



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.06.07

(51) Int. Cl. *C12Q 1/68* (2006.01)

(21) Номер заявки
201790716

(22) Дата подачи заявки
2015.09.18

**(54) ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПАНЕЛЕЙ МУТАНТНЫХ ГЕНОВ FGFR ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ
ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ, КОТОРЫЕ БУДУТ ПОДДАВАТЬСЯ ЛЕЧЕНИЮ
ИНГИБИТОРОМ FGFR**

(31) 62/056,159

(32) 2014.09.26

(33) US

(43) 2017.10.31

(86) PCT/US2015/050996

(87) WO 2016/048833 2016.03.31

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЯНССЕН ФАРМАЦЕВТИКА НВ (BE)

(72) Изобретатель:
**Каркера Джаяпракаш, Платеро Суцо
Хесус (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) US-A1-2013296326
WO-A2-2014071419
WO-A2-2014113729
Y.-M. WU ET AL.: "Identification of Targetable
FGFR Gene Fusions in Diverse Cancers", *CANCER
DISCOVERY*, vol. 3, no. 6, 4 April 2013 (2013-04-04),
pages 636-647, XP055123926, ISSN: 2159-8274,
DOI:10.1158/2159-8290.CD-13-0050, the whole document
TRUDEL SUZANNE ET AL.: "Evaluation of
XL999, a potent inhibitor of FGFR3, for the potential
treatment of t(4;14) positive multiple myeloma", *BLOOD*,
vol. 110, no. 11, Part 1, November 2007 (2007-11), pages
741A-742A, XP055241142, & 49TH ANNUAL MEETING
OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY;
ATLANTA, GA, USA; DECEMBER 08-11, 2007, ISSN:
0006-4971, the whole document
WO-A1-2014007369
EP-A1-1659175
WO-A1-2014018841
WO-A1-2013179034
DATABASE Geneseq [Online], 7 November
2013 (2013-11-07), "FGFR3-TACC3 gene fusion
PCR primer, FGFR3-TACC3(F18T11)_qPCR_F SEQ:15",
XP002753027, retrieved from EBI accession

no.GSN:BAT14432, Database accession no. BAT14432, the
whole document

D. SINGH ET AL.: "Transforming Fusions of
FGFR and TACC Genes in Human Glioblastoma",
SCIENCE, vol. 337, no. 6099, 26 July 2012 (2012-07-26),
pages 1231-1235, XP055237736, US, ISSN: 0036-8075,
DOI:10.1126/science.1220834, the whole document
WO-A1-2014051022

BRITTANY C. PARKER ET AL.: "The
tumorigenic FGFR3-TACC3 gene fusion escapes miR-99a
regulation in glioblastoma", *JOURNAL OF CLINICAL
INVESTIGATION*, vol. 123, no. 2, 1 February 2013
(2013-02-01), pages 855-865, XP055127845, ISSN:
0021-9738, DOI: 10.1172/JCI67144 the whole document
& Brittany C Parker ET AL.: "Supplementary data for
The tumorigenic FGFR3-TACC3 gene fusion escapes
miR-99a regulation in glioblastoma", *Journal of Clinical
Investigation*, vol. 123, no. 2, 1 February 2013 (2013-02-01),
pages 855-865, XP055127920, ISSN: 0021-9738

S.V. WILLIAMS ET AL.: "Oncogenic FGFR3
gene fusions in bladder cancer", *HUMAN MOLECULAR
GENETICS*, vol. 22, no. 4, 15 February 2013 (2013-02-15),
pages 795-803, XP055105338, ISSN: 0964-6906, DOI:
10.1093/hmg/dd5486, the whole document

A.J. SABNIS ET AL.: "FGFR Fusions in the
Driver's Seat", *CANCER DISCOVERY*, vol. 3, no. 6, 1
June 2013 (2013-06-01), pages 607-609, XP055206314,
ISSN: 2159-8274, DOI: 10.1158/2159-8290.CD-13-0185,
the whole document

WO-A2-2013089882
SHINMURA KAZUYA ET AL.: "A novel
somatic FGFR3 mutation in primary lung cancer",
*ONCOLOGY REPORTS, SPANDIDOS PUBLICATIONS,
GR*, vol. 31, no. 3, 1 March 2014 (2014-03-01),
pages 1219-1224, XP008170551, ISSN: 1791-2431, DOI:
10.3892/OR.2014.2984, [retrieved on 2014-01-20], figure 1;
table 2

EP-A1-1964837
DATABASE Geneseq [Online], 27 November 2008
(2008-11-27), "Human FGFR 2 mRNA target sequence for
mdRNA, SEQ ID:3954.", XP055257043, retrieved from
EBI accession no.GSN:ATM46802, Database accession no.
ATM46802, sequence
WO-A1-2013087725

(57) В изобретении раскрываются способы выявления онкологического пациента, который будет поддаваться лечению ингибитором рецептора фактора роста фибробластов (FGFR), и способы лечения страдающих раком пациентов. Такие способы включают анализ биологического образца, взятого у пациента, на наличие одного или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR.

В изобретении также раскрываются наборы и праймеры для выявления в биологическом образце наличия одного или более генов мутантов FGFR.

037920 B1

037920 B1

Перекрестные ссылки на смежные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/056159, поданной 26 сентября 2014 г., содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

Перечень последовательностей

Рассматриваемая в данный момент заявка содержит перечень последовательностей, представленный в электронном виде в формате ASCII и в полном объеме включенный в настоящий документ путем ссылки. Копия указанного перечня в формате ASCII, созданная 6 августа 2015 г., называется 103693.000782 SL.txt и имеет размер 66185 байт.

Область техники

В настоящем документе приводятся способы выявления онкологических пациентов, которые будут поддаваться лечению ингибитором рецептора фактора роста фибробластов, и способы лечения таких пациентов.

Предпосылки создания изобретения

Выявление генетических аномалий может использоваться для выбора подходящих(его) лекарственных(ого) средств(а) для онкологических пациентов. Оно также может использоваться для онкологических пациентов, на которых не подействовал основной вариант терапии (лечение первой линии) для данной формы рака, в частности при отсутствии принятого стандарта лечения для второй и последующих линий терапии. Рецепторы фактора роста фибробластов (FGFR) относятся к семейству рецепторов тирозинкиназы, которые участвуют в регулировании выживания, пролиферации, миграции и дифференцировки клеток. Для некоторых раков наблюдались изменения FGFR. В настоящее время отсутствуют утвержденные средства лечения, которые эффективны для пациентов с изменениями FGFR.

Изложение сущности изобретения

В настоящем документе раскрываются способы выявления онкологического пациента, который будет поддаваться лечению ингибитором рецепторов фактора роста фибробластов (FGFR), включающие: анализ биологического образца, взятого у пациента, на наличие мутанта FGFR из панели мутантных генов FGFR, где такой мутант FGFR представлен слитым геном FGFR или однонуклеотидным полиморфизмом FGFR, где указанный анализ включает амплификацию кДНК с парой праймеров, которые связывают и амплифицируют один или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR; и определение того, присутствуют ли в образце один или более мутантов FGFR из панели генов, где наличие одного или более мутантов FGFR указывает на то, что пациент будет поддаваться лечению ингибитором FGFR.

Также раскрываются способы лечения рака у пациента, включающие анализ биологического образца, взятого у пациента, на наличие одного или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR; и лечение пациента ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR.

Также в настоящем документе дополнительно приводятся наборы и праймеры для выявления наличия в биологическом образце одного или более мутантных генов FGFR.

Краткое описание чертежей

Предшествующее изложение сущности изобретения, а также последующее подробное описание будут более понятными при рассмотрении вместе с прилагаемыми рисунками. В целях иллюстрации раскрываемых способов, наборов и праймеров на рисунках приводятся примеры осуществления способов, наборов и праймеров; вместе с тем такие способы, наборы и праймеры не ограничиваются конкретными раскрываемыми вариантами осуществления. На чертежах показано следующее:

фиг. 1 иллюстрирует пример слитых генов FGFR, наличие по меньшей мере одного из которых указывает на то, что пациент будет поддаваться лечению ингибитором FGFR. Также отмечены (небольшими стрелками) примеры расположения праймеров для амплификации слитых генов;

фиг. 2, представленная фиг. 2A-2I, содержит результаты секвенирования по Сэнгеру образцов FFPET с положительной реакцией на:

A) FGFR3:TACC3 v1; B) FGFR3:TACC3 v3; C) FGFR3:интрон TACC3;

D) FGFR3:BAIAP2L1; E) FGFR2:AFF3; F) FGFR2:BICC1; G) FGFR2:CASP7;

H) FGFR2:CCDC6; и I) FGFR2:OFD1.

фиг. 3 иллюстрирует пример стратегии SNP-специфической количественной ПЦР в реальном времени (кПЦР-РВ) с использованием 3'-дидезоксилигонуклеотид-блокатора дикого типа (WT);

фиг. 4 - примерную стратегию аналитической валидации для обнаружения SNP FGFR. Эксперименты выполнялись на полученной методами геной инженерии линии клеток RK3E, экспрессирующей слияния FGFR, и разбавляемые в линии клеток дикого типа, не содержащей слияний FGFR3/FGFR2;

фиг. 5, представленная фиг. 5A-5D, иллюстрирует SNP-специфическую ПЦР с дидезоксиблоком WT для (a) G370C; (B) Y373C; (C) S249C; и (D) R248C;

фиг. 6, представленная фиг. 6A-6I, содержит кривые для стандарта эффективности для анализа слитых генов FGFR:

A)

FGFR3:TACC3 v1; B) FGFR3:TACC3 v3; C) FGFR3:интрон TACC3; D) FGFR3:BAIAP2L1; E) FGFR2:AFF3; F) FGFR2:BICC1; G) FGFR2:CASP7; H) FGFR2:CCDC6; и I) FGFR2:OFD1.

фиг. 7 является примером представления состояния слитого гена FGFR при раке мочевого пузыря (первичном и метастатическом), NSCLC (аденокарциноме и плоскоклеточном), яичника, пищевода (первичном и метастатическом), головы и шеи (H&N; первичном и метастатическом), эндометрия (метастатическом), молочной железы и простаты.

фиг. 8 - примером представления состояния и мутации слитого гена FGFR при аденокарциноме и плоскоклеточной карциноме NSCLC;

фиг. 9, представленная фиг. 9A-9D, содержит примерные результаты анализа образцов, взятых у пациентов в ходе фазы I. Анализы выполнялись с использованием контроля с анализом синтетической матрицы (ST), праймеров для GAPDH (образец контроля качества) или праймеров, специфичных для: A) слияний FGFR2:BICC1; B) слияний FGFR3:TACC3 (экзон 18:экзон 1); C) слияний FGFR2:CCDC6; или D) слияний FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3 или FGFR2:CCDC6. Использовались следующие образцы, взятые у пациентов: A уротелиальная карцинома; B - рак мочевого пузыря; C холангиокарцинома; и D - карцинома надпочечников;

фиг. 10 содержит пример схемы исследования фазы I для первого исследования JNJ-42756493 на людях среди пациентов с солидной опухолью на поздней стадии;

фиг. 11 отражает вызванное ингибитором максимальное процентное уменьшение суммы диаметров целевых очагов по сравнению с исходным уровнем при уровне дозы, превышающем и равном 6 мг. Пациенты с солидными опухолями получали лечение ингибитором FGFR JNJ-42756493 в различных дозах, вводимых либо в рамках ежедневной схемы, либо в рамках схемы дробного дозирования (7 дней введения 7 дней перерыва). Указаны дозы и виды опухолей. Уменьшение размеров опухоли оценивали по критериям RECIST. Было показано, что пациенты, в опухолях которых присутствовали транслокации и мутации гена FGFR, оказались более чувствительными к ингибитору FGFR JNJ-42756493;

фиг. 12 иллюстрирует экспрессию различных слияний FGFR в клетках RK3E, стабильно трансфицированных указанным слиянием FGFR;

фиг. 13, представленная фиг. 13A-13B, содержит результаты анализа образования колоний в клетках RK3E, стабильно трансфицированных указанным слиянием FGFR. (A) ячейки 6-луночных планшетов, окрашенные 0,1% крезиловым кристаллическим фиолетовым; и (B) столбиковая диаграмма, отражающая число колоний на 100 нанесенных клеток. Результаты отражают данные, полученные в ходе двух независимых экспериментов;

фиг. 14, представленная фиг. 14A-14H, содержит данные экспрессии примеров нижележащих мишеней в клетках RK3E, стабильно трансфицированных указанным слиянием FGFR.

Подробное описание иллюстративных вариантов осуществления

Раскрываемые способы, наборы и праймеры будут более понятны со ссылкой на приведенное ниже подробное описание в сочетании с прилагаемыми фигурами, которые являются частью настоящего описания. Следует понимать, что раскрываемые способы, наборы и праймеры не ограничиваются конкретными способами, наборами и праймерами, описанными и/или приведенными в настоящем документе, и что используемая в настоящем документе терминология имеет своей целью описание конкретных вариантов осуществления исключительно в качестве примера и не призвана носить ограничивающий характер в отношении заявленных способов, наборов и праймеров.

Ссылка на то или иное конкретное численное значение включает, по меньшей мере, данное конкретное значение, если только контекстом четко не предусматривается иное. Когда указывается диапазон значений, другой вариант осуществления включает интервал от одного конкретного значения и/или до другого конкретного значения. Кроме того, ссылка на значения, указанные в диапазонах, включает все и каждое значение внутри этого диапазона. Все диапазоны являются включающими и комбинируемыми.

Следует понимать, что определенные элементы раскрываемых способов, наборов и праймеров, которые для ясности описаны в контексте отдельных вариантов осуществления, также могут использоваться в комбинации в одном варианте осуществления. В противоположность этому различные элементы описанных способов, наборов и праймеров, описанные для краткости в контексте одного варианта осуществления, могут быть также предложены по отдельности или в любой подкомбинации.

Используемые в настоящем документе формы единственного числа включают в себя и множественное число.

В приведенном описании используются следующие сокращения: FGFR (рецептор фактора роста фибробластов); LLOQ (нижний предел количественного обнаружения); FGFR3:TACC3 (слияние между генами, кодирующими FGFR3 и трансформирующий кислый белок 3, содержащий суперспираль); FGFR3:BAIAP2L1 (слияние между генами, кодирующими FGFR3 и ингибитор 1 ангиогенеза, специфический для головного мозга, ассоциированный белок 2, подобный белку 1); FGFR2:AFF3 (слияние между

генами, кодирующими FGFR2 и представитель 3 AF4/семейство FMR2); FGFR2:BICC1 (слияние между генами, кодирующими FGFR2 и бикаудальный C-гомолог 1); FGFR2: CASP7 (слияние между генами, кодирующими FGFR2 и каспазу 7); FGFR2:CCDC6 (слияние между генами, кодирующими FGFR2 и белок 6, содержащий суперспиральный домен); FGFR2:OFD1 (слияние между генами, кодирующими FGFR2 и обуславливающими ротопальцевидной дизостоз 1); FFPET (фиксированная формалином и залитая в парафин ткань); SNP (однонуклеотидный полиморфизм); NSCLC (немелкоклеточный рак легкого), ct (пороговый цикл).

Используемый в настоящем документе термин "лечение" и подобные ему термины относятся к снижению тяжести и/или частоты проявления симптомов рака, устранению симптомов рака и/или первопричины указанных симптомов, снижению частоты или вероятности симптомов рака и/или их первопричины, а также улучшению или устранению вызванных раком повреждений как прямых, так и косвенных.

Под "биологическими образцами" понимается любой полученный от пациента образец, из которого можно получить опухолевые клетки и выделить РНК. К приемлемым биологическим образцам без ограничений относятся кровь, лимфатическая жидкость, красный костный мозг, образец солидной опухоли или любая их комбинация. В некоторых вариантах осуществления биологическим образцом может быть FFPET.

Используемый в настоящем документе термин "преамплификация" относится к процедуре ПЦР, которая выполняется перед стадией амплификации, с тем чтобы увеличить количество матричной кДНК для стадии амплификации. Стадия преамплификации может, например, выполняться с использованием мастер-микса TaqMan® PreAmp (Life Technologies/Applied Biosystems®, № продукта 4391128).

Используемый в настоящем документе термин "амплификация", "амплифицировать" и подобные ему термины относятся к продукции большого числа идентичных копий образца нуклеиновой кислоты. Приемлемыми методиками для амплификации образца нуклеиновой кислоты без ограничений являются полимеразная цепная реакция (ПЦР) и полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ). В некоторых вариантах осуществления стадия амплификации ПЦР-РВ.

Мутанты FGFR.

Используемое в настоящем документе выражение "мутант FGFR" относится к слитому гену FGFR, однонуклеотидному полиморфизму FGFR или к обоим определениям.

"Слияние FGFR" или "слитый ген FGFR" относится к гену, кодирующему FGFR (например, FGFR2 или FGFR3), или его части и одному из раскрываемых в настоящем документе партнеров слияния или его части, создаваемой посредством транслокации между двумя генами. С помощью раскрываемых способов в полученном от пациента биологическом образце может определяться присутствие одного или более из следующих слитых генов FGFR:

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3
v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3,
FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, FGFR2:OFD1

или любой их комбинации. В табл. 1 приводятся слитые гены FGFR, FGFR и экзоны партнера слияния. Фиг. 1 содержит примеры различных слитых генов FGFR. Последовательности отдельных слитых генов FGFR раскрываются в табл. 16.

Таблица 1

Слитый ген	Экзон FGFR	Экзон партнера
FGFR3:TACC3 v1	18	11
FGFR3:TACC3 v3	18	10
FGFR3:интрон TACC3	18	4
FGFR3:BAIAP2L1	18	2
FGFR2:AFF3	19	8
FGFR2:BICC1	19	3
FGFR2:CASP7	19	4
FGFR2:CCDC6	19	2
FGFR2:OFD1	19	3

Термин "однонуклеотидный полиморфизм FGFR" (SNP) относится к гену FGFR2 или FGFR3, в котором для различных субъектов наблюдаются отличия по одному нуклеотиду. В частности, термин "однонуклеотидный полиморфизм FGFR" (SNP) относится к гену FGFR3, в котором для различных субъектов наблюдаются отличия по одному нуклеотиду. С помощью раскрываемых способов в полученном от пациента биологическом образце может определяться наличие одного или более из следующих SNP FGFR: FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, FGFR3 Y373C или любой их комбинации. Последовательности SNP FGFR раскрываются в табл. 2.

Таблица 2

Мутант FGFR3	Последовательность
FGFR3 R248C	TCCGACCCGGCAACTACACCTGCGTTCGTGGAGAACAAGTTTGGCAGCATCCGGCAGACGATACACGCTGGACGTGCTGGAG (T)GCTCCCCGCACCCGGCCCATCCTGCAGGCGGGGCTGCCGGCCAAACCAGACGGCGGTGCTGGGCAGCGACGTGGAGTTCCACTGCAAGGTGTACAGTGACGCACAGCCCCACATCCAGTGGCTCAAGCACGTGGAGGTGAATGGCAGCAA GGTGGGCCCGACGGCACACCCTACGTTACCGTGCTCA (SEQ ID NO: 1)
FGFR3 S249C	GACCGCGGCAACTACACCTGCGTTCGTGGAGAACAAGTTTGGCAGCATCCGGCAGACGATACACGCTGGACGTGCTGGGTGAGGGCCCTGGGGCGGCGCGGGGGTGGGGCGGCAGTG GCGGTGGTGGTGGAGGGAGGGGGTGGCCCCCTGAGCGTCATCTGCCCCCAAGAGCGCT (G)CCCCGACCCGGCCCATCCTGCAGGCGGGGCTGCCGGCCAAACCAGACGGCGGTGGTGGCAGCGACGTGGAGTTCCACTGCAAGGTGTACAGTGACGCACAGCCCCACATCCAGTGGCTCAAGCACGTGGAGGTGAATGGCAGCAAGGTGGGCCCGGACGGCACACCCTACGTT ACCGTGCTCAAGGTGGGCCACCGTGTGCACGT (SEQ ID NO: 2)
FGFR3 G370C	GCGGGCAATTCTATTGGGTTTTCTCATCACTCTGCGTGGCTGGTGGTGGTGGTGGCAGCCG AGGAGGAGCTGGTGGAGGCTGACGAGGCG (T)GCAGTGTGTATGCAGGCATCCTCAGC TACGGGGTGGGCTTCTTCTCTGTTTCATCCTGTTGGTGGCGGCTGTGACGCTCTGCCGCC TGCGCAGCCCCCAAGAAAGGCCTGGGCTCCCCACCGTGCACAAGATCTCCCGCTT CCCC (SEQ ID NO: 3)
FGFR3 Y373C*	CTAGAGGTTCTCTCCTTGCACAACGTCACCTTTGAGGACGCCGGGAGTACACCTGCC TGGCGGGCAATTCTATTGGGTTTTCTCATCACTCTGCGTGGCTGGTGGTGGTGGCAGC CGAGGAGGAGCTGGTGGAGGCTGACGAGGCGGGCAGTGTGT (G)TGCAGGCATCCTCA GCTACGGGGTGGGCTTCTTCTCTGTTTCATCCTGTTGGTGGCGGCTGTGACGCTCTGCCG CCTGCGCAGCCCCCAAGAAAGGCCTGGGCTCCCCACCGTGCACAAGATCTCCCGC TTCCCGCTCAAGC (SEQ ID NO: 4)

Последовательности соответствуют нуклеотидам 920-1510 FGFR3 (ID № в Genebank NM_000142.4). Выделенные полужирным шрифтом и подчеркиванием нуклеотиды соответствуют SNP.

*В литературе иногда ошибочно называют Y375C.

Используемый в настоящем документе термин "панель мутантных генов FGFR" включает один или более из перечисленных выше мутантов FGFR. В некоторых вариантах осуществления панель мутантных генов FGFR зависит от формы рака, которой страдает пациент.

Панель мутантов FGFR, которая используется на стадии оценки раскрываемых способов, частично основана на форме рака, которой страдает пациент. Для пациентов, страдающих раком мочевого пузыря, приемлемая панель мутантных генов FGFR может включать

FGFR3:TACC3

v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C,

или любую их комбинацию.

Для пациентов, страдающих метастатическим раком мочевого пузыря, приемлемая панель мутантных генов FGFR может включать

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C,

или любую их комбинацию.

Для пациентов, страдающих раком яичника, приемлемая панель мутантных генов FGFR может включать

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C,

или любую их комбинацию.

Для пациентов, страдающих раком головы и шеи, приемлемая панель мутантных генов

FGFR может включать FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C,

или любую их комбинацию.

Для пациентов, страдающих метастатическим раком головы и шеи, приемлемая панель мутантных генов FGFR может включать FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, или FGFR2:OFD1, или любую их комбинацию.

Для пациентов, страдающих раком пищевода, приемлемая панель мутантных генов FGFR может включать

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3
v3, FGFR2:BICC1, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3
G370C, или FGFR3 Y373C,

или любую их комбинацию.

Для пациентов, страдающих метастатическим раком пищевода, приемлемая панель мутантных генов FGFR может включать

FGFR3:TACC3
v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1,
FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCD6, или FGFR2:OFD1,

или любую их комбинацию.

Для пациентов, страдающих немелкоклеточной аденокарциномой легкого, приемлемая панель мутантных генов FGFR может включать

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:интрон TACC3,
FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C,
FGFR3 G370C,

или FGFR3 Y373C, или любую их комбинацию.

Для пациентов, страдающих немелкоклеточной плоскоклеточной карциномой легкого, приемлемая панель мутантных генов FGFR может включать

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1,
FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, FGFR3 R248C,
FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C,

или любую их комбинацию.

Для пациентов, страдающих метастатическим раком эндометрия, приемлемая панель мутантных генов FGFR может включать

FGFR3:TACC3
v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1,
FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, или FGFR2:OFD1,

или любую их комбинацию.

Для пациентов, страдающих раком молочной железы, приемлемая панель мутантных генов FGFR может включать

FGFR3:TACC3 v1,
FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1,
FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCD6, или FGFR2:OFD1,

или любую их комбинацию.

Праймеры для амплификации мутантов FGFR.

Специалистам в данной области известно, что для амплификации нуклеиновой кислоты необходимы праймеры, которые комплементарны и связывают 5'- и 3'-участки нуклеотидной цепи, которые фланкируют наменную к амплификации область. Используемый в настоящем документе термин "пара праймеров" относится к прямому и обратному праймерам, которые применяются на стадии амплификации. В табл. 3 приводятся пары праймеров, приемлемые для осуществления раскрываемых способов.

Таблица 3

Мишень	Прямой праймер	Обратный праймер 5' -3'
FGFR3:TACC3 V1	GACCTGGACCGTGTCTTACC (SEQ ID NO: 5)	CTTCCCCAGTTCAGGTTCTT (SEQ ID NO: 6)
FGFR3:TACC3 V3	AGGACCTGGACCGTGTCTT (SEQ ID NO: 7)	TATAGGTCCGGTGGACAGGG (SEQ ID NO: 8)
FGFR3:интрон TACC3	GGCCATCCTGCCCC (SEQ ID NO: 9)	GAGCAGTCCAGGTCAGCCAG (SEQ ID NO: 10)
FGFR3:BAIAP2L1	CTGGACCGTGTCTTACCGT (SEQ ID NO: 11)	GCAGCCCAGGATTGAACTGT (SEQ ID NO: 12)
FGFR2:BICC1	TGGATCGAATTCTCACTCTCAC (SEQ ID NO: 13)	GCCAAGCAATCTGCGTATTTG (SEQ ID NO: 14)
FGFR2:AFF3	TGGTAGAAGACTTGGATCGAATTCT (SEQ ID NO: 15)	TCTCCCGGATTATTCTTCAACA (SEQ ID NO: 16)
FGFR2:CASP7	GCTCTTCAATACAGCCCTGATCA (SEQ ID NO: 17)	ACTTGGATCGAATTCTCACTCTC A (SEQ ID NO: 18)
FGFR2:CCDC6	TGGATCGAATTCTCACTCTCAC (SEQ ID NO: 19)	GCAAAGCCTGAATTTCTTGAAT AA (SEQ ID NO: 20)
FGFR2:OFD1	AGGGTGCATCAACTCATGAATTAG (SEQ ID NO: 21)	ACTTGGATCGAATTCTCACTCTC A (SEQ ID NO: 22)
FGFR3 R248C	GCATCCGGCAGACGTACA (SEQ ID NO: 23)	CCCCGCCTGCAGGAT (SEQ ID NO: 24)
FGFR3 S249C	GCATCCGGCAGACGTACA (SEQ ID NO: 25)	CCCCGCCTGCAGGAT (SEQ ID NO: 26)
FGFR3 G370C	AGGAGCTGGTGGAGGCTGA (SEQ ID NO: 27)	CCGTAGCTGAGGATGCCTG (SEQ ID NO: 28)
FGFR3 Y373C	CTGGTGGAGGCTGACGAG (SEQ ID NO: 29)	AGCCACCCCGTAGCT (SEQ ID NO: 30)
FGFR3 R248C	GTCGTGGAGAACAAGTTTGGC (SEQ ID NO: 31)	GTCTGGTTGGCCGGCAG (SEQ ID NO: 32)
FGFR3 S249C	GTCGTGGAGAACAAGTTTGGC (SEQ ID NO: 33)	GTCTGGTTGGCCGGCAG (SEQ ID NO: 34)
FGFR3 G370C	AGGAGCTGGTGGAGGCTGA (SEQ ID NO: 35)	CCGTAGCTGAGGATGCCTG (SEQ ID NO: 36)
FGFR3 Y373C	GACGAGCGGGCAGTG (SEQ ID NO: 37)	GAAGAAGCCACCCGCTAG (SEQ ID NO: 38)

В настоящем документе раскрываются праймеры с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 или любой их комбинацией.

В настоящем документе также раскрываются наборы праймеров с последовательностями SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 и SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 и SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35 и SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37 и SEQ ID NO: 38 или любой их комбинацией.

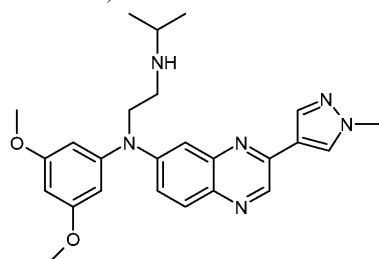
В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления набор

праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 25 и SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 33 и SEQ ID NO: 34. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 35 и SEQ ID NO: 36. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательность SEQ ID NO: 37 и SEQ ID NO: 38. В некоторых вариантах осуществления набор праймеров может иметь последовательности, представленные любой комбинацией приведенных выше наборов праймеров.

Ингибиторы FGFR для применения в раскрываемых способах.

В настоящем документе приводятся приемлемые ингибиторы FGFR для применения в раскрываемых способах.

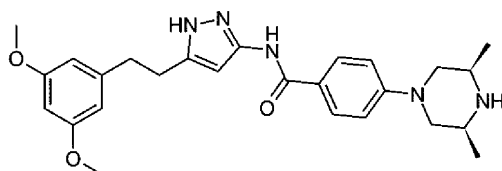
В некоторых вариантах осуществления, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, то пациент может получать лечение ингибитором FGFR, раскрываемым в публикации США № 2013/0072457 A1 (включенной в настоящий документ путем ссылки), в том числе любой его таутомерной или стереохимически изомерной формой, а также его N-оксидом, его фармацевтически приемлемой солью или его сольватом (приемлемые группы R также раскрываются в публикации США № 2013/0072457 A1). В некоторых аспектах, например, пациент может получать лечение N-(3,5-диметоксифенил)-N'-(1-метилэтил)-N-[3-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)хиноксалин-6-ил]этан-1,2-диамином (в настоящем документе называемым "JNJ-42756493" или "JNJ4 93"):



(I)

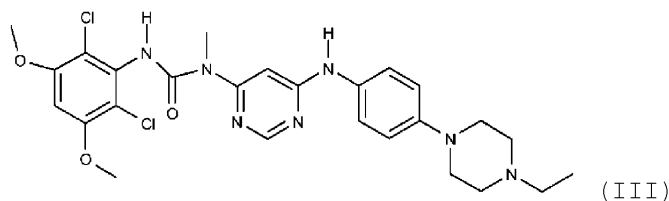
в том числе его N-оксидом, его фармацевтически приемлемой солью или его сольватом. В некоторых аспектах фармацевтически приемлемая соль представляет собой соль HCl. В некоторых аспектах пациент может получать лечение основанием JNJ4 93.

В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой N-[5-[2-(3,5-диметоксифенил)этил]-2H-пиразол-3-ил]-4-(3,5-диметилпиперазин-1-ил)бензамид (AZD4547), как описано в работе Gavine P.R. et al., AZD4547: An Orally Bioavailable, Potent, and Selective Inhibitor of the Fibroblast Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Family, *Cancer Res.* April 15, 2012 72; 2045



(II)

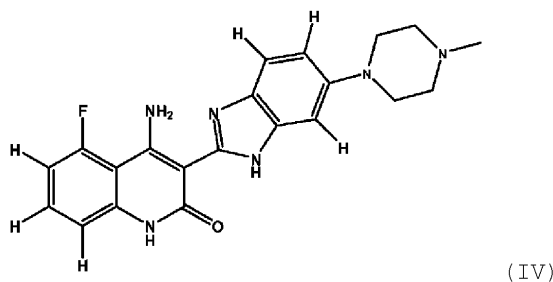
В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой 3-(2,6-дихлор-3,5-диметоксифенил)-1-{6-[4-(4-этилпиперазин-1-ил)фениламино]пиримид-4-ил}-1-метилмочевину (NVP-BGJ398), как описано в международной публикации № WO 2006/000420



в том числе, если химически возможно, любая его таутомерная или стереохимическая изомерная форма и его N-оксид, его фармацевтически приемлемая соль или его сольват.

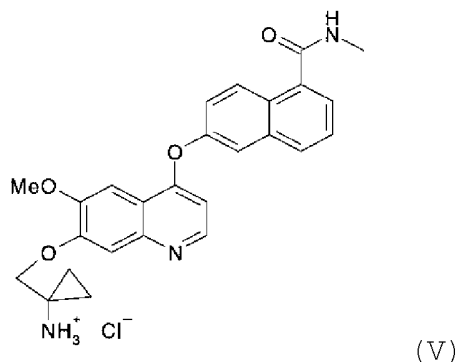
в том числе, если химически возможно, любая его таутомерная или стереохимическая изомерная форма и его N-оксид, его фармацевтически приемлемая соль или его сольват.

В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой 4-амино-5-фтор-3-[6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1H-бензимидазол-2-ил]-1H-хинолин-2-он (довитиниб), как описано в международной публикации № WO 2006/127926



в том числе, если химически возможно, любая его таутомерная или стереохимическая изомерная форма и его N-оксид, его фармацевтически приемлемая соль или его сольват.

В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой 6-(7-((1-аминоциклопропил)метокси)-6-метоксихинолин-4-илокси)-N-метил-1-нафтамид (AL3810) (луцитаниб; E-3810), как описано в работе Bello E. et al., E-3810 Is a Potent Dual Inhibitor of VEGFR and FGFR that Exerts Antitumor Activity in Multiple Preclinical Models, Cancer Res. February 15, 2011 71(A)1396-1405 и международной публикации № WO 2008/112408



в том числе, если химически возможно, любая его таутомерная или стереохимическая изомерная форма и его N-оксид, его фармацевтически приемлемая соль или его сольват.

В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой антитело анти-FGFR2, например, описанное в WO 2013/076186.

К дополнительным приемлемым ингибиторам FGFR относятся BAY1163877 (Bayer), BAY1179470 (Bayer), TAS-120 (Taiho), ARQ087 (ArQule), ASP5878 (Astellas), FF284 (Chugai), FP-1039 (GSK/FivePrime), Blueprint, LY-2874455 (Lilly), RG-7444 (Roche) или их любая комбинация, в том числе, если химически возможно, любые их таутомерные или стереохимические изомерные формы, их N-оксиды, их фармацевтически приемлемые соли или их сольваты.

В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой BAY1163877 (Bayer), в том числе, если химически возможно, любая его таутомерная или стереохимическая изомерная форма, его N-оксид, его фармацевтически приемлемая соль или его сольват.

В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой BAY1179470 (Bayer), в том числе, если химически возможно, любая его таутомерная или стереохимиче-

ская изомерная форма, его N-оксид, его фармацевтически приемлемая соль или его сольват.

В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой TAS-120 (Taiho), в том числе, если химически возможно, любая его таутомерная или стереохимическая изомерная форма, его N-оксид, его фармацевтически приемлемая соль или его сольват.

В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой ARQ087 (AriQule), в том числе, если химически возможно, любая его таутомерная или стереохимическая изомерная форма, его N-оксид, его фармацевтически приемлемая соль или его сольват.

В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой ASP5878 (Astellas), в том числе, если химически возможно, любая его таутомерная или стереохимическая изомерная форма, его N-оксид, его фармацевтически приемлемая соль или его сольват.

В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой FF284 (Chugai), в том числе, если химически возможно, любая его таутомерная или стереохимическая изомерная форма, его N-оксид, его фармацевтически приемлемая соль или его сольват.

В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой FP-1039 (GSK/FivePrime), в том числе, если химически возможно, любая его таутомерная или стереохимическая изомерная форма, его N-оксид, его фармацевтически приемлемая соль или его сольват.

В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой Blueprint, в том числе, если химически возможно, любая его таутомерная или стереохимическая изомерная форма, его N-оксид, его фармацевтически приемлемая соль или его сольват.

В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой LY-2874455 (Lilly), в том числе, если химически возможно, любая его таутомерная или стереохимическая изомерная форма, его N-оксид, его фармацевтически приемлемая соль или его сольват.

В некоторых вариантах осуществления пациент может получать лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой RG-7444 (Roche), в том числе, если химически возможно, любая его таутомерная или стереохимическая изомерная форма, его N-оксид, его фармацевтически приемлемая соль или его сольват.

Соли могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основную или кислотную функциональную группу, с использованием традиционных химических методов, таких как методы, описанные в книге Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, жесткий переплет, 388 страниц, август 2002 г., которая включена в настоящий документ путем ссылки. По существу, такие соли можно получать в результате реакции свободных кислотных или основных форм этих соединений с соответствующим основанием или кислотой в воде, или в органическом растворителе, или в смеси этих двух веществ; как правило, используется неводная среда, например эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил. Ингибиторы FGFR для применения в раскрываемых способах могут существовать в виде монозамещенных или дизамещенных солей в зависимости от рКа кислоты, из которой образуется соль.

Аддитивные соли, полученные присоединением кислоты, могут быть образованы широким кругом кислот как неорганических, так и органических. К примерам аддитивных солей, полученных присоединением кислоты, относятся соли, образованные кислотой, в том числе, без ограничений, уксусной, 2,2-дихлоруксусной, адипиновой, альгиновой, аскорбиновой (например, L-аскорбиновой), L-аспарагиновой, бензолсульфоновой, бензойной, 4-ацетамидобензойной, масляной, (+) камфорной, камфорсульфоновой, (+)-(1S)-камфор-10-сульфоновой, каприновой, капроновой, каприловой, коричной, лимонной, цикламовой, додецилсерной, этан-1,2-дисульфоновой, этансульфоновой, 2-гидроксиэтансульфоновой, муравьиной, фумаровой, галактаровой, гентизиновой, глюкогептоновой, D-глюконовой, глюкуроновой (например, D-глюкуроновой), глутаминовой (например, L-глутаминовой), α -оксоглутаровой, гликолевой, гиппуровой, бромистоводородной, соляной, йодистоводородной, изэтионовой, молочной (например, (+)-L-молочной, (\pm)-DL-молочной), лактобионовой, малеиновой, яблочной, (-)-L-яблочной, малоновой, (\pm)-DL-миндальной, метансульфоновой, нафталинсульфоновой (например, нафталин-2-сульфоновой), нафталин-1,5-дисульфоновой, 1-гидрокси-2-нафтойной, никотиновой, азотной, олеиновой, оротовой, щавелевой, пальмитиновой, памоевой, фосфорной, пропионовой, L-пироглутаминовой, пировиноградной, салициловой, 4-аминосалициловой, себациновой, стеариновой, янтарной, серной, дубильной, (+)-L-винной, роданистоводородной, толуолсульфоновой (например, p-толуолсульфоновой), ундециленовой и валериановой кислотами, а также ацилированными аминокислотами и катионообменными смолами.

Одна из конкретных групп солей включает соли, образованные уксусной, соляной, йодистоводо-

родной, фосфорной, азотной, серной, лимонной, молочной, янтарной, малеиновой, яблочной, изэтионо-вой, фумаровой, бензолсульфоновой, толуолсульфоновой, метансульфоновой (мезилат), этансульфоно-вой, нафталинсульфоновой, валериановой, пропионовой, масляной, малоновой, глюконовой и лакто-бионовой кислотами. Другая группа аддитивных солей, полученных присоединением кислоты, включает соли, образованные уксусной, адипиновой, аскорбиновой, аспарагиновой, лимонной, DL-молочной, фу-маровой, глюконовой, глюконовой, гиппуровой, соляной, глутаминовой, DL-яблочной, метансульфо-новой, себаценовой, стеариновой, янтарной и винной кислотами.

Если соединение является анионным или включает функциональную группу, которая может быть анионной (например, $-\text{COOH}$ может быть $-\text{COO}^-$), тогда может получаться соль с приемлемым катионом. К примерам приемлемых неорганических катионов без ограничений относятся ионы щелочных метал-лов, такие как Na^+ и K^+ , катионы щелочно-земельных металлов, такие как Ca^{2+} и Mg^{2+} , а также другие катионы, такие как Al^{3+} . К примерам приемлемых органических катионов без ограничений относятся ион аммония (т.е. NH_4^+) и замещенные ионы аммония (например, NH_3R^+ , NH_2R_2^+ , NHR_3^+ , NR_4^+).

К примерам некоторых приемлемых замещенных ионов аммония относятся полученные из этила-мина, диэтиламина, дициклогексиламина, триэтиламина, бутиламина, этилендиамина, этаноламина, ди-этанолламина, пиперазина, бензиламина, фенилбензиламина, холина, меглумина и трометамина, а также аминокислот, таких как лизин и аргинин. Пример известного четвертичного иона аммония представляет собой $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$.

Если соединения содержат аминную функциональную группу, то она может образовывать четвер-тичные соли аммония, например, посредством реакции с алкилирующим агентом в соответствии с мето-дами, хорошо известными специалистам. Такие четвертичные аммониевые соединения входят в число раскрываемых соединений. Соединения, содержащие аминную функциональную группу, могут также образовывать N-оксиды. Упоминание в настоящем документе соединения, которое содержит аминную функциональную группу, также включает в себя N-оксид. Если соединение содержит несколько амин-ных функциональных групп, то один или более атомов азота могут подвергаться окислению с образова-нием N-оксида. Конкретными примерами N-оксидов являются N-оксиды третичного амина или атома азота азотсодержащего гетероцикла. N-оксиды могут получать обработкой соответствующего амина с окисли-телем, например перекисью водорода или надкислотой (например, пероксикарбоновой кислотой), см., например, *Advanced Organic Chemistry*, Jerry March, 4th Edition, Wiley Interscience, страницы. В частности, N-оксиды могут быть получены с использованием процедуры, предложенной L.W. Deady (*Syn. Comm.* (1977), 7, 509-514), в которой соединение амина реагирует с м-хлорпероксибензойной кислотой (MCPBA), например, в инертном растворителе, таком как дихлорметан.

Используемый в настоящем документе термин "сольват" означает физическое связывание соедине-ния с одной или несколькими молекулами растворителя. Такое физическое связывание включает разные степени ионной или ковалентной связи, включая водородную связь. В определенных случаях существует возможность выделять сольват, например, если одна или более молекул растворителя включены в кри-сталлическую решетку кристаллического твердого вещества. Подразумевается, что термин "сольват" включает как сольваты в фазе раствора, так и сольваты, которые можно выделять. К не имеющим огра-ничительного характера примерам приемлемых сольватов относятся раскрываемые соединения в комби-нации с водой, изопропанолом, этанолом, метанолом, ДМСО, этилацетатом, уксусной кислотой, этано-ламином и т.п. Такое соединение может проявлять свое биологическое действие в растворе.

Сольваты хорошо известны в области фармацевтической химии. Они могут иметь важное значение для способов получения субстанции (например, в части ее очистки), хранения субстанции (например, с точки зрения ее стабильности), а также позволяют облегчать использование субстанции и часто образу-ются в рамках стадий выделения или очистки в ходе химического синтеза. Специалист в данной области с помощью стандартных и давно используемых методик в состоянии установить образование гидрата или иного сольвата в условиях выделения или в условиях очистки, которые использовались для получе-ния данного соединения. К примерам таких методик относятся термогравиметрический анализ (ТГА), дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК), рентгеновская кристаллография (например, рент-геновская кристаллография монокристаллов или порошковая рентгеновская дифрактометрия), а также ЯМР в твердом теле (ЯМР ТТ, также известный как ЯМР с вращением под магическим углом или ЯМР ВМУ). Такие методики точно также составляют стандартный набор аналитических инструментов квали-фицированного химика, как и ЯМР, ИК, ВЭЖХ и МС. В альтернативном варианте осуществления спе-циалист может намеренно получать сольват с использованием условий кристаллизации, которые предпо-лагают применение такого количества растворителя, которое необходимо для образования конкретного сольвата. Затем перечисленные выше стандартные методы могут использоваться для установления факта образования сольватов. Кроме того, в сферу охвата изобретения также входят любые комплексы (напри-мер, комплексы включения, или клатраты с такими соединениями, как циклодекстрины, или комплексы с металлами) ингибитора FGFR.

Кроме того, соединение может иметь одну или более полиморфных (кристаллических) или аморф-ных форм.

К соединениям относятся соединения с одним или более изотопных замещений, а ссылка на тот или

иной конкретный элемент включает в сферу охвата все изотопы данного элемента. Например, упоминание водорода также относится к ^1H , ^2H (D) и ^3H (T). Аналогично упоминание углерода и кислорода включает в сферу охвата ^{12}C , ^{13}C , и ^{14}C , и ^{16}O , и ^{18}O соответственно. Изотопы могут быть радиоактивными или нерадиоактивными. В одном варианте осуществления соединения не содержат радиоактивных изотопов. Такие соединения предпочтительны для терапевтического применения. Вместе с тем в другом варианте осуществления соединения может содержать один или несколько радиоизотопов. Соединения, содержащие такие радиоизотопы, могут применяться в контексте диагностики.

В некоторых вариантах осуществления пациент получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR, где ингибитор FGFR представляет собой N-(3,5-диметоксифенил)-N'-(1-метилэтил)-N-[3-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)хиноксалин-6-ил]этан-1,2-диамин (в настоящем документе называемый "JNJ-42756493"), или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват.

Способы лечения рака у пациента.

В настоящем документе раскрываются способы лечения рака у пациента, включающие: анализ биологического образца, взятого у пациента, на наличие одного или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR; и лечение пациента ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR.

Раскрываемые способы могут использоваться для лечения различных форм рака, в том числе, без ограничений, рака мочевого пузыря, метастатического рака мочевого пузыря, рака яичника, рака головы и шеи, метастатического рака головы и шеи, рака пищевода, метастатического рака пищевода, немелкоклеточной аденокарциномы легкого, немелкоклеточной плоскоклеточной карциномы легкого, рака простаты, рака легкого, рака желудочно-кишечного тракта, уротелиальной карциномы, мелкоклеточного рака легкого, рака молочной железы, рака эндометрия, метастатического рака эндометрия, холангиокарциномы, гепатоклеточной карциномы, глиобластомы, глиом, карциномы толстой кишки, сарком, солидных опухолей плоскоклеточного происхождения и множественной миеломы.

Панель мутантов FGFR, которая используется на стадии оценки, частично зависит от формы рака, которой страдает пациент. Для пациентов, например, страдающих раком мочевого пузыря, приемлемая панель мутантных генов FGFR может включать

FGFR3:TACC3 v1,
 FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3,
 FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3
 Y373C,

или любую их комбинацию. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий раком мочевого пузыря, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3:TACC3 v1. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий раком мочевого пузыря, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3:TACC3 v3. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий раком мочевого пузыря, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3:BAIAP2L1. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий раком мочевого пузыря, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR2:BICC1. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий раком мочевого пузыря, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR2:AFF3. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий раком мочевого пузыря, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR2:CASP7. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий раком мочевого пузыря, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3 R248C. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий раком мочевого пузыря, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3 S249C. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий раком мочевого пузыря, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3 G370C. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий раком мочевого пузыря, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3 Y373C. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий раком мочевого пузыря, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует любая комбинация перечисленных выше мутантов FGFR.

Для пациентов, например, страдающих метастатическим раком мочевого пузыря, приемлемая панель мутантных генов FGFR может включать

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1,
 FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C,
 FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C,

или любую их комбинацию.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий метастатическим ра-

лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3 R248C. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий гепатоклеточной карциномой, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3 S249C. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий гепатоклеточной карциномой, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3 G370C. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий гепатоклеточной карциномой, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3 Y373C. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий гепатоклеточной карциномой, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует любая комбинация перечисленных выше мутантов FGFR.

В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает: выделение РНК из биологического образца; синтез кДНК на выделенной РНК; преамплификацию кДНК; и амплификацию преамплифицированной кДНК с парой праймеров, которые связывают и амплифицируют один или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR.

Выделение РНК из биологического образца может осуществляться с использованием ряда процедур, известных специалисту в данной области. В одном из вариантов осуществления РНК может выделяться из биологического образца с использованием набора AllPrep для ДНК/РНК FFPE, поставляемого Qiagen (№ продукта 80234).

Синтез кДНК из выделенной РНК может осуществляться с использованием ряда процедур, известных специалисту в данной области. В одном из вариантов осуществления кДНК может быть синтезирована из выделенной РНК с использованием высокоэффективного набора для кДНК с обратной транскриптазой и ингибитором РНКаз, поставляемого ABI (№ продукта 4374966).

Преамплификация кДНК может осуществляться с использованием ряда процедур, известных специалисту в данной области. Процедуры амплификации хорошо известны в данной области. В одном из вариантов осуществления кДНК может быть преамплифицирована с использованием мастер-микса TaqMan® PreAmp (Life Technologies/Applied Biosystems® № продукта 4391128).

В некоторых вариантах осуществления стадия амплификации может включать проведение ПЦР в реальном времени (кПЦР-РВ). Примеры процедур кПЦР-РВ обсуждаются в настоящем документе в разделе примеров. В некоторых аспектах настоящего изобретения кПЦР-РВ может проводиться в рамках ПЦР-анализа в реальном времени Taqman®. Процедуры кПЦР-РВ могут включать применение зондов для повышения специфичности анализа. К приемлемым зондам для использования в анализе кПЦР-РВ могут относиться любые зонды, раскрываемые в настоящем документе, например зонды, приведенные в табл. 15. В некоторых вариантах осуществления, например, ПЦР в реальном времени может проводиться с одним или более зондами, содержащими SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54 и/или SEQ ID NO: 55. В других вариантах осуществления ПЦР в реальном времени может проводиться с одним или более зондами, содержащими, по существу, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54 и/или SEQ ID NO: 55. В других вариантах осуществления, например, ПЦР в реальном времени может проводиться с одним или более зондами, имеющими SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54 и/или SEQ ID NO: 55.

Процедура кПЦР-РВ может проводиться с одним или более 3'-блокирующих олигонуклеотидов. Примеры процедур кПЦР-РВ с использованием 3'-блокирующих олигонуклеотидов раскрываются в настоящем документе в разделе примеров. К приемлемым 3'-блокирующим олигонуклеотидам относятся, например, раскрываемые в табл. 8. В некоторых вариантах осуществления кПЦР-РВ может проводиться с одним или более 3'-блокирующими олигонуклеотидами, содержащими SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 и/или SEQ ID NO: 42. В некоторых вариантах осуществления кПЦР-РВ может проводиться с одним или более 3'-блокирующими олигонуклеотидами, по существу, содержащими SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 и/или SEQ ID NO: 42. В некоторых вариантах осуществления кПЦР-РВ может проводиться с одним или более 3'-блокирующими олигонуклеотидами, содержащими SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 и/или SEQ ID NO: 42. В некоторых вариантах осуществления кПЦР-РВ может проводиться с одним или более 3'-блокирующими олигонуклеотидами, имеющими SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 и/или SEQ ID NO: 42.

К приемлемым парам праймеров для использования на стадии амплификации относятся раскрываемые в табл. 3. Например, в некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться FGFR3:TACC3 v1 и праймеры, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться FGFR3:TACC3 v3 и праймеры, имеющие аминокислот-

го последовательность SEQ ID NO: 54, и 3'-блокирующей олигонуклеотида, имеющей последовательность SEQ ID NO: 41;

q) пары праймеров, имеющей последовательности SEQ ID NO: 37 и SEQ ID NO: 38, зонда, имеющей последовательность SEQ ID NO: 55, и 3'-блокирующей олигонуклеотида, имеющей последовательность SEQ ID NO: 42; или

г) набор содержит любую комбинацию вышеуказанных.

Раскрываемые способы включают лечение пациента, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR. Наличие одного или более мутантов FGFR в образце может определяться, например, секвенированием амплифицированной кДНК.

К приемлемым ингибиторам FGFR для использования в способах лечения относятся ранее раскрываемые в настоящем документе.

Также раскрываются ингибиторы FGFR для применения при лечении рака у пациента, где у пациента выявлена возможность ответа на лечение ингибитором FGFR в результате оценки биологического образца, взятого у пациента, на наличие одного или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR, где в образце обнаружено наличие одного или более мутантов FGFR.

Дополнительно раскрываются ингибиторы FGFR для применения при лечении рака у пациента, где у пациента выявлена возможность ответа на лечение ингибитором FGFR в результате оценки биологического образца, взятого у пациента, на наличие одного или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR, где один или более мутантов FGFR представляют собой слитый ген FGFR или SNP FGFR, где в образце обнаружено наличие одного или более мутантов FGFR, где указанная оценка включает амплификацию кДНК с парой праймеров, которые связывают и амплифицируют один или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR.

Дополнительно раскрываются ингибиторы FGFR для применения при лечении рака у пациента, где у такого пациента выявлена возможность ответа на лечение ингибитором FGFR в результате оценки биологического образца, взятого у пациента, на наличие одного или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR, где мутант FGFR представляет собой слитый ген FGFR или SNP FGFR, где в образце обнаружено наличие одного или более мутантов FGFR, где указанная оценка включает амплификацию преамплифицированной кДНК с парой праймеров, которые связывают и амплифицируют один или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR.

Способы выявления онкологического пациента, который будет поддаваться лечению ингибитором рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

В настоящем документе раскрываются способы выявления онкологического пациента, который будет поддаваться лечению ингибитором рецепторов фактора роста фибробластов (FGFR), включающие анализ биологического образца, взятого у пациента, на наличие мутанта FGFR из панели мутантных генов FGFR, где мутант FGFR представлен слитым геном FGFR или однонуклеотидным полиморфизмом FGFR, где указанный анализ включает амплификацию кДНК с парой праймеров, которые связывают и амплифицируют один или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR, а также определение того, присутствует ли один или более мутантов FGFR из панели генов в образце, где наличие одного или более мутантов FGFR указывает на то, что пациент будет поддаваться лечению ингибитором FGFR.

Также раскрываются способы выявления онкологического пациента, который поддается лечению ингибитором рецепторов фактора роста фибробластов (FGFR), включающие анализ биологического образца, взятого у пациента, на наличие мутанта FGFR из панели мутантных генов FGFR, где мутант FGFR представлен слитым геном FGFR или однонуклеотидным полиморфизмом FGFR, где указанный анализ включает амплификацию кДНК с парой праймеров, которые связывают и амплифицируют один или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR, а также определение того, присутствует ли один или более мутантов FGFR из панели генов в образце, где наличие одного или более мутантов FGFR указывает на то, что пациент поддается лечению ингибитором FGFR.

Дополнительно приводятся способы выявления онкологического пациента, который поддается лечению ингибитором рецепторов фактора роста фибробластов (FGFR), включающие анализ биологического образца, взятого у пациента, на наличие одного или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR, где мутант FGFR представлен слитым геном FGFR или однонуклеотидным полиморфизмом FGFR, где наличие одного или более мутантов FGFR указывает на то, что пациент поддается лечению ингибитором FGFR.

В некоторых вариантах осуществления оценка включает амплификацию кДНК с парой праймеров, которые связывают и амплифицируют один или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR. В некоторых вариантах осуществления кДНК может представлять собой преамплифицированную кДНК.

В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает выделение РНК из биологического образца и синтез кДНК из выделенной РНК. В некоторых аспектах стадия амплификации может проводиться на преамплифицированной кДНК. Таким образом, стадия оценки может также включать преамплификацию кДНК перед указанной стадией амплификации. Выделение РНК из биологического образца может осуществляться с использованием ряда процедур, известных специалисту в данной области. В одном из вариантов осуществления РНК может выделяться из биологического образца с использованием

набора AllPrep для ДНК/РНК FFPE, поставляемого Qiagen (например, № продукта 80234). Синтез кДНК из выделенной РНК может осуществляться с использованием ряда процедур, известных специалисту в данной области. В одном варианте осуществления кДНК может быть синтезирована из выделенной РНК с использованием высокоэффективного набора для кДНК с обратной транскриптазой и ингибитором РНКаз, поставляемого ABI (например, № продукта 4374966). Преамплификация кДНК может осуществляться с использованием ряда процедур, известных специалисту в данной области. Процедуры амплификации хорошо известны в данной области. В одном из вариантов осуществления кДНК может быть преамплифицирована с использованием мастер-микса TaqMan® PreAmp (Life Technologies/Applied Biosystems® № продукта 4391128).

Раскрываемые способы могут использоваться для выявления пациентов с рядом различных форм рака, которые будут поддаваться лечению ингибитором рецепторов фактора роста фибробластов (FGFR), в том числе, без ограничений, рака мочевого пузыря, метастатического рака мочевого пузыря, рака яичника, рака головы и шеи, рака пищевода, немелкоклеточной аденокарциномы легкого, немелкоклеточной плоскоклеточной карциномы легкого, рака простаты, рака легкого, рака желудочно-кишечного тракта, уротелиальной карциномы, мелкоклеточного рака легкого, рака молочной железы, рака эндометрия, холангиокарциномы, гепатоклеточной карциномы, глиобластомы, глиом, карциномы толстой кишки, сарком, солидных опухолей плоскоклеточного происхождения и множественной миеломы.

Панель мутантов FGFR, которая используется на стадии оценки, частично зависит от формы рака, которой страдает пациент. Для пациентов, например, страдающих раком мочевого пузыря, приемлемая панель мутантных генов FGFR может включать

FGFR3:TACC3 v1,

FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3,
 FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3
 Y373C,

или любую их комбинацию. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли FGFR3:TACC3 v1 в биологическом образце, взятом у пациента, страдающего раком мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли FGFR3:TACC3 v3 в биологическом образце, взятом у пациента, страдающего раком мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли FGFR3:BAIAP2L1 в биологическом образце, взятом у пациента, страдающего раком мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли FGFR2:BICC1 в биологическом образце, взятом у пациента, страдающего раком мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли FGFR2:AFF3 в биологическом образце, взятом у пациента, страдающего раком мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли FGFR2:CASP7 в биологическом образце, взятом у пациента, страдающего раком мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли FGFR3 R248C в биологическом образце, взятом у пациента, страдающего раком мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли FGFR3 S249C в биологическом образце, взятом у пациента, страдающего раком мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли FGFR3 G370C в биологическом образце, взятом у пациента, страдающего раком мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли FGFR3 Y373C в биологическом образце, взятом у пациента, страдающего раком мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли любая комбинация приведенных выше мутантов FGFR в биологическом образце, взятом у пациента, страдающего раком мочевого пузыря.

Для пациентов, например, страдающих метастатическим раком мочевого пузыря, приемлемая панель мутантных генов FGFR может включать

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1,

FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C,
 FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C,

или любую их комбинацию. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли FGFR3:TACC3 v1 в биологическом образце, взятом у пациента, страдающего метастатическим раком мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли FGFR3:TACC3 v3 в биологическом образце, взятом у пациента, страдающего метастатическим раком мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли FGFR3:BAIAP2L1 в биологическом образце, взятом у пациента, страдающего метастатическим раком мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления стадия оценки включает определение того, присутствует ли FGFR2:BICC1 в

ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR2:CASP7. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий гепатоклеточной карциномой, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR2:CCDC6. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий гепатоклеточной карциномой, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR2:OFD1. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий гепатоклеточной карциномой, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3 R248C. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий гепатоклеточной карциномой, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3 S249C. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий гепатоклеточной карциномой, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3 G370C. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий гепатоклеточной карциномой, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует FGFR3 Y373C. В некоторых вариантах осуществления пациент, страдающий гепатоклеточной карциномой, получает лечение ингибитором FGFR, если в образце присутствует любая комбинация перечисленных выше мутантов FGFR.

К приемлемым парам праймеров для использования на стадии амплификации относятся раскрываемые в табл. 3. Например, в некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться FGFR3:TACC3 v1 и праймеры, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться FGFR3:TACC3 v3 и праймеры, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться FGFR3:интрон TACC3 и праймеры, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться FGFR3:BAIAP2L1 и праймеры, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12. В некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться FGFR2:BICC1 и праймеры, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться FGFR2:AFF3 и праймеры, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться FGFR2:CASP7 и праймеры, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться FGFR2:CCDC6 и праймеры, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться FGFR2:OFD1 и праймеры, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться R248C и праймеры, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24 или SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32. В некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться S249C и праймеры, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25 и SEQ ID NO: 26 или SEQ ID NO: 33 и SEQ ID NO: 34. В некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться G370C и праймеры, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28 или SEQ ID NO: 35 и SEQ ID NO: 36. В некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров могут использоваться Y373C и праймеры, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30 или SEQ ID NO: 37 и SEQ ID NO: 38. В некоторых вариантах осуществления в качестве мутанта FGFR и пары праймеров может использоваться любая комбинация раскрываемых выше мутантов FGFR и соответствующей пары праймеров.

Раскрываемые способы включают определение того, присутствует ли в образце один или более мутантов FGFR из панели генов. В некоторых вариантах осуществления стадия определения включает секвенирование амплифицированной кДНК.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает лечение пациента ингибитором FGFR, если в образце присутствует один или более мутантов FGFR из панели генов. К приемлемым ингибиторам FGFR для использования в способах лечения относятся ранее раскрываемые в настоящем документе, в частности JNJ-42756493.

Наборы для выявления наличия мутантных генов FGFR.

Дополнительно раскрываются наборы для выявления наличия одного или более мутантных генов FGFR в биологическом образце, содержащие: пару праймеров, имеющих последовательности SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 и SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 или любую их комбинацию; а также инструкции по проведению анализа для обнаружения одного или более мутантных генов FGFR.

ный зонд может иметь последовательность SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотидный зонд может иметь последовательность SEQ ID NO: 55.

3'-Блокирующий олигонуклеотид.

В настоящем документе также раскрываются олигонуклеотиды, содержащие любую из последовательностей SEQ ID NO: 39-42. В некоторых вариантах осуществления 3'-блокирующий олигонуклеотид может иметь последовательность SEQ ID NO: 39. В некоторых вариантах осуществления 3'-блокирующий олигонуклеотид может иметь последовательность SEQ ID NO: 40. В некоторых вариантах осуществления 3'-блокирующий олигонуклеотид может иметь последовательность SEQ ID NO: 41. В некоторых вариантах осуществления 3'-блокирующий олигонуклеотид может иметь последовательность SEQ ID NO: 42.

Примеры

Пример 1. Выделение и очистка плазмидной ДНК.

Ниже приводится пример процедуры получения плазмидной ДНК слияния FGFR.

Необходимое оборудование: центрифуга, обеспечивающая 1500×g; микроцентрифуга; пипеточные дозаторы с полным вытеснением или вытеснением воздухом; встряхиватель; капельный спектрофотометр; встряхиватель/инкубатор при 37°C; и термостат с установкой на 37°C.

Необходимые материалы: замороженная в глицерине бактериальная исходная культура, содержащая плазмидную ДНК; планшеты с агаром LB и канамицином (Teknova, № L1155); бульон LB (Life Technologies, № 10855-021); канамицин (Sigma, № K0254); набор для очистки плазмид (Qiagen, № 12123); абсолютный этанол (Sigma Aldrich, № E7023); изопропанол (Sigma Aldrich, № W292907); вода, не содержащая нуклеаз (без обработки DEPC) (IDT или Ambion № AM9932); наконечники пипеток без РНКаз с защитой (фильтр); микроцентрифужные пробирки без РНКаз (от 1,5 до 2 мл VWR, № 10011-724); серологические пипетки и круглодонные пробирки объемом 14 мл (VWR, № 352057).

Для восстановления бактерий из глицериновой культуры замороженные бактерии соскребали с верхней части пробирки с глицериновой исходной культурой с помощью стерильного наконечника пипетки, высевали штрихом на чашку с агаром LB и оставляли в перевернутом виде в термостате при 37°C в течение ночи.

Плазмиды ДНК очищали в соответствии с протоколом очистки плазмидной ДНК Qiagen. Коротко говоря, выбирали отдельную колонию на засеянной штрихом чашке и инкубировали в культуре с 5 мл среды LB, содержащей 50 мкг/мл канамицина, в течение ночи во встряхивателе при 37°C и примерно 300 об/мин. Бактериальные клетки собирали центрифугированием при 6000×g в течение 15 мин при 4°C, а осадок клеток ресуспендировали в 300 мкл буферного раствора P1. Добавляли 300 мкл буферного раствора P2, перемешивали переворачиванием пробирки 4-6 раз и инкубировали при КТ (комнатной температуре) в течение 5 мин. Добавляли 300 мкл охлажденного буферного раствора P3, немедленно перемешивали переворачиванием 4-6 раз, инкубировали на льду в течение 5 мин и центрифугировали на максимальной скорости в течение 10 мин. Без промедления удаляли супернатант, содержащий плазмидную ДНК. Колонку Qiagen-tip 20 уравнивали нанесением 1 мл буферного раствора QBT, которому позволяли стечь самотеком под действием силы тяжести. Наносили на колонку Qiagen-tip 20 супернатант и позволяли смоле пропитаться самотеком под действием силы тяжести. Колонку Qiagen-tip 20 промывали 2×2 мл буферного раствора QC и элюировали ДНК 800 мкл буферного раствора QF, элюат собирали в пробирку Eppendorf объемом 1,5 мл. Осаждали ДНК добавлением 0,7 объемов изопропанола, перемешивали и немедленно центрифугировали при 15000×g в течение 30 мин в микроцентрифуге. Декантировали супернатант, а осадок ДНК промывали в 1 мл 70% этанола и центрифугировали при 15000×g в течение 10 мин. Декантировали супернатант. Осадок высушивали на воздухе в течение 5-10 мин и повторно растворяли ДНК в 100 мкл или приемлемом объеме не содержащей нуклеаз воды. Плазмидную ДНК количественно определяли с помощью спектрофотометра Nanodrop и сохраняли при -20°C до последующего использования.

Пример 2. Получение клеточных линий NRK.

Конструировали экспрессионные векторы, экспрессирующие каждое из слияний FGFR. Экспрессионный вектор затем трансфицировали в нормальные эпителиальные клетки почки крысы (NRK). После трансфекций проводили селекцию стабильных клеточных линий в среде, содержащей канамицин. Затем выращивали полученные клетки, выделяли мРНК и проводили анализы слияния FGFR, чтобы подтвердить наличие мРНК с конкретными слияниями FGFR.

Пример 3. Поддержание линий клеток FGFR-слияний.

Приведенный ниже протокол описывает пример процедуры культивирования и поддержания линий клеток NRK со сверхэкспрессией FGFR-слияний. Клеточные линии включают, без ограничений, следующие:

NRK/FGFR3:TACC3v1, NRK/FGFR3:TACC3 v3,
 NRK/FGFR3:BAIAP2L1, NRK/FGFR2: BICC1, NRK/FGFR2:CASP7,
 NRK/FGFR2:CCDC6, NRK/FGFR2:AFF3, NRK/FGFR2:OFD1 и NRK/ПУСТОЙ
 ВЕКТОР

(контроль плазмиды). Необходимое оборудование: бокс биологической безопасности, оборудованный системой вакуумной аспирации; инкубатор CO₂ с установкой на 37°C и 5% CO₂; морозильная камера на -80°C; сосуд с жидким азотом; водяная баня, установленная на 37°C; и микроскоп.

Необходимые материалы: серологические пипетки; флаконы для тканевой культуры (T75 VWR, № BD353136 и/или T150 VWR, № 15705-074); устройства для фильтрации тканевой культуры на 0,2 мкм (Thermo Scientific, № 566-0020); среда для культивирования клеток DMEM (среда Игла, модифицированная по способу Дульбекко) (Life Technologies, № 11965-084); эмбриональная бычья сыворотка (FBS), сертифицированная, термоинактивированная (Life Technologies, № 10082147); раствор антибиотиков PenStrep (Life Technologies № 15140-122); 0,25% раствор трипсина-EDTA (Life Technologies, № 25200-056); DPBS (фосфатно-буферный раствор Дульбекко, без кальция, без магния) (Life Technologies, № 14190136); контейнер для замораживания клеток для криоконсервирования; портативный пипеточный дозатор; среда для замораживания клеток (Life Technologies, № 12648-010); конические пробирки 15 мл (VWR, № 62406-2); и криопробирки (VWR, № 89094-800).

Для получения клеточной культуральной среды готовили среду DMEM, смешивая 445 мл DMEM, 50 мл FBS и 5 мл PenStrep. Приготовленную среду пропускали через устройство для фильтрации на 0,2 мкм и хранили при 4°C.

Для размораживания замороженных клеток подготовленную среду DMEM нагревали на водяной бане при 37°C в течение по меньшей мере 15 мин и помещали 15 мл подогретой среды во флакон T75. Клетки извлекали из сосуда с жидким азотом и немедленно помещали на водяную баню при 37°C до момента размораживания. Криопробирки обильно орошали 70% спиртом из пульверизатора, а излишки убирали бумажными полотенцами. Все содержимое полностью переносили во флакон T75, содержащий DMEM. Флакон слегка встряхивали для перемешивания и помещали в инкубатор на 24 ч. Если клетки не были готовы делиться, среду заменяли на свежеприготовленную DMEM для удаления остатков среды для замораживания. Если клетки готовы были к делению, каждую клеточную линию однократно размножали до достижения 80% конfluence (соотношение делений для каждой клеточной линии зависело от экспериментальных потребностей).

Для замораживания клеточных линий клетки извлекали из флакона для культивирования и центрифугировали в конической пробирке объемом 15 мл в течение 5 мин при 1500 об/мин при КТ. Среда удалялась аспирацией и добавляли 6 мл среды для замораживания клеток. Клетки перемешивали пипетированием несколько раз и отбирали по 1 мл раствора с клетками в каждую из 5 криопробирок. Криопробирки помещали в контейнер для криозамораживания, который выдерживали в морозильной камере при -80°C в течение ночи, с последующим продолжительным хранением в сосуде с жидким азотом.

Пример 4. Анализ SNP FFPET.

Ниже приводится примерная последовательность действий и протокол для поведения анализа SNP FFPET. Аналогичную процедуру проводят для анализов слияний в FFPET, результаты которых приводятся на фиг. 2.

Депарафинизация из FFPET.

Препараты обрабатывали возрастающими объемами ксилола с последующей обработкой спиртом для удаления парафина.

Экстракция РНК из FFPET.

Ниже описана процедура экстракции РНК из образцов фиксированной формалином и залитой в парафин ткани рака молочной железы для анализа нижележащей генной экспрессии.

Необходимое оборудование: центрифуга с держателем планшетов, обеспечивающая 1500×g; микроцентрифуга; пипеточные дозаторы с полным вытеснением или вытеснением воздухом; встряхиватель; спектрофотометр NanoDrop 8000; нагревательное устройство, позволяющее проводить инкубацию при 37, 56 и 80°C; и пастеровская пипетка (Pipet Trans EX-FT 1,5 мл кол-во 500, VWR, № 14670-329).

Необходимые материалы: набор для ДНК/РНК FFPE AllPrep (Qiagen, № 80234); абсолютный этанол (Sigma Aldrich, № E7023); изопропанол; ксилол; вода, не содержащая нуклеаз (без обработки DEPC) (IDT или Ambion № AM9932); наконечники пипеток без РНКаз с защитой (фильтр); свободные от РНКаз микроцентрифужные пробирки (от 1,5 до 2 мл VWR, № 10011-724); и инструкция к набору Qiagen AllPrep для ДНК/РНК FFPE.

Экстракцию РНК проводили с использованием набора AllPrep для ДНК/РНК FFPE. Коротко говоря, один срез толщиной 1-10 мкм помещали в реакционную пробирку объемом 1,5 мл и добавляли 800 мкл NemoDe или ксилола. Образец встряхивали в течение 4 с 3 раза, инкубировали в течение 2 мин, встряхивали в течение 4 с 3 раза и инкубировали в течение 5 мин.

Образец центрифугировали в течение 2 мин на максимальной скорости (12000-14000×g), а суперна-

тант удаляли аспирацией. Во избежание высыхания ткани пробирки немедленно закрывали крышкой.

Повторяли перечисленные выше стадии.

Добавляли 800 мкл абс. этанола, постукивали по пробирке, чтобы отделить от дна осадок, встряхивали в течение 4 с 3 раза, центрифугировали в течение 2 мин на максимальной скорости (12000-14000×g) и отделяли супернатант аспирацией.

Добавляли 800 мкл 70% этанола, постукивали по пробирке, чтобы отделить от дна осадок, встряхивали в течение 4 с 3 раза, центрифугировали в течение 2 мин на максимальной скорости и отделяли супернатант аспирацией. После удаления 70% этанола пробирку вновь центрифугировали в течение 10-20 с и остаток жидкости осторожно удаляли пипеткой с тонким носиком.

Открытые пробирки инкубировали в нагревательном устройстве в течение 5-15 мин при 37°C, чтобы высушить на воздухе осадок ткани.

Осадок повторно суспендировали добавлением 150 мкл буферного раствора PKD и постукивали по пробирке для отделения осадка от дна. Добавляли 10 мкл протеиназы K и содержимое пробирки перемешивали на встряхивателе.

Пробирки инкубировали при 56°C в течение 15 мин, инкубировали на льду 3 мин и центрифугировали 15 мин при 20000×g.

Супернатант осторожно переносили, не трогая осадок, в новую микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл для очистки РНК. Супернатант инкубировали при 80°C в течение 15 мин. Пробирку центрифугировали в течение непродолжительного времени для удаления капель с внутренней стороны крышки. Добавляли 320 мкл буферного раствора RLT, чтобы скорректировать условия связывания, и содержимое пробирки перемешивали встряхиванием или пипетированием. Добавляли 1120 мкл этанола (96-100%) и содержимое пробирки перемешивали встряхиванием или пипетированием.

Переносили 700 мкл образца, в том числе любой осадок, который мог образоваться, в спин-колонку RNeasy MinElute, помещенную в пробирку-сборник объемом 2 мл, и центрифугировали в течение 15 с при $\geq 8000 \times g$ ($\geq 10\ 000$ об/мин). Проточную фракцию удаляли. Процедуру повторяли до тех пор, пока весь образец не проходил через спин-колонку RNeasy MinElute.

Добавляли 350 мкл буферного раствора FRN в спин-колонку RNeasy MinElute и центрифугировали в течение 15 с при $\geq 8000 \times g$ (≥ 10000 об/мин). Проточную фракцию удаляли.

Добавляли 10 мкл исходного раствора ДНКазы I к 70 мкл буферного раствора RDD, осторожно перемешивали переворачиванием пробирки и центрифугировали в течение непродолжительного времени, чтобы собрать остаток жидкости со стенок пробирки.

Смесь для инкубирования ДНКазы I (80 мкл) добавляли непосредственно на мембрану спин-колонки RNeasy MinElute и оставляли на столе (20-30°C) в течение 15 мин.

Добавляли 500 мкл буферного раствора FRN в спин-колонку RNeasy MinElute и центрифугировали в течение 15 с при $\geq 8000 \times g$ (≥ 10000 об/мин). Проточную фракцию сохраняли для использования на следующей стадии, поскольку она содержит короткие РНК.

Спин-колонку RNeasy MinElute помещали в новую пробирку объемом 2 мл (в комплекте). Проточную фракцию предыдущей стадии наносили на спин-колонку и центрифугировали в течение 15 с при $\geq 8000 \times g$ (≥ 10000 об/мин). Проточную фракцию удаляли.

Добавляли 500 мкл буферного раствора RPE в спин-колонку RNeasy MinElute и центрифугировали в течение 15 с при $\geq 8000 \times g$ (≥ 10000 об/мин) для промывки мембраны спин-колонки. Проточную фракцию удаляли.

Добавляли 500 мкл буферного раствора RPE в спин-колонку RNeasy MinElute и центрифугировали в течение 15 с при $\geq 8000 \times g$ (≥ 10000 об/мин) для промывки мембраны спин-колонки. Пробирку-сборник с проточной фракцией отбрасывали.

Спин-колонку RNeasy MinElute помещали в новую пробирку объемом 2 мл и центрифугировали на полной скорости в течение 5 мин. Пробирку-сборник с проточной фракцией отбрасывали.

Спин-колонку RNeasy MinElute помещали в новую пробирку-сборник объемом 1,5 мл, добавляли 30 мкл не содержащей РНКазы воды непосредственно на мембрану спин-колонки, инкубировали в течение 1 мин при комнатной температуре и центрифугировали на полной скорости в течение 1 мин, чтобы элюировать РНК.

Образцы РНК немедленно помещали на хранение в морозильную камеру при -80°C.

Синтез кДНК.

Ниже приводится процедура синтеза кДНК для анализов SNP FFPE с помощью анализа ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ).

Необходимое оборудование: центрифуга с держателем планшетов, обеспечивающая 1500×g; микроцентрифуга; пипеточные дозаторы (предпочтительно одноканальные и многоканальные пипеточные дозаторы), с полным вытеснением или вытеснением воздухом; встряхиватель; и система для ПЦР GeneAmp® 9700 (ABI, № 4314879) или эквивалентная.

Необходимые материалы: высокоэффективный набор для кДНК с обратной транскриптазой и ингибитором РНКаз, 200 реакций (ABI, № 4374966); вода, не содержащая нуклеаз (без обработки DEPC)

(IDT) или эквивалентная; наконечники пипеток без РНКаз с защитой (фильтр); микроцентрифужные пробирки без РНКаз (от 1,5 до 2 мл VWR, № 10011-724); оптические реакционные планшеты на 96 лунок MicroAmp™ (Life Technologies, № 4306736); и герметизирующая пленка (VWR, № 60941-072).

После экстракции РНК (описано выше) пробирку(и) с образцами РНК хранили на льду.

Компоненты набора использовали для приготовления 2× мастер-микса для обратной транскрипции (RT) для всех реакций, включая 1 отрицательный контроль (вода). Компоненты размораживали на льду примерно в течение 15 мин, пробирки осторожно переворачивали для перемешивания и центрифугировали в течение непродолжительного времени, чтобы собрать раствор. Все реагенты возвращали на лед. Пробирки не встряхивали.

Один мастер-микс готовили на льду в пробирке объемом 1,5 мл для соответствующего числа реакций (число реакций +10%, по 20 мкл на реакцию) смешением следующих объемов реагентов на одну реакцию: 2 мкл 10X буферной смеси RT; 0,8 мкл 25X смеси dNTP; 2 мкл случайных праймеров в 10X RT; 1 мкл 50 ед./мкл обратной транскриптазы MultiScribe; 1 мкл ингибитора РНКазы и 3,2 мкл H₂O, не содержащей нуклеаз/РНКаз.

Мастер-микс встряхивали несколько раз (от 5 до 10) для перемешивания и центрифугировали в течение непродолжительного времени (1500×g, от 5 до 10 с). Добавляли 10 мкл реакционной смеси в соответствующие лунки 96-луночного планшета.

Образцы РНК добавляли до концентрации 20 нг/мкл. Добавляли 10 мкл каждого образца РНК, включая отрицательный контроль с водой, в соответствующие лунки 96-луночного планшета до конечного реакционного объема 20 мкл. Содержимое лунок осторожно перемешивали пипетированием 3 раза, герметизировали пленкой для планшета и центрифугировали в течение непродолжительного времени (1500×g в течение 60 с). Планшеты выдерживали на льду до момента готовности для загрузки в термоциклер.

Реакционный планшет загружали в термоциклер ABI 9700 в чистой лаборатории или в условиях рабочей станции и запускали анализ с использованием следующей программы для обратной транскрипции с реакционным объемом 20 мкл:

- стадия 1: 25°C в течение 10 мин;
- стадия 2: 37°C в течение 120 мин;
- стадия 3: 85°C в течение 5 с;
- стадия 4: постоянное выдерживание при 4°C.

Полученную кДНК хранили при -20°C для последующей стадии преамплификации.

Приготовление объединенной смеси проб для преамплификации.

Объединенную смесь проб для преамплификации, связанную с протоколом преамплификации SNP FFPE, готовили в соответствии с приведенной ниже процедурой.

Необходимое оборудование: микроцентрифуга; пипеточные дозаторы, с полным вытеснением или вытеснением воздухом; и встряхиватель.

Необходимые материалы: вода, не содержащая нуклеаз (без обработки DEPC) (IDT) или эквивалентная; IDTE pH 8,0 (1X раствор TE) (IDT Technologies); наконечники пипеток без РНКаз с защитой (фильтр); и пробирки без РНКаз (от 1,5 до 2 мл VWR, № 10011-724).

Все пробы SNP TaqMan заказывались в Applied Biosystems, Life Technologies, Inc.

Готовили 100 мкл 20X проб SNP.

Для приготовления 0,2X объединенного набора проб для преамплификации все пробы размораживали на льду в течение примерно 15 мин. В пробирку объемом 1,5 мл добавляли следующие объемы компонентов.

Таблица 4

Исходный раствор для преамплификации 1		
Мишень	Концентрация исходного раствора	Объем, необходимый для 200 мкл исходного раствора для преамплификации (мкл)
FGFR3 S249C	20X	2
IDTE		198
Суммарный объем		200
Исходный раствор для преамплификации 2		
Мишень	Концентрация исходного раствора	Объем, необходимый для 200 мкл исходного раствора для преамплификации (мкл)
FGFR3 R248C	20X	2
IDTE		198
Суммарный объем		200
Исходный раствор для преамплификации 3		
Мишень	Концентрация исходного раствора	Объем, необходимый для 200 мкл исходного раствора для преамплификации (мкл)
FGFR3 Y373C	20X	2
IDTE		198
Суммарный объем		200

Примечание: приведенные выше объемы предназначены для приготовления 200 мкл 0,2X объединенного набора проб для преамплификации. Объемы можно соответственно корректировать в зависимости от количества тестируемых образцов.

Для перемешивания быстро встряхивали 0,2X набор проб для ампликации (от 5 до 10 с) и центрифугировали в течение непродолжительного времени (1500×g, 5-10 с). Отбирали 100 мкл объединенного набора праймеров для преамплификации в пробирки объемом 1,5 мл и хранили при -20°C.

Преамплификация для пробы фиксированной формалином и залитой в парафин ткани рака молочной железы SNP с использованием анализа ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ).

Необходимое оборудование: центрифуга с держателем планшетов, обеспечивающая 1500×g; микроцентрифуга; пипеточные дозаторы, с полным вытеснением или вытеснением воздухом; встряхиватель; система для ПЦР GeneAmp® 9700 (ABI, № кат. 4314879) или эквивалентная.

Необходимые материалы: мастер-микс для преампликации TaqMan® (2X) (Life Technologies, № 4391128); 0,2X объединенная смесь проб (см. протокол приготовления и обработки проб); 1X буферный раствор IDTE (10 mM трис/0,1 mM EDTA, pH 7,5, поставляется IDT) или эквивалентный; вода, не содержащая нуклеаз (без обработки DEPC) (IDT) или эквивалентная; наконечники пипеток без РНКаз с защитой (фильтр); микроцентрифужные пробирки без РНКаз (от 1,5 до 2 мл VWR, № 10011-724); оптические реакционные планшеты на 96 лунок MicroAmp™ (Life Technologies, № 4306736); оптическая пленка для заклеивания (Applied Biosystems, № 4311971); планшеты с глубокими лунками (VWR, № продукта 47734-788); фольга для заклеивания (VWR, № 60941-126).

Образцы готовили, помещая кДНК и 0,2X объединенную смесь проб на лед для размораживания примерно на 5 мин, и центрифугировали планшет в течение непродолжительного времени (1500×g в течение от 5 до 10 с).

Компоненты набора использовались для приготовления 2× мастер-микса для преамплификации. Компоненты набора оставляли для размораживания на льду в течение примерно 5 мин. После размораживания всех реагентов пробирки осторожно переворачивали для перемешивания и центрифугировали в течение непродолжительного времени, чтобы удалить раствор со стенок. Все реагенты возвращали на лед. Пробирки не встряхивали.

В чистой лаборатории или в боксе биологической защиты с вытяжкой готовили на льду каждый мастер-микс для соответствующего числа реакций, объединяя необходимые объемы реагентов, как показано в табл. 5 ниже (число реакций+10%).

Таблица 5

Компонент	Объем (мкл) для одной реакции
Мастер-микс 1	
2X мастер-микс TaqMan для преамплификации	12,5
0,2X объединенный набор проб 1	6,25
Суммарный объем	18,75
Мастер-микс 2	
2X мастер-микс TaqMan для преамплификации	12,5
0,2X объединенный набор проб 2	6,25
Суммарный объем	18,75
Мастер-микс 3	
2X мастер-микс TaqMan для преамплификации	12,5
0,2X объединенный набор проб 3	6,25
Суммарный объем	18,75

Объединенные наборы проб содержат праймеры и зонды.

Чтобы исключить перекрестное праймирование проб SNP, все 5 проб разделяли на 3 реакции преамплификации на образец.

Для перемешивания каждый мастер-микс встряхивали несколько раз (от 5 до 10) и центрифугировали в течение непродолжительного времени (1500×g, от 5 до 10 с). Добавляли 18,75 мкл каждого мастер-микса в соответствующие лунки 96-луночного реакционного планшета. Переносили 6,25 мкл каждого образца кДНК, в том числе из лунки с отрицательным контролем с водой, в соответствующие лунки на реакционном планшете с мастер-миксом для каждой реакции преамплификации. Образец осторожно перемешивали пипетированием 3 раза и закрывали крышкой. Планшет центрифугировали в течение непродолжительного времени (1500×g в течение 60 с) и выдерживали на льду до момента готовности для загрузки в термоциклер.

Загружали реакционный планшет в термоциклер ABI 9700 и запускали анализ, используя следующую программу:

- стадия 1: 95°C в течение 10 мин;
- стадия 2: 95°C в течение 15 с;
- стадия 3: 60°C в течение 4 мин;
- стадия 4: установка стадий 2-3 на 10 циклов.

При использовании золотого или серебряного блока выбирали максимальный режим и задавали скорость изменения 77%. При использовании алюминиевого блока выбирали стандартный режим (без изменения скорости);

- стадия 5: постоянное выдерживание при 4°C.
- Установка реакционного объема на 25 мкл.

После завершения преамплификации реакционный планшет для амплификации центрифугировали в течение непродолжительного времени (1500×g в течение 60 с). Добавляли 100 мкл IDTE в соответствующие лунки нового 96-луночного планшета с глубокими лунками и переносили 25 мкл каждого продукта преамплификации в соответствующие лунки, чтобы конечный объем разбавления составлял 125 мкл. Содержимое каждой лунки перемешивали пипетированием 3 раза, планшет запечатывали клеящей фольгой, центрифугировали в течение непродолжительного времени (1500×g в течение от 5 до 10 с) и хранили продукт преамплификации при -20°C до последующего использования.

Анализ SNP FFPET - ПЦР в реальном времени.

Ниже приводится процедура анализа SNP для фиксированной формалином и залитой в парафин ткани рака молочной железы с использованием анализа ПЦР в реальном времени.

Необходимое оборудование: центрифуга с держателем планшетов, обеспечивающая 1500×g; микроцентрифуга; пипеточные дозаторы (предпочтительно одноканальные и многоканальные пипеточные дозаторы), с полным вытеснением или вытеснением воздухом; встряхиватель; и прибор ABI ViiA 7 для ПЦР в реальном времени (Life Technologies).

Необходимые материалы: мастер-микс для генотипирования TaqMan (Life Technologies, № 4371355); пробы SNP; вода, не содержащая нуклеаз (без обработки DEPC, полученная от IDT) или эквивалентная; наконечники пипеток без РНКаз с защитой (фильтр); микроцентрифужные пробирки без РНКаз (от 1,5 до 2 мл VWR, № 10011-724); оптическая пленка для заклеивания (Applied Biosystems, № 4311971); и оптические реакционные планшеты на 384 лунки MicroAmp™.

В табл. 15 перечислены последовательности зондов, использованных в ходе анализа ПЦР в реальном времени.

Для приготовления образцов в чистой лаборатории и в условиях рабочей станции пробы SNP помещают на лед для размораживания в течение примерно 5 мин. Все реагенты защищают от прямого попадания света, чтобы исключить воздействие на флуоресцентные зонды. После приготовления мастер-микса для генотипирования планшеты для преамплификации с разведениями помещают на лед для размораживания в обычной лаборатории или в условиях рабочей станции.

Для приготовления мастер-микса для генотипирования мастер-микс генотипирования размораживали на льду в течение примерно 5 мин. Мастер-микс (ММ) готовили на льду в необходимом количестве пробирок. Необходимые объемы реагентов объединяли в соответствующих маркированных пробирках, как показано ниже в табл. 6 (число реакций+10%).

Таблица 6

Компонент	Объем (мкл) для одной реакции
2X мастер-микс для генотипирования	10
20X пробы SNP	1
Вода без РНКаз	4
Суммарный объем	15

20X SNP смесь для анализа содержит праймеры, зонды и блокирующие олигонуклеотиды.

Для перемешивания мастер-микс встряхивали несколько раз (от 5 до 10) и затем центрифугировали в течение непродолжительного времени (1500×g, от 5 до 10 с). Добавляли 15 мкл каждого мастер-микса в соответствующие лунки оптических 384-луночных реакционных планшетов MicroAmp™. Реакционные планшеты запечатывали оптической пленкой для заклеивания.

Планшет с разбавленным 1:5 продуктом преамплификации помещали на лед в течение примерно 5-10 мин для размораживания. С помощью многоканального пипеточного дозатора 5 мкл каждого разбавленного продукта преамплификации переносили в соответствующие лунки. Реакционный планшет запечатывали оптической пленкой для заклеивания и центрифугировали в течение непродолжительного времени (1500×g, в течение 60 с). Планшеты выдерживали на льду до момента готовности для загрузки в термоциклер.

Следующие условия использовались для анализа с использованием программного обеспечения viiA 7 с объемом, установленным на 20 мкл.

Таблица 7

Стадия	Повторения	Процесс	Температура	Время
1	1	Инициирование	60 °C	0,5 минут
2	1	Активация ДНК-полимеразы	95 °C	10 минут
3	40	Денатурация	95 °C	15 секунд
		Отжиг/удлинение	60 °C	1 минута
4	1	После считывания	60 °C	30 секунд

Специфичная для SNP FGFR кПЦР-РВ.

Обнаружение редких соматических мутаций в дополнение к аллелям дикого типа обретает все более важное значение для диагностики рака. Если интересующие мутации находятся близко друг от друга, то обнаружение усложняется. Чтобы упростить идентификацию SNP FGFR из FFPE, был разработан SNP-специфичный анализ кПЦР-РВ, в ходе которого использовалась SNP-специфичная амплификация с применением зондов Taqman MGB в сочетании с 3'-дидезоксиблокатором аллеля дикого типа (WT). В анализе предотвращалось неспецифичное связывание, повышалось число целевой амплификации, сводилось к минимуму ложноположительные сигналы аллелей WT и повышалась чувствительность анализа. Такой анализ РНК на основе обнаружения SNP в сочетании со стадией преамплификации в ходе анализа усиливает сигналы от незначительных или редких мутаций.

Пример стратегии для SNP-специфичной кПЦР-РВ с использованием 3'-дидезоксиолигонуклеотида-блокатора WT приводится на фиг. 3, а пример стратегии валидации образца FFPE приводится на фиг. 4. Коротко говоря, кПЦР-РВ проводили с использованием праймеров для SNP FGFR в присутствии 3'-дидезоксиолигонуклеотида-блокатора WT, который был комплементарен аллелю WT и содержал короткий участок фланкирующих его нуклеотидов. Связывание олигонуклеотида-блокатора с аллелем WT предотвращало амплификацию аллеля WT, тогда как праймеры для SNP FGFR связывались и специфически амплифицировали SNP FGFR. 3'-Дидезоксиолигонуклеотиды-блокаторы WT, использованные в SNP-специфичной кПЦР-РВ для FGFR, приводятся в табл. 8. Праймеры для SNP FGFR, использованные в SNP-специфичной кПЦР-РВ для FGFR, представляли: SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32 (FGFR3 R248C); SEQ ID NO: 33 и SEQ ID NO: 34 (FGFR3 S249C); SEQ ID NO: 35 и SEQ ID NO: 36 (FGFR3 G370C); и SEQ ID NO: 37 и SEQ ID NO: 38 (FGFR3 Y373). В табл. 15 перечислены последовательности зондов, использованных в ходе анализа ПЦР в реальном времени.

Таблица 8

Мишень	3'-дидезоксиолигонуклеотид-блокатор WT
FGFR3 R248C	TGGAGCGCTCCCCGCA-ddC (SEQ ID NO: 39)
FGFR3 S249C	GACGTGCTGGAGYGCTC-ddC (SEQ ID NO: 40) *
FGFR3 G370C	CTGACGAGGCGGGCAG-ddC (SEQ ID NO: 41)
FGFR3 Y373	GTGTGTATGCAGGCATCCTCAG-ddC (SEQ ID NO: 42)

*У может быть Т или С. 3'-блокирующий олигонуклеотид WT будет содержать 50% Т и 50% С в данном конкретном положении в ходе синтеза (очищается производителем, чтобы обеспечить нахождение Т или С в данном конкретном положении).

Образцы для валидационных исследований готовили, как показано в табл. 9. Примеры данных валидации для SNP-специфической кПЦР-РВ с использованием 3'-дидезоксиолигонуклеотида-блокатора WT для FGFR3 G370C, FGFR3 Y373, FGFR3 S249C и FGFR3 R248C приводятся на фиг. 5A-5D соответственно. Данные первичного Ct (порога циклов) для образцов FFPE со SNP-специфической кПЦР-РВ с 3'-дидезоксиолигонуклеотидами-блокаторами WT приводятся в табл. 10. Данные, полученные из ДНК и РНК с использованием различных платформ/методик, дают основание предположить, что SNP-специфическая ПЦР с 3'-блокирующим нуклеотидом является надежным, достоверным и чувствительным методом анализа. Данные валидации указывают на возможность обнаружения единичного мутантного аллеля/SNP в значительном избытке несущей информации WT геномной ДНК, тем самым подчеркивая чувствительность и специфичность каждого анализа.

Таблица 9

Образец	% мутанта
1	100
2	20
3	4
4	0,8
5	0 (100% WT)

РНК стабильных клеточных линий, экспрессирующих каждую SNP FGFR3 (R248C, S249C, G370C, Y373C) и FGFR3 WT.

Таблица 10

Ид. № пл.	SNP FGFR3 - SNP-специфическая ПЦР с дидезоксиблокатором WT (Ct *)				FMI/NGS	Janssen R&D ver 1.0
	R248C	S249C	G370C	Y373C		
7502	> 35	28,03	> 35	> 35	S249C	S249C
10000305	> 35	> 35	> 35	> 35	WT	WT
33000127	> 35	20,92	> 35	> 35	S249C	S249C
33000118	> 35	29,35	> 35	> 35	S249C	S249C
10000306	> 35	> 35	> 35	24,30	Y373C	Y373C
34000226	> 35	> 35	> 35	> 35	WT	WT
16446	> 35	28,03	> 35	> 35	S249C	S249C

*Среднее из двух Ct.

FMI/NGS - методика секвенирования следующего поколения, в которой ДНК используется в качестве матрицы для идентификации мутаций (без 3'-блокирующего олигонуклеотида); Janssen R&D - проведенная на матрице РНК (без 3'-блокирующего олигонуклеотида); SNP-специфическая ПЦР, проведенная на матрице РНК без 3'-блокирующего олигонуклеотида.

Пример 5. Валидация разработанного анализа для обнаружения слитых генов FGFR.

Создание положительных контролей для анализа слияний FGFR.

Создавали слитые "синтетические мини-гены" FGFR, плазмиды, кодирующие слияния FGFR, и стабильные клеточные линии, содержащие слияния FGFR. Коротко говоря, синтетические мини-гены искусственно конструировали посредством связывания друг с другом наборов нуклеотидов из примерно

100 пар оснований, соответствующих целевой последовательности ДНК интересующего гена. Плазмиды, кодирующие слияния FGFR, получали клонированием кДНК, кодирующей различные слитые гены FGFR, в экспрессионный вектор. Стабильные линии клеток, содержащие слияния FGFR, получали трансфицированием плазмид, кодирующих гены FGFR, в нормальные эпителиальные клетки почки крысы (клетки NRK). Селекцию стабильных клеточных линий проводили в присутствии антибиотика G418. Анализ слияний FGFR Taqman проводили на общей РНК, выделенной из таких линий клеток, чтобы подтвердить успешное получение стабильной(ых) линии(й) клеток, экспрессирующей(их) слияние(я) FGFR. Стабильные линии клеток, экспрессирующие слияния FGFR, использовали в качестве положительного контроля. В табл. 15 перечислены последовательности зондов, использованных в ходе анализа ПЦР в реальном времени.

Анализ нижнего предела количественного обнаружения и эффективности анализов слияний FGFR.

Для определения нижнего предела количественного обнаружения (LLOQ) и эффективности анализов слияний FGFR с помощью ПЦР TaqMan получали продукты слияний FGFR (как описано в примере 4) и одтверждали их секвенированием по Сэнгеру (фиг. 2). Смешивали 100 пг положительной на слияния ДНК с нормальной человеческой кДНК (подтвержденной как отрицательная на слияния), последовательно разбавляли 1:10 и анализировали с помощью программного обеспечения Applied Biosystems ViiA7 v1.1. Стандартные кривые эффективности приводятся на фиг. 6. LLOQ для слияний FGFR и эффективность приводятся в табл. 11.

Таблица 11

Анализ	LLOQ	Эффективность
FGFR3:TACC3 v1	1,0 фг	104%
FGFR3:TACC3 v3	10,0 фг	104%
FGFR3:интрон TACC3	0,1 фг	103%
FGFR3:BAIAP2L1	1,0 фг	101%
FGFR2:AFF3	0,1 фг	106%
FGFR2:BICC1	10,0 фг	105%
FGFR2:CASP7	0,1 фг	109%
FGFR2:CCDC6	1,0 фг	106%
FGFR2:OFD1	0,1 фг	96,6%

Затем валидировали анализ слитых генов FGFR в линиях клеток, положительных на слитый ген. Для различения экспрессии слитых генов FGFR проводили последовательные разбавления добавлением линий клеток, положительных на белки слияния, к линиям клеток, отрицательных на белки слияния. Например, последовательное разбавление 1:2 готовили как для FGFR3:TACC3 v1, так и FGFR3:BAIAP2L1, и добавляли к 1 млн клеток BAF. Выделяли РНК (с использованием набора Qiagen Rneasy) с последующей ПЦР-РВ, преамплификацией кДНК и ПЦР в реальном времени TaqMan для целевого слитого гена FGFR. Как показано в табл. 12, в обоих случаях анализов TaqMan слитых генов FGFR3:TACC3 v1 и FGFR3:BAIAP2L1 существовала возможность обнаруживать целевое слияние в 31 из 1 млн клеток, отрицательных на слияния (чувствительность 0,003%).

Таблица 12

	Количество клеток со слияниями FGFR	Процент клеток, положительных на слияния, по сравнению с фоном	RT112 FGFR3:TACC3v1 среднее Ct (n=2)	SW780 FGFR3:BAIAP2L1 среднее Ct (n=2)
Положительный контроль	1,00E+06	100%	17,56	20,35
	1000	0,1000%	27,95	28,61
	500	0,0500%	29,11	28,91
	250	0,0250%	29,62	30,14
	125	0,0125%	30,26	31,43
	62,5	0,0063%	31,19	31,69
LLOD	31,25	0,0031%	32,59	32,97
	15,6	0,0016%	34,91	> 40
	0	0,0000%	0,00	> 40

RT112 и SW780 - доступные для приобретения линии клеток рака мочевого пузыря, содержащие слияния FGFR (от Американской коллекции типовых культур).

Пример 6. Валидация разработанного анализа для идентификации SNP FGFR.

Оценка мутаций FGFR3 при раке мочевого пузыря.

R248C, S249C и Y373C SNP наблюдали, соответственно, примерно в 8%, примерно в 61% и примерно в 19% протестированных образцах рака мочевого пузыря.

Пример 7. Анализ образцов рака.

Образцы анализировали с использованием той же процедуры, которая была описана в примере 4. Результаты показаны в табл. 13 и на фиг. 7. В табл. 13 приводится распространенность слияний FGFR

при различных раках. Слияния FGFR обнаруживали в образцах FFPE при различных раках, таких как рак мочевого пузыря (первичный и метастатический), NSCLC (аденокарцинома и плоскоклеточный), яичника, пищевода (первичный и метастатический), головы и шеи (H&N; первичный и метастатический), эндометрия (метастатический), молочной железы и простаты, с использованием метода кПЦР-РВ. Все протестированные слияния FGFR давали отрицательный результат для образцов рака простаты. Для слияния FGFR3:интрон TACC3 результат был отрицательным при раке мочевого пузыря (первичном), NSCLC (плоскоклеточном), яичника и пищевода (первичном), H&N (первичном и метастатическом) и молочной железы. Для слияния FGFR2:OFD1 результат был отрицательным при раке мочевого пузыря (первичном и метастатическом), NSCLC (аденокарциноме), яичника и пищевода (первичном и метастатическом). Для слияния FGFR2:CCDC6 результат был отрицательным при раке мочевого пузыря (первичном и метастатическом), NSCLC (аденокарциноме), яичника и пищевода (первичном и метастатическом) и H&N (первичном и метастатическом).

Фиг. 8 является примером представления состояния и мутации слитого гена FGFR при аденокарциноме и плоскоклеточной карциноме NSCLC. В положительных на слияния FGFR образцах аденокарциномы NSCLC 3/17 образцов были положительными на мутацию EGFR, 3/17 образцов были положительными на мутацию KRAS и 1/17 образцов был положительным на мутацию cMET. При этом никаких мутаций EGFR, KRAS или cMET не наблюдалось в положительных на слияния FGFR образцах плоскоклеточной карциномы NSCLC.

Таблица 13

	Первичн. мочевого пузыря (%)	Метастат. мочевого пузыря (%)	Аденокарц. NSCLC (%)	Плоскоклеточ. NSCLC (%)	Яичника (%)	Первичн. пищ. (%)	Метастат. пищ. (%)	Первичн. H&N (%)	Метастат. H&N (%)	Эндометастатич. (%)	Молочн. жел. (%)	Простаты (%)
FGFR3: TACC3v1	1/22 (4,55)	5/48 (10,47)	3/89 (3,37)	2/125 (1,60)	4/94 (4,26)	2/41 (4,88)	2/42 (4,76)	1/37 (2,70)	0/40 (0,00)	5/46 (10,87)	3/112 (2,69)	0/72 (0,00)
FGFR3: TACC3v3	1/22 (4,55)	2/48 (4,20)	9/89 (13,90)	5/129 (3,38)	5/94 (5,32)	1/41 (2,44)	10/42 (23,81)	0/37 (0,00)	0/40 (0,00)	2/46 (4,35)	6/112 (5,36)	0/72 (0,00)
FGFR3: интрон TACC3	0/22 (0,00)	0/48 (0,00)	3/89 (3,37)	0/125 (0,00)	0/94 (0,00)	0/41 (0,00)	1/42 (2,38)	0/37 (0,00)	0/40 (0,00)	2/46 (4,35)	0/112 (0,00)	0/72 (0,00)
FGFR3: BATAP2 L1	2/17 (11,77)	19/44 (43,18)	5/89 (5,62)	3/115 (2,61)	1/94 (1,06)	0/41 (0,00)	25/42 (59,52)	2/37 (5,41)	34/40 (85,00)	22/46 (47,83)	56/112 (50,00)	0/72 (0,00)
FGFR2: BICC1	1/22 (4,55)	4/48 (8,33)	0/89 (0,00)	2/123 (1,63)	8/94 (8,51)	2/41 (4,88)	1/42 (2,40)	0/37 (0,00)	0/40 (0,00)	0/46 (0,00)	3/112 (2,70)	0/72 (0,00)
FGFR2: AFF3	1/17 (5,88)	19/44 (43,18)	1/89 (1,12)	2/111 (1,80)	2/94 (2,31)	0/41 (0,00)	8/42 (19,05)	0/37 (0,00)	0/40 (0,00)	0/46 (0,00)	10/112 (8,90)	0/72 (0,00)
FGFR2: CASP7	7/16 (43,75)	20/45 (44,44)	1/89 (1,12)	6/114 (5,26)	24/94 (25,53)	2/41 (4,88)	1/42 (2,40)	4/37 (10,81)	3/40 (7,50)	8/46 (17,40)	12/112 (10,70)	0/72 (0,00)
FGFR2: CCDC6	0/22 (0,00)	0/48 (0,00)	0/89 (0,00)	6/109 (5,50)	0/94 (0,00)	0/41 (0,00)	4/42 (9,52)	0/37 (0,00)	0/40 (0,00)	6/46 (13,04)	3/112 (2,70)	0/72 (0,00)
FGFR2: OFD1	0/17 (0,00)	0/44 (0,00)	0/89 (0,00)	1/121 (0,83)	0/94 (0,00)	0/41 (0,00)	1/42 (2,40)	0/37 (0,00)	3/40 (7,50)	3/46 (6,52)	10/112 (8,90)	0/72 (0,00)

Пищ. - пищевода;

эндо - эндометрия.

Пример 8. Лечение пациентов с солидными опухолями на поздних стадиях.

Проводилось клиническое исследование, в ходе которого пациенты с различными солидными опухолями, экспрессирующими слитые гены FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR2:CCDC6 и FGFR2:BICC1, получали лечение JNJ-42756493. Фиг. 9 содержит примерные результаты анализа образцов, взятых у пациентов в ходе фазы I, в которых слияния FGFR в образцах исследования фазы I для JNJ-427493 (EDI10001) обнаруживали с помощью анализа кПЦР-РВ. Все анализы слияний FGFR проводили одновременно с положительными контролями (ST) и GAPDH, для оценки контроля качества РНК. А) Графическое представление данных кПЦР-РВ, полученных для rt#1000081: положительный только на слияние FGFR2:BICC1 (на вставке приводятся подробные данные для значений Ct для слияния FGFR2:BICC1, ST-положительного контроля и GAPDH). В) Графическое представление данных кПЦР-РВ, полученных для rt#33000158: положительный только на слияние FGFR3:TACC3 v1 (на вставке приводятся подробные данные для значений Ct для слияния FGFR3:TACC3 v1, ST-положительного контроля и GAPDH). С) Графическое представление данных кПЦР-РВ в реальном времени, полученных для rt#34000123: положительный только на слияние FGFR2:CCDC6 (на вставке приводятся подробные данные для значений Ct для слияния FGFR2:CCDC6, ST-положительного контроля и GAPDH). D) Графическое представление данных кПЦР-РВ, полученных для rt#34000115: положительный на слияния FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC#v3 и FGFR2:CCDC6 (на вставке приводятся подробные данные для значений Ct для слияний FGFR, ST-положительного контроля и GAPDH).

Фиг. 10 содержит пример схемы исследования фазы I для первого исследования JNJ-42756493 на людях среди пациентов с солидной опухолью на поздних стадиях. Приводится графическое представление для традиционного метода наращивания дозы 3+3 для клинического исследования фазы I. Фаза наращивания дозы была призвана установить максимальную переносимую дозу (MTD) и рекомендуемую дозу фазы II (RPD). Группа части 1 использовалась, чтобы определить схему дробного дозирования, т.е. 7 дней дозирования и семь дней перерыва (10 и 12 мг/кг). Группа части 2 использовалась, чтобы опреде-

лить биомаркеры ФД (биомаркеры фармакодинамики; маркеры, исследуемые для установления связи между воздействием лекарственного средства на мишень и биологическим ответом опухоли), при этом проводилось тестирование образцов биопсии и крови. Группа части 3 использовалась для когорты увеличения дозы и включала привлечение дополнительных пациентов со специфическими показаниями (NSCLC, SCLC, опухоли молочной железы и солидные опухоли) с различными критериями отбора (абerrации FGFR: транслокация/мутация/амплификации) для более точного описания профилей токсичности JNJ493.

Оценка клинической активности.

Значимые клинические ответы (RECIST) наблюдали при дозировании 9 мг раз в день (QD), 12 мг QD и 12 мг 7 дней приема/перерыва у пациентов со слитыми генами FGFR (фиг. 11 содержит все схемы дозирования).

Пример 9. Получение стабильно трансфицированных клеток RK3E со слиянием FGFR.

Линии клеток со сверхэкспрессией слияний FGFR RK3E (эпителиальные клетки почки крысы) приобретали в ATCC (г. Манассас, штат Вирджиния, США) и культивировали в DMEM с добавлением FBS и антибиотиков (Invitrogen, г. Гранд Айленд, штат Нью-Йорк, США). Формировали конструкции слитых генов FGFR и клонировали их в экспрессионный вектор pReceiver (Genecor/oeia, г. Роквилл, штат Мэриленд, США), который содержал HA-метку. Клоны трансфицировали в клетки RK3E с использованием агента Amaxa Cell Line Nucleofector (Lonza, г. Базель, Швейцария) в соответствии с протоколом изготовителя. Селекцию стабильно трансфицированных клеток осуществляли на полной среде с 800 мкг/мл G418 (Invitrogen). Сверхэкспрессию слияний в стабильно трансфицированных клетках подтверждали ПЦР в реальном времени и иммуноблоттингом с использованием антитела анти-pFGFR (фиг. 12). Как показано на фиг. 12, стабильно трансфицированные клетки демонстрировали экспрессию активных слитых киназ FGFR, что показано экспрессией фосфорилирования FGFR.

Анализ колониеобразования.

Проводилось тестирование независимого от якорной подложки роста стабильно трансфицированных клеток RK3E со слияниями FGFR. Сначала в каждую из трех лунок шестилуночного планшета вносили 1 мл культуральной среды с 0,8% агарозы с низкой температурой плавления. После затвердения агара в каждую лунку вносили еще 1 мл 0,4% агара в культуральной среде, содержащей 100 клеток. Через 14 дней колонии фиксировали и окрашивали 0,1% крезиловым кристаллическим фиолетовым. Число колоний определяли микроскопическим исследованием с подсчетом вручную по трем лункам для каждой линии клеток. Пример внешнего вида линии клеток со сверхэкспрессией каждого слияния приводится на фиг. 13А. Независимый от якорной подложки рост клеток в мягком агаре можно было наблюдать в стабильно трансфицированных клетках со слияниями FGFR, но не в случае контроля с пустым вектором. Фиг. 13В содержит результаты количественного анализа колоний в мягком агаре для стабильно трансфицированных клеток RK3E со слияниями FGFR и контроля с пустым вектором. Все эксперименты проводили дважды и результаты представляли в виде колоний/100 высевных клеток. Все проверенные слияния FGFR индуцировали независимый от якорной подложки рост, что указывает на их способность к трансформации.

Экспрессия нижележащих мишеней.

Стабильно трансфицированные клетки RK3E со слияниями FGFR высевали на полную среду для роста, выдерживали в течение ночи в условиях голодания без сыворотки, а затем подпитывали средой для роста с 0,5% FBS. Клетки обрабатывали 1 мкМ JNJ-42756493, AZD4547 или NVP-BGJ398 в присутствии лигандов в течение 1 ч. Для проведения иммуноблоттинга собирали полные клеточные лизаты в буферном растворе RIPA (Thermo Scientific, г. Уолтем, штат Массачусетс, США), а концентрацию белка в образце анализировали с использованием анализа BCA для белков (Thermo Scientific). Перед проведением электрофореза ДСН-ПААГ загружали равные количества белка (30 мкг на дорожку) на гели 4-12% бис-трис (Invitrogen). Белки переносили на нитроцеллюлозные мембраны и зондировали антителами против p-FGFR, полного FGFR2, p-МАРК, полного МАРК, p-S6, полного S6, В-актина (Cell Signaling Technology, г. Данверс, штат Массачусетс, США) и полного FGFR3 (Санта-Круз, г. Даллас, штат Техас, США). Мембраны блокировали блокирующим буферным раствором Odyssey в течение 1 ч при комнатной температуре и инкубировали в течение ночи при 4°C в растворе первичного антитела, разбавленном блокирующим буферным раствором Odyssey (1:1000). После трех промываний в трис-буферном солевом растворе с 0,1% Tween (TBST) мембраны зондировали антимышиным антителом козла или антикроличьим антителом ослы с красителем IR-Dye 670 или вторичной антисывороткой, меченой 800sw, в блокирующем буферном растворе Odyssey в течение 1 ч при комнатной температуре. Промывания повторяли после нанесения вторичной метки и получали изображения мембран на сканере LiCor Odyssey с обработкой аналитическим программным обеспечением Odyssey 3.0 (LiCor, г. Линкольн, штат Небраска, США). Воздействие JNJ-42756493 сопоставляли с AZD4547 и NVP-BGJ398. Как показано на фиг. 14А-14Н, обработка JNJ-42756493, AZD4547 и NVP-BGJ398 (дорожки 2-4 на каждом блоте) ингибировала фосфорилирование FGFR нижележащих мишеней, т.е. МАРК и S6.

Тестирование ответа на лекарственное средство для линий клеток со сверхэкспрессией слияний FGFR.

Стабильно трансфицированные клетки RK3E со слияниями FGFR высевали на 96-луночные планшеты (1000 клеток/луночку) в трех опытах на полную среду для роста с добавками и лигандами FGF-1 и FGF-2. Через 24 ч клетки выдерживали в условиях голодания без сыворотки в течение ночи, а затем подпитывали средой для роста с 0,5% FBS. Через 72 ч после высевания клетки обрабатывали 18 различными концентрациями серий разбавления 1:3, начиная с 10 мкМ, JNJ493, AZD4547 (AZD) и NVP-BGJ398 (NVS). Планшеты для микротитрования затем инкубировали в течение 72 ч и анализировали содержание аденозинтрифосфата (АТФ; маркер метаболически активных клеток) с использованием люминесцентного анализа жизнеспособных клеток Cell Titer-Glo® (Promega Corp., г. Мадисон, штат Висконсин, США) в соответствии с инструкциями производителя с модификациями. Коротко говоря, позволяли клеткам нагреться до комнатной температуры, после чего добавляли смесь 1:1 реагента Cell Titer-Glo®. Клетки затем помещали на орбитальный шейкер на 2 мин и инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре, чтобы стабилизировать люминесцентный сигнал. Количественно оценивали люминесценцию и проводили измерения с помощью многомаркерного считывателя планшет Envision (Perkin Elmer; г. Уолтем, штат Массачусетс, США). Значения IC₅₀ (приводятся в табл. 14) рассчитывали с использованием GraphPad Prism 5.0. Как показано в табл. 14, клетки со слияниями FGFR демонстрировали чувствительность к ингибитору FGFR JNJ-42756493, AZD4547 и NVP-BGJ398 in vitro, где JNJ-42756493 обеспечивает более высокую чувствительность (концентрации в наномолярном диапазоне) по сравнению с AZD4547 и NVP-BGJ398, в отличие от контроля с пустым вектором.

Таблица 14

Стимуляция		Пролиферация (IC ₅₀)	
RK3E-трансген	JNJ493 (нМ)	AZD (нМ)	NVS (нМ)
Вектор	7010	8011	> 10 мкМ
AFF3	0,1133	2,809	2,273
BAIAP2L1	0,3211	11,54	5,162
BICC1	0,3303	6,448	18,19
CASP7	0,4718	4,107	241,5
CCDC6	0,1894	13,36	10,72
OFD1	0,2303	7,259	15,99
TACC3-V1	0,2915	16,53	2,594
TACC3-V3	0,2706	8,664	4,092
FGFR2	> 10 мкМ	6501	> 10 мкМ
FGFR3	> 10 мкМ	5686	6344
KRAS	1621	1478	2136

AZD - AZD4547;

NVS - NVP-BGJ398

Таблица 15

Мишень	Последовательности зондов
FGFR3TACC3 V1	TCCACCGACGTAAAGG (SEQ ID NO: 43)
FGFR3TACC3 V3	TCCACCGACGTGCCAG (SEQ ID NO: 44)
FGFR2BICC1	CCAATGAGATCATGGAGG (SEQ ID NO: 45)
Интрон FGFR3TACC3	CCTTCTGGCCCAGGTG (SEQ ID NO: 46)
FGFR3BAIAP2L1	CACCGACAATGTTATGG (SEQ ID NO: 47)
FGFR2AFF3	TCACAACCAATGAGGAGAGT (SEQ ID NO: 48)
FGFR2CASP7	CTGCCATCTCATTGGT (SEQ ID NO: 49)
FGFR2CCDC6	AATGAGCAAGCCAGGGC (SEQ ID NO: 50)
FGFR2OFD1	AAGTTGTGTCTCATTGGTT (SEQ ID NO: 51)
FGFR3 R248C	CTGGAGTGCTCCCC (SEQ ID NO: 52)
FGFR3 S249C	AGCGCTGCCCGCA (SEQ ID NO: 53)
FGFR3 G370C	GCGTGCAAGTGTAT (SEQ ID NO: 54)
FGFR3 Y373	CTGCACACACACTGC (SEQ ID NO: 55)

Специалистам в области будет очевидно, что предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения допускают множество изменений и модификаций и что такие изменения и модификации могут вноситься, не выходя за рамки сущности изобретения. Таким образом, прилагаемые пункты

формулы изобретения включают все такие эквивалентные вариации, которые соответствуют сущности и объему настоящего изобретения.

Описания каждого патента, патентной заявки и публикации, цитируемой или описанной в этом документе, полностью включены в настоящий документ путем ссылки.

Нуклеотидная последовательность слитых генов FGFR.

Нуклеотидные последовательности для кДНК слияний FGFR, которые конструировались в экспрессионные векторы, приводятся в табл. 16. Подчеркнутые последовательности соответствуют либо FGFR3, либо FGFR2, последовательности, набранные обычным шрифтом, соответствуют партнерам слияния, а последовательности, набранные курсивом, соответствуют последовательности интрона гена FGFR3.

Таблица 16

FGFR3: TACC3 v1 (3271 пар оснований) (SEQ ID NO: 56)	<u>>ATGGGCGCCCTGCCTGCGCCCTCGCGCTCTGCGTGGCCGTGGCCATCGTGGCCGGCG</u> <u>CTCCTCGGAGTCCTTGGGGACGGAGCAGCGCGTCTGTTGGGCGAGCGGCAGAAAGTCCCG</u> <u>GGCCAGAGCCCGGCCAGCAGGAGCAGTTGGTCTTCGGCAGCGGGGATGCTGTGGAGCT</u> <u>GAGCTGTCCCCGCCCCGGGGTGGTCCCATGGGGCCCACTGTCTGGGTCAAGGATGGCA</u> <u>CAGGGCTGGTGCCTCGGAGCGTGTCTGGTGGGGCCCCAGCGGCTGCAGGTGCTGAAT</u> <u>GCCTCCCACGAGGACTCCGGGGCCTACAGCTGCCGGCAGCGGCTCACGCAGCGCGTACT</u> <u>GTGCCACTTCAGTGTGCGGGTGACAGACGCTCCATCCTCGGGAGATGACGAAGACGGGG</u> <u>AGGACGAGGCTGAGGACACAGGTGTGGACACAGGGGCCCTTACTGGACACGGCCCGAG</u> <u>CGGATGGACAAGAAGCTGCTGGCCGTGCCGGCCGCAACACCGTCCGCTTCCGCTGCCC</u> <u>AGCCGCTGGCAACCCCACTCCCTCCATCTCCTGGCTGAAGAACGGCAGGGAGTTCGGCG</u> <u>GCGAGCACCGCATGGAGGCATCAAGCTGCGGCATCAGCAGTGGAGCCTGGTCAATGGAA</u> <u>AGCGTGGTGCCTCGGACCGCGGCAACTACACCTGCGTCTGGAGAACAGTTTGGCAG</u> <u>CATCCGGCAGAGGTACACGCTGGACGTGCTGGAGCGTCCCCGCACGGGCCCATCCTGC</u> <u>AGGCGGGCTGCCGGCCAACAGACGGCGGTGCTGGGCAGCGACGTGGAGTTCCTACTGC</u> <u>AAGGTGTACAGTGACGCACAGCCCCACATCCAGTGGCTCAAGCACGTGGAGGTGAATGG</u> <u>CAGCAAGGTGGGCCCGGACGGCACACCCTACGTTACCGTGTCAAGACGGCGGGCGCTA</u> <u>ACACCACCGACAAGGAGCTAGAGGTTCTCTCCTTGCACAACGTACCTTTGAGGACGCC</u> <u>GGGAGTACACCTGCCTGGCGGGCAATTCTATTGGGTTTTCTCATCACTCTGCGTGGCT</u>
--	---

	<p>GGTGGTGCTGCCAGCCGAGGAGGAGCTGGTGGAGGCTGACGAGGCGGGCAGTGTGTATG CAGGCATCCTCAGCTACGGGGTGGGCTTCTTCCTGTTTCATCCTGGTGGTGGCGGGCTGTG ACGCTCTGCCGCTTCCCGCTCAAGCGACAGGTGTCCCTGGAGTCCAACGCGTCCATGAGCT GATCTCCCGCTTCCCGCTCAAGCGACAGGTGTCCCTGGAGTCCAACGCGTCCATGAGCT CCAACACACCACTGGTGGCCTCGCAAGGCTGTCCCTCAGGGGAGGGCCCCACGCTGGCC AATGTCTCCGAGCTCGAGCTGCCTGCCGACCCAAATGGGAGCTGTCTCGGGCCCGGCT GACCTGGGCAAGCCCTTGGGGAGGGCTGCTTCGGCCAGGTGGTTCATGGCGGAGGCCA TCGGCATTGACAAGGACCGGGCCGCAAGCCTGTCAACCGTAGCCGTGAAGATGCTGAAA GACGATGCCACTGACAAGGACCTGTCCGACCTGGTGTCTGAGATGGAGATGATGAAGAT GATCGGGAAACACAAAACATCATCAACCTGCTGGGCGCCTGCACGCAGGGCGGGCCCC TGTACGTGCTGGTGGAGTACCGGGCCAAGGTAACCTGCGGGAGTTTCTCGGGCGCGG CGGCCCCGGGCTGGACTACTCCTTCGACACCTGCAAGCCGCCGAGGAGCAGCTCAC CTTCAAGGACCTGGTGTCCCTGTGCCTACCAGGTGGCCCGGGGCATGGAGTACTTGGCCT CCCAGAAGTGCATCCACAGGGACCTGGCTGCCCGCAATGTGCTGGTGAACGAGGACAAC GTGATGAAGATCGCAGACTTCGGGCTGGCCCGGACGTGCACAACCTCGACTACTACAA GAAGACGACCAACGGCCGGCTGCCCGTGAAGTGGATGGCGCCTGAGGCCCTGTTTTGACC GAGTCTACACTCACCAGAGTGACGTCTGGTCTTTGGGGTCTGCTCTGGGAGATCTTC ACGCTGGGGGGTCCCCGTACCCGGCATCCCTGTGGAGGAGCTCTTCAAGCTGCTGAA GGAGGGCCACCCGATGGACAAGCCCGCAACTGCACACACGACCTGTACATGATCATGC GGGAGTGTGGCATGCCGCGCCCTCCCAGAGGCCACCTTCAAGCAGCTGGTGGAGGAC CTGGACCGTGTCTTACCCTGACGTCCACCGACGTAAGGGGACACAGGAGGAGAACC GGAGCTGAGGAGCAGGTGTGAGGAGCTCCACGGGAAGAACCTGGAACCTGGGGAAGATCA TGACAGGTTTGAAGAGGTTGTGTACCAGGCCATGGAGGAAGTTTCAAGCAGAAAGGAA CTTTCAAAGCTGAAATCCAGAAAGTTCTAAAAGAAAAAGACCAACTTACCACAGATCT GAACTCCATGGAGAAGTCTTCTCCGACCTCTTCAAGCCTTTTGAAGAACAGAAAGAGG TGATCGAGGGCTACCGCAAGAACGAAGAGTCACTGAAGAAGTGCCTGGAGGATTACCTG CAAGGATCACCCAGGAGGGCCAGAGGTACCAAGCCCTGAAGGCCACGCGGAGGAGAA GCTGCAGCTGGCAAACGAGGAGATCGCCAGGTCCGGAGCAAGGCCAGCCAGGCGT TGGCCCTCCAGGCCAGCCTGAGGAAGGAGCAGATGCGCATCCAGTCTGGAGAAGACA GTGGAGCAGAAGACTAAAGAGAACGAGGAGCTGACCAGGATCTGCGACGACCTCATCTC CAAGATGGAGAAGATCTGA</p>
<p>FGFR3:ТАСС3 v3 (3376 пар оснований) (SEQ ID NO: 57)</p>	<p>>ATGGGGCCCCCTGCCTGCGCCCTCGCGCTCTGCGTGGCCGTGGCCATCGTGGCCGGC CCTCCTCGGAGTCTTGGGGACGGAGCAGCGCTCGTGGGGCGAGCGCAGAAGTCCC GGCCAGAGCCCGCCAGCAGGAGTGGTCTTCCGGCAGCGGGGATGCTGTGGAGCT GAGCTGTCCCCCGCCGGGGTGGTCCCATGGGGCCACTGTCTGGGTCAAGGATGGCA CAGGGCTGGTGCCTCGGAGCGTGTCCCTGGTGGGGCCCGAGCGCTGCAGGTGCTGAAT GCCTCCCACGAGGACTCCGGGGCTACAGCTGCCGGCAGCGGCTCACGACGCGCTACT GTGCCACTTCAGTGTGCGGGTACAGACGCTCCATCCTCGGGAGATGACGAAGACGGGG AGGACGAGGCTGAGGACACAGGTGTGGACACAGGGGCCCTTACTGGACACGCCCCGAG CGGATGGACAAGAGCTGCTGCGCGTGGCCGCCCAACACCGTCCGCTTCCGCTGCC AGCCGCTGGCAACCCACTCCCTCCATCTCCTGGCTGAAGAAGGGCAGGGAGTTCGCG GCGAGCACCGCATTGGAGGCATCAAGCTGCGGCATCAGCAGTGGAGCCTGGTTCATGGAA AGCGTGGTGCCTCGGACCGCGGCAACTACACCTGCGTCTGGAGAACAGTTTGGGAG CATCCGGCAGACGTACACGCTGGACGTGCTGGAGCGCTCCCGCACCGGCCCATCTGC AGGCGGGGTGCCGCGCAACCGAGCGGCGTGTGGGAGCGACGCTTCCACTGC AAGGTGTACAGTACGACACAGCCCCACATCCAGTGGCTCAAGCACGTTGGAGGTGAATGG CAGCAAGGTGGGCCCGGACGGCACACCCCTACGTTACCGTGTCAAGACGGCGGGCGTA ACACCACCGACAAGGAGCTAGAGGTTCTCTCCTTGCACACGTCACCTTTGAGGACGCC GGGAGTACACCTGCCTGGCGGCAATTTATTTGGGTTTCTCATCACTCTGCGTGGCT GGTGGTGTGCCAGCCGAGGAGGAGCTGGTGGAGGCTGACGAGGCGGGCAGTGTGTATG CAGGCATCCTCAGTACGGGGTGGGCTTCTTCTGTTTCATCCTGGTGGTGGCGGCTGTG ACGCTCTGCCGCTGCGCAGCCCCCAAGAAAGCCTGGGCTCCCCACCGTGCACAA GATCTCCGCTTCCGCTCAAGCGACAGGTGTCCCTGGAGTCCAACGCGTCCATGAGCT CCAACACACCACTGGTGGCCTCGCAAGGCTGTCCCTCAGGGGAGGGCCCCACGCTGGCC AATGTCTCCGAGCTCGAGCTGCCTGCCGACCCAAATGGGAGCTGTCTCGGGCCCGGCT GACCTGGGCAAGCCCTTGGGGAGGGCTGCTTCGGCCAGGTGGTTCATGGCGGAGGCCA TCGGCATTGACAAGGACCGGGCCCGCAAGCCTGTACCCTAGCCGTGAAGATGCTGAAA GACGATGCCACTGACAAGGACCTGTCCGACCTGGTGTCTGAGATGGAGATGATGAAGAT GATCGGGAAACACAAAACATCATCAACCTGCTGGGCGCCTGCACGCAGGGCGGGCCCC TGTACGTGCTGGTGGAGTACCGGGCCAAGGTAACCTGCGGGAGTTTCTCGGGCGCGG CGGCCCCGGGCTGGACTACTCCTTCGACACCTGCAAGCCGCCGAGGAGCAGCTCAC CTTCAAGGACCTGGTGTCTGTGCCTACCAGGTGGCCCGGGCATGGAGTACTTGGCCT CCCAGAAGTGCATCCACAGGGACCTGGCTGCCCGCAATGTCTGGTGAACGAGGACAAC GTGATGAAGATCGCAGACTTCGGGCTGGCCCGGGACGTGCACAACCTCGACTACTACAA</p>

	<p><u>GAAGACGACCAACGGCCGGCTGCCCGTGAAGTGGATGGCGCCTGAGGCCTTGTTTGACC</u> <u>GAGTCTACACTCACCAGAGTGACGTCTGGTCTTTGGGGTCTGCTCTGGGAGATCTTC</u> <u>ACGCTGGGGGGCTCCCCGTACCCCGGCATCCCTGTGGAGGAGCTCTTCAAGCTGCTGAA</u> <u>GGAGGGCCACCGCATGGACAAGCCCGCCAACTGCACACACGACCTGTACATGATCATGC</u> <u>GGGAGTGCTGGCATGCCGCGCCCTCCCAGAGGCCACCTTCAAGCAGCTGGTGGAGGAC</u> <u>CTGGACCGTGTCTTACCCTGACGTCCACCGACGTGCCAGGCCACCCCAAGGTGTTC</u> <u>CGGCCTGGGGGCCACCCCTGTCCACCGACCTATAGTGGACCTGCTCCAGTACAGCC</u> <u>AGAAGGACCTGGATGCAGTGGTAAAGGCACACAGGAGGAGAACC GGAGCTGAGGAGC</u> <u>AGGTGTGAGGAGCTCCACGGGAAGAACCTGGAACCTGGGAAGATCATGGACAGGTTT</u> <u>AGAGTTGTGTACCAGGCCATGGAGGAAGTTCAGAAGCAGAAGGAACCTTCCAAAGCTG</u> <u>AAATCCAGAAAGTTCTAAAAGAAAAAGACCAACTTACCACAGATCTGAACTCCATGGAG</u> <u>AAGTCTTCTCCGACCTCTTCAAGCGTTTTGAGAAACAGAAAGAGGTGATCGAGGGCTA</u> <u>CCGCAAGAACGAAGAGTCACTGAAGAAGTGCCTGGAGGATTACCTGGCAAGGATCACCC</u> <u>AGGAGGGCCAGAGGTACCAAGCCCTGAAGGCCACGCGGAGGAGAAGCTGCAGCTGGCA</u> <u>AACGAGGAGATCGCCCAGGTCCGGAGCAAGGCCAGGCGGAAGCGTTGGCCCTCCAGGC</u> <u>CAGCCTGAGGAAGGAGCAGATGCGCATCCAGTCCGCTGAGAGAAGACAGTGGAGCAGA</u> <u>CTAAAAGAGAACGAGGAGCTGACCAGGATCTGCGACGACCTCATCTCCAAGATGGAGAAG</u> <u>ATCTGA</u></p>
<p>Интрон FGFR3: ТАСС3 (4463 пар оснований) (SEQ ID NO: 58)</p>	<p><u>>ATGGGCGCCCTGCCTGCGCCCTCGCGCTCTGCGTGGCCGTGGCCATCGTGGCCGGCG</u> <u>CTCCTCGGAGTCTTTGGGGACGGAGCAGCGCGTCTGGGGCGAGCCGCAGAAGTCCCG</u> <u>GGCCAGAGCCCGCCAGCAGGAGCAGTTGGTCTTCGGCAGCGGGGATGCTGTGGAGCT</u> <u>GAGCTGTCCCCCGCCCGGGGTGGTCCCATGGGGCCCACTGTCTGGGTCAAGGATGGCA</u> <u>CAGGGCTGGTGCCTCGGAGCGTGTCTGGTGGGGCCCCAGCGGCTGCAGGTGCTGAAT</u> <u>GCCTCCCACGAGGACTCCGGGGCCTACAGCTGCCGGCAGCGGCTCACGCAGCGGCTACT</u> <u>GTGCCACTTCAGTGTGCGGGTGACAGACGCTCCATCCTCGGGAGATGACGAAGACGGGG</u> <u>AGGACGAGGCTGAGGACACAGGTGTGGACACAGGGGGCCCTTACTGGACACGGCCCGG</u> <u>CGGATGGACAAGAAGCTGCTGGCCGTGCCGGCCGCAACACCGTCCGCTTCCGCTGCC</u> <u>AGCCGCTGGCAACCCCACTCCCTCCATCTCCTGGCTGAAGAACGGCAGGGAGTTCCGCG</u> <u>GCGAGCACCGCATGGAGGCATCAAGCTGCGGCATCAGCAGTGGAGCCTGGTCAATGGAA</u> <u>AGCGTGGTGCCTCGGACCGGGCAACTACACCTGCGTCTGGAGAACAAGTTTGGCAG</u> <u>CATCCGGCAGACGTACACGCTGGACGTGCTGGAGCGCTCCCCGCACCGGCCATCCTGC</u> <u>AGGCGGGGCTGCCGGCCAACCAGACGGCGGTGCTGGGCAGCGACGTGGAGTCCACTGC</u> <u>AAGGTGTACAGTGACGCACAGCCCAACATCCAGTGGCTCAAGCACGTGGAGGTGAATGG</u> <u>CAGCAAGGTGGGCCCGGACGGCACACCCTACGTTACCGTGTCAAGACGGCGGGCGGTA</u> <u>ACACCACCGACAAGGAGCTAGAGGTTCTCTCCTTGCACAACGTACCTTTGAGGACGCC</u> <u>GGGAGTACACCTGCCTGGCGGGCAATTCTATTGGGTTTTCTCATCACTCTGCGTGGCT</u> <u>GGTGGTGTGCCAGCCGAGGAGGAGCTGGTGGAGGCTGACGAGGCGGGCAGTGTGTATG</u> <u>CAGGCATCCTCAGCTACGGGTGGGCTTCTTCTGTTTCACTGTTGGTGGCGGCTGTG</u> <u>ACGCTCTGCCGCTGCGCAGCCCCCAAGAAAGGCCCTGGGCTCCCCACCGTGCACAA</u> <u>GATCTCCCGCTTCCCGCTCAAGCGACAGGTGTCCCTGGAGTCCAACCGCTCCATGAGCT</u> <u>CCAACACACCCTGGTGGCATCGCAAGGCTGTCTCAGGGGAGGGCCCCACGCTGGCC</u> <u>AATGTCTCCGAGCTCGAGCTGCCTGCCGACCCAAATGGGAGCTGTCTCGGGCCCGCT</u> <u>GACCTGGGCAAGCCCTTGGGGAGGGCTGCTTCGGCCAGGTGGTCAATGGCGGAGGCCA</u> <u>TCGGCATTGACAAGGACCGGGCCGCAAGCCTGTACCGTAGCCGTGAAGATGCTGAAA</u> <u>GACGATGCCACTGACAAGGACCTGTCCGACCTGGTGTCTGAGATGGATGATGATGAG</u> <u>GATCGGGAAACAAAAACATCATCAACCTGCTGGGCGCCTGCACGCAGGGCGGGCCCC</u> <u>TGTACGTGCTGGTGGAGTACGCGCCAAGGGTAACCTGCGGGAGTTTCTGCGGGCGCGG</u> <u>CGGCCCCCGGCTGGACTACTCCTTCGACACCTGCAAGCCGCCGAGGAGCAGCTCAC</u> <u>CTTCAAGGACCTGGTGTCTGTGCTACAGGTGGCCCGGGGCATGGAGTACTTGGCCT</u> <u>CCCAGAAGTGATCCACAGGACCTGGCTGCCGCAATGTGCTGGTGGACCGAGGACAA</u> <u>GTGATGAAGATCGCAGACTTCGGGCTGGCCCGGGACGTGCACAACCTCGACTACTACAA</u> <u>GAAGACGACCAACGGCCGGCTGCCCGTGAAGTGGATGGCGCCTGAGGCCTTGTTTGACC</u> <u>GAGTCTACACTCACCAGAGTGACGTCTGGTCTTTGGGGTCTGCTCTGGGAGATCTTC</u> <u>ACGCTGGGGGGCTCCCCGTACCCCGGCATCCCTGTGGAGGAGCTCTTCAAGCTGCTGAA</u> <u>GGAGGGCCACCGCATGGACAAGCCCGCCAACTGCACACACGACCTGTACATGATCATGC</u> <u>GGGAGTGTGGCATGCCGCGCCCTCCCAGAGGCCACCTTCAAGCAGCTGGTGGAGGAC</u> <u>CTGGACCGTGTCTTACCCTGACGTCCACCGACgtgagtgtgtggctctggcctgtgccc</u> <u>accgcctatgcccctccccctgcccgtccccggccatcctgccccccagagtgtgagg</u> <u>gtgtggggcgggccttctGGCCAGGTGCCCTGGCTGACCTGGACTGCTCAAGCTCTTC</u> <u>CCAGAGCCCAGGAAGTTCTGAGAACCAAATGGTGTCTCCAGGAAAAGTGTCTGGCAGCC</u> <u>CTGAGCAAGCCGTGGAGGAAAACCTTAGTTCCTATTCCTTAGACAGAAGAGTGACACCC</u> <u>GCCTCTGAGACCCTAGAAGACCCTTGACAGGACAGAGTCCCAGCACAAAGCGGAGACTCC</u> <u>GCACGGAGCCGAGGAAGAATGCAAAGCGGAGACTCCGACAGGAGCCGAGGAGGATGCC</u> <u>GGCACGGTGGGGTCTGTGCTCCCGCAGCAGTGGCCACTTCGCTCCTGGTGAATCCCT</u></p>

	<p>AAGGAAGCCTGCGGAGGAGCACCCCTGCAGGGTCTGCCTGGCGAAGCCTGGGCTGCC TGGGGTGTGGGCACCCCGTGCAGCAGATGGCACTCAGACCCCTTACTGTGCACACA CCTCTGCTCCTGAGAGCACAGCCCAACCAACCACCTGGTGGCTGGCAGGGCCATGACC CTGAGTCTCAGGAAGAAGTGGCTGCAGGCCAATGGCCAGCTCCCGAGGAGCGGACC TGTAAAAGTAGAATTTGATGTATCTGATGGCGCCACCAGCAAAGGGCACCACCCAA GGAGACTGGGAGAGAGGTCCGGCCTCAAGCCTCCCTTGAGGAAAGCAGCAGTGAGGCAG CAAAAGGCCCGCAGGAGGTGGAGGAGGACGCGTAGGAGCGGAGCAGGAGAGGACCC CCCATGCCAGCTTCTCGGGCTCTTACCACCTCGACTGGGACAAAATGGATGACCCAA ACTTCATCCCGTTTCGGAGGTGACACCAAGTCTGGTTGCAGTGAGGCCAGCCCCAGAA AGCCCTGAGACCAGGCTGGGCCAGCCAGCGGCTGAACAGTTGCATGCTGGGCCCTGCCAC GGAGGAGCCAGGTCCCTGTCTGAGCCAGCAGCTGCATTCAGCCTCAGCGGAGGACACGC CTGTGGTGCAGTTGGCAGCCGAGACCCCAACAGCAGAGAGCAAGGAGAGAGCCTTGAAC TCTGCCAGCACCTCGCTTCCACAAGCTGTCCAGGCAGTGAGCCAGTGCCACCCATCA GCAGGGGCGAGCCTGCCTTGGAGCTGAAAGAGGAGAGCTTCAGAGACCCCGCTGAGGTT TAGGCACGGGCGGAGGTGGATTACCTGGAGCAGTTTGGAACTTCTCGTTTAAAGGAG TCGGCCTTGAGGAAGCAGTCTTATACCTCAAGTTTCGACCCCTCCCTGAGGACAGTCC TGGTAGACCAGTGCCCGTGGCCACCAGACAGCAGCATGCACGGTCAAATGAGACTC CCTCAGGACGTCCGCGGAAGCCAAGCTTGTGGAGTTCGATTTCTTGGGAGCACTGGAC ATTCCTGTGCCAGGCCACCCCGAGGTGTCCCGCGCTGGGGGCCACCCCTGTCCAC CGGACCTATAGTGGACCTGCTCCAGTACAGCCAGAAGGACCTGGATGCAGTGGTAAAGG CGACACAGGAGGAACCCGGAGCTGAGGAGCAGGTGTGAGGAGCTCCACGGGAAGAAC CTGGAAGTGGGGAGAGATCATGGACAGGTTTGAAGAGGTTGTGTACCAGGATGGAGGA AGTTTCAAGCAGAAGGAACCTTCCAAAGCTGAAATCCAGAAAGTTTAAAAGAAAAAG ACCAACTTACCACAGATCTGAACTCCATGGAGAAGTCTTCTCCGACCTCTTCAAGCGT TTTGAAGAACAGAAAGAGGTGATCGAGGGCTACCGCAAGAACGAAGAGTCACTGAAGAA GTGCGTGGAGGATTACCTGGCAAGGATCACCCAGGAGGGCCAGAGGTACCAAGCCCTGA AGGCCACGCGGAGGAGAAGCTGCAGCTGGCAAACAGGAGATCGCCAGGTCCGGAGC AAGGCCAGGCCGAAGCGTTGGCCCTCCAGGCCAGCCTGAGGAAGGAGCAGATGCCAT CCAGTCCGCTGGAGAAGACAGTGGAGCAGAAGACTAAAGAGAACGAGGAGCTGACCAGGA TCTGCGACGACCTCATCTCAAGATGGAGAAGATCTGA</p>
<p>FGFR3:BAIAP2 L1 (3765 пар оснований) (SEQ ID NO: 59)</p>	<p>>ATGGGCGCCCTGCCTGCGCCCTCGCGCTCTGCGTGGCCGTGGCCATCGTGGCCGGCGCC TCCTCGGAGTCCCTGGGGACGGAGCAGCGCTCGTGGGGCGAGCGGCAGAAATCCCGGGCC CAGAGCCCGGCCAGCAGGAGCAGTTGGTCTTCGGCAGCGGGGATGCTGTGGAGCTGAGCTG TCCCCCGCCGGGGGTGGTCCCATGGGGCCACTGTCTGGGTCAAGGATGGCACAGGGCTG GTGCCCTCGGAGCGTGTCTGGTGGGGCCCGAGCGGCTGCAGGTGCTGAATGCCTCCACG AGGACTCCGGGGCCTACAGCTGCCGGCAGCGGCTCACGCAGCGCTACTGTGCCACTTCA TGTGCGGGTGCAGACGCTCCATCCTCGGGAGATGACGAAGACGGGGAGGACGAGGCTGAG GACACAGGTGTGGACACAGGGGCCCTTACTGGACACGGCCCGAGCGGATGGACAAGAAGC TGCTGGCCGTGCCGGCCCAACACCCGTCCGCTTCGGTTCGCCAGCCGCTGGCAACCCAC TCCCTCCATCTCCTGGCTGAAGAACGGCAGGGAGTTCCGCGCGGAGCACCAGCATTGGAGGC ATCAAGCTGCGGCATCAGCAGTGGAGCCTGGTTCATGGAAAGCGTGGTGCCTCGGACCGCG GCAACTACACCTGCGTGTGGAGAACAAGTTTGGCAGCATCCGGCAGACGTACACGCTGGA CGTGCTGGAGCGCTCCCGCACCCGGCCATCCTGCAGGCGGGGCTGCCGGCCAAACGAGCG CGGTGCTGGGACGGACGTGGAGTTCCTGCAAGGTGTACAGTGACGCACAGCCCAACA TCCAGTGGCTCAAGCACGTGGAGTGAATGGCAGCAAGGTGGGCCCGGACCGGCACCCCA CGTTACCGTGTCAAGTCTGGATCAGTGAGAGTGTGGAGGCCGACGTGCGCCTCCGCCTG GCCAATGTGTGGAGCGGGACGGGGCGAGTACCTCTGTGAGCCACCAATTTATAGCGG TGGCCGAGAAGGCCTTTTGGCTGAGCGTTACCGGGCCCGAGCAGCCGAGGAGGAGCTGGT GGAGGCTGACGAGGCGGGCAGTGTGTATGCAGGCATCCTCAGCTACGGGGTGGGCTTCTTC CTGTTTCATCCTGGTGGTGGCGGCTGTGACGCTCTGCCGCTGCGCAGCCCCCAAGAAG GCCTGGGCTCCCCACCGTGCACAAGATCTCCCGCTTCCCGCTCAAGCGACAGGTGTCCCT GGAGTCCAACCGCTCCATGAGCTCCAACACACCACTGGTGGCATCGCAAGGCTGTCTCA GGGAGGGCCCGCAGCTGGCCAATGTCTCCGAGCTCGAGCTGCCTGCCGACCCCAATGGG AGCTGTCTCGGGCCCGCTGACCTGGGCAAGCCCTTGGGGAGGGCTGCTTCGGCCAGGT GGTCATGGCGGAGGCCATCGGCATTTGACAAGGACCGGGCCCAAGCCTGTCAACCGTAGCC GTGAAGATGCTGAAAGACGATGCCACTGACAAGGACCTGTCGGACCTGGTGTCTGAGATGG AGATGATGAAGATGATCGGGAAACACAAAAACATCATCAACCTGCTGGGCGCCTGCACGCA GGGCGGGCCCTGTACGTGCTGGTGGAGTACGCGGCCAAGGTTAACCTGCGGGAGTTTCTG CGGCGCGGGGGCCCGGGCCTGGACTACTCCTTCGACACCTGCAAGCCCGCCGAGGAGC AGCTCACCTCAAGGACCTGGTGTCTGTGCTTACCAGGTGGCCCGGGGCATGGAGTACTT GGCCTCCCAGAAGTGCATCCACAGGGACCTGGCTGCCCGCAATGTGCTGGTGAACGAGGAC AACGTGATGAAGATCGCAGACTTTCGGGCTGGCCCGGAGCTGCACAACCTGCACACTACA AGAAGACGACCAACGGCCGGCTGCCCGTGAAGTGGATGGCGCTGAGGCCTGTGTTGACCG AGTCTACACTCACCAGAGTGCAGTCTGGTCTTTGGGGTCTGCTCTGGGAGATCTTACG</p>

	<p>CTGGGGGGCTCCCCGTACCCCGGCATCCCTGTGGAGGAGCTCTTCAAGCTGCTGAAGGAGG GCCACCGCATGGACAAGCCCGCCAACTGCACACACGACCTGTACATGATCATGCGGGGAGTG CTGGCATGCCGCGCCCTCCCAGAGGCCACCTTCAAGCAGCTGGTGGAGGACCTGGACCGT GTCCTTACCGTGACGTCCACCGACAATGTTATGGAACAGTTCAATCCTGGGCTGCGAAAAT TAATAAACCTGGGGAAAAATTATGAGAAAGCTGTAACAGCTATGATCCTGGCAGGAAAAGC CTACTACGATGGAGTGGCCAAGATCGGTGAGATTGCCACTGGGTCCCCCGTGTCAACTGAA CTGGGACATGTCCTCATAGAGATTCAAGTACCCACAAGAACTCAACGAGAGTCTTGATG AAAATTTTAAAAATTCACAAAAGAGATTATCCATGAGCTGGAGAAGAAAGATAGAACTGA CGTGAAATATATGAACGCAACTCTAAAAAGATACCAAACAGAACAAGAATAAATTAGAG TCTTTGGAGAAATCCCAAGCTGAGTTGAAGAAGATCAGAAGGAAAAGCCAAAGGAAGCCGAA ACGCACTCAAATATGAACACAAAAGAAATGAGTATGTGGAGACCGTTACTTCTCGTCAGAG TGAAATCCAGAAATTCATTGCAGATGGTTGCAAAGAGGCTCTGCTTGAAGAGAAGAGGCGC TTCTGCTTTCTGGTTGATAAGCACTGTGGCTTTGCAAACCACATACATTATATCACCTAC AGTCTGCAGAACTACTGAATCCAAAGCTGCCTCGGTGGCAGGAGACCTGTGTTGATGCCAT CAAAGTGCCAGAGAAAATCATGAATATGATCGAAGAAAATAAGACCCAGCCTTACCCCC GTGTCTGGAACCTCAGGCTTACCCATGATCGAGAGAAGCAATGTGTTAGGAAAAGATT ACGACACCCCTTCTAAATGCTCACAAAGATGCCCCCGCTCCTTCAAGCAGAGCATATAC CAGTCCCTTGATCGATATGTTAATAACCCAGCCACGGCTGCCCGAATTCACAAAGGGTA AATAATTCACAGGTACTTCCGAGATCCCAGTTTACAGCGATCAGTTTCGGTTGCAACGG GACTGAACATGATGAAGAAGCAGAAAAGTGAAGACCATCTTCCGACACTGCGGGCTCCAA CAAGACCTTACTCAGCTTGCACAGGGAGATGTCATCACGCTGCTCATCCCCGAGGAGAAG GATGGCTGGCTCTATGGAGAACACGACGTGTCCAAGGCGAGGGTTGGTTCCCGTCGTGCT ACACGAAGTGTCTGGAAGAAAATGAGACAGAAGCAGTGACCGTCCCACGCCAAGCCCCAC ACCAGTGAGAAGCATCAGCACCGTGAATTTGTCTGAGAATAGCAGTGTGTCATCCCCCA CCCAGTACTTGAATGCTTGTCCATGGGGCAGCTGCCGACAGGAGAGCAGATTCCGGCA GGACGACATCCACCTTAAAGGCCCCAGCGTCCAAGCCCGAGACCGCGGCTCCTAACGATGC CAACGGGACTGCAAAGCCGCTTTTCTCAGCGGAGAAAACCCCTTGGCCACTGTGAAACTC CGCCGACTGTGACGAATGATCGCTCGGCACCCATCATTCGATGA</p>
<p>FGFR2: В1СС1 (5830 пар оснований) (SEQ ID NO: 60)</p>	<p>>ATGGTCAGCTGGGGTTCGTTTCATCTGCCTGGTTCGTGGTACCATGGCAACCTTGTCCC TGGCCCGCCCTCCTTCAAGTTAGTTGAGGATACCACATTAGAGCCAGAAGAGCCACCA ACCAAATACCAATCTCTCAACCAGAAGTGTACGTGGCTGCGCCAGGGGAGTCGCTAGA GGTGGCTGCCTGTTGAAAGATGCCGCGGTGATCAGTTGGACTAAGGATGGGGTGCCT TGGGGCCCAACAATAGGACAGTGTCTTATGGGGAGTACTGCAGATAAAGGGCGCCACG CCTAGAGACTCCGGCCTCTATGCTTGTACTGCCAGTAGGACTGTAGACAGTGAACCTG GTAATTCATGGTGAATGTCACAGATGCCATCTCATCCGGAGATGATGAGGATGACACCG ATGGTGCAGGAGATTTTGTGAGTGAACAAGTAAACAAGAGAGCACCATACTGGACC AACACAGAAAAGATGGAAAAGCGGCTCCATGCTGTGCCCTGCGGCCAACACTGTCAAGTT TCGCTGCCAGCCGGGGGAAACCAATGCCAACCATGGGTTGGCTGAAAAACGGGAAGG AGTTAAGCAGGAGCATCGCATTGGAGGCTACAAGGTACGAACACGAGCAGTGGAGCCTC ATTATGGAAAGTGTGGTCCCATCTGACAAGGGAAATTTATACCTGTGTAGTGAGAATGA ATACGGGTCCATCAATCACACGTACCACCTGGATGTTGTGGAGCGATCGCCTCACCGGC CCATCCTCCAAGCCGGACTGCCGGCAAATGCCTCCACAGTGGTCCGAGGAGACGTAGAG TTTGTCTGCAAGGTTTACAGTGATGCCAGCCCCACATCCAGTGGATCAAGCACGTGGA AAGAACGGCAGTAAATACGGGCCCGACGGGCTGCCCTACCTCAAGGTTCTCAAGGCCG CCGGTGTAAACACCGGACAAAGAGATTGAGGTTCTCTATATTCGGAATGTAACCTTT GAGGACGCTGGGGAATATACGTGCTTGGCGGGTAATTTCTATTGGGATATCCTTTACTC TGCATGGTTGACAGTCTGCCAGCGCTGGAAGAGAAAAGGAGATTACAGCTTCCCCAG ACTACCTGGAGATAGCCATTTACTGCATAGGGTCTTCTTAATCGCCTGTATGGTGGTA ACAGTCACTCCTGTGCCGAATGAAGAACACGACCAAGAAGCCAGACTTCAGCAGCCAGCC GGCTGTGCACAAGCTGACCAACGTATCCCCCTGCCGAGACAGGTAACAGTTCGGCTG AGTCCAGCTCCTCCATGAACTCCAACACCCCGCTGGTGGGATAACAACACGCCTCTCT TCAACGGCAGACACCCCATGCTGCCAGGGGCTCCGAGTATGAACTTCCAGAGGACCC AAAATGGGAGTTTCCAAGAGATAAGCTGACACTGGGCAAGCCCTGGGAGAAGGTTGCT TTGGGCAAGTGGTCATGGCGAAGCAGTGGGAATTGACAAAGACAAGCCAAAGGAGGGG GTCACCGTGGCCGTGAAGATGTTGAAAGATGATGCCACAGAGAAAAGACCTTTCTGATCT GGTGTGAGAGATGGAGATGATGAAGATGATGGGAAACAAGAATAATCATAAATCTTC TTGGAGCCTGCACACAGGATGGCCCTCTATGTATAGTTGAGTATGCCTCTAAAGGC AACCTCCGAGAATACCTCCGAGCCCGAGGCCACCCGGGATGGAGTACTCCTATGACAT TAACCGTGTCTTCAAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTGGTGTGATGCACCTACCAGC TGGCCAGAGGCATGGAGTACTTGGCTTCCAAAAATGTATTATCGAGATTTAGCAGCC AGAAATGTTTGGTAAACAGAAAACAATGTGATGAAAATAGCAGACTTGGACTCGCCAG AGATATCAACAATATAGACTATTACAAAAAGACCACCAATGGGCGGCTTCCAGTCAAGT GGATGGCTCCAGAAGCCCTGTTTGTATAGATATACACTCATCAGATGATGTCTGGTCC TTCCGGGTGTTAATGTGGGAGATCTTCACTTTAGGGGGCTCGCCCTACCCAGGGATTC</p>

	<p><u>CGTGGAGGAAC TTTTAAAGCTGCTGAAGGAAGGACACAGAATGGATAAGCCAGCCAACT</u> <u>GCACCAACGAACTGTACATGATGATGAGGGACTGTTGGCATGCAGTGCCCTCCCAGAGA</u> <u>CCAACGTTCAAGCAGTTGGTAGAAGACTTGGATCGAATTCTCACTCTCACAAACCAATGA</u> <u>GATCATGGAGGAAACAAATACGCAGATTGCTTGGCCATCAAACCTGAAGATCGGAGCCA</u> <u>AATCCAAGAAAGATCCCATATTAAGGTTTCTGGAAAGAAAGAGATGTTAAAGAGCC</u> <u>AAGGAAATGATCATGTCTGTCTTAGACACAAAAAGCAATCGAGTCACACTGAAGATGGA</u> <u>TGTTTCACATACAGAACATTCACATGTAATCGGCAAAGGTGGCAACAATATTAATAAAG</u> <u>TGATGGAAGAAACCGGATGCCATATCCACTTTCAGATTTCCAACAGGAATAACCAAGCA</u> <u>GAAAAAGCAACCAGGTATCTATAGCGGGACAACCAGCAGGAGTAGAATCTGCCCGAGT</u> <u>TAGAATTCGGGAGCTGCTTCCTTTGGTGTGATGTTTGTAGCTACCAATTGCTGGAAATTC</u> <u>TTCAACCGGTTCTGATCCTAATTCCCCCTCTATTACGCATATATCACAACGTAACAAT</u> <u>ATTTCAAGTATCATTTAAACAGCGTTCCCGAATGTATGGTGTACTGTCTAGTACGAGG</u> <u>GTCTCAGAATAACACTAGTGTGTGAAGGAAGGAAC TGCATGCTGTTAGAACATCTTG</u> <u>CTGGGAGCTTAGCATCAGCTATTCCTGTGAGCACACAAC TAGATATTGCAGCTCAACAT</u> <u>CATCTCTTTATGATGGGTGAAATGGGAGCAACATCAAACATATCATGCAGAGAACAGG</u> <u>TGCTCAGATCCACTTTCCTGATCCCAGTAATCCACAAAAGAAATCTCTGCTACTCC</u> <u>AGGCACCATTTGAGTCTGTCTGTCTTGCAAGGCAATATCTCATGGGTTGTCTTCTCTT</u> <u>GTGTTGATGTTTATGATGAAGGAAGAAATGAAGTAGATCCACAATTCATTGCGCAGTT</u> <u>GATGGAACAGCTTGATGTCTTCATCAGTATTAACCAAAGCCCAAACAGCCAAGCAAGT</u> <u>CTGTGATTTGTAAGTGTGAGCGAAATGCCTTAAATATGATGAAGCAAGGAAATGT</u> <u>CTCCTCGGACTTGAAGCAGTGGGGTTACCATAGCAACCAGTCCATCCCAGCATCTCTG</u> <u>CCCTGCCGGCCTGGCATGTCCCAGCCTGGATATCTTAGCTTCAGCAGGCTTGGACTCA</u> <u>CTGGACTAGGCTTTTTGGGACCCACCACCTTATCTCTGAACACTTCAACAACCCCAAAC</u> <u>TCACTCTTGAATGCTCTTAATAGCTCAGTCAGTCCTTTGCAAAGTCCAAGTCTGGTAC</u> <u>ACCCAGCCCCACATATGGGCACCCCACTTGCTAATACTTCAAGTGCCACAGGTTTTT</u> <u>CTGCTATACCACACCTTATGATTCATCTACTGCCAAGCCACATTAACATAATTTTTG</u> <u>TTGCTGGAGTGGCCACCTATGGGCACACAGCTCCATCTCCCCCTCTGGCTGACTCC</u> <u>TGTTGATGTCCATATCAACAGTATGCAGACCGAAGGCCAAAAAATCTCTGCTTTAA</u> <u>ATGGACATGCACAGTCTCCAGATATAAAATATGGTGCATATCCACTTCATCACTTGA</u> <u>GAAAAAGTGTGAGTGCAATCACGGGGATCCGTCCATCCAGACAAGTGGGTCTGAGCA</u> <u>GACATCTCCAAATCAAGCCCCACTGAAGGTTGTAATGATGCTTTTTGTTGAAGTAGGCA</u> <u>TGCCTCGAAGTCTTCCATTCTGGGAATGCTGGTGACTTGAACAGATGATGTGTCCC</u> <u>TCCAAGGTTTTCTGTGCCAAAAGGCAGACAGTGGAACTATTGCAAGGCACGAAAAACTC</u> <u>ACACTTACACAGCACTGACAGGTTGCTCTCAGACCCGAACTGAGTGTACCGAAAGCC</u> <u>CTTTGGCTGACAAGAAGGCTCCAGGGAGTGAAGCGCTGCAGAGAGGGCAGCAGCTGCC</u> <u>CAGCAAACTCCGAAAGGGCCACCTTGCTCCACGGTATCATATGTCACATGCAGGC</u> <u>ATTTGACTATGAACAGAAGAAGCTATTAGCCACCAAAGCTATGTTAAAGAAACAGTGG</u> <u>TGACGGAGGTCAGAACGCCCAAAATACCTGGAGTGGCTGGGTTTTTCTAAATCCATG</u> <u>CCAGCTGAAACTATCAAGGAGTTGAGAAGGGCCAATCATGTGCTCTAAGCCCAAT</u> <u>GACAACCACTTATGAGGGCTCATCCATGTCCCTTTCACGGTCCAACAGTCGTGAGCACT</u> <u>TGGGAGGTGGAAGCGAATCTGATAACTGGAGAGACCGAAATGGAATTTGGACCTGGAAGT</u> <u>CATAGTGAATTTGCAGCTTCTATTGGCAGCCCTAAGCGTAAACAAAACAAATCAACGGA</u> <u>ACACTATCTCAGCAGTAGCAATTACATGGACTGCATTTCCCTCGCTGACAGGAAGCAATG</u> <u>GCTGTAACCTAAATAGCTCTTTCAAAGGTTCTGACCTCCCTGAGCTCTTCAGCAAATG</u> <u>GGCTGGGCAAATACACAGATGTTTTCCAGCAACAAGAGATCGATCTTCAGACATCTCT</u> <u>CACTCTCACAGATCAGGATCTGAAGGAGCTGGGAATAACTACTTTTTGGTGCCAGGAGGA</u> <u>AAATGCTGCTTGAATTTCAGAACTAAATAAAAACCGAAGAAAGCTTTTTGAATCGCCA</u> <u>AATGCACGCACCTCTTTCTGGAAGGTGGAGCGAGTGGAAAGCTACCCCGTCAGTATCA</u> <u>CTCAGACATTTGCTAGTGTGCTGAGTGGCCGCTGGTAG</u></p>
<p>FGFR2:AFF3 (5109 пар оснований) (SEQ ID NO: 61)</p>	<p><u>>ATGGTCAGCTGGGGTCGTTTCATCTGCCTGGTCTGGTCCACCATGGCAACCTTGTCCCTG</u> <u>GCCCGCCCTCCTTCAGTTTAGTTGAGGATACCACATTAGAGCCAGAAGAGCCACCAACCA</u> <u>AATACCAATCTCTCAACCAGAAGTGTACGTGGCTGCGCCAGGGAGTCGCTAGAGGTGCG</u> <u>CTGCCTGTTGAAAGATGCCGCCGTGATCAGTTGGACTAAGGATGGGGTGCATTTGGGGCCC</u> <u>AACAATAGGACAGTGCTTATTGGGGAGTACTTGACAGATAAAGGGCCACGCTAGAGACT</u> <u>CCGGCCTCTATGCTTGTACTGCCAGTAGGACTGTAGACAGTGAACCTTGGTACTTCATGGT</u> <u>GAATGTCACAGATGCCATCTCATCCGGAGATGATGAGGATGACACCGATGGTGCAGGAGAT</u> <u>TTTGTCAAGTGAACAGTAAACAACAGAGAGCACCATACTGGACCAACACAGAAAAGATGG</u> <u>AAAAGCGGCTCCATGCTGTGCCTGCGGCCAACACTGTCAAGTTTCGCTGCCAGCCGGGGG</u> <u>GAACCAATGCCAACCATGCGGTGGCTGAAAAACGGGAAGGAGTTAAGCAGGAGCATCGC</u> <u>ATTGGAGGCTACAAGGTACGAAACAGCACTGGAGCCTCATTATGAAAGTGTGGTCCCAT</u> <u>CTGACAAGGGAAATTTACCTGTGTAGTGGAGAATGAATACGGGTCCATCAATCACACGTA</u> <u>CCACTGGATGTTGTGGAGCGATCGCCTCACCGGCCATCCTCCAAGCCGGACTGCCGCA</u></p>

AATGCCTCCACAGTGGTCGGAGGACGCTAGAGTTTGTCTGCAAGGTTTACAGTGATGCC
AGCCCCACATCCAGTGGATCAAGCACGTGAAAAGAACGGCAGTAAATACGGGCCGACGG
GCTGCCCTACCTCAAGGTTCTCAAGGCCGCGGTGTTAACACCACGGACAAGAGATGAG
GTTCTCTATATTCGGAATGTAACCTTTGAGGACGCTGGGAATATACGTGCTTGGCGGTA
ATTCTATTGGGATATCCTTTCCTCTGCATGGTTGACAGTTCTGCCAGCGCTGGAAGAGA
AAAGGAGATTACAGCTTCCCCAGACTACCTGGAGATAGCCATTTACTGCATAGGGGTCTTC
TTAATCGCCTGTATGGTGGTAACAGTCATCCTGTGCCGAATGAAGAACACGACCAAGAAGC
CAGACTTCAGCAGCCAGCCGGCTGTGCACAAGCTGACCAAACGTATCCCCCTGCGGAGACA
GGTAACAGTTTCGGCTGAGTCCAGCTCCTCCATGAACTCCAACACCCCGCTGGTGAGGATA
ACAACACGCCTCTCTCAACGGCAGACACCCCATGCTGGCAGGGGTCTCCGAGTATGAAC
TCCAGAGGACCCAAAATGGGAGTTTCCAAGAGATAAGCTGACACTGGGCAAGCCCTGGG
AGAAGGTTGCTTTGGCAAGTGGTCATGGCGGAAGCAGTGGGAATTGACAAGACAAGCCC
AAGGAGCGGTCACCGTGGCCGTGAAGATGTTGAAAGATGATGCCACAGAAAAGACCTTT
CTGATCTGGTGTGAGAGATGGAGATGATGAAGATGATTGGGAAACACAAGAAATATCATAAA
TCTTCTTGGAGCCTGCACACAGGATGGGCCTCTCTATGTCATAGTTGAGTATGCCTCTAAA
GGCAACCTCCGAGAATACCTCCGAGCCCGGAGGCCACCCGGGATGGAGTACTCCTATGACA
TTAACCGTGTTCCTGAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTGGTGTGATGCACCTACCAGCT
GGCCAGAGGCATGGAGTACTTGGCTTCCCAAAAATGTATTTCATCGAGATTTAGCAGCCAGA
AATGTTTTGGTAACAGAAAACAATGTGATGAAAATAGCAGACTTGGACTCGCCAGAGATA
TCAACAATATAGACTATTACAAAAGACCACCAATGGCGGGCTCCAGTCAAGTGGATGGC
TCCAGAAGCCCTGTTTGATAGAGTATACACTCATCAGAGTGTCTGGTCTTCGGGGTG
TTAATGTGGGAGATCTTCACTTTAGGGGGCTCGCCCTACCCAGGGATTCCCGTGGAGAAC
TTTTTAAGCTGCTGAAGGAAGGACACAGAATGGATAAGCCAGCCAACTGCCAACGAACT
GTACATGATGATGAGGGACTGTTGGCATGCAGTGCCCTCCAGAGACCAAGCTTCAAGCAG
TTGGTAGAAGACTTGGATCGAATTCTCACTCTCACAACCAATGAGGAGAGTAGATCTGGAG
AAACCAACAGCTGTGTTGAAGAAATAATCCGGGAGATGACCTGGCTTCCACCCTTTCTGC
TATTCAGCACCTGGCAAAGTGAACCAACCAAAATTTCCATTTCCAAATAAGGACTCTCAG
CTTGTATCCTCTGGACACATAATCCAAAGAAAGGTGATGCAGAGCCAGAGAGTCCAGACA
GTGGCACATCGAATACATCAATGCTGGAAGATGACCTTAAGCTAAGCAGTGTGAAGAGGA
GAATGAACAGCAGGCAGCTCAGAGAACGGCTCTCCGGCTCTCTCTGACAGCCGCTGGTCT
CAGCAGCCCAACTGCAGAACCTCGGTGCCCTTCCAGCAAGGGCAGCAGCAGCAGCAGCA
GCGGCAGCAGCAGCTCCTCCAGCGACTCAGAGAGCAGCTCCGGATCTGACTCGGAGACCGA
GAGCAGCTCCAGCAGAGTGGGGCAGCAAGCCCCCACTTCTCCAGCCCCGAGGCTGAA
CCGGCATCCTCTAACAGTGGCAGCTGGATAAATGGCTAAACAAAGTTAATCCCCACAAGC
CTCCTATTCTGATCCAAAATGAAAGCCACGGGTGAGAGCAATCAGTACTACAACCCGGT
GAAAGAGGACGTCCAGGACTGTGGGAAAGTCCCGACGTTTGCCAGCCCAGCCTGAGAGAG
AAGGAGATCAAGAGCACTTGAAGGAGGAGCAAAGGCCAAGGACAGCCAACAAGGCCCTG
GGAGTAAAGGCGTGAAGCAGAAGTCCCCGCCGCGGCGTGGCCGTGGCGGTGAGCGCAGC
CGCCCCGCCACCCGAGTGCCTGTGCGCCCGGGAGAACGCGCCCGCCTGCCCGGAGG
TCCGCGGGCAAGAAGCCACCAGCGCACCGAGAGGACCTCAGCCGGGGACGGCGCCAACT
GCCACCGGCCGAGGAGCCCGCGCCGCGGACGCGCTGGGGACGAGCGTGGTGGTCCCCC
GGAGCCCACCAAAACCAGGCCCTGTGGCAACAACAGAGCGAGCCACCGCAAGGAGCTGCGC
TCCTCCGTGACCTGCGAGAAGCGCCGACGCGGGGGCTAAGCAGGATCGTCCCCAAATCCA
AGGAGTTCATGAGACAGAGTCGTCATCTTCATCCTCCTCCTCGGACTCCGACCTGGAGTC
CGAGCAGGAGGAGTACCCTCTGTCCAAAGCACAGACCGTGGTGCCTCTGCCTCCTCCGGG
AATGATCAGAGGCTGAAGGAGGCCGCTGCCAACGGGGCAGTGGTCTTAGGGCCCTGTAG
GCTCCATCAACGCCAGGACCACAGTGACATCGCCAAGGAGCTGGAGGAGCAGTTCTACAC
ACTGGTCCCCTTTGGCCGGAACGAACTTCTCTCCCCTTAAAGGACAGTGTGAGATCAGG
TCTCTCTGGGTCAAATCGACCTGACCTCCTGTCCAGGATCCAGAACACTGCCCCAGG
AGCCAGGGGTATTGAGCGCCCTGCCACCAAGGACTCTGAGAGCGCACCCGACCCACAC
CTCGGACACCTGCAGAAAAGGCTTTGCCAAAATCCAAGAGGAAACGCAAGTGTGACAAC
GAAGACGACTACAGGGAGATCAAGAAGTCCAGGGAGAGAAAGACAGCTCTTCAAGACTGG
CCACCTCCACCAGTAATACTTTGTCTGCAAACCACTGCAACATGAACATCAACAGTGTGGC
AATACCAATAAATAAAAATGAAAAATGCTTCGGTCGCCCATCTCACCCCTCTGTATGCA
TCTAAACACAAATACACCAGCGAGGACTTAACTTCTTCCAGCCGACCTAATGGCAACAGTT

	<p>TGTTTACTTCAGCCTCTCCAGCAAAAAGCCTAAGGCCGACAGCCAGCTGCAGCCTCACGG CGGAGACCTCACGAAAGCAGCTCACAACAATTCTGAAAACATTCCCCTCCACAAGTCACGG CCGAGACGAAAGCCGTGGTCTCCAGGCTCCAACGGCCACAGGGACTGCAAGAGGCAGAAAC TTGTCTTCGATGATATGCCTCGCAGTGCCGATTATTTTATGCAAGAAGCTAAACGAATGAA GCATAAAGCAGATGCAATGGTGGAAAAGTTTGGAAAGGCTTTGAACTATGCTGAAGCAGCA TTGTCGTTTATCGAGTGTGAAAATGCAATGGAAACAAGGCCCATGGAATCCAATCTCCTT ATACGATGTATTCAGAAACAGTAGAGCTCATCAGGTATGCTATGAGACTAAAAACCCACTC AGGCCCAATGCCACACCAGAAGCAAACTGGCTGCATTATGTTACCGATGCCTGGCC CTCCTGTACTGGCGGATGTTTCGACTCAAAGGGACCACGCTGTAAGTATTCAAAAGCAC TAATCGACTATTTCAAGAACTCATCTAAAGCCGCCAAGCCCATCTCCGTGGGCGGCCAG TGAAAGAGCAGCTGGAACCCCATCCCCATGTCTCCCAACCCCTCTCCGCCAGCTCCGTG GGTCTCAGGGCAGCCTCTCCAACGCCAGCCCTGTCCCCGTGACCATCGTCAGCATCC CACAGCGCATCCACCAGATGGCGGCCAACCGTCAAGCATCACCACAGCATCCTGCACAG CTACGACTACTGGGAGATGGCCGACAACCTGGCCAAGGAAAACCGAGAATTTCTCAACGAC CTGGATCTGCTCATGGGGCCGGTCAACCTGCACAGCAGCATGGAGCACCTGGTCCAGTACT CCCCAACAGGGCCTGCACTGGCTGCGGAACAGCGCCACCTGTCATAG</p>
<p>FGFR2: CASP7 (3213 пар оснований) (SEQ ID NO: 62)</p>	<p>>ATGGTCAGCTGGGGTTCGTTTCATCTGCCTGGTGGTCCACCATGGCAACCTTGTCCC TGGCCGGCCCTCCTTCAGTTAGTTGAGGATACCACATTAGAGCCAGAAGAGCCACCA ACCAAATACCAATCTCTCAACCAGAAGTGTACGTGGCTGCGCCAGGGGAGTCCGTAGA GGTGGCTGCCTGTTGAAAGATGCCGCCGTGATCAGTTGGACTAAGGATGGGGTGCATC TGGGCCCCAACAAATAGGACAGTCTTATTTGGGAGTACTTGCAGATAAAGGGCCGACG CCTAGAGACTCCGGCCTCTATGCTTGTACTGCCAGTAGGACTGTAGACAGTGAACCTTG GTACTTCATGGTGAATGTCACAGATGCCATCTCATCCGGAGATGATGAGGATGACACCG ATGGTGCAGGAGATTTTGTGAGTGAAGACAGTAACAACAAGAGAGCACCATACTGGACC AACACAGAAAAGATGGAAAAGCGGCTCCATGCTGTGCCTGCGGCCAACACTGTCAAGTT TCGCTGCCAGCCGGGGGAAACCAATGCCAACCATGCGGTGGCTGAAAACGGGAAGG AGTTTAAGCAGGAGCATCGCATTTGGAGGCTACAAGGTACGAAACCAGCACTGGAGCCTC ATTATGGAAAGTGGTCCCCTCTGACAAGGGAAATTTATACCTGTGTAGTGGAGAATGA ATACGGGTCCATCAATCACACGTACCACCTGGATGTTGTGGAGCGATCGCCTCACGGC CCATCCTCCAAGCCGGACTGCCGGCAAATGCCCTCCACAGTGGTCCGAGGAGACGTAGAG TTTGTCTGCAAGGTTTACAGTGTGCCAGCCCCACATCCAGTGGATCAAGCACGTGGA AAGAAGCGCAGTAATACGGGCCCCGAGGGCTGCCCTACCTCAAGGTTCTCAAGGCC CCGGTGTAAACACCACGGACAAGAGATTGAGGTTCTCTATATTCGGAATGTAACCTTTT GAGGACGCTGGGGAATATACGTGCTTGGCGGGTAATTTCTATTGGGATATCCTTTCACTC TGCATGGTTGACAGTCTGCCAGCGCTGGAAGAGAAAAGGAGATTACAGCTTCCCAG ACTACCTGGAGATAGCCATTTACTGCATAGGGGTCTTCTTAATCGCCTGTATGGTGGTA ACAGTCATCCTGTGCCAATGAAGAACACGACCAAGAAGCCAGACTTCAGCAGCCAGCC GGCTGTGCACAAGCTGACCAACGTATCCCCTGCGGAGACAGGTAACAGTTTCGGCTG AGTCCAGCTCCTCCATGAACCTCAACACCCCGCTGGTGGGATAACCAACCGCTCTCT TCAACGGCAGACACCCCATGCTGGCAGGGGTCTCCGAGTATGAACCTCCAGAGGACCC AAAATGGGAGTTTCCAAGAGATAAGCTGACACTGGGCAGCCCTGGGAGAAGGTTGCT TTGGGCAAGTGGTCATGGCGGAAGCAGTGGGAATTGACAAAAGCAAGCCCAAGGAGGGC GTCACCGTGGCCGTGAAGATGTTGAAAGATGATGCCACAGAGAAAGACCTTTCTGATCT GGTGTGAGAGATGGAGATGATGAAGATGATTGGGAAACACAAGAATATCATAAATCTTC TTGGAGCCTGCACACAGGATGGGCCTCTCTATGTATAGTTGAGTATGCCTCTAAAGGC AACCTCCGAGAATACCTCCGAGCCCGGAGGCCACCCGGGATGGAGTACTCCTATGACAT TAACCGTGTTCCTGAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTGGTGTATGCACCTACCAGC TGGCCAGAGGCATGGAGTACTTGGCTTCCCAAAAATGTATTCATCGAGATTTAGCAGCC AGAAATGTTTTGGTAACAGAAAACAATGTGATGAAAATAGCAGACTTTGGACTCGCCAG AGATATCAACAATATAGACTATTACAAAAAGACCACCAATGGGCGGCTTCCAGTCAAGT GGATGGCTCCAGAAGCCCTGTTTGTATAGATATACACTCATCAGAGTGTATGCTGGTCC TTCGGGGTGTAAATGTGGGAGATCTTCACTTTAGGGGGCTCGCCCTACCCAGGGATTCC CGTGGAGGAACTTTTAAAGCTGCTGAAGGAAGGACACAGAATGGATAAGCCAGCCAACT GCACCAACGAACTGTACATGATGATGAGGGACTGTTGGCATGCAGTGCCTCCCAGAGA CCAACGTTCAAGCAGTTGGTAGAAGACTTGATCGAATTTCTCACTCTACAACCAATGA GATGGCAGATGATCAGGGCTGATTTGAAGAGCAGGGGGTTGAGGATTCAGCAAATGAAG ATTCAGTGGATGCTAAGCCAGACCGGTCTCGTTTGTACCGTCCCTCTCAGTAAGAAG AAGAAAATGTCACCATGCGATCCATCAAGACCACCCGGGACCGAGTGCCTACATATCA GTACAACATGAATTTTAAAAGCTGGGCAATGCATCATAATAAACAAAGAATTTTG ATAAAGTGACAGGTATGGCGGTTTCAAAACGGAAACAGACAAAAGATGCCGAGGGCCTTTC AAGTGTCTCCGAAGCCTGGGTTTTGACGTGATTGTCTATAATGACTGCTTGTGCCAA</p>

	<p>GATGCAAGATCTGCTTAAAAAAGCTTCTGAAGAGGACCATACAAATGCCGCCTGCTTCG CCTGCATCCTCTTAAGCCATGGAGAAGAAAATGTAATTTATGGGAAAGATGGTGTACA CCAATAAAGGATTTGACAGCCCACTTTAGGGGGGATAGATGCAAAACCTTTTAGAGAA ACCCAACTCTTCTTATTTCAGGCTTCCGAGGGACCGAGCTTGTATGGCATCCAGG CCGACTCGGGGCCCATCAATGACACAGATGCTAATCCTCGATACAAGATCCAGTGGAA GCTGACTTCCCTCTTCGCTATTCCACGGTTCAGGCTATTACTCGTGGAGGAGCCAGG AAGAGGCTCCTGGTTTGTGCAAGCCCTCTGCTCCATCCTGGAGGAGCACGGAAAAGACC TGGAAATCATGCAGATCCTCACCAGGGTGAATGACAGAGTTGCCAGGCACTTTGAGTCT CAGTCTGATGACCCCACTTCCATGAGAAGAAGCAGATCCCCTGTGTGGTCTCCATGCT CACCAAGGAACCTACTTCAATGCAATAG</p>
<p>FCFR2:CCDC6 (3423 пар оснований) (SEQ ID NO: 63)</p>	<p>>ATGCTCAGCTGGGCTCCTTTCATCTGCCCTGGTCCCTGCTCACCATGGCAACCTTGTCCC TGGCCCGGCCCTCCTTCACTTGTAGTTGAGGATACCACATTAGAGCCAGAAGAGCCACCA ACCAAATACCAAATCTCTCAACCAGAAGTGTACGTGGTTCGCCAGGGGAGTTCGCTAGA GGTGGCTGCTGCTTGTAAAGATGCCGCCGTGATCAGTTGGACTAAGGATGGGGTGCCT TGGGGCCCAACAATAGGACAGTGTCTTATGGGGAGTACTTGCAGATAAAGGGCCGACG CCTAGAGACTCCGGCCTCTATGCTTGTACTGCCAGTAGGACTGTAGACAGTGAACCTTG GTACTTTCATGGTGAATGTCACAGATGCCATCTCATCCGGAGATGATGAGGATGACACCG ATGGTGGGAAGATTTTGTGAGTGAAGACAGTAACAACAAGAGAGCACCATACTGGACC AACACAGAAAAGATGGAAAAGCGGCTCCATGCTGTGCCCTGCCGCCAACACTGTCAAGTT TCGGTGGCCAGCCGGGGGAAACCAATGCCAACCATGCCGTGGCTGAAAACGGGGAAGG AGTTAAGCAGGAGCATCGCATTTGGAGGCTACAAGGTACGAACCGACTGAGTACTGGAGCCTC ATTATGGAAAGTGTGGTCCCATCTGACAAGGGAAATTTATACCTGTGTAGTGGAGAAATGA ATACGGGTCCATCAATCACACGTACCACCTGGATGTTGTGGAGCGATCGCCTCACCGGC CCATCCTCCAAGCCGGACTGCCGGCAAATGCCTCCACAGTGGTCCGAGGAGACGTAGAG TTTGTCTGCAAGGTTTACAGTGTATGCCAGCCCCACATCCAGTGGATCAAGCACGTGGA AAGAACGGCAGTAAATACGGGCCCGACGGGCTGCCCTACCTCAAGGTTCTCAAGGCCG CCGGTGTAAACACCACGGACAAGAGATTTGAGGTTCTCTATATTCCGAATGTAACCTTT GAGGACGCTGGGGAATATACGTGCTTGGCGGGTAATTTCTATTGGGATATCCTTTCACTC TGCAATGGTTGACAGTCTGCCAGCGCTGGAAAGAGAAAAGGAGATTACAGCTTCCCAG ACTACCTGGAGATAGCCATTTACTGCATAGGGTCTTCTTAATCGCTGTATGGTGGTA ACAGTCACTCTGTGCCGAATGAAGAACACGACCAAGAAGCCAGACTTCAGCAGCCAGCC GGCTGTGCACAAGCTGACCAACGTATCCCCTGCCGAGACAGGTAACAGTTCGGCTG AGTCCAGCTCCTCCATGAACCTCAACACCCCGCTGGTGGGATAACCAACACGCTCTCT TCAACGGCAGACACCCCATGCTGGCAGGGGTCTCCGAGTATGAACTTCCAGAGGACCC AAAATGGGAGTTTCCAAGAGATAAGCTGACACTGGGCAAGCCCCTGGGAGAAGGTTGCT TTGGGCAAGTGGTCATGGCGGAAGCAGTGGGAATTGACAAGACAAGCCCAAGGAGGCG GTCACCGTGGCCGTGAAGATGTTGAAAGATGATGCCACAGAGAAAGACCTTTCTGATCT GGTGTGAGAGATGGAGATGATGAAGATGATGGGAAACACAAGAATATCATAAATCTTC TTGGAGCCTGCACACAGGATGGCCTCTCTATGTCATAGTTGAGTATGCCTCTAAAGGC AACCTCCGAGAATACCTCCGAGCCCGGAGGCCACCCGGGATGGAGTACTCCTATGACAT TAACCGTGTTCCTGAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTGGTGTGATGCACCTACCAGC TGGCCAGAGGCATGGAGTACTTGGCTTCCCAAAAATGTATTATCGAGATTTAGCAGCC AGAAATGTTTGGTAACAGAAAACAATGTGATGAAAATAGCAGACTTTGGACTCGCCAG AGATATCAACAATATAGACTATTACAAAAGACCACCAATGGGCGGCTTCCAGTCAAGT GGATGGCTCCAGAAGCCCTGTTTGTATAGATATACACTCATCAGAGTGTGCTGGTCC TTCGGGGTGTAAATGTGGGAGATCTTCACTTTAGGGGGCTCGCCCTACCCAGGGATTC CGTGGAGGAACTTTAAAGCTGCTGAAGGAAGGACACAGAATGGATAAGCCAGCCAACT GCACCAACGAACTGTACATGATGATGAGGGACTGTTGGGATGCAGTGCCTCCCAGAGA CCAACGTTCAAGCAGTTGGTAGAAGACTTGGATCGAATTTCTCACTCTCACACCAATGA GCAAGCCAGGGCTGAGCAGGAAGAAGAATTCATTAGTAACACTTTATTCAGAAAATTC AGGCTTTGCAGAAGGAGAAAAGAAACCTTGTCTGTAATTTATGAGAAAAGAAAGAATTC CTCACTAATGAGCTCTCCAGAAAATTTGATGCAGTTGCAGCATGAGAAAAGCCGAAGTGA ACAGCATCTTGAACAAGAGCAGGAATTTCAAGTCAACAACTGATGAAGAAAATTAATA AACTGGAGAATGACACCATTTCTAAGCAACTTACATTTAGAACAGTTGAGACGGGAGAAG ATTGACCTTGAATAACATTTGAACAAGAACAAGAAGCACTAGTTAATCGCCTCTGGAA AAGGATGGATAAGCTTGAAGCTGAAAAGCGAATCCTGCAGGAAAATTAGACCCAGCCG TCTCTGCTCCACCATCGCCTAGAGATATCTCCATGGAGATTGATTTCCAGAAAATATG ATGCGTCACATCAGGTTTTTAAAGAATGAAGTGAACGGCTGAAGAAGCAACTGAGAGC TGCTCAGTTACAGCATTCAGAGAAAATGGCACAGTATCTGGAGGAGGAACGTACATGA GAGAAGAGAACTTGAGGCTCCAGAGGAAGTGCAGAGGGAGATGGAGAGAAGAGAAGCC CTCTGTGACAGCTCTCCGAGAGTGAATCCAGCTTAGAAATGGACGACGAAAGGATTT TAATGAGATGTCTGCACAAGGATTAAGACCTCGCACTGTGTCCAGCCGATCCCTTACA CACCTTCTCCGAGTTCAAGCAGGCTATATCACCTGGTCTATCATATGCAAGTCAACAG GTTGGTTTACGCCACCAACTTCACTGACTAGAGCTGGAATGTCTTATTACAATTCCCC</p>

	GGGTCTTCACGTGCAGCACATGGGAACATCCCATGGTATCACAAGGCCTTCACCAGGA GAAGCAACAGTCTGACAAATTCAAACGGCCACGCCGCTCCATCTCCCAACACACAG ACCCAGTCCAGCCACCTCCGCCCTCCACCTCCGCCACCCATGCAGCCACGGTCCCCTC AGCAGCCACCTGCAGCCTACTCCTTCGCAACATTCGGCGCACCCCTCCTCCCAGCCTT AA
FGFR2:OFD1 (5229 пар оснований) (SEQ ID NO: 64)	>ATGGTCAGCTGGGGTCGTTTCATCTGCCTGGTCTGGTACCATGGCAACCTTGTCCC TGGCCCGGCCCTCCTTCAGTTAGTTGAGGATACCACATTAGAGCCAGAAGAGCCACCA ACCAAATACCAAATCTCTCAACCAGAAGTGTACGTGGCTGCGCCAGGGGAGTTCGTAGA GGTGGCTGCCTGTTGAAAGATGCCGCCGTGATCAGTTGGACTAAGGATGGGGTGCCT TGGGGCCCAACAATAGGACAGTGTCTTATGGGGAGTACTTGCAGATAAAGGGCGCCACG CCTAGAGACTCCGGCCTCTATGCTTGTACTGCCAGTAGGACTGTAGACAGTGAACCTTG GTACTTCATGGTGAATGTCACAGATGCCATCTCATCCGGAGATGATGAGGATGACACCG ATGGTGCAGAAATTTTGTGAGTGAAGACAGTAACAACAAGAGAGCACCATACTGGACC AACACAGAAAAGATGGAAAAGCGGCTCCATGCTGTGCCCTGCGGCCAACACTGTCAAGTT TCGCTGCCAGCCGGGGGAAACCAATGCCAACCATGCGGTGGCTGAAAACGGGAAGG AGTTAAGCAGGAGCATCGCATTTGGAGGCTACAAGGTACGAAACCGACTCAGGACTC ATTATGGAAAGTGTGGTCCCATCTGACAAGGGAAATATACCTGTGTAGTGGAGAATGA ATACGGGTCCATCAATCACACGTACCACCTGGATGTTGTGGAGCGATCGCCTCACCGGC CCTCCTCCAAGCCGGACTGCCGGCAAATGCCTCCACAGTGGTCGGAGGAGACGTAGAG TTTGTCTGCAAGGTTTACAGTGTATGCCAGCCCCACATCCAGTGGATCAAGCACGTGGA AAGAACGGCAGTAATACGGGCCGACGGGTGCCCTACCTCAAGTTCTCAAGGCCG CCGCTGTTAACACCACGGACAAGAGATTGAGGTTCTCTATATCCGAATGTAACCTTT GAGGACGCTGGGGAATATACGTGCTTGGCGGGTAATCTATTGGGATATCCTTTCACTC TGCATGGTTGACAGTCTGCCAGCGCCTGGAAGAGAAAAGGAGATTACAGCTTCCCAG ACTACCTGGAGATAGCCATTTACTGCATAGGGGTCTTCTTAATCGCCTGTATGGTGGTA ACAGTCACTCCTGTGCCAATGAAGAACACGACCAAGAAGCCAGACTTCAGCAGCCAGCC GGCTGTGCACAAGCTGACCAACGTATCCCCTGCGGAGACAGGTAACAGTTTCGGCTG AGTCCAGCTCCTCCATGAACCTCAACACCCCGCTGGTGGAGATAACCAACACGCTCTCT TCAACGGCAGACACCCCATGCTGGCAGGGGTCTCCGAGTATGAACCTCCAGAGGACCC AAAATGGGAGTTTCCAAGAGATAAGCTGACACTGGGCAAGCCCCTGGGAGAAGGTTGCT TTGGGCAAGTGGTCATGGCGAAGCAGTGGGAATTGACAAGACAAGCCCAAGGAGCGG GTCACCGTGGCCGTGAAGATGTTGAAAGATGATGCCACAGAGAAAGACCTTTCTGATCT GGTGTAGAGATGGAGATGATGAAGATGATGGGAAACACAAGAATATCATAAATCTTC TTGGAGCCTGCACACAGGATGGGCCTCTCTATGTCATAGTTGAGTATGCCTCTAAAGGC AACCTCCGAGAATACCTCCGAGCCCGGAGGCCACCCGGGATGGAGTACTCCTATGACAT TAACCGTGTTCCTGAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTGGTGTGATGCACCTACCAGC TGGCCAGAGGCATGGAGTACTTGGCTTCCCAAAAATGTAATTCATCGAGATTTAGCAGCC AGAAATGTTTTGGTAACAGAAAACAATGTGATGAAAATAGCAGACTTTGGACTCGCCAG AGATATCAACAATATAGACTATTACAAAAGACCACCAATGGGCGGCTTCCAGTCAAGT GGATGGCTCCAGAAGCCCTGTTGATAGAGTATACACTCATCAGAGTATGCTGGTCC TTCGGGGTGTAAATGTGGGAGATCTTCACTTTAGGGGGCTCGCCCTACCCAGGGATTC CGTGGAGGAACTTTTAAGCTGCTGAAGGAAGGACACAGAATGGATAAGCCAGCCAACT GCACCAACGAACTGTACATGATGATGAGGGACTGTTGGCATGCAGTGCCTCCCAGAGA CCAACGTTCAAGCAGTTGGTAGAAGACTTGGATCGAATTCCTCACTCTACAACCAATGA GACACAACCTCGAAACCAGCTAATTGATGAGTTGATGCACCCCTGTATTGAGTGGAGAAC TGCAGCCTCGGTCCATTTCAAGTAGAAGGGAGCTCCCTCTTAATAGGCGCCTCTAACTCT TTAGTGGCAGATCACTTACAAAGATGTGGCTATGAATATCACTTTCTGTTTTCTTTCC AGAAAGTGGTTTGGCAAAAGAAAAGGATTTACTATGCAGGATCTATTACAACCTCATTA AAATCAACCCACTTCCAGTCTTACAAATCACTGGTTTTCAGGATCTGATAAAGAAAAT CAAAAAGTTTTCTTATGCATTTTTTAAAGAATTGGCAGAATATCATCAAGCTAAAGA GAGTTGTAATATGGAAACTCAGACAAGTTCGACATTTAACAGAGATTTCTCTGGCTGAGA AGCTTCAGCTTATTGATGATCAGTTTGCAGATGCTTACCCTCAGCGTATCAAGTTCGAA TCTTTAGAAATAAAGCTAAATGAGTATAAGAGAGAAATAGAAGAGCAACTTCGGGCAGA AATGTGTCAAAAGTTGAAGTTTTTAAAGATACCGAGATAGCAAAAATTAATGGAAG CAAAAAAAGTATGAAAAGGAGTTAACCATGTTCCAGAATGATTTTGAAGAAGCTTGT CAAGCAAAATCTGAAGCTCTGTTCTTTCGGGAAAAGAGTACCCTTGAAGAATTCACAA GCACCAAGAGATTGAAACAAAAGAAATTTATGCTCAAAGGCAACTTTTACTAAAAGATA TGGATTTGCTAAGAGGAAGAGAAGCAGAGCTGAAGCAAAGAGTTGAAGCTTTTGAATTG AACCAGAAGCTCCAGGAAGAAAACATAAAAGCATAACTGAGGCACCTTAGGAGACAGGA GCAGAATATAAAGAGTTTTGAGGAGACCTATGACCGAAAAGCTCAAGAATGAACCTCTAA AGTATCAACTTGAAGTGAAGGATGACTACATCATTAGAACTAATCGACTGATTGAAGAT GAAAGGAAGAATAAAGAAAAGCTGTTCAATTTGCAAGAGGAGCTCATAGTAAATTAATTC AAAAAAGGAGGAACTCAATCAATCTGTAATCGTGTGAAAGAAGCTTGAAGCTTGAATTAG AGTCTGTCAAGCCAGTCTTTGGCAATAACAAAACAAAACCATATGCTGAATGAAAAG

<p>GTAAAGAGATGAGTGATTATTCACACTAAAAGAAGAGAAACTGGAGCTTCTGGCACA AAATAAATTACTTAAACAACAACCTGGAAGAGAGTAGAAATGAAAACCTGCGTCTCCTAA ACCGCCTAGCTCAGCCGGCTCCTGAACTTGCAGTCTTTCAGAAAAGAACTACGGAAAGCC GAAAAGGCTATAGTGGTTGAGCATGAGGAGTTTCGAAAAGCTGCAGGCAAGCTCTGCACAA ACAACCTGCAAGACGAAATTTAGCATTCTGCACAGCTGAAGGCCAGATTCTAGGTTACA AAGCTTCTGTAAAGAGTTTAACTACTCAGGTTGCCGATTTAAAATGCAACTGAAGCAA ACTCAGACAGCCCTAGAGAATGAAGTGTACTGCAATCCAAAGCAGTCTGTGATCGATCG TTCTGTCAATGGATTAATAATGGCAATGTGGTGCCTTGAATGGTGAAGATAAGTGGGG ATTTCTTGAACAATCCTTTTAAACAGGAAAACGTTCTAGCACGTATGGTTGCATCAAGG ATCACAATTTCAACTGCATGGGTGGAGGGTAGTTCCTTGCATCTGACCTTGAGTT TGTAGCCAATACTAAGGCAAGGGTCAAAGAGCTTCAGCAAGAGGCCGAAACGCTTGGAAA AGGCTTTCAGAAAGTTACCATCGGAGAGTCAATAAAAACCTTGCCAAAAGCCCACTAGCA GCAAAGAGCCCACCATCTCTGCACTTGCTGGAAGCCTTCAAAAACATTACTTCCAGTTC CCCGGAAAGACATATTTTTGGAGAGGACAGAGTTGTCTCTGAGCAGCCTCAAGTGGGCA CACTTGAAGAAAGGAATGACGTCGTGGAAGCACTGACAGGCAGTGCAGCCTCGAGGCTC CGCGGGGCACTTCTCCAGACGCTCTCTTCCACACCCCTTCCAAAAGCAAAAAGAAAG CCTCGAAAGTGAATGTATCTGGAAGGTCTGGGCAGATCACACATTGCTTCCCCAGTC CTTGTCTGACAGAATGCCCTACCATCACCCACTGAGTCTAGGCACAGCCTCTCCATC CCTCTGTCTCCAGCCCTCCGAGCAGAAAGTGGGTCTTTATCGAAGCAAACTGAACT TCAAGACAAAAGTGAATTTTTAGATGTGGACAAGCTAGCTTTTAAAGGATAATGAGGAGT TTGAATCATCTTTTGAATCTGCAGGGAACATGCCAAGGCAGTTGGAATGGGCGGGCTT TCTCTGCCGGGATATGTCTCATGTGGACGCTGCTGCAGCTGCTGTGCCCTCTCATA TCAGCACCCAAGTGTAGATCAGAAAACAATTTGAAGAACAAGGAAGAAGAAAAATAC GGGAACAGCAAGTGAAGAACGAAGGCAGAGAGAAGAAAGGAAGGCAGAGTAACCTACAA GAAGTTTTAGAAAGGAACGAAGAGAACAGAAAACCTGTATCAGGAAAGGAAGATGAT TGAAGAATCACTGAAGATTTAAAATAAAAAGGAATTAGAAAATGAAAATGAATTAGAAA TGAGTAATCAAGAAATAAAGACAATCTGCTCACAGTGAATCCTTTAGAGAAAATAC ATGAAAATCATCCAGCAGGAGCAAGACCAGGAGTCCGGCAGATAAGAGCTCAAAAAGAT GGTCCAAGAAGCTCCCTAGTGGACACGCTGCAATCTAGTGACAAAGTCGAAAGTTTAA CAGGCTTTTCTCATGAAGAACTAGACGACTCTTGATA</p>

Варианты осуществления

Следующий список вариантов осуществления предназначен для того, чтобы дополнить, а не заменить или аннулировать предшествующие описания.

Вариант осуществления 1. Способ выявления онкологического пациента, который поддается лечению ингибитором рецептора фактора роста фибробластов (FGFR), включающий анализ биологического образца, взятого у пациента, на наличие мутанта FGFR из панели мутантных генов FGFR, где мутант FGFR представляет собой слитый ген FGFR или однонуклеотидный полиморфизм FGFR и где указанный анализ включает

амплификацию кДНК с парой праймеров, которые связывают и амплифицируют один или более мутантов FGFR из указанной панели мутантных генов FGFR; и

определение того, присутствуют ли в образце указанные один или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR, где наличие указанных одного или более мутантов FGFR указывает на то, что пациент поддается лечению ингибитором FGFR.

Вариант осуществления 2. Способ выявления онкологического пациента, который поддается лечению ингибитором рецептора фактора роста фибробластов (FGFR), включающий анализ биологического образца, взятого у пациента, на наличие одного или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR, где мутант FGFR представляет собой слитый ген FGFR или однонуклеотидный полиморфизм FGFR, где наличие указанных одного или более мутантов FGFR указывает на то, что пациент поддается лечению ингибитором FGFR.

Вариант осуществления 3. Способ по варианту осуществления 1 или 2, где слитый ген FGFR включает

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3

v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3,

FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, или FGFR2:OFD1,

или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 4. Способ по варианту осуществления 1 или 2, где однонуклеотидный полиморфизм FGFR включает R248C, S249C, G370C, или Y373C, или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 5. Способ по варианту осуществления 1 или 2, где рак представляет собой рак мочевого пузыря, а панель мутантных генов FGFR включает

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3,

FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C,

FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C,

или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 6. Способ по варианту осуществления 1 или 2, где рак представляет собой метастатический рак мочевого пузыря, а панель мутантных генов FGFR включает

FGFR3:TACC3 v1,
 FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3,
 FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3
 Y373C,

или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 7. Способ по варианту осуществления 1 или 2, где рак представляет собой рак яичника, а панель мутантных генов FGFR включает

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3,
 FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C,
 FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C,

или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 8. Способ по варианту осуществления 1 или 2, где рак представляет собой рак головы и шеи, а панель мутантных генов FGFR включает

FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, FGFR3
 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C,

или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 9. Способ по варианту осуществления 1 или 2, где рак представляет собой метастатический рак головы и шеи, а панель мутантных генов FGFR включает FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, или FGFR2:OFD1, или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 10. Способ по варианту осуществления 1 или 2, где рак представляет собой рак пищевода, а панель мутантных генов FGFR включает

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR2:BICC1,
 FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3
 Y373C,

или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 11. Способ по варианту осуществления 1 или 2, где рак представляет собой метастатический рак пищевода, а панель мутантных генов FGFR включает

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3
 v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3,
 FGFR2:CASP7, FGFR2:CCD6, или FGFR2:OFD1,

или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 12. Способ по варианту осуществления 1 или 2, где рак представляет собой немелкоклеточную аденокарциному легкого, а панель мутантных генов FGFR включает

FGFR3:TACC3 v1,
 FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:AFF3,
 FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3
 Y373C,

или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 13. Способ по варианту осуществления 1 или 2, где рак представляет собой немелкоклеточную плоскоклеточную карциному легкого, а панель мутантных генов FGFR включает

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1,
 FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C,
 FGFR3 G370C,

или FGFR3 Y373C, или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 14. Способ по варианту осуществления 1 или 2, где рак представляет собой метастатический рак эндометрия, а панель мутантных генов FGFR включает

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3
 v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6,
 или FGFR2:OFD1,

или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 15. Способ по варианту осуществления 1 или 2, где рак представляет собой рак молочной железы, а панель мутантных генов FGFR включает

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3,

FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3,
FGFR2:CASP7, FGFR2:CCD6, или FGFR2:OFD1,

или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 16. Способ по варианту осуществления 1 или 2, где рак представляет собой гепатоклеточную карциному, а панель мутантных генов FGFR включает

FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3
v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3,
FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, FGFR2:OFD1, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C,
FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C,

или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 17. Способ по любому из вариантов осуществления 2-16, где указанный анализ включает амплификацию кДНК с парой праймеров, которые связывают и амплифицируют один или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR.

Вариант осуществления 18. Способ по варианту осуществления 17, где кДНК представляет собой преамплифицированную кДНК.

Вариант осуществления 19. Способ по любому из предыдущих вариантов осуществления, где мутант FGFR и пара праймеров представляют собой

FGFR3:TACC3 v1 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6;
FGFR3:TACC3 v3 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8;
FGFR3:TACC3 интрон и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 10;
FGFR3:BAIAP2L1 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12;
FGFR2:BICC1 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 14;
FGFR2:AFF3 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 16;
FGFR2:CASP7 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18;
FGFR2:CCDC6 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20;
FGFR2:OFD1 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 22;
R248C и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24 или SEQ ID NO:
31 и SEQ ID NO: 32;
S249C и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 25 и SEQ ID NO: 26 или SEQ ID NO:
33 и SEQ ID NO: 34;
G370C и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28 или SEQ ID NO:
35 и SEQ ID NO: 36;
Y373C и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30 или SEQ ID NO:
37 и SEQ ID NO: 38;

или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 20. Способ по любому из предыдущих вариантов осуществления, где указанная оценка включает выделение РНК из биологического образца, и синтез кДНК из выделенной РНК.

Вариант осуществления 21. Способ по варианту осуществления 20, дополнительно включающий преамплификацию кДНК перед стадией амплификации.

Вариант осуществления 22. Способ по любому из вариантов осуществления 1 или 3-21, где кДНК преамплифицирована.

Вариант осуществления 23. Способ по любому из вариантов осуществления 1 или 3-22, где стадия амплификации включает проведение ПЦР в реальном времени.

Вариант осуществления 24. Способ по варианту осуществления 23, где ПЦР в реальном времени проводят с одним или более зондов, содержащих SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54 и/или SEQ ID NO: 55.

Вариант осуществления 25. Способ по варианту осуществления 23 или 24, где ПЦР в реальном времени проводят с одним или более 3'-блокирующих олигонуклеотидов, содержащих SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 и/или SEQ ID NO: 42.

Вариант осуществления 26. Способ по любому из вариантов осуществления 1 или 3-25, где указанная стадия определения включает секвенирование амплифицированной кДНК.

Вариант осуществления 27. Набор для обнаружения наличия одного или более мутантных генов FGFR в биологическом образце, содержащий

пару праймеров, имеющих последовательности SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 и SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 и SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35 и SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37 и SEQ ID NO: 38 или любую

их комбинацию; и

инструкции по проведению анализа для обнаружения одного или более мутантных генов FGFR.

Вариант осуществления 28. Набор по варианту осуществления 27, дополнительно включающий один или более зондов, один или более 3'-блокирующих олигонуклеотидов или и то и другое.

Вариант осуществления 29. Набор по варианту осуществления 28, где:

а) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 43;

б) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 44;

в) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 10 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 46;

д) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 47;

е) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 14 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 45;

ф) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 16 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 48;

г) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 49;

д) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 50;

и) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 22 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 51;

ж) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 52;

к) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 25 и SEQ ID NO: 26 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 53;

л) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 54;

м) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 55;

н) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32, зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 52 и 3'-блокирующий олигонуклеотид имеет последовательность SEQ ID NO: 39;

о) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 33 и SEQ ID NO: 34, зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 53 и 3'-блокирующий олигонуклеотид имеет последовательность SEQ ID NO: 40;

р) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 35 и SEQ ID NO: 36, зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 54 и 3'-блокирующий олигонуклеотид имеет последовательность SEQ ID NO: 41;

с) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 37 и SEQ ID NO: 38, зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 55 и 3'-блокирующий олигонуклеотид имеет последовательность SEQ ID NO: 42; или

г) набор содержит любую комбинацию вышеуказанных.

Вариант осуществления 30. Праймер, имеющий последовательность SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38 или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 31. Набор праймеров, имеющих последовательности SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 и SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 и SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35 и SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37 и SEQ ID NO: 38 или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 32. Олигонуклеотидный зонд, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 43-55 или любой их комбинации.

Вариант осуществления 33. Олигонуклеотид, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 39-42 или любой их комбинации.

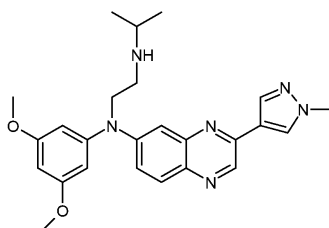
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ выявления онкологического пациента, который поддается лечению ингибитором рецептора фактора роста фибробластов (FGFR), включающий:

анализ биологического образца, взятого у пациента, на наличие мутанта FGFR из панели мутантных генов FGFR, где мутант FGFR представляет собой слитый ген FGFR, включающий FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, или FGFR2:OFD1, или любую их комбинацию, или однонуклеотидный полиморфизм FGFR, представляющий собой R248C, S249C, G370C, или Y373C, или любую их комбинацию, и где указанный анализ включает:

амплификацию кДНК с парой праймеров, которые амплифицируют один или более мутантов FGFR из указанной панели мутантных генов FGFR; и

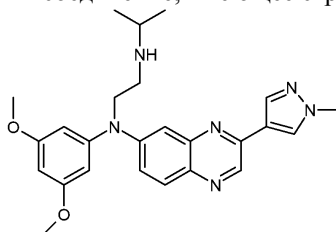
определение того, присутствуют ли в образце указанные один или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR, где наличие указанных одного или более мутантов FGFR указывает на то, что пациент поддается лечению ингибитором FGFR, и где указанный ингибитор FGFR содержит соединение, имеющее структуру формулы (I)



(I),

его N-оксид, его фармацевтически приемлемую соль или его сольват.

2. Способ выявления онкологического пациента, который поддается лечению ингибитором рецептора фактора роста фибробластов (FGFR), включающий анализ биологического образца, взятого у пациента, на наличие одного или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR, где мутант FGFR представляет собой слитый ген FGFR, включающий FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, или FGFR2:OFD1, или любую их комбинацию, или однонуклеотидный полиморфизм FGFR, представляющий собой R248C, S249C, G370C, или Y373C, или любую их комбинацию, где наличие указанных одного или более мутантов FGFR указывает на то, что пациент поддается лечению ингибитором FGFR, и где указанный ингибитор FGFR содержит соединение, имеющее структуру формулы (I)



(I),

его N-оксид, его фармацевтически приемлемую соль или его сольват.

3. Способ по п.1 или 2, где рак представляет собой рак мочевого пузыря, а панель мутантных генов FGFR включает FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C, или любую их комбинацию.

4. Способ по п.1 или 2, где рак представляет собой метастатический рак мочевого пузыря, а панель мутантных генов FGFR включает FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C, или любую их комбинацию.

5. Способ по п.1 или 2, где рак представляет собой рак яичника, а панель мутантных генов FGFR включает FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C, или любую их комбинацию.

6. Способ по п.1 или 2, где рак представляет собой рак головы и шеи, а панель мутантных генов FGFR включает FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C, или любую их комбинацию.

7. Способ по п.1 или 2, где рак представляет собой метастатический рак головы и шеи, а панель мутантных генов FGFR включает FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, или FGFR2:OFD1, или любую их комбинацию.

8. Способ по п.1 или 2, где рак представляет собой рак пищевода, а панель мутантных генов FGFR

включает FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR2:BICC1, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C, или любую их комбинацию.

9. Способ по п.1 или 2, где рак представляет собой метастатический рак пищевода, а панель мутантных генов FGFR включает FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCD6, или FGFR2:OFD1, или любую их комбинацию.

10. Способ по п.1 или 2, где рак представляет собой немелкоклеточную аденокарциному легкого, а панель мутантных генов FGFR включает FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3R248C, FGFR3S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C, или любую их комбинацию.

11. Способ по п.1 или 2, где рак представляет собой немелкоклеточную плоскоклеточную карциному легкого, а панель мутантных генов FGFR включает FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C, или любую их комбинацию.

12. Способ по п.1 или 2, где рак представляет собой метастатический рак эндометрия, а панель мутантных генов FGFR включает FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, или FGFR2:OFD1, или любую их комбинацию.

13. Способ по п.1 или 2, где рак представляет собой рак молочной железы, а панель мутантных генов FGFR включает FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCD6, или FGFR2:OFD1, или любую их комбинацию.

14. Способ по п.1 или 2, где рак представляет собой гепатоклеточную карциному, а панель мутантных генов FGFR включает FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:интрон TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, FGFR2:OFD1, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, или FGFR3 Y373C, или любую их комбинацию.

15. Способ по любому из пп.2-14, где указанный анализ включает амплификацию кДНК парой праймеров, которые амплифицируют один или более мутантов FGFR из панели мутантных генов FGFR.

16. Способ по п.15, где кДНК представляет собой преамплифицированную кДНК.

17. Способ по любому из предыдущих пунктов, где мутант FGFR и пара праймеров представляют собой

FGFR3:TACC3 v1 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6;
 FGFR3:TACC3 v3 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8;
 FGFR3:TACC3 интрон и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 10;
 FGFR3:BAIAP2L1 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12;
 FGFR2:BICC1 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 14;
 FGFR2:AFF3 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 16;
 FGFR2:CASP7 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18;
 FGFR2:CCDC6 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20;
 FGFR2:OFD1 и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 22;
 R248C и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24 или SEQ ID NO:
 31 и SEQ ID NO: 32;
 S249C и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 25 и SEQ ID NO: 26 или SEQ ID NO:
 33 и SEQ ID NO: 34;
 G370C и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28 или SEQ ID NO:
 35 и SEQ ID NO: 36;
 Y373C и праймеры, имеющие последовательности SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30 или SEQ ID NO:
 37 и SEQ ID NO: 38;
 или любую их комбинацию.

18. Способ по любому из предыдущих пунктов, где указанная оценка включает выделение РНК из биологического образца и синтез кДНК из выделенной РНК.

19. Способ по п.18, дополнительно включающий преамплификацию кДНК перед стадией амплификации.

20. Способ по любому из пп.1 или 5-19, где кДНК преамплифицирована.

21. Способ по любому из пп.1 или 5-20, где стадия амплификации включает проведение ПЦР в реальном времени.

22. Способ по п.21, где ПЦР в реальном времени проводят с одним или более зондов, содержащих SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54 и/или SEQ ID NO: 55.

23. Способ по п.21 или 22, где ПЦР в реальном времени проводят с одним или более 3'-блокирующих олигонуклеотидов, содержащих SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 и/или SEQ ID NO: 42.

24. Способ по любому из пп.1 или 5-23, где указанная стадия определения включает секвенирование амплифицированной кДНК.

25. Набор праймеров для выполнения способа по п.1 или 2, имеющих последовательности SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 и SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 и SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35 и SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37 и SEQ ID NO: 38 или любую их комбинацию.

26. Набор для выполнения способа по п.1 или 2, содержащий набор праймеров по п.25 и инструкции по проведению анализа для обнаружения одного или более мутантных генов FGFR.

27. Набор по п.26, дополнительно включающий один или более зондов, один или более 3'-блокирующих олигонуклеотидов или и то и другое.

28. Набор по п.27, где:

a) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 43;

b) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 44;

c) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 10 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 46;

d) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 47;

e) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 14 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 45;

f) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 16 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 48;

g) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 49;

h) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 50;

i) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 22 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 51;

j) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 52;

k) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 25 и SEQ ID NO: 26 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 53;

l) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 54;

m) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30 и зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 55;

n) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32, зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 52 и 3'-блокирующий олигонуклеотид имеет последовательность SEQ ID NO: 39;

o) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 33 и SEQ ID NO: 34, зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 53 и 3'-блокирующий олигонуклеотид имеет последовательность SEQ ID NO: 40;

p) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 35 и SEQ ID NO: 36, зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 54 и 3'-блокирующий олигонуклеотид имеет последовательность SEQ ID NO: 41;

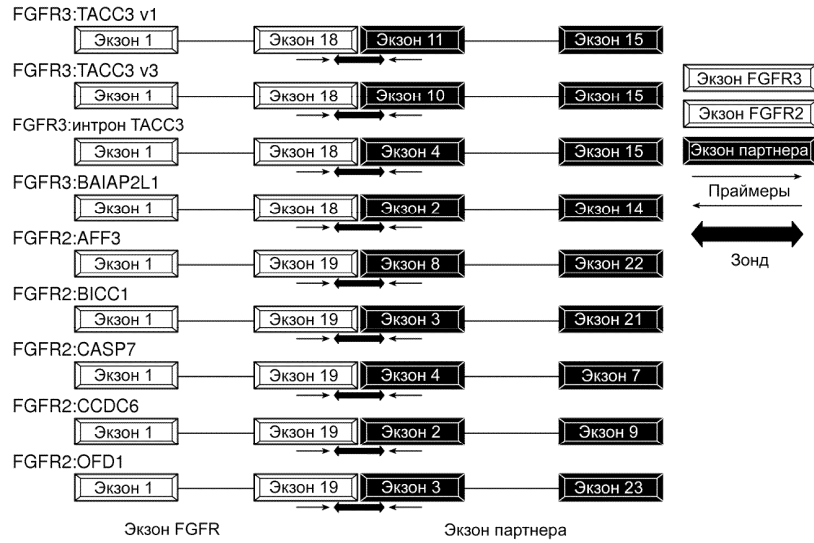
q) указанная пара праймеров имеет последовательности SEQ ID NO: 37 и SEQ ID NO: 38, зонд имеет последовательность SEQ ID NO: 55 и 3'-блокирующий олигонуклеотид имеет последовательность SEQ ID NO: 42; или

г) набор содержит любую комбинацию вышеуказанных.

29. Праймер для выполнения способа по п.1 или 2, имеющий последовательность SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38.

30. Олигонуклеотидный зонд для выполнения способа по п.1 или 2, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 43-55.

31. Олигонуклеотид для выполнения способа по п.1 или 2, имеющий последовательность любой из SEQ ID NO: 39-42.

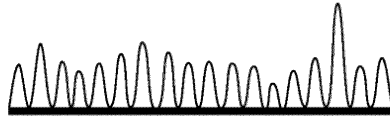


Фиг. 1

FGFR3:TACC3 V1

Образец CNT14Y3

205-002 r1 R B01 1 Фрагменты оснований W35-38
TCCACCGACGTAAAGGCG
 TCCACCGACGTAAAGGCG

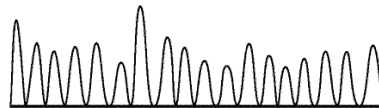


Фиг. 2А

FGFR3:TACC3 V3

Образец CNT0RET

TACCGTGACGTCCACCGA
 TACCGTGACGTCCACCGA

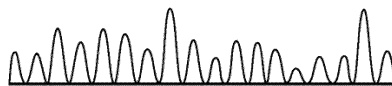


Фиг. 2В

FGFR3:интрон TACC3

Образец RT4

GCC T T C T G G C C C A G G T G C
 GCC T T C T G G C C C A G G T G C



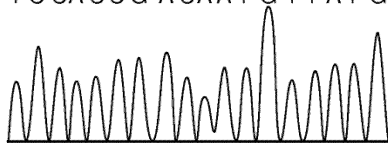
Фиг. 2С

037920

FGFR3:BAIAP2L1

Образец CNTORET

TCCACCG **ACAATGTTATG**
TCCACCG ACAATGTTATG

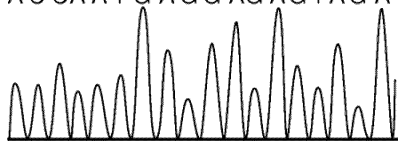


Фиг. 2D

FGFR2:AFF3

Образец CNT14QE

ACCAATG **AGGAGAGTAGA**
ACCAATG AGGAGAGTAGA

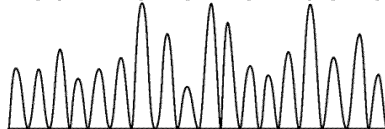


Фиг. 2E

FGFR2:BICC1

Образец CNT0RLV

ACCAATG **AGATCATGGAG**
ACCAATG AGATCATGGAG

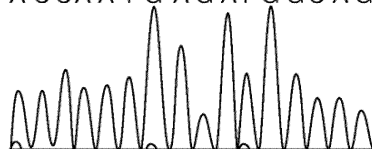


Фиг. 2F

FGFR2:CASP7

Образец CNT06FT

ACCAATG **AGATGGCAG**
ACCAATG AGATGGCAG

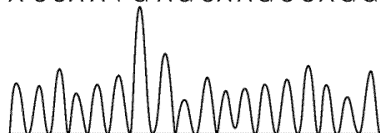


Фиг. 2G

FGFR2:CCDC6

Образец CNT06FT

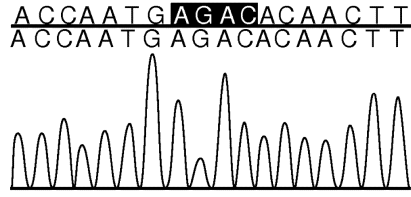
ACCAATG **AGCAAGCCAGG**
ACCAATG AGCAAGCCAGG



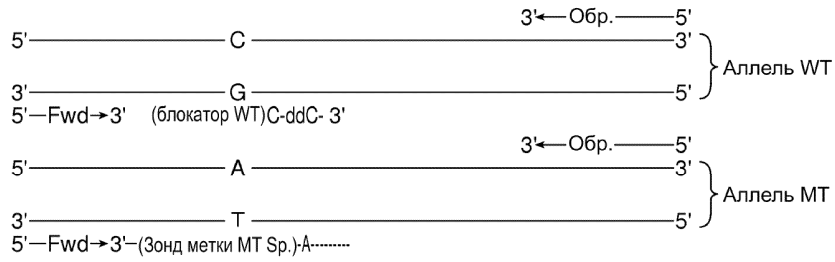
Фиг. 2H

FGFR2:OFD1

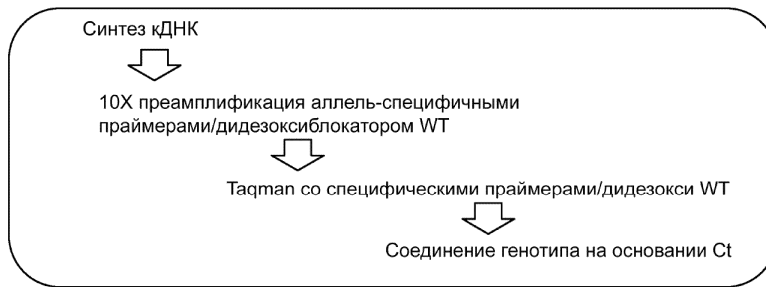
Образец Lu1656



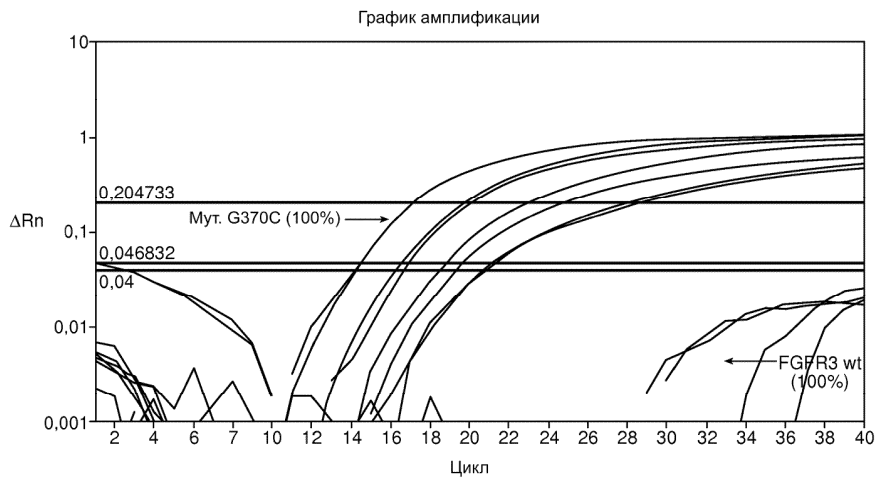
Фиг. 2I



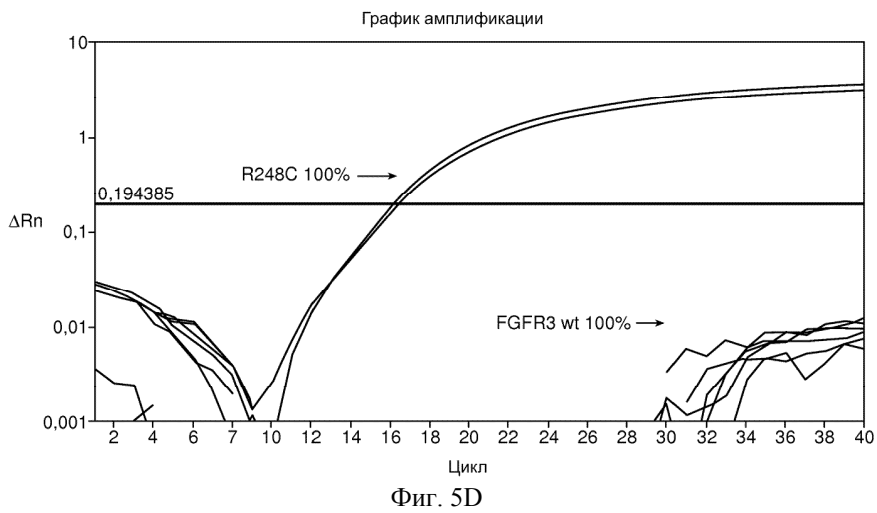
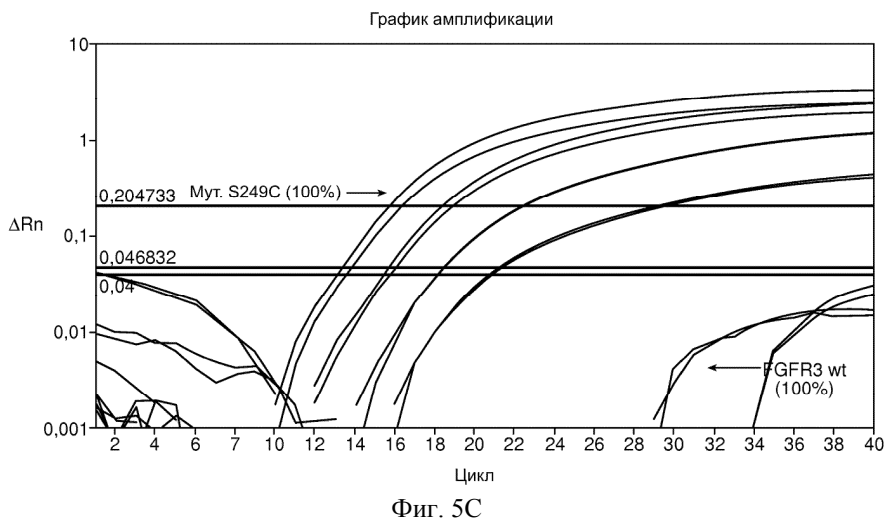
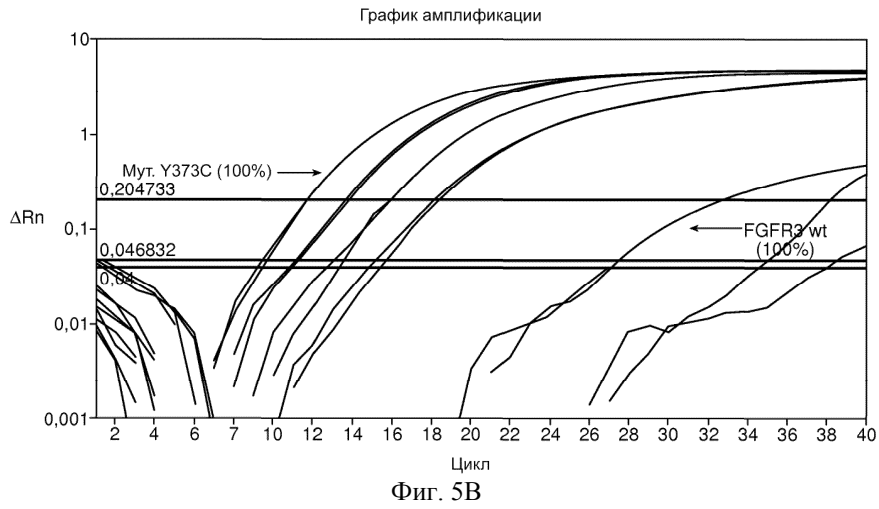
Фиг. 3



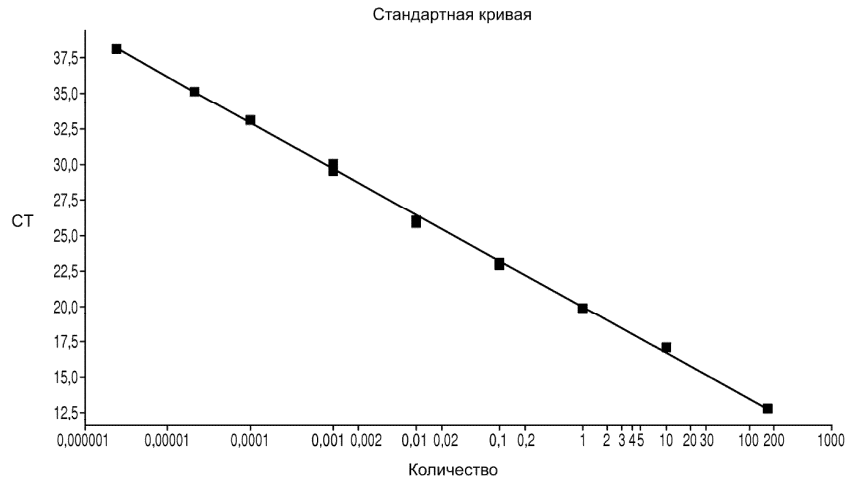
Фиг. 4



Фиг. 5A

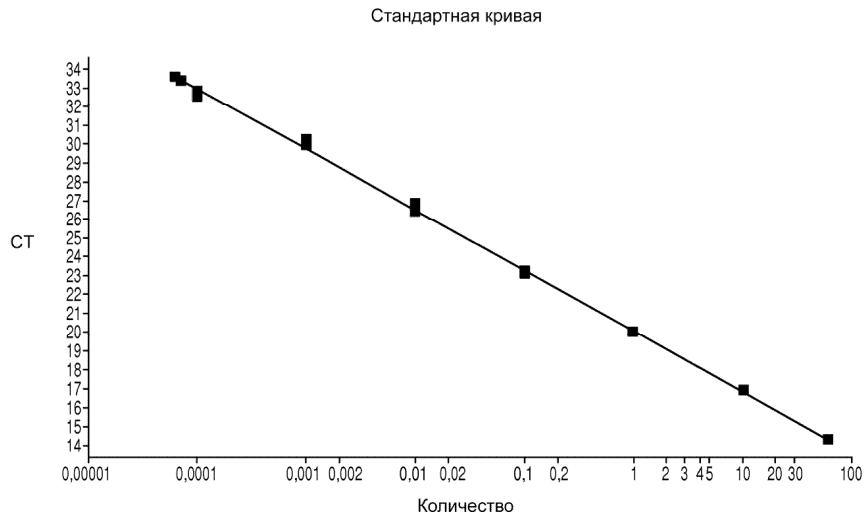


037920



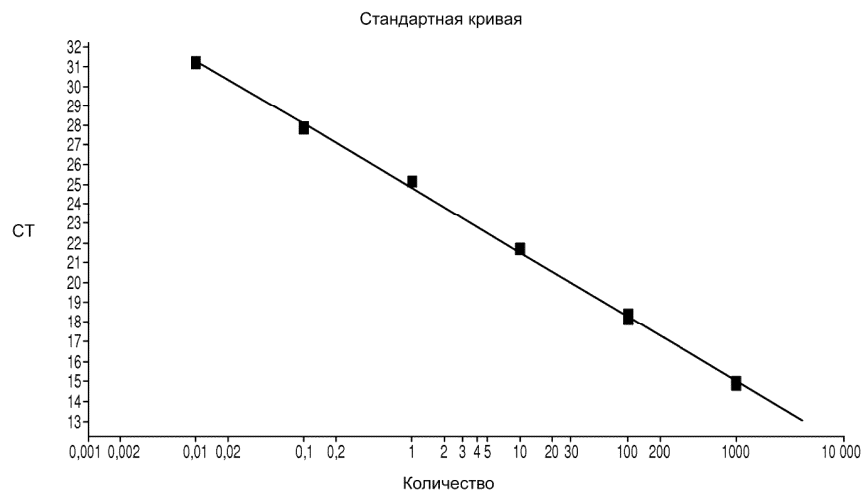
FGFR3:TACC v1

Фиг. 6А



FGFR3:TACC v3

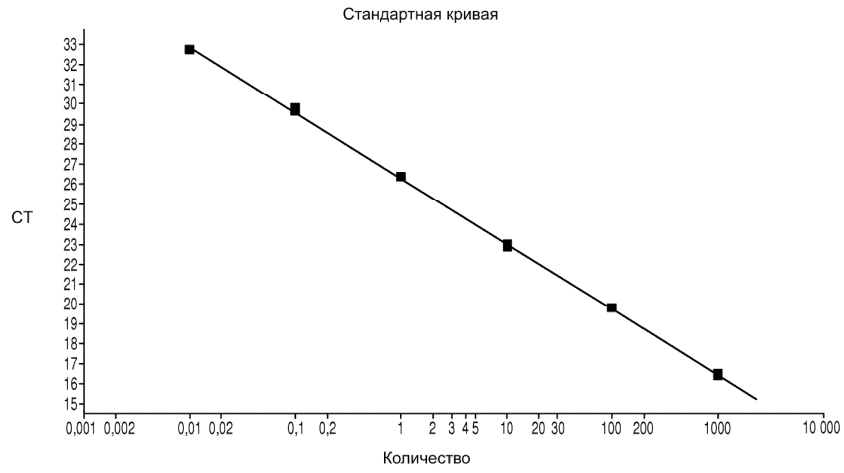
Фиг. 6В



FGFR3:интрон TACC3

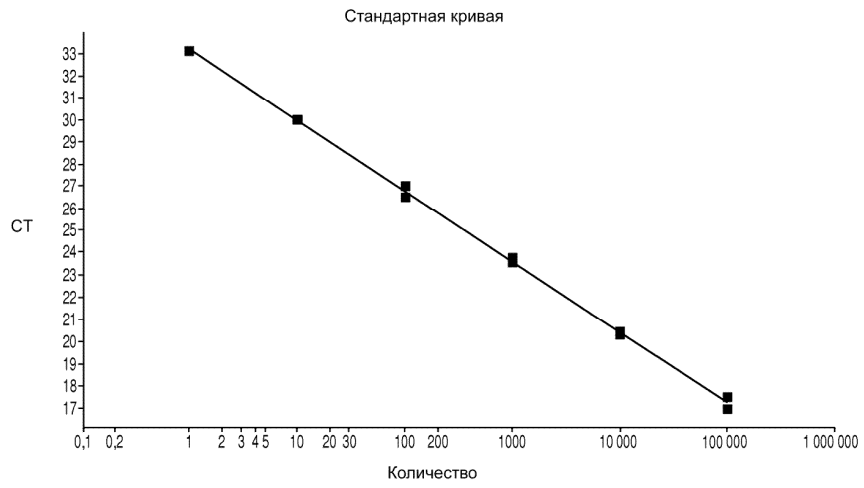
Фиг. 6С

037920



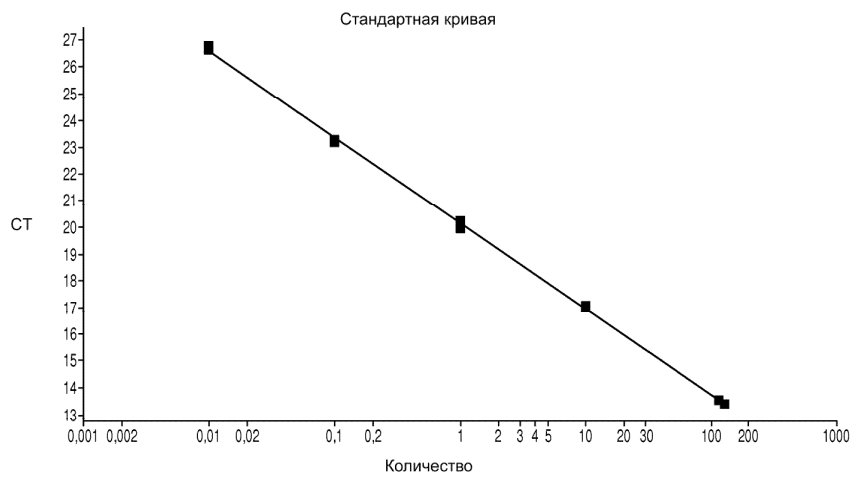
FGFR3:BAIAP2L1

Фиг. 6D



FGFR2:AFF3

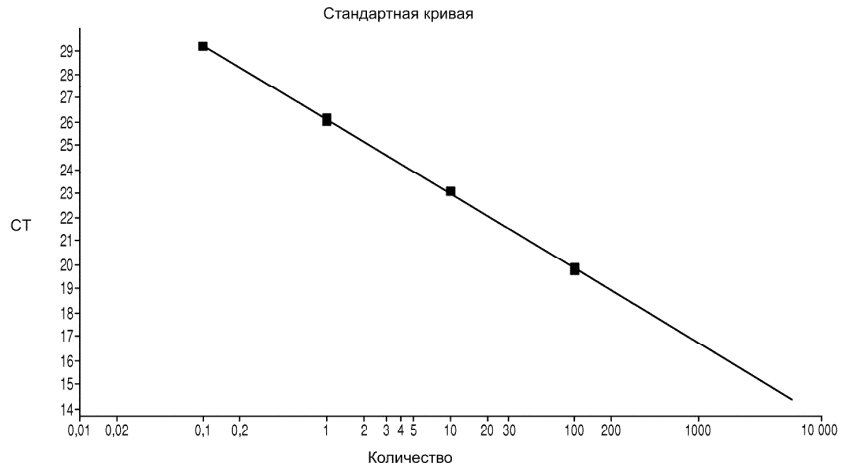
Фиг. 6E



FGFR2:BICC1

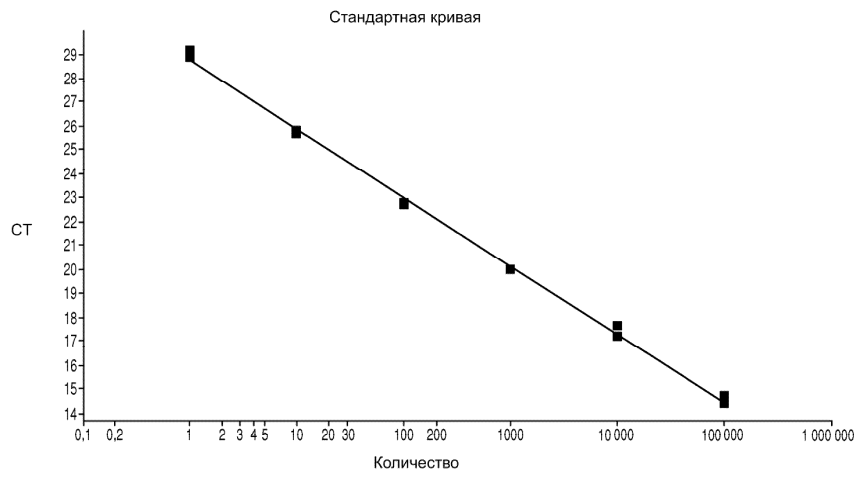
Фиг. 6F

037920



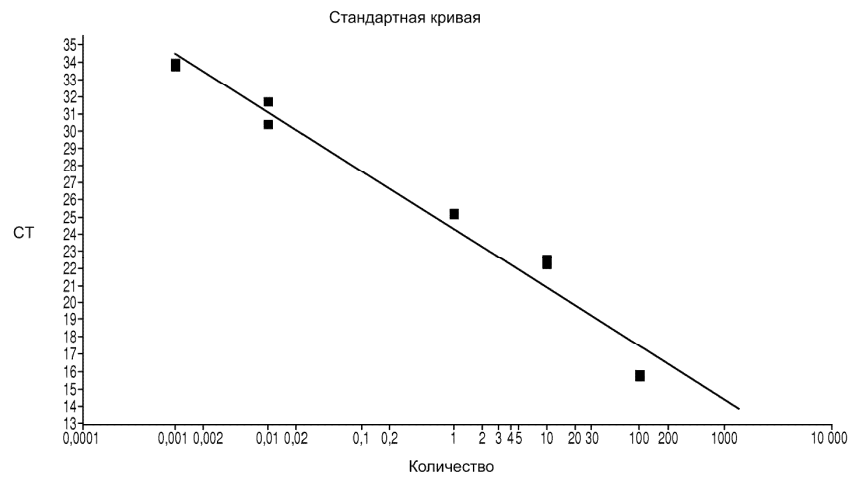
FGFR2:CASP7

Фиг. 6G



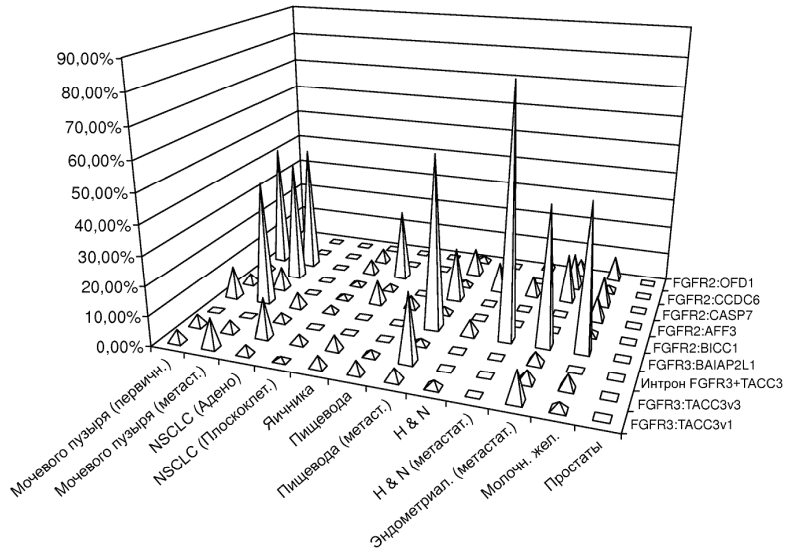
FGFR2:CCDC6

Фиг. 6H

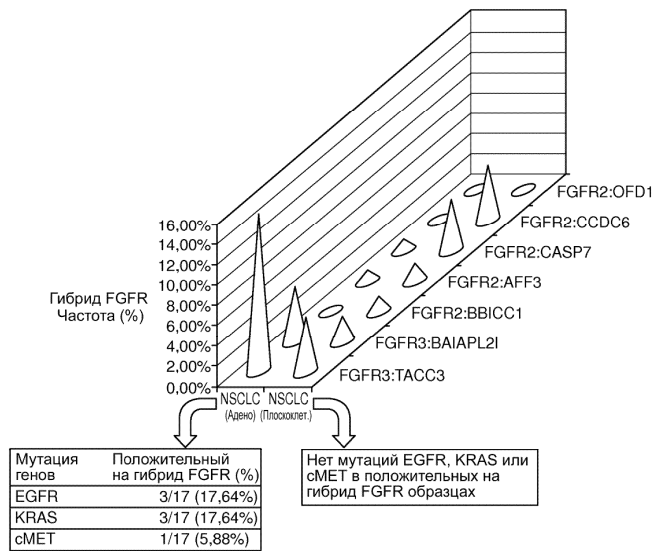


FGFR2:OFD1

Фиг. 6I

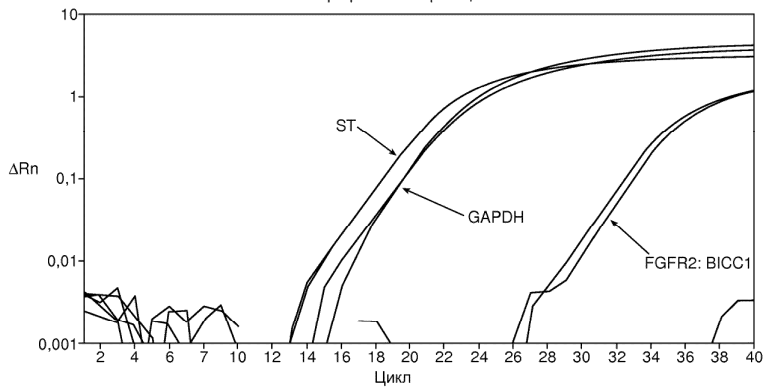


Фиг. 7



Фиг. 8

Результаты: Rт#1000081
График амплификации



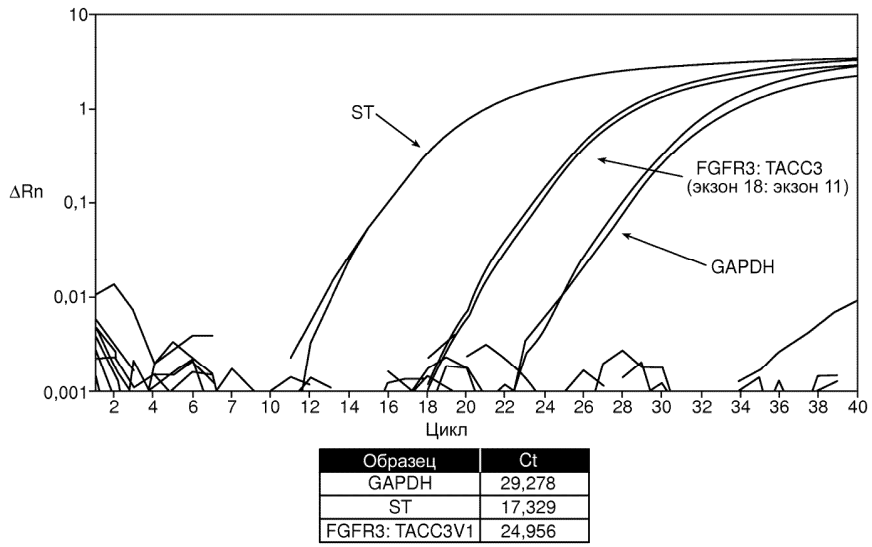
Образец	Ct
GAPDH	21,140
ST	18,604
FGFR2: BICC1	32,764

ST = контроль с анализом синтетической матрицы
GAPDH = образец контроля качества

Фиг. 9А

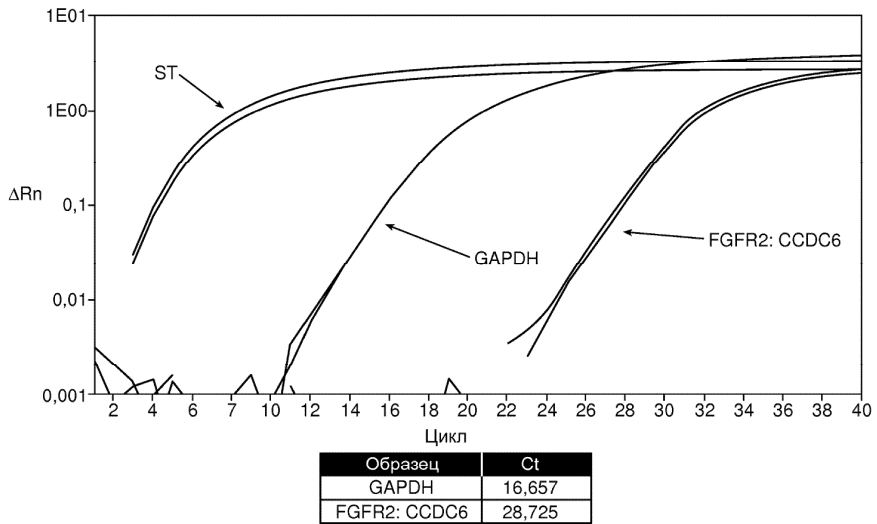
Результаты: Pt#33000158

График амплификации



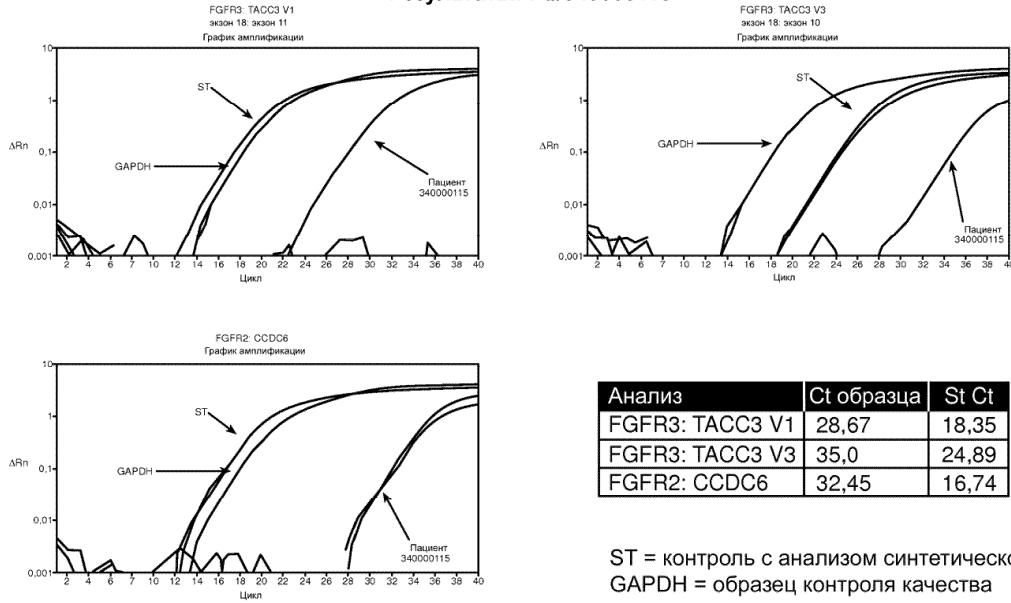
Фиг. 9В

График амплификации

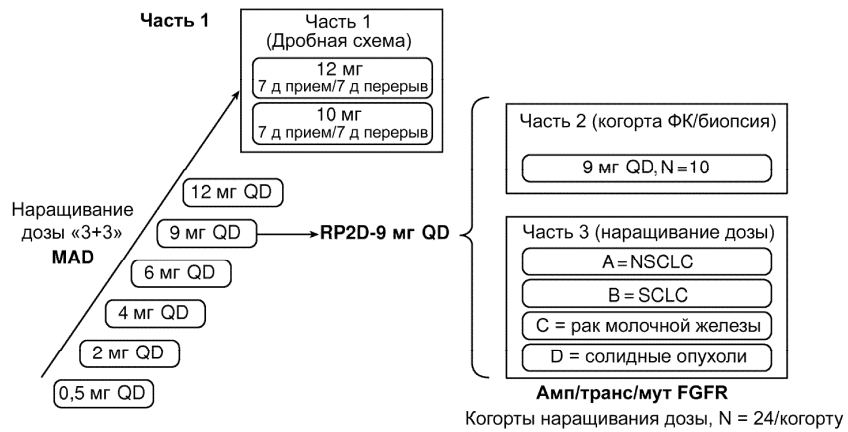


Фиг. 9С

Результаты: Pt#340000115

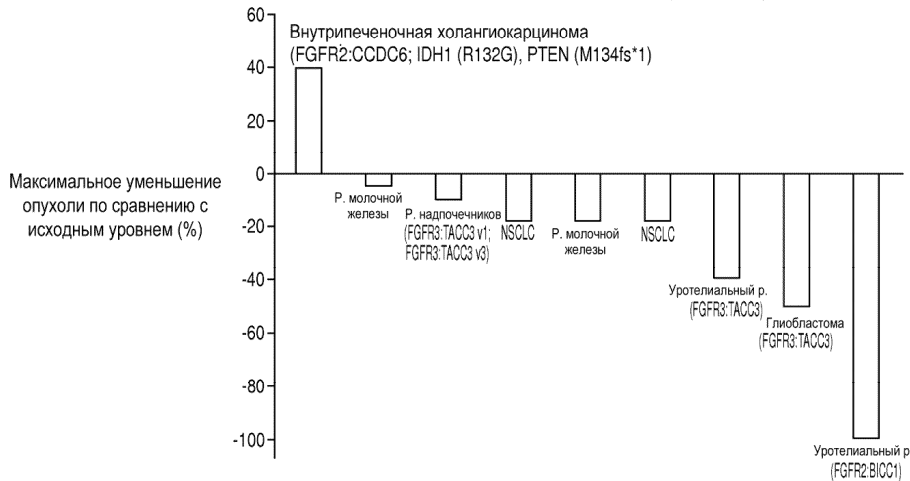


Фиг. 9D

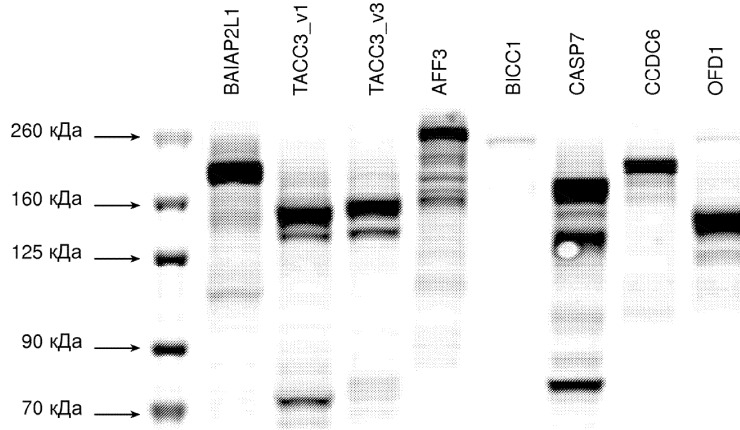


Фиг. 10

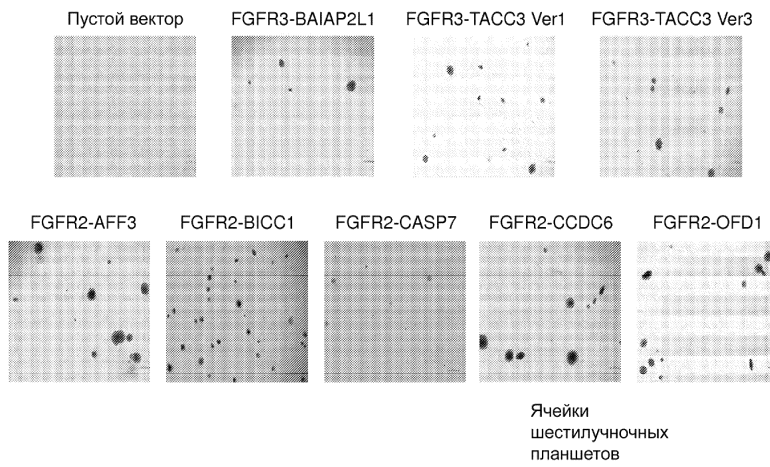
Клиническая активность у пациентов с опухолями, содержащими изменения гена FGFR. Предварительные данные фазы 1 исследования для JNJ-42756493 (ED110001)



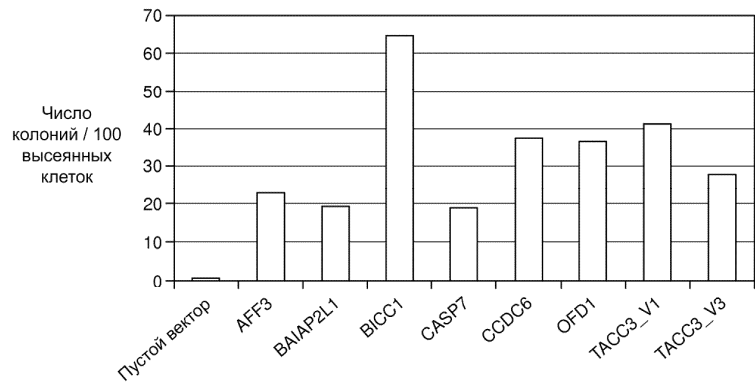
Фиг. 11



Фиг. 12

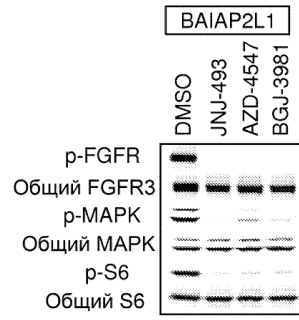


Фиг. 13А

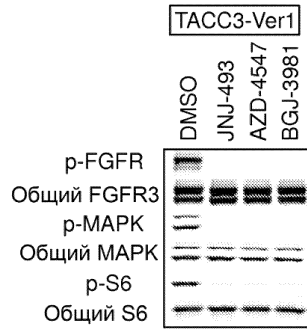


** Результаты отражают данные, полученные в ходе двух независимых экспериментов

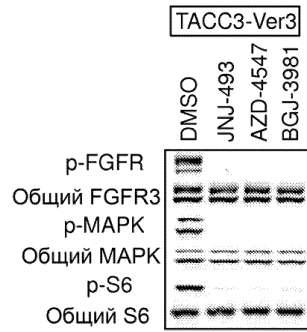
Фиг. 13В



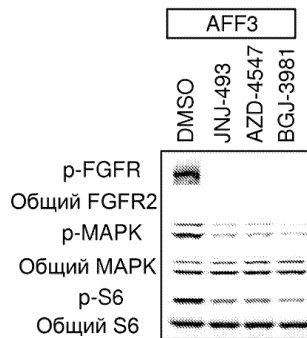
Фиг. 14А



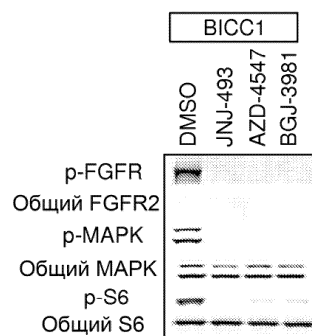
Фиг. 14В



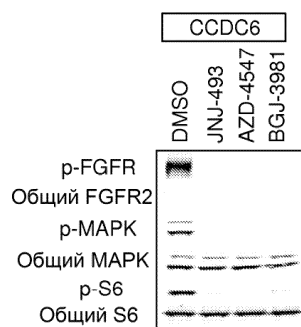
Фиг. 14С



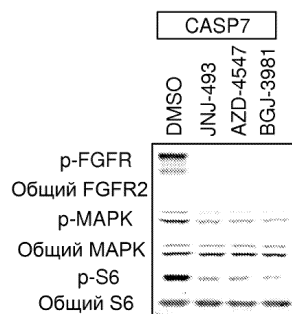
Фиг. 14D



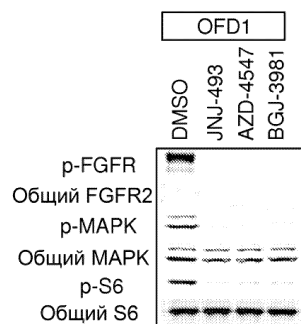
Фиг. 14E



Фиг. 14F



Фиг. 14G



Фиг. 14H

