

## 秀丽线虫野生株系和缺氧敏感株系的差异蛋白质组学研究

李华玲<sup>1,2)</sup>, 陈文飞<sup>1)</sup>, 陈欣虹<sup>1)</sup>, 周晓霞<sup>1)</sup>, 张成岗<sup>2)</sup>

(1) 扬州大学医学院, 江苏 扬州 225001; 2) 军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 蛋白质组学国家重点实验室, 北京 100850)

**[摘要]** **目的** 研究秀丽线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 野生株系 N2 和缺氧敏感株系 (ia04) 的差异蛋白质, 为进行线虫在缺氧环境下的应答机制研究奠定基础. **方法** 同步化培养 2 种株系的线虫, 培养至 L4 期时, 常规方法提取总蛋白, 采用双向电泳分离和串联质谱分析, 搜索 Swiss-Prot 线虫数据库, 鉴定蛋白种类并根据基因本体论 (gene ontology, GO) 进行分析. **结果** 质谱成功鉴定了其中的 25 个差异显著蛋白 (ratio > 2.0,  $P < 0.05$ ), 其中 N2 株系检测到的表达量比 ia04 株系高的主要是热休克蛋白 (HSP-70, HSP-60)、GTP 结合蛋白 (TAG-210)、乙酰辅酶 A 脱氢酶中链 (GN=T); ia04 株系检测到的表达量比 N2 高的是延伸因子 (EFT-3) 和铁硫蛋白 -1 (ISP-1), 在 ia04 株系中, HSP 的含量明显低于 N2 株系, 说明这可能是 ia04 株系对缺氧敏感的原因之一. 根据 GO 注释结果发现, 鉴定到的这些差异蛋白与线虫的 DNA 合成及生长发育的相关性较大. **结论** 蛋白质组学的方法为线虫缺氧的研究提供了有参考价值的数据, 不同株系差异蛋白的发现可促进对缺氧应答机制的了解, 且可从蛋白质水平揭示重要表型的基因表达机制.

**[关键词]** 秀丽线虫; 缺氧敏感株系 (ia04); 蛋白质组学; 热休克蛋白

**[中图分类号]** Q816 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2012) 10 - 0004 - 06

## Proteomic Studies of Wild Type N2 and Hypoxia-sensitivity Strain (ia04) in *Caenorhabditis Elegans*

LI Hua - ling<sup>1,2)</sup>, CHEN Wen - fei<sup>1)</sup>, CHEN Xin - hong<sup>1)</sup>, ZHOU Xiao - xia<sup>1)</sup>, ZHANG Cheng - gang<sup>2)</sup>

(1) Medical College of Yangzhou University, Yangzhou Jiangsu 225001; 2) State Key Laboratory of Proteomics, Beijing Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Military Medical Science, Beijing 100850, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the different proteins between wild type N2 and hypoxia-sensitivity strain (ia04) and lay the foundation for studying the response mechanism of *C.elegans* during hypoxia. **Methods** The worms of two strains were cultured synchronously to L4 stage. Then the total proteins were extracted by using routine method. After that, two-dimensional electrophoresis was performed and the selected protein spots were then identified by MALDI/TOF/TOF tandem mass spectrometry and search the Swiss-Prot database. Go term (Gene Ontology) analysis was also performed. **Results** Twenty-five significantly different spots were finally identified by MS (ratio > 2.0,  $P < 0.05$ ). The expression levels of main proteins identified in N2 were higher than those in ie04 strain: heat shock proteins (HSP-70 and HEP-60), Putative GTP-binding protein (TAG-210), Probable medium-chain specific acyl-CoA dehydrogenase (GN = T). The expression levels of main proteins identified in ie04 strain were higher than those in N2 strain: Elongation factor-1 alpha (EFT-3) and Iron-sulfur protein (ISP-1). The expression level of HSP in ie04 strain was obviously lower than in N2 strain, it may be the one reason why worms of ie04 strain were sensitivity to hypoxia. According to the Go term, most proteins identified were related to the development and DNA synthesis of *C. elegans*. **Conclusions** Proteomic research can offer the valuable reference data to study the hypoxia in *C. elegans*. Different proteins found in different strains may promote

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (81100862)

**[作者简介]** 李华玲 (1971 ~), 女, 江苏扬州市人, 医学博士, 讲师, 主要从事缺氧的分子机制研究工作.

the understanding of the hypoxia responsive mechanism and uncover the mechanism of important phenotype gene expression at the protein level.

[Key words] *C.elegans*; Hypoxia-sensitivity strain; Proteomics; Heat-shock protein

秀丽线虫 (*C.elegans*) 作为重要的模式生物在生命科学的发展过程中发挥着举足轻重的作用, 在不同的环境下, 对线虫已经进行了基因水平的大规模分析, 而对线虫进行蛋白质组学的分析会加深对它的了解. 已有研究报道线虫是研究蛋白质组学的一个很好的模式生物, 并有完整的技术路线. 大规模分析线虫在特定生理条件时蛋白质表达谱已被证明是一种具有优势的技术策略. 近年来, 线虫已被广泛用于与人类神经疾病相关的蛋白质研究中, 如阿尔茨海默病、帕金森病、衰老、缺氧等的研究<sup>[1-4]</sup>.

缺氧同样能够引起秀丽线虫发生相应的生理和行为学变化, 并可保护机体免受缺氧损伤. 研究表明秀丽线虫的缺氧应答通路和人类的相关通路之间具有高度的保守性, 缺氧也可启动线虫一系列细胞应答 (*hif-1* 通路) 以减轻缺氧造成的损伤, 更重要的是, 其神经系统的基本结构和人类有高度保守性, 如突触蛋白、离子通道、神经递质等. 大量研究表明秀丽线虫的缺氧诱导因子无论在结构和功能上都与人类具有高度保守性<sup>[5]</sup>.

Powell-Coffman 实验室报道秀丽线虫的 *hif-1* 基因是哺乳动物 *hif-1*  $\alpha$  亚基的同源基因, *hif-1* 的功能缺失突变体可导致秀丽线虫丧失抗低氧损伤能力<sup>[6]</sup>. 因此, 秀丽线虫已经成为低氧损伤的重要模式生物, 可望为阐明细胞或动物的缺氧应答通路提出新的思路和研究路线.

已有研究还运用全基因组芯片技术大规模筛选缺氧应答反应基因, 对线虫的不同株系抗缺氧损伤及其通路也有所研究和发现, 但与缺氧有关的线虫蛋白质方面的报道还不多, 其相应的分子机理更尚未阐明. 因此完全可以利用线虫为模式生物, 通过高通量的蛋白质组学技术筛选变化的蛋白质, 更进一步揭示缺氧应答通路的分子机制. 本实验室已获得 *hif-1* 突变的缺氧敏感株系 (*ia04*), 基于此, 本研究对线虫的野生株系 N2 和 *hif-1* 突变株系 (*ia04*) 的 L4 期蛋白质样品通过二维电泳和质谱法进行了差异蛋白表达谱的研究分析, 为研究哺乳动物的低氧信号通路和应答方面提供有价值的线索, 同时丰富线虫的蛋白质数据库, 并将为解析动物及人体体内缺氧相关疾病的分子机制提供新科学依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 线虫来源** 野生型秀丽线虫 N2 和 *hif-1* 突变株系 (*ia4*) 购自美国秀丽线虫遗传中心 (Caenorhabditis Genetics Center). 大肠杆菌 OP50 (Streptomycin<sup>+</sup>) 由日本东京女子大学三谷昌平惠赠.

**1.1.2 试剂及器材** 丙烯酰胺、N, N'-甲叉双丙烯酰胺、Tris 碱、甘氨酸、SDS、过硫酸铵、CHAPS、尿素、硫脲购自 Sigma 公司; 碘乙酰胺、TEMED 购自 Fluka 公司; 胰蛋白酶、三氟乙酸 (TFA)、乙腈等购自 Bio-Rad 公司; IPG 干胶条、Pharmalyte™、IPG buffer 和 IPG 矿物油、IPG 胶槽清洁液购自 GE healthcare; 蛋白酶抑制剂 cocktail 为 Roche 产品. 硫酸链霉素、次氯酸钠等其它试剂均为国产分析纯.

双向电泳仪 Ettan™ IPGphor™ II IEF System & Ettan™ DALTsix Large Vertical System 和扫描仪 ImageScanner (Amersham), 质谱仪 (ABI 4800 TOF TOF), 2-D Quant Kit (Ettan™ Sample Preparation Kits and PlusOne™ Reagents) (Amersham Biosciences), 体式显微镜 (Nikon).

### 1.2 方法

**1.2.1 提取线虫蛋白质** 线虫按标准的程序培养在 NGM 的 9 cm 的培养皿内, 以大肠杆菌 OP50 为食物, 当线虫野生株系 N2 和缺氧敏感的株系 (*hif-1* 缺失) 有卵时同时进行同步化处理 (次氯酸钠、氢氧化钠), 同步化培养后的虫卵在 20 °C 下 16 h 后, 转移到含有 OP50 的 NGM 培养基中培养 (20 °C), 在 L4 期时经 M9 (3 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 6 g/L NaCl, 10 mM MgSO<sub>4</sub>) 缓冲液洗脱后移入 EP 管中, 清洗至液体透明时提取蛋白质. 先加入等体积的裂解液 [7 M 尿素, 2M 硫脲, 4% (W/V) CHAPS, 60 mM DTT, 1% (V/V) 蛋白酶抑制剂], 混匀后在液氮中反复冻融 2 次, 并将线虫磨成细粉, 收集到 EP 管中, 匀浆液再经冰浴超声处理, 最后冷冻离心 (13 000 r/min, 30 min, 4 °C), 取上清液作为蛋白样品, 蛋白质的浓度用 2D-定量试剂盒 (GE Healthcare) 测定.

**1.2.2 双向电泳** 参照 Bio-Rad 双向电泳使用手册操作。采用胶内加样，将 100  $\mu\text{g}$  总蛋白与重水化液 7 mol/L 尿素 2% CHAPS、60 mmol/L DTT 和 0.5% (体积比) 两性电解质 PharmalyteTM3-10 混合，终体积 375  $\mu\text{L}$ 。将 IPG 干胶条胶面向下放入胶槽，覆盖一层矿物油，置于 IPGphor 等电聚焦仪电极板上，20  $^{\circ}\text{C}$  重水化和等电聚焦，总电压时间积 60 kVh，将聚焦后的胶条在含 1% DTT 的平衡液 2% SDS，50 mmol/L Tris-HCl pH 8.8，6 mol/L 尿素，30% (体积比) 甘油中平衡 15 min，再于含 2.5% 碘乙酰胺的平衡液中平衡 15 min 后，将胶条移至 0.75 cm 厚、12% SDS 均匀胶上端，用 0.5% 琼脂糖封胶进行电泳。电泳条件设置为恒定电流 20 mA/胶，30 min 后改为恒定电流 30 mA/胶，电泳至指示剂溴酚蓝前沿达胶底线，然后进行考马斯亮蓝染色，以备鉴定。

**1.2.3 图像分析** 用 ImageScanner (Amersham

Biosciences) 扫描仪扫描胶图，扫描软件: LabScan (Version 3.01, Amersham pharmacia biotech)。参数: 透射式 (transmissive); 分辨率: 300 dpi。用 ImageMaster™ 5.0 分析软件对图像进行分析，包括背景消减、斑点自动检测、匹配等。自动检测后在多窗口下进行人工编辑，除去杂质造成的假点、杂点、误配的点等。自动进行差异点的统计学分析，选取差异点的原则是:  $t$ -test 计算所得  $P < 0.05$ , volume ratio  $> 2.0$ 。

**1.2.4 质谱鉴定、数据库搜索** 胶内酶切: 用解剖刀切除胶上待鉴定的蛋白点 (1 ~ 2  $\text{mm}^2$  大小) 置离心管中，加入 100  $\mu\text{L}$  脱色液 (乙腈: 50 mmol/L  $\text{NH}_4\text{HCO}_3=1:1$ ) 浸泡并振荡，重复此步骤至蓝色褪尽，真空干燥，加入 15  $\mu\text{L}$  胰蛋白酶液 (0.01  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )，4  $^{\circ}\text{C}$  放置 30 min，待被胶块吸收后，补充酶解缓冲液 (25 mmol/L  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ )，使胶完全浸没，37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 16 h 过夜。向胶块中加入 100  $\mu\text{L}$

表 1 经质谱鉴定得到的线虫野生型 N2 株系和缺氧敏感的株系 ia04 的差异表达蛋白

Tab. 1 List of differentially expressed proteins in wild type N2 and hypoxia sensitivity ia04 strains respectively, identified through peptide mass fingerprint

差异点编号	蛋白质名称	SP 名称	理论分子量	理论等电点	株系 (倍数)	分值
766	热休克蛋白 70 kDa Hsp-3	P27420	72979	4.95	N2(2.59)	106
803	未知蛋白 C52b9.8	Q22944	156032	8.73	N2	57
827	分子伴侣 Hsp-60 线粒体	P50140	60064	5.31	N2(4.06)	59
955	蛋白 unc-87 的异构体 c	P37806	60409	9.07	N2(1.875)	84
987	GTP 结合蛋白 tag-210	P91917	44323	6.44	N2(2.38)	103
1032	酰基 CoA 脱氢酶 GN=T	Q22347	44790	8.37	N2(1.69)	80
1048	精氨酸激酶 a F46H5.3	Q10454	44140	6.84	N2	62
1080	肌动蛋白 4 act-4	Q6A8K1	40400	5.56	N2	70
1081	未知蛋白 C16a3.10	Q8MNV6	39024	8.70	N2	57
1093	乙醇脱氢酶 1. sodh-1	Q17334	37672	6.07	N2	137
1097	蛋白质 C31C9.2	O17626	34670	6.34	N2	78
1106	40S 核糖体蛋白 Rps-0	P46769	30684	5.49	N2	252
1143	未知蛋白 K08d9.4	Q9TXN5	37837	9.72	N2(2.05)	60
1255	蛋白质 R01E6.3a Cah-4	Q21614	31333	9.09	N2	177
1322	Fk506- 结合蛋白家族 5 Fkb-5	Q95Q60	34139	7.59	N2(1.93)	86
1399	延伸因子 2 eft-2	P29691	94735	6.10	N2	65
1010	蛋白质 F44A6.1a Nuch-1	Q20384	53158	4.84	ia04(1.719)	76
1030	腺苷三磷酸酶亚基 A vha-13	Q9XW92	66418	5.09	ia04	101
1197	延伸因子 1 Eft-3	P53013	50636	9.07	ia04(1.78)	165
1208	蛋白质 T24B8.4	Q22715	93755	9.89	ia04	57
1307	肌钙蛋白 T mup-2	Q27371	47013	4.97	ia04	59
1424	蛋白质 ZK829.4	Q23621	58758	6.90	ia04(1.8)	395
1474	原肌球蛋白 e lev-11	Q27249_1	29614	4.72	ia04	166
1623	铁-硫蛋白 1 isp-1	O44512	29691	8.81	ia04(3.83)	271
1833	蛋白质 Y62E10A.1 rla-2	Q9U1X9	10865	4.46	ia04	495

提取液 I (5%三氟乙酸 TFA), 40 °C 水浴 1 h, 收集上清, 再加入 100  $\mu$ L 提取液 II (50%乙腈, 2.5% TFA), 30 °C 水浴 1 h, 收集上清. 合并上清, 真空干燥, 质谱分析.

质谱鉴定: 采用串联飞行质谱仪 4800 TOF TOF 获取肽片段序列, 使用正反射模式, 一级平均 1 500 次激光打靶结果, 二级平均 3 000 次. 使用 4 800 校准混合物为外标校靶, mass tolerance 在 0.1 Da 以内. 对质量范围为 600 ~ 4 000 Da、最小信噪比 (S/N) 为 15 的母离子峰进行串联 TOF/TOF 分析. MS 和 MS/MS 结果联合查询线虫数据库, Total score > 64 并且至少有一个肽段匹配 (best ion score > 30) 的结果被接受. 检索参数见表 1.

**1.2.5 基因本体论 (gene ontology, GO) 功能注释** 首先在用 EBI-EMBL 的 dbfetch 检索质谱获得的蛋白质, 得到和 Swiss-Prot、Pfam、NCBI nr、SuperFamily 数据库等的交叉注释信息. 登录 <http://www.geneontology.org>, 输入对应的序列号, 即可得到注释信息. 基于 GO 分析进行蛋白功能分类.

2 结果

## 2 结果

### 2.1 线虫野生型 N2 株系和缺氧敏感株系 hif-1 (ia04) L4 期总蛋白双向电泳图谱

本研究同时大规模培养 2 种株系线虫, 至成虫有卵时同步化处理, 16 h 幼虫出来, 移入 NGM 培养皿中至生长到 L4 期, 然后同时提取蛋白质并定量后, 进行双向电泳, 每个样品重复跑 3 块胶, 共 6 块胶一起进行电泳, 这样尽可能减少误差, 建立了分辨率较高、重复性较好的 (匹配率 > 85%) 线虫蛋白质的二维电泳图谱 (见图 1).

经过考马斯亮蓝染色, 扫描图像保存后, 对电泳图谱用 ImageMaster™ 5.0 软件分析, 在野生型 N2 株系的双向凝胶图上共检测到约 1 500 个蛋白点,

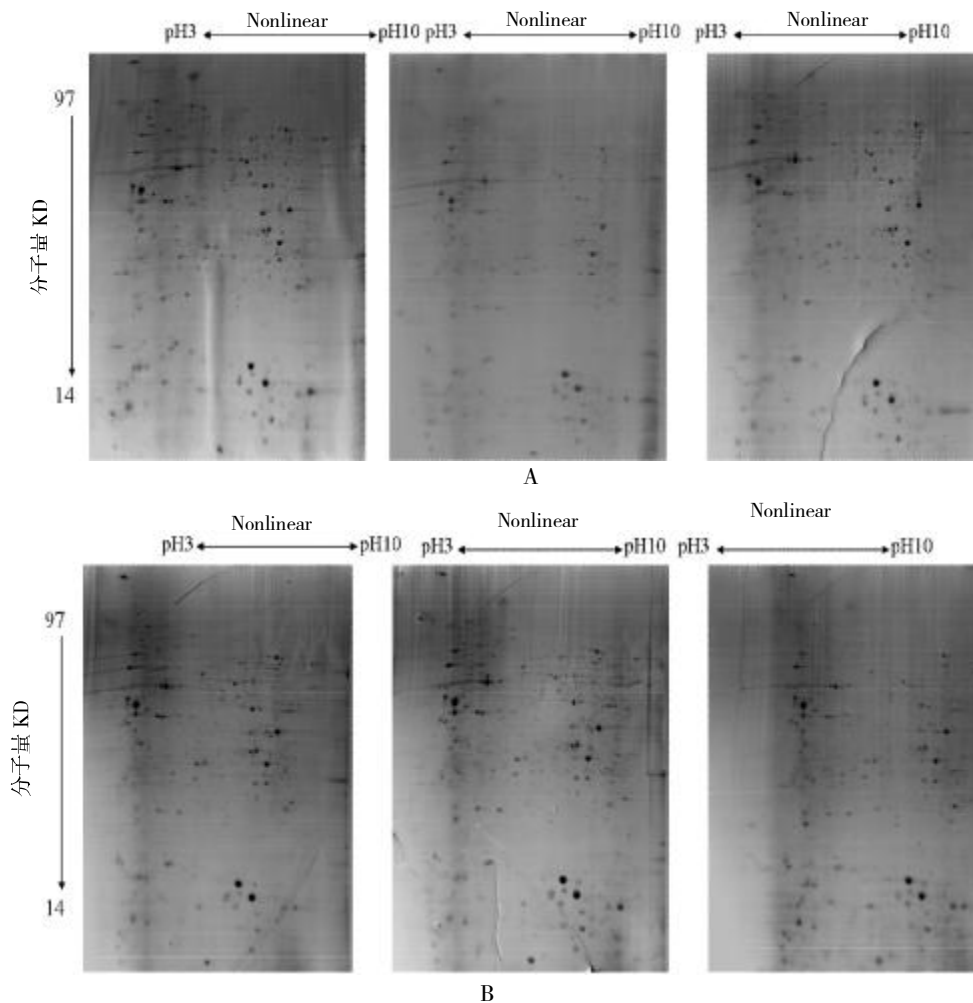


图 1 线虫蛋白质的 2D 图, 蛋白质样品(1 mg) 从 L4 期提取

Fig. 1 2-D maps of *C. elegans* proteins. Protein samples (1mg) extracted from L4 stage

A:野生型株系 N2; B:缺氧敏感的株系 ia04. 各重复 3 次, 匹配率 > 85%. 使用 18 cm pH 3 ~ 10 非线性 IPG 胶条对蛋白质样品进行等电聚焦分离, 然后用 12.5%的 SDS-PAGE 进行二向分离.

在缺氧敏感的株系共检测到约 1 700 个蛋白点。

## 2.2 鉴定蛋白点的选择

分析结果显示, 在 N2 株系中表达而在 hif-1 突变的株系中检测不到的蛋白质有 43 个, 而表达差异倍数在 2.0 倍以上的有 16 个; 在 hif-1 突变的株系中表达而在 N2 株系中检测不到的蛋白质有 61

个。另外, 在 2 个株系都有而且表达差异倍数在 2.0 倍以上的点有 19 个, 并呈统计学显著差异 ( $P < 0.05$ )。结合胶图上每个点的位置和形状, 选取每个株系各自特有的差异点和变化大于 2.0 倍以上的共计 65 个点, 对这些差异表达蛋白质点进行质谱分析。

表 2 质谱鉴定蛋白质的基因本体论分析

Tab. 2 Go analysis of proteins identified through peptide mass fingerprint

GO 注册号	GO 注释	蛋白质数目	百分数 (%)	P
GO:0044249	细胞生物合成过程	6	17.65	0.009 181
GO:0009790	胚胎发育	12	35.29	0.017 014
GO:0048513	器官发育	6	17.65	0.017 816
GO:0048731	系统发展	6	17.65	0.023 849
GO:0009791	胚胎后期发育	9	26.47	0.025 673
GO:0007548	性分化	5	14.71	0.039 939
GO:0009792	出生前发育	11	32.35	0.040 635
GO:0003006	生殖进化过程	5	14.71	0.044 406
GO:0044444	细胞质部分	8	23.53	0.003 215
GO:0044424	细胞内部分	15	44.12	0.003 900
GO:0005622	细胞内	16	47.06	0.007 311
GO:0043229	细胞器	13	38.24	0.009 043
GO:0005737	细胞质	9	26.47	0.011 101
GO:0043232	细胞内非膜结合的器官	6	17.65	0.022 646
GO:0017076	嘌呤核苷酸结合	18	52.94	0.001 83
GO:0032553	核苷酸结合	17	50.00	0.009 73
GO:0016817	水解酶类	7	20.59	0.007 10
GO:0008026	ATP- 依赖的解链酶活性	4	11.76	0.001 081
GO:0003746	翻译延长因子 t	2	5.88	0.041 699

## 2.3 差异表达蛋白质点的质谱鉴定

用刀片在考染胶上切取对应的点进行胶内酶解后经 MALDI-TOF-TOF 质谱 (ABI-4800 型) 分析得到肽片段串联图谱后, 查询 Swiss-Prot 线虫数据库, 对于所选的 65 个蛋白点, 最终通过质谱成功鉴定了 25 个差异显著蛋白, 蛋白鉴定情况见表 1, 16 个蛋白是 N2 株系中检测到的, 其中表达上调的有 7 个: FKB-5, K08D9.4, TAG-210, UNC-87, HSP-60, GN=T 和 HSP-3; 缺氧敏感的株系 ia04 中检测到的蛋白质有 9 个, 其中表达上调的有 4 个: NUCB-1, EFT-3, ZK829.4 和 ISP-1。

## 3 讨论

为了对所鉴定的蛋白质进行功能分析, 首先基

于基因本体论对差异表达蛋白进行功能注释<sup>[7]</sup>。提交的 25 个蛋白有 19 个输出, 表 2 为鉴定蛋白质的 GO 分析, 列出了 GO 注册号、GO 注释术语、包含的蛋白数目、所占的百分比和概率 (与蛋白质组数据相关的基因功能分类在数据库共同出现的概率)。可以发现最大数目的蛋白质包括胚胎发育 (35.29%)、细胞内部 (47.06%)、嘌呤核苷酸结合 (52.94%)、脱氧核苷酸结合 (50.00%) 以及细胞质膜 (26.47%) 相关的蛋白等, 表明鉴定到的差异蛋白与线虫的生长发育, DNA 合成的相关性较大。

除了一些目前还没有明确解释的转录本外, N2 株系中鉴定的蛋白是细胞骨架蛋白 (ACT-4)、脱氢酶 (SODH-1)、激酶 (F46H5.3)、核糖体 (RPS-0)、延伸因子 (EFT-2); N2 株系中蛋白表达量比 ia04 株系高的主要是热休克蛋白 (HSP-70, HSP-60)、GTP 结合蛋白 (TAG-210)、乙酰辅酶 A

脱氢酶中链蛋白 (GN=T); ia04 株系中鉴定的蛋白是 V 形 ATP 酶催化亚基 A (VHA-3) 和原肌球蛋白异构体 C (LEV-11); ia04 株系中蛋白表达量比 N2 高的是延伸因子 (EFT-3) 和铁硫蛋白 -1 (ISP-1)。热休克蛋白 (HSP) 在不同物种中都被公认是应激蛋白, 而在 ia04 株系中, HSP 的含量明显低于 N2 株系, 这可能是 ia04 株系对缺氧敏感的原因之一。

HSP 家族广泛存在于从原核生物到人的整个生物界, 结构上具有高度保守性, 有普遍的生物学意义<sup>[8]</sup>。HSP 也是伴侣蛋白, 其作用是与新合成、未折叠、错折叠或聚集的蛋白质结合, 使某些蛋白质聚集体解离, 加速正确的肽链折叠和重折叠; 维持某些肽链的伸展状态以利其跨膜转位, 在线粒体、内质网等不同的区域内发挥作用<sup>[9]</sup>; 同时还促进某些变性蛋白的降解和清除; 重新激活某些酶的作用, 以维护细胞的功能和生存<sup>[10]</sup>。HSP 被诱导产生的因素很多, 包括缺血、缺氧、高温等刺激。它的诱导表达作为一种对外界应激的保护性反应, 可帮助细胞维持代谢、结构完整, 被认为是保护细胞、对抗损伤的主要蛋白质, 在线虫 ia04 株系中, HSP 的含量明显降低, 说明在 *hif-1* 突变时, 对 HSP 蛋白的影响很大。

N2 株系中 GTP 结合蛋白 (TAG-210)、乙酰辅酶 A 脱氢酶中链蛋白 (GN=T)、激酶 (F46H5.3) 都有助于能量的产生, 供机体在应激时利用, 而在线虫 ia04 株系中, 能量的供应也明显不足, 从而表现出缺氧敏感的特性。

综上所述, 本研究建立了稳定的技术体系, 首次对线虫野生株系 N2 和缺氧敏感株系 ia04 进行了蛋白质表达谱的研究, 发现了主要的差异蛋白质, 但这只是与缺氧相关研究的一小部分, 本实验室将继续对不同株系之间的差别进行分析, 如对线虫 N2 株系和缺氧耐受株系 *daf-2* (e1370) 的研究。

## [参考文献]

- [1] VON STETINA S E, WATSON J D, FOX R M, et al. Cell-specific microarray profiling experiments reveal a comprehensive picture of gene expression in the *C. elegans* nervous system[J]. *Genome Biol*, 2007, 8(7):135.
- [2] BOYD-KIMBALL D, POON H F, LYNN B C, et al. Proteomic identification of proteins specifically oxidized in *Caenorhabditis elegans* expressing human Aβ(1-42): implications for Alzheimer's disease[J]. *Neurobiol Aging*, 2006, 27(9):1 239 - 1 249.
- [3] DONG M Q, VENABLE J D, AU N, et al. Quantitative mass spectrometry identifies insulin signaling targets in *C. elegans*[J]. *Science*, 2007, 317(5 838):660 - 663.
- [4] LI H, REN C, SHI J, et al. A proteomic view of *Caenorhabditis elegans* caused by short-term hypoxic stress [J]. *Proteome Sci*, 2010, 8:49.
- [5] SHEN C, NETTLETON D, JIANG M, et al. Roles of the HIF-1 hypoxia-inducible factor during hypoxia response in *Caenorhabditis elegans*[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(21): 20 580 - 20 588.
- [6] JIANG H, GUO R, POWELL-COFFMAN J A. The *Caenorhabditis elegans* *hif-1* gene encodes a bHLH-PAS protein that is required for adaptation to hypoxia[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(14):7 916 - 7 921.
- [7] ZHU H, BILGIN M, BANGHAM R, et al. Global analysis of protein activities using proteome chips [J]. *Science*, 2001, 293(5 537):2 101 - 2 105.
- [8] TUTAR L, TUTAR Y. Heat shock proteins; an overview [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2010, 11(2):216 - 222.
- [9] SHIRASU K. The HSP90-SGT1 chaperone complex for NLR immune sensors [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2009, 60: 139 - 164.
- [10] CANDIDO E P. The small heat shock proteins of the nematode *Caenorhabditis elegans*: structure, regulation and biology[J]. *Prog Mol Subcell Biol*, 2002, 28:61 - 78.

(2012-07-07 收稿)