



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113201592 A

(43) 申请公布日 2021.08.03

(21) 申请号 202110408280.X

(22) 申请日 2021.04.15

(71) 申请人 南昌五元生物科技有限公司
地址 330000 江西省南昌市南昌高新技术产业
开发区艾溪湖北路688号中兴南
昌软件产业园10#厂房1-2层

(72) 发明人 周正 黄啸 杨光 牛建军
刘平果 张以平

(74) 专利代理机构 广州三环专利商标代理有限
公司 44202
代理人 颜希文

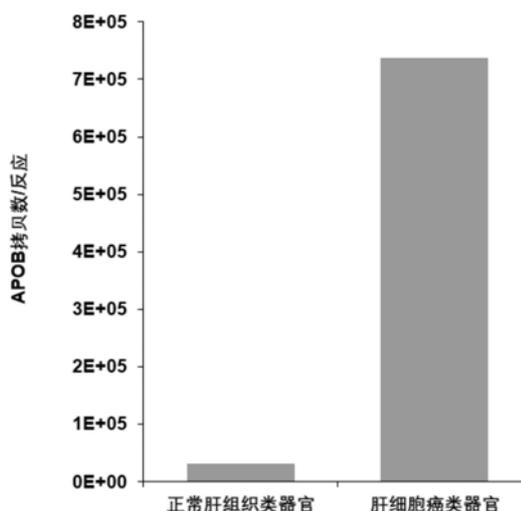
(51) Int. Cl.
C12Q 1/6886 (2018.01)
C12N 15/11 (2006.01)

权利要求书1页 说明书9页
序列表2页 附图5页

(54) 发明名称
一种鉴定肿瘤类器官的方法

(57) 摘要
本发明涉及类器官鉴定技术领域,具体公开了一种鉴定肿瘤类器官的方法,本发明的方法包括以下步骤:检测待测细胞群体的APOB基因或CREB3L3基因的表达水平。通过本发明的方法可以使得在前期培养和扩增过程中可以及时用较少样本量快速确定其肿瘤特性,该方法材料用量少,结果差异明显,且无需生信数据支撑。

实例二: 类器官APOB拷贝数



1. 一种鉴定肿瘤类器官的方法,其特征在于,包括以下步骤:
检测待测细胞群体的APOB基因或CREB3L3基因的表达水平。
2. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,包括以下步骤:
检测待测细胞群体的APOB基因或CREB3L3基因的拷贝数或拷贝倍数。
3. 如权利要求1或2所述的方法,其特征在于,所述肿瘤为肝癌。
4. 如权利要求1或2所述的方法,其特征在于,具体包括以下步骤:
提取正常组织类器官RNA和肿瘤类器官RNA,将正常组织类器官RNA、肿瘤类器官RNA及参照RNA进行反转录分别得到cDNA产物,然后分别将cDNA产物进行PCR扩增,得到针对APOB基因或CREB3L3基因的C_p值,通过相对定量或绝对定量的方式计算肿瘤类器官RNA中APOB基因或CREB3L3的拷贝数或拷贝数倍数。
5. 如权利要求4所述的方法,其特征在于,基于绝对定量法,参照RNA为APOB标准品RNA,基于相对定量法,参照RNA为参考细胞系RNA。
6. 如权利要求5所述的方法,其特征在于,所述APOB标准品RNA的制备包括以下步骤:提取参考细胞系RNA,使用APOB引物将提取的参考细胞系RNA进行反转录,然后将反转录得到的产物进行PCR扩增、纯化,再将纯化后的产物进行T7体外转录、纯化和稀释,得APOB标准品RNA。
7. 如权利要求4所述的方法,其特征在于,正常组织类器官RNA和肿瘤类器官RNA在体系中的用量为700ng。
8. 如权利要求6所述的方法,其特征在于,所述APOB引物的序列如SEQ ID NO.1所示。
9. 如权利要求6所述的方法,其特征在于,所述APOB标准品RNA稀释后的浓度为 $10^5 \sim 10^{12}$ 拷贝数/ μ l。

一种鉴定肿瘤类器官的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及类器官鉴定技术领域,涉及一种鉴定肿瘤类器官的方法,尤其是涉及一种鉴定肝细胞癌类器官的方法。

背景技术

[0002] 类器官是将具有成体干细胞潜能的细胞或组织在体外进行3D培养而成的三维微观结构。基于患者肿瘤组织的类器官培养被称为肿瘤类器官培养。肿瘤类器官具备自主生长及更新的能力,并且可以保留肿瘤组织特点和一定的遗传稳定性,是目前最接近临床状况的体外肿瘤疾病模型。然而,肿瘤组织中往往混杂着正常组织,随着肿瘤类器官传代培养,源自正常组织的类器官可能会逐渐替代肿瘤类器官,导致所培养的肿瘤类器官群体逐渐丧失肿瘤特性。因此,而对于肿瘤类器官是否还保留有癌症特性的鉴定尤其重要。

[0003] 目前,多种已有技术被用于肿瘤类器官的鉴定。第一种是对类器官的形态进行观察,通过形态差异判断肿瘤类器官的保留比例,该方法可行性低、错误率高;第二种方法是对类器官的特定蛋白表达进行鉴定,该方法要求较大的检测样本量,无法在培养的早期进行鉴定;第三种方法是根据已知的患者测序结果,通过基因测序确认癌相关突变的情况,该方法需要肿瘤样本测序结果,同时需要较大的样本量与较长的检测周期。因此,亟需一种样本量少、结果差异明显、无需生信数据支撑且能及时快速测定肿瘤类器官特性的鉴定方法。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于克服上述现有技术的不足之处而提供一种鉴定肿瘤类器官的方法,该方法通过检测肿瘤类器官APOB基因或CREB3L3基因表达情况,使得在前期培养和扩增过程中可以及时用较少样本量快速确定其肿瘤特性,该方法材料用量少,结果差异明显,且无需生信数据支撑。

[0005] 为实现上述目的,本发明采取的技术方案为:

[0006] 本发明的目的提供了一种鉴定肿瘤类器官的方法,包括以下步骤:

[0007] 检测待测细胞群体的APOB基因或CREB3L3基因的表达水平。

[0008] 本发明的方法不仅有效的缩短相关培养的周期及成本,并且实现针对有临床价值的肿瘤类器官的快速选择,同时减少无意义的资源浪费,由此能更好地为构建可信的肿瘤类器官平台服务。

[0009] 作为本发明所述鉴定肿瘤类器官的方法的优选实施方式,所述方法包括以下步骤:

[0010] 检测待测细胞群体的APOB基因或CREB3L3基因的拷贝数或拷贝倍数。

[0011] 作为本发明所述鉴定肿瘤类器官的方法的优选实施方式,所述肿瘤为肝癌。

[0012] 作为本发明所述鉴定肿瘤类器官的方法的优选实施方式,所述方法具体包括以下步骤:

[0013] 提取正常组织类器官RNA和肿瘤类器官RNA,将正常组织类器官RNA、肿瘤类器官

RNA及参照RNA进行反转录分别得到cDNA产物,然后分别将cDNA产物进行PCR扩增,得到针对APOB基因或CREB3L3基因的Cp值,通过相对定量或绝对定量的方式计算肿瘤类器官RNA中APOB基因或CREB3L3的拷贝数或拷贝数倍数。

[0014] 作为本发明所述鉴定肿瘤类器官的方法的优选实施方式,基于绝对定量法,参照RNA为APOB标准品RNA,基于相对定量法,参照RNA为参考细胞系RNA。

[0015] 在本发明的技术方案中,绝对定量法通过计算APOB标准品RNA的拷贝数得到Cp值的线性关系式,从而计算样本中APOB的表达拷贝数;相对定量法通过计算样本与参照细胞系的Cp差值计算APOB或CREB3L3的样本间拷贝数倍数。通过试验证明未分化的肝细胞癌类器官的拷贝数是未分化的正常肝组织类器官的拷贝数5倍以上,证明该肝细胞癌类器官的癌症特性保留。

[0016] 作为本发明所述鉴定肿瘤类器官的方法的优选实施方式,所述APOB标准品RNA的制备包括以下步骤:提取参考细胞系RNA,使用APOB引物将提取的参考细胞系RNA进行反转录,然后将反转录得到的产物进行PCR扩增、纯化,再将纯化后的产物进行T7体外转录、纯化和稀释,得APOB标准品RNA。

[0017] 作为本发明所述鉴定肿瘤类器官的方法的优选实施方式,正常组织类器官RNA和肿瘤类器官RNA在体系中的用量为700ng。

[0018] 作为本发明所述鉴定肿瘤类器官的方法的优选实施方式,所述APOB引物的序列如SEQ ID NO.1所示。

[0019] 作为本发明所述鉴定肿瘤类器官的方法的优选实施方式,所述APOB标准品RNA稀释后的浓度为 $10^5 \sim 10^{12}$ 拷贝数/ μl 。

[0020] 与现有技术相比,本发明具有的有益效果如下:

[0021] 1) 本发明鉴定肿瘤类器官的方法通过检测肿瘤类器官APOB基因或CREB3L3基因高表达情况,使得在前期培养和扩增过程中可以及时用较少样本量快速确定其肿瘤特性,该方法材料用量少,结果差异明显,且无需生信数据支撑;

[0022] 2) 本发明通过相对定量或绝对定量的方式计算肿瘤类器官RNA中APOB基因或CREB3L3基因的拷贝数或拷贝数倍数,快速确定肿瘤类器官的特性;

[0023] 3) 本发明提供了一种鉴定肿瘤类器官的方法,未分化的肝细胞癌类器官的拷贝数是未分化的正常肝组织类器官的拷贝数的5倍以上,证明该肝细胞癌类器官的癌症特性保留,有效的缩短相关培养的周期及成本,并且实现针对有临床价值的肿瘤类器官的快速选择,同时减少无意义的资源浪费。

附图说明

[0024] 图1为实施例1的APOB标准品RNA标准曲线图;

[0025] 图2为实施例2的APOB标准品RNA标准曲线图;

[0026] 图3为实施例2的正常肝组织类器官和肝细胞癌类器官APOB拷贝数图;

[0027] 图4为实施例2的正常肝组织类器官和肝细胞癌类器官APOB拷贝数倍数图;

[0028] 图5为实施例3的正常肝组织类器官和肝细胞癌类器官APOB拷贝数倍数图;

[0029] 图6为实施例3的正常肝组织类器官和肝细胞癌类器官CREB3L3拷贝数倍数图。

具体实施方式

[0030] 为更好的说明本发明的目的、技术方案和优点,下面将结合附图和具体实施例对本发明作进一步说明。

[0031] 在以下实施例中,所使用的实验方法如无特殊说明,均为常规方法,所用的材料、试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径得到,以下实施例采用的数据库均为公开的在线数据库。

[0032] 主要试剂:TransZol Up Plus RNA Extraction Kit-Trizol Reagent、EasyScript One-Step gDNA Removal and cDNA Sythesis SuperMix、**2 × EasyTaq®** PCR SuperMix、QIAquick PCR Purification Kit、mMESSAGE mMACHINE T7Transcription Kit、PerfectStart II® Probe qPCR SuperMix、AceQ SYBR qPCR Master Mix、Nuclease Free Water。

[0033] 主要仪器:PCR仪、LightCycler480高通量实时荧光定量PCR仪、超净工作台、移液枪、无核酶枪头、高速离心机。

[0034] 在以下实施例中,使用的引物及探针如表1所示。

[0035] 表1

引物名称	引物序列 (5' - 3')
APOB RT R-Primer	tcagagaggttagcaagccagaag(如 SEQ ID NO.1)
APOB PCR F-Primer	taatacgaactcactatagggaaaggaaagcgcacctcaat(如 SEQ ID NO.2)
APOB qPCR F-Primer	gttcaccgatctccatctgc(如 SEQ ID NO.3)
APOB qPCR R-Primer	tctcatcagattcccggac(如 SEQ ID NO.4)
APOB qPCR Probe	actacagccctcagtcctct(如 SEQ ID NO.5)
CREB3L3 qPCR F-Primer	gcatcctgagacacgtgga(如 SEQ ID NO.6)
CREB3L3 qPCR R-Primer	tgccactatcaactgccttcg(如 SEQ ID NO.7)
GAPDH qPCR F-Primer	gcaccgtcaaggctgagaac(如 SEQ ID NO.8)
GAPDH qPCR R-Primer	tggtgaagacgccagtgga(如 SEQ ID NO.9)

[0037] 实施例1、APOB标准品RNA的制备及qRT-PCR测试

[0038] 一种APOB标准品RNA的制备方法,包括以下步骤:

[0039] 1、根据TransZol Up Plus RNA Extraction Kit-Trizol Reagent试剂盒说明步骤,提取HepG2细胞系的RNA;

[0040] 2、根据EasyScript One-Step gDNA Removal and cDNA Sythesis SuperMix试剂盒说明,完成HepG2细胞系的RNA的反转录;

[0041] 具体反应体系如下:

Reagents	1 × (μl)
RNA	根据浓度定量(1000ng)
1μM APOB RT R-Primer	2

EasyScript RT/RI Enzyme Mix	1
gDNA Remover	1
2X ES Reaction Mix	10
Nuclease Free Water	加至总体积20u1
Total Volume	20

[0043] 具体反应参数如下：

Step	Temperature (°C)	Time
1	42	30:00
2	85	05:00

[0045] 3、根据2×EasyTaq®PCR SuperMix试剂盒说明，将反转录产物进行特定片段PCR扩增，特定片段的序列如SEQ ID NO.10所示；

[0046] 具体反应体系如下：

Reagents	1 × (μl)
cDNA	20
10μM APOB PCR F-Primer	1
10μM APOB RT R-Primer	1
2X EasyTaq PCR SuperMix	25
Nuclease Free Water	3
Total Volume	50

[0048] 具体反应参数如下：

Cycle	Step	Temperature (°C)	Time
1x	1	94	05:00
35x	2	94	00:30
	3	60	00:30
	4	72	01:00

1x	5	72	05:00
----	---	----	-------

[0051] 4、根据QIAquick PCR Purification Kit试剂盒说明，提纯PCR产物；

[0052] 5、根据mMESSAGE mMACHINE T7 Transcription Kit试剂盒说明，使用PCR产物完成转录；

[0053] 具体反应体系如下：

Reagents	1 × (μl)
PCR Product	3
T7 GTP	3
T7 Enzyme Mix	2
10X T7 Reaction Buffer	2

2X T7 NTP/ARCA Solution	10
Total Volume	20

[0055] 具体反应参数如下：

Cycle	Step	Temperature (°C)	Time
1x	1	37	2hours

[0057] 6、根据mMESSAGE mMACHINE T7 Transcription Kit相关试剂盒说明,将转录产物纯化得APOB标准品,测定APOB标准品RNA浓度,根据碱基信息计算拷贝数。

[0058] 7、将目标APOB标准品RNA用无核酶水稀释至 10^{10} 、 10^9 、 10^8 、 10^7 、 10^6 、 10^5 、 10^4 、 10^3 拷贝数/ μl 。

[0059] 8、根据EasyScript One-Step gDNA Removal and cDNA Sythesis SuperMix试剂盒说明,完成APOB标准品RNA的反转录；

[0060] 具体反应体系如下：

Reagents	1 × (μl)
RNA	1
1 μM APOB RT R-Primer	2
EasyScript RT/RI Enzyme Mix	1
gDNA Remover	1
2X ES Reaction Mix	10
Nuclease Free Water	5
Total Volume	20

[0063] 具体反应参数如下：

Step	Temperature (°C)	Time
1	42	30:00
2	85	05:00

[0065] 9、根据PerfectStart II®Probe qPCR SuperMix试剂盒说明,完成qPCR的测试；

[0066] 具体反应体系如下：

Reagents	1 × (μl)
cDNA	8.8
10 μM APOB qPCR F-Primer	0.4
10 μM APOB qPCR R-Primer	0.4
10 μM APOB qPCR Probe	0.4
2X PerfectStart II Probe qPCR SuperMix	10
Total Volume	20

[0068] 具体反应参数如下：

Cycle	Step	Temperature (°C)	Time
1x	1	94	00:30
45x	2	94	00:05
	3	60	00:30

[0070] 10、读取样本Cp值,获得标准曲线。结果如图1所示,其中APOB标准品RNA的Cp值与拷贝数的关系为 $y = -0.2688x + 14.301$, $R^2 = 0.999$ 。

[0071] 实施例2、通过绝对定量测试正常肝组织类器官和肝细胞癌类器官的APOB表达

[0072] 1、根据TransZol Up Plus RNA Extraction Kit-Trizol Reagent试剂盒说明步骤,提取1例正常肝组织类器官和1例肝细胞癌类器官的RNA;

[0073] 2、将APOB标准品RNA用无核酶水稀释至 10^9 、 10^8 、 10^7 、 10^6 、 10^5 、 10^4 、 10^3 、 10^2 拷贝数/ μ l。

[0074] 3、根据EasyScript One-Step gDNA Removal and cDNA Sythesis SuperMix试剂盒说明,使用步骤1提取的RNA与实施例1制备的APOB标准品RNA完成反转录;

[0075] 具体反应体系如下:

[0076] 对正常肝组织类器官与肝细胞癌类器官RNA反转录:

Reagents	1 × (μ l)
RNA	类器官RNA根据浓度定量 (700ng)
1 μ M APOB RT R-Primer	2
EasyScript RT/RI Enzyme Mix	1
gDNA Remover	1
2X ES Reaction Mix	10
Nuclease Free Water	加至总体积20 μ l
Total Volume	20

[0078] 对APOB标准品RNA反转录:

Reagents	1 × (μ l)
RNA	1
1 μ M APOB RT R-Primer	2
EasyScript RT/RI Enzyme Mix	1
gDNA Remover	1
2X ES Reaction Mix	10
Nuclease Free Water	5
Total Volume	20

[0080] 具体反应参数如下:

Step	Temperature (°C)	Time
1	42	30:00
2	85	05:00

[0082] 4、根据PerfectStart II® Probe qPCR SuperMix试剂盒说明,完成qPCR的测试;

[0083] 具体反应体系如下:

[0084]	Reagents	1 × (μl)
	cDNA	3
	10μM APOB qPCR F-Primer	0.4
	10μM APOB qPCR R-Primer	0.4
	10μM APOB qPCR Probe	0.4
	2X PerfectStart II Probe qPCR SuperMix	10
	Nuclease Free Water	5.8
	Total Volume	20

[0085] 具体反应参数如下:

Cycle	Step	Temperature (°C)	Time
[0086] 1x	1	94	00:30
45x	2	94	00:05
	3	60	00:30

[0087] 5、读取样本Cp值,获得标准曲线,计算类器官RNA拷贝数。其APOB标准品的标准曲线如图2所示,其中APOB标准品RNA的Cp值与拷贝数的关系为 $y = -0.2594x + 13.245$, $R^2 = 0.9959$ 。

[0088] 正常肝组织类器官与肝细胞癌类器官RNA的APOB拷贝数和APOB拷贝数倍数如图3和图4所示。

[0089] 结果为肝细胞癌类器官的APOB拷贝数远大于正常肝细胞类器官的APOB拷贝数,并且肝细胞癌类器官的APOB拷贝数倍数远大于正常肝细胞类器官的APOB拷贝数倍数,说明通过检测肝细胞癌类器官中APOB基因高表达的情况可以鉴定肝细胞癌类器官是否仍然具有肿瘤特性。

[0090] 实施例3、通过相对定量测试正常肝组织类器官和肝细胞癌类器官的APOB及CREB3L3表达

[0091] 实验步骤:

[0092] 1、根据TransZol Up Plus RNA Extraction Kit-Trizol Reagent试剂盒说明步骤,提取1例正常肝组织类器官、1例肝细胞癌类器官和HepG2细胞系的RNA;

[0093] 2、根据EasyScript One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix试剂盒说明,使用步骤1提取的RNA完成反转录;

[0094] 具体反应体系如下:

[0095] 对RNA的反转录:

[0096]	Reagents	1 × (μl)
	RNA	类器官RNA根据浓度定量 (700ng)
	0.1μg/μl Random Primers	1
	EasyScript RT/RI Enzyme Mix	1

gDNA Remover	1
2X ES Reaction Mix	10
Nuclease Free Water	加至总体积20ul
Total Volume	20

[0097] 具体反应参数如下：

Step	Temperature (°C)	Time
1	42	30:00
2	85	05:00

[0099] 3、根据AceQ SYBR qPCR Master Mix试剂盒说明，完成qPCR的测试；

[0100] 具体反应体系如下：

[0101] APOB基因测试：

Reagents	1 × (μl)
cDNA	3
10μM APOB qPCR F-Primer	1
10μM APOB qPCR R-Primer	1
2X AceQ SYBR qPCR Master Mix	10
Nuclease Free Water	5
Total Volume	20

[0103] CREB3L3基因测试：

Reagents	1 × (μl)
cDNA	3

10μM CREB3L3 qPCR F-Primer	1
10μM CREB3L3 qPCR R-Primer	1
2X AceQ SYBR qPCR Master Mix	10
Nuclease Free Water	5
Total Volume	20

[0106] GAPDH测试：

Reagents	1 × (μl)
cDNA	3
10μM GAPDH qPCR F-Primer	1
10μM GAPDH qPCR R-Primer	1
2X AceQ SYBR qPCR Master Mix	10
Nuclease Free Water	5
Total Volume	20

[0108] 具体反应参数如下：

	Cycle	Step	Temperature (°C)	Time
[0109]	1x	1	95	05:00
	45x	2	95	00:10
		3	60	00:30

[0110] 读取样本Cp值,通过Delta Delta Ct法计算正常肝组织类器官和肝细胞癌类器官APOB基因、CREB3L3基因的拷贝数倍数。其结果如图5-6所示。结果显示,未分化的肝细胞癌类器官的拷贝数是未分化的正常肝组织类器官的拷贝数5倍以上,证明该肝细胞癌类器官的癌症特性保留。

[0111] 相对定量的计算最终得出的是样本与样本之间目的基因表达量的倍数关系,在此方式下,不需要使用标准品RNA,但相应的,相对定量下,在测试样本RNA的同时,需要同时测定单一的细胞系RNA作为数据参照。在此实施例中,本申请人根据细胞系的RNA表达情况选定了HepG2作为参照细胞。其他同时表达APOB和CREB3L3的细胞系也可作为参考细胞。

[0112] GAPDH为细胞中的一种常用的守门蛋白,其表达量与细胞数成正相关。因此GAPDH的Cp值可作为每组待测基因表达数的基准线。在本发明中,目的基因Cp值与GAPDH Cp值之差与目的基因的表达量成反比,即差值越小,单位细胞的目的基因表达量越大。

[0113] 本发明的方法通过检测肿瘤类器官APOB基因或CREB3L3基因表达情况,使得在前期培养和扩增过程中可以及时用较少样本量快速确定其肿瘤特性,该方法材料用量少,结果差异明显,且无需生信数据支撑。此外,本发明的方法不仅有效的缩短相关培养的周期及成本,并且实现针对有临床价值的肿瘤类器官的快速选择,同时减少无意义的资源浪费,由此能更好地为构建可信的肿瘤类器官平台服务。

[0114] 最后所应当说明的是,以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非对本发明保护范围的限制,尽管参照较佳实施例对本发明作了详细说明,本领域的普通技术人员应当理解,可以对本发明的技术方案进行修改或者等同替换,而不脱离本发明技术方案的实质和范围。

SEQUENCE LISTING

<110> 南昌五元生物科技有限公司

<120> 一种鉴定肿瘤类器官的方法

<130> 2021.04.12

<160> 10

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 24

<212> DNA

<213> APOB RT R-Primer

<400> 1

tcagagaggt tagcaagcca gaag 24

<210> 2

<211> 40

<212> DNA

<213> APOB PCR F-Primer

<400> 2

taatacgact cactataggg aaggaaaagc gcacctcaat 40

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> APOB qPCR F-Primer

<400> 3

gttcaccgat ctccatctgc 20

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> APOB qPCR R-Primer

<400> 4

tcctcatcag attcccggac 20

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> APOB qPCR Probe

<400> 5

actacagccc tcagtcctct 20

<210> 6

<211> 19

<212> DNA
<213> CREB3L3 qPCR F-Primer
<400> 6
gcatcctgag acacgtgga 19
<210> 7
<211> 20
<212> DNA
<213> CREB3L3 qPCR R-Primer
<400> 7
tgccactatc actgccttcg 20
<210> 8
<211> 20
<212> DNA
<213> GAPDH qPCR F-Primer
<400> 8
gcaccgtcaa ggctgagaac 20
<210> 9
<211> 19
<212> DNA
<213> GAPDH qPCR R-Primer
<400> 9
tggatgaagac gccagtgga 19
<210> 10
<211> 302
<212> DNA
<213> 人工合成
<400> 10
ggaaggaaaa ggcacacctca atatcaaaag cccagcgttc accgatctcc atctgcgcta 60
ccagaaagac aagaaaggca tctccacctc agcagcctcc ccagccgtag gcaccgtggg 120
catggatatg gatgaagatg acgacttttc taaatggaac ttctactaca gccctcagtc 180
ctctccagat aaaaaactca ccatattcaa aactgagttg agggctccggg aatctgatga 240
ggaaaactcag atcaaaagtta attgggaaga agaggcagct tctggcttgc taacctctct 300
ga 302

实例一：APOB标准品标准曲线

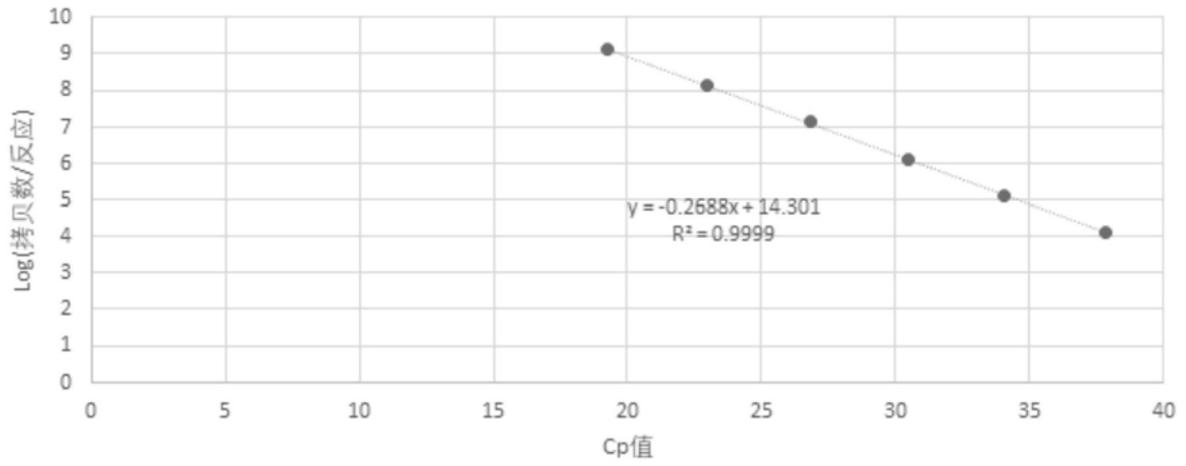


图1

实例二：APOB标准品标准曲线

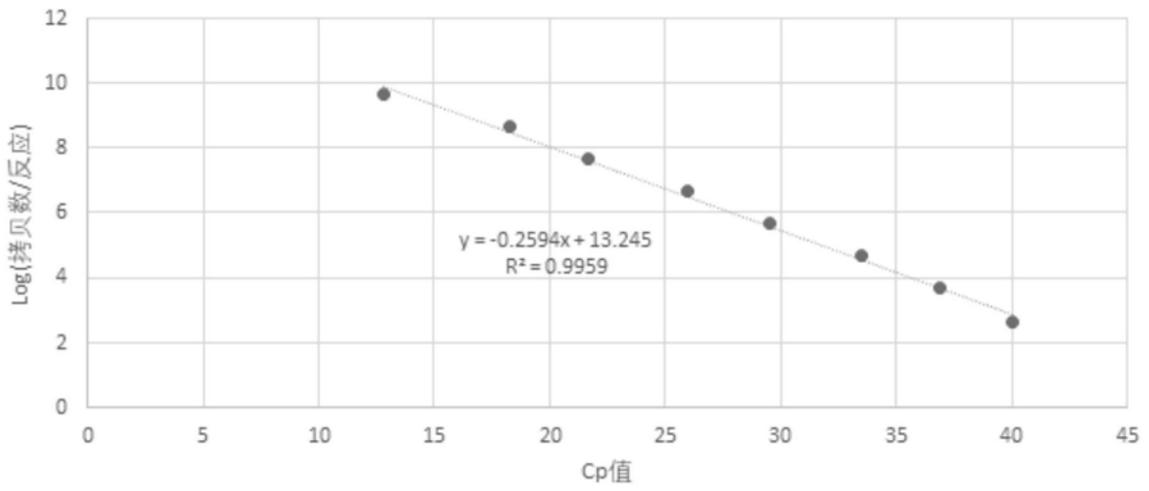


图2

实例二：类器官APOB拷贝数

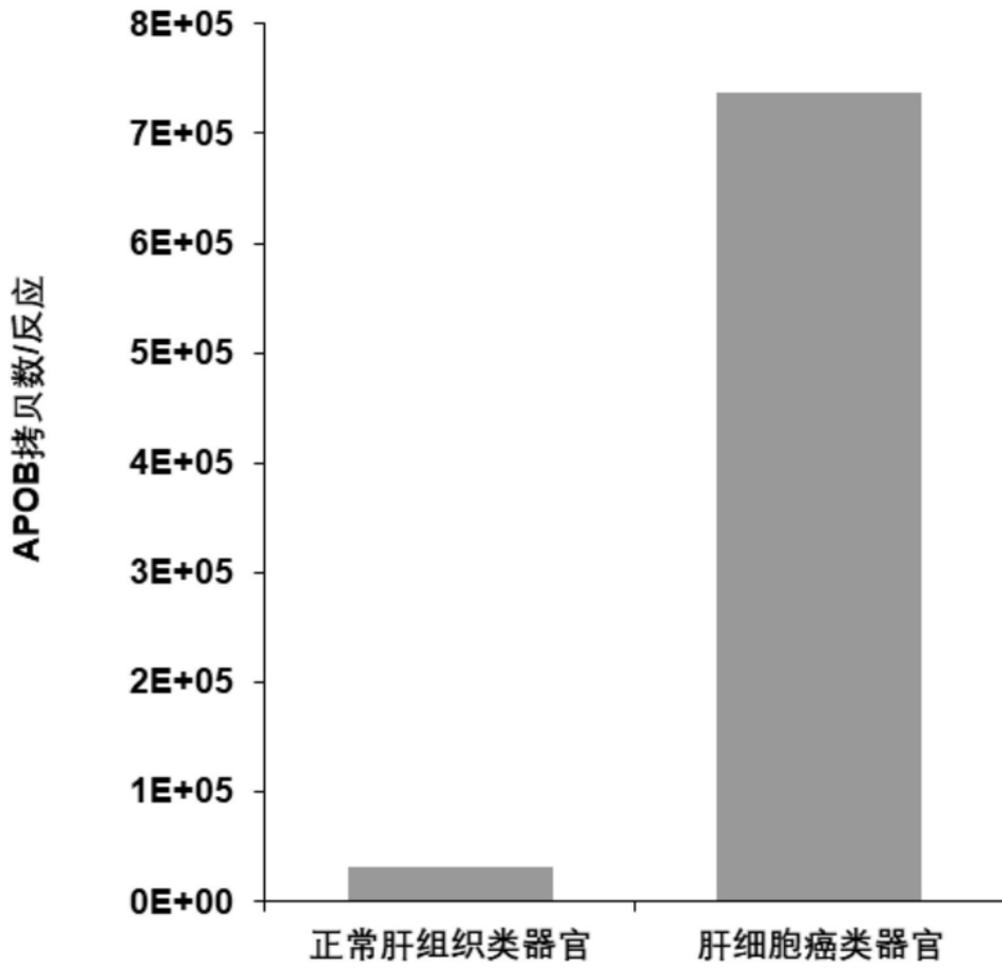


图3

实例二：类器官APOB拷贝数倍数

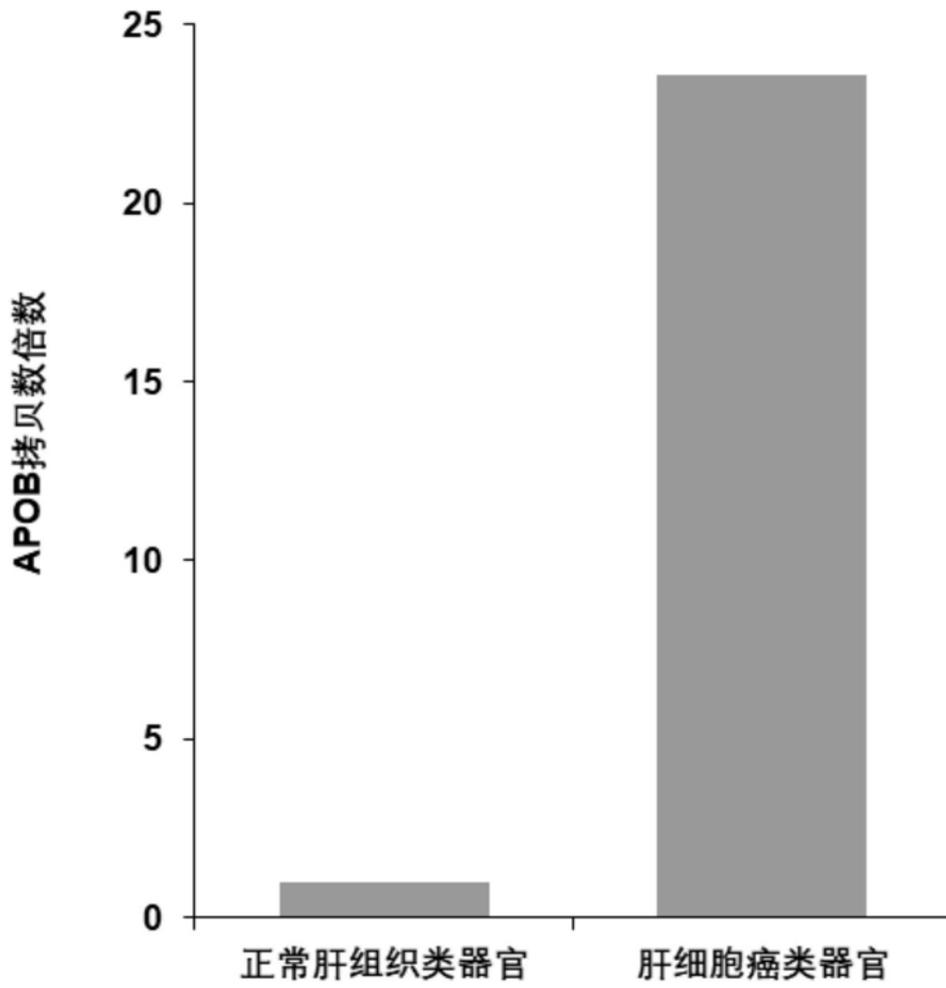


图4

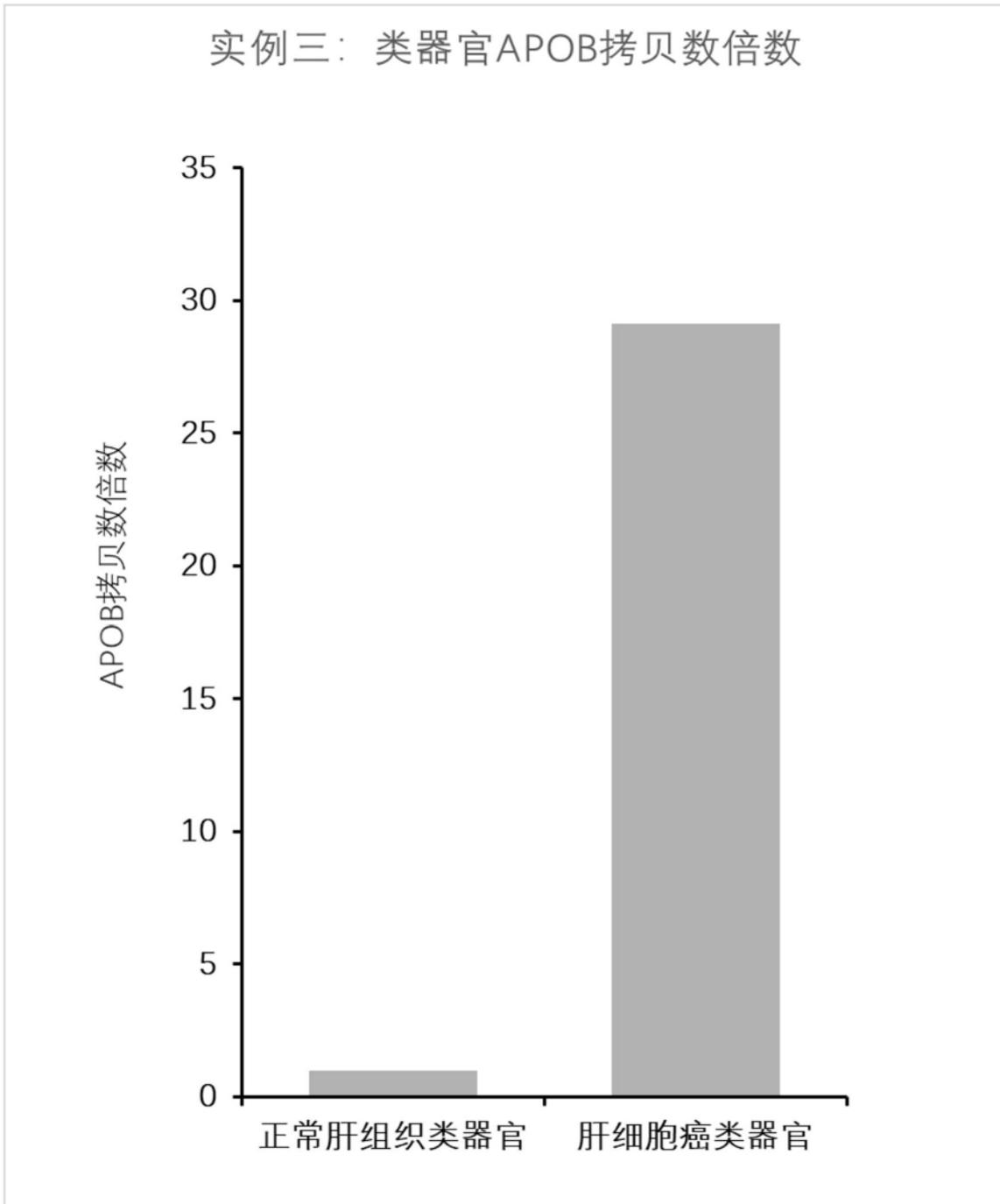


图5

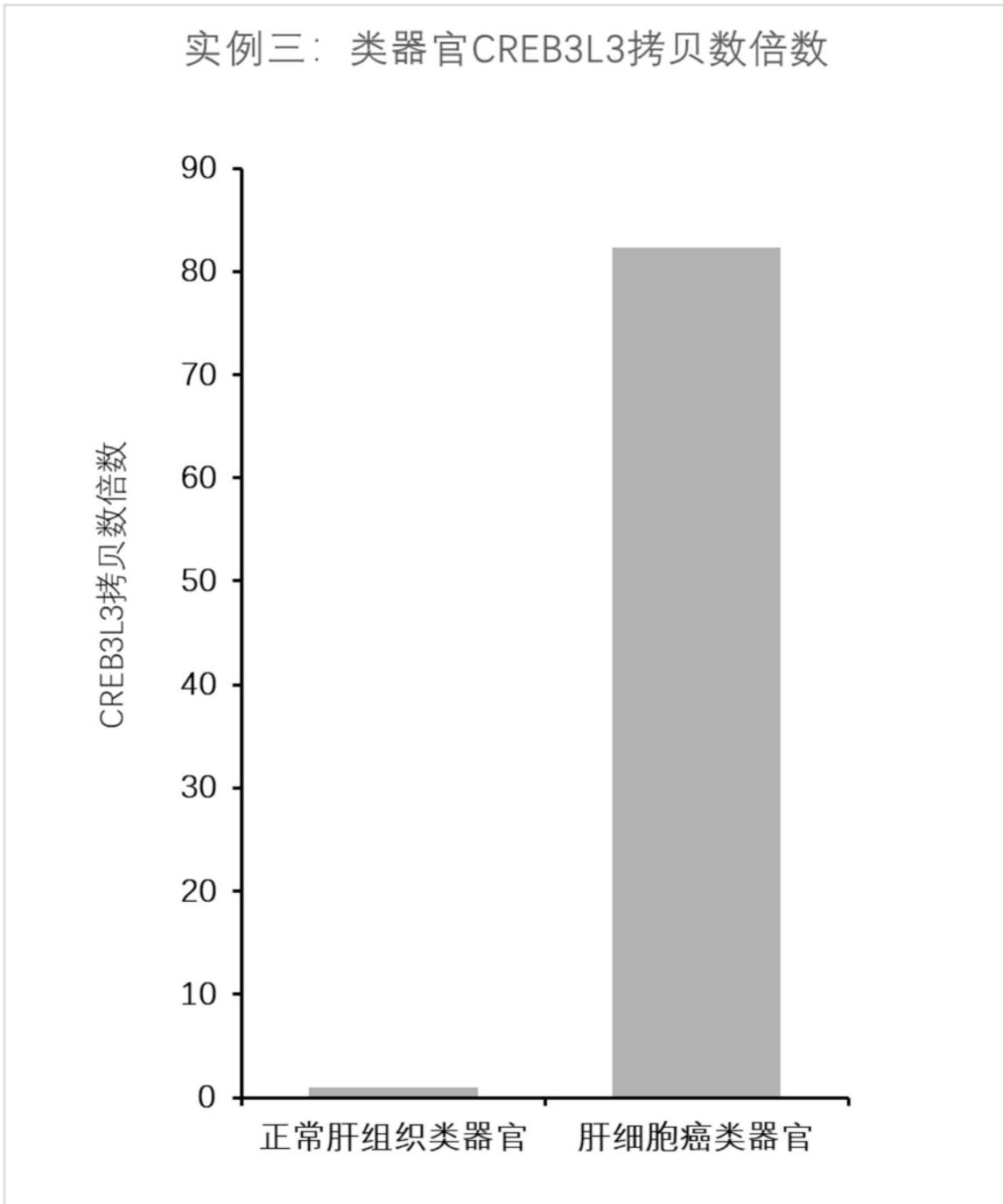


图6