

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2017年5月11日 (11.05.2017)



(10) 国际公布号
WO 2017/075784 A1

- (51) 国际专利分类号:
C12N 15/12 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2015/093909
- (22) 国际申请日: 2015年11月5日 (05.11.2015)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (71) 申请人: 深圳华大基因研究院 (BGI SHENZHEN) [CN/CN]; 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼, Guangdong 518083 (CN)。
- (72) 发明人: 吴述 (WU, Kui); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼, Guangdong 518083 (CN)。 李甫强 (LI, Fuqiang); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼, Guangdong 518083 (CN)。 侯勇 (HOU, Yong); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼, Guangdong 518083 (CN)。 朱师达 (ZHU, Shida); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼, Guangdong 518083 (CN)。 叶晓飞 (YE, Xiaofei); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼, Guangdong 518083 (CN)。 梁颜 (LIANG, Yan); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼, Guangdong 518083 (CN)。
- (74) 代理人: 北京清亦华知识产权代理事务所 (普通合伙) (TSINGYIHUA INTELLECTUAL PROPERTY LLC); 中国北京市海淀区清华园清华大学照澜院商业楼 301 室, Beijing 100084 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: BIOMARKER FOR DETECTION OF LUNG ADENOCARCINOMA AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 肺腺癌生物标记物及其应用

(57) Abstract: Provided are a biomarker related to detection of lung adenocarcinoma and a use thereof. Also provided is a method for in vitro detection of lung adenocarcinoma, comprising: acquiring a first mutation level from mutation levels of one or more biomarkers at a first site of a subject, wherein the biomarker comprises at least one the following genes: TP53, EGFR, LRP1B, KRAS, PTPRD, STK11, SMAD2, PIK3CA, BRAF, FLT1, RHPN2, GLI3 and MRC2; comparing the first mutation level with a first reference level; and when there is a distinct difference between the first mutation level and the first reference level, determining that the subject has a lung adenocarcinoma, wherein the first reference level is a mutation level of the biomarker at a first site of a normal individual.

(57) 摘要: 提供了一种肺腺癌相关生物标记物及其应用。还提供一种体外检测受试者存在肺腺癌的方法, 包括: 检测受试者的第一部位中的一种或者多种生物标记物上的突变水平, 获得第一突变水平, 所述生物标记物包括以下至少一种基因: TP53, EGFR, LRP1B, KRAS, PTPRD, STK11, SMAD2, PIK3CA, BRAF, FLT1, RHPN2, GLI3 和 MRC2; 将第一突变水平与第一参考水平比较, 当第一突变水平与第一参考水平具有显著差异时, 判定受试者患有肺腺癌, 第一参考水平为生物标记物在正常个体的第一部位中的突变水平。



WO 2017/075784 A1

肺腺癌生物标记物及其应用

技术领域

本发明涉及生物医学领域，具体的，本发明涉及肺腺癌生物标记物及其应用，更具体的，本发明涉及体外检测受试者存在肺腺癌的方法、装置及试剂盒，体外检测患者肺腺癌是否发生转移的方法、装置和试剂盒。

背景技术

随着人类基因组计划的完成，新一代测序技术的发展，为肿瘤发生、发展、侵袭转移的分子机理研究提供了新方法，从癌症基因组中探究基因突变与癌症发生的关联性，对疾病预测、干预、诊断治疗，已成为临床肿瘤医学领域的重要研究策略。肺癌，是众多癌种中发病率和死亡率增长最快、对人类健康和生命威胁最大的恶性肿瘤之一，近年来其发病率在全球范围内仍呈持续上升的趋势，这一趋势在中国尤其明显。肺癌，主要包括非小细胞肺癌(NSCLC)和小细胞肺癌(SCLC)，其中，非小细胞癌占85%，而肺腺癌是最常见的一种病理型非小细胞肺癌，每年全球约超过50万人死于该种癌症。

目前外科治疗手术虽然已经有较大进步，基于基因变异的肺腺癌的分子亚型、靶向治疗、检测诊断对临床的辅助作用仍然有限，主要是因为：(1) 缺乏有效的早期诊断手段，多数肺癌患者确诊时已出现癌转移；(2) 多数病人缺乏有效的已知靶向基因；(3) 肿瘤的异质性、复杂性；(4) 恶性转移的机制不明。

现有研究以肺腺癌基因组为研究点，已鉴定出很多潜在的癌症驱动基因，包括针对被激活的致癌基因的靶向治疗，如EGFR、ERBB2、BRAF等，以及针对异位或融合基因如ALK、ROS1、RET基因的靶向治疗。然而，这些研究大多是以欧洲或北美地区患者组织进行研究筛查得到，而且收集的样本主要来源于患病早期。已筛查的这些基因标记物因种族差异，对东亚人群的肺腺癌特异性低。而且晚期肺腺癌并携带转移时，缺乏系统研究，大大增加了诊断与治疗的难度。

发明内容

本发明旨在至少解决上述现有问题至少之一或者至少提供一种商业选择。

发明人基于发现东亚人群肺腺癌的高发病率和种族人群间存在的潜在遗传异质性，对东亚人群中进行综合的基因组学分析，包括对晚期肺腺癌的基因特征，特别是携带转移肺腺癌进行深入研究。发明人利用二代测序技术，深入研究遗传突变，筛选出包括针对肺腺癌早期检测的生物标记物，发明人的发现扩大了肺腺癌中潜在的癌症驱动基因频谱，积极

推进肺腺癌的辅助治疗和辅助诊断检测，具体地，能够为肺腺癌的发病研究、预后效果评估、转移发生发展提供相关的生物标记物，用于肺腺癌发生发展的有效检测，而且能够用于改善在转移发展的学科认知和为未来肺腺癌转移诊断和治疗提供辅助指导。

发明人通过分析 335 个肺腺癌原发肿瘤样本数据、35 个淋巴结转移癌样本数据以及正常肺组织样本数据，综合突变频率、基因长度、基因生物学功能等，进行突变基因的整合分析，发明人发现 13 个在肺腺癌样本中具有统计学意义的显著突变基因——TP53, EGFR, LRP1B, KRAS, PTPRD, STK11, SMAD2, PIK3CA, BRAF, FLT1, RHPN2, GLI3 和 MRC2，在本文中也将这些基因称为致病相关基因。

发明人发现，这些基因在肺腺癌群体特别是东亚人群中具有相当比例的突变率，提示这些突变基因与肺腺癌致病的关联性，具有潜在的用于检测诊断或者辅助检测诊断肺腺癌发病的作用。将这些基因作为肺腺癌生物标记物，将所称生物标记物用于预测肺腺癌致病可能性的检测，可以用于辅助确定肺腺癌，作为辅助肺腺癌早期诊断方法。

依据本发明的第一方面，本发明提供一种体外检测受试者存在肺腺癌的方法，该方法包括：测定受试者的第一部位中的一种或者多种生物标记物的突变水平，获得第一突变水平，所述生物标记物包括以下至少一种基因：TP53, EGFR, LRP1B, KRAS, PTPRD, STK11, SMAD2, PIK3CA, BRAF, FLT1, RHPN2, GLI3 和 MRC2；将所述第一突变水平与第一参考水平比较，当所述第一突变水平与所述第一参考水平具有显著差异时，判定所述受试者患有肺腺癌，所述第一参考水平为所述生物标记物在正常个体的第一部位中的突变水平。

依据本发明的第二方面，本发明提供一种检测受试者存在肺腺癌的装置，该装置用以实施上述本发明一方面的体外检测受试者存在肺腺癌的方法的全部或部分步骤，该装置包括：第一突变检测单元，用于测定所述受试者的第一部位中的一种或者多种生物标记物的突变水平，获得第一突变水平，所述生物标记物包括以下至少一种基因：TP53, EGFR, LRP1B, KRAS, PTPRD, STK11, SMAD2, PIK3CA, BRAF, FLT1, RHPN2, GLI3 和 MRC2；第一判定单元，与所述第一突变检测单元相连，用于将所述第一突变水平与第一参考水平比较，当所述第一突变水平与所述第一参考水平具有显著差异时，判定所述受试者患有肺腺癌，所述第一参考水平为所述生物标记物在正常个体的第一部位中的突变水平。

依据本发明的第三方面，本发明提供一种检测生物样品为肺腺癌样品的试剂盒，该试剂盒包括：用于检测所述生物样品中的生物标记物的突变水平的试剂，所述生物标记物包括以下至少一种基因：TP53, EGFR, LRP1B, KRAS, PTPRD, STK11, SMAD2, PIK3CA, BRAF, FLT1, RHPN2, GLI3 和 MRC2；以及指示所述生物标记物的突变水平与肺腺癌关

系的第一说明书，任选的，所述第一说明书包含第一参考水平信息，所述第一参考水平是所述生物标记物在正常个体的第一部位中的突变水平。

依据本发明的第四方面，本发明提供一种体外检测受试者存在肺腺癌的方法，该方法包括：检测受试者的第一部位中的一种或者多种生物标记物的突变水平，获得第一突变水平，检测所述受试者的第二部位中的相同所述生物标记物的突变水平，获得第二突变水平，所述生物标记物包括以下至少一种基因：TP53，EGFR，LRP1B，KRAS，PTPRD，STK11，SMAD2，PIK3CA，BRAF，FLT1，RHPN2，GLI3 和 MRC2，所述第二部位为正常部位；比较所述第一突变水平和所述第二突变水平，当所述第一突变水平与所述第二突变水平具有显著差异时，判定所述受试者患有肺腺癌。

依据本发明的第五方面，本发明提供一种检测受试者存在肺腺癌的装置，该装置用以实施上述本发明一方面的体外检测受试者存在肺腺癌的方法的全部或部分步骤，该装置包括：第二突变检测单元，用于检测受试者的第一部位中的一种或者多种生物标记物的突变水平，获得第一突变水平，以及用于检测受试者的第二部位中的相同所述生物标记物的突变水平，获得第二突变水平，所述生物标记物包括以下至少一种基因：TP53，EGFR，LRP1B，KRAS，PTPRD，STK11，SMAD2，PIK3CA，BRAF，FLT1，RHPN2，GLI3 和 MRC2，所述第二部位为正常部位；第二判定单元，与所述第二突变检测单元相连，用于比较所述第一突变水平和所述第二突变水平，当所述第一突变水平与所述第二突变水平具有显著差异时，判定所述受试者患有肺腺癌。

RHPN2，GLI3 和 MRC2 这三个基因，是发明人首次发现在肺腺癌中存在高关联性的三个驱动基因。驱动基因为与癌症发生发展相关的重要基因。这三个未见报道过的高关联性的肺腺癌驱动基因，能够用于肺腺癌的检测诊断或者辅助检测诊断。

依据本发明的第六方面，本发明提供一组肺腺癌驱动基因，其由基因 RHPN2，GLI3 和 MRC2 组成。

依据本发明的第七方面，本发明提供上述本发明一方面的肺腺癌驱动基因在治疗肺腺癌、和/或制备治疗肺腺癌药物中的用途。

依据本发明的第八方面，本发明提供一种体外检测受试者存在肺腺癌的方法，该方法包括：检测受试者的肺组织或者肺细胞中的肺腺癌驱动基因是否都存在突变，所述肺腺癌驱动基因由基因 RHPN2，GLI3 和 MRC2 组成；当所述肺腺癌驱动基因都存在突变时，确定所述受试者存在肺腺癌。

依据本发明的第九方面，本发明提供一种检测受试者存在肺腺癌的装置，该装置用以

实施上述本发明一方面的体外检测受试者存在肺腺癌的方法的全部或部分步骤，该装置包括：第三突变检测单元，用于检测受试者的肺组织或者肺细胞中的肺腺癌驱动基因是否都存在突变，所述肺腺癌驱动基因由基因 RHPN2，GLI3 和 MRC2 组成；第三判定单元，与所述突变检测单元相连，用于当所述肺腺癌驱动基因都存在突变时，确定所述受试者存在肺腺癌。

依据本发明的第十方面，本发明提供一种确定生物样品为肺腺癌样品的试剂盒，该试剂盒包括：用于检测所述生物样品中的肺腺癌驱动基因上的突变的试剂，所述肺腺癌驱动基因由基因 RHPN2，GLI3 和 MRC2 组成；以及指示肺腺癌驱动基因突变与肺腺癌关系的第二说明书。

在肺腺癌中，转移是疾病发展的最关键事件，但目前对原发肺腺癌携带转移和不携带转移的患者之间突变模式的差异，还缺乏系统研究。发明人通过比较已确诊为伴淋巴结转移或远端转移的肺腺癌和无转移的肺腺癌样品进行比较分析，通过 Fisher's exact test 检验，发现 TP53 突变基因是唯一一个在携带转移的肺腺癌中显著性富集的基因 ($P < 0.05$)，提示该基因不仅是与肿瘤发生显著相关的一个抑癌基因，并对肿瘤转移发生发展有驱动作用。TP53 基因的突变率可以作为一种检测肺腺癌是否发生转移和治疗预后的生物标记物。

依据本发明的第十一方面，本发明提供一种体外检测患者肺腺癌是否发生转移的方法，该方法包括：检测患者的肺组织或者肺细胞中的 TP53 基因的突变水平，获得 TP53 基因突变水平，所述患者患有肺腺癌；比较所述 TP53 基因突变水平与第二参考水平，当所述基因突变水平与所述第二参考水平具有显著差异时，确定所述患者肺腺癌发生转移，所述第二参考水平为 TP53 基因在未发生转移的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的突变水平。

依据本发明的第十二方面，本发明提供一种检测患者肺腺癌是否发生转移的装置，该装置用以实施本发明一方面的检测患者肺腺癌是否发生转移的方法的全部或部分步骤，该装置包括：TP53 基因检测单元，用于检测患者的肺组织或者肺细胞中的 TP53 基因的突变水平，获得 TP53 基因突变水平，所述患者患有肺腺癌；第四判定单元，与所述 TP53 基因突变检测单元相连，用于比较所述 TP53 基因突变水平与第二参考水平，当所述基因突变水平与所述第二参考水平具有显著差异时，确定所述患者肺腺癌发生转移，所述第二参考水平为 TP53 基因在未发生转移的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的突变水平。

依据本发明的第十三方面，本发明提供一种检测生物样品是否为转移的肺腺癌样品的试剂盒，该试剂盒包括：用于检测所述生物样品中的 TP53 基因的突变水平的试剂；以及指示所述 TP53 基因的突变水平与所述转移的肺腺癌的关系的第三说明书，所述第三说明书包

含第二参考水平信息,所述第二参考水平为 TP53 基因在未发生转移的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的突变水平。

发明人通过 Kaplan-Meier 生存分析,比较 335 名中国肺腺癌患者的肺腺癌样品数据,发现相对野生型个体患者,携带 TP53、LRP1B、STK11、KEAP1、BRAF、MET 和 MRC2 七个基因中的至少一个的基因的突变提示显著缩短的生存期。这里,所称的野生型个体患者为上述任一基因上不存在突变的肺腺癌患者。上述基因中的任何一个的突变,均可以辅助作为临床实践中的预测生存期长短的生物标记物。

依据本发明的第十四方面,本发明提供一种检测肺腺癌患者预后效果的方法,该方法包括:检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中是否存在以下至少一个基因存在突变: TP53, LRP1B, STK11, KEAP1, BRAF, MET 和 MRC2; 确定存在至少一个所述基因存在突变的肺腺癌患者预后效果差。所称的预后效果差包括,相较于预后的野生型个体患者的生存期显著缩短。这里,所称的野生型个体患者为上述任一基因上不存在突变的肺腺癌患者。

依据本发明的第十五方面,本发明提供一种检测肺腺癌患者预后效果的装置,该装置用以实施上述本发明一方面的检测肺腺癌患者预后效果的方法的全部或部分步骤,该装置包括:第四突变检测单元,用于检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中是否存在以下至少一个基因存在突变: TP53, LRP1B, STK11, KEAP1, BRAF, MET 和 MRC2; 第五判定单元,与所述第四突变检测单元相连,用于判定存在至少一个所述基因存在突变的肺腺癌患者预后效果差。所称的预后效果差包括,相较于预后的野生型个体患者的生存期显著缩短。这里,所称的野生型个体患者为上述任一基因上不存在突变的肺腺癌患者。

依据本发明的第十六方面,本发明提供一种检测肺腺癌患者预后效果的试剂盒,该试剂盒包括:用于检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中是否存在以下至少一个基因存在突变的试剂: TP53, LRP1B, STK11, KEAP1, BRAF, MET 和 MRC2; 以及指示存在至少一个所述基因存在突变的肺腺癌患者的预后效果差的第四说明书。所称的预后效果差包括,相较于预后的野生型个体患者的生存期显著缩短。这里,所称的野生型个体患者为上述任一基因上不存在突变的肺腺癌患者。

发明人还发现一个新型的肺腺癌驱动基因 IQGAP3,该基因在肺腺癌样本中高水平表达。发明人发现,高表达的 IQGAP3 基因与缩短的总生存率和无疾病生存期显著相关,提示其与肺腺癌预后差具有高度关联性。IQGAP3 基因可作为肺腺癌精准检测诊断和预后效果评估的生物标记物。

依据本发明的第十七方面，本发明提供一种检测肺腺癌患者预后效果的方法，该方法包括：检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中的 IQGAP3 基因的表达水平；将所述表达水平与第三参考水平比较，当所述表达水平与所述第三参考水平具有显著差异时，判定所述肺腺癌患者的预后效果差，所述第三参考水平为 IQGAP3 基因在预后效果好的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的表达水平。这里，所称的预后效果差和预后效果好，是以预后的生存期相对短和相对长来划分的。所称预后效果差指，相较于预后的野生型个体患者的生存期显著缩短。这里，所称的野生型个体患者为 IQGAP3 基因表达水平非为显著高表达的肺腺癌患者。

依据本发明的第十八方面，本发明提供一种检测肺腺癌患者预后效果的装置，该装置用以实施本发明一方面的检测肺腺癌患者预后效果的方法的全部或部分步骤，包括：基因表达水平检测单元，用于检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中的 IQGAP3 基因的表达水平；第六判定单元，与所述基因表达水平检测单元相连，用以将所述表达水平与第三参考水平比较，当所述表达水平与所述第三参考水平具有显著差异时，判定所述肺腺癌患者的预后效果差，所述第三参考水平为 IQGAP3 基因在预后效果好的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的表达水平。这里，所称的预后效果差和预后效果好，是以预后的生存期相对短和相对长来划分的。所称预后效果差指，相较于预后的野生型个体患者的生存期显著缩短。这里，所称的野生型个体患者为 IQGAP3 基因表达水平非为显著高表达的肺腺癌患者。

依据本发明的第十九方面，本发明提供一种检测肺腺癌患者预后效果的试剂盒，该试剂盒包括：用于检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中的 IQGAP3 基因的表达水平的试剂；以及指示所述表达水平与肺腺癌患者预后效果关系的第五说明书，所述第五说明书包含第三参考水平信息，所述第三参考水平为 IQGAP3 基因在预后效果好的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的表达水平。这里，所称的预后效果差和预后效果好，是以预后的生存期相对短和相对长来划分的。所称的预后效果好包括指相较于预后的野生型个体患者的，具有显著长的生存期。这里，所称的野生型个体患者为 IQGAP3 基因表达水平非为显著高表达的肺腺癌患者。

附图说明

本发明的上述和/或附加的方面和优点从结合下面附图对实施例的描述中将变得明显和容易理解，其中：

图 1 显示本发明的一个实施例中的肺腺癌相关的基因在不同肺腺癌人群或样本中的突

变频率。

图 2 显示本发明的一个实施例中的各个肺腺癌相关基因上出现的突变类型以及突变位置；其中，图 2A 显示基因 TP53、EGFR 和 LRP1B 上出现的突变类型和突变位置，图 2B 显示基因 KRAS、PTPRD、PIK3CA、RHPN2 和 STK11 上出现的突变类型和突变位置，图 2C 显示基因 BRAF、GLI3、FLT1、MRC2 和 SMAD2 上出现的突变类型和突变位置，图 2D 显示基因 APC、KEAP1、ATF7IP、ITIH5、IQGAP3 和 MET 上出现的突变类型和突变位置，图 2E 显示基因 ERBB2 和 TERT 上出现的突变类型和突变位置。

图 3 显示本发明的一个实施例中的肺腺癌相关基因突变与临床表征的关联。

图 4 显示本发明的一个实施例中的肺腺癌相关的 7 个基因突变对生存率和生存期的影响。

图 5 显示本发明的一个实施例中的 IQGAP3 基因在正常组织、原发肺腺癌、转移肺腺癌样本中的表达水平。

图 6 显示本发明的一个实施例中的肺腺癌患者 IQGAP3 基因表达水平的 Kaplan-Meier 生存曲线。

图 7 显示本发明的一个实施例中的确定肺腺癌相关生物标记物的试验流程。

具体实施方式

下面结合附图和具体实施方式对本发明进行详细说明。

所述实施方式在附图中示出，其中自始至终相同或类似的标号表示相同或类似的元件或具有相同或类似功能的元件。下面通过参考附图描述的实施例是示例性的，仅用于解释本发明，而不能理解为对本发明的限制。

在本文中，所使用的术语“第一”、“第二”等仅用于描述目的，而不能理解为指示或暗示相对重要性、隐含指明所指示的技术特征的数量或者具有顺序关系。由此，限定有“第一”、“第二”的特征可以明示或者隐含地包括一个或者多个该特征。在本发明的描述中，除非另有说明，“多个”的含义是两个或两个以上。

在本文中，除非另有明确的规定和限定，术语“顺序连接”、“相连”、“连接”等术语应做广义理解，例如，可以是固定连接，也可以是可拆卸连接，或一体地连接；可以是机械连接，也可以是电连接；可以是直接相连，也可以通过中间媒介间接相连，可以是两个元件内部的连通。对于本领域的普通技术人员而言，可以根据具体情况理解上述术语在本发明中的具体含义。

在本文中，除非另有明确的规定或限定，所称的“突变”均指体细胞突变，体细胞突

变是指除性细胞外的体细胞发生的突变。

根据本发明的一个实施方式提供的一种体外检测受试者存在肺腺癌的方法，该方法包括：测定受试者的第一部位中的一种或者多种生物标记物的突变水平，获得第一突变水平，所述生物标记物包括以下至少一种基因：TP53，EGFR，LRP1B，KRAS，PTPRD，STK11，SMAD2，PIK3CA，BRAF，FLT1，RHPN2，GLI3 和 MRC2；将所述第一突变水平与第一参考水平比较，当所述第一突变水平与所述第一参考水平具有显著差异时，判定所述受试者患有肺腺癌，所述第一参考水平为所述生物标记物在正常个体的第一部位中的突变水平。

该实施方式中，所称的第一部位可以是肺细胞、肺组织和血浆游离核酸中的至少一种。所称的突变水平包括基因上是否存在突变和/或存在突变的数量和/或存在突变的类型。根据本发明的实施例，突变水平的检测利用二代测序技术。提取肺组织或者肺细胞中的核酸，利用测序技术对提取的核酸进行测序文库（library）制备，以及对文库进行上机测序，获得下机数据即测序数据；接着，对测序数据进行分析，包括将测序数据与参考序列比对，根据比对结果识别目标基因上的突变，包括识别目标基因上是否存在突变、存在的突变的数目和/或突变类型。其中，测序可利用现有测序平台进行，可依据所选择的测序平台进行相应的文库制备，可选用的测序平台包括但不限于 CG（Complete Genomics）CGA、Illumina/Solexa、Life Technologies/Ion Torrent 和 Roche 454，依据所选测序平台进行单端或双末端测序文库的制备。比对可以利用 SOAP（Short Oligonucleotide Analysis Package），BWA 等软件进行，本实施方式对此不作限制，比对过程中，根据比对参数的设置，例如设置测序数据中的每条读段最多允许有 h 个碱基错配（mismatch），h 优选为 1 或 2，若一条 reads 中有超过 h 个碱基发生错配，则视为该条 reads 无法比对到参考序列。比对结果包含各条读段与参考序列的比对情况，包括读段是否能够比对上参考序列、读段比对上参考序列的位置、某一位点多少读段比对上、比对上某位点的读段的相应位置的碱基类型等。所称的参考序列是已知序列，可以是预先获得的目标个体所属生物类别中的任意的参考模板，例如，同一生物类别的已公开的基因组组装序列，若核酸样本为来自人类，其基因组参考序列（也称为参考基因组）可选择 NCBI 数据库提供的 HG19。各种突变类型，包括 SNP、CNV 和 InDel 至少之一，各种突变可以基于获得的比对结果、利用相应的已知软件或程序识别判断，例如 SNP 的识别可利用 SOAPsnp、GATK 等软件依照软件默认参数设置进行。

所称的第一参考水平可以在检测受试者是否存在肺腺癌时测定，例如在测定受试者的肺组织或者肺细胞中的一种或者多种生物标记物的突变水平时，同时检测生物标记物在多个正常个体的第一部位中的突变水平；第一参考水平也可以预先测定，保存或记录备用。

根据本发明的一个实施例，第一参考水平为生物标记物在多个正常个体肺组织或者肺细胞中的平均突变水平，预先测定保存备用。

所称的显著差异，可以是明显的、有实质性的差异，例如第一参考水平显示为无突变、而第一突变水平显示为存在突变，再例如第一参考水平显示为无错义突变、而第一突变水平显示为存在错义突变，又例如第一参考水平显示为N个突变、而第一突变水平显示为1.5N、2N或者2N以上个突变；所称的显著差异，也可以指统计学上的差异具有显著性。

上述本发明这一实施方式的检测方法是发明人基于发现东亚人群肺腺癌的高发病率和种族人群间存在的潜在遗传异质性，对东亚人群中进行综合的基因组学分析，包括对晚期肺腺癌的基因特征，特别是携带转移肺腺癌进行深入研究而获得的。发明人利用二代测序技术，深入研究遗传突变，筛选出包括针对肺腺癌早期检测的生物标记物，发明人的发现扩大了肺腺癌中潜在的癌症驱动基因频谱，积极推进肺腺癌的辅助治疗和辅助诊断检测，具体地，能够为肺腺癌的发病研究、预后效果评估、转移发生发展提供相关的生物标记物，用于肺腺癌发生发展的有效检测，而且能够用于改善在转移发展的学科认知和为未来肺腺癌转移诊断和治疗提供辅助指导。

发明人通过分析335个肺腺癌原发肿瘤样本数据、35个淋巴结转移癌样本数据以及正常肺组织样本数据，综合突变率、基因长度、基因生物学功能等，进行突变基因的整合分析，发明人发现以上13个在肺腺癌样本中具有统计学意义的显著突变基因——TP53, EGFR, LRP1B, KRAS, PTPRD, STK11, SMAD2, PIK3CA, BRAF, FLT1, RHPN2, GLI3 和 MRC2，在本文中也将这些基因称为致病相关基因。

发明人发现，这些基因在肺腺癌群体特别是东亚人群中具有相当比例的突变率，参见图1以及图2，提示这些突变基因与肺腺癌致病的关联性，具有潜在的用于检测诊断或者辅助检测诊断肺腺癌发病的作用。例如，发明人发现TP53基因在44%中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，提示可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物；发明人发现EGFR基因在39%中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，且此基因突变在无吸烟史或女性患者中更常见，与白种人数据相比，EGFR基因的突变率比KRAS更高，而且显示EGFR主要突变于Leu858Arg和exon19del位点，为酪氨酸激酶抑制剂治疗敏感性位点，作为提示可以作为肺腺癌诊断及靶向治疗的一种生物标记物；发明人发现LRP1B基因在19%中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，提示可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物；发明人发现KRAS基因在11%中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，提示可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物；发明人发现PTPRD基因在7%中国人肺腺癌中具

有统计学意义的显著性突变，提示可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物；发明人发现 STK11 基因在 4% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，提示可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物；发明人发现 PIK3CA 基因在 5% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，提示可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物；发明人发现 RHPN2 基因在 5% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，提示可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物；发明人发现 SMAD2 基因在 2% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，提示可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物；发明人发现 BRAF 基因在 4% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，提示可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物；发明人发现 GLI3 基因在 4% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，提示可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物；发明人发现 FLT1 基因在 3% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，提示可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物；MRC2，别名 uPARAP、Endo180 或 CD280，发明人发现 MRC2 基因在 2% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，提示可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物。将这些基因中的一个或者组合作为肺腺癌生物标记物，将所称生物标记物用于预测肺腺癌致病可能性的检测，可以用于辅助确定肺腺癌，作为辅助肺腺癌早期诊断方法。

根据本发明的实施例，所称的生物标记物包括基因 TP53, EGFR, LRP1B, KRAS, PTPRD, STK11, SMAD2, PIK3CA, BRAF, FLT1, RHPN2, GLI3 和 MRC2 中的任意一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个或者全部十三个。所称的第一突变水平和第一参考水平相应的包含多个基因的突变水平。

根据本发明的一个实施方式提供的一种检测受试者存在肺腺癌的装置，该装置可以用以实施上述本发明的一个实施方式或者任一实施例中的体外检测受试者存在肺腺癌的方法的全部或部分步骤，该装置包括：第一突变检测单元，用于测定所述受试者的第一部位中的一种或者多种生物标记物的突变水平，获得第一突变水平，所述生物标记物包括以下至少一种基因：TP53, EGFR, LRP1B, KRAS, PTPRD, STK11, SMAD2, PIK3CA, BRAF, FLT1, RHPN2, GLI3 和 MRC2；第一判定单元，与所述第一突变检测单元相连，用于将所述第一突变水平与第一参考水平比较，当所述第一突变水平与所述第一参考水平具有显著差异时，判定所述受试者患有肺腺癌，所述第一参考水平为所述生物标记物在正常个体第一部位中的突变水平。该实施方式中，所称的第一部位可以是肺细胞、肺组织和血浆游离核酸中的至少一种。上述对本发明一个实施方式中的体外检测受试者存在肺腺癌的方法的技术特征和优点的描述，同样适用本发明这一实施方式中的检测受试者存在肺腺癌的装

置，在此不再赘述。本领域技术人员可以理解，上述任一实施方式或者实施例中的方法的各步骤的实现执行方式，可以借助相连接的子单元来实施，例如，使所称的第一突变检测单元包含测序子单元来获得测序数据，使包括比对子单元用以将测序数据与参考序列比对，获得比对结果等。

根据本发明的一个实施方式提供的一种检测生物样品为肺腺癌样品的试剂盒，该试剂盒包括：用于检测所述生物样品中的生物标记物的突变水平的试剂，所述生物标记物包括以下至少一种基因：TP53，EGFR，LRP1B，KRAS，PTPRD，STK11，SMAD2，PIK3CA，BRAF，FLT1，RHPN2，GLI3 和 MRC2；以及指示所述生物标记物的突变水平与肺腺癌关系的第一说明书，所述第一说明书包含第一参考水平信息，所述第一参考水平是所述生物标记物在正常个体的与所述生物样品来源相同的部位中的突变水平。该实施方式中，所称的生物样品可以是或者来自肺细胞、肺组织和血浆游离核酸中的至少一种。上述对本发明一个实施方式或者任一实施例中的体外检测受试者存在肺腺癌的方法的技术特征和优点的描述，同样适用本发明这一实施方式中的检测试剂盒，在此不再赘述。所称第一说明书包含比较所述第一突变水平与第一参考水平，当所述第一突变水平与所述第一参考水平具有显著差异时，判定所述受试者患有肺腺癌的指示。

根据本发明的一个实施方式提供的一种体外检测受试者存在肺腺癌的方法，该方法包括：检测受试者的第一部位中的一种或者多种生物标记物的突变水平，获得第一突变水平，检测所述受试者的第二部位中的相同所述生物标记物的突变水平，获得第二突变水平，所述生物标记物包括以下至少一种基因：TP53，EGFR，LRP1B，KRAS，PTPRD，STK11，SMAD2，PIK3CA，BRAF，FLT1，RHPN2，GLI3 和 MRC2，所述第二部位为正常部位；比较所述第一突变水平和所述第二突变水平，当所述第一突变水平与所述第二突变水平具有显著差异时，判定所述受试者患有肺腺癌。所称的受试者的其它正常部位，包括该受试者的其它正常组织、细胞和/或体液样品，例如受试者的血液样本。该实施方式中，所称的第一部位可以是肺细胞、肺组织和血浆游离核酸中的至少一种，所称的第二部位为受试者的已知正常的或者已知非病变的部位。上述对本发明一个实施方式或者任一实施例中的体外检测受试者存在肺腺癌的方法的技术特征和优点的描述，同样适用本发明这一实施方式中的体外检测受试者存在肺腺癌的方法，在此不再赘述。

根据本发明的一个实施方式提供的一种检测受试者存在肺腺癌的装置，该装置用以实施上述实施方式中的体外检测受试者存在肺腺癌的方法的全部或部分步骤，该装置包括：第二突变检测单元，用于检测受试者的第一部位中的一种或者多种生物标记物的突变水平，

获得第一突变水平, 以及用于检测受试者的第二部位中的相同所述生物标记物的突变水平, 获得第二突变水平, 所述生物标记物包括以下至少一种基因: TP53, EGFR, LRP1B, KRAS, PTPRD, STK11, SMAD2, PIK3CA, BRAF, FLT1, RHPN2, GLI3 和 MRC2; 第二判定单元, 与所述第二突变检测单元相连, 用于比较所述第一突变水平和所述第二突变水平, 当所述第一突变水平与所述第二突变水平具有显著差异时, 判定所述受试者患有肺腺癌。该实施方式中, 所称的第一部位可以是肺细胞、肺组织和血浆游离核酸中的至少一种, 所称的第二部位为受试者的已知正常的或者说为已确认为非病变的部位。上述对本发明一个实施方式或者任一实施例中的体外检测受试者存在肺腺癌的方法的技术特征和优点的描述, 同样适用本发明这一实施方式中的检测受试者存在肺腺癌的装置, 在此不再赘述。本领域技术人员可以理解, 上述任一具体实施方式中的各步骤的实现或执行方式, 可以借助相连接的子单元来实现, 例如, 使所称的第二突变检测单元包含测序子单元来获得测序数据, 使包括比对子单元用以将测序数据与参考序列比对, 获得比对结果等。

根据本发明的另一个实施方式提供的一组肺腺癌驱动基因, 其由基因 RHPN2, GLI3 和 MRC2 组成。RHPN2, GLI3 和 MRC2 这三个基因的组合, 是发明人首次发现在肺腺癌中存在高关联性的三个驱动基因。驱动基因为与癌症发生发展相关的重要基因。这三个未见报道过的高关联性的肺腺癌驱动基因, 能够用于肺腺癌的检测诊断或者辅助检测诊断。

根据本发明的另一个实施方式, 提供上述实施方式中的肺腺癌驱动基因在治疗肺腺癌、和/或制备治疗肺腺癌药物中的用途。RHPN2, GLI3 和 MRC2 这三个基因, 是发明人首次发现在肺腺癌中存在高关联性的三个驱动基因。驱动基因为与癌症发生发展相关的重要基因。这三个未见报道过的高关联性的肺腺癌驱动基因, 能够用于肺腺癌的检测诊断或者辅助检测诊断。

根据本发明的另一个实施方式提供的一种体外检测受试者存在肺腺癌的方法, 该方法包括: 检测受试者的肺组织或者肺细胞中的肺腺癌驱动基因是否都存在突变, 所述肺腺癌驱动基因由基因 RHPN2, GLI3 和 MRC2 组成; 当所述肺腺癌驱动基因都存在突变时, 确定所述受试者存在肺腺癌。

根据本发明的一个实施例, 所述检测受试者的肺组织或者肺细胞中的肺腺癌驱动基因是否都存在突变, 包括: 检测 RHPN2 基因是否存在 V73M 突变。发明人发现 RHPN2 基因上的 V73M 突变只高频存在在肺腺癌人群中, 需要说明的是, RHPN2 基因的 V73M 突变是未报道过的, 可作为潜在的肺腺癌相关热点突变, 可作为东亚人群肺腺癌诊断和治疗的新的生物标记物。

根据本发明的另一个实施方式提供的一种检测受试者存在肺腺癌的装置，该装置用以实施上述实施方式或者任一实施例中的体外检测受试者存在肺腺癌的方法的全部或部分步骤，该装置包括：第三突变检测单元，用于检测受试者的肺组织或者肺细胞中的肺腺癌驱动基因是否都存在突变，所述肺腺癌驱动基因由基因 RHPN2，GLI3 和 MRC2 组成；第三判定单元，与所述突变检测单元相连，用于当所述肺腺癌驱动基因都存在突变时，确定所述受试者存在肺腺癌。RHPN2，GLI3 和 MRC2 这三个基因，是发明人首次发现在肺腺癌中存在高关联性的三个驱动基因。驱动基因为与癌症发生发展相关的重要基因。这三个未见报道过的高关联性的肺腺癌驱动基因，能够用于肺腺癌的检测诊断或者辅助检测诊断。

根据本发明的一个实施例，所述检测受试者的肺组织或者肺细胞中的肺腺癌驱动基因是否都存在突变，包括：检测 RHPN2 基因是否存在 V73M 突变。发明人发现 RHPN2 基因上的 V73M 突变只高频存在在肺腺癌人群中，需要说明的是，RHPN2 基因的 V73M 突变是未报道过的，可作为潜在的肺腺癌相关热点突变，可作为东亚人群肺腺癌诊断和治疗的新的生物标记物。

根据本发明的另一个实施方式提供的一种确定生物样品为肺腺癌样品的试剂盒，该试剂盒包括：用于检测所述生物样品中的肺腺癌驱动基因上的突变的试剂，所述肺腺癌驱动基因由基因 RHPN2，GLI3 和 MRC2 组成；以及指示肺腺癌驱动基因突变与肺腺癌关系的第二说明书。所称第二说明书包含当所述肺腺癌驱动基因都存在突变时，确定所述受试者存在肺腺癌的信息。

在肺腺癌中，转移是疾病发展的最关键事件，但目前对原发肺腺癌携带转移和不携带转移的患者之前突变模式的差异，还缺乏系统研究。发明人通过比较已确诊为伴淋巴结转移或远端转移的肺腺癌和无转移的肺腺癌样品进行比较分析，通过 Fisher's exact test 检验，发现 TP53 突变基因是唯一一个在携带转移的肺腺癌中显著性富集的基因 ($P < 0.05$)，参见图 3，提示该基因不仅是与肿瘤发生显著相关的一个抑癌基因，并对肿瘤转移发生发展有驱动作用。TP53 基因的突变率可以作为一种检测肺腺癌是否发生转移和治疗预后的生物标记物。

根据本发明的又一个实施方式提供的一种体外检测患者肺腺癌是否发生转移的方法，该方法包括：检测患者的肺组织或者肺细胞中的 TP53 基因的突变水平，获得 TP53 基因突变水平，所述患者患有肺腺癌；比较所述 TP53 基因突变水平与第二参考水平，当所述基因突变水平与所述第二参考水平具有显著差异时，确定所述患者肺腺癌发生转移，所述第二参考水平为 TP53 基因在未发生转移的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的突变水平。

该实施方式中，所称的突变水平包括 TP53 基因上是否存在突变和/或存在突变的数量和/或存在突变的类型。根据本发明的实施例，突变水平的检测利用二代测序技术。提取一个或多个肺组织样本或者肺细胞样本中的核酸，利用测序技术对提取的核酸进行测序文库（library）制备，以及对文库进行上机测序，获得下机数据即测序数据；接着，对测序数据进行分析，包括将测序数据与参考序列比对，根据比对结果识别目标基因上的突变，包括识别目标基因上是否存在突变、存在的突变的数目和/或突变类型。其中，测序可利用现有测序平台进行，可依据所选择的测序平台进行相应的文库制备，可选用的测序平台包括但不限于 CG（Complete Genomics）CGA、Illumina/ Solexa、Life Technologies/ Ion Torrent 和 Roche 454，依据所选测序平台进行单端或双末端测序文库的制备。比对可以利用 SOAP（Short Oligonucleotide Analysis Package），BWA 等软件进行，本实施方式对此不作限制，比对过程中，根据比对参数的设置，例如设置测序数据中的每条读段最多允许有 h 个碱基错配（mismatch），h 优选为 1 或 2，若一条 reads 中有超过 h 个碱基发生错配，则视为该条 reads 无法比对到参考序列。比对结果包含各条读段与参考序列的比对情况，包括读段是否能够比对上参考序列、读段比对上参考序列的位置、某一位点多少读段比对上、比对上某位点的读段的相应位置的碱基类型等。所称的参考序列是已知序列，可以是预先获得的目标个体所属生物类别中的任意的参考模板，例如，同一生物类别的已公开的基因组组装序列，若核酸样本为来自人类，其基因组参考序列（也称为参考基因组）可选择 NCBI 数据库提供的 HG19。各种突变类型，包括 SNP、CNV 和 InDel 至少之一，各种突变可以基于获得的比对结果、利用相应的已知软件或程序识别判断，例如 SNP 的识别可利用 SOAPsnp、GATK 等软件依照软件默认参数设置进行。

所称的第二参考水平可以在检测受试者是否存在肺腺癌时测定，例如在测定肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞样本中的一种或者多种生物标记物的突变水平时，同时检测相同生物标记物在多个未发生转移的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的突变水平；第二参考水平也可以预先测定，保存或记录备用。根据本发明的一个实施例，第二参考水平为生物标记物在多个未发生转移的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的平均突变水平，预先测定保存备用。

所称的显著差异，可以是明显的、有实质性的差异，例如第二参考水平显示为无突变、而 TP53 基因突变水平显示为存在突变，再例如第二参考水平显示为无错义突变、而 TP53 基因突变水平显示为存在错义突变，又例如第二参考水平显示为 N 个突变、而 TP53 基因突变水平显示为 1.5N、2N 或者 2N 以上个突变；所称的显著差异，也可以指统计学上的差

异具有显著性。

根据本发明的又一个实施方式提供的一种检测患者肺腺癌是否发生转移的装置，该装置用以实施本发明一方面的检测患者肺腺癌是否发生转移的方法的全部或部分步骤，该装置包括：TP53 基因检测单元，用于检测患者的肺组织或者肺细胞中的 TP53 基因的突变水平，获得 TP53 基因突变水平，所述患者患有肺腺癌；第四判定单元，与所述 TP53 基因突变检测单元相连，用于比较所述 TP53 基因突变水平与第二参考水平，当所述基因突变水平与所述第二参考水平具有显著差异时，确定所述患者肺腺癌发生转移，所述第二参考水平为 TP53 基因在未发生转移的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的突变水平。上述对本发明一个实施方式或者任一实施例中的检测患者肺腺癌是否发生转移的方法的技术特征和优点的描述，同样适用本发明这一实施方式中的装置，在此不再赘述。本领域技术人员可以理解，可以通过使这一实施方式中的装置中的功能单元包含对应的相连的功能子单元，以实现上述实施例中的检测患者肺腺癌是否发生转移的方法中的步骤中的具体实现或执行方式，例如，通过使 TP53 基因检测单元包含测序子单元，用于获得测序数据等。

根据本发明的又一个实施方式提供的一种检测生物样品是否为转移的肺腺癌样品的试剂盒，该试剂盒包括：用于检测所述生物样品中的 TP53 基因的突变水平的试剂；以及指示所述 TP53 基因的突变水平与所述转移的肺腺癌的关系的第三说明书，所述第三说明书包含第二参考水平信息，所述第二参考水平为 TP53 基因在未发生转移的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的突变水平。所称第三说明书包含比较所述 TP53 基因突变水平与第二参考水平，当所述基因突变水平与所述第二参考水平具有显著差异时，判定所述患者肺腺癌发生转移的信息或操作指示。上述对本发明一个实施方式或者任一实施例中的检测患者肺腺癌是否发生转移的方法的技术特征和优点的描述，同样适用本发明这一实施方式中的检测试剂盒，在此不再赘述。

根据本发明的再一个实施方式提供的一种检测肺腺癌患者预后效果的方法，该方法包括：检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中是否存在以下至少一个基因存在突变：TP53，LRP1B，STK11，KEAP1，BRAF，MET 和 MRC2；确定存在至少一个所述基因存在突变的肺腺癌患者预后效果差。所称的预后效果差包括，相较于预后的野生型个体患者的生存期显著缩短。这里，所称的野生型个体患者为上述任一基因上不存在突变的肺腺癌患者。

发明人通过 Kaplan-Meier 生存分析，比较 335 名中国肺腺癌患者的肺腺癌样品数据，发现相对野生型个体患者，携带 TP53、LRP1B、STK11、KEAP1、BRAF、MET 和 MRC2 七个基因中的至少一个的基因的突变提示显著缩短的生存期，参见图 4。这里，所称的野

生型个体患者为上述任一基因上不存在突变的肺腺癌患者。上述基因中的任何一个的突变，均可以辅助作为临床实践中的预测生存期长短的生物标记物。

该实施方式中，突变的检测可以利用二代测序技术。提取一个或多个肺腺癌预后患者的肺组织样本或者肺细胞样本中的核酸，利用测序技术对提取的核酸进行测序文库(library)制备，以及对文库进行上机测序，获得下机数据即测序数据；接着，对测序数据进行分析，包括将测序数据与参考序列比对，根据比对结果识别目标基因上的突变。其中，测序可利用现有测序平台进行，可依据所选择的测序平台进行相应的文库制备，可选用的测序平台包括但不限于CG(Complete Genomics) CGA、Illumina/ Solexa、Life Technologies/ Ion Torrent 和 Roche 454，依据所选测序平台进行单端或双末端测序文库的制备。比对可以利用 SOAP (Short Oligonucleotide Analysis Package)，BWA 等软件进行，本实施方式对此不作限制，比对过程中，根据比对参数的设置，例如设置测序数据中的每条读段最多允许有 h 个碱基错配 (mismatch)，h 优选为 1 或 2，若一条 reads 中有超过 h 个碱基发生错配，则视为该条 reads 无法比对到参考序列。比对结果包含各条读段与参考序列的比对情况，包括读段是否能够比对上参考序列、读段比对上参考序列的位置、某一位点多少读段比对上、比对上某位点的读段的相应位置的碱基类型等。所称的参考序列是已知序列，可以是预先获得的目标个体所属生物类别中的任意的参考模板，例如，同一生物类别的已公开的基因组组装序列，若核酸样本为来自人类，其基因组参考序列（也称为参考基因组）可选择 NCBI 数据库提供的 HG19。各种突变类型，包括 SNP、CNV 和 InDel 至少之一，各种突变可以基于获得的比对结果、利用相应的已知软件或程序识别判断，例如 SNP 的识别可利用 SOAPsnp、GATK 等软件依照软件默认参数设置进行。

根据本发明的实施例，所称的确定存在至少一个所述基因存在突变的肺腺癌患者预后效果差，其中的突变为错义突变。

根据本发明的再一个实施方式提供的一种检测肺腺癌患者预后效果的装置，该装置用以实施上述本发明一方面的检测肺腺癌患者预后效果的方法的全部或部分步骤，该装置包括：第四突变检测单元，用于检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中是否存在以下至少一个基因存在突变：TP53，LRP1B，STK11，KEAP1，BRAF，MET 和 MRC2；第五判定单元，与所述第四突变检测单元相连，用于判定存在至少一个所述基因存在突变的肺腺癌患者预后效果差。所称的预后效果差包括，相较于预后的野生型个体患者的生存期显著缩短。这里，所称的野生型个体患者为上述任一基因上不存在突变的肺腺癌患者。上述对本发明一个实施方式中的检测肺腺癌患者预后效果的方法的技术特征和优点的描述，同样

适用这一实施方式中的装置，在此不再赘述。本领域技术人员可以理解，可以通过使该实施方式中的装置的功能单元包含相连的功能子单元，以实施上述实施例中的检测肺腺癌患者预后效果的方法中的步骤的具体实现方式。

根据本发明的再一个实施方式提供的一种检测肺腺癌患者预后效果的试剂盒，该试剂盒包括：用于检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中是否存在以下至少一个基因存在突变的试剂：TP53，LRP1B，STK11，KEAP1，BRAF，MET 和 MRC2；以及指示存在至少一个所述基因存在突变的肺腺癌患者的预后效果差的第四说明书。所称的预后效果差包括，相较于预后的野生型个体患者的生存期显著缩短。这里，所称的野生型个体患者为上述任一基因上不存在突变的肺腺癌患者。上述对本发明一个实施方式中的检测肺腺癌患者预后效果的方法的技术特征和优点的描述，同样适用这一实施方式中的检测试剂盒，在此不再赘述。

根据本发明的一个实施方式提供的一种检测肺腺癌患者预后效果的方法，该方法包括：检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中的 IQGAP3 基因的表达水平；将所述表达水平与第三参考水平比较，当所述表达水平与所述第三参考水平具有显著差异时，判定所述肺腺癌患者的预后效果差，所述第三参考水平为 IQGAP3 基因在预后效果好的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的表达水平。这里，所称的预后效果差和预后效果好，是以预后的生存期相对短和相对长来划分的。所称预后效果差指，相较于预后的野生型个体患者的生存期显著缩短。这里，所称的野生型个体患者为 IQGAP3 基因表达水平非为显著高表达的肺腺癌患者。

基因 IQGAP3 是发明人发现的一个新型的肺腺癌驱动，该基因在肺腺癌样本中高水平表达。发明人发现，高表达的 IQGAP3 基因与缩短的总生存率和无疾病生存期显著相关，参见图 5 和图 6，提示其与肺腺癌预后差具有高度关联性。IQGAP3 基因可作为肺腺癌精准检测诊断和预后效果评估的生物标记物。

在该实施方式中，基因的表达水平的检测可以利用第二代测序技术。提取一个或多个肺组织样本或者肺细胞样本中的 RNA，利用测序技术对提取的 RNA 进行测序文库(library)制备，以及对测序文库进行上机测序，获得下机数据即测序数据；接着，对测序数据进行分析，包括将测序数据与参考序列比对，根据比对结果计算基因的表达水平。其中，测序可利用现有测序平台进行，可依据所选择的测序平台进行相应的文库制备，可选用的测序平台包括但不限于 CG (Complete Genomics) CGA、Illumina/ Solexa、Life Technologies/ Ion Torrent 和 Roche 454，依据所选测序平台进行单端或双末端测序文库的制备。比对可以利

用 SOAP (Short Oligonucleotide Analysis Package), BWA 等软件进行, 本实施方式对此不作限制, 比对过程中, 根据比对参数的设置, 例如设置测序数据中的每条读段 (reads) 最多允许有 h 个碱基错配 (mismatch), h 优选为 1 或 2, 若一条 reads 中有超过 h 个碱基发生错配, 则视为该条 reads 无法比对到参考序列。比对结果包含各条读段与参考序列的比对情况, 包括读段是否能够比对上参考序列、读段比对上参考序列的位置、某一位点多少读段比对上、比对上某位点的读段的相应位置的碱基类型等。所称的参考序列是已知序列, 可以是预先获得的目标个体所属生物类别中的任意的参考模板, 例如, 同一生物类别的已公开的基因组组装序列, 若核酸样本为来自人类, 其基因组参考序列 (也称为参考基因组) 可选择 NCBI 数据库提供的 HG19。

根据本发明的一个实施例, 使用 RPKM 方法计算基因表达水平: $RPKM = \frac{10^6 C}{NL/10^3}$, 其中, C 代表比对到目标基因的 reads 数目, N 代表比对到所有基因的总的 reads 数, L 代表目标基因的外显子长度。

所称的第三参考水平可以在检测肺腺癌患者预后效果时测定, 例如在测定预后的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞样本中的 IQGAP3 基因的表达水平时, 同时检测 IQGAP3 基因在多个预后效果好的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞样本中的表达水平; 第三参考水平也可以预先测定, 保存或记录备用。根据本发明的一个实施例, 第三参考水平为 IQGAP3 基因在多个预后效果好的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞样本中的平均表达水平, 预先测定保存备用。

所称的显著差异, 可以是明显的、有实质性的差异, 例如第三参考水平显示 IQGAP3 基因表达水平为 K、而所测表达水平显示为 1.5K、2K 或者大于 2K; 所称的显著差异, 也可以指统计学上的差异具有显著性。

根据本发明的一个实施方式提供的一种检测肺腺癌患者预后效果的装置, 该装置用以实施本发明一方面的检测肺腺癌患者预后效果的方法的全部或部分步骤, 包括: 基因表达水平检测单元, 用于检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中的 IQGAP3 基因的表达水平; 第六判定单元, 与所述基因表达水平检测单元相连, 用以将所述表达水平与第三参考水平比较, 当所述表达水平与所述第三参考水平具有显著差异时, 判定所述肺腺癌患者的预后效果差, 所述第三参考水平为 IQGAP3 基因在预后效果好的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的表达水平。这里, 所称的预后效果差和预后效果好, 是以预后的生存期相对短和相对长来划分的。所称预后效果差指, 相较于预后的野生型个体患者的生存期显著缩短。这里, 所称的野生型个体患者为 IQGAP3 基因表达水平非为显著高表达的肺腺癌患者。上

述对本发明一个实施方式或是任一实施例中的检测肺腺癌患者预后效果的方法的技术特征和优点的描述，同样适用这一实施方式中的装置，在此不再赘述。本领域技术人员可以理解，可以通过使该实施方式中的装置的功能单元包含相应功能的子单元，来实施上述方法步骤中的各种具体实施方式。

根据本发明的一个实施方式提供的一种检测肺腺癌患者预后效果的试剂盒，该试剂盒包括：用于检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中的 IQGAP3 基因的表达水平的试剂；以及指示所述表达水平与肺腺癌患者预后效果关系的第五说明书，所述第五说明书包含第三参考水平信息，所述第三参考水平为 IQGAP3 基因在预后效果好的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的表达水平。这里，所称的预后效果差和预后效果好，是以预后的生存期相对短和相对长来划分的。所称的预后效果好包括指相较于预后的野生型个体患者的，具有显著长的生存期。这里，所称的野生型个体患者为 IQGAP3 基因表达水平非为显著高表达的肺腺癌患者。所称的第三说明书包含将所述表达水平与第三参考水平比较，当所述表达水平与所述第三参考水平具有显著差异时，判定所述肺腺癌患者的预后效果差的信息或者操作指示。上述对本发明一个实施方式中的检测肺腺癌患者预后效果的方法的技术特征和优点的描述，同样适用这一实施方式中的试剂盒，在此不再赘述。

下面详细描述本发明的实施例，下面描述的实施例是示例性的，仅用于解释本发明，而不能理解为对本发明的限制。

除另有交待，以下实施例中涉及的试剂、仪器或者软件，都是常规市售产品或者开源的，比如从 Illumina 公司购买测序文库制备试剂盒，依照试剂盒说明书进行建库等。

实施例

发明人发现各种/各类肺腺癌相关的生物标记物利用的技术线路，汇总起来如图 7 所示，即应用现代分子生物学技术，对大量中国人的肺腺癌早期和发生转移的样本进行提取（包括 DNA 和 RNA）、文库构建（片段打断、末端修复、加接头、全基因组扩增技术、外显子捕获技术），转录组扩增建库技术，使用高通量测序平台测序，利用生物信息软件算法对测序数据进行处理，将早期瘤、转移瘤等的全基因组测序结果、转录组数据、外显子数据等进行比对分析，发现与肺腺癌发病、预后有密切关联的基因，为中国人（东亚人群）肺腺癌有效的靶向生物标记物。

一、样品的收集与核酸提取

通过医院，经与患者签订知情同意书，收集肺腺癌临床标本。通过外科手术，取得患者的肿瘤样本（若有转移，则取淋巴结转移组织）和临近正常组织，样品经病理医生分析

具体的病理分型、TNM 分期以及肿瘤细胞结构，确定为肺腺癌（原发性或淋巴结转移肺腺癌）。获得组织样本后，立刻转至液氮速冻，并保存在-80°C 以备长期科研使用。

组织基因组 DNA 提取是按 Qiagen 公司的 QIAamp DNA Mini Kit 使用说明实现。组织总 RNA 的提取是按 Life Technologies 公司 TRIzol®试剂完成。上述提取的 DNA/RNA 样品质量和浓度通过琼脂糖凝胶电泳或 Agilent 2100 分析检测获得。并利用 21 对常见 SNP 位点进行微卫星质谱验证，确保肿瘤中的 DNA 和 RNA 样本来源于同一个患者。

二、全基因组、转录组、外显子测序

1、全基因组测序过程包括：2-3ug 基因组 DNA 样品，使用 Covaris 超声系统，被随机打断成平均 500bp 左右的断片段序列，然后依据 Illumina Paired-End 标准流程进行文库构建，使用 T4 DNA 聚合酶、Klenow 大片段酶、T4 多聚核苷酸激酶和核苷酸磷酸盐完成末端修复，修复后的 DNA 片段使用 Klenow 酶(3'-5'exo)3'端磷酸化，用 T4DNA 连接酶加上 PE index 接头（接头是在 5' 端胞嘧啶甲基化合成），完成文库构建。上述每个步骤完成后，均使用 Qiagen 公司 QIAquick PCR Purification Kit 进行纯化。

2、全外显子测序过程包括：3ug 基因组 DNA 按上述方法进行打断，加上 PE index 接头，按 SureSelect 靶向富集系统 Sureselect 人全外显子 50Mb 试剂盒说明捕获和富集外显子区域片段，构建 200bp Illumina Paired-End 测序文库。

3、转录组测序过程包括：20ugRNA 样本，经 RNase-free DNase I (New England BioLabs) 37° C 处理 30 分钟以去除 DNA。用 oligo(dT)调取多聚 A 尾的 mRNA，用随机引物和转录酶 (Invitrogen 公司) 合成 cDNA 一链，使用 RNase H(Invitrogen) 和 DNA polymerase I (New England BioLabs) 合成 cDNA 二链。根据厂家说明书完成 cDNA 文库构建。

4、上机

上述文库构建完成后，均是通过 HiSeq2000 测序平台进行上机测序，其中全基因组高深度测序得测序深度为：肿瘤原发性样品含有至少 50X 的覆盖度，癌旁组织有 30X 的覆盖度。

三、信息数据的处理

1、数据过滤

上述文库测序完成后，1) 使用 cutadapt 软件 (v1.8) (<http://cutadapt.readthedocs.org/en/latest/index.html>)对原始的下机数据进行初步过滤，包括去除包含接头序列的读段 (reads)，去除低质量数据，包括去除>10%的 Ns 序列即未知碱基的含量大于 10%的读段，以及大于 50%的碱基 q 值小于 5 的读段。以下所有序列分析基于过滤后的数据。

2、全基因组和外显子数据分析

1) 使用 BWA 软件(v0.5.9) (<http://bio-bwa.sourceforge.net/>)对高质量 PE reads 与 UCSC 数据库上 hg19 参考序列(<ftp://hgdownload.cse.ucsc.edu/goldenPath/hg19/bigZips/chromFa.tar.gz>)进行比对得到 SAM 格式(<http://samtools.github.io/hts-specs/SAMv1.pdf>)的比对结果。

2) 使用 samtools 软件(v0.1.18) (<http://samtools.sourceforge.net/>)将 SAM 格式的比对结果转换成 BAM 格式并按照坐标进行排序。

3) 使用 Picard 软件(v1.54) (<http://picard.sourceforge.net/>)去除因 PCR 实验产生的重复序列。

4) 使用软件 Genome Analysis Toolkit (GATK) (v1.0.6076) (<https://www.broadinstitute.org/gatk/>)对 indel 附近的序列进行局部重排。

完成基本分析后，1) 使用 Mutect 软件 (v1.1.4) (<http://www.broadinstitute.org/cancer/cga/mutect>)点突变。2) 使用 Platypus 软件(v0.7.9.1) (<http://www.well.ox.ac.uk/platypus>)进行成对分析(早期肿瘤组织与正常组织、转移癌组织和正常组织的体突变)得到体细胞的插入缺失。3) 通过 SegSeq 算法 (<http://www.broadinstitute.org/cancer/cga/segseq>) 进行成对分析(早期肿瘤组织与正常组织、转移癌组织和正常组织的体突变)得到体细胞的拷贝数变异。4) 使用 CREST 软件(v1.0) (www.stjude.com/research/site/lab/zhang)进行成对分析(早期肿瘤组织与正常组织、转移癌组织和正常组织的体突变)得到体细胞的结构变异。上述变异检测均是通过 ANNOVAR 软件 (2011Oct02) (<http://annovar.openbioinformatics.org/en/latest/>)进行注释。

肺腺癌显著性突变基因鉴定：基于统计学程序进行分析，构建驱动基因预测模型，计算每个检测到的突变意义，利用该方法评估突变相关性和功能影响。同时考虑背景和样本突变的分数和统计检验，使用 Benjamini-Hochberg 方法确定错误检错率(FDR)，筛选出 FDR q 值小于 0.1 的基因，然后用 MutSigCV 软件 (v1.4) (<http://www.broadinstitute.org/cancer/cga/mutsig>)预测显著性突变的基因。

3、转录组数据分析

数据比对：下载 UCSC 数据库上 hg19 参考序列 (<ftp://hgdownload.cse.ucsc.edu/goldenPath/hg19/bigZips/chromFa.tar.gz>) 和 转录组数据 (<ftp://hgdownload.cse.ucsc.edu/goldenPath/hg19/database/refGene.txt.gz>)，过滤后的数据使用 SOAP2 软件(v2.21) (<http://soap.genomics.org.cn/soapaligner.html>)进行比对，允许每条 read 可以有少于 5 个错配。使用 RPKM 方法计算基因表达水平：

$$\text{RPKM} = \frac{10^6 C}{\text{NL}/10^3}$$

其中，C 代表比对到所在基因的 reads 数目，N 代表比对到所有基因的总的 reads 数，L 代表检测基因的外显子长度。

四、结果

发明人通过分析比较以上 335 个肺腺癌原发肿瘤、35 个淋巴结转移癌以及正常组织或细胞样本的数据，综合突变频率、基因长度、基因生物学功能等，进行突变基因的整合分析，确定以下肺腺癌相关生物标记物。而且，发明人将这些肺腺癌相关生物标记物检测另外的肺腺癌样本，检测结果 90%与样本的临床鉴定结果一致，这些基因得到验证，能够作为肺腺癌致病检测、肺腺癌是否转移等的检测标记物。

1、肺腺癌致病相关的驱动突变基因

如图 1 和图 2A-C 所示，发明人通过以上实验及数据分析，确定 13 个在肺腺癌样本中具有统计学意义的显著突变基因，在本文中将这些基因称为致病相关基因。这些基因包括 TP53, EGFR, LRP1B, KRAS, PTPRD, STK11, SMAD2, PIK3CA, BRAF, FLT1, RHPN2, GLI3 和 MRC2。图 2 显示各个基因上出现的突变类型。

这些基因在中国人肺腺癌群体中具有相当比例的突变率，提示这组突变基因与肺腺癌致病的关联性，具有潜在的用于检测诊断肺腺癌发病的作用。这 13 个基因中的任一个或者任意组合都可以用于预测肺腺癌致病可能性检测，可以作为肺腺癌早期诊断方法。

其中，TP53 基因，发明人统计分析发现 TP53 基因在 44%中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，如图 1 和图 2A 所示，提示其可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物。

EGFR 基因，本发明统计分析发现 EGFR 基因在 39%中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，如图 1 和图 2A 所示，且此基因突变在无吸烟史或女性患者中更常见，与白种人数据相比，EGFR 基因的突变率比 KRAS 更高，结果显示，EGFR 主要突变于 Leu858Arg 和 exon19del 位点，为酪氨酸激酶抑制剂治疗敏感性位点，作为提示可以作为肺腺癌诊断及靶向治疗的一种生物标记物。

LRP1B 基因，发明人统计分析发现 LRP1B 基因在 19%中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，如图 1 和图 2A 所示，提示其可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物。

KRAS 基因，发明人统计分析发现 KRAS 基因在 11%中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，如图 1 和图 2B 所示，提示其可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物。

PTPRD 基因，发明人统计分析发现 PTPRD 基因在 7%中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变，如图 1 和图 2B 所示，提示其可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物。

PIK3CA 基因, 发明人统计分析发现 PIK3CA 基因在 5% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变, 如图 1 和图 2B 所示, 提示其可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物。

RHPN2 基因, 发明人统计分析发现 RHPN2 基因在 5% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变, 如图 1 和图 2B 所示, 提示其可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物。

STK11 基因, 发明人统计分析发现 STK11 基因在 4% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变, 如图 1 和图 2B 所示, 提示其可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物。

BRAF 基因, 发明人统计分析发现 BRAF 基因在 4% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变, 如图 1 和图 2C 所示, 提示其可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物。

GLI3 基因, 发明人统计分析发现 GLI3 基因在 4% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变, 如图 1 和图 2C 所示, 提示其可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物。

FLT1 基因, 发明人统计分析发现 FLT1 基因在 3% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变, 如图 1 和图 2C 所示, 提示其可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物。

MRC2 基因, 别名 uPARAP、Endo180 或 CD280, 发明人统计分析发现 MRC2 基因在 2% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变, 如图 1 和图 2C 所示, 提示其可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物。

SMAD2 基因, 发明人统计分析发现 SMAD2 基因在 2% 中国人肺腺癌中具有统计学意义的显著性突变, 如图 1 和图 2C 所示, 提示其可以作为肺腺癌诊断的一种生物标记物。

除了发现以上显著突变的基因, 发明人同时还发现未达统计学意义显著性突变的基因, 但可能在功能上致癌的突变基因, 包括 APC, KEAP1, ATF7IP, ITIH5, IQGAP3, MET, ERBB2 和 TERT, 如图 1、图 2D 和图 2E 所示。

2、新型肺腺癌驱动突变基因

上述基因中, 本发明首次发现在肺腺癌中存在高关联性的 3 个驱动基因, 分别是 RHPN2, GLI3 和 MRC2, 其中 RHPN2 基因新型高频突变位点 V73M, 可作为潜在的热点突变, 可作用于为东亚人群肺腺癌诊断和治疗提供一组新的生物标记物。

3、TP53 基因作为检测肺腺癌转移生物标记物

在肺腺癌中, 转移是疾病发展的最关键事件, 但目前对原发肺腺癌携带转移和不携带转移的患者之前突变模式的差异, 还缺乏系统研究。本发明通过比较已确诊为伴淋巴结转移或远端转移的肺腺癌和无转移的肺腺癌样品进行比较分析, 本发明人通过 Fisher's exact test 检验, 发现 TP53 基因是唯一一个在携带转移的肺腺癌中显著性 ($P < 0.05$) 富集的基因, 如图 3 所示, 提示该基因不仅是与肿瘤发生显著相关的一个抑癌基因, 并对肿瘤转移发生

发展有驱动作用。发明人提出 TP53 基因可以作为一种检测肺腺癌是否发生转移和治疗预后的生物标记物。

4、突变基因与临床表征关联性

通过 Fisher' s exact test 检验, 发明人发现 EGFR 基因突变显著地与非吸烟患者相关, 而 LRP1B, KRAS, PTPRD, GLI3 和 KEAP1 基因突变显著地与吸烟患者相关。类似的, 通过 Fisher' s exact test 检验, 发明人发现 EGFR 基因突变显著地与女性患者相关, 而 LRP1B, APC, KRAS, PTPRD, KEAP1, ITIH5, FLT1 和 STK11 基因突变显著地与男性患者相关。类似的, 通过 Fisher' s exact test 检验, 发明人还发现 TP53, GLI3 和 ITIH5 基因突变显著地与年龄大于 60 岁的患者相关, 如图 3 所示。

5、肺腺癌临床实践预后诊断生物标记物

发明人通过 Kaplan-Meier 生存分析, 比较 335 名中国肺腺癌患者队列人群数据, 发现相对野生型个体患者, 携带 TP53 或 LRP1B 或 STK11 或 KEAP1 或 BRAF 或 MET 或 MRC2 等 7 个基因中的任意一个基因的突变, 均提示显著缩短的生存期, 本发明提出, 包含上述基因的任何一个基因, 均可以作为临床实践中的预测生存期长短的生物标记物。(附图 4)

6、新型肺腺癌预后效果检测标记物

基于测序数据, 结合体细胞突变、拷贝数变异、结构变异和基因融合等研究分析, 发明人发现一个新型的驱动基因 IQGAP3, 该基因在肿瘤样本中高水平表达, 如图 5 所示。高表达的 IQGAP3 基因与缩短的总生存率和无疾病生存期显著相关, 如图 6 所示, 提示其与肺腺癌预后差具有高度关联性。IQGAP3 基因可作为为肺腺癌诊断和预后效果评估提供一种精准检测生物标记物。

在本说明书的描述中, 参考术语“一个实施例”、“一些实施例”、“示例”、“具体示例”、“一些示例”或“具体实施方式”等的描述意指结合该实施例或示例描述的具体特征、结构、材料或者特点包含于本发明的至少一个实施例或示例中。在本说明书中, 对上述术语的示意性表述不一定指的是相同的实施例或示例。而且, 描述的具体特征、结构、材料或者特点可以在任何的一个或多个实施例或示例中以合适的方式结合。

尽管已经示出和描述了本发明的实施例, 本领域的普通技术人员可以理解: 在不脱离本发明的原理和宗旨的情况下可以对这些实施例进行多种变化、修改、替换和变型, 本发明的范围由权利要求及其等同物限定。

权利要求书

1. 一组肺腺癌驱动基因，其由基因 RHPN2，GLI3 和 MRC2 组成。

2. 权利要求 1 的肺腺癌驱动基因在治疗肺腺癌、和/或制备治疗肺腺癌药物中的用途。

3. 一种体外检测受试者存在肺腺癌的方法，其特征在于，包括：

检测受试者的肺组织或者肺细胞中的肺腺癌驱动基因是否都存在突变，所述肺腺癌驱动基因由基因 RHPN2，GLI3 和 MRC2 组成；

当所述肺腺癌驱动基因都存在突变时，确定所述受试者存在肺腺癌。

4. 权利要求 3 的方法，其特征在于，所述检测受试者的肺组织或者肺细胞中的肺腺癌驱动基因是否都存在突变，包括：

检测 RHPN2 基因是否存在 V73M 突变。

5. 一种检测受试者存在肺腺癌的装置，其特征在于，包括：

第三突变检测单元，用于检测受试者的肺组织或者肺细胞中的肺腺癌驱动基因是否都存在突变，所述肺腺癌驱动基因由基因 RHPN2，GLI3 和 MRC2 组成；

第三判定单元，与所述突变检测单元相连，用于当所述肺腺癌驱动基因都存在突变时，确定所述受试者存在肺腺癌。

6. 权利要求 5 的装置，其特征在于，所述检测受试者的肺组织或者肺细胞中的肺腺癌驱动基因是否都存在突变，包括：

检测 RHPN2 基因是否存在 V73M 突变。

7. 一种确定生物样品为肺腺癌样品的试剂盒，其特征在于，包括：

用于检测所述生物样品中的肺腺癌驱动基因上的突变的试剂，所述肺腺癌驱动基因由基因 RHPN2，GLI3 和 MRC2 组成；以及

指示肺腺癌驱动基因突变与肺腺癌关系的第二说明书。

8. 一种体外检测受试者存在肺腺癌的方法，其特征在于，包括：

检测受试者的第一部位中的一种或者多种生物标记物上的突变水平，获得第一突变水平，

所述生物标记物包括以下至少一种基因：TP53，EGFR，LRP1B，KRAS，PTPRD，STK11，SMAD2，PIK3CA，BRAF，FLT1，RHPN2，GLI3 和 MRC2；

将所述第一突变水平与第一参考水平比较，当所述第一突变水平与所述第一参考水平具有显著差异时，判定所述受试者患有肺腺癌，

所述第一参考水平为所述生物标记物在正常个体中的第一部位的突变水平。

9. 一种检测受试者存在肺腺癌的装置，其特征在于，包括：

第一突变检测单元，用于测定所述受试者的第一部位中的一种或者多种生物标记物的突变水平，获得第一突变水平，

所述生物标记物包括以下至少一种基因：TP53，EGFR，LRP1B，KRAS，PTPRD，STK11，SMAD2，PIK3CA，BRAF，FLT1，RHPN2，GLI3 和 MRC2；

第一判定单元，与所述第一突变检测单元相连，用于将所述第一突变水平与第一参考水平比较，当所述第一突变水平与所述第一参考水平具有显著差异时，判定所述受试者患有肺腺癌，

所述第一参考水平为所述生物标记物在正常个体中的第一部位的突变水平。

10. 一种确定生物样品为肺腺癌样品的试剂盒，其特征在于，包括：

用于检测所述生物样品中的生物标记物的突变水平的试剂，所述生物标记物包括以下至少一种基因：TP53，EGFR，LRP1B，KRAS，PTPRD，STK11，SMAD2，PIK3CA，BRAF，FLT1，RHPN2，GLI3 和 MRC2；以及

指示所述生物标记物的突变水平与肺腺癌关系的第一说明书，任选的，所述第一说明书包含第一参考水平信息，所述第一参考水平是所述生物标记物在正常个体中的与所述生物样品来源相同的部位中的突变水平。

11. 一种体外检测受试者存在肺腺癌的方法，其特征在于，包括：

检测受试者的第一部位中的一种或者多种生物标记物的突变水平，获得第一突变水平，检测所述受试者的第二部位中的相同所述生物标记物的突变水平，获得第二突变水平，

所述生物标记物包括以下至少一种基因：TP53，EGFR，LRP1B，KRAS，PTPRD，STK11，SMAD2，PIK3CA，BRAF，FLT1，RHPN2，GLI3 和 MRC2，所述第二部位为正常部位；

比较所述第一突变水平和所述第二突变水平，当所述第一突变水平与所述第二突变水平具有显著差异时，判定所述受试者患有肺腺癌。

12. 一种检测受试者存在肺腺癌的装置，其特征在于，包括：

第二突变检测单元，用于检测受试者的第一部位中的一种或者多种生物标记物的突变水平，获得第一突变水平，以及

用于检测受试者的第二部位中的相同所述生物标记物的突变水平，获得第二突变水平，

所述生物标记物包括以下至少一种基因：TP53，EGFR，LRP1B，KRAS，PTPRD，STK11，SMAD2，PIK3CA，BRAF，FLT1，RHPN2，GLI3 和 MRC2，所述第二部位

为正常部位；

第二判定单元，与所述第二突变检测单元相连，用于比较所述第一突变水平和所述第二突变水平，当所述第一突变水平与所述第二突变水平具有显著差异时，判定所述受试者患有肺腺癌。

13. 一种体外检测患者肺腺癌是否发生转移的方法，其特征在于，包括：

检测患者的肺组织或者肺细胞中的 TP53 基因的突变水平，获得 TP53 基因突变水平，所述患者患有肺腺癌；

比较所述 TP53 基因突变水平与第二参考水平，当所述基因突变水平与所述第二参考水平具有显著差异时，确定所述患者肺腺癌发生转移，

所述第二参考水平为 TP53 基因在未发生转移的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的突变水平。

14. 一种检测患者肺腺癌是否发生转移的装置，其特征在于，包括：

TP53 基因检测单元，用于检测患者的肺组织或者肺细胞中的 TP53 基因的突变水平，获得 TP53 基因突变水平，所述患者患有肺腺癌；

第四判定单元，与所述 TP53 基因突变检测单元相连，用于比较所述 TP53 基因突变水平与第二参考水平，当所述基因突变水平与所述第二参考水平具有显著差异时，确定所述患者肺腺癌发生转移，

所述第二参考水平为 TP53 基因在未发生转移的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的突变水平。

15. 一种检测生物样品是否为转移的肺腺癌样品的试剂盒，其特征在于，包括：

用于检测所述生物样品中的 TP53 基因的突变水平的试剂；以及

指示所述 TP53 基因的突变水平与所述转移的肺腺癌的关系的第三说明书，所述第三说明书包含第二参考水平信息，所述第二参考水平为 TP53 基因在未发生转移的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的突变水平。

16. 一种检测肺腺癌患者预后效果的方法，其特征在于，包括：

检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中是否存在以下至少一个基因存在突变：TP53, LRP1B, STK11, KEAP1, BRAF, MET 和 MRC2；

确定存在至少一个所述基因存在突变的肺腺癌患者预后效果差。

17. 一种检测肺腺癌患者预后效果的装置，其特征在于，包括：

第四突变检测单元，用于检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中是否存在以下至

少一个基因存在突变：TP53，LRP1B，STK11，KEAP1，BRAF，MET 和 MRC2；

第五判定单元，与所述第四突变检测单元相连，用于判定存在至少一个所述基因存在突变的肺腺癌患者预后效果差。

18. 一种检测肺腺癌患者预后效果的试剂盒，其特征在于，包括：

用于检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中是否存在以下至少一个基因存在突变的试剂：TP53，LRP1B，STK11，KEAP1，BRAF，MET 和 MRC2；以及

指示存在至少一个所述基因存在突变的肺腺癌患者的预后效果差的第四说明书。

19. 一种检测肺腺癌患者预后效果的方法，其特征在于，包括：

检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中的 IQGAP3 基因的表达水平；

将所述表达水平与第三参考水平比较，当所述表达水平与所述第三参考水平具有显著差异时，判定所述肺腺癌患者的预后效果差，

所述第三参考水平为 IQGAP3 基因在预后效果好的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的表达水平。

20. 一种检测肺腺癌患者预后效果的装置，其特征在于，包括：

基因表达水平检测单元，用于检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中的 IQGAP3 基因的表达水平；

第六判定单元，与所述基因表达水平检测单元相连，用以将所述表达水平与第三参考水平比较，当所述表达水平与所述第三参考水平具有显著差异时，判定所述肺腺癌患者的预后效果差，

所述第三参考水平为 IQGAP3 基因在预后效果好的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的表达水平。

21. 一种检测肺腺癌患者预后效果的试剂盒，其特征在于，包括：

用于检测肺腺癌预后患者的肺组织或者肺细胞中的 IQGAP3 基因的表达水平的试剂；

以及

指示所述表达水平与肺腺癌患者预后效果关系的第五说明书，所述第五说明书包含第三参考水平信息，所述第三参考水平为 IQGAP3 基因在预后效果好的肺腺癌患者的肺组织或者肺细胞中的表达水平。

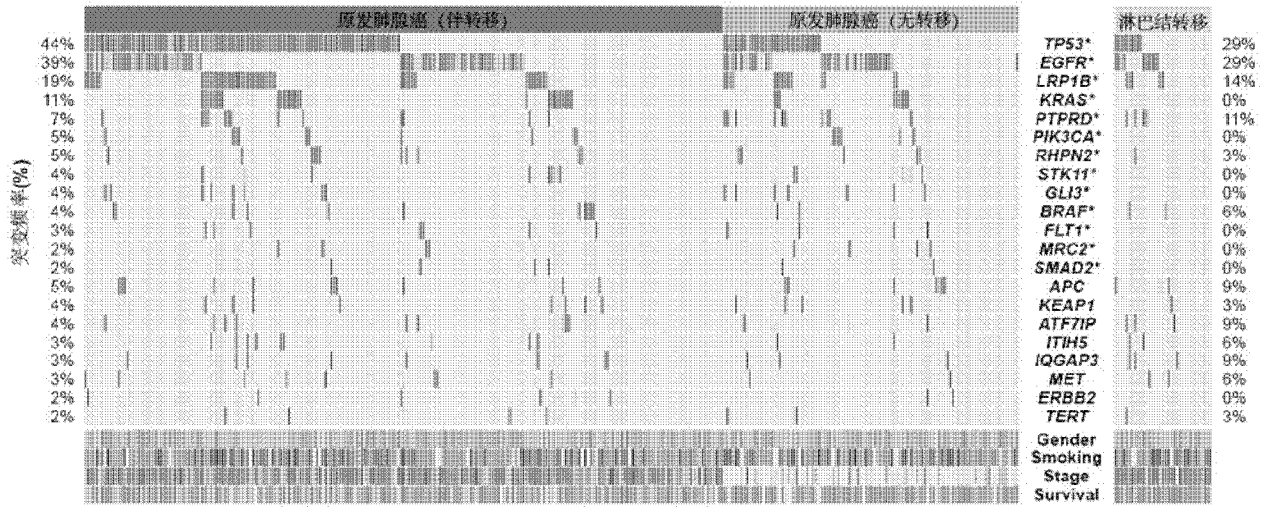


图1

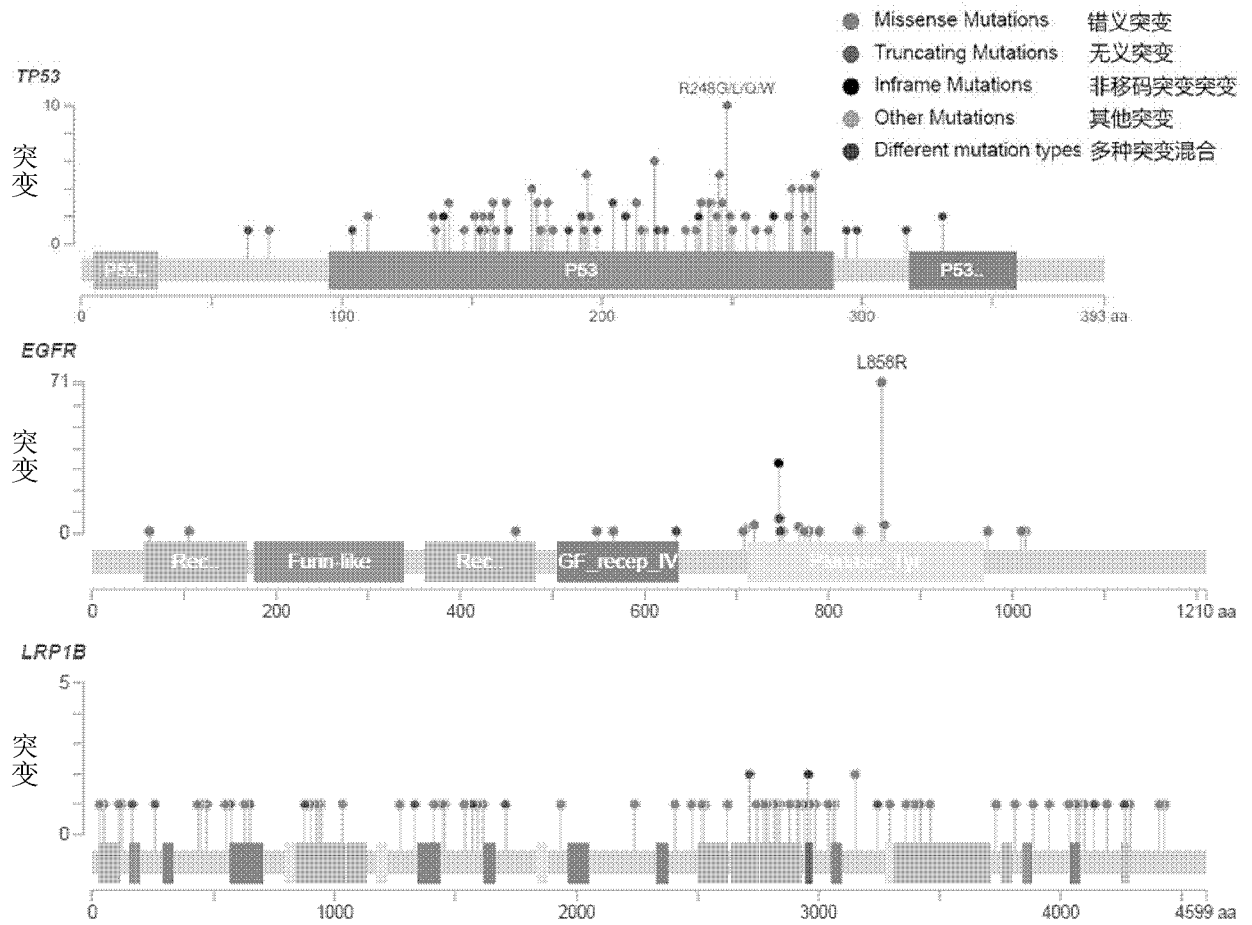


图2A

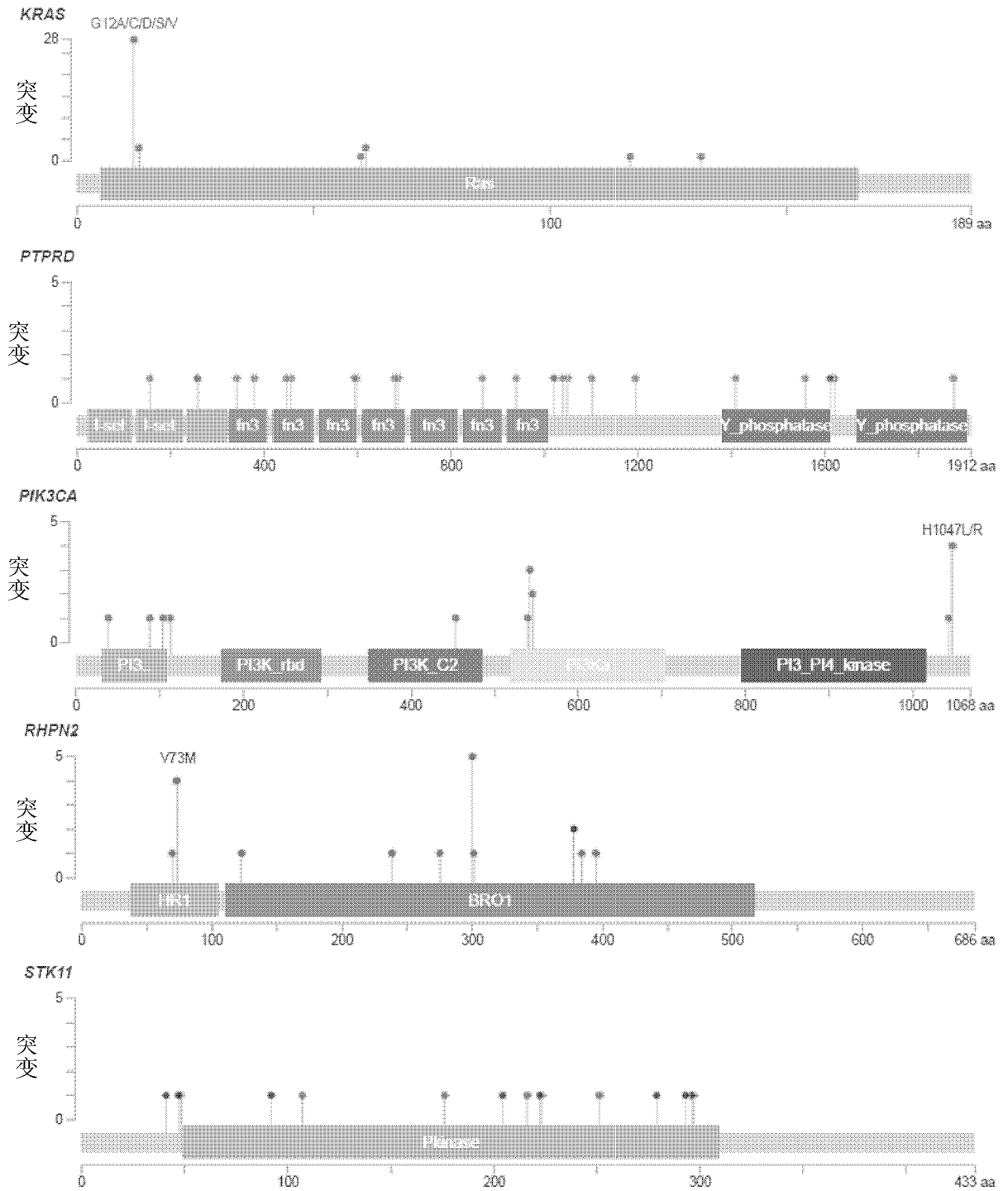


图2B

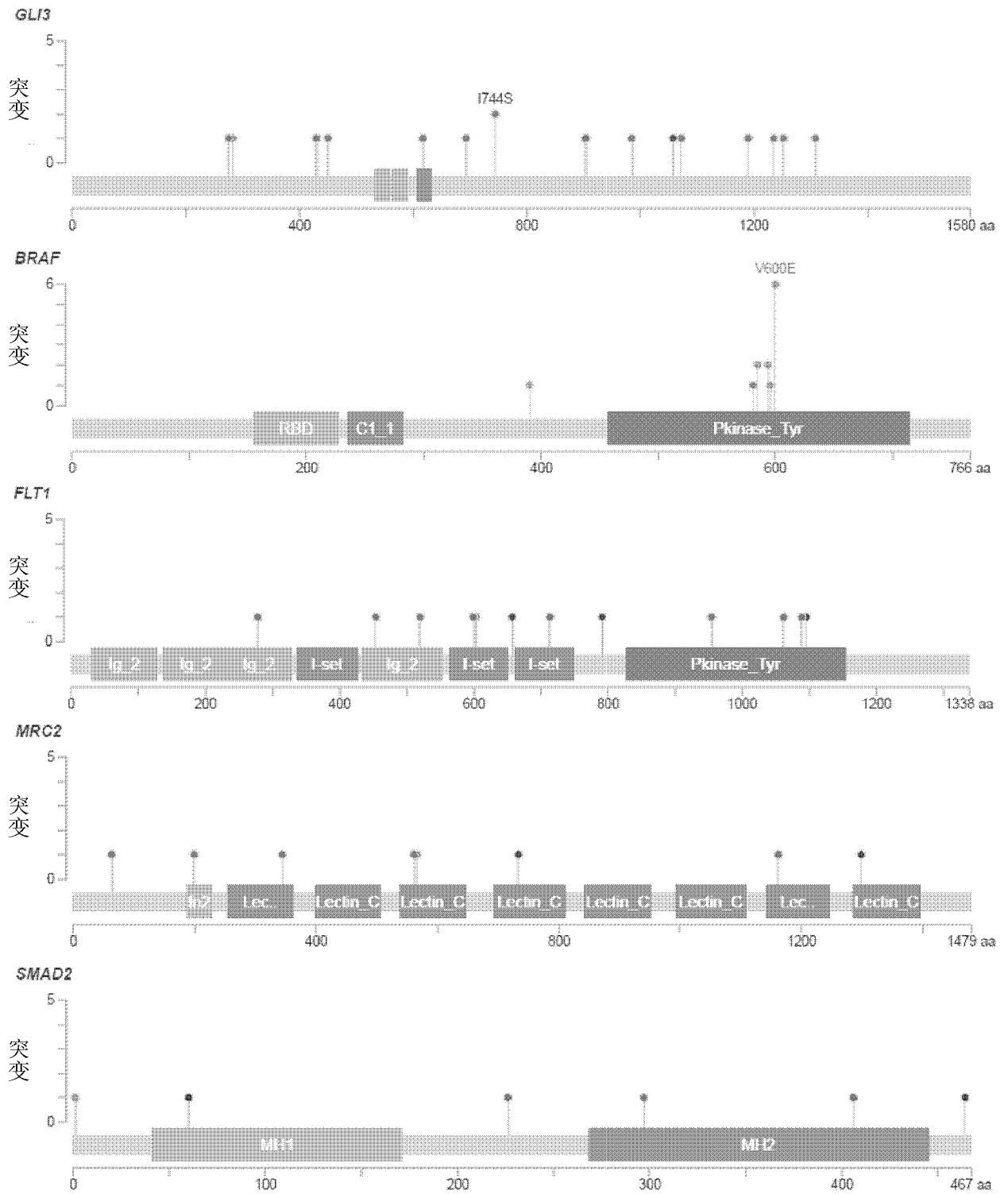


图2C

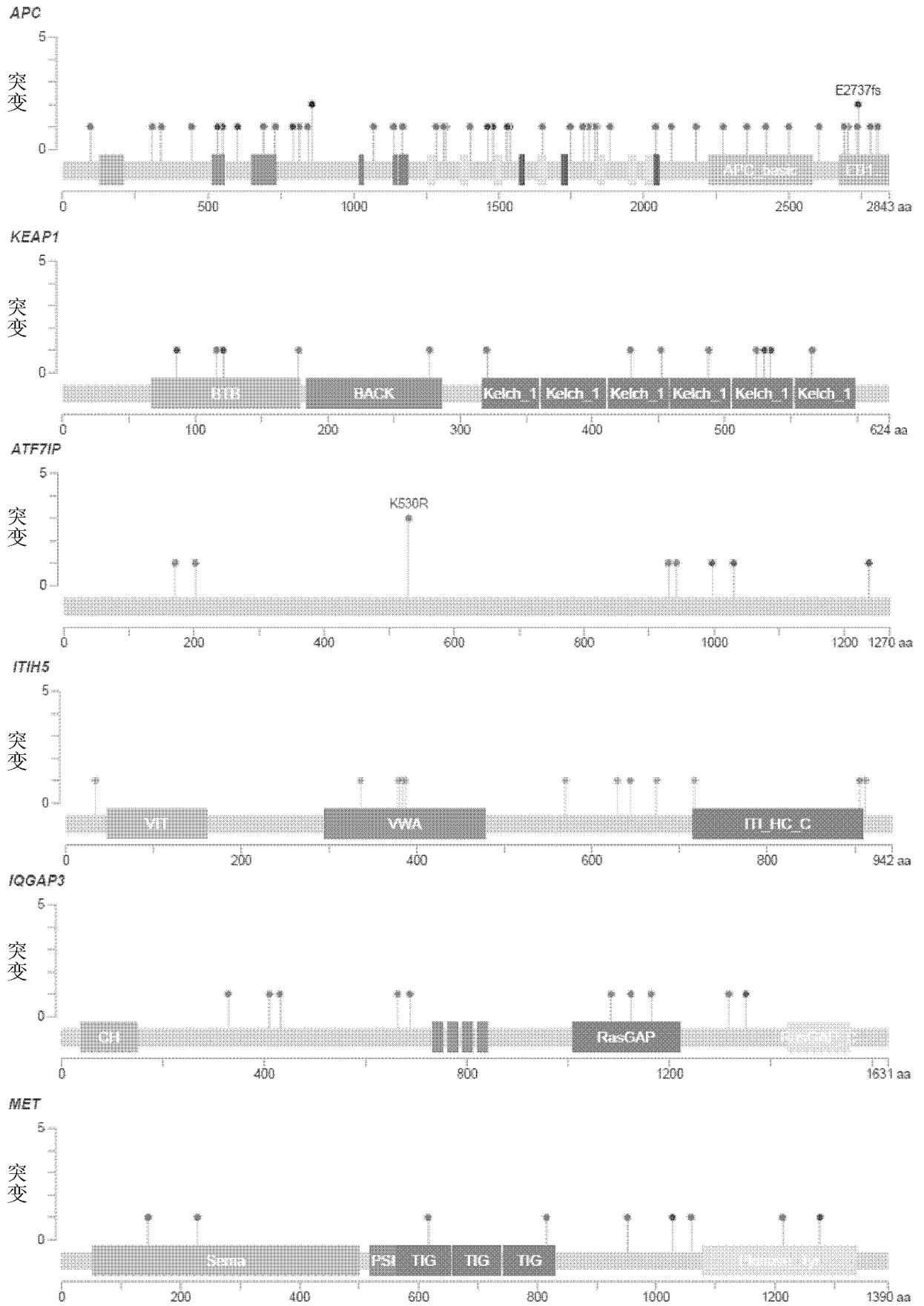


图2D

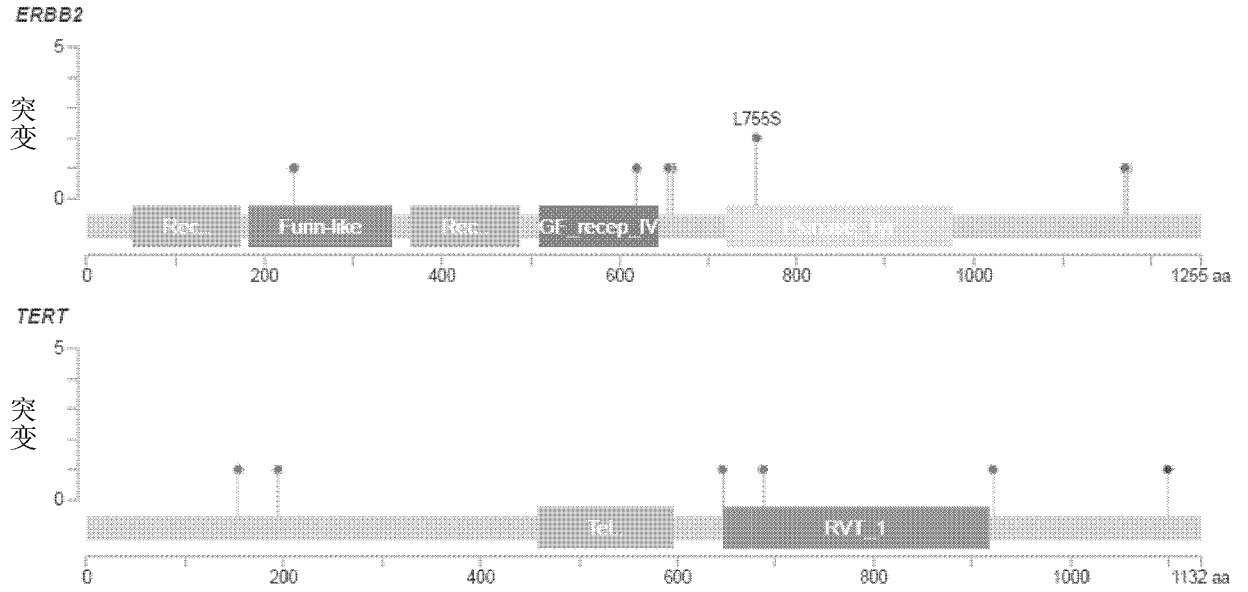


图2E

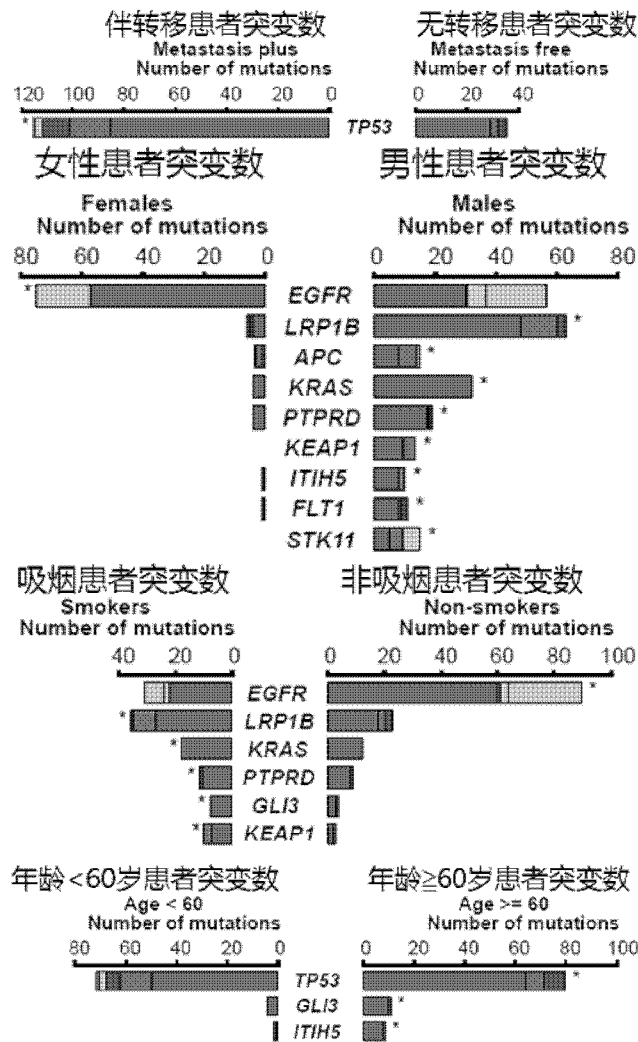


图3

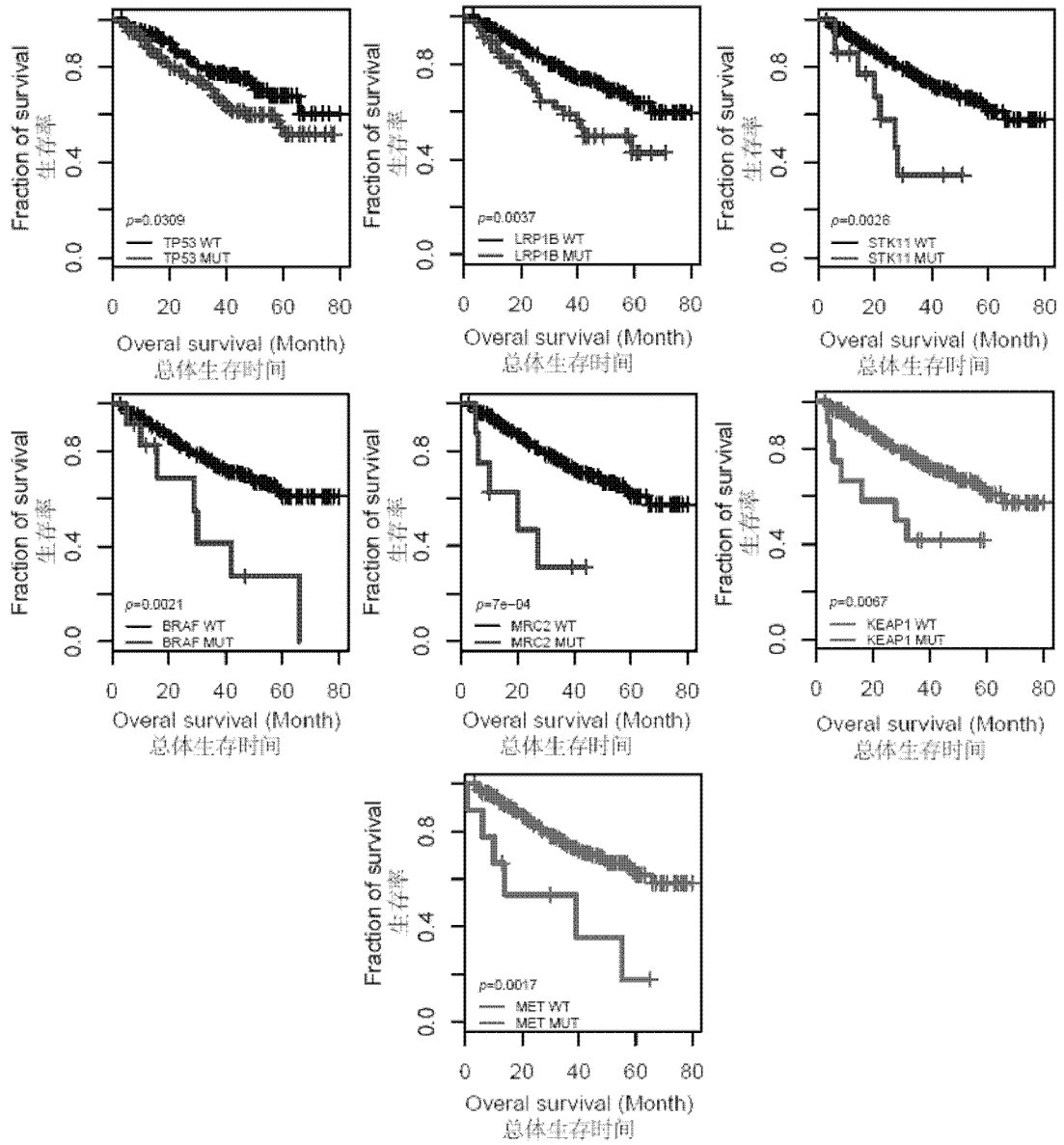


图4

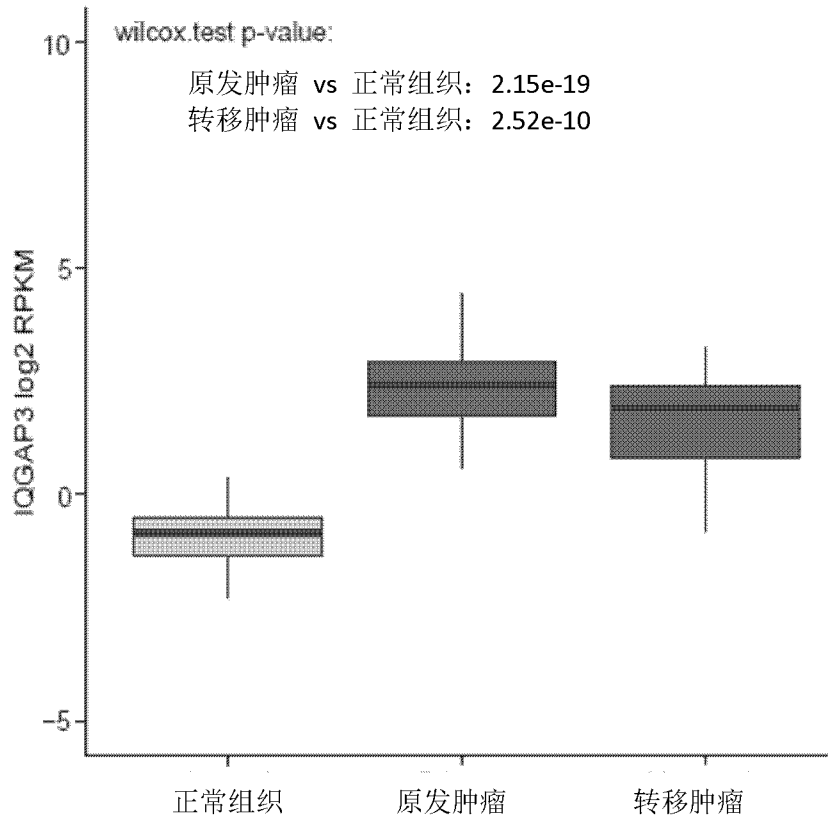


图5

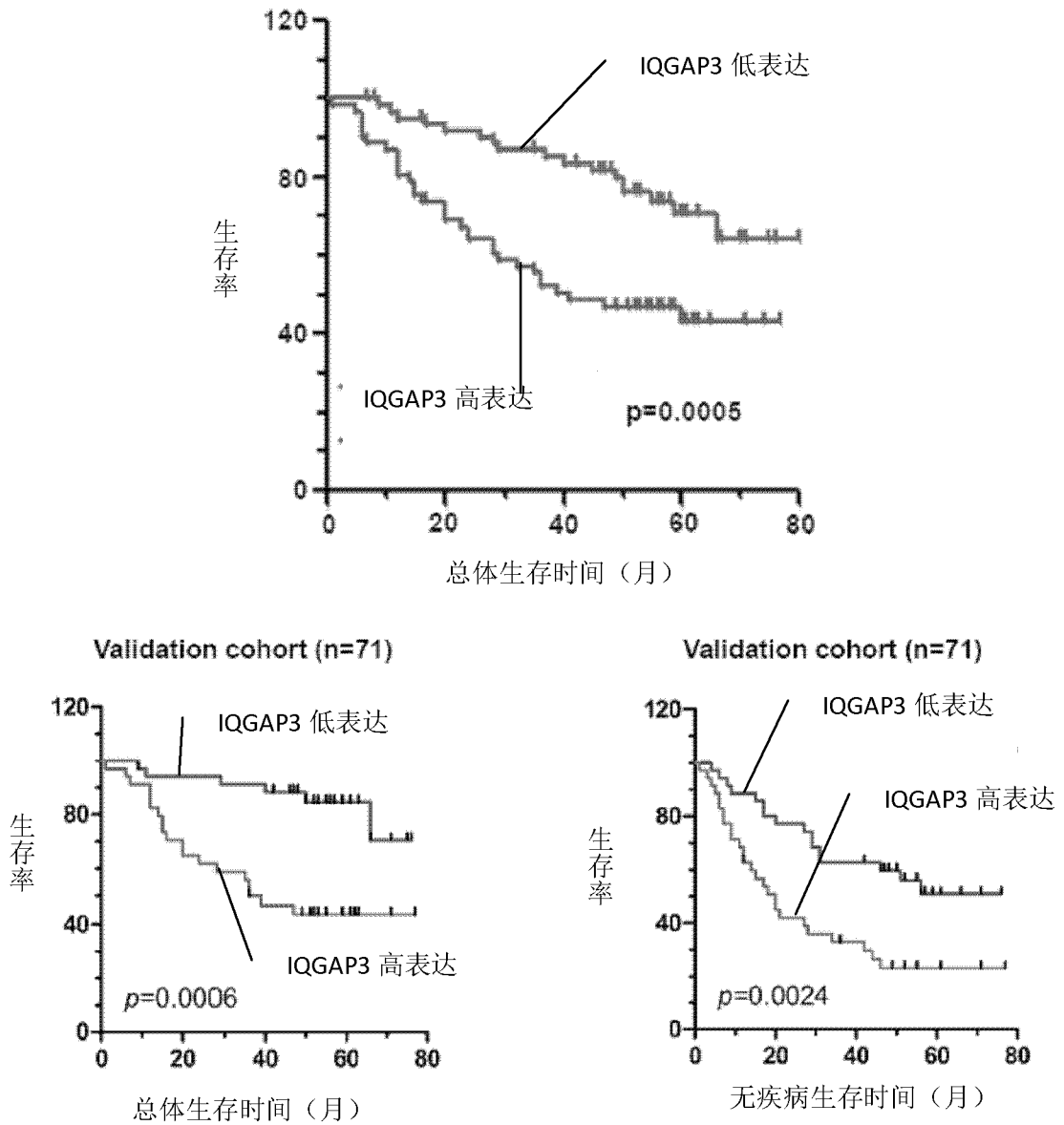


图6

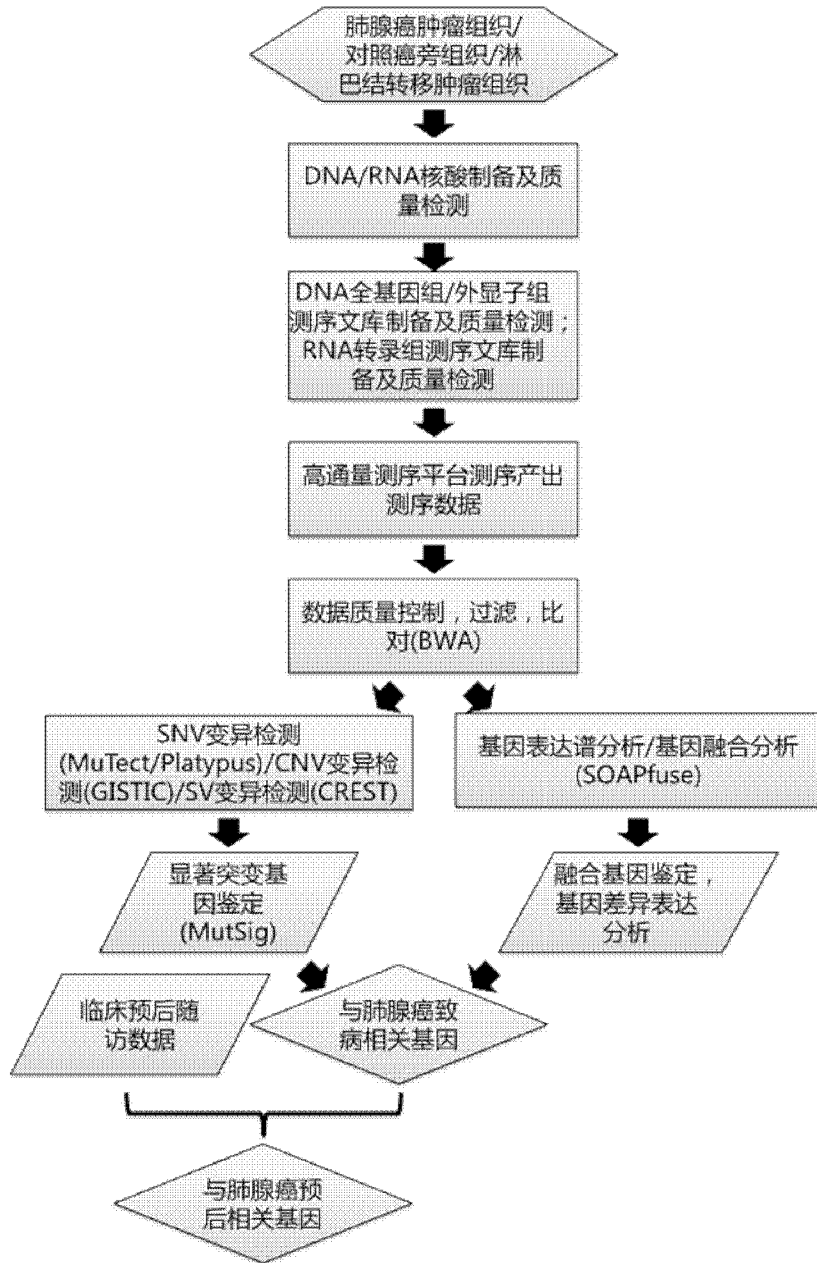


图 7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2015/093909

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N 15/12 (2006.01) i; A61K 48/00 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N, A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

Data Bases: CNTXT, CNABS, DWPI, SIPOABS, ISI WEB OF KNOWLEDGE (Biosis, medline, Embase), CNKI, PUBMED

Search Terms: lung adenocarcinoma, lung cancer, gene, mutant, detect, thpn2, gli3, mrc2

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	TW 201311906 A (UNIV NAT TAIWAN et al.), 16 March 2013 (16.03.2013), see claim 1	claims 1-7 (all), 8-12 and 16-18 (parts)
A	CN 104818334 A (BEIJING YANGSHEN BIOINFORMATICS TECHNOLOGY CO., LTD.), 05 August 2015 (05.08.2015), see the whole document	claims 1-7 (all), 8-12 and 16-18 (parts)
A	US 2005112707 A1 (UNIV NEW YORK STATE et al.), 26 May 2005 (26.05.2005), see the whole document	claims 1-7 (all), 8-12 and 16-18 (parts)
A	WO 2014172456 A1 (HEDGEPTH LLC), 23 October 2014 (23.10.2014), see the whole document	claims 1-7 (all), 8-12 and 16-18 (parts)

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>
---	---

Date of the actual completion of the international search

01 August 2016 (01.08.2016)

Date of mailing of the international search report

22 August 2016 (22.08.2016)

Name and mailing address of the ISA/CN:
State Intellectual Property Office of the P. R. China
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao
Haidian District, Beijing 100088, China
Facsimile No.: (86-10) 62019451

Authorized officer

SUN, Yanke

Telephone No.: (86-10) **62088439**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2015/093909

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

[1] the first group of inventions: claims 1-7 (all), 8-12 and 16-18 (parts):

[2] relating to a group of lung adenocarcinoma driver gene and a method, kit and device for detecting the presence of the lung adenocarcinoma in a subject in vitro, and a method, device and kit for detecting the prognosis effect of a lung adenocarcinoma patient, wherein the genes related for detecting are: RHPN2, GLI3 and/or MRC2;

[3] the second group of inventions: claims 13-15 (all), 8-12 and 16-18 (parts)

[4] relating to a method, device and kit for detecting the metastases of the lung adenocarcinoma of a patient in vitro, and a method, kit and device for detecting the presence of the lung adenocarcinoma in a subject in vitro, and a method, device and kit for detecting the prognosis effect of a lung adenocarcinoma patient, and gene related for detecting is: TP53;

[5] the third to eleventh groups of inventions: claims 8-12 and 16-18 (parts)

[6] relating to a method, kit and device for detecting the presence of the lung adenocarcinoma in a subject in vitro, and/or a method, device and kit for detecting the prognosis effect of a lung adenocarcinoma patient, and genes related for detecting are: EGFR, LRPIB, KRAS, PTPRD, STK11, SMAD2, PIK3CA, BRAF and FLT1;

[7] The twelfth and thirteenth groups of inventions: claims 16-18 (parts)

[8] relating to a method, kit and device for detecting the presence of the lung adenocarcinoma in a subject in vitro, and/or a method, device and kit for detecting the prognosis effect of a lung adenocarcinoma patient, and genes related for detecting are: KEAP1 and MET;

[9] the fourteenth group of inventions: claims 19-21 (all)

[10] relating to a method, device and kit for detecting the prognosis effect of a lung adenocarcinoma patient, and the gene related for detecting is: IQGAP3.

[11] The fourteen groups of inventions relate to detecting lung adenocarcinoma, and are respectively based on detecting different genes. Since detecting a lung adenocarcinoma is a known method in the art, the above-mentioned fourteen groups of inventions do not share the same or corresponding special technical features therebetween, and not complying with the requirement of unity of invention under PCT Rule 13.1.

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/093909

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
TW 201311906 A	16 March 2013	US 2014242580 A1	28 August 2014
		WO 2013005107 A2	10 January 2013
		TW I449791 B	21 August 2014
		WO 2013005107 A3	23 May 2013
CN 104818334 A	05 August 2015	None	
US 2005112707 A1	26 May 2005	US 7741298 B2	22 June 2010
WO 2014172456 A1	23 October 2014	US 2014315920 A1	23 October 2014
		US 2016074393 A1	17 March 2016
		US 2016074392 A1	17 March 2016
		CA 2909290 A1	23 October 2014
		US 9192609 B2	24 November 2015
		EP 2986296 A1	24 February 2016
		AU 2014253998 A1	05 November 2015
		KR 20160053843 A	13 May 2016

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2015/093909

<p>A. 主题的分类</p> <p>C12N 15/12(2006.01)i; A61K 48/00(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																	
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C12N, A61K, A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>数据库: CNTXT, CNABS, DWPI, SIPOABS, ISI WEB OF KNOWLEDGE (Biosis, medline, Embase), CNKI, PUBMED 检索词: 肺癌, 肺腺癌, 基因, 突变, 检测, lung adenocarcinoma, lung cancer, gene, mutant, detect, rhpn2, gli3, mrc2</p>																	
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>TW 201311906 A (UNIV NAT TAIWAN等) 2013年 3月 16日 (2013 - 03 - 16) 参见权利要求1</td> <td>权利要求1-7 (全部)、8-12和16-18 (均为部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 104818334 A (北京泱深生物信息技术有限公司) 2015年 8月 5日 (2015 - 08 - 05) 参见全文</td> <td>权利要求1-7 (全部)、8-12和16-18 (均为部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2005112707 A1 (UNIV NEW YORK STATE ET AL) 2005年 5月 26日 (2005 - 05 - 26) 参见全文</td> <td>权利要求1-7 (全部)、8-12和16-18 (均为部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2014172456 A1 (HEDGEPTH LLC) 2014年 10月 23日 (2014 - 10 - 23) 参见全文</td> <td>权利要求1-7 (全部)、8-12和16-18 (均为部分)</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	TW 201311906 A (UNIV NAT TAIWAN等) 2013年 3月 16日 (2013 - 03 - 16) 参见权利要求1	权利要求1-7 (全部)、8-12和16-18 (均为部分)	A	CN 104818334 A (北京泱深生物信息技术有限公司) 2015年 8月 5日 (2015 - 08 - 05) 参见全文	权利要求1-7 (全部)、8-12和16-18 (均为部分)	A	US 2005112707 A1 (UNIV NEW YORK STATE ET AL) 2005年 5月 26日 (2005 - 05 - 26) 参见全文	权利要求1-7 (全部)、8-12和16-18 (均为部分)	A	WO 2014172456 A1 (HEDGEPTH LLC) 2014年 10月 23日 (2014 - 10 - 23) 参见全文	权利要求1-7 (全部)、8-12和16-18 (均为部分)
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求															
A	TW 201311906 A (UNIV NAT TAIWAN等) 2013年 3月 16日 (2013 - 03 - 16) 参见权利要求1	权利要求1-7 (全部)、8-12和16-18 (均为部分)															
A	CN 104818334 A (北京泱深生物信息技术有限公司) 2015年 8月 5日 (2015 - 08 - 05) 参见全文	权利要求1-7 (全部)、8-12和16-18 (均为部分)															
A	US 2005112707 A1 (UNIV NEW YORK STATE ET AL) 2005年 5月 26日 (2005 - 05 - 26) 参见全文	权利要求1-7 (全部)、8-12和16-18 (均为部分)															
A	WO 2014172456 A1 (HEDGEPTH LLC) 2014年 10月 23日 (2014 - 10 - 23) 参见全文	权利要求1-7 (全部)、8-12和16-18 (均为部分)															
国际检索实际完成的日期	2016年 8月 1日	国际检索报告邮寄日期	2016年 8月 22日														
ISA/CN的名称和邮寄地址	中华人民共和国国家知识产权局 (ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	受权官员	孙彦珂 电话号码 (86-10)62088439														

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明，即：

- [1] 第1组发明：权利要求1-7（全部）、8-12、16-18（均为部分）
- [2] 涉及一组肺腺癌驱动基因及其用于体外检测受试者存在肺腺癌的方法、试剂盒和装置，以及用于检测肺腺癌患者预后效果的方法、装置和试剂盒，涉及检测的基因为RHPN2，GLI3和/或MRC2；
- [3] 第2组发明：权利要求13-15（全部）、8-12、16-18（均为部分）
- [4] 涉及一种体外检测患者肺腺癌是否发生转移的方法、装置和试剂盒，以及体外检测受试者存在肺腺癌的方法、试剂盒和装置，以及检测肺腺癌患者预后效果的方法、装置和试剂盒，涉及检测的基因为TP53；
- [5] 第3-11组发明：权利要求8-12、16-18（均为部分）
- [6] 涉及一种体外检测受试者存在肺腺癌的方法、试剂盒和装置，和/或检测肺腺癌患者预后效果的方法、装置和试剂盒，涉及检测的基因分别为EGFR，LRP1B，KRAS，PTPRD，STK11，SMAD2，PIK3CA，BRAF，FLT1；
- [7] 第12-13组发明：权利要求16-18（均为部分）
- [8] 涉及一种体外检测受试者存在肺腺癌的方法、试剂盒和装置，和/或检测肺腺癌患者预后效果的方法、装置和试剂盒，涉及检测的基因分别为KEAP1，MET；
- [9] 第14组发明：权利要求19-21（全部）
- [10] 涉及一种检测肺腺癌患者预后效果的方法、装置和试剂盒，涉及检测的基因为IQGAP3。
- [11] 上述14组发明涉及检测肺腺癌，分别基于检测不同基因，由于检测肺腺癌是本领域公知的一种方法。因此，上述14组发明之间不具备相同或相应的特定技术特征，不符合PCT实施细则13.1有关单一性的规定。

1. 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费，本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。
2. 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索，本单位未通知缴纳任何加费。
3. 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费，本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求，具体地说，是权利要求：
4. 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此，本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明：包含该发明的权利要求是：权利要求1-7（全部）、8-12和16-18（均为部分）

对异议的意见

- 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，适用时，缴纳了异议费。
- 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。
- 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2015/093909

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
TW	201311906	A	2013年 3月 16日	US	2014242580	A1	2014年 8月 28日
				WO	2013005107	A2	2013年 1月 10日
				TW	I449791	B	2014年 8月 21日
				WO	2013005107	A3	2013年 5月 23日
CN	104818334	A	2015年 8月 5日	无			
US	2005112707	A1	2005年 5月 26日	US	7741298	B2	2010年 6月 22日
WO	2014172456	A1	2014年 10月 23日	US	2014315920	A1	2014年 10月 23日
				US	2016074393	A1	2016年 3月 17日
				US	2016074392	A1	2016年 3月 17日
				CA	2909290	A1	2014年 10月 23日
				US	9192609	B2	2015年 11月 24日
				EP	2986296	A1	2016年 2月 24日
				AU	2014253998	A1	2015年 11月 5日
				KR	20160053843	A	2016年 5月 13日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)