

·特邀综述·

植物蛋白质组学研究若干重要进展

喻娟娟¹, 戴绍军^{1, 2*}

¹东北林业大学生命科学学院林木遗传育种与生物技术教育部重点实验室, 哈尔滨 150040

²哈尔滨师范大学生命科学与技术学院, 哈尔滨 150080

摘要 植物蛋白质组学近年来正从定性向精确定量蛋白质组学的方向发展。国际上近两年发表的约160篇研究论文报道了利用不断改进的双向电泳结合生物质谱技术、多维蛋白质鉴定技术, 以及包括双向荧光差异凝胶电泳、¹⁵N体内代谢标记、同位素标记的亲标签、同位素标记相对和绝对定量等在内的第2代蛋白质组学技术, 对植物组织(器官)与细胞器、植物发育过程和植物响应环境胁迫的蛋白质组特征, 以及植物蛋白质翻译后修饰和蛋白质相互作用等方面的研究成果。该文对上述报道进行总结, 综述了2007年以来植物蛋白质组学若干重要问题研究的新进展。

关键词 发育, 植物, 翻译后修饰, 定量蛋白质组学, 胁迫

喻娟娟, 戴绍军 (2009). 植物蛋白质组学研究若干重要进展. 植物学报 44, 410–425.

随着拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、水稻(*Oryza sativa*)和杨树(*Populus trichocarpa*)等植物全基因组序列测定的完成和基因组学研究的深入, 植物蛋白质组学研究已成为后基因组时代的热点之一。虽然与人类和酵母蛋白质组学相比, 植物蛋白质组学起步较晚, 但是自1997年第1篇植物蛋白质组学文章发表以来, 伴随着蛋白质组学技术体系的不断完善, 植物蛋白质组学发展迅速。近年来, 以水稻和拟南芥等模式植物为代表的多种植物组织(器官)的蛋白质表达谱分析相继完成, 并且植物发育和生殖过程中不同阶段的蛋白质组变化, 以及此过程中植物响应各种环境因子的差异表达蛋白质组也被大量报道。每年都有近百篇研究论文和关于该年度植物蛋白质组学研究的综述性文章发表(Canovas et al., 2004; Rossignol et al., 2006; Jorriin et al., 2007)。近两年, 国际上大约发表了160篇植物蛋白质组学方面的研究论文和50多篇综述, 这些文章报道的物种除了拟南芥和水稻以外, 还涉及以蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)、大麦(*Hordeum vulgare*)和大豆(*Glycine max*)等为主的近

50个物种, 研究内容也涉及方法学、亚细胞蛋白质组、组织(器官)蛋白质组、植物响应胁迫蛋白质组、翻译后修饰蛋白质组和相互作用蛋白质组等多个方面(表1)。本文从上述几个方面综述了近两年来植物蛋白质组学的研究进展。

1 方法学

将双向电泳(two-dimensional electrophoresis, 2-DE)与质谱(mass spectrometry, MS)联用仍然是目前进行植物蛋白质组学研究最常用的方法。同时, 在酵母和哺乳动物中建立并迅速发展的第2代蛋白质组学技术, 如多维蛋白质鉴定技术(multidimensional protein identification technology, MudPIT)、双向荧光差异凝胶电泳(two-dimensional fluorescence difference gel electrophoresis, 2D-DIGE)、¹⁵N体内代谢标记(¹⁵N metabolic labeling)、同位素标记的亲标签(isotope-coded affinity tag, ICAT)、同位素标记相对和绝对定量(isobaric tags for relative and absolute protein

收稿日期: 2008-04-03; 接受日期: 2008-07-16

基金项目: 国家自然科学基金(No.30570932)、教育部新世纪优秀人才支持计划(No.NECT-06-0327)和黑龙江省普通高等学校青年学术骨干支持计划项目(No.1152G015)

* 通讯作者。E-mail: daishaojun@hotmail.com

quantitation, iTRAQ)和同位素标签定位细胞器蛋白质(localization of organelle proteins by isotope tagging, LOPIT)等技术, 已经开始在植物蛋白质组学研究中应用。Thiellement 等(2007)综述了近年来用于植物蛋白质组学研究的一些标准化方法, 包括针对不同材料的蛋白质提取方案、各种蛋白质分离程序、质谱分析和蛋白质鉴定策略的选择等。近两年报道的植物蛋白质组学研究方法主要包括以下几种。

1.1 基于凝胶的定量蛋白质组学技术

虽然蛋白质分离技术不断更新, 但是凝胶电泳技术仍

是目前最重要的蛋白质分离手段。1D SDS-PAGE仍然被作为分离简单蛋白质样品和富集亚细胞蛋白质组分的有效手段。2D 蓝色自然胶(blue-native, BN)/SDS-PAGE 也成功地被用于类囊体膜和核复合体蛋白质组的研究。一年来, 蛋白质提取方法、凝胶电泳和生物质谱等技术体系逐渐完善和优化, 大大提高了对植物蛋白质的解析能力和重现性, 使得一些低分子量的食物过敏原得以检测。一直困扰着植物叶片蛋白质组研究的高丰度表达的核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, RuBisCO)影响低丰度蛋白质分离的问题

表 1 2007-2008 年发表的植物蛋白质组学文章的数量和研究对象

Table 1 Numbers, subjects investigated and contributions of the papers on plant proteomics published during 2007-2008

类	亚类	研究对象(文章数量)
物种	模式植物	拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)(37)、蒺藜苜蓿(<i>Medicago truncatula</i>)(8)
	谷类作物	水稻(<i>Oryza sativa</i>)(26)、大麦(<i>Hordeum vulgare</i>)(6)、玉米(<i>Zea mays</i>)(12)、小麦(<i>Triticum aestivum</i>)(6)、节节麦(<i>Triticum tauschii</i>)(1)、硬粒小麦(<i>Triticum durum</i>)(1)
	豆类作物	鹰嘴豆(<i>Cicer arietinum</i>)(3)、大豆(<i>Glycine max</i>)(8)、菜豆(<i>Phaseolus vulgaris</i>)(1)、豌豆(<i>Pisum sativum</i>)(1)、羽扇豆(<i>Lupinus albus</i>)(1)、豇豆(<i>Vigna unguiculata</i>)(2)
	其它农作物	甘蓝(<i>Brassica oleracea</i>)(1)、菠菜(<i>Spinacia oleracea</i>)(2)、落花生(<i>Arachis hypogaea</i>)(1)、欧洲油菜(<i>Brassica napus</i>)(3)、马铃薯(<i>Solanum tuberosum</i>)(3)、蓖麻(<i>Ricinus communis</i>)(1)、番茄(<i>Lycopersicon esculentum</i>)(3)、黄瓜(<i>Cucumis sativus</i>)(1)、甜菜(<i>Beta vulgaris</i>)(2)、西瓜(<i>Citrullus lanatus</i>)(1)
	木本植物	欧洲山杨(<i>Populus tremula</i>)(1)、大桉(<i>Eucalyptus grandis</i>)(1)、欧洲山毛榉(<i>Fagus sylvatica</i>)(1)、挪威云杉(<i>Picea abies</i>)(1)、北美云杉(<i>Picea sitchensis</i>)(1)、西洋梨(<i>Pyrus communis</i>)(1)、苹果(<i>Malus spp.</i>)(2)、香蕉(<i>Musa spp.</i>)(2)、葡萄(<i>Vitis vinifera</i>)(6)、柑橘(<i>Citrus sinensis</i>)(1)
	其它	杜氏盐藻(<i>Dunaliella salina</i>)(1)、白屈菜(<i>Chelidonium majus</i>)(1)、黑麦草(<i>Lolium perenne</i>)(1)、维柯萨(<i>Xerophyta viscosa</i>)(1)、旋蒴苣苔(<i>Boea hygrometrica</i>)(1)、莱茵衣藻(<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>)(1)、猪笼草(<i>Nepenthes alata</i>)(1)、亚麻(<i>Linum usitatissimum</i>)(1)、烟草(<i>Nicotiana tabacum</i>)(1)、芽草(<i>Elymus elongatum</i>)(1)、大麻(<i>Cannabis sativa</i>)(1)、球蒴藓(<i>Physcomitrella patens</i>)(1)、可可(<i>Theobroma cacao</i>)(1)、罂粟(<i>Papaver somniferum</i>)(1)
生物学过程	生长发育	花粉(1)、种子(9)、茎(1)、叶片(2)、质体(2)、果实(5)、细胞分化(2)、原生质体增殖(1)
	响应激素胁迫	赤霉素(2)、生长素(1)、脱落酸(3)、茉莉酸(1)、油菜素内酯(1)
	非生物胁迫	共生体(包括固氮细菌、藻青菌、菌根真菌)(1)
生物学过程	生物胁迫	渗透/盐(11)、干旱(12)、温度(4)、重金属(6)、营养不足(5)、臭氧(2)、除草剂(2)、光(3)、水涝(1)、重力(1)、CO ₂ (1)
	生物胁迫	细菌及其效应物(4)、真菌及其效应物(4)、植物病原菌激发子(1)、昆虫(1)
基因差异		突变体(5)、基因型(7)、转基因植物(4)
取材部位	器官/组织/细胞	苗(13)、根(16)、茎(4)、叶(25)、种子(19)、果肉/果汁/果皮(8)、雌蕊(1)、根瘤(3)、细胞/愈伤组织(9)、盾片(1)、配子托(1)、木质部/韧皮部(汁液)(6)、形成层(1)、分生组织(1)、花粉(1)、卵细胞(1)、保卫细胞(1)、胚乳(1)、胚(1)
	亚细胞组分	整体(1)、细胞壁(1)、细胞外基质(6)、质膜(11)、质体(13)、线粒体(4)、细胞核(4)、液泡(2)、过氧化氢酶(2)、内质网(1)、核糖体(1)、造粉体(1)
翻译后修饰		磷酸化(9)、氧化还原(4)、其它(3) 相互作用(4)

也被报道可以通过 PEG 沉淀(Xi et al., 2006)或应用 RuBisCO 免疫耗竭柱(immunodepletion columns)(Cellar et al., 2008)来解决。同时,人们也找到了消除种子胚乳中富含的淀粉粒和蛋白质体的新方法,从而可以获得这些组织中的低丰度蛋白(Li et al., 2008)。另外,2D-DIGE被广泛应用于植物定量蛋白质组学研究。这种方法将待比较样品分别用不同荧光试剂(cy2, cy3 或 cy5)标记,等量混合后进行双向电泳分离。由于在同一块胶内进行分离,避免了电泳时操作上的人为误差及胶与胶之间的差异,可准确地反映出处理样品和对照样品间的差异表达蛋白质。该技术已经被应用于受臭氧胁迫的欧洲山杨(*Populus tremula*)叶片蛋白质组(Bohler et al., 2007)、拟南芥突变体油菜素内酯(brassinosteroid, BR)相关调节蛋白(Deng et al., 2007),以及蒺藜苜蓿多根瘤突变体、野生型根响应生长素和苜蓿根瘤菌的蛋白质组研究(van Noorden et al., 2007)中。

1.2 基于质谱的定量蛋白质组学技术

1.2.1 标记定量技术

稳定同位素体内(*in vivo*)或体外(*in vitro*)标记技术也已被广泛应用于植物蛋白质组学的精确定量研究中。常见的体内标记方法包括 ^{15}N 体内代谢标记和细胞培养中稳定同位素标记氨基酸(stable isotope labeling by amino acids in cell culture, SILAC)方法。SILAC方法依靠在培养介质中加入稳定同位素标记的必需氨基酸(如赖氨酸或精氨酸等)实现对蛋白质的定量,已经广泛用于高等动物细胞蛋白质的鉴定及定量。由于植物细胞本身可以合成这些必需氨基酸,导致只有部分蛋白质被标记,所以此方法不适合植物蛋白质组学研究。 ^{15}N 体内代谢标记法采用含有 ^{15}N (或 ^{14}N)作为唯一氮源的培养基来培养植物组织(植株),依靠掺入合成蛋白质的 ^{15}N 实现定量。该技术已经应用于拟南芥培养细胞响应细菌鞭毛蛋白 flg22、木聚糖酶(Benschop et al., 2007)以及镉胁迫(Lanquar et al., 2007)的差异表达质膜蛋白质组分析中。此外,Hebeler等(2008)利用该技术与DIGE和纳升液相串

联质谱(nano-LC-MS/MS)结合,鉴定了拟南芥叶片衰老过程中包括RuBisCO大、小亚基和GST等在内的13种差异表达蛋白质。常用的体外标记技术主要包括ICAT和iTRAQ技术。ICAT技术是利用一种能和半胱氨酸反应并含有轻链和重链2种形式稳定同位素的亲和标签试剂,预先选择性对蛋白质进行标记,然后依次通过胰蛋白酶水解、亲和层析和液相色谱串联质谱实现对蛋白质的分离和定量分析。Hartman等(2007)利用ICAT技术并结合沉降蛋白质复合体检测技术(proteomic complex detection using sedimentation, ProCoDeS)分析了拟南芥线粒体膜蛋白复合体的蛋白质表达丰度。iTRAQ技术则是利用4种(最近已发展为8种)胺活性试剂组成的一组非多聚体的等质量标记试剂,对蛋白质酶解的肽段进行差异标记,再将标记的样本混合,然后采用MudPIT进行分析鉴定。Patterson等(2007)利用此技术分析了抗砷和非抗砷大麦的差异表达蛋白质组。

1.2.2 非标记定量技术

除了上述这些稳定同位素标记定量技术以外,近年来提出了一种新的不依赖于同位素标记的基于液相色谱串联质谱的非标记定量技术(label-free quantitative technology based on liquid chromatography tandem mass spectrometry, Label-free LC MS/MS),并被越来越多的研究者认可。现有的基于质谱的非标记定量技术主要包括基于一级质谱信息定量和基于二级质谱信息定量两种。前者的定量依据主要是与一级质谱相关的肽段峰强度(peak intensity)信息,后者的依据主要是与二级质谱相关的每个蛋白质被鉴定肽段的总次数(spectral counts)信息。Zybailov等(2008)应用该技术中已标准化的基于二级质谱信息的定量技术,对拟南芥叶绿体的可溶性间质蛋白质的表达丰度进行了大规模分析,并且通过与基于凝胶的定量蛋白质组学技术相比,证明了将被鉴定肽段的总次数信息应用于拟南芥大规模定量蛋白质组分析的可行性。Majeran等(2008)也应用该方法对叶绿体蛋白质组进行了定量分析。

1.3 鸟枪蛋白质组学策略

鸟枪蛋白质组学策略的代表性方法是MudPIT。此方法首先从待研究样品中提取蛋白质, 将其酶解成肽段混合物, 直接上样至多维液相色谱中进行分离, 然后进入串联质谱进行解析。Lee等(2007)采用MudPIT和1-D胶-LC-MS/MS鉴定了拟南芥叶片的2342种非冗余蛋白质, 证明这种策略不仅更加有利于分离和鉴定跨膜蛋白和疏水蛋白, 而且得到的蛋白质的功能分布更接近于其编码基因在基因组中的分布特征。

1.4 亚细胞组分的分离以及蛋白质定位技术

Truernit和Hibberd(2007)发明了一种可有效分离特定类型细胞叶绿体的方法, 首先利用外源黄色荧光蛋白(yellow fluorescent protein, YFP)标记某特定类型细胞的叶绿体外膜, 细胞类型的特异性分析通过应用增强子捕获系统来实现, 然后利用结合有GFP抗体的磁珠将标记的叶绿体分离。研究者应用该方法有效地分离了拟南芥叶片海绵组织、叶脉和表皮3种细胞类型的叶绿体。蛋白质的亚细胞定位对于理解植物代谢过程中细胞器的功能和区室化特征具有重要作用。近两年得到快速发展的同位素标签定位细胞器蛋白质技术(LOPIT)也开始应用于植物的亚细胞定位研究。这种依赖于精确定量蛋白质组学技术的高通量策略, 有望达到不需分离高纯度的亚细胞组分, 即可解决区分真实细胞器驻留蛋白质与污染蛋白质这一长期困扰研究者的难题。LOPIT技术的基本原理是依赖于自主生成的碘克沙醇(iodixanol)密度梯度来实现亚细胞组分蛋白质的分配。根据密度分配的相似性, 结合western杂交、iTRAQ和多元统计分析技术将蛋白质进行分类, 最后将它们定位到相应细胞器中。相比其它定量蛋白质组学技术, 该技术最大的优点就是可为细胞中静态蛋白质的定位提供信息, 尤其是可以解决穿梭蛋白质的定位难题(Dunkley et al., 2006; Lilley and Dupree, 2007)。

2 亚细胞蛋白质组

2.1 整体亚细胞蛋白质组

由于某些细胞器(内质网和高尔基体)是一种动态结构, 其蛋白质组成除了驻留蛋白质之外, 还包括穿梭蛋白质和瞬间相互作用的蛋白质。另外, 有一些蛋白质同时存在于2种或2种以上的细胞器中, 因此, 应用蛋白质组学技术仅仅对某一具体细胞器进行独立研究, 是远远不够而且不科学的。应该通过对整个内膜系统的静态亚细胞定位分析, 从整体上获得亚细胞的蛋白质定位信息, 对亚细胞蛋白质组才能有进一步的认识(Lilley and Dupree, 2007)。发明LOPIT技术的Dunkley等(2006)结合iTRAQ和2D-LC技术, 获得了拟南芥根愈伤组织细胞器蛋白质组图谱, 将527种蛋白质定位于不同的细胞器, 包括182种内质网蛋白、92种质膜蛋白、89种高尔基体蛋白、24种液泡膜蛋白, 以及140种线粒体(或质体)蛋白质。这527种蛋白质中绝大多数是膜蛋白或膜相关蛋白, 之前并没有其相关定位信息的报道。他们利用GFP标签定位实验将18种有明确定位结果的蛋白质中的16种蛋白质定位到预测的细胞器中, 表明该研究中预测的亚细胞定位具有很高的可信度。该研究是第1次针对植物真实亚细胞定位进行的综合分析, 为从整体上认识植物亚细胞蛋白质组提供了新的思路。Heazlewood等(2007)将该LOPIT数据与2007年5月公布的拟南芥亚细胞数据库(SUBA)中的GFP标签定位数据相比较, 发现在拟南芥亚细胞数据库1349种GFP标签定位的蛋白质中, 两者的一致性达到60%。部分不一致产生的原因可能与蛋白质组的错误定位或者GFP融合蛋白的错误定位有关, 因为有实验证明, 瞬时表达的GFP融合蛋白并不能完全真实反映内源蛋白的静态定位信息(Lilley and Dupree, 2007)。

2.2 质膜蛋白质组

由于质膜组分包含大量的低丰度蛋白和疏水蛋白, 目前仍然是植物蛋白质组学研究中的最大难题之一(Komatsu, 2008)。近年来, 人们在脂筏、质膜蛋白多

样性、质膜蛋白在发育过程中的变化以及质膜蛋白响应环境因素方面取得一些进展。不仅利用 nano-LC-MS/MS 获得了最具多样性的拟南芥质膜蛋白质组,在鉴定的446种蛋白质中有一半以上具有跨膜结构域或锚定序列,并包括大量新发现的信号蛋白(如占11%的受体激酶类似蛋白和被脂基化修饰的蛋白(占16%)(Marmagne et al., 2007),而且发现了蒺藜苜蓿根组织质膜中的富含鞘脂类和固醇类结构域的270种脂筏,包括43种信号转导相关蛋白、65种运输蛋白和21种氧化还原相关蛋白等(Lefebvre et al., 2007)。Natera等(2008)从水稻质膜中总共鉴定了805种蛋白质,其中350种已被预测为质膜蛋白或质膜相关蛋白。对拟南芥和水稻悬浮细胞质膜蛋白质组的研究表明,在应答病原菌、镉胁迫、flg22和木聚糖酶处理时,一些蛋白质的表达丰度发生变化,大量参与信号转导或早期胁迫相关的调节蛋白表现出差异磷酸化(Benschop et al., 2007; Chen et al., 2007; Lanquar et al., 2007),为揭示拟南芥响应植物病原菌和金属离子的信号转导机制提供了丰富的信息。对水稻和杜氏盐藻(*Dunaliella salina*)质膜蛋白质组的研究表明,在高盐胁迫条件下,参与稳定膜结构、氧化胁迫、质膜泵/通道和信号转导等过程(结构)的蛋白质表达上调,这为深入揭示质膜在响应高盐胁迫信号转导过程中的作用提供了依据(Katz et al., 2007; Nohzadeh Malakshah et al., 2007)。此外,葡萄(*Vitis vinifera*)浆果质膜蛋白质组在浆果成熟过程中的表达也发生变化(Zhang et al., 2008)。

2.3 质体与线粒体蛋白质组

植物的质体和线粒体相对容易提取和纯化,两者的蛋白质组学研究也相当深入。在前期研究的基础上,人们更加关注这2种半自主性细胞器的发育过程、生理代谢及响应胁迫的蛋白质组特征。Zybailov等(2008)鉴定了拟南芥叶绿体中的1325种蛋白质,包括916种高可信度定位质体的核编码蛋白,并且应用非标记定量技术分析叶绿体可溶性间质中550种蛋白质的表达丰度,对于理解叶绿体代谢途径的调控

有重要意义。Kleffmann等(2007)研究发现,在光调控水稻白色体发育成为叶绿体的过程中,参与碳代谢、光合作用和基因表达的蛋白质表达量明显上调,而参与氨基酸和脂肪酸代谢的蛋白质表达量下降,使我们对叶绿体发育进程中从自养到异养的过程有了进一步认识。研究者们通过对C₃植物豌豆(*Pisum sativum*)和C₄植物玉米(*Zea mays*)的叶肉细胞叶绿体外膜的比较蛋白质组学分析,发现2种植物的叶绿体膜蛋白质种类极其相似,但蛋白质的定量结果相差很大(Brautigam et al., 2008)。同时, Majeran等(2008)应用基于凝胶定量和质谱定量2种方法对玉米叶肉细胞和维管束鞘细胞的类囊体和叶绿体膜进行了大规模的比较蛋白质组分析,这些数据对于理解C₄植物的叶绿体分化以及C₄植物光合作用的适应机制有重要的意义。其次,对菠菜(*Spinacia oleracea*)类囊体膜(Timperio et al., 2007)、大麦类囊体膜特别是上面的捕光蛋白复合物(light-harvesting complex proteins, LHCP) (Frigerio et al., 2007)和10余种植物光系统I蛋白质组(Zolla et al., 2007)的研究表明,不论是在环境胁迫(铁缺乏)条件下,还是在不同物种或同一物种的突变体中,类囊体/光系统I的蛋白质组都有明显差异,表现为:(1)不同植物光系统I的蛋白质组成既有同源性又有多样性;(2)铁缺乏会使光系统I在蛋白质水平上受到严重破坏;(3)突变体大麦中捕光复合物多肽的表达丰度明显下降。这些研究为进一步认识光合作用机制和叶绿体的半自主性提供了新的信息。

2.4 细胞核与液泡蛋白质组

Pandey等(2008)报道了鹰嘴豆(*Cicer arietinum*)幼苗细胞核响应脱水过程中的147种差异表达蛋白质,发现参与基因转录与复制、分子伴侣、细胞信号转导和染色质重塑等过程的蛋白质在脱水过程中表达上调,这是首次对脱水过程中细胞核内复杂的代谢网络变化进行的整体研究。Repetto等(2008)对蒺藜苜蓿种子的核蛋白质组进行了研究,共鉴定了143种蛋白质,包括几种新的核蛋白质,它们可能在核蛋白体亚

单位生物合成或者核与质之间的运输过程中起作用。随着植物含有至少 2 种类型的液泡这一论述得到证实, 研究者发现液泡蛋白质组要比以前认为的复杂得多, 有待于更深入的研究才能更好地理解液泡的功能 (Martinoia et al., 2007)。Jaquinod 等 (2007) 利用 Ficoll 密度梯度离心获得了高纯度的拟南芥原生质体液泡, 鉴定了 650 余种液泡蛋白质, 其中 415 种为疏水膜蛋白, 包括 195 种整合蛋白和 110 种运输载体及相关蛋白, 并且仅有 20% 的蛋白质与液泡的功能相关。这些研究为深入认识细胞核与液泡的动态变化提供了线索。

2.5 其它亚细胞组分蛋白质组

Reumann 等 (2007) 鉴定了拟南芥叶片过氧化酶体中的 78 种蛋白质, 包括 17 种具有过氧化酶体导向信号 (peroxisomal targeting signal, PTS) 的蛋白质、11 种含有 PTS 相关多肽的蛋白质, 以及 42 种在过氧化酶体中新发现的蛋白质。Arai 等 (2008) 在白化的大豆子叶过氧化酶体中鉴定出了一些短链脱氢酶还原酶家族蛋白和烯酰辅酶 A 水解酶/异构酶家族蛋白等, 这与 Reumann 等 (2007) 的一些鉴定结果相吻合。Carroll 等 (2008) 获得了拟南芥细胞质核糖体中的 795 个核糖体蛋白多肽序列, 其中包括新鉴定的 5 个基因家族的核糖体蛋白。此外, 他们还鉴定了 30 个特异位点的 N 末端乙酰化、磷酸化等翻译后修饰, 这对于深入了解核糖体参与的蛋白质翻译有着重要意义。此外, 对种子发育和萌发过程中内质网的差异蛋白质组, 以及质外体和造粉粒的蛋白质组的研究为进一步了解这些亚细胞组分的功能提供了大量的信息 (表 1)。

3 组织器官发育蛋白质组

3.1 突变体和不同基因型的蛋白质组

应用蛋白质组学分析比较野生型与突变体的蛋白表达差异, 不仅可提供对突变效果的评价, 而且能够鉴定出突变基因编码或受其影响的蛋白。Kang 等 (2007) 通过对水稻损伤模拟突变体斑点叶 6 (*sp16*) 的叶片与野生型正常叶片进行比较蛋白质组学分析, 鉴

定了 159 种表达丰度发生变化的蛋白质, 其中蛋白质二硫异构酶 (protein disulfide isomerase, PDI)、转酮醇酶、硫氧还蛋白过氧化物酶 (thioredoxin peroxidase, TPX)、ATP 合成酶, 以及 RuBisCO 大亚基与激活的小亚基在 *sp16* 突变体中都没有被检测到, 在野生型中却高度表达。结合形态学观察, 他们认为这些蛋白质尤其是 PDI 和 TPX 的消失, 可能正是细胞无法避免类囊体膜破裂所导致的氧化损伤作用的原因, 继而导致细胞程序性死亡以及斑点的形成。另外, Patterson 等 (2007) 利用 iTRAQ 技术比较了抗硼和非抗硼大麦的蛋白质组, 发现抗硼大麦含铁细胞中的离子缺乏敏感蛋白 2 (iron deficiency sensitive 2, IDS2)、IDS3 和甲基硫代核糖激酶的表达量明显升高。

对不同基因型植物的蛋白质组进行比较研究, 可为研究植物分子进化途径和探讨植物起源等问题提供线索。Natarajan 等 (2007a, 2007b) 对来自野大豆 (*Glycine soja*) 和栽培大豆 (*G. max*) 共 4 个类群 16 种基因型大豆中豆球蛋白和孔尼兹大豆酶抑制物分别进行了蛋白质组学分析, 发现不仅蛋白质组具有多态性, 而且野生品种与栽培品种之间的差异明显大于各大类内部之间的差异。

3.2 组织器官的发育比较蛋白质组

近年来, 除了继续对植物组织 (器官) 蛋白质表达谱进行补充完善之外 (Baerenfaller et al., 2008), 人们开始着重研究植物发育过程中组织 (器官) 蛋白质的差异表达。种子发育与萌发的代谢调控机制是人们多年来关注的焦点。蛋白质组学分析表明, 在种子发育的不同时期差异表达蛋白质表现出不同的功能类群特征。玉米胚乳发育早期参与细胞分裂与分化、细胞骨架和细胞壁沉积等结构建成、呼吸代谢和抗活性氧的蛋白质表达量最高; 胚乳淀粉开始积累时糖酵解酶类的表达丰度提高; 在胚乳积累贮藏物质晚期, 正磷酸丙酮酸二激酶在维持淀粉和蛋白质平衡中起到重要作用 (Mechin et al., 2007)。大麦种子萌发过程中有大量 α -淀粉酶 (α -amylase, AMY) 的同工型蛋白质存在 (29 个蛋白质斑点), 并且至少有 1 种 AMY1 蛋白和

2种 AMY2 蛋白参与种子萌发过程中胚乳贮藏淀粉的快速降解(Bak-Jensen et al., 2007)。水稻种子在谷粒充盈过程中有 345 种蛋白质的表达丰度发生变化, 其中持续上调的蛋白质主要参与淀粉合成与乙醇发酵, 持续下调的蛋白质主要参与碳代谢、细胞生长/分裂、蛋白质合成/降解和信号转导(Xu et al., 2008)。此外, 在水稻种子愈伤组织分化过程中, 79 种差异表达蛋白质主要参与糖代谢和胁迫/防御反应, 并且蛋白质表达水平与 mRNA 水平有较好的相关性(Yin et al., 2007)。与种子萌发相似, 花粉萌发也需要利用贮藏物质完成快速的极性生长过程。Dai 等(2007)以水稻花粉为模式首次报道了单子叶植物萌发花粉的蛋白质组特征, 鉴定的120种萌发前后差异表达蛋白质主要参与细胞壁代谢、蛋白质合成和降解、细胞骨架和糖代谢等过程, 并且翻译后修饰形成的同工型蛋白质对于花粉萌发有重要作用。此外, Fiorani 等(2007)首次报道了幼树木材形成过程中的蛋白质组(240种蛋白质)的动态变化, 在6个月、3年和6年树龄的大桉(*Eucalyptus grandis*)形成层组织中, 蛋白质种类以及同工型蛋白质种类与数量都存在差异, 9种差异显著的蛋白质分别参与基础代谢、细胞周期以及大分子代谢等过程。另外, 相对较高灵敏度的蛋白质标记技术开始应用于组织(器官)差异表达蛋白质组学研究。Hebeler 等(2008)利用 2D-DIGE 和 ^{15}N 代谢标记技术揭示了拟南芥叶片衰老过程中的 21 个差异表达蛋白质点(12种蛋白质), 发现叶片衰老过程中光合机制明显退化, 主要表现为 RuBisCO 大亚基和 3 个小亚基成分表达下调, 并且通过 GST 家族蛋白和苯醌还原酶等表达上调来抵御叶片衰老过程中因脂质降解而产生的活性氧损伤。Zhu 等(2009)利用 iTRAQ 技术分析了油菜(*Brassica napus*)保卫细胞与叶肉细胞中表达的 1 458 种蛋白质, 确定了 427 种蛋白质在保卫细胞中表达, 其中 74 种参与能量与呼吸代谢、运输、转录、细胞结构与信号转导等过程的蛋白质在保卫细胞中的表达量明显高于在叶肉细胞中, 这为深入研究保卫细胞的生理学功能提供了重要线索。

4 植物响应胁迫蛋白质组

4.1 干旱胁迫

干旱胁迫严重影响植物的一系列代谢活动, 拟南芥和水稻等模式植物响应干旱胁迫的蛋白质组学特征已经被大量报道。最近人们对小麦(*Triticum aestivum*)种子、蒺藜苜蓿根瘤以及 2 种抗旱植物叶片蛋白质组的分析表明, 参与氧化还原反应、氨基酸和糖代谢的蛋白质可能在植物干旱/复水过程中具有重要作用。3 种基因型小麦在应对不同水分蒸发量处理时, 种子可溶性蛋白质表达存在明显差异, 鉴定的 57 种差异表达蛋白质主要参与防御与应激以及蛋白质合成、组装、代谢和贮存, 其中 38 种为硫氧还蛋白(Trx)靶蛋白, 并且在耐旱基因型 Khazar-1 中硫氧还蛋白 h 和谷胱甘肽 S-转移酶的表达明显上调(Hajheidari et al., 2007)。抗旱植物旋蒴苜蓿(*Boea hygrometrica*)叶片在脱水/复水过程中, 参与活性氧组分解、光合作用和能量代谢的蛋白质表达丰度变化显著(Jiang et al., 2007)。另一种强抗旱植物维柯萨(*Xerophyta viscosa*)叶片在响应脱水胁迫过程中, 抗氧化蛋白、RNA 结合蛋白、叶绿体 FtsH 蛋白酶以及参与糖代谢的酶的表达明显上调, 而参与光合作用的相关蛋白表达则显著下调(Ingle et al., 2007)。蒺藜苜蓿根瘤在受脱水胁迫时, 蔗糖合成酶表达下调可能是导致根瘤在脱水胁迫过程中共生固氮作用(SNF)降低的原因之一, 并且植物体内甲硫氨酸合成酶表达下调以及细菌中丝氨酸羟甲基转移酶表达上调可能是根瘤响应脱水胁迫的标志性变化(Larrainzar et al., 2007)。此外, 对不同基因型香蕉(*Musa spp.*)和水稻品种响应蔗糖或甘露醇造成的渗透胁迫环境时的蛋白质组学分析也得到了相似的结果。在不同(蔗糖)渗透条件下, 耐脱水和易受影响的不同基因型香蕉茎端分生组织培养细胞在 2-DE 胶上有 123 个差异蛋白质点, 这些蛋白质主要参与糖代谢、细胞壁建成和乙烯信号途径等对于渗透作用的动态平衡和抗脱水胁迫具有重要意义的代谢过程, 并且在耐脱水品种中参与能量代谢和应激适应的蛋白质特异表达(Carpentier et al.,

2007)。而在甘露醇造成的渗透胁迫条件下,耐渗透品种水稻幼苗叶鞘基部变化的蛋白质点主要包括醛酮变位酶、26S 蛋白酶调节亚基以及参与脂质积累等过程的蛋白质(Zang and Komatsu, 2007)。另外,鹰嘴豆幼苗细胞外基质组分中有 134 种蛋白质与脱水胁迫相关,主要参与细胞壁修饰、信号转导、代谢、细胞防御和修复等过程(Bhushan et al., 2007)。

4.2 盐、金属与营养胁迫

盐胁迫是对植物最严重的非生物胁迫之一,其生理与分子机制已经得到较深入的了解,水稻和拟南芥等植物响应盐胁迫的蛋白质组变化也已被大量报道。近年来人们更多关注植物膜蛋白质组响应盐胁迫的变化。在盐胁迫条件下,水稻耐盐品种 IR651 根质膜中的膜相关蛋白、膜结构蛋白、质膜通道蛋白以及参与氧化胁迫、信号转导、蛋白质折叠和甲基循环等过程的蛋白质表达丰度明显上调(Nohzadeh Malakshah et al., 2007)。在利用 BN/SDS-PAGE 结合 nano-LC-MS/MS 鉴定的杜氏盐藻质膜的 55 种蛋白质中,60%为整合蛋白或膜相关蛋白,其余为外壁蛋白、脂质代谢相关酶、离子转运蛋白、小 G 蛋白和热激蛋白等。其中,参与信号转导和膜结构稳定的蛋白质对高盐胁迫有明显反应(Katz et al., 2007)。此外,在高盐胁迫下葡萄芽尖中 191 种蛋白质表达丰度发生变化,其中约 44% 为具有同工型的蛋白质,且参与光合作用、蛋白质合成和定位的蛋白质的表达丰度明显下调(Vincent et al., 2007)。

植物中的转运蛋白和氧化还原蛋白在响应金属胁迫时起重要作用。拟南芥培养细胞质膜 ABC 运输家族蛋白(AtPDR8)、富含亮氨酸重复序列家族蛋白(AtLRRXII)和铵转运蛋白 1(AtAMT 1.1)在镉胁迫条件下表达显著上调。其中,AtAMT1.1 表达上调与镉胁迫过程中由于谷胱甘肽和植物螯合肽的合成加速而导致的氮需求量增大相一致,而 AtPDR8 和 AtLRRXII 表达上调说明植物响应镉胁迫和病原体胁迫的作用机理存在重叠(Lanquar et al., 2007)。在铜胁迫下,水稻萌发种子中抗氧化蛋白、胁迫相关蛋白、调节蛋

白和类受体激酶等表达上调,而参与代谢的关键酶(如 α -淀粉酶等)则表达下调。这表明,过量的铜可能会导致氧化应激反应,从而促进了一些其它重要的代谢途径。过量的铜不仅通过影响种子对水分的吸收,还通过阻碍贮存物质降解来实现对种子萌发的抑制(Ahsan et al., 2007)。在锰胁迫下,豇豆(*Vigna unguiculata*)幼苗中参与 CO_2 固定、光系统 II、蛋白质降解和病原反应等过程的蛋白质的表达丰度有明显变化(Fühns et al., 2008)。

此外,还研究了铁和氮素等营养物质缺乏条件下植物蛋白质组的差异。在铁缺乏条件下,菠菜叶片类囊体膜中色素和光合作用系统蛋白表达量都减少,光化学机制受到严重损伤,光合系统 I (PSI) 蛋白表达显著下调,但其天线分子没有受到影响。与之相反,光合系统 II (PSII) 蛋白组分受胁迫影响不大,而其天线分子变化很大,说明螺旋藻(*Spirulina* spp.) 等低等生物所具有的响应铁缺乏时可快速调整光合系统的适应机制并不存在于高等植物中(Timperio et al., 2007)。另外,在分别采用硝酸铵和甘氨酸作为氮源培养的黑麦草(*Lolium perenne*) 植株中,鉴定出 39 个差异表达蛋白质点,主要包括参与甘氨酸代谢的酶和甲硫氨酸腺苷转移酶等,由此表明根吸收氮源的形式也会影响根中蛋白质的表达(Thornton et al., 2007)。

4.3 光温胁迫

光照和温度是植物生长发育过程中非常重要的环境因子。相关研究在拟南芥中已取得了重大进展,发现了大量响应光照或温度的调控植物生长发育的基因,并开始启动相关的蛋白质组学研究。Yang 等(2007)对水稻幼苗去黄化过程的比较蛋白质组学分析发现,多数(13 种)差异表达的蛋白质参与光合作用的光反应、碳同化、叶绿素合成、抗氧化和解毒等过程,由此表明去黄化过程不仅与光合作用机制密切相关,而且处于氧化应激状态的黄化幼苗可能在去黄化早期阶段解除应激状态。Komatsu 等(2007)在低温敏感和耐低温水稻幼苗中过量表达钙依赖蛋白激酶 13 (CDPK13) 和肌钙网蛋白互作蛋白 1 (CRTintP1), 并对

叶鞘蛋白质组进行了分析。他们发现在耐低温水稻和转正义基因水稻中, 钙网蛋白、果糖激酶、细胞质苹果酸脱氢酶、蛋白质翻译起始因子4A和微管蛋白等蛋白质高丰度表达。由此表明, CDPK13和CRTintP1应答低温信号后启动的下游事件很可能涉及碳代谢、糖信号途径、DNA解旋和微管解聚等一系列过程。

4.4 臭氧胁迫

臭氧已经成为目前最主要的大气污染物之一, 对植物产生了很大的危害。对臭氧胁迫下的欧洲山杨、菜豆(*Phaseolus vulgaris*)和玉米叶片的蛋白质组学分析发现, 不仅RuBisCO的表达在胁迫早期明显降低, 而且磷酸丙糖异构酶和醛缩酶等多种参与卡尔文循环的蛋白质(其中多数与核酮糖-1,5-二磷酸再生相关), 以及与叶绿体电子传递链相关的蛋白质表达下调, 而参与葡萄糖分解代谢的酶、抗坏血酸过氧化物酶和热激蛋白等表达上调。由此可见, 植物体通过上述代谢调节来减轻光氧化损伤, 改善能量供应能力和还原能力, 从而减小臭氧胁迫带来的不利影响(Bohler et al., 2007; Torres et al., 2007)。

4.5 激素

生长素、茉莉酸(JA)、脱落酸(ABA)、赤霉素(GA)和油菜素内酯(BR)等植物激素对植物生长发育的调控作用已经基本清楚。近年来, 人们分析了外源施加这几种植物激素对不同基因型植株以及种子萌发等过程中蛋白质组的影响。van Noorden等(2007)分别用根瘤菌和生长素处理蒺藜苜蓿多根瘤突变体(*sun*)和野生型植株的根。他们发现无论是突变体还是野生型植株, 应答生长素处理和根瘤菌侵染时差异表达的蛋白质十分相似, 由此表明生长素可能在根瘤形成早期起调节作用。同时, 在响应生长素胁迫时, 突变体与野生型植株间的蛋白质表达存在很大差异, 这可能源于它们的内源生长素水平不同。Cho等(2007)的研究表明, JA处理的水稻芽和根中的差异表达蛋白质所属的功能类群表现出显著差异。芽中的差异表达

蛋白主要参与光合作用、细胞呼吸和蛋白质修饰等, 其中光合作用相关蛋白占所鉴定蛋白总数的44%并且绝大部分表达下调, 说明光合机制是JA发挥作用的主要对象, 而根的差异表达蛋白则主要参与抗氧化系统、细胞呼吸和防御过程。Pawlowski(2007)分析了水分、ABA和GA₃对欧洲山毛榉(*Fagus sylvatica*)种子低温层积打破休眠萌发过程中蛋白质表达的影响。结果表明, 种子响应水分处理的差异表达蛋白质主要参与能量代谢和蛋白质定位, 应答GA₃处理的蛋白质主要参与能量代谢和植物防御, 而响应ABA处理的蛋白质主要参与能量代谢、蛋白质定位和发育过程。与此相似, ABA诱导产生的水稻盾片蛋白质也主要是参与蔗糖代谢、糖分解和ATP合成等的酶(Asakura et al., 2007)。此外, Deng等(2007)发现拟南芥BR-敲除突变体*det2-1*在BR处理时差异表达的42种蛋白质主要参与信号转导、细胞骨架解聚、囊泡运输、激素及维生素合成等过程。同时, 他们还发现当BR处理时或者在BR-不敏感突变体*bri1-116*和BR-超敏感突变体*bzr1-1D*中, Sec14细胞质因子(PATL2)、PATL1、噻唑生物合成酶(THI1)、苹果酸氧化还原酶(NADP-ME2)和单脱氢抗坏血酸还原酶(MDAR3)等5种蛋白质差异表达, 这表明它们可能在BR调控过程中具有重要作用。

4.6 生物胁迫

除了非生物胁迫以外, 植物也常受到一些病原或寄生微生物的影响, 并通过逐渐建立的防御和适应机制来完成与外源入侵生物之间的交流。一些病原菌通过向体外分泌酶和其它蛋白质侵染宿主细胞, 引起宿主的病原反应。Paper等(2007)分析了禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)分泌到培养基滤液中的蛋白质及其分泌到受其侵染的小麦头状花序中的蛋白质的组成, 共鉴定了289种蛋白质(培养液中有229种, 植物体中有120种)。其中仅在植物体内检测到的49种蛋白质中有13种为非分泌单拷贝持家酶(包括烯醇酶、磷酸丙糖异构酶和葡萄糖磷酸变位酶等), 这暗示着真菌致病过程中除了分泌蛋白外还可能通过

自身溶解使宿主致病。此外,蛋白质序列分析表明,真菌分泌到培养液中的蛋白质几乎都含有信号肽,而真菌分泌到植物体中的蛋白质只有56%含有信号肽。其中,一些无信号肽蛋白质是已被报道的动物致病真菌分泌的免疫原,很可能在禾谷镰刀菌与寄主植物相互作用中起重要作用。在植物应答外源微生物的信号转导途径中,蛋白质磷酸化/去磷酸化过程具有重要作用。Ritsema等(2007)建立了利用激酶作用底物多肽芯片分析激酶表达谱的方法,并应用此方法分析了拟南芥受无毒丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)侵染后的蛋白磷酸化水平差异,为进一步分析激酶表达谱提供了方法。Benschop等(2007)利用细菌鞭毛多肽 flg22 和木聚糖酶处理拟南芥细胞,发现植物早期响应病原菌胁迫在蛋白质水平上的变化主要表现在蛋白质翻译后修饰上面,在检测到的427种磷酸化蛋白质中包括具有差异磷酸化残基的98个磷酸化多肽(代表76种蛋白质),其中有12种为参与磷酸化/去磷酸化的蛋白激酶、类受体蛋白激酶和磷酸酶。此外,他们还发现防御相关蛋白、突触融合蛋白和囊泡转运蛋白差异表达,说明蛋白质转运和囊泡运输对于植物早期响应病原菌胁迫过程的信号传递和防御反应具有重要意义。

5 翻译后修饰蛋白质组

5.1 磷酸化修饰

利用不断改进的蛋白质组学技术,人们研究了拟南芥、水稻、大麦和苜蓿等植物中特定功能状态下蛋白质的磷酸化修饰。Sugiyama等(2008)鉴定了拟南芥悬浮细胞中的1346种蛋白质中的2172个明确的磷酸化位点,其中丝氨酸磷酸化占85%。Benschop等(2007)利用基于质谱的定量磷酸化蛋白质组学技术,对拟南芥细胞响应 flg22 和木聚糖酶处理的比较蛋白质组进行了研究,鉴定了76种差异磷酸化蛋白,其中部分已知的为防御相关蛋白(如 RbohD、突触融合蛋白和囊泡转运蛋白等)。Shin等(2007)以过量表达 *SnRK2.8* 的转基因拟南芥和敲除 *snrk2.8* 突变体的

根为研究材料,利用质谱鉴定了 *SnRK2.8* 的2个磷酸化位点(Ser-12和 Thr-158)及其靶蛋白 14-3-3k 和 14-3-3X 的1个磷酸化位点(Ser-93/95)。他们预测 14-3-3 蛋白通过 *SnRK2.8* 作用下的磷酸化,阻碍 14-3-3 蛋白与未知靶蛋白的结合,从而实现靶蛋白活性的改变,然后参与光合作用、ATP生成或者光照-黑暗转换过程中的能量代谢。Krüger等(2007)应用毛细管液相色谱(capillary liquid chromatography, CapLC)和感应耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS)技术,同时定量检测蛋白质的含磷量和含硫量,对拟南芥和莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)的整体蛋白质磷酸化程度进行了比较分析,结果显示两者的平均蛋白质磷酸化水平都介于水平最低的原核生物谷氨酸棒杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)和水平最高的真核生物小家鼠(*Mus musculus*)之间。Kwon等(2007)应用磷酸基团亲和取代 β 消除法对除去了 RuBisCO 的拟南芥幼苗的蛋白质样品中的磷酸化蛋白进行富集,利用 2-DE 分离,最后通过质谱鉴定了31个蛋白质点(代表18种蛋白质)。

5.2 氧化还原修饰

细胞内氧化还原调控主要是由硫氧还蛋白系统和谷氧还蛋白系统完成。因为硫氧还蛋白系统在植物的氧化还原调节和抗氧化防御中起重要作用,因而近年来被称为第2个磷酸化修饰。硫氧还蛋白是一类广泛存在于生物体内的多功能酸性蛋白,通过还原靶蛋白中的二硫键参与细胞的一系列生化反应,因此对其体内作用靶蛋白的研究,有助于阐明硫氧还蛋白在整个细胞氧化还原网络中的重要调控作用。随着基因组测序和 EST 序列数据库的日益完善,利用蛋白质组学的方法目前已经鉴定了90多个可能的叶绿体硫氧还蛋白靶蛋白(Lemaire et al., 2007)。Alkhalifioui等(2007)利用硫醇探针标记和亲和层析2种互补方法鉴定了苜蓿种子中的111种硫氧还蛋白靶蛋白,其中59种为新发现的蛋白质,并且探针标记所得到的蛋白有超过一半在种子萌发过程中被还原,这正好与种

子萌发和体外硫氧还蛋白作用研究的氧化还原状态相一致,第一次为硫氧还蛋白同样在双子叶植物种子萌发过程中发挥作用提供了证据。另外, Hajheidari 等(2007)还发现干旱胁迫中差异表达的 57 种蛋白质中有 2/3 为硫氧还蛋白的靶蛋白,对它们的鉴定有助于揭示植物抗逆机理。此外, Lefebvre 等(2007)鉴定出一些属于质膜氧化还原系统的蛋白存在于质膜的脂筏结构中,如几种被认为参与细胞质内 NADH-辅酶 Q 反应的氧化还原酶、5 种过氧化物酶和细胞色素 b561 等,这些蛋白可能参与了质膜之间的电子传递,从而维持原生质体和非原生质体之间的氧化还原平衡。Frigerio 等(2007)结合蛋白质组学和转录组学技术对野生型和缺乏光系统 I 的大麦突变体 (*viridis zb63*) 的捕光复合物进行了分析,结果表明,质体醌的氧化还原状态对于叶绿体中蛋白质的表达可起到长期的调节作用,并且主要是转录后调节。

5.3 其它修饰

已知的蛋白质翻译后修饰约有 200 余种。蛋白质组学手段已经应用于研究其它修饰。Maor 等(2007)利用 GST 标记泛素结合结构域的亲和纯化泛素化蛋白质体系,获得了 294 种特异结合的蛋白质,并鉴定了 56 种蛋白质中的 85 个泛素化赖氨酸残基,是目前为止植物中第一例泛素化蛋白质组学研究。Marmagne 等(2007)通过实验预测了所鉴定的 446 种拟南芥质膜蛋白质中有 16% 的蛋白质存在脂基化修饰。

6 相互作用蛋白质组

由于植物材料的复杂性,解析蛋白质-蛋白质相互作用是植物蛋白质组学研究中最艰巨的任务。人们尝试用各种蛋白质组学的方法来分析可能在植物体内发生的蛋白质-蛋白质相互作用。具有代表性的是 Hartman 等(2007)发明的 ProCoDeS 技术,并应用此技术分离了拟南芥线粒体膜蛋白,为分离和鉴定植物稳定的蛋白质复合体提供了新方法。Popescu 等

(2007)利用蛋白质芯片技术分析和鉴定了拟南芥中的大量已知或新的 CaMs/CML 靶蛋白,包括转录因子、受体和细胞内蛋白激酶、F-box 蛋白、RNA 结合蛋白和一些功能未知蛋白,大大丰富了 CaMs/CML 相互作用组。Schoonheim 等(2007)利用 14-3-3 蛋白亲和纯化和酵母双杂交技术鉴定了 150 多个靶蛋白,其中有 15% 已被报道为 14-3-3 靶蛋白。在亲和纯化所获得的 30 个靶蛋白中,其中 40% 主要参与代谢过程,另外,在酵母双杂交实验中所获得的 132 个蛋白质中,有 35% 的蛋白质参与多种信号转导途径,因此猜测 14-3-3 蛋白可能是这些信号转导途径的中间媒介。Toueuille 等(2007)利用增生扩散细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 作饵进行亲和层析,得到了一些 PCNA 的特异结合蛋白,其中包括小麦的延伸因子 1A。此外,如本文 5.1 和 5.2 节所述,人们还鉴定了大量的激酶作用靶蛋白 (Shin et al., 2007) 以及硫氧还蛋白靶蛋白 (Alkhalifoui et al., 2007; Hajheidari et al., 2007)。

7 总结与展望

近两年,植物蛋白质组学不仅在研究方法上有了很大改进,而且为解释植物生殖与发育以及响应外界环境因子过程中关键事件的分子机制提供了新的蛋白质组水平证据。但是,与发展迅速的酵母和动物蛋白质组学相比进展相对缓慢,主要表现在以下 4 个方面。(1)仍然过多地依赖于 2DE-MS 技术,而第 2 代蛋白质组学技术在植物中的应用较少;(2)由于受到基因组背景和跨物种蛋白质鉴定技术的限制,研究对象仍主要集中在拟南芥、苜蓿、水稻、大麦和大豆等几个有限的物种;(3)更多的研究集中于环境胁迫下差异表达的蛋白质,而对蛋白质翻译后修饰和蛋白质-蛋白质相互作用研究较少;(4)在对基于 2-DE 胶进行的差异表达蛋白质表达丰度进行分析时,缺乏严格和多样化的统计学分析,甚至在基于 2DE-MS 技术的整体策略中缺乏标准的实验设计、数据处理和分析方案,使得不同研究组所报道的结果之间很难进行比较。此外,

我国植物蛋白质组学研究群体分散, 技术平台薄弱, 与国内发展迅速的人类蛋白质组学研究相比相对落后。植物蛋白质组学未来的发展方向仍然是精确定量蛋白质组学技术的广泛应用和对蛋白质翻译后修饰的深入研究。

参考文献

- Ahsan N, Lee DG, Lee SH, Kang KY, Lee JJ, Kim PJ, Yoon HS, Kim JS, Lee BH (2007). Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. *Chemosphere* **67**, 1182-1193.
- Alkhalfioui F, Renard M, Vensel WH, Wong J, Tanaka CK, Hurkman WJ, Buchanan BB, Montrichard F (2007). Thioredoxin-linked proteins are reduced during germination of *Medicago truncatula* seeds. *Plant Physiol* **144**, 1559-1579.
- Arai Y, Hayashi M, Nishimura M (2008). Proteomic analysis of highly purified peroxisomes from etiolated soybean cotyledons. *Plant Cell Physiol* **49**, 526-539.
- Asakura T, Hirose S, Asatsuma S, Nanjo Y, Nakaizumi T, Itoh K, Hori H, Komatsu S, Mitsui T (2007). Proteomic characterization of tissue expansion of rice scutellum stimulated by abscisic acid. *Biosci Biotechnol Biochem* **71**, 1260-1268.
- Baerenfaller K, Grossmann J, Grobe MA, Hull R, Hirsch-Hoffmann M, Yalovsky S, Zimmermann P, Grossniklaus U, Gruissem W, Baginsky S (2008). Genome-scale proteomics reveals *Arabidopsis thaliana* gene models and proteome dynamics. *Science* **320**, 938-941.
- Bak-Jensen KS, Laugesen S, Ostergaard O, Finnie C, Roepstorff P, Svensson B (2007). Spatio-temporal profiling and degradation of alpha-amylase isozymes during barley seed germination. *FEBS J* **274**, 2552-2565.
- Benschop JJ, Mohammed S, O'Flaherty M, Heck AJ, Slijper M, Menke FL (2007). Quantitative phosphoproteomics of early elicitor signaling in *Arabidopsis*. *Mol Cell Proteomics* **6**, 1198-1214.
- Bhushan D, Pandey A, Choudhary MK, Datta A, Chakraborty S, Chakraborty N (2007). Comparative proteomics analysis of differentially expressed proteins in chickpea extracellular matrix during dehydration stress. *Mol Cell Proteomics* **6**, 1868-1884.
- Bohler S, Bagard M, Oufir M, Planchon S, Hoffmann L, Jolivet Y, Hausman JF, Dizengremel P, Renaut J (2007). A DIGE analysis of developing poplar leaves subjected to ozone reveals major changes in carbon metabolism. *Proteomics* **7**, 1584-1599.
- Brautigam A, Hoffmann-Benning S, Weber AP (2008). Comparative proteomics of chloroplast envelopes from C₃ and C₄ plants reveals specific adaptations of the plastid envelope to C₄ photosynthesis and candidate proteins required for maintaining C₄ metabolite fluxes. *Plant Physiol* **148**, 568-579.
- Canovas FM, Dumas-Gaudot E, Recorbet G, Jorin J, Mock HP, Rossignol M (2004). Plant proteome analysis. *Proteomics* **4**, 285-298.
- Carpentier SC, Witters E, Laukens K, van Onckelen H, Swennen R, Panis B (2007). Banana (*Musa* spp.) as a model to study the meristem proteome: acclimation to osmotic stress. *Proteomics* **7**, 92-105.
- Carroll AJ, Heazlewood JL, Ito J, Millar AH (2008). Analysis of the *Arabidopsis* cytosolic ribosome proteome provides detailed insights into its components and their post-translational modification. *Mol Cell Proteomics* **7**, 347-369.
- Cellar NA, Kuppannan K, Langhorns ML, Ni W, Xu P, Young SA (2008). Cross species applicability of abundant protein depletion columns for ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **861**, 29-39.
- Chen F, Yuan Y, Li Q, He Z (2007). Proteomic analysis of rice plasma membrane reveals proteins involved in early defense response to bacterial blight. *Proteomics* **7**, 1529-1539.
- Cho K, Agrawal GK, Shibato J, Jung YH, Kim YK, Nahm BH, Jwa NS, Tamogami S, Han O, Kohda K, Iwahashi H, Rakwal R (2007). Survey of differentially expressed proteins and genes in jasmonic acid treated rice seedling shoot and root at the proteomics and transcriptomics levels. *J Proteome Res* **6**, 3581-3603.
- Dai S, Chen T, Chong K, Xue Y, Liu S, Wang T (2007). Proteomics identification of differentially expressed proteins

- associated with pollen germination and tube growth reveals characteristics of germinated *Oryza sativa* pollen. *Mol Cell Proteomics* **6**, 207-230.
- Deng Z, Zhang X, Tang W, Osés-Prieto JA, Suzuki N, Gendron JM, Chen H, Guan S, Chalkley RJ, Peterman TK, Burlingame AL, Wang ZY** (2007). A proteomics study of brassinosteroid response in *Arabidopsis*. *Mol Cell Proteomics* **6**, 2058-2071.
- Dunkley TP, Hester S, Shadforth IP, Runions J, Weimar T, Hanton SL, Griffin JL, Bessant C, Brandizzi F, Hawes C, Watson RB, Dupree P, Lilley KS** (2006). Mapping the *Arabidopsis* organelle proteome. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 6518-6523.
- Fiorani Celedon PA, de Andrade A, Meireles KG, Gallo de Carvalho MC, Caldas DG, Moon DH, Carneiro RT, Franceschini LM, Oda S, Labate CA** (2007). Proteomic analysis of the cambial region in juvenile *Eucalyptus grandis* at three ages. *Proteomics* **7**, 2258-2274.
- Frigerio S, Campoli C, Zorzan S, Fantoni LI, Crosatti C, Drepper F, Hae hnel W, Cattivelli L, Morosinotto T, Bassi R** (2007). Photosynthetic antenna size in higher plants is controlled by the plastoquinone redox state at the post-transcriptional rather than transcriptional level. *J Biol Chem* **282**, 29457-29469.
- Führs H, Hartwig M, Molina LE, Heintz D, van Dorsse laer A, Braun HP, Horst WJ** (2008). Early manganese-toxicity response in *Vigna unguiculata* L.—a proteomic and transcriptomic study. *Proteomics* **8**, 149-159.
- Hajheidari M, Eivazi A, Buchanan BB, Wong JH, Majidi I, Salekdeh GH** (2007). Proteomics uncovers a role for redox in drought tolerance in wheat. *J Proteome Res* **6**, 1451-1460.
- Hartman NT, Sicilia F, Lilley KS, Dupree P** (2007). Proteomic complex detection using sedimentation. *Anal Chem* **79**, 2078-2083.
- Heazlewood JL, Verboom RE, Tonti-Filippini J, Small I, Millar AH** (2007). SUBA: the *Arabidopsis* subcellular database. *Nucleic Acids Res* **35**, D213-D218.
- Hebel R, Oeljeklaus S, Reidegeld KA, Eisenacher M, Stephan C, Sitek B, Stuhler K, Meyer HE, Sturre MJ, Dijkwel PP, Warscheid B** (2008). Study of early leaf senescence in *Arabidopsis thaliana* by quantitative proteomics using reciprocal $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ labeling and difference gel electrophoresis. *Mol Cell Proteomics* **7**, 108-120.
- Ingle RA, Schmidt UG, Farrant JM, Thomson JA, Mundree SG** (2007). Proteomic analysis of leaf proteins during dehydration of the resurrection plant *Xerophyta viscosa*. *Plant Cell Environ* **30**, 435-446.
- Jaquinod M, Villiers F, Kieffer-Jaquinod S, Hugouvieux V, Bruley C, Garin J, Bourguignon J** (2007). A proteomics dissection of *Arabidopsis thaliana* vacuoles isolated from cell culture. *Mol Cell Proteomics* **6**, 394-412.
- Jiang G, Wang Z, Shang H, Yang W, Hu Z, Phillips J, Deng X** (2007). Proteome analysis of leaves from the resurrection plant *Boea hygrometrica* in response to dehydration and rehydration. *Planta* **225**, 1405-1420.
- Jorin JV, Maldonado AM, Castillejo MA** (2007). Plant proteome analysis: a 2006 update. *Proteomics* **7**, 2947-2962.
- Kang SG, Matin MN, Bae H, Natarajan S** (2007). Proteome analysis and characterization of phenotypes of lesion mimic mutant spotted leaf 6 in rice. *Proteomics* **7**, 2447-2458.
- Katz A, Waridel P, Shevchenko A, Pick U** (2007). Salt-induced changes in the plasma membrane proteome of the halotolerant alga *Dunaliella salina* as revealed by blue native gel electrophoresis and nano-LC-MS/MS analysis. *Mol Cell Proteomics* **6**, 1459-1472.
- Kleffmann T, von Zychlinski A, Rus senberger D, Hirsch-Hoffmann M, Gehrig P, Gruissem W, Baginsky S** (2007). Proteome dynamics during plastid differentiation in rice. *Plant Physiol* **143**, 912-923.
- Komatsu S, Yang G, Khan M, Onodera H, Toki S, Yamaguchi M** (2007). Over-expression of calcium-dependent protein kinase 13 and calreticulin interacting protein 1 confers cold tolerance on rice plants. *Mol Genet Genomics* **277**, 713-723.
- Komatsu S** (2008). Plasma membrane proteome in *Arabidopsis* and rice. *Proteomics* **8**, 4137-4145.
- Krüger R, Wolschin F, Weckwerth W, Bettmer J, Lehmann WD** (2007). Plant protein phosphorylation monitored by capillary liquid chromatography—element mass spectrometry.

- Biochem Biophys Res Commun* **355**, 89-96.
- Kwon SJ, Choi EY, Seo JB, Park OK** (2007). Isolation of the Arabidopsis phosphoproteome using a biotin-tagging approach. *Mol Cells* **24**, 268-275.
- Lanquar V, Kuhn L, Lelievre F, Khafif M, Espagne C, Bruley C, Barbier-Brygoo H, Garin J, Thomine S** (2007). ¹⁵N-metabolic labeling for comparative plasma membrane proteomics in Arabidopsis cells. *Proteomics* **7**, 750-754.
- Larrainzar E, Wienkoop S, Weckwerth W, Ladrera R, Arrese-Igor C, Gonzalez EM** (2007). *Medicago truncatula* root nodule proteome analysis reveals differential plant and bacteroid responses to drought stress. *Plant Physiol* **144**, 1495-1507.
- Lee J, Garrett WM, Cooper B** (2007). Shotgun proteomic analysis of *Arabidopsis thaliana* leaves. *J Sep Sci* **30**, 2225-2230.
- Lefebvre B, Furt F, Hartmann MA, Michaelson LV, Carde JP, Sargueil-Boiron F, Rossignol M, Napier JA, Cullimore J, Bessoule JJ, Mongrand S** (2007). Characterization of lipid rafts from *Medicago truncatula* root plasma membranes: a proteomic study reveals the presence of a raft-associated redox system. *Plant Physiol* **144**, 402-418.
- Lemaire SD, Michelet L, Zaffagnini M, Massot V, Issakidis-Bourguet E** (2007). Thioredoxins in chloroplasts. *Curr Genet* **51**, 343-365.
- Li G, Nallamilli BR, Tan F, Peng Z** (2008). Removal of high-abundance proteins for nuclear subproteome studies in rice (*Oryza sativa*) endosperm. *Electrophoresis* **29**, 604-617.
- Lilley KS, Dupree P** (2007). Plant organelle proteomics. *Curr Opin Plant Biol* **10**, 594-599.
- Majeran W, Zybailov B, Ytterberg AJ, Dunsmore J, Sun Q, van Wijk KJ** (2008). Consequences of C₄ differentiation for chloroplast membrane proteomes in maize mesophyll and bundle sheath cells. *Mol Cell Proteomics* **7**, 1609-1638.
- Maor R, Jones A, Nuhse TS, Studholme DJ, Peck SC, Shirasu K** (2007). Multidimensional protein identification technology (MudPIT) analysis of ubiquitinated proteins in plants. *Mol Cell Proteomics* **6**, 601-610.
- Marmagne A, Ferro M, Meinel T, Bruley C, Kuhn L, Garin J, Barbier-Brygoo H, Ephritikhine G** (2007). A high content in lipid-modified peripheral proteins and integral receptor kinases features in the Arabidopsis plasma membrane proteome. *Mol Cell Proteomics* **6**, 1980-1996.
- Martinoia E, Maeshima M, Neuhaus HE** (2007). Vacuolar transporters and their essential role in plant metabolism. *J Exp Bot* **58**, 83-102.
- Mechin V, Thevenot C, Le Guilloux M, Prioul JL, Damerval C** (2007). Developmental analysis of maize endosperm proteome suggests a pivotal role for pyruvate orthophosphate dikinase. *Plant Physiol* **143**, 1203-1219.
- Natarajan S, Xu C, Bae H, Bailey BA** (2007a). Proteomic and genomic characterization of Kunitz trypsin inhibitors in wild and cultivated soybean genotypes. *J Plant Physiol* **164**, 756-763.
- Natarajan S, Xu C, Bae H, Bailey BA, Cregan P, Caperna TJ, Garrett WM, Luthria D** (2007b). Proteomic and genetic analysis of glycinin subunits of sixteen soybean genotypes. *Plant Physiol Biochem* **45**, 436-444.
- Natera SH, Ford KL, Cassin AM, Patterson JH, Newbiggin EJ, Bacic A** (2008). Analysis of the *Oryza sativa* plasma membrane proteome using combined protein and peptide fractionation approaches in conjunction with mass spectrometry. *J Proteome Res* **7**, 1159-1187.
- Nohzadeh Malakshah S, Habibi Rezaei M, Heidari M, Hosseini Salekdeh G** (2007). Proteomics reveals new salt responsive proteins associated with rice plasma membrane. *Biosci Biotechnol Biochem* **71**, 2144-2154.
- Pandey A, Chakraborty S, Datta A, Chakraborty N** (2008). Proteomics approach to identify dehydration responsive nuclear proteins from chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Mol Cell Proteomics* **7**, 88-107.
- Paper JM, Scott-Craig JS, Adhikari ND, Cuomo CA, Walton JD** (2007). Comparative proteomics of extracellular proteins *in vitro* and *in planta* from the pathogenic fungus *Fusarium graminearum*. *Proteomics* **7**, 3171-3183.
- Patterson J, Ford K, Cassin A, Natera S, Bacic A** (2007). Increased abundance of proteins involved in phytosiderophore production in boron-tolerant barley. *Plant Physiol* **144**, 1612-1631.
- Pawlowski TA** (2007). Proteomics of European beech (*Fagus*

- sylvatica* L.) seed dormancy breaking: influence of abscisic and gibberellic acids. *Proteomics* **7**, 2246-2257.
- Popescu SC, Popescu GV, Bachan S, Zhang Z, Seay M, Gerstein M, Snyder M, Dinesh-Kumar SP** (2007). Differential binding of calmodulin-related proteins to their targets revealed through high-density Arabidopsis protein microarrays. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 4730-4735.
- Repetto O, Rogniaux H, Firnhaber C, Zuber H, Kuster H, Larre C, Thompson R, Gallardo K** (2008). Exploring the nuclear proteome of *Medicago truncatula* at the switch towards seed filling. *Plant J* **56**, 398-410.
- Reumann S, Babujee L, Ma C, Wienkoop S, Siemsen T, Antonicelli GE, Rasche N, Luder F, Weckwerth W, Jahn O** (2007). Proteome analysis of Arabidopsis leaf peroxisomes reveals novel targeting peptides, metabolic pathways, and defense mechanisms. *Plant Cell* **19**, 3170-3193.
- Ritsema T, Joore J, van Workum W, Pieterse CM** (2007). Kinome profiling of Arabidopsis using arrays of kinase consensus substrates. *Plant Methods* **12**, 3-3.
- Rosignol M, Peltier JB, Mock HP, Matros A, Maldonado AM, Jorin JV** (2006). Plant proteome analysis: a 2004-2006 update. *Proteomics* **6**, 5529-5548.
- Schoonheim PJ, Veiga H, Pereira Dda C, Friso G, van Wijk KJ, de Boer AH** (2007). A comprehensive analysis of the 14-3-3 interactome in barley leaves using a complementary proteomics and two-hybrid approach. *Plant Physiol* **143**, 670-683.
- Shin R, Alvarez S, Burch AY, Jez JM, Schachtman DP** (2007). Phosphoproteomic identification of targets of the Arabidopsis sucrose nonfermenting-like kinase SnRK2.8 reveals a connection to metabolic processes. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 6460-6465.
- Sugiyama N, Nakagami H, Mochida K, Daudi A, Tomita M, Shirasu K, Ishihama Y** (2008). Large-scale phosphorylation mapping reveals the extent of tyrosine phosphorylation in Arabidopsis. *Mol Syst Biol* **4**, 193-193.
- Thiellement H, Zivy M, Damerival G, Mechin V** (2007). Plant Proteomics: Methods and Protocols. Totowa: Humana Press Inc. pp.1-399.
- Thornton B, Osborne SM, Paterson E, Cash P** (2007). A proteomic and targeted metabolomic approach to investigate change in *Lolium perenne* roots when challenged with glycine. *J Exp Bot* **58**, 1581-1590.
- Timperio AM, D'Amici GM, Barta C, Loreto F, Zolla L** (2007). Proteomics, pigment composition, and organization of thylakoid membranes in iron-deficient spinach leaves. *J Exp Bot* **58**, 3695-3710.
- Torres NL, Cho K, Shibato J, Hirano M, Kubo A, Masuo Y, Iwahashi H, Jwa NS, Agrawal GK, Rakwal R** (2007). Gel-based proteomics reveals potential novel protein markers of ozone stress in leaves of cultivated bean and maize species of Panama. *Electrophoresis* **28**, 4369-4381.
- Touelle M, Saint-Jean B, Castroviejo M, Benedetto JP** (2007). The elongation factor 1A: a novel regulator in the DNA replication/repair protein network in wheat cells? *Plant Physiol Biochem* **45**, 113-118.
- Truernit E, Hibberd JM** (2007). Immunogenic tagging of chloroplasts allows their isolation from defined cell types. *Plant J* **50**, 926-932.
- van Noorden GE, Kerim T, Goffard N, Wiblin R, Pellerone FI, Rolfe BG, Mathesius U** (2007). Overlap of proteome changes in *Medicago truncatula* in response to auxin and *Sinorhizobium meliloti*. *Plant Physiol* **144**, 1115-1131.
- Vincent D, Ergul A, Bohlman MC, Tattersall EA, Tillett RL, Wheatley MD, Woolsey R, Quilici DR, Joets J, Schlauch K, Schooley DA, Cushman JC, Cramer GR** (2007). Proteomic analysis reveals differences between *Vitis vinifera* L. cv. 'Chardonnay' and cv. 'Cabernet Sauvignon' and their responses to water deficit and salinity. *J Exp Bot* **58**, 1873-1892.
- Xi J, Wang X, Li S, Zhou X, Yue L, Fan J, Hao D** (2006). Polyethylene glycol fractionation improved detection of low-abundant proteins by two-dimensional electrophoresis analysis of plant proteome. *Phytochemistry* **67**, 2341-2348.
- Xu C, Sullivan JH, Garrett WM, Caperna TJ, Natarajan S** (2008). Impact of solar ultraviolet-B on the proteome in soybean lines differing in flavonoid contents. *Phytochemistry* **69**, 38-48.
- Yang P, Chen H, Liang Y, Shen S** (2007). Proteomic analysis of

- de-etiolated rice seedlings upon exposure to light. *Proteomics* **7**, 2459-2468.
- Yin L, Tao Y, Zhao K, Shao J, Li X, Liu G, Liu S, Zhu L** (2007). Proteomic and transcriptomic analysis of rice mature seed-derived callus differentiation. *Proteomics* **7**, 755-768.
- Zang X, Komatsu S** (2007). A proteomics approach for identifying osmotic-stress-related proteins in rice. *Phytochemistry* **68**, 426-437.
- Zhang J, Ma H, Feng J, Zeng L, Wang Z, Chen S** (2008). Grape berry plasma membrane proteome analysis and its differential expression during ripening. *J Exp Bot* **59**, 2979-2990.
- Zhu M, Dai S, McClung S, Yan X, Chen S** (2009). Functional differentiation of *Brassica napus* guard cells and mesophyll cells revealed by comparative proteomics. *Mol Cell Proteomics* **8**, 752-766.
- Zolla L, Rinalducci S, Timperio AM** (2007). Proteomic analysis of photosystem I components from different plant species. *Proteomics* **7**, 1866-1876.
- Zybailov B, Rutschow H, Friso G, Rudella A, Emanuelsson O, Sun Q, van Wijk KJ** (2008). Sorting signals, N-terminal modifications and abundance of the chloroplast proteome. *PLoS ONE* **3**, e1994.

Research Advances in Plant Proteomics

Juanjuan Yu¹, Shaojun Dai^{1, 2*}

¹Key Laboratory of Forestry Tree Genetics Improvement and Biotechnology, Ministry of Education, College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

²College of Life Sciences and Biotechnology, Harbin Normal University, Harbin 150080, China

Abstract In recent years, plant proteomics have advanced from a qualitative to an accurate quantitative stage. Original research articles published in 2007 and 2008 numbered nearly 160. Most of them reported on the proteomic features of plant tissue (organs) and organelles, plant development, plant response to environmental stress, and post-translational modification and protein-protein interactions. These proteome analyses mainly involved continuously improved 2-D electrophoresis-mass spectrometry (2DE-MS), multidimensional protein identification technology (MudPIT), and second-generation proteomics techniques such as 2-D fluorescence difference gel electrophoresis (2-D DIGE), ¹⁵N metabolic labeling, isotope-coded affinity tag (ICAT) and isobaric tags for relative and absolute protein quantitation (iTRAQ). This paper gives an overview of the research advances of plant proteomics in the past two years.

Key words development, plant, post-translated modification, quantitative proteomics, stress

Yu JJ, Dai SJ (2009). Research advances in plant proteomics. *Chin Bull Bot* **44**, 410-425.

* Author for correspondence. E-mail: daishaojun@hotmail.com