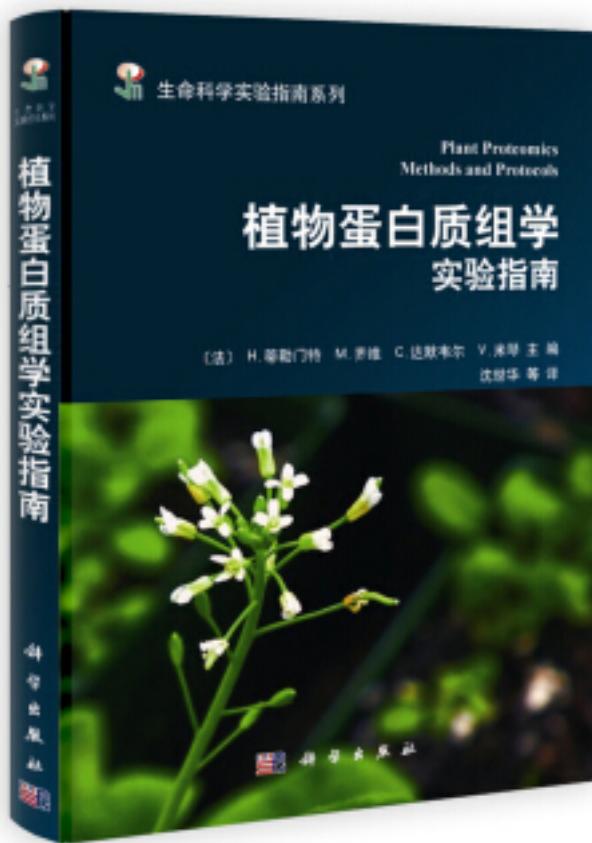


生命科学实验指南系列：植物蛋白质组学实验指南



[生命科学实验指南系列：植物蛋白质组学实验指南 下载链接1](#)

著者:[法] H.蒂勒门特, M.齐维, C.达默韦尔等编, 沈世华译

[生命科学实验指南系列：植物蛋白质组学实验指南 下载链接1](#)

标签

评论

正版书，很不错，对生物专业有用

书质量很好，非常的满意

还可以，做这方面研究值得参考

入门必备的图书。放在手边，经常看看。

挺好的，质量不错，便宜，速度快

还没仔细看 感觉还行

生命科学实验指南系列：植物蛋白质组学实验指南 很详细的实验

速度很快

科学出版社的生命科学实验指南系列一般印刷都不错，只是这本书印刷不好，字迹淡，书的价格也不低啊，竟然给印成这个样子，令人无语！究竟问题出在哪里了？

植物蛋白质组学实验指南

《生命科学实验指南系列：植物蛋白质组学实验指南》由国际植物蛋白质组学研究领域的数位专家合作编写而成，系统介绍了植物细胞总蛋白、细胞器蛋白的分离提取，蛋白质的修饰，经典的蛋白质双向电泳、质谱技术等植物蛋白质组学研究的常用技术方法。对实验流程的描述简洁易懂，并配有实例，同时对关键步骤做了特别注释，无论对教学还是科研都有很高的参考价值。

沈世华，中国科学院植物研究所研究员，博士生导师。兼任中国科学院唐山高新技术研发与转化中心工程植物事业部部长，中国植物生理学会植物生物质与生物能源专业委员会委员。

《生命科学实验指南系列：植物蛋白质组学实验指南》由国际植物蛋白质组学研究领域的数位专家合作编写而成，系统介绍了植物细胞总蛋白、细胞器蛋白的分离提取，蛋白

质的修饰，经典的蛋白质双向电泳、质谱技术等植物蛋白质组学研究的常用技术方法。对实验流程的描述简洁易懂，并配有实例，同时对关键步骤做了特别注释，无论对教学还是科研都有很高的参考价值。

沈世华，中国科学院植物研究所研究员，博士生导师。兼任中国科学院唐山高新技术研发与转化中心工程植物事业部部长，中国植物生理学会植物生物质与生物能源专业委员会委员。

正如所有的亚细胞的蛋白质组学研究，提取细胞壁蛋白质组的关键因素是提取的蛋白质片段不能被来自细胞其他部位的蛋白质污染。通常情况下用两种方法来分离细胞壁细胞壁的蛋白质。非破裂和破裂蛋白质提取两种方法各自有其优缺点，特别是有关蛋白质污染和改进当前的提取方法。第二个重要方面是多糖多酚类污染物的清除，它们在双向电泳中产生不良作用。过去，细胞培养为细胞壁蛋白质的提取提供了均一并且相对“干净”的组织来源。虽然分化的组织在生物学研究上相关性更强，但是研究起来更加复杂和困难，目前对于这些组织的大规模的蛋白质组的成果相对比较新。本章简单总结现有细胞壁蛋白质提取方法并且描述一种从紫花苜蓿茎中提取细胞壁蛋白质的具体方法。

提取细胞壁蛋白质最古老和温和的方法可能包括在适当的溶液悬浮或者洗涤直接从完整的培养细胞提取。史密斯等 [1] 把番茄的悬浮细胞用CaCl₂浓度梯度洗涤出伸展蛋白的前体流入小柱子。Scott和O' Neil [2] 从胡萝卜悬浮细胞中通过用不同浓度的含有CaCl₂、TritonX100和0.1mol/LLiCl的溶液提取胞外蛋白。在0.1%TritonX100或0.1mol/LCaCl₂中萃取后的悬浮细胞可以再重新回到同样的培养液中生长。

从5种植物体中提取只含有初生细胞壁的蛋白质 [3] 是分离和鉴定大量细胞壁蛋白质的尝试之一。通过过滤收集细胞，通过在5种不同的缓冲液中搅拌细胞提取蛋白质。缓冲液包含0.2mol/LCaCl₂、50mmol/LCDTA、50mmol/L乙酸钠 (pH6.5)、2mmol/L的二硫苏糖醇、1mol/LNaCl和0.2mol/L硼酸，pH7.5，缓冲液用于后续和非后续的提取体系。Blee等 [4] 采用了同时具有初生细胞壁和次生细胞壁的转化了的烟草的悬浮细胞系作为活细胞直接提取总蛋白的来源。蛋白质提取用0.2mol/LCaCl₂、50mmol/LCDTA。这个方法的改进后则是用真空透析的原生质体 [5] 或整个植物组织 [6, 7] 来洗涤非原生质体和细胞壁的蛋白质。这个方法包括一个灌输步骤借助盐溶液或其他的溶液通过温和降低压力从而进入细胞间隙。Roger等 [5] 用1mol/LNaCl和0.4mol/LCaCl₂来透析来自于纤维植物下胚轴的固定原生质体，并通过离心和过滤收集非原生质体。马铃薯块茎中的非原生质体通过含有0.6mol/L的NaCl透析组织获得，然后，离心收集提取物 [6]，已使用这种方法收集叶片中的汁液，这种方法采用含20mmol/L抗坏血酸、20mmol/L氯化钙 [7] 的溶液。根汁液收集通过简单切割和离心组织收获分泌物非破坏性蛋白质提取方法的一个主要的缺点是，细胞壁蛋白质的产量通常较低。目前以基因组为基础的估算预测出数以百计的分泌蛋白 [9]；然而只有这个数量的一小部分，在没有破坏的植物细胞壁的蛋白质研究中被发现。第二个缺点是质膜断裂的可能性将导致伴随细胞质和膜蛋白的细胞壁组分的污染。由于污染是一个巨大的障碍，因此确保细胞壁的纯度的方法应包括针对典型的污染蛋白质如检测标记酶的活性或Western杂交。

另一种从活细胞中洗脱细胞壁的蛋白质的方法是利用质膜的质壁分离使质膜萎缩脱离细胞壁。Borderies等 [10] 用活拟南芥悬浮培养细胞来提取细胞壁松散结合的蛋白质。

培养物首先用50%甘油质壁分离，然后相继用不同的缓冲液提取。利用两种不同的提取体系—NaCl、EDTA、0.2mol/LCaCl₂或NaCl、EDTA、2mol/LLiCl来优化方法并且减少提取处理所造成的膜渗透的问题。这些处理中的几个导致细胞壁蛋白污染上胞内蛋白，因此要利用透射电子显微镜来验证质膜的完整性。

破坏性蛋白质提取的方法是细胞壁蛋白提取的第二个主要途径，并且这个方法也应用了质壁分离。在用含有甘油和甘露醇的溶液处理拟南芥的悬浮细胞系后，将细胞通过一个N2破碎弹随后细胞碎片被恢复并且通过显微镜检查。从准备的细胞壁材料中用2%的十二烷基硫酸钠 (SDS) 提取蛋白质并用Western杂交分析污染的胞内蛋白。作为非破坏性的方法，污染是一个重大的问题，因此必须保证细胞壁的纯度。

在同一组发表的两篇文献中拟南芥悬浮细胞的匀浆液也被用来作为一个细胞壁蛋白质的来源 [12, 13]。在这两种情况下，细胞洗涤、过滤，并通过细胞破坏器。这些匀浆

在甘油溶液中被分层并且通过重力沉淀后细胞壁组分被收集和洗涤。纯化的细胞壁由电子显微镜检查并且通过免疫荧光和免疫杂交检测污染的胞内或膜蛋白 [12]。结果支持了作者的结论：细胞壁组分没有污染的蛋白质。在这两个文件中，细胞壁组分中的蛋白质先用0.2mol/L氯化钙提取然后用尿素缓冲液。

已经从挪威云杉木质部悬浮培养的活细胞中提取了细胞壁的蛋白质。通过在1mol/L氯化钠的缓冲液中孵育的方法将细胞壁蛋白质从经过过滤和洗涤的细胞中洗脱下来。分离的细胞进行匀浆，随之蛋白质被释放，但在离子作壁蛋白质中纯化出了与延伸相关的细胞壁蛋白质 [17]洗脱细胞壁的蛋白质。通过离子交换，氯化钙与结合蛋

[生命科学实验指南系列：植物蛋白质组学实验指南](#) [下载链接1](#)

书评

[生命科学实验指南系列：植物蛋白质组学实验指南](#) [下载链接1](#)