

# 应用 DeCyder 2-D 和 DeCyder EDA 对番茄果实成熟过程进行分析

C. Rozanas<sup>1</sup>, J. K. C. Rose<sup>2</sup>, and P. Beckett<sup>1</sup>

<sup>1</sup> GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA

<sup>2</sup> Department of Plant Biology, Cornell University, Ithaca, NY, USA

番茄果实成熟过程中蛋白质种群发生的变化之前已经采用 2-D 荧光差异凝胶电泳 (2D-DIGE) 和 DeCyder 2-D 差异分析软件进行过分析。在 DeCyder 扩展数据分析软件上市后, 我们希望对这些数据再次分析, 观察能否寻找到更多感兴趣蛋白质。采用 DeCyder EDA 对果实成熟的不同时期中表达水平具有显著差异的蛋白质点进行聚类和分析。DeCyder EDA 软件对 2-D DIGE 数据的无尽分析能力使得我们有可能从先前运行的胶图中鉴定得到更多具有生物学意义的蛋白质或是蛋白质群。

## 介绍

果实成熟是一个高度复杂的过程, 对于人类健康和营养十分重要, 同时也吸引了农业和植物代谢等多方面研究者的目光。然而对于果实成熟相关的颜色变化, 口感, 香味, 结构和营养情况有重要贡献的很多生化通路仍然没有被认知。

番茄是一个研究肉质果实成熟过程的绝佳模型系统。通过对成熟阻断的几个突变体的鉴定已经提供了了解成熟过程中调节方式的契机。到目前为止, 已经采用芯片表达谱技术对正常成熟和突变番茄果实中的这些过程进行了验证<sup>(1)</sup>。但对于相关的蛋白质组却知之甚少。为了回应这个问题, 我们采用 2D-DIGE 技术, 对来源于正常成熟和成熟抑制的番茄果实(rin)的蛋白种群进行了比较, 成熟抑制的番茄成熟过程中缺乏很多与成熟相关的事件。之前的研究是用早期版本的 DeCyder 2-D 来完成这个分析过程<sup>(2)</sup>。在 DeCyder EDA 推出之后, 我们决定用新软件来对数据再次分析来进一步评估软件的潜能。

## 方法

之前的研究中, 我们比较了三个来源于番茄果实蛋白质抽提物的样本组: 一组是到期的青果而成熟过程即将开始的样品 (MG), 一组已经开始成熟的果实样品 (BR) 和一组在 BR 同期发生突变的果实样品 (rin)。样本分别用 Cy3 或 Cy5 标记。每张胶含有 Cy2 标记的一个内标 (MG, BR 和 rin 等量混合) 样本, 并与每两个标记好的样本混合。等电聚焦采用梯度为 pH4-7 的固相干胶条, Ettan™IPGphor 等电聚焦系统, 第二相电泳

采用低荧光玻板制备 12.5% SDS-PAGE, Ettan DALTsix 大型垂直电泳系统。采用 Typhoon9400 扫描仪扫描凝胶, 凝胶图像采用 DeCyder 2-D v5.01 分析。使用 DeCyder 2-D v6.5 软件中的输入向导将 v5.01 的分析结果轻松导入。然后, 用 DeCyder EDA v1.0 对这些数据进行分析, 创建了基于 12 张点图包含 801 个点的基础数据组。经过差异分析并以一元方差分析  $p < 0.05$  的标准筛选, 将三个实验组的基础数据组减少到 300 个蛋白点。

## 结果和讨论

将 DeCyder EDA 中基础数据组包含的 801 个蛋白点, 经过基于一元方差分析  $p < 0.05$  标准的筛选剩下的 300 个点构成的数据组作为分析对象, 采用主成份分析法 (图 1), 可很容易区分这三个实验组。同时聚类分析 (图 2) 显示每个实验组内的重复样本具有很好的相关性。蛋白表达上, MG 组和 BR 组十分相似而成熟抑制组则明显不同。同时我们也检测了判别分析的潜能。选用偏小二乘法分析方法作为搜索方法和校准判别分析作为分析方法, 确定有 20 个点构成的一组点被作为潜在标志物, 将这些标志物作为一个分类基准对三个实验组的数据进行分类, 可以得到 100% 的准确率。(图 3)

## 结论

采用 DeCyder EDA 软件对先前 2D-DIGE 凝胶数据组进行再次分析, 能提取到更多的潜在相关信息。该研究中, 考察了三个在发育上完全不同的番茄果实样本。DeCyder EDA 可以非常好的链接所有数据, 找出可以区分这些样本的标志物。这些信息对于正在进行的番茄以及其他植物的研究具有一定的价值。

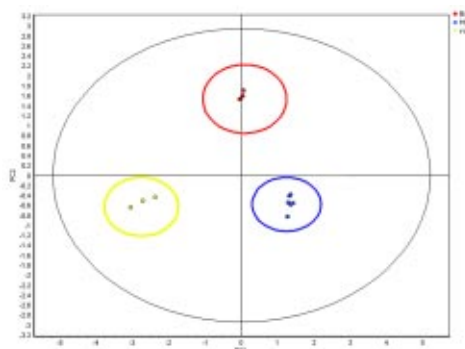


图 1. 对三个实验组进行主成分分析 (红色 - BR, 蓝色 - MG, 黄色 - rin)

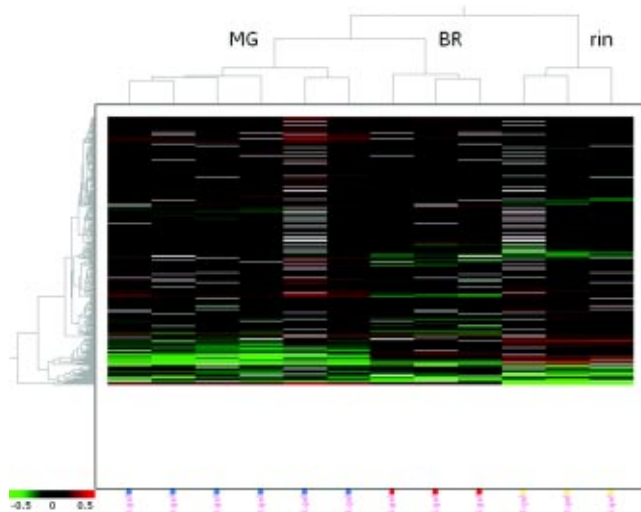


图 2. 蛋白质 (Y 轴) 相对于点图 (X 轴) 的系统聚类分析结果

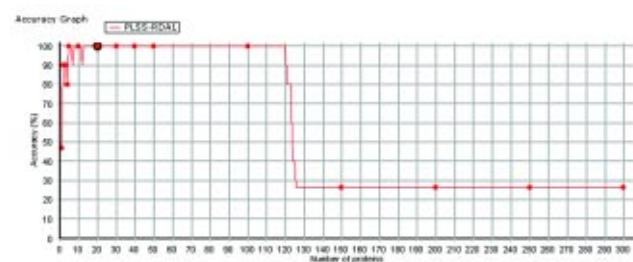


图 3. 番茄样本数据的判别分析图, 选择了 20 个标志蛋白作为一个分类基准

### 参考文献

1. Alba, R. et al. Transcriptome and selected metabolite analyses reveal multiple points of ethylene control during tomato fruit development. *ThePlant Cell* 17, 2954-2965 (2005).
2. Rozanas, C. R. et al. Protein expression changes during tomato fruit ripening determined using Difference In-gel Electrophoresis (DIGE) and Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry (MALDIToF), in Abstracts of the 50th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics 2002, American Society for Mass Spectrometry, New York, abstr. TPD 078, p. S39 (2002).

### 订购资料

产品	货号
DeCyder Extended Data Analysis Software, one network user license	28-4012-03
DeCyder Extended Data Analysis Software, four additional network user licenses	28-4012-05