

腌制温度对羊肉蛋白质磷酸化水平的影响

张彩霞, 王振宇, 李铮, 杜曼婷, 张德权

(中国农业科学院农产品加工研究所, 农业部农产品加工综合性重点实验室, 北京 100193)

摘要: 研究了不同腌制温度对羊肉肌原纤维蛋白和肌浆蛋白磷酸化水平的影响。取宰后排酸 24 h 的胴体米龙, 设定 -1 °C、4 °C 和 25 °C 三个腌制处理组, 取腌制 0 h、8 h、16 h 和 24 h 的样品, 采用 SDS-PAGE 电泳与荧光染色相结合的方法分析磷酸化水平的变化。结果表明, 腌制温度越低, 肌原纤维蛋白整体磷酸化水平 (P/T 值) 越高, 腌制 8 h 时, 冰温组整体磷酸化水平显著高于室温组 ($p < 0.05$), 腌制 16 h 和 24 h 时无显著差异。而肌浆蛋白磷酸化水平结果与之相反, 腌制温度越低, 肌浆蛋白质整体磷酸化水平越低。腌制 8 h 时, 冰温腌制组整体磷酸化水平显著低于室温腌制组 ($p < 0.05$), 腌制 16 h 和 24 h 时也无显著差异。单个蛋白条带呈现差异, 随着腌制温度的升高, 肌动蛋白和醛缩酶磷酸化水平升高, 肌球蛋白和烯醇酶磷酸化水平降低。因此, 腌制温度可能通过影响蛋白质磷酸化, 进而调控肉的品质。

关键词: 温度; 腌制; 肌原纤维蛋白; 肌浆蛋白; 蛋白质磷酸化

文章编号: 1673-9078(2016)11-215-221

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.11.033

Effect of Salting Temperature on the Protein Phosphorylation of Mutton

ZHANG Cai-xia, WANG Zhen-yu, LI Zheng, DU Man-ting, ZHANG De-quan

(Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Agro-Products Processing, Ministry of Agriculture, Beijing 100193, China)

Abstract: The effect of different salting temperatures on the phosphorylation level of myofibrillar and sarcoplasmic proteins in mutton was investigated. The topside muscles from both hind legs were removed immediately after slaughter and aged at 4 °C for 24 h, and then three salting treatment groups were set up at -1 °C, 4 °C, and 25 °C. Samples from each group were collected at 0 h, 8 h, 16 h, and 24 h, and sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) combined with fluorescence staining was employed to analyze phosphorylation levels. The results showed that the global phosphorylation level (P/T) of myofibrillar proteins increased with decreasing salting temperature. After 8 h of salting, the global phosphorylation level of the myofibrillar proteins with freezing temperature treatment was significantly higher than that of the myofibrillar proteins with room temperature treatment ($p < 0.05$), and no significant difference was found between the samples salt-treated for 16 h and those treated for 24 h. The results of the sarcoplasmic protein phosphorylation showed the opposite trend, and the global phosphorylation level of sarcoplasmic proteins decreased with decreasing salting temperature. After 8 h of salting, the global phosphorylation level of the sarcoplasmic proteins with freezing temperature treatment was significantly lower than that of the sarcoplasmic proteins with room temperature treatment ($p < 0.05$), and no significant difference was found between the samples salt-treated for 16 h and those treated for 24 h. The effect of salting temperature on the phosphorylation level of individual protein bands was different. The phosphorylation levels of actin and aldolase increased with increasing salting temperature, while those of myosin and enolase decreased. Therefore, salting temperature can regulate the meat quality by influencing the phosphorylation of muscle proteins.

Key words: temperature, salting, myofibrillar protein, sarcoplasmic protein, protein phosphorylation

腌制是最古老的保存食品的一种方式, 被广泛地应用于保存肉制品并用来提高肉制品的品质, 比如保水性、嫩度等。腌制是肉制品生产过程中一个非常重要的工序之一, 现代肉制品生产中标准化腌制温度

收稿日期: 2015-12-23

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201203009, 201303083); 国家现代肉羊产业技术体系(CARS-39)

作者简介: 张彩霞(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 肉品科学与技术

通讯作者: 张德权(1972-), 男, 博士生导师, 研究方向: 肉品科学与技术

普遍是 4 °C, 但实际生产中有少数小型企业采用室温腌制(25 °C)。另外, 处于 0 °C 和冰点温度之间的冰温保鲜技术, 成为近年来研究的热点。刘敬斌研究发现: 在冰温条件下, 牛肉的保鲜期可以有效延长至 24 d^[1]。随着冰温保鲜技术的应用, 冰温腌制也开始成为研究的一个方向, Núria 等人研究了腌制温度对火腿食盐吸收的影响, 冰温条件下不利于食盐吸收。申晓琳等人研究了不同腌制温度对肉色泽的影响, 发现腌制温度越低, 肉的 a 值越大, L 值越小, 越有利于肉色^[2]。

蛋白质磷酸化是蛋白质翻译后修饰中最常见及最重要的一种修饰,可逆的蛋白质磷酸化对蛋白质结构、功能等起重要作用。肌原纤维蛋白和肌浆蛋白是肌肉蛋白的主要组成成分,肌原纤维蛋白是重要的肌肉细胞骨架蛋白和结构蛋白,决定肉品的结构、质地、嫩度与保水性等品质,肌浆蛋白影响肉的颜色和代谢进程,生物体内大部分肌浆蛋白、肌原纤维蛋白受蛋白质磷酸化和去磷酸化过程的影响,最近的研究表明蛋白质磷酸化可能通过三个途径影响肉的品质,包括肌肉收缩、蛋白降解和糖酵解。D'Alessandro 等人提出了“磷酸化诱导酶活降低”学说^[3],Chen 等人研究发现高嫩组羊肉中蛋白质的磷酸化水平低于低嫩度组^[4]。蛋白质磷酸化受很多因素的影响,内源因子主要是蛋白激酶和磷酸酶,而外源因子则包括影响酶的因素,温度是影响酶活性的一个非常重要的因素。陈涌研究了不同温度下福氏志贺菌磷酸化蛋白质组,结果表明不同蛋白质发生磷酸化的最适温度不同^[5],但是不同腌制温度对蛋白质磷酸化的作用未见报道。

鉴于蛋白质磷酸化对肉品质的影响,而温度是影响磷酸化的一个外源因子,本实验利用 SDS-PAGE 电泳和特异性荧光染色相结合的方法研究不同腌制温度对肌肉蛋白质磷酸化水平的影响,旨在为腌制温度的选择和肉品质的改善提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

1.1.1 样品

本实验所用材料为 6 只大尾寒羊×小尾寒羊的杂交公羊,8 月龄,未去势,胴体重 25~28 kg。实验羊为集中规模饲养,统一管理。

1.1.2 试剂

BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自美国 Pierce 公司;十二烷基硫酸钠(SDS)、三羟甲基氨基甲烷(Tris Base)、丙烯酰胺、四甲基乙二胺、甲叉双丙烯酰胺与过硫酸铵购自美国 Sigma 公司;Pro-Q Diamond 和 SYPRO Ruby 荧光染色液购自美国 Invitrogen 公司;蛋白酶抑制剂与磷酸酶抑制剂购自瑞士 Roche 公司;乙醇、乙酸、乙腈、甲醇和乙酸钠等为国产分析纯试剂,购自国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

Ultra Turrax Disperser S25 分散器,德国 IKA 公司;himac CR 22 GII 高效冷冻离心机,日本 HITACHI 公

司;ML204/02 电子天平,上海梅特勒-托利多有限公司;SpectraMax 190 全波长酶标仪,美国 Molecular Devices 公司;电泳设备(Mini-PROTEAN Tetra System),美国 Bio-Rad 公司;ChemiDoc™ MP 成像系统,美国 Bio-Rad 公司。

1.3 方法

1.3.1 样品制备

宰后立刻取 6 只羊的两侧米龙,4 °C 排酸 24 h,保存于 -80 °C 备用。实验时取出羊肉于室温下解冻,每个米龙取相同质量的肉,添加 2% 的食盐进行绞碎,绞碎后均分为 10 份,在三个不同温度下腌制,三个温度分别为冰温(-1 °C)、4 °C 和室温(25 °C),在腌制 0 h、8 h、16 h 和 24 h 时取样,液氮速冻后,-80 °C 保存备用。

1.3.2 蛋白提取

参照 Huang 等^[6]的方法提取肌原纤维蛋白与肌浆蛋白,并稍作修改,称取 1 g 肌肉组织加入 6 mL 预冷的缓冲液(100 mM Tris, 10 mM DTT, 蛋白酶抑制剂(50 mL/片),磷酸酶抑制剂(10 mL/片, pH 8.3)中,用 Ultra Turrax S25 匀浆机进行匀浆(4 档匀浆 2 次,每次 15 s),然后在 13700 r/min(4 °C)条件下离心 20 min,撇掉上层脂肪,上清液即为肌浆蛋白,收集后于 -80 °C 保存备用。将沉淀溶解于 15 mL 的 5% SDS 溶液(60 °C)中,匀浆 30 s,在 80 °C 条件下水浴加热 20 min,得到的即为肌原纤维蛋白,收集后于 -80 °C 保存备用,蛋白质的浓度用 BCA 试剂盒测定。

1.3.3 SDS-PAGE 电泳

SDS-PAGE 电泳参考陈立娟等^[7]的方法并稍作修改,用超纯水将蛋白溶液浓度稀释至 2 mg/mL,将蛋白溶液样品与上样缓冲液等体积混合后在沸水浴中加热 4 min,冷却后在 12000 r/min 下离心 3 min,取上清液上样,肌原纤维蛋白质和肌浆蛋白质的上样量均为 5 μg。配置的凝胶分离胶浓度为 12%,浓缩胶浓度为 4%,将配置好的电泳缓冲液加入电泳槽中进行电泳,设置初始电压为 70 V,当溴酚蓝进入分离胶后,将电压调为 110 V 并恒定,继续进行电泳直至溴酚蓝到达凝胶底部边缘 0.5~1 cm 处。卸胶后进行 Pro-Q 染色和 Ruby 染色,染色方法参照 Huang 等^[6]和陈立娟^[7]的方法并稍作修改,染色全过程如表 1 所示。

使用 ChemiDoc™ MP 成像系统(BIO-RAD, USA)对染色后的凝胶进行拍照,Pro-Q Diamond 染色后的凝胶在 Pro-Q Diamond 模式下拍照,SYPRO Ruby 染色后的凝胶在 SYPRO Ruby 模式下拍照。

表 1 SDS-PAGE 电泳凝胶荧光染色全过程

染色	实验过程	试剂	时间	备注
Pro-Q Diamond 染色阶段(特异性识别磷酸化蛋白质)	固定	50%甲醇, 10%乙酸	30 min (2次)	可过夜
	水洗	超纯水	10 min (3次)	
	染色	Pro-Q Diamond 染料	60-90 min (1次)	避光
	脱色	20%乙醇, 50 mM 乙酸钠, pH 4.0	30 min (2次)	避光
	水洗	超纯水	5 min (3次)	避光
SYPRO Ruby 染色阶段(全蛋白)	染色	SYPRO Ruby 染料	100 min (1次)	避光
	脱色	10%乙醇, 7%乙酸	30 min (2次)	避光
	水洗	超纯水	5 min (3次)	避光

1.3.4 图像分析

所有的样品进行四次重复性检测。利用 Quantity One 4.6.2 软件 (Bio-Rad, 美国) 对条带光密度值进行定量, Pro-Q Diamond 染色的条带光密度值 (P) 和 SYPRO Ruby 染色的条带光密度值 (T), 同一条带的光密度值之比 P/T 值即为该条带蛋白质的磷酸化水平, 样品的整体蛋白质磷酸化水平为该泳道所有条带的 P 值之和与 T 值之和的比值, P/T 值是一种蛋白质磷酸化水平的半定量方法^[8]。

1.3.5 统计分析

采用 IBM SPSS 21.0 统计软件进行方差分析, 用最小显著差异法(least significant difference, LSD)和邓肯氏总重比较法(Duncans Multiple-rang test)进行差异显著性分析, 并在 p 值 5% 的显著性水平下进行评估。

2 结果与讨论

2.1 不同温度腌制对肌原纤维蛋白质磷酸化的影响

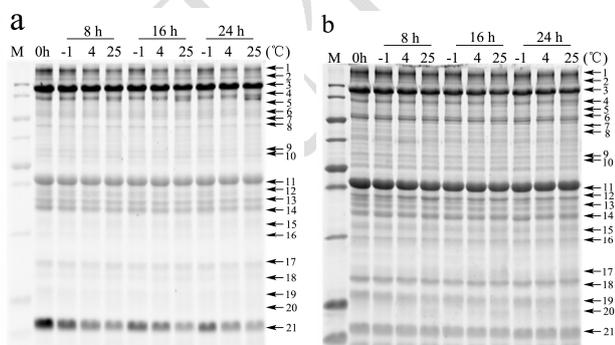


图 1 不同温度腌制组磷酸化肌原纤维蛋白与全蛋白染色效果图

Fig.1 SDS-PAGE images of phosphoproteins and total proteins exposed to different salting temperatures for the indicated times

注: a, 磷酸化肌原纤维蛋白染色效果图; b, 全肌原纤维蛋白染色效果图。

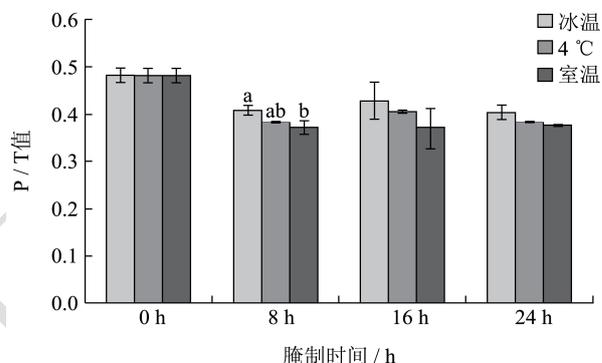


图 2 不同温度腌制过程肌原纤维蛋白质整体磷酸化水平比较

Fig.2 Comparison of global phosphorylation levels of myofibrillar proteins after salting at different temperatures

注: 图中不同小写字母表示不同处理组之间差异显著 (p<0.05)。

冰温-1 °C、4 °C、室温 25 °C 三个温度条件下腌制 0 h、8 h、16 h 和 24 h 的肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱如图 1 所示, 其中图 1a 是 Pro-Q Diamond 染色的磷酸化肌原纤维蛋白质, 图 1b 是 SYPRO Ruby 染色的肌原纤维全蛋白, 由图 1 可见, 蛋白条带平直且清晰, 说明蛋白分离效果较好。从图中选取 21 个较清晰的蛋白条带, 利用 Quantity One 4.6.2 软件对其相对光密度进行分析得到 P/T 值, 从而得到不同温度腌制过程中肌原纤维蛋白质的整体磷酸化水平的变化。

对图 1 中的电泳图进行灰度值分析, 选取电泳图中的 21 个条带进行整体磷酸化水平分析, 不同温度腌制过程中肌原纤维蛋白质的整体磷酸化水平变化如图 2 所示。由图可知, 不同温度腌制组之间, 冰温组肌原纤维蛋白质整体磷酸化水平高于 4 °C 处理组, 4 °C 处理组高于室温处理组, 而在腌制 8 h 时, 冰温处理组显著高于室温处理组 (p<0.05), 在腌制 16 h 和 24 h 时三个处理组之间无显著差异, 结果表明腌制温度影响肌原纤维蛋白质的整体磷酸化水平。腌制后, 肌原

纤维蛋白质的整体磷酸化水平显著低于0 h的原料肉，三个组的蛋白质磷酸化水平腌制后都呈现下降趋势，并且在腌制8 h后，趋于稳定，说明食盐降低了肌原纤维蛋白质的整体磷酸化水平。

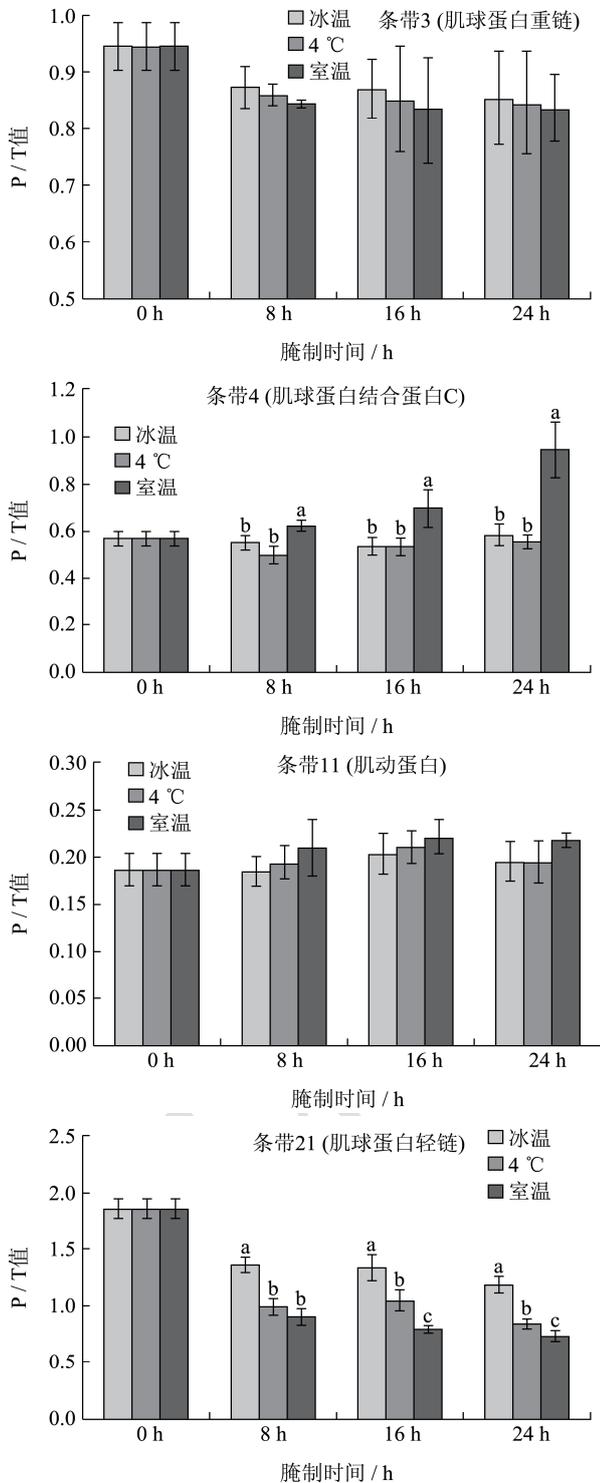


图3 不同温度组重要肌原纤维蛋白质磷酸化水平

Fig.3 Protein phosphorylation levels of some important myofibrillar proteins in different treatment groups

注：图中 a、b、c 表示不同处理组之间存在显著差异 ($p < 0.05$)。选取四个 (条带 3、4、11 和 21) 重要的肌原纤维

蛋白条带，分析腌制温度对其磷酸化水平的影响，结果如图 3 所示。冰温组的条带 3 磷酸化水平在腌制 8 h、16 h 和 24 h 均高于 4 °C 处理组，4 °C 处理组均高于室温处理组，但不同处理组之间无显著差异。而条带 21 的磷酸化水平在腌制 8 h、16 h 和 24 h 时，均是冰温处理组显著高于 4 °C 处理组，4 °C 处理组显著高于室温处理组。说明腌制温度在冰温到室温的范围内，腌制温度越低越有利于促进条带 3 和条带 21 磷酸化水平的提高。条带 4 和条带 11 的磷酸化水平则呈现出与条带 3 和条带 21 相反的趋势，条带 11 的磷酸化水平在室温处理组高于冰温处理组，但无显著性差异，而条带 4 的磷酸化水平在室温处理组显著高于冰温组和 4 °C 处理组 ($p < 0.05$)。说明腌制温度越高，越有利于条带 4 和条带 11 磷酸化水平的提高。

实验结果表明：虽然冰温组的肌原纤维蛋白整体磷酸化水平高于其他两组，但是腌制温度对不同蛋白条带磷酸化水平的影响呈现出差异。根据 Chen 等人和 Huang 等人的质谱鉴定结果^[4,6]，选取并分析了部分重要肌原纤维蛋白条带的磷酸化水平，蛋白条带名称根据 Chen 等人和 Huang 等人的质谱鉴定结果确定，结果如图 3 所示。条带 4 主要为肌球蛋白结合蛋白 C (MYBPC)，MYBPC 磷酸化会通过特定的位点影响肌肉收缩。Wang 等研究发现；MYBPC 是肌球蛋白的一种变构激活剂，从而增强横桥力的形成，MYBPC 的磷酸化会调节这种横桥力，并且加速收缩力的形成^[9]。条带 21 主要为肌球蛋白轻链，已有研究证明肌球蛋白轻链 2 磷酸化与肌肉收缩有关，磷酸化会改变肌球蛋白轻链的结构，且收缩力增强的程度与肌球蛋白轻链 2 磷酸化程度呈正相关^[10]。实验中冰温组肌球蛋白轻链的磷酸化水平显著高于其他两组，肌肉收缩最强，不利于肉嫩度的形成。除以上蛋白外，条带 3 主要为肌球蛋白重链，条带 11 主要为肌动蛋白，以上两个条带的磷酸化水平在三个不同的处理组之间差异不显著 ($p > 0.05$)。

研究发现蛋白质磷酸化后不利于蛋白质被钙蛋白酶降解^[11]，肌肉中钙蛋白酶会通过降解肌原纤维蛋白质，进而有利于肉的嫩化。而冰温腌制组的肌原纤维蛋白质整体磷酸化水平高，因此不利于其被降解，不利于肉的嫩化，而室温下磷酸化水平最低，被降解程度大，有利于肉的嫩化，因此研究不同温度腌制对肌肉蛋白质磷酸化作用对调控肉的品质具有重要意义。

2.2 不同温度腌制对肌浆蛋白质磷酸化的影响

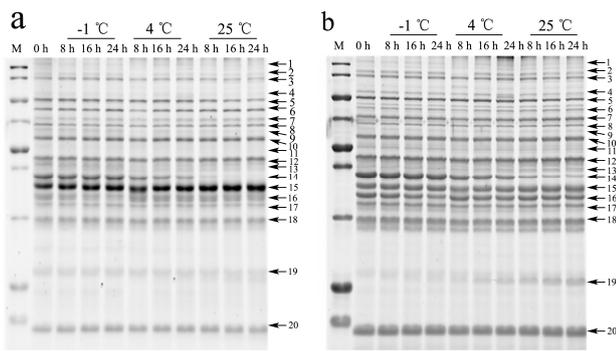


图4 不同温度腌制组磷酸化肌浆蛋白与全蛋白染色效果图
Fig.4 SDS-PAGE images of phosphoproteins and total proteins exposed to different salting temperatures for the indicated times

注: a 为磷酸化肌浆蛋白染色效果图; b 为全肌浆蛋白染色效果图。

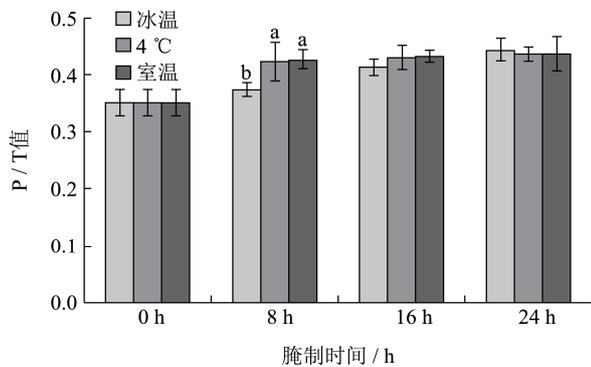


图5 不同温度腌制过程肌浆蛋白质整体磷酸化水平比较
Fig.5 Phosphorylation of sarcoplasmic proteins after salting at different temperatures

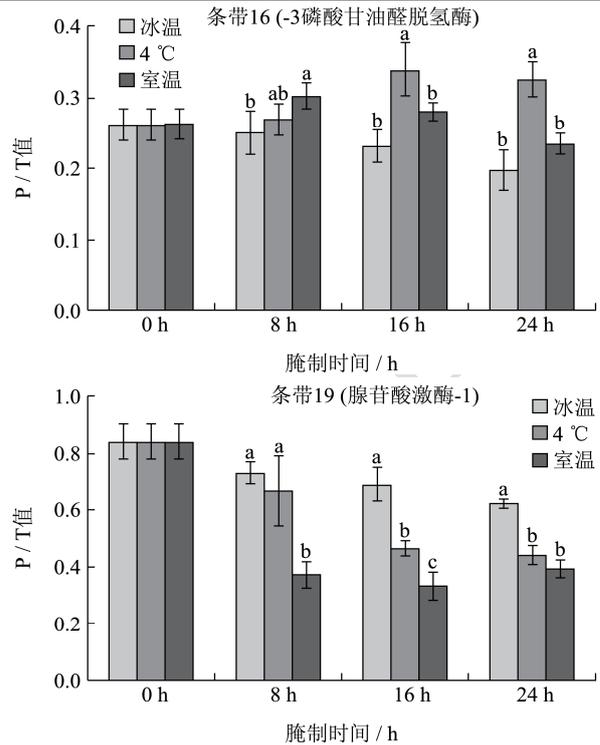
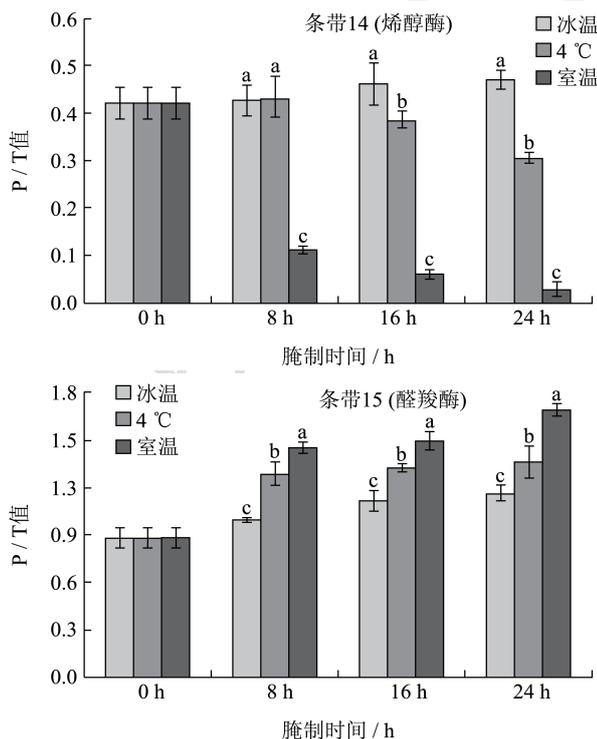


图6 不同温度组重要肌浆蛋白质磷酸化水平
Fig.6 Protein phosphorylation levels of some important sarcoplasmic proteins in different treatment groups

冰温、4°C、室温三个温度条件下腌制0h、8h、16h和24h的肌浆蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱如图4所示,其中图4a是 Pro-Q Diamond 染色的磷酸化肌浆蛋白质,图4b是 SYPRO Ruby 染色的肌浆全蛋白,从图中选取20个较清晰的蛋白条带进行整体磷酸化水平分析,分析方法同肌原纤维蛋白。

不同温度腌制过程中肌浆蛋白质的整体磷酸化水平如图5所示,三个温度处理组的肌浆蛋白质整体磷酸化水平只有在腌制8h时呈现出差异,腌制16h和24h时都无显著差异。腌制8h时,冰温组肌浆蛋白质整体磷酸化水平显著低于4°C组和室温组($p < 0.05$),而4°C组和室温组两个处理组无显著差异。

根据电泳图结果,选取4个(条带14、15、16和19)条带颜色深且灰度值变化明显的蛋白条带,分析不同腌制温度对其磷酸化水平的影响,结果如图6所示。总体来看,4个条带的磷酸化水平均受温度的影响。条带14和条带19的P/T值呈现的总体趋势一致,冰温组显著高于4°C处理组($p < 0.05$),4°C处理组均高于室温处理组($p < 0.05$),说明腌制温度在冰温到室温的范围内,腌制温度越低越有利于促进条带14和条带19磷酸化水平的提高。条带15的P/T值,室温组显著高于4°C组($p < 0.05$),4°C处理组显著高于冰温组($p < 0.05$),与条带14和条带19呈现出相反的

规律。而条带 16 在腌制 16 h 和 24 h 时, 4 °C 处组显著高于另外两组 ($p < 0.05$)。另一方面, 从电泳图 4B 可知, 条带 14 随着腌制时间的进行以及腌制温度的增大, 条带 1 的降解程度增大。而条带 19 呈现出与之相反的现象, 随着腌制时间的进行和温度的升高, 其灰度值增大, 因此条带 19 很可能是条带 14 的降解产物。

实验结果表明: 冰温处理组肌浆蛋白的整体磷酸化水平较低, 但温度对不同蛋白磷酸化的影响呈现出明显差异。分析了部分重要肌浆蛋白的磷酸化水平, 结果如图 6 所示。根据本课题组的质谱实验结果及 Huang 等人的结果^[12]确定选取的四个蛋白条带的蛋白名称。条带 14 可能为烯醇酶, 烯醇酶是糖酵解途径中的一种限速酶, 催化 2-磷酸化甘油酸与磷酸烯醇式丙酮酸之间进行转化。腌制温度升高, 其磷酸化水平显著降低 ($p < 0.05$)。许敏研究发现, 白鲢肠碱性磷酸酶 (ALP) 的最适温度是 25 °C^[13], 因此室温下 ALP 活性最高, 更容易发生去磷酸化反应, 从而导致磷酸化水平低。条带 15 可能为醛缩酶, 随着腌制温度的升高, 其磷酸化水平增大。醛缩酶也是糖酵解过程中一种重要的酶, 其磷酸化水平的改变可能会通过影响酶的活性反过来调控糖酵解进程。条带 16 可能是 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH), 是糖酵解反应的一种中间酶, Bell 等人研究发现^[14], GAPDH 磷酸化后其活性降低, 不利于糖酵解的进行。根据电泳图 4b 结果, 推测条带 19 很可能是条带 14 的降解产物, 其磷酸化水平也受温度的影响。

Huang 等人研究发现酶磷酸化后, 尤其是糖酵解酶的磷酸化, 会影响酶的活性和稳定性, 但是磷酸化对不同酶活性的影响结论不一^[12]。实验结果表明腌制温度越低, 肌浆蛋白质的整体磷酸化水平较低, 但是对不同酶的磷酸化的影响结果不一。腌制温度通过影响蛋白质磷酸化调控酶的活性, 进而影响糖酵解反应和蛋白的降解等, 对肉的品质具有重要的作用。

综上所述, 腌制温度会影响肌原纤维蛋白质和肌浆蛋白质的磷酸化水平。蛋白质磷酸化受多种蛋白激酶和磷酸酶的调控, 而蛋白激酶种类繁多, 大约有 300 种, 磷酸酶也有多种同功酶。Daniel 等人报道了温度和酶活的关系, 温度是影响酶活性的一个重要因素, 不同的酶最适温度不同^[15], 而不同的蛋白质磷酸化是受多种不同的蛋白激酶和磷酸酶调控的, 因此不同腌制温度下导致不同酶的活性变化不同, 从而导致不同蛋白条带的磷酸化变化呈现出差异。温度通过影响蛋白质磷酸化水平后, 进一步调控肉的品质。

3 结论

肌肉蛋白质的磷酸化水平受腌制温度的影响, 肌原纤维蛋白质的整体磷酸化水平在冰温条件下最高, 呈现腌制温度越低, 磷酸化水平越高的趋势, 而肌浆蛋白质整体磷酸化水平在室温条件下最高, 呈现腌制温度越低, 磷酸化水平越低的趋势。温度对单个蛋白条带磷酸化水平的影响呈现出差异。不同温度腌制下蛋白质磷酸化对肉品质的影响机理需进一步的研究。

参考文献

- [1] 刘敬斌. 牛肉冰温气调保鲜效果的研究[D]. 天津: 天津商业大学, 2014
LIU Jing-bin. Effect of ice temperature and controlled atmosphere packaging on quality of beef during storage [D]. Tianjin: Tianjin University of Commerce, 2104
- [2] 申晓琳, 袁玉超, 郝修振, 等. 不同温度对牛肉呼吸滚揉腌制效果的影响[J]. 食品科技, 2015, 40(7): 138-142
SHEN Xiao-lin, YUAN Yu-chao, HAO Xiu-zhen, et al. Effects of different temperature breath tumbling on beef curing [J]. Food Science and Technology, 2015, 40(7): 138-142
- [3] D'Alessandro A, Rinalducci S, Marrocco C, et al. Love me tender: An omics window on the bovine meat tenderness network [J]. Journal of Proteomics, 2012, 75(14): 4360-4380
- [4] Chen L, Li X, Ni N, et al. Phosphorylation of myofibrillar proteins in post-mortem ovine muscle with different tenderness [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(5): 1474-1483
- [5] 陈涌. 不同温度下福氏志贺菌磷酸化蛋白质组的比较差异研究[D]. 北京: 中国医学科学院北京协和医学院, 2014
CHEN Yong. Comparative analysis of proteome and phosphoproteome change in response to temperature stress in shigella flexneri [D]. Beijing: Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, 2014
- [6] Huang H, Larsen M R, Lametsch R. Changes in phosphorylation of myofibrillar proteins during postmortem development of porcine muscle [J]. Food Chemistry, 2012, 134(4), 1999-2006
- [7] 陈立娟, 李欣, 杨扬, 等. 不同嫩度羊肉肌浆蛋白质磷酸化水平随宰后成熟时间变化的研究[J]. 现代食品科技, 2015, 31(4): 95-101
CHEN Li-juan, LI Xin, YANG Yang, et al. Analyzing the changes in sarcoplasmic protein phosphorylation with respect to postmortem ageing times in mutton with different levels of tenderness [J]. Modern Food Science and Technology, 2015,

- 31(4): 95-101
- [8] Silverman-Gavrila L B, Lu T Z, Prashad R C, et al. Neural phosphoproteomics of a chronic hypoxia model-Lymnaea stagnalis [J]. Neuroscience, 2009, 161(2): 621-634
- [9] Wang L, Sadayappan S, Kawai M. Cardiac myosin binding protein C phosphorylation affects cross-bridge cycle's elementary steps in a site-specific manner [J]. Plos One, 2014, 9(11): e113417
- [10] Stull J T, Kamm K E, Vandenboom R. Myosin light chain kinase and the role of myosin light chain phosphorylation in skeletal muscle [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2011, 510(2): 120-128
- [11] Zhang Z, Lawrence J, Stracher A. Phosphorylation of platelet actin binding protein protects against proteolysis by calcium dependent sulfhydryl protease [J]. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1988, 151(1): 355-360
- [12] Huang H, Larsen M R, Karlsson A H, et al. Gel-based phosphoproteomics analysis of sarcoplasmic proteins in postmortem porcine muscle with pH decline rate and time differences [J]. Proteomics, 2011, 11(20): 4063-4076
- [13] 许敏. 白鲢肠碱性磷酸酶的分离纯化及其性质研究[D]. 重庆: 西南大学, 2007
- XU Min. Isolation, Purification and some properties of intestinal alkaline phosphatase from hypophthalmichthys molitrix [D]. Chongqing: Southwest University, 2007
- [14] Bell R A V, Storey K B. P06: Posttranslational modification of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from a hibernating mammal: Insight into cold-adaptation and structural diversity of a housekeeping enzyme [J]. Cryobiology, 2014, 69(1): 196-197
- [15] Daniel R M, Danson M J. Temperature and the catalytic activity of enzymes: A fresh understanding [J]. FEBS Letters, 2013, 587(17): 2738-2743