



# (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107475213 A

(43)申请公布日 2017.12.15

(21)申请号 201610403519.3

G01N 33/574(2006.01)

(22)申请日 2016.06.08

(71)申请人 中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所

地址 215123 江苏省苏州市苏州工业园区  
独墅湖高教区若水路398号

(72)发明人 马宏伟 忻寅强

(74)专利代理机构 南京利丰知识产权代理事务所(特殊普通合伙) 32256

代理人 王锋

(51)Int.Cl.

C12N 9/10(2006.01)

C12N 15/54(2006.01)

G07K 16/40(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

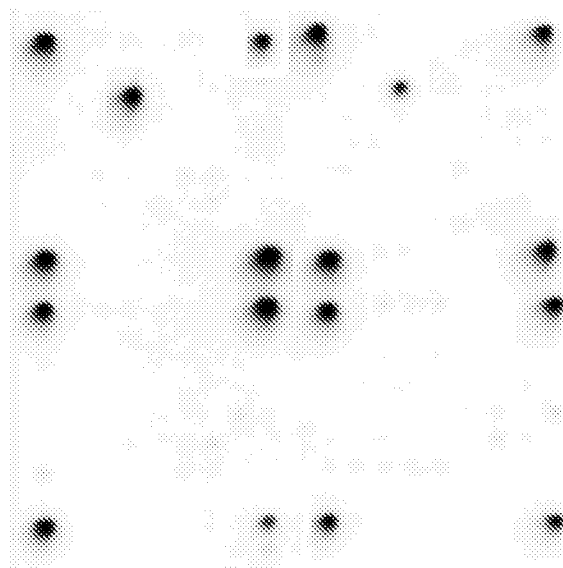
权利要求书1页 说明书7页  
序列表1页 附图2页

## (54)发明名称

用于检测血清中MGMT抗体的多肽,检测器件和检测试剂盒

## (57)摘要

本发明涉及用于检测血清中MGMT抗体的多肽,检测器件和检测试剂盒。本发明的多肽由SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列构成。将本发明的多肽应用与检测血清中MGMT抗体,具有高度特异性和灵敏性,可对TMZ产生耐药性提供实验室判定依据,从而用于指导临床化疗用药。本发明的多肽可应用于检测血清中MGMT抗体的检测器件或检测试剂盒。



1. 一种用于检测血清中MGMT抗体的多肽,其氨基酸序列如SEQ ID NO:1所示,即:  
VPALHHPVFQQESFTRQVLW。
2. 编码权利要求1所述的多肽的核酸。
3. 包含权利要求2所述的核酸的表达载体。
4. 导入权利要求3所述的表达载体的宿主细胞。
5. 抗权利要求1所述的多肽的抗体。
6. 一种检测器件,其包括:  
固体载体,以及  
连接于该固体载体上的权利要求1所述的多肽。
7. 根据权利要求2所述的检测器件,其中,所述固体载体是IPDMS薄膜。
8. 一种检测试剂盒,其包括权利要求1所述的多肽、或者权利要求6或7所述的检测器件。
9. 权利要求1所述的多肽在制备用于检测血清中MGMT抗体的试剂盒或检测器件中的用途。

## 用于检测血清中MGMT抗体的多肽,检测器件和检测试剂盒

### 技术领域

[0001] 本发明属于生物检测领域,主要涉及用于检测血清中MGMT抗体的多肽,检测器件和检测试剂盒。

### 背景技术

[0002] 胶质母细胞瘤(Glioblastoma multiforme GBM)是最具侵袭性的人脑高度恶性肿瘤,临床诊断后的患者平均生存期12~15月,因此一直是临床治疗的难点。临床治疗中,抗肿瘤药物因为获得性耐药、高毒性、血脑屏障(blood brain barrier BBB)和肿瘤内和肿瘤周围又存在一定数量耐药的胶质瘤干细胞(glioma stem cells GSCs)等诸多原因,最终导致化疗失败。尽管到目前为止,二代烷化剂-替莫唑胺(Temozolomide TMZ)能有效透过BBB,而且毒副作用小,国际标准化的Stupp化疗方案被认为是目前最好的临床治疗胶质母细胞瘤的化疗方案,一部分GBM患者生存期从此获益。但遗憾的是,即使应用了上述手术、放疗和化疗的综合治疗,胶质母细胞瘤的平均生存期仍然只有14.6月,5年生存率只有9.8%。大家公认,导致TMZ标准化疗失败的根本原因是肿瘤中存在耐药的胶质瘤细胞和胶质瘤细胞,这些耐药细胞的O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤DNA甲基转移酶(O<sup>6</sup>-methylguanine DNAmethyltransferase, MGMT)在细胞耐药性上起着关键的作用。

[0003] MGMT是一种高效的DNA修复酶,能够修复化疗中烷化剂药物对肿瘤细胞DNA所造成的损伤。研究表明,当MGMT在胶质母细胞瘤组织中高表达,肿瘤细胞对烷化剂就出现耐药;或其MGMT发生甲基化,肿瘤细胞表现为对TMZ的敏感性。目前临床把肿瘤组织中MGMT的表达和MGMT的甲基化作为判断新发GBM对TMZ治疗敏感性的指标。因此,必须采集到GBM的组织,进行MGMT甲基化分析,以及应用免疫组织化学和Western-blot对组织中MGMT蛋白表达。但临床实际中存在二种情况,一是无法获得肿瘤组织或只有少量组织,无法获取完整的耐药性信息;二是部分GBM会TMZ治疗中出现继发性耐药。在基础研究中发现GBM细胞株可在TMZ培养下成功地培育出耐TMZ的细胞株,并高效表达MGMT,这也是模拟了临床实际治疗中部分患者出现的继发性耐药。正如临床抗菌素治疗细菌感染中,出现耐药的细菌株,导致抗菌素治疗的失败。

[0004] 因此,胶质母细胞瘤治疗的临床实践中,迫切需要开发一种GBM的伴侣MGMT检测试剂盒产品,通过监测患者血清的方法来明确肿瘤对TMZ的耐药性,既解决了肿瘤组织无或不足所导致的临床使用TMZ的盲目性,又解决了肿瘤治疗过程中判断可能出现的获得性耐药的问题。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种用于检测血清中MGMT抗体的多肽、抗该多肽的抗体、包含该多肽的检测器件、包含该多肽或该检测器件的检测试剂盒、以及该多肽在检测血清中MGMT抗体中的用途、该多肽在制备用于检测血清中MGMT抗体的检测器件或检测试剂盒中的用途。

[0006] 即,本发明包含下述技术方案:

[0007] 1.一种用于检测血清MGMT抗体的多肽,其氨基酸序列如SEQ ID NO:1所示,即:VPALHHPVFQQESFTRQVLW。。

[0008] 2.编码权利要求1所述的多肽的核酸。

[0009] 3.包含权利要求2所述的核酸的表达载体。

[0010] 4.导入权利要求3所述的表达载体的宿主细胞。

[0011] 5.抗权利要求1所述的多肽的抗体。

[0012] 6.一种检测器件,其包括:

[0013] 固体载体,以及

[0014] 连接于该固体载体上的权利要求1所述的多肽。

[0015] 7.根据权利要求2所述的检测器件,其中,所述固体载体是IPDMS薄膜。

[0016] 8.一种检测试剂盒,其包括权利要求1所述的多肽、或者权利要求2或3所述的检测器件。

[0017] 9.权利要求1所述的多肽在制备用于检测血清中MGMT抗体的试剂盒或检测器件中的用途。

[0018] 将本发明的多肽应用与检测血清中MGMT抗体,具有高度特异性和灵敏性,可对TMZ产生耐药性提供实验室判定依据,从而用于指导临床化疗用药。本发明的多肽可应用于检测血清中MGMT抗体的检测器件或检测试剂盒。

## 附图说明

[0019] 图1对IPDMS薄膜的制作过程进行说明的示意图。

[0020] 图2说明多肽微阵列点样模式的示意图。

[0021] 图3是显示对健康正常人或非胶质母细胞瘤病人血清进行检测的结果的照片。

[0022] 图4是显示对胶质母细胞瘤病人血清进行检测的结果的照片。

## 具体实施方式

[0023] 本发明的多肽

[0024] 本发明的多肽是20肽。本发明的20肽由SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列构成,即:VPALHHPVFQQESFTRQVLW。如实施例所示,其用于检测血清中MGMT抗体,对胶质母细胞瘤病人的血清呈阳性反应,而对健康正常人或非胶质母细胞瘤病人血清呈阴性反应。因此,该20肽作为检测胶质母细胞瘤病人血清中MGMT抗体的检测器件和试剂盒是有用的。

[0025] 本发明的多肽在有市售的情况下,可以使用市售品,此外,还可以适宜采用(1)化学合成方法、或(2)酶反应合成方法等公知方法来获得,其中化学合成更为简便。在化学合成本发明的多肽情况下,通过使用肽合成仪合成或者半合成该多肽来进行。作为化学合成方法,可以列举出例如肽固相合成法等。这样合成的肽可以采用常规手段例如离子交换色谱、反相高效液体色谱、亲和色谱等进行纯化。这样的肽固相合成方法以及其后的肽纯化都是本技术领域公知的。

[0026] 此外,在通过酶反应生产本发明的多肽的情况下,可以采用例如国际公开小册子W02004/011653号所述的方法。即,可以这样来生产:将一方的氨基酸或二肽的羧基末端被

酯化或酰胺化而得到的氨基酸或二肽、与氨基酸处于游离状态的氨基酸(例如羧基保护的氨基酸)在肽合成酶的存在下进行反应,生成的二肽或三肽。作为肽合成酶,可以列举出:具有生成肽的能力的微生物的培养物、由该培养物分离的微生物菌体、或该微生物的菌体处理物、或该微生物来源的肽合成酶。

[0027] 而且,除了上述的酶方法、化学合成方法以外,有些情况下,本发明的多肽还可能是天然存在(但未被分离出来)的。在天然存在的情况下,还可以将其分离出来。

[0028] 本发明的核酸、表达载体宿主细胞,以及抗本发明的多肽的抗体

[0029] 本发明还涉及编码该多肽的核酸(本发明的核酸)、包含该核酸的表达载体(本发明的表达载体)、导入了该表达载体的宿主细胞(本发明的宿主细胞),它们优选可用于生产本发明的多肽。本发明的核酸、表达载体、宿主细胞可以采用本领域技术人员公知的方法来制备。本发明还涉及抗本发明的多肽的抗体,其可用于检测本发明的抗体。本发明的抗体可以采用本领域技术人员公知的方法来制备。

[0030] 本发明的检测器件

[0031] 本发明还涉及一种检测器件(本发明的检测器件),其包括固体载体、以及连接于该固体载体上的本发明的多肽。

[0032] 在本发明中,对固体载体没有特殊限制,只要是作为固体或不溶性材料(例如是可以通过过滤、沉淀、磁性分离等从反应混合物中分离的材料)的载体即可。

[0033] 构成固体载体的材料包括但不限于:硅胶(聚二甲基硅氧烷,PDMS)、纤维素、特氟隆™、硝基纤维素、琼脂糖、葡聚糖、壳聚糖、聚苯乙烯、聚丙烯酰胺、聚酯、聚碳酸酯、聚酰胺、聚丙烯、尼龙、聚偏二氟乙烯、胶乳、二氧化硅、玻璃、玻璃纤维、金、铂、银、铜、铁、不锈钢、铁氧体、硅晶片、聚乙烯、聚乙烯亚胺、聚乳酸、树脂、多糖类、蛋白(白蛋白等)、碳或它们的组合等。

[0034] 固体载体的形状包括但不要限于:珠子、磁珠、薄膜、微细管、滤膜、板、微量板、碳纳米管、传感器芯片等。正如本技术领域公知的那样,薄膜或板等平坦的固体载体上可以设置凹坑、沟槽、滤膜底部等。

[0035] 在本发明中,磁珠可以具有约25nm~约1mm范围的球体直径。在优选的实施方式中,磁珠具有约50nm~约10 $\mu$ m范围的直径。磁珠的尺寸可以根据特定的用途来进行选择。

[0036] 在本发明中,由Sepharose等高交联球形琼脂糖制成的珠子具有约24 $\mu$ m~约165 $\mu$ m范围的直径。优选地,高交联球形琼脂糖珠具有约24 $\mu$ m~约44 $\mu$ m范围的直径。高交联球形琼脂糖珠的尺寸可以根据特定的用途来进行选择。

[0037] 具有疏水性表面的固体载体的例子包括可从Polysciences,Warrington,PA或Spherotech,Liberville,IL购买的制品等聚苯乙烯胶乳珠。

[0038] 二氧化硅(SiO<sub>2</sub>)-处理或二氧化硅(SiO<sub>2</sub>)基的固体载体的例子包括可从Polysciences,Warrington,PA购买的超常磁性二氧化硅珠等,其可以用于捕捉核酸(例如DNA)。或者,还可以使用可从Dyna1 Biotech购买的M-280等。

[0039] 具有亲水性表面的磁珠可用于捕捉增殖期的细菌细胞、核酸以及其它成分。作为该磁珠的例子,可以列举出Polysciences,Warrington,PA销售的珠子(名称:Biomag(注册商标)羧基)、或者Bangs Laboratory,Inc.,Fishers,IN的名称为MC02N/2928的珠子。或者,可以使用Dyna1 Biotech销售的M-270等。

[0040] 在本发明的一个优选实施方式中,所述固体载体是IPDMS薄膜。苏州偲聚生物材料有限公司开发的一种硅橡胶材质的微阵列固体支撑材料(IPDMS薄膜,参见中国专利CN101265329A)。这种材料是以生物学研究常用的PDMS为基础,在其中加入特定的引发剂成份(使该材料可通过表面引发聚合反应(SIP)实现表面功能化修饰),再经过聚乙二醇甲基丙烯酸酯(poly(oligo(ethylene glycol)methacrylate),pOEGMA)表面修饰获得的。IPDMS薄膜具有优秀的抗蛋白质非特异性吸附(Nonspecific protein adsorption,NPA)能力,可以将复杂蛋白免疫检测中的非特异性蛋白质吸附控制到接近“绝对0”水平(接近或低于仪器的检测极限),不仅可以免除封闭和多次清洗的麻烦,还可以通过使用更强的信号扩增手段来提高蛋白质微阵列的灵敏性。而且其硅橡胶的本质赋予了该材料较强的机械性能和良好的可操作性。苏州偲聚公司已经成功地将IPDMS薄膜应用于11个肿瘤标志物组成的多指标联检微阵列ELISA试剂盒,实现了高通量和高灵敏的检测,证明了这种材料是一种优秀的蛋白质微阵列固体支撑材料。同时,这种材料还具有表面性质可调的特性,可以通过控制修饰反应时间在一定范围内调整其表面形貌。

[0041] 本发明的多肽与固体载体的连接可以采用本领域技术人员公知的多肽与固体载体的连接方法来进行。例如,对于蛋白质/多肽与改性硅胶表面的连接而言,可以通过1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)-碳化二亚胺[1-ethyl-3-(3-dimethyl aminopropyl)carbodiimide,EDC]和N-羟基琥珀酰亚胺(N-hydroxysuccinimide,NHS)的反应将改性硅胶表面高分子链上的羧基(-COOH)基团改为活化基团,该活化基团可与蛋白/多肽上所带的氨基(-NH<sub>2</sub>)反应从而实现将蛋白/多肽固定于固体载体表面。

[0042] 对于点样时使用的点样液中本发明的多肽的浓度没有特殊限制,本领域技术人员可以依常规选择,优选为1 $\mu$ g~1000 $\mu$ g/mL,更优选10 $\mu$ g~500 $\mu$ g/mL。此外,对于本发明的多肽在固体载体上分布的密度没有特殊限制,本领域技术人员可以依常规选择,优选为1~100点/10mm<sup>2</sup>,更优选5~50点/10mm<sup>2</sup>。

[0043] 本发明的检测器件可以用于检测血清中MGMT抗体、或者制备用于检测血清中MGMT抗体的试剂盒。

[0044] 本发明的检测试剂盒

[0045] 本发明还涉及一种检测试剂盒(本发明的检测试剂盒),其包括本发明的多肽或检测器件。该检测试剂盒优选用于检测血清中MGMT抗体。

[0046] 本发明的检测器件或本发明的多肽是本发明的检测试剂盒的要件。本发明的检测试剂盒还可以包括:

[0047] 1.配好的血清稀释液或血清稀释液组分溶液:血清稀释液,例如有北京赛驰生物科技有限公司的样本稀释液(产品编号070021-S2)、郑州博威嘉生物科技有限公司的加样变色样本稀释液(产品编号bwj010103)等。该血清稀释液用来稀释血清,试剂盒检测的血清要稀释适当倍数,例如2~200倍,优选10~100倍。

[0048] 本发明的检测试剂盒还可以包括:

[0049] 2.浓缩洗液:固体载体表面孵育血清及酶标二抗后,需用洗液清洗掉固体载体表面未结合的抗体和酶标二抗。浓缩洗液例如是1%的吐温20水溶液,使用时需稀释2~40倍、优选5~20倍。

[0050] 本发明的检测试剂盒还可以包括:

[0051] 3. 酶标二抗溶液: 胶质母细胞瘤病人血清中的MGMT抗体可与固体载体(例如IPDMS薄膜)上的本发明的多肽结合, 酶标二抗可与抗体结合, 而二抗上的标记物可与发光底物反应, 从而发出可检测的光。酶标二抗可以是例如辣根过氧化物酶标记的羊抗人IgG。作为酶标二抗溶液, 可以列举出北京中杉金桥生物技术有限公司生产的辣根过氧化物酶标记的山羊抗人IgG(H+L), 产品编号ZB-2304。对酶标二抗在酶标二抗溶液中的浓度没有特殊限制, 可以是例如1ng~1000ng/mL。

[0052] 本发明的检测试剂盒还可以包括:

[0053] 4. 发光液组分溶液: 发光液可与酶标二抗上标记的辣根过氧化物酶反应, 使得反应发出仪器可检测到的化学光。发光液由两种溶液混合而成, 分别是A液—过氧化氢溶液, 及B液—发光氨溶液。发光氨(鲁米诺)只有用氧化剂处理过才会发光。通常使用双氧水和一种氢氧化物碱的混合水溶液作为激发剂。在辣根过氧化物酶催化下, 双氧水分解为氧气和水:

[0054]  $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$

[0055] 鲁米诺与氢氧化物反应时生成了一个双负离子, 它可被过氧化氢分解出的氧气氧化, 产物为一个有机过氧化物。该过氧化物很不稳定, 立即分解出氮气, 生成激发态的3-氨基邻苯二甲酸。激发态至基态转化中, 释放的能量以光子的形式存在, 波长位于可见光的蓝光部分。发光液组分溶液的例子例如Thermo Scientific公司的SuperSignal® ELISA Femto Maximum Sensitivity Substrate, 货号37074。

[0056] 本发明的检测试剂盒还可以包括:

[0057] 5. 一个或两个以上的反应腔体(例如中国专利授权公告CN202054829U)。

[0058] 本发明的检测试剂盒还可以包括:

[0059] 6. 其他用于检测胶质母细胞瘤相关疾病的检测分子(例如多肽、蛋白质、核酸等)。

[0060] 本发明的检测试剂盒还可以包括:

[0061] 7. 使用说明书。

[0062] 实施例

[0063] 以下, 通过实施例对本发明进行更具体的说明, 但并不是对本发明技术范围的限定。通过本说明书的记载, 本领域技术人员可以容易的对本发明进行修饰/改变, 这些包含在本发明的技术范围内。

[0064] 1. 20肽的制备与确认

[0065] 实施例中使用的20肽具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列, 由上海吉尔生化有限公司合成, 该多肽的表征可通过氢谱和质谱确认合成了所述多肽。液相色谱法检测纯度: 97.32%(面积归一法); 质谱法检测(ESI-MS): 计算分子量: 2419.77, 测试值2420.12。

[0066] 2. 检测器件的制备

[0067] 检测芯片是以IPDMS薄膜为固体支撑材料, 在其上通过点样固定多肽溶液制备而成。改性硅胶是在传统的聚二甲基硅氧烷材料中加入带烯烃末端的、表面引发聚合反应的引发剂, 并通过热交联(硅氢键键合)固定到聚二甲基硅氧烷的三维结构中, 得到一种新的材料即IPDMS薄膜。其制作过程如图1所示。

[0068] 其中的A和B为聚二甲基硅氧烷的两个组分, 聚二甲基硅氧烷(Poly(dimethylsiloxane), Sylgard 184)购买自美国道康宁(DowCorning)公司, 包含液态组分A

(成分为金属铂催化剂与带乙烯基的二甲基硅氧烷高分子前体混合物)和交联剂B(成分为带有乙烯基和Si-H基团的二甲基硅氧烷前体)两种成分。C为末端带乙烯基的引发剂,购于杭州东伟公司。最后修饰上的高分子是寡聚乙二醇甲基丙烯酸酯单体(Oligo(ethylene glycol)methacrylate,以下简称OEGMA,分子量 $M_w=526$ )购买于Aldrich。将聚二甲基硅氧烷前体A和交联剂B与带乙烯基末端的引发剂C以A:B:C=10:1:0.5比例充分混合。通过固化反应制成透明的弹性硅橡胶,然后通过SIP技术进行表面修饰即可得到IPDMS薄膜。实验表明,IPDMS薄膜的表面有足够高密度的、通过共价键固定的引发剂,其可以通过表面引发聚合反应(SIP)实现表面高分子修饰。使用poly(OEGMA)(聚乙二醇甲基丙烯酸酯)进行反应获得聚乙二醇(Polyethylene Glycol, PEG)修饰的表面,实现较强的抗蛋白非特异性吸附的能力。

[0069] 制好的IPDMS薄膜需保存在4℃冰箱中。

[0070] 采用晶芯®PersonalArrayer™ 16个人点样仪在改性硅胶上制备多肽微阵列,过程为:

[0071] 1)预处理

[0072] 将IPDMS薄膜薄片( $15 \times 15 \text{mm}^2$ )浸泡在活化液中,30min后取出用去离子水淋洗3次,用氮气吹干,马上用于点样。

[0073] 2)点样

[0074] 将点样液稀释好并转移到384孔板相应的微孔中,将带样本的384孔板置于点样仪基台上,同时将预处理的改性硅胶薄片置于点样仪的基台上,马上进行点样。点样环境条件为室温(25℃),湿度设定为50%。制成的多肽微阵列上每个点的点样量约为0.6nL,样点半径为200 $\mu\text{m}$ 。

[0075] 3)化学固定

[0076] 刚制好的多肽微阵列要放在恒温恒湿箱(26℃,60%湿度)中固定至少6h。化学固定过程如下。

[0077] 首先通过点样仪将包含有捕获多肽分子的缓冲液点在改性硅胶薄膜上,接着缓冲液开始蒸发,捕获多肽分子与IPDMS薄膜表面亲密接触并相互作用,通过化学结合,改性硅胶表面的poly(OEGMA)高分子的末端-COOH与多肽分子的-NH<sub>2</sub>形成稳定共价键,进而将有化学活性的多肽分子固定在IPDMS薄膜表面。

[0078] 5)装配

[0079] 固定6h的多肽微阵列必须在两天内装配好。首先通过背胶将IPDMS薄膜薄片贴在专门的反应柱上,盖上反应腔体。一个反应器由两个反应柱和一个反应腔体组成。

[0080] 6)保存

[0081] 装配好的多肽微阵列,需要抽真空密封,保存在4℃的冰箱中,备用。

[0082] 3.用检测器件进行检测

[0083] 检验步骤

[0084] 1、开始检测前,将浓缩清洗液按1:10的比例加入纯化水或蒸馏水进行稀释,稀释完成后直接使用。使用移液枪将2mL清洗液加到芯片表面,浸泡芯片3分钟,保证芯片表面被完全浸润。

[0085] 2、将待测血清样本用样本稀释液按照1:40稀释混匀。



[0086] 3、弃去浸泡芯片的清洗液,在芯片表面完全湿润的状态下,每个血清样本吸取200  $\mu$ L稀释后的血清加入到芯片反应器内。

[0087] 4、将芯片反应器放入芯片固定座,放到摇床上,开启摇床,频率150转/分钟,室温孵育30分钟。

[0088] 5、弃去芯片反应器内的血清样本,用15mL洗液清洗反应腔体和芯片表面3次。

[0089] 6、清洗完成后,每个芯片反应器分别加入200 $\mu$ L酶标抗体溶液,将芯片反应器放入芯片固定座,放到摇床上,开启摇床,频率150转/分钟,室温孵育30分钟。

[0090] 7、弃去芯片反应器内的酶标抗体溶液,用15mL洗液清洗反应腔体和芯片表面3次。

[0091] 8、清洗完成后,取下反应腔体,每个芯片表面分别加入15 $\mu$ L发光底物液,使发光液能均匀的铺于芯片表面。

[0092] 9、将加入了发光液的芯片置于凝胶成像仪中化学发光成像,并判读结果。

[0093] 胶质母细胞瘤病人血清病人的血清及其他疾病病人血清样本由合作医院提供。血清由相关人员用冰块/干冰等包裹运送或快递至实验室。

[0094] 阴性对照有PBS缓冲液(即在第3步中不用待测血清孵育,而用PBS溶液孵育,其余步骤相同)的对照,血清稀释液的对照,及阴性病人(指健康人及非胶质母细胞瘤病人)血清的对照。

[0095] 多肽微阵列的点样模式如图2所示:其中,黑色圆形的16个点的样本为人IgM,作为定位点;正方形的4个点的样本为PBS点样液,作为实验的空白对照;白色圆形点的的样本是其他的胶质母细胞瘤病人MGMT蛋白抗原蛋白多肽,作为实验的检测指标(这些多肽有响应说明检测血清中有MGMT的自身抗体);两个星形点的样本为本发明的多肽SEQ ID NO:1,它是胶质母细胞瘤病人血清中MGMT蛋白抗原多肽,会对胶质母细胞瘤病人患者血清中MGMT自身抗体产生响应。

[0096] 使用该多肽微阵列按照上述检测步骤对胶质母细胞瘤病人血清及阴性对照进行了检测,响应模式如图3~4所示:其中,图3显示了阴性对照的检测结果,只有黑色圆形所示的点的样本有响应。图4显示了胶质母细胞瘤病人血清的检测结果,黑色圆形、白色圆形和星形点的样本有响应。需要说明的是,仪器测得信号值由低到高,相应的信号点颜色由黑—红—白渐变。

## 序列表

<110> 中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所  
 <120> 用于检测血清中 MGMT 抗体的多肽，检测器件和检测试剂盒  
 <130> MGMT-9  
 <160> 1  
 <170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 [0001] <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> MGMT 抗原性多肽  
 <400> 1  
 Val Pro Ala Leu His His Pro Val Phe Gln Gln Glu Ser Phe Thr Arg  
 1                    5                    10                    15  
 Gln Val Leu Trp  
                   20

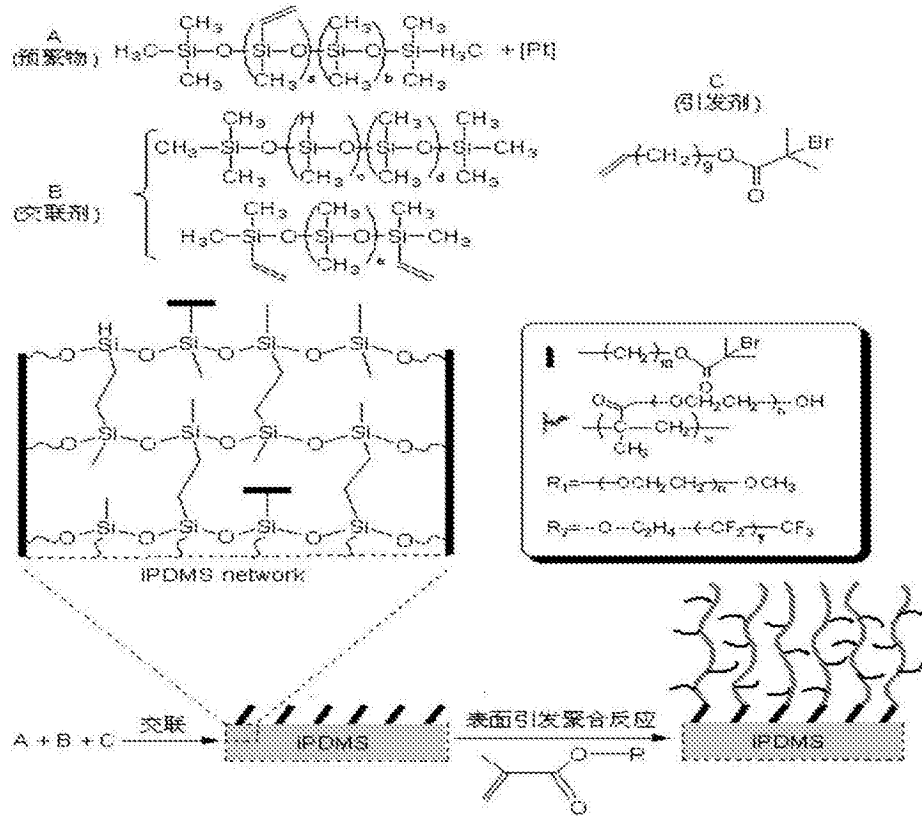


图1

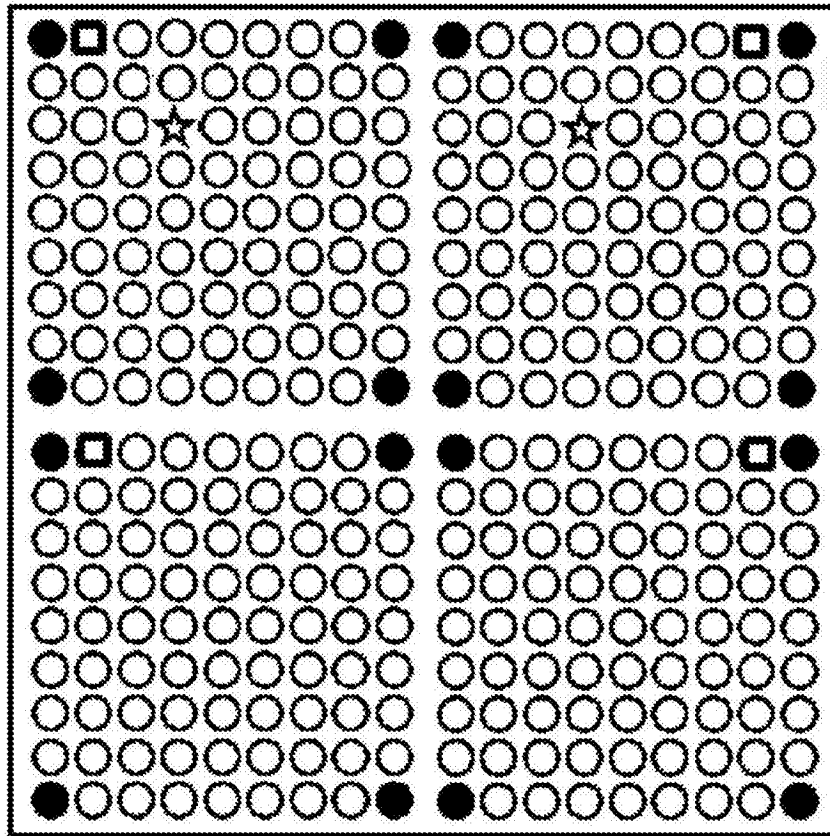


图2

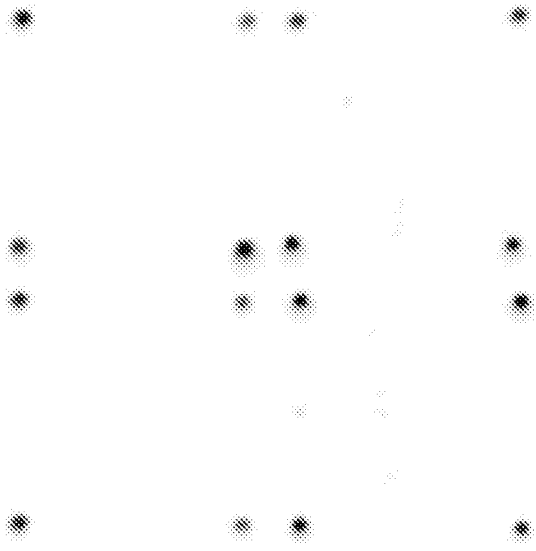


图3

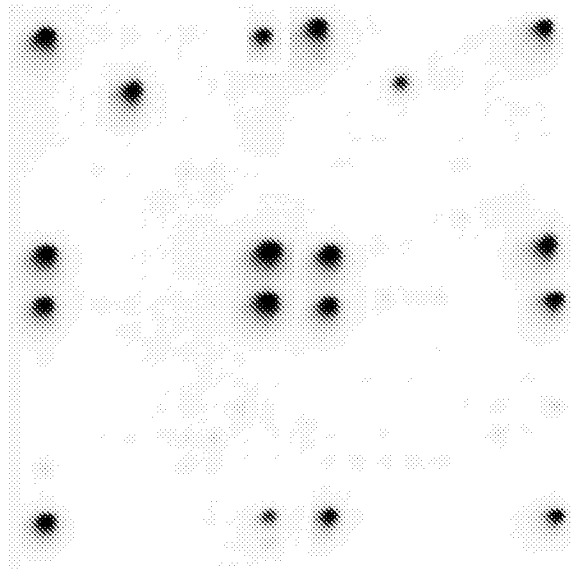


图4