

组学技术在鉴定及预测猪肉质量特性生物标志物中的应用

刘昊天,李媛媛,孔保华*

(东北农业大学食品学院,哈尔滨黑龙江 150030)

摘要:利用组学技术鉴别出的生物标志物在猪肉的加工和感官特性中得到了一定的应用。本文从生物标志物的定义和基本的鉴别方法出发,重点综述了灰白肉(PSE),肉的嫩度,肌间脂肪含量以及肉的剪切应力的生物标志物的鉴定,介绍了生物标志物预测猪肉的加工及感官品质的研究进展,并对生物标志物在今后肉品科学研究中的应用进行展望,以期在猪肉制品生产链上对产品的质量进行更好的管理。

关键词:组学技术,猪肉质量,生物标志物

Application of omics techniques in identification and predication of biomarkers of quality attributes of pork: a review

LIU Hao-tian, LI Yuan-yuan, KONG Bao-hua*

(College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Biomarkers which are identified by omics techniques has received some applications in technological and sensory attributes of pork. In this paper, the definition and basic method of identification of biomarkers were introduced briefly, and its identification in pork samples were reviewed in analyzing pale soft exudative (PSE) meat, tenderness, intramuscular fat (IMF) content and meat shear force. The prediction of biomarkers was introduced briefly in pork qualities. Finally, applications of biomarkers in further meat research were prospected and this technology may play a greater role in the field of product quality.

Key words: genomics; pork quality; biomarkers

中图分类号: TS251.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)13-0381-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.13.070

我国是猪肉生产大国,目前随着生活水平的提高,人们对肉及肉制品的品质需求也在逐步上升。影响猪肉品质的因素很多,包括猪的品种、性别、饲养条件等,这些因素会影响宰后肉的蒸煮损失、滴水损失、肌间脂肪含量、嫩度和风味等,进一步影响猪肉与肉产品的加工特性及感官质量^[1]。因组学技术其具有高通量、速度快等优点,因此利用组学技术识别与肉类质量有关的生物标志物,再通过生物标志物来预测肉品的质量特性,现已成为目前研究热点。

利用组学技术可以使蛋白质或代谢物中数百个甚至数千个基因同时进行分析,因此一些特征蛋白质, mRNA 或者与肉的质量特征相关的代谢产物可以作为对应的生物标志物在猪肉中检测出来^[2-3]。利用检测出的生物标志物可以对猪肉制品的质量进行评估和预测,这种快速检测方法的不断发展,可以更好的对胴体进行评估,进而减少经济损失。此外,

还可以将其应用于改善动物的遗传选择和适应良种繁育体系以满足预期的质量水平^[4]。

本文简要提及了常用的基因组学,蛋白质组学,转录组学及代谢组学技术,从生物标志物的定义和基本的鉴别方法出发,重点综述了灰白肉(PSE),肉的嫩度,肌间脂肪含量以及肉的剪切应力的生物标志物的鉴定,介绍了生物标志物预测猪肉的加工及感官品质的研究进展,并对生物标志物在今后肉品科学研究中的应用进行展望,最终目的是为了在实际应用中在猪肉制品生产链上对产品的质量进行更好的管理。

1 生物标志物定义及鉴别中常用的组学技术

1.1 生物标志物的定义

生物标志物(Biomarker)是指可以标记系统、器官、组织、细胞及亚细胞结构或功能的改变或可能发生的改变的生化指标,是生物体受到严重损害之前,

收稿日期:2015-12-16

作者简介:刘昊天(1992-),男,硕士研究生,研究方向:畜产品加工, E-mail:18246142997@163.com。

* 通讯作者:孔保华(1963-),女,博士,教授,研究方向:畜产品加工, E-mail:kongbh@163.com。

基金项目:国家自然科学基金(31471599);黑龙江省应用技术与开发重点计划(GA15B302)。

在不同生物学水平(分子、细胞、个体等)上因受环境污染影响而异常化的信号指标^[1]。它可以对严重毒性伤害提供早期警报。这种信号指标是细胞分子结构和功能的变化、某一生化代谢过程的变化或生成异常的代谢产物或其含量,也可能是某一生理活动或某一生理活性物质的异常表现,亦或是个体表现出的异常现象,或是种群或群落的异常变化等,而换句话说,生物标志物就是反映机体生物学进程及状态的标记^[5]。

1.2 生物标志物鉴别中涉及的组学技术

1.2.1 基因组学技术 基因组学主要研究的是基因组的功能,关于基因组及测序工具的发展使得功能性或表达性基因组学也得到了发展^[3]。利用基因组学可以在特定的序列上或使用特定的工具来同时分析数百或数千个基因的变化(单核苷酸多态性位点与芯片),近年来基因组学技术已经逐渐被应用于研究与肉品质量有所关联的基因的表达水平或表达丰度上。

1.2.2 蛋白质组学 蛋白质组学是研究细胞内所有蛋白质及其动态变化规律的科学。蛋白质组学技术是一种用来确定新肽的更综合的方法,不仅能在蛋白质水平上验证基因表达和基因精细模式,还能改进蛋白质序列数据库^[6]。对于蛋白质来说,为了测定蛋白质生物标志物的含量,常用免疫斑点技术测定分析肌肉样品中的大量蛋白质。

1.2.3 转录组学 对于转录物来说,在基因组中能够挑选出至少 3000 个涉及肌肉生物过程或肉品质量的基因(相当于 13409 个寡核苷酸探针),而目前蛋白质组学与转录组学的研究或科学出版物都集中在 DNA 芯片上^[7]。DNA 芯片又称为基因芯片,基因芯片作为一种新技术,不仅准确、快速、高效,而且具有高通量等特点。基因芯片的测序原理是杂交测序方法,即通过与一组已知序列的核酸探针杂交进行核酸序列测定的方法。具体见图 1,在一块基片表面固定了序列已知的靶核苷酸的探针,当溶液中带有荧光标记的核酸序列 TATGCAATCTAG,与基因芯片上对应位置的核酸探针产生互补匹配时,通过确定荧光强度最强的探针位置,获得一组序列完全互补的探针序列,据此可重组出靶核酸的序列^[8]。

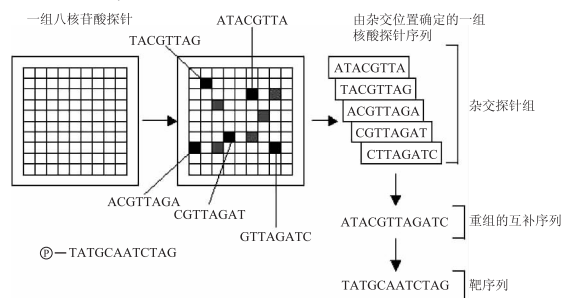


图1 基因芯片的测序原理^[8]

Fig.1 The sequencing principle of gene chip^[8]

1.2.4 代谢组学 代谢组学是以组群指标分析为基础,以高通量检测和数据处理为手段,以信息建模与系统整合为目标的系统生物学的一个分支,是继基

因组学、转录组学、蛋白质组学后系统生物学的另一重要研究领域,它是研究生物体系受外部刺激所产生的所有代谢产物变化的科学,所关注的是代谢循环中分子量小于 1000 的小分子代谢物的变化,反映的是外界刺激或遗传修饰的细胞或组织的代谢应答变化^[3,6]。

2 利用组学技术鉴定猪肉质量特性的生物标志物

同其他物种一样,猪肉的感官及质量特性也同样取决于动物的遗传因素、饲养和屠宰条件以及猪肉在加工过程中发生的复杂的物理化学反应变化。尽管许多生产厂商在生产及加工过程中尽可能的避免这些影响猪肉质量的因素,但猪肉及其制品的质量特性的差异性仍然很高。通过在胴体上或者分割加工后的生物标志物可以提前来预测以后的肉品质量,因此可以更好的对产品进行分级,降低损失,提高猪肉生产商的利益。目前,对于影响肉品质量的特征如蒸煮损失,肌间脂肪含量,PSE 肉以及剪切力的生物标志物的鉴定已经得到了广泛的研究^[1-3,9]。最近,一种基于实验设计诱导一个或多个肉品质量性状同时产生较高的个体差异的方法已经研制成功并且得到了广泛的应用^[10]。在猪肉中,对背最长肌的大部分研究已经完成,而一些研究已经开始考虑对半膜肌的研究^[8-11]。

2.1 PSE 肉的生物标志物

PSE (pale, soft, and exudative) 肉是一种常见的猪肉的质量缺陷,它主要是由遗传或非遗传因素所导致产生的一种异常肉,PSE 发生会使肉的生理和生化机制发生了一定改变,使猪肉产生不良的质量特性,比如表面渗水过多、变色、质地变软等,因此通过鉴别 PSE 的生物标志物可以避免肉品加工行业的经济损失。Damon 等人^[12]分析出 PSE 肉内糖酵解途径中酶的基因编码的上调也可以作为 PSE 肉的生物标志物。Laville 等人^[13]通过蛋白质组学的研究发现,在 PSE 肉中肌原纤维蛋白的溶解度较低,肌原纤维蛋白会产生一定程度的降解并产生小热休克蛋白,这些也可以作为 PSE 肉的生物标志物。有一种遗传因子叫氟烷基因(hal gene),常用 N 表示显性,用 n 表示隐性。当该基因型为 nn 时(即正常猪),猪极易出现应激综合症(PSS),是导致 PSE 肉形成的主要原因^[14]。所以氟烷基因也可以作为 PSE 肉的生物标志物。但是 Laville 等人^[15]进一步研究发现与显性纯合体(NN)的猪相比,隐性纯合子(nn)遗传型的猪的半膜肌在兰尼受体基因(RyR1)基因座上也可以检测出其蛋白质溶解度的降低、小热休克蛋白以及与氧化代谢有关系的蛋白质的增多,这也说明了 PSE 缺陷可能与遗传因素有关,该研究可以得出小热休克蛋白可被作为宰后初期的有 PSE 缺陷的猪肉的生物标志物。因此,就目前研究而言,发现的 PSE 肉的生物标志物主要有糖酵解途径中酶的基因编码的上调,小热休克蛋白,氟烷基因等。

2.2 肉的嫩度的生物标志物

一般来讲,通过力学测量例如剪切应力(SF)可

以评定肌肉嫩度,或者由经过培训的专业人员进行感官评分来确定最适的肉的嫩度,但是目前常用的方法是感官评定与力学测量所得的结果结合起来进行综合的评定^[16]。随着基因组学、蛋白质组学、代谢组学、计算生物学、以及生物化学等数门学科研究的深入,为了得到感官质量高的猪肉,可以将上述组学进行有机的结合,通过鉴定其生物标志物研究影响猪肉嫩度因素的内部机制,通过转录物、蛋白质或者代谢物的含量高低来分析肌肉组织嫩度的大小。

Picard 等人^[6]对三种猪的半膜肌和背最长肌进行嫩度的测定,并利用得到的结果建立了预测嫩度的方程。Picard 等人^[6]首先分别从半键肌和背最长肌中提取出蛋白质,将提取出的蛋白质与靶向蛋白中的特异性抗体进行杂交。随后加入带有标记物的抗体,使标记通过抗体和相应抗体的结合间接地交联于纤维素膜上。最后加入标记物与相应的底物后,标记物与底物作用形成不溶性产物,加入荧光染色剂后会呈现斑点状着色,从而判定结果。而在这之前,抗体的特异性以及使用的最佳条件需要通过蛋白质印迹法(Western-Blot)来确定^[7],接着用测得的蛋白质相对含量建立方程式来预测肌肉的嫩度。Damon 等人^[12]根据转录组学分析宰后 20 min 的猪肉大腿肌样品,鉴别出猪肉宰后初期嫩度的生物标志物为肌原纤维蛋白的基因编码的上调,并且肌原纤维蛋白的基因编码的上调也涉及到肌动蛋白-肌球蛋白之间的相互作用以及肌节的完整性,因此肌节的完整性也与嫩度存在一定的相关性。Picard 等人^[17]又对两组嫩度不同的猪肉样品中起主要作用的蛋白质的差异进行了研究,将两组嫩度不同的猪肉样品中的蛋白质通过二维凝胶电泳进行分离,进而通过统计实验进行对比得到 24 种蛋白质可能是嫩度的潜在生物标志物。这些蛋白质在糖酵解、氧化能量代谢、钙代谢、肌肉的微观结构、肌肉的收缩、肌肉的氧化、细胞凋亡、细胞的保护中起到了一定的作用,进而影响了肉的嫩度。此结论在其他文献中也得到了证实,例如, Jia 等人^[18]证实了 Park7 和 PRDX6 为嫩度的生物标志物, Hollung 等人^[19]也证明了小清蛋白(parvalbumin)和膜联蛋白(Annexin V)与钙的代谢有关。Bernard 等人^[20]挑选了大约 100 头猪作为样品,并利用基因芯片分析了饲养方式不同的同种猪的两个肌肉部分。结果证明了 DNAJA1 基因可能是猪肉韧性的生物标志物。他们还发现,有一组基因与猪肉的嫩度及剪切力之间存在着联系,这组基因属于热休克蛋白族,或存在于能量代谢或脂肪代谢途径中。Lomiwes 等人^[11]认为,一组属于热休克蛋白族的 4 种基因可以用来解释一些肉的嫩度变化,但是这些嫩度标记物或许只是对于某一群体而言。许多的研究小组已经开始使用基因芯片技术来对猪肉或者牛肉的质量进行预测或者研究其食用性质的影响^[9]。

因此,就目前研究而言,发现的肉的嫩度的生物标志物主要有肌原纤维蛋白的基因编码的上调,肌节的完整性, Park7, PRDX6, Parvalbumin 和 Annexin V。

2.3 肌间脂肪的含量以及肉的剪切应力的生物标志物

肌间脂肪的含量在猪肉的食用品质及可接受性中起着重要的作用,而对于肌间脂肪含量的生物标志物的了解和鉴别,主要涉及了转录组学、蛋白质组学和代谢组学的相关知识。D' Alessandro 等人^[21]结合差异蛋白质组学与定量代谢组学对肌间脂肪含量不同的两个物种的 Casertana 猪和大白猪进行分析时,发现那些参与糖酵解反应支路的酶,如甘油-3-磷酸脱氢酶(为甘油合成提供基质)会在背最长肌中加速脂肪的合成。Liu 等人^[22]研究来自相同遗传背景的两组猪,对比了 100 kg 背最长肌的肌间脂肪含量为 1.36% 和 4.58%,这一研究结果表明了 mRNA 以及蛋白质在基因上表达水平的差异对葡萄糖、脂质、蛋白质的代谢过程,细胞间的信息传递,以及应激反应都有一定的影响。Hamill 等人^[23]利用转录组学对不同实验组间肌间脂肪含量的差异进行了研究,结果表明了脂肪和蛋白质代谢、蛋白质的合成,细胞的结构和细胞的功能都与肌间脂肪含量有所关联,更加确立了肌间脂肪含量与各种代谢和细胞途径有关。

Liu 等人^[22]同样对肌间脂肪含量很高的猪肉的背最长肌进行了测定,得出了小清蛋白含量的减少会对背最长肌中脂肪的合成会有一定消极的影响,并证实了脂肪细胞的发育对肌间脂肪含量变化的具有一定的重要性。同时, Damon 等人^[12]研究发现大量的 FABP4 蛋白质(fatty acid binding protein 4, adipocyte)与肌肉脂肪细胞的数量或者肌间脂肪含量具有较高的正相关性。这表明 FABP4 蛋白质可以在猪肉中作为肌间脂肪含量的生物标志物。此外, Laville 等人^[24]研究表明与脂代谢有关的 FABP4 蛋白质也在肌间脂肪含量较低但是具有较高剪切应力(SF)的猪肉中被发现,这与肌间脂肪含量与剪切应力之间呈现负相关性的结论相一致。Hamill 等人^[23]的研究表明在猪肉的背最长肌中,蛋白质合成基因表达的减少以及参与蛋白质降解的基因表达的增多同样与 SF 的降低有关。就目前研究而言,发现的肌间脂肪含量和剪切力生物标志物主要有甘油-3-磷酸脱氢酶, mRNA 以及蛋白质在基因上表达水平的差异,小清蛋白的含量, FABP4 蛋白质等。

3 组学技术鉴别出的生物标志物预测猪肉的质量特性

许多研究为了同时分析不同物种或是生长环境中不同的猪的许多质量特性之间存在的差异性,结合生物学知识,利用生物标志物来研究多种猪肉质量特性之间的相关性及差异性。近期 Rohart 等人^[25]研究表明,不同于肉品质量特性,一些潜在的经济效益特性(如瘦肉率,平均日采食量)可以在测试结束期(当猪的权重约为 110 kg 体重)时通过动物在生长期(当猪的体重约 60 kg)的代谢数据很好的进行预测。

对于肉品的质量特征, Lebret 等人^[26]实验发现将两种猪(法国本地的 Basque 和大白猪)饲养在不

同的生长环境中,研究结果表明不同的生长环境同样会影响到猪肉的品质。其研究关于背最长肌基因芯片转录分析结果显示,不同物种之间的肌肉生理机能和肉品质量性状的不同与代谢过程、骨骼肌结构和组织、细胞外基质、溶酶体以及蛋白水解作用的差异有关。Lebret 等人^[26]在 Basque 这个物种的猪中进行了进一步的研究,结果表明,相对于传统饲养,现今饲养体系导致了参与控制肌肉结构以及热反应(小热休克蛋白)的基因的过度表达。联系到其质量特性的差异,上述这些数据可以作为鉴别猪肉特性的生物标志物进而预测猪肉的质量特性。

Lebret B 等人^[27]从更广范围选取不同物种和不同生长环境的 50 头猪,鉴别与它们的加工特性和感官质量包括极限 pH、滴水损失、亮度(L^*)、红度(a^*)、色相(h°)、肌间脂肪含量、剪切应力(SF)和嫩度等相联系的生物标志物。研究结果表明基因芯片表达与肉品质量特性之间建立了多达数千种联系,其中与 a^* 值的联系有 140 种左右,与嫩度的联系达到 2892 种。之后,Lebret B 等人^[27]从中挑选出 40 个具有高度相关系数值或者与生物过程相关的基因。RNA 的逆转录(RT)和 cDNA 的聚合酶链式扩增反应(PCR)相结合的技术,即 RT-PCR 技术是更为精确的一种方法来检测同一样品中它们之间的联系的分子生物学技术,因此 Damon 等人^[28]进一步利用 RT-PCR 技术鉴别出 113 种与质量特性之间存在的联系的转录物,通过建立多元线性回归模型进行分析,分析结果表明,3~5 个基因可以用来解释多达 59% 的肉品质量特性的变化,因此这 3~5 个基因可以作为上述质量特性的生物标志物。Lebret 等人^[29]挑选了 100 只商业杜洛克猪、长白猪、约克夏猪进行研究,结果表明检测到 19 项转录物与质量特性之间的联系($R^2 \leq 0.94$)包括 6 项与极限 pH 相联系的转录物,5 项与 L^* 相联系的转录物,4 项与滴水损失相联系的转录物,1 项与肌间脂肪含量相联系的转录物,1 项与与嫩度相联系的转录物,其中在这些生物标志物中 CA3(碳酸酐酶 III)与肌间脂肪含量成反比,FOS(FBJ 小鼠骨肉瘤病毒癌基因同源物)涉及到钙的传输及转录,并且与极限 pH、滴水损失、 L^* 、 h° 呈负相关性,因此这些转录物皆可作为特定质量特性的生物标志物。Pierzchala 等人^[30]与同样选取和 Lebret 等人^[29]的实验一致的商业杜洛克猪、长白猪和约克夏猪来进行猪肉质量的生物标志物的外部鉴定实验。但在鉴定生物标志物之前,通过转录组学对比实验设计,测定了新鲜猪肉的工艺品质。得到的结果为 2 项与滴水损失相联系的转录物,3 项与极限 pH 相联系的转录物,1 项与 a^* 相联系的转录物,2 项与 L^* 相联系的转录物,但是他们的研究中同一质量特性涉及的基因与 Lebret 等人^[29]的实验结果有所不同,因此生物标志物不同。

这些和质量特性相关的肌肉蛋白组被考虑用来作为宰后初期的猪的生物标志物。tePas 等人^[30]通过分析背最长肌样品中的蛋白质组,发现分析结果中的峰或峰组与肉品质量特征之间存在一定的关系,尤其是滴水损失和极限 pH 与峰或峰组之间存在

着最高的相关性。这一研究结果表明,测定蛋白质组生物标志物来预测肉品质量的预测精度要高于测定单一的蛋白质的生物标志物。然而,te Pas 等人^[31]认为,如果要想进一步测定蛋白质的基础峰值模式,需要开发出更方便,成本更低,更加快速的方法(例如试纸条)来量化这些生物标志物。

4 前景及展望

目前组学技术具有高通量、操作简便、特异性强、灵敏度高和可预测性等诸多优点,现有研究已经证明了可以通过蛋白质组学,转录组学和代谢组学等方法将与猪肉质量特性有关的生物标志物鉴别出来。利用生物标志物对肉制品质量的预测可以更好的发展猪肉产业和更好的控制产品质量,但仍需进一步改善其预测能力(转录组标记)或量化方法(蛋白质组标记)。因此,今后的研究应致力于基于验证和鉴定肉品质量等级(例如猪肉质量等级)和感官质量的转录组生物标志物的发展,这样可以对评定肉质等级提供更为方便、快速、价廉的方法。而对生物标志物鉴定的最终的目的是在对胴体进行分级或是屠宰初期对胴体进行感官和加工质量的预测,从而提高猪肉生产商的利益,减少损失。

参考文献

- [1] 孔保华,韩建春.肉品科学与技术[M].北京:中国轻工业出版社,2011,16(3):8-10.
- [2] 殷朝敏,雷靖行.基因表达系列分析技术在真菌功能基因组学中的应用[J].北京:生物技术通报,2011,33(1):25-28.
- [3] D' Alessandro A, Rinalducci S, Marocco C, et al. An Omics window on the pork tenderness network[J]. Journal of Proteomics, 2012, 84(1):4360-4380.
- [4] 谢志修.生物技术在食品检测方面的应用[M].生物技术通报,2010,33(15):412-417.
- [5] 吴晓薇,黄国城.生物标志物的研究进展[J].广东畜牧兽医科技,2008,30(12):3405-3409.
- [6] Picard B, Micol D, Cassar-Malek I, et al. Meat and fish flesh quality with proteomic applications[J]. Animal Frontiers, 2012, 2(4):18-25.
- [7] Hocquette J F, Bernard-Capel C, Vidal V, et al. The GENOTEND chip: A new tool to analyse gene expression in muscles of pig for pork quality prediction[J]. BMC Veterinary Research, 2012, 32(3):18-35.
- [8] 邹宗亮,王志清,王升启.基因芯片技术研究进展[J].高技术通讯,2000,24(16):314-318.
- [9] Hiller B, Hocquette J F, Cassar-Malek I, et al. Dietary n-3 fatty acid effects on gene expression in pig longissimus muscle as assessed by microarray/q RT-PCR methodology[J]. British Journal of Nutrition, 2012, 10(8):858-863.
- [10] Guillemin N, Cassar-Malek I, Hocquette J, et al. La maîtrise de la tendreté de la viande pig: identification de marqueurs biologiques[J]. INRA Productions Animal, 2009, 22(4):331-344.
- [11] Lomiwes D, Farouk M M, Wiklund E. Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review[J]. Meat

Science, 2014, 96(1):26-40.

[12] Damon M, Louveau I, Lefaucheur L, et al. Number of intramuscular adipocytes and fatty acid binding protein-4 content are significant indicators of intramuscular fat level in crossbred Large White X Duroc pigs[J]. Journal of Animal Science, 2006, 8(4):1083-1092.

[13] Laville E, Sayd T, Sante-Lhoutellier V, et al. Characterisation of PSE zones in semimembranosus pig muscle[J]. Meat Science, 2005, 7(10):167-172.

[14] 董佩佩, 刘志军, 贾俊静. 影响猪肉品质的基因及研究进展[J]. 饲料研究, 2010, (01):46-48.

[15] Laville E, Sayd T, Terlouw C, et al. Differences in pig muscle proteome according to HAL genotype: Implication for meat quality defects[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 5(7):4913-4923.

[16] Chriki S, Renand G, Picard B, et al. Meta-analysis of the relationships between pork tenderness and muscle characteristics[J]. Livestock Science, 2013, 15(5):424-434.

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

[18] Jia X, Veiseth K E, Grove H, et al. Peroxiredoxin-6 - A potential protein marker for meat tenderness in pork longissimus thoracis muscle[J]. Journal of Animal Science, 2009, 87(7):2391-2399.

[19] Hollung K, Veiseth E, Jia X, et al. Application of proteomics to understand the molecular mechanisms behind meat quality[J]. Meat Science, 2007, 7(7):97-114.

[20] Bernard C, Cassar-Malek I, Le Cunff M, et al. New indicators of pork sensory quality revealed by expression of specific genes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(13):5229-5237.

[21] D' Alessandro A, Marocco C, Zolla V, et al. Meat quality of the longissimus lumborum muscle of Casertana and Large White pigs: Metabolomics and proteomics intertwined[J]. Journal of Proteomics, 2011, 7(5):610-627.

[22] Liu J, Damon M, Guitton N, et al. Differentially-expressed

genes in pig Longissimus muscles with contrasting levels of fat, as identified by combined transcriptomic, reverse transcription PCR, and proteomic analyses[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 5(7):3808-3817.

[23] Hamill R M, McBryan J, MCGee C, et al. Functional analysis of muscle gene expression profiles associated with tenderness and intramuscular fat content in pork[J]. Meat Science, 2014, 9(2):440-450.

[24] Laville E, Sayd T, Terlouw C, et al. Comparison of sarcoplasmic proteomes between two groups of pig muscles selected for shear force of cooked meat[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 15(5):5834-5841.

[25] Rohart F, Paris A, Laurent B, et al. Phenotypic prediction based on metabolomic data for growing pigs from three main European breeds[J]. Journal of Animal Science, 2012, 9(10):4729-4740.

[26] Leuret B, Denieul K, Damon M. Muscle transcriptome profiles highlight biomarkers of pig production system and high meat quality[J]. Journal of Animal Science, 2014, 1(8):44-49.

[27] Leuret B, Ecolan P, Bonhomme K, et al. Influence of production system in local and conventional pig breeds on stress indicators at slaughter, muscle and meat traits and pork eating quality[J]. Journal of Animal Science, 2014, 1(3):34-41.

[28] Damon M, Wyszynska-Koko J, Vincent A, et al. Comparison of muscle transcriptome between pigs with divergent meat quality phenotypes identifies genes related to muscle metabolism and structure[J]. Journal of Animal Science, 2012, 7(3):33-39.

[29] Leuret B, Denieul K, Vincent A, et al. Identification by transcriptomics of biomarkers of pork quality[J]. Meat Science, 2015, 9(1):44-50.

[30] Pierzchala M, Hoekman A J, Urbanski P, et al. Validation of biomarkers for loin meat quality (M. longissimus) of pigs[J]. Journal of Animal Breeding and Genetics, 2014, 131(3):258-270.

[31] te Pas M F, Kruijt L, Pierzchala M, et al. Identification of proteomic biomarkers in M. Longissimus dorsias potential predictors of pork quality[J]. Meat Science, 2013, 9(5):679-687.

(上接第380页)

80-85.

[42] 王倩. 太平洋褶柔鱼鳃腺糖蛋白的分离提取及生物活性分析[D]. 福州: 福建农林大学, 2013.

[43] 方旭波, 陈小娥, 余辉, 等. 鲑鱼硫酸软骨素糖蛋白的分离纯化和鉴定[J]. 中国食品学报, 2009, 9(4):103-109.

[44] 曾婷婷, 徐明生, 蒋艳, 等. 超声波法提取河蚬糖蛋白[J]. 江西农业大学学报, 2008, 30(1):144-148.

[45] 包郁明, 陶宇, 侯虎, 等. 鲍鱼脏器糖蛋白超声辅助提取工艺及分离纯化的研究[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(9):11-15.

[46] 包郁明. 皱纹盘鲍脏器糖蛋白分离纯化及其免疫活性的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.

[47] 夏光华, 贺敏, 詹麒平, 等. 鲫鱼卵唾液酸糖蛋白化学结构分析及对前成骨细胞 MC3T3-E1 增殖分化的影响[J]. 食品

科学, 2014, 35(13):203-207.

[48] 汪秋宽, 何云海, 徐玲, 等. 牡蛎糖蛋白的纯化分离研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2007, 38(2):211-214.

[49] 刘兴华, 赵浩如. 天然糖蛋白的提取、分离与纯化[J]. 药学进展, 2006, 30(12):542-547.

[50] Zhang J, Ni Y L, Zheng X L. Preparation of poly(vinylphenylboronic acid) chain grafted poly(glycidylmethacrylate-co-ethylenedimethacrylate) beads for the selective enrichment of glycoprotein[J]. Journal of Separation Science, 2015, 38(1):81-86.

[51] Sun S J; Tang Y H, Fu Q. Preparation of agarose/chitosan composite supermacroporous monolithic cryogels for affinity purification of glycoproteins[J]. Journal of Separation Science, 2012, 35(7):893-900.