

周 聃,王 曙,周冬仁,等. 基于 iTRAQ 技术分析 2 种典型养殖模式下大口黑鲈肌肉蛋白组表达差异[J]. 江苏农业科学,2022,50(17):174-180.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.17.028

# 基于 iTRAQ 技术分析 2 种典型养殖模式下大口黑鲈肌肉蛋白组表达差异

周 聃<sup>1</sup>, 王 曙<sup>2</sup>, 周冬仁<sup>1</sup>, 盛鹏程<sup>1</sup>, 胡大雁<sup>2</sup>, 周志金<sup>2</sup>

(1. 农业农村部淡水渔业健康养殖重点实验室/浙江省淡水水产研究所, 浙江湖州 313001;

2. 浙江省湖州市农业科技发展中心, 浙江湖州 313001)

**摘要:**池塘内循环水养殖(IPRA)模式下的大口黑鲈与池塘养殖相比,其鱼肉品质有一定提升,但缺乏机制研究。采用 iTRAQ 技术对 2 种养殖模式下大口黑鲈鱼肉中蛋白质表达进行定量及生物信息学分析。结果显示,IPRA 养殖与传统池塘养殖相比,共有差异蛋白 152 个,其中,上调蛋白数 98 个,下调蛋白数 54 个;筛选得鱼肉品质密切相关的 28 个目标差异蛋白,主要分成 6 类,分别为肌动蛋白细胞骨架调节(8 个)、糖酵解(8 个)、柠檬酸循环(5 个)、氧化磷酸化(3 个)、钙信号通路(3 个)和热休克(1 个),主要影响鱼肉的纤维组成、色泽、嫩度等方面。与传统池塘养殖模式相比,IPRA 养殖的大口黑鲈肌肉中糖酵解、TCA 循环、氧化磷酸化、钙离子结合及抗应激能力均有显著加强,表明 IPRA 养殖通过加强一定的运动,提高鱼体代谢,从而改善鱼肉营养和品质。

**关键词:**大口黑鲈;池塘内循环水养殖;池塘养殖;蛋白质组学;iTRAQ

**中图分类号:**S965.211 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)17-0174-06

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*),俗名加州鲈鱼,太阳鱼科、黑鲈属,肉质鲜美,肌间刺较少,深受广大消费者欢迎,具有广阔的市场前景<sup>[1]</sup>。2019年,我国大口黑鲈养殖产量已达 47.8 万 t,比 2018 年增长了 10.6%<sup>[2]</sup>。目前,大口黑鲈的主要养殖方式为专养和混养结合的传统池塘化养殖、网箱养殖和池塘内循环水养殖等模式<sup>[3]</sup>。IPRA 模式(又称“跑道”养殖)是集成循环流水养殖、生物净水、高效集污等技术于一体的新型养殖模式<sup>[4]</sup>,该模式能够减少水体污染,改善鱼肉肉质,方便生产管理<sup>[5]</sup>,在江苏、浙江、上海等地区被广泛推广<sup>[6]</sup>。随着 IPRA 养殖技术的推广,大口黑鲈已成为我国主要的养殖淡水鱼品种,为渔业提质增效、农业乡村振兴提供重要支持。

iTRAQ 技术是利用同位素标签标记蛋白基因,结合质谱分析,对不同样品中的蛋白质含量比较,

确定差异蛋白,并分析其蛋白功能<sup>[7]</sup>。该技术通量高、精度高、重复性好,已广泛应用于医学、食品科学和微生物学等领域<sup>[8-13]</sup>。

对大口黑鲈品质研究主要涉及肌肉营养成分、质构等表观特征研究,对其更进一步的蛋白探索较为罕见。本研究采用 iTRAQ 技术对 IPRA 养殖和传统池塘养殖模式下的大口黑鲈进行定量蛋白质组学研究,分析 2 种养殖模式下鱼肉蛋白质组表达水平差异,并对其差异蛋白质生物信息学进行分析,获得 IPRA 养殖与传统池塘养殖模式下大口黑鲈蛋白质组表达水平的差异,从而为分析不同养殖模式下鲈鱼鱼肉品质和代谢差异靶标提供基础资料。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

同龄段 IPRA 养殖和传统池塘养殖大口黑鲈(450~500 g/尾),购于湖州南浔某养殖场,同一饲料,养殖时间为 2019 年 3—10 月。每组取 3 尾鱼,0.5 h 内运回实验室,采用自来水清洗,取其背部鱼肉,液氮速冻,-80℃贮存备用。

8-plex iTRAQ 试剂盒,购自美国 AB Sciex 公司;PMSF,购自上海生工生物工程股份有限公司;丙酮,购自美国 J. T. Baker 公司;胎牛血清标准品 BSA、TCEP、MMTS、三乙基碳酸氢铵缓冲液、氨水,

收稿日期:2021-11-22

基金项目:浙江省农业(水产)新品种选育重大科技专项(编号:2016C02055-3);2020—2022 年浙江省水产产业技术团队项目;浙江省湖州市乡村振兴专项(编号:2018ZD2025)。

作者简介:周 聃(1991—),男,浙江湖州人,硕士,工程师,主要从事水产养殖、水产品加工方面研究。Email:85895424@qq.com。

通信作者:周志金,正高级工程师,主要从事淡水水产养殖推广。E-mail:zzj2074913@163.com。

购自美国 Sigma 公司;胰酶,购自美国 Promega 公司;乙腈、甲酸,购自美国 Thermo 公司。

## 1.2 仪器与设备

真空干燥仪冷冻离心机(珠海黑马医学仪器有限公司);超声仪(宁波新芝生物科技股份有限公司);分光光度计(上海光谱仪器有限公司);低温离心机(珠海黑马医学仪器有限公司);恒温箱(上海一恒科学仪器有限公司);液相色谱 LC-20AD(日本 Shimadzu 公司);液相色谱 Dionex Ultimate 3 000 RSLCnano、质谱仪 Q Exactive(美国 Thermo Scientific 公司)。

## 1.3 试验与方法

**1.3.1 蛋白质提取** 称取约 2 g 鱼肉样品置于预冷研钵内,充分研磨至粉末状态,加入 1 mL 裂解液 L3 SDS(使用前加 1 × PMSF),超声(功率 500 W,间隔 1.5 s,时间 1 s,超声 5 min),离心 20 min(4 °C, 12 000 r/min),收集上清液分装,每管 250 μL,加入 1 mL 丙酮, -20 °C 过夜。离心 20 min(4 °C, 12 000 r/min),弃上清,干燥。采用 Bradford 法,对蛋白质进行定量。

**1.3.2 蛋白 FASP 酶解及 iTRAQ 试剂标记** 取 200 μg 蛋白溶液,加入蛋白质量比 1/50 的胰蛋白酶,37 °C 过夜;次日加入质量比 1/100 胰蛋白酶,37 °C 反应 4 h,离心 20 min(4 °C, 12 000 r/min)。加入 50 μL 0.5 mol/L TEAB,离心 20 min(4 °C, 12 000 r/min),获得酶解液,利用 iTRAQ 试剂盒进行标记,具体见表 1(传统池塘养殖标记为 CT, IPRA 养殖标记为 PD),下同。

表 1 样本及标记物对照

iTRAQ 标记物	113	114	115	116	118	119
样本名称	CT-1	CT-2	CT-3	PD-1	PD-2	PD-3

**1.3.3 液相分离及质谱鉴定** 采用流动相 A(H<sub>2</sub>O, pH 值 = 10)和流动相 B(80% ACN, pH 值 = 10)以 0.2 mL/min 流速进行梯度洗脱;洗脱条件为:0 ~ 5 min, 5% B;5 ~ 10 min, 5% ~ 10% B;10 ~ 60 min, 10% ~ 40% B;60 ~ 65 min, 40% ~ 95% B;65 ~ 75 min, 保持 95% B;75 ~ 85 min, 95% ~ 5% B。在 214 nm 吸光度下监测洗脱过程,根据峰型和时间收取 20 个组分,每个组分取 3 μg 进行二维液相色谱分离。流动相分别为 A(0.1% 甲酸), B(0.1% 甲酸, 80% ACN),洗脱条件为:0 ~ 5 min, 5% B;5 ~ 8 min, 5% ~ 10% B;8 ~ 40 min, 10% ~ 30% B;40 ~ 45 min, 30% ~ 35% B;45 ~ 50 min, 35% ~ 90% B;

50 ~ 55 min, 保持 90% B;55 ~ 56 min, 90% ~ 5% B;56 ~ 65 min, 保持 5% B。每个组分分析时间为 65 min,流速为 300 nL/min。

分离后的肽段进入质谱仪检测,一级质谱参数:分辨率为 70 000,最大离子强度为 3e6,最大注入时间为 100 ms,扫描范围为 350 ~ 1 800 m/z;二级质谱参数:分辨率为 17 500,最大离子强度为 5e4,最大注入时间为 120 ms,母离子选择 20 个 TopN,碰撞能量 NCE 为 30。

**1.3.4 蛋白鉴定和生物信息学分析** 在 Uniprot 数据库中,对肽段的质谱信息进行检索。将 113、114、115 混合作为池塘养殖组(CT);116、118、119 混合作为 IPRA 养殖组(PD)。将蛋白比率 ≥ 20 或 ≤ 0.05 除去<sup>[14]</sup>。对其进行 *t* 检验, *P* < 0.05,平均比率 ≥ 1.5 或 ≤ 0.667 为上调或下调差异蛋白,并进行 GO、KEGG 代谢通路和 STRING 网络通路分析<sup>[15]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 蛋白质鉴定

在大口黑鲈鱼肉中共鉴定出置信度在 95% 以上的蛋白质 1 484 个。2 种养殖模式下大口黑鲈检测出差异蛋白 152 个,其中,上调蛋白 98 个,下调蛋白 54 个。蛋白表达丰度分布见图 1。

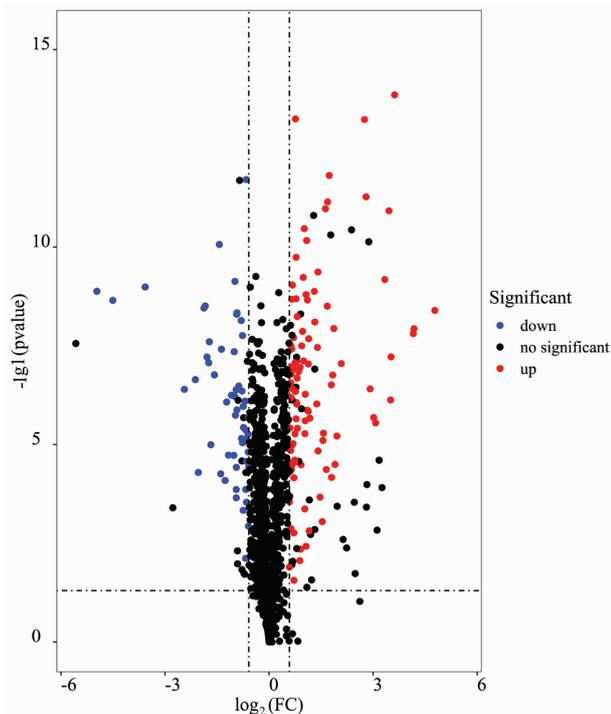


图 1 2 种养殖模式下鱼肉蛋白丰度分布

### 2.2 GO 功能分析

由图 2 可知,对 152 个差异蛋白进行 GO 注释,

其中,主要参与的分子功能有6个,包括:结合(85个)、催化活性(64个)、结构分子活性(14个)、转运活性(8个)、分子功能调节剂(8个)、分子载体活性(3个);细胞位置2个,包括细胞解剖实体(84个)、

蛋白质复合体(37个);生物过程14个,其中蛋白数量较高的主要是细胞过程(58个)、代谢过程(49个)、细胞定位(14个)、生物调节(10个)。

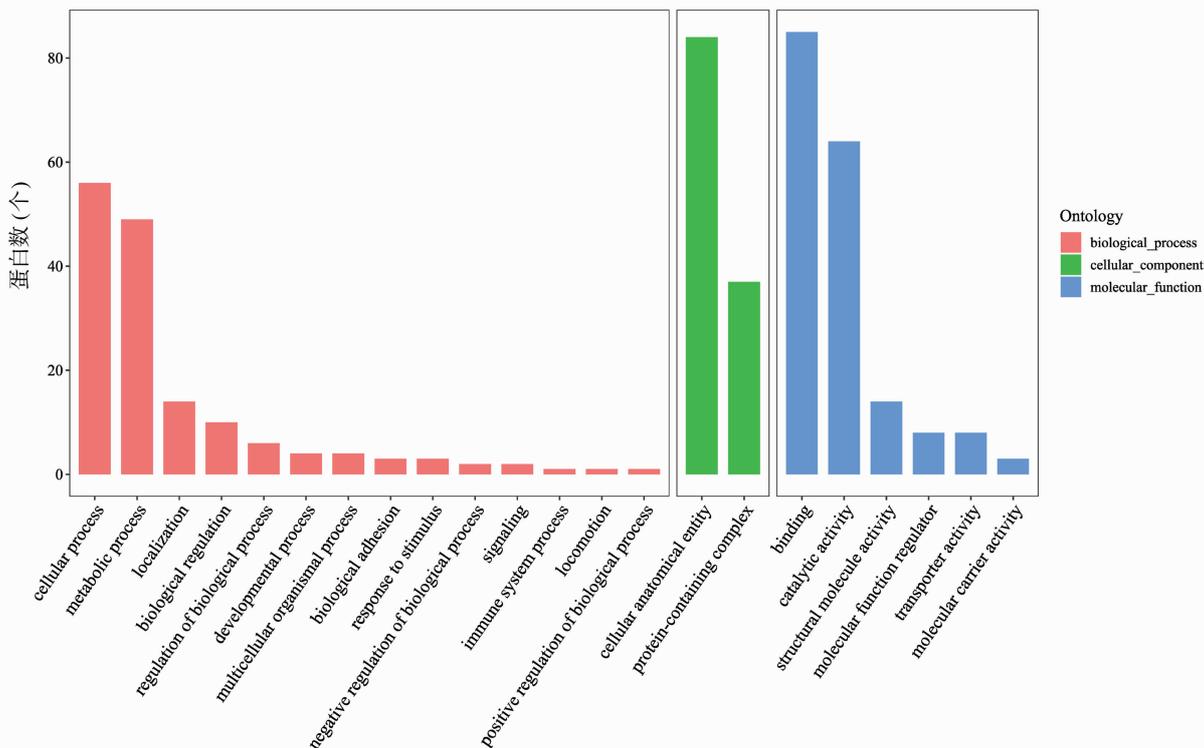


图2 2种养殖模式下大口黑鲈差异蛋白GO功能分类

### 2.3 差异蛋白通路分析

KEGG代谢通路分析结果见表2。由表2可知,差异蛋白一共参与142个信号转导通路。其中,主要的代谢通路包括次生代谢产物的生物合成(26个)、肌动蛋白细胞骨架调节(16个)、碳代谢(16个)、蛋白质消化吸收(13个)、氨基酸的生物合成(12个)、糖酵解(11个)、氧化磷酸化(6个)、柠檬酸循环(6个)、嘌呤代谢(5个)、钙信号通路(5个)。

表2 两种养殖模式下大口黑鲈差异蛋白途径富集分析

种类	ID	信号数(个)
次生代谢产物的生物合成	ko01110	26
肌动蛋白细胞骨架调节	ko04810	16
碳代谢	ko01200	16
蛋白质消化吸收	ko04974	13
氨基酸的生物合成	ko01230	12
糖酵解	ko00010	11
氧化磷酸化	ko00190	6
柠檬酸循环	ko00020	6
嘌呤代谢	ko00230	5
钙信号通路	ko04020	5

### 2.4 目标差异蛋白确定

根据上述差异蛋白分析情况及相关文献资料<sup>[18]</sup>,由表3可知,筛选得鱼肉品质密切相关的28个目标差异蛋白,主要分成6类,分别为肌动蛋白细胞骨架调节8个(上调5个,下调3个)、糖酵解8个(均上调)、柠檬酸循环5个(均上调)、氧化磷酸化3个(均上调)、钙信号通路3个(上调2个,下调1个)和热休克1个(上调)。

### 2.5 目标差异蛋白STRING网络通路分析

STRING网络数据库信息全面、操作简便,广泛应用于蛋白质网络结构分析<sup>[16]</sup>。由图3可知,在28个目标蛋白质中,有24个蛋白存在相互作用,共162个相互关系,形成了一个多中心互作网络。各蛋白间通过多条通路进行调节,中心蛋白除与周边蛋白间存在相互关系外,与其他中心蛋白间也存在相互关系<sup>[17]</sup>。

## 3 讨论与结论

鱼肉是优质蛋白质来源,营养价值丰富。蛋白

表 3 两种养殖模式下大口黑鲈目标差异蛋白

登录号	名称	基因名称	覆盖率 (95%)	肽段数 (95%)	PD : CT
<b>肌动蛋白骨架调节</b>					
tr A0A6G0J4V3	肌球蛋白重链	<i>D5F01_LYC03018</i>	62.47	1 097	1.644
tr A0A6P8W8T3	肌球蛋白重链	<i>LOC117560890</i>	57.75	1 045	1.502
tr A0A6J2Q2L7	肌球蛋白重链	<i>LOC115011664</i>	62.31	1 166	1.850
tr A0A0F8AIW6	根蛋白	<i>EH28_04655</i>	11.84	6	1.751
tr H3D1L1	肌球蛋白轻链-2	<i>MYL2</i>	44.77	13	11.455
tr X5CMR3	肌球蛋白重链(片段)	<i>myhc</i>	30.36	45	0.519
tr Q6SNT2	肌球蛋白重链	—	82.76	1 896	0.637
tr A0A0F8C3K6	肌球蛋白重链	<i>EH28_02261</i>	66.88	1 081	0.494
<b>糖酵解</b>					
tr A0A484DPQ6	葡萄糖-6-磷酸异构酶	<i>EPR50_G00007460</i>	41.95	43	2.192
tr A0A6G0J4G1	ATP 依赖性 6-磷酸果糖激酶	<i>D5F01_LYC03169</i>	24.14	24	1.568
tr A0A3G6IN01	甘油醛-3-磷酸脱氢酶	—	83.18	254	11.351
tr A0A6I9Q4D8	磷酸甘油酸激酶	<i>LOC104966293</i>	17.16	6	1.559
tr A0A0F8ATT1	磷酸甘油酸变位酶	<i>EH28_10806</i>	11.49	4	3.198
tr A0A6J2QMG0	甘油醛-3-磷酸脱氢酶	<i>LOC115015592</i>	61.38	97	2.632
tr Q4TBD1	2-磷酸-D-甘油酸氢裂解酶(片段)	<i>GSTENG00003809001</i>	81.44	348	2.666
tr A0A5C0ZU02	L-乳酸脱氢酶(片段)	<i>ldhA</i>	49.67	39	3.888
<b>柠檬酸循环</b>					
tr A0A671VBQ2	丙酮酸脱氢酶复合物乙酰基转移酶组分	<i>dlat</i>	19.15	6	1.955
tr H2TUM0	苹果酸脱氢酶	<i>mdh1</i>	20.86	11	1.717
tr A0A3Q3ELV7	异柠檬酸脱氢酶	—	31.93	18	1.644
tr A0A3Q3VQT4	乌头酸水合酶	<i>ACO2</i>	10.01	7	1.633
tr A0A6J2RNK2	乌头酸水合酶	<i>LOC115024800</i>	5.63	4	1.680
<b>氧化磷酸化</b>					
tr A0A4Z2HGQ5	细胞色素 c 氧化酶多肽 Va	<i>COX5A_0</i>	17.99	2	2.154
tr A0A5C6NUF3	细胞色素 c 氧化酶亚基 NDUFA4	<i>D4764_18G0011150</i>	31.71	3	3.487
tr A0A4V6XZ10	细胞色素 c 氧化酶亚基	<i>D9C73_022767</i>	24.42	2	1.541
<b>钙信号通路</b>					
tr A0A4U5U2S1	钙调素结合蛋白	<i>D9C73_002310</i>	33.22	13	2.048
tr A0A5C6MLZ8	肌钙蛋白 C	<i>D4764_08G0001890</i>	73.33	68	1.726
tr E6ZH56	钙转运 ATP 酶	<i>ATP2A1</i>	47.08	233	0.546
<b>热休克蛋白</b>					
tr A0A3G1HT24	HSP60	<i>HSP60</i>	19.79	7	1.594

质在生命活动中起着重要作用,其结构和含量变化影响各类生理生化反应,如细胞凋亡、糖酵解反应、信号转导等,从而对鱼肉品质产生相应的影响<sup>[19]</sup>。因此,通过研究不同养殖模式下大口黑鲈鱼肉蛋白质差异对提高鱼肉品质及调控具有深远意义。

结果显示,IPRA 养殖的大口黑鲈与传统池塘养殖的大口黑鲈相比,共有差异蛋白 152 个,其中,上调 98 个,下调 54 个;根据条件,筛选得鱼肉品质密

切相关的目标差异蛋白 28 个,主要分为 6 类,分别为肌动蛋白细胞骨架调节、糖酵解、柠檬酸循环、氧化磷酸化、钙信号通路和热休克蛋白。其中,与肌动蛋白细胞骨架调节有关的目标差异蛋白共有 8 个,分别为 6 个肌球蛋白重链(MHC)、1 个根蛋白(Radixin)和 1 个肌球蛋白轻链-2(MYL2);与糖酵解有关的目标差异蛋白有 8 个,分别为葡萄糖-6-磷酸异构酶、ATP 依赖性 6-磷酸果糖激酶、甘油

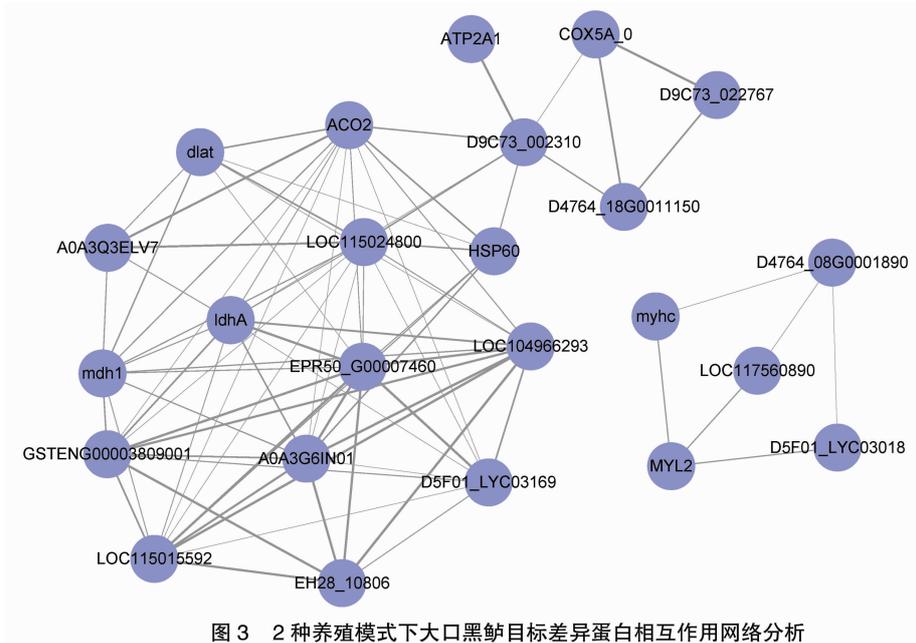


图 3 2 种养殖模式下大口黑鲈目标差异蛋白相互作用网络分析

醛-3-磷酸脱氢酶(2个)、磷酸甘油酸激酶、磷酸甘油酸变位酶、2-磷酸-D-甘油酸氢裂解酶和L-乳酸脱氢酶;与柠檬酸循环(TCA循环)有关的目标差异蛋白有5个,分别为丙酮酸脱氢酶复合物乙酰基转移酶组分、苹果酸脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶和乌头酸水合酶(2个);与氧化磷酸化的目标差异蛋白有3个,均与细胞色素c氧化酶有关;与钙信号通路有关的目标差异蛋白有3个,分别为钙调素结合蛋白、肌钙蛋白C(TnC)和钙转运ATP酶蛋白;与热休克(HSP)有关的目标差异蛋白有1个,为HSP60。

鱼肉肌纤维分慢收缩型、快收缩型和中间型3类。慢收缩型纤维属有氧代谢型肌纤维,含有丰富的线粒体、细胞色素和肌球蛋白、显红色,主要与慢速游泳有关<sup>[20]</sup>。快收缩型纤维属酵解代谢型肌纤维,细胞色素或肌球蛋白含量较少、显白色,主要与快速突然游泳有关<sup>[21]</sup>。中间型纤维位于两者之间,呈粉红色,属于过渡类型。

MHC是指沿着肌肉纤维排列的细丝,通过收缩、保持和控制释放控制肌肉运动,是负责运动的主要蛋白。2种养殖模式下MHC差异均为快收缩型纤维差异,这主要与流水运动下糖酵解代谢差异有关。由于处于流水运动下,细胞形态变化复杂,快收缩性MHC蛋白发生复杂变化<sup>[22]</sup>(3个上调,3个下调)。根蛋白能够连接肌动蛋白,影响细胞生长、迁移、分裂及信号转导等功能<sup>[23]</sup>。MYL2为调

节性轻链,能够影响肌球蛋白重链上ATP酶的活性,使肌纤维的类型出现转变,影响肌肉生长<sup>[24]</sup>。IPRA养殖与传统池塘养殖相比,其鱼肉根蛋白和MYL2表达均明显上调,这可能导致IPRA养殖的鱼体肌肉在肌纤维排布上更加致密,纤维直径更加粗壮,从而使肉质品质高于池塘养殖的鱼体。

IPRA养殖与传统池塘养殖相比,鱼肉中与糖酵解有关的8个差异蛋白表达均明显上调,表明其具有更强的糖酵解能力。在牛、羊肉中有研究表明,糖酵解能力与其肉质品质呈反比<sup>[25]</sup>。哺乳动物肌肉纤维数在幼期就已固定,然而鱼类生长过程中持续有快速收缩型纤维补充<sup>[26]</sup>。此外,Sun等还研究发现,葡萄糖-6-磷酸异构酶具有通过抑制丝氨酸蛋白酶(MBSP)活性来防止肌原纤维分解的功能<sup>[27]</sup>。IPRA养殖的大口黑鲈具有较强的糖酵解能力,这可能与其长期处于流水运动状态有关。在柠檬酸循环中,糖类、脂肪、蛋白质会分解产生能量贮存在ATP中,从而供给生物体<sup>[28]</sup>。柠檬酸循环过程中发生的反应会影响肉质的嫩度及脂肪含量。IPRA养殖的大口黑鲈与传统池塘养殖相比,与柠檬酸循环有关的5个差异蛋白表达均明显上调,表明其具有更强的柠檬酸循环能力,同样可能与其长期处于流水运动状态有关。

细胞色素c氧化酶是终端氧化酶<sup>[29]</sup>,多存在于线粒体中,含有血红素,影响肌肉颜色<sup>[30]</sup>。IPRA养殖的大口黑鲈与传统池塘养殖相比,与氧化磷酸化

有关的3个细胞色素C氧化酶差异蛋白表达均明显上调,这可能是由于长期处于流水运动,需要更高的代谢,从而使肌纤维中的与色泽有关的肌纤维发生改变。

钙调素结合蛋白是通过抑制肌浆中 $Ca^{2+}$ 释放来介导 $Ca^{2+}$ 信号传递,从而调节细胞生理功能<sup>[31]</sup>。TnC是与钙结合的靶分子,能够调控骨骼肌收缩。TnC通过与 $Ca^{2+}$ 结合,产生应激反应,促进蛋白合成和肌肉增长<sup>[32]</sup>。钙转运ATP酶是影响钙离子转运的重要蛋白,其活性越高,越容易释放 $Ca^{2+}$ 。 $Ca^{2+}$ 的释放会使肌肉不可逆收缩,导致肉的含水性和嫩度下降<sup>[33]</sup>。在3个目标差异钙信号通路调节蛋白中,IPRA养殖的大口黑鲈与传统池塘养殖相比,钙调素结合蛋白和TnC表达均上调,而钙转运ATP酶表达下调,表明IPRA养殖的大口黑鲈鱼肉 $Ca^{2+}$ 结合能力较强,释放较少。

HSP蛋白是机体在应激条件下迅速合成的一类蛋白,其保守性和应激性较高,可作为分子伴侣与不同的多肽链非特异性结合,催化介导蛋白质特定构象的形成<sup>[34]</sup>。HSP60是分子量约为60 ku的一个HSP蛋白,能够促进脂肪分解,与肉的嫩度密切相关<sup>[35]</sup>。IPRA养殖的大口黑鲈与传统池塘养殖相比,其HSP60表达明显上调,反映了IPRA养殖的鲈鱼其耐热应激性要好于传统池塘养殖。

综上所述,与传统池塘相比,IPRA养殖的大口黑鲈肌肉中糖酵解、TCA循环、氧化磷酸化、钙离子结合以及抗应激能力均显著加强,表明IPRA养殖通过加强一定的运动,提高了鱼体代谢,从而改善了鱼肉营养和品质。

#### 参考文献:

- [1] Bai J J, Lutz - Carrillo D J, Quan Y C, et al. Taxonomic status and genetic diversity of cultured largemouth bass *Micropterus salmoides* in China[J]. *Aquaculture*, 2008, 278(1/2/3/4): 27 - 30.
- [2] 农业部渔业局. 中国渔业年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [3] 王裕玉, 徐跑, 聂志娟, 等. 池塘工程化循环水养殖模式下养殖密度对大口黑鲈生长性能和生理指标的影响[J]. *淡水渔业*, 2019, 49(3): 90 - 95.
- [4] 贾丽, 潘勇, 刘帅. 池塘内循环流水养殖模式: 美国的一种新型养殖模式[J]. *中国水产*, 2011(1): 40 - 42.
- [5] 张振东, 肖友红, 范玉华, 等. 池塘工程化循环水养殖模式发展现状简析[J]. *中国水产*, 2019(5): 34 - 37.
- [6] 何玉明, 周凤建, 陈文永, 等. 池塘工业化生态养殖系统排出水槽集污区污物处理方式探讨[J]. *科学养鱼*, 2017(8): 18 - 19.
- [7] Aggarwal K, Choe L H, Lee K H. Shotgun proteomics using the iTRAQ isobaric tags[J]. *Briefings in Functional Genomics*, 2006, 5(2): 112 - 120.
- [8] Lei T, Zhao X H, Jin S, et al. Discovery of potential bladder cancer biomarkers by comparative urine proteomics and analysis [J]. *Clinical Genitourinary Cancer*, 2013, 11(1): 56 - 62.
- [9] Kambiranda D, Katam R, Basha S M, et al. iTRAQ - based quantitative proteomics of developing and ripening muscadine grape berry[J]. *Journal of Proteome Research*, 2014, 13(2): 555 - 569.
- [10] 雷波, 秦嘉, 廖成松, 等. 基于iTRAQ技术分析两个不同生态区烟草叶片蛋白组的表达差异[J]. *三峡生态环境监测*, 2016, 1(3): 25 - 31.
- [11] 刘原志, 章强强. iTRAQ技术在真菌研究中的应用进展[J]. *中国真菌学杂志*, 2015, 10(3): 185 - 189.
- [12] Wang Y F, Zhou Y P, Zhang J H, et al. iTRAQ - based proteomic analysis of *Mycoplasma bovis* NM - 28 strain from two generations for vaccine screening[J]. *Vaccine*, 2020, 38(3): 549 - 561.
- [13] 李雅婷, 杨静, 颜鲁军, 等. egr - miR - 71 过表达对绵羊PBMCs蛋白组的差异表达分析[J]. *中国兽医科学*, 2020, 50(4): 459 - 466.
- [14] Guarnieri M T, Nag A, Smolinski S L, et al. Examination of triacylglycerol biosynthetic pathways via *de novo* transcriptomic and proteomic analyses in an unsequenced microalga [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e25851.
- [15] Schmid R, Blaxter M L. annot8r: GO, EC and KEGG annotation of EST datasets[J]. *BMC Bioinformatics*, 2008, 9: 180.
- [16] Franceschini A, Szklarczyk D, Frankild S, et al. STRING v9. 1: protein - protein interaction networks, with increased coverage and integration[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 41(D1): D808 - D815.
- [17] 华愉教, 王胜男, 邹立思, 等. 野生型与栽培型太子参的iTRAQ定量蛋白质组学研究[J]. *药理学学报*, 2016, 51(3): 475 - 485.
- [18] 明浩, 赵金, 周光现, 等. 蛋白质组学在动物科学研究中的应用[J]. *家畜生态学学报*, 2015, 36(3): 10 - 17, 24.
- [19] 侯然, 卢士玲, 王庆玲, 等. 蛋白质组学在肉类研究中的应用研究进展[J]. *肉类研究*, 2018, 32(11): 53 - 57.
- [20] Ayala M D, López - Albors O, Gil F, et al. Red muscle development of gilthead sea bream *Sparus aurata* (L.): structural and ultrastructural morphometry [J]. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 1999, 28(1): 17 - 21.
- [21] Landon D N. Development and specialisation of skeletal muscle [J]. *Journal of Anatomy*, 1982, 135: 447.
- [22] Blanchoin L, Boujemaa - Paterski R, Sykes C, et al. Actin dynamics, architecture, and mechanics in cell motility [J]. *Physiological Reviews*, 2014, 94(1): 235 - 263.
- [23] Polesello C, Payre F. Small is beautiful: what flies tell us about ERM protein function in development[J]. *Trends in Cell Biology*, 2004, 14(6): 294 - 302.
- [24] Geeves M A, Fedorov R, Manstein D J. Molecular mechanism of actomyosin - based motility [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 2005, 62(13): 1462 - 1477.
- [25] 魏燕超. 基于iTRAQ技术的秦川牛肉和横山羊肉高、低品质差异研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2019.

倪敏舒,陈丽,鲍熹,等. 内质网应激与病毒感染(综述)[J]. 江苏农业科学,2022,50(17):180-186.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.17.029

# 内质网应激与病毒感染(综述)

倪敏舒<sup>1,2</sup>, 陈丽<sup>2</sup>, 鲍熹<sup>2</sup>, 恽君雯<sup>2,3</sup>, 徐悦<sup>2</sup>, 冯磊<sup>1,2</sup>

(1. 江苏大学药学院, 江苏镇江 212013; 2. 江苏省农业科学院动物免疫工程研究所, 江苏南京 210014; 3. 扬州大学, 江苏扬州 225009)

**摘要:**内质网在细胞内负责蛋白质和脂类合成、加工及成熟。当病毒感染细胞时,也同样会利用内质网完成病毒本身蛋白质合成。同时,大量病毒蛋白堆积,会诱发内质网的应激反应,随后内质网调控各种信号通路维持细胞稳态与生命体的整体利益,进而引起细胞自噬及凋亡、代谢综合征。有些病毒会通过改变对自身复制不利应激通路的蛋白表达,同时,维持对自身有益的方面来加强病毒本身的复制。本文对内质网应激和未折叠蛋白反应信号通路及对一些病毒感染与内质网应激的相互作用和一些病毒感染导致的代谢综合征进行简要综述,总结了关于内质网应激与病毒感染的最新研究成果,旨在为内质网应激有关的抗病毒感染研究提供思路。

**关键词:**内质网应激;病毒感染;未折叠蛋白反应;代谢综合征

**中图分类号:**R511;S852.65 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)17-0180-07

内质网(ER)是细胞中一种重要的膜性网状细胞器,主要负责蛋白质的合成、折叠、修饰、分泌和转运,是病毒蛋白翻译和成熟的关键细胞器。当外源病原体入侵细胞进行复制增殖,其结构蛋白和非结构蛋白大量表达,破坏内质网平衡,导致错误折叠和未折叠蛋白在内质网中迅速积累,钙离子水平骤变,最终内质网面临巨大压力,使细胞处于应激状态,这种状态被命名为内质网应激(ERS)<sup>[1]</sup>,细

胞自噬、凋亡甚至代谢均与内质网应激息息相关。研究内质网应激,对治疗病毒感染及相关代谢综合征均具有重要意义。

## 1 UPR 反应通路介绍

未折叠蛋白反应(UPR)是一种细胞适应性反应,用以恢复内质网稳态以应对内质网应激。通过上调分子伴侣免疫球蛋白重链(BIP)结合蛋白以促进蛋白质折叠,抑制蛋白质合成,增强内质网相关降解(ERAD),消除错误折叠和未折叠蛋白质<sup>[1-2]</sup>。

BIP 又被称为葡萄糖调节蛋白 78(GRP78),是热休克蛋白家族的一员。BIP 是 UPR 反应的标志性分子,静息状态时与 3 个近端的 UPR 传感分子结合且抑制其活性。3 个 UPR 传感分子分别为激活转

收稿日期:2021-09-23

基金项目:江苏省重点研发计划(编号:BE2020407)。

作者简介:倪敏舒(1996—),男,江苏常州人,硕士研究生,主要从事内质网应激和病毒感染研究。E-mail:847497386@qq.com。

通信作者:冯磊,副研究员,主要从事兽用生物制品研究。

E-mail:fenglei@jaas.ac.cn。

[26] 尹丽卿,苏琳,靳焯. 肌纤维特性与鱼肉品质的关系及其调控技术的研究进展[J]. 食品工业,2015,36(2):231-234.

[27] Sun L C, Zhou L G, Du C H, et al. Glucose-6-phosphate isomerase is an endogenous inhibitor to myofibril-bound serine proteinase of crucian carp (*Carassius auratus*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(12):5549-5555.

[28] 查锡良,药立波. 生物化学与分子生物学[M]. 8版. 北京:人民卫生出版社,2013.

[29] 李连之,黄仲贤. 细胞色素c氧化酶研究新进展[J]. 无机化学学报,2001,17(6):761-774.

[30] Tang J L, Faustman C, Hoagland T A, et al. Postmortem oxygen consumption by mitochondria and its effects on myoglobin form and stability[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(4):1223-1230.

[31] Bachs O, Agell N, Carafoli E. Calcium and calmodulin function in the cell nucleus [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes, 1992, 1113(2):259-270.

[32] 田兴国,陈瑶生,凌飞,等. 猪骨骼肌快肌钙蛋白C2基因的cDNA克隆与表达分析[J]. 遗传,2006,28(8):949-955.

[33] 陈韬. 宰后肌肉蛋白质和组织结构变化与冷却猪肉持水性的关系研究[D]. 南京:南京农业大学,2005.

[34] Panaretou B, Zhai C. The heat shock proteins; their roles as multi-component machines for protein folding [J]. Fungal Biology Reviews, 2008, 22(3/4):110-119.

[35] Picard B, Gagaoua M, Micol D, et al. Inverse relationships between biomarkers and beef tenderness according to contractile and metabolic properties of the muscle [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(40):9808-9818.