



牛肉品质蛋白质组学研究进展

杨海焱, 陈 宏*

(陕西省动物遗传育种与繁殖重点实验室, 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:蛋白质组学是后基因组时代出现的一个新研究领域。中国牛肉目前仍需要大量进口, 提高牛肉肉品质一直是我国畜牧和食品行业科研工作者尽心研究的一大课题。随着基因组学的发展, 从蛋白质水平研究肉品质及形成机理, 对提高肉品质有着重要的意义。肌肉主要由水及蛋白质等成分组成, 且肌肉的性状以及品质主要就由蛋白质来表达的。因此, 研究牛肉蛋白质组学对认知以及调控牛肉的品质具有重要意义。本文主要对蛋白质组学的研究技术及其在牛肉品质研究中的应用做简要介绍。

关键词:牛肉; 肉品品质; 蛋白质组学; 研究进展

中图分类号: S823

文献标识码: A

文章编号: 1001-9111(2021)03-0052-04

随着我国经济发展和人们生活水平不断提高, 膳食结构不断调整改善, 对肉类食品的需求量在逐年增加, 使传统的粗放管理、日粮结构、饲喂方式、饲养密度等养牛方式发生重大改变, 即产业结构升级, 提高了肉类数量, 但这也影响到家畜机体的生理学、行为学和生物化学过程, 导致肉品质下降。近年来人们的消费观念早已发生变化, 对肉的需求已从对“量”的需求转变为对“质”和“量”的需求。肉品加工企业应该持续生产和提供美味、安全并健康的高品质肉来确保持续消费。牛肉因具有高蛋白、低脂肪且富含维生素、矿物质等优点而深受人们喜爱^[1]。目前我国牛肉仍需要大量进口, 《2020 年肉牛牦牛产业技术发展报告》指出, 我国去年牛肉净进口量 211.82 吨, 是 2019 年同期的 1.28 倍, 比 2019 年增加了 45.89 万 t。低价进口牛肉对我国肉牛产业产生了巨大的冲击作用, 提升牛肉品质成为我国肉牛产业的迫切需求。肉的品质特性错综复杂, 遗传、肌肉组织学特性、饲养过程、屠宰和屠宰过程以及运输操作等众多因素都会对肉品质产生一定的影响^[2]。

牛肉品质主要指屠宰后新鲜牛肉的外观、风味、营养、加工、营养等物理和化学性状, 肉质指标包括

系水力、嫩度、风味、多汁性、肉色、大理石花纹以及 pH 等^[3]。其中保水能力是肉加工能力的一部分, 机械过程(例如横向收缩)和生化过程(例如肌肉中的宰后能量代谢)导致水分流失^[4]; 宰后成熟对牛肉品质尤其是嫩度的影响显著, 是提高牛肉品质的重要措施^[5]; 肌纤维是组成肌肉的基本单位, 肌纤维类型与牛肉品质也存在一定的相关性关系; 此外, 牛的性别会影响肉质的嫩度、肉色、风味、脂肪酸含量和大理石花纹等^[6]。传统肉品品质的评定主要是通过感官评定、物理化学法和组织学特性评价, 而近年来国外也发明了电子鼻和电子舌技术、低频核磁共振技术、计算机视觉技术等, 但与利用蛋白质组学在肉品质形成机理及评价研究中的作用并不能相提并论。

随着基因组学的发展, 许多学者应用基因组学对影响肉类品质的基因进行研究, 为肉类研究提供了新的方法^[7]。蛋白质组学如今已经成为肉类研究的策略之一, 并且已经被证明是研究肉类及其制品蛋白质变化的有力工具^[8]。

1 蛋白质组学概述

1.1 蛋白质组学含义

蛋白质组是指由一个细胞或一个组织的基因组

收稿日期: 2021-03-03 修回日期: 2021-03-10

基金项目: 国家自然科学基金(31972558)和国家肉牛牦牛产业技术体系专项(CARS-37)

作者简介: 杨海焱(1997—), 女, 在读硕士生, 主要从事肉牛遗传育种与改良研究。

* 通讯作者: 陈宏(1955—), 男, 教授, 主要从事肉牛遗传育种与改良研究。

所表达的全部相应的蛋白质^[9]。蛋白质组学的研究领域在于对机体、器官或细胞器中所有蛋白进行鉴定、定量、结构的分析以及生物化学和细胞功能的研究,并包括蛋白随时空或生理状态发生的改变^[10]。蛋白质组学采用大规模、高通量、高灵敏度的技术手段揭示生命活动的本质。几乎所有重要的生命现象,如发育、代谢、信号传导、体内能量转换、神经活动等都关联到众多蛋白质复合体的活动,也交汇于细胞蛋白质组,因而人类一些重要组织和细胞功能蛋白质组的揭示,将会广泛而深入地推动基础生命科学研究。蛋白质组学可以被看作是分子生物学的大规模筛选技术。蛋白质组学是研究蛋白质的最直接最有效的方法,因为可以从整体的角度来分析细胞内动态变化的蛋白质组成成分、表达水平与修饰状态,了解蛋白质之间的相互作用及其之间的联系,揭示蛋白质功能与细胞生命活动的规律。

1.2 蛋白质组学研究的关键技术

1.2.1 双向凝胶电泳技术 目前,双向凝胶电泳是进行蛋白质分离的最常用、最关键、最成熟的技术,也是蛋白质组学研究的核心技术。其原理是:根据蛋白质等电点(第一向)和分子量(第二向)的不同对其进行分离,电泳后根据蛋白质的上样量对胶进行考马斯亮蓝染色、荧光染色或银染,最后用相关软件对电泳图像进行分析,通过两次凝胶电泳达到分离复杂蛋白质的目的。

双向凝胶电泳技术具有高通量、敏感性较高等优点。是目前可以溶解大量蛋白质并进行定量的方法^[11]。它能从复杂的样品中同时分离和分析出数千种甚至上万种不同的蛋白^[12]。它有极高的分辨率,等电聚焦可以区分等电点相差0.1的蛋白质,SDS-PAGE电泳可以区分相对分子质量相差1 kDa的蛋白质。尽管它有分辨率高、可视性好等优点,但是也存在一些不足,例如重复性不高、对于极端等电点和极端分子量蛋白质分离效果不好等。

1.2.2 质谱技术 质谱技术是在蛋白质组学研究中用于蛋白质鉴定的主要方法。质谱技术(MS)是蛋白质组学研究重要手段之一,是鉴定2-DE分离后的蛋白质的基本手段,也是蛋白质组学研究中最重要技术。质谱技术的基本原理是在样品离子化后,根据不同离子质荷比的不同进行分离并确定分子量,首先通过离子化装置将样品离子化为气态离子,接着通过质谱分析器按照质荷比的不同进行分离,最后转化到离子检测装置中并确定分子量^[13],具有准确度高、灵敏度高且易于实现自动化等优点。目前电喷雾离子化质谱技术和基质辅助激光解吸电离质谱技术是最常用的两种方法。

1.2.3 生物信息学技术 简单的说生物信息学技术就是将统计学和计算机科学应用在分子生物学上的技术。蛋白质组学研究的开展离不开生物信息学,蛋白质组数据库和分析软件的建立为蛋白质组定性和定量分析奠定了重要的基础。近年来,生物信息学技术已经广泛应用于关于肉嫩度的研究中^[14]。生物信息学不仅可以影响肉品质性状的主基因定位、分离、克隆和测序,还对基因的表达调控有重要帮助^[15]。在生物信息学发展的带动下,畜禽肉品质的研究及提高也将会得到快速发展。

2 蛋白质组学技术在牛肉品质研究中的应用

随着人们消费观念的改变,市场上的优质牛肉供不应求,其中嫩度、肉色和大理石花纹是人们选择优质牛肉的重要指标。动物的生理状态和肌肉类型等因素能够影响肌肉的颜色和肌内脂肪沉积,而宰前因素和宰后处理则能够影响肌肉到食用肉这一转变过程中胴体的新陈代谢和蛋白质组的变化,最终决定牛肉的品质和加工特性^[16]。蛋白质组学对肌肉蛋白质的组成、蛋白质翻译后修饰、宰后处理对嫩度影响的研究,以及影响肉色和肌内脂肪沉积等关键蛋白的确定^[17],表明蛋白质组学能够明确肉宰后发生的一些列生化变化,在牛肉品质控制中得到有效应用。

研究发现,动物在屠宰后,肌肉细胞会在一定时间内开始死亡,依据细胞类型的不同,会发生一系列独特、复杂的分子变化。动物血液循环终止后供氧停止,且不能去除新陈代谢产物,肌内糖原酵解导致乳酸积累,pH值降低,进而导致肌肉持水力能力降低及钙离子释放,肌球蛋白与肌动蛋白也会发生一定的变化。当肌细胞内能量耗尽后胴体进入僵直,这时新陈代谢产生的能量降低,pH值进一步降低,同时肌肉丧失柔软性。随后数天内,蛋白酶活性导致肌纤维降解,肉品质得到改善,肌肉中蛋白质组发生变化,并决定了肉的品质。

2.1 在肌内脂肪沉积中的应用

大理石花纹是由肌内脂肪形成的,因此肌内脂肪沉积是影响牛肉食用品质的关键因素^[18]。肌内脂肪含量对牛肉多汁性和风味起到决定性作用,也是预测牛肉多汁性和风味的主要指标。蛋白质表达上调与下调的动态平衡共同调节脂肪组织的复杂生物学功能。Mao等^[19]对不同脂肪含量的牛肉进行蛋白质组学分析,结果表明HSPB1蛋白(一种热休克蛋白)的表达具有差异,这可能是由于HSPB1蛋白的低表达导致胰岛素抵抗,而胰岛素促进脂质的

合成并抑制其降解,从而导致脂肪沉积。通过蛋白质组学技术对不同脂肪沉积的肌肉进行分析发现,大多影响肌内脂肪沉积的蛋白质均会直接或间接调节重要的生物途径,通过对差异蛋白的作用机理进行研究,可以为改善肉质提供基础。

2.2 在肉色中的应用

肉色是大多数消费者在购买牛肉时对牛肉进行评价的重要标准,是影响消费者购买意愿的重要因素。肉的颜色是血红素色素含量和血红素铁的氧化还原的结果,而血红素铁的氧化还原受到肌肉细胞环境(肌红蛋白还原酶活性和氧气消耗)的影响很大。因此,肉色是在肉链中尤其是于鲜肉而言是要控制的最重要的特征之一^[20]。研究者们分析了颜色稳定(背最长肌)和颜色易变(腰大肌)肌肉的肌浆蛋白质组,结果发现肌浆蛋白质中差异蛋白的含量与肉的颜色相关,肌浆蛋白质组的变化是肉色差异的原因^[21],肌红蛋白的化学性质及其他生物分子的相互作用影响宰后骨骼肌颜色的稳定性。肉色是肉类加工处理过程中最重要的特征之一,而肌红蛋白在维持肉色方面起到重要作用。因此,可以利用蛋白质组学技术对影响肌红蛋白变化的蛋白质进行研究,寻找预防肉色改变的方法。

2.3 在肉嫩度中的应用

嫩度是决定牛肉食用品质的重要指标。嫩度的高低在一定程度上决定牛肉食用品质的优劣。它是影响消费购买与否的主要衡量指标和其市场接受性的关键因素。嫩度不仅影响着消费者对牛肉及肉制品的青睐,而且影响我国牛肉进入世界牛肉主流市场的状况,进而改变依赖进口优质牛肉的被动局面。因此,应该将提高牛肉嫩度作为推动牛肉产业良性发展的核心任务。随着高通量蛋白质组学技术的日趋完善,其在牛肉嫩度方面的应用也越来越广泛。

2.3.1 牛肉嫩度标记蛋白质研究 目前影响牛肉嫩度的关键生化变化已基本明确,其中钙激活中性蛋白酶、溶酶体蛋白酶等内源酶对细胞骨架蛋白的降解起到最重要作用^[22]。近几年通过蛋白质组学的研究,解释了结构蛋白糖酵解酶和热休克蛋白在肌肉嫩化中的作用^[23]。虽然研究人员确定了多个与牛肉嫩度相关的蛋白质,但目前为止各研究间还没有确定可以准确预测牛肉嫩度的标记蛋白。因此还需要继续研究和确定能够使用标记蛋白准确预测牛肉嫩度的方法。

2.3.2 电刺激后牛肉蛋白质组的变化与肉品质的改善 电刺激是一项肉类快速成熟技术,能够通过电流对胴体的刺激而加速体内糖酵解过程,加快 pH 值下降而达到快速成熟的目的,主要应用于牛羊肉

屠宰加工企业。电刺激可加快宰后 ATP 的消耗,提高糖原酵解速度,使 pH 值快速下降,预防冷收缩的发生;电刺激对肌原纤维结构造成破坏,形成痉挛带,提高肉的嫩度。研究电刺激后细胞骨架蛋白降解和肌纤维超微结构的变化,肉色和保水性变化等方面进行分析,目的是将电刺激技术在肉类行业中进行合理的应用。

2.4 在肉类掺假鉴定中的应用

在我国,肉类掺假(以次充好或以假乱真)的情况时有发生,并有新闻报道曝光了这一严重事态。在人们广泛关注食品安全的时代,对于肉类掺假事件是零容忍的,因此要对肉类掺假进行必要的检测。Naveena 等^[24]利用 OFFGEL 系统结合 MS 技术对肉混合物进行鉴定,结果表明蛋白质组学技术可以检测出低于 0.5% 的混合肉,用于肉品质中物种的检测。

3 结 语

综上所述,蛋白质组学在牛肉品质的研究中已经取得了一定的成果,特别是质谱法和双向凝胶电泳技术的应用。随着人们对健康和食品安全以及食品品质方面要求的日益提升,蛋白质组学技术已经在肉类工业各个方面得到广泛而深度的应用。蛋白质组学受基因的调控,是蛋白表达的根源,他们参与复杂的网络调控并决定细胞功能,组织、器官和机体的生长代谢。利用基因组学手段,探寻蛋白质组表达差异的原因,评价宰前宰后各因素对肉品质品质的影响,对提高肉品质品质具有重要意义。

参考文献:

- [1] 齐聪,刘佳,刘梅,等.不同冻藏温度对牛肉品质的影响[J].食品科技,2020,345(7):118-124.
- [2] HAN J Z, WANG Y B. Proteomics: present and future in food science and technology[J]. Trends in Food Science & Technology, 2008, 19(1): 26-30.
- [3] 张慧,等.牛肉品质影响因素研究进展[J].饲料博览,2017(8):9-12.
- [4] GOBERT M, SAYD, GATELLIER P, et al. Application to proteomics to understand and modify meat quality[J]. Meat Science, 2014, 98(3): 539-543.
- [5] 郎玉苗.肌纤维类型对牛肉嫩度的影响机制研究[D].北京:中国农业科学院,2016.
- [6] 管鹏宇,张爱忠,姜宁.牛肉品质影响因素的研究进展[J].黑龙江畜牧兽医,2019(11):39-43.
- [7] 张素红,孙术国,罗章,等.基因组学和蛋白质组学在肉品质研究中的应用研究进展[J].肉类研究,2016,30(12):28-34.
- [8] HUANG H, LAMETSCH R. Application of proteomics for analysis of protein modifications in postmortem meat[M]. Food Microbiology and Food Safety, 2013.
- [9] 李世林.蛋白质组研究——分子水平的辩证论治[J].中国医

- 药导刊, 2008, 10(9):1415-1416.
- [10] KENYON G L, DEMARINI D M, FUCHS F, et al. Defining the man date of proteomics in the post-genomics era: workshop report [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2002, 1(10): 763-780.
- [11] 张鹏, 朱育强, 陈新娟, 等. 差异蛋白质组学技术及其在园艺植物中的应用[J]. *中国农学通报*, 2011, 27(4): 212-218.
- [12] NEWSCHOLME S J, MALEEFF B F, STEINER S, et al. Two-dimensional electrophoresis of liver proteins: Characterization of a drug-induced hepatomegaly in rats [J]. *Electrophoresis*, 2000 (21): 2122-2128.
- [13] FIGEYS D, MCBROON L D, MORAN M F, Mass Spectrum for the study of protein-protein interactions[J]. *Methods*, 2002, 24 (3): 230-239.
- [14] OLIVERA D F, BAMBICHA R, LAPOR T E, et al. Kinetics of colour and texture changes of beef during storage[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2013, 50(4): 821-825.
- [15] 赵雅娟, 苏琳, 尹丽卿, 等. 蛋白质组学技术在肉品质中的研究进展[J]. *食品工业*, 2016, 37(04): 233-236.
- [16] 毛衍伟, 张一敏, 朱立贤, 等. 应用蛋白质组学研究肉品品质形成的机理[J]. *食品与发酵工业*, 2014, 40(9): 107-114.
- [17] LI C B, LI J, ZHOU G H, et al. Electrical stimulation affects metabolic enzyme phosphorylation, protease activation, and meat tenderization in beef[J]. *Journal of Animal Science*, 2012(90): 1638-1649.
- [18] LUCHERK L W, O' QUINN T G, LEGAKO J F, et al. Consumer and trained panel evaluation of beef strip steaks of varying marbling and enhancement levels cooked to three degrees of doneness [J]. *Meat Science*, 2016(122): 145-154.
- [19] MAO Y, HOPKINS D L, ZHANG Y, et al. Beef quality with different intramuscular fat content and proteomic analysis using i-sobaric tag for relative and absolute quantitation of differentially expressed proteins[J]. *Meat Science*, 2016(118): 96-102.
- [20] GOBERT M T, et al. Application to proteomics to understand and modify meat quality[J]. *Meat Science*, 2014.
- [21] JOSEPH P, SUMAN S P, RENTFROW G, et al. Proteomics of muscle-specific beef color stability [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012(60): 3 196-3 203.
- [22] LONERGAN E H, ZHANG W, LONERGAN S M. Biochemistry of postmortem muscle - Lessons on mechanisms of meat tenderization[J]. *Meat Science*, 2010, 86(1): 184-195.
- [23] BECILA S, HERRERA-MENDEN C, COULIS G, et al. Post-mortem muscle cells die through apoptosis[J]. *Eur Food Res Technol*, 2010(231): 485-493.
- [24] NAVEENA B M, JAGADEESH D S, BABU A J, et al. OFF-GEL electrophoresis and tandem mass spectrometry approach compared with DNA-based PCR method for authentication of meat species from raw and cooked ground meat mixtures containing cattle meat, water buffalo meat and sheep meat[J]. *Food Chemistry*, 2017, 233(15): 311-320.

Research Progress on Proteomics of Beef Quality

YANG Haiyan, CHEN Hong*

(Key laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction of Shaanxi Province, College of Animal Science and Technology, Northwest A& University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract: Proteomics is a new research field emerging in the post – genome era. To improve the quality of beef meat has been one of the most important research topics in recent years. With the development of genomics, it is of great significance to study meat quality and its formation mechanism at protein level to improve meat quality. Muscle is mainly composed of water and protein, and the character and quality of muscle are mainly expressed by protein. Therefore, the study of beef proteomics is of great significance for the cognition and regulation of beef quality. In this paper, the research techniques of proteomics and its application in beef quality research are briefly introduced.

Key words: beef; meat quality; proteomics; research progress

(上接第 51 页)

Investigation on Infection of Bovine Scabies in Baitugou Area

MA Yan-li

(Datan Animal Husbandry and Veterinary Station of Menyuan County in Qinghai Province, Menyuan, Qinghai, 810399)

Abstract: Grazing cattle in Baitugou area appears emaciated and weak hair shedding and skin hypertrophy scabby at the end of autumn or winter every year. Cattle has the character of itching and constantly gnawing their bodies. 20 cattle were investigated by visiting 15 households. It was found that the grazing cattle in Baitugou area had mange infection, which was very harmful to cattle raising, and caused the cattle to lose weight and not to become fat. The infection rate of bovine scabies was 28.74%。

Key words: cow; mange; infection; survey