

splicing and to search for novel splice variants, total 213 ESTs derived from 29 different tissues were collected and aligned against the genome sequence of the gene. 17 ESTs were found having different splicing type that could be classified into three types of alternative splicing. 14 of the ESTs were detected to have exon skipping, 2 intron not spliced and 1 splice site shift. The data suggested that exon skipping was possibly one of the major mechanisms of transcription regulation of HPCL2 gene.

**Key words** HPCL2, gene structure, alternative splicing, exon skipping

\* This work was supported by grants from State 863 High Technology R&D Project of China (863-J19) and by CAS Innovation Program (KSCX1-D4).

\*\* Corresponding author. Tel: 86-10-80494969, E-mail: hmyang@genetics.ac.cn

Received: April 10, 2003 Accepted: May 28, 2003

## 知识与动态

# 血清蛋白质组分析方法\*

李 峰<sup>1)</sup> 肖志强<sup>2)</sup> 陈主初<sup>1,2)</sup>\*\*

(<sup>1)</sup>中南大学湘雅医学院肿瘤研究所, 长沙 410078; <sup>2)</sup>中南大学湘雅医院医学实验中心, 长沙 410008)

蛋白质组学一经出现, 人们便开始尝试将其用于疾病特定分子标志物的研究当中, 比如通过比较疾病与正常生理状况下蛋白质表达谱的差异来寻找与疾病密切相关的蛋白质。但采用该方法有一明显的缺点, 即需要分析大量同一肿瘤组织的二维凝胶电泳 (two-dimensional gel electrophoresis, 2-DE) 图谱, 否则难以得到有统计学意义的差异蛋白质。另外, 由于细胞内的蛋白质表达是不均匀的, 这就导致了高表达和易溶解的蛋白质远较其他低表达、难溶解的蛋白质容易出现在 2-DE 图谱中, 因而明显地降低了计算机匹配分析发现有生物学意义的差异蛋白质的灵敏性。

血清蛋白质组分析方法 (serologic proteome analysis, SERPA) 是采用 2-DE 技术和免疫印迹技术相结合的一种新的蛋白质组分析方法, 其最早应用出现在肿瘤蛋白质组学的研究当中。从肿瘤免疫学的观点来看, 肿瘤细胞是“非己细胞”, 肿瘤细胞总是或多或少地表达区别于正常细胞的肿瘤抗原, 因而在患者血清中极有可能存在其相应的抗体, 所以 SERPA 技术可以结合蛋白质组学能分离肿瘤细胞内成千上万个蛋白质的优势, 和抗原抗体反应高度特异性的特点, 从而能够快速筛选出与肿瘤密切相关的蛋白质, 进而识别出肿瘤的标志物。其实验过程如下: 首先采用 2-DE 分离肿瘤组织、癌旁正常对照组织的蛋白质, 转至硝酸纤维素膜后, 与患者或正常人血清做蛋白质印迹分析来

建立蛋白质印迹反应图谱, 通过计算机分析确定差异反应的蛋白质斑点, 然后采用质谱鉴定和生物信息学联用的方法对肿瘤组织平行胶 (replica gel) 中相应的差异蛋白质点进行鉴定, 筛选出肿瘤分子标志物 (肿瘤相关抗原), 最后用 ELISA、免疫组化等方法对该分子标志物进行验证。

目前, 国外已有不少研究小组开始采用 SERPA 技术对包括肺癌、乳腺癌、神经母细胞瘤 (neuroblastoma)、肾细胞癌、肝癌以及卵巢癌等多种肿瘤在内的人类肿瘤进行了研究, 并寻找到了部分潜在的肿瘤分子标志物。总而言之, 血清蛋白质组分析方法是功能蛋白质组学研究思路的一大突破, 它能够敏感同时又很特异地识别出疾病状态和生理情况下细胞中的差异表达蛋白质, 因此, 我们有理由相信, 在不远的将来, 随着血清蛋白质组学研究的深入开展, 人们能够更容易获得疾病相关的特异蛋白质, 开发出诊断试剂和疫苗, 从而真正实现疾病的早期诊断和早期治疗。

\* 国家“973”计划项目 (2001CB510)、国家自然科学基金项目 (30000028, 30240056) 和教育部跨世纪优秀人才培养计划基金 (教育部科技函 [2002] 48 号) 资助。

\*\* 通讯联系人。

Tel: 0731-4805447, Fax: 0731-4485482

E-mail: tcb1@xymu.net