



**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента

**2021.06.21**

**(21)** Номер заявки

**201791578**

**(22)** Дата подачи заявки

**2016.02.24**

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

**(54) ПАНЕЛЬ БИОМАРКЕРОВ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ РАКА**

**(31)** 15156389.7

**(32)** 2015.02.24

**(33)** EP

**(43)** 2018.02.28

**(86)** PCT/EP2016/053813

**(87)** WO 2016/135168 2016.09.01

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:

**РУПРЕХТ-КАРЛС-УНИВЕРСИТЕТ  
ГЕЙДЕЛЬБЕРГ (DE)**

**(72)** Изобретатель:

**Бурвинкель Барбара, Ян Жунси,  
Шнеевайсс Андреас (DE)**

**(74)** Представитель:

**Нилова М.И. (RU)**

**(56)** WO-A1-2013190091

YANG RONGXI ET AL.: "DNA methylation array analyses identified breast cancer-associated HYAL2 methylation in peripheral blood", INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER. JOURNAL INTERNATIONAL DU CANCER 15 APR 2015, vol. 136, no. 8, 12 September 2014 (2014-09-12), pages 1845-1855, XP002743621, ISSN: 1097-0215, the whole document

MACIEJCZYK ADAM ET AL.: "Elevated nuclear S100P expression is associated with poor survival in early breast cancer patients", HISTOLOGY AND HISTOPATHOLOGY, vol. 28, no. 4, April 2013 (2013-04), pages 513-524, XP009180267, the whole document

WO-A1-2014020048

MING-BING XIAO: "S100 family signaling network and related proteins in pancreatic cancer (Review)", INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE, vol. 33, 1 January 2014 (2014-01-01), pages 769-776, XP055209195, ISSN: 1107-3756, DOI: 10.3892/ijmm.2014.1633, the whole document

WO-A1-2005007892

MOHELNIKOVA-DUCHONOVA BEATRICE ET AL.: "The association between the expression of solute carrier transporters and the prognosis of pancreatic cancer", CANCER CHEMOTHERAPY AND PHARMACOLOGY, vol. 72, no. 3, September 2013 (2013-09), pages 669-682, XP002743622, the whole document

ALVI M.A. ET AL.: "DNA Methylation as an Adjunct to Histopathology to Detect Prevalent, Inconspicuous Dysplasia and Early-Stage Neoplasia in Barrett's Esophagus", CLINICAL CANCER RESEARCH,

vol. 19, no. 4, 15 February 2013 (2013-02-15), pages 878-888, XP055081565, ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2880, the whole document

KOIKE T. ET AL.: "Hypoxia induces adhesion molecules on cancer cells: A missing link between Warburg effect and induction of selectin-ligand carbohydrates", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, US, vol. 101, no. 21, 25 May 2004 (2004-05-25), pages 8132-8137, XP003017165, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.0402088101, the whole document

MAS E. ET AL.: "Fucosyltransferase activities in human pancreatic tissue: comparative study between cancer tissues and established tumoral cell lines", GLYCOBIOLOGY, vol. 8, no. 6, 1 June 1998 (1998-06-01), pages 605-613, XP055209523, ISSN: 0959-6658, DOI: 10.1093/glycob/8.6.605, the whole document

WO-A2-2009067655

WO-A1-03095679

FARAH J. NASSAR ET AL.: "miRNA as Potential Biomarkers of Breast Cancer in the Lebanese Population and in Young Women: A Pilot Study", PLOS ONE, vol. 9, no. 9, 18 September 2014 (2014-09-18), page e107566, XP055209245, DOI: 10.1371/journal.pone.0107566, the whole document

COLEMAN WILLIAM: "Dysregulation of microRNA expression drives aberrant DNA hypermethylation in basal-like breast cancer", INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY, vol. 44, 1 January 2014 (2014-01-01), pages 563-572, XP055209248, ISSN: 1019-6439, DOI: 10.3892/ijo.2013.2197, the whole document

WOONG SHICK AHN ET AL.: "Differential microRNA expression signatures and cell type-specific association with Taxol resistance in ovarian cancer cells", DRUG DESIGN, DEVELOPMENT AND THERAPY, vol. 8, 1 January 2014 (2014-01-01), pages 293-314, XP055209251, DOI: 10.2147/DDDT.S51969, the whole document

MCDERMOTT AILBHE M. ET AL.: "Identification and Validation of Oncologic miRNA Biomarkers for Luminal A-like Breast Cancer", PLOS ONE, vol. 9, no. 1, January 2014 (2014-01), XP002743623, the whole document

ZHAO XIUJUAN ET AL.: "MicroRNA-127 Is Downregulated by Tudor-SN Protein and Contributes to Metastasis and Proliferation in Breast Cancer Cell Line MDA-MB-231", ANATOMICAL RECORD, vol. 296, no. 12, December 2013 (2013-12), pages 1842-1849, XP002743624, the whole document

CUK KATARINA ET AL.: "Plasma MicroRNA Panel for Minimally Invasive Detection of Breast

Cancer", PLOS ONE, vol. 8, no. 10, 23 October 2013 (2013-10-23), page e76729, XP055209256, DOI: 10.1371/journal.pone.0076729, the whole document

CIMINO D. ET AL.: "miR148b is a major coordinator of breast cancer progression in a relapse-associated microRNA signature by targeting ITGA5,

ROCK1, PIK3CA, NRAS, and CSF1", THE FASEB JOURNAL, vol. 27, no. 3, 1 March 2013 (2013-03-01), pages 1223-1235, XP055209261, ISSN: 0892-6638, DOI: 10.1096/fj.12-214692, the whole document  
WO-A1-2014006160

---

(57) В изобретении предложены панели маркеров метилирования и микроРНК, а также применение указанной панели для прогнозирования, диагностики и/или лечения рака и средства для обнаружения указанных маркеров, наборы, содержащие указанные средства, и устройства для анализа указанной панели маркеров.

037995 B1

037995 B1

---

Настоящее изобретение относится к панелям маркеров метилирования и микроРНК, а также к применению указанных панелей в прогнозировании, диагностике и/или лечении рака, к средствам для обнаружения указанных маркеров, к наборам, содержащим указанные средства, и устройствам для анализа указанной панели маркеров.

#### Уровень техники

Рак представляет собой одну из наиболее значимых медицинских проблем и патологий в мире. Рак является основной причиной смертности во всем мире, и в 2008 г. было зафиксировано 12,4 млн новых случаев рака и 7,6 млн смертей, вызванных раком. Было предсказано, что количество смертей от рака по всему миру будет непрерывно увеличиваться, и в 2030 г. раком будут вызваны 12 млн смертей. Рак молочной железы представляет собой наиболее распространенный тип рака у женщин. Приблизительно у одной из девяти женщин в течение жизни развивается рак молочной железы (Feuer, E.J., et al., *The lifetime risk of developing breast cancer*. *J. Natl. Cancer Inst.* 85, 892-897 (1993)). По всему миру каждый год приблизительно у 1,3 млн женщин развивается рак молочной железы. С течением времени уровни смертности продолжают уменьшаться в связи с множеством попыток и успехов, достигнутых в области ранней диагностики и лечения (Jemal A., Bray F., Center M.M., Ferlay J., Ward E., Forman D. *Global cancer statistics*. *CA Cancer J. Clin.* 2011; 61:69-90). Несмотря на это, каждый год тысячи женщин умирают от данного заболевания. У женщин в США общая пятилетняя выживаемость составляет 98% при диагностике на ранней стадии, тогда как в случаях, когда заболевание уже распространилось в отдаленные органы, выживаемость составляет 23%. Таким образом, раннее обнаружение рака молочной железы относится к одной из основных задач в борьбе против данного заболевания. На сегодняшний день в качестве стандарта диагностики применяют маммографический скрининг. Однако данный подход имеет ограничения в связи с применением ионизирующего излучения и долей ложноположительных заключений, составляющей 8-10%, которая также зависит от возраста индивидуумов, скрининг которых проводят (Taplin S., Abraham L., Barlow W.E., Fenton J.J., Berns E.A., Carney P.A., Cutter G.R., Sickles E.A., Carl D., Elmore J.G. *Mammography facility characteristics associated with interpretive accuracy of screening mammography*. *J. Natl. Cancer Inst.* 2008; 100: 876-87).

Большинство случаев рака молочной железы возникают спорадически, в то время как на наследственный рак молочной железы приходится приблизительно 10% от всех случаев рака молочной железы (Fackenthal, J.D. & Olopade, O.I. *Breast cancer risk associated with BRCA1 and BRCA2 in diverse populations*. *Nat. Rev. Cancer* 7, 937-948 (2007)). На мутации в основных генах, связанных с раком молочной железы, BRCA1 и BRCA2, приходится 25%, а на мутации в других умеренно и низкопенетрантных генах - приблизительно 5% от всех наследственных случаев (Yang, R. & Burwinkel, B. (eds.). *Familial risk in breast cancer*, 251-256 (Springer, 2010)). Недавно проведенные общегеномные исследования ассоциаций (genome-wide association studies, GWAS) и подходы на основе единичного гена-кандидата оказались вполне успешными при обнаружении генетических вариантов с низким риском развития рака молочной железы (Thomas, G., et al. *A multistage genome-wide association study in breast cancer identifies two new risk alleles at 1p11.2 and 14q24.1 (RAD51 L1)*. *Nat Genet* 41, 579-584 (2009); Cox, A., et al. *A common coding variant in CASP8 is associated with breast cancer risk*. *Nat Genet* 39, 352-358 (2007); Stacey, S.N., et al. *Common variants on chromosome 5p12 confer susceptibility to estrogen receptor-positive breast cancer*. *Nat Genet* 40, 703-706 (2008); Ahmed, S., et al. *Newly discovered breast cancer susceptibility loci on 3p24 and 17q23.2*. *Nat Genet* 41, 585-590 (2009); Easton, D.F., et al. *Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci*. *Nature* 447, 1087-1093 (2007); Milne, R.L., et al. *Risk of estrogen receptor-positive and negative breast cancer and single-nucleotide polymorphism 2q35-rs13387042*. *J. Natl. Cancer Inst.* 101, 1012-1018 (2009); Frank, B., et al. *Association of a common AKAP9 variant with breast cancer risk: a collaborative analysis*. *J. Natl. Cancer Inst.* 100,437-442 (2008)). Однако большое количество факторов риска рака молочной железы все еще предстоит изучить.

По сравнению с РМЖ рак яичников (РЯ) возникает относительно реже, однако является основной причиной смертности в случае гинекологических типов рака в связи с высокой злокачественностью. В 2008 г. по всему миру рак яичников был диагностирован у 225000 женщин, и 140000 из данных женщин умерло от указанного заболевания. Как правило, у женщин с РЯ проявляются лишь несколько ранних симптомов, и, таким образом, приблизительно три четверти случаев рака яичников выявляют на прогрессирующей стадии, когда заболевание распространилось далеко за пределы яичников. Рак поджелудочной железы (РПЖ) является наиболее агрессивным из всех эпителиальных злокачественных образований. При 279000 новых диагнозов РПЖ по всему миру уровень 5-летней общей выживаемости пациентов с РПЖ составляет менее 5%. Несмотря на то, что в ходе недавно проведенных общегеномных исследований ассоциаций (GWAS) были успешно обнаружены некоторые генетические варианты, ассоциированные с риском РМЖ, РЯ и РПЖ, не было выявлено ни одного поддающегося оценке маркера для раннего обнаружения РМЖ.

Метастатический рак молочной железы (МРМЖ) по всему миру представляет собой основную проблему в области здравоохранения. Применяемые на сегодняшний день стратегии лечения МРМЖ направлены в первую очередь на паллиативное лечение, при котором было излечено лишь несколько случаев заболевания. Альтернативный подход борьбы с МРМЖ представляет собой разработку способов

скрининга и применение биомаркеров для обнаружения групп высокого риска и ответа на терапию. Данный подход может облегчить клиницистам принятие решения и поможет корректировать подходящий для пациентов режим лечения.

Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) были предложены в качестве одобренного FDA (Food and Drug Administration, Управлением США по контролю над качеством пищевых продуктов и лекарственных средств) независимого прогностического маркера метастазирования, в особенности, выживаемости без прогрессирования заболевания и общей выживаемости. Количественный порог, составляющий более 5 ЦОК на 7,5 мл крови, был определен как ЦОК-положительный (Cristofanilli M., Budd G.T., Ellis M.J., Stopeck A., et al; Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer; *N Engl J. Med.* 2004 Aug 19; 351(8):781-91). Однако важно отметить, что значительная часть пациентов с клинически выраженными отдаленными метастазами является отрицательной в отношении ЦОК. Данному факту отчасти может способствовать феномен эпителиально-мезенхимального перехода в ЦОК, и в таком случае данные пациенты могут быть исключены из рассмотрения при использовании методик подсчета, в которых применяют экспрессию эпителиальных маркеров, таких как EpCAM или цитокератин-8, -18 и -19.

Помимо ЦОК, в качестве прогностических маркеров, а также для мониторинга успешности лечения и при мониторинге во время периода после лечения при раке молочной железы также широко используются циркулирующие маркеры опухоли на основе белков, такие как раковоэмбриональный антиген (carcinoembryonic antigen, CEA) и углеводный антиген 15-3 (carbohydrate antigen 15-3, CA 15-3) (Uehara M., Kinoshita T., Hojo T., Akashi-Tanaka S., Iwamoto E., Fukutomi T. Long-term prognostic study of carcinoembryonic antigen (CEA) and carbohydrate antigen 15-3 (CA 15-3) in breast cancer. *Int. J. Clin Oncol.* 2008; 13:447-51; Harris L., Fritsche H., Mennel R., Norton L., Ravdin P., Taube S., Somerfield M.R., Hayes D.F., Bast R.C., Jr. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25:5287-312)). Однако чувствительность данных маркеров является низкой. Вследствие этого необходимы новые чувствительные и специфичные маркеры с минимальной степенью инвазивности.

Эпигенетические изменения по определению представляют собой изменения экспрессии генов, которые не являются следствием каких-либо изменений последовательности геномной ДНК. Нарушенные эпигенетические сигнатуры считают отличительным признаком рака человека (Esteller, M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nat Rev Genet* 8, 286-298 (2007)). Одна из наиболее важных эпигенетических сигнатур, метилирование ДНК, играет важнейшие роли при контроле активностей генов и архитектуры ядра клетки (Weber, M., et al. Chromosome-wide and promoter-specific analyses identify sites of differential DNA methylation in normal and transformed human cells. *Nat Genet* 37, 853-862 (2005)). Более того, в отличие от генетических маркеров или вариантов, метилирование ДНК является принципиально обратимым. Вследствие этого профиль метилирования конкретных генов рассматривают в качестве терапевтических мишеней (Mack, G.S. Epigenetic cancer therapy makes headway. *J. Natl. Cancer Inst.* 98, 1443-1444 (2006)). При этом в связи с переменчивым характером метилирование ДНК может выступать в качестве связи между факторами окружающей среды и геномом. Метилирование ДНК, которое модулируется факторами окружающей среды или старением, может изменить экспрессию критически важных генов клеток и, вследствие этого, вызвать злокачественную трансформацию клеток или даже рак (Widschwendter, M., et al. Epigenotyping in peripheral blood cell DNA and breast cancer risk: a proof of principle study. *P LoS One* 3, e2656 (2008)).

Будучи событием, происходящим на ранних стадиях развития рака, изменения метилирования ДНК являются в особенности перспективными в качестве маркеров для раннего обнаружения рака. В недавних исследованиях было продемонстрировано, что анализ метилирования ДНК клеток крови может выступать в качестве надежного и устойчивого маркера. В интенсивных исследованиях были обнаружены измененные сигнатуры метилирования ДНК при раке на соматическом уровне, при этом только в нескольких исследованиях на основе подхода гена-кандидата были проанализированы сигнатуры метилирования в ДНК периферической крови при раке.

В предшествующих исследованиях изучалось гиперметилирование в областях промотора генов супрессоров-опухоли и гипометилирование в областях промотора онкогенов при раке молочной железы по сравнению с нормальными прилежащими тканями (Ito, Y., et al. Somatic acquired hypomethylation of IGF2 in breast and colorectal cancer. *Hum Mol Genet* 17, 2633-2643 (2008); Potapova, A., Hoffman, A.M., Godwin, A.K., Al-Saleem, T. & Cairns, P. Promoter hypermethylation of the PALB2 susceptibility gene in inherited and sporadic breast and ovarian cancer. *Cancer Res* 68, 998-1002 (2008); Radpour, R., et al. Methylation profiles of 22 candidate genes in breast cancer using high-throughput MALDI-TOF mass array. *Oncogene* 28, 2969-2978 (2009); Widschwendter, M. & Jones, P.A. DNA methylation and breast carcinogenesis. *Oncogene* 21, 5462-5482 (2002)). Лишь незначительная часть исследований была сфокусирована на сигнатурах метилирования в ДНК периферической крови и риске возникновения рака молочной железы. В данных исследованиях были изучены только специфичные гены, такие как BRCA1 (Iwamoto, T., Yamamoto, N., Taguchi, T., Tamaki, Y. & Noguchi, S. BRCA1 promoter methylation in peripheral blood cells is associated with increased risk of breast cancer with BRCA1 promoter methylation. *Breast Cancer Res Treat* 129, 69-77 (2011)),

ATM (Flanagan, J.M., et al. Gene-body hypermethylation of ATM in peripheral blood DNA of bilateral breast cancer patients. *Hum. Mol. Genet.* 18, 1332-1342 (2009)) и гены специфичных путей (Widschwendter et al. (2008), в процитированном месте).

Таким образом, в данной области техники существует потребность в обнаружении дополнительных эпигенетических маркеров рака молочной железы и других вариантов рака, предпочтительно, позволяющих проводить обнаружение пораженных субъектов посредством отбора образца с помощью средств низкой инвазивности, например посредством отбора образца крови.

МикроРНК представляют собой небольшие некодирующие РНК (~18-25 нуклеотидов в длину), которые регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне посредством разрушения молекул мРНК или блокировки трансляции последних (Bartel D.P.: *MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function.* *Cell* 2004; 116: 281-97). Следовательно, данные молекулы играют существенную роль в регуляции большого числа биологических процессов, включая рак (Calin G.A., Dumitru C.D., Shimizu M., Bichi R., Zupo S., Noch E., Aldler H., Rattan S., Keating M., Rai K., Rassenti L., Kipps T., et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:15524-9). Согласно стандартной системе номенклатуры подтвержденным экспериментальным способом микроРНК присваивают названия. За приставкой "mir" следует дефис и номер. Строчный "mir-" означает пре-микроРНК, тогда как "miR-" с прописной буквой означает зрелую форму. К микроРНК с практически идентичными последовательностями, отличающимися на один или два нуклеотида, приписывается дополнительная строчная буква. Вид, из которого была выделена микроРНК, обозначают трехбуквенной приставкой, например hsa для Homo sapiens (человека). Две зрелые микроРНК, происходящие из противоположных концов одной и той же пре-микроРНК, обозначают суффиксом -3p или -5p.

Циркулирующие микроРНК по определению представляют собой микроРНК, присутствующие в бесклеточном компоненте жидкостей организма, таких как плазма, сыворотка и т.п. Lawrie с соавт. (Lawrie C.H., Gal S., Dunlop H.M., Pushkaran B., Liggins A.P., Pulford K., Banham A.H., Pezzella F., Boultonwood J., Wainscoat J.S., Hatton C.S., Harris A.L. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2008; 141:672-5) одними из первых продемонстрировали присутствие микроРНК в жидкостях организма. С тех пор сообщалось о нарушенной экспрессии циркулирующих микроРНК в плазме или сыворотке крови при различных типах рака, например при карциноме предстательной железы, толстой и прямой кишок или пищевода (Brase J.C., Johannes M., Schlomm T., Faith M., Haese A., Steuber T., Beissbarth T., Kuner R., Sultmann H. Circulating miRNAs are correlated with tumor progression in prostate cancer. *Int. J. Cancer* 2011; 128:608-16.; Huang Z., Huang D., Ni S., Peng Z., Sheng W., Du X. Plasma microRNAs are promising novel markers for early detection of colorectal cancer. *Int. J. Cancer* 2010; 127:118-26.; Zhang C., Wang C., Chen X., Yang C., Li K., Wang J., Dai J., Hu Z., Zhou X., Chen L., Zhang Y., Li Y., et al. Expression profile of microRNAs in serum: a fingerprint for esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Chem* 2010; 56:1871-9). Наиболее важные преимущества циркулирующих микроРНК включают возможность неоднократного измерения данных молекул способом с минимальной инвазивностью, а также значительную стабильность указанных молекул в плазме/сыворотке, где данные молекулы циркулируют, главным образом, за пределами экзосом и являются стабильными благодаря связыванию с белками-аргонаутами (Argonaute proteins) (Mitchell P.S., Parkin R.K., Kroh E.M., Fritz B.R., Wyman S.K., Pogosova-Agadjanyan E.L., Peterson A., Noteboom J., O'Briant K.C., Allen A., Lin D.W., Urban N., et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105:10513-8; Turchinovich A., Weiz L., Langheinz A., Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res* 2011; 39:7223-33; Arroyo J.D., Chevillet J.R., Kroh E.M., Ruf I.K., Pritchard C.C., Gibson D.F., Mitchell P.S., Bennett C.F., Pogosova-Agadjanyan E.L., Stirewalt D.L., Tait J.F., Tewari M. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108:5003-8).

Таким образом, в данной области техники существует острая потребность в улучшенных способах диагностики и прогнозирования рака молочной железы, в частности, первичного рака молочной железы и метастазирующего рака молочной железы. Данные способы, предпочтительно, также будут использоваться при превентивном скрининге здоровых с клинической точки зрения субъектов, причем низкая степень инвазивности будет являться предпочтительной.

#### **Краткое описание изобретения**

Согласно первому аспекту настоящее изобретение относится к способу прогнозирования и/или диагностики рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, у субъекта, причем указанный способ включает: (а) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSIN, S100P, DYRK4, и (б) определение присутствия, в частности, количества, по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127-3p, miR-409-3p, miR-148b, у субъекта, причем статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие по меньшей мере одной микроРНК служат показателем для указанного прогноза и/или диагноза у указанного субъекта.

Согласно второму аспекту настоящее изобретение относится к способу определения дозы фармацевтического препарата для воздействия на рак или предотвращения или лечения рака у субъекта, причем указанный способ включает следующие этапы: (а) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце от субъекта и необязательно определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в эталоне для сравнения со статусом метилирования и/или уровнем экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количеством по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, и (b) определение дозы фармацевтического препарата в зависимости от статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, необязательно в зависимости от сравнения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, и в эталоне или эталонном образце.

Согласно третьему аспекту настоящее изобретение относится к способу подбора дозы фармацевтического препарата для воздействия на рак или предотвращения или лечения рака, причем указанный способ включает следующие этапы: (а) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, (b) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, (с) изучение исследуемого образца для определения того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который присутствует в указанном образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, и (d) подбор дозы фармацевтического препарата в зависимости от того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах.

Согласно четвертому аспекту настоящее изобретение относится к способу определения благоприятного и/или нежелательного воздействия вещества на рак или развитие рака, причем указанный способ включает следующие этапы: (а) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, (b) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, и (с) изучение образца, представляющего интерес, для определения того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который присутствует в указанном образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, причем образец, представляющий интерес, подвергали отличному воздействию указанного вещества, чем один или несколько эталонов или эталонных образцов.

Согласно пятому аспекту настоящее изобретение относится к способу идентификации пациента как отвечающего на лечение рака, причем указанный способ включает определение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одной микроРНК в первом и в одном или нескольких следующих образцах, отобранных последовательно после первого образца, причем увеличенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или более низкий уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и отсутствие или уменьшенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК свидетельствует об ответе на лечение.

Согласно шестому аспекту настоящее изобретение относится к способу идентификации пациента как не отвечающего на лечение рака, причем указанный способ включает определение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одной микроРНК в первом и в одном или нескольких следующих образцах, отобранных последовательно после первого образца, причем уменьшенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие или увеличенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК свидетельствует об отсутствии ответа на лечение.

Согласно седьмому аспекту настоящее изобретение относится к способу лечения рака, причем указанный способ включает следующие этапы: (i) определение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одной микроРНК в первом образце от субъекта; (ii) начало лечения указанного пациента первым режимом лечения, который включает одно или несколько противораковых средств или вариантов терапии, (iii) определение статуса метилирования по меньшей мере одного марке-

ра метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одной микроРНК в одном или нескольких образцах, последовательно отобранных от указанного субъекта; (iv) необязательно повторение этапов (ii) и (iii) один или несколько раз; (v) продолжение лечения пациента первым режимом лечения в случае, если наблюдается существенное увеличение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или более низкий уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и уменьшенное количество или отсутствие по меньшей мере одного маркера микроРНК, или (vi) изменение лечения или прекращение лечения пациента первым режимом лечения и вместо этого лечение пациента вторым режимом лечения, который включает одно или несколько противораковых средств или вариантов терапии, которые не были включены в первый режим лечения, в случае, если наблюдается уменьшенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и увеличенное количество или присутствие по меньшей мере одного маркера микроРНК.

Согласно восьмому аспекту настоящее изобретение относится к средствам для прогнозирования и/или диагностики i) риска развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, ii) наличия рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или iii) прогрессирования рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, причем указанные средства включают: а) одно или несколько средств для обнаружения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и б) одно или несколько средств для обнаружения количества по меньшей мере одного маркера микроРНК.

Согласно девятому аспекту настоящее изобретение относится к набору, содержащему средства согласно восьмому аспекту.

Согласно десятому аспекту настоящее изобретение относится к применению средств согласно восьмому аспекту или набора согласно девятому аспекту для прогнозирования и/или диагностики i) риска развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, ii) наличия рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или iii) прогрессирования рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ.

Согласно одиннадцатому аспекту настоящее изобретение относится к устройству для обнаружения рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, причем указанное устройство содержит: (а) блок для анализа, содержащий: (i) детектирующее средство для определения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и (ii) детектирующее средство для определения присутствия по меньшей мере одной микроРНК, которая выбрана из группы, состоящей из: miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127-3p, miR-409-3p, miR-148b, в образце от субъекта; и (б) блок для оценки, содержащий процессор для обработки данных, в который материально встроены алгоритм для осуществления сравнения количества, определенного блоком для анализа, с эталоном и который способен генерировать файл выходных данных, содержащий диагноз, установленный на основании указанного сравнения.

### Перечень фигур

Фиг. 1 - описание образцов панели биомаркеров на основе крови для раннего обнаружения рака молочной железы;

фиг. 2 - различия метилирования восьми генов в трех раундах валидации;

фиг. 3 - дискриминационная способность наборов маркеров метилирования ДНК различать случаи РМЖ и здоровые контроли в образцах из других центров;

фиг. 4 - дискриминационная способность наборов маркеров метилирования ДНК и наборов маркеров микроРНК различать случаи РМЖ и здоровые контроли в образцах, полученных группой авторов настоящего изобретения;

фиг. 5 - уровень метилирования восьми генов у пациентов со sporadическим РМЖ с различными клиническими характеристиками (случаи заболевания из второго раунда валидации);

фиг. 6 - уровень метилирования восьми генов у пациентов со sporadическим РМЖ с различными клиническими характеристиками (случаи заболевания в образцах, полученных группой авторов настоящего изобретения);

фиг. 7 - описание образцов панели биомаркеров на основе крови для раннего обнаружения рака поджелудочной железы;

фиг. 8 - различия метилирования в генах при сравнении случаев РПЖ и контролей;

фиг. 9 - различия метилирования в генах при сравнении случаев РПЖ и контролей, стратифицированных по полу;

фиг. 10 - дискриминационная способность метилирования в генах различать случаи РПЖ и здоровые контроли;

фиг. 11 - метилирование генов у пациентов с РПЖ с различными клиническими характеристиками;

фиг. 12 - описание образцов панели биомаркеров на основе крови для раннего обнаружения рака яичников;

фиг. 13 - различия метилирования в генах при сравнении случаев РЯ и контролей;

фиг. 14 - дискриминационная способность метилирования в генах различать случаи РЯ и здоровые

контроли;

фиг. 15 - определение берега CpG-островка, связанного с раком молочной железы, в HYAL2;

фиг. 16 - обратная зависимость между метилированием и экспрессией S100P, SLC22A18 и DYRK4 в лейкоцитах;

фиг. 17 - уровни метилирования CpG-сайтов HYAL2, определенные на приборе Illumina 450K;

фиг. 18 - уровни метилирования CpG-сайтов S100P, определенные на приборе Illumina 450K;

фиг. 19 - Уровни метилирования CpG-сайтов SLC22A18, определенные на приборе Illumina 450K;

фиг. 20 - уровни метилирования CpG-сайтов DYRK4, определенные на приборе Illumina 450K;

фиг. 21 - уровни метилирования CpG-сайтов FUT7, определенные на приборе Illumina 450K;

фиг. 22 - уровни метилирования CpG-сайтов RAPSN, определенные на приборе Illumina 450K;

фиг. 23 - уровни метилирования CpG-сайтов RPTOR, определенные на приборе Illumina 450K;

фиг. 24 - уровни метилирования CpG-сайтов MGRN1, определенные на приборе Illumina 450K;

фиг. 25 - обратная зависимость между метилированием и экспрессией HYAL2 в лейкоцитах. (a)

Блочные диаграммы демонстрируют уровни метилирования cg27091787 и прилежащих CpG-сайтов в ампликоне HYAL2-A в лейкоцитах от 36 случаев sporadicического РМЖ и 40 здоровых контролей. Блочная диаграмма cg27091787 выделена рамкой для большей наглядности. (b) Блочная диаграмма демонстрирует уровень экспрессии HYAL2 в лейкоцитах от случаев sporadicического РМЖ и здоровых контролей. Представленные р-значения рассчитывали с применением U-критерия Манна-Уитни. Кружками отмечены выпадающие значения. (c) Обратная зависимость между уровнем метилирования cg27091787 и экспрессией HYAL2 в лейкоцитах;

фиг. 26 - уровни метилирования четырех CpG-сайтов в ампликоне HYAL2-A в отсортированных фракциях лейкоцитов. Уровни метилирования измеряли в трех повторах в образцах (ДНК из цельной крови и из отсортированных фракций лейкоцитов) от семи случаев sporadicического РМЖ и 14 здоровых контролей. Различия в метилировании между случаями и контролями рассчитывали с применением t-критерия. Уровни метилирования cg27091787 представлены в виде диаграммы вида "ящик с усами". Кружками отмечены выпадающие значения.

#### Перечень последовательностей

SEQ ID NO: 1	hsa-miR-652-3p (MIMAT0003322): aaugcgccsacuaggguuugug
SEQ ID NO: 2	hsa-miR-652-5p (MIMAT0022709): caaccuaggagggugccauuca
SEQ ID NO: 3	miR-801, расположенная на хромосоме 1: 28847698 – 28847793: gauugcucugcgugcggaauccgac
SEQ ID NO: 4	hsa-miR-376c-3p (MIMAT0000720): aacauagaggaaauccacgu
SEQ ID NO: 5	hsa-miR-376c-5p (MIMAT0022861): gguggauauccuucuauguu
SEQ ID NO: 6	hsa-miR-376a-3p (MIMAT0000729): acauagaggaaaauccacgu
SEQ ID NO: 7	hsa-miR-376a-5p (MIMAT0003386): guagauucuccuucuaugagua
SEQ ID NO: 8	hsa-miR-127-3p (MIMAT0000446): ucggaucgugcugagcuuggcu
SEQ ID NO: 9	hsa-miR-127-5p (MIMAT0004604): cugaagcucagaggcucugau
SEQ ID NO: 10	hsa-miR-409-3p (MIMAT0001639): gaauugcucggugaaccccu
SEQ ID NO: 11	hsa-miR-409-5p (MIMAT0001638): agguaccgagcaacuugcau
SEQ ID NO: 12	hsa-miR-148b-3p (MIMAT0000759): ucagugcaucacagaacuuugu
SEQ ID NO: 13	hsa-miR-148b-5p (MIMAT0004699): aaguucuguuaucacucagcg
SEQ ID NO: 14	HYAL2 (NM_003773.4)
SEQ ID NO: 15	HYAL2 (NM_033158.4)
SEQ ID NO: 16	HYAL2 (NP_003764.3)
SEQ ID NO: 17	HYAL2 (NP_149348.2)
SEQ ID NO: 18	MGRN1 (NM_001142289.2)
SEQ ID NO: 19	MGRN1 (NM_001142290.2)
SEQ ID NO: 20	MGRN1 (NM_001142291.2)

SEQ ID NO: 21	MGRN1 (NM_015246.3)
SEQ ID NO: 22	MGRN1 (NP_001135761.2)
SEQ ID NO: 23	MGRN1 (NP_001135762.1)
SEQ ID NO: 24	MGRN1 (NP_001135763.2)
SEQ ID NO: 25	MGRN1 (NP_056061.1)
SEQ ID NO: 26	RPTOR (NM_001163034.1)
SEQ ID NO: 27	RPTOR (NM_020761.2)
SEQ ID NO: 28	RPTOR (NP_001156506.1)
SEQ ID NO: 29	RPTOR (NP_065812.1)
SEQ ID NO: 30	SLC22A18 (NM_002555.5)
SEQ ID NO: 31	SLC22A18 (NM_183233.2)
SEQ ID NO: 32	SLC22A18 (NP_002546.3)
SEQ ID NO: 33	SLC22A18 (NP_899056.2)
SEQ ID NO: 34	FUT7 (NM_004479.3)
SEQ ID NO: 35	FUT7 (NP_004470.1)
SEQ ID NO: 36	RAPSN (NM_005055.4)
SEQ ID NO: 37	RAPSN (NM_032645.4)
SEQ ID NO: 38	RAPSN (NP_005046.2)
SEQ ID NO: 39	RAPSN (NP_116034.2)
SEQ ID NO: 40	S100P (NM_005980.2)
SEQ ID NO: 41	S100P (NP_005971.1)
SEQ ID NO: 42	DYRK4 (NM_001282285.1)
SEQ ID NO: 43	DYRK4 (NM_001282286.1)
SEQ ID NO: 44	DYRK4 (NM_003845.2)
SEQ ID NO: 45	DYRK4 (NP_001269214.1)
SEQ ID NO: 46	DYRK4 (NP_001269215.1)
SEQ ID NO: 47	DYRK4 (NP_003836.1)
SEQ ID NO: 33	смысловая последовательность праймера HYAL2
SEQ ID NO: 34	антисмысловая последовательность праймера HYAL2
SEQ ID NO: 33	смысловая последовательность праймера HYAL2-is-310
SEQ ID NO: 34	антисмысловая последовательность праймера HYAL2-is-310
SEQ ID NO: 33	смысловая последовательность праймера HYAL2-is-325
SEQ ID NO: 34	антисмысловая последовательность праймера HYAL2-is-325
SEQ ID NO: 35	смысловая последовательность праймера MGRN1
SEQ ID NO: 36	антисмысловая последовательность праймера MGRN1
SEQ ID NO: 37	смысловая последовательность праймера RPTOR
SEQ ID NO: 38	антисмысловая последовательность праймера RPTOR
SEQ ID NO: 39	смысловая последовательность праймера SLC22A18
SEQ ID NO: 40	антисмысловая последовательность праймера SLC22A18
SEQ ID NO: 41	смысловая последовательность праймера FUT7
SEQ ID NO: 42	антисмысловая последовательность праймера FUT7
SEQ ID NO: 43	смысловая последовательность праймера RAPSN
SEQ ID NO: 44	антисмысловая последовательность праймера RAPSN
SEQ ID NO: 45	смысловая последовательность праймера S100P
SEQ ID NO: 46	антисмысловая последовательность праймера S100P
SEQ ID NO: 47	смысловая последовательность праймера DYRK4
SEQ ID NO: 48	антисмысловая последовательность праймера DYRK4

### Подробное описание изобретения

Определения.

Перед тем как настоящее изобретение будет подробно описано ниже, следует отметить, что данное изобретение не ограничено конкретной методологией, протоколами и реактивами, описанными в настоящей заявке, поскольку все указанные параметры могут варьировать. Также следует понимать, что терминология, используемая в настоящей заявке, предназначена исключительно для целей описания конкретных вариантов реализации и не призвана ограничить объем настоящего изобретения, который ограничивается исключительно прилагаемой формулой изобретения. Если не указано обратное, все технические и научные термины, используемые в настоящей заявке, имеют то же значение, которое общепринято понимается средним специалистом в данной области техники.

В тексте настоящей спецификации приводятся ссылки на некоторые документы. Каждый из документов, ссылки на которые приводятся в настоящей заявке (включая все патенты, заявки на патент, научные публикации, спецификации производителя, инструкции и т.д.), будь-то выше или ниже по тексту, полностью включен в настоящую заявку посредством ссылки. Ничто в настоящей заявке не следует истолковывать как признание того, что настоящее изобретение не дает права датировать такое изобретение задним числом на основании предыдущего изобретения. Некоторые документы, ссылки на которые приводятся в настоящей заявке, характеризуются как "включенные посредством ссылки". В случае противоречий между определениями или идеями таких включенных посредством ссылки источников и определениями или идеями, приведенными в настоящей спецификации, преимущество имеет текст настоящей спецификации.

Далее по тексту будут описаны элементы настоящего изобретения. Данные элементы перечислены с конкретными вариантами реализации, однако следует понимать, что данные элементы можно объединять любым способом и в любом количестве, чтобы получить дополнительные варианты реализации. Различным образом описанные примеры и предпочтительные варианты реализации не следует истолковывать как ограничивающие настоящее изобретение исключительно вариантами реализации, описанными в явном виде. Следует понимать, что данное описание поддерживает и охватывает варианты реализации, которые объединяют в явном виде описанные варианты реализации с любым количеством раскрытых и/или предпочтительных элементов. Более того, любые перестановки и комбинации всех описанных в настоящей заявке элементов следует считать раскрытыми путем описания настоящей заявки, если контекст не диктует обратное.

По всей спецификации и следующей за ней формуле изобретения, если контекст не диктует обратное, слова "включать" и "содержать" и их варианты, такие как "включает", "содержит" и "включающий", "содержащий", следует понимать как включение указанного целого числа или этапа либо группы целых чисел или этапов, но не исключение каких-либо других целых чисел или этапов либо группы целых чисел или этапов.

В настоящей спецификации и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают формы множественного числа, если контекст однозначно не диктует обратное.

Термин "приблизительно" при использовании в сочетании с числовым значением предназначен для включения числовых значений в пределах диапазона, имеющего нижнюю границу, которая на 5% ниже, чем указанное числовое значение, и имеющего верхнюю границу, которая на 5% выше, чем указанное числовое значение.

"Молекулы нуклеиновой кислоты" понимаются как полимерная или олигомерная макромолекула, составленная из мономеров нуклеотидов. Мономеры нуклеотидов состоят из нуклеотидного основания, пятиуглеродного сахара (такого как, но не ограничиваясь указанными, рибоза или 2'-дезоксирибоза) и от одной до трех фосфатных групп. Как правило, полинуклеотид образован посредством фосфодиэфирных связей между отдельными мономерами нуклеотидов. В контексте настоящего изобретения указанные молекулы нуклеиновой кислоты включают, но не ограничены указанными, рибонуклеиновую кислоту (РНК), дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) и смеси указанных нуклеиновых кислот, такие как, например, гибриды РНК-ДНК. Термины "полинуклеотид", "нуклеиновая кислота" и "молекула нуклеиновой кислоты" используются в настоящей заявке взаимозаменяемо. Нуклеиновые кислоты можно синтезировать, например, химическим способом, например, согласно фосфотриэфирному методу (см., например, публикацию Uhlmann, E. & Peyman, A. (1990) *Chemical Reviews*, 90, 543-584). Аптамеры представляют собой нуклеиновые кислоты, которые связываются с высокой аффинностью с полипептидом, в настоящей заявке - с mir146-a. Аптамеры можно выделить посредством способов селекции, таких как SELEmir146-a (см., например, публикации Jayasena (1999) *Clin. Chem.*, 45, 1628-50; Klug and Famulok (1994) *M. Mol. Biol. Rep.*, 20, 97-107; US 5582981), из большого пула различных одноцепочечных молекул РНК. Аптамеры можно также синтезировать и провести селекцию в форме их зеркального отражения, например, в виде L-рибонуклеотида (Nolte et al. (1996) *Nat. Biotechnol.*, 14, 1116-9; Klussmann et al. (1996) *Nat. Biotechnol.*, 14, 1112-5). Выделенные таким способом формы обладают тем преимуществом, что существующие в природе рибонуклеазы не разрушают данные формы, и поэтому последние характеризуются большей стабильностью. Эндонуклеазы или экзонуклеазы, в частности ДНКазы и РНКазы, которые можно обнаружить в клетке, могут разрушать нуклеиновые кислоты. Вследствие этого нуклеино-

вые кислоты целесообразно модифицировать для придания им устойчивости к разрушению, обеспечивая тем самым поддержание высокой концентрации нуклеиновых кислот в клетке на протяжении длительного периода времени (Beigelman et al. (1995) *Nucleic Acids Res.* 23:3989-94; WO 95/11910; WO 98/37240; WO 97/29116). Как правило, такой стабилизации можно достичь посредством введения одной или нескольких межнуклеотидных фосфатных групп или введения одной или нескольких нефосфатных межнуклеотидных групп. Подходящие модифицированные межнуклеотидные группы указаны в публикации Uhlmann and Peyman (1990), выше (см. также публикации Beigelman et al. (1995) *Nucleic Acids Res.* 23:3989-94; WO 95/11910; WO 98/37240; WO 97/29116). Модифицированные межнуклеотидные фосфатные радикалы и/или нефосфатные мостики в нуклеиновой кислоте, которые можно использовать в одном из применений согласно настоящему изобретению, включают, например, метилфосфонат, фосфотиоат, фосфоамидат, фосфодитиоат и/или фосфатные эфиры, тогда как нефосфатные межнуклеотидные аналоги включают, например, силоксановые мостики, карбонатные мостики, карбоксиметилловые сложные эфиры, ацетамидатные мостики и/или тиоэфирные мостики. Также подразумевают, что данная модификация должна улучшить устойчивость фармацевтической композиции, которую можно использовать в одном из применений согласно настоящему изобретению. Нуклеиновые кислоты можно выбрать из группы, состоящей из пептидной нуклеиновой кислоты (ПНК), запертой нуклеиновой кислоты (ЗНК), гликоль-нуклеиновой кислоты (ГНК), треозо-нуклеиновой кислоты (ТНК), микроРНК и малой интерферирующей РНК (миРНК), полинуклеотидного зонда, праймера или праймеров (например, пары праймеров), в частности, праймера или праймеров для полимеразной цепной реакции (ПЦР), реакции обратной транскрипции (ОТ) или секвенирования ДНК.

В контексте различных аспектов настоящего изобретения термин "нуклеиновая кислота" включает геномную ДНК, κДНК, рекомбинантную ДНК, рРНК, мРНК, микроРНК и малую интерферирующую РНК (миРНК). Нуклеиновая кислота может состоять из целого гена или части гена. Нуклеиновая кислота может также представлять собой искусственную нуклеиновую кислоту. Искусственные нуклеиновые кислоты включают полиамидную или пептидную нуклеиновую кислоту (ПНК), морфолино и запертую нуклеиновую кислоту (ЗНК), а также гликоль-нуклеиновую кислоту (ГНК) и треозо-нуклеиновую кислоту (ТНК). Каждая из перечисленных нуклеиновых кислот отличается от существующих в природе ДНК или РНК вследствие изменения остова молекулы, как хорошо известно специалисту в данной области техники.

В настоящей заявке термин "микроРНК" и его вариации, такие как "miRNA" и "miR", является понятным специалисту в данной области техники и относится к короткой молекуле рибонуклеиновой кислоты (РНК), обнаруженной в эукариотических клетках и жидкостях организма многоклеточных организмов. МикроРНК включают микроРНК человека, зрелые одноцепочечные микроРНК, предшественник микроРНК (pre-микроРНК) и варианты указанных молекул, которые могут существовать в природе. В некоторых случаях термин "микроРНК" также включает первичные транскрипты микроРНК (pri-микроРНК) и дуплексную микроРНК. Если не указано обратное, в настоящей заявке название конкретной микроРНК означает зрелую микроРНК. Предшественник микроРНК может состоять из от 25 до нескольких тысяч нуклеотидов, как правило, от 40 до 130, от 50 до 120 или от 60 до 110 нуклеотидов. Как правило, зрелая микроРНК состоит из от 5 до 100 нуклеотидов, часто от 10 до 50, от 12 до 40 или от 18 до 26 нуклеотидов. Термин "микроРНК" также включает "направляющую" цепь, которая в конечном счете поступает в индуцируемый РНК комплекс сайленсинга (RNA-induced silencing complex, RISC), а также "сопровождающую" цепь, комплементарную указанной цепи.

Последовательность нескольких микроРНК известна в данной области техники и легко доступна специалисту в хорошо известных базах данных последовательностей, таких как, например, miRBase (<http://www.mirbase.org/>), (Griffiths-Jones S., *NAR* 2004 32(Database Issue):D109-D111; Kozomara A, Griffiths-Jones S., *NAR* 2011 39(Database Issue):D152-D157). Следует понимать, что указанные ниже учетные номера баз данных отдельных микроРНК представляют собой таковые микроРНК, полученных от человека. Однако данные значения в базах данных также представляют учетные номера баз данных соответствующих микроРНК различного происхождения, таких как, например, микроРНК любого происхождения от млекопитающего, пресмыкающегося или птицы, таких как, например, микроРНК, которые выбраны из группы, состоящей из микроРНК лабораторных животных (например, мыши или крысы), домашних животных (включая, например, морскую свинку, кролика, лошадь, осла, корову, овцу, козу, свинью, курицу, верблюда, кошку, собаку, морскую черепаху, сухопутную черепаху, змею или ящерицу) или приматов, включая шимпанзе, бонобо и горилл. Также следует понимать, что упоминание конкретной микроРНК посредством ее номера (например, miR-652) в равной степени означает последовательность -3p и -5p (miR-652-3p и miR-652-5p).

Последовательность miR-652 депонирована под учетным номером miRBase ID MI0003667, который включает hsa-miR-652-3p (MIMAT0003322) и hsa-miR-652-5p (MIMAT0022709), соответствующие SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно, настоящего изобретения.

Последовательность miR-801 была депонирована под учетным номером miRBase ID MI0005202: 5'-GAUUGCUCUGCGUGCGGAAUCGAC-3', однако на сегодняшний день данную последовательность считают фрагментом сплайсосомной РНК U11 и ее, таким образом, удалили из базы данных miRBase.

Пре-микроРНК-801 расположена на хромосоме 1: 28847698 - 28847793. Последовательность данной молекулы соответствует SEQ ID NO: 3 настоящего изобретения.

miR-376c, также называемая miR-368, депонирована под учетным номером miRBase ID MI0000776, который включает miR-376c-3p (MIMAT0000720) и hsa-miR-376c-5p (MIMAT0022861), соответствующие SEQ ID NO: 4 и 5, соответственно, настоящего изобретения.

Последовательность miR-376a депонирована под учетным номером miRBase ID MI0000784, который включает hsa-miR-376a-3p (MIMAT0000729) и hsa-miR-376a-5p (MIMAT0003386), соответствующие SEQ ID NO: 6 и 7, соответственно, настоящего изобретения.

Последовательность miR-127 депонирована под учетным номером miRBase ID MI0000472, который включает hsa-miR-127-3p (MIMAT0000446) и hsa-miR-127-5p (MIMAT0004604), соответствующие SEQ ID NO: 8 и 9, соответственно, настоящего изобретения.

Последовательность miR-409 депонирована под учетным номером miRBase ID MI0001735, который включает hsa-miR-409-3p (MIMAT0001639) и hsa-miR-409-5p (MIMAT0001638), соответствующие SEQ ID NO: 10 и 11, соответственно, настоящего изобретения.

Последовательность miR-148b депонирована под учетным номером miRBase ID MI0000811, который включает hsa-miR-148b-3p (MIMAT0000759) и hsa-miR-148b-5p (MIMAT0004699), соответствующие SEQ ID NO: 12 и 13, соответственно, настоящего изобретения.

Термин "комбинация микроРНК" относится к комбинациям микроРНК согласно настоящему изобретению. Количество микроРНК в образце от субъекта можно определить посредством методик, хорошо известных в данной области техники. В зависимости от природы образца указанное количество можно определить посредством методик на основе ПЦР для подсчета количества полинуклеотида или посредством других способов, таких как масс-спектрометрия или секвенирование (следующего поколения) или с помощью одного из способов, описанных в примерах (Cissell K.A., Deo S.K. Trends in microRNA detection. Anal Bioanal Chem. 2009; 394(4):1109-1116 или de Planell-Saguer M., Rodicio M.C. Analytical aspects of microRNA in diagnostics: a review. Anal Chim Acta 2011 Aug 12; 699(2):134-52). Термин "определение количеств по меньшей мере микроРНК из комбинации микроРНК" в настоящей заявке предпочтительно относится к отдельному определению количества каждой микроРНК из комбинации для обеспечения возможности сравнения количества каждой микроРНК комбинации с эталоном, специфичным для указанной микроРНК.

Термин "зонд" в настоящей заявке означает одноцепочечный олигонуклеотид, который, как правило, используют для обнаружения целевых последовательностей РНК и/или ДНК, комплементарных последовательности зонда. Зонд гибридизуется с одноцепочечной нуклеиновой кислотой (ДНК или РНК), нуклеотидная последовательность которой позволяет осуществляться спариванию нуклеотидов вследствие комплементарности между зондом и целевой последовательностью. Длина зонда зависит от предполагаемого применения, а также от требуемой специфичности зонда. Как правило, зонд составляет 20-500 (т.е. 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 300, 400, 500) нуклеотидов в длину, предпочтительно 20-100 нуклеотидов, более предпочтительно 20-50. Зонды для обнаружения микроРНК составляют от 12 до 30 нуклеотидов в длину. Зонды используют в различных постановках эксперимента, таких как, но не ограничиваясь указанными, саузерн- и нозерн-блоттинг, ПЦР в режиме реального времени и гибридизация *in situ* (*in situ* hybridization, ISH), а также для экспериментов на основе микроматриц. Зонд может являться немеченым, напрямую меченым или опосредованно меченым, например, с помощью биотина, к которому затем может присоединиться комплекс стрептавидина. Указанная метка может представлять собой молекулу, обнаруживаемую спектроскопическим, фотохимическим, биохимическим, иммунохимическим, химическим или другими физическими способами. Например, подходящие метки включают 32P, флуоресцентные красители, электроноплотные реактивы, ферменты (например, обычно используемые в анализе ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay, твердофазный иммуноферментный анализ), биотин, дигоксигенин или гаптены и другие молекулы, которые являются обнаруживаемыми или которые можно сделать обнаруживаемыми. Метка может быть встроена в нуклеиновые кислоты в любом положении, например, на 3'-конце, на 5'-конце или в середине цепи. Термин "зонд" также включает нуклеиновые кислоты, отличающиеся составом своего остова, такие как, но не ограничиваясь указанными, пептидные нуклеиновые кислоты (ПНК), запертые нуклеиновые кислоты (ЗНК), гликоль-нуклеиновые кислоты (ГНК) и треозо-нуклеиновые кислоты (ТНК).

Термин "праймер" в настоящей заявке означает одноцепочечный олигонуклеотид, который, как правило, выступает в качестве стартовой точки для ферментов, реплицирующих ДНК. Праймер связывается или гибридизуется с матрицей ДНК и, как правило, содержит последовательность, которая является комплементарной последовательности ДНК, с которой праймер, предположительно, связывается. Праймер может также содержать дополнительные последовательности, например последовательности, выступающие в качестве сайтов расщепления нуклеазой (например, Bam HI, Hind III и т.д.). Длину праймера выбирают в зависимости от предполагаемого применения. Например, длина праймеров, используемых для амплификации ДНК в полимеразной цепной реакции (ПЦР), как правило, составляет по меньшей мере 10 нуклеотидов, предпочтительно от 10 до 50 (т.е. 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 45, 50) нуклеотидов, более предпочтительно от 15 до 30 нук-

леотидов. Более короткие праймеры длиной по меньшей мере 5 нуклеотидов используют для секвенирования матриц ДНК. Также в данный термин "праймер" включены "вырожденные праймеры", которые представляют собой смесь подобных, но не идентичных праймеров. Праймер может являться меченым "тагом" (tag) или меченым маркерной молекулой, обнаруживаемой спектроскопическим, фотохимическим, биохимическим, иммунохимическим, химическим или другими физическими способами.

Термин "уровень экспрессии" означает количество продукта гена, присутствующего в организме или образце в определенную точку времени. Уровень экспрессии можно, например, измерять/количественно определить/обнаружить посредством белка или мРНК, экспрессированной с гена. Уровень экспрессии можно, например, количественно определить посредством нормирования количества продукта гена, представляющего интерес, который присутствует в образце, к суммарному количеству продукта гена той же категории (суммарному белку или мРНК) в том же образце или в эталонном образце (например, в образце, отобранном в то же время от того же индивидуума или в части того же образца идентичного размера (масса, объем)) либо посредством обнаружения количества продукта гена, представляющего интерес, в пересчете на определенный размер образца (масса, объем и т.д.). Уровень экспрессии можно измерять или обнаружить посредством любого способа, известного в данной области техники, например способами прямого обнаружения и количественного определения продукта гена, представляющего интерес (такими как масс-спектрометрия), или способами опосредованного обнаружения и измерения продукта гена, представляющего интерес, которые обычно осуществляют посредством связывания продукта гена, представляющего интерес, с одной или несколькими различными молекулами или средствами обнаружения (например, праймером (праймерами), зондами, антителами, белковыми каркасами), специфичными к продукту гена, представляющему интерес. Определение уровня копий гена, включая также определение отсутствия или присутствия одного или нескольких фрагментов (например, с помощью зондов или праймеров нуклеиновой кислоты, например, количественной ПЦР, ПЦР на основе мультиплексной амплификации лигированных зондов (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA), также относится к знаниям специалиста в данной области техники.

Термины "белок" и "полипептид" используются в настоящей заявке взаимозаменяемо и означают любую связанную пептидной связью цепь аминокислот, вне зависимости от длины или посттрансляционной модификации. Белки, пригодные в настоящем изобретении (включая производные белка, варианты белка, фрагменты белка, сегменты белка, эпитопы белка и домены белка), можно дополнительно модифицировать посредством химической модификации. Это означает, что такой химическим способом модифицированный полипептид содержит отличные химические группы, чем 20 существующих в природе аминокислот. Примеры таких других химических групп включают, без ограничения, гликозилированные аминокислоты и фосфорилированные аминокислоты. Химические модификации полипептида могут обеспечить преимущественные свойства по сравнению с родительским полипептидом, например, одно или несколько из следующих свойств: увеличенная стабильность, увеличенный период биологической полужизни или увеличенная растворимость в воде. Химические модификации, применимые к вариантам, пригодным в настоящем изобретении, включают, без ограничения ПЭГилирование, гликозилирование негликозилированных родительских полипептидов или модификации паттерна гликозилирования в родительском полипептиде.

В контексте различных аспектов настоящего изобретения термин "пептид" означает короткий полимер аминокислот, соединенных пептидными связями. Пептид содержит такие же химические (пептидные) связи, что и белки, но обычно является более коротким в длину. Самый короткий пептид представляет собой дипептид, состоящий из двух аминокислот, соединенных одной пептидной связью. Также могут существовать трипептид, тетрапептид, пентапептид и т.д. Предпочтительно пептид составляет в длину более 8, 10, 12, 15, 18 или 20 аминокислот. Пептид содержит аминоконец и карбоксильный конец, если не является циклическим пептидом.

В контексте различных аспектов настоящего изобретения термин "полипептид" означает одну линейную цепь аминокислот, соединенных вместе пептидными связями и, предпочтительно, содержащую по меньшей мере приблизительно 21 аминокислот. Полипептид может представлять собой одну цепь белка, которая состоит из более одной цепи, или может представлять собой белок сам по себе, если белок состоит из одной цепи.

В контексте различных аспектов настоящего изобретения термин "белок" означает молекулу, содержащую один или несколько полипептидов, которые сохраняют вторичную и третичную структуру, и дополнительно означает белок, который образован несколькими полипептидами, т.е. несколькими субъединицами, образующими четвертичные структуры. Белок иногда содержит присоединенные непептидные группы, которые можно назвать простетическими группами или кофакторами. Первичная структура белка или полипептида представляет собой последовательность аминокислот в полипептидной цепи. Вторичная структура белка представляет собой обычную трехмерную форму локальных сегментов белка. Однако вторичная структура не описывает конкретные положения атомов в трехмерном пространстве, которые считаются третичной структурой. В белках вторичная структура определена паттернами водородных связей между амидными и карбоксильными группами остова. Третичная структура белка представляет собой трехмерную структуру белка, определенную атомными координатами. Четвертичная

структура представляет собой расположение множества уложенных или свернутых молекул белка или полипептида в мультисубъединичном комплексе. Термины "аминокислотная цепь" и "полипептидная цепь" используют в контексте настоящего изобретения в качестве синонимов. Термин "посттрансляционный" в настоящей заявке означает события, которые происходят после трансляции триплета нуклеотидов в аминокислоту и образования пептидной связи со следующей аминокислотой в последовательности. Такие посттрансляционные события могут происходить после того, как был получен весь полипептид, или уже в течение процесса трансляции на тех частях полипептида, которые уже были транслированы. Посттрансляционные события, как правило, изменяют или модифицируют химические или структурные свойства полученного в результате полипептида. Примеры посттрансляционных событий включают, но не ограничены указанными, события, такие как гликозилирование или фосфорилирование аминокислот, или отщепление пептидной цепи, например, эндопептидазой. Термин "котрансляционный" в настоящей заявке означает события, которые происходят в течение процесса трансляции триплета нуклеотидов в аминокислотную цепь. Данные события, как правило, изменяют или модифицируют химические или структурные свойства полученной в результате аминокислотной цепи. Примеры котрансляционных событий включают, но не ограничены указанными, события, которые могут остановить процесс трансляции полностью или нарушить образование пептидной связи, что приведет к получению двух отдельных продуктов трансляции.

Термин "сегмент" означает любую часть макромолекулы (например, полипептида, белка или полипротеина), на которую данная макромолекула может быть разделена. Макромолекула может состоять из одного или нескольких сегментов. Такая сегментация может существовать в связи с функциональными свойствами (например, сегменты, обладающие иммунореактивными свойствами или функциями присоединения к мембране) или структурными свойствами (например, последовательность нуклеотидов или аминокислотная последовательность либо вторичная или третичная структура) макромолекулы и/или отдельного сегмента. В контексте настоящего изобретения предпочтительно, что термин "сегмент" означает часть белка или полипротеина. В особенности предпочтительно, что такой сегмент сворачивается и/или функционирует независимо от остального белка или полипротеина.

"Эпитоп", также известный как антигенная детерминанта, представляет собой сегмент макромолекулы, который распознается иммунной системой, в частности антителами, В-клетками или Т-клетками. Такой эпитоп представляет собой ту часть или сегмент макромолекулы, которые способны к связыванию с антителом или антигенсвязывающим фрагментом указанного антитела. В данном контексте термин "связывание", предпочтительно, относится к специфичному связыванию. В контексте настоящего изобретения предпочтительно, что термин "эпитоп" означает сегмент белка или полипротеина, который распознается иммунной системой. Эпитопы обычно состоят из химически активных группировок поверхности молекул, таких как аминокислоты или боковые цепи сахаров, и обычно обладают специфичными трехмерными структурными характеристиками, а также специфичными характеристиками заряда. Конформационные и неконформационные эпитопы отличаются тем, что связывание с первыми, но не со вторыми, утрачивается в присутствии денатурирующих растворяющих агентов.

В настоящей заявке термин "домен" означает сегмент последовательности или структуры белка или полипротеина (или соответствующей последовательности нуклеотидов), который может эволюционировать, функционировать и/или существовать независимо от остальной цепи белка. Как правило, белок состоит из одного или нескольких доменов, причем каждый из данных доменов представляет собой трехмерную структуру, которая является стабильной и свернутой независимо от остальной цепи белка. Такой домен, как правило, образует независимую функциональную единицу в белке (например, трансмембранные домены, иммуноглобулиноподобные домены или ДНК-связывающие домены).

Аминокислотная последовательность некоторых пептидов и белков, а также последовательности нуклеотидов, кодирующие соответствующие пептиды и белки, хорошо известны в данной области техники и легко доступны специалисту в хорошо известных базах данных последовательностей, таких как, например Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Следует понимать, что указанные ниже учетные номера баз данных отдельных последовательностей представляют собой таковые, полученные от человека. Однако данные значения в базах данных также представляют учетные номера баз данных соответствующих последовательностей нуклеотидов различного происхождения, таких как, например, аминокислотные последовательности или последовательности нуклеотидов любого происхождения от млекопитающего, пресмыкающегося или птицы, такие как, например, таковые, которые выбраны из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей или последовательностей нуклеотидов лабораторных животных (например, мыши или крысы), домашних животных (включая, например, морскую свинку, кролика, лошадь, осла, корову, овцу, козу, свинью, курицу, верблюда, кошку, собаку, морскую черепаху, сухопутную черепаху, змею или ящерицу) или приматов, включая шимпанзе, бонобо и горилл.

HYAL2:

учетный № Genbank: NM\_003773.4 (GI:289802998) для варианта транскрипта 1, который соответствует SEQ ID NO: 14 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NM\_033158.4 (GI:289802999) для варианта транскрипта 2, который соответствует SEQ ID NO: 15 настоящей заявки;

учетный № Genbank: NP\_003764.3 (GI:15022801) для полипептида HYAL2, кодируемого вариантом транскрипта 1, который соответствует SEQ ID NO: 16 настоящего изобретения; и  
учетный № Genbank: NP\_149348.2 (GI:34304377) для полипептида HYAL2, кодируемого вариантом транскрипта 2, который соответствует SEQ ID NO: 17 настоящего изобретения;

**MGRN1:**

учетный № Genbank: NM\_001142289.2 для варианта транскрипта 2, который соответствует SEQ ID NO: 18 настоящего изобретения, и

учетный № Genbank: NM\_001142290.2 для варианта транскрипта 3, который соответствует SEQ ID NO: 19 настоящего изобретения, и

учетный № Genbank: NM\_001142291.2 для варианта транскрипта 4, который соответствует SEQ ID NO: 20 настоящего изобретения, и

учетный № Genbank: NM\_015246.3 для варианта транскрипта 1, который соответствует SEQ ID NO: 21 настоящего изобретения, и

учетный № Genbank: NP\_001135761.2 для полипептида MGRN1, кодируемого вариантом транскрипта 2, который соответствует SEQ ID NO: 22 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NP\_001135762.1 для полипептида MGRN1, кодируемого вариантом транскрипта 3, который соответствует SEQ ID NO: 23 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NP\_001135763.2 для полипептида MGRN1, кодируемого вариантом транскрипта 4, который соответствует SEQ ID NO: 24 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NP\_056061.1 для полипептида MGRN1, кодируемого вариантом транскрипта 1, который соответствует SEQ ID NO: 25 настоящего изобретения;

**RPTOR:**

учетный № Genbank: NM\_001163034.1 для варианта транскрипта 2, который соответствует SEQ ID NO: 26 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NM\_020761.2 для варианта транскрипта 1, который соответствует SEQ ID NO: 27 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NP\_001156506.1 для полипептида RPTOR, кодируемого вариантом транскрипта 2, который соответствует SEQ ID NO: 28 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NP\_065812.1 для полипептида RPTOR, кодируемого вариантом транскрипта 1, который соответствует SEQ ID NO: 29 настоящего изобретения;

**SLC22A18:**

учетный № Genbank: NM\_002555.5 для варианта транскрипта 1, который соответствует SEQ ID NO: 30 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NM\_183233.2 для варианта транскрипта 2, который соответствует SEQ ID NO: 31 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NP\_002546.3 для полипептида SLC22A18, кодируемого вариантом транскрипта 1, который соответствует SEQ ID NO: 32 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NP\_899056.2 для полипептида SLC22A18, кодируемого вариантом транскрипта 2, который соответствует SEQ ID NO: 33 настоящего изобретения;

**FUT7:**

учетный № Genbank: NM\_004479.3 для транскрипта, который соответствует SEQ ID NO: 34 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NP\_004470.1 для полипептида FUT7, кодируемого транскриптом, который соответствует SEQ ID NO: 35 настоящего изобретения;

**RAPSN:**

учетный № Genbank: NM\_005055.4 для варианта транскрипта 1, который соответствует SEQ ID NO: 36 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NM\_032645.4 для варианта транскрипта 2, который соответствует SEQ ID NO: 37 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NP\_005046.2 для полипептида RAPSN, кодируемого вариантом транскрипта 1, который соответствует SEQ ID NO: 38 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NP\_116034.2 для полипептида RAPSN, кодируемого вариантом транскрипта 1, который соответствует SEQ ID NO: 39 настоящего изобретения;

**S100P:**

учетный № Genbank: NM\_005980.2 для транскрипта, соответствующего SEQ ID NO: 40 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NP\_005971.1 для полипептида S100P, кодируемого транскриптом, который соответствует SEQ ID NO: 41 настоящего изобретения;

**DYRK4:**

учетный № Genbank: NM\_001282285.1 для варианта транскрипта 2, который соответствует SEQ ID NO: 42 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NM\_001282286.1 для варианта транскрипта 3, который соответствует SEQ ID

NO: 43 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NM\_003845.2 для варианта транскрипта 1, который соответствует SEQ ID NO: 44 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NP\_001269214.1 для полипептида DYRK4, кодируемого вариантом транскрипта 2, который соответствует SEQ ID NO: 45 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NP\_001269215.1 для полипептида DYRK4, кодируемого вариантом транскрипта 3, который соответствует SEQ ID NO: 46 настоящего изобретения;

учетный № Genbank: NP\_003836.1 для полипептида DYRK4, кодируемого вариантом транскрипта 1, который соответствует SEQ ID NO: 47 настоящего изобретения.

В настоящей заявке термин "вариант" следует понимать как полинуклеотид или белок, который отличается по сравнению с полинуклеотидом или белком, от которого был получен, на одно или несколько изменений длины или последовательности. Полипептид или полинуклеотид, от которого был получен вариант белка или нуклеиновой кислоты, также известен как родительский полипептид или полинуклеотид. Термин "вариант" включает "фрагменты" или "производные" родительской молекулы. Как правило, "фрагменты" являются меньшими по длине или по размеру, чем родительская молекула, в то время как "производные" демонстрируют одно или более отличий последовательности по сравнению с родительской молекулой. Также в данный термин включены модифицированные молекулы, такие как, но не ограничиваясь указанными, белки, модифицированные посттрансляционным способом (например, гликозилированные, биотинилированные, фосфорилированные, убиквитинированные, пальмитоилированные или расщепленные протеолитическим способом белки), и модифицированные нуклеиновые кислоты, такие как метилированная ДНК. Также в термин "вариант" включены смеси различных молекул, такие как, но не ограничиваясь указанными, гибриды РНК-ДНК. Как правило, вариант конструируют искусственным способом, предпочтительно, посредством генно-технологических способов, в то время как родительский полипептид или полинуклеотид представляет собой белок или полинуклеотид дикого типа. Однако существующие в природе варианты в настоящей заявке также понимаются включенными в термин "вариант". Также варианты, пригодные в настоящем изобретении, могут быть также получены из гомологов, ортологов или паралогов родительской молекулы или из искусственно сконструированного варианта при условии, что вариант демонстрирует по меньшей мере одну биологическую активность родительской молекулы, т.е. является функционально активным.

Согласно предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения вариант, пригодный в настоящем изобретении, демонстрирует общее количество до 200 (до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200) изменений в аминокислотной последовательности или последовательности нуклеотидов (т.е. замен, вставок, делеций, 5'-, 3'-, N-концевых и/или С-концевых усечений). Замены аминокислот могут являться консервативными и/или неконсервативными. Согласно предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения вариант, пригодный в настоящем изобретении, отличается от белка или полинуклеотида, из которого был получен данный вариант, на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 замен аминокислоты или нуклеиновой кислоты. В качестве альтернативы или дополнительно "вариант" в настоящей заявке можно охарактеризовать определенной степенью идентичности последовательности родительскому полипептиду или родительскому полинуклеотиду, из которого был получен данный вариант. Более точно, вариант белка в контексте настоящего изобретения демонстрирует по меньшей мере 80% идентичности последовательности своему родительскому полипептиду. Вариант полинуклеотида в контексте настоящего изобретения демонстрирует по меньшей мере 80% идентичности последовательности своему родительскому полипептиду. Предпочтительно область идентичности последовательностей вариантов белка превышает непрерывный фрагмент, состоящий из 20, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100 или более аминокислот. Предпочтительно область идентичности последовательностей вариантов полинуклеотида превышает непрерывный фрагмент, состоящий из 60, 90, 120, 135, 150, 180, 210, 240, 270, 300 или более нуклеотидов.

Термин "идентичность последовательности по меньшей мере 80%" используется по всей настоящей спецификации в отношении сравнений последовательности полипептидов и полинуклеотидов. Данное выражение, предпочтительно, означает идентичность последовательности по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% соответствующему эталонному полипептиду или соответствующему эталонному полинуклеотиду. Предпочтительно полипептид, о котором идет речь, и эталонный полипептид демонстрируют указанную идентичность последовательности на протяжении непрерывного фрагмента, состоящего из 20, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100 или более аминокислот, или на протяжении всей длины эталонного полипептида. Предпочтительно полинуклеотид, о котором идет речь, и эталонный полинуклеотид демонстрируют указанную идентичность последовательности в пределах непрерывного фрагмента, состоящего из 60, 90, 120, 135, 150, 180, 210, 240, 270, 300 или более нуклеотидов, или на протя-

жении всей длины эталонного полипептида.

Термины "делеционный вариант" и "фрагмент" используются в настоящей заявке взаимозаменяемо. Фрагмент может являться существующим в природе (например, сплайс-варианты) или может являться сконструированным искусственным способом, предпочтительно генно-технологическими способами. Предпочтительно фрагмент (или делеционный вариант) содержит делецию до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 аминокислот или нуклеиновых кислот по сравнению с родительским полипептидом. В случае, когда сравнивают две последовательности и эталонная последовательность, по сравнению с которой следует рассчитывать процент идентичности последовательности, не указана, идентичность последовательности необходимо рассчитывать относительно более длинной из двух сравниваемых последовательностей, если конкретно не указано обратное. Если эталонная последовательность указана, идентичность последовательности определяют на основании полной длины эталонной последовательности, указанной по SEQ ID, если конкретно не указано обратное.

Подобие последовательностей нуклеотидов и аминокислотных последовательностей, т.е. процент идентичности последовательности, можно определить посредством выравниваний последовательности. Такие выравнивания можно проводить с применением нескольких известных в данной области техники алгоритмов, предпочтительно математического алгоритма Карлина и Альтшуля (Karlin & Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-5877), алгоритма hmalign (HMMER package, <http://hmmer.wustl.edu/>) или CLUSTAL (Thompson, J.D., Higgins, D.G. & Gibson, T.J. (1994) Nucleic Acids Res. 22, 4673-80), доступных, например, по адресу:

<http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw/>, или

<http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/index.html>, или

[http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=/NPSA/npsa\\_clustalw.html](http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_clustalw.html).

Предпочтительные используемые параметры представляют собой параметры по умолчанию, как они заданы по адресу:

<http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw/> или <http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/index.html>.

Степень идентичности последовательности (совпадение последовательности) можно рассчитать с применением, например, программного обеспечения BLAST, BLAT или BlastZ (или BlastX). Аналогичный алгоритм встроен в программы BLASTN и BLASTP согласно публикации Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410. Поиски полинуклеотидов в BLAST осуществляют с помощью программы BLASTN и устанавливают значения score=100, word length=12 для получения гомологичных последовательностей полинуклеотидов.

"Гибридизацию" также можно использовать в качестве меры идентичности последовательности или гомологии между двумя последовательностями нуклеиновой кислоты. Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую F, N или M2-1, или часть любой из данных последовательностей можно использовать в качестве зонда для гибридизации согласно стандартным методикам гибридизации. Гибридизация зонда F, N или M2-1 с ДНК или РНК из исследуемого источника свидетельствует о присутствии в исследуемом источнике ДНК или РНК F, ДНК или РНК N или ДНК или РНК M2-1, соответственно. Условия гибридизации известны специалистам в данной области техники и могут быть найдены, например, в руководстве Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y., 6.3.1-6.3.6, 1991. "Умеренные условия гибридизации" определены как эквивалентные гибридизации в 2X растворе хлорида натрия/цитрата натрия (SSC) при температуре 30°C с последующей промывкой в 1X растворе SSC, 0,1% ДСН (додecilсульфате натрия) при температуре 50°C. "Высоко жесткие условия" определены как эквивалентные гибридизации в 6X растворе хлорида натрия/цитрата натрия (SSC) при температуре 45°C с последующей промывкой в 0,2X растворе SSC, 0,1% ДСН при температуре 65°C.

Полуконсервативные и, в особенности, консервативные замены аминокислот, при которых аминокислоту заменяют родственной с химической точки зрения аминокислотой, являются предпочтительными. Типичными заменами являются замены между алифатическими аминокислотами, между аминокислотами, содержащими алифатическую гидроксильную боковую цепь, между аминокислотами, содержащими кислые остатки, между амидными производными, между аминокислотами с основными остатками или аминокислотами, содержащими ароматические остатки. Типичные полуконсервативные и консервативные замены представляют собой

<u>Аминокислота</u>	<u>Консервативная замена</u>	<u>Полуконсервативная замена</u>
A	G; S; T	N; V; C
C	A; V; L	M; I; F; G
D	E; N; Q	A; S; T; K; R; H

E	D; Q; N	A; S; T; K; R; H
F	W; Y; L; M; H	I; V; A
G	A	S; N; T; D; E; N; Q
H	Y; F; K; R	L; M; A
I	V; L; M; A	F; Y; W; G
K	R; H	D; E; N; Q; S; T; A
L	M; I; V; A	F; Y; W; H; C
M	L; I; V; A	F; Y; W; C;
N	Q	D; E; S; T; A; G; K; R
P	V; I	L; A; M; W; Y; S; T; C; F
Q	N	D; E; A; S; T; L; M; K; R
R	K; H	N; Q; S; T; D; E; A
S	A; T; G; N	D; E; R; K
T	A; S; G; N; V	D; E; R; K; I
V	A; L; I	M; T; C; N
W	F; Y; H	L; M; I; V; C
Y	F; W; H	L; M; I; V; C

Замена A, F, H, I, L, M, P, V, W или Y на C представляет собой полуконсервативную, если новый цистеин остается в форме свободного тиола. Более того, специалисту очевидно, что глицины в необходимых со стерической точки зрения положениях не должны быть заменены, и что P не должен быть введен в части белка, характеризующиеся  $\alpha$ -спиральной или  $\beta$ -складчатой структурой.

Термин "ткань" в настоящей заявке означает совокупность клеток одинакового происхождения, которые согласованно выполняют конкретную функцию. Примеры ткани включают, но не ограничены указанными, соединительную ткань, мышечную ткань, нервную ткань и эпителиальную ткань. Множество тканей вместе образуют "орган" для выполнения конкретной функции. Примеры органов включают, но не ограничены указанными, железы, мышцы, кровь, головной мозг, сердце, печень, почки, желудок, скелет, сустав и кожу.

Термины "заболевание" и "нарушение" используются в настоящей заявке взаимозаменяемо и означают аномальное состояние, в особенности, аномальное медицинское состояние, такое как болезнь или повреждение, при котором ткань, орган или индивидуум больше не способны эффективно выполнять свою функцию. Как правило, но не обязательно, заболевание приводит к специфическим симптомам или признакам, свидетельствующим о наличии такого заболевания. Наличие таких симптомов или признаков может, таким образом, свидетельствовать, что ткань, орган или индивидуум страдает от заболевания. Изменение данных симптомов или признаков может свидетельствовать о прогрессировании такого заболевания. Прогрессирование заболевания, как правило, характеризуется увеличением или уменьшением таких симптомов или признаков, что может свидетельствовать об "ухудшении" или "улучшении" заболевания. "Ухудшение" заболевания характеризуется уменьшением способности ткани, органа или организма эффективно выполнять свою функцию, тогда как "улучшение" заболевания, как правило, характеризуется увеличением способности ткани, органа или индивидуума эффективно выполнять свою функцию. Ткань, орган или индивидуум, подверженные "рisku развития" заболевания, находятся в здоровом состоянии, но демонстрируют возможность возникновения заболевания. Как правило, риск развития заболевания связан с ранними или слабыми признаками или симптомами такого заболевания. В данном случае манифестацию заболевания все еще можно предотвратить посредством лечения. Примеры заболеваний включают, но не ограничены указанными, травматические заболевания, воспалительные заболевания, инфекционные заболевания, кожные заболевания, эндокринные заболевания, кишечные заболевания, неврологические расстройства, заболевания суставов, наследственные заболевания, аутоиммунные

заболевания и различные типы рака.

"Рак" означает пролиферативное нарушение, включающее аномальный рост клеток, который может инвазировать или распространяться в другие ткани или органы субъекта. Варианты рака классифицируются согласно типу клетки, с которым имеют сходство клетки опухоли и который, вследствие этого, как предполагают, является источником опухоли. Данные типы включают, но не ограничены указанными, карциному (варианты рака, которые происходят из эпителиальных клеток), саркому (варианты рака, возникающие из соединительной ткани, такой как, например, кость, хрящ, жир, нервы), лимфому и лейкоз (варианты рака, возникающие из гематопоэтических клеток, которые покидают костный мозг и, как правило, созревают в лимфатических узлах и крови), герминогенную опухоль (варианты рака, которые происходят из плюрипотентных клеток) и бластому (варианты рака, которые происходят из незрелых клеток-"предшественников" или эмбриональной ткани). В частности, рак включает, но не ограничен указанными, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз, адренокортикальную карциному, СПИД-ассоциированные варианты рака, СПИД-ассоциированную лимфому, рак анального канала, рак аппендикса, астроцитому, детский рак мозжечка или церебральный рак, базальноклеточную карциному, рак желчных протоков, внепеченочный, рак мочевого пузыря, опухоль кости, остеосаркому/злокачественную фиброзную гистиоцитому, глиому ствола головного мозга, рак головного мозга, опухоль головного мозга (астроцитому мозжечка, церебральную астроцитому/злокачественную глиому, эпендимому, медуллобластому, супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли, глиому зрительного пути и гипоталамическую глиому), рак молочной железы, аденомы/карциномы бронхов, лимфому Беркитта, карциномную опухоль, лимфому центральной нервной системы, астроцитому мозжечка, рак шейки матки, хронический бронхит, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз, хронические миелолиферативные нарушения, рак толстой кишки, кожную Т-клеточную лимфому, десмопластическую мелкокруглоклеточную опухоль, рак эндометрия, эпендимому, рак пищевода, саркому Юинга семейства опухолей Юинга, внечерепную герминогенную опухоль, внегонадную герминогенную опухоль, внепеченочный рак желчных протоков, рак глаза (интраокулярную меланому, ретинобластому), рак желчного пузыря, гастрический рак (рак желудка), желудочно-кишечную карциномную опухоль, желудочно-кишечную стромальную опухоль (gastrointestinal stromal tumor, GIST), герминогенную опухоль (внечерепную, внегонадную или яичниковую), гестационную трофобластическую опухоль, глиому ствола головного мозга, гастрический карциноид, волосатоклеточный лейкоз, рак головы и шеи, рак сердца, гепатоклеточный рак (рак печени), ходжкинскую лимфому, гипофарингеальный рак, гипоталамическую глиому и глиому зрительных путей, интраокулярную меланому, карциному островковых клеток (эндокринной части поджелудочной железы), саркому Капоши, рак почки (почечноклеточный рак), рак гортани, лейкоз (острый лимфобластный, острый миелоидный, хронический лимфоцитарный, хронический миелогенный), рак губ и ротовой полости, липосаркому, рак печени, рак легких (немелкоклеточный, мелкоклеточный), лимфомы (СПИД- ассоциированные, Беркитта, кожную Т-клеточную, ходжкинскую, первичную центральной нервной системы), макроглобулинемию (Вальденстрема), рак молочной железы у мужчин, злокачественную фиброзную гистиоцитому кости/остеосаркому, медуллобластому, меланому, рак клеток Меркеля, мезотелиому, метастатический плоскоклеточный рак шеи с неизвестной первичной локализацией, рак рта, синдром множественной эндокринной неоплазии, множественную миелому/плазмноклеточную опухоль, грибовидный микоз, миелодиспластический синдром, миелодиспластические/миелолиферативные заболевания, миелогенный лейкоз, хронический, миелоидный лейкоз, миелому, миелолиферативные нарушения, рак носовой полости и околоносовой пазухи, носоглоточную карциному, нейробластому, олигодендроглиому, рак ротовой полости, рак ротоглотки, остеосаркому/злокачественную фиброзную гистиоцитому кости, рак яичников, эпителиальный рак яичников, герминогенную опухоль яичников, потенциальную опухоль яичников низкой степени злокачественности, рак поджелудочной железы, рак носовой полости и околоносовой пазухи, рак паращитовидных желез, рак полового члена, фарингеальный рак, феохромоцитому, астроцитому шишковидной железы, герминому шишковидной железы, пинеобластому и супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли, аденому гипофиза, плазмноклеточную опухоль/множественную миелому, плеврорлегочную бластому, лимфому первичной центральной нервной системы, рак предстательной железы, рак прямой кишки, почечноклеточную карциному, карциному почечной лоханки и мочеточника, ретинобластому, рабдомиосаркому, рак слюнных желез, саркому (семейство опухолей Юинга, Капоши, мягких тканей, матки), синдром Сезари, рак кожи (карциному, меланому, немеланомный рак, рак клеток Меркеля), мелкоклеточный рак легких, рак тонкой кишки, саркому мягких тканей, плоскоклеточную карциному, супратенториальную примитивную нейроэктодермальную опухоль, рак яичка, рак горла, тимому, тимому и карциному вилочковой железы, рак щитовидной железы, переходноклеточный рак почечной лоханки и мочеточника, трофобластическую опухоль, рак мочеиспускательного канала, рак матки (эндометриальный, саркому), рак влагалища, глиому зрительных путей и гипоталамуса, рак наружных половых органов, опухоль Вильямса (рак почки).

В настоящем изобретении термин "опухоль молочной железы" относится к аномальной гиперпролиферации клеток ткани молочной железы у субъекта, которая может являться доброкачественной (нераковой) опухолью или злокачественной (раковой) опухолью.

Доброкачественные опухоли молочной железы, предпочтительно, включают фиброаденомы, зернисто-клеточные опухоли, интрадуктальные папилломы и филлоидные опухоли. Злокачественная опухоль представляет собой рак молочной железы (РМЖ), как указано в настоящем изобретении выше.

В настоящем изобретении термин "метастатический рак молочной железы" (МРМЖ) относится к раку молочной железы, при котором раковые клетки прорастают в форме метастаза по меньшей мере в один вторичный участок, т.е. неприлегающий орган или часть тела субъекта.

В настоящем изобретении термин "опухоль яичников" относится к аномальной гиперпролиферации клеток ткани яичников у субъекта, которая может являться доброкачественной (нераковой) опухолью или злокачественной (раковой) опухолью. Злокачественная опухоль представляет собой рак яичников (РЯ), как указано в настоящем изобретении выше.

В настоящем изобретении термин "опухоль поджелудочной железы" относится к аномальной гиперпролиферации клеток ткани яичников у субъекта, которая может являться доброкачественной (нераковой) опухолью или злокачественной (раковой) опухолью. Злокачественная опухоль представляет собой рак поджелудочной железы (РПЖ), как указано в настоящем изобретении выше.

Термин "циркулирующая опухолевая клетка" или "ЦОК" является понятным специалисту в данной области техники и относится к опухолевой клетке, отсоединившейся от первичной или метастатической опухоли и циркулирующей в кровеносном русле. Следует понимать, что количество ЦОК представляет собой прогностический маркер заболевания и результата терапии рака молочной железы, например, в отношении общей выживаемости. Термин "статус ЦОК" относится к присутствию или отсутствию более чем эталонного количества ЦОК в образце. Предпочтительно эталонное количество ЦОК составляет 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7 или 7,5 ЦОК/7,5 мл крови, причем 5 ЦОК/7,5 мл крови является более предпочтительным. У субъектов, образец крови которых содержит более указанного эталонного количества ЦОК, статус ЦОК является неблагоприятным, что свидетельствует о низкой вероятности успешного лечения и низкой вероятности выживаемости без прогрессирования заболевания и общей выживаемости. И, наоборот, у субъектов, образец крови которых содержит менее указанного эталонного количества ЦОК, статус ЦОК является благоприятным, свидетельствует о высокой вероятности успешного лечения и высокой вероятности выживаемости без прогрессирования заболевания и общей выживаемости. Предпочтительно в настоящем изобретении было обнаружено, что количества микроРНК, используемые для определения статуса ЦОК субъекта, как определено в настоящем изобретении ниже, свидетельствуют о статусе ЦОК субъекта. Таким образом, определение статуса ЦОК у субъекта в настоящем изобретении относится к определению количества или количеств указанной микроРНК или указанных микроРНК и, таким образом, к получению показателя статуса ЦОК субъекта. Предпочтительно статус можно диагностировать как "благоприятный" или "неблагоприятный".

"Симптомы" заболевания представляют собой последствия заболевания, заметные в ткани, органе или организме, страдающих от указанного заболевания, и включают, но не ограничены указанными, боль, слабость, болезненность, напряжение, ригидность и спазм ткани, органа или индивидуума. "Признаки" или "сигналы" заболевания включают, но не ограничены указанными, изменение или модификацию (осуществление воздействия), такие как наличие, отсутствие, увеличение или повышение, уменьшение или снижение уровня специфичных индикаторов, таких как биомаркеры или молекулярные маркеры, или развитие, наличие или ухудшение симптомов.

Термин "индикатор" и "маркер" используются в настоящем изобретении взаимозаменяемо и означают признак или сигнал состояния либо используются для контроля над состоянием. Такое "состояние" означает биологический статус клетки, ткани или органа или статус здоровья и/или заболевания индивидуума. Индикатор может представлять собой присутствие или отсутствие молекулы, включая, но не ограничиваясь указанными, пептида, белка и нуклеиновой кислоты, или может представлять собой изменение уровня экспрессии или паттерна такой молекулы в клетке или ткани, органе или индивидууме. Индикатор может представлять собой признак манифестации, развития или наличия заболевания у индивидуума или последующего прогрессирования такого заболевания. Индикатор может представлять собой также признак риска развития заболевания у индивидуума.

В настоящем изобретении термин "продукт гена", предпочтительно, относится к макромолекулярному физическому объекту, наличие которого в клетке зависит от экспрессии указанного гена в указанной клетке. Механизмы экспрессии генов хорошо известны специалисту в данной области техники и включают основные механизмы транскрипции, т.е. образования РНК в соответствии с указанным геном или частями указанного гена, и трансляции, т.е. образования молекул полипептида, содержащих аминокислотную последовательность, кодируемую указанной РНК согласно генетическому коду; специалисту в данной области техники хорошо известно, что в экспрессию генов также могут быть вовлечены другие процессы в клетке, например процессинг РНК, редактирование РНК, протеолитический процессинг, редактирование белка и т.п. Термин "продукт гена", таким образом, включает РНК, предпочтительно мРНК, а также полипептиды, экспрессированные с указанного гена. Из вышесказанного очевидно, что термин "продукт гена" также включает фрагменты указанной или указанных РНК, предпочтительно, длиной по меньшей мере десять, по меньшей мере двенадцать, по меньшей мере 20, по меньшей мере 50 или по меньшей мере 100 нуклеотидов, и фрагменты (пептиды) указанных полипептидов, предпочти-

тельно, длиной по меньшей мере восемь, по меньшей мере десять, по меньшей мере двенадцать, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20 аминокислот.

"Определение" количества продукта гена относится к измерению количества указанного продукта гена, предпочтительно полуколичественному или количественному. Измерение можно осуществлять напрямую или опосредованно. Предпочтительно измерение проводят в обработанном образце, причем указанная обработка включает экстракцию из образца полинуклеотидов или полипептидов. Однако также настоящим изобретением предусмотрено, что продукт гена определяют *in situ*, например, методом иммуногистохимии (ИГХ).

Количества полинуклеотидов согласно настоящему изобретению можно определить несколькими способами, хорошо известными в данной области техники. Количественное определение, предпочтительно, является абсолютным, т.е. относится к конкретному количеству полинуклеотидов, или, более предпочтительно, относительным, т.е. измеряется в условных нормированных единицах. Предпочтительно нормирование проводят посредством подсчета соотношения количества конкретных полинуклеотидов и суммарного количества полинуклеотидов или эталонного продукта амплификации. Способы, обеспечивающие абсолютное или относительное количественное определение, хорошо известны в данной области техники. Например, способы количественной ПЦР представляют собой способы относительного количественного определения; если в такой анализ включена калибровочная кривая, относительное количественное определение можно использовать для получения абсолютного количественного определения. Другие известные способы представляют собой, например, амплификацию, основанную на последовательности нуклеиновых кислот (*nucleic acid sequence-based amplification*, NASBA), или метод амплификации сигнала на основе разветвленной ДНК (*Branched DNA Signal Amplification Assay*) в комбинации с обнаружением амплифицированных полинуклеотидов методом дот-блоттинга или с помощью прибора *luminox*. Предпочтительно количества полинуклеотидов представляют собой нормированные количества полинуклеотидов, т.е. полученные количества полинуклеотидов, приведенные в соотношение по меньшей мере с одним эталонным продуктом амплификации, вследствие этого, предпочтительно, количества полинуклеотидов приводят в соотношение с количеством клеток в образце и/или эффективностью амплификации полинуклеотидов. Таким образом, предпочтительно эталонный продукт амплификации представляет собой продукт, полученный из полинуклеотида, который, как известно, характеризуется постоянным изобилием в каждой клетке, т.е. полинуклеотида, который содержится в большинстве, предпочтительно, во всех клетках образца в приблизительно одинаковом количестве. Более предпочтительно эталонный продукт амплификации амплифицирован с хромосомного или митохондриального гена или с мРНК гена домашнего хозяйства. Количество полинуклеотидов можно определить посредством секвенирования методом дробовика, мостиковой ПЦР, секвенирования методом Энджера, пиросеквенирования, секвенирования нового поколения, одномолекулярного секвенирования в реальном времени, секвенирования посредством технологии *Ion Torrent*, секвенирования посредством синтеза, секвенирования посредством лигирования, массивно-параллельного опознавательного секвенирования, полони-секвенирования, секвенирования на основе ДНК-наношариков, одномолекулярного секвенирования посредством технологии *Heliscope*, одномолекулярного секвенирования в реальном времени (*single molecule real time*, SMRT), нанопорового секвенирования ДНК, секвенирования ДНК методом туннельных токов, секвенирования посредством гибридизации, секвенирования с масс-спектрометрией, микрожидкостного секвенирования Энджера, секвенирования ДНК с применением трансмиссионной электронной микроскопии, секвенирования на основе РНК-полимеразы, высокопроизводительного секвенирования на основе вирусов *in vitro*, выделения хроматина посредством очистки РНК (*Chromatin Isolation by RNA Purification*, ChIRP-Seq), глобального секвенирования прочитывания (*Global Run-on Sequencing*, GRO-Seq), секвенирования на основе профилирования рибосомы (*Ribosome Profiling Sequencing*, Ribo-Seq)/ARTseq, секвенирования на основе иммунопреципитации РНК (*RNA Immunoprecipitation Sequencing*, RIP-Seq), высокопроизводительного секвенирования библиотеки кДНК на основе CLIP (*cross-linking and immunoprecipitation*, перекрестного сшивания и иммунопреципитации) (*High-Throughput Sequencing of CLIP cDNA library*, HITS-CLIP), секвенирования на основе перекрестного сшивания и иммунопреципитации, перекрестного сшивания и иммунопреципитации с использованием фотоактивируемого рибонуклеозида (*Photoactivatable Ribonucleoside-Enhanced Crosslinking and Immunoprecipitation*, PAR-CLIP), CLIP с разрешением до одного нуклеотида (*Individual Nucleotide Resolution CLIP*, iCLIP), секвенирования нативного элонгирующегося транскрипта (*Native Elongating Transcript Sequencing*, NET-Seq), нацеленной очистки полисомальной мРНК (*Targeted Purification of Polysomal mRNA*, TRAP-Seq), перекрестного сшивания, лигирования и секвенирования гибридов (*Crosslinking, Ligation, and Sequencing of Hybrids*, CLASH-Seq), секвенирования на основе параллельного анализа концов РНК (*Parallel Analysis of RNA Ends Sequencing*, PARE-Seq), полногеномного картирования неэкспонированных транскриптов (*Genome-Wide Mapping of Uncapped Transcripts*, GMUCT), секвенирования изоформ транскриптов (*Transcript Isoform Sequencing*, TIF-Seq), анализа спаренных концов TSS (*Paired-End Analysis of TSSs*, PEAT), селективного 2'-гидроксилацилирования, анализируемого методом секвенирования с удлинением праймера (*Selective 2'-Hydroxyl Acylation Analyzed by Primer Extension Sequencing*, SHAPE-Seq), параллельного анализа структуры РНК (*Parallel Analysis of RNA Structure*, PARS-Seq), фрагментационно-

го секвенирования (Fragmentation Sequencing, FRAG-Seq), секвенирования на основе аффинной очистки CXXC (CXXC Affinity Purification Sequencing, CAP-Seq), секвенирования с применением щелочной фосфатазы кишечника теленка - кислой пирофосфатаза табака (Alkaline Phosphatase Calf Intestine-Tobacco Acid Pyrophosphatase Sequencing, CIP-TAP), секвенирования на основе химического разрушения с инозином (Inosine Chemical Erasing Sequencing, ICE), секвенирования на основе иммунопреципитации m6A-специфичной метилированной РНК (m6A-Specific Methylated RNA Immunoprecipitation Sequencing, MeRIP-Seq), цифрового секвенирования РНК, амплификации полного транскрипта для отдельных клеток (Quartz-Seq), секвенирования РНК на основе разработанных праймеров (Designed Primer-Based RNA Sequencing, DP-Seq), на основе переключающего механизма на 5'-конце матриц РНК (Switch Mechanism at the 5' End of RNA Templates, Smart-Seq), на основе переключающего механизма на 5'-конце матриц РНК, версия 2 (Smart-Seq2), на основе уникальных молекулярных идентификаторов (Unique Molecular Identifiers, UMI), методом экспрессии клеток посредством линейного секвенирования амплификации (Cell Expression by Linear Amplification Sequencing, CEL-Seq), секвенирования меченных отдельных клеток на основе обратной транскрипции (Single-Cell Tagged Reverse Transcription Sequencing, STRT-Seq), метода на основе одномолекулярных инвертируемых молекулярных зондов (Single-Molecule Molecular Inversion Probes, smMIP), амплификации с множественным вытеснением цепи (Multiple Displacement Amplification, MDA), циклов амплификации на основе множественного отжига и образования петель (Multiple Annealing and Looping-Based Amplification Cycles, MALBAC), олигонуклеотид-селективного секвенирования (Oligonucleotide-Selective Sequencing, OS-Seq), дуплексного секвенирования (Duplex Sequencing, Duplex-Seq), бисульфитного секвенирования (Bisulfite Sequencing, BS-Seq), постбисульфитного адаптерного метчения (Post-Bisulfite Adapter Tagging, PBAT), полногеномного бисульфитного секвенирования на основе тагментации (Tagmentation-Based Whole Genome Bisulfite Sequencing, T-WGBS), окислительного бисульфитного секвенирования (Oxidative Bisulfite Sequencing, oxBS-Seq), TET-опосредованного бисульфитного секвенирования (Tet-Assisted Bisulfite Sequencing, TAB-Seq), секвенирования на основе иммунопреципитации метилированной ДНК (Methylated DNA Immunoprecipitation Sequencing, MeDIP-Seq), секвенирования на основе фиксации метилирования (Methylation-Capture Sequencing, MethylCap), секвенирования на основе фиксации метил-связывающего домена (Methyl-Binding-Domain-Capture Sequencing, MBD-Cap), бисульфитного секвенирования при сниженном представителе (Sequencing, Reduced-Representation Bisulfite Sequencing, RRBS-Seq)), секвенирования сайтов, гиперчувствительных к ДНКазе I (DNase I Hypersensitive Sites Sequencing, DNase-Seq), опосредованного микрококковой нуклеазой секвенирования с выделением нуклеосом (MNase-Assisted Isolation of Nucleosomes Sequencing, MAINE-Seq), секвенирования на основе иммунопреципитации хроматина (Chromatin Immunoprecipitation Sequencing, ChIP-Seq), опосредованного формальдегидом выделения регуляторных элементов (Formaldehyde-Assisted Isolation of Regulatory Element, FAIRE-Seq), анализа для секвенирования открытого для транспозазы хроматина (Assay for Transposase-Accessible Chromatin Sequencing, ATAC-Seq), анализа взаимодействия хроматина посредством секвенирования спаренных концов (Chromatin Interaction Analysis by Paired-End Tag Sequencing, ChIA-PET), фиксации конформации хроматина (Chromatin Conformation Capture, Hi-C/3C-Seq), фиксации конформации циркулярного хроматина (Circular Chromatin Conformation Capture 4-C или 4C-Seq), углеродной копии фиксации конформации хроматина (Chromatin Conformation Capture Carbon Copy, 5-C), секвенирования фиксации ретротранспозонов (Retrotransposon Capture Sequencing, RC-Seq), транспозонового секвенирования (Transposon Sequencing, Tn-Seq) или инсерционного секвенирования (Insertion Sequencing, INSeq), секвенирования фиксации транслокаций (Translocation-Capture Sequencing, TC-Seq), посредством способов на основе флуоресценции (таких как микроматрицы, ПЦР в реальном времени), способов на основе массы (масс-спектрометрия), способов на основе рестрикционных ферментов, способов на основе иммунопреципитации с антителами и цифровой ПЦР.

Количество пептидов или полипептидов согласно настоящему изобретению можно определить различными способами. Прямое измерение относится к измерению количества пептида или полипептида на основе сигнала, который получают от пептида или полипептида самого по себе и интенсивность которого напрямую коррелирует с количеством молекул пептида, присутствующих в образце. Такой сигнал - иногда называемый сигналом интенсивности - можно получить, например, посредством измерения величины интенсивности конкретного физического или химического свойства пептида или полипептида. Опосредованное измерение включает измерение сигнала, полученного от вторичного компонента (т.е. компонента, который не является пептидом или полипептидом самим по себе) или биологической системы считывания, например, измеряемых ответов клеток, лигандов, меток или продуктов ферментативных реакции.

Определение количества пептида или полипептида можно проводить всеми известными способами определения количества пептида в образце. Указанные способы включают устройства и способы иммуноанализа и/или иммуногистохимии, в которых могут применяться меченные молекулы в различных форматах анализа "сэндвич"-формате, конкурентном формате или других. В указанных анализах будет развиваться сигнал, свидетельствующий о присутствии или отсутствии пептида или полипептида. Более того, сила сигнала может, предпочтительно, коррелировать напрямую или опосредованно (например, обратно пропорционально) с количеством полипептида, который присутствует в образце. Следующие

подходящие способы включают измерение физического или химического свойства, специфичного для пептида или полипептида, такого как точная молекулярная масса или ЯМР-спектр (спектр ядерного магнитного резонанса) пептида или полипептида. Указанные способы включают, предпочтительно, биосенсоры, оптические устройства, объединенные с иммуноанализами, биочипы, аналитические устройства, такие как масс-спектрометры, ЯМР-анализаторы или устройства для хроматографии. Также указанные способы включают способы на основе микропланшетного анализа ELISA, полностью автоматизированные или роботизированные иммуноанализы, анализы связывания кобальта и анализы латекс-агглютинации.

Определение количества пептида или полипептида включает этап измерения специфичного сигнала интенсивности, получаемого от пептида или полипептида в образце. Как описано выше, такой сигнал может представлять собой сигнал интенсивности, наблюдаемый при переменной  $m/z$  (масса/заряд), специфичной для пептида или полипептида, наблюдаемого в масс-спектре или ЯМР-спектре, который специфичен пептиду или полипептиду.

Определение количества пептида или полипептида может, предпочтительно, включать следующие этапы: (a) осуществление контакта пептида со специфичным лигандом, (b) (необязательно) удаление несвязавшегося лиганда, (c) измерение количества связанного лиганда. Связанный лиганд будет образовывать сигнал интенсивности. Связывание согласно настоящему изобретению включает как ковалентное, так и нековалентное связывание. Лиганд согласно настоящему изобретению может представлять собой любое соединение, например, пептид, полипептид, нуклеиновую кислоту или малую молекулу, связывающуюся с пептидом или полипептидом, описанными в настоящей заявке. Предпочтительные лиганды включают антитела, нуклеиновые кислоты, пептиды или полипептиды, такие как рецепторы или партнеры связывания для пептида или полипептида или фрагменты указанных молекул, включающие домены связывания для пептидов, и аптамеры, например, аптамеры нуклеиновой кислоты или пептида. Способы получения таких лигандов хорошо известны в данной области техники. Например, обнаружение и получение подходящих антител или аптамеров также предложено коммерческими поставщиками. Специалисту в данной области техники известны способы разработки производных таких лигандов с большей аффинностью или специфичностью. Например, в нуклеиновые кислоты, пептиды или полипептиды можно ввести случайные мутации. Термин "антитело" в настоящей заявке означает секретируемые иммуноглобулины, в которых отсутствует трансмембранная область и которые могут, таким образом, высвободиться в кровоток и полости организма. Антитела, как правило, образованы четырьмя полипептидными цепями, которые содержат две идентичные тяжелые цепи и две идентичные легкие цепи, которые соединены посредством дисульфидных связей и напоминают макромолекулу "Y"-формы. В результате расщепления антител папаином образуются два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, называемые "Fab-фрагментами" (также называемые "Fab-частью" или "Fab-областью"), каждый с одним антигенсвязывающим сайтом, и оставшийся "Fc-фрагмент" (также называемый "Fc-частью" или "Fc-областью"), название которого отражает его способность легко кристаллизоваться. Кристаллическая структура Fc-области IgG человека была определена (Deisenhofer (1981) *Biochemistry* 20:2361-2370). В изотипах IgG, IgA и IgD Fc-область состоит из двух идентичных фрагментов белка, которые происходят из доменов CH2 и CH3 двух тяжелых цепей антитела; в изотипах IgM и IgE Fc-области содержат три константных домена тяжелых цепей (CH2-4) в каждой полипептидной цепи. Кроме того, более маленькие молекулы иммуноглобулинов существуют в природе или были сконструированы искусственным способом. Термин "Fab'-фрагмент" означает Fab-фрагмент, дополнительно содержащий шарнирную область молекулы Ig, тогда как "F(a')<sub>2</sub>-фрагменты" содержат два Fab'-фрагмента, объединенные химическим способом или соединенные посредством дисульфидной связи. В то время как "однодоменные антитела (single domain antibodies, sdAb)" (Desmyter et al. (1996) *Nat. Structure Biol.* 3:803-811) и "нанотела" содержат исключительно один домен VH, "одноцепочечные Fv (single chain Fv, scFv)"-фрагменты содержат переменный домен тяжелой цепи, присоединенный посредством короткого линкерного пептида к переменному домену легкой цепи (Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 5879-5883). Двухвалентные одноцепочечные переменные фрагменты (divalent single-chain variable fragments, di-scFv) можно сконструировать посредством соединения двух scFv (scFvA-scFvB). Данный подход можно осуществить посредством получения одной пептидной цепи с двумя областями VH и двумя областями VL, получая "тандемные scFvs" (VHA-VLA-VHB-VLB). Другая возможность представляет собой создание scFv с линкерами, которые являются слишком короткими, чтобы удерживать вместе две переменные области, что вызывает димеризацию scFv. Для получения данных димеров обычно используют линкеры длиной 5 остатков. Данный тип известен как "диатела". Еще более короткие линкеры (из одной или двух аминокислот) между доменами VH и VL приводят к образованию моноспецифичных тримеров, так называемых "триател". Биспецифичные диатела образуются в результате экспрессии двух цепей с компоновкой VHA-VLB и VHB-VLA или VLA-VHB и VLB-VHA соответственно. Одноцепочечные диатела (single-chain diabodies, scDb) содержат фрагменты VHA-VLB и VHB-VLA, которые соединены линкерным пептидом (P), состоящим из 12-20 аминокислот, предпочтительно 14 аминокислот (VHA-VLB-P-VHB-VLA). "Биспецифичные активаторы Т-клеток (Bi-specific T-cell engagers, BiTE)" представляют собой слитые белки, состоящие из двух различных антител scFv, в которых один из scFv соединяется с Т-клетками посредством

рецептора CD3, а второй - с опухолевой клеткой посредством опухоль-специфичной молекулы (Kufner et al. (2004) Trends Biotechnol. 22:238-244). Переориентирующиеся молекулы с двойной аффинностью (dual affinity retargeting molecules, "DART") представляют собой диатела, дополнительно стабилизированные посредством С-концевого дисульфидного мостика. Настоящее изобретение также включает одноцепочечные антитела и гуманизированные гибридные антитела, в которых аминокислотные последовательности донорного антитела, отличного от антитела человека, демонстрирующего желаемую антигенную специфичность, объединены с последовательностями акцепторного антитела человека.

Донорные последовательности обычно содержат по меньшей мере антигенсвязывающие аминокислотные остатки донора, но могут также содержать другие значимые со структурной и/или функциональной точки зрения аминокислотные остатки донорного антитела. Такие гибриды можно получить посредством нескольких способов, хорошо известных в данной области техники. Предпочтительно лиганд или средство специфично связывается с пептидом или полипептидом. Специфичное связывание согласно настоящему изобретению означает, что лиганд или средство не должны по существу связываться ("перекрестно реагировать") с другим пептидом, полипептидом или веществом, присутствующим в образце, анализ которого проводят. Предпочтительно специфично связывающийся пептид или полипептид должен связываться с аффинностью, по меньшей мере в 3 раза большей, более предпочтительно по меньшей мере в 10 раз большей и еще более предпочтительно по меньшей мере в 50 раз большей, чем любой другой соответствующий пептид или полипептид. Неспецифичное связывание может являться допустимым, если его можно разграничить и однозначно измерять, например, на основании размера методом вестерн-блоттинга, или на основании относительно большего изобилия в образце. Связывание лиганда можно измерять любым способом, известным в данной области техники. Предпочтительно указанный способ представляет собой полуколичественный или количественный способ. Подходящие способы описаны далее по тексту.

Во-первых, связывание лиганда можно измерять напрямую, например, методом ЯМР или поверхностного плазмонного резонанса. Во-вторых, если лиганд также выступает в качестве субстрата ферментативной активности пептида или полипептида, представляющего интерес, можно измерять продукт ферментативной реакции (например, количество протеазы можно измерять посредством измерения количества расщепленного субстрата, например, методом вестерн-блоттинга). В качестве альтернативы, лиганд может демонстрировать ферментативные свойства сам по себе, и комплекс "лиганд/пептид или полипептид" или лиганд, который был связан пептидом или полипептидом, соответственно, могут контактировать с подходящим субстратом, что позволит провести обнаружение посредством образования сигнала интенсивности. Для измерения продуктов ферментативной реакции, предпочтительно, количество субстрата является насыщающим. Субстрат перед реакцией можно также пометить обнаруживаемой меткой. Предпочтительно контакт образца с субстратом осуществляют в течение достаточного периода времени. Достаточный период времени означает время, необходимое для образования обнаруживаемого, предпочтительно, поддающегося измерению, количества продукта. Вместо измерения количества продукта можно измерять время, необходимое для возникновения данного (например, обнаруживаемого) количества продукта. В-третьих, лиганд можно ковалентным или нековалентным способом присоединить к метке, позволяющей осуществлять обнаружение и измерение лиганда. Мечение можно осуществить посредством прямого или опосредованного способов. Прямое мечение включает присоединение метки к лиганду напрямую (ковалентным или нековалентным способом). Опосредованное мечение включает связывание (ковалентным или нековалентным способом) вторичного лиганда с первым лигандом. Вторичный лиганд должен специфично связываться с первым лигандом. Указанный вторичный лиганд может быть соединен с подходящей меткой и/или может представлять собой мишень (рецептор) третичного лиганда, связывающегося с вторичным лигандом. Применение вторичного, третичного лиганда или лигандов более высоких порядков часто используют для увеличения интенсивности сигнала. Подходящие вторичные лиганды и лиганды более высоких порядков могут включать антитела, вторичные антитела и хорошо известную систему стрептавидина-биотина (Vector Laboratories, Inc.). Лиганд или субстрат могут также "быть мечеными "тагами" (tags) с использованием одного или нескольких "тагов", известных в данной области техники. Такие "таги" могут представлять собой мишени для лигандов более высокого порядка. Подходящие "таги" включают биотин, дигоксигенин, His-Tag, глутатион-S-трансферазу, FLAG, GFP, мус-tag, геамгглютинин вируса гриппа А (HA), мальтоза-связывающий белок и т.п. В случае пептида или полипептида "таг", предпочтительно, расположен на N-конце и/или С-конце. Подходящие метки представляют собой любые метки, обнаруживаемые подходящим способом обнаружения. Типичные метки включают частицы золота, латексные бусины, акридиновый сложный эфир, люминол, рутений, ферментативно активные метки, радиоактивные метки, магнитные метки (например, "магнитные бусины", включая парамагнитные и суперпарамагнитные метки), и флуоресцентные метки. Ферментативно активные метки включают, например, пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу, бета-галактозидазу, люциферазу и производные указанных меток. Подходящие субстраты для обнаружения включают диаминобензидин (DAB), 3,3'-5,5'-тетраметилбензидин, NBT-BCIP (хлорид 4-нитроголубого тетразолия и 5-бром-4-хлор-3-индолилфосфат), CDP-Star™ (Amersham Biosciences), ECF™ (Amersham Biosciences). Подходящая комбинация фермент-субстрат может привести к образованию цветного про-

дукта реакции, флуоресценции или хемлюминесценции, что можно измерять согласно способам, известным в данной области техники (например, с применением светочувствительной пленки или подходящей системы фотоаппаратов). Что касается измерения ферментативной реакции, можно аналогично применять критерии, приведенные выше. Типичные флуоресцентные метки включают флуоресцентные белки (такие как GFP и его производные),  $Cu_3$ ,  $Cu_5$ , техасский красный, флуоресцеин и красители Alexa (например, Alexa 568). Больше флуоресцентных меток доступны, например, от компании Molecular Probes (Oregon). Также предусмотрено применение в качестве флуоресцентных меток квантовых точек. Типичные радиоактивные метки включают  $^{35}S$ ,  $^{125}I$ ,  $^{32}P$ ,  $^{33}P$  и т.п. Радиоактивную метку можно обнаружить любым известным и подходящим способом, например, с применением светочувствительной пленки или люминесцентного устройства для формирования изображения. Подходящие способы измерения согласно настоящему изобретению также включают преципитацию (в особенности, иммунопреципитацию), электрохемлюминесценцию (электрогенерированную хемлюминесценцию), РИА (радиоиммуноанализ), ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay, твердофазный иммуноферментный анализ), ферментные иммунные тесты в "сэндвич"-формате, электрохемлюминесцентные иммуноанализы в "сэндвич"-формате (electrochemiluminescence sandwich immunoassays, ECLIA), усиленный диссоциацией лантанидный флуоресцентный иммуноанализ (dissociation-enhanced lanthanide fluoro immuno assay, DELFIA), сцинтилляционный анализ сближения (scintillation proximity assay, SPA), турбидиметрию, нефелометрию, усиленную латексом турбидиметрию или нефелометрию или твердофазные иммунные тесты, например матрицы белков с обращенной фазой или матрицы антител. Дополнительные способы, известные в данной области техники (такие как гель-электрофорез, 2D гель-электрофорез, электрофорез в полиакриламидном геле с ДСН (ДСН-ПААГ), вестерн-блоттинг и масс-спектрометрия), можно использовать в отдельности или в сочетании с мечением или другими способами обнаружения, описанными выше.

Количество пептида или полипептида можно также определить следующим способом: (a) посредством осуществления контакта твердой подложки, содержащей лиганд пептида или полипептида, как указано выше, с образцом, содержащим пептид или полипептид, и (b) измерения количества пептида или полипептида, присоединившегося к подложке. Лиганд, который, предпочтительно, выбран из группы, состоящей из: нуклеиновых кислот, пептидов, полипептидов, антител и аптамеров, предпочтительно, присутствует на твердой подложке в иммобилизованной форме. Материалы для производства твердых подложек хорошо известны в данной области техники и включают, среди прочего, коммерчески доступные материалы колонок, бусины полистирола, латексные бусины, магнитные бусины, коллоидные частицы металлов, стеклянные и/или кремниевые чипы и поверхности, полоски, мембраны, слои нитроцеллюлозы, дурациты, лунки и стенки реакционных планшетов, пластиковые пробирки и т.д. Лиганд или средство могут быть присоединены к множеству различных носителей. Примеры хорошо известных носителей включают стекло, полистирол, поливинилхлорид, полипропилен, полиэтилен, поликарбонат, декстран, нейлон, амилозу, природные и модифицированные целлюлозы, полиакриламиды, агарозы и магнетит. Для целей, предусмотренных настоящим изобретением, носители могут являться либо растворимыми, либо нерастворимыми. Подходящие способы фиксации/иммобилизации указанного лиганда хорошо известны и включают, но не ограничены указанными, ионные, гидрофобные, ковалентные взаимодействия и т.п. Также предусмотрено применение "суспензионных матриц" в качестве матриц согласно настоящему изобретению (Nolan 2002, Trends Biotechnol. 20(1):9-12). В таких суспензионных матрицах носитель, например, микробусина или микросфера, присутствует в суспензии. Матрица состоит из различных микробусин или микросфер, по возможности, меченных, несущих различные лиганды. Способы получения таких матриц, например, на основе твердофазной химии и фотолabileльных защитных групп, как правило, известны (патент США 5744305).

В настоящей заявке термин "СрG-сайт" относится к динуклеотидной последовательности 5'-CG-3', содержащейся в полинуклеотиде, предпочтительно содержащейся в ДНК, более предпочтительно содержащейся в геномной ДНК субъекта. СрG-сайты, анализ которых проводят согласно настоящему изобретению, представляют собой СрG-сайты, расположенные в области интрона, экзона или промотора гена, представляющего интерес. В случае если СрG-сайты расположены в области промотора, указанная область расположена предпочтительно на 3000 нуклеотидов, 2500 нуклеотидов, 2100 нуклеотидов или 1750 нуклеотидов выше от сайта начала трансляции соответствующего гена, представляющего интерес. Более предпочтительно, СрG-сайты, анализ которых проводят согласно настоящему изобретению, представляют собой СрG-сайты, расположенные в области на 1750-3000 нуклеотидов, 2100-3000 нуклеотидов или 2500-3000 нуклеотидов выше от сайта начала трансляции соответствующего гена.

Таким образом, анализ СрG-сайта на соответствие с СрG-сайтом согласно настоящему изобретению также включен в настоящее изобретение. Специалисту известно, как определить СрG-сайты в образце в соответствии с СрG-сайтами, подробно описанными в настоящей заявке выше, например, посредством определения сайта начала трансляции гена, представляющего интерес, и/или посредством выравнивания указанных последовательностей из образца с последовательностью гена, представляющего интерес. К тому же в настоящем изобретении также предусмотрено, что помимо определения статуса метилирования СрG-сайта согласно настоящему изобретению определяют статус метилирования других СрG-

сайтов.

Термин "определение статуса метилирования" относится к определению того, присутствует ли метильная группа в 5 положении пиримидинового кольца цитозина в полинуклеотиде. Предпочтительно за остатком цитозина в 3'-направлении следует остаток гуанозина, и данные два остатка образуют CpG-сайт. Присутствие указанной метальной группы можно определить посредством различных способов, хорошо известных специалисту, включая, например, ПЦП, специфичную к метилированию (methylation-specific PCR, MSP), полногеномное бисульфитное секвенирование или другие способы на основе секвенирования (бисульфитное секвенирование (Bisulfite Sequencing, BS-Seq), постбисульфитное адаптерное мечение (Post-Bisulfite Adapter Tagging, PBAT), полногеномное бисульфитное секвенирование на основе тагментации (Tagmentation-Based Whole Genome Bisulfite Sequencing, T-WGBS), окислительное бисульфитное секвенирование (Oxidative Bisulfite Sequencing, oxBS-Seq), TET-опосредованное бисульфитное секвенирование (Tet-Assisted Bisulfite Sequencing, TAB-Seq), секвенирование на основе иммунопреципитации метилированной ДНК (Methylated DNA Immunoprecipitation Sequencing, MeDIP-Seq), секвенирование на основе фиксации метилирования (Methylation-Capture Sequencing, MethylCap), секвенирование на основе фиксации метил-связывающего домена (Methyl-Binding-Domain-Capture Sequencing, MBD-Seq), бисульфитное секвенирование при сниженном представительстве (Sequencing, Reduced-Representation Bisulfite Sequencing, RRBS-Seq)), способы на основе ПЦП в реальном времени и бисульфитной обработки ДНК, например Methylight, рестрикцию чувствительным к метилированию рестрикционным ферментом, например анализ на основе обогащения минимального фрагмента HpaII посредством опосредованной лигированием ПЦП (HpaII tiny fragment enrichment by ligation-mediated PCR, HELP), пиросеквенирование обработанной бисульфитом ДНК или тому подобные подходы, амплификацию взаимнометилированных сайтов; BS-seq, конверсию с бисульфитом с последующей фиксацией и секвенированием; BiMP, bisulphite methylation profiling, бисульфитное профилирование метилирования; BS, bisulphite sequencing, бисульфитное секвенирование; BSPP, bisulphite padlock probes, бисульфитные замыкающие кольцо зонды; CHARM, comprehensive high-throughput arrays for relative methylation, полные высокопроизводительные матрицы для относительного метилирования; COBRA, combined bisulphite restriction analysis, объединенный анализ бисульфитной рестрикции; DMH, differential methylation hybridization, дифференциальную по метилированию гибридизацию; HELP, HpaII tiny fragment enrichment by ligation-mediated PCR, анализ на основе обогащения минимального фрагмента HpaII посредством опосредованной лигированием ПЦП; MCA, methylated CpG island amplification, амплификацию метилированных CpG-островков; MCAM, MCA with microarray hybridization, MCA с микроматричной гибридизацией; MeDIP, mDIP и mCIP, methylated DNA immunoprecipitation, иммунопреципитацию метилированной ДНК; MIRA, methylated CpG island recovery assay, анализ восстановления метилированных CpG-островков; Mmass, microarray-based methylation assessment of single samples, оценку метилирования отдельных образцов на основе микроматриц; MS-AP-PCR, methylation-sensitive arbitrarily primed PCR, чувствительную к метилированию ПЦП с произвольными праймерами; MSCC, methylation-sensitive cut counting, подсчет чувствительных к метилированию разрезов; MSP, methylation-specific PCR, ПЦП, специфичную к метилированию; MS-SNuPE, methylation-sensitive single nucleotide primer extension, чувствительное к метилированию наращивание однонуклеотидными праймерами; NGS, next-generation sequencing, секвенирование следующего поколения; RLGS, restriction landmark genome scanning, рестрикционно-ориентированное сканирование генома; RRBS, reduced representation bisulphite sequencing, бисульфитное секвенирование при сниженном представительстве; -seq, последующее секвенирование; WGSBS, whole-genome shotgun bisulphite sequencing, полногеномное бисульфитное секвенирование методом дробовика. (Manel Esteller, Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps, Nature, 2007, 8:286-298; Peter W. Laird, Principles and challenges of genome-wide DNA methylation analysis. Nature Review Genetics, 2010, 11: 191-203). Предпочтительно статус метилирования определяют способами, описанными в примерах настоящей заявки ниже, например, с помощью анализа метилирования на основе секвенирования Infinium 27K или способом на основе масс-спектрометрии MALDI-TOF. В связи с этим, статус метилирования конкретного остатка цитозина в конкретной молекуле полинуклеотида может быть только "неметилированным" (что означает 0% метилирования) или "метилированным" (что означает 100% метилирования). В случае CpG-сайта в двухцепочечной молекуле ДНК, которая содержит два остатка цитозина, статус метилирования может быть "неметилированным" (что означает 0% метилирования, т.е. ни один из двух остатков цитозина не метилирован), "полуметилированным" (что означает 50% метилирования, т.е. один из двух остатков цитозина метилирован) или "метилированным" или "полностью метилированным" (что означает 100% метилирования, т.е. оба остатка цитозина метилированы). Однако, как понимает специалист в данной области техники, если получают полинуклеотиды из множества клеток и определяют статус метилирования конкретного остатка цитозина в указанном множестве полинуклеотидов, определяют средний статус метилирования, который может, например, предпочтительно, выражаться в виде процента (% метилирования) и который может принимать любое значение от 0 до 100%. Также, как понимает специалист, статус метилирования можно выразить в виде процента в случае, если определяют среднее метилирование различных популяций клеток. Например, клетки крови согласно изобретению представляют собой смесь различных типов клеток. Возможно, что определенные типы клеток характеризуются боль-

шими уровнями метилирования, тогда как другие типы клеток характеризуются меньшими уровнями метилирования, и, наконец, достигают среднего метилирования, составляющего, например, 50%.

В настоящем изобретении термин "детектирующее средство" относится к средству, которое специфично взаимодействует с геном, представляющим интерес, и посредством этого распознает уровень экспрессии гена, представляющего интерес, статус метилирования гена, представляющего интерес, или присутствие или количество микроРНК согласно настоящему изобретению. Предпочтительно указанное детектирующее средство представляет собой белок, полипептид, пептид, полинуклеотид или олигонуклеотид. Предпочтительно детектирующее средство является меченым способом, позволяющим проводить обнаружение указанного детектирующего средства соответствующими способами. Мечение можно осуществить посредством различных методик, хорошо известных в данной области техники и зависящих от используемой метки. Предпочтительные используемые метки представляют собой флуоресцентные метки, включая, среди прочего, флуорохромы, такие как флуоресцеин, родамин или тexasский красный. Однако метка может также представлять собой фермент или антитело. Предполагается, что фермент, используемый в качестве метки, будет образовывать обнаруживаемый сигнал посредством вступления в реакцию с субстратом. Подходящие ферменты, субстраты и методики хорошо известны в данной области техники. Детектирующее средство, используемое в качестве метки, может специфично распознавать молекулу-мишень, которую можно обнаружить напрямую (например, молекулу-мишень, которая является флуоресцентной сама по себе) или опосредованно (например, молекулу-мишень, которая образует обнаруживаемый сигнал, такую как фермент). Меченные детектирующие средства образца будут осуществлять контакт с образцом, чтобы обеспечить специфичное взаимодействие. Может быть необходима промывка, чтобы удалить неспецифично связанное детектирующее средство, которое в противном случае приведет к получению ложных значений. После завершения данного этапа взаимодействия исследователь поместит устройство для обнаружения в считывающее устройство или сканер. Устройство для обнаружения флуоресцентных меток, предпочтительно, состоит из нескольких лазеров, предпочтительно, специального микроскопа и фотокамеры. Флуоресцентные метки будут возбуждаться лазером, и микроскоп и фотокамера будут согласованно работать для создания цифрового изображения образца. Затем эти данные можно хранить на компьютере, и можно использовать специальную программу, например, для вычитания данных фона. Итоговые данные, предпочтительно, нормируют и при необходимости преобразовывают в числовой формат или формат широко распространенных единиц. Данные будут анализировать, чтобы сравнить образцы с эталонами и обнаружить значительные изменения.

"Сравнение" в настоящем изобретении включает сравнение присутствия, отсутствия или количества индикатора, указанного в настоящей заявке, содержащегося в образце, анализ которого проводят, с присутствием, отсутствием или количеством указанного индикатора в подходящем эталонном образце. Следует понимать, что сравнение в настоящем изобретении означает сравнение соответствующих параметров или значений, например абсолютного количества индикатора, указанного в настоящем изобретении, по сравнению с абсолютным эталонным количеством указанного индикатора; концентрации индикатора по сравнению с эталонной концентрацией указанного индикатора; сигнала интенсивности, полученного от индикатора, указанного в настоящем изобретении, в образце по сравнению с сигналом интенсивности указанного индикатора того же типа в эталонном образце. Указанное сравнение можно проводить вручную или компьютеризированным способом. Для сравнения компьютеризированным способом значение определенного количества можно сравнить со значениями в соответствии с подходящими эталонами, которые хранятся в базе данных компьютерной программы. Затем компьютерная программа может оценить результат сравнения посредством экспертной системы. Соответственно, результат обнаружения, указанного в настоящем изобретении, может быть автоматически предоставлен в подходящем выходном формате.

Термины "образец" или "образец, представляющий интерес", используются в настоящем изобретении взаимозаменяемо и означают часть или фрагмент ткани, органа или индивидуума, которые, как правило, являются меньшими, чем такая ткань, орган или индивидуум, и предназначены для представления целой ткани, органа или индивидуума. После проведения анализа образец обеспечивает информацию относительно статуса ткани или статуса здоровья или заболевания органа или индивидуума. Примеры образцов включают, но не ограничены указанными, жидкие образцы, такие как кровь, сыворотка, плазма, синовиальная жидкость, моча, слюна, лимфатическая жидкость, слезная жидкость и жидкость, получаемая из желез, таких как, например, молочная железа или предстательная железа, или образцы ткани, такие как, например, экстракты ткани, полученные из ткани опухоли или ткани, прилегающей к опухоли. Следующие примеры образцов представляют собой культуры клеток или культуры тканей, такие как, но не ограничиваясь указанными, культуры различных раковых клеток.

Образцы можно получить посредством хорошо известных методик; данные образцы включают, предпочтительно, соскобы, мазки или биопсии пищеварительного тракта, печени, поджелудочной железы, заднепроходного канала, ротовой полости, верхних воздухоносных путей и эпидермиса. Такие образцы можно получить посредством применения щеточек, (хлопковых) тампонов, лопаточки, жидкостей после промывки/сбрызгивания, устройства для штанцевой биопсии, пункции полостей иглами или хирургическими инструментами. Образцы ткани или органа можно получить из любой ткани или органа

посредством, например, биопсии или других хирургических процедур. Более предпочтительно образцы представляют собой образцы жидкостей организма, например, предпочтительно, крови, плазмы, сыворотки, мочи, слюны, слезной жидкости и жидкостей, получаемых из молочной железы, например молока. Наиболее предпочтительно образец жидкости организма содержит клетки субъекта. Выделенные клетки можно получить из жидкостей организма или тканей или органов посредством методик выделения, таких как фильтрация, центрифугирование или сортировка клеток. Предпочтительно образцы получают из тех жидкостей организма, которые описаны в настоящей заявке ниже. Более предпочтительно клетки выделяют из указанных жидкостей организма, как описано в настоящем изобретении ниже.

Анализ образца можно проводить визуальным или химическим способом. Визуальный анализ включает, но не ограничен указанными, микроскопическую визуализацию или радиографическое сканирование ткани, органа или индивидуума, позволяющие проводить морфологическую оценку образца. Химический анализ включает, но не ограничен указанными, обнаружение наличия или отсутствия специфических индикаторов или изменений количества или уровня специфических индикаторов.

Термин "эталонный образец" в настоящем изобретении означает образец, который анализируют, по существу, идентичным способом, как и образец, представляющий интерес, и информацию о котором сравнивают с таковой образца, представляющего интерес. Соответственно, эталонный образец обеспечивает стандарт, позволяющий оценивать информацию, полученную из образца, представляющего интерес. Эталонный образец может быть получен из здоровой или нормальной ткани, органа или индивидуума, посредством этого обеспечивая стандарт здорового статуса ткани, органа или индивидуума. Различия между статусом нормального эталонного образца и статусом образца, представляющего интерес, могут свидетельствовать о риске развития заболевания или о присутствии или дальнейшем прогрессировании такого заболевания или нарушения. Эталонный образец может быть получен из аномальной или подверженной болезни ткани, органа или индивидуума, посредством этого обеспечивая стандарт больного статуса ткани, органа или индивидуума. Различия между статусом аномального эталонного образца и статусом образца, представляющего интерес, могут свидетельствовать о меньшем риске развития заболевания или об отсутствии или улучшении такого заболевания или нарушения. Эталонный образец может быть также получен из той же ткани, органа или индивидуума, что и образец, представляющий интерес, но быть отобраным в более раннюю временную точку. Различия между статусом ранее отобранного эталонного образца и статусом образца, представляющего интерес, могут свидетельствовать о прогрессировании заболевания, т.е. улучшении или ухудшении заболевания в течение времени. Эталонный образец был отобран в более раннюю или позднюю временную точку в случае, если между забором эталонного образца и забором образца, представляющего интерес, прошел некоторый период времени. Такой период времени может представлять собой годы (например, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100 лет), месяцы (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 месяцев), недели (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 недель), дни (например, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500 дней), часы (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 ч), минуты (например, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60 мин) или секунды (например, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60 с).

Эталонный образец можно "обрабатывать отличным способом" или "подвергать отличному воздействию", чем образец, представляющий интерес, в случае, если оба образца обрабатывают, по существу, идентичным способом, за исключением одного фактора. Такой один фактор включает, но не ограничен указанными, время воздействия, концентрацию воздействия или температуру воздействия определенного вещества. Соответственно, образец, представляющий интерес, можно подвергнуть воздействию отличных доз определенного вещества, чем эталонный образец, или можно подвергнуть воздействию в течение отличного интервала времени, чем эталонный образец, или можно подвергнуть воздействию при отличной температуре, чем эталонный образец. Отличные дозы, воздействию которых можно подвергнуть образец, представляющий интерес, включают, но не ограничены указанными, дозы, увеличенные или уменьшенные в 2 раза, в 5 раз, в 10 раз, в 20 раз, в 30 раз, в 40 раз, в 50 раз, в 100 раз и/или в 1000 раз по сравнению с дозами, воздействию которых подвергают эталонный образец. Отличные времена экспозиции, воздействию которых можно подвергнуть образец, представляющий интерес, включают, но не ограничены указанными, в 2 раза, в 5 раз, в 10 раз, в 20 раз, в 30 раз, в 40 раз, в 50 раз, в 100 раз и/или в 1000 раз более длинный или более короткий период времени, чем эталонное воздействие. Отличные температуры воздействия, воздействию которых можно подвергнуть образец, представляющий интерес, включают, но не ограничены указанными, температуру, увеличенную или уменьшенную в 2 раза, в 5 раз, в 10 раз, в 20 раз, в 30 раз, в 40 раз, в 50 раз, в 100 раз и/или в 1000 раз, чем эталонное воздействие. В неограничивающем примере образец, представляющий интерес, можно подвергнуть воздействию в 10 раз увеличенной концентрации вещества, чем эталонный образец. Затем проводят анализ обоих образцов, по существу, идентичным способом, позволяющим проводить определение воздействия, т.е. благоприятного или неблагоприятного влияния, увеличенных концентраций такого вещества на образец, представляющий интерес. Специалисту очевидно, что в данном примере вносят соответствующие изменения в различные диапазоны концентраций, различные времена экспозиции и/или различные температуры воздействия.

Термины "пониженный" или "уменьшенный" уровень индикатора означает уровень такого индикатора

тора в образце, который является меньшим по сравнению с эталоном или эталонным образцом. Термины "повышенный" или "увеличенный" уровень индикатора означает уровень такого индикатора в образце, который является большим по сравнению с эталоном или эталонным образцом.

Эталонные количества можно, в принципе, рассчитать для группы или когорты субъектов, как указано в настоящей заявке, на основе средних или медианных значений для данной микроРНК посредством применения стандартных способов статистики. В частности, точность теста, такого как способ, целью которого является диагностика события или отсутствия события, наилучшим способом описывается операционными характеристиками приемника (receiver-operating characteristics ROC) данного теста (см., в частности, публикацию Zweig 1993, Clin. Chem. 39:561-577). График ROC представляет собой график всех пар чувствительность по сравнению со специфичностью, возникающих вследствие непрерывно меняющегося порога принятия решения во всем наблюдаемом диапазоне данных. Клинические характеристики способа диагностики зависят от точности данного способа, т.е. его способности правильно определять для субъектов определенный прогноз или диагноз. График ROC демонстрирует перекрытие между двумя распределениями посредством откладывания на графике чувствительности в зависимости от 1-специфичности для полного диапазона порогов, подходящих для проведения разграничения. На оси "у" отложена чувствительность или фракция истинноположительных результатов, которая определена как соотношение количества истинноположительных результатов теста к сумме количества истинноположительных и количества ложноотрицательных результатов теста. Данный параметр также называют положительным результатом относительно наличия заболевания или состояния. Его рассчитывают исключительно в пораженной подгруппе. На оси "х" отложена ложноположительная фракция, или 1-специфичность, которая определена как соотношение количества ложноположительных результатов к сумме количества истинноотрицательных и количества ложноположительных результатов. Данный параметр представляет собой показатель специфичности и рассчитывается исключительно в непораженной подгруппе. Поскольку истинно- и ложноположительная фракции рассчитываются полностью отдельно, с применением результатов теста от двух различных подгрупп, график ROC является независимым от распространенности события в группе. Каждая точка на графике ROC представляет пару чувствительность/специфичность в соответствии с конкретным порогом принятия решения. Тест с превосходным разграничением (отсутствие перекрытия в двух распределениях результатов) характеризуется графиком ROC, который проходит через верхний левый угол, где фракция истинноположительных результатов составляет 1,0, или 100% (превосходная чувствительность), и ложноположительная фракция составляет 0 (превосходная специфичность). Теоретический график для теста без дискриминации (идентичные распределения результатов для двух групп) представляет собой диагональную линию, проведенную под углом 45° от нижнего левого угла до верхнего правого угла. Большинство графиков располагаются между данными двумя крайними значениями. Если график ROC полностью располагается ниже диагонали под углом 45°, это легко исправить посредством обращения критерия "положительности" с "более чем" на "меньше чем", или наоборот. Качественно, чем ближе график расположен к верхнему левому углу, тем выше общая точность теста. В зависимости от желаемого доверительного интервала из кривой ROC может быть получен порог, позволяющий ставить диагноз или прогноз данного события при надлежащем соотношении чувствительности и специфичности соответственно. Соответственно, эталон, используемый для способов согласно настоящему изобретению, может быть получен, предпочтительно, посредством установления ROC для указанной когорты, как описано выше, и выведения порогового количества из ROC. В зависимости от желаемой чувствительности и специфичности способа диагностики график ROC позволяет получать подходящие пороги. Предпочтительно эталонные количества лежат в пределах диапазона значений, представляющих чувствительность по меньшей мере 75% и специфичность по меньшей мере 45%, или чувствительность по меньшей мере 80% и специфичность по меньшей мере 40%, или чувствительность по меньшей мере 85% и специфичность по меньшей мере 33%, или чувствительность по меньшей мере 90% и специфичность по меньшей мере 25%.

Предпочтительно эталонное количество в настоящем изобретении получают из образцов субъектов, полученных до лечения, но о которых известно, страдали ли доноры данных образцов от РМЖ или МРМЖ, или нет. Данный эталонный уровень количества может представлять собой дискретное число или может представлять собой диапазон чисел. Очевидно, что эталонный уровень или количество могут варьировать между отдельными видами микроРНК. Вследствие этого систему измерения, предпочтительно, калибруют с помощью образца или серий образцов, содержащих известные количества каждой конкретной микроРНК. Специалист понимает, что в данном случае количества микроРНК можно, предпочтительно, выразить в виде условных единиц (У.Е.). Таким образом, предпочтительно, количества микроРНК определяют посредством сравнения сигнала, полученного из образца, и сигналов, содержащихся в калибровочной кривой. Эталонное количество, применяемое для индивидуального субъекта, может варьировать в зависимости от различных физиологических параметров, таких как возраст или субпопуляция. Таким образом, подходящее эталонное количество можно определить посредством способов согласно настоящему изобретению в результате анализа эталонного образца, который проводят вместе, т.е. одновременно или последовательно, с исследуемым образцом. Более того, пороговое количество можно, предпочтительно, использовать в качестве эталонного количества. Эталонное количество можно,

предпочтительно, получить из образца субъекта или группы субъектов, страдающих от РМЖ или МРМЖ, которые страдают от/о которых известно, что они страдают от РМЖ или МРМЖ. Эталонное количество можно, предпочтительно, также получить из образца субъекта или группы субъектов, которые, как известно, не страдают от РМЖ или МРМЖ. Следует понимать, что вышеупомянутые количества могут варьировать в связи со статистикой и ошибками измерения. Отклонение, т.е. уменьшение или увеличение количеств микроРНК, указанных в настоящей заявке, является, предпочтительно, статистически значимым отклонением, т.е. статистически значимым уменьшением или статистически значимым увеличением.

В настоящем изобретении термин "лечить" или "лечение" заболевания или нарушения означает достижение одного или нескольких результатов из следующих: (a) уменьшения тяжести нарушения; (b) ограничения или предотвращения развития симптомов, характерных для нарушения (нарушений), лечение которых проводят; (c) ингибирования ухудшения симптомов, характерных для нарушения (нарушений), лечение которых проводят; (d) ограничения или предотвращения повторного проявления нарушения (нарушений) у индивидуума, который ранее страдал от нарушения (нарушений); и (e) ограничения или предотвращения повторного проявления симптомов у индивидуумов, у которых ранее наблюдались симптомы нарушения (нарушений).

В настоящем изобретении термин "предотвращать", "предотвращение" или "профилактика" заболевания или нарушения означает предотвращение того, что такое заболевание или нарушение возникнет у пациента.

В настоящем изобретении термин "терапия" означает все меры, применяемые в отношении субъекта для облегчения заболеваний или нарушений, указанных в настоящем изобретении, или симптомов, которыми сопровождаются указанные заболевания или нарушения, до значительной степени. Указанная терапия в настоящем изобретении также включает меры, приводящие к полному восстановлению здоровья в отношении заболеваний или нарушений, указанных в настоящем изобретении. Следует понимать, что терапия, используемая согласно настоящему изобретению, может не являться эффективной у всех субъектов, лечение которых проводят. Однако данный термин требует, чтобы можно было успешно лечить статистически значимую часть субъектов, страдающих от заболевания или нарушения, указанного в настоящем изобретении. То, является ли часть статистически значимой, специалист в данной области техники может определить без излишнего труда с применением различных хорошо известных инструментов статистической оценки, которые обсуждаются в настоящем изобретении выше.

Термин "терапия рака молочной железы" в настоящем изобретении относится к применению в отношении субъекта, страдающего от рака молочной железы, включая метастазирующий рак молочной железы, мер по удалению раковых клеток у субъекта, по ингибированию роста раковых клеток, по уничтожению раковых клеток или по стимулированию организма пациента к ингибированию роста или уничтожению раковых клеток. Предпочтительно терапия рака молочной железы представляет собой химиотерапию, антигормональную терапию, таргетную терапию, иммунотерапию или любые комбинации указанных вариантов терапии. Однако также предусмотрено, что противораковая терапия представляет собой лучевую терапию или хирургию, саму по себе или в комбинации с другими режимами терапии. Специалист понимает, что выбор терапии рака молочной железы зависит от нескольких факторов, таких как возраст субъекта, стадия опухоли и статус рецепторов клеток опухоли. Однако специалист в данной области техники также понимает, что выбору терапии рака молочной железы могут способствовать способы согласно настоящему изобретению: если, например, РМЖ диагностирован способом диагностики РМЖ, но МРМЖ не диагностирован способом диагностики МРМЖ, хирургического удаления опухоли может быть достаточно. Если, например, РМЖ диагностирован способом диагностики РМЖ, и МРМЖ диагностирован способом диагностики МРМЖ, помимо хирургии, могут являться необходимыми терапевтические меры, например химиотерапия и/или таргетная терапия. Аналогично, если, например, РМЖ диагностирован способом диагностики РМЖ, и нежелательный статус ЦОК определен способом определения статуса ЦОК, может потребоваться, например, дополнительное добавление иммунотерапии к режиму терапии.

В настоящем изобретении термин "химиотерапия" относится к лечению субъекта противоопухолевым лекарственным препаратом. Предпочтительно химиотерапия представляет собой лечение, включающее алкилирующие средства (например, циклофосфамид), платину (например, карбоплатин), антрациклины (например, доксорубин, эпирубинин, идарубинин или даунорубинин) и ингибиторы топоизомеразы II (например, этопозид, иринотекан, топотекан, камптотетин или VP16), ингибиторы киназы анапластической лимфомы (anaplastic lymphoma kinase, ALK) (например, кризотиниб или AP26130), ингибиторы аврора-киназы (например, N-[4-[4-(4-метилпиперазин-1-ил)-6-[(5-метил-1H-пирозол-3-ил)амино]пиримидин-2-ил]сульфанилфенил]циклопропанкарбоксамид (VX-680)), антиангиогенные средства (например, бевацизумаб) или иод131-1-(3-иодбензил)гуанидин (терапевтический метабензилгуанидин), ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC), по отдельности или любую подходящую комбинацию указанных ингибиторов. Следует понимать, что химиотерапия, предпочтительно, относится к полному циклу лечения, т.е. серии из нескольких (например, четырех, шести или восьми) доз противоопухолевого лекарственного препарата или лекарственных препаратов, вводимых субъекту с интервалом

в несколько дней или недель, в течение которых не происходит такого введения.

Термин "антигормональная терапия" относится к терапии рака молочной железы посредством блокирования рецепторов гормонов, например рецептора эстрогена или рецептора прогестерона, которые экспрессируются на опухолевых клетках, или посредством блокирования биосинтеза эстрогена. Блокирования рецепторов гормонов можно, предпочтительно, достичь посредством введения соединений, например, тамоксифена, связывающихся специфично и посредством этого блокирующих активность рецепторов указанного гормона. Блокирования биосинтеза эстрогенов, предпочтительно, достигают посредством введения ингибиторов ароматазы, таких как, например, анастрозол или летрозол. Специалисту в данной области техники известно, что антигормональная терапия является целесообразной исключительно в тех случаях, когда опухолевые клетки экспрессируют рецепторы гормонов.

Термин "таргетная терапия" в настоящем изобретении относится к введению пациенту химического вещества, которое, как известно, блокирует рост раковых клеток посредством препятствования специфичным молекулам, которые, как известно, необходимы для опухолеобразования или роста рака или раковых клеток. Примеры, известные специалисту в данной области техники, представляют собой малые молекулы, такие как, например, ингибиторы PARP - поли-АДФ-рибозополимеразы (например, инипариб) или моноклональные антитела, такие как, например, трастузумаб.

Термин "иммунотерапия" в настоящем изобретении относится к лечению рака посредством модулирования иммунного ответа у субъекта. Указанное модулирование может вызывать, усиливать или подавлять указанный иммунный ответ. Термин "клеточная иммунотерапия" относится к терапии рака молочной железы, включающей введение субъекту иммунных клеток, например Т-клеток, предпочтительно, опухоль-специфичных клеток НК (природных киллеров).

Термины "лучевая терапия" или "радиотерапия" известны специалисту в данной области техники. Данные термины относятся к применению ионизирующего излучения для лечения или контроля рака. Специалисту также известен термин "хирургия", который относится к оперативному вмешательству для лечения рака молочной железы, например вырезанию ткани опухоли.

В настоящем изобретении термин "мониторинг терапии" относится к получению показателя влияния противоракового лечения на статус рака субъекта, страдающего от указанного рака. Предпочтительно мониторинг терапии включает применение способа согласно настоящему изобретению на двух образцах от одного субъекта, причем первый образец получают во временную точку, предшествующую моменту получения второго образца. Предпочтительно временная точка получения первого образца отделена от временной точки получения второго образца приблизительно на одну неделю, приблизительно на две недели, приблизительно на три недели, приблизительно на четыре недели, приблизительно на пять недель, приблизительно на шесть недель, приблизительно на семь недель, приблизительно на два месяца, приблизительно на три месяца, приблизительно на пять месяцев, приблизительно на шесть месяцев или более чем приблизительно на шесть месяцев. Однако настоящим изобретением также предусмотрено, что способ мониторинга терапии используют для долгосрочного мониторинга субъектов, например мониторинга времени безрецидивной выживаемости или т.п. В данном случае временная точка получения первого образца отделена от временной точки получения второго образца, предпочтительно по меньшей мере на шесть месяцев, по меньшей мере на один год, по меньшей мере на два года, по меньшей мере три года, по меньшей мере на четыре года, по меньшей мере на пять лет или по меньшей мере на шесть лет. Специалисту в данной области техники известно, что первый образец, предпочтительно, получают до начала противораковой терапии, в то время как второй образец, предпочтительно, получают после начала терапии. Однако настоящим изобретением также предусмотрено, что оба образца получают после начала терапии. Специалист в данной области техники также понимает, что согласно способу мониторинга терапии согласно настоящему изобретению можно получить более чем два последовательных образца и что в данном случае образец, полученный в первой точке времени, можно использовать в качестве первого образца относительно второго образца, а также для третьего образца. Внося соответствующие изменения, образец, полученный во второй точке времени, можно, тем не менее, использовать в качестве первого образца относительно третьего образца и т.п.

Термин "успех лечения" в настоящем изобретении, предпочтительно, относится к облегчению заболеваний или нарушений, указанных в настоящей заявке, или симптомов, которыми сопровождаются указанные заболевания или нарушения, в значительной степени. Более предпочтительно данный термин относится к полному излечиванию указанного субъекта, т.е. предотвращению прогрессирования и/или рецидива метастазирующего рака молочной железы в течение по меньшей мере пяти лет. Соответственно, "определение успеха лечения" относится к оценке вероятности того, что субъект будет успешно вылечен. Предпочтительно данный термин относится к прогнозированию выживаемости без прогрессирования заболевания и/или общей выживаемости субъекта, более предпочтительно, в течение конкретного периода времени. Термин "прогнозирование выживаемости без прогрессирования заболевания" относится к определению вероятности того, что субъект выживет без рецидива и/или прогрессирования метастатического рака молочной железы в течение конкретного периода времени. Соответственно, термин "прогнозирование общей выживаемости" относится к определению вероятности того, что субъект выживет в течение конкретного периода времени. Предпочтительно указанный период времени составляет по

меньшей мере 12 месяцев, более предпочтительно по меньшей мере 24 месяца.

Термины "фармацевтический препарат", "медицинский препарат" и "лекарственный препарат" используются в настоящем изобретении взаимозаменяемо и означают вещество и/или комбинацию веществ, используемых для обнаружения, предотвращения или лечения статуса ткани или заболевания.

Термин "набор" в настоящем изобретении означает совокупность вышеупомянутых компонентов, предпочтительно предоставленных отдельно или в одном контейнере. Контейнер, также предпочтительно, содержит инструкции по осуществлению способа согласно настоящему изобретению. Примеры таких компонентов набора, а также способы их применения, были приведены в настоящей спецификации. Набор, предпочтительно, содержит вышеупомянутые компоненты в готовой к использованию форме. Предпочтительно набор может дополнительно содержать инструкции, например, руководство для пользователя по корректировке компонентов, например концентраций детектирующих средств, и по интерпретации результатов любого определения (определений) в отношении диагноза, обеспечиваемого способами согласно настоящему изобретению. В частности, такое руководство может содержать информацию для соотнесения количеств определенного продукта гена с типом диагноза. Подробности можно найти в другом месте в настоящей спецификации. Дополнительно в таком руководстве для пользователя могут быть предоставлены инструкции относительно надлежащего применения компонентов набора для определения количества (количеств) соответствующего биомаркера. Руководство для пользователя может быть предоставлено в бумажной или электронной форме, например может храниться на диске CD или CD-ROM. Настоящее изобретение также относится к применению указанного набора в любом из способов согласно настоящему изобретению.

Термин "устройство" в настоящем изобретении относится к системе средств, содержащей по меньшей мере вышеупомянутые средства, функционально связанные друг с другом, для обеспечения постановки диагноза. Предпочтительные средства для определения статуса метилирования или количества продукта гена и средства для проведения сравнения раскрыты выше в сочетании со способами согласно настоящему изобретению. Как соединить средства функциональным способом, будет зависеть от типа средств, содержащихся в устройстве. Например, когда применяются средства для автоматического определения статуса метилирования или количества продукта гена, данные, полученные указанными работающими в автоматическом режиме средствами, можно обработать, например, с помощью компьютерной программы, с целью поставить диагноз. Предпочтительно в таком случае средства содержатся в едином устройстве. Указанное устройство может, соответственно, содержать блок для анализа, предназначенный для определения статуса метилирования или количества продукта гена в образце, и блок для оценки, предназначенный для обработки итоговых данных с целью постановки диагноза. Предпочтительные средства для обнаружения раскрыты выше в сочетании с вариантами реализации, относящимися к способам согласно настоящему изобретению. В таком случае средства являются функционально связанными таким образом, что пользователь системы сводит вместе результат определения количества и диагностическое значение указанного результата с учетом инструкции и объяснений, приведенных в руководстве. В таком варианте реализации настоящего изобретения средства могут быть предоставлены в виде отдельных устройств и, предпочтительно, упакованы вместе в виде набора. Специалист в данной области техники поймет, как объединить средства без применения дополнительных изобретательских навыков. Предпочтительные устройства представляют собой таковые, которые можно применять без конкретных знаний специализированного клинициста, например тест-полоски или электронные устройства, на которые просто необходимо нанести образец. Результаты могут быть предоставлены в виде выходного сигнала параметрических диагностических первичных данных, предпочтительно в виде абсолютных или относительных количеств. Следует понимать, что эти данные требуют интерпретации клиницистом. Однако также предусмотрены устройства с экспертной системой, в которых выходной сигнал содержит обработанные диагностические первичные данные, интерпретация которых не требует участия специализированного клинициста. Еще более предпочтительные устройства содержат аналитические блоки/устройства (например, биосенсоры, матрицы, твердые подложки, объединенные с лигандами, которые специфично распознают полипептиды, устройства для поверхностного плазмонного резонанса, ЯМР-спектрометры, масс-спектрометры и т.д.) или блоки/устройства для оценки, указанные выше, в сочетании со способами согласно настоящему изобретению.

Варианты реализации.

Согласно первому аспекту настоящее изобретение относится к способу прогнозирования и/или диагностики заболевания у субъекта, причем указанный способ включает:

а) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSН, S100P, DYRK4, и

б) определение присутствия по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, у субъекта.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения заболевание представляет собой пролиферативное заболевание клеток. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения заболевание представляет собой рак. В частности, рак выбран из группы, состоящей из рака

молочной железы, рака поджелудочной железы и рака яичников.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения термин "miR-652" означает последовательность цепи -3р или -5р (в частности, miR-652-3р), термин "miR-801" означает последовательность цепи -3р или -5р, термин "miR-376с" означает последовательность цепи -3р или -5р (в частности, miR-376с-3р), термин "miR-376а" означает последовательность цепи -3р или -5р (в частности, miR-376а-3р), термин "miR-127" означает последовательность цепи -3р или -5р (в частности, miR-127-3р), термин "miR-409" означает последовательность цепи -3р или -5р (в частности, miR-409-3р), термин "miR-148b" означает последовательность цепи -3р или -5р (в частности, miR-148-3р).

Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения изменение статуса метилирования и/или уровня экспрессии HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4 свидетельствует об изменении статуса ткани или заболевания, такого как ухудшение или улучшение статуса ткани или заболевания, в частности, рака. В частности, уменьшенный статус метилирования HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4 свидетельствует об ухудшении статуса ткани или заболевания. Увеличенный статус метилирования HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4 свидетельствует об улучшении статуса ткани или заболевания. Изменение статуса метилирования HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4 также свидетельствует о риске развития измененного статуса ткани или заболевания, в частности, рака. Более конкретно, уменьшение статуса метилирования HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4 свидетельствует о риске развития перерожденного статуса ткани или заболевания, в частности, рака. Изменение статуса метилирования HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4, в частности, уменьшенный статус метилирования HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4, также свидетельствует о том, что индивидуум страдает от измененного статуса ткани или заболевания, в частности, рака. Более того, изменение статуса метилирования HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4, например повышенный или пониженный уровень статуса метилирования HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4, свидетельствует о прогрессировании или стадии статуса ткани или заболевания, в частности, рака, у субъекта. В частности, уменьшенный статус метилирования HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4 свидетельствует об ухудшении статуса ткани или заболевания, в частности, рака.

В частности, увеличенный уровень экспрессии HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4 свидетельствует об ухудшении статуса ткани или заболевания. Уменьшенный уровень экспрессии HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4 свидетельствует об улучшении статуса ткани или заболевания. Изменение уровня экспрессии HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4 также свидетельствует о риске развития измененного статуса ткани или заболевания, в частности, рака. Более конкретно, увеличенный уровень экспрессии HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4 свидетельствует о риске развития перерожденного статуса ткани или заболевания, в частности, рака. Измененный уровень экспрессии HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4, в частности, увеличенный уровень экспрессии HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4, также свидетельствует о том, что индивидуум страдает от измененного статуса ткани или заболевания, в частности, рака. Более того, измененный уровень экспрессии HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4, например, повышенный или пониженный уровень экспрессии HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4, свидетельствует о прогрессировании или стадии статуса ткани или заболевания, в частности, рака, у субъекта. В частности, увеличенный уровень экспрессии HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4 свидетельствует об ухудшении статуса ткани или заболевания, в частности, рака.

Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения изменение уровня miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409 и/или miR-148b свидетельствует об изменении статуса ткани или заболевания, такого как ухудшение или улучшение статуса ткани или заболевания, в частности, рака.

В частности, повышенный уровень miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409 и/или miR-148b свидетельствует об ухудшении статуса ткани или заболевания. Пониженный уровень miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409 и/или miR-148b свидетельствует об улучшении статуса ткани или заболевания. Изменение уровня miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409 и/или miR-148b также свидетельствует о риске развития измененного статуса ткани или заболевания, в частности, рака. Более конкретно, повышенный уровень miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409 и/или miR-148b свидетельствует о риске развития перерожденного статуса ткани или заболевания, в частности, рака. Измененный уровень miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409 и/или miR-148b, в частности, повышенный уровень miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409 и/или miR-148b, также свидетельствует о том, что индивидуум страдает от измененного статуса ткани или заболевания, в частности, рака. Более того, измененный уровень miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409 и/или miR-148b, например, повышенный или пониженный уровень miR-652,

miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409 и/или miR-148b, свидетельствует о прогрессировании или стадии статуса ткани или заболевания, у субъекта. В частности, повышенный уровень miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409 и/или miR-148b свидетельствует об ухудшении статуса ткани или заболевания, в частности, рака.

Статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие, в частности, количество, по меньшей мере одной микроРНК служат показателем для указанного прогноза и/или диагноза у указанного субъекта. Прогноз и/или диагноз рака включает:

- i) риск развития рака,
- ii) наличие рака и/или
- iii) прогрессирование, в частности ухудшение или улучшение, рака.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения определяют присутствие, в частности количество, одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127p, miR-409 и miR-148b.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSIN, S100P и DYRK4.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 различных маркеров метилирования и/или определяют присутствие, в частности количество, по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6 или 7 различных маркеров микроРНК. В частности, определяют все 7 маркеров микроРНК. В случае, когда определяют все семь маркеров микроРНК, данную комбинацию обозначают miR-7, т.е. miR-7 включает все семь маркеров микроРНК miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127p, miR-409 и miR-148b.

Следует понимать, что для прогнозирования и/или диагностики рака можно использовать различные специфичные комбинации маркера метилирования и микроРНК.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии одной или нескольких из следующих комбинаций маркеров метилирования:

HYAL2 + RAPSIN; S100P + RAPSIN; RPTOR + HYAL2; MGRN1 + HYAL2;  
 SLC22A18 + S100P; HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + S100P; miR-7 + DYRK4; RPTOR +  
 RAPSIN; FUT7 + RAPSIN; MGRN1 + SLC22A18; RPTOR + FUT7; FUT7 + MGRN1; miR-7  
 + MGRN1; MGRN1 + S100P; DYRK4 + RAPSIN; FUT7 + S100P; RPTOR + DYRK4; RPTOR  
 + miR-7; DYRK4 + MGRN1; FUT7 + HYAL2; miR-7 + RAPSIN; MGRN1 + RAPSIN; HYAL2  
 + S100P; miR-7 + SLC22A18; RPTOR + MGRN1; DYRK4 + SLC22A18; SLC22A18 +  
 RAPSIN; DYRK4 + HYAL2; DYRK4 + S100P; FUT7 + SLC22A18; miR-7 + HYAL2;  
 RPTOR + SLC22A18; miR-7 + S100P; miR-7 + FUT7; DYRK4 + FUT7;

miR-7 + DYRK4 + FUT7; miR-7 + MGRN1 + HYAL2; RPTOR + MGRN1 + RAPSIN;  
 MGRN1 + SLC22A18 + RAPSIN; RPTOR + miR-7 + S100P; miR-7 + MGRN1 + S100P;  
 RPTOR + MGRN1 + SLC22A18; RPTOR + FUT7 + HYAL2; FUT7 + HYAL2 + SLC22A18;  
 FUT7 + HYAL2 + RAPSIN; miR-7 + SLC22A18 + S100P; miR-7 + S100P + RAPSIN; RPTOR  
 + DYRK4 + S100P; DYRK4 + SLC22A18 + S100P; DYRK4 + MGRN1 + HYAL2; DYRK4  
 + MGRN1 + SLC22A18; RPTOR + DYRK4 + MGRN1; miR-7 + DYRK4 + S100P; DYRK4  
 + S100P + RAPSIN; DYRK4 + MGRN1 + RAPSIN; RPTOR + miR-7 + MGRN1; DYRK4 +  
 FUT7 + MGRN1; miR-7 + FUT7 + RAPSIN; miR-7 + MGRN1 + RAPSIN; RPTOR + HYAL2  
 + S100P; HYAL2 + S100P + RAPSIN; DYRK4 + FUT7 + RAPSIN; MGRN1 + HYAL2 +  
 SLC22A18; FUT7 + MGRN1 + S100P; RPTOR + DYRK4 + RAPSIN; FUT7 + S100P +

RAPSN; RPTOR + FUT7 + S100P; DYRK4 + HYAL2 + RAPSN; FUT7 + HYAL2 + S100P; RPTOR + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + HYAL2; HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; DYRK4 + MGRN1 + S100P; miR-7 + HYAL2 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + RAPSN; miR-7 + FUT7 + MGRN1; RPTOR + DYRK4 + HYAL2; FUT7 + MGRN1 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + MGRN1; FUT7 + MGRN1 + SLC22A18; RPTOR + miR-7 + DYRK4; miR-7 + DYRK4 + SLC22A18; RPTOR + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + RAPSN; RPTOR + HYAL2 + SLC22A18; SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + HYAL2 + RAPSN; RPTOR + FUT7 + MGRN1; RPTOR + SLC22A18 + S100P; MGRN1 + SLC22A18 + S100P; MGRN1 + HYAL2 + S100P; miR-7 + HYAL2 + S100P; RPTOR + MGRN1 + S100P; RPTOR + FUT7 + SLC22A18; MGRN1 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7; DYRK4 + FUT7 + HYAL2; RPTOR + FUT7 + RAPSN; DYRK4 + HYAL2 + S100P; FUT7 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7; miR-7 + FUT7 + HYAL2; miR-7 + MGRN1 + SLC22A18; miR-7 + FUT7 + SLC22A18; miR-7 + DYRK4 + HYAL2; MGRN1 + HYAL2 + RAPSN; FUT7 + MGRN1 + HYAL2; DYRK4 + FUT7 + SLC22A18; HYAL2 + SLC22A18 + S100P; DYRK4 + FUT7 + S100P; RPTOR + DYRK4 + SLC22A18; DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + MGRN1 + HYAL2; DYRK4 + SLC22A18 + RAPSN; FUT7 + SLC22A18 + S100P; miR-7 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + SLC22A18; miR-7 + FUT7 + S100P; miR-7 + HYAL2 + SLC22A18;

RPTOR + MGRN1 + HYAL2 + S100P; RPTOR + FUT7 + SLC22A18 + RAPSN; DYRK4 + FUT7 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + HYAL2; DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + S100P; miR-7 + DYRK4 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + SLC22A18; miR-7 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18; DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + RAPSN; MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; DYRK4 + FUT7 + SLC22A18 + S100P; MGRN1 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + SLC22A18; miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + S100P; FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + RAPSN; RPTOR + FUT7 + MGRN1 + RAPSN; DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2; RPTOR + FUT7 + MGRN1 + HYAL2; miR-7 + FUT7 + HYAL2 + S100P; miR-7 + FUT7 + SLC22A18 + S100P; FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18; RPTOR + miR-7 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; miR-7 + FUT7 + S100P + RAPSN; FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + RAPSN; miR-7 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2; RPTOR + miR-7 + FUT7 + S100P; RPTOR + miR-7 + HYAL2 + S100P; DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + S100P; FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; FUT7 +

SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + FUT7 + S100P + RAPSN; RPTOR + FUT7 +  
 HYAL2 + SLC22A18; MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; miR-7 + HYAL2 + S100P  
 + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + MGRN1 + SLC22A18; DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + S100P;  
 miR-7 + DYRK4 + HYAL2 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1; DYRK4 +  
 MGRN1 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + HYAL2; miR-7 + MGRN1 +  
 HYAL2 + S100P; RPTOR + DYRK4 + SLC22A18 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + MGRN1 +  
 RAPSN; RPTOR + MGRN1 + HYAL2 + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + RAPSN;  
 RPTOR + MGRN1 + SLC22A18 + S100P; DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18; miR-7  
 + DYRK4 + SLC22A18 + S100P; miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2; miR-7 + MGRN1  
 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + MGRN1 + SLC22A18; RPTOR + HYAL2 +  
 SLC22A18 + S100P; miR-7 + FUT7 + HYAL2 + RAPSN; HYAL2 + SLC22A18 + S100P +  
 RAPSN; RPTOR + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1;  
 RPTOR + miR-7 + FUT7 + RAPSN; FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P; RPTOR +  
 DYRK4 + S100P + RAPSN; DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + S100P; DYRK4 + HYAL2 + S100P  
 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7 + HYAL2; miR-7 + FUT7 + MGRN1 + S100P; miR-7 +  
 MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + DYRK4 + HYAL2 + S100P; RPTOR + miR-7 +  
 SLC22A18 + S100P; DYRK4 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + DYRK4 + MGRN1  
 + S100P; FUT7 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + FUT7 + HYAL2 + S100P; RPTOR  
 + miR-7 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + HYAL2 + RAPSN; miR-7 + HYAL2 +  
 SLC22A18 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + HYAL2 + S100P; DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 +  
 SLC22A18; RPTOR + MGRN1 + SLC22A18 + RAPSN; DYRK4 + SLC22A18 + S100P +  
 RAPSN; RPTOR + DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18; FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P;  
 DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + MGRN1 + S100P; DYRK4 +  
 FUT7 + MGRN1 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4  
 + FUT7; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + SLC22A18; miR-7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P;  
 miR-7 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18; miR-7 + MGRN1 + S100P + RAPSN; miR-7 +  
 DYRK4 + FUT7 + HYAL2; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + MGRN1; miR-7 + FUT7 + MGRN1  
 + RAPSN; RPTOR + FUT7 + SLC22A18 + S100P; FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P;  
 RPTOR + miR-7 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + miR-7 + HYAL2 + RAPSN; DYRK4 +  
 MGRN1 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7 + MGRN1; miR-7 + HYAL2 +  
 SLC22A18 + S100P; RPTOR + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + MGRN1 + S100P  
 + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + SLC22A18; DYRK4 + FUT7 + SLC22A18 +  
 RAPSN; MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + S100P;  
 RPTOR + FUT7 + MGRN1 + S100P; miR-7 + DYRK4 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4

+ HYAL2 + SLC22A18; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + S100P; miR-7 + FUT7 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + MGRN1 + RAPSN; miR-7 + MGRN1 + HYAL2 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7 + SLC22A18; FUT7 + MGRN1 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + MGRN1 + HYAL2; DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + DYRK4 + MGRN1 + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + SLC22A18 + S100P; DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + RAPSN; miR-7 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + FUT7 + HYAL2 + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2;

miR-7 + DYRK4 + FUT7 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + HYAL2; RPTOR + miR-7 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2; RPTOR + miR-7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P; RPTOR + miR-7 + FUT7 + MGRN1 + RAPSN; DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + S100P; RPTOR + DYRK4 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18; RPTOR + DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7 + SLC22A18 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + S100P; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + RAPSN; miR-7 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + RAPSN; miR-7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + HYAL2 + S100P; RPTOR + miR-7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + RAPSN; RPTOR + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + SLC22A18 + S100P; FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P + RAPSN; FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + miR-7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + miR-7 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7 + MGRN1 + S100P; RPTOR + miR-7 + MGRN1 + HYAL2 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + SLC22A18; miR-7 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + S100P; miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + SLC22A18 + RAPSN; miR-7 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + miR-7 + FUT7 + S100P + RAPSN; DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1; miR-7 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + S100P; miR-7 + DYRK4 + HYAL2 + S100P + RAPSN; DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + miR-7 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + DYRK4 +

MGRN1 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + MGRN1 + HYAL2 + S100P + RAPSN; DYRK4  
+ MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + SLC22A18 +  
RAPSN; DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; FUT7 + HYAL2 + SLC22A18  
+ S100P + RAPSN; RPTOR + FUT7 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 +  
HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P;  
RPTOR + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18; miR-7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18  
+ S100P; RPTOR + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + miR-7 + MGRN1 +  
SLC22A18 + S100P; RPTOR + miR-7 + FUT7 + HYAL2 + S100P; miR-7 + MGRN1 +  
SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + RAPSN; miR-7 +  
DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + RAPSN;  
miR-7 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P; miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + S100P +  
RAPSN; RPTOR + miR-7 + MGRN1 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 +  
MGRN1 + HYAL2; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + S100P; miR-7 + DYRK4 +  
MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18; FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; miR-  
7 + FUT7 + HYAL2 + S100P + RAPSN; DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P;  
RPTOR + miR-7 + DYRK4 + HYAL2 + RAPSN; miR-7 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 +  
S100P; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 +  
SLC22A18 + S100P; RPTOR + DYRK4 + MGRN1 + SLC22A18 + RAPSN; miR-7 + DYRK4  
+ MGRN1 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + S100P + RAPSN; DYRK4 +  
FUT7 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN;  
DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; DYRK4 + FUT7 + SLC22A18 + S100P +  
RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + FUT7 + MGRN1 +  
S100P + RAPSN; FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 +  
FUT7 + MGRN1 + SLC22A18; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + SLC22A18 + RAPSN; miR-7  
+ DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + RAPSN;  
RPTOR + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18  
+ S100P; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + SLC22A18 + RAPSN; miR-7 + FUT7 + MGRN1 +  
S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + MGRN1 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7  
+ MGRN1 + HYAL2; miR-7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + DYRK4  
+ HYAL2 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + S100P; RPTOR +  
DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + S100P; miR-7 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + RAPSN; RPTOR  
+ miR-7 + FUT7 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2;  
DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7 + HYAL2 +  
RAPSN; DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; DYRK4 + FUT7 + MGRN1

+ HYAL2 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + RAPSN; miR-7 + FUT7 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + MGRN1 + S100P + RAPSN; DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; miR-7 + DYRK4 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + SLC22A18; miR-7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + FUT7 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + S100P;

RPTOR + miR-7 + DYRK4 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7 + HYAL2 + S100P + RAPSN; miR-7 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P; RPTOR + miR-7 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + miR-7 + FUT7 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P; miR-7 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + miR-7 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P; miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + S100P; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18 +

RAPSN; DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 +  
 FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + S100P +  
 RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + FUT7 + MGRN1  
 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + S100P + RAPSN;  
 RPTOR + miR-7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + MGRN1  
 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + miR-7 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + RAPSN;  
 RPTOR + DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7 +  
 MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18; DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P +  
 RAPSN; miR-7 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 +  
 FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + SLC22A18  
 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7  
 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + S100P;  
 miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P; RPTOR + miR-7 + FUT7 + HYAL2  
 + SLC22A18 + RAPSN; miR-7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN;  
 DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 +  
 FUT7 + HYAL2 + SLC22A18; RPTOR + miR-7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P;  
 RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + MGRN1 +  
 HYAL2 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN;  
 RPTOR + DYRK4 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + MGRN1  
 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 +  
 S100P; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + DYRK4 +  
 FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18; FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P  
 + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 +  
 DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + S100P; RPTOR + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P +  
 RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 +  
 MGRN1 + HYAL2 + S100P + RAPSN; miR-7 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P +  
 RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P; RPTOR + miR-7 + DYRK4  
 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2; miR-7 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN;  
 RPTOR + miR-7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7 +  
 MGRN1 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + SLC22A18 + S100P + RAPSN;  
 RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + RAPSN; DYRK4 + FUT7 + MGRN1 +  
 HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P;  
 RPTOR + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4  
 + FUT7 + SLC22A18 + S100P; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + RAPSN;

miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + miR-7 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P; RPTOR + miR-7 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + miR-7 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18; miR-7 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + S100P + RAPSN;

RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + S100P + RAPSN; miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P; RPTOR + miR-7 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; RPTOR + miR-7 + DYRK4 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN; и

RPTOR + miR-7 + DYRK4 + FUT7 + MGRN1 + HYAL2 + SLC22A18 + S100P + RAPSN.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии маркера метилирования RPTOR, MGRN1 и RAPSN и определяют

присутствие, в частности количество, маркера микроРНК miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127-3р, miR-409-3р и miR-148b. Необязательно также определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии HYAL2.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии маркера метилирования DYRK4, S100P, FUT7 и SLC22A18 и определяют присутствие, в частности количество, маркера микроРНК miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127-3р, miR-409-3р и miR-148b. Необязательно также определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии HYAL2.

Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии маркера метилирования MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и DYRK4 и определяют присутствие маркера микроРНК miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127-3р, miR-409-3р и miR-148b. Необязательно также определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии HYAL2.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения определение статуса метилирования включает определение метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта в гене HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и/или DYRK4. В частности, определяют статус метилирования области промотора, интрона и/или экзона указанных генов.

В частности, ген HYAL2 представляет собой ген HYAL2 человека, расположенный на хромосоме 3 человека (учетный № Genbank: NC\_000003.11 GI: 224589815). В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного между положением 50334760 и положением 50335700 на хромосоме 3 человека. Более конкретно, в частности, в отношении build 36.1/hg18 генома человека, определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного в положении

50335694 (cg27091787), 50335584 (HYAL\_CpG\_1), 50335646 (HYAL\_CpG\_2) или 50335671 (HYAL\_CpG\_3), 50335166 (HYAL-is-310 CpG\_1), 50335180 (HYAL-is-310 CpG\_2), 50335192 (HYAL-is-310 CpG\_3), 50335195 (HYAL-is-310 CpG\_4), 50335227 (HYAL-is-310 CpG\_5), 50335233 (HYAL-is-310 CpG\_6), 50335300 (HYAL-is-310 CpG\_7), 50335315 (HYAL-is-310 CpG\_8), 50335375 (HYAL-is-310 CpG\_9), 50335392 (HYAL-is-310 CpG\_10), 50335401 (HYAL-is-310 CpG\_11), 50334744 (HYAL2-is-325\_CpG\_1), 50334761 (HYAL2-is-325\_CpG\_2), 50334804 (HYAL2-is-325\_CpG\_3), 50334844 (HYAL2-is-325\_CpG\_4), 50334853 (HYAL2-is-325\_CpG\_5), 50334862 (HYAL2-is-325\_CpG\_6), 50334880 (HYAL2-is-325\_CpG\_7), 50334906 (HYAL2-is-325\_CpG\_8), 50334913 (HYAL2-is-325\_CpG\_9), 50334917 (HYAL2-is-325\_CpG\_10), 50334928 (HYAL2-is-325\_CpG\_11), 50334944 (HYAL2-is-325\_CpG\_12), 50334956 (HYAL2-is-325\_CpG\_13), 50334980 (HYAL2-is-325\_CpG\_14), 50334982 (HYAL2-is-325\_CpG\_15), 50335010 (HYAL2-is-325\_CpG\_16) 50335014 (HYAL2-is-325\_CpG\_17), 50331237 (cg08776109) и 50330420 (cg06721473).

Наиболее конкретно, по меньшей мере один CpG-сайт выбран из перечня, состоящего из cg27091787 в положении 50335694, HYAL\_CpG\_1 в положении 50335584, HYAL\_CpG\_2 в положении 50335646 и HYAL\_CpG\_3 в положении 50335671. В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере двух, по меньшей мере трех, по меньшей мере четырех, по меньшей мере пяти, по меньшей мере шести, по меньшей мере семи, по меньшей мере восьми, по меньшей мере девяти, по меньшей мере десяти, по меньшей мере одиннадцати, по меньшей мере двенадцати или по меньшей мере пятнадцати CpG-сайтов согласно настоящему изобретению. Специалист понимает, что точная численность указанных CpG-сайтов может зависеть от конкретной геномной последовательности и от конкретной последовательности области промотора HYAL2, содержащейся в образце, анализ которого проводят. Например, ген HYAL2 расположен на хромосоме 3: положения 50355221-50360337 в build37/hg19, но на хромосоме 3: положения 50330244-50335146 в build36/hg18.

В частности, ген MGRN1 представляет собой ген MGRN1 человека, расположенный на хромосоме 16 человека (учетный № Genbank: NC\_000016.10, диапазон: 4624824-4690974, эталонная первичная коллекция (primary assembly) GRCh38; учетный № Genbank: NC\_018927.2, диапазон: 4674882-4741756, альтернативная коллекция (alternate assembly) CHM1\_1.1; учетный № Genbank: AC\_000148.1, диапазон: 4641815-4707494, альтернативная коллекция HuRef). В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного между положением 4654000 и положением 4681000 на хромосоме 16 человека. В частности, CpG-сайт (сайты) расположен (расположены) в одной или несколь-

ких из следующих областей хромосомы 16: 4670069-4670542, 4654000-4655000, 4669000-4674000 и 4678000-4681000. Более конкретно, в частности, в отношении build 36.1/hg18 генома человека, определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного в положении

4670487

(MGRN1\_CpG\_1), 4670481 (MGRN1\_CpG\_2), 4670466 (MGRN1\_CpG\_3), 4670459 (MGRN1\_CpG\_4), 4670442 (MGRN1\_CpG\_5), 4670440 (MGRN1\_CpG\_6), 4670435 (MGRN1\_CpG\_7), 4670433 (MGRN1\_CpG\_8), 4670422 (MGRN1\_CpG\_9), 4670414 (MGRN1\_CpG\_10), 4670411 (MGRN1\_CpG\_11), 4670402 (MGRN1\_CpG\_12), 4670393 (MGRN1\_CpG\_13), 4670357 (MGRN1\_CpG\_14), 4670352 (MGRN1\_CpG\_15), 4670343 (MGRN1\_CpG\_16), 4670341 (MGRN1\_CpG\_17), 4670336 (MGRN1\_CpG\_18), 4670313 (MGRN1\_CpG\_19), 4670310 (MGRN1\_CpG\_20), 4670301 (MGRN1\_CpG\_21), 4670292 (MGRN1\_CpG\_22), 4670287 (MGRN1\_CpG\_23), 4670281 (MGRN1\_CpG\_24), 4670276 (MGRN1\_CpG\_25), 4670264 (MGRN1\_CpG\_26), 4670234 (MGRN1\_CpG\_27), 4670211 (MGRN1\_CpG\_28), 4670180 (MGRN1\_CpG\_29), 4670174 (MGRN1\_CpG\_30), 4670157 (MGRN1\_CpG\_31), 4670137 (MGRN1\_CpG\_32), 4670123 (MGRN1\_CpG\_33), 4670117 (MGRN1\_CpG\_34).

В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере двух, по меньшей мере трех, по меньшей мере четырех, по меньшей мере пяти, по меньшей мере шести, по меньшей мере семи, по меньшей мере восьми, по меньшей мере девяти, по меньшей мере десяти, по меньшей мере одиннадцати, по меньшей мере двенадцати или по меньшей мере пятнадцати CpG-сайтов согласно настоящему изобретению. Специалист понимает, что точная численность указанных CpG-сайтов может зависеть от конкретной геномной последовательности и от конкретной последовательности области промотора MGRN1, содержащейся в образце, анализ которого проводят.

В частности, ген RPTOR представляет собой ген RPTOR человека, расположенный на хромосоме 17 человека (учетный № Genbank: NC\_000017.11, диапазон: 80544825-80966373, первичная коллекция GRCh38; учетный № Genbank: NG\_013034.1, диапазон: 5001-426549, RefSeqGene; учетный № Genbank: NC\_018928.2, диапазон: 78604958-79026514, альтернативная коллекция CHM1\_1.1; учетный № Genbank: NG\_013034.1; учетный № Genbank: AC\_000149.1, диапазон: 73954508-74378467, альтернативная коллекция HuRef). В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного между положением 76297000 и положением 76416000 на хромосоме 17 человека. В частности, CpG-сайт(сайты) расположен(расположены) в одной из следующих областей хромосомы 17: 76369937-76370536, 76297000-76310000, 76333000-76341000, 76360000-76380000 и 76411000-76416000. Более конкретно, в частности, в отношении build 36.1/hg18 генома человека, определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного в положении

76370001 (RPTOR\_CpG\_1), 76370037 (RPTOR\_CpG\_2),

76370073 (RPTOR\_CpG\_3), 76370092 (RPTOR\_CpG\_4), 76370172 (RPTOR\_CpG\_5),

76370199 (RPTOR\_CpG\_6), 76370220 (RPTOR\_CpG\_7), 76370253 (RPTOR\_CpG\_8).

В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере двух, по меньшей мере трех, по меньшей мере четырех, по меньшей мере пяти, по меньшей мере шести, по меньшей мере семи, по меньшей мере восьми, по меньшей мере девяти, по меньшей мере десяти, по меньшей мере одиннадцати, по меньшей мере двенадцати или по меньшей мере пятнадцати CpG-сайтов согласно настоящему изобретению. Специалист понимает, что точная численность указанных CpG-сайтов может зависеть от конкретной геномной последовательности и от конкретной последовательности области промотора RPTOR, содержащейся в образце, анализ которого проводят.

В частности, ген SLC22A18 представляет собой ген SLC22A18 человека, расположенный на хромосоме 11 человека (учетный № Genbank: NC\_000011.10, диапазон: 2899721-2925246, эталонная первичная коллекция GRCh38; учетный № Genbank: NG\_011512.1, диапазон: 5001-30526, RefSeqGene; учетный № Genbank: NT187585.1, диапазон: 131932-157362, эталон GRCh38 ALT\_REF\_LOCI\_1; учетный № Genbank: AC\_000143.1, диапазон: 2709509-2734907, альтернативная коллекция HuRef; учетный № Genbank: NC\_018922.2, диапазон: 2919878-2945340, альтернативная коллекция CHM1\_1.1). В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного между положением 2876000 и положением 2883000 на хромосоме 11 человека. В частности, CpG-сайты расположены в положении 2877113-2877442. Более конкретно, в положении хромосомы 11: 2876000 - хромосомы 11: 2883000, в области дифференциального метилирования, связанной с раком, в частности связанной с РМЖ, РЯ и/или РПЖ, размером 7000 п.о., покрывающей области промотора, CpG-островок и часть области тела гена SLC22A18 (варианты транскриптов). Более конкретно, в частности, в отношении build

36.1/hg18 генома человека определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного в положении

2877395 (SLC22A18\_CpG\_1), 2877375 (SLC22A18\_CpG\_2), 2877365 (SLC22A18\_CpG\_3), 2877341 (SLC22A18\_CpG\_4), 2877323 (SLC22A18\_CpG\_5), 2877311 (SLC22A18\_CpG\_6), 2877193 (SLC22A18\_CpG\_7), 2877140 (SLC22A18\_CpG\_8).

В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере двух, по меньшей мере трех, по меньшей мере четырех, по меньшей мере пяти, по меньшей мере шести, по меньшей мере семи, по меньшей мере восьми, по меньшей мере девяти, по меньшей мере десяти, по меньшей мере одиннадцати, по меньшей мере двенадцати или по меньшей мере пятнадцати CpG-сайтов согласно настоящему изобретению. Специалист понимает, что точная численность указанных CpG-сайтов может зависеть от конкретной геномной последовательности и от конкретной последовательности области промотора SLC22A18, содержащейся в образце, анализ которого проводят.

В частности, ген FUT7 представляет собой ген FUT7 человека, расположенный на хромосоме человека 9 (учетный № Genbank: NC\_000009.12, диапазон: 137030174-137032840, эталонная первичная коллекция GRCh38; учетный № Genbank: NG\_007527.1, диапазон: 5001-7667, RefSeqGene; учетный № Genbank: AC\_000141.1, диапазон: 109383478-109386144, альтернативная коллекция HuRef; учетный № Genbank: NC\_018920.2, диапазон: 140073389-140076055, альтернативная коллекция CHM1\_1.1).

В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного между положением 139046000 и положением 139048000 на хромосоме 9 человека. Более конкретно, область дифференциального метилирования, связанная с раком, в частности связанная с РМЖ, РЯ и/или РПЖ, размером 2000 п.о. расположена в области промотора FUT7. В частности, CpG-сайты расположены в положении 139047218-139047610, 139046000-139048000 и 139045065-139045817. Более конкретно, в частности, в отношении build 36.1/hg18 генома человека определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного в положении

139047253 (FUT\_CpG\_1), 139047314 (FUT\_CpG\_2), 139047346 (FUT\_CpG\_3), 139047427 (FUT\_CpG\_4), 139047445 (FUT\_CpG\_5), 139047467 (FUT\_CpG\_6), 139047483 (FUT\_CpG\_7), 139047566 (FUT\_CpG\_8).

В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере двух, по меньшей мере трех, по меньшей мере четырех, по меньшей мере пяти, по меньшей мере шести, по меньшей мере семи, по меньшей мере восьми, по меньшей мере девяти, по меньшей мере десяти, по меньшей мере одиннадцати, по меньшей мере двенадцати или по меньшей мере пятнадцати CpG-сайтов согласно настоящему изобретению. Специалист понимает, что точная численность указанных CpG-сайтов может зависеть от конкретной геномной последовательности и от конкретной последовательности области промотора FUT7, содержащейся в образце, анализ которого проводят.

В частности, ген RAPSN представляет собой ген RAPSN человека, расположенный на хромосоме 11 человека (учетный № Genbank: NC\_000011.10, диапазон: 47437757-47449178, эталонная первичная коллекция GRCh38; учетный № Genbank: NG\_008312.1, диапазон: 5001-16423, RefSeqGene; учетный № Genbank: NC\_018922.2, диапазон: 47458570-47469991, альтернативная коллекция CHM1\_1.1; учетный № Genbank: AC\_000143.1, диапазон: 47159075-47170494, альтернативная коллекция HuRef). В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного между положением 47427500 и положением 47428500 на хромосоме 11 человека. Предпочтительно CpG-сайты расположены в положении 47427500-47428300. Более конкретно, область дифференциального метилирования, связанная с раком, предпочтительно связанная с РМЖ, РЯ и/или РПЖ, размером 1000 п.о. расположена в области промотора RAPSN. Более конкретно, в частности, в отношении build 36.1/hg18 генома человека определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного в положении

47427787 (RAPSN\_CpG\_1), 47427825 (RAPSN\_CpG\_2), 47427883 (RAPSN\_CpG\_3), 47427915 (RAPSN\_CpG\_4), 47427930 (RAPSN\_CpG\_5), 47427976 (RAPSN\_CpG\_6), 47428029 (RAPSN\_CpG\_7), 47428110 (RAPSN\_CpG\_8).

В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере двух, по меньшей мере трех, по меньшей мере четырех, по меньшей мере пяти, по меньшей мере шести, по меньшей мере семи, по меньшей мере восьми, по меньшей мере девяти, по меньшей мере десяти, по меньшей мере одиннадцати, по меньшей мере двенадцати или по меньшей мере пятнадцати CpG-сайтов согласно настоящему изобретению. Специалист понимает, что точная численность указанных CpG-сайтов может зависеть от конкретной геномной последовательности и от конкретной последовательности области промотора RAPSN, содержащейся в образце, анализ которого проводят.

В частности, ген S100P представляет собой ген S100P человека, расположенный на хромосоме 4 человека (учетный № Genbank: NC\_000004.12, диапазон: 6693839-6697170, эталонная первичная коллекция GRCh38; учетный № Genbank: AC\_000136.1, диапазон: 6627254-6630595, альтернативная коллекция HuRef; учетный № Genbank: NC\_018915.2, диапазон: 6693944-6697285, альтернативная коллекция

СНМ1\_1.1). В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного между положением 6746000 и положением 6747000 на хромосоме человека 4. Более конкретно, область дифференциального метилирования, связанная с раком (предпочтительно, связанная с РМЖ, РЯ и/или РПЖ), размером 1000 п.о. расположена в пределах от области промотора до первого экзона S100P. В частности, CpG-сайты расположены в положении 6746537-6746823. Более конкретно, в частности, в отношении build 36.1/hg18 генома человека определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного в положении

6746565

(S100P\_CpG\_1), 6746599 (S100P\_CpG\_2), 6746609 (S100P\_CpG\_3), 6746616  
 (S100P\_CpG\_4), 6746623 (S100P\_CpG\_5), 6746634 (S100P\_CpG\_6), 6746710  
 (S100P\_CpG\_7), 6746728 (S100P\_CpG\_8), 6746753 (S100P\_CpG\_9), 6746779  
 (S100P\_CpG\_10), 6746788 (S100P\_CpG\_11), 6746791 (S100P\_CpG\_12).

В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере двух, по меньшей мере трех, по меньшей мере четырех, по меньшей мере пяти, по меньшей мере шести, по меньшей мере семи, по меньшей мере восьми, по меньшей мере девяти, по меньшей мере десяти, по меньшей мере одиннадцати, по меньшей мере двенадцати или по меньшей мере пятнадцати CpG-сайтов согласно настоящему изобретению. Специалист понимает, что точная численность указанных CpG-сайтов может зависеть от конкретной геномной последовательности и от конкретной последовательности области промотора S100P, содержащейся в образце, анализ которого проводят.

В частности, ген DYRK4 представляет собой ген DYRK4 человека, расположенный на хромосоме 12 человека (учетный № Genbank: NC\_000012.12, диапазон: 4590072-4613888, эталонная первичная коллекция GRCh38; учетный № Genbank: AC\_000144.1, диапазон: 4555932-4579747, альтернативная коллекция HuRef; учетный № Genbank: NC\_018923.2, диапазон: 4698860-4722666, альтернативная коллекция СНМ1\_1.1). В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного между положением 4569000 и положением 4571000 на хромосоме человека 12. Более конкретно, область дифференциального метилирования, связанная с раком, предпочтительно связанная с РМЖ, РЯ и/или РПЖ, размером 2000 п.о. расположена в области промотора DYRK4. В частности, CpG-сайты расположены в положении 4569448-4569945. Более конкретно, в частности, в отношении build 36.1/hg18 генома человека определяют статус метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта, расположенного в положении 4569879 (DYRK4\_CpG\_1), 4569809 (DYRK4\_CpG\_2), 4569707 (DYRK4\_CpG\_3), 4569493 (DYRK4\_CpG\_4). В частности, определяют статус метилирования по меньшей мере двух, по меньшей мере трех, по меньшей мере четырех, по меньшей мере пяти, по меньшей мере шести, по меньшей мере семи, по меньшей мере восьми, по меньшей мере девяти, по меньшей мере десяти, по меньшей мере одиннадцати, по меньшей мере двенадцати или по меньшей мере пятнадцати CpG-сайтов согласно настоящему изобретению. Специалист понимает, что точная численность указанных CpG-сайтов может зависеть от конкретной геномной последовательности и от конкретной последовательности области промотора DYRK4, содержащейся в образце, анализ которого проводят.

Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения способ прогнозирования и/или диагностики рака также включает этап сравнения статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствия, в частности количества, по меньшей мере одного маркера микроРНК, у указанного субъекта, со статусом метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствием, в частности количеством, по меньшей мере одного маркера микроРНК в одном или нескольких эталонах. В частности, эталон представляет собой пороговое значение, эталонное значение или эталонный образец.

Согласно вариантам реализации настоящего изобретения, в которых эталон представляет собой пороговое значение, статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и DYRK4, который является меньшим, чем пороговое значение, свидетельствует о том, что субъект страдает от рака, об увеличенном риске развития рака или ухудшении заболевания; тогда как статус метилирования, который эквивалентен пороговому значению или превышает пороговое значение, свидетельствует о том, что субъект не страдает от рака, об уменьшенном риске развития рака или об улучшении заболевания. Следует понимать, что вышеупомянутый уровень может варьировать в зависимости от статистики и ошибок измерения.

Согласно вариантам реализации настоящего изобретения, в которых эталон представляет собой пороговое значение, уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и DYRK4, который эквивалентен пороговому значению или превышает пороговое значение, свидетельствует о том, что субъект страдает от рака, об увеличенном риске развития рака или ухудшении заболевания; тогда как уровень экспрессии, который является меньшим, чем пороговое значение, свидетельствует о том, что субъект не страдает от рака, об уменьшенном риске развития рака или об улучшении заболевания. Следует понимать, что вышеупомянутый уровень может варьировать в зависимости от статистики и ошибок

измерения.

Согласно вариантам реализации настоящего изобретения, в которых эталон представляет собой пороговое значение, количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409 и miR-148b, которое эквивалентно пороговому значению или превышает пороговое значение, свидетельствует о том, что субъект страдает от рака, об увеличенном риске развития рака или ухудшении заболевания; тогда как количество, которое является меньшим, чем пороговое значение, свидетельствует о том, что субъект не страдает от рака, об уменьшенном риске развития рака или об улучшении заболевания. Следует понимать, что вышеупомянутое количество могут варьировать в зависимости от статистики и ошибок измерения.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговое значение для субъекта, страдающего от рака, подверженного увеличенному риску развития рака или ухудшению заболевания, в случае NYAL2 представляет собой статус метилирования менее 90% по сравнению с контролями, и уровень экспрессии, более чем в 1,2 раза превышающий контроли. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговое значение в случае MGRN1 представляет собой статус метилирования менее 90% по сравнению с контролями. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговое значение в случае RPTOR представляет собой статус метилирования менее 95% по сравнению с контролями. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговое значение в случае SLC22A18 представляет собой статус метилирования менее 95% по сравнению с контролями и уровень экспрессии, более чем в 1,1 раза превышающий контроли. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговое значение в случае FUT7 представляет собой статус метилирования менее 92% по сравнению с контролями. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговое значение в случае RAPSN представляет собой статус метилирования менее 98% по сравнению с контролями. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговое значение в случае S100P представляет собой статус метилирования менее 90% по сравнению с контролями и уровень экспрессии, более чем 2 раза превышающий контроли. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговое значение в случае DYRK4 представляет собой статус метилирования менее 85% по сравнению с контролями.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговый уровень miR-652 представляет собой количество, по меньшей мере на 0,5 значения Ct меньше, чем в контролях (или более чем в 1,4 раза превышающее контроли). Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговый уровень miR-801 представляет собой количество, по меньшей мере на 0,6 значения Ct меньше, чем в контролях (или более чем в 1,5 раза превышающее контроли). Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговый уровень miR-376c представляет собой количество, по меньшей мере на 0,5 значения Ct меньше, чем в контролях (или более чем в 1,4 раза превышающее контроли). Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговый уровень miR-376a представляет собой количество, по меньшей мере на 0,6 значения Ct меньше, чем в контролях (или более чем в 1,5 раза превышающее контроли). Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговый уровень miR-127 представляет собой количество, по меньшей мере на 0,5 значения Ct меньше, чем в контролях (или более чем в 1,4 раза превышающее контроли). Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговый уровень miR-409 представляет собой количество, по меньшей мере на 0,4 значения Ct меньше, чем в контролях (или более чем в 1,3 раза превышающее контроли). Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения пороговый уровень miR-148b представляет собой количество, по меньшей мере на 0,3 значения Ct меньше, чем в контролях (или более чем в 1,2 раза превышающее контроли).

Согласно вариантам реализации настоящего изобретения, в которых эталон представляет собой эталонное значение, указанное эталонное значение представляет собой репрезентативное значение для отсутствия рака, наличия рака или увеличенного или уменьшенного риска развития рака.

Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения эталонный образец выбран из группы, состоящей из эталонного образца, полученного от здорового индивидуума, эталонного образца, полученного от больного индивидуума, эталонного образца, полученного от того же индивидуума, что и образец, представляющий интерес, отобранного в более раннюю или позднюю временную точку, и эталонного образца, репрезентативного для здорового индивидуума или репрезентативного для наличия или отсутствия рака или репрезентативного для увеличенного или уменьшенного риска развития рака.

Согласно вариантам реализации настоящего изобретения, в которых эталон представляет собой здорового субъекта или субъекта, который характеризуется уменьшенным риском развития рака либо статусом метилирования маркера метилирования либо количеством микроРНК, репрезентативным для отсутствия рака, уменьшенный уровень метилирования и/или увеличенная экспрессия по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие или увеличенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК по сравнению с эталоном свидетельствует о i) риске развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, ii). наличии рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или iii) прогрессировании рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, у субъекта.

Согласно вариантам реализации настоящего изобретения, в которых эталон представляет собой

больного субъекта или субъекта, который характеризуется увеличенным риском развития рака либо статусом метилирования маркера метилирования либо количеством микроРНК, репрезентативным для наличия рака, эквивалентный статус метилирования или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и равное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК свидетельствует о i) риске развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, ii) наличии рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или iii) прогрессировании рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, у субъекта.

Согласно вариантам реализации настоящего изобретения, в которых эталонный образец был получен от того же субъекта, что и образец, представляющий интерес, и был отобран в более раннюю временную точку,

(i) уменьшенное метилирование и/или увеличенная экспрессия по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие или увеличенное количества по меньшей мере одного маркера микроРНК по сравнению с эталоном свидетельствует о i) риске развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, ii) наличии рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или iii) прогрессировании рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ,

(ii) увеличенное метилирование и/или меньшая экспрессия по меньшей мере одного маркера метилирования и отсутствие или уменьшенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК по сравнению с эталоном свидетельствует об i) уменьшенном риске развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, ii) отсутствии рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или iii) нисходящем прогрессировании рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или

(iii) аналогичный уровень метилирования и/или экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и аналогичное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК по сравнению с эталоном свидетельствует об i) аналогичном риске развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, ii) остановке прогрессирования рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или iii) персистенции рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, у субъекта.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения определяют количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b. В частности, количество miR-652, по меньшей мере на 0,5 значения Ct меньше, чем в контролях (или более чем в 1,4 раза превышающее контроли), свидетельствует о раке. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения количество miR-801, по меньшей мере на 0,6 значения Ct меньше, чем в контролях (или более чем в 1,5 раза превышающее контроли), свидетельствует о раке. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения количество miR-376c, по меньшей мере на 0,5 значения Ct меньше, чем в контролях (или более чем в 1,4 раза превышающее контроли), свидетельствует о раке. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения количество miR-376a, по меньшей мере на 0,6 значения Ct меньше, чем в контролях (или более чем в 1,5 раза превышающее контроли), свидетельствует о раке. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения количество miR-127, по меньшей мере на 0,5 значения Ct меньше, чем в контролях (или более чем в 1,4 раза превышающее контроли), свидетельствует о раке. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения количество miR-409, по меньшей мере на 0,4 значения Ct меньше, чем в контролях (или более чем в 1,3 раза превышающее контроли), свидетельствует о раке. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения количество miR-148b, по меньшей мере на 0,3 значения Ct меньше, чем в контролях (или более чем в 1,2 раза превышающее контроли), свидетельствует о раке.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой образец жидкости организма или образец ткани. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец жидкости организма выбран из группы, состоящей из крови, сыворотки, плазмы, синовиальной жидкости, мочи, слюны, лимфатической жидкости, слезной жидкости и жидкости, получаемой из желез, таких как, например, молочная железа или предстательная железа. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения жидкость организма представляет собой кровь.

Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец ткани представляет собой экстракты ткани, полученные из ткани опухоли или ткани, прилегающей к опухоли. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой культуры клеток или культуры тканей, такие как, но не ограничиваясь указанными, культуры различных раковых клеток. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой среду, полученную из указанных культур клеток или культур тканей.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения субъект представляет собой млекопитающее, пресмыкающееся или птицу. В частности, субъект выбран из группы, состоящей из лабораторных животных (например, мыши или крысы), домашних животных (включая, например, морскую свинку, кролика, лошадь, осла, корову, овцу, козу, свинью, курицу, верблюда, кошку, собаку, морскую черепаху, сухопутную черепаху, змею или ящерицу) или приматов, включая шимпанзе, бонобо, горилл и человека. Люди являются в особенности предпочтительными.

Согласно второму аспекту настоящее изобретение относится к способу определения дозы фармацевтического препарата для воздействия на рак или предотвращения рака или лечения рака у субъекта, причем указанный способ включает следующие этапы:

(a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце от субъекта, и

(b) определение дозы фармацевтического препарата в зависимости от статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из NYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и DYRK4, как подробно указано выше, и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, определяют в эталоне для сравнения со статусом метилирования и/или уровнем экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количеством по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения дозу фармацевтического препарата определяют в зависимости от сравнения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, и в эталоне или эталонном образце.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой образец жидкости организма или образец ткани. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец жидкости организма выбран из группы, состоящей из крови, сыворотки, плазмы, синовиальной жидкости, мочи, слюны, лимфатической жидкости, слезной жидкости и жидкости, получаемой из желез, таких как, например, молочная железа или предстательная железа. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения жидкость организма представляет собой кровь.

Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец ткани представляет собой экстракты ткани, полученные из ткани опухоли или ткани, прилежащей к опухоли. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой культуры клеток или культуры тканей, такие как, но не ограничиваясь указанными, культуры различных раковых клеток. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой среду, полученную из указанных культур клеток или культур тканей.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения субъект представляет собой млекопитающее, пресмыкающееся или птицу. Предпочтительно субъект выбран из группы, состоящей из лабораторных животных (например, мыши или крысы), домашних животных (включая, например, морскую свинку, кролика, лошадь, осла, корову, овцу, свинью, курицу, верблюда, кошку, собаку, морскую черепаху, сухопутную черепаху, змею или ящерицу) или приматов, включая шимпанзе, бонобо, горилл и человека. Люди являются в особенности предпочтительными.

Согласно третьему аспекту настоящее изобретение относится к способу подбора дозы фармацевтического препарата для воздействия на рак или предотвращения или лечения рака, причем указанный способ включает следующие этапы:

(a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из NYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в образце,

(b) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах,

(c) изучение исследуемого образца для определения того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который присутствует в указанном образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, и

(d) подбор дозы фармацевтического препарата в зависимости от того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах.

Согласно конкретному варианту реализации настоящего изобретения дозу фармацевтического препарата увеличивают, если

a) статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования является уменьшенным



эталонным образцом, полученным от указанного субъекта в более раннюю временную точку.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой образец жидкости организма или образец ткани. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец жидкости организма выбран из группы, состоящей из крови, сыворотки, плазмы, синовиальной жидкости, мочи, слюны, лимфатической жидкости, слезной жидкости и жидкости, получаемой из желез, таких как, например, молочная железа или предстательная железа. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец жидкости организма представляет собой образец крови.

Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец ткани представляет собой экстракты ткани, полученные из ткани опухоли или ткани, прилежащей к опухоли. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой культуры клеток или культуры тканей, такие как, но не ограничиваясь указанными, культуры различных раковых клеток. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой среду, полученную из указанных культур клеток или культур тканей.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения субъект представляет собой млекопитающее, пресмыкающееся или птицу. В частности, субъект выбран из группы, состоящей из лабораторных животных (например, мыши или крысы), домашних животных (включая, например, морскую свинку, кролика, лошадь, осла, корову, овцу, козу, свинью, курицу, верблюда, кошку, собаку, морскую черепаху, сухопутную черепаху, змею или ящерицу) или приматов, включая шимпанзе, бонобо, горилл и человека. Люди являются в особенности предпочтительными.

Согласно четвертому аспекту настоящее изобретение относится к способу определения благоприятного и/или неблагоприятного воздействия вещества на рак или развитие рака, причем указанный способ включает следующие этапы:

(а) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в образце,

(b) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, и

(с) изучение образца, представляющего интерес, для определения того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который присутствует в указанном образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, причем образец, представляющий интерес, подвергали отличному воздействию указанного вещества, чем один или несколько эталонов или эталонных образцов.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, подвергают отличному воздействию указанного вещества в отношении времени и/или концентрации. Таким образом, образец, представляющий интерес, можно подвергать воздействию указанного вещества в течение более длительного или более короткого интервала времени и/или при более высокой или более низкой концентрации указанного вещества.

Согласно варианту реализации, в котором образец, представляющий интерес, подвергают воздействию большей концентрации и/или в течение более длительного интервала времени, неблагоприятное воздействие вещества определяют, если

а) статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования является уменьшенным по сравнению с эталоном, характерным для отсутствия заболевания или уменьшенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от здорового субъекта или репрезентативным для отсутствия заболевания,

б) статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования является эквивалентным или уменьшенным по сравнению с эталоном, характерным для наличия заболевания или увеличенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от больного субъекта или репрезентативным для наличия заболевания,

с) статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования является эквивалентным или уменьшенным по сравнению с эталонным образцом, полученным от указанного субъекта в более раннюю временную точку,

д) уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования является увеличенным по сравнению с эталоном, характерным для отсутствия заболевания или уменьшенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от здорового субъекта или репрезентативным для отсутствия заболевания,

е) уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования является эквивалентным



раннюю временную точку,

d) уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования является увеличенным по сравнению с эталоном, характерным для отсутствия заболевания или уменьшенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от здорового субъекта или репрезентативным для отсутствия заболевания,

e) уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования является эквивалентным или увеличенным по сравнению с эталоном, характерным для наличия заболевания или увеличенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от больного субъекта или репрезентативным для наличия заболевания,

f) уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования является эквивалентным или увеличенным по сравнению с эталонным образцом, полученным от указанного субъекта в более раннюю временную точку,

g) количество по меньшей мере одной микроРНК является увеличенным по сравнению с эталоном, характерным для отсутствия заболевания или уменьшенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от здорового субъекта или репрезентативным для отсутствия заболевания,

h) количество по меньшей мере одного маркера микроРНК является эквивалентным или увеличенным по сравнению с эталоном, характерным для наличия заболевания или увеличенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от больного субъекта или репрезентативным для наличия заболевания,

i) количество по меньшей мере одного маркера микроРНК является эквивалентным или увеличенным по сравнению с эталонным образцом, полученным от указанного субъекта в более раннюю временную точку.

Согласно варианту реализации, в котором образец, представляющий интерес, подвергают воздействию меньшей концентрации и/или в течение более короткого интервала времени, благоприятное влияние вещества определяют, если

a) статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования является эквивалентным или увеличенным по сравнению с эталоном, характерным для отсутствия заболевания или уменьшенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от здорового субъекта или репрезентативным для отсутствия заболевания,

b) статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования является уменьшенным по сравнению с эталоном, характерным для наличия заболевания или увеличенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от больного субъекта или репрезентативным для наличия заболевания,

c) статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования является эквивалентным или уменьшенным по сравнению с эталонным образцом, полученным от указанного субъекта в более раннюю временную точку,

d) уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования является эквивалентным или уменьшенным по сравнению с эталоном, характерным для отсутствия заболевания или уменьшенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от здорового субъекта или репрезентативным для отсутствия заболевания,

e) уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования является уменьшенным по сравнению с эталоном, характерным для наличия заболевания или увеличенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от больного субъекта или репрезентативным для наличия заболевания,

f) уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования является уменьшенным по сравнению с эталонным образцом, полученным от указанного субъекта в более раннюю временную точку,

g) количество по меньшей мере одной микроРНК является эквивалентным или уменьшенным по сравнению с эталоном, характерным для отсутствия заболевания или уменьшенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от здорового субъекта или репрезентативным для отсутствия заболевания,

h) количество по меньшей мере одного маркера микроРНК является уменьшенным по сравнению с эталоном, характерным для наличия заболевания или увеличенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от больного субъекта или репрезентативным для наличия заболевания,

i) количество по меньшей мере одного маркера микроРНК является уменьшенным по сравнению с эталонным образцом, полученным от указанного субъекта в более раннюю временную точку.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой образец жидкости организма или образец ткани. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец жидкости организма выбран из группы, состоящей из крови, сыворотки, плазмы, синовиальной жидкости, мочи, слюны, лимфатической жидкости, слезной жидкости и жидкости, получаемой из желез, таких как, например, молочная железа или предстательная железа. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец жидкости организма представляет собой образец крови.

Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец ткани представляет собой экстракты ткани, полученные из ткани опухоли или ткани, прилежащей к опухоли. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой культуры клеток или культуры тканей, такие как, но не ограничиваясь указанными, культуры различных раковых клеток. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой среду, полученную из указанных культур клеток или культур тканей.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения субъект представляет собой млекопитающее, пресмыкающееся или птицу. В частности, субъект выбран из группы, состоящей из лабораторных животных (например, мыши или крысы), домашних животных (включая, например, морскую свинку, кролика, лошадь, осла, корову, овцу, козу, свинью, курицу, верблюда, кошку, собаку, морскую черепаху, сухопутную черепаху, змею или ящерицу) или приматов, включая шимпанзе, бонобо, горилл и человека. Люди являются в особенности предпочтительными.

Согласно пятому аспекту настоящее изобретение относится к способу идентификации пациента как отвечающего на лечение рака, причем указанный способ включает определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в первом образце и в одном или нескольких следующих образцах, отобранных от субъекта после первого образца, причем увеличенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или более низкий уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и отсутствие или уменьшенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК свидетельствует об ответе на лечение.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой образец жидкости организма или образец ткани. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец жидкости организма выбран из группы, состоящей из крови, сыворотки, плазмы, синовиальной жидкости, мочи, слюны, лимфатической жидкости, слезной жидкости и жидкости, получаемой из желез, таких как, например, молочная железа или предстательная железа. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец жидкости организма представляет собой образец крови.

Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец ткани представляет собой экстракты ткани, полученные из ткани опухоли или ткани, прилежащей к опухоли. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой культуры клеток или культуры тканей, такие как, но не ограничиваясь указанными, культуры различных раковых клеток. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой среду, полученную из указанных культур клеток или культур тканей.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения субъект представляет собой млекопитающее, пресмыкающееся или птицу. В частности, субъект выбран из группы, состоящей из лабораторных животных (например, мыши или крысы), домашних животных (включая, например, морскую свинку, кролика, лошадь, осла, корову, овцу, козу, свинью, курицу, верблюда, кошку, собаку, морскую черепаху, сухопутную черепаху, змею или ящерицу) или приматов, включая шимпанзе, бонобо, горилл и человека. Люди являются в особенности предпочтительными.

Согласно шестому аспекту настоящее изобретение относится к способу идентификации пациента как не отвечающего на лечение рака, причем указанный способ включает определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в первом образце и в одном или нескольких следующих образцах, отобранных последовательно после первого образца, причем уменьшенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие или увеличенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК свидетельствует об отсутствии ответа на лечение.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой образец жидкости организма или образец ткани. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец жидкости организма выбран из группы, состоящей из крови, сыворотки, плазмы, синовиальной жидкости, мочи, слюны, лимфатической жидкости, слезной жидкости и жидкости, получаемой из желез, таких как, например, молочная железа или предстательная железа. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец ткани представляет собой экстракты ткани, полученные из ткани опухоли или ткани, прилежа-

шей к опухоли. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой культуры клеток или культуры тканей, такие как, но не ограничиваясь указанными, культуры различных раковых клеток. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой среду, полученную из указанных культур клеток или культур тканей.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения субъект представляет собой млекопитающее, пресмыкающееся или птицу. В частности, субъект выбран из группы, состоящей из лабораторных животных (например, мыши или крысы), домашних животных (включая, например, морскую свинку, кролика, лошадь, осла, корову, овцу, козу, свинью, курицу, верблюда, кошку, собаку, морскую черепаху, сухопутную черепаху, змею или ящерицу) или приматов, включая шимпанзе, бонобо, горилл и человека. Люди являются в особенности предпочтительными.

Согласно седьмому аспекту настоящее изобретение относится к способу лечения рака, причем указанный способ включает следующие этапы:

(i) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в первом образце от субъекта;

(ii) начало лечения указанного субъекта первым режимом лечения, который включает одно или несколько противораковых средств или вариантов терапии,

(iii) определение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одной микроРНК в одном или нескольких последовательно отобранных вторых образцов от указанного субъекта;

(iv) необязательно повторение этапов (ii) и (iii) один или несколько раз;

(v) продолжение лечения субъекта первым режимом лечения в случае, если наблюдается существенное увеличение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или более низкий уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и уменьшенное количество или отсутствие по меньшей мере одного маркера микроРНК, или

(vi) изменение лечения или прекращение лечения субъекта первым режимом лечения и вместо этого лечение субъекта вторым режимом лечения, который включает одно или несколько противораковых средств или вариантов терапии, которые не были включены в первый режим лечения, в случае, если наблюдается уменьшенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и увеличенное количество или присутствие по меньшей мере одного маркера микроРНК.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой образец жидкости организма или образец ткани. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения образец жидкости организма выбран из группы, состоящей из крови, сыворотки, плазмы, синовиальной жидкости, мочи, слюны, лимфатической жидкости, слезной жидкости и жидкости, получаемой из желез, таких как, например, молочная железа или предстательная железа. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения, образец жидкости организма представляет собой образец крови.

Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец ткани представляет собой экстракты ткани, полученные из ткани опухоли или ткани, прилежащей к опухоли. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой культуры клеток или культуры тканей, такие как, но не ограничиваясь указанными, культуры различных раковых клеток. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения образец, представляющий интерес, и/или эталонный образец представляет собой среду, полученную из указанных культур клеток или культур тканей.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения субъект представляет собой млекопитающее, пресмыкающееся или птицу. В частности, субъект выбран из группы, состоящей из лабораторных животных (например, мыши или крысы), домашних животных (включая, например, морскую свинку, кролика, лошадь, осла, корову, овцу, козу, свинью, курицу, верблюда, кошку, собаку, морскую черепаху, сухопутную черепаху, змею или ящерицу) или приматов, включая шимпанзе, бонобо, горилл и человека. Люди являются в особенности предпочтительными.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения режим лечения выбран из перечня, состоящего из химиотерапии, антигормональной терапии, иммунотерапии и лучевой терапии.

Согласно восьмому аспекту настоящее изобретение относится к средствам для прогнозирования и/или диагностики

i) риска развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, ii) наличия рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или iii) прогрессирования рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, причем указанные средства включают:

с) одно или несколько средств для обнаружения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и

д) одно или несколько средств для обнаружения количества по меньшей мере одного маркера микроРНК.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения указанные средства обнаруживают статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше.

Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения одно или несколько средств для обнаружения статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования включают по меньшей мере один полинуклеотид, специфичный к метилированию. Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения полинуклеотид, специфичный к метилированию, представляет собой специфичный к метилированию праймер и/или специфичный к метилированию зонд.

Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения одно или несколько средств для обнаружения уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования содержит связывающую группу. Указанная связывающая группа представляет собой, в частности, полинуклеотид, пептид, белок или аптамер. Согласно следующим вариантам реализации настоящего изобретения связывающая группа выбрана из группы, состоящей из моноклональных антител, поликлональных антител, Fab-фрагментов, Fc-фрагментов, Fab'-фрагментов, F(ab')<sub>2</sub>-фрагментов, однодоменных антител (sdAb), нанотел, одноцепочечных Fv (scFv), двухвалентных одноцепочечных варибельных фрагментов (di-scFv), тандемных scFv, диател, триател, биспецифичных диател, одноцепочечных диател (scDb), биспецифичных активаторов Т-клеток (BiTE) и молекул DART".

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения связывающая группа связывается с частью продукта гена маркера метилирования. Соответственно, согласно вариантам реализации, в которых связывающая группа представляет собой полинуклеотид, указанный полинуклеотид связывается с мРНК, транскрибируемой с гена соответствующего маркера метилирования, т.е. гена HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P или DYRK4.

Согласно вариантам реализации настоящего изобретения, в которых связывающая группа представляет собой пептид, белок или аптамер, указанный пептид, белок или аптамер связывается с частью, в частности эпитопом, белка, транслируемого с гена соответствующего маркера метилирования, т.е. гена HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P или DYRK4.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения указанные средства обнаруживают по меньшей мере один маркер микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше.

Согласно следующим вариантам реализации одно или несколько средств для обнаружения количества по меньшей мере одного маркера микроРНК содержат по меньшей мере один полинуклеотид, специфичный к микроРНК.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения указанный по меньшей мере один полинуклеотид, специфичный к микроРНК, содержит последовательность согласно SEQ ID NO: 1-13.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения указанные средства предназначены для применения в способе, подробно описанном выше. В частности, указанные средства предназначены для применения в способе, который выбран из группы, состоящей из

(i) способа прогнозирования и/или диагностики рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, у субъекта, причем указанный способ включает (а) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и (b) определение присутствия, в частности количества, по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, у субъекта, причем статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие по меньшей мере одной микроРНК служат показателем для указанного прогноза и/или диагноза у указанного субъекта,

(ii) способа определения дозы фармацевтического препарата для воздействия на рак или предотвращения или лечения рака у субъекта, причем указанный способ включает следующие этапы: (а) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в образце от субъекта, и необязательно определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в эталоне для сравнения со статусом метилирования и/или уровнем экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количеством по меньшей мере

одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, и (b) определение дозы фармацевтического препарата в зависимости от статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, необязательно в зависимости от сравнения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, и в эталоне или эталонном образце,

(iii) способа подбора дозы фармацевтического препарата для воздействия на рак или предотвращения или лечения рака, причем указанный способ включает следующие этапы: (a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в образце, (b) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, (c) изучение исследуемого образца для определения того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который присутствует в указанном образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, и (d) подбор дозы фармацевтического препарата в зависимости от того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах,

(iv) способа определения благоприятного и/или нежелательного воздействия вещества на рак или развитие рака, причем указанный способ включает следующие этапы: (a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в образце, представляющем интерес, (b) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, и (c) изучение образца, представляющего интерес, для определения того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который присутствует в указанном образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, причем образец, представляющий интерес, подвергали отличному воздействию указанного вещества, чем один или несколько эталонов или эталонных образцов,

(v) способа идентификации пациента как отвечающего на лечение рака, причем указанный способ включает определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в первом образце и в одном или нескольких следующих образцах, отобранных последовательно после первого образца, причем увеличенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или более низкий уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и отсутствие или уменьшенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК свидетельствует об ответе на лечение,

(vi) способа идентификации пациента как не отвечающего на лечение рака, причем указанный способ включает определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в первом образце и в одном или нескольких следующих образцах, отобранных последовательно после первого образца, причем уменьшенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие или увеличенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК свидетельствует об отсутствии ответа на лечение, и

(vii) способа лечения рака, причем указанный способ включает следующие этапы: (i) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b,

как подробно указано выше, в первом образце от субъекта; (ii) начало лечения указанного пациента первым режимом лечения, который включает одно или несколько противораковых средств или вариантов терапии, (iii) определение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, и количества по меньшей мере одной микроРНК в одном или нескольких образцах, последовательно отобранных от указанного субъекта; (iv) необязательно повторение этапов (ii) и (iii) один или несколько раз; (v) продолжение лечения пациента первым режимом лечения в случае, если наблюдается существенное увеличение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или более низкий уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, и уменьшенное количество или отсутствие по меньшей мере одного маркера микроРНК, или (vi) изменение лечения или прекращение лечения пациента первым режимом лечения и вместо этого лечение пациента вторым режимом лечения, который включает одно или несколько противораковых средств или вариантов терапии, которые не были включены в первый режим лечения, в случае, если наблюдается уменьшенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, и увеличенное количество или присутствие по меньшей мере одного маркера микроРНК.

Согласно девятому аспекту настоящее изобретение относится к набору, содержащему указанные выше средства для обнаружения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и присутствия, в частности, количества, по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения набор также содержит:

(a) контейнер и/или  
(b) информационный носитель, причем информационный носитель содержит информацию, такую как

(i) инструкции относительно способов обнаружения риска развития и/или обнаружения присутствия и/или мониторинга прогрессирования рака,

(ii) инструкции по применению средств для обнаружения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, в частности, в образце, более конкретно, в образце от индивидуума и/или из набора,

(iii) информацию о качестве, такую как информация относительно номера серии/партии средств для обнаружения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК и/или набора, места производства или комплектации или даты окончания срока годности или даты срока реализации, информацию относительно надлежащего хранения или использования набора,

(iv) информацию относительно состава буфера(буферов), разбавителя(разбавителей), реактива(реактивов) для обнаружения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК и/или средств для обнаружения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК,

(v) информацию относительно интерпретации информации, полученной при осуществлении вышеуказанных способов обнаружения и/или мониторинга прогрессирования рака,

(vi) предупреждение относительно возможной ошибочной интерпретации или неверных результатов при применении неподходящих способов и/или неподходящих средств и/или

(vii) предупреждение относительно возможной ошибочной интерпретации или неверных результатов при применении неподходящего реактива(реактивов) и/или буфера(буферов).

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения набор предназначен для применения в способе, подробно описанном выше. В частности, набор предназначен для применения в способе, который выбран из группы, состоящей из

(i) способа прогнозирования и/или диагностики рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, у субъекта, причем указанный способ включает (a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и (b) определение присутствия, в частности количества, по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, у субъекта, причем статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие по меньшей мере одной микроРНК служат показателем для указанного прогноза и/или диагноза у указанного субъекта,

(ii) способа определения дозы фармацевтического препарата для воздействия на рак или предотвращения или лечения рака у субъекта, причем указанный способ включает следующие этапы: (a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN,

S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в образце от субъекта, и необязательно определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в эталоне для сравнения со статусом метилирования и/или уровнем экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количеством по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, и (b) определение дозы фармацевтического препарата в зависимости от статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, необязательно в зависимости от сравнения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, и в эталоне или эталонном образце,

(iii) способа подбора дозы фармацевтического препарата для воздействия на рак или предотвращения или лечения рака, причем указанный способ включает следующие этапы: (a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в образце, (b) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, (c) изучение исследуемого образца для определения того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который присутствует в указанном образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, и (d) подбор дозы фармацевтического препарата в зависимости от того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах,

(iv) способа определения благоприятного и/или нежелательного воздействия вещества на рак или развитие рака, причем указанный способ включает следующие этапы: (a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в образце, представляющем интерес, (b) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, и (c) изучение образца, представляющего интерес, для определения того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который присутствует в указанном образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, причем образец, представляющий интерес, подвергали отличному воздействию указанного вещества, чем один или несколько эталонов или эталонных образцов,

(v) способа идентификации пациента как отвечающего на лечение рака, причем указанный способ включает определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в первом образце и в одном или нескольких следующих образцах, отобранных последовательно после первого образца, причем увеличенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или более низкий уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и отсутствие или уменьшенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК свидетельствует об ответе на лечение,

(vi) способа идентификации пациента как не отвечающего на лечение рака, причем указанный способ включает определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в первом образце и в одном или нескольких следующих образцах, отобранных последовательно после первого образца, причем уменьшенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие или увеличенное количество по меньшей мере

мере одного маркера микроРНК свидетельствует об отсутствии ответа на лечение, и

(vii) способа лечения рака, причем указанный способ включает следующие этапы: (i) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в первом образце от субъекта; (ii) начало лечения указанного пациента первым режимом лечения, который включает одно или несколько противораковых средств или вариантов терапии, (iii) определение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одной микроРНК в одном или нескольких образцах, последовательно отобранных от указанного субъекта; (iv) необязательно повторение этапов (ii) и (iii) один или несколько раз; (v) продолжение лечения пациента первым режимом лечения в случае, если наблюдается существенное увеличение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или более низкий уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и уменьшенное количество или отсутствие по меньшей мере одного маркера микроРНК, или (vi) изменение лечения или прекращение лечения пациента первым режимом лечения и вместо этого лечение пациента вторым режимом лечения, который включает одно или несколько противораковых средств или вариантов терапии, которые не были включены в первый режим лечения, в случае, если наблюдается уменьшенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и увеличенное количество или присутствие по меньшей мере одного маркера микроРНК.

Согласно десятому аспекту настоящее изобретение относится к применению средств для обнаружения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и присутствия, в частности, количества, по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, или набора, содержащего указанные средства, как подробно указано выше, для прогнозирования и/или диагностики i) риска развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, ii) наличия рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или iii) прогрессирования рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения применение указанных средств и/или указанного набора представляет собой применение в одном из способов, подробно указанных выше. В частности, применение в способе, который выбран из группы, состоящей из

(i) способа прогнозирования и/или диагностики рака, предпочтительно РМЖ, РЯ и/или РПЖ, у субъекта, причем указанный способ включает (a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и (b) определение присутствия, в частности количества, по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, у субъекта, причем статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие по меньшей мере одной микроРНК служат показателем для указанного прогноза и/или диагноза у указанного субъекта,

(ii) способа определения дозы фармацевтического препарата для воздействия на рак или предотвращения или лечения рака у субъекта, причем указанный способ включает следующие этапы: (a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в образце от субъекта, и необязательно определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в эталоне для сравнения со статусом метилирования и/или уровнем экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количеством по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, и (b) определение дозы фармацевтического препарата в зависимости от статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, необязательно в зависимости от сравнения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, и в эталоне или эталонном образце,

(iii) способа подбора дозы фармацевтического препарата для воздействия на рак или предотвращения или лечения рака, причем указанный способ включает следующие этапы: (a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как

подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в образце, (b) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, (с) изучение исследуемого образца для определения того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который присутствует в указанном образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, и (d) подбор дозы фармацевтического препарата в зависимости от того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах,

(iv) способа определения благоприятного и/или нежелательного воздействия вещества на рак или развитие рака, причем указанный способ включает следующие этапы: (a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в образце, представляющем интерес, (b) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, и (с) изучение образца, представляющего интерес, для определения того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который присутствует в указанном образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, причем образец, представляющий интерес, подвергали отличному воздействию указанного вещества, чем один или несколько эталонов или эталонных образцов.

(v) способа идентификации пациента как отвечающего на лечение рака, причем указанный способ включает определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в первом образце и в одном или нескольких следующих образцах, отобранных последовательно после первого образца, причем увеличенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или более низкий уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и отсутствие или уменьшенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК свидетельствует об ответе на лечение,

(vi) способа идентификации пациента как не отвечающего на лечение рака, причем указанный способ включает определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в первом образце и в одном или нескольких следующих образцах, отобранных последовательно после первого образца, причем уменьшенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие или увеличенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК свидетельствует об отсутствии ответа на лечение, и

(vii) способа лечения рака, причем указанный способ включает следующие этапы: (i) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, как подробно указано выше, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409, miR-148b, как подробно указано выше, в первом образце от субъекта; (ii) начало лечения указанного пациента первым режимом лечения, который включает одно или несколько противораковых средств или вариантов терапии, (iii) определение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одной микроРНК в одном или нескольких образцах, последовательно отобранных от указанного субъекта; (iv) необязательно повторение этапов (ii) и (iii) один или несколько раз; (v) продолжение лечения пациента первым режимом лечения в случае, если наблюдается существенное увеличение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или более низкий уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и уменьшенное количество или отсутствие по меньшей мере одного маркера микроРНК, или (vi) изменение лечения или прекращение лечения пациента первым

режимом лечения и вместо этого лечение пациента вторым режимом лечения, который включает одно или несколько противораковых средств или вариантов терапии, которые не были включены в первый режим лечения, в случае, если наблюдается уменьшенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и увеличенное количество или присутствие по меньшей мере одного маркера микроРНК.

Согласно одиннадцатому аспекту настоящее изобретение относится к устройству для обнаружения рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, которое содержит:

(a) блок для анализа, содержащий

(i) детектирующее средство для определения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и

(ii) детектирующее средство для определения присутствия по меньшей мере одной микроРНК, которая выбрана из группы, состоящей из: miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127-3p, miR-409-3p, miR-148b, в образце от субъекта; и

(b) блок для оценки, содержащий процессор для обработки данных, в который материально встроен алгоритм для осуществления сравнения количества, определенного блоком для анализа, с эталоном и который способен генерировать файл выходных данных, содержащий диагноз, установленный на основании указанного сравнения.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения указанное детектирующее средство представляет собой средства, как подробно указано выше.

Конкретные устройства представляют собой таковые, которые можно применять без конкретных знаний специализированного клинициста, например тест-полоски или электронные устройства, на которые просто необходимо нанести образец. Результаты могут быть предоставлены в виде выходного сигнала параметрических диагностических первичных данных, предпочтительно, в виде абсолютных или относительных количеств. Следует понимать, что эти данные требуют интерпретации клиницистом. Однако также предусмотрены устройства с экспертной системой, в которых выходной сигнал содержит обработанные диагностические первичные данные, интерпретация которых не требует участия специализированного клинициста. Еще более предпочтительные устройства содержат аналитические блоки/устройства (например, биосенсоры, матрицы, твердые подложки, объединенные с лигандами, которые специфично распознают полипептиды, устройства для поверхностного плазмонного резонанса, ЯМР-спектрометры, масс-спектрометры и т.д.) или блоки/устройства для оценки.

Дополнительные аспекты настоящего изобретения являются следующими.

1. Способ прогнозирования и/или диагностики рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, у субъекта, причем указанный способ включает:

другие варианты рака также включены в данный аспект? Просто хочу убедиться;

a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и

b) определение присутствия, предпочтительно количества, по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, у субъекта, причем статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие по меньшей мере одной микроРНК служат показателем для указанного прогноза и/или диагноза у указанного субъекта.

2. Способ согласно аспекту 1, отличающийся тем, что прогноз и/или диагноз рака включает

i) риск развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, ii) наличие рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или iii) прогрессирование, предпочтительно ухудшение или улучшение, рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ.

3. Способ согласно любому из аспектов 1 или 2, отличающийся тем, что

a) определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6 или 7 различных маркеров метилирования и/или

b) определяют присутствие по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6 или 7 различных маркеров микроРНК.

4. Способ согласно любому из аспектов 1-3, отличающийся тем, что

a) определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии маркера метилирования MGRN1, RPTOR и RAPSN и необязательно HYAL2 и/или

b) определяют присутствие маркера микроРНК miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409 и miR-148b.

5. Способ согласно любому из аспектов 1-3, отличающийся тем, что

a) определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии маркера метилирования SLC22A18, FUT7, S100P и DYRK4 и необязательно HYAL2 и/или

b) определяют присутствие маркера микроРНК miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409 и miR-148b.

6. Способ согласно любому из аспектов 1-4, отличающийся тем, что

a) определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии маркера метилирования MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSIN, S100P и DYRK4 и необязательно HYAL2 и/или

b) определяют присутствие маркера микроРНК miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409 и miR-148b.

7. Способ согласно любому из аспектов 1-7, отличающийся тем, что определение статуса метилирования включает определение метилирования по меньшей мере одного CpG-сайта в гене HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSIN, S100P, DYRK4, в частности, в области промотора, интрона или экзона указанных генов.

8. Способ согласно аспекту 7, отличающийся тем, что по меньшей мере один CpG-сайт выбран из группы, состоящей из cg22266967 в S100P, cg21019522 в SLC22A18, cg09418321 в DYRK4 и cg0279745 в FUT7, cg06418238 в RPTOR, cg00736299 в MGRN1, cg01662869 в MGRN1, cg27466532 в RAPSIN, cg27091787 в HYAL2.

9. Способ согласно любому из аспектов 1-8, также включающий этап

с) сравнения статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствия по меньшей мере одного маркера микроРНК у указанного субъекта со статусом метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в одном или нескольких эталонах.

10. Способ согласно аспекту 9, отличающийся тем, что эталон представляет собой пороговое значение, эталонное значение или эталонный образец.

11. Способ согласно аспекту 10, отличающийся тем, что эталонный образец выбран из группы, состоящей из здорового индивидуума, больного индивидуума или того же индивидуума, что и исследуемый индивидуум, в более раннюю или позднюю временную точку или репрезентативного значения для отсутствия рака, для наличия рака или для увеличенного или уменьшенного риска развития рака.

12. Способ согласно аспекту 10 или 11, отличающийся тем, что эталонный образец выбран из группы, состоящей из эталонного образца, полученного от здорового индивидуума, эталонного образца, полученного от больного индивидуума, эталонного образца, полученного от того же индивидуума, что и образец, представляющий интерес, отобранного в более раннюю или позднюю временную точку, и эталонного образца, репрезентативного для здорового индивидуума или репрезентативного для наличия или отсутствия рака или репрезентативного для увеличенного или уменьшенного риска развития рака.

13. Способ согласно любому из аспектов 10-12, отличающийся тем, что эталон представляет собой здорового субъекта или субъекта, который характеризуется уменьшенным риском развития рака или статусом метилирования или количеством микроРНК, репрезентативным для отсутствия рака, причем уменьшенное метилирование и/или сверхэкспрессия по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие или увеличенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК по сравнению с эталоном свидетельствует о

iv) риске развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ,

v) наличии рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или

vi) прогрессировании рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, у субъекта.

14. Способ согласно любому из аспектов 10-12, отличающийся тем, что эталон представляет собой больного индивидуума или индивидуума, подверженного увеличенному риску развития рака, или значение, репрезентативное для наличия рака, причем аналогичный статус метилирования или экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и аналогичное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК свидетельствует о

iv) риске развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ,

v) наличии рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или

vi) прогрессировании рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, у субъекта.

15. Способ согласно любому из аспектов 10-12, отличающийся тем, что эталонный образец получен от того же индивидуума, что и образец, представляющий интерес, и был отобран в более раннюю временную точку, причем

(ii) уменьшенное метилирование и/или сверхэкспрессия по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие или увеличенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК по сравнению с эталоном свидетельствует о

iv) риске развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ,

v) наличии рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или

vi) прогрессировании рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ,

(ii) увеличенное метилирование и/или уменьшенная экспрессия по меньшей мере одного маркера метилирования и отсутствие или уменьшенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК по сравнению с эталоном свидетельствует об

iv) уменьшенном риске развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ,

v) отсутствии рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или

vi) нисходящем прогрессировании рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или

(iii) аналогичный уровень метилирования и/или экспрессии по меньшей мере одного маркера мети-

лирования и аналогичное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК по сравнению с эталонным свидетельствует об

- iv) аналогичном риске развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ,
- v) остановке прогрессирования рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или
- vi) персистенции рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, у субъекта.

16. Способ определения дозы фармацевтического препарата для воздействия на рак или предотвращения или лечения рака у субъекта, причем указанный способ включает следующие этапы:

(a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, в образце от субъекта, и необязательно определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в эталоне для сравнения со статусом метилирования и/или уровнем экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количеством по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, и

(b) определение дозы фармацевтического препарата в зависимости от статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, необязательно в зависимости от сравнения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, и в эталоне или эталонном образце.

17. Способ подбора дозы фармацевтического препарата для воздействия на рак или предотвращения или лечения рака, причем указанный способ включает следующие этапы:

(a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, в образце,

(b) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах,

(c) изучение исследуемого образца для определения того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который присутствует в указанном образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, и

(d) подбор дозы фармацевтического препарата в зависимости от того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК в образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах.

18. Способ определения благоприятного и/или нежелательного воздействия вещества на рак или развитие рака, причем указанный способ включает следующие этапы:

(a) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, в образце, представляющем интерес,

(b) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, и

(c) изучение образца, представляющего интерес, для определения того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количество по меньшей мере одного маркера микроРНК, который присутствует в указанном образце, представляющем интерес, от уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах,

причем образец, представляющий интерес, подвергали отличному воздействию указанного вещества, чем один или несколько эталонов или эталонных образцов.

19. Способ идентификации пациента как отвечающего на лечение рака, причем указанный способ включает определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, в первом образце и в одном или нескольких следующих образцах, отобранных последовательно после первого образца, причем увеличенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования

и/или более низкий уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и отсутствие или уменьшенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК свидетельствует об ответе на лечение.

20. Способ идентификации пациента как не отвечающего на лечение рака, причем указанный способ включает определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, в первом образце и в одном или нескольких следующих образцах, отобранных последовательно после первого образца, причем уменьшенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие или увеличенное количество по меньшей мере одного маркера микроРНК свидетельствует об отсутствии ответа на лечение.

21. Способ лечения рака, причем указанный способ включает следующие этапы:

(i) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, который выбран из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, в первом образце от субъекта;

(ii) начало лечения указанного пациента первым режимом лечения, который включает одно или несколько противораковых средств или вариантов терапии,

(iii) определение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одной микроРНК в одном или нескольких образцах, последовательно отобранных от указанного субъекта;

(iv) необязательно повторение этапов (ii) и (iii) один или несколько раз;

(v) продолжение лечения пациента первым режимом лечения в случае, если наблюдается существенное увеличение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или более низкий уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и уменьшенное количество или отсутствие по меньшей мере одного маркера микроРНК, или

(vi) изменение лечения или прекращение лечения пациента первым режимом лечения и вместо этого лечение пациента вторым режимом лечения, который включает одно или несколько противораковых средств или вариантов терапии, которые не были включены в первый режим лечения, в случае, если наблюдается уменьшенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и увеличенное количество или присутствие по меньшей мере одного маркера микроРНК.

22. Способ согласно любому из аспектов 1-21, отличающийся тем, что образец, представляющий интерес, представляет собой образец ткани и/или образец жидкости организма.

23. Способ согласно аспекту 22, отличающийся тем, что образец ткани представляет собой образец опухоли и/или образец жидкости организма и выбран из группы, состоящей из крови, плазмы, сыворотки, мочи, слюны, слезной жидкости и жидкости, получаемой из молочной железы.

24. Средства для прогнозирования и/или диагностики

iv) риска развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ,

v) наличия рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или

vi) прогрессирования рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ,

причем указанные средства включают:

a) одно или несколько средств для обнаружения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и

b) одно или несколько средств для обнаружения количества по меньшей мере одного маркера микроРНК.

25. Средства согласно аспекту 24, отличающиеся тем, что

a) одно или несколько средств для обнаружения статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования содержат по меньшей мере один полинуклеотид, специфичный к метилированию, и/или

b) одно или несколько средств для обнаружения уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования содержат специфичный к мРНК полинуклеотид, связывающую группу, в частности, которая выбрана из группы, состоящей из белка или пептида, более конкретно, моноклонального или поликлонального антитела, и

c) одно или несколько средств для обнаружения количества по меньшей мере одного маркера микроРНК содержат по меньшей мере один полинуклеотид, специфичный к микроРНК.

26. Набор, содержащий средства согласно аспекту 24 или 25.

27. Набор согласно аспекту 26, отличающийся тем, что указанный набор также содержит:

(a) контейнер и/или

(b) информационный носитель, причем информационный носитель содержит информацию, такую как

(i) инструкции относительно способов обнаружения риска развития и/или обнаружения присутствия и/или мониторинга прогрессирования рака,

(ii) инструкции по применению средств для обнаружения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК, в частности в образце, более конкретно, в образце от индивидуума и/или из набора,

(iii) информацию о качестве, такую как информация относительно номера серии/партии средств для обнаружения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК и/или набора, места производства или комплектации или даты окончания срока годности или даты срока реализации, информацию относительно надлежащего хранения или использования набора,

(iv) информацию относительно состава буфера(буферов), разбавителя(разбавителей), реактива(реактивов) для обнаружения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК и/или средств обнаружения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и количества по меньшей мере одного маркера микроРНК,

(v) информацию относительно интерпретации информации, полученной при осуществлении вышеуказанных способов обнаружения и/или мониторинга прогрессирования рака,

(vi) предупреждение относительно возможной ошибочной интерпретации или неверных результатов при применении неподходящих способов и/или неподходящих средств и/или

(vii) предупреждение относительно возможной ошибочной интерпретации или неверных результатов при применении неподходящего реактива(реактивов) и/или буфера(буферов).

28. Применение средств согласно аспектам 24 или 25 или набора согласно аспектам 26 или 27 для прогнозирования и/или диагностики

iv) риска развития рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ,

v) наличия рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, и/или

vi) прогрессирования рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ.

29. Применение средств согласно аспектам 24 или 25 или набора согласно аспектам 26 или 27 в способе согласно любому из аспектов 1-23.

30. Устройство для обнаружения рака, в частности РМЖ, РЯ и/или РПЖ, которое содержит:

(a) блок для анализа, содержащий

(i) детектирующее средство для определения статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из NYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSIN, S100P, DYRK4, и

(ii) детектирующее средство для определения присутствия по меньшей мере одной микроРНК, которая выбрана из группы, состоящей из miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127-3p, miR-409-3p, miR-148b, в образце от субъекта; и

(b) блок для оценки, содержащий процессор для обработки данных, в который материально встроен алгоритм для осуществления сравнения количества, определенного блоком для анализа, с эталоном и который способен генерировать файл выходных данных, содержащий диагноз, установленный на основании указанного сравнения.

Следующие примеры предназначены исключительно для иллюстрации настоящего изобретения. Данные примеры никоим образом не стоит истолковывать как ограничивающие объем настоящего изобретения.

#### Примеры

Популяция исследования.

Настоящее исследование было одобрено Этическим комитетом Гейдельбергского университета (Германия). Все пациенты, страдающие от рака, и здоровые контроли относились к европеоидной расе. Все пациенты-участники исследования и контрольные добровольцы давали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Геномную ДНК выделяли из периферической цельной крови с применением набора для выделения ДНК от Qiagen. Лейкоциты немедленно после выделения замораживали в жидком азоте и хранили при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$  до применения. ДНК и РНК выделяли из лейкоцитов с применением мини-набора AllPrep DNA/RNA/Protein от Qiagen. Подробная информация об образцах представлена в табл. 1. См. клинические данные пациентов со спорадическим РМЖ в табл. 5 и 6.

Случаи РМЖ и аналогичные контрольные группы.

Образцы периферической крови от 270 пациентов с наследственным РМЖ с отрицательным индексом по мутации BRCA1/2 (первый раунд валидации) отбирали в центрах Немецкого консорциума по наследственному раку молочной железы и яичников в Гейдельберге и Кельне. Всех пациентов со случаями наследственного РМЖ включали в исследование согласно критерию семейного анамнеза. Образцы периферической крови от 350 пациентов со спорадическим РМЖ (189 во втором раунде валидации и 161 в третьем раунде валидации) отбирали во временной точке первого диагноза РМЖ до начала какого-либо

лечения и хирургии РМЖ в клинике Гейдельбергского университета. Клинические характеристики пациентов со sporadическим РМЖ определяли согласно руководству по определению стадий рака Американского объединенного комитета по раку (American Joint Committee on Cancer, AJCC). Образцы периферической крови от 459 здоровых контролей женского пола (251 в первом раунде валидации и 189 во втором раунде валидации) отбирали от доноров крови с помощью Немецкой службы крови Красного Креста Бадена-Вюртемберга-Гессена. Образцы периферической крови от 151 здоровых контролей женского пола (третий раунд валидации) отбирали в клинике Гейдельбергского университета. Все случаи заболевания и контроли в третьем раунде валидации обрабатывали одинаковым способом в параллеле. Лейкоциты выделяли из периферической крови с применением буфера для лизиса красных кровяных клеток в течение четырех часов после забора крови в клинике Гейдельбергского университета. Все лейкоциты от пациентов и контролей обрабатывали в параллеле.

Случаи РПЖ и аналогичные контрольные группы.

Образцы периферической крови от 147 пациентов со sporadическим РПЖ (80 пациентов мужского пола и 67 пациентов женского пола) отбирали во множестве центров Германии. Специально выбирали больший процент случаев РПЖ на ранней стадии. Образцы периферической крови от 191 здоровых контролей (115 пациентов мужского пола и 76 пациентов женского пола) отбирали из крови доноров с помощью Немецкой службы крови Красного Креста Бадена-Вюртемберга-Гессена.

Случаи РЯ и аналогичные контрольные группы.

Образцы периферической крови от 84 пациентов со sporadическим РЯ отбирали в клинике Гейдельбергского университета. Специально выбирали больший процент случаев РЯ на ранней стадии. Образцы периферической крови от 148 здоровых контролей отбирали в клинике Гейдельбергского университета.

Пример 1. Анализ маркера метилирования.

Анализ метилирования с применением прибора Infinium 27k и анализ метилирования с применением прибора Infinium 450k.

В процессе раунда исследования 500 нг геномной ДНК от каждого образца обрабатывали с применением набора EZ-96 DNA Methylation (Zymo Research) для бисульфитного преобразования и подвергали полногеномному скринингу метилирования с помощью наборов Human Methylation27 BeadChip (Illumina) и Infinium Human Methylation450 BeadChip (Illumina) согласно рекомендациям производителя (Steemers F.J., Chang W., Lee G., Barker D.L., Shen R., Gunderson K.L. Whole-genome genotyping with the single-base extension assay. *Nat Methods* 2006; 3:31-3. Bork S., Pfister S., Witt H., et al. DNA methylation pattern changes upon long-term culture and aging of human mesenchymal stromal cells. *Aging Cell* 2009; 9:54-63). Все образцы проходили контроль качества согласно инструкциям производителя.

Анализ метилирования посредством Maldi-TOF масс-спектрометрии.

Метод MALDI-TOF масс-спектрометрии (Sequenom), описанный Breitling с соавт. (Breitling L.P., Yang R., Korn B., Burwinkel B., Brenner H. Tobacco-smoking-related differential DNA methylation: 27K discovery and replication. *Am J. Hum. Genet.* 2011; 88:450-7.), использовали в различных раундах верификации. ДНК преобразовывали бисульфитным способом с помощью набора EZ-96 DNA Methylation (Zymo Research) и амплифицировали с применением бисульфит-специфичных праймеров (фиг. 1). Продукты ПЦР обрабатывали согласно стандартным протоколам Sequenom EpiTyper Assay и наносили на 384 SpectroCHIP с помощью нанодиспенсера. Чипы анализировали с помощью системы Sequenom Mass Spectrometer. Данные собирали с помощью программного обеспечения SpectroACQUIRE v3.3.1.3 и визуализировали с помощью программного обеспечения MassArray EpiTyper v1.0. 5% образцов случайным образом выбирали для анализа дубликации.

Количественная ПЦР в реальном времени для экспрессии РНК 100 нг суммарной РНК от каждого образца транскрибировали в кДНК с помощью реактивов TaqMan® Reverse Transcription (Applied Biosystems). Количественную ПЦР в реальном времени проводили с применением прибора LightCycler480 (Roche) в сочетании с анализами экспрессии генов TaqMan (Applied Biosystems) для гена HYL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P и DYRK4 и гена домашнего хозяйства HPRT1 в качестве эндогенного контроля. Значения точки пересечения рассчитывали с применением метода максимума второй производной из базового программного обеспечения LightCycler 480 (Roche). Относительную экспрессию генов для каждого образца рассчитывали согласно методу  $\Delta\Delta C_t$  посредством нормирования к HPRT1. Все пациенты и контроли обрабатывали в параллеле.

Бисульфит-специфичные праймеры для различных ампликонов

Ампликоны	Праймеры	Последовательности
S100P	смысловой	aggaagagagGGAAGGTGGGTTTGAATTTAGTATT
	антисмысловой	cagtaatacactactataggagaaggctCTATCCCTCTACCTCTAAACCCCT

SLC22A18	смысловой антисмысловой	aggaagagagI AAGIGGAAI IIGGIIIII IGGA cagtaatac gactcactataggagaaggctCACTCCAAACCTAAACTCACCTCTA
DYRK4	смысловой антисмысловой	aggaagagagGGI IIII IAAAAI IGGII I IGGAI cagtaatac gactcactataggagaaggctAAACCCCAI II I IATTCCTATAAT
FUT7	смысловой антисмысловой	aggaagagagGAAGAGGAAGGGA I I I AG I I I GAAG cagtaatac gactcactataggagaaggctACAAACCTTAACCTCCCAAAATACT
RPTOR	смысловой антисмысловой	aggaagagagGIGGGGI I I IIGIAGIAGI IGAGA cagtaatac gactcactataggagaaggctTAATAACCCAAAACCAACCTAAC
MGRN1	смысловой антисмысловой	aggaagagagI I I IGGGGI A I AAGGGAAGI I I AAG cagtaatac gactcactataggagaaggctCCTAACCAACAAAAAACCTAAAAA
RAPSN	смысловой антисмысловой	aggaagagagGA IIII AG I IGGIGAGAGGIIIIGA cagtaatac gactcactataggagaaggctAAAACCTAAATACCCAACCAAAA
HYAL2	смысловой антисмысловой	aggaagagagIII AAA I I I AG IAGGGIGIGAGAGGA cagtaatac gactcactataggagaaggctCTCATCCATATTATAAAAAACCC
HYAL2-310	смысловой антисмысловой	aggaagagagI I IIII GGGG I GAG I IIII IAGI cagtaatac gactcactataggagaaggctCACCTAATCCTAAACCCATAACCTT
HYAL2-325	смысловой антисмысловой	aggaagagagIIGI I IAGI I I I I GAGGIIIIIGG cagtaatac gactcactataggagaaggctATTACACTCCCTCCCTCTCTAAC

#### Статистический анализ.

Данные, полученные на приборе Illumina 27K, обрабатывали с помощью программного обеспечения Illumina BeadStudio с настройками по умолчанию. Зонды с детекторным P-значением >0,01 удаляли и образцы нормировали по квантилям. Связь зондов со статусом случай заболевания/контроль оценивали посредством моделей  $\beta$ -регрессии с логистической цепью и ассоциированными критериями Вальда с применением пакета программ R betareg v2.2-3 30. Критерии отношения подобия использовали для сравнения модели случай заболевания/контроль с моделью с группировкой для различия чипов с целью обнаружить возможные ошибочные совпадения в связи со смешиванием в результате эффектов чипа. Множество испытательных корректировок осуществляли с применением метода Бенджамини - Хохберга, контролирующего уровень ложноположительных результатов на уровне 0,05. Все анализы проводили с помощью статистического программного обеспечения R v2.11.1.

Все статистические анализы данных экспрессии генов проводили с помощью программного обеспечения SPSS Statistics 17.0. Корреляции оценивали с применением коэффициентов корреляции рангов Спирмена. Регрессионные логистические модели и непараметрические критерии использовали для сравнения между двумя и несколькими группами. Результаты логистической регрессии корректировали с учетом возможных затрудняющих интерпретацию влияния возраста и различий измерения партий посредством включения в регрессионные логистические модели дополнительных ковариат. Анализ кривой операционных характеристик приемника (ROC) проводили для оценки дискриминационной способности уровней метилирования.

#### Пример 2. Анализ маркера микроРНК.

Обработка крови и выделение микроРНК из плазмы.

Образцы крови с EDTA отбирали от индивидуумов со случаями заболевания и контролей и обрабатывали для получения плазмы в течение 2 ч после сбора. Во избежание контаминации эпителиальными клетками от исходной пункции кожи первую пробирку с кровью, отобранной в процессе флеботомии, не обрабатывали для получения плазмы. Кровь центрифугировали при 1300 g в течение 20 мин при температуре 10°C. Супернатант (плазму) переносили в пробирки для микроцентрифугирования с последующим вторым этапом высокоскоростного центрифугирования при 15500 g в течение 10 мин при температуре 10°C для удаления клеточного дебриса и фрагментов. Плазму разделяли на аликвоты, помещали в криовials, быстро замораживали в жидком азоте и хранили при температуре -80°C до применения. Суммарную РНК (включая микроРНК) экстрагировали из 400 мкл плазмы. Денатурацию и разделение фаз проводили с применением реактива TRIzol LS (Invitrogen, Германия) согласно протоколу производителя с незначительными изменениями: добавляли 10 фемтомоль смеси miR-39/miR-238 *C. elegans*. Водную фазу переносили в другую пробирку, добавляли 1,5 объема абсолютного этанола и смесь наносили на колонки мини-набора miRNeasy (Qiagen, Германия). После промывки микроРНК элюировали в 30 мкл воды, не содержащей РНКазу.

Валидация избранных маркеров-кандидатов.

Реакции обратной транскрипции (ОТ) проводили с применением набора TaqMan miRNA Reverse Transcription (Applied Biosystems, Германия) и специфичных к микроРНК праймеров для ОТ для miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409 и miR-148b (Applied Biosystems, Германия). Симплексные (первичный рак молочной железы) или мультиплексные (метастатический рак молочной желе-

зы) реакции проводили в объеме 7,5 или 15 мкл соответственно. Каждая реакция содержала 1× буфер для ОТ, 1 мМ дНТФ, 0,3× праймеры для ОТ, специфичные к микроРНК, 0,25 Ед. ингибитора РНКазы, 3,3 Ед. обратной транскриптазы Multiscribe и фиксированный объем матрицы микроРНК (2 или 1 мкл соответственно). Для образцов ткани доброкачественного и злокачественного рака молочной железы реакции проводили в 15 мкл, и реакции содержали следующие компоненты: 1× буфер для ОТ, 1 мМ дНТФ, 0,6× праймеры для ОТ, специфичные к микроРНК и RNU6B, 0,25 Ед. ингибитора РНКазы, 3,3 Ед. обратной транскриптазы Multiscribe и 5 нг РНК. Заслепление образцов и рандомизированное одновременное исследование случаев заболевания и контролей на реакционных планшетах служило для минимизации субъективизма и особенностей партии в процессе валидации. ОТ проводили на циклизаторе для ПЦР G-STORM GS2 (Alphametrix, Германия) при следующих условиях: 16°C в течение 30 мин, 42°C в течение 30 мин и 85°C в течение 5 мин с последующим выдерживанием при температуре 4°C.

Реакции ПЦР в реальном времени методом TaqMan проводили в трех повторах в реакциях уменьшенного масштаба, содержащих 2,5 мкл 2× универсальной мастер-микс для ПЦР TaqMan без амперазы UNG (Applied Biosystems, Германия), 0,25 мкл 20× смеси праймера, специфичного к микроРНК/зонда (Applied Biosystems, Германия) и 2,25 мкл продукта обратной транскрипции (разведенного в соотношении 1:4). ПЦР в реальном времени проводили на термоциклере LightCycler 480 (Roche, Германия) при следующих условиях: 95°C в течение 10 мин, затем 50 циклов при температуре 95°C в течение 15 с, 60°C в течение 30 с и 72°C в течение 30 с с последующей выдерживанием при температуре 4°C.

Первичные данные валидационных исследований в плазме крови нормировали к добавленной *cel-miR-39*, как описано в публикации Kroh et al. (Kroh E.M., Parkin R.K., Mitchell P.S., Tewari M. Analysis of circulating microRNA biomarkers in plasma and serum using quantitative reverse transcription-PCR (qRT-PCR). *Methods* 2010; 50:298-301). Первичные значения Ct от образцов ткани молочной железы нормировали к RNU6B, как описано в публикации User Bulletin #2: ABI PRISM 7700 Sequence Detection System (Applied Biosystems).

Сравнение случаев рака и контролей.

Для оценки потенциала обнаружения рака молочной железы и рака предстательной железы строили кривые операционных характеристик приемника (ROC) и рассчитывали площади под кривой (areas under the curves, AUC). На основе кривых ROC с 95% доверительными интервалами вычисляли наименьшие специфичности при заранее определенных чувствительностях (от 75 до 90%) для *miR-652*, *miR-801*, *miR-376c*, *miR-376a*, *miR-127*, *miR-409* и *miR-148b*. На основе кривых ROC вычисляли наименьшие специфичности при заранее определенных чувствительностях (от 75 до 90%) для наиболее информативных и наименее избыточных моделей микроРНК в качестве нижней границы 95% доверительных интервалов (Tom Fawcett (2006) "An introduction to ROC analysis". *Pattern Recognition Letters* 27, 861-874. DOI: 10.1016/j.patrec.2005.10.010; using R package pROC v1.3.2).

Диагностический потенциал *miR-652*, *miR-801*, *miR-376c*, *miR-376a*, *miR-127*, *miR-409* и *miR-148b* в плазме.

Анализ кривых ROC проводили для оценки диагностического потенциала *miR-652*, *miR-801*, *miR-376c*, *miR-376a*, *miR-127*, *miR-409* и *miR-148b* для обнаружения рака молочной железы и рака предстательной железы в плазме крови. Дискриминационная способность между образцами опухоли и контроля отражается площадями под кривой (AUC).

Посредством исследования различных комбинаций *miR-148b*, *miR-376c*, *miR-409-3p* и *miR-801* авторы настоящего изобретения обнаружили, что объединенная кривая ROC со всеми семью *miR-652*, *miR-801*, *miR-376c*, *miR-376a*, *miR-127*, *miR-409* и *miR-148b* позволила получить наиболее информативную и наименее избыточную панель микроРНК, AUC которой составила 0,89.

Пример 3. Комбинация метилирования и маркера микроРНК.

Подготовка образцов.

Образцы периферической крови от 161 пациентов со sporadическим РМЖ (третий раунд валидации) отбирали во временной точке первого диагноза РМЖ до начала какого-либо лечения и хирургии РМЖ в клинике Гейдельбергского университета. Клинические характеристики пациентов со sporadическим РМЖ определяли согласно руководству по определению стадий рака Американского объединенного комитета по раку (AJCC). Образцы периферической крови от 151 здоровых контролей женского пола (третий раунд валидации) отбирали в клинике Гейдельбергского университета. Все случаи заболевания и контроли в третьем раунде валидации обрабатывали одинаковым способом в параллеле. ДНК из цельной крови и микроРНК из плазмы экстрагировали из каждого образца.

Определение уровня метилирования ДНК и уровня микроРНК.

Уровни метилирования ДНК определяли методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (Sequenom), как описано в примере 1. Уровни микроРНК в плазме определяли методом ПЦР в реальном времени, как описано в примере 2.

Статистический анализ.

Все статистические анализы данных экспрессии генов проводили с помощью программного обеспечения SPSS Statistics 17.0. Результаты для наборов маркеров (комбинация метилирования ДНК и мар-

кером микроРНК) получали с применением алгоритма логистической регрессии. Регрессионные логистические модели использовали для и непараметрические критерии использовали для сравнения между двумя и несколькими группами. Результаты логистической регрессии корректировали с учетом возможных затрудняющих интерпретацию влияния возраста и различий измерения партий посредством включения в регрессионные логистические модели дополнительных ковариат. Анализ кривой операционных характеристик приемника (ROC) проводили для оценки дискриминационной способности уровней метилирования.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ прогнозирования и/или диагностики рака молочной железы у субъекта, причем указанный способ включает:

а) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и

б) определение количества маркеров микроРНК miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409, miR-148b у указанного субъекта,

причем уменьшенный статус метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии указанного по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие указанных микроРНК служат показателем риска развития указанного рака, показателем наличия у индивидуума указанного рака и/или показателем ухудшения указанного рака.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии маркера метилирования RPTOR, MGRN1 и RAPSN и необязательно HYAL2.

3. Способ по любому из пп.1, 2, отличающийся тем, что определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии маркера метилирования DYRK4, S100P, FUT7 и SLC22A18 и необязательно HYAL2.

4. Способ по любому из пп.1, 2, отличающийся тем, что определяют статус метилирования и/или уровень экспрессии маркера метилирования MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4 и необязательно HYAL2.

5. Способ подбора дозы фармацевтического препарата для воздействия на рак молочной железы или предотвращения или лечения указанного рака, причем указанный способ включает следующие этапы:

(а) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и количества маркеров микроРНК miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409, miR-148b, в образце,

(б) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии указанного по меньшей мере одного маркера метилирования и количества указанных маркеров микроРНК в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах,

(с) изучение исследуемого образца для определения того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии указанного по меньшей мере одного маркера метилирования и количество указанных маркеров микроРНК, которые присутствуют в указанном образце, представляющем интерес, от указанного уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах, и

(д) подбор дозы фармацевтического препарата в зависимости от того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии указанного по меньшей мере одного маркера метилирования и количество указанных маркеров микроРНК в указанном образце, представляющем интерес, от указанного уровня в одном или нескольких эталонах или эталонных образцах,

при этом дозу фармацевтического препарата увеличивают, если

а) статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования является уменьшенным по сравнению с эталоном, характерным для отсутствия заболевания или уменьшенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от здорового субъекта или репрезентативным для отсутствия заболевания,

б) статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования является равным эталону или уменьшенным по сравнению с эталоном, характерным для наличия заболевания или увеличенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от больного субъекта или репрезентативным для наличия заболевания,

с) статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования является равным или уменьшенным по сравнению с эталонным образцом, полученным от указанного субъекта в более раннюю временную точку,

д) уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования является увеличенным по сравнению с эталоном, характерным для отсутствия заболевания или уменьшенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от здорового субъекта или репрезентативным для отсутствия заболевания,

е) уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования является равным эталону или увеличенным по сравнению с эталоном, характерным для наличия заболевания или увеличенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от больного субъекта или репрезентативным для наличия заболевания,

ф) уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования является равным или увеличенным по сравнению с эталонным образцом, полученным от указанного субъекта в более раннюю временную точку,

г) количество маркеров микроРНК является увеличенным по сравнению с эталоном, характерным для отсутствия заболевания или уменьшенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от здорового субъекта или репрезентативным для отсутствия заболевания,

h) количество маркеров микроРНК является равным эталону или увеличенным по сравнению с эталоном, характерным для наличия заболевания или увеличенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от больного субъекта или репрезентативным для наличия заболевания, и/или

и) количество маркеров микроРНК является равным или увеличенным по сравнению с эталонным образцом, полученным от указанного субъекта в более раннюю временную точку; и при этом дозу фармацевтического препарата уменьшают, если

а) статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования является равным эталону или увеличенным по сравнению с эталоном, характерным для отсутствия заболевания или уменьшенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от здорового субъекта или репрезентативным для отсутствия заболевания,

б) статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования является уменьшенным по сравнению с эталоном, характерным для наличия заболевания или увеличенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от больного субъекта или репрезентативным для наличия заболевания,

с) статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования является равным или уменьшенным по сравнению с эталонным образцом, полученным от указанного субъекта в более раннюю временную точку,

д) уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования является равным эталону или уменьшенным по сравнению с эталоном, характерным для отсутствия заболевания или уменьшенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от здорового субъекта или репрезентативным для отсутствия заболевания,

е) уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования является уменьшенным по сравнению с эталоном, характерным для наличия заболевания или увеличенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от больного субъекта или репрезентативным для наличия заболевания,

ф) уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования является уменьшенным по сравнению с эталонным образцом, полученным от указанного субъекта в более раннюю временную точку,

г) количество маркеров микроРНК является равным эталону или уменьшенным по сравнению с эталоном, характерным для отсутствия заболевания или уменьшенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от здорового субъекта или репрезентативным для отсутствия заболевания,

h) количество маркеров микроРНК является уменьшенным по сравнению с эталоном, характерным для наличия заболевания или увеличенного риска развития заболевания, или с эталонным образцом от больного субъекта или репрезентативным для наличия заболевания, и/или

и) количество маркеров микроРНК является уменьшенным по сравнению с эталонным образцом, полученным от указанного субъекта в более раннюю временную точку.

6. Способ определения благоприятного или неблагоприятного воздействия вещества на рак молочной железы или развитие указанного типа рака, причем указанный способ включает следующие этапы:

(а) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и количества маркеров микроРНК miR-652, miR-801, miR-376c, miR-376a, miR-127, miR-409, miR-148b, в образце, представляющем интерес,

(б) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии указанного по меньшей мере одного маркера метилирования и количества маркеров микроРНК в одном или нескольких эталонных образцах и

(с) изучение указанного образца, представляющего интерес, для определения того, отличается ли статус метилирования и/или уровень экспрессии указанного по меньшей мере одного маркера метилирования и количество указанных маркеров микроРНК, которые присутствуют в указанном образце, представляющем интерес, от указанного уровня в одном или нескольких эталонных образцах, причем образец, представляющий интерес, подвергали воздействию указанного вещества, отличному от воздействия на указанные один или несколько эталонных образцов.

7. Способ идентификации пациента как отвечающего на лечение рака молочной железы, причем указанный способ включает определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей

мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и количества маркеров микроРНК miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409, miR-148b, в первом образце и в одном или нескольких следующих образцах, отобранных последовательно после указанного первого образца, причем увеличенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или более низкий уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и отсутствие или уменьшенное количество указанных маркеров микроРНК свидетельствует о наличии ответа на указанное лечение.

8. Способ идентификации пациента как не отвечающего на лечение рака молочной железы, причем указанный способ включает определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и количества маркеров микроРНК miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409, miR-148b, в первом образце и в одном или нескольких следующих образцах, отобранных последовательно после указанного первого образца, причем уменьшенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и присутствие или увеличенное количество указанных маркеров микроРНК свидетельствует об отсутствии ответа на указанное лечение.

9. Способ лечения рака молочной железы, причем указанный способ включает следующие этапы:

(i) определение статуса метилирования и/или уровня экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и количества микроРНК miR-652, miR-801, miR-376с, miR-376а, miR-127, miR-409, miR-148b в первом образце от субъекта;

(ii) начало лечения указанного пациента в соответствии с первым режимом лечения, который включает одно или несколько противораковых средств или вариантов терапии,

(iii) определение статуса метилирования указанного по меньшей мере одного маркера метилирования и/или уровня экспрессии указанного по меньшей мере одного маркера метилирования и количества указанных маркеров микроРНК в одном или нескольких образцах, последовательно отобранных от указанного субъекта;

(iv) необязательно повторение этапов (ii) и (iii) один или несколько раз;

(v) продолжение лечения указанного пациента в соответствии с первым режимом лечения в случае, если наблюдается существенное увеличение статуса метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или более низкий уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования и уменьшенное количество или отсутствие указанных маркеров микроРНК, или

(vi) изменение лечения или прекращение лечения указанного пациента в соответствии с первым режимом лечения и вместо этого лечение указанного пациента в соответствии со вторым режимом лечения, который включает одно или несколько противораковых средств или вариантов терапии, которые не были включены в указанный первый режим лечения, в случае, если наблюдается уменьшенный статус метилирования по меньшей мере одного маркера метилирования и/или увеличенный уровень экспрессии по меньшей мере одного маркера метилирования, и увеличенное количество или присутствие указанных маркеров микроРНК.

10. Набор для прогнозирования и/или диагностики

i) риска развития рака молочной железы,

ii) наличия рака молочной железы и/или

iii) прогрессирования рака молочной железы, причем указанный набор содержит:

a) по меньшей мере одно средство для обнаружения статуса метилирования и/или уровня экспрессии маркера метилирования, который выбран из группы, состоящей из HYAL2, MGRN1, RPTOR, SLC22A18, FUT7, RAPSN, S100P, DYRK4, и

b) средство для обнаружения количества маркера микроРНК miR-652, средство для обнаружения количества маркера микроРНК miR-801, средство для обнаружения количества маркера микроРНК miR-376с, средство для обнаружения количества маркера микроРНК miR-376а, средство для обнаружения количества маркера микроРНК miR-127, средство для обнаружения количества маркера микроРНК miR-409, средство для обнаружения количества маркера микроРНК miR-148b.

11. Применение набора по п. 10 для прогнозирования и/или диагностики

i) риска развития рака молочной железы,

ii) наличия рака молочной железы и/или

iii) прогрессирования рака молочной железы.

Панель биомаркеров на основе крови для раннего обнаружения рака молочной железы

Таблица 1. Описание образцов

Раунды	Первый раунд валидации		Второй раунд валидации		Третий раунд валидации		
Типы образцов	ДНК из периферической крови		ДНК из периферической крови		ДНК из периферической крови		
Анализ	MassARRAY		MassARRAY		MassARRAY		
Группы	Контроли	Случаи НРМЖ	Контроли	Случаи СРМЖ	Контроли	Случаи СРМЖ	
Источники образцов	Кровь доноров из Мангейма	Центры лечения рака молочной железы в Гейдельберге и Кельне	Кровь доноров из Мангейма	Клиника Гейдельбергского университета	Клиника Гейдельбергского университета	Клиника Гейдельбергского университета	
Количество мишеней	251	270	189	189	151	161	
Медиана возраста	43.0	43.0	64.0	60.0	45.0	46.0	
Диапазон возраста	30-67	24-78	31-69	32-87	21-77	27-61	
	HYAL2	251 (100.0%)	270 (100.0%)	189 (100.0%)	188 (99.5%)	151 (100.0%)	161 (100.0%)
	DYRK4	247 (98.4%)	268 (99.3%)	189 (100.0%)	189 (100.0%)	150 (99.3%)	158 (98.1%)
	S100P	251 (100.0%)	270 (100.0%)	189 (100.0%)	189 (100.0%)	151 (100.0%)	161 (100.0%)
	FUT7	251 (100.0%)	270 (100.0%)	189 (100.0%)	189 (100.0%)	151 (100.0%)	161 (100.0%)
	SLC22A18	251 (100.0%)	270 (100.0%)	189 (100.0%)	189 (100.0%)	151 (100.0%)	161 (100.0%)
Количество проанализированных (уровень определения, %)	RPTOR	251 (100.0%)	270 (100.0%)	189 (100.0%)	189 (100.0%)	151 (100%)	161 (100.0%)
	MGRN1	251 (100.0%)	270 (100.0%)	189 (100.0%)	189 (100.0%)	150 (99.3%)	158 (98.1%)
	RAPSN	251 (100.0%)	270 (100.0%)	189 (100.0%)	189 (100.0%)	150 (99.3%)	161 (100.0%)
	miR-127-3p	—	—	—	—	148 (98.0%)	153 (95.0%)
	miR-148b	—	—	—	—	148 (98.0%)	153 (95.0%)
	miR-376a	—	—	—	—	148 (98.0%)	153 (95.0%)
	miR-376c	—	—	—	—	148 (98.0%)	153 (95.0%)
	miR-409-3p	—	—	—	—	148 (98.0%)	153 (95.0%)
	miR-652	—	—	—	—	148 (98.0%)	153 (95.0%)
	miR-801	—	—	—	—	148 (98.0%)	153 (95.0%)

Фиг. 1

Таблица 2. Различия метилирования восьми генов в трех раундах валидации

CpG-сайты	Первый раунд валидации				Второй раунд валидации			
	Медиана контролей (МКР)	Медиана случаев НРМЖ (МКР)	ОШ на 10% метилирование	P-значение*	Медиана контролей (МКР)	Медиана случаев спорадического РМЖ (МКР)	ОШ на 10% метилирование	P-значение*
HYAL2_CpG_1	0.38 (0.33-0.45)	0.30 (0.26-0.37)	1.92 (1.57-2.33)	8.92E-11	0.39 (0.32-0.48)	0.3 (0.26-0.37)	1.96 (1.56-2.45)	4.70E-09
HYAL2_CpG_2	0.25 (0.20-0.30)	0.18 (0.14-0.23)	3.10 (2.32-4.15)	2.88E-14	0.23 (0.18-0.29)	0.17 (0.13-0.2)	5.31 (3.49-8.06)	5.27E-15
HYAL2_CpG_3	0.41 (0.36-0.47)	0.32 (0.28-0.38)	4.24 (3.14-5.75)	8.22E-21	0.41 (0.36-0.47)	0.32 (0.28-0.36)	5.44 (3.69-8.03)	1.51E-17
HYAL2_CpG_4	0.65 (0.59-0.72)	0.53 (0.48-0.60)	4.53 (3.41-6.03)	2.78E-25	0.64 (0.58-0.70)	0.5 (0.46-0.54)	8.14 (5.37-12.33)	4.79E-23
DYRK4_CpG_1	0.38 (0.19-0.55)	0.25 (0.15-0.38)	1.25 (1.15-1.35)	1.20E-07	0.34 (0.23-0.46)	0.26 (0.19-0.33)	1.49 (1.28-1.73)	3.82E-07
DYRK4_CpG_3	0.29 (0.16-0.42)	0.20 (0.12-0.30)	1.25 (1.14-1.39)	7.33E-06	0.27 (0.18-0.37)	0.22 (0.17-0.27)	1.53 (1.27-1.85)	8.23E-06
S100P_CpG_2,3	0.68 (0.64-0.72)	0.63 (0.59-0.68)	3.07 (2.31-4.09)	1.63E-14	0.68 (0.64-0.72)	0.65 (0.61-0.69)	2.28 (1.59-3.27)	7.32E-06
S100P_CpG_4	0.89 (0.64-0.95)	0.67 (0.58-0.91)	1.32 (1.19-1.47)	1.81E-07	0.86 (0.61-0.94)	0.83 (0.60-0.93)	1.08 (0.96-1.21)	0.227
S100P_CpG_7	0.58 (0.47-0.72)	0.41 (0.31-0.54)	1.61 (1.43-1.82)	1.53E-14	0.49 (0.40-0.67)	0.43 (0.32-0.61)	1.34 (1.16-1.56)	7.93E-05
S100P_CpG_8	0.52 (0.45-0.59)	0.43 (0.37-0.51)	2.36 (1.93-2.90)	1.10E-16	0.48 (0.42-0.58)	0.45 (0.38-0.51)	1.71 (1.37-2.15)	2.77E-06
S100P_CpG_9	0.58 (0.52-0.64)	0.5 (0.45-0.56)	2.72 (2.14-3.45)	1.97E-16	0.56 (0.51-0.62)	0.52 (0.46-0.58)	2.07 (1.58-2.72)	1.45E-07
SLC22A18_CpG_3	0.21 (0.16-0.26)	0.18 (0.14-0.21)	2.70 (1.98-3.67)	2.67E-10	0.19 (0.15-0.24)	0.16 (0.13-0.18)	3.78 (2.46-5.81)	1.20E-09
SLC22A18_CpG_4	0.26 (0.21-0.35)	0.21 (0.17-0.26)	1.94 (1.57-2.40)	8.99E-10	0.26 (0.21-0.32)	0.19 (0.16-0.24)	2.96 (2.15-4.06)	1.94E-11
SLC22A18_CpG_6	0.29 (0.23-0.36)	0.25 (0.21-0.29)	2.02 (1.61-2.54)	1.79E-09	0.27 (0.22-0.32)	0.21 (0.18-0.25)	3.35 (2.34-4.80)	4.80E-11
SLC22A18_CpG_8	0.65 (0.59-0.70)	0.60 (0.55-0.65)	2.22 (1.73-2.85)	4.99E-10	0.62 (0.57-0.67)	0.58 (0.52-0.61)	2.61 (1.90-3.60)	3.44E-09

CpG-сайты	Первый раунд валидации				Второй раунд валидации			
	Медиана контролей (МКР)	Медиана случаев НРМЖ (МКР)	ОШ на 10% метилирование	р-значение*	Медиана контролей (МКР)	Медиана случаев спорадического РМЖ (МКР)	ОШ на 10% метилирование	р-значение*
FUT7_CpG_1	0.43 (0.35-0.49)	0.31 (0.23-0.39)	2.23 (1.87-2.67)	9.32E-19	0.40 (0.30-0.51)	0.31 (0.26-0.38)	1.84 (1.52-2.23)	5.20E-10
FUT7_CpG_2	0.26 (0.21-0.32)	0.20 (0.15-0.25)	3.14 (2.36-4.17)	4.08E-15	0.21 (0.14-0.28)	0.16 (0.13-0.20)	2.04 (1.56-2.67)	2.26E-07
FUT7_CpG_3	0.18 (0.14-0.23)	0.13 (0.09-0.18)	3.18 (2.37-4.28)	2.14E-14	0.16 (0.10-0.27)	0.13 (0.09-0.17)	1.73 (1.36-2.21)	9.46E-06
FUT7_CpG_4	0.23 (0.19-0.30)	0.19 (0.13-0.26)	1.63 (1.34-1.99)	1.46E-06	0.24 (0.18-0.31)	0.21 (0.16-0.25)	1.55 (1.23-1.95)	1.75E-04
cg02679745	0.31 (0.25-0.38)	0.21 (0.15-0.26)	3.28 (2.59-4.16)	1.15E-22	0.28 (0.20-0.39)	0.21 (0.16-0.27)	1.98 (1.60-2.45)	4.02E-10
FUT7_CpG_7	0.13 (0.09-0.18)	0.08 (0.05-0.12)	3.87 (2.78-5.39)	1.35E-15	0.12 (0.06-0.17)	0.09 (0.06-0.13)	1.46 (1.13-1.88)	0.004
FUT7_CpG_8	0.40 (0.34-0.48)	0.31 (0.25-0.39)	1.89 (1.60-2.23)	3.73E-14	0.38 (0.30-0.49)	0.31 (0.24-0.38)	1.49 (1.27-1.75)	6.88E-07
RPTOR_CpG_1	0.11 (0.08-0.18)	0.10 (0.06-0.15)	1.50 (1.12-2.01)	0.007	0.05 (0.00-0.17)	0.05 (0.00-0.13)	1.17 (1.02-1.35)	0.028
RPTOR_CpG_2	0.34 (0.26-0.43)	0.29 (0.20-0.36)	1.67 (1.36-2.05)	1.32E-06	0.26 (0.11-0.45)	0.20 (0.11-0.32)	1.17 (1.05-1.30)	0.004
RPTOR_CpG_3	0.71 (0.62-0.80)	0.64 (0.55-0.72)	1.59 (1.31-1.92)	1.97E-06		(0.53-0.80)	1.03 (0.95-1.12)	0.511
RPTOR_CpG_4	0.97 (0.91-1.00)	0.91 (0.83-0.99)	2.11 (1.57-2.85)	7.74E-07	0.85 (0.65-1.00)	0.80 (0.68-0.97)	1.02 (0.92-1.13)	0.670
RPTOR_CpG_5	0.83 (0.75-0.90)	0.80 (0.73-0.85)	1.55 (1.21-2.00)	6.09E-04	0.85 (0.70-0.97)	0.80 (0.68-0.90)	1.06 (0.95-1.17)	0.288
RPTOR_CpG_8	0.78 (0.70-0.84)	0.72 (0.67-0.77)	2.00 (1.52-2.63)	8.73E-07	0.80 (0.62-0.96)	0.72 (0.59-0.84)	1.08 (0.98-1.19)	0.116
RAPSN_CpG_1	0.95 (0.92-0.96)	0.94 (0.92-0.96)	1.26 (0.81-1.95)	0.302	0.97 (0.94-0.99)	0.96 (0.92-0.98)	1.12 (0.91-1.36)	0.285
RAPSN_CpG_2	0.67 (0.58-0.78)	0.67 (0.61-0.74)	1.06 (0.90-1.25)	0.480	0.73 (0.39-0.90)	0.67 (0.46-0.87)	1.00 (0.93-1.07)	0.988
RAPSN_CpG_4	0.50 (0.39-0.63)	0.41 (0.34-0.52)	1.48 (1.26-1.73)	1.11E-06	0.48 (0.08-0.82)	0.36 (0.12-0.59)	1.09 (1.02-1.16)	0.013
RAPSN_CpG_5	0.82 (0.71-0.88)	0.79 (0.72-0.85)	1.03 (0.85-1.25)	0.757	0.91 (0.64-0.99)	0.80 (0.59-0.94)	1.07 (0.99-1.16)	0.077
RAPSN_CpG_6	0.67 (0.57-0.78)	0.58 (0.48-0.68)	1.42 (1.21-1.67)	1.68E-05	0.64 (0.19-0.95)	0.57 (0.32-0.79)	1.01 (0.95-1.08)	0.699
RAPSN_CpG_7	0.74 (0.66-0.83)	0.72 (0.63-0.79)	1.20 (1.00-1.43)	0.047	0.95 (0.63-1.00)	0.79 (0.55-0.96)	1.06 (0.99-1.14)	0.123
RAPSN_CpG_8	0.96 (0.93-0.97)	0.95 (0.92-0.96)	1.32 (0.79-2.20)	0.293	0.97 (0.97-0.98)	0.97 (0.96-0.98)	0.95 (0.79-1.13)	0.542

CpG-сайты	Первый раунд валидации				Второй раунд валидации			
	Медиана контролей (МКР)	Медиана случаев НРМЖ (МКР)	ОШ на 10% метилирование	р-значение*	Медиана контролей (МКР)	Медиана случаев спорадического РМЖ (МКР)	ОШ на 10% метилирование	р-значение*
MGRN1_CpG_1	0.35 (0.23-0.52)	0.23 (0.10-0.35)	1.38 (1.22-1.56)	3.98E-07	0.33 (0.02-0.63)	0.09 (0.00-0.30)	1.25 (1.15-1.36)	1.24E-07
MGRN1_CpG_2	0.65 (0.59-0.73)	0.60 (0.56-0.66)	1.49 (1.19-1.87)	5.72E-04	0.58 (0.42-0.76)	0.47 (0.38-0.59)	1.23 (1.11-1.36)	1.10E-04
MGRN1_CpG_3	0.52 (0.32-0.67)	0.34 (0.22-0.49)	1.33 (1.19-1.49)	5.08E-07	0.48 (0.07-0.83)	0.19 (0.04-0.50)	1.17 (1.10-1.25)	1.78E-06
MGRN1_CpG_4	0.44 (0.31-0.63)	0.32 (0.22-0.44)	1.33 (1.19-1.50)	1.93E-06	0.45 (0.05-0.74)	0.18 (0.04-0.42)	1.22 (1.14-1.32)	9.33E-08
MGRN1_CpG_5.6.7.8	0.46 (0.33-0.56)	0.33 (0.24-0.44)	1.52 (1.30-1.77)	9.82E-08	0.46 (0.10-0.62)	0.23 (0.09-0.41)	1.25 (1.15-1.37)	5.38E-07
MGRN1_CpG_11	0.35 (0.22-0.50)	0.22 (0.10-0.35)	1.37 (1.21-1.56)	1.29E-06	0.31 (0.01-0.63)	0.11 (0.00-0.34)	1.21 (1.12-1.31)	2.22E-06
MGRN1_CpG_12	0.50 (0.35-0.66)	0.38 (0.27-0.50)	1.36 (1.21-1.54)	7.75E-07	0.51 (0.09-0.83)	0.23 (0.07-0.47)	1.19 (1.11-1.27)	6.44E-07
MGRN1_CpG_13	0.65 (0.59-0.73)	0.60 (0.56-0.66)	1.49 (1.19-1.87)	5.72E-04	0.58 (0.42-0.76)	0.47 (0.38-0.59)	1.23 (1.11-1.36)	1.10E-04
MGRN1_CpG_14	0.40 (0.33-0.53)	0.34 (0.24-0.41)	1.52 (1.28-1.79)	1.08E-06	0.41 (0.02-0.67)	0.25 (0.00-0.42)	1.21 (1.12-1.31)	1.53E-06
MGRN1_CpG_15	0.50 (0.34-0.66)	0.37 (0.26-0.46)	1.44 (1.26-1.64)	5.25E-08	0.53 (0.12-0.84)	0.24 (0.05-0.51)	1.20 (1.12-1.29)	8.96E-08
MGRN1_CpG_16.17.18	0.48 (0.35-0.62)	0.35 (0.27-0.46)	1.46 (1.27-1.68)	2.04E-07	0.49 (0.10-0.76)	0.23 (0.09-0.45)	1.22 (1.13-1.31)	2.78E-07
MGRN1_CpG_19.20	0.53 (0.40-0.67)	0.41 (0.33-0.53)	1.46 (1.26-1.69)	3.77E-07	0.52 (0.20-0.79)	0.33 (0.18-0.53)	1.20 (1.11-1.30)	5.55E-06
MGRN1_CpG_21	0.40 (0.33-0.53)	0.34 (0.24-0.41)	1.52 (1.28-1.79)	1.08E-06	0.41 (0.02-0.67)	0.25 (0.00-0.42)	1.21 (1.12-1.31)	1.53E-06
MGRN1_CpG_22.23	0.49 (0.37-0.59)	0.37 (0.29-0.47)	1.52 (1.30-1.77)	1.05E-07	0.46 (0.14-0.71)	0.26 (0.09-0.45)	1.23 (1.14-1.34)	7.12E-07
MGRN1_CpG_26	0.48 (0.36-0.61)	0.38 (0.29-0.48)	1.35 (1.17-1.55)	2.45E-05	0.44 (0.07-0.74)	0.26 (0.11-0.49)	1.16 (1.08-1.25)	7.97E-05
MGRN1_CpG_27	0.51 (0.35-0.65)	0.38 (0.28-0.50)	1.37 (1.20-1.55)	1.94E-06	0.47 (0.04-0.79)	0.19 (0.01-0.49)	1.16 (1.08-1.23)	1.09E-05
MGRN1_CpG_28	0.45 (0.35-0.56)	0.36 (0.27-0.45)	1.41 (1.22-1.63)	3.65E-06	0.44 (0.06-0.74)	0.21 (0.03-0.44)	1.20 (1.12-1.29)	1.25E-06
MGRN1_CpG_29	0.56 (0.43-0.69)	0.46 (0.36-0.57)	1.36 (1.19-1.56)	1.03E-05	0.52 (0.13-0.84)	0.33 (0.15-0.57)	1.14 (1.05-1.22)	1.68E-04
MGRN1_CpG_31	0.48 (0.35-0.61)	0.40 (0.29-0.50)	1.33 (1.15-1.53)	9.66E-05	0.43 (0.09-0.76)	0.26 (0.10-0.48)	1.16 (1.08-1.25)	4.75E-05
MGRN1_CpG_32	0.39 (0.28-0.51)	0.30 (0.22-0.39)	1.32 (1.15-1.52)	6.18E-05	0.38 (0.07-0.70)	0.17 (0.06-0.38)	1.20 (1.12-1.30)	2.04E-06
MGRN1_CpG_34	0.48 (0.41-0.60)	0.43 (0.34-0.53)	1.24 (1.07-1.44)	0.003	0.51 (0.10-0.76)	0.34 (0.10-0.56)	1.11 (1.04-1.19)	0.003

CpG-сайты	Третий раунд валидации			
	Медиана контролей (МКР)	Медиана случаев спорадического РМЖ (МКР)	ОШ на 10% метилирование	p -значение*
HYAL2_CpG_1	0.27 (0.24-0.31)	0.25 (0.21-0.28)	3.01 (1.88-4.85)	5.13E-06
HYAL2_CpG_2	0.19 (0.17-0.23)	0.16 (0.13-0.20)	3.04 (1.89-4.88)	4.48E-06
HYAL2_CpG_3	0.32 (0.28-0.36)	0.28 (0.24-0.32)	3.50 (2.24-5.48)	4.13E-08
HYAL2_CpG_4	0.52 (0.48-0.55)	0.47 (0.42-0.51)	3.28 (2.18-4.94)	1.19E-08
DYRK4_CpG_1	0.32 (0.21-0.40)	0.22 (0.14-0.33)	1.20 (1.06-1.36)	0.003
DYRK4_CpG_3	0.25 (0.17-0.33)	0.19 (0.13-0.28)	1.26 (1.06-1.51)	0.010
S100P_CpG_2.3	0.71 (0.66-0.73)	0.67 (0.62-0.72)	2.86 (1.79-4.55)	9.93E-06
S100P_CpG_4	0.91 (0.63-0.96)	0.89 (0.62-0.96)	1.05 (0.92-1.20)	0.464
S100P_CpG_7	0.54 (0.44-0.61)	0.47 (0.42-0.55)	1.40 (1.16-1.69)	5.60E-04
S100P_CpG_8	0.54 (0.46-0.60)	0.47 (0.39-0.56)	2.00 (1.52-2.64)	9.85E-07
S100P_CpG_9	0.58 (0.54-0.63)	0.52 (0.46-0.59)	2.33 (1.69-3.22)	2.61E-07
SLC22A18_CpG_3	0.18 (0.15-0.22)	0.14 (0.11-0.17)	4.25 (2.56-7.04)	1.95E-08
SLC22A18_CpG_4	0.22 (0.18-0.28)	0.17 (0.13-0.23)	2.60 (1.82-3.70)	1.16E-07
SLC22A18_CpG_6	0.26 (0.21-0.30)	0.20 (0.16-0.25)	2.43 (1.70-3.48)	1.20E-06
SLC22A18_CpG_8	0.64 (0.59-0.70)	0.61 (0.53-0.67)	1.64 (1.23-2.20)	8.40E-04
FUT7_CpG_1	0.38 (0.30-0.46)	0.35 (0.25-0.42)	1.38 (1.13-1.69)	0.002
FUT7_CpG_2	0.23 (0.17-0.30)	0.21 (0.13-0.27)	1.35 (1.04-1.76)	0.025
FUT7_CpG_3	0.16 (0.11-0.21)	0.14 (0.09-0.21)	1.20 (0.95-1.53)	0.132
FUT7_CpG_4	0.22 (0.16-0.29)	0.20 (0.15-0.26)	1.28 (1.01-1.62)	0.037
cg02679745	0.26 (0.20-0.33)	0.23 (0.16-0.32)	1.36 (1.08-1.71)	0.009
FUT7_CpG_7	0.12 (0.08-0.18)	0.09 (0.05-0.14)	1.61 (1.20-2.16)	0.001
FUT7_CpG_8	0.37 (0.27-0.45)	0.31 (0.23-0.40)	1.34 (1.11-1.61)	0.002
RPTOR_CpG_1	0.09 (0.07-0.15)	0.07 (0.03-0.10)	3.42 (2.16-5.43)	1.63E-07
RPTOR_CpG_2	0.27 (0.20-0.35)	0.20 (0.15-0.28)	2.66 (1.96-3.61)	2.90E-10
RPTOR_CpG_3	0.66 (0.59-0.73)	0.60 (0.55-0.68)	1.66 (1.30-2.13)	5.11E-05
RPTOR_CpG_4	0.84 (0.72-0.97)	0.77 (0.68-0.93)	1.86 (1.41-2.45)	1.22E-05
RPTOR_CpG_5	0.78 (0.74-0.84)	0.74 (0.69-0.82)	1.87 (1.41-2.49)	1.74E-05
RPTOR_CpG_8	0.72 (0.66-0.76)	0.68 (0.62-0.73)	2.06 (1.49-2.85)	1.30E-05

CpG-сайты	Третий раунд валидации			
	Медиана контролей (МКР)	Медиана случаев спорадического РМЖ (МКР)	ОШ на 10% метилирование	p -значение*
RAPSN_CpG_1	0.96 (0.93-0.98)	0.95 (0.93-0.98)	1.16 (0.71-1.92)	0.551
RAPSN_CpG_2	0.66 (0.59-0.72)	0.62 (0.52-0.70)	1.44 (1.18-1.76)	4.15E-04
RAPSN_CpG_4	0.48 (0.37-0.54)	0.39 (0.32-0.47)	1.49 (1.23-1.80)	5.61E-05
RAPSN_CpG_5	0.79 (0.73-0.84)	0.74 (0.66-0.82)	1.57 (1.25-1.99)	1.34E-04
RAPSN_CpG_6	0.60 (0.51-0.67)	0.53 (0.44-0.61)	1.47 (1.22-1.77)	4.42E-05
RAPSN_CpG_7	0.75 (0.68-0.80)	0.72 (0.65-0.80)	1.19 (0.95-1.48)	0.128
RAPSN_CpG_8	0.95 (0.93-0.97)	0.96 (0.93-0.97)	0.95 (0.53-1.71)	0.871
MGRN1_CpG_1	0.23 (0.13-0.34)	0.14 (0.07-0.28)	1.31 (1.11-1.55)	0.002
MGRN1_CpG_2	0.64 (0.59-0.69)	0.61 (0.56-0.66)	1.46 (1.10-1.94)	0.008
MGRN1_CpG_3	0.40 (0.30-0.50)	0.30 (0.20-0.38)	1.63 (1.35-1.95)	1.85E-07
MGRN1_CpG_4	0.33 (0.25-0.44)	0.26 (0.19-0.35)	1.44 (1.20-1.72)	6.89E-05
MGRN1_CpG_5.6.7.8	0.35 (0.27-0.44)	0.28 (0.21-0.36)	1.74 (1.39-2.18)	1.65E-06
MGRN1_CpG_11	0.17 (0.11-0.31)	0.14 (0.07-0.21)	1.39 (1.15-1.68)	6.48E-04
MGRN1_CpG_12	0.38 (0.295-0.5)	0.32 (0.22-0.39)	1.56 (1.30-1.89)	2.83E-06
MGRN1_CpG_13	0.64 (0.59-0.69)	0.61 (0.56-0.66)	1.29 (1.00-1.67)	0.053
MGRN1_CpG_14	0.34 (0.28-0.42)	0.28 (0.19-0.34)	1.83 (1.45-2.31)	4.59E-07
MGRN1_CpG_15	0.41 (0.33-0.49)	0.32 (0.24-0.42)	1.62 (1.33-1.98)	1.33E-06
MGRN1_CpG_16.17.18	0.37 (0.31-0.47)	0.31 (0.25-0.38)	1.61 (1.29-2.01)	2.11E-05
MGRN1_CpG_19.20	0.44 (0.36-0.54)	0.36 (0.26-0.44)	1.74 (1.41-2.16)	2.56E-07
MGRN1_CpG_21	0.34 (0.28-0.42)	0.28 (0.19-0.34)	1.83 (1.45-2.31)	4.59E-07
MGRN1_CpG_22.23	0.39 (0.31-0.46)	0.33 (0.25-0.39)	1.72 (1.37-2.17)	2.76E-06
MGRN1_CpG_26	0.40 (0.32-0.48)	0.31 (0.25-0.39)	1.77 (1.43-2.20)	2.31E-07
MGRN1_CpG_27	0.40 (0.30-0.49)	0.30 (0.20-0.40)	1.70 (1.40-2.06)	7.99E-08
MGRN1_CpG_28	0.37 (0.29-0.46)	0.31 (0.22-0.38)	1.58 (1.28-1.95)	2.11E-05
MGRN1_CpG_29	0.47 (0.40-0.56)	0.38 (0.32-0.47)	1.83 (1.47-2.29)	7.69E-08
MGRN1_CpG_31	0.39 (0.33-0.48)	0.34 (0.27-0.42)	1.69 (1.35-2.10)	2.83E-06
MGRN1_CpG_32	0.34 (0.26-0.42)	0.27 (0.17-0.36)	1.44 (1.20-1.73)	1.18E-04
MGRN1_CpG_34	0.43 (0.35-0.52)	0.36 (0.29-0.44)	1.50 (1.25-1.81)	1.98E-05

Фиг. 2

Таблица 3. Дискриминационная способность наборов маркеров метилирования ДНК различать случаи РМЖ и здоровые контроли в образцах из других центров

Наборы маркеров	Первый раунд валидации		Второй раунд валидации			
	Все случаи заболевания по сравнению с аналогичным контролем		Все случаи заболеваний по сравнению с аналогичным контролем		Стадия 0 и I по сравнению с аналогичными контролями	
	Количество (случаи заболевания по сравнению с контролями)	AUC (95% ДИ)	Количество (случаи заболевания по сравнению с контролями)	AUC (95% ДИ)	Количество (случаи заболевания по сравнению с контролями)	AUC (95% ДИ)
HYAL2	267 по сравнению с 259	0.85 (0.82-0.89)	188 по сравнению с 189	0.88 (0.85-0.92)	101 по сравнению с 189	0.88 (0.84-0.92)
S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7	265 по сравнению с 246	0.86 (0.83-0.89)	189 по сравнению с 189	0.80 (0.75-0.84)	101 по сравнению с 189	0.78 (0.73-0.83)
MGRN1, RPTOR, RAPSN	267 по сравнению с 250	0.80 (0.76-0.84)	189 по сравнению с 189	0.76 (0.71-0.81)	101 по сравнению с 189	0.74 (0.69-0.80)
HYAL2, S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7	265 по сравнению с 245	0.90 (0.88-0.93)	188 по сравнению с 189	0.90 (0.87-0.93)	101 по сравнению с 189	0.90 (0.87-0.94)
HYAL2, MGRN1, RPTOR, RAPSN	267 по сравнению с 249	0.90 (0.87-0.92)	188 по сравнению с 189	0.91 (0.88-0.94)	101 по сравнению с 189	0.91 (0.87-0.94)
S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7, MGRN1, RPTOR, RAPSN	265 по сравнению с 245	0.91 (0.88-0.93)	189 по сравнению с 189	0.86 (0.83-0.90)	101 по сравнению с 189	0.84 (0.80-0.89)
HYAL2, S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7, MGRN1, RPTOR, RAPSN	265 по сравнению с 244	0.94 (0.92-0.96)	188 по сравнению с 189	0.93 (0.91-0.96)	101 по сравнению с 189	0.93 (0.90-0.96)

Наборы маркеров	Образцы из других центров (1-ый + 2-ой раунды валидации)					
	Все случаи заболевания по сравнению с аналогичным контролем		Возраст < 50		Возраст ≥ 50	
	Количество (случаи заболевания по сравнению с контролями)	AUC (95% ДИ)	Количество (случаи заболевания по сравнению с контролями)	AUC (95% ДИ)	Количество (случаи заболевания по сравнению с контролями)	AUC (95% ДИ)
HYAL2	455 по сравнению с 439	0.86 (0.84-0.88)	251 по сравнению с 226	0.86 (0.83-0.90)	204 по сравнению с 213	0.86 (0.83-0.90)
S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7	454 по сравнению с 435	0.81 (0.78-0.84)	251 по сравнению с 223	0.88 (0.85-0.91)	203 по сравнению с 212	0.77 (0.73-0.82)
MGRN1, RPTOR, RAPSN	466 по сравнению с 439	0.74 (0.71-0.78)	252 по сравнению с 226	0.81 (0.78-0.85)	204 по сравнению с 213	0.74 (0.69-0.79)
HYAL2, S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7	453 по сравнению с 434	0.89 (0.87-0.91)	250 по сравнению с 222	0.92 (0.90-0.95)	203 по сравнению с 212	0.89 (0.85-0.92)
HYAL2, MGRN1, RPTOR, RAPSN	455 по сравнению с 438	0.88 (0.86-0.90)	251 по сравнению с 225	0.90 (0.87-0.93)	204 по сравнению с 213	0.89 (0.86-0.93)
S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7, MGRN1, RPTOR, RAPSN	454 по сравнению с 434	0.85 (0.82-0.87)	251 по сравнению с 222	0.92 (0.90-0.95)	203 по сравнению с 212	0.84 (0.80-0.87)
HYAL2, S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7, MGRN1, RPTOR, RAPSN	453 по сравнению с 433	0.91 (0.89-0.93)	250 по сравнению с 221	0.95 (0.93-0.97)	203 по сравнению с 212	0.92 (0.89-0.94)

Фиг. 3

Таблица 4. Дискриминационная способность наборов маркеров метилирования ДНК и наборов маркеров микроРНК различать случаи РМЖ от здоровых контролей в образцах, полученных группой авторов настоящего изобретения

Наборы маркеров	Все случаи заболевания по сравнению с аналогичным контролем		Стадия 0 и I по сравнению с аналогичными контролями		Возраст < 50		Возраст ≥ 50	
	Кол-во (случаи заболевания по сравнению с контролями)	AUC (95% ДИ)	Кол-во (случаи заболевания по сравнению с контролями)	AUC (95% ДИ)	Кол-во (случаи заболевания по сравнению с контролями)	AUC (95% ДИ)	Кол-во (случаи заболевания по сравнению с контролями)	AUC (95% ДИ)
HYAL2	161 по сравнению с 149	0.72 (0.67-0.78)	57 по сравнению с 149	0.79 (0.72-0.85)	116 по сравнению с 98	0.85 (0.80-0.90)	45 по сравнению с 51	0.73 (0.63-0.83)
S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7	158 по сравнению с 148	0.76 (0.71-0.82)	55 по сравнению с 148	0.84 (0.77-0.90)	113 по сравнению с 98	0.88 (0.84-0.93)	45 по сравнению с 50	0.85 (0.76-0.93)
MGRN1, RPTOR, RAPSN	158 по сравнению с 147	0.82 (0.77-0.87)	56 по сравнению с 147	0.89 (0.84-0.94)	113 по сравнению с 96	0.93 (0.89-0.96)	45 по сравнению с 51	0.89 (0.82-0.95)
HYAL2, S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7	158 по сравнению с 148	0.77 (0.72-0.83)	55 по сравнению с 148	0.86 (0.80-0.92)	113 по сравнению с 98	0.90 (0.86-0.94)	45 по сравнению с 50	0.87 (0.80-0.95)
HYAL2, MGRN1, RPTOR, RAPSN	158 по сравнению с 147	0.83 (0.78-0.88)	56 по сравнению с 147	0.90 (0.85-0.94)	113 по сравнению с 96	0.94 (0.91-0.97)	45 по сравнению с 51	0.90 (0.84-0.96)
S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7, MGRN1, RPTOR, RAPSN	155 по сравнению с 146	0.85 (0.81-0.90)	54 по сравнению с 146	0.94 (0.90-0.97)	110 по сравнению с 96	0.96 (0.94-0.99)	45 по сравнению с 50	1.00 (1.00-1.00)
HYAL2, S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7, MGRN1, RPTOR, RAPSN	155 по сравнению с 146	0.86 (0.82-0.90)	54 по сравнению с 146	0.94 (0.91-0.97)	110 по сравнению с 96	0.98 (0.96-1.00)	45 по сравнению с 50	1.00 (1.00-1.00)
7miRNA	153 по сравнению с 148	0.82 (0.77-0.86)	53 по сравнению с 148	0.80 (0.73-0.87)	109 по сравнению с 98	0.90 (0.85-0.94)	44 по сравнению с 50	0.84 (0.76-0.92)
HYAL2, 7miRNA	153 по сравнению с 148	0.86 (0.81-0.90)	53 по сравнению с 148	0.86 (0.81-0.92)	109 по сравнению с 98	0.93 (0.90-0.96)	44 по сравнению с 50	0.86 (0.78-0.93)
S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7, 7miRNA	150 по сравнению с 147	0.89 (0.86-0.93)	51 по сравнению с 147	0.91 (0.86-0.96)	106 по сравнению с 98	0.96 (0.94-0.98)	44 по сравнению с 49	0.93 (0.87-0.98)
MGRN1, RPTOR, RAPSN, 7miRNA	149 по сравнению с 144	0.91 (0.88-0.94)	52 по сравнению с 144	0.95 (0.92-0.98)	106 по сравнению с 96	0.97 (0.95-0.99)	44 по сравнению с 50	0.97 (0.94-1.00)
HYAL2, S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7, 7miRNA	150 по сравнению с 147	0.90 (0.86-0.93)	51 по сравнению с 147	0.92 (0.88-0.97)	106 по сравнению с 98	0.97 (0.94-0.99)	44 по сравнению с 49	0.94 (0.89-0.98)
HYAL2, MGRN1, RPTOR, RAPSN, 7miRNA	149 по сравнению с 144	0.91 (0.88-0.95)	52 по сравнению с 144	0.96 (0.93-0.99)	106 по сравнению с 96	0.98 (0.96-0.99)	44 по сравнению с 50	1.00 (1.00-1.00)
S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7, MGRN1, RPTOR, RAPSN, 7miRNA	146 по сравнению с 143	0.94 (0.91-0.97)	50 по сравнению с 143	1.00 (1.00-1.00)	103 по сравнению с 96	1.00 (1.00-1.00)	44 по сравнению с 49	1.00 (1.00-1.00)
HYAL2, S100P, SLC22A18, DYRK4, FUT7, MGRN1, RPTOR, RAPSN, 7miRNA	146 по сравнению с 143	0.94 (0.92-0.97)	50 по сравнению с 143	1.00 (1.00-1.00)	103 по сравнению с 96	1.00 (1.00-1.00)	44 по сравнению с 49	1.00 (1.00-1.00)

Фиг. 4

Таблица 5. Уровень метилирования восьми генов у пациентов со спорадическим РМЖ с различными клиническими характеристиками (случаи заболевания из второго раунда валидации)

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана возраста	Медиана уровней метилирования					
			HYAL2_ CpG_1	HYAL2_ CpG_2	HYAL2_ CpG_3	HYAL2_ CpG_4	DYRK4_ CpG_1	DYRK4_ CpG_3
Стадия опухоли (188)	Стадия 0 и I (101)	59.23	0.30	0.17	0.33	0.50	0.25	0.23
	Стадия II (61)	57.80	0.31	0.17	0.32	0.50	0.27	0.21
	Стадия III (26)	68.11	0.29	0.13	0.28	0.51	0.26	0.21
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.166	0.937	0.008	0.001	0.846	0.726	0.407
Размер опухоли (188)	Tis и T1 (119)	59.23	0.30	0.17	0.33	0.50	0.26	0.22
	T2 (57)	60.33	0.32	0.16	0.32	0.50	0.26	0.21
	T3 и T4 (12)	71.04	0.26	0.12	0.27	0.52	0.24	0.22
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.191	0.637	0.041	0.001	0.983	0.514	0.681
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (185)	Пораженные ЛУ отсутствуют (132)	60.00	0.30	0.17	0.33	0.50	0.26	0.22
	1-3 пораженных ЛУ (30)	55.59	0.30	0.18	0.32	0.52	0.28	0.20
	> 3 пораженных ЛУ (23)	67.92	0.29	0.12	0.27	0.51	0.27	0.21
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.265	0.875	0.003	0.004	0.661	0.946	0.139
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (35)	58.78	0.30	0.15	0.32	0.51	0.24	0.24
	Степень злокачественности 2 (114)	61.50	0.29	0.17	0.33	0.50	0.26	0.21
	Степень злокачественности 3 (38)	60.42	0.32	0.16	0.32	0.50	0.26	0.21
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.731	0.262	0.592	0.970	0.949	0.617	0.777
ER-статус (185)	ER-отрицательный (23)	57.72	0.34	0.16	0.32	0.50	0.26	0.22
	ER-положительный (162)	60.67	0.29	0.17	0.32	0.50	0.26	0.22
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.150	0.017	0.371	0.862	0.489	0.303	0.397
	PR-статус (186)	PR-отрицательный (38)	60.97	0.33	0.16	0.32	0.51	0.25
PR-положительный (148)		59.24	0.29	0.17	0.32	0.50	0.26	0.22
р-значение (U-критерий Манна-Уитни)		0.797	0.014	0.142	0.495	0.124	0.973	0.626
Her2-статус (185)		Her2-отрицательный (166)	60.71	0.30	0.17	0.33	0.51	0.26
	Her2-положительный (19)	51.52	0.30	0.17	0.31	0.49	0.27	0.21
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.357	0.855	0.386	0.225	0.451	0.504	0.724
	Статус по трем рецепторам (185)	Тройной отрицательный (15)	59.67	0.40	0.14	0.32	0.51	0.26
Другие (170)		59.88	0.30	0.17	0.32	0.50	0.26	0.22
р-значение (U-критерий Манна-Уитни)		0.310	0.062	0.072	0.683	0.281	0.358	0.264
Статус менопаузы (180)		пре-менопауза (56)	47.19	0.30	0.17	0.33	0.50	0.27
	постменопауза (124)	67.64	0.31	0.17	0.32	0.51	0.26	0.22
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	—	0.678	0.627	0.558	0.157	0.756	0.294
	Семейная история РМЖ (186)	с семейной историей РМЖ (30)	58.96	0.29	0.17	0.32	0.51	0.29
без семейной истории РМЖ (156)		60.45	0.30	0.17	0.33	0.51	0.26	0.21
р-значение (U-критерий Манна-Уитни)		0.296	0.533	0.243	0.211	0.476	0.202	0.055

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования				
		S100P_CpG	S100P_CpG	S100P_CpG	S100P_CpG	S100P_CpG
		_2.3	_4	_7	_8	_9
Стадия опухоли (188)	Стадия 0 и I (101)	0.65	0.83	0.40	0.44	0.52
	Стадия II (61)	0.64	0.83	0.45	0.45	0.52
	Стадия III (26)	0.66	0.90	0.47	0.47	0.53
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.427	0.746	0.290	0.843	0.679
Размер опухоли (188)	Tis и T1 (119)	0.65	0.84	0.43	0.44	0.52
	T2 (57)	0.64	0.69	0.42	0.45	0.51
	T3 и T4 (12)	0.67	0.92	0.52	0.48	0.56
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.223	0.298	0.306	0.570	0.230
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (185)	Пораженные ЛУ отсутствуют (132)	0.65	0.82	0.41	0.44	0.52
	1-3 пораженных ЛУ (30)	0.66	0.85	0.48	0.46	0.52
	> 3 пораженных ЛУ (23)	0.66	0.91	0.47	0.47	0.53
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.572	0.549	0.205	0.355	0.429
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (35)	0.65	0.65	0.45	0.42	0.52
	Степень злокачественности 2 (114)	0.65	0.84	0.41	0.44	0.52
	Степень злокачественности 3 (38)	0.66	0.86	0.51	0.47	0.53
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.757	0.490	0.290	0.394	0.500
ER-статус (185)	ER-отрицательный (23)	0.64	0.89	0.40	0.45	0.52
	ER-положительный (162)	0.65	0.83	0.43	0.45	0.52
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.376	0.195	0.988	0.606	0.725
PR-статус (186)	PR-отрицательный (38)	0.65	0.86	0.42	0.45	0.52
	PR-положительный (148)	0.65	0.83	0.44	0.45	0.52
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.232	0.619	0.984	0.474	0.878
Her2-статус (185)	Her2- отрицательный (166)	0.66	0.85	0.43	0.45	0.52
	Her2-положительный (19)	0.61	0.69	0.40	0.42	0.49
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.030	0.056	0.679	0.139	0.122
Статус по трем рецепторам (185)	Тройной отрицательный (15)	0.66	0.91	0.48	0.46	0.52
	Другие (170)	0.65	0.83	0.43	0.44	0.52
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.801	0.172	0.697	0.749	0.774
Статус менопаузы (180)	пре-менопауза (56)	0.63	0.84	0.38	0.42	0.49
	постменопауза (124)	0.66	0.83	0.45	0.46	0.53
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.004	0.790	0.032	0.012	0.004
Семейная история РМЖ (186)	с семейной историей РМЖ (30)	0.64	0.65	0.42	0.42	0.52
	без семейной истории РМЖ (156)	0.66	0.84	0.44	0.45	0.52
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.407	0.198	0.932	0.586	0.405

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования					
		FUT7_ CpG_2	FUT7_ CpG_3	FUT7_ CpG_4	FUT7_ CpG_6	FUT7_ CpG_7	FUT7_ CpG_8
Стадия опухоли (188)	Стадия 0 и I (101)	0.17	0.13	0.22	0.22	0.09	0.34
	Стадия II (61)	0.17	0.14	0.21	0.21	0.10	0.31
	Стадия III (26)	0.13	0.11	0.17	0.17	0.08	0.30
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.033	0.135	0.169	0.003	0.226	0.790
Размер опухоли (188)	Tis и T1 (119)	0.17	0.13	0.21	0.21	0.09	0.34
	T2 (57)	0.16	0.14	0.22	0.21	0.09	0.30
	T3 и T4 (12)	0.12	0.11	0.16	0.14	0.07	0.31
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.220	0.720	0.448	0.010	0.180	0.296
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (185)	Пораженные ЛУ отсутствуют (132)	0.17	0.13	0.22	0.21	0.09	0.31
	1-3 пораженных ЛУ (30)	0.17	0.15	0.22	0.24	0.11	0.33
	> 3 пораженных ЛУ (23)	0.13	0.11	0.16	0.17	0.08	0.32
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.044	0.207	0.080	0.017	0.194	0.957
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (35)	0.18	0.13	0.22	0.24	0.11	0.35
	Степень злокачественности 2 (114)	0.15	0.13	0.21	0.20	0.09	0.30
	Степень злокачественности 3 (38)	0.18	0.14	0.20	0.22	0.10	0.33
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.019	0.628	0.446	0.110	0.673	0.234
ER-статус (185)	ER-отрицательный (23)	0.16	0.13	0.19	0.20	0.08	0.29
	ER-положительный (162)	0.17	0.13	0.21	0.21	0.09	0.33
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.653	0.691	0.378	0.478	0.107	0.607
PR-статус (186)	PR-отрицательный (38)	0.17	0.14	0.22	0.22	0.09	0.32
	PR-положительный (148)	0.17	0.13	0.21	0.21	0.09	0.31
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.441	0.553	0.679	0.479	0.761	0.292
Her2-статус (185)	Her2- отрицательный (166)	0.17	0.13	0.21	0.21	0.09	0.32
	Her2-положительный (19)	0.15	0.13	0.19	0.22	0.08	0.31
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.429	0.756	0.628	0.991	0.464	0.924
Статус по трем рецепторам (185)	Тройной отрицательный (15)	0.17	0.11	0.19	0.20	0.08	0.29
	Другие (170)	0.17	0.13	0.21	0.21	0.09	0.33
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.397	0.254	0.327	0.371	0.036	0.323
Статус менопаузы (180)	пре-менопауза (56)	0.16	0.13	0.20	0.20	0.08	0.27
	постменопауза (124)	0.17	0.14	0.22	0.21	0.09	0.34
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.490	0.321	0.498	0.549	0.225	0.021
Семейная история РМЖ (186)	с семейной историей РМЖ (30)	0.15	0.13	0.23	0.21	0.08	0.29
	без семейной истории РМЖ (156)	0.17	0.13	0.21	0.21	0.10	0.32
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.628	0.662	0.817	0.884	0.064	0.347

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования			
		SLC22A18_CpG_3	SLC22A18_CpG_4	SLC22A18_CpG_6	SLC22A18_CpG_8
Стадия опухоли (188)	Стадия 0 и I (101)	0.16	0.21	0.22	0.58
	Стадия II (61)	0.16	0.19	0.22	0.57
	Стадия III (26)	0.13	0.17	0.20	0.54
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.005	0.010	0.048	0.031
Размер опухоли (188)	Tis и T1 (119)	0.16	0.21	0.22	0.58
	T2 (57)	0.16	0.19	0.21	0.59
	T3 и T4 (12)	0.14	0.17	0.20	0.53
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.111	0.022	0.270	0.078
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (185)	Пораженные ЛУ отсутствуют (132)	0.16	0.20	0.22	0.58
	1-3 пораженных ЛУ (30)	0.16	0.22	0.22	0.59
	> 3 пораженных ЛУ (23)	0.13	0.17	0.18	0.53
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.005	0.048	0.048	0.038
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (35)	0.16	0.19	0.21	0.60
	Степень злокачественности 2 (114)	0.16	0.19	0.21	0.57
	Степень злокачественности 3 (38)	0.16	0.22	0.22	0.58
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.292	0.152	0.533	0.158
ER-статус (185)	ER-отрицательный (23)	0.16	0.21	0.22	0.57
	ER-положительный (162)	0.16	0.19	0.21	0.58
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.647	0.558	0.764	0.877
PR-статус (186)	PR-отрицательный (38)	0.15	0.21	0.22	0.57
	PR-положительный (148)	0.16	0.19	0.21	0.58
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.787	0.761	0.996	0.837
Her2-статус (185)	Her2- отрицательный (166)	0.16	0.20	0.22	0.58
	Her2-положительный (19)	0.15	0.19	0.19	0.57
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.606	0.700	0.188	0.809
Статус по трем рецепторам (185)	Тройной отрицательный (15)	0.16	0.21	0.22	0.56
	Другие (170)	0.16	0.19	0.21	0.58
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.737	0.581	0.493	0.724
Статус менопаузы (180)	пре-менопауза (56)	0.15	0.18	0.21	0.59
	постменопауза (124)	0.16	0.21	0.22	0.57
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.408	0.325	0.236	0.327
Семейная история РМЖ (186)	с семейной историей РМЖ (30)	0.16	0.21	0.22	0.58
	без семейной истории РМЖ (156)	0.16	0.19	0.22	0.58
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.403	0.391	0.748	0.342

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования					
		RPTOR_CpG_1	RPTOR_CpG_2	RPTOR_CpG_3	RPTOR_CpG_4	RPTOR_CpG_5	RPTOR_CpG_8
Стадия опухоли (188)	Стадия 0 и I (101)	0.07	0.22	0.70	0.80	0.82	0.74
	Стадия II (61)	0.02	0.18	0.67	0.75	0.75	0.72
	Стадия III (26)	0.02	0.17	0.61	0.92	0.80	0.69
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.026	0.173	0.197	0.109	0.138	0.260
Размер опухоли (188)	Tis и T1 (119)	0.06	0.22	0.72	0.80	0.83	0.74
	T2 (57)	0.02	0.19	0.62	0.76	0.74	0.69
	T3 и T4 (12)	0.03	0.17	0.62	0.92	0.77	0.69
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.095	0.341	0.036	0.171	0.028	0.406
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (185)	Пораженные ЛУ отсутствуют (132)	0.05	0.20	0.67	0.78	0.80	0.72
	1-3 пораженных ЛУ (30)	0.04	0.20	0.75	0.83	0.82	0.76
	> 3 пораженных ЛУ (23)	0.02	0.15	0.49	0.89	0.79	0.67
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.702	0.377	0.028	0.208	0.934	0.050
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (35)	0.08	0.18	0.66	0.78	0.82	0.70
	Степень злокачественности 2 (114)	0.04	0.20	0.68	0.78	0.81	0.72
	Степень злокачественности 3 (38)	0.05	0.21	0.66	0.93	0.79	0.69
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.231	0.798	0.666	0.052	0.812	0.919
ER-статус (185)	ER-отрицательный (23)	0.07	0.28	0.69	0.85	0.79	0.68
	ER-положительный (162)	0.04	0.19	0.68	0.79	0.80	0.72
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.272	0.057	0.705	0.158	0.868	0.557
PR-статус (186)	PR-отрицательный (38)	0.08	0.25	0.65	0.81	0.81	0.68
	PR-положительный (148)	0.04	0.20	0.68	0.79	0.79	0.73
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.195	0.471	0.623	0.334	0.241	0.511
Her2-статус (185)	Her2-отрицательный (166)	0.04	0.20	0.69	0.80	0.80	0.72
	Her2-положительный (19)	0.08	0.22	0.63	0.84	0.79	0.68
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.294	0.305	0.632	0.633	0.885	0.561
Статус по трем рецепторам (185)	Тройной отрицательный (15)	0.07	0.28	0.69	0.85	0.75	0.67
	Другие (170)	0.04	0.20	0.67	0.79	0.80	0.72
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.511	0.125	0.948	0.503	0.786	0.401
Статус менопаузы (180)	пре-менопауза (56)	0.05	0.19	0.69	0.80	0.74	0.70
	постменопауза (124)	0.04	0.22	0.67	0.80	0.83	0.72
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.896	0.243	0.697	0.555	0.006	0.651
Семейная история РМЖ (186)	с семейной историей РМЖ (30)	0.05	0.20	0.73	0.85	0.77	0.73
	без семейной истории РМЖ (156)	0.05	0.20	0.66	0.79	0.81	0.71
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.373	0.442	0.113	0.166	0.224	0.973

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования					
		MGRN1_ CpG_1	MGRN1_ CpG_2	MGRN1_ CpG_4	MGRN1_ CpG_5.6.7.8	MGRN1_ CpG_12	MGRN1_ CpG_13
Стадия опухоли (188)	Стадия 0 и I (101)	0.12	0.50	0.22	0.23	0.26	0.50
	Стадия II (61)	0.09	0.48	0.14	0.19	0.24	0.48
	Стадия III (26)	0.12	0.57	0.27	0.33	0.29	0.57
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.553	0.307	0.208	0.126	0.777	0.307
Размер опухоли (188)	Tis и T1 (119)	0.12	0.50	0.22	0.24	0.27	0.50
	T2 (57)	0.07	0.50	0.14	0.23	0.23	0.50
	T3 и T4 (12)	0.17	0.54	0.37	0.39	0.39	0.54
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.234	0.960	0.331	0.546	0.786	0.960
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (185)	Пораженные ЛУ отсутствуют (132)	0.12	0.50	0.19	0.22	0.24	0.50
	1-3 пораженных ЛУ (30)	0.06	0.46	0.19	0.25	0.33	0.46
	> 3 пораженных ЛУ (23)	0.21	0.57	0.28	0.33	0.31	0.57
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.411	0.086	0.291	0.147	0.636	0.086
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (35)	0.11	0.47	0.18	0.23	0.24	0.47
	Степень злокачественности 2 (114)	0.12	0.50	0.21	0.23	0.27	0.50
	Степень злокачественности 3 (38)	0.12	0.52	0.27	0.29	0.34	0.52
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.826	0.609	0.587	0.500	0.877	0.609
ER-статус (185)	ER-отрицательный (23)	0.14	0.48	0.28	0.32	0.33	0.48
	ER-положительный (162)	0.11	0.50	0.20	0.23	0.26	0.50
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.568	0.909	0.335	0.730	0.688	0.909
PR-статус (186)	PR-отрицательный (38)	0.14	0.50	0.27	0.31	0.34	0.50
	PR-положительный (148)	0.11	0.50	0.20	0.23	0.24	0.50
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.207	0.307	0.081	0.193	0.249	0.307
Her2-статус (185)	Her2- отрицательный (166)	0.11	0.50	0.21	0.23	0.25	0.50
	Her2-положительный (19)	0.12	0.52	0.22	0.26	0.27	0.52
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.620	0.496	0.991	0.729	0.998	0.496
Статус по трем рецепторам (185)	Тройной отрицательный (15)	0.23	0.50	0.28	0.32	0.33	0.50
	Другие (170)	0.11	0.50	0.20	0.23	0.26	0.50
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.263	0.784	0.194	0.629	0.534	0.784
Статус менопаузы (180)	пре-менопауза (56)	0.08	0.49	0.17	0.20	0.21	0.49
	постменопауза (124)	0.12	0.50	0.22	0.25	0.29	0.50
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.252	0.348	0.384	0.431	0.207	0.348
Семейная история РМЖ (186)	с семейной историей РМЖ (30)	0.13	0.50	0.23	0.22	0.24	0.50
	без семейной истории РМЖ (156)	0.11	0.50	0.20	0.25	0.27	0.50
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.415	0.818	0.535	0.818	0.427	0.818

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования					
		MGRN1_CpG_15	MGRN1_CpG_16.17.18	MGRN1_CpG_19.20	MGRN1_CpG_22.23	MGRN1_CpG_26	MGRN1_CpG_27
Стадия опухоли (188)	Стадия 0 и I (101)	0.26	0.28	0.35	0.27	0.30	0.28
	Стадия II (61)	0.30	0.24	0.35	0.22	0.28	0.20
	Стадия III (26)	0.42	0.32	0.41	0.30	0.39	0.36
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.296	0.355	0.594	0.386	0.356	0.368
Размер опухоли (188)	Tis и T1 (119)	0.27	0.29	0.35	0.27	0.30	0.28
	T2 (57)	0.30	0.25	0.33	0.22	0.22	0.20
	T3 и T4 (12)	0.39	0.38	0.46	0.33	0.46	0.45
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.962	0.811	0.655	0.597	0.117	0.717
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (185)	Пораженные ЛУ отсутствуют (132)	0.27	0.25	0.35	0.26	0.28	0.25
	1-3 пораженных ЛУ (30)	0.29	0.26	0.36	0.29	0.32	0.32
	> 3 пораженных ЛУ (23)	0.45	0.33	0.41	0.30	0.40	0.38
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.099	0.185	0.627	0.588	0.354	0.298
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (35)	0.28	0.28	0.35	0.24	0.27	0.21
	Степень злокачественности 2 (114)	0.29	0.26	0.36	0.28	0.29	0.25
	Степень злокачественности 3 (38)	0.34	0.30	0.36	0.25	0.33	0.34
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.590	0.386	0.805	0.999	0.890	0.381
ER-статус (185)	ER-отрицательный (23)	0.30	0.33	0.37	0.31	0.33	0.35
	ER-положительный (162)	0.29	0.26	0.35	0.26	0.28	0.26
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.680	0.545	0.855	0.745	0.907	0.867
PR-статус (186)	PR-отрицательный (36)	0.35	0.34	0.38	0.32	0.34	0.29
	PR-положительный (148)	0.29	0.26	0.34	0.26	0.28	0.22
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.166	0.232	0.345	0.183	0.292	0.387
Her2-статус (185)	Her2-отрицательный (166)	0.30	0.28	0.35	0.27	0.28	0.25
	Her2-положительный (19)	0.26	0.26	0.36	0.28	0.30	0.29
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.464	0.844	0.977	0.386	0.755	0.922
Статус по трем рецепторам (185)	Тройной отрицательный (15)	0.31	0.34	0.41	0.38	0.34	0.35
	Другие (170)	0.29	0.26	0.35	0.26	0.28	0.26
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.882	0.365	0.563	0.096	0.744	0.768
Статус менопаузы (180)	пре-менопауза (56)	0.18	0.19	0.29	0.23	0.22	0.17
	постменопауза (124)	0.33	0.29	0.38	0.29	0.32	0.29
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.023	0.082	0.187	0.251	0.090	0.141
Семейная история РМЖ (186)	с семейной историей РМЖ (30)	0.28	0.23	0.36	0.27	0.26	0.23
	без семейной истории РМЖ (156)	0.30	0.29	0.35	0.27	0.31	0.28
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.663	0.764	0.913	0.939	0.425	0.390

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования				
		MGRN1_ CpG_28	MGRN1_ CpG_29	MGRN1_ CpG_31	MGRN1_ CpG_32	MGRN1_ CpG_34
Стадия опухоли (188)	Стадия 0 и I (101)	0.24	0.34	0.30	0.20	0.38
	Стадия II (61)	0.25	0.35	0.25	0.12	0.33
	Стадия III (26)	0.37	0.45	0.36	0.37	0.43
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.379	0.372	0.565	0.049	0.677
Размер опухоли (188)	Tis и T1 (119)	0.24	0.36	0.30	0.20	0.36
	T2 (57)	0.25	0.37	0.30	0.14	0.35
	T3 и T4 (12)	0.42	0.49	0.44	0.36	0.44
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.363	0.580	0.608	0.576	0.701
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (185)	Пораженные ЛУ отсутствуют (132)	0.23	0.35	0.30	0.18	0.36
	1-3 пораженных ЛУ (30)	0.28	0.37	0.27	0.21	0.27
	> 3 пораженных ЛУ (23)	0.38	0.45	0.37	0.38	0.44
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.235	0.199	0.495	0.017	0.504
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (35)	0.23	0.37	0.29	0.20	0.33
	Степень злокачественности 2 (114)	0.25	0.35	0.31	0.18	0.35
	Степень злокачественности 3 (38)	0.38	0.43	0.34	0.28	0.43
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.204	0.363	0.370	0.209	0.814
ER-статус (185)	ER-отрицательный (23)	0.38	0.42	0.36	0.27	0.42
	ER-положительный (162)	0.25	0.37	0.30	0.19	0.36
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.388	0.454	0.668	0.511	0.985
PR-статус (186)	PR-отрицательный (38)	0.32	0.43	0.34	0.28	0.43
	PR-положительный (148)	0.25	0.37	0.30	0.18	0.35
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.247	0.200	0.315	0.106	0.452
Her2-статус (185)	Her2-отрицательный (166)	0.25	0.37	0.30	0.19	0.36
	Her2-положительный (19)	0.26	0.39	0.33	0.27	0.35
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.987	0.989	0.858	0.858	0.449
Статус по трем рецепторам (185)	Тройной отрицательный (15)	0.38	0.43	0.40	0.30	0.44
	Другие (170)	0.25	0.37	0.30	0.19	0.36
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.271	0.295	0.306	0.365	0.682
Статус менопаузы (180)	пре-менопауза (56)	0.18	0.27	0.25	0.16	0.32
	постменопауза (124)	0.28	0.40	0.32	0.20	0.40
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.283	0.054	0.138	0.169	0.314
Семейная история РМЖ (186)	с семейной историей РМЖ (30)	0.20	0.33	0.28	0.18	0.43
	без семейной истории РМЖ (156)	0.28	0.39	0.32	0.21	0.36
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.222	0.414	0.522	0.212	0.353

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования						
		RAPSN_ CpG_1	RAPSN_ CpG_2	RAPSN_ CpG_4	RAPSN_ CpG_5	RAPSN_ CpG_6	RAPSN_ CpG_7	RAPSN_ CpG_8
Стадия опухоли (188)	Стадия 0 и I (101)	0.96	0.67	0.39	0.84	0.58	0.79	0.97
	Стадия II (61)	0.95	0.71	0.36	0.78	0.64	0.79	0.98
	Стадия III (26)	0.96	0.62	0.26	0.74	0.45	0.76	0.97
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.600	0.882	0.413	0.198	0.339	0.770	0.032
Размер опухоли (188)	Tis и T1 (119)	0.96	0.66	0.39	0.84	0.58	0.80	0.97
	T2 (57)	0.96	0.67	0.36	0.79	0.54	0.78	0.97
	T3 и T4 (12)	0.94	0.78	0.26	0.72	0.49	0.73	0.97
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.145	0.616	0.711	0.195	0.845	0.940	0.260
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (185)	Пораженные ЛУ отсутствуют (132)	0.96	0.69	0.39	0.84	0.60	0.79	0.97
	1-3 пораженных ЛУ (30)	0.97	0.67	0.34	0.71	0.56	0.78	0.97
	> 3 пораженных ЛУ (23)	0.95	0.58	0.26	0.73	0.50	0.76	0.97
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.992	0.628	0.544	0.212	0.771	0.961	0.727
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (35)	0.96	0.67	0.39	0.84	0.62	0.88	0.97
	Степень злокачественности 2 (114)	0.96	0.74	0.36	0.80	0.57	0.77	0.97
	Степень злокачественности 3 (38)	0.96	0.59	0.36	0.81	0.49	0.78	0.97
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.904	0.160	0.970	0.678	0.625	0.652	0.330
ER-статус (185)	ER-отрицательный (23)	0.95	0.63	0.36	0.82	0.50	0.78	0.97
	ER-положительный (162)	0.96	0.68	0.36	0.80	0.58	0.79	0.97
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.366	0.739	0.793	0.700	0.482	0.686	0.673
	PR-статус (186)	PR-отрицательный (38)	0.94	0.60	0.36	0.85	0.60	0.80
PR-положительный (148)		0.96	0.70	0.36	0.80	0.57	0.79	0.97
p-значение (U-критерий Манна-Уитни)		0.018	0.197	0.603	0.345	0.777	0.638	0.600
Her2-статус (185)		Her2-отрицательный (166)	0.96	0.67	0.36	0.80	0.57	0.79
	Her2-положительный (19)	0.94	0.75	0.44	0.80	0.53	0.70	0.97
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.078	0.443	0.222	0.736	0.957	0.116	0.097
	Статус по трем рецепторам (185)	Тройной отрицательный (15)	0.95	0.59	0.35	0.82	0.50	0.76
Другие (170)		0.96	0.68	0.36	0.80	0.58	0.79	0.97
p-значение (U-критерий Манна-Уитни)		0.599	0.323	0.362	0.726	0.213	0.882	0.755
Статус менопаузы (180)		пре-менопауза (56)	0.96	0.68	0.39	0.83	0.60	0.79
	постменопауза (124)	0.96	0.67	0.36	0.80	0.52	0.79	0.97
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.775	0.629	0.843	0.789	0.572	0.832	0.260
	Семейная история РМЖ (186)	с семейной историей РМЖ (30)	0.96	0.71	0.38	0.76	0.62	0.72
без семейной истории РМЖ (156)		0.96	0.67	0.36	0.82	0.57	0.81	0.97
p-значение (U-критерий Манна-Уитни)		0.809	0.721	0.657	0.372	0.749	0.305	0.586

Фиг. 5

Таблица 6. Уровень метилирования восьми генов у пациентов со sporadическим РМЖ с различными клиническими характеристиками (случаи заболевания в образцах, полученных группой авторов настоящего изобретения)

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана возраста	Медиана уровней метилирования					
			HYAL2_ CpG_1	HYAL2_ CpG_2	HYAL2_ CpG_3	HYAL2_ CpG_4	DYRK4_ CpG_1	DYRK4_ CpG_3
Стадия опухоли (143)	Стадия 0 и I (57)	46.22	0.24	0.16	0.27	0.45	0.20	0.18
	Стадия II (68)	46.57	0.26	0.16	0.30	0.48	0.22	0.18
	Стадия III и IV (18)	47.54	0.25	0.19	0.32	0.49	0.23	0.21
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.271	0.026	0.141	0.062	0.365	0.647	0.582
Размер опухоли (147)	Tis и T1 (74)	46.31	0.25	0.16	0.28	0.46	0.20	0.18
	T2 (60)	47.12	0.25	0.17	0.30	0.48	0.24	0.19
	T3 и T4 (13)	44.67	0.24	0.16	0.30	0.48	0.22	0.20
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.446	0.416	0.728	0.312	0.543	0.424	0.888
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (139)	Пораженные ЛУ отсутствуют (96)	46.54	0.24	0.16	0.27	0.45	0.22	0.18
	1-3 пораженных ЛУ (37)	45.98	0.25	0.17	0.30	0.49	0.22	0.18
	> 3 пораженных ЛУ (6)	52.38	0.25	0.19	0.31	0.47	0.34	0.31
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.171	0.180	0.717	0.158	0.364	0.492	0.127
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (20)	46.96	0.24	0.16	0.27	0.48	0.20	0.18
	Степень злокачественности 2 (94)	46.87	0.25	0.17	0.30	0.48	0.23	0.19
	Степень злокачественности 3 (33)	45.27	0.24	0.16	0.30	0.45	0.25	0.19
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.061	0.801	0.807	0.390	0.195	0.622	0.915
ER-статус (147)	ER-отрицательный (23)	46.19	0.23	0.16	0.27	0.44	0.19	0.19
	ER-положительный (125)	46.71	0.25	0.16	0.29	0.48	0.24	0.18
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.184	0.377	0.540	0.220	0.042	0.656	0.815
PR-статус (148)	PR-отрицательный (32)	45.32	0.23	0.15	0.28	0.43	0.23	0.20
	PR-положительный (116)	46.77	0.25	0.17	0.29	0.48	0.22	0.18
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.036	0.178	0.276	0.183	0.003	0.580	0.867
Her2-статус (148)	Her2-отрицательный (114)	46.64	0.25	0.16	0.28	0.46	0.22	0.19
	Her2-положительный (34)	46.25	0.24	0.17	0.30	0.48	0.24	0.18
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.626	0.805	0.689	0.310	0.586	0.675	0.731
Статус по трем рецепторам (148)	Тройной отрицательный (17)	44.76	0.25	0.16	0.25	0.41	0.17	0.18
	Другие (131)	46.72	0.25	0.16	0.29	0.48	0.23	0.19
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.052	0.486	0.332	0.082	0.010	0.308	0.658
Статус менопаузы (148)	пре-менопауза (105)	45.47	0.24	0.16	0.28	0.46	0.22	0.18
	постменопауза (43)	55.93	0.26	0.19	0.30	0.49	0.23	0.22
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	—	0.043	0.004	0.093	0.012	0.274	0.145

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования				
		S100P_CpG	S100P_CpG	S100P_CpG	S100P_CpG	S100P_CpG
		_2_3	_4	_7	_8	_9
Стадия опухоли (143)	Стадия 0 и I (57)	0.65	0.89	0.45	0.44	0.51
	Стадия II (68)	0.69	0.90	0.48	0.50	0.54
	Стадия III и IV (18)	0.67	0.88	0.52	0.47	0.57
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.145	0.910	0.049	0.179	0.129
Размер опухоли (147)	Tis и T1 (74)	0.66	0.90	0.45	0.46	0.51
	T2 (60)	0.67	0.87	0.48	0.46	0.53
	T3 и T4 (13)	0.68	0.92	0.52	0.50	0.56
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.702	0.460	0.078	0.785	0.597
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (139)	Пораженные ЛУ отсутствуют (96)	0.67	0.89	0.46	0.45	0.51
	1-3 пораженных ЛУ (37)	0.67	0.90	0.50	0.47	0.54
	> 3 пораженных ЛУ (6)	0.66	0.87	0.49	0.47	0.54
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.896	0.953	0.683	0.937	0.794
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (20)	0.63	0.91	0.45	0.42	0.49
	Степень злокачественности 2 (94)	0.68	0.88	0.48	0.48	0.54
	Степень злокачественности 3 (33)	0.66	0.91	0.49	0.46	0.51
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.234	0.807	0.676	0.368	0.294
ER-статус (147)	ER-отрицательный (23)	0.65	0.94	0.45	0.43	0.49
	ER-положительный (125)	0.67	0.89	0.48	0.47	0.52
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.268	0.270	0.361	0.129	0.070
PR-статус (148)	PR-отрицательный (32)	0.66	0.92	0.47	0.44	0.51
	PR-положительный (116)	0.67	0.89	0.48	0.47	0.52
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.707	0.177	0.993	0.525	0.296
Her2-статус (148)	Her2- отрицательный (114)	0.66	0.89	0.47	0.45	0.51
	Her2-положительный (34)	0.69	0.90	0.50	0.51	0.55
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.169	0.534	0.549	0.118	0.188
Статус по трем рецепторам (148)	Тройной отрицательный (17)	0.65	0.91	0.46	0.43	0.49
	Другие (131)	0.67	0.89	0.48	0.47	0.52
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.584	0.671	0.854	0.257	0.187
Статус менопаузы (148)	пре-менопауза (105)	0.67	0.91	0.46	0.46	0.51
	постменопауза (43)	0.66	0.85	0.50	0.46	0.54
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.666	0.189	0.037	0.980	0.597

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования					
		FUT7_СрG	FUT7_СрG	FUT7_СрG	FUT7_СрG	FUT7_СрG	FUT7_СрG
		_2	_3	_4	_6	_7	_8
Стадия опухоли (143)	Стадия 0 и I (57)	0.19	0.15	0.20	0.24	0.09	0.30
	Стадия II (68)	0.21	0.14	0.19	0.22	0.10	0.35
	Стадия III и IV (18)	0.22	0.13	0.22	0.23	0.10	0.25
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.895	0.805	0.346	0.956	0.815	0.420
Размер опухоли (147)	Tis и T1 (74)	0.21	0.15	0.19	0.24	0.09	0.30
	T2 (60)	0.20	0.13	0.20	0.22	0.10	0.32
	T3 и T4 (13)	0.22	0.17	0.22	0.20	0.11	0.31
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.917	0.427	0.340	0.975	0.616	0.695
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (139)	Пораженные ЛУ отсутствуют (96)	0.22	0.14	0.20	0.24	0.09	0.31
	1-3 пораженных ЛУ (37)	0.20	0.14	0.19	0.22	0.09	0.34
	> 3 пораженных ЛУ (6)	0.28	0.22	0.31	0.28	0.16	0.27
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.173	0.076	0.239	0.325	0.107	0.976
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (20)	0.16	0.13	0.18	0.20	0.06	0.26
	Степень злокачественности 2 (94)	0.22	0.14	0.21	0.25	0.10	0.32
	Степень злокачественности 3 (33)	0.18	0.14	0.18	0.20	0.10	0.31
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.150	0.574	0.327	0.338	0.243	0.098
ER-статус (147)	ER-отрицательный (23)	0.20	0.12	0.17	0.19	0.10	0.32
	ER-положительный (125)	0.21	0.14	0.20	0.24	0.09	0.31
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.793	0.562	0.208	0.204	0.793	0.564
PR-статус (148)	PR-отрицательный (32)	0.23	0.16	0.19	0.23	0.11	0.33
	PR-положительный (116)	0.21	0.14	0.20	0.23	0.09	0.30
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.519	0.348	0.744	0.578	0.260	0.285
Her2-статус (148)	Her2-отрицательный (114)	0.19	0.13	0.20	0.22	0.09	0.30
	Her2-положительный (34)	0.26	0.18	0.19	0.27	0.12	0.36
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.012	0.019	0.495	0.028	0.157	0.172
Статус по трем рецепторам (148)	Тройной отрицательный (17)	0.18	0.11	0.17	0.17	0.09	0.26
	Другие (131)	0.21	0.14	0.20	0.24	0.09	0.31
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.327	0.206	0.077	0.042	0.800	0.205
Статус менопаузы (148)	пре-менопауза (105)	0.21	0.14	0.20	0.23	0.09	0.31
	постменопауза (43)	0.17	0.14	0.19	0.22	0.11	0.31
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.167	0.666	0.719	0.944	0.319	0.751

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования			
		SLC22A18_CpG	SLC22A18_CpG	SLC22A18_CpG	SLC22A18_CpG
		_3	_4	_6	_8
Стадия опухоли (143)	Стадия 0 и I (57)	0.13	0.15	0.19	0.61
	Стадия II (68)	0.15	0.18	0.22	0.63
	Стадия III и IV (18)	0.15	0.20	0.21	0.56
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.183	0.212	0.293	0.284
Размер опухоли (147)	Tis и T1 (74)	0.14	0.16	0.20	0.61
	T2 (60)	0.15	0.18	0.22	0.63
	T3 и T4 (13)	0.14	0.16	0.18	0.56
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.276	0.479	0.138	0.308
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (139)	Пораженные ЛУ отсутствуют (96)	0.14	0.16	0.20	0.61
	1-3 пораженных ЛУ (37)	0.14	0.20	0.21	0.63
	> 3 пораженных ЛУ (6)	0.16	0.20	0.21	0.54
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.491	0.116	0.550	0.115
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (20)	0.14	0.15	0.19	0.66
	Степень злокачественности 2 (94)	0.14	0.18	0.21	0.61
	Степень злокачественности 3 (33)	0.14	0.17	0.21	0.61
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.904	0.683	0.848	0.199
ER-статус (147)	ER-отрицательный (23)	0.14	0.16	0.20	0.60
	ER-положительный (125)	0.14	0.17	0.21	0.61
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.202	0.240	0.408	0.153
PR-статус (148)	PR-отрицательный (32)	0.14	0.17	0.20	0.60
	PR-положительный (116)	0.14	0.17	0.21	0.61
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.562	0.503	0.439	0.250
Her2-статус (148)	Her2- отрицательный (114)	0.14	0.17	0.21	0.61
	Her2-положительный (34)	0.15	0.20	0.23	0.62
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.907	0.521	0.430	0.830
Статус по трем рецепторам (148)	Тройной отрицательный (17)	0.12	0.16	0.19	0.60
	Другие (131)	0.14	0.17	0.21	0.61
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.274	0.391	0.421	0.218
Статус менопаузы (148)	пре-менопауза (105)	0.14	0.16	0.19	0.62
	постменопауза (43)	0.17	0.22	0.23	0.59
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.002	0.001	0.003	0.112

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования					
		RPTOR_CpG_1	RPTOR_CpG_2	RPTOR_CpG_3	RPTOR_CpG_4	RPTOR_CpG_5	RPTOR_CpG_8
Стадия опухоли (143)	Стадия 0 и I (57)	0.05	0.18	0.59	0.77	0.73	0.67
	Стадия II (68)	0.07	0.19	0.62	0.81	0.72	0.67
	Стадия III и IV (18)	0.08	0.24	0.63	0.79	0.77	0.72
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.328	0.152	0.191	0.847	0.527	0.514
Размер опухоли (147)	Tis и T1 (74)	0.05	0.18	0.59	0.77	0.72	0.67
	T2 (60)	0.08	0.21	0.62	0.77	0.73	0.69
	T3 и T4 (13)	0.09	0.29	0.66	0.83	0.78	0.67
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.165	0.197	0.130	0.748	0.614	0.232
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (139)	Пораженные ЛУ отсутствуют (96)	0.07	0.20	0.60	0.77	0.74	0.68
	1-3 пораженных ЛУ (37)	0.06	0.19	0.59	0.73	0.70	0.63
	> 3 пораженных ЛУ (6)	0.06	0.23	0.62	0.76	0.80	0.73
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.955	0.177	0.374	0.487	0.080	0.008
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (20)	0.07	0.18	0.60	0.78	0.73	0.68
	Степень злокачественности 2 (94)	0.07	0.20	0.60	0.77	0.74	0.68
	Степень злокачественности 3 (33)	0.06	0.19	0.62	0.79	0.71	0.68
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.669	0.426	0.456	0.868	0.719	0.987
ER-статус (147)	ER-отрицательный (23)	0.04	0.19	0.59	0.75	0.71	0.69
	ER-положительный (125)	0.07	0.20	0.60	0.77	0.74	0.67
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.139	0.449	0.628	0.694	0.525	0.757
PR-статус (148)	PR-отрицательный (32)	0.06	0.19	0.61	0.79	0.72	0.69
	PR-положительный (116)	0.07	0.20	0.60	0.77	0.73	0.67
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.267	0.755	0.492	0.812	0.812	0.416
Her2-статус (148)	Her2-отрицательный (114)	0.07	0.19	0.60	0.75	0.72	0.68
	Her2-положительный (34)	0.09	0.23	0.64	0.86	0.78	0.68
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.463	0.065	0.090	0.002	0.036	0.862
Статус по трем рецепторам (148)	Тройной отрицательный (17)	0.04	0.17	0.59	0.75	0.69	0.69
	Другие (131)	0.07	0.20	0.60	0.77	0.74	0.68
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.102	0.178	0.496	0.564	0.068	0.817
Статус менопаузы (148)	пре-менопауза (105)	0.07	0.19	0.59	0.79	0.72	0.67
	постменопауза (43)	0.06	0.20	0.62	0.75	0.77	0.68
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.687	0.463	0.202	0.090	0.099	0.078

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования					
		MGRN1_ CpG_1	MGRN1_ CpG_2	MGRN1_ CpG_4	MGRN1_ CpG_5.6.7.8	MGRN1_ CpG_12	MGRN1_ CpG_13
Стадия опухоли (143)	Стадия 0 и I (57)	0.12	0.60	0.23	0.23	0.26	0.60
	Стадия II (68)	0.14	0.62	0.27	0.29	0.35	0.62
	Стадия III и IV (18)	0.21	0.63	0.31	0.34	0.37	0.63
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.136	0.057	0.002	0.002	0.001	0.050
Размер опухоли (147)	Tis и T1 (74)	0.14	0.59	0.25	0.26	0.30	0.59
	T2 (60)	0.12	0.61	0.26	0.28	0.32	0.61
	T3 и T4 (13)	0.29	0.69	0.38	0.36	0.46	0.69
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.005	0.003	0.002	0.004	0.001	0.003
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (139)	Пораженные ЛУ отсутствуют (96)	0.13	0.61	0.25	0.27	0.30	0.61
	1-3 пораженных ЛУ (37)	0.14	0.61	0.29	0.29	0.34	0.61
	> 3 пораженных ЛУ (6)	0.13	0.60	0.28	0.33	0.36	0.60
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.949	0.622	0.171	0.336	0.235	0.710
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (20)	0.10	0.61	0.25	0.24	0.28	0.61
	Степень злокачественности 2 (94)	0.14	0.61	0.26	0.29	0.33	0.61
	Степень злокачественности 3 (33)	0.12	0.62	0.26	0.27	0.31	0.62
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.296	0.815	0.209	0.255	0.350	0.907
ER-статус (147)	ER-отрицательный (23)	0.12	0.62	0.26	0.27	0.30	0.62
	ER-положительный (125)	0.14	0.61	0.25	0.28	0.33	0.61
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.187	0.739	0.470	0.331	0.577	0.782
PR-статус (148)	PR-отрицательный (32)	0.12	0.62	0.25	0.28	0.31	0.63
	PR-положительный (116)	0.14	0.61	0.26	0.28	0.33	0.61
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.318	0.815	0.365	0.381	0.666	0.789
Her2-статус (148)	Her2-отрицательный (114)	0.14	0.61	0.26	0.28	0.33	0.61
	Her2-положительный (34)	0.14	0.61	0.25	0.29	0.32	0.61
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.306	0.950	0.535	0.612	0.909	0.669
Статус по трем рецепторам (148)	Тройной отрицательный (17)	0.13	0.62	0.27	0.28	0.34	0.62
	Другие (131)	0.14	0.61	0.25	0.28	0.33	0.61
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.449	0.958	0.851	0.595	0.971	0.885
Статус менопаузы (148)	пре-менопауза (105)	0.14	0.61	0.25	0.27	0.32	0.61
	постменопауза (43)	0.15	0.62	0.27	0.29	0.33	0.64
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.541	0.259	0.190	0.324	0.373	0.127

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования					
		MGRN1_CpG_15	MGRN1_CpG_16.17.18	MGRN1_CpG_19.20	MGRN1_CpG_22.23	MGRN1_CpG_26	MGRN1_CpG_27
Стадия опухоли (143)	Стадия 0 и I (57)	0.29	0.29	0.32	0.29	0.28	0.26
	Стадия II (68)	0.34	0.31	0.37	0.34	0.32	0.32
	Стадия III и IV (18)	0.39	0.36	0.42	0.39	0.36	0.38
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.003	0.001	0.002	0.001	0.007	0.003
Размер опухоли (147)	Tis и T1 (74)	0.31	0.29	0.34	0.31	0.31	0.29
	T2 (60)	0.33	0.31	0.36	0.33	0.31	0.29
	T3 и T4 (13)	0.43	0.41	0.47	0.44	0.40	0.43
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.002	0.000	0.003	0.000	0.005	0.001
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (139)	Пораженные ЛУ отсутствуют (96)	0.31	0.30	0.35	0.31	0.31	0.28
	1-3 пораженных ЛУ (37)	0.34	0.33	0.38	0.34	0.33	0.31
	> 3 пораженных ЛУ (6)	0.38	0.36	0.38	0.34	0.33	0.33
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.070	0.179	0.191	0.276	0.494	0.258
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (20)	0.31	0.29	0.33	0.31	0.31	0.25
	Степень злокачественности 2 (94)	0.34	0.32	0.37	0.34	0.31	0.30
	Степень злокачественности 3 (33)	0.32	0.31	0.36	0.32	0.33	0.31
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.581	0.364	0.329	0.422	0.781	0.661
ER-статус (147)	ER-отрицательный (23)	0.32	0.31	0.36	0.32	0.31	0.31
	ER-положительный (125)	0.33	0.31	0.36	0.33	0.32	0.30
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.689	0.727	0.245	0.530	0.288	0.991
PR-статус (148)	PR-отрицательный (32)	0.33	0.31	0.36	0.33	0.31	0.32
	PR-положительный (116)	0.32	0.31	0.36	0.33	0.32	0.30
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.795	0.708	0.200	0.600	0.246	0.960
Her2-статус (148)	Her2- отрицательный (114)	0.33	0.31	0.36	0.33	0.31	0.29
	Her2-положительный (34)	0.31	0.31	0.36	0.32	0.31	0.32
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.929	0.686	0.896	0.957	0.892	0.425
Статус по трем рецепторам (148)	Тройной отрицательный (17)	0.33	0.31	0.37	0.32	0.31	0.34
	Другие (131)	0.32	0.31	0.36	0.33	0.32	0.30
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.810	0.801	0.576	0.763	0.381	0.949
Статус менопаузы (148)	пре-менопауза (105)	0.32	0.30	0.36	0.32	0.31	0.30
	постменопауза (43)	0.34	0.33	0.36	0.33	0.33	0.32
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.563	0.202	0.423	0.483	0.279	0.206

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования				
		MGRN1_C pG_28	MGRN1_C pG_29	MGRN1_C pG_31	MGRN1_C pG_32	MGRN1_C pG_34
Стадия опухоли (143)	Стадия 0 и I (57)	0.26	0.35	0.29	0.24	0.33
	Стадия II (68)	0.32	0.40	0.36	0.28	0.39
	Стадия III и IV (18)	0.33	0.46	0.40	0.34	0.41
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.006	0.001	0.008	0.007	0.005
Размер опухоли (147)	Tis и T1 (74)	0.28	0.37	0.32	0.26	0.35
	T2 (60)	0.31	0.39	0.31	0.27	0.38
	T3 и T4 (13)	0.41	0.49	0.45	0.40	0.42
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.007	0.001	0.004	0.004	0.123
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (139)	Пораженные ЛУ отсутствуют (96)	0.28	0.37	0.30	0.27	0.35
	1-3 пораженных ЛУ (37)	0.31	0.40	0.37	0.27	0.39
	> 3 пораженных ЛУ (6)	0.33	0.41	0.40	0.31	0.37
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.466	0.374	0.097	0.489	0.122
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (20)	0.26	0.35	0.29	0.24	0.34
	Степень злокачественности 2 (94)	0.31	0.39	0.35	0.27	0.37
	Степень злокачественности 3 (33)	0.29	0.38	0.29	0.28	0.35
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.254	0.319	0.468	0.702	0.422
ER-статус (147)	ER-отрицательный (23)	0.28	0.39	0.33	0.27	0.35
	ER-положительный (125)	0.31	0.38	0.34	0.27	0.37
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.537	0.835	0.933	0.976	0.254
PR-статус (148)	PR-отрицательный (32)	0.29	0.39	0.36	0.27	0.35
	PR-положительный (116)	0.30	0.38	0.33	0.27	0.37
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.675	0.656	0.788	0.797	0.240
Her2-статус (148)	Her2- отрицательный (114)	0.30	0.38	0.33	0.27	0.37
	Her2-положительный (34)	0.30	0.38	0.35	0.26	0.37
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.619	0.674	0.678	0.910	0.700
Статус по трем рецепторам (148)	Тройной отрицательный (17)	0.31	0.40	0.33	0.28	0.36
	Другие (131)	0.30	0.38	0.34	0.27	0.37
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.825	0.990	0.858	0.884	0.777
Статус менопаузы (148)	пре-менопауза (105)	0.29	0.38	0.33	0.26	0.36
	постменопауза (43)	0.31	0.38	0.36	0.29	0.39
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.502	0.594	0.652	0.131	0.172

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования						
		RAPSN_CpG_1	RAPSN_CpG_2	RAPSN_CpG_4	RAPSN_CpG_5	RAPSN_CpG_6	RAPSN_CpG_7	RAPSN_CpG_8
Стадия опухоли (143)	Стадия 0 и I (57)	0.95	0.61	0.38	0.73	0.49	0.73	0.95
	Стадия II (68)	0.94	0.63	0.42	0.77	0.56	0.70	0.96
	Стадия III и IV (18)	0.95	0.63	0.41	0.75	0.56	0.74	0.96
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.646	0.757	0.370	0.037	0.007	0.441	0.688
Размер опухоли (147)	Tis и T1 (74)	0.94	0.61	0.38	0.73	0.51	0.73	0.96
	T2 (60)	0.95	0.62	0.41	0.78	0.54	0.70	0.96
	T3 и T4 (13)	0.97	0.64	0.53	0.71	0.65	0.73	0.96
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.330	0.976	0.044	0.089	0.081	0.413	0.669
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (139)	Пораженные ЛУ отсутствуют (96)	0.95	0.62	0.40	0.74	0.51	0.73	0.96
	1-3 пораженных ЛУ (37)	0.94	0.62	0.39	0.76	0.55	0.69	0.96
	> 3 пораженных ЛУ (6)	0.97	0.59	0.41	0.75	0.59	0.77	0.98
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.501	0.729	0.880	0.619	0.206	0.051	0.493
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (20)	0.97	0.61	0.41	0.73	0.52	0.75	0.95
	Степень злокачественности 2 (94)	0.94	0.62	0.41	0.75	0.53	0.71	0.96
	Степень злокачественности 3 (33)	0.94	0.64	0.37	0.75	0.53	0.70	0.97
	р-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.264	0.767	0.453	0.827	0.796	0.585	0.082
ER-статус (147)	ER-отрицательный (23)	0.94	0.64	0.35	0.73	0.47	0.71	0.96
	ER-положительный (125)	0.95	0.62	0.41	0.75	0.53	0.72	0.96
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.794	0.727	0.043	0.520	0.090	0.711	0.917
	PR-статус (148)	PR-отрицательный (32)	0.93	0.66	0.38	0.74	0.49	0.73
PR-положительный (116)		0.95	0.62	0.41	0.75	0.53	0.71	0.96
р-значение (U-критерий Манна-Уитни)		0.137	0.773	0.217	0.818	0.389	0.510	0.891
Her2-статус (148)		Her2-отрицательный (114)	0.95	0.62	0.39	0.75	0.53	0.72
	Her2-положительный (34)	0.93	0.64	0.42	0.75	0.53	0.72	0.95
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.001	0.608	0.553	0.544	0.583	0.798	0.374
	Статус по трем рецепторам (148)	Тройной отрицательный (17)	0.94	0.65	0.35	0.75	0.47	0.72
Другие (131)		0.95	0.62	0.41	0.75	0.53	0.71	0.96
р-значение (U-критерий Манна-Уитни)		0.990	0.888	0.041	0.734	0.214	0.520	0.281
Статус менопаузы (148)		пре-менопауза (105)	0.94	0.62	0.38	0.75	0.53	0.71
	постменопауза (43)	0.95	0.62	0.43	0.75	0.54	0.74	0.96
	р-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.540	0.788	0.016	0.891	0.418	0.234	0.633

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования						
		miR1273p	miR148b	miR376a	miR376c	miR4093p	miR652	miR801
Стадия опухоли (143)	Стадия 0 и I (57)	32.97	31.28	35.51	33.17	32.54	29.69	30.33
	Стадия II (68)	32.86	31.11	35.28	33.11	32.67	29.48	30.40
	Стадия III и IV (18)	32.92	31.23	35.07	33.17	32.74	29.71	30.17
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.996	0.571	0.578	0.853	0.736	0.268	0.611
Размер опухоли (147)	Tis и T1 (74)	32.88	31.26	35.34	33.07	32.57	29.66	30.32
	T2 (60)	32.93	31.15	35.19	33.13	32.76	29.55	30.43
	T3 и T4 (13)	32.99	31.23	35.34	33.50	32.74	29.64	30.18
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.821	0.907	0.604	0.569	0.578	0.503	0.720
Поражение лимфатических узлов (ЛУ) (139)	Пораженные ЛУ отсутствуют (96)	32.74	31.28	35.35	33.06	32.62	29.64	30.26
	1-3 пораженных ЛУ (37)	33.13	31.16	35.34	33.24	32.86	29.56	30.46
	> 3 пораженных ЛУ (6)	32.37	31.05	34.67	32.71	32.31	29.09	30.36
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.570	0.827	0.308	0.510	0.791	0.557	0.730
Оценка степени злокачественности (187)	Степень злокачественности 1 (20)	32.84	31.43	35.54	33.37	32.30	29.62	30.75
	Степень злокачественности 2 (94)	33.03	31.22	35.32	33.17	32.72	29.64	30.40
	Степень злокачественности 3 (33)	32.56	31.10	35.08	32.78	32.35	29.51	30.14
	p-значение (критерий Крускала-Уоллиса)	0.766	0.402	0.988	0.883	0.443	0.607	0.191
ER-статус (147)	ER-отрицательный (23)	32.65	31.36	35.07	32.98	32.33	29.80	30.25
	ER-положительный (125)	32.98	31.22	35.35	33.18	32.71	29.59	30.39
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.657	0.973	0.316	0.706	0.325	0.897	0.460
	PR-статус (148)	PR-отрицательный (32)	32.74	31.36	35.08	33.18	32.41	29.83
PR-положительный (116)		32.97	31.22	35.34	33.17	32.69	29.57	30.39
p-значение (U-критерий Манна-Уитни)		0.955	0.732	0.536	0.990	0.788	0.496	0.313
Her2-статус (148)		Her2-отрицательный (114)	32.96	31.23	35.32	33.19	32.70	29.60
	Her2-положительный (34)	32.82	31.24	35.34	33.07	32.62	29.64	30.58
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.528	0.816	0.698	0.693	0.889	0.643	0.276
	Статус по трем рецепторам (148)	Тройной отрицательный (17)	32.65	31.22	34.86	33.03	31.89	29.88
Другие (131)		32.97	31.23	35.34	33.18	32.71	29.59	30.39
p-значение (U-критерий Манна-Уитни)		0.831	0.814	0.334	0.814	0.292	0.736	0.409
Статус менопаузы (148)		пре-менопауза (105)	32.81	31.32	35.32	33.19	32.56	29.72
	постменопауза (43)	32.99	31.10	35.36	33.16	33.03	29.52	30.14
	p-значение (U-критерий Манна-Уитни)	0.776	0.063	0.792	0.711	0.205	0.331	0.024

Фиг. 6

Таблица 7. Описание образцов для РПЖ и аналогичных контролей

Когорта	Типы образцов	Анализ	Группы	Количество мишеней	Среднее значение возраста (диапазон)	Медиана возраста	Количество проанализированных (уровень определения, %)				
							HYAL2	S100P	SLC22A18	DYRK4	FUT7
РПЖ и контроли	ДНК из периферической крови	MassARRAY	Все контроли	191	58.7 (21-68)	61	191 (100%)	191 (100%)	190 (99.5%)	191 (100%)	191 (100%)
			Все случаи РПЖ	147	62.9 (19-86)	64	147 (100%)	147 (100%)	147 (100%)	147 (100%)	147 (100%)
			Контроли муж. пола	115	59.0 (27-67)	58	115 (100%)	115 (100%)	115 (100%)	115 (100%)	115 (100%)
			Случаи РПЖ у пациентов муж. пола	80	62.9 (39-86)	63.5	80 (100%)	80 (100%)	80 (100%)	80 (100%)	80 (100%)
			Контроли жен. пола	76	60.0 (21-68)	63	76 (100%)	76 (100%)	75 (98.7%)	76 (100%)	76 (100%)
			Случаи РПЖ у пациентов жен. пола	67	62.0 (19-79)	66	67 (100%)	67 (100%)	67 (100%)	67 (100%)	67 (100%)

Фиг. 7

Таблица 8. Различия метилирования в генах при сравнении случаев РПЖ и контролей

CpG-сайты	Различия уровней метилирования			
	Медиана контролей (МКР)	Медиана случаев РПЖ (МКР)	ОШ (95 % ДИ) * на -10% метилирование	p -значение*
HYAL2_CpG_1	0.35 (0.31-0.40)	0.25 (0.19-0.32)	2.09 (1.61-2.71)	2.68E-08
HYAL2_CpG_2	0.27 (0.23-0.31)	0.14 (0.09-0.18)	7.06 (4.58-10.88)	8.01E-19
HYAL2_CpG_3	0.43 (0.38-0.46)	0.29 (0.23-0.34)	7.94 (5.04-12.50)	3.94E-19
HYAL2_CpG_4	0.61 (0.56-0.66)	0.48 (0.43-0.55)	4.24 (3.01-5.98)	1.37E-16
S100P_CpG_2&3	0.73 (0.69-0.77)	0.59 (0.54-0.63)	14.07 (8.04-24.61)	1.97E-20
S100P_CpG_4	0.74 (0.65-0.90)	0.62 (0.55-0.82)	1.55 (1.33-1.82)	4.90E-08
S100P_CpG_7	0.64 (0.54-0.73)	0.31 (0.21-0.42)	4.03 (3.01-5.39)	6.51E-21
S100P_CpG_8	0.54 (0.47-0.61)	0.33 (0.25-0.40)	3.85 (2.87-5.16)	2.45E-19
S100P_CpG_9	0.62 (0.56-0.68)	0.43 (0.36-0.50)	5.02 (3.55-7.09)	6.61E-20
SLC22A18_CpG_1	0.34 (0.26-0.39)	0.17 (0.13-0.23)	5.28 (3.60-7.57)	1.17E-19
SLC22A18_CpG_3	0.23 (0.17-0.27)	0.12 (0.09-0.17)	8.81 (5.48-14.18)	3.03E-19
SLC22A18_CpG_4	0.30 (0.23-0.38)	0.13 (0.08-0.20)	4.23 (3.07-5.83)	1.03E-18
SLC22A18_CpG_6	0.30 (0.25-0.36)	0.17 (0.11-0.23)	5.14 (3.59-7.35)	3.98E-19
SLC22A18_CpG_8	0.68 (0.62-0.74)	0.57 (0.49-0.65)	2.13 (1.70-2.68)	7.17E-11
DYRK4_CpG_1	0.59 (0.37-0.75)	0.18 (0.02-0.49)	1.46 (1.33-1.62)	3.85E-14
DYRK4_CpG_3	0.32 (0.25-0.35)	0.32 (0.14-0.35)	1.20 (1.02-1.41)	0.032
FUT7_CpG_1	0.49 (0.36-0.61)	0.21 (0.15-0.36)	1.99 (1.70-2.33)	1.63E-17
FUT7_CpG_2	0.42 (0.37-0.47)	0.27 (0.22-0.33)	6.95 (4.55-10.61)	2.77E-19
FUT7_CpG_3	0.21 (0.11-0.31)	0.06 (0.03-0.16)	2.77 (2.10-3.66)	6.21E-13
FUT7_CpG_4	0.40 (0.33-0.66)	0.26 (0.21-0.35)	2.00 (1.66-2.41)	3.13E-13
FUT7_CpG_6	0.31 (0.22-0.39)	0.14 (0.08-0.22)	2.36 (1.88-2.98)	3.12E-13
FUT7_CpG_7	0.15 (0.09-0.22)	0.05 (0.01-0.10)	3.65 (2.54-5.25)	2.28E-12
FUT7_CpG_8	0.30 (0.20-0.39)	0.15 (0.10-0.25)	2.05 (1.65-2.53)	4.25E-11
Вся панель CpG				2.57E-26

\* логистическая регрессия с поправкой на возраст и различные партии измерений

CpG-сайты	Ранняя стадия (стадия 0 и 1 и 2) по сравнению со всеми контролями			
	Медиана контролей (МКР)	Медиана случаев РПЖ (МКР)	ОШ (95 % ДИ) * на -10% метилирование	p-значение*
HYAL2_CpG_1	0.35 (0.31-0.40)	0.27 (0.20-0.33)	2.04 (1.46-2.84)	2.93E-05
HYAL2_CpG_2	0.27 (0.23-0.31)	0.14 (0.08-0.18)	6.29 (3.88-10.18)	7.83E-14
HYAL2_CpG_3	0.43 (0.38-0.46)	0.28 (0.23-0.34)	7.37 (4.41-12.29)	2.01E-14
HYAL2_CpG_4	0.61 (0.56-0.66)	0.47 (0.42-0.54)	5.54 (3.54-8.70)	8.71E-14
S100P_CpG_2&3	0.73 (0.69-0.77)	0.59 (0.54-0.63)	15.48 (7.84-30.55)	2.86E-15
S100P_CpG_4	0.74 (0.65-0.90)	0.63 (0.56-0.81)	1.58 (1.29-1.94)	1.12E-05
S100P_CpG_7	0.64 (0.54-0.73)	0.31 (0.21-0.47)	3.77 (2.72-5.23)	1.50E-15
S100P_CpG_8	0.54 (0.47-0.61)	0.34 (0.26-0.40)	4.00 (2.80-5.71)	2.26E-14
S100P_CpG_9	0.62 (0.56-0.68)	0.43 (0.36-0.52)	5.17 (3.43-7.80)	4.15E-15
SLC22A18_CpG_1	0.34 (0.26-0.39)	0.18 (0.14-0.23)	5.48 (3.50-8.56)	8.53E-14
SLC22A18_CpG_3	0.23 (0.17-0.27)	0.11 (0.08-0.15)	13.25 (6.89-25.48)	9.63E-15
SLC22A18_CpG_4	0.30 (0.23-0.38)	0.10 (0.07-0.18)	5.49 (3.56-8.49)	1.64E-14
SLC22A18_CpG_6	0.30 (0.25-0.36)	0.14 (0.11-0.22)	5.47 (3.54-8.47)	2.28E-14
SLC22A18_CpG_8	0.68 (0.62-0.74)	0.57 (0.48-0.65)	2.35 (1.76-3.14)	7.50E-09
DYRK4_CpG_1	0.59 (0.37-0.75)	0.17 (0.02-0.49)	1.50 (1.33-1.70)	2.06E-10
DYRK4_CpG_3	0.32 (0.25-0.35)	0.32 (0.12-0.35)	1.32 (1.05-1.65)	0.019
FUT7_CpG_1	0.49 (0.36-0.61)	0.21 (0.12-0.31)	1.94 (1.61-2.34)	5.49E-12
FUT7_CpG_2	0.42 (0.37-0.47)	0.27 (0.22-0.35)	6.23 (3.87-10.04)	5.65E-14
FUT7_CpG_3	0.21 (0.11-0.31)	0.08 (0.04-0.18)	2.31 (1.69-3.16)	1.29E-07
FUT7_CpG_4	0.40 (0.33-0.66)	0.27 (0.21-0.36)	2.01 (1.59-2.55)	5.86E-09
FUT7_CpG_6	0.31 (0.22-0.39)	0.14 (0.09-0.26)	2.10 (1.61-2.75)	4.41E-08
FUT7_CpG_7	0.15 (0.09-0.22)	0.05 (0.01-0.09)	3.25 (2.14-4.95)	3.68E-08
FUT7_CpG_8	0.30 (0.20-0.39)	0.15 (0.10-0.26)	1.92 (1.50-2.46)	2.74E-07
Вся панель CpG				1.66E-18

\* логистическая регрессия с поправкой на возраст и различные партии измерений

Фиг. 8

Таблица 9. Различия метилирования в генах при сравнении случаев РПЖ и контролей, стратифицированных по полу

CpG-сайты	Образцы от пациентов мужского пола			
	Медиана контролей мужского пола (МКР)	Медиана случаев РПЖ у пациентов муж. пола (МКР)	ОШ (95 % ДИ) * на -10% метилирование	p-значение*
HYAL2_CpG_1	0.36 (0.31-0.41)	0.25 (0.20-0.32)	2.43 (1.68-3.53)	2.60E-06
HYAL2_CpG_2	0.28 (0.23-0.31)	0.14 (0.10-0.18)	20.70 (8.69-49.27)	7.56E-12
HYAL2_CpG_3	0.43 (0.39-0.47)	0.28 (0.23-0.34)	9.60 (5.00-18.43)	1.10E-11
HYAL2_CpG_4	0.63 (0.56-0.68)	0.47 (0.42-0.54)	4.95 (3.07-7.98)	5.35E-11
S100P_CpG_2&3	0.74 (0.69-0.77)	0.59 (0.54-0.63)	14.72 (6.98-31.04)	1.59E-12
S100P_CpG_4	0.78 (0.67-0.91)	0.63 (0.56-0.83)	1.63 (1.32-2.02)	6.10E-06
S100P_CpG_7	0.65 (0.59-0.76)	0.34 (0.21-0.43)	5.25 (3.24-8.48)	1.39E-11
S100P_CpG_8	0.56 (0.49-0.63)	0.35 (0.25-0.42)	4.27 (2.81-6.47)	8.94E-12
S100P_CpG_9	0.64 (0.58-0.68)	0.44 (0.36-0.51)	6.56 (3.85-11.19)	4.75E-12
SLC22A18_CpG_1	0.35 (0.27-0.40)	0.17 (0.12-0.25)	4.39 (2.86-6.75)	1.46E-11
SLC22A18_CpG_3	0.23 (0.17-0.27)	0.12 (0.08-0.17)	6.08 (3.52-10.52)	9.95E-11
SLC22A18_CpG_4	0.30 (0.23-0.39)	0.13 (0.09-0.22)	4.56 (2.94-7.08)	1.17E-11
SLC22A18_CpG_6	0.30 (0.25-0.37)	0.17 (0.13-0.26)	4.11 (2.66-6.34)	1.68E-10
SLC22A18_CpG_8	0.68 (0.63-0.76)	0.61 (0.52-0.67)	1.87 (1.41-2.47)	1.21E-05
DYRK4_CpG_1	0.62 (0.39-0.75)	0.24 (0.03-0.56)	1.38 (1.22-1.57)	2.77E-07
DYRK4_CpG_3	0.32 (0.26-0.35)	0.31 (0.09-0.35)	1.21 (0.99-1.49)	0.068
FUT7_CpG_1	0.52 (0.40-0.64)	0.21 (0.15-0.31)	2.14 (1.72-2.67)	8.28E-12
FUT7_CpG_2	0.44 (0.39-0.49)	0.27 (0.22-0.33)	6.44 (3.73-11.12)	2.26E-11
FUT7_CpG_3	0.22 (0.12-0.33)	0.07 (0.04-0.13)	3.15 (2.12-4.70)	1.58E-08
FUT7_CpG_4	0.42 (0.32-0.69)	0.26 (0.21-0.36)	2.12 (1.64-2.74)	1.08E-08
FUT7_CpG_6	0.32 (0.25-0.39)	0.14 (0.08-0.22)	2.27 (1.70-3.04)	3.40E-08
FUT7_CpG_7	0.17 (0.09-0.22)	0.05 (0.01-0.10)	3.32 (2.11-5.20)	1.91E-07
FUT7_CpG_8	0.33 (0.21-0.41)	0.15 (0.09-0.23)	2.21 (1.66-2.93)	5.82E-08
<b>Вся панель CpG</b>				<b>3.28E-14</b>

\* логистическая регрессия с поправкой на возраст и различные партии измерений

CpG-сайты	Образцы от пациентов женского пола			
	Медиана контролей женского пола (МКР)	Медиана случаев РПЖ у пациентов женского пола (МКР)	ОШ (95 % ДИ) * на -10% метилирование	p-значение
HYAL2_CpG_1	0.35 (0.30-0.38)	0.25 (0.19-0.33)	1.76 (1.22-2.54)	0.002
HYAL2_CpG_2	0.25 (0.21-0.30)	0.14 (0.08-0.18)	3.44 (2.09-5.66)	1.00E-06
HYAL2_CpG_3	0.41 (0.37-0.44)	0.30 (0.23-0.34)	6.88 (3.52-13.46)	1.73E-08
HYAL2_CpG_4	0.60 (0.55-0.64)	0.48 (0.43-0.55)	3.41 (2.09-5.58)	1.02E-06
S100P_CpG_2&3	0.72 (0.68-0.75)	0.60 (0.53-0.63)	13.61 (5.72-32.39)	3.55E-09
S100P_CpG_4	0.69 (0.63-0.88)	0.61 (0.55-0.80)	1.45 (1.14-1.84)	0.003
S100P_CpG_7	0.60 (0.51-0.68)	0.29 (0.20-0.37)	3.23 (2.24-4.67)	4.19E-10
S100P_CpG_8	0.51 (0.46-0.58)	0.31 (0.25-0.39)	3.39 (2.23-5.15)	1.14E-08
S100P_CpG_9	0.59 (0.54-0.66)	0.43 (0.35-0.49)	3.84 (2.43-6.06)	8.97E-09
SLC22A18_CpG_1	0.32 (0.24-0.37)	0.17 (0.14-0.21)	8.59 (4.28-17.23)	1.44E-09
SLC22A18_CpG_3	0.22 (0.17-0.26)	0.11 (0.08-0.15)	19.70 (7.63-50.83)	7.22E-10
SLC22A18_CpG_4	0.29 (0.22-0.37)	0.13 (0.06-0.19)	4.24 (2.58-6.98)	1.25E-08
SLC22A18_CpG_6	0.28 (0.25-0.34)	0.14 (0.11-0.21)	8.75 (4.40-17.38)	6.06E-10
SLC22A18_CpG_8	0.65 (0.61-0.71)	0.55 (0.47-0.63)	2.76 (1.83-4.16)	1.32E-06
DYRK4_CpG_1	0.56 (0.35-0.73)	0.16 (0.02-0.37)	1.62 (1.36-1.92)	3.33E-08
DYRK4_CpG_3	0.32 (0.24-0.35)	0.32 (0.23-0.35)	1.20 (0.90-1.59)	0.215
FUT7_CpG_1	0.47 (0.30-0.54)	0.19 (0.09-0.36)	1.82 (1.44-2.30)	5.16E-07
FUT7_CpG_2	0.40 (0.35-0.45)	0.26 (0.22-0.33)	7.99 (4.03-15.86)	2.81E-09
FUT7_CpG_3	0.17 (0.09-0.25)	0.06 (0.03-0.17)	2.37 (1.58-3.53)	2.61E-05
FUT7_CpG_4	0.40 (0.34-0.60)	0.26 (0.19-0.35)	1.89 (1.44-2.48)	4.88E-06
FUT7_CpG_6	0.26 (0.18-0.39)	0.13 (0.08-0.20)	2.50 (1.71-3.68)	2.79E-06
FUT7_CpG_7	0.13 (0.09-0.22)	0.05 (0.02-0.09)	4.17 (2.27-7.68)	4.28E-06
FUT7_CpG_8	0.27 (0.18-0.36)	0.15 (0.10-0.26)	1.86 (1.34-2.57)	1.75E-04
Вся панель CpG				7.24E-12

\* логистическая регрессия с поправкой на возраст и различные партии измерений

Фиг. 9

Таблица 10. Дискриминационная способность метилирования в генах различать случаи РПЖ и здоровые контроли

CpG-сайты	Площадь под кривой (AUC), 95% ДИ			
	Все случаи РПЖ по сравнению со всеми контролями	Случаи РПЖ стадии 0, I и II по сравнению со всеми контролями	Субъекты муж. пола, случаи РПЖ по сравнению с контролями	Субъекты жен. пола, случаи РПЖ по сравнению с контролями
HYAL2_CpG_1	0.77 (0.72-0.83)	0.76 (0.68-0.83)	0.79 (0.72-0.86)	0.75 (0.66-0.83)
HYAL2_CpG_2	0.90 (0.86-0.94)	0.90 (0.85-0.95)	0.94 (0.90-0.97)	0.86 (0.79-0.92)
HYAL2_CpG_3	0.90 (0.86-0.94)	0.90 (0.85-0.94)	0.92 (0.88-0.96)	0.87 (0.81-0.94)
HYAL2_CpG_4	0.86 (0.82-0.90)	0.87 (0.82-0.93)	0.89 (0.83-0.94)	0.83 (0.75-0.90)
S100P_CpG_2&3	0.93 (0.89-0.96)	0.92 (0.87-0.96)	0.93 (0.89-0.97)	0.92 (0.87-0.97)
S100P_CpG_4	0.74 (0.68-0.79)	0.75 (0.67-0.82)	0.75 (0.68-0.83)	0.71 (0.63-0.80)
S100P_CpG_7	0.94 (0.91-0.96)	0.92 (0.88-0.96)	0.96 (0.93-0.98)	0.92 (0.87-0.97)
S100P_CpG_8	0.90 (0.86-0.94)	0.88 (0.83-0.94)	0.91 (0.86-0.96)	0.89 (0.83-0.96)
S100P_CpG_9	0.90 (0.86-0.94)	0.89 (0.84-0.94)	0.93 (0.88-0.97)	0.87 (0.80-0.93)
SLC22A18_CpG_1	0.88 (0.84-0.91)	0.87 (0.82-0.92)	0.87 (0.81-0.92)	0.90 (0.85-0.95)
SLC22A18_CpG_3	0.87 (0.84-0.91)	0.89 (0.84-0.93)	0.85 (0.80-0.91)	0.91 (0.86-0.96)
SLC22A18_CpG_4	0.88 (0.84-0.92)	0.89 (0.84-0.93)	0.88 (0.83-0.93)	0.90 (0.85-0.96)
SLC22A18_CpG_6	0.86 (0.82-0.90)	0.85 (0.80-0.90)	0.85 (0.79-0.90)	0.89 (0.84-0.95)
SLC22A18_CpG_8	0.77 (0.72-0.82)	0.77 (0.71-0.84)	0.76 (0.69-0.83)	0.80 (0.73-0.88)
DYRK4_CpG_1	0.79 (0.74-0.84)	0.79 (0.72-0.85)	0.78 (0.71-0.85)	0.82 (0.75-0.89)
DYRK4_CpG_3	0.67 (0.60-0.73)	0.67 (0.59-0.75)	0.69 (0.61-0.77)	0.63 (0.53-0.72)
FUT7_CpG_1	0.85 (0.81-0.89)	0.84 (0.78-0.90)	0.88 (0.83-0.93)	0.80 (0.73-0.88)
FUT7_CpG_2	0.90 (0.87-0.94)	0.88 (0.83-0.93)	0.90 (0.86-0.95)	0.90 (0.85-0.96)
FUT7_CpG_3	0.81 (0.77-0.86)	0.77 (0.71-0.84)	0.84 (0.79-0.90)	0.77 (0.69-0.85)
FUT7_CpG_4	0.83 (0.78-0.87)	0.82 (0.76-0.87)	0.85 (0.79-0.90)	0.81 (0.73-0.88)
FUT7_CpG_6	0.82 (0.77-0.86)	0.78 (0.72-0.85)	0.82 (0.76-0.88)	0.80 (0.72-0.87)
FUT7_CpG_7	0.83 (0.78-0.87)	0.80 (0.74-0.87)	0.83 (0.77-0.89)	0.81 (0.74-0.88)
FUT7_CpG_8	0.78 (0.74-0.83)	0.77 (0.71-0.83)	0.81 (0.75-0.87)	0.76 (0.68-0.83)
<b>Вся панель CpG</b>	<b>0.98(0.96-0.99)</b>	<b>0.98(0.96-0.99)</b>	<b>0.99(0.97-1.00)</b>	<b>0.98(0.96-1.00)</b>

Фиг. 10

Таблица 11. Метилирование генов у пациентов РПЖ с различными клиническими характеристиками

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана возраста	Медиана уровней метилирования											
			HYAL2_CpG_1	HYAL2_CpG_2	HYAL2_CpG_3	HYAL2_CpG_4	DYRK4_CpG_1	DYRK4_CpG_3	S100P_CpG_2&3	S100P_CpG_4	S100P_CpG_7	S100P_CpG_8	S100P_CpG_9	
Стадия опухоли (108)	Стадия 0 и I и 2 (79)	63.56	0.27	0.14	0.28	0.47	0.17	0.32	0.59	0.63	0.31	0.34	0.43	
	Стадия III и IV (29)	67.55	0.25	0.14	0.30	0.48	0.18	0.29	0.59	0.61	0.34	0.35	0.45	
	p-значение*	0.294	0.635	0.477	0.519	0.703	0.903	0.873	0.771	0.558	0.718	0.972	0.642	
Размер опухоли (98)	< T3 (10)	63.67	0.27	0.14	0.31	0.49	0.25	0.30	0.61	0.77	0.32	0.37	0.44	
	T3 & T4 (88)	64.15	0.25	0.13	0.28	0.47	0.16	0.32	0.59	0.61	0.31	0.34	0.44	
	p-значение*	0.699	0.729	0.647	0.304	0.327	0.507	0.298	0.259	0.043	0.860	0.967	0.842	
Поражение лимфатических узлов (ЛУ)	N0 (28)	63.67	0.27	0.15	0.29	0.47	0.22	0.32	0.61	0.61	0.35	0.37	0.44	
	N1 (71)	63.92	0.24	0.13	0.28	0.47	0.16	0.33	0.58	0.63	0.30	0.31	0.42	
	p-значение*	0.907	0.189	0.834	0.292	0.602	0.750	0.362	0.423	0.386	0.950	0.771	0.809	
Статус метастазирования	M0 (91)	63.56	0.26	0.14	0.28	0.47	0.17	0.32	0.59	0.62	0.31	0.34	0.43	
	M1 (20)	67.84	0.25	0.15	0.31	0.49	0.29	0.31	0.60	0.62	0.34	0.35	0.46	
	p-значение*	0.199	0.687	0.659	0.478	0.343	0.562	0.875	0.942	0.800	0.602	0.839	0.461	
Оценка степени злокачественности (83)	Степень злокачеств. 1 и 2 (53)	64.20	0.26	0.14	0.28	0.45	0.16	0.32	0.57	0.63	0.29	0.31	0.44	
	Степень злокачеств. 3 (30)	63.41	0.21	0.14	0.29	0.49	0.17	0.33	0.59	0.61	0.33	0.35	0.42	
	p-значение*	0.798	0.013	0.939	0.367	0.292	0.943	0.562	0.189	0.791	0.290	0.448	0.974	
Распределение случаев заболевания по полу (147)	Муж. (80)	63.50	0.25	0.14	0.28	0.47	0.24	0.31	0.59	0.63	0.34	0.35	0.44	
	Жен. (67)	66.33	0.25	0.14	0.30	0.48	0.16	0.32	0.60	0.61	0.29	0.31	0.43	
	p-значение*	0.605	0.853	0.933	0.784	0.301	0.134	0.239	0.907	0.491	0.234	0.425	0.713	

Клинические характеристики (количество)	Группа (количество)	Медиана уровней метилирования											
		SLC22A18	SLC22A18	SLC22A18	SLC22A18	SLC22A18	FUT7						
		_CpG_1	_CpG_3	_CpG_4	_CpG_6	_CpG_8	CpG_1	CpG_2	CpG_3	CpG_4	CpG_6	CpG_7	CpG_8
Стадия опухоли (108)	Стадия 0 и I и 2 (79)	0.18	0.12	0.13	0.16	0.57	0.22	0.27	0.08	0.27	0.14	0.05	0.15
	Стадия III и IV (29)	0.19	0.12	0.15	0.17	0.59	0.17	0.24	0.05	0.25	0.11	0.03	0.13
	p-значение*	0.830	0.555	0.910	0.586	0.182	0.272	0.419	0.047	0.952	0.114	0.340	0.298
Размер опухоли (98)	< T3 (10)	0.17	0.10	0.12	0.14	0.54	0.19	0.25	0.06	0.24	0.09	0.03	0.11
	T3 & T4 (88)	0.19	0.12	0.15	0.17	0.60	0.21	0.27	0.07	0.26	0.15	0.04	0.15
	p-значение*	0.468	0.264	0.288	0.092	0.068	0.253	0.191	0.601	0.235	0.008	0.336	0.130
Поражение лимфатических узлов (ЛУ)	N0 (28)	0.17	0.12	0.14	0.17	0.61	0.17	0.22	0.08	0.27	0.12	0.04	0.13
	N1 (71)	0.19	0.12	0.14	0.17	0.58	0.23	0.27	0.07	0.25	0.14	0.04	0.17
	p-значение*	0.789	0.235	0.793	0.879	0.954	0.039	0.106	0.837	0.227	0.189	0.634	0.098
Статус метастазирования	M0 (91)	0.18	0.12	0.14	0.17	0.59	0.21	0.27	0.07	0.26	0.14	0.04	0.15
	M1 (20)	0.19	0.12	0.14	0.17	0.58	0.21	0.27	0.06	0.24	0.12	0.05	0.14
	p-значение*	0.712	0.794	0.443	0.933	0.651	0.771	0.519	0.236	0.822	0.933	0.717	0.985
Оценка степени злокачественности (83)	Степень злокачеств. 1 и 2 (53)	0.17	0.11	0.14	0.14	0.57	0.18	0.25	0.06	0.25	0.13	0.03	0.14
	Степень злокачеств. 3 (30)	0.19	0.13	0.19	0.20	0.63	0.22	0.28	0.07	0.25	0.16	0.07	0.17
	p-значение*	0.120	0.065	0.060	0.103	0.288	0.090	0.123	0.180	0.795	0.072	0.068	0.144
Распределение случаев заболевания по полу (147)	Муж. (80)	0.17	0.13	0.13	0.17	0.61	0.21	0.27	0.07	0.26	0.14	0.05	0.15
	Жен. (67)	0.17	0.11	0.13	0.14	0.55	0.24	0.26	0.06	0.26	0.13	0.05	0.15
	p-значение*	0.502	0.057	0.639	0.117	0.003	0.784	0.648	0.700	0.791	0.745	0.953	0.994

\*p-значения рассчитывали с применением критерия Манна-Уитни

Фиг. 11

Таблица 12. Описание образцов панели биомаркеров на основе крови для раннего обнаружения рака яичников

Типы образцов	Анализ	Источники образцов	Группы	Количество мишеней	Среднее значение возраста (диапазон)	Медиана возраста	Количество проанализированных (уровень определения, %)			
							HYAL2	S100P	SLC22A18	FUT7
ДНК из осадка крови	MassARRAY	Клиника Гейдельбергского университета	Контроли	148	37.9 (21-63)	38	147 (99.3%)	147 (99.3%)	147 (99.3%)	144 (97.3%)
		Клиника Гейдельбергского университета	Случаи РЯ	84	61.8 (37-80)	61.5	84 (100.0%)	78 (92.9%)	84 (100.0%)	82 (97.6%)

Фиг. 12

Таблица 13. Различия метилирования в генах при сравнении случаев РЯ и контролей

CpG-сайты	Все образцы		
	Медиана контролей (МКР)	Медиана случаев РЯ (МКР)	p-значение*
<b>HYAL2_CpG_1</b>	0.33 (0.29-0.37)	0.25 (0.20-0.32)	1.57E-08
<b>HYAL2_CpG_2</b>	0.21 (0.18-0.24)	0.15 (0.11-0.20)	1.57E-09
<b>HYAL2_CpG_3</b>	0.37 (0.32-0.40)	0.32 (0.25-0.36)	4.08E-07
<b>HYAL2_CpG_4</b>	0.53 (0.50-0.58)	0.47 (0.41-0.54)	2.51E-07
<b>S100P_CpG_2&amp;3</b>	0.66 (0.63-0.69)	0.63 (0.58-0.67)	0.008
<b>S100P_CpG_4</b>	0.65 (0.60-0.86)	0.63 (0.57-0.86)	0.351
<b>S100P_CpG_7</b>	0.44 (0.38-0.51)	0.33 (0.23-0.41)	3.53E-09
<b>S100P_CpG_8</b>	0.43 (0.40-0.49)	0.39 (0.31-0.46)	3.92E-04
<b>S100P_CpG_9</b>	0.49 (0.44-0.52)	0.43 (0.37-0.48)	3.32E-06
<b>SLC22A18_CpG_3</b>	0.19 (0.16-0.23)	0.13 (0.10-0.18)	4.50E-11
<b>SLC22A18_CpG_4</b>	0.25 (0.22-0.30)	0.16 (0.12-0.25)	2.74E-10
<b>SLC22A18_CpG_6</b>	0.24 (0.22-0.28)	0.16 (0.12-0.24)	9.47E-12
<b>SLC22A18_CpG_8</b>	0.66 (0.62-0.70)	0.57 (0.48-0.62)	3.43E-12
<b>FUT7_CpG_1</b>	0.41 (0.34-0.46)	0.28 (0.20-0.39)	3.13E-10
<b>FUT7_CpG_2</b>	0.21 (0.17-0.25)	0.14 (0.11-0.19)	8.80E-09
<b>FUT7_CpG_3</b>	0.16 (0.11-0.20)	0.10 (0.05-0.16)	8.31E-08
<b>FUT7_CpG_4</b>	0.20 (0.16-0.23)	0.16 (0.11-0.22)	0.001
<b>FUT7_CpG_6</b>	0.28 (0.21-0.34)	0.14 (0.11-0.24)	2.79E-10
<b>FUT7_CpG_7</b>	0.14 (0.10-0.17)	0.07 (0.04-0.12)	2.02E-09
<b>FUT7_CpG_8</b>	0.38 (0.31-0.42)	0.24 (0.15-0.35)	2.57E-10
<b>Вся панель CpG</b>			<b>7.42E-16</b>

\* логистическая регрессия с поправкой на возраст и различные партии измерений

Фиг. 13

Таблица 14. Дискриминационная способность метилирования в генах различать случаи РЯ и здоровые контроли

CpG-сайты	Площадь под кривой (AUC), 95% ДИ
	Все образцы
HYAL2_CpG_1	0.77 (0.70-0.84)
HYAL2_CpG_2	0.77 (0.70-0.83)
HYAL2_CpG_3	0.72 (0.65-0.79)
HYAL2_CpG_4	0.70 (0.63-0.78)
S100P_CpG_2&3	0.62 (0.54-0.71)
S100P_CpG_4	0.56 (0.48-0.64)
S100P_CpG_7	0.77 (0.70-0.84)
S100P_CpG_8	0.66 (0.58-0.75)
S100P_CpG_9	0.70 (0.62-0.77)
SLC22A18_CpG_3	0.79 (0.72-0.85)
SLC22A18_CpG_4	0.77 (0.70-0.84)
SLC22A18_CpG_6	0.79 (0.72-0.86)
SLC22A18_CpG_8	0.82 (0.76-0.88)
FUT7_CpG_1	0.76 (0.69-0.83)
FUT7_CpG_2	0.76 (0.69-0.82)
FUT7_CpG_3	0.73 (0.66-0.80)
FUT7_CpG_4	0.64 (0.56-0.72)
FUT7_CpG_6	0.78 (0.71-0.85)
FUT7_CpG_7	0.77 (0.70-0.84)
FUT7_CpG_8	0.77 (0.70-0.84)
Вся панель CpG	(0.87-0.95)

Фиг. 14

Определение берега CpG-островка, связанного с раком молочной железы, в HVAL2

CpG-сайты	Различия уровней метилирования				Корреляции с HVAL2_CpG_4	
	Медина контролей (МКР)	Медина случаев наследственного РМЖ (МКР)	ОШ (95 % ДИ) * на -10% метилирование	р - значение*	Кoeffициент Спирмана	р - значение
HVAL2-C_CpG_1	0.66 (0.60-0.71)	0.63 (0.56-0.67)	1.66 (1.15-2.41)	0.007	0.393	< 0.0001
HVAL2-C_CpG_2	0.52 (0.47-0.59)	0.53 (0.46-0.61)	1.07 (0.81-1.43)	0.523	0.248	0.001
HVAL2-C_CpG_3	0.63 (0.58-0.66)	0.59 (0.56-0.64)	1.39 (0.93-2.08)	0.113	0.357	< 0.0001
HVAL2-C_CpG_4	0.63 (0.58-0.66)	0.59 (0.56-0.64)	1.39 (0.93-2.08)	0.113	0.357	< 0.0001
HVAL2-C_CpG_5	0.73 (0.70-0.76)	0.72 (0.69-0.76)	1.19 (0.71-2.00)	0.505	0.253	0.0005
HVAL2-C_CpG_6	0.63 (0.58-0.66)	0.59 (0.56-0.64)	1.39 (0.93-2.08)	0.113	0.357	< 0.0001
HVAL2-C_CpG_7	0.40 (0.34-0.45)	0.39 (0.35-0.44)	1.26 (0.82-1.95)	0.291	0.287	< 0.0001
HVAL2-C_CpG_8	0.82 (0.76-0.88)	0.79 (0.71-0.84)	1.63 (1.15-2.31)	0.007	0.410	< 0.0001
HVAL2-C_CpG_9.10	0.70 (0.51-0.77)	0.71 (0.57-0.76)	0.94 (0.79-1.12)	0.484	0.198	0.007
HVAL2-C_CpG_11	0.74 (0.70-0.77)	0.70 (0.66-0.75)	1.88 (1.16-3.03)	0.010	0.463	< 0.0001
HVAL2-C_CpG_12.13	0.90 (0.88-0.92)	0.89 (0.86-0.91)	1.21 (0.87-1.69)	0.258	0.270	0.0002
HVAL2-C_CpG_14.15	0.83 (0.78-0.86)	0.80 (0.75-0.84)	1.41 (0.93-2.12)	0.103	0.381	< 0.0001
HVAL2-C_CpG_16.17	0.75 (0.72-0.78)	0.73 (0.70-0.75)	2.24 (1.21-4.16)	0.011	0.348	< 0.0001
HVAL2-B_CpG_1	0.66 (0.62-0.69)	0.61 (0.59-0.65)	1.77 (1.11-2.84)	0.017	0.534	< 0.0001
HVAL2-B_CpG_2	0.56 (0.49-0.62)	0.49 (0.43-0.54)	2.16 (1.51-3.09)	< 0.0001	0.621	< 0.0001
HVAL2-B_CpG_3.4	0.63 (0.61-0.66)	0.59 (0.56-0.63)	3.50 (1.87-6.56)	< 0.0001	0.566	< 0.0001
HVAL2-B_CpG_5.6	0.77 (0.74-0.83)	0.71 (0.66-0.77)	3.52 (2.17-5.71)	< 0.0001	0.649	< 0.0001
HVAL2-B_CpG_7	0.57 (0.50-0.62)	0.50 (0.42-0.57)	2.08 (1.47-2.95)	< 0.0001	0.569	< 0.0001
HVAL2-B_CpG_8	0.66 (0.62-0.69)	0.61 (0.59-0.65)	1.77 (1.11-2.84)	0.017	0.534	< 0.0001
HVAL2-B_CpG_9	0.36 (0.31-0.41)	0.30 (0.26-0.37)	1.88 (1.28-2.76)	0.001	0.482	< 0.0001
HVAL2-B_CpG_10	0.63 (0.59-0.69)	0.58 (0.52-0.65)	1.94 (1.35-2.78)	0.0004	0.634	< 0.0001
HVAL2-B_CpG_11	0.53 (0.48-0.59)	0.47 (0.41-0.52)	3.05 (1.94-4.78)	< 0.0001	0.602	< 0.0001
HVAL2_CpG_1	0.36 (0.31-0.43)	0.31 (0.26-0.39)	1.41 (1.08-1.86)	0.013	0.584	< 0.0001
HVAL2_CpG_2	0.24 (0.19-0.28)	0.16 (0.13-0.21)	4.40 (2.56-7.57)	< 0.0001	0.691	< 0.0001
HVAL2_CpG_3	0.41 (0.36-0.46)	0.32 (0.28-0.38)	4.14 (2.51-6.85)	< 0.0001	0.774	< 0.0001
HVAL2_CpG_4	0.65 (0.59-0.69)	0.50 (0.47-0.57)	8.13 (4.53-14.59)	< 0.0001	1.000	—

\* логистическая регрессия с поправкой на возраст и различные партии измерений

Фиг. 15

Таблица 16. Обратная зависимость между метилированием и экспрессией четырех генов в лейкоцитах (РМЖ)

CpG-сайты	Различия в метилировании или уровнях экспрессии			Корреляции с экспрессией	
	Контроли	Медиана случаев спорадического РМЖ (МКР)	р - значение*	Кoeffициент Спирмана	р - значение
S100P_CpG_2&3	0.63 (0.58-0.65)	0.59 (0.56-0.62)	0.006	-0.551	1.12E-06
S100P_CpG_4	0.60 (0.55-0.87)	0.61 (0.53-0.83)	0.445	-0.147	0.226
S100P_CpG_7	0.36 (0.30-0.40)	0.29 (0.24-0.33)	0.001	-0.501	8.55E-06
S100P_CpG_8	0.44 (0.38-0.48)	0.35 (0.32-0.39)	7.76E-06	-0.653	9.27E-10
S100P_CpG_9	0.49 (0.44-0.54)	0.45 (0.40-0.47)	0.001	-0.555	5.07E-07
Относительная экспрессия S100P	1.31 (0.72-2.07)	3.47 (1.23-20.77)	0.001	1.000	—
SLC22A18_CpG_3	0.19 (0.15-0.23)	0.16 (0.14-0.19)	0.006	-0.507	5.53E-06
SLC22A18_CpG_4	0.26 (0.20-0.31)	0.21 (0.17-0.24)	0.006	-0.536	1.21E-06
SLC22A18_CpG_6	0.25 (0.20-0.28)	0.19 (0.17-0.23)	0.001	-0.565	2.29E-07
SLC22A18_CpG_8	0.64 (0.60-0.70)	0.59 (0.53-0.63)	0.001	-0.525	2.15E-06
Относительная экспрессия SLC22A18	0.69 (0.55-0.87)	0.76 (0.54-1.23)	0.311	1.000	—
DYRK4_CpG_1	0.33 (0.25-0.41)	0.26 (0.20-0.33)	0.018	-0.074	0.540
DYRK4_CpG_3	0.29 (0.22-0.34)	0.24 (0.18-0.28)	0.023	-0.075	0.536
Относительная экспрессия DYRK4	0.36 (0.31-0.41)	0.37 (0.29-0.46)	0.919	1.000	—

\*U-критерий Манна-Уитни

Фиг. 16

Таблица 17. Уровни метилирования CpG-сайтов HVAL2, определенные на приборе Illumina 450K

Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромосома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg06721473	0.0008	-0.020	36	3	50330420	3'UTR;3'UTR	Н.П.
cg08776109	0.0006	-0.022	36	3	50331237	Тело, тело	Н.П.
cg00575896	0.1133	-0.007	36	3	50332175	Тело, тело	TRUE
cg25630588	0.9482	-0.001	36	3	50332326	Тело, тело	TRUE
cg09412061	0.9466	-0.002	36	3	50332470	Тело, тело	Н.П.
cg26794477	0.8988	-0.001	36	3	50332596	Тело, тело	Н.П.
cg00467652	0.3265	-0.004	36	3	50332648	Тело, тело	Н.П.
cg05164052	0.2727	0.002	36	3	50333326	5'UTR;5'UTR	Н.П.
cg16563178	0.4019	0.005	36	3	50333447	5'UTR;5'UTR	Н.П.
cg10109442	0.9007	0.000	36	3	50333891	5'UTR;1-ый экзон;TSS1500	Н.П.
cg04884420	0.0674	0.003	36	3	50333976	TSS200;5'UTR	Н.П.
cg22280173	0.3091	-0.001	36	3	50333985	TSS200;5'UTR	Н.П.
cg08173110	0.5201	0.001	36	3	50334009	TSS200;5'UTR	Н.П.
cg23515942	0.7374	0.001	36	3	50334023	TSS200;5'UTR	Н.П.
cg06211164	0.7758	0.000	36	3	50334069	TSS200;5'UTR	Н.П.
cg13580654	0.6497	0.001	36	3	50334101	TSS200;5'UTR	Н.П.
cg07271561	0.7449	-0.003	36	3	50334367	5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg12976582	0.0253	-0.015	36	3	50334587	5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg12150256	0.4194	-0.004	36	3	50334853	5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg13341668	0.0938	-0.008	36	3	50334913	5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg05118960	0.1069	-0.005	36	3	50334982	5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg03721058	0.0046	-0.010	36	3	50335045	5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg00840516	0.0074	-0.014	36	3	50335101	5'UTR;1-ый экзон;TSS1500	Н.П.
cg03051392	0.0005	-0.017	36	3	50335180	5'UTR;1-ый экзон;TSS1500	Н.П.
cg26460678	0.0029	-0.020	36	3	50335671	TSS1500	Н.П.
cg27091787	0.0044	-0.028	36	3	50335694	TSS1500	Н.П.
cg24335984	0.0507	-0.007	36	3	50336558	TSS1500	Н.П.

Фиг. 17

Таблица 18. Уровни метилирования CpG-сайтов S100P, определенные на приборе Illumina 450K

Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромосома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg02883621	0.6312	-0.003	36	4	6745824	TSS1500	Н.П.
cg14323984	0.7019	-0.002	36	4	6746104	TSS1500	Н.П.
cg27027375	0.0233	-0.017	36	4	6746220	TSS1500	Н.П.
cg14900031	0.0010	-0.021	36	4	6746278	TSS200	Н.П.
cg14140379	0.0011	-0.029	36	4	6746281	TSS200	Н.П.
cg25083732	0.0534	-0.027	36	4	6746365	TSS200	Н.П.
cg07210669	0.0117	-0.028	36	4	6746376	TSS200	Н.П.
cg26233331	0.0002	-0.040	36	4	6746515	1-ый экзон; 5'UTR	Н.П.
cg22266967	0.0014	-0.033	36	4	6746599	1-ый экзон	Н.П.
cg02104700	0.3792	-0.003	36	4	6749069	Тело	Н.П.

Фиг. 18

Таблица 19. Уровни метилирования CpG-сайтов SLC22A18, определенные на приборе Illumina 450K

Идентификационный номер CpG	pvalWald Group	meanDiff	Сборка	Хромосома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg23335134	0.8641	0.001	36	11	2866266	Тело	Н.П.
cg26874323	0.6378	0.001	36	11	2866285	Тело	Н.П.
cg08222610	0.0833	-0.001	36	11	2866291	Тело	Н.П.
cg12240761	0.6550	0.002	36	11	2869910	Тело	TRUE
cg14449910	0.1298	-0.008	36	11	2876265	Тело; TSS1500	TRUE
cg26665035	0.0426	-0.023	36	11	2876339	Тело; TSS1500	TRUE
cg22040301	0.2417	-0.012	36	11	2876374	Тело; TSS1500	TRUE
cg05457684	0.0562	-0.017	36	11	2876384	Тело; TSS1500	TRUE
cg18419977	0.8110	0.000	36	11	2876628	Тело; TSS1500	TRUE
cg24033661	0.4585	0.000	36	11	2876631	Тело; TSS1500	TRUE
cg13485320	0.6519	0.003	36	11	2876704	Тело; TSS1500	TRUE
cg21853021	0.9589	0.002	36	11	2876722	Тело; TSS1500	TRUE
cg18458509	0.0170	-0.019	36	11	2876765	Тело; TSS1500	TRUE
cg23190089	0.0047	-0.019	36	11	2876785	Тело; TSS1500	TRUE
cg16587707	0.0004	-0.022	36	11	2876841	Тело; TSS1500	TRUE
cg02462487	0.0404	-0.015	36	11	2876926	Тело; TSS1500	TRUE
cg16129800	0.0008	-0.023	36	11	2876990	Тело; TSS1500	TRUE
cg21599100	0.0018	-0.022	36	11	2877013	Тело; TSS1500	TRUE
cg05752118	0.0310	-0.016	36	11	2877140	Тело; TSS1500	TRUE
cg11785933	0.0023	-0.041	36	11	2877193	Тело; TSS1500	Н.П.
cg25427871	0.0137	-0.032	36	11	2877311	Тело; TSS1500	Н.П.
cg22315192	0.0044	-0.016	36	11	2877341	TSS200; Тело	Н.П.
cg21019522	0.0042	-0.018	36	11	2877365	TSS200; Тело	Н.П.
cg16346422	0.0001	-0.042	36	11	2877395	TSS200; Тело	Н.П.
cg16873863	0.1148	-0.009	36	11	2877752	5'UTR;5'UTR	Н.П.
cg22680591	0.5778	-0.002	36	11	2878627	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg15904130	0.1653	0.003	36	11	2878639	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg25073813	0.0276	-0.008	36	11	2878644	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg24205453	0.4111	-0.001	36	11	2878910	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg18471235	0.0055	0.011	36	11	2878971	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg15739881	0.0966	-0.008	36	11	2879040	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg12563184	0.2446	-0.004	36	11	2879067	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg04665867	0.3414	-0.003	36	11	2879093	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg24041239	0.1391	-0.006	36	11	2879211	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg09198782	0.3067	-0.004	36	11	2879338	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg07291601	0.4683	-0.002	36	11	2879383	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg25548316	0.7994	0.001	36	11	2879388	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.

Идентификационный номер CpG	pvalWald Group	meanDiff	Сборка	Хромо-сома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg10943932	0.5082	0.000	36	11	2879409	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg02081198	0.6399	0.000	36	11	2879421	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg05385260	0.0511	-0.005	36	11	2879428	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg16035277	0.4744	0.005	36	11	2879840	5'UTR;5'UTR;TSS1500	Н.П.
cg09781437	0.0128	0.002	36	11	2879986	5'UTR;5'UTR;TSS200	Н.П.
cg02200456	0.4292	-0.001	36	11	2880012	5'UTR;5'UTR;TSS200	Н.П.
cg13671930	0.6034	0.003	36	11	2880014	5'UTR;5'UTR;TSS200	Н.П.
cg22132309	0.7142	0.001	36	11	2880066	5'UTR;5'UTR;TSS200	Н.П.
cg16184736	0.2003	-0.001	36	11	2880074	5'UTR;5'UTR;TSS200	Н.П.
cg03829241	0.4543	0.001	36	11	2880080	5'UTR;5'UTR;TSS200	Н.П.
cg17992161	0.0850	0.006	36	11	2880101	5'UTR;1-ый экзон; 5'UTR; 5'UTR	Н.П.
cg12733707	0.0846	0.005	36	11	2880123	5'UTR;1-ый экзон; 5'UTR; 5'UTR	Н.П.
cg24139421	0.9971	0.001	36	11	2880154	5'UTR;1-ый экзон; 5'UTR; 5'UTR	Н.П.
cg06211616	0.8977	0.002	36	11	2880235	5'UTR;5'UTR;5'UTR	Н.П.
cg24528523	0.7157	0.000	36	11	2880384	5'UTR;5'UTR;5'UTR	Н.П.
cg12911952	0.0388	-0.007	36	11	2881099	5'UTR;5'UTR;5'UTR	Н.П.
cg02719634	0.0932	-0.019	36	11	2881475	1-ый экзон; Тело; 5'UTR; Тело	TRUE
cg15729154	0.0364	-0.018	36	11	2881602	1-ый экзон; Тело; 5'UTR; Тело	TRUE
cg07161669	0.2605	0.000	36	11	2881763	Тело; Тело; TSS200	TRUE
cg24724917	0.4820	-0.002	36	11	2882015	Тело; Тело; TSS1500	TRUE
cg06495763	0.8721	-0.001	36	11	2882046	Тело; Тело; TSS1500	TRUE
cg06048910	0.2015	-0.001	36	11	2882049	Тело; Тело; TSS1500	TRUE
cg08472797	0.2778	-0.003	36	11	2882146	Тело; Тело; TSS1500	TRUE
cg14101500	0.4686	0.000	36	11	2882170	Тело; Тело; TSS1500	TRUE
cg22833478	0.5602	-0.001	36	11	2882199	Тело; Тело; TSS1500	TRUE
cg26137286	0.0522	-0.006	36	11	2882210	Тело; Тело; TSS1500	TRUE
cg02390725	0.0040	-0.010	36	11	2882344	Тело; Тело; TSS1500	TRUE
cg20716202	0.0779	-0.005	36	11	2882423	Тело; Тело; TSS1500	TRUE
cg08999895	0.2548	-0.005	36	11	2882445	Тело; Тело; TSS1500	TRUE
cg16530128	0.5740	-0.002	36	11	2882527	Тело; Тело; TSS1500	Н.П.
cg08827700	0.0045	-0.008	36	11	2882545	Тело; Тело; TSS1500	Н.П.
cg22272492	0.0009	-0.010	36	11	2882572	Тело; Тело; TSS1500	Н.П.
cg21991825	0.6773	0.002	36	11	2882719	Тело; Тело; TSS1500	Н.П.
cg23912877	0.6175	0.000	36	11	2882913	Тело; Тело; TSS1500	Н.П.
cg06981073	0.5191	-0.001	36	11	2882920	Тело; Тело; TSS1500	Н.П.
cg06669405	0.0170	-0.010	36	11	2882937	Тело; Тело; TSS1500	Н.П.

Идентификационный номер CpG	pvalWald Group	meanDiff	Сборка	Хромо-сома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg09731124	0.4994	-0.004	36	11	2882998	Тело; Тело; TSS1500	Н.П.
cg02025860	0.4916	-0.002	36	11	2883177	Тело; Тело; TSS1500	Н.П.
cg14168614	0.6637	-0.005	36	11	2883823	Тело; Тело	Н.П.
cg02660089	0.9102	0.003	36	11	2886017	Тело; Тело	Н.П.
cg22858288	0.4478	0.002	36	11	2886898	Тело; Тело	Н.П.
cg04726200	0.6860	-0.007	36	11	2887061	Тело; Тело	Н.П.
cg19497444	0.7053	-0.009	36	11	2887370	Тело; Тело	Н.П.
cg03336167	0.9821	-0.005	36	11	2887571	Тело; Тело	Н.П.
cg23698969	0.3834	-0.003	36	11	2887741	Тело; Тело	Н.П.
cg24409566	0.6945	-0.002	36	11	2890543	Тело; Тело	TRUE
cg05351334	0.6395	-0.003	36	11	2896968	Тело; Тело	Н.П.
cg14275836	0.7743	-0.002	36	11	2897889	Тело; Тело	Н.П.
cg19240938	0.2782	0.002	36	11	2898612	Тело; Тело	Н.П.
cg18655584	0.9972	-0.002	36	11	2898669	Тело; Тело	Н.П.
cg12510502	0.5312	-0.002	36	11	2898752	Тело; Тело	Н.П.
cg13328151	0.2459	0.004	36	11	2899615	Тело; Тело	Н.П.
cg03010425	0.9510	0.002	36	11	2901347	Тело; Тело	Н.П.
cg26595893	0.8941	0.002	36	11	2903050	3'UTR;3'UTR	Н.П.

Фиг. 19

Таблица 20. Уровни метилирования CpG-сайтов DYRK4, определенные на приборе Illumina 450K

Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромо-сома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg24707294	0.8090	-0.003	36	12	4568380	TSS1500	Н.П.
cg08977032	0.5921	-0.001	36	12	4568578	TSS1500	Н.П.
cg06270401	0.0000	-0.047	36	12	4569346	TSS200	Н.П.
cg09581911	0.8105	-0.014	36	12	4569493	TSS200	Н.П.
cg09418321	0.0011	-0.031	36	12	4569879	5'UTR	Н.П.
cg01218945	0.4078	0.001	36	12	4584370	Тело	Н.П.
cg24337818	0.0539	-0.002	36	12	4584440	Тело	Н.П.
cg00532413	0.2381	0.000	36	12	4584588	Тело	Н.П.

Фиг. 20

Таблица 21. Уровни метилирования CpG-сайтов FUT7, определенные на приборе Illumina 450K

Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромо-сома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg02971262	0.0031	-0.011	36	9	139045216	5'UTR; Тело	Н.П.
cg14205519	0.5871	0.002	36	9	139045571	5'UTR; Тело	Н.П.
cg03630596	0.6632	-0.003	36	9	139045677	5'UTR; Тело	Н.П.
cg13757845	0.0082	-0.023	36	9	139046561	5'UTR; 1-ый экзон; 5'UTR	Н.П.
cg09305224	0.0001	-0.030	36	9	139047066	5'UTR; 1-ый экзон; 5'UTR	Н.П.
cg02679745	0.0000	-0.036	36	9	139047467	Тело; TSS1500	Н.П.

Фиг. 21

Таблица 22. Уровни метилирования CpG-сайтов RAPSN, определенные на приборе Illumina 450K

Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромо-сома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg26738160	0.6801	0.001	36	11	47416086	3'UTR; 3'UTR	Н.П.
cg24812582	0.3992	0.002	36	11	47419939	Тело; Тело	Н.П.
cg17614165	0.8996	-0.001	36	11	47425239	Тело; Тело	Н.П.
cg15270729	0.1291	0.006	36	11	47425474	Тело; Тело	Н.П.
cg09163021	0.7317	-0.005	36	11	47427344	TSS200; TSS200	Н.П.
cg07407499	0.0904	-0.008	36	11	47427367	TSS200; TSS200	Н.П.
cg14407987	0.9251	-0.002	36	11	47427369	TSS200; TSS200	Н.П.
cg26454662	0.7520	-0.006	36	11	47427379	TSS200; TSS200	Н.П.
cg03400491	0.2005	-0.005	36	11	47427463	TSS200; TSS200	Н.П.
cg19771781	0.9445	-0.001	36	11	47427476	TSS200; TSS200	Н.П.
cg13047308	0.0021	-0.033	36	11	47427915	TSS1500; TSS1500	Н.П.
cg27466532	0.0000	-0.045	36	11	47427976	TSS1500; TSS1500	Н.П.
cg02321133	0.9396	-0.006	36	11	47428365	TSS1500; TSS1500	Н.П.

Фиг. 22

Таблица 23. Уровни метилирования CpG-сайтов RPTOR, определенные на приборе Illumina 450K

Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромосома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg03140026	0.1675	0.002	36	17	76131746	TSS1500;TSS1500	Н.П.
cg14406501	0.1416	-0.015	36	17	76132775	TSS1500;TSS1500	Н.П.
cg02352203	0.2860	0.001	36	17	76133032	TSS200;TSS200	Н.П.
cg13515774	0.0979	0.000	36	17	76133067	TSS200;TSS200	Н.П.
cg15600835	0.0368	-0.001	36	17	76133151	TSS200;TSS200	Н.П.
cg00815931	0.1649	-0.002	36	17	76133168	TSS200;TSS200	Н.П.
cg03172060	0.0707	-0.007	36	17	76133208	TSS200;TSS200	Н.П.
cg12045294	0.1752	0.002	36	17	76133211	TSS200;TSS200	Н.П.
cg20758492	0.4765	0.000	36	17	76134834	Тело; Тело	Н.П.
cg02082642	0.8956	-0.002	36	17	76137204	Тело; Тело	Н.П.
cg22652378	0.0006	-0.032	36	17	76148437	Тело; Тело	TRUE
cg25514328	0.5802	0.004	36	17	76163919	Тело; Тело	Н.П.
cg11329058	0.0369	0.012	36	17	76163953	Тело; Тело	Н.П.
cg18576374	0.5514	-0.001	36	17	76163966	Тело; Тело	Н.П.
cg06799305	0.3461	0.000	36	17	76165965	Тело; Тело	TRUE
cg08129331	0.0079	-0.022	36	17	76175073	Тело; Тело	Н.П.
cg01561259	0.8979	-0.003	36	17	76175376	Тело; Тело	Н.П.
cg09929238	0.0443	-0.024	36	17	76175511	Тело; Тело	Н.П.
cg27210166	0.9688	0.001	36	17	76189287	Тело; Тело	Н.П.
cg12088417	0.6881	0.012	36	17	76189311	Тело; Тело	Н.П.
cg10162696	0.9502	0.002	36	17	76191173	Тело; Тело	Н.П.
cg09133154	0.6328	-0.001	36	17	76191267	Тело; Тело	Н.П.
cg03520496	0.2563	0.007	36	17	76191285	Тело; Тело	Н.П.
cg08732594	0.0311	-0.003	36	17	76196984	Тело; Тело	Н.П.
cg04687939	0.2909	-0.003	36	17	76197144	Тело; Тело	Н.П.
cg22280406	0.8201	0.000	36	17	76197242	Тело; Тело	Н.П.
cg16027727	0.7303	-0.006	36	17	76200923	Тело; Тело	Н.П.
cg04951638	0.7431	0.000	36	17	76208376	Тело; Тело	TRUE
cg00143364	0.2604	-0.006	36	17	76219939	Тело; Тело	TRUE
cg20462129	0.1050	-0.002	36	17	76221690	Тело; Тело	TRUE
cg02462904	0.2293	-0.005	36	17	76221850	Тело; Тело	Н.П.
cg21925688	0.3817	0.001	36	17	76221963	Тело; Тело	Н.П.
cg03637703	0.1905	0.001	36	17	76232333	Тело; Тело	Н.П.
cg27551440	0.1464	-0.001	36	17	76232340	Тело; Тело	Н.П.
cg27313007	0.0351	-0.007	36	17	76232345	Тело; Тело	Н.П.
cg08811817	0.0927	0.009	36	17	76237232	Тело; Тело	TRUE
cg18758433	0.0001	0.046	36	17	76238196	Тело; Тело	TRUE
cg26170499	0.4804	0.000	36	17	76249958	Тело; Тело	TRUE

Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромосома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg17442961	0.0068	-0.005	36	17	76250023	Тело; Тело	TRUE
cg00460639	0.3183	-0.005	36	17	76250229	Тело; Тело	TRUE
cg01432609	0.0032	-0.026	36	17	76253149	Тело; Тело	TRUE
cg13303377	0.5077	-0.003	36	17	76254840	Тело; Тело	Н.П.
cg17944774	0.7632	-0.002	36	17	76258841	Тело; Тело	Н.П.
cg17051395	0.1054	0.002	36	17	76258887	Тело; Тело	Н.П.
cg27454679	0.8016	-0.003	36	17	76259128	Тело; Тело	Н.П.
cg04681879	0.9956	-0.002	36	17	76259241	Тело; Тело	Н.П.
cg17434577	0.7843	-0.004	36	17	76259361	Тело; Тело	Н.П.
cg09592546	0.0053	0.044	36	17	76267497	Тело; Тело	TRUE
cg22882460	0.4555	0.001	36	17	76269243	Тело; Тело	Н.П.
cg13311292	0.2817	-0.004	36	17	76269258	Тело; Тело	Н.П.
cg06443231	0.6011	-0.002	36	17	76269860	Тело; Тело	Н.П.
cg22838354	0.7433	-0.002	36	17	76269879	Тело; Тело	Н.П.
cg09596252	0.2242	-0.003	36	17	76270088	Тело; Тело	Н.П.
cg11303920	0.5721	0.001	36	17	76276168	Тело; Тело	Н.П.
cg23238734	0.3909	-0.003	36	17	76276202	Тело; Тело	Н.П.
cg17956530	0.7764	-0.002	36	17	76282294	Тело; Тело	Н.П.
cg01500570	0.0109	-0.003	36	17	76282362	Тело; Тело	Н.П.
cg13102028	0.2568	0.002	36	17	76282603	Тело; Тело	Н.П.
cg04136113	0.9874	0.000	36	17	76282617	Тело; Тело	Н.П.
cg09141931	0.9642	0.000	36	17	76282804	Тело; Тело	TRUE
cg06673969	0.4171	-0.009	36	17	76283457	Тело; Тело	TRUE
cg15116918	0.1751	0.002	36	17	76284147	Тело; Тело	TRUE
cg20562478	0.6685	-0.003	36	17	76284834	Тело; Тело	TRUE
cg20937981	0.2068	0.004	36	17	76294225	Тело; Тело	TRUE
cg18780100	0.0267	-0.027	36	17	76297380	Тело; Тело	Н.П.
cg01498832	0.0002	-0.042	36	17	76297529	Тело; Тело	Н.П.
cg07786220	0.0000	-0.047	36	17	76297677	Тело; Тело	Н.П.
cg02240665	0.5351	-0.001	36	17	76297867	Тело; Тело	Н.П.
cg25985643	0.1559	-0.008	36	17	76298052	Тело; Тело	TRUE
cg27511181	0.0108	-0.037	36	17	76299819	Тело; Тело	TRUE
cg11790527	0.0069	-0.022	36	17	76300748	Тело; Тело	TRUE
cg26733897	0.0009	0.018	36	17	76309187	Тело; Тело	Н.П.
cg16918327	0.0511	0.013	36	17	76309246	Тело; Тело	Н.П.
cg25673241	0.0453	0.014	36	17	76309451	Тело; Тело	Н.П.
cg24667756	0.1747	0.004	36	17	76313417	Тело; Тело	TRUE
cg18965980	0.5135	-0.004	36	17	76313643	Тело; Тело	TRUE

Идентификационный номер CpG	pvalWald _Group	meanDiff	Сборка	Хромо- сома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg25288455	0.2248	0.009	36	17	76315501	Тело; Тело	Н.П.
cg06975080	0.0168	0.012	36	17	76315523	Тело; Тело	Н.П.
cg10790704	0.2922	0.000	36	17	76315679	Тело; Тело	Н.П.
cg18406924	0.0116	0.018	36	17	76315852	Тело; Тело	Н.П.
cg19857461	0.3144	0.002	36	17	76317643	Тело; Тело	Н.П.
cg18026826	0.2440	0.001	36	17	76318962	Тело; Тело	Н.П.
cg26723185	0.1380	0.001	36	17	76319016	Тело; Тело	Н.П.
cg03513049	0.5379	0.003	36	17	76319516	Тело; Тело	TRUE
cg06872548	0.1960	-0.010	36	17	76331578	Тело; Тело	TRUE
cg11757444	0.0126	-0.074	36	17	76333768	Тело; Тело	Н.П.
cg10281768	0.0040	0.010	36	17	76334821	Тело; Тело	Н.П.
cg05337636	0.2022	0.002	36	17	76335132	Тело; Тело	Н.П.
cg17060157	0.0009	-0.023	36	17	76338722	Тело; Тело	Н.П.
cg00701918	0.3726	-0.004	36	17	76339590	Тело; Тело	Н.П.
cg24394819	0.6679	-0.001	36	17	76339644	Тело; Тело	Н.П.
cg00549398	0.9789	-0.002	36	17	76339796	Тело; Тело	TRUE
cg16841014	0.0766	-0.019	36	17	76339970	Тело; Тело	TRUE
cg21143224	0.0344	-0.026	36	17	76340065	Тело; Тело	TRUE
cg18951390	0.7521	0.000	36	17	76349863	Тело; Тело	TRUE
cg11499091	0.4517	0.006	36	17	76349897	Тело; Тело	TRUE
cg09516200	0.5475	-0.007	36	17	76349919	Тело; Тело	TRUE
cg06412669	0.5255	-0.006	36	17	76350145	Тело; Тело	TRUE
cg16565901	0.0031	-0.022	36	17	76350191	Тело; Тело	Н.П.
cg20797905	0.8335	0.009	36	17	76361822	Тело; Тело	TRUE
cg02675920	0.6275	-0.006	36	17	76362529	Тело; Тело	Н.П.
cg11222173	0.0048	-0.029	36	17	76362614	Тело; Тело	Н.П.
cg11153071	0.0000	-0.048	36	17	76362672	Тело; Тело	Н.П.
cg15096353	0.9324	0.000	36	17	76362886	Тело; Тело	Н.П.
cg00523683	0.8102	0.016	36	17	76363066	Тело; Тело	Н.П.
cg02185248	0.1758	-0.014	36	17	76363089	Тело; Тело	Н.П.
cg14343513	0.0000	-0.046	36	17	76367868	Тело; Тело	Н.П.
cg05098037	0.0000	-0.027	36	17	76367922	Тело; Тело	Н.П.
cg22386583	0.0001	-0.043	36	17	76368351	Тело; Тело	TRUE
cg12654199	0.0000	-0.047	36	17	76368421	Тело; Тело	TRUE
cg15230985	0.0024	-0.014	36	17	76368482	Тело; Тело	TRUE
cg05651511	0.0000	-0.052	36	17	76368685	Тело; Тело	TRUE
cg04662369	0.0004	-0.059	36	17	76368913	Тело; Тело	TRUE
cg14780427	0.0171	-0.031	36	17	76368967	Тело; Тело	TRUE

Идентификационный номер CpG	pvalWald Group	meanDiff	Сборка	Хромосома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg06153925	0.0000	-0.061	36	17	76369974	Тело; Тело	Н.П.
cg08454507	0.0000	-0.039	36	17	76370001	Тело; Тело	Н.П.
cg06418238	0.0000	-0.075	36	17	76370037	Тело; Тело	Н.П.
cg22878693	0.0079	-0.021	36	17	76370199	Тело; Тело	Н.П.
cg18469159	0.1941	-0.003	36	17	76370436	Тело; Тело	Н.П.
cg16115689	0.0015	0.021	36	17	76378851	Тело; Тело	TRUE
cg12592365	0.0061	0.012	36	17	76380543	Тело; Тело	TRUE
cg15547672	0.7579	-0.002	36	17	76383535	Тело; Тело	TRUE
cg04566233	0.5072	-0.005	36	17	76385838	Тело; Тело	TRUE
cg10693767	0.4266	0.001	36	17	76387719	Тело; Тело	Н.П.
cg23463786	0.2379	0.001	36	17	76387740	Тело; Тело	Н.П.
cg04803424	0.2824	-0.003	36	17	76387797	Тело; Тело	Н.П.
cg10585621	0.7002	-0.002	36	17	76388048	Тело; Тело	Н.П.
cg15946337	0.6325	-0.003	36	17	76388093	Тело; Тело	Н.П.
cg15815120	0.4312	0.001	36	17	76388256	Тело; Тело	Н.П.
cg01476242	0.2066	-0.002	36	17	76388625	Тело; Тело	Н.П.
cg17888563	0.2956	0.000	36	17	76388653	Тело; Тело	Н.П.
cg18605975	0.6097	-0.002	36	17	76389318	Тело; Тело	Н.П.
cg06675781	0.4149	0.001	36	17	76390230	Тело; Тело	Н.П.
cg05548508	0.3504	0.001	36	17	76390392	Тело; Тело	Н.П.
cg13098428	0.1352	-0.053	36	17	76390409	Тело; Тело	Н.П.
cg27025953	0.6318	-0.004	36	17	76391155	Тело; Тело	Н.П.
cg17703078	0.8596	0.000	36	17	76391181	Тело; Тело	Н.П.
cg14596352	0.5598	-0.002	36	17	76391776	Тело; Тело	Н.П.
cg00463485	0.1882	-0.006	36	17	76392152	Тело; Тело	Н.П.
cg16896879	0.8665	0.000	36	17	76392689	Тело; Тело	Н.П.
cg06343673	0.5419	0.002	36	17	76392827	Тело; Тело	Н.П.
cg03533386	0.8783	0.000	36	17	76393148	Тело; Тело	TRUE
cg01516792	0.0487	-0.012	36	17	76393735	Тело; Тело	TRUE
cg04162316	0.0005	0.018	36	17	76400950	Тело; Тело	Н.П.
cg12028455	0.4921	-0.003	36	17	76403673	Тело; Тело	Н.П.
cg23542426	0.2420	-0.002	36	17	76404215	Тело; Тело	Н.П.
cg16980736	0.5232	0.001	36	17	76404301	Тело; Тело	Н.П.
cg27460531	0.0717	-0.010	36	17	76406318	Тело; Тело	TRUE
cg16015295	0.0110	-0.021	36	17	76408074	Тело; Тело	TRUE
cg13526488	0.0051	-0.025	36	17	76408402	Тело; Тело	TRUE
cg15616522	0.6877	-0.004	36	17	76408843	Тело; Тело	TRUE
cg12785535	0.6830	0.000	36	17	76409987	Тело; Тело	Н.П.

Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромосома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg18430553	0.9679	0.001	36	17	76410136	Тело; Тело	Н.П.
cg04295549	0.9501	0.000	36	17	76410264	Тело; Тело	Н.П.
cg25705936	0.6954	-0.001	36	17	76410459	Тело; Тело	Н.П.
cg06444734	0.3604	-0.004	36	17	76410674	Тело; Тело	Н.П.
cg17602102	0.5131	0.000	36	17	76410754	Тело; Тело	Н.П.
cg02910299	0.0594	-0.002	36	17	76410761	Тело; Тело	Н.П.
cg14073057	0.1024	0.001	36	17	76410958	Тело; Тело	Н.П.
cg03794617	0.0045	-0.025	36	17	76411594	Тело; Тело	Н.П.
cg08329754	0.0008	-0.021	36	17	76411610	Тело; Тело	Н.П.
cg09001356	0.0240	-0.023	36	17	76411656	Тело; Тело	Н.П.
cg26419477	0.6306	-0.001	36	17	76413754	Тело; Тело	Н.П.
cg23245933	0.0615	-0.007	36	17	76414205	Тело; Тело	Н.П.
cg23261154	0.5801	0.000	36	17	76414316	Тело; Тело	Н.П.
cg09175325	0.0019	-0.014	36	17	76414794	Тело; Тело	TRUE
cg14955617	0.5025	0.001	36	17	76414859	Тело; Тело	TRUE
cg21550504	0.6946	-0.003	36	17	76414916	Тело; Тело	TRUE
cg16636468	0.6225	0.000	36	17	76415169	Тело; Тело	TRUE
cg25337513	0.8629	0.000	36	17	76415226	Тело; Тело	TRUE
cg07126783	0.0130	-0.019	36	17	76415362	Тело; Тело	TRUE
cg16638092	0.0070	-0.021	36	17	76415369	Тело; Тело	TRUE
cg08939850	0.0289	-0.024	36	17	76415401	Тело; Тело	TRUE
cg23715732	0.9932	-0.004	36	17	76416446	Тело; Тело	Н.П.
cg05113898	0.7910	-0.001	36	17	76416564	Тело; Тело	Н.П.
cg08219486	0.2564	0.001	36	17	76416699	Тело; Тело	Н.П.
cg26633077	0.9590	0.000	36	17	76417720	Тело; Тело	Н.П.
cg22984380	0.1903	-0.010	36	17	76417744	Тело; Тело	Н.П.
cg24155025	0.1009	0.000	36	17	76417774	Тело; Тело	Н.П.
cg26332535	0.6365	0.006	36	17	76417779	Тело; Тело	Н.П.
cg06919800	0.2502	-0.003	36	17	76417915	Тело; Тело	Н.П.
cg18607849	0.2512	-0.001	36	17	76418030	Тело; Тело	Н.П.
cg23210522	0.2427	0.001	36	17	76418069	Тело; Тело	Н.П.
cg19287064	0.3106	0.002	36	17	76418916	Тело; Тело	Н.П.
cg21876181	0.7520	-0.001	36	17	76419031	Тело; Тело	Н.П.
cg15826479	0.0414	0.014	36	17	76421088	Тело; Тело	TRUE
cg02386420	0.3306	0.000	36	17	76421465	Тело; Тело	TRUE
cg18516619	0.5753	0.003	36	17	76421486	Тело; Тело	TRUE
cg11637695	0.6786	-0.002	36	17	76422655	Тело; Тело	Н.П.
cg22644320	0.6042	-0.001	36	17	76422782	Тело; Тело	Н.П.

Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромо-сома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg07530194	0.8677	-0.003	36	17	76423045	Тело; Тело	Н.П.
cg19122260	0.5822	0.000	36	17	76423165	Тело; Тело	Н.П.
cg20502501	0.5128	-0.007	36	17	76423998	Тело; Тело	Н.П.
cg23248537	0.2625	-0.004	36	17	76424293	Тело; Тело	Н.П.
cg03443590	0.4310	-0.002	36	17	76424447	Тело; Тело	Н.П.
cg01464730	0.8055	-0.001	36	17	76424468	Тело; Тело	Н.П.
cg12100537	0.4647	-0.002	36	17	76426131	Тело; Тело	Н.П.
cg27101023	0.9609	0.006	36	17	76426276	Тело; Тело	Н.П.
cg07475546	0.9147	-0.002	36	17	76426423	Тело; Тело	Н.П.
cg21005054	0.7539	-0.001	36	17	76426710	Тело; Тело	Н.П.
cg11824764	0.3056	0.000	36	17	76427082	Тело; Тело	Н.П.
cg26263310	0.4535	-0.004	36	17	76428708	Тело; Тело	Н.П.
cg18173185	0.1652	-0.003	36	17	76429257	Тело; Тело	Н.П.
cg12434898	0.0064	-0.004	36	17	76432237	Тело; Тело	Н.П.
cg25899969	0.5357	-0.002	36	17	76432533	Тело; Тело	Н.П.
cg01911440	0.0600	0.001	36	17	76432640	Тело; Тело	Н.П.
cg18648066	0.7551	-0.001	36	17	76433036	Тело; Тело	Н.П.
cg02284802	0.1548	-0.006	36	17	76433173	Тело; Тело	Н.П.
cg20500836	0.2073	0.002	36	17	76433240	Тело; Тело	Н.П.
cg21507958	0.9498	0.000	36	17	76433466	Тело; Тело	Н.П.
cg18091083	0.0381	0.022	36	17	76433687	Тело; Тело	Н.П.
cg22888023	0.8116	-0.003	36	17	76434599	Тело; Тело	Н.П.
cg23019125	0.5344	0.002	36	17	76434986	Тело; Тело	Н.П.
cg16826504	0.3110	-0.003	36	17	76435176	Тело; Тело	Н.П.
cg06756931	0.7339	-0.001	36	17	76435488	Тело; Тело	Н.П.
cg14202916	0.5049	0.001	36	17	76435519	Тело; Тело	Н.П.
cg01767927	0.7192	-0.003	36	17	76435619	Тело; Тело	Н.П.
cg26360197	0.0010	0.030	36	17	76436199	Тело; Тело	Н.П.
cg16541275	0.0432	0.017	36	17	76436349	Тело; Тело	Н.П.
cg24844295	0.7784	0.001	36	17	76436523	Тело; Тело	Н.П.
cg01518942	0.2359	-0.003	36	17	76437001	Тело; Тело	Н.П.
cg12284870	0.2283	-0.005	36	17	76437026	Тело; Тело	Н.П.
cg17481637	0.9598	0.001	36	17	76437125	Тело; Тело	Н.П.
cg13945540	0.4211	0.001	36	17	76437320	Тело; Тело	Н.П.
cg04102793	0.9524	-0.002	36	17	76437518	Тело; Тело	Н.П.
cg04515258	0.8550	-0.001	36	17	76440007	Тело; Тело	Н.П.
cg05815404	0.4279	0.000	36	17	76440096	Тело; Тело	Н.П.
cg14271651	0.0295	-0.009	36	17	76440964	Тело; Тело	TRUE

Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромо-сома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg14647957	0.3152	-0.004	36	17	76442838	Тело; Тело	Н.П.
cg25024459	0.7461	-0.003	36	17	76444221	Тело; Тело	Н.П.
cg15097361	0.0070	-0.017	36	17	76444296	Тело; Тело	Н.П.
cg15228441	0.9427	-0.002	36	17	76444525	Тело; Тело	TRUE
cg04470054	0.1395	-0.003	36	17	76445067	Тело; Тело	TRUE
cg25512107	0.0106	0.002	36	17	76445762	Тело; Тело	Н.П.
cg17323298	0.7979	-0.001	36	17	76445825	Тело; Тело	Н.П.
cg22809418	0.3980	0.000	36	17	76445905	Тело; Тело	Н.П.
cg08905415	0.7213	-0.003	36	17	76446113	Тело; Тело	Н.П.
cg04494230	0.6880	0.000	36	17	76446239	Тело; Тело	Н.П.
cg00516616	0.8101	-0.004	36	17	76446458	Тело; Тело	Н.П.
cg24832218	0.7079	-0.003	36	17	76447543	Тело; Тело	TRUE
cg04191427	0.7525	-0.005	36	17	76447854	Тело; Тело	Н.П.
cg05707492	0.3740	0.000	36	17	76448079	Тело; Тело	TRUE
cg05249744	0.0233	-0.027	36	17	76449305	Тело; Тело	Н.П.
cg23625086	0.0284	0.002	36	17	76450934	Тело; Тело	Н.П.
cg15476425	0.2539	0.001	36	17	76450998	Тело; Тело	Н.П.
cg22161269	0.9634	-0.002	36	17	76451108	Тело; Тело	Н.П.
cg01886663	0.1208	-0.014	36	17	76460774	Тело; Тело	TRUE
cg02878831	0.2833	-0.010	36	17	76462347	Тело; Тело	Н.П.
cg27129144	0.3659	-0.002	36	17	76463128	Тело; Тело	Н.П.
cg27394817	0.6181	-0.001	36	17	76463274	Тело; Тело	Н.П.
cg07434008	0.5516	0.000	36	17	76463361	Тело; Тело	Н.П.
cg06617879	0.0058	0.005	36	17	76464026	Тело; Тело	Н.П.
cg13979266	0.3848	-0.007	36	17	76464322	Тело; Тело	Н.П.
cg15358690	0.9109	0.000	36	17	76464505	Тело; Тело	Н.П.
cg16116279	0.1482	-0.004	36	17	76464511	Тело; Тело	Н.П.
cg16721879	0.3823	-0.002	36	17	76464566	Тело; Тело	Н.П.
cg03119454	0.7343	0.000	36	17	76465075	Тело; Тело	Н.П.
cg16886414	0.1244	0.012	36	17	76465744	Тело; Тело	Н.П.
cg08314949	0.1652	0.018	36	17	76465808	Тело; Тело	Н.П.
cg12078154	0.3725	0.016	36	17	76465857	Тело; Тело	Н.П.
cg02251850	0.0008	0.035	36	17	76466098	Тело; Тело	Н.П.
cg22091236	0.0033	-0.028	36	17	76468561	Тело; Тело	TRUE
cg27457201	0.0153	-0.020	36	17	76468827	Тело; Тело	Н.П.
cg09977718	0.0499	-0.016	36	17	76468868	Тело; Тело	Н.П.
cg22255288	0.0954	0.003	36	17	76469013	Тело; Тело	Н.П.
cg09964933	0.6074	0.000	36	17	76470841	Тело; Тело	Н.П.

Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромосома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg21343406	0.3031	-0.002	36	17	76470926	Тело; Тело	Н.П.
cg09318637	0.8519	-0.001	36	17	76471009	Тело; Тело	Н.П.
cg08588357	0.0125	0.003	36	17	76471270	Тело; Тело	Н.П.
cg17872658	0.0631	0.006	36	17	76471456	Тело; Тело	Н.П.
cg05887890	0.2151	-0.005	36	17	76471606	Тело; Тело	Н.П.
cg17585356	0.7787	-0.002	36	17	76471716	Тело; Тело	Н.П.
cg04166962	0.5127	-0.002	36	17	76471833	Тело; Тело	Н.П.
cg19185574	0.8236	-0.002	36	17	76472226	Тело; Тело	Н.П.
cg23630758	0.2275	-0.002	36	17	76472307	Тело; Тело	Н.П.
cg13831388	0.4582	-0.002	36	17	76472454	Тело; Тело	Н.П.
cg18224819	0.8864	0.002	36	17	76472571	Тело; Тело	Н.П.
cg02933375	0.8242	-0.001	36	17	76473423	Тело; Тело	Н.П.
cg08150315	0.5730	0.001	36	17	76473562	Тело; Тело	Н.П.
cg11623293	0.2144	-0.004	36	17	76473655	Тело; Тело	Н.П.
cg24181389	0.9718	-0.002	36	17	76474340	Тело; Тело	Н.П.
cg02243479	0.6669	0.000	36	17	76474554	Тело; Тело	Н.П.
cg16660971	0.8045	-0.003	36	17	76474624	Тело; Тело	Н.П.
cg13549638	0.0781	-0.014	36	17	76474671	Тело; Тело	Н.П.
cg26954228	0.5258	-0.002	36	17	76475078	Тело; Тело	Н.П.
cg26714263	0.3528	-0.002	36	17	76475106	Тело; Тело	Н.П.
cg06154633	0.7570	0.000	36	17	76475200	Тело; Тело	Н.П.
cg18562896	0.3348	-0.002	36	17	76477462	Тело; Тело	Н.П.
cg24963810	0.7351	0.000	36	17	76477488	Тело; Тело	Н.П.
cg16018154	0.3427	-0.009	36	17	76478165	Тело; Тело	Н.П.
cg09891288	0.9173	0.006	36	17	76478269	Тело; Тело	Н.П.
cg25902229	0.7244	0.009	36	17	76478683	Тело; Тело	Н.П.
cg05774614	0.0449	-0.019	36	17	76479134	Тело; Тело	Н.П.
cg10035831	0.2491	0.010	36	17	76479682	Тело; Тело	Н.П.
cg22636722	0.4223	0.008	36	17	76479858	Тело; Тело	TRUE
cg00704970	0.9120	0.003	36	17	76479963	Тело; Тело	TRUE
cg03502601	0.3925	0.014	36	17	76479968	Тело; Тело	TRUE
cg09803959	0.0945	-0.013	36	17	76480109	Тело; Тело	TRUE
cg24207068	0.7115	-0.004	36	17	76480257	Тело; Тело	TRUE
cg04658243	0.1329	0.011	36	17	76480350	Тело; Тело	TRUE
cg11476241	0.8042	-0.003	36	17	76480830	Тело; Тело	TRUE
cg24327522	0.5242	-0.004	36	17	76481174	Тело; Тело	Н.П.
cg10490202	0.9245	-0.001	36	17	76482226	Тело; Тело	Н.П.
cg17628491	0.1611	-0.072	36	17	76482417	Тело; Тело	Н.П.

Идентификационный номер CpG	pvalWald _Group	meanDiff	Сборка	Хромо- сома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg21289763	0.6645	-0.004	36	17	76483430	Тело; Тело	Н.П.
cg17180011	0.9825	0.000	36	17	76483873	Тело; Тело	Н.П.
cg15022015	0.3763	0.001	36	17	76484122	Тело; Тело	Н.П.
cg05064567	0.2731	-0.006	36	17	76484733	Тело; Тело	Н.П.
cg04919811	0.7690	0.000	36	17	76484897	Тело; Тело	Н.П.
cg16578291	0.0447	0.003	36	17	76485004	Тело; Тело	Н.П.
cg19292222	0.7272	-0.006	36	17	76486006	Тело; Тело	Н.П.
cg23938645	0.5029	-0.001	36	17	76487158	Тело; Тело	Н.П.
cg06053702	0.0003	-0.010	36	17	76487304	Тело; Тело	Н.П.
cg10538214	0.7647	-0.003	36	17	76487470	Тело; Тело	Н.П.
cg16780847	0.3163	-0.004	36	17	76488294	Тело; Тело	Н.П.
cg10880603	0.7098	-0.002	36	17	76488349	Тело; Тело	Н.П.
cg11274148	0.2864	-0.001	36	17	76491251	Тело; Тело	Н.П.
cg01412400	0.5867	0.001	36	17	76491321	Тело; Тело	Н.П.
cg12131324	0.2116	-0.005	36	17	76491389	Тело; Тело	Н.П.
cg19494960	0.0803	-0.002	36	17	76491556	Тело; Тело	Н.П.
cg00474943	0.7289	-0.001	36	17	76491671	Тело; Тело	Н.П.
cg24683534	0.4077	-0.005	36	17	76491800	Тело; Тело	Н.П.
cg04163696	0.8307	0.000	36	17	76492566	Тело; Тело	Н.П.
cg16895810	0.0604	-0.003	36	17	76492646	Тело; Тело	Н.П.
cg09173565	0.3509	0.000	36	17	76492873	Тело; Тело	Н.П.
cg22673070	0.9268	-0.004	36	17	76493125	Тело; Тело	Н.П.
cg16218910	0.6600	-0.002	36	17	76493174	Тело; Тело	Н.П.
cg19296258	0.8778	-0.001	36	17	76493394	Тело; Тело	Н.П.
cg05580441	0.3368	0.000	36	17	76493439	Тело; Тело	Н.П.
cg08992574	0.3860	-0.002	36	17	76494240	Тело; Тело	Н.П.
cg02257048	0.7990	0.000	36	17	76494626	Тело; Тело	Н.П.
cg07870603	0.8592	0.001	36	17	76494739	Тело; Тело	Н.П.
cg01000996	0.9733	-0.002	36	17	76494821	Тело; Тело	Н.П.
cg00554570	0.9380	-0.001	36	17	76494823	Тело; Тело	Н.П.
cg06908052	0.9305	-0.001	36	17	76494991	Тело; Тело	Н.П.
cg10462529	0.4569	-0.001	36	17	76495343	Тело; Тело	Н.П.
cg06485000	0.1252	-0.005	36	17	76496316	Тело; Тело	Н.П.
cg10508138	0.5197	-0.003	36	17	76496608	Тело; Тело	Н.П.
cg02671711	0.7700	0.000	36	17	76496795	Тело; Тело	Н.П.
cg19984991	0.2472	0.002	36	17	76497089	Тело; Тело	Н.П.
cg00248805	0.1761	0.002	36	17	76497144	Тело; Тело	Н.П.
cg19707379	0.9561	0.000	36	17	76497288	Тело; Тело	Н.П.

Идентификационный номер CpG	pvalWald Group	meanDiff	Сборка	Хромо-сома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg14003223	0.6147	0.000	36	17	76497315	Тело; Тело	Н.П.
cg14289594	0.3493	-0.003	36	17	76497349	Тело; Тело	Н.П.
cg16892887	0.8649	0.003	36	17	76506807	Тело; Тело	Н.П.
cg04789650	0.6675	-0.003	36	17	76506890	Тело; Тело	Н.П.
cg21000762	0.7766	-0.001	36	17	76507445	Тело; Тело	Н.П.
cg14059665	0.9123	-0.002	36	17	76507480	Тело; Тело	Н.П.
cg15331383	0.2774	-0.004	36	17	76507958	Тело; Тело	Н.П.
cg01525498	0.5356	-0.003	36	17	76508024	Тело; Тело	Н.П.
cg07078467	0.5535	0.002	36	17	76508207	Тело; Тело	Н.П.
cg15694704	0.2755	-0.009	36	17	76508959	Тело; Тело	Н.П.
cg06096901	0.9803	0.000	36	17	76508988	Тело; Тело	Н.П.
cg21818807	0.4883	0.000	36	17	76509072	Тело; Тело	Н.П.
cg09790523	0.4747	-0.003	36	17	76509659	Тело; Тело	Н.П.
cg09794615	0.1099	0.010	36	17	76509801	Тело; Тело	Н.П.
cg05395366	0.2359	0.005	36	17	76509868	Тело; Тело	Н.П.
cg17052885	0.0947	-0.005	36	17	76510607	Тело; Тело	Н.П.
cg21734751	0.4560	0.000	36	17	76511032	Тело; Тело	Н.П.
cg12044293	0.4862	-0.001	36	17	76511264	Тело; Тело	Н.П.
cg17144164	0.0500	-0.002	36	17	76511295	Тело; Тело	Н.П.
cg24744721	0.5349	-0.001	36	17	76511564	Тело; Тело	Н.П.
cg06358794	0.6246	0.001	36	17	76511697	Тело; Тело	Н.П.
cg26290973	0.3413	0.001	36	17	76511732	Тело; Тело	Н.П.
cg02346006	0.3890	-0.001	36	17	76512072	Тело; Тело	Н.П.
cg21219851	0.7685	-0.001	36	17	76512784	Тело; Тело	Н.П.
cg07450393	0.8688	0.000	36	17	76512857	Тело; Тело	Н.П.
cg16732367	0.2475	0.001	36	17	76512964	Тело; Тело	Н.П.
cg09139509	0.5410	0.001	36	17	76513611	Тело; Тело	Н.П.
cg06091647	0.0260	0.005	36	17	76513987	Тело; Тело	Н.П.
cg05814100	0.9118	-0.003	36	17	76514392	Тело; Тело	Н.П.
cg25739309	0.9893	-0.007	36	17	76515047	Тело; Тело	TRUE
cg02638755	0.3795	-0.006	36	17	76516964	Тело; Тело	Н.П.
cg11188237	0.5847	-0.001	36	17	76516991	Тело; Тело	Н.П.
cg18802706	0.3898	-0.001	36	17	76517029	Тело; Тело	Н.П.
cg18612040	0.0580	-0.005	36	17	76519080	Тело; Тело	TRUE
cg07584637	0.1946	-0.005	36	17	76526172	Тело; Тело	Н.П.
cg19394169	0.2908	-0.005	36	17	76526269	Тело; Тело	Н.П.
cg03641032	0.6363	-0.002	36	17	76526363	Тело; Тело	Н.П.
cg11949518	0.3498	0.048	36	17	76527360	Тело; Тело	Н.П.

Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромосома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg24315876	0.3700	0.009	36	17	76527706	Тело; Тело	Н.П.
cg02580745	0.1085	0.002	36	17	76528696	Тело; Тело	Н.П.
cg02266055	0.7714	-0.001	36	17	76528924	Тело; Тело	Н.П.
cg00648660	0.7319	-0.001	36	17	76528951	Тело; Тело	Н.П.
cg06469955	0.3871	-0.002	36	17	76529741	Тело; Тело	Н.П.
cg13643509	0.4705	0.001	36	17	76530250	Тело; Тело	TRUE
cg19060120	0.1430	-0.007	36	17	76530473	Тело; Тело	TRUE
cg23736297	0.5482	-0.004	36	17	76530476	Тело; Тело	TRUE
cg13005428	0.0522	-0.036	36	17	76530973	Тело; Тело	TRUE
cg16438182	0.5382	0.000	36	17	76531162	Тело; Тело	TRUE
cg02033669	0.6037	0.001	36	17	76531614	Тело; Тело	Н.П.
cg21238376	0.2941	0.003	36	17	76534371	Тело; Тело	Н.П.
cg08999272	0.7934	-0.002	36	17	76536073	Тело; Тело	Н.П.
cg11782601	0.8057	-0.002	36	17	76536493	Тело; Тело	Н.П.
cg26729320	0.7299	-0.002	36	17	76536639	Тело; Тело	Н.П.
cg14600877	0.6821	-0.002	36	17	76536815	Тело; Тело	Н.П.
cg13597013	0.8713	-0.001	36	17	76537122	Тело; Тело	Н.П.
cg13762486	0.2658	-0.007	36	17	76537745	Тело; Тело	Н.П.
cg06420480	0.9135	-0.001	36	17	76537839	Тело; Тело	Н.П.
cg19443023	0.6000	0.000	36	17	76537939	Тело; Тело	Н.П.
cg07081946	0.8550	-0.001	36	17	76538447	Тело; Тело	Н.П.
cg26469982	0.7033	-0.003	36	17	76538527	Тело; Тело	Н.П.
cg02254800	0.1718	-0.004	36	17	76538681	Тело; Тело	Н.П.
cg24343322	0.9926	-0.002	36	17	76539767	Тело; Тело	Н.П.
cg25057221	0.2770	0.002	36	17	76539827	Тело; Тело	Н.П.
cg18425700	0.3988	-0.004	36	17	76539873	Тело; Тело	Н.П.
cg03052541	0.7777	-0.001	36	17	76540138	Тело; Тело	Н.П.
cg18815595	0.7748	-0.001	36	17	76540402	Тело; Тело	Н.П.
cg17779026	0.8527	-0.001	36	17	76540405	Тело; Тело	Н.П.
cg21831512	0.1568	-0.009	36	17	76540686	Тело; Тело	Н.П.
cg26932839	0.7133	-0.001	36	17	76540725	Тело; Тело	Н.П.
cg24180621	0.0940	-0.003	36	17	76540780	Тело; Тело	Н.П.
cg17831694	0.3741	-0.003	36	17	76544495	Тело; Тело	Н.П.
cg11762703	0.0912	0.011	36	17	76544533	Тело; Тело	Н.П.
cg02403929	0.3404	0.001	36	17	76544901	Тело; Тело	Н.П.
cg22486214	0.4842	-0.001	36	17	76545061	Тело; Тело	Н.П.
cg02047211	0.9318	-0.002	36	17	76547292	Тело; Тело	Н.П.
cg02864619	0.8175	0.000	36	17	76548556	Тело; Тело	TRUE

Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромосома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg17906851	0.2149	-0.036	36	17	76549665	Тело; Тело	Н.П.
cg21879029	0.7815	0.000	36	17	76549770	Тело; Тело	Н.П.
cg09491897	0.2438	-0.001	36	17	76549864	Тело; Тело	Н.П.
cg07964113	0.1756	0.001	36	17	76549884	Тело; Тело	Н.П.
cg09361653	0.9428	0.000	36	17	76550887	Тело; Тело	Н.П.
cg17408291	0.7710	-0.001	36	17	76550967	Тело; Тело	Н.П.
cg04275040	0.2387	0.000	36	17	76551223	Тело; Тело	Н.П.
cg03800447	0.4430	0.000	36	17	76551344	Тело; Тело	Н.П.
cg08804421	0.4328	0.003	36	17	76551392	Тело; Тело	Н.П.
cg26886231	0.4056	0.000	36	17	76551484	Тело; Тело	Н.П.
cg13136721	0.5328	0.003	36	17	76551778	Тело; Тело	Н.П.
cg10278297	0.3103	-0.003	36	17	76552433	Тело; Тело	Н.П.
cg10752731	0.3004	0.000	36	17	76552729	3'UTR;3'UTR	Н.П.
cg03890538	0.5621	-0.003	36	17	76552939	3'UTR;3'UTR	Н.П.
cg18732855	0.0473	0.001	36	17	76553701	3'UTR;3'UTR	Н.П.
cg03389944	0.4000	-0.002	36	17	76554181	3'UTR;3'UTR	Н.П.
cg15432510	0.2292	-0.002	36	17	76554265	3'UTR;3'UTR	Н.П.
cg09439604	0.9534	-0.002	36	17	76554624	3'UTR;3'UTR	Н.П.
cg15406978	0.4216	0.002	36	17	76554688	3'UTR;3'UTR	Н.П.
cg25290617	0.0035	-0.012	36	17	76554705	3'UTR;3'UTR	Н.П.
cg23051282	0.0132	-0.002	36	17	76554756	3'UTR;3'UTR	Н.П.

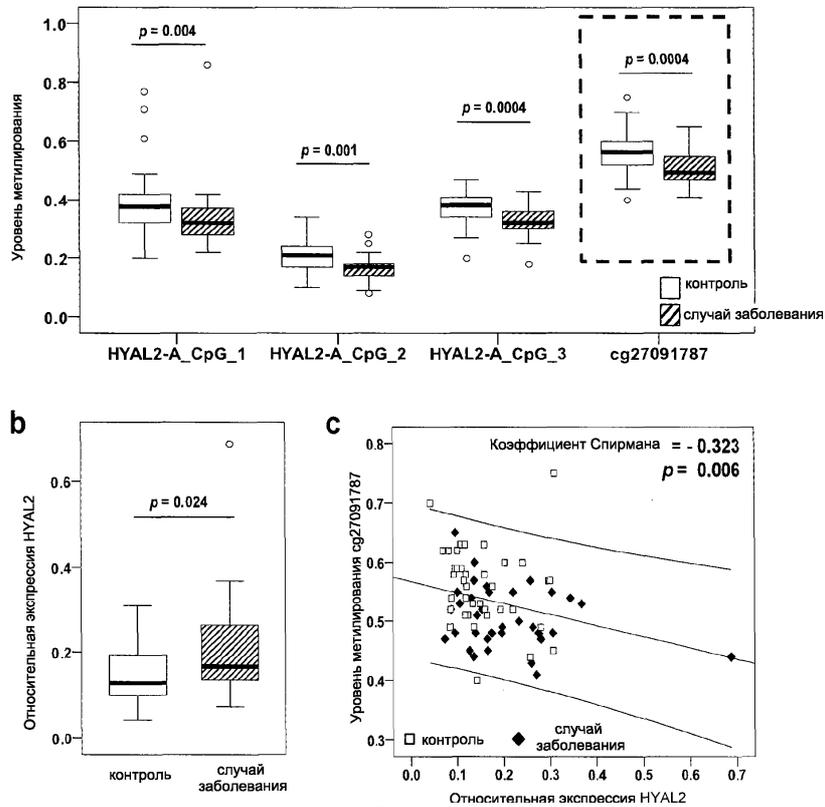
Фиг. 23

Таблица 24. Уровни метилирования CpG-сайтов MGRN1, определенные на приборе Illumina 450K

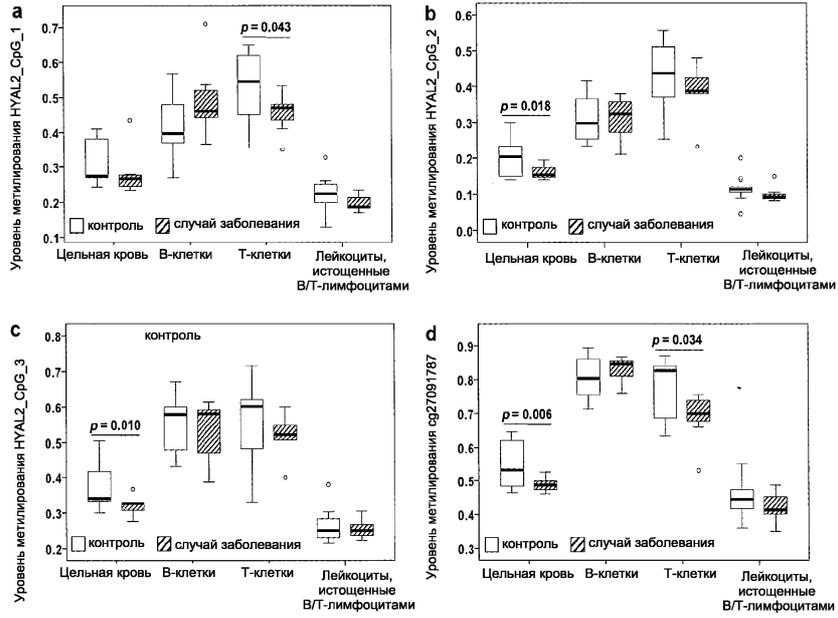
Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромосома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg03819286	0.0003	-0.024	36	16	4613975	N_берег	Н.П.
cg01678580	0.0839	-0.007	36	16	4614019	N_берег	Н.П.
cg08058836	0.9419	0.001	36	16	4614353	N_берег	Н.П.
cg00369126	0.7741	0.001	36	16	4614643	N_берег	Н.П.
cg00203035	0.9047	0.000	36	16	4614660	N_берег	Н.П.
cg02283436	0.3901	0.003	36	16	4614678	N_берег	Н.П.
cg04367464	0.9647	0.001	36	16	4614717	Островок	Н.П.
cg01482556	0.5192	0.001	36	16	4614719	Островок	Н.П.
cg00588858	0.2908	-0.001	36	16	4615007	Островок	Н.П.
cg10442572	0.4991	0.001	36	16	4615385	Островок	Н.П.
cg16118148	0.7137	0.001	36	16	4615388	Островок	Н.П.
cg08142943	0.8882	0.001	36	16	4615652	S_берег	Н.П.
cg08147187	0.9335	-0.001	36	16	4619397	S_шельф	Н.П.
cg00693240	0.6552	0.000	36	16	4624508		Н.П.
cg02404489	0.9706	0.000	36	16	4624597		Н.П.
cg08524372	0.8553	-0.002	36	16	4624732		Н.П.
cg05459609	0.0097	-0.004	36	16	4629951		TRUE
cg07741192	0.8363	0.000	36	16	4630014		TRUE
cg02968175	0.4863	-0.001	36	16	4630021		TRUE
cg03336832	0.9156	-0.002	36	16	4636109	N_шельф	Н.П.
cg03427191	0.0004	0.024	36	16	4637113	N_берег	Н.П.
cg23233631	0.1891	-0.004	36	16	4638221	Островок	Н.П.
cg09440989	0.0021	-0.007	36	16	4639882	S_берег	Н.П.
cg04071866	0.0023	-0.020	36	16	4640738	N_берег	Н.П.
cg00639215	0.1100	0.001	36	16	4642770	Островок	Н.П.
cg05782454	0.2161	-0.005	36	16	4642835	Островок	Н.П.
cg26700932	0.2518	-0.004	36	16	4643004	S_берег	Н.П.
cg05287064	0.4451	-0.003	36	16	4645946	S_шельф	Н.П.
cg02647929	0.0001	-0.029	36	16	4654081		Н.П.
cg06323332	0.0000	-0.032	36	16	4654230		Н.П.
cg27193519	0.0001	-0.042	36	16	4654444		Н.П.
cg01922891	0.0000	-0.031	36	16	4654648		Н.П.
cg04962621	0.0001	-0.034	36	16	4654734		Н.П.
cg01156249	0.0244	-0.018	36	16	4654795		Н.П.
cg07635227	0.0124	-0.014	36	16	4654816		Н.П.
cg09250423	0.2256	0.002	36	16	4657753		Н.П.
cg03420907	0.4692	0.001	36	16	4657773		Н.П.
cg08760128	0.3017	-0.001	36	16	4663508		Н.П.

Идентификационный номер CpG	pvalWald_Group	meanDiff	Сборка	Хромосома	MAPINFO	Расположение	Энхансер
cg27004760	0.7278	-0.002	36	16	4663623		Н.П.
cg03693714	0.1679	-0.004	36	16	4663817		Н.П.
cg05383524	0.7179	-0.001	36	16	4666971	N_шельф	Н.П.
cg04087057	0.7062	-0.003	36	16	4668188	N_шельф	Н.П.
cg27436118	0.0002	-0.031	36	16	4669906	N_берег	Н.П.
cg08782022	0.0048	-0.048	36	16	4670137	N_берег	TRUE
cg01662869	0.0000	-0.045	36	16	4670411	Островок	TRUE
cg00736299	0.0000	-0.043	36	16	4670466	Островок	TRUE
cg02074956	0.0000	-0.032	36	16	4670658	N_берег	TRUE
cg10505257	0.0003	-0.030	36	16	4671640	Островок	Н.П.
cg07812289	0.6799	0.000	36	16	4671719	Островок	Н.П.
cg05901634	0.3634	0.003	36	16	4671822	Островок	Н.П.
cg00504410	0.0025	-0.014	36	16	4672263	Островок	Н.П.
cg03963853	0.1509	-0.002	36	16	4672370	Островок	Н.П.
cg07248377	0.0109	-0.015	36	16	4672407	Островок	Н.П.
cg10908196	0.0021	-0.018	36	16	4672912	Островок	Н.П.
cg01861603	0.8633	-0.002	36	16	4672974	Островок	Н.П.
cg16520815	0.0002	-0.030	36	16	4673182	Островок	Н.П.
cg09306188	0.0000	-0.057	36	16	4673254	S_берег	Н.П.
cg04208175	0.8742	-0.002	36	16	4674630	S_берег	Н.П.
cg04083430	0.0087	-0.035	36	16	4676064	S_шельф	Н.П.
cg16778018	0.0922	-0.006	36	16	4676226	S_шельф	Н.П.
cg26627888	0.1955	0.002	36	16	4676420	S_шельф	Н.П.
cg16576106	0.8006	0.000	36	16	4676779	S_шельф	Н.П.
cg02072002	0.8181	0.000	36	16	4676796	S_шельф	Н.П.
cg16420089	0.6085	-0.002	36	16	4676870	S_шельф	Н.П.
cg02352612	0.1408	-0.005	36	16	4677994		Н.П.
cg00033551	0.0179	-0.012	36	16	4678569		Н.П.
cg03157150	0.8802	-0.002	36	16	4678681		Н.П.
cg09005651	0.0003	-0.013	36	16	4680695	N_шельф	Н.П.
cg10090769	0.0093	-0.013	36	16	4680792	N_шельф	Н.П.

Фиг. 24



Фиг. 25



Фиг. 26

