



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110029162 A

(43)申请公布日 2019.07.19

(21)申请号 201910428943.7

(22)申请日 2019.05.22

(71)申请人 中国科学院生物物理研究所
地址 100101 北京市朝阳区大屯路15号
申请人 复旦大学附属华山医院
中日友好医院

(72)发明人 陈小伟 范珍 刘璐 崔勇
张学军 陈润生

(74)专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245
代理人 魏少伟

(51)Int.Cl.
C12Q 1/6883(2018.01)

权利要求书2页 说明书7页
序列表1页

(54)发明名称

一种用于检测系统性红斑狼疮易感性位于非编码基因区的SNP标志物及其应用

(57)摘要

本发明公开了一种用于检测系统性红斑狼疮易感性位于非编码基因区的SNP标志物及其应用。本发明所保护的技术方案是检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在制备筛查系统性红斑狼疮患者或检测系统性红斑狼疮易感性产品中的应用及检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在制备检测与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性的产品中的应用。可将检测rs13259960的多态性或基因型的物质与其它物质(如检测其它的与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性或基因型的物质)联合在一起制备筛查系统性红斑狼疮患者或检测系统性红斑狼疮易感性的产品。

1. 检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在制备筛查系统性红斑狼疮患者产品中的应用。

2. 检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在制备检测系统性红斑狼疮易感性产品中的应用。

3. 检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在制备检测与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性的产品中的应用。

4. 检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在制备鉴定或辅助鉴定与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性的产品中的应用。

5. 下述任一应用：

B1) 人基因组中rs13259960的多态性或基因型在制备筛查系统性红斑狼疮患者产品中的应用；

B2) 人基因组中rs13259960的多态性或基因型在制备检测系统性红斑狼疮易感性产品中的应用；

B3) 检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在筛查系统性红斑狼疮患者中的应用；

B4) 检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在检测系统性红斑狼疮易感性中的应用；

B5) 检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在检测与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性的中的应用；

B6) 检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在鉴定或辅助鉴定与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性的中的应用；

B7) 人基因组中rs13259960的多态性或基因型在筛查系统性红斑狼疮患者中的应用；

B8) 人基因组中rs13259960的多态性或基因型在检测系统性红斑狼疮易感性中的应用。

6. 含有检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质的产品，为a) -d) 中的任一种产品：

a) 检测与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性或基因型的产品；

b) 鉴定或辅助鉴定与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性或基因型的产品；

c) 筛查系统性红斑狼疮患者产品；

d) 检测系统性红斑狼疮易感性产品。

7. 根据权利要求6所述的产品，其特征在于：所述检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质为扩增包括rs13259960在内的基因组DNA片段的PCR引物和/或探针。

8. 根据权利要求7所述的产品，其特征在于：所述PCR引物由rs13259960-F和rs13259960-R组成；

所述rs13259960-F是如下a1) 至a4) 中的任一种单链DNA：

a1) 序列表中序列1所示的单链DNA；

a2) 在a1) 的5'端和/或3'端添加一个或几个核苷酸得到的单链DNA；

a3) 与a1) 或a2) 限定的单链DNA具有85%以上的同一性的单链DNA；

a4) 在严格条件下与a1) 或a2) 限定的单链DNA杂交的单链DNA；

所述rs13259960-R是如下b1)至b4)中的任一种单链DNA:

- b1) 序列表中序列2所示的单链DNA;
- b2) 在b1)的5'端和/或3'端添加一个或几个核苷酸得到的单链DNA;
- b3) 与b1)或b2)限定的单链DNA具有85%以上的同一性的单链DNA;
- b4) 在严格条件下与b1)或b2)限定的单链DNA杂交的单链DNA。

9. 根据权利要求7或8所述的产品,其特征在于:所述探针为探针1和探针2,所述探针1为如下c1)至c4)中的任一种单链DNA:

- c1) 序列表中序列3所示的单链DNA;
- c2) 在c1)的5'端和/或3'端添加一个或几个核苷酸得到的单链DNA;
- c3) 与c1)或c2)限定的单链DNA具有85%以上的同一性的单链DNA;
- c4) 在严格条件下与c1)或c2)限定的单链DNA杂交的单链DNA;

所述探针2为如下d1)至d4)中的任一种单链DNA:

- d1) 序列表中序列4所示的单链DNA;
- d2) 在d1)的5'端和/或3'端添加一个或几个核苷酸得到的单链DNA;
- d3) 与d1)或d2)限定的单链DNA具有85%以上的同一性的单链DNA;
- d4) 在严格条件下与d1)或d2)限定的单链DNA杂交的单链DNA。

10. 下述M1)或M2)的方法:

M1) 筛查系统性红斑狼疮患者的方法,包括:检测待测对象基因组中rs13259960位点的基因型,如rs13259960位点的基因型为GG基因型,所述待测对象为或候选为系统性红斑狼疮患者或高危系统性红斑狼疮患者;如rs13259960位点的基因型为AG基因型,所述待测对象为或候选为系统性红斑狼疮患者或高危系统性红斑狼疮患者;如rs13259960位点的基因型为AA基因型,所述待测对象为或候选为非系统性红斑狼疮患者或低危系统性红斑狼疮患者;

M2) 检测系统性红斑狼疮易感性的方法,包括:检测待测对象基因组中rs13259960位点的基因型,如rs13259960位点的基因型为GG基因型,所述待测对象易感或候选易感系统性红斑狼疮;如rs13259960位点的基因型为AG基因型,所述待测对象易感或候选易感系统性红斑狼疮;如rs13259960位点的基因型为AA基因型,所述待测对象不易感或候选不易感系统性红斑狼疮。

一种用于检测系统性红斑狼疮易感性位于非编码基因区的 SNP标志物及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物医学领域中,一种用于检测系统性红斑狼疮易感性位于非编码基因区的SNP标志物及其应用。

背景技术

[0002] 系统性红斑狼疮,又名狼疮,是一种累及多脏器的典型自身免疫性结缔组织病。狼疮的临床表现多种多样:反复高热或长期低热、面颊部蝴蝶形红斑或盘状红斑、口腔粘膜点状出血、糜烂或溃疡、关节肿胀和酸痛。该病还常常侵犯胸膜、心包、心腔、肾脏,并对神经系统、血液系统、消化系统等造成不同程度的损害。该病多发于女性,女性发病率是男性的八倍以上,尤其是15-40岁的女性较为多见。从地域来看,该病多发于亚洲和非洲人群。在全世界范围内,约有500万人饱受狼疮的折磨。

[0003] 狼疮的确切发病机制尚未明确。多数学者认为狼疮的发生与遗传因素、环境因素及其交互作用均相关,其中遗传因素发挥相当重要的作用。

[0004] 人类基因组上存在着大量的遗传变异,包括单核苷酸多态性(SNP)和结构变异,其中SNP是最广泛的一种。根据千人基因组计划公布的最新数据,人类基因组上的遗传变异的数量超过了8,800万,其中SNPs的数量约为8,470万,当中只有极少部分(约2%)位于蛋白质编码基因的外显子区,绝大多数(约98%)遗传变异位于人类基因组上的非编码区,包括基因的调控区域(例如:启动子,5' UTR,3' UTR,增强子和绝缘子等)和非编码基因区(例如:miRNA基因和lncRNA基因等)。非编码基因是人类基因组上重要的功能元件,参与很多重要的生物学过程,并对很多重大疾病的发生发展具有重要的影响。

发明内容

[0005] 本发明所要解决的技术问题是如何筛查系统性红斑狼疮患者与检测系统性红斑狼疮易感性。

[0006] 为解决上述技术问题,本发明首先提供了下述任一应用:

[0007] A1、检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在制备筛查系统性红斑狼疮患者产品中的应用;

[0008] A2、检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在制备检测系统性红斑狼疮易感性产品中的应用;

[0009] A3、检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在制备检测与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性的产品中的应用;

[0010] A4、检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在制备鉴定或辅助鉴定与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性的产品中的应用;

[0011] B1) 人基因组中rs13259960的多态性或基因型在制备筛查系统性红斑狼疮患者产品中的应用;

[0012] B2) 人基因组中rs13259960的多态性或基因型在制备检测系统性红斑狼疮易感性产品中的应用;

[0013] B3) 检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在筛查系统性红斑狼疮患者中的应用;

[0014] B4) 检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在检测系统性红斑狼疮易感性中的应用;

[0015] B5) 检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在检测与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性的中的应用;

[0016] B6) 检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质在鉴定或辅助鉴定与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性的中的应用;

[0017] B7) 人基因组中rs13259960的多态性或基因型在筛查系统性红斑狼疮患者中的应用;

[0018] B8) 人基因组中rs13259960的多态性或基因型在检测系统性红斑狼疮易感性中的应用。

[0019] rs13259960是人染色体上的一个二等位多态性的SNP位点,该变异是转换(A/G,在其互补链上则为T/C)。所述rs13259960基因型是AA、AG或GG。所述AA是rs13259960位点为A的纯合型,所述GG是rs13259960位点为G的纯合型,所述AG是rs13259960位点为A和G的杂合型。所述检测人基因组中rs13259960的多态性(即等位基因)或基因型具体可为检测rs13259960的核苷酸种类。

[0020] 上述用途中,所述检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质可为扩增包括rs13259960在内的基因组DNA片段的PCR引物和/或检测rs13259960的探针。

[0021] 上述用途中,所述GG和所述AG基因型的个体在系统性红斑狼疮患者群体中的比例分别高于对应的基因型在正常人群体中的比例。所述产品可包括所述PCR引物和/或所述检测rs13259960的探针。

[0022] 上述用途中,所述系统性红斑狼疮具体可为中国人群系统性红斑狼疮。所述系统性红斑狼疮进一步可为中国汉族人群系统性红斑狼疮。

[0023] 为解决上述技术问题,本发明还提供了含有检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质的产品,为a)-d)中的任一种产品:

[0024] a) 检测与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性或基因型的产品;

[0025] b) 鉴定或辅助鉴定与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性或基因型的产品;

[0026] c) 筛查系统性红斑狼疮患者产品;

[0027] d) 检测系统性红斑狼疮易感性产品。

[0028] 上述产品中,所述检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质可为扩增包括rs13259960在内的基因组DNA片段的PCR引物和/或所述检测rs13259960的探针。

[0029] 上述产品中,所述系统性红斑狼疮具体可为中国人群系统性红斑狼疮。所述系统性红斑狼疮进一步可为中国汉族人群系统性红斑狼疮。

[0030] 本发明还提供了下述M1)或M2)的方法:

[0031] M1) 筛查系统性红斑狼疮患者的方法,包括:检测待测对象基因组中rs13259960位点的基因型,如rs13259960位点的基因型为GG基因型,所述待测对象为或候选为系统性红

斑狼疮患者或高危系统性红斑狼疮患者;如rs13259960位点的基因型为AG基因型,所述待测对象为或候选为系统性红斑狼疮患者或高危系统性红斑狼疮患者;如rs13259960位点的基因型为AA基因型,所述待测对象为或候选为非系统性红斑狼疮患者或低危系统性红斑狼疮患者;

[0032] M2) 检测系统性红斑狼疮易感性的方法,包括:检测待测对象基因组中rs13259960位点的基因型,如rs13259960位点的基因型为GG基因型,所述待测对象易感或候选易感系统性红斑狼疮;如rs13259960位点的基因型为AG基因型,所述待测对象易感或候选易感系统性红斑狼疮;如rs13259960位点的基因型为AA基因型,所述待测对象不易感或候选不易感系统性红斑狼疮。

[0033] 上述方法中,所述系统性红斑狼疮具体可为中国人群系统性红斑狼疮。所述系统性红斑狼疮进一步可为中国汉族人群系统性红斑狼疮。

[0034] 上述方法中,检测待测对象基因组中rs13259960位点的基因型可采用所述检测rs13259960的多态性或基因型的物质进行。

[0035] 实验证明,rs13259960的风险等位基因为G,该等位基因在系统性红斑狼疮患者群体中的比例比该等位基因在正常健康人群中的比例高2.36%。rs13259960的P值是 $1.03E-11$,且rs13259960的相对危险度是1.35,说明rs13259960是与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性。rs13259960的三个基因型中,GG基因型的个体和AG基因型的个体在系统性红斑狼疮患者群体中的比例分别高于对应的基因型的个体在正常人群体中的比例,AA基因型的个体在系统性红斑狼疮患者群体中的比例低于该基因型的个体在正常人群体中的比例。

[0036] 本发明在实际应用中,可将检测rs13259960的多态性(即等位基因)或基因型的物质与其它物质(如检测其它的与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性或基因型的物质)联合在一起制备筛查系统性红斑狼疮患者的产品。

[0037] 其中,检测人基因组中rs13259960的多态性或基因型的物质可为通过下述至少一种方法确定rs13259960的多态性或基因型所需的试剂和/或仪器:DNA测序、限制性酶切片段长度多态性、单链构象多态性、变性高效液相色谱、SNP芯片、微流控芯片技术、TaqMan探针技术和Sequenom MassArray技术。其中,利用Sequenom MassArray技术确定rs13259960的多态性或基因型所需的试剂和/或仪器包括PCR引物对、基于单碱基延伸反应的延伸引物、磷酸酶、树脂、芯片、MALDI-TOF(matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight,基质辅助激光解吸附电离飞行时间质谱)和/或Sequenom MassArray技术所需要的其他试剂和仪器;利用TaqMan探针技术确定rs13259960的多态性或基因型所需的试剂和/或仪器包括TaqMan探针、PCR引物对、定量PCR仪、进行基因分型的模块和/或TaqMan探针技术所需要的其他试剂;SNP芯片包括基于核酸杂交反应的芯片、基于单碱基延伸反应的芯片、基于等位基因特异性引物延伸反应的芯片、基于“一步法”反应的芯片、基于引物连接反应的芯片、基于限制性内切酶反应的芯片、基于蛋白DNA结合反应的芯片和/或基于荧光分子DNA结合反应的芯片。微流控芯片技术确定rs13259960的多态性或基因型所需的试剂和/或仪器包括DNA提取微流控模块及试剂、DNA扩增模块及PCR引物对、核酸标记模块及相关试剂、SNP芯片及相关的杂交、洗脱和扫描微流控模块及试剂。在本发明的一个实施例中,利用的是Illumina公司的Infinium Human Exome BeadChip芯片。

[0038] 所述产品可为试剂或试剂盒,还可为由试剂或试剂盒和仪器组成的系统,如由引

物和DNA测序仪组成的系统,由PCR试剂和DNA测序试剂和DNA测序仪组成的系统,由TaqMan探针、PCR引物对、定量PCR仪和进行基因分型的模块以及TaqMan探针技术所需要的其他试剂组成的系统,由探针、PCR引物对以及连接酶检测反应(LDR)所需要的其他试剂和仪器组成的系统,由PCR引物对、单碱基延伸引物、芯片、PCR仪、进行基因分型的模块和/或Sequenom MassArray技术所需要的其他试剂和仪器组成的系统。

[0039] 采用PCR引物扩增包括rs13259960在内的基因组DNA片段,以得到的PCR扩增产物为模板,采用所述检测rs13259960的探针对得到的延伸产物的序列进行检测,确定rs13259960的多态性(即等位基因)和基因型。所述PCR引物在序列上没有特殊要求,只要能扩增出包括rs13259960在内的基因组DNA片段即可。所述检测rs13259960的探针可根据人基因组中rs13259960上下游设计,所述探针的序列覆盖人基因组中rs13259960的核苷酸。

[0040] 本发明中,所述PCR引物可由rs13259960-F和rs13259960-R组成;

[0041] 所述rs13259960-F是如下a1)至a4)中的任一种单链DNA:

[0042] a1) 序列表中序列1所示的单链DNA;

[0043] a2) 在a1)的5'端和/或3'端添加一个或几个核苷酸得到的单链DNA;

[0044] a3) 与a1)或a2)限定的单链DNA具有85%以上的同一性的单链DNA;

[0045] a4) 在严格条件下与a1)或a2)限定的单链DNA杂交的单链DNA;

[0046] 所述rs13259960-R是如下b1)至b4)中的任一种单链DNA:

[0047] b1) 序列表中序列2所示的单链DNA;

[0048] b2) 在b1)的5'端和/或3'端添加一个或几个核苷酸得到的单链DNA;

[0049] b3) 与b1)或b2)限定的单链DNA具有85%以上的同一性的单链DNA;

[0050] b4) 在严格条件下与b1)或b2)限定的单链DNA杂交的单链DNA。

[0051] 所述探针可为探针1和探针2,所述探针1为如下c1)至c4)中的任一种单链DNA:

[0052] c1) 序列表中序列3所示的单链DNA;

[0053] c2) 在c1)的5'端和/或3'端添加一个或几个核苷酸得到的单链DNA;

[0054] c3) 与c1)或c2)限定的单链DNA具有85%以上的同一性的单链DNA;

[0055] c4) 在严格条件下与c1)或c2)限定的单链DNA杂交的单链DNA;

[0056] 所述探针2为如下d1)至d4)中的任一种单链DNA:

[0057] d1) 序列表中序列4所示的单链DNA;

[0058] d2) 在d1)的5'端和/或3'端添加一个或几个核苷酸得到的单链DNA;

[0059] d3) 与d1)或d2)限定的单链DNA具有85%以上的同一性的单链DNA;

[0060] d4) 在严格条件下与d1)或d2)限定的单链DNA杂交的单链DNA。

[0061] 所述添加一个或几个核苷酸可为添加一至十个核苷酸。

[0062] 这里使用的术语“同一性”指与天然核酸序列的序列相似性。“同一性”包括与本发明的序列1、序列2、序列3或序列4所示的核苷酸序列具有85%或更高,或90%或更高,或95%或更高同一性的核苷酸序列。同一性可以用肉眼或计算机软件进行评价。使用计算机软件,两个或多个序列之间的同一性可以用百分比(%)表示,其可以用来评价相关序列之间的同一性。

[0063] 所述严格条件是在 $2 \times \text{SSC}$, 0.1% SDS的溶液中,在 68°C 下杂交并洗膜2次,每次5min,又于 $0.5 \times \text{SSC}$, 0.1% SDS的溶液中,在 68°C 下杂交并洗膜2次,每次15min;或, $0.1 \times$

SSPE (或 $0.1 \times \text{SSC}$)、 0.1% SDS的溶液中, 65°C 条件下杂交并洗膜。

[0064] 上述85%以上同一性, 可为85%、90%或95%以上的同一性。

[0065] 所述探针1和所述探针2的5'端均可带有FAM修饰, 3'端均可带有MGB修饰。

[0066] 在本发明的实施例中, rs13259960应用Taqman (Thermo Fisher) 基因分型平台进行分型检测。将包含SNP位点区域的DNA模板通过PCR技术扩增, 再使用探针进行检测。

[0067] 本发明在一个来自中国人群的样本中发现rs13259960是与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性。可将检测rs13259960的多态性(即等位基因)或基因型的物质与其它物质(如检测其它的与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性(即等位基因)或基因型的物质)联合在一起制备筛查系统性红斑狼疮患者的产品或制备检测系统性红斑狼疮易感性的产品。

具体实施方式

[0068] 下面结合具体实施方式对本发明进行进一步的详细描述, 给出的实施例仅为了阐明本发明, 而不是为了限制本发明的范围。下述实施例中的实验方法, 如无特殊说明, 均为常规方法。下述实施例中所用的材料、试剂、仪器等, 如无特殊说明, 均可从商业途径得到。下述实施例中, 如无特殊说明, 序列表中各核苷酸序列的第1位均为相应DNA/RNA的5'末端核苷酸, 末位均为相应DNA/RNA的3'末端核苷酸。

[0069] 实施例1、rs13259960是与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性位点

[0070] 一、研究对象

[0071] 所有研究对象均来源于中国汉族。

[0072] 患者组: 4556例系统性红斑狼疮患者, 发现阶段采用1047例系统性红斑狼疮患者进行分析, 验证阶段采用3509例系统性红斑狼疮患者进行分析, 所有患者均由组织病理学检查确认。

[0073] 健康对照组: 9451个正常健康人, 发现阶段采用1205个正常健康人进行分析, 验证阶段采用8246个正常健康人进行分析, 所有健康人均不患有系统性红斑狼疮和其它自身免疫疾病。

[0074] 发现阶段与验证阶段的健康对照组与患者组在性别和年龄上均相匹配。

[0075] 二、发现阶段

[0076] 每位研究对象抽取5ml外周血, 使用国际通用的FlexiGene DNA纯化试剂盒(QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) 提取样本的基因组DNA。并在Illumina Human610Quad芯片上进行全基因组扫描, 寻找与放射性脑损伤相关的SNP。使用标准的卡方分析查找系统性红斑狼疮与SNP的关联性。计算优势比(odds ratios, OR) 与置信区间(95%CI), 发现rs13259960是与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性位点, OR值为1.35, 95%CI=1.09-1.68, $P=6.7 \times 10^{-3}$ 。

[0077] 三、验证阶段

[0078] 对于发现阶段筛选出来的与系统性红斑狼疮显著相关的rs13259960, 进一步采用Taqman (Thermo Fisher) 基因分型平台进行检测, 验证将其应用于系统性红斑狼疮风险预测的可重复性。

[0079] 每位研究对象抽取5ml外周血, 使用国际通用的FlexiGene DNA纯化试剂盒

(QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) 提取样本的基因组DNA。在Taqman (Thermo Fisher) 基因分型平台进行检测。

[0080] 利用384孔板上样,每孔5 μ l的反应体系包括:正向引物、反向引物和分型探针混合物0.3 μ l, dNTP混合液(10mM) 0.2 μ l, MgCl₂(25mM) 0.4 μ l, 反应缓冲液1 μ l, 反应酶0.1 μ l, 2 μ l双蒸水和1 μ l待测基因组DNA。其中反应缓冲液和反应酶均为Thermo Fisher公司产品。

[0081] 扩增条件如下:95 $^{\circ}$ C, 10min, 1个循环;95 $^{\circ}$ C, 15s和60 $^{\circ}$ C, 1min, 40个循环。使用的仪器为ABI7900型PCR仪。检测结果采用QuantStudio Real-Time PCR Software v1.3软件导出。

[0082] 所用引物如下:

[0083] rs13259960-F: 5'-CACCTCCAGAACTTTCTCATCTT-3' (序列表中序列1);

[0084] rs13259960-R: 5'-GGGATTGGGAAATAGAGAGTTGTTT-3' (序列表中序列2);

[0085] 探针1: 5'-FAM-AAAACTGAACTTTGTCCAT-3'-MGB (序列表中序列3);

[0086] 探针2: 5'-FAM-CAAACTGAACTTTATCCA-3'-MGB (序列表中序列4)。

[0087] 得到分型结果并进行统计分析, rs13259960是与系统性红斑狼疮相关的单核苷酸多态性位点, OR值为1.36, 95%CI=1.23-1.49, P=4.03E-10。合并分析发现阶段和验证阶段的结果, OR值为1.35, 95%CI=1.22-1.45, P=1.03E-11。

[0088] 在患者组和健康对照组中各基因型的个体数具体如表1所示, 基因型频率如表2所示, 基因频率如表3所示。

[0089] 表1、rs13259960在患者和对照中的各基因型个体数

[0090]

SNP	阶段	等位基因		系统性红斑狼疮患者				正常健康人			
		A1	A2	A1A1	A1A2	A2A2	小计	A1A1	A1A2	A2A2	小计
rs13259960	联合分析	A	G	3778	600	178	4556	8231	904	316	9451

[0091] 表2、患者和对照中的不同基因型的频率

[0092]

SNP	等位基因		系统性红斑狼疮患者			正常健康人		
	A1	A2	A1A1	A1A2	A2A2	A1A1	A1A2	A2A2
rs13259960	A	G	82.92%	13.17%	3.91%	87.09%	9.57%	3.34%

[0093] 注:表1和表2中, A1A1表示AA, A1A2表示AG, A2A2表示GG。

[0094] 表3、SNP在患者群体中的等位基因频率(%)和与对照相比的变化量

[0095]

SNP	等位基因		系统性红斑狼疮患者		正常健康人		A1等位基因频率变化量	A2等位基因频率变化量
	A1	A2	A1	A2	A1	A2		
rs13259960	A	G	89.51%	10.49%	91.87%	8.13%	2.36%	2.36%

[0096] 结果显示,在rs13259960的三个基因型中,GG和AG基因型的个体在系统性红斑狼疮患者群体中的比例分别高于对应的基因型的个体在正常人群体中的比例,AA基因型的个体在系统性红斑狼疮患者群体中的比例低于该基因型的个体在正常人群体中的比例。

[0097] 分析系统性红斑狼疮患者群体和正常健康人群体中基因频率差异性,确定SNP有无显著性意义。结果发现,rs13259960的两个等位基因的基因频率在正常健康人群体和系统性红斑狼疮患者群体中具有统计学显著性差异。

[0098] 由表3可知,rs13259960的风险等位基因为G,与对照相比,该等位基因在系统性红斑狼疮患者中增加了2.36%。

[0099] 实验结果表明,rs13259960的多态性或基因型或等位基因频率可用于系统性红斑狼疮患者的筛查以及检测系统性红斑狼疮的易感性。

[0100] rs13259960可作为系统性红斑狼疮相关的位于非编码基因上的SNP标志物,该标志物可以评估系统性红斑狼疮的患病风险。将本发明运用于临床中,针对高危患者提前采取保护措施,有助于实现患者的个体化治疗,提高系统性红斑狼疮的生存质量。同时,可以为其他系统性红斑狼疮的风险预测提供方法和策略上的借鉴。

序列表

<110>	中国科学院生物物理研究所、复旦大学附属华山医院、中日友好医院	
<120>	一种用于检测系统性红斑狼疮易感性位于非编码基因区的SNP标志物及其应用	
<160>	4	
<170>	SIPOSequenceListing 1.0	
<210>	1	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列()	
<400>	1	
	caccctccag aactttetca tett	24
<210>	2	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	人工序列()	
<400>	2	
	gggattggga aatagagagt tgttt	25
<210>	3	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列()	
<400>	3	
	aaaactgaaa ctttgtccat	20
<210>	4	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列()	
<400>	4	
	caaaactgaa actttatcca	20