

第1版

荧光原位杂交探针产品手册



目录

一、实体瘤	1
乳腺癌	1
(一) HER2 基因扩增检测探针	1
(二) TOP2A 基因扩增探针	3
(三) MYC 基因扩增检测探针	5
(四) EGFR 基因检测探针	6
(五) PTEN 基因探针	8
宫颈癌	10
(一) TERC 基因扩增探针	10
(二) MYC 基因探针	12
淋巴瘤	13
(一) MYC 基因断裂检测探针	13
(二) BCL2 基因断裂检测探针	14
(三) BCL6 基因断裂检测探针	16
(四) IGH 基因断裂检测探针	18
(五) PD-L1 基因扩增检测探针	19
(六) CCND1 断裂基因检测探针	21
(七) MYC-IGH 融合基因检测探针	23
(八) ATM 基因缺失检测探针	24
(九) ALK 基因断裂检测探针	26
(十) MALT1 基因断裂探针	27
肺癌	29
(一) MET 基因扩增探针	29
(二) EGFR 基因探针	30
(三) ALK 基因断裂探针	31
(四) ROS1 基因断裂探针	31
(五) PD-L1 基因扩增探针	32
(六) EML4/ALK 基因融合探针	32
(七) RET 基因断裂探针	34
膀胱癌	37

(一) P53 基因扩增探针.....	37
前列腺癌.....	40
(一) P53 基因探针.....	40
(二) PTEN 基因探针.....	40
(三) ERG 基因断裂探针.....	40
肾脏肿瘤.....	42
(一) ALK 基因断裂探针.....	42
中枢神经系统肿瘤.....	44
(一) MYC-F/R 基因断裂探针.....	44
(二) EGFR 基因探针.....	44
(三) C19MC 基因探针.....	44
(四) MYCN 基因检测探针.....	45
纤维组织细胞肿瘤.....	48
(一) DDIT3 基因断裂检测探针.....	48
(二) MDM2 基因检测探针.....	49
(三) CDK4 基因扩增检测探针.....	50
其他实体肿瘤.....	52
(一) CCND1 基因扩增探针.....	52
(二) GSKN2A 基因检测探针.....	54
(三) TFE3 基因断裂探针.....	55
(四) FKHR 基因断裂检测探针.....	56
(五) EWSR1 基因断裂检测探针.....	58
(六) RB1 基因缺失检测探针.....	59
(七) SS18 基因断裂检测探针.....	60
(八) RET 基因断裂探针.....	61
慢性淋巴细胞白血病 CLL.....	64
(一) D13S25 基因缺失检测探针.....	64
(二) ATM 基因缺失探针.....	65
(三) P53 缺失探针.....	66
(四) 12 号染色体计数探针.....	67
(五) ASS 基因检测探针.....	68
(六) DLEU1 基因缺失检测探针.....	69

(七) MYC 基因探针.....	71
(八) TERC 基因探针.....	71
(九) PDGFRB 基因断裂检测探针.....	71
(十) BCL2/IGH 融合基因探针.....	72
(十一) BCR/ABL 融合基因检测探针.....	73
急性淋巴细胞白血病 CLL.....	76
(一) BCR/ABL 融合基因检测探针.....	76
(二) ETV6 基因断裂探针.....	76
(三) CDKN2A 基因探针.....	76
(四) MYC 基因断裂探针.....	76
(五) IGH 基因断裂探针.....	76
(六) KMT2A (MLL) 基因断裂检测探针.....	76
多发性骨髓瘤 MM.....	78
(一) IGH 基因断裂探针.....	78
(二) P53 基因探针.....	78
(三) 1q21 基因检测探针.....	78
(三) D13S25 基因缺失探针.....	79
(五) D13S319 基因检测探针.....	79
(六) RB1 基因探针.....	80
(七) 慢性淋巴细胞性白血病探针.....	80
骨髓增生异常综合征 MDS.....	84
(一) 5q 探针.....	84
(二) 7q 探针.....	85
(三) 20q 探针.....	86
(四) XY 染色体计数探针.....	87
三、病原检测.....	89
(一) EBV 基因扩增探针.....	89
四、产前诊断.....	91
产前染色体数目检测说明书 (荧光原位杂交, FISH).....	91
(一) 产品介绍.....	91
(二) 检验方法.....	95
(三) 检验标准及注意事项.....	99

一、实体瘤

乳腺癌

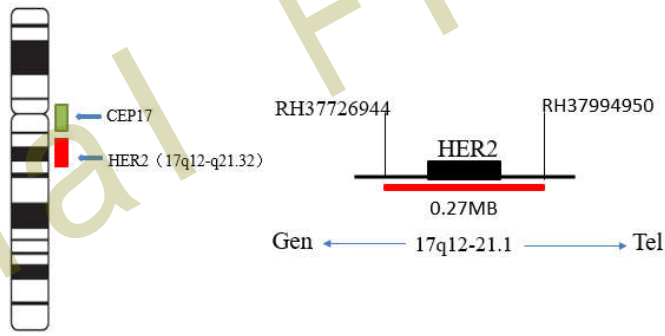
(一) HER2 基因扩增检测探针

1、疾病背景介绍

乳腺癌是目前世界上研究相对较多的恶性肿瘤之一，通常是发生在乳房腺上皮组织的恶性肿瘤。主要以绝经期前后（40—55岁）的妇女发病率最高，其病因并未完全阐明，可能与雌激素长期刺激及遗传等相关。而人类表皮生长因子受体2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER2)，也被称为受体酪氨酸蛋白激酶 (erbB-2)、neu、p185等；是重要的乳腺癌预后判断因子。分子量为185kD、具酪氨酸激酶活性的跨膜蛋白，其编码基因定位于人染色 17q12-21.32 上；是受体酪氨酸激酶EGFR家族成员之一。该受体与 EGFR 家族其他成员发生异二聚化（通常由于HER2 过表达）导致异源二聚体胞质结构域内酪氨酸残基的自磷酸化，并启动各种信号通路，导致细胞增殖和肿瘤发生。HER2 通过 PI3K/AKT和RAS/MAPK参与癌细胞增殖、侵袭、转移和凋亡的调节。据目前统计约15-20%的浸润性乳腺癌表现为HER2基因扩增和蛋白过表达及15%以上的胃癌（GC）患者表现出HER2过表达。

2、探针描述

HER2基因扩增检测探针，主要以橙色荧光分子标记HER2 DNA区域和绿色荧光分子标记17号染色体着丝粒区域（CEP17）为探针；使其于癌细胞核内的HER2和cep17基因序列杂交互补。由于HER2 DNA标记区域位于17q12-q21.32及CEP17探针主要采用 α 卫星序列，因此具有极高的特异性，不会与其他染色体着丝粒杂交产生杂点。如图所示

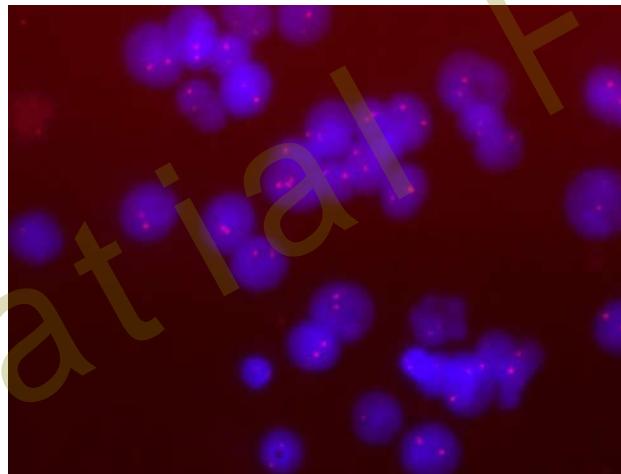


3、临床意义

HER2 状态检测传统上使用免疫组织化学(IHC) 和荧光原位杂交 (FISH) 进行评价。IHC 检测 HER2 蛋白的表达, 而 FISH 检测 HER2 基因扩增。FISH 被大多数学者认为是检测HER2水平的“金标准”, 能够在细胞中标记出HER2基因的拷贝数, 结合HER2蛋白的免疫组化, 是目前临床上检测HER2基因的主要方法。因为FISH受前分析变量和分析变量的影响较小, 因此被认为是一种更敏感和准确的测试方法。

4、杂交结果

HER2 荧光探针杂交结果展示



5、参考文献

- [1] Xu Zhigao, Xu Peipei, Fan Wei, Huang Ben, Cheng Qingyuan, Zhang Zheng, Wang Ping, Yu Mingxia. The effect of an alternative chromosome 17 probe on fluorescence in situ hybridization for the assessment of HER2 amplification in invasive breast cancer. [J]. Experimental and therapeutic medicine, 2019, 18(3)
- [2] John M. S. Bartlett, James J. Going, Elizabeth A. Mallon, Amanda D.

Watters ,Jonathan R. Reeves,Peter Stanton,Jim Richmond,Brian Donald,Rhona Ferrier,Timothy G. Cooke. Evaluating HER2 amplification and overexpression in breast cancer[J]. The Journal of Pathology, 2001,195(4).

[3]John M. S. Bartlett,James J. Going,Elizabeth A. Mallon,Amanda D. Watters,Jonathan R. Reeves,Peter Stanton,Jim Richmond,Brian Donald,Rhona Ferrier,Timothy G. Cooke. Evaluating HER2 amplification and overexpression in breast cancer[J]. The Journal of Pathology, 2001,195(4).

[4]Oh Do-Youn,Bang Yung-Jue. HER2-targeted therapies - a role beyond breast cancer. [J]. Nature reviews. Clinical oncology,2020,17(1).

(二) TOP2A 基因扩增探针

1、疾病背景介绍

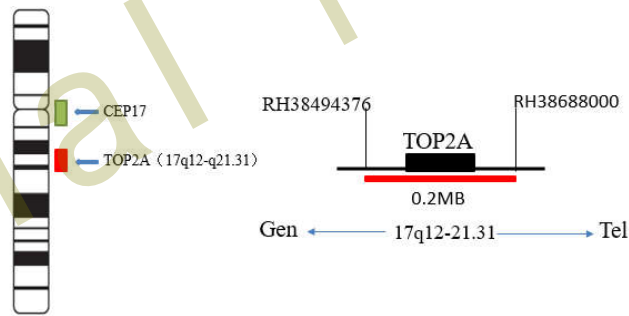
乳腺癌是现代女性最常见的恶性疾病,是导致女性特别是发达国家女性死亡的主要原因之一。近年来,乳腺癌在我国的发病率也呈现出直线上升的趋势。而DNA拓扑异构酶(DNA topoisomerase)是生物体内广泛存在的一类重要的核酶,它可催化单链或者双链DNA断开及结合的偶联反应,从而改变DNA的拓扑结构。根据DNA断裂反应过程中产生不同的断口性质可分为两类: I型拓扑异构酶(topoisomerase I),主要引起单链DNA的断裂; II型拓扑异构酶(topoisomerase II)主要引起双链DNA断裂,并包括 α 和 β 两个亚单位。

TOP2A基因(Topoisomerase II alpha , TOPII α)编码DNA拓扑异构酶II α ,在核内定位信号而发挥作用。主要作用机制是调节核酸空间结构动态变化,参与DNA的复制、转录、重组及修复过程。与TOP2B相比, TOP2A发挥了更多的功能,它提供了一种扭转应变,诱导双链DNA短暂断裂,然后将其重新密封;在这一过程中,它控制着复制过程中DNA的拓扑状态,从而调节染色体浓缩和染色单体分离。由于TOP2A在DNA复制的起始阶段起着关键作用,因此存在TOP2A基因异常的患者预后差,无复发生存期缩短,尤其是TOP2A基因缺失的患者预后更差。

2、探针描述

TOP2A基因扩增探针,由36Kb碱基对组成,有35个外显子;定位于17号染色体,编码170KDa的蛋白质,其基因标记区域主要在17q21-22处。该探针主要以橙色荧光分子标记TOP2A基因区域和绿色荧光分子标记CEP17基因区域制备而成。如

图所示

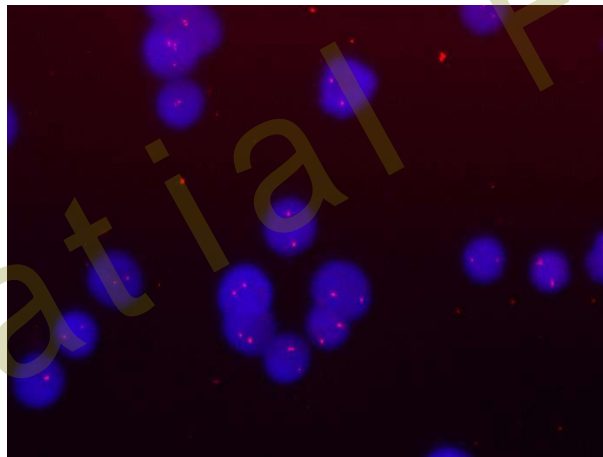


3、临床意义

已有研究表明，在许多人类恶性肿瘤中，异常高的TOP2A活性导致了许多人类恶性肿瘤的高水平增值率，并与患者生存期缩短相关。TOP2A的改变是决定蒽环类药物辅助治疗人类乳腺癌增加疗效可能性的重要预测因素，因此TOP2A靶向蒽环类药物已成为包括乳腺癌在内的许多恶性疾病的一种具有吸引力的治疗策略。TOP2A作为启动 DNA 复制的关键催化酶，已被广泛认为是癌症治疗的潜在靶点；并且TOP2A基因的检测结果，可作为指导乳腺癌化疗及药物治疗的一项辅助检测手段。

4、杂交结果

TOP2A 荧光探针杂交结果展示



5、参考文献

- [1] Wei Hua, Ke-Di Sa, Xiang Zhang, et al. MicroRNA-139 suppresses proliferation in luminal type breast cancer cells by targeting Topoisomerase II alpha[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2015, 463(4).
- [2] Maxwell A, Bush N G, Evans-Roberts K. DNA Topoisomerases[J]. Ecosal Plus, 2015, 6(2).

[3] Labbé, David P, Sweeney C J , Brown M , et al. TOP2A and EZH2 provide early detection of an aggressive prostate cancer subgroup[J]. Clinical Cancer Research, 2017:clincanres.0413.2017.

[4] Seoane Jose A, Kirkland Jacob G, Caswell-Jin Jennifer L, et al. Chromatin regulators mediate anthracycline sensitivity in breast cancer. [J]. Nature medicine, 2019, 25(11).

[5] Almeida D , René Gerhard, Dina Leitão, et al. Topoisomerase II- α gene as a predictive marker of response to anthracyclines in breast cancer[J]. Pathology Research & Practice, 2014, 210(10):675-679.

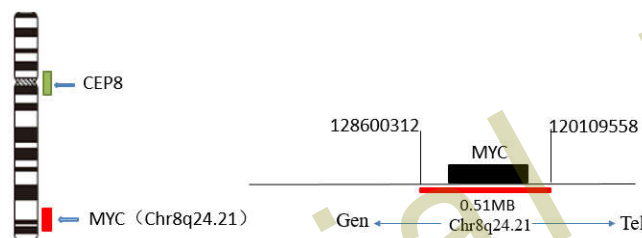
(三) MYC 基因扩增检测探针

1、疾病背景介绍

宫颈癌 (cervical cancer) 是最常见的妇科恶性肿瘤。原位癌高发年龄为 30~35 岁, 浸润癌为 45~55 岁, 近年来其发病有年轻化的趋势。宫颈癌是全球妇女中仅次于乳腺癌和结直肠癌的第 3 个常见的恶性肿瘤, 在发展中国家是仅次于乳腺癌居第 2 位常见的恶性肿瘤, 是最常见的女性生殖道恶性肿瘤。MYC 原癌基因定位于染色体 8q24, 编码一种调节细胞生长的转录因子。主要通过扩增和染色体易位重排的方式激活。MYC 基因家族及其产物可促进细胞增殖, 永生, 去分化和转化等, 在多种肿瘤包括乳腺癌、结肠癌、肺癌、造血系统肿瘤等形成过程中处于重要地位。

2、探针描述

MYC 基因扩增检测探针, 主要以橙色荧光分子标记 MYC 基因区域和绿色荧光分子标记 8 号染色体着丝粒区域 (CEP8) 为探针, 使其于癌细胞核内的 MYC 基因序列杂交互补。由于 MYC 基因标记区域位于 8q24.21, CEP8 探针采用特异性 α 卫星序列标记, 因此具有极高的特异性, 不会与其他染色体着丝粒杂交产生杂点。如图所示

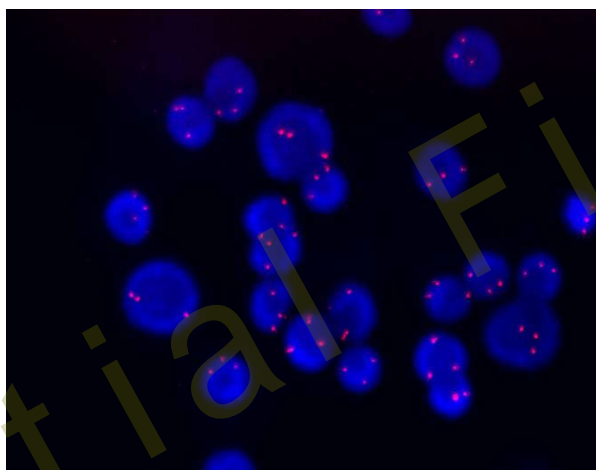


3、临床意义

MYC基因扩增在肿瘤中是一种常见现象，可见于多种恶性肿瘤如乳腺癌、鼻咽癌、宫颈癌等，在CLL中有5%发生率。MYC基因扩增乳腺癌患者预后较差，但对大剂量化疗反应好。另该探针可检测8号染色体多倍体。

4、杂交结果

MYC 荧光探针杂交结果展示



5、参考文献

- [1]Chen H, Liu H, Qing G. Targeting oncogenic Myc as a strategy for cancer treatment. *Signal Transduct Target Ther.* 2018 Feb 23;3:5. doi: 10.1038/s41392-018-0008-7. PMID: 29527331; PMCID: PMC5837124.
- [2]Balupuri A, Wolf E, Eilers M. Target gene-independent functions of MYC oncoproteins. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020 May;21(5):255-267. doi: 10.1038/s41580-020-0215-2. Epub 2020 Feb 18. PMID: 32071436.
- [3]Lancho O, Herranz D. The MYC Enhancer-ome: Long-Range Transcriptional Regulation of MYC in Cancer. *Trends Cancer.* 2018 Dec;4(12):810-822. doi: 10.1016/j.trecan.2018.10.003. Epub 2018 Nov 2. PMID: 30470303; PMCID: PMC6260942.
- [4]Ponzielli R, Katz S, Barsyte-Lovejoy D, Penn LZ. Cancer therapeutics: targeting the dark side of Myc. *Eur J Cancer.* 2005 Nov;41(16):2485-501. doi: 10.1016/j.ejca.2005.08.017. Epub 2005 Oct 20. PMID: 16243519.

(四) EGFR 基因检测探针

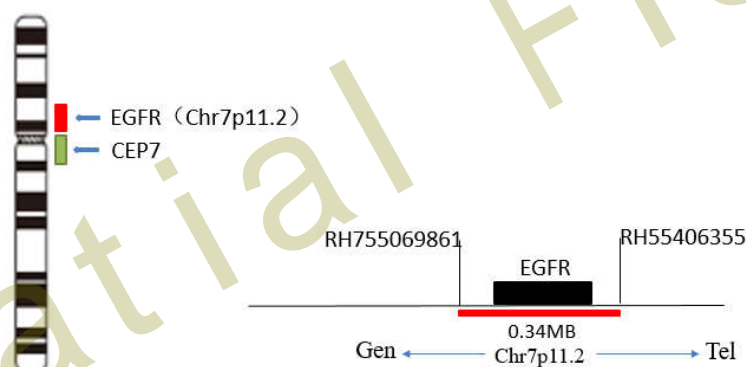
1、疾病背景介绍

胶质母细胞瘤是一种特别有弹性的癌症，虽然疗法可以通过跨越血液-大脑屏障到达大脑，但他们必须处理一种对DNA损伤非常具有抵抗力的高度侵入性肿瘤。显然，为了更有效地杀死侵略性胶质瘤细胞，减少对正常组织的副作用，必

须从传统的细胞毒性化疗转向更有针对性的疗法。与许多其他癌症一样，胶质母细胞瘤（GBM）的治疗决策越来越依赖于生物标志物分析。EGFR基因的放大或突变等变化是GBM（1）疾病发病机制的标志，EGFR放大率约为50%。研究表明，EGFR基因的聚焦高水平放大与GBM中EGFR mRNA的激活和过度表达有关

2、探针描述

红色定位特异性标识符（LSI）EGFR探针，杂交至7p11.2-7p12区域，绿色染色体引号探针（CEP）7探针杂交至7号染色体中心。如图所示

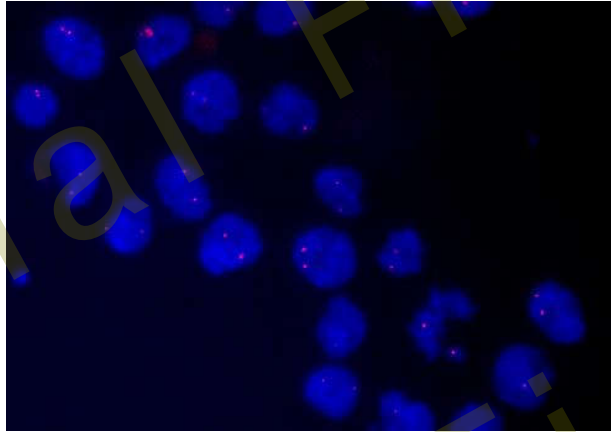


3、临床意义

EGFR基因的改变发生在近50%的GBM中，特别是在原发性肿瘤中。这种受体的研究主要集中在控制细胞增殖和生存的传统信号转导通路，如MAPK和PI3K。然而，数据正在积累，表明这种经典的观点无法解释细胞功能的真正复杂性，这些功能是导致神经细胞EGFR肿瘤活性的原因。有令人信服的证据表明，EGFR活性与细胞代谢的调节以及GBM细胞对其低氧微环境的适应性反应有关。此外，不同细胞室（主要是细胞核和线粒体）受体的定位在控制DNA损伤和凋亡反应、肿瘤启动和存活的关键步骤方面似乎很重要。

4、杂交结果

EGFR 荧光探针杂交结果展示



5、参考文献

- [1] French PJ, Eoli M, Sepulveda JM, de Heer I, Kros JM, Walenkamp A, Frenel JS, Franceschi E, Clement PM, Weller M, Ansell P, Looman J, Bain E, Morfouace M, Gorlia T, van den Bent M. Defining EGFR amplification status for clinical trial inclusion. *Neuro Oncol.* 2019 Oct 9;21(10):1263–1272. doi: 10.1093/neuonc/noz096. PMID: 31125418; PMCID: PMC6784284.
- [2] Lassman AB, Roberts-Rapp L, Sokolova I, Song M, Pestova E, Kular R, Mullen C, Zha Z, Lu X, Gomez E, Bhatena A, Maag D, Kumthekar P, Gan HK, Scott AM, Guseva M, Holen KD, Ansell PJ, van den Bent MJ. Comparison of Biomarker Assays for EGFR: Implications for Precision Medicine in Patients with Glioblastoma. *Clin Cancer Res.* 2019 Jun 1;25(11):3259–3265. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3034. Epub 2019 Feb 22. PMID: 30796037.
- [3] Fischer I, de la Cruz C, Rivera AL, Aldape K. Utility of chromogenic in situ hybridization (CISH) for detection of EGFR amplification in glioblastoma: comparison with fluorescence in situ hybridization (FISH). *Diagn Mol Pathol.* 2008 Dec;17(4):227–30. doi: 10.1097/PDM.0b013e3181642230. PMID: 18382350.
- [4] Zahonero C, Sánchez-Gómez P. EGFR-dependent mechanisms in glioblastoma: towards a better therapeutic strategy. *Cell Mol Life Sci.* 2014 Sep;71(18):3465–88. doi: 10.1007/s00018-014-1608-1. Epub 2014 Mar 27. PMID: 24671641.

(五) PTEN 基因探针

1、疾病背景介绍

PTEN 代表在染色体 10 上删除的磷酸酶和 TENsin 同源，是位于 10 号染色体 10 编码区域 10q23 区域的经典肿瘤抑制基因，用于 403-氨基酸多功能蛋白（预测 MW 47 kDa），具有脂质和蛋白质磷酸酶活性。PTEN 于 1977 年由三个独立组鉴定：两组使用位置克隆方法，而第三组采用生化方法识别 PTEN，旨在识别具有张力和氧化铝同源的磷酸酶的基因编码。

2、探针描述

绿色荧光标记是号染色体着丝粒部位;红色荧光标记 PTEN 基因,总共 450kb。

3、临床意义

PTEN 功能通常通过体细胞突变、基因沉默或表观遗传机制在很大一部分人类癌症中丧失。肿瘤相关突变可能发生在所有 PTEN 领域,从而暗示每个不同的蛋白质区域(以及每个相关的 PTEN 活性)可能在病理上与癌症的启动和进展相关。此外,新出现的证据表明,PTEN 基因/蛋白质剂量在肿瘤发展过程中在数量上是相关的,因为 PTEN 功能的部分丧失(单倍功能)足以促进某些人类恶性肿瘤的生长。参与 PTEN 剂量调控的机制包括甲基化、微 RNA (miR) 或伪基因表达,以及蛋白质磷化。PTEN 基因的缺失会导致乳腺癌、前列腺癌、肾脏肿瘤、涎腺肿瘤的预后效果差。

4、参考文献

- [1] Milella M, Falcone I, Conciatori F, Cesta Incani U, Del Curatolo A, Inzerilli N, Nuzzo CM, Vaccaro V, Vari S, Cognetti F, Ciuffreda L. PTEN: Multiple Functions in Human Malignant Tumors. *Front Oncol.* 2015 Feb 16;5:24. doi: 10.3389/fonc.2015.00024. PMID: 25763354; PMCID: PMC4329810.
- [2] Chen CY, Chen J, He L, Stiles BL. PTEN: Tumor Suppressor and Metabolic Regulator. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018 Jul 9;9:338. doi: 10.3389/fendo.2018.00338. PMID: 30038596; PMCID: PMC6046409.
- [3] Álvarez-García V, Tawil Y, Wise HM, Leslie NR. Mechanisms of PTEN loss in cancer: It's all about diversity. *Semin Cancer Biol.* 2019 Dec;59:66-79. doi: 10.1016/j.semcancer.2019.02.001. Epub 2019 Feb 7. PMID: 30738865.
- [4] Hollander MC, Blumenthal GM, Dennis PA. PTEN loss in the continuum of common cancers, rare syndromes and mouse models. *Nat Rev Cancer.* 2011 Apr;11(4):289-301. doi: 10.1038/nrc3037. Erratum in: *Nat Rev Cancer.* 2011 Jun;11(6):458. PMID: 21430697; PMCID: PMC6946181.
- [5] Pulido R, Mingo J, Gaafar A, Nunes-Xavier CE, Luna S, Torices L, Angulo JC, López JI. Precise Immunodetection of PTEN Protein in Human Neoplasia. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2019 Dec 2;9(12):a036293. doi: 10.1101/cshperspect.a036293. PMID: 31501265; PMCID: PMC6886455.
- [6] McLoughlin NM, Mueller C, Grossmann TN. The Therapeutic Potential of PTEN Modulation: Targeting Strategies from Gene to Protein. *Cell Chem Biol.* 2018 Jan 18;25(1):19-29. doi: 10.1016/j.chembiol.2017.10.009. Epub 2017 Nov 16. PMID: 29153852.

宫颈癌

(一) TERC 基因扩增探针

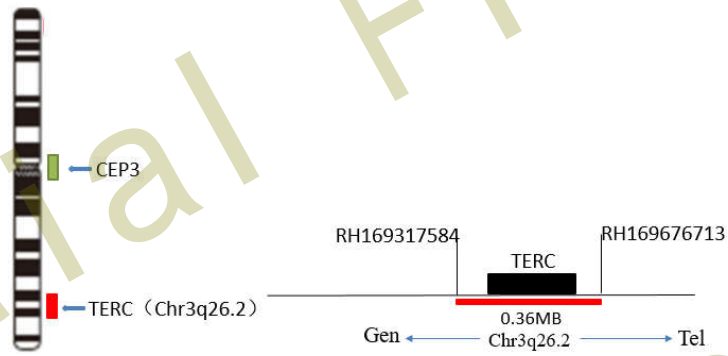
1、疾病背景介绍

宫颈癌 (invasive cervical cancer, CC) 是最常见的妇科恶性肿瘤之一, 是女性相关恶性肿瘤中死亡的第四大原因之一, 全世界每年约有2900万女性死于宫颈癌, 仅在我国就有300万人, 而且逐渐趋于年轻化。宫颈癌的发生存在着一个较长的、可逆转的癌前病变期即宫颈上皮内瘤变 (cervical intraepithelial neoplasias, CIN), 根据其病变程度可分为CIN I、CIN II及CINIII三级。研究发现CIN的发生发展与端粒酶密切相关, 随着CIN病程度的增加, TERC基因异常扩增的阳性率和扩增的量均会增加。RNA端粒酶基因 (telomerase RNA component, TERC) 作为人类端粒酶组成部分, 提供端粒合成的模板, 延长端粒和保持稳定, 并且特异性结合人的染色体DNA。其功能紊乱则会导致端粒的不断缩短或者激活; 同时端粒酶的激活被认为是癌症进展的重要步骤。因此也表明了TERC的扩增是宫颈癌发生发展的早期基因。这主要是由于宫颈癌的发生发展几乎都会伴有染色体数目遗传或者结构畸变; 超过85%的侵袭性宫颈癌都会出现基因组的不平衡扩增, 从而导致3号染色体拷贝数的增加。而定位于人的染色体3q26-27小片段区域的TERC基因便会参与宫颈癌的发生。

世界卫生组织 (WHO) 宫颈癌控制指南建议将宫颈细学检查和人乳头瘤病毒 (HPV) DNA 检测用于宫颈癌筛查。而近几十年来, 由于宫颈癌筛查可以及时、有效地发现癌前病变和早期侵袭性宫颈癌, 使其发病率和死亡率得到了有效的降低。但是由于宫颈细胞学检查常会因为对宫颈癌前病变的敏感性不高而出现误诊, HPV DNA检测的也常出现高灵敏性低特异性, 因此需要更准确、可靠的检测方法。而通过荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 技术检测TERC基因扩增对于宫颈癌筛查和早期诊断有重大的临床意义, 并且有助于干预病变的进展和降低发病率。

2、探针描述

TERC基因扩增探针, 主要定位于人染色体3q26.3处, 长度为450bp, 其编码的蛋白质相对分子量为380000。该探针主要以采用橘红色荧光分子标记TERC基因扩增区域, 采用绿色荧光分子标记3号染色体着丝粒区域 (CEP3)。如图所示

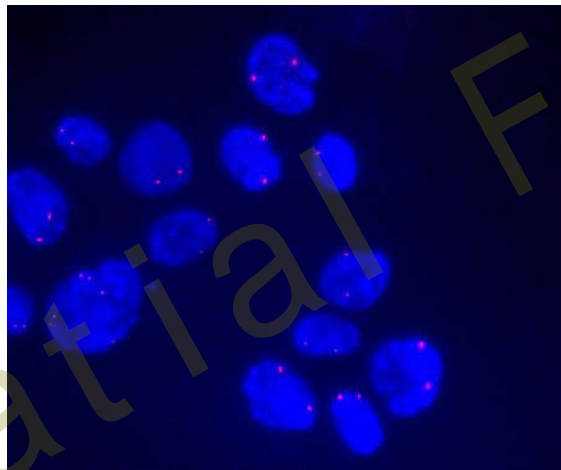


3、临床意义

利用FISH检测TERC扩增,可以提供一种具有更高敏感性和特异性的临床检测方法。TERC基因扩增检测在检测CIN方面表现出更高的特异性,为宫颈癌筛查提供强有力的方法。同时由于TERC端粒酶激活可能是宫颈癌发生的相对早期的标志物,因此TERC端粒酶活性及其组分的表达可能成为宫颈肿瘤患者诊断和预后的有价值的生物标志物。

4、杂交结果

TERC 荧光探针杂交结果展示



5、参考文献

- [1] Obermann, Ellen C, Prince, et al. Prediction of outcome in patients with low-grade squamous intraepithelial lesions by fluorescence in situ hybridization analysis of human papillomavirus, TERC, and MYC[J]. Cancer Cytopathology, 121(8):423-431.
- [2] Zhao X Y, Cui Y, Jiang S F, et al. Human Telomerase Gene and High-Risk Human Papillomavirus Infection are Related to Cervical Intraepithelial Neoplasia[J]. Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP, 2015, 16(2):693-697.

[3] Heselmeyer-Haddad K , Sommerfeld K , White N M , et al. Genomic Amplification of the Human Telomerase Gene (TERC) in Pap Smears Predicts the Development of Cervical Cancer[J]. American Journal of Pathology, 2005, 166(4):0-1238.

[4] Tu Z , Zhang A , Wu R , et al. Genomic amplification of the human telomerase RNA gene for differential diagnosis of cervical disorders[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2009, 191(1):10-16.

[5] Meyerson M. Role of telomerase in normal and cancer cells. [J]. journal of clinical oncology official journal of the american society of clinical oncology, 2000, 18(13):2626-34.

(二) MYC 基因探针

详细介绍见第一章乳腺癌

淋巴瘤

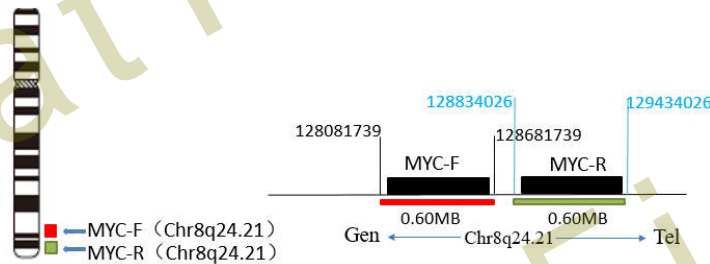
(一) MYC 基因断裂检测探针

1、疾病背景介绍

myc基因定位于染色体8q24、IgH、IgK、Ig λ 链的基因位点分别在14q32、2P13和 22q11，在BL细胞中往往出现C-myc基因位点与Ig基因位点之间的易位，即C-myc易位 到Ig位点的高活性转录区，从而组成一个高转活性的重排基因，启动C-myc转录，使 C-myc表达增强，促进细胞恶变，最后导致肿瘤的发生。

2、探针描述

MYC双色断裂探针是两个直接标记的混合探针，在8q24.21区进行杂交。其中橘红色荧光染料直接标记的探针和MYC基因的近端进行杂交，而绿色荧光标记的探针则和MYC基因的远端进行杂交。



3、临床意义

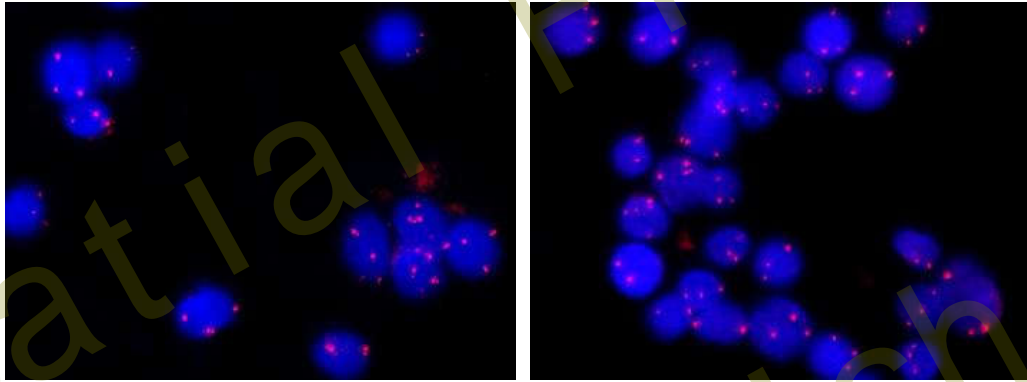
5%~10%的弥漫大B细胞淋巴瘤患者存在MYC基因断裂，生存期明显短于征程患者，5年PFS和OS分别为31%~66%和33%~72%。MYC基因断裂和BCL2基因断裂或BCL6基因断裂可用于双重打击淋巴瘤（DHL）的诊断。2016年版WHO分类“高级别B细胞淋巴瘤，非特殊型”取代了2008年版“B细胞淋巴瘤，特征介于弥漫大B细胞淋巴瘤和Burkitt淋巴瘤之间不能分类型”。其中包括了以下两类高级别B细胞淋巴瘤：（1）所有双重打击的B细胞淋巴瘤，不管形态学还是弥漫性大B细胞淋巴瘤还是Burkitt样均至该类；（2）形态学介于弥漫性大B细胞淋巴瘤和Burkitt淋巴瘤之间的病例。

4、杂交结果

MYC 基因断裂荧光探针杂交结果展示

MYC-F

MYC-R



5、参考文献

- [1] Kleo K, Dimitrova L, Oker E, Tomaszewski N, Berg E, Taruttis F, Engelmann JC, Schwarzfischer P, Reinders J, Spang R, Gronwald W, Oefner PJ, Hummel M. Identification of ADGRE5 as discriminating MYC target between Burkitt lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma. *BMC Cancer*. 2019 Apr 5;19(1):322. doi: 10.1186/s12885-019-5537-0. PMID: 30953469; PMCID: PMC6451309.
- [2] Jackstadt R, Hermeking H. MicroRNAs as regulators and mediators of c-MYC function. *Biochim Biophys Acta*. 2015 May;1849(5):544-53. doi: 10.1016/j.bbagr.2014.04.003. Epub 2014 Apr 13. PMID: 24727092.
- [3] Ryan KM, Birnie GD. Myc oncogenes: the enigmatic family. *Biochem J*. 1996 Mar 15;314 (Pt 3)(Pt 3):713-21. doi: 10.1042/bj3140713. PMID: 8615760; PMCID: PMC1217115.
- [4] Hirvonen H, Hukkanen V, Salmi TT, Pelliniemi TT, Alitalo R. L-myc and N-myc in hematopoietic malignancies. *Leuk Lymphoma*. 1993 Oct;11(3-4):197-205. doi: 10.3109/10428199309086996. PMID: 8260894.
- [5] Boxer LM, Dang CV. Translocations involving c-myc and c-myc function. *Oncogene*. 2001 Sep 10;20(40):5595-610. doi: 10.1038/sj.onc.1204595. PMID: 11607812.
- [6] Dang CV, Resar LM, Emison E, Kim S, Li Q, Prescott JE, Wonsey D, Zeller K. Function of the c-Myc oncogenic transcription factor. *Exp Cell Res*. 1999 Nov 25;253(1):63-77. doi: 10.1006/excr.1999.4686. PMID: 10579912.

(二) BCL2 基因断裂检测探针

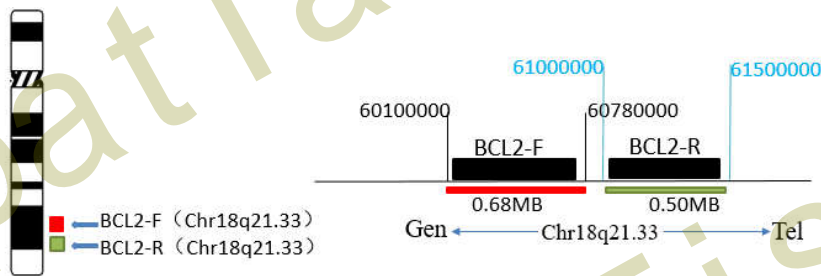
1、疾病背景介绍

二十多年来,基因突变的鉴定一直是癌症研究的重点。虽然下一代基因组测序工具的问世揭示了癌症体质变化的复杂前景,但癌症基因组学研究仍面临巨大挑战,即解释“基因型-表型相关性”。扩散大B细胞淋巴瘤(DLBCL)是一种侵略性的非霍奇金淋巴瘤(B细胞淋巴细胞的恶性肿瘤),占71,850新诊断的病例和19,790人死亡在美利坚合众国2015年。迄今为止,300多个DLBCL的基因组测序

已经解开了其在基因改变（如拷贝数变化、移位和体质突变）中的显著异质性。多项独立研究对DLBCL体外突变景观的描绘显示，由BCL2、MLL2、EZH2、GNA13、MYD88和TP53组成的突变基因总是发生变异。据报道，BCL2基因是DLBCL样本中突变度最高的基因，在DLBCL的分子亚型GCB-DLBCL中具有显著的突变丰富性。尽管BCL2基因突变的发生是DLBCL中众所周知的事件，但这些突变在淋巴瘤发病机制中的相关性是一个值得争论的问题。由于蛋白质的多细胞性质及其突变特征的异质性，很难预测BCL2突变的功能影响。

2、探针描述

BCL2是一种双色断裂探针，是由两个直接标记到18q21.33-q22.1处的探针混合而成，绿色荧光直接标记的探针和BCL2基因近端杂交，而橘红色荧光染料直接标记的探针和BCL2基因远端进行杂交。



3、临床意义

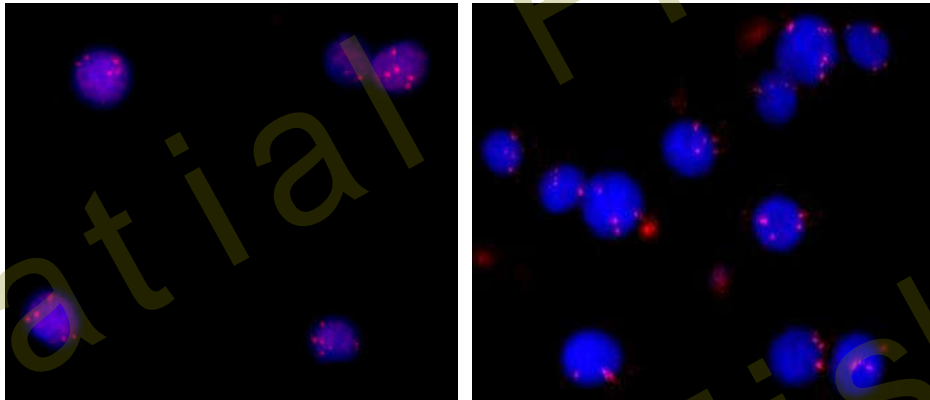
BCL2蛋白是癌症中最突出的抗凋亡蛋白之一。它们有助于肿瘤发生和调解对当前抗癌治疗的耐药性。近年来，已经开发出几种有希望的BCL2蛋白抑制剂，因此现在最大的挑战是如何最好地利用肿瘤类型的这些化合物。BCL2抑制剂不太可能像单个制剂那样有效，但与其他目标制剂结合时，它们可能非常有益。因此，未来的个性化癌症治疗将包括BCL2抑制剂在那些肿瘤，表达对BCL2蛋白上瘾。

4、杂交结果

BCL2 基因断裂荧光探针杂交结果展示

BCR2-F

BCR2-R



5、参考文献

- [1] Singh K, Briggs JM. Functional Implications of the spectrum of BCL2 mutations in Lymphoma. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2016 Jul-Sep;769:1-18. doi: 10.1016/j.mrrev.2016.06.001. Epub 2016 Jun 16. PMID: 27543313.
- [2] Vogler M. Targeting BCL2-Proteins for the Treatment of Solid Tumours. *Adv Med.* 2014;2014:943648. doi: 10.1155/2014/943648. Epub 2014 Aug 27. PMID: 26556430; PMCID: PMC4590949.
- [3] Pillai K, Pourgholami MH, Chua TC, Morris DL. Does the expression of BCL2 have prognostic significance in malignant peritoneal mesothelioma? *Am J Cancer Res.* 2013 Jun 20;3(3):312-22. PMID: 23841030; PMCID: PMC3696537.
- [4] Hwang KT, Woo JW, Shin HC, Kim HS, Ahn SK, Moon HG, Han W, Park IA, Noh DY. Prognostic influence of BCL2 expression in breast cancer. *Int J Cancer.* 2012 Oct 1; 131(7):E1109-19. doi: 10.1002/ijc.27539. Epub 2012 Apr 4. PMID: 22418857.

(三) BCL6 基因断裂检测探针

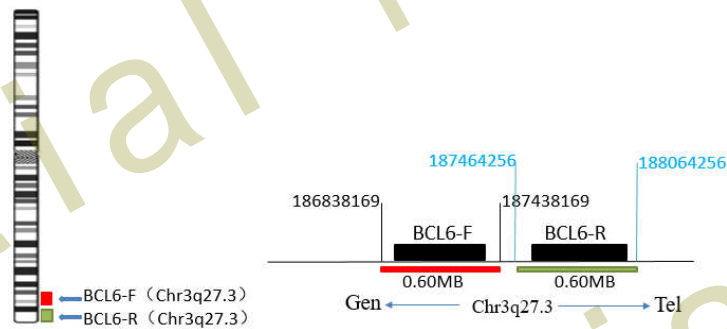
1、疾病背景介绍

BCL6 (B细胞淋巴瘤6) 正在成为关键的蛋白和治疗目标。BCL6首先被确定为受扩散性大B细胞淋巴瘤 (DLBLs) 中染色体转移影响的部位 (1)。然而, 现在已知它被广泛表达在许多淋巴瘤, 无论遗传病变。它在淋巴瘤生成中的作用源于它在幽默免疫系统中的功能, 在幽默免疫反应 (2-4) 期间, 需要对BCL6进行调节, 以形成细菌中心 (GC)。GC 是响应抗原刺激而形成的瞬态结构。

2、探针描述

BCL6是一种双色断裂探针, 由两个直接标记再3q27处的探针构成, 其中红色荧光直接标记的探针于BCL6 5' 端进行杂交, 绿色荧光标记的探针于BCL6 3' 端

进行杂交。



3、临床意义

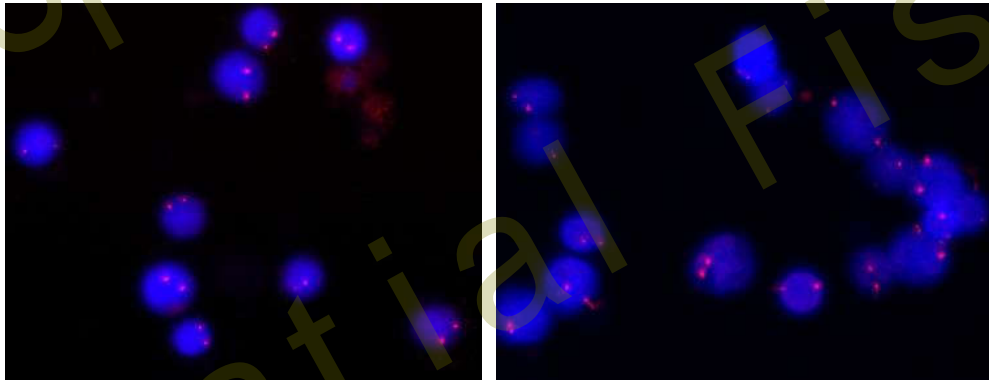
B细胞淋巴瘤是一种临床上异质和病理上多样化的疾病组，具有很强的表观遗传成分。B细胞淋巴瘤6（BCL6）基因编码一个转录因子，通过保持表观遗传和转录状态，对细胞增殖和DNA损伤至关重要。BCL6的活动可以通过各种机制解除管制，并有助于B细胞淋巴瘤的发展。

4、杂交结果图

BCL6 基因断裂荧光探针杂交结果展示

BCL6-F

BCL6-R



5、参考文献

- [1] Cardenas MG, Oswald E, Yu W, Xue F, MacKerell AD Jr, Melnick AM. The Expanding Role of the BCL6 Oncoprotein as a Cancer Therapeutic Target. Clin Cancer Res. 2017 Feb 15;23(4):885-893. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2071. Epub 2016 Nov 23. PMID: 27881582; PMCID: PMC5315622.
- [2] Yang H, Green MR. Epigenetic Programming of B-Cell Lymphoma by BCL6 and Its Genetic Deregulation. Front Cell Dev Biol. 2019 Nov 7;7:272. doi: 10.3389/fcell.2019.00272. PMID: 31788471; PMCID: PMC6853842.
- [3] Kawabata KC, Zong H, Meydan C, Wyman S, Wouters BJ, Sugita M, Goswami S, Albert M, Yip W, Roboz GJ, Chen Z, Delwel R, Carroll M, Mason CE, Melnick

A, Guzman ML. BCL6 maintains survival and self-renewal of primary human acute myeloid leukemia cells. *Blood*. 2021 Feb 11;137(6):812-825. doi: 10.1182/blood.2019001745. PMID: 32911532.

[4] McCoull W, Cheung T, Anderson E, Barton P, Burgess J, Byth K, Cao Q, Castaldi MP, Chen H, Chiarparin E, Carbajo RJ, Code E, Cowan S, Davey PR, Ferguson AD, Fillery S, Fuller NO, Gao N, Hargreaves D, Howard MR, Hu J, Kawatkar A, Kemmitt PD, Leo E, Molina DM, O'Connell N, Petteruti P, Rasmusson T, Raubo P, Rawlins PB, Ricchiuto P, Robb GR, Schenone M, Waring MJ, Zinda M, Fawell S, Wilson DM. Development of a Novel B-Cell Lymphoma 6 (BCL6) PROTAC To Provide Insight into Small Molecule Targeting of BCL6. *ACS Chem Biol*. 2018 Nov 16;13(11):3131-3141. doi: 10.1021/acscchembio.8b00698. Epub 2018 Oct 17. PMID: 30335946.

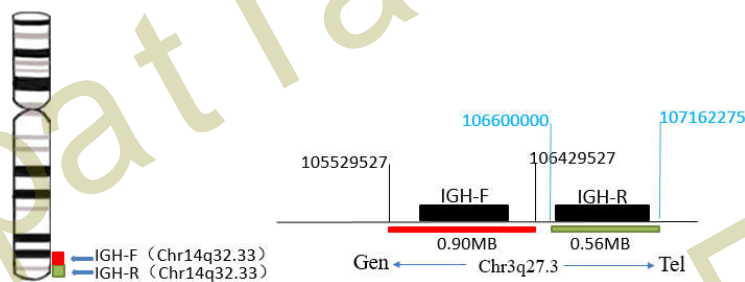
(四) IGH 基因断裂检测探针

1、疾病背景介绍

抗原受体基因位点是哺乳动物中最复杂的基因。IgH基因(14q32)转移是几乎所有B和浆细胞发育障碍中最常见的和最早的致癌事件之一。这一系列疾病包括MM、NHL等，仅在美国每年就新增诊断量约10万例。这些事件的流行归因于IgH基因在B谱系细胞中的不稳定性。IgH基因位点在B细胞分化的各个阶段特别容易出现重组错误，因为DNA链断裂和同源重组的周期是促进抗体多样化的分子事件。

2、探针描述：

IGH是一种双色断裂探针，由两个直接标记在14q32.33处的探针构成，其中橘红色荧光直接标记的探针于IGH基因的近端进行杂交，而绿色荧光标记的探针与IGH基因的远端进行杂交。



3、临床意义：

IGH基因位于14q32, IGH断裂及易位发生于50%B细胞NHL中和多种其他淋巴瘤类型中，可与超过50种的基因发生相互易位；与多种伙伴基因发生融合可用于诊断，尤其对组织病理学和免疫组化不能定性的B细胞和T细胞NHL、非经典性HL和

反应性增生，这些检查可有助于疾病的确诊；

4、参考文献：

- [1] Pinaud E, Marquet M, Fiancette R, Péron S, Vincent-Fabert C, Denizot Y, Cogné M. The IgH locus 3' regulatory region: pulling the strings from behind. *Adv Immunol.* 2011;110:27-70. doi: 10.1016/B978-0-12-387663-8.00002-8. PMID: 21762815.
- [2] Dolloff NG. Discovery platform for inhibitors of IgH gene enhancer activity. *Cancer Biol Ther.* 2019;20(4):571-581. doi: 10.1080/15384047.2018.1538615. Epub 2018 Nov 27. PMID: 30481117; PMCID: PMC6422521.
- [3] He H, Fu W, Jiang H, Du J, Zhou L, Zhang C, Xi H, Li R, Hou J. The clinical characteristics and prognosis of IGH deletion in multiple myeloma. *Leuk Res.* 2015 May;39(5):515-9. doi: 10.1016/j.leukres.2015.02.010. Epub 2015 Mar 18. PMID: 25817540.

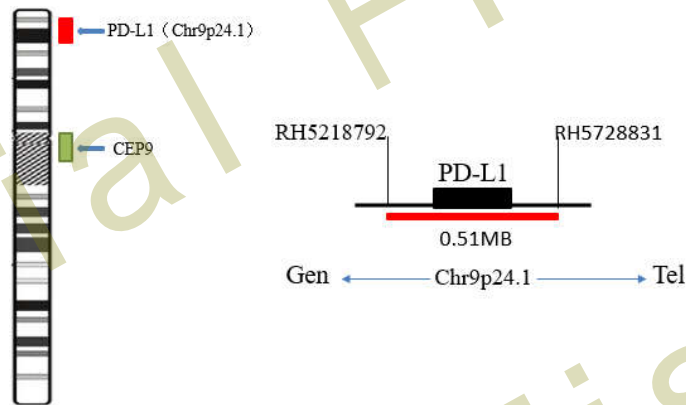
(五) PD-L1 基因扩增检测探针

1、疾病背景介绍

人类的PD-L1基因位于9号染色体的长臂第2区第4亚区（9q24），PD-L1主要编码一种蛋白激酶，该蛋白激酶由290个氨基酸构成，是一种跨膜蛋白。肿瘤细胞常以遗传不稳定为特征，这有利于获得新的突变，这种变异可以产生新的潜在抗原，从而引起免疫应答。因此，针对肿瘤细胞新获得的抗原进行免疫介导治疗是困难和复杂的。肿瘤细胞PD-L1的上调可以抑制效应T细胞的免疫功能，这种免疫效应可以通过干扰PD-1/PD-L1轴在临床上加以利用。由于促炎信号是诱导PD-L1的主要生理刺激，致癌信号可能与生理炎症信号产生协同作用增强PD-L1的表达。虽然霍奇金淋巴瘤（HL）对PD-1/PD-L1抑制剂的敏感性已被证实，但PD-1在MPN中的临床试验仍在进行中。

2、探针描述

在FISH检测中，设计了586kb探头，以红色荧光标记9q24.1覆盖PD-L1基因区域。第二个探头以绿色荧光标记9号染色体的近中心区域。

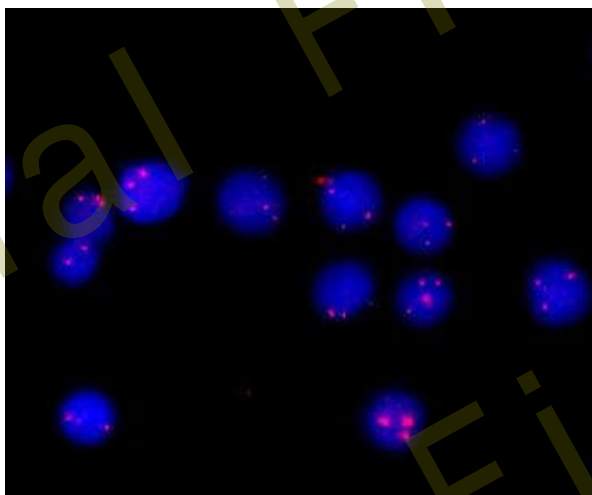


3、临床意义

近年来,随着经济的增长和生活水平的提高,癌症发病率和死亡率显著增加。癌症是中国的主要死因,也是一个重大的公共卫生问题。通过大规模筛查和使用侵入性更小、效率更高的标记来检测和评估癌症是公共卫生的主要要求。恶性肿瘤细胞使用各种免疫抑制方法抵抗抗肿瘤免疫。其中一种方法是修改PD-1/PD-L1通路,称为“免疫检查点”[1]。PD-1/PD-L1通路不仅能正常控制过度的免疫活化,而且似乎是肿瘤逃避免疫系统的一种手段[2]。该通路的激活可导致肿瘤免疫逃逸,促进肿瘤细胞生长,包括以下几个方面: T细胞耐受性、T细胞凋亡、T细胞衰竭、增强免疫抑制性Treg细胞功能、诱导共刺激分子和PD-1不平衡[3]。因此,能够改善免疫反应或减少免疫抑制的免疫治疗剂对于治疗人类癌症至关重要。目前用于恶性肿瘤的免疫疗法包括治疗性疫苗、采用T细胞转移、免疫调节剂、细胞因子和免疫检查点抑制剂[4]。PD-1/PD-L1免疫检查点代表一种可用且有希望的途径,可以阻止该途径以逆转肿瘤介导免疫抑制[5-7]。

4、杂交结果图

PD-L1 荧光探针杂交结果展示图



5、参考文献

- [1] Zhu X, Lang J. Soluble PD-1 and PD-L1: predictive and prognostic significance in cancer. *Oncotarget*. 2017 May 31;8(57):97671-97682. doi: 10.18632/oncotarget.18311. PMID: 29228642; PMCID: PMC5722594.
- [2] Wang Y, Wang H, Yao H, Li C, Fang JY, Xu J. Regulation of PD-L1: Emerging Routes for Targeting Tumor Immune Evasion. *Front Pharmacol*. 2018 May 22;9:536. doi: 10.3389/fphar.2018.00536. PMID: 29910728; PMCID: PMC5992436.
- [3] Schoenfeld AJ, Rizvi H, Bandlamudi C, Sauter JL, Travis WD, Rekhman N, Plodkowski AJ, Perez-Johnston R, Sawan P, Beras A, Egger JV, Ladanyi M, Arbour KC, Rudin CM, Riely GJ, Taylor BS, Donoghue MTA, Hellmann MD. Clinical and molecular correlates of PD-L1 expression in patients with lung adenocarcinomas. *Ann Oncol*. 2020 May;31(5):599-608. doi: 10.1016/j.annonc.2020.01.065. Epub 2020 Feb 6. PMID: 32178965; PMCID: PMC7523592.
- [4] Zhou K, Guo S, Li F, Sun Q, Liang G. Exosomal PD-L1: New Insights Into Tumor Immune Escape Mechanisms and Therapeutic Strategies. *Front Cell Dev Biol*. 2020 Oct 15;8:569219. doi: 10.3389/fcell.2020.569219. PMID: 33178688; PMCID: PMC7593554.

(六) CCND1 断裂基因检测探针

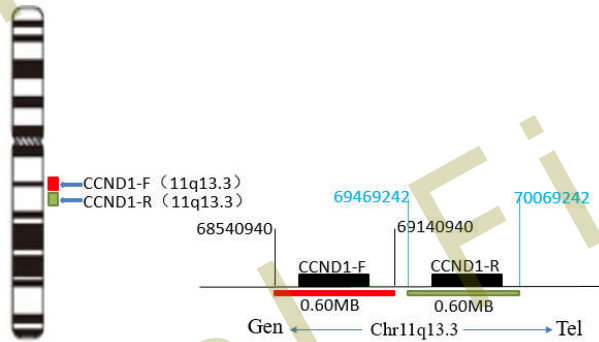
1、疾病背景介绍

CCND1位点位于 11q13 中，编码 G1-S 调节蛋白环素 D1。环素 D1 经常在各种类型的癌症中放大，是一个有吸引力的潜在治疗目标。多路复用线条依赖探针放大（MLPA）是一种新的高分辨率方法，用于检测多种基因的放大，包括 CCND1，这些基因来自从单个反应中的正式固定石蜡嵌入材料中提取的少量 DNA 片段。CCND1基因扩增预示着在肿瘤发展中起着重要作用，可发生于甲状腺、乳

腺癌、结直肠癌、淋巴瘤、黑素瘤、前列腺癌等多种肿瘤中。

2、探针描述

CCND1基因扩增探针采用橘红色染料标记CCND1 3'端方向，采用绿色染料标记MYEOV 5'端方向。



3、临床意义

该基因编码的蛋白质属于高度保守的细胞周期蛋白家族，其成员在整个细胞周期内具有显著的蛋白质丰度周期性。细胞周期蛋白起着调节CDK激酶的作用。不同的细胞周期蛋白表现出不同的表达和降解模式，这有助于每个有丝分裂事件的时间协调。该细胞周期蛋白与CDK4或CDK6形成复合物并作为其调节亚单位发挥作用，其活性是细胞周期G1/S转换所必需的。该蛋白与肿瘤抑制蛋白Rb相互作用，该基因的表达受到Rb的正调控。这种基因的突变、扩增和过度表达改变了细胞周期的进程，在多种肿瘤中经常观察到，并可能有助于肿瘤的发生。应用于促结缔组织增生性成纤维细胞瘤，有报道肿瘤呈 11q12 克隆性染色体异常。个别肿瘤出现 t(2;11) 易位；CCND1 (BCL1) 基因断裂及易位可发生于白血病、MM 及部分良性甲状腺肿瘤中。

4、参考文献

- [1] Ooi A, Oyama T. Detection of CCND1 Gene Copy Number Variations Using Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification and Fluorescence In Situ Hybridization Methods. *Methods Mol Biol.* 2018;1726:101-109. doi: 10.1007/978-1-4939-7565-5_10. PMID: 29468547.
- [2] Bautista S, Theillet C. CCND1 and FGFR1 coamplification results in the colocalization of 11q13 and 8p12 sequences in breast tumor nuclei. *Genes Chromosomes Cancer.* 1998 Aug;22(4):268-77. PMID: 9669664.
- [3] Burandt E, Grünert M, Lebeau A, Choschzick M, Quaas A, Jänicke F, Müller V, Scholz U, Bokemeyer C, Petersen C, Geist S, Paluchowski P, Wilke C, Heilenkötter U, Simon R, Sauter G, Wilczak W. Cyclin D1 gene

amplification is highly homogeneous in breast cancer. *Breast Cancer*. 2016 Jan;23(1):111-119. doi: 10.1007/s12282-014-0538-y. Epub 2014 May 27. PMID: 24862872.

[4] Simpson JF, Quan DE, O'Malley F, Odom-Maryon T, Clarke PE. Amplification of CCND1 and expression of its protein product, cyclin D1, in ductal carcinoma in situ of the breast. *Am J Pathol*. 1997 Jul;151(1):161-8. PMID: 9212742; PMCID: PMC1857915.

[5] Wong L, Power N, Miles A, Tropepe V. Mutual antagonism of the paired-type homeobox genes, *vsx2* and *dmbx1*, regulates retinal progenitor cell cycle exit upstream of *ccnd1* expression. *Dev Biol*. 2015 Jun 15;402(2):216-28. doi: 10.1016/j.ydbio.2015.03.020. Epub 2015 Apr 11. PMID: 25872183.

[6] Vlenterie M, Hillebrandt-Roeffen MH, Schaars EW, Flucke UE, Fleuren ED, Navis AC, Leenders WP, Versleijen-Jonkers YM, van der Graaf WT. Targeting Cyclin-Dependent Kinases in Synovial Sarcoma: Palbociclib as a Potential Treatment for Synovial Sarcoma Patients. *Ann Surg Oncol*. 2016 Sep;23(9):2745-52. doi: 10.1245/s10434-016-5341-x. Epub 2016 Jun 22. PMID: 27334220; PMCID: PMC4972869.

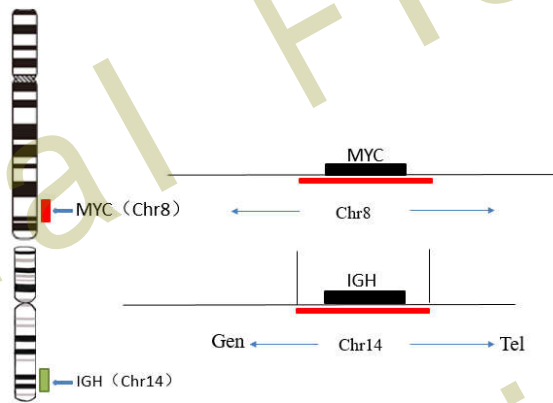
(七) MYC-IGH 融合基因检测探针

1、背景介绍

MYC基因属于原癌基因，在伯基特淋巴瘤中发现（Burkitt lymphoma，BL），包含C-MYC（8号染色体），N-MYC（2号染色体），L-MYC（1号染色体）三种基因。DNA断裂引起MYC基因重排，MYC重排在BL，弥漫性大B细胞淋巴瘤（diffuse large B-cell lymphoma，DLBCL），B细胞淋巴瘤（B-cell lymphoma）中均会被检测到，MYC重排导致MYC基因扩增失去控制从而加快癌症发展进程。

MYC-IGH(t(8;14)(q24;q32))是一种常见的重排形成的融合基因。MYC/IGH/CEP8三色双重融合探针

2、探针描述



3、临床意义

在疑似伯基特淋巴瘤病例排查中,准确鉴定 MYC 重排的必要性已经得到了证实,并且长期以来一直是细胞遗传学分析的常规检查部分,在淋巴瘤其他亚型中,对 MYC 进行重排检测也对疾病诊断有很大的帮助。

4、参考文献

- [1] Philippa C. May, Nicola Foot ,et al. Detection of cryptic and variant IGH-MYC rearrangements in high-grade non-Hodgkin' s lymphoma by fluorescence in situ hybridization: implications for cytogenetic testing. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 198 (2010) 71-75
- [2] Davide F. Robbiani, Anne Bothmer, et al. AID Is Required for the Chromosomal Breaks in cmyc that Lead to c-myc/IgH Translocations. *Cell* 135, 1028 - 1038, December 12, 2008
- [3] K. Yamamoto, K. Yakushijin and M. Ito et al. MYC amplification on double minute chromosomes in plasma cell leukemia with double IGH/CCND1 fusion genes. *Cancer Genetics* 242 (2020) 35 - 40

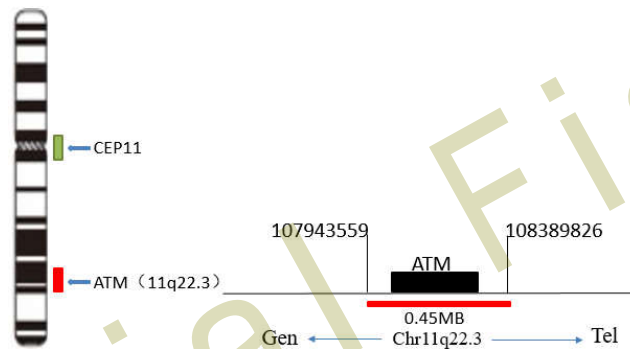
(八) ATM 基因缺失检测探针

1、疾病背景介绍

慢性淋巴细胞白血病 ((chronic lymphocytic leukemia, CLL), 是一种淋巴细胞克隆性增殖的肿瘤性疾病,淋巴细胞在骨髓、淋巴结、血液、脾脏、肝脏及其他器官聚集。同时也是一种老年性疾病,以免疫功能不全的高分化淋巴细胞克隆性增殖为主要特征。而 ATM (ataxia telangiectasia-mutated gene) 中文名为共济失调毛细血管扩张突变基因,是一种与 DNA 损伤检验有关的一个重要基因。

2、探针描述

ATM 基因缺失检测探针，主要以橙色荧光分子标记 ATM DNA 区域和绿色荧光分子标记 11 号染色体着丝粒区域（CEP11）为探针，使其于癌细胞核内的 ATM 基因序列杂交互补。由于 ATM DNA 标记区域位于 11q22 及 CEP11 探针主要采用 α 卫星序列，因此具有极高的特异性，不会与其他染色体着丝粒区域杂交产生杂点。如图所示



3、临床意义

ATM 基因缺失在 B-CLL 中发生率约为 15-20%，该类患者与疾病浸润性相关且其预后差。ATM 基因缺失和 P53 基因缺失是 CLL 中最为常见的缺失异常，可指导治疗方案的选择和预后评估。其中具有 del(11q) 或 del(17p) 的 CLL 患者预后明显差于染色体正常或单纯 del(13q) 的患者。2011 版 NCCN 特别将具有 del(11q) 细胞遗传学异常的 CLL 患者治疗单独列出。且 del(11q)-CLL 对于烷化剂较为敏感，因此临床推荐使用含有烷化剂的联合化疗方案。

4、参考文献

- [1]Knittel G, Liedgens P, Reinhardt HC. Targeting ATM-deficient CLL through interference with DNA repair pathways. *Front Genet.* 2015 Jun 10;6:207. doi: 10.3389/fgene.2015.00207. PMID: 26113859; PMCID: PMC4461826.
- [2]Kwok M, Davies N, Agathangelou A, Smith E, Oldreive C, Petermann E, Stewart G, Brown J, Lau A, Pratt G, Parry H, Taylor M, Moss P, Hillmen P, Stankovic T. ATR inhibition induces synthetic lethality and overcomes chemoresistance in TP53- or ATM-defective chronic lymphocytic leukemia cells. *Blood.* 2016 Feb 4;127(5):582-95. doi: 10.1182/blood-2015-05-644872. Epub 2015 Nov 12. PMID: 26563132.
- [3]Ouillet P, Li J, Shaknovich R, Li Y, Melnick A, Shedden K, Malek SN. Incidence and clinical implications of ATM aberrations in chronic lymphocytic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer.* 2012 Dec;51(12):1125-32. doi: 10.1002/gcc.21997. Epub 2012 Sep 6. PMID: 22952040; PMCID: PMC3465492.

（九）ALK 基因断裂检测探针

1、背景介绍

ALK 基因编码一个跨膜氨基酸受体,1994 年, ALK 最初在肿瘤大细胞淋巴瘤中被确定为染色体转移产生的核磷胺 (NPM-ALK) 的融合伙伴。随后, 在许多不同的癌症中发现了 ALK-重新排列 (ALK-R), 包括炎症性肌纤维细胞肿瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、非小细胞肺癌 (NSCLC) 和食管鳞状细胞、结肠直肠癌和乳腺癌。ALK 重新排列会产生一种致癌的 ALK 酪氨酸激酶, 激活许多下游信号通路, 从而增加细胞增殖和存活率。ALK 重新排列可能涉及不同的断点和多个融合伙伴, FISH 被认为是评估 ALK 状态的黄金标准, 也是 ALK 重新排列以检测分离信号的首次批准诊断测试。

2、探针描述

ALK 基因断裂探针采用橘红色染料标记 ALK 基因 (3' 端) 2p23.2 区域, 采用绿色染料标记 ALK (5' 端) 2p23.1-p23.2 区域。ALK 基因断裂探针能检测所有 ALK 基因重排, 避免了单独检测某一融合基因导致的漏诊。

3、临床意义

ALK 是肺癌和其他几种造肝和固体恶性肿瘤的既定治疗靶点, 包括 ALCL 和 IMT。同时 s 染色体易位和 ALK 的表达已经被 WHO 规定为 ALCL 的临床诊断标准之一。自 1994 年发现作为核基因融合以来, 已经对原生和原生碱的生物学有了深入的了解。与此同时, 许多 ALK 抑制剂已进入临床, 迄今为止, 已有 3 种成为晚期 ALK 阳性肺癌的标准疗法。

4、参考文献

- [1] Du X, Shao Y, Qin HF, Tai YH, Gao HJ. ALK-rearrangement in non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Thorac Cancer*. 2018 Apr;9(4):423-430. doi: 10.1111/1759-7714.12613. Epub 2018 Feb 28. PMID: 29488330; PMCID: PMC5879058 .
- [2]Huang H. Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) Receptor Tyrosine Kinase: A Catalytic Receptor with Many Faces. *Int J Mol Sci*. 2018 Nov 2;19(11):3448. doi: 10.3390/ijms19113448. PMID: 30400214; PMCID: PMC6274813.
- [3]Lin JJ, Riely GJ, Shaw AT. Targeting ALK: Precision Medicine Takes on Drug Resistance. *Cancer Discov*. 2017 Feb;7(2):137-155. doi: 10.1158/2159-8290.CD-16-1123. Epub 2017 Jan 25. PMID: 28122866; PMCID: PMC5296241.

(十) MALT1 基因断裂探针

1、疾病背景介绍

MALT1 基因是通过参与 t (11: 18) (q21;q21) 来鉴定的, 在 30%的粘膜相关淋巴组织 (MALT) 淋巴瘤病例中可见。MALT1 通过直接参与染色体转移 t (11: 18) (q21: q21) 被分离出来, 该染色体转移是 MALT 淋巴瘤病例的 30%, 并导致 API2-MALT1 融合。MALT1 的功能尚不清楚, 但蛋白质包含几个公认的域, 包括死亡域 (DD)、2 个免疫球蛋白域和一个木桶状域: 最后一个保持在全长 API2-MALT1 融合报告至今。MALT1 通过与 BCL10 的直接相互作用, 与 B 细胞受体发出抗原的 NF- κ B 信号, MALT1 本身不会诱导 NF- κ B 信号, 也不会使信号同质化, 而是与 BCL10 显著协同作用。

2、探针描述

此探针用红色荧光标记 18q21. 31 区域, 共 981kb。

3、临床意义

长期以来, MALT1 被认为是一种脚手架蛋白, 为其他信号蛋白提供了一个组装平台。当 MALT1 也被发现具有蛋白解活性和微调免疫反应的能力时, 这种观点发生了巨大变化。前科研究已经培养了这样一种信念, 即 MALT1 是自身免疫和 B 细胞淋巴瘤中很有前途的治疗靶点。众所周知, Malt1 与卡玛 1 和 Bcl10 形成复合体, 以调解 Ag 受体-诱导淋巴细胞活化。它最初被确定为一种在粘膜相关淋巴组织 B 细胞淋巴瘤中与 cIAP2 融合的转移蛋白, 导致 NF- κ B 的组成活化, 这对淋巴瘤细胞的生存和增殖至关重要。

4、参考文献

- [1] Cheng L, Deng N, Yang N, Zhao X, Lin X. Malt1 Protease Is Critical in Maintaining Function of Regulatory T Cells and May Be a Therapeutic Target for Antitumor Immunity. *J Immunol.* 2019 May 15;202(10):3008-3019. doi: 10.4049/jimmunol.1801614. Epub 2019 Apr 12. PMID: 30979818.
- [2] Demeyer A, Staal J, Beyaert R. Targeting MALT1 Proteolytic Activity in Immunity, Inflammation and Disease: Good or Bad? *Trends Mol Med.* 2016 Feb;22(2):135-150. doi: 10.1016/j.molmed.2015.12.004. Epub 2016 Jan 17. PMID: 26787500.
- [3] Sanchez-Izquierdo D, Buchonnet G, Siebert R, Gascoyne RD, Climent J, Karran L, Marin M, Blesa D, Horsman D, Rosenwald A, Staudt LM, Albertson DG, Du MQ, Ye H, Marynen P, Garcia-Conde J, Pinkel D, Dyer MJ,

Martinez-Climent JA. MALT1 is deregulated by both chromosomal translocation and amplification in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2003 Jun 1;101(11):4539-46. doi: 10.1182/blood-2002-10-3236. Epub 2003 Jan 30. PMID: 12560219.

肺癌

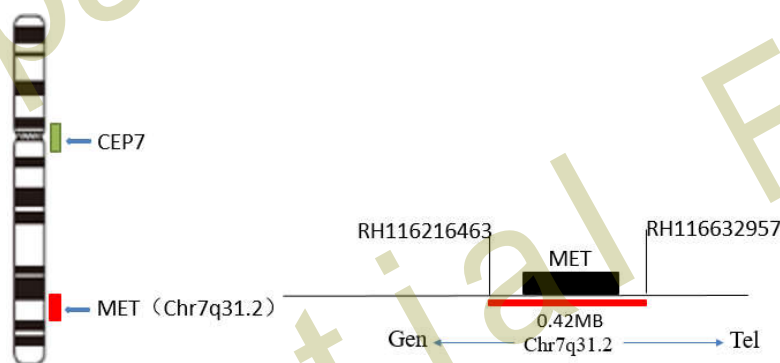
(一) MET 基因扩增探针

1、疾病背景介绍

MET 在多种人类恶性肿瘤包括胃癌、结直肠癌、甲状腺癌和卵巢癌、白血病和肉瘤等中过表达或扩增，并在以上恶性肿瘤中扮演着至关重要的角色。间质上皮细胞转化因子 (Mesenchymal epithelial transition factor, MET) 也称为 c-MET，为原癌基因，是受体酪氨酸激酶家族的成员之一，该基因编码的跨膜受体蛋白 MET，具有酪氨酸激酶活性。MET 基因在胚胎期和成年期的发生的各种形态变化起着重要作用，同时它也可能导致以上几种恶性肿瘤进一步恶化。其配体为肝细胞生长因子 (HGF) 是一种间质衍生的生长因子；MET 与 HGF 结合后，可诱导 MET 二聚体化并使其进入激活状态，进而将其底物磷酸化，从而激活下游信号通路；促进肿瘤细胞增殖、生长、迁移及血管生成。因此，HGF/c-MET 在细胞增殖、分化中扮演重要角色。MET 基因异常形式有突变、扩增、过表达及重排。胃癌中的 MET 扩增和肾细胞癌中的 MET 激活点突变 (生殖系或散发性) 是在人类中发现的首个 MET 基因病变。几十年来，在人类肿瘤中唯一已知的 MET 基因重排是 TPR-MET，它主要发生在胃癌中，在肺癌上非常少见。MET 过表达比例远高于 MET 突变和扩增比例，其在非小细胞肺癌中有 50% 的肿瘤过量表达 MET。

2、探针描述

MET 基因扩增探针，定位于 7q31.2，包括 21 个外显子和 20 个内含子，其中 MET 外显子 14 缺失可视为非小细胞肺癌 (NSCLC) 的主要致癌靶点。该探针采用橙红色荧光分子标记 MET 基因区域及利用绿色荧光分子标记 7 号染色体着丝粒区域 (CEP7)。如图所示

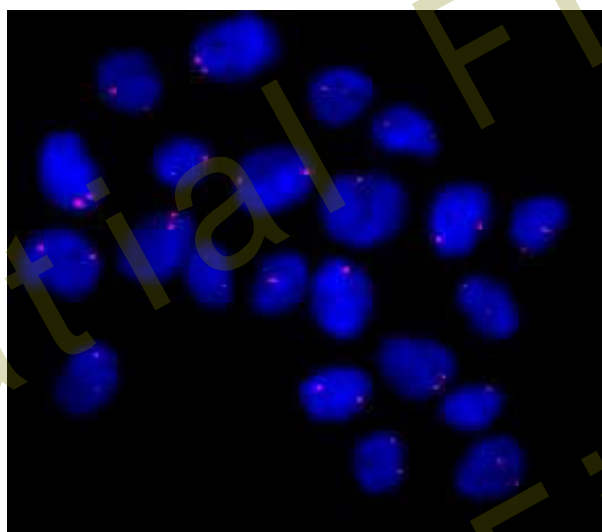


3、临床意义

MET 是肿瘤干细胞自我更新和克隆形成能力的内在调节剂，MET 基因扩增往往预示着不良的预后。在非小细胞肺癌中，MET 扩增是导致 EGFR-TKI 耐药的主要决定因素。高水平的 MET 扩增与使用克唑替尼的治疗效果是有关联的，在 MET 基因扩增的病人中用药一段时间后肿瘤出现明显缩小的现象。

4、杂交结果

C-MET 基因荧光探针杂交结果展示



5、参考文献

- [1] Comoglio P M , Trusolino L , Boccaccio C . Known and novel roles of the MET oncogene in cancer: a coherent approach to targeted therapy[J]. nature reviews cancer, 2018, 18(6):341.
- [2] Lin J C , Naujokas M , Zhu H , et al. Intron-exon structure of the MET gene and cloning of an alternatively-spliced Met isoform reveals frequent exon-skipping of a single large internal exon[J]. oncogene, 1998, 16(7):833-842.
- [3] Trusolino L , Bertotti A , Comoglio P M . MET signalling: principles and functions in development, organ regeneration and cancer[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2010, 11(12):834-848.
- [4] Pietrantonio F , Oddo D , Gloghini A , et al. MET-Driven Resistance to Dual EGFR and BRAF Blockade May Be Overcome by Switching from EGFR to MET Inhibition in BRAF-Mutated Colorectal Cancer. [J]. cancer discovery, 2016, 6(9):963.

(二) EGFR 基因探针

详细介绍见第一章乳腺癌

(三) ALK 基因断裂探针

详细介绍见第三章淋巴瘤

(四) ROS1 基因断裂探针

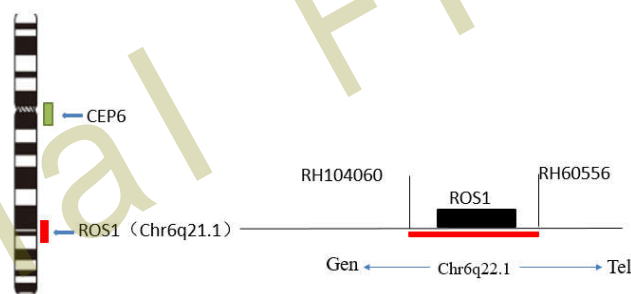
1、疾病背景介绍

非小细胞肺癌 (Non-small-cell carcinoma) 属于肺癌的一种, 根据研究发现有 85% 的肺癌为非小细胞肺癌 (NSCLC), 其组织学亚型以腺癌为主。非小细胞肺癌的临床症状表现为发热、胸痛、气促、咳嗽、血痰等。男性肺癌的发病率在恶性肿瘤中已居首位, 女性肺癌的发病率也逐渐呈现增长趋势, 现如今肺癌的死亡率在所有恶性肿瘤中名列前茅。

ROS1 基因 (c-ros oncogene 1): 又名 c-ros 肉瘤致癌因子-受体酪氨酸激酶 (ROS proto-oncogene 1, receptor tyrosine kinase), 属于酪氨酸激酶胰岛素受体家族成员之一。1-2% 的非小细胞肺癌会发生 ROS1 基因重排, 也就是发生突变。通常发生在年轻、从不吸烟或轻度吸烟的腺癌患者中, 在大细胞肺癌、鳞状细胞肺癌里也发现 ROS1 重排。ROS1 具有胞外配体结合域、跨膜跨越域和胞内酪氨酸激酶域; 与细胞生长、增殖等密切相关。其致瘤机制是当 ROS1 与 CD74、SLC34A2、SDC4 等基因发生融合后, 会持续激活 ROS1 酪氨酸激酶区及其下游 JAK/STAT、PI3K/AKT、RAS/MAPK 等信号通路, 从而引起肿瘤的发生。ROS1 激酶抑制剂竞争性结合于 ROS1 激酶区, 使 ROS1 下游信号转导通路下调, 从而引起肿瘤细胞凋亡。目前, 只有克唑替尼被 FDA 批准用于治疗 ROS1 阳性的 NSCLC 患者, 该药物主要通过 ALK、MET 和 ROS1 三个靶点发挥作用。

2、探针描述

ROS1 基因断裂探针, 定位于 6q21 染色体, 由 2347 个氨基酸 (AA) 编码组成的蛋白质; 共有 47 个外显子, 重排位点主要发生在 ROS1 基因的 32-36 外显子。该探针主要采用橙红色荧光分子标记 ROS1 基因 5' 端区域及采用绿色荧光分子标记 ROS1 基因 3' 端区域。如图所示



3、临床意义

ROS1 断裂探针能够检测几乎所有的 ROS1 基因重排，从而避免了单独检测某一融合基因导致的漏诊或者误诊。当前大量的临床研究和实践经验表明，ROS1 发生重排的肺癌患者使用克唑替尼效果较好。使用克唑替尼治疗 6 周后，可以看到肺部肿瘤病灶快速缩小，疗效极为显著。但研究表明克唑替尼会产生耐药性并出现进展，大约有 50%至 60%的患者会出现进展；并且最常见的向中枢神经系统 (CNS) 转移。因此在早期联合检测驱动基因的突变状态，从而实现以基因为靶点的个体化治疗十分重要。

4、参考文献

- [1] Morris T A, Khoo C, Solomon B J. Targeting ROS1 Rearrangements in Non-small Cell Lung Cancer: Crizotinib and Newer Generation Tyrosine Kinase Inhibitors [J]. *Drugs*, 2019, 79(12): 1277-1286.
- [2] Boyle T A , Masago K , Ellison K E , et al. ROS1 Immunohistochemistry Among Major Genotypes of Non - Small-Cell Lung Cancer[J]. *Clinical Lung Cancer*, 2015, 16(2):106-111.
- [3] Rotow J , Bivona T G . Understanding and targeting resistance mechanisms in NSCLC[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2017, 17(11):637-658.
- [4] Uguen A , Braekeleer M D . ROS1 fusions in cancer: A review[J]. *Future Oncology*, 2016, 12(16).
- [5] Wu Y L , Yang C H , Kim D W , et al. Phase II Study of Crizotinib in East Asian Patients With ROS1-Positive Advanced Non - Small-Cell Lung Cancer[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2018, 36(14):1405-1411.
- [6] Farago A F , Azzoli C G . Beyond ALK and ROS1: RET, NTRK, EGFR and BRAF gene rearrangements in non-small cell lung cancer[J]. *Translational Lung Cancer Research*, 2017, 6(5):550-559.

(五) PD-L1 基因扩增探针

详细介绍见第三章淋巴瘤

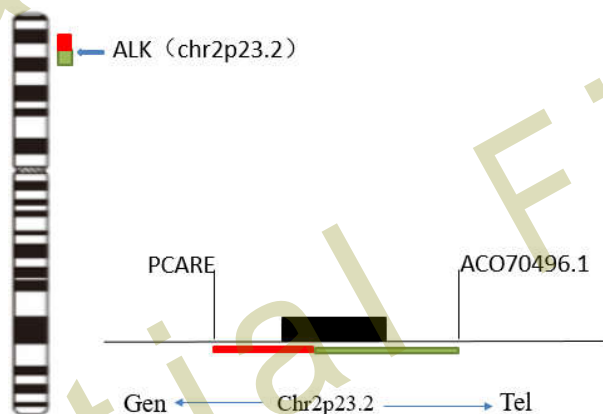
(六) EML4/ALK 基因融合探针

1、背景介绍

当今肺癌的发病率位于癌症之首，而 85% 的肺癌是非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer, NSCLC），且 70% 的患者发现时已处于 III 期以上。间变性淋巴瘤激酶（Anaplastic lymphoma kinase, ALK）是一种受体酪氨酸激酶，属于胰岛素受体超家族。在正常的生理进程中，ALK 在胎儿中枢神经系统发育中起作用，而后沉默。在肿瘤过程中，ALK 发生重排，产生融合基因，EML4-ALK（均位于 2p23 上，相距约 12 Mb）是最常见的 ALK 融合基因形式，EML4-ALK 形成二聚体引起构象改变，通过自身磷酸化，活化多个细胞内信号通路，JAK-STAT、MAPK/ERK、PLC γ 和 PI3K-AKT 途径是四个关键信号通路，是细胞生长、增殖和凋亡/细胞存活的调节因子，它们的调节失控是导致肿瘤发生的重要因素。

2、探针描述

ALK 探针有两个组成成分：约 300Kb 橙色荧光标记的 3' ALK 探针和约 442Kb 绿色荧光标记的 5' ALK 探针。



3、临床意义

临床上常用克唑替尼（Crizotinib），塞瑞替尼（Ceritinib）和阿来替尼（Alectinib），布吉替尼（Brigatinib）和劳拉替尼（Lorlatinib）等酪氨酸激酶抑制剂来治疗 ALK 阳性的 NSCLC 癌症。因此 ALK 基因的检测尤为重要。国际上常以 ALK-FISH 和 ALK-IHC 为首要检测方法。在 ALK-FISH 中，常用两步法（50 至 100 细胞）检测阳性率，50 个细胞样品中，阳性率小于 10% 则判定 ALK 阴性，阳性率大于 50% 则判定阳性，介于二者之间，则样品容量扩增至 100 再次检测。如果 ALK-FISH 中出现了边界值，则需要通过 ALK-IHC 或者 NGS 等其他检测方法验

证以确保临床检测准确性。

4、参考文献

- [1]刘琳瑞, 王志强. ALK 融合基因阳性非小细胞肺癌靶向治疗的研究进展. 牡丹江医学院学报
- [2] Gokce A. Toruner, et al. Low ALK FISH positive metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC) patients have shorter progression-free survival after treatment with ALK inhibitors. Cancer Genetics 241 (2020) 57 - 60
- [3] Zhenya Tang, et al. Fluorescence in Situ Hybridization (FISH) for Detecting Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) Rearrangement in Lung Cancer: Clinically Relevant Technical Aspects. Int. J. Mol. Sci. 2019, 20, 3939

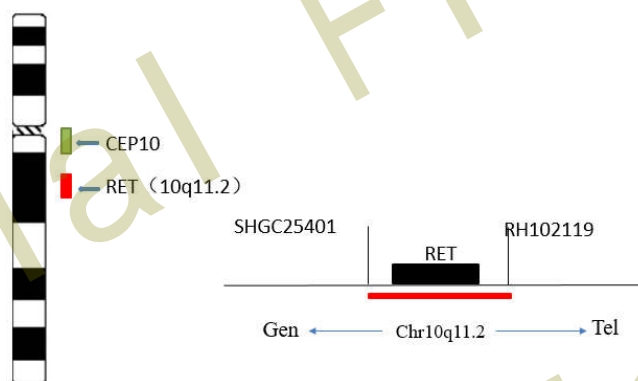
(七) RET 基因断裂探针

1、疾病背景介绍

RET 原癌基因 (Rearranged during transfection, RET) 是一种致癌驱动因子, 位于染色体 10q (10q11.2) 的着丝粒周围区域, 主要编码酪氨酸激酶受体。其基因突变和激活与多种恶性肿瘤的发生密切相关, 包括非小细胞肺癌 (NSCLC)、甲状腺髓样癌 (MTC) 和甲状腺乳头状癌 (PTC) 等。但是如果 RET 基因发育不良、缺失或者敲除, 便会导致一些胃肠发育上的疾病, 如先天性巨结肠。RET 蛋白活化后会激活下游的信号通路 (包含 RAS、MAPK、ERK、PI3K、AKT 等), 导致细胞增殖、迁移和分化。RET 激活的两个主要机制: RET 点突变和 RET 基因重排; 致癌性 RET 基因改变促进了配体非依赖性组成性 RET 激酶活化, 从而促进了肿瘤的发生。RET 是一种单通道跨膜受体酪氨酸激酶 (RTK), 是几种组织和细胞正常发育、成熟和维持所必需的。

2、探针介绍

RET 基因是位于 10 号常染色体长臂 (10q11.2), 全长 60kb, 并包含 21 个外显子, 编码 1100 个氨基酸的酪氨酸激酶受体超家族 RET 蛋白。而 RET 基因断裂探针采用红色荧光分子标记 RET 基因 5' 端区域, 采用绿色荧光分子标记 RET 基因 3' 区域 (着丝粒侧为红色, RET 断裂端粒侧为绿色)。如图所示



3、临床意义

RET 基因融合包含 KIF5B、TRIM33、CCDC6 和 NCOA4，融合后会导导致 RET 基因的激活，大约有 1-2%的见于 NSCLC 患者。RET 基因与其他基因多种重排多见于甲状腺乳头状腺癌；出现 7 个位点点突变的现象常见于多发性内分泌腺瘤 2 型，家族遗传甲状腺髓样癌等；RET 基因缺失则会导致先天巨结肠疾病。因此随着对 RET 基因突变研究的深入和 RET 在甲状腺、肺腺癌及其他癌症中所起到的作用，使其可以成为多种恶性肿瘤治疗的重要靶点。当前利用 RET 基因所研发的相关药物主要是凡德他尼(vandetanib)是 EGFR、VEGFR 和 RET 酪氨酸激酶的抑制剂；XL184 卡博替尼(Cabozantinib)是 VEGFR2, Met, FLT3, Tie2、Kit 和 RET 的强效抑制剂等。

4、参考文献

- [1] Cinti R , Schena F , Passalacqua M , et al. Replication pattern of the pericentromeric region of chromosome 10q and expression of the RET protooncogene[J]. Experimental Cell Research, 2004, 298(2):0-610.
- [2] Kim J O , Shin J Y , Kim M Y , et al. Detection of RET (rearranged during transfection) variants and their downstream signal molecules in RET rearranged lung adenocarcinoma patients[J]. Surgical Oncology, 2018, 27(1):106-113.
- [3]Drilon A , Wang L , Hasanovic A , et al. Response to Cabozantinib in Patients with RET Fusion-Positive Lung Adenocarcinomas[J]. Cancer Discovery, 2013, 3(6):630-635.
- [4] Wang R , Hu H , Pan Y , et al. RET Fusions Define a Unique Molecular and Clinicopathologic Subtype of Non-Small-Cell Lung Cancer[J]. Journal of Clinical Oncology, 2012, 30(35):4352-4359.
- [5] Mulligan L M . RET revisited: expanding the oncogenic portfolio[J]. Nature Reviews Cancer, 2014, 14(3):173.
- [6] Subbiah V , Gainor J F , Rahal R , et al. Precision Targeted Therapy With BLU-667 for RET-Driven Cancers[J]. Cancer Discovery,

2018:CD-18-0338.

Spatial Fish

Spatial Fish

Spatial Fish

Spatial Fish

膀胱癌

(一) P53 基因扩增探针

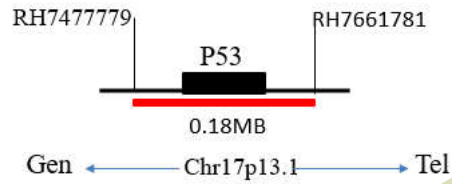
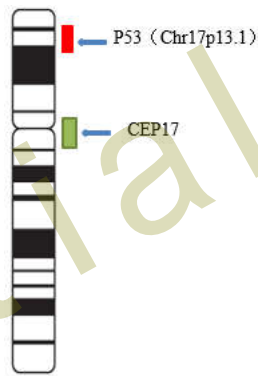
1、疾病背景介绍

p53 基因是一种肿瘤抑制基因(tumor suppressor gene)，是最早发现的抑癌基因之一。该基因编码一种分子量为 43.7KDa 的蛋白质，但因蛋白条带出现在 Marker 所示 53KDa 处，命名为 P53。p53 肿瘤抑制基因位于 17 号染色体上，并且编码 393 个氨基酸蛋白。p53 基因突变是人类癌症中最常见的特异性基因突变之一，是 DNA 损伤和其他细胞代谢(包括缺氧、致癌激活和营养剥夺)的传感器。据统计表明，p53 基因在人类恶性肿瘤中发生突变的机率达 50%，而在高浆液性卵巢癌、三阴性乳腺癌、食道癌、小细胞肺癌和鳞状细胞肺癌，至少有 80% 的样本都发生了 p53 基因突变。

而且一般情况下正常发育并不需要 p53 基因，但缺失 p53 基因则会极大地增加患癌的风险，因此它似乎起到了抑制肿瘤发生的作用。在应激反应中，p53 可以诱导细胞周期停滞和随后的 DNA 修复、衰老或凋亡，但是这也取决于细胞受损的水平和细胞所处环境。如果 p53 功能失调，一些 DNA 损伤无法修复，这可能导致基因组不稳定，这是癌症发生的一个重要标志。并且发生 p53 缺陷的细胞能够逃脱凋亡途径，在这些细胞应激下无限增殖，因此，p53 在预防癌变中起着关键作用。同时 p53 突变蛋白是一个重要的候选靶点，可以开发新的抗癌治疗，是一种非常值得探索的人类癌症治疗策略。

2、探针描述

P53 基因扩增探针，定位于人的 17p13.1 处，全长 16-20kb，含有 11 个外显子，转录 2.8kb 的 mRNA，其编码蛋白质为 P53，是一种核内磷酸化蛋白。该探针采用红色荧光分子标记 P53 基因区域和绿色荧光分子标记 17 号染色体着丝粒区域(CEP17)。如图所示

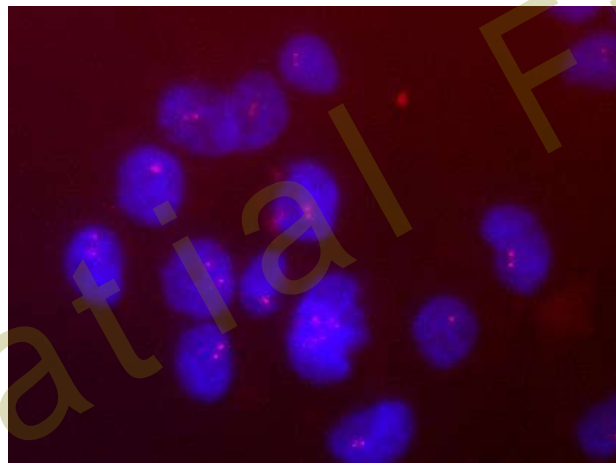


3、临床意义

与其他只在癌症中失去功能的肿瘤抑制因子不同,突变型 p53 具有明显的负活性和致癌功能,并赋予癌细胞具有生长优势和对抗肿瘤分子的能力。因此检测 p53 抑癌基因,可以预判癌症发生的风险,判断癌症患者的预后,并分析癌症发生的原因,还可以为靶向治疗提供依据。该探针以肿瘤样本为检测对象,用荧光原位杂交的方法检测细胞中 P53 基因 (17p13) 状态,作为预后评价以及指导治疗的一项辅助检测手段。

4、杂交结果

P53 基因荧光探针杂交结果展示



5、参考文献

[1] Lane D P. p53 and human cancers[J]. Br Med Bull, 1994(3):3.
 [2] Barbara G. Campling, Wafik S. El-Deiry. Clinical implication of p53 mutation in lung cancer[J]. Molecular Biotechnology, 24(2):141-156.
 [3] Michael J. Duffy, Naoise C. Synnott, John Crown. Mutant p53 as a target for cancer treatment[J]. European Journal of Cancer, 2017, 83:258-265.
 [4] Hong B , Ap V D H , Prabhu V V , et al. Targeting tumor suppressor p53 for cancer therapy: strategies, challenges and opportunities[J]. Current drug targets, 2014, 15(1):80.

[5] Baugh E H , Ke H , Levine A J , et al. Why are there hotspot mutations in the TP53 gene in human cancers?[J]. Cell Death & Differentiation, 2017.

Spatial Fish
Spatial Fish
Spatial Fish
Spatial Fish

前列腺癌

(一) P53 基因探针

详细介绍见第五章膀胱癌

(二) PTEN 基因探针

详细介绍见第一章乳腺癌

(三) ERG 基因断裂探针

1、疾病背景介绍

在过去的十年里，ERG 越来越多地与前列腺癌的病因有关。2005 年，汤姆林斯等人发表了一篇论文。表明 ERG 在与 TMPRSS2 基因的雄激素驱动促进剂的基因融合中，在前列腺癌中的比例过高。前列腺上皮通常不表达 ERG。ERG 是恶性前列腺癌中最持续过度表达的肿瘤基因之一是从前列腺内皮内肿瘤（PIN）向癌变过渡的驱动因素。在前列腺癌中，ERG 的高表达也与晚期肿瘤期、高格里森评分、转移和较短的存活时间有关。ERG 还与其他癌症有关，包括尤因的肉瘤和白血病。例如，ERG 阳性的急性 T 淋巴细胞白血病复发的可能性是前者复发的四倍。ERG 的过度表达是将局部的、侵略性的癌症转化为转移性癌症的关键因素之一。

2、探针描述

ERG 位于 21q22，绿色荧光探针从距 ERG 基因的 3' 端 653kb 处开始标记，绿色探针 653kb。红色荧光从 ERG 基因的 5' 端右边开始，514kb 大小。红绿探针相距 214kb。

3、临床意义

一般仅存在于前列腺癌中，其它肿瘤、良性前列腺增生和正常上皮中不出现；前列腺癌各病灶间 ERG 重排差异与疾病进展的关系可以作为独立的预测转移指标；多数认为与预后不良相关；前列腺小细胞神经内分泌癌的形态与肺小细胞癌类似。50%–60%的病例表现为单纯的小细胞神经内分泌癌，其余病例多与低分化的前列腺腺泡癌（85%的 Gleason 评分 >8 分）并存。小细胞癌成分不适用于 Gleason 分级和评分。TMPRSS2-ERG 基因融合在前列腺小细胞癌中的发生率约为 50%，不仅提示两者具有相同的克隆起源，也为确定原发灶不明的转移性小细胞癌的鉴别诊断提供了依据。

4、参考文献

- [1] Adamo P, Ladomery MR. The oncogene ERG: a key factor in prostate cancer. *Oncogene*. 2016 Jan 28;35(4):403-14. doi: 10.1038/onc.2015.109. Epub 2015 Apr 27. PMID: 25915839.
- [2] Hernández-Llodrà S, Juanpere N, de Muga S, Lorenzo M, Gil J, Font-Tello A, Agell L, Albero-González R, Segalés L, Merino J, Serrano L, Fumadó L, Cecchini L, Lloreta-Trull J. ERG overexpression plus SLC45A3 (prostein) and PTEN expression loss: Strong association of the triple hit phenotype with an aggressive pathway of prostate cancer progression. *Oncotarget*. 2017 May 26;8(43):74106-74118. doi: 10.18632/oncotarget.18266. PMID: 29088771; PMCID: PMC5650326.
- [3] Xu B, Chevarie-Davis M, Chevalier S, Scarlata E, Zeizafoun N, Dragomir A, Tanguay S, Kassouf W, Aprikian A, Brimo F. The prognostic role of ERG immunopositivity in prostatic acinar adenocarcinoma: a study including 454 cases and review of the literature. *Hum Pathol*. 2014 Mar;45(3):488-97. doi: 10.1016/j.humpath.2013.10.012. Epub 2013 Oct 23. PMID: 24406017.
- [4] Aldaoud N, Abdo N, Al Bashir S, Alqudah M, Marji N, Alzou'bi H, Alazab R, Trpkov K. Prostate cancer in Jordanian-Arab population: ERG status and relationship with clinicopathologic characteristics. *Virchows Arch*. 2017 Dec;471(6):753-759. doi: 10.1007/s00428-017-2160-9. Epub 2017 May 26. PMID: 28550496.
- [5] Taris M, Irani J, Blanchet P, Multigner L, Cathelineau X, Fromont G. ERG expression in prostate cancer: the prognostic paradox. *Prostate*. 2014 Nov;74(15):1481-7. doi: 10.1002/pros.22863. Epub 2014 Aug 29. PMID: 25175352.

肾脏肿瘤

(一) ALK 基因断裂探针

1、疾病背景介绍

ALK 基因编码一个跨膜氨基酸受体,1994 年,ALK 最初在肿瘤大细胞淋巴瘤中被确定为染色体转移产生的核磷胺(NPM-ALK)的融合伙伴。随后,在许多不同的癌症中发现了 ALK-重新排列(ALK-R),包括炎症性肌纤维细胞肿瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)和食管鳞状细胞、结肠直肠癌和乳腺癌。ALK 重新排列会产生一种致癌的 ALK 酪氨酸激酶,激活许多下游信号通路,从而增加细胞增殖和存活率。ALK 重新排列可能涉及不同的断点和多个融合伙伴,FISH 被认为是评估 ALK 状态的黄金标准,也是 ALK 重新排列以检测分离信号的首次批准诊断测试。

2、探针描述

ALK 基因断裂探针采用橘红色染料标记 ALK 基因(3'端)2p23.2 区域,采用绿色染料标记 ALK(5'端)2p23.1-p23.2 区域。ALK 基因断裂探针能检测所有 ALK 基因重排,避免了单独检测某一融合基因导致的漏诊。

3、临床意义

ALK 是肺癌和其他几种造血和实体恶性肿瘤的既定治疗靶点,包括 ALCL 和 IMT。同时 s 染色体易位和 ALK 的表达已经被 WHO 规定为 ALCL 的临床诊断标准之一。自 1994 年发现作为核基因融合以来,已经对原生和原生碱的生物学有了深入的了解。与此同时,许多 ALK 抑制剂已进入临床,迄今为止,已有 3 种成为晚期 ALK 阳性肺癌的标准疗法。

4、参考文献

- [1] Du X, Shao Y, Qin HF, Tai YH, Gao HJ. ALK-rearrangement in non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Thorac Cancer*. 2018 Apr;9(4):423-430. doi: 10.1111/1759-7714.12613. Epub 2018 Feb 28. PMID: 29488330; PMCID: PMC5879058 .
- [2]Huang H. Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) Receptor Tyrosine Kinase: A Catalytic Receptor with Many Faces. *Int J Mol Sci*. 2018 Nov 2;19(11):3448. doi: 10.3390/ijms19113448. PMID: 30400214; PMCID: PMC6274813.
- [3]Lin JJ, Riely GJ, Shaw AT. Targeting ALK: Precision Medicine Takes on Drug Resistance. *Cancer Discov*. 2017 Feb;7(2):137-155. doi:

10.1158/2159-8290.CD-16-1123. Epub 2017 Jan 25. PMID: 28122866; PMCID: PMC5296241.

Spatial Fish
Spatial Fish
Spatial Fish
Spatial Fish

中枢神经系统肿瘤

(一) MYC-F/R 基因断裂探针

详细介绍见第三章淋巴瘤

(二) EGFR 基因探针

详细介绍见第一章乳腺癌

(三) C19MC 基因探针

1、疾病背景介绍

具有多层玫瑰花环的胚胎肿瘤 C19MC 变异 (ETMR) 是世卫组织 IV 级侵略性胚胎肿瘤,是罕见的致命小儿脑肿瘤,其特征是 C19MC 位点在 19q13.12 的改变,这是在 2016 年世卫组织中枢神经系统肿瘤分类 (CNS) 中新定义的。ETMR 主要影响 4 岁及 4 岁儿童,并表现出快速成长和积极的临床课程(平均存活期为组合疗法后 12 个月)。大多数小儿 CNS 胚胎肿瘤以前被诊断为胚胎肿瘤与丰富的神经桩和真正的玫瑰花环(ETANTR),肾上腺母细胞瘤(EBL)和髓质瘤(ME),任何 CNS 胚胎肿瘤与 C19MC 放大或融合包括在这个实体。

2、探针描述

红色荧光探针 665kb 标记 C19MC(19q13.42),绿色荧光 950kb 标记 ZNF443 (19P13) 整个基因。

3、临床意义

C19MC 的放大与聚类中可驱动增殖、促进生存和增加细胞肿瘤致癌性的 miRNA 的显著过度表达有关。3 过度表达的 miRNA 的致癌特性反映了 C19MC 的一些已知功能。在正常发育中, C19MC 位点被假定用于控制一般“干细胞”程序,因为许多 C19MC miRNA 显示表达仅限于未分化的组织或细菌组织,并且其表达方式随着人类胚胎干细胞的分化而减少。5-7 进一步支持 C19MC 与干细胞的关联,多能相关转录因子 10 月 4 日和 Nanog 可能调节人类胚胎干细胞中的 C19MC miRNA。在人类中, C19MC 在早孕期间的营养细胞分化和植入方面进行了广泛的研究, C19MC 对营养细胞的迁移和侵入能力的获取进行了规范。C19MC 的过度表达可以通过对抗 EMT 和通过对多能因素(如 OCT4 和 FGF4[67])的调节来促进原始干细胞表型,从而抑制分化过程。这些数据暗示了 C19MC 在维持多能细胞状态

方面所起的关键作用，这种途径也被 C19MC 放大的肿瘤所利用，如 ETMR。

4 参考文献

[1] Pei YC, Huang GH, Yao XH, Bian XW, Li F, Xiang Y, Yang L, Lv SQ, Liu J. Embryonal tumor with multilayered rosettes, C19MC-altered (ETMR): a newly defined pediatric brain tumor. *Int J Clin Exp Pathol*. 2019 Aug 1;12(8):3156-3163. PMID: 31934159; PMCID: PMC6949702.

[2] Spence T, Sin-Chan P, Picard D, Barszczyk M, Hoss K, Lu M, Kim SK, Ra YS, Nakamura H, Fangusaro J, Hwang E, Kiehna E, Toledano H, Wang Y, Shi Q, Johnston D, Michaud J, La Spina M, Buccoliero AM, Adamek D, Camelo-Piragua S, Peter Collins V, Jones C, Kabbara N, Jurdi N, Varlet P, Perry A, Scharnhorst D, Fan X, Muraszko KM, Eberhart CG, Ng HK, Gururangan S, Van Meter T, Remke M, Lafay-Cousin L, Chan JA, Sirachainan N, Pomeroy SL, Clifford SC, Gajjar A, Shago M, Halliday W, Taylor MD, Grundy R, Lau CC, Phillips J, Bouffet E, Dirks PB, Hawkins CE, Huang A. CNS-PNETs with C19MC amplification and/or LIN28 expression comprise a distinct histogenetic diagnostic and therapeutic entity. *Acta Neuropathol*. 2014 Aug;128(2):291-303. doi: 10.1007/s00401-014-1291-1. Epub 2014 May 20. PMID: 24839957; PMCID: PMC4159569.

[3] Kleinman CL, Gerges N, Papillon-Cavanagh S, Sin-Chan P, Pramatarova A, Quang DA, Adoue V, Busche S, Caron M, Djambazian H, Bemmo A, Fontebasso AM, Spence T, Schwartzentruber J, Albrecht S, Hauser P, Garami M, Klekner A, Bogner L, Montes JL, Staffa A, Montpetit A, Berube P, Zakrzewska M, Zakrzewski K, Liberski PP, Dong Z, Siegel PM, Duchaine T, Perotti C, Fleming A, Faury D, Remke M, Gallo M, Dirks P, Taylor MD, Sladek R, Pastinen T, Chan JA, Huang A, Majewski J, Jabado N. Fusion of TTYH1 with the C19MC microRNA cluster drives expression of a brain-specific DNMT3B isoform in the embryonal brain tumor ETMR. *Nat Genet*. 2014 Jan;46(1):39-44. doi: 10.1038/ng.2849. Epub 2013 Dec 8. PMID: 24316981.

[4] Tariq MU, Ahmad Z, Minhas MK, Memon A, Mushtaq N, Hawkins C. Embryonal tumor with multilayered rosettes, C19MC-altered: Report of an extremely rare malignant pediatric central nervous system neoplasm. *SAGE Open Med Case Rep*. 2017 Dec 4;5:2050313X17745208. doi: 10.1177/2050313X17745208. PMID: 29230288; PMCID: PMC5718304.

(四) MYCN 基因检测探针

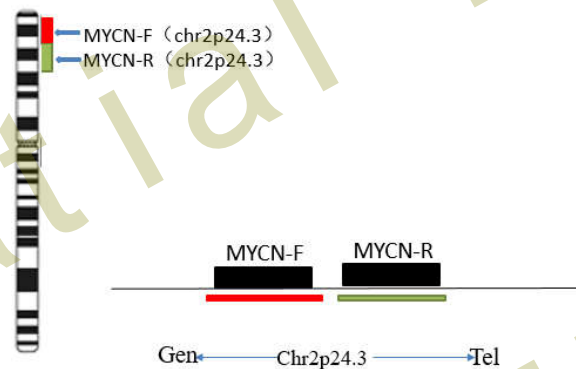
1、疾病背景介绍

MYCN 是 MYC 原肿瘤基因家族的成员。它编码一个转录因子，MYCN，参与控制胚胎发育过程中的基本过程。MYCN 蛋白位于几个信号通路的下游，这些信号通路促进不同发育中的器官和组织中祖细胞的细胞生长、增殖和代谢。相反，解除管制的 MYCN 信号支持几种不同肿瘤的发展，主要是儿童期发病，包括神经母

细胞瘤、髓母细胞瘤、隆胸瘤和威尔姆斯肿瘤，但它也与成年期间发生的一些癌症有关，如前列腺癌和肺癌。在神经母细胞瘤中，MYCN-放大是与预后不良和治疗失败相关的最一致的遗传畸变。MYCN 肿瘤编码转录因子，该转录因子在高达 40% 的高风险神经母细胞瘤中放大。MYCN 扩音是神经母细胞瘤中一个公认的不良预后标记，

2、探针描述

MYCN 基因扩增探针采用橘红色染料标记 MYCN 基因区域，采用绿色染料标记 2 号染色体着丝粒区域（CEP2）。MYCN 基因标记区域位于 2p24.3，CEP2 探针采用特异性 α 卫星序列标记。如图所示



3、临床意义

MYCN 遗传畸变涉及各种疾病的发展。许多恶性肿瘤将受益于改进的 MYCN 靶向方法与治疗目的。迄今已制定了若干战略，以在转录或蛋白质水平上瞄准 MYCN，包括蛋白质稳定性和二聚、免疫治疗和合成杀伤力 (Figure 2). 这些方法显示出不同的效力和成功，其中一些方法提供了非常有希望的结果。在绝大多数情况下，激活机制涉及 MYCN 基因剂量的增加，要么通过放大导致多达几百个基因拷贝，要么通过更微妙的机制，如复制或多倍化。在神经母细胞瘤中，放大的 MYCN 是预后不佳的强预后指标，特别是在局部肿瘤中，正常 MYCN 基因剂量的患者表现良好。神经母细胞瘤中放大的 MYCN 的鉴定标志着肿瘤基因的临床首次亮相，MYCN 状态现在正被全世界用作神经母细胞瘤分层的标准标记。

4、参考文献

[1] Ruiz-Pérez MV, Henley AB, Arsenian-Henriksson M. The MYCN Protein in Health and Disease. *Genes (Basel)*. 2017 Mar 30;8(4):113. doi: 10.3390/genes8040113. PMID: 28358317; PMCID: PMC5406860.

- [2] Schwab M. MYCN in neuronal tumours. *Cancer Lett.* 2004 Feb 20;204(2):179–87. doi: 10.1016/S0304-3835(03)00454-3. PMID: 15013217.
- [3] Westermark UK, Wilhelm M, Frenzel A, Henriksson MA. The MYCN oncogene and differentiation in neuroblastoma. *Semin Cancer Biol.* 2011 Oct;21(4):256–66. doi: 10.1016/j.semcancer.2011.08.001. Epub 2011 Aug 9. PMID: 21849159.
- [4] Bell E, Chen L, Liu T, Marshall GM, Lunec J, Tweddle DA. MYCN oncoprotein targets and their therapeutic potential. *Cancer Lett.* 2010 Jul 28;293(2):144–57. doi: 10.1016/j.canlet.2010.01.015. Epub 2010 Feb 13. PMID: 20153925.

纤维组织细胞肿瘤

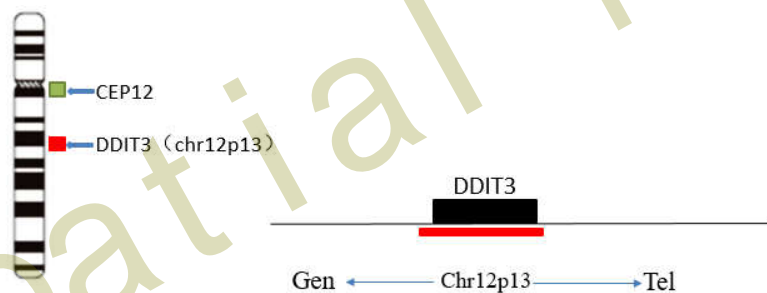
(一) DDIT3 基因断裂检测探针

1、疾病背景介绍

或没有圆形细胞成分的肌瘤是脂肪肉瘤最常见的亚型。肌瘤的诊断可能具有挑战性的组织学，因为各种软组织肿瘤与肌样体的变化可能模仿肌瘤，特别是在小活检组织。发现 t (12, 16) (q13: p11) 和 t (12: 22) (q13: q12) 的染色体转移，使 DDIT3 (以前 CHOP) 与 FUS 和 EWSR1 的基因融合，被发现为肌瘤的特征，在 95% 以上的病例中可识别。脱脂脂肪肉瘤被定义为非典型脂质肿瘤/分化良好的脂肪肉瘤进展到较高等级通常非脂原肉瘤，放大 12q13-15。这个区域包含几个与脂肪肉瘤发病机制有关的基因，包括 MDM2、CDK4 和 DDIT3。虽然前两个被认为是脱脂脂肪肉瘤的主要驱动因素，但 DDIT3 通常在肌瘤中重新排列。DDIT3 的过度表达，以及 MDM2 和 CDK4，可能通过干扰脂肪分化，导致脱发性脂肪肉瘤的发病机理。

2、探针描述

CHOP (DDIT3) 基因断裂探针采用橘红色染料标记 CHOP (DDIT3) 基因 3' 端区域，采用绿色染料标记 CHOP (DDIT3) 基因 5' 端区域。CHOP (DDIT3) 基因断裂探针能够检测所有 CHOP (DDIT3) 基因重排。如图所示



3、临床意义

带有 DDIT3 分离探针的 FISH 是检测 DDIT3 相关基因融合的一种高度敏感和具体的检测，因此是肌形脂肪瘤诊断或微分诊断的宝贵辅助手段。

4、参考文献

[1] Narendra S, Valente A, Tull J, Zhang S. DDIT3 gene break-apart as a molecular marker for diagnosis of myxoid liposarcoma—assay validation and clinical experience. *Diagn Mol Pathol*. 2011 Dec;20(4):218-24. doi:

10.1097/PDM.0b013e3182107eb9. PMID: 22089349.

[2] Mantilla JG, Ricciotti RW, Chen EY, Liu YJ, Hoch BL. Amplification of DNA damage-inducible transcript 3 (DDIT3) is associated with myxoid liposarcoma-like morphology and homologous lipoblastic differentiation in dedifferentiated liposarcoma. Mod Pathol. 2019 Apr;32(4):585-592. doi: 10.1038/s41379-018-0171-y. Epub 2018 Nov 12. PMID: 30420727.

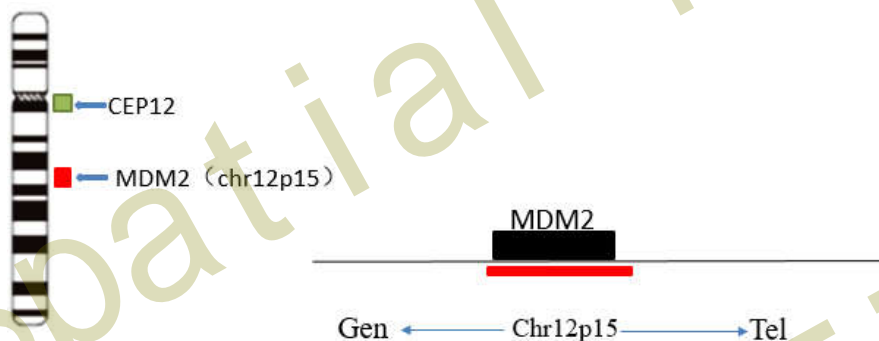
(二) MDM2 基因检测探针

1、疾病背景介绍

早期细胞遗传学研究，描述软组织肉瘤中的染色体异常，发现 12q13-14 位内的反复异常。在克隆 MDM2 基因时，其位点被绘制到 12 号染色体上的同一区域。根据早期在此位点的反常证据，对 MDM2 的基因改变进行了不同的肉瘤样本分析，确定了大量样本中的 MDM2 放大中的 17 个。对更广泛的肉瘤样本面板的分析证实了这些初步发现，突出 MDM2 放大在肉瘤的许多组织亚型的存在，包括骨肉瘤，唇肉瘤，脂肪瘤，狂妄肌瘤，纤维瘤，血管瘤，恶性纤维细胞瘤等。

2、探针描述

MDM2 基因扩增探针采用橘红色染料标记 MDM2 基因区域，采用绿色染料标记 12 号染色体着丝粒区域 (CEP12)。MDM2 基因标记区域位于 12q15，CEP12 探针采用 α 卫星序列，具有极高的特异性，不会与其他染色体着丝粒杂交产生杂点。如图所示



3、临床意义

大多数肉瘤是根据其组织特征和免疫组织化学特征诊断的。然而，最近，对某些类型的肉瘤的特定变化的分子分析被强调为有助于诊断。由于组织学的异质性，LPS 具有高频率的不和谐组织病理分类。MDM2 通过在细胞周期中停用 p53 来增强细胞的肿瘤潜力。8 由于 MDM2 放大在 LPS 的某些情况下被发现，因此已

使用多种测试方式来确定 MDM2 中是否有潜在的突变。

4、参考文献

[1] Oliner JD, Saiki AY, Caenepeel S. The Role of MDM2 Amplification and Overexpression in Tumorigenesis. Cold Spring Harb Perspect Med. 2016 Jun 1;6(6):a026336. doi: 10.1101/cshperspect.a026336. PMID: 27194168; PMCID: PMC4888815.

[2] Cho J, Lee SE, Choi YL. Diagnostic Value of MDM2 and DDIT3 Fluorescence In Situ Hybridization in Liposarcoma Classification: A Single-Institution Experience. Korean J Pathol. 2012 Apr;46(2):115-22. doi: 10.4132/KoreanJPathol.2012.46.2.115. Epub 2012 Apr 25. PMID: 23109990; PMCID: PMC3479776.

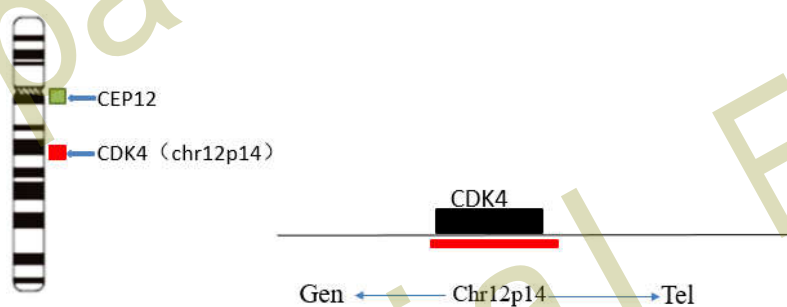
(三) CDK4 基因扩增检测探针

1、疾病背景介绍

不受控制的细胞增殖和生长被定义为癌症的标志之一。环素依赖性激酶 (CDKs) 是一大家族的血清素/三氨酸 (Ser/Thr) 蛋白激酶, 在细胞周期进展的调节中起着至关重要的作用, CDK 在人类癌症中往往过度表达和/或过度活跃, 因为各种遗传和表观遗传事件影响其调节途径, 导致检查点完整性丧失, 并最终导致不受控制的细胞增殖和恶性转化。肿瘤细胞通常通过沉默编码 CDK4 拮据者的基因或通过增强 CDK4 表达来确保增殖, 例如通过基因放大。其中, CDK4 通过停用癌细胞中的肿瘤抑制剂视网膜母细胞瘤蛋白 (Rb) 以及分裂细胞来调节细胞周期的 G1-S 阶段。

2、探针描述

CDK4 基因位于 12q14 上, 287kb 的红色荧光标记 CDK4 基因及其两端如图所示



3、临床意义

CDK 是抗癌治疗药物开发的有吸引力的目标，抑制恶性细胞中的 CDK 提供了一种有希望的方法来预防癌症。最近，许多针对特定 CDK 的选择性 CDK 抑制剂已经开发出来，由于其强大的抗增殖功效加上相对较低的直接细胞毒性，具有很希望的抗癌剂。CDK4 最近被确定为人类乳腺癌、唇肉瘤、黑色素瘤和胶质母细胞瘤，的潜在治疗靶点。由于 CDK4 在癌细胞中活动的重要性，CDK4 抑制剂已成为许多癌症类型治疗的有希望候选者。

4、参考文献

[1] Sriraman A, Dickmanns A, Najafova Z, Johnsen SA, Dobbelstein M. CDK4 inhibition diminishes p53 activation by MDM2 antagonists. *Cell Death Dis.* 2018 Sep 11;9(9):918. doi: 10.1038/s41419-018-0968-0. PMID: 30206211; PMCID: PMC6133967.

[2] Zhou Y, Shen JK, Yu Z, Hornicek FJ, Kan Q, Duan Z. Expression and therapeutic implications of cyclin-dependent kinase 4 (CDK4) in osteosarcoma. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2018 May;1864(5 Pt A):1573-1582. doi: 10.1016/j.bbadis.2018.02.004. Epub 2018 Feb 13. PMID: 29452249.

[3] Xing Z, Zhang Z, Gao Y, Zhang X, Kong X, Zhang J, Bai H. The lncRNA LINC01194/miR-486-5p Axis Facilitates Malignancy in Non-Small Cell Lung Cancer via Regulating CDK4. *Onco Targets Ther.* 2020 Apr 15;13:3151-3163. doi: 10.2147/OTT.S235037. PMID: 32346298; PMCID: PMC7167278.

[4] Wu A, Wu B, Guo J, Luo W, Wu D, Yang H, Zhen Y, Yu X, Wang H, Zhou Y, Liu Z, Fang W, Yang Z. Elevated expression of CDK4 in lung cancer. *J Transl Med.* 2011 Apr 11;9:38. doi: 10.1186/1479-5876-9-38. PMID: 21477379; PMCID: PMC3094221.

其他实体肿瘤

(一) CCND1 基因扩增探针

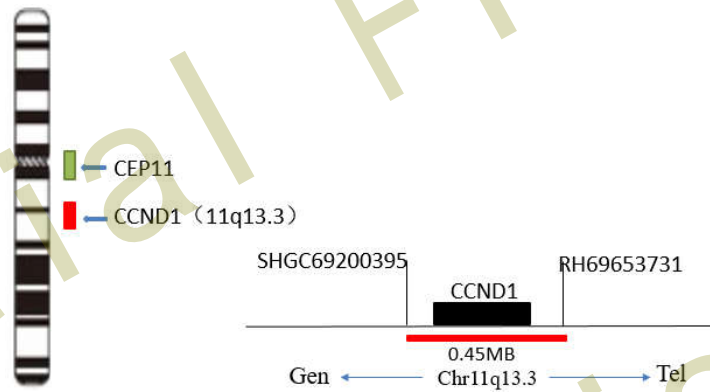
1、疾病背景介绍

Cyclin D1, 即 G1/S-特异性周期蛋白-D1, 由人类 CCND1 基因所编码, 是位于 11 号染色体 11q13 上的原癌基因, 编码 295KDa 蛋白。细胞周期蛋白 D1 (CCND1) 是一组周期调节蛋白, 在整个细胞周期中蛋白丰度具有周期性变化, 其控制细胞周期从 G1 进入 s 期, 细胞周期蛋白通过细胞外刺激来协调细胞周期进程。细胞周期蛋白 D1 与 CDK4 或 CDK6 组装形成活性全酶复合物, 磷酸化肿瘤抑制 (Rb) 蛋白, 磷酸化的 Rb 从结合中释放 E2F 转录因子, 使 E2F 能够协调调节 DNA 复制所需的基因, 从而进入 s 期。CCND1 过表达导致异常的细胞增殖, 这是肿瘤发生过程的基础; 因此 CCND1 可以作为细胞转化中的协同癌基因发挥作用。

研究表明, 在多种肿瘤中发现了 Cyclin D1 基因过表达和基因扩增, 包括乳腺癌、膀胱癌、甲状旁腺肿瘤、淋巴瘤、黑色素瘤/肺癌等。CCND1 的选择性剪接, 导致 cyclin D1b 的表达, 已在各种癌症中观察到, 包括乳腺癌、食道癌和前列腺癌。此外, cyclinD1 突变可以直接干扰其降解。在套细胞淋巴瘤 (MCL) 中, cyclin D1 过表达是 t (11; 14) (Q13; Q32) 重排的结果, 这种重排占 MCL 患者的 90% 以上, 使这种易位成为 MCL 的标志。细胞周期蛋白 D1 上调的其他维度取决于有丝分裂信号通路的激活, 例如 Ras-MEK-Erk, PI3K-Akt 和 ErbB2 致癌途径以及控制细胞周期蛋白 D1 mRNA 稳定性的 miRNA 缺失, 例如前列腺癌中的 miR-15a 和 miR-16。关于 cyclinD1 在身体不同部位各种恶性肿瘤中的存在和作用的研究表明, 它是一种很有前途的肿瘤标志物。

2、探针描述

CCND1 基因扩增探针, 定位于 11q13 处, 全长约 15kb, 有 5 个外显子。该探针采用橘红色荧光分子 CCND1 基因区域, 采用绿色荧光分子标记 11 号染色体着丝粒区域 (CEP11)。如图所示

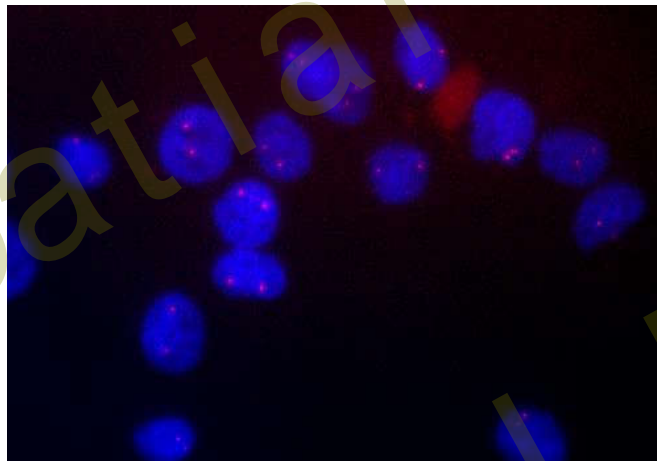


3、临床意义

临床病理研究表明，cyclinD1 过表达与肿瘤转移和预后不良有关。Cyclin D1 水平淋巴结转移和晚期临床分期直接相关；其他工作支持使用 cyclin D1 表达作为预后指标来评估肺癌和乳腺癌患者的生存；最后，在胰腺癌、皮肤黑色素瘤、子宫内膜癌、结直肠癌和 MCL 中，cyclin D1 影响局部侵袭、转移和患者的预后。因此检测 CCND1 原癌基因，可以预判癌症发生的风险，判断癌症患者的预后，为靶向治疗提供依据。该探针以肿瘤样本为检测对象，用荧光原位杂交的方法检测细胞中 CCND1 基因（17p13）状态，作为预后评价以及指导治疗的一项辅助检测手段。

4、杂交结果

CCND1 荧光探针杂交结果展示



5、参考文献

[1] John R R , Malathi N , Ravindran C , et al. Mini review: Multifaceted role played by cyclin D1 in tumor behavior[J]. Indian Journal of Dental

Research, 2017, 28(2):187.

[2] Qie S, Diehl J A. Cyclin D1, cancer progression, and opportunities in cancer treatment[J]. Journal of Molecular Medicine, 2016, 94(12):1313-1326.

[3] Lo R K H, Kwong Y L. Arsenic trioxide suppressed mantle cell lymphoma by downregulation of cyclin D1[J]. Annals of Hematology, 2014, 93(2):255-265.

[4] Segas J V, Lazaris A C, Nikolopoulos T P, et al. Cyclin D1 Protein Tissue Detection in Laryngeal Cancer[J]. Orl, 2005, 67(6):319-325.

[5] Hosokawa Y, Arnold A. Mechanism of cyclin D1 (CCND1, PRAD1) overexpression in human cancer cells: Analysis of allele-specific expression[J]. Genes Chromosomes & Cancer, 1998, 22(1):66-71.

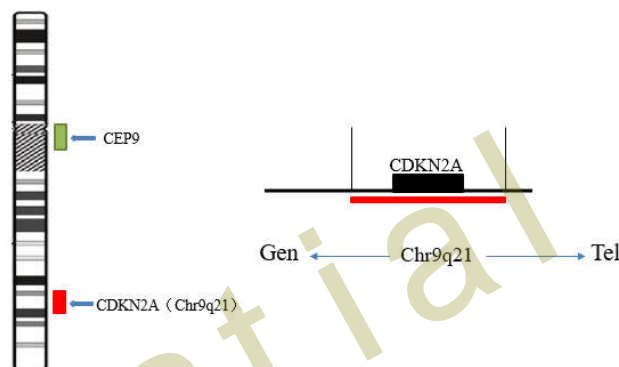
(二) CDKN2A 基因检测探针

1、疾病背景介绍

美国每年约有 2500 例间皮瘤新诊断, 大多数患者 (75-80%) 报告石棉暴露 8 的历史, 通常呈现与体腔 (主要是胸腔) 排泄。P16/CDKN2A 的同源性删除在大约 75% 的间皮瘤 amd 中被发现可能是这种癌症中最常见的基因改变。在诊断应用方面, 其高流行率使其成为区分恶性中皮细胞和良性反应细胞制剂中的有用标记。在预后方面, P16/CDKN2A 损失与间皮瘤中更具攻击性的临床行为相关。恶性间皮瘤是体腔血清膜的侵略性肿瘤。大多数病例发生在接触石棉的患者身上。诊断往往是困难的, 因为在大多数情况下间皮瘤有阴险的发病, 和患者目前与非特异性症状。多式联运管理的最新进展已导致生存率适度提高, 但主要是针对一期疾病患者。

2、探针描述

CDKN2A 位于 9q21, 345kb 的红色荧光探针以 CDKN2A 为中心标记 CDKN2A 基因, 含 9 号着丝粒。如图所示



3、临床意义

恶性间皮瘤是一种具有攻击性过程的高度恶性肿瘤。大多数病例在晚期诊断，存活时间短（6-10个月），目前的化疗剂在大多数病例中无效。包括MTAP基因在内的9p21位点的高删除率使间皮瘤成为1-*alanosine*和其他新AMP合成抑制剂的有力候选者。CDKN2A删除的极高流行率也使这个肿瘤成为基因治疗方法的一个有趣的目标，恢复p16CDKN2A或p14ARF的功能，或目标肿瘤细胞与遗传或功能缺陷在p53通路。最后，在间皮瘤中CDKN2A删除的极高流行率也可以使用诊断标记在反应细胞和肿瘤间皮细胞在胸膜发泡之间的区别。

4、参考文献

- [1] Ladanyi M. Implications of P16/CDKN2A deletion in pleural mesotheliomas. *Lung Cancer*. 2005 Jul;49 Suppl 1:S95-8. doi: 10.1016/j.lungcan.2005.03.017. Epub 2005 Apr 14. PMID: 15950811.
- [2] Illei PB, Rusch VW, Zakowski MF, Ladanyi M. Homozygous deletion of CDKN2A and codeletion of the methylthioadenosine phosphorylase gene in the majority of pleural mesotheliomas. *Clin Cancer Res*. 2003 Jun;9(6):2108-13. PMID: 12796375.
- [3] Illei PB, Ladanyi M, Rusch VW, Zakowski MF. The use of CDKN2A deletion as a diagnostic marker for malignant mesothelioma in body cavity effusions. *Cancer*. 2003 Feb 25;99(1):51-6. doi: 10.1002/cncr.10923. PMID: 12589646.
- [4] Hocevar M, Avbelj M, Perić B, Zgajnar J, Besić N, Battelino T. High prevalence of germline CDKN2A mutations in Slovenian cutaneous malignant melanoma families. *Croat Med J*. 2006 Dec;47(6):851-4. PMID: 17167857; PMCID: PMC2080476.

（三）TFE3 基因断裂探针

1、疾病背景介绍

肾细胞癌是泌尿系统中恶性度较高的肿瘤，也是最常见的肿瘤之一，是起源于肾实质泌尿小管上皮系统的恶性肿瘤。它占肾恶性肿瘤的80%~90%，在我国泌尿生殖系统肿瘤中占第二位，仅次于膀胱肿瘤。同时腺泡状软组织肉瘤是指组织来源不明、细胞呈腺泡样或器官样排列的软组织恶性肿瘤，好发于青春女性，多位于四肢深部肌肉或筋膜。而TFE3基因定位于X染色体短臂，在正常细胞有微弱表达，在肾细胞癌和腺泡状软组织肉瘤成弥漫强阳性。

2、探针描述

TFE3 基因断裂探针，主要以橙色荧光分子标记 TFE3 的 3' 端 DNA 区域约 637KB 和绿色荧光分子标记 TFE3 的 5' 端 DNA 区域约 627KB 为探针，使其于癌细胞核内的 TFE3 基因序列杂交互补。由于 TFE3 DNA 标记区域位于 Xp11.2 上且具有一定的特异性，因此不会与其他区域杂交产生杂点。如图所示

3、临床意义

腺泡状软组织肉瘤的诊断与鉴别诊断，具有较高的特异性和敏感性。易位型肾细胞癌、血管周上皮样细胞肿瘤、上皮样血管内皮瘤的辅助诊断。Xp11.2 易位性肾癌区别于其它一般肾癌，对辅助治疗如免疫治疗、放疗、化疗等均不敏感，临床常表现肾周淋巴结转移；此类型中 TFE3 蛋白也呈高表达，但其特异性只有 79%，在颗粒细胞肿瘤、肾上腺皮质癌、血管周上皮样细胞瘤和高级别黏液纤维肉瘤等肿瘤中也会出现高表达。

4、参考文献

[1] Damayanti NP, Budka JA, Khella HWZ, Ferris MW, Ku SY, Kauffman E, Wood AC, Ahmed K, Chintala VN, Adelaiye-Ogala R, Elbanna M, Orillion A, Chintala S, Kao C, Linehan WM, Yousef GM, Hollenhorst PC, Pili R. Therapeutic Targeting of TFE3/IRS-1/PI3K/mTOR Axis in Translocation Renal Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2018 Dec 1;24(23):5977-5989. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0269. Epub 2018 Jul 30. PMID: 30061365; PMCID: PMC6279468.

[2] Yang B, Duan H, Cao W, Guo Y, Liu Y, Sun L, Zhang J, Sun Y, Ma Y. Xp11 translocation renal cell carcinoma and clear cell renal cell carcinoma with TFE3 strong positive immunostaining: morphology, immunohistochemistry, and FISH analysis. *Mod Pathol.* 2019 Oct;32(10):1521-1535. doi: 10.1038/s41379-019-0283-z. Epub 2019 Jun 7. PMID: 31175325.

[3] Baba M, Furuya M, Motoshima T, Lang M, Funasaki S, Ma W, Sun HW, Hasumi H, Huang Y, Kato I, Kadomatsu T, Satou Y, Morris N, Karim BO, Ileva L, Kalen JD, Wilan Krisna LA, Hasumi Y, Sugiyama A, Kurahashi R, Nishimoto K, Oyama M, Nagashima Y, Kuroda N, Araki K, Eto M, Yao M, Kamba T, Suda T, Oike Y, Schmidt LS, Linehan WM. TFE3 Xp11.2 Translocation Renal Cell Carcinoma Mouse Model Reveals Novel Therapeutic Targets and Identifies GPNMB as a Diagnostic Marker for Human Disease. *Mol Cancer Res.* 2019 Aug;17(8):1613-1626. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-18-1235. Epub 2019 May 1. PMID: 31043488; PMCID: PMC6679785.

(四) FKHR 基因断裂检测探针

1、疾病背景介绍

横纹肌肉瘤是儿童软组织肿瘤中常见的一种恶性肿瘤，预后与肿瘤原发部位、病理分型及病变范围相关。其中腺泡型及多型预后差。调节肌原细胞融合的另一关键转录因子是转录因子 FKHR（人类裂解瘤中的叉头），也称为 FoxO1（叉头盒-01）。FKHR 在不同研究的细胞系中的主要功能是通过增加环素依赖性激酶抑制剂 p27 的表达来调节细胞周期阻滞基普 1 [90]。FKHR 的活动由 AKT 介导蛋白激酶 B α （PKB α ）的 Thr24/Ser256/Ser319 残留物直接调节。结果表明，准备进行核聚变过程的肌细胞核中活性 FKHR 水平提高，抑制其转录活性导致肌细胞融合减少。这些基因的蛋白质产品在 FKHR 转录因子下被显著提高，它们参与细胞融合（例如卷曲-4 和前列腺素）和细胞外基质重塑（例如纤维蛋白-2、安基林-3 和泰纳辛-C）

2、探针描述

FKHR 基因断裂探针采用橘红色染料标记 FKHR 基因 5' 端区域，采用绿色染料标记 FKHR 基因 3' 端区域。FKHR 基因断裂探针能够检测所有 FKHR 基因重排。

3、临床意义

横纹肌肉瘤（RMS）是儿童中常见的软组织肉瘤，FKHR 可与 PAX3 和 PAX 基因家族发生相互易位，约占 80% 以上。本探针设计为断裂探针，可检测 FKHR 基因是否发生断裂，用于辅助诊断横纹肌肉瘤。横纹肌肉瘤是儿童软组织肿瘤中常见的一种恶性肿瘤，预后与肿瘤原发部位、病理分型及病变范围相关。其中腺泡型及多型预后差。

4、参考文献

- [1] Lehka L, Rędowicz MJ. Mechanisms regulating myoblast fusion: A multilevel interplay. *Semin Cell Dev Biol.* 2020 Aug;104:81-92. doi: 10.1016/j.semcdb.2020.02.004. Epub 2020 Feb 13. PMID: 32063453.
- [2] Xia SJ, Holder DD, Pawel BR, Zhang C, Barr FG. High expression of the PAX3-FKHR oncoprotein is required to promote tumorigenesis of human myoblasts. *Am J Pathol.* 2009 Dec;175(6):2600-8. doi: 10.2353/ajpath.2009.090192. Epub 2009 Nov 5. PMID: 19893043; PMCID: PMC2789624.
- [3] Woods YL, Rena G. Effect of multiple phosphorylation events on the transcription factors FKHR, FKHL1 and AFX. *Biochem Soc Trans.* 2002 Aug;30(4):391-7. doi: 10.1042/bst0300391. PMID: 12196101.
- [4] Hu Q, Yuan Y, Wang C. Structural and functional studies of FKHR-PAX3, a reciprocal fusion gene of the t(2;13) chromosomal translocation in

alveolar rhabdomyosarcoma. PLoS One. 2013 Jun 14;8(6):e68065. doi: 10.1371/journal.pone.0068065. PMID: 23799156; PMCID: PMC3683129.

[5] Parham DM, Qualman SJ, Teot L, Barr FG, Morotti R, Sorensen PH, Triche TJ, Meyer WH; Soft Tissue Sarcoma Committee of the Children's Oncology Group. Correlation between histology and PAX/FKHR fusion status in alveolar rhabdomyosarcoma: a report from the Children's Oncology Group. Am J Surg Pathol. 2007 Jun;31(6):895-901. doi:

10.1097/01.pas.0000213436.99492.51. PMID: 17527077.

(五) EWSR1 基因断裂检测探针

1、疾病背景介绍:

在与非随机染色体转移相关的软组织肿瘤中可以重新排列的各种基因中，EWSR1 是与其他基因合作生成复发融合基因的最常见基因。这导致一系列临床和病理上多样化的间质和非间质肿瘤，变异表现为小圆细胞、主轴细胞、透明细胞或脂肪肿瘤，或具有独特肌瘤的肿瘤。EWSR1 基因位于 22q12 号染色体中，编码为 656-氨基酸核蛋白，被认为在微管分裂、线粒体主轴形成和稳定，以及 DNA 修复机制和细胞老化方面起着作用。

2、探针描述

EWSR1 基因断裂探针采用橘红色染料标记 EWSR1 基因 5' 端区域，采用绿色染料标记 EWSR1 基因 3' 端区域。EWSR1 基因断裂探针能够检测所有 EWSR1 基因重排。

3、临床意义

以 EWSR1 重新排列为特征的广泛实体对分子测试的诊断作用有影响。准确分类肉瘤是重要的，因为结果要求适当的临床管理，如特定的治疗方案。此外，许多临床试验需要在患者注册的诊断工作中进行分子确认。

4、参考文献

[1] Thway K, Fisher C. Mesenchymal Tumors with EWSR1 Gene Rearrangements. Surg Pathol Clin. 2019 Mar;12(1):165-190. doi:

10.1016/j.path.2018.10.007. PMID: 30709442.

[2] Fisher C. The diversity of soft tissue tumours with EWSR1 gene rearrangements: a review. Histopathology. 2014 Jan;64(1):134-50. doi: 10.1111/his.12269. Epub 2013 Nov 6. PMID: 24320889.

[3] Nishiyama D, Chinen Y, Isa R, Fujibayashi Y, Kuwahara-Ota S, Yamaguchi J, Takimoto-Shimomura T, Matsumura-Kimoto Y, Tsukamoto T, Shimura Y,

Kobayashi T, Horiike S, Taniwaki M, Handa H, Kuroda J. EWSR1 overexpression is a pro-oncogenic event in multiple myeloma. *Int J Hematol.* 2021 Mar;113(3):381-394. doi: 10.1007/s12185-020-03027-0. Epub 2020 Oct 23. PMID: 33095415.

[4] Jo VY. EWSR1 fusions: Ewing sarcoma and beyond. *Cancer Cytopathol.* 2020 Apr;128(4):229-231. doi: 10.1002/cncy.22239. Epub 2020 Jan 29. PMID: 31995669.

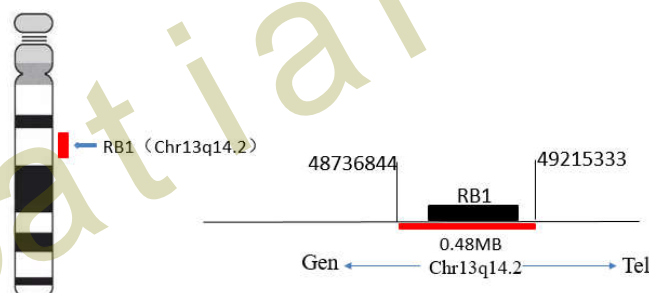
(六) RB1 基因缺失检测探针

1、疾病背景介绍

慢性淋巴细胞白血病（chronic lymphocytic leukemia, CLL），是一种淋巴细胞克隆性增殖的肿瘤性疾病，淋巴细胞在骨髓、淋巴结、血液、脾脏、肝脏及其他器官聚集。同时也是一种老年性疾病，以免疫功能不全的高分化淋巴细胞克隆性增殖为主要特征。而视网膜母细胞瘤基因（RB1）是一种肿瘤抑制基因，RB1 具有维持染色质结构稳定的作用，处于去磷酸化形式的 RB1 可以与转录因子 E2F1 结合，作为细胞周期的负调控因子，阻止细胞通过 G1-S 检查点，使细胞周期停滞，RB1 对抑制多种肿瘤的发生发挥着不可或缺的作用。

2、探针描述

RB1 基因缺失检测探针，主要以橙色荧光分子标记 RB1 DNA 区域为探针，使其于癌细胞核内的 RB1 基因序列杂交互补。由于 RB1 DNA 标记区域位于 13q14 上，因此具有很高的特异性，不会与其他区域杂交产生杂点。如图所示



3、临床意义

RB1 基因的缺失可能参与 B-CLL 的恶性转化，因此应用 FISH 原理检测 RB1 基因是否缺失可用于指导治疗方案的选择和预后评估。因为 FISH 受分析变量的影响较小，因此被认为是一种更敏感和准确的测试方法。

4、参考文献

[1] 赵丽, 金梦迪, 李婷, 等. 应用 FISH 技术检测慢性淋巴细胞白血病 ATM 和

RB1 基因缺失[J]. 中国肿瘤临床 2010 年 37 卷 8 期, 440-443 页, ISTIC PKU CSCD, 2010.

[2]Nava-Rodríguez MP, Domínguez-Cruz MD, Aguilar-López LB, Borjas-Gutiérrez C, Magaña-Torres MT, González-García JR. Genomic instability in a chronic lymphocytic leukemia patient with mono-allelic deletion of the DLEU and RB1 genes. Mol Cytogenet. 2019 Jan 31;12:2. doi: 10.1186/s13039-019-0417-5. PMID: 30733830; PMCID: PMC6357463.

[3]Ouillet P, Collins R, Shakhan S, Li J, Li C, Shedden K, Malek SN. The prognostic significance of various 13q14 deletions in chronic lymphocytic leukemia. Clin Cancer Res. 2011 Nov 1;17(21):6778-90. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0785. Epub 2011 Sep 2. PMID: 21890456; PMCID: PMC3207001.

[4]Liu Y, Szekely L, Grandér D, Söderhäll S, Juliusson G, Gahrton G, Linder S, Einhorn S. Chronic lymphocytic leukemia cells with allelic deletions at 13q14 commonly have one intact RB1 gene: evidence for a role of an adjacent locus. Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 Sep 15;90(18):8697-701. doi: 10.1073/pnas.90.18.8697. PMID: 8378351; PMCID: PMC47425.

（七）SS18 基因断裂检测探针

1、疾病背景介绍:

SYT (SY 新肉瘤 T 定位基因或 SS18) 被发现作为核幻想蛋白的一部分, 由 t (X;18) (p11.2;q11.2) 在许多突触肉瘤中发现。这种转移将 18 号染色体上的 SYT 基因与 X 染色体上的 SSX1、SSX2 或 SSX4 基因融合在一起。突触肉瘤占软组织肿瘤的~10%, 经常出现在关节和肌腱相邻的四肢中。

2、探针描述:

SYT (SS18) 基因断裂探针采用橘红色染料标记 SYT (SS18) 基因 5' 端区域, 采用绿色染料标记 SYT (SS18) 基因 3' 端区域。SYT (SS18) 基因断裂探针能够检测所有 SYT (SS18) 基因重排。

3、临床意义:

90%滑膜肉瘤患者中出现特异性染色体易位 t (X:18) (p11.2;q11.2)。此易位导致 18 号染色体上的 SYT (SS18) 基因与 X 染色体上的 SSX1 或 SSXE 基因发生相互融合。用于辅助诊断滑膜肉瘤。

4、参考文献:

[1] Chittechath M, Frump AL, Jourquin J, Lobdell N, Eid JE. The proto-oncoprotein SYT (SS18) controls ATP release and regulates cyst

formation by polarized MDCK cells. *Exp Cell Res.* 2008 Nov 15;314(19):3551-62. doi: 10.1016/j.yexcr.2008.09.006. Epub 2008 Sep 20. PMID: 18835266; PMCID: PMC2631564.

[2] Kim J, Swee M, Parks WC. Cytosolic SYT/SS18 isoforms are actin-associated proteins that function in matrix-specific adhesion. *PLoS One.* 2009 Jul 31;4(7):e6455. doi: 10.1371/journal.pone.0006455. PMID: 19649286; PMCID: PMC2714072.

[3] Brett D, Whitehouse S, Antonson P, Shipley J, Cooper C, Goodwin G. The SYT protein involved in the t(X;18) synovial sarcoma translocation is a transcriptional activator localised in nuclear bodies. *Hum Mol Genet.* 1997 Sep;6(9):1559-64. doi: 10.1093/hmg/6.9.1559. PMID: 9285794.

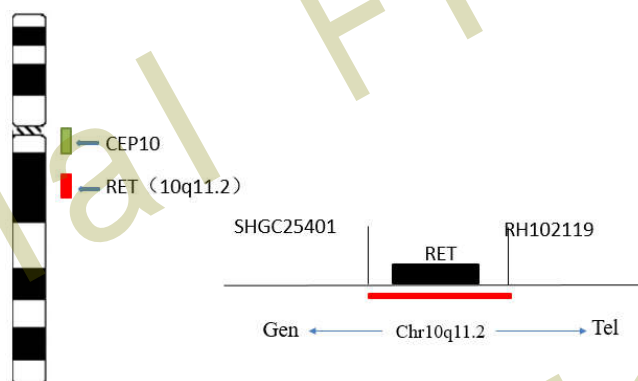
(八) RET 基因断裂探针

1、疾病背景介绍

RET 原癌基因 (Rearranged during transfection, RET) 是一种致癌驱动因子, 位于染色体 10q (10q11.2) 的着丝粒周围区域, 主要编码酪氨酸激酶受体。其基因突变和激活与多种恶性肿瘤的发生密切相关, 包括非小细胞肺癌 (NSCLC)、甲状腺髓样癌 (MTC) 和甲状腺乳头状癌 (PTC) 等。但是如果 RET 基因发育不良、缺失或者敲除, 便会导致一些胃肠发育上的疾病, 如先天性巨结肠。RET 蛋白活化后会激活下游的信号通路 (包含 RAS、MAPK、ERK、PI3K、AKT 等), 导致细胞增殖、迁移和分化。RET 激活的两个主要机制: RET 点突变和 RET 基因重排; 致癌性 RET 基因改变促进了配体非依赖性组成性 RET 激酶活化, 从而促进了肿瘤的发生。RET 是一种单通道跨膜受体酪氨酸激酶 (RTK), 是几种组织和细胞正常发育、成熟和维持所必需的。

2、探针介绍

RET 基因是位于 10 号常染色体长臂 (10q11.2), 全长 60kb, 并包含 21 个外显子, 编码 1100 个氨基酸的酪氨酸激酶受体超家族 RET 蛋白。而 RET 基因断裂探针采红色荧光分子标记 RET 基因 5' 端区域, 采用绿色荧光分子标记 RET 基因 3' 区域 (着丝粒侧为红色, RET 断裂端粒侧为绿色)。如图所示



3、临床意义

RET 基因融合包含 KIF5B、TRIM33、CCDC6 和 NCOA4，融合后会导导致 RET 基因的激活，大约有 1-2%的见于 NSCLC 患者。RET 基因与其他基因多种重排多见于甲状腺乳头状腺癌；出现 7 个位点点突变的现象常见于多发性内分泌腺瘤 2 型，家族遗传甲状腺髓样癌等；RET 基因缺失则会导致先天巨结肠疾病。因此随着对 RET 基因突变研究的深入和 RET 在甲状腺、肺腺癌及其他癌症中所起到的作用，使其可以成为多种恶性肿瘤治疗的重要靶点。当前利用 RET 基因所研发的相关药物主要是凡德他尼(vandetanib)是 EGFR、VEGFR 和 RET 酪氨酸激酶的抑制剂；XL184 卡博替尼(Cabozantinib)是 VEGFR2, Met, FLT3, Tie2、Kit 和 RET 的强效抑制剂等。

4、参考文献

- [1] Cinti R , Schena F , Passalacqua M , et al. Replication pattern of the pericentromeric region of chromosome 10q and expression of the RET protooncogene[J]. Experimental Cell Research, 2004, 298(2):0-610.
- [2] Kim J O , Shin J Y , Kim M Y , et al. Detection of RET (rearranged during transfection) variants and their downstream signal molecules in RET rearranged lung adenocarcinoma patients[J]. Surgical Oncology, 2018, 27(1):106-113.
- [3]Drilon A , Wang L , Hasanovic A , et al. Response to Cabozantinib in Patients with RET Fusion-Positive Lung Adenocarcinomas[J]. Cancer Discovery, 2013, 3(6):630-635.
- [4] Wang R , Hu H , Pan Y , et al. RET Fusions Define a Unique Molecular and Clinicopathologic Subtype of Non-Small-Cell Lung Cancer[J]. Journal of Clinical Oncology, 2012, 30(35):4352-4359.
- [5] Mulligan L M . RET revisited: expanding the oncogenic portfolio[J]. Nature Reviews Cancer, 2014, 14(3):173.
- [6] Subbiah V , Gainor J F , Rahal R , et al. Precision Targeted Therapy With BLU-667 for RET-Driven Cancers[J]. Cancer Discovery,

2018:CD-18-0338.

Spatial Fish

Spatial Fish

Spatial Fish

Spatial Fish

二、血液肿瘤

慢性淋巴细胞白血病 CLL

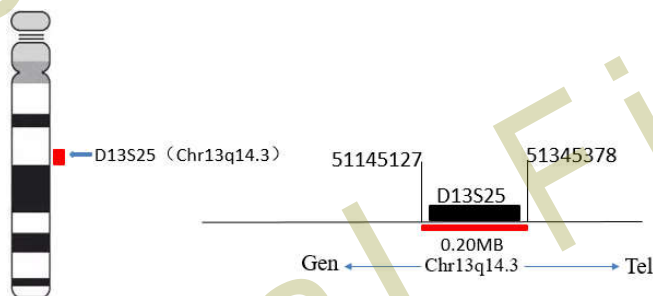
(一) D13S25 基因缺失检测探针

1、疾病背景介绍

慢性淋巴细胞白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL), 是一种淋巴细胞克隆性增殖的肿瘤性疾病, 淋巴细胞在骨髓、淋巴结、血液、脾脏、肝脏及其他器官聚集。同时也是一种老年性疾病, 以免疫功能不全的高分化淋巴细胞克隆性增殖为主要特征。D13S25 基因位于 13 号染色体上, del(13q14) 可造成该基因的缺失, 从而导致肿瘤的发生。

2、探针介绍

D13S25 基因缺失检测探针, 主要以橙色荧光分子标记 D13S25 DNA 区域为探针, 使其于癌细胞核内的 D13S25 基因序列杂交互补。由于其 DNA 标记区域位于 13q14 上, 因此具有很高的特异性, 不会与其他区域杂交产生杂点。如图所示



3、临床意义

应用 FISH, 约 70% CLL 患者可检测到染色体异常。其中 del(13q14) 占 CLL 的 55%。D13S25 的突变或缺失, 可导致细胞增殖、失去负调控从而导致肿瘤的发生。13q 伴有其他染色体异常的 CLL 患者通常预后不好。FISH 检测 D13S25 基因缺失在 CLL 的临床治疗和预后判断中具有重要意义。

4、参考文献

[1]高银,方鹏,张国平,曹鹏飞,徐雅静,赵谢兰,李晓林,陈方平.FISH 检测慢性淋巴细胞白血病 P53、D13S25、ATM 基因缺失及其预后价值[J].现代医学,2013,41(12):877-881.

[2] Brito-Babapulle V, Baou M, Matutes E, Morilla R, Atkinson S, Catovsky D. Deletions of D13S25, D13S319 and RB-1 mapping to 13q14.3 in T-cell

prolymphocytic leukaemia. Br J Haematol. 2001 Aug;114(2):327-32. doi: 10.1046/j.1365-2141.2001.02935.x. PMID: 11529851.

[3]Li L, Xu W, Qiu HR, Cheng YX, Zhang SJ, Li JY. [Detection of 13q14 deletion in chronic lymphocytic leukemia by using probes D13S319 and D13S25]. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. 2007 Apr;15(2):229-32. Chinese. PMID: 17493321.

[4]Tanaka K, Arif M, Eguchi M, Guo SX, Hayashi Y, Asaoku H, Kyo T, Dohy H, Kamada N. Frequent allelic loss of the RB, D13S319 and D13S25 locus in myeloid malignancies with deletion/translocation at 13q14 of chromosome 13, but not in lymphoid malignancies. Leukemia. 1999 Sep;13(9):1367-73. doi: 10.1038/sj.leu.2401482. PMID: 10482987.

(二) ATM 基因缺失探针

1、疾病背景介绍

慢性淋巴细胞白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL), 是一种淋巴细胞克隆性增殖的肿瘤性疾病, 淋巴细胞在骨髓、淋巴结、血液、脾脏、肝脏及其他器官聚集。同时也是一种老年性疾病, 以免疫功能不全的高分化淋巴细胞克隆性增殖为主要特征。而 ATM (ataxia telangiectasia-mutated gene) 中文名为共济失调毛细血管扩张突变基因, 是一种与 DNA 损伤检验有关的一个重要基因。

2、探针描述

ATM 基因缺失检测探针, 主要以橙色荧光分子标记 ATM DNA 区域和绿色荧光分子标记 11 号染色体着丝粒区域 (CEP11) 为探针, 使其于癌细胞核内的 ATM 基因序列杂交互补。由于 ATM DNA 标记区域位于 11q22 及 CEP11 探针主要采用 α 卫星序列, 因此具有极高的特异性, 不会与其他染色体着丝粒区域杂交产生杂点。如图所示

3、临床意义

ATM 基因缺失在 B-CLL 中发生率约为 15-20%, 该类患者与疾病浸润性相关且其预后差。ATM 基因缺失和 P53 基因缺失是 CLL 中最为常见的缺失异常, 可指导治疗方案的选择和预后评估。其中具有 del(11q) 或 del(17p) 的 CLL 患者预后明显差于染色体正常或单纯 del(13q) 的患者。2011 版 NCCN 特别将具有 del(11q) 细胞遗传学异常的 CLL 患者治疗单独列出。且 del(11q)-CLL 对于烷化剂较为敏感, 因此临床推荐使用含有烷化剂的联合化疗方案。

4、参考文献

[1]Knittel G, Liedgens P, Reinhardt HC. Targeting ATM-deficient CLL through interference with DNA repair pathways. *Front Genet.* 2015 Jun 10;6:207. doi: 10.3389/fgene.2015.00207. PMID: 26113859; PMCID: PMC4461826.

[2]Kwok M, Davies N, Agathangelou A, Smith E, Oldreive C, Petermann E, Stewart G, Brown J, Lau A, Pratt G, Parry H, Taylor M, Moss P, Hillmen P, Stankovic T. ATR inhibition induces synthetic lethality and overcomes chemoresistance in TP53- or ATM-defective chronic lymphocytic leukemia cells. *Blood.* 2016 Feb 4;127(5):582-95. doi: 10.1182/blood-2015-05-644872. Epub 2015 Nov 12. PMID: 26563132.

[3]Ouillette P, Li J, Shaknovich R, Li Y, Melnick A, Shedden K, Malek SN. Incidence and clinical implications of ATM aberrations in chronic lymphocytic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer.* 2012 Dec;51(12):1125-32. doi: 10.1002/gcc.21997. Epub 2012 Sep 6. PMID: 22952040; PMCID: PMC3465492.

(三) P53 缺失探针

1、疾病背景介绍

慢性淋巴细胞白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL), 是一种淋巴细胞克隆性增殖的肿瘤性疾病, 淋巴细胞在骨髓、淋巴结、血液、脾脏、肝脏及其他器官聚集。同时也是一种老年性疾病, 以免疫功能不全的高分化淋巴细胞克隆性增殖为主要特征。而 P53 是一种肿瘤抑制基因, 它能抑制肿瘤血管生成, 有效防止肿瘤的复发、转移, 提高人体自身的免疫功能。

2、探针描述

P53 基因缺失检测探针, 主要以橙色荧光分子标记 P53 DNA 区域和绿色荧光分子标记 17 号染色体着丝粒区域 (CEP17) 为探针; 使其于癌细胞核内的 P53 和 cep17 基因序列杂交互补。由于 P53 DNA 标记区域位于 17p13 及 CEP17 探针主要采用 α 卫星序列, 因此具有极高的特异性, 不会与其他染色体着丝粒杂交产生杂点。如图所示

3、临床意义

P53 基因缺失在 B-CLL 中发生率约为 17%, 该类患者对于传统单药化疗效果较差, 生存期较短。对于具有 del(17p) 的 CLL 患者对于含有阿伦单抗 (anti-CD52) 的治疗方案较为敏感。对于经过 FISH 检测不具有 del(17p) 和 del(11q) 的 CLL

患者推荐传统化疗和免疫治疗同时进行。

4、参考文献

- [1]Maimaitili Y, Guzailinuer W, Wang X, Liu H, Li Y, Xiao M. [Detection of p53 gene deletion in Xinjiang patients with chronic lymphocytic leukemia by fluorescence in situ hybridization and its clinical significance]. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi. 2014 Aug;31(4):499-503. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2014.04.020. PMID: 25119920.
- [2]Xu W, Li JY, Li L, Wu YJ, Yu H, Shen QD, Qiu HX. [Prognostic significance of p53 and ATM gene deletion in patients with chronic lymphocytic leukemia]. Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi. 2008 Jul;29(7):450-3. Chinese. PMID: 19035176.
- [3]de Viron E, Michaux L, Put N, Bontemps F, Van Den Neste E. Present status and perspectives in functional analysis of p53 in chronic lymphocytic leukemia. Leuk Lymphoma. 2012 Aug;53(8):1445-51. doi: 10.3109/10428194.2012.660630. Epub 2012 Mar 1. PMID: 22280536.
- [4]Catherwood MA, Gonzalez D, Donaldson D, Clifford R, Mills K, Thornton P. Relevance of TP53 for CLL diagnostics. J Clin Pathol. 2019 May;72(5):343-346. doi: 10.1136/jclinpath-2018-205622. Epub 2019 Feb 2. PMID: 30712002.

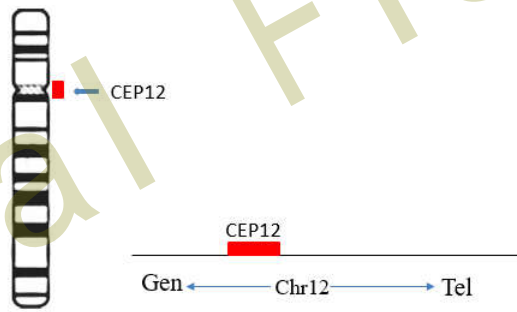
(四) 12 号染色体计数探针

1、疾病背景介绍

慢性淋巴细胞白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL), 是一种淋巴细胞克隆性增殖的肿瘤性疾病, 淋巴细胞在骨髓、淋巴结、血液、脾脏、肝脏及其他器官聚集。同时也是一种老年性疾病, 以免疫功能不全的高分化淋巴细胞克隆性增殖为主要特征。约 50% 的 CLL 患者具有染色体异常, 常累及 12 号染色体。而 12 号染色体计数探针 (CSP12) 用于检测 12 号染色体是否有异常。

2、探针描述

12 号染色体计数探针, 主要以红色荧光分子标记 12 号染色体着丝粒区域为探针。由于 CSP12 主要采用 α 卫星序列, 因此具有极高的特异性, 不会与其他染色体着丝粒区域杂交产生杂点。如图所示



3、临床意义

12号染色体是B-CLL中最为常见的染色体数目异常，异常比例达55%以上。12号染色体三体暗示总生存期下降，并且需要尽早治疗；只需1小时杂交即可保证满意的信号强度

4、参考文献

- [1] Zhang HY, Yang YL, Zhao Q, Zhang J, Bai H. [Fluorescence in Situ Hybridization for Detecting Molecular Cytogenetic Abnormalities of Chronic Lymphocytic Leukemia]. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. 2020 Oct;28(5):1474-1479. Chinese. doi: 10.19746/j.cnki.issn.1009-2137.2020.05.008. PMID: 33067940.
- [2] Wang H, Xu H, Chen Z, Lou J, Jin J. [Detection of genomic abnormalities among 105 patients with chronic lymphocytic leukemia using fluorescence in situ hybridization]. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi. 2017 Jun 10;34(3):357-360. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2017.03.009. PMID: 28604954.

（五）ASS 基因检测探针

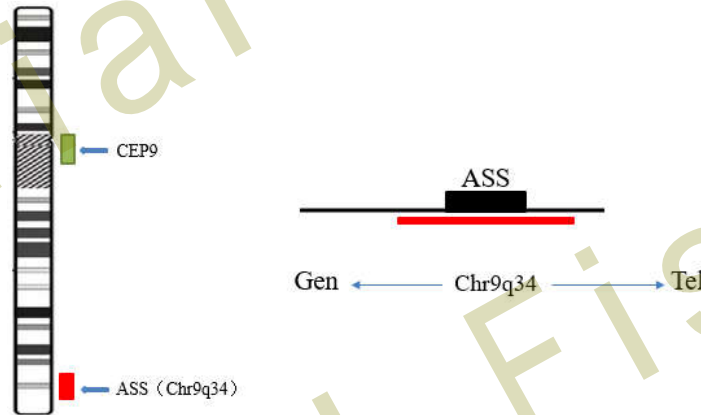
1、疾病背景介绍

慢性粒细胞性白血病（CML）是一种起源于造血干细胞的恶性克隆性骨髓增生性疾病，在白血病中约占20%-25%。而精氨酸琥珀酸合成基因（Argininosuccinate Synthetase, ASS），为精氨酸琥珀酸合成酶的编码基因，位于人染色体9q34上，与ABL基因相距大约200kb，全长56kb。其中9%-28%的CML患者含有ASS基因的9q34区段的缺失。该基因缺失的患者预后差，慢性期易变，一年内的复发率较高。

2、探针描述

ASS基因检测探针，主要以红色荧光分子标记ASS DNA区域为探针，使其与骨髓间期细胞上ASS基因序列杂交互补以检测9号染色体有无部分序列缺失。

由于 ASS DNA 标记区域为于 9q34 上，因此具有极高的特异性，不会与染色体其他区域产生杂点。如图所示



3、临床意义

伴有 ASS 基因的 9q34 区段缺失的 CML 患者易较快的进入疾病进展阶段，且其血液学和细胞遗传学缓解率均低于无缺失患者。同时有缺失的患者在一年内的复发率特别高。因此检测 CML 患者骨髓中的 ASS 基因状况对患者的预后判断和治疗方案的选择都具有重要意义。

4、参考文献

- [1]Chereda B, Melo JV. Natural course and biology of CML. *Ann Hematol.* 2015 Apr;94 Suppl 2:S107-21. doi: 10.1007/s00277-015-2325-z. Epub 2015 Mar 27. PMID: 25814077.
- [2]董洁, 李薇, 白晶, 林海, 刘春水, 韩薇, 胡瑞萍, 崔久嵬. 9 号衍生染色体在慢性粒细胞白血病预后评估中的意义[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2016, 42(02):301-305.
- [3]Pan J, Xue Y, Qiu H, Chen S, Zhang J, Wu Y, Shen J, Wang Y. A pericentric inv(9)(p22q34) of the der(9)t(9;22)(q34;q11.2) is a recurrent secondary anomaly in Ph-positive leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2010 Dec;203(2):333-40. doi: 10.1016/j.cancergencyto.2010.05.009. PMID: 21156255.
- [4]Storlazzi CT, Specchia G, Anelli L, Albano F, Pastore D, Zagaria A, Rocchi M, Liso V. Breakpoint characterization of der(9) deletions in chronic myeloid leukemia patients. *Genes Chromosomes Cancer.* 2002 Nov;35(3):271-6. doi: 10.1002/gcc.10116. PMID: 12353269.

(六) DLEU1 基因缺失检测探针

1、疾病背景介绍

慢性淋巴细胞白血病 ((chronic lymphocytic leukemia, CLL), 是一种淋

巴细胞克隆性增殖的肿瘤性疾病，淋巴细胞在骨髓、淋巴结、血液、脾脏、肝脏及其他器官聚集。同时也是一种老年性疾病，以免疫功能不全的高分化淋巴细胞克隆性增殖为主要特征。而淋巴细胞白血病缺失基因（deleted in lymphocytic leukemia 1, DLEU1）抗体的主要功能是与抗原（包括外来的和自身的）相结合，从而有效地清除侵入机体内的微生物、寄生虫等异物。

2、探针描述

DLEU1 基因缺失检测探针，主要以橙色荧光分子标记 DLEU1 DNA 区域为探针，使其与骨髓间期细胞上 DLEU1 基因序列杂交互补以检测 13 号染色体有无部分序列缺失。由于 DLEU1 DNA 标记区域为于 13q14.2-14.3 上，因此具有极高的特异性，不会与染色体其他区域产生杂点。如图所示

3、临床意义

伴有 DLEU1 基因的 13q14 区段缺失的 CLL 患者易较快的进入疾病进展阶段，13q14 (DLEU1 基因) 纯合子或杂合子缺失是 CLL 中最常见的异常 (占 60%以上)；DLEU1 基因缺失的患者通常预后差。DLEU1 基因缺失还可见于淋巴瘤/骨髓瘤/前列腺癌/头颈癌/非小细胞肺癌等肿瘤。因此检测 DLEU1 基因状况对患者的预后判断和治疗方案的选择都具有重要意义。

4、参考文献

- [1] Nava-Rodríguez MP, Domínguez-Cruz MD, Aguilar-López LB, Borjas-Gutiérrez C, Magaña-Torres MT, González-García JR. Genomic instability in a chronic lymphocytic leukemia patient with mono-allelic deletion of the DLEU and RB1 genes. *Mol Cytogenet.* 2019 Jan 31;12:2. doi: 10.1186/s13039-019-0417-5. PMID: 30733830; PMCID: PMC6357463.
- [2] Ouillet P, Collins R, Shakhan S, Li J, Li C, Shedden K, Malek SN. The prognostic significance of various 13q14 deletions in chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res.* 2011 Nov 1;17(21):6778-90. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0785. Epub 2011 Sep 2. PMID: 21890456; PMCID: PMC3207001.
- [3] Dal Bo M, Rossi FM, Rossi D, Deambrogi C, Bertoni F, Del Giudice I, Palumbo G, Nanni M, Rinaldi A, Kwee I, Tissino E, Corradini G, Gozzetti A, Cencini E, Ladetto M, Coletta AM, Luciano F, Bulian P, Pozzato G, Laurenti L, Forconi F, Di Raimondo F, Marasca R, Del Poeta G, Gaidano G, Foà R, Guarini A, Gattei V. 13q14 deletion size and number of deleted cells both influence prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer.* 2011 Aug;50(8):633-43. doi: 10.1002/gcc.20885. Epub

2011 May 11. PMID: 21563234.

(七) MYC 基因探针

详细介绍见第一章乳腺癌

(八) TERC 基因探针

详细介绍见第二章宫颈癌

(九) PDGFRB 基因断裂检测探针

1、疾病背景介绍

慢性细胞性白血病(Chronic Myelogenous Leukemia , CML)是一种起源于造血干细胞的恶性克隆性骨髓增生性疾病,在白血病中约占 20%-25%。多发群体为 50 岁以上人群,患者体内会产生大量不成熟的白细胞,这些白细胞在骨髓内聚集,抑制骨髓的正常造血,并且能够通过血液在全身扩散,导致病人出现贫血、容易出血、感染等。而血小板衍生生长因子受体(PDGFRB)是一种受体蛋白激酶家族成员,能够促进细胞的趋化、分裂与增殖,在机体生长发育、创伤修复等生理过程中起积极重要的作用,并与肿瘤的发生密切相关。

2、探针描述

PDGFRB 基因断裂检测探针主要以红色荧光分子标记 PDGFRB DNA 区域 3' 端约 370Kb 和绿色荧光分子标记 PDGFRB DNA 区域 5' 端约 380Kb 以此为双色探针,使其与细胞上对应的基因序列杂交互补。由于 PDGFRB 基因断裂检测探针为双色荧光信号因此具有极高的辨识度。如图所示

3、临床意义

该基因的 FISH 诊断结果可用于判断 PDGFRB 基因是否发生断裂及易位,以此用于指导靶向治疗药物的使用以及治疗方案的选择和药物疗效评估。

4、参考文献

- [1] Tefferi A. Molecular drug targets in myeloproliferative neoplasms: mutant ABL1, JAK2, MPL, KIT, PDGFRA, PDGFRB and FGFR1. J Cell Mol Med. 2009 Feb;13(2):215-37. doi: 10.1111/j.1582-4934.2008.00559.x. Epub 2008 Oct 23. PMID: 19175693; PMCID: PMC3823350.
- [2] Lovly CM, Gupta A, Lipson D, Otto G, Brennan T, Chung CT, Borinstein

SC, Ross JS, Stephens PJ, Miller VA, Coffin CM. Inflammatory myofibroblastic tumors harbor multiple potentially actionable kinase fusions. *Cancer Discov.* 2014 Aug;4(8):889-95. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-0377. Epub 2014 May 29. PMID: 24875859; PMCID: PMC4125481.

[3] Lee BH, Hsu WH, Hsu YW, Pan TM. Suppression of dimeric acid on hepatic fibrosis caused from carboxymethyl-lysine (CML) by attenuating oxidative stress depends on Nrf2 activation in hepatic stellate cells (HSCs). *Food Chem Toxicol.* 2013 Dec;62:413-9. doi: 10.1016/j.fct.2013.09.007. Epub 2013 Sep 12. PMID: 24036144.

(十) BCL2/IGH 融合基因探针

4、疾病背景介绍

慢性淋巴细胞白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL), 是一种淋巴细胞克隆性增殖的肿瘤性疾病, 淋巴细胞在骨髓、淋巴结、血液、脾脏、肝脏及其他器官聚集。同时它也是一种老年性疾病, 以免疫功能不全的高分化淋巴细胞克隆性增殖为主要特征。而 BCL2/IGH 双色双融合探针可以检测染色体 14q32.33 处的 IGH 基因和 18q21.33 区的 BCL2 基因的易位。涉及的 IGH (免疫球蛋白基因) 和 BCL2 (b 细胞淋巴瘤) 基因的易位是 CLL 中位列第二的最为常见的易位异常。

5、探针描述

BCL2/IGH 融合基因探针, 主要是以橙色荧光分子标记 BCL2 的 DNA 区域和绿色荧光分子标记 IGH 的 DNA 区域为探针, 使其于癌细胞核内的 BCL2 和 IGH 基因序列杂交互补。正常情况下 BCL2 和 IGH 基因未发生融合时, 在荧光显微镜下显示为两个橙色信号和两个绿色信号。当存在融合基因时, 绿色和橘红色信号因重叠形成黄色融合信号。

3、临床意义

t(14;18) 易位发生于 85% 的滤泡性淋巴瘤 (FL) 及 1/3 的弥漫性淋巴瘤 (DL), 且预后较差。IGH 与 BCL2 相互易位是 CLL 中位列第二的最为常见的易位异常, 可指导治疗方案的选择和预后评估。

4、参考文献

[1]Nishijima A, Noguchi Y, Narukawa K, Takano H, Oshikawa G. [Aggressive B-cell lymphoma with IGH/MYC, IGH/BCL2, and IGH/CCND1 translocations]. *Rinsho Ketsueki*. 2019;60(10):1425-1430. Japanese. doi: 10.11406/rinketsu.60.1425. PMID: 31695002.

[2]Cavalli M, De Novi LA, Della Starza I, Cappelli LV, Nunes V, Pulsoni A, Del Giudice I, Guarini A, Foà R. Comparative analysis between RQ-PCR and digital droplet PCR of BCL2/IGH gene rearrangement in the peripheral blood and bone marrow of early stage follicular lymphoma. *Br J Haematol*. 2017 May;177(4):588-596. doi: 10.1111/bjh.14616. Epub 2017 Apr 17. PMID: 28419517.

[3] van Oers MH, Tönnissen E, Van Glabbeke M, Giurgea L, Jansen JH, Klasa R, Marcus RE, Wolf M, Kimby E, Vranovsky A, Holte H, Hagenbeek A, van der Reijden BA. BCL-2/IgH polymerase chain reaction status at the end of induction treatment is not predictive for progression-free survival in relapsed/resistant follicular lymphoma: results of a prospective randomized EORTC 20981 phase III intergroup study. *J Clin Oncol*. 2010 May 1;28(13):2246-52. doi: 10.1200/JCO.2009.25.0852. Epub 2010 Apr 5. PMID: 20368567.

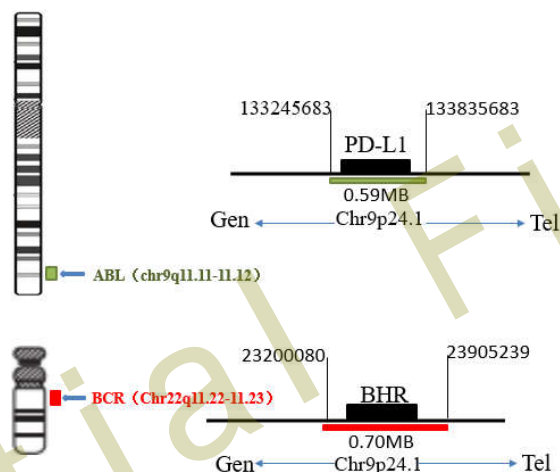
(十一) BCR/ABL 融合基因检测探针

1、疾病背景介绍

慢性细胞性白血病(Chronic Myelogenous Leukemia , CML)是一种起源于造血干细胞的恶性克隆性骨髓增生性疾病,在白血病中约占 20%-25%。多发群体为 50 岁以上人群,患者体内会产生大量不成熟的白细胞,这些白细胞在骨髓内聚集,抑制骨髓的正常造血,并且能够通过血液在全身扩散,导致病人出现贫血、容易出血、感染等。而 BCR/ABL 融合基因是一种抗细胞凋亡的基因,位于 9q34 的 ABL 基因与位于 22q11 的 BCR 基因相互易位,形成 5'BCR-ABL3' 融合基因,它具有很强的酪氨酸激酶活性,可以调控细胞生长,参与细胞持续增殖信号传导或抑制凋亡,从而使骨髓造血干细胞过度增殖。

2、探针描述

BCR/ABL 融合基因检测探针，主要以红色荧光分子标记 ABL DNA 区域和绿色荧光分子标记 BCR DNA 区域为探针，使其与骨髓间期细胞上对应的基因序列杂交互补。由于 BCR/ABL 融合基因为叠加荧光信号因此具有极高的特异性。如图所示



3、临床意义

BCR/ABL 融合基因是公认的慢性细胞性白血病 (CML) 的标志物，因此以 BCR/ABL 融合基因检测探针检测 CML 患者可用于指导靶向治疗药物格列卫的使用以及治疗方案的选择和药物疗效评估。

4、参考文献

- [1]Ren R. Mechanisms of BCR-ABL in the pathogenesis of chronic myelogenous leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2005 Mar;5(3):172-83. doi: 10.1038/nrc1567. PMID: 15719031.
- [2]Barnes DJ, Palaiologou D, Panousopoulou E, Schultheis B, Yong AS, Wong A, Pattacini L, Goldman JM, Melo JV. Bcr-Abl expression levels determine the rate of development of resistance to imatinib mesylate in chronic myeloid leukemia. *Cancer Res*. 2005 Oct 1;65(19):8912-9. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0076. PMID: 16204063.
- [3]赵江源, 胡秀英, 王季石. 双色双融合探针荧光原位杂交技术中 BCR/ABL 融合信号的表达[A]. 中国医师协会肿瘤医师分会、中国抗癌协会肿瘤临床化疗专业委员会. 中国肿瘤内科进展 中国肿瘤医师教育 (2014) [C]. 中国医师协会肿瘤医师分会、中国抗癌协会肿瘤临床化疗专业委员会:中国抗癌协会, 2014:2.
- [4]Hentschel J, Rubio I, Eberhart M, Hipler C, Schiefner J, Schubert K, Loncarevic IF, Wittig U, Baniahmad A, von Eggeling F. BCR-ABL- and Ras-independent activation of Raf as a novel mechanism of Imatinib resistance in CML. *Int J Oncol*. 2011 Sep;39(3):585-91. doi: 10.3892/ijo.2011.1062. Epub 2011 Jun 1. PMID: 21637917.

Spatial Fish

Spatial Fish

Spatial Fish

Spatial Fish

急性淋巴细胞白血病 CLL

(一) BCR/ABL 融合基因检测探针

详细介绍见第十二章慢性淋巴细胞白血病

(二) ETV6 基因断裂探针

(三) CDKN2A 基因探针

详细介绍见第十章

(四) MYC 基因断裂探针

详细介绍见第三章

(五) IGH 基因断裂探针

详细介绍见第三章

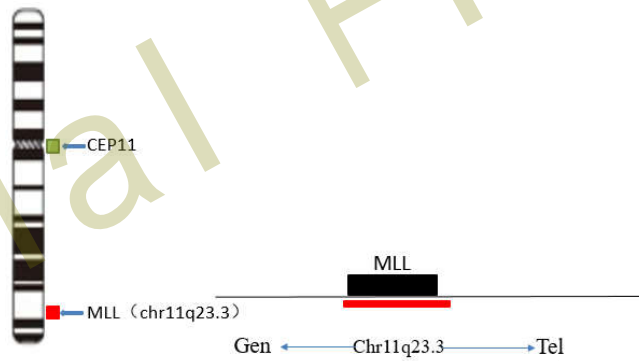
(六) KMT2A (MLL) 基因断裂检测探针

1、背景介绍

MLL 基因位于 11 号染色体 (q23)，位于 HOX 基因上游，编码组蛋白赖氨酸甲基转移酶，其细胞遗传学异常见于多种白血病。其中基因断裂引起的重排在急性白血病中常见。MLL 融合蛋白是强力转化剂之一，其 N 端的 AT-Hook 和 CxxC 锌指结构域利于融合蛋白结合到 DNA 上，招募细胞因子，激活转录，创造出几乎没有合作突变的肿瘤性疾病。融合蛋白主要有 MLL-AF4, t(4; 11)(q21; q23); MLL-ENL, t(11; 19)(q23; P13. 3); MLL-AF6, t(6; 11)(q27; q23 等，它们在不同类型的急性白血病中的占有比不同，因此 MLL 融合蛋白的检测对于临床诊断具有重要的指导意义。

2、探针介绍

双色荧光探针 绿色荧光标记 5' 端, 红色荧光标记 3' 端, 可以检测 MLL 基因的重排



3、临床意义

MLL 基因重排会引发急性白血病，特别是婴儿急性白血病和继发性白血病，且预后性较差利用探针检测 MLL 基因的重排，利于急性白血病的临床诊断。

4、参考文献

- [1] R.K. Slany. MLL fusion proteins and transcriptional control. BBA - Gene Regulatory Mechanisms 1863 (2020) 194503
- [2] Gavin Cuthbert, Karen Thompson et al. Sensitivity of FISH in Detection of MLL Translocations. GENES, CHROMOSOMES & CANCER 29:180 - 185 (2000)
- [3] 李庆容. 急性白血病中 MLL 基因重排研究进展. J Mod Med Health, March 15, 2013, Vol. 29, No.

多发性骨髓瘤 MM

(一) IGH 基因断裂探针

详细介绍见第三章

(二) P53 基因探针

详细介绍见第六章

(三) 1q21 基因检测探针

1、疾病背景介绍

多发性骨髓瘤又称细胞骨髓瘤 (multiple myeloma, MM)，是一种恶性浆细胞病，占造血系统恶性肿瘤的 10%。其特征是单克隆浆细胞恶性增殖并分泌大量单克隆免疫球蛋白。恶性浆细胞无节制地增生、广泛浸润和大量单克隆免疫球蛋白的出现及沉积，正常多克隆浆细胞增生和多克隆免疫球蛋白分泌受到抑制，从而引起广泛骨质破坏、反复感染、贫血、高钙血症、肾功能不全等一系列临床表现并导致不良后果。好发年龄多在 40 岁以上，男性与女性之比约 2:1。而 1 号染色体异常常见于 MM 染色体异常中，其中主要为 1q21 区的串联重复和易位。

2、探针描述

1q21 基因扩增检测探针，主要以红色荧光分子标记 1q21 DNA 区域为探针，约 640Kb，使其于癌细胞核内的 1q21 基因序列杂交互补。由于 D13S319 DNA 标记区域位于 13q14，因此具有极高的特异性，不会与其他染色体着丝粒杂交产生杂点。如图所示

3、临床意义

1q21 的扩增与 MM 的浸润表型相关，预后差，随着疾病进展 1q21 增加的几率和拷贝数都会增加，是 MM 发病和进展中的关键遗传学事件，是硼替佐米 (bortezomib) 治疗后复发的独立危险因素。该探针的检测可用于风险分层以及个体化治疗。

4、参考文献

[1] Marchesini M, Ogoti Y, Fiorini E, Aktas Samur A, Nezi L, D'Anca M, Storti P, Samur MK, Ganan-Gomez I, Fulciniti MT, Mistry N, Jiang S, Bao N, Marchica V, Neri A, Bueso-Ramos C, Wu CJ, Zhang L, Liang H, Peng X, Giuliani N, Draetta G, Clise-Dwyer K, Kantarjian H, Munshi N, Orłowski

R, Garcia-Manero G, DePinho RA, Colla S. ILF2 Is a Regulator of RNA Splicing and DNA Damage Response in 1q21-Amplified Multiple Myeloma. *Cancer Cell*. 2017 Jul 10;32(1):88-100.e6. doi: 10.1016/j.ccell.2017.05.011. Epub 2017 Jun 29. PMID: 28669490; PMCID: PMC5593798.

[2] Hanamura I. Gain/Amplification of Chromosome Arm 1q21 in Multiple Myeloma. *Cancers (Basel)*. 2021 Jan 12;13(2):256. doi: 10.3390/cancers13020256. PMID: 33445467; PMCID: PMC7827173.

[3] 王艳艳, 杨婷婷, 王宝宏. 1q21 扩增与初诊多发性骨髓瘤患者临床特征的相关性及其预后意义[J]. *潍坊医学院学报*, 2020, 42(04):261-263+269.

(三) D13S25 基因缺失探针

详细介绍见第十二章

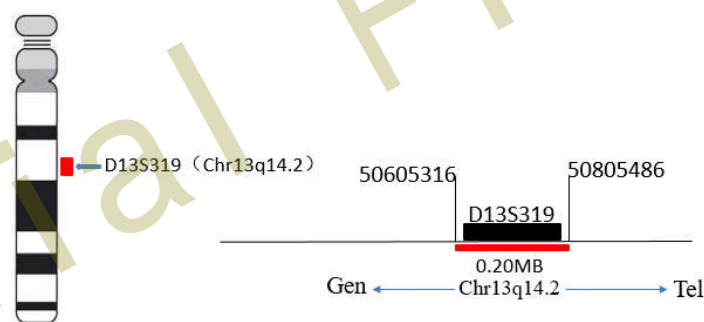
(五) D13S319 基因检测探针

1、疾病背景介绍

多发性骨髓瘤又称细胞骨髓瘤 (multiple myeloma, MM), 是一种恶性浆细胞病, 占造血系统恶性肿瘤的 10%。其特征是单克隆浆细胞恶性增殖并分泌大量单克隆免疫球蛋白。恶性浆细胞无节制地增生、广泛浸润和大量单克隆免疫球蛋白的出现及沉积, 正常多克隆浆细胞增生和多克隆免疫球蛋白分泌受到抑制, 从而引起广泛骨质破坏、反复感染、贫血、高钙血症、肾功能不全等一系列临床表现并导致不良后果。好发年龄多在 40 岁以上, 男性与女性之比约 2:1。而 13 号染色体长臂缺失 (13q-) 在 MM 患者中常发生。最常见缺失断裂点在 RB1 基因远端 D13S272 和 D13S319 区域。因此 D13S319 基因探针可确定 13q14 的 D13S319 区域是否缺失。

2、探针描述

D13S319 基因检测探针, 主要以红色荧光分子标记 D13S319 DNA 区域为探针, 约 204Kb, 使其于癌细胞核内的 D13S319 基因序列杂交互补。D13S319 DNA 标记区域位于 13q14 上, 具有极高的特异性, 不会与其他染色体着丝粒杂交产生杂点。如图所示



3、临床意义

该基因缺失检测探针用于 D13S319 位点的数目检测。FISH 是一种检测 del(13q14) 异常快速而准确的方法，对后续患者治疗的方案选择具有重要意义。

4、参考文献

- [1]姚丽娜. 应用探针 RB1、D13S319、D13S325 检测多发性骨髓瘤 13q14 缺失的研究[A]. 中华医学会(Chinese Medical Association)、中华医学会微生物与免疫学分会. 中华医学会第十一次全国临床微生物学术年会暨全球华人临床微生物与感染症学会学术论坛暨第四届国际临床微生物及抗微生物化疗学术会议(4th SICCMAC)日程&论文汇编[C]. 中华医学会(Chinese Medical Association)、中华医学会微生物与免疫学分会:中华医学会, 2014:1.
- [2]Chang H, Bouman D, Boerkoel CF, Stewart AK, Squire JA. Frequent monoallelic loss of D13S319 in multiple myeloma patients shown by interphase fluorescence in situ hybridization. *Leukemia*. 1999 Jan;13(1):105-9. doi: 10.1038/sj.leu.2401208. PMID: 10049044.
- [3] Fonseca R, Oken MM, Harrington D, Bailey RJ, Van Wier SA, Henderson KJ, Kay NE, Van Ness B, Greipp PR, Dewald GW. Deletions of chromosome 13 in multiple myeloma identified by interphase FISH usually denote large deletions of the q arm or monosomy. *Leukemia*. 2001 Jun;15(6):981-6. doi: 10.1038/sj.leu.2402125. PMID: 11417487.
- [4] Königsberg R, Ackermann J, Kaufmann H, Zojer N, Urbauer E, Krömer E, Jäger U, Gisslinger H, Schreiber S, Heinz R, Ludwig H, Huber H, Drach J. Deletions of chromosome 13q in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Leukemia*. 2000 Nov;14(11):1975-9. doi: 10.1038/sj.leu.2401909. PMID: 11069034.

(六) RB1 基因探针

详细介绍见第十章

(七) 慢性淋巴细胞性白血病探针

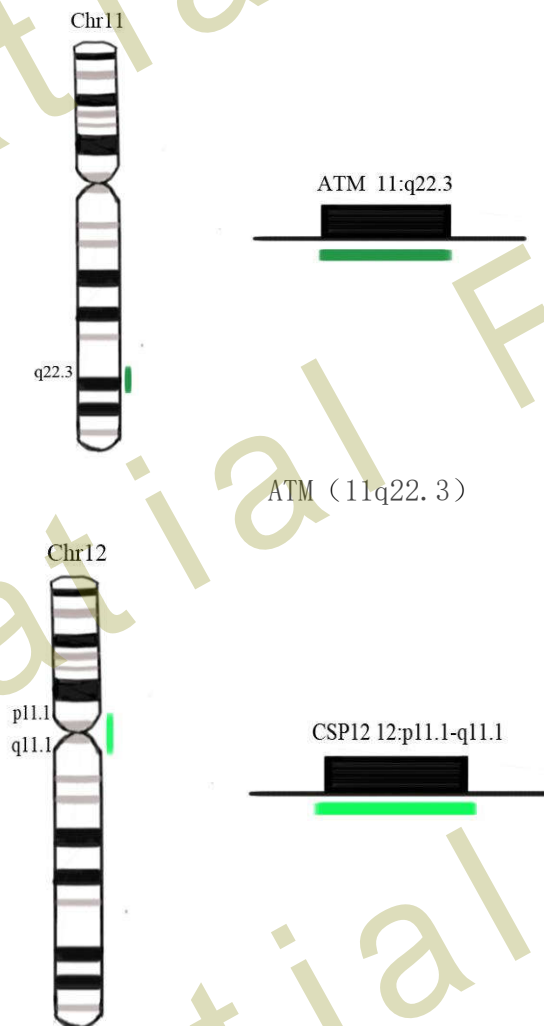
1、背景介绍

慢性淋巴细胞性白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL) 是一种因细胞凋亡受阻而导致的 B 细胞恶性克隆增殖性疾病, 表现为成熟的小淋巴细胞在外周血、骨髓以及其他淋巴组织中异常积聚。CLL 在欧美人群中发病率高, 其中男性患者比例高于女性患者。初次诊断患者往往年龄 > 50 岁, 文献报道的中位年龄为 67~72 岁。其演进往往缓慢, 病程可长达数月甚至数十年。

对于 CLL 的检测, 通常是对 ATM (11q22.3)、RB1 (13q14)、P53 (17p13.1)、D13S25 (13q14.3)、CSP12 (12p11.1-12q11.1) 进行荧光原位杂交检测。

目前对于 CLL 的化疗药物的主要作用机制是通过 P53 依赖的细胞凋亡, 而 P53 以及其上游基因 ATM 的失活导致这一凋亡途径受阻, 因此, 具有上述染色体改变的患者往往疾病进展较快并且对化疗不敏感

2、探针介绍



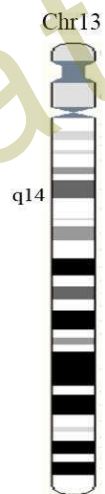
CSP12 (12p11. 1-12q11. 1)



D13S25 (13q14. 3)



P53 (17p13. 1)



RB1 (13q14)

3、参考文献

- [1] 余栋, 赵维莅. 慢性淋巴细胞性白血病诊断和治疗进展. 内科理论与实践 2009 年第 4 卷第 4 期
- [2] 谭明芳, 张正昊等. 慢性淋巴细胞白血病中 F I S H 的应用及与其他指标相关性的分析. 重庆医学 2 0 1 5 年 3 月第 4 4 卷第 9 期
- [3] Beverly P. Nelson, Rohit Gupta et al. Chronic Lymphocytic Leukemia FISH Panel Impact on Diagnosis. Hematopathology Am J Clin Pathol 2007;128:323-332

骨髓增生异常综合征 MDS

(一) 5q 探针

1、疾病背景介绍

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)是起源于造血干细胞的一组异质性髓系克隆性疾病,特点是髓系细胞分化及发育异常,表现为无效造血、难治性血细胞减少、造血功能衰竭,高风险向急性髓系白血病(AML)转化。5q 号染色体的间歇性缺失是骨髓再生综合征(MDS)中最常见的细胞遗传异常。缺失 5q 的 MDS 患者具有共同的生物学特征,这些特征导致严重的低塑性贫血和对药物治疗的独特敏感性。

2、探针描述

5q 探针,主要是以橙色荧光分子标记 5q32-33 DNA 区域和绿色荧光分子标记 5q15 DNA 区域为探针,使其于癌细胞核内的 CSF1R 和 TERT 基因序列杂交互补。由于其双色杂交因此具有极高的特异性。如图所示

3、临床意义

5q 长臂缺失是 AML 和 MDS 中最为常见的重排且 5 号染色体异常约占与治疗相关的 MDS 的 40%以上预后不良。5q 内部出现缺失(5q31-q33)出现于 10-15% 的 MDS 患者中,预后较好。5q 缺失综合征是 2000 年 WHO 新增的一种独立的分子类型,女性患者居多,预后较佳。检测 5q 缺失和 p53 基因的突变情况对患者治疗与方案的选择具有重要意义。

4、参考文献

- [1]Komrokji RS, Padron E, Ebert BL, List AF. Deletion 5q MDS: molecular and therapeutic implications. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2013 Dec;26(4):365-75. doi: 10.1016/j.beha.2013.10.013. Epub 2013 Oct 16. PMID: 24507813.
- [2] Sallman DA, Wei S, List A. PP2A: The Achilles Heal in MDS with 5q Deletion. *Front Oncol*. 2014 Sep 23;4:264. doi: 10.3389/fonc.2014.00264. PMID: 25295231; PMCID: PMC4172014.
- [3] Douet-Guilbert N, Herry A, LE Bris MJ, Guéganic N, Bovo C, Morel F, DE Braekeleer M. Interphase FISH does not improve the detection of DEL(5q) and DEL(20q) in myelodysplastic syndromes. *Anticancer Res*. 2011 Mar;31(3):1007-10. PMID: 21498729.

(二) 7q 探针

1、疾病背景介绍

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)是起源于造血干细胞的一组异质性髓系克隆性疾病,特点是髓系细胞分化及发育异常,表现为无效造血、难治性血细胞减少、造血功能衰竭,高风险向急性髓系白血病(AML)转化。7q 号染色体的间歇性缺失是骨髓再生综合征(MDS)中第二常见的染色体异常。缺失 7q 的 MDS 或髓系肿瘤患者其总生存期存在差异,且原始细胞比例、基因突变数量和类型与预后及治疗反应相关。

2、探针描述

7q 探针,主要是以橙色荧光分子标记 7q31 DNA 区域和绿色荧光分子标记 7 号染色体着丝粒区域为探针,使其与癌细胞核内的基因序列和着丝粒区域杂交互补,因此具有极高的特异性。如图所示

3、临床意义

整条 7 号染色体出现缺失或整条长臂 7q 出现缺失是 MDS 的复发性异常,约发生于 5-10%AML (M4 及 M6)、约 15%成人 MDS、40%儿童 MDS 及 50%与治疗相关的 AML/MDS;大部分缺失为 7q 内部 q11-22 和 q31-36 区域。预后较差。疾病发展过程中可能获得新的遗传学异常,对于疾病进展、复发、耐药的患者在开始新的治疗前用 FISH 进行检测对其治疗方案的选择具有重要意义。

4、参考文献

- [1]Hosono N. Genetic abnormalities and pathophysiology of MDS. *Int J Clin Oncol*. 2019 Aug;24(8):885-892. doi: 10.1007/s10147-019-01462-6. Epub 2019 May 15. PMID: 31093808.
- [2] Pezeshki A, Podder S, Kamel R, Corey SJ. Monosomy 7/del (7q) in inherited bone marrow failure syndromes: A systematic review. *Pediatr Blood Cancer*. 2017 Dec;64(12):10.1002/pbc.26714. doi: 10.1002/pbc.26714. Epub 2017 Jul 14. PMID: 28708320; PMCID: PMC5937691.
- [3] Hosono N. [Genetic defects of chromosome 5q and 7q in myeloid neoplasms]. *Rinsho Ketsueki*. 2019;60(7):800-809. Japanese. doi: 10.11406/rinketsu.60.800. PMID: 31391370.
- [4] Hartmann L, Haferlach C, Meggendorfer M, Kern W, Haferlach T, Stengel A. Myeloid malignancies with isolated 7q deletion can be further characterized by their accompanying molecular mutations. *Genes Chromosomes Cancer*. 2019 Oct;58(10):698-704. doi: 10.1002/gcc.22761.

Epub 2019 May 1. PMID: 30994218.

(三) 20q 探针

1、疾病背景介绍

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)是起源于造血干细胞的一组异质性髓系克隆性疾病,特点是髓系细胞分化及发育异常,表现为无效造血、难治性血细胞减少、造血功能衰竭,高风险向急性髓系白血病(AML)转化。20q 染色体缺失的 MDS 患者的预后较好,其病情经过平稳,转白血病率低,中位生存率低。

2、探针描述

7q 探针,主要是以红色荧光分子标记 20q12 DNA 区域为探针,约 352Kb,使其与骨髓间期细胞细胞核内的基因序列杂交互补,因此具有极高的特异性。如图所示

3、临床意义

对于具有治疗指征的患者根据 FISH 结果分层,选择不同的治疗方案。20q 出现缺失见于 MPD/MDS (4%) /AML (1%) 等疾病中,预后较好,其中 20q12 微小区域缺失见于 MPD 和 MDS 中。因此,染色体核型分析对于 MDS 的诊断和预后判断具有重要意义。

4、参考文献

- [1] Braun T, de Botton S, Taksin AL, Park S, Beyne-Rauzy O, Coiteux V, Sapena R, Lazareth A, Leroux G, Guenda K, Cassinat B, Fontenay M, Vey N, Guerci A, Dreyfus F, Bordessoule D, Stamatoullas A, Castaigne S, Terré C, Eclache V, Fenaux P, Adès L. Characteristics and outcome of myelodysplastic syndromes (MDS) with isolated 20q deletion: a report on 62 cases. *Leuk Res.* 2011 Jul;35(7):863-7. doi: 10.1016/j.leukres.2011.02.008. Epub 2011 Mar 10. PMID: 21396711.
- [2] Mallo M, Luño E, Sanzo C, Cervera J, Haase D, Schanz J, García-Manero G, del Cañizo C, Sanz GF, Solé F. Clinical impact of the clone size in MDS cases with monosomy 7 or 7q deletion, trisomy 8, 20q deletion and loss of Y chromosome. *Leuk Res.* 2011 Jun;35(6):834-6. doi: 10.1016/j.leukres.2011.01.003. Epub 2011 Jan 26. PMID: 21269692.
- [3] Makishima H, Rataul M, Gondek LP, Huh J, Cook JR, Theil KS, Sekeres MA, Kuczkowski E, O'Keefe C, Maciejewski JP. FISH and SNP-A karyotyping in myelodysplastic syndromes: improving cytogenetic detection of del(5q), monosomy 7, del(7q), trisomy 8 and del(20q). *Leuk Res.* 2010

Apr;34(4):447-53. doi: 10.1016/j.leukres.2009.08.023. Epub 2009 Sep 15. PMID: 19758696; PMCID: PMC2826525.

[4] Liu YC, Ito Y, Hsiao HH, Sashida G, Kodama A, Ohyashiki JH, Ohyashiki K. Risk factor analysis in myelodysplastic syndrome patients with del(20q): prognosis revisited. *Cancer Genet Cytogenet.* 2006 Nov;171(1):9-16. doi: 10.1016/j.cancergencyto.2006.06.003. PMID: 17074585.

(四) XY 染色体计数探针

1、疾病背景介绍

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)是起源于造血干细胞的一组异质性髓系克隆性疾病,特点是髓系细胞分化及发育异常,表现为无效造血、难治性血细胞减少、造血功能衰竭,高风险向急性髓系白血病(AML)转化。染色体异常克隆是MDS的特点之一,常累及XY染色体。而XY染色体计数探针(CSPX、CSPY)用于检测XY染色体是否有异常

2、探针描述

XY染色体计数探针,主要以橙色荧光分子标记X染色体Xp11.1-q11.1区域和绿色荧光分子标记Y染色体Yq12为探针。由于CSPX、CSPY主要采用 α 卫星序列,因此具有极高的特异性,不会与其他染色体区域杂交产生杂点。如图所示

3、临床意义

XY染色体计数探针能够与位于着丝粒区域高度重复的 α 卫星序列结合,用于检测染色体的数目异常。该探针的检测结果可用于性染色体错配的骨髓移植效果监测和血液病骨髓移植如CML/AML/MPD/CLL/MDS或其他未确定的疾病如真性红细胞增多症、淋巴增生性障碍等。

4、参考文献

[1]Zhang LJ, Shin ES, Yu ZX, Li SB. Molecular genetic evidence of Y chromosome loss in male patients with hematological disorders. *Chin Med J (Engl).* 2007 Nov 20;120(22):2002-5. PMID: 18067786.

[2]Ganster C, Kämpfe D, Jung K, Bräulke F, Shirneshan K, Machherndl-Spandl S, Suessner S, Bramlage CP, Legler TJ, Koziolok MJ, Haase D, Schanz J. New data shed light on Y-loss-related pathogenesis in myelodysplastic syndromes. *Genes Chromosomes Cancer.* 2015 Dec;54(12):717-24. doi: 10.1002/gcc.22282. Epub 2015 Sep 23. PMID: 26394808.

[3] Ouseph MM, Hasserjian RP, Dal Cin P, Lovitch SB, Steensma DP, Nardi

V, Weinberg OK. Genomic alterations in patients with somatic loss of the Y chromosome as the sole cytogenetic finding in bone marrow cells. *Haematologica*. 2021 Feb 1;106(2):555-564. doi: 10.3324/haematol.2019.240689. PMID: 32193254; PMCID: PMC7849577.

三、病原检测

(一) EBV 基因扩增探针

1、疾病背景介绍

爱泼斯坦-巴尔病毒 (EBV) 是一种被包裹的双链病毒,属于赫佩斯病毒家族,具有已证明的 B 细胞淋巴和非病毒特性。EBV 基因组编码了一系列与各种抗凋亡分子、信号传感器和细胞因子相互作用的产品,从而促进 EBV 感染、不朽和转化。全世界近 90%的人类都受到 EBV 或终身潜在感染。EBV 感染与几种淋巴恶性肿瘤有关,包括体外 NK/T 细胞淋巴瘤 (ENKTCL)、伯基特淋巴瘤 (BL)、霍奇金淋巴瘤 (HL) 和血管免疫细胞 T 细胞淋巴瘤 (AITL)、鼻咽癌、胃癌等多种肿瘤,单核细胞增多症及自身免疫性疾病密切相关。

2、探针描述

将所有的 EBV 基因全部进行杂交,探针带有 biotin 修饰,最终用 DAB 显色。

3、临床意义

患 EBV 相关淋巴瘤的发病率较低,受种族、地理、族群、免疫力和感染因素的影响。在免疫能力宿主中,病毒潜伏在外周血液的 B 细胞中,与疾病无关。然而,在免疫功能障碍患者中,对病毒的免疫监测经常受到损害,更多的 B 细胞感染了 EBV,该病毒可导致淋巴增殖性疾病。大约 1%-20%的移植接受者在移植后的第一年可以发展成移植后淋巴促进性疾病 (PTLD),其中约 90%的病例为 EBV 阳性。与一般人群相比,艾滋病患者患淋巴瘤的风险增加了 60 倍,在艾滋病毒感染后期发生的几乎所有霍奇金和非霍奇金淋巴瘤都是 EBV 阳性。目前对 EBV 感染尚缺乏疗效肯定的抗病毒药物。阿昔洛韦用药期间,能减少 EBV 从咽部排毒,但不能改善传染性单核细胞增多症的症状,对免疫缺陷患者中的 EBV 淋巴瘤治疗也无效。

4、参考文献

- [1] Zhou Y, Xu Z, Lin W, Duan Y, Lu C, Liu W, Su W, Yan Y, Liu H, Liu L, Zhong M, Zhou J, Zhu H. Comprehensive Genomic Profiling of EBV-Positive Diffuse Large B-cell Lymphoma and the Expression and Clinicopathological Correlations of Some Related Genes. *Front Oncol.* 2019 Jul 25;9:683. doi: 10.3389/fonc.2019.00683. PMID: 31403034; PMCID: PMC6669985.
- [2] Zamkoff KW, Bergman S, Beaty MW, Buss DH, Pettenati MJ, Hurd DD. Fatal

EBV-related post-transplant lymphoproliferative disorder (LPD) after matched related donor nonmyeloablative peripheral blood progenitor cell transplant. *Bone Marrow Transplant*. 2003 Feb;31(3):219-22. doi: 10.1038/sj.bmt.1703838. PMID: 12621485.

[3] Stacey M, Bennett MS, Hulten M. FISH analysis on spontaneously arising micronuclei in the ICF syndrome. *J Med Genet*. 1995 Jul;32(7):502-8. doi: 10.1136/jmg.32.7.502. PMID: 7562960; PMCID: PMC1050540.

[4] Stacey M, Bennett MS, Hulten M. FISH analysis on spontaneously arising micronuclei in the ICF syndrome. *J Med Genet*. 1995 Jul;32(7):502-8. doi: 10.1136/jmg.32.7.502. PMID: 7562960; PMCID: PMC1050540.

[5] Oh ST, Kim M, Lee SK. Maintenance of the viral episome is essential for the cell survival of an Epstein-Barr virus positive gastric carcinoma cell line. *Arch Pharm Res*. 2009 May;32(5):729-36. doi: 10.1007/s12272-009-1512-7. Epub 2009 May 27. PMID: 19471888.

四、产前诊断

产前染色体数目检测说明书（荧光原位杂交，FISH）

（一）产品介绍

1、产品名称

通用名称：产前染色体数目检测试剂盒

英语名称：FISH kit for the detection of chromosome numbers in prenatal diagnosis

2、包装规格

3、产前检测对象

孕妇有以下情况者，可考虑采用本试剂盒用于产前检测：

- （1）高龄产妇及在早孕期反复自然流产
- （2）存在即往出生缺陷病史、家族分子遗传病史及神经管缺陷家族史
- （3）妊娠合并 1 型糖尿病、高血压、癫痫、哮喘
- （4）曾暴露于药物、病毒、环境危害等不良环境中的妊娠产妇
- （5）父母存在近亲的情况
- （6）怀孕 3 个月后超声波检查发现胎儿严重异常
- （7）孕妇年龄、血清学筛查或超声波检查发现其属于常染色体三体高危人群

4、适检孕期

可以在妊娠 16 周左右进行羊膜穿刺术，也可以在妊娠 9-11 周时进行绒毛膜绒毛取样检测。通过检测羊水细胞中 13 号、18 号、21 号、X 及 Y 染色体数目的异常，为产前染色体遗传性疾病的诊断提供依据。

5、检测疾病简介

21 号染色体三体（Down 综合症）、18 号染色体三体（Edward 综合症）、13 号染色体三体（Patau 综合症）、X0（Turner 综合症）、XXY（Klinefelter 综合症）、XXX 及 XYY 等 7 种遗传性疾病，主要是由于人类 21 号、18 号、13 号、X 及 Y 染色体数目异常而导致。而本产品主要用于检测羊水细胞中 21 号、18 号、13 号、X 及 Y 染色体的数目的异常变化所引起的疾病，主要如下：

（1）21 号染色体三体（Down 综合症）

21 三体或唐氏综合症（Down syndrome (DS)），是由一条额外的染色体产生的，这条额外的染色体随后被标记为 21 号，因此在临床发生这种情况被称为

21 三体。这是一种常见的染色体缺陷病，是最常见、最容易辨认的一种智力缺陷，大约每 700 名新生儿中就有一人患有这种缺陷，俗称先天愚型。唐氏综合症发生率与母亲怀孕年龄有相关，母龄高，卵子老化是发生不分离的重要原因；21 号染色体的异常主要有三体、易位及嵌合 3 种类型。从 21q21 -21q22.3 的这个区域被称为唐氏综合症关键区域 (DCR)。

(2) 18 号染色体三体 (Edward 综合症)

18 三体综合症，爱德华氏综合征 (Edward syndrome)，是由于个体多一条 18 号染色体引起。主要发生于新生婴儿，其发生率为 1/6000 至 1/8000。患者临床表现出重度智力低下，发育迟缓，新生儿期肌张力增强，以及多器官畸形，90% 有心脏畸形，以室间隔缺损最常见，其他有房间隔缺损、动脉导管未闭等。18 三体综合症发生的主要机理是生殖细胞减数分裂过程中 18 号染色体不分离，超过 90% 起源于母方，且不分离大多发生在卵子减数分裂 II 期，与孕妇年龄有关。发生这种疾病的婴儿寿命一般很短，只有 5-10% 的婴儿活过了一岁。

(3) 13 号染色体三体 (Patau 综合症)

13 三体综合症，又叫帕托综合症 (Patau syndrome)，是一种较为常见的染色体畸变疾病。在新生儿中的发病率占 1/25000，并与一种特殊的畸形和严重的神经发育障碍的分布有关。大多数在分娩后即可死亡，只有 6-12% 患 Patau 综合症的婴儿能活过一岁，其中枢性呼吸暂停是造成寿命短的主要原因。大多数患儿以小颅、头皮缺损、小眼球、腭裂等多发畸形为特征；并有严重的脑发育异常、先天性心脏病、唇腭裂、腹壁发育有畸形等，其残疾程度超过 Down 综合症。大约 90% 的 13 三体是由于母体减数分裂 I 期的不分离造成的，其次就是母亲年龄偏大，卵子老化等原因引起。

(4) XO (Turner 综合症)

Turner 综合症 (Turner syndrome) 也称为先天性卵巢发育不全综合症，是最为常见的人类染色体异常疾病之一。由于全部或者部分体细胞中缺乏一条 X 染色体所致，此病主要见于女孩。Turner 综合症患者核型复杂多样，根据染色体核型分析可分为 4 类：45, X 单体，嵌合体，X 染色体结构异常，含有 Y 染色体或来源于 Y 染色体的片段；80% 患者的染色体核型分析显示为 45, X 单体。该病是唯一出生后能存活的完全单体病人，其发病率为 1/2000-1/2500 活产女婴。该病的临床特征主要表现为身材矮小、生长落后，性发育不良、原发性闭经，特殊的

躯体特征如颈蹼、肘外翻等。

(5) XXY (Klinefelter 综合症)

Klinefelter 综合症 (Klinefelter Syndrome) 又称先天性睾丸发育不全, 是较常见的一种性染色体畸变的遗传病, 是男性不育症最常见的遗传学病因之一。该病主要是由于卵子或者精子在减数分裂时不分离或受精卵在有丝分裂时不分离, 从而导致胎儿多出一条 X 染色体。在男性新生儿中发病率约为 1/1000, 常见的染色体核型为: 47, XXY, 嵌合型为: 46, XY/47, XXY。本病特点表现为睾丸小而坚实、男性乳房发育、第二性特征发育不全、无精子及尿中血促性腺激素增高等。

(6) XXX

XXX 综合症也称为“X3 综合症”或“超雌综合症”, 为女性最常见的 X 染色体异常疾病。该病的发生率为 1/1000-1/2000, 主要因为母亲的生殖细胞在第二次分裂减数后期, 性染色体着丝点未分开, 导致产生基因型为 XX 的卵细胞, 与父亲产生的正常基因型为 X 的精子结合, 产生基因型为 XXX 的合子; 或父亲的生殖细胞在第二次分裂减数后期, 性染色体着丝点未分开, 导致产生基因型为 XX 的精子, 与母亲产生的正常基因型为 X 的卵细胞结合, 产生基因型为 XXX 的合子。其临床特征表现为轻度到中度的智力障碍、眼距宽、面部发育不全、语言发育迟滞等, 且多数患者表现为生育能力低下或无生育能力。

(7) XYY

XYY 综合症 (XYY syndrome) 又名 YY 综合征或超雄综合症, 它是一种性染色体异常综合症, 该病在新生男婴中的发病率为 1/750-1/15000。主要是因为父亲的生殖细胞减数分裂时, 染色体不分裂使精子有两条 Y 染色体; 同时该精子和卵子结合, 使受精卵存在两条 Y 染色体所致。其临床特征表现为身材高大、肌张力低、动作不协调、面部不对称; 个性残暴、易激惹、经受不住挫折, 当处境不利时易于发生社会适应不良或伴发精神障碍

6、检验原理

荧光原位杂交 (Fluorescence in situ hybridization, FISH) 是近年来在分子细胞遗传学领域发展起来的一种方法, 它可以快速检测胎儿染色体异常增加或者缺失。FISH 技术是利用荧光标记的特异性寡核苷酸片段作为探针, 与染色体、细胞或组织中的核酸按照碱基互补配对原则进行杂交, 通过荧光系统检测, 对待

测 DNA 进行定性或相对定位分析。根据目前临床医学的研究，染色体异常的活婴 95%是由于 21 号、18 号、13 号、X、Y 染色体非整倍体数目异常造成。本实验主要利用着丝粒特异性探针的 FISH 快速检测羊膜穿刺术后的非整倍体。通过穿刺搜集的羊水细胞，经过一系列预处理实验后，即进行荧光原位杂交试验，再利用荧光显微镜观察检测结果并分析即可。研究结果表明，FISH 检测这些染色体疾病的灵敏度及特异性均在 99% 以上。

7、临床意义

通过产前诊断可以从孕妇中发现怀有某些先天缺陷儿的高危孕妇，以便进一步明确诊断，对可治性疾病，选择适当时机进行宫内治疗；对于不可治疗性疾病，能够做到知情选择。而 FISH 在羊膜穿刺术后 24-48 小时内，甚至几小时即可观察检测结果，这缩短了采样和诊断之间的时间间隔；因此对紧急高危妊娠的产前诊断具有重要价值。这项技术的检测速度和可靠性大大缩短了临床医生和产妇的等待时间。

8、主要组成成分

探针名称	标记位置	荧光基团
LSI21	经典卫星 DNA 探针检测位点定位于 21q22.13-q22.2	橙红色荧光
CEP18	D18Z1 α 卫星 DNA 探针, 定位于 18p11.1-q11.1	浅绿色荧光
LSI13	经典 DNA 探针定位于视网膜母细胞瘤基因的 13q14	绿色荧光
CEPX	DXZ1 α 卫星 DNA 探针定位于 Xp11.1-q11.1	绿色荧光
CEPY	DYZ3 α 卫星 DNA 探针定位于 Yp11.1-q11.1	橙红色荧光

探针光谱数据

探针	Excitation		Emission	
	Peak	FWHM	Peak	FWHM
SpectrumOrange	559	38	588	48
SpectrumGreen	497	30	524	56

SpectrumAqua	433	53	480	55
DAPI	367	61	452	92

9、储存条件及有效期

(1) 储存条件： $-20^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 避光、密封储存，产品有效期为自生产之日起一年；避免反复冻融；开封后，24 小时内可在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 避光、密封储存；使用后的剩余试剂应自开封 24 小时内继续在 $-20^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 避光、密封储存；不应与有毒、有污染和有不良气味的物品混存。

(2) 生产日期：见产品标签。

(3) 产品有效期：见产品标签。

10、适用仪器

(1) 试验仪器：荧光显微镜，所需荧光显微镜的配置包括： $10\times$ 目镜， $10\times$ 、 $40\times$ 物镜和 $100\times$ 油镜。

(2) 试验染料：本试剂盒选用 Cy3-DUTP 橙红色荧光、Fluorescein-DUTP 绿色荧光、DAPI 蓝色荧光进行标记，建议顾客使用探针前向滤片组供应商了解所使用的滤片组的详细情况，以便选择与标记荧光染料相适应的滤片组。

11、样本要求

(1) 需要新鲜采集的样本 5-10ml 且未经培养的羊水用于 FISH 实验玻片制作。

(2) 避免样本污染：用于检测的羊水样本应避免母体血细胞污染，以防止由此可能产生的假阳性或假阴性检测结果；具体措施为：将收集的羊水样本离心沉淀后，血细胞层不能超过整个细胞沉淀层的一半，否则该样本应丢弃。

(3) 收集的羊水样本应迅速、及时地处理，不要过夜。

(4) 样本要避免温度过高和过低，可短时间存放于 4°C 冰箱，不能冻存。

(二) 检验方法

所需试剂及配制

1、 $20\times\text{SSC}$, pH5.3

可向公司购买使用，也可自行配置，配方如下

1) $20\times\text{SSC}$ ：氯化钠 88g、柠檬酸钠 44g、去离子水 400ml，三者混匀充分溶解，

室温下 12M HCl 调节 pH 值至 5.3，用去离子水定容至 500ml，高压灭菌。

2) 2×SSC: 体系 50ml, 20×SSC (pH5.3) 10ml、去离子水 40ml, 混匀后调节 PH 至 7.0±0.2

注意: 使用期间 2-8℃ 储存。保存期不要超过 6 个月, 若试剂出现混浊或污染应丢弃。

2、甲醇/冰乙酸固定液 (3:1): 现配现用

体系 4ml: 甲醇原液 3ml、冰乙酸原液 1ml, 混匀, 静置备用。注意: 甲醇易燃, 其蒸气与空气可形成爆炸性混合物; 冰乙酸属低毒类, 有刺激性气味, 因此在配制固定液时需通风橱中进行。

3、乙醇溶液配置 (70%乙醇、85%乙醇、100%乙醇)

将 700ml、850ml 无水乙醇用去离子水分别稀释至 1L, 使用期间 2-8℃ 储存。注意: 试剂配制 1 个月或试剂出现混浊或污染应丢弃。

4、胶原酶 B (0.005g / 5ml Hank's BSS)

称取胶原酶 B (SIGMA C6885) 5mg, 用 5ml Hank's BSS 液溶解, 37℃ 搅拌溶解 1 小时, 4℃ 过夜, 滤过消毒, -20℃ 分装储存

5、洗涤液配方: 体系为 500ml

1) 0.3%NP40/0.4xSSC: 10ml 20XSSC、490ml ddH₂O、1.5 ml NP40, 混匀后调节 PH 至 7.5, 4℃ 保持。该试剂用于杂交后第一次洗脱, 需 72℃ 预热。

2) 0.1%NP40/2xSSC: 50ml 20XSSC、450ml ddH₂O、0.5 ml NP40, 混匀后调节 PH 至 7.5, 4℃ 保存。该试剂用于第二次洗脱, 室温即可。

6、KCl 低渗溶液 (0.075 M KCl)

KCl 2.795g, 去离子水 300ml

7、100µg/ml 的 RNase A

1) 配制 RNase A 储存溶液 (1 mg/ml): 溶解 0.001gRNase A 于 1ml 2×SSC (pH 7.0) 中, 煮沸 10min, 冷却至室温, -20℃ 分装储存。

2) 配制 RNase A 工作溶液 (100µg/ml): 取 100µl RNase A 储存溶液 (1mg/ml) 于 900µl 2×SSC (pH 7.0) 中, 混匀, -20℃ 分装储存

8、HCl 的配制

1) 1MHCL: 浓 HCl 8.2ml, 去离子水 80ml, 用去离子水定容至 100ml, 室温储

存。

2) 0.1M HCl: 取 5ml 1M HCl, 加去离子水定容至 50ml

3) 0.01M HCl: 取 0.4ml 1M HCl, 加去离子水定容至 40ml。

注意: 试剂配制 1 个月应后应丢弃, 若试剂出现混浊或污染应丢弃。

9、20mg/ml 的胃蛋白酶储存溶液

溶解 20mg 胃蛋白酶 (Sigma, P7000) 于 1ml 无菌水中, 煮沸 15 min, 冷却至室温, -20℃分装储存

10、杂交液制备

1ul 探针 DNA, 0.5ul cot1DNA, 0.5ul 鱼精 DNA, 1ul 20xSSC, 5ul 甲酰胺, 2ul 葡聚糖 (40%), 混匀备用。

样本预处理程序

1、5-10ml 羊水在 1200rpm 下离心 10 min 后, 去上清。用 1.5-5ml 胶原酶 B (0.005g/5ml Hank's BSS) 重新吹打悬浮细胞。

2、置 37℃水浴箱中 20 min。

3、1000rpm 离心 10 min, 去上清, 加 2-5ml KCl 低渗溶液 (KCl 低渗溶液使用前在 37℃水浴中预热 30 min) 重新吹打悬浮细胞, 置 37℃水浴箱中孵育 20min。

4、缓慢加 2 ml 固定液 (甲醇 : 冰乙酸 3:1) 于试管中, 混匀。

5、1000rpm 离心 10 min, 去上清, 轻轻吹打悬浮细胞, 室温下缓慢加入 5ml 固定液 (甲醇 : 冰乙酸 3:1) 固定 10 min。

6、1000rpm 离心 10 min, 去上清, 轻轻吹打悬浮细胞, 室温下缓慢加入 5ml 固定液 (甲醇 : 冰乙酸 3:1) 固定 10min。

滴片及预处理程序

1、将收集到的细胞, 1000rpm 离心 10 min, 弃上清至原体积的 1/50 或 1/100 体积 (例如: 原羊水体积为 2ml, 管内剩余固定液体积为 40-50μl)。

2、滴片时重新吹打悬浮细胞, 滴片应紧靠玻片滴加。(根据自己实验选择滴片的数量)

3、放置于 56℃烘箱中老化玻片 20min 或室温下过夜老化玻片。(注: 该玻片可在常温下保存 2 周, 或在 -20℃密封保存一个月)。

4、将玻片置于 2×SSC (pH 7.0) 溶液中, 65℃煮片 30min。(注: 2×SSC 使用前需预热至 60℃)

5、将玻片依次置于-20℃预冷的 70%乙醇、85%乙醇中, 100%乙醇各 2 min 脱水。自然干燥玻片, 也可以用 dd 水稍稍冲洗一次。

6、按照 FISH 操作步骤进行 FISH 实验。

FISH 操作步骤

FISH 程序可分为主要几个步骤: 变性、杂交、氧化后洗涤和结果分析及评价。

1、玻片晾干后, 加入提前配好的杂交液(取 3μl 预混的杂交液中添加 Cy3-DUTP 红色染料和 Fluorescein-DUTP 绿色染料各 0.5μl 混匀及相对的引物各 0.5μl); 杂交液可加在盖玻片(5nm×5nm)上每个玻片加 4-5μl 即可, 随后将盖玻片覆盖在滴片处。

注: 杂交液里面的 Cy3-DUTP 和 Fluorescein-DUTP 染料需要在暗室或者避光操作,

2、利用封片胶进行封片(尽量全封), 置于 82℃变性 10min。

3、将玻片置于湿盒中, 37℃杂交 2-3h 或者杂交过夜。

4、杂交结束后, 去掉封片胶和玻片, 使用预热的 0.3%NP40/0.4xSSC, 72℃浸泡 4min。

5、接着利用 0.1%NP40/2xSSC, 室温浸泡 4min; 用 dd 水冲洗玻片。

6、DAPI 染色 1min, 用 100%乙醇洗涤玻片, 晾干后用 50%甘油封片观察。

7、FISH 检测结果分析

FISH 结果观察

1、判断标准:

- 1) 随机计数细胞(至少计数 50 个细胞):
- 2) 若 90%以上的细胞显示正常信号类型则提示为正常样本;
- 3) 若 60%以上细胞出现异常信号类型则提示为异常样本;
- 4) 若无法判断则扩大计数至 100 个细胞, 以判断最后结果。

2、常见异常类型: 染色体三体。

- 1) 正常细胞: 单个间期细胞核中红色及绿色信号各 2 个。
- 2) 异常细胞:

单个间期细胞核中红色信号为 3, 绿色信号为 2, 表示 21 号染色体三体;

绿色信号为 3，红色信号为 2，表示 13 号染色体三体；

红色信号为 3，绿色信号为 3，表示 21 号及 13 号染色体同时三体。

探针组合 2：CSP 18 / CSP X / CSP Y 标记颜色：天蓝/绿/红

3、常见异常类型：18 号染色体三体，X 或 Y 染色体非整倍体。

1) 正常细胞：

男性单个间期细胞核中天蓝色信号 2 个，红色信号与绿信号各 1 个；

女性单个间期细胞核中天蓝色信号 2 个，绿信号 2 个。

2) 异常细胞：

	蓝色信号	绿色信号	红色信号	异常类型
男性	3	1	1	18 号三体
	2	2	1	XXY
	2	1	2	XYY
女性	3	2	0	18 号三体
	2	1	0	XO
	2	3	0	XXX

4、阳性判断值

1) 探针组合 1：GLP 13 / GLP 21 ，正常单个间期细胞核中红色及绿色信号各 2 个。

2) 探针组合 2：CSP 18 / CSP X / CSP Y，男性正常单个间期细胞核中天蓝色信号 2 个，红色信号与绿色信号各 1 个；女性正常单个间期细胞核中天蓝色信号 2 个，绿信号 2 个。

(三) 检验标准及注意事项

产品性能指标

1、外观

GLP 13 / GLP 21 探针溶液应为澄清、透明的粉色液体，CSP18 / CSPX / CSPY 探针溶液应为澄清、透明的浅粉色液体；杂交缓冲液应为澄清、透明的粘稠状液体。

2、荧光原位杂交探针荧光信号强度

荧光原位杂交探针在外周血淋巴细胞或羊水细胞中均应发出在镜下可被肉眼识别的信号。

3、荧光原位杂交探针质量判断（在外周血淋巴细胞中期分裂相染色体上进行）

荧光原位杂交探针敏感性

1) GLP 13 / GLP 21 荧光原位杂交探针敏感性

分析 50 个中期分裂相中 100 条 13 号染色体，应至少有 98 条（98%）显示一个绿色荧光信号（DLEU 2 位点）；分析 50 个中期分裂相中 100 条 21 号染色体，应至少有 98 条（98%）显示一个红色荧光信号（DSCR2 位点）。

2) CSP18 / CSPX / CSPY 荧光原位杂交探针敏感性

分析 50 个中期分裂相中 100 条 18 号染色体，应至少有 98 条（98%）显示一个蓝色荧光信号（着丝粒位点）；分析正常男性 50 个中期分裂相中 100 条性染色体，应至少有 49 条（98%）显示一个绿色荧光信号（X 染色体着丝粒位点），且应至少有 49 条（98%）显示一个红色荧光信号（Y 染色体着丝粒位点）。

4、荧光原位杂交探针特异性

1) GLP 13 / GLP 21 荧光原位杂交探针特异性

分析 50 个中期分裂相中 100 条 13 号染色体，应至少有 98 条（98%）杂交到 13 号染色体的 DLEU 2 位点；分析 50 个中期分裂相中 100 条 21 号染色体，应至少有 98 条（98%）杂交到 21 号染色体的 DSCR 2 位点。

2) CSP18 / CSPX / CSPY 荧光原位杂交探针特异性

分析 50 个中期分裂相中 100 条 18 号染色体，应至少有 98 条（98%）杂交到 18 号染色体的着丝粒位点；分析正常男性 50 个中期分裂相中 100 条性染色体，应至少有 49 条（98%）杂交到 X 染色体的着丝粒位点，且至少有 49 条（98%）杂交到 Y 染色体的着丝粒位点。

5、荧光原位杂交探针对羊水细胞检测有效性判断

1) GLP 13 / GLP 21 荧光原位杂交探针检测正常人羊水细胞有效性判断

分析 4 例正常人羊水细胞，与 GLP 13 / GLP 21 荧光原位杂交探针杂交后，显示 2 个 DLEU 2 位点信号及 2 个 DSCR2 位点信号的细胞数应不低于 90%。

2) CSP18 / CSPX / CSPY 荧光原位杂交探针检测正常人羊水细胞有效性判断

分析 4 例正常人羊水细胞，与 CSP18 / CSPX / CSPY 荧光原位杂交探针杂交后，显示 2 个 18 号染色体、2 个 X 染色体（女性）或 1 个 X 染色体、1 个 Y 染色体（男性）着丝粒信号的细胞数应不低于 90%。

6、荧光原位杂交探针检测患者羊水细胞有效性判断

1) GLP 13/GLP 21 荧光原位杂交探针检测 13 号染色体三体或 21 号染色体三体患者羊水细胞有效性判断至少分析 2 例 13 号染色体三体患者羊水细胞，显示 3 个 DLEU2 位点信号的细胞数应不低于 60%；至少分析 2 例 21 号染色体三体患者羊水细胞，显示 3 个 DSCR2 位点信号的细胞数应不低于 60%。

2) CSP18/CSPX/CSPY 荧光原位杂交探针检测 18 号染色体三体或性染色体数目异常患者羊水细胞有效性判断至少分析 2 例 18 号染色体三体患者羊水细胞，显示 3 个着丝粒信号的细胞数应不低于 60%；至少分析 2 例 X 染色体异常患者羊水细胞，显示异常（女性：47，XXX 或 45，X0，男性：47，XXY）的细胞数应不低于 60%；至少分析 2 例 Y 染色体异常患者羊水细胞，显示异常（47，XYY）的细胞数应不低于 60%。

7、稳定性

试剂盒 37℃放置 7 天或在有效期末，不影响产品的性能指标。

注意事项

- 1、将羊水收集在不含 EDTA 的培养基中，因为 EDTA 是一种螯合剂，可以去除胶原蛋白酶活性所需的钙离子。
- 2、在剥离绒毛膜绒毛的过程中，使用专用的溶剂或 1×PBS，以防止组织粘连导致细胞丢失。
- 3、预先处理过的载玻片可立即杂交或在室温下保存 3 周。如果需要长期存储，则需置于-20℃可放置几个月。
- 4、在清洗过程中，重要的是要防止样品表面干燥，否则会出现背景问题
- 5、杂交过程中，尽量佩戴无粉手套，以防止污染样片，出现背景杂点
- 6、杂交所用的试剂尽量现配现用
- 7、结果分析注意事项：计数细胞必须是各通道信号均清晰可辨的细胞；杂交不均匀的区域和细胞核轮廓不清或有重叠及背景深导致影响信号判断的区域的不需要分析。

问题	原因	解决方案
背	标本制作前玻片清洗不够干净	将玻片浸入无水乙醇中，滴片前用无绒纸巾

景 过 强		擦干
	标本中有细胞碎片	用新鲜固定液洗细胞三遍后滴片
	烘烤导致分裂中期细胞老化 或有胞浆残留	将玻片在变性溶液中浸泡时间延长至 10 分钟
	杂交后洗涤不充分	确保洗涤液按说明书配制； 确保洗涤液 pH 值和温度正确； 移去盖玻片，重复洗涤步骤
	洗涤液使用时间太长 或不正确储存	确保含甲酰胺洗涤液 2-8℃ 储存，配制 7 天后或者经常使用的洗涤液应丢弃； 其它洗涤液则 3-7 天后全部丢弃； 确保含甲酰胺的洗涤液 pH 值达到 7.0-8.0
	滤片组使用不当	更换适当的滤片组观察以减弱背景光
无 信 号 或 信 号 微 弱	标本变性不充分	确保玻片浸入前考普林瓶中变性液温度在 $73 \pm 1^\circ\text{C}$ ；将变性液温度升至 74°C ；将玻片在变性液中的浸泡时间延长 2-4 分钟
	变性前标本未制备好	请参照前述标本制备相关问题解答
	未添加探针	制备新的探针混合液，使探针充分解冻，震荡或吹打混合试剂，短暂离心
	探针、杂交缓冲液或者探针 混合物使用前没有充分混合	震荡或吹打混合试剂，短暂离心
	探针稀释不正确	按照产品说明中所规定的容积稀释以保证 探针混合物的比例正确；确保移液器吸取准确；使用前确保杂交缓冲液解冻充分并达到室温，轻轻吹打。
	探针变性不充分	确保探针变性的水浴箱温度达到 $73 \pm 1^\circ\text{C}$ ， 变性时间达到 5 分钟。
	探针变性后没有立即滴加到 样本靶区域	探针混合物滴加至玻片前，确保玻片上乙醇溶液已经完全挥发； 将含有探针混合液的试管从 $73 \pm 1^\circ\text{C}$ 水浴箱

		中取出后立即置于 45-50℃ 的恒温装置内待用。
	标本玻片上探针混合物干燥太快	探针混合物滴加后应立即将盖玻片覆盖目标区域；进行洗涤时，一次只能移除一张玻片上的盖玻片，并且在移除下一张之前立即将玻片浸入洗涤液中。
	杂交时盖玻片下有气泡形成	放盖玻片时要覆盖探针混合物表面，轻轻挤压以便挤出气泡
	杂交条件不合适	确保遵守杂交所规定的时间和温度；橡皮胶封片时勿留缝隙；根据情况，调整杂交时间。
	洗涤液或洗涤条件不正确	确保按照产品说明书要求配制洗涤液；确保洗涤液的温度达到洗涤步骤所规定温度；确保温度计和 pH 计校正准确；玻片浸入洗涤液前移去盖玻片。
	探针或标本玻片储存不正确	确保未稀释探针-20℃ 避光保存；将未杂交玻片干燥后置于-20℃ 长期保存或者室温短期保存；将杂交后玻片置于-20℃ 避光保存，保存期不要超过 6 个月。
	复染剂使用错误，复染剂亮度太高	移去盖玻片，将玻片在 2×SSC/0.1%NP-40 溶液中室温浸泡 5 分钟。将玻片依次置于 70%、85% 和 100% 的乙醇溶液中各 1 分钟进行梯度脱水。自然干燥玻片后重新滴加复染剂
信号特异性低	探针混合物配制不当	确保探针混合物按照说明书配制
	杂交条件不当	确保杂交孵育箱温度为 42℃；确保杂交缓冲液体积正确。
	洗涤温度过低	考普林瓶中一次最多洗涤 4 张玻片。确保洗涤另外一组玻片时溶液温度达到所要求的温度。

	洗液洗涤强度过低	<p>确保洗液按照说明书配制。</p> <p>注意:SSC 浓度较低,甲酰胺、NP-40 浓度较高有利于提高洗液洗涤强度。</p>
复染过强或过弱	复染过弱	<p>移去盖玻片, 室温下将玻片置于 2×SSC/0.1%NP-40 洗液中浸泡 5 分钟。将玻片依次置于 70%、85%和 100%的乙醇溶液中各 1 分钟进行梯度脱水后再复染。</p>
	复染剂浓度错误	<p>自然干燥玻片后重新复染; 若复染过强, 加入抗淬灭剂稀释复染剂后使用</p>
	复染剂陈旧或过度光照	<p>确保复染剂-20℃避光保存; 确保复染剂未失效。</p>

- [1] Kemeny S, Tatout C, Salaun G, et al. Spatial organization of chromosome territories in the interphase nucleus of trisomy 21 cells[J]. *Chromosoma*, 2018, 127(2): 247–259.
- [2] Liehr T, Starke H, Beensen V, et al. Translocation trisomy dup(21q) and free trisomy 21 can be distinguished by interphase-FISH. [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 1999, 3(1):11–14.
- [3] Amiel A, Fejgin M, Appelman Z, et al. Fluorescent in-situ hybridization (FISH) as an aid to marker chromosome identification in prenatal diagnosis[J]. *European Journal of Obstetrics & Gynecology & Reproductive Biology*, 1995, 59(1):103–107.
- [4] Ho S S, Choolani M A. FlashFISH: "same day" prenatal diagnosis of common chromosomal aneuploidies[J]. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 2010, 659:261.
- [5] Moatter T, Khilji Z, Murad F, et al. Analysis of amniotic fluid specimens for common chromosome disorders using interphase fluorescence in situ hybridization[J]. *Journal of the Pakistan Medical Association*, 2007, 57(4):189–192.
- [6] Estabrooks L L, Hanna J S, Lamb A N. Overwhelming maternal cell contamination in amniotic fluid samples from patients with oligohydramnios can lead to false prenatal interphase FISH results[J]. *Prenatal Diagnosis*, 1999, 19.
- [7] Thilaganathan B, Sairam S, Ballard T, et al. Effectiveness of prenatal chromosomal analysis using multicolour fluorescent in situ hybridisation[J]. *bjog an international journal of obstetrics & gynaecology*, 2000, 107(2):262–266.
- [8] Evans M I, Henry G P, Miller W A, et al. International, collaborative assessment of 146 000 prenatal karyotypes: expected limitations if only chromosome-specific probes and fluorescent in-situ hybridization are used[J]. *Human Reproduction*(5):5.
- [9] Wald N J. Prenatal reflex DNA screening for trisomy 21, 18 and 13[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2018, 18(5): 399–401.
- [10] Caine A, Maltby A E, Parkin C A, et al. Prenatal detection of Down's syndrome by rapid aneuploidy testing for chromosomes 13, 18, and 21 by FISH or PCR without a full karyotype: a cytogenetic risk assessment[J]. *The Lancet*, 2005, 366(9480): 123–128.
- [11] Satge D, Nishi M, Sirvent N, et al. A tumor profile in Patau syndrome (trisomy 13) [J]. *Am J Med Genet A*, 2017, 173(8): 2088–2096.
- [12] Xu Z, Xu P, Fan W, et al. The effect of an alternative chromosome 17 probe on fluorescence in situ hybridization for the assessment of HER2 amplification in invasive breast cancer[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(3): 2095–2103.
- [13] Tepperberg J, Pettenati M J, Rao P N, et al. Prenatal diagnosis using interphase fluorescence in situ hybridization (FISH): 2-year

multi-center retrospective study and review of the literature[J]. *Prenat Diagn*, 2001, 21(4): 293-301.

[14] Satge D, Nishi M, Sirvent N, et al. A tumor profile in Edwards syndrome (trisomy 18) [J]. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2016, 172(3): 296-306.

[15] Weise A, Liehr T. Rapid Prenatal Aneuploidy Screening by Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1885: 129-137.

[16] Mégarbané A, Ravel A, Mircher C, et al. The 50th anniversary of the discovery of trisomy 21: The past, present, and future of research and treatment of Down syndrome[J]. *Genetics in Medicine*, 2009, 11(9): 611-616

[17] Turbiville D E, Wu H, Dong J. Detection of an Underlying 22q11.2 Duplication in a Female Neonate With Trisomy 18[J]. *Lab Med*, 2017, 48(4): 372-375.

[18] Davis A. Reflections on a Prenatal Diagnosis of Trisomy 21 Syndrome[J]. *JAMA Pediatrics*, 2017, 171(3): 216.

[19] Toutain J, Epiney M, Begorre M, et al. First-trimester prenatal diagnosis performed on pregnant women with fetal ultrasound abnormalities: the reliability of interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) on mesenchymal core for the main aneuploidies[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2010, 149(2): 143-6.

[20] García-Perez L, Linertova R, Alvarez-De-La-Rosa M, et al. Cost-effectiveness of cell-free DNA in maternal blood testing for prenatal detection of trisomy 21, 18 and 13: a systematic review[J]. *Eur J Health Econ*, 2018, 19(7): 979-991