

学习园地 ·



蛋白质组与蛋白质组学及其在运动医学领域中的应用

史绍蓉¹ 王步标¹ 余玲² 上官戎¹

1 湖南师范大学体育学院(长沙 410083) 2 中南大学体育部

随着人类基因组框架图与序列图在 2000 年 2 月、6 月的先后公布,人类基因组与基因组学大量研究成果的获得,使人们在揭示基因组精细结构的同时,也深刻地了解到基因数量的有限性和基因结构的相对稳定性,这与生命现象的复杂性和多变性之间存在着巨大反差。这种反差促使人们认识到基因只是遗传信息的载体,要研究生命现象,阐释生命活动的规律,只了解基因组的结构是远远不够的。如今,生命科学领域的研究重点已开始从揭示生命的所有遗传信息,转移到对基因的表达产物(生命活动的直接执行者)——蛋白质进行定量的、动态的、整体水平的研究^[1]。人类正开始探索一个以研究蛋白质为核心,揭示生命规律的新的重大的热点领域。一门以研究生物体全部蛋白质的表达模式与功能模式的新兴学科——“蛋白质组学(proteomics)”的建立,标志着以“蛋白质组(proteome)”为研究重点的生命科学新时代已悄然到来^[1]。

蛋白质组学(proteomics)是指应用各种技术手段来研究蛋白质组的一门新兴科学。蛋白质组学旨在阐明生物体全部蛋白质的表达模式与功能模式,其目的是从整体的角度分析、鉴定细胞内动态变化的蛋白质的组成、结构、性质、表达水平与修饰状态,了解蛋白质之间、蛋白质与大分子之间的相互作用与联系,揭示蛋白质的功能与细胞生命活动的规律^[1,2]。蛋白质组学的研究主要由双向凝胶电泳(Two-dimensional gel electrophoresis, 2-DE)、质谱鉴定技术(Mass spectrometry, MS)及生物信息学等三大类技术组成。双向凝胶电泳与质谱鉴定技术是构成蛋白质组学研究的支柱技术。短短几年,其研究对象已扩展至数十种生物,研究内容涉及生命科学的一系列热点领域。国内外科学家开展的癌症早期诊断^[3]、肺癌^[4]、肝癌^[2]、前列腺癌与膀胱癌^[6]等多种威胁人类健康的重要疾病,以及在病理条件下,对骨骼肌^[7]与心肌组织^[5]、动脉粥样硬化^[2]、各种体液^[7]的蛋白质组学研究,新药的开发和筛选^[2,8]等,均表明蛋白质组学研究不仅是探索生命奥秘所必需完成的工作,且正在和将为人类的健康事业带来巨大利益。但在体育科学领域中,除 Baldwin 于 2000 年应邀在美国《应用生理学杂志》发表了“Research in the exercise sciences: Where do we go from here?”一文,其中提到蛋白质组学在锻炼与营养干预方面的应用展望外,未见其它相关报道^[9]。迄今为止,有关运动与蛋白质(酶)的研究仅局限于针对特定的一个或几个蛋白质,而不是一个(种)细胞、组织或生物对应于基因组的所有蛋白质构成的整体。

1 人体对运动的反应与适应的机理研究

运动专项、训练水平、身体条件、年龄不同的各种人群,在运动训练、体育锻炼与体疗康复中,都必须承担一定量的生理负荷,人体对运动产生的反应与适应过程及其机理,一直是运动人体科学领域中研究的重要课题。

大量研究表明,蛋白质会对其所处环境条件的改变进行各种应答,这些应答包括蛋白质在细胞中的定位、构型改变、稳定性调节,以及蛋白质结合的各种物质的改变等^[10-12]。运动形成的生理负荷刺激,足以引起生物体内组织或细胞中蛋白质表达的改变,且这些改变与运动方式、运动强度、运动环境变化造成的局部缺血、相对缺氧等状况有关^[16-18]。运动对骨骼肌、心肌、肝与血液等组织中收缩蛋白^[12,13]、解偶联蛋白^[14]与红细胞膜蛋白^[15]等功能蛋白和调节蛋白的研究表明,这些蛋白质在运动负荷作用下的表达,具有动态变化的各种特异性。应用蛋白质组学的理论和方法,探索运动中人体不同器官、组织、细胞中蛋白质组的特异性表达模式与功能模式,应可解答人体对运动反应与适应的过程及其机理。

热休克蛋白(HSP)在各种组织中会产生敏感的表达,对细胞具有“应激保护”与“分子伴侣”的作用。由于大强度或长时间的运动能引起机体细胞产生应激反应,HSP已引起国外运动人体科学专业学者的高度重视,但研究仅限于其中的一种或几种蛋白质的表达^[10,11]。

2 运动性肌肉疲劳的应用研究

运动性疲劳不可避免地发生在运动训练与体育锻炼中,如何延缓疲劳出现,加快疲劳消除,促进运动能力的恢复与超量恢复,已成为提高运动训练水平与促进健康的重要因素,是运动训练科学化中亟待突破的课题。近年的医学与生物学研究中,有关动物与人类骨骼肌蛋白质组学方面的研究,为采用蛋白质组学的理论与方法研究运动性肌肉疲劳等课题奠定了基础,提供了重要的理论、技术平台与实验依据。Gelfi 等(2003 年)对人类股外侧肌进行了 2-DE 与质谱分析,对 2-DE 胶片上 500 多个蛋白位点上的 150 个点进行鉴别,分析了 124 种蛋白质^[19]; Yand 等(2001 年)在国际蛋白质组学核心刊物《Proteomics》上报道,采用 2-DE 与质谱技术分离与鉴定了大鼠骨骼肌 2-DE 胶片上 600 多个蛋白位点上的 100 个点,并已鉴别出 74 种肌纤维中的蛋白质,为骨骼肌蛋白质组学的研究提供了重要的参考数据库^[20]。Kim 等人鉴定出红、白骨骼肌纤维中肌红蛋白、肌球蛋白轻链等的差异性表达^[21]; Bihan 及其合作者的研究结果表明,在比目鱼肌中鉴定出 8 种蛋白生物标识能区别红、白肌纤维的类型^[22]。兰

彦等从蛋白质亲水性、等电点与分子质量三方面建立的分步提取方法,为全面、准确地分析骨骼肌组织中亲水和疏水性的各种结构蛋白、功能蛋白与调控蛋白建立了良好的技术平台^[23];串联亲和纯化(TAP)技术为研究蛋白质在生理条件下的相互作用奠定了基础^[24]。

3 运动营养补剂的筛选

多年来,我国学者在抗运动性疲劳、提高人体运动能力的营养补剂研究,具有显著的中医药学特色,取得了大量的研究成果^[25-27]。药学研究中应用蛋白质组学的方法,发现了药物作用的靶蛋白^[9],为我们提供了新的思路及更有效的手段与方法,从而解决不同项目、不同负荷、不同体质条件所致运动性疲劳的特征、抗疲营养补剂的药理与药效、通用方与特色方的筛选以及毒副作用实验等存在的问题,以提高其应用价值。

运用近年来在生命科学领域中快速发展与完善的蛋白质组与蛋白质组学的理论、技术与成果,对运动性疲劳的产生机理与特征、人体运动及其对运动反应与适应能力的提高、抗疲营养补剂的筛选等运动人体科学的课题,进行定量的、动态的、整体水平的研究,具有广阔的研究与应用前景。

4 参考文献

- [1] 夏家辉. 生命科学研究(2003)年中国博士后生命科学学术研讨会暨院士论坛. 北京:科学出版社,2003,32-36,67-116.
- [2] 陈主初,梁宋平. 肿瘤蛋白质组学. 长沙:湖南科学技术出版社,2002.1-7,168-190.
- [3] Srinivas R, Srivastava S, et al. Proteomics in early detection of cancer. *Clinic Chem*, 2001, 47(10): 1901-1911.
- [4] Jane M, Franck B, et al. A database of protein expression in lung cancer. *Proteomics*, 2001, 1: 1303-1319.
- [5] Adam B, Vlahou A, et al. Proteomic approaches to biomarker in prostate and bladder cancers. *Proteomics*, 2001, 1: 1264-1270.
- [6] Isfort RJ. Proteomic analysis of striated muscle. *Journal of Chromatography B*, 2002, (771): 155-165.
- [7] Ruse CI, Tan HL, et al. Integrated analysis of the human cardiac transcriptome, proteome and phosphoproteome. *Proteomics*, 2004, 4: 1505-1516.
- [8] 周兴旺. 后基因组时代的蛋白质组学及其在药学研究中的应用. *药学报*, 2002, 37(10): 828-832.
- [9] Baldwin KM. Research in the exercise sciences: Where do we go from here? *J Appl Physiol*, 2000, 88: 332-336.
- [10] 陆阿明, 陆爱云. 运动与热休克蛋白表达. *上海体育学院学报*, 2002, 26(3): 35-38.
- [11] 李冬严, 王蕴红. 热休克蛋白 70 及其在运动医学领域的研究进展. *首都体育学院学报*, 2000, 14(3): 83-86.
- [12] 于新凯, 左群, 田野. 运动对骨骼肌肌动蛋白的影响. *中国运动医学杂志*, 2002, 21(4): 392-395.
- [13] 刘晔, 刘桂华, 等. 模拟海拔 2000m 和 3000m 高原训练的不同时程对大鼠骨骼肌蛋白质代谢的影响. *北京体育大学学报*, 2002, 25(2): 191-193.
- [14] 蒋春笋, 张勇, 等. 运动与解偶联蛋白 2 介导的线粒体活性氧和能量代谢调控. *中国运动医学杂志*, 2002, 21(3): 287-291.
- [15] 潘孝贵, 崔小珠, 等. 红细胞膜带 3 蛋白于运动研究展望. *天津体育学院学报*, 2002, 17(1): 52-54.
- [16] Kent-Braun JA, NG AV, et al. Human skeletal muscle responses vary with age and gender during fatigue due to incremental isometric exercise. *J Appl Physiol*, 2002, 93: 1813-1823.
- [17] Static P. Effects of Exercise-induced fatigue with and without hydration on static postural control in adult human subjects. *Int J Neuroscience*, 2002, 112: 1191-1206.
- [18] Forestier N, Nougier V. The effects of muscular fatigue on the coordination of a multi-joint movement in human. *Neuroscience Letters*, 1998, 252: 187-190.
- [19] Gelfi C, Paima SD, et al. Two-dimensional protein map of human vastus lateralis muscle. *Electrophoresis*, 2003, 24: 286-295.
- [20] Y and JX, Harry RA, et al. Separation and identification of rat skeletal muscle proteins using two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics*, 2001, 1: 424-434.
- [21] Kim NK, John JH, et al. Differential expression profiling of the proteomes and their mRNAs in porcine white and red skeletal muscles. *Proteomics*, 2004, 4: 3422-3428.
- [22] Bihan M-CL, Tarelli E, et al. Evaluation of an integrated strategy for proteomic profiling of skeletal muscle. *Proteomics*, 2004, 4: 2739-2753.
- [23] 兰彦, 钱小红, 等. 蛋白质组分析中蛋白质分步提取方法的建立. *生物化学与生物物理进展*, 2001, 28(3): 415-417.
- [24] 王贤纯, 范春明, 梁宋平, 等. 牛血清白蛋白胰蛋白酶酶解物的色谱-质谱联用分析及其三种数据库搜寻鉴定方法的比较. *中国生物化学与分子生物学报*, 2004, 20(3): 393-398.
- [25] 谢敏豪. 对消除运动性疲劳中药评价方法的回顾与思考. *中国运动医学杂志*, 1999, 18(4): 346-347.
- [26] 解丽芳, 郭义, 等. 中医药抗运动性疲劳的研究进展. *中国运动医学杂志*, 1998, 1: 67-69.
- [27] 田振军. 消除运动性疲劳的中药复方筛选方法研究进展. *中国运动医学杂志*, 2001, 20(4): 423-424.

(2004.09.10 收稿; 2005.07.10 修回)