

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.01.040

· 文献计量学 ·

基于专利分析的肿瘤基因 PCR 诊断技术研究*

赵蕴华 袁芳[△] 傅俊英 李沛 周肖贝

(中国科学技术信息研究所 北京 100038)

摘要: 肿瘤目前成为人类健康和生命的重要威胁,肿瘤基因诊断是对肿瘤的各种原癌基因、抑癌基因进行检测,聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)技术是目前临床基因诊断应用最广泛的诊断技术,具有普及率高、特异性好、简便快捷等特点。肿瘤基因 PCR 诊断技术可以用于已知基因突变的检测,快速了解突变状态,有效制定治疗方案,为肿瘤患者带来福音。本研究主要基于专利数据,对肿瘤基因 PCR 诊断技术进行分析,探讨了全球与中国在肿瘤基因 PCR 诊断技术领域的发展现状与趋势。在 Innography 数据库共检索到 PCR 技术相关专利 16,939 件,专利家族 6,285 件。在肿瘤基因 PCR 诊断技术领域中,荧光定量 PCR 技术占比较大,约占肿瘤基因 PCR 诊断技术总量的三分之一。从技术生命周期来看,肿瘤基因 PCR 诊断技术目前仍处在高速发展阶段。美国是肿瘤基因 PCR 诊断技术的发展领先国家。该技术的主要来源国为美国,全球 42.09% 的专利来自美国,同时美国也是同族专利的主要分布地区。在肿瘤基因 PCR 诊断技术领域,排名前 15 位的顶尖机构中,来自美国的机构有 7 所。中国在肿瘤基因 PCR 诊断技术领域起步较晚,但发展迅速,在该技术领域申请的专利数量仅次于美国。中国申请的肿瘤基因 PCR 诊断技术的专利绝大多数都只在中国进行专利保护,并没有布局全球市场的意愿。

关键词: PCR 诊断; 肿瘤; 基因; 专利

中图分类号: R730.4; G255.53 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2020)01-181-06

Study on Patents in the Field of Tumor Gene's PCR Diagnostic Technology*

ZHAO Yun-hua, YUAN Fang[△], FU Jun-ying, LI Pei, ZHOU Xiao-bei

(Institute of Scientific and technical Information of China, Beijing, 100038, China)

ABSTRACT: Tumors are now an important threat to human health and life. Tumor gene diagnosis is the detection of various proto-oncogenes or tumor suppressor genes. PCR (polymerase chain reaction) technology is the most widely used diagnostic technology for clinical gene diagnosis. Tumor gene's PCR diagnostic technology can be used to detect the mutation genes to formulate treatment plans. This study analyzes the tumor gene's PCR diagnostic technology based on patents data to explore the development status and trends of global and Chinese tumor gene's PCR diagnostic technology. There is a total of 16,939 patents related to tumor gene's PCR diagnostic technology and 6,285 patent families in the Innography database. In the field of tumor gene's PCR diagnostic technology, real-time fluorescence quantitative PCR technology accounts for a large proportion, accounting for about one-third of the total amount of tumor gene's PCR diagnostic technology. From the perspective of technical technology life cycle, the tumor gene's PCR diagnostic technology is still in the stage of rapid development. The United States is a leading country in the development of tumor gene's PCR diagnostic technology. The United States also is the main source of this technology and the main distribution area of the same family of patents. In the field of tumor gene's PCR diagnostic technology, 42.09% of the world's patents come from the United States. And among the top 15 top institutions in this technology, there are 7 institutions from the United States. China started late in the field of tumor gene's PCR diagnostic technology. However, the tumor gene's PCR diagnostic technology has developed rapidly in China. The number of patents from China applied in this technology is second only followed to the United States. Most of the patents for the PCR gene diagnostic technology applied in China are only patented in China, which shows that Chinese institutes have no willingness to lay out the global market.

Key words: PCR diagnosis; Tumor; Gene; Patent

Chinese Library Classification(CLC): R730.4; G255.53 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)01-181-06

前言

根据 2017 年全国肿瘤登记中心收集的全国恶性肿瘤登记资料分析^[1],2014 年我国新发恶性肿瘤病例约 380.4 万例。肿瘤

* 基金项目:中国科学技术信息研究所重点工作“重点科技领域前沿跟踪与深度研究”(ZD2019-01)

作者简介:赵蕴华(1967-),硕士,研究馆员,研究方向:重点科技领域研究,电话:010-58882012, E-mail: zhaoyh@istic.ac.cn

△ 通讯作者:袁芳(1989-),博士,博士后,研究方向:产业竞争情报研究, E-mail: yuanf@istic.ac.cn

(收稿日期:2019-03-28 接受日期:2019-04-23)

的发生发展是一个复杂的病理生理过程,其中涉及癌基因的激活、抑癌基因的失活及凋亡等相关基因的改变^[2]。基因诊断,是指利用分子生物学方法,从 DNA 或 RNA 的分子水平检测患者体内基因的存在和表达状态,并分析基因结构变异情况,进而对疾病做出诊断的方法和过程^[3-5]。肿瘤基因诊断是对肿瘤的各种原癌基因、抑癌基因进行检测,能够为肿瘤的基础研究、防

治和个体化治疗提供更详尽和客观的证据^[6,7]。肿瘤基因诊断技术可分为分子杂交技术^[8]、聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR) 技术^[9,10]、DNA 测序技术^[11,12]以及基因芯片技术^[13]。PCR 技术是目前临床基因诊断应用最广泛、认可度最高的诊断技术^[14]。基因诊断 PCR 技术包括很多种,如表 1 所示。

表 1 PCR 技术主要分类及特点

Table 1 The main classification and characteristics of PCR technology

分类 Classification	定义 Definition	特点 Characteristics
荧光定量 PCR(RTQ PCR)技术	通过荧光染料或荧光标记的特异性的探针,对 PCR 产物进行标记跟踪,利用荧光信号积累监测整个 PCR 进程 ^[15] 。	操作简单、快速方便、灵敏度高、重复性好、污染率低、应用广泛 ^[16] 。
逆转录 PCR(RT-PCR)技术	先利用某一段特定的 mRNA 作模板,在逆转录酶作用下,将 mRNA 片段转录为互补的 DNA 片段(cDNA),以 cDNA 作模板进入 PCR 过程 ^[17] 。	灵敏度高、特异性强的优点,能检测每毫升血中存在的一个癌细胞,且方法相对简便,适合临床应用,提高了肿瘤微转移检测的敏感性和特异性 ^[18] 。
正连接酶链反应 LCR 技术	是在连接酶扩增反应或连接酶检测反应基础上,引入热稳定的连接酶而建立的新技术 ^[19] 。	预先不需对目的 DNA 片段进行扩增;可用于已知突变类型的基因诊断尤其适合大样本的普查与筛选 ^[20] 。
多重 PCR(Multiplex PCR)技术	在一个 PCR 反应体系中加入多对特异性引物,对多个 DNA 模板或同一模板的不同区域扩增多个目的片段 ^[21] 。	节省时间、降低成本、提高效率,特别是节省珍贵的实验样品 ^[22] 。
数字 PCR(dPCR)技术	核酸绝对定量新方法,通过分液将含有核酸模板的 PCR 反应体系分配到上万个反应器中进行 PCR 扩增 ^[23] 。	高灵敏度,高精度,高耐受性,绝对定量;试剂盒研发不易,成本过高,操作复杂,技术有待普及与改进,目前适用于转化性研究,未来有望用于动态监测,用于肿瘤相关基因的检测前景利好 ^[24] 。
巢式 PCR(nested PCR)技术	是一种变异的 PCR,使用两对引物扩增完整的片段。先用一对靶序列的外引物扩增以提高模板量,再用一对内引物扩增以得到特异的 PCR 带 ^[25] 。	如果第一次扩增产生了错误片断,则第二次能在错误片段上进行引物配对并扩增的概率极低。因此,巢式 PCR 的扩增非常特异 ^[26] 。
不对称 PCR (asymmetric PCR)技术	是指用不等量的一对引物产生大量单链 DNA(ssDNA)的 PCR 法 ^[27] 。	可制备单链 DNA 片段用于序列分析或核酸杂交的探针 ^[28] 。

1 数据来源

本研究数据来源于 Innography 专利数据库, Innography 专利数据库包括美国专利局数据库、欧洲专利局数据库、世界知识产权组织专利数据库、日本专利局数据库及 INPADOC 数据库,可以查询和获取 90 多个国家的同族专利、法律状态及专利原文^[29]。这些专利信息有助于更明确的分析市场竞争现状和发展趋势。本研究采用 Innography 专利信息检索和分析平台,研究肿瘤基因 PCR 诊断技术的发展现状及趋势。在 Innography 数据库共检索到 PCR 技术相关专利 16,939 件,专利家族 6,285 件。因同族专利具有相同的发明技术主题,因此本研究仅对专利家族进行研究。检索日期为 2018 年 10 月 22 日。

2 全球技术发展趋势

2.1 专利年度申请趋势

肿瘤基因 PCR 诊断技术相关的专利申请始于 1987 年,但到 1999 年,年申请量均少于 100 件。由图 1 可见,肿瘤基因 PCR 诊断技术尽管遇到过技术瓶颈,某些年份专利申请数量有

所下降,但整体却呈快速增长趋势。并且,肿瘤基因 PCR 诊断技术的发展历程与人类基因组计划 (human genome project, HGP)的发展比较吻合。HGP 是由美国科学家于 1985 年率先提出,并在 1990 年正式启动,与基因相关的分子检测手段,包括 PCR 技术也由此得到飞速发展。2001 年人类基因组工作草图的正式发表,肿瘤基因 PCR 诊断技术相关专利在 2002 年,申请数量增长迅速,达到 190 件。

在肿瘤基因 PCR 诊断技术领域,荧光定量 PCR 技术占比较大。荧光定量 PCR 技术相关专利的申请数量约占肿瘤基因 PCR 诊断技术总量的三分之一。可见,荧光定量 PCR 技术是肿瘤基因诊断中的最常用的技术方法。此外,数字 PCR 技术相关专利的申请数量在近三年内也呈现快速增长态势,有望在今后得到更快发展。

2.2 专利生命周期

技术生命周期中的专利申请量表示某技术发展活动(量),发明人数量可以表示参与创新活动的人员数量,观察这种关系就可以掌握该技术领域的成熟度。1999 年后,肿瘤基因检测 PCR 技术相关专利年申请数量达到 100 件以上,从图 2 技术生

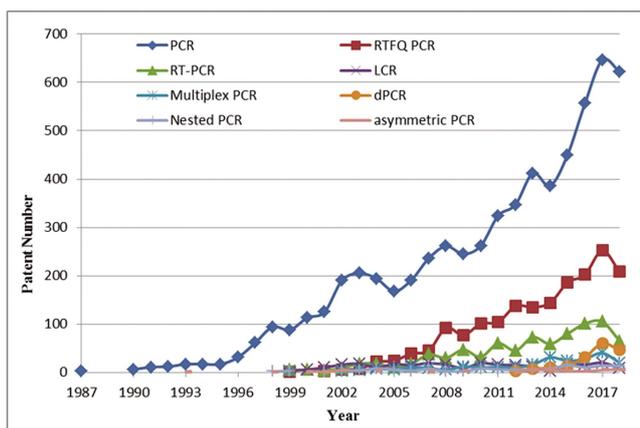


图1 全球肿瘤基因 PCR 诊断技术相关专利申请的数量变化

Fig. 1 Changes of patent number related to tumor gene's PCR diagnostic technology in the world

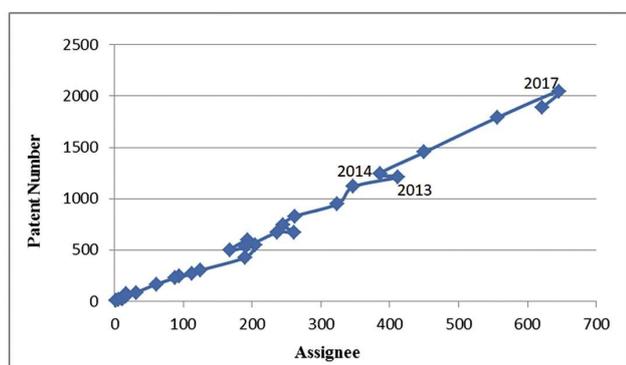


图2 全球肿瘤基因 PCR 诊断技术相关专利的技术生命周期

Fig. 2 Technology life cycle of tumor gene's PCR diagnostic technology in the world

命周期来看,相关技术目前仍处在高速发展阶段,不断有技术创新活动及成果涌现,离技术稳定成熟期还有相当距离。

2.3 专利技术来源地区分布情况

从图3可见,肿瘤基因 PCR 诊断技术的主要来源国为美国,其中 42.09%的专利均为美国发明人的科技创新结果,表明美国在该领域的一家独大的领军地位。中国居世界第二位,其申请的相关专利量占到世界的 19.71%。在肿瘤基因 PCR 诊断技术中,美中两国的专利申请量约占全球专利申请量的三分之二。因此,美国与中国为肿瘤基因 PCR 诊断技术的主要来源国。全球肿瘤基因 PCR 诊断技术专利来源地区排名前五位的国家,还有韩国、德国和日本。

2.4 同族专利地区分布情况

专利权人会在不同目标市场国申请专利,以达到占领国际市场的目的。同族专利分布的国家越多,该专利的技术价值或市场价值也会越大。通过对在各国、地区或组织申请的同族专利数量进行统计,共有 43 个地区/组织接受了相关专利保护的申请。根据肿瘤基因 PCR 诊断技术相关专利的申请数量,前五位的地区/组织分别为:美国、世界知识产权组织(WIPO)、欧洲专利局(EPO)、中国和日本。申请美国专利保护的肿瘤基因 PCR 诊断技术专利数量居世界首位,共 3975 件,约占到总量的四分之一。一方面,美国可能是肿瘤基因 PCR 诊断技术的研发大国,本身的申请量比较大;另一方面,美国的肿瘤基因

PCR 诊断技术市场吸引力比较大,全世界的企业和研究机构都想占有该市场份额,而到美国申请相关专利。肿瘤基因 PCR 诊断技术在中国申请专利保护的数量为 2069 件,约占总量的 12.17%,位于世界第 4 位。

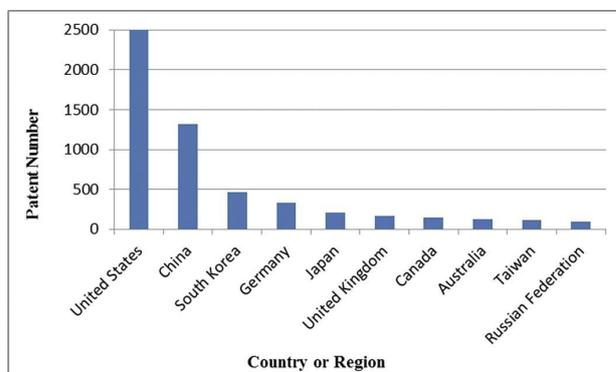


图3 全球肿瘤基因 PCR 诊断技术专利发表国家/地区的分布情况

Fig. 3 Countries or regions of tumor gene's PCR diagnostic technology in the world

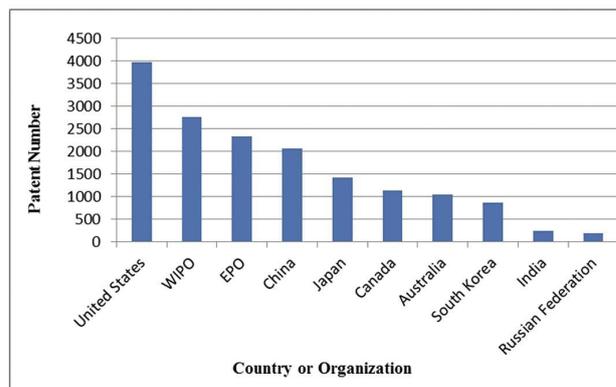


图4 全球肿瘤基因 PCR 诊断技术同族专利分布情况

Fig. 4 Distribution of patent family in the field of tumor gene's PCR diagnostic technology in the world

2.5 专利的主要申请机构情况

如表 2 所示,在肿瘤基因 PCR 诊断技术领域,排名前 15 位的顶尖机构中,罗氏以 115 件相关专利排名第一,由于肿瘤基因 PCR 诊断技术偏重于临床应用,所以研发机构以企业为主。前 15 位的专利申请机构中,企业有 8 所,科研院所 4 所,大学有 3 所。前 5 位的专利申请机构中,除美国约翰普金斯大学外,均为企业。在肿瘤基因 PCR 诊断技术领域,排名前 15 位的顶尖机构中,来自美国的机构有 7 所,瑞士、英国与韩国各有 2 所,德国和法国各有 1 所。中国在肿瘤基因 PCR 诊断技术领域没有进入前 15 位的全球领军型机构。

3 中国技术发展趋势

3.1 专利年度申请趋势

从下图可见,在肿瘤基因 PCR 诊断技术领域中国起步较晚。1993 年,第一件与肿瘤基因 PCR 诊断技术的专利在中国申请。直至 2000 年开始,中国才开始每年都有肿瘤基因 PCR 诊断技术领域相关的专利申请。截止检索时间 2018 年 10 月 22 日,2018 年在肿瘤基因 PCR 诊断技术领域相关的专利已有

表 2 全球肿瘤基因 PCR 诊断技术专利申请数量前 15 位的研发机构

Table 2 Top 15 patent organizations in the field of tumor gene's PCR diagnostic technology in the world

No.	Organization	Country	Patent Number
1	Roche Holding Ltd.	Switzerland	115
2	Incyte Corporation	United States	109
3	GlaxoSmithKline plc	United Kingdom	108
4	Johns Hopkins University	United States	90
5	Cthay International Holdings Limited	Germany	90
6	University Of California	United States	82
7	The University Of Texas System	United States	50
8	Ludwig Institute For Cancer Research	United Kingdom	46
9	Partners Healthcare System, Inc., Massachusetts	United States	46
10	US Department Of Health & Human Services	United States	46
11	Sanofi SA	France	45
12	Korea Institute Of Science And Technology	South Korea	44
13	Novartis AG	Switzerland	42
14	Abbott Laboratories	United States	42
15	Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology	South Korea	35

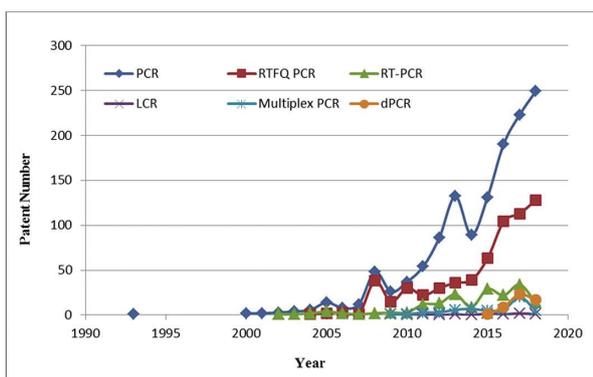


图 5 中国肿瘤基因 PCR 诊断技术相关专利申请的数量变化

Fig. 5 Changes of patent number related to tumor gene's PCR diagnostic technology in China

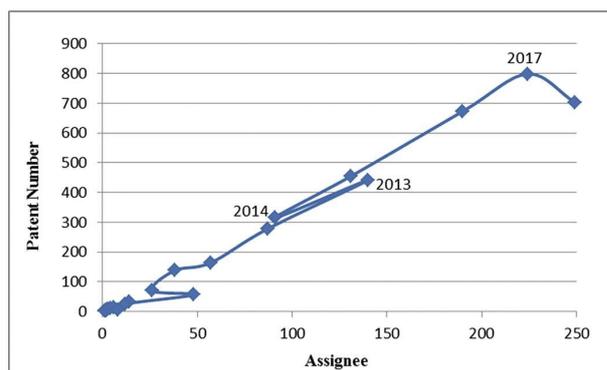


图 6 中国肿瘤基因 PCR 诊断技术相关专利的技术生命周期

Fig. 6 Technology life cycle of tumor gene's PCR diagnostic technology in China

249 件之多,达到了历年最高水平。除 2014 年,肿瘤基因 PCR 诊断技术领域申请的相关专利有短暂下滑,近五年都呈现出显著增长态势,这表明中国的肿瘤基因 PCR 诊断技术近五年投入和产出明显增加。

从专利年度申请趋势来看,目前,中国的肿瘤基因 PCR 诊断技术主要以荧光定量 PCR 技术为主,还未在肿瘤基因 PCR 诊断技术领域中有巢式与不对称 PCR 的专利申请。数字 PCR 技术从 2015 年申请了第一件相关专利以来,近两年也表现出,表明中国科研机构目前也比较看好数字 PCR 的研究与开发。这与全球肿瘤基因 PCR 诊断技术的发展规律相符。

3.2 中国专利生命周期

中国在肿瘤基因检测 PCR 技术处于起步期。从 2010 年起,在肿瘤基因检测 PCR 技术相关专利的发明人才开始超过 100 人,表明这时中国才较多的人投入到该领域的研究与开发

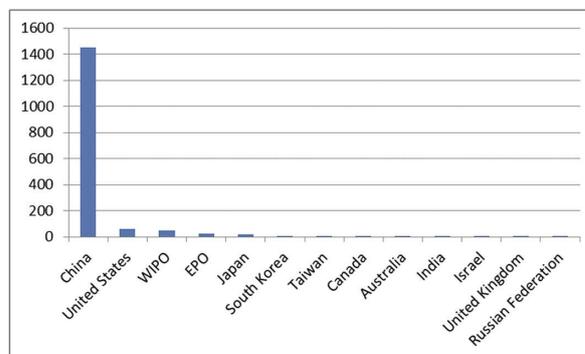


图 7 中国肿瘤基因 PCR 诊断技术同族专利分布情况

Fig. 7 Distribution of patent family in the field of tumor gene's PCR diagnostic technology in China

表 3 中国肿瘤基因 PCR 诊断技术专利申请数量前 15 位的研发机构

Table 3 Top 15 patent organizations in the field of tumor gene's PCR diagnostic technology in China

No.	Organization	Patent Number
1	Central South University	54
2	Shanghai Zhujian Biology Engineering Co., Ltd.	36
3	Zhejiang University	22
4	The Chinese University Of Hong Kong	21
5	Chinese Academy Of Sciences	20
6	Y.SHEN BIOINFO CO., LTD.	17
7	Zhongshan University	16
8	The Second Military Medical University	16
9	Hubei University Of Technology	16
10	Nanjing First Hospital	12
11	Micromedmark Biotech Co., Ltd	11
12	Peking University	11
13	Shanghai Jiaotong University	10
14	Fudan University	10
15	Wuhan University	10

中。2014 年,肿瘤基因检测 PCR 技术相关专利的申请数量显著下降,也导致了全球 2014 年的相关专利的申请数量的降低。但全球肿瘤基因检测 PCR 技术在 2014 年还是处于一个稳步增长的阶段,发明人数量并没有因为中国的大幅度下降而下降。

3.3 同族专利地区分布情况

中国肿瘤基因检测 PCR 技术相关的专利共在 13 个地区 / 组织接受了相关专利保护的申请。虽然中国在肿瘤基因检测 PCR 技术相关的专利申请数量很多,排名世界第二,但大部分的中国发明人都仅在中国进行专利保护。技术来源国来自中国的专利肿瘤基因检测 PCR 技术相关专利的同族专利在中国进行专利保护的有 1453 件,约占总数的 87.95%,在韩国、台湾、加拿大等地区 / 组织进行专利保护的数都低于 10 件。表明大部分的中国发明人没有意愿通过 PCT 专利途径申请国际专利,进而占有国际市场。中国发明人在肿瘤基因检测 PCR 技术领域的市场由专利保护申请来看,主要以中国为主。另一方面,中国有不少发明人申请专利仅仅是为了应对考核、评审等机制^[30],并不是为了市场应用而申请专利进行保护。

3.4 专利的主要申请机构情况

从表 3 可见,中国在肿瘤基因检测 PCR 技术领域的研究活动以中南大学为首,共申请了相关专利 54 件,其次是上海主键生物工程有限公司,为 36 件。但排名前 15 位的中国机构中,只有 3 家为企业,其余为大学医院等研究院所。这 3 家企业分别为:上海主键生物工程有限公司、北京洪深生物信息技术有限公司和北京命码生科科技有限公司。表 3 所示数据,表明中国在该领域的研发活动主要在大学等研究机构中开展,离真正临床应用和产业化、市场化还有相当的距离。在这种现状下,产学研合作可能是非常好的一条科技研究成果转化途径。产业园区可以做些具体工作和采取实用的措施将大学和企业联系起

来,共同推进成果的转化和应用。

4 小结

随着生命科学研究的飞速进展,肿瘤相关基因的检测技术在肿瘤的治疗与诊断中起到越来越大的作用。基因的改变和肿瘤的发生发展关系非常密切,基因检测目前主要用于诊疗,未来一定会在疾病预防上发挥重要作用。全球肿瘤基因 PCR 诊断技术几乎从 1990 年开始,才逐年有相关专利的申请。其中,荧光定量 PCR 技术占比较大,其专利申请数量约占肿瘤基因 PCR 诊断技术总量的三分之一。数字 PCR 技术,由于高灵敏度,高精度,高耐受性,绝对定量等优点,近三年发展迅速,有望在今后得到更快发展。全球肿瘤基因 PCR 诊断技术同族专利的申请地区 / 组织,主要以美国、世界知识产权组织(WIPO)和欧洲专利局(EPO)诸位。中国在肿瘤基因检测 PCR 技术领域起步较晚,几乎从 2000 年开始,才逐渐有相关专利的申请。但中国在肿瘤基因检测 PCR 技术领域发展迅速,目前在该领域相关专利的申请量仅次于美国,位居全球第二。相比全球肿瘤基因 PCR 诊断技术的同族专利布局,在中国申请的肿瘤基因 PCR 诊断技术的专利绝大多数都只在中国进行专利保护,并没有布局全球市场的意愿。这可能是由于中国的发明机构主要是大学院所,以基础科研为主。而国外发明机构中企业居多,以市场产品为主,会更重视全球的专利布局。

参考文献(References)

- [1] 陈万青,孙可欣,郑荣寿,等. 2014 年中国分地区恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2018, 27(1): 1-14
- [2] 柳洁,谢正兰,吴和平,等. 肿瘤基因治疗的现状与展望 [J]. 肿瘤药, 2011, 01(3): 166-168
- [3] 巫晓芳,刘充. 基因诊断技术进展 [J]. 检验医学与临床, 2010, 07(20): 2287-2288

- [4] 李小强, 曾照芳, 陈宏础. 基因诊断的新进展 [J]. 临床检验杂志, 2005, 23(1): 71-72
- [5] 李珊珊, 焦娟. 基因诊断技术及其临床应用 [J]. 医学综述, 2015, 21(17): 3198-3200
- [6] 李蓓, 包洪岩, 兰小筠. 基于专利地图的中美肿瘤基因诊断技术竞争力分析[J]. 中国医药生物技术, 2016, 11(1): 82-87
- [7] 李理, 文朝阳. 基因诊断在肿瘤早期诊断中的应用[C]. 郑州: 中医药生物化学与分子生物学通讯, 2008: 110-114
- [8] Zhang JX, Guo JM, Zhang TT, et al. Antiproliferative Phenothiazine Hybrids as Novel Apoptosis Inducers against MCF-7 Breast Cancer [J]. *Molecules*, 2018, 23(6): E1288
- [9] Sethawongsin C, Techangamsuwan S, Tangkawattana S, et al. Cell-based polymerase chain reaction for canine transmissible venereal tumor (CTVT) diagnosis [J]. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2016, 78(7): 1167-1173
- [10] Dietel M. Molecular Pathology: A Requirement for Precision Medicine in Cancer [J]. *Oncology Research and Treatment*, 2016, 39(12): 804-810
- [11] 张小珍, 尤崇革. 下一代基因测序技术新进展 [J]. 兰州大学学报 (医学版), 2016, 42(3): 73-80
- [12] Smith M. DNA Sequence Analysis in Clinical Medicine, Proceeding Cautiously[J]. *Frontiers in Bioscience*, 2017, 4: 24
- [13] Marzancola MG, Sedighi A, Li PC. DNA Microarray-Based Diagnostics[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2016, 1368: 161-178
- [14] 李兰莲, 王耿新, 孙培敏. PCR 技术在肿瘤研究与检测诊断方面的意义[J]. 医药产业资讯, 2016, 3(12): 56-60
- [15] Deepak S, Kottapalli K, Rakwal R, et al. Real-time PCR: revolutionizing detection and expression analysis of genes[J]. *Current Genomics*, 2007, 8(4): 234-251
- [16] Navarro E, Serrano-Heras G, Castaño MJ, et al. Real-time PCR detection chemistry[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2015, 439: 231-250
- [17] Ares M Jr. Basic quantitative polymerase chain reaction using real-time fluorescence measurements [J]. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2014, 10: 1118-1124
- [18] Thway K, Wren D, Lee J, et al. Evaluation of the optimal provision of formalin-fixed, paraffin-embedded material for reverse transcription-PCR in soft-tissue tumour diagnosis[J]. *Journal of Clinical Pathology*, 2017, 70(1): 20-24
- [19] Gibriel AA, Adel O. Advances in ligase chain reaction and ligation-based amplifications for genotyping assays: Detection and applications [J]. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 2017, 773: 66-90
- [20] Sun Y, Lu X, Su F, et al. Real-time fluorescence ligase chain reaction for sensitive detection of single nucleotide polymorphism based on fluorescence resonance energy transfer [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, 74: 705-710
- [21] 陈明洁, 方倜, 柯涛, 等. 多重 PCR- 一种高效快速的分子生物学技术[J]. 武汉理工大学学报, 2005, 27(10): 33-36
- [22] Ward DG, Baxter L, Gordon NS, et al. Multiplex PCR and Next Generation Sequencing for the Non-Invasive Detection of Bladder Cancer[J]. *Plos One*, 2016, 11(2): e014975
- [23] Quan PL, Sauzade M, Brouzes E. dPCR: A Technology Review[J]. *Sensors (Basel)*, 2018, 18(4): E1271
- [24] Gutteridge A, Rathbone VM, Gibbons R, et al. Digital PCR analysis of circulating tumor DNA: a biomarker for chondrosarcoma diagnosis, prognostication, and residual disease detection [J]. *Cancer Medicine*, 2017, 6(10): 2194-2202
- [25] Tafvizi F, Fard ZT. Detection of human cytomegalovirus in patients with colorectal cancer by nested-PCR [J]. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2014, 15(3): 1453-1457
- [26] Sato S, Kabeya H, Negishi A, et al. Molecular survey of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* in pet cats across Japan by species-specific nested-PCR [J]. *Epidemiology and Infection*, 2017, 145(13): 2694-2700
- [27] Hong T, Wang T, He Z, et al. Qualitative and quantitative detection of methylation at CpG sites using the fluorescein-dGTP incorporated asymmetric PCR assay strategy[J]. *Chemical Communications*, 2014, 50(50): 6653-6655
- [28] Heiat M, Ranjbar R, Latifi AM, et al. Essential strategies to optimize asymmetric PCR conditions as a reliable method to generate large amount of ssDNA aptamers [J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2017, 64(4): 541-548
- [29] 傅俊英, 赵蕴华, 王道仁, 等. 基于论文和专利的中美脑科学领域对比研究[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(1): 170-176
- [30] 傅俊英, 郑佳, 袁芳. 中国 PCT 国际专利申请后的状况分析 [J]. 全球科技经济瞭望, 2018, 33(8): 38-45

(上接第 197 页)

- [27] Alturkmani HJ, Pessetto ZY, Godwin AK. Beyond standard therapy: drugs under investigation for the treatment of gastrointestinal stromal tumor[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2015, 24(8): 1045
- [28] Group ESNW. Gastrointestinal stromal tumours: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up [J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(5): 21-26
- [29] Cuaron JJ, Goodman KA, Lee N, et al. External beam radiation therapy for locally advanced and metastatic gastrointestinal stromal tumors[J]. *Radiat Oncol*, 2013, 8(1): 1-8
- [30] Gatto L, Nannini M, Saponara M, et al. Radiotherapy in the management of gist: state of the art and new potential scenarios[J]. *Clin Sarcoma Res*, 2017, 7(1): 1