP CGCGTTTAACGCCCACCTC (SEQ ID NO:297)
AIM1_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGTCGTCGAACACCG/3C6/(SEQ ID NO:298)

AKR7A3
>hg19_dna 范围=chr1:19615293-19615389 5'垫=0 3'垫=0 链=+
GAGACGGGCTCGGGCCCCGCCCACCGGCGGGTGCAGCTGAGGGCGCGGCCGAAGGTGCCCGACGCCGCCCACGAGCTCGACTCCACGCTCGGCT
ACT (SEQ ID NO:299)

BST:
GAGACGGGTTCGGGTTTCGTTTATCGGCGGGTGTAGTTGAGGGCGCGGTCGAAGGTGTTCGACGTCGTTTACGAGTTCGATTTTACGTTCGGTT
ATT (SEQ ID NO:300)
AKR7A3_FP CGGGTTTCGTTTATCGGCGG (SEQ ID NO:301)
AKR7A3_RP AACGTAAAATCGAACTCGTAAACGAC (SEQ ID NO:302)
AKR7A3_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGTCGAACACCTTCGAC/3C6/ (SEQ ID NO:303)

C17orf107
>hg19_dna 范围=chr17:4802690-4802828 5'垫=0 3'垫=0 链=+
GGCGGGGCTTAGGGGACGAGGTTAGTACGAAGCCCCACCCCGACCCGGGCTGCACCGCCCCCTCCGCGCTTACGTGGCGCAGCCGCGGGGACAT
GGCGTGGGTCGTCGGCGTCCGCTGGGACACGTTGAGCACGATGAC (SEQ ID NO:304)

BST:
GGCGGGGTTTAGGGGACGAGGTTAGTACGAAGTTTTATTTCGATTCGGGTTGTATCGTTTTTTTCGCGTTTACGTGGCGTAGTCGCGGGGATAT
GGCGTGGGTCGTCGGCGTTCGTTGGGATACGTTGAGTACGATGAT (SEQ ID NO:305)

C17orf107_FP CGAAGTTTTATTTCGATTCGGGTTGTATCG (SEQ ID NO:306)
C17orf107_RP CCACGCCATATCCCCGC (SEQ ID NO:307)
C17orf107_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGACTACGCCACGTAAA/3C6/ (SEQ ID NO:308)

DIDO1
>hg19_dna 范围=chr20:61560628-61560728 5'垫=0 3'垫=0 链=+
GCCGAGGCCACCGGGCAGCGTCCAGGTCTCGGCCTTTGGGAGGGGAGCAGCGGGGGAGGGGCACGGGGAGGGGCGAGGGCGGGGCGCGCCTGGG
CCTCGGC (SEQ ID NO:309)

BST:
GCCGAGGTTATCGGGTAGCGTTTAGGTTTCGGTTTTTGGGAGGGGAGTAGCGGGGGAGGGGTACGGGGAGGGGCGAGGGCGGGGCGCGTTTGGG
TTTCGGT (SEQ ID NO:310)

DIDO1_FP AGGTTATCGGGTAGCGTTTAGG (SEQ ID NO:311)
DIDO1_RP CGTACCCCTCCCCCGCTAC (SEQ ID NO:312)
DIDO1_Pb_A1 CGCGCCGAGG GTTTCGGTTTTTGGGAGG/3C6/ (SEQ ID NO:313)

EMX2OS
>hg19_dna 范围=chr10:119294950-119295039 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGCTGTGAGTCGCCCACGCGAGCGACGTGGGGATACGGGGCGCACGGAGTCTCAGCTGCCGCCACGCAGCGCTTGCCCTGCCCGAGCTTC
(SEQ ID NO:314)

BST:
CGTTGTGAGTCGTTTACGCGAGCGACGTGGGGATACGGGGCGTACGGAGTTTTAGTTGTCGTTACGTAGCGTTTGTTTTGTTCGAGTTTT
(SEQ ID NO:315)

EMX2OS_FP GTCGTTTACGCGAGCGACG (SEQ ID NO:316)
EMX2OS_RP CTCGAACAAAACAAACGCTACGTAAC (SEQ ID NO:317)
EMX2OS_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGACAACTAAAACTCCGTACG/3C6/ (SEQ ID NO:318)

图2(续)

FKBP11
>hg19_dna 范围=chr12:49319059-49319168 5'垫=0 3'垫=0 链=+
TGAGGGTCCGGACTATCTCCTCACCAGGGTCTCCACTTGGAGGGTCCGGACGGGACTTTCGGTTTCGAGCCCAGCCTCAGCCCCGGCACACCGCC
GCACTGAGCAGCAGCA (SEQ ID NO:319)

BST:
TGAGGGTCGGGATTATTTTTTTATTAGGGTTTTTATTTGGAGGGTTCGGACGGGATTTTCGGTTTCGAGTTTAGTTTTAGTTCGGTATATCGTC
GTATTGAGTAGTAGTA (SEQ ID NO:320)

FKBP11_FP GGTTTTTATTTGGAGGGTTCGGAC (SEQ ID NO:321)
FKBP11_RP ACTACTCAATACGACGATATACCGAAC (SEQ ID NO:322)
FKBP11_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGGCATTTTCGGTTTCGA/3C6/ (SEQ ID NO:323)

GDF7
>hg19_dna 范围=chr2:20866007-20866135 5'垫=0 3'垫=0 链=+
GCCATCCCCGGGCTCTGCGCCGTCCGCTCTCCCGGCTCCTGGCCGCTCACGCACACAGCCGGTAGCTGGTTTTCGTTAGCCGCTGCCCTCGCCC
AGAACGCCGGTCGAAGGTCGCCAGTTGGACGCACA (SEQ ID NO:324)

BST:
GTTATTTCGGGGTTTTGCGTCGTTCGTTTTTTCGGTTTTTGGTCGTTTACGTATATAGTCGGTAGTTGGTTTTCGTTAGTCGTTGTTTTCGTTT
AGAACGCCGGTCGAAGGTCGTTAGTTGGACGTATA (SEQ ID NO:325)

GDF7_FP TCGTTCGTTTTTTCGGTTTTTGGTC (SEQ ID NO:326)
GDF7_RP CCTTCTAAACGAAAACAACGACTAACGAAA (SEQ ID NO:327)
GDF7_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGTTTACGTATATAGTCGGTAGT/3C6/ (SEQ ID NO:328)

JSRP1
>hg19_dna 范围=chr19:2253227-2253345 5'垫=0 3'垫=0 链=-
GTAGCGTTCTGCCGCCTTTCCCCTGCGCCCTCTCTGGGGACCGCTCAGCTCGTGAGCGCCCCCCGGGGGCACTCCTGCGACCCCTCCCTTGCTA
CGGCCCTCCTACAGCCCCGTGGTCGG (SEQ ID NO:329)

GTAGCGTTTTGTCGTTTTTTTTTTTGCGTTTTTTTTGGGGATCGTTTAGTTCGTGAGCGTTTTTCGGGGGTATTTTTGCGATTTTTTTTTTGTTA
GGGGTTTTTTATAGTTCGTGGTCGG (SEQ ID NO:330)

JSRP1_FP TAGCGTTTTGTCGTTTTTTTTTTGCGT (SEQ ID NO:331)
JSRP1_RP CGCAAAAATACCCCCGAAAAAC (SEQ ID NO:332)
JSRP1_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGCTCACGAACTAAACGATCC/3C6/ (SEQ ID NO:333)

LHFPL2
>hg19_dna 范围=chr5:77806193-77806301 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGCACCCACAGCACCCCCTCCCCCCTCACCTAGGGGAGAGGGAGGGCGGTTAGCAGCCCCGCCAGCCCCCCCCCCCCCCTTCCCCCCCCCCAGCG
ACACCGTCCAAGTCC (SEQ ID NO:334)

BST:
CGGATTTACAGTATCGTTTCCCGTTTTATTTAGGGGAGAGGGAGGGCGGTTAGTAGCGTCGTTAGGTTTCGTTTCGTTTTTTCGTCCCCTAGCG
ATATCGTTTAAGTTT (SEQ ID NO:335)

LHFPL2_FP GGAGGGCGGTTAGTAGCGT (SEQ ID NO:336)
LHFPL2_RP ACGATATCGCTACGCGACGAAA (SEQ ID NO:337)
LHFPL2_Pb_A5 AGGCCACGGACG TCGTTAGGTTTCGTTTCGT/3C6/ (SEQ ID NO:338)

LOC100129726
>hg19_dna 范围=chr2:43452148-43452235 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGACGGCAAGCCCCAGAAGCTCAGGCTGTGGTGCAACTTGGGCCGCGGCTCCCCCGGCAAGCCCAGGTCCAACCCATCCCCCCTCCCA
(SEQ ID NO:339)
BST:
CGACGGGAAGTTCGAGAAGTTGAGGTTGTGGTGTAATTTGGGTCGCGGTTTTCGCGGGAAGTTTAGGTGTAACGTATCGCGCGTGTTA
(SEQ ID NO:340)

LOC100129726_FP GTTGTGGTGTAATTTGGGTCGC(SEQ ID NO:341)
LOC100129726_RP ACACGCGCGATACGTTACAC (SEQ ID NO:342)
LOC100129726_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGGTTTTCGCCGGGA/3C6/(SEQ ID NO:343)

LRRC41
>hg19_dna 范围=chr1:46768830-46768913 5'垫=0 3'垫=0 链=+
GCTCACCCCCCCCCCCCCACACGCTCGAACAGGGCCGGGGGGAGCGTTGGGGCCCGAGGCCGAGCTCTTCGCTGCCCCCCCCTCCCG
(SEQ ID NO:344)
BST:
GTTTATCGTTCGTTCGTATAGTTCGAATAGGGCCGGGGGGAGCGTTGGGGTTCGAGGTCGAGTTTTTCGTTGGCGTCGTTTTTCG
(SEQ ID NO:345)

图2(续)

```
IRRC41_FP       CGTTCGTATAGTTCGAATAGGGCG (SEQ ID NO:346)
IRRC41_RP       CGACGCCAACGAAAAACTC (SEQ ID NO:347)
IRRC41_Pb_A5    ACGCCACCGACG CGACCTCGAACCCCAA/3C6/ (SEQ ID NO:348)
```

```
IRRC8D
>hg19_dna 范围=chr1:90308856-90308965 5'垫=0 3'垫=0 链=+ 重复屏蔽=无
CGGCCGACGAACCGTCGAGTCCATTGATCTAGGTACTTGTGGGGAGGGGAGAACCCGAGCACCACCTCCAAACCGAAGCGCTGTGAGCCGAGCCG
GCGGGCGGGTGGCTGG (SEQ ID NO:349)

BST:
CGGCCGACGAACCGTCGAGTTTATTGATTTAGGTATTTGTGGGGAGGGGAGAATTCGACTACTACTTGTAAACCGAAGCGTTGTGAGCCGAGCCG
GCGGGCGGGTGGTTGG (SEQ ID NO:350)

IRRC8D_FP       CGAGAATTCGAGTACTAGTTGTAAACGGA (SEQ ID NO:351)
IRRC8D_RP       CAACCACCCGCCCCGCC (SEQ ID NO:352)
IRRC8D_Pb_A1    CGCGCCCAGG CCGCTCGCTCACAA/3C6/ (SEQ ID NO:353)
```

```
MAX.chr10.2262
>hg19_dna 范围=chr10:22624470-22624553 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CTTGTCTACGTGCCATCGTCATTTCTTAACCGCGGTTTTACGAAATGCAAATTTCCCCCTGGCCTTCCTCCTCCGCGGCCGTCGACC
(SEQ ID NO:354)
BST:
TTTGTTTACGTGGTATCGTTATTTTTTAATCGCGGTTTTACGAAATGTAAATTTTTTTTTGGTTTTTTTTTTTCGCGGTCGTCGATT
(SEQ ID NO:355)
MAX.chr10.2262_FP       TGTTTACGTGGTATCGTTATTTTTTAATCGC(SEQ ID NO:356)
MAX.chr10.2262_RP       CGACGACCGCGAAAAAAAAAAACC(SEQ ID NO:357)
MAX.chr10.2262_Pb_A5    ACGCCACGGACG CGGTTTTACGAAATGTAAATTT/3C6/ (SEQ ID NO:358)
```

```
MAX.chr14.1030
>hg19_dna 范围=chr14:103021654-103021725 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CCGCCCCGTGGGGAACAGCAGGACGGCGCCGAGGCCGTTTCGCTTTCCTCCGCGCCCATTTGCCGGGAGGGG (SEQ ID NO:359)

BST:
TCGTTTCGTGGGGAATAGTAGGACGGCGTCGAGGTCGTTTCGTTTTTTTTTCGCGTTTATTTGTCGGGAGGGG (SEQ ID NO:360)

MAX.chr14.1030_FP       TCGTGGGGAATAGTAGGACGGC (SEQ ID NO:361)
MAX.chr14.1030_RP       CCTCCCGACAAATAAACGCCA (SEQ ID NO:362)
MAX.chr14.1030_Pb_A1    CGCGCCGAGG CGTCGAGGTCGTTTCG/3C6/ (SEQ ID NO:363)
```

```
MAX.chr7.1046
>hg19_dna 范围=chr7:104624356-104624513 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGGCCTAGGACGCGCCCTGCGTGGAGGCAGGCCCGCGCGGCGGAAGTGCGTTTCTGGGGCTCCTCCTGAAGAATGCGGAGGAGGAACTGAGCTG
GCGCCCCGGCCAGCTGTCCTCTCTTCTGATCCCGAAG (SEQ ID NO:364)

BST:
CGGTTTAGGACGCGTTTTGCGTGGAGGTAGGTTCGCGCGGCGGAAGTGCGTTTTTGGGGTTTTTTTTGAAGAATGCGGAGGAGGAATTGAGTTG
GCGCCCCGGGTTAGTTGTTTTTTTTTTTTGATTTCGAAG (SEQ ID NO:365)

MAX.chr7.1046_FP        GGAGGTAGGTTCGCCCCGC (SEQ ID NO:366)
MAX.chr7.1046_RP        CCAACTCAATTCCTCCTCCGC (SEQ ID NO:367)
MAX.chr7.1046_Pb_A5     ACGCCACGGACG GCGGAAGTGCGTT/3C6/ (SEQ ID NO:368)
```

```
MAX.chr7.1046B
>hg19_dna 范围=chr7:104624386-104624529 5'垫=0 3'垫=0 链=+
GCCCGCGCGGCGGAAGTGCGTTTCTGGGGCTCCTCCTGAAGAATGCGGAGGAGGAACTGAGCTGGCGCGCGGGCCAGCTGTCCTCTCTTCTGAT
CCCGAAGACAGGATCGGATTATGGGTTGTTACCGGCTTGTGCGGCCCTGG (SEQ ID NO:369)

BST:
GTTCGCGCGGCGGAAGTGCGTTTTTGGGGTTTTTTTTTGAAGAATGCGGAGGAGGAATTGAGTTGGCGCGCGGGTTAGTTGTTTTTTTTTTTGAT
TTCGAAGATAGGATCGGATTATGGGTTGTTATCGGTTTGTGCGGTTTTGG (SEQ ID NO:370)

MAX.chr7.1046B_FP       GAGGAGGAATTGAGTTGGCGC (SEQ ID NO:371)
MAX.chr7.1046B_RP       CAACCCATAATCCCATCCTATCTTCGA (SEQ ID NO:372)
MAX.chr7.1046B_Pb_A1    CGCGCCGAGG CGCCGGTTAGTTGTT/3C6/ (SEQ ID NO:373)
```

图2(续)

MDFI
>hg19_dna 范围=chr6:41606379-41606439 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGGCTCGCACGAGTGAGTGGACGTGGGAGGCGCGCATCTGCGGGGGAATCGCCCCTTGCCC (SEQ ID NO:374)

BST:
CGGTTCGTACGAGTGAGTGGACGTGGGAGGCGCGTATTTGCGGGGGAATCGTTTTTTGTTT (SEQ ID NO:375)

MDFI_FP TTCGTACGAGTGAGTGGACG (SEQ ID NO:376)
MDFI_RP CAAAAAACGATTCCCCCGCAAA (SEQ ID NO:377)
MDFI_Pb_A5 AGGCCACGGACG ATACGCGCCTCCCA/3C6/ (SEQ ID NO:378)

OBSCN
>hg19_dna 范围=chr1:228463593-228463689 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGGGAAAGAACGTGGAGATCCACGCCGAGGGCGCCCGCCACCGCCTGGTTCTGCACAACGTAGGTTTTGCCGACCGTGGCTTCTTTGGCTGCGA
CAC (SEQ ID NO:379)

BST:
CGGCAAACAACGTCGACATTTACGTCGACGGCGTTCGTTATCGTTTGGTTTTGTATAACGTACGTTTTGTCCGATCGTCGTTTTTTTCGTTGCCA
CAT (SEQ ID NO:380)

OBSCN_FP TGGAGATTTACGTCGAGGGC (SEQ ID NO:381)
OBSCN_RP CCACGATCGACAAAACCTACGT(SEQ ID NO:382)
OBSCN_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGTTCGTTATCGTTTGGTTT/3C6/ (SEQ ID NO:383)

RHBDL1
>hg19_dna 范围=chr16:725588-725658 5'垫=0 3'垫=0 链=+
GCGTGCAGGGTGCGCGCGTGTCTTGGCCGCGCGTGGCGGCGTGTGCGGCAGGGGCGGGCAGGCGGGCGACTCG (SEQ ID NO:384)

BST:

GCGTGTACGGTGCCCCGCGTGTTTTCGTCGCGCGTGGCGGCGTGTGCGGTAGGGGCGGGTAGGCGGGCGATTCG (SEQ ID NO:385)

RHBDL1_FP_V2 GCGCGTGTTTTGGTCGC (SEQ ID NO:386)
RHBDL1_RP_V2 TCGTCCGCCTACCCGCCC (SEQ ID NO:387)
RHBDL1_Pb_A5_V2 AGGCCACGGACG CCTACCGCACACGC/3C6/ (SEQ ID NO:388)

SEPT9
>hg19_dna 范围=chr17:75447656-75447829 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGCGCCTCTCAGGTGCCCCGCCCGCCGACGCGGACCCTGATGGCCATGGTGGCGGTGCCCGGAGCCCACGCTGTCCCTCGGCCCCCGCCCCGAGGCC
GGCAGGACCGAGCGGGGTCCCCAGGAGAGGGGTGGCGGGGAGCTCGATCTCCACGCGGGGACCAGATTTTCGGCCTCAAA (SEQ ID
NO:389)

BST:
GGGGGTTTTTAGGTGGCGCGGTCGCGAGGCGGATTTTGATGGTTATGGTGGCGGTGTCGGGAGTTACGTTGTTTTTGGGTTTCGGTTCGAGGTC
GGTACGATCGAGCGGGGTTTTTAGGAGAGGGGTGGCGGGGAGTTCGATTTTTACGCGGCGATTAGATTTTCGGTTTTAAA (SEQ ID
NO:390)

SEPT9_FP GGAGTTACGTTGTTTTTGGGTTTCG (SEQ ID NO:391)
SEPT9_RP CTCTCCTAAAAACCCCGCTC (SEQ ID NO:392)
SEPT9_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGATCCTACCGACCTCGA/3C6/ (SEQ ID NO:393)

SFMBT2_745
>hg19_dna 范围=chr10:7451008-7451110 5'垫=0 3'垫=0 链=-
CACGTGCCCGCACCCGGACCGAAGCTTGGAGAAGACCAAAGTGGTGGTGGTGGTCGTGCGCTCGCCCACAACGCCCCGCAGCCCCCCGCCTCTGGCA
GACAAGCAC (SEQ ID NO:394)

BST:
CACGTGGCGCATCCGGATCGAAGTTTGGAGAAGATTAAAGTGGTGGTGGTGGTCGTGCGCTCGCGTACAACGCCCGCGAGCCCCCCGCTTTTGGCA
GATAAGTAT (SEQ ID NO:395)

SFMBT2_745_FP GGATCGGGATCGAAGTTTGGAGAA(SEQ ID NO:396)
SFMBT2_745_RP CTTATCTCCCAAAACCGCGC(SEQ ID NO:397)
SFMBT2_745_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGCTCCCGCCCTTCT/3C6/(SEQ ID NO:398)

图2(续)

SPDYA
>hg19_dna 范围=chr2:29033347-29033484 5'垫=0 3'垫=0 链=+
AACCACGCTGTGCCCCCCGTGTGCCCGGCCGGGGAGGGGAGGCCGCAGCCCCAGCCCCGGCGGCCTCGTTGTCTAATCCAAGCGAAGTAAACGCCC
CCAACGCAAGCCTGACTGCGAGACGTGCCCAAGGGAGGTAGGTC (SEQ ID NO:399)

BST:
AATTACGTTGTGTTCGCCGTGTGTCCGCGCCGGGAGGGGAGGTCGTAGTTTTAGTTTCGGCGGTTTCGTTGTTTAATCCAAGCGAAGTAAACGGTT
TTAACGTAAGTTTGATTGCGAGACGTGTTTAAGGGAGGTAGGTT (SEQ ID NO:400)

SPDYA_FP	TTGGTTGTTTAATCGAAGGGAAGTAAAC (SEQ ID NO:401)
SPDYA_RP	CTACCTCCCTTAAACACGTCTCG (SEQ ID NO:402)
SPDYA_Pb_A1	CGCGCCGAGG CGGTTTTAACGTAAGTTTGATTG/3C6/ (SEQ ID NO:403)

ST3GAL2
>hg19_dna 范围=chr16:70415003-70415106 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGCACGAACCCCTCGCCGCCCCAGCCATCCCACACGCGCGGCCGAGGTGGGACTGCGGGTCCCCCACCCACCCCTTTTCTTTGGTGGGTCTGCACG
CACCTATCCC (SEQ ID NO:404)

BST:
CGTACGAACTTTTCGCCGCCGTAGTTATTTTATACCGCGGTCGAGGTGGGATTGCGGGTTTCGTACCGATCGTTTTTTTTTTGGTGCGTTTGTACG
TATTTATTCG (SEQ ID NO:405)

ST3GAL2_FP	GGGCGTAGTTATTTTATAGCGC (SEQ ID NO:406)
ST3GAL2_RP	CACCAAAAAAAAAACGATCGCTACGAAA (SEQ ID NO:407)
ST3GAL2_Pb_A5	AGGCCACGGACG CGGTCGAGGTGGGA/3C6/ (SEQ ID NO:408)

VILL
>hg19_dna 范围=chr3:38035645-38035743 5'垫=0 3'垫=0 链=- 重复屏蔽=无
CGCGTGTTTGTGTATATGTGTTGCGCGGCAAGACGGAGGTGCGGGTGGAGAAGGCGAGCATGTACCAAGGCCCATCGCGCAGACGCTAGGCAGGGG
CTTCC (SEQ ID NO:409)

CGCGTGTTTGTGTATATGTGTTGCGCGGCAAGACGGAGGTGCGGGTGGAGAAGGCGAGCATGTATTAAGCGTTATGCGCGAGACGTTAGGTAGGGG
TTTTT (SEQ ID NO:410)

VILL_FP	CGGCGAAGACGGAGGTG (SEQ ID NO:411)
VILL_RP	AAACCCCTACCTAACGTCTCCC (SEQ ID NO:412)
VILL_Pb_A1	CGCGCCGAGG GCGGGTGGAGAAGG/3C6/ (SEQ ID NO:413)
VILL_Pb_A5	AGGCCACGGACG GCGGGTGGAGAAGG/3C6/ (SEQ ID NO:414)

ZNF323
>hg19_dna 范围=chr6:28303870-28303974 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGCCAAGCTACCGAACAGGTGGCGGGGCTGCAGCACCCCAATGACCGATCAACCGCAAAGGCCCGAAATGCGTCAGCCGTTCTGAGCCCACTGG
CTGAAGCCAGG (SEQ ID NO:415)

BST:
CGCTAACTTACCGAATAGGTGGCGGGGTTGTAGTATTTTAATGATCGATTAATCGTAAAGGTCCGAAATGCGTTAGTCGTTTTGAGTTTATTGG
TTGAAGTTAGG (SEQ ID NO:416)

ZNF323_FP	CGGGGTTGTAGTATTTTAATGATCGA (SEQ ID NO:417)
ZNF323_RP	CTTCAACCAATAAACTCAAAACGACTAACG (SEQ ID NO:418)
ZNF323_Pb_A5	AGGCCACGGACG GCATTTCCGACCTTTACGA/3C6/ (SEQ ID NO:419)

SLC13A5
>hg19_dna 范围=chr17:6616765-6616852 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CCCCCCACCGGGCCCCCCTCCCCCCCCCCCTGGGGCGGGGCCACCCCTCGGGGTCTGTGGGACCCCCCTGCCCCCCAATTCTGCCACCCG (SEQ
ID NO:420)

BST:
TTTCCTACCGGGCCCGTTTTTTCCCCGTTTTGGGGCCGGGTTATTTTTCGGGGTTTGTGGGACCCCTTTGTTTTTTAATTTTGTTATTCG (SEQ
ID NO:421)

SLC13A5_FP	GGCGTTTTTTCGCGGTTTTG (SEQ ID NO:422)
SLC13A5_RP	GCGTCCCACAAACCCCG (SEQ ID NO:423)
SLC13A5_Pb_A1	CGCGCCGAGG GAAAAATAACCCCGCCC/3C6/ (SEQ ID NO:424)

图2(续)

ZMIZ1
>hg19_dna 范围=chr10:81002927-81003006 5'垫=0 3'垫=0 链=+
GCCGCCACACGCAGGGTCGGTGGTCACGCCCCGCAGGGTCCGCGAGCGCGGCGCAGAGCCGCGCCCGTCGGAAGTTTCTCC (SEQ ID NO:425)

BST:
GCGGGTATACGTAGGGTGGGTGGTTACGTTCGTAGGGTTCGCGAGCGCGGCGTAGAGCGCGGGTCGTGGGAAGTTTTTTT (SEQ ID NO:426)

ZMIZ1_FP CGTAGGGTGGGTGGTTACGTTC (SEQ ID NO:427)
ZMIZ1_RP AACTTCCCACGACCCG (SEQ ID NO:428)
ZMIZ1_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGTAGGGTTCGCGAG/3C6/ (SEQ ID NO:429)

MAX.chr8.1451
>hg19_dna 范围=chr8:145103900-145103993 5'垫=0 3'垫=0 链=+
GTGCCACGCGGCCTTCACCCCTGTGACTCCCCGCAGCTCGCGCGGATGCACCGACGAGTCAGCTTGTCCTCTGGAAGCCAATGAGTCTCCCCGG (SEQ ID NO:430)

BST:
GTGTTACGCGGTTTTTATTTTTGTGATTTTTCGTAGTTCGCGCGGATGTATCGACGAGTTAGTTTGTTTTTTGGAAGTTAATGAGTTTTTTCGG (SEQ ID NO:431)

MAX.chr8.1451_FP GTTACCCGGTTTTTATTTTTGTGATTTTTCG (SEQ ID NO:432)
MAX.chr8.1451_RP CTCATTAACTTCCAAAAAACAAACTAACTCGTC (SEQ ID NO:433)
MAX.chr8.1451_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGATACATCCGCGCG/3C6/ (SEQ ID NO:434)

C8orf73
>hg19_dna 范围=chr8:144650834-144650919 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGGCGCACCAGAGTCCCAAGGAGCCCGACGGCCGAGGCGCGGATTGAGTCCCGTGTCTGCGTGGGAGGGCGCAGTCAGGGCAGGCG (SEQ ID NO:435)
BST:
CGGCGTATTAGAGTTTTAAGGAGTTCGACGGTCGAGGCGCGGATTGAGTTTCGTGTTTGCGTCGGAGGCGCTAGTTAGGGTAGGCG (SEQ ID NO:436)
C8orf73_FP GACTTCGACGGTCGAGGCG (SEQ ID NO:437)
C8orf73_RP ACTACGCCCTCCCACGC (SEQ ID NO:438)
C8orf73_Pb_A5 AGGCCACGGACG GCGGATTGAGTTTCGTG/3C6/ (SEQ ID NO:439)

KBTBD11
>hg19_dna 范围=chr8:1949507-1949586 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGCCGCAGTCCCTCGCCTCAGCGGCGGAAGGCGCGGCCACCTCCCCGCCCTCCAGCGGTCGCCCCCGGGTCGTCGAGCGG (SEQ ID NO:440)
BST:
CGTCGTAGTTTTTCGTTTTAGCCGCCGAAGGCGCGGTTATTTTTTCGTTTTTTAGCGGTCGTTCGCCGGTCGTCGAGCGG (SEQ ID NO:441)
KBTBD11_FP TCGTTTTAGCGGCGGAAGG (SEQ ID NO:442)
KBTBD11_RP CCGCGAACCACCGC (SEQ ID NO:443)
KBTBD11_Pb_A5 AGGCCACGGACG GCGCGGTTATTTTTTCGT/3C6/ (SEQ ID NO:444)

LOC100192379
>hg19_dna 范围=chr4:122686300-122686377 5'垫=0 3'垫=0 链=+
GCCGCCTCCAGCTGGAGGCGAGCGCGCCCCCCGCACACCCACCTCCCGCACTCCCGCCCCTCGCGAGGGCGTCCCGC (SEQ ID NO:445)
BST
GCCGCTTCTAGTTCGAGGCGAGCGCGTCGTTCGTATATTTATTTTTCGTATTTTCGTTTTTCGCGAGGGCGTTTCGT (SEQ ID NO:446)
LOC100192379_FP GCTTGTAGTTCGACGCCGAC (SEQ ID NO:447)
LOC100192379_RP_v2 CGAAACGCCCTCGCGA (SEQ ID NO:448)
LOC100192379_Pb_A1 CGCGCCGAGG GCGCGTCGTTCGTATATTT/3C6/ (SEQ ID NO:449)

TRIM71
>hg19_dna 范围=chr3:32859592-32859712 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CCGATTTCCAGATCTGCTTGCTGTGCAAGGAGATGTGCGGCTCGCCGGCGCCGCTCTCCTCCAACTCGTCCGCGTCGTCGTCCTCCTCGCAGAC GTCCACGTCGTCGGGGGGCGGCGGCGG (SEQ ID NO:450)

BST:
TCGATTTTTAGATTTGTTTGTTGTGTAAGGAGATGTGCGGTTCGTCGGCGTCGTTTTTTTTTAATTCGTTCGCGTCGTCGTTTTTTTCGTAGAC GTTTACGTCGTCGGGGGGCGGCGGCGG (SEQ ID NO:451)

TRIM71_FP GTTGTGTAAGGAGATGTGCGGTTC (SEQ ID NO:452)
TRIM71_RP_v3 AAACGACGACGCGAACGAA (SEQ ID NO:453)
TRIM71_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGTCGGCGTCGTTTT/3C6/ (SEQ ID NO:454)

图2(续)

LOC440925
>hg19_dna 范围=chr2:171570323-171570444 5'垫=0 3'垫=0 链=+
GGCCGAGCTCCCCCCGCCACTCCGCAGTGCGCTCTCGCGAGCCGGGGCCGCGACGCCTCCAACGCCGTTCCCCACCCCTAATGCCCCAGGGCGG
TGAGCACCCCCGCCGTTCCCCGCCCCCCT (SEQ ID NO:455)

BST:
GGTCGAGTTTCGGCGGTTATTTCGTAGTGCGTTTTCGCGAGTCGGGGTCGCGAGGTTTTTAACGCGGTTTCGTATTTTTAATGTTTTAGGGCGG
TGAGTATTTCGCCGTTTTTCGTTCGTTT (SEQ ID NO:456)

LOC440925_FP CGTAGTGCGTTTTCCCCGAGTC (SEQ ID NO:457)
LOC440925_RP CGCCCTAAAACATTAAAAATACGAAACCG (SEQ ID NO:458)
LOC440925_Pb_A1 CGCGCCGAGG GCGTTAAAAACCTCGCG/3C6/ (SEQ ID NO:459)

ARL5C
>hg19_dna 范围=chr17:37321564-37321723 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGGTCGAAAAGACAGCTGAGCCCCCACCTCCCTTCACATTCCAGAAAAGTGTCTGAAAGCCCCGCCGCCGCTTCCGCCGCTTGCCAAGAGACGGTG
TTTAGAGAAAGAGCATAACGCGAAGTCACAATCGCAGGAAACTCGCAGCAGCCCCCCATCCCCGCC (SEQ ID NO:460)

BST:
CGGTCGAAAAGATAGTTGAGTTTTTATTTTTTTTTATATTTTAGAAAAGTGTTTGAAAGCTTCGCGCGCGTTTCGCGCGTTTGTTAAGAGACGGTG
TTTAGAGAAAGAGTATAACGCGAAGTTATAATCGTAGGAAATTCGTAGTAGTTTTTTATTTTCGTT (SEQ ID NO:461)

ARL5C_FP GTTTCGCGGTTTGTTAAGAGACG (SEQ ID NO:462)
ARL5C_RP ACTACTACGAATTTCCTACGATTATAACTTCG (SEQ ID NO:463)
ARL5C_Pb_A1 CGCGCCGAGG GCGTTATACTCTTTCTCTAAACAC/3C6/ (SEQ ID NO:464)

STX16_57224
>hg19_dna 范围=chr20:57224681-57224845 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CTGCAGCCTCCAGCCCGGCCCGCGCGGCGACCCAGTCCCCTGTCGCCCGAATCTTCCACCGCTGCGAAGCGTCCCCGGGCGAGCGCCCTGCTCT
CCGCGCTGCGCCGCAAGCCAGACCCGGTCCTCACAGTGAACTCGCCCAGCCCTGCTCGCGGCTCTCTCGATT (SEQ ID NO:465)

BST:
TTGTAGTTTTTAGTTCGGTTCGCCGCGGCGATTTAGTTTTTTGTCGTTCGAATTTTTTATCGTTGCGAAGCGTTTTCGGGCGAGCGTTTTGTTTT
TCGCGTTGCGCCGCAAGTTAGAGTCGGTTTTTATAGTGAATTCGTTTAGTTTTGTTCGCGGTTTTTTCGATT (SEQ ID NO:466)

STX16_57224_FP ACTTTTTAGTTCGGTTCGCGC (SEQ ID NO:467)
STX16_57224_RP CCCGAAAACGCTTCGCAACG (SEQ ID NO:468)
STX16_57224_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGGCGATTTAGTTTTTTGTCG/3C6/ (SEQ ID NO:469)

ITPKA
>hg19_dna 范围=chr15:41787637-41787780 5'垫=0 3'垫=0 链=+
CGCACAATCGGCTGGGACAAGGCAGGGAAGCTGTGGCGACCTGCAGGGGTTCACAAGCCCGGAGGCCGATGGGGTTTGTCAGTGACACCAGAGG
CGAAAAGCCTCACAGAGCAGGAACACCCCCCGCCGCCAGGTGCTGGGTGC (SEQ ID NO:470)

BST:
CGTATAATCGGTTGGGATAAGGTAGGGAAGTTGTGGCGATTTGTAGGGGTTTATAAGTTCGGAGGTCGATGGGGTTTGTTAGTGATATTAGAGG
CGAAAACTTTTATAGAGTAGGAATATTTTTCGTCGTTAGGTGTTGGGTGT (SEQ ID NO:471)

ITPKA_FP GATAAGCTAGCGAAGTTGTGGCG (SEQ ID NO:472)
ITPKA_RP CCTCTAATATCACTAACAAACCCCATCG (SEQ ID NO:473)
ITPKA_Pb_A1 CGCGCCGAGG GACCTCCGAACTTATAAACCC/3C6/ (SEQ ID NO:474)

IRF4
>hg19_dna 范围=chr6:393188-393284 链=+
CGCCATCAGCCGCGTCAGCTGCGGCAACGGGAAGCTCCGCCAGTGGCTGATCGACCACATCGACAGCCGCAAGTACCCCGGGCTGGTGTGGGAG
AAC (SEQ ID NO:475)

BST:
CGGTATCAGCGCGGTGAGTTGCGGTAACGGGAAGTTTCGTTAGTGGTTGATCGATTAGATCGATAGCGGTAAGTATTTCGGGTTGGTGTGGGAG
AAT (SEQ ID NO:476)

IRF4_FP CGCGGTGAGTTGCGGTAAC (SEQ ID NO:477)
IRF4_RP CGAAATACTTACCGCTATCGATCTAATCGA (SEQ ID NO:478)
IRF4_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGGGAAGTTTCGTTAGTGG/3C6/ (SEQ ID NO:479)

图2(续)

CNTN4
>hg19_dna 范围 =chr3:2140464-2140527 链 =+
GGCAGCCCGAACTCCGGCGCGCCCAGGTTTTTCCAGCCGCCGCGAGCGCCGGGAGGGAGGCCAGC (SEQ ID NO:480)

BST:
GGTAGTTCGAATTTCGGCGCGTTAGGTTTTTTTAGTCGTCGCGAGCGTCGGGAGGGAGGCTAGT (SEQ ID NO:481)

CNTN4_FP GGTAGTTCGAATTTCGGCGC (SEQ ID NO:482)
CNTN4_RP CTCCCTCCCGACGCTCG (SEQ ID NO:483)
CNTN4_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGTTAGGTTTTTTTAGTCGTCG/3C6/ (SEQ ID NO:484)

GRIN2A
>hg19_dna 范围 =chr16:10277158-10277320 链 =+
CGCAGTCCCTCGGCGCGCGACGCGGAGCGCCGGCCACGCGTTCCGAGAGCGCACGGCGGCAAATAAGCCCAGGATAGGTGGCTGGCTGGCGACGCG
GGCGCCTGCGGCGGCGCGCGCTGCTGTCCGTGGTGTTGGAACCACGCTCTCCGCCCGCTCCCGGGCGTC (SEQ ID NO:485)

BST:
CGTAGTTTTTCGGCGGCGACGCGGAGCGCCGTTATTCGTTTCGAGAGCGTACGGCGGTAAATAAGCTTAGGATAGGTGGTTGGTTGGCGACGCG
GGCGTTTGCGGCGGCGCGCGTTGTTGTTCGTGGTGTTGGAATTACGTTTTTCGTTCGTTTTCGGGCGTT (SEQ ID NO:486)

GRIN2A_FP GTAGTTTTTCGGCGGCGACG (SEQ ID NO:487)
GRIN2A_RP CCTTATTTACCGCCGTACGCT (SEQ ID NO:488)
GRIN2A_Pb_A5 AGGCCACGGACG TCTCGAAACGAATAACCGC/3C6/ (SEQ ID NO:489)

NOTCH3
>hg19_dna 范围 =chr19:15306498-15306625 链 = -
CGCCCGGGGCGTCGGGAGGGGGCCCGCGCGGGTCGCGCCCTGCCTGGCGGTGGGACCAGCTATCCTCGGCGCCCAGCGCAGCGCGCCCCCTCCC
GACGCGCGGTCGGGGCCGCAGTGGTCGCCCTGCG (SEQ ID NO:490)

BST:
CGTTCGGGGCGTCGGGAGGGGGTTCGCGCGGGTCGCGTTTTGTTTGGCGGTGGGATTAGTTATTTTCGGCGTTTAGCGTAGCGCGTTTTTTTTC
GACGCGCCGTCGCGGTCGTAGTGGTCGTTTTGCG (SEQ ID NO:491)

NOTCH3_FP GGTCGCCTTTTGTTTCGGCG (SEQ ID NO:492)
NOTCH3_RP CGCGCGTCGAAAAAAAACGCG (SEQ ID NO:493)
NOTCH3_Pb_A1 CGCGCCGAGG GCTACGCTAAACGCCG/3C6/ (SEQ ID NO:494)

PAX1
>hg19_dna 范围 =chr20:21683741-21683893 链 =+
AGCTCGGGAACCCGCGATACCCGGCCGGGGGACGACAGGGGGCGACAAACTGTAAGGTTTTCCCTATGCCCGACCGTGCAGAAGGCTGCAGCGA
CGCCTGTGTGCTCCCGATCGCGCACAGCTGGCTGCGGGAAAGGGGCCAGGATTCAGACG (SEQ ID NO:495)

BST:
AGTTCGGGAATTCGCGATATTCGGTCGGGGGACGATAGGGGGCGATAAATTGTAAGGTTTTTTTTATGTTCGATCGTGTAGAAGGTTGTAGCGA
CGGTTGTGTGTTTTCGATCGCGTATAGTTGGTTGCGGGAAAGGGGTTAGGATTCAGACG (SEQ ID NO:496)

PAX1_FP CGATCGTGTAGAAGGTTGTAGCG (SEQ ID NO:497)
PAX1_RP TTTCCCGCAACCAACTATACGCG (SEQ ID NO:498)
PAX1_Pb_A5 ACGCCACGGACG GATCGAAAACACACAACCC/3C6/ (SEQ ID NO:499)

ZNF521
>hg19_dna 范围 =chr18:22929721-22929795 链 =+
CGCCCGCCCCGACCTCCGCCGCGACCCAGCCGGCCCCGGGCGGGCGCACCAGCCGCCCTTTGTCCTCCCCCTCCCGG (SEQ ID NO:500)
BST:
CGCTCGCCCCCGATTTCCGCCGGGATTTAGCCGGTTCGGGCGGGCGTATTAGTCGTTTTTTGTTTTTCGTTTTCGCG (SEQ ID NO:501)

ZNF521_FP CGGGATTTAGCCGGTTCGG (SEQ ID NO:502)
ZNF521_RP CCCGAAAACGAAAAACAAAAAACGAC (SEQ ID NO:503)
ZNF521_Pb_A1 CGCCCCGAGG GCCGGCCGTATTAGT/3C6/ (SEQ ID NO:504)

VSX1
>hg19_dna 范围 =chr20:25065266-25065458 链 =+
GTCTGCAAGAGATAAAAAGCTAGCCCACGATCCACCCACAATCCTCGTGTCCCCGGGGTGCCCTCGCAGTTGCCAAACCTACGGGCCGCGTTTA
CGGCAAGCCTCCGCGTCCTGGCGGCCAAAAGAATGGGCTCCTTCCAGCTTCCCCCTACCGGATACCACCTGCAAATCTATTGCCAGAGGCGCAG
CTCCC (SEQ ID NO:505)

图2(续)

BST:
GTTTGTAAGAGATAAAAAGTTAGTTTACGATTTATTTATAATTTTCGTGTTTTCGGGGTGTTTTCGTAGTTGTTAAATTTACGGGTCGCGTTTA
CGCGAAGTTTTCGCGTTTTCGCCGTTAAAAGAATGGGTTTTTTTTAGTTTTTTTTTATCGGATATTATTTGTAAATTTATTGTTAGAGGCGTAG
(SEQ ID NO:506)
TTTTT

VSX1_FP TCGGGGTGTTTTCGTAGTTGTTAAATTTAC (SEQ ID NO:507)
VSX1_RP CATTCTTTTAACCGCCAAAACGCG (SEQ ID NO:508)
VSX1_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGGGTCGCGTTTAGG/3C6/ (SEQ ID NO:509)
-

CRHR2
>hg19_dna 范围 =chr7:30721989-30722099 链 =+
GCCGCGTCCTCGCCCCCCCCAGCCCAGCCCCGATCTCCCGGGCAGCCTTTGGGCGCCACCTCCGGTCGCCCCAGAGCTGTCAAGTGGGGACCTTC
CCGGAGAGGAGCCGCCG (SEQ ID NO:510)

BST:
GCGGCGTTTTCGTTTTCGTTAGTTTAGTTTCGATTTTTCGGGTAGTTTTTGGGCGTTATTTTCGGTCGTTTACAGTTGTTAAGTGGGGATTTTT
TCGGAGAGGAGTCGTCG (SEQ ID NO:511)

CRHR2_FP GGGTTTTGGTTTTCGTTAGTTTAGTTTC (SEQ ID NO:512)
CRHR2_RP ACAACTCTAAACGACCGAAAATAACG (SEQ ID NO:513)
CRHR2_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGATTTTTCGGGTAGTTTTTGG/3C6/ (SEQ ID NO:514)

FAM19A5
>hg19_dna 范围 =chr22:48885810-48885908 链 =+
CGGCGGTCGGAGCCCAGCCAGCGGCTTCCCGGCCGAGATGCGCGCTCAGGAGGCAGCCGCAGGTCGCGGAGGGCGGGCGGCGCTGCCGGGGTGT
CTCCG (SEQ ID NO:515)

BST:
CGGCGGTCGGAGTTTAGTTAGCGGTTTTTCGGTCGAGATGCGCGTTTAGGAGGTAGTCGTAGGTCGCGGAGGGCGGGCGGCGTTGTCGGGGTGT
TTCCG (SEQ ID NO:516)

FAM19A5_FP GCGGTCGGAGTTTAGTTAGCG (SEQ ID NO:517)
FAM19A5_RP ACCTACGACTACCTCCTAAACGCG (SEQ ID NO:518)
FAM19A5_Pb_A1 CGCGCCCGAGG GGTTTTTCGGTCGAGATG/3C6/ (SEQ ID NO:519)

ASCL1
>hg19_dna 范围 =chr12:103352059-103352157 链 =+
GGCCAGCAGCCCCAGCCGCAGCCCCAGCAGCCCTTCCTGCCGCCCGCAGCCTGTTTCTTTGCCACGGCCGCAGCCGCGGCGGCCGCAGCCGCCG
CAGCC (SEQ ID NO:520)

BST:
GGTTAGTAGTTTTAGTCGTAGTTTTAGTAGTTTTTTTTGTCGTTCGTAGTTTGTTTTTTTGTTACGGTCGTAGTCGCGGCGGTCGTAGTCGTCG
TACCC (SEQ ID NO:521)

ASCL1_FP GTCGTAGTTTTAGTAGTTTTTTTTGTCGTTCG (SEQ ID NO:522)
ASCL1_RP CGACCGCCGCGACTAC (SEQ ID NO:523)
ASCL1_Pb_A5 AGGCCACGGACG CGACCGTAACAAAAAAACAAAC/3C6/ (SEQ ID NO:524)

GLT1D1
>hg19_dna 范围 =chr12:129338254-129338322 链 =+
GGGACCCGGGGACGCGGGGCGCTCAGCCAGGCCCCCTCCAGCCGCGCCGGGGCCGTCCCGAGCCGCGCG (SEQ ID NO:525)

BST:
CGCATTCCGCGGACGCCGGCGCGTTTAGTTAGGTTTTTTTTAGTCGCGTCGGGGTCGTTTCGAGTCCCCCC (SEQ ID NO:526)

GLT1D1_FP GACGCCGGGGCGTTTAGT (SEQ ID NO:527)
GLT1D1_RP CGACTCGAAACGACCCCGA (SEQ ID NO:528)
GLT1D1_Pb_A1 CGCGCCGAGG ACGCGACTAAAAAAAACCTAAC/3C6/ (SEQ ID NO:529)

T
>hg19_dna 范围 =chr6:166581961-166582112 链 =+
CGTCCACCTGTCCCCACACGTCCCTCGCCCCACGCAGCCCCAGGCGGCGTTACGCACACCCACGCATCGTCGATCAGCCTCCCCCCGCCCTCGGGTG
TCCCCGCGGCTCTCACCATCTGGAAAAGGAAGGTCCGCGCGCAGAGAGGGAAATGGAC (SEQ ID NO:530)

BST:
CGTCTATTTCTTTTTTATACGTTTTTCGTTTACGCAGTTTTAGGCGGCGTTACGTATATTTAGCATCGTCGATTAGTTTGTTTCGCCCTCGGGTG
TTTTCGCGGTTTTTATTATTTGGAAAAGGAAGGTTCGCGCGTAGAGAGGGAAATGGAT (SEQ ID NO:531)

图2(续)

T_FP GCAGTTTTACGCCGCCGTTACG(SEQ ID NO:532)
T_RP ACCCCGAAAACACCCGAC (SEQ ID NO:533)
T_Pb_A5 AGCCCACCGACG CCCCGAAACAAACTAATCC/3C6/ (SEQ ID NO:534)

CAPN2
>hg19_dna 范围=chr1:223936903-223937040 链 =+
CGGCCCCCCCCCCCCCCACGGTGGTCCAGTTTACACTCGGGCCCCGCACTCCTGAAGTTCCGCCCCCCGCAGCAGAAGCCCCGTCCCTTTCCGCAGCTC
GGGCGCCGGGTGCGCCGCGCTGCCACCTGGTGGCCGCAGTGGCC (SEQ ID NO:535)

BST:
GGGTTCGCCCCCGTTTTACGGTGGTTTAGTTTATATTCGGGTTTCGTATTTTTGAAGTTTCGCCCCCGCAGCAGAAGCCCGTTTTTTTCGTAGTTC
GGGCGTCGGGTGCGTCGCGTTGTTATTTGGTGGTCGTAGTGGTT (SEQ ID NO:536)

CAPN2_FP GTTCGCGCGGTTTTACGGT(SEQ ID NO:537)
CAPN2_RP CGCCCTTCTCCTCCCCC(SEQ ID NO:538)
CAPN2_Pb_A1 CGCCCCGAGG CGCGAAACTTCAAAAATACGA/3C6/ (SEQ ID NO:539)

RYR2_F:
chr1:237205546-237205717 链 =+
TGCCGGGCTGCTTCCCCCCCGTCCTCCGGCCCCCGGGCCGCCCTCCTCCCCGCACAGTGCCGCAGCAGCCAGCCCCCCCCCCCTCCACCACCCCCGCCC
GAGCGTCCGCGCCTCCTCCTCCGCTCTGCAGGCGGGGACCGCCCGGCGCTCGGCACCCGGCAGCGCGGCCCCCTCCAG (SEQ ID NO:540)

BST:
TGCCGGGTTGTTTTTTCCCGTTTTTCGGGTTCGGGTCGTTTTTTTTTTCGTATAGTGCCGAGTAGGCAGGTTTCGCGTTTCGATTATTCGCGTTC
GAGCGTTCGCGTTTTTTTTTTCGTTTTGTAGGCGGGGATCGTTCGGCGTTCGGTATTCGGTAGCGCGGTTTTTTTTAG (SEQ ID NO:541)

RYR2_F_FP_v2 GGAGGTTTCGCGTTTCGATTA (SEQ ID NO:542)
RYR2_F_RP_v2 CGAACGATCCCCGCCTAC (SEQ ID NO:543)
RYR2_F_LQ_Pb_A5 AGGCCACGGACG ATTCGCGTTCGAGCG/3C6/ (SEQ ID NO:544)

SIM2
>hg19_dna 范围=chr21:38119993-38120059 5'垫=0 3'垫=0 链 = -
CGCCCCAGCCGCGGCTCCTCCCGCTAGTGCCCGCAGCTCGGGAAGCTCGGGGGCGCGGTGTCCTCGC (SEQ ID NO:545)

BST:
GGGTTTAGCGCGGGTTTTTCGCGGTAGTGGTCGTAGTTCGGGAAGTTCGGGGGCGCGGTGTTTTCGT (SEQ ID NO:546)

SIM2_FP_v2 GGTTTAGCGCGGGTTTTTCG (SEQ ID NO:547)
SIM2_RP_v2 CCCCGAACTTCCCGAACT (SEQ ID NO:548)
SIM2_Pb_LQ_A5 AGGCCACGGACG GCGGTAGTGGTCGTAG/3C6/ (SEQ ID NO:549)

TRH
>hg19_dna 范围=chr3:129693484-129693575 5'垫=0 3'垫=0 链 =+
GGCCGCGACCCCTCCCCGCTGACCTCACTCGAGCCGCCGCCTGGCGCAGATATAAGCGGCGGCCCATCTGAAGAGGGCTCGGCAGGCGCCCG
(SEQ ID NO:550)

BST:
GGTCGCGATTTTTTTTCGTTGATTTTATTCGAGTCGTCGTTTGGCGTAGATATAAGCGGCGGTTTATTTGAAGAGGGTTCGGTAGGCGTTCG
(SEQ ID NO:551)

TRH_FP TTTTCGTTGATTTTATTCGAGTCGTC (SEQ ID NO:552)
TRH_RP GAACCCTCTTCAAATAAACCGC (SEQ ID NO:553)
TRH_Pb_A5_63 AGGCCACGGACG CGTTTGGCGTAGATATAAGC/3C6/ (SEQ ID NO:554)

JAM3
>hg19_dna 范围=chr11:133938908-133939011 链 = -
GAGCCGGAGTCGCGGTGGCCGCCTCAGCGCCATGTCGAGGGTTGCTGAGGGGCCAGCGGCAGCGCGGCGCGGCTTGTAGTCCCCGCGCGCATGC
GCCCAGCCTG (SEQ ID NO:555)

BST:
GAGTCGGAGTCGCGGTGGTCGTTTTAGCGTTATGTCGAGGGTTGTTGAGGGGTTAGCGGTAGCGCGGCGCGGTTTGTAGTTTTCGCGCGTATGC
GTTTAGTTTG (SEQ ID NO:556)

JAM3_FP TGGTCGTTTTAGCGTTATGTCG (SEQ ID NO:557)
JAM3_RP CGAAAACTACAAACCGCGC (SEQ ID NO:558)
JAM3_Pb_A5_LQ AGGCCACGGACG CCGCGCTACCGCTA/3C6/ (SEQ ID NO:559)

图2(续)

JAM3_Pb_A1_IQ CGCGCCCAGG CCCCGCTACCGCTA/3C6/ (SEQ ID NO:560)

BARX1
>hg19_dna 范围 =chr9:96721498-96721597 链 = -
GGCCCGGGGCCGCCTGGGCCCCTAGGGGCTGGACGTCAACCTGTTAGATAGAGGGCGTGGGACCCCCCCGCAGGCGGCTGCTCGGACGACCGCAT
CCGGAG (SEQ ID NO:561)

BST:
GGTTCGGGGTCGTTTGGGTTTTTAGGGGTTGGACGTTAATTTGTTAGATAGAGGGCGTGGGATTTTTCGTAGGCGGTTGTTCGGACGATCGTAT
TCGGAG (SEQ ID NO:562)

BARX1_FP CGTTAATTTGTTAGATAGAGGGCG (SEQ ID NO:563)
BARX1_RP_universal TCCGAACAACCGCCTAC (SEQ ID NO:564)
BARX1_Pb_A5_63_v6 AGGCCACGGACG CGAAAAATCCCACGC/3C6/ (SEQ ID NO:565)

ZNF671
>hg19_dna 范围 =chr19:58238790-58238906 链 =+
CCCTCGCCCCCGACACCTGCCCGCACCGCCAGGCGTCTCGATCGGGGACGCAGCCACTTCCCTCCCTGCAGACCATCAGACGCGTCTCCGGGACA
CTGGGGACAACATCTCCTCCGCG (SEQ ID NO:566)

BST:
TCGTCGGCCGCGGATAGTTGTCCGGGACCGGTAGGCGTTTCGATCGGGGACGTAGGTATTTTCGTTTTTGTAGAGTATTAGACGCGTTTCGGGATA
TTGGGGATAATATTTTTTTCGCG (SEQ ID NO:567)

ZNF671 FP GTTGTCGGGAGCGGTAGG (SEQ ID NO:568)
ZNF671 RP CCAATATCCCGAAACGCGTCT (SEQ ID NO:569)
ZNF671_Pb_A1_IQ CGCGCCGAGG GCGTTTCGATCGGGG/3C6/ (SEQ ID NO:570)

MPZ_5554
>hg19_dna 范围 =chr1:161275554-161276006 5'垫 =0 3'垫=0 链 = - 重复屏蔽 = 无
TTACCGGCCCCGGCCGGGGGATCGGGGGTTAGGGGTGGAGTCCGCCAAAGGCCCAAAGGTGATGGTCATCGAGATGGAGCTACGAAAGGATGAGC
AGACCCCCGAGCTCC (SEQ ID NO:571)

BST:
TTAGCGGGTCGGGCGGGGGATCGGGGGTTAGGGGTGGAGTTCGTTAAAGGTTTAAAGGTGATGGTTATCGAGATGGAGTTACGAAAGGATGAGT
AGACTTCCGAGTTTT (SEQ ID NO:572)

MPZ_5554_FP GGTTAGGGGTCGAGTTCGTTA (SEQ ID NO:573)
MPZ_5554_RP ACTCCGAACTCTACTCATCCTTTC (SEQ ID NO:574)
MPZ_5554_Pb_A1_63 CGCGCCGAGG CGTAACTCCATCTCGATAACC/3C6/ (SEQ ID NO:575)

CXCL12
>hg19_dna 范围 =chr10:44881200-44881315 5'垫 =0 3'垫=0 链 =+
AAGGCGCCGGCGGCTCTCAGTAAAAGCGAATGTAGCCTTTGTACTTCCGACCTCTCAATGGTGAAATGAGCTAATCACAGGCCCACCCCGCGGA
CTGGCACCGGAGATTCAATGAC (SEQ ID NO:576)

BST:
AAGGCGTCGGCGGTTTTTAGTAAAAGCGAATGTAGTTTTTGTATTTTCGATTTTTTAATGGTGAAATGAGTTAATTATAGGTTTATTTCGCGGA
CTGGCACCGGAGATTTAATGAC (SEQ ID NO:577)

CXCL12_FP TCGGCGGTTTTTAGTAAAAGCG (SEQ ID NO:578)
CXCL12_RP AAATCTCCCGTCCCACTCC (SEQ ID NO:579)
CXCL12_Pb_A1 CGCGCCGAGG CGCGAAATAAACCTATAATTAACTCA/3C6/ (SEQ ID NO:580)

TSPYL5
>hg19_dna 范围 =chr8:98290016-98290134 链 =+
GCCTTTGCCCCCGTTTTTGGCGCCGGAGGACTTTCGACCCCGACTTCGGCCGCTCATCGTGGCGCCCGAGCCAGCTTCAAAGACACGCTGTGAC
CCTGCGGCTCCTGACGCCAGCTCTC (SEQ ID NO:581)

BST:
GTTTTTGTTTCGGTTTTTGGCGCCGGAGGATTTTCGATTTCGATTTCGGTCGTTTATCGTGGCGGCCGAGGTAGTTTTAAAGATACGTTGTGAT
TTTCGGTTTTTTGACGTTAGTTTTT (SEQ ID NO:582)

TSPYL5_FP_V2 TTTCTTTCGGTTTTTCGCCG (SEQ ID NO:583)
TSPYL5_RP_v4 CGCCACCATAAACGACC (SEQ ID NO:584)
TSPYL5_Pb_A5_63_v4 AGGCCACGGACG GCGCGAGGATTTTCGATTTC/3C6 (SEQ ID NO:585)

图2(续)

PTGDR
>hg19_dna范围 =chr14:52735270-52735400 5'垫=0 3'垫=0 链=- 重复屏蔽=无
GCCTCGGGGCCCCGGGGACTCACAATTACGGGCAGAGAACACATAGTGAAGAGCACGGTCATCAGCGCCAGCAGCAGGAGGTGATCCAGCTCCTC
CAGGGGCTGACGG (SEQ ID NO:586)

BST:
GTTTCGGGGTTCGGGGATTTATAATTACGGGTAGAGAATATATAGTGAAGAGTACGGTTATTAGCGTTAGTAGTAGGAGGTGATTTAGTTTTTT
TAGGGGTTGACGG (SEQ ID NO:587)

PTGDR_FP GCGTTCGGGGATTTATAATTACGG (SEQ ID NO:588)
PTGDR_RP CTAAATCACCTCCTACTACTAACGCTAATAAC (SEQ ID NO:589)
PTGDR_Pb_IQ_A1 CGCGCCGAGG CCGTACTCTTCACTATATATTCTCT/3C6/ (SEQ ID NO:590)

图2(续)