



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104603289 A

(43) 申请公布日 2015. 05. 06

(21) 申请号 201380039509. 0

C40B 30/04(2006. 01)

(22) 申请日 2013. 06. 14

(30) 优先权数据

61/660, 427 2012. 06. 15 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 01. 26

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/046020 2013. 06. 14

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/188846 EN 2013. 12. 19

(71) 申请人 哈里·斯泰利

地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 哈里·斯泰利

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 袁泉

(51) Int. Cl.

C12Q 1/68(2006. 01)

G01N 33/53(2006. 01)

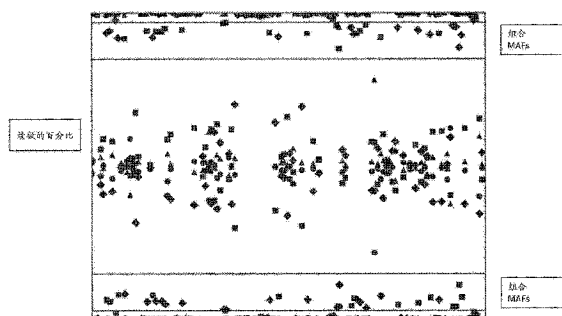
权利要求书21页 说明书75页 附图10页

(54) 发明名称

检测疾病或病状的方法

(57) 摘要

本发明提供了在疾病或病状的诊断、预测或监视中使用具有多重分析组分的样品的的方法。本发明还提供了鉴定疾病或病状的标记物的方法。



1. 一种用于诊断或帮助诊断受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:从所述受试者中分离的无细胞体液,从所述受试者中分离的吞噬细胞群体,从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),从所述受试者中分离的循环囊泡群体和从所述受试者中分离的循环患病细胞群体;

b) 测定来自对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述对照包含选自下述的组分:从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞),从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体和从所述受试者中分离的对照细胞群体,其中所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞;和

c) 鉴定在所述第一种和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示所述受试者中的所述疾病或病状的存在。

2. 一种用于评价受试者中发展疾病或病状的风险的方法,其包括:

a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:从所述受试者中分离的无细胞体液,从所述受试者中分离的吞噬细胞群体,从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),从所述受试者中分离的循环囊泡群体和从所述受试者中分离的循环患病细胞群体;

b) 测定来自对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述对照包含选自下述的组分:从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞),从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体和从所述受试者中分离的对照细胞群体,其中所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞;和

c) 鉴定在所述第一种和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示所述受试者中发展所述疾病或病状的风险。

3. 一种用于预测或帮助预测受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:从所述受试者中分离的无细胞体液,从所述受试者中分离的吞噬细胞群体,从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),从所述受试者中分离的循环囊泡群体和从所述受试者中分离的循环患病细胞群体;

b) 测定来自对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述对照包含选自下述的组分:从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞),从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体和从所述受试者中分离的对照细胞群体,其中所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞;和

c) 鉴定在所述第一种和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示所述受试者中的所述疾病或病状的预测。

4. 一种用于评价用于受试者中的疾病或病状的治疗的功效的方法,其包括:

a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在治疗前从所述受试者中分离的无细胞体

液,在治疗前从所述受试者中分离的吞噬细胞群体,在治疗前从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),在治疗前从所述受试者中分离的循环囊泡群体和在治疗前从所述受试者中分离的循环患病细胞群体;

测定来自第一种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述第一种对照包含选自下述的组分:在治疗前从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞),在治疗前从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体和从所述受试者中分离的对照细胞群体,其中所述对照细胞是在治疗前基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

鉴定在所述第一种和第二种概况之间的差异;

b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第三种概况,所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在治疗后从所述受试者中分离的无细胞体液,在治疗后从所述受试者中分离的吞噬细胞群体,在治疗后从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),在治疗后从所述受试者中分离的循环囊泡群体和在治疗后从所述受试者中分离的循环患病细胞群体;

测定来自第二种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第四种概况,所述第二种对照包含选自下述的组分:在治疗后从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞),在治疗后从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体和从所述受试者中分离的对照细胞群体,其中所述对照细胞是在治疗后基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

鉴定在所述第三种和第四种概况之间的差异;和

c) 鉴定在 a) 中鉴定的差异和在 b) 中鉴定的差异之间的差异,其中所述 c) 中鉴定的差异指示所述治疗对于所述受试者中的所述疾病或病状的功效。

5. 一种用于监视受试者中的疾病或病状的进展或消退的方法,其包括:

a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在第一个时间点从所述受试者中分离的无细胞体液,在第一个时间点从所述受试者中分离的吞噬细胞群体,在第一个时间点从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),在第一个时间点从所述受试者中分离的循环囊泡群体和在第一个时间点从所述受试者中分离的循环患病细胞群体;

测定来自第一种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述第一种对照包含选自下述的组分:在第一个时间点从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞),在第一个时间点从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体和从所述受试者中分离的对照细胞群体,其中所述对照细胞是在第一个时间点基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

鉴定在所述第一种和第二种概况之间的差异;

b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第三种概况,所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在第二个时间点从所述受试者中分离的无细胞体液,在第二个时间点从所述受试者中分离的吞噬细胞群体,在第二个时间点从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),在第二个时间点从

所述受试者中分离的循环囊泡群体和在第二个时间点从所述受试者中分离的循环患病细胞群体；

测定来自第二种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第四种概况,所述第二种对照包含选自下述的组分:在第二个时间点从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体(= $2n$ 吞噬细胞),在第二个时间点从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体和从所述受试者中分离的对照细胞群体,其中所述对照细胞是在第二个时间点基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

鉴定在所述第三种和第四种概况之间的差异;和

c) 鉴定在 a) 中鉴定的差异和在 b) 中鉴定的差异之间的差异,其中所述 c) 中鉴定的差异指示所述受试者中的所述疾病或病状的进展或消退。

6. 一种用于鉴定能够改善或治疗受试者中的疾病或病状的化合物的方法,其包括:

a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在给受试者施用所述化合物前从所述受试者中分离的无细胞体液,在给受试者施用所述化合物前从所述受试者中分离的吞噬细胞群体,在给受试者施用所述化合物前从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体(> $2n$ 吞噬细胞),在给受试者施用所述化合物前从所述受试者中分离的循环囊泡群体和在给受试者施用所述化合物前从所述受试者中分离的循环患病细胞群体;

测定来自第一种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述第一种对照包含选自下述的组分:在给受试者施用所述化合物前从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体(= $2n$ 吞噬细胞),在给受试者施用所述化合物前从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体和从所述受试者中分离的对照细胞群体,其中所述对照细胞在给受试者施用所述化合物前基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

鉴定在所述第一种和第二种概况之间的差异;

b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第三种概况,所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在给受试者施用所述化合物后从所述受试者中分离的无细胞体液,在给受试者施用所述化合物后从所述受试者中分离的吞噬细胞群体,在给受试者施用所述化合物后从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体(> $2n$ 吞噬细胞),在给受试者施用所述化合物后从所述受试者中分离的循环囊泡群体和在给受试者施用所述化合物后从所述受试者中分离的循环患病细胞群体;

测定来自第二种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第四种概况,所述第二种对照包含选自下述的组分:在给受试者施用所述化合物后从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体(= $2n$ 吞噬细胞),在给受试者施用所述化合物后从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体和从所述受试者中分离的对照细胞群体,其中所述对照细胞在给受试者施用所述化合物后基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

鉴定在所述第三种和第四种概况之间的差异;和

c) 鉴定在 a) 中鉴定的差异和在 b) 中鉴定的差异之间的差异,其中所述 c) 中鉴定的差异指示所述化合物能够改善或治疗受试者中的所述疾病或病状。

7. 一种用于评价用于受试者中的疾病或病状的治疗的功效的方法,其包括:

a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述第一

种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在治疗前从所述受试者中分离的无细胞体液，在治疗前从所述受试者中分离的吞噬细胞群体，在治疗前从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)，在治疗前从所述受试者中分离的循环囊泡群体和在治疗前从所述受试者中分离的循环患病细胞群体；

b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第二种概况，所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在治疗后从所述受试者中分离的无细胞体液，在治疗后从所述受试者中分离的吞噬细胞群体，在治疗后从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)，在治疗后从所述受试者中分离的循环囊泡群体和从所述受试者中分离的循环患病细胞群体；和

c) 鉴定在第一种概况和第二种概况之间的差异，其中所述鉴定的差异指示所述治疗对于所述受试者中的所述疾病或病状的功效。

8. 一种用于监视受试者中的疾病或病状的进展或消退的方法，其包括：

a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况，所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在第一个时间点从所述受试者中分离的无细胞体液，在第一个时间点从所述受试者中分离的吞噬细胞群体，在第一个时间点从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)，在第一个时间点从所述受试者中分离的循环囊泡群体和在第一个时间点从所述受试者中分离的循环患病细胞群体；

b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第二种概况，所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在第二个时间点从所述受试者中分离的无细胞体液，在第二个时间点从所述受试者中分离的吞噬细胞群体，在第二个时间点从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)，在第二个时间点从所述受试者中分离的循环囊泡群体和从所述受试者中分离的循环患病细胞群体；和

c) 鉴定在所述第一种概况和第二种概况之间的差异，其中所述鉴定的差异指示所述受试者中的所述疾病或病状的进展或消退。

9. 一种用于鉴定能够改善或治疗受试者中的疾病或病状的化合物的方法，其包括：

a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况，所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在给受试者施用所述化合物前从所述受试者中分离的无细胞体液，在给受试者施用所述化合物前从所述受试者中分离的吞噬细胞群体，在给受试者施用所述化合物前从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)，在给受试者施用所述化合物前从所述受试者中分离的循环囊泡群体和在给受试者施用所述化合物前从所述受试者中分离的循环患病细胞群体；

b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第二种概况，所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在给受试者施用所述化合物后从所述受试者中分离的无细胞体液，在给受试者施用所述化合物后从所述受试者中分离的吞噬细胞群体，在给受试者施用所述化合物后从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)，在给受试者施用所述化合物后从所述受试者中分离的循环囊泡群体和从所述受试者中分离的循环患病细胞群体；和

c) 鉴定在所述第一种概况和第二种概况之间的差异，其中所述鉴定的差异指示所述化

合物能够改善或治疗所述受试者中的所述疾病或病状。

10. 一种用于诊断或帮助诊断受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的组分:分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物,分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

b) 测定来自对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述对照包含选自下述的组分:分离自从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的对照细胞群体的分析物,其中所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞;和

c) 鉴定在所述第一种和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示所述受试者中的所述疾病或病状的存在。

11. 一种用于评价受试者中发展疾病或病状的风险的方法,其包括:

a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物,分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

b) 测定来自对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述对照包含选自下述的组分:分离自从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的对照细胞群体的分析物,其中所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞;和

c) 鉴定在所述第一种和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示所述受试者中发展所述疾病或病状的风险。

12. 一种用于预测或帮助预测受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物,分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

b) 测定来自对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述对照包含选自下述的组分:分离自从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的对照细胞群体的分析物,其中所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞;和

c) 鉴定在所述第一种和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示所述受试者中的所

述疾病或病状的预测。

13. 一种用于评价用于受试者中的疾病或病状的治疗的功效的方法,其包括:

a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在治疗前分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物,在治疗前分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,在治疗前分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)的分析物,在治疗前分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和在治疗前分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

测定来自第一种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述第一种对照包含选自下述的组分:在治疗前分离自从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞)的分析物,在治疗前分离自从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的对照细胞群体的分析物,其中所述对照细胞在治疗前基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

鉴定在所述第一种和第二种概况之间的差异;

b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第三种概况,所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在治疗后分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物,在治疗后分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,在治疗后分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)的分析物,在治疗后分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和在治疗后分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

测定来自第二种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第四种概况,所述第二种对照包含选自下述的组分:在治疗后分离自从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞)的分析物,在治疗后分离自从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的对照细胞群体的分析物,其中所述对照细胞在治疗后基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

鉴定在所述第三种和第四种概况之间的差异;和

c) 鉴定在 a) 中鉴定的差异和在 b) 中鉴定的差异之间的差异,其中所述 c) 中鉴定的差异指示所述治疗对于所述受试者中的所述疾病或病状的功效。

14. 一种用于监视受试者中的疾病或病状的进展或消退的方法,其包括:

a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在第一个时间点分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物,在第一个时间点分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,在第一个时间点分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)的分析物,在第一个时间点分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和和在第一个时间点分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

测定来自第一种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述第一种对照包含选自下述的组分:在第一个时间点分离自从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞)的分析物,在第一个时间点分离自从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的对照细胞群体的分析物,其中

所述对照细胞在第一个时间点基本上不含受疾病或病状影响的细胞；

鉴定在所述第一种和第二种概况之间的差异；

b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第三种概况,所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在第二个时间点分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物,在第二个时间点分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,在第二个时间点分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)的分析物,在第二个时间点分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和和在第二个时间点分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物；

测定来自第二种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第四种概况,所述第二种对照包含选自下述的组分:在第二个时间点分离自从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞)的分析物,在第二个时间点分离自从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的对照细胞群体的分析物,其中所述对照细胞在第二个时间点基本上不含受疾病或病状影响的细胞；

鉴定在所述第三种和第四种概况之间的差异；和

c) 鉴定在 a) 中鉴定的差异和在 b) 中鉴定的差异之间的差异,其中所述 c) 中鉴定的差异指示所述受试者中的所述疾病或病状的进展或消退。

15. 一种用于鉴定能够改善或治疗受试者中的疾病或病状的化合物的方法,其包括：

a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在给受试者施用所述化合物前分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物,在给受试者施用所述化合物前分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,在给受试者施用所述化合物前分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)的分析物,在给受试者施用所述化合物前分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和和在给受试者施用所述化合物前分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物；

测定来自第一种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述第一种对照包含选自下述的组分:在给受试者施用所述化合物前分离自从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞)的分析物,在给受试者施用所述化合物前分离自从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的对照细胞群体的分析物,其中所述对照细胞在给受试者施用所述化合物前基本上不含受疾病或病状影响的细胞；

鉴定在所述第一种和第二种概况之间的差异；

b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第三种概况,所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在给受试者施用所述化合物后分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物,在给受试者施用所述化合物后分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,在给受试者施用所述化合物后分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)的分析物,在给受试者施用所述化合物后分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和和在给受试者施用所述化合物后分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物；

测定来自第二种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第四种概况,所述第二种对

照包含选自下述的组分：在给受试者施用所述化合物后分离自从所述受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体（ $= 2n$ 吞噬细胞）的分析物，在给受试者施用所述化合物后分离自从所述受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的对照细胞群体的分析物，其中所述对照细胞在给受试者施用所述化合物后基本上不含受疾病或病状影响的细胞；

鉴定在所述第三种和第四种概况之间的差异；和

c) 鉴定在 a) 中鉴定的差异和在 b) 中鉴定的差异之间的差异，其中所述 c) 中鉴定的差异指示所述化合物能够改善或治疗所述受试者中的所述疾病或病状。

16. 一种用于评价用于受试者中的疾病或病状的治疗的功效的方法，其包括：

a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况，所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在治疗前分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物，在治疗前从所述受试者中分离的吞噬细胞群体，在治疗前分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体（ $>2n$ 吞噬细胞）的分析物，在治疗前分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和在治疗前分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物；

b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第二种概况，所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在治疗后分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物，在治疗后分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物，在治疗后分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体（ $>2n$ 吞噬细胞）的分析物，在治疗后分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的对照细胞群体的分析物，其中所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞；和

c) 鉴定在所述第一种概况和第二种概况之间的差异，其中所述鉴定的差异指示所述治疗对于所述受试者中的所述疾病或病状的功效。

17. 一种用于监视受试者中的疾病或病状的进展或消退的方法，其包括：

a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况，所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在第一个时间点分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物，在第一个时间点分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物，在第一个时间点分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体（ $>2n$ 吞噬细胞）的分析物，在第一个时间点分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和和在第一个时间点分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物；

b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第二种概况，所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在第二个时间点分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物，在第二个时间点分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物，在第二个时间点分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体（ $>2n$ 吞噬细胞）的分析物，在第二个时间点分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和和在第二个时间点分离自从所述受试者中分离的对照细胞群体的分析物；和

c) 鉴定在所述第一种概况和第二种概况之间的差异，其中所述鉴定的差异指示所述受试者中的所述疾病或病状的进展或消退。

18. 一种用于鉴定能够改善或治疗受试者中的疾病或病状的化合物的方法,其包括:

a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在给受试者施用所述化合物前分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物,在给受试者施用所述化合物前分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,在给受试者施用所述化合物前分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)的分析物,在给受试者施用所述化合物前分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和在给受试者施用所述化合物前分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第二种概况,所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在给受试者施用所述化合物后分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物,在给受试者施用所述化合物后分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,在给受试者施用所述化合物后分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)的分析物,在给受试者施用所述化合物后分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和在给受试者施用所述化合物后分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;和

c) 鉴定在所述第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述鉴定的差异指示所述化合物能够改善或治疗所述受试者中的所述疾病或病状。

19. 一种用于诊断或帮助诊断受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:从所述受试者中分离的无细胞体液,从所述受试者中分离的吞噬细胞群体,从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),从所述受试者中分离的循环囊泡群体和从所述受试者中分离的循环患病细胞群体;和

b) 鉴定在来自所述疾病或状况的所述标记物储库的一种或多种标记物中的至少一种的第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示所述受试者中的所述疾病或病状的存在。

20. 一种用于评价受试者中发展疾病或病状的风险的方法,其包括:

a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:从所述受试者中分离的无细胞体液,从所述受试者中分离的吞噬细胞群体,从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),从所述受试者中分离的循环囊泡群体和从所述受试者中分离的循环患病细胞群体;和

b) 鉴定在来自所述疾病或状况的所述标记物储库的一种或多种标记物中的至少一种的第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示所述受试者中发展所述疾病或病状的风险。

21. 一种用于预测或帮助预测受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:从所述受试者中分离的无细胞体液,从所述受试者中分离的吞噬细胞群体,从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞

噬细胞),从所述受试者中分离的循环囊泡群体和从所述受试者中分离的循环患病细胞群体;和

b) 鉴定在来自所述疾病或状况的所述标记物储库的一种或多种标记物中的至少一种的第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示所述受试者中的所述疾病或病状的预测。

22. 一种用于诊断或帮助诊断受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的组分:分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物,分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;和

b) 鉴定在来自所述疾病或状况的所述标记物储库的一种或多种标记物中的至少一种的第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示所述受试者中的所述疾病或病状的存在。

23. 一种用于评价受试者中发展疾病或病状的风险的方法,其包括:

a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物,分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和分离自从所述受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;和

b) 鉴定在来自所述疾病或状况的所述标记物储库的一种或多种标记物中的至少一种的第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示所述受试者中发展所述疾病或病状的风险。

24. 一种用于预测或帮助预测受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:分离自从所述受试者中分离的无细胞体液的的分析物,分离自从所述受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,分离自从所述受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从所述受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和从所述受试者中分离的循环患病细胞群体;和

b) 鉴定在来自所述疾病或状况的所述标记物储库的一种或多种标记物中的至少一种的第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示所述受试者中的所述疾病或病状的预测。

25. 权利要求 1-3 和 10-12 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与所述对照相比较在所述样品中是上调的或活化的。

26. 权利要求 1-3 和 10-12 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与所述对照相比较在所述样品中是下调的或抑制的。

27. 权利要求 4-6 和 13-15 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与所述第一种对照相比较在所述第一种样品中是上调的或活化的,或者与所述第二种对照相比较在所述第二种样品中是上调的或活化的。

28. 权利要求 4-6 和 13-15 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与所述第一种对照相比较在所述第一种样品中是下调的或抑制的,或者与所述第二种对照相比较在所述第二种样品中是下调的或抑制的。

29. 权利要求 7-9 和 16-18 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与所述第二种样品相比较在所述第一种样品中是上调的或活化的。

30. 权利要求 7-9 和 16-18 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与所述第二种样品相比较在所述第一种样品中是下调的或抑制的。

31. 权利要求 19-24 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与所述储库相比较在所述样品中是上调的或活化的。

32. 权利要求 19-24 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与所述储库相比较在所述样品中是下调的或抑制的。

33. 权利要求 1-32 中任一项的方法,其中所述第一种概况或第二种概况包含所述疾病或状况的一种或多种标记物中的至少一种的不存在。

34. 权利要求 4-6 和 13-15 中任一项的方法,其中所述第三种概况或第四种概况包含所述疾病或状况的一种或多种标记物中的至少一种的不存在。

35. 权利要求 1-9 和 19-21 中任一项的方法,其中当所述方法包括循环患病细胞、不受疾病或状况影响的对照细胞、吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞时,所述方法进一步包括裂解所述循环患病细胞、不受疾病或状况影响的对照细胞、吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞。

36. 权利要求 1-9、19-21 和 35 中任一项的方法,其中当所述方法包括循环患病细胞、不受疾病或状况影响的对照细胞、吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞时,所述方法进一步包括从所述循环患病细胞、不受疾病或状况影响的对照细胞、吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞中提取细胞内容物中的至少一些。

37. 权利要求 1-9、19-21、35 和 36 中任一项的方法,其中当所述方法包括无细胞体液时,所述方法进一步包括从所述无细胞体液中提取一种或多种标记物。

38. 权利要求 1-9、19-21 中任一项的方法,其中当所述方法包括无细胞体液时,所述无细胞体液包含经肾核酸。

39. 权利要求 1-38 中任一项的方法,其中所述疾病或状况的一种或多种标记物中的至少一种存在于循环患病细胞、无细胞体液样品、吞噬细胞或 $>2n$ 吞噬细胞中。

40. 权利要求 1-39 中任一项的方法,其中所述疾病或状况的一种或多种标记物中的至少一种不存在于循环患病细胞、无细胞体液样品、吞噬细胞或 $>2n$ 吞噬细胞中。

41. 权利要求 1-40 中任一项的方法,其中所述循环患病细胞、不受疾病或状况影响的对照细胞、吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞是去核的。

42. 权利要求 41 的方法,其中使用物理去除、化学处理、光消融或紫外线照射对所述细胞进行去核。

43. 权利要求 42 的方法,其中所述物理去除使用微针、光镊或抽吸。

44. 权利要求 19-24 中任一项的方法,其中所述储库通过数据挖掘来获得。

45. 权利要求 1-44 中任一项的方法,其中所述吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞或 $= 2n$ 吞噬细胞是嗜中性粒细胞、巨噬细胞、单核细胞、树突状细胞、泡沫细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞、

角质形成细胞或其混合物。

46. 权利要求 1-45 中任一项的方法,其中所述非吞噬细胞是 T 细胞、B 细胞、裸细胞、嗜碱性粒细胞或其混合物。

47. 权利要求 1-46 中任一项的方法,其中所述循环患病细胞是血细胞、肿瘤细胞、淋巴瘤细胞、胎儿细胞、凋亡细胞、上皮细胞、内皮细胞、干细胞、祖细胞、间充质细胞、成骨细胞、骨细胞、造血干细胞、泡沫细胞、脂肪细胞、经宫颈细胞、循环心肌细胞、循环纤维细胞、循环肌细胞、来自肾的循环细胞、来自胃肠道的循环细胞、来自肺的循环细胞、来自生殖器官的循环细胞、来自中枢神经系统的循环细胞、循环肝细胞、来自脾的循环细胞、来自胸腺的循环细胞、来自甲状腺的循环细胞、来自内分泌腺的循环细胞、来自甲状旁腺的循环细胞、来自垂体的循环细胞、来自肾上腺的循环细胞、来自胰岛的循环细胞、来自胰腺的循环细胞、来自下丘脑的循环细胞、来自前列腺组织的循环细胞、来自乳腺组织的循环细胞、来自循环视网膜细胞的循环细胞、循环眼细胞、循环听细胞、循环表皮细胞、来自泌尿道的循环细胞或其混合物。

48. 权利要求 1-47 中任一项的方法,其中所述对照细胞是正常细胞。

49. 权利要求 1-48 中任一项的方法,其中所述对照细胞是循环细胞。

50. 权利要求 1-49 中任一项的方法,其中所述循环囊泡选自循环微泡、凋亡小体、微粒、膜结合的囊泡、多泡体、纳米囊泡、微粒和 ARRDC-1 介导的微泡 (ARMM)。

51. 权利要求 50 的方法,其中所述循环囊泡是外泌体或尿液外泌体。

52. 权利要求 1-51 中任一项的方法,其中所述无细胞液体从体液中分离。

53. 权利要求 52 的方法,其中所述体液是血液、尿、大便、唾液、淋巴液、脑脊髓液、滑膜液、囊液、腹水、胸腔积液、在孕早期从孕妇获得的液体、在孕中期从孕妇获得的液体、在孕晚期从孕妇获得的液体、母体血液、羊水、绒毛膜绒毛样品、来自植入前胚胎的液体、母体尿、母体唾液、胎盘样品、胎儿血液、灌洗及宫颈阴道液、间隙液、口腔拭子样品、痰、支气管灌洗、巴氏涂片样品或眼液。

54. 权利要求 52 和 53 中任一项的方法,其中所述无细胞液体通过下述分离:过滤、离心、流式细胞术、荧光激活细胞分选、基于梯度的离心、洗脱、微流体、磁性分离技术、荧光磁性分离技术、纳米结构、量子点、基于高通量显微镜的平台或其组合。

55. 权利要求 52-54 中任一项的方法,其中所述无细胞液体通过使用样品中存在的物质进行分离。

56. 权利要求 55 的方法,其中所述物质是所述疾病或状况的标记物的产物。

57. 权利要求 1-56 中任一项的方法,其中所述无细胞液体是血浆或血清。

58. 权利要求 1-57 中任一项的方法,其中所述吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞从受试者的体液、组织或细胞中分离。

59. 权利要求 58 的方法,其中所述体液样品是血液、尿、大便、唾液、淋巴液、脑脊髓液、滑膜液、囊液、腹水、胸腔积液、在孕早期从孕妇获得的液体、在孕中期从孕妇获得的液体、在孕晚期从孕妇获得的液体、母体血液、羊水、绒毛膜绒毛样品、来自植入前胚胎的液体、母体尿、母体唾液、胎盘样品、胎儿血液、灌洗及宫颈阴道液、间隙液、口腔拭子样品、痰、支气管灌洗、巴氏涂片样品或眼液。

60. 权利要求 58 的方法,其中所述细胞是白血细胞。

61. 权利要求 58-60 中任一项的方法,其中所述吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞使用抗体进行分离。

62. 权利要求 58-60 中任一项的方法,其中所述吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞通过下述进行分离:流式细胞术、荧光激活细胞分选、过滤、基于梯度的离心、洗脱、微流体、磁性分离技术、荧光磁性分离技术、纳米结构、量子点、基于高通量显微镜的平台或其组合。

63. 权利要求 1-62 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物是核酸、蛋白质、脂质、碳水化合物、代谢产物或其组合。

64. 权利要求 63 的方法,其中所述核酸是核苷酸、寡核苷酸、DNA、RNA 或 DNA-RNA 杂交物。

65. 权利要求 64 的方法,其中所述 DNA 是双链 DNA、单链 DNA、多链 DNA、互补 DNA、基因组 DNA 或非编码 DNA。

66. 权利要求 64 的方法,其中所述 RNA 是信使 RNA (mRNA)、微小 RNA (miRNA)、小核仁 RNA (snRNA)、核糖体 RNA (rRNA)、转移 RNA (tRNA)、小干扰 RNA (siRNA)、不均匀核 RNA (hnRNA) 或小发夹 RNA (shRNA)。

67. 权利要求 63 的方法,其中所述蛋白质是氨基酸、肽、酶、抗原、抗体、细胞因子、脂蛋白、糖蛋白或激素。

68. 权利要求 63 的方法,其中所述脂质是脂肪酸、中性脂肪、磷脂、胆固醇、胆固醇酯、甘油三酯、糖脂、甘油脂、甘油磷脂、鞘脂、固醇脂质、异戊烯醇脂质、糖脂质、聚酮、胆碱甘油磷脂、甘油磷脂乙醇胺、磷脂酰肌醇、磷脂酰甘油、磷脂酰丝氨酸、溶血胆碱甘油磷脂、溶血甘油磷脂乙醇胺、磷脂酸、溶血磷脂酸、鞘磷脂、半乳糖神经酰胺、葡萄糖神经酰胺、游离脂肪酸、前列腺素、三酰基甘油、二酰基甘油、单酰基甘油、酰基-CoA、酰基肉毒碱、氧固醇、神经酰胺、心磷脂、鞘氨醇碱-1-磷酸、鞘氨醇、溶血鞘磷脂、神经节苷脂、缩醛磷脂、硫脂、低密度脂蛋白 (LDL)、极低密度脂蛋白 (VLDL)、高密度脂蛋白 (HDL)、鞘氨醇碱-1-磷酸或其衍生物。

69. 权利要求 63 的方法,其中所述碳水化合物是单糖、二糖、多糖、寡糖或其衍生物。

70. 权利要求 63 的方法,其中所述代谢产物是初级代谢产物、次级代谢产物、有机代谢产物、无机代谢产物、前列腺素、羟基二十碳四烯酸、羟基十八碳二烯酸、类固醇、胆汁酸、维生素或其衍生物。

71. 权利要求 1-3、10-12 和 19-24 中任一项的方法,其中所述概况是核酸概况、蛋白质概况、脂质概况、碳水化合物概况、代谢产物概况或其组合。

72. 权利要求 65 的方法,其中所述概况通过定性测定法、定量测定法或其组合进行测定。

73. 权利要求 4-9 和 13-18 中任一项的方法,其中所述第一种概况或第二种概况是核酸概况、蛋白质概况、脂质概况、碳水化合物概况、代谢产物概况或其组合。

74. 权利要求 65 的方法,其中所述第一种概况或第二种概况通过定性测定法、定量测定法或其组合进行测定。

75. 权利要求 4-6 和 74 中任一项的方法,其中所述第三种概况或第四种概况是核酸概况、蛋白质概况、脂质概况、碳水化合物概况、代谢产物概况或其组合。

76. 权利要求 75 的方法,其中所述第三种概况或第四种概况通过定性测定法、定量测定法或其组合进行测定。

77. 权利要求 72、66 和 76 中任一项的方法,其中所述定量测定法使用测序、靶向测序、单分子实时测序、基于电子显微镜检查的测序、晶体管介导的测序、直接测序、随机鸟枪法测序、桑格双脱氧终止测序、外显子测序、全基因组测序、通过杂交的测序、焦磷酸测序、毛细管电泳、凝胶电泳、双链体测序、循环测序、单碱基延伸测序、固相测序、高通量测序、大规模平行信号测序、乳液 PCR、多重 PCR、在较低变性温度下共扩增-PCR(COLD-PCR)、通过可逆染料终止子的测序、配对末端测序、近期测序、外切核酸酶测序、通过连接的测序、短读测序、单分子测序、边测序边合成、实时测序、反向终止子测序、纳米孔测序、454 测序、Solexa 基因组分析仪测序、**SOLiD®** 测序、MS-PET 测序、质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间(MALDI-TOF)质谱法、电喷雾电离(ESI)质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间(SELDI-TOF)质谱法、四极飞行时间(Q-TOF)质谱法、大气压光电离质谱法(APPI-MS)、傅里叶变换质谱法(FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振(MALDI-FT-ICR)质谱法、二次离子质谱法(SIMS)、聚合酶链反应(PCR)分析、在较低变性温度下共扩增-PCR(COLD-PCR)、多重 PCR、定量 PCR、实时 PCR、荧光测定法、比色测定法、化学发光测定法或其组合。

78. 权利要求 77 的方法,其中所述核酸概况是基因分型概况、单核苷酸多态性概况、基因突变概况、基因拷贝数概况、DNA 甲基化概况、DNA 乙酰化概况、染色体剂量概况、基因表达概况或其组合。

79. 权利要求 77 的方法,其中所述核酸概况通过下述进行测定:聚合酶链反应(PCR)分析、测序分析、电泳分析、限制性片段长度多态性(RFLP)分析、RNA 印迹分析、定量 PCR、逆转录酶-PCR 分析(RT-PCR)、等位基因特异性寡核苷酸杂交分析、比较基因组杂交、异源双链体迁移率测定法(HMA)、单链构象多态性(SSCP)、变性梯度凝胶电泳(DGGE)、RNA 酶错配分析、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间(MALDI-TOF)质谱法、电喷雾电离(ESI)质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间(SELDI-TOF)质谱法、四极飞行时间(Q-TOF)质谱法、大气压光电离质谱法(APPI-MS)、傅里叶变换质谱法(FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振(MALDI-FT-ICR)质谱法、二次离子质谱法(SIMS)、表面等离子体共振、DNA 印迹分析、原位杂交、荧光原位杂交(FISH)、显色原位杂交(CISH)、免疫组织化学(IHC)、微阵列、比较基因组杂交、核型分析、多重连接依赖的探针扩增(MLPA)、短荧光片段的定量多重 PCR(QMPST)、显微镜检查、甲基化特异性 PCR(MSP)测定法、通过连接介导的 PCR 的 HpaII 微小片段富集(HELP)测定法、放射性乙酸盐标记测定法、比色 DNA 乙酰化测定法、染色质免疫沉淀结合微阵列(芯片上的 ChIP)测定法、限制性标记的基因组扫描、甲基化 DNA 免疫沉淀(MeDIP)、用于 DNA 腺嘌呤甲基转移酶活性的分子断裂光测定法、色谱分离、甲基化敏感性限制酶分析、亚硫酸氢盐驱动的非甲基化胞嘧啶至尿嘧啶转换、在较低变性温度下共扩增-PCR(COLD-PCR)、多重 PCR、甲基结合 PCR 分析或其组合。

80. 权利要求 77 的方法,其中所述核酸概况通过选自下述的测序技术进行测定:靶向测序、单分子实时测序、外显子测序、基于电子显微镜检查的测序、晶体管介导的测序、直接测序、随机鸟枪法测序、桑格双脱氧终止测序、全基因组测序、通过杂交的测序、焦磷酸测序、毛细管电泳、凝胶电泳、双链体测序、循环测序、单碱基延伸测序、固相测序、高通量测

序、大规模平行信号测序、乳液 PCR、在较低变性温度下共扩增 PCR (COLD-PCR)、多重 PCR、通过可逆染料终止子的测序、配对末端测序、近期测序、外切核酸酶测序、通过连接的测序、短读测序、单分子测序、边测序边合成、实时测序、反向终止子测序、纳米孔测序、454 测序、Solexa 基因组分析仪测序、**SOLiD®** 测序、MS-PET 测序、质谱法及其组合。

81. 权利要求 77 的方法,其中所述蛋白质概况是蛋白质表达概况、蛋白质活化概况或其组合。

82. 权利要求 77 的方法,其中所述蛋白质概况通过下述进行测定:免疫组织化学测定法、酶联免疫吸附测定法 (ELISA)、原位杂交、色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效液相色谱法 (HPLC)、气相色谱法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、放射性免疫测定法、显微镜检查、基于微流体芯片的测定法、表面等离子体共振、测序、蛋白质印迹测定法或其组合。

83. 权利要求 77 的方法,其中所述蛋白质活化概况包括测定一种或多种标记物的磷酸化状态、泛素化状态、肉豆蔻酰化状态、构象状态或其组合。

84. 权利要求 77 的方法,其中所述脂质概况通过下述进行测定:色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效液相色谱法 (HPLC)、气相色谱法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、放射性免疫测定法、基于微流体芯片的测定法、荧光检测、化学发光检测或其组合。

85. 权利要求 77 的方法,其中所述碳水化合物概况通过下述进行测定:色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效阴离子交换色谱法伴脉冲安培检测法 (HPAEC-PAD)、液相色谱法、气相色谱法、荧光测定法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、放射性免疫测定法、基于微流体芯片的测定法、荧光检测、化学发光检测或其组合。

86. 权利要求 1-85 中任一项的方法,其中所述受试者具有至少两种疾病或病状。

87. 权利要求 86 的方法,其中所述受试者具有至少一种产前或妊娠相关疾病或病状。

88. 权利要求 1-87 中任一项的方法,其中所述受试者是哺乳动物。

89. 权利要求 89 的方法,其中所述哺乳动物是人。

90. 权利要求 1-89 中任一项的方法,其中所述疾病或病状是心血管疾病或病状、肾相关疾病或病状、产前或妊娠相关的疾病或病状、神经学或神经精神性疾病或病状、自身免疫或免疫相关疾病或病状、癌症、传染性疾病或病状、线粒体紊乱、呼吸-胃肠道疾病或病状、生殖系统疾病或病状、眼疾病或病状、肌肉骨骼疾病或病状、或者皮肤疾病或病状。

91. 权利要求 1-90 中任一项的方法,其中所述差异是大于 1 倍差异。

92. 权利要求 91 的方法,其中所述差异是至少 1.05 倍、1.1 倍、1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍或 10 倍差异。

93. 权利要求 4-6 和 13-15 中任一项的方法,其中所述第二种概况和第四种概况是相同的。

94. 一种用于鉴定疾病或病状的一种或多种标记物的方法,其包括:

a) 测定来自样品的分析物的第一种概况,所述样品包含来自具有所述疾病或病状的受试者的无细胞体液,以及来自具有所述疾病或病状的受试者的吞噬细胞群体或 $>2n$ 吞噬细胞群体;

测定来自 $= 2n$ 吞噬细胞群体或非吞噬细胞群体的分析物的第二种概况,所述细胞群体来自具有所述疾病或病状的受试者;

鉴定在所述第一种和第二种概况之间的一组差异,其中所述第一组差异相对于第二种概况对于第一种概况是特异性的;

b) 测定来自样品的分析物的第三种概况,所述样品包含来自具有所述疾病或病状的受试者的无细胞体液,以及来自不具有所述疾病或病状的对照受试者的吞噬细胞群体或 $>2n$ 吞噬细胞群体;

测定来自 $= 2n$ 吞噬细胞群体或非吞噬细胞群体的分析物的第四种概况,所述细胞群体来自不具有所述疾病或病状的对照受试者;

鉴定在所述第三种和第四种概况之间的一组差异,其中所述第二组差异相对于第四种概况对于第三种概况是特异性的;和

c) 鉴定相对于 b) 中鉴定的一组差异对于 a) 中鉴定的一组差异特异性的一种或多种分析物,在 c) 中鉴定的分析物是所述疾病或病状的标记物。

95. 一种用于鉴定疾病或病状的一种或多种标记物的方法,其包括:

a) 测定来自样品的分析物的第一种概况,所述样品包含来自具有所述疾病或病状的受试者的无细胞体液,以及来自具有所述疾病或病状的受试者的吞噬细胞群体或 $>2n$ 吞噬细胞群体;

b) 比较第一种概况与衍生自分析物储库的第二种概况,所述分析物储库来自不具有所述疾病或病状的对照受试者;

c) 鉴定在所述第一种和第二种概况之间的一组差异,其中所述一组差异相对于第二种概况对于第一种概况是特异性的;

d) 鉴定对于所述一组差异特异性的一种或多种分析物,所述鉴定的分析物是所述疾病或病状的标记物。

96. 权利要求 95 的方法,其进一步包括:

a) 获得来自具有所述疾病或病状的受试者中受所述疾病或病状影响的细胞或组织的分析物的第五种概况;

获得来自具有所述疾病或病状的受试者中不受所述疾病或病状影响的细胞或组织的分析物的第六种概况;

鉴定在第五种和第六种概况之间的一组差异,其中所述一组差异相对于第六种概况对于第五种概况是特异性的;和

b) 鉴定在 d) 中鉴定的一组差异中存在的 c) 的一种或多种标记物中的至少一种。

97. 权利要求 90-96 中任一项的方法,其进一步包括从无细胞体液中提取一种或多种标记物。

98. 权利要求 90-97 中任一项的方法,其进一步包括在 a) 前裂解所述吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞。

99. 权利要求 90-98 中任一项的方法,其进一步包括在 a) 前从所述吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞中提取细胞组分中的至少一些。

100. 权利要求 90-99 中任一项的方法,其中所述吞噬细胞或 $>2n$ 吞噬细胞包含活的患病细胞、死的患病细胞、细胞凋亡的患病细胞、循环肿瘤细胞、传染剂、胎儿细胞、滋养层细胞或其片段。

101. 权利要求 90-100 中任一项的方法,其中所述疾病或病状的一种或多种标记物中的至少一种存在于所述无细胞体液样品、吞噬细胞或 $>2n$ 吞噬细胞中。

102. 权利要求 90-101 中任一项的方法,其中所述疾病或病状的一种或多种标记物中的至少一种不存在于所述无细胞体液样品、吞噬细胞或 $>2n$ 吞噬细胞中。

103. 权利要求 90-102 中任一项的方法,其进一步包括比较 c) 中鉴定的差异与所述疾病或病状的一种或多种已知标记物的储库。

104. 权利要求 97 的方法,其中所述储库通过数据挖掘获得。

105. 权利要求 90-104 中任一项的方法,其中所述吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞或 $= 2n$ 吞噬细胞是嗜中性粒细胞、巨噬细胞、单核细胞、树突状细胞、泡沫细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞、角质形成细胞或其混合物。

106. 权利要求 90-105 中任一项的方法,其中所述非吞噬细胞是 T 细胞、B 细胞、裸细胞、嗜碱性粒细胞或其混合物。

107. 权利要求 90-106 中任一项的方法,其中所述无细胞体液从体液中分离。

108. 权利要求 107 的方法,其中所述体液是血液、尿、大便、唾液、淋巴液、脑脊髓液、滑膜液、囊液、腹水、胸腔积液、在孕早期从孕妇获得的液体、在孕中期从孕妇获得的液体、在孕晚期从孕妇获得的液体、母体血液、羊水、绒毛膜绒毛样品、来自植入前胚胎的液体、母体尿、母体唾液、胎盘样品、胎儿血液、灌注及宫颈阴道液、间隙液或眼液。

109. 权利要求 107 和 108 中任一项的方法,其中所述无细胞液体样品通过下述分离: 过滤、离心、流式细胞术、荧光激活细胞分选、基于梯度的离心、洗脱、微流体、磁性分离技术、荧光磁性分离技术、纳米结构、量子点、基于高通量显微镜的平台或其组合。

110. 权利要求 109 的方法,其中所述无细胞液体样品通过使用样品中存在的物质进行分离。

111. 权利要求 90-110 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物是核酸、蛋白质、脂质、碳水化合物、代谢产物或其组合。

112. 权利要求 111 的方法,其中所述核酸是核苷酸、寡核苷酸、DNA、RNA 或 DNA-RNA 杂交物。

113. 权利要求 112 的方法,其中所述 DNA 是双链 DNA、单链 DNA、多链 DNA、互补 DNA、基因组 DNA 或非编码 DNA。

114. 权利要求 112 的方法,其中所述 RNA 是信使 RNA (mRNA)、微小 RNA (miRNA)、小

核仁 RNA (snoRNA)、核糖体 RNA (rRNA)、转移 RNA (tRNA)、小干扰 RNA (siRNA)、不均匀核 RNA (hnRNA) 或小发夹 RNA (shRNA)。

115. 权利要求 111 的方法,其中所述蛋白质是氨基酸、肽、酶、抗原、抗体、细胞因子、脂蛋白、糖蛋白或激素。

116. 权利要求 111 的方法,其中所述脂质是脂肪酸、中性脂肪、磷脂、胆固醇、胆固醇酯、甘油三酯、糖脂、甘油酯、甘油磷脂、鞘脂、固醇脂质、异戊烯醇脂质、糖脂质、聚酮、胆碱甘油磷脂、甘油磷脂乙醇胺、磷脂酰肌醇、磷脂酰甘油、磷脂酰丝氨酸、溶血胆碱甘油磷脂、溶血甘油磷脂乙醇胺、磷脂酸、溶血磷脂酸、鞘磷脂、半乳糖神经酰胺、葡萄糖神经酰胺、游离脂肪酸、前列腺素、三酰基甘油、二酰基甘油、单酰基甘油、酰基-CoA、酰基肉毒碱、氧固醇、神经酰胺、心磷脂、鞘氨醇碱-1-磷酸、鞘氨醇、溶血鞘磷脂、神经节苷脂、缩醛磷脂、硫脂、低密度脂蛋白 (LDL)、极低密度脂蛋白 (VLDL)、高密度脂蛋白 (HDL)、鞘氨醇碱-1-磷酸或其衍生物。

117. 权利要求 111 的方法,其中所述碳水化合物是单糖、二糖、多糖、寡糖或其衍生物。

118. 权利要求 111 的方法,其中所述代谢产物是初级代谢产物、次级代谢产物、有机代谢产物、无机代谢产物、前列腺素、羟基二十碳四烯酸、羟基十八碳二烯酸、类固醇、胆汁酸、维生素或其衍生物。

119. 权利要求 90-118 中任一项的方法,其中所述概况是核酸概况、蛋白质概况、脂质概况、碳水化合物概况、代谢产物概况或其组合。

120. 权利要求 119 的方法,其中所述概况通过定性测定法、定量测定法或其组合进行测定。

121. 权利要求 120 的方法,其中所述定量测定法使用测序、靶向测序、单分子实时测序、外显子测序、基于电子显微镜检查的测序、晶体管介导的测序、直接测序、随机鸟枪法测序、桑格双脱氧终止测序、全基因组测序、通过杂交的测序、焦磷酸测序、毛细管电泳、凝胶电泳、双链体测序、循环测序、单碱基延伸测序、固相测序、高通量测序、大规模平行信号测序、乳液 PCR、在较低变性温度下共扩增-PCR (COLD-PCR)、多重 PCR、通过可逆染料终止子的测序、配对末端测序、近期测序、外切核酸酶测序、通过连接的测序、短读测序、单分子测序、边测序边合成、实时测序、反向终止子测序、纳米孔测序、454 测序、Solexa 基因组分析仪测序、**SOLID®**测序、MS-PET 测序、质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、聚合酶链反应 (PCR) 分析、定量 PCR、实时 PCR、荧光测定法、比色测定法、化学发光测定法或其组合。

122. 权利要求 119 的方法,其中所述核酸概况是基因分型概况、单核苷酸多态性概况、基因突变概况、基因拷贝数概况、DNA 甲基化概况、DNA 乙酰化概况、染色体剂量概况、基因表达概况或其组合。

123. 权利要求 119 的方法,其中所述核酸概况通过下述进行测定:聚合酶链反应 (PCR) 分析、测序分析、电泳分析、限制性片段长度多态性 (RFLP) 分析、RNA 印迹分析、定量 PCR、逆转录酶-PCR 分析 (RT-PCR)、等位基因特异性寡核苷酸杂交分析、比较基因组杂交、异源

双链体迁移率测定法 (HMA)、单链构象多态性 (SSCP)、变性梯度凝胶电泳 (DGGE)、RNA 酶错配分析、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸 / 电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸 / 电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸 / 电离 - 傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、表面等离子体共振、DNA 印迹分析、原位杂交、荧光原位杂交 (FISH)、显色原位杂交 (CISH)、免疫组织化学 (IHC)、微阵列、比较基因组杂交、核型分析、多重连接依赖的探针扩增 (MLPA)、短荧光片段的定量多重 PCR (QMPSF)、显微镜检查、甲基化特异性 PCR (MSP) 测定法、通过连接介导的 PCR 的 HpaII 微小片段富集 (HELP) 测定法、放射性乙酸盐标记测定法、比色 DNA 乙酰化测定法、染色质免疫沉淀结合微阵列 (芯片上的 ChIP) 测定法、限制性标记的基因组扫描、甲基化 DNA 免疫沉淀 (MeDIP)、用于 DNA 腺嘌呤甲基转移酶活性的分子断裂光测定法、色谱分离、甲基化敏感性限制酶分析、亚硫酸氢盐驱动的非甲基化胞嘧啶至尿嘧啶转换、在较低变性温度下共扩增 -PCR (COLD-PCR)、多重 PCR、甲基结合 PCR 分析或其组合。

124. 权利要求 119 的方法, 其中所述核酸概况通过选自下述的测序技术进行测定: 靶向测序、单分子实时测序、外显子测序、基于电子显微镜检查的测序、晶体管介导的测序、直接测序、随机鸟枪法测序、桑格双脱氧终止测序、全基因组测序、通过杂交的测序、焦磷酸测序、毛细管电泳、凝胶电泳、双链体测序、循环测序、单碱基延伸测序、固相测序、高通量测序、大规模平行信号测序、乳液 PCR、在较低变性温度下共扩增 -PCR (COLD-PCR)、多重 PCR、通过可逆染料终止子的测序、配对末端测序、近期测序、外切核酸酶测序、通过连接的测序、短读测序、单分子测序、边测序边合成、实时测序、反向终止子测序、纳米孔测序、454 测序、Solexa 基因组分析仪测序、**SOLiD®** 测序、MS-PET 测序、质谱法及其组合。

125. 权利要求 119 的方法, 其中所述蛋白质概况是蛋白质表达概况、蛋白质活化概况或其组合。

126. 权利要求 119 的方法, 其中所述蛋白质概况通过下述进行测定: 免疫组织化学测定法、酶联免疫吸附测定法 (ELISA)、原位杂交、色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效液相色谱法 (HPLC)、气相色谱法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸 / 电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸 / 电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸 / 电离 - 傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、放射性免疫测定法、显微镜检查、基于微流体芯片的测定法、表面等离子体共振、测序、蛋白质印迹测定法或其组合。

127. 权利要求 119 的方法, 其中所述蛋白质活化概况包括测定一种或多种标记物的磷酸化状态、泛素化状态、肉豆蔻酰化状态、构象状态或其组合。

128. 权利要求 119 的方法, 其中所述脂质概况通过下述进行测定: 色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效液相色谱法 (HPLC)、气相色谱法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸 / 电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸 / 电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸 / 电离 - 傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、放射性免疫测定法、基于微流体芯

片的测定法、荧光检测、化学发光检测或其组合。

129. 权利要求 119 的方法,其中所述碳水化合物概况通过下述进行测定:色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效阴离子交换色谱法伴脉冲安培检测法(HPAEC-PAD)、液相色谱法、气相色谱法、荧光测定法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间(MALDI-TOF)质谱法、电喷雾电离(ESI)质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间(SELDI-TOF)质谱法、四极飞行时间(Q-TOF)质谱法、大气压光电离质谱法(APPI-MS)、傅里叶变换质谱法(FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振(MALDI-FT-ICR)质谱法、二次离子质谱法(SIMS)、放射性免疫测定法、基于微流体芯片的测定法、荧光检测、化学发光检测或其组合。

130. 权利要求 90-129 中任一项的方法,其中所述受试者是哺乳动物。

131. 权利要求 130 的方法,其中所述哺乳动物是人。

132. 权利要求 90-131 中任一项的方法,其中所述疾病或病状是心血管疾病或病状、肾相关疾病或病状、产前或妊娠相关的疾病或病状、神经学或神经精神性疾病或病状、自身免疫或免疫相关疾病或病状、癌症、传染性疾病或病状、线粒体紊乱、呼吸-胃肠道疾病或病状、生殖系统疾病或病状、眼疾病或病状、肌肉骨骼疾病或病状、或者皮肤疾病或病状。

133. 权利要求 90-132 中任一项的方法,其中所述差异是大于 1 倍差异。

134. 权利要求 133 的方法,其中所述差异是至少 1.05 倍、1.1 倍、1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍或 10 倍差异。

135. 权利要求 1-93 中任一项的方法,其进一步包括测定所述疾病或病状的至少一种诊断参数。

136. 权利要求 135 的方法,其中所述诊断参数通过下述进行测定:身体检查、视力检查、活组织检查、扫描、组织学、放射学、成像、超声、使用商业试剂盒、基因测试、免疫学测试、体液分析或监视神经活动。

137. 权利要求 1-93 和 135-136 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:AKT2、BAK1、EGFR、ERBB2、ETS2、FOS、JUN、MAP2K1、MMP2、PDGFB、RB1、SERPINB2、SNCG 和 SPP1。

138. 权利要求 1-93 和 135-137 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:AKT1、AKT2、BAK2、CDC25A、E2F1、EGFR、ERBB2、FOS、JUN、MAP2K1、MMP2、NFKB1、PDGFB、PIK3R1、PNN、RB1、SERPINB2、SERPINB5、SNCG、SPP1、TERT、TIMP3 和 TP53。

139. 权利要求 1-93 和 135-138 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:CASP8、CASP9、COL18A1、ETS2、HTATIP2、MMP9、SRC 和 TWIST1。

140. 权利要求 1-93 和 135-139 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:AKT1、APAF1、ATM、CDC25A、CDKN1A、ETS2、FOS、IL8、ITGA4、ITGA6、ITGAV、JUN、MAP2K1、NFKBIA、PLAU、PLAUR、RAF1、SERPINB2、SYK、TIMP1、TNF、TNFRSF10B 和 TNFRSF1A。

141. 权利要求 1-93 和 135-140 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:ACP2、AK2、AKT3、ARL5B、ATP2B3、BGN、BRAF、BTG2、CAMKK2、CAPG、CAPN12、CPLX2、DENND5A、DNA2、FAM104A、FNIP1、GFRA4、GLUD1、GNAQ、GP1BB、HNRPLL、HOXA2、HPS3、INPP4A、ITGAV、KLHL23、LANCL2、LYPD6、MAPKAPK3、MEF2A(包括 EG:4205)、MEF2C、NVL、

PCYT1A、PGLYRP4、PLOD1、PPP1CB、PRKAB2、PROS1、PTPRE、RASA4(包括EG:10156)、RBMS2、RBPJ、STAT5B、THBS1、TRIB1、TRIM2、TSPAN6和ZDHHC21。

142. 权利要求 1-93 和 135-141 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因: B4GALT5、BOP1、CCL2、CCL3、CCL3L1、CCRL2、CD83、CLEC4G、CLIC4、CTSC、CTSO、CXCL10、FCGR3A、FPR3、HBA1、HBB、LRMP、MAP1LC3B2、MS4A4A、MSR1、MYADML、NID1、PF4、PION、RNF217、SAMD9L、SERPING1 和 SPARC。

143. 权利要求 1-93 和 135-142 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因: ACOT9、AMPD2、ARHGAP15、BATF2、C3AR1、C5orf41、CCL3、CCL3L1、CD63、CHST11、CHSY1、CLEC4G、CTSZ、CXorf21、CYTH4、CYTIP、DLEU2、DNAJA1、DOCK8、DTX3L、DUSP6、EPSTI1、ERF、F2RL1、FYB、GABRB2、GBP5、GLRX、GNB4、ICAM1、IFI35、IFIH1、IFNAR2、IL1R1、IRF1、ITGA5、LAP3、LAPTM5、LCP2、MAP1LC3B、MAP1LC3B2、MICAL2、MT1DP、MT1JP、MT1M、MT2A、MYADML、NEK6、NINJ2、NNMT、NT5C3L、NUB1、PDE4B、PLOD1、PML、PRKCB、PSMB9、RCN3、RGS4、RNASE6、RTP4、SAMD9L、SEL1L、SERPING1、SETX、SIGLEC10、SKIL、SLC7A7、SNORA21、SP100、SP110、SP140、SSFA2、STAT2、STK17B、STK3、TDRD7、TMCC1、TMPRSS11E2、TNFRSF1B、TPM1、TRIM21、TXNDC4、UBE2L6、UBE2W、USP18、VAV1、WARS、WIPF1 和 WIPI1。

144. 权利要求 1-93 和 135-143 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因: ADAR、ADM、ALAS1、ANKRD22、ARHGAP27、B3GNT5、BCL10、C12orf35、C15orf29、C2orf59、CD177、CEACAM1、CPEB2、DDX58、F2RL1、GDPD3、GNAI3、HIST2H3A、HIST2H3D、HIST2H4A、HMGCR、HSPA6、HSPC159、IL4R、IMPA2、KPNB1、KREMEN1、KRT23、LDLR、LOC100130904、LTB4R、MAEA、MARK2、MBOAT2、MPZL3、N4BP1、NBEAL2、NMI、NPEPPS、PARP14、PGM2、PIPF、PXN、RALBP1、ROD1、RPS6KA1、S100P、SERTAD2、SLC9A1、SLPI、SP110、SPINT1、ST14、TBC1D3、TNFRSF9、TRIM21、UPP1、VPS24、ZBTB34 和 ZNF256。

145. 权利要求 1-93 和 135-144 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含通过权利要求 94-134 中任一项的方法鉴定的标记物中的至少一种或多种。

146. 一种包含多种标记物检测试剂的试剂盒,所述标记物检测试剂检测通过权利要求 94-134 中任一项的方法鉴定的标记物中的至少一种或多种。

147. 一种治疗或预防受试者中的疾病或病状的方法,其包括给所述受试者施用包含通过权利要求 6 和 15 中任一项的方法鉴定的化合物的组合物。

148. 权利要求 1-93 和 135-145 中任一项的方法,其中所述循环患病细胞被传染剂感染。

149. 权利要求 148 的方法,其中所述传染剂是病毒、细菌、真菌、寄生虫、原生动物、传染性蛋白质或微生物。

150. 权利要求 1-93、135-145 和 148-149 中任一项的方法,其中当所述方法包括吞噬细胞或 $>2n$ 吞噬细胞时,所述吞噬细胞或 $>2n$ 吞噬细胞包含经肾核酸。

检测疾病或病状的方法

[0001] 优先权信息

[0002] 本申请要求于 2012 年 6 月 15 日提交的美国临时申请 61/660,427 的优先权。所述申请的内容和公开内容通过引用整体并入本文。

发明领域

[0003] 本发明一般涉及在疾病或病状的诊断、预后或监视中使用选自无细胞体液、吞噬细胞、循环囊泡和循环患病细胞中的两种或更多种不同组分的组合的方法。本发明还涉及使用该组合鉴定疾病或病状的标记物的方法。

[0004] 发明背景

[0005] 白细胞开始于骨髓中的多能造血干细胞,并且沿骨髓谱系(单核细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞)或淋巴谱系(T和B淋巴细胞以及天然杀伤细胞)发育。骨髓谱系细胞(例如嗜中性粒细胞和巨噬细胞)的主要功能是对传染性生物体、活的不希望的受损细胞、老化和死细胞(细胞凋亡和坏死)的吞噬作用,以及细胞碎片的清除。来自健康动物的吞噬细胞不复制且是二倍体,即具有 $2n$ 的DNA含量。平均而言,每个细胞含有 $<10\text{ng}$ DNA、 $<20\text{ng}$ RNA和 $<300\text{ng}$ 蛋白质。非吞噬细胞也是二倍体的,并且不涉及死细胞或传染性生物体的内在化,并且也具有 $2n$ 的DNA含量。

[0006] 多种白血细胞亚群的寿命从数天(例如嗜中性粒细胞)到几个月(例如巨噬细胞)不等。如同其他细胞类型,白细胞变老且最终死亡。在其衰老过程期间,人血液和组织衍生的吞噬细胞(例如嗜中性粒细胞)显示出程序性细胞死亡(即细胞凋亡)的所有典型标记物,包括半胱天冬酶活化、固缩核和染色质破裂。这些细胞还在其质膜的细胞外表面上显示出许多“吃我”标志(例如磷脂酰丝氨酸、糖)。因此,濒死和死细胞及其亚细胞片段通过其他吞噬细胞从组织和血液中被清除。

[0007] 疾病的早期诊断通常增加此类疾病的成功治疗或治愈的可能性。然而,目前诊断方法集中于使用全血或将血液分开成不同组分,在所述组分中选择单一组分用于测试。尽管这种方法可以富集待检测的信号,但它还导致潜在重要信息的丢失。需要允许诊断尤其是早期诊断个体中的疾病或病状存在的个性化诊断方法,所述个体未知具有疾病或具有复发性疾病。

[0008] 本发明的一个目的是提供诊断方法,所述诊断方法通过使用选自无细胞体液、吞噬细胞、循环囊泡和循环患病细胞中的两种或更多种不同组分的组合,可以促进疾病或病状特异性标记物例如核酸、蛋白质、碳水化合物和/或脂质等等的检测。本发明的另一个目的是提供鉴定疾病或病状特异性标记物的方法,以及此类标记物单独或连同任何已知标记物一起诊断疾病或病状的进一步用途。

[0009] 发明概述

[0010] 本发明的一些实施方案是:

[0011] 1. 用于诊断或帮助诊断受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

[0012] a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含

选自下述的两种或更多种不同组分：从受试者中分离的无细胞体液，从受试者中分离的吞噬细胞群体，从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)，从受试者中分离的循环囊泡群体和从受试者中分离的循环患病细胞群体；

[0013] b) 测定来自对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况，所述对照包含选自下述的组分：从受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞)，从受试者中分离的非吞噬细胞群体和从受试者中分离的对照细胞群体，其中所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞；和

[0014] c) 鉴定在第一种和第二种概况之间的差异，其中所述差异指示受试者中的所述疾病或病状的存在。

[0015] 2. 用于评价受试者中发展疾病或病状的风险的方法，其包括：

[0016] a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况，所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：从受试者中分离的无细胞体液，从受试者中分离的吞噬细胞群体，从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)，从受试者中分离的循环囊泡群体和从受试者中分离的循环患病细胞群体；

[0017] b) 测定来自对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况，所述对照包含选自下述的组分：从受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞)，从受试者中分离的非吞噬细胞群体和从受试者中分离的对照细胞群体，其中所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞；和

[0018] c) 鉴定在第一种和第二种概况之间的差异，其中所述差异指示受试者中发展所述疾病或病状的风险。

[0019] 3. 用于预测或帮助预测受试者中的疾病或病状的方法，其包括：

[0020] a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况，所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：从受试者中分离的无细胞体液，从受试者中分离的吞噬细胞群体，从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)，从受试者中分离的循环囊泡群体和从受试者中分离的循环患病细胞群体；

[0021] b) 测定来自对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况，所述对照包含选自下述的组分：从受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞)，从受试者中分离的非吞噬细胞群体和从受试者中分离的对照细胞群体，其中所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞；和

[0022] c) 鉴定在第一种和第二种概况之间的差异，其中所述差异指示受试者中的所述疾病或病状的预测。

[0023] 4. 用于评价对于受试者中的疾病或病状的治疗功效的方法，其包括：

[0024] a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况，所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在治疗前从受试者中分离的无细胞体液，在治疗前从受试者中分离的吞噬细胞群体，在治疗前从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)，在治疗前从受试者中分离的循环囊泡群体和在治疗前从受试者中分离的循环患病细胞群体；

[0025] 测定来自第一种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况，所述第一种对照包含选自下述的组分：在治疗前从受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群

体 (= 2n 吞噬细胞), 在治疗前从受试者中分离的非吞噬细胞群体和从受试者中分离的对照细胞群体, 其中所述对照细胞在治疗前基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

[0026] 鉴定在第一种和第二种概况之间的差异;

[0027] b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第三种概况, 所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分: 在治疗后从受试者中分离的无细胞体液, 在治疗后从受试者中分离的吞噬细胞群体, 在治疗后从受试者中分离的具有大于 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (>2n 吞噬细胞), 在治疗后从受试者中分离的循环囊泡群体和在治疗后从受试者中分离的循环患病细胞群体;

[0028] 测定来自第二种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第四种概况, 所述第二种对照包含选自下述的组分: 在治疗后从受试者中分离的具有 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (= 2n 吞噬细胞), 在治疗后从受试者中分离的非吞噬细胞群体和从受试者中分离的对照细胞群体, 其中所述对照细胞在治疗后基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

[0029] 鉴定在第三种和第四种概况之间的差异; 和

[0030] c) 鉴定在 a) 中鉴定的差异和在 b) 中鉴定的差异之间的差异, 其中所述 c) 中鉴定的差异指示该治疗对于受试者中的所述疾病或病状的功效。

[0031] 5. 用于监视受试者中的疾病或病状的进展或消退的方法, 其包括:

[0032] a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况, 所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分: 在第一个时间点从受试者中分离的无细胞体液, 在第一个时间点从受试者中分离的吞噬细胞群体, 在第一个时间点从受试者中分离的具有大于 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (>2n 吞噬细胞), 在第一个时间点从受试者中分离的循环囊泡群体和在第一个时间点从受试者中分离的循环患病细胞群体;

[0033] 测定来自第一种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况, 所述第一种对照包含选自下述的组分: 在第一个时间点从受试者中分离的具有 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (= 2n 吞噬细胞), 在第一个时间点从受试者中分离的非吞噬细胞群体和从受试者中分离的对照细胞群体, 其中所述对照细胞在第一个时间点基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

[0034] 鉴定在第一种和第二种概况之间的差异;

[0035] b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第三种概况, 所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分: 在第二个时间点从受试者中分离的无细胞体液, 在第二个时间点从受试者中分离的吞噬细胞群体, 在第二个时间点从受试者中分离的具有大于 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (>2n 吞噬细胞), 在第二个时间点从受试者中分离的循环囊泡群体和在第二个时间点从受试者中分离的循环患病细胞群体;

[0036] 测定来自第二种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第四种概况, 所述第二种对照包含选自下述的组分: 在第二个时间点从受试者中分离的具有 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (= 2n 吞噬细胞), 在第二个时间点从受试者中分离的非吞噬细胞群体和从受试者中分离的对照细胞群体, 其中所述对照细胞在第二个时间点基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

[0037] 鉴定在第三种和第四种概况之间的差异; 和

[0038] c) 鉴定在 a) 中鉴定的差异和在 b) 中鉴定的差异之间的差异, 其中所述 c) 中鉴定

的差异指示受试者中的所述疾病或病状的进展或消退。

[0039] 6. 用于鉴定能够改善或治疗受试者中的疾病或病状的化合物的方法,其包括:

[0040] a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在给受试者施用所述化合物前从受试者中分离的无细胞体液,在给受试者施用所述化合物前从受试者中分离的吞噬细胞群体,在给受试者施用所述化合物前从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),在给受试者施用所述化合物前从受试者中分离的循环囊泡群体和在给受试者施用所述化合物前从受试者中分离的循环患病细胞群体;

[0041] 测定来自第一种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述第一种对照包含选自下述的组分:在给受试者施用所述化合物前从受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞),在给受试者施用所述化合物前从受试者中分离的非吞噬细胞群体和从受试者中分离的对照细胞群体,其中所述对照细胞在给受试者施用所述化合物前基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

[0042] 鉴定在第一种和第二种概况之间的差异;

[0043] b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第三种概况,所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在给受试者施用所述化合物后从受试者中分离的无细胞体液,在给受试者施用所述化合物后从受试者中分离的吞噬细胞群体,在给受试者施用所述化合物后从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),在给受试者施用所述化合物后从受试者中分离的循环囊泡群体和在给受试者施用所述化合物后从受试者中分离的循环患病细胞群体;

[0044] 测定来自第二种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第四种概况,所述第二种对照包含选自下述的组分:在给受试者施用所述化合物后从受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞),在给受试者施用所述化合物后从受试者中分离的非吞噬细胞群体和从受试者中分离的对照细胞群体,其中所述对照细胞在给受试者施用所述化合物后基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

[0045] 鉴定在第三种和第四种概况之间的差异;和

[0046] c) 鉴定在 a) 中鉴定的差异和在 b) 中鉴定的差异之间的差异,其中所述 c) 中鉴定的差异指示该化合物能够改善或治疗受试者中的所述疾病或病状。

[0047] 7. 用于评价用于受试者中的疾病或病状的治疗的功效的方法,其包括:

[0048] a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在治疗前从受试者中分离的无细胞体液,在治疗前从受试者中分离的吞噬细胞群体,在治疗前从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),在治疗前从受试者中分离的循环囊泡群体和在治疗前从受试者中分离的循环患病细胞群体;

[0049] b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第二种概况,所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在治疗后从受试者中分离的无细胞体液,在治疗后从受试者中分离的吞噬细胞群体,在治疗后从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),在治疗后从受试者中分离的循环囊泡群体和从受试者中分离的循环患病细胞群体;和

[0050] c) 鉴定在第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述鉴定的差异指示该治疗对于受试者中的所述疾病或病状的功效。

[0051] 8. 用于监视受试者中的疾病或病状的进展或消退的方法,其包括:

[0052] a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在第一个时间点从受试者中分离的无细胞体液,在第一个时间点从受试者中分离的吞噬细胞群体,在第一个时间点从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),在第一个时间点从受试者中分离的循环囊泡群体和在第一个时间点从受试者中分离的循环患病细胞群体;

[0053] b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第二种概况,所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在第二个时间点从受试者中分离的无细胞体液,在第二个时间点从受试者中分离的吞噬细胞群体,在第二个时间点从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),在第二个时间点从受试者中分离的循环囊泡群体和从受试者中分离的循环患病细胞群体;和

[0054] c) 鉴定在第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述鉴定的差异指示受试者中的所述疾病或病状的进展或消退。

[0055] 9. 用于鉴定能够改善或治疗受试者中的疾病或病状的化合物的方法,其包括:

[0056] a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在给受试者施用所述化合物前从受试者中分离的无细胞体液,在给受试者施用所述化合物前从受试者中分离的吞噬细胞群体,在给受试者施用所述化合物前从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),在给受试者施用所述化合物前从受试者中分离的循环囊泡群体和在给受试者施用所述化合物前从受试者中分离的循环患病细胞群体;

[0057] b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第二种概况,所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在给受试者施用所述化合物后从受试者中分离的无细胞体液,在给受试者施用所述化合物后从受试者中分离的吞噬细胞群体,在给受试者施用所述化合物后从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),在给受试者施用所述化合物后从受试者中分离的循环囊泡群体和从受试者中分离的循环患病细胞群体;和

[0058] c) 鉴定在第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述鉴定的差异指示该化合物能够改善或治疗受试者中的所述疾病或病状。

[0059] 10. 用于诊断或帮助诊断受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

[0060] a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的组分:分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物,分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,分离自从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)的分析物,分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

[0061] b) 测定来自对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述对照包含选自下述的组分:分离自从受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞)的分析物,分离自从受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从受试者中

分离的对照细胞群体的分析物,其中所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞;
和

[0062] c) 鉴定在第一种和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示受试者中的所述疾病或病状的存在。

[0063] 11. 用于评价受试者中发展疾病或病状的风险的方法,其包括:

[0064] a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物,分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,分离自从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

[0065] b) 测定来自对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述对照包含选自下述的组分:分离自从受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从受试者中分离的对照细胞群体的分析物,其中所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞;
和

[0066] c) 鉴定在第一种和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示受试者中发展所述疾病或病状的风险。

[0067] 12. 用于预测或帮助预测受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

[0068] a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物,分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,分离自从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

[0069] b) 测定来自对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述对照包含选自下述的组分:分离自从受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($= 2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从受试者中分离的对照细胞群体的分析物,其中所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞;
和

[0070] c) 鉴定在第一种和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示受试者中的所述疾病或病状的预测。

[0071] 13. 用于评价用于受试者中的疾病或病状的治疗的功效的方法,其包括:

[0072] a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:在治疗前分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物,在治疗前分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,在治疗前分离自从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物,在治疗前分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和在治疗前分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

[0073] 测定来自第一种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况,所述第一种对照包含选自下述的组分:在治疗前分离自从受试者中分离的具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬

细胞群体 (= 2n 吞噬细胞) 的分析物, 在治疗前分离自从受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从受试者中分离的对照细胞群体的分析物, 其中所述对照细胞在治疗前基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

[0074] 鉴定在第一种和第二种概况之间的差异;

[0075] b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第三种概况, 所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分: 在治疗后分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物, 在治疗后分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物, 在治疗后分离自从受试者中分离的具有大于 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (>2n 吞噬细胞) 的分析物, 在治疗后分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和在治疗后分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

[0076] 测定来自第二种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第四种概况, 所述第二种对照包含选自下述的组分: 在治疗后分离自从受试者中分离的具有 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (= 2n 吞噬细胞) 的分析物, 在治疗后分离自从受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从受试者中分离的对照细胞群体的分析物, 其中所述对照细胞在治疗后基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

[0077] 鉴定在第三种和第四种概况之间的差异; 和

[0078] c) 鉴定在 a) 中鉴定的差异和在 b) 中鉴定的差异之间的差异, 其中所述 c) 中鉴定的差异指示该治疗对于受试者中的所述疾病或病状的功效。

[0079] 14. 用于监视受试者中的疾病或病状的进展或消退的方法, 其包括:

[0080] a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况, 所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分: 在第一个时间点分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物, 在第一个时间点分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物, 在第一个时间点分离自从受试者中分离的具有大于 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (>2n 吞噬细胞) 的分析物, 在第一个时间点分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和

在第一个时间点分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

[0081] 测定来自第一种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况, 所述第一种对照包含选自下述的组分: 在第一个时间点分离自从受试者中分离的具有 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (= 2n 吞噬细胞) 的分析物, 在第一个时间点分离自从受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从受试者中分离的对照细胞群体的分析物, 其中所述对照细胞在第一个时间点基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

[0082] 鉴定在第一种和第二种概况之间的差异;

[0083] b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第三种概况, 所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分: 在第二个时间点分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物, 在第二个时间点分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物, 在第二个时间点分离自从受试者中分离的具有大于 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (>2n 吞噬细胞) 的分析物, 在第二个时间点分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和

在第二个时间点分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

[0084] 测定来自第二种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第四种概况, 所述第二种对照包含选自下述的组分: 在第二个时间点分离自从受试者中分离的具有 2n 的 DNA 含量

的吞噬细胞群体 (= 2n 吞噬细胞) 的分析物, 在第二个时间点分离自从受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从受试者中分离的对照细胞群体的分析物, 其中所述对照细胞在第二个时间点基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

[0085] 鉴定在第三种和第四种概况之间的差异; 和

[0086] c) 鉴定在 a) 中鉴定的差异和在 b) 中鉴定的差异之间的差异, 其中所述 c) 中鉴定的差异指示受试者中的所述疾病或病状的进展或消退。

[0087] 15. 用于鉴定能够改善或治疗受试者中的疾病或病状的化合物的方法, 其包括:

[0088] a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况, 所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分: 在给受试者施用所述化合物前分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物, 在给受试者施用所述化合物前分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物, 在给受试者施用所述化合物前分离自从受试者中分离的具有大于 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (>2n 吞噬细胞) 的分析物, 在给受试者施用所述化合物前分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和在给受试者施用所述化合物前分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

[0089] 测定来自第一种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第二种概况, 所述第一种对照包含选自下述的组分: 在给受试者施用所述化合物前分离自从受试者中分离的具有 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (= 2n 吞噬细胞) 的分析物, 在给受试者施用所述化合物前分离自从受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从受试者中分离的对照细胞群体的分析物, 其中所述对照细胞在给受试者施用所述化合物前基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

[0090] 鉴定在第一种和第二种概况之间的差异;

[0091] b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第三种概况, 所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分: 在给受试者施用所述化合物后分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物, 在给受试者施用所述化合物后分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物, 在给受试者施用所述化合物后分离自从受试者中分离的具有大于 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (>2n 吞噬细胞) 的分析物, 在给受试者施用所述化合物后分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和在给受试者施用所述化合物后分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;

[0092] 测定来自第二种对照的一种或多种标记物中的至少一种的第四种概况, 所述第二种对照包含选自下述的组分: 在给受试者施用所述化合物后分离自从受试者中分离的具有 2n 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 (= 2n 吞噬细胞) 的分析物, 在给受试者施用所述化合物后分离自从受试者中分离的非吞噬细胞群体的分析物和分离自从受试者中分离的对照细胞群体的分析物, 其中所述对照细胞在给受试者施用所述化合物后基本上不含受疾病或病状影响的细胞;

[0093] 鉴定在第三种和第四种概况之间的差异; 和

[0094] c) 鉴定在 a) 中鉴定的差异和在 b) 中鉴定的差异之间的差异, 其中所述 c) 中鉴定的差异指示该化合物能够改善或治疗受试者中的所述疾病或病状。

[0095] 16. 用于评价用于受试者中的疾病或病状的治疗的功效的方法, 其包括:

[0096] a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况, 所述第

一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在治疗前分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物，在治疗前从受试者中分离的吞噬细胞群体，在治疗前分离自从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物，在治疗前分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和在治疗前分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物；

[0097] b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第二种概况，所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在治疗后分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物，在治疗后分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物，在治疗后分离自从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物，在治疗后分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和分离自从受试者中分离的对照细胞群体的分析物，其中所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞；和

[0098] c) 鉴定在第一种概况和第二种概况之间的差异，其中所述鉴定的差异指示该治疗对于受试者中的所述疾病或病状的功效。

[0099] 17. 用于监视受试者中的疾病或病状的进展或消退的方法，其包括：

[0100] a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况，所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在第一个时间点分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物，在第一个时间点分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物，在第一个时间点分离自从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物，在第一个时间点分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和

在第一个时间点分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物；

[0101] b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第二种概况，所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在第二个时间点分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物，在第二个时间点分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物，在第二个时间点分离自从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物，在第二个时间点分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和

在第二个时间点分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物；和

[0102] c) 鉴定在第一种概况和第二种概况之间的差异，其中所述鉴定的差异指示受试者中的所述疾病或病状的进展或消退。

[0103] 18. 用于鉴定能够改善或治疗受试者中的疾病或病状的化合物的方法，其包括：

[0104] a) 测定来自第一种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况，所述第一种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在给受试者施用所述化合物前分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物，在给受试者施用所述化合物前分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物，在给受试者施用所述化合物前分离自从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物，在给受试者施用所述化合物前分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和

在给受试者施用所述化合物前分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物；

[0105] b) 测定来自第二种样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第二种概况，所述第二种样品包含选自下述的两种或更多种不同组分：在给受试者施用所述化合物后分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物，在给受试者施用所述化合物后分离自从受试者中分

离的吞噬细胞群体的分析物,在给受试者施用所述化合物后分离自从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)的分析物,在给受试者施用所述化合物后分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和在给受试者施用所述化合物后分离自从受试者中分离的对照细胞群体的分析物;和

[0106] c) 鉴定在第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述鉴定的差异指示该化合物能够改善或治疗受试者中的所述疾病或病状。

[0107] 19. 用于诊断或帮助诊断受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

[0108] a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:从受试者中分离的无细胞体液,从受试者中分离的吞噬细胞群体,从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),从受试者中分离的循环囊泡群体和从受试者中分离的循环患病细胞群体;和

[0109] b) 鉴定在来自所述疾病或状况的所述标记物储库的一种或多种标记物中的至少一种的第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示受试者中的所述疾病或病状的存在。

[0110] 20. 用于评价受试者中发展疾病或病状的风险的方法,其包括:

[0111] a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:从受试者中分离的无细胞体液,从受试者中分离的吞噬细胞群体,从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),从受试者中分离的循环囊泡群体和从受试者中分离的循环患病细胞群体;和

[0112] b) 鉴定在来自所述疾病或状况的所述标记物储库的一种或多种标记物中的至少一种的第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示受试者中发展所述疾病或病状的风险。

[0113] 21. 用于预测或帮助预测受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

[0114] a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:从受试者中分离的无细胞体液,从受试者中分离的吞噬细胞群体,从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞),从受试者中分离的循环囊泡群体和从受试者中分离的循环患病细胞群体;和

[0115] b) 鉴定在来自所述疾病或状况的所述标记物储库的一种或多种标记物中的至少一种的第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示受试者中的所述疾病或病状的预测。

[0116] 22. 用于诊断或帮助诊断受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

[0117] a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的组分:分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物,分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,分离自从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞)的分析物,分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;和

[0118] b) 鉴定在来自所述疾病或状况的所述标记物储库的一种或多种标记物中的至少一种的第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示受试者中的所述疾病或病状的存在。

[0119] 23. 用于评价受试者中发展疾病或病状的风险的方法,其包括:

[0120] a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物,分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,分离自从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物;和

[0121] b) 鉴定在来自所述疾病或状况的所述标记物储库的一种或多种标记物中的至少一种的第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示受试者中发展所述疾病或病状的风险。

[0122] 24. 用于预测或帮助预测受试者中的疾病或病状的方法,其包括:

[0123] a) 测定来自样品的疾病或病状的一种或多种标记物的第一种概况,所述样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:分离自从受试者中分离的无细胞体液的的分析物,分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,分离自从受试者中分离的具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞群体 ($>2n$ 吞噬细胞) 的分析物,分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和从受试者中分离的循环患病细胞群体;和

[0124] b) 鉴定在来自所述疾病或状况的所述标记物储库的一种或多种标记物中的至少一种的第一种概况和第二种概况之间的差异,其中所述差异指示受试者中的所述疾病或病状的预测。

[0125] 25. 实施方案 1-3 和 10-12 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与对照相比较在样品中是上调的或活化的。

[0126] 26. 实施方案 1-3 和 10-12 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与对照相比较在样品中是下调的或抑制的。

[0127] 27. 实施方案 4-6 和 13-15 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与第一种对照相比较在第一种样品中是上调的或活化的,或者与第二种对照相比较在第二种样品中是上调的或活化的。

[0128] 28. 实施方案 4-6 和 13-15 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与第一种对照相比较在第一种样品中是下调的或抑制的,或者与第二种对照相比较在第二种样品中是下调的或抑制的。

[0129] 29. 实施方案 7-9 和 16-18 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与第二种样品相比较在第一种样品中是上调的或活化的。

[0130] 30. 实施方案 7-9 和 16-18 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与第二种样品相比较在第一种样品中是下调的或抑制的。

[0131] 31. 实施方案 19-24 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与储库相比较在样品中是上调的或活化的。

[0132] 32. 实施方案 19-24 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物中的至少一种与储库相比较在样品中是下调的或抑制的。

[0133] 33. 实施方案 1-32 中任一项的方法,其中所述第一种概况或第二种概况包含所述疾病或状况的一种或多种标记物中的至少一种的不存在。

[0134] 34. 实施方案 4-6 和 13-15 中任一项的方法,其中所述第三种概况或第四种概况包

含所述疾病或状况的一种或多种标记物中的至少一种的不存在。

[0135] 35. 实施方案 1-9 和 19-21 中任一项的方法,其中当所述方法包括循环患病细胞、不受疾病或状况影响的对照细胞、吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞时,该方法进一步包括裂解所述循环患病细胞、不受疾病或状况影响的对照细胞、吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞。

[0136] 36. 实施方案 1-9、19-21 和 35 中任一项的方法,其中当所述方法包括循环患病细胞、不受疾病或状况影响的对照细胞、吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞时,该方法进一步包括从所述循环患病细胞、不受疾病或状况影响的对照细胞、吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞中提取细胞内容物中的至少一些。

[0137] 37. 实施方案 1-9 和 19-21、35 和 36 中任一项的方法,其中当所述方法包括无细胞体液时,该方法进一步包括从所述无细胞体液中提取一种或多种标记物。

[0138] 38. 实施方案 1-9 和 19-21 中任一项的方法,其中当所述方法包括无细胞体液时,所述无细胞体液包含经肾核酸。

[0139] 39. 实施方案 1-38 中任一项的方法,其中所述疾病或状况的一种或多种标记物中的至少一种存在于循环患病细胞、无细胞体液样品、吞噬细胞或 $>2n$ 吞噬细胞中。

[0140] 40. 实施方案 1-39 中任一项的方法,其中所述疾病或状况的一种或多种标记物中的至少一种不存在于循环患病细胞、无细胞体液样品、吞噬细胞或 $>2n$ 吞噬细胞中。

[0141] 41. 实施方案 1-40 中任一项的方法,其中所述循环患病细胞、不受疾病或状况影响的对照细胞、吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞是去核的。

[0142] 42. 实施方案 41 的方法,其中使用物理去除、化学处理、光消融或紫外线照射对所述细胞进行去核。

[0143] 43. 实施方案 42 的方法,其中所述物理去除使用微针、光镊或抽吸。

[0144] 44. 实施方案 19-24 中任一项的方法,其中所述储库通过数据挖掘来获得。

[0145] 45. 实施方案 1-44 中任一项的方法,其中所述吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞或 $= 2n$ 吞噬细胞是嗜中性粒细胞、巨噬细胞、单核细胞、树突状细胞、泡沫细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞、角质形成细胞或其混合物。

[0146] 46. 实施方案 1-45 中任一项的方法,其中所述非吞噬细胞是 T 细胞、B 细胞、裸细胞、嗜碱性粒细胞或其混合物。

[0147] 47. 实施方案 1-46 中任一项的方法,其中所述循环患病细胞是血细胞、肿瘤细胞、淋巴瘤细胞、胎儿细胞、凋亡细胞、上皮细胞、内皮细胞、干细胞、祖细胞、间充质细胞、成骨细胞、骨细胞、造血干细胞、泡沫细胞、脂肪细胞、经宫颈细胞、循环心肌细胞、循环纤维细胞、循环肌细胞、来自肾的循环细胞、来自胃肠道的循环细胞、来自肺的循环细胞、来自生殖器官的循环细胞、来自中枢神经系统的循环细胞、循环肝细胞、来自脾的循环细胞、来自胸腺的循环细胞、来自甲状腺的循环细胞、来自内分泌腺的循环细胞、来自甲状旁腺的循环细胞、来自垂体的循环细胞、来自肾上腺的循环细胞、来自胰岛的循环细胞、来自胰腺的循环细胞、来自下丘脑的循环细胞、来自前列腺组织的循环细胞、来自乳腺组织的循环细胞、来自循环视网膜细胞的循环细胞、循环眼细胞、循环听细胞、循环表皮细胞、来自泌尿道的循环细胞或其混合物。

[0148] 48. 实施方案 1-47 中任一项的方法,其中所述对照细胞是正常细胞。

- [0149] 49. 实施方案 1-48 中任一项的方法,其中所述对照细胞是循环细胞。
- [0150] 50. 实施方案 1-49 中任一项的方法,其中所述循环囊泡选自循环微泡、凋亡小体、微粒、膜结合的囊泡、多泡体、纳米囊泡、微粒和 ARRDC-1 介导的微泡 (ARMM)。
- [0151] 51. 实施方案 50 的方法,其中所述循环囊泡是外泌体或尿液外泌体。
- [0152] 52. 实施方案 1-51 中任一项的方法,其中所述无细胞体液从体液中分离。
- [0153] 53. 实施方案 52 的方法,其中所述体液是血液、尿、大便、唾液、淋巴液、脑脊髓液、滑膜液、囊液、腹水、胸腔积液、在孕早期从孕妇获得的液体、在孕中期从孕妇获得的液体、在孕晚期从孕妇获得的液体、母体血液、羊水、绒毛膜绒毛样品、来自植入前胚胎的液体、母体尿、母体唾液、胎盘样品、胎儿血液、灌洗及宫颈阴道液、间隙液、口腔拭子样品、痰、支气管灌洗、巴氏涂片样品或眼液。
- [0154] 54. 实施方案 52 和 53 中任一项的方法,其中所述无细胞体液通过下述分离:过滤、离心、流式细胞术、荧光激活细胞分选、基于梯度的离心、洗脱、微流体、磁性分离技术、荧光磁性分离技术、纳米结构、量子点、基于高通量显微镜的平台或其组合。
- [0155] 55. 实施方案 52-54 中任一项的方法,其中所述无细胞体液通过使用样品中存在的物质进行分离。
- [0156] 56. 实施方案 55 的方法,其中所述物质是所述疾病或状况的标记物的产物。
- [0157] 57. 实施方案 1-56 中任一项的方法,其中所述无细胞液体是血浆或血清。
- [0158] 58. 实施方案 1-57 中任一项的方法,其中所述吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞从受试者的体液、组织或细胞中分离。
- [0159] 59. 实施方案 58 的方法,其中所述体液样品是血液、尿、大便、唾液、淋巴液、脑脊髓液、滑膜液、囊液、腹水、胸腔积液、在孕早期从孕妇获得的液体、在孕中期从孕妇获得的液体、在孕晚期从孕妇获得的液体、母体血液、羊水、绒毛膜绒毛样品、来自植入前胚胎的液体、母体尿、母体唾液、胎盘样品、胎儿血液、灌洗及宫颈阴道液、间隙液、口腔拭子样品、痰、支气管灌洗、巴氏涂片样品或眼液。
- [0160] 60. 实施方案 58 的方法,其中所述细胞是白血细胞。
- [0161] 61. 实施方案 58-60 中任一项的方法,其中所述吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞使用抗体进行分离。
- [0162] 62. 实施方案 58-60 中任一项的方法,其中所述吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞通过下述进行分离:流式细胞术、荧光激活细胞分选、过滤、基于梯度的离心、洗脱、微流体、磁性分离技术、荧光磁性分离技术、纳米结构、量子点、基于高通量显微镜的平台或其组合。
- [0163] 63. 实施方案 1-62 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物是核酸、蛋白质、脂质、碳水化合物、代谢产物或其组合。
- [0164] 64. 实施方案 63 的方法,其中所述核酸是核苷酸、寡核苷酸、DNA、RNA 或 DNA-RNA 杂交物。
- [0165] 65. 实施方案 64 的方法,其中所述 DNA 是双链 DNA、单链 DNA、多链 DNA、互补 DNA、基因组 DNA 或非编码 DNA。
- [0166] 66. 实施方案 64 的方法,其中所述 RNA 是信使 RNA (mRNA)、微小 RNA (miRNA)、小核仁 RNA (snoRNA)、核糖体 RNA (rRNA)、转移 RNA (tRNA)、小干扰 RNA (siRNA)、不均匀核

RNA (hnRNA) 或小发夹 RNA (shRNA)。

[0167] 67. 实施方案 63 的方法, 其中所述蛋白质是氨基酸、肽、酶、抗原、抗体、细胞因子、脂蛋白、糖蛋白或激素。

[0168] 68. 实施方案 63 的方法, 其中所述脂质是脂肪酸、中性脂肪、磷脂、胆固醇、胆固醇酯、甘油三酯、糖脂 (glycolipid)、甘油脂、甘油磷脂、鞘脂、固醇脂质、异戊烯醇脂质、糖脂质 (saccharolipid)、聚酮、胆碱甘油磷脂、甘油磷脂乙醇胺、磷脂酰肌醇、磷脂酰甘油、磷脂酰丝氨酸、溶血胆碱甘油磷脂、溶血甘油磷脂乙醇胺、磷脂酸、溶血磷脂酸、鞘磷脂、半乳糖神经酰胺、葡萄糖神经酰胺、游离脂肪酸、前列腺素、三酰基甘油、二酰基甘油、单酰基甘油、酰基-CoA、酰基肉毒碱、氧固醇、神经酰胺、心磷脂、鞘氨醇碱-1-磷酸、鞘氨醇、溶血鞘磷脂、神经节苷脂、缩醛磷脂、硫脂、低密度脂蛋白 (LDL)、极低密度脂蛋白 (VLDL)、高密度脂蛋白 (HDL)、鞘氨醇碱-1-磷酸或其衍生物。

[0169] 69. 实施方案 63 的方法, 其中所述碳水化合物是单糖、二糖、多糖、寡糖或其衍生物。

[0170] 70. 实施方案 63 的方法, 其中所述代谢产物是初级代谢产物、次级代谢产物、有机代谢产物、无机代谢产物、前列腺素、羟基二十碳四烯酸、羟基十八碳二烯酸、类固醇、胆汁酸、维生素或其衍生物。

[0171] 71. 实施方案 1-3、10-12 和 19-24 中任一项的方法, 其中所述概况是核酸概况、蛋白质概况、脂质概况、碳水化合物概况、代谢产物概况或其组合。

[0172] 72. 实施方案 65 的方法, 其中所述概况通过定性测定法、定量测定法或其组合进行测定。

[0173] 73. 实施方案 4-9 和 13-18 中任一项的方法, 其中所述第一种概况或第二种概况是核酸概况、蛋白质概况、脂质概况、碳水化合物概况、代谢产物概况或其组合。

[0174] 74. 实施方案 65 的方法, 其中所述第一种概况或第二种概况通过定性测定法、定量测定法或其组合进行测定。

[0175] 75. 实施方案 4-6 和 74 中任一项的方法, 其中所述第三种概况或第四种概况是核酸概况、蛋白质概况、脂质概况、碳水化合物概况、代谢产物概况或其组合。

[0176] 76. 实施方案 75 的方法, 其中所述第三种概况或第四种概况通过定性测定法、定量测定法或其组合进行测定。

[0177] 77. 实施方案 72、66 和 76 中任一项的方法, 其中所述定量测定法使用测序、靶向测序、单分子实时测序、基于电子显微镜检查的测序、晶体管介导的测序、直接测序、随机鸟枪法测序、桑格双脱氧终止测序、外显子测序、全基因组测序、通过杂交的测序、焦磷酸测序、毛细管电泳、凝胶电泳、双链体测序、循环测序、单碱基延伸测序、固相测序、高通量测序、大规模平行信号测序、乳液 PCR、多重 PCR、在较低变性温度下共扩增-PCR (COLD-PCR)、通过可逆染料终止子的测序、配对末端测序、近期测序 (near-term sequencing)、外切核酸酶测序、通过连接的测序、短读测序、单分子测序、边测序边合成、实时测序、反向终止子测序、纳米孔测序、454 测序、Solexa 基因组分析仪测序、**SOLiD®** 测序、MS-PET 测序、质谱法、基质辅助激光解吸 / 电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸 / 电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸 / 电离-傅里叶变换离

子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、聚合酶链反应 (PCR) 分析、在较低变性温度下共扩增-PCR (COLD-PCR)、多重 PCR、定量 PCR、实时 PCR、荧光测定法、比色测定法、化学发光测定法或其组合。

[0178] 78. 实施方案 77 的方法, 其中所述核酸概况是基因分型概况、单核苷酸多态性概况、基因突变概况、基因拷贝数概况、DNA 甲基化概况、DNA 乙酰化概况、染色体剂量概况、基因表达概况或其组合。

[0179] 79. 实施方案 77 的方法, 其中所述核酸概况通过下述进行测定: 聚合酶链反应 (PCR) 分析、测序分析、电泳分析、限制性片段长度多态性 (RFLP) 分析、RNA 印迹分析、定量 PCR、逆转录酶-PCR 分析 (RT-PCR)、等位基因特异性寡核苷酸杂交分析、比较基因组杂交、异源双链体迁移率测定法 (HMA)、单链构象多态性 (SSCP)、变性梯度凝胶电泳 (DGGE)、RNA 酶错配分析、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、表面等离子体共振、DNA 印迹分析、原位杂交、荧光原位杂交 (FISH)、显色原位杂交 (CISH)、免疫组织化学 (IHC)、微阵列、比较基因组杂交、核型分析、多重连接依赖的探针扩增 (MLPA)、短荧光片段的定量多重 PCR (QMPSF)、显微镜检查、甲基化特异性 PCR (MSP) 测定法、通过连接介导的 PCR 的 HpaII 微小片段富集 (HELP) 测定法、放射性乙酸盐标记测定法、比色 DNA 乙酰化测定法、染色质免疫沉淀结合微阵列 (芯片上的 ChIP) 测定法、限制性标记的基因组扫描、甲基化 DNA 免疫沉淀 (MeDIP)、用于 DNA 腺嘌呤甲基转移酶活性的分子断裂光测定法、色谱分离、甲基化敏感性限制酶分析、亚硫酸氢盐驱动的非甲基化胞嘧啶至尿嘧啶转换、在较低变性温度下共扩增-PCR (COLD-PCR)、多重 PCR、甲基结合 PCR 分析或其组合。

[0180] 80. 实施方案 77 的方法, 其中所述核酸概况通过选自下述的测序技术进行测定: 靶向测序、单分子实时测序、外显子测序、基于电子显微镜检查的测序、晶体管介导的测序、直接测序、随机鸟枪法测序、桑格双脱氧终止测序、全基因组测序、通过杂交的测序、焦磷酸测序、毛细管电泳、凝胶电泳、双链体测序、循环测序、单碱基延伸测序、固相测序、高通量测序、大规模平行信号测序、乳液 PCR、在较低变性温度下共扩增-PCR (COLD-PCR)、多重 PCR、通过可逆染料终止子的测序、配对末端测序、近期测序、外切核酸酶测序、通过连接的测序、短读测序、单分子测序、边测序边合成、实时测序、反向终止子测序、纳米孔测序、454 测序、Solexa 基因组分析仪测序、**SOLiD®** 测序、MS-PET 测序、质谱法及其组合。

[0181] 81. 实施方案 77 的方法, 其中所述蛋白质概况是蛋白质表达概况、蛋白质活化概况或其组合。

[0182] 82. 实施方案 77 的方法, 其中所述蛋白质概况通过下述进行测定: 免疫组织化学测定法、酶联免疫吸附测定法 (ELISA)、原位杂交、色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效液相色谱法 (HPLC)、气相色谱法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、放射性免疫测定法、显微镜检查、基于

微流体芯片的测定法、表面等离子体共振、测序、蛋白质印迹测定法或其组合。

[0183] 83. 实施方案 77 的方法,其中所述蛋白质活化概况包括测定一种或多种标记物的磷酸化状态、泛素化状态、肉豆蔻酰化状态、构象状态或其组合。

[0184] 84. 实施方案 77 的方法,其中所述脂质概况通过下述进行测定:色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间(MALDI-TOF)质谱法、电喷雾电离(ESI)质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间(SELDI-TOF)质谱法、四极飞行时间(Q-TOF)质谱法、大气压光电离质谱法(APPI-MS)、傅里叶变换质谱法(FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振(MALDI-FT-ICR)质谱法、二次离子质谱法(SIMS)、放射性免疫测定法、基于微流体芯片的测定法、荧光检测、化学发光检测或其组合。

[0185] 85. 实施方案 77 的方法,其中所述碳水化合物概况通过下述进行测定:色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效阴离子交换色谱法伴脉冲安培检测法(HPAEC-PAD)、液相色谱法、气相色谱法、荧光测定法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间(MALDI-TOF)质谱法、电喷雾电离(ESI)质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间(SELDI-TOF)质谱法、四极飞行时间(Q-TOF)质谱法、大气压光电离质谱法(APPI-MS)、傅里叶变换质谱法(FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振(MALDI-FT-ICR)质谱法、二次离子质谱法(SIMS)、放射性免疫测定法、基于微流体芯片的测定法、荧光检测、化学发光检测或其组合。

[0186] 86. 实施方案 1-85 中任一项的方法,其中所述受试者具有至少两种疾病或病状。

[0187] 87. 实施方案 86 的方法,其中所述受试者具有至少一种产前或妊娠相关疾病或病状。

[0188] 88. 实施方案 1-87 中任一项的方法,其中所述受试者是哺乳动物。

[0189] 89. 实施方案 89 的方法,其中所述哺乳动物是人。

[0190] 90. 实施方案 1-89 中任一项的方法,其中所述疾病或病状是心血管疾病或病状、肾相关疾病或病状、产前或妊娠相关的疾病或病状、神经学或神经精神性疾病或病状、自身免疫或免疫相关疾病或病状、癌症、传染性疾病或病状、线粒体紊乱、呼吸-胃肠道疾病或病状、生殖系统疾病或病状、眼疾病或病状、肌肉骨骼疾病或病状、或者皮肤疾病或病状。

[0191] 91. 实施方案 1-90 中任一项的方法,其中所述差异是大于 1 倍差异。

[0192] 92. 实施方案 91 的方法,其中所述差异是至少 1.05 倍、1.1 倍、1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍或 10 倍差异。

[0193] 93. 实施方案 4-6 和 13-15 中任一项的方法,其中所述第二种概况和第四种概况是相同的。

[0194] 94. 用于鉴定疾病或病状的一种或多种标记物的方法,其包括:

[0195] a) 测定来自样品的分析物的第一种概况,所述样品包含来自具有所述疾病或病状的受试者的无细胞体液,以及来自具有所述疾病或病状的受试者的吞噬细胞群体或 $>2n$ 吞噬细胞群体;

[0196] 测定来自 $= 2n$ 吞噬细胞群体或非吞噬细胞群体的分析物的第二种概况,所述细胞群体来自具有所述疾病或病状的受试者;

[0197] 鉴定在第一种和第二种概况之间的一组差异,其中所述第一组差异相对于第二种

概况对于第一种概况是特异性的；

[0198] b) 测定来自样品的分析物的第三种概况,所述样品包含来自具有所述疾病或病状的受试者的无细胞体液,以及来自不具有所述疾病或病状的对照受试者的吞噬细胞群体或 $>2n$ 吞噬细胞群体；

[0199] 测定来自 $= 2n$ 吞噬细胞群体或非吞噬细胞群体的分析物的第四种概况,所述细胞群体来自不具有所述疾病或病状的对照受试者；

[0200] 鉴定在第三种和第四种概况之间的一组差异,其中所述第二组差异相对于第四种概况对于第三种概况是特异性的；和

[0201] c) 鉴定相对于 b) 中鉴定的一组差异对于 a) 中鉴定的一组差异特异性的一种或多种分析物,在 c) 中鉴定的分析物是所述疾病或病状的标记物。

[0202] 95. 用于鉴定疾病或病状的一种或多种标记物的方法,其包括：

[0203] a) 测定来自样品的分析物的第一种概况,所述样品包含来自具有所述疾病或病状的受试者的无细胞体液,以及来自具有所述疾病或病状的受试者的吞噬细胞群体或 $>2n$ 吞噬细胞群体；

[0204] b) 比较第一种概况与衍生自分析物储库的第二种概况,所述分析物储库来自不具有所述疾病或病状的对照受试者；

[0205] c) 鉴定在第一种和第二种概况之间的一组差异,其中所述一组差异相对于第二种概况对于第一种概况是特异性的；

[0206] d) 鉴定对于所述一组差异特异性的一种或多种分析物,所述鉴定的分析物是所述疾病或病状的标记物。

[0207] 96. 实施方案 95 的方法,其进一步包括：

[0208] a) 获得来自具有所述疾病或病状的受试者中受所述疾病或病状影响的细胞或组织的分析物的第五种概况；

[0209] 获得来自具有所述疾病或病状的受试者中不受所述疾病或病状影响的细胞或组织的分析物的第六种概况；

[0210] 鉴定在第五种和第六种概况之间的一组差异,其中所述一组差异相对于第六种概况对于第五种概况是特异性的；和

[0211] b) 鉴定在 d) 中鉴定的一组差异中存在的 c) 的一种或多种标记物中的至少一种。

[0212] 97. 实施方案 90-96 中任一项的方法,其进一步包括从无细胞体液中提取一种或多种标记物。

[0213] 98. 实施方案 90-97 中任一项的方法,其进一步包括在 a) 前裂解所述吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞。

[0214] 99. 实施方案 90-98 中任一项的方法,其进一步包括在 a) 前从所述吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、 $= 2n$ 吞噬细胞或非吞噬细胞中提取细胞组分中的至少一些。

[0215] 100. 实施方案 90-99 中任一项的方法,其中所述吞噬细胞或 $>2n$ 吞噬细胞包含活的患病细胞、死的患病细胞、细胞凋亡的患病细胞、循环肿瘤细胞、传染剂、胎儿细胞、滋养层细胞或其片段。

[0216] 101. 实施方案 90-100 中任一项的方法,其中所述疾病或病状的一种或多种标记物中的至少一种存在于所述无细胞体液样品、吞噬细胞或 $>2n$ 吞噬细胞中。

[0217] 102. 实施方案 90-101 中任一项的方法,其中所述疾病或病状的一种或多种标记物中的至少一种不存在于所述无细胞体液样品、吞噬细胞或 $>2n$ 吞噬细胞中。

[0218] 103. 实施方案 90-102 中任一项的方法,其进一步包括比较 c) 中鉴定的差异与所述疾病或病状的一种或多种已知标记物的储库。

[0219] 104. 实施方案 97 的方法,其中所述储库通过数据挖掘获得。

[0220] 105. 实施方案 90-104 中任一项的方法,其中所述吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞或 $= 2n$ 吞噬细胞是嗜中性粒细胞、巨噬细胞、单核细胞、树突状细胞、泡沫细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞、角质形成细胞或其混合物。

[0221] 106. 实施方案 90-105 中任一项的方法,其中所述非吞噬细胞是 T 细胞、B 细胞、裸细胞、嗜碱性粒细胞或其混合物。

[0222] 107. 实施方案 90-106 中任一项的方法,其中所述无细胞体液从体液中分离。

[0223] 108. 实施方案 107 的方法,其中所述体液是血液、尿、大便、唾液、淋巴液、脑脊髓液、滑膜液、囊液、腹水、胸腔积液、在孕早期从孕妇获得的液体、在孕中期从孕妇获得的液体、在孕晚期从孕妇获得的液体、母体血液、羊水、绒毛膜绒毛样品、来自植入前胚胎的液体、母体尿、母体唾液、胎盘样品、胎儿血液、灌洗及宫颈阴道液、间隙液或眼液。

[0224] 109. 实施方案 107 和 108 中任一项的方法,其中所述无细胞液体样品通过下述分离:过滤、离心、流式细胞术、荧光激活细胞分选、基于梯度的离心、洗脱、微流体、磁性分离技术、荧光磁性分离技术、纳米结构、量子点、基于高通量显微镜的平台或其组合。

[0225] 110. 实施方案 109 的方法,其中所述无细胞液体样品通过使用样品中存在的物质进行分离。

[0226] 111. 实施方案 90-110 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物是核酸、蛋白质、脂质、碳水化合物、代谢产物或其组合。

[0227] 112. 实施方案 111 的方法,其中所述核酸是核苷酸、寡核苷酸、DNA、RNA 或 DNA-RNA 杂交物。

[0228] 113. 实施方案 112 的方法,其中所述 DNA 是双链 DNA、单链 DNA、多链 DNA、互补 DNA、基因组 DNA 或非编码 DNA。

[0229] 114. 实施方案 112 的方法,其中所述 RNA 是信使 RNA (mRNA)、微小 RNA (miRNA)、小核仁 RNA (snRNA)、核糖体 RNA (rRNA)、转移 RNA (tRNA)、小干扰 RNA (siRNA)、不均匀核 RNA (hnRNA) 或小发夹 RNA (shRNA)。

[0230] 115. 实施方案 111 的方法,其中所述蛋白质是氨基酸、肽、酶、抗原、抗体、细胞因子、脂蛋白、糖蛋白或激素。

[0231] 116. 实施方案 111 的方法,其中所述脂质是脂肪酸、中性脂肪、磷脂、胆固醇、胆固醇酯、甘油三酯、糖脂、甘油脂、甘油磷脂、鞘脂、固醇脂质、异戊烯醇脂质、糖脂质、聚酮、胆碱甘油磷脂、甘油磷脂乙醇胺、磷脂酰肌醇、磷脂酰甘油、磷脂酰丝氨酸、溶血胆碱甘油磷脂、溶血甘油磷脂乙醇胺、磷脂酸、溶血磷脂酸、鞘磷脂、半乳糖神经酰胺、葡萄糖神经酰胺、游离脂肪酸、前列腺素、三酰基甘油、二酰基甘油、单酰基甘油、酰基-CoA、酰基肉毒碱、氧固醇、神经酰胺、心磷脂、鞘氨醇碱-1-磷酸、鞘氨醇、溶血鞘磷脂、神经节苷脂、缩醛磷脂、硫脂、低密度脂蛋白 (LDL)、极低密度脂蛋白 (VLDL)、高密度脂蛋白 (HDL)、鞘氨醇碱-1-磷酸或其衍生物。

[0232] 117. 实施方案 111 的方法,其中所述碳水化合物是单糖、二糖、多糖、寡糖或其衍生物。

[0233] 118. 实施方案 111 的方法,其中所述代谢产物是初级代谢产物、次级代谢产物、有机代谢产物、无机代谢产物、前列腺素、羟基二十碳四烯酸、羟基十八碳二烯酸、类固醇、胆汁酸、维生素或其衍生物。

[0234] 119. 实施方案 90-118 中任一项的方法,其中所述概况是核酸概况、蛋白质概况、脂质概况、碳水化合物概况、代谢产物概况或其组合。

[0235] 120. 实施方案 119 的方法,其中所述概况通过定性测定法、定量测定法或其组合进行测定。

[0236] 121. 实施方案 120 的方法,其中所述定量测定法使用测序、靶向测序、单分子实时测序、外显子测序、基于电子显微镜检查的测序、晶体管介导的测序、直接测序、随机鸟枪法测序、桑格双脱氧终止测序、全基因组测序、通过杂交的测序、焦磷酸测序、毛细管电泳、凝胶电泳、双链体测序、循环测序、单碱基延伸测序、固相测序、高通量测序、大规模平行信号测序、乳液 PCR、在较低变性温度下共扩增-PCR(COLD-PCR)、多重 PCR、通过可逆染料终止子的测序、配对末端测序、近期测序、外切核酸酶测序、通过连接的测序、短读测序、单分子测序、边测序边合成、实时测序、反向终止子测序、纳米孔测序、454 测序、Solexa 基因组分析仪测序、**SOLiD**® 测序、MS-PET 测序、质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间(MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离(ESI) 质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间(SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间(Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法(APPI-MS)、傅里叶变换质谱法(FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振(MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法(SIMS)、聚合酶链反应(PCR) 分析、定量 PCR、实时 PCR、荧光测定法、比色测定法、化学发光测定法或其组合。

[0237] 122. 实施方案 119 的方法,其中所述核酸概况是基因分型概况、单核苷酸多态性概况、基因突变概况、基因拷贝数概况、DNA 甲基化概况、DNA 乙酰化概况、染色体剂量概况、基因表达概况或其组合。

[0238] 123. 实施方案 119 的方法,其中所述核酸概况通过下述进行测定:聚合酶链反应(PCR) 分析、测序分析、电泳分析、限制性片段长度多态性(RFLP) 分析、RNA 印迹分析、定量 PCR、逆转录酶-PCR 分析(RT-PCR)、等位基因特异性寡核苷酸杂交分析、比较基因组杂交、异源双链体迁移率测定法(HMA)、单链构象多态性(SSCP)、变性梯度凝胶电泳(DGGE)、RNA 酶错配分析、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间(MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离(ESI) 质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间(SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间(Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法(APPI-MS)、傅里叶变换质谱法(FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振(MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法(SIMS)、表面等离子体共振、DNA 印迹分析、原位杂交、荧光原位杂交(FISH)、显色原位杂交(CISH)、免疫组织化学(IHC)、微阵列、比较基因组杂交、核型分析、多重连接依赖的探针扩增(MLPA)、短荧光片段的定量多重 PCR(QMPST)、显微镜检查、甲基化特异性 PCR(MSP) 测定法、通过连接介导的 PCR 的 HpaII 微小片段富集(HELP) 测定法、放射性乙酸盐标记测定法、比色 DNA 乙酰化测定法、染色质免疫沉淀结合微阵列(芯片上的 ChIP) 测定法、限制性标记的基因组扫描、甲基化 DNA 免疫沉淀(MeDIP)、用于 DNA 腺嘌呤甲基转移酶活性的分子断裂

光测定法、色谱分离、甲基化敏感性限制酶分析、亚硫酸氢盐驱动的非甲基化胞嘧啶至尿嘧啶转换、在较低变性温度下共扩增-PCR (COLD-PCR)、多重 PCR、甲基结合 PCR 分析或其组合。

[0239] 124. 实施方案 119 的方法, 其中所述核酸概况通过选自下述的测序技术进行测定: 靶向测序、单分子实时测序、外显子测序、基于电子显微镜检查的测序、晶体管介导的测序、直接测序、随机鸟枪法测序、桑格双脱氧终止测序、全基因组测序、通过杂交的测序、焦磷酸测序、毛细管电泳、凝胶电泳、双链体测序、循环测序、单碱基延伸测序、固相测序、高通量测序、大规模平行信号测序、乳液 PCR、在较低变性温度下共扩增-PCR (COLD-PCR)、多重 PCR、通过可逆染料终止子的测序、配对末端测序、近期测序、外切核酸酶测序、通过连接的测序、短读测序、单分子测序、边测序边合成、实时测序、反向终止子测序、纳米孔测序、454 测序、Solexa 基因组分析仪测序、**SOLiD®** 测序、MS-PET 测序、质谱法及其组合。

[0240] 125. 实施方案 119 的方法, 其中所述蛋白质概况是蛋白质表达概况、蛋白质活化概况或其组合。

[0241] 126. 实施方案 119 的方法, 其中所述蛋白质概况通过下述进行测定: 免疫组织化学测定法、酶联免疫吸附测定法 (ELISA)、原位杂交、色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效液相色谱法 (HPLC)、气相色谱法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、放射性免疫测定法、显微镜检查、基于微流体芯片的测定法、表面等离子体共振、测序、蛋白质印迹测定法或其组合。

[0242] 127. 实施方案 119 的方法, 其中所述蛋白质活化概况包括测定一种或多种标记物的磷酸化状态、泛素化状态、肉豆蔻酰化状态、构象状态或其组合。

[0243] 128. 实施方案 119 的方法, 其中所述脂质概况通过下述进行测定: 色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效液相色谱法 (HPLC)、气相色谱法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、放射性免疫测定法、基于微流体芯片的测定法、荧光检测、化学发光检测或其组合。

[0244] 129. 实施方案 119 的方法, 其中所述碳水化合物概况通过下述进行测定: 色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效阴离子交换色谱法伴脉冲安培检测法 (HPAEC-PAD)、液相色谱法、气相色谱法、荧光测定法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、放射性免疫测定法、基于微流体芯片的测定法、荧光检测、化学发光检测或其组合。

[0245] 130. 实施方案 90-129 中任一项的方法, 其中所述受试者是哺乳动物。

[0246] 131. 实施方案 130 的方法, 其中所述哺乳动物是人。

[0247] 132. 实施方案 90-131 中任一项的方法,其中所述疾病或病状是心血管疾病或病状、肾相关疾病或病状、产前或妊娠相关的疾病或病状、神经学或神经精神性疾病或病状、自身免疫或免疫相关疾病或病状、癌症、传染性疾病或病状、线粒体紊乱、呼吸-胃肠道疾病或病状、生殖系统疾病或病状、眼疾病或病状、肌肉骨骼疾病或病状、或者皮肤疾病或病状。

[0248] 133. 实施方案 90-132 中任一项的方法,其中所述差异是大于 1 倍差异。

[0249] 134. 实施方案 133 的方法,其中所述差异是至少 1.05 倍、1.1 倍、1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍或 10 倍差异。

[0250] 135. 实施方案 1-93 中任一项的方法,其进一步包括测定所述疾病或病状的至少一种诊断参数。

[0251] 136. 实施方案 135 的方法,其中所述诊断参数通过下述进行测定:身体检查、视力检查、活组织检查、扫描、组织学、放射学、成像、超声、使用商业试剂盒、基因测试、免疫学测试、体液分析或监视神经活动。

[0252] 137. 实施方案 1-93 和 135-136 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:AKT2、BAK1、EGFR、ERBB2、ETS2、FOS、JUN、MAP2K1、MMP2、PDGFB、RB1、SERPINB2、SNCG 和 SPP1。

[0253] 138. 实施方案 1-93 和 135-137 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:AKT1、AKT2、BAK2、CDC25A、E2F1、EGFR、ERBB2、FOS、JUN、MAP2K1、MMP2、NFKB1、PDGFB、PIK3R1、PNN、RB1、SERPINB2、SERPINB5、SNCG、SPP1、TERT、TIMP3 和 TP53。

[0254] 139. 实施方案 1-93 和 135-138 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:CASP8、CASP9、COL18A1、ETS2、HTATIP2、MMP9、SRC 和 TWIST1。

[0255] 140. 实施方案 1-93 和 135-139 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:AKT1、APAF1、ATM、CDC25A、CDKN1A、ETS2、FOS、IL8、ITGA4、ITGA6、ITGAV、JUN、MAP2K1、NFKBIA、PLAU、PLAUR、RAF1、SERPINB2、SYK、TIMP1、TNF、TNFRSF10B 和 TNFRSF1A。

[0256] 141. 实施方案 1-93 和 135-140 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:ACP2、AK2、AKT3、ARL5B、ATP2B3、BGN、BRAF、BTG2、CAMKK2、CAPG、CAPN12、CPLX2、DENND5A、DNA2、FAM104A、FNIP1、GFRA4、GLUD1、GNAQ、GP1BB、HNRPLL、HOXA2、HPS3、INPP4A、ITGAV、KLHL23、LANCL2、LYPD6、MAPKAPK3、MEF2A(包括 EG:4205)、MEF2C、NVL、PCYT1A、PGLYRP4、PLOD1、PPP1CB、PRKAB2、PROS1、PTPRE、RASA4(包括 EG:10156)、RBMS2、RBPJ、STAT5B、THBS1、TRIB1、TRIM2、TSPAN6 和 ZDHHC21。

[0257] 142. 实施方案 1-93 和 135-141 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:B4GALT5、BOP1、CCL2、CCL3、CCL3L1、CCRL2、CD83、CLEC4G、CLIC4、CTSC、CTS0、CXCL10、FCGR3A、FPR3、HBA1、HBB、LRMP、MAP1LC3B2、MS4A4A、MSR1、MYADML、NID1、PF4、PION、RNF217、SAMD9L、SERPING1 和 SPARC。

[0258] 143. 实施方案 1-93 和 135-142 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:ACOT9、AMPD2、ARHGAP15、BATF2、C3AR1、C5orf41、CCL3、CCL3L1、CD63、CHST11、CHSY1、CLEC4G、CTS0、CXorf21、CYTH4、CYTIP、DLEU2、DNAJA1、DOCK8、DTX3L、

DUSP6、EPSTI1、ERF、F2RL1、FYB、GABRB2、GBP5、GLRX、GNB4、ICAM1、IFI35、IFIH1、IFNAR2、IL1R1、IRF1、ITGA5、LAP3、LAPTM5、LCP2、MAP1LC3B、MAP1LC3B2、MICAL2、MT1DP、MT1JP、MT1M、MT2A、MYADML、NEK6、NINJ2、NNMT、NT5C3L、NUB1、PDE4B、PLOD1、PML、PRKCB、PSMB9、RCN3、RGS4、RNASE6、RTP4、SAMD9L、SEL1L、SERPING1、SETX、SIGLEC10、SKIL、SLC7A7、SNORA21、SP100、SP110、SP140、SSFA2、STAT2、STK17B、STK3、TDRD7、TMCC1、TMPRSS11E2、TNFRSF1B、TPM1、TRIM21、TXNDC4、UBE2L6、UBE2W、USP18、VAV1、WARS、WIPF1 和 WIPI1。

[0259] 144. 实施方案 1-93 和 135-143 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:ADAR、ADM、ALAS1、ANKRD22、ARHGAP27、B3GNT5、BCL10、C12orf35、C15orf29、C2orf59、CD177、CEACAM1、CPEB2、DDX58、F2RL1、GDPD3、GNAI3、HIST2H3A、HIST2H3D、HIST2H4A、HMGCR、HSPA6、HSPC159、IL4R、IMPA2、KPNB1、KREMEN1、KRT23、LDLR、LOC100130904、LTB4R、MAEA、MARK2、MBOAT2、MPZL3、N4BP1、NBEAL2、NMI、NPEPPS、PARP14、PGM2、PPIF、PXN、RALBP1、ROD1、RPS6KA1、S100P、SERTAD2、SLC9A1、SLPI、SP110、SPINT1、ST14、TBC1D3、TNFRSF9、TRIM21、UPP1、VPS24、ZBTB34 和 ZNF256。

[0260] 145. 实施方案 1-93 和 135-144 中任一项的方法,其中所述一种或多种标记物包含通过实施方案 94-134 中任一项的方法鉴定的标记物中的至少一种或多种。

[0261] 146. 包含多种标记物检测试剂的试剂盒,所述标记物检测试剂检测通过实施方案 94-134 中任一项的方法鉴定的标记物中的至少一种或多种。

[0262] 147. 治疗或预防受试者中的疾病或病状的方法,其包括给所述受试者施用包含通过实施方案 6 和 15 中任一项的方法鉴定的化合物的组合物。

[0263] 148. 实施方案 1-93 和 135-145 中任一项的方法,其中所述循环患病细胞被传染剂感染。

[0264] 149. 实施方案 148 的方法,其中所述传染剂是病毒、细菌、真菌、寄生虫、原生动物、传染性蛋白质或微生物。

[0265] 150. 实施方案 1-93、135-145 和 148-149 中任一项的方法,其中当所述方法包括吞噬细胞或 $>2n$ 吞噬细胞时,所述吞噬细胞或 $>2n$ 吞噬细胞包含经肾核酸。

[0266] 附图简述

[0267] 图 1 描述了在 CD2 阳性外周血细胞的母体参考样品和组合样品中的一组潜在的信息标记物和相关等位基因频率读数的相对百分比。沿 x 轴的是标记物,并且沿 y 轴的是关于不同等位基因的读数百分比。三角形:母体样品参考等位基因的百分比;圆圈:母体样品参考等位基因的百分比;正方形:组合样品参考等位基因的百分比;和菱形:组合样品参考等位基因的百分比。

[0268] 图 2 描述了在母体参考样品和组合样品中的一组潜在的信息标记物和相关等位基因频率读数的相对百分比。沿 x 轴的是标记物,并且沿 y 轴的是关于不同等位基因的读数百分比。三角形:母体样品参考等位基因的百分比;圆圈:母体样品参考等位基因的百分比;正方形:组合样品参考等位基因的百分比;和菱形:组合样品参考等位基因的百分比。

[0269] 图 3 描述了如在循环无细胞体液(ccff)样品和母体参考样品之间比较的一组潜在的信息标记物和相关等位基因频率读数的相对百分比。沿 x 轴的是标记物,并且沿 y 轴的是关于不同等位基因的读数百分比。三角形:参考等位基因;圆圈:交互等位基因。

[0270] 图 4 描述了在 T 细胞样品中的一组潜在的信息标记物和相关等位基因频率读数的

相对百分比。沿 x 轴的是标记物,并且沿 y 轴的是关于不同等位基因的读数百分比。三角形:参考等位基因;圆圈:交互等位基因。

[0271] 图 5 描述了在循环无细胞体液(ccff)加上 1%单核细胞样品的组合样品中的一组潜在的信息标记物和相关等位基因频率读数的相对百分比。沿 x 轴的是标记物,并且沿 y 轴的是关于不同等位基因的读数百分比。三角形:参考等位基因;圆圈:交互等位基因。

[0272] 图 6 描述了与在母体 T 细胞中的信息标记物缺乏相比较,在母体血液的循环无细胞体液级分中的信息标记物出现。沿 x 轴的是标记物,并且沿 y 轴的是关于不同等位基因的读数百分比。

[0273] 图 7 描述了与在含有 T 细胞的母体参考样品中的信息标记物缺乏相比较,在含有来自母体血液的无细胞体液加上单核细胞的组合样品中的信息标记物出现。沿 x 轴的是标记物,并且沿 y 轴的是关于不同等位基因的读数百分比。

[0274] 图 8 描述了在仅母体样品和组合样品中的示范性信息标记物。三角形:参考等位基因;圆圈:交互等位基因。

[0275] 图 9 描述了在仅母体样品和组合样品中的示范性信息标记物。三角形:参考等位基因;圆圈:交互等位基因。

[0276] 图 10 描述了在仅母体样品和组合样品中的示范性信息标记物。三角形:参考等位基因;圆圈:交互等位基因。

[0277] 发明详述

[0278] 除非本文另有定义,否则本申请中使用的科学和技术术语应具有由本领域普通技术人员通常理解的含义。一般地,本文描述的与下述结合使用的命名法和下述的技术是本领域众所周知和通常使用的那些:细胞和组织培养、分子生物学、细胞和癌症生物学、神经生物学、神经化学、病毒学、免疫学、微生物学、药理学、遗传学以及蛋白质和核酸化学。

[0279] 本申请中提及的上述和任何其他出版物、专利和公开的专利申请全部特别通过引用并入本文。在冲突的情况下,以本说明书包括其具体定义为准。

[0280] 本说明书自始至终,单词“包含”或其变化应理解为暗示包括所述整数(或组分)或整数(或组分)组,但不排除任何其他整数(或组分)或整数(或组分)组。

[0281] 单数形式“一个”、“一种”和“该/所述”包括复数,除非上下文另有明确说明。

[0282] 术语“包括”用于意指“包括但不限于”。“包括”和“包括但不限于”可互换使用。

[0283] “患者”、“受试者”或“个体”可互换使用,并且指人或非人动物。这些术语包括哺乳动物,例如人、灵长类动物、家畜动物(例如牛、猪)、伴侣动物(例如犬、猫)和啮齿类动物(例如小鼠和大鼠)。

[0284] 如本文使用的,对照受试者指仍未诊断为具有待测定的疾病或病状的任何个体。术语“正常对照”、“健康对照”和“非患病细胞”同样意指这样的样品(例如细胞、血清、组织),其得自不具有待测定的病状或疾病的来源(例如受试者、对照受试者、细胞系),并且因此可以用于测定待测量的疾病或病状的基线。还应当理解对照受试者、正常对照和健康对照包括作为标准获得且使用的数据,即它可以反复用于多个不同受试者。换言之,例如,当比较受试者样品与对照样品时,来自对照样品的数据可以已在不同的实验组中获得,例如,它可以是得自许多健康受试者的平均值并且实际上不在获得受试者数据时获得。

[0285] 如本文使用的术语“诊断”指技术人员通过其可以估计和/或测定患者是否患有

给定疾病或病状的方法。技术人员通常基于一种或多种诊断指示剂例如标记物作出诊断，所述诊断指示剂的存在、不存在、量或量变化指示病状的存在、严重性或不存在。

[0286] 如本文使用的，术语“预测”指疾病或病状进展的可能性，包括疾病或病状的复发。

[0287] 国际申请 PCT/US09/31395、PCT/US11/45009、PCT/US11/44969、PCT/US11/44973、PCT/US11/44991、PCT/US11/45002、PCT/US11/44996 和 PCT/US11/45018 的公开内容通过引用并入本文用于所有目的。

[0288] 本文描述的每个实施方案可以与本文描述的任何其他实施方案组合。

[0289] 本发明方法的描述

[0290] 通过使用衍生自来源组合的概况，技术人员能够捕获在从样品中分离出组分用于测试的过程中通常丢失的数据。同时，待组合的分析组分对于使用的标记物富集。因此，本发明的方法不将不必要的“噪声”引入信号内。使用受试者特异性概况比较的实施方案还消除了对于特定疾病或病状，对群体衍生的平均概况的依赖性。使用群体衍生的平均概况可以将误差引入受试者中的特定疾病或病状的检测或诊断内。因此，本发明的方法允许对于个体个性化的检测、诊断和治疗。

[0291] 本发明的方法具有高特异性、灵敏度和准确度，并且能够检测在体液样品、细胞或组织内存在的疾病或病状特异性标记物。在一些实施方案中，与目前方法相比较，本发明的方法具有改善的特异性、灵敏度和准确度。当例如将患者样品收集且分离成个别组分，在所述组分中仅选择一种用于测试时，本发明的方法还减少了丢失有价值信号的问题。相应地，在某些方面，本发明提供了用于疾病或病状的早期检测，即在疾病可以通过常规诊断技术例如成像技术诊断前的非侵入性测定法，并且因此相对于具有此类疾病或病状的个体的干预、预防和治疗的需要和策略，提供了用于改善的决策制定的基础。

[0292] 本发明提供了通过比较疾病或病状相关标记物（例如核酸、蛋白质、脂质、碳水化合物、代谢产物）的概况（例如基因/蛋白质/脂质/碳水化合物表达概况、基因型、基因拷贝数、基因剂量、DNA 甲基化等），用于诊断或帮助诊断疾病或病状的方法。用于比较的一种概况可以是来自受试者的样品的概况，所述样品包含两种或更多种不同组分（例如无细胞体液、吞噬细胞、循环囊泡和循环患病细胞）的组合。备选地，用于比较的概况可以是来自受试者的包含分析物的样品的概况，所述分析物分离自例如无细胞体液、吞噬细胞、具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞（ $>2n$ 吞噬细胞）、循环囊泡和循环患病细胞。例如，包含来自吞噬细胞和无细胞体液的的分析物的样品可以通过下述生成：从吞噬细胞中分离分析物（例如核酸或蛋白质）（例如通过裂解细胞且使用基于亲和力的技术分离分析物）和从无细胞体液中分离分析物（例如核酸或蛋白质），并且组合分析物以制备用于制备概况的样品。为便于提及，含有两种或更多种不同组分（例如无细胞体液、吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、循环囊泡和循环患病细胞或其分离的分析物）的组合的样品在本文中可以被称为“组合样品”。在一些实施方案中，组合样品可以包含吞噬细胞群体、 $>2n$ 吞噬细胞群体、循环囊泡群体或循环患病细胞群体的裂解产物、或者裂解产物的级分或部分分别代替吞噬细胞群体、 $>2n$ 吞噬细胞群体、循环囊泡群体或循环患病细胞群体。在一些实施方案中，组合样品可以包含从分离自吞噬细胞群体、 $>2n$ 吞噬细胞群体、循环囊泡群体或循环患病细胞群体的裂解产物中分离的分析物、或者从裂解产物中分离的分析物的级分或部分分别代替吞噬细胞群体、 $>2n$ 吞噬细胞群体、循环囊泡群体或循环患病细胞群体。在一些实施方案中，组合样品可以包含

从无细胞体液中分离的分析物,或者从无细胞体液中分离的分析物的部分或级分,而不是无细胞体液本身。对照概况可以来自取自相同个体的吞噬细胞、具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞(= $2n$ 吞噬细胞)、非吞噬细胞或对照细胞,所述对照细胞基本上不含受疾病或病状影响的细胞。备选地,对照概况可以是来自疾病或病状的标记物储库的概况。在本发明的背景下,“基本上不含受疾病或病状影响的细胞的对照细胞”指与循环患病细胞相比较,包含明显更少量的受疾病或病状影响的细胞的细胞群体。在一些实施方案中,“基本上不含受疾病或病状影响的细胞的对照细胞”是至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5% 或 100% 不含受疾病或病状影响的细胞的细胞。在一些实施方案中,可以用于本发明的方法中的对照细胞基本上不含胎儿材料(例如核酸、蛋白质和本文描述的任何分析物),例如至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5% 或 100% 不含胎儿材料的对照细胞。

[0293] 本发明还提供了用于评价发展疾病或病状的风险,预测所述疾病,监视所述疾病进展或消退,评价治疗的功效,或者鉴定能够改善或治疗所述疾病或病状的化合物的方法。

[0294] 在一些实施方案中,基本上不含疾病或病状标记物的一种或多种全血组分可以从全血样品中分离。在这些实施方案中,基本上不含标记物的一种或多种全血组分可以用作对照样品(例如,以测定对照概况),并且全血样品的剩余部分可以用作分析样品(例如,以测定分析概况)。例如,非吞噬细胞群体可以从全血样品中分离并且用于测定对照概况,而全血样品的剩余部分用于测定分析概况。

[0295] 本发明的方法可以连同任何已知的诊断方法一起使用,所述诊断方法例如身体检查、视力检查、活组织检查、扫描、组织学、放射学、成像、超声、使用商业试剂盒、基因测试、免疫学测试、体液分析或监视神经活动。

[0296] 可以用于本发明的方法中的吞噬细胞包括能够摄入多种类型的物质(例如细胞凋亡细胞、传染剂、死细胞、活细胞、无细胞 DNA、无细胞 RNA、无细胞蛋白质)的所有类型的细胞。在一些实施方案中,吞噬细胞是嗜中性粒细胞、巨噬细胞、单核细胞、树突状细胞、泡沫细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞或角质形成细胞。在一些实施方案中,吞噬细胞可以是不同类型的吞噬细胞的混合物。在一些实施方案中,吞噬细胞可以是活化的吞噬细胞,例如活化的巨噬细胞或嗜中性粒细胞。在一些实施方案中,吞噬细胞是组织细胞例如朗格汉斯细胞。

[0297] 如本文使用的,“ $>2n$ 吞噬细胞”指具有大于 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞,而“ $= 2n$ 吞噬细胞”指具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞。根据本发明,一些吞噬细胞吞食在体液中存在着的活的/濒死的/死的患病细胞(及其亚细胞片段)和/或无细胞疾病特异性核酸、蛋白质、碳水化合物和/或脂质。此类吞噬作用导致这些疾病标记物内在化到吞噬细胞内,并且因此这些吞噬细胞的 DNA 含量将变得大于 $2n$ 。相比之下,一些吞噬细胞未吞食在体液中存在着的活的/濒死的/死的患病细胞或其片段和/或无细胞疾病特异性核酸、蛋白质、脂质和/或碳水化合物。这组吞噬细胞的 DNA 含量仍为 $2n$ 。在一些实施方案中,疾病特异性标记物(例如具有疾病特异性突变的 DNA)可以由 $>2n$ 吞噬细胞表达。例如,患病细胞的突变 DNA 整合到 $>2n$ 吞噬细胞的正常 DNA 内。 $>2n$ 吞噬细胞的“整合”DNA 后续转录成 RNA 而后者翻译成蛋白质产生不同于未吞噬患病细胞的吞噬细胞(即 $= 2n$ 吞噬细胞)的表型。在其他实施方案中,内在化的疾病特异性标记物不由 $>2n$ 吞噬细胞表达。标记物可以易位到

>2n 吞噬细胞的膜上,或由 >2n 吞噬细胞分泌出来。

[0298] 可以用于本发明的方法中的循环患病细胞包括所有类型的循环细胞,其可以受疾病或病状影响或者被传染剂感染。循环细胞指存在于体液中的细胞。循环细胞可能不一定遍及全身或在循环系统中循环。例如,循环细胞可以局部存在于例如滑液、或脑脊髓液或淋巴液中。循环患病细胞还可以脱离已受疾病或病状影响或者被传染剂感染的组织或器官。

[0299] 可以用作本发明的方法中的对照细胞的细胞包括所有类型的正常细胞、或健康细胞、或基本上不含疾病或病状的细胞、或基本上不含传染剂的细胞。对照细胞可以是循环细胞或非循环细胞(例如活组织检查细胞),其代表对循环患病细胞的测量与之相比较的正常或非患病状态,以测定一种或多种疾病相关标记物是否以不同水平存在于循环患病细胞和对照细胞之间。对照细胞的性质可以是用于特定测定法的设计选择的问题,并且可以由患者自身的正常组织衍生或测定。

[0300] 在一些实施方案中,循环患病细胞是血细胞、肿瘤细胞、淋巴瘤细胞、胎儿细胞、凋亡细胞、上皮细胞、内皮细胞、干细胞、祖细胞、间充质细胞、成骨细胞、骨细胞、造血干细胞、泡沫细胞、脂肪细胞、经宫颈细胞、循环心肌细胞、循环纤维细胞、循环癌症干细胞、循环肌细胞、来自肾的循环细胞、来自胃肠道的循环细胞、来自肺的循环细胞、来自生殖器官的循环细胞、来自中枢神经系统的循环细胞、循环肝细胞、来自脾的循环细胞、来自胸腺的循环细胞、来自甲状腺的循环细胞、来自内分泌腺的循环细胞、来自甲状旁腺的循环细胞、来自垂体的循环细胞、来自肾上腺的循环细胞、来自胰岛的循环细胞、来自胰腺的循环细胞、来自下丘脑的循环细胞、来自前列腺组织的循环细胞、来自乳腺组织的循环细胞、来自循环视网膜细胞的循环细胞、循环眼细胞、循环听细胞、循环表皮细胞或来自泌尿道的循环细胞。在其他实施方案中,循环患病细胞可以是不同类型的循环患病细胞的混合物。

[0301] 可以用于本发明的方法中的循环患病细胞可以受多种疾病或病状影响。示例性疾病或病状是心血管疾病或病状、肾相关疾病或病状、产前或妊娠相关的疾病或病状、神经学或神经精神性疾病或病状、自身免疫或免疫相关疾病或病状、癌症、传染性疾病或病状、线粒体紊乱、呼吸-胃肠道疾病或病状、生殖系统疾病或病状、眼疾病或病状、肌肉骨骼疾病或病状、或者皮肤疾病或病状。

[0302] 可以用于本发明的方法中的循环患病细胞可以被传染剂感染,所述传染剂例如病毒、细菌、真菌、寄生虫、原生动植物、传染性蛋白质或微生物。

[0303] 在一些实施方案中,在本发明的方法中有用的细胞(例如循环患病细胞、不受疾病或病状影响的对照细胞、吞噬细胞、>2n 吞噬细胞、= 2n 吞噬细胞或非吞噬细胞)是去核的。细胞可以例如通过使用物理去除(例如经由微针、光镊或抽吸)、化学处理、光消融或紫外线照射而去核。

[0304] 如本文使用的,“循环囊泡”指细胞起源的膜结合的囊泡。循环囊泡可能不一定遍及全身或在循环系统中循环。例如,循环囊泡可以局部存在于例如滑液、或脑脊髓液或淋巴液中。在一些实施方案中,循环囊泡选自循环微泡、凋亡小体、微粒、膜结合的囊泡、多泡体、纳米囊泡、微粒和 ARRDC-1 介导的微泡(ARMM)。在进一步的实施方案中,循环微泡是外泌体或尿液外泌体。

[0305] 在一些实施方案中,组合样品包含选自下述的两种或更多种不同组分:从受试者中分离的无细胞体液,从受试者中分离的吞噬细胞群体,从受试者中分离的 >2n 吞噬细胞

群体,从受试者中分离的循环囊泡群体和从受试者中分离的循环患病细胞群体。在一些实施方案中,组合样品包含分离自从受试者中分离的无细胞体液的分析物,分离自从受试者中分离的吞噬细胞群体的分析物,分离自从受试者中分离的 >2n 吞噬细胞群体的分析物,分离自从受试者中分离的循环囊泡群体的分析物和分离自从受试者中分离的循环患病细胞群体的分析物。

[0306] 如本文使用的,疾病或病状的标记物“概况”可以泛指关于标记物的任何信息。这种信息可以是定性的(例如存在或不存在)或定量的(例如水平、拷贝数或剂量)。在一些实施方案中,标记物的概况可以指示这种标记物的不存在。概况可以是核酸(例如 DNA 或 RNA)概况、蛋白质概况、脂质概况、碳水化合物概况、代谢产物概况或其组合。如本文使用的,“标记物”一般指在吞噬细胞中可区别检测并且指示疾病或病状的存在分析物。如果分析物可以在吞噬细胞中定量或定性区别,则它是可区别检测的。

[0307] 本发明的方法可以应用于多种疾病或病状。示例性疾病或病状是心血管疾病或病状,肾相关疾病或病状,产前或妊娠相关的疾病或病状,神经学或神经精神性疾病或病状,自身免疫或免疫相关疾病或病状,癌症,传染性疾病或病状,儿科疾病、病症或病状,线粒体紊乱,呼吸-胃肠道疾病或病状,生殖系统疾病或病状,眼疾病或病状,肌肉骨骼疾病或病状,或者皮肤疾病或病状。

[0308] 如本文使用的,术语“心血管疾病或病状”指影响心脏或血管(动脉和静脉)系统的任何病状。心血管疾病的例子包括但不限于心肌梗塞、冠状动脉疾病、经皮冠状动脉腔内成形术(PTCA)、冠状动脉搭桥手术(CABG)、再狭窄、外周动脉疾病、中风、腹主动脉瘤、颅内动脉瘤、大动脉粥样硬化性中风、心源性中风、早发性心肌梗塞、心力衰竭、肺栓塞、急性冠脉综合征(ACS)、心绞痛、心脏肥大、动脉硬化、心肌炎、全心炎、心内膜炎、高血压、充血性心脏衰竭、动脉粥样硬化、脑血管疾病、心脏健康下降、缺血性心脏病、心包炎、心源性休克、酒精性心肌病、先天性心脏病、缺血性心肌病、高血压性心肌病、瓣膜性心肌病、炎性心肌病、全身代谢性疾病继发性心肌病、扩张型心肌病、肥厚型心肌病、心律失常性右室心肌病、限制型心肌病、非致密性心肌病、心脏瓣膜疾病、高血压性心脏病、心肌缺血发作、不稳定型心绞痛、心肌破裂、心源性休克、栓塞、深静脉血栓形成、心律失常、心律失常性右室心肌病、糖尿病性心肌病、二尖瓣反流、二尖瓣脱垂、周围血管疾病、动脉疾病、颈动脉疾病、深静脉血栓形成、静脉疾病、脑血管疾病、动脉瘤、左心室肥大、高血压性肾疾病、高血压性视网膜疾病、血管炎、左主干病变、动脉血管疾病、静脉血管疾病、微循环血栓形成、一过性脑血管意外、肢体缺血、动脉瘤、血栓形成、浅静脉血栓形成和深静脉血栓形成。

[0309] 如本文使用的,术语“肾相关疾病或病状”指影响肾或肾脏系统的任何疾病或病状。肾相关疾病或病状的例子包括但不限于慢性肾病、原发性肾脏疾病、非糖尿病性肾病、肾小球肾炎、间质性肾炎、糖尿病性肾病、糖尿病肾病、肾小球硬化、快速进行性肾小球肾炎、肾纤维化、奥尔波特(Alport)综合征、IDDM 肾炎、系膜增生性肾小球肾炎、膜增生性肾小球肾炎、新月体性肾小球肾炎、肾间质纤维化、局灶性节段性肾小球硬化、膜性肾病、微小病变性肾病、少免疫快速进行性肾小球肾炎、IgA 肾病、多囊性肾病、登特病、肾胱氨酸病(nephrocytosis)、海曼肾炎、常染色体显性遗传(成人)多囊性肾病、常染色体隐性遗传(儿童期)多囊性肾病、急性肾损伤、肾病综合症、肾缺血、足细胞疾病或病症、蛋白尿、肾小球疾病、膜性肾小球肾炎、局灶性节段性肾小球肾炎、先兆子痫、子痫、肾损害、胶原血管

疾病、良性体位性（体位）蛋白尿、IgM 肾病、膜性肾病、肉瘤样病、糖尿病、由于药物的肾脏损害、法布里病、氨基酸尿、范可尼综合征、高血压性肾硬化、间质性肾炎、镰状细胞病、血红蛋白尿、肌红蛋白尿、韦格纳氏肉芽肿病、糖原贮积病 1 型、慢性肾病、慢性肾功能衰竭、低肾小球滤过率（GFR）、肾血管硬化、狼疮性肾炎、ANCA 阳性少免疫新月体性肾小球肾炎、慢性同种异体移植植物肾病、肾毒性、肾脏毒性、肾坏死、肾损害、肾小球和肾小管损伤、肾功能不全、肾病综合征、急性肾功能衰竭、慢性肾功能衰竭、近端管功能障碍、急性肾移植排斥、慢性肾移植排斥、非 IgA 系膜增生性肾小球肾炎、感染后肾小球肾炎、任何种类的肾脏受累的血管炎、任何遗传性肾脏疾病、任何间质性肾炎、肾移植失败、肾癌、与其他病状（例如高血压、糖尿病和自身免疫性疾病）相关的肾疾病、登特病、肾胱氨酸病（nephrocytinosis）、海曼肾炎、原发性肾脏疾病、塌陷性肾小球病、致密物沉积病、冷球蛋白血症相关性肾小球肾炎、Henoch-Schönlein 疾病、感染后肾小球肾炎、细菌性心内膜炎、显微镜下多血管炎、丘斯（Churg-Strauss）综合征、抗 GBM 抗体介导的肾小球性肾炎、淀粉样变性、单克隆免疫球蛋白沉积病、源纤维性肾小球肾炎、免疫触发性肾小球肾病、缺血性肾小管损伤、药物诱发性肾小管间质性肾炎、中毒性肾小管间质性肾炎、传染性肾小管间质性肾炎、细菌性肾盂肾炎、起因于多瘤病毒感染或 HIV 感染的病毒感染性肾小管间质性肾炎、代谢诱发的肾小管间质疾病、混合性结缔组织病、管型肾病、可能起因于尿酸盐或草酸盐或药物诱发的结晶沉积的结晶性肾病变、急性细胞肾小管-间质同种异体移植排斥、起因于淋巴瘤或移植后淋巴组织增生性疾病的肿瘤浸润性疾病、肾阻塞性疾病、血管性疾病、血栓性微血管病、肾血管硬化、动脉粥样硬化性栓塞性疾病、混合性结缔组织病、结节性多动脉炎、钙调磷酸酶抑制剂诱发的血管疾病、急性细胞血管性同种异体移植排斥、急性体液性同种异体移植排斥、早期肾功能衰退（ERFD）、终末期肾病（ESRD）、肾静脉血栓形成、急性肾小管坏死、急性间质性肾炎、建立的慢性肾脏疾病、肾动脉狭窄、缺血性肾病、尿毒症、药物和毒素诱发的慢性肾小管间质性肾炎、反流性肾病、肾结石、古德帕斯彻氏综合征和肾积水。

[0310] 如本文使用的，术语“产前或妊娠相关的疾病或病状”指影响孕妇、胚胎或胎儿的任何疾病、病症或病状。产前或妊娠相关的病状还可以指与妊娠相关或者由于妊娠而直接或间接出现的任何疾病、病症或病状。这些疾病或病状可以包括任何和所有出生缺陷、先天性病状、或者遗传性疾病或病状。产前或妊娠相关的疾病的例子包括但不限于恒河猴溶血病（Rhesus disease）、新生儿溶血病、 β -地中海贫血、性别决定、妊娠确定、遗传性孟德尔遗传病、染色体畸变、胎儿染色体非整倍性、胎儿染色体三体性、胎儿染色体单体性、8 号染色体三体性、13 号染色体三体性（帕陶（Patau）综合征）、16 号染色体三体性、18 号染色体三体性（爱德华兹综合征）、21 号染色体三体性（唐氏综合征）、X 染色体连锁障碍、X 染色体三体性（XXX 综合征）、单体性 X（特纳综合征）、XXY 综合征、XYY 综合征、XYY 综合征、XXXY 综合征、XXYY 综合征、XYYY 综合征、XXXXX 综合征、XXXXY 综合征、XXYY 综合征、XXYYY 综合征、脆性 X 染色体综合征、胎儿生长受限、囊性纤维化、血红蛋白病、死胎、胎儿酒精综合征、镰状细胞性贫血、血友病、克氏综合征、dup(17)(p11.2p1.2) 综合征、子宫内膜异位症、佩-梅二氏病、dup(22)(q11.2q11.2) 综合征、猫眼综合征、猫叫综合征、沃-赫二氏综合征、威-博二氏综合征、夏-马-杜三氏病、压迫易感性神经病、史密斯-马盖尼斯综合征、神经纤维瘤病、Alagille 综合征、腭心面综合征、迪乔治综合征、类固醇硫酸酯酶缺乏症、普拉德-威利综合征、卡尔曼综合征、小眼球线性皮肤缺损、肾上腺发育不全、甘油激酶

缺乏症、佩-梅二氏病、Y 上的睾丸决定因子、精子缺乏（因子 a）、精子缺乏（因子 b）、精子缺乏（因子 c）、1p36 缺失、苯丙酮尿、泰-萨克斯病、肾上腺增生、范可尼贫血、脊髓性肌萎缩、杜氏肌营养不良症、亨廷顿氏病、强直性肌营养不良、罗伯逊易位、天使人综合征、结节性硬化症、共济失调性毛细血管扩张症、开放性脊柱裂、神经管缺损、腹壁缺损、小于胎龄儿、先天性巨细胞病毒、软骨发育不全、马凡氏综合征、先天性甲状腺功能减退、先天性弓形虫病、生物素酶缺乏症、半乳糖血症、枫糖尿病、高胱氨酸尿症、中链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症、结构性出生缺陷、心脏缺陷、四肢异常、马蹄内翻足、无脑儿、无嗅脑畸形 / 前脑无裂畸形、脑积水、无眼畸形 / 小眼、无耳畸形 / 小耳畸形、大血管错位、法洛四联症、发育不全左心综合征、主动脉缩窄、无唇裂腭裂、伴或不伴腭裂的唇裂、伴或不伴瘻管的食道闭锁 / 狭窄、小肠闭锁 / 狭窄、肛门直肠闭锁 / 狭窄、尿道下裂、不确定性别、肾发育不全、肾囊肿、轴前多指症、肢复位缺陷、膈疝、失明、白内障、视力问题、听力丧失、耳聋、X 连锁肾上腺脑白质营养不良、雷特 (Rett) 综合征、溶酶体病症、脑瘫、自闭症、无舌畸形、白化病、眼白化病、眼皮肤白化病、妊娠糖尿病、阿-蔡二氏畸形、CHARGE 综合征、先天性膈疝、brachydactylia、无虹膜、裂足和手、异色症、Dwarfnian 耳、埃勒斯-当洛综合征、大疱性表皮松解、戈勒姆氏病、桥本氏综合征、胎儿水肿、肌张力减退、克-费二氏综合征、肌营养不良症、成骨不全、早老症、史-李-欧三氏 (Smith Lemli Opitz) 综合征、色盲、X 连锁淋巴组织增生病、脐膨出、腹裂、先兆子痫、子痫、未足月产、早产、流产、胎儿宫内发育迟缓、异位妊娠、妊娠剧吐、孕吐或可能成功引产。

[0311] 如本文使用的，术语“神经学或神经精神性疾病或病状”指影响神经系统的任何疾病或病状。神经学或神经精神性疾病或病状的例子包括但不限于头部创伤、中风、中风、缺血性中风、出血性中风、蛛网膜下腔出血、颅内出血、暂时性脑缺血发作、血管性痴呆、皮质基底节变性、脑炎、癫痫、获得性癫痫失语综合征 (Landau-Kleffner syndrome)、脑积水、假性脑瘤、丘脑疾病、脑膜炎、脊髓炎、运动障碍、特发性震颤、脊髓疾病、脊髓空洞症、阿尔茨海默氏病（早发性）、阿尔茨海默氏病（迟发性）、多发梗塞性痴呆、皮克氏病、亨廷顿氏病、帕金森氏病、帕金森综合征、痴呆、额颞叶痴呆、皮质基底变性、多系统萎缩、进行性核上性麻痹、路易体病、克雅氏病、丹-沃二氏综合征、弗里德赖希共济失调、马-约二氏病、偏头痛、精神分裂症、情绪障碍和抑郁症、路易体痴呆 (DLB)、额颞叶痴呆 (FTD)、多种形式的血管性痴呆 (VD)、皮层下血管性痴呆（宾斯旺格病）、自闭症、发育迟缓、运动神经元疾病、肌萎缩侧索硬化 (ALS)、神经元或脑损害、大脑缺氧、脑瘫 (CP)、记忆障碍、运动障碍、皮质基底节变性、多系统萎缩形式、中风相关病症、脑血管意外、辐照后脑病发作、血管性帕金森症、丘脑脑血管意外、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、酒精相关性痴呆、语义性痴呆、共济失调、非典型帕金森症、肌张力障碍、进行性核上性麻痹、特发性震颤、轻度认知障碍、肌萎缩侧索硬化、多发性硬化、神经病、皮克氏病、嗜刚果红淀粉样血管病、克雅氏病、AIDS 痴呆复合征、抑郁症、焦虑症、恐惧症、贝尔氏麻痹、癫痫、脑炎、神经肌肉障碍、神经肿瘤紊乱、脑肿瘤、神经血管病症、神经免疫病症、神经耳科疾病、神经外伤包括脊髓损伤、疼痛包括神经性疼痛、儿科神经学和神经精神性障碍、睡眠障碍、图雷特综合征、皮质基底节变性、酒精相关性痴呆、语义性痴呆、阿尔茨海默氏病合并多发梗塞性痴呆、阿尔茨海默氏病合并路易体痴呆、帕金森氏病合并路易体痴呆、阿尔茨海默氏病和帕金森氏病变合并路易体痴呆、额颞叶痴呆合并慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、注意力缺陷多动障碍、精神分裂症、强迫症、

精神发育迟缓、自闭症谱系障碍、眼球阵挛-肌阵挛综合征 (OMS) 发作、构音障碍、学习障碍 (即, 阅读或算术)、语言或行为才能缺陷、注意力缺陷障碍、淀粉样蛋白病、朊病毒病、Tau 病变、 α -共核蛋白病、成瘾状态例如通过下述中的至少一种造成的那些: 可卡因、尼古丁、酒精、食物、摇头丸、阿拉伯茶、咖啡因、鸦片、海洛因、大麻、安非他明、甲基苯丙胺或赌博、和法布里病。

[0312] 如本文使用的, 术语“自身免疫或免疫相关疾病或病状”指影响免疫系统功能的任何疾病或病状。自身免疫或免疫相关疾病或病状的例子包括但不限于抗磷脂综合征、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、自身免疫性血管炎、乳糜泻、自身免疫性甲状腺炎、输血后免疫、母胎不兼容、输血反应、免疫缺陷例如 IgA 缺乏症、普通可变量免疫缺陷、药物诱发的狼疮、糖尿病、I 型糖尿病、II 型糖尿病、幼年型糖尿病、幼年型类风湿性关节炎、牛皮癣关节炎、多发性硬化、免疫缺陷、变态反应、哮喘、牛皮癣、特应性皮炎、变应性接触性皮炎、慢性皮肤病、肌萎缩侧索硬化、化学疗法诱发的损伤、移植物抗宿主病、骨髓移植排斥、强直性脊柱炎、特应性湿疹、天疱疮、白塞氏病、慢性疲劳综合症、纤维肌痛、化学疗法诱发的损伤、重症肌无力、肾小球肾炎、变应性视网膜炎、系统性硬化症、亚急性皮肤红斑狼疮、皮肤红斑狼疮包括冻疮样红斑狼疮、干燥综合症、自身免疫性肾炎、自身免疫性血管炎、自身免疫性肝炎、自身免疫性心炎、自身免疫性脑炎、自身免疫介导的血液系统疾病、lc-SSc (硬皮病的局限性皮肤形式)、dc-SSc (硬皮病的皮肤扩散形式)、自身免疫性甲状腺炎 (AT)、格雷夫斯病 (GD)、重症肌无力、多发性硬化 (MS)、强直性脊柱炎、移植排斥、免疫老化、风湿性 / 自身免疫性疾病、混合性结缔组织病、脊椎关节病、牛皮癣、牛皮癣性关节炎、肌炎、硬皮病、皮炎、自身免疫性血管炎、混合性结缔组织病、特发性血小板减少性紫癜、克罗恩氏病、人类佐剂病、骨关节炎、幼年型慢性关节炎、脊椎关节病、特发性炎性肌病、系统性血管炎、肉瘤样病、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性血小板减少症、甲状腺炎、免疫介导的肾病、中枢或外周神经系统的脱髓鞘疾病、特发性脱髓鞘性多神经病、格-巴二氏综合症、慢性炎性脱髓鞘性多神经病、肝胆疾病、传染性或自身免疫性慢性活动性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、肉芽肿性肝炎、硬化性胆管炎、炎性肠病、谷蛋白敏感性肠病、惠普尔氏病、自身免疫或免疫介导的皮肤病、大疱性皮肤病、多形性红斑、变应性鼻炎、特应性皮炎、食物超敏反应、荨麻疹、肺的免疫学疾病、嗜酸性粒细胞性肺炎、特发性肺纤维化、过敏性肺炎、移植相关疾病、移植物排斥或移植物抗宿主病、牛皮癣关节炎、牛皮癣、皮炎、多肌炎 / 皮炎、中毒性表皮坏死松解症、系统性硬皮病和硬化症、与炎性肠病相关的应答、克罗恩氏病、溃疡性结肠炎、呼吸窘迫综合症、成人呼吸窘迫综合症 (ARDS)、脑膜炎、脑炎、葡萄膜炎、结肠炎、肾小球肾炎、变应性疾病、湿疹、哮喘、涉及 T 细胞浸润和慢性炎症应答的病状、动脉粥样硬化、自身免疫性心肌炎、白细胞粘附缺陷、变应性脑脊髓炎、与由细胞因子和 T 淋巴细胞介导的急性和迟发型超敏反应相关的免疫应答、肺结核、肉瘤样病、肉芽肿病包括韦格纳氏肉芽肿病、粒细胞缺乏症、血管炎 (包括 ANCA)、再生障碍性贫血、戴-布二氏贫血、免疫性溶血性贫血包括自身免疫性溶血性贫血 (AIHA)、恶性贫血、纯红细胞再生障碍 (PRCA)、因子 VIII 缺乏症、血友病 A、自身免疫性嗜中性粒细胞减少症、全血细胞减少症、白细胞减少症、涉及白细胞血细胞渗出的疾病、中枢神经系统 (CNS) 炎性病、多器官损伤综合症、重症肌无力、抗原-抗体复合物介导的疾病、抗肾小球基底膜病、抗磷脂抗体综合症、变应性神经炎、白塞病、卡斯尔曼氏综合症、古德帕斯彻氏综合症、朗-爱二氏肌无力综合症、雷诺氏综合症、干燥综合症、

斯-约二氏综合征、大疱性类天疱疮、天疱疮、自身免疫性多内分泌腺疾病、莱特尔氏病、僵人综合征、巨细胞动脉炎、免疫复合物肾炎、IgA 肾病、IgM 多神经病或 IgM 介导的神经病、特发性血小板减少性紫癜 (ITP)、血栓性血小板减少性紫癜 (TTP)、自身免疫性血小板减少症、睾丸和卵巢的自身免疫性疾病包括自身免疫性睾丸炎和卵巢炎、原发性甲状腺机能减退、自身免疫性内分泌疾病包括自身免疫性甲状腺炎、慢性甲状腺炎 (桥本氏甲状腺炎)、亚急性甲状腺炎、特发性甲状腺机能减退、阿狄森氏病、格雷夫斯氏病、自身免疫性多腺体综合征 (或多腺体内分泌病综合征)、席汉氏综合征、自身免疫性肝炎、淋巴样间质性肺炎 (HIV)、闭塞性细支气管炎 (非移植) 对应的 NSIP、格-巴二氏综合症、大血管血管炎 (包括风湿性多肌痛和巨细胞 (高安氏) 动脉炎)、中等血管血管炎 (包括川崎氏病和结节性多动脉炎)、强直性脊柱炎、贝格尔氏病 (IgA 肾病)、急进性肾小球肾炎、原发性胆汁性肝硬化、口炎性腹泻 (谷蛋白肠病)、冷球蛋白血症和肌萎缩侧索硬化 (ALS)。

[0313] 如本文使用的,术语“癌症”指多种类型的恶性赘生物,其中大多数可以侵入周围组织,并且可以转移至不同部位 (参见例如 PDR Medical Dictionary, 第 1 版 (1995), 通过引用整体并入本文用于所有目的)。术语“赘生物”和“肿瘤”指通过比正常更快速的细胞增殖进行生长且在起始增殖的刺激去除后继续生长的异常组织。此类异常组织显示结构组织和与正常组织的功能协调的部分或完全缺乏,其可以是良性的 (即良性肿瘤) 或恶性的 (即恶性肿瘤)。癌症的一般分类的例子包括但不限于癌 (即衍生自上皮细胞的恶性肿瘤,例如常见形式的乳腺、前列腺、肺和结肠癌)、肉瘤 (即衍生自结缔组织或间充质细胞的恶性肿瘤)、淋巴瘤 (即衍生自造血细胞的恶性肿瘤)、白血病 (即衍生自造血细胞的恶性肿瘤)、生殖细胞肿瘤 (即衍生自全能细胞的肿瘤。在成人中最通常在睾丸或卵巢中发现;在胎儿、婴儿和幼儿中,最通常在身体中线上,特别是在尾骨的尖端处发现)、滋养细胞肿瘤 (即类似未成熟或胚胎组织的典型恶性肿瘤) 等等。预期由本发明包含的赘生物类型的例子包括但不限于与下述组织的癌症相关的那些赘生物:神经组织、造血组织、乳腺、皮肤、骨、前列腺、卵巢、子宫、宫颈、肝、肺、脑、喉、胆囊、胰腺、直肠、甲状旁腺、甲状腺、肾上腺、免疫系统、头和颈、结肠、胃、支气管和 / 或肾。

[0314] 如本文使用的,术语“传染性疾病或病状”指起因于传染剂的任何疾病或病状。传染剂包括但不限于细菌、病毒、真菌、原生动物、传染性蛋白质、寄生微生物和其他寄生虫。传染性疾病或病状的例子包括但不限于细菌感染、病毒感染、真菌感染、原生动物感染、寄生虫感染、肝炎 (例如甲、乙、丙、丁和戊型肝炎)、疱疹、流感、人乳头状瘤病毒 (HPV) 感染、AIDS、炭疽、肺炎 (细菌或病毒)、蜂窝织炎、人副流感、普通感冒、军团病 (军团杆菌病)、霍乱、克雅氏病 (CJD)、变异型克雅氏病 (vCJD)、致死性家族性失眠症 (FFI)、格-斯-施 (GSS) 综合征、衣原体、水痘、埃博拉出血热、登革热、贾第虫病、莱姆病、疟疾、麻疹、腮腺炎、风疹、百日咳、淋病、葡萄球菌感染、链球菌感染、肺炎球菌感染、狂犬病、幽门螺杆菌感染、呼吸道合胞病毒感染、落基山斑疹热、SARS、败血症、肺结核和西尼罗河热。

[0315] 病毒包括但不限于 DNA 或 RNA 动物病毒。如本文使用的, RNA 病毒包括但不限于病毒科例如细小 RNA 病毒科 (例如脊髓灰质炎病毒)、呼肠病毒科 (例如轮状病毒)、披膜病毒科 (例如脑炎病毒、黄热病毒、风疹病毒)、正粘病毒科 (例如流感病毒)、副粘病毒科 (例如呼吸道合胞病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、副流感病毒)、弹状病毒科 (例如狂犬病病毒)、冠状病毒科、布尼亚病毒科、黄病毒科、丝状病毒科、沙粒病毒科、布尼亚病毒科和逆转

录病毒科（例如人嗜 T 细胞淋巴病毒 (HTLV)、人免疫缺陷病毒 (HIV)）。如本文使用的, DNA 病毒包括但不限于, 病毒科例如乳多空病毒科（例如乳头状瘤病毒）、腺病毒科（例如腺病毒）、疱疹病毒科（例如单纯疱疹病毒）和痘病毒科（例如天花病毒）。

[0316] 细菌包括但不限于革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、抗酸细菌等等。革兰氏阳性菌包括但不限于放线菌科 (Actinomadura)、衣氏放线菌 (*Actinomyces israelii*)、炭疽芽孢杆菌 (*Bacillus anthracis*)、蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、肉毒梭菌 (*Clostridium botulinum*)、艰难梭菌 (*Clostridium difficile*)、产气荚膜梭菌 (*Clostridium perfringens*)、破伤风梭菌 (*Clostridium tetani*)、棒状杆菌属 (*Corynebacterium*)、粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*)、单核细胞增多性李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*)、诺卡氏菌属 (*Nocardia*)、痤疮丙酸杆菌 (*Propionibacterium acnes*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epiderm*)、变异链球菌 (*Streptococcus mutans*)、肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 等等。革兰氏阴性菌包括但不限于猫阿菲彼亚杆菌 (*Afipia felis*)、拟杆菌属 (*Bacteriodes*)、杆菌状巴尔通体 (*Bartonella bacilliformis*)、百日咳博德特菌 (*Bordetella pertussis*)、伯氏疏螺旋体 (*Borrelia burgdorferi*)、回归热疏螺旋体 (*Borrelia recurrentis*)、布鲁氏菌属 (*Brucella*)、肉芽肿荚膜杆菌 (*Calymmatobacterium granulomatis*)、弯曲杆菌属 (*Campylobacter*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、土拉热弗朗西斯菌 (*Francisella tularensis*)、阴道加德纳菌 (*Gardnerella vaginalis*)、埃及嗜血杆菌 (*Haemophilus aegyptius*)、杜氏嗜血杆菌 (*Haemophilus ducreyi*)、流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenzae*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*)、嗜肺军团菌 (*Legionella pneumophila*)、问号钩端螺旋体 (*Leptospira interrogans*)、脑膜炎奈瑟菌 (*Neisseria meningitidis*)、牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*)、*Providencia stuartii*、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、肠炎沙门氏菌 (*Salmonella enteritidis*)、伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhi*)、粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*)、鲍氏志贺氏菌 (*Shigella boydii*)、念珠状链杆菌 (*Streptobacillus moniliformis*)、酿脓链球菌 (*Streptococcus pyogenes*)、苍白密螺旋体 (*Treponema pallidum*)、霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*)、小肠结肠炎耶尔森氏菌 (*Yersinia enterocolitica*)、鼠疫耶尔森氏菌 (*Yersinia pestis*) 等等。如本文使用的, 抗酸细菌包括但不限于鸟分枝杆菌 (*Mycobacterium avium*)、麻风分枝杆菌 (*Mycobacterium leprae*)、结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 等等。未落入这三个类别内的其他细菌包括但不限于亨氏巴尔通体 (*Bartonella henselae*)、鹦鹉热衣原体 (*Chlamydia psittaci*)、沙眼衣原体 (*Chlamydia trachomatis*)、伯氏考克斯体 (*Coxiella burnetii*)、肺炎支原体 (*Mycoplasma pneumoniae*)、螞立克次体 (*Rickettsia akari*)、普氏立克次体 (*Rickettsia prowazekii*)、立氏立克次体 (*Rickettsia rickettsii*)、恙虫病立克次体 (*Rickettsia tsutsugamushi*)、斑疹伤寒立克次体 (*Rickettsia typhi*)、解脲支原体 (*Ureaplasma urealyticum*)、肺炎双球菌 (*Diplococcus pneumoniae*)、查菲埃立克体 (*Ehrlichia chaffeensis*)、屎肠球菌 (*Enterococcus faecium*)、脑膜炎球菌 (*Meningococci*) 等等。

[0317] 如本文使用的, 真菌包括但不限于曲霉菌属 (*Aspergilli*)、假丝酵母属 (*Candida*)、白色假丝酵母 (*Candida albicans*)、粗球孢子菌 (*Coccidioides immitis*)、隐

球菌属 (*Cryptococci*) 及其组合。

[0318] 如本文使用的, 寄生微生物包括但不限于结肠小袋纤毛虫 (*Balantidium coli*)、小隐孢子虫 (*Cryptosporidium parvum*)、卡曼环孢子球虫 (*Cyclospora cayatanensis*)、脑胞内原虫属 (*Encephalitozoa*)、溶组织内阿米巴 (*Entamoeba histolytica*)、比氏肠微孢子虫 (*Enterocytozoon bieneusi*)、兰氏贾第虫 (*Giardia lamblia*)、利什曼原虫属 (*Leishmaniae*)、疟原虫属 (*Plasmodii*)、刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*)、锥虫属 (*Trypanosomae*)、梯形变形虫 (*trapezoidal amoeba*) 等等。其他寄生虫包括蠕虫 (例如肠道蠕虫), 特别是寄生蠕虫, 包括但不限于线虫纲 (*Nematoda*) (蛔虫, 例如鞭虫、钩虫、蛲虫、蛔虫、丝虫等)、和绦虫纲 (*Cestoda*) (例如绦虫)。

[0319] 如本文使用的, 传染性蛋白质包括朊病毒 (例如 PrP^{Sc}形式、CJD 朊病毒、vCJD 朊病毒、FFI 朊病毒和 GSS 朊病毒)。

[0320] 如本文使用的, 术语“儿科疾病、病症或病状”指影响婴儿或儿童或者在发育或儿童期过程中开始的任何疾病或病症。儿科疾病、病症和病状的例子包括但不限于自闭症、川崎氏病、先天性耳聋、小儿癌症、I 型糖尿病、先天性心脏缺陷、法洛四联症、杜氏肌营养不良症、成骨不全、克拉伯病、庞贝氏症、高雪氏病、法布里病、牛-帕-怀三氏综合征、先天性巨结肠病、克罗恩氏病、梅干腹综合征、囊性纤维化、肠易激综合症和脑瘫。儿科病状的例子还包括发育中的胎儿的遗传属性。例如, 儿科病状包括但不限于智力、虹膜色、发色和肌型。

[0321] 如本文使用的, “治疗”疾病或病状指采取步骤来获得有利或所需结果, 包括临床结果。有利或所需临床结果包括但不限于与疾病或病状相关的一种或多种症状的减轻或改善。

[0322] 如本文使用的, 给受试者“施用”化合物或试剂可以使用本领域技术人员已知的多种方法之一进行。例如, 化合物或试剂可以静脉内、动脉、皮内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、经眼、舌下、经口 (通过摄入)、鼻内 (通过吸入)、脊柱内、大脑内和经皮 (通过例如经由皮肤导管吸收) 施用。化合物或试剂还可以适当地通过可再补充或生物可降解的聚合物装置或其他装置例如贴剂和泵或制剂引入, 所述装置或制剂提供用于该化合物或试剂的延长、缓慢或控制释放。施用还可以例如执行一次、多次和 / 或经过一个或多个延长时期。在一些方面, 施用包括直接施用 (包括自施用) 和间接施用 (包括开药物处方的动作)。例如, 如本文使用的, 指导患者自施用药物或通过另一人施用药物和 / 或给患者提供药物处方的医生将药物施用于患者。在一些实施方案中, 化合物或试剂例如通过摄入经口施用于受试者, 或例如通过注射静脉内施用于受试者。在一些实施方案中, 经口施用的化合物或试剂在延长释放或缓慢释放制剂中, 或使用用于此类缓慢或延长释放的装置施用。

[0323] 在某些实施方案中, 与基本上不含受疾病或病状影响的细胞的吞噬细胞、= 2n 吞噬细胞、非吞噬细胞或对照细胞相比较, 在本发明的方法中使用的标记物在组合样品中是上调的或活化的。不同疾病或病状可以与不同标记物的上调 (或活化) 或下调 (或抑制) 相关。如本文使用的, “上调或上调的”可以指表达水平 (例如基因表达或蛋白质表达)、基因拷贝数、基因剂量以及标记物的其他定性或定量可检测状态中的增加。类似地, “下调或下调的”可以指表达水平、基因拷贝数、基因剂量以及标记物的其他定性或定量可检测状态中的增加。在某些实施方案中, 与基本上不含受疾病或病状影响的细胞的吞噬细胞、= 2n 吞噬细胞、非吞噬细胞或对照细胞相比较, 在本发明的方法中使用的标记物在组合样品中

是下调的或抑制的。不同疾病或病状可以与不同标记物的上调（或活化）或下调（或抑制）相关。如本文使用的，“活化或活化的”可以指标记物的活化状态，例如磷酸化状态、DNA 甲基化状态或 DNA 乙酰化状态。类似地，“抑制或抑制的”可以指标记物的阻遏状态或失活状态，例如去磷酸化状态、泛素化状态、DNA 去甲基化状态。

[0324] 在某些实施方案中，本发明的方法可以包括从无细胞体液中提取或富集标记物。任何已知的提取和富集方法均可在本文中使用。在某些实施方案中，本发明的方法还包括在测定多种概况前的下述步骤中的至少一个：i) 裂解 = 2n 吞噬细胞、非吞噬细胞或对照细胞；和 ii) 从裂解细胞中提取细胞组分。任何已知的细胞裂解和提取方法均可在本文中使用。在某些实施方案中，疾病或病状的至少一种或多种标记物存在于组合样品中。在某些实施方案中，在非吞噬细胞、= 2n 吞噬细胞或对照细胞的细胞内容物中不存在标记物。

[0325] 在某些实施方案中，本发明的方法还包括在测定多种概况前的下述步骤中的至少一个：i) 裂解吞噬细胞、>2n 吞噬细胞或 = 2n 吞噬细胞；和 ii) 从裂解的吞噬细胞、>2n 吞噬细胞或 = 2n 吞噬细胞中提取细胞组分。在某些实施方案中，吞噬细胞或 >2n 吞噬细胞的细胞内容物包含它们已吞食的多种类型的材料，例如活的患病细胞、死的患病细胞、细胞凋亡的患病细胞、循环肿瘤细胞、传染剂、胎儿细胞、滋养层细胞或其片段。在某些实施方案中，疾病或病状的至少一种或多种标记物存在于吞噬细胞或 >2n 吞噬细胞的细胞内容物中。

[0326] 在某些实施方案中，本发明的方法还包括在测定多种概况前的下述步骤中的至少一个：i) 裂解循环囊泡；和 ii) 从裂解的循环囊泡中提取组分。在某些实施方案中，循环囊泡的细胞内容物包含多种类型的材料，例如蛋白质和核酸。在某些实施方案中，疾病或病状的至少一种或多种标记物存在于循环囊泡的内容物中。

[0327] 在某些实施方案中，本发明的方法还包括在测定多种概况前的下述步骤中的至少一个：i) 裂解循环患病细胞；和 ii) 从裂解的循环患病细胞中提取内容物。在某些实施方案中，疾病或病状的至少一种或多种标记物存在于循环患病细胞的内容物中。

[0328] 在某些实施方案中，本发明的方法进一步包括比较鉴定的疾病或病状特异性标记物差异与本领域已知的至少一种标记物的储库。此类比较可以进一步证实疾病或病状的存在。在一些实施方案中，已知标记物的储库可以通过数据挖掘获得。如本文使用的，术语“数据挖掘”指发现衍生自数据库的已知数据的新数据模式、关系或关联和提取未来可用信息的过程。通常，基于计算机的系统可以在数据上训练，以执行数据挖掘，例如以分类输入数据并且随后与新输入数据一起使用，以基于训练数据作出决策。这些系统包括但不限于专家系统、模糊逻辑、非线性回归分析、多元分析、决策树分类器和贝叶斯信念网络。

[0329] 在某些实施方案中，吞噬细胞、>2n 吞噬细胞、循环囊泡、循环患病细胞、对照细胞和 = 2n 吞噬细胞从体液样品、组织或细胞中分离。示例性体液样品可以是全血、尿、大便、唾液、淋巴液、脑脊髓液、滑膜液、囊液、腹水、胸腔积液、在孕早期从孕妇获得的液体、在孕中期从孕妇获得的液体、在孕晚期从孕妇获得的液体、母体血液、羊水、绒毛膜绒毛样品、来自植入前胚胎的液体、母体尿、母体唾液、胎盘样品、胎儿血液、灌洗及宫颈阴道液、间隙液、口腔拭子样品、痰、支气管灌洗、巴氏涂片样品或眼液。在一些实施方案中，吞噬细胞、>2n 吞噬细胞和 = 2n 吞噬细胞从白血细胞中分离。在某些实施方案中，>2n 吞噬细胞和 = 2n 吞噬细胞从吞噬细胞群体中分开。

[0330] 在某些实施方案中，无细胞体液来自体液样品。示例性体液样品可以是全血、尿、

大便、唾液、淋巴液、脑脊髓液、滑膜液、囊液、腹水、胸腔积液、在孕早期从孕妇获得的液体、在孕中期从孕妇获得的液体、在孕晚期从孕妇获得的液体、母体血液、羊水、绒毛膜绒毛样品、来自植入前胚胎的液体、母体尿、母体唾液、胎盘样品、胎儿血液、灌洗及宫颈阴道液、间隙液、口腔拭子样品、痰、支气管灌洗、巴氏涂片样品或眼液。在一些实施方案中,通过本领域已知的方法例如提取、离心和过滤,通过从体液样品中分开细胞来获得无细胞体液。

[0331] 在一些实施方案中,用于组合样品中的组分可以通过从体液中去掉细胞来获得。在一些实施方案中,用于组合样品中的组分可以通过破坏(例如裂解)体液中的细胞来获得。这些实施方案可以例如通过去除一些细胞群体且破坏其他细胞群体而组合进行。在一些实施方案中,例如通过去除红血细胞、血清和 T 细胞且使用剩余部分作为组合样品,全血的样品可以用于制备组合样品。

[0332] 在某些实施方案中,包括具有 $2n$ 的 DNA 含量的细胞的组织或流体样品在通过下述获得的流体的非细胞级分的分开(例如经由离心)后获得:静脉或动脉穿刺随后抽取血液、组织活组织检查、支气管肺泡灌洗、鼻灌洗、眼灌洗、腹腔灌洗、阴道灌洗、膀胱灌洗、直肠灌洗、脊髓液的细针抽吸、滑液抽吸等等。无细胞体液在通过下述获得的流体的细胞级分的分开(例如经由离心)后获得:静脉或动脉穿刺随后抽取血液、组织活组织检查、支气管肺泡灌洗、鼻灌洗、眼灌洗、腹腔灌洗、阴道灌洗、膀胱灌洗、直肠灌洗、脊髓液的细针抽吸、滑液抽吸等等。

[0333] 在本发明的方法中,细胞分开/分离/纯化方法用于从受试者的体液样品、细胞或组织中分离细胞群体。技术人员可以使用任何已知的细胞分开/分离/纯化技术,以从体液中分离吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、患病细胞、对照细胞和 $=2n$ 吞噬细胞,或使 $>2n$ 吞噬细胞与 $=2n$ 吞噬细胞分开。示例性技术包括但不限于使用抗体、流式细胞术、荧光激活细胞分选、过滤、基于梯度的离心、洗脱、微流体、磁性分离技术、荧光磁性分离技术、纳米结构、量子点、基于高通量显微镜的平台或其组合。

[0334] 在本发明的方法中,细胞分开/分离/纯化方法用于从受试者的体液样品、细胞或组织中分离循环患病细胞群体。循环患病细胞在体液中可能是罕见的或数量低的。因此,富集技术(例如磁性富集)可以在分离前用于富集循环患病细胞。技术人员可以使用任何已知的细胞分开/分离/纯化技术,以从体液中分离循环患病细胞。示例性技术包括但不限于使用抗体、流式细胞术、荧光激活细胞分选、过滤、基于梯度的离心、洗脱、微流体、磁性分离技术、荧光磁性分离技术、纳米结构、量子点、基于高通量显微镜的平台、微流体技术、光纤阵列扫描技术、激光扫描细胞计量技术、多光子活体流式细胞术、光声血流计、纳米颗粒靶向的细胞表面抗原、用可检测的分泌产物染色循环患病细胞或其组合。与正常循环细胞相比较,循环患病细胞可以具有不同的物理特性,例如在大小、密度、电荷、迁移特性以及特定细胞类型(例如在循环黑素瘤细胞中的黑素细胞颗粒)方面的一些不同。技术人员可以基于此类不同特性使用任何已知的细胞分开/分离/纯化技术,以分离循环患病细胞。例如,在浮力密度中的不同可以用于通过梯度离心使循环患病细胞(例如循环肿瘤细胞)与正常血细胞分开。基于其与正常循环细胞相比较增加的大小,基于过滤的方法可以用于分离循环患病细胞(例如循环肿瘤细胞)。基于抗体的分离方法可以用于捕获循环患病细胞,其表达正常循环血细胞不存在的上皮细胞表面标记物。例如,针对上皮细胞粘附分子(EpCAM)的抗体与磁珠的缀合,随后为捕获细胞通过磁场的纯化,可以用于从具有乳腺、

前列腺和结肠癌症的患者的血液中富集循环肿瘤细胞。在某些实施方案中,循环患病细胞(例如经宫颈细胞)可以通过 RareCollect™ 装置 (Genetic Technologies) 或类似装置进行收集。

[0335] 在某些实施方案中,吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、患病细胞、对照细胞和 $= 2n$ 吞噬细胞通过使用由细胞分泌的产物进行分离。在某些实施方案中,吞噬细胞、 $>2n$ 吞噬细胞、患病细胞、对照细胞和 $= 2n$ 吞噬细胞通过使用在细胞表面上的细胞表面靶(例如受体蛋白质)进行分离。在一些实施方案中,细胞表面靶是已由 $>2n$ 吞噬细胞吞食的蛋白质。在一些实施方案中,细胞表面靶由细胞在其质膜上表达。在一些实施方案中,细胞表面靶是易位到质膜上,但未由细胞(例如 $>2n$ 吞噬细胞)表达的外源蛋白质。在一些实施方案中,细胞表面靶是待检测的疾病或病状的标记物。

[0336] 在某些实施方案中,循环囊泡使用色谱分离、亲和分离或超速离心进行分离。

[0337] 在本文描述的方法的某些方面,分析物包括核酸、蛋白质、脂质、碳水化合物、代谢产物或这些的任何组合。在本文描述的方法的某些方面,标记物包括核酸、蛋白质、脂质、碳水化合物、代谢产物或这些的任何组合。如本文使用的,术语“核酸”意欲包括 DNA 分子(例如 cDNA 或基因组 DNA)、RNA 分子(例如 mRNA)、DNA-RNA 杂交物、以及使用核苷酸类似物生成的 DNA 或 RNA 类似物。核酸分子可以是核苷酸、寡核苷酸、双链 DNA、单链 DNA、多链 DNA、互补 DNA、基因组 DNA、非编码 DNA、信使 RNA (mRNA)、微小 RNA (miRNA)、小核仁 RNA (snoRNA)、核糖体 RNA (rRNA)、转移 RNA (tRNA)、小干扰 RNA (siRNA)、不均匀核 RNA (hnRNA) 或小发夹 RNA (shRNA)。在一些实施方案中,核酸是经肾核酸。经肾核酸是在尿中分泌的细胞外核酸。参见例如美国专利公开号 20100068711 和美国专利公开号 20120021404。

[0338] 如本文使用的,术语“氨基酸”包括含有碱性氨基和酸性羧基两者的有机化合物。在该定义内包括的是天然氨基酸(例如 L-氨基酸)、经修饰的和罕见氨基酸(例如 D-氨基酸和 β -氨基酸)、以及已知以游离或组合形式生物学存在但通常在蛋白质中不存在的氨基酸。天然蛋白质存在的氨基酸包括丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、色氨酸、脯氨酸和缬氨酸。天然非蛋白质氨基酸包括精氨酸琥珀酸、瓜氨酸、半胱氨酸硫酸、3,4-二羟基苯丙氨酸、高半胱氨酸、高丝氨酸、鸟氨酸、3-一碘酪氨酸、3,5-二碘酪氨酸、3,5,5-三碘甲状腺原氨酸和 3,3',5,5'-四碘甲状腺原氨酸。经修饰的或罕见氨基酸包括 D-氨基酸、羟赖氨酸、4-羟脯氨酸、N-Cbz-保护的氨基酸、2,4-二氨基丁酸、高精氨酸、正亮氨酸、N-甲基氨基丁酸、萘基丙氨酸、苯基甘氨酸、 α -苯基脯氨酸、叔亮氨酸、4-氨基环己基丙氨酸、N-甲基正亮氨酸、3,4-脱氢脯氨酸、N,N-二甲基氨基甘氨酸、N-甲基氨基甘氨酸、4-氨基哌啶-4-羧酸、6-氨基己酸、反式-4-(氨基甲基)环己烷羧酸、2-,3-,和 4-(氨基甲基)-苯甲酸、1-氨基环戊烷羧酸、1-氨基环丙烷羧酸和 2-苄基-5-氨基戊酸。

[0339] 如本文使用的,术语“肽”包括由借助于肽键连接的两个或更多个氨基酸组成的化合物。肽可以具有小于 10,000 道尔顿、小于 5,000 道尔顿、或小于 2,500 道尔顿的分子量。术语“肽”还包括含有肽和非肽组分例如假肽或拟肽残基或者其他非氨基酸组分两者的化合物。含有肽和非肽组分两者的此类化合物还可以被称为“肽类似物”。

[0340] 如本文使用的,术语“蛋白质”包括由氨基酸组成的化合物,所述氨基酸以线性链

排列,且通过在邻近氨基酸残基的羧基和氨基之间的肽键连接在一起。在本发明的方法中使用的蛋白质包括但不限于氨基酸、肽、抗体、抗体片段、细胞因子、脂蛋白或糖蛋白。

[0341] 如本文使用的,术语“抗体”包括多克隆抗体、单克隆抗体(包括具有免疫球蛋白Fc区的全长抗体)、具有多表位特异性的抗体组合物、多特异性抗体(例如双特异性抗体、双抗体和单链分子、以及抗体片段(例如Fab或F(ab')₂和Fv)。关于不同抗体类型的结构和特性,参见例如Basic and Clinical Immunology,第8版,Daniel P. Sties,Abba I. Terr and Tristram G. Parslow(编辑),Appleton&Lange, Norwalk, Conn.,1994,第71页和第6章。

[0342] 如本文使用的,术语“细胞因子”指调节免疫系统的细胞活性的分泌的蛋白质或其活性片段或突变体。细胞因子的例子包括但不限于白细胞介素、干扰素、趋化因子、肿瘤坏死因子、免疫细胞前体的集落刺激因子等等。

[0343] 如本文使用的,术语“脂蛋白”包括带负电的组合物,其包含疏水胆固醇酯的核心以及由两亲磷脂的表面层包围的甘油三酯,游离胆固醇和载脂蛋白与所述两亲磷脂结合。脂蛋白的可以通过其密度进行表征(例如极低密度脂蛋白(VLDL)、低密度脂蛋白(LDL)和高密度脂蛋白(HDL)),所述密度通过其大小、脂质和蛋白质的相对量来表征。脂蛋白还可以通过特定修饰(例如氧化、乙酰化或糖基化)的存在或不存在来表征。

[0344] 如本文使用的,术语“糖蛋白”包括具有与肽或蛋白质共价附着的一个或多个寡糖或多糖的糖苷。示例性糖蛋白可以包括但不限于免疫球蛋白、主要组织相容性复合体的成员、胶原、粘蛋白、糖蛋白 IIb/IIIa、糖蛋白 41(gp41)和糖蛋白 120(gp120)、促卵泡激素、甲胎蛋白、促红细胞生成素、转铁蛋白、碱性磷酸酶和凝集素。

[0345] 如本文使用的,术语“脂质”包括一般为两亲和生物相容性的合成或天然存在的化合物。脂质通常包含亲水组分和疏水组分。示例性脂质包括但不限于脂肪酸、中性脂肪、磷脂、胆固醇、胆固醇酯、甘油三酯、糖脂、甘油酯、甘油磷脂、鞘脂、固醇脂质、异戊烯醇脂质、糖脂质、聚酮、胆碱甘油磷脂、甘油磷脂乙醇胺、磷脂酰肌醇、磷脂酰甘油、磷脂酰丝氨酸、溶血胆碱甘油磷脂、溶血甘油磷脂乙醇胺、磷脂酸、溶血磷脂酸、鞘磷脂、半乳糖神经酰胺、葡萄糖神经酰胺、硫酯、游离脂肪酸、前列腺素、三酰基甘油、二酰基甘油、单酰基甘油、酰基-CoA、酰基肉毒碱、氧固醇、神经酰胺、心磷脂、鞘氨醇碱-1-磷酸、鞘氨醇、溶血鞘磷脂、神经节苷脂、缩醛磷脂、硫脂、神经酰胺、低密度脂蛋白(LDL)、极低密度脂蛋白(VLDL)、高密度脂蛋白(HDL)、鞘氨醇碱-1-磷酸或其衍生物。

[0346] 如本文使用的,术语“碳水化合物”包括但不限于含有氧、氢和碳原子的化合物,通常为(CH₂O)_n,其中n是整数。示例性碳水化合物包括但不限于单糖、二糖、多糖或寡糖。

[0347] 如本文使用的,术语“代谢产物”包括在代谢中使用的任何分子。代谢产物可以是代谢过程中的产物、底物或中间产物。在该定义内包括的是初级代谢产物、次级代谢产物、有机代谢产物或无机代谢产物。代谢产物包括但不限于氨基酸、肽、酰基肉毒碱、单糖、脂质和磷脂、前列腺素、羟基二十碳四烯酸、羟基十八碳二烯酸、类固醇、胆汁酸以及糖脂和磷脂。示例性代谢产物可以是鞘脂、鞘糖脂、鞘氨醇、神经酰胺、鞘磷脂、鞘氨醇磷酰胆碱、二氢鞘氨醇、磷脂酰胆碱、磷脂酰肌醇、磷脂酰丝氨酸、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰肌醇、溶血磷脂酰丝氨酸、plasmenylphosphatidylcholine、plasmanylphosphatidylcholine、蛋白氨基酸、丙氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、蛋

氨酸、脯氨酸、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸、酪氨酸、不对称二甲基精氨酸、对称二甲基精氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、硝基酪氨酸、羟脯氨酸、犬尿氨酸、3-羟基犬尿氨酸、非蛋白氨基酸、鸟氨酸、瓜氨酸、酰基肉毒碱、肉毒碱、游离肉毒碱、酰基肉毒碱、羟基酰基肉毒碱、二羧基酰基肉毒碱、还原单糖、己糖、戊糖、脱氧己糖、肌酸酐、肌酸、精胺精胺、腐胺、多巴胺、血清素、前列腺素、羟基二十碳四烯酸、羟基十八碳二烯酸、白三烯、血栓烷、胆汁酸、固醇、胆固醇、维生素和辅因子、药物和药物代谢产物。

[0348] 在本发明的一些实施方案中，样品可以包含用于细胞或分析物例如 DNA、RNA、蛋白质和 / 或脂质的一种或多种稳定剂。例如，样品可以包含 DNA 稳定剂、RNA 稳定剂和 / 或蛋白质稳定剂。稳定剂是本领域众所周知的，并且包括例如 DNA 酶抑制剂、RNA 酶抑制剂和蛋白酶抑制剂或其等价物。

[0349] 在本发明的一些实施方案中，比较疾病或病状的至少一种或多种标记物的概况。这种比较可以是定量或定性的。定量测量可以使用本文描述的测定法中的任何一种进行。例如，测序、直接测序、随机鸟枪法测序、桑格双脱氧终止测序、靶向测序、全基因组测序、通过杂交的测序、焦磷酸测序、毛细管电泳、凝胶电泳、双链体测序、循环测序、单碱基延伸测序、固相测序、高通量测序、大规模平行信号测序、乳液 PCR、在较低变性温度下共扩增 -PCR (COLD-PCR)、通过可逆染料终止子的测序、配对末端测序、近期测序、外切核酸酶测序、通过连接的测序、短读测序、单分子测序、边测序边合成、实时测序、反向终止子测序、纳米孔测序、454 测序、Solexa 基因组分析仪测序、**SOLiD®** 测序、MS-PET 测序、质谱法、基质辅助激光解吸 / 电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸 / 电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸 / 电离 - 傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、聚合酶链反应 (PCR) 分析、定量 PCR、实时 PCR、荧光测定法、比色测定法、化学发光测定法或其组合。

[0350] 定量比较可以包括统计分析例如 t 检验、ANOVA、Kruskal-Wallis、Wilcoxon、Mann-Whitney 和比值比。定量差异可以包括在概况之间的标记物水平中的差异或在概况之间存在的标记物数目中的差异，及其组合。标记物水平的例子可以是但不限于基因表达水平、核酸水平、蛋白质水平、脂质水平等等。定性差异可以包括但不限于活化和失活、蛋白质降解、核酸降解和共价修饰。

[0351] 在本发明的某些实施方案中，概况是核酸概况、蛋白质概况、脂质概况、碳水化合物概况、代谢产物概况或其组合。概况可以是定性或定量测定的。

[0352] 核酸概况可以是但不限于基因分型概况、单核苷酸多态性概况、基因突变概况、基因拷贝数概况、DNA 甲基化概况、DNA 乙酰化概况、染色体剂量概况、基因表达概况或其组合。

[0353] 核酸概况可以通过本领域已知的方法进行测定，以检测基因型、单核苷酸多态性、基因突变、基因拷贝数、DNA 甲基化状态、DNA 乙酰化状态、染色体剂量。示例性方法包括但不限于聚合酶链反应 (PCR) 分析、测序分析、电泳分析、限制性片段长度多态性 (RFLP) 分析、RNA 印迹分析、定量 PCR、逆转录酶 -PCR 分析 (RT-PCR)、等位基因特异性寡核苷酸杂交分析、比较基因组杂交、异源双链体迁移率测定法 (HMA)、单链构象多态性 (SSCP)、变性梯度凝胶电泳 (DGGE)、RNA 酶错配分析、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光

解吸 / 电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸 / 电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸 / 电离 - 傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、表面等离子体共振、DNA 印迹分析、原位杂交、荧光原位杂交 (FISH)、显色原位杂交 (CISH)、免疫组织化学 (IHC)、微阵列、比较基因组杂交、核型分析、多重连接依赖的探针扩增 (MLPA)、短荧光片段的定量多重 PCR (QMPSF)、显微镜检查、甲基化特异性 PCR (MSP) 测定法、通过连接介导的 PCR 的 HpaII 微小片段富集 (HELP) 测定法、放射性乙酸盐标记测定法、比色 DNA 乙酰化测定法、染色质免疫沉淀结合微阵列 (芯片上的 ChIP) 测定法、限制性标记的基因组扫描、甲基化 DNA 免疫沉淀 (MeDIP)、用于 DNA 腺嘌呤甲基转移酶活性的分子断裂光测定法、色谱分离、甲基化敏感性限制酶分析、亚硫酸氢盐驱动的非甲基化胞嘧啶至尿嘧啶转换、在较低变性温度下共扩增 -PCR (COLD-PCR)、多重 PCR、甲基结合 PCR 分析或其组合。

[0354] 如本文使用的, 术语“测序”以广义使用, 并且指本领域已知的任何技术, 其提供在待鉴定的核酸的至少部分中的至少一些邻接核苷酸的次序, 包括但不限于延长产物或载体插入片段的至少部分。示例性测序技术包括靶向测序、单分子实时测序、基于电子显微镜检查的测序、晶体管介导的测序、直接测序、随机鸟枪法测序、桑格双脱氧终止测序、外显子测序、全基因组测序、通过杂交的测序、焦磷酸测序、毛细管电泳、凝胶电泳、双链体测序、循环测序、单碱基延伸测序、固相测序、高通量测序、大规模平行信号测序、乳液 PCR、在较低变性温度下共扩增 -PCR (COLD-PCR)、多重 PCR、通过可逆染料终止子的测序、配对末端测序、近期测序、外切核酸酶测序、通过连接的测序、短读测序、单分子测序、边测序边合成、实时测序、反向终止子测序、纳米孔测序、454 测序、Solexa 基因组分析仪测序、**SOLiD®** 测序、MS-PET 测序、质谱法及其组合。在一些实施方案中, 测序包括使用仪器检测测序产物, 所述仪器例如但不限于 ABI **PRISM®** 377DNA Sequencer, ABI **PRISM®** 310、3100、3100-Avant、3730 或 3730xI Genetic Analyzer, ABI **PRISM®** 3700DNA Analyzer, 或 Applied Biosystems SOLiD™ System (全部来自 Applied Biosystems), Genome Sequencer 20System (Roche Applied Science) 或质谱仪。在某些实施方案中, 测序包括乳液 PCR。在某些实施方案中, 测序包括高通量测序技术, 例如但不限于大规模平行信号测序 (MPSS)。

[0355] 在本发明的进一步实施方案中, 蛋白质概况可以是蛋白质表达概况、蛋白质活化概况或其组合。在一些实施方案中, 蛋白质活化概况可以包括测定蛋白质的磷酸化状态、泛素化状态、肉豆蔻酰化状态或构象状态。

[0356] 蛋白质概况可以通过本领域已知的任何方法进行检测, 所述方法用于检测蛋白质表达水平、蛋白质磷酸化状态、蛋白质泛素化状态、蛋白质肉豆蔻酰化状态或蛋白质构象状态。在一些实施方案中, 蛋白质概况可以通过下述进行测定: 免疫组织化学测定法、酶联免疫吸附测定法 (ELISA)、原位杂交、色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效液相色谱法 (HPLC)、气相色谱法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸 / 电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱法、电喷雾电离 (ESI) 质谱法、表面增强激光解吸 / 电离飞行时间 (SELDI-TOF) 质谱法、四极飞行时间 (Q-TOF) 质谱法、大气压光电离质谱法 (APPI-MS)、傅里叶变换质谱法 (FTMS)、基质辅助激光解吸 / 电离 - 傅里叶变换离子回旋共振 (MALDI-FT-ICR) 质谱法、二次离子质谱法 (SIMS)、放射性免疫测定法、显微镜检查、基于微流体芯片的测定法、表面等

离子体共振、测序、蛋白质印迹测定法或其组合。

[0357] 在本发明的一些实施方案中,脂质概况可以通过下述进行测定:色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间(MALDI-TOF)质谱法、电喷雾电离(ESI)质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间(SELDI-TOF)质谱法、四极飞行时间(Q-TOF)质谱法、大气压光电离质谱法(APPI-MS)、傅里叶变换质谱法(FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振(MALDI-FT-ICR)质谱法、二次离子质谱法(SIMS)、放射性免疫测定法、基于微流体芯片的测定法、荧光检测、化学发光检测或其组合。用于分析生物样品中的脂质含量的进一步方法是本领域已知的(参见例如Kang等人(1992)Biochim. Biophys. Acta. 1128:267; Weylandt等人(1996)Lipids 31:977;J.Schiller等人(1999)Anal. Biochem. 267:46; Kang等人(2001)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:4050;Schiller等人(2004)Prog. Lipid Res. 43:499)。脂质分析的一种示例性方法是从生物样品中提取脂质(例如使用含有0.005%丁羟甲苯(BHT,作为抗氧化剂)的氯仿-甲醇(2:1,体积/体积),制备脂肪酸甲酯(例如使用14%BF₃-甲醇试剂),且定量脂肪酸甲酯(例如通过HPLC、TLC、通过气相色谱法-质谱法,使用商购可得的气相色谱仪、质谱仪和/或组合气相色谱仪/质谱仪)。脂肪酸质量通过比较多种分析的脂肪酸的面积与固定浓度的内部标准的那种进行测定。

[0358] 在本发明的一些实施方案中,碳水化合物概况可以通过下述进行测定:色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间(MALDI-TOF)质谱法、电喷雾电离(ESI)质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间(SELDI-TOF)质谱法、四极飞行时间(Q-TOF)质谱法、大气压光电离质谱法(APPI-MS)、傅里叶变换质谱法(FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振(MALDI-FT-ICR)质谱法、二次离子质谱法(SIMS)、放射性免疫测定法、基于微流体芯片的测定法、荧光检测、化学发光检测或其组合。

[0359] 在本发明的一些实施方案中,代谢产物概况可以通过下述进行测定:色谱法、液相色谱法、尺寸排阻色谱法、高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法、质谱法、串联质谱法、基质辅助激光解吸/电离飞行时间(MALDI-TOF)质谱法、电喷雾电离(ESI)质谱法、表面增强激光解吸/电离飞行时间(SELDI-TOF)质谱法、四极飞行时间(Q-TOF)质谱法、大气压光电离质谱法(APPI-MS)、傅里叶变换质谱法(FTMS)、基质辅助激光解吸/电离-傅里叶变换离子回旋共振(MALDI-FT-ICR)质谱法、二次离子质谱法(SIMS)、放射性免疫测定法、基于微流体芯片的测定法、荧光检测、化学发光检测或其组合。

[0360] 如本文使用的,在通过本发明的方法检测的不同概况之间的“差异”可以指不同的基因拷贝数,不同的DNA、RNA、蛋白质、脂质或碳水化合物表达水平,不同的DNA甲基化状态,不同的DNA乙酰化状态和不同的蛋白质修饰状态。差异可以是大于1倍的差异。在一些实施方案中,差异是1.05倍、1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍差异。在一些实施方案中,差异是在1-10、2-10、5-10、10-20或10-100倍之间的任何倍差异。

[0361] 在一些实施方案中,差异是差异基因表达(DGE),例如吞噬细胞相对于非吞噬细胞或>2n吞噬细胞相对于=2n吞噬细胞的DGE。DGE可以测量为 $X = \log_2(Y_p) - \log_2(Y_{NP})$ 。DGE可以是任何数目,条件是它在组合样品和=2n吞噬细胞、非吞噬细胞、对照细胞或标记

物储库之间显著不同。例如,基因表达中的 2 倍增加可以表示为 $X = \log_2(Y_P) - \log_2(Y_{NP}) = \log_2(Y_P/Y_{NP}) = \log_2(2) = 1$, 而基因表达中的 2 倍降低可以表示为 $X = \log_2(Y_P) - \log_2(Y_{NP}) = \log_2(Y_P/Y_{NP}) = \log_2(1/2) = -1$ 。下调的基因具有 $X < 0$, 而上调的基因具有 $X > 0$ 。参见例如 Efron, J Am Stat Assoc 104:1015-1028(2009)。

[0362] 检测标记物的测定法的一般原理涉及在适当条件和足以允许标记物和探针相互作用且结合的时间下,制备可以含有标记物(例如 DNA、RNA、蛋白质、多肽、碳水化合物、脂质、代谢产物等等中的一种或多种)和探针的样品或反应混合物,因此形成可以在反应混合物中被去除和/或检测的复合物。这些测定法可以以多种方式进行。

[0363] 例如,进行此类测定法的一种方法涉及将标记物或探针锚定到固相支持物也称为基底上,并且在反应结束时检测在固相上锚定的靶标记物/探针复合物。在此类方法的一个实施方案中,待测定标记物的存在和/或浓度的来自受试者的样品可以锚定在载体或固相支持物上。在另一个实施方案中,可逆情况是可能的,其中探针可以锚定至固相,并且来自受试者的样品可以允许作为测定法的非锚定组分反应。

[0364] 存在用于将测定法组分锚定至固相的许多确定方法。这些包括但不限于通过生物素和链霉亲和素的缀合而固定化的标记物或探针分子。此类生物素化的测定法组分可以使用本领域已知的技术(例如生物素化试剂盒, Pierce Chemicals, Rockford, IL), 由生物素-NHS(N-羟基琥珀酰亚胺)进行制备,并且在链霉亲和素包被的 96 孔板(Pierce Chemical)的孔中进行固定化。在一些实施方案中,具有固定化的测定法组分的表面可以预先制备且贮存。

[0365] 用于此类测定法的其他合适载体或固相支持物包括能够结合标记物或探针属于其的分子类别的任何材料。众所周知的支持物或载体包括但不限于玻璃、聚苯乙烯、尼龙、聚丙烯、尼龙、聚乙烯、右旋糖酐、淀粉酶、天然和改性纤维素、聚丙烯酰胺、辉长岩和磁铁矿。

[0366] 为了用上述方法进行测定法,将非固定的组分加入第二种组分锚定在其上的固相。在反应完成后,未复合的组分可以在这样的条件下去除(例如通过洗涤),从而使得形成的任何复合物保持固定化在固相上。锚定至固相的标记物/探针复合物的检测可以以本文概述的许多方法来完成。

[0367] 在某些示例性实施方案中,当探针是未锚定的测定法组分时,它可以用可检测标记物直接或间接标记用于测定法检测和读出的目的,所述可检测标记物在本文中讨论且是本领域技术人员众所周知的。

[0368] 还能够直接检测标记物/探针复合物形成,而无需任一组分(标记物或探针)的进一步操作或标记物,例如通过利用荧光能量转移技术(参见例如美国专利号 5,631,169 和 4,868,103)。这样选择在第一种‘供体’分子上的荧光团标记物,从而使得在用适当波长的入射光激发后,它发出的荧光能量被在第二种‘受体’分子上的荧光标记物吸收,其进而能够由于吸收的能量而发荧光。备选地,‘供体’蛋白质分子可以简单地利用色氨酸残基的天然荧光能量。选择发出差异光波长的标记物,从而使得‘受体’分子标记物可以不同于‘供体’的那种。因为在标记物之间的能量转移效率与分开分子的距离相关,所以可以评价在分子之间的空间关系。在其中结合在分子之间发生的情况下,在测定法中的‘受体’分子标记物的荧光发射应达到最大。FET 结合事件可以方便地通过本领域众所周知的标准荧光

检测方法（例如使用荧光计）进行测量。

[0369] 在另一个实施方案中，通过利用技术例如实时生物分子相互作用分子 (BIA)，对探针识别标记物的能力的测定可以无需标记任一测定法组分（探针或标记物）而实现（参见例如 Sjolander, S. 和 Urbaniczky, C, 1991, *Anal. Chem.* 63:23382345 和 Szabo 等人, 1995, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 5:699705)。如本文使用的，“BIA”或“表面等离子体共振”是用于研究实时生物特异性相互作用的技术，而无需标记相互作用物中的任一种（例如 BIAcore）。在结合表面处的质量变化（指示结合事件）导致接近表面的光的折射率改变（表面等离子体共振 (SPR) 的光学现象），产生可以用作生物分子之间的实时反应指示的可检测信号。

[0370] 备选地，在另一个实施方案中，可以使用作为液相中的溶质的标记物和探针进行类似的诊断和预测测定法。在此类测定法中，复合的标记物和探针通过许多标准技术中的任一种与未复合的组分分开，包括但不限于：差异离心、色谱法、电泳和免疫沉淀。在差异离心中，由于复合物基于其不同大小和密度的不同沉降平衡，标记物 / 探针复合物可以通过一系列离心步骤与未复合的测定法组分分开（参见例如 Rivas 和 Minton (1993) *Trends Biochem. Sci.* 18:284）。标准色谱法技术也可以用于使复合分子与未复合分子分开。例如，凝胶过滤色谱法基于大小，并且通过利用以柱形式的适当凝胶过滤树脂分开分子，例如相对更大的复合物可以与相对更小的未复合组分分开。类似地，与未复合组分相比较，标记物 / 探针复合物的相对不同的电荷特性可以用于使复合物与未复合的组分区分，例如通过利用离子交换色谱法树脂。此类树脂和色谱法技术是本领域技术人员众所周知的（参见例如 Heegaard (1998) *J. Mol. Recognit.* 11:141 ; Hage 和 Tweed (1997) *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 12:499）。凝胶电泳也可以用于使复合的测定法组分与未结合的组分分开（参见例如 Ausubel 等人，编辑，*Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley&Sons, New York, 1987/1999）。在该技术中，蛋白质或核酸复合物例如基于大小或电荷分开。为了维持在电泳过程期间的结合相互作用，在不存在还原剂的情况下，非变性凝胶基质材料和条件通常是优选的。对于特定测定法及其组分适当的条件是本领域技术人员众所周知的。

[0371] 在某些示例性实施方案中，使用本领域已知的方法，对应于标记物的 mRNA 水平可以通过原位和 / 或通过体外形式在生物样品中进行测定。许多表达检测方法使用分离的 RNA。对于体外方法，不针对 mRNA 分离进行选择任何 RNA 分离技术均可用于从血细胞中纯化 RNA（参见例如 Ausubel 等人，编辑，*Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley&Sons, New York 1987/1999）。另外，使用本领域技术人员众所周知的方法，例如 Chomczynski 的单步 RNA 分离过程（1989，美国专利号 4, 843, 155），可以容易地加工大量细胞和 / 或样品。

[0372] 分离的 mRNA 可以用于杂交或扩增测定法中，其包括但不限于 DNA 或 RNA 分析、聚合酶链反应分析和探针阵列。在某些示例性实施方案中，用于检测 mRNA 水平的诊断方法涉及使分离的 mRNA 与核酸分子（探针）接触，所述核酸分子可以与由待检测的基因编码的 mRNA 杂交。核酸探针可以是例如全长 cDNA 或其部分，例如长度至少 7、15、30、50、100、250 或 500 个核苷酸的寡核苷酸，且足以在严格条件下与编码本发明标记物的 mRNA 或基因组 DNA 特异性杂交。用于本发明的诊断测定法中的其他合适探针在本文中描述。mRNA 与探针的杂交指示所讨论的探针被表达。

[0373] 在一种形式中,将 mRNA 固定化在固体表面上且与探针接触,例如通过在琼脂糖凝胶上运行分离的 mRNA,且将 mRNA 从凝胶转移到膜例如硝酸纤维素。在备选形式中,将一种或多种探针固定化在固体表面上,且使 mRNA 例如在基因芯片测定法中与一种或多种探针接触。技术人员可以容易地采用已知的 mRNA 检测方法用于检测由本发明的标记物编码的 mRNA 水平。

[0374] 用于测定对应于样品中的本发明标记物的 mRNA 水平的备选方法涉及例如通过下述的核酸扩增过程:RT-PCR(美国专利号 4,683,195 和 4,683,202 中所述的实验实施方案)、COLD-PCR(Li 等人(2008)Nat. Med. 14:579)、连接酶链反应(Barany,1991,Proc. Natl. Acad. Sci. USA,88:189)、自主序列复制(Guatelli 等人,1990,Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874)、转录扩增系统(Kwoh 等人(1989)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173)、Q- β 复制酶(Lizardi 等人(1988)Bio/Technology 6:1197)、滚环复制(美国专利号 5,854,033)或任何其他核酸扩增方法,随后使用本领域技术人员众所周知的方法检测扩增的分子。如果核酸分子以极低数目存在,则这些检测方案尤其可用于检测此类分子。如本文使用的,扩增引物定义为一对核酸分子,其可以对基因的 5' 或 3' 区域(分别为正链和负链,或反之亦然)退火,并且含有在两者之间的短区域。一般而言,扩增引物长度为约 10 至 30 个核苷酸,并且侧接长度约 50 至 200 个核苷酸的区域。在适当条件下且使用适当试剂,此类引物允许扩增包含侧翼为引物的核苷酸序列的核酸分子。

[0375] 对于原位方法,mRNA 无需在检测前从样品(例如体液(例如血细胞))中分离。在此类方法中,细胞或组织样品使用已知组织学方法进行制备/加工。随后将样品固定化在支持物通常为玻璃载玻片上,并且随后与探针接触,所述探针可以与编码标记物的 mRNA 杂交。

[0376] 作为基于标记物的绝对表达水平进行测定的备选方案,测定可以基于标记物的标准化表达水平。通过比较其表达与并非标记物的基因(例如组成性表达的看家基因)的表达,通过校正标记物的绝对表达水平使表达水平标准化。用于标准化的合适基因包括看家基因例如肌动蛋白基因或上皮细胞特异性基因。这种标准化允许比较来自一个来源的患者样品与来自另一个来源的患者样品中的表达水平,例如比较来自个体的组合样品与来自个体的 = 2n 吞噬细胞或非吞噬性血细胞。

[0377] 在本发明的一个实施方案中,检测对应于标记物的蛋白质或多肽。在某些实施方案中,用于检测蛋白质或多肽的试剂可以是能够与多肽结合的抗体,例如具有可检测标记物的抗体。如本文使用的,就探针或抗体而言的术语“标记物的”意欲包含通过使可检测物质与探针或抗体偶联(即,物理连接)而直接标记物探针或抗体,以及通过与直接标记的另一种试剂的反应性间接标记物探针或抗体。间接标记的例子包括使用荧光标记的二抗检测一抗和用生物素对 DNA 探针的终末标记,从而使得它可以用荧光标记的链霉亲和素进行检测。抗体可以是多克隆或单克隆的。可以使用完整抗体或其片段(例如 Fab 或 F(ab')₂)。在一种形式中,抗体或抗体片段可以用于方法例如蛋白质印迹或免疫荧光技术中,以检测表达的蛋白质。在此类用途中,一般优选将抗体或蛋白质固定化在固体支持物上。合适的固相支持物或载体包括能够结合抗原或抗体的任何支持物。众所周知的支持物或载体包括玻璃、聚苯乙烯、聚丙烯、聚乙烯、右旋糖酐、尼龙、淀粉酶、天然和改性纤维素、聚丙烯酰胺、辉长岩、磁铁矿等等。

[0378] 多种形式可以用于测定样品是否含有与给定抗体结合的蛋白质。此类形式的例子包括但不限于竞争性和非竞争性免疫测定法、酶免疫测定法 (EIA)、放射性免疫测定法 (RIA)、抗原捕获测定法、双抗体夹心测定法、蛋白质印迹分析、酶联免疫吸附测定法 (ELISA)、平面阵列、比色测定法、化学发光测定法、荧光测定法等等。免疫测定法包括放射性免疫测定法和酶联免疫测定法可用于本发明的方法中。技术人员可以容易地采用已知的蛋白质 / 抗体检测方法,用于测定细胞 (例如体液细胞例如血细胞) 是否表达本发明的标记物。

[0379] 技术人员将知道用于结合抗体或抗原的许多其他合适载体,并且将能够采用此类支持物用于与本发明一起使用。例如,从细胞 (例如体液细胞例如血细胞) 中分离的蛋白质可以在聚丙烯酰胺凝胶电泳上运行,并且固定化到固相支持物例如硝酸纤维素上。支持物随后可以用合适缓冲液洗涤,随后用可检测标记的抗体进行处理。固相支持物随后可以用缓冲液洗涤第二次,以去除未结合的抗体。在固体支持物上的结合标记物的量随后可以通过常规方法进行检测。

[0380] 在某些示例性实施方案中,提供了用于诊断、预测、评价发展疾病的风险、评价治疗功效、监视疾病的进展或消退以及鉴定能够改善或治疗疾病的化合物的测定法。关于这些方法的示例性方法涉及从测试受试者获得体液样品,并且使体液样品与能够检测疾病或病状的标记物中的一种或多种的化合物或试剂接触,所述标记物例如标记物核酸 (例如 mRNA、基因组 DNA)、标记物肽 (例如多肽或蛋白质)、标记物脂质 (例如胆固醇) 或标记物代谢产物 (例如肌酸酐),从而使得在生物样品中检测到标记物的存在。在一个实施方案中,用于检测标记物 mRNA 或基因组 DNA 的试剂是能够与标记物 mRNA 或基因组 DNA 结合的标记的核酸探针。核酸探针可以是例如全长标记物核酸或其部分。用于本发明的诊断测定法中的其他合适探针在本文中描述。

[0381] 如本文使用的,能够改善或治疗疾病或病状的化合物可以包括但不限于可以改善症状或预后、阻止疾病或病状的进展、促进疾病或病状的消退、或者消除疾病或病状生物任何物质。

[0382] 本发明的方法还可以用于检测标记物基因中的遗传改变,从而测定具有改变基因的受试者是否处于发展与癌症和 / 或传染剂相关的疾病和 / 或病症,和 / 或本文描述的一种或多种其他病症例如癌症的风险中,所述其他病症的特征在于标记物蛋白质活性或核酸表达中的误调节。在某些实施方案中,该方法包括在来自受试者的无细胞体液样品中检测遗传改变的存在或不存在,所述遗传改变的特征在于影响编码标记物肽的基因和 / 或标记物基因的完整性的改变。例如,此类遗传改变可以通过确定下述中的至少一种的存在进行检测:1) 从一种或多种标记物基因中缺失一个或多个核苷酸;2) 向一种或多种标记物基因添加一个或多个核苷酸;3) 一种或多种标记物基因中一个或多个核苷酸的置换,4) 一种或多种标记物基因的染色体重排;5) 一种或多种标记物基因的信使 RNA 转录物水平中的改变;6) 一种或多种标记物基因的异常修饰,例如基因组 DNA 的甲基化模式;7) 一种或多种标记物基因的信使 RNA 转录物的非野生型剪接模式的存在;8) 一种或多种标记物蛋白质的非野生型水平;9) 一种或多种标记物基因的等位基因丢失;和 10) 一种或多种标记物蛋白质的不适当的翻译后修饰。如本文描述的,存在可以用于检测一种或多种标记物基因中的改变的本领域已知的大量测定法。

[0383] 在某些实施方案中,改变的检测涉及在下述中使用探针/引物:聚合酶链反应(PCR)(参见例如美国专利号4,683,195,4,683,202和5,854,033),例如实时PCR、COLD-PCR(Li等人(2008)Nat. Med. 14:579)、锚定PCR、递归PCR或RACE PCR,或者备选地,连接链反应(LCR)(参见例如Landegran等人(1988)Science 241:1077;Prodromou和Pearl(1992)Protein Eng. 5:827;和Nakazawa等人(1994)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:360),其中后者可以特别用于检测标记物基因中的点突变(参见Abravaya等人(1995)Nucleic Acids Res. 23:675)。这种方法可以包括下述步骤:从受试者中收集无细胞体液的样品,从样品中分离核酸(例如基因组、mRNA或两者),使核酸样品与一条或多条引物接触,所述一条或多条引物在这样的条件下与标记物基因特异性杂交,从而使得标记物基因(如果存在的话)的杂交和扩增发生,并且检测扩增产物的存在或不存在,或检测扩增产物的大小且比较该长度与对照样品。预料PCR和/或LCR可能期望用作与本文所述用于检测突变的技术中的任一种结合的初步扩增步骤。

[0384] 备选扩增方法包括:自主序列复制(Guatelli等人,1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874)、转录扩增系统(Kwoh等人(1989)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173), $Q-\beta$ 复制酶(Lizardi等人(1988)Bio/Technology 6:1197)或任何其他核酸扩增方法,随后使用本领域技术人员众所周知的方法检测扩增的分子。如果核酸分子以极低数目存在,则这些检测方案尤其可用于检测此类分子。

[0385] 在备选实施方案中,来自样品的一种或多种标记物基因中的突变可以通过限制性酶切割模式中的改变进行鉴定。例如,将样品和对照DNA分离,任选扩增,用一种或多种限制性核酸内切酶消化,并且通过凝胶电泳测定片段长度大小且比较。样品和对照DNA之间的片段长度大小中的差异指示样品DNA中的突变。此外,序列特异性核酶(参见例如美国专利号5,498,531)的使用可以通过核酶切割位点的发展或丢失,用于评分特异性突变的存在。

[0386] 在其他实施方案中,本文描述的标记物中的一种或多种的基因突变可以通过使样品和对照核酸例如DNA或RNA与高密度阵列杂交进行鉴定,所述高密度阵列含有数百或数千种寡核苷酸探针(Cronin等人(1996)Human Mutation 7:244;Kozal等人(1996)Nature Medicine 2:753)。例如,标记物核酸中的基因突变可以在二维阵列中进行鉴定,如Cronin, M. T. 等人同上中所述,所述二维阵列含有光生成的DNA探针。简言之,探针的第一个杂交阵列可以用于扫描经过样品和对照中的长DNA段,以通过制备顺序重叠探针的线性阵列来鉴定在序列之间的碱基变化。这个步骤允许鉴定点突变。这个步骤随后为第二个杂交阵列,其允许通过使用与检测的所有变体或突变互补的更小的专门探针阵列来表征特异性突变。每个突变阵列由平行探针集合组成,一个与野生型基因互补并且另一个与突变型基因互补。

[0387] 在另外一个实施方案中,通过比较样品标记物基因的序列与相应的野生型(对照)序列,本领域已知的多种测序反应中的任一种均可用于直接测序标记物基因和检测突变。测序反应的例子包括基于由Maxam和Gilbert((1977)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74:560)或Sanger((1977)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74:5463)开发的技术的那些。还考虑当执行诊断测定法((1995)Biotechniques 19:448),包括通过质谱法测序(参见例如PCT International Publication No. WO 94/16101;Cohen等人(1996)Adv. Chromatogr. 36:127-162;和Griffin等人(1993)Appl. Biochem. Biotechnol. 38:147)时,

可以利用多种自动化测序操作中的任一种。

[0388] 用于检测标记物基因中的突变的其他方法包括这样的方法,其中不受切割试剂的保护用于检测 RNA/RNA 或 RNA/DNA 异源双链体中的错配碱基 (Myers 等人 (1985) *Science* 230:1242)。一般而言,“错配切割”的本领域技术通过提供异源双链体开始,所述异源双链体通过使含有野生型标记物序列的(标记的)RNA 或 DNA 与得自组织样品的潜在突变型 RNA 或 DNA 杂交形成。用切割双链体的单链区域的试剂处理双链双链体,所述双链体的单链区域例如由于对照和样品链之间的碱基对错配而存在。例如, RNA/DNA 双链体可以用 RNA 酶处理,并且 DNA/DNA 杂交物用 S1 核酸酶处理,以酶促消化错配区域。在其他实施方案中, DNA/DNA 或 RNA/DNA 双链体可以用羟胺或四氧化锇和用哌啶进行处理,以便消化错配区域。在错配区域消化后,所得到的材料随后在变性聚丙烯酰胺凝胶上通过尺寸分开,以测定突变的位点。参见例如 Cotton 等人 (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:4397 ;Saleeba 等人 (1992) *Methods Enzymol.* 217:286。在一个实施方案中,对照 DNA 或 RNA 可以标记物用于检测。

[0389] 在另外一个实施方案中,错配切割反应采用一种或多种蛋白质,其识别限定系统中的双链 DNA 中的错配碱基对(所谓的“DNA 错配修复”酶),用于检测且作图得自细胞样品的标记物 cDNA 中的点突变。例如,大肠杆菌 (*E. coli*) 的 mutY 酶切割在 G/A 错配处的 A,并且来自 HeLa 细胞的胸苷 DNA 糖基化酶切割在 G/T 错配处的 T (Hsu 等人 (1994) *Carcinogenesis* 15:1657)。根据示例性实施方案,基于标记物序列例如野生型标记物序列的探针与来自一种或多种测试细胞的 cDNA 或其他 DNA 产物杂交。双链体用 DNA 错配修复酶处理,并且如果存在的话,可以由电泳方案等等检测切割产物。参见例如美国专利号 5,459,039。

[0390] 在其他实施方案中,电泳迁移率中的改变将用于鉴定标记物基因中的突变。例如,单链构象多态性 (SSCP) 可以用于检测突变型和野生型核酸之间的电泳迁移率中的差异 (Orita 等人 (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:2766, 还参见 Cotton (1993) *Mutat. Res.* 285:125 ;和 Hayashi (1992) *Genet. Anal. Tech. Appl.* 9:73)。样品和对照标记物核酸的单链 DNA 片段将进行变性且允许复性。单链核酸的二级结构根据序列改变,所得到的电泳迁移率中的改变允许检测甚至单碱基变化。DNA 片段可以用标记的探针进行标记物或检测。测定法的灵敏度可以通过使用 RNA (而不是 DNA) 得到增强,在所述 RNA 中二级结构对序列中的变化更敏感。在一个实施方案中,主题方法利用异源双链体分析,以基于电泳迁移率中的变化分开双链异源双链体分子 (Keen 等人 (1991) *Trends Genet.* 7:5)。

[0391] 在另外一个实施方案中,使用变性梯度凝胶电泳 (DGGE) (Myers 等人 (1985) *Nature* 313:495),测定突变型或野生型片段在含有变性剂梯度的聚丙烯酰胺凝胶中的移动。当 DGGE 用作分析方法时,例如通过经由 PCR 添加大约 40bp 的高熔点富含 GC 的 DNA 的 GC 夹,修饰 DNA 以确保它并不完全变性。在进一步的实施方案中,使用温度梯度代替变性梯度,以鉴定在对照和样品 DNA 的迁移率中的差异 (Rosenbaum and Reissner (1987) *Biophys. Chem.* 265:12753)。

[0392] 用于检测点突变的其他技术的例子包括但不限于选择性寡核苷酸杂交,选择性扩增或选择性引物延伸。例如,可以制备寡核苷酸引物,其中已知突变放置在中心且随后在仅发现完美匹配时允许杂交的条件下与靶 DNA 杂交 (Saiki 等人 (1986) *Nature* 324:163 ; Saiki 等人 (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:6230)。当寡核苷酸附着至杂交膜且与标

记的靶 DNA 杂交时,此类等位基因特异性寡核苷酸与 PCR 扩增的靶 DNA 或许多不同突变杂交。

[0393] 备选地,依赖选择性 PCR 扩增的等位基因特异性扩增技术可以与本发明结合使用。用作特异性扩增的引物的寡核苷酸可以在分子的中心或在一条引物的最 3' 末端处携带目的突变(从而使得扩增依赖差异杂交)(Gibbs 等人(1989)Nucl. Acids Res. 17:2437),其中在适当条件下,错配可以阻止或减少聚合酶延伸(Prossner(1993)Tibtech11:238)。此外,可能期望在突变区域中引入新型限制位点,以产生基于切割的检测(Gasparini 等人(1992)Mol. Cell Probes 6:1)。预料在某些实施方案中,扩增还可以使用用于扩增的 Taq 连接酶来执行(Barany(1991)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:189)。在此类情况下,连接将仅在 5' 序列的 3' 末端处存在完美匹配时发生,使得能够通过寻找扩增的存在或不存在来检测在特异性位点处的已知突变的存在。

[0394] 在一些实施方案中,本发明提供了用于鉴定疾病或病状的一种或多种标记物的方法,其包括:a)测定来自样品的分析物的第一种概况,所述样品包含来自具有所述疾病或病状的受试者的无细胞体液,以及来自具有所述疾病或病状的受试者的吞噬细胞群体或 $>2n$ 吞噬细胞群体;测定来自 $= 2n$ 吞噬细胞群体或非吞噬细胞群体的分析物的第二种概况,所述细胞群体来自具有所述疾病或病状的受试者;鉴定在第一种和第二种概况之间的一组差异,其中所述第一组差异相对于第二种概况对于第一种概况是特异性的;b)测定来自样品的分析物的第三种概况,所述样品包含来自具有所述疾病或病状的受试者的无细胞体液,以及来自不具有所述疾病或病状的对照受试者的吞噬细胞群体或 $>2n$ 吞噬细胞群体;测定来自 $= 2n$ 吞噬细胞群体或非吞噬细胞群体的分析物的第四种概况,所述细胞群体来自不具有所述疾病或病状的对照受试者;鉴定在第三种和第四种概况之间的一组差异,其中所述第二组差异相对于第四种概况对于第三种概况是特异性的;和 c) 鉴定相对于 b) 中鉴定的一组差异对于 a) 中鉴定的一组差异特异性的一种或多种分析物,在 c) 中鉴定的分析物是所述疾病或病状的标记物。在一些实施方案中,本发明提供了用于鉴定疾病或病状的一种或多种标记物的方法,其包括:a)测定来自样品的分析物的第一种概况,所述样品包含来自具有所述疾病或病状的受试者的无细胞体液,以及来自具有所述疾病或病状的受试者的吞噬细胞群体或 $>2n$ 吞噬细胞群体;b)比较第一种概况与衍生自分析物储库的第二种概况,所述分析物储库来自不具有所述疾病或病状的对照受试者;c)鉴定在第一种和第二种概况之间的一组差异,其中所述一组差异相对于第二种概况对于第一种概况是特异性的;d)鉴定对于所述一组差异特异性的一种或多种分析物,所述鉴定的分析物是所述疾病或病状的标记物。在进一步的实施方案中,该方法进一步包括:e)获得来自具有所述疾病或病状的受试者中受所述疾病或病状影响的细胞或组织的分析物的第五种概况;获得来自具有所述疾病或病状的受试者中不受所述疾病或病状影响的细胞或组织的分析物的第六种概况;鉴定在第五种和第六种概况之间的一组差异,其中所述一组差异相对于第六种概况对于第五种概况是特异性的;和 f) 鉴定在 d) 中鉴定的一组差异中存在的 c) 的一种或多种标记物中的至少一种。在一些实施方案中,本发明提供了用于鉴定可以用于治疗疾病或病状的一种或多种标记物的方法。例如,通过本发明的方法鉴定的标记物(例如蛋白质或基因)可以用作治疗剂的分子靶。通过本发明的方法鉴定的标记物还可以用于本发明的其他方法中的任一种中,例如用于监视疾病或病状的进展或消退。在某些实施方案中,通

过本发明的方法鉴定的一种或多种标记物可以具有治疗潜力。例如,如果标记物在来自具有疾病或病状的受试者的循环患病细胞中鉴定为上调的(或下调的),则能够下调(上调)所述标记物的化合物或试剂可以用于治疗所述疾病或病状。类似地,基因/蛋白质/脂质/碳水化合物表达概况、单核苷酸多态性概况、基因突变概况、基因拷贝数概况、DNA 甲基化概况、DNA 乙酰化概况、染色体剂量概况、基因表达概况或其组合可以用于这些实施方案中。

[0395] 用于检测生物样品中对应于本发明标记物的分析物(例如 DNA、RNA、蛋白质、多肽、碳水化合物、脂质等等)的存在或不存在的示例性方法涉及从测试受试者获得体液样品(例如血液),并且使体液样品与能够检测一种或多种标记物的化合物或试剂接触。本文描述的检测方法可以用于在体外以及在体内检测生物样品中的一种或多种标记物。例如,用于检测 mRNA 的体外技术包括 RNA 杂交和原位杂交。用于检测对应于本发明标记物的多肽的体外技术包括酶联免疫吸附测定法(ELISA)、蛋白质印迹、免疫沉淀和免疫荧光。用于检测基因组 DNA 的体外技术包括 DNA 杂交。此外,用于检测对应于本发明标记物的多肽的体内技术包括将针对多肽的标记的抗体引入受试者内。例如,抗体可以用放射性标记物进行标记,所述放射性标记物在受试者中的存在和位置可以通过标准成像技术进行检测。因为每种标记物也是分析物,所以本文描述的检测标记物的存在或不存在的任何方法均还可用于检测分析物的存在或不存在。

[0396] 用于本发明的方法中的标记物可以包括在上文鉴定的标记物中的任何一种中的任何突变。突变位点和序列可以例如通过此类信息的数据库或储库进行鉴定,所述数据库或储库例如人基因突变数据库(The Human Gene Mutation Database, www.hgmd.cf.ac.uk)、单核苷酸多态性数据库(Single Nucleotide Polymorphism Database, dbSNP, www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP)和在线人类孟德尔遗传(Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM)网站(www.ncbi.nlm.nih.gov/omim)。

[0397] 用于本发明的方法中的标记物可以包括已知与疾病或病状相关的任何标记物。可以用于本发明的方法中的标记物可以是已充分表征为与特定点疾病或病状相关的任何标记物,或已通过本发明的方法鉴定的任何标记物。

[0398] 在一些实施方案中,标记物包含选自下述的至少一种基因:AKT2、BAK1、EGFR、ERBB2、ETS2、FOS、JUN、MAP2K1、MMP2、PDGFB、RB1、SERPINB2、SNCG 和 SPP1。在一些实施方案中,一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:AKT1、AKT2、BAK2、CDC25A、E2F1、EGFR、ERBB2、FOS、JUN、MAP2K1、MMP2、NFKB1、PDGFB、PIK3R1、PNN、RB1、SERPINB2、SERPINB5、SNCG、SPP1、TERT、TIMP3 和 TP53。在一些实施方案中,一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:CASP8、CASP9、COL18A1、ETS2、HTATIP2、MMP9、SRC 和 TWIST1。在一些实施方案中,一种或多种标记物包含选自下述的至少一种基因:AKT1、APAF1、ATM、CDC25A、CDKN1A、ETS2、FOS、IL8、ITGA4、ITGA6、ITGAV、JUN、MAP2K1、NFKB1A、PLAU、PLAUR、RAF1、SERPINB2、SYK、TIMP1、TNF、TNFRSF10B 和 TNFRSF1A。在一些实施方案中,标记物包含选自下述的至少一种基因:ACP2、AK2、AKT3、ARL5B、ATP2B3、BGN、BRAF、BTG2、CAMKK2、CAPG、CAPN12、CPLX2、DENND5A、DNA2、FAM104A、FNIP1、GFRA4、GLUD1、GNAQ、GP1BB、HNRPLL、HOXA2、HPS3、INPP4A、ITGAV、KLHL23、LANCL2、LYPD6、MAPKAPK3、MEF2A(包括 EG:4205)、MEF2C、NVL、PCYT1A、PGLYRP4、PLOD1、PPP1CB、PRKAB2、PROS1、PTPRE、RASA4(包括 EG:10156)、RBMS2、RBPJ、STAT5B、THBS1、TRIB1、TRIM2、TSPAN6 和 ZDHHC21。在一些实施方案中,标记物包含选

自下述的至少一种基因 :B4GALT5、BOP1、CCL2、CCL3、CCL3L1、CCRL2、CD83、CLEC4G、CLIC4、CTSC、CTSO、CXCL10、FCGR3A、FPR3、HBA1、HBB、LRMP、MAP1LC3B2、MS4A4A、MSR1、MYADML、NID1、PF4、PION、RNF217、SAMD9L、SERPING1 和 SPARC。在一些实施方案中,标记物包含选自下述的至少一种基因 :ACOT9、AMPD2、ARHGAP15、BATF2、C3AR1、C5orf41、CCL3、CCL3L1、CD63、CHST11、CHSY1、CLEC4G、CTS2、CXorf21、CYTH4、CYTIP、DLEU2、DNAJA1、DOCK8、DTX3L、DUSP6、EPSTI1、ERF、F2RL1、FYB、GABRB2、GBP5、GLRX、GNB4、ICAM1、IFI35、IFIH1、IFNAR2、IL1R1、IRF1、ITGA5、LAP3、LAPTM5、LCP2、MAP1LC3B、MAP1LC3B2、MICAL2、MT1DP、MT1JP、MT1M、MT2A、MYADML、NEK6、NINJ2、NNMT、NT5C3L、NUB1、PDE4B、PLOD1、PML、PRKCB、PSMB9、RCN3、RGS4、RNASE6、RTP4、SAMD9L、SEL1L、SERPING1、SETX、SIGLEC10、SKIL、SLC7A7、SNORA21、SP100、SP110、SP140、SSFA2、STAT2、STK17B、STK3、TDRD7、TMCC1、TMPRSS11E2、TNFRSF1B、TPM1、TRIM21、TXNDC4、UBE2L6、UBE2W、USP18、VAV1、WARS、WIPF1 和 WIPI1。在一些实施方案中,标记物包含选自下述的至少一种基因 :ADAR、ADM、ALAS1、ANKRD22、ARHGAP27、B3GNT5、BCL10、C12orf35、C15orf29、C2orf59、CD177、CEACAM1、CPEB2、DDX58、F2RL1、GDPD3、GNAT3、HIST2H3A、HIST2H3D、HIST2H4A、HMGR、HSPA6、HSPC159、IL4R、IMPA2、KPNB1、KREMEN1、KRT23、LDLR、LOC100130904、LTB4R、MAEA、MARK2、MBOAT2、MPZL3、N4BP1、NBEAL2、NMI、NPEPPS、PARP14、PGM2、PPIF、PXN、RALBP1、ROD1、RPS6KA1、S100P、SERTAD2、SLC9A1、SLPI、SP110、SPINT1、ST14、TBC1D3、TNFRSF9、TRIM21、UPP1、VPS24、ZBTB34 和 ZNF256。

[0399] 在一些实施方案中,标记物包含选自下述的至少一种生物标记物 :ACTN4、BC020163、CMIP、CNN2、EDNRB、GPM6B、KIT、MGC40222、NAMPT、PRAME、RPL18、RPL21、RPS15、TMEM80、TRIB2、TTC3 和 VDAC1。在一个实施方案中,标记物是 ACTN4、BC020163、CMIP、CNN2、EDNRB、GPM6B、KIT、MGC40222、NAMPT、PRAME、RPL18、RPL21、RPS15、TMEM80、TRIB2、TTC3 和 VDAC1。这些标记物用于黑素瘤的诊断、预测或监视,或区分不同类型的皮肤损伤例如黑素瘤和痣(参见例如 Wachsman 等人,“Noninvasive genomic detection of melanoma,” *Br J Dermatol.* 2011Apr ;164(4):797-806)。

[0400] 在一些实施方案中,用于本发明的方法中用于产前或妊娠相关疾病或病状的标记物包括公开于例如下述中的那些:例如美国专利 7,655,399、7,651,838、6,660,477、6,172,198、5,594,637、5,514,598、6,258,540、6,664,056、7,235,359 和 7,645,576, 美国专利申请公开 20090162842、20090155776、20070207466、20060019278、20040086864、20020045176、20010051341、20020192642、20040009518、20040203037、20050282185、20060252071、20070275402、20080153090、20090170102、20090061425、20020045176、20040137452、20050164241、20060019278、20060252068、20060252071、20060257901、20070141625、20070218469、20070275402、20090155776、20090162842、20090170102、20090317797、20100120056、20100120076 和 20100137263, 以及国际专利申请公开 WO/2006/026020、WO/2002/068685、WO/2005/111626、WO/2009/055487、WO/2009/001392 和 WO/2008/014516。

[0401] 在一些实施方案中,用于本发明的方法中用于神经学或神经精神性疾病或病状的标记物包括公开于例如下述中的那些:例如美国专利 7,723,117、6,867,236, 美国专利申请公开 20060115854、20060115855、20060166283、20060234301、20060259990、20060259991、20070162983、20070264197、20080026405、20080038730、20080051334、20080152589、

20080220013、20080261226、20080269103、20080286263、20090041862、20090239241、20090275046、20090318354、20090324611、20100009352、20100021929、20100028356、20100055722、20100062463、20100075891、20100105623、20100124756、20100159486、20100167937、20100169988、20100167320、20100112587、20100098705、20100068705、20100009356、20090305265、20100124746、20100092983、20070148661、20070141625、20100120050、20090155230、20090274709，国际专利申请公开 WO/2004/040016、WO/2004/071269、WO/2005/033341、WO/2005/052592、WO/2005/103712、WO/2005/114222、WO/2006/020269、WO/2006/048778、WO/2006/050475、WO/2006/061609、WO/2006/105907、WO/2006/133423、WO/2006/134390、WO/2007/098585、WO/2007/119179、WO/2008/010660、WO/2008/014314、WO/2008/028257、WO/2008/046509、WO/2008/046510、WO/2008/046511、WO/2008/046512、WO/2008/063369、WO/2008/085035、WO/2008/095261、WO/2008/100596、WO/2008/120684、WO/2008/125651、WO/2008/127317、WO/2008/132464、WO/2009/000520、WO/2009/001392、WO/2009/068591、WO/2009/074331、WO/2009/100131、WO/2010/005750、WO/2010/011506、WO/2010/019553、WO/2010/059242、WO/2010/061283、WO/2010/063009、WO/2010/066000、WO/2009/121152、WO/2009/121951、WO/2009/097450、WO/2009/092382、WO/2009/075579、WO/2009/058168、WO/2009/053523、WO/2009/034470、WO/2009/032722、WO/2009/014639、WO/2009/003142、WO/2010/041046、WO/2007/131345、WO/2008/003826 和 WO/2009/07556。

[0402] 在一些实施方案中，用于本发明的方法中用于心血管疾病或病状的标记物包括公开于例如下述中的那些：例如美国专利 7,670,769、7,445,886、7,432,107、7,157,235 和 7,009,038，美国专利申请公开 20100167320、20100112587、20100098705、20100068705、20100009356、20090305265、20100124746、20100092983、20070148661、20070141625、20100120050、20090155230 和 20090274709，以及国际专利申请公开 WO/2009/121152、WO/2009/121951、WO/2009/097450、WO/2009/092382、WO/2009/075579、WO/2009/058168、WO/2009/053523、WO/2009/034470、WO/2009/032722、WO/2009/014639、WO/2009/003142、WO/2010/041046、WO/2007/131345、WO/2008/003826 和 WO/2009/075566。

[0403] 在一些实施方案中，用于本发明的方法中用于肾相关疾病或病状的标记物包括公开于例如下述中的那些：例如美国专利 7,488,584、7,459,280、7,294,465 和 7,662,578，美国专利申请公开 20100143951、20100124746、20100120056、20100120041、20100081142、20090155230 和 20090239242，国际专利申请公开 WO/2010/059996、WO/2010/054389、WO/2010/048347、WO/2010/048497、WO/2010/054167、WO/2010/048346、WO/2010/046137、WO/2010/025434、WO/2010/018185、WO/2010/012306、WO/2009/122387、WO/2009/083950、WO/2009/080780、WO/2009/060035、WO/2009/059259、WO/2008/154238、WO/2008/089936、WO/2008/084331、WO/2008/042012、WO/2007/131345、WO/2005/012907、WO/2004/024098、WO/2003/019193、WO/2007/112999、WO/2007/082733、WO/2006/073941、WO/2010/068686、WO/2010/022210 和 WO/2009/127644。

[0404] 在一些实施方案中，用于本发明的方法中用于自身免疫或免疫相关疾病或病状的标记物包括公开于例如下述中的那些：例如 7,604,948、7,670,764、6,986,995 和 6,631,330，美国专利申请公开 20070141625、20090263474、20100075891、20100104579、

20100105086、20100131286、20090176217、20090202469、20020119118、20090258025、20100137393、20100120629、20090318392、20090196927、20090023166、20080227709、20080039402、20080026378、20070224638、20070218519、20060210562、20050266432、20050164233、20050130245、20090130683、20090110667、20090054321、20090023166 和 20080274118, 以及国际专利申请公开 WO/2009/043848、WO/2010/053587、WO/2010/046503、WO/2010/039714、WO/2009/100342、WO/2009/053537、WO/2009/017444、WO/2008/156867、WO/2008/147938、WO/2008/129296、WO/2008/137835、WO/2008/082519、WO/2008/064336、WO/2008/043782、WO/2008/043725、WO/2007/047907、WO/2006/125117、WO/2006/114661、WO/2006/020899、WO/2005/114222、WO/2005/007836、WO/2004/076639、WO/2004/050704 和 WO/2001/014881。

[0405] 本发明还提供了包含标记物检测试剂的试剂盒, 所述标记物检测试剂检测通过本发明的方法鉴定的至少一种或多种标记物。本发明还提供了治疗或预防受试者中的疾病或病状的方法, 其包括给所述受试者施用试剂, 所述试剂调节通过本发明的方法鉴定的至少一种或多种标记物的活性或表达, 或者破坏通过本发明的方法鉴定的至少一种或多种标记物的功能。

[0406] 应当理解已得到描述的本发明的实施方案仅举例说明本发明的原理应用中的一些。众多修饰可以通过本领域技术人员基于本文呈现的教导作出, 而不背离本发明的真实精神和范围。

[0407] 下述实施例作为本发明的代表阐述。这些实施例不应解释为限制本发明的范围, 因为这些及其他等价实施方案考虑到本公开内容和所附权利要求将是显而易见的。

实施例

[0408] 用于使具有 $2n$ 的 DNA 含量的吞噬细胞与非吞噬细胞分开和分析表达概况的代表性方法 I

[0409] 1. 将血样分开成血浆和包括 WBC 样品的血沉棕黄层。用抗生物素蛋白包被平板以接受 WBC 样品。

[0410] 2. 将生物素化的抗体加入孔中的非吞噬性血细胞 (例如 T 细胞) 中, 在 RT 下温育 30 分钟, 洗涤孔。

[0411] 3. 加入磁珠。

[0412] 4. 加入 WBC 血样。

[0413] 5. 在 37°C 下温育 (30 分钟 -1 小时)。

[0414] 6. 在珠由吞噬细胞吞噬以及抗生物素蛋白 - 生物素 - 抗体与非吞噬细胞结合后, 将平板置于磁体之上并洗涤 (内在化磁珠的吞噬细胞和与抗体结合的非吞噬细胞将保留; 所有其他细胞将被洗掉)。

[0415] 7. 去除磁体且收集吞噬细胞, 并且分开成具有等于 $2n$ 的 DNA 和大于 $2n$ 的 DNA 的吞噬细胞。具有等于 $2n$ 的 DNA 的非吞噬细胞和吞噬细胞被称为具有等于 $2n$ 的 DNA 的细胞。

[0416] 实施例 2

[0417] 用于使吞噬细胞与非吞噬细胞分开的代表性方法 II

[0418] 1. 将血样分开成血浆和包括 WBC 样品的血沉棕黄层。

- [0419] 2. 将 WBC 离心涂布 (Cytospin) 到玻璃载玻片上。
- [0420] 3. 在丙酮 / 甲醇中固定细胞 (-20°C 共 5 分钟)。
- [0421] 4. 用苏木精与伊红染剂和抗 T 细胞抗体染色。
- [0422] 5. 使用激光捕获显微镜检查 (LCM) 分离 T 细胞 (非吞噬性的) 和巨噬细胞 (吞噬性的)。分开成具有等于 2n 的 DNA 和大于 2n 的 DNA 的吞噬细胞。具有等于 2n 的 DNA 的非吞噬细胞和吞噬细胞被称为具有等于 2n 的 DNA 的细胞。

[0423] 实施例 3

[0424] 用于使吞噬细胞与非吞噬细胞分开的代表性方法 III

- [0425] 1. 从全血中分开血浆。
- [0426] 2. 使用磁性抗体缀合的珠从全血中分离非吞噬细胞 (例如 T 细胞) 和吞噬细胞 (例如嗜中性粒细胞和 / 或巨噬细胞和 / 或单核细胞)。分开成具有等于 2n 的 DNA 和大于 2n 的 DNA 的吞噬细胞。具有等于 2n 的 DNA 的非吞噬细胞和吞噬细胞被称为具有等于 2n 的 DNA 的细胞。

[0427] 实施例 4

[0428] 用于使吞噬细胞与非吞噬细胞分开和分析表达概况的代表性方法 IV

[0429] 1. 将血样分开成血浆和包括 WBC 样品的血沉棕黄层。用特异性针对特定细胞亚群 (例如嗜中性粒细胞、巨噬细胞、单核细胞、T 细胞等等) 的荧光抗体和 DNA 染剂 (例如 Hoechst 33342、碘化丙啶) 染色 WBC。

[0430] 2. 分选细胞 (例如通过 FACS)。

[0431] 实施例 5

[0432] 用于分析表达概况的代表性方法

[0433] 1. 通过组合选自下述的两种或更多种不同组分制备组合样品: 从受试者中分离的无细胞体液, 从受试者中分离的吞噬细胞, 从受试者中分离的 >2n 吞噬细胞, 从受试者中分离的循环囊泡和从受试者中分离的循环患病细胞。

[0434] 2. 从组合样品和从具有选自下述的组分的对照样品中分离 DNA: 从受试者中分离的 = 2n 吞噬细胞, 从受试者中分离的非吞噬细胞和从受试者中分离的对照细胞。制备 cDNA 或 cRNA 且用于区分组合样品和对照样品之间的差异基因概况 (例如癌症基因阵列)。

[0435] 3. 从组合样品和从对照样品中分离 DNA。运行 DNA 阵列且比较得自组合样品和对照样品的概况。

[0436] 4. 从组合样品和从对照样品中分离蛋白质。使用针对由人肿瘤过表达的已知蛋白质 (例如前列腺癌中的 PSA 和 PSMA; 结肠癌中的 CEA; 和卵巢癌中的 CA125) 的抗体运行蛋白质印迹, 并且比较得自组合样品和对照样品的概况。

[0437] 5. 从组合样品和从对照样品中分离脂质。例如使用 HPLC 比较在组合样品和对照样品之间的脂质数量和质量。

[0438] 实施例 6

[0439] 妊娠的一部分通过胎儿中的遗传异常的存在而复杂化, 并且相当大的临床关注已集中于开发能够检测且表征这些异常的测定法。在最常见的问题中有染色体非整倍性的存在, 其中染色体中的一条或多条与正常丰度不同存在。非整倍性的发病率在频率中随着母亲年龄增加, 并且包含具有来自染色体 13、18 和 21 的二倍体数目的偏差, 或在男性或女

性胎儿中异常数目的 X 染色体的潜在活力妊娠。这些非整倍性病状的检测可以通过直接分析通过羊膜穿刺术或绒毛膜绒毛取样 (CVS) 获得的胎儿细胞而发生, 并且使用胎儿基因组 DNA 的常规细胞遗传核型分析或阵列比较基因组杂交 (CGH)、定量 PCR (qPCR) 或测序, 但 these 方法带来胎儿或母体发病率的风险和由于细胞收集创伤的流产。另外, 这些侵入性细胞收集操作仅在妊娠的孕早期的晚期应用时才有效, 并且早期基因分型是优选的, 以允许更早和更好地作出风险妊娠的决策。

[0440] 为了避免侵入性测试的发病率风险, 非侵入性操作已得到开发, 以通过分析在母体血液中以低水平存在的降解的基因组胎儿 DNA 的序列组成, 也称为循环无细胞胎儿 DNA (ccff DNA), 来检测胎儿非整倍性。然而, 这些操作依赖从血液的细胞组分中排除完整母体基因组 DNA, 以增加操作依赖的可观察信号。相比之下, 其他方法纯粹使用细胞级分, 但这些方法可能具有高水平的母体细胞污染 (Bianchi 等人, *Proc Natl Acad Sci USA*. 87(9):3279 - 3283(1990); Bianchi 等人, *Am J Hum Genet*. 61(4):822 - 829(1997))。

[0441] 与上文提及的方法形成对比并且作为本发明方法的原理论证, 开发了示例性方法, 其利用依赖 cfff DNA 的操作和依赖单独的细胞级分的操作的能力。因此, 该方法明确包括无细胞体液和吞噬性血细胞, 其预期含有在胎盘和其他区室中通过胎儿细胞的吞噬作用清除的胎儿基因组标记物。在母体样品中存在的胎儿 DNA 的证据通过父本标记物的存在提供, 当比较严格母体的 DNA 样品与母体和胎儿 DNA 的组合样品时, 所述父本标记物为在母亲中不存在的 DNA 序列, 并且是新型的。在实践中, 父本标记物通过在含有多态性位点的人基因组的所选区段中的 DNA 测序分析可见。多态性位点通常为单核苷酸多态性 (SNP) 且区别等位基因。当母亲对于 SNP 序列是纯合的, 并且父亲具有传递给胎儿的变体 SNP 时, 这类标记物是提供信息的。例如, 如果母亲携带在特定 SNP 位置处的 A/A 核苷酸, 并且父亲携带在该相同 SNP 位置处的 G/G 核苷酸, 则将发现 SNP 的 G 等位基因以指示样品中的胎儿 DNA 的相对量的比例。使用测序技术, 胎儿材料的比例可以通过比较含有“A”分子的数目 (母体来源的材料) 与“G”分子数目 (胎儿来源的材料) 进行计算。使用这种原理用于计算样品中的胎儿 DNA 含量的示例性测定法在例如下述中描述: Chiu 等人, *Proc Natl Acad Sci USA* 105:20458 - 63(2008); Ehrich 等人, *Am J Obstet Gynecol* 204:205e201 - 211(2011); 和 Sehnert 等人, *Clin Chem* 57:1042 - 9(2011), 所述参考文献各自通过引用整体并入本文。胎儿 DNA 含量的计算是准确的, 如通过 Tynan 等人 (*J Mol Diagn* 13(4):382-9(2011)) 在研究中例示的, 所述研究指示正确检测在具有 6 个或更多个提供信息的 SNP 的组合样品中胎儿 DNA 的存在的置信水平大于 99.9%。当母亲是纯合的时, 胎儿级分直接作为变体级分可见, 而当母亲是杂合的, 胎儿等位基因级分加入母体, 并且如果胎儿是纯合的, 则可能扭曲观察到的比例。这些情况无疑存在于所示数据中, 但为了简化分析而未进行分析。

[0442] 为了产生潜在信息 SNP 的无偏实验对象组, 这样选择标准, 从而使得所有群体均应携带相似比例的参考和备选 SNP, 并且次要等位基因频率 (MAF) 应大于 40%。具有这些性质的 SNP 类别是商购可得的 (Durbin 等人, *Nature* 467(7319):1061 - 1073(2010) 和 McVean 等人, *Nature* 491:56 - 65(2012))。MAF 是关于给定基因的最不常见等位基因在群体中出现的频率。靶向大于 40% 的 MAF 以增加在胎儿级分中发现杂合子的可能性, 同时在母体级分中具有大量纯合子, 因此增加发现信息 SNP 的可能性。选择 167 种标记物的初始集合用于分析。基于先前分析, 对于任何母亲 - 胎儿组合样品 (例如与吞噬细胞组合的无

细胞体液), 10-20% 的实验对象组 SNP 将预期是提供信息的。设计含有 167 种 SNP 标记物且具有足够小尺寸 (80-120bp) 的 PCR 引物, 从而使得来自部分降解 DNA 的扩增概率将是最大的。SNP 及其基因组参考和用于扩增其的引物序列的列表在表 1 中提供。

[0443] 表 1 : SNP 和基因组参考

[0444]

<u>GenBank</u> <u>靶 ID</u>	<u>靶间隔</u>	<u>具有标签的左引物</u>	<u>具有标签的右引物</u>
rs2937436. G.A	chr5:31325718- 31325728	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAAGAAAGGTAT CATCTGAAGTT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTAGAACTACTT ACTTTTACTTATTAGGA
rs6946634. A.G	chr7:79093092- 79093102	ACACTGACGACATGGTT CTACAGGATTTTAAAAT GAAAATIGAAGAAGTA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTGTTGTTCTTT GGTCTGTAAAAT
rs1060922. T.C	chr18:722398-7 22408	ACACTGACGACATGGTT CTACATTAGTACCAGAA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATTACCTGAT

[0445]

GenBank 靶ID	靶间隔	具有标签的左引物	具有标签的右引物
		CCACTGC	TTTAATCATCAGAT
rs1173483 3.A.G	chr4:101108065 -101108075	ACACTGACGACATGGTT CTACAACAGGTATTCAT CATTCACTC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTTTCCCCTGT TCTTAAAGTG
rs1049039 2.G.T	chr2:186658561 -186658571	ACACTGACGACATGGTT CTACAATCAGCTTATGC TGATGATAATC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAAAATAGTTTT AGTAATGAAGTTAGCA
rs1872575. G.A	chr3:113804975 -113804985	ACACTGACGACATGGTT CTACATTAATGACCTG GATTGATCAG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCTTTTGTCTTT GACTAAATGAATCT
rs4241779. A.G	chr4:184600597 -184600607	ACACTGACGACATGGTT CTACAATTGGATGCAAT TGCTCAG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTACTGTTTAGAC ATCCATGCA
rs1958716. A.G	chr14:20528317 -20528327	ACACTGACGACATGGTT CTACAGGAACTTCAAAT TTCTTCTTTG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAGGGTTGACCT ACATGTC
rs3085724. TCA.T	chr3:156255511 -156255523	ACACTGACGACATGGTT CTACATTIGAGCTTTAC AAATAAACATACA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATCCCAGTGCT AATTAACAA
rs5880678. TC.T	chr6:146756123 -146756134	ACACTGACGACATGGTT CTACAGCTGCCTTAAGT AGGAAGA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTGCTTTGTCA GAATTCCC
rs1074113 0.T.C	chr10:27475440 -27475450	ACACTGACGACATGGTT CTACAGAAACAGATACC TCCTATTTTGA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCAAGGCTAGA CTAAAAGGAAAA
rs2305641. G.A	chr12:69646910 -69646920	ACACTGACGACATGGTT CTACATCATICTTTGG GAGTAAATGA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCTGTATCACTA GCTACTAAATCAAAA
rs1042201. G.A	chr3:151546037 -151546047	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAAACCTCAGAA AATTIGCATT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAAAACAGAAAA GTGCCATTTAAG
rs3806.G. A	chr13:10333071 4-103330724	ACACTGACGACATGGTT CTACAGCGTATTCTAAA ATAGGAAACAAG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATAGTGGATGA AAACATGCATT
rs9307834. A.C	chr4:76453846- 76453856	ACACTGACGACATGGTT CTACAGTATTAAAGAAT TTTCTGTTTTAATGC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTGGGTTAAAT CCCATTTAGA

[0446]

GenBank 靶ID	靶间隔	具有标签的左引物	具有标签的右引物
rs6919254. T.C	chr6:136599400 -136599410	ACACTGACGACATGGTT CTACACATAAGCTGAAA GGCCAG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATGACCCATCT GAGTCTATC
rs1338.T. C	chr10:27475689 -27475699	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGTTAAAAGGCT GAAAGGAATA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAGTTTTTCATAA AGTGCAATAAACA
rs2999278. C.T	chr10:44053581 -44053591	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGGAGGAAAAGCT CATGTAA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAAGTCTACCCCT TTGTTCTTAC
rs6002910 4.G.A	chr2:186658052 -186658062	ACACTGACGACATGGTT CTACATATCACGTAAAG GCAAATGT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTGAAGTTGAAG TACTTTTCGATA
rs1862066. G.A	chr2:186671908 -186671918	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGAAAATTTAGC AAGAAGACTAAC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTGAAAAGTAAAA CCTCATCAC
rs4518168. G.A	chr3:97806612- 97806622	ACACTGACGACATGGTT CTACAGTTCAAAATTTTC ATGCAATGGT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAGTCATTAAG TGGGTATTTGTA
rs1081676 7.G.A	chr9:111782666 -111782676	ACACTGACGACATGGTT CTACAGCATTCTGTATG TAAGGCC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGGAAGTTCAAA TTTGACAGC
rs7138345. G.A	chr12:10429085 3-104290863	ACACTGACGACATGGTT CTACATAAACTGATGGA AGCAATGAAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTAGGTACTCA GCTTGAAAC
rs6917033. G.A	chr6:42627430- 42627440	ACACTGACGACATGGTT CTACACATAACCTTTGT ATTGCAGCC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATACATGTAAC GAATTGTCCTTG
rs1150325 19.T.C	chr6:30002877- 30002887	ACACTGACGACATGGTT CTACACTATTGCCTGGA TCCCAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAAGCTTAGGCT TTCAGATTTTAC
rs3747562. A.G	chr12:42854201 -42854211	ACACTGACGACATGGTT CTACACCGGATTTCAAT GTCATAGTTC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTACATCTGCC AGTGCTC
rs2240859. A.G	chr3:42787465- 42787475	ACACTGACGACATGGTT CTACAGAATTTGTTGAG CCCGAC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTATTTACAGTT TTGGCCAGA
rs1050287. A.G	chr12:27954503 -27954513	ACACTGACGACATGGTT CTACACATAAGCTGAAA GGCCAG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATGACCCATCT GAGTCTATC

[0447]

GenBank 靶ID	靶间隔	具有标签的左引物	具有标签的右引物
T.C	-27954513	CTACAAGCATAGCAATG TAAAAGGAAT	TGGTCTACTCATTGATA ATGCCTCCTTA
rs1573612. T.C	chr12:12047425 -12047435	ACACTGACGACATGGTT CTACAGCATCACCAATG TTCCAA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGAGGGTTCCA AACATACTG
rs1230381. A.G	chr5:96254205- 96254215	ACACTGACGACATGGTT CTACATTATCAAGAAGG CCAGGAA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGACCATTGATT TGGAAATGCT
rs9880307. C.A	chr3:16974606- 16974616	ACACTGACGACATGGTT CTACATCTAAGAAAATG AAACGTACCT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTCTTCACTC AAATTTCTT
rs3800989. A.G	chr7:141360581 -141360591	ACACTGACGACATGGTT CTACAAACCATTACTTG ACAGAAAGG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTTGAAGCCTC ACCTTTTAT
rs2839436 3.G.A	chr3:33428295- 33428305	ACACTGACGACATGGTT CTACAATCTGATAAAAAT GACCCTACTC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCACCTAAGTTT ACAATGAAGG
rs7337667. G.A	chr13:97489453 -97489463	ACACTGACGACATGGTT CTACAGGAAATTAATAC TGATAAAGACTATCAG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTTTAGTCTTAT CTTTCGCAAAACATA
rs5805056 5.ATTTA	chr9:88937847- 88937860	ACACTGACGACATGGTT CTACATGAAGATAAGTT TACTGAATTCATAAA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCTCCTAGTGGGA ACTTAATAAAATAAGT
rs3734110. T.C	chr5:13701532- 13701542	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGTTCAGTAAAC CAGAAACC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTGAACATAGC TGGTTTACA
rs5930933. C.T	chrX:135431354 -135431364	ACACTGACGACATGGTT CTACATACCCCTGTTC ATACCC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCTCAGCTTCAG TACTATGAGG
rs831618. T.G	chr11:33728610 -33728620	ACACTGACGACATGGTT CTACAGATCCAGCTAAC TTTGCATA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTGGTACAGGAT TCTAAGCT
rs2104772. T.A	chr9:117808781 -117808791	ACACTGACGACATGGTT CTACACAATTTTCGTATT CAGTAGCCT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTCTGAGCCAC TGGAAATA
rs2269991. A.G	chr7:79090132- 79090142	ACACTGACGACATGGTT CTACACCTTTTGTAAAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGGGGATAGAT

[0448]

GenBank 靶ID	靶间隔	具有标签的左引物	具有标签的右引物
		GTAGGCATTC	TCAGCTACT
rs3766601. C.T	chr1:100388231 -100388241	ACACTGACGACATGGTT CTACATGATAACTTATTT TAAGATGCCTTAAAA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAAATTCTATCT AGGAAATAAGTTCTATG A
rs4284632. C.G	chr16:70606551 -70606561	ACACTGACGACATGGTT CTACATAGTATGGGGAT TTAGCATG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTCTTCTGTACT GACCCCTC
rs9389248. T.C	chr6:135282652 -135282662	ACACTGACGACATGGTT CTACATAACATCAGATG AGGTCACT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGGTTGGCTGTT TATGGTTT
rs1054975. T.C	chr3:9406832-9 406842	ACACTGACGACATGGTT CTACACCCTAACCAAC TCCTAGAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTACAGTGGCTCC AATAGTG
rs6438874. G.A	chr3:124739888 -124739898	ACACTGACGACATGGTT CTACACAGACTGACCGT CAAAGA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAAGCTTAACAA CTCCACTG
rs832068. G.A	chr3:97754143- 97754153	ACACTGACGACATGGTT CTACATFTTCCGGGGAA GGTTTT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTACCTCACTTCT TTGTTTGC
rs840388. T.G	chr5:34018886- 34018896	ACACTGACGACATGGTT CTACAACTGGAAAATTA CCAAGGC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCCGCAAATTC AAATCTTAAAACA
rs7023954. G.A	chr9:21816754- 21816764	ACACTGACGACATGGTT CTACATGATGCCTTAAT TTGGGG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCCAGAATTIAA GTTAAATTTAAATTATC CT
rs7808823. T.C	chr7:129989874 -129989884	ACACTGACGACATGGTT CTACAGAACAAGGTGGA CTTCTG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGCTGTAAGCAA GTCCATGA
rs3535075 5.T.G	chr10:12354968 7-123549697	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAACAAAGCCAA TGATTCC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGAAAACCTCCAA GTACTGCC
rs3802980. A.G	chr11:5706307- 5706317	ACACTGACGACATGGTT CTACAGGTTAGGATTCA CTCACCA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATTGGCCATA GTTTATCTTTC
rs2942.G.	chr6:146755136	ACACTGACGACATGGTT	TACGGTAGCAGAGACT

[0449]

GenBank 靶ID	靶间隔	具有标签的左引物	具有标签的右引物
A	-146755146	CTACACACGTGAAGACC AATGAG	TGGTCTGTCTTGGTGCT GGTATCT
rs6921.T. A	chr8:103838872 -103838882	ACACTGACGACATGGTT CTACACAGACATTTCTT AAAAGTTACCGT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCCTTGAACTTC ATGGCATA
rs1133181. C.A	chr2:55402268- 55402278	ACACTGACGACATGGTT CTACAGAGTTTTCAATC AAATACTTATTCAG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTGCAATTTTG CATAGAAGTAGA
rs3837134. C.T.C	chr7:27221061- 27221072	ACACTGACGACATGGTT CTACATCTTTCCAAATG TTGCAAGA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTTTTCTTTTGC CATTAGTTGAT
rs2414105. A.G	chr15:51868369 -51868379	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGTCATTGCCA AAATAACAATA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAAATAGTATGT AATAAGATTTCAAAAAGT
rs7305115. A.G	chr12:72372858 -72372868	ACACTGACGACATGGTT CTACACCACTGTACCCA GTACATC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGATCATTGACC ACTTTATGGT
rs2177142. G.A	chr7:22459320- 22459330	ACACTGACGACATGGTT CTACACGGATCCATGTT GACAGA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTACAGCATTGGA TTGCTCA
rs2400478. T.C	chr5:147510862 -147510872	ACACTGACGACATGGTT CTACATCTTCTTGAATG CCATAAAGTA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGGCTTTAAATC CTTTGGACA
rs6895049. T.G	chr5:52248869- 52248879	ACACTGACGACATGGTT CTACAACCAAGAATACA TTAGCATCT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCCTGATTTTCC ATCCTAGATAA
rs8128.A. C	chr1:115110679 -115110689	ACACTGACGACATGGTT CTACAACCTAAACATCA ATGGTTTTGG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTACAATTTAGCA GGTAGAAGAAAA
rs3828977. G.A	chr7:29519494- 29519504	ACACTGACGACATGGTT CTACATGACTGGATACC GCTTCT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCGGCTTCTGAA TAAGGATG
rs1210220 3.A.G	chr15:51791555 -51791565	ACACTGACGACATGGTT CTACATAGATTTAAAGG TCGAATGATCT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGAAGCATGCT GTCAAATTT
rs7974559. A.T	chr12:5023955- 5023965	ACACTGACGACATGGTT CTACACATCTACTAGCA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAAGTTTATCTT

[0450]

GenBank 靶ID	靶间隔	具有标签的左引物	具有标签的右引物
		TTGGTCC	GGCTTTGGTG
rs2686817. C.A	chr7:47968923- 47968933	ACACTGACGACATGGTT CTACATCCCCGAAATCC ATCATC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTCATGAACCTT GTTCTTAATT
rs1884214. C.T	chr14:37149132 -37149142	ACACTGACGACATGGTT CTACATAAATTTTATTTT ATGTTTCTACTTG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATAGGTATTTT AAAACATTGTTTAAAAC A
rs1053959. C.A	chr9:114359620 -114359630	ACACTGACGACATGGTT CTACAATACAGTCCCTT CCAACTC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTTGGCTATCC TACTAATAGTGA
rs3780190. A.G	chr9:139099069 -139099079	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGTTGTTGAAAG AATCAGCT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATGGATGTATT CATAAGACCATG
rs1019503. G.A	chr5:96254813- 96254823	ACACTGACGACATGGTT CTACATACAGATAAGTT TTAGAAAGACTCAA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATTGCTCCAAA GTGGATTG
rs1088309 8.C.G	chr10:10021819 1-100218201	ACACTGACGACATGGTT CTACAGAAGCTTCCTAC CTACCA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGCCTATTTGAG CTAGAACAAA
rs6979945. G.A	chr7:82386121- 82386131	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAGCAATTTGAT TTATTTCTTTTGG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCTAAAGGTGAA GAATTACATGAAAAT
rs1471478 97.CI.A.C	chr16:70192457 -70192469	ACACTGACGACATGGTT CTACACTCCTTCTAGAC ATTCTTGC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCTAACAAGCCA ACCAGAAC
rs4692500. A.C	chr4:31147268- 31147278	ACACTGACGACATGGTT CTACAATGGGCTATTCC CAACTT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAGACTGGTCCA TTATCTGAG
rs4727038. G.C	chr7:148979912 -148979922	ACACTGACGACATGGTT CTACATGGAAAGTTTTT TACTTTGCT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGCAAAGTTCCA TTAACAACACTAC
rs8692.C. T	chr16:84211479 -84211489	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGCACCAGAAAGC ATCATA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTGTATTATCATG CCTAAGGGA
rs5950848 1.C.T	chr3:153839955 -153839965	ACACTGACGACATGGTT CTACAAACGGGTTACTA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCTCCTATGTAC

[0451]

GenBank 靶ID	靶间隔	具有标签的左引物	具有标签的右引物
		ATTACGG	CGTCCTG
rs2011319 57.TTC.T	chr6:87993564- 87993576	ACACTGACGACATGGTT CTACAGTGCACCAATTG TAATGAG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTAGTCTGAAGA AATCTAACAGGAT
..G.GT	chr15:52102326 -52102337	ACACTGACGACATGGTT CTACAATCCTTTAATTA GTTTATGGCTTCA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCCTAAATGGGT GAAAGGG
rs7096.G. A	chr9:115234607 -115234617	ACACTGACGACATGGTT CTACACTGCTAGTGCTG CTTTAC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAAAAGATCTAAT TGGCTTTTATTAGC
..GTC.G	chr12:10311906 -10311918	ACACTGACGACATGGTT CTACACCCCACTTGTC CAAAAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAAAGGTATCAA TCCTTGGTTT
rs1048698 5.G.A	chr7:82386078- 82386088	ACACTGACGACATGGTT CTACACACTTCACCCTT AAATAAAGC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTGCTGGTCTTA CCCTAGT
rs931606. G.A	chr4:79443846- 79443856	ACACTGACGACATGGTT CTACATTTCCTTCAA ATAGGACA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAAGTCAAATTC AATTCCTCTAG
..G.GA	chr11:10834551 1-108345522	ACACTGACGACATGGTT CTACAACCTGGTGCAGT CTTCTA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGAAGAACCTTG AGTCAGCC
rs30169.T. G	chr5:13719018- 13719028	ACACTGACGACATGGTT CTACATTCTGGACTCA CCACTAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCTTCAGATGTC CATTAAATTGCT
rs4870887. G.A	chr8:125061891 -125061901	ACACTGACGACATGGTT CTACATCTTTTCTTCTT TAGGGGAAG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGGTIGATAGCAT AACCTGG
rs1133182. C.T	chr2:55402221- 55402231	ACACTGACGACATGGTT CTACATTAGGTATCTGT TCIGCTTGAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTCTGAATAAG TATTTGATTGAAAAC
rs3600407 4.G.A	chr2:186665428 -186665438	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGCAGAAGAATG TCAACTTTTA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAAGGTCTGACA TGTAATCTACTT
rs1141543 93.T.C	chr6:30999993- 31000003	ACACTGACGACATGGTT CTACAGACCTGTTTCAT AGGCAC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTGAAGTCCAT TCCAGGG

[0452]

GenBank 靶ID	靶间隔	具有标签的左引物	具有标签的右引物
rs1047481. G.A	chr5:52249472- 52249482	ACACTGACGACATGGTT CTACACCAGAAATGTAT TTAAAGAATTCAG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAGTAGATTCCA ATGAACCATAATG
rs2293250. G.A	chr3:33434827- 33434837	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAAACAAATGAT TTGATTTACCTGA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCACCAAATTA TCAGGTTTACAG
rs1084917 4.T.C	chr12:5025090- 5025100	ACACTGACGACATGGTT CTACAGACTGGTTGATT CTTCTGC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCCCAAACATCAT AACAACAAC
rs7011928. G.A	chr8:28421981- 28421991	ACACTGACGACATGGTT CTACACTCATACAAATA AGAATTGGTAGC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATCATCAGGG GCAAGTTA
rs3733690. G.C	chr5:140569523 -140569533	ACACTGACGACATGGTT CTACAGAGGCATTTCTT ACTAGAATCC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGAGGCAATGA ATTTAAAGTCAATA
rs1299331. A.G	chr3:106965488 -106965498	ACACTGACGACATGGTT CTACAGGTCTTAAGACA GGAAGCTA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTCTGATTCCAG TCATAGCTC
rs2278711. C.T	chr2:47085394- 47085404	ACACTGACGACATGGTT CTACATGTTCCCTTCG GATGAG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAGTTATTTTGA GCAGATGGTT
rs1169281 5.G.A	chr2:68415763- 68415773	ACACTGACGACATGGTT CTACAACTCGCTGTACT AAAGGAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATGAAATTA AGGCTAGGAAAGA
rs1164858 95.T.C	chr4:69176794- 69176804	ACACTGACGACATGGTT CTACACCTTCCGTGATGT AATCCCA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCAAGGAAATG GGGTTCCTT
rs2161036. G.T	chr2:186659355 -186659365	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGTGGGAAGAACT TTGAATAAGT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTTGGCAGTTTC ATTAAGTGG
rs1722920 1.T.C	chr2:186656952 -186656962	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAATACTTAAGT ATGTAGTCAAGTTAATT T	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGCCTGTATCGA TAAGTTTCAA
rs2230854. T.C	chr13:10327538 2-103275392	ACACTGACGACATGGTT CTACAGATGATGGAAAC CTGCTC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTACCACTTTATC ACCTCATAAATCT

[0453]

GenBank 靶ID	靶间隔	具有标签的左引物	具有标签的右引物
rs4647554. A.G	chr9:97862697- 97862707	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAAAGTTCCTGG AATTTTCCA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTTTTGAGGTA TGAGCAAAGT
rs704697. T.C	chr11:33724776 -33724786	ACACTGACGACATGGTT CTACAGGGGTTAAATAA GAAGTTGATGA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTCATAGGGACT TTGCCTC
rs30168.G .A	chr5:13719085- 13719095	ACACTGACGACATGGTT CTACAGTTGGCAAATTT AATGGACA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATGGACATAAT CATAGAAACTGA
rs5593825 3.A.G	chr2:186661669 -186661679	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGTTTTGATCAG ACCATGAAAG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGACAAGACTTG CTTTAATGC
rs1093120 0.C.A	chr2:186664959 -186664969	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGAAACAAATCA TTTTCTATGCAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGAGTAGAAAAT TGCCAGTCT
rs6928.C. G	chr22:22115000 -22115010	ACACTGACGACATGGTT CTACACAGATACAAAGC AGTTTCAGA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCAGGTTTACCT AAAGCTTGTT
rs2282022. T.C	chr13:41374182 -41374192	ACACTGACGACATGGTT CTACAACAAACAGAAT TTGAAACCA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCCTTTGCAATC TTGAAGCTT
rs1613780. G.T	chr1:144865846 -144865856	ACACTGACGACATGGTT CTACATCTGGAAACATG ACTCAGTT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCTAACTTCTAC AGTCAGGGC
rs7893462. A.G	chr10:28228861 -28228871	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGAAAGAACGCC ACAAC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATCATTGAAAA CCTTGCAAG
rs2275145. G.A	chr14:35242824 -35242834	ACACTGACGACATGGTT CTACATTTGTACCTGTC TTTTACTATGA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGGAAAACAAG GAAAATGGGA
rs9225.C. T	chr2:47086108- 47086118	ACACTGACGACATGGTT CTACACCCCTCCTTAAG CATTGT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGATGCTCAAAG TATGATTCAC
rs1130072. T.C	chr9:14615931- 14615941	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAGAAATACTTC AGTCCAACA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTTATGTATTCT GGATAACTGAAAACA
rs732774. T.C	chr13:52523804 -52523814	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAGAAATACTTC AGTCCAACA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTTATGTATTCT GGATAACTGAAAACA

[0454]

GenBank 靶ID	靶间隔	具有标签的左引物	具有标签的右引物
C.T	-52523814	CTACAGGATCAATGTCA GTAGATTATTTAAAA	TGGTCTTGGATTGTAAT CGGTTTATCG
rs1359300. G.A	chr1:144922579 -144922589	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGTTTCCTTGAG GTTCTGA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGCTGAATTCAG ATTCTTCAAG
rs2549782. G.T	chr5:96230996- 96231006	ACACTGACGACATGGTT CTACATACCTCCTAGTG GTTTGG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTACACGGATAA GTTCCATG
rs9289122. C.G	chr3:118867043 -118867053	ACACTGACGACATGGTT CTACAGGGGATTTAAAT TTCAGGATG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTGAAACTTGGT AAGGATCTTC
rs4766310. G.A	chr12:5022037- 5022047	ACACTGACGACATGGTT CTACAGCTACTGACCGA TGTTTAAAA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGAGTCACTAG GTTTTCTGTTTT
rs4617548. A.G	chr11:16133409 -16133419	ACACTGACGACATGGTT CTACACTACTTACCTGG TTTGATGTTA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCGCTCATGATC CCAATTTT
rs1005790 8.T.G	chr5:102884929 -102884939	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGTAAAAGTAA TTCAAGATGC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATTTAGATACA TAATAAAATTCGAGCTA
rs7290177 5.T.C	chr1:1647810-1 647820	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAGTCCTCAACT GACCCA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAGAAGAACAG GATAAAGCTC
rs2255546. C.T	chr5:96249111- 96249121	ACACTGACGACATGGTT CTACATGGAAGGAAAGG TTATCAAGA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAGAAGATGGG TCCAATTTTC
rs2548538. T.A	chr5:96232138- 96232148	ACACTGACGACATGGTT CTACACTCCCTGTTTAG GATGACTA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATTTCTGTAT TTGAGTCGG
rs177083. C.T	chr2:32447714- 32447724	ACACTGACGACATGGTT CTACAGTGACCTGCTAA AGAAATACA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGATAAAGGCC AAGGAACAG
rs6876143. A.G	chr5:17380266- 17380276	ACACTGACGACATGGTT CTACATGAAAAGTGTCT TTCATTAGCT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAATACCATGTC TGCCTGT
rs9841174. T.C	chr3:167184874 -167184884	ACACTGACGACATGGTT CTACACATGAATACAAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTGGATTTTCA

[0455]

GenBank 靶ID	靶间隔	具有标签的左引物	具有标签的右引物
		GGCAAATAATAAT	AGATGCAAAG
rs1165719 82.G.A	chr6:31023144- 31023154	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAGACTTGAACC CTATTAGAAAA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGAATACATGTA GCTTACATGGC
rs4898.T. C	chr7:82386202- 82386212	ACACTGACGACATGGTT CTACATTCTTCACCTTTA GTCAGGTTA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATCATCTAAAC CAATGGCAAG
rs2020267 26.T.TA	chr3:86990606- 86990617	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAAGTATGTTGC ATTTTAAAAAGAATTAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCACCTTTTAGA AAAGGATAAGTAAT
rs1153774 8.A.G	chr15:31668690 -31668700	ACACTGACGACATGGTT CTACATTTTGCTGACTG TTCCATA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGGGGTAATCCT GATTTCAAAA
rs14026.G .A	chr2:55404790- 55404800	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGTAGCTTAATG CCAACTTT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAGAAACAACCA TCTTTATCTTTTG
rs1780138. A.G	chr10:38501650 -38501660	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAAGTGAAGACT CCTTCTACC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAGTTAAACTAT TGTTTTAAAAGCCTT
rs3800951. T.G	chr7:99758132- 99758142	ACACTGACGACATGGTT CTACACATCGAAGTACT CAGCCA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTCGATTTGGGG TCTTCAT
rs1230382. T.A	chr5:96254350- 96254360	ACACTGACGACATGGTT CTACATACCATTITGGTT TAAGCCTTAC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGGCAGATTTCG ACTTCATT
rs2010091 41.CCT.C	chr7:27221060- 27221072	ACACTGACGACATGGTT CTACATCTTTCAAAATG TTGCAAGA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTTTTCTTTTGC CATTAGTTGAT
rs2350917. T.C	chr8:62576972- 62576982	ACACTGACGACATGGTT CTACATCTAATCTGAAA TAATTAACCTTCTAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCCATAGCCATG AATAAAGGG
rs1147839 26.A.G	chr6:31026430- 31026440	ACACTGACGACATGGTT CTACAGAGGTCACTAGC ATTAGCA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTTTGGGAGC ATAGACTTT
rs36261.G .A	chr19:8327240- 8327250	ACACTGACGACATGGTT CTACAGGCAACTGGACA GATCTG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCATTGTGTTTA ATTGGACCCTTTT

[0456]

GenBank 靶ID	靶间隔	具有标签的左引物	具有标签的右引物
rs1085150 O.T.C	chr15:51783816 -51783826	ACACTGACGACATGGTT CTACAGTTACCTTTTCA ATGCATCTTC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTATGATTCCAG CAATTCAGA
rs5930932. T.C	chrX:135431232 -135431242	ACACTGACGACATGGTT CTACATATTCAGGTTTC CCCATCT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTTTCTAACAAG GAAATCATCTTT
rs1022643 7.C.T	chr7:129984986 -129984996	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGCATAACTGCT TTCTTTTCTAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTTCGTAGTTCA GCTGTTCA
rs7512.G. C	chr17:10583710 -10583720	ACACTGACGACATGGTT CTACAGCAAACTGAGT ATGTTACTTTA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTGACATACCA AATGGAAATAAG
rs1168308. A.G	chr12:66742179 -66742189	ACACTGACGACATGGTT CTACACCTGTTTGATAA TTTGTTGCAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATAGGTGGTG GTAAATGTTTTG
rs4260880. T.C	chr8:69020492- 69020502	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGTTTCTTATCC CAAAACATCA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCTTGCTCCGAA GATTTGTT
rs1801249. A.G	chr13:52515350 -52515360	ACACTGACGACATGGTT CTACACATCGCTAGAAA TGGTTAAAC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATTGGACCATT TAGAAATAACCAC
rs35382.A. G	chr5:59821539- 59821549	ACACTGACGACATGGTT CTACAAATCCTAATAGA TCATCTAATTGTTTATC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAAGTTTATTGA GTGCAGATGTC
rs8042.T. A	chr8:28431196- 28431206	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGACAGCTAGGT CTGTCT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTGTAACAGTAA AATGGGGAAAG
rs1044352. G.T	chr4:31147870- 31147880	ACACTGACGACATGGTT CTACAACAGACCAGAAG AAATTGTC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTACCTAAGATTA TTTAGGTCTTTAGATT
rs1747930. C.G	chr1:144916744 -144916754	ACACTGACGACATGGTT CTACAGGTAGTAGATAA CTGTTCCACT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTATGGGGTAATC ATTTGACTG
rs2161916. G.A	chr2:171073883 -171073893	ACACTGACGACATGGTT CTACAAGCTCAACTCAC CAGTAC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTACCAAGGCAT TCAACAAG
rs2213842. C	chr6:112423806 -112423816	ACACTGACGACATGGTT CTACAGTTACCTTTTCA ATGCATCTTC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTATGATTCCAG CAATTCAGA

[0457]

GenBank 靶ID	靶间隔	具有标签的左引物	具有标签的右引物
A.G	-112423816	CTACAATAGTACATGGA TCATTGAGTAGA	TGGTCTCTGTTAGGGCA AGTCCAG
rs2070203. G.A	chr16:70303576 -70303586	ACACTGACGACATGGTT CTACAGTGCAGCATACT TACCCA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGGATTGACATG GCCTACC
rs1160721 90.A.C	chr6:31023182- 31023192	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAGACTTGAACC CTATTAGAAAA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTCTTAGGAATA CATGTAGCTTACA
rs7562137. A.G	chr2:186625766 -186625776	ACACTGACGACATGGTT CTACACTCGTTTTCTTTT AGGACATACA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCATTATCCTGT ACATCTGCC
rs1014108 7.G.C	chr14:37147337 -37147347	ACACTGACGACATGGTT CTACAGAAGATGGATTC CCTAGGT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGCCATCTGAGT TTTAAACGA
rs3453.T. C	chr21:35819059 -35819069	ACACTGACGACATGGTT CTACACTCACTACTGCA AATGCAT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTACCATGTACTG TTCTAAGCT
rs4349706. T.C	chr5:147516594 -147516604	ACACTGACGACATGGTT CTACATAGGACGAATGA CAGGAA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTAAGACAAGCTC CGAAGAAT
rs546577. A.C	chr9:104172932 -104172942	ACACTGACGACATGGTT CTACAAAACCTATTAAT TCATCTGTTTTAACC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGCGTTTGACAG AATTGGT
rs6940018. G.C	chr6:136599389 -136599399	ACACTGACGACATGGTT CTACACATAAGCTGAAA GGCCAG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCGAAAGATACA TTTGAACATGAC
rs6157574 4.G.GT	chr1:41972271- 41972282	ACACTGACGACATGGTT CTACATFICCFITTTGTAC GTCAGACT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTCTTGCAATGT TGGTATGGTA
rs1958715. G.A	chr14:20528203 -20528213	ACACTGACGACATGGTT CTACAATAAAGAACTTC TGGAACCTTTC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCTAGTAAAATA AACTCGGTCACT
rs1852450. C.A	chr12:16397730 -16397740	ACACTGACGACATGGTT CTACATCAGTGCCTAA CCAACA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTCTTTCTGATC AGCATCTTG
rs1052480. T.C	chr1:115591054 -115591064	ACACTGACGACATGGTT CTACATAAAATCTATTG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTCTGTTC

[0458]

<u>GenBank</u> <u>靶ID</u>	<u>靶间隔</u>	<u>具有标签的左引物</u>	<u>具有标签的右引物</u>
		TTGCTTAGTGGTG	TGTACGATT
rs2528843. G.T	chr7:22478203- 22478213	ACACTGACGACATGGTT CTACAGATTTTCTAGAT GAAGCTGAAAC	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCCTTCCAAGAC TAGGAGTT
rs974110. A.G	chr6:66112405- 66112415	ACACTGACGACATGGTT CTACACCTGCAAGGATA ATCTTTCT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTGCATCTGTT CACCAATA
rs2564990. T.C	chr5:53816778- 53816788	ACACTGACGACATGGTT CTACATGGACATCAGTA CTAATTTTAGTAGA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTTTTAATACAGG CCAACAGC
rs3595240 2A.ACT C	chr5:147516910 -147516923	ACACTGACGACATGGTT CTACATGGGATTTCTTT GTCACTATCT	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTGTCCACCAATG GGTTTAG
rs257376. G.A	chr7:106799993 -106800003	ACACTGACGACATGGTT CTACAGGACCTTGCATG GAAATTA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCATACTTTTGC TTCATGCAG
rs840385. T.C	chr5:34020354- 34020364	ACACTGACGACATGGTT CTACAATGAACTTAAAA CTTCAGGGG	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTACAGAAGTCAT TTGCAAAGAA
rs316214. G.C	chr5:96497634- 96497644	ACACTGACGACATGGTT CTACAATGCAAAGCAAG GGTATTTAA	TACGGTAGCAGAGACT TGGTCTCCTGTAATTAT CTAATAAATTGGCTTAA

[0459] 设计与合并相容的引物,从而使得它们可以在具有有限样品量的多重配置中通过PCR扩增。大规模平行测序给出高读数深度,从而使得即使当组合样品中的胎儿材料部分为1%或更低时,也可以可靠地检测MAF。

[0460] 将10ml外周血从三个妊娠志愿者(孕中期)各自收集到标准EDTA采血管内。根据制造商的说明书,使用RosetteSep™ Human T Cell Enrichment Cocktail(Stem Cell Technologies,15061)和RosetteSep™ Human Monocyte Enrichment Cocktail(Stem Cell Technologies,15068),从5ml血液中各自分离T细胞淋巴细胞和单核细胞。将血浆上清液以高速离心10分钟两次,以使残留细胞形成团块且去除,并且分成两个样品/志愿者。如通过CD14表达限定的1%重悬浮单核细胞加入血浆样品中,以制备组合样品。通过经由CD14表达限定单核细胞,细胞群体还含有其他吞噬细胞例如巨噬细胞和嗜中性粒细胞是可能的。第二个血浆样品用作无细胞对照。使用QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit(Qiagen,55114),从组合和无细胞对照样品中纯化DNA,并且使用DNeasy Blood&Tissue Kit(Qiagen,69506),从T细胞淋巴细胞中分离DNA。使用Qubit®dsDNA BR Assay Kit(Life Technologies,Q32853),测量从T细胞淋巴细胞中纯化的DNA浓度。在DNA提取

后,使用表 1 中列出的引物执行文库制备,并且在 Illumina MiSeq™测序仪上执行大规模平行测序。

[0461] 执行的操作的概括如下:

[0462] 在 EDTA 管中收集来自 3 个妊娠志愿者,孕中期各自的 20ml 血液。

[0463] 根据下述将血液移液到 15 或 50ml 锥形管内:a)5mL RosetteSEP T 细胞;b)10ml RosetteSEP 单核细胞;和 c)5ml RosetteSEP 单核细胞。

[0464] 将 10 μ l 0.5M EDTA 加入管 a) 和 c) 中,并且将 20ul 0.5M EDTA 加入管 b) 中。

[0465] 将 250 μ l Ab 混合物 (cocktail) (针对人细胞类型的抗体混合物) 加入管 a) 和 c) 中,并且将 500ul Ab 混合物加入管 b) 中。

[0466] 在室温下温育 10 分钟。

[0467] 用等体积 (原始样品) 的含有密度分离介质的 SEP 缓冲液稀释。

[0468] 使血液在 SepMate 管中的 15ml 蔗糖糖上成层。

[0469] 以 1200x g 旋转 10 分钟。

[0470] 将上清液倾析到三个新鲜的 50mL 锥形管内。将一个管放在一边且将它标记物为 100%。

[0471] 通过以 500x g 离心 10 分钟,使剩下两个管中的细胞形成团块。

[0472] 将上清液倾析到新鲜的 50ml 锥形管内,将来自剩下两个管的上清液合并成单管,标记物为血浆。

[0473] 重悬浮 5ml PBS 中的 T 细胞团块和 10ml 磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中的单核细胞团块。放在一边。

[0474] 将血浆以最大速度旋转 10 分钟,以使残留细胞形成团块。

[0475] 将上清液倾析到新鲜的 50ml 管内,并且以最大速度重复旋转 10 分钟。

[0476] 将上清液倾析到新鲜的 50ml 管内。通过倒置几次混合。

[0477] 将血浆上清液分到三个 50ml 管内,各 5ml。将管标记为 0%、1%和 5%。

[0478] 通过涡旋和倒置几次充分混合单核细胞。将 50 μ l 移液到 1%血浆管内,并且将 250 μ l 移液到 5%血浆管内。

[0479] 使用 ccfv 试剂盒 (具有载体 RNA) 对下述样品执行 DNA 提取:1)100%单核细胞;2)5%单核细胞;3)1%单核细胞;和 4)0%单核细胞。

[0480] 对于形成团块细胞的下述样品,使用 DNeasy Blood&Tissue Kit (Qiagen,69506) 执行 DNA 提取:1) 单核细胞团块;和 2)T 细胞团块。

[0481] 如下生成 MAF 多重 PCR 扩增子:由上文描述的 MAF 引物生成 48 个多重引物库。将引物混合且稀释至库中 1 μ M。如下所述由 Access Array™ System for Illumina Sequencing Systems User Guide (Fluidigm) 修改 PCR 条件。

[0482]

10X Fast Start High fidelity Reaction Buffer (Roche)	0.5 μ L
25mM MgCl ₂ (Roche)	0.9 μ L
5mM dNTPS 混合物	0.2 μ L

5U/μL Fast Start High Fidelity Enzyme Blend(Roche	0.05 μ L
PCR 认证的水	1.12 μ L
DNA 样品	0.83 μ L
总主要混合物	~ 4 μ L
引物混合物 1 μ M	1 μ L

[0483] 在下文的热循环概况下,在具有 384 孔头部的 ABI 9700 热循环仪上运行样品。

[0484]

50°C 共 2 分钟

[0485]

70°C 共 20 分钟
 95°C 共 10 分钟
 上文三个步骤的 10 个循环
 95°C 共 15 秒
 60°C 共 30 秒
 72°C 共 1 分钟
 上文三个步骤的 2 个循环
 95°C 共 15 秒
 80°C 共 30 秒
 60°C 共 30 秒
 72°C 共 1 分钟
 上文四个步骤的 8 个循环
 95°C 共 15 秒
 60°C 共 30 秒
 72°C 共 1 分钟
 上文三个步骤的 2 个循环
 95°C 共 15 秒
 80°C 共 30 秒
 60°C 共 30 秒
 72°C 共 1 分钟
 上文四个步骤的 8 个循环
 95°C 共 15 秒
 60°C 共 30 秒
 72°C 共 1 分钟
 上文三个步骤的 5 个循环
 95°C 共 15 秒
 80°C 共 30 秒
 60°C 共 30 秒
 72°C 共 1 分钟

[0486] 将来自样品的多重反应合并到单管内,并且在 PCR 级别水中 1:100 稀释。根据 Access Array™ System for Illumina Sequencing Systems User Guide (Fluidigm), 附加 Fluidigm Barcode 指数。

[0487]

10X Fast Start High Fidelity Reaction Buffer (Roche)	2.0 μ L
25mM MgCl ₂ (Roche)	3.6 μ L
5mM dNTP 混合物	1.0 μ L

5U/ μ L Fast Start High Fidelity Enzyme Blend(Roche)	0.2 μ L
PCR 认证的水	6.8 μ L
总主要混合物	\sim 14 μ L
引物混合物 1 μ M(Fluidigm)	4 μ L
稀释的合并 PCR 多重	2 μ L
总计	20 μ L

[0488]

[0489]

95°C 共 10 分钟
下文三个步骤的 16 个循环
95°C 共 15 秒
60°C 共 30 秒
72°C 共 1 分钟

72°C 共 3 分钟
4°C 共 5 分钟

[0490] 给样品一式三份加上条形码并且将它们以 3x 15 μ L 合并。使用以 1:1 混合的 Agencourt AmPure XP 珠纯化库且在 30 μ L 中洗脱。用 **Qubit®** Fluorometric Quantitation(Life Technologies) 定量样品, 并且在 2100Bioanalyzer(Agilent Technologies Genomics) 上检查引物二聚体。使样品针对 10nM 浓度标准化用于测序制备。

[0491] 文库纯化和生成:根据 Illumina MiSeq™文库生成手册, 制备合并、加上条形码和纯化的样品。以 10 μ L 将 10nM 样品稀释至 2nM, 并且加入 10 μ L 0.2N NaOH。使样品在室温下温育 5 分钟, 并且加入 980 μ L HTI 缓冲液以生成 20pM 文库。在 HTI 缓冲液中将文库进一步稀释至 12.5pM, 并且装载有 1% phiX 掺料。

[0492] 测序:用根据 Access Array™ System for Illumina Sequencing Systems User Guide(Fluidigm) 制备的 FL1 引物, 以 12.5pM 在 Illumina MiSeq™上运行 600 μ L 每种样品。将 FL1 引物以 500nM 装载到 Illumina MiSeq™试剂药液筒内用于测序, 并且使用 2x151 读数运行样品, 伴随衔接子修饰为衔接子读数 2-TGTAGAACCATGTCGT 衔接子读数 1-AGACCAAGTCTCTGCT。

[0493] 通过保守估计, 数据显示提供信息的 16 个组合样品特异性 MAF, 即对于其母亲是纯合的并且胎儿是杂合的 SNP(图 1, 表 2)。这个值非常接近理论 10% (16/167) 期望值(Tynan 等人, J Mol Diagn. 13(4):382-9(2011)), 证实样品中的胎儿含量。此外, 16 个信息 MAF 的存在落在 Tynan 等人, J Mol Diagn. 13(4):382-9(2011) 中建立的 99.9%置信度的

水平上。因此,证实组合样品中的胎儿 DNA 含量。图 1 和 2 显示了针对母本和组合样品中的每个等位基因的读数百分比标绘的,来自两个测定法的潜在信息等位基因。通过在图上方和下方分隔部分可见的信息 MAF 的粗略估计。一般而言,当组合样品中的等位基因显示主要和次要频率时,可见信息 MAF。这些差异的显著性可以通过本领域已知的许多统计分析进行测定(例如距离平均值为五个标准差的值或其他统计测量)。图 2 特别显示了在 50% 峰周围的紧密数据簇,证实低标准差。此外,图 5 显示了当与单独的无细胞体液或 T 细胞样品(分别为图 3 和 4)相比较时,在组合样品(无细胞体液加上 1% 单核细胞)之间的数据改善。图 6 和 7 是简化的,以仅显示信息标记物,并且证实组合样品产生比不含单核细胞的无细胞体液样品“更干净的(cleaner)”数据。图 8 和 9 显示了示例性信息标记物。两者均描绘了其中参考等位基因读数为 100% 且交互等位基因读数为 100% 的仅母体样品,以及含有交互等位基因读数的组合样品(并且必然地,参考等位基因的更少读数,从而使得值合计 100%)。相比之下,图 10 中所述的示例性非信息标记物在仅母体和组合样品中具有大约 50% 参考和交互等位基因的读数。另外,组合样品中的重现性优于相应的无细胞体液样品(表 3)。在表 3 中,在测定法 1 和测定法 2 之间的差异可以是因为在测定法 2 中去除低性能标记物,并且测定法 2 中的标记物之一也由于与计算百分比的阈值效应而拒绝(以包括在位置处的所有碱基调用而不是仅参考和交替标记物)。

[0494] 已提出在无细胞循环 DNA 和母体 DNA 之间存在定性大小差异(Fan 等人, Clin Chem. 56(8):1279-86(2010))。这种大小差异的性质可以起因于 DNA 通过其产生的途径。胎儿循环无细胞 DNA 被认为几乎唯一地经由释放的胎儿细胞的细胞凋亡生成,并且它以细胞凋亡小体中保存的核小体长度存在于血浆中。相比之下,母体循环无细胞 DNA 更可能是由细胞凋亡和坏死以及自体吞噬和有丝分裂突变产生的细胞混合物。与在其他细胞死亡途径期间产生的 DNA 相比较,在高度有序的细胞凋亡过程期间产生的 DNA 可以以更少降解的状态存在。在非细胞凋亡性细胞死亡期间产生的 DNA 暴露于多种有害的亚细胞组分,包括 DNA 降解活性氧。不希望受理论束缚,母体循环无细胞 DNA 的相对降解增加可以促成基于扩增的测定法中的噪声,所述测定法旨在检测来自循环无细胞 DNA 的非整倍性。因此,使用选自无细胞体液、吞噬细胞、循环囊泡和循环患病细胞的两种或更多种不同组分的组合的方法可以促成更高质量的母体 DNA 且减少信号变化。

[0495] 表 2:16 个信息标记物

[0496]

样品	染色体	位置	参考等位基因	交替等位基因	A 计数	C 计数	G 计数	T 计数
母体	chr3	113804978	G	A	187335	10	464	23
组合	chr3	113804978	G	A	126447	6	10980	29
母体	chr6	42627433	G	A	223746	111	704	144
组合	chr6	42627433	G	A	262863	294	13527	292
母体	chr3	42787468	A	G	111491	15	401	21
组合	chr3	42787468	A	G	269893	39	14459	327
母体	chr5	13701535	T	C	4	83731	0	35
组合	chr5	13701535	T	C	0	31414	0	2162
母体	chr9	115234610	G	A	172747	24	655	98
组合	chr9	115234610	G	A	116353	40	3831	192
母体	chr5	13719021	T	G	100	4	166680	7
组合	chr5	13719021	T	G	240	65	311800	11697
母体	chr8	125061894	G	A	19879	16	103	4
组合	chr8	125061894	G	A	45848	21	4760	25
母体	chr4	69176797	T	C	67	599	16	130431
组合	chr4	69176797	T	C	93	3729	40	120555
母体	chr5	13719088	G	A	280520	36	1267	40
组合	chr5	13719088	G	A	226691	50	8320	130
母体	chr13	41374185	T	C	0	82	2	38046
组合	chr13	41374185	T	C	18	4788	16	66696

[0497]

母体	chr2	32447717	C	T	99	1212	16	280044
组合	chr2	32447717	C	T	143	21563	15	217092
母体	chr5	17380269	A	G	18	0	12863	1
组合	chr5	17380269	A	G	1725	0	14276	7
母体	chr7	99758135	T	G	278	19	313255	28
组合	chr7	99758135	T	G	429	114	455545	20924
母体	chr17	10583713	G	C	306	13	418048	10
组合	chr17	10583713	G	C	277	11325	310119	20
母体	chr12	66742182	A	G	20	4	44686	2
组合	chr12	66742182	A	G	998	0	26251	2

[0498] Ref. 等位基因是参考等位基因, Alt. 等位基因是交互等位基因, 并且 A、C、G 和 T 计数代表在样品中的四种 DNA 碱基各自的读数数目。

[0499] 表 3 : 结果比较, 四种样品

[0500]

	测定法 1		测定法 2	
	T 细胞相对于无细胞体液	T 细胞相对于组合样品(无细胞+1%单核细胞)	T 细胞相对于无细胞体液	T 细胞相对于组合样品(无细胞+1%单核细胞)
#信息标记物	14	8	38	33
胎儿 DNA 含量的平均估计值	5.8%	5.6%	10.7%	6.05%
胎儿 DNA 估计值的标准差	2.54%	2.07%	4.3%	1.75%

[0501] 此处的原理论证显示例如胎儿非整倍性的诊断可以通过下述完成:选择加权至目的染色体(例如染色体 21)的适当信息 MAF SNP 实验对象组,通过读数深度计算来测定胎儿含量,并且与对照标准比较。

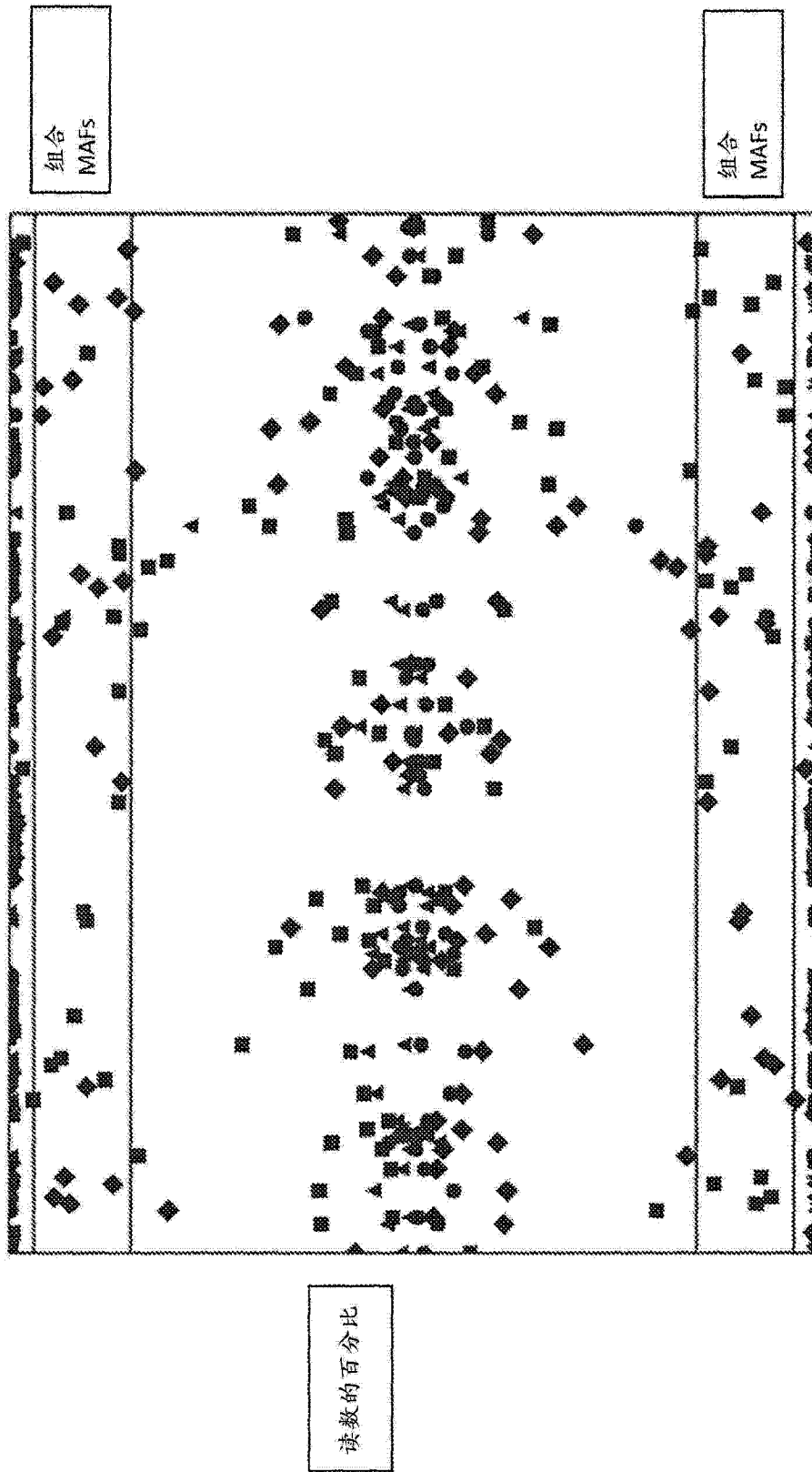


图 1

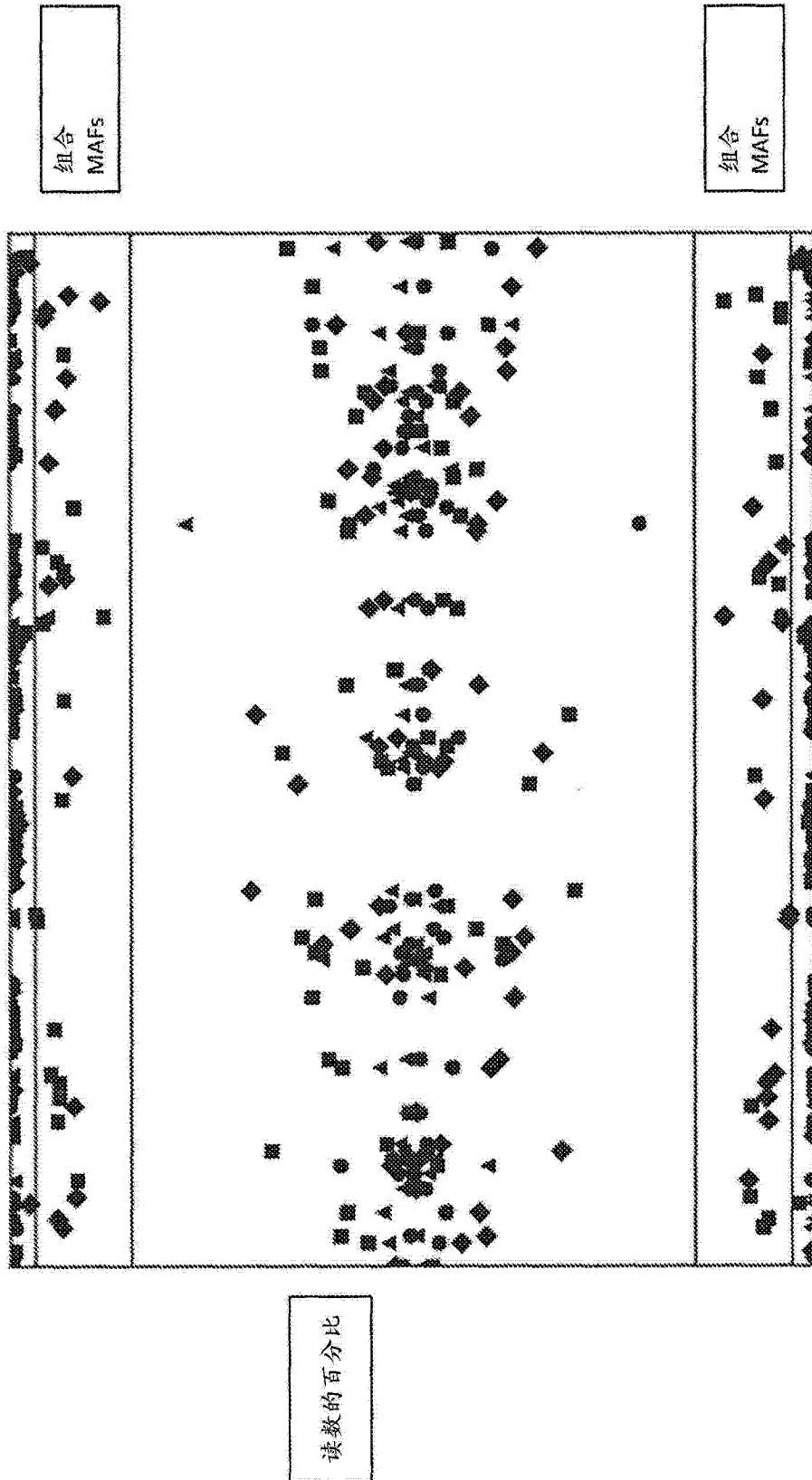


图 2

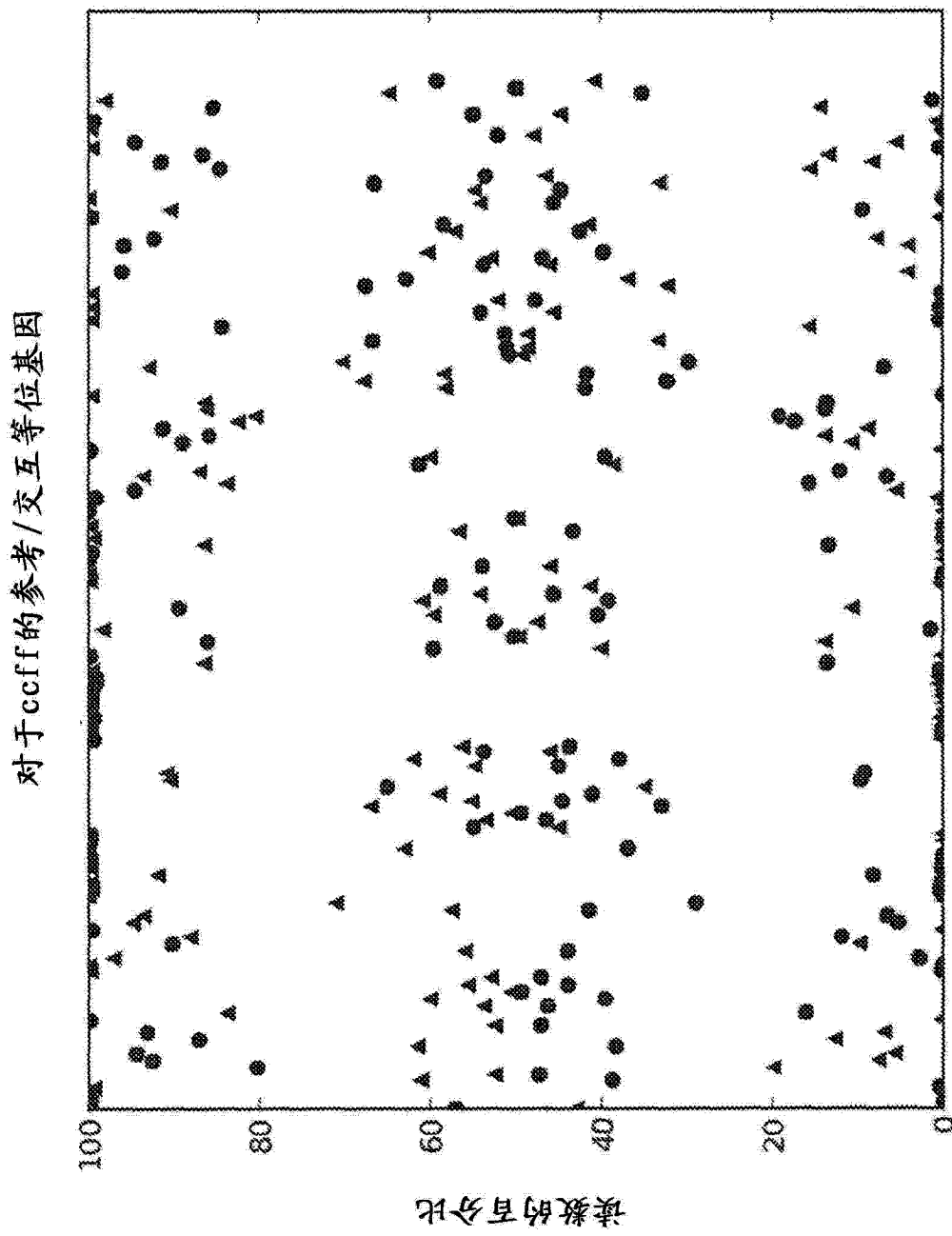


图 3

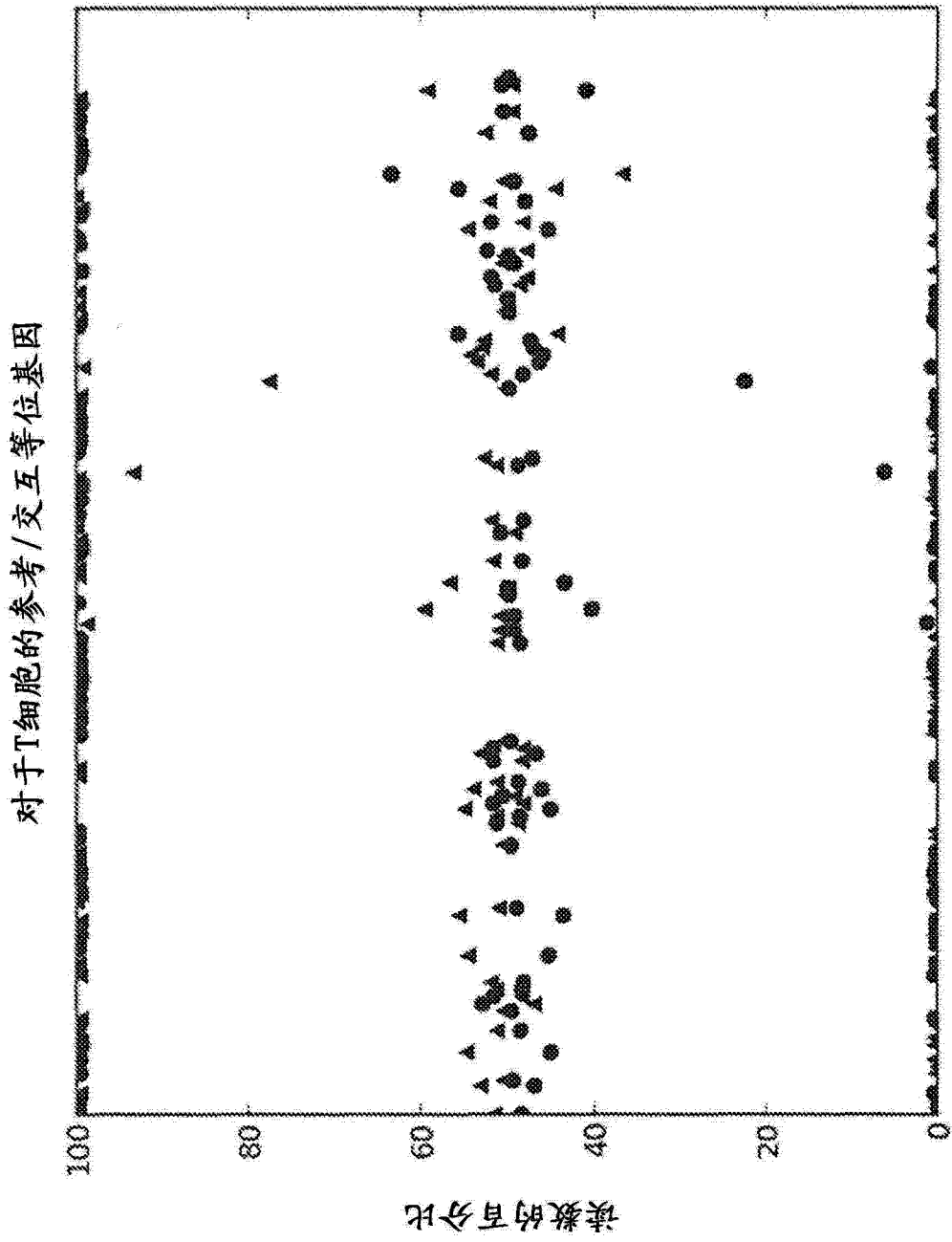


图 4

对于ccff加上1%单核细胞的参考/交互等位基因

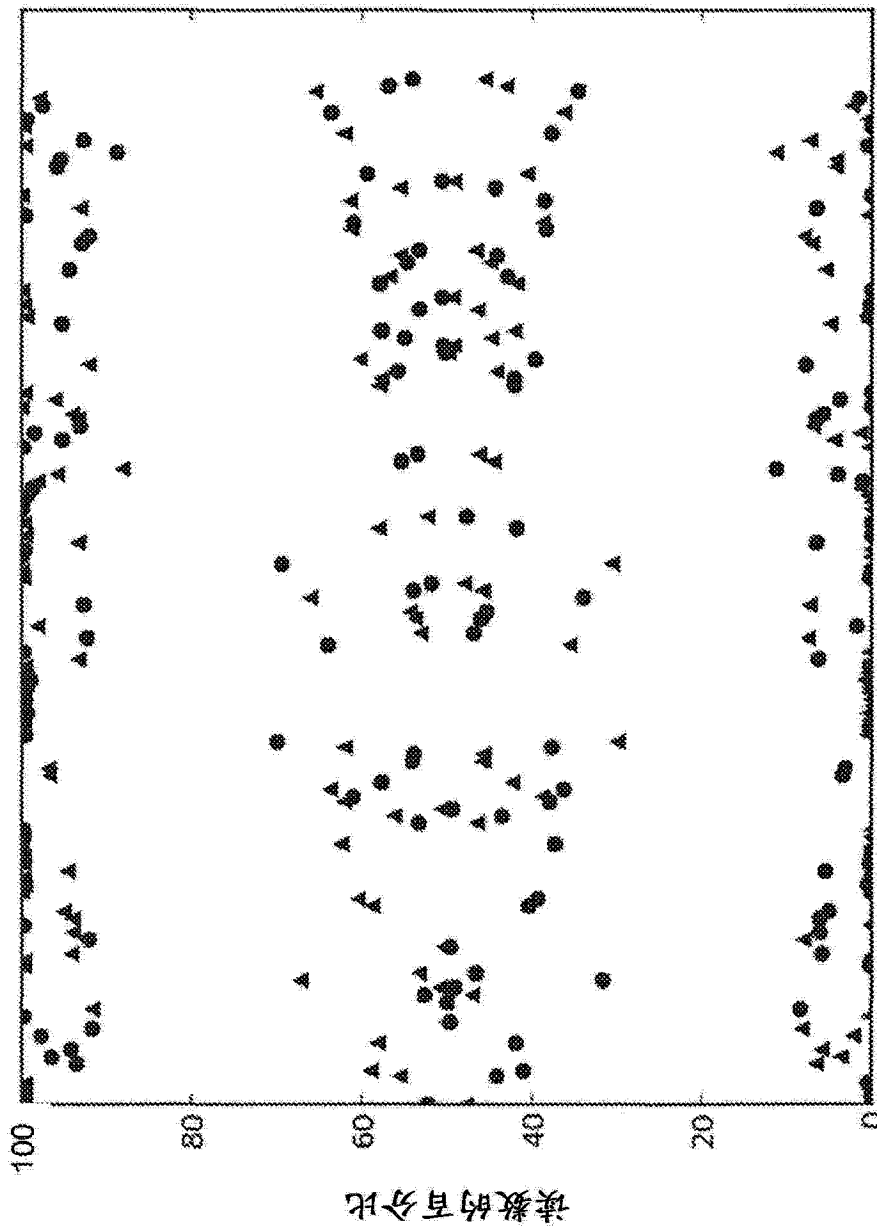


图 5

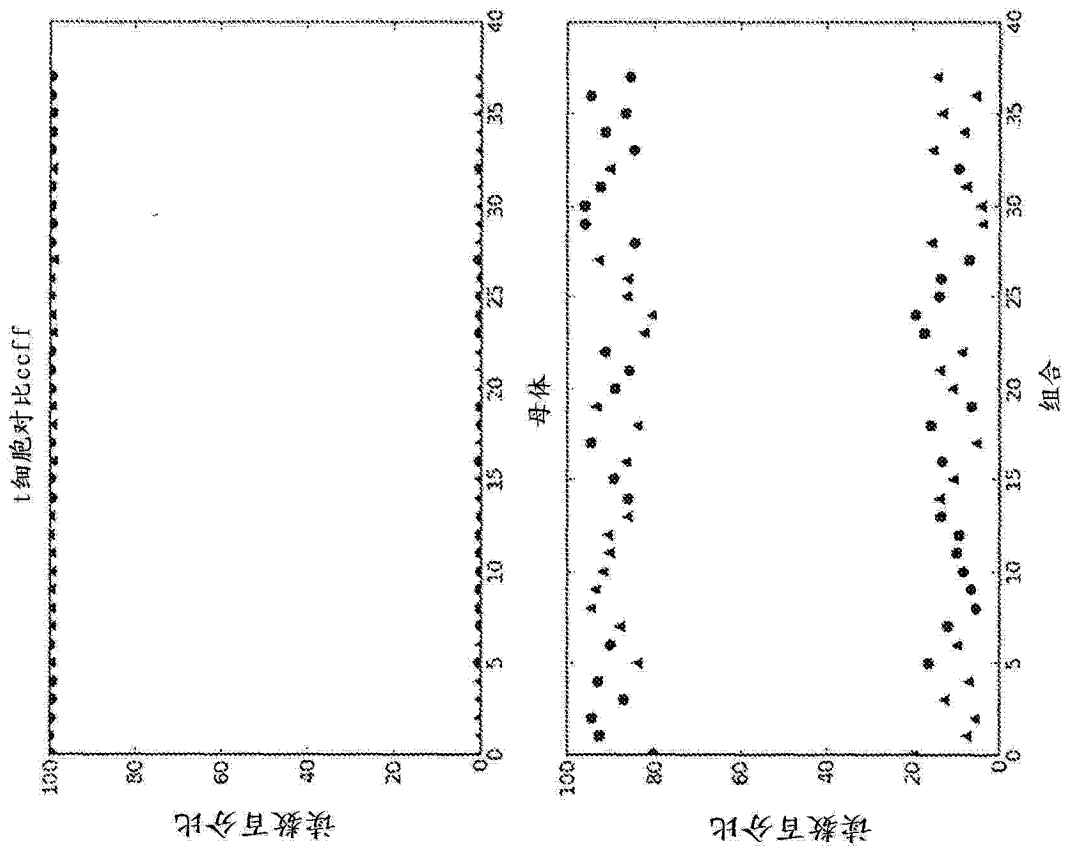


图 6

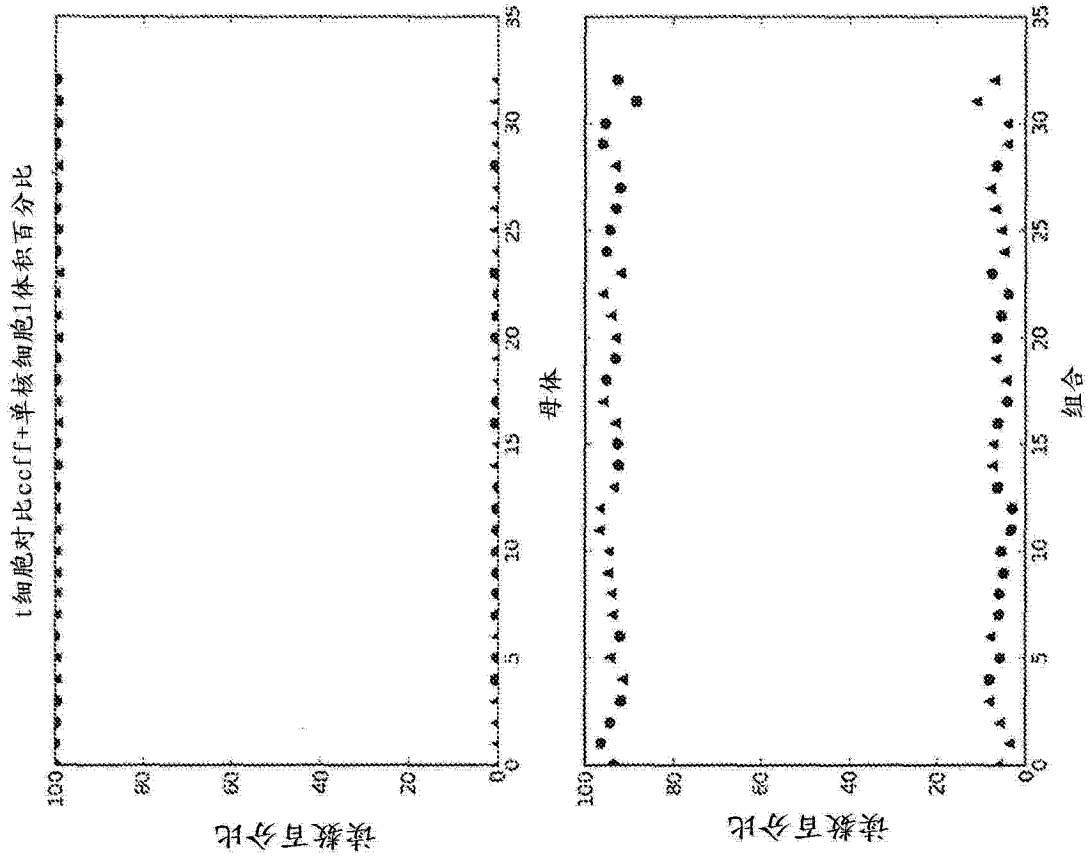


图 7

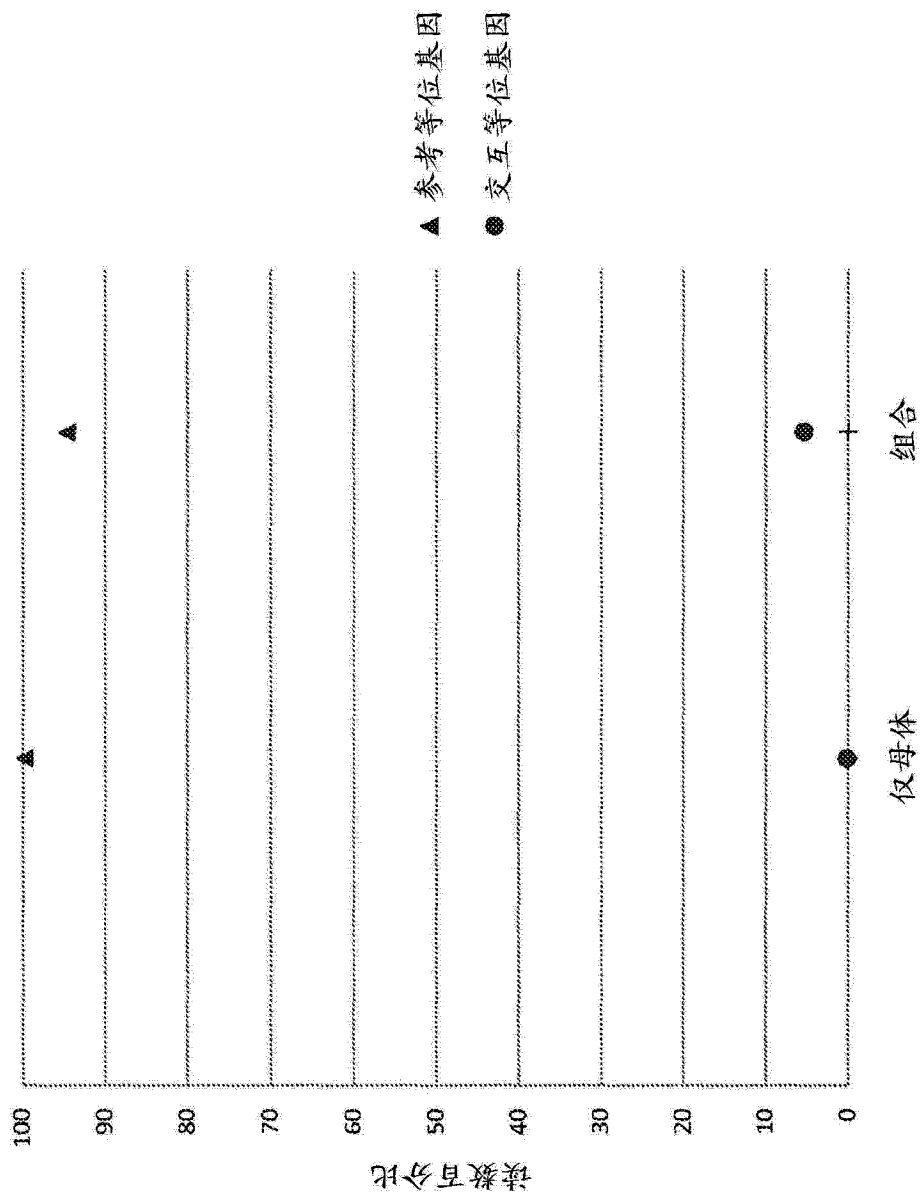


图 8

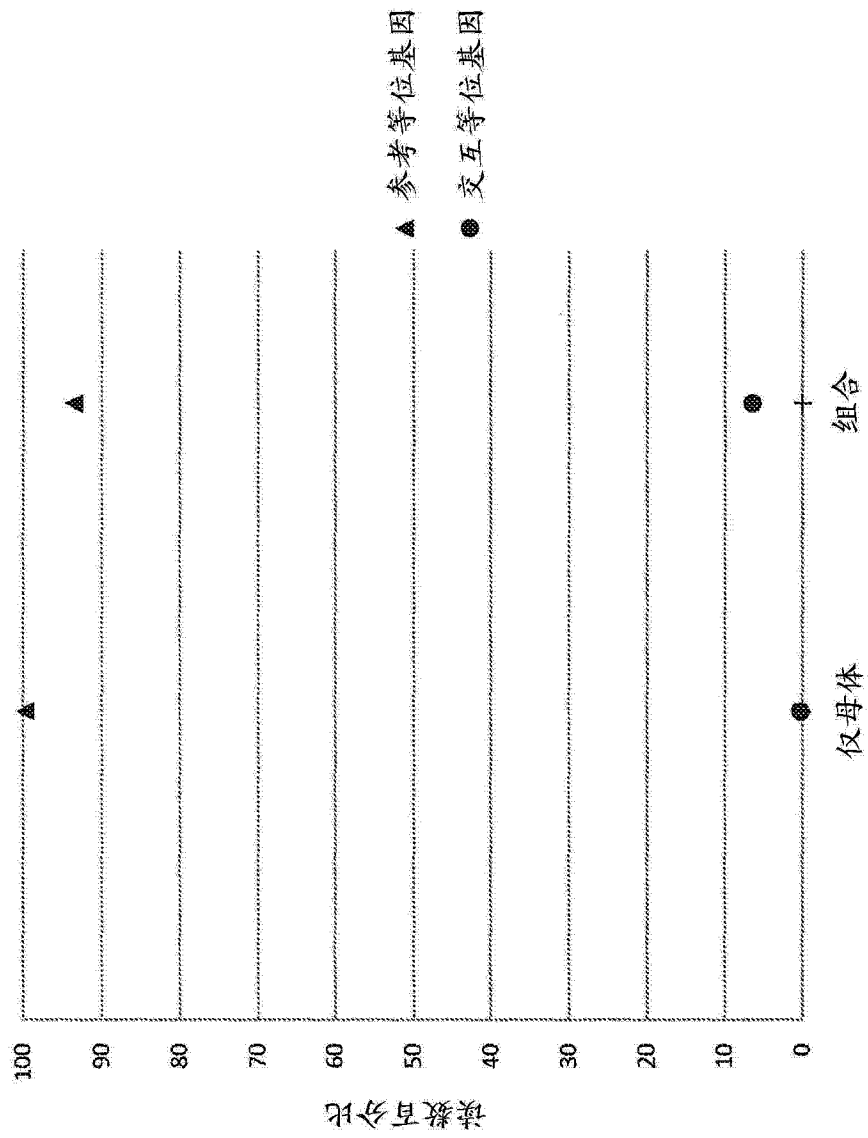


图 9

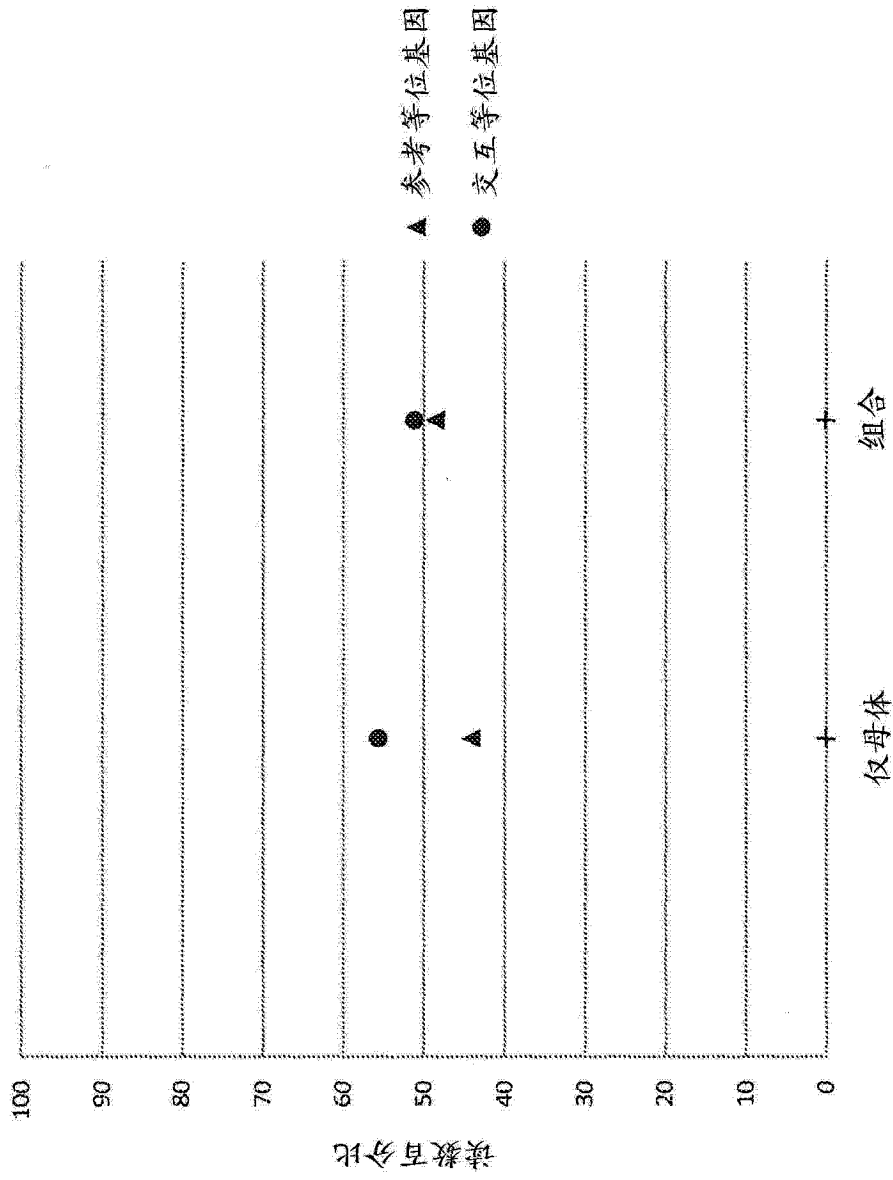


图 10

专利名称(译)	检测疾病或病状的方法		
公开(公告)号	CN104603289A	公开(公告)日	2015-05-06
申请号	CN201380039509.0	申请日	2013-06-14
申请(专利权)人(译)	哈里·斯泰利		
当前申请(专利权)人(译)	哈里·斯泰利		
[标]发明人	哈里斯泰利		
发明人	哈里·斯泰利		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/53 C40B30/04		
CPC分类号	C12Q1/6883 C12Q2600/118 C12Q2600/156 C12Q2600/158 C12Q2600/16 G01N33/5023 G01N33/56966 G01N33/6803 G01N2570/00 C12Q2600/136		
代理人(译)	袁泉		
优先权	61/660427 2012-06-15 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了在疾病或病状的诊断、预测或监视中使用具有多重分析组分的样品的方法。本发明还提供了鉴定疾病或病状的标记物的方法。

