

蛋白质组学在研究植物响应逆境机理上的应用

徐刚¹, 姚银安^{2*}

(1. 贵州大学 精细化工研究开发中心 绿色农药与农业生物工程教育部重点实验室, 贵阳 550025; 2. 贵州大学 喀斯特山地果树资源研究所, 贵阳 550025)

摘要: 逆境条件下植物可以通过改变其基因表达和相关代谢活动来适应, 探讨植物基因和蛋白表达谱的变化就成为植物逆境响应机制研究中的重要内容, 蛋白质表达谱反映了植物细胞和组织的实际状态, 是植物基因表达和最终代谢的关键环节。随着蛋白质分离技术、质谱鉴定技术和植物生物信息学的迅速发展, 蛋白质组学在植物响应逆境方面的研究中的应用已经比较成功, 加深了人们对植物响应逆境机制的认识, 并为人们提供了新的线索和思维。本文主要对蛋白质组学在植物响应非生物逆境(干旱、盐胁迫、低温胁迫、高温胁迫等)和生物逆境(病虫害)的机制研究的应用上进行了综述。

关键词: 植物; 逆境; 蛋白质组学

中图分类号: Q943.12 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2009)03-0372-05

Application of proteomics technology on researches of adaptation mechanisms of plants to adverse stresses

XU Gang¹, YAO Yin-An^{2*}

(1. Key Laboratory of Green Pesticide and Agricultural Bioengineering, Ministry of Education, Center for Research and Development of Fine Chemicals, Guizhou University, Guiyang 550025, China, 2. Research Institute for Fruit Resources of Karst Mountain Region, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: Expression profiling is an important tool to investigate how plant responds to environmental changes. Plants have the ability to alter their gene expression patterns dramatically in response to environmental changes. The proteome profile reflects the actual state of the cell or the tissue of plant and is an essential bridge between the gene transcription and the actual metabolism. In recent years, due to the rapid developments of techniques in protein separation and protein identification technique based on Mass Spectrometry and Bio-informatics, the proteomics technique has become an important technical approach for plant researchers to assess the changes in protein types and their expression levels under different stresses, and many new insights were provided by using this technique. Present paper reviewed the research progresses of plant proteomics on plant responses to abiotic or biotic stresses, including high temperature, low temperature, salt, drought, pathogens and insects.

Key words: plants; stress; proteomics

如今, 生命科学的研究从基因组时代步入到后基因组时代, 即功能基因组和蛋白质组时代。到2006年4月25日, 有373个物种的基因组测序工作已经完成, 另有942个细菌和607个真核生物的

基因组测序工作正在进行中(<http://www.genomesonline.org/>)。在植物方面, 拟南芥的基因组测序已于2000年完成, 水稻的基因组测序于2006年完成, 杨树的全基因组测序于2004年完成, 它们

收稿日期: 2007-11-30 修回日期: 2008-05-19

基金项目: 国家杰出青年科学基金(30525036); 贵州大学人才基金(X071008)[Supported by the Outstanding Young Scientist Program of the National Natural Science Foundation of China(30525036); Science Foundation for Talents of Guizhou University(X071008)]

作者简介: 徐刚(1972-), 男, 江西资溪县人, 博士, 副教授, 主要从事木本植物蛋白质组学研究。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: yaoyinan0430@163.com)

分别代表了双子叶植物、单子叶植物、多年生木本植物。此外,其他一些重要植物的基因组研究不断地进步以及全球范围内基因表达分析技术获得重大突破,如不同木本植物组织的 EST 数据库的建立和完善。这些都使蛋白质组学在有关植物研究方面得到越来越广泛的应用。相对于在植物基因组学的研究来说,蛋白质组学在植物响应逆境机制方面的应用的报道还不多。蛋白质组学在研究各种胁迫对植物蛋白质组表达影响的应用涉及到了生物胁迫和非生物胁迫,在非生物胁迫方面的研究主要集中在干旱、盐害和低温这几种胁迫,这些研究主要是以拟南芥、玉米或水稻等模式植物的叶片或根为材料的(Ros-signol 等,2006)。本文就蛋白质组学在植物响应逆境机制方面的研究进行综述。

1 植物非生物逆境相关蛋白质组学研究

1.1 植物干旱响应蛋白质组分析

应用两种对干旱响应不同的激素敏感型拟南芥突变体(*axr1* 和 *axr2*)和野生型来研究干旱胁迫下拟南芥蛋白质组表达情况,发现 30 个蛋白质参与了激素和干旱胁迫响应这两个生理过程(Leymarie 等,1996)。Salekdeh 等(2002a)研究了干旱胁迫下的水稻,发现有 40 多个蛋白质的丰度受到干旱胁迫的影响,其中 16 个蛋白得到了鉴定,其中 S-like RNase 同源物,肌动蛋白解聚因子、Rubisco 活化酶和异黄酮还原酶类似蛋白等 4 个蛋白质分别暗示了 4 个水稻响应干旱胁迫的新机制。Vincent 等(2005)利用 2-DE 图谱研究干旱胁迫下玉米叶片的木质化变化,结果证实了参与木质化的蛋白质的变化与叶片木质化的变化是一致的。Hajheidari 等(2005)用蛋白质组学方法研究了大田生长的甜菜对干旱胁迫的响应,分析了两个不同的栽培种的叶片总蛋白的 2-DE 图谱,有 79 个蛋白质的丰度显著受到干旱胁迫的影响,其中 44 个是干旱负调蛋白,27 个是干旱正调蛋白,8 个只在干旱处理样品中检测到,其中有些变化和植物的基因型有关。和以前的研究结果类似,Rubisco 和一些参与了氧化还原调节、氧化胁迫、信号传导和分子伴侣活性的蛋白质表达在干旱胁迫下发生显著变化。Hajheidari 等(2005)分析了干旱胁迫下 3 个不同基因型的小麦的蛋白质表达情况。植物的抗干旱能力和植物细胞的氧化还原能力有密切关系,有些蛋白质的表达情况

在干旱耐受型和干旱敏感型小麦中是完全相反的,如:3-磷酸甘油醛脱氢酶和球蛋白。有关干旱胁迫对木本植物蛋白质组表达的影响的研究比在草本植物方面的研究要少得多。Costa 等(1998)用蛋白质组学研究了干旱胁迫海岸松蛋白质组表达情况。最近,Jorge 等(2006)研究了干旱胁迫对木本植物圣栎树叶蛋白质表达的影响,结果表明干旱胁迫显著影响了蛋白质的表达,而且影响的程度随植物的所处的发育阶段不同或种不同而不同;干旱胁迫显著影响了植物储藏蛋白和糖类的应用,抑制了植物的光合作用。Plomion 等(2006)分析了干旱胁迫下杨树根和叶的蛋白质表达情况,为揭示杨树抵御干旱机制提供了一些线索。

1.2 植物盐胁迫响应蛋白质组的分析

Ramagopal(1987)利用 2D 电泳技术分析不同耐盐性的大麦幼苗总蛋白,结果发现盐胁迫诱导了大麦根或叶组织特异蛋白的表达。Ramani & Apte(1997)在水稻幼苗中检测到 35 个受盐胁迫诱导的和 17 个受其抑制的多肽。Fulda 等(2000)分析了蓝细菌(*Synechocystis*)的外周胞质在盐胁迫下的变化。Salekdeh 等(2002b)比较了耐盐和盐敏感水稻根蛋白的 2-D 电泳图谱,发现许多组成性或逆境诱导的差异。其中包括 1 个木质素的合成酶即咖啡酰辅酶 A-0-甲基转移酶。在正常条件下一些耐盐蛋白质如抗坏血酸过氧化物酶在耐盐品种(Pokkali)中的表达丰度高于盐敏感品种(IR29)。Majoul 等(2003)在耐盐小麦品种的幼苗中鉴定了 1 个 26 kDa 受盐胁迫影响的多肽。Lee 等(2004)应用 2-DE 结合蛋白质免疫印迹技术全面研究盐胁迫过程中拟南芥发生的信号事件来分析盐胁迫诱导的根细胞微体蛋白质组表达变化,发现 Ca^{2+} 依赖膜结合蛋白和定向膜联蛋白(Designated annexins)是信号中的主要组分。Dani 等(2005)研究了盐胁迫下烟草叶片非原生质体蛋白质组表达情况。盐胁迫显著加强 2 个几丁质酶、1 个 germin-like 蛋白和 2 个转酯蛋白的表达。Yan 等(2005)在用蛋白质组学分析盐胁迫下的水稻根部时,发现 6 个新的盐胁迫响应蛋白,如:UDP-葡萄糖焦磷酸酶、细胞色素 c 氧化酶亚基 6b-1、根谷氨酸同工酶、初生肽有关的复合体 α 链、剪接因子样蛋白和肌动蛋白结合蛋白为新蛋白,它们参与糖、氮和能量代谢调控,活性氧清除,mRNA 和蛋白质加工,稳定细胞骨架等过程。近来,由于分离质膜蛋白质的技术进步,一些在植物生命过

程中起重要作用的膜蛋白得到分离和鉴定,如发现盐胁迫加强了 ABC 转运子的底物结合蛋白的表达,遗憾的是,一些表达受盐胁迫影响的蛋白质还没有得到鉴定(Huang 等,2006)。Ndimba 等(2005)应用荧光差异双向电泳(DIGE)技术研究了盐胁迫和高渗透压胁迫对悬浮培养的拟南芥细胞的影响,蛋白质丰度发生显著变化的蛋白质包括 H⁺-泵、和信号转导有关的蛋白、转录/翻译相关蛋白、氨基酸和嘌呤的生物合成相关蛋白、有解毒功能的酶、蛋白水解酶、HSPs、糖代谢相关酶和一些功能未知蛋白。Chitteti & Peng(2007)利用 Pro-Q Diamond 磷酸化蛋白质染色方法研究了盐胁迫对磷酸化蛋白质组的表达的影响,发现有 17 个的表达被不同程度增强,有 11 个的表达被不同程度减弱,进一步分析发现 17 个正调蛋白中有 10 个蛋白的磷酸化发生在翻译后修饰水平,用 SYPRO Ruby 染色方法,发现 31 个表达受调控的蛋白中有 8 个鉴定为盐胁迫响应蛋白,大多数目前还没有被报道过。

1.3 植物低温胁迫响应蛋白质组分析

Lecourieux-Ouaked 等(2000)通过 2-DE 证明上游蛋白质磷酸化参与了低温信号传导。分析低温胁迫下的亚麻胚轴蛋白质组表达情况,发现 7 个蛋白质的表达受低温影响,其中 3 个蛋白质(CSD、CSE、CSG)的表达受低温诱导,且在没经过低温处理的胚轴中没检测到,CSD 和 CSG 在低温处理 60 min 时才出现,但在处理到 120 min 时就消失了。Bae 等(2003)分析了经 4 °C 处理 6 h 的拟南芥幼苗的核蛋白表达情况,有 40 个蛋白的表达被低温诱导,包括热激蛋白 HSPs70/90、2 个转录因子(At-MYB2 和 OBF4)、2 个 DNA 结合蛋白(DRT102 和 Dr1)、丝氨酸转乙酰基酶、磷酸甘油酯酶和 3-磷酸甘油醛脱氢酶等,14 个受低温抑制(钙调蛋白和 germin-like 蛋白等)。Imin(2004)研究了低温下水稻花粉囊蛋白质组表达情况,发现低温引起或加强了花粉粒蛋白质的有选择性的部分降解。Cui 等(2005)将水稻苗分别经过常温到低温 15 °C、10 °C 和 5 °C 渐进处理,用双向电泳分析它们的蛋白质表达情况,发现 60 个正调蛋白,用 MALDI-TOF MS (ESI/MS/MS)鉴定了其中 41 个蛋白质,包括 2 个功能未知的蛋白、4 个蛋白质生物合成因子、4 个分子伴侣、2 个蛋白酶、8 个参与细胞壁组分生物合成的酶、7 个抗氧化酶或解毒酶和一些参与能量代谢和信号传导的蛋白质,这些功能蛋白表明通过蛋白

酶和分子伴侣来调控蛋白质的数量和增强细胞壁组分合成在水稻耐受低温胁迫方面起重要作用,对这些蛋白质的亚细胞定位,有 49.3%的蛋白质可能定位在叶绿体中。Amme 等(2006)以拟南芥叶片为研究材料发现低温胁迫诱导一些蛋白质积累,尤其是脱水素蛋白(Dehydrin)和 78 号低温诱导蛋白。Hashimoto & Komatsu(2007)用双向电泳和考染分析了 5 °C 处理 48 h 的水稻的旗叶、叶鞘和根的蛋白质组表达情况,发现低温下水稻的能量代谢加强,胁迫相关蛋白表达量增加,而防卫-相关蛋白的表达量减少。

1.4 植物其他非生物胁迫响应蛋白质组分析

Wu 等(1997)应用 SDS-PAGE 结合 2-DE 免疫印迹研究了高温胁迫下绿豆(*Phaseolus aureus*)胚轴中热激蛋白(HSPs)表达情况,分离出 10 个 HSPs(20、21.5、23、29、34、38、55、62、70、85KD)。用 2-DE 免疫印迹进一步研究 HSPs29 分离出 7 个多肽,其中有两个是组成型表达,另外 5 个可被高温诱导,7 个多肽中有 6 个和 HSPs29 单克隆抗体发生免疫反应。Iwahashi & Hosoda(2000)研究了高温对番茄果皮组织蛋白质表达的影响,总共分离出 1 200 个蛋白质,其中有 293 个蛋白质的表达受到高温抑制,341 个蛋白质的表达被高温增强,14 个蛋白质只在高温处理样品中检测到。表达发生变化的蛋白质有:转化酶、22KD 的线粒体 HSPs、抗坏血酸过氧化物酶的同工酶、多聚半乳糖醛酸酶和 23KD 的 oxygen evolving enhancer-2 protein 前体的亚基。Ferreira 等(2006)分析中度高温(白天 42 °C、晚上 37 °C)处理下杨树叶片蛋白质表达情况,发现高温影响了脂质、维生素 B1 和疏水氨基酸生物合成,光反应中的电子传递,硫同化,核酸转运等多种生命过程。Phee 等(2004)研究了强光对拟南芥叶绿体蛋白质表达的影响,有 52 个蛋白得到鉴定,其中 35 个的表达被强光抑制,14 个的表达被强光增强,表达被强光抑制的蛋白质中的大多数和光合作用相关,表达被强光增强的蛋白质都是些以前已知的强光诱导蛋白(如 HSPs、脱氢抗坏血酸还原酶、超氧化物歧化酶)。Giacomelli 等(2006)分析 1 000 μmol · m⁻² · s⁻² 的强光处理对拟南芥叶绿体类囊体膜蛋白质组表达的影响,结果发现强光增加了 YCF37 和 6 个存在于脂肪体中的蛋白质(黄素还原酶、Fru-biphosphate aldolase-1、Fib1a、Fib1b、Fib2 和 Fib7a)的丰度,表明强光可能影响了维生素 E 和苯醌的合成和

积累,类胡萝卜素的降解等代谢过程。Agrawal 等(2002)用 2-D 电泳分析臭氧处理后水稻幼苗叶片蛋白,研究结果表明臭氧能引起许多叶片中光合作用蛋白表达量明显下降(包括 Rubisco)。同时能够诱导各种防御和逆境相关蛋白表达(1 个 PR5、3 个 PR10 类、抗坏血酸过氧化物酶、超氧化物歧化酶钙结合蛋白、钙网蛋白和一个 ATP(adenosinetri-phosphate)依赖的 CLP 蛋白酶等)的积累。通过蛋白质组学研究方法,Sarry 等(2006)发现重金属镉处理培养的拟南芥细胞能引起许多和能量、氮、硫代谢途径有关的酶,以及和响应氧化胁迫、解毒及蛋白质定位相关的蛋白质的丰度升高。

2 植物病虫害响应蛋白质组分析

Konishi 等(2001)年用 2-DE 结合 N-端测序分析了感染真菌(*Magnaporthe grisea*)的水稻叶片蛋白质表达变化。用病原体激发子处理玉米细胞,细胞外基质中的蛋白质发生磷酸化,而且细胞质中蛋白质向细胞壁补充(Chivasa 等,2005)。用 syringolide 的激发子处理大豆叶片细胞,引发突发性的氧化和蛋白质的磷酸化(Slaymaker & Keen, 2004)。Mehta & Rosato(2001)比较了寄主植物、非寄主植物和抗菌植物的叶片浸提液对细菌蛋白质组表达的影响,发现一些功能不确定的蛋白质。Rep 等(2002)用目标蛋白质组学(targeted-proteomics)方法研究了感染镰刀霉(*Fusarium oxysporum*)的番茄木质部汁液,不但证明了番茄木质部汁液存在病原相关蛋白(PR),而且还发现了新的 PR-5 蛋白。还有一些研究者利用蛋白质组学研究植物逆境信号的诱发、感受、传导机制上。Rakwal & Komatsu(2000)结合免疫学方法研究了外源茉莉酸在水稻防御机制上作用,结果表明茉莉酸影响了防御相关基因的表达。Peck 等(2001)建立了用激发子和几丁质处理的拟南芥细胞的磷酸化蛋白质组数据库。Shahollari 等(2004)应用蛋白质组学的方法从拟南芥和芥菜的子叶的膜泡中鉴定了 23 个病原相关信号蛋白,包括蛋白激酶和 G 蛋白。最近在拟南芥根中发现 LRR 受体激酶能被真菌感染诱导(Shahollari 等,2005)。通过 2-DE/MS 分析发现 OsRac1(水稻中的一个人类小 GTPase Rac 的同源物)在信号传导和代谢途径中起着重要作用,并在水稻培养细胞的防御中起支配性作用(Fujiwara 等,

2006)。

Chen 等(2002)利用双向电泳技术,分别分析了超强抗虫株系和极端感虫株系受虫害和未受虫害的秧苗蛋白质的变化。结果发现,虫害 48 h 后,感虫株系秧苗的 1 个分子量 40 kDa 的蛋白质 P40(pI6.3)的表达明显减弱甚至消失,而在抗虫株系秧苗中,P40 的表达未受影响。Chen 等(2002)认为 P40 可能与水稻受褐飞虱为害后引起的应答有关。

3 展望

蛋白质组学在植物学研究上已得到比较广泛的应用(如响应各种逆境胁迫、生长发育),且已从模式植物扩展到多种非模式植物的研究上(如蓖麻、马铃薯、葡萄、喜树等)(刘雨杰等,2007),它在植物响应各种逆境机制的研究方面也已显示出相当优势。蛋白质组学可高通量研究逆境下植物器官、细胞器或亚细胞器等蛋白质组表达差异或蛋白质修饰(如磷酸化、糖基化等)发生的变化,一方面能从蛋白质角度证实以前的研究结果,另一方面还可发现一些新的逆境相关蛋白质,使人们对植物响应逆境的机制有了更深更全面的认识;而通过分析逆境下基因转录表达变化获得的逆境相关基因的信息是很不完整的,基因和蛋白质之间的关系是很明显的但又非常的低,mRNA 的剪辑和翻译后修饰使蛋白质的数量远远大于基因的,且不能反映蛋白质之间的相互作用。不过蛋白质组学的发展和应用很大程度上依赖于可利用的生物学信息库(如蛋白质数据库和 EST 数据库等)、蛋白质的分离技术和鉴定技术。目前一些在生命过程中执行重要功能的膜整合蛋白和表达丰度很低的逆境相关蛋白质得不到有效分离,不少新发现的逆境相关蛋白的功能没有得到鉴定,今后在蛋白质分离、纯化和蛋白质检测等技术方面要加强改进,同时还需加强和其它研究方法(如蛋白质芯片、酵母双杂交技术)结合来开展新蛋白质的功能研究,植物细胞器或亚细胞器蛋白质组和翻译后修饰的蛋白质等的蛋白质组的研究将非常有助于人们进一步揭示植物响应逆境的机制。此外,蛋白质组学和代谢组学相结合在植物学研究中已取得较好成果(董登峰,2007),在研究植物响应逆境机制方面也有成功的例子(如镉胁迫)(Vincent & Zivy, 2007;Sarry 等,2006),蛋白质组学和功能基因组学、代谢组学等研究技术相结合必将大大促进蛋白

质组学在植物响应逆境方面的应用。

参考文献:

- Agrawal GK, Rakwal R, Yonekura M, *et al.* 2002. Proteome analysis of differentially displayed proteins as a tool for investigating ozone stress in rice (*Oryza sativa*) seedlings[J]. *Proteomics*, **2**: 947—959
- Amme S, Matros A, Schlesier B, *et al.* 2006. Proteome analysis of cold stress response in *Arabidopsis thaliana* using DIGE-technology[J]. *J Experimental Bot*, **57**: 1 537—1 546.
- Bae MS, Cho EJ, Choi EY, *et al.* 2003. Analysis of *Arabidopsis* nuclear proteome and its response to cold stress[J]. *Plant J*, **36**: 652—663
- Chen RZ, Weng QM, Huang Z, *et al.* 2002. Analysis of resistance-related proteins in rice against brown planthopper by two-dimensional electrophoresis[J]. *Acta Bot Sin*, **44**(4): 427—432
- Chitteti B, Peng Z. 2007. Proteome and phosphoproteome differential expression under salinity stress in rice (*Oryza sativa*) roots [J]. *J Proteome Res*, **6**(5): 1 718—1 727
- Chivasa S, Simon WJ, Yu XL, *et al.* 2005. Pathogen elicitor-induced changes in the maize extracellular matrix proteome [J]. *Proteomics*, **5**: 4 894—4 904
- Costa P, Pionneau C, Bauw G, *et al.* 1999. Separation and characterization of needle and xylem maritime pine proteins[J]. *Electrophoresis*, **20**: 1 098—1 108
- Cui S, Huang F, Wang J, *et al.* 2005. A proteomic analysis of cold stress responses in rice seedlings[J]. *Proteomics*, **5**: 3 162—3 172
- Dani V, Simon WJ, Duranti M, *et al.* 2005. Changes in the tobacco leaf apoplast proteome in response to salt stress [J]. *Proteomics*, **5**: 737—745
- Dong DF(董登峰). 2007. Metabolomics approaches and their application in Botany(代谢物组学方法及其在植物学研究中的应用)[J]. *Guihaia*(广西植物), **27**(5): 765—769
- Ferreira S, Hjerno K, Larsen M, *et al.* 2006. Proteome profiling of *Populus euphratica* upon heat stress [J]. *Ann Bot*, **98**: 361—377
- Fujiwara M, Umemura K, Kawasaki T, *et al.* 2006. Proteomics of rac GTPase signaling reveals its predominant role in elicitor-induced defense response of cultured rice cells[J]. *Plant Physiol*, **140**: 734—745
- Fulda S, Huang F, Nilson F, *et al.* 2000. Proteomics of *Synechocystis* sp. PCC 6803: Identification of periplasmic proteins in cells grown at low and high salt concentrations[J]. *European J Biochem*, **267**: 5 900—5 907
- Giacomelli L, Rudella A, van Wijk KJ. 2006. High light response of the thylakoid proteome in *Arabidopsis* wild type and the ascorbate-deficient mutant *vtc2-2*. A comparative proteomics study [J]. *Plant Physiol*, **141**: 685—701
- Hajheidari M, Abdollahian-Noghabi M, Askaril H, *et al.* 2005. Proteome analysis of sugar beet leaves under drought stress[J]. *Proteomics*, **5**: 950—960
- Hajheidari M, Eivazi A, Buchanan BB, *et al.* 2007. Proteomics uncovers a role for redox in drought tolerance in wheat[J]. *J Proteome Res*, **6**: 1 451—1 460
- Hashimoto M, Komatsu S. 2007. Proteomic analysis of rice seedlings during cold stress[J]. *Proteomics*, **7**: 1 293—1 302
- Huang F, Fulda S, Hagemann M, *et al.* 2006. Proteomic screening of salt-stress-induced changes in plasma membranes of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803[J]. *Proteomics*, **6**: 910—920
- Imin N, Kerim T, Rolfe BG, *et al.* 2004. Effect of early cold stress on the maturation of rice anthers[J]. *Proteomics*, **4**: 1 873—1 882
- Iwahashi Y, Hosoda H. 2000. Effect of heat stress on tomato fruit protein expression[J]. *Electrophoresis*, **21**: 1 766—1 771
- Jorge I, Navarro RM, Lenz C, *et al.* 2006. Variation in the holm oak leaf proteome at different plant developmental stages, between provenances and in response to drought stress[J]. *Proteomics*, **6**: 207—214
- Konishi H, Ishiguro K, Komatsu S. 2001. A proteomics approach towards understanding blast fungus infection of rice grown under different levels of nitrogen fertilization [J]. *Proteomics*, **1**: 1 162—1 171
- Lecourieux-Ouaked F, Pugin A, Lebrun-Garcia A. 2000. Phosphoproteins involved in the signal transduction of cryptogin, an elicitor of defense reactions in tobacco[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **13**: 821—829
- Lee S, Lee EJ, Yang EJ, *et al.* 2004. Proteomic identification of annexins, calcium-dependent membrane binding proteins that mediate osmotic stress and abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, **16**: 1 378—1 391
- Leymarie J, Damerval C, Marcotte L, *et al.* 1996. Two-Dimensional protein patterns of *Arabidopsis* wild-type and auxin insensitive mutants, *axr1*, *axr2*, reveal interactions between drought and hormonal responses[J]. *Plant Cell Physiol*, **37**: 966—975
- Liu LJ(刘丽杰), Yu JH(于景华), Tang ZH(唐中华), *et al.* 2007. Advances in non2model plant proteomics(非模式植物蛋白质组学研究进展)[J]. *Guihaia*(广西植物), **27**(2): 217—223
- Majoul T, Chahed K, Zamiti E, *et al.* 2000. Analysis by two-dimensional electrophoresis of the effect of salt stress on the polypeptide patterns in roots of a salt-tolerant and a salt-sensitive cultivar of wheat[J]. *Electrophoresis*, **21**: 2 562—2 565
- Mehta A, Rosato YB. 2001. Differentially expressed proteins in the interaction of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* with leaf extract of the host plant[J]. *Proteomics*, **1**: 1 111—1 118
- Ndimba BK, Chivasa S, Simon WJ, *et al.* 2005. Identification of *Arabidopsis* salt and osmotic stress responsive proteins using two-dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry[J]. *Proteomics*, **16**: 4 185—4 196
- Phee BK, Cho JH, Park S, *et al.* 2004. Proteomic analysis of the response of *Arabidopsis* chloroplast proteins to high light stress [J]. *Proteomics*, **4**: 3 560—3 568
- Peck SC, Nuhse TS, Hess D, *et al.* 2001. Directed proteomics identifies a plant-specific protein rapidly phosphorylated in response to bacterial and fungal elicitors[J]. *The Plant Cell*, **13**: 1 467—1 475
- Plomion C, Lalanne C, Claverol S, *et al.* 2006. Mapping the pro-

- C(T)) Method[J]. *Methods*, **25**(4):402—408
- Mason G, Provero P, Vaira AM, et al. 2003. Estimating the number of integrations in transformed plants by quantitative real-time PCR[J]. *BMC Biotechnol*, **2**:20—29
- Meijerink J, Mandigers C, van de Loch L, et al. 2001. A novel method to compensate for different amplification efficiencies between patient DNA samples in quantitative real-time PCR[J]. *J Mol Diagn*, **3**(2):55—61
- Millson A, Suli A, Hartung L, et al. 2003. Comparison of two quantitative polymerase chain reaction methods for detecting HER2/neu amplification[J]. *J Mol Diagn*, **5**(3):184—190
- Montgomery RA, Dallman MJ. 1997. Semi-quantitative polymerase chain reaction analysis of cytokine and cytokine receptor gene expression during thymic ontogeny[J]. *Cytokine*, **9**(10):717—726
- Nigro JM, Takahashi MA, Ginzinger DG, et al. 2001. Detection of 1p and 19q loss in oligodendroglioma by quantitative microsatellite analysis, a real-time quantitative PCR assay [J]. *Am J Pathol*, **4**:1 253—1 262
- Raggi CC, Bagnoni ML, Tonini GP, et al. 1999. Real-time quantitative PCR for the measurement of MYCN amplification in human neuroblastoma with TaqMan detection system [J]. *Clin Chem*, **45**(11):1 918—1 924
- Schmidt MA, Parrott WA. 2001. Quantitative detection of transgenes in soybean [*Glycine max* Merrill] and peanut (*Arachis hypogaea*) by real-time polymerase chain reaction [J]. *Plant Cell Rep*, **20**:422—428
- Schmittgen TD, Zakrajsek BA, Mills AG, et al. 2000. Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction to study mRNA decay: comparison of endpoint and real-time methods [J]. *Anal Biochem*, **285**(2):194—204
- Shou HX, Frame BR, Whitham SA, et al. 2004. Assessment of transgenic maize events produced by particle bombardment or Agrobacterium-mediated transformation [J]. *Mol Breed*, **13**:201—208
- Song P, Cai CQ, Skokut M, et al. 2002. Quantitative real-time PCR as a screening tool for estimating transgene copy number in WHISKERSTM-derived transgenic maize [J]. *Plant Cell Rep*, **20**:948—954
- Tyagi S, Kramer FR. 1996. Molecular beacons: probes that fluoresce upon hybridization [J]. *Nat Biotechnol*, **14**(3):303—308
- Weng HB, Pan AH, Yang LT, et al. 2004. Estimating number of transgene copies in transgenic rapessed by real-time PCR assay with HMG I/Y as an endogenous reference gene [J]. *Plant Mol Biol Rep*, **22**:1—12
- Woo TH, Patel BK, Cinco M, et al. 1999. Identification of *Leptospira biflexa* by real-time homogeneous detection of rapid cycle PCR product [J]. *J Microbiol Methods*, **35**(1):23—30
- Yang L, Zhao Z, Ding J, et al. 2005. Estimating copy number of transgenes in transformed rice by real-time quantitative PCR [J]. *Chin J Food Hygiene*, **17**(2):140—144 (in chinese)
- Yin JL, Shackel NA, Zekry A, et al. 2001. Real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) for measurement of cytokine and growth factor mRNA expression with fluorogenic probes or SYBR Green I [J]. *Immunol Cell Biol*, **79**(3):213—221

(上接第 376 页 Continue from page 376)

- teome of poplar and application to the discovery of drought-stress responsive proteins [J]. *Proteomics*, **6**:6 509—6 527
- Rakwal R, Komatsu S. 2000. Role of jasmonate in the rice (*Oryza sativa*) self-defense mechanism using proteome analysis [J]. *Electrophoresis*, **21**:2 492—2 500
- Ramagopal S. 1987. Salinity stress induces tissue-specific proteins in barley seedlings [J]. *Plant Physiol*, **84**:324—331
- Ramani S, Apte SK. 1997. Transient expression of multiple gene in salinity-stressed young seedling of rice (*Oryza sativa*) cv. Buraq Rata [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, **223**:663—667
- Rep M, Dekker HL, Vossen JH, et al. 2002. Mass spectrometric identification of isoforms of PR proteins in xylem sap of fungus-infected tomato [J]. *Plant Physiology*, **130**:904—917
- Rossignol M, Peltier JB, Mock HP, et al. 2006. Plant proteome analysis: A 2004—2006 update [J]. *Proteomics*, **6**:5 529—5 548
- Salekdeh GH, Siopongco J, Wade LJ, et al. 2002a. Proteomic analysis of rice leaves during drought stress and recovery [J]. *Proteomics*, **2**:1 131—1 145
- Salekdeh GH, Siopongco J, Wade LJ, et al. 2002. A proteomic approach to analyzing drought and salt responsiveness in rice [J]. *Crop Res*, **76**:199—219
- Sarry JE, Kuhn L, Ducruix C, et al. 2006. The early responses of *Arabidopsis thaliana* cells to cadmium exposure explored by protein and metabolite profiling analyses [J]. *Proteomics*, **6**:2 180—2 198
- Shahollari B, Peskan-Berghofer T, Oelmüller R. 2004. Receptor kinases with leucine-rich repeats are enriched in Triton X-100 insoluble plasma membrane microdomains from plants [J]. *Physiol Plant*, **122**:397—403
- Slymaker DH, Keen NT. 2004. Syringolide elicitor-induced oxidative burst and protein phosphorylation in soybean cells, and tentative identification of two affected phosphoproteins [J]. *Plant Sci*, **166**:387—396
- Vincent D, Lapierre C, Pollet B, et al. 2005. Water deficits affect caffeate O-methyltransferase, lignification, and related enzymes in maize leaves. A proteomic investigation [J]. *Plant Physiol*, **137**:949—960
- Vincent D, Zivy M. 2007. Plant Proteome Responses to Abiotic Stress [M] // J Thelen (eds). Plant proteomics. Berlin Heidelberg: Springer, 346—364
- Wu DH, Laidman DL. 1997. Isolation of six low molecular weight heat shock proteins and partial characterization of heat shock protein 29 from mung bean hypocotyls [J]. *Phytochemistry*, **44**:985—989
- Yan S, Tang Z, Su W, et al. 2005. Proteomic analysis of salt stress-responsive proteins in rice root [J]. *Proteomics*, **5**:235—244