



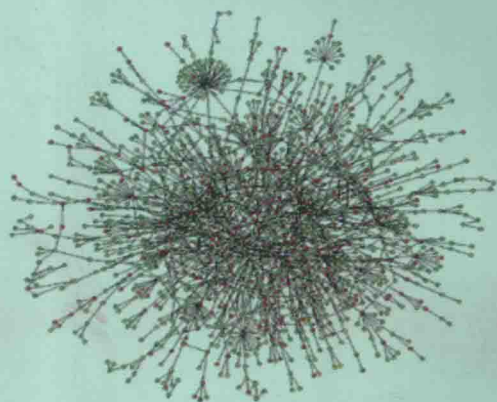
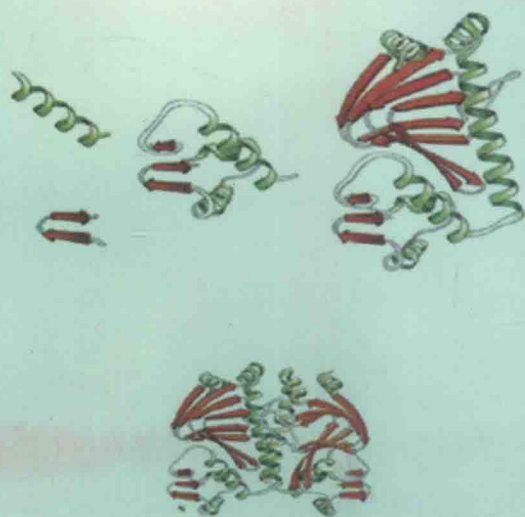
普通高等教育“十一五”国家级规划教材



全国高等农林院校“十一五”规划教材

蛋白质组学

李维平 主编



 中国农业出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材
全国高等农林院校“十一五”规划教材

蛋 白 质 组 学

李维平 主编

中 国 农 业 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

蛋白质组学/李维平主编. —北京: 中国农业出版社,
2009. 7

普通高等教育“十一五”国家级规划教材. 全国高等
农林院校“十一五”规划教材

ISBN 978-7-109-13922-0

I. 蛋… II. 李… III. 蛋白质—基因组—高等学校—教
材 IV. Q51

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 093471 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100125)

责任编辑 李国忠

北京中兴印刷有限公司印刷 新华书店北京发行所发行

2009 年 8 月第 1 版 2009 年 8 月北京第 1 次印刷

开本: 820mm×1080mm 1/16 印张: 20

字数: 470 千字

定价: 29.50 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

主 编 李维平

副主编 陈 捷 彭宣宪

编 者 (按姓氏笔画排序)

刘师莲 (山东大学)

李维平 (西北农林科技大学)

杨世海 (吉林农业大学)

杨淑慎 (西北农林科技大学)

陈 捷 (上海交通大学)

秦启伟 (中山大学)

彭宣宪 (中山大学)

主 审 陈 宏 (西北农林科技大学)

前 言

在 20 世纪下半叶，生命科学得到迅猛发展，促进了一些交叉学科和边缘学科的兴起，特别是基因组学技术在生命科学各领域中起到极其重要的作用。到 1994 年，科学家们提出了蛋白质组学的概念，并逐步建立了相应的方法和技术体系，以进行基因功能的研究。蛋白质组学经过十年的发展与普及，已在 21 世纪初成为一门独立的学科。它将生物大分子分离技术、蛋白质化学技术、生物信息技术、计算机技术与基因组学技术有机地融为一体，成为 21 世纪初生命科学发展的一个重要的标志。蛋白质组学不仅是生命科学的研究技术，更是生命学科中一种研究方法学的发展，推动着生命科学各领域的研究向纵深发展。

蛋白质组学的创立是生命科学从揭示生命的所有遗传信息发展到从蛋白质分子水平对基因功能进行系统的研究。蛋白质组学以高通量、高效率、低成本鉴定蛋白质为技术特征，以细胞内全部蛋白质的存在及其活动方式为研究内容，形成了一套具有鲜明特色的技术方法和理论体系，从而提供了一个从蛋白质功能集合体阐明生命规律的分子研究理论和工作平台，促进着生命科学整体研究的发展。“如果说人类基因组计划是把人类送上了月球，那么蛋白质组计划将促使人类成功返回地球；如果说人类基因组计划是写满人类生命奥秘的天书，那么蛋白质组计划便是解读这本天书的方法”。蛋白质组学研究已被列入我国中长期发展计划的基础研究和高科技研究的重点项目中。对这种纵跨基础科学研究和高科技研究的可应用于不同研究领域的科学方法与技术的确立与认识，是对我国高科技研究与知识体系的新定位，也体现出蛋白质组学学科体系所具有的独特的领航功能。

随着科学技术的飞速发展，蛋白质组学的重要性日益引起教学工

作者的重视,我国有不少高等院校已开设蛋白质组学研究生课程或本科生课程。该课程的开设使同学们尽快掌握国际前沿性知识,达到与“国际接轨”的目的。但在教学过程中苦于没有一本教科书,使普及工作进展缓慢,师生们均感到一本教科书的重要性。《蛋白质组学》被列入普通高等教育“十一五”国家级规划教材,这预示着其知识体系将应运而生。为此我们深感责任重大,不敢怠慢和草率,竭尽全力撰写蛋白质组学教材,使其汇集科学巨匠们的研究成果,促进我国蛋白质科学乃至生命科学的发展。

我们本着使读者既能在理论方面较全面系统地了解蛋白质组学知识,又能在实践方面掌握一定的蛋白质组学的实用技术为原则,从理论与实践相结合的角度按蛋白质实际分析的时序重点介绍了当今蛋白质组学的比较成熟的思想、技术和原理。以双向电泳-质谱分析技术为基本技术路线,试图展现出各种常用的蛋白质分离技术、蛋白质质谱鉴定技术、生物信息学分析技术,同时对蛋白质-蛋白质相互作用、蛋白质定量与修饰等重要的蛋白质组学范畴的技术进行描述。希望蛋白质组学教材的问世能对我国生物科学与医学教学改革起到积极的作用,更希望对从事蛋白质组学研究的学者有所裨益,促进蛋白质科学的发展。

蛋白质组学是一门年轻的学科,处于迅猛发展中。如何把握本书内容的前沿性和新颖性,这对我们这些长期工作于教学和科研一线的教师也是一个很大的挑战。在中国农业出版社和西北农林科技大学的支持下,我们组织全国有关高等院校从事蛋白质组学课程教学的骨干教师,编写这本教科书。经反复讨论,本书立足于蛋白质组学的基本理论、基本知识,基本概念,同时介绍相关重要领域的最新进展,旨在达到基础与进展相结合,概念与创新相衔接的和谐发展,使学习者学会如何在奠定扎实理论的基础上接受新知识,扩展独立思维空间。

本书由李维平教授担任主编,陈捷教授、彭宣宪教授任副主编,陈宏教授主审。全书共 11 章,参加编写的有李维平(第一章、第二

章、第五章和第九章)、刘师莲(第三章)、杨世海(第四章和第七章)、陈捷(第八章和第十一章)、彭宣宪(第六章)、秦启伟(第十章)、杨淑慎(参加第二章),李维平和彭宣宪还分别参加了第七章和第九章的编写。

编写蛋白质组学教材是一项新的工作,采用了许多大师研究工作的内容或图表,在此由衷地致以感谢。由于时间仓促,经验不足,加之学科交叉,书中一些概念可能会过多,甚至提法不妥之处也在所难免,希望读者能够理解并提出宝贵意见。

编 者

2009年5月

目 录

前言

第一章 绪论	1
第一节 蛋白质组学研究的目 的、内容、任务与方法	1
一、蛋白质组学的概念	1
二、蛋白质组学研究的目 的	2
三、蛋白质组学研究的重要性	2
四、蛋白质组学研究的内容	6
五、蛋白质组学研究的任务	7
第二节 蛋白质科学发展的历史与现状	8
一、前沿科学技术发展的历史	8
二、蛋白质组研究的开端	9
三、蛋白质组研究的现状	10
第三节 蛋白质组学研究的特点	11
一、技术上的先进性	11
二、学科的综合性	12
三、研究的巨观性	13
四、技术的实用性	14
五、学科的交叉性	14
第四节 蛋白质组学研究的技术和方法	14
一、方法的分类	14
二、技术体系分类	15
三、具体技术	15
第五节 蛋白质组学的学习方法	16
一、注意学习研究方法	16
二、树立多学科综合的思想	17
三、坚持理论与实践并重的原则	17
四、建立科学发展观	17
五、认识蛋白质组学研究的最终目标	18
思考题	18
第二章 蛋白质样品的制备	19
第一节 样品制备总则	19

一、目的	19
二、原则	20
三、流程	20
四、诸要素的协调	20
第二节 样品破碎与分离蛋白质	21
一、样品的类型	21
二、组织与细胞破碎	21
三、蛋白酶活性抑制剂的使用	22
四、分离和提取蛋白质	23
第三节 蛋白质裂解技术	24
一、裂解剂	24
二、裂解技术	25
第四节 样品预分级	26
一、亚细胞器的分离	26
二、细胞的分离	28
三、分步裂解提取	29
四、特殊蛋白质的提取	31
第五节 样品蛋白质含量测定	34
一、紫外吸收测定法	35
二、考马斯亮蓝法	37
三、试剂盒测定	37
四、其他测定方法	38
第六节 蛋白质制备过程中出现的问题和解决办法	38
一、裂解液的影响	38
二、盐浓度的影响	39
三、其他影响因素	39
思考题	40
第三章 双向电泳技术	41
第一节 蛋白质电泳的基本原理	41
一、电泳的基本原理	41
二、影响电泳速度的因素	42
三、电泳的分类	42
四、聚丙烯酰胺凝胶电泳	43
第二节 蛋白质等电聚焦电泳	46
一、基本原理	46
二、载体两性电解质 pH 梯度等电聚焦电泳	48
三、固相 pH 梯度等电聚焦电泳技术	51
第三节 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳	54

一、常规聚丙烯酰胺凝胶电泳	54
二、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳	57
第四节 双向电泳	60
一、基本原理	61
二、流程	61
第五节 电泳过程中出现的问题及解决办法	69
一、第一向等电聚焦的问题	69
二、第二向 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳的问题	70
三、染色的问题	70
思考题	71
第四章 双向凝胶电泳的图像分析	72
第一节 概述	72
一、重要性	72
二、图像分析工具	72
三、图像分析流程	73
第二节 双向凝胶电泳图像采集	73
一、图像采集	73
二、数据获取效果	74
第三节 双向电泳凝胶图像分析原理	75
一、蛋白质斑点检测	75
二、算法	75
三、数字化图像加工	76
第四节 蛋白质点的检测	77
一、检测方法	77
二、点检测	77
三、背景消减	78
四、归一化处理	78
第五节 凝胶配比分析	78
一、原因	78
二、注册	79
三、匹配	79
四、比较	79
五、更多配比方法	80
六、其他处理	80
第六节 数据分析	81
一、质的正确性评估	81
二、量的确定	81
三、定量变化的确定	81

第七节 数据呈递	82
一、结果输出	82
二、存在问题	83
第八节 数据库和在线比对	83
一、双向电泳数据库现状	83
二、双向电泳数据库的构建	84
三、比较网上双向电泳数据库	84
四、凝胶网上比对	87
思考题	88
第五章 质谱分析原理与技术	89
第一节 质谱发展概述	89
第二节 质谱仪的基本组成和工作原理	91
一、基本组成	91
二、基本原理	91
三、样品分析的流程	93
四、进样方式	93
五、离子形成的方式	94
六、离子质量的分析方法	97
七、不同离子形成方式与不同质量分析方法的组合	101
八、离子检测和记录	102
第三节 质谱的类型	102
一、按应用分类	102
二、以质量分析器分类	103
三、按连接分类	105
第四节 质谱仪的作用	108
一、定性分析	108
二、定量分析	110
第五节 质谱分析的主要指标与图谱	111
一、质量测定范围	111
二、分辨率	111
三、灵敏度	112
四、质谱图及其判读	112
第六节 生物质谱分析技术	114
一、生物质谱的类型	114
二、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱分析技术	115
三、高效液相色谱-电喷雾质谱技术	120
第七节 肽谱、指纹肽谱和序列梯子	128
一、质谱肽谱分析	129

二、指纹肽谱	129
三、序列梯子	130
四、对仪器的要求	131
第八节 生物质谱的应用	132
一、合成产物的确认	132
二、生物大分子的表征	133
思考题	133
第六章 蛋白质鉴定	134
第一节 概述	134
一、发展史	134
二、主要方法	136
第二节 样品质量控制与制备概要	137
一、样品制备的前控制	137
二、样品制备要点	140
第三节 基质辅助激光解吸电离质谱分析	145
一、原理与特点	146
二、肽质量指纹谱分析	147
三、肽质量指纹谱检索实例	150
四、检索可靠性的确认	153
五、肽质量指纹谱分析的优缺点	155
六、鉴定软件的算法研究	155
第四节 电喷雾电离质谱分析	156
一、原理	157
二、特点	158
三、上样	158
四、肽序列标签分析法	158
五、肽序列标签检索鉴定实例	161
第五节 串联质谱分析	163
一、串联质谱分析原理	163
二、串联质谱操作方式	164
三、主要基于串联质谱分析的蛋白质鉴定技术	164
第六节 用质谱数据对肽段从头测序	165
一、原理	165
二、种类	165
三、肽从头测序软件	167
第七节 氨基酸组成分析法	168
一、原理	168
二、方法	168

第八节 N端和C端氨基酸序列测定	168
一、原理	169
二、降解反应的步骤	169
三、蛋白质序列测定应注意的问题	171
思考题	171
第七章 蛋白质-蛋白质相互作用	173
第一节 概述	173
一、重要性	173
二、相互作用的形式	173
第二节 酵母双杂交技术	174
一、原理	174
二、方法	176
三、应用	178
第三节 蛋白质芯片	179
一、概述	179
二、原理和分类	181
三、检测方法	182
四、抗体芯片	182
五、芯片实验室技术	183
六、蛋白质芯片技术的应用	183
第四节 免疫共沉淀技术	185
一、原理	185
二、方法	186
第五节 表面等离子共振-质谱技术	187
一、原理	187
二、方法	188
第六节 细胞共定位技术	188
一、原理	188
二、方法	190
思考题	192
第八章 蛋白质翻译修饰后的鉴定	193
第一节 磷酸化蛋白质的鉴定	193
一、概述	193
二、磷酸化蛋白质的检测方法	196
三、磷酸化蛋白质的富集	197
四、磷酸肽的分离和富集	197
五、磷酸肽的识别	201

六、磷酸化位点分析	205
七、修饰的预测	207
八、定量分析	208
第二节 糖基化蛋白质的鉴定	209
一、概述	209
二、糖基化蛋白质的检测方法	210
三、糖基化蛋白质的分离	211
四、糖基化分析	212
第三节 若干挑战性的问题	214
一、关于利用质谱分析技术	214
二、关于磷酸化分析的困难	214
三、关于糖基化研究的复杂性	215
思考题	216
第九章 定量蛋白质组学研究技术	217
第一节 定量技术体系与分类	217
一、技术体系	217
二、定量法分类	218
第二节 荧光染料分析法	219
一、双向电泳凝胶染料显示	219
二、荧光双向差异凝胶电泳	221
第三节 同位素标记技术	223
一、原理	223
二、分类	223
三、生物代谢方式引入标记	224
四、酶解过程引入标记	225
五、亲和标签法引入标记	226
六、同位素标记亲和标签技术的改进	229
第四节 针对性亲和标签技术	235
一、磷酸化蛋白质同位素标记亲和标签	235
二、选择性标记特异氨基酸	235
第五节 同位素标记技术的应用	237
一、补充双向电泳的不足	238
二、解决大分子复合物及相互作用问题	238
三、扰动诱导发现细胞新通路机制	239
四、翻译后修饰	239
五、信号分子的分析	240
六、疾病研究与药物筛选	240
思考题	240

第十章 蛋白质生物信息学	241
第一节 概述	241
一、生物信息学与蛋白质组	241
二、蛋白质生物信息学的研究内容	242
三、蛋白质生物信息学展望	242
第二节 蛋白质组学分析相关的生物信息资源	242
一、蛋白质组学生物信息中心	243
二、蛋白质组学分析主要数据库	245
三、其他数据库	248
第三节 谱库构建	250
一、建库原理	250
二、建库方法	250
三、按类型建库	251
第四节 蛋白质组学通用软件	251
一、双向凝胶电泳软件	251
二、质谱分析常用软件	253
三、蛋白质芯片软件	255
四、其他软件和技术	257
第五节 蛋白质功能分析和预测	259
一、预测蛋白质的物理性质	260
二、从氨基酸组成识别蛋白质	261
三、蛋白质二级结构预测	261
四、蛋白质的三维结构预测	263
五、蛋白质功能的预测	265
六、蛋白质结构功能预测结果的评估	271
思考题	272
第十一章 蛋白质组学的应用	273
第一节 蛋白质组学在植物上的应用	273
一、植物种群间蛋白质遗传差异研究	273
二、植物发育相关蛋白质组研究	273
三、植物组织器官蛋白质组学	274
四、植物亚细胞蛋白质组学	274
五、植物环境信号应答和适应机制蛋白质组学	275
六、蛋白质组学在植物病害防治机理研究中的应用	277
七、蛋白质组学在植物抗虫机理研究中的应用	280
八、豆科作物与根瘤菌互作蛋白质组	280
九、蛋白质标记遗传作图与候选蛋白质	280

第二节 蛋白质组学在动物科学中的应用	281
一、动物细胞蛋白质表达图谱	281
二、动物遗传繁育	282
三、动物生长发育规律	282
四、动物亚细胞蛋白质组	282
第三节 蛋白质组学在水产研究中的应用	282
一、水生生物发育相关蛋白质	282
二、水生生物致病相关蛋白质鉴定	283
三、水生生物抗逆与抗病相关蛋白质研究	283
四、水生生物免疫学研究	284
第四节 蛋白质组学在微生物学研究中的应用	284
一、模式微生物研究	284
二、人类疾病病原微生物蛋白质组学研究	285
三、植物病原微生物致病机理	287
四、特殊生境微生物蛋白质组学	287
第五节 蛋白质组学在医学中的应用	288
一、干细胞的定向分化	288
二、疾病发生机理与早期诊断技术	288
思考题	289
主要参考文献	290

第一章 绪 论

蛋白质 (protein) 是一类重要的天然有机物质, 普遍存在于生物体内。蛋白质是一类复杂的有机生物大分子, 具有营养功能与生理功能。蛋白质与核酸是原生质体的主要成分, 而原生质是生命的物质基础。蛋白质是生命活动的实际执行者, 是生命最基本的组成部分之一, 是生物化学主要研究的对象。Protein 一词源于希腊文的 proteios, 是“头等重要”意思, 表明蛋白质是生命活动中的头等重要物质。蛋白质是生物体的重要组成成分, 在谷物中约占 10%, 豆类、油料中占 30%~40%, 螺旋藻中占 60%以上。没有蛋白质就没有生命, 恩格斯说“蛋白质是生命存在的一种形式”。

蛋白质的存在有其自身的“生命周期”, 由基因控制而表达, 其翻译产物首先在核糖体上出现, 翻译后的蛋白具有多种修饰的特性, 通过修饰使其具有活性, 而进行生命活动, 最终降解, 形成一个“生命周期”的变化。

对蛋白质这种周期性变化的研究要比对其基因的研究难得多。其研究工作亦经历了从高潮到低谷, 再到高潮的发展过程, 这就是蛋白质→基因→基因组→蛋白质→蛋白质组。蛋白质组学已成为一门新兴学科。蛋白质组学的基本知识体系包括蛋白质的分离、鉴定和功能分析等。其新技术、新方法、新理论的不断涌现和完善, 使通过蛋白质来研究未知基因的功能成为可能, 这也决定了它必然成为生命科学前沿的热门领域。蛋白质组学研究, 既包含知识资源的创新, 又含有方法和技术的改进。

第一节 蛋白质组学研究的、 内容、任务与方法

一、蛋白质组学的概念

人类、动物、植物和微生物等生物细胞中的全部基因称为基因组, 由全套基因编码控制的蛋白质, 则相应地被称为蛋白质组 (proteome)。研究蛋白质组中蛋白质表达与功能变化的科学称为蛋白质组学。

根据 Wilkins MR 等的定义, “proteome”一词源于“protein”与“genome”的杂合, “意指一种基因组所表达的全套蛋白质”; Swinbanks 则指出“proteome”代表一种完整生物的全套蛋白质。与此同时, Kahn P 则认为“proteome”反映不同细胞的不同蛋白质组合。由此可见, “proteome”有 3 种不同的含义: 一个基因组、一种生物或一种细胞、组织所表达的全套蛋白质。

蛋白质鉴定技术的发展与基因组测序计划的实施与相继完成, 分别建立了资源数据库, 将两