

非模式植物蛋白质组学研究进展

刘丽杰¹, 于景华², 唐中华², 王丽娟², 祖元刚²

(1. 齐齐哈尔大学 通信学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 东北林业大学

森林植物生态学教育部重点实验室, 哈尔滨 150040)

摘要: 蛋白质组学研究是对基因组学研究的重要补充,它是在蛋白质水平定量、动态、整体性研究生物体。该文简要介绍了蛋白质组学的含义,蛋白质组学及植物蛋白质组学产生的科学背景,蛋白质组学的研究内容。概述了非模式植物蛋白质组学的研究进展,主要包括非模式植物个体及群体蛋白质组学,组织和器官蛋白质组学,亚细胞蛋白质组学,响应环境变化的蛋白质组学以及非模式植物生物环境因子的蛋白质组学的研究情况,同时对植物蛋白质组学的发展前景进行了展望。

关键词: 发非模式植物; 蛋白质组; 蛋白质组学

中图分类号: Q943.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2007)02-0217-07

Advances in non-model plant proteomics

LIU Li-Jie¹, YU Jing-Hua², TANG Zhong-Hua²,

WANG Li-Juan², ZU Yuan-Gang²

(1. College of Communication, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China; 2. Key Laboratory of Forest

Plant Ecology, Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: Proteomics is a research field after genomics, it studies organism quantitatively, dynamically in protein level. The concepts, scientific background of proteomics and plant proteomics and research content are briefly introduced in this paper. Non-model plant proteomics research progress is summarized, it includes non-model plant individual and population proteomics research, tissue and organ proteomics research, subcellular proteomics, plants respond to environment proteomics and biotic environment factor proteomics research, and different perspectives of plant proteomics are also discussed in this paper.

Key words: non-model plant; proteome; proteomics

1 蛋白质组学的含义,产生的科学背景

1.1 蛋白质组学的含义

蛋白质组 (Proteome) 的概念最先由 Marc Wilkins(1995)提出,指由一个基因组 (genome), 或一个细胞、组织表达的所有蛋白质 (Protein)。蛋白质组的概念与基因组的概念有许多差别,它随着组织、甚至环境状态的不同而改变。在转录时,一个基

因可以以多种 mRNA 形式剪接,并且同一蛋白可能以许多形式进行翻译后的修饰。故一个蛋白质组不是一个基因组的直接产物,蛋白质组中蛋白质的数目有时可以超过基因组的数目。由此,以“一种细胞内存在的全部蛋白质”定义为蛋白质组则更为准确。它体现了蛋白质组的动态变化(包括基因组表达的蛋白质和修饰加工后的各种形式的蛋白质)和特定时期、特定环境下蛋白质表达的特异性,是细胞内所有蛋白质的集合(李红革等,2001)。蛋白质组

收稿日期: 2005-11-11 修回日期: 2006-01-24

基金项目: 国家自然科学基金(30470166); 东北林业大学优秀青年教师创新项目[Supported by the National Natural Science Foundation of China (30470166); Science Innovation Foundation for the Excellent Youth Scholars of Northeast Forestry University]

作者简介: 刘丽杰(1980-),女,黑龙江齐齐哈尔人,硕士,主要研究方向为植物生理和植物分子生态学。

学(Proteomics)一词是由澳大利亚学者威尔金斯(Marc Wilkins)和威廉姆斯(Keith Williams)1994年在意大利召开的一次科学会议上首次提出,并由Wasinger等第一次在出版物中使用。蛋白质组学旨在阐明生物体全部蛋白质的表达模式及功能模式,其内容包括鉴定蛋白质的表达、存在方式(修饰形式)、结构、功能和相互作用等。

1.2 蛋白质组学及植物蛋白质组学产生的科学背景

生命科学进入了后基因组时代,而功能基因组(Functional Genome)的研究,则是这一时代的核心内容。可以说,人类基因组计划(Human Genome Project, HGP)已开始了由结构基因组学向功能基因组学的过渡、转化过程。功能基因组学采用一些新的技术,如微阵列, DNA 芯片, 可对成千上万的基因表达进行分析比较, 并从基因整体水平上对基因的活动规律进行阐述。它摒弃了经典分子生物学零敲碎打地研究个别基因的习惯, 力求从细胞水平上解决基因组问题, 以建立对生命现象的整体认识。但是, 生命现象的主要体现者是蛋白质, 而蛋白质有其自身的特定活动规律, 仅仅从基因的角度来研究是远远不够的。因此, 产生了一门在整体水平上研究细胞内蛋白质的组成及其活动规律的新兴学科——蛋白质组学(Proteomics)(李兆英, 2001)。

植物蛋白质组学是在植物基因组学的研究成果和高通量的蛋白质分析技术和鉴定技术得到突破的背景下产生的新兴学科, 植物基因组研究的发展是植物蛋白质组学产生的重要前提。在后基因组时代, 研究重心转移到基因功能的解析, 即利用结构基因组所提供的信息和高通量的实验手段在转录组(Transcriptome)和蛋白质组水平上系统地分析基因的功能(Oliver, 2000)。在功能基因组时代, 生物学家们的研究重心从揭示生命的所有遗传信息转移到在整体水平上对生物功能的研究。拟南芥和水稻的功能基因组学研究已经开始, 其中美国和日本科学家做了大量的工作。其它植物如玉米(*Zea mays*)、小麦(*Triticum aestivum*)、苜蓿(*Medicago truncatula*)、松树(*Pinus pinaster*)(Costa 等, 1999)等的功能基因组学研究也已经有人涉及。在基因组中不能解决的问题可望在蛋白质组研究中找到答案, 因为蛋白质组是动态的, 有它的时空性、可调节性, 进而能够在细胞和生命有机体的整体水平上阐明生命现象的本质和活动规律。蛋白质组研究的数据与基因组数据的整合, 将会在后基因组研究中发

挥重要作用。由于蛋白质组的时空性和可调节性, 它是一直在动态变化着的, 因此指望像基因组一样得到全部的蛋白质组几乎是不可能的。Cordwell 和 Humphrey-Smith 提出功能蛋白质组(functional proteome)的概念, 它指的是在特定时间、特定环境和实验条件下基因组所表达的蛋白质, 功能蛋白质组只是蛋白质组的一部分, 指的是细胞在一定阶段或与某一生理现象相关的蛋白质群体, 这实际上是把蛋白质组的概念具体化。

2 蛋白质组学的研究内容

蛋白质组研究和蛋白质研究不同。经典的蛋白质研究是从细胞的几万种蛋白质中将某一种蛋白质分离纯化, 进而研究其结构和功能; 而蛋白质组研究是将细胞中成千上万种蛋白质一个也不漏地分开, 然后分级鉴定。蛋白质组学的研究内容包括①蛋白质组作用、成分鉴定、数据库构建、新型蛋白质的发现、同源蛋白质比较、蛋白质加工和修饰分析; ②基因产物识别、基因功能鉴定、基因调控机制分析; ③重要生命活动的分子机制(如细胞周期、分化与发育、肿瘤发生发展、环境反应与调节等); ④医药靶分子的寻找和分析。蛋白质组学的核心内容包括两个部分: 蛋白质组研究体系的建立、完善和重要的生物学问题有关的功能蛋白质组研究。蛋白质组研究体系的建立、完善主要是研究特定条件下某一细胞或组织的所有蛋白质的表征问题。主要有“蛋白质组技术体系”和“蛋白质组信息学”两方面的研究。技术体系将包括这样一些内容: 蛋白质组的样品制备和鉴定; 蛋白质相互作用网络的研究技术等; 蛋白质组信息学则涉及蛋白质组数据库的建立, 相关软件的应用与开发和生物信息学。常规的方法是提取蛋白质, 经 2-DE(Two-dimensional electrophoresis)分离形成一个蛋白质组的二维图谱, 通过计算机图像分析得到各蛋白质的等电点、分子量、表达量等, 再结合以质谱分析为主要手段的蛋白质鉴定, 建立起细胞或组织或机体在所谓“正常生理条件下”的蛋白质组图谱和数据库。然后, 在此基础上, 可以比较分析在变化了的条件下蛋白质组所发生的变化, 如蛋白质表达量的变化、翻译后的加工修饰、蛋白质在亚细胞水平上定位的改变等, 从而发现和鉴定出特定功能的蛋白质及其基因(梁宇等, 2004)。功能蛋白质组研究要对重要内外环境因素、基因突变等条

件作用直接相关的蛋白质群体进行时相、初级和次级等变化的详细研究分析,从中发现重要的蛋白质群体及其活动规律和关键蛋白质,以此创建各种细胞的蛋白质组数据库,并进而开展重要的蛋白质的预测结构、三维结构和动态结构研究,在蛋白质组水平上深入探索其作用模式、功能机理、调节控制及其与蛋白质群体内或与相关生物大分子间的相互作用。

3 蛋白质组学在非模式植物中的应用

3.1 非模式植物个体及群体蛋白组学研究进展

通过蛋白质组比较可以检测遗传多样性的变化,Barreneche 等(1996)比较了 6 个欧洲国家的 23 种橡树,分析了幼苗的总蛋白质,共得到 530 种蛋白质,其中 101 个具有多态性。梁明山等认为利用电泳技术分析烟草种子蛋白,结合对其种子的总蛋白的测定,可对烟草作物进行分类及品种间亲缘关系的鉴定。在过去的十年里,采用 2-DE 技术来分离多肽及利用标准技术进一步鉴定蛋白质已被工作者广泛用于树木的各种实际应用中。例如:采用这些技术研究火炬松(*Pinus taeda*)发育早期阶段蛋白质结构的变化(Groome 等,1991)。2-DE 及图象分析已被用于海松(*P. pinaster*)的蛋白质组分析(Costa 等,1999)。许多研究已经揭示了 2-DE 在证明遗传可变性和区别不变和可变的能力,例如用 2-DE 分析了豌豆(*P. sativum*),海松的蛋白质位置变化(Vienne 等,1996)。单基因的杨树木质素发育过程的差别蛋白可通过 2-DE 技术和微分测序鉴定出来(Vander 等,2000)。也可通过类似于其它已显现多肽特征和杨树数据库中对应于 ESTs 的方法鉴定蛋白质。李惠玉等(2004)对樟子松其正常枝和突变丛生枝进行蛋白质双向电泳,通过 Image Master 2-DE 计算机分析系统对结果进行定性、定量分析。结果共有 59 个蛋白点在表达的质和量上有变化,其中 35 个蛋白点在突变丛生枝 2-DE 图谱中表达量均高于正常枝的蛋白点,20 个蛋白点在突变丛生枝 2-DE 图谱中表达量均低于正常枝的蛋白点,4 个蛋白点在突变丛生枝图谱上发生缺失,表明差异表达的蛋白点可能与突变丛生枝的发生有关。采用生物信息学的方法和工具对橡胶、辣椒、穿心莲等植物的萜类合成酶 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶的核酸及氨基酸序列进行分析、预测和推断,结果表明该类酶基因的全长包括 5'、3'非翻译区和一个开放

阅读框,无信号肽,是一个跨膜的亲水性蛋白(李嵘等,2006)。

3.2 非模式植物器官和组织的蛋白质组学研究

对植物器官和组织的蛋白质组学分析可以用来监控发育变化或环境刺激对蛋白质模式的影响。对非模式植物器官和组织的蛋白质组学方面已有很多研究。Blee 等(2001)研究了转基因烟草(*Nicotiana tabacum*)细胞壁的蛋白质组。他们首先建立了转入 Tcyt 基因的烟草悬浮培养细胞株系。该基因可使细胞产生高水平的内源细胞分裂素,从而使该细胞株系表现出细胞聚集增加、细胞变长细胞壁加厚 5 倍等特征。转化细胞壁的蛋白质组与对照烟草细胞的初生壁蛋白质组有很大差异。发现了许多初生壁中不存在的新蛋白质。已鉴定出的包括分子量为 32kD 的几丁质酶、34kD 的过氧化物酶、65kD 的多酚氧化酶和 68kD 的木聚糖酶,以及一些结构蛋白质。谈建中等(1999)应用 IEF 和 SDS-PAGE 双向电泳技术,分析了桑树(*Morus alba*)树液蛋白质电泳图谱,结果表明,供试栽培品种的蛋白质谱比较相似,相似系数在 0.72~1.00 之间;品种间存在 14 个共有组分,占检测组分总数的 51.9%;桑树栽培种与野生种的差异比较显著;从突变体和对照桑树中提取并分离叶片蛋白质,获得了 IEF/SDS-PAGE 双向电泳图谱,发现两者蛋白质点的相对含量有 36 处存在显著差异(谈建中等,2005)。薛妙男等(2000)比较分析了沙田柚(*Citrus grandis* var. *shatinyu* Hort)自交授粉花柱和异交授粉花柱的双向电泳图谱,两者的蛋白质分布格局相似有重叠性,可分析出 100 多种蛋白质,在自交花柱电泳图谱中发现了 3 种特异蛋白质(A,B,C),这三种蛋白可能与自交不亲和性相关。梁艳(2003)研究了白桦(*Betula platyphylla*)花发育不同时期蛋白质变化情况,杨传平等(2004)又对发育初期 2 个时期的白桦雄花序进行了蛋白质双向电泳研究,结果表明,2 个时期的 2-DE 图谱,有 275 个蛋白点在表达上有明显的质和量的变化。张君诚等(2005)在对传统的双向电泳方法进行改进和优化的基础上,探索出适合花生早期幼胚蛋白质双向电泳的方法与体系,利用该方法经考染后能稳定得到 100~200 个分散性较好的蛋白质斑点。Bahrman 等(1995)检测了 18 种不相关海松的三个器官(针、芽和花粉)的蛋白质的遗传变异。关于种子和果实方面的蛋白质组学也有一些,比如, Gallardo 等(2002)研究了截形苜蓿(*Medicago trunca-*

tula)种子在成熟过程的特殊阶段蛋白质表达的变化, Eklund 等(2003)研究了在大戟(*Euphorbia lagascae*)种子发芽过程中蛋白质表达的变化,并且鉴定出了类脂转运蛋白。从黄瓜(*Cucumis sativus* L. cv. *Hoffmanns Giganta*)和南瓜(*Cucurbita maxima* Duch. cv. *Gelber Zentner*)韧皮部中鉴定出了 45 个不同的蛋白质,这些蛋白质有不同的功能(Christina 等,2004)。丁坤善等(2005)建立了油松雌性不育系雌球果蛋白质组研究中的双向电泳技术,得到了重复性很高,分离效果良好的蛋白质双向图谱。

3.3 非模式植物的亚细胞蛋白质组学研究

非模式植物的蛋白质组学研究目前已经深入到亚细胞水平,研究比较多的细胞器是叶绿体和线粒体。以前的十年里,发现了存在于细胞壁、质膜、线粒体、内质网、高尔基器(Prime 等,2000)上的蛋白质。

3.3.1 叶绿体的蛋白质组学研究 在高等植物中,叶绿体蛋白质占总蛋白质的 10%~25%,可见,叶绿体在高等植物中起着重要作用。在豌豆和菠菜(*Spinacia oleracea*)中,以 RP-HPLC 为基础的蛋白质的分离方法来鉴定组成光系统 II 的蛋白质(Gomez 等,2002),成功的鉴定了除了来自完整质量标签的 ca. 的 40 个基因产物。另外,还观测到了一些翻译后修饰。但是这种方法仅适合于观察很小一部分表现出特殊修饰的蛋白质,对于中等复杂的蛋白质组有局限性。从雷氏衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)中分离出一种含有酰基脂类的低密度叶绿体膜片段,类似于叶绿体内膜和类囊体膜。一些与叶绿体 mRNA 相结合的蛋白质非常富集,说明这些膜是叶绿体基因表达的场所(Zerges 等,1998)。蛋白质组学技术还可以对异构体基因表达及其 mRNA 前体的剪接、mRNA 的编辑研究提供重要帮助。目前已有关于叶绿体蛋白质 mRNA 编辑和剪接(Mano 等,1997)的报道。在豌豆和菠菜中已发现多基因家族(Van 等,2000)。

用氯仿/甲醇提取,并利用 SDS-PAGE 和 MS/MS 分析,在菠菜中发现了 40 多个新的包膜蛋白质,并且第一次将其特征化(Ferro 等,2000)。用各种蛋白质分离技术还研究了质体核糖体 30S 和 50S 亚基的蛋白质组成(Yamaguchi 等,2000),在菠菜中发现了将近 60 个蛋白质,它们中的大多数是埃希氏菌属的同源体核糖体蛋白质。而 10% 是质体特殊蛋白质。最近,系统地分析了豌豆类囊体蛋白质,建立了从完整的豌豆的叶绿体的类囊体膜系统的腔内和外

围蛋白质高分辨率的 2-DE 图谱(Van 等,2000)。Anna 等(2004)分离和鉴定了来自类囊体膜基质和基粒的光收获蛋白。对蓖麻子的发芽种子在组织水平,亚蛋白质组水平,内质网亚蛋白质组的分析对蛋白质组学研究进行了补充(Maltman 等,2002)。

3.3.2 线粒体与其它细胞器的蛋白质组学研究 线粒体是细胞内数量最多的细胞器,为细胞能量产生的部位并在细胞代谢中起主要作用。第一次用 2-DE 来研究线粒体蛋白质组,特征化了 50 个蛋白质,鉴定出了 205 个植物线粒体蛋白质。当将蛋白质溶解成外膜和内膜蛋白质,包膜完整蛋白时观察到了相类似的结果(Millar 等,2001)。对豌豆叶,根和种子的线粒体的可溶性蛋白质的研究取得了成功(Bardel 等,2002),一些根或种子特殊蛋白质表明了组织分化对线粒体蛋白质组学的影响。Tomáš 等(2004)从烟草的花粉管中提取并鉴定出了大量的线粒体蛋白。Christina 等(2001)研究了甘蓝型油菜(*Brassica napus*)中异源细胞质雄性不育的 CMS 系和可育近等基因系的线粒体蛋白质,他们利用 BN-PAGE 方法对各种组织线粒体进行了研究。油料种子的内质网在种子发芽过程中蛋白质-脂质的合成,分类和储存方面起重要作用,以蓖麻(*Ricinus communis*)的发芽种子为材料研究了内质网的蛋白质(Maltman 等,2002),鉴定出了许多蛋白质,包括蓖麻油酸合成中的钙结合蛋白油酸酯羟化酶(cal-reticulin oleate-12-hydroxylase)。

3.4 非模式植物响应非生物逆境的蛋白质组学研究

植物在遇到各种环境侵害(如高温、低温、干旱、高盐、高渗透压、臭氧及机械损伤等)时会发生应激保护措施。这些胁迫可以引起大量的蛋白质在种类和表达量上的变化,而蛋白质组学研究可以使我们更好地了解环境胁迫伤害的分子机制以及植物的生态适应机制。

在水分胁迫方面,Costa 等(1999)发现海岸松(*Pinus pinaster*)中 38 个受干旱影响的蛋白质,其中 24 个由于干旱诱导,并且不同基因型对干旱胁迫的反应差别很大;Marie 等鉴定出了在干旱诱导条件下葡萄(*Vitis vinifera*)叶中的蛋白酶抑制剂(Marie 等,1992);Rey 等(1998)发现了在水胁迫下马铃薯(*Solanum tuberosum*)线粒体中的硫氧还蛋白。利用 N-端序列制备的血清在叶子 cDNA 表达文库中筛选,分离到了新的具有典型硫氧还蛋白特征的 cDNA 序列,并被硫氧还蛋白活性的生化实验所证实。

热激逆境下植物蛋白质组学方面的研究较少, Nover 等(1984)发现了在西红柿(*Lycopersicon esculentum*)细胞悬浮物中的 48HSPs; Iwahashi 等(2002)研究了番茄在高温逆境下蛋白质组的动态, 考马斯亮兰染色检测到了共计 1200 个蛋白质, 其中约 23.7%(293 个)在高温逆境下较对照含量下降, 24.9%(341 个)含量提高。在表达量提高的这些蛋白质中, 14 个蛋白质仅在高温逆境下出现。表达量发生变化的蛋白质中, 鉴定出光合放氧酶增强 2 蛋白前体的 23kDa 亚基(23kDa subunit of the oxygen evolving enhancer-2 protein precursor)、22kDa 线粒体热激蛋白(heat shock protein, HSP)、转化酶(invertases)、多聚半乳糖醛酸酶(polygalacturonase)以及抗坏血酸过氧化物同工酶。于景华(2003)研究了喜树(*Camptotheca acuminata*)热激反应的功能蛋白质组学, 鉴定出 7 种蛋白质, 并且进一步的确认了其中 5 种蛋白质在喜树热激反应中的生态适应功能。

Meza-Basso 等(1986)研究了葡萄幼苗在低温条件下诱导的蛋白质; Guy 等(1988)检测了菠菜幼苗冷胁迫相关的多肽, 这些蛋白质在冷胁迫过程中合成增加, 而在复原过程中又减少; 杨树苗割后冷处理反应中, 有两个家族的高分子量的多肽增加(Hausman 等, 2000); 在冷处理的马铃薯块茎中(Van 等, 1994)检测出了响应冷处理的 26 个蛋白质的量的变化 Jenny 等(2005)对白杨进行了冷处理, 结果 4℃处理一周后, 发现了低温条件下的诱导蛋白, 胁迫蛋白 1 和热激蛋白 70。

Nat 等(2004)对豌豆(*Pisum sativum*)进行不同浓度的 NaCl 胁迫, 利用 2-DE 及质谱鉴定技术得到了胁迫后根部表达量发生变化的 35 个蛋白, 并对鉴定出的蛋白的作用进行了讨论。

Kazuya 等(1996)对铁依赖蛋白质在西红柿野生型和尼克烟酰胺突变株中表达的变化的研究中, 证明了铁充足与铁缺乏的野生株和突变株根尖二维凝胶电泳表现出了不同的蛋白型, 在铁缺乏的野生株和铁充足与铁缺乏的突变株的根尖中, 甘油醛磷酸脱氢酶、甲酸脱氢酶和抗坏血酸过氧化物酶的表达量都增加了; 为鉴定缺铁诱导的蛋白质, 乔建军等(2003)利用添加过氧化氢模拟东北红豆杉(*Taxus cuspidate*)细胞在外界刺激下发生应激反应, 找到了部分与植物发生应激反应可能相关的蛋白点, 为研究细胞发生应激反应的分子机理以及活性氧的作

用机制奠定了基础。

3.5 非模式植物在生物胁迫下的蛋白质组研究

植物的生长也受到生物因子如动物、植物、微生物等的极大影响, 当植物受到竞争、动物取食、微生物共生或寄生、病菌侵害时, 将改变体内蛋白质的表达和酶类的活性等来完成这些信号的感应、传递以及生物学效应的实现。

用目标蛋白质组学的方法鉴定了西红柿木质部被镰刀霉感染后液体中大部分丰富的蛋白质。这不仅证实了有名的病原体相关的蛋白质在西红柿液中的存在, 而且鉴定出了一个新的 PR-5 异构体(Rep 等, 2002)。Wienkoop 等(2003)选取豆科模式植物光叶百脉根(*Lotus japonicus*), 用蛋白质组学的手段研究了类菌体周膜(PBM)的蛋白质组, 检索非丰度蛋白数据库和通过串联质谱得到的绿色植物表达序列标签数据库, 鉴定了大约 94 个蛋白; Bestel-Corre 等(2002)用双向凝胶电泳和银染方法分析接种灌木菌根真菌(*Glomus mosseae*)或根瘤菌(*Sinorhizobium meliloti*)的苜蓿(*Medicago sativa*)不同时期的根蛋白质组。在结瘤的根中鉴定到了苜蓿的一个豆血红蛋白。内部测序、四极质谱分析和数据搜寻证明了先前预测的由菌共生体诱发表达的蛋白; 最近, Saalbach 等(2002)检测了豌豆根瘤, 从细菌表膜和细菌与膜之间的空间鉴定出了 46 个蛋白质。张晓勤等(2004)采用双向聚丙烯酰胺凝胶电泳和质谱技术对天麻染菌球茎皮层和不染菌的新生球茎皮层进行了比较蛋白质组分析与鉴定, 得到了与转录有关的 RNA 结合蛋白。

4 展望

我国是从 1997 年才开始对蛋白质组进行全面的研究工作。1999 年以来, 在国家自然科学基金委员会的支持下, 我国已经具备了一支蛋白质组研究队伍, 并拥有主要的研究技术和装备。2001 年, 该研究项目被确立为“973”和“863”项目(曾嵘等, 2002), 在我国大力支持下, 今后对蛋白质组的研究工作会发展的更为迅速, 技术更为完善。

不同植物的亚蛋白质组 2D-PAGE 参考图谱将来可能会成为构成和理解植物蛋白质组的中心工具。现在已经有一些亚蛋白质组数据库可以得到。这些参考图谱对随后的蛋白质差异表达和翻译后修饰有很大帮助, 对模式植物拟南芥和水稻的蛋白质

组学已有很多进展,期待着这些结果对非模式植物的蛋白质组学研究有一定的借鉴。

蛋白质组研究还处于初期发展阶段,还存在很多不尽人意的地方,比如,蛋白质的动态分辨问题,现有的技术,细胞内的低拷贝数的蛋白质很难被检测到;疏水膜蛋白的分离,显形及鉴定的问题,疏水性膜蛋白更易于聚集在管壁上,由于蛋白质组的研究经常是在纳摩尔甚至飞摩尔水平进行,这种特性将会导致巨大的损失,或完全丢失。另外, α -螺旋跨膜蛋白在变性的 2D-PAGE 胶上不能很好地溶解或根本就不溶解。如果要分离这些蛋白质,需要有机溶剂分馏法或者反相 HPLC 等技术的辅助。可以期望随着其深入地发展,蛋白质组学研究对探讨重大疾病的机理、疾病诊断、疾病防治和新药开发以及植物的生命活动规律提供重要的理论依据,在阐明诸如生长、发育、进化及代谢调控等生命活动的规律等方面会有重大突破。

参考文献:

- Anna MT, Christian GH, Lello Z. 2004. Separation and identification of the light harvesting proteins contained in grana and stroma thylakoid membrane fractions[J]. *J Chromatogr A*, **1004** (1): 73—81
- Barreneche T, Bahrman N, Kremer A. 1996. Two dimensional gel electrophoresis confirms the low level of genetic differentiation between *Quercus robur* and *Quercus petraea* [J]. *For Genet*, **3**: 89—92
- Blee KA, Wheatley ER, Bonham VA, et al. 2001. Proteomic analysis reveals a novel set of cell wall proteins in a transformed tobacco cell culture that synthesises secondary walls as determined by biochemical and morphological parameters[J]. *Planta*, **212**: 404—415
- Bardel J, Louwagie M, Jaquinod M, et al. 2002. A survey of the plant mitochondrial proteome in relation to development[J]. *Proteomics*, **2**: 880—898
- Bestel-Corre G, Dumas-Gaudot E, Poinso V, et al. 2002. Proteome analysis and identification of symbiosis-related proteins from *Medicago truncatula* Gaertn by two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry[J]. *Electrophoresis*, **23**: 122—137
- Bahrman N, Petit R. 1995. Geneic polymorphism in maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) assessed by two-dimensional gel electrophoresis of needle, bud and pollen proteins[J]. *J Mol Evol*, **41**: 231—237
- Costa P, Pionneau C, Bauw G, et al. 1999. Separation and characterization of needle and xylem maritime pine proteins[J]. *Electrophoresis*, **20**: 1 098—1 108
- Christina W, Gialvalisco P, Schad M, et al. 2004. Proteomics of curcubit phloem exudate reveals a network of defence proteins [J]. *Phytochemistry*, **65** (12): 1 795—1 804
- Christina M, Maja B. 2001. Proteomic approach for investigation of cytoplasmic male sterility (CMS) in *Brassica* [J]. *Plant Physiol*, **158**: 787—794
- Ding KS (丁坤善), Zheng CX (郑彩霞), Bao RY (包仁艳), et al. 2005. Improvement of two-dimensional gel electrophoresis of proteins from female cones of the female-sterile *Pinus tabulaeformis* Carr. (油松雌性不育系球果蛋白质双向电泳技术的建立) [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), **22** (2): 190—197
- Eklund M, Edqvist J. 2003. Localisation of non-specific lipid transfer proteins correlate with programmed cell death responses during endosperm degradation in *Euphorbia lagascae* seedlings [J]. *Plant Physiol*, **132**: 1 249—1 259
- Ferro M, Seigneurin-Berny D, Rolland N, et al. 2000. Organic solvent extraction as a versatile procedure to identify hydrophobic chloroplast membrane proteins [J]. *Electrophoresis*, **21**: 3 517—3 526
- Gallardo K, Job C, Groot SPC, et al. 2002. Proteomics of seed germination. A comparative study of wild-type and gibberellin-deficient seeds [J]. *Plant Physiol*, **129**: 823—837
- Groome MC, Axler SR, Gifford DJ. 1991. Hydrolysis of lipid and protein reserves in loblolly pine seeds in relation to protein electrophoretic patterns following imbibition [J]. *Plant Physiol*, **83**: 99—106
- Gomez SM, Nishio JN, Faull KF, et al. 2002. The chloroplast grana proteome defined by intact mass measurements from liquid chromatography mass spectrometry [J]. *Mol Cell Proteomics*, **1**: 46—59
- Guy CL, Haskell D. 1988. Detection of polypeptides associated with the cold acclimation process in spinach [J]. *Electrophoresis*, **9** (11): 787—796
- Herbik A, Giritch A, Horstmann C, et al. 1996. Iron and copper nutrition-dependent changes in protein expression in a tomato wild type and the *Nicotiana* mine-free mutant chloronerva [J]. *Plant Physiol*, **111**: 533—540
- Hausman JF, Evers D, Thiellement H, et al. 2000. Compared response of polar cuttings and *in vitro* raised shoots to short-term chilling treatments [J]. *Plant Cell Rep*, **19**: 954—960
- Jenny R, Lucien H, Jean FH. 2005. Biochemical and physiological mechanisms related to cold acclimation and enhanced freezing tolerance in poplar plantlets [J]. *Physiol Plantarum*, **125**: 82—94
- Li HG (李红革), Wang ZY (王正岩). 2001. Genomics and proteomics (基因组学及蛋白质组学) [J]. *Middle School Biol Teaching* (中学生物教学), (2): 46
- Li ZY (李兆英). 2001. Proteomics and its significance (蛋白质组学及其意义) [J]. *Bull Biol* (生物学通报), **35** (9): 8—9
- Li HY (李慧玉), Dong JX (董京祥), Jiang J (姜静). 2004. Analysis of multiple shoot of mutant in *Pinus sylvestris* by two-dimensional electrophoresis (樟子松突变丛生枝蛋白质的双向电泳分析) [J]. *Biotechnology* (生物技术), **2** (14): 35—37
- Li R (李嵘), Wang ZZ (王喆之). 2006. A bioinformatics analysis on 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, a key enzyme plant isoprenoid biosynthesis (植物萜类合成酶 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶的生物信息学分析) [J]. *Guizhou* (广西植物), **26** (5): 464—473
- Liang Y (梁宇), Jing YX (荆玉祥), Shen SH (沈世华). 2004. Advances in plant proteomics (植物蛋白质组学研究进展) [J]. *Acta Phytocool Sin* (植物生态学报), **28** (1): 114—125
- Liang Y (梁艳). 2003. Changes of endogenous hormones and protein expression in *Betula platyphylla* Suk during the flower de-

- velopment(白桦花发育不同时期内源激素及蛋白质变化分析)[D]. Dissertation of Master Degree of Northeast Fore Univ (东北林业大学硕士学位论文)
- Meza-Basso L, Alberdi M, Raynal M, *et al.* 1986. Changes in protein synthesis in rapeseed (*Brassica napus*) seedlings during a low temperature treatment[J]. *Plant Physiol*, **82**(3):733–738
- Mano S, Yamaguchi K, Hayashi M, *et al.* 1997. Stromal and thylakoid-bound ascorbate peroxidases are produced by alternative splicing in pumpkin[J]. *FEBS Letters*, **413**:21–26
- Millar AH, Sweetlove LJ, Giege P, *et al.* 2001. Analysis of the *Arabidopsis* mitochondrial proteome[J]. *Plant Physiol*, **127**:1711–1727
- Maltman DJ, Simon WJ, Wheeler CH, *et al.* 2002. Proteomic analysis of the endoplasmic reticulum from developing and germinating seeds of castor (*Ricinus communis*)[J]. *Electrophoresis*, **23**:626–639
- Marie PR, Nicole V, Marc S, *et al.* 1992. Characterization of a novel protein induced by progressive or rapid drought and salinity in *Brassica napus* leaves[J]. *Plant Physiol*, **100**(3):1486–1493
- Nover L, Scharf KD. 1984. Synthesis, modification and structural binding of heat-shock proteins in tomato cell cultures[J]. *Eur J Biochem*, **139**:303–313
- Nat NVK, Sanjeeva S, Laksiri G, *et al.* 2004. Proteome-level changes in the roots of *Pisum sativum* in response to salinity[J]. *Ann Appl Biol*, **145**:217–230
- Oliver S. 2000. Guilt-by-association goes global[J]. *Nature*, **403**:601–603
- Prime TA, Sherrier DJ, Mahon P, *et al.* 2000. A proteomic analysis of organelles from *Arabidopsis thaliana* [J]. *Electrophoresis*, **21**:3488–3499
- Qiao JJ(乔建军), Zhao H(赵红), Niu JY(牛晋阳), *et al.* 2003. Two-dimensional gel electrophoresis on patterns of proteins from suspension cultured cells of *Taxus cuspidata* following treatment with H₂O₂(过氧化氢作用下东北红豆杉悬浮培养细胞中蛋白表达差异的研究)[J]. *Acta Phytopathol Sin*(植物病理学报), **33**(5):429–433
- Rey P, Pruvot G, Becuwe N, *et al.* 1998. A novel thioredoxin-like protein located in the chloroplast is induced by water deficit in *Solanum tuberosum* L. plants[J]. *Plant J*, **13**:97–107
- Rep M, Dekker HL, Vossen JH, *et al.* 2002. Mass spectrometric identification of isoforms of PR proteins in xylem sap of fungus-infected tomato[J]. *Plant Physiol*, **130**(2):904–917
- Saallbach G, Erik P, Wienkoop S, *et al.* 2002. Characterisation by proteomics of peribacteroid space and peribacteroid membrane preparations from pea (*Pisum sativum*) symbiosomes[J]. *Proteomics*, **2**(3):325–337
- Tan JZ(谈建中), Lou CF(楼程富), Ping YJ(平野久). 1999. Two-dimensional electrophoresis analysis of flow proteins in mulberry, morus(桑树液液蛋白质的双向电泳分析)[J]. *Acta Sericol Sin*(蚕业科学), **25**(2):265–269
- Tan JZ(谈建中), Liu MJ(刘美娟), Zhang GY(张国英), *et al.* 2005. Analysis of leaf proteins from mulberry mutant Cty-Ym by using mass spectrometry and two-dimensional electrophoresis(桑突变体 Cty-Ym 叶片蛋白质的双向电泳及质谱分析)[J]. *Acta Sericol Sin*(蚕业科学), **31**(1):8–13
- Tomáš Hájek DV. 2004. New method of plant mitochondria isolation and sub-fractionation for proteomic analyses[J]. *Plant Sci*, **167**:389–395
- Vienne D, Burstin J, Gerber S, *et al.* 1996. Two-dimensional electrophoresis of proteins as a source of monogenic and codominant markers for population genetics and mapping the expressed genome[J]. *Heredity*, **76**:166–176
- Van Berkel J, Salamini F, Gebhardt C. 1994. Transcripts accumulating during cold storage of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers are sequence related to stress-responsive genes[J]. *Plant Physiol*, **104**:445–452
- Vander MK, Meyermans H, Van Montagu M, *et al.* 2000. Wood formation in polar: identification, characterization, and seasonal variation of xylem proteins[J]. *Planta*, **210**:589–598
- Van Wijk K J. 2000. Proteomics of the chloroplast: experimentation and prediction[J]. *Trends Plant Sci*, **5**:420–425
- Wilkins M. 1995. Government backs proteome proposal[J]. *Nature*, **378**:653
- Wienkoop S, Saallbach G. 2003. Proteome analysis. Novel proteins identified at the peribacteroid membrane from *Lotus japonicus* root nodules[J]. *Plant Physiol*, **131**:1080–1090
- Xue MN(薛妙男), Yang JH(杨继华). 2000. Two-dimensional electrophoresis of self-and cross-pollinated stylar protein of Shatinyou(沙田柚自交, 异交花柱蛋白质的双向电泳)[J]. *J Guangxi Normal Univ*(广西师范大学学报)(自然科学版), **18**(3):83–85
- Yu JH(于景华). 2003. Study on molecular ecology of *Camptotheca acuminata* in response to heat shock(喜树热激反应的分子生态学研究)[D]. Dissertation Doctor Degree Northeast Fore Univ(东北林业大学博士学位毕业论文)
- Yamaguchi K, Knoblauch KV, Subramanian AR. 2000. The plastid ribosomal proteins identification of all the proteins in the 30s subunit of an organelle ribosome(chloroplast)[J]. *R J Biol Chem*, **275**(37):28455–28465
- Yang CP(杨传平), Jiang J(姜静), Liang Y(梁艳), *et al.* 2004. Anatomical observation and image analysis of two-dimensional gel electrophoresis of male flower in the early period of inflorescence development for *Betula platyphylla* Suk(白桦雄花序发育初期蛋白质的双向电泳图谱分析)[J]. *J Northeast Fore Univ*(东北林业大学学报), **32**(1):1–4
- Yumiko L, Hiroshi H. 2000. Effect of heat stress on tomato fruit protein expression[J]. *Electrophoresis*, **21**(9):1766–1771
- Zeng R(曾嵘), Xia QC(夏其昌). 2002. The progress and development of proteomic research(蛋白质组学研究进展与趋势)[J]. *Bull Chin Acad Sci*(中国科学院院刊), (3):166–169
- Zerges W, Rochaix J D. 1998. Low density membranes are associated with RNA-binding proteins and thylakoids in the chloroplast of *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *J Cell Bio*, **140**:101–110
- Zhang JC(张君诚), Cai Y(蔡晔), Zhang XW(张新文), *et al.* 2005. An introduction of the improvement on the two-dimensional electrophoresis for protein from early young embryo of peanut(花生幼胚蛋白质双向电泳的方法与改进)[J]. *J Shanxi Agric Univ*(山西农业大学学报), **25**(1):38–41
- Zhang XQ(张晓勤), Hu JY(胡金勇), Zeng Y(曾英), *et al.* 2004. Identification of proteins from *Gastrodia elata* by two-dimensional electrophoresis and peptide mass fingerprinting(天麻蛋白质的双向电泳和肽质量指纹谱分析与鉴定)[J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究), **26**(1):89–95