

肽质量指纹谱技术的建立及其在人肺癌细胞蛋白质组研究中的初步应用

钱小红¹ 王京兰¹ 蔡耘¹ 罗凌² 万晶红² 贺福初²
(¹国家生物医学分析中心 北京 100850
²放射医学研究所 北京 100850)

人类基因组计划(Human Genome Project, HGP)的快速、大规模推进,成千上万种基因序列的相继问世,使人类对生命本质的认识达到了一个空前的广度和深度。预计人类基因组的全部测序任务将在下世纪初完成,基因组研究已从结构基因组学转向功能基因组学,研究重心也已从揭示生命的所有遗传信息转移到在整体水平上对基因功能的认识。伴随着后基因组时代的到来,一个新兴的研究领域—蛋白质组学(Proteomics)诞生了。

蛋白质组的概念是由澳大利亚的科学家在 1994 年率先提出的,其定义是指一个有机体的基因组所表达的全部蛋白质。蛋白质组的研究,是从整体水平上研究细胞或有机体内蛋白质的组成及其活动规律。自蛋白质组的概念问世以来,研究已涉及到的范围包括蛋白质组作图、蛋

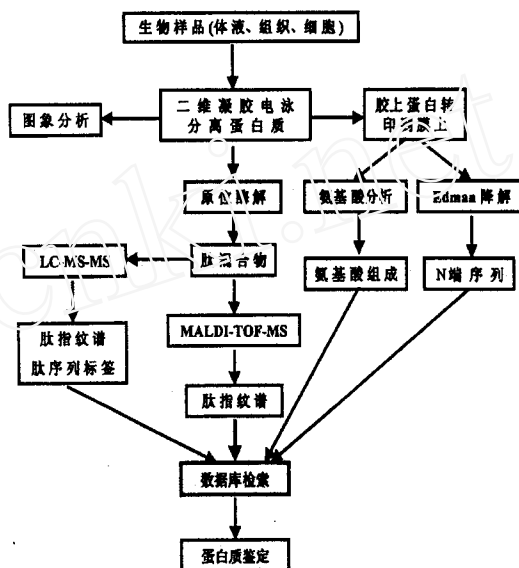


Fig1. Schematic overview of proteome analysis

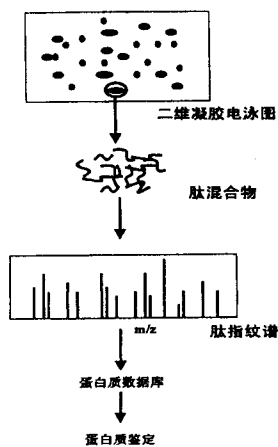


Fig 2. Schematic overview of peptide mass fingerprinting technique

白质组分鉴定、蛋白质数据库构建、新蛋白质的寻找、蛋白质翻译后修饰的分析、细胞周期、发育、肿瘤发生、发展、环境影响、疾病诊断、新药研究等多个领域。蛋白质组学已成为后基因组时代的生力军。

蛋白质组研究的技术路线流程见图 1。蛋白质组研究所涉及的技术体系包括细胞内所有蛋白质的分离,蛋白质表达模式的识别,蛋白质的鉴定,蛋白质翻译后修饰的分析以及蛋白质组数据库的构建。二维凝胶电泳(Two-dimensional electrophoresis, 2-DE)技术,计算机图象数据处理技术以及质谱技术被称为蛋白质组研究的三大支撑技术。而肽质量指纹谱(Peptide mass fingerprinting, PMF)技术,即:胶上蛋白原位酶切-

MALDI/TOF/MS 肽谱分析-国际互联网蛋白质数据库检索鉴定是蛋白质组研究中应用最多,因而在技术方法上发展最快的胶上蛋白质的鉴定技术(图 2)。

本研究以标准蛋白为样品,选择胰蛋白酶进行胶上蛋白原位酶切,以胰岛素为内标,采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)分析蛋白酶解肽谱,以 Internet 网上的蛋白质数据库进行蛋白检索鉴定,建立了 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白质的肽质量指纹谱鉴定技术。在此基础上,对二维凝胶电泳分离的人肺巨细胞癌细胞株蛋白质进行了鉴定,获得了 2D 胶上 4 个蛋白点的肽质量指纹谱,初步鉴定了其中三个蛋白质。

参考文献

- 1 Wilkins M. R., Williams K. L., Appel R. D., Hochstrasser D. F. eds., *Proteome Research: New Frontiers in Functional Genomics*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1997
- 2 Humphery-Smith I., Cordwell S. J., Blackstock W. P., *Electrophoresis*, 18:1217-1242, 1997
- 3 Yates J. R., *J. Mass Spectrometry*, 33:1-19, 1998

DEVELOPMENT AND PRELIMINARY APPLICATION OF PEPTIDE MASS FINGERPRINTING TECHNIQUE IN PROTEOME RESEARCH

QIAN Xiaohong¹, WANG Jinglan¹, CAI Yun¹, LUO Ling², WAN Jinghong², HE Fuchu²

(¹National Center of Biomedical Analysis, Beijing 100850, China

²Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China)

Proteome means the whole proteins expressed by genome in a cell or tissue. Two-dimensional electrophoresis (2-DE), computer image analysis and mass spectrometry were known as the three key techniques in proteome research. Peptide mass fingerprinting (PMF) is becoming a widely used and rapidly developed technique for protein identification after 2-DE. In this study, a systematic method to identify the proteins after 2-DE by PMF was developed. Proteins were digested in-gel by trypsin and the masses of peptides were measured by matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS). The data obtained from PMF were used for protein database searching and protein identification. The proteins from human lung cancer cell isolated by 2-DE were identified by the method developed in this research.