

## BTP项目文章 |

# 利用蛋白质组学技术从头测序、蛋白鉴定研究新型抗NSCLC蛋白PFAP

产品名称	BTP项目文章   利用蛋白质组学技术从头测序、蛋白鉴定研究新型抗NSCLC蛋白PFAP
公司名称	北京百泰派克生物科技有限公司
价格	.00/件
规格参数	品牌名称:百泰派克生物科技 业务范围:技术服务 经营模式:生产厂商
公司地址	北京市经济技术开发区科创六街88号院
联系电话	18244218588

## 产品详情

非小细胞肺癌（NSCLC）是最常见的肺癌类型，约占肺癌病例的85%。同时，有超过30%的NSCLC患者被诊断为晚期。然而，尽管目前存在放化疗技术和新的辅助免疫治疗，但对于提高晚期NSCLC患者的生存率仍未达到理想效果，放化疗后的5年生存率仍然维持在10-15%之间。

与传统药物不同，蘑菇因其免疫调节、抗炎和抗肿瘤的特性备受瞩目。蘑菇不仅可以直接抑制癌细胞，还可以作为辅助治疗的选择，有助于改善因癌症引起的恶心、呕吐、腹泻、疲劳和失眠等症状，并增强人体免疫系统功能。因此，基于蘑菇中的抗癌活性化合物，开发新的针对NSCLC的药物具有极大的前景和潜力。


2023年7月，南开大学和香港中文大学的科研团队在International Journal of Biological Macromolecules杂志（IF=8.025）上发表了题为“New fungal protein from Pleurotus ferulae lanzii induces AMPK-mediated autophagy and G1-phase cell cycle arrest in A549 lung cancer cells”《阿魏蘑菇中的新型蛋白PFAP通过AMPK调节的自噬和G1期细胞周期阻滞诱导A549肺癌细胞》的研究成果。该研究从阿魏蘑菇（Pleurotus ferulae lanzii）中分离出一种新型的抗非小细胞肺癌（NSCLC）蛋白PFAP，并采用蛋白质组学技术对其进行了鉴定和抗肿瘤机制研究。通过从头测序的分析结果显示，PFAP是由135个氨基酸残基构成的蛋白质，其理论分子量为14.81 kDa。通过串联质谱标记（TMT）定量蛋白质组学分析，研究表明PFAP能够通过调节AMPK / mTOR途径并抑制A549肺癌细胞的G1期细胞周期来诱导自噬作用。此外，研究还发现PFAP可以抑制体内异种移植肿

瘤在裸鼠中的生长。由于PFAP对于NSCLC表现出高抗性和低毒性，因此有望作为一种潜在的抗NSCLC新药。这项研究为开发治疗NSCLC的新策略提供了坚实的理论基础。此研究中使用的多种蛋白质组学技术，从头测序、液相色谱-串联质谱法蛋白质鉴定和串联质谱标记（TMT）定量蛋白质组学分析，均由百泰派克生物科技（BTP）提供。

## 主要研究内容及结果

### 1：新型抗肿瘤蛋白PFAP的纯化与鉴定

通过对蘑菇子实体的粗蛋白提取物进行疏水交换色谱分离，得到了OF1、OF2（未吸附）和OF3（吸附）三个馏分，见图1a。从SDS-PAGE条带中收集并浓缩了OF3的一部分，而OF1和OF2则没有出现条带（图1b）。随后，采用凝胶过滤色谱柱对OF3的馏分进行纯化，得到了分子量为14.68 kDa的单一峰（图1c，图1d），并将这个纯化的蛋白质命名为PFAP。通过LC-MS/MS进行从头测序发现，PFAP是一个由135个氨基酸残基组成的蛋白质。

图1. PFAP的 和鉴定

### 2：PFAP对体外A549细胞的诱导死亡作用

为了评估PFAP对A549细胞活力的影响，我们将细胞与不同浓度（0、50、100、150和200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）的PFAP在不同时间点（12、24和48小时）内共同孵育。结果显示，随着PFAP浓度和孵育时间的增加，A549细胞逐渐空泡，暴露于PFAP 48 h后的细胞生长抑制率最高，表明PFAP是一种高效、低毒性的抗肿瘤蛋白。

图2. A549细胞的形态学特征和PFAP的细胞毒性

a：倒置荧光显微镜下观察到的A549细胞受PFAP影响的图像（放大倍数： $10\times 10$ ）；b：对A549细胞使用不同浓度的PFAP进行不同持续时间（12、24和48小时）处理，并通过SRB测定评估细胞毒性；c：对HEK 293细胞使用不同浓度的PFAP处理48小时，并通过SRB测定评估细胞毒性。

### 3：基于TMT的蛋白质组学分析揭示的PFAP对A549细胞的影响

为了更深入了解PFAP的作用机制，我们采用了基于TMT的定量蛋白质组学分析，对A549细胞中的蛋白质变化进行了分析。我们采用了 $|\log_2\text{FC}| \geq 0.263$ ， $p < 0.05$ 作为差异表达蛋白的标准。共有226种差异表达的蛋白质被鉴定出来，其中115种上调表达，111种下调表达（图3b）。

图3. 蛋白质组学分析

a : 电泳图 ; b : 差异蛋白质火山图 ; c : 功能注释分析 ; d : KEGG富集分析。

#### 4 : PFAP在体内抑制肺腺癌细胞的生长

为了探究PFAP在体内的抗肿瘤机制，我们将PFAP腹膜内注射到皮下接种A549细胞的裸鼠中。在进行了七次注射后，与阴性对照组相比，PFAP治疗组的肿瘤重量和体积在第15天显著降低（图4a-c）。

图4. PFAP对体内非小细胞肺腺癌的抑制作用

a: PFAP抑制携带A549细胞异种移植物的老鼠实体瘤生长。每组包含五只老鼠。b : PFAP对实体瘤重量的影响 ; c : PFAP对实体瘤体积的影响 ; d : 通过HE染色观察到的肿瘤组织 ; e : 异种移植肿瘤中Ki67的IHC和积分光密度的统计。 \*\*p < 0.01。 f: PFAP对体重的影响。

综上所述，本研究通过从头测序技术鉴定了一种新型的抗肿瘤蛋白PFAP，并通过基于TMT的定量蛋白质组学分析揭示了PFAP对A549细胞的影响。PFAP在体外抑制肺癌A549细胞的生长，在体内也显示出抑制异种移植肿瘤的潜力。由于PFAP对非小细胞肺癌表现出高抗性和低毒性，因此在抗癌治疗方面有着良好的前景。