

An epigenetic marker panel for recurrence risk prediction of low grade papillary urothelial cell carcinoma (LGPUCC) and its potential use for surveillance after transurethral resection using urine

Supplementary Material

Sup Table 1: Clinicopathological and molecular characteristics of urine samples from UCC patients tested

Study identification	Cytology	Cystoscopy	Recurrence	Grade	<i>CCNA1</i>	<i>CCND2</i>	<i>CALCA</i>	Any positive
1	+	+	-	LGUCC	NA	-	-	-
2	+	+	-	LGUCC	NA	-	-	-
3	+	+	-	LGUCC	NA	-	-	-
4	+	-	-	LGUCC	NA	-	-	-
5	+	NA	-	LGUCC	NA	-	+	+
6	+	-	-	LGUCC	NA	-	+	+
7	+	+	+	LGUCC	NA	-	+	+
8	+	+	-	LGUCC	NA	-	-	-
9	+	NA	-	LGUCC	NA	-	-	-
10	+	-	NA	LGUCC	NA	+	+	+
11	+	+	-	LGUCC	NA	+	+	+
12	+	+	-	LGUCC	NA	+	+	+
13	+	NA	-	LGUCC	NA	-	+	+
14	+	+	NA	LGUCC	NA	-	-	-
15	+	+	+	LGUCC	-	-	+	+
16	+	+	+	LGUCC	NA	-	-	-
17	+	+	-	LGUCC	-	+	+	+
18	+	+	-	LGUCC	+	+	+	+
19	+	+	-	LGUCC	+	-	-	+
20	+	+	-	LGUCC	+	+	+	+
21	+	-	-	LGUCC	-	+	+	+
22	+	+	-	LGUCC	+	-	-	+
23	+	+	-	LGUCC	+	-	+	+
24	+	+	-	LGUCC	-	-	+	+
25	+	+	-	LGUCC	-	+	+	+
26	+	+	+	LGUCC	-	-	+	+
27	+	+	-	LGUCC	-	-	-	-
28	+	+	-	LGUCC	+	-	+	+
29	+	+	-	LGUCC	+	+	+	+

30	+	+	+	LGUCC	NA	-	-	-
31	+	+	-	LGUCC	+	-	+	+
32	+	+	-	LGUCC	+	-	+	+
33	+	-	NA	LGUCC	+	+	+	+
34	+	+	-	LGUCC	-	-	+	+
35	+	+	-	LGUCC	-	+	+	+
36	+	+	-	LGUCC	-	+	+	+
37	+	+	-	LGUCC	-	+	-	+
38	+	+	-	LGUCC	-	+	+	+
39	+	+	-	LGUCC	-	-	+	+
40	+	+	-	LGUCC	-	+	+	+
41	-	-	-	LGUCC	-	-	+	+
42	-	+	+	LGUCC	-	-	+	+
43	-	+	-	LGUCC	-	-	-	-
44	-	+	-	LGUCC	-	-	+	+
45	-	+	+	LGUCC	-	-	+	+
46	-	+	+	LGUCC	-	-	+	+
47	-	+	NA	LGUCC	-	-	+	+
48	-	-	-	LGUCC	-	-	+	+
49	-	+	-	LGUCC	+	-	+	+
50	-	+	+	LGUCC	-	-	-	-
51	-	+	-	LGUCC	-	-	-	-
52	-	+	-	LGUCC	+	-	+	+
53	-	+	-	LGUCC	+	-	-	+
54	-	-	+	LGUCC	+	-	+	+
55	-	+	+	LGUCC	+	+	+	+
56	-	+	+	LGUCC	+	-	+	+
57	-	+	-	LGUCC	-	-	-	-
58	-	+	-	LGUCC	+	+	+	+
59	-	+	-	LGUCC	-	-	-	-
60	-	+	-	LGUCC	+	+	+	+
61	-	+	-	LGUCC	+	-	+	+
62	-	+	-	LGUCC	+	-	+	+
63	-	+	-	LGUCC	+	-	+	+
64	-	+	-	LGUCC	-	-	+	+
65	-	+	-	LGUCC	-	-	+	+
66	-	+	-	LGUCC	+	+	+	+
67	-	+	-	LGUCC	NA	-	+	+
68	-	+	-	LGUCC	NA	+	+	+
69	-	+	-	LGUCC	NA	+	+	+
70	-	+	-	LGUCC	NA	+	+	+

71	NA	NA	NA	NA	NA	-	+	+
72	NA	+	NA	LGUCC	NA	-	-	-
73	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-
74	NA	+	-	LGUCC	NA	+	+	+
75	NA	+	+	HGUCC	NA	-	-	-
76	-	-	+	HGUCC	NA	-	-	-
77	-	-	+	HGUCC	NA	-	-	-
78	NA	NA	NA	NA	NA	-	+	+
79	NA	NA	NA	NA	NA	-	+	+
80	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-
81	NA	NA	NA	NA	NA	+	+	+
82	-	-	-	NA	NA	-	+	+
83	NA	NA	NA	NA	NA	-	+	+
84	NA	NA	NA	NA	NA	-	+	+
85	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-
86	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-
87	-	+	+	HGUCC	NA	-	-	-
88	NA	+	-	LGUCC	+	+	-	+
89	-	+	+	HGUCC	+	+	-	-
90	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-
91	+	-	+	HGUCC	-	-	-	-
92	NA	NA	NA	HGUCC	NA	-	-	-
93	NA	NA	NA	LGUCC	NA	-	+	+
94	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-
95	-	1	1	HGUCC	NA	-	+	+
96	NA	NA	NA	LGUCC	+	-	+	+
97	+	+	-	HGUCC	-	-	-	-
98	NA	NA	NA	NA	+	-	-	+
99	-	+	-	HGUCC	-	-	-	-
100	-	+	-	HGUCC	+	-	-	+
101	NA	NA	NA	HGUCC	-	-	+	+
102	NA	NA	NA	LGUCC	+	-	+	+
103	NA	+	-	LGUCC	-	+	+	+
104	NA	NA	NA	NA	+	-	-	+
105	2	2	2	HGUCC	-	-	-	-
106	NA	NA	NA	LGUCC	-	-	-	-
107	NA	NA	NA	NA	NA	-	+	+
108	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-
109	NA	NA	NA	NA	+	-	+	+
110	-	+	+	HGUCC	-	-	+	+
111	-	+	-	HGUCC	-	-	+	+

112	NA	NA	NA	HGUCC	+	+	+	+	+
113	-	+	=	HGUCC	-	-	-	-	-
114	NA	NA	NA	NA	+	-	+	+	+
115	NA	NA	NA	NA	+	-	-	-	+
116	NA	+	-	LGUCC	-	-	+	+	+
117	NA	+	+	LGUCC	-	-	+	+	+
118	NA	+	-	LGUCC	+	+	+	+	+
119	NA	+	-	LGUCC	+	-	+	+	+
120	1	+	+	HGUCC	-	-	-	-	-
121	NA	-	-	HGUCC	+	-	-	-	+
122	NA	NA	NA	LGUCC	-	-	-	-	-
123	NA	-	-	LGUCC	-	+	+	+	+
124	NA	+	-	LGUCC	NA	+	+	+	+
125	NA	+	-	LGUCC	NA	-	+	+	+
126	NA	+	-	HGUCC	+	+	+	+	+
127	NA	+	-	LGUCC	+	-	+	+	+
128	NA	-	-	LGUCC	-	+	+	+	+
129	NA	-	-	HGUCC	-	-	-	-	-
130	NA	-	-	LGUCC	-	+	+	+	+
131	NA	NA	NA	HGUCC	-	+	+	+	+
132	NA	NA	NA	LGUCC	+	+	+	+	+
133	NA	NA	NA	LGUCC	+	-	-	-	-
134	NA	+	-	LGUCC	-	-	+	+	+
135	NA	-	-	LGUCC	NA	-	-	-	-
136	-	-	-	HGUCC	NA	-	+	+	+
137	NA	-	-	LGUCC	NA	-	+	+	+
138	NA	+	-	LGUCC	NA	+	+	+	+
139	NA	-	-	LGUCC	NA	-	+	+	+
140	NA	+	-	LGUCC	NA	-	+	+	+
141	NA	+	-	LGUCC	NA	+	+	+	+
142	NA	+	-	LGUCC	NA	+	+	+	+
143	NA	NA		NA	NA	-	-	-	-
144	+	+	+	HGUCC	NA	-	-	-	-
145	NA	+	-	HGUCC	NA	-	-	-	-
146	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-
147	-	+	+	HGUCC	NA	-	-	-	-
148	NA	+	-	LGUCC	+	-	+	+	+

NA, sample/data was not available

Supplemental Table 2.**A. Primers and probes sequences and annealing temperatures (T°C) used for QMSP.**

Gene	Forward 5'-3' (primer)	Probe 5'-3' (6-FAM-5'- 3'-6-TAMRA)	Reverse 5'-3' (primer)	T°C
<i>βActin</i>	TGGTGATGGAGGAGGT TTAGTAAGT	ACCACCAACCAACACACA ATAACAAACACA	AACCAATAAAACCTAC TCCTCCCTTAA	60
<i>AIM1</i>	CGCGGGTATTGGATGTT AGT	GGGAGCGTTGCGGATTAT TCGTAG	CCGACCCACCTATACG AAAA	60
<i>ARF</i>	ACGGGCCTTTCGGTAG TT	CGACTCTAACCCCTACGC ACGCGAAA	CCGAACCTCCAAAATC TCGA	60
<i>CALCA</i>	GTTTGGAAGTATGAG GGTGACG	ATTCCGCCAATACACAAAC AACCAATAAACG	TTCCCGCCGCTATAAA TCG	60
<i>CCNA1</i>	TCGCGGCGAGTTATTG G	CGTTATGGCGATGCGGTT TCGG	CCGACCGCGACAAACG	60
<i>CCND2</i>	TTTGATTTAAGGATGCG TTAGAGTACG	AATCCGCCAACACGATCG ACCCA	ACTTTCTCCCTAAAAAA CCGACTACG	60
<i>NID2</i>	GCGGTTTTAAGGAGTT TTATTTTC	ACGCCGCTACCCCCAAACC TTACGA	CTACGAAATTCCCTTT ACGCT	60
<i>RARβ2</i>	GGGATTAGAATTTTTA TGCAGTTGT	TGTCGAGAACGCGAGCGA TTCG	TACCCGACGGATACCC AAAC	60
<i>TIMP3</i>	GCGTCGGAGGTTAAGG TTGTT	AACTCGCTCGCCCCGCCGA A	CTCTCCAAAATTACCG TACGCG	62

B. Primers sequences and annealing temperatures (T°C) used for Quantitative real-time RT-PCR.

Gene	Forward 5'-3' (primer)	Reverse 5'-3' (primer)	T°C
<i>GAPDH</i>	CGTCTTCACCACCATGG AGA	CGGCCATCACGCCACAGT TT	58
<i>CCNA1</i>	CTCCTGTCTGGTGGGAG GA	TCAGGTGTTATTCTGGATC AG	58
<i>CCND2</i>	CGCAAGCATGCTCAGA CCTT	CCACCGTCGATGATCGCA	58