



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107002141 B

(45) 授权公告日 2021. 11. 02

(21) 申请号 201580064601.1

(22) 申请日 2015.09.18

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107002141 A

(43) 申请公布日 2017.08.01

(30) 优先权数据
62/056,159 2014.09.26 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2017.05.26

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2015/050996 2015.09.18

(87) PCT国际申请的公布数据
W02016/048833 EN 2016.03.31

(73) 专利权人 詹森药业有限公司
地址 比利时.比尔斯.特恩豪特斯路30号

(72) 发明人 J.卡科拉 S.J.普拉特罗

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 彭昶 罗文锋

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

(56) 对比文件
WO 201313351A1 ,2013.09.12
WO 201313351A1 ,2013.09.12
Rastislav Bahleda 等.Phase 1 study of JNJ-42756493, a.《Journal of Clinical Oncology》.2014,第32卷(第15期),

审查员 颜泉梅

权利要求书2页 说明书58页

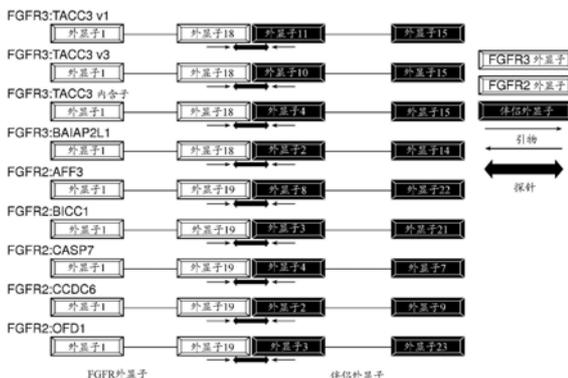
序列表50页 附图34页

(54) 发明名称

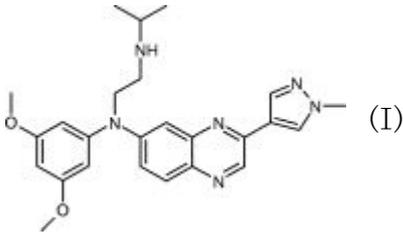
使用FGFR突变基因组鉴定将对用FGFR抑制剂进行治疗有反应的癌症患者

(57) 摘要

本文公开了鉴定将对用成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 抑制剂进行治疗有反应的癌症患者的方法以及治疗癌症患者的方法。所述方法包括评估来自所述患者的生物样品中来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体的存在。本文还公开了用于鉴定生物样品中一种或多种FGFR突变基因的存在试剂盒和引物。



1. 扩增来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体的引物对在制备用于鉴定对用成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 抑制剂进行治疗有反应的尿路上皮癌患者的试剂盒中的用途,其中所述FGFR抑制剂是式 (I) 的化合物,



所述FGFR突变体包含FGFR3单核苷酸多态性,其中所述FGFR3单核苷酸多态性包含FGFR3 S249C,并且

其中所述鉴定包括:

评估来自所述患者的生物样品中来自所述FGFR突变基因组的所述一种或多种FGFR突变体,其中所述评估包括:

用所述引物对扩增cDNA;以及

测定所述样品中是否存在FGFR3 S249C,其中存在FGFR3 S249C表示所述患者对用所述FGFR抑制剂进行治疗有反应。

2. 根据权利要求1所述的用途,其中所述突变基因组进一步包含FGFR融合基因,并且其中所述FGFR融合基因包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7或它们的任何组合。

3. 根据权利要求1所述的用途,其中所述FGFR3单核苷酸多态性进一步包括FGFR3 R248C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

4. 根据权利要求1所述的用途,其中所述尿路上皮癌为转移性的。

5. 根据权利要求1所述的用途,其中所述cDNA为预扩增的cDNA。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的用途,其中所述FGFR突变体和引物对为:

FGFR3 S249C和具有SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26或者SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34的序列的引物;

并且任选地,所述FGFR突变体和引物对进一步包括:

FGFR3 R248C和具有SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24或者SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32的序列的引物;

FGFR3 G370C和具有SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28或者SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的序列的引物;

FGFR3 Y373C和具有SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30或者SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38的序列的引物;

FGFR3:TACC3 v1和具有SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的序列的引物;

FGFR3:TACC3 v3和具有SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的序列的引物;

FGFR3:BAIAP2L1和具有SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12的序列的引物;

FGFR2:BICC1和具有SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14的序列的引物;

FGFR2:AFF3和具有SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16的序列的引物;

FGFR2:CASP7和具有SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的序列的引物;

或它们的任何组合。

7. 根据权利要求1-5中任一项所述的用途,其中所述评估包括:

从所述生物样品中分离RNA并由所分离的RNA合成所述cDNA。

8. 根据权利要求7所述的用途,还包括在所述扩增步骤之前预扩增所述cDNA。

9. 根据权利要求1-5中任一项所述的用途,其中对所述cDNA进行预扩增。

10. 根据权利要求1-5中任一项所述的用途,其中所述扩增步骤包括进行实时PCR。

11. 根据权利要求10所述的用途,其中所述实时PCR用一种或多种探针进行,所述探针包括SEQ ID NO:53,并且任选地,另外的探针包括SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:54和/或SEQ ID NO:55。

12. 根据权利要求10所述的用途,其中所述实时PCR用一种或多种3' 阻断寡核苷酸进行,所述3' 阻断寡核苷酸包括SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41和/或SEQ ID NO:42。

13. 根据权利要求1-5中任一项所述的用途,其中所述测定步骤进一步包括对所扩增的cDNA进行测序。

使用FGFR突变基因组鉴定将对用FGFR抑制剂进行治疗有反应的癌症患者

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2014年9月26日提交的美国临时申请No.62/056,159的优先权,该申请的公开内容据此全文以引用方式并入。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含已经以ASCII格式电子提交的序列表,所述序列表据此全文以引用方式并入。所述ASCII副本创建于2015年8月6日,命名为103693.000782_SL.txt,大小为66,185字节。

技术领域

[0005] 本文提供了鉴定将对用成纤维细胞生长因子受体抑制剂进行治疗有反应的癌症患者的方法以及治疗所述癌症患者的方法。

背景技术

[0006] 鉴定遗传异常可用于为癌症患者选择一种或多种适当的治疗方法。这对于无法用主治疗方案(一线治疗)治疗其癌症类型的癌症患者来说也是有用的,尤其是在没有二线和后续治疗的公认护理标准的情况下更是如此。成纤维细胞生长因子受体(FGFR)属于受体酪氨酸激酶家族,其参与调节细胞存活、增殖、迁移和分化。在某些癌症中观察到FGFR发生了变化。目前还没有能够有效治疗FGFR发生变化的患者的批准疗法。

发明内容

[0007] 本文公开了鉴定将对用成纤维细胞生长因子受体(FGFR)抑制剂进行治疗有反应的癌症患者的方法,该方法包括:评估来自患者的生物样品中来自FGFR突变基因组的FGFR突变体,其中该FGFR突变体是FGFR融合基因或FGFR单核苷酸多态性,并且其中所述评估包括用与来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体结合并对其进行扩增的引物对扩增cDNA;以及确定样品中是否存在来自基因组的一种或多种FGFR突变体,其中存在一种或多种FGFR突变体表示患者将对用FGFR抑制剂进行治疗有反应。

[0008] 本文还公开了治疗患者的癌症的方法,该方法包括:评估来自患者的生物样品中来自FGFR突变基因组的一个或个FGFR突变体的存在;以及如果样品中存在一种或多种FGFR突变体,则用FGFR抑制剂治疗该患者。

[0009] 本文还提供了用于鉴定生物样品中一种或多种FGFR突变基因的存在的试剂盒和引物。

附图说明

[0010] 当结合附图阅读时,可进一步理解发明内容以及下文的具体实施方式。为了说明所公开的方法、试剂盒和引物,在附图中示出了该方法、试剂盒和引物的示例性实施方案,

但是该方法、试剂盒和引物并不限于所公开的具体实施方案。在附图中：

[0011] 图1是示例性FGFR融合基因的图示，存在其中至少一个基因则表示患者将对用FGFR抑制剂进行治疗有反应。图中还示出了(细箭头)用于扩增融合基因的示例性引物位置。

[0012] 图2(包括图2A至图2I)表示对以下FFPET样品进行Sanger测序的阳性结果：A) FGFR3:TACC3 v1;B) FGFR3:TACC3 v3;C) FGFR3:TACC3内含子;D) FGFR3:BAIAP2L1;E) FGFR2:AFF3;F) FGFR2:BICC1;G) FGFR2:CASP7;H) FGFR2:CCDC6和I) FGFR2:OFD1。

[0013] 图3示出了使用3'双脱氧野生型(WT)阻断剂寡核苷酸来进行SNP特异性qRT-PCR的示例性策略。

[0014] 图4示出了用于检测FGFR SNP的示例性分析验证策略。实验在经过工程改造的RK3E细胞系中进行，该细胞系表达FGFR融合体并且被稀释成不含FGFR3/FGFR2融合体的野生型细胞系。

[0015] 图5(包括图5A至图5D)示出了(a) G370C、(B) Y373C、(C) S249C和(D) R248C的双脱氧WT阻断剂的SNP特异性PCR。

[0016] 图6(包括图6A至图6I)表示以下各组的FGFR融合基因测定的效率标准曲线：A) FGFR3:TACC3 v1;B) FGFR3:TACC3 v3;C) FGFR3:TACC3内含子;D) FGFR3:BAIAP2L1;E) FGFR2:AFF3;F) FGFR2:BICC1;G) FGFR2:CASP7;H) FGFR2:CCDC6和I) FGFR2:OFD1。

[0017] 图7是膀胱癌(原发性和转移性)、NSCLC(腺癌和鳞状细胞癌)、卵巢癌、食管癌(原发性和转移性)、头颈癌(H&N,原发性和转移性)、子宫内膜癌(转移性)、乳腺癌和前列腺癌中FGFR融合基因状态的示例性表示。

[0018] 图8是NSCLC腺癌和鳞状细胞癌中FGFR融合基因和突变状态的示例性表示。

[0019] 图9(包括图9A至图9D)表示I期患者的样品的示例性结果。使用合成模板测定对照(ST)、GAPDH(质量对照样品)引物或者以下各组的特异性引物进行测定：A) FGFR2:BICC1融合体;B) FGFR3:TACC3(外显子18:外显子1)融合体;C) FGFR2:CCDC6融合体;或者D) FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3或FGFR2:CCDC6融合体。患者样品为以下样品：A-尿路上皮癌;B-膀胱癌;C-胆管癌;和D-肾上腺癌。

[0020] 图10表示对患有晚期实体瘤的患者用JNJ-42756493进行首次人体研究的示例性I期研究设计。

[0021] 图11表示用大于或等于6mg的剂量水平来自基线减少的目标病变直径总和的最大抑制百分比。按照每日方案或间歇给药方案(7天给药/7天停药)用不同施用剂量的FGFR抑制剂JNJ-42756493治疗实体瘤患者。该图示出了剂量和肿瘤类型。根据RECIST标准测量肿瘤减少。肿瘤中携带FGFR基因易位和突变的患者似乎对FGFR抑制剂JNJ-42756493更敏感。

[0022] 图12示出了用所示的FGFR融合体稳定转染的RK3E细胞中各种FGFR融合体的表达。

[0023] 图13(包括图13A至图13B)示出了用所示的FGFR融合体稳定转染的RK3E细胞中的菌落形成测定结果。(A)用0.1%的甲苯基结晶紫在6孔板中进行染色以及(B)示出每100个接种细胞中的菌落数的柱状图。结果表示两次独立实验的结果。

[0024] 图14(包括图14A至图14H)示出了用所示的FGFR融合体稳定转染的RK3E细胞中示例性下游靶标的表达。

具体实施方式

[0025] 结合对构成本公开一部分的附图,并参考下文的具体实施方式,可更容易地理解所公开的方法、试剂盒和引物。应当理解,所公开的方法、试剂盒和引物并不限于本文所述和/或所示的具体方法、试剂盒和引物,并且本文所用的术语仅用于以举例方式描述具体实施方案,不旨在限制受权利要求保护的方法、试剂盒和引物。

[0026] 提及具体数值至少包括该具体值,除非上下文另有明确规定。当表示值的范围时,另一个实施例包括从一个具体的值和/或其他具体的值。此外,提及以范围形式表述的值时,包括该范围内的每个值。所有范围都是指闭区间并且可以组合。

[0027] 应当理解,为清楚起见,所公开的方法、试剂盒和引物的某些特征在单独实施方案的上下文中进行描述,但也可以组合形式在单个实施方案中提供。相反地,为简明起见,所公开的方法、试剂盒和引物的各种特征在单个实施例的上下文中进行描述,但也可单独提供或以任何子组合形式提供。

[0028] 如本文所用,单数形式“一个”、“一种”和“该”包括复数形式。

[0029] 在整个说明书中使用以下缩写:FGFR(成纤维细胞生长因子受体);LLOQ(定量下限)、FGFR3:TACC3(编码FGFR3的基因与含转化酸性卷曲螺旋的蛋白3之间的融合体)、FGFR3:BAIAP2L1(编码FGFR3的基因与脑特异性血管生成抑制剂1相关类蛋白2蛋白1之间的融合体)、FGFR2:AFF3(编码FGFR2的基因与AF4/FMR2家族成员3之间的融合体)、FGFR2:BICC1(编码FGFR2的基因与二尾C同系物之间1的融合体)、FGFR2:CASP7(编码FGFR2的基因与半胱天冬酶7之间的融合体)、FGFR2:CCDC6(编码FGFR2的基因与含卷曲螺旋结构域的蛋白6之间的融合体)、FGFR2:OFD1(编码FGFR2的基因与口面指综合征1之间的融合体)、FFPET(福尔马林固定石蜡包埋组织)、SNP(单核苷酸多态性)、NSCLC(非小细胞肺癌)、ct(循环阈值)。

[0030] 如本文所用,“治疗”及类似的术语是指降低癌症症状的严重性和/或频率、消除癌症症状和/或所述症状的根本原因、降低癌症症状的频率或可能性和/或其根本原因,以及改善或补救由癌症直接或间接造成的损害。

[0031] “生物样品”是指来自可从其中获得癌细胞并分离RNA的患者的任何样品。合适的生物样品包括但不限于血液、淋巴液、骨髓、实体肿瘤样品,或它们的任何组合。在一些实施方案中,生物样品可以是FFPET。

[0032] 如本文所用,“预扩增”是指在扩增步骤之前进行的PCR程序,其目的是增加用于扩增步骤的模板cDNA的量。预扩增步骤可例如使用TaqMan[®]预扩增主混合物(Life Technologies/Applied Biosystems[®]产品号4391128)进行。

[0033] 如本文所用,“扩增”及类似的术语是指产生核酸样品的许多相同拷贝。用于扩增核酸样品的合适技术包括但不限于聚合酶链反应(PCR)和实时聚合酶链反应(RT-PCR)。在一些实施方案中,扩增步骤包括RT-PCR。

[0034] FGFR突变体

[0035] 如本文所用,短语“FGFR突变体”是指FGFR融合基因、FGFR单核苷酸多态性或它们两者。

[0036] “FGFR融合体”或“FGFR融合基因”是指通过编码FGFR(例如,FGFR2或FGFR3)的基因

或其部分与本文所公开的融合伴侣之一或其部分之间发生易位而形成的这两种基因。可使用所公开的方法来确定来自患者的生物样品中是否存在一种或多种以下FGFR融合基因：FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6、FGFR2:OFD1，或它们的任何组合。表1提供了FGFR融合基因以及融合的FGFR和融合伴侣的外显子。图1提供了各种FGFR融合基因的图示。各个FGFR融合基因的序列在表16中公开。

[0037] 表1

[0038]

融合基因	FGFR外显子	伴侣外显子
FGFR3:TACC3 v1	18	11
FCFR3:TACC3 v3	18	10
FGFR3:TACC3内含子	18	4
FGFR3:BAIAP2L1	18	2
FGFR2:AFF3	19	8
FGFR2:BICC1	19	3
FGFR2:CASP7	19	4
FGFR2:CCDC6	19	2
FGFR2:OFD1	19	3

[0039] “FGFR单核苷酸多态性” (SNP) 是指个体中单个核苷酸有差异的FGFR2或FGFR3基因。具体地讲,FGFR单核苷酸多态性 (SNP) 是指个体中单个核苷酸有差异的FGFR3基因。可使用所公开的方法来确定来自患者的生物样品中是否存在一种或多种以下FGFR SNP:FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C、FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。FGFR SNP的序列在表2中提供。

[0040] 表2

FGFR3 突变体	序列
FGFR3 R248C	TCGGACCGCGGCAACTACACCTGCGTCGTGGAGAACAAGTTTG GCAGCATCCGGCAGACGTACACGCTGGACGTGCTGGAG(T)GCT CCCCGCACCGGCCATCCTGCAGGCGGGGCTGCCGGCCAACCA GACGGCGGTGCTGGGCAGCGACGTGGAGTCCACTGCAAGGT GTACAGTGACGCACAGCCCCACATCCAGTGGCTCAAGCACGTG GAGGTGAATGGCAGCAAGGTGGGCCCGGACGGCACACCCTAC GTTACCGTGCTCA (SEQ ID NO:1)
FGFR3 S249C	GACCGCGGCAACTACACCTGCGTCGTGGAGAACAAGTTTGGCA GCATCCGGCAGACGTACACGCTGGACGTGCTGGGTGAGGGGCC TGGGGCGGCGCGGGGGTGGGGGCGGCAGTGGCGGTGGTGGTG AGGGAGGGGGTGGCCCCTGAGCGTCATCTGCCCCACAGAGC GCT(G)CCCGCACCGGCCATCCTGCAGGCGGGGCTGCCGGCCA ACCAGACGGCGGTGCTGGGCAGCGACGTGGAGTCCACTGCA AGGTGTACAGTGACGCACAGCCCCACATCCAGTGGCTCAAGCA CGTGGAGGTGAATGGCAGCAAGGTGGGCCCGGACGGCACACC CTACGTTACCGTGCTCAAGGTGGGCCACCGTGTGCACGT (SEQ ID NO:2)
FGFR3 G370C	GCGGGCAATTCTATTGGGTTTTCTCATCACTCTGCGTGGCTGGT GGTGTGCTGCCAGCCGAGGAGGAGCTGGTGGAGGCTGACGAGGC G(T)GCAGTGTGTATGCAGGCATCCTCAGCTACGGGGTGGGCTT CTTCCTGTTTCATCCTGGTGGTGGCGGCTGTGACGCTCTGCCGCC TGCGCAGCCCCCCCCAAGAAAGGCCTGGGCTCCCCACCGTGCA CAAGATCTCCCGCTTCCCG (SEQ ID NO:3)
FGFR3 Y373C*	CTAGAGGTTCTCTCCTTGCACAACGTCACCTTTGAGGACGCCG GGGAGTACACCTGCCTGGCGGGCAATTCTATTGGGTTTTCTCAT CACTCTGCGTGGCTGGTGGTGTGCTGCCAGCCGAGGAGGAGCTGG TGGAGGCTGACGAGGCGGGCAGTGTGT(G)TGCAGGCATCCTCA GCTACGGGGTGGGCTTCTTCCTGTTTCATCCTGGTGGTGGCGGCT GTGACGCTCTGCCGCTGCGCAGCCCCCCCCAAGAAAGGCCTGG GCTCCCCACCGTGCACAAGATCTCCCGCTTCCCGCTCAAGC (SEQ ID NO:4)

[0042] 序列对应于FGFR3 (Genebank ID#NM_0001424) 的第920-1510位核苷酸。

[0043] 粗体下划线标出的核苷酸表示SNP。

[0044] *有时在文献中被误认为是Y375C。

[0045] 如本文所用,“FGFR突变基因组”包括一种或多种以上所列的FGFR突变体。在一些实施方案中,FGFR突变基因组取决于患者的癌症类型。

[0046] 在所公开方法的评估步骤中使用的FGFR突变体组在一定程度上基于患者的癌症类型。对于膀胱癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0047] 对于转移性膀胱癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0048] 对于卵巢癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、

FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0049] 对于头颈癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0050] 对于转移性头颈癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:CASP7或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。

[0051] 对于食管癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR2:BICC1、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0052] 对于转移性食管癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCD6或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。

[0053] 对于非小细胞肺腺癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0054] 对于非小细胞肺鳞状细胞癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0055] 对于转移性子宫内膜癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。

[0056] 对于乳腺癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCD6或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。

[0057] 用于扩增FGFR突变体的引物

[0058] 本领域技术人员知道,核酸的扩增需要引物,所述引物与要扩增区域两侧的核酸链的5'和3'区互补并结合。如本文所用,“引物对”是指在扩增步骤中使用的正向和反向引物。适于执行所公开方法的引物对在表3中列出。

[0059] 表3

[0060]

目标序列	正向引物	反向引物 5'-3'
FGFR3:TACC3 V1	GACCTGGACCGTGTCTTACC (SEQ ID NO:5)	CTTCCCAGTTCCAGGTTCTT (SEQ ID NO:6)
FGFR3:TACC3 V3	AGGACCTGGACCGTGTCTT (SEQ ID NO:7)	TATAGGTCCGGTGGACAGGG (SEQ ID NO:8)
FGFR3:TACC3 内含子	GGCCATCCTGCCCC (SEQ ID NO:9)	GAGCAGTCCAGGTCAGCCAG (SEQ ID NO:10)
FGFR3:BAIAP 2L1	CTGGACCGTGTCTTACCGT (SEQ ID NO:11)	GCAGCCCAGGATTGAACTGT (SEQ ID NO:12)
FGFR2:BICC1	TGGATCGAATTCTCACTCTCA	GCCAAGCAATCTGCGTATTTG

	CA (SEQ ID NO:13)	(SEQ ID NO:14)
FGFR2:AFF3	TGGTAGAAGACTTGGATCGA ATTCT (SEQ ID NO:15)	TCTCCCGGATTATTTCTTCAA CA (SEQ ID NO:16)
FGFR2:CASP7	GCTCTTCAATACAGCCCTGAT CA (SEQ ID NO:17)	ACTTGGATCGAATTCTCACTC TCA (SEQ ID NO:18)
FGFR2:CCDC6	TGGATCGAATTCTCACTCTCA CA (SEQ ID NO:19)	GCAAAGCCTGAATTTTCTTGA ATAA (SEQ ID NO:20)
FGFR2:OFD1	AGGGTGCATCAACTCATGAAT TAG (SEQ ID NO:21)	ACTTGGATCGAATTCTCACTC TCA (SEQ ID NO:22)
[0061] FGFR3 R248C	GCATCCGGCAGACGTACA (SEQ ID NO:23)	CCCCGCCTGCAGGAT (SEQ ID NO:24)
FGFR3 S249C	GCATCCGGCAGACGTACA (SEQ ID NO:25)	CCCCGCCTGCAGGAT (SEQ ID NO:26)
FGFR3 G370C	AGGAGCTGGTGGAGGCTGA (SEQ ID NO:27)	CCGTAGCTGAGGATGCCTG (SEQ ID NO:28)
FGFR3 Y373C	CTGGTGGAGGCTGACGAG (SEQ ID NO:29)	AGCCACCCCGTAGCT (SEQ ID NO:30)
FGFR3 R248C	GTCGTGGAGAACAAGTTTGGC (SEQ ID NO:31)	GTCTGGTTGGCCGGCAG (SEQ ID NO:32)
FGFR3 S249C	GTCGTGGAGAACAAGTTTGGC (SEQ ID NO:33)	GTCTGGTTGGCCGGCAG (SEQ ID NO:34)
FGFR3 G370C	AGGAGCTGGTGGAGGCTGA (SEQ ID NO:35)	CCGTAGCTGAGGATGCCTG (SEQ ID NO:36)
FGFR3 Y373C	GACGAGGCGGGCAGTG (SEQ ID NO:37)	GAAGAAGCCACCCCGTAG (SEQ ID NO:38)

[0062] 本文公开了具有以下核酸序列的引物:SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38,或它们的任何组合。

[0063] 本文还公开了具有以下序列的引物组:SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38,或它们的任何组合。

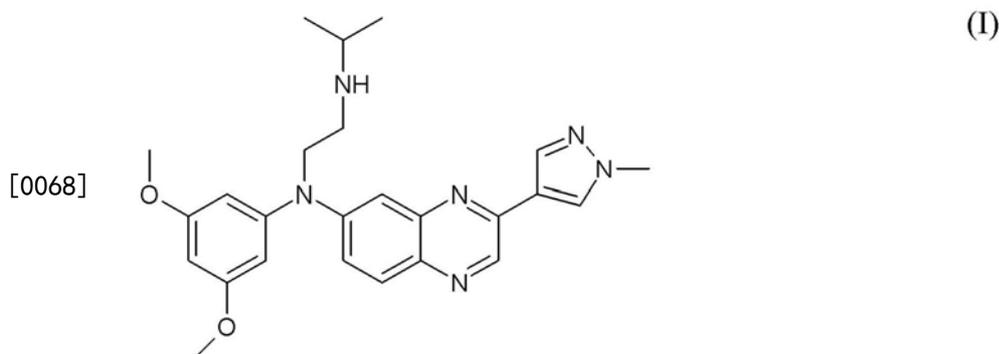
[0064] 在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:11

和SEQ ID NO:12的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的序列。在一些实施方案中,引物组可具有SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38的序列。在一些实施方案中,引物组可具有上述引物组的任何组合的序列。

[0065] 用于所公开方法的FGFR抑制剂

[0066] 本文提供了用于所公开方法的合适FGFR抑制剂。

[0067] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用美国公开No.2013/0072457 A1(以引用方式并入本文)中公开的FGFR抑制剂来治疗该患者,所述FGFR抑制剂包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式及其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物(合适的R基团在美国公开No.2013/0072457 A1中公开)。在一些方面,例如可用N-(3,5-二甲氧基苯基)-N'-(1-甲基乙基)-N-[3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)喹啉-6-基]乙烷-1,2-二胺(在本文中称为“JNJ-42756493”或“JNJ493”)治疗患者:

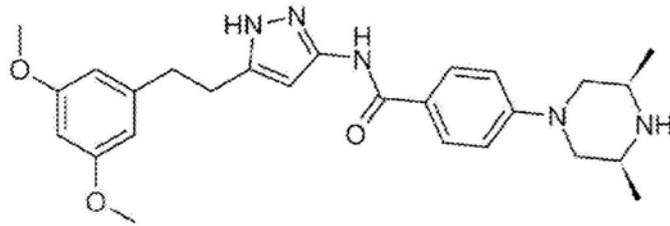


[0069] 包括其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。在一些方面,药学上可接受的盐是HCl盐。在一些方面,可用JNJ493碱治疗患者。

[0070] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是N-[5-[2-(3,5-二甲氧基苯基)乙基]-2H-吡唑-3-基]-4-(3,5-二甲基哌嗪-1-基)苯甲酰胺(AZD4547),如Gavine,P.R.等人在“AZD4547:An Orally Bioavailable,Potent,and Selective Inhibitor of the Fibroblast Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Family,Cancer Res,2012年4月15日,第72卷,第2045页”中所述:

(II)

[0071]

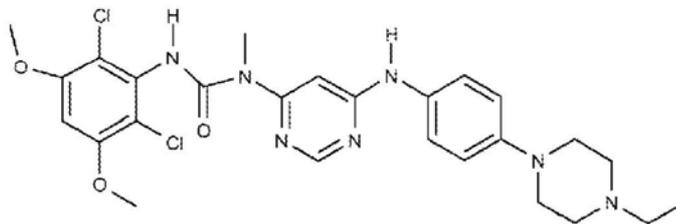


[0072] 在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式及其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0073] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-脲(NVP-BGJ398),如在国际公布No.WO2006/000420中所述:

(III)

[0074]

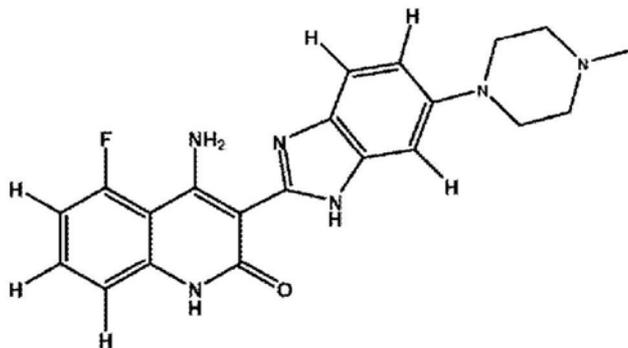


[0075] 在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式及其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0076] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是4-氨基-5-氟-3-[6-(4-甲基哌嗪-1-基)-1H-苯并咪唑-2-基]-1H-喹啉-2-酮(多韦替尼),如在国际公布No.WO2006/127926中所述:

(IV)

[0077]

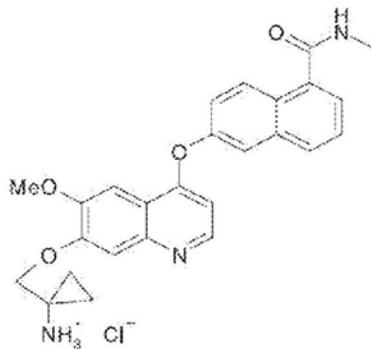


[0078] 在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式及其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0079] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是6-(7-((1-氨基环丙基)-甲氧基)-6-甲氧基喹啉-4-基氧基)-N-甲基-1-萘甲酰胺(AL3810)(德立替尼,E-3810),如Bello,E.等人在“E-3810Is a Potent Dual Inhibitor of VEGFR and FGFR that Exerts Antitumor Activity in Multiple Preclinical Models,Cancer Res,2011年2月15日,第71(A)卷,第1396-1405页”和国际公布No.WO2008/112408中所述:

(V)

[0080]



[0081] 在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式及其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0082] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是抗FGFR2抗体,诸如在W02013/076186中所述。

[0083] 其他合适的FGFR抑制剂包括BAY1163877 (Bayer)、BAY1179470 (Bayer)、TAS-120 (Taiho)、ARQ087 (ArQule)、ASP5878 (Astellas)、FF284 (Chugai)、FP-1039 (GSK/FivePrime)、Blueprint、LY-2874455 (Lilly)、RG-7444 (Roche) 或它们的任何组合,在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式、其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0084] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是BAY1163877 (Bayer),在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式、其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0085] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是BAY1179470 (Bayer),在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式、其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0086] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是TAS-120 (Taiho),在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式、其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0087] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是ARQ087 (ArQule),在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式、其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0088] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是ASP5878 (Astellas),在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式、其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0089] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是FF284 (Chugai),在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式及、N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0090] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是FP-1039 (GSK/FivePrime),在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式、其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0091] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是Blueprint,在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式、其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0092] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是LY-2874455 (Lilly),在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式、其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0093] 在一些实施方案中,如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体,则可用FGFR抑制剂治疗该患者,其中FGFR抑制剂是RG-7444 (Roche),在化学上可能的情况下,包括其任何互变异构形式或立体化学异构形式、其N-氧化物、其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0094] 盐可通过常规化学方法由含有碱性或酸性部分的母体化合物合成,诸如通过“Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Heinrich Stahl编辑、Camille G. Wermuth编辑, ISBN: 3-90639-026-8, 精装版, 第388页, 2002年8月”中所述的方法合成,该文献以引用并入本文。通常,这些盐可通过以下过程制备:使这些化合物的游离酸或碱形式与合适的碱或酸在水中或在有机溶剂中或者在这两者的混合物中反应,一般使用非水性介质,诸如乙醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈。根据形成盐的酸的pKa,用于所公开方法的FGFR抑制剂可以单盐或二盐形式存在。

[0095] 酸加成盐可用各种无机酸和有机酸形成。酸加成盐的示例包括由酸形成的盐,所述酸包括但不限于:乙酸、2,2-二氯乙酸、己二酸、藻酸、抗坏血酸(例如,L-抗坏血酸)、L-天冬氨酸、苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰氨基苯甲酸、丁酸、(+)-樟脑酸、樟脑磺酸、(+)-(1S)-樟脑-10-磺酸、癸酸、己酸、辛酸、肉桂酸、柠檬酸、环拉酸、十二烷基硫酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、2-羟基乙磺酸、甲酸、富马酸、半乳糖酸、龙胆酸、葡庚糖酸、D-葡萄糖酸、葡糖醛酸(例如,D-葡糖醛酸)、谷氨酸(例如,L-谷氨酸)、 α -氧代戊二酸、乙醇酸、马尿酸、氢溴酸、盐酸、氢碘酸、羟乙磺酸、乳酸(例如,(+)-L-乳酸、(±)-DL-乳酸)、乳糖酸、马来酸、苹果酸、(-)-L-苹果酸、丙二酸、(±)-DL-扁桃酸、甲磺酸、萘磺酸(例如,萘-2-磺酸)、萘-1,5-二磺酸、1-羟基-2-萘甲酸、烟酸、硝酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、双羟萘酸、磷酸、丙酸、L-焦谷氨酸、丙酮酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、硫酸、鞣酸、(+)-L-酒石酸、硫氰酸、甲苯磺酸(例如,对甲苯磺酸)、十一碳烯酸和戊酸,以及乙酰化的氨基酸和阳离子交换树脂。

[0096] 一组特殊的盐的组成是由乙酸、盐酸、氢碘酸、磷酸、硝酸、硫酸、柠檬酸、乳酸、琥珀酸、马来酸、苹果酸、羟乙磺酸、富马酸、苯磺酸、甲苯磺酸、甲磺酸(甲磺酸酯)、乙磺酸、萘磺酸、戊酸、丙酸、丁酸、丙二酸、葡糖醛酸和乳糖酸形成的盐。另一组酸加成盐包括由乙酸、己二酸、抗坏血酸、天冬氨酸、柠檬酸、DL-乳酸、富马酸、葡萄糖酸、葡糖醛酸、马尿酸、盐酸、谷氨酸、DL-苹果酸、甲磺酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸和酒石酸形成的盐。

[0097] 如果化合物为阴离子型的或具有可以为阴离子型的官能团(例如,-COOH可以是-COO⁻),则盐可用合适的阳离子形成。合适的无机阳离子的示例包括但不限于碱金属离子诸如Na⁺和K⁺、碱土金属阳离子诸如Ca²⁺和Mg²⁺,以及其他阳离子诸如Al³⁺。合适的有机阳离子的示例包括但不限于铵离子(即NH₄⁺)和取代的铵离子(例如,NH₃R⁺、NH₂R₂⁺、NHR₃⁺、NR₄⁺)。

[0098] 一些合适的取代的铵离子的示例为衍生自以下的那些:乙胺、二乙胺、二环己基胺、三乙胺、丁胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪、苄胺、苯基苄胺、胆碱、葡甲胺、氨基丁三

醇,以及氨基酸诸如赖氨酸和精氨酸。常见的季铵离子的示例为 $N(CH_3)_4^+$ 。

[0099] 当化合物含有胺官能团时,它们可形成季铵盐,例如通过根据本领域技术人员所熟知的方法与烷基化剂反应。这种季铵化合物在本发明所公开的化合物的范围内。含有胺官能团的化合物还可形成N-氧化物。在本文中提及的含有胺官能团的化合物还包括N-氧化物。在化合物含有若干胺官能团的情况下,可将一个或不止一个氮原子氧化形成N-氧化物。N-氧化物的具体示例是叔胺的N-氧化物或含氮杂环的氮原子的N-氧化物。N-氧化物可通过用氧化剂诸如过氧化氢或过酸(例如,过氧羧酸)处理对应的胺来形成,参见例如Advanced Organic Chemistry, Jerry, 第4版, Wiley Interscience, 数页。更具体地讲, N-氧化物可通过L.W. Deady的程序制备(Syn. Comm. (1977), 7, 509-514), 其中胺化合物与间氯过氧苯甲酸(MCPBA)反应, 例如在惰性溶剂诸如二氯甲烷中。

[0100] 如本文所用, 术语“溶剂化物”是指化合物与一种或多种溶剂分子的物理缔合。这种物理缔合涉及不同程度的离子和共价键, 包括氢键。在某些情况下, 溶剂化物将能够分离, 例如当一个或多个溶剂分子被掺入结晶固体的晶格中时。术语“溶剂化物”旨在涵盖溶液相和可分离的溶剂化物两者。合适的溶剂化物的非限制性示例包括本发明所公开的化合物与水、异丙醇、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸、乙醇胺等的组合。该化合物在溶液中可发挥其生物学作用。

[0101] 溶剂化物在制药化学中是熟知的。它们对于制备物质的过程(例如, 与其纯化有关)、物质的储存(例如, 其稳定性)和易于处理物质可能是重要的, 并且通常被形成为隔离的一部分或化学合成的纯化阶段。本领域技术人员可通过标准和长期使用的技术来确定水合物或其他溶剂化物是否通过用于制备给定化合物的分离条件或纯化条件形成。这些技术的示例包括热重分析(TGA)、差示扫描量热法(DSC)、X射线晶体学(例如, 单晶X射线晶体学或X射线粉末衍射)和固态核磁共振(SS-NMR, 也称为魔角旋转核磁共振或MAS-NMR)。这些技术如NMR、IR、HPLC和MS同样是熟练化学家的标准分析工具包的一部分。或者, 本领域技术人员可利用结晶条件故意形成溶剂化物, 该结晶条件包括特定溶剂化物所需的溶剂量。此后, 可使用上述标准方法确定溶剂化物是否形成。还包括FGFR抑制剂的任何复合物(例如, 包含配合物或与化合物诸如环糊精的包合物, 或与金属的复合物)。

[0102] 此外, 化合物可具有一种或多种多晶型物(结晶)或无定形形式。

[0103] 该化合物包括具有一个或多个同位素取代的化合物, 并且提及特定元素时包括在其范围内的该元素的所有同位素。例如, 提及氢时在其范围内包括 1H 、 2H (D)和 3H (T)。相似地, 提及碳和氧时, 在其范围内分别包括: ^{12}C 、 ^{13}C 和 ^{14}C 以及 ^{16}O 和 ^{18}O 。同位素可为放射性的或非放射性的。在一个实施方案中, 化合物不含放射性同位素。这些化合物优选用于治疗用途。然而, 在另一个实施方案中, 化合物可含有一种或多种放射性同位素。含有这种放射性同位素的化合物在诊断情况下可能是有用的。

[0104] 在一些实施方案中, 如果患者样品中存在一种或多种FGFR突变体, 则使用FGFR抑制剂治疗患者, 其中该FGFR抑制剂是N-(3,5-二甲氧基苯基)-N'-(1-甲基乙基)-N-[3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)喹啉-6-基]乙烷-1,2-二胺(在本文中称为“JNJ-42756493”), 或其药学上可接受的盐或其溶剂化物。

[0105] 治疗患者癌症的方法

[0106] 本文公开了治疗患者癌症的方法, 该方法包括: 评估来自患者的生物样品中来自

FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体的存在;以及如果样品中存在一种或多种FGFR突变体,则使用FGFR抑制剂治疗患者。

[0107] 所公开的方法可用于治疗各种癌症类型,包括但不限于膀胱癌、转移性膀胱癌、卵巢癌、头颈癌、转移性头颈癌、食管癌、转移性食管癌、非小细胞肺腺癌、非小细胞肺鳞状细胞癌、前列腺癌、肺癌、胃癌、尿路上皮癌、小细胞肺癌、乳腺癌、子宫内膜癌、转移性子宫内膜癌、胆管癌、肝细胞癌、成胶质细胞瘤、神经胶质瘤、结肠癌、肉瘤、原发性鳞状实体瘤和多发性骨髓瘤。

[0108] 在评估步骤中使用的FGFR突变体组在一定程度上基于患者的癌症类型。例如,对于膀胱癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v1,则用FGFR抑制剂治疗膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v3,则用FGFR抑制剂治疗膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:BICC1,则用FGFR抑制剂治疗膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:AFF3,则用FGFR抑制剂治疗膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 R248C,则用FGFR抑制剂治疗膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 S249C,则用FGFR抑制剂治疗膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 G370C,则用FGFR抑制剂治疗膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 Y373C,则用FGFR抑制剂治疗膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗膀胱癌患者。

[0109] 例如,对于转移性膀胱癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v1,则用FGFR抑制剂治疗转移性膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v3,则用FGFR抑制剂治疗转移性膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗转移性膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:BICC1,则用FGFR抑制剂治疗转移性膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:AFF3,则用FGFR抑制剂治疗转移性膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗转移性膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 R248C,则用FGFR抑制剂治疗转移性膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 S249C,则用FGFR抑制剂治疗转移性膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 G370C,则用FGFR抑制剂治疗转移性膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 Y373C,则用FGFR抑制剂治疗转移性膀胱癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗转移性膀胱癌患者。

[0110] 例如,对于卵巢癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3

S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v1,则用FGFR抑制剂治疗卵巢癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v3,则用FGFR抑制剂治疗卵巢癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗卵巢癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:BICC1,则用FGFR抑制剂治疗卵巢癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:AFF3,则用FGFR抑制剂治疗卵巢癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗卵巢癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 R248C,则用FGFR抑制剂治疗卵巢癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 S249C,则用FGFR抑制剂治疗卵巢癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 G370C,则用FGFR抑制剂治疗卵巢癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 Y373C,则用FGFR抑制剂治疗卵巢癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗卵巢癌患者。

[0111] 例如,对于头颈癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗头颈癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗头颈癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 R248C,则用FGFR抑制剂治疗头颈癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 S249C,则用FGFR抑制剂治疗头颈癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 G370C,则用FGFR抑制剂治疗头颈癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 Y373C,则用FGFR抑制剂治疗头颈癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗头颈癌患者。

[0112] 例如,对于转移性头颈癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:CASP7或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗转移性头颈癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗转移性头颈癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:OFD1,则用FGFR抑制剂治疗转移性头颈癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗转移性头颈癌患者。

[0113] 例如,对于食管癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR2:BICC1、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v1,则用FGFR抑制剂治疗食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v3,则用FGFR抑制剂治疗食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:BICC1,则用FGFR抑制剂治疗食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 R248C,则用FGFR抑制剂治疗食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 S249C,则用FGFR抑制剂治疗食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 G370C,则用FGFR抑制剂治疗食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 Y373C,则用FGFR抑制剂治疗食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗食管癌患者。

[0114] 例如,对于转移性食管癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCD6或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v1,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v3,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3内含子,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:BICC1,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:AFF3,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CCD6,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:OFD1,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。

[0115] 例如,对于非小细胞肺(NSCL)腺癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v1,则用FGFR抑制剂治疗NSCL腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v3,则用FGFR抑制剂治疗NSCL腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3内含子,则用FGFR抑制剂治疗NSCL腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗NSCL腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:AFF3,则用FGFR抑制剂治疗NSCL腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗NSCL腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 R248C,则用FGFR抑制剂治疗NSCL腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 S249C,则用FGFR抑制剂治疗NSCL腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 G370C,则用FGFR抑制剂治疗NSCL腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 Y373C,则用FGFR抑制剂治疗NSCL腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗NSCL腺癌患者。

[0116] 例如,对于非小细胞肺(NSCL)鳞状细胞癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v1,则用FGFR抑制剂治疗NSCL鳞状细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v3,则用FGFR抑制剂治疗NSCL鳞状细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗NSCL鳞状细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:BICC1,则用FGFR抑制剂治疗NSCL鳞状细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:AFF3,则用FGFR抑制剂治疗NSCL鳞状细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗NSCL鳞状细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CCDC6,则用FGFR抑制剂治疗NSCL鳞状细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样

品中存在FGFR3 R248C,则用FGFR抑制剂治疗NSCL鳞状细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 S249C,则用FGFR抑制剂治疗NSCL鳞状细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 G370C,则用FGFR抑制剂治疗NSCL鳞状细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 Y373C,则用FGFR抑制剂治疗NSCL鳞状细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗NSCL鳞状细胞癌患者。

[0117] 例如,对于转移性子宫内膜癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v1,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v3,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3内含子,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CCDC6,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:OFD1,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。

[0118] 例如,对于乳腺癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v1,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v3,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3内含子,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:BICC1,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:AFF3,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CCDC6,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:OFD1,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。

[0119] 例如,对于肝细胞癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6、FGFR2:OFD1、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v1,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v3,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3内含子,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:BICC1,则用FGFR抑

制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:AFF3,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CCDC6,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:OFD1,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 R248C,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 S249C,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 G370C,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 Y373C,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。

[0120] 在一些实施方案中,评估步骤包括:从生物样品中分离RNA;从分离的RNA合成cDNA;预扩增cDNA;以及用引物对扩增所述预扩增的cDNA,所述引物对与来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体结合并对其扩增。

[0121] 可通过本领域技术人员已知的多个程序来从生物样品分离RNA。在一个实施方案中,可使用来自Qiagen的AllPrep DNA/RNA FFPE试剂盒(产品号80234)从生物样品中分离RNA。

[0122] 从分离的RNA合成cDNA可通过本领域技术人员已知的多个程序进行。在一个实施方案中,可使用具有来自ABI的RNase抑制剂的高容量cDNA逆转录酶试剂盒(产品号4374966)从分离的RNA合成cDNA。

[0123] cDNA的预扩增可通过本领域技术人员已知的多个程序进行。扩增程序在本领域中是熟知的。在一个实施方案中,可使用TaqMan[®]预扩增主混合物(Life Technologies/Applied Biosystems[®]产品号4391128)预扩增cDNA。

[0124] 在一些实施方案中,扩增步骤可包括进行实时PCR(qRT-PCR)。在本文的实施例部分中讨论了示例性qRT-PCR程序。在一些方面,qRT-PCR可以是Taqman[®] Real-Time PCR测定。qRT-PCR程序可涉及使用探针来增加测定的特异性。用于qRT-PCR测定的合适的探针包括本文所公开的任何探针,例如在表15中公开的探针。在一些实施方案中,例如实时PCR可用一种或多种探针进行,所述探针包括:SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54和/或SEQ ID NO:55。在其他实施方案中,实时PCR可用一种或多种探针进行,所述探针基本上由下列项组成:SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54和/或SEQ ID NO:55。在其他实施方案中,实时PCR可用一种或多种探针进行,所述探针具有:SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54和/或SEQ

ID NO:55。

[0125] qRT-PCR可用一种或多种3'阻断寡核苷酸进行。在本文的实施例部分中公开了使用3'阻断寡核苷酸的示例性qRT-PCR程序。合适的3'阻断寡核苷酸包括例如在表8中公开的寡核苷酸。在一些实施方案中,qRT-PCR可用一种或多种3'阻断寡核苷酸进行,所述3'阻断寡核苷酸包括SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41和/或SEQ ID NO:42。在一些实施方案中,qRT-PCR可用一种或多种3'阻断寡核苷酸进行,所述3'阻断寡核苷酸基本上由SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41和/或SEQ ID NO:42组成。在一些实施方案中,qRT-PCR可用一种或多种3'阻断寡核苷酸进行,所述3'阻断寡核苷酸由SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41和/或SEQ ID NO:42组成。在一些实施方案中,qRT-PCR可用一种或多种3'阻断寡核苷酸进行,所述3'阻断寡核苷酸具有SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41和/或SEQ ID NO:42。

[0126] 用于扩增步骤的合适的引物对包括在表3中公开的那些引物对。例如,在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR3:TACC3 v1和具有SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR3:TACC3 v3和具有SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR3:TACC3内含子和具有SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR3:BAIAP2L1和具有SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR2:BICC1和具有SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR2:AFF3和具有SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR2:CASP7和具有SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR2:CCDC6和具有SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR2:OFD1和具有SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是R248C和具有SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24,或SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是S249C和具有SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26,或SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是G370C和具有SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28,或SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是Y373C和具有SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30,或SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是上文所公开的FGFR突变体和对应的引物对的任何组合。

[0127] 在一些实施方案中,扩增步骤可利用以下方式进行:

[0128] a. 引物对具有SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的序列,并且探针具有SEQ ID NO:43的序列;

[0129] b. 引物对具有SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的序列,并且探针具有SEQ ID NO:44的序列;

[0130] c. 引物对具有SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的序列,并且探针具有SEQ ID NO:46的序列;

[0131] d. 引物对具有SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12的序列,并且探针具有SEQ ID NO:47的序列;

[0132] e. 引物对具有SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14的序列,并且探针具有SEQ ID NO:45的序列;

[0133] f. 引物对具有SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16的序列,并且探针具有SEQ ID NO:48的序列;

[0134] g. 引物对具有SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的序列,并且探针具有SEQ ID NO:49的序列;

[0135] h. 引物对具有SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的序列,并且探针具有SEQ ID NO:50的序列;

[0136] i. 引物对具有SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22的序列,并且探针具有SEQ ID NO:51的序列;

[0137] j. 引物对具有SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24的序列,并且探针具有SEQ ID NO:52的序列;

[0138] k. 引物对具有SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26的序列,并且探针具有SEQ ID NO:53的序列;

[0139] l. 引物对具有SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28的序列,并且探针具有SEQ ID NO:54的序列;

[0140] m. 引物对具有SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30的序列,并且探针具有SEQ ID NO:55的序列;

[0141] n. 引物对具有SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32的序列,探针具有SEQ ID NO:52的序列,并且3'阻断寡核苷酸具有SEQ ID NO:39的序列;

[0142] o. 引物对具有SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34的序列,探针具有SEQ ID NO:53的序列,并且3'阻断寡核苷酸具有SEQ ID NO:40的序列;

[0143] p. 引物对具有SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的序列,探针具有SEQ ID NO:54的序列,并且3'阻断寡核苷酸具有SEQ ID NO:41的序列;

[0144] q. 引物对具有SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38的序列,探针具有SEQ ID NO:55的序列,并且3'阻断寡核苷酸具有SEQ ID NO:42的序列;或者

[0145] r. 它们的任何组合。

[0146] 所公开的方法包括在样品中存在一种或多种FGFR突变体时治疗患者。样品中存在一种或多种FGFR突变体可通过例如对所扩增的cDNA测序来确定。

[0147] 用于治疗方法的合适FGFR抑制剂包括本文先前所述的那些。

[0148] 本文还公开了用于治疗患者癌症的FGFR抑制剂,其中通过评估从患者获得的生物样品中来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体的存在,鉴定患者对用FGFR抑制剂进行治疗有反应,其中检测到样品中存在一种或多种FGFR突变体。

[0149] 本文还公开了用于治疗患者癌症的FGFR抑制剂,其中通过评估从患者获得的生物样品中来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体的存在,鉴定患者对用FGFR抑制剂进行治疗有反应,其中所述一种或多种FGFR突变体是FGFR融合基因或FGFR SNP,其中检测到样品中存在一种或多种FGFR突变体,并且其中所述评估包括用与来自FGFR突变基因组的一

种或多种FGFR突变体结合并对其进行扩增的引物对扩增cDNA。

[0150] 本文还公开了用于治疗患者癌症的FGFR抑制剂,其中通过评估从患者获得的生物样品中来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体的存在,鉴定患者对用FGFR抑制剂进行治疗有反应,其中FGFR突变体是FGFR融合基因或FGFR SNP,其中检测到样品中存在一种或多种FGFR突变体,并且其中所述评估包括用与来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体结合并对其进行扩增的引物对扩增预扩增的cDNA。

[0151] 鉴定将对用成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 抑制剂进行治疗有反应的癌症患者的方法

[0152] 本文公开了鉴定将对用成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 抑制剂进行治疗有反应的癌症患者的方法,所述方法包括:评估来自患者的生物样品中来自FGFR突变基因组的FGFR突变体,其中该FGFR突变体是FGFR融合基因或FGFR单核苷酸多态性,并且其中所述评估包括用与来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体结合并对其进行扩增的引物对扩增cDNA,以及确定样品中是否存在来自基因组的一种或多种FGFR突变体,其中存在一种或多种FGFR突变体表示患者将对用FGFR抑制剂进行治疗有反应。

[0153] 本文还提供了鉴定对用成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 抑制剂进行治疗有反应的癌症患者的方法,所述方法包括:评估来自患者的生物样品中来自FGFR突变基因组的FGFR突变体,其中该FGFR突变体是FGFR融合基因或FGFR单核苷酸多态性,并且其中所述评估包括用与来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体结合并对其进行扩增的引物对扩增cDNA,并确定样品中是否存在来自基因组的一种或多种FGFR突变体,其中存在一种或多种FGFR突变体表示患者对用FGFR抑制剂进行治疗有反应。

[0154] 还提供了鉴定对用成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 抑制剂进行治疗有反应的癌症患者的方法,所述方法包括:评估来自患者的生物样品中来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体的存在,其中所述FGFR突变体是FGFR融合基因或FGFR单核苷酸多态性,其中存在一种或多种FGFR突变体表示患者对用FGFR抑制剂进行治疗有反应。

[0155] 在一些实施方案中,评估可包括用与来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体结合并对其进行扩增的引物对扩增cDNA。在一些实施方案中,cDNA可以是预扩增的cDNA。

[0156] 在一些实施方案中,评估步骤包括:从生物样品中分离RNA并由分离的RNA合成cDNA。在一些方面,可对预扩增的cDNA进行评估步骤。因此,评估步骤还可包括在所述扩增步骤之前预扩增cDNA。可通过本领域技术人员已知的多个程序来从生物样品分离RNA。在一个实施方案中,可使用来自Qiagen的AllPrep DNA/RNA FFPE试剂盒(例如,产品号80234)从生物样品中分离RNA。从分离的RNA合成cDNA可通过本领域技术人员已知的多个程序进行。在一个实施方案中,可使用具有来自ABI的RNase抑制剂的高容量cDNA逆转录酶试剂盒(例如,产品号4374966)从分离的RNA合成cDNA。cDNA的预扩增可通过本领域技术人员已知的多个程序进行。扩增程序在本领域中是熟知的。在一个实施方案中,可使用TaqMan[®] 预扩增主混合物(Life Technologies/Applied Biosystems[®] 产品号4391128)预扩增cDNA。

[0157] 所公开的方法可用于鉴定将对用成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 抑制剂进行治疗有反应的多种不同类型癌症的患者,所述多种不同类型癌症包括但不限于膀胱癌、转移性膀胱癌、卵巢癌、头颈癌、食管癌、非小细胞肺腺癌、非小细胞肺鳞状细胞癌、前列腺癌、肺

癌、胃癌、尿路上皮癌、小细胞肺癌、乳腺癌、子宫内膜癌、胆管癌、肝细胞癌、成胶质细胞瘤、神经胶质瘤、结肠癌、肉瘤、原发性鳞状实体瘤和多发性骨髓瘤。

[0158] 在评估步骤中使用的FGFR突变体组在一定程度上基于患者的癌症类型。例如,对于膀胱癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:TACC3 v1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:TACC3 v3。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:BAIAP2L1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:BICC1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:AFF3。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:CASP7。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 R248C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 S249C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 G370C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 Y373C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自膀胱癌患者的生物样品中是否存在上述FGFR突变体的任何组合。

[0159] 例如,对于转移性膀胱癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自转移性膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:TACC3 v1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自转移性膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:TACC3 v3。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自转移性膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:BAIAP2L1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自转移性膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:BICC1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自转移性膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:AFF3。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自转移性膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:CASP7。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自转移性膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 R248C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自转移性膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 S249C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自转移性膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 G370C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自转移性膀胱癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 Y373C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自转移性膀胱癌患者的生物样品中是否存在上述FGFR突变体的任何组合。

[0160] 例如,对于卵巢癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自卵巢癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:TACC3 v1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自卵巢癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:TACC3 v3。在一些实施方

案中,评估步骤包括确定来自卵巢癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:BAIAP2L1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自卵巢癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:BICC1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自卵巢癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:AFF3。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自卵巢癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:CASP7。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自卵巢癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 R248C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自卵巢癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 S249C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自卵巢癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 G370C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自卵巢癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 Y373C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自卵巢癌患者的生物样品中是否存在上述FGFR突变体的任何组合。

[0161] 例如,对于头颈癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自头颈癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:BAIAP2L1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自头颈癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:CASP7。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自头颈癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 R248C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自头颈癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 S249C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自头颈癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 G370C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自头颈癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 Y373C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自头颈癌患者的生物样品中是否存在上述FGFR突变体的任何组合。

[0162] 例如,对于转移性头颈癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:CASP7或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗转移性头颈癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗转移性头颈癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:OFD1,则用FGFR抑制剂治疗转移性头颈癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗转移性头颈癌患者。

[0163] 例如,对于食管癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR2:BICC1、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自食管癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:TACC3 v1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自食管癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:TACC3 v3。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自食管癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:BICC1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自食管癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:CASP7。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自食管癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 R248C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自食管癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 S249C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自食管癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 G370C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自食管癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 Y373C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自食管癌患者的生物样品中是否存在上述FGFR突变体的任何组合。

[0164] 例如,对于转移性食管癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、

FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCD6或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v1,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v3,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3内含子,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:BICC1,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:AFF3,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CCD6,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:OFD1,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗转移性食管癌患者。

[0165] 对于非小细胞肺(NSCL)腺癌患者,例如,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL腺癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:TACC3 v1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL腺癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:TACC3 v3。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL腺癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:TACC3内含子。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL腺癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:BAIAP2L1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL腺癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:AFF3。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL腺癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:CASP7。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL腺癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 R248C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL腺癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 S249C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL腺癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 G370C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL腺癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 Y373C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL腺癌患者的生物样品中是否存在上述FGFR突变体的任何组合。

[0166] 例如,对于非小细胞肺(NSCL)鳞状细胞癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL鳞状细胞癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:TACC3 v1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL鳞状细胞癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:TACC3 v3。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL鳞状细胞癌患者的生物样品中是否存在FGFR3:BAIAP2L1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL鳞状细胞癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:BICC1。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL鳞状细胞癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:AFF3。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL鳞状细胞癌患者的生物样品中是否存在FGFR2:CASP7。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL鳞状细胞癌患者的生物样品

中是否存在FGFR2:CCDC6。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL鳞状细胞癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 R248C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL鳞状细胞癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 S249C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL鳞状细胞癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 G370C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL鳞状细胞癌患者的生物样品中是否存在FGFR3 Y373C。在一些实施方案中,评估步骤包括确定来自NSCL鳞状细胞癌患者的生物样品中是否存在上述FGFR突变体的任何组合。

[0167] 例如,对于转移性子宫内膜癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v1,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v3,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3内含子,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CCDC6,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:OFD1,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗转移性子宫内膜癌患者。

[0168] 例如,对于乳腺癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v1,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v3,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3内含子,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:BICC1,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:AFF3,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CCDC6,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:OFD1,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗乳腺癌患者。

[0169] 例如,对于肝细胞癌患者,合适的FGFR突变基因组可包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6、FGFR2:OFD1、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。因此,在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v1,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3 v3,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:TACC3内含子,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3:BAIAP2L1,则用FGFR

抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:BICC1,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:AFF3,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CASP7,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:CCDC6,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR2:OFD1,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 R248C,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 S249C,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 G370C,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在FGFR3 Y373C,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。在一些实施方案中,如果样品中存在上述FGFR突变体的任何组合,则用FGFR抑制剂治疗肝细胞癌患者。

[0170] 用于扩增步骤的合适的引物对包括在表3中公开的那些引物对。例如,在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR3:TACC3 v1和具有SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR3:TACC3 v3和具有SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR3:TACC3内含子和具有SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR3:BAIAP2L1和具有SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR2:BICC1和具有SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR2:AFF3和具有SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR2:CASP7和具有SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR2:CCDC6和具有SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是FGFR2:OFD1和具有SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是R248C和具有SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24,或SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是S249C和具有SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26,或SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是G370C和具有SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28,或SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是Y373C和具有SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30,或SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38的氨基酸序列的引物。在一些实施方案中,FGFR突变体和引物对可以是上文所公开的FGFR突变体和对应的引物对的任何组合。

[0171] 所公开的方法包括确定样品中是否存在来自基因组的一种或多种FGFR突变体。在一些实施方案中,确定步骤包括测序扩增的cDNA。

[0172] 在一些实施方案中,如果样品中存在来自基因组的一种或多种FGFR突变体,那么该方法还包括用FGFR抑制剂治疗患者。适用于治疗方法的FGFR抑制剂包括本文先前所述的那些,特别是JNJ-42756493。

[0173] 用于鉴定FGFR突变基因的存在试剂盒

[0174] 本文还公开了用于鉴定生物样品中一种或多种FGFR突变基因的存在试剂盒,所

述试剂盒包括具有以下序列的引物对:SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38或它们的任何组合;以及用于进行测定以检测一种或多种FGFR突变基因的说明书。

[0175] 该试剂盒还可包括一种或多种探针、一种或多种3'阻断寡核苷酸,或两者。在一些实施方案中,试剂盒还可包括一种或多种探针,例如表15中公开的探针中的任何一种或多种。在一些实施方案中,试剂盒还可包括一种或多种3'阻断寡核苷酸,例如表8中公开的3'阻断寡核苷酸中的任何一种或多种。在一些实施方案中,该试剂盒还可包括一种或多种探针和一种或多种3'阻断寡核苷酸。例如,在一些实施方案中,该试剂盒还可包括:

[0176] a. 引物对具有SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的序列,并且探针具有SEQ ID NO:43的序列;

[0177] b. 引物对具有SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的序列,并且探针具有SEQ ID NO:44的序列;

[0178] c. 引物对具有SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的序列,并且探针具有SEQ ID NO:46的序列;

[0179] d. 引物对具有SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12的序列,并且探针具有SEQ ID NO:47的序列;

[0180] e. 引物对具有SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14的序列,并且探针具有SEQ ID NO:45的序列;

[0181] f. 引物对具有SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16的序列,并且探针具有SEQ ID NO:48的序列;

[0182] g. 引物对具有SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的序列,并且探针具有SEQ ID NO:49的序列;

[0183] h. 引物对具有SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的序列,并且探针具有SEQ ID NO:50的序列;

[0184] i. 引物对具有SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22的序列,并且探针具有SEQ ID NO:51的序列;

[0185] j. 引物对具有SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24的序列,并且探针具有SEQ ID NO:52的序列;

[0186] k. 引物对具有SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26的序列,并且探针具有SEQ ID NO:53的序列;

[0187] l. 引物对具有SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28的序列,并且探针具有SEQ ID NO:54的序列;

[0188] m. 引物对具有SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30的序列,并且探针具有SEQ ID NO:55的序列;

[0189] n. 引物对具有SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32的序列,探针具有SEQ ID NO:52的序列,并且3'阻断寡核苷酸具有SEQ ID NO:39的序列;

[0190] o. 引物对具有SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34的序列,探针具有SEQ ID NO:53的序列,并且3'阻断寡核苷酸具有SEQ ID NO:40的序列;

[0191] p. 引物对具有SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的序列,探针具有SEQ ID NO:54的序列,并且3'阻断寡核苷酸具有SEQ ID NO:41的序列;

[0192] q. 引物对具有SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38的序列,探针具有SEQ ID NO:55的序列,并且3'阻断寡核苷酸具有SEQ ID NO:42的序列;或者

[0193] r. 它们的任何组合。

[0194] 寡核苷酸探针

[0195] 本文还公开了具有SEQ ID NO:43-55中任一者的序列的寡核苷酸探针。在一些实施方案中,寡核苷酸探针可具有SEQ ID NO:43的序列。在一些实施方案中,寡核苷酸探针可具有SEQ ID NO:44的序列。在一些实施方案中,寡核苷酸探针可具有SEQ ID NO:45的序列。在一些实施方案中,寡核苷酸探针可具有SEQ ID NO:46的序列。在一些实施方案中,寡核苷酸探针可具有SEQ ID NO:47的序列。在一些实施方案中,寡核苷酸探针可具有SEQ ID NO:48的序列。在一些实施方案中,寡核苷酸探针可具有SEQ ID NO:49的序列。在一些实施方案中,寡核苷酸探针可具有SEQ ID NO:50的序列。在一些实施方案中,寡核苷酸探针可具有SEQ ID NO:51的序列。在一些实施方案中,寡核苷酸探针可具有SEQ ID NO:52的序列。在一些实施方案中,寡核苷酸探针可具有SEQ ID NO:53的序列。在一些实施方案中,寡核苷酸探针可具有SEQ ID NO:54的序列。在一些实施方案中,寡核苷酸探针可具有SEQ ID NO:55的序列。

[0196] 3'阻断寡核苷酸

[0197] 本文还公开了具有SEQ ID NO:39-42中任一者的序列的寡核苷酸。在一些实施方案中,3'阻断寡核苷酸可具有SEQ ID NO:39的序列。在一些实施方案中,3'阻断寡核苷酸可具有SEQ ID NO:40的序列。在一些实施方案中,3'阻断寡核苷酸可具有SEQ ID NO:41的序列。在一些实施方案中,3'阻断寡核苷酸可具有SEQ ID NO:42的序列。

[0198] 实施例

[0199] 实施例1-质粒DNA分离和纯化

[0200] 以下是用于制备FGFR融合质粒DNA的示例性过程。

[0201] 所需设备:离心机,能够实现1500×g;微量离心机;移液器,容积式或排气式;涡旋器;nanodtop分光光度计;37℃摇动器/培养箱;以及设定为37℃的烘箱。

[0202] 所需材料:含有质粒DNA的冷冻甘油细菌贮液;卡那霉素LB琼脂平板(Teknova # L1155);LB液体培养基(Life Technologies #10855-021);卡那霉素(Sigma #K0254);质粒纯化试剂盒(Qiagen# 12123);纯乙醇(Sigma Aldrich # E7023);异丙醇(Sigma Aldrich #W292907);无核酸酶纯水(未经DEPC处理)(来自IDT或Ambion # AM9932);无RNA酶屏障(过滤器)枪头;无RNA酶微管(1.5至2mL VWR# 10011-724);血清移液器;以及14ml圆底管(VWR #352057)。

[0203] 为了从甘油贮液中回收细菌,使用无菌吸移管的顶端将冷冻细菌从甘油贮液管的顶部刮下,划线到LB琼脂平板上,并将其倒置在37℃的烘箱中过夜。

[0204] 使用Qiagen质粒DNA纯化方案纯化DNA质粒。简而言之,从划线平板中挑取单菌落,并在37°C的振荡器中以约300rpm在含有50 μ g/ml卡那霉素的5ml-LB培养基的培养物中温育过夜。通过在4°C下以6000 \times g离心15分钟收集细菌细胞,并将沉淀物重悬于300 μ l缓冲液P1中。加入300 μ l缓冲液P2,通过倒置管4-6次混合,并在RT(室温)下温育5分钟。加入300 μ l冷却缓冲液P3,通过倒置4-6次立即混合,在冰上温育5分钟,并以最大速度离心10分钟。迅速除去含有质粒DNA的上清液。通过施加1ml缓冲液QBT使Qiagen-tip 20平衡,并通过重力流将其排空。将上清液施加到Qiagen-tip 20,并通过重力流加入树脂。Qiagen-tip 20用2 \times 2ml缓冲液QC洗涤,DNA用800 μ l缓冲液QF洗脱,并在1.5ml Eppendorf管中收集洗脱液。通过加入0.7体积异丙醇、混合并在微量离心机中立即以15000 \times g离心30分钟来沉淀DNA。倾析上清液,将DNA沉淀物在1ml 70%乙醇中洗涤,并以15000 \times g离心10分钟。倾析上清液。将沉淀物空气干燥5-10分钟,将DNA重新溶解于100 μ l或适当体积的无核酸酶纯水中。通过Nanodrop定量质粒DNA并将其储存在-20°C直至进一步使用。

[0205] 实施例2-生成NRK细胞系

[0206] 构建表达各FGFR融合体的表达载体。然后将表达载体转染到正常大鼠肾上皮细胞(NRK)细胞中。转染后,在含有卡那霉素的培养基中选择稳定的细胞系。然后使这些细胞生长,分离mRNA并使其进行FGFR融合测定,以证实特异性FGFR融合mRNA的存在。

[0207] 实施例3-FGFR融合体细胞系维持

[0208] 以下方案描述了用于培养和维持NRK FGFR融合体过表达细胞系的示例性方法。细胞系包括但不限于:NRK/FGFR3:TACC3v1、NRK/FGFR3:TACC3 v3、NRK/FGFR3:BAIAP2L1、NRK/FGFR2:BICC1、NRK/FGFR2:CASP7、NRK/FGFR2:CCDC6、NRK/FGFR2:AFF3、NRK/FGFR2:OFD1和NRK/EMPTY VECTOR(质粒对照)。

[0209] 所需设备:生物安全柜,配有真空吸气系统;CO₂培养箱,设定为5%CO₂与37°C;-80°C冰箱;液氮罐;水浴,设定为37°C;以及显微镜。

[0210] 所需材料:血清移液器;组织培养瓶(T75 VWR # BD353136和/或T150 VWR# 15705-074);组织培养0.2 μ m过滤单元(Thermo Scientific #566-0020);DMEM(达尔贝科改良伊格尔培养基)细胞培养基(Life Technologies,# 11965-084);胎牛血清(FBS),经认证且热灭活(Life Technologies,# 10082147);PenStrep抗生素溶液(Life Technologies # 15140-122);胰蛋白酶-EDTA 0.25%溶液(Life Technologies,# 25200-056);DPBS(杜氏磷酸盐缓冲溶液,无钙,无镁)(Life Technologies,# 14190136);用于低温贮藏的细胞冷冻容器;手持移液器;细胞冷冻培养基(Life Technologies,# 12648-010);15ml锥形管(VWR # 62406-2);以及冷冻瓶(VWR # 89094-800)。

[0211] 为了制备细胞培养基,通过组合445ml DMEM、50ml FBS和5ml PenStrep来制备DMEM培养基。将制备的培养基通过0.2 μ m过滤器单元并在4°C下储存。

[0212] 为了解冻冷冻细胞,将制备的DMEM培养基在37°C水浴中加热至少15分钟,并将15ml温热培养基置于T75烧瓶中。将细胞从液氮罐中取出并立即置于37°C水浴中直至解冻。用大量70%乙醇喷洒冷冻瓶,并用纸巾擦拭过量乙醇。将全部内容物分装到含有DMEM的T75烧瓶中。将烧瓶轻轻旋转混合并置于培养箱中24小时。如果细胞未准备好分裂,将培养基更换为新鲜制备的DMEM以除去残留的冷冻培养基。如果细胞准备分裂,一旦烧瓶达到80%汇合,每个细胞系就会增殖(每个细胞系的分裂比取决于实验需要)。

[0213] 为了冷冻细胞系,将细胞从培养瓶中取出,并在室温下以1500RPM在15ml锥形管中离心5分钟。吸出培养基,并加入6ml细胞冷冻培养基。通过上下移液数次将细胞混合,并将1ml细胞溶液等分到5个冷冻瓶中的每一者中。将装有细胞的冷冻瓶置于冷冻容器中,将其储存在-80℃冷冻器中过夜,然后长期储存在液氮罐中。

[0214] 实施例4-FFPET SNP测定

[0215] 以下描述用于进行FFPET SNP测定的示例性工作流程和方案。针对FFPET融合测定进行类似的过程,其结果示于图2中。

[0216] FFPET的去边界化

[0217] 将片子进行增加量的二甲苯处理,然后进行乙醇处理以除去石蜡。

[0218] FFPET RNA提取

[0219] 用于从乳腺癌福尔马林固定石蜡包埋组织样品中提取RNA以用于下游基因表达测定的过程描述如下。

[0220] 所需设备:带板适配器的离心机,能够实现1500×g;微量离心机;移液器,容积式或排气式;涡旋器;NanoDrop 8000;能够在37℃、56℃和80℃下温育的加热块;以及巴斯德吸管(Pipet Trans EX-FT 1.5ml pk 500,VWR# 14670-329)。

[0221] 所需材料:AllPrep DNA/RNA FFPE试剂盒(Qiagen# 80234);纯乙醇(Sigma Aldrich # E7023);异丙醇;二甲苯;无核酸酶纯水(未经DEPC处理)(来自IDT或Ambion # AM9932);无RNA酶屏障(过滤器)枪头;无RNA酶微管(1.5至2mL VWR# 10011-724);以及Qiagen AllPrep DNA/RNA FFPE试剂盒手册。

[0222] 使用AllPrep DNA/RNA FFPE试剂盒提取RNA。简而言之,将一个1-10μm的部分置于1.5ml反应管中,并加入800μl HemoDe或二甲苯。将样品涡旋4秒3次,温育2分钟,涡旋4秒3次并温育5分钟。

[0223] 将样品以最大速度(12,000-14,000×g)离心2分钟,并通过抽吸弃去上清液。立即盖上管子以避免组织干燥。

[0224] 重复上述步骤。

[0225] 将800μl纯乙醇加入试管,轻弹试管以取出沉淀物,涡旋4秒3次,以最大速度(12,000-14,000×g)离心2分钟,并通过抽吸弃去上清液。

[0226] 将800μl 70%乙醇加入试管,轻弹试管以取出沉淀物,涡旋4秒3次,以最大速度离心2分钟,并通过抽吸弃去上清液。除去70%乙醇之后,将管再旋转10-20秒,并用精细的吸移管小心地除去残留的流体。

[0227] 将打开的管在加热块中在37℃下温育5-15分钟,以空气干燥组织沉淀物。

[0228] 通过加入150μl缓冲液PKD将沉淀物重新悬浮,并轻弹试管以使沉淀物松散。加入10μl蛋白酶K,并通过涡旋混合管。

[0229] 将管在56℃温育15分钟,在冰上温育3分钟,并以20,000×g离心15分钟。

[0230] 在不扰动沉淀物的前提下,小心将上清液转移到新的1.5ml微量离心管中进行RNA纯化。将上清液在80℃温育15分钟。将管短暂离心以从盖的内部除去液滴。加入320μl缓冲液RLT以调节结合条件,并通过涡旋或移液混合管。加入1120μl乙醇(96-100%),并通过涡旋或移液将管混合均匀。

[0231] 将700μl样品(包括任何可能已经形成的沉淀)转移到置于2ml收集管中的RNeasy

MinElute旋转柱中,并以 $\geq 8000 \times g$ ($\geq 10,000\text{rpm}$)离心15秒。弃去流入部分。重复该步骤,直至整个样品通过RNeasy MinElute旋转柱。

[0232] 将350 μl 缓冲液FRN加入到RNeasy MinElute旋转柱中,以 $\geq 8000 \times g$ ($\geq 10,000\text{rpm}$)离心15秒。弃去流入部分。

[0233] 将10 μl DNA酶I储备溶液加入到70 μl 缓冲液RDD中,通过轻轻倒置管混合,并短暂离心以从管侧收集残留液体。

[0234] 将DNA酶I温育混合物(80 μl)直接加入到RNeasy MinElute旋转柱膜中,并置于台面上15分钟(20-30 $^{\circ}\text{C}$)。

[0235] 将500 μl 缓冲液FRN加入到RNeasy MinElute旋转柱中,以 $\geq 8000 \times g$ ($\geq 10,000\text{rpm}$)离心15秒。保存流入部分用于下一步,因为其含有小RNA。

[0236] 将RNeasy MinElute旋转柱置于新的2ml收集管中(提供)。将上一步的流入部分应用于旋转柱,并以 $\geq 8000 \times g$ ($\geq 10,000\text{rpm}$)离心15秒。弃去流入部分。

[0237] 将500 μl 缓冲液RPE加入到RNeasy MinElute旋转柱中,并以 $\geq 8000 \times g$ ($\geq 10,000\text{rpm}$)离心15秒以洗涤旋转柱膜。弃去流入部分。

[0238] 将500 μl 缓冲液RPE加入到RNeasy MinElute旋转柱中,并以 $\geq 8000 \times g$ ($\geq 10,000\text{rpm}$)离心15秒以洗涤旋转柱膜。丢弃带有流入部分的收集管。

[0239] 将RNeasy MinElute旋转柱置于新的2ml收集管中,并全速离心5分钟。丢弃带有流入部分的收集管。

[0240] 将RNeasy MinElute旋转柱置于新的1.5ml收集管中,将30 μl 不含RNA酶的水直接加入旋转柱膜中,在室温下温育1分钟,并全速离心1分钟以洗脱RNA。

[0241] 将RNA样品立即储存在-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。

[0242] cDNA合成

[0243] 以下公开了使用实时PCR(RT-PCR)分析进行FFPET SNP测定的cDNA合成过程。

[0244] 所需设备:配有板适配器的离心机,能够实现1500 $\times g$,微量离心机;移液器(优选的单通道和多通道移液器),容积式或排气式;涡旋器;以及GeneAmp[®] PCR系统9700(ABI# 4314879)或等同物。

[0245] 所需材料:具有RNA酶抑制剂的高容量cDNA逆转录酶试剂盒,200次反应(ABI# 4374966);无核酸酶纯水(未经DEPC处理)(来自IDT)或等同物;无RNA酶屏障(过滤器)枪头;无RNA酶微管(1.5至2mL VWR# 10011-724);MicroAmp[™]光学96孔反应板(Life Technologies,#4306736);以及密封膜(VWR #60941-072)。

[0246] RNA提取(上文公开)之后将RNA样品管保持在冰上。

[0247] 将试剂盒组分用于制备所有反应的2 \times 逆转录(RT)主混合物,包括1个阴性(水)对照。将组分在冰上解冻约15分钟,轻轻倒置混合并短暂离心以降解溶液。将所有试剂都返回到冰上。管未经涡旋。

[0248] 通过在每次反应中混合以下量的试剂,在1.5ml管中在冰上制备一种主混合物以进行适当数量的反应(反应数目+10%/20 μL 反应):2 μl 10 \times 常温缓冲混合物;0.8 μl 25 \times dNTP混合物;2 μl 10 \times 常温随机引物;1 μl 50U/ μL MultiScribe逆转录酶;1 μl RNA酶抑制剂;以及3.2 μl 不含H₂O的核酸酶/RNA酶。

[0249] 将主混合物涡旋数次(5至10次)以混合并短暂离心(1500 $\times g$,5至10秒)。将10 μl 反

应混合物加入到96孔板的适当孔中。

[0250] 将RNA样品稀释至浓度为20ng/ μ l。向96孔板的适当相应孔中加入10 μ L每个RNA样品,包括水阴性对照,最后反应体积为20 μ L。通过上下移液3次轻轻混合孔,用板密封件进行密封并短暂离心(1500 \times g,60秒)。将板保持在冰上,直至准备加载在热循环仪中。

[0251] 将反应板装载到清洁实验室或工作站中的ABI 9700热循环仪中,并使用以下逆转录程序运行(反应体积为20 μ l):

[0252] 步骤1:25 $^{\circ}$ C 10分钟

[0253] 步骤2:37 $^{\circ}$ C 120分钟

[0254] 步骤3:85 $^{\circ}$ C 5秒

[0255] 步骤4:4 $^{\circ}$ C 并保持

[0256] 将合成的cDNA储存在-20 $^{\circ}$ C下进行预扩增的下一步骤。

[0257] 预扩增测定池混合物制备

[0258] 与FFPET SNP测定预扩增方案相关联的预扩增测定池混合物制备如下。

[0259] 所需设备:微量离心机;移液器,容积式或排气式;以及涡旋器。

[0260] 所需材料:无核酸酶纯水(未经DEPC处理)(来自IDT)或等同物;IDTE pH 8.0(1 \times TE溶液)(IDT Technologies);无RNA酶屏障(过滤器)枪头;以及无RNA酶管(1.5至2mL VWR# 10011-724)。

[0261] 所有TaqMan SNP测定物均订购自Applied Biosystems,Life Technologies, Inc.。

[0262] 制备100 μ L 20 \times SNP测定物。

[0263] 为了制备0.2 \times 预扩增测定池,所有测定物在冰上融化约15分钟。将以下体积的组分加入1.5ml管中:

[0264] 表4

预扩增贮液 1		
目标	贮液浓度	200 μ l 预扩增贮液所需的 体积(μ l)
FGFR3 S249C	20 \times	2
IDTE		198
总体积		200
预扩增贮液 2		
目标	贮液浓度	200 μ l 预扩增贮液所需的 体积(μ l)
FGFR3 R248C	20 \times	2
IDTE		198
总体积		200
预扩增贮液 3		
目标	贮液浓度	200 μ l 预扩增贮液所需的 体积(μ l)
FGFR3 Y373C	20 \times	2
IDTE		198
总体积		200

[0265]

[0266] 注意:以上体积用于制备200 μ l 0.2 \times 预扩增测定池。可根据被测试样品的数量相应地调整体积。

[0267] 将0.2 \times 预扩增测定池短暂涡旋混合(5至10秒)并短暂离心(1500 \times g,5-10秒)。将100 μ l预扩增引物池等分到1.5ml管中并在-20 $^{\circ}$ C下储存。

[0268] 使用实时PCR(RT-PCR)分析进行乳腺癌福尔马林固定石蜡包埋组织SNP测定的预扩增

[0269] 所需设备:配有板适配器的离心机,能够实现1500 \times g;微量离心机;移液器,容积式或排气式;涡旋器;GeneAmp[®] PCR系统9700(ABI# 4314879)或等同物。

[0270] 所需材料: TaqMan[®] 预扩增主混合物(2 \times)(Life Technologies # 4391128); 0.2 \times 池测定混合物(参见Assay Preparation and Handling Protocol);1 \times IDTE缓冲液(10mM Tris/0.1mM EDTA,pH7.5,来自IDT)或等同物;无核酸酶纯水(未经DEPC处理)(来自IDT)或等同物;无RNA酶屏障(过滤器)枪头;无RNA酶微管(1.5至2mL VWR# 10011-724); MicroAmp[™]光学96孔反应板(Life Technologies,#4306736);MicroAmp[®]光学粘合剂膜(Applied Biosystems PN 4311971);深孔板(VWR# 47734-788);箔密封件(VWR#60941-126)。

[0271] 通过将cDNA和0.2 \times 测定混合物池放置在冰上解冻约5分钟,并将板短暂离心(1500 \times g 5至10秒)来制备样品。

[0272] 试剂盒组分用于制备2 \times 预扩增主混合物。将试剂盒组分在冰上解冻约5分钟。解冻所有试剂后,将管轻轻倒置混合并短暂离心以降解溶液。将所有试剂都返回到冰上。管未经涡旋。

[0273] 在清洁实验室或生物安全罩中,通过组合所需体积的试剂(如下表5所示,反应数目+10%),在冰上制备适当数量的反应的每种主混合物:

[0274] 表5

组分	一次反应的体积(μ L)
主混合物 1	
2 \times TaqMan 预扩增主混合物	12.5
0.2 \times 测定池 1	6.25
总体积	18.75
主混合物 2	
2 \times TaqMan 预扩增主混合物	12.5
0.2 \times 测定池 2	6.25
总体积	18.75
主混合物 3	
2 \times TaqMan 预扩增主混合物	12.5
0.2 \times 测定池 3	6.25
总体积	18.75

[0275] 测定池含有引物和探针。

[0277] 为了防止SNP测定的交叉激活,将所有5次测定分成每个样品3个预扩增反应。

[0278] 将每种主混合物涡旋数次(5至10次)以混合,然后进行短暂离心(1500 \times g,5至10

秒)。将18.75 μ L每种主混合物等分到96孔反应板的适当孔中。对于每个预扩增反应,将6.25 μ L的每个cDNA样品(包括水阴性对照孔)转移到主混合物反应板的适当孔中。通过上下移液3次样品使其轻轻混合,并封闭盖。将板短暂离心(1500 \times g,60秒),并保持在冰上直至准备加载到热循环仪中。

[0279] 使用以下程序装载和运行反应板ABI 9700热循环仪:

[0280] 步骤1:95 $^{\circ}$ C 10分钟

[0281] 步骤2:95 $^{\circ}$ C 15秒

[0282] 步骤3:60 $^{\circ}$ C 4分钟

[0283] 步骤4:设定步骤2-3持续10个循环

[0284] 如果使用金块或银块,则选择最大模式,并且升温速率设定为77%。如果使用铝块,则选择标准模式(无速率变化)。

[0285] 步骤5:4 $^{\circ}$ C 并保持

[0286] 将反应体积设定为25 μ L

[0287] 预扩增完成后,将预扩增反应板短暂离心(1500 \times g,60秒)。将100 μ l IDTE加入到新的深96孔板的适当孔中,并将25 μ L的每个预扩增产物转移到相应的孔中以使最终稀释体积为125 μ L。通过上下移液3次混合各孔,用箔粘合剂密封板,将板短暂离心(1500 \times g,持续5-10秒),并将预扩增产物储存于-20 $^{\circ}$ C直至进一步使用。

[0288] FFPET SNP测定 实时PCR

[0289] 以下公开了使用实时PCR分析进行福尔马林固定石蜡包埋组织SNP测定的过程。

[0290] 所需设备:配有板适配器的离心机,能够实现1500 \times g;微量离心机;移液器(优选的单通道和多通道移液器),容积式或排气式;涡旋器;以及ABI ViiA 7实时PCR仪(Life Technologies)。

[0291] 所需材料:TaqMan基因分型主混合物(Life Technologies # 4371355);SNP测定;无核酸酶纯水(未经DEPC处理,来自IDT)或等同物;无RNA酶屏障(过滤器)枪头;无RNA酶微管(1.5至2mL VWR# 10011-724);MicroAmp[®]光学粘合剂膜(Applied Biosystems PN 4311971);以及MicroAmp[™]光学384孔反应板。

[0292] 表15列出了实时PCR测定中所使用探针的序列。

[0293] 为了准备样品,在清洁实验室或工作站中将SNP测定置于冰上解冻约5分钟。防止所有试剂接受光照,以保护荧光探针的暴露。将稀释的预扩增板置于冰上,以在制备基因分型主混合物之后在脏实验室或工作站中解冻。

[0294] 为了制备基因分型主混合物,将基因分型主混合物在冰上解冻约5分钟。将主混合物(MM)在冰上制备成所需数量的管。将所需体积的试剂在合适的标记管中合并,如下表6所示(反应数目+10%):

[0295] 表6

组分	一次反应的体积(μ L)
2 \times 基因分型主混合物	10
20 \times SNP测定	1
无RNA酶纯水	4

总体积	15
-----	----

[0297] 20×SNP测定混合物包含引物、探针和阻断寡核苷酸。

[0298] 将主混合物涡旋数次(5至10次)混合,然后短暂离心(1500×g,5至10秒)。将15μl每种主混合物加入MicroAmp™ Optical 384孔反应板的合适孔中。反应板用光学粘合剂膜密封。

[0299] 将具有1:5稀释的预扩增产物的板置于冰上约5-10分钟以解冻。使用多通道移液器,将5μL每种稀释的预扩增产物转移到适当的相应孔中。将反应板用光学粘合剂膜密封并短暂离心(1500×g,60秒)。将板保持在冰上,直至准备加载在热循环仪中。

[0300] 使用体积设定为20μl的viiA 7软件运行以下条件:

[0301] 表7

阶段	重复	工艺	温度	时间
1	1	初始	60°C	0.5 分钟
2	1	DNApol 激活	95°C	10 分钟
3	40	变性	95°C	15 秒
		退火/延伸	60°C	1 分钟
4	1	后读取	60°C	30 秒

[0302] FGFR SNP特异性qRT-PCR

[0304] 在过量野生型等位基因中检测罕见体细胞突变在癌症诊断中越来越重要。当感兴趣的突变彼此接近时,检测变得具有挑战性。为了帮助从FFPET鉴定FGFR SNP,开发了SNP特异性qRT-PCR测定法,其中使用利用Taqman MGB探针与3'双脱氧野生型(WT)等位基因阻断剂组合的SNP特异性扩增。该测定法阻止非特异性结合,改善靶扩增数目,使来自WT等位基因的假阳性信号最小化,并提高测定的灵敏度。这种基于RNA的SNP检测测定与测定中的预扩增步骤相结合,增强了较低或罕见的突变信号。

[0305] 使用3'双脱氧WT阻断剂寡核苷酸的SNP特异性qRT-PCR的示例性策略示于图3中,并且图4示出了示例性FFPE样品验证策略。简而言之,在3'双脱氧WT阻断剂寡核苷酸存在的情况下,使用FGFR SNP引物进行qRT-PCR,该寡核苷酸与WT等位基因互补并含有侧接WT等位基因的核苷酸短段。阻断剂寡核苷酸与WT等位基因的结合阻止了WT等位基因的应用,而FGFR SNP引物结合至并特异性地扩增FGFR SNP。在FGFR SNP特异性qRT-PCR中使用的3'双脱氧WT阻断剂寡核苷酸示于表8中。用于FGFR SNP特异性qRT-PCR的FGFR SNP引物为:SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32(FGFR3 R248C);SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34(FGFR3 S249C);SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36(FGFR3 G370C);以及SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38f(FGFR3 Y373)。表15列出了实时PCR测定中所使用探针的序列。

[0306] 表8

目标	3'双脱氧 WT 阻断剂寡核苷酸
FGFR3 R248C	TGGAGCGCTCCCCGCA-ddC (SEQ ID NO:39)
FGFR3 S249C	GACGTGCTGGAGRGCTC-ddC (SEQ ID NO:40)*
FGFR3 G370C	CTGACGAGGCGGGCAG-ddC (SEQ ID NO:41)
FGFR3 Y373	GTGTGTATGCAGGCATCCTCAG-ddC (SEQ ID NO:42)

[0308] *R可以是A或G。在合成期间,3'WT阻断寡核苷酸将在该特定位置具有50%A和50%G(由制造商纯化以在该特定位置提供A或G)。

[0309] 用于验证研究的样品如表9所示制备。使用针对FGFR3 G370C、FGFR3 Y373、FGFR3 S249C和FGFR3 R248C的3'双脱氧WT阻断剂寡核苷酸的SNP特异性qRT-PCR的示例性验证数据分别示于图5A至图5D。具有3'双脱氧WT阻断剂寡核苷酸的具有SNP特异性qRT-PCR的FFPE样品的原始Ct(循环阈值)数据示于表10中。使用不同平台/技术从DNA和RNA得到的数据表明,具有3'阻断核苷酸的SNP特异性PCR是一种稳健、可靠且灵敏的测定法。验证数据表明,可在大量过量的携带WT的基因组DNA中检测到一个突变等位基因/SNP,从而强调每次测定的灵敏度和特异性。

[0310] 表9

样品	突变%
1	100
2	20
3	4
4	0.8
5	0(100%WT)

[0312] 表达每个FGFR3 SNP(R248C,S249C,G370C,Y373C)和FGFR3WT的稳定细胞系的RNA

[0313] 表10

Pt 编号	FGFR3 SNP—具有双脱氧 WT 阻断剂的 SNP 特异性 PCR (Ct *)				FMI/NGS	Janssen R&D 1.0 版
	R248C	S249C	G370C	Y373C		
7502	>35	28.03	>35	>35	S249C	S249C
10000305	>35	>35	>35	>35	WT	WT
33000127	>35	20.92	>35	>35	S249C	S249C
33000118	>35	29.35	>35	>35	S249C	S249C
10000306	>35	>35	>35	24.30	Y373C	Y373C
34000226	>35	>35	>35	>35	WT	WT
16446	>35	28.03	>35	>35	S249C	S249C

[0315] *两个Ct的平均值

[0316] FMI/NGS=下一代测序技术,其中将DNA用作模板以鉴定突变(不含3'阻断寡核苷酸);Janssen R&D=对RNA模板(不含3'阻断寡核苷酸)进行;SNP特异性PCR=对含有3'阻断核苷酸的RNA模板进行。

[0317] 实施例5-定制FGFR融合基因检测测定的验证

[0318] FGFR融合分析阳性对照的产生

[0319] 产生FGFR融合“合成小基因”、编码FGFR融合体的质粒和含有FGFR融合体的稳定细胞系。简而言之,通过将一系列具有约100个碱基对的核苷酸(对应于感兴趣的基因的目标DNA序列)彼此连接,来人工构建合成小基因。通过将编码各个FGFR融合基因的cDNA克隆到表达载体中,来产生编码FGFR融合体的质粒。通过将编码FGFR基因的质粒转染到正常大鼠肾上皮细胞(NRK细胞)中,来产生含有FGFR融合体的稳定细胞系。利用G418抗生素选择稳定的细胞系。对从这些细胞系中分离的总RNA进行FGFR融合体Taqman测定,以确认是否成功产生了表达FGFR融合体的稳定细胞系。将表达FGFR融合体的稳定细胞系用作阳性对照。表15列出了在实时PCR测定中所用的探针的序列。

[0320] FGFR融合体测定的定量下限和效率的分析

[0321] 为了确定FGFR融合基因测定的定量下限(LLOQ)和效率,通过TaqMan PCR(如实施例4所述)产生FGFR融合产物,并通过Sanger测序确认该产物(图2)。将100pg融合阳性DNA与正常人类cDNA(确认的融合阴性)混合,逐级稀释为1:10,并使用Applied Biosystems ViiA7 Software v1.1进行分析。效率标准曲线在图6中示出。FGFR融合体的LLOQ和效率在表11中示出。

[0322] 表11

[0323]

测定	LLOQ	效率
FGFR3:TACC3 V1	1.0fgm	104%
FGFR3:TACC3 V3	10.0fgm	104%
FGFR3:TACC3内含子	0.1fgm	103%
FGFR3:BAIAP2L1	1.0fgm	101%
FGFR2:AFF3	0.1fgm	106%
FGFR2:BICC1	10.0fgm	105%
FGFR2:CASP7	0.1fgm	109%
FGFR2:CCDC6	1.0fgm	106%
FGFR2:OFD1	0.1fgm	96.6%

[0324] 接下来,在融合基因阳性细胞系中验证FGFR融合基因测定。通过将融合蛋白阳性细胞系掺入融合蛋白阴性细胞系中,制备FGFR融合基因表达逐级稀释物。例如,制备FGFR3:TACC3v1和FGFR3:BAIAP2L1的1:2的逐级稀释物,并将其掺入100万个BAF细胞中。分离RNA(使用Qiagen Rneasy试剂盒),然后进行RT-PCR、cDNA的预扩增以及对目标FGFR融合基因进行TaqMan实时PCR。如表12所示,FGFR3:TACC3v1和FGFR3:BAIAP2L1融合基因TaqMan测定两者均能够在100万个融合阴性细胞中检测到31个融合目标(灵敏度为0.003%)。

[0325] 表12

	FGFR 融合细胞计数	融合阳性细胞与背景的百分比	RT112 FGFR3:TACC3v1 的平均 Ct (n=2)	SW780 FGFR3:BAIAP2L1 平均 Ct (n=2)	
[0326]	阳性对照	1.00E+06	100%	17.56	20.35
	1000	0.1000%	27.95	28.61	
	500	0.0500%	29.11	28.91	
	250	0.0250%	29.62	30.14	
	125	0.0125%	30.26	31.43	
	62.5	0.0063%	31.19	31.69	
	LLOD	31.25	0.0031%	32.59	32.97
	15.6	0.0016%	34.91	>40	
	0	0.0000%	0.00	>40	

[0327] RT112和SW780=含有FGFR融合体的市售膀胱癌细胞系(来自美国模式培养物保藏所)。

[0328] 实施例6-定制FGFR SNP检测测定的验证

[0329] 膀胱癌中FGFR3突变的评估

[0330] 在所测试的膀胱癌样品中,分别观察到约8%、约61%和约19%的R248C、S249C和Y373C SNP。

[0331] 实施例7-癌症样品的分析

[0332] 使用与实施例4中所述程序相同的过程分析样品。结果在表13和图7中示出。表13示出了不同癌症中的FGFR融合体盛行率。使用qRT-PCR方法对来自不同癌症(诸如膀胱癌(原发性和转移性)、NSCLC(腺癌和鳞状细胞癌)、卵巢癌、食管癌(原发性和转移性)、头颈癌(H&N,原发性和转移性)、子宫内膜癌(转移性)、乳腺癌和前列腺癌)的FFPE样品中的FGFR融合体进行检测。所测试的所有FGFR融合体对于前列腺癌样品均为阴性。FGFR3:TACC3内含子融合体在膀胱癌(原发性)、NSCLC(鳞状细胞癌)、卵巢癌和食管癌(原发性)、H&N癌(原发性和转移性)以及乳腺癌中为阴性。FGFR2:OFD1融合体在膀胱癌(原发性和转移性)、NSCLC(腺癌)、卵巢癌以及食管癌(原发性和转移性)中为阴性。FGFR2:CCDC6融合体在膀胱癌(原发性和转移性)、NSCLC(腺癌)、卵巢癌和食管癌(原发性)以及H&N癌(原发性和转移性)中为阴性。

[0333] 图8是NSCLC腺癌和鳞状细胞癌中FGFR融合基因和突变状态的示例性表示。在FGFR融合阳性NSCLC腺癌样品中,3/17的样品为EGFR突变阳性,3/17的样品为KRAS突变阳性,1/17的样品为cMET突变阳性。然而,在FGFR融合阳性NSCLC鳞状细胞癌样品中未观察到EGFR、KRAS或cMET突变。

[0334]

表 13

	原发性膀胱癌 (%)	转移性膀胱癌 (%)	NSCLC 腺癌 (%)	NSCLC 鳞状细胞癌 (%)	卵巢癌 (%)	原发性食管管癌 (%)	转移性食管管癌 (%)	原发性 H & N 癌 (%)	转移性 H & N 癌 (%)	转移性子宫内膜癌 (%)	乳腺癌 (%)	前列腺癌 (%)
FGFR3:	1/22 (4.55)	5/48 (10.47)	3/89 (3.37)	2/125 (1.60)	4/94 (4.26)	2/41 (4.88)	2/42 (4.76)	1/37 (2.70)	0/40 (0.00)	5/46 (10.87)	3/112 (2.69)	0/72 (0.00)
TACC3v1												
FGFR3:	1/22 (4.55)	2/48 (4.20)	9/89 (13.90)	5/129 (3.38)	5/94 (5.32)	1/41 (2.44)	10/42 (23.81)	0/37 (0.00)	0/40 (0.00)	2/46 (4.35)	6/112 (5.36)	0/72 (0.00)
TACC3v3												
FGFR3: TACC3 内含子	0/22 (0.00)	0/48 (0.00)	3/89 (3.37)	0/125 (0.00)	0/94 (0.00)	0/41 (0.00)	1/42 (2.38)	0/37 (0.00)	0/40 (0.00)	2/46 (4.35)	0/112 (0.00)	0/72 (0.00)
FGFR3:	2/17 (11.77)	19/44 (43.18)	5/89 (5.62)	3/115 (2.61)	1/94 (1.06)	0/41 (0.00)	25/42 (59.52)	2/37 (5.41)	34/40 (85.00)	22/46 (47.83)	56/112 (50.00)	0/72 (0.00)
BAIAP2L1												
FGFR2: BICC1	1/22 (4.55)	4/48 (8.33)	0/89 (0.00)	2/123 (1.63)	8/94 (8.51)	2/41 (4.88)	1/42 (2.40)	0/37 (0.00)	0/40 (0.00)	0/46 (0.00)	3/112 (2.70)	0/72 (0.00)
FGFR2:	1/17 (5.88)	19/44 (43.18)	1/89 (1.12)	2/111 (1.80)	2/94 (2.31)	0/41 (0.00)	8/42 (19.05)	0/37 (0.00)	0/40 (0.00)	0/46 (0.00)	10/112 (8.90)	0/72 (0.00)
AFF3												
FGFR2: CASP7	7/16 (43.75)	20/45 (44.44)	1/89 (1.12)	6/114 (5.26)	24/94 (25.53)	2/41 (4.88)	1/42 (2.40)	4/37 (10.81)	3/40 (7.50)	8/46 (17.40)	12/112 (10.70)	0/72 (0.00)
FGFR2: CCDC6	0/22 (0.00)	0/48 (0.00)	0/89 (0.00)	6/109 (5.50)	0/94 (0.00)	0/41 (0.00)	4/42 (9.52)	0/37 (0.00)	0/40 (0.00)	6/46 (13.04)	3/112 (2.70)	0/72 (0.00)
FGFR2:	0/17 (0.00)	0/44 (0.00)	0/89 (0.00)	1/121 (0.83)	0/94 (0.00)	0/41 (0.00)	1/42 (2.40)	0/37 (0.00)	3/40 (7.50)	3/46 (6.52)	10/112 (8.90)	0/72 (0.00)
OFD1												

Eso=食管癌; Endo=子宫内膜癌

[0335] 实施例8-对晚期实体瘤患者进行治疗

[0336] 进行临床试验,其中用JNJ-42756493对患有表达FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3

v3、FGFR2:CCDC6和FGFR2:BICC1融合基因的各种实体瘤的患者进行治疗。图9示出了I期患者样品的示例性结果,其中使用qRT-PCR测定法检测I期JNJ-427493 (EDI10001) 试验样品中的FGFR融合体。所有FGFR融合体测定均与阳性对照 (ST) 和GAPDH同时进行,用于RNA的质量控制评估。A) 针对pt#1000081所生成的qRT-PCR数据的图形表示:仅FGFR2:BICC1融合体为阳性(插图示出了FGFR2:BICC1融合体、ST阳性对照和GAPDH的Ct值的细节)。B) 针对pt#33000158所生成的qRT-PCR数据的图形表示:仅FGFR3:TACC3v1融合体为阳性(插图示出了FGFR3:TACC3v1融合体、ST阳性对照和GAPDH的Ct值的细节)。C) 针对pt#34000123所生成的qRT-PCR数据的图形表示:仅FGFR2:CCDC6融合体为阳性(插图示出了FGFR2:CCDC6融合体、ST阳性对照和GAPDH的Ct值的细节)。D) 针对pt#340000115所生成的qRT-PCR数据的图形表示:FGFR3:TACC3v1、FGFR3:TACC#v3和FGFR2:CCDC6融合体为阳性(插图示出了FGFR融合体、ST阳性对照和GAPDH的Ct值的细节)。

[0337] 图10表示对患有晚期实体瘤的患者进行JNJ-42756493首次人体内研究的示例性I期研究设计。该图示出了I期临床试验中传统3+3设计剂量递增方法的图形描述。剂量递增阶段的目的是确定最大耐受剂量 (MTD) 和推荐的II期剂量 (RPD)。使用第1部分来确定间歇给药方案,即7天给药和7天停药 (10mg/kg和12mg/kg)。使用第2部分来确定PD生物标记(药效学生物标记;被检查以将药物效果与靶标和生物学肿瘤反应联系起来的标记),其中对活检样品和血液样品进行了测试。使用第3部分的剂量扩张组并包括以不同资格标准 (FGFR畸变:易位/突变/扩增) 的具体适应症 (NSCLC、SCLC、乳腺癌和实体瘤) 的应计额外患者,以进一步表征JNJ493的毒性曲线。

[0338] 临床活动的评估

[0339] 在具有FGFR融合基因的患者中,在每天一次9mg给药 (QD), 12mgQD和12mg的7天给药/停药的情况下,观察到显著的临床反应 (RECIST)。(图11表示所有给药方案)。

[0340] 实施例9-用FGFR融合体稳定转染的RK3E细胞的产生

[0341] FGFR融合体过表达细胞系

[0342] RK3E (大鼠肾上皮细胞) 细胞购自ATCC (Manassas, VA, USA), 将其在补充有FBS和抗生素的DMEM (Invitrogen, Grand Island, NY, USA) 中培养。设计FGFR融合基因构建体,并将其克隆到包含HA标签的pReceiver表达载体 (Genecopoeia, Rockville, MD, USA) 中。根据制造商的方案,使用Amaza细胞系核转染 (Lonza, Basel, Switzerland) 将克隆转染到RK3E细胞中。在具有800ug/ml G418 (Invitrogen) 的完全培养基中选择稳定转染的细胞。通过使用抗pFGFR抗体的实时PCR和免疫印迹来确认稳定转染的细胞中是否过表达融合体 (图12)。如图12所示,稳定的细胞系表明了活性FGFR融合激酶的表达,如FGFR的磷酸化表达所示。

[0343] 菌落形成测定

[0344] 测试了用FGFR融合体稳定转染的RK3E细胞的锚定非依赖性生长。首先将含有0.8%低熔点琼脂糖的1ml培养基接种到六孔板的各三个孔中。在琼脂凝固后,向每个孔中加入另外1ml含有0.4%琼脂的培养基,该培养基中含有100个细胞。14天后,固定菌落并用0.1%甲苯基结晶紫染色。通过在显微镜下对每个细胞系的三个孔进行手动计数来确定菌落数。每个融合体过表达细胞系的代表性视图在图13A中示出。可以在用FGFR融合体稳定转染的细胞中检测到软琼脂中的锚定非依赖性生长,但不能在空载体对照中检测到。图13B表示用FGFR融合体稳定转染的RK3E细胞和空载体对照的软琼脂中菌落的定量分析。所有实验

均一式两份地进行,结果表示为每100个所接种的细胞中的菌落数。所测试的所有FGFR融合体均诱导了锚定非依赖性生长,表明了其具有转化能力。

[0345] 下游靶标表达

[0346] 将用FGFR融合体稳定转染的RK3E细胞接种到完全生长培养基中,血清饥饿过夜,然后用0.5%FBS生长培养基重新喂食。在配体存在的情况下,用1 μ M的JNJ-42756493、AZD4547或NVP-BGJ398处理细胞1小时。对于免疫印迹,将全细胞裂解物收集在RIPA缓冲液(Thermo Scientific,Waltham,MA,USA)中,并使用BCA蛋白测定(Thermo Scientific)检测样品蛋白浓度。先将等量的蛋白质(30 μ g/泳道)上样到4-12%Bis-Tris凝胶(Invitrogen)上,然后进行SDS-page。将蛋白质转移到硝酸纤维素膜上并用抗p-FGFR、总FGFR2、p-MAPK、总MAPK、p-S6、总S6、B-肌动蛋白的抗体(Cell Signaling Technology,Danvers,MA,USA)和抗总FGFR3的抗体(Santa Cruz,Dallas,TX,USA)进行杂交。在室温下用Odyssey封闭缓冲液封闭膜1小时,并在4 $^{\circ}$ C下在用Odyssey封闭缓冲液稀释的一抗溶液(1:1000)中温育过夜。在0.1%Tween Tris缓冲盐溶液(TBST)中洗涤三次之后,在室温下在Odyssey封闭缓冲液中用山羊抗小鼠或驴抗兔IR-Dye 670或800cw标记的二抗血清杂交膜1小时。在二次标记后重复洗涤,并使用LiCor Odyssey扫描仪和Odyssey 3.0分析软件(LiCor,Lincoln,NE,USA)使膜成像。将JNJ-42756493的效果与AZD4547和NVP-BGJ398的效果进行比较。如图14A至图14H所示,用JNJ-42756493、AZD4547和NVP-BGJ398(每个印迹中的泳道数为2至4)进行处理抑制了FGFR和下游靶标(即MAPK和S6)的磷酸化。

[0347] FGFR融合体过表达细胞系的药物反应测试

[0348] 将用FGFR融合体稳定转染的RK3E细胞一式三份地接种到96孔板(1000个细胞/孔)中,每个孔中含有完全生长培养基和配体FGF-1和FGF-2。24小时后,将细胞血清饥饿过夜,然后用0.5%FBS生长培养基重新喂食。接种72小时后,用18个1:3逐级稀释物的不同浓度JNJ493、AZD4547(AZD)和NVP-BGJ398(NVS)处理细胞,起始浓度为10 μ M。然后将微量滴定板温育72小时,并使用Cell Titer-Glo[®] Luminescent Cell Viability assay(Promega Corp.,Madison,WI,USA)根据制造商的说明书测定三磷酸腺苷(ATP,具有代谢活性的细胞的标记)含量,方法稍有改动。简而言之,使细胞平衡至室温,此时按1:1加入Cell Titer-Glo[®]试剂的混合物。然后将细胞置于定轨振荡器上2分钟,并在室温下温育10分钟以稳定发光信号。对发光进行定量分析并使用Envision Multilabel酶标仪(Perkin Elmer;Waltham,MA,USA)进行测量。使用GraphPad Prism 5.0计算IC₅₀的值(如表14所示)。如表14所示,含有FGFR融合体的细胞在体外对FGFR抑制剂JNJ-42756493、AZD4547和NVP-BGJ398表现出敏感性,其中与AZD4547和NVP-BGJ398相比,对JNJ-42756493表现出增强的敏感性(纳摩尔浓度范围),而空载体对照则没有表现出敏感性。

[0349] 表14

刺激	增殖(IC50)		
	RK3E 转基因	JNJ493 (nM)	AZD (nM)
载体	7010	8011	>10 μ M
AFF3	0.1133	2.809	2.273
BAIA2PL1	0.3211	11.54	5.162
BICC1	0.3303	6.448	18.19
CASP7	0.4718	4.107	241.5
CCDC6	0.1894	13.36	10.72
OFD1	0.2303	7.259	15.99
TACC3-V1	0.2915	16.53	2.594
TACC3-V3	0.2706	8.664	4.092
FGFR2	>10 μ M	6501	>10 μ M
FGFR3	>10 μ M	5686	6344
KRAS	1621	1478	2136

[0351] AZD=AZD4547;NVS=NVP-BGJ398

[0352] 表15

目标序列	探针序列
FGFR3TACC3 V1	TCCACCGACGTAAAGG (SEQ ID NO:43)
FGFR3TACC3 V3	TCCACCGACGTGCCAG (SEQ ID NO:44)
FGFR2BICC1	CCAATGAGATCATGGAGG (SEQ ID NO:45)
FGFR3TACC3 内含子	CCTTCTGGCCCAGGTG (SEQ ID NO:46)
FGFR3BAIAP2L1	CACCGACAATGTTATGG (SEQ ID NO:47)
FGFR2AFF3	TCACAACCAATGAGGAGAGT (SEQ ID NO:48)
FGFR2CASP7	CTGCCATCTCATTGGT (SEQ ID NO:49)
FGFR2CCDC6	AATGAGCAAGCCAGGGC (SEQ ID NO:50)
FGFR2OFD1	AAGTTGTGTCTCATTGGTT (SEQ ID NO:51)
FGFR3 R248C	CTGGAGTGCTCCCC (SEQ ID NO:52)
FGFR3 S249C	AGCGCTGCCCGCA (SEQ ID NO:53)
FGFR3 G370C	GCGTGCAGTGTGTAT (SEQ ID NO:54)
FGFR3 Y373	CTGCACACACTGC (SEQ ID NO:55)

[0355] 本领域技术人员将理解,可对本发明的优选实施方案作出许多改变和修改,并且在不脱离本发明的实质的前提下可作出此类改变和修改。因此,所附权利要求旨在覆盖落

入本发明的真实精神和范围内的所有此类等同变化。

[0356] 本文档所引用或描述的每项专利、专利申请和专利公开的公开内容均以引用方式全文并入本文。

[0357]

FGFR 融合基因的核苷酸序列

经过工程改造到表达载体中的 FGFR 融合 cDNA 的核苷酸序列在表 16 中提供。用下划线标出的序列对应于 FGFR3 或 FGFR2，正常字体的序列表示融合伴侣，用斜体标出的序列表示 FGFR3 基因的内含子序列。

表 16

FGFR3:TAC C3 v1 (3271 个碱 基对) (SEQ ID NO.:56)	>ATGGGGCCCCCTGCTGGCCCTCGCGCTCTGGTGGCCGTGGCCATCGTGGCCGGCCCTCTCGGAGTCTCTGGGACGGAGCAGCGG TCGTGGGGCAGCGGCAGAAATCCCGGGCCAGAGCCCGGCCAGAGGACAGGAGTGGTCTTCGGACGCGGGGATGCTGTGGAGCTGAGCTG ICCCCGCCCCGGGTGGTCCCATGGGGCCACTGTCTGGTCAAGGATGGCACAGGGCTGGTCCCTCGGAGCGTCTCTGGTGGGGCCCC AGCGGTGCAGGTGCTGAATGCCTCCACGAGGACTCCGGGCTACAGTCCCGGACGGCTCAGCAGCGGCTCAGCAGCGGCTACTGTGCCACTCAG TGTGGGGTGCAGACGCTCCATCCCTGGGAGATGACGAAGACGGGAGGAGGACTGAGGACACAGGTGTGGACACAGGGGCCCTTA CTGGACACGGCCCGAGGGATGGACAAGAAGCTGTGGCCGTGCCGGCCACACCCGTCCGCTCCGCTGCCACGCCGTGGCAACCCC ACTCCATCCATCTCTGGTGAAGAACGGCAGGGAGTCCCGGGGAGCACCGCATGGAGGCAACAAGTGGGCAATCAGCAGTGGAGCC TGGTCAITGGAAAGCTGTGTCCTCGACCCCGGCAACTACACCTCGTGGAGACAAGTTTGGCAGCATCCGGCAGACGTACACCGCT GGACGTGTGAGCGCTCCCGCACCCGGCCATCTGTCAAGGGGCTGCCGGCCAAACAGACGGCGGTCTGGCAGCGACGTGAGTTC CACTGCAAGGTGTACAGTACGCACACAGCCCAATCCAGTGGCTCAAGCACGTGGAGTGGCAGCAAGGTGGGCCGCGACGGCACA CCTACGTTACCTGTCTAAGACGGGGGGCTAACACACCGACAAGGAGTAGAGGTTCTCTCTGGCAACACGTCACCTTGGAGGACGC CGGGGAGTACACTGCTGGCGGCAATCTATGGGTTTCTCATCACTCTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG AGGCTGACGAGCGGCAAGTGTATGACAGGCACTCCAGTACGGGTGGCTTCTCTCTCATCTGGTGGGCTGTGACCGCTC TGGCCCTGGCAGCCCCCAAGAAAGGCTGGCTCCCGCACCGTGCACAGATCTCCGCTCCGCTCAAGCGACAGGTGTCCCTGGA GTCCAACGGTCCATGAGCTCCAAACACACCACTGGTGGCAATCGCAAGGCTGTCTCAGGGGAGGGCCACCGCTGGCCAAATGCTCCGAG CTCGAGTCCCTGCCACCCAAATGGGAGCTGTCTGGGCCCGGCTGACCCCTGGGCAAGCCCTTGGGGAGGGTGTCTCGGCCAGGTGGI CATGGCGGAGCCATCGGCATTGACAAGGACCGGGCCCAAGCTGTACCCGTAGCCGTGAAGATGCTGAAAGACGATGCCACTGACAAG GACCTGCGGACCTGTGTGATGAGATGATGAAGATGATCGGGAACACAAAACATCATCAACTGCTGGGCGCTGCACGCAAG GCGGGCCCTGTACGTGTGGTACGCGGCCAAGGGTAACCTGCGGGAGTTCGCGGGCGGGCGGCCCGGGCTGGACTACTC CTTGACACCTGCAAGCCCGCCGAGGACAGCTCACTCAAGGACCTGGTGTCTGTGCTACCAAGTGGCCCGGGGCAATGGAATCTGG CCTCCAGAAAGTGCATCCACAGGGACCTGGTCCCGCAATGTGTGGTGCACCGAGGACAACGATGATGAAGATCGCAGACTTCGGGTGGC CCGGACGTGCACAACCTCGACTACTACAAGAAGCAGCAACCGCCGCTGCCCTGAGTGGATGGCGCCTGAGGCTTGTGTACCCGA GTCTACACTCACCAGATGACGTCTGGTCTTTGGGTCTCTGAGGATCTCAAGCTGGGGGCTCCCGTACCCCGGCAJCCCTGTG GAGGAGCTCTCAAGCTGTGAAGGAGGGCCACCGCATGGACAAGCCCGCAACTGCACACACGACCTGTATCAIATGCGGGAGTGTCT GGCATGCCCGCCCTCCACAGGGCCCACTTCAAGCAGTGGTGGAGGACCTGGACCGTGTCTTACCCTGACCTCCACCGACGTAAAGGC GACACAGGAGAACCGGGAGCTGAGGAGCAGGTGTGAGGAGCTCCACGGGAAGAACCTGGAACTGGGGAAAGATCATGGACAGGTTCC
---	---

[0359]

	<p>GAGGGCTACCGCAAGCAAGTCACTGAAGAAGTGGGTGGAGATTACCTGGCAAGGATCACCCAGGAGGGCCAGAGGTACCAAGCC CTGAAGGCCACCGGAGGAGAGTGCAGTGGCAACCGAGGAGATCGCCAGATCCGGAGCAAGGCCAGGCGGAACCGTTGGCCCTC CAGCCAGCCTGAGGAAGGACAGATGCGCATCCAGTGGAGAAACAGTGGAGCAAGTAAAGAAACGAGGAGCTGACCCAG GATCGGACGACCTCATCTCAAGATGGAAAGATCTGA</p> <p>>ATGGCGCCCTGCTGCGCCCTGCGCTGCGGCTGCGCCATCGTGGCCCTCTCGGAGTCTCTGGGACGAGCAGCGCG TCGTGGGGGAGCGGCAAGAAGTCCCGGCCAGAGCCCGCCAGCAGAGCAGTGGTCTTCGGCAGCGGGGATGCTGTGGAGCTGAGCTG TCCCCCGCCGGGGTGTCCCATGGGGCCACTGTCTGGGTCAAGGATGGCAACAGGCTGGTGGCTCGGAGCTGTCTGGTGGGCCCC AGGGCTGCAGGTGTGATGCTCCACGAGGACTCCGGGGCTACAGCTGCCGCAAGGCTCACCGCAGCCGCTACTGTGCCACTTCAG TGTGGGGTGCAGACGCTCCATCTCGGGAGATGACGAAGACGGGAGGACGAGGCTGAGGACACAGTGTGGACACAGGGGCCCCCTTA CTGGACACGGCCCGAGCGGATGCAAGAAGTGTGTGGCCGTCCCGCCGCAACACCGTCCGCTTCGCTGCCAGCCGCTGGCAACCC ACTCCCTCATCTCTGGCTGAAGAACGGCAGGAGTCCCGGGCAGACCGCATGGAGGATCAAGCTGCGGATCAGCAGTGGAGGCC TGGTCAATGGAAAGCTGTGGCTCGGACCGGCAACTACCTGTGCTGGAGACAAGTGTGGCAGATCCGGCAGAGCTACACGCT GGAAGTGTGGAGCCCTCCCGCCACCGGCCATCTCTGAGGGGGCTGCCGGCCAACCAAGCAGGGGTGTGGGACGAGCCTGGAGTTC CACTGCAAGGTGTACAGTACGCAAGCCCACTCCAGTGGTCAAGCAAGTGGAGTGAATGGCAGCAAGTGGGCCCCGGACGGCACA CCCTACGTTACCGTGTCAAGACGGCGGGCTAACACCACCGCAAGGAGTCTCTCTTGCACAACGTCACCTTTGAGGACGC CGGGAGTACACTGCTGGCGGGCAATCTATTTGGTTTTCTCATCACTGCTGCTGGTGGTGTCCAGCCGAGGAGGAGCTGGTGG AGGCTGACGAGGGCGGTGTGTATGACGGTCTCAGCTACGGGTGGGTCTTCTGTTCAICTGTGGTGGGCTGTGACGCTC TGCCGCTGGCAGCCCCCAAGAAAGGCTGGGCTCCCCACCGTGCACAAGATCTCCCGTTCGCCCTCAAGCAAGGCTGCTCCAG GTCCACCGGTCCATGAGTCCACACACCACTGGTGGCATGCAAGGCTGTCTCAGGGGAGGGCCCCACGCTGGCCAAATGCTCCGAG CTGAGTGCCTGCCACCCCAATGGGAGCTGTCTGGGGCCGGCTGACCCCTGGGCAAGCCCTTGGGAAGGCTGCTCGGCCAAGTGGT CATGGGAGGCCATCGGCATTGACAAAGACCGGGCCGCCAAGCCTGTACCCGTGAAGTGTGAAGAAGCATGCCACTGACAAG GACTGTGCGACCTGGTGTCTGAGATGGAGATGATGAGATGATCGGAAACACAAAACATCAATCAACCTGTGGGCGCTGCACGCAGG GCGGCCCTGTACGTGTGGTGGAGTACGGGCCAAGGGTAACTTCGGGGAGTTCGTGGGGCGGGGCCCCCGGGCTGGACTACTC CTTCGACACCTGCAAGCCCGGAGGAGCAGCTCACTCAAGGACCTGGTGTCTGTGCTACCAAGTGGCCCGGGGCAATGGAGTACTTGG CTCCCAAGATGCTCCACAGGACCTGGTGGCCCAATGTCTGTGACCCGAGGACCACTGATGAAGATCGCAGACTTCGGGCTGGC CCGGACGTGCACAACCTGACTACAAGAAGACCAACCGCCGCTGCCCTGAAAGTGTGGGCTGAGGCCCTGTGTTGACCCGA GTCTACACTCACAGAGTACGCTGTGGTCTTGGGGTCTGTCTGGGAGATCTTACGCTGGGGGCTCCCGCTACCCCGCATCCCTGTG GAGGAGCTTCAAGCTGTGAAGGAGGCCACCGCATGGACAAGCCGCAACTGCACACACAGCTGTACATGATCATGCGGGAGTGTCT GGCATGCCCGCCCTCCAGAGGCCCACTTCAAGCAGCTGGTGGAGGACCTGGACCGTGTCTTACCTGTGACCTCCAGCAGTGGTGTCT sgccigggccaccgccctatggccccccccctggccgctcccccggccatccctggcccccaagatgctggggcggggccccttctggccccaggctggcctggactggactcaag ctcttcccagagccccaggaagttctgagaaaccaatgggtgtctccaggaaaaagtgtctggcagccctgagcaagccctggaggaagaaacctt agttccctattcccttagacagaaagtgacacccctctgagacccttagaagacccttgcagacagatgccacacaaagcggagactc cgcacggagccgaggaagaaatgcaaaagcggagactccgcacggagccgaggaatgccggcaccggtgggtctgtgctccccgacgacg tggccacttccctctgtgtcaatccctaaaggaaagctgaggagagacccttgcagggctgacctggcgaagccctgggctggcctggc ggtgtgggcaacccccgtgcccagcagatggcactcagacccttacctgtgacacacaccttctgtcttgagagcagacgcccccaacacacact</p>
<p>FGFR3 内含 子:TAACC3 (4463 个碱 基对) (SEQ ID NO:58)</p>	

[0360]

<p>GGTGGCTGGCAGGGCCATGACCCCTGAGTCTCAGGAAGAAGTGGTGCAGGGCCAAATGGCCAGCTCCTCGAGGAGGGGACCTGTAAACTA GAATTTGATGTATCTGATGGCCCAACAGCAAAAGGCCACCCCAACAGGAGAGCTGGGAGAGAGGTCCGGCCCAAGCCCTCCCTTGGAG AAGCAGCAGTGAAGCAGCAAAAGCCCGCAGGAGGTGGAGGAGCAGCGTAGGAGCGGAGCAGGAGAGGACCCCAAGCCCAAGCCAGCT TCTCGGGCTCTTACCACCTCGACTGGACAAAATGATGACCAAACTTCACTCCCGTTCGGAGGTGACACAAAGTCTGGTTCAGTGGAGC CCAGCCCCAGAAAGCCCTGAGACCAGGCTGGGCCAGCCAGCGGTGAACAGTTGCACTGTGGCCCTGCCACGGAGGACCCAGTCCCTGT CTGAGCCAGAGCTGCAATTCAGCCTCAGCGGAGGACACCGCTGTGGTGCAGTTGGCAGCCGAGACCCCAACAGAGAGAGCAAGGAGAGA GCCTTGAACCTTGCCAGCACCCTGCCAAGCTGTCCAGGCATGAGCCAGTACCCACCCATCAGCAGGGCAGCCCTGCCTTGGAGCT GAAAGAGAGAGCTTCAGAGACCCCGCTGAGTCTAGGCACGGCGGAGGTGATTAACCTGGAGCAGTTTGGAACTTCTCTCGTTTAAAG GAGTCGGCTTGAGGAAGCAGTCTTAACTCAAGTTCGACCCCTTCTGAGGGACAGTCTTGTAGACACAGTGCCTGGCCAGCCAGGAC CAGCAGCATGCACGGTGCAAATGAGACTCCCTCAGGACGTCGCGGGGAAAGCCAAAGCTTGTGGAGTTCGATTTCTTGGGAGCCTGGACAT CCTGTGCCAGGCCACCCCAAGTGTTCGCGCCCTGGGGCCCAACCCCTGTCCACCGGACCTATAGTGGACCTGTCCAGTACAGCCAGAA GGACCTGATGCAATGGTAAAGGGCACAAGAGGAGAACCGGGAGCTGAGGACAGGTGTAGGAGCTCCACGGGAAGAACTGGAACT GGGGAAGATCATGGACAGGTTCGAAAGAGTGTGTACAGGCCATGGAGAAAGTTCAGAAAGCAGAAAGGAACTTCCAAAGCTGAAATCCA GAAAGTTCTAAAAGAAAAGACCAACTTACACAGATCTGAATCTCCATGGAAAGTCTTCCGACCTTTCAGAGCTTTTTCAGAAACAG AAAGAGGTGATCGAGGGCTACCCCAAGAACGAAGATCACTGAAGAAGTGGTGGAGGATTAACCTGGCAAGGATCAACCCAGGAGGGCCAG AGGTACCAAGCCCTGAAGGCCACCGGGAGGAGAGCTGACGTGGCAACGAGGAGATCGCCCAAGTCCGGAGCAAGGCCCAAGCCGGAA GCGTTGGCCCTCCAGCCAGCCTGAGGAGGAGCAGATGGCATCCAGTCCGTGAGAAAGACAGTGGAGCAGAGACTAAAGAGAACCGAG GAGTGAACAGGATCTGCGACGACCTCATCTCCAAGATGGAGAGATCTGA</p>	<p>FGFR3:BAI AP2L1 (3765 个碱 基对) (SEQ ID NO:59)</p>
--	--

[0361]

<p>TGACAAGGACCTGTGGACCTGGTGCTGAGATGGAGATGATCGGGAACACAAAACAATCATCAACCTGCTGGGGCCCTGC ACCGAGGGGGCCCTGTACGCTGGTGGAGTACGGGCAAGGTAACTGGGGAGTTTCTCGGGCCGGGGCCCGGGGGCCCTGG ACTACTCCTTCGACACCTGCAAGCCCGCCGAGGACAGCTCACTCAAGGACCTGGTGCTGCTACCAAGTGGCCCGGGCATTGGAG TACTTGGCCCTCCAGAAGTGCATCCACAGGACCTGGTGCCCGCAATGCTGGIAGCCGAGGACAAACGIGATGAAGATCGCAGACTTCG GGCTGGCCCGGGACGTGCACAACCTCGACTACTACAAGAAGACGACCAACGGCCGGTGGCCGTGAAGTGAAGTGGCCCTGAGGCCCTGTG TGACCGAGTCTACACTACCAGAGTGCCTGTGGTCTTGGGCTCTGCTTGGGAGATCTTCACGGCTGGGGGCTCCCGGTACCCCGGCA TCCCTGTGGAGGACTTCAAGCTGTGAAGGGCCACCGCATGGACAAGCCGCCAATGCACACACGACCTGTACATGATCAIGTCAIGCG GGAGTGTGGCATGCCGCGCCCTCCAGAGGCCACCTCAAGCAGCTGGTGGAGGACCTGGACCCTGTCCCTTACCGTGACGCTCCACCAGCA ATGTTATGGAACAGTTCAATCTGGCTGGCAATTAATAAACCTGGGAAAATATGAGAAAAGCTGAACGCTATGATCTTGGCAGG AAAGCCTACTAGTGGAGTGCCAAAGTGGTGGCACTGGTCCCCGTCACCTGAACTGGGACATGTCCCTCATAGAGATTT CAAGTACCCACAAGAACTCAACGAGATCTGTGAAATTTTAAAAATCCACAAGAGATTTCCATGAGCTGGAGAAAGATAGA ACTTGACGTGAAATATATGAACGCAACTCTAAAAGATACCAACACAGAACAAAGAAATAAATTAGATCTTTGGAGAAATCCCAAGCTGAG TTGAAGAAGATCAGAAGAAAGCAAGGAAGCCAAAGCACTCAAAATATGAACACAAAGAAATGAGTATGTGGAGACCCTTACTTCT CGTCAGAGTGAAATCCAGAAATTCATTGCGAGTGGTGCAAAGAGGCTCTGTGAGAGAAAGAGGCCCTCTGTCTTTCTGGTTGATAAGCA CTGTGGCTTTGCAACCAACATACATATATCATTACAGTTCAGAACTACTGAAATCCAAAGTCCCTGGTGGCAGGAGACCTGTGTIG ATGCCATCAAGTGCCAGAAAATCATGATATGATCGAAGAAATAAAGACCCAGCCTCTACCCCGTGTCTGGAACTCCTCAGGGCTC ACCCATGATCGAGAGAACAAATGGTTAGGAAAGATACGACCCCTTCTAAATGCTCACAAGATGCCCGCCCTCTCAGGCAGAG GCATATACCGAGTCCCTTGATCGATATGTTAATAACCGACGCCAGCTGCCCCGAAATCAAAAGGTAATAATTAACAGGTACTTCCGA AGATCCAGTTTACAGCGATCAGTTTCGGTTGCACCGGACTGAAATGATGAAGAAAGCAAGAAAGTGAAGACCATCTTCCCGCACACTGCG GGTCCACAAGACCTTACTAGCTTTGCACAGGGAGATGTCATCAGCTGCTCATCCCCGAGGAGAAGGATGGTGGCTCATGGAGAAC ACGACGTGTCCAAAGGCGAGGGTTGGTCCCCTGCTGACGAAAGTTCGAGAGAAATGAGACAGAAAGTACCTGACCTGCCCACGCGC AAGCCCCACCCAGTGAGAAAGCATCAGCACCGTGAATTTGCTGAGAAATGCAATCCCGCCAGCTGTCATCCCGCCAGGAGGACGCTTGA CCATGGGGCAGCTGCCGACAGGAGAGCAGATTCGGCCAGGACGACATCCACCTTTAAGGCCCAAGGCTCCAAAGCCGAGCCCGCTCC TAAGATGCCAACGGGACTGCAAAAGCCGCTTTTCTCAGCGGAGAAAACCCCTTTGGCCACTGTGAAACTCGGCCCGCACTGTGACGAAATGATC GCTCGGCACCCATCATTCGATGA</p>	<p>>ATGGTCAGCTGGGTGCTTTTCATCTGCTGGTGGTGCACCAATGGCAACCTGTCCCTGGCCCGCCCTCTCAGTTTAGTTGAGGATAC CACATTAGAGCCAGAAAGAGCCCAACCAATCTCAACCAAGAAAGTACGTGGTGGCCAGGGAGTCGCTAGAGGTGCG TGCCCTGTGAAGAAGTCCCGCTGATCAGTGGACTAAGGATGGGAGCACTGGGGCCCAACAATAGGACAGTGTCTTATGGGGAGIACCTI GCAGATAAAGGGCCGACCGCTAGAGACTCCGGCTCTATGCTGTGACTGCGCAAGGACTGAGACAGTGAACAGTGGTAACTTCAATGGTGA ATGTCACAGATGCCATCTCCTCGGAGATGAGGATGACCCGATGGTGGGAAGATTTGTCAGTGGAGAAACAGTAAACAACAAGAGAGC ACCATACTGGACCAACAAGAAAGTGAAGAGGGTCCCTGCTGTGCTGGCCCAACACTGCAAGTTTCTGCTCCAGCCAGCCAGCCGCGGG AACCCAAATGCCAACCCATGCGGTGGCTGAAAACGGGAAGGAGTTAAGAGGAGCATCGCATGGAGGCTACAAGGTACGAAACCCAGCAC TGGAGCCTCATTAATGGAAGTGTGGTCCATCTGACAAGGGAATTAACCTGTGTGAGAAATGAATACGGGTCCATCAATCACACGTA CCACCTGGGATGTTGGAGCGATCGCTCACCGGCCCATCTCCAAAGCCGGAATGCCCTCCAGCTGGTGGAGGAGACGTA GAGTTGTCTGCAAGGTTTACAGTGTATGCCAGCCCCACATCCAGTGGATCAAGCACGTTGGAAGAAAGAACCGGCAGTAAATACGGGGCCGACCG</p>
<p>FGFR2: BIC C1 (5830 个 碱基对) (SEQ ID NO: 60)</p>	

[0362]

GGCTGCCCTACCTCAAGGTTCTCAAGGCGCGGGTGTAAACACCAGGACAAAGAGATTGAGGTTCTCTATAATTCGGAATGTAACCTTTGAG GACGCTGGGGAATATACGTGCTTGGGGGTAATCTAATGGGATATCCTTTCACCTCGCATGGTTGACAGTTCTGCCAGCCCTGGGAAGAGA AAAGGAGATTACAGCTCCCAAGACTACCTGGAGATAGCCATTAAGCTGATAGGGGTTCTTAATGCGCTGTATGGTGTAAACAGTCAATCC TGTGCCGAATGAAGAAACAGCAAGAAAGCAGACTTCAGCAGCCAGCGGCTGTGCAAGCTGACCAACAGTATCCCTGCGGAGACA GGTAAACAGTTCCGGCTGAGTCCAGCTCCATGAACTCCAAACACCCCGCTGGTGGAGTAACAACAACCGCTCTCTTCAACGGCAGACACCC CCATGCTGGCAGGGGTTCCAGATGAACTCCAGAGGACCCAAATGGGAGTTTCCAAAGAGATAAGCTGACACTGGGCAAGCCCTGGG AGAAGTTGCTTTGGGCAAGTGGTCAATGGCGGAAGCAGTGGAAATTGACAAAGACAAGCCCAAGGAGCGGTCAACCGTGGCCGTGAAGAT GTTGAAAGAATGATGCCACAGAGAAAGACCTTCTGATCTGGTGCAGAGATGGAGATGATGAAGATGATTGGGAACACAAAGAAATATCAT AATCTTCTGGAGCTGACACACAGGATGGGGCTCTCTAATGTCATAGTTGAGTATGCTCTAAAGGCAACCTCCGAGAATAACCTCCGAGCCCG GAGGCCACCCGGGATGGAGTACTCCTATGACATTAACCGTGTCTGAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTGGTGTCTATGCACCTACCCAGC TGGCCAGAGGCATGGAGTACTTGGCTTCCCAAAAATGTATTCATCGAGATTAGCAGCCAGAAAATGTTTGGTAACAGAAAACAATGTGATG AAAAAGCAGACTTGGACTCGCCAGAGATACAACAATATAGACTATTACAAAAGACCACCAATGGCGGCTTCCAGTCAAGTGGATGG CTCCAGAAAGCCCTGTTGATAGAGTATACACTCAACAGAGTATGCTGCTTCCGGGTGTTAAATGGGGAGATCTTCACTTATGAGGGGCT CGCCCTACCCAGGATTCCTGAGGAACTTTTAAAGCTGCTGAGGAAAGGACACAGAAATGGATAAGCCAGCCAACTGCCACCAACGAACT GTACATGATGATGAGGACTTGGCATGCGTCCAGAGACCAACGTTCAAGCAGTTGGTAGAAGACTTGGATCGAATCTCACCTC TCACAACCAATGAGATCATGGAGGAAACAATAACGAGATTGGCCATCAAACTGAAGAATGGAGCCAAATCCAAGAAAGATCCCA TAAAGGTTCTGGAAAGAAAGAAAGTAAAGAAAGCCAAAGGAAATGATCATGCTGCTTAGACACAAAAGCAATCGAGTCACACTG AAGTGGATGTTTACATACAGAACTTACATGTAATCGGCAAGGTGGCAACAATATAAAAAGTATGGAAGAAACCGGATGCCATA TCCACTTCCAGATCCAAACAGGAAATAACCAAGCAGAAAAGCAACCAAGTATCTATAGGGGCAACCAAGCAGGAGTAAATCTGCCCCG AGTTAGAAATCCGGGAGCTGCTCTTGGTGTGATGTTGAGCTACCAATGGTGAATTTCAACCCGGTTCCTGATCTTAATCCCCCTCT AATCAGCATATATCAAAAACGTACAAATATTTCAAGTATCAATTTAAACAGCGTTCCTCCGAAATGATGGTGTACTGTCTATAGTACGAGGGTCTCA GAATAACACTAGTGTGAAGGAAGGAACTGCCATGCTGTGATAACAATCTTGTGGGAGCTTAGCATCAGCTATTCCTGTGAGCACACAAC TAGATAATGCAGCTCAACATCACTCTTTATGATGGTCCGAAATGGGAGCAACATCAACAATATCATGCAGAGAAACAGGTGCTCAGATCCAC TTTTCTGATCCCAGTAATCCACAAGAAATCTACCGTCTACCTCCAGGGCCATAGATGCTGCTTGTCTTGCAGGCAATATCTCATGGGT TGCTTCTCTTGTGTGATGTTGATGAAAGGAGAAATGAAAGTATGATCCCAATTCATTTGGCAGTTGATGGAACAGCTTGTGATGCTTC ATCAGTATTAACCAAGCCCAACAGCCAAAGCTGTGATTTGTAATGTAAGAAAGTTGAGCGAAATGGCTTTAAATATGATGAAGCAAGGA AATGCTCCTCGGACTTGAAGCAGTGGGGTTACCATAGCAACCAAGTCCATCCCAAGCTTCCCTGCCCCCTGGCATGTCCCAGCCTG GATACTTAGCTTCAGCAGGCTTGGACTCACTGGACTAGGTTTGGGACCCACCACTTACTCTGAACACTTCAACAACCCCAAACTCA CTCTTGAATGCTCTTAAATAGCTCAGTCACTTGCNAAGTCCAAAGTTCTGTTACACCCAGCCCACTTATGGCACCCCACTTGTCTAAT ACTTCAAGTGCCACAGGTTTTCTGCTATACCACACTTATGATCCACTACTGCCAAAGCCACTTAATAATTTTGTGTGTTGGAGTGC CCACCTATGGGCACACAGTCCATCTCCCTCTCTGGCTGACTCTGTGATGTTGATGTTGATGTTGATGTTGATGTTGATGTTGATGTTGATG TCTGCTGTTTTAAATGGACATGCACAGTCTCCAGATAAATAATGGTCAATATCCACTTCACTTGGAGAAAAGTGTGAGTGCAAA TCACGGGATCCGTCATCCAGACAAGTGGGTCTGAGCAGACATCTCCAAATCAAGCCCACTGAAGTTGTAATGATGCTTGTGTTGTTGTTG TAGGCATGCCTCGAAGTCTCCCAATCTGGGAATGCTGGTGTGACTTGAACACAGATGATGTGCTCCCAAGTTTCTGTGCCAAAAGGCGAG ACAGTGGAACTATTGCAAGGCCACGAAAACCTCACACTTACACAGCACTGACAGGTTGCTCTCAGACCCCTGAACTGAGTGTACCCGAAAGCC

[0363]

<p>CTTTGGCTGACAAGAAGGTTCCAGGGAGTGAAGCGCGCTGCAGAGAGGGCAGCAGCTGCCAGCAAAAATCCGAAAGGGCCCACTTGCTCC ACGGTCAATCATATGTCAACATGCAGGCAATTTGACTATGACAGAGAAGAGCTATTAGCCACCACAAAGCTATGTTAAGAAACCAGTGGTGACG GAGGTCAGAACGCCCAACAATACCTGGAGTGGCTGGTTTCTAAATCCATGCCAGCTGAAACTATCAAGGAGTTGAGAAGGGCCAAATC ATGTGCTCTAATAGCCCCACAATGACAACCACTTATGAGGGCTCATCCATGTCCCTTCACGGTCCAAACAGCTGAGCAGCTGGGAGGTGGA AGCGAATCTGATAAATGAGAGACCGCAATGGAATGGACCTGGAAGTCATAGTGAATTTGCAGCTTCATTTGGCAGCCCTAAGCGTAAAC AAAACAAATCAACGGAACTACTCTCAGCAAGTACGAAATTAACAATGGACTGCAATTCCTCGCTGACAGGAAGCAATGGCTGTAACCTTAAATAG CTCTTTCAAAGGTTCAGACTCCCTGAGCTCTCAGCAAACTGGCCCTGGGCAATACACAGATGTTTTCCAGCAACAAGAGATCGAATCTTC AGACAATCTCACTCTCACAGATCAGGATCTGAAGGAGCTGGGAATAACTACTTTTTGGTGCCAGGAGGAAAATGCTGCTTGCAATTTTCAGAA CTAAATAAAAACCGAAAGCTTTTGAATGCGCAAAATGCACGCACCTCTTTCTGGAAGGTGGAGCGGATGGGAAGGCTACCCCCTCAGT ATCACTCAGACATTTGCTAGTGTCAAGTGGCCGCTGGTAG</p>	<p>>ATGGTCAGTGGGGTCTTCATCTGCTGGTCTGCTCCATGCGCAACCTTGCCCTGGCCGCTCTTCAGTTTAGTTGAGGATAC CACATTAGAGCCAGAAAGCCACCACCAAAATCTCTCAACAGAAAGTGTACTGTGGCTGCGCCAGGGGAGTGCCTAGAGGTGGCG TGCCTGTGAAGATGCCCGCTGATGACTAAGATGGGGTGCACTTGGGGCCCAACAATAGGACAGTCTTATTTGGGGAGTACTT GCAGATAAAGGGCCACGCCCTAGAGACTCCGGCCCTCTATGTTACTGCCAGTAGGACTGTAGACAGTGAACCTTGGTACTTCAATGTTGA ATGTCAAGATGCCATCTATCCGGAGATGATGAGGATGACACCAGTGGTGGGAAAGATTTGTCAAGTGAACACAGTACAAACAAGAGAGC ACCAATCTGGACCAACACAGAAAAGATGGAAGAAGGGCTCCATGTGCTGCGGCCAACACTGTCAAGTTTCGCTGCCAGCCGCGGGGG AACCCAAATGCCAACCATGGGTGGTGAATAAACGGGAAGGAGTTAAGCAGGAGCATCGCATTTGGAGGTACAAGGTACGAAACCAGCAC TGGAGCTCATATGGAAGTGTGGTCCCCTGACAAAGGGAATTAATACCTGTGTAGTGGAGATGAATACGGGTCCATCAATCACACGTA CCACTGGATGTGTGGAGGATCGCCTCACGGCCCTACCCGCCCCATCCCAAGCCGGACTGCCGCAATGCCCTCCACAGTGGTCGGGAGACGTA GAGTTGTCTGCAAGTTTACAGTGTGATGCCAGCCCCACATCCAGTGGTCAAGCACGTGGAAAGAACCGGCAGTAATAACGGGGCCGACG GGCTGCCCTACCTCAAGTTCTCAAGGCCCGGTTAACACCACGGACAAGAGATGAGGTTCTCTATATTCGGAAATGTAACTTTTGAG GACGCTGGGGAATACGTTGCTGGCGGTAATTTCTATTGGGATATCCTTCACTCTGCTGATGTTGACAGTTCTGCCAGCGCTTGAAGAGA AAAAGGAGATTACAGTTCGCCAGACTACCTGGAGATGCCAATTAACCTGATAGGGGTTCTTAAATGCGCTGTATGGTGAACAGTCAATCC TGTGCCGAATGAAGAACACGACCAAGACCCAGACTTCAGCAGCCAGCCGGCTGTGACAAAGCTGCCAAACGTAATCCCTGCGGAGACA GGTAACAGTTTCGGCTGAGTCCAGCTCCCTCCATGAACCTCAACACCCCGCTGGTGAAGGATAACAACCCCTCTCTTCAAGGGCAGACACCC CCATGTGGCAGGGTCTCCGAGTATGAACCTCCAGAGGACCCAATGGGAGTTTCCAAAGAGATAAGCTGACACTGGGCAGCCCTGGG AGAAAGTTGCTTTGGCAAGTGGTCAITGGCGAAGCAGTGGAAATTGACAAAGACAGCCCAAGGAGGCGGTCAACCCTGGCCGTGAAGAT GTGAAAGATGATGCCACAGAGAAAAGACCTTTCTGATCTGGTGTGAGAGATGGAGATGATGGGAACACAAAGATAATCATATA AATCTCTGGAGCTGCACACAGGATGGCCCTCTCTATGTCTATAGTGTAGTATGCCCTTAAAGGCAACCTCCGAGAAATACCTCCGAGCCCCG GAGGCCACCCGGGATGGAGTACTCCTATGACATTAACCGTGTCTCTGAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTGGTGTCAATGCACCTACAGC TGGCCAGAGGCATGGAGTACTTTGGCTTCCCAAAATGTATTCATCGAGATTTAGCAGCCAGAAAATGTTTTGGTAACAGAAAACAATGTGTATG AAAATAGCAGACTTTGGACTCCAGAGATATCAACAATATAGACTATTACAAAAGACCACCAATGGCCGCTCCAGTCAAGIGGATGG CTCCAGAAAGCCCTGTTTGTATAGATATACACTCATCAGATGATGTCTGCTTCGGGTGTAAATGTGGGAGATCTTCACTTATAGGGGCT CGCCCTACCCAGGGATCCCGTGGAGGAACCTTTAAGCTGTGAGGAAAGGACACAGAAITGGATAAGCCAGCCAACTGCACCAACGAAACT GTACAATGATGAGGGACTGTGGCATGTCAGTGGCCCTCCCAAGACCAACCGTTCAAGCAGTTGGTAGAAGACTTGGATCGAAATTTCACT</p>
<p>FGFR2:AFF 3 (5109 个 碱基对) (SEQ ID NO:61)</p>	

[0365]

NO:62)	<p>ATGTCACAGATGCCATCTCACCAGATGATGAGGATGACACCGATGGTGGGGAAGATTTTGTCAGTGAGAAACAGTAACAACAAGAGAGC ACCATACTGGACCAACACAGAAAGATGGAAAGGGCTCCATGCTGCTGGGCCAACACTGTCAAGTTTGGTCCACCGCCGGGGG AACCCAAATGCCAACCATGCGGTGGCTGAAACACGGGAAGGAGTTAAGCAGGAGCATCGCATTTGGAGGCTACAAGGTACGAAACCCAGCAC TGGAGCCCAITATGGAAAGTGTGGTCCCATCTGACAAAGGAAATATACCTGTGTAGTGGAGAAATGAATACGGGTCCATCAATCACACGTA CCACCTGGATGTTGTGGAGCGATCGCCCTCACCGGCCATCTCCAGCCGGACTGCCGCCAATGCCCTCCACAGTGGTGGGAGGAGACGTA GAGTTGTCTGCAAGGTTACAGTGTGCCAGCCCAATCCAGTGGATCAAGCAGCTGGAAAGAACCGGAGTAATAACGGGCCGACG GGCTGCCCTACCTCAAGGTTCTCAAGGCCCGGCTGTAAACACCACGGCAAGAGATTGAGGTTCTCTATATTCGGAATGTAACTTTGAG GACGCTGGGGAATATACGTGCTGGCGGTAATCTATGGGATACTTCCACICGCAIGGTGACAGTCTGCCAGCGCTGGGAAGAGA AAAGGATTTACAGCTTCCCAGACTACTGGAGATAGCCATTTACTGATAGGGTCTTCTTAATCGGCTGTATGGTGGTAAACAGTCACTCC TGTGCCGAATGAAGAACACGCAAGAACCCAGACTTCCAGCAGCCCGGCTGTGCACAAGCTGACCCAACGTAATCCCTCCCGGAGACA GGTAACAGTTTCGGCTGAGTCCAGTCTCTCAAGCTCAACACCCCGCTGGTAGGATAACAACACCGCTCTTCAACCGGACACACCC CCATGCTGGCAGGGTCTCCGAGTATGAACCTCCAGAGGCCCAAAATGGGAGTTTCCAAAGAGATAAGCTGACACTGGCAAGCCCTGGG AGAAAGTTGCTTGGGCAAGTGGTCAITGGCGAAGCAGTGGGAATGACAAAGACAAGCCCAAGGAGCGGCTCACCGTGGCCGIGAAAGAI GTTGAAAGATGATGCCACAGAGAAAGACCTTCTGTGATCTGGTGTACAGAGATGGAGATGATGAAGATGATTTGGGAAACACAAGAATACTATA AATCTCTTGGAGCCCTGCACACAGGATGGCCCTCTATGTATAGTATGCTCTAAAGGCAACCTCCGAGATACTCCCGAGCCCG GAGGCCACCCGGGATGAGTACTCTATGACATTAACCGTGTCTCGAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTGGTGTATGACCTACCAAGC TGGCCAGAGGCAATGGATGAGTACTTGGCTTCCCAAAAATGATTCATCGAGATTTAGCAGCCAGAAAATGTTGGTAACAGAAAACAATGIGATG AAAATAGCAGACTTTGGACTCGCCAGAGATAACAATAATAGACTATTAACAAGACCCCAATGGGGGCTCCAGTCAAGTGGATGG CTCCAGAAAGCCCTGTGTGATAGATATACACTATCAGACTCAGAGTGTGCTGGGCTGTAAATGTTGGAGATCTTCACTTTAGGGGGCT CGCCCTAACCCAGGGATTCGGTGGAGAACTTTTAAAGCTGTGAAGGAGGACACAGAATGGATAAGCCAGCCAACTGCACCAACGAACT GTACATGATGATGAGGGACTGTGGCAATGCAAGTGGCCCTCCAGAGACCAAGCTTCAAGCAGTGGTAGAAGACTTGGATCGAAITTCACCTC TCACAACCAATGAGTGGCAGATGATCAGGGCTGTATTGAAGAGCAGGGGGTTGAGGATTCAGCAAAATGAAGATTCAGTGGATGCTAAGCC AGACCGTCTCCTGTTGTACCGTCCCTTTCAGTAAAGAAAGAAAATGTCAACCATGGATCCATCAAGACCACCCGGACCGAGTGCCTA CATATCAGTACAACATGAATTTGAAAGCTGGGCAATGCATCATATAACAACAAGAACTTGTATAAGTGACAGGTATGGCCGTTCG AAAACGGAACAGACAAAGATGCCGAGGGCTCTCAAGTGTCTCCGAAGCCCTGGTGTGACGTGTATGCTATAATGACTGCTCTGTGCCA AGATGCAAGATCTGCTTAAAAAAGCTTCTGAAGAGCACAATAAATGCCGCTGCTTCCGCTGCATCCTCTTAAGCCATGGAGAAGAAA TGTAAATTTATGGGAAAGATGGTGCACACCAATAAAGGATTTGACAGCCCACTTAGGGGGGATAGATGCAAAAACCCTTTITAGAGAAAACCC AAACTCTTTCATTCAGGCTTCCGAGGGACCGAGCTTGTATGGCATCCAGGCCACTCGGGCCCACTCAATGACACAGATGCTAATCC TCGATACAAGATCCCAGTGGAAAGTACTTCTTCGCTATTCACGGTCCAGGCTTACTCTGGAGGAGCCAGGAAAGAGGCTCT GGTTTGTGCAAGCCCTCTGCTCCATCTGGAGGAGCAGGAAAAGACCTGGAAAATCAIGCAGATCTCACCAGGGTGAATGACAGAGTTGC CAGGCACCTTTGAGTCTCAGTCTGATGACCCACACTCCATGAGAAGAAGCAGATCCCTGTGTGGTCTCCATGCTCAACCAAGGAACTCTACT TCAGTCAATAG</p>
<p>FGFR2:CCD >ATGGTCAGCTGGGTCGTTTCATCTGCCCTGGTTCACCATGGCAACCTTGTCCCTGGCCCGCCCTCCCTCAGTTTGTAGGATAC CACATTAGAGCCAGAGAGCCACCAACCAATACCAAAATCTCAACCAGAAAGTACGTGGCTGGCCAGGGGAGTCGCTAGAGGTGGCC TGCCCTGTGAAAGATGCCCGCCGTGATCAGTTGGACTAAGGATGGGCTGCACCTGGGGCCCAACAATAGGACAGTGCCTTATTGGGGAGTACTT</p>	

[0366]

<p>(SEQ ID NO:63)</p>	<p>GCAGATAAAGGGGCCACCGCTAGAGACTCCGGCCCTCTATGCTTGTACTGCCAGTAGGACTGTAGACAGTGAAGAACTTGGTACTTCAATGGTGA ATGTCACAGATGCCATCTCATCCGGAGATGATGAGGATGACACCGATGTTGCGGAAGATTTTGTCAAGTGAACAGTAAACAACAAGAGAGC ACCATCTGGACCAACACAGAAAAGATGGAAAAGCGGCTCCATGCTGTGCTGCGGCAACACTGCAAGTTTCGCTGCCAGCCGGGGGG AATCCAAATGCCAAACCATCGGTGCTGAAAACGGGAAGGATTAAGCAGGAGCATCGCATTTGGAGGCTACAAGGTACGAAACCCAGCAC TGGAGCCTCATTATGGAAGTGTGGTCCCATCTGACAAAGGAAATTAACCTGTGTAGTGGAGAAATGAAATACGGGTCCATCAATCAACACGTA CCACCTGGATGTTGTGGAGGATCGCCTCACCGGCCCATCCCTCAAGCCGGACTGCGGCAATGCTCCACAGTGGTCCGAGGAGACGTA GAGTTGTCTGCAAGGTTTACAGTGTGCCAGCCCAATCCAGTGGATCAAGCAGTGGAAAAGAACCGGCAATAATACGGGCCCGACG GGCTGCCCTACCTCAAGTTCTCAAGGCCCGCGGTAAACACCACGGACAAGAGATTGAGGTTCTCTATATTCGGAATGTAACCTTTGAG GACGCTGGGAAATATACGTGCTTGGCGGTAATCTATTTGGGATAICCTTTCACCTGCAITGTTGACAGTTCGCCAGCGCTTGAAGAGA AAAGGAGATTACAGCTTCCCAAGACTACCTGGAGATGCCATTTACTGCAIAGGGGTCCTCTTAAATCGCCTGTATGGTGTAAACAGTCAATCC TGTGCCGAATGAAGAACACGACCAAGAGCCAGACTTCAGAGCCAGCCGGCTGTGACACAAGTGAACCAACGTAATCCCTCCGGAGACA GGTAACAGTTTCGGCTGAGTCCAGTCTCCATGACTCCAAACACCCCGCTGGTGGAGGATAACAACACGCTCTCTCAACGGCAGACACCC CCAATGCTGGCAGGCTCCGAGTAACTCCAGAGGCCCAAAATGGGAGTTTCCAAAGATAAGTACACTGACAGTAAAGTACACTGGCAAGCCCTGGG AGAAGTTGCTTTGGCAAGTGGTCAATGGCGAAGCAGTGGAAATGACAAAGACAAAGCCAAAGGAGGCGGTACCCGTGGCGGTGAAGAT GTTGAAAGATGATGCCACAGAGAAAGACCTTTCIGACTGTGTCAGAGATGGAGATGATGAAATGGGAAACAACAAGAAATATCAATA AATCTCTTGGAGCCTGCACACAGGATGGCCCTCTATGTCTATAGTTGAGTATGCCTTAAAGGCAACCTCCGAGATAACCTCCGAGCCCG GAGGCCACCCGGATGGATCTCTATGACATTAACCGTGTCTGAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTGGTGTGATGCACTACCTACCAAGC TGGCCAGAGGCATGGAGTACTTGGCTTCCAAAATGATTCATCGAGATTAGCAGCCAGAAATGTTTGGTAAACAGAAAACAATGTGATG AAAATAGCAGACTTGGACTCGCCAGAGATAACAATAATAGACTATTAACAATAAGACCAATGGCGGCTTCCAGTCAAGTGAAGTGAATGG CTCCAGAAAGCCCTGTGTGATAGAGTATACACTCAICAGAGTGTGTTGTTTAAATGTTGGGAGTCTTCACTTATAGGGGCTTACCTTATAGGGGCT CGCCCTACCCAGGATTCCTCGTGGGAACTTTTAAAGTGTGAAAGGACACAGATGGATAAGCCAGCCAACCTGCCACCAACGAAACT GTACATGATGATGAGGACTGTGGCATGACGTGCCCTCCAGAGACCAACGTTCAAGCAGTGTGTAAGACTTGGATCGAAATCTCAGCTC TCACAACCAATGAGCAAGCCAGGCTGAGCAGGAAGAATTCATAGTAACTTTTAAAGAAATTCAGGCTTTCAGCAATGAGAAAGGAA AGAAACCCCTGCTGTAATATGAGAAAGAAAGAAATCCCTCAATAAGTGTCTCCAGAAAATTTGATGCAATGTCAGCATGAGAAAAGCC GAACTAGAACAGCATCTTGAAACAAGCAGGAATTCAGGTCAACAACTGATGAAGAAAATTAATAAACTGGAGAAATGACACCATTTCTA AGCAACTTACATTAGAACAGTTGAGACGGGAGAGATTGACCTTGAATAACATTTGAAACAAGAAACAAGCACTAGTTAATCGCCTCTG GAAAAGGATGGATAAGCTTGAAGCTGAAAAGCGAATCCGTGAGGAAAATAAGACCCAGCCGCTCTGCTCCACCACTGCCCTAGAGATATC TCCAATGGAGATTGATTCAGAAAATATGATGCGTCAATCAGGTTTTTAAAGAAATGAAATGGAACGGCTGAAGAAGCAACTGAGAGCTG CTCAGTTACAGCATTCAGAGAAAATGGCACAGTATCTGGAGGAGAACGTCACATGAGAGAAGAACTTGAGGCTCCAGAGGAAAGCTGC AGAGGAGATGGAGAGAAAGAAAGCCCTCTGTGCAAGCTCCGAGAGTGAATCCAGCTTAGAAATGGACGACGAAAGGATTTTAAATG AGATGCTGCACAAAGGATTAAGACTCGCATGTGTCCAGCCCGATCCCTACACACTTCCGAGTTCCAGGTTCAAGCAGGCTATATCACCTGGT CTATCATATGCAAGTCAACGGTGGTTTACGCCACCACTTCACTGACTAGAGTGGAAATGCTTATTAACAATTTCCCGGGTCTTCAACCTG CAGCACATGGAAACATCCCATGTTATCAAAAGCCCTTCAACCGGAAAGAAACAGTCTGACAAAATTCAAACGGCCACCGCCCTCCAT CTCCCAACACAGACCCAGTCCAGCCACCTCCGCTCCACCTCCGCCACCCATGACAGCCACCGTCCCTTCAGCAGCCACCTCCGAGCCT ACTCTTCGCAACATTCGGCGCACCCCTCTCCAGCCTTAA</p>
-----------------------	--

[0367]

<p>FGFR2:OFD 1 (5229 个 碱基对) (SEQ ID NO:64)</p>	<p>>ATGGTCAGCTGGGGTCGTTTCACTGCCTGGTGGTCCACCATGGCAACCTTGTCCCTGGCCCGGGCCCTCCTTCAGTTTAGTTGAGGATAC CACATTAGAGCCAGAAAGCCACCAACCAATAACCAATCTCTCAACCAAGAGTGTACGTGGCTGGCCAGGGAGTCCGCTAGAGGTGGCC TGCCCTGTGAAAGATGCCCGCTGATCAGTTGGACTAAGGATGGGTGCATGGGCCCAACAATAGACACAGTCTTATGGGAGTACTT GCAGATAAAGGGCCACAGCCTAGAGACTCCGGCCTATGTACTGCCAGTAGACTGTAGACAGTGAACACTTGGTACTTCAATGTTGTA ATGTACAGATGCCAICTCAICCGGAGATGAGGATGACACCCGATGGTGGGAAAGATTTGTGAGTGAACACAGTAAACAACAAGAGAGC ACCATACTGGACCAACACAGAAAGATGGAAAGCGGCTCCAAGTGTGCTGCGGCCAACACTGTCAAGTTTCGTGCCCCAGCCCGGGGG AACCCAAATGCCAACCATGGGTGGCTGAAACCGGGAAGGAGTTTAAAGCAGGAGCATCGCATTGGAGGTACAAGGTACGAAACCCAGCAC TGGAGCCTCATATGGAAAGTGTGTTCCCATCTGACAAGGAAATTAACCTGTGTAGTGGAGAAATGAATACGGGTCCATCAATCACACGTA CCACCTGGATGTGTGGAGCGATCGCTACCGGCCCATCTCCAAGCCGACTCCGGCAATGCTCCACAGTGTGTCGGAGGAGACGTA GAGTTGTGCAAGGTTTACAGTGAAGTCCAGCCCAAGCCCAACATCCAGTGGATCAAGCACGTGGAAAAGAAACGGCAGTAAATAACGGCCCGGACG GGCTGCCCTACCTCAAGGTTCTCAAGGCGCCGGTGTAAACCAACAGGACAAAGATTTGAGGTCTCTATAATCCGGAATGTAACCTTTGAG GACGCTGGGGAATAACGTGTCTGGCGGTAACTATTTGGGATATCCCTTCACTCTGCTGGTGTGACAGATTTCTGCCAGCCGCTGGAAGAGA AAAGGAGATTACAGTCTCCCAAGACTACCTGGAGATAGCCATTAACGCTAGGGTCTTCTTAACTCCCTGTATGGTGGTAACACAGTCACTC TGTGCCGAATGAAGAACACGACCAAGAACGACCTCAGCAGCCCGCTGTGCAACAAGCTGACCAACAGTATCCCTCCGCGGAGACA GGTAACAGTTTCCGGTGGTCCAGTCCCTCCATGAACCTCCCAACACCCCGCTGGTGGAGGATAACAACACCGCTCTCTTCAACGGCAGACACCC CCATGTGGCAGGGGTCTCCGAGTATGAACTTCCAGAGAACCCAAATGGGAGTTTCCAAAGATAAGCTGACACTGGGCAAGCCCTGGG AGAAGTTGCTTTGGGCAAGTGGTCAATGGCGGAAGCAGTGGGAATTGACAAGACAAGCCCAAGGAGGGCTCACCCGTGGCCGTGAAGAT GTTGAAAGATGATGCCACAGAAAGACCTTCTGTATCTGTGTGTCAGAGATGGAAGATGATGAAATGGGAAACACAAGAATATCATA AATCTCTTGGAGCTGCACACAGGATGGCCCTCTATGCTATGCTAGTTGAGTATGCTTAAAGCAACCTCCGAGATACTCCCGAGCCCG GAGCCACCCGGGATGGAGTACTCCTATGACATTAACCGTGTCTCCAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTGGTGTCAIGCACCTACCAGC TGGCCAGAGGCAATGGAGTACTTGGCTTCCCAAAAATGTAATTCATCGAGATTTAGCAGCCAGAAAATGTTTGGTAAACAGAAAACAATGTGATG AAAATAGCAGACTTTGGACTCGCCAGAGATAACAATAATAGACTATTACAAGACCACCAATGGGCGGCTCCAGTCAAGTGGATGG CTCCAGAAAGCCCGTTTGTATAGATATACACATCAGAGTGTGTGGTCTCGGGGTGTTAATGTGGGAGATCTTCACTTTAGGGGGCT CGCCCTACCCAGGATTCCTGGAGAACCTTTTAAAGTGTGAAAGGAGGACACAGATGGATAAGCCAGCCAACTGCACCAACGAACT GTACATGATGAGGGACTGTGGCATGCAGTGCCTCCAGAGACCACCTTCAAGCAGTGGTAGAAGACTTGGATCGAATTCCTCACTC ICACAACCAATGAGACACAACCTTCGAAACCAGCTAAATTCATGAGTTGATGCACCCCTGTATTGAGTGGAGAACTGCAGCCTCGGTCCATTTCA GTAGAAGGGAGCTCCCTTTAATAGGGCCCTTAACCTTTTAGTGGCAGATCACTTACAAGATGTGGCTATGAATAATCACTTTCTGTTTTC TTTCCAGAAAGTGGTGTGGCAAAAGAAAGGTATTTACTATGCAGGATCTATTACAATCAATAAAATCAACCCCTACTCCAGTCTACAA ATCACTGTTTCAGGATCTGATAAGAAAATCAAAAAGGTTTCTTATGCAATTTTAAAGAAATGGCAGAAATCATCAAGCTAAAGAGA GTTGTAATATGGAAACTCAGACAAGTTCGACATTTAACAGAGATTTCTGGCTGAGAAGCTTCAAGCTTATGATGATCAGTTTGCAGATGCT TACCCTCAGCGTATCAAGTTTCGAACTTTAGAAATAAAGCTTAAATGAGTATAAGAGAGAAATAGAAGAGCAACTCGGGCAGAAATGTGTC AAAAATTGAAAGTTTTTAAAGATACCGAGATAGCAAAAATTAATTAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGTAAAGT ATGATTTGAAAAGCTTGTCAAGCAAAATCTGAAGCTCTCGTTCTCGGGAAGAGTACCCTTTGAAAGAAATTCACAAGCCCAAGAGATT GAAACAAAAGAAATTTATGCTCAAAGGCAACTTTTACTAAAGATATGGAATTTGCTAAGAGGAAAGAGAAAGCAGCTGAAGCAAAAGATT GAAGCTTTTGAATTTGAACCCAGAAAGCTCCAGGAAGAAAACATAAAGCATAACTGAGGCACTTAGGAGACAGGAGCAGAAATATAAAGAT</p>
--	---

[0368]

```

TTTGAGGAGACCTATGACCCGAAAGCTCAAGAATGAACCTTCTAAAGTATCAACTTGAAGGATGACTACATCATTAGAACTAAATCGACT
GATTGAAGATGAAAGGAAGAAATAAGAAAAAGCTGTTTCATTTCGCAAGAGGAGCTCATAGCTATTAATTCAAAAAAGGAGGAACTCAATCA
ATCTGTAATTCGTGAAAGAACTTGAGCTTGAATAGAGTCTGCAAGGCCAGTCTTGGCAATAACAAAAAACAACCAATATGCTGAATG
AAAAAGTTAAAGAGATGAGTGATTAATCACTACTAAAAGAAAGAACTGGAGCTTCTGGCACAATAAATTAATAAACAACAACAACTGGA
AGAGAGTAGAAAATGAAAACCTGCGTCTCCTAAACCGCTAGCTCAGCCGGTCTCTGAACTTGCAGTCTTTCAGAAAAGAACTACGGAAAGCC
GAAAAGGCTATAGTGGTTGAGCATGAGGAGTTCGAAAGCTGCAAGGCAAGCTGCAACAACAAGTCAAGAGCAGAAATTTGAGCAATTTGCAAC
AGCTGAAGGCCAGATTCTAGGTTACAAAGCTTCTGTAAAGAGTTTAACTACTCAGGTTGCCGATTTAAATTTGCAACTGAAAGCAAACTCAG
ACAGCCCTAGAGAAATGAAGTACTGCAATCCAAAGCAGTCTGTGATCGATCGTCTGCAATGGATTAAATAATGGCAATGTGGTGCCTTG
CAATGGTGAGATAAGTGGGATTTCTTGAAACAATCCTTTTAAACAGGAAACGTTCTAGCACGATGTTGATGCTCAAGGATCACAATAATATC
CAACTGCAATGGGTGGAGGTAGTCCCTGATCTGACCTTGAGTTTGTAGCCAAATACTAAGGCAAGGTCAAAAGAGCTTCAGCAAGAGGC
CGAAAGCTTGGAAAAGGCTTTCAGAAAGTTACCAATCGGAGAGTCAATTAATAAATCTGCAAAAAGCCCACTAGCAGCAAAAGAGCCCACTCT
CTGCACTTGTGGAAAGCCTTCAAAAACATTAATCTCCAGTTCCTCCGGAAGACAATAATTTTGGAGAGGACAGAGTTGTCTGTGAGCAGCCTCA
AGTGGGCACACTTGAAGAAAGGAAATGACGTCGTGGAAAGCACTGACAGGCACTGCAAGCTCGAGGCTCCGCGGGGCACTTCTCCAGAGCC
CTCTTCCACACCCCTTCCAAAGCAAAAAGAAAGCCTCGAAAGTGAATGTATCTGGAAGGCTGGGCAAGATCACACACTTGTCTCCCCAG
TCCTTGTCTGACAGAAATGCCCTTACCATCACCCTGAGTCTAGGCCACAGCTCTCCATCCCTCTGCTCCAGCCCTCCGGAGCAGAAAAGT
GGGCTTTATCGAAGACAAAACCTGAACCTTCAAGACAAAAGTGAATTTTCAGATGGGACAAAGTCTAGCTTTTAAAGGATAATGAGGAGTTTGAAT
CATCTTTTGAATCTGCAGGGAACATGCCAAGGCAATGGGAGGCTTCTCTCCGCGGATAIGTCTCATGTGGACGCTGTGCA
GCTGCTGTGCCCTCTCATATCAGCACCCCAAGTGTAGATCAGAAAACAATTTGAAGAACAAAAGGAAAGAAAGAAAATAACGGGAAACAGCAA
GTGAAGAAGCAAGGCGAGAGAAAGAAAGGCAAGTAACTCAAGAGTTTGAAGAAAGGAAACGAAAGAGAACTAGAAAAACTGTA
TCAGGAAAGGAAAGATGATTTGAAGAAATCACTGAAGATTAATAATAAAGGAAATGAAATGGAATAATGAAATGAAATGAGTAAATCAAGA
AATAAAGACAAAATCTGCTCACAGTGAATAATCCTTTAGAGAAATACATCCAGCAGGCAAGCAAGCAGGAGTCCGGCAGATAA
GAGCTCAAAAAGATGGTCCAAAGAAAGGCTCCCTAGTGGACACGCTGCAATCTAGTGACAAAAGTCGAAAAGTTTAAACAGGCTTTTCTCATGAA
GAACTAGACGACTCTTGGTAA

```

[0369]

实施方案

[0370]

以下所列的实施方案旨在补足而不是取代或代替之前的描述。

[0371] 实施方案1.一种鉴定对用成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 抑制剂进行治疗有反应的癌症患者的方法,该方法包括:

[0372] 评估来自患者的生物样品中来自FGFR突变基因组的FGFR突变体,其中所述FGFR突变体是FGFR融合基因或FGFR单核苷酸多态性,并且其中所述评估包括:

[0373] 用与来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体结合并对其扩增的引物对扩增cDNA;以及

[0374] 确定样品中是否存在来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体,其中存在一种或多种FGFR突变体表示患者对用FGFR抑制剂进行治疗有反应。

[0375] 实施方案2.一种鉴定对用成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 抑制剂进行治疗有反应的癌症患者的方法,该方法包括:

[0376] 评估来自患者的生物样品中来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体的存在,其中所述FGFR突变体是FGFR融合基因或FGFR单核苷酸多态性,其中存在一种或多种FGFR突变体表示患者对用FGFR抑制剂进行治疗有反应。

[0377] 实施方案3.根据实施方案1或2所述的方法,其中FGFR融合基因包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。

[0378] 实施方案4.根据实施方案1或2所述的方法,其中FGFR单核苷酸多态性包括R248C、S249C、G370C或Y373C,或它们的任何组合。

[0379] 实施方案5.根据实施方案1或2所述的方法,其中该癌症是膀胱癌,并且该FGFR突变基因组包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0380] 实施方案6.根据实施方案1或2所述的方法,其中该癌症是转移性膀胱癌,并且该FGFR突变基因组包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0381] 实施方案7.根据实施方案1或2所述的方法,其中该癌症是卵巢癌,并且该FGFR突变基因组包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0382] 实施方案8.根据实施方案1或2所述的方法,其中该癌症是头颈癌,并且该FGFR突变基因组包括FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0383] 实施方案9.根据实施方案1或2所述的方法,其中该癌症是转移性头颈癌,并且该FGFR突变基因组包括FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:CASP7或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。

[0384] 实施方案10.根据实施方案1或2所述的方法,其中该癌症是食管癌,并且该FGFR突变基因组包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR2:BICC1、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0385] 实施方案11.根据实施方案1或2所述的方法,其中该癌症是转移性食管癌,并且该

FGFR突变基因组包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCD6或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。

[0386] 实施方案12.根据实施方案1或2所述的方法,其中该癌症是非小细胞肺癌腺癌,并且该FGFR突变基因组包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0387] 实施方案13.根据实施方案1或2所述的方法,其中该癌症是非小细胞肺癌鳞状细胞癌,并且该FGFR突变基因组包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0388] 实施方案14.根据实施方案1或2所述的方法,其中该癌症是转移性子宫内膜癌,并且该FGFR突变基因组包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。

[0389] 实施方案15.根据实施方案1或2所述的方法,其中该癌症是乳腺癌,并且该FGFR突变基因组包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCD6或FGFR2:OFD1,或它们的任何组合。

[0390] 实施方案16.根据实施方案1或2所述的方法,其中该癌症是肝细胞癌,并且该FGFR突变基因组包括FGFR3:TACC3 v1、FGFR3:TACC3 v3、FGFR3:TACC3内含子、FGFR3:BAIAP2L1、FGFR2:BICC1、FGFR2:AFF3、FGFR2:CASP7、FGFR2:CCDC6、FGFR2:OFD1、FGFR3 R248C、FGFR3 S249C、FGFR3 G370C或FGFR3 Y373C,或它们的任何组合。

[0391] 实施方案17.根据实施方案2至16中任一项所述的方法,其中评估包括用与来自FGFR突变基因组的一种或多种FGFR突变体结合并对其扩增的引物对扩增cDNA。

[0392] 实施方案18.根据实施方案17所述的方法,其中cDNA是预扩增的cDNA。

[0393] 实施方案19.根据前述实施方案中任一项所述的方法,其中FGFR突变体和引物对为:

[0394] FGFR3:TACC3 v1和具有SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的氨基酸序列的引物;

[0395] FGFR3:TACC3 v3和具有SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的氨基酸序列的引物;

[0396] FGFR3:TACC3内含子和具有SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的氨基酸序列的引物;

[0397] FGFR3:BAIAP2L1和具有SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12的氨基酸序列的引物;

[0398] FGFR2:BICC1和具有SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14的氨基酸序列的引物;

[0399] FGFR2:AFF3和具有SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16的氨基酸序列的引物;

[0400] FGFR2:CASP7和具有SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的氨基酸序列的引物;

[0401] FGFR2:CCDC6和具有SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的氨基酸序列的引物;

[0402] FGFR2:OFD1和具有SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22的氨基酸序列的引物;

[0403] R248C和具有SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24或者SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32的氨基酸序列的引物;

[0404] S249C和具有SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26或者SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34的氨基酸序列的引物;

- [0405] G370C和具有SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28或者SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的氨基酸序列的引物;
- [0406] Y373C和具有SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30或者SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38的氨基酸序列的引物;
- [0407] 或它们的任何组合。
- [0408] 实施方案20.根据前述实施方案中任一项所述的方法,其中评估包括:
- [0409] 从生物样品中分离RNA并由分离的RNA合成cDNA。
- [0410] 实施方案21.根据实施方案20所述的方法,还包括在扩增步骤之前预扩增cDNA。
- [0411] 实施方案22.根据实施方案1或3至21中任一项所述的方法,其中对cDNA进行预扩增。
- [0412] 实施方案23.根据实施方案1或3至22中任一项所述的方法,其中扩增步骤包括进行实时PCR。
- [0413] 实施方案24.根据实施方案23所述的方法,其中实时PCR用一种或多种探针进行,所述探针包括SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54和/或SEQ ID NO:55。
- [0414] 实施方案25.根据实施方案23或24所述的方法,其中实时PCR用一种或多种3' 阻断寡核苷酸进行,所述3' 阻断寡核苷酸包括SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41和/或SEQ ID NO:42。
- [0415] 实施方案26.根据实施方案1或3至25中任一项所述的方法,其中所述测定步骤包括对扩增的cDNA进行测序。
- [0416] 实施方案27.一种用于鉴定生物样品中一种或多种FGFR突变基因的存在的试剂盒,该试剂盒包括:
- [0417] 具有以下序列的引物对:SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38,或它们的任何组合;以及
- [0418] 用于进行测定以检测一种或多种FGFR突变基因的说明书。
- [0419] 实施方案28.根据实施方案27所述的试剂盒,还包括一种或多种探针、一种或多种3' 阻断寡核苷酸或以上两者。
- [0420] 实施方案29.根据实施方案28所述的试剂盒,其中
- [0421] a. 引物对具有SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的序列,并且探针具有SEQ ID NO:43的序列;
- [0422] b. 引物对具有SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的序列,并且探针具有SEQ ID NO:44的序列;
- [0423] c. 引物对具有SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的序列,并且探针具有SEQ ID NO:46

的序列;

[0424] d. 引物对具有SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12的序列,并且探针具有SEQ ID NO:47的序列;

[0425] e. 引物对具有SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14的序列,并且探针具有SEQ ID NO:45的序列;

[0426] f. 引物对具有SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16的序列,并且探针具有SEQ ID NO:48的序列;

[0427] g. 引物对具有SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的序列,并且探针具有SEQ ID NO:49的序列;

[0428] h. 引物对具有SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的序列,并且探针具有SEQ ID NO:50的序列;

[0429] i. 引物对具有SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22的序列,并且探针具有SEQ ID NO:51的序列;

[0430] j. 引物对具有SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24的序列,并且探针具有SEQ ID NO:52的序列;

[0431] k. 引物对具有SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26的序列,并且探针具有SEQ ID NO:53的序列;

[0432] l. 引物对具有SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28的序列,并且探针具有SEQ ID NO:54的序列;

[0433] m. 引物对具有SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30的序列,并且探针具有SEQ ID NO:55的序列;

[0434] n. 引物对具有SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32的序列,探针具有SEQ ID NO:52的序列,并且3'阻断寡核苷酸具有SEQ ID NO:39的序列;

[0435] o. 引物对具有SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34的序列,探针具有SEQ ID NO:53的序列,并且3'阻断寡核苷酸具有SEQ ID NO:40的序列;

[0436] p. 引物对具有SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36的序列,探针具有SEQ ID NO:54的序列,并且3'阻断寡核苷酸具有SEQ ID NO:41的序列;

[0437] q. 引物对具有SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38的序列,探针具有SEQ ID NO:55的序列,并且3'阻断寡核苷酸具有SEQ ID NO:42的序列;或者

[0438] r. 它们的任何组合。

[0439] 实施方案30. 一种具有以下氨基酸序列的引物:SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38,或它们的任何组合。

[0440] 实施方案31. 一种具有以下序列的引物组:SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12、SEQ ID

NO:13和SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27和SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29和SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38,或它们的任何组合。

[0441] 实施方案32.一种具有SEQ ID NO:43至55中任一者或它们的任何组合的序列的寡核苷酸探针。

[0442] 实施方案33.一种具有SEQ ID NO:39至42中任一者或它们的任何组合的序列的寡核苷酸。

	<110> JANSSEN PHARMACEUTICA N. V.	
	<120> USE OF FGFR MUTANT GENE PANELS IN IDENTIFYING CANCER PATIENTS THAT WILL BE RESPONSIVE TO TREATMENT WITH AN FGFR INHIBITOR	
	<130> 103693.000782	
	<140>	
	<141>	
	<150> 62/056, 159	
	<151> 2014-09-26	
	<160> 73	
	<170> 专利第 3.5 版	
	<210> 1	
	<211> 268	
	<212> DNA	
[0001]	<213> 智人	
	<400> 1	
	tcggaccgcg gcaactacac ctgcgtcgtg gagaacaagt ttggcagcat ccggcagacg	60
	tacacgctgg acgtgctgga gtgctccccg caccggccca tctgcaggc ggggctgccg	120
	gcccaaccaga cggcgggtgct gggcagcgac gtggagtcc actgcaaggt gtacagtgac	180
	gcacagcccc acatccagtg gctcaagcac gtggaggatga atggcagcaa ggtgggccccg	240
	gacggcacac cctacgttac cgtgctca	268
	<210> 2	
	<211> 378	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 2	
	gaccgcgcca actacacctg cgtcgtggag aacaagtttg gcagcatccg gcagacgtac	60

	acgctggacg tgctgggtga gggccctggg gcggcgcggg ggtggggcg gcagtggcgg	120
	tggtggtgag ggaggggtg gccctgagc gtcattctgc cccacagagc gctgcccga	180
	ccggcccatc ctgcaggcgg ggctgccggc caaccagacg gcggtgctgg gcagcgacgt	240
	ggagttccac tgcaagggtg acagtgacgc acagccccac atccagtggc tcaagcacgt	300
	ggaggtgaat ggcagcaagg tgggcccgga cggcacacc tacgttaccg tgctcaaggt	360
	gggccaccgt gtgcacgt	378
	<210> 3	
	<211> 234	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 3	
	gcgggcaatt ctattgggtt ttctcatcac tctgcgtggc tggtggtgct gccagccgag	60
[0002]	gaggagctgg tggaggctga cgaggcgtgc agtgtgtatg caggcattct cagctacggg	120
	gtgggettct tctgttcat cctggtggtg gcggctgtga cgctctgccg cctgcgcagc	180
	cccccaaga aaggcctggg ctccccacc gtgcacaaga tctcccgtt cccg	234
	<210> 4	
	<211> 301	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 4	
	ctagaggttc tctcettgca caacgtcacc tttaggacg ccggggagta cacctgcctg	60
	gcgggcaatt ctattgggtt ttctcatcac tctgcgtggc tggtggtgct gccagccgag	120
	gaggagctgg tggaggctga cgaggcgggc agtgtgtgtg caggcattct cagctacggg	180
	gtgggettct tctgttcat cctggtggtg gcggctgtga cgctctgccg cctgcgcagc	240
	cccccaaga aaggcctggg ctccccacc gtgcacaaga tctcccgtt cccgctcaag	300

	c	301
	<210> 5	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意=“人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 5	
	gacctggacc gtgtccttac c	21
	<210> 6	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0003]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意=“人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 6	
	cttccccagt tccaggttct t	21
	<210> 7	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意=“人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 7	
	aggacctgga ccgtgtcctt	20
	<210> 8	
	<211> 20	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 8	
	tataggtccg gtggacaggg	20
	<210> 9	
	<211> 15	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 9	
[0004]	ggccatcctg ccccc	15
	<210> 10	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 10	
	gagcagtcca ggtcagccag	20
	<210> 11	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	

	<223> /注意= “人工序列的描述: 合成引物”	
	<400> 11	
	ctggaccgtg tccttaccgt	20
	<210> 12	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述: 合成引物”	
	<400> 12	
	gcagcccagg attgaactgt	20
	<210> 13	
	<211> 23	
[0005]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述: 合成引物”	
	<400> 13	
	tggatcgaat tctcactctc aca	23
	<210> 14	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述: 合成引物”	
	<400> 14	
	gccaaagcaat ctgcgtatatt g	21

<210> 15
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”

<400> 15
 tggtagaaga ctggatcga attct

25

<210> 16
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”

[0006]

<400> 16
 tctcccggat tattttctca aca

23

<210> 17
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”

<400> 17
 gctcttcaat acagccctga tca

23

<210> 18
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”		
	<400> 18		
	acttggatcg aattctcact ctca		24
	<210> 19		
	<211> 23		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”		
	<400> 19		
	tggatcgaat tctcactctc aca		23
[0007]	<210> 20		
	<211> 25		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”		
	<400> 20		
	gcaaagcctg aattttcttg aataa		25
	<210> 21		
	<211> 24		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”		

	<400> 21	
	agggtgcatc aactcatgaa ttag	24
	<210> 22	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 22	
	acttggatcg aattctcact ctca	24
	<210> 23	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0008]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 23	
	gcatccggca gacgtaca	18
	<210> 24	
	<211> 15	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 24	
	ccccgcctgc aggat	15
	<210> 25	

	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 25	
	gcatccggca gacgtaca	18
	<210> 26	
	<211> 15	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
[0009]	<400> 26	
	ccccgcctgc aggat	15
	<210> 27	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 27	
	aggagctggt ggaggctga	19
	<210> 28	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 28	
	ccgtagctga ggatgcctg	19
	<210> 29	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 29	
	ctggtggagg ctgacgag	18
	<210> 30	
	<211> 16	
[0010]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 30	
	agcccacccc gtagct	16
	<210> 31	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 31	
	gtcgtggaga acaagtttgg c	21

	<210> 32	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 32	
	gtctggttgg ccggcag	17
	<210> 33	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
[0011]	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 33	
	gtcgtggaga acaagtttgg c	21
	<210> 34	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成引物”	
	<400> 34	
	gtctggttgg ccggcag	17
	<210> 35	
	<211> 19	
	<212> DNA	

<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注意= “人工序列的描述: 合成引物”	
<400> 35	
aggagctggt ggaggctga	19
<210> 36	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注意= “人工序列的描述: 合成引物”	
<400> 36	
ccgtagctga ggatgcctg	19
[0012]	
<210> 37	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注意= “人工序列的描述: 合成引物”	
<400> 37	
gacgaggcgg gcagtg	16
<210> 38	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注意= “人工序列的描述: 合成引物”	

	<400> 38 gaagaagccc accccgtag	19
	<210> 39 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注意= “人工序列的描述：合成寡核苷酸”	
	<400> 39 tggagcgctc cccgcac	17
	<210> 40 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
[0013]	<220> <221> 来源 <223> /注意= “人工序列的描述：合成寡核苷酸”	
	<400> 40 gacgtgctgg agrgctcc	18
	<210> 41 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <221> 来源 <223> /注意= “人工序列的描述：合成寡核苷酸”	
	<400> 41 ctgacgaggc gggcagc	17
	<210> 42	

	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成寡核苷酸”	
	<400> 42	
	gtgtgtatgc aggcacccctc agc	23
	<210> 43	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成探针”	
[0014]	<400> 43	
	tccaccgacg taaagg	16
	<210> 44	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成探针”	
	<400> 44	
	tccaccgacg tgccag	16
	<210> 45	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	

	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述: 合成探针”	
	<400> 45	
	ccaatgagat catggagg	18
	<210> 46	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述: 合成探针”	
	<400> 46	
	ccttctggcc caggtg	16
	<210> 47	
	<211> 17	
[0015]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述: 合成探针”	
	<400> 47	
	caccgacaat gttatgg	17
	<210> 48	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述: 合成探针”	
	<400> 48	
	tcacaaccaa tgaggagagt	20

	<210> 49	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述: 合成探针”	
	<400> 49	
	ctgccatctc attggt	16
	<210> 50	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述: 合成探针”	
[0016]	<400> 50	
	aatgagcaag ccagggc	17
	<210> 51	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述: 合成探针”	
	<400> 51	
	aagttgtgtc tcattggtt	19
	<210> 52	
	<211> 14	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成探针”	
	<400> 52	
	ctggagtgct cccc	14
	<210> 53	
	<211> 13	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成探针”	
	<400> 53	
	agcgctgccc gca	13
[0017]	<210> 54	
	<211> 15	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成探针”	
	<400> 54	
	gcgtgcagtg tgtat	15
	<210> 55	
	<211> 15	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成探针”	

	<400> 55	
	ctgcacacac actgc	15
	<210> 56	
	<211> 2850	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述: 合成多核苷酸”	
	<400> 56	
	atgggcgccc ctgcctgcgc cctcgcgctc tgcgtggcgg tggccatcgt ggccggcgcc	60
	tctctggagt ccttggggac ggagcagcgc gtcgtggggc gagcggcaga agtcccgggc	120
	ccagagcccg gccagcagga gcagttgttc ttcggcagcg gggatgctgt ggagctgagc	180
	tgtccccgc ccgggggtgg tcccatgggg cccactgtct gggtaagga tggcacaggg	240
[0018]	ctggtgccct cggagcgtgt cctgggtggg ccccagcggc tgcaggtgct gaatgcctcc	300
	cacgaggact ccggggccta cagctgccgg cagcggctca cgcagcgcgt actgtgccac	360
	ttcagtgtgc gggtagacaga cgctccatcc tcgggagatg acgaagacgg ggaggacgag	420
	gctgaggaca caggtgtgga cacaggggcc ccttactgga cacggcccga gcggatggac	480
	aagaagctgc tggccgtgcc ggcccacaac accgtccgct tccgctgcc agccgctggc	540
	aaccccactc cctccatctc ctggctgaag aacggcaggg agttccgcgg cgagcaccgc	600
	attggaggca tcaagctgcg gcatcagcag tggagcctgg tcatggaaag cgtggtgccc	660
	tcggaccgcg gcaactacac ctgcgtcgtg gagaacaagt ttggcagcat ccggcagacg	720
	tacacgctgg acgtgctgga gcgtccccg caccggccca tctgcaggc ggggctgccg	780
	gccaaccaga cggcgggtgct gggcagcgac gtggagttcc actgcaaggt gtacagtgac	840
	gcacagcccc acatccagtg gctcaagcac gtggaggtga atggcagcaa ggtgggcccc	900

	gacggcacac cctacgttac cgtgctcaag acggcgggcg ctaacaccac cgacaaggag	960
	ctagaggttc tctccttgca caacgtcacc ttgaggacg ccggggagta cacctgcctg	1020
	gcgggcaatt ctattgggtt ttctcatcac tctgcgtggc tgggtgtgct gccagccgag	1080
	gaggagctgg tggaggctga cgaggcgggc agtgtgtatg caggcatcct cagctacggg	1140
	gtgggcttct tctgttcat cctgggtgtg gcggetgtga cgctctgccg cctgcgcagc	1200
	cccccaaga aaggcctggg ctccccacc gtgcacaaga tctcccgtt cccgctcaag	1260
	cgacaggtgt ccttgagtc caacgcgtcc atgagctcca acacaccact ggtgcgcatic	1320
	gcaaggctgt cctcagggga gggccccacg ctggccaatg tctccgagct cgagctgcct	1380
	gccgaccca aatgggagct gtctcgggcc cggctgacct tgggcaagcc ccttggggag	1440
	ggctgcttcg gccaggtggt catggcggag gccatcggca ttgacaagga ccgggccgcc	1500
	aagcctgtca ccgtagccgt gaagatgctg aaagacgatg cactgacaa ggacctgtcg	1560
[0019]	gacctggtgt ctgagatgga gatgatgaag atgatcggga aacacaaaaa catcatcaac	1620
	ctgctgggcg cctgcacgca gggcgggccc ctgtacctgc tgggtggagta cgcggccaag	1680
	ggtaacctgc gggagtttct gcgggcgcgg cggcccccg gcctggacta ctccttcgac	1740
	acctgcaagc cgcccagga gcagctcacc ttcaaggacc tgggtctctg tgcctaccag	1800
	gtggcccggg gcatggagta cttggcctcc cagaagtga tccacagga cctggctgcc	1860
	cgcaatgtgc tggtgaccga ggacaacgtg atgaagatcg cagacttcgg gctggcccgg	1920
	gacgtgcaca acctcgacta ctacaagaag acgaccaacg gccggtgcc cgtgaagtgg	1980
	atgggcctg aggcettgtt tgaccgagtc taactcacc agagtgaagt ctggtcctt	2040
	gggtcctgc tctgggagat cttcacgctg ggggctccc cgtaccccgg catcctgtg	2100
	gaggagctct tcaagctgct gaaggaggc caccgatgg acaagcccgc caactgcaca	2160
	cacgacctgt acatgatcat gcgggagtgc tggcatgccg cgccctcca gaggccacc	2220

ttcaagcagc tgggtggagga cctggaccgt gtccttaccg tgacgtccac cgacgtaaag	2280
gcgacacagg aggagaaccg ggagctgagg agcaggtgtg aggagctcca cgggaagaac	2340
ctggaactgg ggaagatcat ggacaggttc gaagaggttg tgtaccaggc catggaggaa	2400
gttcagaagc agaaggaact ttccaaagct gaaatccaga aagttctaaa agaaaaagac	2460
caactacca cagatctgaa ctccatggag aagtccttct ccgacctctt caagcgtttt	2520
gagaaacaga aagaggtgat cgagggctac cgcaagaacg aagagtcact gaagaagtgc	2580
gtggaggatt acctggcaag gatcaccagc gaggccaga ggtaccaagc cctgaaggcc	2640
cacgcggagg agaagctgca gctggcaaac gaggagatcg cccaggtccg gagcaaggcc	2700
caggcgaag cgttggccct ccaggccagc ctgaggaagg agcagatgcg catccagtgc	2760
ctggagaaga cagtggagca gaagactaaa gagaacgagg agctgaccag gatctgcgac	2820
gacctcatct ccaagatgga gaagatctga	2850

[0020]

<210> 57
 <211> 2955
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注意= “人工序列的描述：合成多核苷酸”

<400> 57	
atgggcgccc ctgcctgcgc cctcgcgctc tgcgtggccg tggccatcgt ggccggcgcc	60
tcctcggagt ccttggggac ggagcagcgc gtcgtggggc gagcggcaga agtcccgggc	120
ccagagcccg gccagcagga gcagttggtc ttcggcagcg gggatgctgt ggagctgagc	180
tgtccccgc ccgggggtgg tcccatgggg ccactgtct gggtaagga tggcacaggg	240
ctggtgccct cggagcgtgt cctggtgggg cccagcggc tgcaggtgct gaatgcctcc	300
cacgaggact ccggggccta cagctgccgg cagcggctca cgcagcgcgt actgtgccac	360

	ttcagtgtgc gggtagacaga cgctccatcc tcgggagatg acgaagacgg ggaggacgag	420
	gctgaggaca caggtgtgga cacaggggcc ccttactgga cacggcccga gcggatggac	480
	aagaagctgc tggccgtgcc ggcccacaac accgtccgct tccgctgccc agccgctggc	540
	aacccccactc cctccatctc ctggctgaag aacggcaggg agttccgagg cgagcaccgc	600
	attggaggca tcaagctgcg gcatcagcag tggagcctgg tcatggaaag cgtggtgccc	660
	tcggaccgcg gcaactacac ctgctgctg gagaacaagt ttggcagcat ccggcagacg	720
	tacacgctgg acgtgctgga gcgctccccg caccggccca tctgcaggc ggggctgccc	780
	gccaaccaga cggcgggtgct gggcagcgac gtggagtcc actgcaaggt gtacagtgac	840
	gcacagcccc acatccagtg gctcaagcac gtggaggatga atggcagcaa ggtgggcccc	900
	gacggcacac cctacgttac cgtgctcaag acggcggggcg ctaacaccac cgacaaggag	960
	ctagaggttc tctccttgca caacgtcacc tttgaggacg ccggggagta cacctgcctg	1020
[0021]	gcgggcaatt ctattgggtt ttctcatcac tctgctggc tgggtgtgct gccagccgag	1080
	gaggagctgg tggaggctga cgaggcgggc agtgtgtatg caggcatcct cagctacggg	1140
	gtgggcttct tctgtttcat cctgggtgtg gcggctgtga cgctctgccg cctgcgcagc	1200
	cccccaaga aaggcctggg ctccccacc gtgcacaaga tctcccgtt cccgctcaag	1260
	cgacaggtgt ccttgagtc caacgcgtcc atgagctcca acacaccact ggtgcgcac	1320
	gcaaggctgt cctcaggga gggccccacg ctggccaatg tctccgagct cgagctgcct	1380
	gccgaccca aatgggagct gtctcgggcc cgctgacct tgggcaagcc ccttggggag	1440
	ggctgcttcg gccaggtggt catggcggag gccatcgga ttgacaagga ccgggccgcc	1500
	aagcctgtca ccgtagccgt gaagatgctg aaagacgatg ccaactgaca ggacctgtcg	1560
	gacctggtgt ctgagatgga gatgatgaag atgatcgga aacacaaaaa catcatcaac	1620
	ctgctgggcg cctgcacgca gggcgggccc ctgtactgct tgggtggagta cgcggccaag	1680

	ggtaacctgc gggagtttct gcgggcgcgg cggcccccg gcctggacta ctcttcgac	1740
	acctgcaagc cgcccgagga gcagctcacc ttcaaggacc tgggtctctg tgcctaccag	1800
	gtggcccggg gcatggagta cttggcctcc cagaagtga tccacagga cctggctgcc	1860
	cgcaatgtgc tggtgaccga ggacaacgtg atgaagatcg cagacttcgg gctggccccg	1920
	gacgtgcaca acctegacta ctacaagaag acgaccaacg gccggctgcc cgtgaagtgg	1980
	atgggcctg aggccttgtt tgaccgagtc tacactcacc agagtgacgt ctggtcctt	2040
	ggggtcctgc tctgggagat cttcacgctg gggggctccc cgtacccccg catcctctg	2100
	gaggagctct tcaagctgct gaaggaggc caccgcatgg acaagcccgc caactgcaca	2160
	cacgacctgt acatgatcat ggggagtg tggcatgccg cgccctcca gaggcccacc	2220
	ttcaagcagc tggtgagga cctggaccgt gtccttaccg tgacgtccac cgacgtgcca	2280
	ggcccacccc caggtgttcc cgcgctggg ggcccacccc tgtccaccgg acctatagt	2340
[0022]	gacctgctcc agtacagcca gaaggacctg gatgcagtgg taaaggcgac acaggaggag	2400
	aaccgggagc tgaggagcag gtgtgaggag ctccacggga agaacctgga actggggaag	2460
	atcatggaca ggttcgaaga gtttgtgtac caggccatgg aggaagtcca gaagcagaag	2520
	gaactttcca aagctgaaat ccagaaagt ctaaaagaaa aagaccaact taccacagat	2580
	ctgaactcca tggagaagtc cttctccgac ctcttcaagc gttttgagaa acagaaagag	2640
	gtgatcgagg gctaccgcaa gaacgaagag tcaactgaaga agtgcgtgga ggattacctg	2700
	gcaaggatca cccaggagg ccagaggtag caagccctga aggccacgc ggaggagaag	2760
	ctgcagctgg caaacgagga gatcggccag gtccggagca aggccaggc ggaagcgtt	2820
	gccctccagg ccagcctgag gaaggagcag atgcgcatcc agtcgctgga gaagacagt	2880
	gagcagaaga ctaaagagaa cgaggagctg accaggatct gcgacgacct catctcaag	2940
	atggagaaga tctga	2955

	<210> 58	
	<211> 4462	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成多核苷酸”	
	<400> 58	
	atgggcgccc ctgcctgcgc cctcgcgctc tgcgtggccg tggccatcgt ggccggcgcc	60
	tctcggagt ccttggggac ggagcagcgc gtcgtggggc gagcggcaga agtcccgggc	120
	ccagagcccg gccagcagga gcagttggtc ttcggcagcg gggatgctgt ggagctgagc	180
	tgtcccccgc ccgggggtgg tcccatgggg ccactgtct gggtaagga tggcacaggg	240
	ctggtgccct cggagcgtgt cctggtgggg ccccagcggc tgcaggtgct gaatgcctcc	300
[0023]	cacgaggact ccggggccta cagctgccgg cagcggctca cgcagcgcgt actgtgccac	360
	ttcagtgatg ggtgacaga cgctccatcc tcgggagatg acgaagacgg ggaggacgag	420
	gctgaggaca caggtgtgga cacaggggcc cttactgga cacggcccga gcggatggac	480
	aagaagctgc tggccgtgcc ggccgccaac accgtccgct tccgtgccc agccgctggc	540
	aacccactc cctccatctc ctggctgaag aacggcaggg agttccgagg cgagcaccgc	600
	attgaggca tcaagctgcg gcatcagcag tggagcctgg tcatgaaag cgtggtgccc	660
	tcggaccgcg gcaactacac ctgcgtcgtg gagaacaagt ttggcagcat ccggcagacg	720
	tacacgctgg acgtgctgga gcgtccccg caccggccca tctgcaggc ggggctgccc	780
	gccaaccaga cggcgggtgct gggcagcagc gtggagtcc actgcaaggt gtacagtgac	840
	gcacagcccc acatccagtg gctcaagcac gtggaggtga atggcagcaa gttgggcccc	900
	gacggcacac cctacgttac cgtgctcaag acggcgggag ctaacaccac cgacaaggag	960

	ctagaggttc tctccttgca caacgtcacc ttgaggacg ccggggagta cacctgcctg	1020
	gcgggcaatt ctattgggtt ttctcatcac tctgcgtggc tgggtgtgct gccagccgag	1080
	gaggagctgg tggaggctga cgaggcgggc agtgtgtatg caggcatcct cagctacggg	1140
	gtgggcttct tctgttcat cctggtggtg gcggtgtga cgctctgccg cctgcgcagc	1200
	cccccaaga aaggcctggg ctccccacc gtgcacaaga tctcccgett cccgctcaag	1260
	cgacaggtgt ccttgagtc caacgcgtcc atgagctcca acacaccact ggtgcgcatac	1320
	gcaaggctgt cctcagggga gggccccacg ctggccaatg tctccgagct cgagctgcct	1380
	gccgaccca aatgggagct gtctcgggcc cggtgaccc tgggcaagcc ccttggggag	1440
	ggctgcttcg gccaggtggt catggcggag gccatcggca ttgacaagga ccgggccgcc	1500
	aagcctgtca ccgtagccgt gaagatgctg aaagacgatg cactgacaa ggacctgtcg	1560
	gacctggtgt ctgagatgga gatgatgaag atgatcggga aacacaaaaa catcatcaac	1620
[0024]	ctgctgggcg cctgcacgca gggcgggccc ctgtactgic tgggtggagta cgcggccaag	1680
	ggtaacctgc gggagtttct gcgggcgchg cgcccccg gcctggacta ctcttcgac	1740
	acctgcaagc cgcccagga gcagctcacc ttcaaggacc tgggtgtctg tgcctaccag	1800
	gtggccccgg gcatggagta cttggcctcc cagaagtga tccacagga cctggctgcc	1860
	cgcaatgtgc tggtgaccga ggacaacgtg atgaagatcg cagacttcgg gctggccccg	1920
	gacgtgcaca acctcgacta ctacaagaag acgaccaacg gccggctgcc cgtgaagtgg	1980
	atgggcctg aggccttgtt tgaccgagtc tacactcacc agagtgacgt ctggtccttt	2040
	ggggtcctgc tctgggagat cttcacgctg ggggctccc cgtaccccg catcctgtg	2100
	gaggagctct tcaagctget gaaggaggc caccgcatgg acaagcccgc caactgcaca	2160
	cacgacctgt acatgatcat gcgggagtc tggcatgccg cgcctccca gaggccacc	2220
	ttcaagcagc tgggtggagga cctggaccgt gtccttaccg tgacgtccac cgacgtgagt	2280

	gctggctctg gcctggtgcc acccgctat gccctcccc ctgccgtccc cggccatcct	2340
	gccccccaga gtgctgaggt gtggggcggg cctttctggc ccaggtgccc tggctgacct	2400
	ggactgctca agctcttccc agagcccagg aagttctgag aaccaaattg tgtctccagg	2460
	aaaagtgtct ggcagccctg agcaagccgt ggaggaaaac cttagttcct attccttaga	2520
	cagaagagtg acaccgcct ctgagaccct agaagaccct tgcaggacag agtcccagca	2580
	caaagcggag actccgcacg gagccgagga agaatgcaaa gcggagactc cgcacggagc	2640
	cgaggaggaa tgccggcacg gtggggtctg tgctcccga gcagtggcca ctctgctcc	2700
	tggtgcaatc cctaaggaag cctgcccagg agcaccctg cagggtctgc ctggcgaagc	2760
	cctgggctgc cctgcccgtg tgggcacccc cgtgccagca gatggcactc agaccctac	2820
	ctgtgcacac acctctgtc ctgagagcac agccccaacc aaccacctg tggctggcag	2880
	ggccatgacc ctgagtcctc aggaagaagt ggctgcagc caaatggcca gctcctcgag	2940
[0025]	gagcggacct gtaaaactag aatttgatgt atctgatggc gccaccagca aaagggcacc	3000
	cccaccaagg agactgggag agaggctccg cctcaagcct cccttgagga aagcagcagt	3060
	gaggcagcaa aaggccccgc aggaggtgga ggaggacgac ggtaggagcg gagcaggaga	3120
	ggaccccccc atgccagctt ctcggggctc ttaccacctc gactgggaca aatggatga	3180
	cccaaacttc atcccgttcg gaggtgacac caagtctggt tgcagtgagg cccagcccc	3240
	agaaagccct gagaccaggc tgggccagcc agcggctgaa cagttgcatg ctgggcctgc	3300
	cacggaggag ccaggtccct gtctgagcca gcagctgcat tcagcctcag cggaggacac	3360
	gcctgtggtg cagttggcag ccgagacccc aacagcagag agcaaggaga gacccctgaa	3420
	ctctgccagc acctcgttc ccacaagctg tccaggcagt gagccagtgc ccacctca	3480
	gcaggggcag cctgccttgg agctgaaaga ggagagcttc agagaccccg ctgaggttct	3540
	aggcacgggc gcggaggtgg attacctgga gcagtttga acttcctcgt ttaaggagtc	3600

ggccttgagg aagcagtcct tatacctcaa gttcgacccc ctcttgaggg acagtcctgg	3660
tagaccagtg cccgtggcca ccgagaccag cagcatgcac ggtgcaaatg agactccctc	3720
aggacgtccg cgggaagcca agcttgtgga gttcgatttc ttgggagcac tggacattcc	3780
tgtgccaggc ccacccccag gtgttcccgc gcctgggggc ccaccctgt ccaccggacc	3840
tatagtggac ctgctccagt acagccagaa ggacctggat gcagtggtaa aggcgacaca	3900
ggaggagaac cgggagctga ggagcaggtg tgaggagctc cacgggaaga acctggaact	3960
ggggaagatc atggacaggt tcgaagaggt tgtgtaccag gccatggagg aagttcagaa	4020
gcagaaggaa ctttccaaag ctgaaatcca gaaagttcta aaagaaaaag accaacttac	4080
cacagatctg aactccatgg agaagtcctt ctccgacctc ttcaagcgtt ttgagaaaca	4140
gaaagaggtg atcgagggt accgcaagaa cgaagagtca ctgaagaagt gcgtggagga	4200
ttacctggca aggatcaccc aggagggcca gaggtaccaa gccctgaagg cccacgcgga	4260
[0026] ggagaagctg cagctggcaa acgaggagat cgcccaggtc cggagcaagg cccagcgga	4320
agcgttggcc ctccaggcca gcctgaggaa ggagcagatg cgcattccagt cgctggagaa	4380
gacagtggag cagaagacta aagagaacga ggagctgacc aggatctgcg acgacctcat	4440
ctccaagatg gagaagatct ga	4462
<210> 59	
<211> 3765	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注意= “人工序列的描述：合成多核苷酸”	
<400> 59	
atgggcgccc ctgcctgcgc cctcgcgctc tgcgtggccg tggccatcgt ggccggcgcc	60
tctctggagt ccttggggac ggagcagcgc gtcgtggggc gagcggcaga agtcccgggc	120

	ccagagcccg gccagcagga gcagttggtc ttcggcagcg gggatgctgt ggagctgagc	180
	tgtcccccgc ccgggggtgg tccatgggg cccactgtct gggtaagga tggcacagg	240
	ctggtgccct cggagcgtgt cctggtgggg cccagcggc tgcaggtgct gaatgcctcc	300
	cacgaggact ccggggccta cagctgccg cagcggctca cgcagcgcgt actgtgccac	360
	ttcagtgtgc ggggtacaga cgctccatcc tcgggagatg acgaagacgg ggaggacgag	420
	gctgaggaca caggtgtgga cacaggggcc ccttactgga cacggcccga gcggatggac	480
	aagaagctgc tggccgtgcc ggccccaac accgtccgct tccgctgcc agccgctggc	540
	aacccccactc cctccatctc ctggetgaag aacggcaggg agttccgagg cgagcaccgc	600
	attggaggca tcaagctgcg gcatcagcag tggagcctgg tcatggaaag cgtggtgcc	660
	tcggaccgcg gcaactacac ctgcgtcgtg gagaacaagt ttggcagcat ccggcagacg	720
	tacacgctgg acgtgctgga gcgctccccg caccggccca tcctgcaggc ggggctgccg	780
[0027]	gccaaccaga cggcgggtgct gggcagcagc gtggagtcc actgcaaggt gtacagtgac	840
	gcacagcccc acatccagtg gctcaagcac gtggaggtga atggcagcaa ggtgggcccc	900
	gacggcacac cctacgttac cgtgctcaag tcctggatca gtgagagtgt ggaggccgac	960
	gtgdcctcc gcctggccaa tgtgtcggag cgggacgggg gcgagtacct ctgtcgagcc	1020
	accaatttca taggcgtggc cgagaaggcc ttttggctga gcgttcacgg gccccagca	1080
	gccgaggagg agctggtgga ggctgacgag gcgggcagtg tgtatgcagg catcctcagc	1140
	tacggggtgg gcttcttctt gttcatcctg gtggtggcgg ctgtgacgct ctgccgctg	1200
	cgcagcccc ccaagaaagg cctgggctcc cccaccgtgc acaagatctc ccgcttccc	1260
	ctcaagcgac aggtgtccct ggagtccaac gcgtccatga gctccaacac accactggtg	1320
	cgcatcgcaa ggctgtctc aggggagggc cccacgctgg ccaatgtctc cgagctcgag	1380
	ctgcctgccg accccaaatg ggagetgtct cgggcccggc tgaccctggg caagcccctt	1440

	ggggagggct gcttcggcca ggtggtcatg gcggaggcca tcggcattga caaggaccgg	1500
	gccccaagc ctgtcacctg agccgtgaag atgctgaaag acgatgccac tgacaaggac	1560
	ctgtcggacc tgggtgtctga gatggagatg atgaagatga tcgggaaaca caaaaacatc	1620
	atcaacctgc tgggcgcctg cacgcagggc gggcccctgt acgtgctggt ggagtacgcg	1680
	gccaaaggta acctgcggga gtttctgcgg gcgcggcggc ccccggcct ggactactcc	1740
	ttcgacacct gcaagccgcc cgaggagcag ctcacctca aggacctggt gtctgtgcc	1800
	taccaggtgg cccggggcat ggagtacttg gcctcccaga agtgcacca cagggacctg	1860
	gctgcccga atgtgctggt gaccgaggac aacgtgatga agatcgaga cttcgggctg	1920
	gcccgggacg tgcacaacct cgactactac aagaagacga ccaacggccg gctgcccgtg	1980
	aagtggatgg cgctgaggc cttgtttgac cgagtctaca ctaccagag tgacgtctgg	2040
	tcctttgggg tcctgctctg ggagatcttc acgctggggg gtcccccgta ccccggcctc	2100
[0028]	cctgtggagg agctcttcaa gctgctgaag gagggccacc gcatggaaa gcccgaac	2160
	tgacacacg acctgtacat gatcatcgg gagtgctggc atgcccgcc ctcccagagg	2220
	cccacctca agcagctggt ggaggacctg gaccgtgtcc ttaccgtgac gtccaccgac	2280
	aatgttatgg aacagttcaa tcctgggctg cgaaatttaa taaacctggg gaaaaattat	2340
	gagaaagctg taaacgtat gatcctggca ggaaaagcct actacgatgg agtggccaag	2400
	atcggtgaga ttgccactgg gtccccctg tcaactgaac tgggacatgt cctcatagag	2460
	atttcaagta cccacaagaa actcaacgag agtcttgatg aaaattttaa aaaattccac	2520
	aaagagatta tccatgagct ggagaagaag atagaacttg acgtgaaata tatgaacgca	2580
	actctaaaaa gataccaaac agaacacaag aataaattag agtctttgga gaaatcccaa	2640
	gctgagttga agaagatcag aaggaaaagc caaggaagcc gaaacgact caaatatgaa	2700
	cacaaagaaa ttgagtatgt ggagaccgtt acttctcgtc agagtgaaat ccagaaattc	2760

attgcagatg gttgcaaaga ggctctgctt gaagagaaga ggcgcttctg ctttctggtt	2820
gataagcact gtggctttgc aaaccacata cattattatc acttacagtc tgcagaacta	2880
ctgaattcca agctgcctcg gtggcaggag acctgtgttg atgcatcaa agtgccagag	2940
aaaatcatga atatgatcga agaaataaag accccagcct ctacccccgt gtctggaact	3000
cctcaggctt cacccatgat cgagagaagc aatgtggtta ggaaagatta cgacaccctt	3060
tctaaatgct caccaaagat gcccccgct ccttcaggca gagcatatac cagtccttg	3120
atcgatatgt ttaataacce agccacggct gccccgaatt cacaaagggt aaataattca	3180
acaggtactt ccgaagatcc cagtttacag cgatcagttt cggttgcaac gggactgaac	3240
atgatgaaga agcagaaagt gaagaccatc ttcccgcaca ctgcgggctc caacaagacc	3300
ttactcagct ttgcacaggg agatgtcatc acgctgctca tccccgagga gaaggatggc	3360
tggtctatg gagaacacga cgtgtccaag gcgaggggtt ggttcccgtc gtcgtacacg	3420
[0029] aagttgctgg aagaaaatga gacagaagca gtgaccgtgc ccacccaag ccccacacca	3480
gtgagaagca tcagcacctg gaacttgtct gagaatagca gtgttgtcat cccccaccc	3540
gactacttgg aatgcttgc catgggggca gctgccgaca ggagagcaga ttcggccagg	3600
acgacatcca cctttaaggc cccagcgtcc aagcccgaga ccgcggctcc taacgatgcc	3660
aacgggactg caaagccgcc ttttctcagc ggagaaaacc cctttgccac tgtgaaactc	3720
cgcccgactg tgacgaatga tcgctcggca cccatcattc gatga	3765

<210> 60

<211> 4989

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注意= “人工序列的描述：合成多核苷酸”

	<400> 60	
	atggtcagct ggggtcgttt catctgcctg gtcgtggcca ccatggcaac cttgtccctg	60
	gcccggccct ccttcagttt agttgaggat accacattag agccagaaga gccaccaacc	120
	aaatacaaaa tctctcaacc agaagtgtac gtggctgcgc caggggagtc gctagagggtg	180
	cgctgcctgt tgaagatgc cgccgtgatc agttggacta aggatggggg gcaactgggg	240
	cccaacaata ggacagtgtt tattggggag tacttgcaga taaagggcgc cacgcctaga	300
	gactccggcc tctatgcttg tactgccagt aggactgtag acagtgaac ttggtacttc	360
	atggtgaatg tcacagatgc catctcatcc ggagatgatg aggatgacac cgatggtgcg	420
	gaagattttg tcagtgagaa cagtaacaac aagagagcac catactggac caacacagaa	480
	aagatgaaa agcggctcca tgctgtcct gcgccaaca ctgtcaagtt tcgctgcca	540
	gccgggggga acccaatgcc aacctgcgg ttgctgaaaa acggaagga gtttaagcag	600
[0030]	gagcatcgca ttggaggcta caaggtacga aaccagcact ggagcctcat tatggaaagt	660
	gtggtcccat ctgacaaggg aaattatacc tgtgtagtgg agaataaata cgggtccatc	720
	aatcacacgt accacctgga tgttgtggag cgatgcctc accggcccat cctccaagcc	780
	ggactgccgg caaatgcctc cacagtgtgc ggaggagacg tagagtttgt ctgcaagtt	840
	tacagtgatg cccagcccca catccagtgg atcaagcagc tggaaaagaa cggcagtaaa	900
	tacgggcccg acgggtgcc ctacctcaag gttctcaagg ccgccggtg taacaccacg	960
	gacaaagaga ttgagttct ctatattcgg aatgtaactt ttgaggacgc tggggaatat	1020
	acgtgcttg cgggtaattc tattgggata tcctttcact ctgcatggtt gacagttctg	1080
	ccagcgctg gaagagaaaa ggagattaca gttccccag actacctgga gatagccatt	1140
	tactgcatag ggtcttttt aatcgctgt atggtggtaa cagtcacct gtgccaatg	1200
	aagaacacga ccaagaagcc agacttcagc agccagccg ctgtgcacaa getgacaaa	1260

	cgtatccccc tgcggagaca ggtaacagtt tcggctgagt ccagctctc catgaactcc	1320
	aacaccccg tggtaggat aacaacacgc ctctcttcaa cggcagacac ccccatgctg	1380
	gcaggggtct ccgagtatga acttccagag gacccaaaat gggagtttcc aagagataag	1440
	ctgacactgg gcaagcccct gggagaaggt tgctttgggc aagtggcat ggcggaagca	1500
	gtgggaattg acaaagacaa gccaagagag gcggtcaccg tggccgtgaa gatgttga	1560
	gatgatgcca cagagaaaga cttttctgat ctggtgtcag agatggagat gatgaagatg	1620
	attgggaaac acaagaatat cataaatctt ctggagcct gcacacagga tgggcctctc	1680
	tatgtcatag ttgagtatgc ctctaaagc aacctccgag aatacctccg agcccggagg	1740
	ccaccggga tggagtactc ctatgacatt aaccgtgttc ctgaggagca gatgaccttc	1800
	aaggacttgg tgtcatgcac ctaccagctg gccagaggca tggagtactt ggcttccaa	1860
	aatgtattc atcgagattt agcagccaga aatgttttgg taacagaaaa caatgtgatg	1920
[0031]	aaaatagcag actttggact cgccagagat atcaacaata tagactatta caaaaagacc	1980
	accaatgggc ggcttccagt caagtggatg gctccagaag ccctgttga tagagtatac	2040
	actcatcaga gtgatgtctg gtccttcggg gtgttaatgt gggagatctt cactttaggg	2100
	ggctcgcct acccagggat tcccgtggag gaactttta agctgctgaa ggaaggacac	2160
	agaatggata agccagccaa ctgcaccaac gaactgtaca tgatgatgag ggactgttgg	2220
	catgcagtgc cctcccagag accaacgttc aagcagttgg tagaagactt ggatcgaatt	2280
	ctcactctca caaccaatga gatcatggag gaaacaaata cgcagattgc ttggccatca	2340
	aaactgaaga tcggagccaa atccaagaaa gatccccata ttaaggttcc tggaaagaaa	2400
	gaagatgtta aagaagccaa ggaaatgatc atgtctgtct tagacacaaa aagcaatcga	2460
	gtcacactga agatggatgt ttcacataca gaacattcac atgtaatcgg caaaggtggc	2520
	aacaatatta aaaaagtgat ggaagaaacc ggatgccata tccactttcc agattccaac	2580

	aggaataacc aagcagaaaa aagcaaccag gtatctatag cgggacaacc agcaggagta	2640
	gaatctgccc gagttagaat tcgggagctg ctctctttgg tgctgatgtt tgagctacca	2700
	attgctggaa ttcttcaacc ggttcctgat cctaattccc cctctattca gcatatatca	2760
	caaacgtaca atatttcagt atcatttaaa cagcgttccc gaatgtatgg tgctactgtc	2820
	atagtacgag ggtctcagaa taacactagt gctgtgaagg aaggaactgc catgctgtta	2880
	gaacatcttg ctgggagctt agcatcagct attcctgtga gcacacaact agatattgca	2940
	gctcaacatc atctctttat gatgggtcga aatgggagca acatcaaaca tatcatgcag	3000
	agaacaggtg ctcatatcca ctttctgat cccagtaatc cacaaaagaa atctaccgtc	3060
	tacctccagg gcaccattga gtctgtctgt cttgcaaggc aatatctcat gggttgtctt	3120
	cctcttgtgt tgatgtttga tatgaaggaa gaaattgaag tagatccaca attcattgcg	3180
	cagttgatgg aacagcttga tgtcttcac agtattaaac caaagcccaa acagccaagc	3240
[0032]	aagtctgtga ttgtgaaaag tgttgagcga aatgccttaa atatgtatga agcaaggaaa	3300
	tgtctcctcg gacttgaaag cagtggggtt accatagcaa ccagtccatc cccagcatcc	3360
	tgccctgccg gcctggcatg tcccagcctg gatatcttag cttcagcagg ccttggactc	3420
	actggactag gtcttttggg acccaccacc ttatctctga acacttcaac aaccccaaac	3480
	tcactcttga atgctcttaa tagctcagtc agtcctttgc aaagtccaag ttctgttaca	3540
	cccagcccca cattatgggc acccccactt gctaatactt caagtgccac aggtttttct	3600
	gctataccac accttatgat tccatctact gccaagcca cattaactaa tattttgttg	3660
	tctggagtgc ccacctatgg gcacacagct ccatctcccc ctcttggett gactctgtt	3720
	gatgtccata tcaacagtat gcagaccgaa ggcaaaaaaa tctctgctgc tttaaatgga	3780
	catgcacagt ctccagatat aaaatatggt gcaatatcca cttcatcact tggagaaaaa	3840
	gtgctgagtg caaatcacgg ggatccgtcc atccagacaa gtgggtctga gcagacatct	3900

	cccaaatcaa gccccactga aggttgaat gatgcttttg ttgaagtagg catgcctcga	3960
	agtccttccc attctgggaa tgctggtgac ttgaaacaga tgatgtgtcc ctccaaggtt	4020
	tcctgtgcca aaaggcagac agtggaacta ttgcaaggca cgaaaaactc acacttacac	4080
	agcactgaca ggttgctctc agaccctgaa ctgagtgcta ccgaaagccc tttggctgac	4140
	aagaaggetc cagggagtga gcgcgctgca gagagggcag cagctgcca gcaaaactcc	4200
	gaaagggccc accttgctcc acggtcatca tatgtcaaca tgcaggcatt tgactatgaa	4260
	cagaagaagc tattagccac caaagctatg ttaaagaaac cagtggtagc ggaggtcaga	4320
	acgcccacaa atacctggag tggcctgggt ttttctaaat ccatgccagc tgaaactatc	4380
	aaggagttag gaagggcca tcatgtgtcc tataagccca caatgacaac cacttatgag	4440
	ggctcatcca tgtcccttc acggtccaac agtcgtgagc acttgggagg tggaagcgaa	4500
	tctgataact ggagagaccg aatggaatt ggacctggaa gtcatagtga atttgcagct	4560
[0033]	tctattggca gccctaagcg taaacaaaac aatcaacgg aacactatct cagcagtagc	4620
	aattacatgg actgcatttc ctcgctgaca ggaagcaatg gctgtaactt aatagctct	4680
	ttcaaaggtt ctgacctccc tgagctcttc agcaaactgg gcctgggcaa atacacagat	4740
	gttttccagc aacaagagat cgatcttcag acattctca ctctcacaga tcaggatctg	4800
	aaggagctgg gaataactac ttttgggtgcc aggaggaaaa tgctgcttgc aatttcagaa	4860
	ctaaataaaa accgaagaaa gctttttgaa tcgccaaatg cacgcacctc tttcctggaa	4920
	ggtggagcga gtggaaggt accccgtcag tatcactcag acattgctag tgcagtggc	4980
	cgctggtag	4989
	<210> 61	
	<211> 5109	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

<220>

<221> 来源

<223> /注意= “人工序列的描述：合成多核苷酸”

<400> 61

atggtcagct ggggtcgttt catctgcctg gtcgtggtca ccatggcaac cttgtccctg	60
gcccggcct ccttcagttt agttgaggat accacattag agccagaaga gccaccaacc	120
aaatacaaaa tctctcaacc agaagtgtac gtggctgcgc caggggagtc gctagaggtg	180
cgctgcctgt tgaagatgc cgccgtgatc agttggacta aggatgggtt gcaacttgggg	240
cccaacaata ggacagtgtt tattggggag tacttgcaga taaagggcgc cagcctaga	300
gactccggcc tctatgcttg tactgccagt aggactgtag acagtgaaac ttggtacttc	360
atggtgaatg tcacagatgc catctcatcc ggagatgatg aggatgacac cgatggtgcg	420
gaagattttg tcagtgagaa cagtaacaac aagagagcac catactggac caacacagaa	480
[0034] aagatgaaa agcggctcca tgctgtgctt gcgccaaca ctgtcaagtt tcgctgcca	540
gccgggggga acccaatgcc aaccatgcgg tggtgaaaa acgggaagga gtttaagcag	600
gagcatcgca ttggaggcta caaggtacga aaccagcact ggagcctcat tatggaaagt	660
gtggtcccat ctgacaaggg aaattatacc tgtttagtgg agaatgaata cgggtccatc	720
aatcacacgt accacctgga tgttggag cgatgcctc accggcccat cctccaagcc	780
ggactgccgg caaatgcctc cacagtggtc ggaggagacg tagagtttgt ctgcaagtt	840
tacagtgatg cccagcccca catccagtgg atcaagcacg tggaaaagaa cggcagtaaa	900
tacggccccg acgggctgcc ctacctcaag gttctcaagg ccgccggtgt taacaccacg	960
gacaaagaga ttgaggttct ctatattcgg aatgtaactt ttgaggacgc tggggaatat	1020
acgtgcttgg cgggtaattc tattgggata tcctttcact ctgcatggtt gacagttctg	1080
ccagcgcctg gaagagaaaa ggagattaca gttccccag actacctgga gatagecatt	1140
tactgcatag gggctcttct aatgcctgt atggtggtaa cagtcatcct gtgccgaatg	1200

	aagaacacga ccaagaagcc agacttcagc agccagccgg ctgtgcacaa gctgaccaa	1260
	cgtatcccc tgcggagaca ggtaacagtt tccgctgagt ccagctctc catgaactcc	1320
	aacaccccgc tggtaggat aacaacacgc ctctcttcaa cggcagacac ccccatgctg	1380
	gcaggggtct ccgagtatga acttccagag gacccaaaat gggagtctc aagagataag	1440
	ctgacactgg gcaagcccct gggagaaggt tgctttgggc aagtggcat ggcggaagca	1500
	gtgggaattg acaaagacaa gccaagagag gcggtcaccg tggccgtgaa gatgttga	1560
	gatgatgcca cagagaaaga ctttctgat ctggtgtcag agatggagat gatgaagatg	1620
	attgggaaac acaagaatat cataaatctt ctggagcct gcacacagga tggcctctc	1680
	tatgtcatag ttgagtatgc ctctaaaggc aacctccgag aatacctccg agcccggagg	1740
	ccacccgga tggagtactc ctatgacatt aaccgtgttc ctgaggagca gatgacctc	1800
	aaggacttgg tgtcatgcac ctaccagctg gccagaggca tggagtactt ggcttccaa	1860
[0035]	aatgtattc atcgagattt agcagccaga aatgttttg taacagaaaa caatgtgatg	1920
	aaaatagcag actttggact cgccagagat atcaacaata tagactatta caaaaagacc	1980
	accaatgggc ggcttcagc caagtggatg gctccagaag cctgtttga tagagtatac	2040
	actcatcaga gtgatgtctg gtccttcggg gtgttaatgt gggagatctt cactttagg	2100
	ggctcgcct acccaggat tcccgtggag gaactttta agctgctgaa ggaaggacac	2160
	agaatggata agccagcaa ctgcaccaac gaactgtaca tgatgatgag ggactgttg	2220
	catgcagtgc cctcccagag accaacgttc aagcagttg tagaagactt ggatcgaatt	2280
	ctcactctca caaccaatga ggagagtaga tctggagaaa ccaacagctg tttgaagaa	2340
	ataatccggg agatgacctg gcttccacca ctttctgcta ttcaagcacc tggcaaagt	2400
	gaaccaacca aatttcatt tccaaataag gactctcagc ttgtatctc tggacacaat	2460
	aatccaaaga aagtgatgc agagccagag agtccagaca gtggcacatc gaatacatc	2520

	atgctggaag atgaccttaa gctaagcagt gatgaagagg agaatgaaca gcaggcagct	2580
	cagagaacgg ctctccgcgc tctctctgac agcgccgtgg tccagcagcc caactgcaga	2640
	acctcgggtgc cttccagcaa gggcagcagc agcagcagca gcagcggcag cagcagctcc	2700
	tccagcgact cagagagcag ctccggatct gactcggaga ccgagagcag ctccagcgag	2760
	agtgagggca gcaagcccc ccacttctcc agccccgagg ctgaaccggc atcctctaac	2820
	aagtggcagc tggataaatg gctaaacaaa gttaatcccc acaagcctcc tattctgac	2880
	caaaatgaaa gccacgggtc agagagcaat cagtactaca acccggtgaa agaggacgtc	2940
	caggactgtg ggaaagtccc cgacgtttgc cagcccagcc tgagagagaa ggagatcaag	3000
	agcaactgca aggaggagca aaggccaagg acagccaaca aggcccttg gagtaaaggc	3060
	gtgaagcaga agtccccgcc cgcggccgtg gccgtggcgg tgagcgcagc cccccgcc	3120
	cccgcagtgc cctgtgcgcc cgcggagaac gcgcccgcgc ctgcccggag gtccgcgggc	3180
[0036]	aagaagccca ccagcgcac cgagaggacc tcagccgggg acggcgccaa ctgccaccgg	3240
	cccgaggagc ccgcggccgc ggacgcgctg gggacgagcg tgggtgtccc cccggagccc	3300
	accaaaacca ggccctgtgg caacaacaga gcgagccacc gcaaggagct gcgctctcc	3360
	gtgacctgcg agaagcggc cacgcggggg ctaagcagga tcgtcccaa atccaaggag	3420
	ttcattgaga cagagtcgtc atcttcatcc tctctctcgg actccgacct ggagtccgag	3480
	caggaggagt accctctgtc caaagcacag accgtggctg cctctgcctc ctccgggaat	3540
	gatcagaggc tgaaggagc cgctgccaac gggggcagtg gtcttagggc ccctgtaggc	3600
	tccatcaacg ccaggaccac cagtgacatc gccaaggagc tggaggagca gttctacaca	3660
	ctggtcccct ttggccggaa cgaacttctc tcccctctaa aggacagtga tgagatcagg	3720
	tctctctggg tcaaaatcga cctgaccctc ctgtccagga tcccagaaca cctgccccag	3780
	gagccagggg tattgagcgc cctgccacc aaggactctg agagcgcacc gccagccac	3840

	acctcggaca cacctgcaga aaaggctttg ccaaaatcca agaggaaacg caagtgtgac	3900
	aacgaagacg actacaggga gatcaagaag tcccaggag agaaagacag ctcttcaaga	3960
	ctggccacct ccaccagtaa tactttgtct gcaaaccact gcaacatgaa catcaacagt	4020
	gtggcaatac caataaataa aaatgaaaa atgcttcggt cgcccatctc acccctctct	4080
	gatgcatcta aacacaaata caccagcgag gacttaactt cttccagccg acctaattgc	4140
	aacagtttgt ttacttcagc ctcttccagc aaaaagccta aggccgacag ccagctgcag	4200
	cctcaaggcg gagacctcac gaaagcagct cacaacaatt ctgaaaacat tcccctccac	4260
	aagtcacggc cgcagacgaa gccgtggtct ccaggctcca acggccacag ggactgcaag	4320
	aggcagaaac ttgtcttcca tgatatgcct cgcagtgccg attatattat gcaagaagct	4380
	aaacgaatga agcataaagc agatgcaatg gtggaaaagt ttggaaaggc tttgaactat	4440
	gctgaagcag cattgtcgtt tatcagtggt ggaaatgcaa tggaacaagg ccccatggaa	4500
[0037]	tccaaatctc ctatatac gatattcagaa acagtagagc tcatcaggta tgctatgaga	4560
	ctaaaacc actcaggccc caatgccaca ccagaagaca aacaactggc tgcattatgt	4620
	taccgatgcc tggcctcct gtactggcgg atgtttcgac tcaaaagga ccacgctgta	4680
	aagtattcaa aagcactaat cgactatttc aagaactcat ctaaagccgc ccaagcccca	4740
	tctccgtggg gggccagtgg aaagagcact ggaaccccat ccccatgtc tcccaacccc	4800
	tctcccgcca gctccgtggg gtctcagggc agcctctcca acgccagcgc cctgtccccg	4860
	tcgaccatcg tcagcatccc acagcgcac caccagatgg cggccaacca cgtcagcacc	4920
	accaacagca tctgcacag ctacgactac tgggagatgg ccgacaacct ggccaaggaa	4980
	aaccgagaat tcttcaacga cctggatctg ctcatggggc cggtcaccct gcacagcagc	5040
	atggagcacc tgggtccagta ctccaacag ggcctgcaact ggctgcggaa cagcgeccac	5100
	ctgtcatag	5109

<210> 62	
<211> 3213	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<221> 来源	
<223> /注意= “人工序列的描述：合成多核苷酸”	
<400> 62	
atggtcagct ggggtcgttt catctgcctg gtcgtggca ccatggcaac ctgtccctg	60
gcccggcct ccttcagttt agttgaggat accacattag agccagaaga gccaccaacc	120
aaatacaaaa tctctcaacc agaagtgtac gtggctgcgc caggggagtc getagaggtg	180
cgctgcctgt taaaagatgc cgccgtgatc agttggacta aggatgggtt gcacttgggg	240
cccaacaata ggacagtgct tattggggag tacttgcaga taaagggcgc cacgcctaga	300
[0038] gactccggcc tctatgcttg tactgccagt aggactgtag acagtgaac ttggtacttc	360
atggtgaatg tcacagatgc catctcatcc ggagatgatg aggatgacac cgatggtgcg	420
gaagattttg tcagtgagaa cagtaacaac aagagagcac catactggac caacacagaa	480
aagatggaaa agcggtcca tgctgtcct gcggccaaca ctgtcaagtt tcgctgceca	540
gcccggggga acccaatgcc aacctgcgg tggctgaaaa acgggaagga gtttaagcag	600
gagcatcgca ttggaggcta caaggtacga aaccagcact ggagcctcat tatggaaagt	660
gtggtcccat ctgacaaggg aaattatacc tgtgtagtgg agaataaata cgggtccatc	720
aatcacacgt accacctgga tgttgtggag cgatgcctc accggcccat cctccaagcc	780
ggactgccgg caaatgcctc cacagtggtc ggaggagacg tagagtttgt ctgcaaggtt	840
tacagtgatg cccagcccca catccagtgg atcaagcacg tggaaaagaa cggcagtaaa	900
tacgggcccg acgggtgcc ctacctcaag gttctcaagg ccgccgtgt taacaccacg	960

	gacaaagaga ttgaggttct ctatattcgg aatgtaactt ttgaggacgc tggggaatat	1020
	acgtgcttgg cgggtaattc tattgggata tcctttcact ctgcatggtt gacagttctg	1080
	ccagcgcctg gaagagaaaa ggagattaca gcttccccag actacctgga gatagccatt	1140
	tactgcatag ggggtttctt aatgcctgt atggttgtaa cagtcactct gtgccgaatg	1200
	aagaacacga ccaagaagcc agacttcagc agccagccgg ctgtgcacaa gctgacccaa	1260
	cgtatcccc tgcggagaca ggtaacagtt tcggctgagt ccagctctc catgaactcc	1320
	aacacccgc tggtgaggat aacaacacgc ctctcttcaa cggcagacac ccccatgetg	1380
	gcaggggtct ccgagtatga acttcagag gacccaaaat gggagtctc aagagataag	1440
	ctgacactgg gcaagcccct gggagaaggt tgctttgggc aagtggcat ggcggaagca	1500
	gtgggaattg acaaagacaa gcccaaggag gcggtcaccg tggccgtgaa gatgttga	1560
	gatgatgcca cagagaaaga ctttctgat ctggtgtcag agatggagat gatgaagatg	1620
[0039]	attgggaaac acaagaatat cataaatctt cttggagcct gcacacagga tggcctctc	1680
	tatgcatag ttgagtatgc ctctaaaggc aacctccag aatacctccg agcccggagg	1740
	ccaccggga tggagtactc ctatgacatt aaccgtgtc ctgaggagca gatgacctc	1800
	aaggacttgg tgtcatgcac ctaccagctg gccagaggca tggagtactt ggcttccaa	1860
	aaatgtattc atcgagattt agcagccaga aatgttttgg taacagaaaa caatgtgatg	1920
	aaaatagcag actttggact cgccagagat atcaacaata tagactatta caaaaagacc	1980
	accaatgggc ggcttcagc caagtggatg gctccagaag cctgtttga tagagtatac	2040
	actcatcaga gtgatgtctg gtccttcggg gtgttaatgt gggagatctt cactttaggg	2100
	ggctcgcct acccagggat tcccgtggag gaacttttta agctgctgaa ggaaggacac	2160
	agaatggata agccagccaa ctgcaccaac gaactgtaca tgatgatgag ggactgttgg	2220
	catgcagtgc cctcccagag accaacgttc aagcagttgg tagaagactt ggatcgaatt	2280

	ctcactctca caaccaatga gatggcagat gatcagggtc gtattgaaga gcaggggggtt	2340
	gaggattcag caaatgaaga ttcagtggat gctaagccag accggtcctc gtttgtaccg	2400
	tcctcttca gtaagaaga gaaaaatgtc accatgcgat ccatcaagac cacccgggac	2460
	cgagtgccta catatcagta caacatgaat ttgaaaagc tgggcaaatg catcataata	2520
	aacaacaaga actttgataa agtgacaggt atgggcgttc gaaacggaac agacaaagat	2580
	gccgaggcgc tcttcaagtg cttccgaagc ctgggttttg acgtgattgt ctataatgac	2640
	tgctcttgtg ccaagatgca agatctgctt aaaaaagctt ctgaagagga ccatacaaat	2700
	gccgcctgct tcgcctgcat cctcttaagc catggagaag aaaatgtaat ttatgggaaa	2760
	gatggtgtca caccaataaa ggatttgaca gccacttta ggggggatag atgcaaaacc	2820
	cttttagaga aacccaaact cttcttcatt caggcttgcc gagggaccga gcttgatgat	2880
	ggcatccagg ccgactcggg gcccatcaat gacacagatg ctaatcctcg atacaagatc	2940
[0040]	ccagtggaag ctgacttctt cttcgcctat tccacggttc caggetatta ctcgtggagg	3000
	agcccaggaa gaggtcctg gtttgtgcaa gccctctgct ccatcctgga ggagcacgga	3060
	aaagacctgg aatcatgca gatcctcacc aggtggaatg acagagttgc caggcacttt	3120
	gagtctcagt ctgatgacc acacttccat gagaagaagc agatcccctg tgtggtctcc	3180
	atgctacca aggaactcta cttcagtcaa tag	3213
	<210> 63	
	<211> 3423	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成多核苷酸”	
	<400> 63	
	atggtcagct ggggtcgttt catctgcctg gtcgtggtca ccatggcaac cttgtccctg	60

	gccccgccct ccttcagttt agttgaggat accacattag agccagaaga gccaccaacc	120
	aaataccaaa tctctcaacc agaagtgtac gtggctgcgc caggggagtc gctagagggtg	180
	cgctgcctgt tgaagatgc cgccgtgatc agttggacta aggatggggt gcacttgggg	240
	cccaacaata ggacagtgc ttttggggag tacttgcaga taaagggcgc cacgcctaga	300
	gactccggcc tctatgcttg tactgccagt aggactgtag acagtgaac ttggtacttc	360
	atggtgaatg tcacagatgc catctcatcc ggagatgatg aggatgacac cgatggtgcg	420
	gaagattttg tcagtgagaa cagtaacaac aagagagcac catactggac caacacagaa	480
	aagatgaaa agcggctcca tgctgtgctt gcggccaaca ctgtcaagtt tcgctgceca	540
	gccccgggga acccaatgcc aacctgcgg ttgctgaaaa acgggaagga gttaagcag	600
	gagcatcgca ttggaggcta caaggtacga aaccagcact ggagcctcat tatggaaagt	660
	gtggtcccat ctgacaaggg aaattatacc tgtgtagtgg agaatgaata cgggtccatc	720
[0041]	aatcacacgt accacctgga tgttgggag cgatgcctc accggcccat cctccaagcc	780
	ggactgccgg caaatgcctc cacagtggtc ggaggagacg tagagtttgt ctgcaaggtt	840
	tacagtgatg cccagcccca catccagtgg atcaagcagc tggaaaagaa cggcagtaaa	900
	tacgggcccg acgggctgcc ctacctcaag gttctcaagg ccgccggtgt taacaccacg	960
	gacaaagaga ttgaggttct ctatattcgg aatgtaactt ttgaggacgc tggggaatat	1020
	acgtgcttgg cgggtaattc tattgggata tcctttcact ctgcatggtt gacagttctg	1080
	ccagcgctg gaagagaaaa ggagattaca gcttccccag actacctgga gatagccatt	1140
	tactgcatag ggggtcttct aatcgctgt atggtggtaa cagtcatcct gtgccaatg	1200
	aagaacacga ccaagaagcc agacttcagc agccagccgg ctgtgcacaa gctgacaaaa	1260
	cgtatcccc tgccgagaca ggtaacagtt tcggtgagt ccagctctc catgaactcc	1320
	aacaccccgc tggtaggat aacaacacgc ctctcttcaa cggcagacac ccccatgctg	1380

	gcaggggtct ccgagtatga acttccagag gaccctaaaat gggagtttcc aagagataag	1440
	ctgacactgg gcaagcccct gggagaaggt tgctttgggc aagtggcat ggcggaagca	1500
	gtgggaattg acaaagacaa gccaagagag gcggtcaccg tggccgtgaa gatgttgaag	1560
	gatgatgcca cagagaaaga cttttctgat ctggtgtcag agatggagat gatgaagatg	1620
	attgggaaac acaagaatat cataaatctt cttggagcct gcacacagga tggcctctc	1680
	tatgtcatag ttgagtatgc ctctaaaggc aacctccgag aatacctccg agcccggagg	1740
	ccaccggga tggagtactc ctatgacatt aaccgtgttc ctgaggagca gatgacctc	1800
	aaggacttgg tgtcatgcac ctaccagctg gccagaggca tggagtactt ggcttcccaa	1860
	aatgtattc atcgagattt agcagccaga aatgttttgg taacagaaaa caatgtgatg	1920
	aaaatagcag actttggact cgccagagat atcaacaata tagactatta caaaaagacc	1980
	accaatgggc ggcttccagt caagtggatg gctccagaag ccctgtttga tagagtatac	2040
[0042]	actcatcaga gtgatgtctg gtccttcggg gtgttaatgt gggagatctt cactttaggg	2100
	ggctcgcct acccaggat tcccgtggag gaactttta agctgctgaa ggaaggacac	2160
	agaatggata agccagccaa ctgcaccaac gaactgtaca tgatgatgag ggactgttgg	2220
	catgcagtgc cctcccagag accaacgttc aagcagttgg tagaagactt ggatcgaatt	2280
	ctcactctca caaccaatga gcaagccagg gctgagcagg aagaagaatt cattagtaac	2340
	actttattca agaaaattca ggctttgcag aaggagaaag aaacccttgc tgtaaattat	2400
	gagaaagaag aagaattcct cactaatgag ctctccagaa aattgatgca gttgcagcat	2460
	gagaaagccg aactagaaca gcactttgaa caagagcagg aatttcaggt caacaaactg	2520
	atgaagaaaa ttaaaaaact ggagaatgac accatttcta agcaacttac attagaacag	2580
	ttgagacggg agaagattga cttgaaaat acattggaac aagaacaaga agcactagtt	2640
	aatgcctct ggaaaaggat ggataagctt gaagctgaaa agcgaatcct gcaggaaaaa	2700

	ttagaccagc cegtctctgc tccaccatcg cctagagata tctccatgga gattgattct	2760
	ccagaaaata tgatgcgtca catcaggttt ttaaagaatg aagtggaacg gctgaagaag	2820
	caactgagag ctgctcagtt acagcattca gagaaaatgg cacagtatct ggaggaggaa	2880
	cgtcacatga gagaagagaa cttgaggctc cagaggaagc tgcagaggga gatggagaga	2940
	agagaagccc tctgtcgaca gctctccgag agtgagtcca gcttagaaat ggacgacgaa	3000
	aggtatttta atgagatgtc tgcacaagga ttaagacctc gcactgtgtc cagcccgatc	3060
	ccttacacac cttctccgag ttcaagcagg cctatatcac ctggtctatc atatgcaagt	3120
	cacacggttg gtttcacgcc accaacttca ctgactagag ctggaatgtc ttattacaat	3180
	tccccgggtc ttcacgtgca gcacatggga acatcccatg gtatcacaag gccttcacca	3240
	cggagaagca acagtctga caaattcaaa cggcccacgc cgctccatc tcccaacaca	3300
[0043]	cagaccccag tccagccacc tccgcctcca cctccgccac ccatgcagcc cacggteccc	3360
	tcagcagcca cctcgcagcc tactccttcg caacattcgg cgcacccctc ctcccagcct	3420
	taa	3423
	<210> 64	
	<211> 5229	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成多核苷酸”	
	<400> 64	
	atggtcagct ggggtcgttt catctgcctg gtcgtggcca ccatggcaac cttgtccctg	60
	gccccgccct ccttcagttt agttgaggat accacattag agccagaaga gccaccaacc	120
	aaataccaaa tctctcaacc agaagtgtac gtggctgcgc caggggagtc gctagaggtg	180

	cgctgcctgt tgaagatgc cgccgtgatc agttggacta aggatggggt gcacttgggg	240
	cccaacaata ggacagtgc tattggggag tacttgacaga taaagggcgc cagcctaga	300
	gactccggcc tctatgcttg tactgccagt aggactgtag acagtgaaac ttggtacttc	360
	atggtgaatg tcacagatgc catctcatcc ggagatgatg aggatgacac cgatggtgcg	420
	gaagattttg tcagtgagaa cagtaacaac aagagagcac catactggac caacacagaa	480
	aagatggaaa agcggctcca tgctgtgcct gcggccaaca ctgtcaagtt tcgctgceca	540
	gccgggggga acccaatgcc aacctgcgg ttgctgaaaa acgggaagga gttaagcag	600
	gagcatgca ttggaggcta caaggtacga aaccagcact ggagcctcat tatggaaagt	660
	gtggtcccat ctgacaaggg aaattatacc tgtgtagtgg agaatgaata cgggtccatc	720
	aatcacacgt accacctgga tgttgtggag cgatgcctc accggcccat cctccaagcc	780
	ggactgccgg caaatgcctc cacagtggtc ggaggagacg tagagtttgt ctgcaaggtt	840
[0044]	tacagtgatg cccagcccca catccagtgg atcaagcacg tggaaaagaa cggcagtaaa	900
	tacgggcccg acgggctgcc ctacctcaag gttctcaagg ccgccggtgt taacaccacg	960
	gacaaagaga ttgaggttct ctatattcgg aatgtaactt ttgaggacgc tggggaatat	1020
	acgtgcttg cgggtaattc tattgggata tcctttcact ctgcatggtt gacagttctg	1080
	ccagcctg gaagagaaaa ggagattaca gcttccccag actacctgga gatagccatt	1140
	tactgcatag ggttcttctt aatgcctgt atggtggtaa cagtcctct gtgccaatg	1200
	aagaacacga ccaagaagcc agacttcagc agccagccgg ctgtgcacaa gctgacaaa	1260
	cgtatcccc tcgggagaca ggtaacagtt tcggtgagt ccagctctc catgaactcc	1320
	aacaccccgc tggtaggat aacaacacgc ctctcttcaa cggcagacac cccatgctg	1380
	gcaggggtct ccgagtatga acttccagag gacccaaaat gggagtttcc aagagataag	1440
	ctgacactgg gcaagcccct gggagaaggt tgctttgggc aagtggtcat ggcggaagca	1500

	gtgggaattg acaaagacaa gccaagagg gcggtcaccg tggccctgaa gatgttgaaa	1560
	gatgatgcca cagagaaaga cttttctgat ctggtgtcag agatggagat gatgaagatg	1620
	attgggaaac acaagaatat cataaatctt ctggagcct gcacacagga tgggcctctc	1680
	tatgtcatag ttgagtatgc ctctaaagc aacctccgag aatacctccg agccccggagg	1740
	ccaccggga tggagtactc ctatgacatt aaccgtgttc ctgaggagca gatgacctc	1800
	aaggacttgg tgtcatgcac ctaccagctg gccagaggca tggagtactt ggcttcccaa	1860
	aatgtattc atcgagattt agcagccaga aatgttttgg taacagaaaa caatgtgatg	1920
	aaaatagcag actttggact cgccagagat atcaacaata tagactatta caaaaagacc	1980
	accaatgggc ggcttccagt caagtggatg gctccagaag cctgtttga tagagtatac	2040
	actcatcaga gtgatgtctg gtccttcggg gtgttaatgt gggagatctt cactttaggg	2100
	ggctcgcct acccagggat tcccgtggag gaacttttta agctgctgaa ggaaggacac	2160
[0045]	agaatggata agccagccaa ctgcaccaac gaactgtaca tgatgatgag ggactgttgg	2220
	catgcagtgc cctcccagag accaacgttc aagcagttgg tagaagactt ggatcgaatt	2280
	ctcactctca caaccaatga gacacaactt cgaaaccagc taattcatga gttgatgcac	2340
	cctgtattga gtggagaact gcagcctcgg tccatttcag tagaaggag ctcctctta	2400
	ataggcgcct ctaactcttt agtggcagat cacttacaaa gatgtggcta tgaatattca	2460
	ctttctgttt tctttccaga aagtgtttg gcaaaagaaa aggtatttac tatgcaggat	2520
	ctattacaac tcattaaaat caaccctact tccagtctct acaaatcact ggtttcagga	2580
	tctgataaag aaaatcaaaa aggttttctt atgcattttt taaaagaatt ggcagaatat	2640
	catcaagcta aagagagttg taatatggaa actcagacaa gttcgacatt taacagagat	2700
	tctctggctg agaagcttca gcttatgat gatcagtttg cagatgctta ccctcagct	2760
	atcaagttcg aatctttaga aataaagcta aatgagtata agagagaaat agaagagcaa	2820

	cttcgggcag aaatgtgtca aaagttgaag ttttttaaag ataccgagat agcaaaaatt	2880
	aaaatggaag caaaaaaaaa gtatgaaaag gagttaacca tgttccagaa tgattttgaa	2940
	aaagcttgtc aagcaaaatc tgaagctctc gttcttcggg aaaagagtac ccttgaaaga	3000
	attcacaagc accaagagat tgaacaacaaa gaaatttatg ctcaaaggca acttttacta	3060
	aaagatatgg atttgctaag aggaagagaa gcagagctga agcaaagagt tgaagctttt	3120
	gaattgaacc agaagctcca ggaagaaaaa cataaaagca taactgaggc acttaggaga	3180
	caggagcaga atataaagag ttttgaggag acctatgacc gaaagctcaa gaatgaactt	3240
	ctaaagtatc aacttgaact gaaggatgac tacatcatta gaactaatcg actgattgaa	3300
	gatgaaagga agaataaaga aaaagctggt catttgcaag aggagctcat agctattaat	3360
	tcaaaaaagg aggaactcaa tcaatctgta aatcgtgtga aagaacttga gcttgaatta	3420
	gagtctgtca aagcccagtc tttggcaata acaaaacaaa accatatgct gaatgaaaag	3480
[0046]	gttaaagaga tgagtgatta ttactacta aaagaagaga aactggagct tctggcacia	3540
	aataaattac ttaacaaca actggaagag agtagaaatg aaaacctgcg tctcctaac	3600
	cgcttagctc agccggtcc tgaacttga gtctttcaga aagaactacg gaaagccgaa	3660
	aaggctatag tggttgagca tgaggagtcc gaaagctgca ggcaagctct gcacaaaca	3720
	ctgcaagacg aaattgagca ttctgcacag ctgaaggccc agattctagg ttacaaagct	3780
	tctgtaaaga gttaactac tcaggttgcc gatttaaaat tgcaactgaa gcaactcag	3840
	acagccctag agaatgaagt gtactgcaat ccaaagcagt ctgtgatcga tcgttctgtc	3900
	aatggattaa taaatggcaa tgttggtgct tgcaatggtg agataagtgg ggatttcttg	3960
	aacaatcctt ttaaacagga aaacgttcta gcacgtatgg ttgcatcaag gatcaciaat	4020
	tatccaactg catgggtgga gggtagtcc cctgattctg accttgagtt tntagccaat	4080
	actaaggcaa gggtaaaga gcttcagcaa gaggccgaac gcttggaaaa ggctttcaga	4140

	agttaccatc ggagagtcac taaaaactct gccaaaagcc cactagcagc aaagagccca	4200
	ccatctctgc acttgctgga agccttcaaa aacattactt ccagttcccc ggaaagacat	4260
	atTTTTggag aggacagagt tgtctctgag cagcctcaag tgggcacact tgaagaaagg	4320
	aatgacgtcg tggaagcact gacaggcagt gcagcctcga ggctcccgcg gggcacttcc	4380
	tccagacgcc tctcttccac accccttcca aaagcaaaaa gaagcctcga aagtgaaatg	4440
	tatctggaag gtctgggcag atcacacatt gcttccccca gtcttgtcc tgacagaatg	4500
	cccetacat caccactga gtctaggcac agcctctcca tccctcctgt ctccagecct	4560
	ccggagcaga aagtgggtct ttatcgaaga caaactgaac ttcaagacaa aagtgaattt	4620
	tcagatgtgg acaagctagc ttttaaggat aatgaggagt ttgaatcatc ttttgaatct	4680
	gcagggaaca tgccaaggca gttggaaatg ggcgggcttt ctctgcccg ggatatgtct	4740
	catgtggacg ctgctgcagc tgctgtgcc ctctcatatc agcacccaag tntagatcag	4800
[0047]	aaacaaattg aagaacaaaa ggaagaagaa aaaatacggg aacagcaagt gaaagaacga	4860
	aggcagagag aagaaagaag gcagagtaac ctacaagaag ttttagaaag ggaacgaaga	4920
	gaactagaaa aactgtatca ggaaaggaag atgattgaag aatcactgaa gattaaaata	4980
	aaaaaggaat tagaaatgga aaatgaatta gaaatgagta atcaagaaat aaaagacaaa	5040
	tctgtcaca gtgaaaatcc tttagagaaa tacatgaaaa tcatccagca ggagcaagac	5100
	caggagtcgg cagataagag ctcaaaaaag atgggtccaag aaggctcct agtggacacg	5160
	ctgcaatcta gtgacaaagt cgaaagtta acaggctttt ctcatgaaga actagacgac	5220
	tcttggtaa	5229
	<210> 65	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成寡核苷酸”	
	<400> 65	
	tccaccgacg taaaggcg	18
	<210> 66	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成寡核苷酸”	
	<400> 66	
	taccgtgacg tccaccga	18
[0048]	<210> 67	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成寡核苷酸”	
	<400> 67	
	gccttctggc ccaggtgc	18
	<210> 68	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成寡核苷酸”	
	<400> 68	

	tccaccgaca atgttatg	18
	<210> 69	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成寡核苷酸”	
	<400> 69	
	accaatgagg agagtaga	18
	<210> 70	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0049]	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成寡核苷酸”	
	<400> 70	
	accaatgaga tcatggag	18
	<210> 71	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注意= “人工序列的描述：合成寡核苷酸”	
	<400> 71	
	accaatgaga tggcag	16
	<210> 72	
	<211> 18	

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注意= “人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 72

accaatgagc aagccagg

18

[0050]

<210> 73

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注意= “人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 73

accaatgaga cacaactt

18

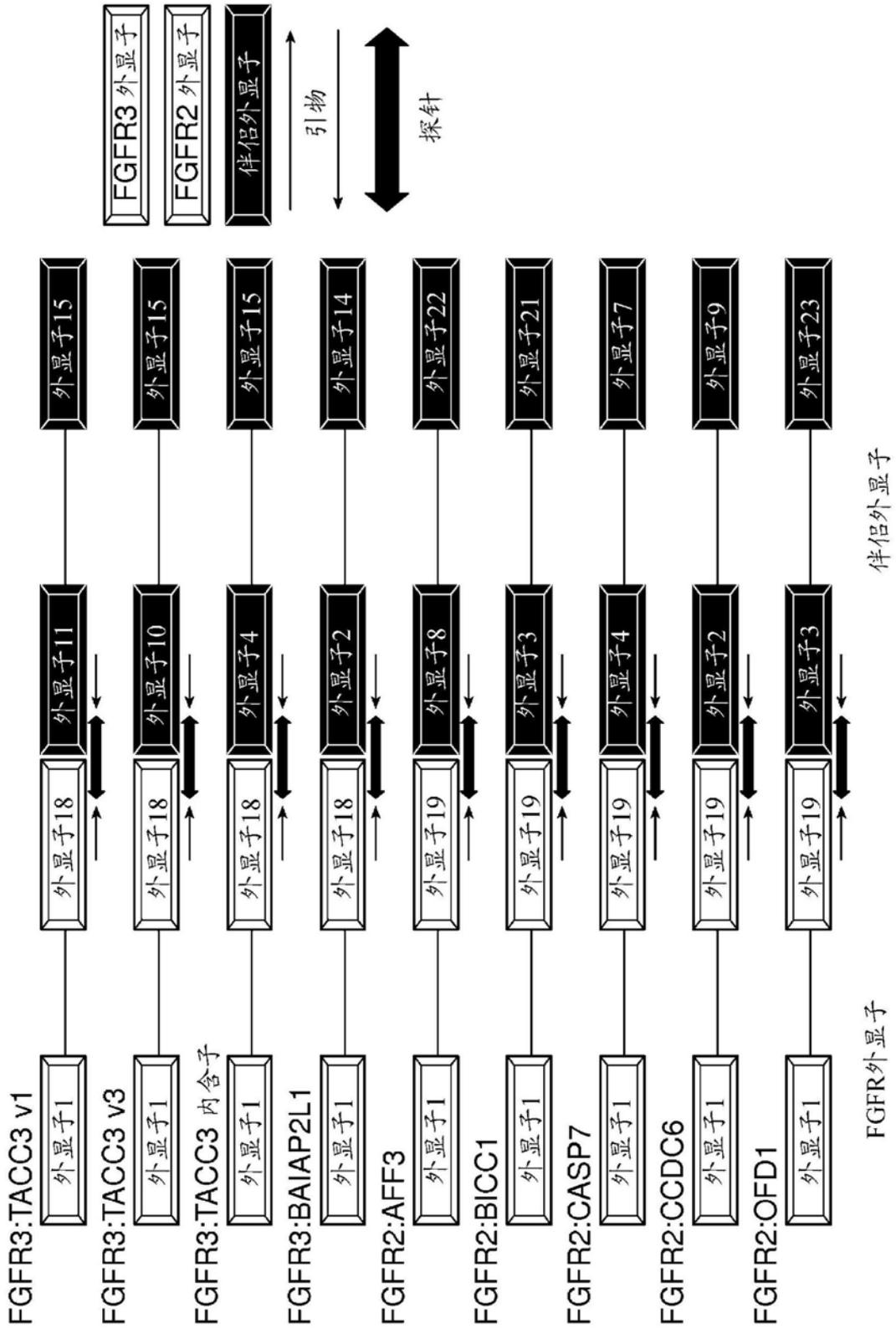


图1

FGFR3:TACC3 V1

样品CNT14Y3

205-002 r1 R B01 I片段碱基W35-38
TCCACCGACG**ACGT**AAAGGCG
TCCACCGACGTAAAGGCG

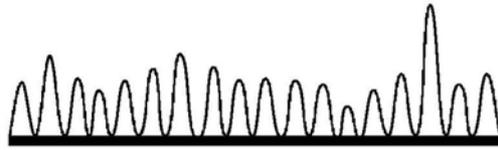


图2A

FGFR3:TACC3 V3

样品CNT0RET

TACCG TG ACGTCCACCGA
TACCG TG ACGTCCACCGA



图2B

FGFR3:TACC3内含子

样品RT4

GCC TTCT**GGCC**CAGGTGC
GCC TTCTGGCC CAGGTGC

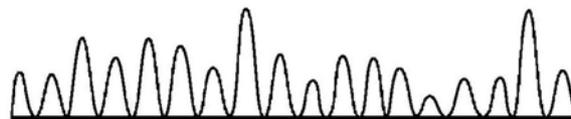


图2C

FGFR3:BAIAP2L1

样品CNTORFE

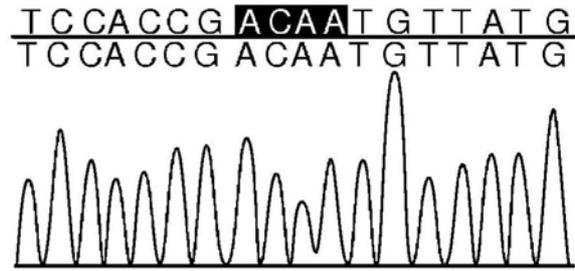


图2D

FGFR2:AFF3

样品CNT14QE

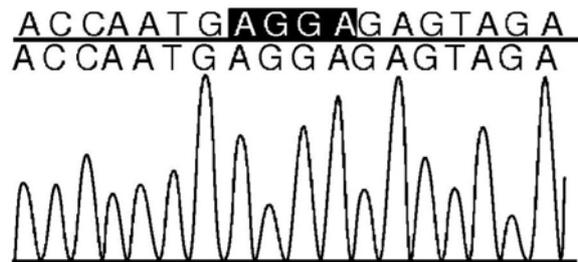


图2E

FGFR2:BICC1

样品CNTORLV

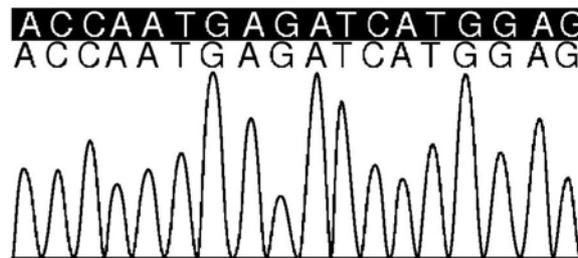


图2F

FGFR2:CASP7

样品CNT06FT

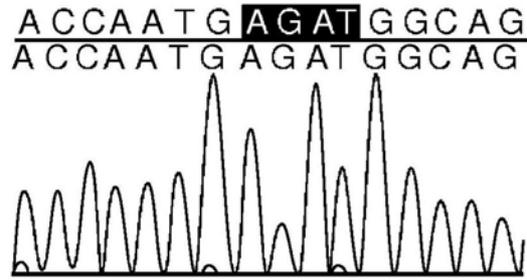


图2G

FGFR2:CCDC6

样品CNT06FT

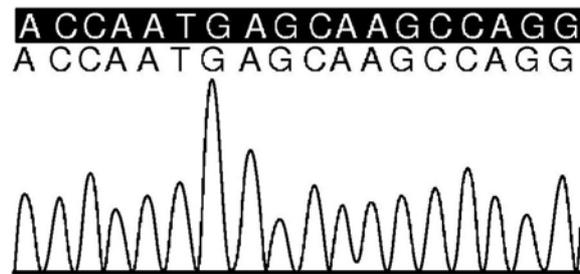


图2H

FGFR2:OFD1

样品Lu1656

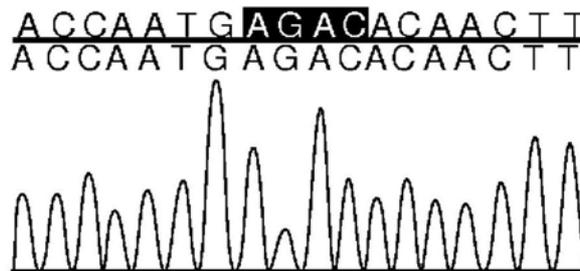


图2I

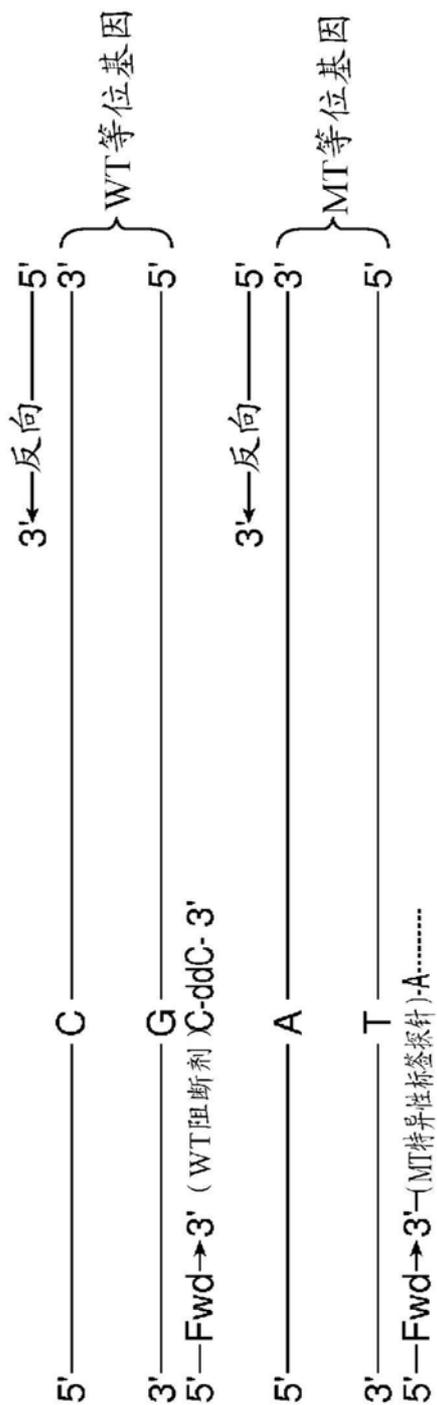


图3

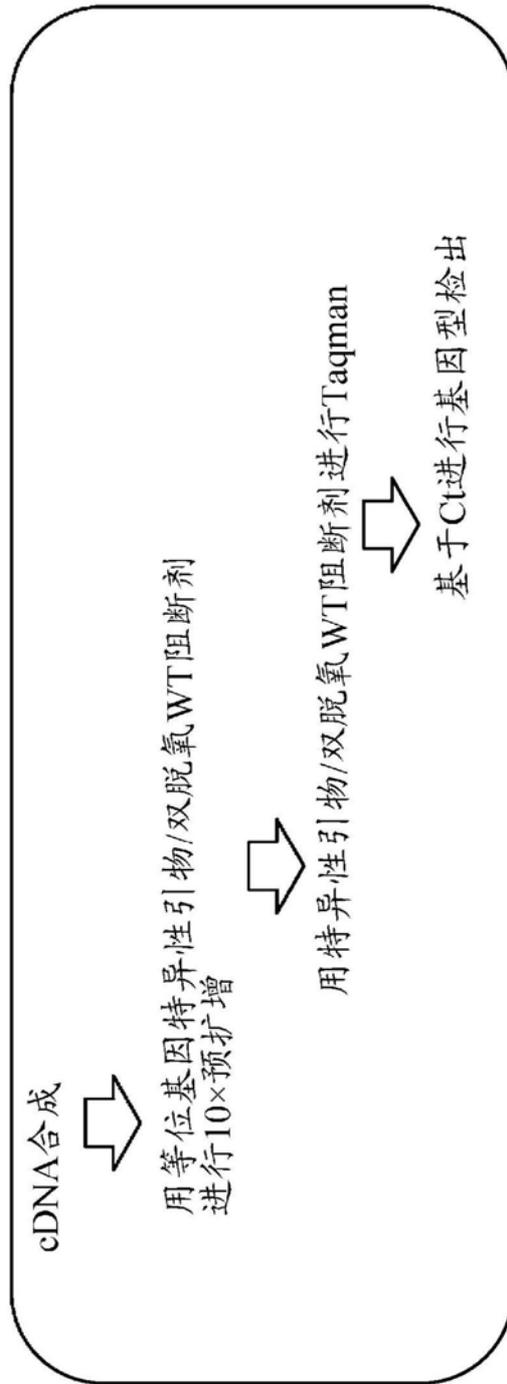


图4

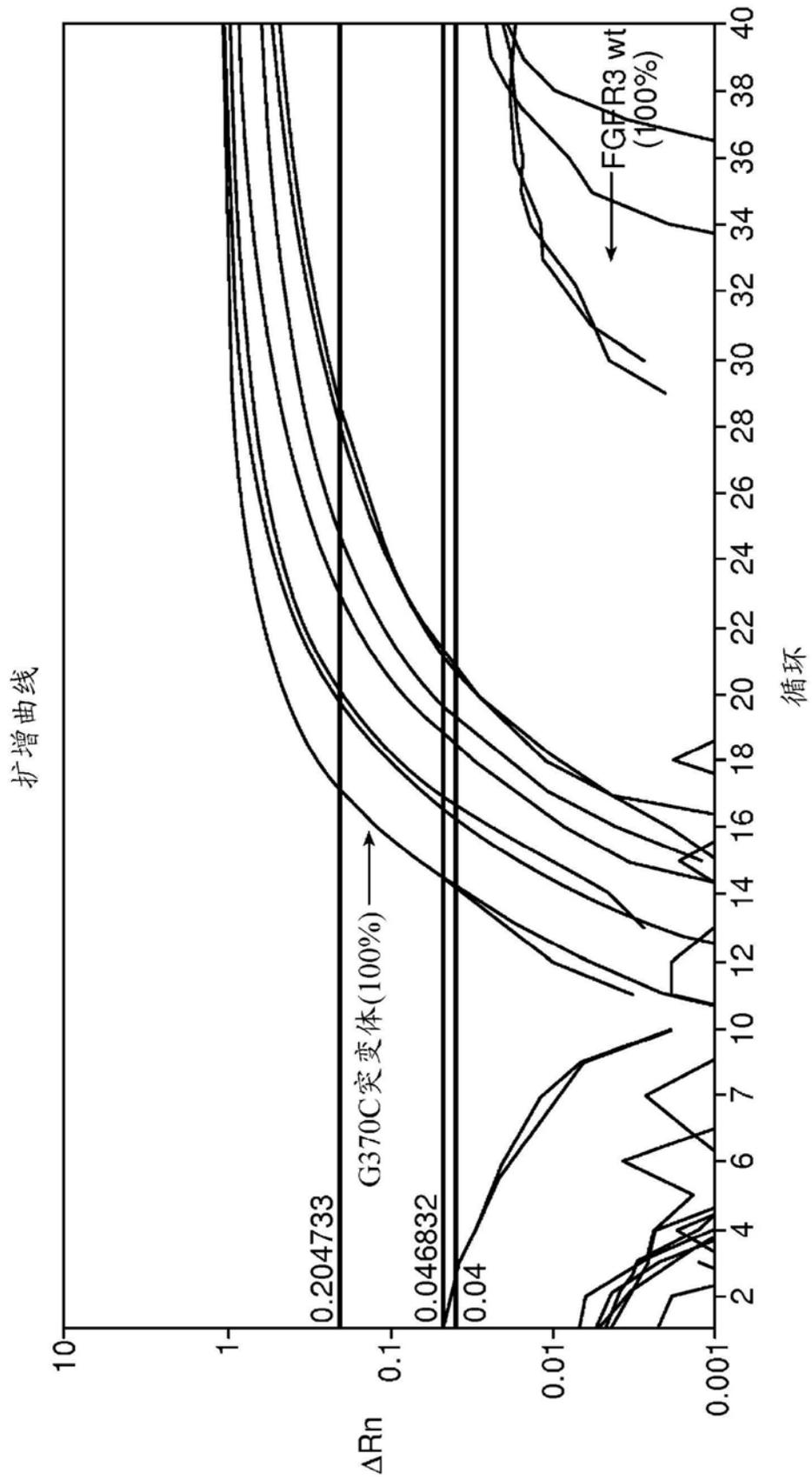


图5A

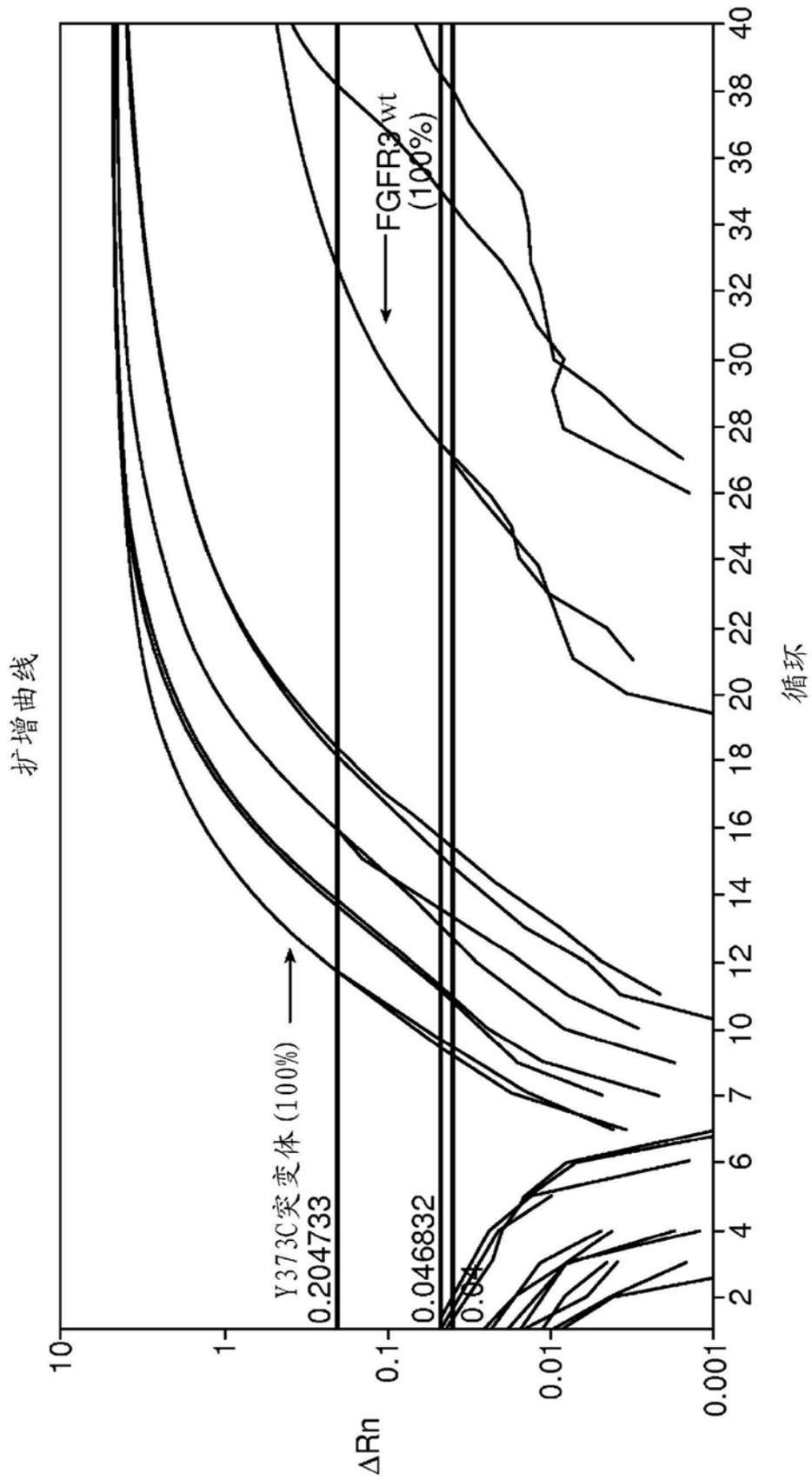


图5B

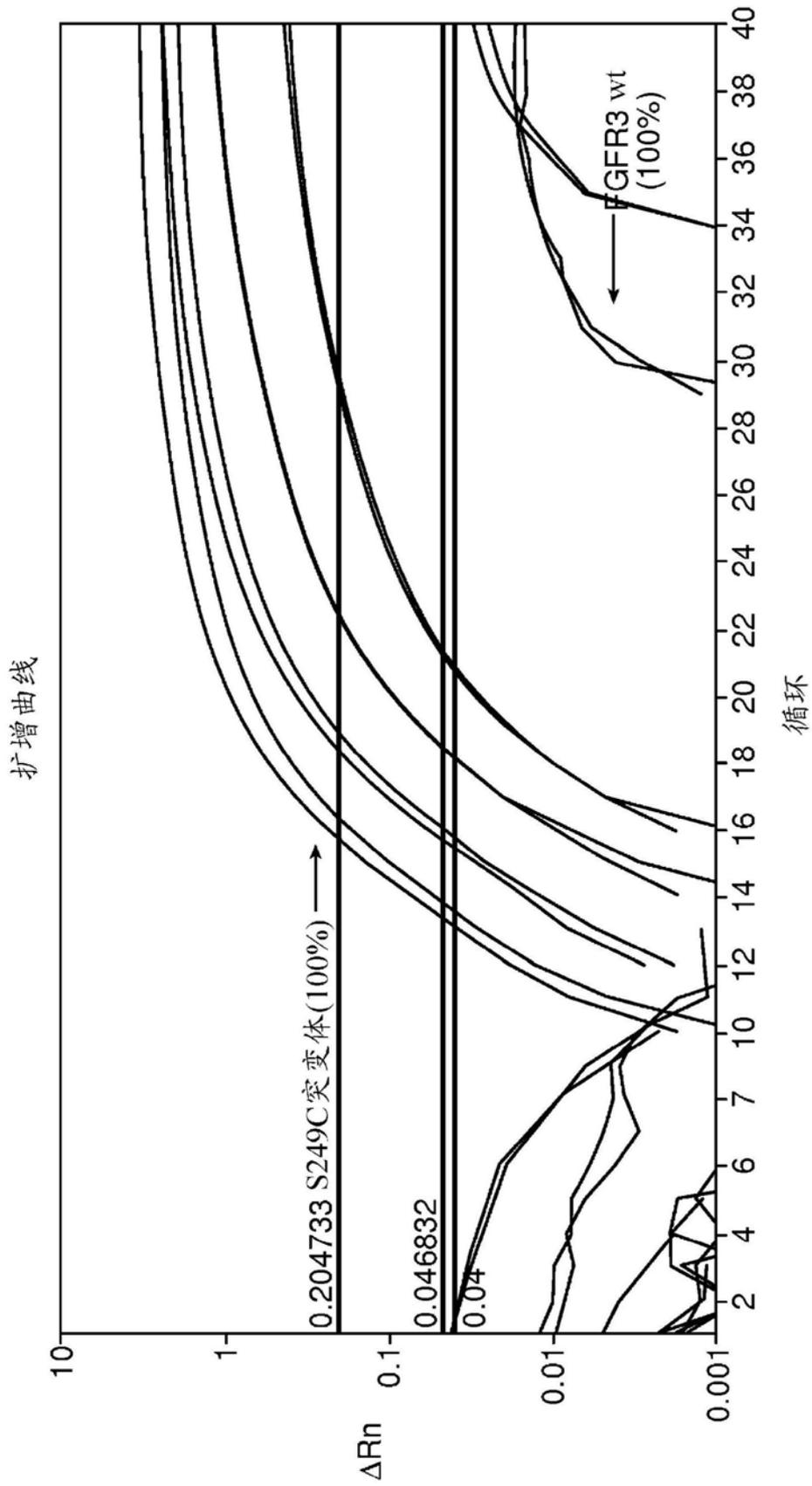


图5C

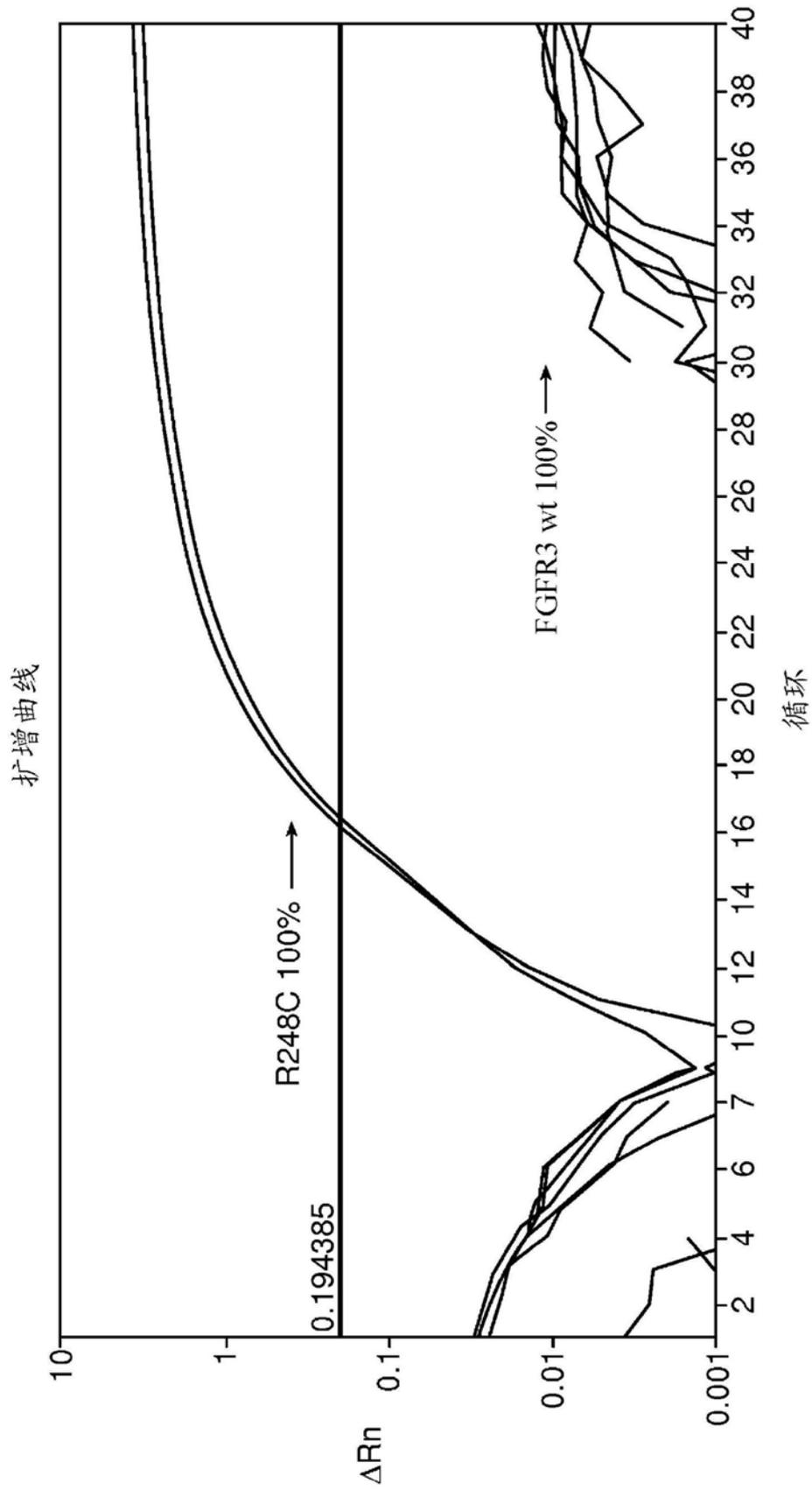


图5D

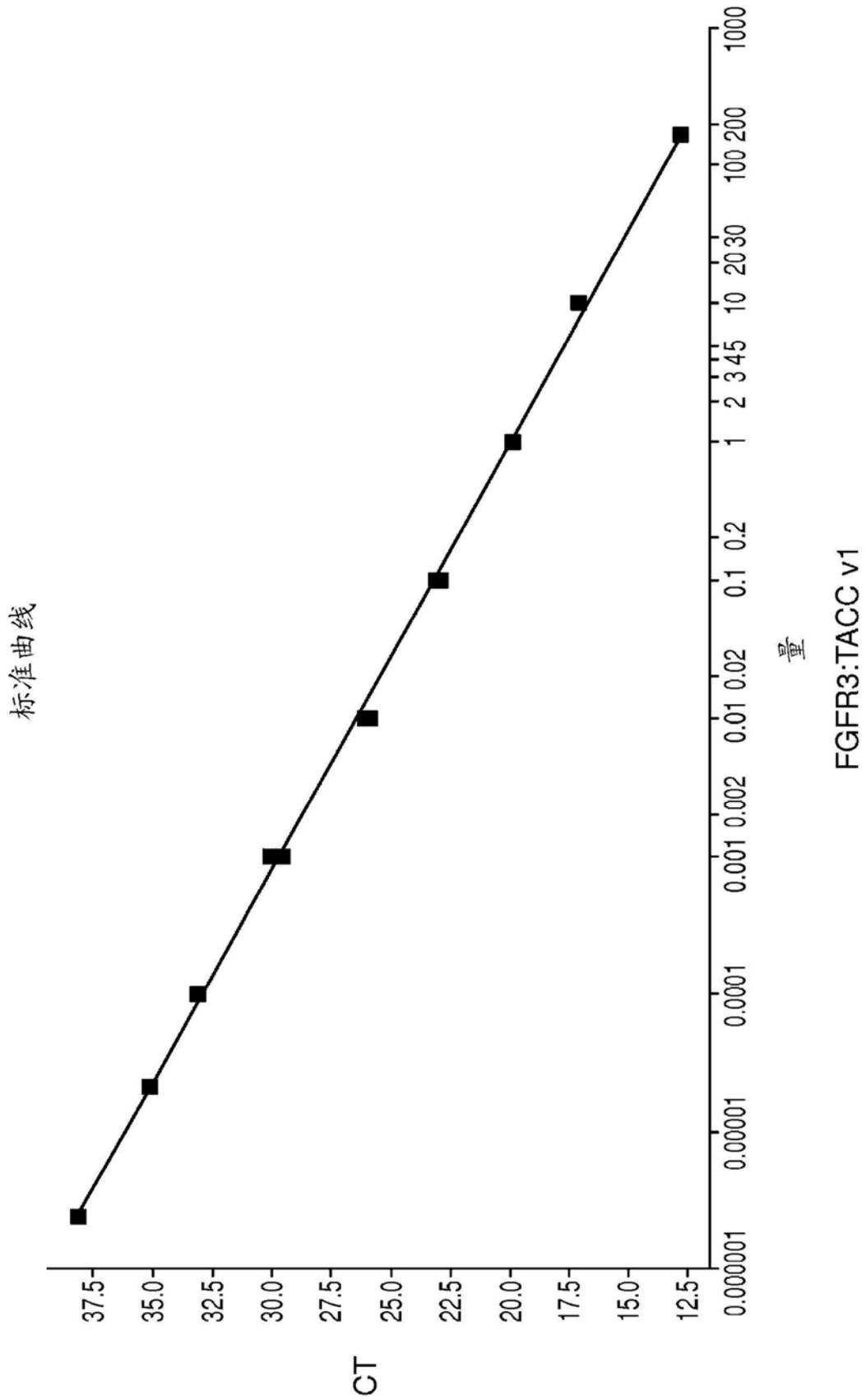


图6A

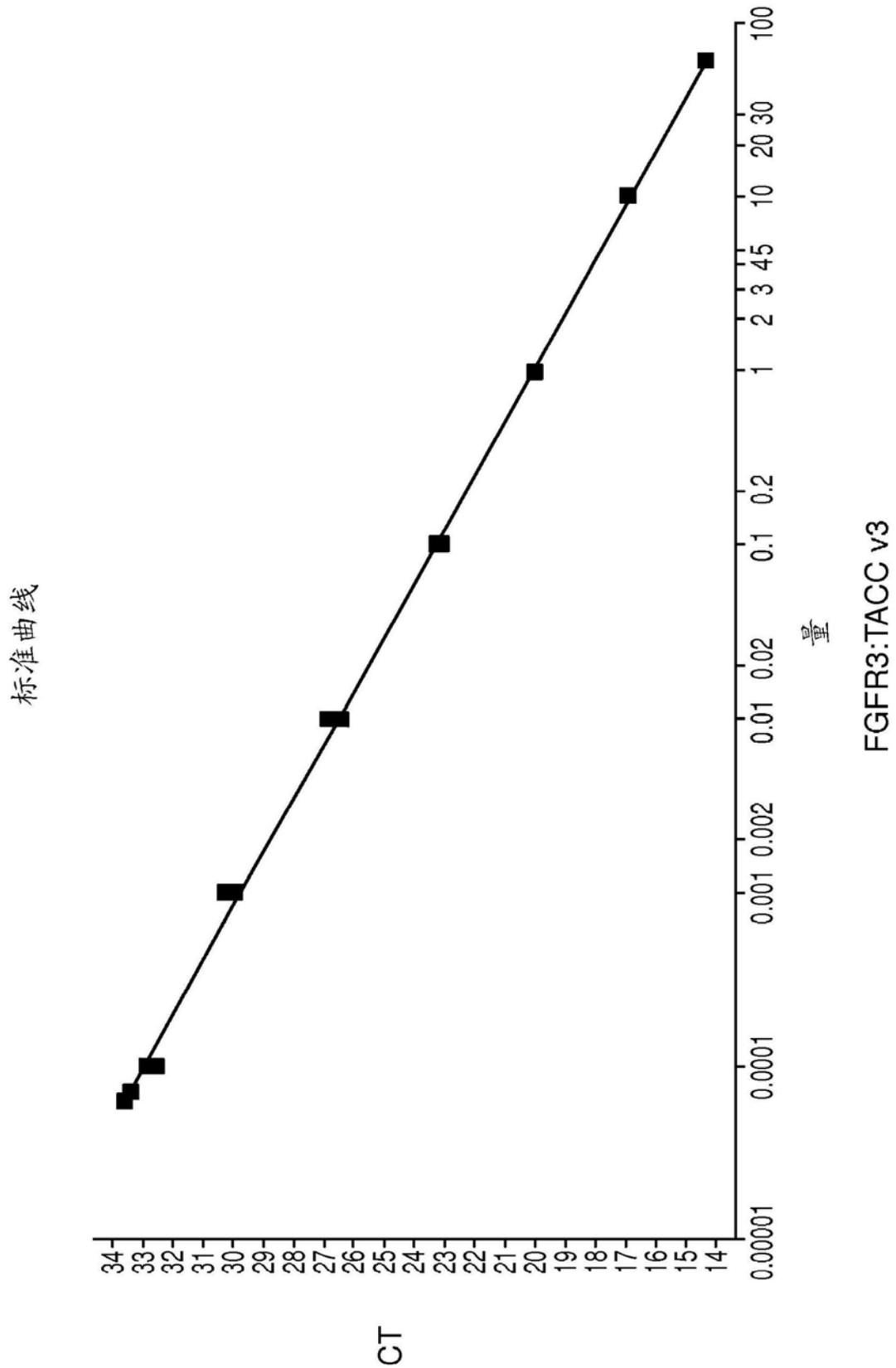


图6B

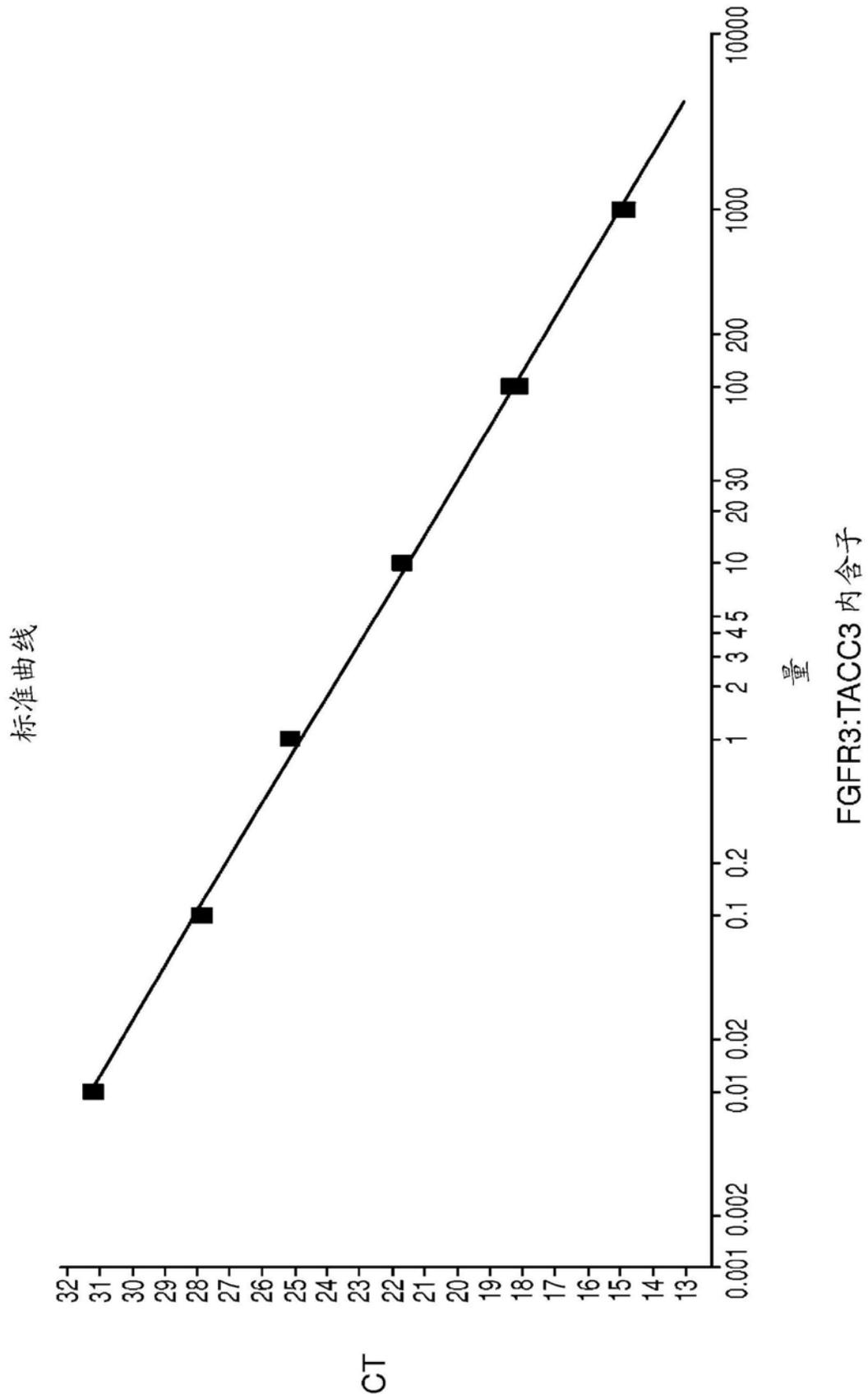


图6C

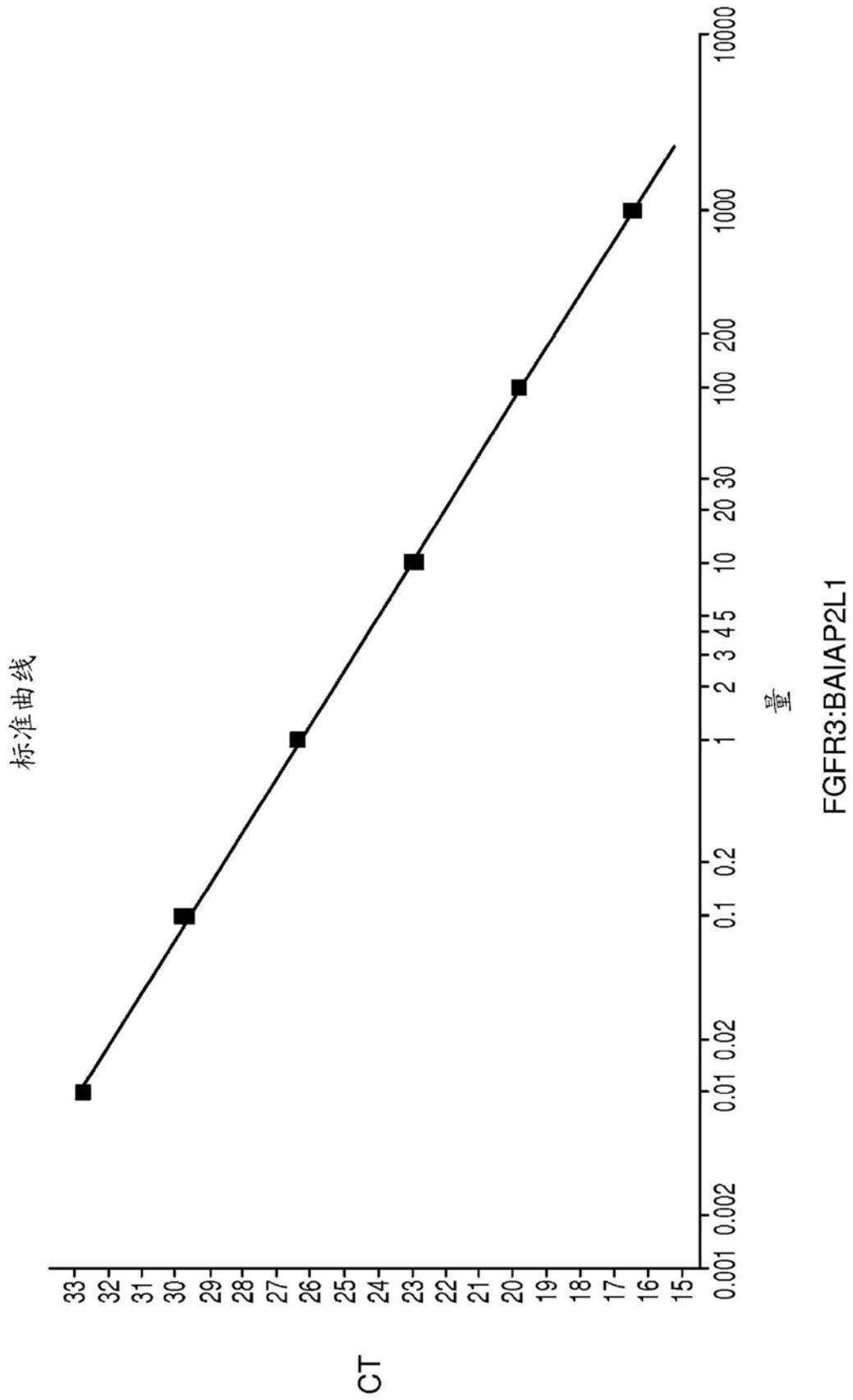


图6D

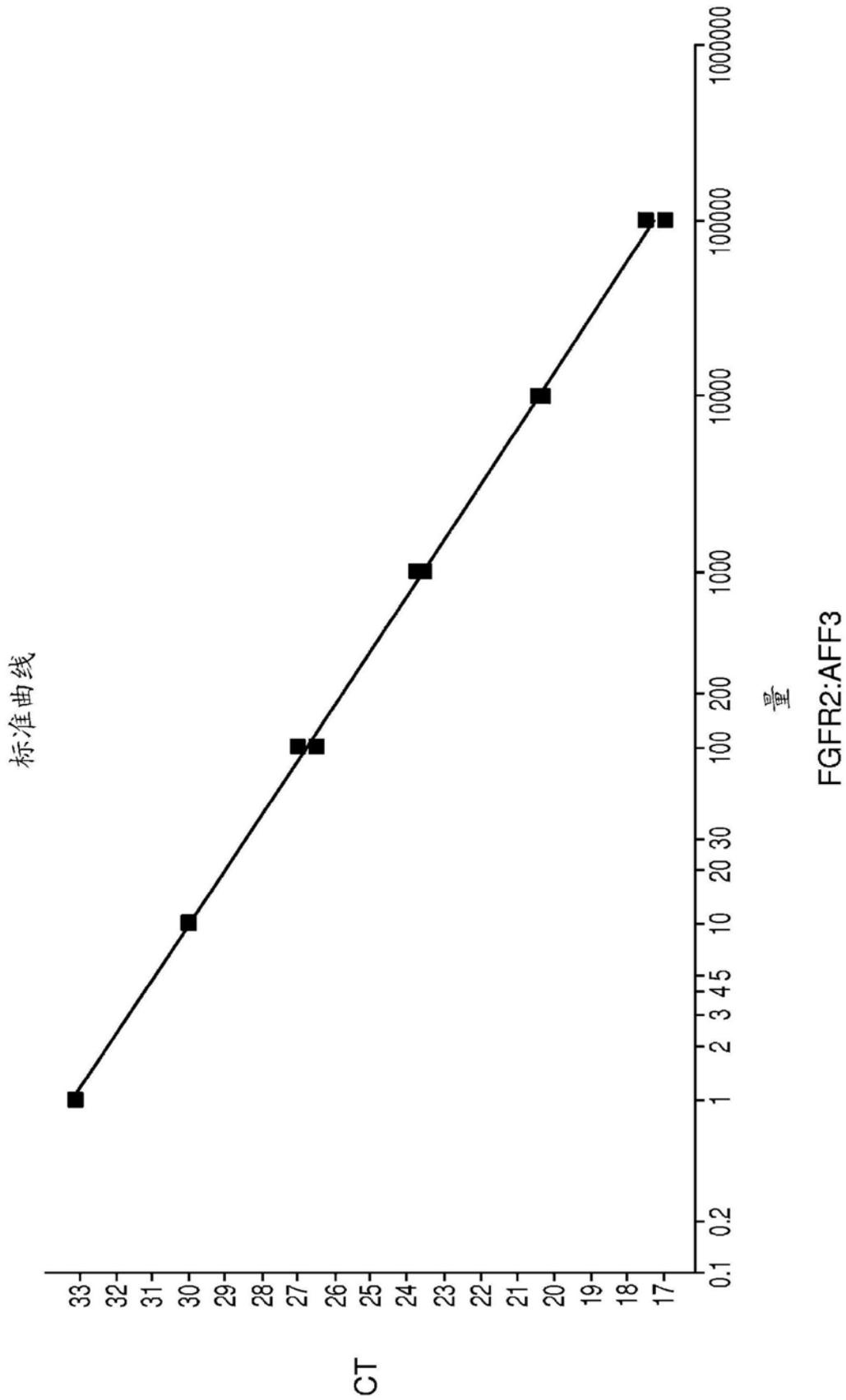


图6E

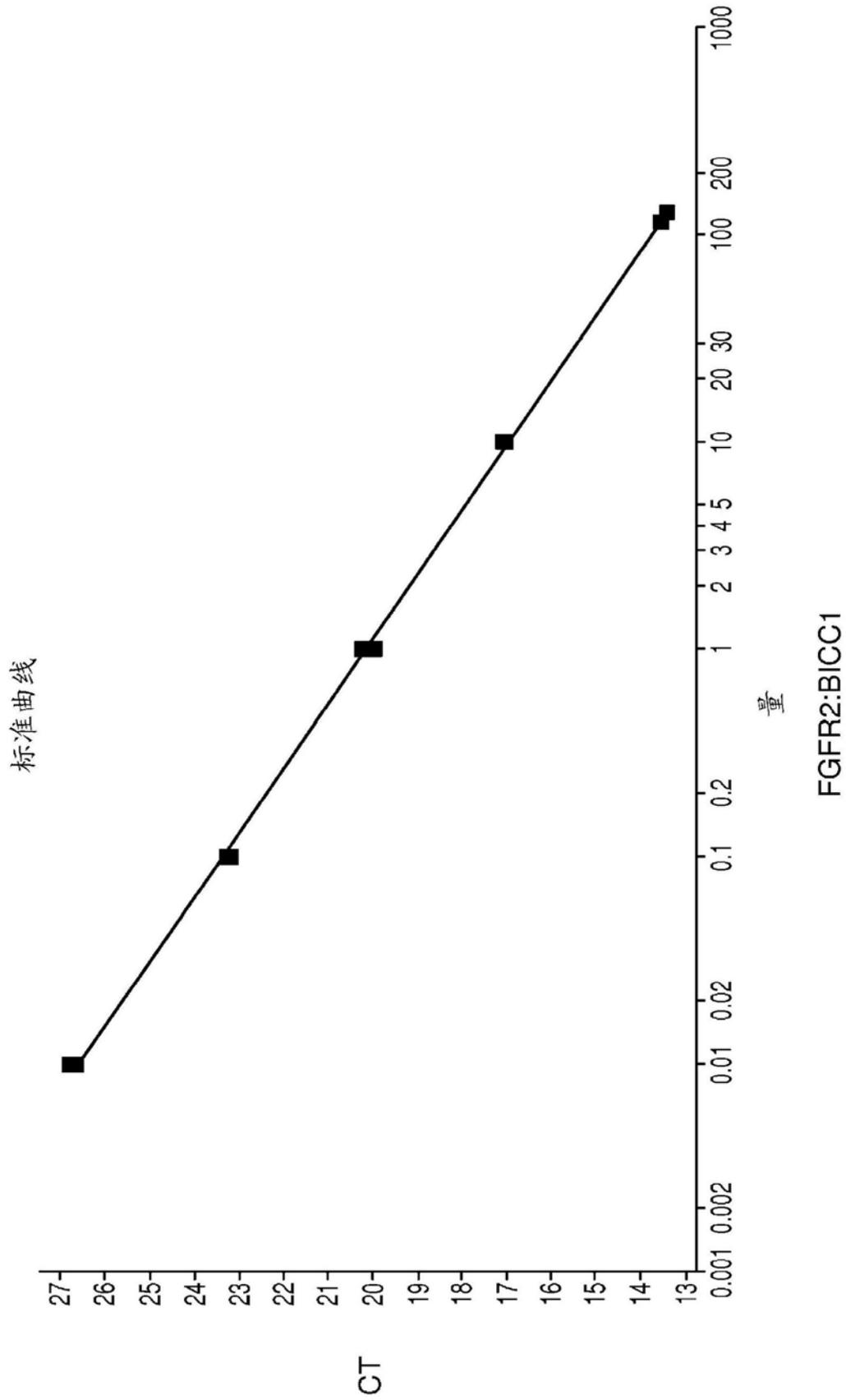


图6F

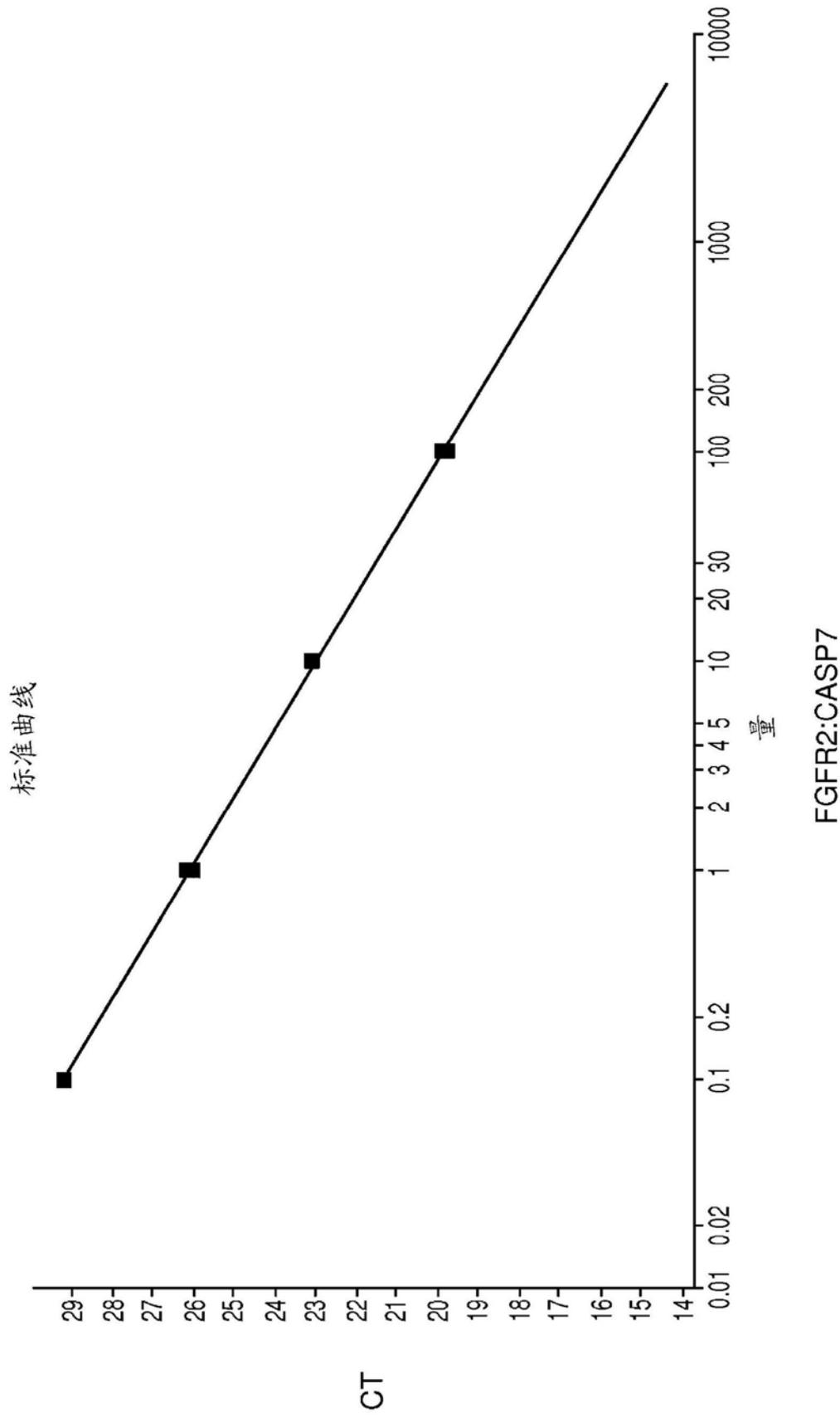


图6G

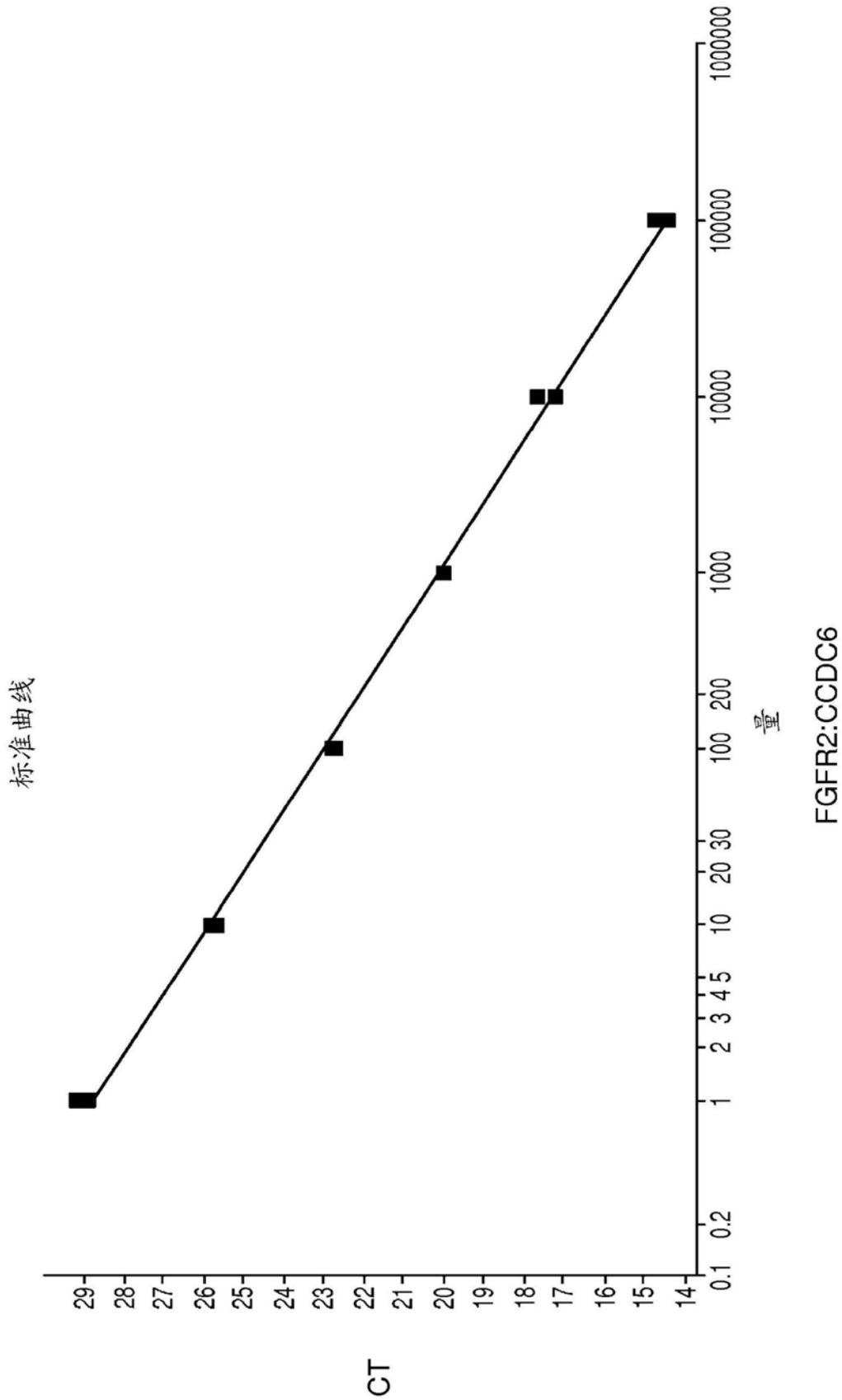


图6H

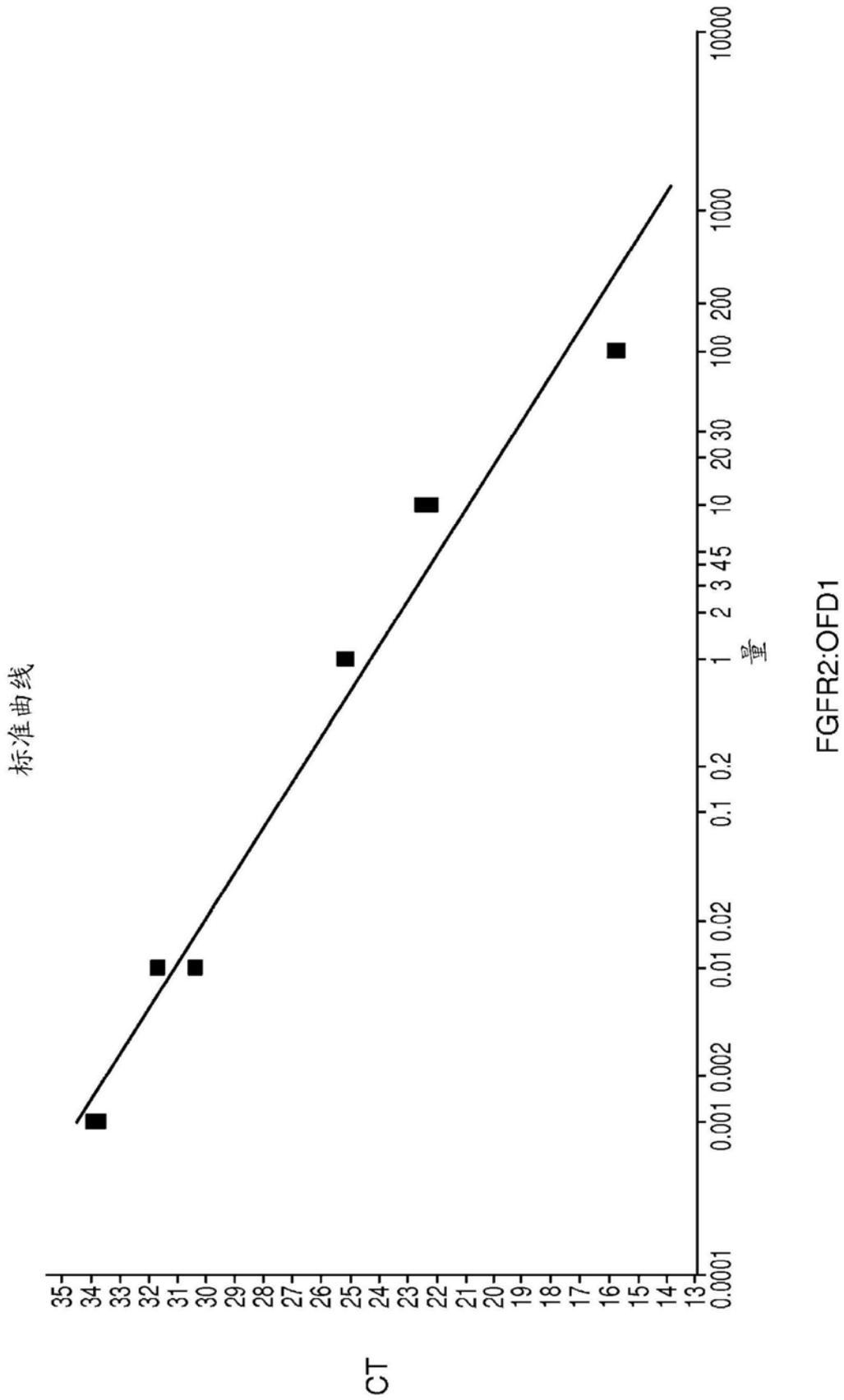


图6I

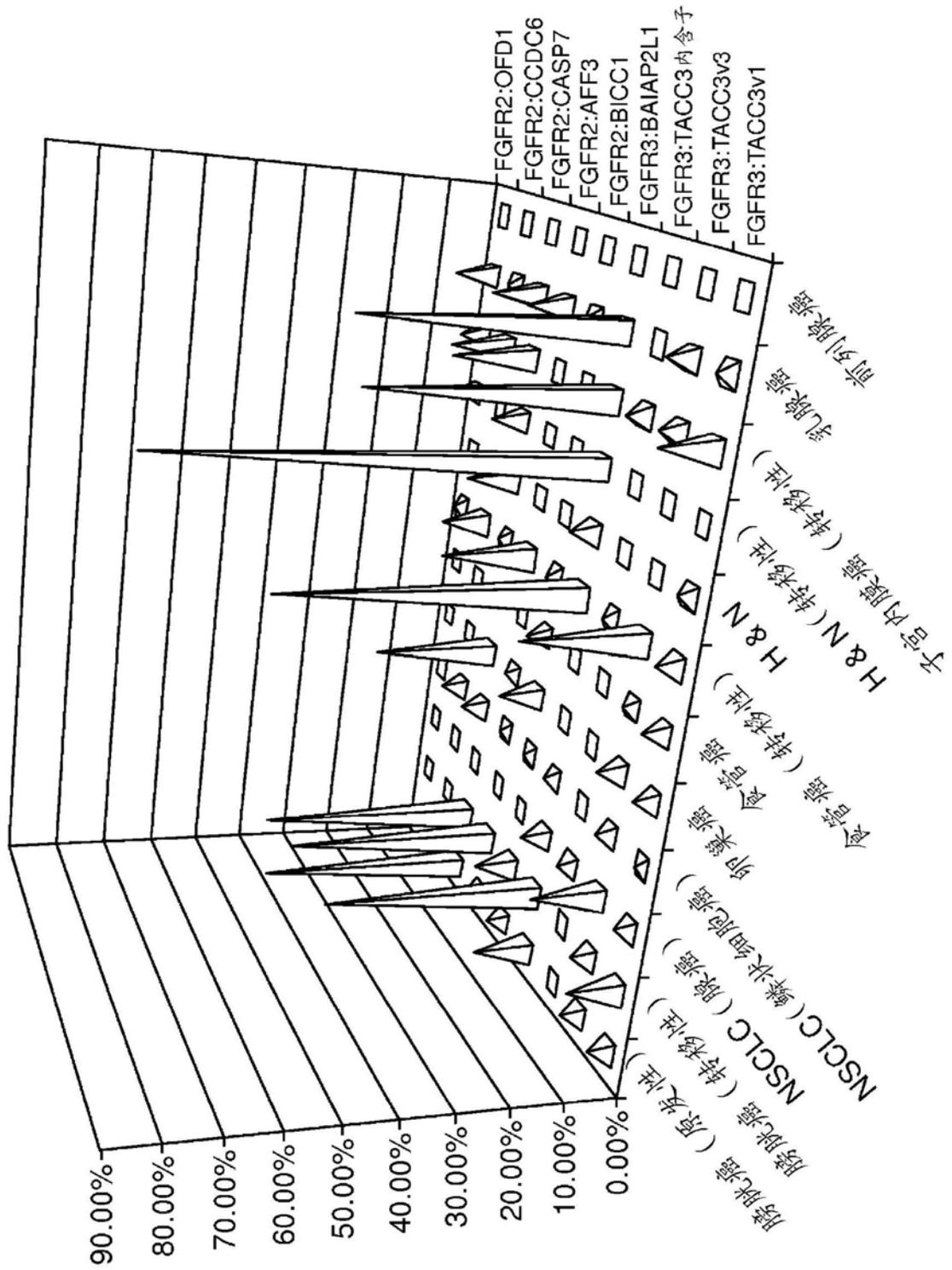


图7

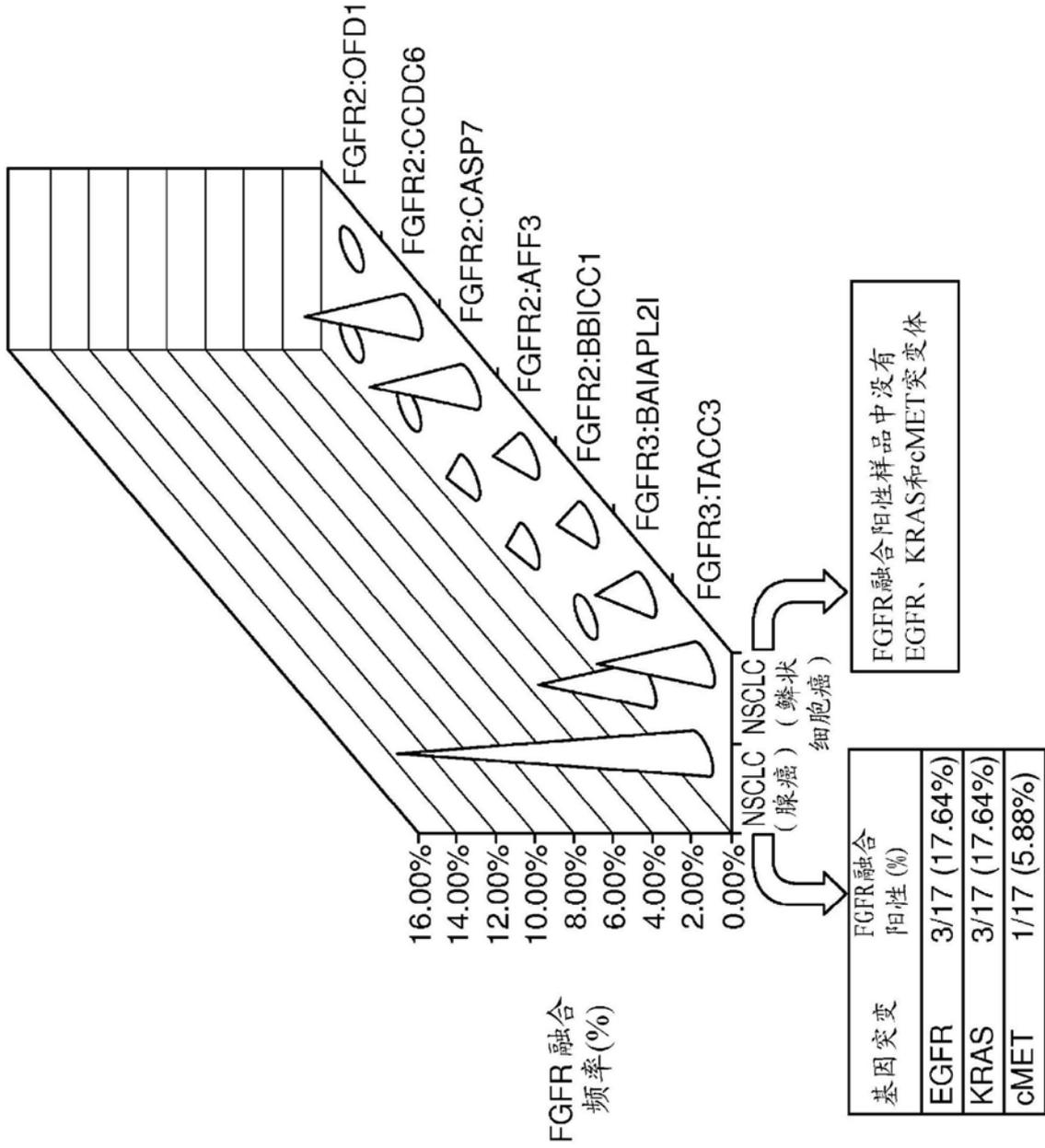
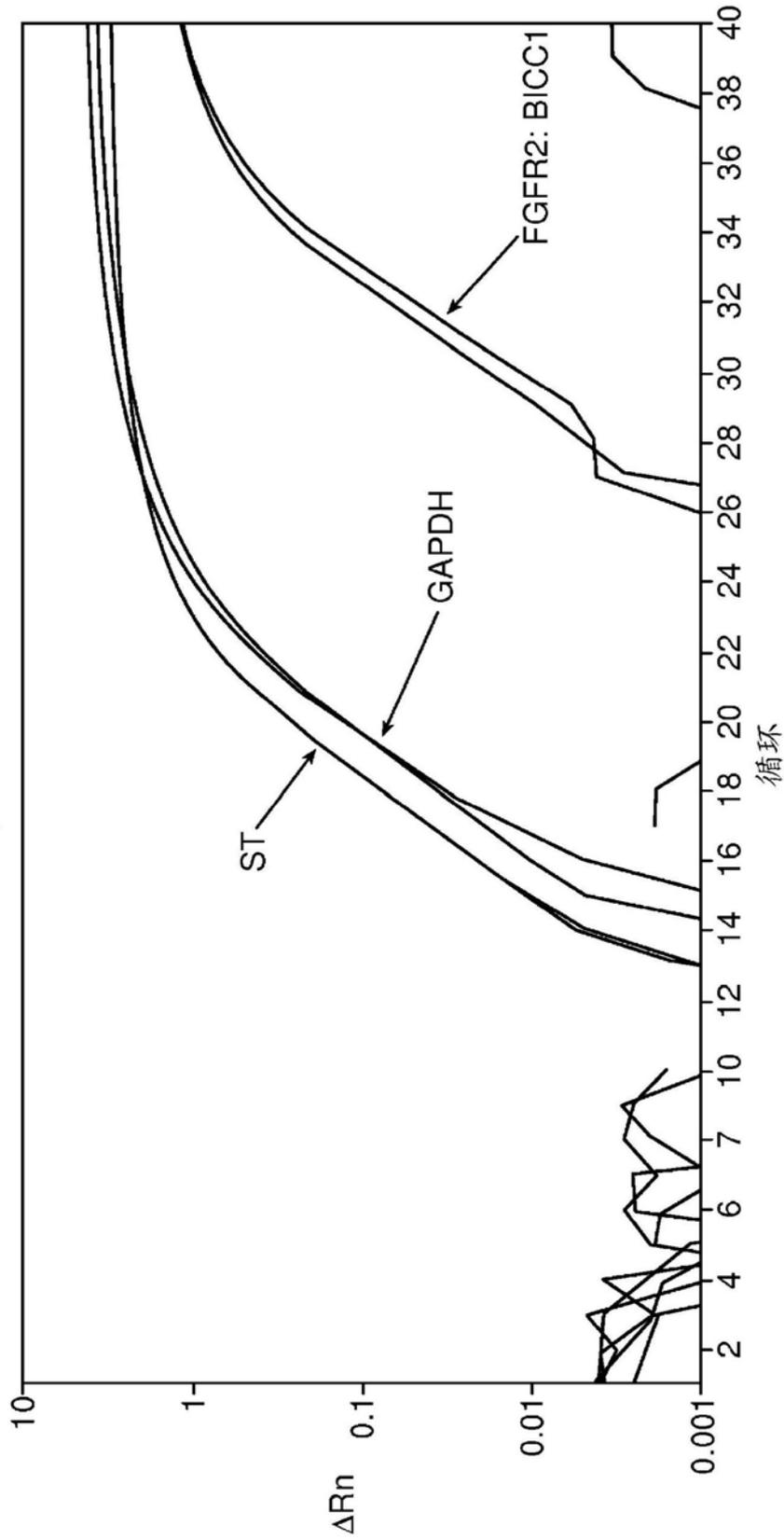


图8

结果: Pt#1000081

扩增曲线



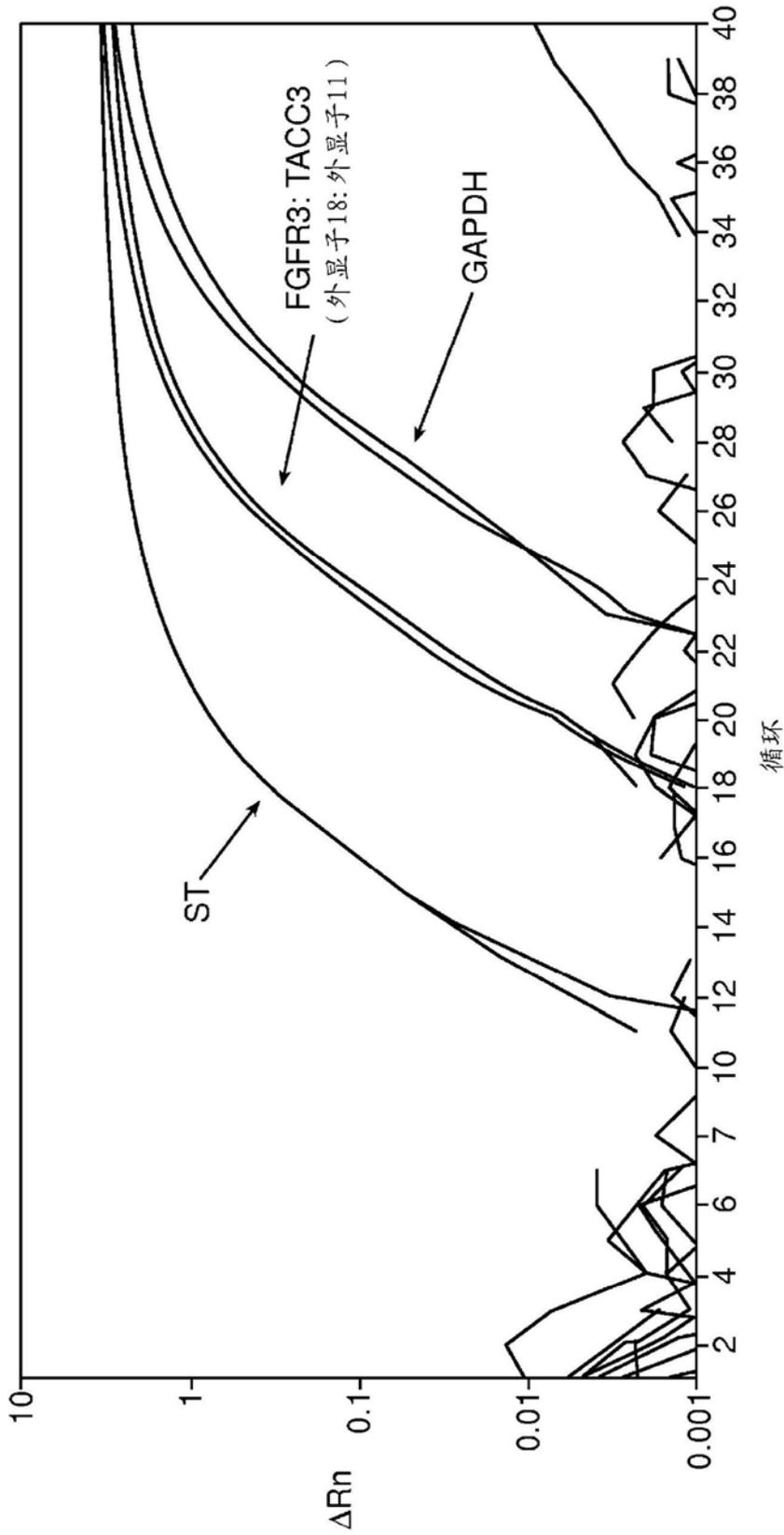
样品	Ct
GAPDH	21.140
ST	18.604
FGFR2: BICC1	32.764

ST = 合成模板测定对照
GAPDH = QC样品对照

图9A

结果: Pt#33000158

扩增曲线



样品	Ct
GAPDH	29.278
ST	17.329
FGFR3: TACC3V1	24.956

图9B

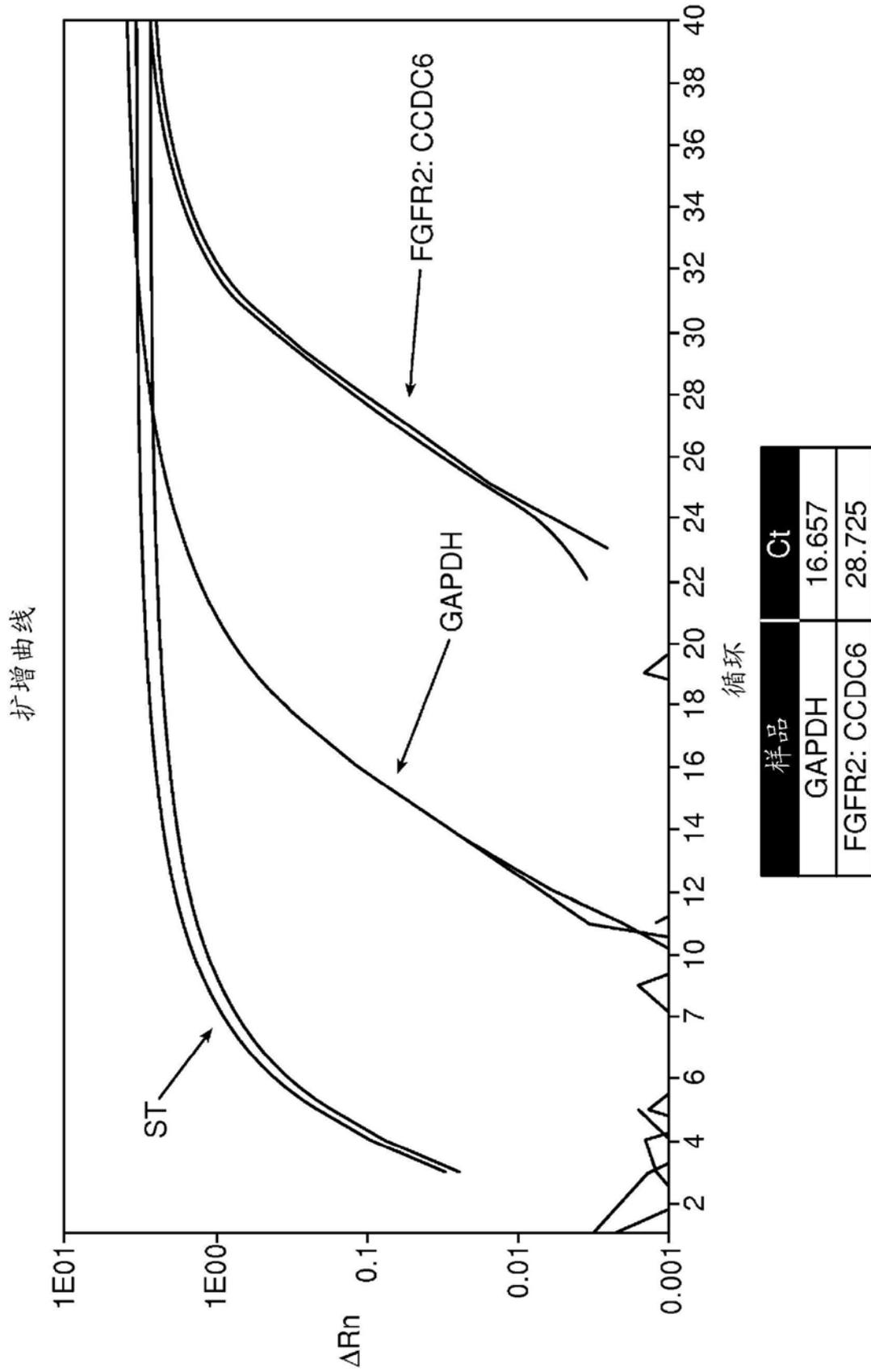
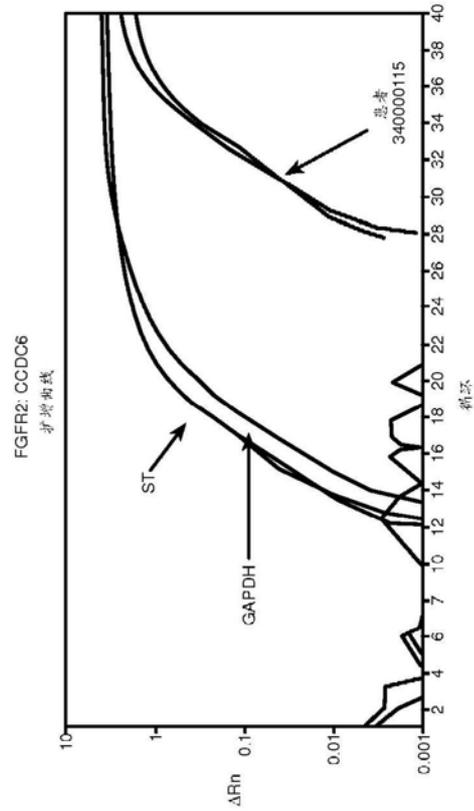
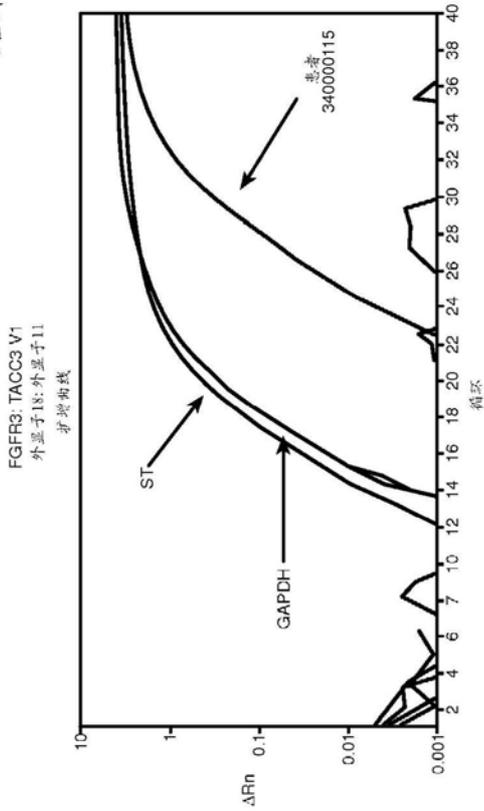
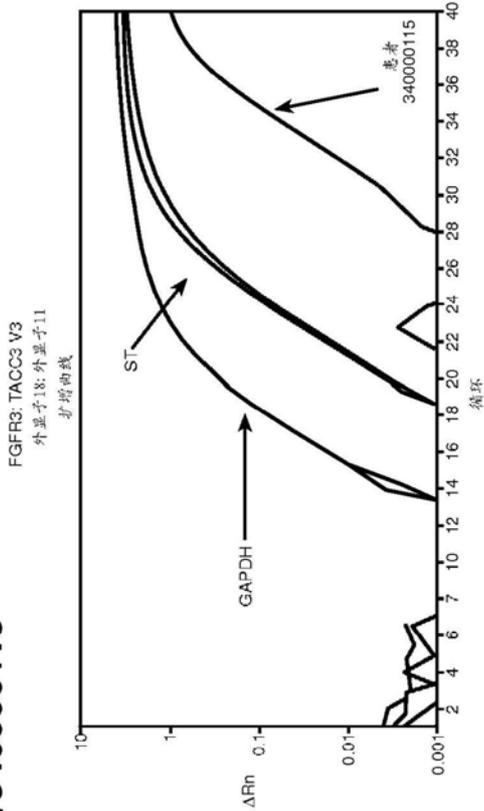


图9C

结果: Pt#340000115



测定	样品Ct	St Ct
FGFR3: TACC3 V1	28.67	18.35
FGFR3: TACC3 V3	35.0	24.89
FGFR2: CCDC6	32.45	16.74

ST=合成模板测定对照
 GAPDH=QC样品对照

图9D

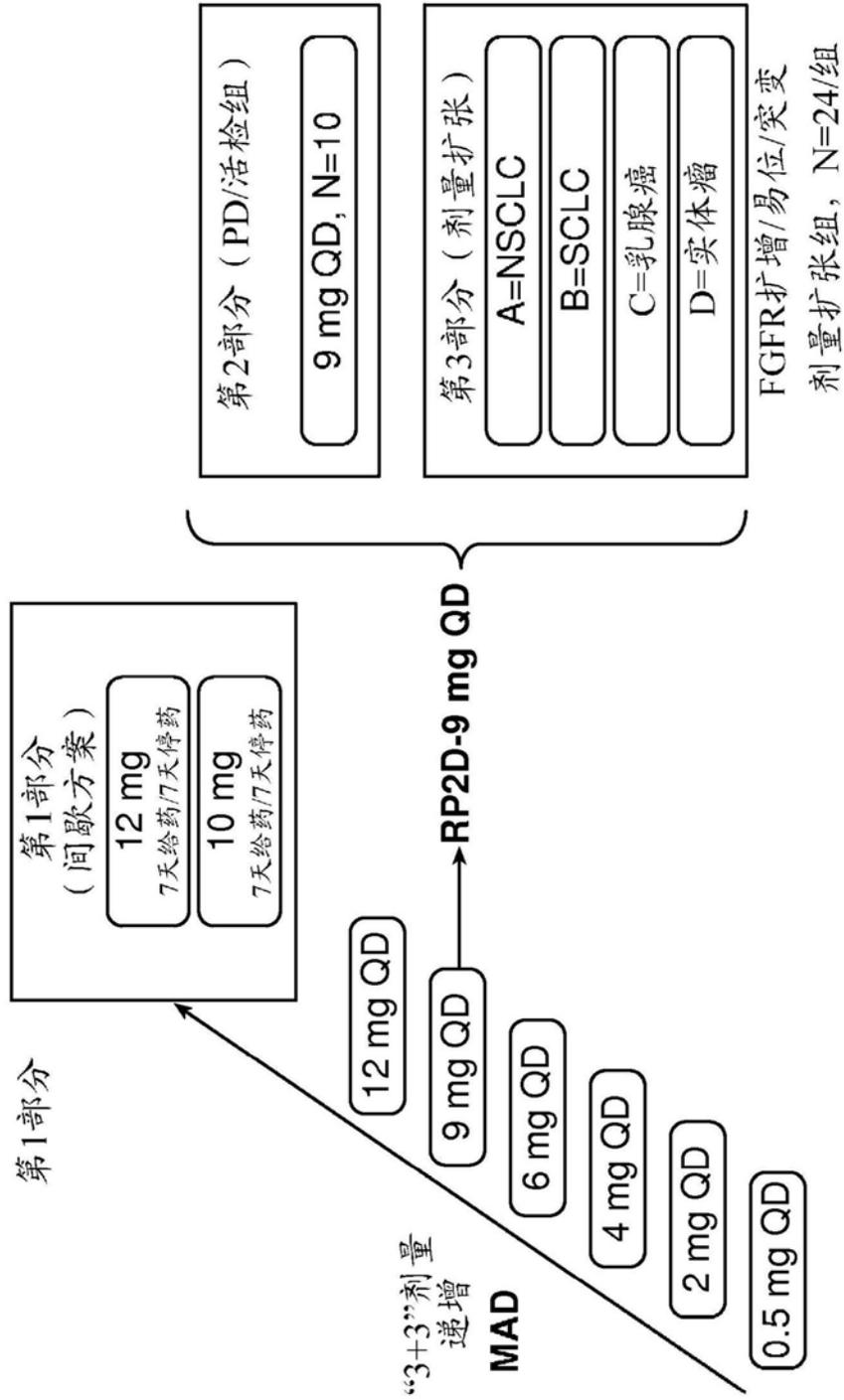


图10

用JNJ-42756493 (EDI10001)对其肿瘤含有FGFR基因改变的患者进行I期研究的初步数据的临床活动

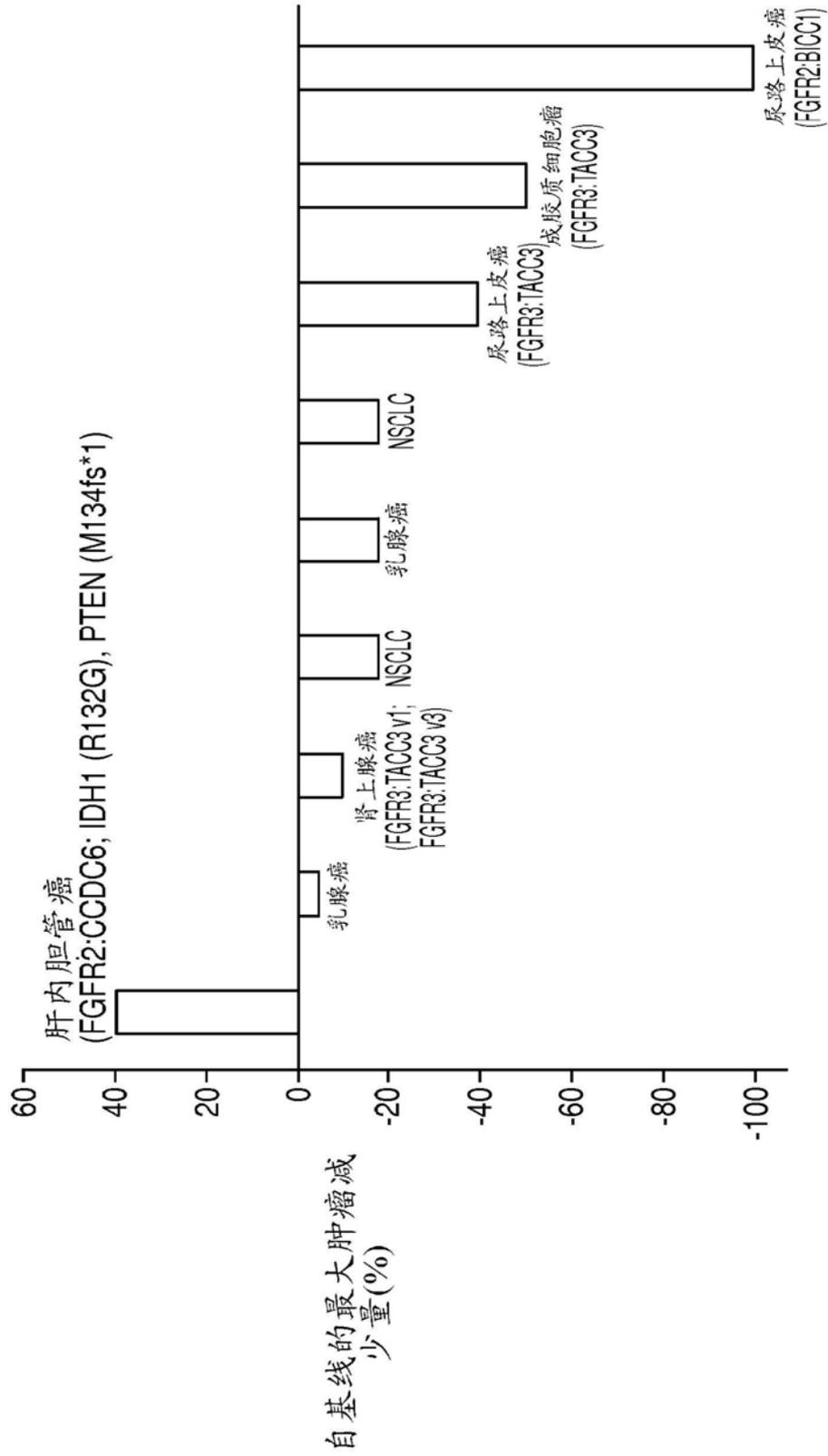


图11

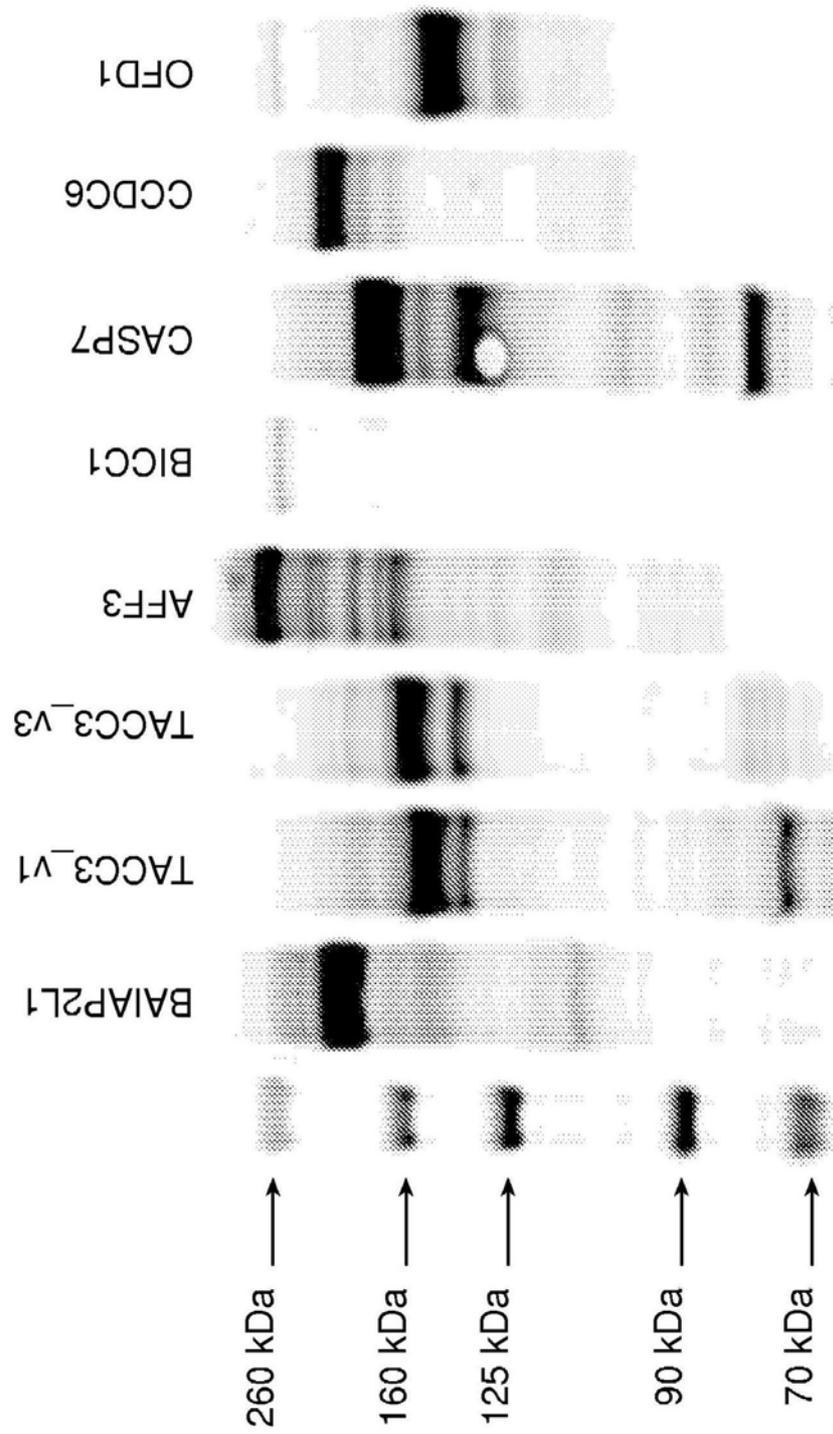


图12

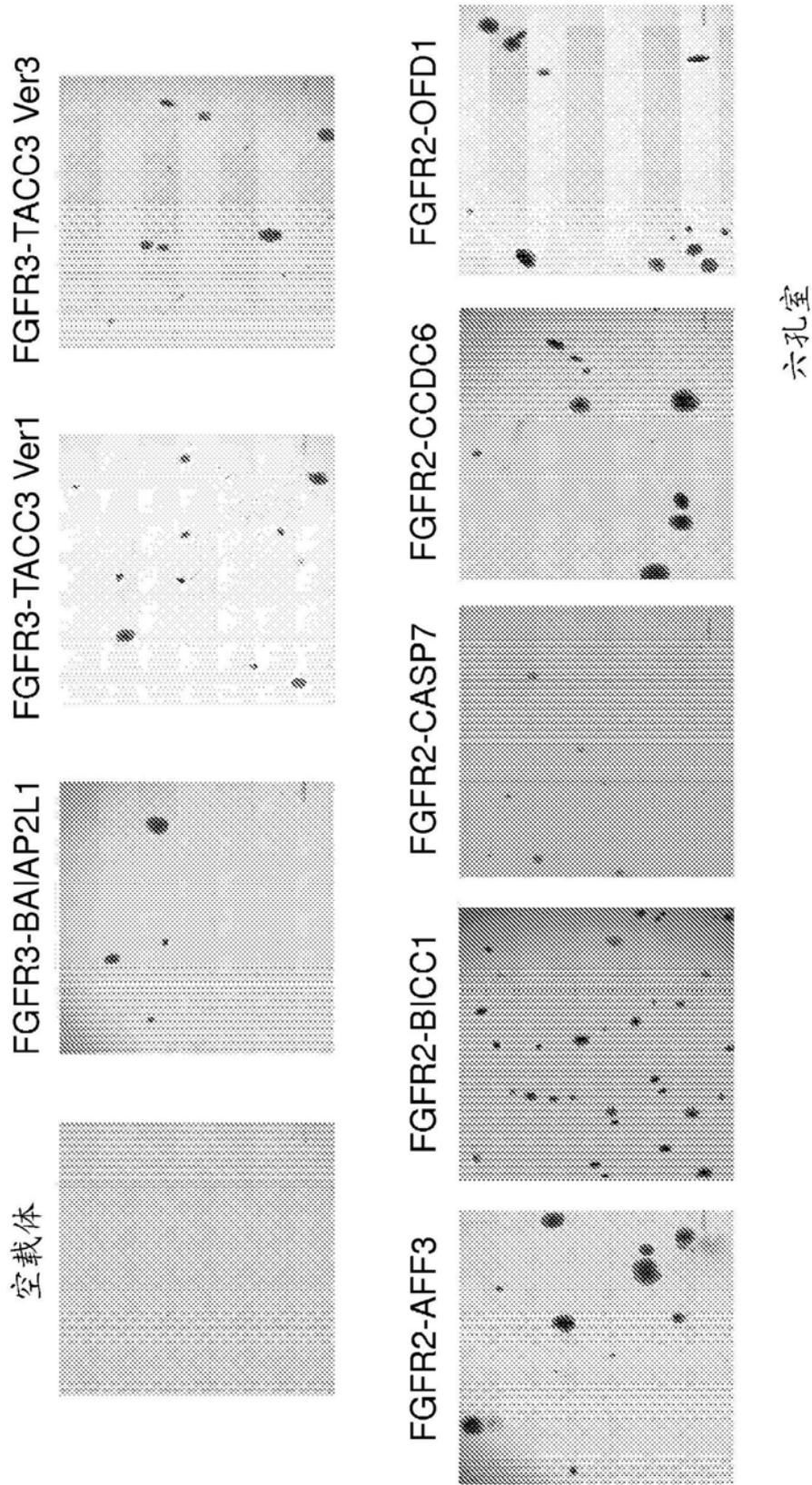
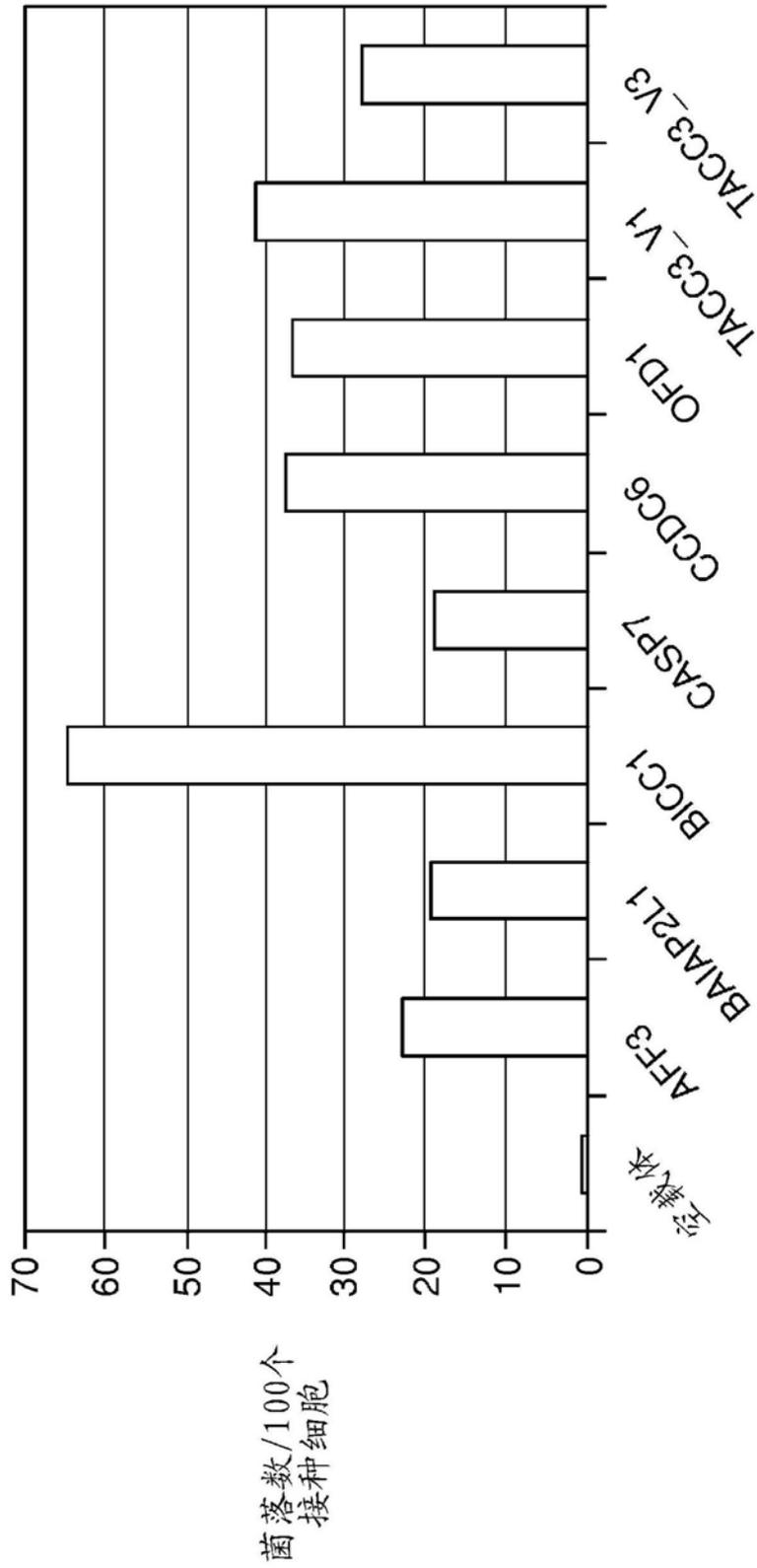


图13A



**结果表示两次独立实验

图13B

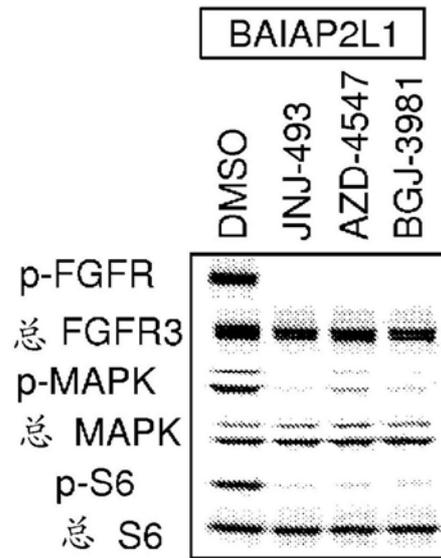


图14A

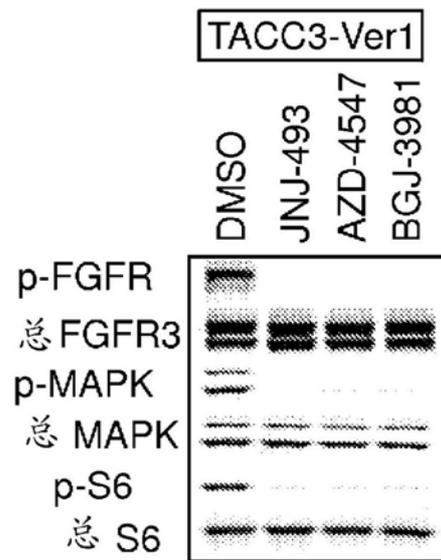


图14B

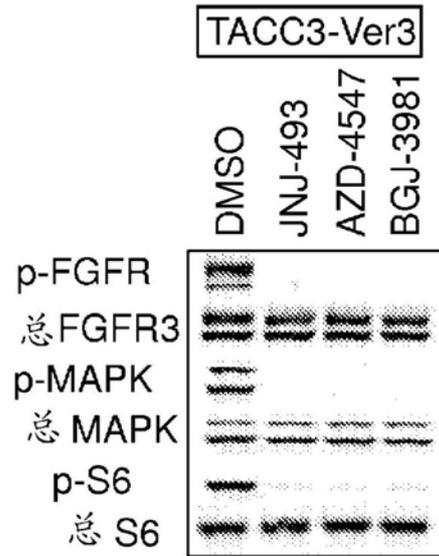


图14C

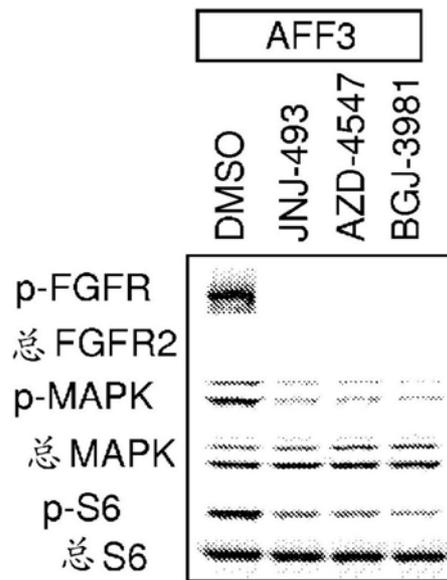


图14D

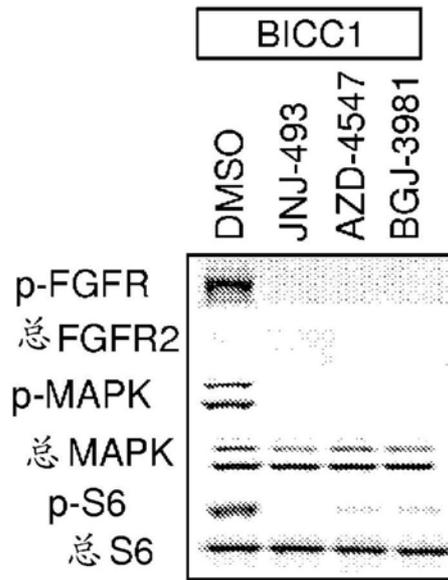


图14E

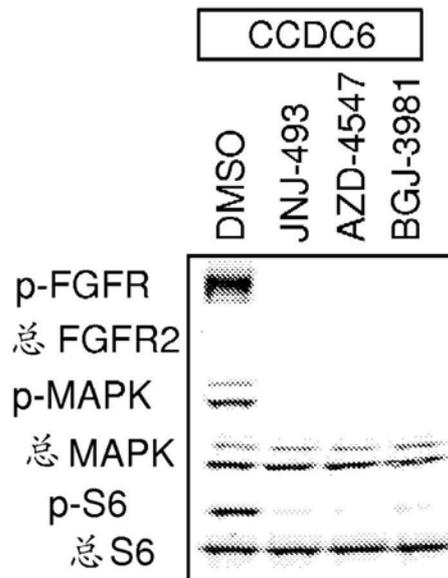


图14F

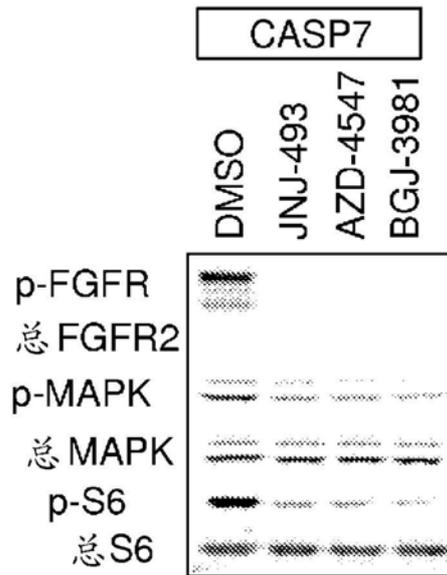


图14G

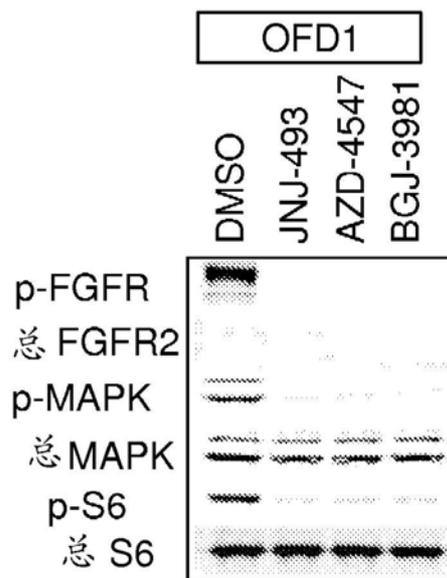


图14H