

沙棘总黄酮改变心肌缺血大鼠的蛋白质组谱

张琪¹, 杨玉梅¹, 刘凤鸣²

(1. 包头医学院 心血管研究室, 内蒙古 包头 014010; 2. 北京亿立生物技术研究所, 北京 100044)

中图分类号: Q95-33; R541 文献标识码: A

沙棘总黄酮 (total flavones of Hippophae rhamnoides L., **TFH**), 又名醋柳总黄酮, 可从胡颓子科植物沙棘的果实中提取, 是一种传统的蒙医用药。TFH对心血管系统具有改善微循环、抗心肌缺血、抗心律失常等作用^[1-2]。为进一步探讨**TFH抗心肌缺血损伤作用的物质基础, 我们应用表面增强激光解吸离子化蛋白质芯片技术对 TFH组与对照组进行比较, 观察它们对心肌组织蛋白质表达的差异。**

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 动物: Wistar大鼠 20只, 体重 (215 ± 35) g, 内蒙古大学实验动物中心提供 [许可证号 SCXK(蒙)2002-0001(清洁级)]。

1.1.2 药品和试剂: TFH(内蒙古中蒙医研究所提供)。蛋白芯片(北京亿立生物技术研究所提供)。

1.2 方法

1.2.1 标本制备: 随机将大鼠分为对照组和给药组, 每组10只, 以2 mL/kg容量灌胃, 对照组给予生理盐水, 给药组给予TFH 120 mg/kg, 连续14 d, 按照文献方法^[3]结扎冠状动脉造心肌缺血模型。

1.2.2 细胞总蛋白提取: 将心肌组织称重, 剪碎后加入5倍体积的细胞裂解液, 应用超声波破碎仪于冰上将组织块进一步破碎, 小心匀浆, 14 000 r/min离心30 min, 取上清测定总蛋白浓度, 其余上清分装于离心管中, 置于-80℃备用。

1.2.3 蛋白芯片实验步骤: 将经过预处理的固定金属亲和芯片蛋白芯片安装于生物芯片处理器上, 每点(8个点)分别加20 μL样品和80 μL结合缓冲液, 振荡孵育30 min, 弃掉液体, 各点用200 μL洗脱缓冲液洗涤5 min × 2, 卸去 Bioprocessor, 取出芯片, 用超纯水洗涤2次, 待表面自然干燥后, 各点加2次0.5 μL芥酸(sinapinic acid, SPA)。将预处理后的强阴离子交换芯片安装于 Bioprocessor上, 向芯片 A-H 各点加200 μL SAX2结合缓冲液, 室温振荡5 min, 弃掉液体, 重复上述步骤

1次, 每点分别加20 μL样品和80 μL的结合缓冲液, 振荡孵育60 min, 弃掉液体, 用200 μL洗脱缓冲液洗涤芯片5 min × 3, 用1 mmol/L HEPES洗涤芯片1次, 卸下 Bioprocessor, 取出芯片, 待表面自然干后, 向各点加0.5 μL SPA, 干后重复点加0.5 μL SPA。调节蛋白浓度至0.2 g/L, 在普通芯片蛋白质芯片上每点上样2 μL, 晾干后, 向各点加0.5 μL SPA, 待表面自然干后, 重复点加0.5 μL SPA。

1.2.4 数据采集: 蛋白质芯片采用蛋白芯片阅读机 PHSIF-C型自动读取数据, 没有意义峰的信噪比为3, 经分析软件自动统计检验。采用 Ciphergen Proteinchip 3.0.2版的分析软件自动采集数据。

2 结果

与对照组相比, TFH 120 mg/kg连续给药14 d后, 冠脉结扎所致心肌缺血组织蛋白质表达出现差异。3种芯片共捕获6个存在有差异的蛋白质峰, 其中有4个出现在 MAC3芯片上, 分别命名为 XJPR1 (5239 ku)、XJPR2 (6726 ku)、XJPR3 (7425 ku)、XJPR4 (8678 ku), 1个出现在 SAX2芯片上, 命名为 XJPR5 (4102 ku), 1个出现在 NP20芯片上。6个差异蛋白峰中, 有1个在 TFH处理后的缺血心肌组织中呈高表达, 有5个在 TFH处理后的缺血心肌组织中呈低表达(表1)。

表1 沙棘总黄酮处理组与对照组比较蛋白质的差异

Table 1 The difference proteins between the sodium chloride groups' myocardium and TFH-treated groups' myocardium ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

distinct proteins(ku)	control	TFH-group
4102	29.1 ± 9.7	28.0 ± 6.7*
5239	14.8 ± 4.6	10.4 ± 4.8*
6736	7.8 ± 1.4	7.0 ± 1.1*
7426	13.9 ± 4.4	12.3 ± 2.6*
8681	8.4 ± 3.2	13.6 ± 3.7*
10141	8.3 ± 2.2	5.2 ± 0.8*

*P < 0.05 compare with the control

收稿日期: 2006-01-05 修回日期: 2006-10-20

基金项目: 国家自然科学基金(National Natural Sciences Foundation of China) (30160102); 内蒙自然科学基金(National Natural Sciences Foundation of Inner Mongolian Autonomous Region) (200208020615)

3 讨论

根据芯片表面修饰的特性, XJPR1、XJPR2、XJPR3、XJPR4 4个蛋白可能是磷酸化氨基酸蛋白或具磷酸化位点的肽,而 XJPR5可能是带有负电荷基团的蛋白或多肽。实验结果提示, TFH可以在蛋白质水平对缺血心肌组织进行调

节,且 TFH调节缺血心肌组织的蛋白质并不是单一的,而是一些或一组相关联的蛋白质,这其中可能包括与心肌收缩功能相关的蛋白质、心肌细胞能量代谢相关的蛋白质和与细胞凋亡相关的蛋白质等^[4]。

参考文献:

- [1] 刘凤鸣,李增晞,石山. 沙棘总黄酮对离体心脏的抗心律失常作用[J]. 中国药理学通报, 1989, 5(1): 44 - 46
- [2] 赵晓梅,李增晞. 沙棘与沙棘总黄酮抗急性心肌缺血和心律失常作用的比较[J]. 内蒙古医学杂志, 1997, 29(3): 138 - 142
- [3] 徐淑云. 药理实验方法学[M]. 2版. 北京:人民卫生出版社, 1991: 1022
- [4] 赵明中,陈运贞. 大鼠实验性心肌缺血再灌注时心肌细胞调亡的动态变化及意义[J]. 基础医学与临床, 2000, 20(1): 52 - 55

揭开维生素 B12的最终合成路径

据美国 B DCOMPARE科技新闻网(2007/4/3)报道,美国麻省理工学院(MIT)的 Graham Walker教授发现了自然生成维生素 B12的最终合成路径。他们研究发现,缺少关键酶 B12B的根瘤菌无法顺利合成维生素 B12。他指出,这是唯一通过维生素 B2的驱使而吞噬其它的辅助因子黄素单核苷酸的少见特例,将之转变为维生素 B12的前趋物 DMB。研究结果清楚地显示了在合成路径过程中,被吞噬的辅助因子结构显示在最终产物中。这项结果为科学家数十年致力于来研究维生素 B12复杂分子合成机制的漫长历程画上了句点。

这项研究结果于 3月 22日的《自然》(Nature)期刊中发表。

听觉丧失可增加儿童脑膜炎风险

丹麦奥尔胡斯大学的 Erik T. Pamer博士及其同事于 3月的《耳鼻喉学 - 头和颈外科》(Otolaryngol Head Neck Surg, 2007.)杂志上报告,对丹麦儿童进行的一项研究提示,听觉丧失可大大增加脑膜炎风险。因此,有听觉丧失儿童的父母应该熟悉脑膜炎的体征和症状。

DARC基因多态性与骨质疏松症相关

美国 Loma Linda大学的 Subburaman Mohan博士及其同事在 3月 29日的《基因组研究》(Genome Res, 2007.)中报告, Duffy抗原趋化因子受体(DARC)基因多态性似乎可引起骨矿密度变化,并可能影响个体骨质疏松症风险。

尿蛋白组谱可以预测糖尿病性肾病

美国麻萨诸塞州总医院和哈佛医学院的 Ravi Thadhani博士及其同事在 3月的《糖尿病护理》(Diabetes Care, 2007; 30: 638 - 643)杂志上报告,尿蛋白组谱可预测正常蛋白尿 2型糖尿病患者的糖尿病性肾病。

作者说,虽然这些发现需要大量的工作确定和检测这些标志物的稳定性,但是它们为临床医生在 1天内确定糖尿病患者是否将发生肾功能衰竭提供了可能,因此,为防止这种疾病发生的早期干预提供了希望。

吸入氧化亚氮对急性呼吸窘迫综合症患者有害

加拿大多伦多大学的 Neill K. J. Adhikari博士及其同事于 3月 23日的《英国医学杂志》(BMJ Online First, 2007.)在线版报告,对急性肺损伤和急性呼吸窘迫综合症患者常规给予氧化亚氮,不能改善其生存,并可能引起肾功能不全。Adhikari博士及其同事总结说:由于有限的生理学改善和可能的损害,我们不建议对急性肺损伤和急性呼吸窘迫综合症患者常规使用氧化亚氮。