

玻璃体视网膜疾病的蛋白质组研究进展

张雯 张学东

蛋白质组学的提出至今仅十余年的时间,已在生命科学的各个领域得到广泛发展。其分析方法在研究蛋白质结构功能方面的独特视角使其越来越多的应用于人类重大疾病的研究中,国内外学者相继开展了人类肝脏、血浆和脑组织蛋白质组计划,希望在研究人类疾病病因及开发新药等方面获得突破。

蛋白质组学概念和研究策略

1. 蛋白质组和蛋白质组学概念

蛋白质组(Proteome)和蛋白质组学^[1](Proteomics)是在人类基因组计划研究完成后形成的一个崭新领域,在本世纪生命科学的前沿研究中占有举足轻重的地位。蛋白质组指“一个基因组、一个细胞或一种组织所表达的全部蛋白质”,这一概念最早在1995年由Wasinger等^[2]提出。近年,生命科学的重心已由结构基因组学转向更加广泛的功能基因组学,蛋白质组学作为功能基因组学最重要的组成部分。其特点是以高分辨率的分离手段和高效率的鉴定技术全景式地研究各种特定情况下的生物蛋白质谱。随着人们对这个领域认识的不断深入,这一概念仍在不断完善。

2. 蛋白质组学的研究内容

根据研究目的不同,蛋白质组学研究主要涉及3个方面的内容^[3]:①组成性蛋白质组学:对某个体系的蛋白质进行鉴定并详细阐述其翻译后修饰的特性;②相互作用蛋白质组学:通过各种先进技术研究蛋白质之间的相互作用,绘制某个体系的蛋白质作用的网络图谱;③比较蛋白质组学(Comparative Proteomics)也称为差异显示蛋白质组学(Differential Display Proteomics)或表达蛋白质组学(Expression Proteomics):寻找和筛选任何有意义的因素引起的2个样本之间的差异蛋白质谱,通过对蛋白质丰度、性质的考察来揭示它的功能,进而揭示细胞生理病理状态的进程,对外界环境刺激的反应途径以及细

胞调控机制,同时获得对某些关键蛋白的定性和功能分析,并使之成为可能的药物靶点。

蛋白质组学研究方法进展

蛋白质组学本身的复杂性决定了其研究方法综合多样,选择研究方法的目的是最大限度的分离鉴定组织、细胞及体液中的蛋白质并减少杂质的干扰。目前研究蛋白质组最可靠的两大技术平台分别是:①双向凝胶电泳(two-dimensional gel electrophoresis, 2-DE)联合质谱(mass spectrometry, MS)(2-DE/MS);②液相色谱(liquid chromatography, LC)联合质谱(LC/MS)。已完成的大部分差异性蛋白质组研究基本都采取了这两种基本方法之一。其他新技术还包括表面增强激光解析电离飞行时间质谱(surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, SELDI-TOF-MS)、四级杆MALDI-Q-TOF-MS平台(Q, quadrupole)、傅里叶变换离子回旋共振质谱(Fourier transformation/icon convolution resonance mass spectrometry, FT-ICRMS)、二维毛细管电泳(2-dimension capillary electrophoresis, 2D-CE)和同位素标记亲和和标签技术(isotope coded affinity tags, ICAT)等。这些新技术使蛋白质组分析方法逐渐走向标准化和自动化。其研究方法的原理及优缺点已有大量文献加以论述,这里不再赘述。

玻璃体视网膜疾病的蛋白质组研究进展

近年来,国内外眼蛋白质组学研究相继开展,初步建立了眼部各结构的蛋白质数据库并在探讨眼的生理病理过程方面取得了一定的成绩,加之眼后段结构无论是正常生理结构或者是在病理过程中变化、增生的结构,都普遍存在标本量小、标本难于获得、培养细胞传代困难等特点,使具有高通量、高灵敏度、高分辨率等优势蛋白质组学分析方法在眼部研究中的应用凸显出来。通过蛋白质组学方法建

立的蛋白质数据库及其提供的生理状态和特定病理状态下生物大分子之间的相互作用,为探讨眼底疾病的病理过程和开发新药提供了新的线索。现将与玻璃体视网膜疾病相关的蛋白质组研究做一概述。

1. 年龄相关性黄斑变性的蛋白质组研究

(1) Bruch 膜和玻璃膜疣: 年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是西方国家老年人致盲的首要原因。其发病机制目前仍不清楚, Shinsuke 等^[4]认为 AMD 的发展可能是一种抗视网膜自身免疫过程。他们研究了猴黄斑变性视网膜的玻璃膜疣(Drusen), 以 LC-MS/MS 对其成分进行分析并以 Western 蛋白印迹筛选血清抗视网膜自身抗体, 将筛出的免疫抗原进行电泳分离和质谱鉴定, 同时测定血液中相关抗体的滴度。结果显示 Drusen 成分对载脂蛋白 E、淀粉样 P 物质、补体 C₅、玻璃体连接蛋白、膜辅蛋白等普遍表现出免疫反应, 并发现检出的 60 种 Drusen 蛋白质和人类 AMD 视网膜成分基本吻合, 包括膜连蛋白、晶体蛋白、免疫球蛋白和补体等, 因此推测由补体介导的慢性炎症反应参与了 Drusen 的形成过程。抗视网膜自身抗体主要是膜连蛋白和 μ -晶体蛋白, 二者的相关抗体滴度均高于对照组, 说明自身免疫机制参与了 AMD 的发生, 有可能这些抗原的免疫反应触发了 Drusen 形成部位周围由补体介导的慢性炎症反应。John^[5]等以 LC-MS/MS 从人 Bruch 膜和 Drusen 中检出 129 种蛋白质, 结果表明正常眼周边部视网膜玻璃疣样物质中最常见的蛋白质为基质金属蛋白酶抑制剂-3(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP-3)、丛集蛋白(clusterin)、玻璃体结合蛋白(vitronectin)和血清白蛋白, 而 AMD 眼的玻璃膜疣中则以晶体蛋白更常见。这种现象提示晶体蛋白在 RPE 层下的堆积可能是机体对 AMD 发展过程中外在应激因素的反应^[6]。同时发现 AMD 眼 Bruch 膜及玻璃膜疣蛋白存在更多的蛋白质氧化修饰现象, 例如 TIMP-3、玻璃体连接蛋白和羧乙基化的吡咯蛋白螯合物的共价交联(羧乙基化的吡咯蛋白螯合物由 Bruch 膜中含二十二碳六烯酸盐的脂质氧化而来), 其含量较正常人明显增高, 推测可能是随年龄增长视网膜抗氧化损伤的自身防御机制减弱, 多种蛋白在氧化作用的刺激下与 Bruch 膜中的脂质成分交联结合并难于正常分离、代谢而逐渐形成沉淀。这些结果进一步支持了在 AMD 的发病过程中氧化损伤占有重要地位这一假说, 同时也提示蛋白质的氧化修饰在 Drusen 形成中起到重要作用。

(2) RPE 细胞分泌蛋白: Drusen 沉积的部位在 RPE 层和 Bruch 膜之间, 从解剖结构上的密切关系可以设想 RPE 细胞的活动与 Drusen 形成有关, 因此 EAn 等^[7]人假设 RPE 细胞分泌的蛋白质参与了玻璃膜疣的形成, 他们将 RPE 细胞进行体外培养并用氨基酸稳定同位素标记法(SILAC)联合 LC-MS/MS 分析其分泌性蛋白质, 证实 RPE 细胞分泌了多种与 Drusen 形成有关的细胞外基质蛋白、补体因子和蛋白酶抑制剂, 说明 RPE 细胞的生物行为参与了 AMD 的病理过程。Ethen 等^[8]还将四个不同病理时期 AMD 的周边部和后极部视网膜蛋白进行比较分析, 发现疾病初期和末期的 26 种在生理过程中具有重要作用的视网膜蛋白质发生改变, 并且周边部和后极部约 60% 的蛋白质表达改变具有各自的特异性。

2. 糖尿病视网膜病变的蛋白质组研究

(1) 玻璃体: 糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病严重的并发症, 早在 1994 年 Bresgen 等^[9]已开始用 2-DE 分析对比增殖性糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)患者与正常人玻璃体蛋白成分和血清蛋白成分的不同。研究显示, 正常的玻璃体内最常见的蛋白质为白蛋白、转铁蛋白、 α_1 -抗胰蛋白酶、IgG 和前清蛋白, 而 PDR 玻璃体中转铁蛋白、 α_1 -抗胰蛋白酶和前清蛋白的含量下降, IgG 水平升高, 更类似于血清蛋白的组成。这些数据说明 PDR 时发生了血-视网膜屏障破坏。另外, 在 PDR 玻璃体蛋白质中还发现 3 种在正常玻璃体和 PDR 患者血清中未发现的低分子量蛋白, 推测可能是病理状态下眼内异常蛋白质的额外合成, 并可能与玻璃体视网膜的增生反应有关。蛋白质组研究方法提出后, 日本学者 Toyofumi 等^[10]开始以 2-DE/MS 比较 PDR 和原发黄斑裂孔(macular hole, MH)患者玻璃体内可溶性蛋白质成分的不同。两种病变的玻璃体内共检测出 52 种不同的蛋白。在 DR 患者玻璃体内的免疫球蛋白 Ig、 α_1 -抗胰蛋白酶、 α_2 -硫酸肝素糖蛋白和补体 C₄ 蛋白丰度明显高于黄斑裂孔者。另外一个重要发现是在 DR 患者的玻璃体内检出了色素上皮源性因子(PEGF)PEGF 是一种新生血管抑制因子, 由此猜测在伴有新生血管的 DR 患者玻璃体腔内出现这种新生血管抑制因子可能是玻璃体腔内微环境的平衡被打破后的一种自身代偿和恢复机制。随即 Ken 等^[11]分别将 DR 和 MH 患者的玻璃体与各自相对应的血清蛋白进行分析比较, 在 DR 患者玻璃体标本中检

出了烯醇化酶(enolase)和过氧化氢酶(catalase),而这两种酶在 DR 患者的血清中以及黄斑裂孔患者的玻璃体标本中均为阴性。说明 DR 患者玻璃体中新出现的这些蛋白质是在眼内产生并且是与疾病相关的差异蛋白质。Masayuki 等^[12]又进而对糖尿病引起的黄斑水肿(diabetic macular edema, DME)的玻璃体蛋白质进行分析,将 PDR 前期的患眼分为 DME 组和非 DME 组,结果在 DME 组发现了甲状腺激素受体相关蛋白(Trip-11)和维生素 D 结合蛋白,而这两种蛋白在非 DME 组是阴性,对于这两种蛋白质在 DR 中的作用仍有待研究。另外与之前的研究类似,发现 DME 组的 PEGF 水平升高并显著高于非 DME 组,由于分组已将糖尿病因素在两组间进行均衡,故此结果说明玻璃体中 PEGF 水平的升高可能和 DR 的发展程度相关,并认为发生 DR 时 PEGF 可能有阻止视网膜水肿的作用。

(2) 视网膜: Ahn 等^[13]认为自身免疫机制可能也参与了 DR 的病理过程,他们用免疫印记筛选正常人、DR 患者和 PDR 患者视网膜可溶性蛋白质和血清中的相关免疫性分子并进行 2-DE 和 ESI(电喷雾)-MS/MS 鉴定,继而用兔醛缩酶进行免疫印记检测以筛选 DR 血清自身抗体,并以 ELISA 法检测抗体滴度,最后证实 DR 患者的血清中的确存在一种高表达的抗视网膜自身抗体,其抗体滴度显著高于正常者和没有视网膜病变的糖尿病患者,并初步证实这种抗体是一种抗醛缩酶自身抗体。此抗体蛋白谱中的 14 个蛋白点只存在于 DR 患者血清,4 个蛋白点在 DR 和 PDR 血清中均存在,即这一自身抗体虽然在 DR 和 PDR 患者血清之间无显著差异但可以作为一种 DR 的诊断性标记物进行临床检测。

3. 孔源性视网膜脱离和增殖性糖尿病视网膜变的蛋白质组研究

(1) 视网膜下液: 孔源性视网膜脱离(rhegmatogenous detachment of retina, RRD)时液化的玻璃体从裂孔进入视网膜下形成视网膜下液(subretinal fluid, SRF),同时脉络膜毛细血管层渗出也参与了 SRF 的蛋白质成分^[14]。由于视网膜色素上皮层不断吸收视网膜下液中的水分,所以 SRF 中的蛋白质浓度显著高于玻璃体^[15]。Schneeberger 等^[16]用电泳和蛋白印迹检测了 SRF 中的载脂蛋白 E,它的浓度在慢性网脱中明显升高,因此认为载脂蛋白 E 可能参与了脱离视网膜的损伤修复过程。Hara 等^[17]用硝酸纤维膜双向电泳分析了孔源性视网膜脱离时 SRF 中的氨基葡聚糖,发现氨基葡聚糖的种类

和玻璃体混浊程度、增殖性玻璃体视网膜病变(proliferative vitreoretinopathy, PVR)的程度有一定相关性。

(2) RPE 细胞微绒毛: 视网膜脱离刺激 RPE 细胞从 RPE 层松解下来进入视网膜下液和玻璃体并参与 PVR 发展过程中增殖组织的形成。2004 年, Vera 等^[18]应用 2-DE 和 LC-MS/MS 方法进一步分离健康小鼠 RPE 细胞顶部微绒毛的蛋白质,并联合免疫组化方法,分离了 283 种蛋白质。其中除了许多已经在其他上皮细胞中发现的功能蛋白质外,还发现了一些只存在于 RPE 细胞顶部并可能担负特殊功能的蛋白质。如 Lumican 为一种 SRLP(小的富含亮氨酸蛋白聚糖)基因家族成员。前期研究认为, Lumican 在角膜中的作用是使角膜基质中近 200 层的胶原纤维呈高度规则的格子状排列,从而保持角膜的透明性,故在维持角膜正常生理功能中起到重要作用,但之前并没有在视网膜发现这种蛋白多糖成分。根据最近报道,观察到 Lumican 缺陷鼠出现多发的视网膜脱离,结合此项研究在 RPE 细胞顶部微绒毛标本中分离鉴定出 Lumican,推测 Lumican 可能与视网膜神经上皮层和 RPE 层贴附的稳定性有关,这对视网膜脱离的病因探索起到启示作用。

4. 其他

(1) RPE 细胞: RPE 细胞的迁移、去分化、异常增殖等生物学行为的改变在多种眼底病变中具有重要作用,参与了多种玻璃体视网膜病变,成为近期研究多种眼底病变的切入点。Karen 等^[19]收集人 RPE 细胞并采取多级分离方法制备成亚细胞标本,以 2-DE/MS 和 LC-MS/MS 分别对全细胞、细胞质、溶酶体等成分的蛋白质进行分离鉴定并检出 278 种蛋白质。其中 200 余种蛋白质是结构蛋白类的管家蛋白,另外还检出一些与视功能高度相关的蛋白质,如细胞视黄醛结合蛋白、细胞视黄醇结合蛋白、光间受体视黄类物质结合蛋白等,这是首次对人 RPE 细胞蛋白质组进行描述。目前大量的眼底病基础研究都依赖于 RPE 细胞良好的体外传代,但经过传代的 RPE 细胞株在形态和功能上与体内的 RPE 细胞是否相同仍未确定。Claudia 等^[20]以 2-DE 联合 MS 比较了自然分化和培养的去分化 RPE 细胞,检出 179 个蛋白位点。研究显示在培养的去分化 RPE 细胞中一些参与 RPE 吞噬作用的蛋白质包括组织蛋白酶 D(cathepsin D)和网格蛋白等仍然存在,但与细胞形状、细胞粘附和细胞骨架形成相关的蛋白如细胞角蛋白 19、肌动蛋白和原肌凝蛋白等

表达上调,与细胞增殖有关的蛋白翻译起始因子(e1F)-4AI、e1F-5A及钙依赖蛋白(annexin)I、II表达也有所上调(这2种蛋白在许多人类肿瘤中呈高表达),而与RPE细胞视功能高度相关的蛋白质如细胞视黄醛连接蛋白、细胞视黄醇结合蛋白等缺如。说明RPE在体外的去分化导致了与RPE细胞专职功能高度相关的蛋白质表达下调,并诱导与细胞骨架构建、细胞形态、迁徙、增值、信号传导等相关的蛋白质表达上调,即RPE细胞的去分化可能触发PVR。随后他们又将常用的传代RPE细胞株(ARPE-19和hTERT)和原代RPE细胞进行结构和蛋白合成的比较^[21],结果显示相对于原代RPE细胞,hTERT细胞株中与细胞迁移、粘附、细胞外基质形成有关的蛋白质表达显著上调,而与细胞极化有关的蛋白质表达下调,一些具有解毒作用的酶表达发生改变;ARPE-19细胞株中与微管形成相关的蛋白质表达上调,而与细胞增殖和凋亡相关的蛋白质表达发生改变。这些研究说明RPE细胞在脱离RPE层或在体外传代后其生物学特性发生改变,与原代RPE细胞在结构和功能上都存在区别。

(2) 黑素体: Azarian等^[22]以质谱对RPE细胞中的黑素体(melanosome)进行蛋白质组分析并检出100余种蛋白质。其中包括一些溶酶体酶,经过免疫电镜确定为组织蛋白酶D,此前有报道RPE细胞中存在较多组织蛋白酶D是由于对感光细胞外节的消化造成,所以认为RPE细胞中的黑素体参与了被吞噬感光细胞外节的消化过程。

(3) 脂褐素: 脂褐素颗粒(lipofuscin, LF)在RPE细胞中的沉积与多种眼部疾病有关并具有年龄相关性。Florian等^[23]以2-DE和Western蛋白印迹对RPE细胞内的脂褐素进行蛋白质分析,选出存在脂质过氧化损伤或葡萄糖过氧化损伤的蛋白质,结果显示多种LF相关蛋白因为丙二醛(MDA)、4-羟基壬烯(HNE)、高级糖基终产物(AGEs)的变异性共价修饰而发生损伤,并且大部分被修饰蛋白质的修饰类型都在2、3种以上。这种复杂的氧化修饰现象的存在提示LF的多种氧化产物形成的复合体可能参与了多种视网膜疾病如AMD和Stargardt病的细胞毒性病理过程。Sarah等^[24]进一步以MALDI-TOF-MS和LC-MS/MS将双向电泳分离的LF蛋白质进行鉴定并检出41种蛋白质,发现LF中包含一些疏水蛋白和几种与光感受细胞功能相关的蛋白质如视紫红质等,因此认为可能是由于氧化损伤导致的蛋白质修饰使这些被吞噬的感光细胞外节蛋白

质不能被消化降解,从而引起RPE细胞中LF的聚积。

(4) 黑素体脂褐素: 黑素体脂褐素(melanolipofuscin, MLF)是一种同时具有黑素体和脂褐素生物特性的复杂颗粒。最近有报道提出MLF在RPE细胞内的沉积比LF的沉积对AMD的发病更有影响。Sarah等^[25]对MLF的成分及其光敏作用进行分析,显示MLF颗粒具有光敏毒性,相对于LF,MLF在RPE层的沉积和AMD的发生具有更密切的关系。对MLF成分的分析表明这种颗粒的成分看起来和LF颗粒类似但实质不同。最显著的区别是发现MLF不含光感受器特异蛋白,提示MLF可能不是由巨噬细胞吞噬的感光细胞外节来源的。相应的在MLF中发现了RPE特异蛋白和黑素体特异蛋白,提示MLF的沉积是RPE细胞中的黑素体发生自体吞噬作用的结果。

结 语

近年随着蛋白质组学的迅速发展,蛋白质组研究方法也开始成为眼底疾病研究中的崭新手段,但目前对于玻璃体视网膜疾病的蛋白质组研究仍比较分散,局限于一种疾病或某一病理阶段的研究,缺乏对某一类疾病系统深入的分析研究。未来的眼底疾病研究应重点解决以下几个问题:①标本的获得和处理;②样品制备方法的选择,这是蛋白质组学研究中最重要的一环;③蛋白质组各种试验技术的完善及合理的联合应用;④疾病各阶段的纵向研究及各相关疾病间的横向对比;⑤寻找药物靶点。就蛋白质组学本身而言,研究前景是广阔的,但存在很多问题亟待解决^[26],其发展和完善需要不懈的努力。

参 考 文 献

- 1 Fields S. Proteomics: Proteomics in genomeland. *Science*, 2001, 291: 1221-1224.
- 2 Wasinger VC, Cordwell SJ, Anne CD, et al. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. *Electrophoresis*, 1995, 16: 1090-1094.
- 3 Pandey A, Mann M. Proteomics to study genes and genomes. *Nature*, 2000, 405(6788): 837-846.
- 4 Shinsuke U, Michihiro T, Suzuki, Haru Okamoto, et al. Molecular composition of drusen and possible involvement of anti-retinal autoimmunity in two different forms of macular degeneration in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *The FASEB Journal*, 2005, 19: 1683-1685.
- 5 John W. Crabb, M Miyagi, X Gu, et al. Drusen proteome analysis: An approach to the etiology of age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sc USA*, 2002, 99: 14682-14687.
- 6 Ko Nakata, John W. Crabb, Joe G. Hollyfield. Crystallin distribution

- in Bruch's membrane-choroid complex from AMD and age-matched donor eyes. *Experimental Eye Research*, 2005,80: 821-826.
- 7 E An, X Lu, J Flippin, et al. Secreted proteome profiling in human RPE cell cultures derived from donors with age related macular degeneration and age matched healthy donors. *J Proteome Res*, 2006, 5(10):2599-2610.
 - 8 Ethen CM, Reilly C, Feng X, et al. The proteome of central and peripheral retina with progression of age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006,47(6):2280-2290.
 - 9 Bresgen M, Baum U, Esser P, et al. Protein composition of the vitreous body in proliferative diabetic retinopathy: An analysis with 2-D-electrophoresis. *Ophthalmologe*, 1994,91:758-762.
 - 10 Toyofumi Nakanishi, Reiko Koyama, Tsunehiko Ikeda, et al. Catalogue of soluble proteins in the human vitreous humor: comparison between diabetic retinopathy and macular hole. *J of Chromatography B*, 2002,776: 89-100.
 - 11 Ken Y, Atsushi M, Hidetoshi Y, et al. Proteome Analysis of Human Vitreous Proteins. *Mol Cell Proteomics*, 2003,2:1177-1187.
 - 12 Masayuki Ouchi, Karen West, John W Crabb, et al. Proteomic analysis of vitreous from diabetic macular edema. *Ex Eye Res*, 2005,81: 176-182.
 - 13 Ahn BY, Song ES, Cho YJ, et al. Identification of an anti-aldolase autoantibody as a diagnostic marker for diabetic retinopathy by immunoproteomic analysis. *Proteomics*, 2006,6(4):1200-1209.
 - 14 Takeuchi A, Kricorian G, Wolfensberger TJ, et al. The source of fluid and protein in serous retinal detachments. *Curt Eye Res*, 1996,15 (7):764-767.
 - 15 Takeuchi A, Kricorian G, Mannor MF. When vitreous enters the subretinal space. Implications for subretinal fluid protein. *Retina*, 1996,16(5):426-430.
 - 16 Schneeberger SA, Iwahashi CK, Hjelmeland LM, et al. Apolipoprotein E in the subretinal fluid of rhegmatogenous and exudative retinal detachments. *Retina*, 1997,17(1):38-43.
 - 17 Hara A, Nakagomi Y. Analysis of glycosaminoglycans of subretinal fluid in rhegmatogenous retinal detachment (preliminary report). *Jpn J Ophthalmol*, 1995,39(2):137-142.
 - 18 Vera L.B, Sanjoy. K. Bhattacharya, Karen A. et al. Proteomic characterization of isolated retinal pigment epithelium microvilli. *Mol Cell Proteomics*, 2004,3:1119-1127.
 - 19 Karen A. West, Lin Yan, Karen Shadrach, et al. Protein Database, Human Retinal Pigment Epithelium. *Mol Cell Proteomics*, 2003,2:37-49.
 - 20 Claudia S. Sabine Suppmann, Siegfried G. Priglinger, et al. Comparative Proteome Analysis of Native Differentiated and Cultured Dedifferentiated Human RPE Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44:3629-3641.
 - 21 Alge CS, Hauck SM, Priglinger SC, et al. J Proteome Res. Differential protein profiling of primary versus immortalized human RPE cells identifies expression patterns associated with cytoskeletal remodeling and cell survival. 2006,5(4):862-878.
 - 22 Azarian SM, McLeod I, Lillo C, et al. Proteomic analysis of mature melanosomes from the retinal pigmented epithelium. *J Proteome Res*, 2006,5(3):521-529.
 - 23 Florian S, Marion B, Frank G. Holz, et al. Proteins Modified by Malondialdehyde, 4-Hydroxynonenal, or Advanced Glycation End Products in Lipofuscin of Human Retinal Pigment Epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003,44:3663-3668.
 - 24 Sarah Warburton, Katie Southwick, Ryan M Hardman, et al. Examining the proteins of functional retinal lipofuscin using proteomic analysis as a guide for understanding its origin. *Mol Vis*, 2005,11: 1122-1134.
 - 25 Sarah Warburton, Wayne E. Davis, Katie Southwick, et al. Proteomic and phototoxic characterization of melanolipofuscin: Correlation to disease and model for its origin. *Molecular Vision* 2007,13:318-329.
 - 26 贺福初. 中国蛋白质组计划. 中国科学基金, 2002: 264-268.
(收稿时间: 2007-06)