



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109022434 B

(45) 授权公告日 2021.07.06

(21) 申请号 201811080842.7
 (22) 申请日 2018.09.17
 (65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 109022434 A
 (43) 申请公布日 2018.12.18
 (73) 专利权人 中国人民解放军南京军区南京总医院
 地址 210002 江苏省南京市中山东路305号
 (72) 发明人 夏秋媛 饶秋 叶胜兵 沈勤
 王小桐 潘瑞 李芳秋 周晓军
 (74) 专利代理机构 南京天华专利代理有限责任公司 32218
 代理人 夏平 傅婷婷
 (51) Int. Cl.
 C12N 15/11 (2006.01)
 C12Q 1/6841 (2018.01)
 C12Q 1/6886 (2018.01)
 (56) 对比文件
 CN 109022433 A, 2018.12.18
 CN 107299152 A, 2017.10.27
 CN 104212889 A, 2014.12.17
 CN 102424848 A, 2012.04.25
 CN 107299152 A, 2017.10.27

CN 107365783 A, 2017.11.21
 WO 2012139134 A2, 2012.10.11
 Sounak Gupta et al.. "TFEB-VEGFA (6p21.1) co-amplified renal cell carcinoma: a distinct entity with potential implications for clinical management". 《Mod Pathol》. 2017, 第30卷 (第7期), 第998-1012页.
 Anna Caliò et al.. "TFEB rearranged renal cell carcinoma. A clinicopathologic and molecular study of 13 cases. Tumors harboring MALAT1-TFEB, ACTB-TFEB, and the novel NEAT1-TFEB translocations constantly express PDL1". 《Modern Pathology》. 2020, 第34卷第842-850页.
 魏建国 等. "Xp11.2易位/TFE-3基因融合相关性肾癌的病例研究进展". 《医学研究杂志》. 2015, 第44卷 (第2期), 第162-165页.
 夏秋媛 等. "t(6;11) (p21.2;q13) / MALAT1-TFEB基因易位相关性肾癌的临床病理分析". 《中国病理学杂志》. 2015, 第44卷 (第12期), 第895-899页.

审查员 王李娜

权利要求书1页 说明书6页
序列表1页 附图4页

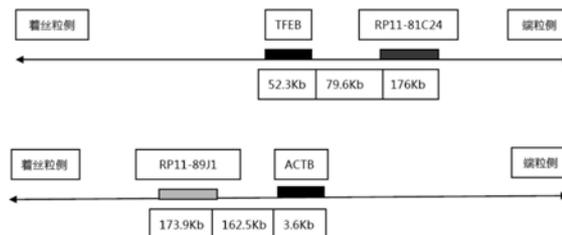
(54) 发明名称

一种用于诊断ACTB-TFEB易位性肾癌的探针组合及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一种用于诊断ACTB-TFEB易位性肾癌的探针组合及其应用。探针组合由BAC克隆探针RP11-89J1和BAC克隆探针RP11-81C24组成。本发明所述的探针在制备ACTB-TFEB易位性肾癌诊断试剂中的应用。本发明根据TFEB易位性肾癌的特点,设计结合在TFEB基因端粒侧和ACTB基因着丝粒侧的荧光标记DNA探针组合,在石蜡包埋组织切片的基础上进行原位杂交,检测融合及分离信号,可大大提高诊断该类肿瘤的准确

率。



CN 109022434 B

1. 检测ACTB-TFEB融合基因的BAC克隆探针组合在制备ACTB-TFEB易位性肾细胞癌诊断试剂中的应用,所述的ACTB-TFEB融合基因包含SEQ ID NO.3所示的核苷酸序列。

2. 一种用于诊断ACTB-TFEB易位性肾癌的探针组合,其特征在于该组合由BAC克隆探针RP11-89J1和BAC克隆探针RP11-81C24组成;所述的ACTB-TFEB融合基因包含SEQ ID NO.3所示的核苷酸序列,所述的BAC克隆探针RP11-89J1片段长度173.9 kb,定位于7号染色体5190772-5364691,所述的BAC克隆探针RP11-81C24片段长度176 kb,定位于6号染色体41428304-41604341。

3. 根据权利要求2所述的探针组合,其特征在于BAC克隆探针RP11-89J1定位于ACTB着丝粒一侧,标记为任意一种颜色的荧光;BAC克隆探针RP11-81C24定位于TFEB端粒一侧,标记为与ACTB着丝粒一侧标记的颜色不同的荧光。

4. 根据权利要求3所述的探针组合,其特征在于所述的BAC克隆探针RP11-89J1标记为绿色荧光,所述的BAC克隆探针RP11-81C24标记为红色荧光。

5. 根据权利要求3所述的探针组合,其特征在于所述的BAC克隆探针RP11-89J1标记为红色荧光,所述的BAC克隆探针RP11-81C24标记为绿色荧光。

6. 权利要求2-5中任一项所述的探针组合在制备ACTB-TFEB易位性肾癌诊断试剂中的应用。

7. 一种ACTB-TFEB易位性肾癌诊断试剂盒,其特征在于该试剂盒包含权利要求2-5中任一项所述的探针组合。

一种用于诊断ACTB-TFEB易位性肾癌的探针组合及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于荧光原位杂交探针应用领域,涉及一种用于诊断ACTB-TFEB易位性肾癌的荧光原位杂交(FISH)融合基因探针组合及其在制备ACTB-TFEB易位性肾癌诊断试剂中的应用。

背景技术

[0002] 2016年新版WHO肾脏肿瘤病理组织学分类新增了一种肾细胞癌类型:MiT家族易位性肾细胞癌。MiT家族是小眼畸形转录因子家族(microphthalmia-associated transcription factor family)的缩写,该家族成员包括MITF,TFE3、TFEB和TFEC基因。

[0003] 目前已经发现的MiT家族易位性肾细胞癌包括Xp11.2易位/TFE3基因融合相关性肾细胞癌和t(6;11)(p21;q12)易位/TFEB基因融合相关性肾癌。

[0004] MiT家族易位性肾细胞癌致病机理清晰明确,MiT家族成员基因(TFE3/TFEB)的易位是其关键致病因素:这类肿瘤均涉及MiT家族成员基因同其它染色体易位及其所致形成融合基因,通过启动子变换从而高表达TFE3/TFEB融合蛋白,而TFE3/TFEB作为一个转录因子,通过与特异的DNA结构相结合,转录调控体内多种基因表达最终致病。目前至少有10种不同的易位伴侣和融合基因被报道,包括ASPSR1-TFE3、PRCC-TFE3、SFPQ-TFE3、NONO-TFE3、CLTC-TFE3、LUC7L3-TFE3、KHSRP-TFE3、PARP14-TFE3、DVL2-TFE3、RBM10-TFE3和MALAT1-TFEB等,每例肿瘤内仅存在单一的易位形式。

[0005] MiT家族易位性肾细胞癌是一罕见类型肿瘤,TFE3基因易位性肾癌约占所有肾细胞癌的1.6%-4%,TFEB基因易位性肾癌相对更加罕见。但该疾病以发病年龄轻为突出特征,占儿童肾细胞癌的40%,且造成极其沉重的家庭及社会负担。此外,有明确证据表明MiT家族易位性肾细胞癌的患者对血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor,VEGFR)或哺乳动物雷帕霉素(mammalian target of rapamycin,mTOR)分子靶向治疗敏感。另有研究表明,MET酪氨酸激酶为ASPL-TFE3融合基因的靶基因,并有望成为TFE3易位性肿瘤的治疗靶点。因此,精确诊断此类肿瘤显得十分重要。

[0006] 本发明团队通过高通量测序技术,在一例形态学符合MiT家族易位性肾细胞癌特征的病例中检测出ACTB-TFEB融合基因,该融合基因型为首次发现,国内外均无报道。

[0007] 目前高通量测序是唯一可以明确未知易位位点的检测手段,然而高通量测序费用高昂,检测周期长,检测平台稀缺,对样品质量要求高,不利于普及推广,对于大多数患者来说也不是首选检测手段。

[0008] 染色体荧光原位杂交(FISH)始于传统的细胞遗传学和DNA技术的结合,快速灵敏、特异性好,可以检测隐匿或微小的染色体畸变以及复杂核型;还可以使用多种荧光标记,显示DNA片段及基因之间的相对位置与方向,空间定位精确。此外,FISH的方法,可以在石蜡包埋的样本上进行回顾性研究,大大降低了对研究样本的要求。目前,利用荧光原位杂交(FISH)检测ACTB-TFEB融合基因的方法国内外均无报道。

发明内容

[0009] 本发明的目的是针对上述技术问题提供一种用于诊断ACTB-TFEB易位性肾癌的探针组合。

[0010] 本发明另一个目的是提供上述探针组合在制备ACTB-TFEB易位性肾癌诊断试剂中的应用。

[0011] 本发明再一个目的是提供含有上述探针组合的诊断试剂盒。

[0012] 本发明的目的是通过下列技术方案实现的：

[0013] 本发明团队通过高通量测序技术，在一例形态学符合MiT家族易位性肾细胞癌特征的病例中检测出ACTB-TFEB融合基因。ACTB基因位于7p22.1 (7号染色体,位置5527146-5530709,序列来自GeneBank,序列版本号GRCh38.p12),共6个外显子;TFEB基因位于6p21.1 (6号染色体,位置41683978-41736259,序列来自GeneBank,序列版本号GRCh38.p12),共17个外显子。基因融合发生于ACTB的3号外显子与TFEB基因2号外显子之间。所述的ACTB-TFEB融合基因包含SEQ ID NO.3所示的核苷酸序列。

[0014] 所述的TFEB的易位伴侣作为检测靶点在制备ACTB-TFEB易位性肾细胞癌诊断试剂中的应用。

[0015] 检测所述的TFEB的易位伴侣的试剂在制备ACTB-TFEB易位性肾细胞癌诊断试剂中的应用。

[0016] 本发明针对该MiT家族易位性肾细胞癌的新融合基因设计了诊断ACTB-TFEB易位性肾癌的探针组合。

[0017] 一种用于诊断ACTB-TFEB易位性肾癌的探针组合,该组合为BAC克隆探针RP11-89J1和BAC克隆探针RP11-81C24。

[0018] 所述的探针组合,其中,BAC克隆探针RP11-89J1定位于ACTB着丝粒一侧,标记为任意一种颜色的荧光;BAC克隆探针RP11-81C24定位于TFEB端粒一侧,标记为与ACTB着丝粒一侧标记的颜色不同的荧光。

[0019] 所述的探针组合,其中RP11-89J1优选标记为绿色荧光,RP11-81C24优选标记为红色荧光;标记的荧光颜色可以互换。

[0020] 本发明所述的探针在制备ACTB-TFEB易位性肾癌诊断试剂中的应用。

[0021] 一种ACTB-TFEB易位性肾癌诊断试剂盒,包含本发明所述的探针组合。

[0022] 以下是本发明技术方案详细的说明：

[0023] 本发明采用的探针组合为国内外首次利用FISH方法检测ACTB-TFEB融合基因,是基于对染色体上ACTB基因着丝粒侧和TFEB基因端粒侧的不同的BAC克隆探针结合位点的分布位置、大小等情况的分析而采取的优选方案。

[0024] 本发明中,ACTB着丝粒一侧BAC克隆探针为RP11-89J1(片段长度173.9kb),TFEB端粒一侧BAC克隆探针为RP11-81C24(片段长度176kb),这些片段为细菌人工染色体(Bacterial artificial chromosome,BAC)克隆,其在人类染色体上的定位已经公开,分别为,RP11-89J1定位于7号染色体5190772-5364691,RP11-81C24定位于6号染色体41428304-41604341。ACTB基因的定位为7号染色体5527146-5530709。TFEB基因的定位为6号染色体41683978-41736259。BAC克隆探针与ACTB基因的链接顺序为ACTB,RP11-89J1,7号染色体着丝粒;BAC克隆探针与TFEB基因的链接顺序为6号染色体着丝粒,TFEB,RP11-81C24。

[0025] BAC克隆探针与染色体上相应位置的序列结合而标记上荧光,片段位置与ACTB、TFEB基因之间保持一定距离而不重叠(本发明中距离最大为162.5kb,最小为79.6kb),因而ACTB、TFEB基因内部的断裂重排不会影响BAC克隆片段与染色体相应位置结合。此外,当发生ACTB-TFEB基因融合时,TFEB基因端粒侧和ACTB基因着丝粒侧BAC克隆探针最远距离控制在1500kb之内。这样,在非TFEB易位性肾癌不存在ACTB-TFEB融合基因时,红绿两种荧光离得比较远,观察时无需放大即可见到分离较远的红绿两种信号;当TFEB易位性肾癌存在ACTB-TFEB融合基因时,红绿两种荧光靠得比较近,观察时出现红绿融合信号(表现为红绿相连或黄色信号点),很容易观察。

[0026] 选择这2种BAC克隆探针有以下几个方面的考虑:①2个BAC克隆探针大小相近,带来的好处是:每一端的荧光强度保持一致,防止一端过强而另一端过弱而影响观察;另外可使原位杂交条件保持一致性。②BAC克隆探针位置与ACTB、TFEB基因之间保持一定距离而不重叠,因而ACTB、TFEB基因内部的断裂重排不会影响BAC克隆探针与染色体相应位置结合。③可使TFEB基因端粒侧和ACTB基因着丝粒侧BAC克隆探针最远距离控制在1500kb之内,当两基因融合时呈现融合信号(如表现为红绿相连或黄色信号点),而在TFEB基因和ACTB基因不存在融合时,两种荧光颜色分离比较远,很容易观察。否则,若TFEB基因端粒侧和ACTB基因着丝粒侧BAC克隆探针最远距离过大,如超过1500kb甚至更大,则无论两基因是否融合,均观察到明显分离的两种荧光,就很难判断是否存在ACTB-TFEB融合基因。

[0027] 本发明的有益效果:

[0028] 本发明根据TFEB易位性肾癌的特点,设计结合在TFEB基因端粒侧和ACTB基因着丝粒侧的荧光标记DNA探针组合,在石蜡包埋组织切片的基础上进行原位杂交,检测融合及分离信号,可大大提高诊断该类肿瘤的准确率。为诊断分型及分子靶向治疗提供依据。根据我们的实验结果,该探针组合诊断的特异性和敏感性均达到了100%,且操作对象只需要在石蜡包埋组织切片上进行,时间仅为两个工作日。采用本发明提供的探针组合进行检测ACTB-TFEB易位性肾细胞癌,不但方便、快速、可靠而且成功率高,可用于制备ACTB-TFEB易位性肾细胞癌诊断试剂盒,为ACTB-TFEB易位性肾细胞癌的快速准确的诊断提供了新的工具。

附图说明

[0029] 图1:BAC克隆探针定位模式图。

[0030] 图2:RT-PCR方法检测出ACTB-TFEB易位性肾癌的融合基因。测序结果显示7号染色体和6号染色体存在易位,形成ACTB-TFEB融合基因(ACTB外显子3与TFEB外显子2相连);

[0031] 图3:ACTB-TFEB融合探针FISH检测结果示,肿瘤存在融合信号,记为阳性结果。

[0032] 图4:用ACTB-TFEB融合探针对对照组透明细胞癌组织FISH检测示,组织中不存在融合信号,记为阴性结果。

[0033] 图5:用ACTB-TFEB融合探针对正常组织FISH检测示,组织中不存在融合信号,记为阴性结果。

具体实施方式

[0034] 以下通过实施例对本发明作进一步的阐述。

[0035] 实施例中所指的探针即BAC克隆片段,也可以叫BAC克隆探针。

[0036] 实施例1针对明确诊断的病例进行验证:

[0037] 对于高通量测序RNA-seq检测出ACTB exon3-TFEB exon2新融合位点的肾癌病例,使用我们设计的引物进行验证。

[0038] 一、RNA的提取:

[0039] 严格按照RNeasy FFPE Kit操作说明进行提取。①脱蜡:将收集好的玻片进行二甲苯脱蜡,再用无水乙醇漂洗,风干后用手术刀片刮下来装入1.5ml EP管中;②酶解:加入150 μ l消化液,再加入10 μ l蛋白酶K,混匀,56 $^{\circ}$ C酶解15min,80 $^{\circ}$ C 15min,冰上冷却;③加入16 μ l DNDNA酶缓冲液,再加入10 μ l DNase I,混匀,室温静置15min,12000rpm离心15min,取上清;④加入320 μ l结合液液再加入720 μ l无水乙醇,混匀,分2次转移至吸附柱中,8000rpm离心1min,,弃废液;⑤洗涤:加入500 μ l洗涤液,8000rpm离心1min;重复洗涤一次,弃废液,将吸附柱转移到一个新的2ml收集管中,12000rpm离心5min;⑥洗脱:将吸附柱转移到1.5ml的EP管中,加入100 μ l的洗脱液,室温静置1min,12000rpm离心1min,将收集好的洗脱液(即DNA提取液)进行浓度和纯度测定,-80 $^{\circ}$ C保存待用。

[0040] 二、逆转录PCR RT-PCR

[0041] 采用试剂盒(K1622,RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit,MBI)对RNA进行逆转录,方法详见试剂盒说明。PCR扩增引物为本专利ACTB-TFEB融合基因引物组合ACTB-E3-F:GGCATCCTCACCTGAAGTA (SEQ ID NO.1);TFEB-E2-R:AAGTGGACGGGGTATTGA (SEQ ID NO.2),理论扩增产物长254bp,扩增产物(融合基因)的全部序列如下:GGCATCCTCACCTGAAGTACCCCATCGAGCACGGCATCGTCACCAACTGGGACGAGGAGCCAGCGCCGGCAGCCACCATGGCGTCACGCATAGGGTTGCGCATGCAGCTCATGCGGGAGCAGGCGCAGCAGGAGGAGCAGCGGGAGCGCATGCAGCAACAGGCTGTCATGCATTACATGCAGCAGCAGCAGCAACAGCAGCAGCTCGGAGGGCCGCCACCCCGCCATCAATACCCCGTCCACTT (SEQ ID NO.3)。反应体系包括:0.125 μ l TaKaRa Ex TaqTMHS液,2.5 μ l 10 \times Taq Buffer (Mg²⁺ plus),2 μ l dNTP(均购自日本Takara公司),引物浓度为20 μ mol/l,cDNA模板为100ng,无菌去离子水加至25 μ l。PCR扩增条件为94 $^{\circ}$ C变性3min后,94 $^{\circ}$ C 30s、60 $^{\circ}$ C 30s、72 $^{\circ}$ C 1min,共35次循环,最后72 $^{\circ}$ C延伸5min。PCR产物用3%琼脂糖,电压100V,电泳,溴化乙啶染色后于紫外光下观察结果,并送测序。

[0042] 结果:用本发明引物(ACTB-E3-F/TFEB-E2-R) PCR后可见单一特异的电泳条带,对扩增产物进行测序,得到ACTB exon3-TFEB exon2融合基因序列(图2),证明本发明设计的引物组合可靠且敏感。

[0043] 实施例2:DNA探针组合的制备:

[0044] 选择能够在6号染色体TFEB基因端粒侧和7号染色体ACTB基因着丝粒侧分别连接的2个BAC克隆片段,控制两端探针之间最远距离在1500kb以内,BAC克隆片段之间保持一定距离不重叠,片段大小相近。克隆片段出处为EmpireGenomics公司的人类BAC克隆中心(<http://www.empiregenomics.com/helixhq/clonecentral/search/human>)。ACTB着丝粒一侧BAC克隆探针为RP11-89J1(片段长度173.9kb),TFEB端粒一侧BAC克隆探针为RP11-81C24(片段长度176kb),这些片段为细菌人工染色体(Bacterial artificial chromosome,BAC)克隆,其在人类染色体上的定位已经公开,分别为,RP11-89J1定位于7号染色体5190772-5364691,RP11-81C24定位于6号染色体41428304-41604341。ACTB基因的定位为7号染色体5527146-5530709。TFEB基因的定位为6号染色体41683978-41736259。BAC克

隆探针与ACTB基因的链接顺序为ACTB,RP11-89J1,7号染色体着丝粒;BAC克隆探针与TFEB基因的链接顺序为6号染色体着丝粒,TFEB,RP11-81C24。探针组合的定位结构如图1所示。将TFEB端粒侧的BAC克隆探针标记成红色荧光,将ACTB着丝粒侧的BAC克隆探针标记成与TFEB端粒一侧标记绿色荧光;两端标记的荧光颜色也可以互换。这些方法为本领域技术人员所熟知(由美国EmpireGenomics公司提供上述这些服务)。ACTB着丝粒一侧BAC克隆探针在荧光显微镜下为一个绿色荧光信号,代表ACTB基因着丝粒侧。TFEB端粒一侧BAC克隆探针在荧光显微镜下为一个红色荧光信号,代表TFEB基因端粒侧。两端标记的荧光颜色可以互换。正常情况下红绿信号分离,在肿瘤存在ACTB-TFEB基因易位时,则观察到融合信号。

[0045] 进一步,可将制备的探针组合采用荧光原位杂交方法,在ACTB-TFEB易位性肾细胞癌、非ACTB-TFEB易位性肾细胞癌和肿瘤旁正常组织中验证其定位和/或诊断效果是否可靠。

[0046] 实施例3:荧光原位杂交过程:

[0047] 通过高通量测序及RT-PCR检测融合基因结果确诊ACTB-TFEB易位性肾癌1例(图2,与本实验结果相互对应更能体现出本实验的可靠性),以及由两位经验丰富的病理医生参照WHO2016泌尿及男性生殖系统分类标准,收集南京军区南京总医院诊断肾细胞癌30例作为对照组。

[0048] 蜡块3 μ m厚切片,在脱蜡后,依次置于100%、85%、70%乙醇中各2min,随后浸入去离子水中,100 $^{\circ}$ C水浴15min。将组织切片放入胃蛋白酶K溶液(0.1g胃蛋白酶,40ml 0.01M HCL) 37 $^{\circ}$ C,15min;2 \times SSC(氯化钠、柠檬酸钠)漂洗2次,各5min,切片置于0.1mol/L HCl中室温浸泡10min,用2 \times SSC漂洗2次,各5min;经70%、85%、100%乙醇各脱水2min,于空气中干燥;在组织区域加10 μ l探针混合液(其中每个探针各1 μ l,2个探针共2 μ l,另加8 μ l的杂交缓冲液,杂交缓冲液在购买探针时由EmpireGenomics公司提供,内含人类Cot1DNA),加盖玻片,用橡皮胶封边;放入原位杂交仪(GeneAmp In Situ PCR System 1000)中88 $^{\circ}$ C变性6min后37 $^{\circ}$ C过夜(16h);移去盖玻片,将玻片置于0.4 \times SSC(氯化钠、柠檬酸钠、0.3%NP-40)溶液中,69 $^{\circ}$ C漂洗1min;2 \times SSC(氯化钠、柠檬酸钠、0.1%NP-40)溶液中漂洗1min,70%乙醇3min,室温暗处干燥;靶区域滴加10 μ l 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole DAPI),用盖玻片封片后,再用荧光显微镜观察结果。

[0049] 结果判定:

[0050] 正常细胞可见2个红色信号和2个绿色信号。所有信号均为独立信号(每个细胞都是二倍体,所以正常就是两红两绿)。

[0051] 发生ACTB-TFEB易位的肿瘤细胞,可见一对红绿融合的异常信号,和红绿各1个野生型信号。

[0052] 为排除假阳性和假阴性,每个样本计数100个细胞,只有当4个荧光信号均存在时,才纳入计数对象(无论正常和肿瘤我们都会看到4个单信号(两绿和两红),只不过在正常细胞红绿信号是分离的,看上去是四个单信号组成。在肿瘤中见到一个融合信号和一对红绿分离的单信号,表面上看是3个信号,但实际还是由4个单信号组成的)。红绿荧光信号之间的距离小于一个信号宽度时计为融合信号。当异常信号大于10%时记为阳性。以上结果判断方法依据市面上多数类似的商业化探针所行使的评判标准,如Vysis公司和Dako公司的探针使用方法。

[0053] 结果:

[0054] 我们对31例肾癌进行检测,其中ACTB-TFEB易位性肾癌1例、TFE3易位性肾癌6例、MALAT1-TFEB易位性肾癌4例、透明细胞癌10例、乳头状肾癌10例。结果1例ACTB-TFEB易位性肾癌检测出阳性融合信号,其阳性细胞数范围在80%,其余对照组肿瘤组织及癌旁正常肾组织均未检测出融合信号(图3—5给出了ACTB-TFEB易位性肾癌代表性阳性图片、其余肿瘤如透明细胞癌的阴性图片、正常肾组织的阴性图片)。说明使用该探针检测ACTB-TFEB易位性肾癌的特异性和敏感性同为100%

[0055] 敏感性=真阳性/所有TFEB易位性肾癌肿瘤病人数 \times 100%;

[0056] 特异性=真阴性/所有非TFEB易位性肾癌肿瘤病人数 \times 100%;

[0057] 评价:

[0058] 本组探针使用的克隆片段相对较少,且克隆片段大小相对一致。在设计上即考虑到了经济性又考虑到了原位杂交条件的一致性。此外,在本实验中该荧光原位杂交探针的特异性和敏感性均达到了100%。利用FISH技术,使用ACTB-TFEB双色融合荧光原位杂交探针来诊断ACTB-TFEB易位性肾细胞癌快速、可靠且成功率高,是诊断ACTB-TFEB易位性肾细胞癌的一项新技术,值得推广。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 中国人民解放军南京军区南京总医院
- [0003] <120> 一种用于诊断ACTB-TFEB易位性肾癌的探针组合及其应用
- [0004] <160> 3
- [0005] <170> SIPOSequenceListing 1.0
- [0006] <210> 1
- [0007] <211> 254
- [0008] <212> DNA
- [0009] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0010] <400> 1
- [0011] ggcacacctca ccctgaagta ccccatcgag cacggcatcg tcaccaactg ggacgaggag 60
- [0012] ccagcgcggg cagccacat ggcgtcacgc atagggttgc gcatgcagct catgcgggag 120
- [0013] caggcgcagc aggaggagca gcgggagcgc atgcagcaac aggctgtcat gcattacatg 180
- [0014] cagcagcagc agcagcagca acagcagcag ctcggagggc cgcccacccc ggccatcaat 240
- [0015] acccccgtcc actt 254
- [0016] <210> 2
- [0017] <211> 20
- [0018] <212> DNA
- [0019] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0020] <400> 2
- [0021] ggcacacctca ccctgaagta 20
- [0022] <210> 3
- [0023] <211> 19
- [0024] <212> DNA
- [0025] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0026] <400> 3
- [0027] aagtggacgg gggtattga 19

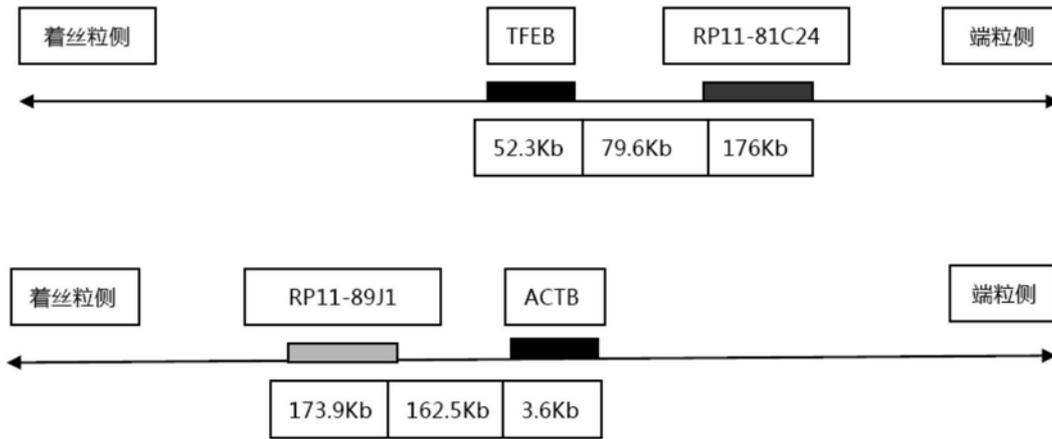


图1

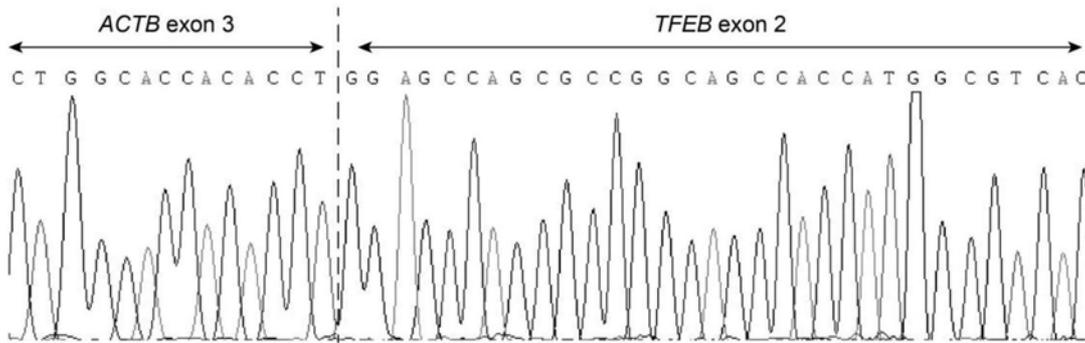


图2

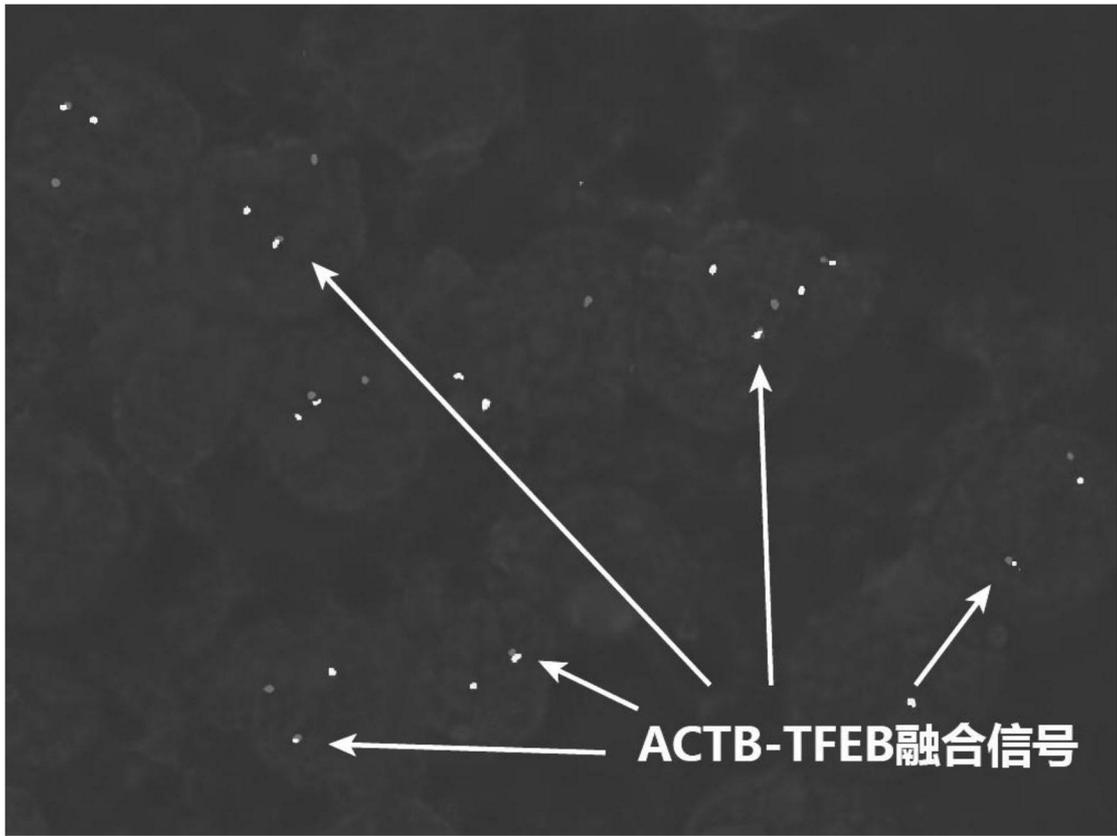


图3

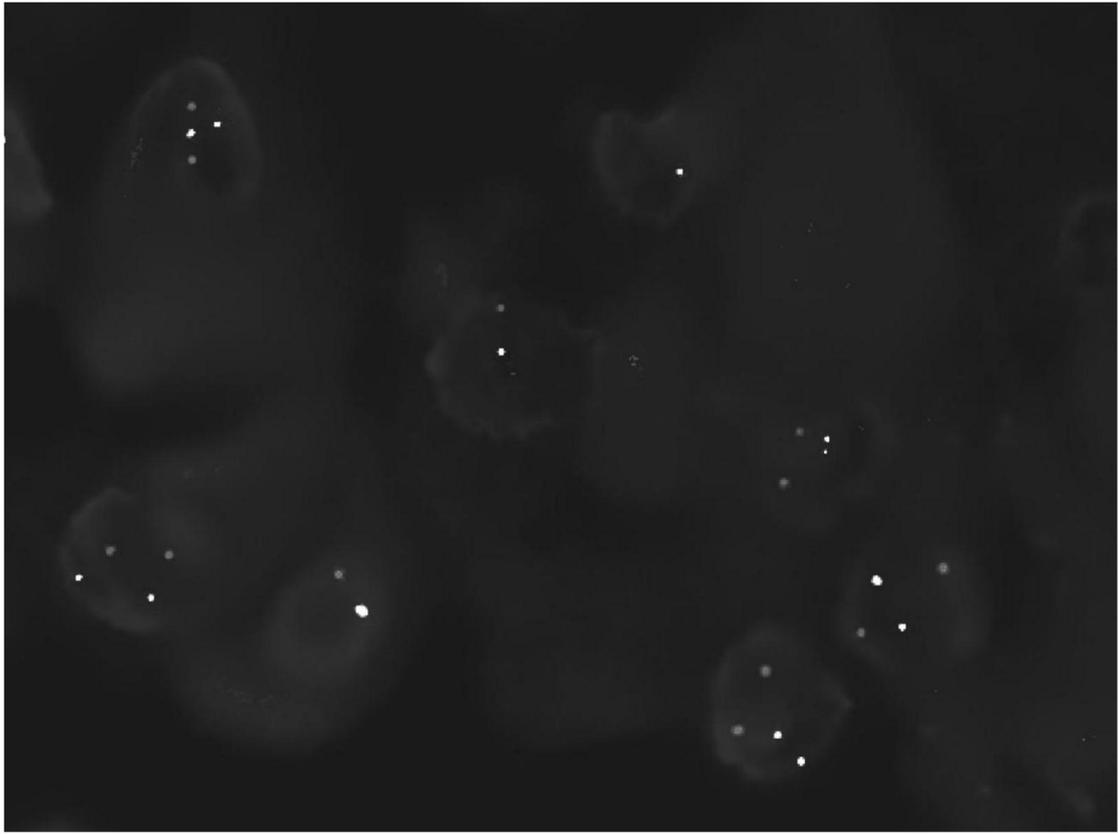


图4

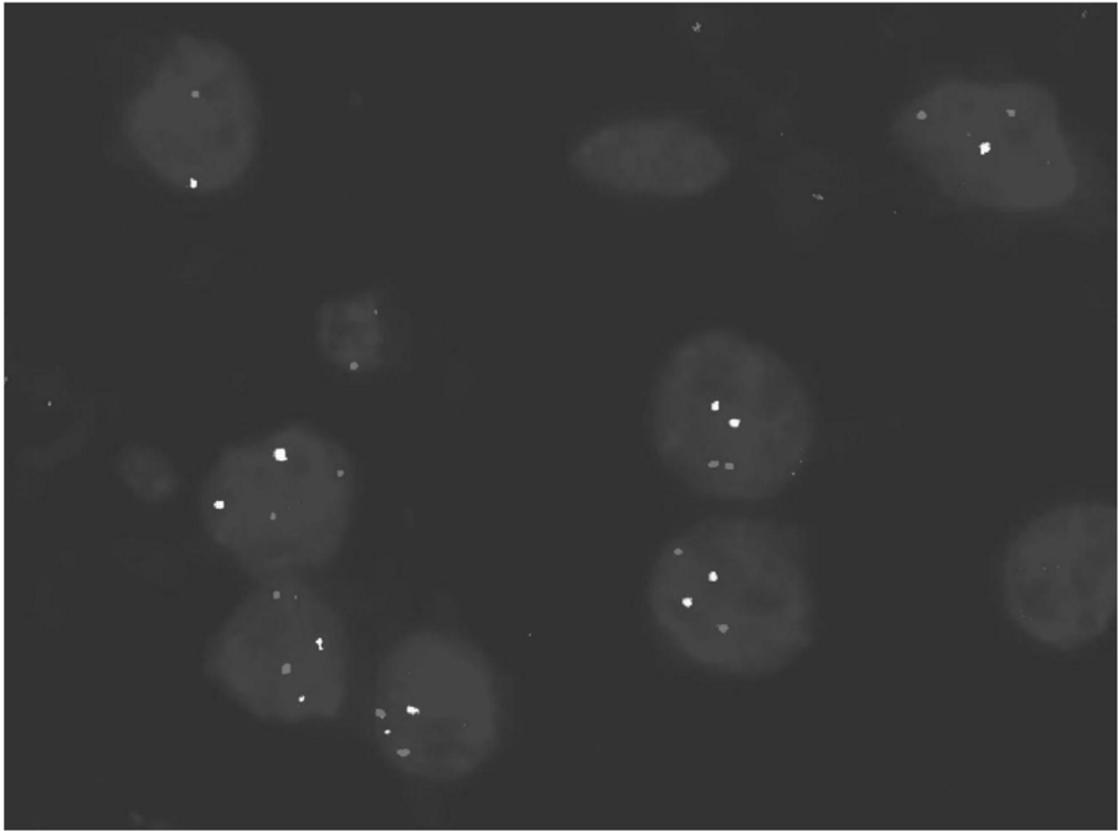


图5