

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.14.013

开唇兰属植物的种间蛋白质组差异*

李雅潇¹ 高川^{2△} 张军³

(1 武警后勤学院药物化学教研室 天津市职业与环境危害防制重点实验室 天津 300162;

2 北京药物化学研究所 北京 102205; 3 解放军 306 医院 北京 100101)

摘要 目的:通过差异蛋白峰的比较和指纹图谱的对照,分析开唇兰属五种金线莲的种间蛋白质组差异,初步探索了这种差异在品种鉴定中的应用并推断出品种之间的亲疏关系。**方法:**采用 SELDI-TOF-MS 方法研究了开唇兰属五种金线莲的种间蛋白质组差异。**结果:**通过 SELDI-TOF-MS 方法对开唇兰属五种金线莲种间蛋白质组谱图进行的分析结果表明,属内种间存在蛋白质组差异和特征蛋白质峰,据此建立了属内五种植物的蛋白质组指纹图谱,并依据蛋白质组的差异推测了属内五种金线莲的亲疏关系。**结论:**依据 SELDI-TOF-MS 鉴定结果,找到了开唇兰属五个物种间的蛋白差异,并基于差异蛋白数据分析了品种遗传变异性,结果表明地域和气候会对品种的变异产生一定的影响。

关键词:金线莲; SELDI; 蛋白质组; 指纹图谱**中图分类号:** Q945.79 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)14-2661-06

Proteomic Difference of Anoectochilus Interspecies*

LI Ya-xiao¹, GAO Chuan^{2△}, ZHANG Jun³

(1 Medical Collage of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin, 300162, China;

2 Research Institute of Pharmaceutical Chemistry, Beijing, 102205, China; 3 The 306th Hospital of PLA, Beijing, 100101, China)

ABSTRACT Objective: To study the proteomic difference of Anoectochilus interspecies by the mean of comparing the differences of proteomic finger printings, and to explore preliminary the application of the proteomic differences in species identification. **Methods:** The proteomic difference of Anoectochilus interspecies are studied by means of surface enhanced laser desorption ionization time of flight mass spectrography. **Result:** Results showed that there are proteomic differences and specific proteins peaks among Anoectochilus interspecies. Moreover, proteomic finger printings of five Anoectochilus species are established for identifying species, and genetic relationships of five species within Anoectochilus have been deduced according to the proteomic differences among five species. **Conclusion:** According to the result of SELDI-TOF-MS, the proteomic differences of Anoectochilus interspecies were discovered. The analysis based on the proteomic differences shows the effect on the interspecies variation by location and climate.

Key words: Anoectochilus; SELDI; Proteome; Finger printings**Chinese Library Classification(CLC):** Q945.79 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2014)14-2661-06

前言

开唇兰属(Anoectochilus)是兰科(Orchidaceae)鸟巢兰族(Trib. Neottieae)斑叶兰亚族(subtrib. Goodyerinae)下 27 个属之一。该属植物约有 40 余种,分布于亚洲热带地区至大洋洲。我国有 20 种, 2 个变种,产于西南部至南部。该属植物作药用的主要有:台湾金线莲(*A. formosanus*)、恒春金线莲(*A. koshunensis*)和福建金线莲(*A. roxburghii*)^[1-3],民间素有“药王”、“金草”之美誉^[4],主要用于治疗高血压、糖尿病、心脏病、肺炎、急慢性肝炎、肾炎等疾病。

长期以来,形态学特征一直是系统发育研究的主要数据来源。但由于野生金线莲分布较窄,天然蕴藏量极为稀少^[3,5],野外

采集时往往与花期失之交臂从而导致无法用传统鉴定方法进行种间的鉴定。随着植物分子系统学的发展,核糖体 DNA 的 ITS(Internal Transcribed Spacer)序列已成为被子植物系统与进化研究中的重要分子标记,广泛应用于被子植物属内、近缘属间及科内的系统发育研究^[6]。与此同时,基于双向电泳技术的蛋白质组研究也应用于近缘属、种间的遗传进化和分类。如通过分析栽培小麦与野生品种的蛋白差异确定栽培种的起源^[7]、通过对不同小麦品种间^[8]或多点种植的小麦群体间^[9]的蛋白差异研究品种间的遗传差异。除小麦外,用 2-D 分离的蛋白标记鉴定品种(或亚种)^[10,11]在其他物种如水稻^[12]、甘蔗^[13]、辣椒^[14]上均有报道。

生物技术可以快速鉴定感兴趣的蛋白标记,以此建立品种

* 基金项目:武警后勤学院青年基金(WYQ201106)

作者简介:李雅潇(1983-),女,硕士,讲师,主要从事药物化学和蛋白质组学研究,

E-mail:liyaxiaopalmer@163.com

△ 通讯作者:高川, E-mail: g.chuan@263.net

(收稿日期:2013-12-14 接受日期:2014-01-10)

鉴定的新方法。表面增强激光解吸电离飞行时间质谱(Surface Enhanced Laser Desorption Ionization-Time of Flight-Mass Spectrometry, SELDI-TOF-MS)技术是一项全新的蛋白质组学研究方法,具有简单快速、灵敏、高通量等优点,是蛋白质双向电泳的补充,已用于检测在特定疾病中特殊表达的蛋白标志物而诊断疾病^[5]。

本实验采用 SELDI-TOF-MS 技术对比了经 ITS 序列鉴定属于开唇兰属 (*Anoectochilus*) 的台湾金线莲 (*Anoectochilus formosanus*)、福建金线莲 (*Anoectochilus roxburghii*)、文山、云南金线莲 1 和云南金线莲 2 五种已命名和未系统命名的金线莲的蛋白质组间差异,并由此建立了蛋白质组指纹图谱,初步探索了其在品种鉴定中的应用以及品种之间的亲疏关系。实验结果表明,这种基于蛋白质组学的鉴定方法对于物种的种间鉴定具有较强的特异性,可作为传统鉴定方法的有力补充。由鉴定结果得出的品种间亲疏关系,也可推论印证了气候差异和自然选择对品种的分化和变异的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料:台湾、福建、文山、云南 1、云南 2 的组织培养苗共五种,文中分别记为 TW、FJ、WS、YN1 和 YN2。

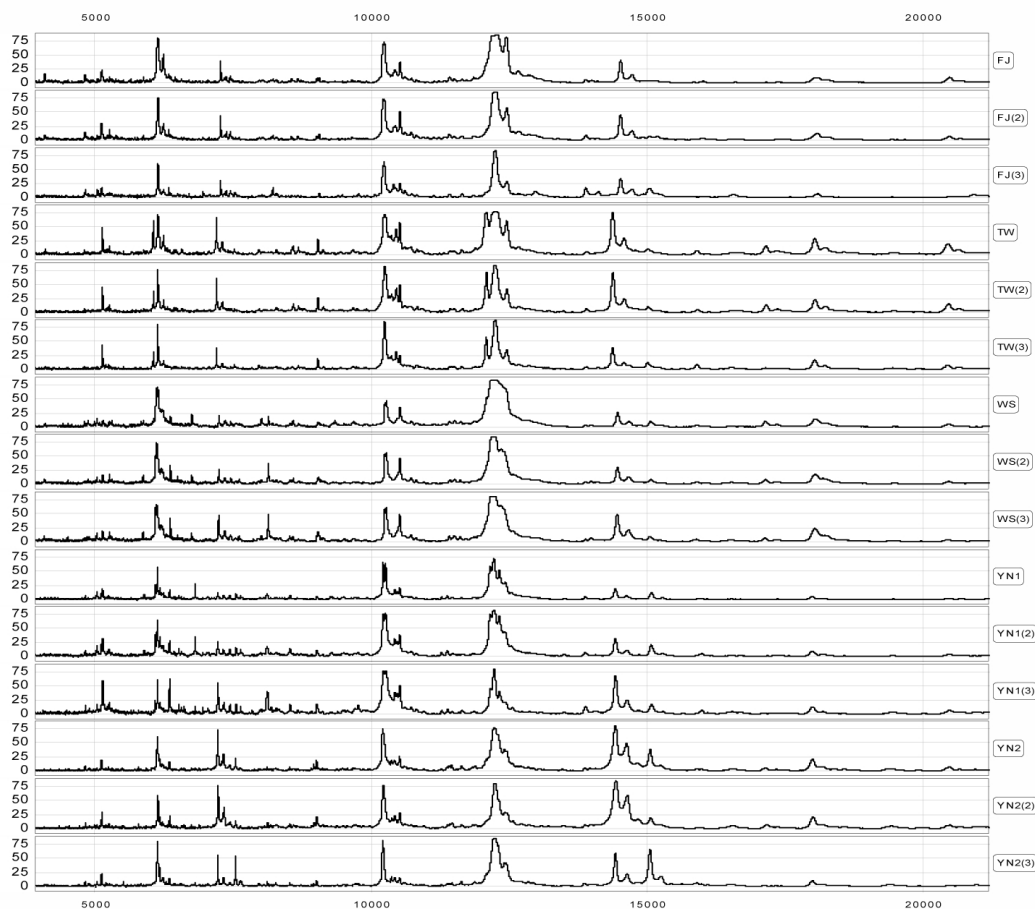
主要试剂:聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、三氯乙酸(TCA)、二硫

苏糖醇(DTT)、尿素、3-[3-胆酰胺基丙基-二甲氨基]丙磺酸盐(CHAPS)试剂为美国 Gibco 公司产品;2-D Quant Kit 蛋白定量试剂盒为瑞典 Amersham 产品;丙醇、乙醇等为市售分析纯。

主要仪器:MasterCycler gradient AG 22331 PCR 仪,德国 Eppendorf 公司;蛋白飞行质谱仪((PBS IIc),即表面增强激光解吸电离飞行时间质谱仪 (SELDI-TOF)、化学修饰 CM10 芯片,美国 Ciphergen 公司;Centrifuge 5810r 高速台式冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司;Milli-Q 超纯水仪,美国 Millipore 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 植物总蛋白的提取和定量 组织培养的五种金线莲生长约 8-10 cm 时,取出洗净根部附带的固体培养基,称重约 1-2 g,在预冷的研钵中加入液氮,研磨成粉末。按 Damerval^[16]提供的方法提取蛋白质样品。具体为:按样品重量加入 4 倍体积的样品提取液(50 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0, 内含 2% 聚乙烯吡咯烷酮, 10% 甘油, 10 mmol/L EDTA-Na₂, 5% DTT), 置冰上半小时后, 12000× g 离心 30 分钟, 取上清, 在上清中加入 8-10 倍体积含 10% TCA 和 5% DTT 的冷丙酮, -20℃ 放置至少 2 h 后, 于 4℃、12000× g 离心 1 h, 弃上清。沉淀用含 1% DTT 和 1 mmol/L PMSF 的冷丙酮重悬, 4℃、12000× g 离心 30 min, 重复此步骤 1 次; -20℃ 挥干沉淀中残留的丙酮, 即为 SELDI 检测所需蛋白质粉。



FJ: *Anoectochilus roxburghii*; TW: *Anoectochilus formosanus*;
WS: *Anoectochilus Xizang*; YN1: *Anoectochilus Yunnan1* YN2: *Anoectochilus Yunnan2*

图1 五种金线莲的蛋白质组峰形图

Fig.1 Proteomic Chromatogram of different species of *Anoectochilus roxburghii*

称取 10 mg 蛋白粉,溶于 500 μ L 蛋白裂解液中(9.5 mol/L 尿素、2 % CHAPS、1% DTT),于 4 $^{\circ}$ C、12000 $\times$ g 离心 30 min,取上清重复此步骤 1 次,上清即为 SELDI 检测样品。以已知精确浓度的 BSA 为标准,按 2-D Quant Kit 试剂盒提供的方法定量。

1.2.2 上样与洗脱 将蛋白芯片装入处理器中,每孔加入 200 μ L 结合缓冲液,室温振荡洗涤 2 次,每次 5 min,甩干。每孔分别加入 100 μ L 样品混合液,振荡孵育 1 h,甩去样品,用 200 μ L 洗脱缓冲液(100 mmol/L NaAc, pH 4.0)室温振荡洗涤 2 次,每次 5 min,甩干;再用去离子水洗涤一次,立即甩干。拆开处理器,取出芯片,晾干后即可上机测量。

1.2.3 数据采集和分析 采用蛋白飞行质谱仪对结合在弱阳离子 WCX2 芯片上的蛋白进行读取分析,设定最高检测分子量为 50 kD,优化范围为 2 kD~20 kD,激光强度 205,检测敏感度为 8。考虑到基质峰的存在,将 2 kD 以下的峰滤去,以免基质峰对结果造成干扰。图谱标准化的参数设定:强度范围 5~75,质荷比范围 1000~50000,并以 6825 Da 蛋白峰进行校正对齐。采用 Ciphergen Proteinchip 3.1 分析软件自动采集数据;Biomarker Wizard 软件分析实验前后蛋白质图谱差异;SPSS11.5 软件对数据进行统计学处理。

2 结果

从台湾、福建、文山、云南 1、云南 2 五种金线莲组织培养苗中各自提取蛋白,分别通过上述 SELDI-MS-TOF 方法测得各样品的蛋白质组峰形图,每份蛋白样品重复三次,测定结果如图 1。

3 讨论

3.1 差异蛋白峰比较

本文采取简单、快捷、高灵敏的蛋白质组研究新方法 SELDI-MS-TOF 技术研究开唇兰属不同种植物的蛋白质组,每样品重复三次。从图 1 中可见,所有金线莲均存在许多共有峰,对应的蛋白质应该是所有金线莲共表达的,可以说它们是金线莲生长发育所必需。但有些峰的强度在不同种金线莲中有差别,或有些峰为某种或某几种金线莲所特有,提示可能正是这些蛋白质表达的不同造成了同属的种间差异。

有文献报道相近品种的蛋白质组存在差异蛋白点,这些差异蛋白点体现着样品之间的遗传变异性,如 Bahman N 等^[3]通过分析不同野生品种和小麦栽培种共有蛋白质点的数量计算出每对基因型间的相似指数,发现 *T. speltoides* 是与栽培小麦 B 基因组最相近的野生品种;Barreneche T 等^[17]对两个非常相近的欧洲偃麦品种 *Quercus petraea* 和 *Quercus robur* 之间总蛋白点的分析,证实上述两个品种之间的遗传变异性较低。Zivy M 等^[9]用 2-D 分析 18 个小麦异源多倍体株系的蛋白质表达谱,发现 14 个蛋白质反映了小麦品种之间核的遗传变异。Görg A 等^[18]采用第一向等电聚焦 IPG-DALT 胶,分析 14 个不同麦芽品质的大麦品种的醇溶蛋白图谱,10 个品种显示出独特的醇溶蛋白谱。Skylas D J 等^[19]提取成熟小麦胚乳总蛋白,发现蛋白组图谱中 3 个特殊区域包括两套谷蛋白和一个非谷蛋白区(小热激蛋白)的变化可以比较 4 个小麦品种的差异,小热激蛋白区的差异是一个非常感兴趣的靶蛋白区。这些研究说明种间蛋白质组的差异可以用以建立品种分类的依据。

据此,本文采用 Ciphergen Proteinchip 3.1 分析软件自动采集并统计数据,以获得五种金线莲种间的差异蛋白质数据。以 FJ 为标准,五组相比 $P < 0.05$ ($n=3$) 的差异蛋白有 102 个,表 1 列出五个实验组的部分蛋白质分子量及对应的峰面积,每组包含峰面积最大的六个蛋白质点。

表 1 五种金线莲种间差异蛋白分子量及峰面积

Table 1 Molecular weight and peak area of differential expression protein between species

M/Z	P	Mean-FJ	Mean-TW	Mean-WS	Mean-YN1	Mean-YN2
5849.0110	0.0132	2.1460	1.2155	15.2133	3.9167	4.5491
6130.28	0.015	64.857	74.436	34.792	31.635	15.385
5133.94	0.016	24.066	43.930	15.277	41.236	23.116
10451.80	0.019	23.658	38.096	18.277	30.934	19.361
12081.32	0.019	18.151	64.982	50.045	16.689	11.188
6053.50	0.022	5.974	39.398	10.990	5.693	4.963
10283.81	0.022	26.680	37.526	16.598	68.426	30.815
6115.95	0.025	19.771	16.577	62.452	49.859	8.709
7278.39	0.026	38.853	8.848	3.429	5.271	9.062
7566.28	0.031	2.921	2.539	2.882	10.552	30.942
6077.38	0.040	6.503	8.727	58.035	18.199	4.946
12177.27	0.043	49.342	49.205	80.972	75.462	24.793
6089.22	0.045	7.822	7.536	68.321	17.332	4.940
12133.44	0.046	26.632	28.940	80.765	49.282	19.069
10525.79	0.047	39.891	40.011	10.458	32.264	23.021

结合图、表,可选择面积较大的峰作为鉴别 *Anoectochilus* 属内种的特征峰,如 5133、6130、10451、10283、10526、12133、12177。

3.2 蛋白质组指纹图谱的建立

根据属内各种间存在的蛋白质组的差异,以已命名的 FJ (*A. roxburghii*)和 TW (*A. formosanus*)为标准,参考峰形图和各种间的差异蛋白数据,选取种间差异明显的靶蛋白峰作为各品种鉴定的特征峰。

如在 4820 Da 处,FJ 和 TW 有双峰,YN1 和 YN2 仅有单峰,峰高、峰面积无明显差别,WS 此处无峰;在 5130 处,FJ、WS、YN1 有双峰,峰高和峰面积无差别;而 TW 和 YN2 仅有单

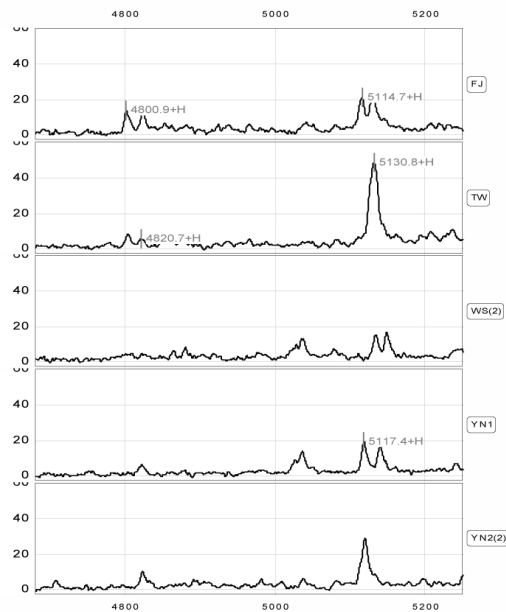


图2 分子量 4500-6000 蛋白质峰形图

Fig.2 Molecular weight 4500-6000

综合以上分析,将此五种 *Anoectochilus* 属内种的靶蛋白峰面积指纹标准图谱试列于表 2。

3.3 蛋白质组差异体现 *Anoectochilus* 属内种的亲疏关系

同属五种金线莲的蛋白质组间无论是差异蛋白总数,还是相差倍数均不同,表 3。表中数据显示,FJ 与 YN1 可能为最接近的两个种,不仅差异蛋白数量少,最大差异倍数也不高;其次应该为 TW 和 YN2 及 FJ 和 WS;以此推断 YN1 与 WS 品种也较接近,表中数据也反应出这点;而 WS 与 YN2 差异蛋白总数最多,差异倍数最大,可以认为品种亲疏关系最远。综合考虑以上四组数据,可以得出五种金线莲的亲疏关系图,见图 4。

在种内的遗传变异性研究中,Bahrman N 等^[20]用 2-D 方法研究了 7 个自然地域的海岸松群体之间的关系,比较不同地域样品间蛋白位点存在的遗传变异性,发现可区分为 3 个主要的松树群体即大西洋、地中海和北非群体。David J L 等^[21]研究多点种植的 11 个小麦群体进化的遗传差异,结果发现,在用于研究群体遗传差异的 48 个蛋白点中,15 个蛋白显示明显的差异性;而同一独立进化的群体即使栽培方法不同也显示出相似的遗传差异性。上述结果表明自然选择对群体进化起主要作用,且选择响应主要决定于大环境条件。

这五种植物均来源于东南部地区,来自云南的 YN1 与广

峰,且峰高和峰面积 TW 明显高于 YN2,分别为 1051.5 和 571.6(图 2)。再如在 6000~8000 Da 这一段上,有 6052、6350、6750 和 7538 四个峰可作为区分不同种金线莲的特征峰,6052 仅 TW 和 YN1 存在,6350 峰在 WS 和 YN1 中高表达,6750 仅在 WS 和 YN1 中有峰,7538 峰在 YN2 中远远高于其它各种金线莲(图 3)。在 8000 和 11000 间也存在 8131、9058 和 10430、10512 可作为特征峰,如 8131 在 WS 和 YN1 中高表达,9058 在 FJ 和 WS 中为双峰,在 TW、YN1、YN2 中仅为单峰,在 WS 中 10430 峰不存在,但 10512 则高表达。尽管尚有其它峰有的表达量高,有的差异大,但或峰形不好,或峰未分离,则不予考虑。

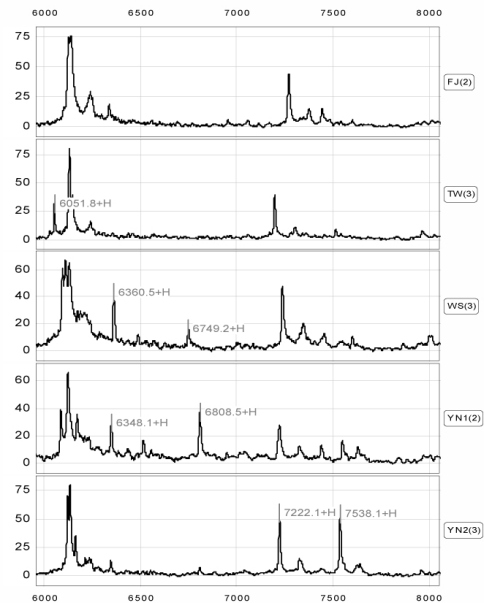
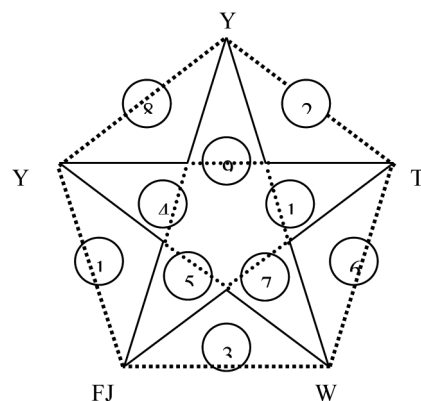


图3 分子量 5000-8000 蛋白质峰形图

Fig.3 Molecular weight 4500-6000



环中数字 1-10 表明相互间亲疏关系由近至远

图4 *Anoectochilus* 属五种植物亲疏关系

Fig.4 Consanguinity of species in *Anoectochilus*

西的 WS、YN2 与台湾的 TW 相对疏远,可能是由于高原地带和东南沿海的气候差异造成的;但同是来自云南的 YN1 与 YN2 间的差别,则不能用气候来解释了,可能为某种自然选择造成。因此,可以认为海拔和气候可能会造成品种的分化,但此两种因素对品种的影响不是绝对的,尚有其它多种因素的共同作用,造成了品种的分化和变异。

Table 2 Protein expression profilings of *Anoectochilus*[illegible]

表 3 *Anoectochilus* 属植物间差异蛋白Table 3 Differential expression protein between species of *Anoectochilus*

对比组 (Contrast)	差异蛋白总数 (Totality of differences)	>20 倍差异蛋白数 (More than 20 times differences)	5-20 倍差异蛋白数 (5- 20 times differences)	最大差异倍数 (The largest differences)
FJ/TW	110	2	5	48
FJ/WS	138	/	8	18
FJ/YN1	55	/	10	14
FJ/YN2	138	2	15	29
TW/WS	170	3	15	38
TW/YN1	80	2	9	69
TW/YN2	130	/	12	12
WS/YN1	98	1	13	34
WS/YN2	183	6	27	86
YN1/YN2	100	1	10	55

4 结论

依据 SELDI-TOF-MS 给出的差异蛋白质数据和峰形图, 选定了分子量 4820、5130、6052、6350、6750、8130、9058 和 10512 的峰为特征峰, 建立了五种 *Anoectochilus* 属内金线莲种的蛋白质指纹图谱。

依据 SELDI-TOF-MS 给出的差异蛋白质数据分析了品种遗传变异性, 地域和气候会对品种的变异产生一定的影响, 但品种的分化是多种因素共同作用的结果。

本文采用 SELDI-TOF-MS 技术作为品种鉴定的初步尝试。这种基于蛋白质组学的鉴定方法对于物种的种间鉴定具有较强的特异性, 可作为传统鉴定方法的有力补充。由鉴定结果得出的品种间亲疏关系, 也可推论印证了气候差异和自然选择对品种的分化和变异的影响。

参考文献(References)

- [1] 张丽兵, 张宪春. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* [M]. 北京: 科学出版社, 2000
Zhang Li-bing, Zhang Xian-chun. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* [M]. Beijing: Science press, 2000
- [2] 林婷, 杨静玉, 王芳, 等. 台湾金线莲组织培养苗提取物抗肿瘤、镇痛作用药效学研究 [J]. 中国药理通讯, 2010, 23(3): 25-26
Lin Ting, Yang Jing-yu, Wang Fang, et al. Effect of anti-tumor and analgesic effect by the extract of the tissue culture plantlet of *Anoectochilus formosanus* [J]. Chin Parm, 2010, 23(3): 25-26
- [3] 蒋元斌. 两种金线莲不同生长期主要活性成分动态变化 [D]. 福建: 福建农林大学, 2012
Jiang Yuan-bin. Dynamic change of main active ingredient in *A. roxburghii*(Wall)Lindl and *A. formosanus* Hayata in different growth stages [D]. Fu Jian: Fujian Agriculture and Forestry University, 2012
- [4] 赵玥. 两种金线莲生长及与内生真菌共生培养的研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2009
Zhao Yue. Studies on the growth of *Anoectochilus formosanus* and *A. roxburghii* and the symbiotic cultivation with endophytic fungi [D]. Bei Jing: Peking Union Medical College, 2009
- [5] 罗晓青, 吴明开, 查兰松. 贵州药用植物野生金线莲资源调查 [J]. 西
- 南农业学报, 2011, 24(2): 826-828
- Luo Xiao-qing, Wu Ming-kai, Zha Lan-song. Investigation on wild medicinal *Anoectochilus* resources in Guizhou province [J]. Southwest China J.Agric.Sci., 2011, 24(2): 826-828
- [6] Kollipara K. P., Singh R. J., Hymowitz T.. Phylogenetic and genomic relationships in the genus *Glycine* Wild-Based on sequences from the ITS region of nuclear Rdna[J]. Genome, 1997, 40(1): 57-68
- [7] Bahrman N., Zivy M., Thiellement H.. Genetic relationships in the sitopsis section of *Triticum* and the origin of the B genome of the polyploid wheats[J]. Heredity, 1988, 61: 473-480
- [8] Zivy M., Thiellement H., De Vienne D., et al. Study on nuclear and cytoplasmic genome expression in wheat by two-dimensional gel electrophoresis. I. First results on 18 alloplasmic lines[J]. Theor Appl Genet, 1983, 66(1): 1-7
- [9] David J. L., Zivy M., Cardin M. L., et al. Protein evolution in dynamically managed populations of wheat: adaptative responses to macro-environmental conditions[J]. Theorl Appl Genet, 1997, 95: 932-941
- [10] 高川, 郭顺星, 张靖, 等. 福建金线莲与菌根真菌互作过程中的蛋白质组研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(24): 3717-3722
Gao Chuan, Guo Shun-xing, Zhang Jing, et al. proteome research on the progress of the reaction between *A. roxburghii* and fungi[J]. Chin J Chin Mater Med, 2012, 37(24): 3717-3722
- [11] 喻娟娟, 戴绍军. 植物蛋白质组学研究若干重要进展[J]. 植物学报, 2009, 44(4): 410-425
Yu Juan-juan, Dai Shao-jun. Progress on botanical proteomics research[J]. Acta Botanica Sinica, 2009, 44(4): 410-425
- [12] Saruyama H., Shinbashi N.. Identification of specific proteins from seed embryos by two-dimensional gel electrophoresis for the discrimination between indica and japonica rice[J]. Theor Appl Genet, 1992, 84(7-8): 947-951
- [13] Ramagopal S. Protein polymorphism in sugarcane revealed by two-dimensional gel electrophoresis [J]. Theor Appl Genet, 1990, 79(3): 297-304
- [14] Posch A., Van den Berg B. M., Duranton C., et al. Polymorphism of pepper (*Capsicum annuum* L.) seed proteins studied by 2-D electrophoresis with immobilized pH gradients: methodical and genetic aspects [J]. Electrophoresis, 1994, 15(2): 297-304

(下转第 2660 页)

- (5): 2065-2075
- [9] Aldebasi YH, Rahmani AH, Khan AA, et al. The effect of vascular endothelial growth factor in the progression of bladder cancer and diabetic retinopathy[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2013, 6(4): 239-251
- [10] Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma [J]. *Nat Med*, 1997, 3(8): 917-921
- [11] Lu D, Qian J, Yin X, et al. Expression of PTEN and survivin in cervical cancer: promising biological markers for early diagnosis and prognostic evaluation[J]. *Br J Biomed Sci*, 2012, 69(4): 143-146
- [12] 高鹏, 方驰华, 张刚庆, 等. Survivin 反义寡核苷酸对肝癌耐药细胞的作用及与化疗的关系[J]. *南方医科大学学报*, 2006, 26(11): 1644-1647
- Gao Peng, Fang Chi-hua, Zhang Gang-qing, et al. Antisense oligonucleotide against survivin induces apoptosis and enhances adriamycin sensitivity of SMMC-7721/ADM cells[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2006, 26(11): 1644-1647
- [13] Li T, Liu Z, Jiang K, et al. Angiopoietin2 Enhances Doxorubin Resistance in HepG2 cells by Upregulating Survivin and Ref-1 via MSK1 activation [J]. *Cancer Lett*, 2013, 3835(13): 362-365
- [14] Waligórska-Stachura J, Jankowska A, Wa é ko R, et al. Survivin-prognostic tumor biomarker in human neoplasms-review[J]. *Ginekol Pol*, 2012, 83(7): 537-540
- [15] Jha K, Shukla M, Pandey M. Survivin expression and targeting in breast cancer[J]. *Surg Oncol*, 2012, 21(2): 125-31
- [16] Tran J, Rak J, Sheehan C, et al. Marked induction of the family anti-apoptotic proteins survivin and XIAP by VEGF in vascular endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 264(3): 781-788
- [17] Sun YW, Xuan Q, Shu QA, et al. Correlation of tumor relapse and elevated expression of survivin and vascular endothelial growth factor in superficial bladder transitional cell carcinoma [J]. *Genet Mol Res*, 2013, 12(2): 1045-1053
- [18] Song J, Cao L, Li Y. RNA interference mediated inhibition of survivin and VEGF in pancreatic cancer cells in vitro [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(5): 1651-1655
- [19] Li X, Dang X, Sun X. Expression of survivin and VEGF-C in breast cancer tissue and its relation to lymphatic metastasis [J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2012, 33 (2): 178-182
-
- (上接第 2666 页)
- [15] Von Eggeling F., Junker K., Fiedle W., et al. Mass spectrometry meets chip technology: A new proteomic tool in cancer research [J]. *Electrophoresis*, 2001, 22(14): 2898-2902
- [16] Damerval C., De Vienne D., Zivy M., et al. Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling proteins [J]. *Electrophoresis*, 1986, 7: 52-54
- [17] Barreneche T., Bahrman N., Kremer A.. Two-dimensional gel electrophoresis confirms the low level of genetic differentiation between *Quercus robur* L and *Quercus petraea* (Matt) Liebl [J]. *Forest Genet*, 1996, 3: 89-92
- [18] Görg A., Postel W., Baumer M., et al. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis, with immobilized pH gradients in the first dimension, of barley seed proteins: Discrimination of cultivars with different malting grades [J]. *Electrophoresis*, 1992, 13(4): 192-203
- [19] Skylas D. J., Copeland L., Rathmell W. G., et al. The wheat grain proteome as a basis for more efficient cultivar identification [J]. *Proteomic*, 2001, 1(2): 1542-1546
- [20] Bahrman N., Zivy M., Damerval C., et al. Organisation of the variability of abundant proteins in seven geographical origins of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait) [J]. *Theor Appl Genet*, 1994, 88 (3-4): 407-411