

心血管蛋白质组学

主审 高海青

主编 邱洁



人民卫生出版社

心血管蛋白质组学

主 审 高海青

主 编 邱 洁

副主编 肖桂山(美) 王 媛 刘向群

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

心血管蛋白质组学 / 邱洁主编. —北京: 人民卫生出版社, 2010.11

ISBN 978-7-117-13451-4

I. ①心… II. ①邱… III. ①蛋白质—基因组—应用—心脏血管疾病—研究 IV. ①R54

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 190458 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

心血管蛋白质组学

主 编: 邱 洁

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 中国农业出版社印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 30 插页: 4

字 数: 725 千字

版 次: 2010 年 11 月第 1 版 2010 年 11 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-13451-4/R·13452

定 价: 76.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

编者

(以编写章节顺序为序)

高海青 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
邱 洁 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
王 媛 中国科学院北京基因组研究所
刘向群 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
林 梁 中国科学院北京基因组研究所
王全会 中国科学院北京基因组研究所
孙海丹 中国科学院北京基因组研究所
任 艳 中国科学院北京基因组研究所
娄晓敏 中国科学院北京基因组研究所
童 维 中国科学院北京基因组研究所
肖云玲 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
陈 琳 山东大学医学院
王伟玲 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
魏 娜 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
季 翔 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
赵改霞 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
逯伟达 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
郗良毅 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
程 梅 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
刘相菊 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
李保应 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
张志勉 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
蔡 茜 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
单培彦 山东大学齐鲁医院 山东省心血管疾病蛋白质组学重点实验室
肖桂山 美国 Creighton 大学

内容简介

《心血管蛋白质组学》是关于蛋白质组学在心血管基础和临床研究领域中应用的国内第一部专著,其详细论述了蛋白质组学在心血管疾病研究领域中的应用。该书系统、全面、深入浅出地介绍了蛋白质组学,紧密围绕蛋白质组结构、功能等与心血管疾病的关系这一主题,阐述了蛋白质组学在心血管疾病基础和临床研究中的应用及发展。全书分为上下篇,上篇解释蛋白质组学研究的基本理论与方法、蛋白质样品制备与分离技术、蛋白质鉴定与功能分析和蛋白质研究中的生物信息学,下篇介绍了人类重大疾病尤其是心血管疾病的蛋白质组学研究状况与发展前景,包括心血管系统组织、细胞及亚细胞蛋白质组学研究、心血管疾病模型的建立与采取的蛋白质组学研究方法以及临床心血管疾病的蛋白质组学研究等。本书将先进的基础研究手段引入临床诊疗,介绍了不同种类心血管疾病的相应蛋白质组学研究策略,突显多学科交叉,展示了蛋白质组学在心血管疾病研究中的广阔前景,具有重要的指导意义和实用价值。此外,对其他临床疾病的蛋白质组学研究也有很好的借鉴和参考价值。既可为从事医学、蛋白质组学研究的科研人员提供参考,同时也可作为医学院校和综合性大学生命科学学院(系)、医学院(系)等相关专业师生的教材或教学参考用书。

蛋白质组学是当今生命科学与医学领域的前沿与新兴学科。随着人类等生物体全基因组序列的破译完成,对作为生命载体的蛋白质功能的研究需求愈发迫切,由此蛋白质组学应运而生并得到广泛应用。蛋白质组学采取系统的、全方位的研究模式,通过高效率、高灵敏度、高通量的技术手段,全面揭示生物基因组表达的所有蛋白质在生命进程中的表达与功能特质。蛋白质组学不仅提高了蛋白质的研究水平,还将生命科学从结构研究阶段引入到功能研究阶段,进而深入揭示生命的本源和疾病的发生发展机制,是 21 世纪生命科学与医学的重要支柱学科,将为人类健康与疾病防治发挥越来越大的作用。

蛋白质组技术已广泛应用于生命科学研究和医学研究中,蛋白质组学已经成为寻找疾病分子标记和药物靶标最有效的方法之一。运用蛋白质组技术在寻找肿瘤标志物、鉴定心脑血管疾病、老年性疾病的预警蛋白和筛选泌尿系疾病的靶标蛋白等方面取得了重要进展,在诸多临床疾病的诊疗研究中也显示了诱人的前景。世界多国政府、研究机构、制药公司均投入巨资进行蛋白质组学研究,以期在人类重大疾病的发病机制和诊疗研究中取得突破,掌握新世纪科学技术制高点。随着蛋白质组学的不断发展,这门新兴学科在医学研究中具有越来越重要的战略科学意义和实际应用价值。

随着社会的发展,饮食、生活习惯等的改变,冠心病、高血压等心血管疾病的发病率和病死率快速攀升,心脑血管疾病占全球疾病死亡人数的 1/3 以上,在我国,心脑血管疾病也是首位死亡原因。如何遏制这一现象,保障和促进人民健康,进一步深入有效地开展心脑血管的防治研究成为广大科技工作者和临床医生共同面临的问题。山东大学的高海青教授、邱洁教授等多年来一直致力于心血管疾病防治的基础和临床研究,积累了丰富的经验,特别是近几年将蛋白质组学技术应用到心血管疾病的研究中,在心血管疾病的发病机制、早期预警、诊疗分析等的蛋白质组学研究中取得了令人瞩目的成果,在此基础上,结合了蛋白质组学理论与技术国际新进展,高海青教授、邱洁教授等撰写了该部著作。

蛋白质组学技术方法众多,发展迅速,国内先后出版了多本蛋白质组学研究相关专著,但仍然缺乏系统、全面、有针对性地介绍心脑血管疾病蛋白质组学研究的专著;此外,如何整合现有各种蛋白质组学技术体系,扬长避短,形成系统的研究模式,以适应不同蛋白质组的、动态的研究需求也是大家关注的问题。高海青教授、邱洁教授领衔编写的《心血管蛋白质组学》是国内首部全面、深入介绍蛋白质组学技术及其在心血管疾病研究中应用的专著,上篇介绍蛋白质组学的基本理论与研究方法,下篇阐述蛋白质组学在心血管疾病中

的研究现状与发展趋势,重点论述了蛋白质组学技术在各种心血管疾病、心血管药物研究中的技术路线、研究模式与分析方法,介绍如何寻找不同心血管疾病相关预警和治疗靶标蛋白。

本书将先进的基础研究手段引入临床诊疗,介绍了不同种类心血管疾病的相应蛋白质组学研究策略,凸显多学科交叉,展示了蛋白质组学在心血管疾病研究中的广阔前景,具有重要的指导意义和实用价值。此外,对其他临床疾病的蛋白质组学研究也有很好的借鉴和参考价值。我深信本书的出版将会有力推动我国心血管疾病蛋白质组学的研究,为医学科学研究作出贡献。

中国工程院院士
中国免疫学会理事长
第二军医大学 教授

2010.9

曹雪涛

曹雪涛

蛋白质组学是一门新兴但发展迅速的学科。十余年来,蛋白质组学无论从技术方法和研究策略,还是研究资源和研究领域都有了质的飞跃。近几年在蛋白质组新技术新方法的建立和应用、各类器官/组织/体液/细胞/细胞器的蛋白质组组成分析和表达量变化、翻译后修饰研究、规模化相互作用及功能研究、疾病相关生物标志物的筛选验证、抗体制备、数据标准的建立和数据挖掘等方向取得了一系列突破性进展。

蛋白质组学不仅自身发展迅速,作为生命科学与生物高新技术的新一代引擎,还带动了大量相关学科领域的快速发展,为生命科学研究、生物技术的应用和人类疾病的防治带来新的革命。通过与基因组研究的对接,极大地推动了基因组的全面阐释和“基因组”天书的系统解读;通过其学术与技术的系统性、全息性,全局性地揭示了生命活动的规律和本质、人类重大疾患(及其病原体)致病的物质基础以及发生与发展的病理分子机制;通过其强大的需求牵引和突出的集成融合,直接推动了分析科学与技术、信息科学与技术、材料科学与技术等学科在生命科学与生物高新技术中的深层次应用及快速发展。

在政府的大力支持下,我国科学家较早开展了蛋白质组学研究,并逐步发展壮大,在国际上占有一席之地。研究重心从最初的以建立技术平台,开展技术方法的研究、整合为主,逐步向以高通量的蛋白质组研究技术平台为基础,解决事关我国人民健康的重大疾病问题和重要生命科学问题转移。研究对象除人类自身外,还涵盖了生命科学中的动物、植物、微生物等相关领域。从2004年夏其昌教授首次在国际蛋白质组学最权威的专业刊物《分子细胞蛋白质组学》发表文章到现在该刊物几乎每期都发表中国科学家的工作,甚至同期刊登来自同一个科研单位的三篇文章,我国科学家无论是在蛋白质组学技术方法,还是在重要生物学功能和重大疾病相关的蛋白质组研究方面,都取得了一系列令国际学术界瞩目的重要成就。根据国际蛋白质组学杂志的统计,无论从投稿数还是稿件质量,中国目前都只是稍弱于美国,暂居第二。

在国际人类蛋白质组组织先后启动的十多个国际性蛋白质组计划中,由我国科学家倡导并领衔的国际人类肝脏蛋白质组计划是最早启动的两个蛋白质组计划之一,是我国科技工作者在生命科学领域领导的第一个大型国际科技合作计划。该计划是国际人类蛋白质组计划各分计划中成就最为显著的核心计划之一,在实施过程中,率先提出和建立了组织/器官的蛋白质组研究框架、模式和标准,为国际人类蛋白质组计划的全面展开和顺利实施发挥了普遍的示范和指导作用;构建了首个系统完善的蛋白质组数据库,为后续的蛋白质组

研究和重要蛋白质功能研究提供重要线索；发现了一批与人类重要生理功能和重大疾病密切相关的蛋白质及其作用机制，为重大疾病的早期预防、早期预警、风险预测及个体化医疗提供重要基础。同时，我国科学家还广泛参与了国际人类蛋白质组计划的其他分计划，如血浆蛋白质组、疾病标志物、蛋白质组标准化、脑蛋白质组、糖蛋白质组、抗体等。一批与重大疾病和重要生物功能相关的蛋白质组研究取得明显进展。

随着蛋白质组学技术的不断突破以及生物体蛋白质组研究的不断深入，蛋白质组学在临床医学中的应用也越来越广泛，目前已成为几乎所有国际著名医学研究机构的重要支撑平台。国际上先后启动了多种疾病的蛋白质组研究计划，直接寻找疾病相关特异蛋白质或对疾病相关已知蛋白质进行深入机制分析。

当前，心血管疾病的发病率和病死率快速攀升，而治疗手段又比较有限，已严重影响人民身体健康和生活质量。心血管疾病多数是慢性疾病，发展进程较为缓慢，但是其过程基本不可逆，因此早期发现、早期诊断、早期治疗对于心血管疾病的预防和治疗非常重要。当前，蛋白质组学作为高效筛选疾病生物标志物和系统研究疾病发生发展分子机制的重要手段，在心血管疾病研究中的应用受到广泛关注，国际人类蛋白质组组织适时启动了心血管蛋白质组计划，我国科技工作者也先后开展了相关研究。

在全面总结国内外心血管蛋白质组研究的基础上，高海青教授、邱洁副教授等结合多年来在心血管临床实践和蛋白质组学方面的研究成果及时编撰的《心血管蛋白质组学》，是我国第一部专门介绍心血管蛋白质组研究现状和发展前景的专著。该书的出版，将有利于积极推动我国心血管蛋白质组学的发展，对我国科技人员开展和加强其他临床疾病的蛋白质组研究也具有广泛的参考价值和借鉴意义。同时，该书基于编者作为心血管临床工作者数十年的临床实践，从医学的角度全面阐述了蛋白质组学技术在心血管基础和临床的应用，为心血管疾病的机制探讨、心血管流行病学调研以及重要心血管疾病的早期诊断与治疗提供了可借鉴的技术手段和理论基础，具有较强的实用价值和研究指导意义。

中国科学院院士
发展中国家科学院院士
军事医学科学院院长
北京蛋白质组研究中心理事长



贺福初

2010.10

随着生命科学研究的不断深入,人类基因组工作草图的公布标志着基因框架已经绘就。数万个基因负载着大量生命信息,但这些核苷酸系列并不能完全决定基因的功能。蛋白质是基因指导合成的最终产物,直接反映基因给予的信息,几乎所有的生化反应都发生在复杂的蛋白质分子之间。基因组、后基因组及蛋白质组学的研究引起人们极大的关注,尤其是高通量分析蛋白质组的变化是生命科学的一项里程碑式的发展。蛋白质组学是后基因组时代发展起来的一门从整体角度,系统、动态、网络化的研究蛋白质组成成分构成及其活动规律的新兴科学。

心血管疾病是人类的多发病、常见病之一,逐渐成为危害人类生命健康的主要病因。心血管疾病的发生和发展涉及动态、复杂及精细的细胞内过程。蛋白质作为细胞的基本功能单位,广泛参与细胞的功能与调节,并决定细胞、组织和器官的表型。心血管疾病是导致人类死亡的顽症之一,随着人口的老龄化,对其研究越来越系统而深入;蛋白质组学技术的应用将为心血管病的早期发现、治疗靶点蛋白的探寻、治疗预后的评估以及分子水平发病机制的阐明开辟一条前所未有的新途径。

山东省心血管病蛋白质组学重点实验室的课题组长期从事心血管蛋白质组学研究,在心血管蛋白质组学的研究方面积累了较为丰富的经验,在高海青教授的带领下,虽然经历过很多困惑和困难,但课题组一直在努力向前。我们希望藉此书向广大的相关领域研究的科研人员传递足够丰富的信息,分享我们的工作,共同将心血管蛋白质组学这一富有挑战性的领域推向更广阔的空间。

本书系统、全面、深入浅出地介绍了蛋白质组学,紧密围绕蛋白质组结构、功能等与心血管疾病的关系这一主题,阐述了蛋白质组学在心血管疾病基础和临床研究中的应用及发展。全书分为上下两篇,上篇解释蛋白质组学研究的基本理论与方法、蛋白质样品制备与分离技术、蛋白质鉴定与功能分析和蛋白质研究中的生物信息学,下篇介绍了人类重大疾病尤其是心血管疾病的蛋白质组学研究状况与发展前景,包括心血管系统组织、细胞及亚细胞蛋白质组学研究、心血管疾病模型的建立与采取的蛋白质组学研究方法以及临床心血管疾病的蛋白质组学研究等。在编写该书时,力求使之具有下列特点:①概括国内外最新研究动态,着重于“新”,充分反映蛋白质组学技术的最新动态和在心血管疾病的研究中的最新进展;②充分体现学科交叉应用的特色;③注重科学性、实用性、系统性、先进性,希冀成为广大心血管临床医师和科研工作者的良师益友;④注重全书内容的完整性和统一性,

使之与心血管疾病的多学科、综合性强的特点相匹配。

本书承蒙曹雪涛院士、贺福初院士在百忙之中给予的帮助和指导，并作序鼓励，让我们既以之为荣又深感有愧，希望能将未来的工作做得更好。在本书的编写过程中，还得到中国科学院北京基因所刘斯奇教授的热心支持和具体指导，谨表示诚挚的谢意。该书综合了笔者临床经验和科研体会，参阅国内外大量文献编写而成，在此谨向有关文献的作者和出版者表示诚挚的谢意。该书的完成是课题组辛勤工作的结晶，特别感谢山东大学曹爱红、李晓、王琰、赵韶华等研究生在书稿后期阶段的帮助。

为了进一步提高本书的质量，以供再版时修改，因而诚恳地希望各位读者、专家提出宝贵意见。

邱 洁
2010.8



上篇 蛋白质组学

第一章 导论.....	3
第一节 蛋白质组和蛋白质组学	3
第二节 蛋白质组学技术概论	5
第三节 蛋白质组学发展趋势	9
参考文献	10
第二章 蛋白质组样品制备技术.....	12
第一节 蛋白质样品的制备	12
第二节 总蛋白质的提取	20
第三节 亚细胞器蛋白质的提取	21
第四节 体液及分泌蛋白质的提取	25
参考文献	28
第三章 蛋白质分离技术.....	32
第一节 双向聚丙烯酰胺凝胶电泳技术	32
第二节 蛋白质组学研究中的非胶技术	45
参考文献	61
第四章 基于质谱技术的蛋白质鉴定.....	66
第一节 蛋白质鉴定技术概述	66
第二节 基质辅助激光解析离子化质谱	68
第三节 电喷雾离子化质谱	73
第四节 生物质谱鉴定蛋白质的方法	75
第五节 质谱前样品制备方法及其注意事项	87
参考文献	90
第五章 定量蛋白质组学研究.....	95
第一节 基于双向凝胶电泳的定量蛋白质组研究技术	95
第二节 基于生物质谱的定量蛋白质组研究策略	98
参考文献	108

第六章 蛋白质组研究中的翻译后修饰分析	110
第一节 概述	110
第二节 磷酸化蛋白质组研究	111
第三节 糖基化蛋白质组研究	123
第四节 其他修饰	133
参考文献	134
第七章 功能蛋白质组学研究技术	142
第一节 蛋白质相互作用研究技术	142
第二节 蛋白质芯片技术	149
第三节 磷酸化蛋白质组分析技术在信号传导研究中的应用	160
参考文献	162
第八章 蛋白质组研究中的生物信息学	165
第一节 生物信息学与蛋白质组信息学	165
第二节 蛋白质组研究信息资源	166
参考文献	189

下篇 心血管蛋白质组学研究

第九章 蛋白质组学在心血管研究中的应用	193
参考文献	200
第十章 心血管系统常用细胞生物学实验	201
第一节 细胞培养的基本方法	201
第二节 培养细胞的分析	206
第三节 细胞成分的分离与分析	210
第四节 细胞凋亡的测定	211
参考文献	214
第十一章 心血管学常用分子生物学技术	218
第一节 DNA 提取及检测	218
第二节 RNA 提取及检测	221
第三节 Southern 印迹杂交技术	223
第四节 Northern 印迹杂交技术	226
第五节 反转录 - 聚合酶链反应 (RT-PCR) 技术	226
第六节 原位 PCR 技术	228
第七节 荧光定量 PCR 技术	231
第八节 RNA 干扰技术	233

第九节 基因芯片技术	236
第十节 Western 印迹技术	237
第十一节 免疫沉淀法	238
参考文献	240
第十二章 心血管疾病动物模型	243
第一节 动脉粥样硬化模型	243
第二节 心力衰竭模型	248
第三节 高血压模型	253
第四节 心肌缺血再灌注模型	259
第五节 心律失常模型	264
第六节 心肌病模型	268
第七节 衰老模型	274
第八节 肾脏疾病模型	277
参考文献	286
第十三章 心血管系统亚细胞器研究	292
第一节 细胞膜	292
第二节 高尔基体	295
第三节 线粒体	297
第四节 内质网	299
第五节 亚细胞结构的蛋白质组学研究	302
参考文献	315
第十四章 心血管疾病的临床研究设计	318
第一节 临床试验设计	318
第二节 临床标本样品制备	326
第三节 心血管疾病的实验设计	335
参考文献	338
第十五章 蛋白质组技术在心血管病学中的应用	340
第一节 冠状动脉粥样硬化性心脏病	340
第二节 心力衰竭	349
第三节 心律失常	364
第四节 心肌病	373
第五节 高血压	378
第六节 高脂血症	392
参考文献	404

第十六章 心血管药物蛋白质组学研究	410
第一节 药物作用机制研究	410
第二节 药物作用靶标研究	413
第三节 药物毒性研究	415
第四节 心血管活性药物研究	417
第五节 天然药物研究	423
参考文献	427
第十七章 心血管相关疾病蛋白质组学研究	430
第一节 糖尿病	430
第二节 肾脏疾病	437
第三节 骨质疏松	451
参考文献	455

上 篇

蛋白质组学

