

## · 基础研究 ·

# 利用单核苷酸多态性芯片全基因组检测人大细胞肺癌细胞株的杂合性缺失和拷贝数变异

胡彬 陈军 刘红雨 吴衡 吴志浩 王玉丽 白云 李颖 周清华

**【摘要】**背景和目的 DNA序列的杂合性缺失 (LOH) 和拷贝数变异 (CNV) 普遍存在于肿瘤基因组, 并认为与肿瘤发生发展相关。高密度单核苷酸多态性 (SNP) 芯片能够检测全基因组的LOH和CNV适用于研究肿瘤遗传变异。本研究运用该技术寻找人大细胞肺癌细胞株NL9980全基因组的LOH和CNV。方法 提取细胞株总DNA并应用500K SNP芯片进行检测。芯片获得的500 000位点的杂交信号强度数据使用Affymetrix专利软件估算各SNP位点基因型和拷贝数。进一步分析获得NL9980全基因组LOH和CNV。结果 芯片的SNP位点检测率超过了93%的主要质控标准。NL9980细胞中LOH散布在所有染色体, CNV主要分布在2, 3, 4, 5, 7, 10, 11和18号等染色体。结论 研究表明NL9980基因组存在复杂的遗传变异。SNP芯片高分辨率和提供等位基因型信息等优势极大地提高了肺癌遗传变异研究的能力。

**【关键词】** 肺肿瘤 单核苷酸多态性 杂合性缺失 基因拷贝 基因芯片

**【中图分类号】** R734.2 DOI:10.3779/j.issn.1009-3419.2008.03.017

## Genome-wide detection of loss of heterozygosity and copy number variation in a human lung large cell carcinoma cell line by affymetrix single-nucleotide polymorphism array 500K

HU Bin<sup>\*#</sup>, CHEN Jun<sup>#</sup>, LIU Hongyu<sup>#</sup>, WU Heng<sup>#</sup>, WU Zhihao<sup>#</sup>, WANG Yuli<sup>#</sup>, BAI Yun<sup>#</sup>, LI Ying<sup>#</sup>, ZHOU Qinghua<sup>\*#</sup>

<sup>\*</sup>The Key Laboratory of Lung Cancer Molecular Biology in Sichuan Province, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041; <sup>#</sup>Tianjin Key Laboratory of Lung Cancer Metastasis and Tumor Microenvironment, Tianjin Lung Cancer Institute, Tianjin Medical University General Hospital, Anshan Road No.154, Heping District, Tianjin 300052, China

Corresponding author: ZHOU Qinghua, E-mail: zhouqh1016@yahoo.com.cn

**【Abstract】** **Background and objective** Loss of heterozygosity (LOH) and Copy number copy number variation (CNV) of DNA sequences is a common feature of cancer genomes, which is thought to be linked to tumorigenesis and progression. High-density single-nucleotide polymorphism (SNP) genotyping array are able to provided a genotype and copy number information with genome-wide coverage, which is suitable for the analysis of complex genetic alterations present in cancer. Thus a human lung large cell carcinoma cell line NL9980 was assayed for the global profile of LOH and CNV. **Methods** Genomic DNA from the cell line was screened for LOH and CNV using Affymetrix GeneChip® Human Mapping array 500K Set. The hybridization intensity data of 500 000 SNP loci was analyzed using Affymetrix proprietary software for genotyping and copy number of each locus, and a genome-wide map of LOH and CNV of the cell line was constructed. **Results** The SNP call rate of array Nsp I (-262K) was 95.14%, and the rate of Sty I (-238K) was 97.15%. The both call rates of the components of 500K array set were in excess of 93%, the cardinal quality control standard. LOH profiles of the sample were across all chromosomes, and most of CN gains and losses regions were found on chromosomes such as 2, 3, 4, 5, 7, 10, 11, and 18. **Conclusion** The results have shown that there were complex genetic alterations present in NL9980. And it is possible to achieve high performance outcomes using Affymetrix SNP array 500K to interrogate LOH and CNV in lung cancer genome. This advance of high-resolution with allelic information should substantially improve the ability to further understanding of the genetic basis of lung cancers.

**【Key words】** Lung neoplasms Single-nucleotide polymorphism Loss of heterozygosity Gene copy number Microarray

This work was supported by grants from Key Project of National Natural Science Foundation of China (No.30430300) and Major Project of Tianjin Sci-Tech Support Programme (No.07SYSYSF05000) and a Key Project of Tianjin Sci-Tech Support Programme (No.06YFSZSF05300) (to ZHOU Qinghua).

本研究受国家自然科学基金重点项目 (No.30430300), 天津市科技支撑计划重点项目 (No.06YFSZSF05300) 和天津市科技支撑计划重大项目 (No.07SYSYSF05000) 资助

作者单位: 610041 成都, 四川大学华西医院肺癌分子生物学重点实验室 (胡彬, 周清华); 300052 天津, 天津市肺癌转移与肿瘤微环境重点实验室, 天津医科肺癌研究所, 天津医科大学总医院 (陈军, 刘红雨, 吴衡, 吴志浩, 王玉丽, 白云, 李颖, 周清华) (通讯作者: 周清华, E-mail: zhouqh1016@yahoo.com.cn)

抑癌基因所在的染色体区段的LOH是一些上皮和间质来源的肿瘤进展过程中的重要事件<sup>[1,2]</sup>;染色体区段拷贝数增加和减少直接造成位于该区段的基因拷贝数发生变化,影响基因表达水平,导致表型差异<sup>[3]</sup>,但是LOH和CNV作为肿瘤遗传变异的具体作用尚未完全明确。寻找肺癌遗传变异过去的研究方法主要包括核型分析,荧光原位杂交(FISH),比较基因组杂交(CGH)等。LOH是通过检测基因多态性遗传标志位点获得等位基因信息来确定的<sup>[4]</sup>。以限制性片段长度多态性和微卫星多态性遗传标志为基础的两种检测方法都可以提供可靠的LOH信息<sup>[5]</sup>,但要用于全基因组检测LOH就显得非常费力费时。肿瘤全基因组的LOH和CNV检测最近在肿瘤遗传变异研究中备受关注。虽然CGH芯片能够高通量检测全基因组的CNV(分辨率约100 kb)但是它不能提供等位基因的信息<sup>[6]</sup>。SNP是人类基因组里最普遍的多态性遗传标志,大约每1200 bp就有一个SNP位点。SNP芯片选取约500 000个位点分析各位点的基因型,它最初设计用于SNP基因型人群分布的研究<sup>[7-9]</sup>,同时芯片又能提供各位点两种等位基因型的拷贝数(CN)信息<sup>[10-12]</sup>,得到位点所在区段的CN和LOH情况<sup>[12-14]</sup>,对基因组分析达到极高的分辨率(<10 kb)。人大细胞肺癌细胞株NL9980由四川省重点肺癌分子生物学实验室建立并观测了该肺癌细胞株的染色体众数,检测了细胞株的部分生物学行为<sup>[15]</sup>。通过SNP芯片检测获得该细胞株全基因组遗传变异信息,可以为进一步研究导致肺癌细胞生物学行为差异的原因提供基础数据。

## 1 材料与方法

**1.1 SNP芯片与主要实验仪器** 500K SNP芯片(Affymetrix GeneChip® Mapping array 500K set)由两张芯片组成可检测覆盖全基因组的约500 000个SNP位点的等位基因型,一张使用限制性内切酶Nsp I,检测约262 000个SNP位点,另一张使用限制性内切酶Sty I,检测约238 000个SNP位点(Affymetrix Inc, Santa Clara, CA, USA)。这些二等位基因多态性位点是从除Y染色体外的基因组中选取的。SNP位点之间的平均物理图距约5.8 kb,位点之间物理图距的中位数约2.5 kb。基因组85%的部分SNP位点之间的物理图距<10 kb。这些SNP位点等位基因平均杂合度是0.30。芯片的探针由25个碱基的寡核苷酸组成。对每个SNP位点,正义链和反义链都设计了3组探针,一组探针分成两对,每对针对一个等位基因型,其中两个寡核苷酸探针与SNP的A等位基因型或SNP的B等位基因型完全匹

配(PM),而另外两个探针含有单碱基错配(MM)。共24条,进行24次独立检测,并经统计运算PM-MM的信号强度比值,得出一个SNP位点的基因型(图1)。GeneChip® Hybridization Oven 640用于芯片杂交, GeneChip® Fluidics Station 450用于芯片洗涤, GeneChip® Scanner 3000 7G用于芯片扫描,均购自Affymetrix。

**1.2 实验方法和步骤** 细胞株NL9980培养采用培养基RPMI1640,加入10%胎牛血清。保持温度37℃,5%CO<sub>2</sub>,湿化孵箱。按照Affymetrix提供的实验方案(Affymetrix GeneChips Mapping Assay Protocol DNA)提取NL9980基因组DNA用于芯片杂交。芯片实验主要步骤如下:使用限制性内切酶Nsp I或者Sty I消化250 ng基因组DNA,然后在4 bp的酶切末端接上统一的一小段双链DNA作为接头。加入专一识别这个接头的引物,PCR扩增两边连上了接头的DNA片段,并通过设置PCR条件优先扩增长度在(200-1 100) bp范围的DNA片段。经扩增的DNA用DNA酶片段化,并在片段末端加上标记物,芯片上样杂交。芯片杂交数据原始文件由GeneChip® Operating System 1.4(GCOS)软件自动生成(Affymetrix)。

**1.3 SNP基因型, LOH和CNV分析** 样本SNP位点的基因型分析使用软件GeneChip® Genotyping Analysis Software 4.1(GTYPE)(Affymetrix)。芯片所有SNP位点的等位基因型,序列位置等信息来源于注解软件GeneChip® Mapping 500 K library files。GTYPE软件中采用Dynamic Modeling(DM)<sup>[8,16,17]</sup>算法分析芯片上各位点杂交信号强度数据区分样本中每一个SNP位点为A或者B等位基因型。SNP芯片分析DNA序列拷贝数变异使用软件GeneChip® Chromosome Copy Number Analysis Tool(CNAT)。软件使用Hidden Markov Model(HMM)算法确定全基因组染色体区段的增加和减少<sup>[18]</sup>。HMM以选取的所有SNP的物理图谱为基础,即SNP在DNA序列上的位置,分析每个SNP位点时考虑该位点为中心的区段即两侧数个SNP位点的CN状态来决定该位点各等位基因型的拷贝数(AsCN)和该位点的总拷贝数(TCN)的变化,从而获得SNP位点所在的等位基因和染色体区段的AsCN和LOH信息。虽然NL9980没有病人本人的正常DNA作对照,但CNAT软件提供的非配对分析方法“unpaired analysis”通过从Affymetrix数据库中选取35个正常人的芯片数据([http://www.affymetrix.com/support/technical/sample\\_data/500k\\_data.affx](http://www.affymetrix.com/support/technical/sample_data/500k_data.affx)),与NL9980比较得出全基因组LOH和CNV(Affymetrix manual)。

## 2 结果

**2.1 芯片杂交质量** 250K Nsp I 芯片上所有SNP位点的检测率达到95.14%，250K Sty I 芯片检测率达到97.15%。两张芯片的检测率都超过了SNP芯片主要的质控标准93%，芯片实验质量良好。

**2.2 SNP位点的等位基因型** 芯片上每一个SNP位点的等位基因型被定义为“AA”，“BB”即样本SNP位点等位基因为纯合型；“AB”为等位基因杂合型。同时生产商提供了各位点每个等位基因型的碱基类型。（表1）（图1）

**2.3 全基因组CNV** 全基因分析CNV时，SNP位点上每个等位基因型的AsCN，等位基因杂合型和纯合型情况一致以及CN值一致并且序列上位置相邻的SNP归纳在一起反映SNP所在的染色体区段的CNV。HMM算法的结果从0-4分别代表了DNA序列的五种CN状态：纯合性缺失“CN state”=0；半合型缺失“CN state”=1；拷贝数正常（二倍体）“CN state”=2；单拷贝增加“CN state”=3；多拷贝增加“CN state”≥4。NL9980全基因组CNV整体是在一个近似三倍体的基础上（图2），与前期细胞遗传学方法观测到的NL9980细胞株染色体众数为58-66条的结果基本相符<sup>[15]</sup>。结果显示在NL9980细胞株中存在复杂的遗传变异包括DNA序列拷贝数增加，拷贝数减少和LOH，涉及所有染色体。大部分CN增加的遗传变异被发现分布在染色体1p, 2q, 3p, 3q, 5, 7, 8q, 11q, 12p, 13q, 17q, 18和20q；大部分CN减少的遗传变异被发现分布在染色体2p, 4, 10, 11, 12q, 19q, 20q, 和22q；纯合性缺失被发现位于染色体16q23.1。在我们的数据中出现的1p, 3q, 7, 8q, 12p 和18等染色体和染色体臂的CN增加的遗传变异，是人大细胞肺癌细胞株中已经用CGH等方法发现容易出现的染色体遗传变异的位置（<http://www.progenetix.net/>）。

**2.4 LOH分析结果** 使用非配对的正常对照与肿瘤样本进行比较，肿瘤样本中的SNP位点发现等位基因为纯合型，而根据对照数据推算该位点肿瘤样本等位基因应该为杂合型，这种情况就被软件认定为LOH即“Loh state”=1。

SNP位点等位基因AsCN分析，以正常对照在该位点针对两个等位基因型的探针的杂交信号强度为基础，分别比较样本SNP位点上两基因型的杂交信号强度，获得各基因型的AsCN信息<sup>[18]</sup>。LOH即Loh state=1的区段长度散布在NL9980细胞株所有染色体上。部分LOH的区段同时伴有CN减少（即CN state=1）（图3a）。例如4号和10号染色体上的SNP位点Loh state值基本都为1，就意味着肿瘤细胞株进行体细胞有丝分裂重组发生遗传变异时，丢失了整条染色体臂（图2）。

另一部分LOH区段不伴有CN减少。NL9980细胞株基因组中就存在这样的LOH区段，它们的CN值≥2，分别被称为拷贝数正常的LOH和拷贝数增加的LOH。这样的LOH可能源于肿瘤细胞有丝分裂重组过程中分别发生的两个事件：一个亲本来源的等位基因区段丢失，另一个亲本来源的等位基因区段得到复制或扩增<sup>[11,19]</sup>。两个等位基因区段都来源于同一个单一的亲本也被称为单亲二倍体，是肿瘤遗传变异中一种较为复杂的情况<sup>[20-22]</sup>。比如染色体区段13q22.2上就存在不伴有CN减少的LOH区段（图3b）。染色体臂11q, 13q, 和14q的Loh值为1，CN值为2或者3，这就表明肿瘤细胞在有丝分裂重组时这些染色体丢失了一个亲本来源的染色体臂，然后又复制或扩增了另一个亲本来源的染色体臂（图2）。

## 3 讨论

500K SNP 芯片高效地检测了NL9980细胞株包括纯合性缺失，半合性缺失，拷贝数正常的LOH，单一亲本拷贝复制和扩增等染色体畸变，展示了肺癌细胞基因组里的多种复杂遗传变异。在细胞株中发现的许多变异区段相对较短。芯片选取的SNP位点在物理图谱上的距离中位数为2.5 kb, 其全基因组检测的分辨率极高，因此能够检测到比较短的CN增加和减少的区段。因为其它肿瘤遗传变异的研究方法如细胞分裂中期CGH, CGH芯片和FISH等分辨率较SNP芯片低，所以SNP芯片在NL9980细胞株中检测到的微小区段的变异以前在肺癌中可能还未发现过。与以前的研究方法相比SNP芯片同时检测

表1 SNP\_A-1785236和SNP\_A-1781819两位点的等位基因型

Tab 1 Genotype information of SNP\_A-1785236 and SNP\_A-1781819

SNP ID	Chromosome	Physical Position	dbSNP RS ID	Call	Confidence	Allele	
						A	B
SNP_A-1785236	1	21825891	rs1531829	AB	0.007813	A	G
SNP_A-1781819	6	88960762	rs12660255	AA	0.007813	A	G



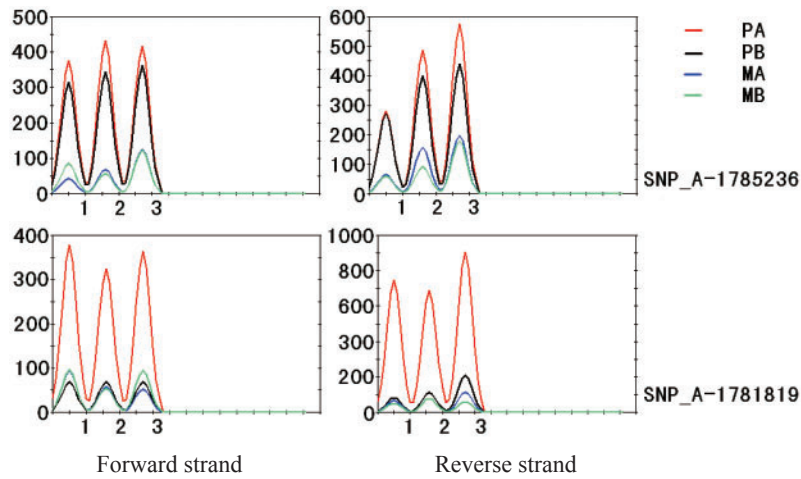


图1 SNP\_A-1785236、SNP\_A-1781819两位点的基因型

Fig 1 The genotypes of SNP\_A-1785236 and SNP\_A-1781819 The probe intensity is displayed along the Y axis. The probe quartets used for the SNP are displayed long the X axis

PA: Perfect match for the A allele; MA: Mismatch for the A allele; PB: Perfect match for the B allele; MB: Mismatch for the B allele.

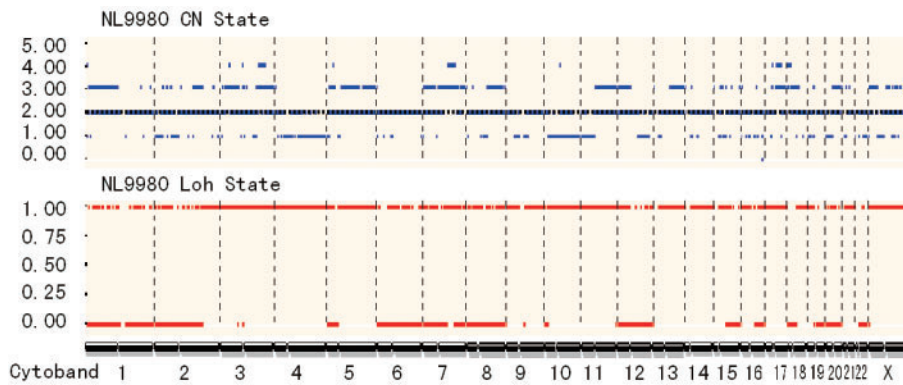


图2 NL9980细胞株全基因组 CNV 和LOH

Fig 2 The global profile of CNV and LOH from NL9980

The the CN or Loh State is displayed along the Y axis. The chromosomes are displayed long the X axis.

The blue dots and lines represent total CN value at each locus, and the red dots and lines represent Loh state.

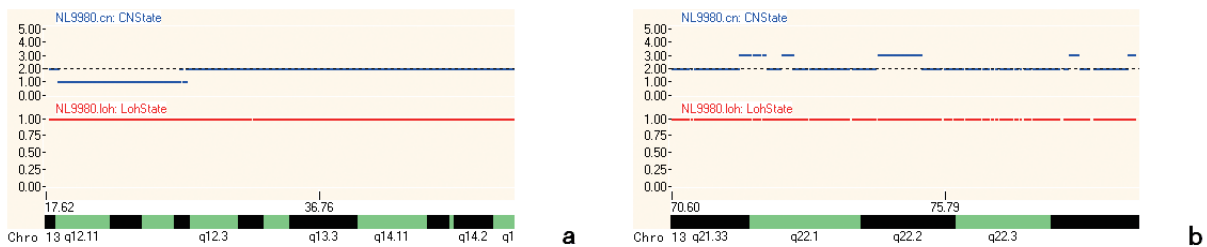


图3 LOH伴有CN减少(a)和LOH不伴CN减少(b)

Fig 3 LOH with CN reduction (a) and LOH without CN loss (b)

The blue lines represents CN state at each locus and the red lines represents Loh State.

LOH with CN state=1 from 13q12.11 to 13q12.13 shows loss of one parental allele and the other remained.

LOH with CN state=2 or 3 from 13q21.33 to 13q22.4 shows loss of one parental allele and the other duplicated or amplified.

500 000个遗传标记位点,极大地减少了检测全基因组遗传变异的工作量;并且每张芯片只需要250 ng甚至10 ng的总DNA,大量节省了样本用量,特别是一些珍贵病理标本<sup>[23]</sup>。最近有研究证明人类基因组里还存在拷贝数多态性<sup>[24,25]</sup>,有可能在NL9980里发现的一部分序列的CNV就是这种本来其个体正常基因组里就存在的拷贝数多态性,但是这种机会非常小,因为这种多态性是通过大样本的研究发现的,而每一个人的基因组里分布极少<sup>[3,26]</sup>。

具有检测肿瘤细胞基因组里每个SNP位点各等位基因型CN的能力是SNP芯片非常重要的优点<sup>[18]</sup>。因此它可以从位点等位基因型的构成比例检测和分析不伴CN减少的LOH。这样的LOH在肿瘤细胞基因组里所有LOH的所占比例较高,在其它肿瘤SNP芯片研究结果中发现CN正常和CN增加的LOH高达所有发现的LOH的2/3<sup>[19,27]</sup>,而其他全基因组研究技术如CGH芯片因为检测不到等位基因型的信息就无法检测和分析这种LOH<sup>[19]</sup>。以往研究LOH必须依赖与肿瘤病人本人的正常基因组DNA作对照,在该个体正常基因组里二等位点的基因型为杂合型而在该个体的肿瘤细胞基因组里相同的位点变成了纯合型,就认定为该位点LOH。但是肿瘤标本和细胞系通常找不过其本人的正常样本做对照。肿瘤样本与一个无亲缘关系的正常人基因组之间SNP位点的基因型估计只有37%相同,但是CNAT的算法中“unpaired analysis”采用多个正常人的SNP芯片数据作对照,克服了这个问题,使等位基因杂合型的SNP位点基因型估计准确率达到86%,对所有SNP位点基因型估计准确率达到92%<sup>[28]</sup>。

高密度的SNP芯片高通量分析染色体区段等位基因组成获得肿瘤全基因组遗传变异的信息的方法给肿瘤遗传变异研究提供一个有力的工具。在基因图谱NCBI Build 35.1的基础上,芯片结果提供的500 000个SNP位点的信息,可以定位到具体的染色体位置和基因。进一步的研究,可以结合人大细胞肺癌细胞株NL9980 SNP芯片的结果联系表达谱芯片的结果来确定哪些遗传变异影响RNA表达,从而全基因组筛选于参与肺癌发生发展,与肺癌生物学行为和恶性表型相关的基因<sup>[19,29,30]</sup>。

#### 参 考 文 献

- Weinberg R A. Tumor suppressor genes. *Science*, 1991, 254(5035): 1138-1146.
- Knudson AG. Two genetic hits (more or less) to cancer. *Nat Rev Cancer*, 2001, 2(2): 157-62.
- Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature*, 2006, 444(7118): 444-454.
- Vogelstein B, Fearon ER, Kern SE, et al. Allelotype of colorectal carcinomas. *Science*, 1989, 244(4901): 207-211.
- Weissenbach J, Gyapay G, Dib C, et al. A second-generation linkage map of the human genome. *Nature*, 1992, 359(6398): 794-801.
- Ishkanian, AS, Malloff, CA, Watson SK, et al. A tiling resolution DNA microarray with complete coverage of the human genome. *Nat Genet*, 2004, 36(3): 299-303.
- Wang DG, et al. Large-scale identification, mapping, and genotyping of singlenucleotide polymorphisms in the human genome. *Science*, 1998, 280(5366): 1077-1082.
- Kennedy GC, Matsuzaki H, Dong S, et al. Large-scale genotyping of complex DNA. *Nat Biotechnol*, 2003, 21(10): 1233-1237.
- Paul RB, David GC, Lon RC, et al. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*, 2007, 447(7145): 661-678.
- Zhao X, Li C, Paez JG, et al. An integrated view of copy number and allelic alterations in the cancer genome using single nucleotide polymorphism arrays. *Cancer Res*, 2004, 64(9): 3060-3071.
- Huang J, Wei W, Zhang J, et al. Whole genome DNA copy number changes identified by high density oligonucleotide arrays. *Hum Genomics*, 2004, 1(4): 287-299.
- Bignell GR, Huang J, Greshock J, et al. High-resolution analysis of DNA copy number using oligonucleotide microarrays. *Genome Res*, 2004, 14(2): 287-295.
- Wang ZC, Buraimoh A, Iglehart JD, et al. Genome-wide analysis for loss of heterozygosity in primary and recurrent phyllodes tumor and fibroadenoma of breast using single nucleotide polymorphism arrays. *Breast Cancer Res Treat*. 2006, 97(3): 301-309.
- Zhou X, Mok SC, Chen Z, et al. Concurrent analysis of loss of heterozygosity (LOH) and copy number abnormality (CNA) for oral premalignancy progression using the Affymetrix 10K SNP mapping array. *Hum Genet*, 2004, 115(4): 327-330.
- Zhou QH, Wang YP, Che GW, et al. The establishment of human giant lung cancer cell lines NL9980 and L9981 and their biologic feature. *Chin J Lung Cancer*, 2003, 6(6): 464-468. [周清华, 王艳萍, 车国卫, 等. 人大细胞肺癌细胞系NL9980和L9981的建立及其生物学特性研究. *中国肺癌杂志*, 2003, 6(6): 464-468.]
- Liu WM, Di X, Yang G, et al. Algorithms for large-scale genotyping microarrays. *Bioinformatics*, 2003, 19(18): 2397-2403.
- Di XH, Matsuzaki TA, Webster E, et al. Dynamic model based algorithms for screening and genotyping over 100K SNPs on oligonucleotide microarrays. *Bioinformatics*, 2005, 21(9): 1958-1963.
- Nannya Y, Sanada M, Nakazaki K, et al. A robust algorithm for copy number detection using high-density oligonucleotide single nucleotide polymorphism genotyping arrays. *Cancer Res*, 2005, 65(14): 6071-6079.
- Judith NK, Jan O, Tom VW, et al. Combined array-comparative genomic hybridization and single-nucleotide polymorphism-loss of heterozygosity analysis reveals complex genetic alterations in cervical cancer. *BMC Genomics*, 2007, 8: 53.

20 Raghavan M, Lillington DM, Skoulakis S, et al. Genome-wide single nucleotide polymorphism analysis reveals frequent partial uniparental disomy due to somatic recombination in acute myeloid leukemias. *Cancer Res*, 2005, 65(2): 375-378.

21 Murthy SK, DiFrancesco LM, Ogilvie RT, et al. Loss of heterozygosity associated with uniparental disomy in breast carcinoma. *Mod Pathol*, 2002, 15(12): 1241-1250.

22 Teh MT, Blaydon D, Chaplin T, et al. Genomewide single nucleotide polymorphism microarray mapping in basal cell carcinomas unveils uniparental disomy as a key somatic event. *Cancer Res*, 2005, 65(19): 8597-8603.

23 Guillermo PJ, Lin M, Rameen B, et al. Genome coverage and sequence fidelity of  $\Phi$ 29 polymerase-based multiple strand displacement whole genome amplification. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32(9): 71.

24 Sebat J, Lakshmi B, Troge J, et al. Large-scale copy number polymorphism in the human genome. *Science*, 2004, 305(5683): 525-528.

25 Huang J, Wei W, Chen J, et al. CARAT: a novel method for allelic detection of DNA copy number changes using high density oligonucleotide arrays. *BMC Bioinformatics*, 2006, 7: 83.

26 Huang J, Wei W, Zhang J, et al. Whole genome DNA copy number changes identified by high density oligonucleotide arrays. *Hum Genomics*, 2004, 1(4): 287-99.

27 Calhoun ES, Gallmeier E, Cunningham SC, et al. Copy-number methods dramatically underestimate loss of heterozygosity in cancer. *Genes Chromosomes Cancer*, 2006, 45(11): 1070-1071.

28 Yamamoto G, Nannya Y, Kato M, et al. Highly sensitive method for genomewide detection of allelic composition in nonpaired, primary tumor specimens by use of affymetrix single-nucleotide polymorphism genotyping microarrays. *Am J Hum Genet*, 2007, 81(1): 114-126.

29 Chen W, Manuel ST, Nallasivam P, et al. Targets of Genome Copy Number Reduction in Primary Breast Cancers Identified by Integrative Genomics. *Genes Chromosomes Cancer*, 2007, 46(3): 288-301.

30 Lastowska M, Viprey V, Santibanez KM, et al. Identification of candidate genes involved in neuroblastoma progression by combining genomic and expression microarrays with survival data. *Oncogene*, 2007, 26(53): 7432-7444.

(收稿: 2008-04-23 修回: 2008-04-28)  
(本文编辑 南娟)

· 启事 ·

部分肺癌临床科研机构网址

- |   |   |
|---|---|
| 中国抗癌协会<br>Chinese Anti-cancer Association<br><a href="http://www.caca.org.cn/">http://www.caca.org.cn/</a>                  | 美国肿瘤研究协会<br>American Association for Cancer Research<br><a href="http://www.aacr.org/">http://www.aacr.org/</a> |
| 中国抗癌协会临床肿瘤学协作专业委员会<br>Chinese Society of Clinical Oncology<br><a href="http://www.cSCO.org.cn/">http://www.cSCO.org.cn/</a> | 欧洲医学肿瘤学会<br>European Society for Medical Oncology<br><a href="http://www.esmo.org/">http://www.esmo.org/</a>    |
| 国际抗癌联盟<br>International Union Against Cancer<br><a href="http://www.uicc.org/">http://www.uicc.org/</a>                     | 肺癌联盟<br>Lung Cancer Alliance<br><a href="http://www.alcase.org/">http://www.alcase.org/</a>                     |
| 美国国立癌症研究院<br>National Cancer Institute<br><a href="http://www.cancer.gov/">http://www.cancer.gov/</a>                       | 欧洲癌症组织/大会<br>European Cancer Organisation<br><a href="http://www.ecco-org.eu/">http://www.ecco-org.eu/</a>      |
| 美国癌症学会<br>American Cancer Society<br><a href="http://www.cancer.org/">http://www.cancer.org/</a>                            | 肺癌在线<br>Lung Cancer Online<br><a href="http://www.lungcanceronline.org/">http://www.lungcanceronline.org/</a>   |
| 美国临床肿瘤学会<br>American Society of Clinical Oncology<br><a href="http://www.asco.org/">http://www.asco.org/</a>                | 美国国家综合癌症网<br>National Comprehensive Cancer Network<br><a href="http://www.nccn.org/">http://www.nccn.org/</a>   |