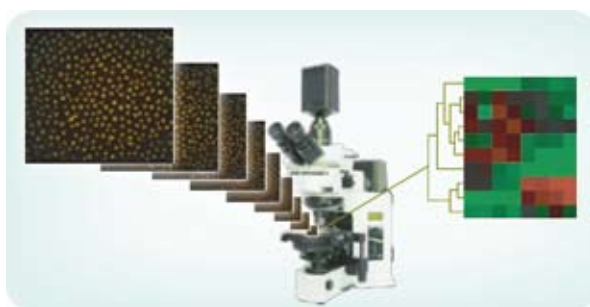




图片说明：同时对大量细胞进行自动图像采集，然后使用计算机对结果进行分析，这样就可以对细胞表型进行定量的评价了。

图片来源：Nature Methods

自动图像采集技术需要一系列相关技术协同作用才能成功。例如，需要使用合适的算法、需要选择合适的结果分析方式等等。虽然这些技术正在逐渐被大家所了解和使用，但目前还只是刚刚开始，还不成熟，还需要进一步的改进，才能满足更多科研人员的实际需要。对于自动图像采集技术的新老用户来说，在使用的时候都要小心仔细地进行操作和分析，不过相比该技术所可能带来的令人激动的成果而言，这样的谨慎还是相当值得的。

原文检索：Nature Methods Published online: 17 December 2008; doi: 10.1038/ Nmeth.f. 238

筱玥/编译

六

定量质谱检测技术

现在，大量使用基于定量质谱检测技术的蛋白质组学研究方法来研究生物问题正变得越来越常见了。

使用质谱技术来检测蛋白质已经成为了一种常规方法，并且正越来越多地应用于蛋白质组学研究当中。但是要真正了解复杂生物体的生物学情况，还需要有关蛋白质表达水平方面的资料。不幸的是，传统的质谱检测技术还不具备定量的能力。

因此，在过去的10年间，从事蛋白质组学研究的科研工作者发明了一系列的稳定同位素标记策略（stable-isotope labeling strategy），希望藉此获取定量信息。

设计一系列稳定同位素标记策略的目的是

定量检测基因敲除、抑制剂或者环境因素等对蛋白质组造成的影响

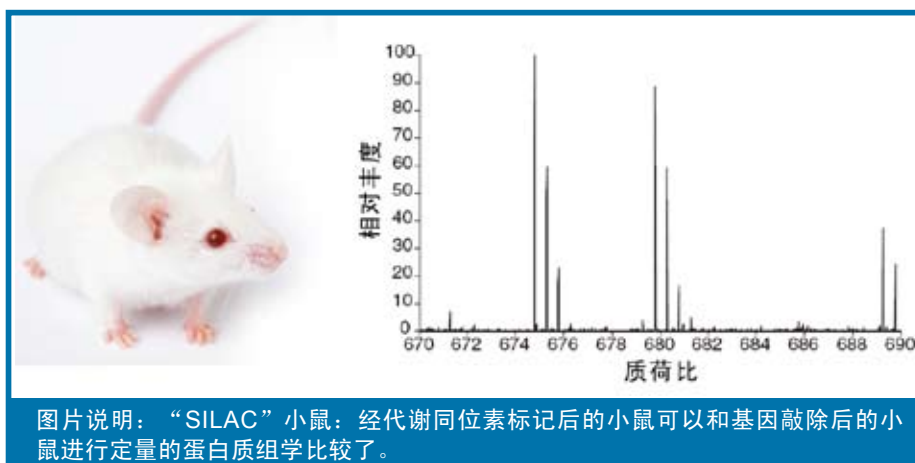
定量比较两种疾病给蛋白质组带来的差异

了解某种大分子复合物中某些蛋白质的化学计量学数据

监测蛋白质组在一段时间之内的变化情况等等

同时，检测设备和生物信息学方面最近取得的进展也使得定量质谱检测技术成为了可能。仅就去年一年，就有好几项值得人们注意的蛋白质组学研究成果发表，尤其值得关注的是使用由Matthias Mann小组在

2002年发明的细胞培养稳定同位素氨基酸标记技术（stable isotope labeling by amino acids in cell culture, SILAC）这类代谢标记技术（metabolic labeling techniques）获得的研究成果。2008年，Mann小组和其他科研人员发现，只需使用少量标记物，就可以对整只小鼠进行同位素标记，对细胞周期内的磷酸化动力学情况进行研究，了解miRNA对蛋白质组的影响效果，以及比较单倍体酵母和双倍体酵母的蛋白质组学情况等。



图片说明：“SILAC”小鼠：经代谢同位素标记后的小鼠可以和基因敲除后的小鼠进行定量的蛋白质组学比较了。

不过，要对蛋白质水平进行绝对的定量，只能通过往已消化的蛋白质组样品中掺入已知数量的人工合成同位素标记肽段才能获得，这一方法是由Steven Gygi小组在2003年首先提出的。不过，在得到能代表所有蛋白质的同位素标记的水解肽段（isotope-labeled proteotypic peptides，这些肽段最有可能被质谱仪连续捕捉到）以前，要想得到蛋白质组的整体绝对定量数据是根本不可能的。

研究人员希望，在不久的将来能更好地运用同位素代谢标记的方法来进行研究，帮助人们使用质谱检测技术从蛋白质组学的层面来解决生物学问题。

扩展阅读

定量蛋白质组中的“化学标签”

所谓标签，就是将可区分的因素引入所要研究的差异样本中去，进而可在质谱分析时利用这类信息把样本间相对量的差异区分并显示出来。采用这种方式的研究主要有体内标记和体外标记两大类。

体内标记也可叫做代谢标记，主要是利用含稳定同位素的饲料或培养基来喂养动物或培养细胞，从而实现差异标签的引入。目前较为常用的是N和C的天然稳定同位素 ^{15}N 和 ^{13}C 。氨基酸标记也是一种体内标记手段，它是将某一个氨基酸的碳原子或氢原子替换为其稳定的同位素，而后再将这种氨基酸加入到缺陷型培养基中，这样细胞就可将此种氨基酸掺入蛋白质中来引入标记。

Mann的实验室首先报道了这种方法并取名为SILAC（Stable Isotope Labeling by Amino Acids in Cell Culture），其后又系统地报告了这种方法的可行性和可靠性，诸如完全标记所需要的时间、定量的误差置信区间、标记的动力学以及图谱的解析等，而且能够实现数据批量化处理的软件也已公布在因特网上——<http://msquant.sourceforge.net>。

目前标记的氨基酸种类已扩展到亮氨酸、精氨酸和赖氨酸等等，所涉及的研究领域也很广，如EGF通路、核仁的蛋白合成的动力学以及干细胞分化等。这种方法可以说是一种很有应用前景的研究手段。

原文检索：Nature Methods Published online: 17 December 2008; doi: 10.1038/ Nmeth.f. 239