

# 研究生《蛋白质组学》样品制备与分离的教学探索

颜玉蓉 周兰 丁世家 邱宗荫

**【摘要】** 样品制备与分离是蛋白质组学研究中非常关键和复杂的过程。为了提高医学研究生《蛋白质组学》教学中样品制备与分离的课堂教学质量,使其能够更好地掌握样品制备与分离的原则、技术和策略,达到培养和提高其科研能力的目的,根据学校和学生的实际情况,进行教学探索。

**【关键词】** 蛋白质组学; 样品制备; 分离; 教学

**Teaching exploration of sample preparation and separation in proteomics course for postgraduates** YAN Yu-rong, ZHOU Lan, DING Shi-jia, QIU Zong-yin. College of Laboratory Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Corresponding author: YAN Yu-rong, Email: yanyurong1@sina.com

**【Abstract】** Sample preparation and separation is a very crucial and complicated process in proteomics research. Based on the actual condition of university and students, this article explored the way to improve the teaching quality of sample preparation and separation in proteomics course for medical postgraduates aiming at cultivating and enhancing the students' scientific thought, making them have a better understanding of the rules, technologies, strategies in sample preparation and separation procedure.

**【Key words】** Proteomics; Sample preparation; Separation; Teaching

蛋白质组学(proteomics)是一门交叉性学科,在医学和生物学等多个领域都有广泛的应用<sup>[1]</sup>。重庆医科大学从 2008 年开始,将原来面对硕士研究生、博士研究生开设的关于蛋白质组学研究的系列学术讲座,正式改为医学硕士研究生的专业必修课《蛋白质组学》,建立比较完整、合理的讲授蛋白质组学知识的教学体系。随着生命科学尤其是系统生物学的迅速发展,蛋白质组学的重要性更为突出。在几年的教学实践过程中,授课教师不断完善、更新教学内容,改进教学模式,探索提升教学效果、能够为研究生的科研课题设计和研究思路提供最大帮助的教学方法。

《蛋白质组学》课程内容的第一部分——样品制备与分离,具有举足轻重的作用。对所有蛋白质

组学研究的实验工作而言,最具挑战性的问题就是如何快速可信地得到高分辨的蛋白质分离,这是使后续研究具有价值和意义的前提保证,也是研究课题关键和决定性的一步。要获得具有生物学意义的蛋白质分离产品,必须依赖于样品的质量和选择适当的样品制备与分离策略。如何充分利用 3 个学时(120 min)使不同专业、研究方向、知识背景的研究生能够掌握和领会蛋白质组学研究中样品制备与分离的内涵、常用技术以及策略优化等知识要点,达到有助于学生在各自领域的研究工作的教学目标,是值得深思的问题。

## 1 明确目标,强化意识

尽可能保证蛋白样品不发生质与量的改变、达到最大程度的分离,是进行样品制备分离的目标。而初学者通常缺少对此的重视,仅以看到实验结果为成功标志,因此陷入种种困境或误区。比如,在样品制备过程中丢失了部分蛋白或改变了某些蛋白的生物特性,则实验结果中很可能就已经漏掉关

键蛋白的信息;在制备过程中由于实验者操作不规范而人为引入杂质蛋白,将在实验结果中出现干扰和误导研究者判断的信息……因此,对样品进行成功的制备与分离,要求实验者须有高度重视的态度和清晰明确的目标原则。

为了给学生留下深刻印象,充分认识样品制备与分离的重要性和必要性。首先,用权威可信的数字向学生说明一个对自然科学研究实验的统计结果——投入在样品预处理阶段的时间,超过完成该实验所需总时间的 2/3,这个统计数字本身就会引发学生的好奇,既能使学生认识到样品制备分离是不可忽视的、在实验工作中占很大比例,又能集中学生在课堂上的注意力,高度关注教师将要讲述的内容。其次,引用蛋白质组学研究领域的科学家对样品制备与分离的阐述和评论原文。不仅强化了学生对样品制备与分离的重要性的认识;而且,这些语言简练、用词准确、表述精辟具有科学性的英语段落或句子,可以使学生在体会语言含义的同时,深入领会样品制备与分离的内涵,从思想意识上产生对样品制备分离重要地位的认同感。最后,列举实例,最好是教师亲身经历的实验案例或者发生在身边的事例。用实例生动形象地说明,在蛋白质组学研究中,样品制备与分离是研究工作的前提保证。

## 2 注重覆盖,突出重点

从上世纪末澳大利亚科学家 Marc Wilkins 提出蛋白质组一词至今<sup>[2]</sup>,不到 20 年的时间,蛋白质组学发展极为迅速,其技术的发展已经成为现代生物技术快速发展的重要支撑,并将引领生物技术取得关键性的突破。因此,教师要重视教学时间的分配和教学内容的深浅及详略程度的安排。既要让学生从整体上了解目前蛋白质组学研究领域中关于样品制备与分离的技术概况,又要避免面面俱到却都是点到即止。

首先,在介绍样品制备方法时,结合学生学习过的细胞学、微生物学、生物化学等知识,重点阐述样品制备的通用原则及注意事项,对于具体的常规操作方法,不作讲解。然后,简单介绍几种针对特殊蛋白质的样品制备技术,如蛋白质的分步分离提取法、亚细胞分离、疏水蛋白、低丰度等,让学生掌握基本原则,并根据具体的研究内容调整方案。

其次,介绍蛋白质组的样品分离技术,包括一

维电泳、二维电泳(2-DE)、二维色谱(2D-HPLC)、毛细管电泳(CE)等<sup>[3]</sup>。其中二维电泳是目前应用最广泛也是分辨率最高的蛋白质组分离技术,是三大支撑技术之一,理应是本章的重点。其中第一维的等点聚焦电泳(IEF)和第二维的 SDS-PAGE 电泳的实验原理是难点,需要详细阐述;对于 2-DE 的操作流程,需简要介绍必要步骤,强调各个实验步骤中需要注意的关键问题。最后结合原理总结出 2-DE 的优势及局限性,使学生掌握该技术的具体应用范围、熟悉相关操作步骤。

## 3 联系实际,跟踪前沿

蛋白质组学是本校硕士研究生的专业必修课,听课学生来自医学、理学、工学等多个学科的几十个专业、上百个研究方向,他们即将从事的研究领域各不相同,知识背景也相差极大。这一特点大大增加了教学难度,对教师的备课和讲授都提出了很高的要求。针对这种情况,教师需要采取不同的课堂教学方式,对教学内容的深浅、详略和讲述方法都作出调整,以期达到最佳教学效果。例如,面向临床研究生较多的硕士班授课,介绍样品制备技术的时候,将激光捕获显微切割技术(LCM)作为重点<sup>[4]</sup>,辅以生动形象的实例图片,切实地让学生掌握其原理和应用。另一方面,临床医学的研究生,只有临床检验诊断学等极少数专业的学生在本科阶段学习过仪器分析相关的课程,绝大部分学生完全不了解色谱是什么,甚至是第一次听到这个名词。因此,介绍蛋白质组学研究中应用日益广泛的二维色谱(2D-HPLC)分离技术的时候,避开色谱的诸多专业术语,改用通俗的语言简要描述色谱法和色谱仪的原理,主要让学生掌握色谱(一维、二维、多维)具有强大的分离机制、与 2-DE 相比有独特的分离优势。最后再强调,色谱和质谱(MS)的联用(2D-HPLC/MS)可以完成复杂样品的分离和鉴定,是蛋白质组学,研究技术平台的核心。与之相反,对于已经对色谱法有所了解、甚至比较系统地学习掌握了色谱法的药学等专业的学生,授课时则不再讲述其原理,重点介绍二维及多维色谱的技术指标、色谱模式的组合等对实验有具体指导作用的知识。

蛋白质组学的研究内容非常前沿,其发展既是技术所推动的也是受技术限制的,研究工作成功与否,很大程度上取决于其技术方法水平的高低。目前,蛋白质组学研究平台的支撑技术在于样品的制

