



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109946447 A

(43)申请公布日 2019.06.28

(21)申请号 201910190209.1

(22)申请日 2019.03.13

(71)申请人 深圳大学

地址 518060 广东省深圳市南山区南海大道3688号

(72)发明人 沈立明 冯承芸 赵丹青

(74)专利代理机构 深圳市君胜知识产权代理事务所(普通合伙) 44268

代理人 王永文 刘文求

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种用于检测孤独症谱系障碍的诊断标志物、设备及应用

(57)摘要

本发明公开了一种用于检测孤独症谱系障碍的诊断标志物、设备及应用,其中,用于检测孤独症谱系障碍的诊断标志物为一组蛋白组合,所述蛋白组合为 α -1-抗胰蛋白酶、钙调蛋白、钙网蛋白、补体蛋白C3、整合素 α -Iib、血小板反应蛋白-1、玻连蛋白中的任意3种或3种以上的蛋白组合。本发明确定了可用于ASD诊断的血浆及外周血单核细胞系列蛋白标志物,通过同时检测标志物蛋白在二者中的表达用于诊断ASD,能够增强诊断的客观性、特异性和准确性,并且检测的蛋白种类比较少,提高了检测效率。

1. 一种用于检测孤独症谱系障碍的诊断标志物,其特征在于,所述标志物为一组蛋白组合,所述蛋白组合为 α -1-抗胰蛋白酶、钙调蛋白、钙网蛋白、补体蛋白C3、整合素 α -Iib、血小板反应蛋白-1、玻连蛋白中的任意3种或3种以上的蛋白组合。

2. 一种用于检测孤独症谱系障碍的设备,其特征在于,能逐一或同时检测如权利要求1所述的标志物中的各个蛋白质的水平。

3. 根据权利要求2所述的设备,其特征在于,所述设备检测各个蛋白质的水平的方法包括酶联免疫法、免疫印迹法、质谱法和蛋白芯片法中的一种或多种。

4. 一种如权利要求1所述的蛋白组合在制备用于检测孤独症谱系障碍的试剂中的应用。

5. 根据权利要求4所述的应用,其特征在于,采集血浆及外周血单核细胞系列蛋白标志物,分别检测所述蛋白组合中各个蛋白的表达水平。

6. 根据权利要求5所述的应用,其特征在于,检测所述蛋白组合中各个蛋白的表达水平的方法为:酶联免疫法、免疫印迹法、质谱法和蛋白芯片法中的一种或多种。

7. 根据权利要求5所述的应用,其特征在于,检测所述蛋白组合中各个蛋白的表达水平的方法为:提取细胞总RNA,用定量PCR法或基因芯片法检测所述蛋白组合中各个蛋白的表达水平。

一种用于检测孤独症谱系障碍的诊断标志物、设备及应用

技术领域

[0001] 本发明涉及试剂应用技术领域,尤其涉及一种用于检测孤独症谱系障碍的诊断标志物、设备及应用。

背景技术

[0002] 孤独症谱系障碍(autism spectrum disorders, ASD)是一组以社交沟通障碍、兴趣或活动范围狭窄以及重复刻板行为为主要特征的神经系统发育障碍性疾病。该病患病率逐渐增高,严重影响了婴幼儿、儿童的身心健康,给家庭和社会带来沉重负担。由于病因及发病机制尚未阐明,无特效治疗药物和特异性生物诊断标志物。当前ASD的诊断主要依据量表、临床症状及医生的临床经验,易造成诊断延迟或误诊。

[0003] 实践表明,早期诊断及干预可以显著改善患儿预后。寻找快速、有效的ASD诊断方法,利于疾病的早期发现和干预,具有重要的理论及实际意义。

[0004] 因此,现有技术还有待于改进和发展。

发明内容

[0005] 鉴于上述现有技术的不足,本发明的目的在于提供一种用于检测孤独症谱系障碍的诊断标志物、设备及应用,旨在解决目前还没有用于检测孤独症谱系障碍的特效治疗药物或特异性生物诊断标志物的问题。

[0006] 本发明的技术方案如下:

一种用于检测孤独症谱系障碍的诊断标志物,所述标志物为一组蛋白组合,所述蛋白组合为 α -1-抗胰蛋白酶、钙调蛋白、钙网蛋白、补体蛋白C3、整合素 α -Iib、血小板反应蛋白-1、玻连蛋白中的任意3种或3种以上的蛋白组合。

[0007] 一种用于检测孤独症谱系障碍的设备,能逐一或同时检测如上所述的标志物中的各个蛋白质的水平。

[0008] 所述的设备,其中,所述设备检测各个蛋白质的水平的方法包括酶联免疫法、免疫印迹法、质谱法和蛋白芯片法中的一种或多种。

[0009] 一种如上所述的蛋白组合在制备用于检测孤独症谱系障碍的试剂中的应用。

[0010] 所述的应用,其中,采集血浆及外周血单核细胞系列蛋白标志物,分别检测所述蛋白组合中各个蛋白的表达水平。

[0011] 所述的应用,其中,检测所述蛋白组合中各个蛋白的表达水平的方法为:酶联免疫法、免疫印迹法、质谱法和蛋白芯片法中的一种或多种。

[0012] 所述的应用,其中,检测所述蛋白组合中各个蛋白的表达水平的方法为:提取细胞总RNA,用定量PCR法或基因芯片法检测所述蛋白组合中各个蛋白的表达水平。

[0013] 有益效果:本发明确定了可用于ASD诊断的血浆及外周血单核细胞(Peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)系列蛋白标志物,通过同时检测标志物蛋白在二者中的表达用于诊断ASD,能够增强诊断的客观性、特异性和准确性。

具体实施方式

[0014] 本发明提供了一种用于检测孤独症谱系障碍的诊断标志物、设备及应用,为使本发明的目的、技术方案及效果更加清楚、明确,以下对本发明进一步详细说明。应当理解,此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明,并不用于限定本发明。

[0015] 本发明提供了一种用于检测孤独症谱系障碍的诊断标志物,为一组蛋白组合,所述蛋白组合为 α -1-抗胰蛋白酶、钙调蛋白、钙网蛋白、补体蛋白C3、整合素 α -IIb、血小板反应蛋白-1、玻连蛋白中的任意3种或3种以上的蛋白组合。本发明通过检测上述7种蛋白在血浆和外周血单核细胞中的表达水平,若其中5种蛋白(例如: α -1-抗胰蛋白酶、补体蛋白C3、玻连蛋白、整合素 α -IIb、血小板反应蛋白-1)在二者中表达趋势一致,2种(钙调蛋白、钙网蛋白)蛋白表达水平趋势相反,则可诊断为ASD。本方法相比现有技术更具客观性、特异性和准确性,并且检测的蛋白种类比较少,提高了检测效率。

[0016] 本发明还提供了如上所述的蛋白组合在制备用于检测孤独症障碍的试剂中的应用,可根据上述检测原理制作相应的试剂盒,用于诊断ASD。

[0017] 具体的,可采集孤独症患者与健康儿童外周血浆,采用外周血单核细胞分离试剂盒分离获得外周血单核细胞,提取细胞总蛋白。使用酶联免疫法(ELISA),或免疫印迹法(Western Blot)或质谱法检测血浆中的上述7个蛋白,同时,应用酶联免疫(ELISA),或免疫印迹(Western Blot)或质谱法、蛋白芯片检测这7个蛋白在外周血单核细胞的表达水平。或提取细胞总RNA,用定量PCR法或芯片法检测细胞中这7个蛋白的表达水平。与健康对照组相比,若这7个蛋白中有5个蛋白(α -1-抗胰蛋白酶、补体蛋白C3、玻连蛋白、整合素 α -IIb、血小板反应蛋白-1)在二者表达趋势一致,2个蛋白(钙调蛋白、钙网蛋白)表达水平趋势相反,则可诊断为ASD。

[0018] 基于上述蛋白组合标志物,本发明还提供了一种用于检测孤独症谱系障碍的设备,能逐一或同时检测如上所述的标志物中的各个蛋白质的水平。具体的检测方法可以是酶联免疫法、免疫印迹法、质谱法和蛋白芯片法中的一种或多种。

[0019] 实施例1

获取ASD患儿1与健康对照血浆及外周血单核细胞同时发生变化的差异蛋白7个,如下表1所示。其中5个蛋白在两者中表达趋势一致,即 α -1-抗胰蛋白酶,补体蛋白C3,玻连蛋白在血浆和PBMCs细胞中均为表达上调;整合素 α -IIb,血小板反应蛋白-1在血浆及PBMCs细胞中均表达下调。2个蛋白在二者中表达趋势相反,即钙调蛋白、钙网蛋白在血浆中表达为下调,在PBMCs细胞中为上调。

[0020] 表1 ASD儿童1与对照血浆及外周血单核细胞共同变化差异蛋白

序号	英文名	中文名	Uniprot 号	基因名	血浆	PBMCs 细胞
1	Alpha-1-antitrypsin	α -1-抗胰蛋白酶	P01009	SERPINA1	上调	上调
2	Calmodulin	钙调蛋白	P62158	CALM1	下调	上调
3	Calreticulin	钙网蛋白	P27797	CALR	下调	上调
4	Complement C3	补体蛋白 C3	P01024	C3	上调	上调
5	Integrin alpha-IIb	整合素 α -IIb	P08514	ITGA2B	下调	下调
6	Thrombospondin-1	血小板反应蛋白-1	P07996	THBS1	下调	下调
7	Vitronectin	玻连蛋白	P04004	VTN	上调	上调

实施例2

获取ASD患儿2与健康对照血浆及外周血单核细胞同时发生变化的差异蛋白3个,如下表2所示。其中1个蛋白: α -1-抗胰蛋白酶在血浆和PBMCs细胞中均为表达上调,在两者中表达趋势一致;2个蛋白:钙调蛋白和钙网蛋白在血浆中表达为下调,在PBMCs细胞中为上调,在二者中表达趋势相反。

[0021] 表2 ASD儿童2与对照血浆及外周血单核细胞共同变化差异蛋白

序号	英文名	中文名	Uniprot 号	基因名	血浆	PBMCs 细胞
1	Alpha-1-antitrypsin	α -1-抗胰蛋白酶	P01009	SERPINA1	上调	上调
2	Calmodulin	钙调蛋白	P62158	CALM1	下调	上调
3	Calreticulin	钙网蛋白	P27797	CALR	下调	上调

实施例3

获取ASD患儿3与健康对照血浆及外周血单核细胞同时发生变化的差异蛋白5个,如下表3所示。其中3个蛋白在两者中表达趋势一致,即:补体蛋白C3,玻连蛋白在血浆和PBMCs细胞中均为表达上调;整合素 α -IIb在血浆及PBMCs细胞中均表达下调。2个蛋白在二者中表达趋势相反,即钙调蛋白、钙网蛋白在血浆中表达为下调,在PBMCs细胞中为上调。

[0022] 表3 ASD儿童3与对照血浆及外周血单核细胞共同变化差异蛋白

序号	英文名	中文名	Uniprot 号	基因名	血浆	PBMCs 细胞
1	Calmodulin	钙调蛋白	P62158	CALM1	下调	上调
2	Calreticulin	钙网蛋白	P27797	CALR	下调	上调
3	Complement C3	补体蛋白 C3	P01024	C3	上调	上调
4	Integrin alpha-IIb	整合素 α -IIb	P08514	ITGA2B	下调	下调
5	Vitronectin	玻连蛋白	P04004	VTN	上调	上调

本发明通过采集患者血浆样品,对这7种蛋白逐个进行酶联免疫(ELISA)检测,或者通过蛋白芯片对这7种蛋白进行同时检测,根据蛋白表达的变化趋势可以对ASD患者进行诊断。

[0023] 综上所述,本发明提供了一种用于检测孤独症谱系障碍的诊断标志物、设备及应用,本发明通过酶联免疫法(ELISA),或免疫印迹法(Western Blot)、质谱法或蛋白芯片法检测血浆中的7个蛋白表达水平,与健康对照组的相应蛋白水平进行对比,其中5个蛋白表达趋势在血浆与PMBCs细胞表达一致,2个蛋白表达趋势相反,则可诊断为ASD。本检测方法能够增强ASD诊断的客观性、特异性和准确性。

[0024] 应当理解的是,本发明的应用不限于上述的举例,对本领域普通技术人员来说,可以根据上述说明加以改进或变换,所有这些改进和变换都应属于本发明所保护的范围。

专利名称(译)	一种用于检测孤独症谱系障碍的诊断标志物、设备及应用		
公开(公告)号	CN109946447A	公开(公告)日	2019-06-28
申请号	CN201910190209.1	申请日	2019-03-13
[标]申请(专利权)人(译)	深圳大学		
申请(专利权)人(译)	深圳大学		
当前申请(专利权)人(译)	深圳大学		
[标]发明人	沈立明 冯承芸 赵丹青		
发明人	沈立明 冯承芸 赵丹青		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/535 G01N33/68		
代理人(译)	王永文		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种用于检测孤独症谱系障碍的诊断标志物、设备及应用，其中，用于检测孤独症谱系障碍的诊断标志物为一组蛋白组合，所述蛋白组合为 α -1-抗胰蛋白酶、钙调蛋白、钙网蛋白、补体蛋白C3、整合素 α -IIb、血小板反应蛋白-1、玻连蛋白中的任意3种或3种以上的蛋白组合。本发明确定了可用于ASD诊断的血浆及外周血单核细胞系列蛋白标志物，通过同时检测标志物蛋白在二者中的表达用于诊断ASD，能够增强诊断的客观性、特异性和准确性，并且检测的蛋白种类比较少，提高了检测效率。

序号	英文名	中文名	UniProt 号	基因名	血浆	PBMCs 细胞
1	Calmodulin	钙调蛋白	P62158	CALM1	下调	上调
2	Calreticulin	钙网蛋白	P27797	CALR	下调	上调
3	Complement C3	补体蛋白 C3	P01024	C3	上调	上调
4	Integrin alpha-IIb	整合素 α -IIb	P08514	ITGA2B	下调	下调
5	Vitronectin	玻连蛋白	P04004	VTN	上调	上调