

# UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

## 31 584

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

*C12Q 1/68* (2018.01)  
*C12Q 1/6806* (2018.01)  
*C12Q 1/686* (2018.01)  
*C12Q 1/6876* (2018.01)  
*C12Q 1/6886* (2018.01)  
*C12N 15/11* (2006.01)

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2017-34476**  
(22) Přihlášeno: **19.12.2017**  
(47) Zapsáno: **13.03.2018**

- (73) Majitel:  
Masarykova univerzita, Brno, Brno-město. CZ
- (72) Původce:  
doc. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D., Brno, Černá Pole,  
CZ  
doc. MUDr. Marek Svoboda, Ph.D., Sobotovice,  
CZ  
Mgr. Jaroslav Juráček, Loděnice, CZ
- (74) Zástupce:  
HARBER IP s.r.o., Na bělidle 64/3, 150 00 Praha 5,  
Smíchov

- (54) Název užitého vzoru:  
**Diagnostický set pro stanovení rizika  
relapsu po nefrektomii u pacientů s  
nemetastatickým renálním karcinomem**

CZ 31584 U1

## Diagnostický set pro stanovení rizika relapsu po nefrektomii u pacientů s nemetastatickým renálním karcinodem

### Oblast techniky

Předkládané technické řešení se týká diagnostického setu pro detekci tkáňových mikroRNA umožňující stanovení rizika relapsu po nefrektomii u pacientů s renálním karcinodem.

### Dosavadní stav techniky

Renální karcinom (RCC) je nejčastější zhoubný nádor ledvin dospělého věku, který představuje přibližně 3 % solidních nádorů u dospělé populace s mortalitou mírně přesahující 40 %. Několik velkých retrospektivních studií ukázalo, že současný TNM systém (Tumor, Node, Metastasis) pro klasifikaci nemetastatického renálního karcinomu (stádium I-III) není dostatečně přesný pro stratifikaci pacientů dle jejich prognózy. Přesto, že TNM systém bývá průběžně zdokonalován za účelem navýšení přesnosti, nedostatečně zohledňuje molekulárně-biologické aspekty chování tumorů. Tento fakt významně ovlivňuje zejména správnou indikaci adjuvantní léčby a dispenzarizačních programů po kurativním chirurgickém výkonu (nefrektomii). Protože u naprosté většiny pacientů s nemetastatickým renálním karcinodem není indikována adjuvantní terapie, jednou z tzv. nenaplněných medicínských potřeb je prognostický biomarker umožňující identifikaci pacientů s vysokým rizikem relapsu onemocnění po nefrektomii, a následně individualizaci léčby a sledování těchto pacientů.

### Podstata technického řešení

V rámci předkládaného technického řešení byl identifikován specifický profil miRNA v nádorové tkáni asociovaný s rizikem relapsu renálního karcinomu po nefrektomii a byl vyvinut prognostický set založený na expresi miRNA pro pacienty s renálním karcinodem (RCC) umožňující identifikaci pacientů s vysokým rizikem relapsu onemocnění po nefrektomii, kteří by těžili z adjuvantní terapie, např. cílené léčby, a intenzivnějšího režimu sledování.

Předkládané technické řešení poskytuje diagnostický set pro stanovení rizika relapsu renálního karcinomu po nefrektomii na základě detekce tkáňových miRNA metodou kvantitativní PCR v reálném čase (real-time PCR), který obsahuje:

- sadu pro stanovení hladiny exprese miR-429, obsahující primery, fluorescenční sondu typu TaqMan a stem-coop primer

Stem-loop primer	5' - GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACACGGTT - 3'
Univerzální reverse primer	5' - GTGCAGGGTCCGAGGT - 3'
Forward primer	5' - GTTGGGTAATACTGTCTGGTAA - 3'
TaqMan sonda	5' - AGCCAACACGGTTTTACCA - 3'

- sadu pro stanovení hladiny exprese miR-30a-5p, obsahující primery, fluorescenční sondu typu TaqMan a stem-loop primer:

Stem-loop primer	5' - GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACCTTCCA - 3'
Univerzální reverse primer	5' - GTGCAGGGTCCGAGGT - 3'

Forvard primer	5' - GGGTGTAACATCCTCGAC - 3'
TaqMan sonda	5' - AGCCAACCTTCCAGTCGAG - 3'

- sadu pro stanovení hladiny exprese miR-30e-5p, obsahující primery, fluorescenční sondu typu TaqMan a stem-loop primer:

Stem-loop primer	5' - GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACCTTCCA - 3'
Univerzální reverse primer	5' - GTGCAGGGTCCGAGGT - 3'
Forvard primer	5' - GTTGGTGTAACATCCTTGAC - 3'
TaqMan sonda	5' - AGCCAACCTTCCAGTCAAG - 3'

- sadu pro stanovení hladiny exprese miR-30e-3p, obsahující primery, fluorescenční sondu typu TaqMan a stem-loop primer:

Stem-loop primer	5' - GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACGCTGTA - 3'
Univerzální reverse primer	5' - GTGCAGGGTCCGAGGT - 3'
Forvard primer	5' - GGGCTTTCAGTCGGATGTT - 3'
TaqMan sonda	5' - AGCCAACGCTGTAAACATC - 3'

5 - sadu pro stanovení hladiny exprese miR-200b, obsahující primery, fluorescenční sondu typu TaqMan a stem-loop primer:

Stem-loop primer	5' - GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACCTCATCA - 3'
Univerzální reverse primer	5' - GTGCAGGGTCCGAGGT - 3'
Forvard primer	5' - GTTGGTAATACTGCCTGGTAA - 3'
TaqMan sonda	5' - AGCCAACCTCATCATTACCA - 3'

- sadu pro stanovení hladiny exprese RNA RNU44 jako referenčního genu, obsahující primery, fluorescenční sondu typu TaqMan a stem-loop primer:

Stem-loop primer	5' - GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACCTTAGTC - 3'
------------------	---

Univerzální reverse primer	5' - GTGCAGGGTCCGAGGT - 3'
Forward primer	5' - GTCCTGGATGATGATAAGCAA - 3'
TaqMan sonda	5' - AGCCAACTTAGTCAGTTAG - 3'

Sady jsou založeny na metodě stem-loop RT-qPCR. Tato metoda zahrnuje obvykle krok selektivního záchytu detekované malé RNA pomocí stem-loop primeru a reverzní transkripce, a kvantifikace pomocí sekvenčně specifické fluorescenční sondy typu TaqMan, forward primeru a reverse primeru, který je obvykle univerzální.

- 5 Diagnostický set podle technického řešení umožňuje specificky a senzitivně odlišit pacienty s renálním karcinomem na základě rizika relapsu onemocnění po nefrektomii. Tento set a postup diagnostiky s použitím tohoto setu jsou založeny na kvantitativní analýze hladin exprese miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p, miR-200b v nádorové tkáni pacientů s renálním karcinomem pomocí metody qRT-PCR. Stanovení hladin prognostických mikroRNA miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p a miR-200b umožňuje rozlišit pacienty s nízkým a vysokým rizikem relapsu po nefrektomii. Exprese miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p, miR-200b se s pomocí setu podle předkládaného technického řešení stanovuje v RNA izolované z nádorové tkáně pacientů s renálním karcinomem.

Nukleotidové sekvence předmětných mikroRNA jsou následující:

- 15 miR-429: 5' UAAUACUGUCUGGUA AAAACCGU 3';  
 miR-30a-5p: 5' UGUA AACA UCCUCGACUGGAAG 3';  
 miR-30e-5p: 5' UGUA AACA UCCUUGACUGGAAG 3';  
 miR-30e-3p: 5' CUUUCAGUCGGAUGUUUACAGC 3';  
 miR-200b: 5' UAAUACUGCCUGGUA AUGAUGA 3'.

- 20 Nukleotidová sekvence RNU44 je následující:

5' CCTGGATGATGATAAGCAAATGCTGACTGAACATGAAGGTCTTAATTAGCTCTAACTGACTAA 3'.

- 25 Bylo zjištěno, že prognostické skóre vypočítané na základě hladin exprese miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p a miR-200b měřených v tkáni renálního karcinomu pomocí diagnostického setu je významně sníženo u pacientů, u kterých došlo k rozvoji relapsu onemocnění do 36 měsíců po nefrektomii, oproti pacientům u kterých v tomto časovém horizontu k relapsu onemocnění nedošlo. Stanovení hladin exprese těchto miRNA přináší významnou informaci o prognóze onemocnění umožňující identifikovat pacienty, kteří by benefitovali z adjuvantní terapie a měli by být intenzivněji sledováni po chirurgickém výkonu.

- 30 Set může také s výhodou obsahovat deionizovanou vodu sloužící jako negativní kontrola, a/nebo směsný qRT-PCR standard odpovídající expresi miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p a miR-200b ve vzorku pacienta s renálním karcinomem, u nějž došlo k relapsu dříve než 36 měsíců po nefrektomii, a standard odpovídající expresi miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p a miR-200b ve vzorku pacienta s renálním karcinomem, u nějž nedošlo k relapsu nebo došlo k relapsu po více než 36 měsících po nefrektomii.

- 35 Objasnění výkresů

Obrázek 1 zobrazuje rozdíl v hladině prognostického miRNA skóre (PMS) kombinujícího expresi zmíněných miRNA mezi pacienty s RCC, u kterých došlo k relapsu onemocnění do 36 měsíců po nefrektomii, a pacienty s RCC, u nichž nedošlo k relapsu nebo došlo k relapsu až po více než

36 měsíců od nefrektomie ( $P < 0,0001$ ). Významnost rozdílu v hodnotách PMS byla sledována vyhodnocením pomocí Mann-Whitneyho testu.

Obrázek 2 zobrazuje kombinovanou ROC křivku pro PMS, která udává s jakou senzitivitou a specificitou je prognostická sada schopna rozlišit pacienty s renálním karcinomem na základě rizika relapsu onemocnění (AUC = 0,8333, specificita 90 %, senzitivita 77 %).

#### Příklad uskutečnění technického řešení

Pro testování diagnostické schopnosti miRNA podle předkládaného technického řešení byl připraven qRT-PCR set o následujícím složení:

Komponenta	Množství	Účel
Mix RT - reverzní transkripce <sup>1</sup>	1 x 4,67 µl (1 rxn)	Přepis miRNA do cDNA
Mix PCR <sup>2</sup>	1 x 17,67 µl (1 rxn)	Amplifikace miRNA
Detekční assay pro miR-429 (RT primer; qPCR primery, TaqMan sonda)	2 µl; 1 µl (1 rxn)	Reverzní transkripce a amplifikace miR-429
Detekční assay pro miR-30a-5p (RT primer; qPCR primery, TaqMan sonda)	2 µl; 1 µl (1 rxn)	Reverzní transkripce a amplifikace miR-30a-5p
Detekční assay pro miR-30e-5p (RT primer; qPCR primery, TaqMan sonda)	2 µl; 1 µl (1 rxn)	Reverzní transkripce a amplifikace miR-30e-5p
Detekční assay pro miR-30e-3p (RT primer; qPCR primery, TaqMan sonda)	2 µl; 1 µl (1 rxn)	Reverzní transkripce a amplifikace miR-30e-3p
Detekční assay pro miR-200b (RT primer; qPCR primery, TaqMan sonda)	2 µl; 1 µl (1 rxn)	Reverzní transkripce a amplifikace miR-200b
Detekční assay pro RNU44 (RT primer; qPCR primery, TaqMan sonda)	2 µl; 1 µl (1 rxn)	Reverzní transkripce a amplifikace RNU44
Deionizovaná voda RT, qPCR	3,33 µl; 1,33 µl (1 rxn)	Negativní kontrola
Pozitivní kontrola RT, qPCR	3,33 µl; 1,33 µl (1 rxn)	Pozitivní kontrola 1 pro miR-429
Pozitivní kontrola RT, qPCR	3,33 µl; 1,33 µl (1 rxn)	Pozitivní kontrola 2 pro miR-429
Pozitivní kontrola RT, qPCR	3,33 µl; 1,33 µl (1 rxn)	Pozitivní kontrola 1 pro miR-30a-5p
Pozitivní kontrola RT, qPCR	3,33 µl; 1,33 µl (1 rxn)	Pozitivní kontrola 2 pro miR-30a-5p
Pozitivní kontrola RT, qPCR	3,33 µl; 1,33 µl (1 rxn)	Pozitivní kontrola 1 pro miR-30e-5p
Pozitivní kontrola RT, qPCR	3,33 µl; 1,33 µl (1 rxn)	Pozitivní kontrola 2 pro miR-30e-5p
Pozitivní kontrola RT, qPCR	3,33 µl; 1,33 µl (1 rxn)	Pozitivní kontrola 1 pro miR-30e-3p
Pozitivní kontrola RT, qPCR	3,33 µl; 1,33 µl (1 rxn)	Pozitivní kontrola 2 pro miR-30e-3p
Pozitivní kontrola RT, qPCR	3,33 µl; 1,33 µl (1 rxn)	Pozitivní kontrola 1 pro miR-200b
Pozitivní kontrola RT, qPCR	3,33 µl; 1,33 µl (1 rxn)	Pozitivní kontrola 2 pro miR-200b
Pozitivní kontrola RT, qPCR	3,33 µl; 1,33 µl (1 rxn)	Pozitivní kontrola 1 pro RNU44

Pozitivní kontrola RT, qPCR	3,33 µl; 1,33 µl (1 rxn)	Pozitivní kontrola 2 pro RNU44
-----------------------------	--------------------------	--------------------------------

Pozn. <sup>1</sup>Mix RT obsahuje 10X RT pufr, dNTP mix w/dTTP (100M total), inhibitor RNáz (20U/µL), and MultiScribe™ RT enzym (50U/µL). <sup>2</sup>Mix PCR obsahuje AmpliTaq Gold® DNA Polymerase, UP (Ultra Pure), dNTPs s dUTP/dTTP směsí, ROX™ Passive Reference a optimalizovaný pufr. Uvedené objemy komponent platí pro jednu miRNA/RNU v rámci RT reakce v objemu 10 µl a qPCR reakce v objemu 20 µl. Pozitivní kontrola 1 obsahuje směsný qRT-PCR standard odpovídající expresi příslušné miRNA ve vzorku pacienta s renálním karcinomem, u nějž došlo k relapsu dříve než 36 měsíců po nefrektomii. Pozitivní kontrola 2 obsahuje směsný qRT-PCR standard odpovídající expresi příslušné miRNA ve vzorku pacienta s renálním karcinomem, u nějž nedošlo k relapsu nebo došlo k relapsu po více než 36 měsících po nefrektomii.

K izolaci RNA byla použita nádorová tkáň pacientů s renálním karcinomem odebraná do zkumavky obsahující RNA later sloužící k stabilizaci RNA. Tkáň byla homogenizována pomocí FastPrep-24 5G a FastPrep Lysing Matrix (MP Biomedicals) a celková RNA obohacená o frakci krátkých RNA byla izolována za použití mirVana miRNA Isolation Kit (Thermo Fisher Scientific). Kvalita a množství získané RNA byla stanovena spektrofotometricky (NanoDrop-2000).

K detekci exprese miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p, miR-200b a RNU44 byly použity výše popsání detekční sady obsahující jak specifické stem-loop primery pro reverzní transkripci (RT), pomocí níž je RNA přepsána do cDNA, tak primery a fluorescenční sondy typu TaqMan pro qPCR. Amplifikace pomocí qPCR byla provedena za použití přístroje QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific). Kvantita stanovovaných miRNA je vyjádřena tzv. Cq (quantitation cycle), tedy číslem cyklu, při kterém fluorescenční signál dosáhl nastavené prahové hodnoty. Detekovaná exprese miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p a miR-200b byla normalizována na expresní hladinu krátké jadérové RNA RNU44, běžně používané jako referenční gen pro relativní kvantifikaci miRNA.

Relativní exprese miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p a miR-200b byly stanoveny metodou  $2^{-\Delta Cq}$ , kde hodnota  $\Delta Cq$  představuje rozdíl mezi Cq stanovovaných miRNA a Cq referenčního genu (RNU44) v rámci daného vzorku.

Všichni pacienti, jejichž RNA byla použita k analýze, byli předem diagnostikováni na základě histopatologického vyšetření odebrané tkáně. Do studie byli zařazeni pouze pacienti, u nichž byl potvrzen nemetastatický renální karcinom.

U RCC pacientů s relapsem onemocnění do 36 měsíců po nefrektomii byla detekována významně snížená hodnota PMS vypočteného na základě kombinace normalizované exprese miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p a miR-200b ve srovnání s pacienty, u kterých došlo k relapsu po více než 36 měsících po nefrektomii ( $P < 0,0001$ ). Rozdíl exprese mezi sledovanými kohortami byl testován pomocí Mann-Whitneyho testu.

Specificita a senzitivita s jakou PMS dokáže rozlišit pacienty s renálním karcinomem na základě rizika relapsu onemocnění, byla stanovena pomocí ROC (receiver operating characteristic) analýzy.

K výpočtu rizika relapsu byly normalizované exprese miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p a miR-200b kombinovány do tzv. PMS (prognostické miRNA skóre), které je vypočteno podle vzorce:

$$\text{PMS} = 1,1004 + 116,823 * \text{miR-429} - 2,519 * \text{miR-30a-5p} + 3,831 * \text{miR-30e-5p} - 34,4007 * \text{miR-30e-3p} - 11,4517 * \text{miR-200b}$$

Pozn. miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p a miR-200b představuje dekadický logaritmus relativní exprese příslušné miRNA vypočtené podle zmíněného vzorce  $2^{-\Delta Cq}$ , kde hodnota  $\Delta Cq$  představuje rozdíl mezi Cq stanovovaných mikroRNA a Cq referenčního genu (RNU44) v rámci daného vzorku.

Na základě ROC analýzy provedené z hodnot PMS byla získána hodnotící, prahová hodnota (cut-off = -0.2231), podle které lze rozlišit RCC pacienty s nízkým a vysokým rizikem relapsu po nefrektomii. U pacientů s PMS vyšším než prahová hodnota je považováno riziko relapsu za nízké, naopak u pacientů s PMS nižším než prahová hodnota je riziko považováno za vysoké.

Z výsledků dokumentovaných obrázky vyplývá, že hodnota PMS kombinujícího hladiny exprese miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p a miR-200b je významně vyšší v nádorové tkáni pacientů, u kterých nedošlo k relapsu/došlo k relapsu onemocnění po více než 36 měsíců po nefrektomii. Stanovení hladiny těchto mikroRNA tedy umožňuje předpovědět riziko relapsu renálního karcinomu. Obrázek 2 zobrazuje kombinovanou ROC křivku pro prognostické mikroRNA skóre (PMS), která udává s jakou senzitivitou a specificitou je prognostická sada schopna rozlišit pacienty s renálním karcinomem na základě rizika relapsu onemocnění.

## NÁROKY NA OCHRANU

1. Diagnostický set pro stanovení rizika relapsu po nefrektomii u pacientů s nemetastatickým renálním karcinomem na základě detekce tkáňových mikroRNA metodou kvantitativní PCR v reálném čase, **v y z n a ě n ý t í m**, že obsahuje

- sadu pro stanovení hladiny exprese miR-429, obsahující primery, fluorescenční sondu typu TaqMan a stem-loop primer:

Stem-loop primer	5' - GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACACGGTT - 3'
Univerzální reverse primer	5' - GTGCAGGGTCCGAGGT - 3'
Forvard primer	5' - GTTGGGTAATACTGTCTGGTAA - 3'
TaqMan sonda	5' - AGCCAACACGGTTTTACCA - 3'

- sadu pro stanovení hladiny exprese miR-30a-5p, obsahující primery, fluorescenční sondu typu TaqMan a stem-loop primer:

Stem-loop primer	5' - GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACCTTCCA - 3'
Univerzální reverse primer	5' - GTGCAGGGTCCGAGGT - 3'
Forvard primer	5' - GGGTGTAACATCCTCGAC - 3'
TaqMan sonda	5' - AGCCAACCTTCCAGTCGAG - 3'

- sadu pro stanovení hladiny exprese miR-30e-5p, obsahující primery, fluorescenční sondu typu TaqMan a stem-loop primer:

Stem-loop primer	5' - GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACCTTCCA - 3'
Univerzální reverse primer	5' - GTGCAGGGTCCGAGGT - 3'

Forward primer	5' - GTTTGGTGTAACATCCTTGAC - 3'
TaqMan sonda	5' - AGCCAACCTTCCAGTCAAG - 3'

- sadu pro stanovení hladiny exprese miR-30e-3p, obsahující primery, fluorescenční sondu typu TaqMan a stem-loop primer:

Stem-loop primer	5' - GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACGCTGTA - 3'
Univerzální reverse primer	5' - GTGCAGGGTCCGAGGT - 3'
Forward primer	5' - GGGCTTTCAGTCGGATGTT - 3'
TaqMan sonda	5' - AGCCAACGCTGTAAACATC - 3'

- sadu pro stanovení hladiny exprese miR-200b, obsahující primery, fluorescenční sondu typu TaqMan a stem-loop primer:

Stem-loop primer	5' - GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACACTCATCA - 3'
Univerzální reverse primer	5' - GTGCAGGGTCCGAGGT - 3'
Forward primer	5' - GTTTGGTAATACTGCCTGGTAA - 3'
TaqMan sonda	5' - AGCCAACACTCATCATTACCA - 3'

- 5 - sadu pro stanovení hladiny exprese RNA RNU44 jako referenčního genu, obsahující primery, fluorescenční sondu typu TaqMan a stem-loop primer:

Stem-loop primer	5' - GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACCTTAGTC - 3'
Univerzální reverse primer	5' - GTGCAGGGTCCGAGGT - 3'
Forward primer	5' - GTCCTGGATGATGATAAGCAAA - 3'
TaqMan sonda	5' - AGCCAACCTTAGTCAGTTAG - 3'

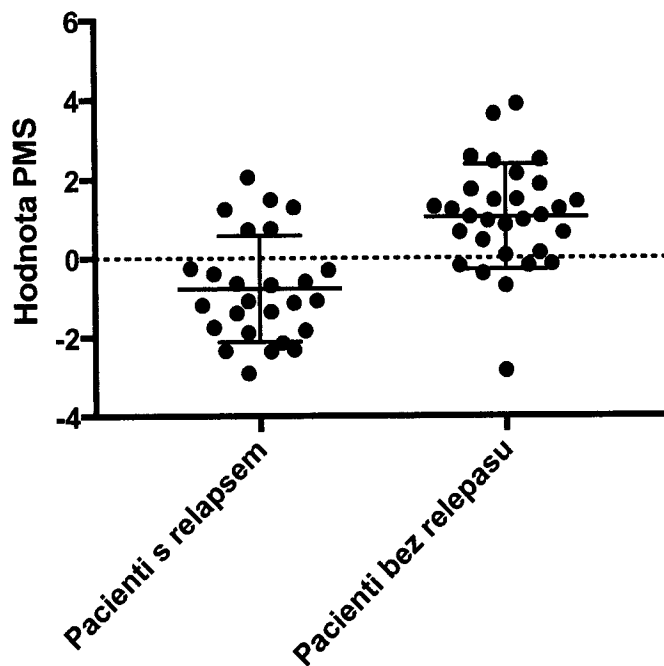
2. Set podle nároku 1, **v y z n a ě n ý t í m**, že dále obsahuje deionizovanou vodu jako negativní kontrolu.

- 10 3. Set podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, **v y z n a ě n ý t í m**, že dále obsahuje směsný qRT-PCR standard odpovídající expresi miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p a miR-200b ve vzorku pacienta s renálním karcinomem, u něžž došlo k relapsu dříve než 36 měsíců po nefrektomii, a standard odpovídající expresi miR-429, miR-30a-5p, miR-30e-5p, miR-30e-3p

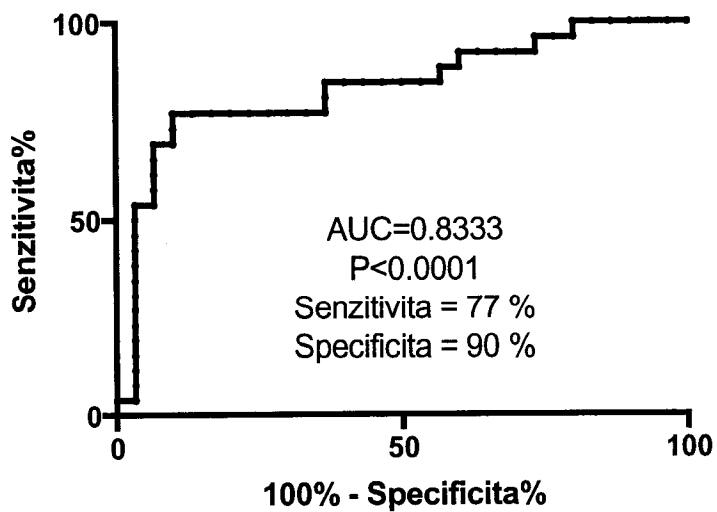


a miR-200b ve vzorku pacienta s renálním karcinomem, u nějž nedošlo k relapsu nebo došlo k relapsu po více než 36 měsících po nefrektomii.

1 výkres



Obr. 1



Obr. 2

---

Konec dokumentu

---