

· 综 述 ·

蛋白质组学及其在法医病理学中的应用

韩刘君, 徐红梅, 陈龙

(复旦大学基础医学院法医学系, 上海 200032)

摘要: 蛋白质组学已成为现代生命科学领域中的热点之一,其应用前景已在临床医学研究中得到印证,如发现新的疾病生物标志物、鉴定疾病相关蛋白质、开发新的药物靶点等,但在法医学领域尤其是法医病理学领域尚处于探索阶段。本文从研究技术以及国内外学者将蛋白质组学技术应用于法医病理学的研究进展进行综述,以期法医病理学的研究和应用提供新思路。

关键词: 法医病理学;蛋白质组学;死亡时间;死亡原因;综述

中图分类号: DF795.1 **文献标志码:** A **doi:** 10.12116/j.issn.1004-5619.2019.01.015

文章编号: 1004-5619(2019)01-0078-06

Proteomics and Its Application in Forensic Pathology

HAN Liu-jun, XU Hong-mei, CHEN Long

(Department of Forensic Medicine, School of Basic Medicine Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: Proteomics has become one of the hot topics in modern life sciences. Its application prospects have been confirmed in clinical medical research, such as the discovery of new disease biomarkers, identification of disease-related proteins, and development of new drug targets. However, in the field of forensic science, especially in forensic pathology, it is still in the stage of exploration. This paper reviews the research techniques and the use of proteomics in forensic pathology in domestic and foreign scholars, in order to provide new ideas for the research and application of forensic pathology.

Keywords: forensic pathology; proteomics; postmortem interval; cause of death; review

1994年由澳大利亚Macquarie大学的学者Wilkins和Williams等提出蛋白质组(proteome)一词,该词为蛋白质(protein)与基因组(genome)两个词的结合,并且于1995年发表于*Electrophoresis*上,被定义为“一种基因组所表达的全套蛋白质”^[1]。蛋白质组学(proteomics)是蛋白质组概念的延伸,是在整体水平上研究蛋白质组的特性、结构、功能以及活动规律的一门科学,随着人类基因组计划的完成,生命科学步入后基因组时代,蛋白质组也逐步成为功能基因组研究的主要内容之一^[2]。

法医病理学的主要任务是运用相关的医学专业知识解决有关暴力死亡和非暴力死亡的死亡征象、死亡原因、死亡方式、死亡时间、死亡地点、个体识别以及致伤物的推断和确定等。然而,在多数死亡案件中,法医病理学家主要解决的难点问题主要集中在死

亡时间和死亡原因这两个方面,这也是法医病理学的两个主要科学问题^[3]。

随着分子生物学技术的发展,死亡时间(postmortem interval, PMI)的推断已不仅仅局限于尸体现象、尸体化学、法医昆虫学等,在死亡原因的鉴定中有些死亡案例由于缺乏特异性的指标,很难作出明确的死亡诊断,如机械性窒息、猝死综合征、过敏性休克等。利用DNA^[4]、mRNA^[5-6]、microRNA^[7]以及蛋白质^[8]检测技术推断死亡时间和判断死亡原因的研究开始逐渐增多。

近年来,蛋白质组学在临床疾病的研究中应用较为广泛,主要用于发现新的疾病生物标志物、鉴定疾病相关蛋白质、提高疾病早期诊断能力、开发新的药物靶点、研制新型有效的药物等方面^[9-10]。随着蛋白质组学研究技术的不断成熟,法医病理学也逐渐运用

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81671863, 81373242, 81172896)

作者简介: 韩刘君(1991—),女,硕士研究生,主要从事法医病理学研究;E-mail: 16211010070@fudan.edu.cn

通信作者: 陈龙,男,博士,教授,博士研究生导师,主任法医师,主要从事法医病理学及法医毒理学的教学、研究及鉴定;E-mail: chenlong@shmu.edu.cn

该技术方法以更精确地指导法医学实践^[11-13]。

1 蛋白质组学的研究手段

1.1 双向电泳技术

双向电泳(two-dimensional electrophoresis, 2-DE)作为蛋白质分离的核心技术,由 KLOSE 和 KLOSE 等^[14-15]于 1975 年建立经典双向凝胶电泳。2-DE 是等电聚焦电泳和十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)的组合,即具有相同电点的蛋白质无论其分子大小,在电场的作用下都会聚集在某一特定位置,再用 SDS-PAGE 将不同分子量的蛋白质分离,电泳后根据蛋白质的上样量对胶进行染色,经染色得到的电泳图是个二维分布的蛋白质图,存储凝胶图像获取蛋白定性和定量信息,利用图像分析软件分析蛋白质各种信息。

在此技术上,双向差异凝胶电泳技术(two-dimensional difference gel electrophoresis, 2D-DIGE)^[16-17]的出现大大弥补了 2-DE 技术上的缺点,2D-DIGE 可在同一块双向电泳胶中分离多个不同荧光标记的样品,并第一次引入了内标的概念,从而避免了传统双向电泳技术胶与胶之间重复性差的缺点^[18]。

HERNÁNDEZ 等^[19]利用荧光差异凝胶电泳技术,对患有 2 型糖尿病黄斑水肿患者以及患有特发性黄斑裂孔的非糖尿病患者的玻璃体液进行差异蛋白研究。结果显示,有 81 种蛋白质呈现倍数差异,经过质谱技术识别出了 25 种玻璃体内蛋白,其中检测出的血红素结合蛋白在 2 型糖尿病黄斑水肿患者的玻璃体液中明显升高,而其他 3 种蛋白(β -晶状体蛋白 S、丛生蛋白和转甲状腺素蛋白)则相反,随后又在另外 18 个样本中进行酶联免疫吸附实验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA),结果与 2D-DIGE 分析结果一致,进一步证实差异凝胶电泳技术更精确的定量能力。

1.2 质谱技术

质谱技术(mass spectrometry, MS)^[20]凭借其高特异性、高灵敏度、高自动化等特点,成为蛋白质鉴定的重要工具及核心技术。蛋白质谱技术^[21]是一种将质谱仪用于研究蛋白质的技术。其基本原理是用蛋白酶消化蛋白质后的肽段混合物,在质谱仪中形成带电离子,经过质谱分析器与检测器后将特定质量与质荷比(m/z)分离与收集,再通过质量分析器后分析出每个肽段的 m/z ,即可得到蛋白质的一级质谱峰图。如果存在强度较大的肽段离子,那么离子选择器将对其进行二级质谱分析。蛋白质的鉴定即可通过一次质

谱峰图与二级质谱峰图的比对而得出。目前较常用的质谱分析仪有液相色谱-质谱联用仪(liquid chromatograph-mass spectrometer, LC-MS)、气相色谱质谱联用仪(gas chromatograph-mass spectrometer, GC-MS)、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight-mass spectrometer, MALDI-TOF-MS)等^[22],谢增瑞等^[23]应用串联质谱法对死者器官中的毒鼠强进行检测,由于干扰杂质的减少,使得最后的检测灵敏度较全扫描质谱法大为提高。

1.3 生物信息学技术

生物信息学^[24]是现代生命科学与信息科学、计算机科学、数学、统计学科相互交叉的学科。生物信息学主要在基因组学及蛋白质组学两方面体现^[25]。在蛋白质分析过程中,生物信息学的作用不仅仅体现在数据库的查阅和资料的整合上,在蛋白质组研究领域,如识别蛋白质、对已知蛋白质结构进行分析等方面的作用更是至关重要的。高通量、大规模的实验数据通过生物信息学软件的处理,能够对图像分析、蛋白质鉴定及比较提供更为快捷的帮助。如基因表达汇编(Gene Expression Omnibus, GEO)^[26]数据库其主要贮存 DNA 甲基化、组蛋白修饰和非编码 RNA 等人类基因组范围内高通量得到的表观遗传数据。

2 蛋白质组学研究的新技术

蛋白质组学的发展在很大程度上受到技术的推动,因此,发展更高精度、更高通量、更高灵敏度的研究技术平台是蛋白质组学研究中的重要任务。

2.1 蛋白质芯片技术

蛋白质芯片(protein chip)^[27]是一种新型的生物芯片,其原理是将标记了特定荧光的已知蛋白分子产物固定于经过特殊化学处理的固相载体上,根据已知蛋白分子的特性,捕获能与之特异性结合的待测蛋白,经过漂洗、纯化,再通过测定芯片上各点的荧光强度,最后由计算机分析结果,达到测定各种蛋白质的目的。蛋白质芯片具有可以从小量样品(ng 级)发现低丰度蛋白质、直接用生物样品(血清、体液、尿液)快速进行分析、高通量的验证能力及优点^[28]。

NUERRULA 等^[29]运用蛋白芯片技术分析差异表达的血清蛋白及其与透明细胞肾癌的临床意义,所检测出来的差异血清蛋白的 m/z 分别是 15 953、7 987、9 304、8 948、5 911,相应的特异性蛋白分别为 Bcl-2 家族凋亡调控蛋白、WAP 四硫化物核心蛋白、Krueppel 样因子 8、单核细胞趋化蛋白-1、血清淀粉样蛋白 β 蛋白-4,并可能作为肾癌的肿瘤标志物。这些蛋白质对

透明细胞肾癌有很高的预测价值,可能有助于透明细胞肾癌的治疗评估、预后和靶向治疗。

蛋白芯片技术在基因表达筛选、抗原抗体检测、生化反应检测、药物筛选及疾病诊断等方面应用广泛^[30-32]。

2.2 同位素标记相对和绝对定量技术

同位素标记相对和绝对定量(isobaric tags for relative and absolute quantification, iTRAQ)^[33],其基本原理为用多种同位素试剂标记(可同时标记和比较不同的4种或8种蛋白质样品)已被裂解的蛋白多肽N末端或赖氨酸侧链基团,这样会产生成千上万个光谱、数千个可识别多肽和上百个可鉴定蛋白,然后用质谱技术对这些多肽进行定量分析,再利用生物信息学的工具和分析方法对数据进行有效的处理。

HERGENROEDER等^[34]收集重症颅脑损伤的成人患者血清,对人体血清样本进行iTRAQ标记和分析,在初步鉴定出的160种血清蛋白质中定量识别出其中31种蛋白质的含量在颅脑损伤后发生了显著改变,可能成为颅脑损伤的潜在生物标志物。随后将颅脑损伤患者与正常成人血清进行ELISA,实验结果表明,血清淀粉样蛋白A和C反应蛋白在急性损伤早期即可出现显著上调,可作为急性颅脑损伤的候选分子。

3 蛋白质组学在法医学中的应用

3.1 死后蛋白质的变化

蛋白质是机体的重要组成部分,机体死亡后,在多种蛋白水解酶及腐败菌的作用下,机体蛋白质成分逐渐分解成为氨基酸和小分子含氮物质,含量逐渐减少直至消失。KIKUCHI等^[35]用ELISA试剂盒检测,发现死后7d内大鼠血浆高迁移率族蛋白B1在4℃时随PMI增加不断上升,在14℃和24℃时先增加后减少。PARMAR等^[36]通过白蛋白与溴甲酚绿染料结合从而发生颜色上的变化,再对白蛋白-溴甲酚绿结合物的吸收光谱进行定量,结果表明,脑脊液中的白蛋白在死后72h的降解呈线性,死后脑脊液中白蛋白浓度的降低可作为推断死亡时间的一个依据。

齐麟等^[37]通过分子生物学方法制备鼠抗人微管蛋白多克隆抗体,然后利用Western印记法检测死后24、48、72和96h大鼠肾组织中微管蛋白的表达水平,结果发现,在断颈死亡和溺死这两种死亡原因致死后的大鼠肾组织中微管蛋白均呈逐步降解的趋势,断颈死亡模型中,微管蛋白在机体死后96h检测不到,但机体死后72h时仍有较高表达,溺死模型中,微管蛋白在机体死亡后72h检测不到。机体死亡后体内蛋白质的变化有一定规律性或呈某种特异性,利用ELISA、

Western印记法等可以对蛋白质进行定性、定量的检测,但无法大规模、高通量地对蛋白质进行全面筛选及鉴定。随着蛋白质组学技术的广泛应用,其在推断死亡时间及死亡原因方面也有所应用。

3.2 蛋白质组学技术在推断死亡时间中的应用

HUNSUCKER等^[38]利用2-DE对小鼠脑组织进行分离,二维凝胶图像显示在25℃、死后4h内,大脑中近1000个蛋白质中绝大多数是稳定的。同样,FOUNTOULAKIS等^[39]用2-DE分析大鼠脑组织时发现,在23℃的实验环境下,脑组织的蛋白质发生变化大多都在死亡24h之后。KWAK等^[40]利用2-DE和高效液相色谱-质谱联用(high-performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)在大鼠的心肌组织和肝组织中发现了26种蛋白质(包括肌肉蛋白、氧化相关蛋白、代谢蛋白)的变化规律,心肌组织中的ATP合成酶、心肌肌球蛋白重链5、Tnnt2蛋白及结蛋白等9种蛋白质在死后48h内呈逐步降解的趋势,可作为法医学推断PMI的生物标志物。TAVICHAKORNTAKOOL等^[41]将蛋白质组学的技术应用到死后骨骼肌中蛋白的变化,观察到在初始总蛋白质浓度一致的情况下,经2-DE图像分析后,处于4℃的蛋白质斑点总数在24h开始下降,而处于25℃的蛋白质斑点总数在12h就开始下降。经四极杆飞行时间串联二级质谱法(quadrupole time-of-flight mass spectrometry/mass spectrometry, Q-TOF MS/MS)分析鉴定出肌酸激酶、热休克蛋白27以及肌红蛋白,这三种蛋白质斑点减少的体积与死亡时间有显著相关性。

3.3 蛋白质组学技术在推断死亡原因中的应用

在死亡原因的鉴定中有些死亡案例死因比较明确,容易作出准确的鉴定意见。而有些死亡案例由于缺乏特异性的指标,很难作出明确的死亡原因诊断。近些年,有学者尝试利用蛋白质组学技术对推断死亡原因进行了初步研究。

任磊等^[8]用外力打击兔颈动脉窦建立神经源性休克死亡的模型,利用双向电泳后检测打击兔颈动脉窦致神经源性休克死亡组及兔空气栓塞致死组的心肌组织,两组均有700个蛋白质斑点,其中共有7个蛋白质的差异改变在2倍及以上,在神经源性休克死亡组中有5个蛋白质斑点的表达上调,在正常对照组有2个蛋白质斑点的表达下调。随后进行液相色谱-芯片质谱的鉴定,表达上调的蛋白有角蛋白10、 α -2B肾上腺素能受体、超氧化物歧化酶、锌指蛋白569、热休克蛋白70,表达下调的蛋白有膜联蛋白XIIIb、组织因子途径抑制物。该研究初步说明神经源性休克死亡

发生了蛋白表达谱的改变,可为临床及法医检案中出现的疑似神经源性休克死亡案例的诊断提供辅助依据。法医学实践中,弥漫性轴索损伤(diffuse axonal injury, DAI)在交通事故所引起的颅脑损伤中占绝大部分且易导致死亡,尸体检验不易诊断。ZHANG等^[42]采用串联质谱(mass spectrometry/mass spectrometry, MS/MS)加上 iTRAQ 标记技术在 DAI 小鼠组和非损伤小鼠组中共鉴定了 1 858 种蛋白质,并对其量化后确定了 10 个候选蛋白,经免疫印迹和免疫组化分析证实,柠檬酸合成酶、突触相关蛋白 25、微管相关蛋白 1B 和 Rho 相关蛋白激酶 2 与 DAI 具有高度相关性。DAMMEIER 等^[43]为找到多次枪击案件中的致死原因,用金属片撞击牛的心、肾、肝、肌肉以及肺组织,模拟枪击案件。经胰蛋白酶消化金属片表面的组织后,采用 LC-MS/MS 运行测量,发现每个样本均约有 14 000 个肽段。通过对特征图谱的质谱鉴定,共鉴定出 1 756 种蛋白质。利用统计分析,结合定性、定量的结果,最终在每种组织中找出相关性最高的 8 个蛋白质。此外,还进行了射击实验验证了结果。该研究表明,利用蛋白质组学寻找出器官特异性蛋白质对遭受多次枪击案后找出致死原因有实际意义。ECKHARDT 等^[44]对大鼠的心尖与基部进行了差异蛋白组学的分析,先从大鼠左右心室从上到下剪取组织提取蛋白质,取上清液后用 2-DE 技术分离蛋白质,将差异表达的蛋白质斑点进行蛋白质纳米液相色谱-串联质谱鉴定(nano-liquid chromatography-tandem mass spectrometry, nLC-MS/MS)最后利用数据库鉴定表达差异的蛋白质。该研究首次揭示了心脏左、右心室的心尖处与基部处的多种蛋白质在浓度上存在显著差异。就左心室而言,5 种蛋白质(肌球蛋白轻链 3、乳酸脱氢酶 B 链、肌酸激酶 M、二氢硫辛酸脱氢酶、相对分子质量为 60 000 的热休克蛋白)在心尖处具有更高的浓度;在右心室中,2 种蛋白质[肌酸激酶 S 型和质子泵烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NADH)]在心尖处具有更高的浓度。在这 7 种差异蛋白质中,有 5 种蛋白质参与能量代谢。由于不同的心脏病变会影响不同的心脏区域,这对在法医学中不明原因心脏性猝死的探究起到提示作用。

3.4 蛋白质组学技术在毒理学中的应用

当毒物进入机体,会扰乱机体的内稳态,器官、蛋白质以及细胞发生变化,运用蛋白质组学能够找出毒物的毒性变化、作用机制以及对靶器官的作用。因此,蛋白质组学能够在毒理学研究中发挥重要作用。

LIN 等^[45]应用 iTRAQ 技术对服用何首乌提取物的小鼠肝组织进行鉴定,一共检测出 23 619 个肽段

(10 914 个特异性肽段)和 2 040 种蛋白质。差异表达蛋白按其比值进行筛选后共有 588 种蛋白质,其中 300 个表达下调,288 个表达上调。尔后对这些差异蛋白质应用生物信息学软件分析,如用于注释、可视化和集成发现的数据库(database for annotation, visualization and integrated discovery, DAVID)分析工具、韦恩分析(Venn diagram)、通路富集分析得出 NADH 脱氢酶家族蛋白和溶质载体家族 16 成员 2(solute carrier family 16 member 2, SLC16A2)可以被认为是何首乌造成肝毒性的潜在生物标志物。在日常生活中所用的塑料水瓶、食物包装都会添加双酚 A(bisphenol A, BPA), BPA 是一种人造雌激素,会引起肝功能障碍。VAHDATI 等^[46]将大鼠灌胃低剂量(0.5 mg/kg) BPA, 30 d 后取出肝组织,经 2-DE 区分出有差异表达的蛋白质斑点,再利用 MALDI-TOF/TOF 后发现,在对照组和 BPA 处理组之间,15 种总蛋白和 12 种磷蛋白斑点被差异调节。通过 Western 印迹分析验证表明,蛋白表达变化趋势与 2-DE 图像分析和质谱鉴定的结果一致。该研究采用的是基于凝胶的蛋白质组学方法来鉴定经 BPA 处理的肝组织的蛋白质生物标志物,并研究 BPA 作用的分子机制。

4 展 望

蛋白质组学是一门在蛋白质水平上认识生命机理的学科,其学术理念和相关技术方法已被广泛应用于生命科学的各个领域,但在法医学中的研究尚处于探索阶段。

利用蛋白质组学技术对死后不同时间点的蛋白质进行精确定量,探寻其变化规律,从而对死亡时间进行推断,同时利用蛋白质组学技术寻找不明死亡原因的特异性标志物,进一步探查出蛋白质与蛋白质的互相作用,甚至 DNA-蛋白质、RNA-蛋白质的相互作用,以阐明不明原因死亡的死亡机制。若能把控蛋白样品制备和保存的均一化,那么利用蛋白质组学解决法医病理学研究中的科学问题将成为可能。

参考文献:

- [1] WILKINS M R, SANCHEZ J C, GOOLEY A A, et al. Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it[J]. *Biotechnol Genet Eng Rev*, 1996, 13: 19-50.
- [2] 晏群,刘文恩,唐银. 从基因组学到蛋白质组学:科学的推动力[J]. *医学与哲学*, 2003, 24(2): 12-15.
- [3] 丛斌. 法医病理学[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社, 2016.
- [4] SOLTYS D T, PEREIRA C P, ISHIBE G N, et al.

- Effects of post mortem interval and gender in DNA base excision repair activities in rat brains[J]. *Mutat Res*, 2015, 776:48-53.
- [5] MA J, PAN H, ZENG Y, et al. Exploration of the R code-based mathematical model for PMI estimation using profiling of RNA degradation in rat brain tissue at different temperatures[J]. *Forensic Sci Med Pathol*, 2015, 11(4):530-537.
- [6] LV Y H, MA K J, ZHANG H, et al. A time course study demonstrating mRNA, microRNA, 18S rRNA, and U6 snRNA changes to estimate PMI in deceased rat's spleen[J]. *J Forensic Sci*, 2014, 59(5):1286-1294.
- [7] ZENG Y, LV Y, TAO L, et al. G6PC3, ALDOA and CS induction accompanies mir-122 down-regulation in the mechanical asphyxia and can serve as hypoxia biomarkers[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(46):74526-74536.
- [8] 任磊,朱素敏,唐任宽,等. 神经源性休克死亡家兔心肌组织差异蛋白分析[J]. *激光杂志*, 2011, 32(1):87-89.
- [9] KIKUCHI T, HASSANEIN M, AMANN J M, et al. In-depth proteomic analysis of nonsmall cell lung cancer to discover molecular targets and candidate biomarkers[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2012, 11(10):916-932.
- [10] KRIEG R C, PAWELETZ C P, LIOTTA L A, et al. Clinical proteomics for cancer biomarker discovery and therapeutic targeting[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2002, 1(4):263-272.
- [11] 刘宁国,陈忆九. MALDI-TOF-MS 成像技术及其在法医损伤标志物筛选中的应用[J]. *法医学杂志*, 2014, 30(5):367-370.
- [12] 任冠恒,翁榕花,施妍,等. MALDI-TOF-IMS 在蛋白质组学研究中的新进展[J]. *法医学杂志*, 2016, 32(2):126-130.
- [13] 陈庆,白洁,张文芳. 应用 iTRAQ-LC-MS/MS 方法筛选大鼠 DAI 后脑组织差异表达蛋白质[J]. *法医学杂志*, 2017, 33(4):348-352.
- [14] KLOSE J. Protein mapping by combined isoelectric focusing and electrophoresis of mouse tissues. A novel approach to testing for induced point mutations in mammals[J]. *Humangenetik*, 1975, 26(3):231-243.
- [15] O'FARRELL P H. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins[J]. *J Biol Chem*, 1975, 250(10):4007-4021.
- [16] UNLU M, MORGAN M E, MINDEN J S. Difference gel electrophoresis: a single gel method for detecting changes in protein extracts[J]. *Electrophoresis*, 1997, 18(11):2071-2077.
- [17] TONGE R, SHAW J, MIDDLETON B, et al. Validation and development of fluorescence two-dimensional differential gel electrophoresis proteomics technology[J]. *Proteomics*, 2001, 1(3):377-396.
- [18] MELEADY P. Two-dimensional gel electrophoresis and 2D-DIGE[J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1664:3-14.
- [19] HERNÁNDEZ C, GARCIA-RAMIREZ M, COLOME N, et al. Identification of new pathogenic candidates for diabetic macular edema using fluorescence-based difference gel electrophoresis analysis[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2013, 29(6):499-506.
- [20] CHO A, NORMILE D. Nobel Prize in chemistry. Mastering macromolecules[J]. *Science*, 2002, 298(5593):527-528.
- [21] INTELICATO-YOUNG J, FOX A. Mass spectrometry and tandem mass spectrometry characterization of protein patterns, protein markers and whole proteomes for pathogenic bacteria[J]. *J Microbiol Methods*, 2013, 92(3):381-386.
- [22] 杨海慧,李秀颖,刘宁. 蛋白质质谱分析技术的研究进展[J]. *智库时代*, 2018(36):239-242.
- [23] 谢增瑞,吴春灵,程相华. 用串联质谱法提高毒鼠强的检测灵敏度[J]. *刑事技术*, 2003(1):24-25.
- [24] MARSHALL E. Hot property: biologists who compute[J]. *Science*, 1996, 272(5269):1730-1732.
- [25] 刘银凤,张雷. 生物信息学数据库在医学研究中的应用[J]. *中国病原生物学杂志*, 2014, 9(10):961-962.
- [26] National Center for Biotechnology Information. Gene Expression Omnibus[EB/OL]. [2018-01-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>.
- [27] ZHU H, SNYDER M. Protein chip technology[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2003, 7(1):55-63.
- [28] STOLL D, BACHMANN J, TEMPLIN M F, et al. Microarray technology: an increasing variety of screening tools for proteomic research[J]. *Drug Discovery Today: TARGETS*, 2004, 3(1):24-31.
- [29] NUERRULA Y, REXIATI M, LIU Q, et al. Differential expression and clinical significance of serum protein among patients with clear-cell renal cell carcinoma[J]. *Cancer Biomark*, 2015, 15(4):485-491.
- [30] SILLETTI E, BULT J H, STIEGER M. Effect of NaCl and sucrose tastants on protein composition of oral fluid analysed by SELDI-TOF-MS[J]. *Arch Oral Biol*, 2012, 57(9):1200-1210.
- [31] ZHAO L, GAO Y, YANG Y, et al. Serum proteomic profiling analysis of chronic arsenic exposure by using SELDI-TOF-MS technology[J]. *Toxicol Lett*, 2010, 195(2-3):155-160.
- [32] 朱军宝,刘步平,张泓,等. 应用蛋白芯片技术筛选针刺对脑缺血再灌注损伤大鼠的凋亡相关蛋白[J]. *中南医学科学杂志*, 2014(3):222-225.
- [33] ROSS P L, HUANG Y N, MARCHESE J N, et

- al. Multiplexed protein quantitation in *Saccharomyces cerevisiae* using amine-reactive isobaric tagging reagents[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2004, 3(12): 1154-1169.
- [34] HERGENROEDER G, REDELL J B, MOORE A N, et al. Identification of serum biomarkers in brain-injured adults: potential for predicting elevated intracranial pressure[J]. *J Neurotrauma*, 2008, 25(2): 79-93.
- [35] KIKUCHI K, KAWAHARA K I, BISWAS K K, et al. HMGB1: a new marker for estimation of the postmortem interval[J]. *Exp Ther Med*, 2010, 1(1): 109-111.
- [36] PARMAR A K, MENON S K. Estimation of postmortem interval through albumin in CSF by simple dye binding method[J]. *Sci Justice*, 2015, 55(6): 388-393.
- [37] 齐麟, 李伟. 人微管蛋白抗体的制备及其用于死亡时间推断的价值[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2015(6): 857-860.
- [38] HUNSUCKER S W, SOLOMON B, GAWRYLUK J, et al. Assessment of post-mortem-induced changes to the mouse brain proteome[J]. *J Neurochem*, 2008, 105(3): 725-737.
- [39] FOUNTOULAKIS M, HARDMEIER R, HOGER H, et al. Postmortem changes in the level of brain proteins[J]. *Exp Neurol*, 2001, 167(1): 86-94.
- [40] KWAK J, KIM H K, KIM K, et al. Proteomic evaluation of biomarkers to determine the postmortem interval[J]. *Anal Lett*, 2017, 50(1): 207-218.
- [41] TAVICHAKORNTRAKOOL R, PRASONGWATTANA V, SRIBOONLUE P, et al. Serial analyses of postmortem changes in human skeletal muscle: a case study of alterations in proteome profile, histology, electrolyte contents, water composition, and enzyme activity[J]. *Proteomics Clin Appl*, 2008, 2(9): 1255-1264.
- [42] ZHANG P, ZHU S, LI Y, et al. Quantitative proteomics analysis to identify diffuse axonal injury biomarkers in rats using iTRAQ coupled LC-MS/MS[J]. *J Proteomics*, 2016, 133: 93-99.
- [43] DAMMEIER S, NAHNSEN S, VEIT J, et al. Mass-spectrometry-based proteomics reveals organ-specific expression patterns to be used as forensic evidence[J]. *J Proteome Res*, 2016, 15(1): 182-192.
- [44] ECKHARDT A, KULHAVA L, MIKSIK I, et al. Proteomic analysis of cardiac ventricles: baso-apical differences[J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, 445(1-2): 211-219.
- [45] LIN L, LI H, LIN H, et al. Application of iTRAQ-based quantitative proteomics approach to identify deregulated proteins associated with liver toxicity induced by *Polygonum multiflorum* in rats[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(5): 2102-2116.
- [46] VAHDATI H F, ABNOUS K, MEHRI S, et al. Proteomics and phosphoproteomics analysis of liver in male rats exposed to bisphenol A: mechanism of hepatotoxicity and biomarker discovery[J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 112: 26-38.

(收稿日期: 2018-01-23)

(本文编辑: 邹冬华)