

权 利 要 求 书

1. 一种基因标志物组合，其特征在于，所述基因标志物包括 HOXB4 和 SRCIN1。
2. 多基因的甲基化联合检测试剂在制备肺癌检测试剂或者试剂盒中的应用，其特征在于，所述基因包括 HOXB4 和 SRCIN1。
- 5 3. 一种多基因甲基化联合检测试剂/试剂盒，包括 HOXB4 和 SRCIN1 基因的甲基化检测的试剂。
4. 如权利要求 2 所述应用或权利要求 3 所述的试剂，其特征在于，所述多基因甲基化联合检测试剂，包括每个基因的甲基化检测的引物和/或探针；
可选地，包括针对每个基因的 CpG 岛获得的引物和/或探针；
可选地，包括针对每个基因的基因体、基因间区、启动子区或所述启动子区附近区域的 CpG
10 岛获得的引物和/或探针。
5. 如权利要求 2 所述应用或权利要求 3 所述的试剂，其特征在于，所述 HOXB4 基因的甲基化检测的引物中的上游引物具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项：
I、与如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO: 16 和 SEQ ID NO: 19 所示的核苷酸序列具有至少 85%
或至少 90%或至少 91%或至少 92%或至少 93%或至少 94%或至少 95%或至少 96%或至少 97%或
15 至少 98%或至少 99%，或 100%同一性的核苷酸序列；及
II、如 I 所示序列的互补序列；和/或
所述 HOXB4 基因的甲基化检测的引物中的下游引物具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项：
III、与如 SEQ ID NO:2、SEQ ID NO: 17 和 SEQ ID NO: 20 所示的核苷酸序列具有至少 85%
20 或至少 90%或至少 91%或至少 92%或至少 93%或至少 94%或至少 95%或至少 96%或至少 97%或
至少 98%或至少 99%，或 100%同一性的核苷酸序列；及
IV、如 III 所示序列的互补序列；和/或
所述 SRCIN1 基因的甲基化检测的引物中的上游引物具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项：
25 V、与如 SEQ ID NO:4 和 SEQ ID NO:22 所示的核苷酸序列具有至少 85%或至少 90%或至少
91%或至少 92%或至少 93%或至少 94%或至少 95%或至少 96%或至少 97%或至少 98%或至少 99%，
或 100%同一性的核苷酸序列；及
VI、如 V 所示序列的互补序列；和/或
所述 SRCIN1 基因的甲基化检测的引物中的下游引物具有如下所示的核苷酸序列中的任意一
30 项：
VII、与如 SEQ ID NO:5 所示的核苷酸序列具有至少 85%或至少 90%或至少 91%或至少 92%
或至少 93%或至少 94%或至少 95%或至少 96%或至少 97%或至少 98%或至少 99%，或 100%同
一性的核苷酸序列；及
VIII、如 VII 所示序列的互补序列；
35 可选的，所述 HOXB4 基因的甲基化检测的引物对如 SEQ ID NO.:1 和 SEQ ID NO.:2 所示；
可选地，所述 SRCIN1 基因的甲基化检测的引物对如 SEQ ID NO.:4 和 SEQ ID NO.:5 所示；
可选地，所述 HOXB4 基因的甲基化检测的探针具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项：
IX、与如 SEQ ID NO.:3、SEQ ID NO.:18 和 SEQ ID NO.:21 所示的核苷酸序列具有至少 85%
或至少 90%或至少 91%或至少 92%或至少 93%或至少 94%或至少 95%或至少 96%或至少 97%或
40 至少 98%或至少 99%，或 100%同一性的核苷酸序列；及

X、如 IX 所示序列的互补序列；和/或

所述 SRCIN1 基因的甲基化检测的探针具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项：

XI、与如 SEQ ID NO.:6 所示的核苷酸序列具有至少 85%或至少 90%或至少 91%或至少 92%或至少 93%或至少 94%或至少 95%或至少 96%或至少 97%或至少 98%或至少 99%，或 100%同

5 一性的核苷酸序列；及

XII、如 XI 所示序列的互补序列。

6. 根据权利要求 1 所述的基因标志物组合、或权利要求 2 所述应用或权利要求 3 所述的试剂，其特征在于：所述的肺癌选自小细胞肺癌和非小细胞肺癌；更优选地，所述的非小细胞肺癌选自鳞状细胞癌、腺癌。
- 10 7. 根据权利要求 1 所述的基因标志物组合、或权利要求 2 所述应用或权利要求 3 所述的试剂，其特征在于：所述检测试剂所针对的待测样本选自肺泡灌洗液、组织、胸水、痰液、血液、血清、血浆、尿液、前列腺液或粪便中的至少一种；
优选地，所述样品选自肺泡灌洗液、组织、痰液中的至少一种；
更优选地，所述样品选自肺泡灌洗液或痰液中的至少一种。
- 15 8. 一种肺癌的检测系统，其特征在于，所述的系统包含有以下构件：
(1) HOXB4 和 SRCIN1 基因的甲基化联合检测构件；
(2) 数据处理构件；
(3) 结果输出构件；
优选地，所述的甲基化检测构件含有甲基化检测仪器；
20 优选地，所述的甲基化检测仪器包含荧光定量 PCR 仪、PCR 仪、测序仪中的一种或多种；
优选地，所述的数据处理构件含有数据处理机器；
优选地，所述的数据处理机器包含计算器、计算机中的一种或多种；
优选地，所述的计算机包含附载有 SPSS、SAS、Excel 中一种或多种软件的计算机；
优选地，所述的结果输出构件含有结果输出器；
25 优选地，所述的结果输出器包含屏幕、纸质报告中的一种或多种；
优选地，所述的甲基化检测构件还含有如权利要求 3-5 任一所述的多基因的甲基化联合检测试剂；
优选地，所述的数据处理构件被配置于 a. 接收待测样本以及正常对照样本的测试数据；b. 储存待测样本以及正常对照样本的测试数据；c. 比对同种同种类型的待测样本以及正常对
30 照样本的测试数据；d. 根据比对结果，响应于测试者罹患肺癌的概率或者可能性；
优选地，所述的结果输出构件用于输出测试者罹患肺癌的概率或者可能性；
优选地，所述数据处理构件的判断标准为：通过结果比较待测样本与正常样本的甲基化结果，当待测样本与正常样本的甲基化具有显著差异或极显著差异时，结果判断待测样本患病风险高。
- 35 9. 如权利要求 7 所述的肺癌的检测系统，其特征在于，所述的肺癌选自小细胞肺癌和非小细胞肺癌；更优选地，所述的非小细胞肺癌选自鳞状细胞癌、腺癌。
10. 如权利要求 7 所述的肺癌的检测系统，其特征在于，所述检测系统所针对的待测样本选自肺泡灌洗液、组织、胸水、痰液、血液、血清、血浆、尿液、前列腺液或粪便中的至少一种；
优选地，所述样本选自肺泡灌洗液、组织、痰液中的至少一种；
40 更优选地，所述样本选自肺泡灌洗液或痰液中的至少一种。
11. 一种肺癌的诊断方法，所述方法包括以下步骤：

- (1) 检测来源于受试者的待测样本 HOXB4 和 SRCIN1 基因的甲基化水平；
- (2) 将待测样本与正常对照样本的 HOXB4 和 SRCIN1 基因甲基化水平比较；及
- (3) 基于待测样本与正常对照样本的甲基化水平的偏离，诊断肺癌；
- 可选地，采用甲基化特异性定量 PCR (qMSP) 检测 HOXB4 和 SRCIN1 基因的甲基化水平；
- 5 可选地，所述步骤 (1) 中，所述检测包括将受试者的待测样本与 HOXB4 和 SRCIN1 基因的甲基化水平的检测试剂接触；
- 可选地，通过结果比较待测样本与正常样本的甲基化结果，当待测样本与正常样本的甲基化具有显著差异或极显著差异时，结果判断待测样本患病风险高；
- 可选地，所述的待测样品选自肺泡灌洗液、组织、胸水、痰液、血液、血清、血浆、尿液、
- 10 前列腺液或粪便中的至少一种；
- 可选地，所述样品选自肺泡灌洗液、痰液、组织中的至少一种；
- 可选地，所述样品选自肺泡灌洗液或痰液中的至少一种；
- 可选地，所述的肺癌选自小细胞肺癌和非小细胞肺癌；
- 可选地，所述的非小细胞肺癌选自鳞状细胞癌、腺癌；
- 15 可选地，所述步骤 (1) 中用多基因甲基化联合检测试剂检测 HOXB4 和 SRCIN1 基因的甲基化水平，所述联合检测试剂包括每个基因的甲基化检测的引物和/或探针；
- 可选地，包括针对每个基因的 CpG 岛获得的引物和/或探针；
- 可选地，包括针对每个基因的基因体、基因间区、启动子区或所述启动子区附近区域的 CpG 岛获得的引物和/或探针；
- 20 可选地，所述 HOXB4 基因的甲基化检测的引物中的上游引物具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项：
- I、与如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO: 16 和 SEQ ID NO: 19 所示的核苷酸序列具有至少 85% 或至少 90% 或至少 91% 或至少 92% 或至少 93% 或至少 94% 或至少 95% 或至少 96% 或至少 97% 或至少 98% 或至少 99%，或 100% 同一性的核苷酸序列；及
- 25 II、如 I 所示序列的互补序列；和/或
- 所述 HOXB4 基因的甲基化检测的引物中的下游引物具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项：
- III、与如 SEQ ID NO:2、SEQ ID NO: 17 和 SEQ ID NO: 20 所示的核苷酸序列具有至少 85% 或至少 90% 或至少 91% 或至少 92% 或至少 93% 或至少 94% 或至少 95% 或至少 96% 或至少 97% 或至少 98% 或至少 99%，或 100% 同一性的核苷酸序列；及
- 30 IV、如 III 所示序列的互补序列；和/或
- 所述 SRCIN1 基因的甲基化检测的引物中的上游引物具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项：
- V、与如 SEQ ID NO:4 和 SEQ ID NO:22 所示的核苷酸序列具有至少 85% 或至少 90% 或至少 91% 或至少 92% 或至少 93% 或至少 94% 或至少 95% 或至少 96% 或至少 97% 或至少 98% 或至少 99%，或 100% 同一性的核苷酸序列；及
- 35 VI、如 V 所示序列的互补序列；和/或
- 所述 SRCIN1 基因的甲基化检测的引物中的下游引物具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项：
- 40 VII、与如 SEQ ID NO:5 所示的核苷酸序列具有至少 85% 或至少 90% 或至少 91% 或至少 92% 或至少 93% 或至少 94% 或至少 95% 或至少 96% 或至少 97% 或至少 98% 或至少 99%，或 100% 同

一性的核苷酸序列；及

VIII、如 VII 所示序列的互补序列；

可选的，所述 HOXB4 基因的甲基化检测的引物对如 SEQ ID NO.:1 和 SEQ ID NO.:2 所示；

可选地，所述 SRCIN1 基因的甲基化检测的引物对如 SEQ ID NO.:4 和 SEQ ID NO.:5 所示；

5 可选地，所述 HOXB4 基因的甲基化检测的探针具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项：

IX、与如 SEQ ID NO.:3、SEQ ID NO.:18 和 SEQ ID NO.:21 所示的核苷酸序列具有至少 85% 或至少 90% 或至少 91% 或至少 92% 或至少 93% 或至少 94% 或至少 95% 或至少 96% 或至少 97% 或至少 98% 或至少 99%，或 100% 同一性的核苷酸序列；及

X、如 IX 所示序列的互补序列；和/或

10 所述 SRCIN1 基因的甲基化检测的探针具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项：

XI、与如 SEQ ID NO.:6 所示的核苷酸序列具有至少 85% 或至少 90% 或至少 91% 或至少 92% 或至少 93% 或至少 94% 或至少 95% 或至少 96% 或至少 97% 或至少 98% 或至少 99%，或 100% 同一性的核苷酸序列；及

XII、如 XI 所示序列的互补序列。

15 12. 一种肺癌的治疗方法，所述方法包括以下步骤：

(1) 检测来源于受试者的待测样本 HOXB4 和 SRCIN1 基因的甲基化水平；

(2) 将待测样本与正常对照样本的 HOXB4 和 SRCIN1 基因甲基化水平比较；及

(3) 基于待测样本与正常对照样本的甲基化水平的偏离，诊断肺癌；

(4) 向被诊断为肺癌的受试者施用抗肺癌的药物；

20 可选地，采用甲基化特异性定量 PCR (qMSP) 检测 HOXB4 和 SRCIN1 基因的甲基化水平；

可选地，通过结果比较待测样本与正常样本的甲基化结果，当待测样本与正常样本的甲基化具有显著差异或极显著差异时，结果判断待测样本患病风险高；

可选地，采用甲基化特异性定量 PCR 检测基因的甲基化水平；

可选地，所述的待测样品选自肺泡灌洗液、组织、胸水、痰液、血液、血清、血浆、尿液、

25 前列腺液或粪便中的至少一种；

可选地，所述样品选自肺泡灌洗液、痰液、组织中的至少一种；

可选地，所述样品选自肺泡灌洗液或痰液中的至少一种；

可选地，所述的肺癌选自小细胞肺癌和非小细胞肺癌；

可选地，所述的非小细胞肺癌选自鳞状细胞癌、腺癌；

30 可选地，所述步骤 (1) 中用多基因甲基化联合检测试剂检测 HOXB4 和 SRCIN1 基因的甲基化水平，所述联合检测试剂包括每个基因的甲基化检测的引物和/或探针；

可选地，包括针对每个基因的 CpG 岛获得的引物和/或探针；

可选地，包括针对每个基因的基因体、基因间区、启动子区或所述启动子区附近区域的 CpG 岛获得的引物和/或探针；

35 可选地，所述 HOXB4 基因的甲基化检测的引物中的上游引物具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项：

I、与如 SEQ ID NO.:1、SEQ ID NO.: 16 和 SEQ ID NO.: 19 所示的核苷酸序列具有至少 85% 或至少 90% 或至少 91% 或至少 92% 或至少 93% 或至少 94% 或至少 95% 或至少 96% 或至少 97% 或至少 98% 或至少 99%，或 100% 同一性的核苷酸序列；及

40 II、如 I 所示序列的互补序列；和/或

所述 HOXB4 基因的甲基化检测的引物中的下游引物具有如下所示的核苷酸序列中的任意

一项；

III、与如 SEQ ID NO:2、SEQ ID NO: 17 和 SEQ ID NO: 20 所示的核苷酸序列具有至少 85% 或至少 90%或至少 91%或至少 92%或至少 93%或至少 94%或至少 95%或至少 96%或至少 97%或至少 98%或至少 99%，或 100%同一性的核苷酸序列；及

5 IV、如 III 所示序列的互补序列；和/或

所述 SRCIN1 基因的甲基化检测的引物中的上游引物具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项；

V、与如 SEQ ID NO:4 和 SEQ ID NO:22 所示的核苷酸序列具有至少 85%或至少 90%或至少 91%或至少 92%或至少 93%或至少 94%或至少 95%或至少 96%或至少 97%或至少 98%或至少 99%，
10 或 100%同一性的核苷酸序列；及

VI、如 V 所示序列的互补序列；和/或

所述 SRCIN1 基因的甲基化检测的引物中的下游引物具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项；

VII、与如 SEQ ID NO:5 所示的核苷酸序列具有至少 85%或至少 90%或至少 91%或至少 92%
15 或至少 93%或至少 94%或至少 95%或至少 96%或至少 97%或至少 98%或至少 99%，或 100%同一性的核苷酸序列；及

VIII、如 VII 所示序列的互补序列；

可选的，所述 HOXB4 基因的甲基化检测的引物对如 SEQ ID NO.:1 和 SEQ ID NO.:2 所示；

可选地，所述 SRCIN1 基因的甲基化检测的引物对如 SEQ ID NO.:4 和 SEQ ID NO.:5 所示；

20 可选地，所述 HOXB4 基因的甲基化检测的探针具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项：

IX、与如 SEQ ID NO.:3、SEQ ID NO.:18 和 SEQ ID NO.:21 所示的核苷酸序列具有至少 85% 或至少 90%或至少 91%或至少 92%或至少 93%或至少 94%或至少 95%或至少 96%或至少 97%或至少 98%或至少 99%，或 100%同一性的核苷酸序列；及

X、如 IX 所示序列的互补序列；和/或

25 所述 SRCIN1 基因的甲基化检测的探针具有如下所示的核苷酸序列中的任意一项：

XI、与如 SEQ ID NO.:6 所示的核苷酸序列具有至少 85%或至少 90%或至少 91%或至少 92% 或至少 93%或至少 94%或至少 95%或至少 96%或至少 97%或至少 98%或至少 99%，或 100%同一性的核苷酸序列；及

XII、 如 XI 所示序列的互补序列。

30