

# 秦川牛宰后成熟过程中蛋白质DJ-1对肉质变化的影响机制

张 静, 赵文秀, 司健芳, 曹松敏, 李亚蕾\*, 罗瑞明  
(宁夏大学食品科学与工程学院, 宁夏 银川 750021)

**摘 要:** 为探究宰后秦川牛成熟期间核酸脱甘糖酶DJ-1蛋白表达对肉品质的影响, 以25月龄秦川牛背最长肌为研究对象, 测定其在4℃条件下成熟0、2、4、6、8 d时的肉品质、DJ-1表达量及活性氧 (reaction oxygen species, ROS) 相对含量, 并对DJ-1表达量与肉品质指标及ROS进行相关性分析; 基于4D-非标定量 (4D-label free quantification, 4D-LFQ) 蛋白质组学筛选DJ-1并分析相关差异蛋白。结果表明: 随成熟时间的延长, pH值呈先减小后增大趋势,  $L^*$ 值、 $a^*$ 值、剪切力、离心损失和滴水损失呈先增大后减小趋势,  $b^*$ 、ROS、DJ-1表达量呈上升趋势; DJ-1表达量与离心损失、 $L^*$ 值、 $b^*$ 值和ROS相对含量呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ ), 与pH值呈极显著负相关 ( $P < 0.01$ ), 与剪切力呈显著负相关 ( $P < 0.05$ ), 与 $a^*$ 值和滴水损失无显著相关性 ( $P > 0.05$ )。故宰后成熟期间DJ-1表达量变化与牛肉嫩度密切相关。4D-LFQ蛋白质组学鉴定出DJ-1及其功能相关的差异蛋白在细胞内通过发挥蛋白质均二聚活性并与激酶、离子通道和泛素蛋白酶等结合, 同时通过蛋白酶体蛋白分解、糖酵解以及氧化应激反应对凋亡信号通路的调控等, 促进宰后秦川牛肌肉结构发生变化, 并经过复杂的生物化学反应引起细胞内环境改变, 进而影响秦川牛的嫩度等品质。

**关键词:** 秦川牛; 蛋白质DJ-1; 宰后成熟; 4D-非标定量蛋白质组学; 肉品质

Mechanism of the Effect of Protein DJ-1 on Changes in the Meat Quality of Qinchuan Cattle during Postmortem Aging

ZHANG Jing, ZHAO Wenxiu, SI Jianfang, CAO Songmin, LI Yalei\*, LUO Ruiming  
(School of Food Science and Engineering, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

**Abstract:** In order to explore the effect of protein/nucleic acid deglycase DJ-1 (DJ-1) expression on the meat quality of Qinchuan cattle during postmortem aging, the *longissimus dorsi* muscle of Qinchuan cattle slaughtered at 25 months of age was aged at 4℃ postmortem and evaluated for meat quality, DJ-1 expression and relative levels of reaction oxygen species (ROS) after 0, 2, 4, 6 and 8 days. The correlation between DJ-1 expression and meat quality indexes and ROS was analyzed. Four-dimensional label-free quantitative (4D-LFQ) proteomics was deployed to analyze DJ-1 and the related differential proteins. The results showed that with the increase in aging time, the pH decreased first and then increased, the  $L^*$ ,  $a^*$ , shear force, centrifugal loss and drip loss increased first and then decreased, and the  $b^*$ , ROS and DJ-1 expression continued to increase. DJ-1 expression was significantly positively correlated with centrifugal loss,  $L^*$ ,  $b^*$  and ROS ( $P < 0.01$ ) and significantly negatively correlated with pH ( $P < 0.01$ ) as well as shear force ( $P < 0.05$ ), but was not significantly correlated with  $a^*$  or drip loss ( $P > 0.05$ ), leading us to conclude that changes in DJ-1 expression during postmortem aging is closely related to beef tenderness. 4D-LFQ proteomics revealed that DJ-1 and its functionally related differential proteins promoted structural changes of beef muscle during postmortem aging by forming a homodimer, binding to kinases, ion channels and ubiquitin proteases, and regulating the apoptosis signaling pathway through proteasomal protein decomposition, glycolysis

收稿日期: 2023-12-08

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目 (32160535)

第一作者简介: 张静 (1999—) (ORCID: 0000-0009-2002-5081), 女, 硕士研究生, 研究方向为肉品加工及质量安全控制。

E-mail: 2827455456@qq.com

\*通信作者简介: 李亚蕾 (1966—) (ORCID: 0000-0001-5245-9188), 女, 教授, 硕士, 研究方向为肉品加工及质量安全控制。

E-mail: yaleili.cn@163.com

and the regulation of oxidative stress response. At the same time, they caused changes in the intracellular environment through complex biochemical reactions, which in turn affected beef quality attributes of Qinchuan cattle such as tenderness.

**Keywords:** Qinchuan cattle; protein DJ-1; postmortem aging; 4D-label free quantitative proteomics; meat quality

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20231208-074

中图分类号: TS251.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 22-0219-10

引文格式:

张静, 赵文秀, 司健芳, 等. 秦川牛宰后成熟过程中蛋白质DJ-1对肉品质变化的影响机制[J]. 食品科学, 2024, 45(22): 219-228. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20231208-074. <http://www.spkx.net.cn>

ZHANG Jing, ZHAO Wenxiu, SI Jianfang, et al. Mechanism of the effect of protein DJ-1 on changes in the meat quality of Qinchuan cattle during postmortem aging[J]. Food Science, 2024, 45(22): 219-228. (in Chinese with English abstract)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20231208-074. <http://www.spkx.net.cn>

动物屠宰放血后阻断了肌肉组织与外部环境的联系, 机体供氧中断会改变肌肉的能量代谢, 进而使肌肉细胞中的线粒体电子传递链受到干扰, 血流和氧气供应的减少会导致活性氧 (reaction oxygen species, ROS) 含量增加<sup>[1]</sup>, 当ROS水平超过抗氧化系统的还原能力时, 肌细胞会发生氧化应激从而打破机体氧化还原系统的平衡。核酸脱甘糖酶DJ-1蛋白 (也称PARK7) 具有分子伴侣、蛋白酶、转录调节因子的特性<sup>[2]</sup>, 作为动物体内关键的抗氧化应激蛋白, 可调控多种抗氧化应激分子的信号通路, 在宰后成熟过程中通过增强细胞对ROS的清除能力, 从而在调节氧化应激诱导的细胞凋亡中发挥关键作用<sup>[3]</sup>。研究表明DJ-1可作为反映肉品质相关的一种生物标志物<sup>[4-5]</sup>, 在肉品科学领域研究嫩度、肉色等方面具有应用潜力。Zhu Yao等<sup>[6]</sup>推断DJ-1在肉类中主要通过来自能量代谢和热休克途径的蛋白质相互作用、降低促凋亡因子的表达量及抑制半胱天冬酶活性从而减缓宰后肌肉细胞的凋亡并提高牛肉韧性。与之相反, Picard等<sup>[7]</sup>研究发现在宰后牛背最长肌中DJ-1蛋白表达量与嫩度呈正相关。关于DJ-1对肉品质, 尤其是对嫩度的影响, 不同研究结果存在很大差异。目前国内外有关DJ-1的研究主要集中在医学方面, 其对鲜肉品质的影响机制鲜有报道。

蛋白质是肌肉组织的主要成分, 参与肌肉到食用肉代谢途径的调节。蛋白质组学可作为一种表征细胞或组织中全部蛋白质 (蛋白质组) 特征的研究工具, 可以反映肌肉蛋白的变化情况<sup>[8]</sup>, 已逐渐被用于鉴定与肉质特征相关的蛋白质, 而4D-非标定量 (4D-label free quantification, 4D-LFQ) 蛋白质组学较传统的蛋白检测具有更高的灵敏性, 在肉品科学领域利用该技术可筛选并鉴定与肉品质变化相关的标记蛋白以及探究肉品质形成的分子机制, 这对于提高牛肉品质及生产加工肉类具有重要意义。Boudon等<sup>[9]</sup>采用非标定量蛋白质组学研究牛肌肉和血浆样品中嫩度的生物标记物, 发现DJ-1可作为标记肉嫩度的候选蛋白质。Malheiros等<sup>[10]</sup>采用LFQ XL<sup>TM</sup>线性离子阱蛋白质组学探究蛋白质氧化损伤 (主要以蛋白质羰基化为主) 与牛肉嫩度之间的关

联, 结果表明作用于机体不同代谢途径的蛋白质被氧化会对安格斯杂交牛的嫩度产生不同的影响。卢昊<sup>[11]</sup>采用蛋白质组学探究秦川牛和延边牛的蛋白质组差异, 发现两种牛的背最长肌存在17个差异蛋白, 通过分析结果表明宰后秦川牛的能量代谢更强, 延边牛在结构蛋白降解方面较为显著。综上可知, 可利用蛋白质组学研究与肉品质相关的蛋白质DJ-1。

本实验选取宰后不同成熟期间的秦川牛背最长肌为研究对象, 探究DJ-1表达量变化与肉品质及ROS变化的关系, 结合4D-LFQ蛋白质组学技术、基因本体论 (Gene Ontology, GO)、京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集分析确定秦川牛背最长肌蛋白质DJ-1及相关差异蛋白参与调控肉品质的通路, 以期从DJ-1表达量变化角度分析秦川牛宰后肌肉成熟机理, 为宰后肉品质形成提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

秦川牛背最长肌购于宁夏固原尚农生物技术有限公司。

Tris-HCl、氯化钠 (NaCl)、乙二醇四乙酸二钠、蔗糖西陇化工股份有限公司; 2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯上海碧云天生物技术股份有限公司; BCA试剂盒上海雅酶生物医药科技有限公司; DJ-1试剂盒上海科顺生物科技有限公司; 尿素、二硫苏糖醇、三乙基碳酸氢铵、碘代乙酰胺德国默克化学公司; 蛋白酶抑制剂、乙腈 (色谱纯) 上海玉博生物科技有限公司; 胰酶美国Promega公司。

### 1.2 仪器与设备

便携式pH计 苏州兰城仪器设备有限公司; 便携式色差仪 日本Konica-Minolta公司; 质构仪 英国Stable Micro Systems公司; 高速冷冻离心机 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; 超低温冰箱 美国Scan Speed公司; 冷冻研磨仪 杭州优嘉科学仪器有限

公司; 酶标仪 美国珀金埃尔默公司; NanoElute超高压相色谱仪、times-TOF Pro质谱仪 德国Bruker公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 样品采集

采样对象选取3头25月龄健康无病、体质量为600~700 kg的秦川公牛(相同饲养条件), 按照商业化方法屠宰后立即从半胴体上采集右侧背最长肌, 将样品剔除结缔组织和表面脂肪后, 每头取3份样品, 每份每个成熟时间节点约为150 g, 样品编号后用聚乙烯膜密封, 锡纸包裹放于4℃冰箱进行宰后成熟。分别成熟0、2、4、6、8 d时测定相应的指标, 对于不能及时测定的样品立即置入液氮2 h, 之后取出放入-80℃冰箱保存, 待后续实验测定。

#### 1.3.2 pH值测定

使用便携式pH计测定样品pH值, 用标准缓冲液(pH 7.0)校准pH计后将探头插入肉样中与之充分接触, 选择不同位置测定3次, 待pH计稳定后记录读数并求平均值。

#### 1.3.3 肉色测定

参照李婕等<sup>[12]</sup>的方法并略作修改, 使用前先用标准白板矫正色差仪, 将样品用蒸馏水洗净血渍, 滤纸擦干表面水分后测定肉样的亮度( $L^*$ 值)、红度( $a^*$ 值)、黄度( $b^*$ 值), 选取3处测定并求平均值。

#### 1.3.4 剪切力测定

参考扶庆权等<sup>[13]</sup>的方法并稍作调整。将所采集的肉样切成5 cm×5 cm×6 cm左右的肉块, 并在水浴锅中加热, 待中心温度升至70℃时取出肉样, 冷却10 min后立即擦干, 使用V型刀在TPA模式下以测前速率2.0 mm/s、测中速率2.0 mm/s、测后速率5.0 mm/s、剪切距离35 mm的条件沿肉块肌纤维方向测定剪切力, 并进行6次平行测量, 最后计算出平均值。

#### 1.3.5 滴水损失测定

参照张远红等<sup>[14]</sup>的方法并稍作调整。将牛肉样品去除筋膜后, 取20 g左右并称质量, 记作 $m_1$ , 将铁丝穿过肉块悬挂于聚氯乙烯袋中的纸杯上, 且肉样不与纸杯接触, 扎紧袋口放于4℃冰箱内, 达到成熟时间后取出立即用滤纸吸干肉品表面水分, 称质量后记为 $m_2$ , 进行3次平行测定, 按照式(1)计算滴水损失率并求平均值:

$$\text{滴水损失率}/\% = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad (1)$$

#### 1.3.6 离心损失测定

参照胡丽筠等<sup>[15]</sup>的方法并作稍许修改。将样品剔除结缔组织和表面脂肪, 沿肌纤维方向修整成3 cm×1 cm×1 cm的小块状, 放入10 mL离心管称质量并记为 $m_1$ , 4℃、9 000 r/min离心15 min, 弃上清液后用滤纸吸干表面水分, 称质量并记为 $m_2$ , 进行3次平行测定, 按照式(2)计算离心损失率并求平均值:

$$\text{离心损失率}/\% = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad (2)$$

#### 1.3.7 DJ-1蛋白表达量及ROS测定

根据DJ-1酶联免疫吸附测定试剂盒测定其表达量; 参考张佳莹<sup>[16]</sup>的方法并稍作调整, 根据ROS检测试剂盒测定。以上均平行测定3次并求平均值。

#### 1.3.8 4D-LFQ蛋白组学技术筛选DJ-1及相关差异蛋白

参照罗辉等<sup>[17]</sup>方法提取蛋白质、胰酶酶解、液相色谱-质谱联用分析, 筛选蛋白质DJ-1及相关差异蛋白, 利用Uniprot数据库鉴定并分析与DJ-1功能性相关的差异蛋白, 利用DAVID 6.8软件(<https://david.ncifcrf.gov/>)对差异蛋白进行GO功能富集分析及KEGG通路富集分析。

### 1.4 数据处理与分析

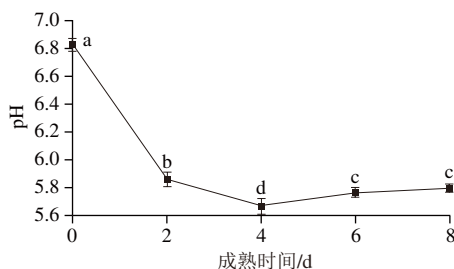
所有实验结果均以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示, 运用SPSS软件进行ANOVA和相关变量分析, 确定数据的差异显著性( $P < 0.05$ , 差异显著;  $P < 0.01$ , 差异极显著), 利用Origin 2023软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 秦川牛宰后成熟过程中肉品质的变化

#### 2.1.1 pH值的变化

pH值能反映肉品宰后成熟的进程, 是衡量肉品质的关键指标之一, 直接影响嫩度、持水性、风味等多项肉的食用品质<sup>[18]</sup>。如图1所示, 宰后初期0~4 d秦川牛的pH值显著降低( $P < 0.05$ ), 这可能是因为宰后肌肉进行无氧糖酵解产生乳酸, 且肌酸和ATP的水解又会产生磷酸, 最终导致pH值呈现出迅速下降的趋势。成熟4 d后pH值有缓慢回升的趋势, 肌肉成熟到8 d时, pH值上升至 $5.80 \pm 0.02$ 。这是由于肉样的pH值达到极限时,  $\text{Ca}^{2+}$ 从肌质网释放从而激活钙蛋白酶, 蛋白酶解会导致三甲胺、氨基酸分解产物等碱性物质的积累, 使肉样pH值升高<sup>[19]</sup>。李婕等<sup>[12]</sup>在对热休克蛋白27与食用品质的关系研究中发现, 耗牛背最长肌的pH值随成熟时间的延长呈现先下降后上升的趋势, 本研究结果与其一致。



小写字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )。下同。

图1 秦川牛宰后成熟过程中pH值变化

Fig. 1 Changes in pH of beef muscle of Qinchuan cattle during postmortem aging



2.1.2 肉色的变化

肉的色泽是人们评价其食用品质最直观的指标，对判断鲜肉货架期有重要意义。肉色变化取决于脱氧肌红蛋白、氧合肌红蛋白及高铁肌红蛋白3种蛋白的绝对含量及其相互转化的比例。一般认为，肉的 $L^*$ 值越低、 $a^*$ 值越高、 $b^*$ 值越低，肉色越好<sup>[20]</sup>。 $a^*$ 值通常是反映肉色的重要指标， $L^*$ 值能够反映肉色的稳定性，由表1可知，宰后0~8 d内 $L^*$ 和 $a^*$ 值都呈先升高后降低的趋势（ $P<0.05$ ），这是因为 $L^*$ 值与肉品的表面水分含量有关<sup>[11]</sup>，成熟前期牛肉的折射率随汁液的分泌会增大，成熟到4 d时 $L^*$ 值达到最大（ $41.17\pm0.35$ ）。由于肌肉排酸初始对氧气的消耗减少，利于氧合肌红蛋白的生成，另一方面线粒体呼吸作用产生的NADH增强了肌肉中还原酶的活力<sup>[21]</sup>，因此 $a^*$ 值增大。随着成熟时间的延长，牛肉中水分流失，光线散射也随之减弱，此时肉的色泽变暗， $L^*$ 值明显降低。 $a^*$ 值下降是由于高铁肌红蛋白的累积，鲜红色的氧合肌红蛋白极不稳定，容易与空气中的氧气接触被氧化成暗褐色的高铁肌红蛋白。这一变化趋势与孙志昶<sup>[22]</sup>对宰后耗牛成熟对肉品质影响的研究结果相似。整个成熟过程中，秦川牛背最长肌的 $b^*$ 值呈现持续上升的变化趋势（ $P<0.05$ ），这可能是由于肌肉与氧气充分接触导致牛肉里的脂肪发生氧化，最终使 $b^*$ 值增加<sup>[23]</sup>。

表1 秦川牛宰后成熟过程中肉色的变化

Table 1 Changes in meat color of Qinchuan cattle during postmortem aging

成熟时间/d	0	2	4	6	8
$L^*$	$32.32\pm0.40^d$	$38.50\pm0.79^b$	$41.17\pm0.35^a$	$37.85\pm0.77^{bc}$	$37.26\pm0.56^c$
$a^*$	$23.34\pm0.88^b$	$26.92\pm0.65^b$	$31.52\pm2.07^a$	$27.32\pm0.47^b$	$24.33\pm1.17^c$
$b^*$	$5.13\pm0.27^c$	$6.29\pm0.86^c$	$11.91\pm0.67^b$	$13.48\pm0.78^a$	$14.30\pm0.58^a$

注：同行小写字母不同表示差异显著（ $P<0.05$ ）。

2.1.3 剪切力的变化

剪切力作为评定肉品嫩度的重要指标之一，其值越高表明肉品嫩度越差<sup>[24]</sup>。动物被屠宰后经历尸僵、解僵和成熟的过程，剪切力也随之变化。如图2所示，剪切力呈现先上升后下降的变化趋势（ $P<0.05$ ），宰后0~4 d，剪切力从（ $126.40\pm1.25$ ）N升至（ $152.89\pm0.61$ ）N，成熟4 d时的剪切力最大，说明此时肉嫩度最差，肌肉较为僵硬。在此之后剪切力逐渐降低，说明肉质越来越嫩，宰后成熟过程显著影响秦川牛剪切力，成熟时间的适度延长有利于肉品嫩度的改善。出现该现象的原因可能是在牛肉成熟初期，肌原纤维蛋白的磷酸化会抑制肌动球蛋白的解离进而影响肌纤维收缩<sup>[25]</sup>，同时肌凝蛋白凝固和肌纤维的硬化也会导致肉嫩度变差，随着成熟时间的延长，肌肉进入解僵成熟阶段，在 $Ca^{2+}$ 及激活酶对Z线的长时间作用下，肌原纤维断裂成不同数目肌节的小片段，

剪切力降低，从而使牛肉的嫩度得到改善<sup>[12]</sup>。但过长时间的成熟会使肉的新鲜度下降。

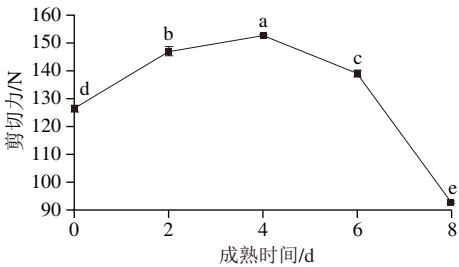


图2 秦川牛宰后成熟过程中剪切力的变化

Fig. 2 Changes in shear force of meat from Qinchuan cattle during postmortem aging

2.1.4 滴水损失的变化

滴水损失是受重力影响且无其他外力作用下断裂肌肉蛋白质保水性的一个关键参数，可模拟冷鲜肉在市场中自然悬挂状态下汁液流失的现象。由图3可知，秦川牛的滴水损失随成熟时间的延长呈先上升后下降的趋势（ $P<0.05$ ）。宰后0 d时的滴水损失率为（ $1.71\pm0.15$ ）%，4 d时达到最大值（ $5.67\pm0.19$ ）%，8 d时为（ $2.33\pm0.17$ ）%，这是由于肌肉在成熟前期的肌纤维束和单个肌肉细胞分离程度加剧，肌肉蛋白质网络空间缩小，细胞内水分不断渗出，导致肌肉持水能力下降<sup>[26]</sup>。秦川牛的肌肉解僵成熟过程中，肌原纤维间隙增大，自由水和不易流动水大量损失，细胞外水分渗入细胞内，导致滴水损失降低。牛克兰<sup>[27]</sup>以牦牛背最长肌为研究对象探究了冷鲜牦牛肉贮藏的损失情况，结果表明宰后成熟期间贮藏损失呈先上升后下降的趋势，本研究结果与其一致。

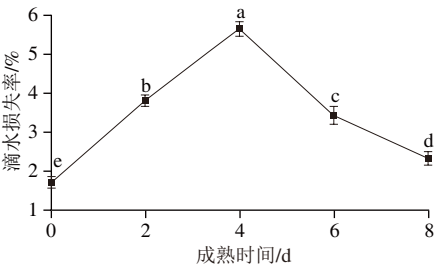


图3 秦川牛宰后成熟过程中滴水损失变化

Fig. 3 Changes in drop loss of meat from Qinchuan cattle during postmortem aging

2.1.5 离心损失的变化

离心损失可反映秦川牛肉保水性的变化情况。由图4可知，秦川牛的离心损失在宰后成熟期间呈先上升后下降的趋势（ $P<0.05$ ）。这是因为在离心力的作用下细胞中的部分不易流动水转化为自由水，宰后成熟前期（0~4 d）的pH值降低会导致维持细胞骨架的连接蛋白

发生氧化降解,细胞结构被破坏导致汁液损失增加,离心损失率升高<sup>[18]</sup>,由0 d时的 $(3.59 \pm 0.15)\%$ 上升到4 d时的 $(9.75 \pm 0.38)\%$ 。当pH值下降到肌肉蛋白质静电荷为零时,蛋白质对水的吸附能力减弱,肌原纤维的内部结构减小导致水分被大量挤出,此时肉品的保水性最差。

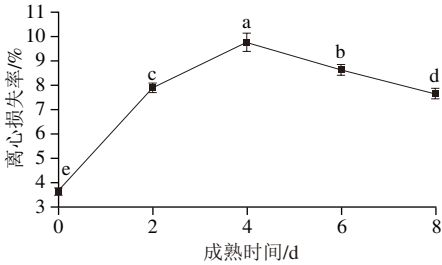


图4 秦川牛宰后成熟过程中离心损失变化  
Fig. 4 Changes in centrifugal loss of meat from Qinchuan cattle during postmortem aging

## 2.2 秦川牛宰后成熟过程中DJ-1与ROS的变化

### 2.2.1 蛋白质DJ-1表达量的变化

有研究表明DJ-1在肌肉组织中大量表达,包括牛的背最长肌、半腱肌<sup>[7]</sup>,羊的半膜肌和内股肌<sup>[28]</sup>。由图5可知,宰后0~8 d蛋白质DJ-1表达量随着成熟时间的延长呈持续上升的显著趋势( $P < 0.05$ ),宰后0 d的DJ-1表达量最低,为 $0.334 \pm 0.020$ ,第8天表达量达到最大值,为 $1.169 \pm 0.030$ 。这是由于秦川牛宰后初期肌细胞缺血缺氧的环境导致机体有氧代谢受到阻碍而发生应激,具有保护功能的蛋白质会迅速做出反应,DJ-1立即合成,发挥强大的抗氧化应激作用以维持细胞稳态;随着成熟时间的延长,为抵抗肌肉ROS累积诱导的细胞凋亡,DJ-1的表达量持续增加,此时该蛋白通过调节多种抗氧化应激分子信号通路继续发挥作用。

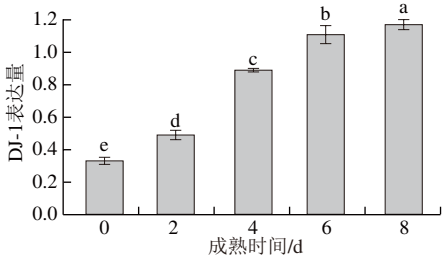


图5 秦川牛宰后成熟过程中DJ-1表达量变化  
Fig. 5 Changes in the expression of DJ-1 in meat from Qinchuan cattle during postmortem aging

### 2.2.2 ROS的变化

动物屠宰后细胞内ROS的大量积累及抗氧化能力的减弱会破坏正常的细胞信号通路,从而诱导凋亡程序的发生<sup>[29]</sup>。ROS含量的增加是宰后秦川牛肌细胞氧化应激的主要标志。由图6可知,秦川牛宰后0~8 d的ROS相对含量呈显著上升的趋势( $P < 0.05$ ),这可能是随着

肌肉成熟时间的延长,线粒体内氧化磷酸化偶联过程受到阻碍,且细胞内抗氧化酶活性降低甚至完全失活,于是ROS会在细胞内大量累积<sup>[30]</sup>。Ding Zhenjiang等<sup>[31]</sup>研究发现宰后牛背最长肌的肌肉组织在成熟24~120 h过程中ROS相对含量显著上升趋势( $P < 0.05$ ),本研究结果与其相似。

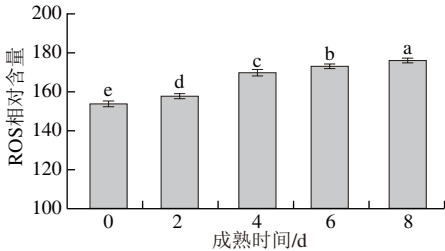


图6 秦川牛宰后成熟过程中ROS相对含量变化  
Fig. 6 Changes in the relative content of ROS in meat from Qinchuan cattle during postmortem aging

## 2.3 DJ-1表达量与肉质指标及ROS的相关性分析

为探究秦川牛宰后成熟期间蛋白质DJ-1与肉质指标及ROS相对含量变化的关系,对DJ-1的表达量与ROS相对含量及肉质指标pH值、色度、离心损失、滴水损失、剪切力等进行Pearson相关性分析。由表2可知,DJ-1表达量与pH值呈极显著负相关( $P < 0.01$ ),相关系数为-0.724;与剪切力呈显著负相关( $P < 0.05$ ),相关系数为-0.352;与离心损失、 $L^*$ 值、 $b^*$ 值、ROS相对含量呈极显著正相关( $P < 0.01$ ),相关系数分别为0.657、0.501、0.980、0.984;与 $a^*$ 值、滴水损失无显著相关性( $P > 0.05$ )。相关性分析结果表明,DJ-1表达量对宰后秦川牛肌肉pH值、嫩度、离心损失及ROS有显著影响,可发挥抗氧化能力从而清除ROS,且对肉质具有一定的调节作用。已知DJ-1由PARK7基因编码且在真核生物中高度保守,细胞发生氧化应激时会被氧化,通过ROS介导并选择性地发生在该蛋白质的活性位点半胱氨酸残基上,其中C106位点对ROS高度敏感<sup>[32]</sup>。

表2 宰后成熟过程中DJ-1表达量与肉质指标及ROS相对含量的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of DJ-1 expression with meat quality indicators and ROS during postmortem aging

指标	DJ-1 表达量	pH值	剪切力	$L^*$	$a^*$	$b^*$	离心 损失	滴水 损失	ROS相对 含量
DJ-1表达量	1								
pH值	-0.724**	1							
剪切力	-0.352*	-0.161	1						
$L^*$	0.501**	-0.905**	0.423**	1					
$a^*$	0.250	-0.631**	0.681**	0.811**	1				
$b^*$	0.980**	-0.709**	-0.323*	0.518*	0.289	1			
离心损失	0.657**	-0.959**	0.344*	0.949**	0.761**	0.658**	1		
滴水损失	0.205	-0.684**	0.715**	0.879**	0.927**	0.246	0.819**	1	
ROS相对含量	0.984**	-0.734**	-0.344**	0.529**	0.288	0.972**	0.673**	0.254	1

注: \*相关性显著( $P < 0.05$ ); \*\*相关性极显著( $P < 0.01$ )。

动物屠宰放血后会发​​生骨骼肌蛋白降解和肌细胞的凋亡,进一步激发肉的嫩化过程,而DJ-1可作为肉类嫩度预测的候选蛋白。DJ-1通过保护 $\mu$ -钙蛋白酶免受ROS的氧化,消除宰后肉类中的自由基从而平衡肌肉细胞的氧化还原状态<sup>[33]</sup>。李可悦<sup>[4]</sup>发现猪背最长肌蛋白质DJ-1表达量的变化与ROS增加有关,肌细胞中ROS的增加可能会影响肌肉的生化代谢。ROS攻击肌原纤维蛋白导致的碎片化及其介导的DNA损伤会促进细胞凋亡,进而改善肉的嫩度<sup>[34]</sup>。因此推测高表达的DJ-1通过抑制ROS的释放调节抗氧化应激反应,维持钙蛋白酶活性,从而对肌细胞凋亡起到一定的促进作用,进而改善肉品嫩度。Jia等<sup>[35]</sup>通过二维凝胶电泳和蛋白质组学研究了与肉嫩度相关的蛋白质变化,发现挪威红牛的背最长肌中DJ-1表达量与肉嫩度呈显著正相关( $P<0.05$ ),本实验结果与其基本一致。由表2可知,DJ-1表达量与pH值成极显著负相关( $P<0.01$ ),肌肉成熟阶段调节蛋白质的表达会启动糖酵解过程,在宰后早期阶段结构蛋白较快降解与DJ-1之间相互作用会加速肌肉的排酸过程<sup>[5]</sup>,说明无氧糖酵解参与其中并受到抑制,因此生成乳酸的含量减少,pH值升高。此外,徐敏<sup>[36]</sup>发现在肌肉组织中敲除DJ-1后,通过调控ROS介导的线粒体偶联途径会促进骨骼肌糖酵解,使pH值下降,进而影响肉品质。DJ-1的增加可被视为动物宰后成熟期间色泽变化的潜在预测因子<sup>[37]</sup>,本研究结果显示DJ-1与 $L^*$ 值呈极显著正相关( $P<0.01$ ),这与Sayd等<sup>[38]</sup>的研究结果基本一致,由于DJ-1的半胱氨酸残基会保护细胞免受氧化应激,因此推测DJ-1的表达可能对宰后应激环境发挥某种保护机制<sup>[38]</sup>。有研究指出一些肉色生物标志物与色泽的相关性在禽畜品种之间是相反的<sup>[39]</sup>,本研究发现DJ-1表达量与 $a^*$ 值呈正相关,但相关性并不显著( $P>0.05$ ),与Gagaoua等<sup>[39]</sup>对牛半膜肌的研究结果不一致,由于肌红蛋白的含量是影响宰后肌肉色泽变化的主要原因,不同部位肌肉的肌红蛋白含量及氧化状态并不相同,因此造成DJ-1在不同品种不同肌肉类型中对肉色的影响有所差异。

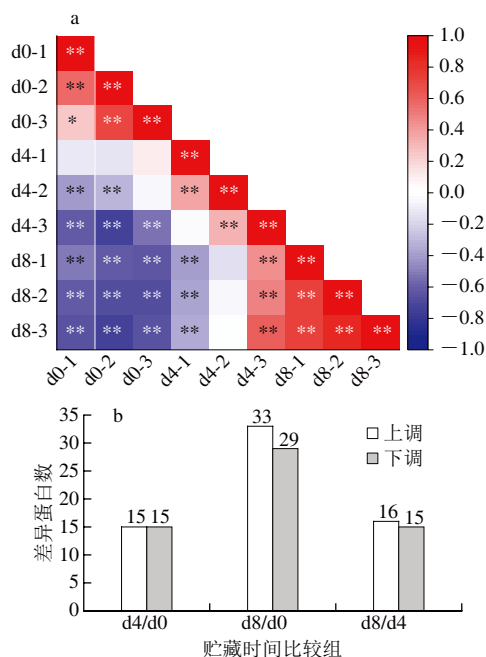
DJ-1可防止肌细胞凋亡引起的蛋白质结构损伤和降解<sup>[40]</sup>,细胞凋亡与细胞收缩及肌肉中水分流失密切相关,本研究发现DJ-1表达量与离心损失有极显著相关性,因此推测秦川牛肉DJ-1通过对细胞凋亡的调控进一步对离心损失产生影响。Liu Rui等<sup>[34]</sup>通过蛋白质组学研究发现,猪肉中DJ-1表达量与滴水损失呈极显著负相关( $P<0.01$ ),本实验通过相关性分析得出DJ-1表达量与滴水损失相关性不显著( $P>0.05$ ),可能是动物饲养条件及品种、实验材料或样品处理方式不同所导致。

剪切力是评价肉嫩度的关键指标,主要受到肌肉水分含量及保水性、肌纤维直径及肌肉成熟的程度等多种因素的影响<sup>[41]</sup>。肌肉的保水性是反映其保留水分的能力,可用滴水损失和离心损失衡量,本研究发​​现离心损

失和滴水损失分别与剪切力呈显著正相关( $P<0.05$ )和极显著正相关( $P<0.01$ ),同时,滴水损失和离心损失也呈较高的相关性( $P<0.01$ ),此结果与李琳<sup>[42]</sup>的研究结果一致,这可能是因为肌原纤维蛋白在内源酶的作用下发生降解,导致肌纤维结构完整性及排列方式的变化,从而进一步影响肌肉的保水性与嫩度<sup>[43]</sup>。与Li Guixia等<sup>[44]</sup>研究宰后肉嫩度的改善中发现某些蛋白降解条带的出现或消失都与嫩度和保水性密切相关一致。本研究还发现pH值与滴水损失和离心损失呈极显著负相关( $P<0.01$ ),随肌肉pH值的下降以及肌原纤维附着在细胞膜上的蛋白质减少,会引起肌细胞的收缩加剧,并在重力作用下最终导致秦川牛肉的滴水损失和离心损失升高<sup>[45]</sup>,这与陈明等<sup>[46]</sup>的研究结果一致。

## 2.4 蛋白质鉴定及组学分析

宰后秦川牛背最长肌在4℃成熟0~8 d后,其蛋白表达发生了一定的变化。利用蛋白质组学共鉴定得到12 009条肽段,1 438个蛋白质,其中1 149个蛋白质可以定量。样品经质谱检测,根据差异倍数(fold change, FC)  $\geq 1.3$ 或 $\leq 0.769$ (1/1.3)筛选得到差异表达蛋白122个( $P<0.05$ ),对3个时间点(0、4、8 d)的差异蛋白进行相关性分析,如图7a所示,秦川牛背最长肌的差异蛋白在不同成熟时间重复性较好且样本之间差异较为明显。由图7b可知,有64种上调蛋白、59种下调蛋白。综上,样本在成熟不同时间时差异较大且具有显著差异,能够满足后续分析需求。



a.差异蛋白相关性分析图; b.蛋白鉴定情况图(d0、d4、d8分别表示成熟0、4、8 d的样品)。\*相关性显著( $P<0.05$ ); \*\*相关性极显著( $P<0.01$ )。

图7 秦川牛宰后成熟过程中差异蛋白整体分析

Fig. 7 Overall analysis of differential proteins in meat from Qinchuan cattle during postmortem aging



2.4.1 差异蛋白质筛选

利用Uniprot对4D-LFQ蛋白组学所鉴定的可定量蛋白进行搜索,对宰后不同成熟时间秦川牛背最长肌中与DJ-1蛋白功能相关的差异蛋白进行筛选,再将这些蛋白与DJ-1表达量作相关性分析,如表3所示,共筛选出43个差异蛋白,并且与DJ-1的表达量均显著相关。

2.4.2 GO功能富集分析

对DJ-1及差异互作蛋白进行GO功能富集分析,通过生物过程(biological process, BP)、细胞组分(cellular component, CC)及分子功能(molecular function,

MF)3个方面解析DJ-1的功能,发现其途径显著富集12个BP、8个CC及7个MF,结果如表4所示。宰后成熟0~8 d的差异蛋白质在细胞内多聚体、细胞质、线粒体、线粒体基质、核质等方面发生变化,使蛋白质离子通道打开、发挥蛋白质均二聚活性、泛素蛋白连接酶结合以及抗氧化活性激活等,从而引起对氧化应激反应、泛素依赖性蛋白分解代谢、蛋白酶体蛋白分解、线粒体ATP合成耦合质子转运、线粒体裂变的积极调控以及糖酵解等,通过以上所参与的过程进一步调控秦川牛肉细胞新陈代谢、肌肉收缩。

表3 与DJ-1表达相关的差异蛋白筛选结果  
Table 3 Results of screening for differential proteins associated with DJ-1 expression

成熟时间比较	蛋白质登录号	蛋白描述	FC	相关系数	基因	上调/下调
4 d vs 0 d	A0A3Q1MBS5	$\alpha$ -肌动蛋白-1	1.358	0.854**	ACTN1	上调
	A0A3Q1MIY8	磷酸丙酮酸水合酶	0.700	-0.732*	ENO2	下调
	A0A3Q1N1U0	库林家族蛋白2	1.529	0.870**	CUL2	上调
	A0A3S5ZPB0	果糖-二磷酸醛缩酶	0.657	-0.754*	ALDOC	下调
	A5PK37	蛋白-酪氨酸-磷酸酶	0.699	-0.703*	EPMA2A	下调
	G5E5C3	蛋白酶体亚基 $\alpha$ -6型	0.621	-0.967*	PSMA6	下调
	P00515	环腺苷酸(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)依赖性蛋白激酶II- $\alpha$ 调节亚基	1.737	0.879**	PRKAR2A	上调
	P05630	线粒体ATP合酶亚基 $\delta$	1.819	0.834**	APTSF1D	上调
	P18203	肽基-脯氨酰顺反异构酶FKBP1A	1.413	0.803*	FKBP1A	上调
	Q02366	NADH脱氢酶[泛醌]1 $\alpha$ 亚复合物亚基6	1.467	0.815**	NDUFA6	上调
	Q2KHU5	ADP核糖糖水解酶1	0.744	-0.913**	MACROD1	下调
	Q32PH8	伸长系数1-A2	0.672	-0.824**	EEF1A2	下调
	Q58DA0	26S蛋白酶体非ATP酶调节亚基4	1.343	-0.788*	PSMD4	上调
	Q5E947	过氧化物还原酶1(peroxiredoxin 1, PRDX1)	0.639	-0.880**	PRDX1	下调
	A0A3Q1M5R4	L-乳酸脱氢酶	1.463	0.769*	LDHB	上调
	A0A3Q1MTH2	丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶	1.357	0.834**	PPP3CA	上调
	Q08DE9	库林家族2号	1.913	0.870**	CUL2	上调
	F1MDL6	钙单向转运蛋白	0.701	-0.687*	MCU	下调
	F1MTI7	CutA二价阳离子耐受同源物	1.734	0.768*	CUTA	上调
	A0A3Q1MNL1	库林家族4A	2.025	0.728*	CUL4A	上调
8 d vs 0 d	Q2YDE4	蛋白酶体亚基 $\alpha$ -6型	0.471	-0.967**	PSMA6	下调
	Q5E964	26S蛋白酶体非ATP酶调节亚基13	1.336	0.854**	PSMD13	上调
	P00515	cAMP依赖性蛋白激酶II- $\alpha$ 调节亚基	1.684	0.879**	PRKAR2A	上调
	P05630	线粒体ATP合酶亚基 $\delta$	1.516	0.834**	ATPSF1D	上调
	P05631	线粒体ATP合酶亚基 $\gamma$	1.579	0.879**	ATPSF1C	上调
	P33672	蛋白酶体亚基 $\beta$ -3型	0.666	-0.744*	PSMB3	下调
	Q148D5	线粒体琥珀酸-辅酶A连接酶[ADP形成]亚基 $\beta$	0.762	-0.788*	SUCLA2	下调
	Q2HJ94	DnaJ同源物亚家族A2(DnaJ homolog subfamily A member 2, DNAJA2)	0.550	-0.687*	DNAJA2	下调
	Q2HJG5	液泡蛋白35	1.509	0.768*	VPS35	上调
	Q2KIB0	烟酸乙酰乙酸水解酶结构域蛋白2	1.396	0.691*	FAHD2	上调
	Q3ZBG0	蛋白酶体亚基 $\alpha$ -7型	1.395	0.681*	PSMA7	上调
	Q58DU5	蛋白酶体亚基 $\alpha$ -3型	1.520	0.668*	PSMA3	上调
	A0A3Q1MU86	钙转运ATP酶	1.328	0.728*	ATP2A3	上调
	A0A3Q1N238	线粒体琥珀酸-辅酶A连接酶[ADP/GDP形成]亚基 $\alpha$	0.742	-0.736*	SUCLG1	下调
	A0A3Q1MUU9	T复合蛋白1亚基eta	1.639	0.725*	CCT7	上调
8 d vs 4 d	A5PK37	蛋白-酪氨酸-磷酸酶	1.441	-0.703*	EPMA2A	上调
	A0A3Q1MNL1	库林家族4A	2.025	0.728*	CUL4A	上调
	Q2YDE4	蛋白酶体亚基 $\alpha$ -6型	0.759	-0.967**	PSMA6	下调
	P07470	线粒体细胞色素c氧化酶亚基7A1	0.976	-0.726*	COX7A1	下调
	P41976	线粒体超氧化物歧化酶[Mn]	0.805	0.870**	SOD2	下调
	Q5E946	核糖去甘糖酶DJ-1	1.400	1	PARK7	上调
	Q5BIN5	肽基-脯氨酰顺反异构酶Pin1	0.646	-0.707*	PIN1	下调
	G3N3C9	LIM域结合3	0.247	-0.935**	LDB3	下调
	Q02380	线粒体NADH脱氢酶[泛醌]1 $\beta$ 亚复合物亚基5	0.497	-0.889*	NDUFB5	下调

表 4 与DJ-1表达相关的差异蛋白GO功能富集分析  
Table 4 GO functional enrichment analysis of differential proteins associated with DJ-1 expression

途径ID	途径描述	基因数量	关键蛋白质
BP			
GO:0006979	对氧化应激的反应	4	NDUFA6、PRDX1、PARK7、SOD2
GO:0006096	糖酵解过程	2	ALDOC、ENO2
GO:0006511	泛素依赖性蛋白分解代谢过程	6	CUL4A、PSMA6、PSMA3、PSMD13、CUL2、PSMA7
GO:0010498	蛋白酶体蛋白分解代谢过程	4	PSMA6、PSMA3、PSMB3、PSMA7
GO:0042776	线粒体ATP合成耦合物子转运	2	ATP5F1C、ATP5F1D
GO:0090141	线粒体裂变的积极调解	2	VPS35、MCU
GO:0031146	SCF依赖性蛋白酶体泛素依赖性蛋白分解代谢过程	2	CUL4A、CUL2
GO:1902600	氢离子跨膜转运	2	ATP5F1C、ATP5F1D
GO:0050821	蛋白质稳定	3	PIN1、PARK7、CCT7
GO:0032091	蛋白质结合的负调节	2	PIN1、PARK7
GO:0007005	线粒体组织	2	EPM2A、PARK7
GO:0010629	基因表达的负调控	2	EPM2A、PARK7
CC			
GO:0005844	多聚体	2	EPM2A、PSMA6
GO:0043204	细胞体细胞质	4	EPM2A、ENO2、PARK7、CCT7
GO:0005654	核质	5	EPM2A、PSMA6、PSMD4、CUL2、MACROD1
GO:0019773	蛋白酶体核心复合物、 $\alpha$ -亚基复合物	4	PSMA6、PSMA3、PSMA7、PSMB3
GO:0000275	线粒体质子转运ATP合酶复合物，催化核心F <sub>1</sub> (1)	2	ATP5F1C、ATP5F1D
GO:0031461	库林-环泛素连接酶复合物	2	CUL4A、CUL2
GO:0005739	线粒体	4	SUCLG1、PARK7、SOD2、COX7A1
GO:0005759	线粒体基质	2	PARK7、SOD2
MF			
GO:0042803	蛋白质均二聚活性	3	EPM2A、FKBP1A、ACTN1
GO:0044325	离子通道结合	6	FKBP1A、ACTN1、PIN1、LDB3、PARK7、SOD2
GO:0031625	泛素蛋白连接酶结合	4	CUL4A、PSMA3、PRKAR2A、CUL2
GO:0046933	质子转运ATP合酶活性，旋转机制	2	ATP5F1C、ATP5F1D
GO:0019900	激酶结合	3	PIN1、LDB3、PARK7
GO:0016209	抗氧化活性	2	PARK7、SOD2
GO:0019899	酶结合	4	CUL4A、PIN1、LDB3、PARK7

2.4.3 KEGG通路富集分析

对DJ-1及差异蛋白进行KEGG通路富集分析，结果如表5所示，其显著注释于氧化磷酸化（bta00190）、糖酵解/糖异生（bta00010）、缺氧诱导因子1（hypoxia-inducible factor 1，HIF-1）信号通路（bta04066）和内质网中的蛋白质加工（bta04141）途径。氧化磷酸化途径通过差异蛋白的表达调节氧化磷酸复合物的活性维持机体正常的代谢，其中NADH脱氢酶[泛醌]1 $\beta$ 亚复合物亚基5（NADH dehydrogenase[ubiquinone]1 beta subcomplex subunit 5，NDUFB5），可作为辅助亚基将电子转移至呼吸链中参与线粒体内膜的呼吸作用并调控脱氢酶的活性。COX7A1是细胞色素c氧化酶的成分，可驱动氧化磷酸化，协同呼吸链上的化合物、NADH和琥珀酸共同驱动跨膜转运。细胞色素c作为重要的凋亡相关因子，过表达会促进细胞凋亡的发生，通过调节线粒体呼吸电子链影响牛肉品质<sup>[47]</sup>。糖酵解途径是机体在缺氧环

境下能量供应的重要途径，其中乳酸脱氢酶B（lactate dehydrogenase B，LDHB）是一种乙酰化蛋白，LDHB磷酸化会使丙酮酸的底物抑制作用被解除，提高乳酸活性，从而促进糖酵解中间体生物的合成，对维持肌肉pH值有重要作用<sup>[48]</sup>。果糖-二磷酸醛缩酶（aldolase, fructose-bisphosphate C，ALDOC），是一种糖酵解酶，缺氧诱导因子HIF-1 $\alpha$ 可通过调节ALDOC的表达从而促进糖酵解过程<sup>[49]</sup>，这种酶还可在生物体内通过发挥醛缩酶的活性参与果糖1,6-二磷酸代谢过程。磷酸丙酮酸水合酶（enolase，ENO）2，这种高度保守的蛋白质能催化2-磷酸甘油酸和磷酸烯醇式丙酮酸之间的相互转化并在糖酵解中发挥关键作用<sup>[50]</sup>，为细胞新陈代谢提供物质基础。HIF-1信号传导参与动物宰后缺血缺氧反应，姬琛等<sup>[51]</sup>研究表明HIF-1对宰后羊肉品质形成具有重要调控作用。CUL2蛋白为Cullin家族一员，通过与泛素蛋白连接酶结合对类泛素蛋白起修饰作用。由表4可知，PRDX1、CUL2、PARK7、DNAJA2参与内质网中的蛋白质代谢，其中PRDX1主要作为过氧化氢介导信号转导的传感器，可防止氧化应激并且在保护细胞方面发挥作用。DNAJA2为保守脱氧核糖核酸蛋白家族的一员，通过刺激ATP的水解，与热休克蛋白70（heat shock proteins 70，Hsp70）结合调节分子伴侣的活性。

表 5 与DJ-1表达相关的差异蛋白KEGG通路富集分析  
Table 5 KEGG pathway enrichment analysis of differential proteins associated with DJ-1 expression

途径	途径描述	关键蛋白质
bta00190	氧化磷酸化	NDUFB5、COX7A1
bta00010	糖酵解/糖异生	LDHB、ALDOC、ENO2
bta04066	HIF-1信号通路	LDHB、CUL2、ALDOC、ENO2
bta04141	内质网中的蛋白质加工	PRDX1、CUL2、PARK7、DNAJA2

DJ-1与线粒体有密切的关系，会调节氧化还原平衡、抗氧化基因转录，从而阻止线粒体损伤导致的细胞凋亡；DJ-1对于细胞代谢调节具有重要作用，可调节糖酵解和氧化磷酸化之间的平衡<sup>[52]</sup>。以上结果表明，DJ-1通过与其他差异蛋白质共同作用调控肉品成熟过程中的生化代谢最终影响牛肉品质。

3 结 论

秦川牛宰后0~8 d内，随着成熟时间的延长，pH值先下降后上升，L\*值、a\*值、剪切力、离心损失和滴水损失先上升后下降，蛋白质DJ-1的表达量与b\*值、ROS持续上升。相关性分析结果显示，DJ-1表达量与pH值呈极显著负相关（ $P<0.01$ ），与剪切力呈显著负相关（ $P<0.05$ ），与离心损失、L\*值、b\*值、ROS相对含量



呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ ), 因此说明蛋白质DJ-1与秦川牛肉品质方面存在密切关系。4D-LFQ蛋白组学分析结果显示, 宰后秦川牛蛋白质DJ-1及相关差异蛋白表达量在成熟过程中也呈现出了显著的变化, GO功能富集及KEGG通路富集分析结果表明蛋白质DJ-1通过与激酶结合、离子通道结合以及泛素蛋白酶等结合, 引起糖酵解代谢、氧化应激反应对凋亡信号通路的调控, 这些调控作用促使秦川牛屠宰放血后的肌肉结构发生变化, 从而影响秦川牛的嫩度等肉品质。

#### 参考文献:

- [1] 齐婷婷, 张一敏, 杨啸吟, 等. 氧化应激对牛肉肉质及其稳定性的影响研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(7): 260-266. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220516-213.
- [2] DOLGACHEVA L P, BEREZHNOV A V, FEDOTOVA E I, et al. Role of DJ-1 in the mechanism of pathogenesis of Parkinson's disease[J]. Journal of Bioenergetics and Biomembranes, 2019, 51(3): 175-188. DOI:10.1007/s10863-019-09798-4.
- [3] ZHANG L L, WANG J C, WANG J J, et al. Role of DJ-1 in immune and inflammatory diseases[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 994. DOI:10.3389/fimmu.2020.00994.
- [4] 李可悦. 宰后猪肉成熟过程中蛋白质DJ-1的表达及其作用机制研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2022.
- [5] GAGAOUA M, TERLOUW E M, MICOL D, et al. Understanding early post-mortem biochemical processes underlying meat color and pH decline in the longissimus thoracis muscle of young blond d'Aquitaine bulls using protein biomarkers[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(30): 6799-6809. DOI:10.1021/acs.jafc.5b02615.
- [6] ZHU Y, GAGAOUA M, MULLEN A M, et al. A proteomic study for the discovery of beef tenderness biomarkers and prediction of Warner-Braztler shear force measured on *longissimus thoracis* muscles of young Limousin-sired bulls[J]. Foods, 2021, 10(5): 952. DOI:10.3390/foods10050952.
- [7] 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. DOI:10.1021/jf501528s.
- [8] BENDIXEN E. The use of proteomics in meat science[J]. Meat Science, 2005, 71(1): 138-149. DOI:10.1016/j.meatsci.2005.03.013.
- [9] BOUDON S, OUNAÏSSI D, VIALA D, et al. Label free shotgun proteomics for the identification of protein biomarkers for beef tenderness in muscle and plasma of heifers[J]. Journal of Proteomics, 2020, 217: 103685. DOI:10.1016/j.jprot.2020.103685.
- [10] MALHEIROS J M, BRAGA C P, GROVE R A, et al. Influence of oxidative damage to proteins on meat tenderness using a proteomics approach[J]. Meat Science, 2019, 148: 64-71. DOI:10.1016/j.meatsci.2018.08.016.
- [11] 卢昊. 牛肉品质差异的蛋白质组学初步研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2014.
- [12] 李婕, 罗天林, 师希雄, 等. 牦牛肉宰后成熟过程中热休克蛋白27表达量与食用品质的相关性分析[J]. 食品科学, 2016, 37(9): 18-22. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201609004.
- [13] 扶庆权, 王海鸥, 李坤, 等. 高氧气调包装对宰后半膜肌成熟过程中品质的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(23): 236-242. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200512-126.
- [14] 张远红, 董华发, 李滢, 等. 电击晕处理对肉鸽屠宰应激及宰后鸽肉品质的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(5): 62-67. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220419-236.
- [15] 胡丽筠, 王金霞, 李荣, 等. 基于蛋白质组学分析蛋白酶体对宰后秦川牛肉贮藏期间品质变化的影响[J/OL]. 食品科学, 1-14[2023-12-04]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.ts.20230830.1308.035.html>.
- [16] 张佳莹. 线粒体通路信号介导细胞凋亡机制及对宰后牛肉嫩化影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2020.
- [17] 罗辉, 杨波, 李亚蕾, 等. 宰后成熟期间能量物质、pH值和肌原纤维小片化指数对秦川牛肉嫩度的影响及其机理[J]. 食品科学, 2022, 43(11): 171-179. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210526-318.
- [18] 刘吉娟, 杨波, 罗瑞明, 等. 冷藏期间滩羊肉保水性变化的机制[J]. 食品科学, 2022, 43(15): 191-198. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210809-121.
- [19] 刘佳东. 宰后牦牛肉成熟机理及肉用品质变化研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2011.
- [20] 史振霄, 郭若妍, 高爽, 等. 道寒杂交羊和小尾寒羊宰后羊肉品质变化研究[J]. 河北农业大学学报, 2020, 43(5): 90-95. DOI:10.13320/j.cnki.jauh.2020.0100.
- [21] WANG Z M, HE Z F, EMARA A M, et al. Effects of malondialdehyde as a byproduct of lipid oxidation on protein oxidation in rabbit meat[J]. Food Chemistry, 2019, 288: 405-412. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.02.126.
- [22] 孙志昶. 宰后牦牛肉成熟过程中细胞凋亡的发生及其对肉品质与微观结构变化的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2015: 17-18.
- [23] 刘佳东, 余群力, 李永鹏. 宰后冷却牦牛肉排酸过程中肉用品质的变化[J]. 甘肃农业大学学报, 2011, 46(2): 111-114. DOI:10.3969/j.issn.1003-4315.2011.02.022.
- [24] HOPKINS D L, HEGARTY R S, WALKER P J, et al. Relationship between animal age, intramuscular fat, cooking loss, pH, shear force and eating quality of aged meat from sheep[J]. Australian Journal of Experimental Agriculture, 2006, 46(6/7): 879-884.
- [25] CAO L C, HOU C L, HUSSAIN Z, et al. Quantitative phosphoproteomics analysis of actomyosin dissociation affected by specific site phosphorylation of myofibrillar protein[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 126: 109269. DOI:10.1016/j.lwt.2020.109269.
- [26] 周玄. 宰后处理方式对冷却肉保水性的影响研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2012.
- [27] 牛克兰. 冷却牦牛肉保水性及其蛋白功能特性研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2017.
- [28] HAMELIN M, SAYD T, CHAMBON C, et al. Differential expression of sarcoplasmic proteins in four heterogeneous ovine skeletal muscles[J]. Proteomics, 2007, 7(2): 271-280. DOI:10.1002/pmic.200600309.
- [29] 杨雪, 杨超, 王拙, 等. 日粮添加酵母硒对鸡肉线粒体氧化损伤及细胞凋亡的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2022, 53(9): 3079-3092. DOI:10.11843/j.issn.0366-6964.2022.09.023.
- [30] 张爱萍. 热休克蛋白对欧拉藏羊肉嫩度作用机制的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2020.
- [31] DING Z J, WEI Q C, LIU C M, et al. Comparison of oxidative stress-mitochondria-mediated tenderization in two different bovine muscles during aging[J]. Food Chemistry: Molecular Sciences, 2022, 5: 100131. DOI:10.1016/j.fochms.2022.100131.
- [32] 王雪莹. DJ-1通过C106位点氧化态依赖性的方式介导H9c2心肌细胞缺氧/复氧状态下的损伤性自噬[D]. 南昌: 南昌大学, 2022.
- [33] GAGAOUA M, TERLOUW E M C, MULLEN A M, et al. Molecular signatures of beef tenderness: underlying mechanisms based on integromics of protein biomarkers from multi-platform proteomics

- studies[J]. Meat Science, 2021, 172: 108311. DOI:10.1016/j.meatsci.2020.108311.
- [34] LIU R, LI K Y, YANG T Y, et al. Exploring the role of protein DJ-1 in quality of pale, soft and exudative (PSE) and red, firm and non-exudative (RFN) pork during post-mortem aging[J]. Food Chemistry, 2023, 398: 133817. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.133817.
- [35] JIA X, VEISETH-KENT E, GROVE H, et al. Peroxiredoxin-6: a potential protein marker for meat tenderness in bovine *longissimus thoracis* muscle[J]. Journal of Animal Science, 2009, 87(7): 2391-2399. DOI:10.2527/jas.2009-1792.
- [36] 徐敏. DJ-1在非酒精性脂肪性肝病中的作用及机制研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2019.
- [37] GAO X G, ZHAO D D, WANG L, et al. Proteomic changes in sarcoplasmic and myofibrillar proteins associated with color stability of ovine muscle during post-mortem storage[J]. Foods, 2021, 10(12): 2989. DOI:10.3390/foods10122989.
- [38] SAYD T, MORZEL M, CHAMBON C, et al. Proteome analysis of the sarcoplasmic fraction of pig semimembranosus muscle: implications on meat color development[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(7): 2732-2737. DOI:10.1021/jf052569v.
- [39] GAGAOUA M, TERLOUW E M C, PICARD B. The study of protein biomarkers to understand the biochemical processes underlying beef color development in young bulls[J]. Meat Science, 2017, 134: 18-27. DOI:10.1016/j.meatsci.2017.07.014.
- [40] HIJIOKA M, INDEN M, YANAGISAWA D, et al. DJ-1/PARK7: a new therapeutic target for neurodegenerative disorders[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2017, 40(5): 548-552. DOI:10.1248/bpb.b16-01006.
- [41] 范嘉琪. 排酸方式对冷鲜/冷冻牛肉食用品质、氧化特性和微观结构的影响及其应用研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2023.
- [42] 李琳. 驼肉宰后成熟过程中营养品质与肌原纤维蛋白特性的变化研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.
- [43] 李冬冬. 基于蛋白氧化揭示高压处理滩羊肉品质变化的机理研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2021.
- [44] LI G X, LI Z, LI X, et al. Postmortem ageing influences the thawed meat quality of frozen lamb loins[J]. Food Chemistry, 2019, 275: 105-112. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.09.095.
- [45] TOMISAKA Y, AHMED A M, TABATA S, et al. Changes in water-holding capacity and textural properties of chicken gizzard stored at 4 °C[J]. Animal Science Journal, 2010, 81(3): 362-368. DOI:10.1111/j.1740-0929.2010.00739.x.
- [46] 陈明, 袁婷, 涂俏, 等. 黑切牛肉贮藏过程中活性氧相对含量变化及其与肉品质指标相关性分析[J]. 肉类研究, 2023, 37(5): 11-17.
- [47] 齐婷婷, 逢建龙, 张新军, 等. 过氧化物还原酶6对宰后初期牛肉颜色和嫩度的影响及机制研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(21): 101-108. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.034836.
- [48] 白雁, 郭心瑶, 秦启亮, 等. 肿瘤中乳酸脱氢酶B作用机制的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2023, 54(2): 172-179. DOI:10.11665/j.issn.1000-5048.20221112001.
- [49] 冉佳灵. HIF-1 $\alpha$ /BMAL1/ALDOC介导糖酵解降低结肠癌奥沙利铂敏感性的机制研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2022.
- [50] 秦琳. 脂代谢异常通过调控烯醇化酶介导的EMT促进胰腺癌进展机制研究[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2022.
- [51] 姬琛, 杨波, 罗瑞明, 等. 缺氧诱导因子对滩羊肉宰后初期能量水平及肉色的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(17): 36-41. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210719-219.
- [52] WEINERT M, MILLET A, JONAS E A, et al. The mitochondrial metabolic function of DJ-1 is modulated by 14-3-3 $\beta$ [J]. The FASEB Journal, 2019, 33(8): 8925-8934. DOI:10.1096/fj.201802754R.