

瓜氨酸化 SETDB1 多肽及其在诊断类风湿性关节炎中的应用

相关申请的交叉引用

本申请要求 2023 年 8 月 9 日提交的中国专利申请 202310997528.X 的优先权，该专利
5 申请的全部内容以引用的方式整体并入本文。

技术领域

本发明涉及免疫学检测，特别是免疫学诊断领域。具体而言，本发明提供了基于抗瓜
氨酸化 SETDB1 抗体水平来诊断类风湿性关节炎的方法，以及用于所述方法的试剂盒。本
10 发明还提供了用于上述诊断的瓜氨酸化 SETDB1 的多肽及其用于诊断类风湿性关节炎的
用途。

背景技术

瓜氨酸化是蛋白质翻译后修饰的其中一种，它是一种依赖于 Ca²⁺ 依赖的肽精氨酸脱亚
15 胺酶 (peptidylarginine deiminase, PAD) 的催化作用下发生的翻译后修饰 (Wang, R., et al.,
Gut stem cell necroptosis by genome instability triggers bowel inflammation. Nature, 2020.
580(7803): p. 386-390.)。由于瓜氨酸化使蛋白质结构和功能发生了根本性的改变，因此当
体内出现异常的瓜氨酸化增加，针对瓜氨酸化残基表位的自身抗体水平就会出现异常升
高，从而导致疾病的发生。如类风湿性关节炎，系统性红斑狼疮，肿瘤等疾病，都有报道
20 发现与瓜氨酸化的关系。

其中，瓜氨酸化在类风湿性关节炎中研究最为常见。类风湿性关节炎是一种病因不明
的全身性自身免疫性疾病，影响全球 0.5–1.0% 的成人，一般累及关节滑膜，常表现为关节
痛、关节肿胀，严重者可出现关节畸形，甚至残疾 (MCINNES I B, SCHETT G. The
pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. N Engl J Med, 2011, 365(23): 2205-2219.)。有研究
25 发现美国成年人运动相关功能丧失的 33 种医学原因中有 2 种是关节炎导致 (HOOTMAN
J M, HELMICK C G, BRADY T J. A public health approach to addressing arthritis in
older adults: the most common cause of disability[J]. Am J Public Health, 2012, 102(3):
426-433.)，因此，类风湿性关节炎已经不能被简单地认为是一种普通的医学疾病，更是一个
需要引起重视的公共卫生问题。此外，一些健康经济学家对类风湿性关节炎所造成的经
济负担进行了相关研究，结果表明，通过降低风险因素或尽早开始干预疾病，其产生的费
30

用要远低于后期住院和手术产生的成本(LANES S F, LANZA L L, RADENSKY P W, et al. Resource utilization and cost of care for rheumatoid arthritis and osteoarthritis in a managed care setting: the importance of drug and surgery costs[J]. Arthritis Rheum, 1997, 40(8): 1475-1481.)。综上所述,控制类风湿性关节炎的发生发展,需要做到“早发现,早诊断,早治疗”。

研究表明,自身抗体的形成是类风湿性关节炎有别于其他炎性关节炎的特征之一,如银屑病关节炎、反应性关节炎和骨关节炎(KOURILOVITCH M, GALARZA-MALDONADO C, ORTIZ-PRADO E. Diagnosis and classification of rheumatoid arthritis[J]. J Autoimmun, 2014, 48-49(26-30).)。目前在实验室检查中,类风湿性关节炎的诊断主要依靠类风湿因子(RFs)和抗瓜氨酸蛋白抗体(ACPA)。类风湿因子的产生是由于病毒、支原体等外来病原体的持续感染刺激机体产生的,因此,在其他免疫性疾病、慢性感染患者、以及5%的健康人群中也能够检测出阳性结果,一般用于早期筛查疾病的指标。而在抗瓜氨酸蛋白抗体中,由于抗环瓜氨酸多肽(CCP)抗体的高特异性,目前已成为临床诊断最常用的临床诊断标志物。研究表明,该标志物特异性可达90%,但灵敏度仅约为70%(Wegner, N., Lundberg, K., Kinloch, A., Fisher, B., Malmström, V., Feldmann, M., & Venables, P. J. (2010). Autoimmunity to specific citrullinated proteins gives the first clues to the etiology of rheumatoid arthritis. Immunological reviews, 233(1), 34-54. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2009.00850.x>)。正因灵敏度较低的问题,常导致患者漏诊的问题发生,故亟需筛选新的RA诊断标志物。并且,CCP为人为设计的环瓜氨酸多肽,只能用于临床RA的诊断,对于疾病机制的探讨意义不大。

综上所述,瓜氨酸化参与了RA的发生发展,因此,RA患者体内天然存在的瓜氨酸标志物有望成为其诊断及机制探索的高性能标志物,筛选患者体内天然存在的高水平的瓜氨酸标志物,不仅能够解决当前临床标志物单一的问题,更有望寻找RA发病机制的关键因素。

发明内容

组蛋白甲基转移酶(Histone-lysine N-methyltransferase SETDB1, SETDB1)属于斑化抑制因子39(SUV39)蛋白家族,是参与表观遗传调控的含有SET结构域的蛋白赖氨酸甲基转移酶(PKMTs)的成员之一。它能够使组蛋白H3在第九位赖氨酸上,达到三甲基化(H3K9me3)。现有的研究主要认为SETDB1与癌症密切相关,在许多癌症中,SETDB1

表达水平存在升高的趋势，并影响着癌症的发生发展，如结直肠癌，肝癌，胃癌，肺癌等；SETDB1 可作为肿瘤治疗的联合靶点之一，如抑制 SETDB1 可以增强西妥昔单抗在结直肠癌中的敏感性，克服其耐药性，在 SETDB1 高表达的黑色素瘤细胞中，用 SETDB1 抑制剂联合 BAKR 和 MEK 抑制剂治疗可以有效杀死对靶向治疗有耐药性的细胞。

- 5 本申请的发明人创新性地通过构建化学衍生物的方式，对类风湿性关节炎患者的血清进行了瓜氨酸标志物筛选，首次发现了瓜氨酸化 SETDB1 表位多肽，所述表位多肽在 RA 患者体内具有高水平的自身抗体，显示了在类风湿性关节炎中的诊断价值。由此，发明人提供了基于抗瓜氨酸化 SETDB1 抗体水平检测的 RA 诊断方法，以及用于所述方法的瓜氨酸化 SETDB1 多肽，能够有效降低 RA 早期患者的漏诊率，甚至有望优于当前临床诊断标志物。
- 10

分离的多肽或其变体

在第一方面，本发明提供了一种分离的多肽或其变体，其中，所述多肽由 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的至少 11 个连续氨基酸残基组成；

- 15 其中，所述连续氨基酸残基中的至少一个是精氨酸残基，且所述精氨酸残基中的至少一个被瓜氨酸化；

其中，所述变体与其所源自的多肽相异仅在于 1 个或几个（例如，1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或 9 个）氨基酸残基的置换（例如，保守置换或非保守置换；例如保守置换），且保留了其所源自的多肽的生物学功能（例如被抗瓜氨酸化 SETDB1 抗体识别并结合的活性）。

20

在本文中，本发明的多肽或其变体的生物学功能包括但不限于作为表位肽被抗瓜氨酸化抗体（例如抗瓜氨酸化 SETDB1 抗体）识别并结合的活性。

- 在本文中，当提及 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的氨基酸位置时，参考 SEQ ID NO: 1 所示的序列来进行描述。例如，表述“SETDB1 蛋白 MBD 结构域的第 2 位氨基酸残基”是指 SEQ ID NO: 1 所示序列的第 2 位氨基酸残基及其相应位置。所述相应位置是指，将待比较序列与 SEQ ID NO: 1 进行最优比对（即，以获得最高百分数同一性），待比较序列中与 SEQ ID NO: 1 中的特定氨基酸位置等同的位置。
- 25

在某些实施方案中，所述连续氨基酸残基中的精氨酸残基全部被瓜氨酸化（即为瓜氨酸）。

- 30 在某些实施方案中，所述分离的多肽在相应于 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的如下位置

的氨基酸位置中的至少一处（例如 1 处、2 处、3 处、4 处、5 处、6 处、7 处、8 处或全部 9 处）为精氨酸残基：2、16、17、21、22、23、26、43 和/或 50；并且，所述精氨酸残基中的至少 1 个（例如，1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或全部 9 个）被瓜氨酸化。

- 5 在某些实施方案中，所述分离的多肽至少包含 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的第 16-26 位氨基酸残基；其中，所述第 16-26 位连续氨基酸残基中的至少 1 个是精氨酸残基，且所述精氨酸残基中的至少 1 个被瓜氨酸化。在某些实施方案中，所述第 16-26 位连续氨基酸残基中的精氨酸残基全部被瓜氨酸化。

- 10 在某些实施方案中，所述分离的多肽在相应于 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的如下位置的氨基酸位置中的至少一处（例如 1 处、2 处、3 处、4 处、5 处或全部 6 处）为精氨酸残基：16、17、21、22、23 和/或 26；并且，所述精氨酸残基中的至少 1 个（例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个或全部 6 个）被瓜氨酸化。在某些实施方案中，所述精氨酸残基全部被瓜氨酸化。

- 15 在某些实施方案中，所述分离的多肽在相应于 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的第 16-26 位的位置包含如 SEQ ID NO: 8 所示的序列。

在某些实施方案中，所述分离的多肽进一步在相应于 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的如下位置的氨基酸位置中的至少一处（例如 1 处、2 处或全部 3 处）为精氨酸残基：2、43 和/或 50；并且所述精氨酸残基中的至少 1 个（例如 1 个、2 个或全部 3 个）被瓜氨酸化。

- 20 在某些实施方案中，所述分离的多肽由选自下列的连续氨基酸残基组成：SETDB1 蛋白 MBD 结构域的第 5-27 位、第 8-27 位、第 12-27 位、第 14-27 位、第 16-27 位、第 16-26 位、第 1-27 位、或第 5-32 位氨基酸残基；其中，所述连续氨基酸残基中的至少 1 个是精氨酸残基，且所述精氨酸残基中的至少 1 个被瓜氨酸化。在某些实施方案中，所述连续氨基酸残基中的精氨酸残基全部被瓜氨酸化。

- 25 在某些实施方案中，所述分离的多肽在相应于 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的如下位置的氨基酸位置中的至少一处（例如 1 处、2 处、3 处、4 处、5 处或全部 6 处）为精氨酸残基：16、17、21、22、23 和/或 26；并且，所述精氨酸残基中的至少 1 个（例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个或全部 6 个）被瓜氨酸化。

在某些实施方案中，所述分离的多肽进一步在相应于 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的位置 2 的氨基酸位置上为精氨酸残基，其任选地被瓜氨酸化。

在某些实施方案中，本发明所述的变体与其所源自的多肽具备完全相同的瓜氨酸特征，即具备相同的瓜氨酸数量和位置。

在某些实施方案中，所述变体与其所源自的多肽相比不包括在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的如下位置的氨基酸位置中的氨基酸置换：16、17、21、22、23 和 26。也即，
5 所述变体与其所源自的多肽在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的 16、17、21、22、23 和 26 的氨基酸位置上完全相同。在某些实施方案中，所述变体进一步不包括在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的位置 2、43 和/或 50 的氨基酸位置中的氨基酸置换。也即，所述变体与其所源自的多肽进一步在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的位置 2、43 和/或 50 的氨基酸位置上完全相同。

10 在某些实施方案中，本发明的变体与其所源自的多肽相异仅在于 1 个、2 个、3 个或 4 个氨基酸残基的置换（例如，保守置换或非保守置换；例如保守置换），且保留了其所源自的多肽的生物学功能（例如被抗瓜氨酸化 SETDB1 抗体识别并结合的活性）。

在某些实施方案中，本发明的多肽及其变体在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的位置 16、17、21、22、23 和 26 的氨基酸位置上为精氨酸，并且，所述精氨酸残基中的至少
15 1 个（例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个或全部 6 个）被瓜氨酸化。

在某些实施方案中，本发明的多肽及其变体在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的位置 16、17、21、22、23 和 26 的氨基酸位置上均为瓜氨酸化精氨酸（即瓜氨酸）。

在某些实施方案中，上述多肽及其变体进一步在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的位置 2 的氨基酸位置上为精氨酸残基，其任选地被瓜氨酸化。
20

在某些实施方案中，上述多肽及其变体进一步在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的位置 43 的氨基酸位置上为精氨酸残基，其任选地被瓜氨酸化。

在某些实施方案中，上述多肽及其变体进一步在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的位置 50 的氨基酸位置上为精氨酸残基，其任选地被瓜氨酸化。

25

在某些实施方案中，所述分离的多肽由 SETDB1 MBP 结构域的不多于 72 个（例如，
不多于 70 个，不多于 69 个，不多于 68 个，不多于 67 个，不多于 66 个，不多于 65 个，
不多于 64 个，不多于 63 个，不多于 62 个，不多于 61 个，不多于 60 个，不多于 59 个，
不多于 58 个，不多于 57 个，不多于 56 个，不多于 55 个，不多于 54 个，不多于 53 个，
30 不多于 52 个，不多于 51 个，不多于 50 个，不多于 49 个，不多于 48 个，不多于 47 个，

不多于 46 个，不多于 45 个，不多于 44 个，不多于 43 个，不多于 42 个，不多于 41 个，不多于 40 个，不多于 39 个，不多于 38 个，不多于 37 个，不多于 36 个，不多于 35 个，不多于 34 个，不多于 33 个，不多于 32 个，不多于 31 个，不多于 30 个，不多于 29 个，或不多于 28 个）的连续氨基酸残基组成。

- 5 在某些实施方案中，所述分离的多肽由 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的 11~30 个（例如 11-28 个）连续氨基酸残基组成。在某些实施方案中，所述分离的多肽由 SETDB1 MBP 结构域的 11、12、14、16、20、23、27 或 28 个连续氨基酸残基组成。

- 在某些实施方案中，本发明的多肽及其变体至少包含 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的第
10 2-26 位氨基酸残基。

在某些实施方案中，所述分离的多肽在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的位置 2、16、17、21、22、23 和 26 的氨基酸位置上为精氨酸残基，并且，所述精氨酸残基中的至少 1 个（例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个或全部 7 个）被瓜氨酸化。

- 在某些实施方案中，所述分离的多肽在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的位置 2、
15 16、17、21、22、23 和 26 的精氨酸残基均被瓜氨酸化。

在某些实施方案中，所述变体与其所源自的多肽相比不包括在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的如下位置的氨基酸位置中的氨基酸置换：2、16、17、21、22、23 和 26。也即，所述变体与其所源自的多肽在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的 2、16、17、21、22、23 和 26 的氨基酸位置上完全相同。

- 20 在某些实施方案中，所述分离的多肽及其变体由 SETDB1 MBP 结构域的不多于 50 个（例如，不多于 49 个，不多于 48 个，不多于 47 个，不多于 46 个，不多于 45 个，不多于 44 个，不多于 43 个，不多于 42 个，不多于 41 个，不多于 40 个，不多于 39 个，不多于 38 个，不多于 37 个，不多于 36 个，不多于 35 个，不多于 34 个，不多于 33 个，不多于 32 个，不多于 31 个，或不多于 30 个）的连续氨基酸残基组成。

- 25 在某些实施方案中，所述分离的多肽及其变体由 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的 25~30 个连续氨基酸残基组成。

- 在某些实施方案中，所述 SETDB1 蛋白 MBP 结构域具有如 SEQ ID NO: 1 所示的序列或与其具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、或至少 99% 序
30 列同一性的序列。

在某些实施方案中，所述分离的多肽具有如 SEQ ID NOs: 3-10 任一项所示的序列。在某些实施方案中，所述变体与 SEQ ID NOs: 3-10 任一项所示的序列相比具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、或至少 99% 序列同一性的序列，并且具备完全相同的瓜氨酸位置和数量。

5

衍生化多肽或其变体

本发明的多肽或其变体可进行衍生化，例如连接其他功能性单元，例如可检测的标记、蛋白标签、固相载体等。

在一个实施方案中，所述分离的多肽或其变体连接于固相载体表面，或者带有可与固相载体连接的修饰基团。在某些实施方案中，所述分离的多肽或其变体的 N 端连接于固相载体表面，或者带有可与固相载体连接的修饰基团。在某些实施方案中，所述修饰基团是生物素或亲和素。在某些实施方案中，所述固相载体选自磁珠或微量滴定板（例如微孔板或酶标板）。

在另一个实施方案中，所述分离的多肽或其变体带有可检测的标记。在某些实施方案中，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）、化学发光试剂（例如吖啶酯类化合物）、荧光染料或生物素。

多肽的制备

本发明的多肽或其变体不受其产生方式的限定，例如，其可以通过基因工程方法（重组技术）产生，也可以通过化学合成方法产生。

在另一个方面，本发明提供了一种分离的核酸分子，其包含编码本发明的多肽或其变体的核苷酸序列。

在另一个方面，本发明还提供了一种载体，其包含如上所述的分离的核酸分子。本发明的载体可以是克隆载体，也可以是表达载体。在一个优选实施方案中，本发明的载体是例如质粒，粘粒，噬菌体，柯斯质粒等等。

在另一个方面，本发明还提供了包含本发明的分离的核酸分子或载体的宿主细胞。此类宿主细胞包括但不限于，原核细胞例如大肠杆菌细胞，以及真核细胞例如酵母细胞，昆虫细胞，植物细胞和动物细胞（如哺乳动物细胞，例如小鼠细胞、人细胞等）。

在另一个方面，本发明还提供了制备本发明的多肽或其变体的方法，其包括，在允许所述多肽或其变体表达的条件下，培养本发明的宿主细胞，和从培养的宿主细胞培养物中

回收所述多肽或其变体。

检测试剂盒

在第二方面，本发明提供了一种试剂盒，其包含选自第一方面所述的分离的多肽或其
5 变体。

在某些实施方案中，本发明的试剂盒包含捕获试剂，所述捕获试剂选自第一方面所述
的分离的多肽或其变体。在某些实施方案中，所述试剂盒还包含使用所述分离的多肽或其
变体作为捕获试剂来检测样品中的对瓜氨酸化 **SETDB1** 蛋白特异性的抗体的说明书，或者
使用所述分离的多肽或其变体作为捕获试剂来测定来自受试者的样品中对瓜氨酸化
10 **SETDB1** 蛋白特异性的抗体的水平、从而确定所述受试者是否患有类风湿性关节炎的说明
书。

在某些实施方案中，所述受试者是哺乳动物，例如人。

在一些实施方案中，所述捕获试剂连接于固相载体表面。在某些实施方案中，所述捕
获试剂的 N 端与固相载体连接。在本文中，所述的固相载体包括由聚合物材料（例如聚氯
15 乙烯、聚苯乙烯、聚丙烯酰胺或纤维素）制成或包被的凹孔平板、试管、珠粒（例如乳胶颗
粒）或薄膜（例如硝酸纤维素膜），或由功能基团（例如氨基、羧基、生物素或亲和素）
预包被的磁珠。在某些实施方案中，所述固相载体选自磁珠或微量滴定板（例如微孔板或
酶标板）。

在另一些实施方案中，所述捕获试剂带有可与固相载体连接的修饰基团。在某些实施
20 方案中，所述捕获试剂的 N 端带有可与固相载体连接的修饰基团。在此类实施方案中，所
述试剂盒可进一步包含用于将所述捕获试剂包被于所述固相载体上的包被试剂，例如包被
缓冲液（例如，碳酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液、**Tris-HCL** 缓冲液或硼酸盐缓冲液）。将蛋
白或多肽包被于固相载体上的方法是本领域熟知的，例如物理吸附、通过氨基化或羧基化
表面实现的共价偶联或通过亲和素-生物素系统、聚赖氨酸预包被表面、蛋白 A 或蛋白 G
25 预包被表面实现的介导结合。在某些实施方案中，所述修饰基团是生物素或亲和素，所述
固相载体表面带有相应的连接基团。

在某些实施方案中，所述试剂盒在单独的容器中或在单个容器单元的分开的隔室中至
少包含用抗生物素蛋白或链霉抗生物素蛋白包被的固相载体，以及上述捕获试剂。

30 在一些实施方案中，所述测定来自受试者的样品中抗瓜氨酸化 **SETDB1** 抗体的水平从

而确定所述受试者是否患有类风湿性关节炎的方法以间接法形式进行。通过间接法来测定样品中的抗体水平是本领域技术人员熟知的。在此类测定中，“捕获抗原”首先与样品中的抗体形成免疫复合物，随后通过二级抗体（例如，抗-免疫球蛋白抗体）对被捕获的抗体进行检测。

- 5 因此，在某些实施方案中，所述试剂盒还包含检测试剂，所述检测试剂选自带有可检测的标记的二级抗体。在某些实施方案中，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）、化学发光试剂（例如吖啶酯类化合物）、荧光染料或生物素。在某些示例性实施方案中，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）。

10 在某些实施方案中，所述二级抗体对待测抗体所来自的物种（例如人）的抗体是特异的。

 在某些实施方案中，所述二级抗体是抗-免疫球蛋白抗体。

 在某些示例性实施方案中，所述试剂盒用于检测抗瓜氨酸化 SETDB1 蛋白 IgG 抗体。在此类实施方案中，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgG 抗体，例如抗人 IgG 抗体。

- 在某些示例性实施方案中，所述试剂盒用于检测抗瓜氨酸化 SETDB1 蛋白 IgM 抗体。
15 在此类实施方案中，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgM 抗体，例如抗人 IgM 抗体。

 在某些示例性实施方案中，所述试剂盒用于检测抗瓜氨酸化 SETDB1 蛋白 IgA 抗体。在此类实施方案中，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgA 抗体，例如抗人 IgA 抗体。

- 在另一些实施方案中，所述测定来自受试者的样品中抗瓜氨酸化 SETDB1 抗体的水平
20 从而确定所述受试者是否患有类风湿性关节炎的方法以双抗原夹心形式进行。通过双抗原夹心法来测定样品中的抗体水平是本领域技术人员熟知的。在此类测定中，“捕获抗原”、“检测抗原”使得样品抗体在两种特异性抗原之间形成桥，因此，两种抗原通常是相同的、或具有相同的核心表位、或具有免疫交叉反应性，使得一种抗体能够结合两种抗原。

- 因此，在某些实施方案中，所述试剂盒还包含检测试剂，所述检测试剂选自第一方面
25 所述的分离的多肽或其变体。

 在某些实施方案中，所述检测试剂带有可检测的标记。在某些实施方案中，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）、化学发光试剂（例如吖啶酯类化合物）、荧光染料或生物素。在某些示例性实施方案中，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）。

- 30 在某些实施方案中，所述检测试剂和捕获试剂中所包含的多肽序列相同或基本相同。

在某些实施方案中，所述基本相同是指，所述检测试剂和捕获试剂中所包含的两个多肽序列包含相同的核心表位，所述核心表位至少包括 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的第 16-26 位连续氨基酸残基，所述连续氨基酸残基中的至少 1 个是精氨酸残基，且所述精氨酸残基中的至少 1 个被瓜氨酸化（优选全部被瓜氨酸化）。在某些实施方案中，所述核心表位至少
5 包括 SEQ ID NO: 8 所示的序列。

在某些实施方案中，本发明的试剂盒还可以包含一种或多种选自下列的试剂或装置：
(i)用于收集或贮存来自受试者的样品的装置（例如采血装置）；(ii)用于进行所述测定所需的其他试剂（例如缓冲液，稀释液，封闭液，和/或标准品）。

10

检测用途及方法

在第三方面，本发明提供了用于检测样品中的对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的方法，其包括以下步骤：

(1) 将所述样品与捕获试剂接触，以获得抗原-抗体免疫复合物；所述捕获试剂选自第
15 一方面所述的分离的多肽或其变体；

(2) 测定步骤(1)获得的抗原-抗体免疫复合物的量。

在某些实施方案中，所述方法在体外实施。

在某些实施方案中，所述方法用于非诊断目的。

在某些实施方案中，在步骤(2)中，通过免疫学检测来测定所述免疫复合物的量。

在某些实施方案中，所述免疫学检测选自酶免疫测定法（例如 ELISA）、化学发光免疫
20 分析法、荧光免疫分析法或放射免疫测定法。

在一些实施方案中，所述捕获试剂连接于固相载体表面。

在另一些实施方案中，所述捕获试剂带有可与固相载体连接的修饰基团。在此类实施方案中，在步骤(1)之前，所述方法还包含将所述捕获试剂包被于固相载体表面的步骤。

在某些实施方案中，所述捕获试剂的 N 端连接于固相载体表面，或者带有可与固相载体
25 连接的修饰基团。

在一些实施方案中，所述测定以间接法形式进行。通过间接法来测定样品中的抗体水平是本领域技术人员熟知的。在此类测定中，“捕获抗原”首先与样品中的抗体形成免疫复
30 合物，随后通过二级抗体（例如，抗-免疫球蛋白抗体）对被捕获的抗体进行检测。

因此，在某些实施方案中，在步骤(2)中，使用检测试剂来检测所述免疫复合物的量，所述检测试剂选自带有可检测的标记的二级抗体。

在某些实施方案中，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）、化学发光试剂（例如吖啶酯类化合物）、荧光染料或生物素。

5 在某些实施方案中，所述二级抗体对待测抗体所来自的物种（例如人）的抗体是特异的。

在某些实施方案中，所述二级抗体是抗-免疫球蛋白抗体。

在某些示例性实施方案中，被检测的抗体是 IgG 抗体。在此类实施方案中，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgG 抗体，例如抗人 IgG 抗体。

10 在某些示例性实施方案中，被检测的抗体是 IgM 抗体。在此类实施方案中，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgM 抗体，例如抗人 IgM 抗体。

在某些示例性实施方案中，被检测的抗体是 IgA 抗体。在此类实施方案中，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgA 抗体，例如抗人 IgA 抗体。

15 在另一些实施方案中，所述测定以双抗原夹心形式进行。通过双抗原夹心法来测定样品中的抗体水平是本领域技术人员熟知的。在此类测定中，“捕获抗原”、“检测抗原”使得样品抗体在两种特异性抗原之间形成桥，因此，两种抗原通常是相同的、或具有相同的核心表位、或具有免疫交叉反应性，使得一种抗体能够结合两种抗原。

因此，在某些实施方案中，在步骤(2)中，使用检测试剂来检测所述免疫复合物的量，
20 所述检测试剂选自第一方面所述的分离的多肽或其变体。

在某些实施方案中，所述检测试剂选自第一方面所述的分离的多肽或其变体，所述分离的多肽或其变体带有可检测的标记。在某些实施方案中，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）、化学发光试剂（例如吖啶酯类化合物）、荧光染料或生物素。在某些示例性实施方案中，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性
25 磷酸酶）。

在某些实施方案中，所述检测试剂和捕获试剂中所包含的多肽序列相同或基本相同。在某些实施方案中，所述基本相同是指，所述检测试剂和捕获试剂中所包含的两个多肽序列包含相同的核心表位，所述核心表位至少包括 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的第 16-26 位连续氨基酸残基，所述连续氨基酸残基中的至少 1 个是精氨酸残基，且所述精氨酸残基中的至少 1 个被瓜氨酸化（优选全部被瓜氨酸化）。在某些实施方案中，所述核心表位至少
30

包括 SEQ ID NO: 8 所示的序列。

在另一方面，本发明还涉及第一方面所述的分离的多肽或其变体在制备试剂盒中的用途，所述试剂盒用于检测样品中的对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体。在某些实施方案中，所述试剂盒通过第三方面所述的方法检测样品中的对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体。

诊断用途及方法

在第四方面，本发明提供了用于确定受试者是否患有类风湿性关节炎的方法，其包括：

10 (1) 测定来自所述受试者的样品中对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的水平；和，

(2) 将所述水平与参考值比较。

在某些实施方案中，如果所述水平高于参考值的话，则判断所述受试者患有类风湿性关节炎。

在某些实施方案中，所述方法在体外实施。

15 在本文中，所述参考值是来源于未患类风湿性关节炎的对象或健康人（例如，没有可检测到的疾病、并且没有类风湿性关节炎历史的对象）的值，或者指示未患类风湿性关节炎的对象或健康人的相应样品中的对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体水平。

在某些实施方案中，所述样品是血液样品（例如全血、血浆或血清）或组织液样品（例如关节滑膜液）。

20 在某些实施方案中，所述受试者是哺乳动物，例如人。

在某些实施方案中，通过免疫学测定来测定所述样品中对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的水平。在某些实施方案中，所述免疫学测定选自酶免疫测定法（例如 ELISA）、化学发光免疫分析法、荧光免疫分析法或放射免疫测定法。

在某些实施方案中，所述测定包括使用第一方面所述的分离的多肽或其变体作为捕获试剂。

在某些实施方案中，步骤(1)包括以下步骤：

(1a) 将来自所述受试者的样品与捕获试剂接触，以获得抗原-抗体免疫复合物；所述捕获试剂选自第一方面所述的分离的多肽或其变体；

(1b) 测定步骤(1a)获得的抗原-抗体免疫复合物的量。

30 在某些实施方案中，在步骤(1b)中，通过免疫学检测来测定所述免疫复合物的量。在

某些实施方案中，所述免疫学检测选自酶免疫测定法（例如 ELISA）、化学发光免疫分析法、荧光免疫分析法或放射免疫测定法。

在一些实施方案中，所述捕获试剂连接于固相载体表面。

在另一些实施方案中，所述捕获试剂带有可与固相载体连接的修饰基团。在此类实施方案中，在步骤(1)之前，所述方法还包含将所述捕获试剂包被于固相载体表面的步骤。

在某些实施方案中，所述捕获试剂的 N 端连接于固相载体表面，或者带有可与固相载体连接的修饰基团。

在一些实施方案中，所述测定以间接法形式进行。通过间接法来测定样品中的抗体水平是本领域技术人员熟知的。在此类测定中，“捕获抗原”首先与样品中的抗体形成免疫复合物，随后通过二级抗体（例如，抗-免疫球蛋白抗体）对被捕获的抗体进行检测。

因此，在某些实施方案中，在步骤(1b)中，使用检测试剂来检测所述免疫复合物的量，所述检测试剂选自带有可检测的标记的二级抗体。

在某些实施方案中，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）、化学发光试剂（例如吖啶酯类化合物）、荧光染料或生物素。

在某些实施方案中，所述二级抗体对待测抗体所来自的物种（例如人）的抗体是特异的。

在某些实施方案中，所述二级抗体是抗-免疫球蛋白抗体。

在某些示例性实施方案中，被检测的抗体是 IgG 抗体。在此类实施方案中，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgG 抗体，例如抗人 IgG 抗体。

在某些示例性实施方案中，被检测的抗体是 IgM 抗体。在此类实施方案中，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgM 抗体，例如抗人 IgM 抗体。

在某些示例性实施方案中，被检测的抗体是 IgA 抗体。在此类实施方案中，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgA 抗体，例如抗人 IgA 抗体。

25

在另一些实施方案中，所述测定以双抗原夹心形式进行。通过双抗原夹心法来测定样品中的抗体水平是本领域技术人员熟知的。在此类测定中，“捕获抗原”、“检测抗原”使得样品抗体在两种特异性抗原之间形成桥，因此，两种抗原通常是相同的、或具有相同的核心表位、或具有免疫交叉反应性，使得一种抗体能够结合两种抗原。

30 因此，在某些实施方案中，在步骤(1b)中，使用检测试剂来检测所述免疫复合物的量，

所述检测试剂选自第一方面所述的分离的多肽或其变体。

在某些实施方案中，所述检测试剂选自第一方面所述的分离的多肽或其变体，所述分离的多肽或其变体带有可检测的标记。在某些实施方案中，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）、化学发光试剂（例如吖啶酯类化合物）、荧光染料或生物素。在某些示例性实施方案中，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）。

在某些实施方案中，所述检测试剂和捕获试剂中所包含的多肽序列相同或基本相同。在某些实施方案中，所述基本相同是指，所述检测试剂和捕获试剂中所包含的两个多肽序列包含相同的核心表位，所述核心表位至少包括 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的第 16-26 位连续氨基酸残基，所述连续氨基酸残基中的至少 1 个是精氨酸残基，且所述精氨酸残基中的至少 1 个被瓜氨酸化（优选全部被瓜氨酸化）。在某些实施方案中，所述核心表位至少包括 SEQ ID NO: 8 所示的序列。

在某些实施方案中，上述任一实施方案中所述方法还包括：在步骤(1)之前，提供来自所述受试者的样品。

在某些实施方案中，上述任一实施方案中所述方法还包括：在步骤(2)之后，给被判断为患有类风湿性关节炎的受试者施用治疗有效量的可治疗类风湿性关节炎的疗法（例如，化学疗法、放射疗法和/或免疫疗法）。

在某些实施方案中，所述可治疗类风湿性关节炎的疗法选自手术治疗，化学疗法（如硫酸羟氯喹，柳氮磺吡啶，来氟米特，甲氨蝶呤，泼尼松，塞来昔布，布洛芬，双氯芬酸钠，洛索洛芬钠），靶向治疗（如肿瘤坏死因子拮抗剂），免疫治疗（如托珠单抗）以及多种方法联合治疗（如化疗+手术）。

在另一方面，本发明还涉及能够测定对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的试剂在制备试剂盒中的用途，所述试剂盒用于确定受试者是否患有类风湿性关节炎。

在某些实施方案中，所述试剂能够通过免疫学测定来测定对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的水平。在某些实施方案中，所述免疫学测定选自酶免疫测定法（例如 ELISA）、化学发光免疫分析法、荧光免疫分析法或放射免疫测定法。

在某些实施方案中，所述受试者是哺乳动物，例如人。

在某些实施方案中，所述样品是血液样品（例如全血、血浆或血清）或组织液样品（例

如关节滑膜液)。

在某些实施方案中,所述试剂盒通过下述方法来确定受试者是否患有类风湿性关节炎:

- (1) 测定来自所述受试者的样品中对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的水平;和,
- 5 (2) 将所述水平与参考值比较。

在某些实施方案中,如果所述水平高于参考值的话,则判断所述受试者患有类风湿性关节炎。

在某些实施方案中,所述能够测定对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的试剂包含
10 捕获试剂,所述捕获试剂选自第一方面所述的分离的多肽或其变体。

在某些实施方案中,上述步骤(1)包括以下步骤:

(1a) 将来自所述受试者的样品与捕获试剂接触,以获得抗原-抗体免疫复合物;所述
捕获试剂选自第一方面所述的分离的多肽或其变体;

(1b) 测定步骤(1a)获得的抗原-抗体免疫复合物的量。

15 在某些实施方案中,在步骤(1b)中,通过免疫学检测来测定所述免疫复合物的量。在某些实施方案中,所述免疫学检测选自酶免疫测定法(例如 ELISA)、化学发光免疫分析法、荧光免疫分析法或放射免疫测定法。

在一些实施方案中,所述捕获试剂连接于固相载体表面。

在另一些实施方案中,所述捕获试剂带有可与固相载体连接的修饰基团。在此类实施
20 方案中,在上述步骤(1)之前,所述方法还包含将所述捕获试剂包被于固相载体表面的步骤。

在某些实施方案中,所述捕获试剂的 N 端连接于固相载体表面,或者带有可与固相载体连接的修饰基团。

在一些实施方案中,所述能够测定对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的试剂还包
25 含检测试剂,所述检测试剂选自带有可检测的标记的二级抗体。

在某些实施方案中,在上述步骤(1b)中,使用所述检测试剂来检测所述免疫复合物的量。

在某些实施方案中,所述可检测的标记选自酶(例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶)、化学发光试剂(例如吖啶酯类化合物)、荧光染料或生物素。

30 在某些实施方案中,所述二级抗体对待测抗体所来自的物种(例如人)的抗体是特异

的。

在某些实施方案中，所述二级抗体是抗-免疫球蛋白抗体。

在某些示例性实施方案中，被检测的抗体是 IgG 抗体。在此类实施方案中，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgG 抗体，例如抗人 IgG 抗体。

5 在某些示例性实施方案中，被检测的抗体是 IgM 抗体。在此类实施方案中，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgM 抗体，例如抗人 IgM 抗体。

在某些示例性实施方案中，被检测的抗体是 IgA 抗体。在此类实施方案中，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgA 抗体，例如抗人 IgA 抗体。

10 在另一些实施方案中，所述能够测定对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的试剂还包含检测试剂，所述检测试剂选自第一方面所述的分离的多肽或其变体。

在某些实施方案中，在上述步骤(1b)中，使用所述检测试剂来检测所述免疫复合物的量。

在某些实施方案中，所述检测试剂选自第一方面所述的分离的多肽或其变体，所述分离的多肽或其变体带有可检测的标记。在某些实施方案中，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）、化学发光试剂（例如吖啶酯类化合物）、荧光染料或生物素。在某些示例性实施方案中，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）。

15

在某些实施方案中，所述检测试剂和捕获试剂中所包含的多肽序列相同或基本相同。

20 在某些实施方案中，所述基本相同是指，所述检测试剂和捕获试剂中所包含的两个多肽序列包含相同的核心表位，所述核心表位至少包括 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的第 16-26 位连续氨基酸残基，所述连续氨基酸残基中的至少 1 个是精氨酸残基，且所述精氨酸残基中的至少 1 个被瓜氨酸化（优选全部被瓜氨酸化）。在某些实施方案中，所述核心表位至少包括 SEQ ID NO: 8 所示的序列。

25

术语定义

在本发明中，除非另有说明，否则本文中使用的科学和技术名词具有本领域技术人员所通常理解的含义。同时，为了更好地理解本发明，下面提供相关术语的定义和解释。

如本文中所使用的，术语“瓜氨酸化”是指，一种翻译后修饰（PTM）的形式，具体而言，是肽基精氨酸脱亚胺酶（PAD）催化氨基酸精氨酸（R）脱亚氨基成瓜氨酸（C）导

30

致释放氨基部分的化学变化。在瓜氨酸化的序列中，至少一个精氨酸残基被置换为瓜氨酸残基。因此，表述“精氨酸残基被瓜氨酸化”和“精氨酸残基被置换为瓜氨酸残基”具备相同的含义。

如本文中所使用的，术语“瓜氨酸”和“cit”可以互换使用，是指 2-氨基-5-（氨甲酰基氨基）戊酸，是具有下式的 α -氨基酸： $\text{H}_2\text{NC}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CO}_2\text{H}$ 。

如本文中所使用的，术语“抗环瓜氨酸多肽（cyclic citrullinated peptide, CCP）抗体”是指，以合成的环化瓜氨酸多肽（CCP）为抗原的自身抗体，以 IgG 型为主。抗 CCP 抗体是由类风湿性关节炎患者 B 淋巴细胞自发分泌的，而其他疾病患者和正常人群 B 淋巴细胞并不自发分泌抗 CCP 抗体。因此，抗 CCP 抗体对类风湿性关节炎具有较高的特异性。

如本文中所使用的，术语“SETDB1”是指，将组蛋白 H3(H3K9)第 9 位的赖氨酸甲基化的组蛋白甲基转移酶（Loyola A, et al., EMBO Reports.2009; 10(7):769-775; Gurard-Levin ZA, et al., Annu Rev Biochem.2014; 83:487-517）。人 SETDB1 基因位于人染色体 1q21 上。SETDB1 的序列是本领域技术人员公知的，例如人 SETDB1 基因序列可参见 Ensembl 数据库登录号：ENSG00000143379。在本文中，“瓜氨酸化 SETDB1 蛋白”是指，其中的至少一个精氨酸残基被置换为瓜氨酸残基的 SETDB1 蛋白。优选地，所述瓜氨酸化 SETDB1 蛋白的 MBP 结构域第 16-26 位中的精氨酸残基中，至少 1 个被瓜氨酸化（优选全部被瓜氨酸化）。优选地，所述瓜氨酸化 SETDB1 蛋白在其 MBP 结构域第 16-26 位为 SEQ ID NO: 8 所示的序列。

如本文中所使用的，术语“SETDB1 蛋白 MBP（methyl-CpG-binding domain）结构域”是指，SETDB1 蛋白 N 端所包含的甲基化 CpG 结合结构域，其位于 SETDB1 蛋白的第 594-665 位。SETDB1 蛋白 MBP 结构域序列是本领域技术人员公知的，其示例性序列提供于 SEQ ID NO: 1。

如本文中所使用的，当提及 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的氨基酸序列时，其使用 SEQ ID NO: 1 所示的序列来进行描述。例如，表述“SETDB1 蛋白 MBP 结构域的第 16-26 位氨基酸残基”是指，SEQ ID NO: 1 所示的多肽的第 16-26 位氨基酸残基。然而，本领域技术人员理解，在 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的氨基酸序列中，可天然产生或人工引入突变或变异，而不影响其生物学功能。因此，在本发明中，术语“SETDB1 蛋白 MBP 结构域”及其类似表述应包括所有此类序列，包括例如 SEQ ID NO: 1 所示的序列以及其天然或人工的变体（例如具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、或至少 99% 序列同一性的变体）。并且，当描述 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的序列片段时，其不

仅包括 SEQ ID NO: 1 的序列片段，还包括其天然或人工变体中的相应序列片段。例如，表述“SETDB1 蛋白 MBD 结构域的第 16-26 位氨基酸残基”包括 SEQ ID NO: 1 的第 16-26 位氨基酸残基，以及其变体（天然或人工）中的相应片段。根据本发明，表述“相应序列片段”或“相应片段”是指，当对序列进行最优比对时，即当序列进行比对以获得最高百分数同一性时，进行比较的序列中位于等同位置的片段。

如本文中所使用的，术语“特异性结合”或“对...特异性”是指，两分子（即结合分子与靶分子）之间的非随机的结合反应，如抗体和其所针对的抗原之间的反应。两分子之间的结合亲和力可用 KD 值描述。KD 值是指由 k_d （特定的结合分子-靶分子相互作用的解离速率；亦称为 k_{off} ）与 k_a （特定结合分子-靶分子相互作用的缔合速率；亦称为 k_{on} ）之比得到的解离常数，或者指表示为摩尔浓度（M）的 k_d/k_a 。KD 值越小，两分子结合越紧密，亲和力越高。在某些实施方式中，特异性结合某抗原的抗体（或对某抗原具有特异性的抗体）是指，抗体以小于大约 10^{-5} M，例如小于大约 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M 或 10^{-10} M 或更小的亲和力(KD)结合该抗原。KD 值可通过本领域熟知的方法确定，例如使用表面等离子体共振术(SPR)在 BIACORE 仪中测定。

如本文中所使用的，术语“免疫学测定”是指，利用抗原-抗体之间的特异性相互作用/结合亲和力来进行的测定，其一般可用于检测特定抗原或者抗体在样品中的存在或水平。此类免疫学检测是本领域技术人员公知的，包括但不限于，酶免疫测定法（EIA）、化学发光免疫分析法（CLIA）、放射免疫测定法（RIA）、荧光免疫测定法（FIA）、Western 印迹法、免疫比浊法、表面等离子共振法等。在某些实施方式中，所述免疫学检测为酶免疫测定法（EIA），例如 ELISA 检测法、Elispot 检测法或 CLEIA 检测法。关于免疫学检测的详细描述，可参见例如，Fundamental Immunology, Ch. 7 Paul, W., ed., 第 2 版, Raven Press, N.Y. (1989)。

如本文中所使用的，术语“表位”是指，抗原上被免疫球蛋白或抗体特异性结合的部位。“表位”在本领域内也称为“抗原决定簇”。例如，表位通常以独特的空间构象包括至少 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 或 15 个连续或非连续的氨基酸，其可以是“线性的”或“构象的”。在线性表位中，蛋白质与相互作用分子（例如抗体）之间的所有相互作用的点沿着蛋白质的一级氨基酸序列线性存在。在构象表位中，相互作用的点跨越彼此分开的蛋白质氨基酸残基而存在。

如本文中所使用的，术语“可检测的标记”可以是可通过荧光、光谱、光化学、生物化学、免疫学、电学、光学或化学手段检测的任何物质。特别优选的是，此类标记能够适用

于免疫学检测（例如，酶联免疫测定法、放射免疫测定法、荧光免疫测定法、化学发光免疫测定法等）。这类标记是本领域熟知的，包括但不限于，酶（例如，辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、脲酶、葡萄糖氧化酶，等）、放射性核素（例如， ^3H 、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 或 ^{32}P ）、荧光染料（例如，异硫氰酸荧光素（FITC）、荧光素、异硫氰酸四甲基罗丹明（TRITC）、藻红蛋白（PE）、德克萨斯红、罗丹明、量子点或花菁染料衍生物（例如 Cy7、Alexa 750）、发光物质（例如化学发光物质，如吖啶酯类化合物）、磁珠（例如，Dynabeads®）、测热标记物例如胶体金或有色玻璃或塑料（例如，聚苯乙烯、聚丙烯、乳胶，等）珠、以及用于结合上述标记物修饰的亲合素（例如，链霉亲和素）的生物素。教导该标记物的使用的专利包括，但不限于，美国专利 3,817,837；3,850,752；3,939,350；3,996,345；4,277,437；4,275,149；及 4,366,241（全部通过引用并入本文）。本发明中涵盖的标记物可通过本领域已知的方法检测。例如，放射性标记可使用摄影胶片或闪烁计数器检测，荧光标记物可使用光检测器检测，以检测发射的光。酶标记物一般通过给酶提供底物及检测通过酶对底物的作用产生的反应产物来检测，及测热标记物通过简单可视化着色标记物来检测。在某些实施方案中，可通过不同长度的接头将如上所述的可检测的标记连接至检测抗体或抗原，以降低潜在的位阻。

如本文中所使用的，术语“抗体”是指，通常由两对多肽链（每对具有一条轻链(LC)和一条重链(HC)）组成的免疫球蛋白分子。抗体轻链可分类为 κ (kappa) 和 λ (lambda) 轻链。重链可分类为 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ ，并且分别将抗体的同种型定义为 IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE。在轻链和重链内，可变区和恒定区通过大约 12 或更多个氨基酸的“J”区连接，重链还包含大约 3 个或更多个氨基酸的“D”区。各重链由重链可变区(VH)和重链恒定区(CH)组成。重链恒定区由 3 个结构域(CH1、CH2 和 CH3)组成。各轻链由轻链可变区(VL)和轻链恒定区(CL)组成。轻链恒定区由一个结构域 CL 组成。恒定结构域不直接参与抗体与抗原的结合，但展现出多种效应子功能，如可介导免疫球蛋白与宿主组织或因子，包括免疫系统的各种细胞(例如，效应细胞)和经典补体系统的第一组分(C1q)的结合。VH 和 VL 区还可被细分为具有高变性的区域(称为互补决定区(CDR))，其间散布有较保守的称为构架区(FR)的区域。各 VH 和 VL 由按下列顺序：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4 从氨基末端至羧基末端排列的 3 个 CDR 和 4 个 FR 组成。各重链/轻链对的可变区(VH 和 VL)分别形成抗原结合部位。

如本文中所使用的，术语“分离的”或“被分离的”指的是，从天然状态下经人工手段获得的。如果自然界中出现某一种“分离”的物质或成分，那么可能是其所处的天然环境发生

了改变，或从天然环境下分离出该物质，或二者情况均有发生。例如，某一活体动物体内天然存在某种未被分离的多聚核苷酸或多肽，而从这种天然状态下分离出来的高纯度的相同的多聚核苷酸或多肽即称之为分离的。术语“分离的”或“被分离的”不排除混有人工或合成的物质，也不排除存在不影响物质活性的其它不纯物质。

5 如本文中所使用的，术语“载体(vector)”是指，可将多聚核苷酸插入其中的一种核酸运载工具。当载体能使插入的多核苷酸编码的蛋白获得表达时，载体称为表达载体。载体可以通过转化，转导或者转染导入宿主细胞，使其携带的遗传物质元件在宿主细胞中获得表达。载体是本领域技术人员公知的，包括但不限于：质粒；噬菌粒；柯斯质粒；人工染色体，例如酵母人工染色体(YAC)、细菌人工染色体(BAC)或 P1 来源的人工染色体(PAC)；
10 噬菌体如 λ 噬菌体或 M13 噬菌体及动物病毒等。可用作载体的动物病毒包括但不限于，逆转录酶病毒(包括慢病毒)、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒(如单纯疱疹病毒)、痘病毒、杆状病毒、乳头瘤病毒、乳头多瘤空泡病毒(如 SV40)。一种载体可以含有多种控制表达的元件，包括但不限于，启动子序列、转录起始序列、增强子序列、选择元件及报告基因。另外，载体还可含有复制起始位点。

15 如本文中所使用的，术语“宿主细胞”是指，可用于导入载体的细胞，其包括但不限于，如大肠杆菌或枯草菌等的原核细胞，如酵母细胞或曲霉菌等的真菌细胞，如 S2 果蝇细胞或 Sf9 等的昆虫细胞，或者如纤维原细胞，CHO 细胞，COS 细胞，NSO 细胞，HeLa 细胞，BHK 细胞，HEK 293 细胞或人细胞等的动物细胞。

如本文中所使用的，术语“同一性”用于指两个多肽之间或两个核酸之间序列的匹配情况。当两个进行比较的序列中的某个位置都被相同的碱基或氨基酸单体亚单元占据时（例如，两个 DNA 分子的每一个中的某个位置都被腺嘌呤占据，或两个多肽的每一个中的某个位置都被赖氨酸占据），那么各分子在该位置上是同一的。两个序列之间的“百分数同一性”是由这两个序列共有的匹配位置数目除以进行比较的位置数目 $\times 100$ 的函数。例如，如果两个序列的 10 个位置中有 6 个匹配，那么这两个序列具有 60% 的同一性。例如，DNA
25 序列 CTGACT 和 CAGGTT 共有 50% 的同一性(总共 6 个位置中有 3 个位置匹配)。通常，在将两个序列比对以产生最大同一性时进行比较。这样的比对可通过使用，例如，可通过计算机程序例如 Align 程序(DNAstar, Inc.)方便地进行的 Needleman 等人(1970) J. Mol. Biol. 48: 443-453 的方法来实现。还可使用已整合入 ALIGN 程序(版本 2.0)的 E. Meyers 和 W. Miller (Comput. Appl. Biosci., 4:11-17 (1988))的算法，使用 PAM120 权重残基表
30 (weight residue table)、12 的缺口长度罚分和 4 的缺口罚分来测定两个氨基酸序列之间的

百分数同一性。此外，可使用已整合入 GCG 软件包（可在 www.gcg.com 上获得）的 GAP 程序中的 Needleman 和 Wunsch (J Mol Biol. 48:444-453 (1970)) 算法，使用 Blossum 62 矩阵或 PAM250 矩阵以及 16、14、12、10、8、6 或 4 的缺口权重 (gap weight) 和 1、2、3、4、5 或 6 的长度权重来测定两个氨基酸序列之间的百分数同一性。

5 如本文中所使用的，术语“保守置换”意指不会不利地影响或改变包含氨基酸序列的蛋白/多肽的预期性质的氨基酸置换。例如，可通过本领域内已知的标准技术例如定点诱变和 PCR 介导的诱变引入保守置换。保守氨基酸置换包括用具有相似侧链的氨基酸残基替代氨基酸残基的置换，例如用在物理学上或功能上与相应的氨基酸残基相似（例如具有相似大小、形状、电荷、化学性质，包括形成共价键或氢键的能力等）的残基进行的置换。已在本领域内定义了具有相似侧链的氨基酸残基的家族。这些家族包括具有碱性侧链（例如，赖氨酸、精氨酸和组氨酸）、酸性侧链（例如天冬氨酸、谷氨酸）、不带电荷的极性侧链（例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸）、非极性侧链（例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸）、β 分支侧链（例如，苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸）和芳香族侧链（例如，酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸）的氨基酸。因此，优选用来自相同侧链家族的另一个氨基酸残基替代相应的氨基酸残基。此外，氨基酸残基还可以分成通过可选物理和功能特性限定的类别。例如，含醇基残基（S 和 T），脂肪族残基（I、L、V 和 M），环烯基相关残基（F、H、W 和 Y），疏水性残基（A、C、F、G、H、I、L、M、R、T、V、W 和 Y），带负电的残基（D 和 E），极性残基（C、D、E、H、K、N、Q、R、S 和 T），带正电的残基（H、K 和 R），小残基（A、C、D、G、N、P、S、T 和 V），极小残基（A、G 和 S），涉及转角形成的残基（A、C、D、E、G、H、K、N、Q、R、S、P 和 T），柔性残基（Q、T、K、S、G、P、D、E 和 R）。鉴定氨基酸保守置换的方法在本领域内是熟知的（参见，例如，Brummell 等人，*Biochem.* 32:1180-1187 (1993); Kobayashi 等人 *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999); 和 Burks 等人 *Proc. Natl Acad. Set USA* 94:412-417 (1997)，其通过引用并入本文）。

25 本文涉及的二十个常规氨基酸的编写遵循常规用法。参见例如，*Immunology-A Synthesis* (2nd Edition, E. S. Golub and D. R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991))，其以引用的方式并入本文中。在本发明中，术语“多肽”和“蛋白质”具有相同的含义且可互换使用。并且在本发明中，氨基酸通常用本领域公知的单字母和三字母缩写来表示。例如，丙氨酸可用 A 或 Ala 表示。

30 如本文中所使用的，术语“受试者”包括但不限于各种动物，特别是哺乳动物，例如人。

有益效果

本发明提供了瓜氨酸化 SETDB1 多肽以及基于抗瓜氨酸化 SETDB1 抗体水平的检测方法。本发明的技术方案具有高特异性和高灵敏度，可实现对类风湿关节炎的早期诊断。

5 本发明的技术方案操作简便，相比于通过影像学对患者进行疾病诊断，通过检测患者血清的抗瓜氨酸化 SETDB1 抗体水平，即可对患者疾病进行初步的诊断。本发明的技术方案在抗环瓜氨酸多肽抗体阴性人群中的检测阳性率可达 50%，极大程度提高了患者的检出率，解决了现有技术中诊断标志物灵敏度较低、导致早期 RA 患者漏诊的问题。本发明的技术方案，相比于人为设计的抗 CCP 抗体，是一个天然存在于患者体内的蛋白，更益于发现

10 类风湿关节炎的发病机制。

综上，本发明提供的瓜氨酸化 SETDB1 多肽以及基于抗瓜氨酸化 SETDB1 抗体水平的检测方法，为现有技术中存在的 RA 诊断标志物单一且易出现漏诊的问题，提供了有效的解决方案，并且对于 RA 发病机制的研究亦具有重要意义。

附图说明

图 1A-1B：不同瓜氨酸短肽在类风湿性关节炎中的抗体水平和诊断价值评估。其中，图 1A 是不同瓜氨酸短肽在类风湿性关节炎中的抗体水平；图 1B 是不同瓜氨酸短肽在类风湿性关节炎中的诊断价值评估。

图 2：瓜氨酸化 SETDB1 短肽（cit-4）与抗瓜氨酸多肽抗体（CCP2）的诊断价值对比。

20

图 3：瓜氨酸化短肽（cit-4）在抗瓜氨酸多肽抗体（CCP2）阴性人群中的表达水平研究。

图 4A-4B：瓜氨酸化 SETDB1 短肽（cit-4）在不同自身免疫性疾病患者中的抗体水平和诊断价值研究。其中，图 4A 是 cit-4 在不同自身免疫性疾病患者中的抗体水平；图 4B 是 cit-4 在不同自身免疫性疾病患者中的诊断价值评估。

25

图 5A-5B：不同长度的 SETDB1 瓜氨酸短肽在类风湿性关节炎中的检测结果。其中，图 5A 是不同长度的 SETDB1 瓜氨酸短肽在类风湿性关节炎中的抗体水平；图 5B 是不同长度的 SETDB1 瓜氨酸短肽在类风湿性关节炎中的诊断价值评估。

序列信息

表 1：本发明涉及的序列的信息提供于下面的表中。

SEQ ID NO:	描述	序列
1	SETDB1 MBD 结构域序列	YRGKNPLLVPALLYDFRRMTARRRVNRKMGFHVYKTPCGLCLRTMQEIERYLFETGCDLFLFLEMFCCLDPYVL
2	SETDB1 -Arg-4 氨基酸序列 (aa5-27)	NPLLVPALLYDFRRMTARRRVNRK
3	SETDB1 -cit-4 氨基酸序列 (aa5-27)	NPLLVPALLYDFXXMTAXXXVNXXK
4	SETDB1 -cit-4-截短 1#氨基酸序列 (aa8-27)	LVPLLDFXXMTAXXXVNXXK
5	SETDB1 -cit-4-截短 2#氨基酸序列 (aa12-27)	LYDFXXMTAXXXVNXXK
6	SETDB1 -cit-4-截短 3#氨基酸序列 (aa14-27)	DFXXMTAXXXVNXXK
7	SETDB1 -cit-4-截短 4#氨基酸序列 (aa16-27)	XXMTAXXXVNXXK
8	SETDB1 -cit-4-截短 5#氨基酸序列 (aa16-26)	XXMTAXXXVNXX
9	SETDB1 -cit-4-加长 1#氨基酸序列 (aa1-27)	YXGKNPLLVPALLYDFXXMTAXXXVNXXK
10	SETDB1 -cit-4-加长 2#氨基酸序列 (aa5-32)	NPLLVPALLYDFXXMTAXXXVNXXKMGFHV
11	cit-2 氨基酸序列	EVKGPSGXSFCE
12	cit-3 氨基酸序列	NMSVTXSNSLXXDSPPPPARXAXQE
13	cit-5 氨基酸序列	PXMQHICXXXWXXE
14	cit-8 氨基酸序列	ADMXXQMFAE
15	cit-9 氨基酸序列	MGPGDFFXXCXE

X 代表瓜氨酸

5 具体实施方式

现在于以下非限制性实施例中描述本发明。

本领域技术人员知晓，实施例以举例方式描述本发明，且不意欲限制本申请所要求保护的范 围。实施例中的实验方法，如无特殊说明，均为常规方法。实施例中未注明具体条件者，按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为 10 可以通过市购获得的常规产品。

以下实施例中使用的 ELISA 检测试剂和耗材均由北京万泰生物药业股份有限公司馈赠；所使用的检测抗原均由南京金斯瑞生物科技有限公司合成。

实施例 1：瓜氨酸化 SETDB1 短肽（cit-4）在类风湿性关节炎中的抗体水平研究

5 首先通过质谱对类风湿性关节炎患者的血清进行瓜氨酸标志物筛选，初步获得瓜氨酸短肽包括：cit-2（SEQ ID NO: 11）、cit-3（SEQ ID NO: 12）、cit-4（SEQ ID NO: 3）、cit-5（SEQ ID NO: 13）、cit-8（SEQ ID NO: 14）、cit-9（SEQ ID NO: 15）。随后，将这些短肽偶联生物素并进行化学合成，以提供生物素标记的短肽，用于进一步 ELISA 筛选。

按照间接 ELISA 法对瓜氨酸标志物的自身抗体表达水平进行检测。简言之，先将 N
10 端偶联了生物素的短肽以 50ng/孔的浓度包被在 PABC 板上。包被完成后，将 24 例类风湿性关节炎患者血清（RA）以及 24 例健康受试者血清（HC）以 10 倍浓度稀释作为一抗，孵育 30 分钟。用 HRP 标记的山羊抗人 IgG（GAH-HRP）做二抗，孵育 30 分钟，最后显色读值。结果示于图 1 中。图 1A 的结果显示，cit-4 在类风湿性关节炎中的自身抗体水平明显升高，具有统计学差异。同时对检测结果进行 ROC 曲线分析，结果如图 1B 所示，cit-4
15 在类风湿性关节炎中具有较高的诊断价值，其 AUC 值可达 0.9462，显著优于其他短肽。

实施例 2：瓜氨酸化 SETDB1 短肽（cit-4）对于类风湿性关节炎的诊断价值研究

按照间接 ELISA 法（具体方式参见实施例 1）对类风湿性关节炎患者体内的瓜氨酸标志物自身抗体表达水平进行检测。另外，将抗瓜氨酸多肽抗体（CCP2）作为对照，抗瓜
20 氨酸多肽抗体试剂盒购于北京贝尔生物公司，按照试剂盒说明书进行相关检测。结果示于图 2 中。图 2 的结果显示，cit-4 的 AUC 值为 0.9887，大于 CCP2（AUC 值为 0.9667），同 CCP2 相比，具有更高的诊断效果。

实施例 3：瓜氨酸化短肽（cit-4）短肽在抗瓜氨酸多肽抗体（CCP2）阴性人群中的表达水平研究
25

利用间接 ELISA 法（具体方式参见实施例 1）对 CCP2 检测阴性的患者人群进行 cit-4 抗体水平检测。结果示于图 3 中。图 3 结果显示，在 CCP2 阴性的患者人群中，cit-4 的阳性率可达 50%，说明 cit-4 的灵敏度更优于 CCP2。

实施例 4: 瓜氨酸化 SETDB1 短肽 (cit-4) 在不同自身免疫性疾病患者中的诊断价值研究

按照间接 ELISA 法 (具体方式参见实施例 1) 对不同自身免疫性疾病 (RA 类风湿性关节炎、SLE 系统性红斑狼疮、PSS 原发性干燥综合征、SSc 硬皮病) 患者血清的瓜氨酸化 SETDB1 自身抗体水平进行检测。结果显示于图 4 中。图 4A 的结果显示, 在自身免疫性疾病中, 瓜氨酸化 SETDB1 在类风湿性关节炎中的自身抗体水平最高。同时对检测结果进行 ROC 曲线分析, 结果如图 4B 所示, 在自身免疫性疾病中, 瓜氨酸化 SETDB1 对于类风湿性关节炎患者的诊断价值最优。

10 实施例 5: 不同长度的瓜氨酸化 SETDB1 截短变体在类风湿性关节炎患者血清中的表达水平

基于瓜氨酸化短肽 cit-4 (SEQ ID NO: 3) 进一步设计合成了不同长度的瓜氨酸化 SETDB1 截短变体 (SEQ ID NOs: 4-10), 均包含 SEQ ID NO: 8 (即 MBD 结构域的第 16-26 位氨基酸残基)。按照间接 ELISA 法 (具体方式参见实施例 1) 使用这些瓜氨酸化 SETDB1 截短变体 (SEQ ID NOs: 3-10) 对类风湿性关节炎患者体内的瓜氨酸标志物自身抗体表达水平进行检测。结果显示于图 5 中。图 5A 的结果显示, 不同长度的瓜氨酸化 SETDB1 截短短肽, 在类风湿性关节炎患者血清中, 其自身抗体表达水平显著升高。同时对检测结果进行 ROC 曲线分析, 结果如图 5B 所示, 不同长度的瓜氨酸化 SETDB1 截短短肽均可用于类风湿性关节炎的诊断。

20

尽管本发明的具体实施方式已经得到详细的描述, 但本领域技术人员将理解: 根据已经公布的所有教导, 可以对细节进行各种修改和变动, 并且这些改变均在本发明的保护范围之内。本发明的全部分为由所附权利要求及其任何等同物给出。

权 利 要 求

1. 一种分离的多肽或其变体，其中，所述多肽由 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的至少 11 个连续氨基酸残基组成；

其中，所述连续氨基酸残基中的至少 1 个是精氨酸残基，且所述精氨酸残基中的至少 1 个被瓜氨酸化；

其中，所述变体与其所源自的多肽相异仅在于 1 个或几个（例如，1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或 9 个）氨基酸残基的置换（例如，保守置换或非保守置换），且保留了其所源自的多肽的生物学功能（例如被抗瓜氨酸化 SETDB1 抗体识别并结合的活性）。

2. 权利要求 1 所述的分离的多肽或其变体，其中，所述分离的多肽在相应于 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的如下位置的氨基酸位置中的至少一处为精氨酸残基：2、16、17、21、22、23、26、43 和/或 50；并且所述精氨酸残基中的至少 1 个被瓜氨酸化；

优选地，所述分离的多肽在相应于 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的如下位置的氨基酸位置中的至少一处为精氨酸残基：16、17、21、22、23 和/或 26。

3. 权利要求 1 或 2 所述的分离的多肽或其变体，其中，所述分离的多肽至少包含 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的第 16-26 位氨基酸残基；其中，所述第 16-26 位连续氨基酸残基中的至少 1 个是精氨酸残基，且所述精氨酸残基中的至少 1 个被瓜氨酸化；

优选地，所述分离的多肽在相应于 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的如下位置的氨基酸位置中的至少一处（例如 1 处、2 处、3 处、4 处、5 处或全部 6 处）为精氨酸残基：16、17、21、22、23 和/或 26；并且所述精氨酸残基中的至少 1 个（例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个或全部 6 个）被瓜氨酸化；

优选地，所述分离的多肽至少包含如 SEQ ID NO: 8 所示的序列；

优选地，所述分离的多肽进一步在相应于 SETDB1 蛋白 MBD 结构域的如下位置的氨基酸位置中的至少一处（例如 1 处、2 处或全部 3 处）为精氨酸残基：2、43 和/或 50；并且所述精氨酸残基中的至少 1 个（例如 1 个、2 个或全部 3 个）被瓜氨酸化。

4. 权利要求 1-3 任一项所述的分离的多肽或其变体，其中，所述分离的多肽由选自下

列的连续氨基酸残基组成：SETDB1 蛋白 MBP 结构域的第 5-27 位、第 8-27 位、第 12-27 位、第 14-27 位、第 16-27 位、第 16-26 位、第 1-27 位、或第 5-32 位氨基酸残基；其中，所述连续氨基酸残基中的至少 1 个是精氨酸残基，且所述精氨酸残基中的至少 1 个被瓜氨酸化；

优选地，所述分离的多肽在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的如下位置的氨基酸位置中的至少一处（例如 1 处、2 处、3 处、4 处、5 处或全部 6 处）为精氨酸残基：16、17、21、22、23 和/或 26；并且，所述精氨酸残基中的至少 1 个（例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个或全部 6 个）被瓜氨酸化；

优选地，所述分离的多肽进一步在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的位置 2 的氨基酸位置上为精氨酸残基，其任选地被瓜氨酸化。

5. 权利要求 1-4 任一项所述的分离的多肽或其变体，其中，所述分离的多肽由 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的不多于 72 个（例如，不多于 70 个，不多于 65 个，不多于 60 个，不多于 55 个，不多于 50 个，不多于 45 个，不多于 40 个，不多于 35 个或不多于 30 个）的连续氨基酸残基组成。

6. 权利要求 1-5 任一项所述的分离的多肽或其变体，其中，所述变体不包括在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的如下位置的氨基酸位置中的氨基酸置换：16、17、21、22、23 和 26；

优选地，所述变体进一步不包括在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的位置 2、43 和/或 50 的氨基酸位置中的氨基酸置换。

7. 权利要求 1-6 任一项所述的分离的多肽或其变体，其中，所述分离的多肽至少包含 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的第 2-26 位氨基酸残基；

优选地，所述分离的多肽在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的位置 2、16、17、21、22、23 和 26 的氨基酸位置上为精氨酸残基，并且，所述精氨酸残基中的至少 1 个（例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个或全部 7 个）被瓜氨酸化；

优选地，所述分离的多肽在相应于 SETDB1 蛋白 MBP 结构域的位置 2、16、17、21、22、23 和 26 的氨基酸位置上的精氨酸残基均被瓜氨酸化。

8. 权利要求 1-7 任一项所述的分离的多肽或其变体，其中，所述 SETDB1 蛋白 MBD 结构域具有如 SEQ ID NO: 1 所示的序列。

9. 权利要求 1-8 任一项所述的分离的多肽或其变体，其中，所述分离的多肽具有如 SEQ ID NOs: 3-10 任一项所示的序列；

优选地，所述变体与 SEQ ID NOs: 3-10 任一项所示的序列相比具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、或至少 99% 序列同一性的序列，并且具备完全相同的瓜氨酸位置和数量。

10. 权利要求 1-9 任一项所述的分离的多肽或其变体，其中，所述分离的多肽或其变体连接于固相载体表面，或者带有可与固相载体连接的修饰基团；

优选地，所述修饰基团是生物素或亲和素；

优选地，所述固相载体选自磁珠或微量滴定板（例如微孔板或酶标板）。

11. 权利要求 1-9 任一项所述的分离的多肽或其变体，其中，所述分离的多肽或其变体带有可检测的标记；

优选地，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）、化学发光试剂（例如吖啶酯类化合物）、荧光染料或生物素。

12. 一种分离的核酸分子，其包含编码权利要求 1-9 任一项所述的分离的多肽或其变体的核苷酸序列。

13. 一种载体，其包含权利要求 12 所述的分离的核酸分子。

14. 一种宿主细胞，其包含权利要求 12 所述的分离的核酸分子或权利要求 13 所述的载体。

15. 一种试剂盒，其包含权利要求 1-9 任一项所述的分离的多肽或其变体。

16. 权利要求 15 所述的试剂盒，其包含捕获试剂，所述捕获试剂选自权利要求 1-9 任

一项所述的分离的多肽或其变体；

优选地，所述试剂盒还包含使用所述分离的多肽或其变体作为捕获试剂来测定来自受试者的样品中对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的水平、并任选地确定所述受试者是否患有类风湿性关节炎的说明书；

优选地，所述捕获试剂选自权利要求 10 所述的分离的多肽或其变体；

优选地，所述受试者是哺乳动物，例如人。

17. 权利要求 16 所述的试剂盒，其还包含检测试剂，其中，所述检测试剂选自带有可检测的标记的二级抗体；

优选地，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）、化学发光试剂（例如吖啶酯类化合物）、荧光染料或生物素；

优选地，所述二级抗体对待测抗体所来自的物种（例如人）的抗体是特异的；

优选地，所述二级抗体是抗-免疫球蛋白抗体；

优选地，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgG 抗体、抗 IgM 抗体、抗 IgA 抗体。

18. 权利要求 16 所述的试剂盒，其还包含检测试剂，其中，所述检测试剂选自权利要求 11 所述的分离的多肽或其变体。

19. 能够测定对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的试剂在制备试剂盒中的用途，所述试剂盒用于确定受试者是否患有类风湿性关节炎；

优选地，所述试剂能够通过免疫学测定来测定对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体；优选地，所述免疫学测定选自酶免疫测定法（例如 ELISA）、化学发光免疫分析法、荧光免疫分析法或放射免疫测定法；

优选地，所述受试者是人；

优选地，所述试剂用于测定来自所述受试者的样品中对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的水平；

优选地，所述样品是血液样品（例如全血、血浆或血清）或组织液样品（例如关节滑膜液）。

20. 权利要求 19 所述的用途，其中，所述能够测定对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性

的抗体的试剂包含捕获试剂，所述捕获试剂选自权利要求 1-7 任一项所述的分离的多肽或其变体；

优选地，所述捕获试剂选自权利要求 10 所述的分离的多肽或其变体。

21. 权利要求 20 所述的用途，其中，所述能够测定对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的试剂还包含检测试剂，所述检测试剂选自带有可检测的标记的二级抗体；

优选地，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）、化学发光试剂（例如吖啶酯类化合物）、荧光染料或生物素；

优选地，所述二级抗体对待测抗体所来自的物种（例如人）的抗体是特异的；

优选地，所述二级抗体是抗-免疫球蛋白抗体；

优选地，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgG 抗体、抗 IgM 抗体或抗 IgA 抗体；优选地，所述抗-免疫球蛋白抗体是抗 IgG 抗体。

22. 权利要求 20 所述的用途，其中，所述能够测定对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的试剂还包含检测试剂，所述检测试剂选自权利要求 11 所述的分离的多肽或其变体。

23. 权利要求 1-11 任一项所述的分离的多肽或其变体在制备试剂盒中的用途，所述试剂盒用于检测样品中的对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体。

24. 用于检测样品中的对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的方法，其包括以下步骤：

(1) 将所述样品与捕获试剂接触，以获得抗原-抗体免疫复合物；所述捕获试剂选自权利要求 1-9 任一项所述的分离的多肽或其变体；

(2) 测定步骤(1)获得的抗原-抗体免疫复合物的量；

优选地，在步骤(2)中，通过免疫学检测来测定所述免疫复合物的量；

优选地，所述免疫学检测选自酶免疫测定法（例如 ELISA）、化学发光免疫分析法、荧光免疫分析法或放射免疫测定法；

优选地，所述捕获试剂选自权利要求 10 所述的分离的多肽或其变体；

优选地，所述方法在体外实施；

优选地，所述方法用于非诊断目的。

25. 权利要求 24 所述的方法，其中，在步骤(2)中，使用检测试剂来检测所述免疫复合物的量，所述检测试剂选自带有可检测的标记的二级抗体；

优选地，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）、化学发光试剂（例如吖啶酯类化合物）、荧光染料或生物素；

优选地，所述二级抗体对待测抗体所来自的物种（例如人）的抗体是特异的；

优选地，所述二级抗体是抗-免疫球蛋白抗体；

优选地，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgG 抗体、抗 IgM 抗体或抗 IgA 抗体；优选地，所述抗-免疫球蛋白抗体是抗 IgG 抗体。

26. 权利要求 24 所述的方法，其中，在步骤(2)中，使用检测试剂来检测所述免疫复合物的量，所述检测试剂选自权利要求 11 所述的分离的多肽或其变体。

27. 用于确定受试者是否患有类风湿性关节炎的方法，其包括：

(1) 测定来自所述受试者的样品中对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的水平；和，

(2) 将所述水平与参考值比较；

优选地，如果所述水平高于参考值的话，则判断所述受试者患有类风湿性关节炎；

优选地，通过免疫学测定来测定所述样品中对瓜氨酸化 SETDB1 蛋白特异性的抗体的水平；优选地，所述免疫学测定选自酶免疫测定法（例如 ELISA）、化学发光免疫分析法、荧光免疫分析法或放射免疫测定法；

优选地，所述测定包括使用权利要求 1-11 任一项所述的分离的多肽或其变体作为捕获试剂；

优选地，所述样品是血液样品（例如全血、血浆或血清）或组织液样品（例如关节滑膜液）；

优选地，所述受试者是哺乳动物，例如人。

28. 权利要求 27 所述的方法，其中，步骤(1)包括以下步骤：

(1a) 将来自所述受试者的样品与捕获试剂接触，以获得抗原-抗体免疫复合物；所述捕获试剂选自第一方面所述的分离的多肽或其变体；

(1b) 测定步骤(1a)获得的抗原-抗体免疫复合物的量。

29. 权利要求 27 所述的方法，其中，在步骤(1b)中，通过免疫学检测来测定所述免疫复合物的量；优选地，所述免疫学检测选自酶免疫测定法（例如 ELISA）、化学发光免疫分析法、荧光免疫分析法或放射免疫测定法。

30. 权利要求 27 所述的方法，其中，在步骤(1b)中，使用检测试剂来检测所述免疫复合物的量，所述检测试剂选自带有可检测的标记的二级抗体；

优选地，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）、化学发光试剂（例如吖啶酯类化合物）、荧光染料或生物素；

优选地，所述二级抗体对待测抗体所来自的物种（例如人）的抗体是特异的；

优选地，所述二级抗体是抗-免疫球蛋白抗体；

优选地，所述抗-免疫球蛋白抗体选自抗 IgG 抗体、抗 IgM 抗体或抗 IgA 抗体；优选地，所述抗-免疫球蛋白抗体是抗 IgG 抗体。

31. 权利要求 27 所述的方法，其中，在步骤(1b)中，使用检测试剂来检测所述免疫复合物的量，所述检测试剂选自权利要求 1-11 任一项所述的分离的多肽或其变体；

优选地，所述分离的多肽或其变体带有可检测的标记；

优选地，所述可检测的标记选自酶（例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶）、化学发光试剂（例如吖啶酯类化合物）、荧光染料或生物素。