



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111574590 B

(45) 授权公告日 2022. 04. 22

(21) 申请号 201910123350.X

A61P 35/00 (2006.01)

(22) 申请日 2019.02.18

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 103517716 A, 2014.01.15

申请公布号 CN 111574590 A

CN 103517707 A, 2014.01.15

(43) 申请公布日 2020.08.25

审查员 张智贤

(73) 专利权人 常州市第一人民医院

地址 213000 江苏省常州市局前街185号

(72) 发明人 支枫 毛家豪 崔隽 李博文

刘鲲鹏 张申霞 彭亚

(74) 专利代理机构 常州市权航专利代理有限公司

司 32280

代理人 黄晶晶

(51) Int. Cl.

C07K 7/08 (2006.01)

A61K 38/10 (2006.01)

权利要求书1页 说明书3页

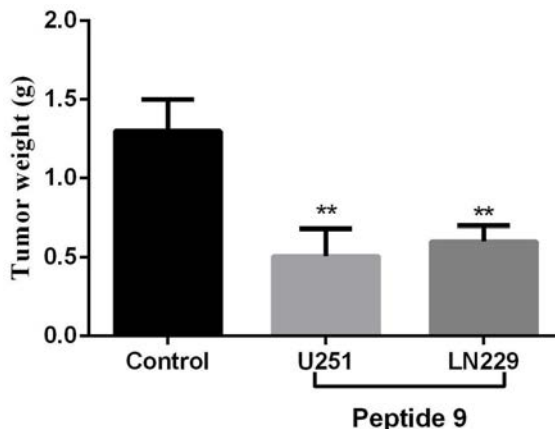
序列表1页 附图3页

(54) 发明名称

一种具有抗肿瘤功能的多肽及其应用

(57) 摘要

本发明涉及生物医药技术领域,具体涉及一种具有抗肿瘤功能的多肽及其应用。上述多肽序列如SEQ ID NO.1所示:TSEKALQQYPSERELRGI。本发明的有益效果在于首次发现和证实了TRIM9s抗肿瘤的功能依赖于其蛋白质氨基酸序列中532-550部分的多肽,具备开发成抗肿瘤药物的潜力。



1. 一种具有抗肿瘤功能的多肽,其特征在于所述多肽序列如SEQ ID NO.1所示。
2. 根据权利要求1所述的具有抗肿瘤功能的多肽,其特征在于,具有抗肿瘤功能的多肽的C端和/或N端连接了细胞穿膜肽。
3. 如权利要求1或2所述的具有抗肿瘤功能的多肽在制备抗肿瘤药物中的用途;所述抗肿瘤药物为抗胶质瘤药物。
4. 一种药物组合物,其特征在于包括治疗量的权利要求1或2所述的具有抗肿瘤功能的多肽以及其他药学上可接受的辅料。
5. 根据权利要求4所述的药物组合物,其特征在于上述药物组合物包括治疗量的权利要求1或2所述的具有抗肿瘤功能的多肽、治疗量的市售抗肿瘤药物以及其他药学上可接受的辅料。

一种具有抗肿瘤功能的多肽及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物医药技术领域,具体涉及一种具有抗肿瘤功能的多肽及其应用。

背景技术

[0002] 胶质瘤(glioma)起源于脑部胶质细胞,是一类最常见的原发性脑瘤,约占主要中枢神经系统肿瘤的80%,具有发病率高、复发率高、死亡率高以及治愈率低的特点。由于其在空间“占位”的特点,胶质瘤的临床症状表现为颅内压升高、头痛、呕吐、视物模糊等;严重者会产生视觉丧失、肢体麻木、肌肉弱、语言能力下降等症状。

[0003] 目前胶质瘤的治疗主要为手术、放疗和化疗,传统化疗存在的问题是无法杀死肿瘤细胞而不对正常细胞产生影响。多肽可以作为激素、疫苗、放射性核素及细胞毒药物的载体和抗肿瘤药物在肿瘤的治疗中发挥重要作用。多肽的靶向性化疗能够高度选择地、有效地聚集在肿瘤。

[0004] TRIM分子家族是一类主要的泛素连接酶,含有独特的基序结构,广泛参与到细胞的各种生物过程和信号转导调控。在肿瘤发展方面,部分TRIM分子表达的变化直接或间接与肿瘤进展相关,TRIM蛋白通过调节增殖、侵袭、DNA损伤修复等信号通路进而影响肿瘤的进展。TRIM9是一个含有TRIM家族典型结构的E3泛素连接酶,作为重要的E3泛素连接酶成员,TRIM家族蛋白广泛参与机体的各种生理活动,它们最重要的功能是泛素化目标蛋白,使之发生不同位点的泛素化修饰,导致目标蛋白的降解、稳定或激活。TRIM9有两个亚型,短亚型为TRIM9s,长亚型为TRIM9l。TRIM9s全长550个氨基酸,它在胶质瘤组织中低表达,且与患者不良预后相关。TRIM9s可以抑制胶质瘤细胞增殖、克隆形成和细胞迁移。TRIM9s抗肿瘤的功能依赖于其蛋白质氨基酸序列532-550部分的肽段(TSEKALQQYPSERELRGI)。上述多肽在下文中简称为多肽P9。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种具有抗肿瘤功能的多肽及其应用。

[0006] 本发明的第一方面,提供了一种具有抗肿瘤功能的多肽,其序列如SEQ ID NO.1所示。

[0007] SEQ ID NO.1:TSEKALQQYPSERELRGI。

[0008] 优选的,所述多肽氨基酸序列可以经过一个或多个氨基酸残基的取代,或缺失一个或多个氨基酸残基;某些位点的替换或缺失不影响/基本不影响其抗肿瘤功能。所述“多个氨基酸残基”指两个、三个、四个或五个氨基酸残基。

[0009] 进一步的,所述具有抗肿瘤功能的多肽的C端和/或N端连接了细胞穿膜肽(cell-penetrating peptides, CPPs)。所述细胞穿膜肽可以选用各种常用的细胞穿膜肽。

[0010] 本发明的第二目的在于上述多肽在制备抗肿瘤药物中的用途。

[0011] 优选的,所述抗肿瘤药物为抗胶质瘤药物。

[0012] 所述药物的剂型包括口服剂和注射剂,可以通过常规方法制备成片剂、胶囊剂或

注射剂;尤其包括注射剂。

[0013] 本发明的第三目的在于提供一种药物组合物,包括治疗量的上述多肽以及其他药学上可接受的辅料。

[0014] 进一步的,上述药物组合物,包括治疗量的上述多肽、治疗量的市售抗肿瘤药物以及其他药学上可接受的辅料。

[0015] 本发明的有益效果在于首次发现和证实了TRIM9s抗肿瘤的功能依赖于其蛋白质氨基酸序列532-550部分的多肽,且该多肽具备开发成抗肿瘤药物的潜力。

附图说明

[0016] 图1是本发明多肽P9的高效液相色谱图;

[0017] 图2是本发明多肽P9的质谱数据图;

[0018] 图3a是本发明实施例多肽P9抑制胶质瘤U251细胞增殖的数据图;

[0019] 图3b是本发明实施例多肽P9抑制胶质瘤LN229细胞增殖的数据图;

[0020] 图4是本发明实施例多肽P9促进胶质瘤U251和LN229细胞凋亡的数据图;

[0021] 图5是本发明实施例多肽P9对人类胶质瘤裸鼠异种移植瘤生长的抑制作用数据图。

具体实施方式

[0022] 以下结合实施例对本发明作进一步作具体描述,但不局限于此。

[0023] 实施例1:穿膜肽结合多肽P9

[0024] 以下实施例中所涉及到的多肽P9均已在N端或C端连接了穿膜肽,以促进多肽进入细胞,进而对其功能进行研究。此实施例中所用穿膜肽为-RRRRRRRR-。

[0025] 实施例2: MTT细胞活性实验

[0026] (1) 将复苏后且状态良好的胶质瘤U251和LN229细胞接种于96孔板中,置于含有10%小牛血清的DMEM培养基中培养24小时;

[0027] (2) 采用无血清的DMEM培养基将多肽P9分别稀释至如下浓度:0.5、1、2、4、10 μM ,并加入到上述胶质瘤U251和LN229细胞中,在对照组加入等体积的PBS,继续培养24小时。

[0028] (3) 加入终浓度为0.5 mg/ml的MTT溶液,并于37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 培养箱中继续培养4小时。

[0029] (4) 倒掉培养基,加入与之相同体积的DMSO,在37 $^{\circ}\text{C}$ 摇床中振荡培养10分钟。

[0030] (5) 利用酶标仪测定胶质瘤细胞U251和LN229在492 nm处的吸收值,每组实验均为3次实验的平均值。

[0031] 实施例3: Annexin V-FITC细胞凋亡检测胶质瘤细胞凋亡

[0032] (1) 在进行完细胞凋亡刺激后,1000g离心5分钟,弃上清,收集细胞,用PBS轻轻重悬细胞并计数。

[0033] (2) 取5-10万重悬的细胞,1000g离心5分钟,弃上清,加入195 μl Annexin V-FITC结合液轻轻重悬细胞。

[0034] (3) 加入5 μl Annexin V-FITC,轻轻混匀。

[0035] (4) 加入10 μl 碘化丙啶染色液,轻轻混匀。

- [0036] (5) 室温 (20-25°C) 避光孵育10-20分钟,随后置于冰浴中。孵育过程中使用铝箔进行避光,重悬细胞2-3次以改善染色效果。
- [0037] (6) 使用流式细胞仪检测。
- [0038] 实施例4: 人神经胶质瘤细胞U251和LN229裸鼠颅内异种移植瘤模型
- [0039] (1) 将1 mg多肽P9溶于1 ml生理盐水中,然后倍比稀释至所需浓度。
- [0040] (2) 实验所用小鼠为BALB/c裸小鼠,分为四组,每组6只,共24只,其中12只小鼠颅内接种U251细胞,另外12只小鼠颅内接种LN229细胞。
- [0041] (3) 模型对照组:腹腔注射生理盐水,0.1 ml/10 g,每天1次。
- [0042] 多肽P9给药组:腹腔注射0.1 ug/ml的多肽P9溶液,0.1 ml/10 g,每天一次。
- [0043] (4) 接种后定期监测小鼠体重,6周后处死小鼠,并采集脑组织取肿瘤。
- [0044] 本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。

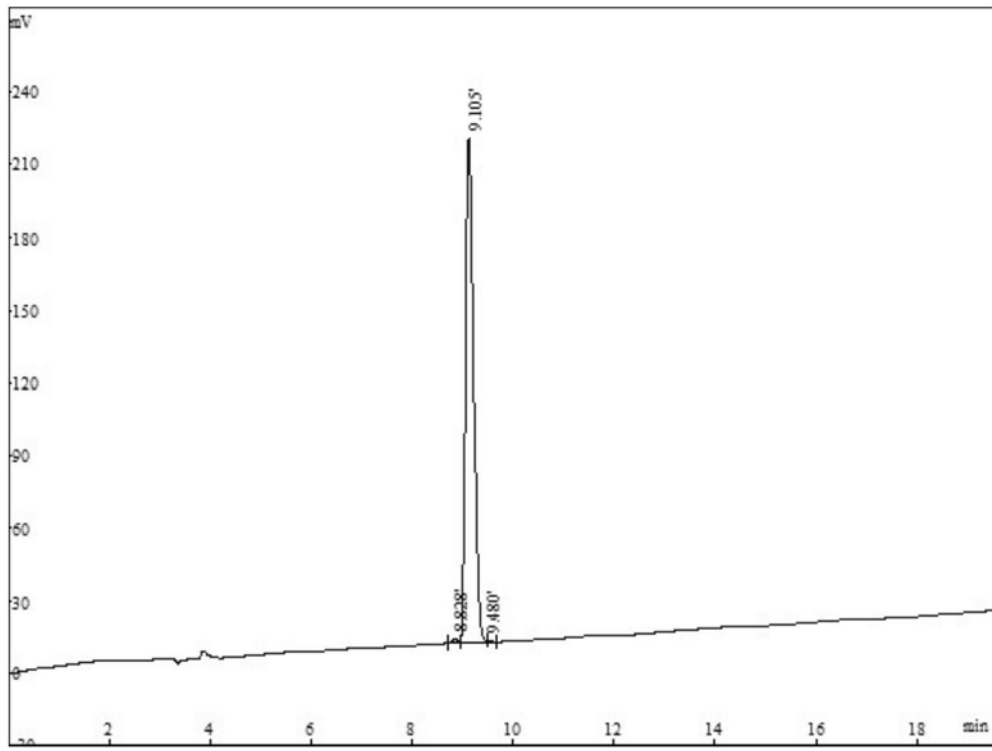


图1

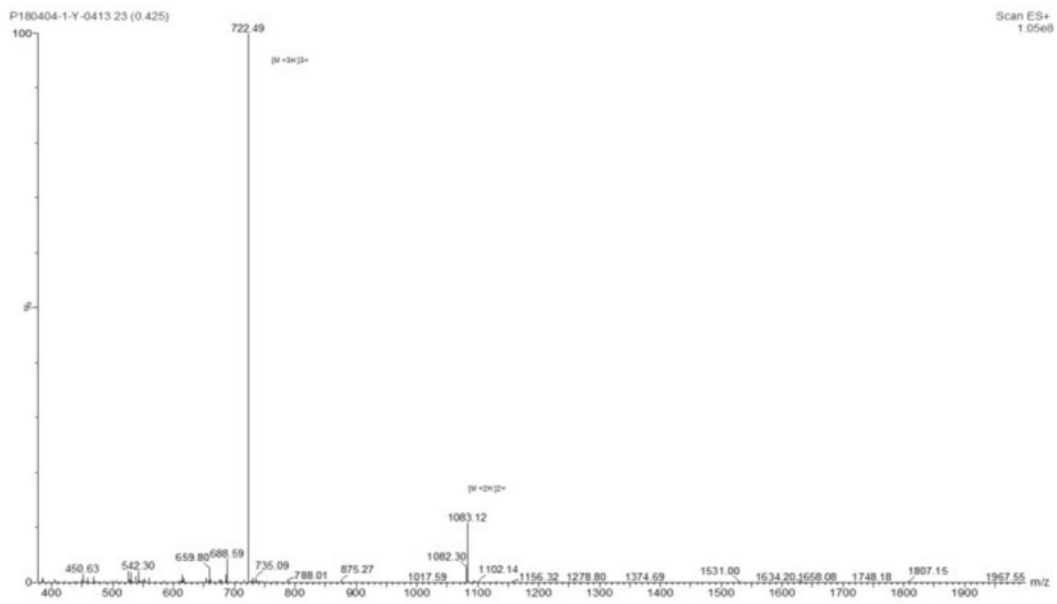


图2

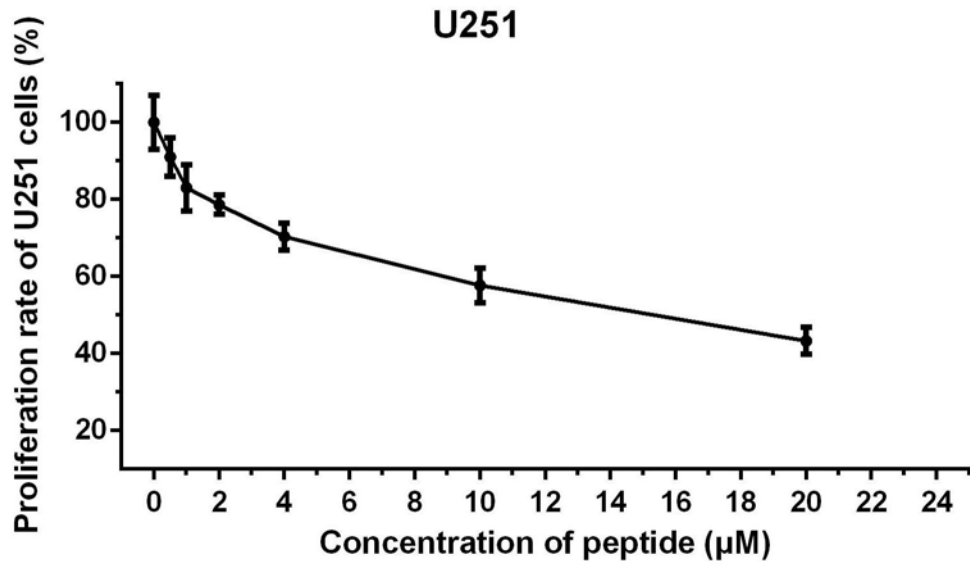


图3a

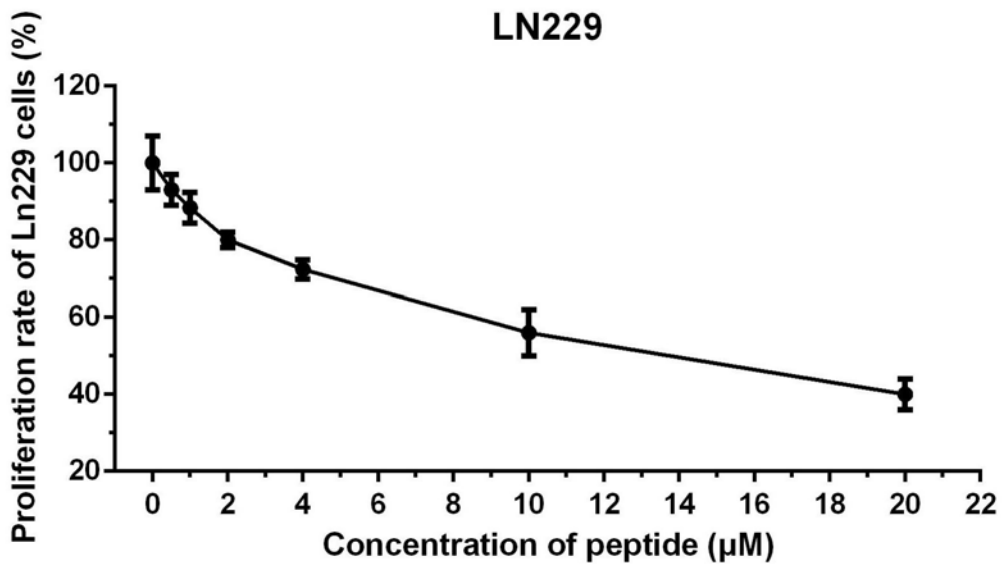


图3b

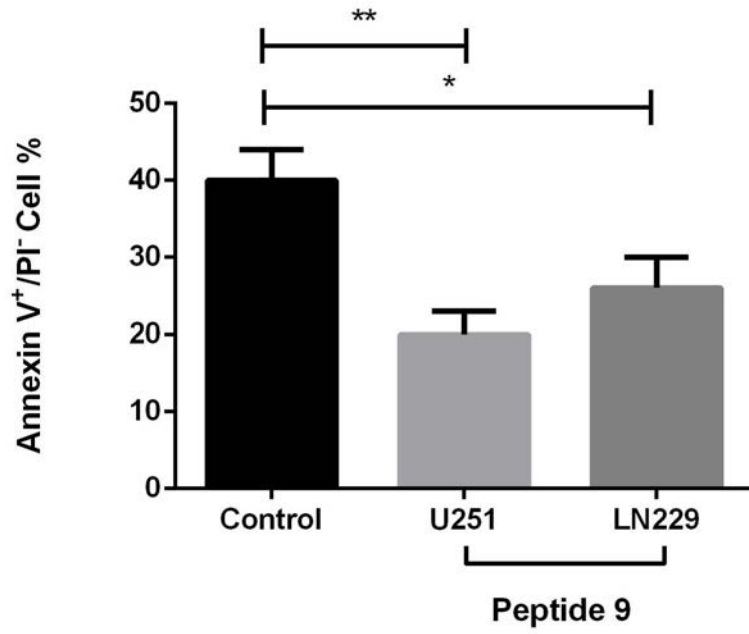


图4

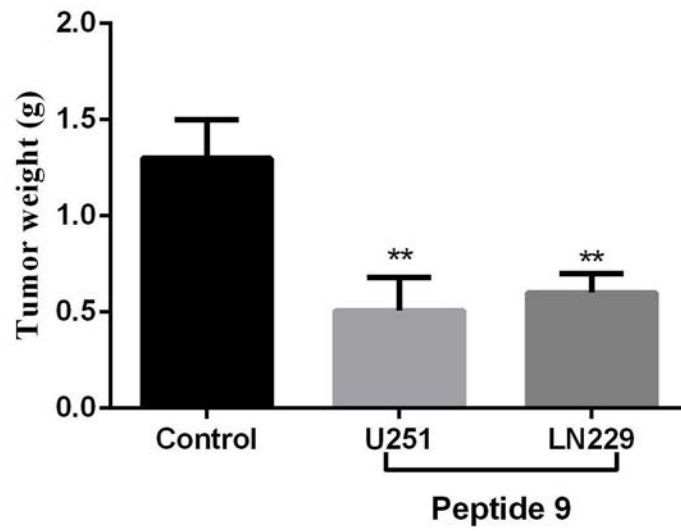


图5