



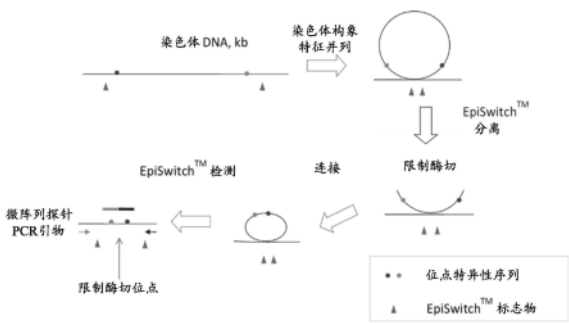
(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114008218 B
(45) 授权公告日 2025. 06. 06

(21) 申请号 202080044081.9	A • 阿库利切夫
(22) 申请日 2020.05.06	(74) 专利代理机构 北京汇知杰知识产权代理有限公司 11587
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 114008218 A	专利代理师 杨巍 柴春玲
(43) 申请公布日 2022.02.01	(51) Int.Cl.
(30) 优先权数据 1906487.2 2019.05.08 GB 1914729.7 2019.10.11 GB 2006286.5 2020.04.29 GB	C12Q 1/6886 (2018.01) C12Q 1/6851 (2018.01) A61K 45/00 (2006.01) A61K 31/7088 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2021.12.15	(56) 对比文件 WO 2018100381 A1, 2018.06.07 Dmitri Pchejetski等.WHILE BLOOD CELLS FROM PROSTATE CANCER PATIENTS CARRY DISTINCT CHROMOSOME CONFORMATIONS.THE JOURNAL OF UROLOGY.2018,第199卷(第4S期), e542页.
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/GB2020/051105 2020.05.06	审查员 董旭婷
(87) PCT国际申请的公布数据 W02020/225551 EN 2020.11.12	权利要求书1页 说明书88页 附图24页
(73) 专利权人 牛津生物动力公共有限公司 地址 英国牛津市	
(72) 发明人 E • 亨特 A • 拉马达斯	

(54) 发明名称
前列腺癌和淋巴瘤的染色体构象标志物

(57) 摘要
一种用于分析与前列腺癌或DLBCL的预后相关的染色体区域和染色体相互作用的方法。



1. 用于检测个体是否存在染色体相互作用的探针集在制备用于确定所述个体的前列腺癌的预后的试剂盒的用途, 其中, 所述染色体相互作用是否存在通过包括以下步骤的方法进行检测:

- (i) 将已在染色体相互作用中聚集在一起的所述个体的染色体区域进行交联;
- (ii) 对所述交联区域进行切割;
- (iii) 连接所述交联的切割的DNA末端以形成连接核酸; 以及
- (iv) 通过探针检测是否存在对应于所述染色体相互作用的连接核酸;

其中, 在所述预后中, 所述个体被分为1类或3类, 所述1类代表低风险、惰性前列腺癌, 所述3类代表高风险、侵袭性前列腺癌, 所述探针集包括:

(a) 用于检测BMP6基因中的染色体相互作用的序列为ACGTC GTTACAGTTTAAATTTTCTA CTTGATGTTAATCTCCTAAA AAACATCCAACCA的探针;

(b) 用于检测EGR基因中的染色体相互作用的序列为TCTTGA ATGTGCTTAGTATTATTCAGA CTCGAAAACATAATTTGAAA GGAATTCATTCTG的探针;

(c) 用于检测MSR1基因中的染色体相互作用的序列为CACCA GTTGGTAATTCTATGTGTAAG TTTCGAGCTTATAAGATCAAT CAGGAATTATTCC的探针;

(d) 用于检测MUC1基因中的染色体相互作用的序列为GCAGG GTGGCTATAGCTCAGGAGAGT GCTCGACGGAGTCTTGCTCT TTCACCCAGGCTGG的探针;

(e) 用于检测ACAT1基因中的染色体相互作用的序列为CAAT TGGTGGATATAGAAAGGTCTA AATTCGATAAGTATAGACTC AGAATGCAAAAATGT的探针; 和

(f) 用于检测DAPK1基因中的染色体相互作用的序列为ACTA ATCCCCTGAAGAAGCAAATTA ACTTCGAGTATCCCTTTAAGT TTGTTTTTAAAATA的探针。

2. 根据权利要求1所述的用途, 其中检测所述染色体相互作用是否存在包括通过定量PCR (qPCR) 对所述连接核酸进行特定检测, 所述定量PCR使用能够扩增所述连接核酸的引物, 在所述PCR反应过程中, 所述探针结合连接位点。

3. 根据权利要求2所述的用途, 其中荧光团与所述探针5'末端共价连接。

4. 根据权利要求2所述的用途, 其中猝灭剂与所述探针3'末端共价连接。

前列腺癌和淋巴瘤的染色体构象标志物

技术领域

[0001] 本发明涉及疾病过程。

背景技术

[0002] 癌症疾病过程中的调控和致病因素很复杂,使用现有的DNA和蛋白质分型方法无法轻易地阐明。

[0003] 弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)是一种B细胞癌症,B细胞是一种负责产生抗体的白细胞。弥漫性大B细胞淋巴瘤是成人中最常见的非霍奇金淋巴瘤类型,在美国和英国的平均年发病率为每年每100,000人中有7-8例病例。然而,人们对疾病过程的结果知之甚少。

[0004] 前列腺癌是由前列腺中细胞的异常和不受控制的生长引起的。虽然前列腺癌的生存率在过去几十年中不断提高,但这种疾病在很大程度上仍被认为是无法治愈的。根据美国癌症协会的数据,所有分期的前列腺癌加在一起,一年的相对生存率为20%,而五年的相对生存率为7%。

发明内容

[0005] 本发明人确定了由染色体构象特征定义的前列腺癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)和淋巴瘤患者的亚型。

[0006] 根据本发明,提供了一种用于检测代表群体中亚群的染色体状态的方法(process),包括确定在基因组的限定区域内是否存在与该染色体状态相关的染色体相互作用;以及

[0007] -其中所述染色体相互作用任选地已通过包括以下步骤的确定哪些染色体相互作用与对应于所述群体的所述亚群的染色体状态相关的方法(method)进行了鉴定:将来自具有不同状态的染色体的亚群的第一组核酸与第二组索引核酸接触,并允许互补序列杂交,其中所述第一组核酸和第二组核酸中的核酸代表连接产物,所述连接产物包括来自在染色体相互作用中已聚集在一起的两个染色体区域的序列,并且其中所述第一组核酸和第二组核酸之间的杂交模式允许确定哪些染色体相互作用对所述亚群是特异性的;以及

[0008] -其中所述亚群与前列腺癌的预后有关,并且所述染色体相互作用:

[0009] (i) 存在于表6所列出的任一区域或基因中;和/或

[0010] (ii) 对应于表6中所示的任何探针所代表的任一染色体相互作用,和/或

[0011] (iii) 存在于包括(i)或(ii)或位于(i)或(ii)侧面的4000碱基区域中;

[0012] 或

[0013] -其中所述亚群与DLBCL的预后有关,并且所述染色体相互作用:

[0014] a) 存在于表5所列出的任一区域或基因中;和/或

[0015] b) 对应于表5中所示的任何探针所代表的任一染色体相互作用,和/或

[0016] c) 存在于包括(a)或(b)或位于(a)或(b)侧面的4000碱基区域中;

[0017] 或

- [0018] -其中所述亚群与淋巴瘤的预后有关,并且所述染色体相互作用:
- [0019] (iv) 存在于表8所列出的任一区域或基因中;和/或
- [0020] (v) 对应于表8中所示的任一染色体相互作用,和/或
- [0021] (vi) 存在于包括(iv)或(v)或位于(iv)或(v)侧面的4000碱基区域中。

附图说明

- [0022] 图1显示了用于前列腺癌研究的主成分分析(PCA)。
- [0023] 图2显示了两个PCA预后分类器的VENN比较。
- [0024] 图3显示了DLBCL的PCA分析。
- [0025] 图4显示了DLBCL中7个BTK标志物(OBD RD051)的PCA。
- [0026] 图5显示了如何进行染色体相互作用分型的一个实例。
- [0027] 图6显示了可用于本发明方法的来自犬类淋巴瘤研究的标志物。该图显示了标志物的缩减。38个样本中的70%用作训练集(28)并用于标志物选择。其余10个样本用作测试集。使用了多个训练集和测试集。单变量分析、费希尔精确检验(D列和E列结果)和多变量分析惩罚逻辑建模(GLMNET,B列和C列结果)。标志物2至18是淋巴瘤标志物,而标志物19至23是对照。选择前11个存在于淋巴瘤中的环进行分类。
- [0028] 图7显示了人类基因的犬类标志物。该表显示了映射到人类基因组(Hg38)的具有最接近的映射基因组区域的前11个犬类标志物。相邻的网络是使用11个标志物(深色)、颜色较浅的节点和使用NCI数据库的连接蛋白构建的。
- [0029] 图8显示了人类基因的犬类标志物。和之前一样,只是对网络进行了通路富集。只有11个犬类映射位点用于富集,在富集过程中省略了连接模式。颜色较浅的节点属于KEGG CML通路。
- [0030] 图9显示了训练集1和测试集1XGBoost 11标志模型
- [0031] 图10显示了训练集2和测试集2XGBoost 11标志模型
- [0032] 图11显示了训练集3和测试集3XGBoost 11标志模型
- [0033] 图12显示了训练集1逻辑PCA
- [0034] 图13显示了训练集1和测试集1逻辑PCA。逻辑PCA模型用于预测测试集1(三角形)。深色三角形是来自测试集的淋巴瘤(标记的),浅色三角形是来自测试集的对照。训练淋巴瘤样本为深色,对照为浅色。
- [0035] 图14显示了训练集1和测试集1ROC&AUC
- [0036] 图15显示了在NFKB1的患者PFS EpiSwitch™调用和环动态。118名使用EpiSwitch™ 10标志物人类模型的患者被调用为ABC或GCB,使用此调用和环动态进行PFS建模,具有环的GCB不会死亡,也表明人类模型对疾病预后很有效。
- [0037] 图16显示了在NFATC1的118名患者PFS EpiSwitch™调用和环动态。和之前一样,但对于NFATC1,这再次表明使用该标志物作为10个人类标志物之一的人类预后模型非常擅长分类。
- [0038] 图17显示了鉴定、评估和验证前列腺癌(PCa)诊断和预后生物标志物的三步法。
- [0039] 图18显示了应用于包含两组的78个样本的五个标志物的PCA。第一组,49个已知样本(24个PCa和25个健康对照(Cntrl))与第二组29个样本(包括24个PCa样本和5个健康

Cntrl样本)相结合。

[0040] 图19显示了开发分类器的工作流程。

[0041] 图20显示了用于分类器的相关基因组。

[0042] 图21显示了当应用于发现队列时,EpiSwitchDLBCL-CCS和Fluidigm亚型调用和ROC曲线的重叠。A.EpiSwitch DLBCL-CCS和Fluidigm分析对已知亚型样本进行的亚型调用。60个样本中的60个被两种分析同等地调用。B.当应用于发现队列时的DLBCL-CCS受试者工作曲线(ROC)。C.通过DLBCL-CCS对被调用为ABC或GCB的样本进行的Kaplan-Meier生存分析(通过无进展生存)。被调用为ABC的样本显示出比被调用为GCB的样本明显更差的长期生存率。

[0043] 图22显示了通过EpiSwitch和Fluidigm分析对III型样本中DLBCL亚型的分配。

[0044] 图23显示了使用EpiSwitch和Fluidigm对III型样本中基线DLBCL亚型调用的长期生存率的比较。通过Fluidigm分析(A)或EpiSwitch DLBCL-CCS(B)分类为ABC、GCB或未分类的58名DLBCL患者的Kaplan-Meier生存曲线。Fluidigm将15个样本分类为ABC,22个分类为GCB,21个分类为UNC。EpiSwitch将34个分类为ABC,将24个分类为GCB。

[0045] 图24显示了验证队列中通过EpiSwitch和Fluidigm分类的平均生存时间。

[0046] 图25显示了对可能的DLBCL亚型的初步评估。

[0047] 图26显示了在发现队列中通过EpiSwitch进行基线ABC/GCB亚型调用的DLBCL患者的PCA。

具体实施方式

[0048] 本发明的方面

[0049] 本发明涉及前列腺癌预后的确定,特别是关于癌症是侵袭性的还是惰性的。所述确定是通过对本文(例如表6中)所公开的任何相关标志物、或优选的标志物的组合、或本文所公开的限定的特定区域中的标志物进行分型。因此,本发明涉及一种对前列腺癌患者进行分型以确定癌症是侵袭性还是惰性的方法。

[0050] 本发明还涉及DLBCL预后的确定,特别是关于在生存方面的预后的优劣。所述确定是通过对本文(例如表5中)所公开的任何相关标志物、或优选的标志物的组合、或本文所公开的限定的特定区域中的标志物进行分型。因此,本发明涉及一种对患有DLBCL的患者进行分型以确定该患者在生存方面的预后的优劣的方法,例如确定疾病的预期发展速度和/或死亡时间。

[0051] 在本发明的方法中,前列腺癌或DLBCL的亚群体基本上是通过标志物的分型来鉴定的。因此,例如,本发明涉及与这些病症的预后相关的一组表观遗传标志物。因此,本发明允许向患者提供准确反映患者需求的个性化治疗。

[0052] 本发明还涉及基于表8或表9定义的分型染色体相互作用来确定淋巴瘤的预后。

[0053] 优选地,表5至表7与确定人类的预后有关。优选地,表8和表9与确定犬类的预后有关。

[0054] 基于所述方法的结果,可以向个体施用本文提及的任何疗法,例如药物。

[0055] 在图中和表中公开了标志物集。在一个实施方案中,本发明使用来自任何公开的标志物集的至少10个标志物。在另一个实施方案中,本发明使用来自任何公开的标志物集

的至少20%的标志物。

[0056] 发明方法

[0057] 本发明的方法包括用于检测与预后相关的染色体相互作用的分型系统。所述分型可以使用本文所提到的EpiSwitch™系统进行,该系统基于在染色体相互作用中聚集在一起的染色体交联区域,对染色体DNA进行切割,然后连接存在于交联实体中的核酸,从而获得具有来自形成染色体相互作用的两个区域的序列的连接核酸。检测该连接核酸可以用于确定是否存在特定染色体相互作用。

[0058] 可以通过上述使用第一和第二核酸群体的方法鉴定染色体相互作用。这些核酸也可以使用EpiSwitch™技术生成。

[0059] 与本发明相关的表观遗传相互作用

[0060] 如本文所用,术语“表观遗传”和“染色体”相互作用通常是指染色体末端区域之间的相互作用,所述相互作用是动态的并且根据染色体区域的状态而改变、形成或断裂。

[0061] 在本发明的特定方法中,通常首先通过产生连接核酸来检测染色体相互作用,所述连接核酸包含来自作为相互作用一部分的染色体的两个区域的序列。在这样的方法中,这些区域可以通过任何合适的方式交联。在一个优选方面,相互作用使用甲醛进行交联,但也可以用任何醛、或D-生物素-e-氨基己酸-N-羟基琥珀酰亚胺酯或地高辛-3-O-甲基羰基-e-氨基己酸-N-羟基琥珀酰亚胺酯进行交联。对甲醛可以使相距4埃的DNA链交联。优选地,染色体相互作用在同一条染色体上并且任选地相距2埃至10埃。

[0062] 染色体相互作用可以反映染色体区域的状态,例如,其是否响应生理条件的变化而被转录或抑制。本文定义的亚群特异性的染色体相互作用已被发现是稳定的,从而提供了测量两个亚群之间差异的可靠方式。

[0063] 此外,对特征(例如预后)特异性的染色体相互作用通常发生在生物过程的早期,例如与其他表观遗传标志物(例如甲基化或组蛋白结合的变化)相比。因此,本发明的方法能够检测生物过程的早期阶段。这使得早期干预(例如治疗)可能会更加有效。染色体相互作用也反映了个体的当前状态,因此可用于评估预后的变化。此外,同一亚群内的个体之间的相关染色体相互作用几乎没有变化。由于每个基因都有多达50种不同的可能相互作用,检测染色体相互作用提供了非常有用的信息,因此本发明的方法可以查询500,000种不同的相互作用。

[0064] 统选标志物集

[0065] 本文中术语“标志物”或“生物标志物”是指可以在本发明中可以检测(分型)的特定染色体相互作用。本文公开的特异性标志物中的任何一个都可用于本发明。可以使用更多标志物集,例如以本文公开的组合或数字使用。本文表中公开的特异性标志物是优选的,以及本文表中提及的基因和区域中存在的标志物是优选的。这些标志物可以通过任何合适的方法进行分型,例如本文中公开的基于PCR或探针的方法,包括qPCR方法。在本文中通过位置或通过探针和/或引物序列来限定标志物。

[0066] 表观遗传相互作用的位置和原因

[0067] 表观遗传染色体相互作用可重叠,并且包括显示编码相关基因或未描述基因的染色体区域,但同样可能位于基因间区。还应注意,发明人已发现所有区域的表观遗传相互作用在确定染色体基因座的状态方面同样重要。这些相互作用不一定在位于该基因座的特定

基因的编码区中,而可能位于基因间区。

[0068] 本发明中检测到的染色体相互作用可由潜在DNA序列的变化、环境因素、DNA甲基化、非编码反义RNA转录物、非诱变致癌物、组蛋白修饰、染色质重塑和特定的局部DNA相互作用引起。导致染色体相互作用的变化可能是由潜在核酸序列的变化引起的,这些变化本身并不直接影响基因产物或基因表达模式。此类变化可能是例如基因内和/或基因外的SNP、基因间DNA、微RNA和非编码RNA的基因融合和/或基因缺失。例如,已知约20%的SNP位于非编码区域,因此所述方法在非编码情况下也能提供有用信息。一方面,聚集在一起形成相互作用的染色体区域在同一染色体上相距小于5kb、3kb、1kb、500个碱基对或200个碱基对。

[0069] 检测到的染色体相互作用优选在表5中提及的任何基因内。然而所述染色体相互作用也可以位于所述基因的上游或下游,例如位于所述基因或所述编码序列的上游或下游高达50,000、高达30,000、高达20,000、高达10,000或高达5000个碱基处。

[0070] 检测到的染色体相互作用优选在表6中提及的任何基因内。然而所述染色体相互作用也可以位于所述基因的上游或下游,例如位于所述基所述因或编码序列的上游或下游高达50,000、高达30,000、高达20,000、高达10,000或高达5000个碱基处。

[0071] 检测到的染色体相互作用优选在表9中提及的任何基因内。然而所述染色体相互作用也可以位于所述基因的上游或下游,例如位于所述基因或编码序列的上游或下游高达50,000、高达30,000、高达20,000、高达10,000或高达5000个碱基处。

[0072] 亚群、时间点和个性化治疗

[0073] 本发明的目的是确定预后。这可以是在一个或多个限定的时间点,例如至少1、2、5、8或10个不同的时间点。至少1、2、5或8个时间点之间的持续时间可以是至少5天、10天、20天、50天、80天或100天。

[0074] 如本文所用,“亚群”优选地指群体亚群(群体中的亚群),更优选地指特定动物例如特定真核生物或哺乳动物(例如人类、非人类、非人灵长类,或啮齿动物,例如小鼠或大鼠)群体中的亚群。最优选地,“亚群”是指人类群体中的亚群。所述亚群可以是犬类亚群,例如狗。

[0075] 本发明包括检测和治疗群体中的特定亚群。发明人发现,给定群体中的子集(例如至少两个子集)之间的染色体相互作用是不同的。鉴定这些差异将允许医生将他们的患者归类为如方法中所述的群体的一个子集的一部分。因此,本发明为医生提供了一种基于患者的表观遗传染色体相互作用为患者提供个性化医疗的方法。

[0076] 在一方面,本发明涉及测试个体是否:

[0077] -是快速或缓慢的“进展者”,和/或

[0078] -患有侵袭性或惰性疾病。

[0079] 本发明还可以确定个体的预期生存时间。

[0080] 此类测试可用于选择随后如何治疗患者,例如药物类型和/或药物剂量和/或药物施用频率。

[0081] 生成连接核酸

[0082] 本发明的某些方面利用连接核酸,特别是连接DNA。这些连接核酸包括来自在染色体相互作用中聚集在一起的两个区域的序列,并因此提供了有关相互作用的信息。本文所

述的EpiSwitchTM方法使用此类连接核酸的生成来检测染色体相互作用。

[0083] 因此,本发明的方法可以包括通过以下步骤(包括包含这些步骤的方法)生成连接核酸(例如DNA)的步骤:

[0084] (i) 对存在于染色体基因座的表观遗传染色体相互作用进行交联,优选在体外;

[0085] (ii) 任选地从所述染色体基因座分离交联DNA;

[0086] (iii) 对所述交联DNA进行切割,例如用至少将交联DNA切割一次的酶(特别是在所述染色体基因座内至少切割一次的酶)进行限制性消化;

[0087] (iv) 连接所述交联切割的DNA末端(特别是形成DNA环);以及

[0088] (v) 任选地鉴定所述连接DNA和/或所述DNA环的存在,特别是使用如PCR(聚合酶链反应)的技术,以鉴定特定染色体相互作用的存在。

[0089] 可以实施这些步骤以检测本文提及的任何方面的染色体相互作用。也可以实施这些步骤以生成本文提及的第一组核酸和/或第二组核酸。

[0090] PCR(聚合酶链反应)可用于检测或鉴定连接核酸,例如,产生的PCR产物的大小可指示存在的特定染色体相互作用,并且因此可用于鉴定基因座状态。在优选的方面,将如表5中所示的至少1、2或3个引物或引物对用于PCR反应。在其他方面,将如表6中所示的至少1、10、20、30、50或80个引物或引物对用于PCR反应。技术人员会知道可用于切割目标染色体基因座内的DNA的多种限制性内切酶。显然,将根据所研究的基因座和位于其中的DNA序列使用具体的酶。如本发明中所述,可用于切割DNA的限制性内切酶的非限制性实例是TaqI。

[0091] EpiSwitchTM技术

[0092] EpiSwitchTM技术还涉及使用微阵列EpiSwitchTM标志物数据来检测表型特异性的表观遗传染色体构象特征。诸如以本文所述方式利用连接核酸的EpiSwitchTM等方面具有几个优点。它们具有低水平的随机噪声,例如因为来自本发明第一组核酸的核酸序列与第二组核酸杂交,或未能与第二组核酸杂交。这提供了一个二元结果,允许以相对简单的方式在表观遗传水平上测量复杂的机制。EpiSwitchTM技术处理时间快且成本低。在一方面,处理时间为3小时至6小时。

[0093] 样本和样本处理

[0094] 本发明的方法通常在样本上进行。样本可以在限定的时间点获得,例如在本文中限定的任何时间点。样本通常包含来自个体的DNA。样本通常包含细胞。在一方面,通过微创方式获得样本,并且可以是例如血液样本。可以提取DNA并用标准的限制性内切酶切割DNA。这可以预先确定哪些染色体构象被保留,并使用EpiSwitchTM平台进行检测。由于组织和血液之间染色体相互作用的同步性,包括水平转移,血液样本可用于检测组织中的染色体相互作用,例如与疾病相关的组织。对于某些情况,例如癌症,由于突变引起的遗传噪声会影响相关组织中的染色体相互作用“信号”,因此使用血液是有利的。

[0095] 本发明核酸的性质

[0096] 本发明涉及某些核酸,例如本文所述的在本发明的方法中使用或生成的连接核酸。这些核酸可以与本文提及的第一核酸和第二核酸相同,或具有它们的任何性质。本发明的核酸通常包括两个部分,每个部分包括来自在染色体相互作用中聚集在一起的染色体的两个区域之一的序列。通常,每个部分的长度为至少8、10、15、20、30或40个核苷酸,例如长度为10个至40个核苷酸。优选的核酸包括来自任何所述表中提及的任何基因的序列。通常

优选的核酸包括表5中提及的特异性探针序列;或这些序列的片段和/或同源物。优选的核酸可以包括表6中提及的特异性探针序列;或这些序列的片段和/或同源物。

[0097] 优选地,所述核酸是DNA。应当理解,在提供特定序列的情况下,本发明可以根据特定方面的需要使用互补序列。优选地,所述核酸是DNA。应当理解,在提供特定序列的情况下,本发明可以根据特定方面的需要使用互补序列。

[0098] 表5中所示的引物也可用于本文所述的本发明。在一方面,使用包括以下任一项的引物:表5所示的序列;或表5中所示的任一序列的片段和/或同源物。表6中所示的引物也可用于本文所述的本发明。在一方面,使用包括以下任一项的引物:表6所示的序列;或表6所示的任一序列的片段和/或同源物。表8中所示的引物也可用于本文所述的本发明。在一方面,使用包含以下任一项的引物:表8所示的序列;或表8中所示的任一序列的片段和/或同源物。

[0099] 第二组核酸——“索引”序列

[0100] 第二组核酸序列具有作为一组索引序列的功能,并且本质上是一组适合鉴定亚群特异性序列的核酸序列。它们可以代表“背景”染色体相互作用,并且可能以某种方式被选择或不被选择。它们通常是所有可能的染色体相互作用的子集。

[0101] 第二组核酸可以通过任何合适的方法获得。它们可以通过计算得出,也可以基于个体的染色体相互作用。它们通常代表比第一组核酸更大的群体。在一个具体的方面,第二组核酸代表具体基因组中所有可能的表观遗传染色体相互作用。在另一个具体的方面,第二组核酸代表本文所述群体中存在的所有可能的表观遗传染色体相互作用的大部分。在一个具体的方面,第二组核酸代表至少20个、50个、100个或500个基因(例如20个至100个或50个至500个基因中)中至少50%或至少80%的表观遗传染色体相互作用。

[0102] 第二组核酸通常代表至少100种可能的表观遗传染色体相互作用,它们修饰、调控或以任何方式介导群体中的表型。第二组核酸可以代表影响物种的疾病状态(通常与诊断或预后相关)的染色体相互作用。第二组核酸通常包括代表与预后亚群相关和不相关的表观遗传相互作用的序列。

[0103] 在一个具体的方面,第二组核酸至少部分源自群体中天然存在的序列,并且通常通过计算机(in silico)方法获得。与天然存在的核酸中存在的核酸的相应部分相比,所述核酸可以进一步包括单个或多个突变。突变包括一个或多个核苷酸碱基对的缺失、取代和/或添加。在一个具体的方面,第二组核酸可包括代表与天然存在的物种中存在的核酸的相应部分具有至少70%序列一致性的同源基因和/或直系同源基因(orthologue)的序列。在另一个具体的方面,提供了与天然存在的物种中存在的核酸的相应部分至少80%的序列一致性或至少90%的序列一致性。

[0104] 第二组核酸的性质

[0105] 在一个具体的方面,在第二组核酸中存在至少100种不同的核酸序列,优选至少1000种、2000种或5000种不同的核酸序列,最多100,000种、1,000,000种或10,000,000种不同的核酸序列。通常数量为100至1,000,000,例如1,000种到100,000种不同的核酸序列。所有或至少90%或至少50%或这些核酸序列对应于不同的染色体相互作用。

[0106] 在一个具体的方面,第二组核酸代表至少20个不同基因座或基因中的染色体相互作用,优选至少40个不同基因座或基因,更优选至少100个、至少500个、至少1000个或至少

5000个不同基因座或基因,例如100个到10,000个不同基因座或基因。第二组核酸的长度使它们适合于根据沃森-克里克碱基配对与第一组核酸进行特异性杂交,从而可以鉴定亚群特异性的染色体相互作用。通常,第二组核酸包括依次对应于在染色体相互作用中聚集在一起的两个染色体区域的两个部分。第二组核酸通常包含长度至少为10个,优选为20个,并且更优选为30个碱基(核苷酸)的核酸序列。在另一方面,核酸序列的长度可以为不超过500个,优选不超过100个,并且更优选不超过50个碱基对。在一个优选的方面,第二组核酸包括17个至25个碱基对的核酸序列。在一方面,至少100%、80%或50%的第二组核酸序列具有上述长度。优选地,不同的核酸不具有任何重叠序列,例如至少100%、90%、80%或50%的核酸在至少5个连续核苷酸上不具有相同序列。

[0107] 假设第二组核酸作为“索引”,那么相同的第二组核酸可以与代表不同特征的亚群的不同第一组核酸一起使用,即第二组核酸可以代表可用于鉴定与不同特征相关的染色体相互作用的“通用”的核酸集合。

[0108] 第一组核酸

[0109] 第一组核酸通常来自与预后相关的亚群。第一组核酸可具有本文提及的第二组核酸的任何特征和性质。第一组核酸通常来自个体样本,所述个体已经经历了本文所述的处理和加工,特别是EpiSwitch™交联和切割步骤。通常,第一组核酸代表取自个体的样本中存在的全部或至少80%或50%的染色体相互作用。

[0110] 通常,与由第二组核酸代表的染色体相互作用相比,第一组核酸代表由第二组核酸代表的基因座或基因的更小的染色体相互作用群体,即第二组核酸是代表限定的基因座或基因中的相互作用的背景或索引组。

[0111] 核酸文库

[0112] 本文提及的任何类型的核酸群体都可以以文库的形式存在,所述文库包括至少200个、至少500个、至少1000个、至少5000个或至少10000个该类型的不同核酸,例如“第一”或“第二”核酸。这样的文库可以是与阵列绑定的形式。文库可包括表5或表6中所示的一些或全部探针或引物对。文库可包括来自本文公开的任何表中的所有探针序列。

[0113] 杂交

[0114] 本发明需要一种可以使来自第一组核酸和第二组核酸的全部或部分互补的核酸序列杂交的手段。在一个方面,所有第一组核酸在单个分析中(即在单个杂交步骤中)与所有第二组核酸接触。然而,可以使用任何合适的分析。

[0115] 标记核酸和杂交模式

[0116] 本文提及的核酸可以被标记,优选使用有助于检测成功杂交的独立的标记,例如荧光团(荧光分子)或放射性标记。某些标记可以在紫外光下检测到。杂交模式,例如在本文描述的阵列上,代表两个亚群之间表观遗传染色体相互作用的差异,并因此提供了一种比较表观遗传染色体相互作用和确定哪些表观遗传染色体相互作用是特异于本发明群体中的亚群的方法。

[0117] 术语“杂交模式”广泛涵盖第一组和第二组核酸之间存在杂交和不存在杂交,即第一组中的哪些特定核酸与第二组中的哪些特定核酸杂交,因此它不限于任何特定的分析或技术,或者需要具有可以检测到“模式”的表面或阵列。

[0118] 选择具有特定特征的亚群

[0119] 本发明提供了一种方法,该方法包括检测是否存在染色体相互作用,通常为5个至20个或5个至500个这样的相互作用,优选20个至300个或50个至100个相互作用,以便确定个体中是否存在与预后相关的特征。优选地,染色体相互作用是本文提及的任一基因中的那些染色体相互作用。在一方面,分型的染色体相互作用是表5中的核酸所代表的那些。在另一方面,所述染色体相互作用是表6中代表的那些。在又一方面,分型的染色体相互作用是表8中的核酸所代表的那些。表中标题为“检出环”的列显示了每个探针检测到的亚群。检测可以是所述亚群中染色体相互作用的存在或染色体相互作用的不存在,这就是“1”和“-1”所表示的。

[0120] 测试的个体

[0121] 本文中提及了测试的个体所属物种的实例。此外,在本发明的方法中被测试的个体可能已经以某种方式被选择。所述个体可能对本文提及的任何病症易感和/或可能需要本文提及的任何疗法。所述个体可能正在接受本文提及的任何疗法。特别是,所述个体可能患有或怀疑患有前列腺癌或DLBCL。所述个体可能患有或怀疑患有淋巴瘤。

[0122] 优选的前列腺癌基因区域、基因座、基因和染色体相互作用

[0123] 对于本发明的所有方面,优选的基因区域、基因座、基因和染色体相互作用都在表中提及,例如在表6中。通常在本发明的方法中,从表6列出的至少1个、2个、3个、4个或5个相关基因中检测到染色体相互作用。优选地,检测到表6中探针序列所代表的至少1个、2个、3个、4个或5个相关具体染色体相互作用的存在或不存在。染色体相互作用可以在本文提及的任何基因的上游或下游,例如上游50kb或下游20kb(例如,距离所述编码序列)。

[0124] 对于本发明的所有方面,优选的基因区域、基因座、基因和染色体相互作用在表25中提及。通常在本发明的方法中,从表25中列出的至少2个、4个、8个、10个、14个或所有相关的基因中检测到染色体相互作用。优选地,检测到表25中所示的至少2个、4个、8个、10个、14个或所有相关具体染色体相互作用的存在或不存在。染色体相互作用可以在本文提及的任何基因的上游或下游,例如上游50kb或下游20kb(例如,距离所述编码序列)。

[0125] 在一个实施方案中,对本文公开的并且由以下基因组合代表(鉴定)的特异性标志物的组合进行分型:ETS1、MAP3K14、SLC22A3和CASP2。这可以确定诊断。优选地,对这些标志物中的至少2个或3个标志物进行分型。

[0126] 在另一个实施方案中,对本文公开的并且由以下基因组合代表(鉴定)的特异性标志物的组合进行分型:BMP6、ERG、MSR1、MUC1、ACAT1和DAPK1。这可以确定预后(通过嵌套PCR标志物比较高风险3类与低风险1类)。优选地,对这些标志物中的至少2个或3个标志物进行分型。

[0127] 在进一步的实施方案中,对本文公开的并且由以下基因组合代表(鉴定)的特异性标志物的组合进行分型:HSD3B2、VEGFC、APAF1、MUC1、ACAT1和DAPK1。这可以确定预后(高风险3类与中度风险2类)。优选地,对这些标志物中的至少2个或3个标志物进行分型。

[0128] 优选的DLBCL的基因区域、基因座、基因和染色体相互作用

[0129] 通常,从本文公开的表或本文公开的表的部分的任何基因或区域中,对至少10个、20个、30个、50个或80个染色体相互作用进行分型。优选地,从表5中公开的任何基因或区域中,对至少10个、20个、30个、50个或80个染色体相互作用进行分型。

[0130] 优选地,对表7的至少2个、3个、5个、8个标志物进行分型。

[0131] 优选地,对表5中的探针序列所代表的至少10个、20个、30个、50个或80个染色体相互作用的存在或不存在进行检测。染色体相互作用可以在本文提及的任何基因的上游或下游,例如上游50kb或下游20kb(例如,距离所述编码序列)。

[0132] 优选地,对表5所示的前10个标志物中的至少1个、2个、5个、8个或全部标志物进行分型。在一个实施方案中,对表5中的至少1个、2个、3个或6个标志物进行分型,每个标志物各自对应于选自STAT3、TNFRSF13B、ANXA11、MAP3K7、MEF2B和IFNAR1的不同基因。

[0133] 优选的淋巴瘤的基因区域、基因座、基因和染色体相互作用

[0134] 通常,从本文公开的表或本文公开的表的部分的任何基因或区域中,对至少10个、20个、30个或50个染色体相互作用进行分型。优选地,从表8中公开的任何基因或区域中,对至少10个、20个、30个或50个染色体相互作用进行分型。

[0135] 优选地,对表9中的至少5个、10个或15个标志物进行分型。

[0136] 染色体相互作用可以在本文提及的任何基因的上游或下游,例如上游50kb或下游20kb(例如,距离所述编码序列)。

[0137] 在一个实施方案中,对图6所示的前11个标志物中的至少1个标志物进行分型。在另一个实施方案中,对表8中至少1个、2个、3个或6个标志物进行分型,每个标志物各自对应于选自STAT3、TNFRSF 13B、ANXA11、MAP3K7、MEF2B和IFNAR1的不同基因。

[0138] 染色体相互作用的类型

[0139] 在一方面,基因座(包括检测到染色体相互作用的基因和/或位置)可包括CTCF结合位点。这是能够结合转录阻遏物CTCF的任何序列。该序列可由序列CCCTC组成或包括序列CCCTC,其中,序列CCCTC可以在基因座中以1个、2个或3个拷贝存在。CTCF结合位点序列可以包括序列CCGCGNGGNGGCAG(IUPAC表示法)。CTCF结合位点可以在染色体相互作用的至少100个、500个、1000个或4000个碱基内或在表5或表6所示的任何染色体区域内。CTCF结合位点可以在染色体相互作用的至少100个、500个、1000个或4000个碱基内或在表5或表6所示的任何染色体区域内。

[0140] 在一方面,检测到的染色体相互作用存在于表5或表6中所示的任何基因区域。如果在该方法中检测到连接核酸,则可以检测到表5或表6中的任何探针序列中所示的序列。

[0141] 因此,通常可以检测来自探针的两个区域(即来自染色体相互作用的两个位点)的序列。在优选的方面,在该方法中使用的探针包括与任何表中所示的探针相同或互补的序列或由与任何表中所示的探针相同或互补的序列组成。在某些方面,使用的探针包括与表中所示的任何探针序列同源的序列。

[0142] 本文提供的表格

[0143] 表5和表6显示了探针(Episwitch™标志物)数据和表示与预后相关的染色体相互作用的基因数据。探针序列显示了可用于检测由在染色体相互作用中聚集在一起的基因区域的两个位点生成的连接产物的序列,即探针将包括与连接产物中的序列互补的序列。前两组的起始-终止位置显示探针位置,后两组的起始-终止位置显示相关的4kb区域。探针数据表中提供了以下信息:

[0144] -HyperG_Stats:基于超几何富集的参数在基因座中找到显著Episwitch™标志物数量的概率的p值

[0145] -探针总计数:在基因座中测试的EpiSwitch™构象总数

- [0146] -探针计数Sig:在基因座中发现具有统计学显著性的EpiSwitch™构象的数量
- [0147] -FDR HyperG:多重测试(免疫反应发现率)校正的超几何p值
- [0148] -百分比Sig:显著EpiSwitch™标志物相对于在基因座中测试的标志物数量的百分比
- [0149] -logFC:以2为底的表观遗传率(FC)对数
- [0150] -AveExpr:在所有阵列和通道上探针的平均log2表达式
- [0151] -T:适度t统计量(moderated t-statistic)
- [0152] -p值:原始p值
- [0153] -adj.p值:调整后的p值或q值
- [0154] -B-B统计(1ods或B)是基因差异表达的对数优势(log-odds)。
- [0155] -FC-非对数倍数变化
- [0156] -FC_1-以零为中心的非对数倍数变化
- [0157] -LS-二元值,与FC_1值相关。低于-1.1的FC_1值则设置为-1,并且如果FC_1值高于1.1,则设置为1。在这些值之间,值为0
- [0158] 表5和表6显示了已发现的发生了相关染色体相互作用的基因。基因座表中的p值与HyperG Stats相同(基于超几何富集的参数在基因座中找到显著EpiSwitch™标志物数量的概率的p值)。LS列显示了与所述特定亚群(预后状态)相关的相互作用的存在或不存在。
- [0159] 表5中,DLBCL为预后标志物,用1表示,健康为健康对照,用-1表示。
- [0160] 探针被设计为距离TaqI位点30bp。在PCR的情况下,通常设计PCR引物来检测连接产物,但它们距TaqI位点的位置不同。
- [0161] 探针位置:
- [0162] 起始1-片段1上TaqI位点上游30个碱基
- [0163] 终止1-片段1上TaqI限制性位点
- [0164] 起始2-片段2上TaqI限制性位点
- [0165] 终止2-片段2上TaqI位点下游30个碱基
- [0166] 4kb序列位置:
- [0167] 起始1-片段1上TaqI位点上游4000个碱基
- [0168] 终止1-片段1上的TaqI限制性位点
- [0169] 起始2-片段2上TaqI限制性位点
- [0170] 终止2-片段2上TaqI位点下游4000个碱基
- [0171] 与用于拟合整个套索(lasso)或弹性网正则化(λ 设置为0.5(弹性网))的程序相关的GLMNET值。
- [0172] 在本文的表格中,前列腺癌侵袭性亚群是指具有以下描述的3类患者:
- [0173] -PSA水平超过20ng/ml,并且
- [0174] -格里森分数为8至10,并且
- [0175] -T期为T2c、T3或T4
- [0176] 在本文的表格中,前列腺癌惰性亚群是指具有以下描述的1类患者:
- [0177] -PSA水平低于每毫升10ng,并且
- [0178] -格里森分数不超过6,并且

[0179] -T期在T1和T2a之间。

[0180] 表7显示了DLBCL的优选标志物。表8和表9显示了淋巴瘤的优选标志物。

[0181] 表5至表7最好用于对人类进行分型。表8和表9最好用于对犬类(例如狗)进行分型。

[0182] 用于鉴定标志物和标志物组套(panel)的方法

[0183] 本文所述的发明涉及染色体构象图谱和3D结构,作为其本身的调控方式,与表型密切相关。生物标志物的发现是基于对代表表型差异的临床样本的代表性队列进行模式鉴定和筛选的注释。我们对基因组的重要部分进行了注释和筛选,跨越已知基因的非编码5'和3'的大摇摆以及编码部分和非编码部分,用于鉴定统计学上播散一致的条件播散染色体构象,例如锚定在开放阅读框内(内含子)或开放阅读框外的非编码位点。

[0184] 在选择最佳标志物时,我们被用于标志物引导的统计数据 and p值所驱动。对特定基因的参考是为了便于位置参考——通常使用最接近的基因作为参考。不能排除这样一种可能性,即基因顺式位置和相关邻近的染色体构象可能对特定基因的表达产生特定的调控成分。在标志物选择或验证时,染色体构象名称中作为位置坐标参考的基因不需要表达参数。无论参考中使用的基因的表达谱如何,特征内选择和验证的染色体构象本身就是播散分类实体(disseminating stratifying entities)。相关的调控模式,如锚定位点的SNP、基因转录谱的变化、H3K27ac水平的变化等,还有待进一步研究。

[0185] 我们正在从基础生物学和表观遗传学对表型控制的基础上-包括例如从调节网络的框架,来研究临床表型差异及其分类的问题。因此,为了协助分类,可以捕获网络中的变化,并且优选地通过几种生物标志物的特征来完成,例如通过遵循机器学习算法来缩减标志物,其中包括评估标志物的最佳数量,以最小噪声对测试队列进行分类。这通常以3个至17个标志物结束,视具体情况而定。可以通过交叉验证统计性能(而不是例如通过用于参考名称的相邻基因的功能相关性)来为组套选择标志物。

[0186] 一个标志物组套(带有相邻基因的名称)是从基因组重要部分筛选中聚类选择的产物,以无偏差的方式分析基因组重要部分超过14,000至60,000个带注释的EpiSwitch位点的统计播散能力。对于分类问题,不应将其视为对已知功能价值的基因的染色体构象的定制捕获。染色体相互作用的位点总数为120万个,因此潜在的组合数为120万的120万次方。尽管如此,我们遵循的方法允许鉴定相关的染色体相互作用。

[0187] 本申请提供的特异性标志物已通过选择,在统计上(显著)与疾病相关联。这就是相关表格中的p值所展示的。每个标志物都可以被视为生物表观遗传事件的代表,作为网络失调(network deregulation)的一部分,在相关疾病下表现出来。实际上,这意味着与对照组相比,这些标志物在各组患者中普遍存在。平均而言,例如,个体标志物通常可以存在于80%的受试患者和10%的受试对照中。

[0188] 简单地添加所有标志物并不能代表一些失调的网络相互关系。这就是标准多变量生物标志物分析GLMNET(R软件包)的引入之处。GLMNET软件包有助于鉴定某些标志物之间的相互依赖性,这反映了它们在实现导致疾病表型的失调中的共同作用。建模然后测试具有最高GLMNET分数的标志物不仅可以鉴定出准确鉴定患者队列的标志物的最小数量,而且还可以鉴定在对照组患者中提供最少假阳性结果的标志物的最小数量,这应归于对照组低发生率的背景统计噪声。通常,一组(组合)选定标志物(例如3个至10个)提供了检测灵敏度

和特异性之间的最佳平衡,出现在从所有为疾病选定的统计显著性标志物的单个属性的多变量分析的背景下。

[0189] 本文的表格显示了用于阵列分析的阵列探针(60-mer)的参考名称,这些探针与长程相互作用位点、染色体数目和并列的两个染色体片段的起点和终点之间的连接点重叠。表格还显示了疾病样本与对照样本(用两种不同荧光颜色标记)的竞争杂交中每个标志物的标准阵列读出。作为标准读出,它显示了每个标志物探针的:

[0190] -平均表达信号

[0191] -用于对照和疾病样本的荧光颜色检测之间的显著性差异的t检验

[0192] -标志物读出的显著性p值

[0193] -调整后的p值(对大数据集使用Bonferroni校正,B-背景信号,FC-对照样本中颜色检测的倍数变化

[0194] -FC_1-病例(疾病或疾病类型)样本中第二个颜色检测的倍数变化,LS(环状态(Loop Status))-竞争性杂交中两种颜色阈值之间的普遍荧光信号,其中-1表示患者样本中相应的荧光颜色信号被阻止,当对CGH阵列上的探针进行测试时

[0195] -直接遗传基因座

[0196] -探针总计数-在该基因座上测试了阵列上多少个不同的位置探针

[0197] -探针计数Sig-其中有多少探针在区分病例和对照样本方面是显著的

[0198] -超几何统计(Hypergeometric Stat)是对疾病检测有重要探针的基因座的富集的统计数据

[0199] -FDR HyperG是根据FDR(标准程序)对大数据集进行调整的相同统计数据

[0200] -在所述基因座中变得显著的探针的百分比

[0201] -logFC是该探针阵列读出的倍数变化的对数。关注具有高度富集的重要探针的基因座有助于选择代表具有与疾病相关的多个输入的调节中心的顶级探针,从而提供具有最佳覆盖范围(例如网络失调)的标志物。

[0202] 样本制备和染色体相互作用检测的优选方面

[0203] 本文描述了制备样本和检测染色体构象的方法。可以使用这些方法的优化(非常规)版本,例如本部分所述。

[0204] 通常,样本包含至少 2×10^5 个细胞。样本可包含多达 5×10^5 个细胞。在一方面,样本包含 2×10^5 至 5.5×10^5 个细胞

[0205] 本文描述了存在于染色体基因座的表现遗传染色体相互作用的交联。这可以在细胞裂解发生之前进行。细胞裂解可进行3分钟至7分钟,例如4分钟至6分钟或约5分钟。在一些方面,细胞裂解进行至少5分钟并且少于10分钟。

[0206] 本文描述了用限制性内切酶消化DNA。通常,DNA限制性酶切于约55℃至约70℃进行,例如于约65℃,持续约10分钟至30分钟,例如约20分钟。

[0207] 优选地,使用频繁切割的限制性内切酶,其产生平均片段大小高达4000个碱基对的连接DNA片段。任选地,限制性内切酶产生平均片段大小为约200至300个碱基对(例如约256个碱基对)的连接DNA片段。在一方面,通常片段大小为200个碱基对到4,000个碱基对,例如400个到2,000个或500个到1,000个碱基对。

[0208] 在EpiSwitch法的一方面,在DNA限制性消化步骤和DNA连接步骤之间不进行DNA沉

淀步骤。

[0209] 本文描述了DNA连接。通常DNA连接进行5分钟至30分钟,例如约10分钟。

[0210] 可以酶促消化样本中的蛋白质,例如使用蛋白酶,任选地蛋白酶K。可以酶促消化蛋白质约30分钟至1小时,例如约45分钟。在一方面,在蛋白质消化(例如蛋白酶K消化)后,没有交联逆转DNA提取或酚DNA提取步骤。

[0211] 在一方面,PCR检测能够检测连接核酸的单拷贝,优选地通过二元读出是否存在连接核酸。

[0212] 图5显示了检测染色体相互作用的优选方法。

[0213] 本发明的方法和用途

[0214] 可以用不同的方式描述本发明的方法。其可以描述为一种制备连接核酸的方法,包括(i)将染色体相互作用中聚集在一起的染色体区域进行体外交联;(ii)对所述交联DNA进行切割或限制性消化酶切;以及(iii)连接所述交联的切割DNA末端以形成连接核酸,其中连接核酸的检测可用于鉴定基因座的染色体状态,并且其中优选地:

[0215] -基因座可以是表5中提及的任何基因座、区域或基因,和/或

[0216] -其中染色体相互作用可以是本文提及的任何染色体相互作用或对应于表5中公开的任何探针,和/或

[0217] -其中连接产物可以具有或包括(i)与表5中公开的任何探针序列相同或同源的序列;或(ii)与(ii)互补的序列。

[0218] 本发明的方法可以描述为检测代表群体中不同亚群的染色体状态的方法,包括确定在基因组限定的表观遗传活性区域内是否存在染色体相互作用,其中优选地:

[0219] -亚群由是否存在预后来定义,和/或

[0220] -染色体状态可以在表5中提及的任何基因座、区域或基因上;和/或

[0221] -染色体相互作用可以是表5中提及的任何一种或对应于该表中公开的任何探针。

[0222] 本发明的方法可以描述为一种制备连接核酸的方法,包括(i)将染色体相互作用中聚集在一起的染色体区域进行体外交联;(ii)对所述交联DNA进行切割或限制性消化酶切;(iii)连接所述交联的切割DNA末端以形成连接核酸,其中连接核酸的检测可用于确定基因座的染色体状态,并且其中优选地:

[0223] -基因座可以是表6中提及的任何基因座、区域或基因,和/或

[0224] -其中染色体相互作用可以是本文提及的任何染色体相互作用或对应于表6中公开的任何探针,和/或

[0225] -其中连接产物可以具有或包括(i)与表6中公开的任何探针序列相同或同源的序列;或(ii)与(ii)互补的序列。

[0226] 本发明的方法可以描述为检测代表群体中不同亚群的染色体状态的方法,包括确定在基因组限定的表观遗传活性区域内是否存在染色体相互作用,其中优选地:

[0227] -亚群由是否存在预后来定义,和/或

[0228] -染色体状态可以在表6中提及的任何基因座、区域或基因上;和/或

[0229] -染色体相互作用可以是表6中提及的任何一种或对应于该表中公开的任何探针。

[0230] 本发明包括检测表5中提及的任何基因座、基因或区域的染色体相互作用。本发明包括使用本文提及的核酸和探针来检测染色体相互作用,例如使用至少1个、5个、10个、20

个或50个这样的核酸或探针来检测染色体相互作用。优选地,核酸或探针检测至少1个、5个、10个、20个或50个不同基因座或基因中的染色体相互作用。本发明包括使用表5中列出的任何引物或引物对或使用本文所述的这些引物的变体(包括引物序列或包括引物序列的片段和/或同源序列的序列)来检测染色体相互作用。

[0231] 本发明包括检测表6中提及的任何基因座、基因或区域的染色体相互作用。本发明包括使用本文提及的核酸和探针来检测染色体相互作用。本发明包括使用表6中列出的任何引物或引物对或使用本文所述的这些引物的变体(包含引物序列或包含引物序列的片段和/或同源序列的序列)来检测染色体相互作用。

[0232] 当分析染色体相互作用是否在限定的基因、区域或位置“内”发生时,或者在相互作用中聚集在一起的两个染色体部分都在限定的基因、区域或位置内,或者在某些方面只有染色体的一部分在限定的基因、区域或位置内。

[0233] 类似地,表8和表9的染色体相互作用可用于本发明的过程和方法。

[0234] 本发明的方法在鉴定新的治疗方法中的用途

[0235] 染色体相互作用的知识可用于鉴定新的疾病治疗方法。本发明提供了本文定义的染色体相互作用的方法和用途,以鉴定或设计新的治疗剂,例如与前列腺癌或DLBCL的治疗相关的治疗剂。

[0236] 同源物

[0237] 本文涉及多核苷酸/核酸(例如DNA)序列的同源物。此类同源物通常具有至少70%的同源性,优选至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%或至少99%的同源性,例如在至少10个、15个、20个、30个、100个或更多个连续核苷酸的区域上,或跨越来自参与染色体相互作用的染色体区域的核酸部分。同源性可以基于核苷酸一致性(有时称为“硬同源性”)来计算。

[0238] 因此,在具体方面,多核苷酸/核酸(例如DNA)序列的同源物在本文中是指序列一致性百分比。通常,此类同源物具有至少70%的序列一致性,优选至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%或至少99%的序列一致性,例如在至少10个、15个、20个、30个、100个或更多个连续核苷酸的区域上,或跨越来自参与染色体相互作用的染色体区域的核酸部分。

[0239] 例如,UWCGC软件包提供了BESTFIT程序,可用于计算同源性和/或序列一致性%(例如在其默认设置下使用)(Devereux et al (1984) Nucleic Acids Research 12, p387-395)。PILEUP和BLAST算法可用于计算同源性和/或序列一致性和/或排列序列(例如鉴定等效序列或相应序列(通常在它们的默认设置下)),例如Altschul S.F. (1993) J Mol Biol 267:97-131; Altschul, S.F. et al (1990) J Mol Biol 215:403-10中所述。

[0240] 执行BLAST分析的软件可通过国家生物技术信息中心公开获得。该算法包括首先通过鉴定查询序列中长度为W的短片段(short word)来鉴定高分序列对(high scoring sequence pair, HSP),当该短片段与数据库序列中相同长度的片段进行比对时,其匹配或满足某个正数阈值分数T。T被称为邻近片段分数阈值(Altschul et al, 同上)。这些初始的邻近片段的匹配(hit)作为种子(seed),用于启动搜索以查找包含它们的HSP。匹配片段(word hits)沿着每个序列在两个方向上延伸,直到累积比对分数可以增加为止。在以下情况下,匹配片段在每个方向的延伸将停止:累积比对分数从其最大实现值下降了数量X;由

于一个或多个负分数残基比对的累积,累积分数变为零或更低;或到达任一序列的末端。BLAST算法参数W T和X决定了比对的灵敏度和速度。BLAST程序默认使用11的字长(W),BLOSUM62评分矩阵(参见Henikoff and Henikoff (1992) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:10915-10919)比对(B)为50,期望值(E)为10,M=5,N=4,以及两条链的比较。

[0241] BLAST算法对两个序列之间的相似性进行统计分析;参见例如Karlin and Altschul (1993) Proc.Natl.Acad.Sci.USA90:5873-5787。BLAST算法提供的一种相似性度量是最小和概率(P(N)),其提供了两个多核苷酸序列之间偶然发生匹配的概率的指示。例如,如果第一序列与第二序列相比的最小和概率小于约1,优选小于约0.1,更优选小于约0.01,最优选小于约0.001,则认为一个序列与另一个序列相似。

[0242] 同源序列通常相差1个、2个、3个、4个或更多个碱基,例如少于10个、15个或20个碱基(可以是核苷酸的取代、缺失或插入)。这些变化可以在与计算同源性和/或序列一致性%有关的上述任何区域中测量。

[0243] 可以计算“引物对”的同源性,例如,通过将两个序列视为单个序列(好像两个序列连接在一起),然后与另一个也被视为单个序列的引物对进行比较。

[0244] 阵列

[0245] 第二组核酸可以结合到阵列上,并且在一个方面,至少有15,000个、45,000个、100,000个或250,000个不同的第二组核酸结合到阵列上,优选地,其代表至少300个、900个、2000个或5000个基因座。在一方面,第二组核酸的一个或多个或所有不同群体结合到阵列的一个以上的不同区域,实际上在阵列上重复以允许错误检测。该阵列可以基于Agilent SurePrint G3定制CGH微阵列平台。第一组核酸与阵列的结合可以通过双色系统来检测。

[0246] 治疗剂(例如基于个体分型来选择的治疗剂或基于根据本发明的测试来选择的治疗剂)

[0247] 治疗剂在本文中提及。本发明提供了用于预防或治疗某些个体的疾病状况的此类剂,例如通过本发明的方法鉴定的那些剂。这可以包括向有需要的个体施用治疗有效量的剂。本发明提供了所述剂在制备预防或治疗某些个体的病症的药物中的用途。

[0248] 所述剂的配方将取决于所述剂的性质。所述剂将以包含该剂和药学上可接受的载体或稀释剂的药物组合物的形式提供。合适的载体和稀释剂包括等渗盐水溶液,例如磷酸盐缓冲盐水。典型的口服剂量组合物包括片剂、胶囊、液体溶液和液体悬浮液。该剂可以配制用于肠胃外、静脉内、肌肉内、皮下、透皮或口服施用。

[0249] 所述剂的剂量可以根据多种参数来确定,尤其是根据所使用的物质;接受治疗的个体的年龄、体重和状况;施用途径;和所需的方案。医生能够确定任何具体剂所需的施用途径和剂量。然而,合适的剂量可为0.1mg/kg体重至100mg/kg体重,例如1mg/kg体重至40mg/kg体重,例如每天服用1至3次。

[0250] 治疗剂可以是本文公开的任何此类剂,或可以靶向本文公开的任何“靶标”,包括在本文任何表格(包括表5或表6)中公开的任何蛋白质或基因。应当理解,在组合中公开的任何剂也应当视为被公开了用于单独施用。

[0251] 前列腺癌治疗

[0252] 建议根据疾病进展阶段进行前列腺癌治疗。放疗、激素治疗和化疗是前列腺癌治疗中常用的三种选择。可以使用单一治疗或组合治疗。

[0253] 化疗

[0254] 化疗通常用于治疗侵入身体其他器官的前列腺癌(转移性前列腺癌)。化疗通过干扰癌细胞的繁殖方式来破坏癌细胞。化疗不能治愈前列腺癌,但可以控制它并减轻症状,因此对日常生活的影响较小。

[0255] 放疗

[0256] 这种疗法可用于治疗局部前列腺癌和局部晚期前列腺癌。放疗也可用于减缓转移性前列腺癌的进展和缓解症状。患者可能会在接受化疗前接受激素治疗,以增加成功治疗的机会。放疗后也可以推荐激素治疗,以减少复发的机会。

[0257] 激素治疗

[0258] 激素治疗通常与放疗联合使用。对于身体健康且愿意接受手术或放疗的男性,通常不应单独使用激素治疗来治疗局部前列腺癌。激素治疗可用于减缓晚期前列腺癌的进展并缓解症状。激素控制前列腺细胞的生长。特别是,前列腺癌需要激素睾酮才能生长。激素治疗的目的是通过停止睾酮的产生或阻止患者的身体使用睾酮来阻断睾酮的作用。

[0259] 可用于前列腺癌治疗的其他治疗方法

[0260] • 根治性前列腺切除术

[0261] • 高强度聚焦超声治疗

[0262] • 冷冻疗法

[0263] • 近距离放射治疗

[0264] • 监察式等待

[0265] • 经尿道前列腺切除术

[0266] • 治疗晚期前列腺癌

[0267] • 类固醇

[0268] DLBCL治疗

[0269] 以下四种疗法可用于治疗DLBCL:

[0270] -化疗

[0271] -放疗

[0272] -单克隆抗体疗法

[0273] -类固醇疗法

[0274] 任何上述疗法也可用于治疗淋巴瘤。

[0275] 本文提及的物质的形式

[0276] 本文提及的任何物质,例如核酸或治疗剂,可以是纯化的或分离的形式。它们可以以不同于自然界中发现的形式存在,例如它们可以与自然界中不存在的其他物质组合存在。核酸(包括本文限定的序列的部分)可以具有与自然界中发现的序列不同的序列,例如在序列中具有至少1个、2个、3个、4个或更多个核苷酸变化,如同源性部分所述。核酸可在5'末端或3'末端具有异源序列。核酸在化学上可以与自然界中发现的不同,例如它们可以以某种方式被修饰,但优选地仍然能够进行沃森-克里克碱基配对。在适当的情况下,核酸将以双链或单链的形式提供。本发明以单链或双链形式提供了本文提及的所有具体核酸序列,并因此包括所公开的任何序列的互补链。

[0277] 本发明提供了用于实施本发明的任何方法的试剂盒,包括检测与预后相关的染色

体相互作用。这种试剂盒可以包括能够检测相关染色体相互作用的特异性结合剂,例如能够检测由本发明的方法生成的连接核酸的剂。试剂盒中的优选剂包括能够与连接核酸或引物对杂交的探针,例如本文所述能够在PCR反应中扩增连接核酸的探针。

[0278] 本发明提供了一种能够检测相关染色体相互作用的装置。该装置优选地包括能够检测染色体相互作用的任何特异性结合剂、探针或引物对,例如本文所述的任何此类剂、探针或引物对。

[0279] 检测方法

[0280] 在一方面,使用在PCR反应过程中激活时可检测的探针对染色体相互作用相关的连接序列进行定量检测,其中所述连接序列包括来自在表观遗传染色体相互作用中聚集在一起的两个染色体区域的序列,其中所述方法包括在PCR反应过程中使连接序列与探针接触,并检测探针的激活程度,并且其中所述探针结合连接位点。该方法通常可以使用双标记荧光水解探针以符合MIQE的方式检测特定的相互作用。

[0281] 探针通常用具有非活性和活性状态的可检测的标签进行标记,因此只有在激活时才能被检测到。激活的程度将与PCR反应中存在的模板(连接产物)的程度有关。检测可在全部或部分PCR反应过程中进行,例如至少50%或80%的PCR周期。

[0282] 探针可以包括共价连接到寡核苷酸一端的荧光团和连接到核苷酸另一端的猝灭剂,使得荧光团的荧光被猝灭剂猝灭。在一方面,荧光团连接到寡核苷酸的5'端,猝灭剂共价连接到寡核苷酸的3'端。可用于本发明方法的荧光团包括FAM、TET、JOE、Yakima黄、HEX、花青素3(Cyanine 3)、ATTO 550、TAMRA、ROX、德克萨斯红(Texas Red)、花青素3.5、LC610、LC 640、ATTO 647N、花青素5、花青素5.5和ATTO 680。可以与合适的荧光团一起使用的猝灭剂包括TAM、BHQ1、DAB、Eclip、BHQ2和BBQ650,任选地,其中所述荧光团选自HEX、德克萨斯红和FAM。荧光团和猝灭剂的优选组合包括带有BHQ1的FAM,以及带有BHQ2的德克萨斯红。

[0283] 探针在qPCR检测中的用途

[0284] 本发明的水解探针通常是用浓度匹配的阴性对照对温度梯度进行优化。优选地,对单步PCR反应进行优化。更优选地,计算标准曲线。使用穿过连接序列的连接处结合的特异性探针的一个优点是无需使用嵌套PCR方法即可实现对连接序列的特异性。本文描述的方法可以准确和精确地定量低拷贝数靶标。在温度梯度优化之前,可以对靶标连接序列进行纯化,例如凝胶纯化。可以对靶标连接序列进行测序。优选地,使用约10ng、或5ng至15ng、或10ng至20ng、或10ng至50ng、或10ng至200ng模板DNA进行PCR反应。正向和反向引物被设计为使得一个引物与连接DNA序列中表示的染色体区域之一的序列结合,而另一个引物与连接DNA序列中表示的其他染色体区域结合,例如,通过与该序列互补。

[0285] 连接DNA靶标的选择

[0286] 本发明包括选择用于本文限定的PCR方法的引物和探针,包括基于引物结合和扩增连接序列的能力选择引物,并基于探针将结合的靶序列的特性,特别是靶序列的曲率选择探针序列。

[0287] 通常设计/选择探针与连接序列结合,所述连接序列是跨越限制性位点的并列限制性片段。在本发明的一方面,例如使用本文引用的具体算法,计算与特定染色体相互作用相关的可能连接序列的预测曲率。曲率可以表示为每个螺旋角的度数,例如每个螺旋角为 10.5° 。选择用于靶向的连接序列,其中连接序列的曲率倾向峰值分数为每个螺旋角

至少为 5° ,通常每个螺旋角至少 10° 、 15° 或 20° ,例如每个螺旋角为 5° 至 20° 。优选地,对于连接位点上游和/或下游的至少20个、50个、100个、200个或400个碱基,例如20个至400个碱基,计算每个螺旋角的曲率倾向分数。因此,在一方面,连接产物中的靶序列具有这些曲率水平中的任何一个。也可以基于最低热力学结构自由能来选择靶序列。

[0288] 具体方面

[0289] 在一方面,仅对染色体内部相互作用进行分型/检测,而对染色体外部相互作用(不同染色体之间)不进行分型/检测。

[0290] 在具体方面,没有对某些染色体相互作用进行分型,例如本文提及的任何具体相互作用(例如由本文提及的任何探针或引物对所限定的)。在某些方面,染色体相互作用在本文提及的任何基因中都没有分型。

[0291] 本文提供的数据表明,这些标志物是能够区分相关疾病情况的病例和非病例的“播散”标志物。因此,当实施本发明时,技术人员将能够通过检测相互作用来确定个体所属亚群。在一个实施方案中,至少70%的测试标志物(以其与相关疾病情况有关的形式(通过不存在或存在))的检测阈值可用于确定个体是否属于相关亚群。

[0292] 筛选方法

[0293] 本发明提供了一种确定哪些染色体相互作用与对应于群体中预后亚群的染色体状态相关的方法,包括将来自具有不同染色体状态的亚群的第一组核酸与第二组索引核酸接触,并且允许互补序列杂交,其中第一组核酸和第二组核酸中的核酸代表连接产物,包括来自在染色体相互作用中聚集在一起的两个染色体区域的序列,并且所述第一组核酸和第二组核酸之间的杂交模式允许确定哪些染色体相互作用对于预后亚群是特异性的。亚群可以是本文限定的任何具体亚群,例如与特定条件或治疗相关的亚群。

[0294] 出版物

[0295] 本文提及的所有出版物的内容通过引用并入本说明书中,并可用于进一步限定与本发明相关的特征。

[0296] 具体方面

[0297] EpiSwitchTM平台技术检测基因座处的正常情况和异常情况之间调控变化的表观遗传调节特征。EpiSwitchTM平台鉴定和监测与人类染色体的调控高级结构(也被称为染色体构象特征)相关的基因调控的基本表观遗传水平。染色体特征是基因去调控级联反应中独特的主要步骤。它们是高级生物标志物,与利用晚期表观遗传和基因表达生物标志物(例如DNA甲基化和RNA分析)的生物标志物平台相比,具有一系列独有的优势。

[0298] EpiSwitchTM阵列分析

[0299] 定制的EpiSwitchTM阵列筛选平台有4种密度(15K、45K、100K和250K)的独特的染色体构象,每个嵌合片段在阵列上重复4次,使有效密度分别为60K、180K、400K和100万。

[0300] 定制设计的EpiSwitchTM阵列

[0301] 15K的EpiSwitchTM阵列可以筛选整个基因组,包括通过EpiSwitchTM生物标志物发现技术查询的约300个基因座。EpiSwitchTM阵列建立在Agilent SurePrint G3定制CGH微阵列平台上;该技术提供4种密度(60K、180K、400K和100万)的探针。每个阵列的密度降低到15K、45K、100K和250K,因为每个EpiSwitchTM探针以一式四份存在,因此可以对再现性进行统计评估。查询每个基因座的潜在EpiSwitchTM标志物的平均数量为50,因此可以调查的基

因座数量为300、900、2000和5000。

[0302] EpiSwitch™定制阵列流水线

[0303] EpiSwitch™阵列是一个双色系统,在EpiSwitch™文库生成后,用Cy5标记其中一组样本,并且待比较/分析的其他样本(对照)用Cy3标记。使用Agilent SureScan扫描仪扫描阵列,并使用Agilent Feature Extraction(特征提取)软件提取结果特征。然后使用R中的EpiSwitch™阵列处理脚本对数据进行处理。使用R:Limma*中的Bioconductor中标准双色包对阵列进行处理。使用Limma*中的normalisedWithinArrays功能完成阵列的归一化,这是相对于芯片上的Agilent阳性对照和EpiSwitch™阳性对照完成的。根据Agilent标记调用筛选数据,移除Agilent对照探针,并对技术复制探针进行平均,以便使用Limma*对其进行分析。探测基于2个比较场景之间的差异进行建模,然后使用错误发现率进行校正。变异系数(CV) $\leq 30\%$, 且为 ≤ -1.1 或 ≥ 1.1 并且通过 $p \leq 0.1$ FDR p值的探针用于进一步筛选。为了进一步缩减探针集合,使用R中的FactorMineR软件包执行多因素分析。

[0304] *注:LIMMA是用于评估微阵列实验中差异表达的线性模型和经验贝叶斯法。Limma是一个R软件包,用于分析来自微阵列或RNA-Seq的基因表达数据。

[0305] 根据调整后的p值、FC和CV $< 30\%$ (任意截止点) 参数初步选择探针池,用于最终挑选。仅根据前两个参数(adj.p值;FC) 绘制进一步分析和最终列表。

[0306] 统计流水线

[0307] 使用R中的EpiSwitch™分析包对EpiSwitch™筛选阵列进行处理,以便选择高价值的EpiSwitch™标志物翻译到EpiSwitch™PCR平台上。

[0308] 步骤1

[0309] 根据校正的p值(错误发现率,FDR) 选择探针,校正的p值是修正的线性回归模型的产物。选择p值 ≤ 0.1 的探针,然后根据其表观遗传比(ER) 进一步缩减探针,探针ER必须 ≤ -1.1 或 ≥ 1.1 才能被选择用于进一步分析。最后一个筛选器是变异系数(CV), 探针变异系数必须 ≤ 0.3 。

[0310] 步骤2

[0311] 统计列表中的前40个标志物是根据它们的ER选择的,用于选择作为PCR转化的标志物。负ER量最高的前20个标志物和正ER量最高的前20个标志物组成列表。

[0312] 步骤3

[0313] 步骤1得到的标志物,即具有统计学显著性的探针,构成了使用超几何富集(HE) 进行富集分析的基础。这种分析能够缩减显著探针列表中的标志物,并与步骤2中的标志物一起形成转化到EpiSwitch™ PCR平台上的探针列表。

[0314] 通过HE对统计探针进行处理,以确定哪些遗传位置富集有统计学显著探针,从而表明哪些遗传位置是表观遗传差异的中心。

[0315] 基于校正的p值的最显著的富集基因座被选择用于生成探针列表。选择低于p值0.3或0.2的遗传位置。映射到这些遗传位置的统计探针与来自步骤2的标志物一起,形成转化到EpiSwitch™ PCR的高价值标志物。

[0316] 阵列设计和处理

[0317] 阵列设计

[0318] 1.使用SII软件(目前为v3.2) 处理基因座,以:

- [0319] a.提取这些具体基因座的基因组序列(上游50kb,下游20kb的基因序列)
- [0320] b.定义该区域内的序列参与CC的概率
- [0321] c.使用具体的RE切割序列
- [0322] d.确定哪些限制性片段可能在某个方向上相互作用
- [0323] e.对不同CC一起相互作用的可能性进行排序。
- [0324] 2.确定阵列大小,从而确定可用探针位置的数量(x)。
- [0325] 3.提取x/4个相互作用。
- [0326] 4.对于每个相互作用,定义从第1部分到限制性位点的30bp序列和从第2部分到限制性位点的30bp序列。检查那些区域是否重复,如果重复,则排除并在列表中记录下一个相互作用。连接两个30bp来定义探针。
- [0327] 5.创建x/4个探针加上定义的对照探针的列表并复制4次以创建要在阵列上建立的列表。
- [0328] 6.将探针列表上传到Agilent Sure设计网站,用于定制CGH阵列。
- [0329] 7.使用探针组设计Agilent定制CGH阵列。
- [0330] 阵列处理
- [0331] 1.使用EpiSwitch™标准操作程序(SOP)处理样本,用于模板生产。
- [0332] 2.通过阵列处理实验室用乙醇沉淀法进行清理。
- [0333] 3.根据Agilent SureTag完整DNA标记试剂盒处理样本——基于Agilent寡核苷酸阵列的CGH用于血液、细胞或组织的基因组DNA分析酶标记。
- [0334] 4.使用Agilent C扫描仪,通过使用Agilent特征提取软件,进行扫描。
- [0335] EpiSwitch™生物标志物特征在复杂疾病表型的分类中表现出高稳健性、高敏感性和高特异性。该项技术利用了表观遗传学的最新突破、监测和评估染色体构象特征作为一类信息量丰富的表观遗传生物标志物。目前在学术环境中使用的研究方法需要3天到7天的时间对细胞材料进行生化处理,以检测CCS。这些程序的灵敏度和再现性有限;此外,这些程序也不具备EpiSwitch™分析包在设计阶段提供的靶向洞察的优势。
- [0336] 计算机标志物鉴定中的EpiSwitch™阵列
- [0337] 整个基因组的CCS位点由EpiSwitch™阵列对来自测试队列的临床样本直接进行评估,以鉴定所有相关的分类引导生物标志物。EpiSwitch™阵列平台因其高通量并且能够快速筛选大量基因座的能力而被用于标志物鉴定。所使用的阵列是Agilent定制CGH阵列,它允许查询由计算机软件鉴定的标志物。
- [0338] EpiSwitch™ PCR
- [0339] 通过EpiSwitch™ PCR或DNA测序仪(即Roche 454、Nanopore MinION等)对由EpiSwitch™阵列鉴定的潜在标志物进行验证。选择统计上显著并显示出最好再现性的最佳PCR标志物,以进一步缩减为最终的EpiSwitch™特征集,并在独立的样本队列中进行验证。EpiSwitch™ PCR可由经培训的技术人员按照已建立的标准化操作程序协议进行。所有协议和试剂制备均在ISO 13485和9001认证下进行,以确保工作质量和转移协议的能力。EpiSwitch™ PCR和EpiSwitch™阵列生物标志物平台与全血分析和细胞系分析都兼容。这些测试足够灵敏,可以使用少量血液检测出非常低拷贝数的异常。
- [0340] 展示本发明实施方案的段落

[0341] 1.一种用于检测代表群体中亚群的染色体状态的方法,包括确定在基因组的限定区域内是否存在与所述染色体状态相关的染色体相互作用;以及

[0342] -其中所述染色体相互作用任选地已通过包括以下步骤的确定哪些染色体相互作用与对应于所述群体的所述亚群的染色体状态相关的方法进行了鉴定:将来自具有状态的不同染色体的亚群的第一组核酸与第二组索引核酸接触,并允许互补序列杂交,其中所述第一组核酸和第二组核酸中的核酸代表连接产物,所述连接产物包括来自在染色体相互作用中已聚集在一起的两个染色体区域的序列,并且其中所述第一组核酸和第二组核酸之间的杂交模式允许确定哪些染色体相互作用对所述亚群是特异性的;以及

[0343] -其中所述亚群与前列腺癌的预后有关,并且所述染色体相互作用:

[0344] (i) 存在于表6所列出的任一区域或基因中;和/或

[0345] (ii) 对应于表6中所示的任何探针所代表的任一染色体相互作用,和/或

[0346] (iii) 存在于包括(i)或(ii)或位于(i)或(ii)侧面的4000碱基区域中;

[0347] 或

[0348] -其中所述亚群与DLBCL的预后有关并且所述染色体相互作用:

[0349] a) 存在于表5所列出的任一区域或基因中;和/或

[0350] b) 对应于表5中所示的任何探针所代表的任一染色体相互作用,和/或

[0351] c) 存在于包括(a)或(b)或位于(a)或(b)侧面的4000碱基区域中。

[0352] 2.根据第1段所述的方法,其中:

[0353] -所述前列腺癌的预后与所述癌症是侵袭性还是惰性有关;

[0354] 和/或

[0355] -所述DLBCL的预后与生存有关。

[0356] 3.根据第1段或第2段所述的方法,其中所述亚群与前列腺癌有关,并且对染色体相互作用的特定组合进行分型:

[0357] (i) 包括表6中探针所代表的所有所述染色体相互作用;和/或

[0358] (ii) 包括表6中探针所代表的至少1个、2个、3个或4个所述染色体相互作用;和/或

[0359] (iii) 所述染色体相互作用共同存在于表6所列出的至少1个、2个、3个或4个所述区域或基因中;和/或

[0360] (iv) 其中至少1个、2个、3个或4个所述染色体相互作用被分型,所述分型的染色体相互作用存在于4,000碱基区域中,所述4,000碱基区域包括表6中所述探针所代表的所述染色体相互作用或位于其侧面。

[0361] 4.根据第1段或第2段所述的方法,其中所述亚群与DLBCL有关,并且对染色体相互作用的特点组合进行分型:

[0362] (i) 包括表5中所述探针所代表的所有所述染色体相互作用;和/或

[0363] (ii) 包括表5中所述探针所代表的至少10个、20个、30个、50个或80个所述染色体相互作用;和/或

[0364] (iii) 所述染色体相互作用共同存在于表5所列出的至少10个、20个、30个或50个所述区域或基因中;和/或

[0365] (iv) 其中至少10个、20个、30个、50个或80个所述染色体相互作用被分型,所述分型的染色体相互作用存在于4,000碱基区域中,所述4,000碱基区域包括表5中所述探针所

代表的所述染色体相互作用或位于其侧面。

[0366] 5. 根据第1段或2段所述的方法, 其中所述亚群与DLBCL有关, 并且对染色体相互作用的特点组合进行分型:

[0367] (i) 包括表7中所示的所有所述染色体相互作用; 和/或

[0368] (ii) 包括表7中所示的至少1个、2个、5个或8个所述染色体相互作用。

[0369] 6. 根据前述任一段所述的方法, 其中对至少10个、20个、30个、40个或50个染色体相互作用进行分型, 并且优选对至少10个染色体相互作用进行分型。

[0370] 7. 根据前述任一段所述的方法, 其中对所述染色体相互作用进行分型:

[0371] -在来自个体的样本中, 和/或

[0372] -通过检测在所述染色体相互作用位点是否存在DNA环, 和/或

[0373] -检测在染色体构象中是否存在聚集在一起的染色体末端区域, 和/或

[0374] -通过检测在所述分型过程中产生的连接核酸的存在, 并且所述连接核酸的序列包括两个区域, 每个区域对应于在所述染色体相互作用中聚集在一起的所述染色体区域, 其中优选地通过以下方法对所述连接核酸进行检测:

[0375] (i) 在前列腺癌预后的情况下, 通过与表6中提及的任何特异性探针序列具有至少70%一致性的探针, 和/或 (ii) 通过与表6中的任何引物对具有至少70%一致性的引物对; 或者

[0376] (ii) 在DLBCL预后的情况下, 通过与表5中提及的任何特异性探针序列具有至少70%一致性的探针, 和/或 (b) 通过与表5中的任何引物对具有至少70%一致性的引物对。

[0377] 8. 根据前述任一段所述的方法, 其中:

[0378] -所述第二组核酸来自比所述第一组核酸更大的个体群; 和/或

[0379] -所述第一组核酸来自至少8个个体; 和/或

[0380] -所述第一组核酸来自第一亚群的至少4个个体和来自第二亚群的至少4个个体, 所述第二亚群优选与所述第一亚群不重叠; 和/或

[0381] -实施所述方法是为了选择个体进行医学治疗。

[0382] 9. 根据前述任一段所述的方法, 其中:

[0383] -所述第二组核酸代表未经选择的群体; 和/或

[0384] -其中所述第二组核酸在限定的位置与阵列结合; 和/或

[0385] -其中所述第二组核酸代表至少100个不同基因中的染色体相互作用; 和/或

[0386] -其中所述第二组核酸包括代表至少1,000个不同染色体相互作用的至少1,000种不同核酸; 和/或

[0387] -其中所述第一组核酸和所述第二组核酸包括至少100个长度为10个至100个核苷酸碱基的核酸。

[0388] 10. 根据前述任一段所述的方法, 其中所述第一组核酸可通过包括以下步骤的方法获得:-

[0389] (i) 将染色体相互作用中聚集在一起的染色体区域进行交联;

[0390] (ii) 对所述交联区域进行切割, 任选地通过用酶进行限制性消化酶切; 和

[0391] (iii) 连接所述交联切割的DNA末端以形成所述第一组核酸 (特别是包括连接的DNA)。

- [0392] 11. 根据前述任一段所述的方法, 其中所述基因组的所述限定区域:
- [0393] (i) 包括单核苷酸多态性 (SNP); 和/或
- [0394] (ii) 表达微RNA (miRNA); 和/或
- [0395] (iii) 表达非编码RNA (ncRNA); 和/或
- [0396] (iv) 表达编码至少10个连续氨基酸残基的核酸序列; 和/或
- [0397] (v) 表达调控元件; 和/或
- [0398] (vii) 包括CTCF结合位点。
- [0399] 12. 根据前述任一段所述的方法, 实施所述方法以确定前列腺癌是侵袭性的还是惰性的, 所述方法包括对表6中限定的至少5个染色体相互作用进行分型。
- [0400] 13. 根据前述任一段所述的方法, 实施所述方法以确定DLBLC的预后, 所述方法包括对表5中限定的至少5个染色体相互作用进行分型。
- [0401] 14. 根据前述任一段所述的方法, 实施所述方法以鉴定或设计用于前列腺癌的治疗剂;
- [0402] - 其中优选地, 所述方法用于检测候选剂是否能够引起与不同预后水平相关的染色体状态的改变;
- [0403] - 其中所述染色体相互作用由表6中的任何探针代表; 和/或
- [0404] - 所述染色体相互作用存在于表6中列出的任何区域或基因中;
- [0405] 并且其中任选地:
- [0406] - 通过第1段中所限定的确定哪些染色体相互作用与染色体状态相关的方法鉴定所述染色体相互作用, 和/或
- [0407] - 使用 (i) 与表6中提及的任何探针序列具有至少70%一致性的探针, 和/或 (ii) 与表6中的任何引物对具有至少70%一致性的引物对来监测所述染色体相互作用的变化。
- [0408] 15. 根据前述第1段至第13段中任一段所述的方法, 实施所述方法以鉴定或设计用于DLBCL的治疗剂;
- [0409] - 其中优选地, 所述方法用于检测候选剂是否能够引起与不同预后水平相关的染色体状态的改变;
- [0410] - 其中所述染色体相互作用由表5中的任何探针代表; 和/或
- [0411] - 所述染色体相互作用存在于表5中列出的任何区域或基因中;
- [0412] 并且其中任选地:
- [0413] - 通过第1段中所限定的确定哪些染色体相互作用与染色体状态相关的方法鉴定所述染色体相互作用, 和/或
- [0414] - 使用 (i) 与表5中提及的任何探针序列具有至少70%一致性的探针, 和/或 (ii) 与表5中的任何引物对具有至少70%一致性的引物对来监测所述染色体相互作用的变化。
- [0415] 16. 根据第14段或第15段所述的方法, 其包括基于所述染色体相互作用的检测来选择靶标, 并且优选地筛选所述靶标的调节物以鉴定用于免疫疗法的治疗剂, 其中所述靶标任选地为蛋白质。
- [0416] 17. 根据第1段至第16段中任一段所述的方法, 其中所述分型或检测包括通过定量PCR (qPCR) 对所述连接产物进行特异性检测, 所述定量PCR使用能够扩增所述连接产物的引物和在该所述PCR反应过程中结合连接位点的探针, 其中所述探针包含与在所述染色体相互

作用中聚集在一起的每个所述染色体区域的序列互补的序列,其中优选地,所述探针包括:

[0417] 与所述连接产物特异性结合的寡核苷酸,和/或

[0418] 与所述寡核苷酸5'末端共价连接的荧光团,和/或

[0419] 与所述寡核苷酸3'末端共价连接的猝灭剂,和

[0420] 任选地,

[0421] 所述荧光团选自HEX、德克萨斯红和FAM;和/或

[0422] 所述探针包括长度为10个至40个核苷酸碱基的核酸序列,优选长度为20个至30个核苷酸碱基的核酸序列。

[0423] 18.根据第1段至第17段中任一段所述的方法,其中:

[0424] -在报告中提供所述方法的结果,和/或

[0425] -使用所述方法的结果选择患者治疗计划,并优选为个体选择具体的疗法。

[0426] 19.一种用于在个体中治疗前列腺癌或DLBCL的方法中的治疗剂,所述个体通过根据第1段至第13段和第17段中任一段所述的方法被鉴定为需要所述治疗剂的个体。

[0427] 本发明通过以下实施例说明:

[0428] 实施例1

[0429] 使用EpiSwitch™(染色体构象特征)标志物

[0430] 我们一直观察到高度播散的EpiSwitch™标志物,其与原发性受影响组织和继发性受影响组织高度一致,并获得了强有力的验证结果。EpiSwitch™生物标志物特征在复杂疾病表型的分类中表现出高稳健性、高灵敏度和特异性。

[0431] EpiSwitch™技术提供了一种与异常基因和响应基因表达相关的主要疾病的筛查;早期发现;伴随诊断;监测和预后分析的高效方法。OBD方法的主要优点在于它是非侵入性的、快速的,并且依赖于基于高度稳定DNA的靶标作为染色体特征的一部分,而不是不稳定的蛋白质/RNA分子。

[0432] CCS形成了一个稳定的表观遗传控制和获取细胞全基因组遗传信息的调控框架。CCS的变化反映了早在结果表现为明显异常之前调控模式和基因表达的早期变化。简单地说,CCS是一种拓扑排列,在这种拓扑排列中,DNA的不同远程调控部分被拉近,以影响彼此的功能。这些连接不是随机完成的;它们是高度调控的,并且被公认为具有显著生物标志物分类能力的高级调控机制。

[0433] 前列腺癌的预后分类

[0434] 标志物是在I类(低风险、惰性)、II类(中度)和III类(严重高风险)的回顾性注释的基础上开发的。这些标志物显示了与健康对照者相比,患者的可靠分类,并且还区分了类别。样本来自英国。

[0435] 鉴定能够区分来自前列腺癌患者和健康对照者的血液的EpiSwitch™生物标志物

[0436] 定制的EpiSwitch™微阵列研究最初用于鉴定和筛选超过425个基因座的约15,000个潜在的CCS,以区分8个前列腺癌(PCa)个体和8个对照个体。最具统计显著性标志物被转化为嵌套PCR分析,并在包括24个PCa样本和25个健康对照样本的更大样本组中进行筛选。使用从微阵列转化的前5个CCS开发了分类器,所述分类器以分别为100%(95%CI-86.2%至100%)和100%(95%CI-86.7%至100%)的灵敏度和特异性对PCa样本和对照样本进行分类。

[0437] 图1显示了对开发样本队列的49个样本的前5个标志物的主成分分析。

[0438] 使用诊断分类器对另一个盲法独立队列进行分类,该队列包括24个PCa样本和5个健康对照样本(n=29),准确度为83%。使用另外的95个PCa样本和97个对照样本(n=192)的样本队列对EpiSwitch™前列腺癌检测进行进一步的开发。这反过来又通过20个样本(10个PCa,10个对照)的盲样队列得到验证。验证结果如表1所示。

[0439] 表1.盲样队列的分类结果(n=20)

		95%置信区间 (CI)
	灵敏度	80.0% 44.4%-97.5%
[0440]	特异性	80.0% 44.4%-97.5%
	PPV	80.0% 44.4%-97.5%
	NPV	80.0% 44.4%-97.5%

[0441] PCA程序中的最新项目利用基于水解探针的实时定量PCR(qPCR),开发了一种用于PCa诊断的替代PCR形式。6-标志物模型的性能如表2所示。

[0442] 表2. 6标志物qPCR模型的性能

		95%置信区间 (CI)
	灵敏度	90.0% 73.47%-97.89%
[0443]	特异性	85.0% 62.11%-96.79%
	PPV	90.0% 75.90%-96.26%
	NPV	85.0% 65.60%-94.39%

[0444] 总结

[0445] 在PCa诊断程序中开发的EpiSwitch™ PCa诊断特征三个独立盲法验证,使用美国和英国不同疾病分期的样本,实现了对前列腺癌的灵敏度和特异性都>80%。前列腺特异性抗原(PSA)血液检测是检测PCa的金标准临床分析,其本身依赖于多种其他变量,通常,其灵敏度和特异性范围为32%至68%。此外,一个平行的研究方向导致了EpiSwitch™分析的发展,以评估前列腺癌的预后,以帮助诊断为PCA的个体患者的临床管理和治疗选择。

[0446] 进行了另一项定制的EpiSwitch™微阵列研究,以鉴定和筛选超过426个基因座的约15,000个潜在CCS,以区分8名侵袭性前列腺癌(3类)患者和8名惰性PCa(1类)患者,PCa的分类描述可在附录中找到。最具统计学显著性的标志物被转化为嵌套PCR分析,并在由42个1类、25个2类和19个3类PCa样本构成的更大样本群中进行筛选。

[0447] 使用前6个统计学显著的标志物来开发预后分类器,以对1类(低风险)和3类(高风险)PCa进行分类。所述分类器在42个1类样本和25个3类样本(n=27)的独立样本队列的性能如表3所示。

[0448] 表3. 6个标志物预后分类器的性能(1类vs 3类)

		95%置信区间 (CI)	
[0449]	灵敏度	80.0%	59.3%-93.17%
	特异性	92.86%	80.52%-98.5%
[0450]	PPV	86.96%	66.41%-97.22%
	NPV	88.64%	75.44%-96.21%
[0451] 另一项分析发现了在2类和3类PCa之间分类的另外6个标志物。这两个分类器共享两个标志物,每个分类器还拥有4个独特的标志物。			
[0452] 图2显示了两个PCA预后分类器的VENN比较。			
[0453] 2类与3类PCa分类器的性能如表4所示。			
[0454] 表4. 6个标志物预后分类器的性能 (2类vs3类) n=44			
		95%置信区间 (CI)	
[0455]	灵敏度	84.0%	63.92%-95.46%
	特异性	88.89%	65.29%-98.62%
	PPV	91.30%	71.96%-98.93%
	NPV	80.00%	56.34%-94.27%
[0456] 结论			
[0457] 诊断和预后生物标志物的开发是在多个临床样本队列中实现的。所有进行的标志物的筛选和选择均是以系统性的、基于血液的表观遗传变化为基础,所述变化通过前列腺癌不同分期 (1期至3期) 患者与健康对照 (诊断应用) 的染色体构象特征进行监测,以及侵袭性、高风险3类前列腺癌患者与惰性、低风险1类前列腺癌患者 (预后应用),或中度风险2类前列腺癌患者的染色体构象特征进行监测。			
[0458] PCa与健康对照的分类发展结果在测试队列和一系列盲法验证中的结果显示出高达>80%的灵敏度和特异性。高风险3类与低风险1类PCa的分类在多达67个样本的队列中显示出高达80%的敏感性和高达92%的特异性,而高风险3类与中度风险2类的分类在多达44个样本的队列中显示出高达84%的敏感性和高达88%的特异性。			
[0459] 附录			
[0460] 低风险-1类			
[0461] 局部前列腺癌被归类为低风险,如果			
[0462] PSA水平低于10ng/ml,并且			
[0463] 格里森分数不高于6,并且			
[0464] T期在T1和T2a之间			
[0465] 中度风险-2类			
[0466] 局部前列腺癌被归类为中度风险,如果您有以下至少一种情况			
[0467] PSA水平为10ng/ml到20ng/ml			
[0468] 格里森分数为7			

[0469] T期是T2b

[0470] 高风险-3类

[0471] 局部前列腺癌被归类为高风险,如果您有以下至少一种情况

[0472] PSA水平超过20ng/ml

[0473] 格里森分数为8到10

[0474] T期为T2c、T3或T4

[0475] 如果癌症是T3或T4期,这意味着它已经突破了前列腺的外层纤维覆盖物(包膜),因此它被归类为局部晚期前列腺癌。

[0476] 实施例2. 鉴定DLBCL的标志物

[0477] 总结

[0478] 这与不良预后和良好预后的患者主要群体的鉴定以便治疗的后续选择(即R-CHOP)有关。生物标志物是在回顾性总生存率的基础上开发的。通常,根据疾病亚型如ABC(不良预后)或GCB(较好预后),按基于活检的基因表达标准(如Nanostring或Fluidigm)对患者进行分类。然而,并非所有患者都可以归类为ABC或GCB(所谓的III型,或未分类的患者)。我们鉴定了生物标志物,以在基线、治疗前对生存预后进行分类,而不考虑ABC或GCB标准分类如何。

[0479] 标志物的鉴定

[0480] DLBCL在患者生存率(不良预后vs良好预后)方面表现出明显差异,并以多个分子读出为特征分为亚型。在目前的临床实践中,各种亚型也有不同的治疗方法。例如,这包括利妥昔单抗和CHOP组合的组合化疗。有各种方法。

[0481] 目前实践的分子读出是基于通过阵列的基因表达谱分析,在直接活检获得的生物材料中进行。其中包括针对极端ABC和GCB类型的基于Nanostring和Fluidigm阵列的测试。ANC亚型通常与不良预后相关。并非每个患者都可以归类为ABC或GCB,就已建立的基因表达谱以及任何与不良生存预后的关联而言,许多患者仍未归类(或III型)。我们建立了系统性生物标志物,可以直接将患者的预后分为不良和良好,而不考虑其他形式的转录基因表达谱。

[0482] 第一步:我们使用Episwitch筛选阵列来比较代表DLBCL的生存的不良预后和良好预后的细胞系组的表观遗传谱。这允许鉴定基于阵列的标志物并设计嵌套PCR引物以用于在PCR形式中的相同目标。

[0483] 第二步:我们使用前10个基于嵌套PCR的标志物读取来自57-58名未分类DLBCL患者的基线血液样本,这些患者具有已知的回顾性生存注释。表6提供了关于标志物、最终特征和分类器模型所声明的性能的详细信息。

[0484] 我们的工作显示了,与临床生存数据相比,基线是如何判断这些患者的不良预后/良好预后。这是对风险比的Cox估计,即我们的基线分类为不良预后显示出比临床事后注释的良好预后组的更高概率属于不良预后生存组,特定值 >1 。后者对于临床团队在试验设计中具有特别的价值和兴趣。

[0485] 详细描写

[0486] 弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)是成人中最常见的非霍奇金淋巴瘤类型。它可以在青春期到老年之间的任何时间发生,在美国每年每100,000人中有7-8人受其影响,尽管其

发病率随着年龄的增长而增加。基因表达谱揭示了两种主要类型的DLBCL——生发中心B细胞样(GCB)和活化B细胞样(ABC)。GCB DLBCL起源于次级淋巴器官如淋巴结,在这里,初始B细胞在感染被清除后不会停止分裂。ABC DLBCL被认为开始于准备离开生发中心并成为浆细胞的B细胞亚类,即浆母B细胞,但现实情况更为复杂,因为在整个B细胞生命周期中会发生不同形式的DLBCL。

[0487] 不同亚型的预后不同,GCB DLBCL的5年生存率为60%,而ABC DLBCL的5年生存率仅为35%。每个亚型的特征在于不同的基因表达。在GCB DLBCL中,转录抑制因子BCL6经常过度表达,而在ABC DLBCL中,经常发现NF-KB通路被组成性激活。还有被称为III型的第三种类型的DLBCL,目前不太了解,但其基因表达谱被认为位于两种主要类型之间。

[0488] 目前的诊断方法包括对受影响的淋巴结进行切除活检,然后进行免疫组织化学(IHC)。目前,无论亚型如何,DLBCL的治疗方法是相同的。由于各种亚型的发病机制、治疗反应和结果差异很大,因此仍然需要开发一种稳健的、非侵入性的分析来区分亚型,以帮助制定差异化的治疗策略。尽管已经进行了大量研究来寻找DLBCL的预测和预后的生物标志物,但对于可用于区分亚型的单一测试尚未达成共识。

[0489] 鉴定能够区分DLBCL患者血液中不同DLBCL亚型的EpiSwitch™生物标志物

[0490] 我们使用EpiSwitch™阵列平台查看DLBCL细胞系和血液样本,并鉴定健康对照患者中不存在的生物标志物,然后在由30个ABC、30个GCB和10个健康对照样本组成的70名患者队列中确认这些生物标志物。

[0491] EpiSwitch™阵列

[0492] EpiSwitch™定制阵列允许使用模式识别软件设计的探针筛选数千种可能的CCS。通过EpiSwitch™技术捕获的不同长程染色体相互作用反映了施加于感兴趣的基因座的表观遗传调控框架,并对应于来自有助于这些基因座的共调控信号通路的个体不同输入。总之,不同输入的组合调节基因表达。在将所有输入信号整合到基因表达谱中之前,在特定生理条件下鉴定异常或不同的染色体构象特征为对失调的具体贡献提供了重要的证据。

[0493] 使用来自多个来源的数据,选择了98个基因座并使用专有软件进行分析,并测试了13,332个潜在染色体构象的探针。查看一个基因座并不等同于查看一个标志物,因为在一个特定基因座中可能有一个、多个或没有高级表观遗传染色体构象的标志物。制备完成后,使用EpiSwitch方法对来自DLBCL患者和健康对照者的细胞系和血液样本进行处理、标记并与阵列杂交。

[0494] 用于诊断开发的样本

[0495] 我们使用了对应于不同的亚型的16个细胞系,并且在亚型分型中的置信度不同。使用最明确的ABC和GCB亚型细胞系进行分析。此外,还使用了4名DLBCL患者和11名健康对照者的血液样本。在第一部分的生物标志物鉴定之后,向OBD提供了60个进一步的样本,其由30个ABC和30个GCB血液样本组成,这些样本通过Fluidigm测试进行了充分表征,并以OBD提供的10个健康对照样本作为补充。

[0496] 结果

[0497] 阵列分析

[0498] 根据两个标准选择来自微阵列的72个染色体特征位点进行筛选:

[0499] .它们在ABC和GCB细胞之间分类的能力(高ABC高GCB)

[0500] 和/或

[0501] .低CV值(所分析的5个阵列的中值,高ABC v高GCB、DLBCL1 v健康对照、DLBCL2 v健康对照、DLBCL3 v健康对照和DLBCL4 v健康对照)

[0502] 阵列到EpiSwitch™ PCR平台的转化

[0503] 在分析了阵列中感兴趣的探针周围的序列后,设计了69组引物来查询染色体特征位点。然后对合并的DLBCL血液样本进行测试,其中有49组符合用于检测的PCR产物的OBD标准。

[0504] 然后在6个DLBCL细胞系上测试了这49个潜在标志物中的每一个,所述6个DLBCL细胞系中3个是ABC,3个是GCB。由于使用多种不同的鉴定方法发现了相同的分类,因此所使用的细胞系是最为确定是ABC或GCB的那些细胞系。这允许选择在区分ABC和GCB细胞亚型中最有用的标志物。鉴定了28个EpiSwitch™标志物用于PCR平台,这些标志物与EpiSwitch™微阵列结果一致。此外,还对4名DLBCL患者和合并的健康对照进行了潜在标志物测试,以确定在DLBCL患者中存在但在健康对照中不存在的标志物。28个EpiSwitch™标志物中有21个标志物不存在于健康对照样本中,但存在于DLBCL样本中,因此它可以用作DLBCL的标志物并可用于亚型分型。

[0505] 样品测试

[0506] 然后在70个患者血液样本队列中测试了能够很好地转化为EpiSwitch™ PCR平台的21个标志物。最初,每个标志物在6个新的ABC样本和6个新的GCB样本中进行测试,并且将21个标志物集缩小到显示出最大差异的10个标志物。然后在剩余的24个ABC样本、24个GCB样本和10个健康对照样本中对这10个标志物进行测试。

[0507] 然后对每个标志物进行分析,分析其区分亚群的能力、与其他标志物的共线性以及区分健康与DLBCL的能力。对6个标志物的子集进行了鉴定以提供最大可能的信息,这些标志物位于ANXA11 IFNAR、MAP3K7、MEF2B、NFATc1和TNFRS13C基因座。图3显示了这些标志物在PCA图中区分不同样本组的能力。这个6-标志物组套能够明确地区分健康对照者和DLBCL患者,这是任何基于血液的DLBCL检测的关键特征。

[0508] 图3显示了基于6个EpiSwitch™标志物二元数据的60名DLBCL和10名健康患者的PCA图。通过Fluidigm数据将样品表征为ABC亚型或GCB亚型,并且也显示了健康对照。

[0509] 分类:在DLBCL患者队列(60个样本)中鉴定ABC和GCB亚型

[0510] 使用具有5倍交叉验证的逻辑回归分类器进行分类,并得到以下结果。在交叉验证中得到以下结果:

[0511] ABC亚型 83.3% (95%CI-65.3%至94.3%)

[0512] GCB亚型 83.3% (95%CI-65.3%至94.3%)

[0513] 此外,在60名患者数据集的50个排列上测试了所得的6-标志物逻辑分类器模型。每次将数据随机化,并采用ROC曲线计算准确性统计数据。曲线下面积(AUC)为0.802,p值为0.0000037(H0="AUC等于0.5"),表明该模型准确且高效。

[0514] 结论

[0515] 在这项研究中,我们证明了他们的EpiSwitch™技术为困难的临床问题提供答案的能力,特别是DLBCL的ABC和GCB亚型的区分。使用高通量阵列方法,并将其转化为简单且具有成本效益的PCR平台,已测试了超过13,000个潜在的CCS并细化为用于DLBCL亚型区分的6

标志物组套。该组套能够将DLBCL患者与健康对照区分开来,并且能够准确预测83.3%的亚型。对于EpiSwitch™(基于全血)、LPS(细胞来源、组织)和Fluidigm(细胞来源、组织)之间的类别分配,该测试也具有超过80%的一致性。

[0516] EpiSwitch™技术检测长程基因间相互作用的变化——染色体构象特征,其导致表观遗传状态的变化和疾病发病机制中关键基因表达模式的调节。基于EpiSwitch™技术的诊断程序是一种简单快速的技术,可以转移到其他实验室。该测试由几个分子生物学反应组成,然后用嵌套PCR检测。该测试不需要复杂的程序,并且可以在任何能够运行基于PCR分析的实验室中进行。

[0517] 实施例3

[0518] 在犬类中进行了进一步的工作。目的之一是研究有助于初步诊断疑似淋巴瘤的标志物,以告知临床兽医进行后续活检的需求。在这项研究中,前75个EpiSwitch微阵列DLBCL标志物(之前鉴定的)从人类基因组构建(Grch37)转化到当前的犬类基因组。使用所有75个DLBCL标志物筛查了总共38个犬类样本(由19个可能患有淋巴瘤的患者和19个匹配的对照样本组成)。为了开展这项工作,进行了以下工作:

[0519] -基于75个人类DLBCL标志物(与特定基因相关),从Biomart中鉴定狗基因组(CanFam3.1)中的同源基因序列并且提取基因座。

[0520] -运行EpiSwitch™软件以鉴定这些基因座中潜在的相互作用

[0521] -添加引物设计软件和其他过滤器,从而将列表缩减到75个标志物以供调查。

[0522] 工作和结果如图6至图16以及表8和表9中所示。

[0523] 实施例4. 前列腺癌的进一步研究

[0524] 目前的前列腺癌(PCa)诊断性血液测试对于早期疾病诊断并不可靠,导致了患有良性疾病的男性进行了大量不必要的前列腺活检,以及患有PCa的男性活检阴性的错误保证。预测PCa的风险对于在治疗选择上做出明智的决定至关重要,因为低风险组的五年生存率超过95%,并且大多数男性将从低侵入性治疗中受益。三维基因组结构和染色体结构在肿瘤和循环细胞的肿瘤发生过程中都发生早期变化,并可作为疾病生物标志物。

[0525] 在这项前瞻性研究中,我们对新诊断、未经治疗的PCa患者(n=140)和非癌症对照(n=96)的全血中425个癌症相关基因的基因座中的14,241个染色体环进行了染色体构象筛选。

[0526] 我们的数据显示,来自PCa患者的外周血单核细胞(PBMC)在ETS1、MAP3K14、SLC22A3和CASP2基因的基因座中获得了特定的染色体构象变化。对独立验证队列的盲法测试产生了具有80%灵敏度和80%特异性的PCa检测。PCa风险组之间的进一步分析产生了由用于高风险3类vs低风险1类的BMP6、ERG、MSR1、MUC1、ACAT1和DAPK1基因,以及用于高风险3类vs中度风险2类的HSD3B2、VEGFC、APAF1、MUC1、ACAT1和DAPK1基因组成的预后验证集,其与原发性前列腺肿瘤的构象高度相似。这些集合实现了对高风险3类vs低风险1类进行分类的80%的敏感性和92%的特异性,以及对高风险3类vs中度风险2类进行分类的84%的敏感性和88%特异性。

[0527] 我们的结果表明PCa患者血液中的特定染色体构象允许高灵敏度和高特异性的PCa诊断和预后。这些构象在PBMC和原发性肿瘤之间共享。这些表观遗传特征可能会导致基于血液的PCa诊断和预后测试的发展。

[0528] 引言

[0529] 在西方世界,前列腺癌(PCa)目前是男性中最常被诊断出的非皮肤癌,并且是癌症相关死亡的第二大原因。许多年仅30岁的男性显示出组织学PCa的证据,其中大部分是微观的,可能永远不会显示出临床表现。对于诊断和预后,使用前列腺特异性抗原(PSA)、侵入性穿刺活检、格里森评分和疾病分期。在一项涉及2,299名患者的大型多中心研究中,12位点活检方案优于所有其他方案,其总体PCa检出率仅为44.4%。

[0530] 临床广泛使用的唯一可用的PCa血液测试包括测量PSA的循环水平(灵敏度为21%,特异性为91%),然而,前列腺的尺寸、良性前列腺增生和前列腺炎也可能增加PSA水平。在目前4.0ng/ml的临界值下,只有20%的PCa患者被检测到。在早期PCa中,PSA测试的特异性不足以区分早期浸润性癌症和潜伏的、非致命的、可能在一生中保持无症状的肿瘤。在晚期PCa中,PSA动力学被用作效果的临床替代终点。然而,虽然它们确实给出了大概的预后,但它们缺乏针对个体的特异性。出现了许多用于PCa检测的更具有特异性的血液测试,包括4K血液测试(AUC 0.8)和PHI血液测试(90%的敏感性,17%的特异性)。PSA水平、疾病分期和格里森评分用于确定PCa的严重程度并将患者分为风险组。迄今为止,还没有可用于区分低风险和高风险PCa的预后性血液测试。

[0531] 有多种与PCa相关的遗传变化,包括在p53(高达64%的肿瘤)、p21(高达55%)、p73和MMAC1/PTEN肿瘤抑制基因的突变,但这些突变并不能解释所有观察到的在基因调控上的影响。涉及动态和多层染色体环相互作用的表观遗传机制是基因表达的强大调节器。染色体构象捕获(3C)技术允许记录这些特征。在这项研究中,我们使用EpiSwitch™分析来筛选、定义和评估PCa患者血液中的具体染色体构象,并鉴定具有潜力作为诊断和预后标志物的基因座。

[0532] 方法

[0533] 在两个队列中总共招募了140名PCa患者和96名对照。队列1:从2010年10月到2013年9月前瞻性地招募了诊断为PCa(n=105)或没有诊断为PCa(n=77)的到泌尿科诊所就诊的男性。队列2:从美国获得的患者样本(19个对照和35个PCa)。招募后,使用现行的针具和采血方法从PCa患者身上采集单一血液样本(5ml),放入BD Vacutainer®塑料EDTA管中。将血液样本被动冷冻并储存在-80℃直至处理。前列腺肿瘤样本取自先前招募的患者(n=5),这些患者随后接受了根治性前列腺切除术。患者临床特征见表17所示。

[0534] 本研究的主要终点是检测与对照组相比,PCa患者的PBMC中染色体构象的变化。因此,无论分级、分期和PSA水平如何,所有未经治疗的PCa患者都有资格参加本研究。先前接受过化疗的患者或患有其他癌症的患者被排除在本研究之外。根据临床常规确定PCa诊断,并为患者分配适当的治疗。对于预后研究(次要终点),根据相关NCCN风险组对患者进行分级(表10)。没有进行后续研究。

[0535] 基于黑色素瘤的初步发现,使用R软件包pwr中的pwr.t.test功能进行了先验功效分析。测试表明,每组15名患者应该足以检测变量之间的相关性($\beta=5\%$ 概率II类错误,显著性水平;95%功效;50%置信区间和40%标准偏差)。

[0536] EpiSwitch™技术平台将高分辨率3C结果与回归分析和机器学习算法配对,以开发疾病分类。为了选择可以诊断癌症的表观遗传生物标志物,与健康(对照)样本相比,对来自癌症患者的样本进行筛选已确定条件性和稳定的基因组结构谱上的统计学显著差异。该分

析是在全血样本上进行的,通过首先用甲醛固定染色质以捕获染色质内的结合。然后用TaqI限制性内切酶将固定的染色质消化成片段,然后将DNA链连接起来,有利于交联片段。交联是反向的,使用之前由EpiSwitch™软件建立的引物进行聚合酶链反应(PCR)。EpiSwitch™在三步式方法中用于血液样本,以鉴定、评估和验证PCa患者和健康对照之间染色体构象的统计学显著差异(图17)。对于第一步,来自425个人工筛选的PCa相关基因(从公共数据库(www.ensembl.org)获得)序列被用作模板,用于对涉及染色质相互作用的调控信号的计算概率鉴定(表18)。定制的CGH Agilent微阵列(8x60k)平台旨在测试425个基因座中14,241个潜在染色体构象的技术和生物学重复。八个PCa和八个对照样本与阵列竞争杂交,通过LIMMA线性建模、随后的二元过滤和聚类分析来定义每个基因座的差异的存在与否。这最初揭示了53个染色体相互作用,能够最好地区分PCa患者与对照(图17)。

[0537] 在第二个评估阶段,从阵列分析中选择的53个生物标志物被转化为基于EpiSwitch™ PCR的检测探针,并用于多轮生物标志物评估。根据PCR引物区分PCa和健康对照的能力(每组n=6)选择PCR引物。通过直接测序确认使用嵌套引物生成的PCR产物的一致性。因此,经过初步的统计分析,将筛选出的53个生物标志物缩减到15个,最终形成5-标志物特征(表11)。然后在已知队列(n=49)上对该选定的染色体构象特征-生物标志物集进行测试。此外,根据阵列标志物先导(lead)的EpiSwitch™ PCR评估开发的5-标志物特征在29个样本的独立盲法验证队列中进行了测试,这些样本与之前测试的已知的49个样本(总共78个样本)相结合。主成分分析也用于确定丰度水平和鉴定潜在的异常值(图18)。

[0538] 在最后一步,为了进一步验证用于告知PCa诊断的染色体构象特征,在盲法、独立的(n=20)血液样本队列中对5-标志物集进行了测试。使用贝叶斯逻辑模型、p值零假设($\Pr(N|z)$)分析、弗希尔精确P检验和Glmnet分析结果(表12)。5-标志物特征研究中的样本队列规模逐渐增加以便能够选择用于区分PCa样本与健康对照的最佳标志物。队列规模扩大到95个PCa和96个健康对照样本。根据CONSORT建议进行数据分析和展示。所有测量均以盲法进行。使用STARD标准来验证该分析程序。采用类似的三步法来鉴定预后标志物(表13)。

[0539] 围绕所选位点设计序列特异性寡核苷酸,以使用Primer3通过嵌套PCR筛选潜在标志物。使用LabChip DNA 1K Version2试剂盒(Perkin Elmer, Beaconsfield, UK)在LabChip GX中通过电泳对所有PCR扩增样本进行可视化,并根据制造商的方案使用荧光染料将内部DNA标志物加载到DNA芯片上。通过激光检测荧光,并使用仪器软件将电泳图的读出转换成凝胶图像上的模拟条带。我们为被视为阳性的条带设定的阈值是30个荧光单位及以上。

[0540] 原发性肿瘤样本取自选定患者的活检(n=5)。将粉碎的组织样本在0.125%胶原酶中于37℃温和搅拌下孵育30分钟。然后在室温下将重悬的细胞(250u1)在固定臂离心机中以800g离心5分钟,去除上清液,并将沉淀重悬在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中。在固定的分析灵敏度范围(稀释因子1:2)下,分析原发肿瘤和匹配的血液样本中是否存在为3类vs 1类和3类vs 2类设置的6-标志物集。当检测到正确大小的匹配PCR条带时,分配1分,未检测到条带则分配0分(表14)。

[0541] 如在方法中所描述,我们采用了使用EpiSwitch™技术的逐步诊断生物标志物发现方法。定制的CGH Agilent微阵列(8x60k)平台旨在测试8个PCa和8个对照样本中425个基因座(表18)的14,241个潜在染色体构象的技术和生物学重复(图17)。通过LIMMA线性建模、随后的二元过滤和聚类分析来定义每个基因座的存在与否。在第二个评估阶段,对53个选定

的生物标志物使用嵌套PCR,进一步将它们缩减到15个标志物,最后缩减到5-标志物特征(图17)。PCa的这种独特的染色体构象疾病分类特征包括五个基因组基因座的染色体相互作用:ETS原癌基因1、转录因子(ETS1)、丝裂原活化蛋白激酶14(MAP3K14)、溶质载体家族22成员3(SLC22A3)以及半胱天冬酶2(CASP2)(表11)。染色体构象特征中ETS1、MAP3K14、SLC22A3和CASP2基因中特定染色体环的基因组位置(表11)被映射到它们的相关染色体上。对应于ETS1、MAP3K14、SLC22A3和CASP2基因的每个染色体构象特征基因座连接点的两个基因组位点被映射到11号染色体,从128,260,682到128,537,926;17号染色体,从43,303,603到43,432,282;6号染色体,从160,744,233到160,944,757以及7号染色体,从142,935,233到143,008,163。生成了显示染色体环的ETS1、MAP3K14、SLC22A3和CASP2染色体构象特征标志物的Circos图。

[0542] 5-标志物的主成分分析用于确定丰度水平并鉴定潜在的异常值。该分析被应用于包含两组的78个样本。第一组,49个已知样本(24个PCa和25个健康对照)与29个样本(包括24个PCa样本和5个健康对照样本)的第二组相结合(图18)。最终训练集使用95个PCa和96个对照样本构建,然后在20个样本(10个对照和10个PCa)的独立盲法验证队列中进行测试。利用五个基因组基因座中的染色体相互作用来检测PCa的灵敏度和特异性分别为80%(CI 44.39%至97.48%)和80%(CI 44.39%至97.48%)(表12)。

[0543] 为了选择可以对PCa进行分类的表观遗传生物标志物,对来自PCa患者的分类为风险组1-3类(分别为低、中和高,表10)的样本进行筛选,以确定在条件性和稳定的基因组结构谱的统计学显著差异。EpiSwitch™在三步式方法中用于血液样本,以鉴定、评估和验证处于疾病不同分期的PCa患者之间染色体构象的统计学显著差异(图17)。第一步,使用的阵列覆盖了425个基因座,并具有用于总共14,241个潜在染色体构象的测试探针。将高风险PCa 3类的患者与低风险1类或中风险2类的患者进行比较。通过富集统计,共鉴定出181个用于PCR评价的潜在的分类标志物先导(表19)。然后将前70个最佳标志物带到PCR检测的下一阶段,以进一步评估高风险3类vs低风险1类患者样本的分类,最后建立高风险3类vs低风险1类的6-标志物集(表13)。使用卡方检验鉴定最佳标志物,然后在1类(n=21)和3类(n=19)的测试集上建立分类器。然后将未用于任何标志物缩减的1类(n=21)和3类(n=6)的独立队列用于第一轮盲法验证。类似地,在分别包括25个和19个样本的3类和2类的测试集上,对6-标志物集进行高风险3类vs中度风险2类评估。然后将未用于任何标志物缩减的2类和3类(每组n=6)的独立队列用于第一轮盲法验证。

[0544] 在最后一步,为了进一步验证用于告知PCa预后的染色体构象特征,在更大、更具代表性的队列中对高风险3类vs低风险1类的6-标志物集进行了测试。最初的盲样队列扩大到67个样本,其包括用于标志物缩减的40个样本(表15)。类似地,在更大、更具代表性的队列中对高风险3类vs中度风险2类的6-标志物集进行了测试。最初的盲样队列扩大到43个样本(表16)。

[0545] 建立了3类vs 1类的6-标志物集。该集包含骨形态发生蛋白6(BMP6)、ETS转录因子ERG(ERG)、巨噬细胞清道夫受体1(MSR1)、粘蛋白1(MUC1)、乙酰辅酶A乙酰转移酶1(ACAT1)和死亡相关蛋白激酶1(DAPK1)基因(表13)。鉴定了高风险3类vs中度风险2类的6-生物标志物,包括羟基- δ -5-类固醇脱氢酶、 3β -和类固醇 δ -异构酶2(HSD3B2)、血管内皮生长因子C(VEGFC)、凋亡肽酶激活因子1(APAF1)、MUC1、ACAT1和DAPK1。值得注意的是,最后三个生物

标志物 (MUC1、ACAT1和DAPK1) 在1类vs 3类和3类vs 2类之间是共同的 (表13)。使用6个基因组基因座中的染色体相互作用对高风险3类vs低风险1类PCa的分类显示出其在67个样本的盲样队列中80%的敏感性 (CI 59.30%至93.17%) 以及92%的特异性 (CI 80.52%至98.50%) (表15)。类似地,在更大、更具代表性的43个样本队列中对高风险3类vs中度风险2类的6-标志物集进行了测试,表明其敏感性为84% (CI 63.92%至95.46%), 特异性为88% (CI 65.29%至98.62%) (表16)。

[0546] 使用五个匹配的外周血和原发性肿瘤样本,我们将外周循环中鉴定的表观遗传标志物 (表13) 与肿瘤组织进行了比较。我们的结果显示,可以在肿瘤组织中检测到许多在血液中检测到的失调标志物,这些标志物是作为1类vs3类和2类vs3类分类特征的一部分 (表14)。这表明可以系统检测的染色体相互作用可以在相同条件下在肿瘤发生的原发部位检测到。

[0547] 及时诊断前列腺癌对于降低死亡率至关重要。欧洲筛查PCa的随机研究表明,接受常规PSA筛查的男性的PCa死亡率显著降低。然而,全面筛查会导致对临床上无意义疾病的过度诊断,因此迫切需要能够区分低风险和高风险疾病的新的低侵入性测试。

[0548] 我们的表观遗传分析方法提供了一种潜在的强大手段来解决这一需求。该测试的二元性质 (染色体环存在与否) 和巨大的组合能力 (可能有 $>10^{10}$ 种组合筛选约50,000个环) 可能允许创建准确符合临床明确定义的标准特征。在PCa中,这将区分低风险vs高风险疾病,或鉴定小但具有侵袭性的肿瘤并确定最合适的治疗方案。此外,已知的表观遗传变化会在肿瘤发生的早期表现出来,这使得它们可用于诊断和预后。

[0549] 在这项研究中,我们鉴定并验证了染色体构象作为PCa非侵入性基于血液的表观遗传特征的独特生物标志物。我们的数据表明在仅存在于PCa患者中的ETS1、MAP3K14、SLC22A3和CASP2基因的基因座中存在稳定的染色质环 (表11)。在一组独立的20个盲样样本中对这些标志物的验证显示出80%的灵敏度和80%的特异性 (表12),这对于PCa血液测试来说是显著的。有趣的是,其中一些基因的表达已经与癌症病理生理学有关。ETS1是ETS转录因子家族的成员。ETS1过度表达的前列腺肿瘤与增加的细胞迁移、侵袭和上皮间质转化的诱导有关。MAP3K14 (也称为核因子- κ - β (NF- κ B) 诱导激酶 (NIK)) 是MAP3K组 (或MEKK) 的成员。在生理上,MAP3K14/NIK可以激活非经典NF- κ B信号传导并诱导经典NF- κ B信号传导,特别是当MAP3K14/NIK过度表达时。已经描述了MAP3K14/NIK在调节线粒体动力学以促进肿瘤细胞侵袭方面的新作用。SLC22A3 (也称为有机阳离子转运蛋白3 (OCT3)) 是膜转运蛋白SLC组的成员。SLC22A3的表达与PCa进展相关。CASP2是半胱天冬酶激活和募集域组的成员。在生理上,CASP2可以作为自噬的内源性阻遏物。先前已显示,两个经鉴定的基因 (SLC22A3和CASP2) 与癌症进展呈负相关。重要的是,染色质环的存在可能会对基因表达产生不确定的影响。

[0550] 为了筛选PCa预后标志物,我们使用EpiSwitch™定制阵列来分析来自低风险PCa (1类) 和高风险PCa (3类) 患者外周血DNA的竞争性杂交。鉴定了高风险3类vs低风险1类的6-标志物集,包括BMP6、ERG、MSR1、MUC1、ACAT1和DAPK1。鉴定了高风险3类vs中度风险2类的6个生物标志物,包括HSD3B2、VEGFC、APAF1、MUC1、ACAT1和DAPK1。这些生物标志物中的三个 (MUC1、ACAT1和DAPK1) 在这些集之间共享。我们的数据显示原发性肿瘤和匹配的1期和3期的PCa患者血液中的染色体构象高度一致 (表14)。先前已经提出了这些基因中一些的预后

意义和诊断价值。BMP6在PCa骨转移中起重要作用。除了ETS1, ERG是ETS转录因子家族的另一个成员。压倒性的证据表明ERG涉及与PCa进展相关的几个过程, 包括转移、上皮间质转化、表观遗传重编程和炎症。MSR1可能会给PCa带来中度风险。MUC1是一种膜结合糖蛋白, 属于粘蛋白家族。MUC1在晚期PCa中的高表达与不良的临床病理肿瘤特征和不良结果相关。ACAT1的表达在高级别和晚期PCa中升高, 并作为生化无复发生存率降低的指标。在不同的细胞环境中, DAPK1既可以作为肿瘤抑制因子, 也可以作为致癌分子。HSD3B2在类固醇激素生物合成中起着至关重要的作用, 它在以不良肿瘤表型、雄激素受体信号增加和早期生化复发为特征的PCa的相关部分中上调。VEGFC是VEGF家族的一员, 其表达增加与PCa标本中的淋巴结转移有关。在综合生化方法中, APAF1被描述为凋亡体的核心。

[0551] 尽管鉴定了这些基因座, 但仍未确定PBMC中与癌症相关的表观遗传变化的机制。然而, 相互作用可以被系统地检测并且可以在相同条件下的肿瘤发生的原发部位被检测到(表14)。因此, 为了让我们能够测量这些变化, PBMC中的染色质构象必须受到外部因素的指导; 大概是由PCa肿瘤细胞产生的物质。众所周知, 很大一部分染色体构象是由非编码RNA控制的, 这些RNA调节肿瘤特异性构象。已显示肿瘤细胞分泌非编码RNA, 这些RNA被邻近细胞或循环细胞内吞, 并可能改变其染色体构象, 在这种情况下所述RNA可能是调节剂。虽然RNA检测作为生物标志物仍然极具挑战性(稳定性低、背景漂移、统计分类分析的连续基础), 但染色体构象特征为生物标志物靶向用途提供了公认的稳定二元优势, 特别是在细胞核中测试时, 因为存在于血浆中循环DNA并不保留完好细胞核中的3D构象拓扑结构。值得一提的是, 查看一个遗传基因座并不等同于查看一个标志物, 因为可能存在多个染色体构象, 代表对感兴趣位点的表观遗传调控的平行途径。

[0552] 目前临床实践中PCa诊断的主要挑战之一是做出明确诊断所需的时间。到目前为止, 还没有针对PCa的单一、明确的测试。高水平的PSA将使患者踏上漫长的不确定之旅, 如果需要, 他将接受磁共振成像扫描, 然后进行活检。尽管活检比PSA测试更可靠, 但这是一个重大的手术, 遗漏癌症病变仍然是一个问题。本文描述的五组生物标志物组套基于相对便宜且完善的分子生物学技术(PCR)。样本基于生物液体, 其易于收集, 并在几小时内为临床医生提供快速可用的临床读出。这反过来节省了大量的时间和成本, 并有助于做出信息丰富的诊断决策, 从而填补了当前PCa确定诊断协议中的空白。

[0553] 预测PCa的风险性对于就治疗选择做出明智的决定至关重要。低风险组的五年生存率超过95%, 大多数男性将从低侵入性治疗中受益。目前, PCa风险分类基于循环PSA、肿瘤分级(来自活检)和肿瘤分期(来自影像学发现)的综合评估。使用简单的血液测试获得类似信息的能力将显著降低成本并加快诊断过程。在PCa治疗中特别重要的是鉴定少数最初表现为低风险但随后发展为高风险的肿瘤。因此, 该部分人将受益于更快和更激进的干预。

[0554] 总之, 在这里, 我们已经确定了患者PBMC中染色体构象的子集, 它们强烈表明了PCa的存在和预后。这些特征对于开发PCa的快速诊断和预后血液测试具有巨大的潜力, 并且显著超过了目前使用的PSA测试的特异性。优选的标志物和组合包括

[0555] -ETS1、MAP3K14、SLC22A3和CASP2。这是诊断, 通过嵌套PCR标志物

[0556] -BMP6、ERG、MSR1、MUC1、ACAT1和DAPK1。这是预后特征(高风险3类vs低风险1类, 通过嵌套PCR标志物)

[0557] -HSD3B2、VEGFC、APAF1、MUC1、ACAT1和DAPK1。这是预后特征(高风险3类vs中度风

险2类)

[0558] 实施例5.DLBCL的进一步工作

[0559] 弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL) 是一种异质性血癌,但可以大致分为两种主要亚型,生发中心B细胞样 (GCB) 和活化B细胞样 (ABC)。GCB和ABC亚型具有非常不同的临床病程,ABC的生存预后要差得多。据观察,不同亚型的患者对治疗干预的反应也不同,事实上,有些人认为ABC和GCB可以被视为完全不同的疾病。由于对治疗反应的这种可变性,确定DLBCL亚型的分析对于指导使用现有疗法的临床方法以及新药的开发具有重要意义。当前用于DLBCL分型的金标准分析使用福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 组织的基因表达谱来确定“起源细胞”,从而确定疾病亚型。然而,这种方法具有一些显著的临床局限性,因为它1) 需要活检2) 需要复杂、昂贵且耗时的分析方法,并且3) 不能对所有DLBCL患者进行分类。

[0560] 在这里,我们采用表观基因组方法并开发了基于血液的染色体构象特征 (CCS) 来鉴定DLBCL亚型。使用来自118名DLBCL患者的临床样本,采用迭代方法来定义六个标志物的组套 (DLBCL-CCS) 来对疾病进行分型。然后将DLBCL-CCS的性能与来自FFPE组织的常规基因表达谱 (GEX) 进行比较。

[0561] DLBCL-CCS在对已知状态样本中的ABC和GCB的分类是准确的,提供了在用于开发分类器的发现队列中100% (60/60) 样本的相同调用。此外,在评估队列中,DLBCL-CCS能够在100% (58/58) 的GEX分析定义的中等亚型 (III型) 的样本中进行DLBCL亚型调用。最重要的是,当对这些患者在他们整个疾病过程中进行纵向跟踪时,EpiSwitch™相关调用可以用ABC和GCB亚型的已知生存率模式进行了更好的追踪。

[0562] 这项研究提供了一个初步指示,即一种简单、准确、具有成本效益且临床上可采用的基于血液的诊断方法来鉴定DLBCL亚型是可能的。

[0563] 背景

[0564] 弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL) 是最常见的血癌类型,使用不同方法的大量研究表明它具有遗传和生物学异质性。两种主要的DLBCL分子亚型是生发中心B细胞样 (GCB) 和活化B细胞样 (ABC),尽管也提出了更细化的分子亚型定义。这两种主要亚型具有高度的临床相关性,因为已经观察到它们具有显著不同的疾病过程,其中ABC亚型的生存预后要差得多。也许更重要的是,由于在临床环境中评估了用于治疗GCB和ABC (或非GCB) 亚型的新型研究药物,并且未选择患者的总体反应率低的历史观察结果,迫切需要在治疗开始之前确定患者亚型。从历史上看,DLBCL亚型是通过鉴定“起源细胞” (C00) 来确定的。原始的C00分类是基于通过层次聚类分析观察到的DLBCL基因表达与活化的外周血B细胞或正常生发中心B细胞的相似性 (3)。这种通过全基因组表达谱 (GEP) 进行的C00分类将DLBCL分类为活化B细胞样 (ABC) 亚型、生发中心B细胞样 (GCB) 亚型和III型 (未分类) 亚型,其中ABC-DLBCL以预后不良和组成型NF- κ B激活为特征。在他们的开创性工作中,Wright等人鉴定了27个在ABC-DLBCL和GCB-DLBCL之间的表达中最具区别性的基因,并开发了用于C00分类的线性预测因子评分 (LPS) 算法。这些原始研究完全基于对新鲜冷冻 (FF) 淋巴瘤组织的回顾性研究。在临床实践中应用这种C00分类的一个主要挑战是建立一种稳健的临床分析方法,适用于常规的福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 诊断活检。几项研究还通过定量测量mRNA表达研究了使用FFPE组织对DLBCL进行C00分类的可能性,包括定量核酸酶保护分析、使用Affymetrix HG U133 Plus 2.0平台或Illumina全基因组DASLassay的GEP以及NanoString淋巴瘤亚型分型

测试 (LST) 技术。还研究了几种基于免疫组织化学 (IHC) 的算法,以概括通过GEP的C00分类。总的来说,这些研究证明了使用FFPE组织对DLBCL进行C00分类的高可信度以及ABC和GCB亚型之间总体生存率的稳健分离,但存在可重复性问题,尤其是各分析之间缺乏一致性。此外,任何基于IHC的测量都需要基线组织,其并不总是可用的,而且目前从样本收集到分析读出的周转时间很长,这使得在临床实践中的实施成为挑战。

[0565] 在历史上用于DLBCL亚型分型的方法中,一种C00评估方法使用了一种分析,该分析通过使用Fluidigm BioMark HD系统的定量逆转录PCR (qRT-PCR) 测量FFPE组织中27个基因的表达。虽然这种方法与现有技术相比具有一些优势,但该方法仍然面临一些限制其临床应用的主要障碍,因为它1) 需要组织活检2) 依赖于昂贵、非标准和耗时的实验室程序。因此,基于血液的分析可以通过提供一种简单、可靠且具有成本效益的方法进行DLBCL亚型分型,并增强临床适用性,这将推动该领域的发展。

[0566] 在这项研究中,我们使用了一种新的基于血液的分析,通过专注于检测基因组结构的变化来确定DLBCL患者的C00分类。作为表观遗传调控框架的一部分,基因组区域可以改变其三维结构,作为功能性调控基因表达的一种方式。这种调控机制的结果是在不同的基因组基因座形成染色质环。可以使用染色体构象捕获 (3C) 凭经验测量这些环的存在与否。多个基因组区域通过形成稳定的、条件性的长程染色体相互作用来促进上位调节。对多个基因组基因座染色体构象的集体测量产生染色体构象特征 (CCS),或反映基因组对其外部环境反应的分子条形码。对于CCS的检测、筛选和监测,我们使用了EpiSwitch平台,这是一种用于检测CCS的成熟、高分辨率和高通量的方法。基于3C,EpiSwitch平台已开发用于评估确定的遗传基因座的染色质结构变化以及长程非编码顺式和反式调节相互作用。使用EpiSwitch进行患者分类的优势包括其二元性、可重复性、相对较低的成本、快速的周转时间(样本可在24小时内处理)、仅需少量血液(~ 50mL) 和符合FDA基于PCR的检测方法的标准。因此,染色体构象提供了稳定的、二元的细胞状态读出,并代表了一类新兴的生物标志物。

[0567] 本文中,我们使用一种基于评估染色体结构变化的方法来开发用于DLBCL C00亚型分型的基于血液的诊断检测。我们假设对来自DLBCL患者的血液样本中基因组结构变化的查询可以提供一种基于组织的C00分类方法的替代方法,并提供一种新颖的、非侵入性的、更适用于临床的方法来指导临床决策和试验设计。

[0568] 本研究共使用了118名具有已知C00亚型的DLBCL患者和10名健康对照 (HC)。这些样本是在利妥昔单抗 (rituximab) 联合贝伐单抗 (bevacizumab) 治疗侵袭性非霍奇金淋巴瘤的III期、随机、安慰剂对照的试验中收集的样本子集。简而言之,年龄 ≥ 18 岁的新诊断CD20阳性的DLBCL成年患者随机接受R-CHOP或R-CHOP联合贝伐单抗 (RA-CHOP)。从60名DLBCL患者收集的血液样本被用作开发队列,以鉴定、评估和改进CCS生物标志物先导。该队列的患者均被分型为高/强GCB (30) 或ABC (30),具有高亚型特异性LPS (线性预测因子评分)。其余58个DLBCL样本具有中间的LPS,并通过Fluidigm测试确定为ABC、GCB或未分类 (图25)。这些患者样本未用于CCS生物标志物的发现和开发;但在稍后阶段用于评估所得的分类器。Fluidigm测试使用从淋巴结获得的组织 (作为穿刺活检或在手术期间移除) 进行,并且EpiSwitch分析使用在患者接受任何治疗之前采集的匹配的外周全血进行。

[0569] 除了患者样本外,在生物标志物筛选的初始阶段还使用了12个细胞系 (6个ABC和6

个GCB)来鉴定可以最好地区分ABC和GCB疾病亚型的一组染色体构象(表20)。细胞系来自美国菌种保藏中心(ATCC)、德国微生物和细胞培养物保藏中心(DSMZ)和日本健康科学基金会资源库(JHSF)。

[0570] 从预处理的FFPE活检中分离和纯化RNA。通过将Wright等人的算法适配于定制的Fluidigm基因表达组套(包含DLBCL亚型预测因子的27个基因)的表达数据来确定DLBCL亚型。通过在15名非试验受试者的队列中比较Fluidigm qRT-PCR与Affymetrix数据对C00分析进行验证,揭示了来自匹配的新鲜冷冻(FF)样本和FFPE样本的qRT-PCR测量值之间的高度相关性,涉及使用的19个分类基因。我们还发现来自相同FF样本的Affymetrix微阵列和Fluidigm qRT-PCR测量值之间存在高度相关性。根据来自Fluidigm C00分析的qRT-PCR数据计算的分类基因权重与从独立患者队列中先前的微阵列数据获得的权重高度一致。我们观察到来自Fluidigm分析的LPS、FFPE肿瘤中的数据和来自技术注册队列中匹配FF组织中的Affymetrix微阵列数据的LPS之间存在高度相关性(76%一致性)。

[0571] 使用模式识别算法来注释人类基因组中可能形成长程染色体构象的位点。模式识别软件基于贝叶斯建模来运行,并提供区域参与长程染色质相互作用的概率分数。通过模式识别软件处理来自97个基因座(表21)的序列以生成最有可能能够区分DLBCL亚型的13,322种染色体相互作用的列表。对于初始筛选,进行了基于阵列的比较。60-mer寡核苷酸探针被设计用于查询这些潜在的相互作用,并作为定制阵列上传到Agilent SureDesign网站。每个探针一式四份存在于EpiSwitch微阵列上。为了随后评估潜在的CCS,采用使用Primer3设计的序列特异性寡核苷酸进行嵌套PCR(EpiSwitch PCR)。使用寡核苷酸特异性BLAST测试寡核苷酸的特异性。

[0572] 将在DLBCL中被鉴定为失调的前十个基因组基因座作为蛋白质列表上传到Cytoscape中的Reactome Functional Interaction Network插件,以生成DLBCL中的表观遗传失调网络。这十个基因座也被上传到STRING(用于检索相互作用基因/蛋白质数据库的检索工具)(<https://string-db.org/>),该数据库包含超过900万个已知和预测的蛋白质-蛋白质相互作用。仅限于人类相互作用,生成了主网络(即排除了未连接节点)。通过基因本体论(GO)和京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)数据库鉴定了最高错误发现率(FDR)校正的功能富集。前十个基因组基因座也被上传到KEGG通路数据库(<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>)以鉴定在DLBCL中表现出失调的具体生物通路。

[0573] 精确检验和Fisher精确检验(用于分类变量)用于鉴定辨别标志物。统计显著性水平设置为 $p \leq 0.05$,所有检验均为双侧检验。随机森林分类器用于评估EpiSwitch标志物鉴定DLBCL亚型的能力。通过Kaplan-Meier分析使用R(38)中的生存和survminer软件包进行长期生存分析。使用双尾t检验计算平均生存时间。

[0574] 我们采用逐步方法来发现和验证可以区分DLBCL亚型的CCS生物标志物组套(图19)。作为发现EpiSwitch分类器的第一步,97个基因座(表21)被选择并被注释了染色体构象相互作用位点的预测存在,并使用EpiSwitchCGH Agilent阵列筛选了它们的经验存在。带注释的阵列设计代表了13,322个候选染色体相互作用,在每个基因座上平均测试了99个不同的顺式相互作用(99 ± 64 ;平均值 $\pm$ SD)。该发现阵列用于筛选和鉴定可区分两种主要DLBCL亚型的较小染色体构象库。用于该步骤的样本来自GCB和ABC细胞系(表20)以及来自

四个分型的DLBCL患者(两个GCB和两个ABC)和四个HC的全血。基于基因表达分析将细胞系分为高ABC和高GCB以及低ABC和低GCB。阵列上使用的比较是:1) DLBCL患者与合并的HC的个体比较2) 合并的DLBCL样本与合并的HC样本相比3) 合并的高ABC与合并的高GCB细胞系相比,以及4) 合并的低ABC与合并的低GCB细胞系相比。

[0575] 从阵列分析中,我们鉴定了1,095个统计显著的染色体相互作用,这些相互作用在高ABC和GCB细胞系有区别,并且存在于DLBCL患者的血液样本中,但在HC中不存在。使用一组统计过滤器将这些相互作用进一步缩减到前293个,其中151个与ABC亚型相关,其中143个与GCB亚型相关。选择来自任一亚型的前72个相互作用(ABC的36个相互作用和GCB的36个相互作用),使用EpiSwitchPCR平台在60个分型的DLBCL患者样本中进行进一步细化。对于所有118个DLBCL样本,根据Wright算法分配初始亚型分类,该算法从一组27个基因的表达计算线性预测因子评分(LPS)。60个样本被归类为ABC或GCB,并用于开发EpiSwitch分类器(“发现队列”),58个样本具有中间LPS评分,用于评估EpiSwitch分类器(“评估队列”)的性能(图19)。

[0576] 使用发现步骤过程中的DLBCL患者样本和第二队列将初始筛选中鉴定的72个相互作用缩小到更小的库,该第二队列包括60个DLBCL分型的(30个ABC和30个GCB)患者样本以及12个HC(图19)。使用Fluidigm平台确认了由EpiSwitch分析进行的DLBCL亚型调用。Fluidigm基因表达分析是在组织活检样本中进行的,而来自同一患者的全血用于EpiSwitchPCR检测。细化的初始步骤是通过PCR确认初始筛选中鉴定的72条染色体相互作用是DLBCL特异性的,并且在HC样本中不存在。首先在六个未分型的DLBCL样本和两个HC上进行了测试,结果鉴定了21个对DLBCL具有特异性的相互作用。接下来,我们使用EpiSwitchPCR测试来自分型的DLBCL患者样本(12个ABC和12个GCB)的24个血液样本,以使用Fisher检验鉴定DLBCL特异性染色体相互作用。这产生了一组可以准确地区分ABC和GCB亚型的10个有辨别能力的染色体构象相互作用,并在来自另外一组36个DLBCL样本(18个ABC和18个GCB)的血液样本中进行进一步评估(图19)。

[0577] 为了测试该10-标志物组套的准确性、性能和稳健性,我们在80%的完整样本队列(总共48个样本:24个ABC和24个GCB)中使用精确检验进行特征选择,其余20%(12个样本、6个ABC和6个GCB)用于以后对最终选定的CCS标志物进行测试。数据被分割10次,并使用每次分割的80%训练集对每次分割运行精确检验。然后使用10次分割中10个标志物的综合p值对标志物进行排序。该分析鉴定了IFNAR1、MAP3K7、STAT3、TNFRSF13B、MEF2B和ANXA11基因座中的六种染色体构象。总的来说,这六种相互作用形成了DLBCL染色体构象特征(DLBCL-CCS)(图20)。

[0578] DLBCL-CCS中的六个标志物用于生成随机森林分类器模型,并应用于对已知疾病亚型的发现队列中的每个数据分割(12个样本、6个ABC和6个GCB)的测试集进行分类。通过主成分分析(PCA),DLBCL-CCS分类器能够将ABC和GCB患者与健康对照分开(图26)。DLBCL-CCS的综合预测概率与每个标志物的优势比和使用逻辑回归生成的模型的优势比一起显示在表22中。该模型提供了ABC和GCB的预测概率分数,范围从0.186到0.81(0=ABC,1=GCB)。ABC正确分类的概率临界值设置为 ≤ 0.30 ,GCB正确分类的概率临界值设置为 ≥ 0.70 。 ≤ 0.30 分的真阳性率(灵敏度)为100%(95%置信区间[95%CI]88.4-100%),而 ≥ 0.70 分的真阴性反应率(特异性)为96.7%(95%CI 82.8-99.9%)。与Fluidigm对亚型分型的调用相

比,使用DLBCL-CCS分类器,60名患者中有60名(100%)被正确分类为ABC或GCB(图21A,表22)。该样本队列中DLBCL-CCS分类器的受试者工作特征(ROC)曲线下的AUC为1(图21B)。最后,我们将DLBCL-CCS发出的DLBCL亚型调用与已知疾病亚型患者的长期生存曲线进行比较。被称为ABC的患者的生存率明显低于被称为GCB的患者(图21C)。

[0579] 接下来,我们评估了DLBCL-CCS的性能,该评估队列的58名DLBCL患者具有更中间的LPS值。我们应用DLBCL-CCS将这些患者分配为DLBCL亚型,并将读出与Fluidigm的读出进行比较。DLBCL-CCS对所有58个样本作出了亚型分型调用,而Fluidigm分析对37个样本作出了亚型分型调用,剩下21个为“未分类”(图22)。在两种分析都可以调用亚型的37个样本中,15个样本(40%)被两种分析(8个ABC和7个GCB)同样地调用(图22)。接下来,我们通过比较诊断时作出的亚型调用与III型患者的长期生存曲线,评估了DLBCL-CCS和Fluidigm作出的DLBCL亚型调用的性能。如图23中的Kaplan-Meier生存曲线所示,DLBCL-CCS作出的ABC/GCB调用能够根据DLBCL中已知的生存趋势将两个群体分开,其中ABC亚型的预后较差。相比之下,Fluidigm定义的ABC和GCB群体显示出与临床观察相反的情况,归类为ABC的样本比归类为GCB的样本具有更长的生存时间。尽管在统计上不显著,但通过风险比分析,DLBCL-CCS作出的亚型调用与亚型之间生存差异的历史临床观察相匹配。我们确实发现两种方法之间的平均生存时间存在显著差异。Fluidigm归类为ABC和GCB的患者的平均生存期分别为651天和626天($p=0.854$),而DLBCL-CCS分析归类为ABC和GCB的患者的平均生存期分别为550天和801天($p=0.017$)(图24)。

[0580] 为了探索在本研究中观察到的表观遗传失调的基因座与先前报道的与DLBCL相关的生物学机制之间的关系,我们使用前10个失调的基因座作为输入进行了一系列网络和通路分析。首先,我们通过在Cytoscape中构建Reactome Functional Interaction Network来探索这些基因座如何在生物学上相关,从而揭示了一个以NFKB1、STAT3和NFATC1为中心的网络。当10个基因座被用于通过STRING DB构建网络时,出现了类似的情况,其中连接最多的枢纽以NFKB1、STAT3和MAP3K7和CD40为中心。生物过程中最富集的GO术语是“转录的正向调控,DNA模板化”,分子功能最富集的GO术语是“转录激活因子活性、RNA聚合酶II转录调控区序列特异性结合”,以及“To11-样受体信号传导通路”是最富集的KEGG通路(表22)。当我们将前十个基因座映射到KEGG To11样受体信号传导通路时,我们发现具体的级联反应与通过NF- κ B和干扰素介导的JAK-STAT信号级联反应产生的促炎细胞因子和共刺激分子有关。

[0581] 由于观察到的不同DLBCL亚型的疾病进展差异,临床迫切需要一种可以区分ABC和GCB疾病亚型的简单可靠的测试。鉴于该疾病的侵袭性,DLBCL需要立即治疗。这两种主要亚型具有不同的临床管理范式,并且有几种针对具体亚型的治疗方式正在开发中,当临床管理依赖于了解疾病亚型时,快速准确的疾病诊断至关重要。DLBCL中的COO分类领域已从基于IHC的方法扩展到DNA微阵列、平行定量逆转录PCR(qRT-PCR)和数字基因表达。目前受欢迎的方法是基于GEP对FFPE组织的COO的识别,但受到一些技术和后勤限制,限制了其在临床环境中的广泛应用。此外,影响GEP对FFPE组织上COO分类的性能和可靠性的因素有很多;包括淋巴瘤标本的性质/质量,数据收集的实验方法;数据归一化和转换,所使用的分类器类型以及用于亚型分配的概率截止值。最后,使用Fluidigm方法从样本收集到最终读出一个复杂且耗时的过程,其间的许多步骤都有可能引入性能可变性。所有这些因素都会影

响分析的整体周转时间,并限制了它如何在临床上诊断和告知使用现有药物进行疾病治疗,以及选择患者进行新型DLBCL疗法的后期试验。因此,需要一种简单、微创且可靠的分析来区分DLBCL亚型。

[0582] 使用逐步发现方法,我们确定了一个6-标志物表观遗传生物标志物组套,所述DLBCL-CCS可以准确区分DLBCL亚型。与源自基因表达特征的亚型结果相比完全一致;这是意料之中的,因为这些是用于开发分类器的样本。当应用于具有中间LPS的样本时,两种分析之间的一致性较低(仅超过40%)。这可能是意料之中的,因为已经注意到使用不同分类方法的DLBCL亚型调用缺乏整体一致性,并且III型样本可能是一个更异质的群体,反映了更中间的生物学开始。然而,当我们评估EpiSwitch分析在III型DLBCL患者纵向病情进展中的预测分类能力时,基于观察到的未分类疾病患者的生存曲线使用EpiSwitch分析的疾病亚型的基线预测在预测实际疾病亚型方面更好。与基于转录的金标准分子方法相比,本文使用的基于调控性3D基因组学的表观遗传读出与实际临床结果更一致,这代表了DLBCL管理方面的可操作性进步。这也与作为与肿瘤条件的表型差异密切相关的分子模式的调控性3D基因组学的系统生物学评估一致。我们确实注意到DLBCL是在生物连续体上运行的,亚型之间的疾病生物学具有显著的异质性。根据设计,DLBCL-CCS的建立是为了将III型样本分为ABC或GCB亚型。根据GEX分析,III型样本被鉴定为具有中间亚型生物学,因此可能代表更异质的患者群体。然而,总体观察表明,与使用基于GEX的方法相比,DLBCL-CCS是通过临床进展测量的疾病亚型的更好的预测,且EpiSwitch分析能够在所有样本中作出亚型调用的事实,初步表明这种方法可以应用于临床环境以告知预后前景,可能指导治疗决策,并提供对当前正在开发的新型治疗药物反应的预测。

[0583] 在网络分析中,NF- κ B和STAT3信号级联作为区分DLBCL亚型的假定介质出现。之前已经研究了NF- κ B信号在DLBCL中的作用,事实上,ABC亚型的鉴别特征之一是NF- κ B靶基因的组成型表达,这是这些患者预后不良的假设机制。此外,导致组成型信号激活的突变主要在ABC亚型的多个NF- κ B通路基因中观察到,包括TNFAIP3和MYD88。

[0584] 除了验证DLBCL的已知机制外,这里的网络分析还确定了DLBCL治疗干预的新的潜在靶标。例如,ANXA11是一种钙调节的磷脂结合蛋白,其与其他肿瘤疾病如结直肠癌、胃癌和卵巢癌有关,并且可能是DLBCL的新治疗干预点。

[0585] 本文描述的DLBCL亚型方法的主要临床优势之一在于简化的实验室方法和工作流程。GEP的常规金标准亚型分型可以使用各种商业平台进行,但通常都遵循(并需要)四步方法:1)获取组织活检,2)制备FFPE组织切片3)基因表达分析和4)亚型的算法分类。获得扩大的外周淋巴结的细针组织活检的需要住院患者到临床现场就诊并需要麻醉的侵入性医疗程序。一旦获得,新鲜活检需要准备石蜡包埋。这是一个多步骤过程,但通常包括在液体固定剂(如福尔马林)中浸泡足够长的时间,使其渗透整个样本,通过乙醇梯度顺序脱水,然后在二甲苯(一种有毒化学物质)中清洗。最后,生物标本需要用石蜡浸润并冷却,使其凝固,然后可以使用切片机将其切成微米级别切片并固定到实验室载玻片上。从新鲜组织到载玻片上的FFPE切片的整个过程可能需要几天时间。接下来,为了进行基因表达分析,从载玻片固定的组织切片中提取内在不稳定的RNA,并根据阵列制造商的说明书准备与微阵列杂交,这个过程可能需要一天的时间。在微阵列杂交之后,获得相对基因表达水平的数字读出并将其输入分类算法以确定DLBCL亚型。总而言之,从疑似DLBCL患者到亚型读出的过程可能

需要长达一周或更长的时间,涉及使用昂贵技术的许多不同实验步骤,每个步骤都有可能在此过程中引入实验可变性。在本文描述的方法中,从生物流体收集到亚型读出的时间和步骤数量显著减少。疑似DLBCL的患者可以到门诊进行常规的小体积(约1mL)抽血。然后将新鲜冷冻的血液运送到经中央的、认可的参考实验室,以分析本研究中鉴定的染色体构象的不存在/存在;该过程使用更小体积(约50mL)的全血作为输入以及具体的PCR引物组和反应条件,在收到样品后不到24小时内使用简单和常规的PCR仪器检测染色体构象。此处描述的DLBCL亚型分型方法提供了额外的优势,即存在使用建议的方法学进行进一步细化的潜力。在这项研究中,DLBCL-CCS的最终读出是使用一组嵌套PCR反应来检测构成分类器的染色体构象。这种基于PCR的输出可以进一步细化,以利用定量PCR作为读出,并在实时定量PCR实验(MIQE)指南公布的最少信息下操作,旨在提高参考实验室和测试位点的实验重现性和可靠性。最后,本文描述的方法适用于对疾病本身不断发展的理解,例如疾病的不同生理异质形式。

[0586] 总之,在这里我们开发了一种稳健的补充方法,用于使用EpiSwitch CCS读出从全血样本中进行非侵入性C00分配。我们证明了这种分类方法对大规模的DLBCL患者队列的临床有效性。EpiSwitch平台作为具有临床实用性的生物标志物模式,具有几个吸引人的特点。CCS具有非常高的生化稳定性,可以使用非常少量的血液(通常约为50μl)进行检测,并且检测是利用已建立的实验室方法和标准PCR读出(包括符合MIQE的qPCR)进行的。最后,与Fluidigm平台的超过48小时的周转时间相比,EpiSwitch检测的快速周转时间(约8小时-16小时)更好。

[0587] 实施例6.犬类DLBCL的进一步研究

[0588] 在这里,我们使用EpiSwitch™平台技术来评估染色体构象特征(CCS)作为检测犬类弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)的生物标志物。我们检查了之前通过EpiSwitch™在人类DLBCL患者中表征的已建立的系统性液体活检生物标志物是否会转化到患有同源疾病的狗中。CCS从人到狗的直系同源序列转换首先在对照和淋巴瘤犬类队列中得到核实和验证。

[0589] 获得了来自患有DLBCL的狗和来自明显健康的狗的血液样本。所有被诊断患有DLBCL的狗都是LICKing淋巴瘤试验的一部分。在开始治疗之前和实验干预后第+5天,但在开始多柔比星(doxorubicin)化疗之前,从每只狗中获得血液样本。EpiSwitch™技术用于监测CCS的系统表观遗传生物标志物。

[0590] 用来自28只狗(14只被诊断为DLBCL,14只为没有明显疾病的对照)的全血生成11-标志物分类器来自人类DLBCL中鉴定的75个EpiSwitch CCS库。开发的诊断标志物的验证是在10只狗构成的第二队列上进行的:5只DLBCL和5只对照。在第二队列中,所述分类器以80%的准确度、80%的灵敏度、80%的特异性、80%的阳性预测值(PPV)和80%的阴性预测值(NPV)对DLBCL与非DLBCL进行分类。

[0591] 已建立的EpiSwitch™分类器包含强大的表观遗传失调的系统二元标志物,其特征通常归因于遗传标志物:这些分类标志物的二元状态对于诊断具有统计学显著性。

[0592]

	探针	基因座	探针_总计数
1	STAT3_17_40446029_40448202_40557923_40558616_RR	STAT3	1108
2	ANXA11_10_81889664_81892389_81927417_81929312_FR	ANXA11	136
3	CD40_20_44739847_44744687_44767157_44770555_FR	CD40	148
4	IFNAR1_21_34696683_34697716_34777569_34779811_RF	IFNAR1	80
5	MAP3K7_6_91275515_91285706_91312237_91314731_FF	MAP3K7	308
6	MEF2B_19_19271977_19273500_19302232_19303741_RF	MEF2B	448
7	MLLT3_9_20556478_20560948_20658310_20666368_FF	MLLT3	120
8	NFATc1_18_77133931_77135912_77218993_77220063_RF	NFATc1	608
9	NFKB1_4_103425293_103430397_103512508_103516923_FR	NFKB1	96
10	TNFRSF13C_22_42302849_42305750_42342568_42346797_FR	TNFRSF13C	488
11	BAX_19_49421750_49425644_49457303_49458439_RF	BAX	92
12	BCL6_3_187438677_187439687_187454088_187455426_FF	BCL6	240
13	IL22RA1_1_24467543_24471444_24512238_24513959_RF	IL22RA1	48
14	TNFRSF13C_22_42313974_42315085_42342568_42346797_RR	TNFRSF13C	488
15	FOXO1_13_41184194_41191166_41219134_41220693_FR	FOXO1	308
16	HLF_17_53402207_53403714_53420274_53422428_FF	HLF	104
17	PAK1_11_77028527_77036211_77090325_77094591_RF	PAK1	180
18	FOS_14_75744954_75746643_75795718_75799884_FF	FOS	80
19	MTHFR_1_11807586_11814341_11843522_11845650_RF	MTHFR	52
20	WNT9A_1_228068849_228075473_228135088_228140421_RR	WNT9A	40
21	NFATc1_18_77229964_77232215_77280170_77283702_FR	NFATc1	608
22	BRCA1_17_41162341_41168331_41242678_41245761_RR	BRCA1	297
23	TET2_4_106047220_106052671_106063962_106067377_FF	TET2	104
24	TNF_6_31525914_31529267_31542458_31544282_RF	TNF	68
25	NFATc1_18_77158863_77160420_77229964_77232215_FF	NFATc1	608
26	BCL6_3_187454088_187455426_187484009_187486420_FF	BCL6	240
27	MAPK13_6_36066232_36072387_36102587_36105090_FR	MAPK13	44
28	MLLT3_9_20319606_20322797_20621547_20622617_FR	MLLT3	120
29	TOP1_20_39656117_39657610_39725920_39729106_FR	TOP1	164
30	IFNAR1_21_34696683_34697716_34717312_34717993_RF	IFNAR1	80
31	SKP1_5_133465952_133470062_133512403_133513591_RR	SKP1	136
32	FZD10_12_130601147_130601992_130676699_130678204_FR	FZD10	124
33	ITGA5_12_54787051_54795949_54806686_54808428_FR	ITGA5	80
34	TNFRSF13B_17_16842268_16844133_16924802_16926550_RR	TNFRSF13B	128
35	BCL6_3_187438677_187439687_187454088_187455426_RR	BCL6	240
36	ITPR3_6_33600698_33604388_33678436_33680494_RR	ITPR3	100
37	MAP3K7_6_91275515_91285706_91312237_91314731_FF	MAP3K7	308
38	IFNAR1_21_34696683_34697716_34777569_34779811_RF	IFNAR1	80
39	NFATc1_18_77156086_77157023_77218993_77220063_RF	NFATc1	608
40	PRDM1_6_106483435_106485826_106500642_106506822_RF	PRDM1	120
41	IL-2RB_22_37532051_37533547_37544442_37546723_FR	IL-2RB	72
42	STAT3_17_40446029_40448202_40557923_40558616_RR	STAT3	1108
43	NFKB1_4_103405171_103418579_103512508_103516923_FR	NFKB1	96
44	CABLES1_18_20774415_20775705_20863570_20868210_RF	CABLES1	136
45	JDP2_14_75883183_75893682_75936165_75936958_FF	JDP2	80
46	NFATc1_18_77133931_77135912_77218993_77220063_RF	NFATc1	608
47	CASP3_4_185504966_185506889_185543536_185552493_FR	CASP3	88
48	REL_2_61074693_61075565_61108479_61109187_FR	REL	92
49	BTK_X_100610457_100612966_100667570_100670929_RF	BTK	404
50	BCL2A1_15_80256742_80257692_80285499_80286865_RR	BCL2A1	302
51	TNFRSF13C_22_42302849_42305750_42318166_42319783_FF	TNFRSF13C	488
52	CDKN2C_1_51402271_51403526_51439728_51440611_RR	CDKN2C	72

[0593]

[0594] 表5a

[0595]

	探针_计数_Sig	HyperG_Stats	FDR_HyperG	百分比_Sig
1	615	0.000000000125197189743782	0.0000000113929442666842	55.51
2	83	0.000391435	0.005936759	61.03
3	64	0.802231212	0.999999997	43.24
4	34	0.79036009	0.999999997	42.5
5	113	0.999793469	0.999999997	36.69
6	216	0.227265083	0.590889215	48.21
7	39	0.999297311	0.999999997	32.5
8	213	0.999999997	0.999999997	35.03
9	27	0.999920864	0.999999997	28.12
10	280	0.000000444123116904245	0.0000202076018191431	57.38
11	61	0.0000870841188293703	0.001584931	66.3
12	86	0.999659646	0.999999997	35.83
13	14	0.995140179	0.999999997	29.17
14	280	0.000000444123116904245	0.0000202076018191431	57.38
15	148	0.294116072	0.669114065	48.05
16	44	0.824486728	0.999999997	42.31
17	89	0.224299285	0.590889215	49.44
18	31	0.931715515	0.999999997	38.75
19	30	0.066847306	0.221674157	57.69
20	21	0.267230575	0.639946904	52.5
21	213	0.999999997	0.999999997	35.03
22	173	0.0000217239097176038	0.000658959	58.25
23	58	0.033733587	0.145711753	55.77
24	18	0.999770934	0.999999997	26.47
25	213	0.999999997	0.999999997	35.03
26	86	0.999659646	0.999999997	35.83
27	18	0.81000526	0.999999997	40.91
28	39	0.999297311	0.999999997	32.5
29	71	0.808882973	0.999999997	43.29
30	34	0.79036009	0.999999997	42.5
31	72	0.072624208	0.221674157	52.94
32	43	0.996927827	0.999999997	34.68
33	40	0.293962898	0.669114065	50
34	76	0.002030583	0.01918923	59.38
35	86	0.999659646	0.999999997	35.83
36	48	0.409333853	0.903779884	48
37	113	0.999793469	0.999999997	36.69
38	34	0.79036009	0.999999997	42.5
39	213	0.999999997	0.999999997	35.03
40	47	0.9542933	0.999999997	39.17
41	24	0.991079692	0.999999997	33.33
42	615	0.000000000125197189743782	0.0000000113929442666842	55.51
43	27	0.999920864	0.999999997	28.12

[0596]

44	59	0.784673088	0.999999997	43.38
45	36	0.639258785	0.999999997	45
46	213	0.999999997	0.999999997	35.03
47	39	0.688804514	0.999999997	44.32
48	30	0.997411174	0.999999997	32.61
49	182	0.722716922	0.999999997	45.05
50	166	0.00150308	0.01918923	54.97
51	280	0.000000444123116904245	0.0000202076018191431	57.38
52	30	0.821366544	0.999999997	41.67

[0597] 表5b

[0598]

	logFC	AveExpr	t	P.值	adj.P.Val
1	0.102545415	0.102545415	2.181691533	0.06115714	0.124690581
2	0.146814815	0.146814815	3.078806942	0.015395162	0.044697142
3	0.247739738	0.247739738	4.372950932	0.002449301	0.012749359
4	0.098641538	0.098641538	1.475225491	0.178893946	0.27926686
5	0.098390923	0.098390923	2.270415909	0.053292308	0.112564482
6	0.246810388	0.246810388	5.953590771	0.000359019	0.0048119
7	0.194400918	0.194400918	2.492510608	0.037760627	0.086786653
8	0.117865744	0.117865744	1.424258285	0.19268713	0.295560888
9	0.253919456	0.253919456	1.95465634	0.086862876	0.161472968
10	0.210247736	0.210247736	2.234440593	0.056352274	0.11719604
11	-0.050897988	-0.050897988	-0.745725763	0.477453286	0.587468355
12	-0.030722825	-0.030722825	-1.143761644	0.28622615	0.400334573
13	-0.019224434	-0.019224434	-0.418322829	0.686861761	0.767615441
14	-0.014186527	-0.014186527	-0.069260125	0.946505227	0.961540839
15	-0.010289959	-0.010289959	-0.21611469	0.834379395	0.881581711
16	0.007162022	0.007162022	0.173838071	0.866368809	0.905364254
17	0.008581354	0.008581354	0.16838944	0.870512196	0.90817036
18	0.009594682	0.009594682	0.192008457	0.852583784	0.895087864
19	0.013062105	0.013062105	0.2898133	0.779427179	0.840001078
20	0.027459614	0.027459614	0.78838239	0.453500365	0.565397223
21	0.0309953	0.0309953	0.401906143	0.698417087	0.776651512
22	0.03119071	0.03119071	0.46421066	0.655032665	0.743235083
23	0.031952076	0.031952076	0.423263408	0.683401141	0.76482198
24	0.036397064	0.036397064	1.012029864	0.341541187	0.45879384
25	0.036449121	0.036449121	0.881245015	0.404223195	0.519301224
26	0.039792262	0.039792262	1.09873788	0.304267251	0.419987316
27	0.044981037	0.044981037	0.742965178	0.479031667	0.588704315
28	0.048157816	0.048157816	1.006274544	0.344135022	0.461283259
29	0.05692752	0.05692752	0.774540503	0.461182853	0.572336767
30	0.068999319	0.068999319	1.087503347	0.308907593	0.424307342
31	0.073674257	0.073674257	1.37062465	0.208203798	0.314180912
32	0.07496163	0.07496163	1.975529647	0.084116625	0.157842633
33	0.077618589	0.077618589	1.073493376	0.314772637	0.430505827
34	0.080234671	0.080234671	1.659676531	0.136077489	0.226348123
35	0.090602356	0.090602356	2.111185324	0.068216955	0.135104089
36	0.098319301	0.098319301	1.04377977	0.327501414	0.444140656
37	0.098390923	0.098390923	2.270415909	0.053292308	0.112564482
38	0.098641538	0.098641538	1.475225491	0.178893946	0.27926686
39	0.099162732	0.099162732	1.292936726	0.232594904	0.342880489
40	0.101277922	0.101277922	1.410506969	0.196565747	0.3002884
41	0.101676827	0.101676827	1.927111422	0.090619506	0.166768298
42	0.102545415	0.102545415	2.181691533	0.06115714	0.124690581

[0599]

43	0.103364871	0.103364871	1.06297419	0.319233722	0.435153018
44	0.106978686	0.106978686	1.092750486	0.30673336	0.422367497
45	0.116604657	0.116604657	2.102936835	0.06909355	0.136425239
46	0.117865744	0.117865744	1.424258285	0.19268713	0.295560888
47	0.12582798	0.12582798	4.245528735	0.002904342	0.014151256
48	0.125971304	0.125971304	1.693676294	0.129294906	0.217785184
49	0.127634089	0.127634089	5.070996787	0.001004634	0.007593027
50	0.132678146	0.132678146	2.405792667	0.043193622	0.095959776
51	0.141794844	0.141794844	2.06833857	0.072892271	0.142181615
52	0.143309126	0.143309126	2.511399626	0.036672127	0.085032085

[0600] 表5c

[0601]

	B	FC	FC_1	LS	检出环
1	-4.804209212	1.073666112	1.073666112	1	DBLCL
2	-3.422371897	1.107122465	1.107122465	1	DBLCL
3	-1.514951748	1.18734545	1.18734545	1	DBLCL
4	-5.804534479	1.070764741	1.070764741	1	DBLCL
5	-4.669835237	1.070578751	1.070578751	1	DBLCL
6	0.493437892	1.186580836	1.186580836	1	DBLCL
7	-4.329420018	1.14424891	1.14424891	1	DBLCL
8	-5.869405345	1.085128386	1.085128386	1	DBLCL
9	-5.141601134	1.192442298	1.192442298	1	DBLCL
10	-4.724458483	1.156886824	1.156886824	1	DBLCL
11	-6.575035413	0.965335281	-1.035909513	-1	Ctrl
12	-6.200305189	0.978929707	-1.021523806	-1	Ctrl
13	-6.778021016	0.986763027	-1.01341454	-1	Ctrl
14	-6.87182168	0.990214838	-1.009881857	-1	Ctrl
15	-6.848536344	0.99289292	-1.007157952	-1	Ctrl
16	-6.85768141	1.004976678	1.004976678	1	DBLCL
17	-6.858716992	1.005965867	1.005965867	1	DBLCL
18	-6.85399155	1.00667269	1.00667269	1	DBLCL
19	-6.827923501	1.009095073	1.009095073	1	DBLCL
20	-6.54111486	1.019215847	1.019215847	1	DBLCL
21	-6.785369028	1.021716754	1.021716754	1	DBLCL
22	-6.755996218	1.021855153	1.021855153	1	DBLCL
23	-6.775754566	1.022394568	1.022394568	1	DBLCL
24	-6.338031258	1.025549454	1.025549454	1	DBLCL
25	-6.461788363	1.02558646	1.02558646	1	DBLCL
26	-6.248771887	1.027965796	1.027965796	1	DBLCL
27	-6.5771745	1.031669619	1.031669619	1	DBLCL
28	-6.343758805	1.033943833	1.033943833	1	DBLCL
29	-6.552299411	1.040248004	1.040248004	1	DBLCL
30	-6.260644426	1.048988833	1.048988833	1	DBLCL
31	-5.936215307	1.05239351	1.05239351	1	DBLCL
32	-5.111051252	1.053333021	1.053333021	1	DBLCL
33	-6.275323888	1.055274694	1.055274694	1	DBLCL
34	-5.559658058	1.05718999	1.05718999	1	DBLCL
35	-4.910091268	1.064814672	1.064814672	1	DBLCL
36	-6.305987164	1.070525603	1.070525603	1	DBLCL
37	-4.669835237	1.070578751	1.070578751	1	DBLCL

[0602]

38	-5.804534479	1.070764741	1.070764741	1	DBLCL
39	-6.030168045	1.071151639	1.071151639	1	DBLCL
40	-5.886680521	1.072723247	1.072723247	1	DBLCL
41	-5.181746622	1.073019896	1.073019896	1	DBLCL
42	-4.804209212	1.073666112	1.073666112	1	DBLCL
43	-6.286252837	1.074276132	1.074276132	1	DBLCL
44	-6.255110449	1.076970465	1.076970465	1	DBLCL
45	-4.922419619	1.08418027	1.08418027	1	DBLCL
46	-5.869405345	1.085128386	1.085128386	1	DBLCL
47	-1.693141948	1.091133768	1.091133768	1	DBLCL
48	-5.512969318	1.091242172	1.091242172	1	DBLCL
49	-0.581917188	1.092500613	1.092500613	1	DBLCL
50	-4.462886317	1.096326979	1.096326979	1	DBLCL
51	-4.97398611	1.103276839	1.103276839	1	DBLCL
52	-4.300278466	1.104435469	1.104435469	1	DBLCL

[0603] 表5d

	探针序列	探针位置
	60 mer	Chr
1	GGGTTTCACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTCGAACTCCCGACCTCAGGTGATCCGCCCGCC	17
2	GAGGGGCCTCTGGAGGGGGCGGGTCTCTCGATGCCTGGCCTCCACAGCACATGTGAGCA	10
3	GAGGCTTTTATGCAGGAAAGTGTCAGTCGAGGGACTGGCAGCAGGGGGACAGCAAGGG	20
4	ACCTCTCTTAATTTCTCAGCCATTCTTCGACCGCCTCTGCCCCGCTCTCGCTCTGCAC	21
5	TGTGAAGGGAGGGGAGGAGAAAAGAAAATCGAAACAAGCTTAGAAGCAGACACTTGCCCA	6
6	TGGGGGAGCTCTGGGGTGGGGGTAGCGGTCGATGGGTCCTGATGCCTCTCAGAAGGCCTT	19
7	ACATTTCAAATCCTCTCTTCTAGCTACCTCGAACTTCTGAGCTCAAGCAATCTTCCACCT	9
8	CTAGAGGAGAGAGGGATGCCAGGCTCTATCGAGTCTGAGTTCGTCCACGTGGTGCCATC	18
9	TCTTTATGGTGCTCTTTATATATTTACTCGAGGCTGCAGTGAGCTATAATTGCACCACT	4
10	ACGGGCAGACAGGACCCAGCCATGCCTCGACCCACTCCCGGGGGGATCGGGACACCGC	22
11	TCCCTGCCTCTCTGGCGCTCTCGACCCCTCGAACCTCCCTTTGATCTATTCCATTCTCA	19
12	AGATCCGTGTCTGCCTGCAGATACAAAATCGAGGTGGATCGCCAGGGGCGGGCAGTCCC	3
13	GGGGGGGGGAGCGCGCCGGTCCCCGCGCTCGAAGGCTGCCCTCCTCTCTGAATTTGGGTT	1
14	ACCCAAACACGCGCAGACACCCGCACACTCGACCCACTCCCGGGGGGATCGGGACACCGC	22
15	CACACCGCCCTACTGGATCCAAGTCACTCGAGACAACACTGAAAACACAAAGGCATTTA	13
16	TAGACTAGCGCCAGCTTTGTGCAACAAGGTGCACACCCTCTCCCAACCTCTGTCAAGAA	17
17	AGGGTTTCACCATGTTGCCAGGCTGGTCTCGAGACCATCTGGCTAATACGGTGAAACCC	11
18	CAACTTCATTCCCACGGTCACTGCCATCTCGACCCACCAATAGAGCAACTCCCTGAGAGG	14
19	CCATCAGCAAAGATGAACCTGGCACCTCTCGACGCCATAAGCATGGTGAGCCAGGGTGGG	1
20	TTCCAGTTCATAAAGATTTAAACAACATTCGAGAAGAGAAAGGGGGGAAGCTGCTAGGT	1
21	CCCCGTGCACAGATCCACACCCAGGGTCGAAGCCCTCCGGGCCCTCACGGGAGGGG	18
22	AATTGCTCATTATGGCTCACTGCAGCCTCGAAGGTTTAGCTTATTCAATAAAATCAGTA	17
23	GCTGAAAGTTATTACTTTGTTTTCCCATCGAGGTCCGCGCACACGCCCCCGCGCGCAC	4
24	AGCTGTTCTCTTTAAGGGTGACTCCCTCGACCCACAGTGTGAGGGCTCCAGCCAGA	6
25	GCCATGACGGGGCTGGAGGACCAGGAGTTCGACCCTGGGTGGTGATCTGTGCACGGGG	18
26	GGGACTGCCCCCCTGGGCGATCCACCTCGATGTCAAATGGTTCTTGCTTCACCTCT	3
27	GGGTTTCACCGTGTAGCCAGGATGGTCTCGAGACCAGCCTGGCCAACATGGCAAAACCC	6
28	CTGTATTAGATTTTACATGCATGAGACTCGAACCAGCCCCGCAACACACTTTCAAGA	9
29	ACAGTACCCGCCGCTTACCTGCGCTCTCTGACCATGAATATACTACCAAGGAAATATTT	20
30	CATGTGTTATTTCCCAATCTGGAAGACTCGACCGCCTCTGCCCGCTCTCGCTCTGCAC	21
31	TGCCCCCTAAGCCCTCAGACTACAACAATCGACAACGCGATCCACCGGGCCCGAAAGAAG	5
32	ACCAGGGGGCCCAAAGAGGGGGTCAAGGCTCGAATCAAAGGGTTTCTGGATCCCTAGGTGT	12
33	TCTAGAGGGGTATCCTCCCAATCCCACTCGACCCAGCCTCTGGACCACTGCTCTGCCA	12
34	CCTGTGGTGCCCCATCTCACCAGGCTCTCGATGATGCCACAAGTGCCGTGCCACAGCAG	17
35	GGGTTTGGCATGTGGGCCAGGCTGGTCTCGAGATAGGCAAAGAGAGATAGACTAATCG	3
36	CACAGACACAACCCAGGCTCCATCTACTCGATCACAGTACTTATCTGTCTTACGTACAC	6
37	TGTGAAGGGAGGGGAGGAGAAAAGAAAATCGAAACAAGCTTAGAAGCAGACACTTGCCCA	6
38	ACCTCTCTTAATTTCTCAGCCATTCTTCGACCGCCTCTGCCCCGCTCTCGCTCTGCAC	21
39	CTAGAGGAGAGAGGGATGCCAGGCTCTATCGATGACTTTCCTCCGGGGCGCGCGCGCTG	18
40	TCAAGAACTCATGGTTCTTAAAGATCACTCGAGGCTGCAGTGAGCTATGATAATGCCACA	6
41	CCACCATCCACCTGGGGCTGAGGGGACCTCGAGTTTGAGCACCCCTCTGGGTCTCAG	22
42	GGGTTTCACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTCGAACTCCCGACCTCAGGTGATCCGCCCGCC	17
43	ATACCAACCCAGAAATAAAGTCATTCTCGAGGCTGCAGTGAGCTATAATTGCACCACT	4
44	GTTCTCTACCTGATCACACCTGGTTTATCGAACTCTCTCAGGTTACCCAGACCAAGA	18
45	TATCTGGCTTAGGCAGAAAGGTAGGGGGCTCGAGTGATTATAGAAATCCATATATATTG	14
46	CTAGAGGAGAGAGGGATGCCAGGCTCTATCGAGTCTGAGTTCGTCCACGTGGTGCCATC	18
47	AACAGCAGCATTAGATTCTCATAGGAATCGAGTGCATGAACAATCTTTTCTTTAACA	4
48	CATTCTAGTGCCAGGACCCATCTCAGGTCGACCCCTCCCAAGCCAGCCGCCGACGAG	2
49	CACTACTACCCAGGAAAGTGATGGGAGGTGAGATTGAGGAAATGGAGAGTACATGCCT	X
50	AGTGGCGCAATCTTGCTAACTGCAGCCTCGAGACCATCCTACATGGTGAAACCCCGTCT	15
51	ACGGGCAGACAGGACCCAGCCATGCCTCGAGCTGAAGGAACATGCTGGCAGGTAGCTC	22
52	ATATTAATTTGCTTACATAGAATGAAGGTGAGGATAATGAAGGGAACCTGCCCTTGCAC	1

[0605] 表5e

[0607]

	探针位置				4 kb 序列位置		
	起始 1	终止 1	起始 2	终止 2	Chr	起始 1	终止 1
1	40446029	40446060	40557923	40557954	17	40446029	40450030
2	81892358	81892389	81927417	81927448	10	81888388	81892389
3	44744656	44744687	44767157	44767188	20	44740686	44744687
4	34696683	34696714	34779780	34779811	21	34696683	34700684
5	91285675	91285706	91314700	91314731	6	91281705	91285706
6	19271977	19272008	19303710	19303741	19	19271977	19275978
7	20560917	20560948	20666337	20666368	9	20556947	20560948
8	77133931	77133962	77220032	77220063	18	77133931	77137932
9	103430366	103430397	103512508	103512539	4	103426396	103430397
10	42305719	42305750	42342568	42342599	22	42301749	42305750
11	49421750	49421781	49458408	49458439	19	49421750	49425751
12	187439656	187439687	187455395	187455426	3	187435686	187439687
13	24467543	24467574	24513928	24513959	1	24467543	24471544
14	42313974	42314005	42342568	42342599	22	42313974	42317975
15	41191135	41191166	41219134	41219165	13	41187165	41191166
16	53403683	53403714	53422397	53422428	17	53399713	53403714
17	77028527	77028558	77094560	77094591	11	77028527	77032528
18	75746612	75746643	75799853	75799884	14	75742642	75746643
19	11807586	11807617	11845619	11845650	1	11807586	11811587
20	228068849	228068880	228135088	228135119	1	228068849	228072850
21	77232184	77232215	77280170	77280201	18	77228214	77232215
22	41162341	41162372	41242678	41242709	17	41162341	41166342
23	106052640	106052671	106067346	106067377	4	106048670	106052671
24	31525914	31525945	31544251	31544282	6	31525914	31529915
25	77160389	77160420	77232184	77232215	18	77156419	77160420
26	187455395	187455426	187486389	187486420	3	187451425	187455426
27	36072356	36072387	36102587	36102618	6	36068386	36072387
28	20322766	20322797	20621547	20621578	9	20318796	20322797
29	39657579	39657610	39725920	39725951	20	39653609	39657610
30	34696683	34696714	34717962	34717993	21	34696683	34700684
31	133465952	133465983	133512403	133512434	5	133465952	133469953

[0608]

32	130601961	130601992	130676699	130676730	12	130597991	130601992
33	54795918	54795949	54806686	54806717	12	54791948	54795949
34	16842268	16842299	16924802	16924833	17	16842268	16846269
35	187438677	187438708	187454088	187454119	3	187438677	187442678
36	33600698	33600729	33678436	33678467	6	33600698	33604699
37	91285675	91285706	91314700	91314731	6	91281705	91285706
38	34696683	34696714	34779780	34779811	21	34696683	34700684
39	77156086	77156117	77220032	77220063	18	77156086	77160087
40	106483435	106483466	106506791	106506822	6	106483435	106487436
41	37533516	37533547	37544442	37544473	22	37529546	37533547
42	40446029	40446060	40557923	40557954	17	40446029	40450030
43	103418548	103418579	103512508	103512539	4	103414578	103418579
44	20774415	20774446	20868179	20868210	18	20774415	20778416
45	75893651	75893682	75936927	75936958	14	75889681	75893682
46	77133931	77133962	77220032	77220063	18	77133931	77137932
47	185506858	185506889	185543536	185543567	4	185502888	185506889
48	61075534	61075565	61108479	61108510	2	61071564	61075565
49	100610457	100610488	100670898	100670929	X	100610457	100614458
50	80256742	80256773	80285499	80285530	15	80256742	80260743
51	42305719	42305750	42319752	42319783	22	42301749	42305750
52	51402271	51402302	51439728	51439759	1	51402271	51406272

[0609] 表5f

[0610]

	4 kb 序列位置		探针
	起始 2	终止 2	
1	40557923	40561924	STAT3_17_40446029_40448202_40557923_40558616_RR
2	81927417	81931418	ANXA11_10_81889664_81892389_81927417_81929312_FR
3	44767157	44771158	CD40_20_44739847_44744687_44767157_44770555_FR
4	34775810	34779811	IFNAR1_21_34696683_34697716_34777569_34779811_RF
5	91310730	91314731	MAP3K7_6_91275515_91285706_91312237_91314731_FF
6	19299740	19303741	MEF2B_19_19271977_19273500_19302232_19303741_RF
7	20662367	20666368	MLLT3_9_20556478_20560948_20658310_20666368_FF
8	77216062	77220063	NFATc1_18_77133931_77135912_77218993_77220063_RF
9	103512508	103516509	NFKB1_4_103425293_103430397_103512508_103516923_FR
10	42342568	42346569	TNFRSF13C_22_42302849_42305750_42342568_42346797_FR
11	49454438	49458439	BAX_19_49421750_49425644_49457303_49458439_RF
12	187451425	187455426	BCL6_3_187438677_187439687_187454088_187455426_FF
13	24509958	24513959	IL22RA1_1_24467543_24471444_24512238_24513959_RF
14	42342568	42346569	TNFRSF13C_22_42313974_42315085_42342568_42346797_RR
15	41219134	41223135	FOXO1_13_41184194_41191166_41219134_41220693_FR
16	53418427	53422428	HLF_17_53402207_53403714_53420274_53422428_FF
17	77090590	77094591	PAK1_11_77028527_77036211_77090325_77094591_RF
18	75795883	75799884	FOS_14_75744954_75746643_75795718_75799884_FF
19	11841649	11845650	MTHFR_1_11807586_11814341_11843522_11845650_RF
20	228135088	228139089	WNT9A_1_228068849_228075473_228135088_228140421_RR
21	77280170	77284171	NFATc1_18_77229964_77232215_77280170_77283702_FR
22	41242678	41246679	BRCA1_17_41162341_41168331_41242678_41245761_RR
23	106063376	106067377	TET2_4_106047220_106052671_106063962_106067377_FF
24	31540281	31544282	TNF_6_31525914_31529267_31542458_31544282_RF
25	77228214	77232215	NFATc1_18_77158863_77160420_77229964_77232215_FF
26	187482419	187486420	BCL6_3_187454088_187455426_187484009_187486420_FF
27	36102587	36106588	MAPK13_6_36066232_36072387_36102587_36105090_FR
28	20621547	20625548	MLLT3_9_20319606_20322797_20621547_20622617_FR
29	39725920	39729921	TOP1_20_39656117_39657610_39725920_39729106_FR

[0611]

30	34713992	34717993	IFNAR1_21_34696683_34697716_34717312_34717993_RF
31	133512403	133516404	SKP1_5_133465952_133470062_133512403_133513591_RR
32	130676699	130680700	FZD10_12_130601147_130601992_130676699_130678204_FR
33	54806686	54810687	ITGA5_12_54787051_54795949_54806686_54808428_FR
34	16924802	16928803	TNFRSF13B_17_16842268_16844133_16924802_16926550_RR
35	187454088	187458089	BCL6_3_187438677_187439687_187454088_187455426_RR
36	33678436	33682437	ITPR3_6_33600698_33604388_33678436_33680494_RR
37	91310730	91314731	MAP3K7_6_91275515_91285706_91312237_91314731_FF
38	34775810	34779811	IFNAR1_21_34696683_34697716_34777569_34779811_RF
39	77216062	77220063	NFATc1_18_77156086_77157023_77218993_77220063_RF
40	106502821	106506822	PRDM1_6_106483435_106485826_106500642_106506822_RF
41	37544442	37548443	IL-2RB_22_37532051_37533547_37544442_37546723_FR
42	40557923	40561924	STAT3_17_40446029_40448202_40557923_40558616_RR
43	103512508	103516509	NFKB1_4_103405171_103418579_103512508_103516923_FR
44	20864209	20868210	CABLES1_18_20774415_20775705_20863570_20868210_RF
45	75932957	75936958	JDP2_14_75883183_75893682_75936165_75936958_FF
46	77216062	77220063	NFATc1_18_77133931_77135912_77218993_77220063_RF
47	185543536	185547537	CASP3_4_185504966_185506889_185543536_185552493_FR
48	61108479	61112480	REL_2_61074693_61075565_61108479_61109187_FR
49	100666928	100670929	BTX_X_100610457_100612966_100667570_100670929_RF
50	80285499	80289500	BCL2A1_15_80256742_80257692_80285499_80286865_RR
51	42315782	42319783	TNFRSF13C_22_42302849_42305750_42318166_42319783_FF
52	51439728	51443729	CDKN2C_1_51402271_51403526_51439728_51440611_RR

[0612] 表5g

[0613]

内部_引物			
	PCR-引物 1_ID	PCR_引物 1	PCR-引物 2_ID
1	OBD RD048.001	GGAAGACCCCTTTGTGACCTGG	OBD RD048.003
2	OBD RD048.005	CAAGACCTCACCCAATGC	OBD RD048.007
3	OBD RD048.009	GAGGAAGGGTGTGCTTTG	OBD RD048.011
4	OBD RD048.013	TGGTCAGACGAGATGCCAAG	OBD RD048.015
5	OBD RD048.017	GTTTGGGACATCAGAAATACAG	OBD RD048.019
6	OBD RD048.021	CTAAGTCTTAAAGGGCCAGAG	OBD RD048.023
7	OBD RD048.025	CAGAGAGGATAGCCTTACAC	OBD RD048.027
8	OBD RD048.029	TGCTTCATGAAACTCAGATGG	OBD RD048.031
9	OBD RD048.033	ACAGCAGTCCAACAATAGTC	OBD RD048.035
10	OBD RD048.037	GTTGAGGCAGACAGAAGAG	OBD RD048.039
11	OBD RD048.041	TCGGAGGTTCCTGGCTCTCTGAT	OBD RD048.043
12	OBD RD048.045	TTTCTCAATAAAGATTCTCAGAT	OBD RD048.047
13	OBD RD048.049	TAGGATTCACTGAGAAGGTCCCT	OBD RD048.051
14	OBD RD048.053	CCTCTCTCTGAGTCTTGAGTTTC	OBD RD048.055
15	OBD RD048.057	GATGGAGAAAGGAGCAAGGAACCAGG	OBD RD048.059
16	OBD RD048.061	GGCTGATGGTATGGGAATGGGTGG	OBD RD048.063
17	OBD RD048.065	ACCCAGTTACTTGTGTATTTGC	OBD RD048.067
18	OBD RD048.069	GGCTTTCCCCTTCTGTTTTGTTT	OBD RD048.071
19	OBD RD048.073	CTCTGACAAGCAACTCTGAATCC	OBD RD048.075
20	OBD RD048.077	GCTTCAAAGAGTGTGATTATGTAAAA	OBD RD048.079
21	OBD RD048.081	AATAACTGTGGCATCGGAGAGGT	OBD RD048.083
22	OBD RD048.085	AAGTCTCAATGCCACCCAGGCTG	OBD RD048.087
23	OBD RD048.089	TGTATCCCTCTGTTATCATCCC	OBD RD048.091
24	OBD RD048.093	CAGACACCTCAGGGCTAAGAGCG	OBD RD048.095
25	OBD RD048.097	GGGAGAACCGAACCCCTGGCGGC	OBD RD048.099
26	OBD RD048.101	TACCCACCCCGACCACTCCGTA	OBD RD048.103
27	OBD RD048.105	GGAATACAAGTGTGTGCCACCAC	OBD RD048.107

[0614]

28	OBD RD048.109	CTTTGGGCTTGAAGGCTTTGTTC	OBD RD048.111
29	OBD RD048.113	AGCCTCAGCCGTTTCTGGAGTCTCGG	OBD RD048.115
30	OBD RD048.117	TCTAACCCCACTTCTGCCAGTAA	OBD RD048.119
31	OBD RD048.121	CGGTTCTCATTTCCTTCTTTGC	OBD RD048.123
32	OBD RD048.125	CAAATGAGAGCCTCCAAGACAGC	OBD RD048.127
33	OBD RD048.129	TGGTTCACGGCAAAGTAGTACA	OBD RD048.131
34	OBD RD048.133	TCTATCATTTCCTGGGCATCAG	OBD RD048.135
35	OBD RD048.137	CCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAGC	OBD RD048.139
36	OBD RD048.141	TGGATGGAACCCCTGAGCCACACAGC	OBD RD048.143
37	OBD RD048.145	GGTTAGTCTTCTGCCTTCAAAG	OBD RD048.147
38	OBD RD048.149	CAGACGAGATGCCAAGTGCTTTA	OBD RD048.151
39	OBD RD048.153	TGCTGGAGTGAAAACGCCTCTTT	OBD RD048.155
40	OBD RD048.157	TCATAATGTCAAGTGTCTGTCA	OBD RD048.159
41	OBD RD048.161	GCTTTCTGAATCTTCCCTGGTG	OBD RD048.163
42	OBD RD048.165	CCTGCCTCAGCCGCCGAGTAGC	OBD RD048.167
43	OBD RD048.169	CCTCCCACTTTTGATGGCACTGC	OBD RD048.171
44	OBD RD048.173	CCCACATTTCTTCTTCTGTT	OBD RD048.175
45	OBD RD048.177	CTTCTATGGGTGATGACCTGACA	OBD RD048.179
46	OBD RD048.181	TGCTGGAGTGAAAACGCCTCTTT	OBD RD048.183
47	OBD RD048.185	CCATCGCTCACATCATTACCTGA	OBD RD048.187
48	OBD RD048.189	ACATACAGTCAGTAGGAGCCTTG	OBD RD048.191
49	OBD RD048.193	GCTCCAACACTCACATCTAACAC	OBD RD048.195
50	OBD RD048.197	GTATTTTGTGTTTGTGTTT	OBD RD048.199
51	OBD RD048.201	CTCCAAGACACCACTGCCGTTGAGGC	OBD RD048.203
52	OBD RD048.205	GCCTCATTTCTGTCCTCTTTGA	OBD RD048.207

[0615] 表5h

[0616]

	内部_引物 PCR_引物 2	基因	标志物	GLMNET
1	TCACCATTGTTCAACACAC	STAT3	OBD RD048.001.003	2.08E-08
2	CAGTTGTGGAGGCTCAATAC	ANXA11	OBD RD048.005.007	0.00000056
3	GGAAGGAAAGCCAGTGAAG	CD40	OBD RD048.009.011	0.00000449
4	ACCCTAGAGTCTTGGACAG	IFNAR1	OBD RD048.013.015	0.000000838
5	ATCCCTAGGGCACTGAAC	MAP3K7	OBD RD048.017.019	0.00000156
6	CATACAAGGATGGAGTGACC	MEF2B	OBD RD048.021.023	0.00000137
7	AGTGTCTTGCCCTGTAATC	MLLT3	OBD RD048.025.027	0.0000046
8	AGCCTAAGCTGAGGAACTC	NFATc1	OBD RD048.029.031	0.00000181
9	AACTCCTAATGAGAAAGTCTGC	NFKB1	OBD RD048.033.035	0.00000178
10	GGTCGGGTAGTAGAGAGTG	TNFRSF13C	OBD RD048.037.039	0.000000402
11	GGACAGGTAACACGGGTCTCCC	BAX	OBD RD048.041.043	-0.000000273
12	TACCCACCCCGACCACTCCGTA	BCL6	OBD RD048.045.047	0.000000154
13	CACCTTGCGTAGAGGCAGTAGACCCC	IL22RA1	OBD RD048.049.051	-0.000000967
14	AATGTCCTCCGAGCCGCTGCTGG	TNFRSF13C	OBD RD048.053.055	2.13E-08
15	GGTGTGAGGTAAGAAGTCATAGCCAT	FOXO1	OBD RD048.057.059	0.00000117
16	CACAGAGCCTGCCATCCTCACAT	HLF	OBD RD048.061.063	0.000000324
17	ACTACAGGTGCCGCCACAAGGC	PAK1	OBD RD048.065.067	-4.86E-08
18	GGGATGGAGCAGGAAGGAGAGAGAGG	FOS	OBD RD048.069.071	0.00000028
19	TATGTCTTGCCCTGTGCTGCGGCTCC	MTHFR	OBD RD048.073.075	0.000000306
20	ATCAGGTCCCGACTTCCTTGGGC	WNT9A	OBD RD048.077.079	0.00000596
21	AACACCGAGACACCCGAGTCCCTCC	NFATc1	OBD RD048.081.083	0.000000396
22	GACTGCTCAGGGCTATCCTCTCAG	BRCA1	OBD RD048.085.087	-0.000000314
23	AGAGGTGCCAGTGGGTGGAGGCG	TET2	OBD RD048.089.091	0.000000105
24	GCTCTCCTCCTGCTGTCGCCAG	TNF	OBD RD048.093.095	0.00000119
25	GGGCGGCTGTGAAACTGAGGTCC	NFATc1	OBD RD048.097.099	0.00000232

[0617]

26	AGGAAAGGCTTCACTGAGCATCA	BCL6	OBD RD048.101.103	0.00000193
27	TTTGTATTCTTAGTAGAGACGGG	MAPK13	OBD RD048.105.107	-5.18E-08
28	GCCCCGCCCTGCCTTTCTGAAT	MLLT3	OBD RD048.109.111	0.00000156
29	CTCTTGTTGGACAGAAACCTAC	TOP1	OBD RD048.113.115	4.09E-08
30	TGAGCGACCAGACCGTTGCTGTGTC	IFNAR1	OBD RD048.117.119	0.000000517
31	CGCCCACTGAACTGGAAAGGGTCGTG	SKP1	OBD RD048.121.123	0.000000786
32	AGAAGTGCCAGTCTACATACACC	FZD10	OBD RD048.125.127	0.00000223
33	AGGCAGACACAGAGCAGAGCAGAGGC	ITGA5	OBD RD048.129.131	0.00000124
34	GGTCTCCCTCCTACCACACTGGCAT	TNFRSF13B	OBD RD048.133.135	0.000000638
35	TGAAGTTTGGTAAAGACCGAGTT	BCL6	OBD RD048.137.139	0.000000206
36	TGTTCTTGCTTTCTCCAGGTTG	ITPR3	OBD RD048.141.143	0.000000731
37	CTGTGGGTGGAAGAGGCTCAGGCATC	MAP3K7	OBD RD048.145.147	0.00000156
38	TGAGCGACCAGACCGTTGCTGTGTC	IFNAR1	OBD RD048.149.151	0.000000838
39	TTTCTCTCTCCGAAGACCGCAGCC	NFATc1	OBD RD048.153.155	0.00000132
40	CTCTCTCTGTCAACCCAGGCTG	PRDM1	OBD RD048.157.159	0.00000243
41	CGTAGGCATCCGTGGGTGTGACCACT	IL-2RB	OBD RD048.161.163	0.000000378
42	CGCCTGTAATCCAGAACCTTGG	STAT3	OBD RD048.165.167	2.08E-08
43	GTCTCACTCTGTTGCCAGGCTG	NFKB1	OBD RD048.169.171	0.00000135
44	TTCTTGATAAAATGAATCTTCTTA	CABLES1	OBD RD048.173.175	0.000000717
45	TGGAGTTTGCTGTGGGCACTGAGGCG	JDP2	OBD RD048.177.179	0.00000334
46	CCACCACCATCAGCCAGTGCCACG	NFATc1	OBD RD048.181.183	0.00000181
47	CAATGCCAGGTCTTCACTACTCTA	CASP3	OBD RD048.185.187	0.00000305
48	ACCCAGCGTCGCCGTCCACCGTA	REL	OBD RD048.189.191	0.00000123
49	GGTCCACATTCTCACGAACCGCTCC	BTK	OBD RD048.193.195	0.00000409
50	CATTCTCCTGCCTCAGCCTCTG	BCL2A1	OBD RD048.197.199	0.000000299
51	CTAAATGTGCTGTGCTTGGAGC	TNFRSF13C	OBD RD048.201.203	0.000000179
52	TGCTTCAACAGGAACTCCACCACCG	CDKN2C	OBD RD048.205.207	0.0000123

[0618] 表5i

[0619]

	探针	基因座	探针_总 计数
53	ANXA11_10_81889664_81892389_81927417_81929312_FR	ANXA11	136
54	CD40_20_44737133_44739370_44777294_44780862_RR	CD40	148
55	CREB3L2_7_137532509_137535848_137608464_137613205_FR	CREB3L2	168
56	MyD88_3_38159544_38161117_38182050_38188284_FR	MyD88	80
57	MEF2B_19_19255724_19257122_19271977_19273500_FF	MEF2B	448
58	IL-2RB_22_37569072_37572860_37583052_37586677_RR	IL-2RB	72
59	FRAP1_1_11321482_11322337_11347781_11348658_FF	FRAP1	704
60	BCL6_3_187438677_187439687_187452395_187454091_FF	BCL6	240
61	MMP9_20_44635898_44638559_44669235_44671514_FF	MMP9	68
62	MAP3K7_6_91275515_91285706_91296544_91297579_FR	MAP3K7	308
63	MLLT3_9_20556478_20560948_20658310_20666368_FF	MLLT3	120
64	HLF_17_53404056_53408147_53420274_53422428_RF	HLF	104
65	SIRT1_10_69650583_69655218_69676432_69678199_FR	SIRT1	96
66	NFATc1_18_77124213_77127824_77280170_77283702_RF	NFATc1	608
67	TNFRSF13C_22_42302849_42305750_42342568_42346797_FR	TNFRSF13C	488
68	STAT3_17_40456120_40457219_40580136_40581714_RF	STAT3	1108
69	NFKB1_4_103512508_103516923_103561903_103565015_RF	NFKB1	96
70	MEF2B_19_19271977_19273500_19302232_19303741_RF	MEF2B	448
71	CD40_20_44739847_44744687_44767157_44770555_FR	CD40	148
72	MAPK10_4_87408248_87409426_87514697_87515355_RF	MAPK10	668
73	FRAP1_1_11190905_11194522_11269915_11272450_RR	FRAP1	704
74	NFKB1_4_103425293_103430397_103512508_103516923_FR	NFKB1	96
75	MAPK10_4_87373087_87377906_87514697_87515355_RF	MAPK10	668

[0620]

76	JAK3_19_17889333_17890586_17934729_17936992_FR	JAK3	60
77	TNFRSF13C_22_42329800_42332095_42352233_42353781_FR	TNFRSF13C	488
78	TET2_4_106058602_106063965_106118157_106119978_RR	TET2	104
79	NAE1_16_66835284_66840537_66902726_66909724_RF	NAE1	64
80	TNFRSF13C_22_42335475_42336871_42362266_42363517_RR	TNFRSF13C	488
81	NFATc1_18_77151077_77154182_77274975_77276499_RR	NFATc1	608
82	BRCA1_17_41214832_41217070_41227254_41229572_RR	BRCA1	297
83	MLLT3_9_20377197_20385409_20556478_20560948_RF	MLLT3	120
84	PCDHGA6/B2/B4_5_140751685_140753982_140892508_14089313_8_FF	PCDHGA6/B2/B4	108
85	MAPK10_4_87166373_87167382_87408248_87409426_RR	MAPK10	668
86	BTK_X_100646274_100647902_100689454_100691928_RR	BTK	404
87	BTK_X_100625073_100626595_100689454_100691928_RR	BTK	404
88	BTK_X_100587279_100590348_100627655_100629872_FR	BTK	404
89	BTK_X_100627655_100629872_100647899_100654354_RR	BTK	404
90	BTK_X_100647899_100654354_100673203_100675145_RF	BTK	404
91	BTK_X_100602468_100603585_100647899_100654354_RR	BTK	404
92	BTK_X_100610457_100612966_100667570_100670929_RF	BTK	404

[0621] 表5j

[0622]

	探针_计数_Sig	HyperG_Stats	FDR_HyperG	百分比_Sig
53	83	0.000391435	0.005936759	61.03
54	64	0.802231212	0.999999997	43.24
55	47	0.999999703	0.999999997	27.98
56	27	0.991982598	0.999999997	33.75
57	216	0.227265083	0.590889215	48.21
58	24	0.991079692	0.999999997	33.33
59	359	0.006468458	0.042044978	50.99
60	86	0.999659646	0.999999997	35.83
61	25	0.957692148	0.999999997	36.76
62	113	0.999793469	0.999999997	36.69
63	39	0.999297311	0.999999997	32.5
64	44	0.824486728	0.999999997	42.31
65	64	0.0000456596437717468	0.001038757	66.67
66	213	0.999999997	0.999999997	35.03
67	280	0.000000444123116904245	0.0000202076018191431	57.38
68	615	0.000000000125197189743782	0.0000000113929442666842	55.51
69	27	0.999920864	0.999999997	28.12
70	216	0.227265083	0.590889215	48.21
71	64	0.802231212	0.999999997	43.24
72	244	0.999999947	0.999999997	36.53
73	359	0.006468458	0.042044978	50.99
74	27	0.999920864	0.999999997	28.12
75	244	0.999999947	0.999999997	36.53
76	31	0.243296934	0.615000583	51.67
77	280	0.000000444123116904245	0.0000202076018191431	57.38
78	58	0.033733587	0.145711753	55.77
79	36	0.071920785	0.221674157	56.25
80	280	0.000000444123116904245	0.0000202076018191431	57.38
81	213	0.999999997	0.999999997	35.03
82	173	0.0000217239097176038	0.000658959	58.25
83	39	0.999297311	0.999999997	32.5
84	36	0.997865052	0.999999997	33.33
85	244	0.999999947	0.999999997	36.53

[0623]

86	182	0.722716922	0.999999997	45.05
87	182	0.722716922	0.999999997	45.05
88	182	0.722716922	0.999999997	45.05
89	182	0.722716922	0.999999997	45.05
90	182	0.722716922	0.999999997	45.05
91	182	0.722716922	0.999999997	45.05
92	182	0.722716922	0.999999997	45.05

[0624] 表5k

[0625]

	logFC	AveExpr	t	P.值	adj.P.Val
53	0.146814815	0.146814815	3.078806942	0.015395162	0.044697142
54	0.147791337	0.147791337	1.633707333	0.141477876	0.232950641
55	0.148349454	0.148349454	3.08222473	0.015316201	0.044558199
56	0.153758518	0.153758518	1.99378109	0.081784292	0.154640968
57	0.156103192	0.156103192	4.16566548	0.003235665	0.015172146
58	0.161073376	0.161073376	2.527153349	0.035788708	0.08344291
59	0.171050829	0.171050829	3.890660293	0.004727539	0.019533312
60	0.174144322	0.174144322	2.584598623	0.0327468	0.078039912
61	0.18112944	0.18112944	2.685388848	0.028032588	0.069592429
62	0.19092131	0.19092131	3.73604023	0.005879148	0.022572713

63	0.194400918	0.194400918	2.492510608	0.037760627	0.086786653
64	0.195707712	0.195707712	2.71102351	0.026948639	0.067475149
65	0.204252124	0.204252124	3.975216299	0.004202345	0.018041687
66	0.210054656	0.210054656	2.338335953	0.047960033	0.103796265
67	0.210247736	0.210247736	2.234440593	0.056352274	0.11719604
68	0.213090816	0.213090816	2.087748617	0.07073665	0.138732545
69	0.226250319	0.226250319	2.25409429	0.054659526	0.114573853
70	0.246810388	0.246810388	5.953590771	0.000359019	0.0048119
71	0.247739738	0.247739738	4.372950932	0.002449301	0.012749359
72	0.248261394	0.248261394	6.173828851	0.000282141	0.004322646
73	0.251556432	0.251556432	4.318526719	0.00263344	0.013280362
74	0.253919456	0.253919456	1.95465634	0.086862876	0.161472968
75	0.256754187	0.256754187	5.535121315	0.000577231	0.005715942
76	0.257160612	0.257160612	3.449233265	0.008887517	0.030040982
77	0.259132781	0.259132781	4.366813249	0.002469352	0.012816471
78	0.287279843	0.287279843	2.539709619	0.035100109	0.082104681
79	0.31600033	0.31600033	3.153558526	0.013761553	0.041279885
80	0.358221647	0.358221647	3.100524122	0.014900586	0.043739937
81	0.364193755	0.364193755	3.369619436	0.009987239	0.03271603
82	0.453457772	0.453457772	3.247156175	0.011968978	0.037200176
83	0.180533568	0.180533568	5.147835975	0.000914678	0.007187473
84	0.182697701	0.182697701	5.877748203	0.00039063	0.004938906
85	-0.148364769	-0.148364769	-4.986366569	0.001115061	0.008026755
86	-0.538084185	-0.538084185	-6.494881534	0.000200669	0.003807401
87	-0.545447375	-0.545447375	-6.02027801	0.000333544	0.004684915
88	-0.554745602	-0.554745602	-8.383072026	0.0000337	0.002483007
89	0.503059535	0.503059535	6.535294395	0.000192409	0.003731412
90	0.36623319	0.36623319	5.026075307	0.001061678	0.007815282
91	0.338959712	0.338959712	4.957835746	0.001155226	0.008192382
92	0.127634089	0.127634089	5.070996787	0.001004634	0.007593027

[0626] 表51

[0627]

	B	FC	FC_1	LS	检出环
53	-3.422371897	1.107122465	1.107122465	1	DBLCL
54	-5.595015473	1.1078721	1.1078721	1	DBLCL
55	-3.417108405	1.108300771	1.108300771	1	DBLCL
56	-5.084251662	1.112463898	1.112463898	1	DBLCL
57	-1.806028568	1.114273349	1.114273349	1	DBLCL
58	-4.275957963	1.118118718	1.118118718	1	DBLCL
59	-2.201619835	1.125878252	1.125878252	1	DBLCL

60	-4.187168091	1.128295002	1.128295002	1	DBLCL
61	-4.031097147	1.133771131	1.133771131	1	DBLCL
62	-2.428494364	1.141492444	1.141492444	1	DBLCL
63	-4.329420018	1.14424891	1.14424891	1	DBLCL
64	-3.991368624	1.145285841	1.145285841	1	DBLCL
65	-2.078878648	1.152088963	1.152088963	1	DBLCL
66	-4.56625722	1.156732005	1.156732005	1	DBLCL
67	-4.724458483	1.156886824	1.156886824	1	DBLCL
68	-4.945085913	1.159168918	1.159168918	1	DBLCL
69	-4.694639254	1.169790614	1.169790614	1	DBLCL
70	0.493437892	1.186580836	1.186580836	1	DBLCL
71	-1.514951748	1.18734545	1.18734545	1	DBLCL
72	0.744313598	1.187774853	1.187774853	1	DBLCL
73	-1.590768631	1.190490767	1.190490767	1	DBLCL
74	-5.141601134	1.192442298	1.192442298	1	DBLCL
75	-0.002180366	1.194787614	1.194787614	1	DBLCL
76	-2.856981615	1.195124248	1.195124248	1	DBLCL
77	-1.523480143	1.196759104	1.196759104	1	DBLCL
78	-4.25656399	1.220337199	1.220337199	1	DBLCL
79	-3.307417374	1.24487452	1.24487452	1	DBLCL
80	-3.388938618	1.281844844	1.281844844	1	DBLCL
81	-2.977498786	1.287162103	1.287162103	1	DBLCL
82	-3.164028291	1.369318233	1.369318233	1	DBLCL
83	-0.483711076	1.13330295	1.13330295	1	DBLCL
84	0.405473595	1.135004251	1.135004251	1	DBLCL
85	-0.691112407	0.902272569	-1.108312537	-1	Ctrl
86	1.098164859	0.688684835	-1.452043008	-1	Ctrl
87	0.570114643	0.685178898	-1.459472852	-1	Ctrl
88	2.923843236	0.680777092	-1.46890959	-1	Ctrl
89	1.14173325	1.417215879	1.417215879	1	DBLCL
90	-0.639742862	1.288982958	1.288982958	1	DBLCL
91	-0.728168867	1.26484422	1.26484422	1	DBLCL
92	-0.581917188	1.092500613	1.092500613	1	DBLCL

[0628] 表5m

[0629]

	探针序列	探针位置
	60 mer	Chr
53	GAGGGGCTCTGGAGGGGGCGGGTTCTCTCGATGCCTGGCCTCCACAGCACATGTGAGCA	10
54	AATGAGGAAGTACGAGCAGGAGGCAGCATCGAAACCTGGGATGCTAGTAACCTACCTG	20
55	TCCAATCACCTCCACAGGTCCCTCCCTCGATCCTGTGCTTTTCTGCTGCAGGTTTCA	7
56	AGTGGCGTGATCATGGTTCACTGAAGCCTCGAAAAGAGTTGGCTAGAAGGCCACGGGGT	3
57	GAGGACACGGCGGGGGGCCATCACCCCTCGAACAGGAGCTGTCCCTCCAGGAGCAGGC	19

[0630]

58	GAGCCAGGTTTTGCAGGACCTGGGATATTCGAGACCAGTCTGGGCAACATAGTGAGACCC	22
59	TGGGGGTCCCGGGGAGGTGGGCGTTGCCTCGAATCTGGTCAAACCTACCCAACTCATC	1
60	AGATCCGTGTCTGCCTGCAGATACAAAATCGAGTTGGGCTGGGGAGAGGAGGATAGGT	3
61	CACTCGGGTGGCAGAGATGCGTGAGAGTCGATGTGTCCCAAATTGATCTCACCTCCAC	20
62	TGTGAAGGGAGGGGAGGAGAAAAGAAAATCGATCATCTACCGGCCGAAGACGAGGAGGA	6
63	ACATTTCAAATCCTCTCTTAGCTACCTCGAATTCTGAGCTCAAGCAATCTTCCACCT	9
64	TTCTGACAGAGGGTTGGGGAGAGGGGTGTGACCTCCTAAAGTGTGGGATTACAGGCGT	17
65	GGAGGATGGGGAGGGTATGTAAATTATTGTCGATAGAGCAAGGAAACCAGAAAGGTGTAAT	10
66	GTATGAGTGTGGGTGTGTGGATGTGGCTCGAGATCGCGCCACTGCACTCCAGCCTGGGC	18
67	ACGGGCAGACAGGACCCAGCCCATGCTCGACCCACTCCCGGGGGATCGGGACACCGC	22
68	AGTGGTGCATCTCAGCTTGTTCAGCCTCGAGGAATTTCTAATGATAGATCCAGACCTC	17
69	TCATTCTGGGATTATCTTTTCTTTCTCGAGGCTGCAGTGAGCTATAATTGCACCACT	4
70	TGGGGGAGCTCTGGGGTGGGGTAGCGGTTCGATGGGTCTGATGCCTCTCAGAAGGCCCT	19
71	GAGGCTTTTATGCAGGAAAGTGTCCAGTCGAGGGACTGGCAGCAGGGGGACAGCAAGGG	20
72	GAGCTGGATGCCAGGCGGGCCAATGAGGTGCGATTGCAATGCAGGATCCTATGCTGGATT	4
73	AACAGGCAGGAGCAGCTGTTCTCAGCATCGAACCTATTTATTTACTTATTTTTTGA	1
74	TCTTTATGGTGTCTCTTTATATTTACTCGAGGCTGCAGTGAGCTATAATTGCACCACT	4
75	GAGCTGGATGCCAGGCGGGCCAATGAGGTGCAACACGATATGAACAGGACATCTGTACA	4
76	GGGTGGATCAGGGAGGGGTGGGGACGTGAGTCTTGCTTGACCCAGAGCAGCTCCCT	19
77	GGGTTTCAACGTGTTACTCAGGCTGGTCTCGAAGTCTGGGCTCAAGCAATCCACCCGCT	22
78	CAAATACTCATGTGTATGGGCAAAAACTCGAGTAGTTGGAACCTCAAGTGCTAAAACAT	4
79	GACGGGCGGATTGCCTGAGCTCAGGAGTTCGACCTTCTCACGTGGGCTAAGGGCTGAC	16
80	ACTAGCTGGGTGACCTAGACAGTTTGTTCGAGGCTACAGTGAGCTGTGATAGTGCCACT	22
81	TGTTGTATCCATTATTGAAAGTGGAGTATCGAGGCTGCAGTGAGCTGAGATCATTCCACT	18
82	GACAGGCAGATTGCCTGAGCTCAGGAGTTCGACATCTCTACACTATTCTTTCTACTCAG	17
83	ACATTTCAAATCCTCTCTCTAGCTACCTCGAAACACCACTACTTGTCAGTTTACAATGA	9
84	CGGTGTCTGGTGAGTTTAAACATCCTGTGCGAGCTGCAGACTTGGCTTTGGAAGAATCAC	5
85	GCTCAGCAAATGAATGTTTTCAAAGCACTCGATTGCAATGCAGGATCCTATGCTGGATT	4
86	GTGCTTCAAGCAGAGCTTCTCCCTCCGTCGAACTCCTGACCTCGTGATCCGCCTGCCTC	X
87	ATCCTAAGTCTGAAGTCTGTGTTTCATCGAACTCCTGACCTCGTGATCCGCCTGCCTC	X
88	GGCTTGCCTAAAAAGTAAACAAACAGTCGAACTCCTGCTCATGATCCGCCTGCCTTGG	X
89	CCAAGGCAGGCGGATCATGAGCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGCCAAGATAGTGAAACCC	X
90	GCCGAGGCGGGTGGATCAGGTCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGCCAAGATAGTGAAACCC	X
91	GGCGGGTGGATCACTTGAGGTCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGCCAAGATAGTGAAACCC	X
92	CACTACTACCCAGGAAAGTGATGGGAGGTGCGAGATTGCAGGAAATGGAGAGTACATGCCT	X

[0631] 表5n

[0632]

	探针位置				4 kb 序列位置		
	起始 1	终止 1	起始 2	终止 2	Chr	起始 1	终止 1
53	81892358	81892389	81927417	81927448	10	81888388	81892389
54	44737133	44737164	44777294	44777325	20	44737133	44741134
55	137535817	137535848	137608464	137608495	7	137531847	137535848
56	38161086	38161117	38182050	38182081	3	38157116	38161117
57	19257091	19257122	19273469	19273500	19	19253121	19257122
58	37569072	37569103	37583052	37583083	22	37569072	37573073
59	11322306	11322337	11348627	11348658	1	11318336	11322337
60	187439656	187439687	187454060	187454091	3	187435686	187439687
61	44638528	44638559	44671483	44671514	20	44634558	44638559
62	91285675	91285706	91296544	91296575	6	91281705	91285706
63	20560917	20560948	20666337	20666368	9	20556947	20560948
64	53404056	53404087	53422397	53422428	17	53404056	53408057
65	69655187	69655218	69676432	69676463	10	69651217	69655218
66	77124213	77124244	77283671	77283702	18	77124213	77128214
67	42305719	42305750	42342568	42342599	22	42301749	42305750

[0633]

68	40456120	40456151	40581683	40581714	17	40456120	40460121
69	103512508	103512539	103564984	103565015	4	103512508	103516509
70	19271977	19272008	19303710	19303741	19	19271977	19275978
71	44744656	44744687	44767157	44767188	20	44740686	44744687
72	87408248	87408279	87515324	87515355	4	87408248	87412249
73	11190905	11190936	11269915	11269946	1	11190905	11194906
74	103430366	103430397	103512508	103512539	4	103426396	103430397
75	87373087	87373118	87515324	87515355	4	87373087	87377088
76	17890555	17890586	17934729	17934760	19	17886585	17890586
77	42332064	42332095	42352233	42352264	22	42328094	42332095
78	106058602	106058633	106118157	106118188	4	106058602	106062603
79	66835284	66835315	66909693	66909724	16	66835284	66839285
80	42335475	42335506	42362266	42362297	22	42335475	42339476
81	77151077	77151108	77274975	77275006	18	77151077	77155078
82	41214832	41214863	41227254	41227285	17	41214832	41218833
83	20377197	20377228	20560917	20560948	9	20377197	20381198
84	140753951	140753982	140893107	140893138	5	140749981	140753982
85	87166373	87166404	87408248	87408279	4	87166373	87170374
86	100646274	100646305	100689454	100689485	X	100646274	100650275
87	100625073	100625104	100689454	100689485	X	100625073	100629074
88	100590317	100590348	100627655	100627686	X	100586347	100590348
89	100627655	100627686	100647899	100647930	X	100627655	100631656
90	100647899	100647930	100675114	100675145	X	100647899	100651900
91	100602468	100602499	100647899	100647930	X	100602468	100606469
92	100610457	100610488	100670898	100670929	X	100610457	100614458

[0634] 表5o

[0635]

	4 kb 序列位置		探针
	起始 2	终止 2	
53	81927417	81931418	ANXA11_10_81889664_81892389_81927417_81929312_FR
54	44777294	44781295	CD40_20_44737133_44739370_44777294_44780862_RR
55	137608464	137612465	CREB3L2_7_137532509_137535848_137608464_137613205_FR
56	38182050	38186051	MyD88_3_38159544_38161117_38182050_38188284_FR
57	19269499	19273500	MEF2B_19_19255724_19257122_19271977_19273500_FF
58	37583052	37587053	IL-2RB_22_37569072_37572860_37583052_37586677_RR
59	11344657	11348658	FRAP1_1_11321482_11322337_11347781_11348658_FF
60	187450090	187454091	BCL6_3_187438677_187439687_187452395_187454091_FF
61	44667513	44671514	MMP9_20_44635898_44638559_44669235_44671514_FF
62	91296544	91300545	MAP3K7_6_91275515_91285706_91296544_91297579_FR
63	20662367	20666368	MLLT3_9_20556478_20560948_20658310_20666368_FF
64	53418427	53422428	HLF_17_53404056_53408147_53420274_53422428_RF
65	69676432	69680433	SIRT1_10_69650583_69655218_69676432_69678199_FR
66	77279701	77283702	NFATc1_18_77124213_77127824_77280170_77283702_RF
67	42342568	42346569	TNFRSF13C_22_42302849_42305750_42342568_42346797_FR
68	40577713	40581714	STAT3_17_40456120_40457219_40580136_40581714_RF
69	103561014	103565015	NFKB1_4_103512508_103516923_103561903_103565015_RF
70	19299740	19303741	MEF2B_19_19271977_19273500_19302232_19303741_RF
71	44767157	44771158	CD40_20_44739847_44744687_44767157_44770555_FR
72	87511354	87515355	MAPK10_4_87408248_87409426_87514697_87515355_RF
73	11269915	11273916	FRAP1_1_11190905_11194522_11269915_11272450_RR
74	103512508	103516509	NFKB1_4_103425293_103430397_103512508_103516923_FR
75	87511354	87515355	MAPK10_4_87373087_87377906_87514697_87515355_RF
76	17934729	17938730	JAK3_19_17889333_17890586_17934729_17936992_FR
77	42352233	42356234	TNFRSF13C_22_42329800_42332095_42352233_42353781_FR

[0636]

78	106118157	106122158	TET2_4_106058602_106063965_106118157_106119978_RR
79	66905723	66909724	NAE1_16_66835284_66840537_66902726_66909724_RF
80	42362266	42366267	TNFRSF13C_22_42335475_42336871_42362266_42363517_RR
81	77274975	77278976	NFATc1_18_77151077_77154182_77274975_77276499_RR
82	41227254	41231255	BRCA1_17_41214832_41217070_41227254_41229572_RR
83	20556947	20560948	MLLT3_9_20377197_20385409_20556478_20560948_RF
84	140889137	140893138	PCDHGA6/B2/B4_5_140751685_140753982_140892508_140893138_FF
85	87408248	87412249	MAPK10_4_87166373_87167382_87408248_87409426_RR
86	100689454	100693455	BTK_X_100646274_100647902_100689454_100691928_RR
87	100689454	100693455	BTK_X_100625073_100626595_100689454_100691928_RR
88	100627655	100631656	BTK_X_100587279_100590348_100627655_100629872_FR
89	100647899	100651900	BTK_X_100627655_100629872_100647899_100654354_RR
90	100671144	100675145	BTK_X_100647899_100654354_100673203_100675145_RF
91	100647899	100651900	BTK_X_100602468_100603585_100647899_100654354_RR
92	100666928	100670929	BTK_X_100610457_100612966_100667570_100670929_RF

[0637] 表5p

[0638]

	内部_引物		
	PCR-引物 1_ID	PCR_引物 1	PCR-引物 2_ID
53	OBD RD048.209	GGCTCGTAACAAACCCCTGACCCAG	OBD RD048.211
54	OBD RD048.213	TCCCCATTACCCCATCAGTGCTCCCC	OBD RD048.215
55	OBD RD048.217	GGAGAGGCAGAGCAGAGAGTGAAGGG	OBD RD048.219
56	OBD RD048.221	GACAGCAGTTTCTAAGCCTGGCA	OBD RD048.223
57	OBD RD048.225	TTTGGAGGACTGGGACTTGCCGT	OBD RD048.227
58	OBD RD048.229	AACTGAAAGAAAGACCCAGAGGC	OBD RD048.231
59	OBD RD048.233	GACCCAAAGGGCAATACCAGAGC	OBD RD048.235
60	OBD RD048.237	CACGCTCGCCCATCATTGAAAAC	OBD RD048.239
61	OBD RD048.241	TCCCTTCATCCACAGGAATACCT	OBD RD048.243
62	OBD RD048.245	GGTTAGGTCTTCTGCCTCAAAG	OBD RD048.247
63	OBD RD048.249	GTGTAACAATCAAGTCAGGGAAT	OBD RD048.251
64	OBD RD048.253	CACAGAGCCTGCCATCCTCACAT	OBD RD048.255
65	OBD RD048.257	AAATAAGTAAGGACAAAGAGTGC	OBD RD048.259
66	OBD RD048.261	TCGCCTACGGCTTGTTACGCACAGC	OBD RD048.263
67	OBD RD048.265	GCTTATTTACAAGACGAACCCGC	OBD RD048.267
68	OBD RD048.269	TTCTGTTGTCCAGGCTTGAGTGC	OBD RD048.271
69	OBD RD048.273	CACTATTGAGTTCTAAGAGTTCT	OBD RD048.275
70	OBD RD048.277	GGAACCCACGCCCTCCCCTAAGTCTT	OBD RD048.279
71	OBD RD048.281	GGTGTGCTTTGCCAGGATAAGAA	OBD RD048.283
72	OBD RD048.285	TCTCCCTGGCGACCTCGTCCCTA	OBD RD048.287
73	OBD RD048.289	TGTTTGCTTTATGGACACACAGA	OBD RD048.291
74	OBD RD048.293	CATTACTCACTCTCATACCATA	OBD RD048.295
75	OBD RD048.297	ACTCTGCCGCTCGGTACCAACCTGA	OBD RD048.299
76	OBD RD048.301	GACAAGGGAGGGAGGAGGATGGG	OBD RD048.303
77	OBD RD048.305	CCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAGC	OBD RD048.307
78	OBD RD048.309	GTGAACTCAGCCAAGCACAGTGGTGG	OBD RD048.311
79	OBD RD048.313	TTCTTTACCCTGTCACTCACCT	OBD RD048.315
80	OBD RD048.317	TGGTTGGAAGTAGCCCTGATTCA	OBD RD048.319
81	OBD RD048.321	GTTGCCTTGTTATCTGCCTGGTT	OBD RD048.323
82	OBD RD048.325	GTAATCCTAACACTGTGGGAGGC	OBD RD048.327
83	OBD RD048.329	GGGAGCATTGTGGGCTAACAGGAGAC	OBD RD048.331
84	OBD RD048.333	TCGTAGGCAACATCGTCAAGGAT	OBD RD048.335
85	OBD RD048.337	CTGGGCAACAGAGTGAGAGCCTG	OBD RD048.339
86	OBD RD051.001	TGCTACCTCTGACTACAGGGTGG	OBD RD051.003
87	OBD RD051.005	GCTGACTGAAGATTCTGCCTTTC	OBD RD051.007

[0639]

88	OBD RD051.009	TAGGATGGCAAGCAGCATTGGCT	OBD RD051.011
89	OBD RD051.013	CACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGG	OBD RD051.015
90	OBD RD051.017	CACGCCTGTAATCCCAGCACTCTG	OBD RD051.019
91	OBD RD051.021	ATGCCTGTAATCCCAGCACTTTGG	OBD RD051.023
92	OBD RD051.025	CCACCATTCTGTCTCCAACACTC	OBD RD051.027

[0640] 表5q

[0641]

	内部_引物 PCR_引物 2	基因	标志物	GLMNET
53	ACAGTTGTGGAGGCTCAATACCT	ANXA11	OBD RD048.209.211	0.00000056
54	CGGTAACAGACACGGAGTGAAAT	CD40	OBD RD048.213.215	0.00000222
55	GCAGGGACTGAGAAACATAGGAT	CREB3L2	OBD RD048.217.219	3.82E-08
56	TGGACCCAGGGCAGGGCTTCAT	MyD88	OBD RD048.221.223	0.000000196
57	TCAGACCTCCTTCCCACCTCTC	MEF2B	OBD RD048.225.227	0.00000288
58	CCCCTTCTCTGCTGCTACCATCCAG	IL-2RB	OBD RD048.229.231	0.000000645
59	CTCAGGGAGACCAAGGCAGTGAC	FRAP1	OBD RD048.233.235	0.00000196
60	GGGACTGGAGGGAAGGAAGTGGG	BCL6	OBD RD048.237.239	0.00000325
61	GGAGCAGGTAGGGCAGGGTGTGAGA	MMP9	OBD RD048.241.243	0.00000227
62	ATGTCTACAGCCTCTGCCGCTCCTC	MAP3K7	OBD RD048.245.247	0.000000566
63	GCCCTGTAATCCCAGCACTTTGG	MLLT3	OBD RD048.249.251	0.0000046
64	CCCCAGGGACTGAGGACTTGTGT	HLF	OBD RD048.253.255	0.000000743
65	AACAATCTATTTACCAACCTAT	SIRT1	OBD RD048.257.259	0.00000188
66	CAGGTAGTGTGTTTCCAACCTGTT	NFATc1	OBD RD048.261.263	0.000000147
67	TAGTAGAGAGTGCGGTGCCACAGGC	TNFRSF13C	OBD RD048.265.267	0.000000402
68	GGCAAGGTCTCAGTGGTGAGGT	STAT3	OBD RD048.269.271	0.00000103
69	GTCTCACTCTGTTGCCAGGCTG	NFKB1	OBD RD048.273.275	0.00000177
70	TGGATTTTCTGCGGCTCTGTTT	MEF2B	OBD RD048.277.279	0.00000137
71	AGTCCCCTCTCTGGGTCTCAGCCAAG	CD40	OBD RD048.281.283	0.00000449
72	TATGGCATTTTCCCCTTCCAGTA	MAPK10	OBD RD048.285.287	0.00000213
73	CACTCCAGCCTGAGAGACAGAGC	FRAP1	OBD RD048.289.289	0.00000287
74	GTCTCACTCTGTTGCCAGGCTG	NFKB1	OBD RD048.291.293	0.00000178
75	CAGGGTTGTTGTGAGGGTTATGT	MAPK10	OBD RD048.295.297	0.00000339
76	GTCCCTGCTCTCTTAGCCCCAGA	JAK3	OBD RD048.299.301	0.000000206
77	AGACCTTTGGTTTCTACATCTAT	TNFRSF13C	OBD RD048.303.305	0.000000144
78	GGTATCAAATGTTCCACAAGTGTTC	TET2	OBD RD048.307.309	0.000000972
79	CCAGGATGTCTTACCGCCCCGTCAG	NAE1	OBD RD048.311.313	0.00000172
80	GGGTCTCACTCTGTTGCCAAGC	TNFRSF13C	OBD RD048.315.317	0.00000164
81	CGTCTTGCTCTGTCTGTTGCCAGGC	NFATc1	OBD RD048.319.321	0.00000111
82	GGCAATAGGGATGATTCTGTGAA	BRCA1	OBD RD048.323.325	0.00000046
83	GCACAGGAGGGTACTTCACAAG	MLLT3	OBD RD048.327.329	0.0000292
84	GCTTCACGGGAGGAGGGTAGACTCTC	PCDHGA6/B2/B4	OBD RD048.331.333	0.0000208
85	TATGGCATTTTCCCCTTCCAGTA	MAPK10	OBD RD048.335.337	-0.0000511
86	ATGTTAGTCCCTTCCCACCCTAT	BTK	OBD RD051.001.003	-0.000000091
87	ATGTTAGTCCCTTCCCACCCTAT	BTK	OBD RD051.005.007	-8.44E-08
88	ACGCCTGTAATCCCAGCACTTTG	BTK	OBD RD051.009.011	-0.0000019
89	GATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCG	BTK	OBD RD051.013.015	9.55E-08
90	CGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCG	BTK	OBD RD051.017.019	5.07E-08
91	CGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCG	BTK	OBD RD051.021.023	2.87E-08
92	CTCACGAACCGCTCCTTTCCTC	BTK	OBD RD051.025.027	0.00000409

[0642] 表5r

[0643]

探针	基因座	探针_总计	探针_计
----	-----	-------	------

[0644]

			数	数_Sig
1	MIR98_X_53608013_53611637_53628991_53630033_RR	MIR98	16	4
2	DAPK1_9_90064560_90073617_90140806_90142738_FR	DAPK1	46	9
3	HSD3B2_1_119912462_119915175_119959754_119963670_RR	HSD3B2	20	5
4	ERG_21_39895678_39899145_39984806_39991905_RF	ERG	52	4
5	SRD5A3_4_56188038_56191526_56242301_56245314_RF	SRD5A3	12	4
6	MMP1_11_102658858_102661735_102664717_102667643_FF	MMP1	n/a	n/a

[0645] 表6a

[0646]

	HyperG_Stats	FDR_HyperG	百分比_Sig	logFC	AveExpr	t
1	0.064790053	0.737205743	25	0.67511652	0.67511652	13.76185645
2	0.032709022	0.548212211	19.57	0.299375751	0.299375751	7.197207444
3	0.040338404	0.548212211	25	-0.168081632	-0.168081632	-3.274998031
4	0.765503518	1	7.69	-0.425291613	-0.425291613	-11.67074071
5	0.024128503	0.483719041	33.33	0.266992266	0.266992266	4.835274287
6	n/a	n/a	n/a	n/a	4.72222828	n/a

[0647] 表6b

[0648]

	P.值	adj.P.Val	B	FC	FC_1	LS
1	0.000000031	0.0000143	9.558686586	1.596725728	1.596725728	1
2	0.0000184	0.000805368	3.154114326	1.230611817	1.230611817	1
3	0.007481356	0.033194645	-3.020586815	0.890025372	-1.123563476	-1
4	0.000000168	0.0000357	7.913111034	0.744688192	-1.342843905	-1
5	0.000536131	0.005815136	-0.328887879	1.203296575	1.203296575	1
6	0.04505295	0.4547981	n/a	n/a	n/a	n/a

[0649] 表6c

[0650]

	检出环	探针序列
		60 mer
1	侵袭性	AGTTGTATTTTAGAAAGTAGTGTTAATCGATAGAAATATAACATGAAACACATATATA
2	侵袭性	ACTAATCCCCTGAAGAAGCAAATTAACCTCGAGTATCCCTTTAAGTTTGTITTTAAAATA
3	惰性	TCAGTTTCTGCTCTCAAGAAGCTTACAGTCGAAGGTCCCAAGTTAGATTACGGCAAAGCT
4	惰性	TCTTGAATGTGCTTAGTATTATTCAGACTCGAAACATAATTTGAAAGGAATTCATTCTG
5	侵袭性	AGGAGGTAACGATTGGTCAGCTGCTTAATCGAGGCAGAAAGTCTATTTGAAACGTAAGATA
6	n/a	GGCCTTTAAGGCCCTCTGAAATCCAGCATCGAAGAGGGAACTGCATCACA GTTGATGG

[0651] 表6d

[0652]

	探针位置					4 kb 序列位置		
	Chr	起始 1	终止 1	起始 2	终止 2	Chr	起始 1	终止 1
1	X	53608013	53608044	53628991	53629022	X	53608013	53612014
2	9	90073586	90073617	90140806	90140837	9	90069616	90073617
3	1	119912462	119912493	119959754	119959785	1	119912462	119916463
4	21	39895678	39895709	39991874	39991905	21	39895678	39899679
5	4	56188038	56188069	56245283	56245314	4	56188038	56192039
6	11	102661704	102661735	102667612	102667643	11	102657734	102661735

[0653] 表6e

[0654]

4 kb 序列位置			
起始 2	终止 2	标志物	
1	53628991	53632992	MIR98_X_53608013_53611637_53628991_53630033_RR
2	90140806	90144807	DAPK1_9_90064560_90073617_90140806_90142738_FR
3	119959754	119963755	HSD3B2_1_119912462_119915175_119959754_119963670_RR
4	39987904	39991905	ERG_21_39895678_39899145_39984806_39991905_RF
5	56241313	56245314	SRD5A3_4_56188038_56191526_56242301_56245314_RF
6	102663642	102667643	MMP1

[0655] 表6f

[0656]

	引物名称	引物序列		
1	PCa119-245	AAGAAGGGATGGGACGGGACT	PCa119-247	GGTACACGAATTAACATATCCCTGT
2	PCa119-165	ACTGGTCACAGGGAACGATGG	PCa119-167	AGGTGTGAATGTTACTGAACACAAA
3	PCa119-130	ACTTGATTCCCAAAACGCCA	PCa119-132	CTCTTCCCCGGTGAGTTTCCA
4	PCa119-065	CAGCCTACCTTGCCTGACACT	PCa119-067	AAAGCCCAGTGATGGCCCAT
5	PCa119-154	TCCATTTTCCTTCCCTTTGCTCTG	PCa119-155	CCACACAGGGCCCTAATGACC
6	MMP 1-42F	GGGGAGTGGATGGGATAAGGTG	MMP 1F	TGGGCCTGGTTGAAAAGCAT

[0657] 表6g

[0658]

	探针	探针序列	基因
1	OBD119F015	AGTGTTTAATCGATAGAAATATAACATGAAACACA	MIR98
2	OBD119F06	AGGGATACTCGAAGTTAATTTGCTTCTT	DAPK1
3	OBD119F09	AAGAAGCTTACAGTCGAAGGTCCCAA	HSD3B2
4	OBD119F08	ATTCCTTTCAAATTATGTTTTCGAGTCTGAATAATA	ERG
5	SRD5A3FAM7415RC	AAATAGACTTCTGCCTCGATTAAGCA	SRD5A3
6	MMP1F1b2	ATCCAGCATCGAAGAGGGAACTGCATCA	MMP1

[0659] 表6h

[0660]

	标志物	GLMNET
1	PCa119-245.247	-5.91743E-06
2	PCa119-165.167	-1.57185E-05
3	PCa119-130.132	4.47291E-07
4	PCa119-065.067	6.32136E-06
5	PCa119-154.155	-8.00857E-08
6	MMP1-41F.MMP 1F	0

[0661] 表6i

[0662]

标志物	GLMNET
OBD RD048.001.003	2.08E-08
OBD RD048.005.007	5.6E-07
OBD RD048.009.011	4.49E-06
OBD RD048.013.015	8.38E-07

[0663]

OBDRD048.017.019	1.56E-06
OBDRD048.021.023	1.37E-06
OBDRD048.025.027	0.0000046
OBDRD048.029.031	1.81E-06
OBDRD048.033.035	1.78E-06
OBDRD048.037.039	4.02E-07

[0664] 表7. 优选DLBCL标志物

[0665]

N	EpiSwitch ID	内部 正向 引物 ID	内部 正向 引物 序列
1	ORF1_1_1034282_1037357_1049484_1054771_FF	OBD169_001	GCCAGAGAACAGATGTGTGTGTCT
2	ORF5_1_1140030_1142517_1196191_1197234_RR	OBD169_005	GCCTCTCTGGTGCCACATCTTATCTT
3	ORF5_1_1182474_1185271_1270569_1273244_RF	OBD169_009	CTGCCTGTGTGTAGTCACGAGAAGC
4	ORF5_1_1182474_1185271_1196191_1197234_RR	OBD169_013	CTGACAGCAGAAGCACGAAAAGGTC
5	ORF5_1_1283682_1285577_1335341_1338794_RF	OBD169_017	CCATCCACCCACAGTTCCTATGAAA
6	ORF5_1_1147651_1150121_1196191_1197234_RF	OBD169_021	CCCAACGAGGTCAGGAAGGGAGA
7	ORF5_1_1140030_1142517_1289361_1294150_FF	OBD169_025	TGTCTCAGTATCTATTTCCCAAGTGC
8	ORF1_1_1038521_1042933_1098468_1101242_RF	OBD169_029	CAGGACCCAGACTTGCCCAAACC
9	ORF5_1_1146367_1147651_1165983_1167502_FF	OBD169_033	AGACCCAATGCCTGCCACACGGA
10	ORF5_1_1140030_1142517_1270569_1273244_RF	OBD169_037	CTGCCTGTGTGTAGTCACGAGAAGC
11	ORF5_1_1196191_1197234_1230936_1232838_RR	OBD169_041	GCATAACTCAGAGAAGCCACTGTGA
12	ORF5_1_1182474_1185271_1209527_1216771_RR	OBD169_045	CTGACAGCAGAAGCACGAAAAGGTC
13	ORF5_1_1270569_1273244_1300933_1312034_FF	OBD169_049	CTGCCTGTGTGTAGTCACGAGAAGC
14	ORF5_1_1157878_1159517_1196191_1197234_RF	OBD169_053	CCCAACGAGGTCAGGAAGGGAGA
15	ORF5_1_1273244_1276010_1335341_1338794_RF	OBD169_057	CACCCATCCACCCACAGTTCCT
16	ORF5_1_1196191_1197234_1289361_1294150_FF	OBD169_061	CCCAACGAGGTCAGGAAGGGAGA
17	ORF5_1_1140030_1142517_1230936_1232838_RR	OBD169_065	CCTCTCTGGTGCCACATCTTATCTTA
18	ORF5_1_1142517_1146335_1270569_1273244_RR	OBD169_069	TTGACCTGGGCTCATCGCTGA
19	ORF5_1_1230936_1232838_1273244_1276010_RR	OBD169_073	GTCTTCAAGCCACAGAGCAGGATTCC
20	ORF5_1_1157878_1159517_1300933_1312034_FF	OBD169_077	GGTCTGAAAATGTGAATGTCTTGTGT
21	ORF5_1_1147651_1150121_1273244_1276010_RR	OBD169_081	GTGCCCTTGAGTCCAGCCGTCAT
22	ORF1_1_1049484_1054771_1098468_1101242_FF	OBD169_085	TGTCTCTCTCTAAGGTGTCCCC
23	ORF5_1_1209527_1216771_1270569_1273244_RF	OBD169_089	CTGCCTGTGTGTAGTCACGAGAAGC
24	ORF48_2_84841864_84843477_84864219_84866005_FF	OBD169_093	GCACITTTCTCTCAGGTCACCT
25	ORF48_2_84864219_84866005_84885415_84887815_RR	OBD169_097	CTGCTTGGGCTGGTCTTTGGTTG
26	ORF48_2_84841864_84843477_84925461_84928171_FF	OBD169_101	GGCACTTTCTCTCCAGGTCACCC
27	ORF41_2_36413514_36415342_36452868_36458269_RR	OBD169_105	TGAGCGGTCAGTCTGTTGTAGG
28	ORF48_2_84864219_84866005_84876440_84877895_RF	OBD169_109	TTCCATCTGCTGTCGCTCCTGC
29	ORF48_2_84864219_84866005_84925461_84928171_FF	OBD169_113	CGGAGAGAAGGCGGAGAAACCGT
30	ORF41_2_36413514_36415342_36468165_36471683_RR	OBD169_117	GAGCGGTCAGTCTGTTGTAGGC
31	ORF91_7_65033242_65035577_65065127_65067650_RF	OBD169_121	CATTCTGGTATCGTGTGCCCG
32	ORF91_7_65032142_65033242_65065127_65067650_FF	OBD169_125	GGACTTCTCTCGCCTAATGCG
33	ORF91_7_65037215_65039217_65065127_65067650_RF	OBD169_129	TCCTCCCATCTCACTGGACCAC
34	ORF9_10_23456592_23460302_23494817_23496168_RR	OBD169_133	AGGGCTCTGCGTTTACTCCAGGC
35	ORF15_11_39960254_39968870_39992990_40001746_RR	OBD169_137	CTGGAGCCTGAGTAATGAATAGGAGC
36	ORF16_11_40371218_40374048_40393587_40395559_RR	OBD169_141	GCCCCAATCCCATCCAGAATCCA
37	ORF15_11_39932865_39938937_40079832_40084530_FF	OBD169_145	CTTCTCTCTCCCTCGTCCCTGG
38	ORF15_11_39992990_40001746_40079832_40084530_RF	OBD169_149	TTTGATAATGAGGCTGGCTGGGCAT
39	ORF16_11_40371218_40374048_40393587_40395559_RF	OBD169_153	GGATGCCTTAGTTCCTATTGACACT
40	ORF27_12_63568927_63574607_63596388_63598936_RR	OBD169_157	CTGCTGGAGGAGTGACACAAAGTTTC
41	ORF27_12_63568927_63574607_63586940_63589534_RR	OBD169_161	GCCTGCTGGAGGAGTGACACAAAGTT
42	ORF31_15_29619588_29621525_29646237_29648560_RR	OBD169_165	CCTTCTCTCTCCATCTACTATTCC

[0666]

43	ORF30_15_10476260_10484217_10545581_10548270_RR	OBD169_169	TTCTATCCCTCCACAAGATGCTCATA
44	ORF32_16_10690178_10695010_10747182_10750815_RR	OBD169_173	GGGAGACGGAGGAAAAGCCTATC
45	ORF32_16_10747182_10750815_10765838_10768877_RR	OBD169_177	AACCTCCTCAAAGAGAGAGCCTTCCC
46	ORF32_16_10726068_10729293_10772875_10776021_FF	OBD169_181	AGGTCTTCAACCAACACCACCAAGTG
47	ORF32_16_10747182_10750815_10792291_10794979_RF	OBD169_185	CCTCCTGTATTTCTACTTCCACTCAG
48	ORF32_16_10726068_10729293_10792291_10794979_FF	OBD169_189	GCAGGTCTTCAACCAACACCACCAAG
49	ORF32_16_10747182_10750815_10772875_10776021_RR	OBD169_193	AACCTCCTCAAAGAGAGAGCCTTCCC
50	ORF32_16_10778964_10780903_10792291_10794979_FF	OBD169_197	CAGTGTGAAAGCACCTTCGCTCTTGC
51	ORF68_25_630610_633794_676143_680436_FF	OBD169_201	GGGCAATGTGAGGCTGTTATGCTTGT
52	ORF68_25_630610_633794_687567_692655_FF	OBD169_205	CCAGGGCAATGTGAGGCTGTTATGCT
53	ORF70_26_27906620_27909025_27963114_27965001_RR	OBD169_209	TTTGAGGGCAGAGCAGGAAGGGT
54	ORF70_26_27876428_27879774_27894296_27895372_RR	OBD169_213	GTCCCTGCTCCACTGCCAATGAG
55	ORF70_26_27890569_27893929_27933912_27935209_RR	OBD169_217	GTGCCCTGGATGGAGAACTTGCT
56	ORF70_26_27933912_27935209_27963114_27965001_RR	OBD169_221	TACAGAAAGCCCTCGCTGGGAGC
57	ORF70_26_27876428_27879774_27890569_27893929_RR	OBD169_225	AAGTGTAGCACGACCAGAGAGGC
58	ORF70_26_27894296_27895372_27963114_27965001_RR	OBD169_229	CTGCCCTCAGAAGGTGTCTCAGA
59	ORF70_26_27890569_27893929_27906620_27909025_RR	OBD169_233	GTGCCCTGGATGGAGAACTTGCT
60	ORF75_31_28027888_28030129_28041732_28043951_FF	OBD169_237	GGACAAGCATCCTGTTGAGCCA
61	ORF75_31_28027888_28030129_28043951_28045576_FF	OBD169_241	GGACAAGCATCCTGTTGAGCCA
62	ORF79_32_24013860_24017127_24039530_24040887_RF	OBD169_245	GACCCAGAAATGAACCCAAAAGATGA
63	ORF79_32_23988046_23989457_24013860_24017127_RR	OBD169_249	GCACTCCCTACACAAATCCTTAGA
64	ORF79_32_23965697_23967743_24013860_24017127_RR	OBD169_253	GCAACAGTTTATAACCGAGTGCCAAC
65	ORF79_32_23965697_23967743_24028587_24030780_RR	OBD169_257	GCAACAGTTTATAACCGAGTGCCAAC
66	ORF79_32_23965697_23967743_24000345_24005192_RR	OBD169_261	CAGTTTATAACCGAGTGCCAACAGAA
67	ORF79_32_24013860_24017127_24028587_24030780_RR	OBD169_265	GGTGACTGATGAGACTCCAGGAAAGT
68	ORF79_32_23965697_23967743_24039530_24040887_RF	OBD169_269	GACCCAGAAATGAACCCAAAAGATGA
69	ORF79_32_23988046_23989457_24039530_24040887_RF	OBD169_273	GACCCAGAAATGAACCCAAAAGATGA
70	ORF82_32_9652472_9664654_9692674_9698030_RR	OBD169_277	CCCACCTCCCTGCTCAACAAGATTT
71	ORF79_32_24000345_24005192_24039530_24040887_RF	OBD169_281	GACCCAGAAATGAACCCAAAAGATGA
72	ORF79_32_23988046_23989457_24000345_24005192_RR	OBD169_285	GCAGCCTTTGGCAGCACTCTCTG
73	ORF104_X_109512943_109516164_109526507_109531763_RF	OBD169_289	CCCTCTGGAAGTGGATGAGCCCTTA
74	ORF104_X_109508063_109510622_109526507_109531763_FF	OBD169_293	TGAGCCCTTAGTCAATGGGACCG
75	ORF106_X_75279499_75281082_75297768_75302185_RF	OBD169_297	CCAGTTCAACCAAGTTGAGTGCC

[0667] 表8a

[0668]

N	内部_反向_引物_ID	内部_反向_引物_序列	基因	标志物	GLMNET
1	OBD169_003	AAAACCTCCACCTGTCTGTGTACAC	NFATC1	OBD169_001.OBD169_003	0.150341207
2	OBD169_007	GCATAACTCAGAGAAAGCCACTGTGA	ATP9B	OBD169_005.OBD169_007	0
3	OBD169_011	GACAGCAGAAGCACGAAAAGGTCATT	ATP9B	OBD169_009.OBD169_011	-0.065057056
4	OBD169_015	TGTCCCTCCAGCCTCTGTACCC	ATP9B	OBD169_013.OBD169_015	0.011765488
5	OBD169_019	GGTCTGAAAGCACCTGTAACCTCTGGA	ATP9B	OBD169_017.OBD169_019	0
6	OBD169_023	CCCTTGAGTCCAGCCGTCATTAC	ATP9B	OBD169_021.OBD169_023	0
7	OBD169_027	ACACGATGAGACAGACCAAGAGTC	ATP9B	OBD169_025.OBD169_027	0
8	OBD169_031	GGTGAGTTCTGACCTGGGCTTTC	NFATC1	OBD169_029.OBD169_031	0
9	OBD169_035	TCTGAGGTCTGATGGAGCACAG	ATP9B	OBD169_033.OBD169_035	0
10	OBD169_039	CCTCTCTGGTGCCACATCTTATCTTA	ATP9B	OBD169_037.OBD169_039	0
11	OBD169_043	GTCTTCAAGCCACAGAGCAGGATTCC	ATP9B	OBD169_041.OBD169_043	0.122625202
12	OBD169_047	CCATCTTCTGTAACCTGAACGGAGT	ATP9B	OBD169_045.OBD169_047	0
13	OBD169_051	CGTTATCTATGGTCCCACTACTGTGT	ATP9B	OBD169_049.OBD169_051	-0.050953035
14	OBD169_055	GCAGGTTATTAGAGACCGAGGC	ATP9B	OBD169_053.OBD169_055	0

[0669]

15	OBD169_059	CGCCACCAAGAATGTCATCTCCG	ATP9B	OBD169_057.OBD169_059	0
16	OBD169_063	CGATGAGACAGAGACCAGAGTC	ATP9B	OBD169_061.OBD169_063	0.127785257
17	OBD169_067	GTCTTCAAGCCACAGAGCAGGATTCC	ATP9B	OBD169_065.OBD169_067	-6.18E-06
18	OBD169_071	GTGGCTACCTGTGGTCTCTCCT	ATP9B	OBD169_069.OBD169_071	0
19	OBD169_075	GCCACCAAGAATGTCATCTCCGATTT	ATP9B	OBD169_073.OBD169_075	0
20	OBD169_079	GGCTTCGTTATCTATGGTCCCACTAC	ATP9B	OBD169_077.OBD169_079	0
21	OBD169_083	CGCCACCAAGAATGTCATCTCCG	ATP9B	OBD169_081.OBD169_083	0
22	OBD169_087	CAGGACCCAGACTTGCCCAAACC	NFATC1	OBD169_085.OBD169_087	0
23	OBD169_091	CTGTAACCTGAACGGAGTAGAATAG	ATP9B	OBD169_089.OBD169_091	0
24	OBD169_095	GGCGGAGAAACGTTCTGTGTGTG	MTOR	OBD169_093.OBD169_095	0
25	OBD169_099	GGCAAGGGACCACTCTTAGTCTGC	MTOR	OBD169_097.OBD169_099	0
26	OBD169_103	TCCCTTATCAACCAACTCGGGC	MTOR	OBD169_101.OBD169_103	0.003937173
27	OBD169_107	TTGGTGGTCAAGGACTGGAGTGCC	PCDHGCS	OBD169_105.OBD169_107	0.029250039
28	OBD169_111	CTGCTTGGGCTGGTCTTTGGTTG	MTOR	OBD169_109.OBD169_111	0
29	OBD169_115	TCCCTTATCAACCAACTCGGGC	MTOR	OBD169_113.OBD169_115	0
30	OBD169_119	GAGGTCAAGGGAAGAGACAGGGA	PCDHGCS	OBD169_117.OBD169_119	0
31	OBD169_123	TGTGGAATGAGCCTCCGTCCCTG	CABLES1	OBD169_121.OBD169_123	0
32	OBD169_127	CATTCTGGTATCGTGTGCCGC	CABLES1	OBD169_125.OBD169_127	0.005994639
33	OBD169_131	CCAGAACATCTCTTCTGGTGGG	CABLES1	OBD169_129.OBD169_131	0
34	OBD169_135	GATGCTGTCCCTGTGCTATGAGC	SREBF2	OBD169_133.OBD169_135	0.161924686
35	OBD169_139	GTCATCAACACTCTTCCCTGCTCCT	MLLT3	OBD169_137.OBD169_139	0
36	OBD169_143	CCATTGCCTGAATCCTCCCTGGC	FOCAD	OBD169_141.OBD169_143	0
37	OBD169_147	TGAGGGCTGGCTGGGCATTGATA	MLLT3	OBD169_145.OBD169_147	0
38	OBD169_151	GTCATCAACACTCTTCCCTGCTCCT	MLLT3	OBD169_149.OBD169_151	0
39	OBD169_155	CAGCCCCAATCCCATCCAGAATCCA	FOCAD	OBD169_153.OBD169_155	0
40	OBD169_159	CTGTGATTCCTTGTATGTTTTGA	ATG5	OBD169_157.OBD169_159	0
41	OBD169_163	GCCTCTGTCTGTGTATGAAACT	ATG5	OBD169_161.OBD169_163	0
42	OBD169_167	CTACAAGGGAAGTGCCTGCTTCGCTA	FAF1	OBD169_165.OBD169_167	0
43	OBD169_171	AACAGGCTTACCTCTCGGACTGCTC	KITLG	OBD169_169.OBD169_171	0.063674679
44	OBD169_175	CTCCTCAAAGAGAGAGCCTTCCCG	CREB3L2	OBD169_173.OBD169_175	0
45	OBD169_179	GCGTGTGAGAGAGGAGATAAATGGAT	CREB3L2	OBD169_177.OBD169_179	0.013500095
46	OBD169_183	CTGGCTGGCTCTTGACTTTGTATTG	CREB3L2	OBD169_181.OBD169_183	0
47	OBD169_187	AACCTCCTCAAAGAGAGAGCCTTCCC	CREB3L2	OBD169_185.OBD169_187	0.248790766
48	OBD169_191	CCTCTGTATTCTACTTCCACTCAG	CREB3L2	OBD169_189.OBD169_191	0
49	OBD169_195	GACTGATTGTAGGAGGACTCACAGAT	CREB3L2	OBD169_193.OBD169_195	0
50	OBD169_199	CCTCTGTATTCTACTTCCACTCAG	CREB3L2	OBD169_197.OBD169_199	0
51	OBD169_203	ATCATTGGTTTGGAGTGACAATACT	FOXO1	OBD169_201.OBD169_203	0
52	OBD169_207	GGTAGTGTCTGTTTCTGGACTTTAC	FOXO1	OBD169_205.OBD169_207	0
53	OBD169_211	GGTGTGGGTGTGTAAGAGGGACC	SPECC1L	OBD169_209.OBD169_211	0
54	OBD169_215	CTGCCTCCAGAAGGTGTCTCAGA	SPECC1L	OBD169_213.OBD169_215	0
55	OBD169_219	TACAGAAAGCCCTCGCTGGGAGC	SPECC1L	OBD169_217.OBD169_219	0
56	OBD169_223	AGGGTGTGGGTGTGTAAGAGGGA	SPECC1L	OBD169_221.OBD169_223	0
57	OBD169_227	CCACTGTGCCCTGGATGGAGAAC	SPECC1L	OBD169_225.OBD169_227	0
58	OBD169_231	GGTGTGGGTGTGTAAGAGGGACC	SPECC1L	OBD169_229.OBD169_231	-0.042293888
59	OBD169_235	TTGAGGGCAGAGCAGGAAGGGTG	SPECC1L	OBD169_233.OBD169_235	0.052029568
60	OBD169_239	GGGATACCCAGAGAGAAGGGCAAG	IFNGR2	OBD169_237.OBD169_239	0
61	OBD169_243	AGACCTGAGGAAGGAGGGTGAC	IFNGR2	OBD169_241.OBD169_243	0.043975004
62	OBD169_247	GTGAGAGGCAGAGACAGCACAGACTA	NFKB1	OBD169_245.OBD169_247	0
63	OBD169_251	GTGAGAGGCAGAGACAGCACAGACTA	NFKB1	OBD169_249.OBD169_251	0
64	OBD169_255	GGTGACTGATGAGACTCCAGGAAAGT	NFKB1	OBD169_253.OBD169_255	0
65	OBD169_259	GCCTAAACTTTCTCTCAGTCAGCG	NFKB1	OBD169_257.OBD169_259	0.01527689

[0670]

66	OBD169_263	GCCTCTGTCATTCTGCTTCCAGTGT	NFKB1	OBD169_261.OBD169_263	0
67	OBD169_267	GCCTAAACTTTCTCTCAGTCAGCG	NFKB1	OBD169_265.OBD169_267	0.141700302
68	OBD169_271	TGTTACGCACAACTCGGCTCTG	NFKB1	OBD169_269.OBD169_271	0
69	OBD169_275	GCAGCCTTTGGCAGCACTCTCTG	NFKB1	OBD169_273.OBD169_275	0
70	OBD169_279	CCCAGAACTTTGCTAACTCTATTG	MAPK10	OBD169_277.OBD169_279	-0.097352472
71	OBD169_283	GCCTCTGTCATTCTGCTTCCAGTGT	NFKB1	OBD169_281.OBD169_283	0
72	OBD169_287	GCCTCTGTCATTCTGCTTCCAG	NFKB1	OBD169_285.OBD169_287	0
73	OBD169_291	AAGTGCCTGTTTATGGAGAACTGGC	F9	OBD169_289.OBD169_291	0
74	OBD169_295	CCCTTCTGGAAGTGGATGAGCCC	F9	OBD169_293.OBD169_295	0
75	OBD169_299	CACAGCCGAAGAGCCACTGAAGC	BTK	OBD169_297.OBD169_299	0

[0671] 表8b

[0672]

N	探针	标志物	GLMNET
1	ORF1_1_1034282_1037357_1049484_1054771_FF	OBD169_001.OBD169_003	0.150341207
2	ORF5_1_1182474_1185271_1270569_1273244_RF	OBD169_009.OBD169_011	-0.065057056
3	ORF5_1_1147651_1150121_1196191_1197234_RF	OBD169_021.OBD169_023	0
4	ORF5_1_1146367_1147651_1165983_1167502_FF	OBD169_033.OBD169_035	0
5	ORF5_1_1196191_1197234_1230936_1232838_RR	OBD169_041.OBD169_043	0.122625202
6	ORF5_1_1270569_1273244_1300933_1312034_FF	OBD169_049.OBD169_051	-0.050953035
7	ORF5_1_1196191_1197234_1289361_1294150_FF	OBD169_061.OBD169_063	0.127785257
8	ORF5_1_1140030_1142517_1230936_1232838_RR	OBD169_065.OBD169_067	-6.18144E-06
9	ORF5_1_1230936_1232838_1273244_1276010_RR	OBD169_073.OBD169_075	0
10	ORF41_2_36413514_36415342_36452868_36458269_RR	OBD169_105.OBD1_69_107	0.029250039
11	ORF91_7_65032142_65033242_65065127_65067650_FF	OBD169_125.OBD169_127	0.005994639
12	ORF91_7_65037215_65039217_65065127_65067650_RF	OBD169_129.OBD169_131	0
13	ORF9_10_23456592_23460302_23494817_23496168_RR	OBD169_133.OBD169_135	0.161924686
14	ORF16_11_40371218_40374048_40393587_40395559_RF	OBD169_153.OBD169_155	0
15	ORF31_15_29619588_29621525_29646237_29648560_RR	OBD169_165.OBD169_167	0
16	ORF30_15_10476260_10484217_10545581_10548270_RR	OBD169_169.OBD169_171	0.063674679
17	ORF32_16_10747182_10750815_10792291_10794979_RF	OBD169_185.OBD169_187	0.248790766
18	ORF70_26_27894296_27895372_27963114_27965001_RR	OBD169_229.OBD169_231	-0.042293888
19	ORF70_26_27890569_27893929_27906620_27909025_RR	OBD169_233.OBD169_235	0.052029568
20	ORF79_32_24013860_24017127_24028587_24030780_RR	OBD169_265.OBD169_267	0.141700302
21	ORF82_32_9652472_9664654_9692674_9698030_RR	OBD169_277.OBD169_279	-0.097352472
22	ORF104_X_109508063_109510622_109526507_109531763_FF	OBD169_293.OBD169_295	0

[0673] 表9a

[0674]

N	Freq	秩_中位数	p 值_平均值	p 值_中位数	分类
1	429	14	0.061922326	0.036945939	在淋巴瘤中存在
2	156	171.75	0.722387112	1	在健康对照中存在
3	155	29.75	0.137404255	0.119176434	在淋巴瘤中存在
4	278	14.75	0.076727087	0.075561315	在淋巴瘤中存在
5	300	22.25	0.11481488	0.111802994	在淋巴瘤中存在
6	262	107.5	0.614169025	0.608053733	在健康对照中存在
7	375	16.5	0.07087785	0.048199002	在淋巴瘤中存在
8	112	168.5	0.749906059	1	在健康对照中存在
9	115	28	0.185541633	0.104567082	在淋巴瘤中存在
10	262	16.25	0.099987147	0.048199002	在淋巴瘤中存在
11	300	22.75	0.163342682	0.089691605	在淋巴瘤中存在
12	130	33.5	0.190563594	0.148661263	在淋巴瘤中存在
13	406	18	0.093426309	0.075561315	在淋巴瘤中存在

[0675]

14	270	23.25	0.114536951	0.056118783	在淋巴瘤中存在
15	135	23.5	0.159941064	0.104567082	在淋巴瘤中存在
16	452	7	0.034141832	0.02207464	在淋巴瘤中存在
17	498	2	0.009682876	0.006340396	在淋巴瘤中存在
18	225	97.75	0.608040664	0.516296715	在健康对照中存在
19	357	9.25	0.060876258	0.035136821	在淋巴瘤中存在
20	451	12	0.055525573	0.036945939	在淋巴瘤中存在
21	225	94.5	0.550385123	0.521495378	在健康对照中存在
22	257	32.5	0.167821507	0.104567082	在淋巴瘤中存在

[0676] 表9b

[0677] 表10. 前列腺癌风险组类别

[0678]

类别	风险	PSA (ng/ml)	格里森分数	T 阶段
1	低风险	< 10	≤6	T1 - T2a
2	中度风险	10-20	7	T2b
3	高风险	>20	8-10	T2c*, T3 或 T4

[0679] *根据2018年更新的NCCN指南,T2c被认为是中度风险。

[0680] 缩略语。PSA:前列腺特异性抗原。

[0681] 表11. 用于前列腺癌的诊断的5-标志物特征

[0682]

标志物	基因符号	基因名称	P 值
PCa.57.59	ETS1	ETS 原癌基因 1、转录因子	0.11
PCa.81.83	MAP3K14	丝裂原活化蛋白激酶激酶 14	0.11
PCa.73.75	SLC22A3	溶质载体家族 22 成员 3	0.107
PCa.77.79	SLC22A3	溶质载体家族 22 成员 3	0.005
PCa.189.191	CASP2	半胱天冬酶 2	0.137

[0683] 表12.

[0684] 病理学和EpiSwitch™结果的比较

[0685]

EpiSwitch™诊断	病理学结果	
	PCa	健康
PCa	8	2
健康	2	8

[0686] 盲样分类结果 (n=20) .

[0687]

统计学	值	95% CI
灵敏度	80.00%	44.39%至97.48%
特异性	80.00%	44.39%至97.48%
阳性相似比	4.00	1.11至14.35
阴性相似比	0.25	0.07至0.90
疾病患病率 (*)	50.00%	27.20%至72.80%
阳性预测值 (*)	80.00%	52.71%至93.49%
阴性预测值 (*)	80.00%	52.71%至93.49%

[0688] (*) 这些值取决于疾病患病率。

[0689] 缩略语:95%CI:95%置信区间。

[0690]

表 13.高风险 3 类 vs 低风险 1 类, 高风险 3 类 vs 中度风险 2 类的标志物。

高风险3类vs低风险1类的生物标志物			高风险3类vs中度风险2类的生物标志物		
基因座	基因位置	标志物	基因座	基因位置	标志物
6_7724582_7733496_7801590_7806316_FF	BMP6	PCa.119.37.39	1_119912462_119915175_119959754_119963670_RR	HSD3B2	PCa.119.129.131
21_39895678_39899145_39984806_39991905_RF	ERG	PCa.119.65.67	4_177629821_177639626_177740221_177743175_FR	VEGFC	PCa.119.205.207
8_16195878_16203315_16396849_16400398_FF	MSR1	PCa.119.77.79	12_99061113_99062942_99098781_99108240_FF	APAF1	PCa.119.49.51
1_155146523_155149986_155191807_155193554_FR	MUC1	PCa.119.121.123	1_155146523_155149986_155191807_155193554_FR	MUC1	PCa.119.121.123
11_107955219_107960166_108013361_108018367_FF	ACAT1	PCa.119.57.59	11_107955219_107960166_108013361_108018367_FF	ACAT1	PCa.119.57.59
9_90064560_90073617_90140806_90142738_FR	DAPK1	PCa.119.165.167	9_90064560_90073617_90140806_90142738_FR	DAPK1	PCa.119.165.167

带阴影的最后三个标志物是常见的。

缩略语: ACAT1: 乙酰辅酶 a 乙酰转移酶; APAF1: 凋亡肽酶激活因子 1; BMP6: 骨形态发生蛋白 6; DAPK1: 死亡相关蛋白激酶 1; ERG: ETS 转录因子 ERG; HSD3B2: 羟基- δ -5-类固醇脱氢酶、 3β -和类固醇 δ -异构酶 2; MSR1: 巨噬细胞清道夫受体 1; MUC1: 粘蛋白 1, 细胞表面相关; VEGFC: 血管内皮生长因子 C。

[0691]

表 14.在固定的检测灵敏度范围内检测血液和匹配的原发性前列腺肿瘤中相似的表现遗传标志物。

用于分类的标志物	血液样本					组织样本									
	类别	1					3								
		患者	A	B	C	D	E	血液样本中阳性标志物总数	A	B	C	D	E	组织样本中阳性标志物总数	
			1						3						
基因位置	标志物														
3 vs 1	BMP6	PCa.119.37.39	1	1	0	1	1	4	1	1	1	0	1	4	
	ERG	PCa.119.65.67	1	1	1	1	1	5	1	0	1	0	1	3	
	MSR1	PCa.119.77.79	1	0	0	0	1	2	0	0	1	0	1	2	
	MUC1	PCa.119.121.123	1	1	1	1	0	4	1	1	1	1	1	5	
	DAPK1	PCa.119.165.167	1	0	1	1	0	3	0	0	1	0	1	2	
常见的	ACAT1	PCa.119.57.59	1	1	1	1	1	5	1	1	1	1	1	5	
	HSD3B2	PCa.119.129.131	1	1	0	1	1	4	1	1	1	0	1	4	
	VEGFC	PCa.119.205.207	1	1	1	1	1	5	1	1	1	1	1	5	
	APAF1	PCa.119.49.51	1	1	1	1	1	5	0	1	1	1	1	4	
	3 vs 2														

当检测到正确规格的PCR条带时，它的得分是1分。当没有检测到条带时，它的得分是0分。
缩略语：ACAT1：乙酰辅酶a乙酰转移酶；APAF1：凋亡肽酶激活因子1；BMP6：骨形态发生蛋白6；DAPK1：死亡相关蛋白激酶1；ERG：ETS转录因子ERG；HSD3B2：羟基- δ -5-类固醇脱氢酶、 3β -和类固醇 δ -异构酶2；MSR1：巨噬细胞清道夫受体1；MUC1：粘蛋白1，细胞表面相关；VEGFC：血管内皮生长因子C。

[0692] 表15.

[0693] 3类vs 1类的病理学和EDiSwitch™结果的比较。

	EpiSwitch™ 诊断	病理学结果	
		1 类	3 类
[0694]	1 类	39	5
	3 类	3	20

[0695] 3类vs 1类分类器的盲样分类结果 (n=67)。

	统计学	值	95% CI
[0696]	灵敏度	80.00%	59.30%至 93.17%
	特异性	92.86%	80.52%至98.50%
	阳性相似比	11.20	3.70至33.91
	阴性相似比	0.22	0.10至0.47
	疾病患病率 (*)	37.31%	25.80%至49.99%
	阳性预测值 (*)	86.96%	68.77%至95.28%
	阴性预测值 (*)	88.64%	78.00%至94.49%

[0697] (*) 这些值取决于疾病患病率。

[0698] 缩略语:95%CI:95%置信区间。

[0699] 表16.

[0700] 3类vs 2类的病理学和EpiSwitch™结果的比较。

	EpiSwitch™ 诊断	病理学结果	
		2 类	3类
[0701]	2类	16	4
	3类	2	21

[0702] 3类vs 2类分类器的盲样分类结果 (n=43)。

	统计学	值	95% CI
[0703]	灵敏度	84.00%	63.92%至 95.46%
	特异性	88.89%	65.29%至98.62%
	阳性相似比	7.56	2.02至28.24
	阴性相似比	0.18	0.07至0.45
	疾病患病率 (*)	58.14%	42.13%至72.99%
	阳性预测值 (*)	91.30%	73.76%至97.51%
	阴性预测值 (*)	80.00%	61.62%至90.88%

[0704] (*) 这些值取决于疾病患病率。

[0705] 缩略语:95%CI:95%置信区间。

[0706] 表17.参与研究的患者的临床特征。

[0707]

特征	类别	患者数量
格里森分数	≤6	39
	7	54
	8-10	29
	未知的	18
	中间的	7
阶段	1	36
	2	49
	3	25
	4	14
	未知的	16
年龄	45-54	12
	55-64	21
	65-74	44
	75+	63
	未知的	0
PSA	<10	55
	10-20	23
	>20	51
	未知的	11
	中间的	12.2
转移的患者		21

[0708] 缩略语:PSA:前列腺特异性抗原。

[0709] 表18. 在初始阵列中测试的425个前列腺癌相关基因座的列表。

基因名称	阵列探针计数	基因名称	阵列探针计数	基因名称	阵列探针计数	基因名称	阵列探针计数
ABHD3	20	CALR	15	CREBBP	20	EPS15	111
ABR	20	CAP1	20	CSE1L	20	ERBB2	20
ACAT1	20	CARS	20	CSF2	11	ERBB3	20
ACPP	20	CASP2	20	CSF2RA	3	ERBB4	200
ACTA1	20	CASP3	20	CSNK1A1	20	ERG	67
ACTR2	20	CASP9	20	CTBP1	20	ERRFI1	20
ACTR3	20	CAV1	20	CTNNA1	43	ESR1	200
ADAM9	20	CBL	20	CTNNB1	45	ESR2	20
ADRB2	20	CCDC67	31	CTNND1	20	ETS1	105
AGAP2	15	CCND1	20	CXCL16	19	ETV1	47
AIP	9	CCND2	20	CXCR1	20	ETV4	20
AKT1	20	CCNE1	20	CXCR2	19	ETV5	20
AKT2	20	CCNJ	6	CXCR4	20	EZH2	31
AKT3	122	CD244	20	CXCR6	19	FASN	20
AMACR	20	CD4	20	CYCS	18	FGD4	52
AP2M1	20	CD44	75	CYP17A1	20	FGF19	20
APAF1	26	CD82	20	CYP19A1	149	FGF2	39
APC	37	CD8A	20	CYP1B1	19	FGF6	20
[0710] AR	115	CDC25A	20	DAND5	20	FGF8	10
ARAF	20	CDC25B	20	DAPK1	56	FGFR1	20
ARNT	20	CDC25C	20	DDIT4	16	FGFR4	12
ARTN	20	CDC37	20	DOK4	20	FHL2	20
ASAH1	20	CDC45	20	DPP4	103	FLNA	9
ATM	54	CDH1	20	E2F1	20	FLT1	97
AXIN1	20	CDK2	2	E2F4	20	FLT4	10
AXL	20	CDK4	20	EDN1	20	FN1	20
BAD	20	CDK6	111	EDNRA	35	FOLH1	35
BCAR1	28	CDKN1A	20	EED	20	FOSB	11
BCL2L1	20	CDKN1B	20	EGF	26	FOXA1	18
BCORL1	20	CDKN2A	20	EGFR	200	FOXO1	21
BGLAP	11	CDKN2B	16	EIF4E	20	FOXO3	139
BIRC5	4	CDKN2C	10	EIF4EBP1	20	FOXP1	200
BMI1	20	CDKN2D	20	EIF6	20	FZD1	18
BMP6	71	CENPBD1	7	ELAC2	20	GAB1	107
BMP7	20	CHAMP1	20	ENPP2	74	GAS6	20
BRAF	20	CHEK2	20	EP300	20	GLIPR1	15
BRCA1	20	CHUK	29	EPHA2	20	GNRH1	20
BRCA2	20	CLU	28	EPHB4	20	GNRHR	3
CA1	20	COMMD3-BMI1	20	EPHB6	6	GRB2	20

基因名称	阵列探针计数	基因名称	阵列探针计数	基因名称	阵列探针计数	基因名称	阵列探针计数
GSK3B	92	KLK4	17	MIR34A	20	NFKB1	66
GSTP1	20	KRAS	20	MIR361	20	NFKBIA	20
HDAC1	20	LPAR1	30	MIR365A	5	NGF	21
HDAC3	20	LPAR2	5	MIR376A1	9	NKX3-1	20
HGF	27	LPAR3	31	MIR454	11	NOVA1	34
HIF1A	20	LPAR4	5	MIR500A	20	NOX5	43
HIPK2	20	LRP5	20	MIR582	3	NPDC1	1
HRAS	6	LRP6	35	MIR619	20	NR0B1	10
HSD3B1	20	MAGEA11	20	MIR636	20	NR3C1	25
HSD3B2	20	MAP2K1	20	MIR648	20	NR4A3	20
HSP90AA1	20	MAP2K2	20	MIR671	20	NRAS	20
HSP90AB1	20	MAP2K5	196	MIR766	15	NRIP1	69
HSPA1A	20	MAP3K14	20	MIR877	13	NTF3	31
HSPB1	20	MAP3K2	24	MIR887	18	NTRK1	20
IGF1	20	MAPK1	20	MIR93	20	PA2G4	20
IGF1R	102	MAPK3	20	MIR98	17	PAQR7	20
[0711] IGFBP3	14	MAPKAP1	31	MIRLET7G	3	PAX8	20
IGFBP5	20	MCM7	20	MLST8	2	PCBP2	20
IL16	82	MDM2	20	MMP14	20	PCYT1A	20
IL2	2	MDM4	23	MMP9	20	PDGFA	20
IL6	20	MED1	20	MSMB	20	PDGFB	20
IL6R	20	MEN1	20	MSR1	200	PDGFRA	24
IL8	17	MET	105	MTA1	1	PDGFRB	20
INPPL1	20	MIF	12	MTCH1	20	PDPK1	20
INS	17	MIR125B1	4	MTOR	32	PIAS1	89
IRAK1	20	MIR149	3	MTRR	20	PIAS2	21
IRS1	20	MIR151A	31	MUC1	7	PIAS3	20
ITK	24	MIR152	15	MYB	20	PIAS4	20
JAK1	20	MIR16-1	20	MYC	20	PIK3C2A	20
JAK2	20	MIR183	20	NCOA1	170	PIK3C2B	21
JAK3	20	MIR197	7	NCOA2	200	PIK3C2G	200
JUN	20	MIR204	20	NCOA3	20	PIK3CA	20
KAT7	20	MIR222	6	NCOA4	18	PIK3CB	21
KCNH2	20	MIR224	20	NCOR1	35	PIK3CD	20
KDM6B	20	MIR23B	20	NCOR2	26	PIK3CG	20
KIT	107	MIR24-2	20	NEDD4	85	PIK3R1	81
KLF4	20	MIR26B	3	NEDD4L	128	PIK3R2	20
[0712] KLK2	20	MIR27B	20	NET1	20	PLD1	189
KLK3	8	MIR335	20	NF1	190	PLD2	20

基因名称	阵列探针计数	基因名称	阵列探针计数	基因名称	阵列探针计数	基因名称	阵列探针计数
PLD3	20	PXN	20	SFTPA1	20	TGFB11	20
PML	20	RAB9B	16	SFTPA2	8	TGFB2	75
POU2F1	26	RAD51	9	SHC1	11	TGFB3	15
POU2F2	20	RAF1	20	SIRT1	20	TGFBR1	20
PPP1CA	20	RAN	20	SKP2	16	TGFBR2	65
PPP2CA	20	RB1	82	SLC22A3	56	TIMP1	20
PRKCA	148	RCHY1	20	SMAD3	20	TMF1	20
PRKCB	176	REL	25	SMAD4	67	TMPRSS2	36
PRKCD	20	RGS6	200	SMARCE1	20	TNK2	20
PRKCG	20	RHEB	20	SOAT1	20	TOP2A	20
PRKCH	200	RHOA	20	SOS1	103	TOP2B	24
PRKCI	43	RICTOR	38	SOX9	20	TP53	15
PRKCQ	59	RNASEL	13	SP1	20	TRAF3	20
[0713] PRKCZ	20	RNF14	20	SPDEF	17	TRAF6	20
PRSS3	23	RNF20	20	SPINK1	20	TSC1	20
PRSS8	20	RNF40	20	SPOPL	20	TSC2	2
PSAP	20	ROCK1	67	SRC	20	TUBB	4
PSCA	20	ROR2	193	SRD5A1	13	VEGFA	20
PSG1	19	RPS6KA1	20	SRD5A2	79	VEGFC	57
PTEN	23	RPS6KB1	20	SRD5A3	20	VIM	9
PTGS2	20	RPTOR	68	SREBF1	20	WAS	12
PTK2B	54	RREB1	85	SRY	3	WNT1	20
PTK7	20	RYBP	20	STAT3	20	WNT2	40
PTPN11	20	S100A4	20	SUZ12	20	WNT3	20
PTPN12	20	S100P	20	SVIL	51	WNT5A	23
PTPN14	135	SAGE1	20	TBC1D8	43	ZAP70	20
PTPRF	20	SATB1	20	TERT	20	ZFAND1	20
PTPRR	200	SCGB1A1	20	TGFB1	20	ZMYND10	20
PTPRT	200					总计	14241

[0714]

表 19.预后阵列分类 1 类 vs 3 类以及 2 类 vs 3 类的标志物。由预后阵列产生的前 181 个标志物。

探针	基因座	logFC	AveExpr	t	P 值	adj.P.Val	B	FC	FC_1	二元
ACAT1_11_107955219_107960166_108013361_108018367_FF	ACAT1	-0.436725529	-0.436725529	-11.90723067	1.37E-07	3.10E-05	8.114204006	0.738809576	-1.353528748	-1
ACTA1_1_229547333_229551721_229600994_229605798_FR	ACTA1	0.417850291	0.417850291	8.736657363	2.98E-06	0.000260244	5.025483662	1.335935441	1.335935441	1
AKT3_1_243680126_243690814_243946602_243948601_FR	AKT3	0.652970743	0.652970743	16.8960264	3.63E-09	3.08E-06	11.560433	1.572402697	1.572402697	1
AKT3_1_243680126_243690814_243915703_243918596_FR	AKT3	0.598435451	0.598435451	11.73324265	1.59E-07	3.45E-05	7.966660757	1.514073719	1.514073719	1
AKT3_1_243680126_243690814_243727939_243733240_FF	AKT3	0.520843747	0.520843747	19.9294303	6.33E-10	1.07E-06	13.10148999	1.434794129	1.434794129	1
AKT3_1_243680126_243690814_243860421_243862288_FR	AKT3	0.410316196	0.410316196	12.44251976	8.76E-08	2.55E-05	8.554504322	1.328977055	1.328977055	1
APAF1_12_90061113_99062942_99098781_99108240_FF	APAF1	-0.441488336	-0.441488336	-13.23940926	4.63E-08	1.71E-05	9.174110234	0.736374546	-1.358004571	-1
APC_5_112020873_112029146_112079758_112082452_FF	APC	0.399930381	0.399930381	6.922678201	2.63E-05	0.000993557	2.789251424	1.319444238	1.319444238	1
AR_X_66792540_66795953_66818342_66825862_RF	AR	-0.33854166	-0.33854166	-6.221155823	6.77E-05	0.001660581	1.810263084	0.790840324	-1.264477758	-1
AR_X_66736338_66750729_66875649_66881776_RR	AR	0.760948793	0.760948793	21.04618466	3.54E-10	7.79E-07	13.59167252	1.694604721	1.694604721	1
AR_X_66736338_66750729_66906874_66911452_RR	AR	0.563742659	0.563742659	20.89428568	3.82E-10	7.78E-07	13.52715233	1.478098751	1.478098751	1
AR_X_66750729_66754087_66950367_66956132_FR	AR	0.528294859	0.528294859	9.248783162	1.71E-06	0.000187011	5.588100983	1.442223604	1.442223604	1
AR_X_66818342_66825862_66950367_66956132_FF	AR	0.388697407	0.388697407	10.14296783	6.90E-07	9.11E-05	6.507167389	1.309210798	1.309210798	1
AR_X_66911452_66916150_66950367_66956132_RR	AR	0.377269056	0.377269056	7.449040178	1.34E-05	0.000639022	3.480123787	1.298880815	1.298880815	1
AR_X_66736338_66750729_66875649_66881776_FR	AR	0.370736884	0.370736884	5.172651841	0.000316014	0.004216579	0.216960602	1.293013093	1.293013093	1
ATM_11_108112750_108115594_108208085_108223747_FR	ATM	-0.370811815	-0.370811815	-8.707610279	3.07E-06	0.000260244	4.992731905	0.773347206	-1.293080251	-1
ATM_11_108155279_108156687_108208085_108223747_RR	ATM	0.363186489	0.363186489	6.602286154	4.02E-05	0.001238401	2.350592936	1.28626374	1.28626374	1
BMP6_6_7724582_7733496_7801590_7806316_FF	BMP6	-0.468602239	-0.468602239	-8.973309325	2.30E-06	0.000229279	5.288915333	0.722664415	-1.383768149	-1
BMP6_6_7724582_7733496_7743581_7746369_FR	BMP6	-0.388036314	-0.388036314	-5.889142945	0.000108497	0.002198909	1.322801574	0.764169025	-1.30861101	-1
CD44_11_35172600_35178637_35204720_35210484_FR	CD44	-0.398048925	-0.398048925	-5.668665177	0.000149504	0.002652749	0.990360448	0.758883891	-1.317724638	-1
CDH1_16_68794947_68799115_68857468_68863222_FR	CDH1	0.49540487	0.49540487	10.65592887	4.22E-07	6.84E-05	7.000965624	1.409716315	1.409716315	1
CTNNB1_3_41282801_412834483_41281934_41304993_FR	CTNNB1	0.427937487	0.427937487	10.8349435	3.57E-07	6.15E-05	7.167935447	1.345308914	1.345308914	1
DPP4_2_162933505_162942299_162961246_162964936_FR	DPP4	-0.512949291	-0.512949291	-14.57522664	1.71E-08	1.09E-05	10.1259903	0.700788356	-1.426964348	-1
DPP4_2_162946178_162949954_162972154_162979139_RF	DPP4	-0.445665864	-0.445665864	-3.573437421	0.004427816	0.023189841	-2.491256189	0.734245353	-1.361942565	-1
EGFR_7_55080257_55086091_55224588_55235839_RR	EGFR	-0.493404965	-0.493404965	-11.0577665	2.91E-07	5.37E-05	7.372042198	0.710346599	-1.407763479	-1
EP515_1_51804255_51813510_51945067_51946855_FF	EP515	0.386206462	0.386206462	8.698890643	3.10E-06	0.000760244	4.982882133	1.306952276	1.306952276	1
ERBB4_2_213060845_213063716_213336205_213346911_FR	ERBB4	-0.681305564	-0.681305564	-14.78217408	1.48E-08	1.00E-05	10.26456915	0.623600693	-1.603590265	-1
ERBB4_2_212789287_212798405_212962659_212969505_FR	ERBB4	-0.435496836	-0.435496836	-5.826671395	0.000118755	0.002319347	1.229315586	0.739439062	-1.352376485	-1

[0715]

表 19. 预后阵列分类 1 类 vs 3 类以及 2 类 vs 3 类的标志物。由预后阵列产生的前 181 个标志物。

探针	基因座	logFC	AveExpr	t	P 值	adj.P.Val	B	FC	FC_1	二元
ERBB4_2_213052672_213059531_213336205_213346911_FR	ERBB4	-0.425728775	-0.425728775	-12.76218491	6.75E-08	2.15E-05	8.808033687	0.744462573	-1.343250872	-1
ERBB4_2_212789287_212798405_212846041_212850086_RF	ERBB4	-0.356744537	-0.356744537	-6.538422232	4.38E-05	0.001298756	2.261469357	0.780924761	-1.280533093	-1
ERBB4_2_212556994_212565232_212622803_212628844_FR	ERBB4	0.688270832	0.688270832	10.79268571	3.71E-07	6.29E-05	7.128763987	1.611351047	1.611351047	1
ERBB4_2_213182054_213190315_213317793_213323368_RR	ERBB4	0.447473513	0.447473513	10.33352546	5.73E-07	8.45E-05	6.693320715	1.363650103	1.363650103	1
ERBB4_2_212622803_212628844_212789287_212798405_RF	ERBB4	0.416082272	0.416082272	5.631318317	0.000158077	0.002758619	0.933355245	1.334299258	1.334299258	1
ERBB4_2_213151813_213159540_213182054_213190315_FF	ERBB4	0.378853461	0.378853461	3.217386837	0.008284402	0.035699071	-3.122932982	1.300308063	1.300308063	1
ERBB4_2_212556994_212565232_212858137_212868453_FF	ERBB4	0.359671724	0.359671724	6.923758849	2.62E-05	0.000993557	2.790707369	1.283133896	1.283133896	1
ERG_21_39895678_39899145_39984806_39991905_RF	ERG	-0.425291613	-0.425291613	-11.67074071	1.68E-07	3.57E-05	7.913111034	0.744688192	-1.342843905	-1
ESR1_6_152151654_152158599_152307023_152319013_RF	ESR1	-0.334294612	-0.334294612	-9.744626114	1.03E-06	0.000124223	6.107253454	0.793171853	-1.260760825	-1
ETS1_11_128387417_128389914_128489818_128498866_FF	ETS1	-0.529524556	-0.529524556	-8.680536392	3.17E-06	0.000260244	4.9621121749	0.692783005	-1.443453423	-1
ETS1_11_128431527_128436474_128489818_128498866_RF	ETS1	-0.370215655	-0.370215655	-5.977392038	9.56E-05	0.002017625	1.453907443	0.77366684	-1.292546027	-1
ETS1_11_128342943_128345136_128399358_128409879_FF	ETS1	-0.344088814	-0.344088814	-4.169479623	0.001593588	0.012099379	-1.4489395395	0.787805386	-1.269349026	-1
ETS1_11_128342943_128345136_128489818_128498866_FF	ETS1	-0.342780154	-0.342780154	-4.97505672	0.000429841	0.005055727	-0.100832117	0.788570324	-1.26819813	-1
ETV1_7_13928482_13938998_14075713_14080964_FR	ETV1	-0.438646448	-0.438646448	-12.61661413	7.60E-08	2.29E-05	8.693428053	0.737826521	-1.355332144	-1
ETV1_7_13928482_13938998_14040827_14042620_FR	ETV1	-0.420116215	-0.420116215	-7.525930383	1.22E-05	0.000603601	3.578039973	0.747364419	-1.338035334	-1
FOLH1_11_49157869_49163274_49234427_49241370_FF	FOLH1	-0.327026922	-0.327026922	-4.300654557	0.001279787	0.010350202	-1.224472556	0.7971776	-1.254425613	-1
FOLH1_11_49214976_49217503_49234427_49241370_RF	FOLH1	0.418767287	0.418767287	6.637609483	3.83E-05	0.00120659	2.399644945	1.336784849	1.336784849	1
FOLH1_11_49157869_49163274_49193665_49198286_RR	FOLH1	0.359712744	0.359712744	10.54139329	4.70E-07	7.47E-05	6.8970707121	1.28317038	1.28317038	1
GLIPR1_12_75847260_75849629_75907812_75913956_FR	GLIPR1	-0.345396052	-0.345396052	-5.155710032	0.000324389	0.004293149	0.189926553	0.787091873	-1.270499715	-1
GSK3B_3_119542459_119548768_119722182_119724690_FR	GSK3B	0.449273935	0.449273935	10.95895529	3.18E-07	5.68E-05	7.282033839	1.365352943	1.365352943	1
HGF_7_81320024_81325883_81430055_81434910_FF	HGF	-0.43281007	-0.43281007	-4.979466125	0.000426875	0.00504444	-0.093681464	0.740817421	-1.349860265	-1
IGFBP5_2_217560127_217567417_217584428_217589578_FR	IGFBP5	0.375003854	0.375003854	12.14650233	1.12E-07	2.78E-05	8.313515985	1.296843019	1.296843019	1
IL16_15_81429756_81433873_81539851_81547011_FR	IL16	-0.481896248	-0.481896248	-9.127530593	1.95E-06	0.000208593	5.457383883	0.716035863	-1.396578093	-1
IL6_7_22721376_22727129_22765455_22766829_FR	IL6	0.364631786	0.364631786	4.801938715	0.00056537	0.005957969	-0.383664127	1.28755297	1.28755297	1
JUN_1_59244918_59246918_59258836_59260597_RF	JUN	-0.318607525	-0.318607525	-5.099115371	0.000354116	0.004543222	0.099326736	0.801843436	-1.247126254	-1
KIT_4_55553401_55555465_55610649_55618756_FR	KIT	0.392634635	0.392634635	7.232977499	1.76E-05	0.000779657	3.200921573	1.312788617	1.312788617	1
KRAS_12_25363357_25368892_25413300_25418096_FR	KRAS	0.414148209	0.414148209	11.99343016	1.28E-07	3.07E-05	8.186481963	1.332511707	1.332511707	1
LPAR3_1_85307233_85315383_85371057_85373099_RR	LPAR3	-0.38895037	-0.38895037	-13.49428502	3.80E-08	1.61E-05	9.363780155	0.76368502	-1.309440376	-1

[0716]

表 19.预后阵列分类 1 类 vs 3 类以及 2 类 vs 3 类的标志物。由预后阵列产生的前 181 个标志物。

探针	基因座	logFC	AveExpr	t	P 值	adj.P.Val	B	FC	FC_1	二元
LPAR3_1_85265679_85268722_85307233_85315383_RR	LPAR3	0.402766702	0.402766702	11.08898448	2.82E-07	5.32E-05	7.400314167	1.322040801	1.322040801	1
MAP2K5_15_67818519_67824995_68067482_680727379_FR	MAP2K5	0.404437029	0.404437029	9.01303797	2.20E-06	0.000221829	5.332553143	1.323572323	1.323572323	1
MAPKAP1_9_128370452_128376700_128393518_128397379_RF	MAPKAP1	-0.396294954	-0.396294954	-12.18592711	1.08E-07	2.78E-05	8.345964775	0.759807072	-1.316123575	-1
MIR454_17_57199107_57202160_57227315_57228782_FF	MIR454	0.373313547	0.373313547	4.540644288	0.00861835	0.007908614	-0.818047279	1.295324487	1.295324487	1
MIR98_X_53595032_53600487_53628991_53630033_RR	MIR98	0.742460493	0.742460493	23.55441603	1.06E-10	5.41E-07	14.56868412	1.673026728	1.673026728	1
MIR98_X_53608013_53611637_53628991_53630033_RR	MIR98	0.67511652	0.67511652	13.76185645	3.10E-08	1.43E-05	9.558686586	1.596725728	1.596725728	1
MSR1_8_16213140_16220021_16405541_16412741_RR	MSR1	-0.589823054	-0.589823054	-8.317534796	4.77E-06	0.000337002	4.54380866	0.664424394	-1.50506214	-1
MSR1_8_16195878_16203315_16396849_16400398_FF	MSR1	-0.419369028	-0.419369028	-3.516010141	0.004895359	0.024952597	-2.59289798	0.747751587	-1.337342532	-1
MSR1_8_16045879_16049928_16079226_16088483_FF	MSR1	-0.385893508	-0.385893508	-10.14385541	6.89E-07	9.11E-05	6.508042059	0.765304873	-1.306668799	-1
MSR1_8_16142611_16149459_16195878_16203315_FF	MSR1	-0.337812738	-0.337812738	-6.009884545	9.13E-05	0.00198016	1.501898146	0.791239998	-1.263839041	-1
MSR1_8_16142611_16149459_16396849_16400398_RF	MSR1	-0.328903769	-0.328903769	-5.188518336	0.000308377	0.004162163	0.242242178	0.796141201	-1.256058596	-1
MSR1_8_16251114_16260512_16462527_16467449_FF	MSR1	-0.318902812	-0.318902812	-7.84658429	8.28E-06	0.000473286	3.978390344	0.801679333	-1.247381538	-1
MSR1_8_16195878_16203315_16433596_16442100_FR	MSR1	0.420145921	0.420145921	3.761840375	0.003192302	0.018914227	-2.159017761	1.338062886	1.338062886	1
NCOA1_2_24829718_24833469_24853776_24866328_RR	NCOA1	0.383599799	0.383599799	7.061388057	2.19E-05	0.000893094	2.974854782	1.304593006	1.304593006	1
NCOA1_2_24696090_24698819_24840193_24848780_RF	NCOA1	0.376458226	0.376458226	8.007884338	6.84E-06	0.000434693	4.175013545	1.298151018	1.298151018	1
NCOA1_2_24672976_24676297_24840193_24848780_RF	NCOA1	0.368303096	0.368303096	8.47574282	3.98E-06	0.000302485	4.72794807	1.290833654	1.290833654	1
NEDD4L_18_55713082_55720762_55811019_55814883_RR	NEDD4L	-0.444311776	-0.444311776	-12.22570821	1.05E-07	2.78E-05	8.378595915	0.734934827	-1.360664869	-1
NEDD4L_18_55713082_55720762_55848311_55850861_RR	NEDD4L	-0.390337066	-0.390337066	-12.14497251	1.12E-07	2.78E-05	8.312254649	0.76295133	-1.310699595	-1
NEDD4L_18_55713082_55720762_55882560_55885168_RR	NEDD4L	-0.37571287	-0.37571287	-12.60684517	7.66E-08	2.29E-05	8.685686665	0.770724485	-1.297480512	-1
NEDD4L_18_55713082_55720762_55869254_55872326_RR	NEDD4L	-0.360925867	-0.360925867	-11.91420916	1.36E-07	3.10E-05	8.120075504	0.778664702	-1.284249816	-1
NEDD4L_18_55713082_55720762_55774243_55779941_RR	NEDD4L	-0.35657074	-0.35657074	-9.240361998	1.73E-06	0.000187011	5.579071341	0.781018843	-1.28037884	-1
NEDD4L_18_55713082_55720762_55961376_55965188_RR	NEDD4L	-0.356380382	-0.356380382	-8.945405461	2.37E-06	0.00023	5.258165908	0.781121902	-1.28020991	-1
NEDD4L_18_55713082_55720762_55784812_55787427_RR	NEDD4L	-0.354821703	-0.354821703	-12.0183087	1.25E-07	3.02E-05	8.207242683	0.781966277	-1.278827526	-1
NEDD4L_18_55713082_55720762_55986600_55989306_RR	NEDD4L	-0.349236239	-0.349236239	-11.79725824	1.51E-07	3.34E-05	8.021205936	0.784999566	-1.273886055	-1
NEDD4L_18_55713082_55720762_55927256_55929658_RR	NEDD4L	-0.343996768	-0.343996768	-8.731068109	3.00E-06	0.000760244	5.019188722	0.787855651	-1.269268043	-1
NEDD4L_18_55713082_55720762_55950636_55953432_RR	NEDD4L	-0.326323266	-0.326323266	-12.21462858	1.06E-07	2.78E-05	8.36951882	0.797566509	-1.253813932	-1
NEDD4L_18_55713082_55720762_55876126_55882560_RR	NEDD4L	-0.319472154	-0.319472154	-10.93796227	3.24E-07	5.69E-05	7.262808228	0.801363023	-1.2478739	-1
NF1_17_29477103_29483764_29709143_29714529_FR	NF1	0.640366513	0.640366513	17.71768057	2.20E-09	2.49E-06	12.01137937	1.5587251	1.5587251	1

[0717]

表 19.预后阵列分类 1 类 vs 3 类以及 2 类 vs 3 类的标志物。由预后阵列产生的前 181 个标志物。

探针	基因座	logFC	AveExpr	t	P 值	adj.P.Val	B	FC	FC_1	二元
NF1_17_29659279_29666456_29709143_29714529_FR	NF1	0.558103066	0.558103066	14.14945638	2.33E-08	1.29E-05	9.83363673	1.472332041	1.472332041	1
NF1_17_29477103_29483764_29651799_29657368_FF	NF1	0.451959985	0.451959985	13.17645951	4.86E-08	1.71E-05	9.126648681	1.367897363	1.367897363	1
NF1_17_29629862_29634257_29659279_29666456_RF	NF1	0.36665184	0.36665184	7.2650224	1.69E-05	0.000765315	3.24712391	1.289357057	1.289357057	1
NFKB1_4_103436488_103442700_103548256_103555520_FR	NFKB1	0.79980903	0.79980903	13.11977478	5.08E-08	1.72E-05	9.083698686	1.740870671	1.740870671	1
NFKB1_4_103425294_103430395_103548256_103555520_RR	NFKB1	0.430874236	0.430874236	14.09753934	2.42E-08	1.29E-05	9.797304101	1.348050213	1.348050213	1
NOVA1_14_26999345_27006013_27046501_27053973_FR	NOVA1	-0.461947202	-0.461947202	-11.22100125	2.51E-07	5.00E-05	7.519006961	0.726005709	-1.377396637	-1
NOVA1_14_26986332_26987866_27070837_27086602_FF	NOVA1	-0.325885172	-0.325885172	-7.120645356	2.03E-05	0.000844533	3.053363996	0.797808737	-1.253433252	-1
NR4A3_9_102621891_102624499_102636939_102640160_FR	NR4A3	-0.326733183	-0.326733183	-6.549075716	4.32E-05	0.00128905	2.276375868	0.797339926	-1.254170233	-1
PIAS2_18_44419921_44425175_44533399_44538938_FF	PIAS2	-0.376922678	-0.376922678	-4.811482513	0.000556831	0.005918513	-0.367966827	0.770078446	-1.298569003	-1
PIK3C2A_11_17158103_17163660_17253125_17255535_FR	PIK3C2A	-0.412653759	-0.412653759	-9.581839254	1.21E-06	0.000138409	5.939488583	0.751240236	-1.33132109	-1
PIK3C2G_12_18503466_18517448_18605599_18615448_FF	PIK3C2G	-0.397193613	-0.397193613	-6.065111351	8.44E-05	0.001886444	1.583120211	0.759333934	-1.316943647	-1
PIK3C2G_12_18682015_18689955_18755082_18765416_FF	PIK3C2G	-0.349259284	-0.349259284	-7.872086105	8.03E-06	0.000473286	4.009686303	0.784987026	-1.273906404	-1
PIK3C2G_12_18503466_18517448_18653437_18654550_FF	PIK3C2G	0.813156179	0.813156179	32.76884362	3.04E-12	3.10E-08	17.09863144	1.757051136	1.757051136	1
PIK3C2G_12_18503466_18517448_18800920_18805991_FR	PIK3C2G	0.52068763	0.52068763	19.49409228	8.00E-10	1.16E-06	12.9000512	1.434638875	1.434638875	1
PIK3C2G_12_18503466_18517448_18586459_18591749_FR	PIK3C2G	0.500422551	0.500422551	22.08623513	2.12E-10	7.17E-07	14.016338	1.414627832	1.414627832	1
PIK3C2G_12_18503466_18517448_18623979_18629934_FR	PIK3C2G	0.454500507	0.454500507	14.21973094	2.21E-08	1.29E-05	9.882576362	1.370308292	1.370308292	1
PIK3C2G_12_18466993_18474305_18503466_18517448_RF	PIK3C2G	0.418315764	0.418315764	7.846493305	8.28E-06	0.000473286	3.978278546	1.336366539	1.336366539	1
PIK3C2G_12_18407299_18408850_18503466_18517448_RF	PIK3C2G	0.417537091	0.417537091	12.19551672	1.08E-07	2.78E-05	8.35384099	1.335645449	1.335645449	1
PIK3C2G_12_18503466_18517448_18748288_18755082_FR	PIK3C2G	0.412545687	0.412545687	8.404871486	4.32E-06	0.000313738	4.645813078	1.331032398	1.331032398	1
PIK3C2G_12_18409429_18411730_18662602_18673822_RF	PIK3C2G	0.404135265	0.404135265	7.905355237	7.72E-06	0.000473286	4.050395593	1.323295505	1.323295505	1
PIK3C2G_12_18466993_18474305_18765637_18775643_FR	PIK3C2G	0.401350605	0.401350605	10.51089877	4.83E-07	7.57E-05	6.863693215	1.32074377	1.32074377	1
PRKCB_16_23929937_23938239_24143206_24145438_FR	PRKCB	0.359090966	0.359090966	12.83614979	6.36E-08	2.09E-05	8.865730305	1.283345005	1.283345005	1
PRKCH_14_61911080_61914582_62023126_62035192_FR	PRKCH	-0.411325245	-0.411325245	-5.079346062	0.000365169	0.004598091	0.067573492	0.751932339	-1.329906892	-1
PRKCH_14_61772357_61775932_61963825_61969638_RR	PRKCH	-0.335493699	-0.335493699	-7.529186724	1.22E-05	0.000603601	3.582169975	0.792512887	-1.261809134	-1
PTGS2_1_186630471_186639286_186675090_186678395_RR	PTGS2	-0.481332802	-0.481332802	-6.768676224	3.22E-05	0.001116912	2.580151439	0.716315566	-1.396032765	-1
PTPN14_1_214555543_214567111_214696754_214699528_RR	PTPN14	-0.656412698	-0.656412698	-6.179949212	7.18E-05	0.001709697	1.750618263	0.634543925	-1.576158584	-1
PTPN14_1_214555543_214567111_214590581_214592230_FF	PTPN14	-0.341216493	-0.341216493	-6.202805991	6.95E-05	0.001671497	1.783732259	0.789375423	-1.266824341	-1
PTPN14_1_214512778_214523707_214646434_214652454_FR	PTPN14	-0.318133487	-0.318133487	-4.495773109	0.000927417	0.008276791	-0.89351305	0.802106947	-1.246716543	-1

[0718]

表 19.预后阵列分类 1 类 vs 3 类以及 2 类 vs 3 类的标志物。由预后阵列产生的前 181 个标志物。

探针	基因座	logFC	AveExpr	t	P-值	adj.P.Val	B	FC	FC_1	二元
PTPN14_1_214555543_214567111_214643240_214644608_FR	PTPN14	0.743894345	0.743894345	14.95502699	1.31E-08	9.50E-06	10.37860359	1.674690326	1.674690326	1
PTPRR_12_71045661_71048060_71347632_71356891_FR	PTPRR	-0.321158046	-0.321158046	-5.612244267	0.0001626	0.002808651	0.904163728	0.80042712	-1.249332981	-1
PTPRR_12_71085097_71096639_71123929_71126257_FR	PTPRR	0.550492009	0.550492009	13.87391165	2.85E-08	1.38E-05	9.639060097	1.464585085	1.464585085	1
PTPRR_12_71085097_71096639_71150835_71153565_FR	PTPRR	0.37642789	0.37642789	7.745377455	9.35E-06	0.000508734	3.85340498	1.298123721	1.298123721	1
PTPRT_20_40761966_40770575_40995945_41003669_FR	PTPRT	0.390974701	0.390974701	5.898131356	0.000107101	0.002179292	1.336206195	1.31127902	1.31127902	1
PTPRT_20_40695490_40704819_40853486_40862226_RF	PTPRT	0.363092378	0.363092378	6.022994423	8.96E-05	0.001959674	1.521218337	1.286179837	1.286179837	1
RAN_12_131315466_131318726_131332056_131334187_RR	RAN	0.409645167	0.409645167	4.697687617	0.000668175	0.00655819	-0.555916376	1.328359062	1.328359062	1
RB1_13_48835536_48838517_490000831_49010576_FR	RB1	-0.421233583	-0.421233583	-6.218242572	6.80E-05	0.0011663343	1.806054195	0.746785809	-1.339072045	-1
REL_2_61090704_61099366_61123363_61128146_FF	REL	-0.396733033	-0.396733033	-8.151247086	5.78E-06	0.000384323	4.347158457	0.759576389	-1.316523281	-1
REL_2_61090704_61099366_61149976_61161058_FF	REL	-0.36693886	-0.36693886	-7.752686136	9.27E-06	0.000506975	3.862472978	0.775426067	-1.289613597	-1
REL_2_61090704_61099366_61144132_61147262_FR	REL	0.677200702	0.677200702	15.31760281	1.02E-08	7.96E-06	10.6128694	1.599034097	1.599034097	1
RG56_14_72418571_72425681_72679959_72689252_RR	RG56	0.640246502	0.640246502	17.53962222	2.45E-09	2.49E-06	11.91593523	1.558595442	1.558595442	1
ROR2_9_94323433_94326108_94448327_94455574_FF	ROR2	-0.317797399	-0.317797399	-13.17593415	4.86E-08	1.71E-05	9.126251542	0.802293826	-1.246426144	-1
SCGB1A1_11_62128712_62135211_62160970_62163465_FR	SCGB1A1	-0.657694922	-0.657694922	-10.36431148	5.56E-07	8.40E-05	6.723090349	0.633890292	-1.57756005	-1
SOS1_2_39227963_39230003_39353282_39361637_RF	SOS1	0.674466946	0.674466946	13.89064783	2.82E-08	1.38E-05	9.651002	1.596006963	1.596006963	1
SOS1_2_39209340_39220780_39276526_39280091_FR	SOS1	0.461207721	0.461207721	10.99304586	3.08E-07	5.60E-05	7.313177343	1.376693805	1.376693805	1
SRD5A2_2_31741633_31747723_31778586_31789876_FF	SRD5A2	-0.437278492	-0.437278492	-17.05212796	3.30E-09	3.05E-06	11.6482057	0.738526456	-1.354047634	-1
SRD5A2_2_31729027_31741633_31760980_31767977_FR	SRD5A2	0.394046044	0.394046044	9.411702288	1.44E-06	0.000162975	5.761374339	1.314073565	1.314073565	1
SRD5A2_2_31760980_31767977_31778586_31789876_RF	SRD5A2	0.36636811	0.36636811	11.1293664	2.72E-07	5.28E-05	7.436768688	1.289103509	1.289103509	1
TGFB2_1_218504155_218510817_218542394_218548723_RF	TGFB2	-0.401060991	-0.401060991	-18.11165268	1.74E-09	2.22E-06	12.21825228	0.757301142	-1.320478664	-1
TGFB2_1_218491029_218498929_218553354_218556593_FF	TGFB2	-0.386196098	-0.386196098	-7.834000204	8.41E-06	0.000476069	3.962917896	0.765144376	-1.306942888	-1
TMPPRSS2_21_42841804_42850832_42927381_42930038_FR	TMPPRSS2	0.46760546	0.46760546	8.60924216	3.43E-06	0.000272613	4.88179253	1.382812413	1.382812413	1
TOP2A_17_38547618_38549511_38613131_38616534_RR	TOP2A	-0.334752655	-0.334752655	-8.436098305	4.17E-06	0.000304987	4.682072992	0.792920063	-1.261161178	-1
TOP2A_17_38564762_38568693_38613131_38616534_RR	TOP2A	-0.33269637	-0.33269637	-9.020450371	2.18E-06	0.000221829	5.340676459	0.79405103	-1.259364905	-1
TOP2B_3_25644985_25663188_25716096_25717154_FF	TOP2B	0.677625777	0.677625777	11.54384037	1.88E-07	3.83E-05	7.803482889	1.599505304	1.599505304	1
VEGFC_4_177629821_177639626_177693384_177697283_FR	VEGFC	0.624813933	0.624813933	8.924483137	2.42E-06	0.00023044	5.235055692	1.542011936	1.542011936	1
VEGFC_4_177629821_177639626_177740221_177743175_FR	VEGFC	0.532875204	0.532875204	11.11732726	2.75E-07	5.28E-05	7.425914159	1.446809728	1.446809728	1
VEGFC_4_177629821_177639626_177693384_177697283_FF	VEGFC	0.418296493	0.418296493	13.22565823	4.68E-08	1.71E-05	9.163763582	1.336348688	1.336348688	1

[0719]

表 19.预后阵列分类 1 类 vs 3 类以及 2 类 vs 3 类的标志物。由预后阵列产生的前 181 个标志物。

探针	基因座	logFC	AveExpr	t	P 值	adj.P.Val	B	FC	FC_1	二元
EZH2_7_148496931_148503515_148602692_148606606_FF	EZH2	0.221213903	0.221213903	6.686469603	3.59E-05	0.001181426	2.467211314	1.165714021	1.165714021	1
EZH2_7_148496931_148503515_148610251_148614284_FR	EZH2	0.220468898	0.220468898	8.311487407	4.80E-06	0.000337006	4.53671325	1.165112204	1.165112204	1
SP1_12_537527282_53754759_53771263_53775550_RF	SP1	0.197127842	0.197127842	4.00029596	0.002121214	0.014064632	-1.742110313	1.146413768	1.146413768	1
SP1_12_53771263_53775550_53824264_53827278_FR	SP1	0.193365041	0.193365041	3.676018582	0.003703744	0.02071572	-2.31009962	1.143427617	1.143427617	1
DAPK1_9_90064560_90073617_90176237_90180153_FF	DAPK1	-0.210075392	-0.210075392	-5.311660617	0.000255365	0.00370395	0.437247364	0.864492054	-1.156748631	-1
DAPK1_9_90064560_90073617_90339152_90340776_FF	DAPK1	-0.289887636	-0.289887636	-3.250481175	0.007812935	0.034291978	-3.064141545	0.817965763	-1.222545056	-1
DAPK1_9_90064560_90073617_90140806_90142738_FR	DAPK1	0.299375751	0.299375751	7.197207444	1.84E-05	0.00005368	3.154114326	1.230611817	1.230611817	1
DAPK1_9_90064560_90073617_90140806_90142738_FF	DAPK1	0.22308584	0.22308584	3.330633912	0.006781108	0.031049051	-2.92175958	1.167227549	1.167227549	1
FGD4_12_32760791_32767406_32781508_32786048_FR	FGD4	-0.274580142	-0.274580142	-5.050237381	0.000382113	0.004709684	0.020720467	0.82669087	-1.209642004	-1
FGD4_12_32760791_32767406_32781508_32786048_RR	FGD4	-0.282349703	-0.282349703	-5.378249402	0.000230809	0.003536515	0.541798821	0.822250734	-1.216174043	-1
FGD4_12_32714978_32722972_32735447_32738552_RR	FGD4	0.277743465	0.277743465	4.897130535	0.000486024	0.005488137	-0.227642215	1.212297233	1.212297233	1
FGD4_12_32714978_32722972_32768073_32772358_RR	FGD4	0.224649977	0.224649977	3.77524936	0.003119249	0.018634903	-2.135456788	1.168493717	1.168493717	1
GAB1_4_144235957_144242111_144369687_144374560_FF	GAB1	0.322283078	0.322283078	7.881995854	7.94E-06	0.000473286	4.021826263	1.250307607	1.250307607	1
GAB1_4_144272552_144276220_144402622_144411096_FR	GAB1	0.232807271	0.232807271	5.862864002	0.000112692	0.002243704	1.283544618	1.175119334	1.175119334	1
GAB1_4_144254752_144257034_144321110_144332903_RF	GAB1	-0.1933323	-0.1933323	-3.299161865	0.00716858	0.03218585	-2.977661138	0.874583297	-1.143401668	-1
GAB1_4_144298156_144300750_144321110_144332903_FR	GAB1	-0.203419346	-0.203419346	-6.533724514	4.41E-05	0.001301693	2.25489123	0.868489706	-1.151424126	-1
HSD3B2_1_119937390_119948935_119959754_119963670_FR	HSD3B2	0.207425802	0.207425802	6.208022809	6.90E-05	0.001671497	1.791279777	1.154626147	1.154626147	1
HSD3B2_1_119937390_119948935_119959754_119963670_FF	HSD3B2	0.167484698	0.167484698	5.706595508	0.000141491	0.002556892	1.048050136	1.123098683	1.123098683	1
HSD3B2_1_119912462_119915175_119959754_119963670_RR	HSD3B2	-0.168081632	-0.168081632	-3.274998031	0.007481356	0.033194645	-3.020586815	0.890025372	-1.123563476	-1
KLK2_19_51340459_51344004_51390533_51395187_FR	KLK2	-0.233986179	-0.233986179	-5.085188859	0.000361865	0.004584902	0.076963796	0.850282306	-1.176079983	-1
KLK2_19_51317027_51319938_51340459_51344004_FF	KLK2	0.259249519	0.259249519	3.256953029	0.007723978	0.033974819	-3.052644106	1.196855945	1.196855945	1
KLK2_19_51317027_51319938_51346270_51350944_FF	KLK2	0.251147882	0.251147882	3.297865414	0.007185018	0.032204968	-2.979964123	1.190153686	1.190153686	1
MAP3K14_17_43358197_43360790_43375304_43380378_FF	MAP3K14	0.227459078	0.227459078	4.562645956	0.000831476	0.00777086	-0.781135175	1.170771132	1.170771132	1
MAP3K14_17_43360790_43364282_43409961_43415408_FF	MAP3K14	0.198862372	0.198862372	4.316518127	0.00124648	0.010161606	-1.197399861	1.147792913	1.147792913	1
MAP3K14_17_43358197_43360790_43375304_43380378_RR	MAP3K14	-0.205626917	-0.205626917	-6.208573083	6.89E-05	0.001671497	1.792075671	0.867161784	-1.15318735	-1
MIF_22_24194490_24195811_24245843_24254074_RR	MIF	0.254727783	0.254727783	10.76065239	3.82E-07	6.37E-05	7.098970594	1.193110598	1.193110598	1
MIF_22_24206371_24208274_24245843_24254074_FR	MIF	0.207093745	0.207093745	5.104189064	0.000351337	0.004526272	0.107467258	1.154360424	1.154360424	1
MUC1_1_155176403_155179713_155191807_155193554_FR	MUC1	-0.209333417	-0.209333417	-6.160281821	7.38E-05	0.001740993	1.722065484	0.864936775	-1.156153871	-1

[0720]

表 19.预后阵列分类 1 类 vs 3 类以及 2 类 vs 3 类的标志物。由预后阵列产生的前 181 个标志物。

探针	基因座	logFC	AveExpr	t	P 值	adj.P.Val	B	FC	FC_1	二元
MUC1_1_155146523_155149986_155191807_155193554_FF	MUC1	-0.218468452	-0.218468452	-5.993061073	9.35E-05	0.001993646	1.477069135	0.859477364	-1.163497775	-1
RAD51_15_40977719_40979675_410252113_41027977_RF	RAD51	0.352545734	0.352545734	4.666715555	0.00070238	0.006893753	-0.607362881	1.276811662	1.276811662	1
RAD51_15_40937212_40938851_410252113_41027977_RF	RAD51	-0.242505623	-0.242505623	-4.646371743	0.000715849	0.007053284	-0.641225269	0.845275991	-1.183045551	-1
RAD51_15_41009919_41011826_41025213_41027977_RF	RAD51	-0.243901539	-0.243901539	-6.598967119	4.03E-05	0.001240188	2.34597507	0.844458518	-1.184190791	-1
RNASL_1_182541376_182556600_182605098_182607856_FF	RNASL	0.268497887	0.268497887	3.858975685	0.002700604	0.016960458	-1.988638304	1.204553012	1.204553012	1
RNASL_1_182541376_182556600_182577916_182584530_FF	RNASL	0.25710383	0.25710383	3.235840558	0.008018044	0.03489118	-3.090150814	1.195077211	1.195077211	1
SRC_20_35928873_35935451_35989678_35993330_FF	SRC	0.206516047	0.206516047	6.456694813	4.89E-05	0.001394478	2.146589494	1.153898277	1.153898277	1
SRC_20_35928873_35935451_35989678_35993330_FF	SRC	0.198581558	0.198581558	6.507686654	4.56E-05	0.001334586	2.218375228	1.147569522	1.147569522	1
SRD5A3_4_56188038_56191526_56242301_56245314_RF	SRD5A3	0.266992266	0.266992266	4.835274287	0.000536131	0.005815136	-0.328887879	1.203296575	1.203296575	1
SRD5A3_4_56209429_56213336_56242301_56245314_RF	SRD5A3	0.239396914	0.239396914	4.842348143	0.000530134	0.005781472	-0.317283393	1.180499078	1.180499078	1
WNT1_12_49327866_49332429_49386082_49387249_RF	WNT1	0.171379721	0.171379721	4.015889993	0.002065728	0.014255673	-1.715014756	1.126134949	1.126134949	1
WNT1_12_49361168_49364315_49377006_49380965_RF	WNT1	-0.188758659	-0.188758659	-6.377243699	5.46E-05	0.001476292	2.0340141	0.877360306	-1.139782588	-1
WNT1_12_49327866_49332429_49364343_49365445_FF	WNT1	-0.289012147	-0.289012147	-10.04098231	7.63E-07	9.95E-05	6.406185639	0.81846229	-1.221803389	-1

缩略语: logFC: 对数的倍数变化; AveExpr: 平均表达水平; adj.P.Val: 调整后 p-值; B: B-统计 (基因差异表达的对数优势); FC: 倍数变化; FC_1: 以 1 为中心的倍数变化; 二元: 环是否存在的二元调用。.

[0721] 表20.本研究中使用的DLBCL细胞系。细胞系来自美国菌种保藏中心(ATCC)、德国微生物和细胞培养物保藏中心(DSMZ)和日本健康科学基金会资源库(JHSF)。

[0722]

细胞系	Cat#	来源	DLBCL 亚型
Toledo	CRL-2631	ATCC	ABC
Pfeiffer	CRL-2632	ATCC	ABC
RC-K8	ACC 561	DSMZ	ABC
Ri-1	ACC 585	DSMZ	ABC
A4/Fukada	JCRB 0097	JHSF	ABC
A3/Kawakami	JCRB 0101	JHSF	ABC
RL	CRL 2261	ATCC	GCB
HT	CRL-2260	ATCC	GCB
DB	CRL-2289	ATCC	GCB
Karpas-422	ACC 32	DSMZ	GCB
SU-DHL-10	ACC 576	DSMZ	GCB
SU-DHL-16	ACC 577	DSMZ	GCB

[0723] 表21. 用于初始生物标志物发现筛选的97个基因组基因座

[0724]

基因符号				
ABCG2	CD40	IL-10	MMP9	SFPQ
ANXA11	CD80	IL10RA	MTHFR	SIAH1
ARRB2	CDKN2C	IL-15	MyD88	SIRT1
ASPSR1	CREB3L2	IL22RA1	NAE1	SKP1
BAX	CTNNB1	IL-2RA	NCKIPSD	SOCS7
BBS9	CXCL8	IL-2RB	NFATc1	STAT3
BCL2A1	DBF4	IL-6	NFKB1	TAL2
BCL2L10	ERC1	IL-7	NFKB2	TET2
BCL6	ETV6	ITGA5	NFKBIA	TLR4
BRCA1	FCGR2A	ITPR3	NFKBIB	TNF
BTK	FOS	JAK3	PAK1	TNFRSF12A
c13orf34	FOXO1	JDP2	PCDHGA6/B2/B4	TNFRSF13B
c15orf55	FOXP1	LRP6	PIK3CG	TNFRSF13C
c21orf45	FRAP1	MAP3K7	PIM1	TOP1
CABLES1	FZD10	MAPK10	PRDM1	WNT11
CAMK2D	GATA4	MAPK13	PRKCZ	WNT9A
CASP10	GDF6	MEF2B	PTGS2	ZMYM3
CASP3	GRAP2	MLLT3	RBL1	
CCR9	HLF	MMP14	RCA1	
CD22	IFNAR1	MMP2	REL	

[0725] 表22. 发现队列中DLBCL-CCS的综合预测概率。

[0726]

患者ID	类别	EpiSwitch_ABC_GBC_Prob	患者ID	类别	EpiSwitch_ABC_GBC_Prob
G149474	ABC	0.1932724	G680501	GCB	0.8140926
G510833	ABC	0.20099	G812590	GCB	0.813454
G779156	ABC	0.2110736	G139629	GCB	0.8133554
G425812	ABC	0.212716	G254772	GCB	0.8095988
G469616	ABC	0.2139196	G515146	GCB	0.8066254
G268685	ABC	0.2154116	G3383	GCB	0.8038896
G483940	ABC	0.2166548	G694634	GCB	0.7949872
G635399	ABC	0.216758	G158912	GCB	0.7817198
G61310	ABC	0.218381	G833689	GCB	0.780263
G935357	ABC	0.2184674	G259245	GCB	0.7739536
G232946	ABC	0.2190392	G81760	GCB	0.7730372
G783641	ABC	0.2227972	G547813	GCB	0.7723438
G421531	ABC	0.223797	G913775	GCB	0.7705852
G707842	ABC	0.225338	G474390	GCB	0.7670176
G78398	ABC	0.2266852	G213298	GCB	0.763692
G855052	ABC	0.2267892	G153040	GCB	0.762577
G985511	ABC	0.2373018	G108325	GCB	0.762146
G529836	ABC	0.2380336	G243731	GCB	0.7621028
G173235	ABC	0.2385374	G819965	GCB	0.7593464
G418054	ABC	0.2411416	G701045	GCB	0.7579728
G577693	ABC	0.2429652	G544037	GCB	0.756705
G415338	ABC	0.2478544	G370848	GCB	0.7554284
G175733	ABC	0.2580098	G739109	GCB	0.754522
G852875	ABC	0.2595216	G926574	GCB	0.7539074
G292009	ABC	0.2633318	G779214	GCB	0.7536828
G52081	ABC	0.2763932	G572374	GCB	0.7526758
G544695	ABC	0.276862	G901049	GCB	0.7491072
G880954	ABC	0.2855876	G937404	GCB	0.7285326
G181400	ABC	0.297829	G254120	GCB	0.7000562
G418564	ABC	0.2980288	G557427	GCB	0.6935706

[0727] 表23.在发现队列中的DLBCL-CCS和Fluidigm亚型调用。EpiSwitch DLBCL-CCS和Fluidigm分析对已知DLBCL亚型样本的亚型调用。60个样本中的60个都被两种分析一致调用为ABC或GCB。

[0728]

ABC			GBC		
患者ID	Fluidigm	EpiSwitch	患者ID	Fluidigm	EpiSwitch
RG332787	ABC	ABC	RG949161	GCB	GCB
RG857282	ABC	ABC	RG552773	GCB	GCB
RG639274	ABC	ABC	RG385960	GCB	GCB
RG227462	ABC	ABC	RG713290	GCB	GCB
RG898976	ABC	ABC	RG874071	GCB	GCB
RG469063	ABC	ABC	RG475279	GCB	GCB
RG235350	ABC	ABC	RG885516	GCB	GCB
RG341829	ABC	ABC	RG681434	GCB	GCB
RG769788	ABC	ABC	RG231526	GCB	GCB
RG401919	ABC	ABC	RG855093	GCB	GCB
RG849927	ABC	ABC	RG458634	GCB	GCB
RG714326	ABC	ABC	RG279476	GCB	GCB
RG109735	ABC	ABC	RG373871	GCB	GCB
RG563907	ABC	ABC	RG853726	GCB	GCB
RG847865	ABC	ABC	RG101525	GCB	GCB
RG698196	ABC	ABC	RG525277	GCB	GCB
RG208608	ABC	ABC	RG954268	GCB	GCB
RG126501	ABC	ABC	RG521469	GCB	GCB
RG988758	ABC	ABC	RG673708	GCB	GCB
RG436104	ABC	ABC	RG386174	GCB	GCB
RG611396	ABC	ABC	RG380741	GCB	GCB
RG565461	ABC	ABC	RG132060	GCB	GCB
RG513781	ABC	ABC	RG118710	GCB	GCB
RG549011	ABC	ABC	RG578086	GCB	GCB
RG233693	ABC	ABC	RG542280	GCB	GCB
RG192075	ABC	ABC	RG313590	GCB	GCB
RG374916	ABC	ABC	RG387871	GCB	GCB
RG410219	ABC	ABC	RG108874	GCB	GCB
RG216984	ABC	ABC	RG883839	GCB	GCB
RG538574	ABC	ABC	RG489043	GCB	GCB

[0729] 表24. 前10个DLBCL-CCS基因座的生物学功能富集。

[0730]

分析类型	通路ID	通路描述	基因计数	FDR	匹配蛋白质
GO-分子功能	GO.0001228	转录激活因子活性,	4	0.0365	MEF2B,NFATC1,NFKB1,STAT3
GO-生物学过程	GO.0045893	RNA聚合酶II转录调控区转录正向调控, DNA模板化	7	0.00187	CD40,IFNAR1,MAP3K7,MEF2B,NFATC1,NFKB1,STAT3
KEGG通路	4620	Toll样受体信号通路	4	2.21E-05	CD40,IFNAR1,MAP3K7,NFKB1

[0731]

No.	标志物详情			
	类型	基因组映射到	探针	基因座
1	诊断	GRCh37	ETS1_11_128419843_128421939_128481262_128489818_RR	ETS1
2	诊断	GRCh37	SLC22A3_6_160805748_160812960_160839018_160842982_RR	SLC22A3
3	诊断	GRCh37	SLC22A3_6_160805748_160812960_160884099_160888471_RR	SLC22A3
4	诊断	GRCh37	MAP3K14_17_43360790_43364282_43409961_43415408_FR	MAP3K14
5	诊断	GRCh37	CASP2_7_142940014_142947169_142963973_142967512_FR	CASP2
6	预后 3v1	GRCh37	BMP6_6_7724582_7733496_7801590_7806316_FF	BMP6
7	预后 3v1	GRCh37	ACAT1_11_107955219_107960166_108013361_108018367_FF	ACAT1
8	预后 3v1	GRCh37	ERG_21_39895678_39899145_39984806_39991905_RF	ERG
9	预后 3v1	GRCh37	MSR1_8_16195878_16203315_16396849_16400398_FF	MSR1
10	预后 3v1	GRCh37	MUC1_1_155146523_155149986_155191807_155193554_FR	MUC1
11	预后 3v1	GRCh37	DAPK1_9_90064560_90073617_90140806_90142738_FR	DAPK1
12	预后 3v2	GRCh37	ACAT1_11_107955219_107960166_108013361_108018367_FF	ACAT1
13	预后 3v2	GRCh37	MUC1_1_155146523_155149986_155191807_155193554_FR	MUC1
14	预后 3v2	GRCh37	DAPK1_9_90064560_90073617_90140806_90142738_FR	DAPK1
15	预后 3v2	GRCh37	APAF1_12_99061113_99062942_99098781_99108240_FF	APAF1
16	预后 3v2	GRCh37	HSD3B2_1_119912462_119915175_119959754_119963670_RR	HSD3B2
17	预后 3v2	GRCh37	VEGFC_4_177629821_177639626_177740221_177743175_FR	VEGFC

[0732] 表25a

No.	Hyper G 阵列 stats					微阵列输出	
	探针_总计数	探针_计数_Sig	HyperG_Stats	FDR_HyperG	百分比_Sig	logFC	AveExpr
1	100	22	0.143767534	0.706164223	22	0.788832719	0.788832719
2	54	16	0.019214151	0.218625878	29.63	0.739725229	0.739725229
3	54	16	0.019214151	0.218625878	29.63	0.729027457	0.729027457
4	11	5	0.029574086	0.259389379	45.45	0.735407293	0.735407293
5	13	3	0.402919615	1	23.08	-0.469997725	-0.469997725
6	69	8	0.366815399	1	11.59	-0.468602239	-0.468602239
7	15	2	0.441893041	1	13.33	-0.436725529	-0.436725529
8	52	4	0.765503518	1	7.69	-0.425291613	-0.425291613
9	191	41	1.07E-06	0.000448644	21.47	-0.419369028	-0.419369028
10	5	3	0.008132099	0.285301135	60	-0.218468452	-0.218468452
11	46	9	0.032709022	0.548212211	19.57	0.299375751	0.299375751
12	15	2	0.441893041	1	13.33	-0.436725529	-0.436725529
13	5	3	0.008132099	0.285301135	60	-0.218468452	-0.218468452
14	46	9	0.032709022	0.548212211	19.57	0.299375751	0.299375751
15	10	1	0.644810187	1	10	-0.441488336	-0.441488336
16	20	5	0.040338404	0.548212211	25	-0.168081632	-0.168081632
17	57	16	8.02E-05	0.006755982	28.07	0.532875204	0.532875204

[0734]

[0735] 表25b

[0736]

No.	微阵列输出					
	T	P.值	adj.P.Val	B	FC	FC_1
1	15.59116667	0.0000000108	0.00000135	10.64875918	1.727676038	1.727676038
2	18.80485468	0.0000000155	0.00000124	12.53177853	1.669857773	1.669857773
3	19.34951235	0.0000000115	0.00000112	12.81371179	1.657521354	1.657521354
4	15.29282549	0.0000000131	0.00000138	10.45220415	1.664867419	1.664867419
5	-13.28933415	0.000000055	0.00000252	9.016293707	0.721965736	-1.385107284
6	-8.973309325	0.00000230	0.000229279	5.288915333	0.722664415	-1.383768149
7	-11.90723067	0.000000137	0.0000310	8.114204006	0.738809576	-1.353528748
8	-11.67074071	0.000000168	0.0000357	7.913111034	0.744688192	-1.342843905
9	-3.516010141	0.004895359	0.024952597	-2.59289798	0.747751587	-1.337342532
10	-5.993061073	0.0000935	0.001993646	1.477069135	0.859477364	-1.163497775
11	7.197207444	0.0000184	0.000805368	3.154114326	1.230611817	1.230611817
12	-11.90723067	0.000000137	0.0000310	8.114204006	0.738809576	-1.353528748
13	-5.993061073	0.0000935	0.001993646	1.477069135	0.859477364	-1.163497775
14	7.197207444	0.0000184	0.000805368	3.154114326	1.230611817	1.230611817
15	-13.23940926	0.0000000463	0.0000171	9.174110234	0.736374546	-1.358004571
16	-3.274998031	0.007481356	0.033194645	-3.020586815	0.890025372	-1.123563476
17	11.11732726	0.000000275	0.0000528	7.425914159	1.446809728	1.446809728

[0737] 表25c

[0738]

No.	微阵列输出		探针序列
	LS	检出环	60 mer
1	1	Pca	CCATGGTGTGAGTGTGGATTAGGTGAATCGAAAGATCTAGTAGGTTCTGTCCAGACTGT
2	1	Pca	AATTCTGAGGGTGAAGGAAGGTGGGAGTCGATGGCTTATGCAGCATTATTATCAAT
3	1	Pca	AATTCTGAGGGTGAAGGAAGGTGGGAGTCGAGGGACTTTCAGGTAGAGGAGCCACCAAG
4	1	Pca	AGGGGCTGATCAGTTTGTGGAGTTCTGATCGAGGGAGAGGAGTGGCAGTGGGGGAGTGGA
5	-1	HC	TCCAGAAGCTGAGCTTGAGCCAAGGTGTTGAACTCCTGGGCTGAAGCAATCTCCTGCCT
6	-1	2_3	ACGTCGTTACAGTTTTAATTTTCTACTTCGATGTTAATCTCCTAAAAACATCCAACCA
7	-1	1	CAATTGGTGGATATAGAAAGGTCTAAATTCGATAAGTATAGACTCAGAATGCAAAAATGT
8	-1	2_3	TCTTGAATGTGCTTAGTATTATTCAGACTCGAAAACATAATTTGAAAGGAATTCATTCTG
9	-1	2_3	CACCAGTTGGTAATTCTATGTGTGAAGTTTCGAGCTTATAAGATCAATCAGGAATTATTCC
10	-1	3	GCAGGGTGGCTATAGCTCAGGAGAGTGCTCGACGGAGTCTTGCTCTTTCACCCAGGCTGG
11	1	3	ACTAATCCCCTGAAGAAGCAAATTAACCTTCGAGTATCCCTTAAAGTTTGTAAAAATA
12	-1	1	CAATTGGTGGATATAGAAAGGTCTAAATTCGATAAGTATAGACTCAGAATGCAAAAATGT
13	-1	3	GCAGGGTGGCTATAGCTCAGGAGAGTGCTCGACGGAGTCTTGCTCTTTCACCCAGGCTGG
14	1	3	ACTAATCCCCTGAAGAAGCAAATTAACCTTCGAGTATCCCTTAAAGTTTGTAAAAATA
15	-1	3	CCTAATTTACTTAACCAAACCTCTAGTTATCGAACATCCAGGATGTTATAAGAATTCATG
16	-1	3	TCAGTTTCTGCTCTCAAGAAGCTTACAGTCGAAGGTCCCAAGTTAGATTACGGCAAAGCT
17	1	3	TTTTATGAAACATCCAACCTTAAATATAATCGAATGCATTACATTTACAGAACTATTTCCA

[0739] 表25d

[0740]

No.	探针位置					4 kb 序列位置			
	Chr	起始 1	终止 1	起始 2	终止 2	Chr	起始 1	终止 1	起始 2
1	11	128419843	128419873	128481262	128481292	11	128419843	128423843	128481262
2	6	160805748	160805778	160839018	160839048	6	160805748	160809748	160839018
3	6	160805748	160805778	160884099	160884129	6	160805748	160809748	160884099
4	17	43364251	43364282	43409961	43409991	17	43360281	43364282	43409961
5	7	142947138	142947169	142963973	142964003	7	142943168	142947169	142963973
6	6	7733465	7733496	7806286	7806316	6	7729496	7733496	7802316
7	11	107960135	107960166	108018337	108018367	11	107956166	107960166	108014367
8	21	39895678	39895708	39991875	39991905	21	39895678	39899678	39987905
9	8	16203284	16203315	16400368	16400398	8	16199315	16203315	16396398
10	1	155149955	155149986	155191807	155191837	1	155145986	155149986	155191807
11	9	90073586	90073617	90140806	90140836	9	90069617	90073617	90140806
12	11	107960135	107960166	108018337	108018367	11	107956166	107960166	108014367
13	1	155149955	155149986	155191807	155191837	1	155145986	155149986	155191807
14	9	90073586	90073617	90140806	90140836	9	90069617	90073617	90140806
15	12	99062911	99062942	99108209	99108240	12	99058941	99062942	99104239
16	1	119912462	119912492	119959754	119959784	1	119912462	119916462	119959754
17	4	177639595	177639626	177740221	177740251	4	177635625	177639626	177740221

[0741] 表25e

[0742]

No.	4 kb 序列位置		内部_引物
	终止 2	探针	PCR-引物 1_ID
1	128485262	ETS1_11_128419843_128421939_128481262_128489818_RR	PCa-57
2	160843018	SLC22A3_6_160805748_160812960_160839018_160842982_RR	PCa-73
3	160888099	SLC22A3_6_160805748_160812960_160884099_160888471_RR	PCa-77
4	43413961	MAP3K14_17_43360790_43364282_43409961_43415408_FR	PCa-81
5	142967973	CASP2_7_142940014_142947169_142963973_142967512_FR	PCa-189
6	7806316	BMP6_6_7724582_7733496_7801590_7806316_FF	PCa119-37
7	108018367	ACAT1_11_107955219_107960166_108013361_108018367_FF	PCa119-57
8	39991905	ERG_21_39895678_39899145_39984806_39991905_RF	PCa119-65
9	16400398	MSR1_8_16195878_16203315_16396849_16400398_FF	PCa119-77
10	155195807	MUC1_1_155146523_155149986_155191807_155193554_FR	PCa119-121
11	90144806	DAPK1_9_90064560_90073617_90140806_90142738_FR	PCa119-165
12	108018367	ACAT1_11_107955219_107960166_108013361_108018367_FF	PCa119-57
13	155195807	MUC1_1_155146523_155149986_155191807_155193554_FR	PCa119-121
14	90144806	DAPK1_9_90064560_90073617_90140806_90142738_FR	PCa119-165
15	99108240	APAF1_12_99061113_99062942_99098781_99108240_FF	PCa119-49
16	119963754	HSD3B2_1_119912462_119915175_119959754_119963670_RR	PCa119-129
17	177744221	VEGFC_4_177629821_177639626_177740221_177743175_FR	PCa119-205

[0743] 表25f

[0744]

No.	内部_引物		
	PCR_引物 1	PCR-引物 2_ID	PCR_引物 2
1	CACTGCATGAGGGTAGTATAG	PCa-59	CCTCTGTCTGCATCATACC
2	TGATGAGGCACACAGATAAAG	PCa-75	ACACGCCAGAAACAATAC
3	GAGACATGATGAGGCACAC	PCa-79	GTGTGAGTTGATAGCTGACC
4	TGGAATGGGAAGGGATGAG	PCa-83	GAGACTCCAGGCAAGAATTG
5	ATGAAGACAGAAAGCCTATGG	PCa-191	CAGTGGAACCTCCTGAGAAC
6	CGGCCAGGAATGACTATTG	PCa119-39	GTAAGCGAGGTCATCATAGAAG
7	AGTAGTGTATCAGGACTGGGT	PCa119-59	TCTTGGTAACTTGAAAAGTTTGAT
8	CAGCCTACCTGCCTGACACT	PCa119-67	ATGGGCCATCACTGGGCTTT

[0745]

9	AATCCTCTTGAGCACAGACC	PCa119-79	TAGGCCCAAATGGCTCAC
10	TGTTGCTAGCTCAGGAAGCC	PCa119-123	AGATCAAGCCACTGTGCTCC
11	ACTGGTCACAGGGAACGATGG	PCa119-167	AGGTGTGAATGTTACTGAACACAAA
12	AGTAGTGTATCAGGACTGGGT	PCa119-59	TCTTGGTAACCTTGAAAAGTTTGAT
13	TGTTGCTAGCTCAGGAAGCC	PCa119-123	AGATCAAGCCACTGTGCTCC
14	ACTGGTCACAGGGAACGATGG	PCa119-167	AGGTGTGAATGTTACTGAACACAAA
15	GGTATTCCAATAAATACTTGTGCC	PCa119-51	TACTGTGCCAGATGCTCTCA
16	TCACATCAGTTTCTGCTCTCAAG	PCa119-131	GGAGGGAGGCTCAGAGAAGC
17	TCTCTGACTGCAGTGCAAAATAAT	PCa119-207	CTCCTTCTACATTCACGTGCTTTCA

[0746] 表25g

No.	PCR Stats		
	基因	标志物	GLMNET
1	ETS1	Pca-57.59	-0.00000007417665
2	SLC22A3	Pca-73.75	0.00000001852548
3	SLC22A3	Pca-77.79	0.00000002568381
4	MAP3K14	Pca-81.83	0.00000001902257
5	CASP2	Pca-189.191	0.0000001325828
6	BMP6	PCa-119-37.39	0.000009609007
7	ACAT1	PCa-119-57.59	0.000004371579
8	ERG	PCa-119-65.67	0.000006321361
9	MSR1	PCa-119-77.79	0.000005500154
10	MUC1	PCa-119-121.123	0.00000006234414
11	DAPK1	PCa-119-165.167	-0.00001571847
12	ACAT1	PCa-119-57.59	0.000004371579
13	MUC1	PCa-119-121.123	0.00000006234414
14	DAPK1	PCa-119-165.167	-0.00001571847
15	APAF1	PCa-119-49.51	0.000003531754
16	HSD3B2	PCa-119-129.131	0.0000004472913
17	VEGFC	PCa-119-205.207	-0.0000006807692

[0748] 表25h

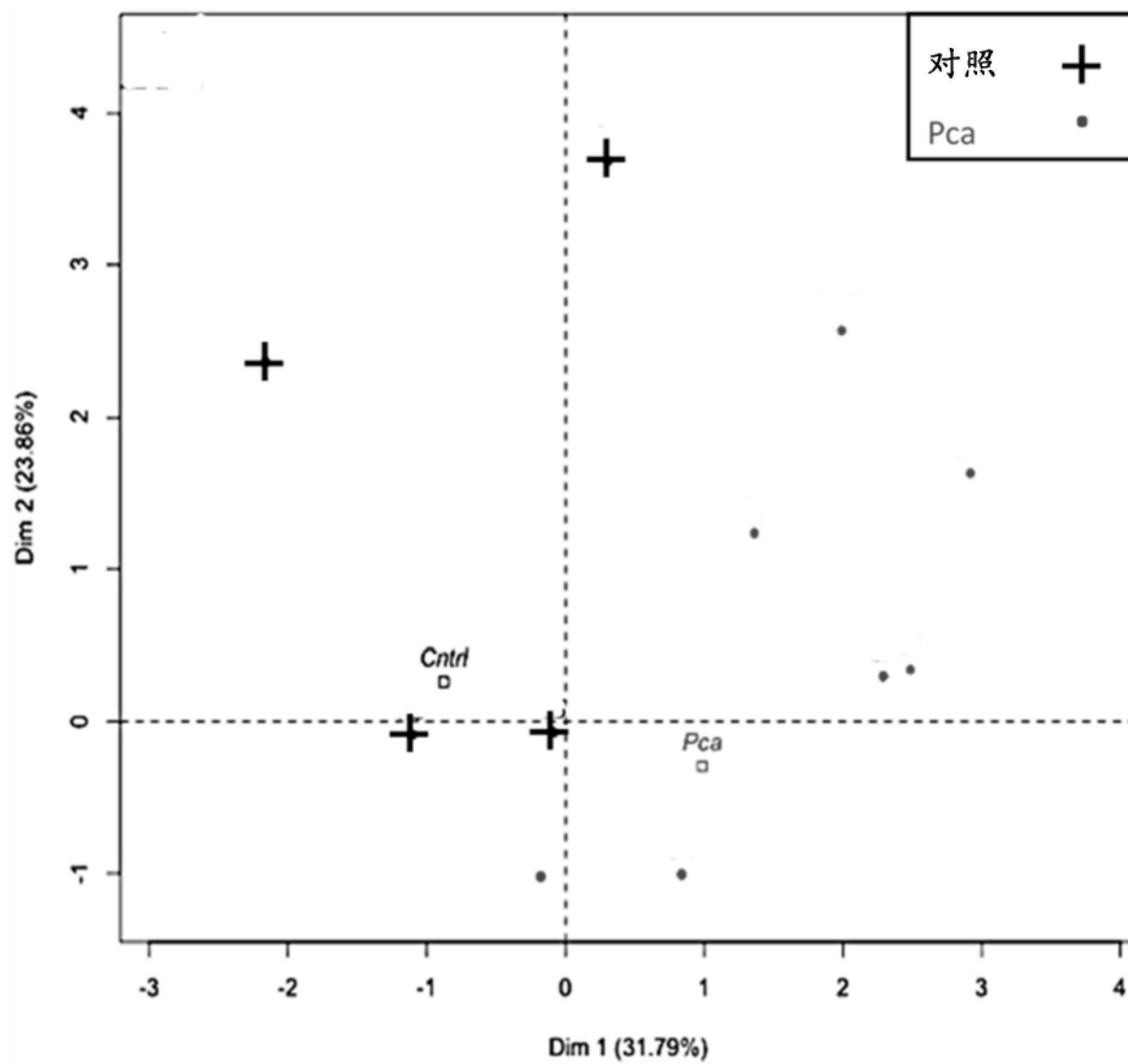


图1

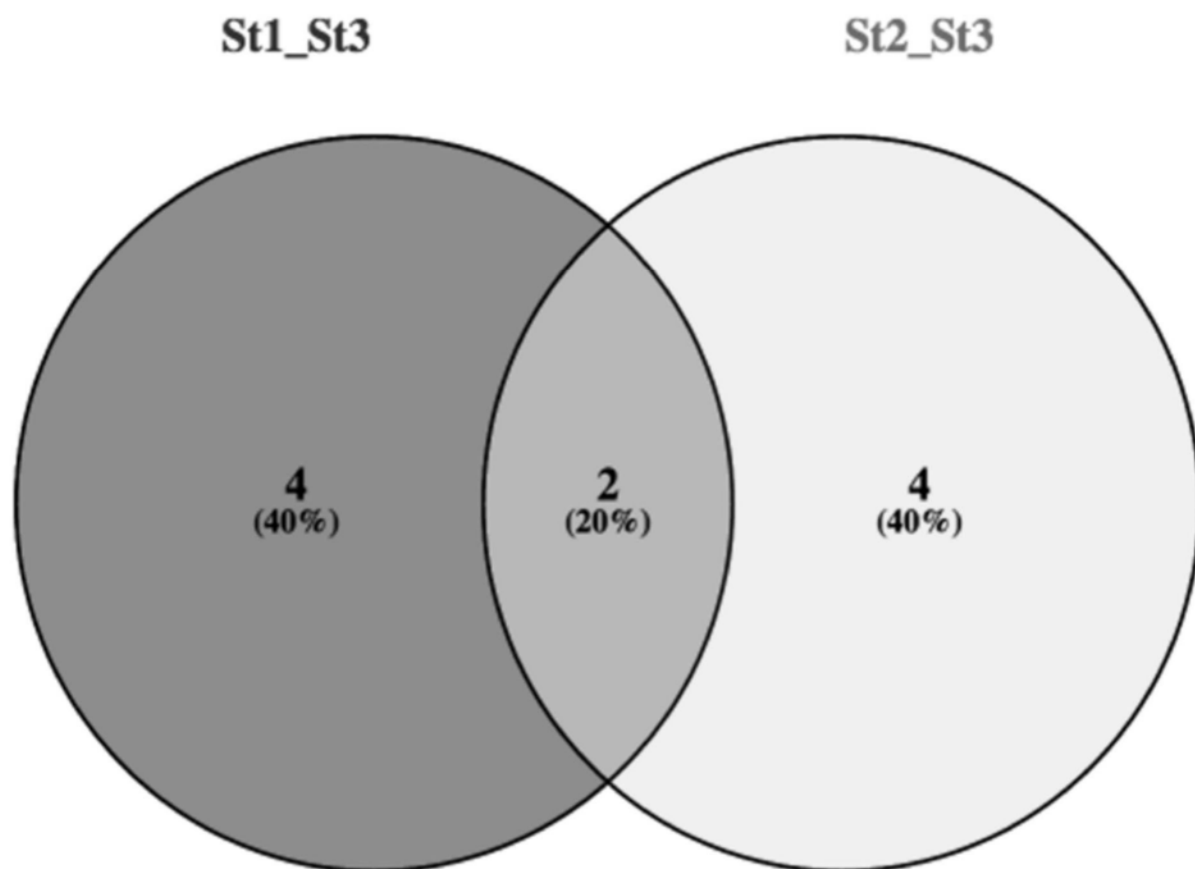


图2

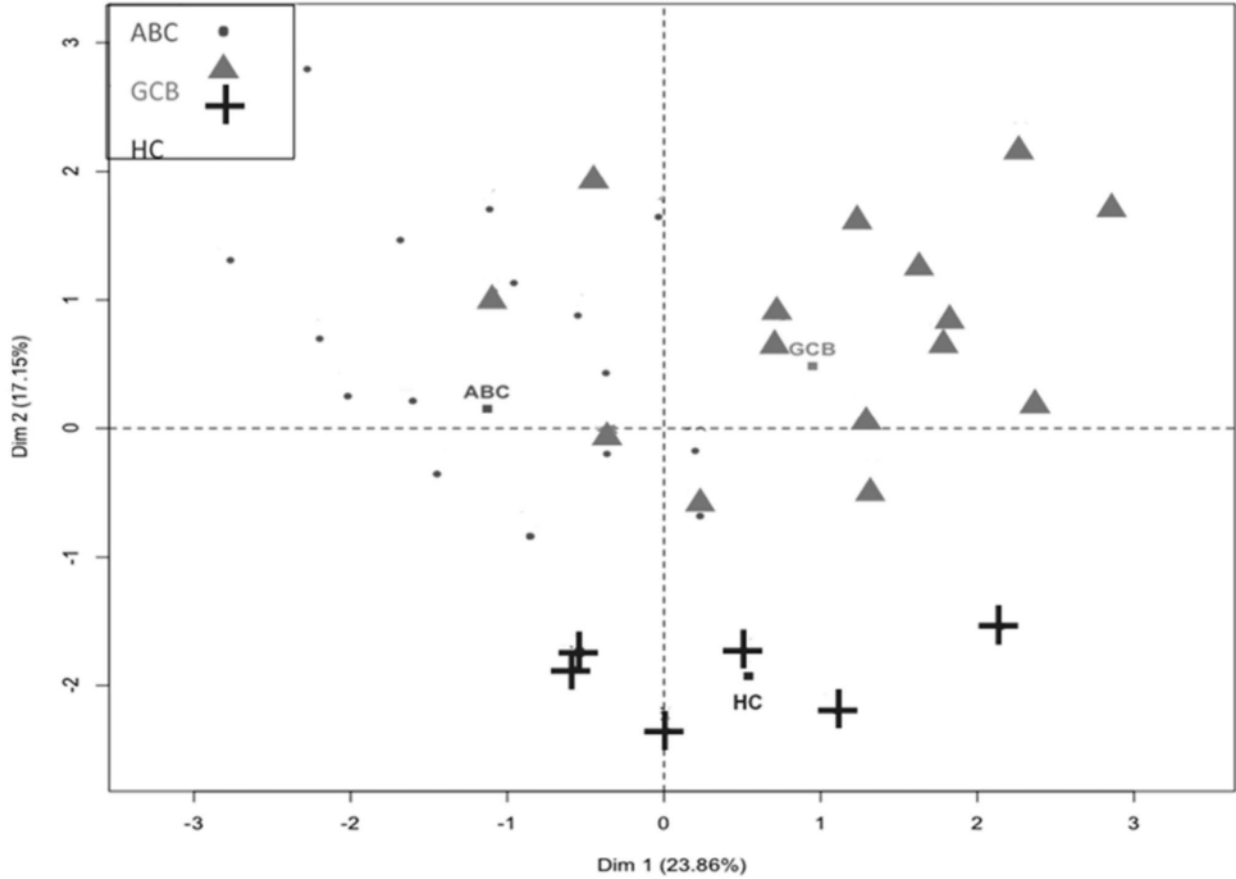


图3

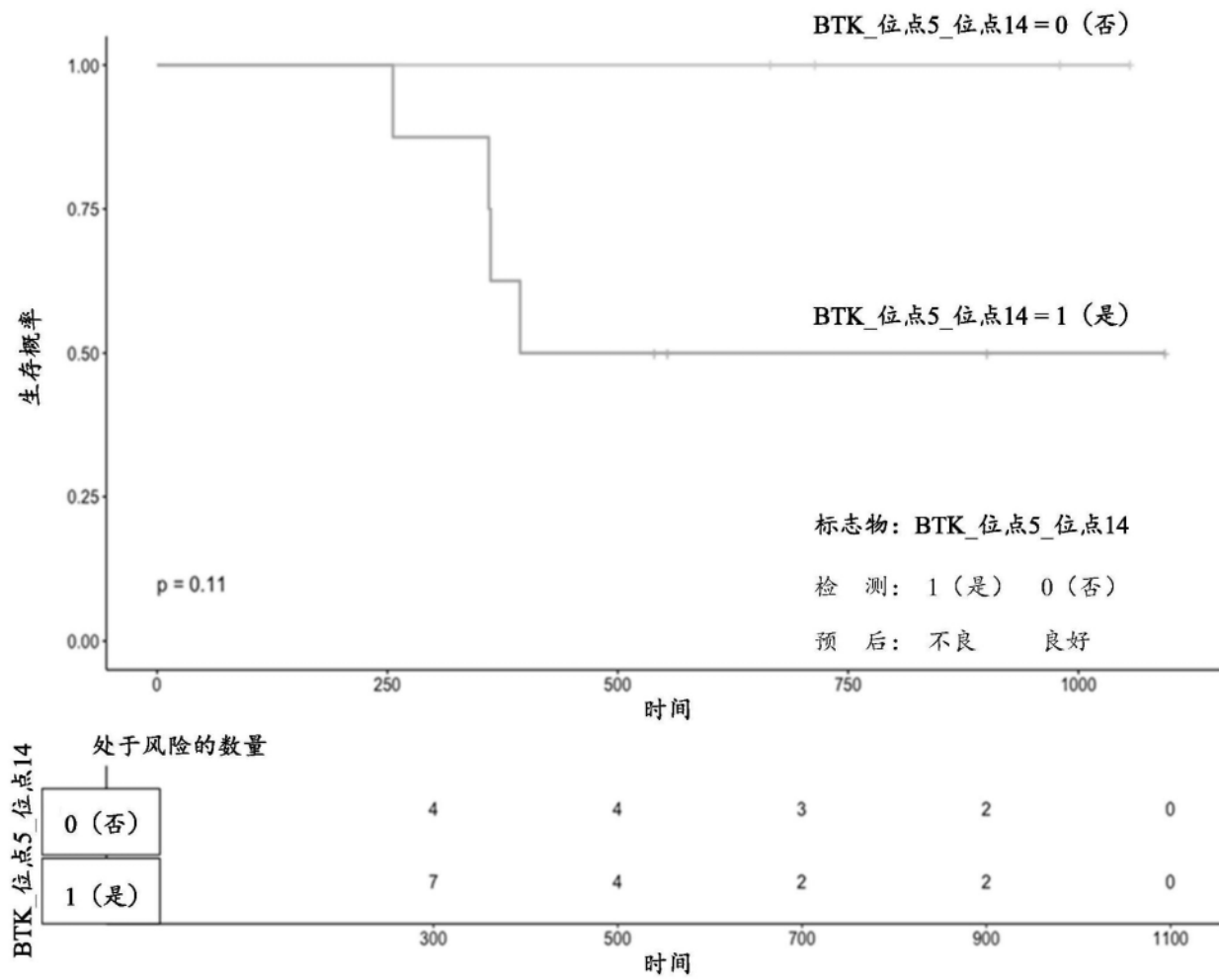


图4

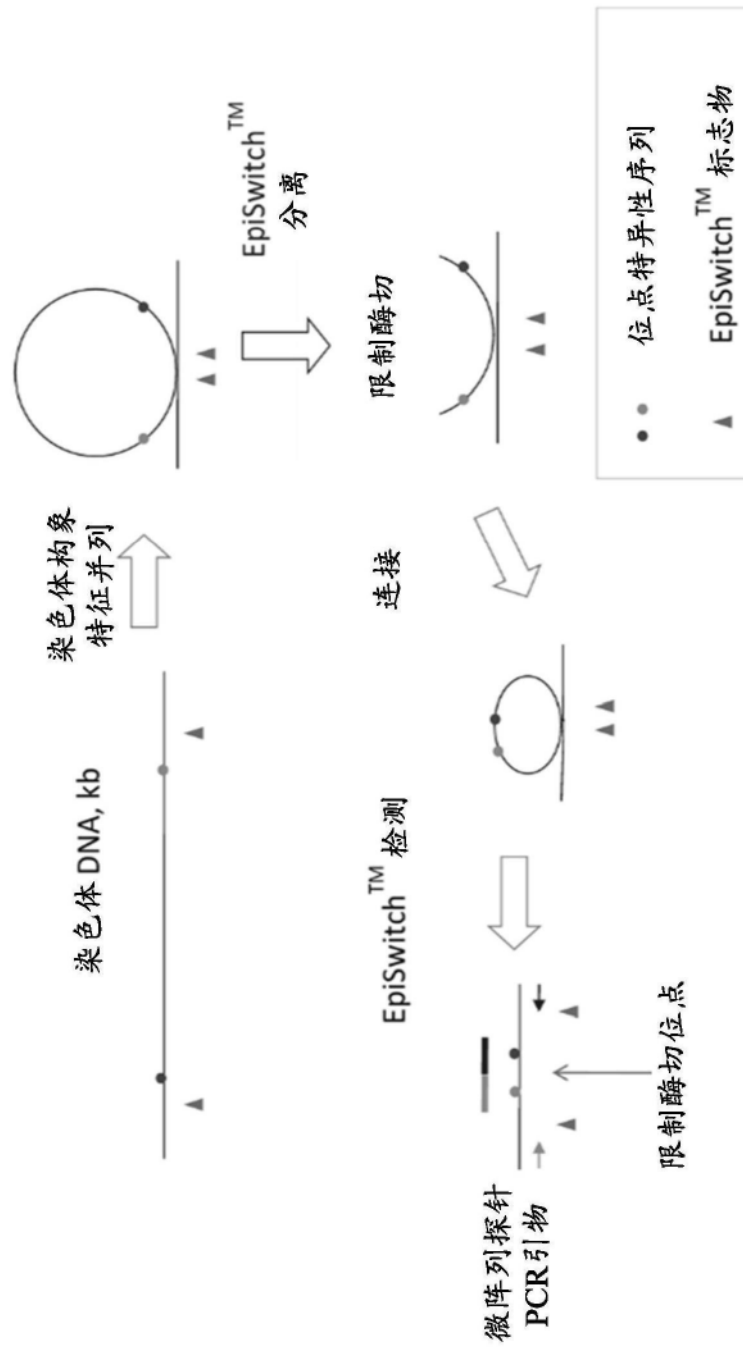


图5

	A	B	C	D	E	F
1	标志物	alpha_0.4	Freq	秩_中位数	p值_中位数	标志物
2	OBD169_185.OBD169_187	0.249	498	2	0.006	OBD169_185.OBD169_187_1x
3	OBD169_169.OBD169_171	0.064	452	7	0.022	OBD169_169.OBD169_171_1x
4	OBD169_233.OBD169_235	0.052	357	9.25	0.035	OBD169_233.OBD169_235_1.4x
5	OBD169_265.OBD169_267	0.142	451	12	0.037	OBD169_265.OBD169_267_1.2x
6	OBD169_001.OBD169_003	0.15	429	14	0.037	OBD169_001.OBD169_003_1x
7	OBD169_105.OBD169_107	0.029	262	16.25	0.048	OBD169_105.OBD169_107_1.2x
8	OBD169_061.OBD169_063	0.128	375	16.5	0.048	OBD169_061.OBD169_063_1x
9	OBD169_153.OBD169_155	0	270	23.25	0.056	OBD169_153.OBD169_155_1.4x
10	OBD169_033.OBD169_035	0	278	14.75	0.076	OBD169_033.OBD169_035_1.2x
11	OBD169_133.OBD169_135	0.162	406	18	0.076	OBD169_133.OBD169_135_1x
12	OBD169_125.OBD169_127	0.006	300	22.75	0.09	OBD169_125.OBD169_127_1.2x
13	OBD169_165.OBD169_167	0	135	23.5	0.105	OBD169_165.OBD169_167_1.4x
14	OBD169_073.OBD169_075	0	115	28	0.105	OBD169_073.OBD169_075_1.2x
15	OBD169_293.OBD169_295	0	257	32.5	0.105	OBD169_293.OBD169_295_1x
16	OBD169_041.OBD169_043	0.123	300	22.25	0.112	OBD169_041.OBD169_043_1.2x
17	OBD169_021.OBD169_023	0	155	29.75	0.119	OBD169_021.OBD169_023_1x
18	OBD169_129.OBD169_131	0	130	33.5	0.149	OBD169_129.OBD169_131_1x
19	OBD169_229.OBD169_231	-0.042	225	97.75	0.516	OBD169_229.OBD169_231_1.2x
20	OBD169_277.OBD169_279	-0.097	225	94.5	0.521	OBD169_277.OBD169_279_1.4x
21	OBD169_049.OBD169_051	-0.051	262	107.5	0.608	OBD169_049.OBD169_051_1x
22	OBD169_065.OBD169_067	-6.18144E-06	112	168.5	1	OBD169_065.OBD169_067_1x
23	OBD169_009.OBD169_011	-0.065	156	171.75	1	OBD169_009.OBD169_011_1.2x

图6

探针	Hchr	Hstart	Hstop	基因
OBD169_033	chr18	79329076	79363050	ATP9B
OBD169_061	chr18	79162770	79279102	ATP9B
OBD169_233	chr22	23223523	23241206	BCR
OBD169_125	chr18	23194452	23232756	CABLES1
OBD169_185	chr7	137883915	137934211	CREB3L2
OBD169_169	chr1	50592143	50681003	FAF1
OBD169_153	chr9	20782946	20806283	FOCAD
OBD169_001	chr18	79485835	79516751	NFATC1
OBD169_265	chr4	102589993	102607062	NFKB1
OBD169_105	chr5	141432319	141485447	PCDHGA1
OBD169_133	chr22	41856337	41901029	SREBF2

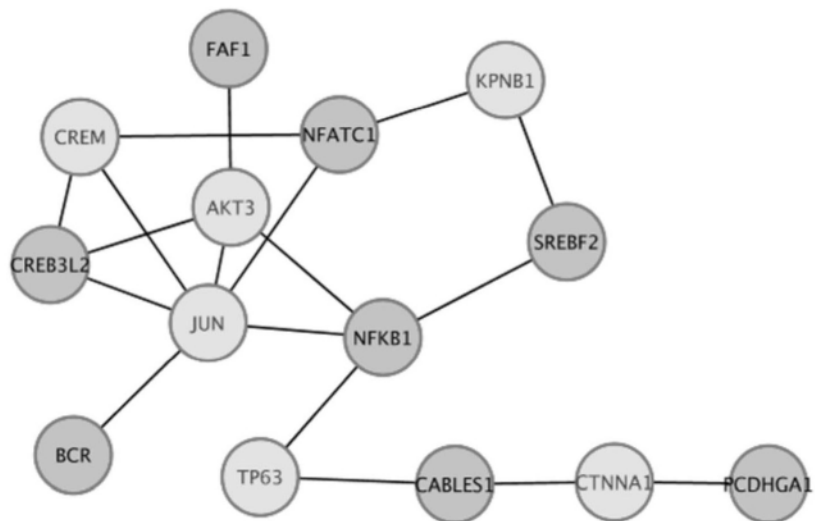


图7

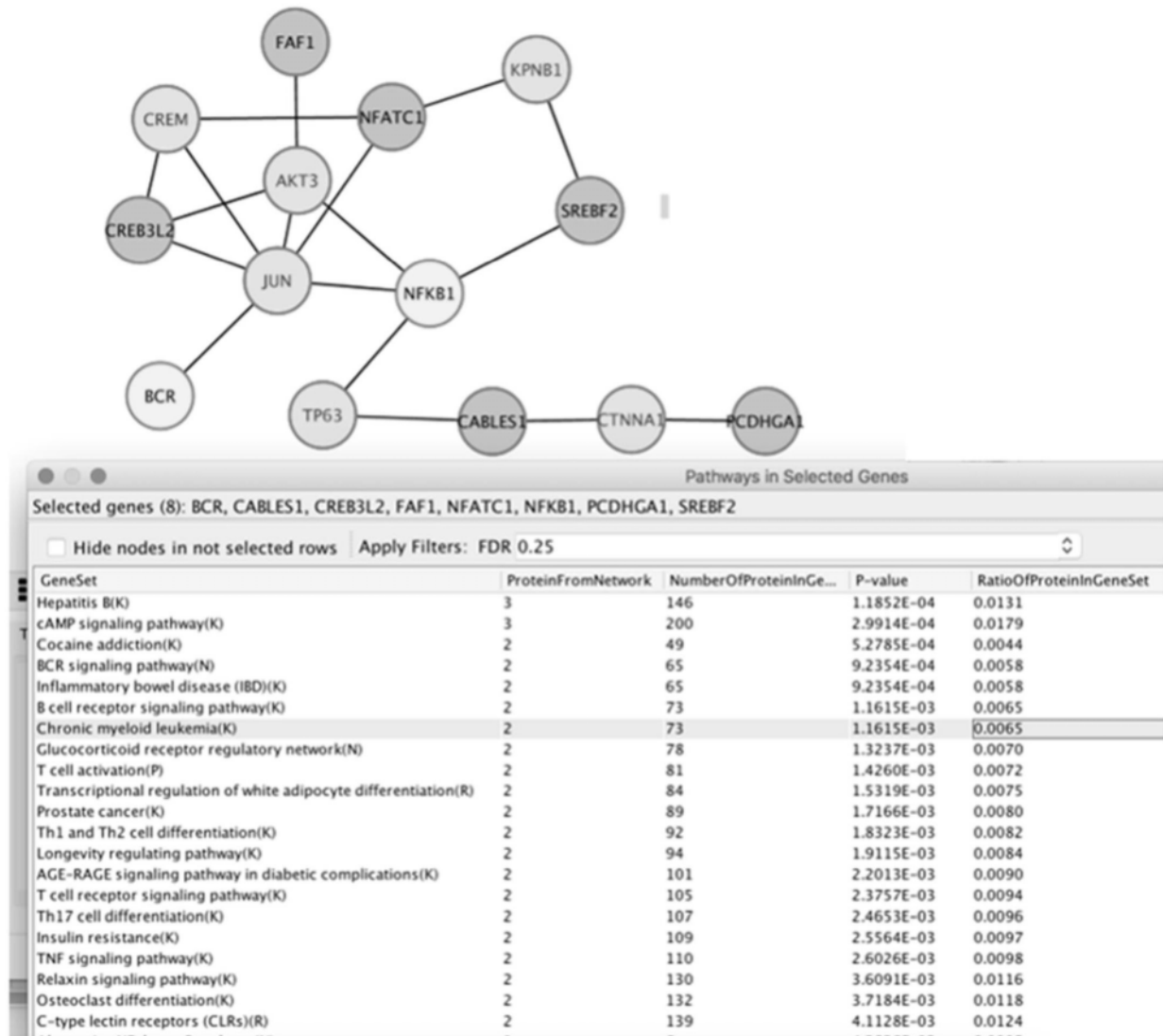


图8

```
Confusion Matrix and Statistics

      Reference
Prediction Ctrl Lymphoma
Ctrl      13      1
Lymphoma   1     13

      Accuracy : 0.9286
      95% CI : (0.765, 0.9912)
    No Information Rate : 0.5
    P-Value [Acc > NIR] : 1.516e-06

      Kappa : 0.8571

McNemar's Test P-Value : 1

      Sensitivity : 0.9286
      Specificity : 0.9286
    Pos Pred Value : 0.9286
    Neg Pred Value : 0.9286
      Prevalence : 0.5000
    Detection Rate : 0.4643
    Detection Prevalence : 0.5000
    Balanced Accuracy : 0.9286
```

上面显示了使用11个标志物的训练样本（28）的分类统计数据。模型是在R中使用XGBoost建立的

```
Confusion Matrix and Statistics

      Reference
Prediction Ctrl Lymphoma
Ctrl         4      1
Lymphoma     1      4

      Accuracy : 0.8
      95% CI : (0.4439, 0.9748)
    No Information Rate : 0.5
    P-Value [Acc > NIR] : 0.05469

      Kappa : 0.6

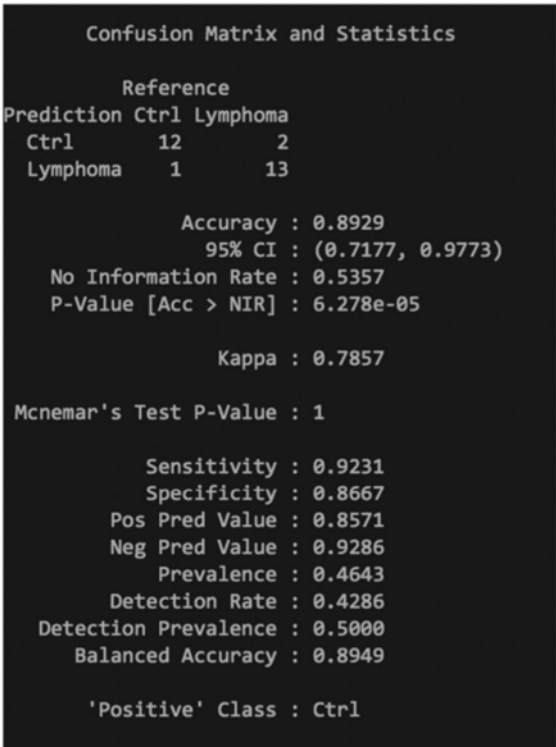
McNemar's Test P-Value : 1.00000

      Sensitivity : 0.8
      Specificity : 0.8
    Pos Pred Value : 0.8
    Neg Pred Value : 0.8
      Prevalence : 0.5
    Detection Rate : 0.4
    Detection Prevalence : 0.5
    Balanced Accuracy : 0.8

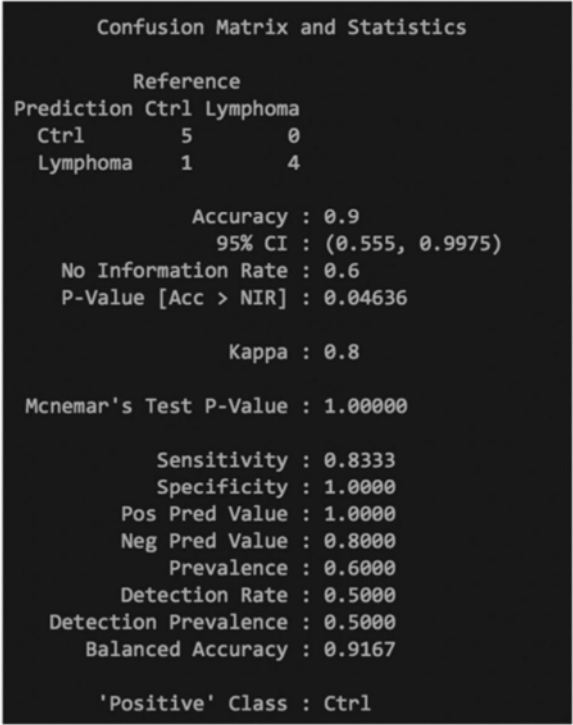
'Positive' Class : Ctrl
```

上面显示了使用以相邻训练样本建立的模型对测试样本（10）的分类统计数据

图9



上面显示了使用11个标志物的训练样本（28）的分类统计数据。模型是在R中使用XGBoost建立的



上面显示了使用以相邻训练样本建立的模型对测试样本（10）的分类统计数据

图10

```
Reference
Prediction Ctrl Lymphoma
Ctrl      12      2
Lymphoma  1      13

Accuracy : 0.8929
95% CI : (0.7177, 0.9773)
No Information Rate : 0.5357
P-Value [Acc > NIR] : 6.278e-05

Kappa : 0.7857

McNemar's Test P-Value : 1

Sensitivity : 0.9231
Specificity : 0.8667
Pos Pred Value : 0.8571
Neg Pred Value : 0.9286
Prevalence : 0.4643
Detection Rate : 0.4286
Detection Prevalence : 0.5000
Balanced Accuracy : 0.8949

'Positive' Class : Ctrl

Confusion Matrix and Statistics
```

上面显示了使用11个标志物的训练样本（28）的分类统计数据。模型是在R中使用XGBoost建立的

```
Reference
Prediction Ctrl Lymphoma
Ctrl      3      2
Lymphoma  0      5

Accuracy : 0.8
95% CI : (0.4439, 0.9748)
No Information Rate : 0.7
P-Value [Acc > NIR] : 0.3828

Kappa : 0.6

McNemar's Test P-Value : 0.4795

Sensitivity : 1.0000
Specificity : 0.7143
Pos Pred Value : 0.6000
Neg Pred Value : 1.0000
Prevalence : 0.3000
Detection Rate : 0.3000
Detection Prevalence : 0.5000
Balanced Accuracy : 0.8571

'Positive' Class : Ctrl
```

上面显示了使用以相邻训练样本建立的模型对测试样本（10）的分类统计数据

图11

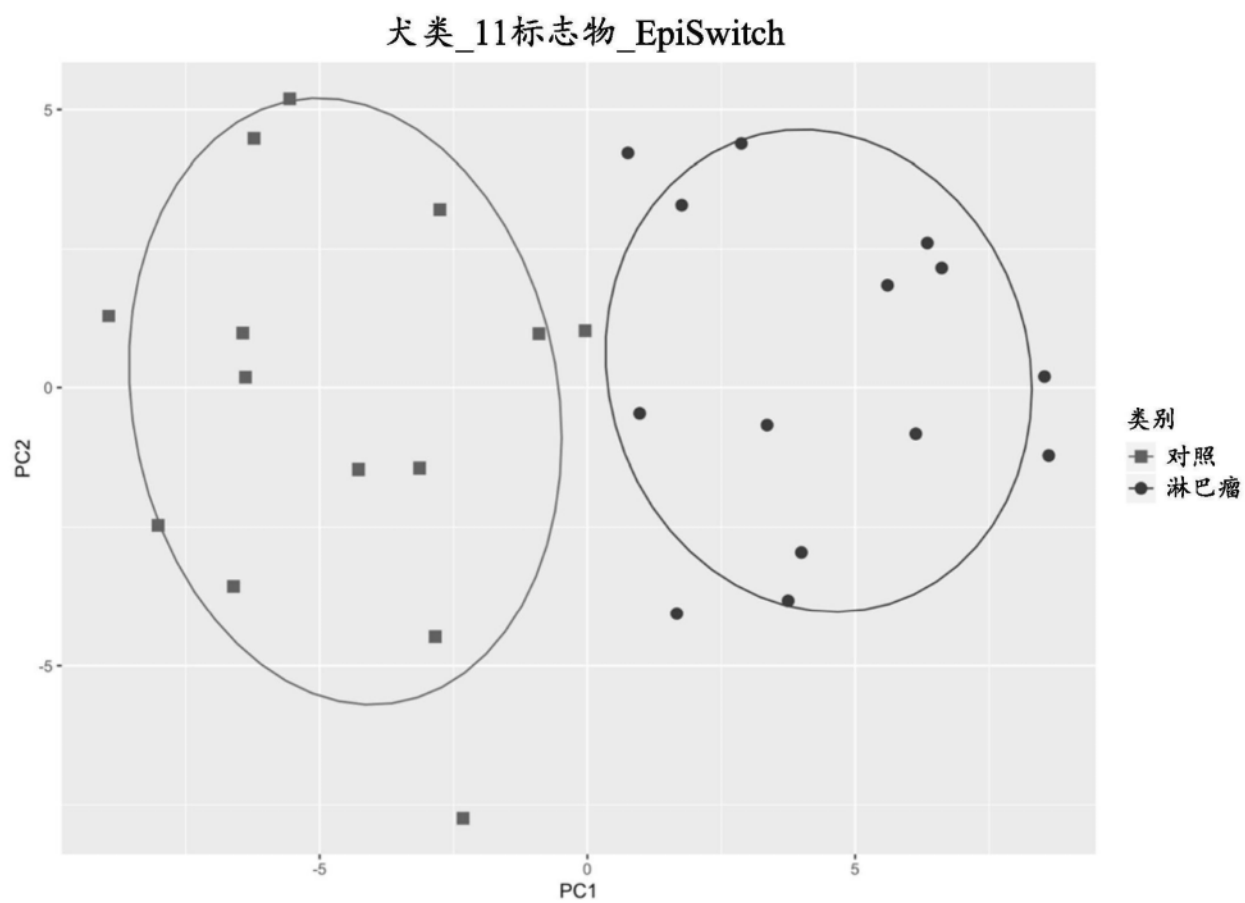


图12

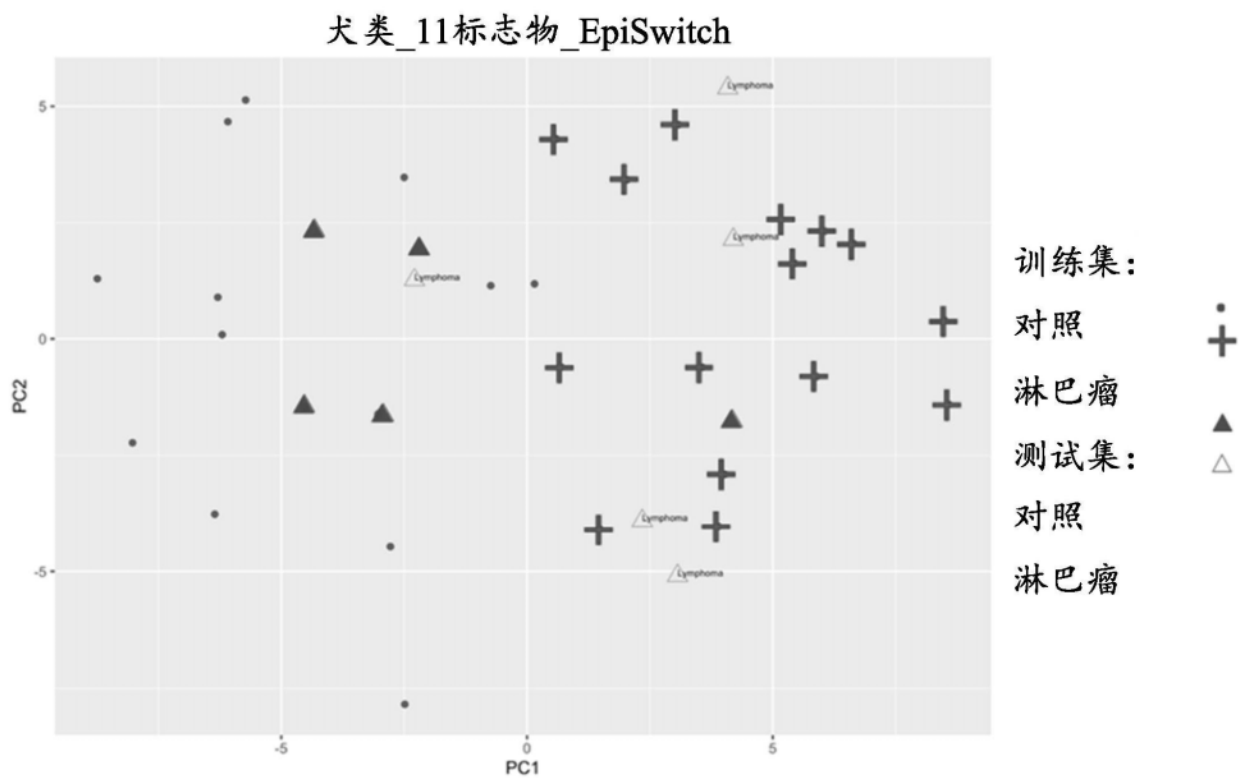


图13

ROC曲线嵌套_犬类AUC：0.93

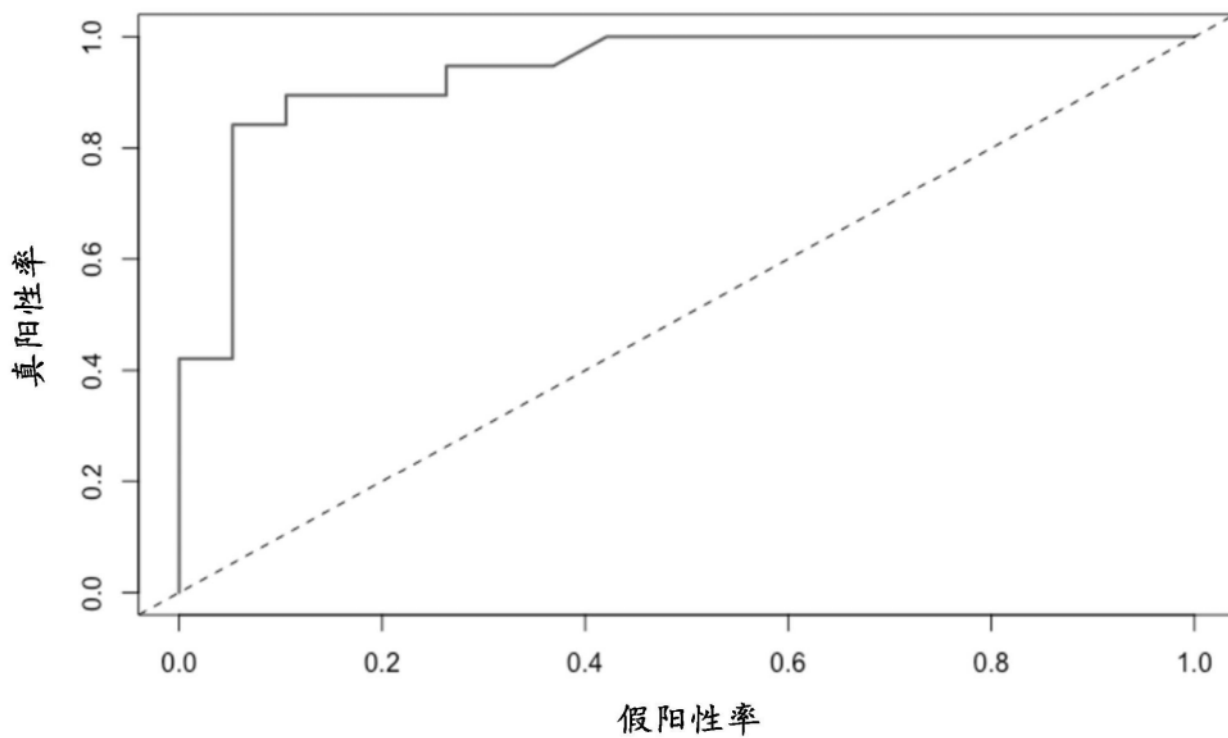


图14

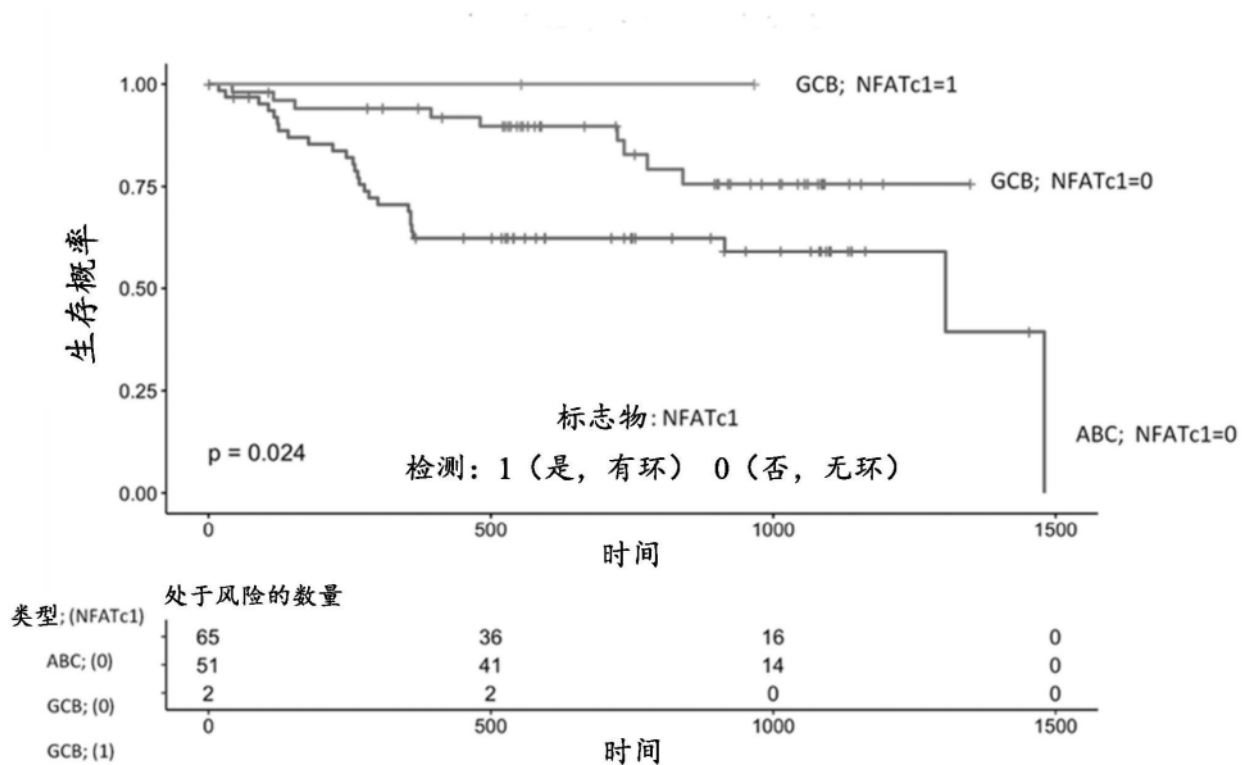


图15

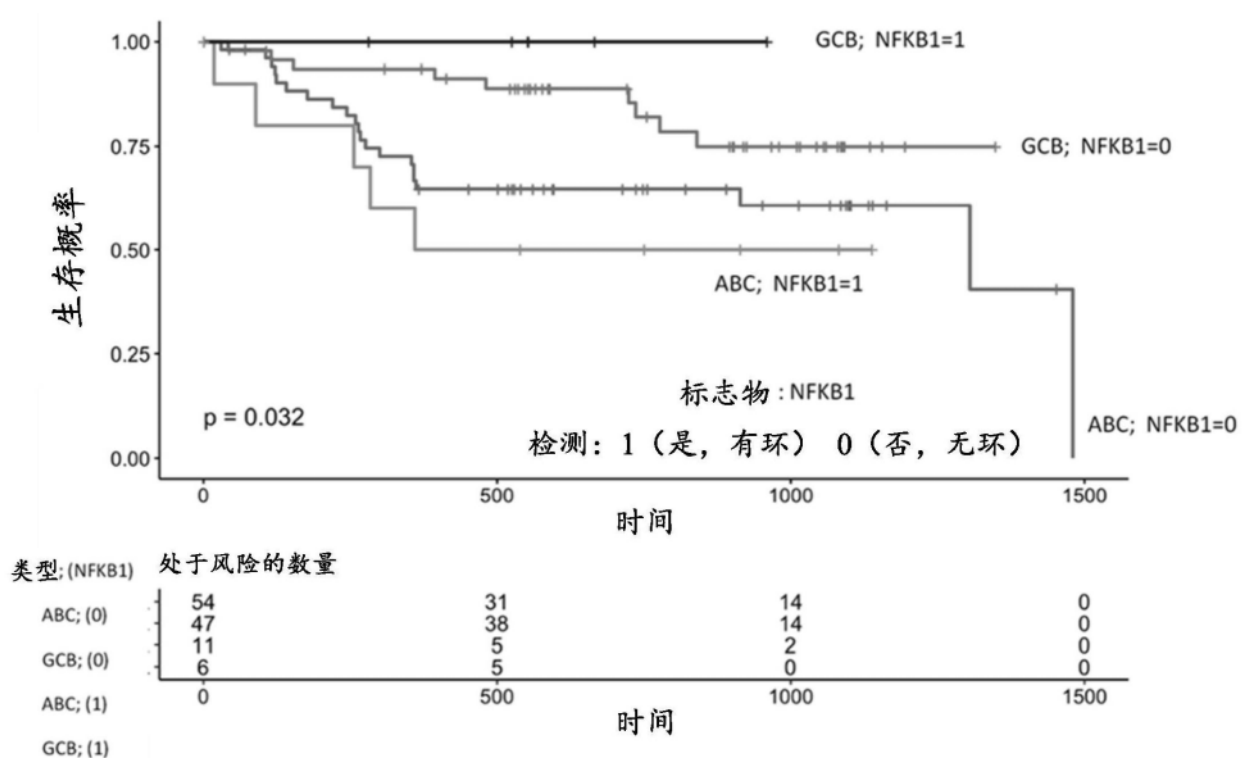
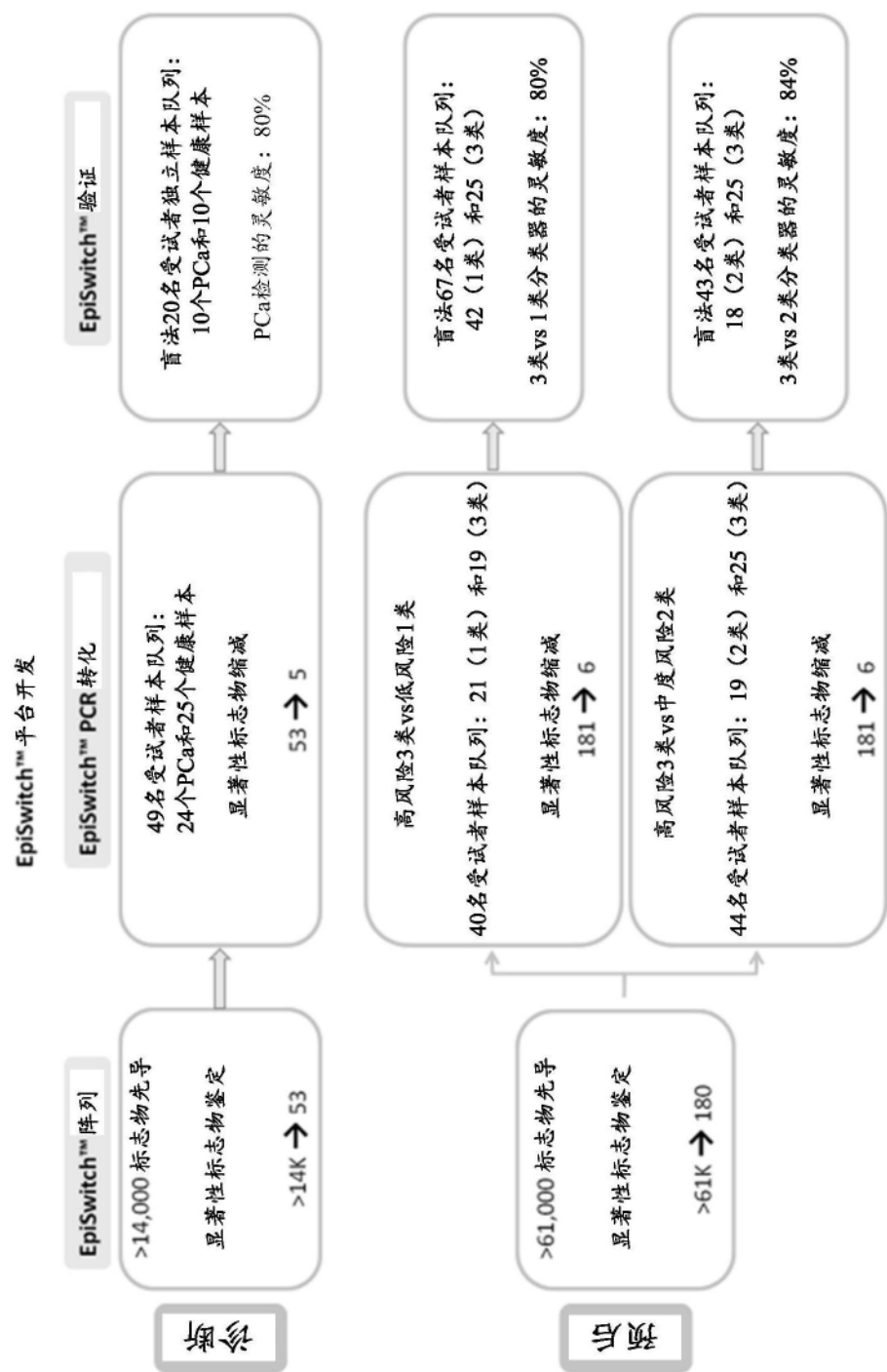


图16



鉴定、评估和验证前列腺癌（PCa）诊断和预后生物标志物的三步法。

图17

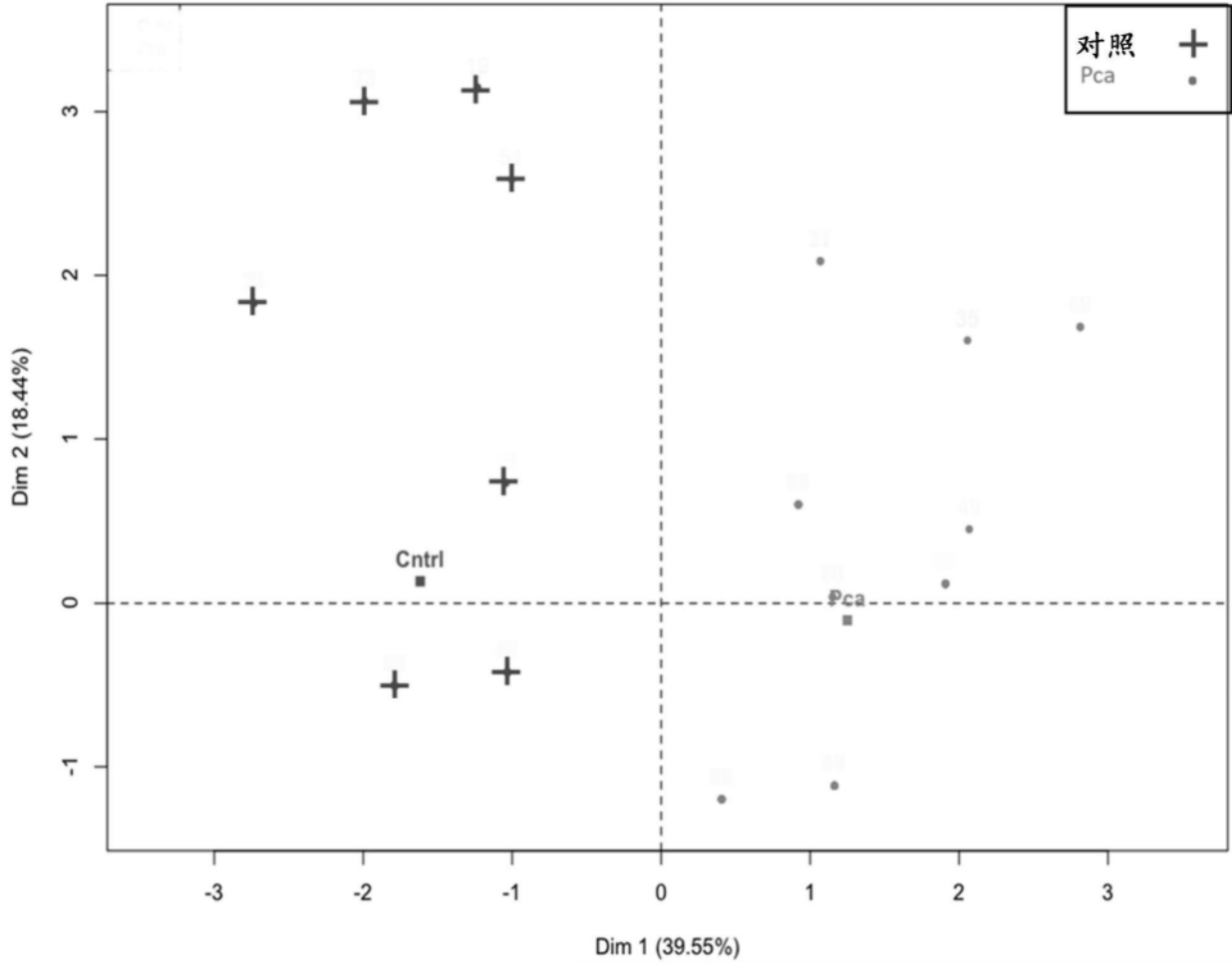
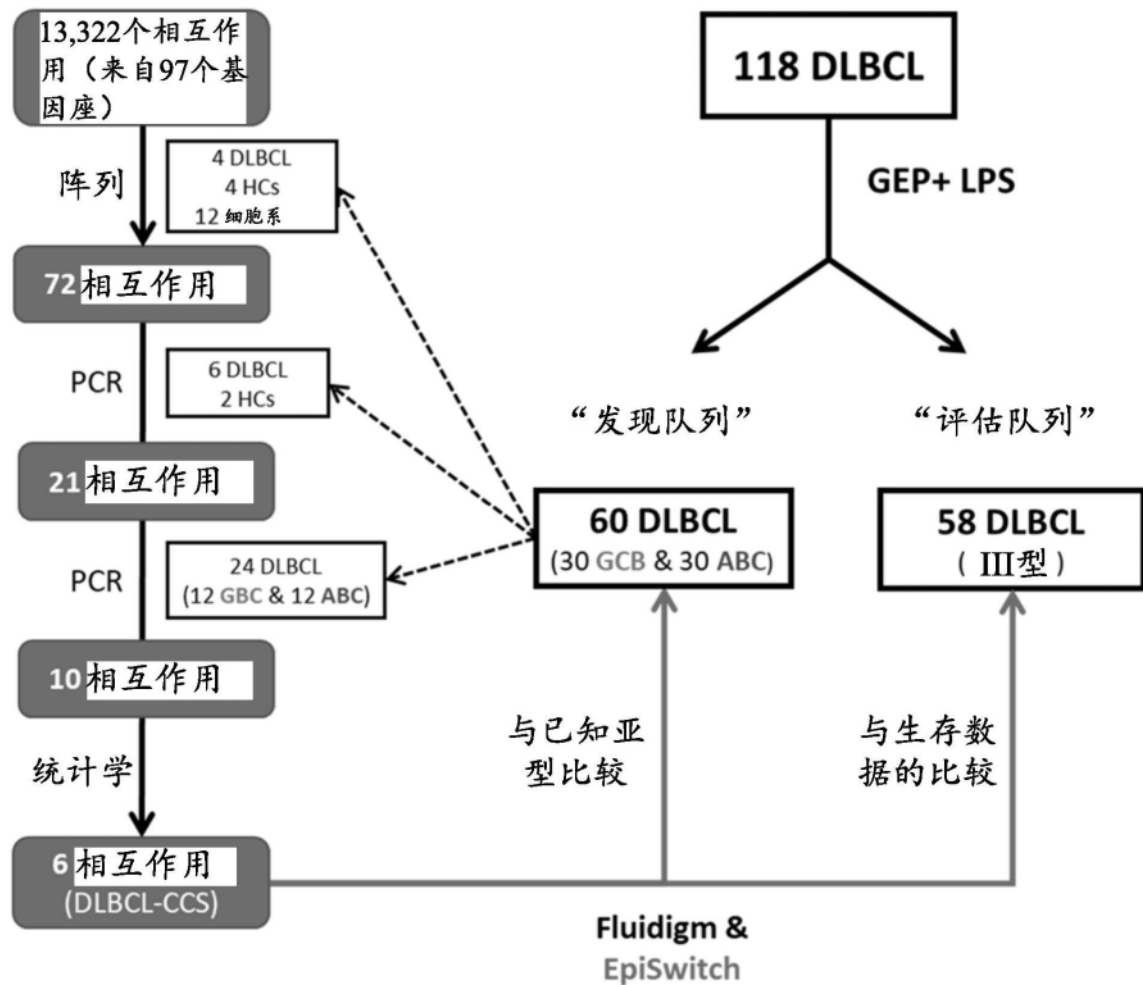


图18



用于开发DLBCL-CCS分类器的工作流程。DLBCL-CCS分类器的开发和评估使用双管齐下的顺序方法。对共118份DLBCL样本进行疾病亚型分类（ABC、GCB或III型，使用基因表达谱（GEP）和LPS计算。已知样本亚型（LPS谱两端的各30个样本）用于鉴定六个基因组基因座的基因组结构变化，这可以最好地区分ABC和GCB亚型（EpiSwitch DLBCL-CCS）。使用58个具有中间LPS分数（III型）的样本对EpiSwitch DLBCL-CCS和Fluidigm分析的性能进行评估。

图19

基因座	亚型
STAT3	ABC
TNFRSF13B	ABC
ANXA11	ABC
MAP3K7	GCB
MEF2B	GCB
IFNAR1	GCB

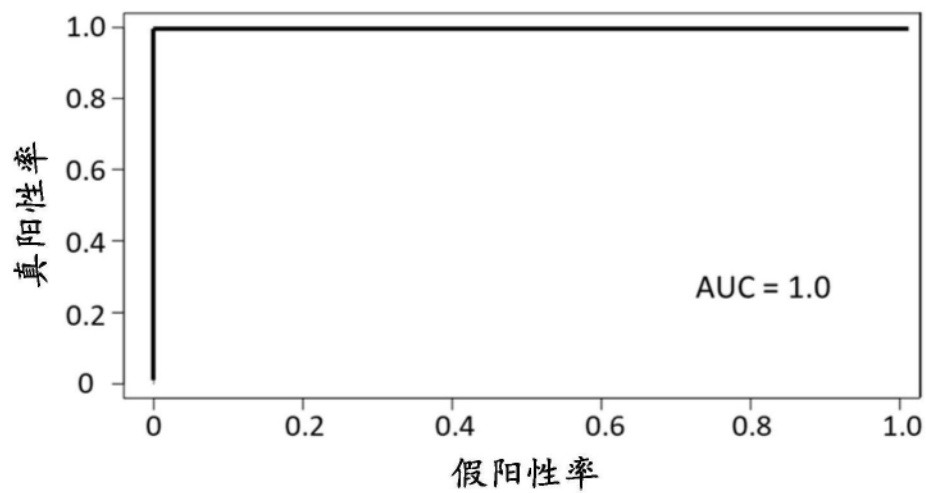
EpiSwitch DLBCL-CCS分类器。DLBCL-CCS是由6个基因组基因座的基因组结构的可测量变化构成的。这些“基因环”在不同的DLBCL亚型中要么不存在，要么存在，例如在ABC亚型中，STAT3、TNFRSF13N和ANXA11的环存在，而MAP3K7、MEF2B和IFNAR1的环不存在。在GCB亚型中则观察到相反的模式。

图20

A

亚型调用	Fluidigm	EpiSwitch	一致性
ABC	30	30	1.0
GCB	30	30	1.0

B



C

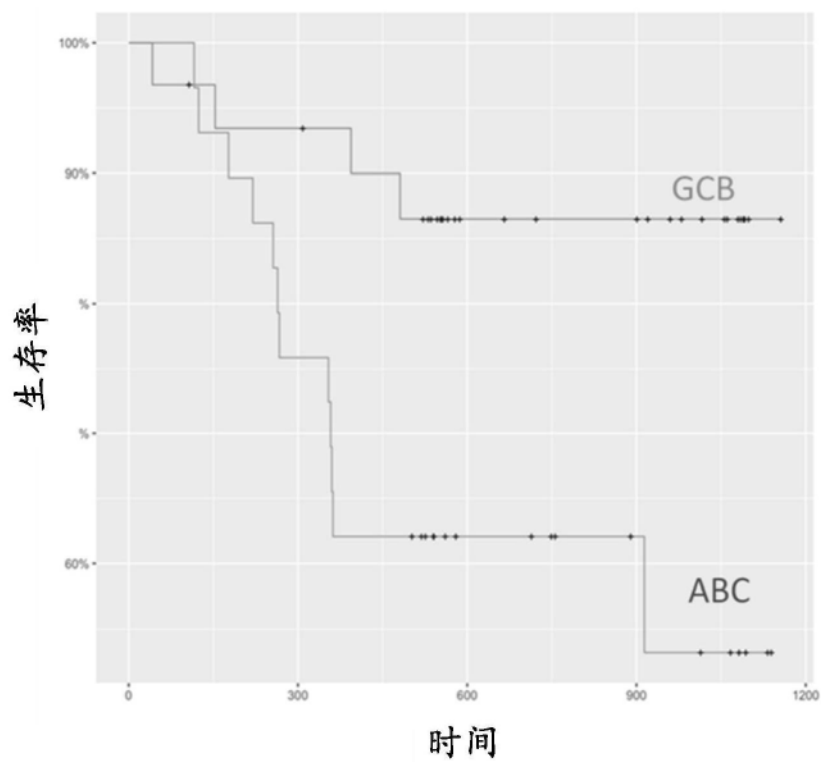


图21

A

程序	调用	ABC	GCB	未分类
Fluidigm	37	15	22	21
EpiSwitch	58	34	24	0

B

患者ID	Fluidigm	EpiSwitch	患者ID	Fluidigm	EpiSwitch
RG389344	ABC	ABC	RG770033	GCB	ABC
RG720922	ABC	ABC	RG260682	GCB	ABC
RG829223	ABC	ABC	RG289202	GCB	ABC
RG119158	ABC	ABC	RG626994	GCB	ABC
RG564834	ABC	ABC	RG750373	GCB	ABC
RG416179	ABC	ABC	RG789313	GCB	ABC
RG843356	ABC	ABC	RG679986	GCB	ABC
RG291088	ABC	ABC	RG728255	UNC	ABC
RG406330	GCB	GCB	RG191217	UNC	ABC
RG591532	GCB	GCB	RG242098	UNC	ABC
RG830523	GCB	GCB	RG438845	UNC	ABC
RG360351	GCB	GCB	RG235367	UNC	ABC
RG784664	GCB	GCB	RG442044	UNC	ABC
RG798672	GCB	GCB	RG431479	UNC	ABC
RG906378	GCB	GCB	RG907269	UNC	ABC
RG142143	ABC	GCB	RG162260	UNC	ABC
RG769375	ABC	GCB	RG704314	UNC	ABC
RG549340	ABC	GCB	RG832757	UNC	ABC
RG198295	ABC	GCB	RG665296	UNC	GCB
RG510145	ABC	GCB	RG427261	UNC	GCB
RG614926	ABC	GCB	RG256851	UNC	GCB
RG275043	ABC	GCB	RG431223	UNC	GCB
RG711234	(GCB)	ABC	RG762878	UNC	GCB
RG573806	GCB	ABC	RG651671	UNC	GCB
RG100774	GCB	ABC	RG388946	UNC	GCB
RG152922	GCB	ABC	RG875217	UNC	GCB
RG736755	GCB	ABC	RG123123	UNC	GCB
RG245982	GCB	ABC	RG313500	UNC	GCB
RG104142	GCB	ABC			
RG317110	GCB	ABC			

通过EpiSwitch和Fluidigm分析分配III型样本中的DLBCL亚型。A.由EpiSwitch和Fluidigm作出的DLBCL亚型调用的总结。其中21个样本被Fluidigm分析调用为“未分类”（UNC，灰色）。在这两种分析都作出了亚型调用的37个样本中，有15个被一致调用为ABC（红色）或GCB（绿色）。剩下的22个样本被这两种分析不同地调用。

图22

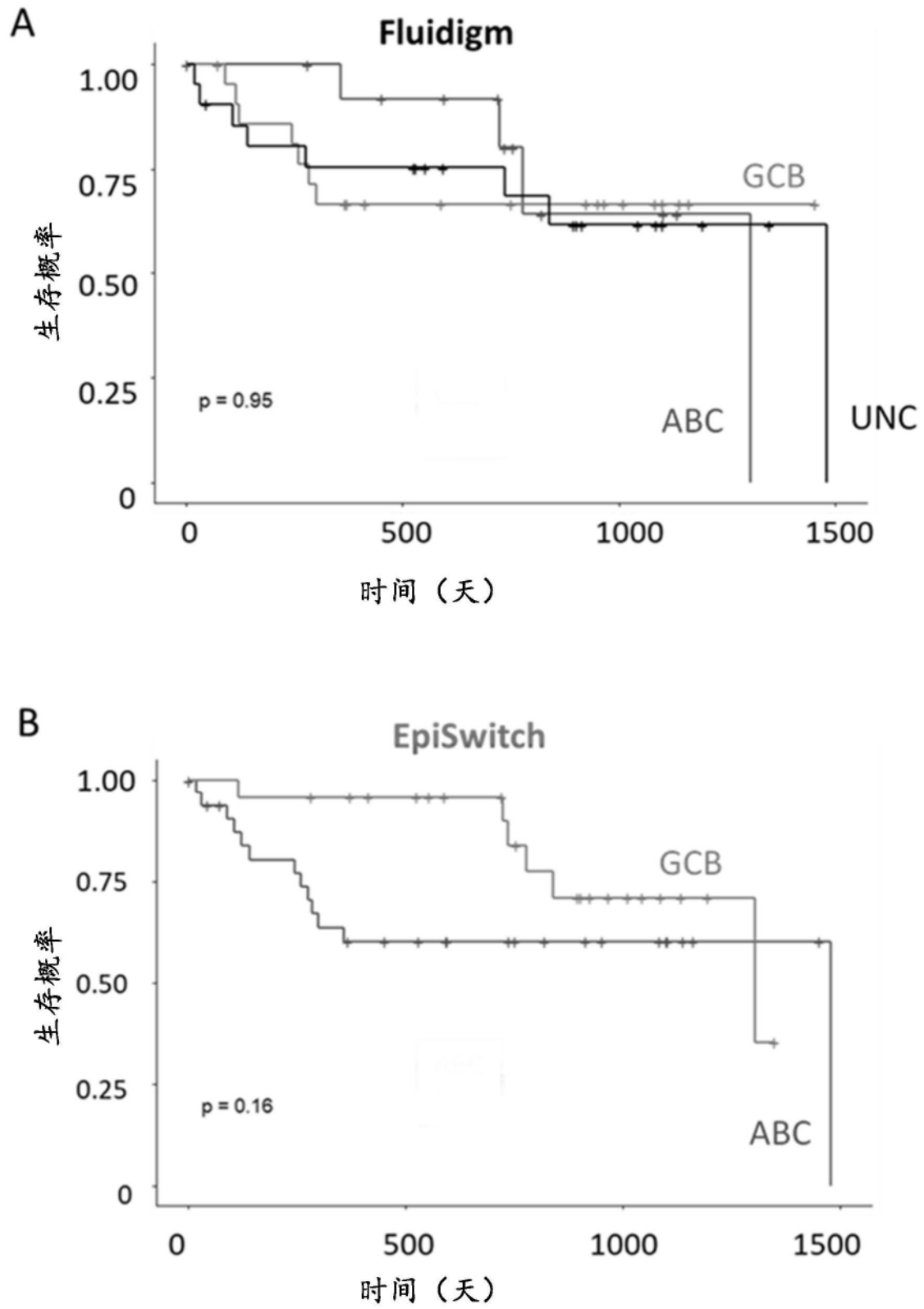
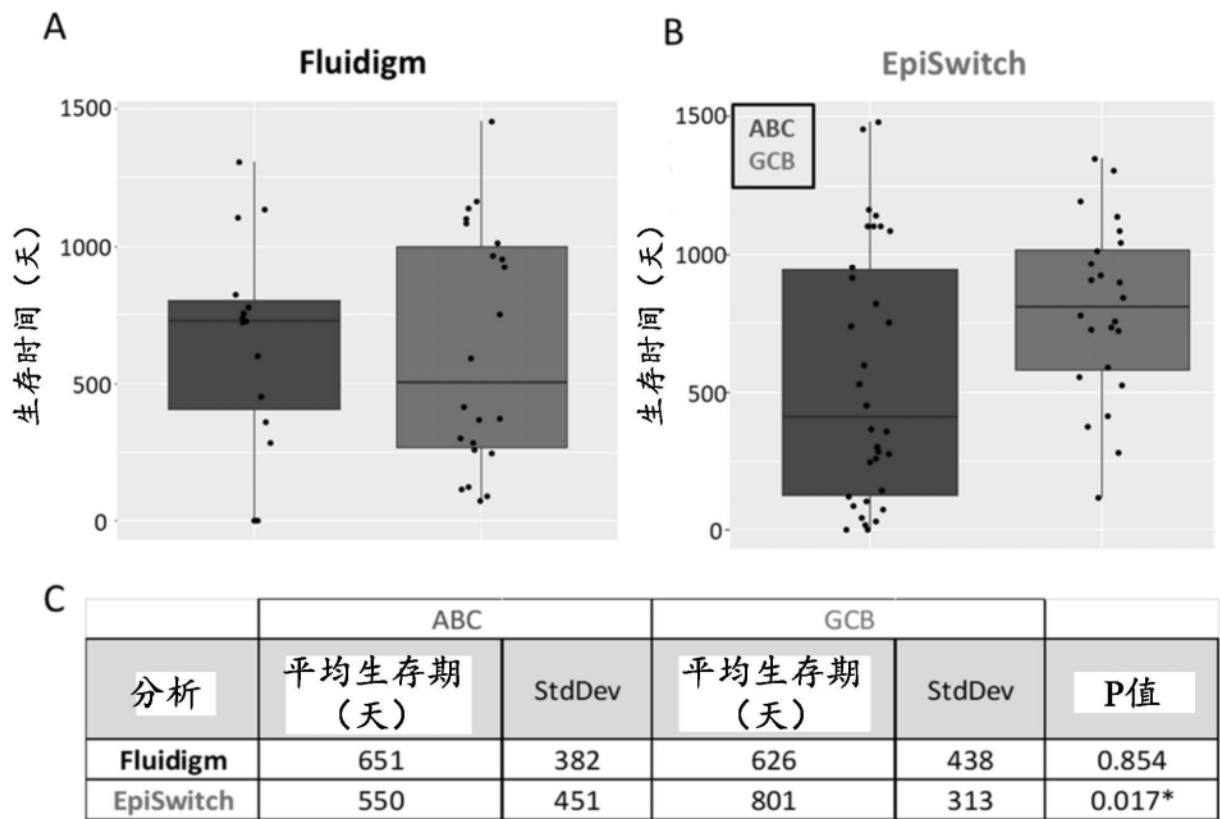


图23



验证队列中通过EpiSwitch和Fluidigm分类的平均生存时间。通过Fluidigm分析 (A) 或 EpiSwitch分析 (绿色) 分类为ABC (红色) 或GCB (绿色) 的患者的平均生存时间。EpiSwitch分类器调用的ABC (550天) 和GCB (801天) 样本的平均生存时间存在统计学显著差异。StdDev = 标准偏差 (天)。

图24

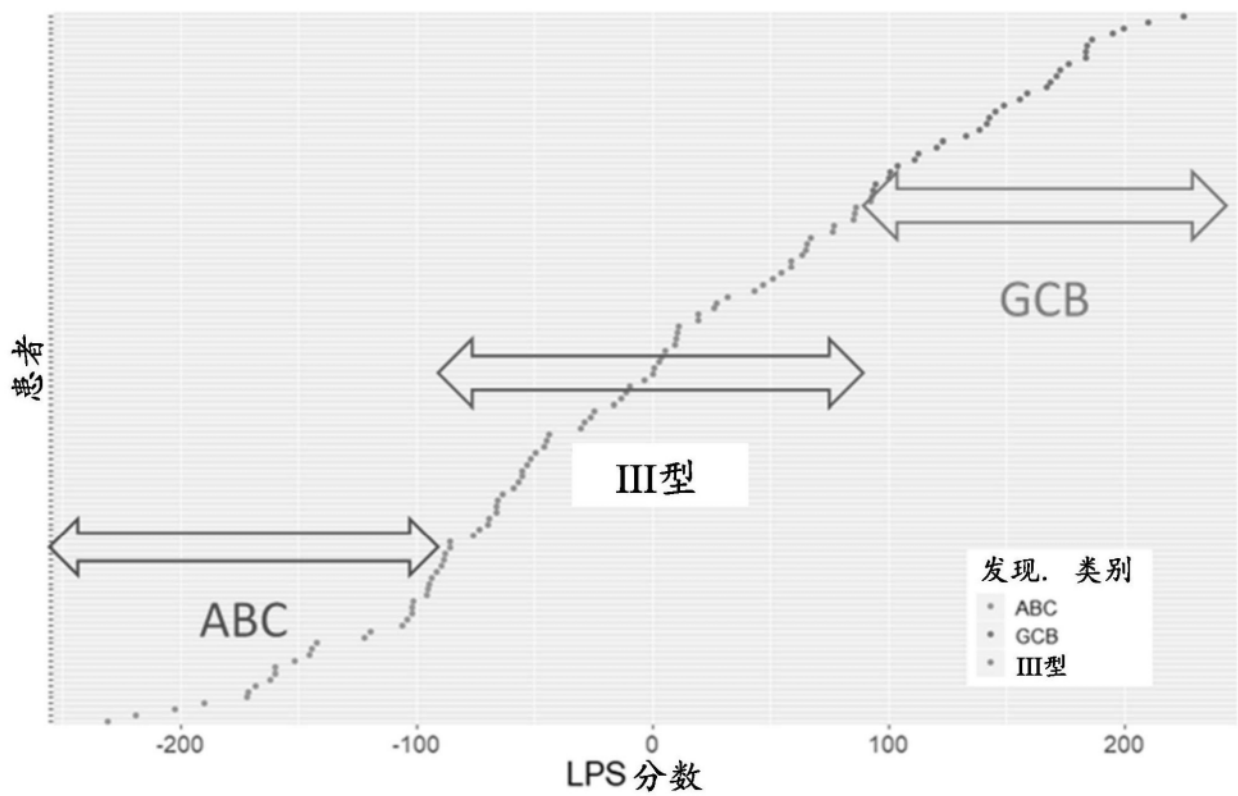


图25

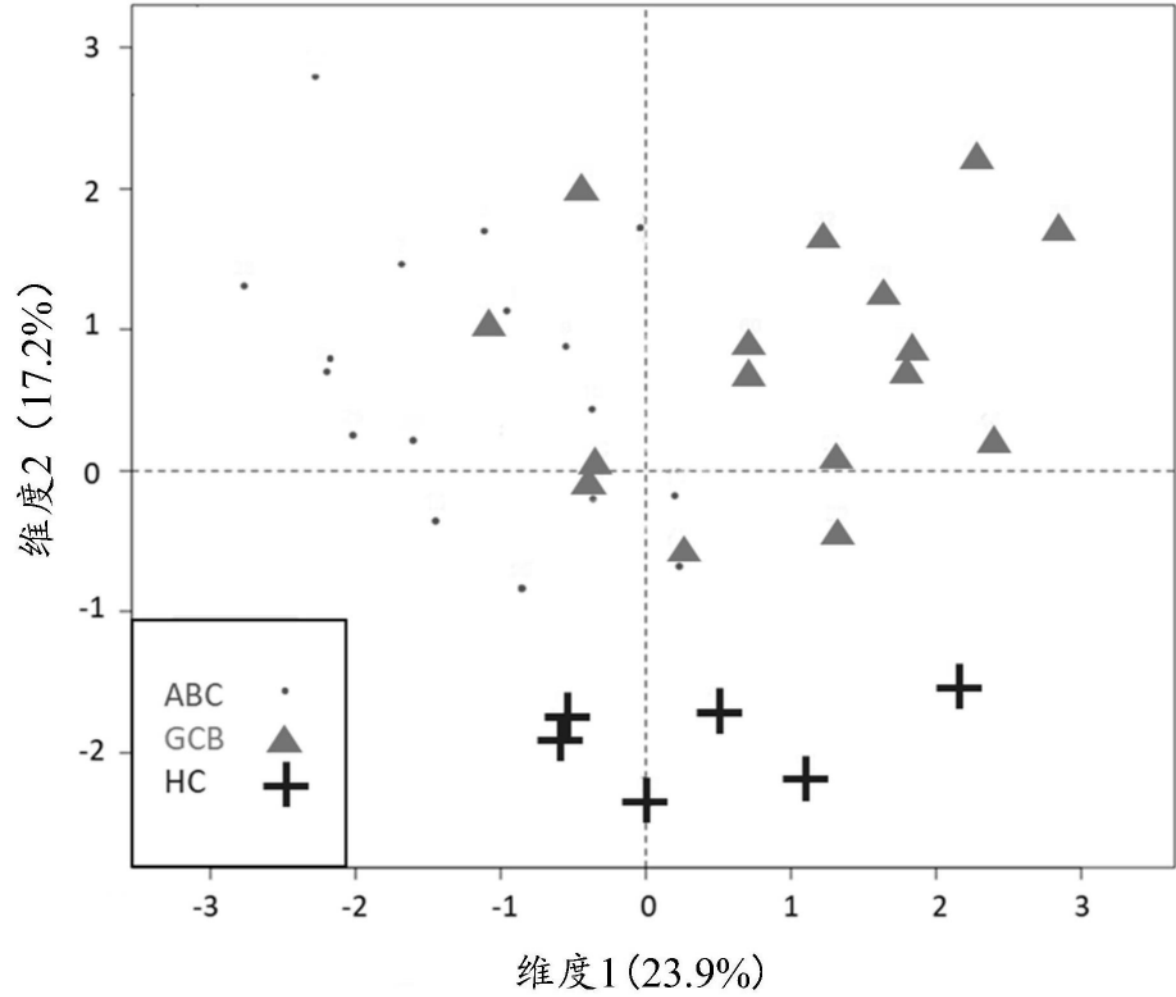


图26