

羊乳乳清蛋白组成和功能及其与人乳、牛乳的对比分析

张熙桐, 李墨翰, 吴尚, 吴尚仪, 韩宏娇, 孔繁华, 岳喜庆
(沈阳农业大学食品学院, 辽宁沈阳 110866)

摘要: 本研究将羊乳、牛乳、人乳中乳清蛋白进行分离并结合液质联用技术鉴定, 在羊乳、牛乳、人乳乳清蛋白中分别鉴定出 156、278、454 种蛋白质。与牛乳与人乳乳清蛋白对比显示, 羊乳含有 99 种特异性表达蛋白质, 与牛乳和人乳分别有 31 种和 15 种相同表达蛋白质。通过分析基因本体 (gene ontology, GO) 功能注释发现, 羊乳乳清蛋白在生物过程中主要发挥生物调节作用; 在分子功能上, 主要体现在结合作用方面; 在细胞组成上, 参与的细胞组成主要为细胞器区和胞外区。羊乳乳清蛋白在以上三种功能上与人乳有较大差距, 但与牛乳相近。通过分析京都基因与基因组百科全书系统 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 代谢通路可知, 羊乳主要参与补体和凝血级联反应以及吞噬作用, 对人体免疫能力有积极影响。对羊乳与人乳、牛乳乳清蛋白组成及功能区别的研究, 为羊乳的进一步研究和开发提供一定的理论参考。

关键词: 羊乳; 乳清蛋白; GO 功能分析; KEGG 代谢通路

文章编号: 1673-9078(2018)06-64-69

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.6.010

Composition and Function of Whey Protein in Goat Milk, Human Milk and Bovine Milk: A Comparative Study

ZHANG Xi-tong, LI MO-han, WU Shang, WU Shang-yi, HAN Hong-jiao, KONG Fan-hua, YUE Xi-qing
(College of Food, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: Whey protein was separated from goat milk, bovine milk and human milk and identified by combined liquid chromatography and mass spectrometry in this study, and 156, 278 and 454 proteins were identified in whey protein of goat milk, bovine milk, and human milk. Compared with the whey protein of bovine milk and human milk, there were 99 specific expression proteins in whey protein of goat milk, and there were 31 and 15 identical proteins expressed in bovine milk and human milk, respectively. The results of gene ontology (GO) annotations analysis showed that the whey protein of goat milk played a biological regulation in biological process, and its molecular function was mainly embodied in the binding effect. In cellular component, the whey protein of goat milk in cell was mainly participated in the composition of organelle region and the extracellular region. The whey protein of goat milk had a large gap with human milk in the above three functions, but it was similar to bovine milk. KEGG pathway analysis showed that the whey protein of goat milk was mainly involved in the complement and coagulation cascade reaction and phagocytosis, which had a positive impact on human immunity. Consequently, the study on the composition and functional difference among goat milk, bovine milk and human milk could provide a theoretical reference for further research and development of goat milk.

Key words: goat milk; bovine milk whey protein; GO functional analysis; KEGG pathway

羊乳是由健康乳羊分泌的脂肪含量高于 2.5%、非脂乳固体含量高于 7.5% 的正常乳汁(不包括初乳)。羊乳中富含蛋白质、脂肪、氨基酸、矿物质以及多种维生素, 其基础结构和各项营养元素配比均与人乳相类似, 有“白色血液”之称。羊乳独特的营养价值和风味,

收稿日期: 2018-02-01

基金项目: “十二五”农村领域国家科技计划课题 (2013BAD18B03-02)

作者简介: 张熙桐 (1993-), 男, 硕士, 研究方向: 动物性食品加工

通讯作者: 岳喜庆 (1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 动物性食品加工

已成为西方发达国家日常生活的必须消费品, 并使用羊乳配方奶粉替代母乳, 羊乳市场占有率高达 80%^[1,2]。羊乳和牛乳一样富含营养成分和生物活性物质^[3], 与牛乳相比, 羊乳具有蛋白质凝块软且小、易消化吸收、乳糖不耐症发生率低、与人乳更接近等优点^[4]。

乳清蛋白是乳在适当的温度及等电点的情况下, 经过酸化沉淀以后分离出来的物质^[5]。乳清蛋白必需氨基酸种类齐全, 组成模式与人体相似, 容易消化吸

收, 具有极高的生物利用效价; 乳清蛋白功能多样, 来源于天然食品, 是可获得的最经济的食物蛋白质资源之一^[6-8]。可以补充人体所需要的氨基酸, 提高机体抗氧化能力, 保护免疫细胞减轻疲劳^[9]。近年来, 国内外对乳清蛋白的组成及功能的研究多集中在人乳与牛乳, 对羊乳乳清蛋白组成及功能的研究甚少, 且多集中于单一乳的分析, 很少进行多种乳的横向对比。

本研究将人乳、牛乳及羊乳中的乳清蛋白进行分离, 经过酶解后进行质谱鉴定, 将鉴定后的结果通过基因本体 (gene ontology, GO) 功能注释以及京都基因与基因组百科全书系统 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 代谢通路分析, 在重点研究羊乳的基础上, 深入探究羊乳与人乳、牛乳乳清蛋白的组成及功能的区别, 以期对羊乳的进一步研究和开发提供了一定的理论参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

牛乳、羊乳: 均采集自沈阳农业大学畜牧场。

采集 30 份健康奶牛、奶羊的乳汁低温运回实验室, 并在实验前进行混合 (防止个体差异)。除当天用乳样放入 4 °C 冰箱保存外, 其余乳样均置于 -80 °C 冰柜冷藏。

人乳: 采集某医院正常生产、身体健康、头胎、饮食正常的 30 位授乳母亲的乳汁低温运回实验室, 并在实验前进行混合 (防止个体差异)。除当天用乳样放入 4 °C 冰箱保存外, 其余乳样均置于 -80 °C 冰柜冷藏。由授乳母亲自愿提供。

1.2 仪器与设备

CR-21G 高速冷冻离心机, 日本日立公司; 真空冷冻干燥机, 上海比朗仪器制造有限公司; 毛细管高效液相色谱, 美国 Agilent 公司; Q-Exactive 质谱仪, 赛默飞世尔科技公司。

1.3 实验方法

1.3.1 乳清蛋白的提取^[10,11]

取人乳、牛乳、羊乳各 50 mL, 在 4 °C, 6000 r/min 下离心 20 min, 去除乳脂层, 再置于 15000 r/min 下离心 60 min, 获得乳清部分, 除去酪蛋白, 置入真空冷冻干燥机制得冻干粉。

1.3.2 FASP 酶解^[12,13]

量取三种样品各 20 μL, 倒入等量的 DTT 中, 得

到浓度为 100 mM 的混合液, 在开水中加热 5 min, 然后转移到常温环境下, 添加 20 μL UA buffer (8 M Urea, 150 mM TrisHCl pH 8.0) 达到均匀状态后, 转移到 10 ku 超滤离心管中, 离心 14000 r/min 15 min。添加 200 μL UA buffer 离心 14000 r/min 15 min, 倒掉滤液。添加 100 μL IAA (50 mM IAA in UA), 600 r/min 振荡 1 min, 在无光室温环境下静置 30 min, 离心 14000 r/min 10 min。添加 100 μL UA buffer, 离心 14000 r/min 10 min 2 次。添加 100 μL (NH₄)₂ CO₃ buffer, 离心 14000 r/min、10 min 2 次。添加 40 μL Trypsin buffer (4 μg Trypsin in 40 μL (NH₄)₂ CO₃ buffer), 600 r/min 混合 1 min, 37 °C 16~18 h。倒入新收集管中, 离心 14000 r/min 10 min, 单独放置滤液。

1.3.3 毛细管高效液相色谱^[14,15]

通过纳升流速 HPLC 液相系统 Easy nLC 予以分离。缓冲液: A 液为 0.1% 甲酸水溶液, B 液为 0.1% 甲酸乙腈水溶液 (乙腈为 84%)。色谱柱通过 95% 的 A 液平衡。样品由自动进样器上样到上样柱 Thermo scientific EASY column (2 cm × 100 μm 5 μm-C18), 然后通过分析柱 Thermo scientific EASY column (75 μm × 100 mm 3 μm-C18) 分离, 流速为 250 nL/min。液相梯度为: 0~50 min, B 液线性梯度从 0% 到 50%; 50~54 min, B 液线性梯度从 50% 到 100%; 54~60 min, B 液保持 100% 不变。

1.3.4 ESI 质谱鉴定^[16,17]

样品经毛细管高效液相色谱分离后用 Q-Exactive 质谱仪 (Thermo Finnigan) 进行质谱分析。分析时长: 60 min, 检测方式: 正离子, 母离子扫描范围: 300~1800 *m/z*, 一级质谱分辨率: 70,000 at *m/z* 200, AGC target: 3e6, 一级 Maximum IT: 10 ms, Number of scan ranges: 1, Dynamic exclusion: 15.0 s。多肽和多肽的碎片的质量电荷比按照下列方法采集: 每次全扫描 (full scan) 后采集 10 个碎片图谱 (MS2 scan), MS2 Activation Type: HCD, Isolation window: 2 *m/z*, 二级质谱分辨率: 17,500 at *m/z* 200, Microscans: 1, 二级 Maximum IT: 60 ms, Normalized collision energy: 27 eV, Underfill ratio: 0.1%。

1.3.5 ESI 质谱数据分析^[18]

利用 MaxQuant 软件对原始文件展开数据库检索。具体参数为: enzyme 为 Trypsin; missed cleavage 设为 2; 静态修饰选择 Carbamidomethy C; 动态修饰选择 Oxidation M、Acetyl (Protein N-term)。Peptides FDR < 0.01, Protein FDR < 0.01。

1.3.6 GO 功能分析及 KEGG 代谢通路分析^[19-21]

以上实验操作进行三次重复,对于鉴定到的蛋白,选取其中被鉴定到两次及以上的蛋白进行分析。GO数据库提供生物过程、分子功能和细胞组成三大类功能信息。通过 DAVID Bioinformatics Resources 在线工具展开数据库查询及检索,获取 GO 功能信息和 KEGG 代谢通路结果。

2 结果与讨论

2.1 人乳、牛乳、羊乳蛋白酶解后的鉴定结果

分析

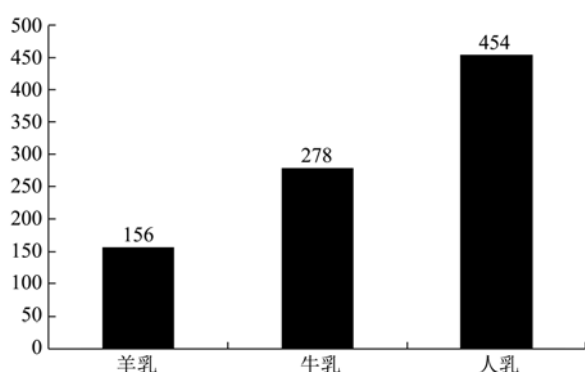


图1 羊乳、牛乳、人乳中乳清蛋白组成

Fig.1 Composition of whey proteins in goat milk, bovine milk and human milk

由图1所示,测得羊乳乳清蛋白中共含有156种蛋白,少于牛乳的278种蛋白及人乳的454种蛋白,其中牛乳与人乳乳清蛋白蛋白质种类与杨梅等^[22]的数据,人乳460种、牛乳284种较为接近。这主要是由两方面原因造成的:一方面是由于人乳营养更为丰富,蛋白种类较牛乳、羊乳更多;另一方面是由于羊乳和牛乳,尤其是羊乳的数据库不够完善。从数据中可以看出,羊乳和牛乳乳清蛋白种类数量上有所欠缺,无法完全代替人乳在婴幼儿生长发育阶段的作用。

2.2 人乳、牛乳、羊乳乳清蛋白的组成分析

由图2可知,羊乳中含有99种特异性表达蛋白质,牛乳中有152种特异性表达蛋白质,人乳中含有344种特异性表达蛋白质。这说明羊乳与牛乳、人乳的乳清蛋白在蛋白质组成上还存在较大差异。但有31种蛋白质在羊乳与牛乳乳清蛋白中均有表达,15种蛋白质在羊乳与人乳乳清蛋白中均有表达,说明羊乳能够在部分种类的蛋白质上代替牛乳及人乳。因此,对羊乳的蛋白质组成分析,能够为日后生产婴幼儿食品及功能性食品提供新的来源,同时也能为羊乳的进一步研究和开发提供了一定的理论参考。

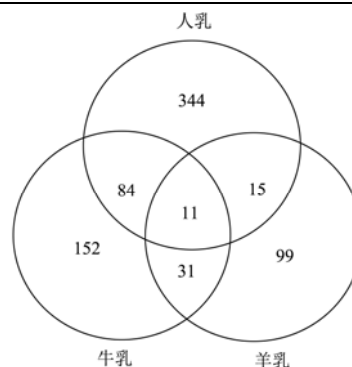


图2 羊乳、牛乳、人乳中乳清蛋白种类的维恩图

Fig.2 Venn diagram of whey protein species in goat milk, bovine milk and human milk

2.3 人乳、牛乳、羊乳乳清蛋白 GO 功能分析

2.3.1 人乳、牛乳、羊乳乳清蛋白参与的生物过程分析

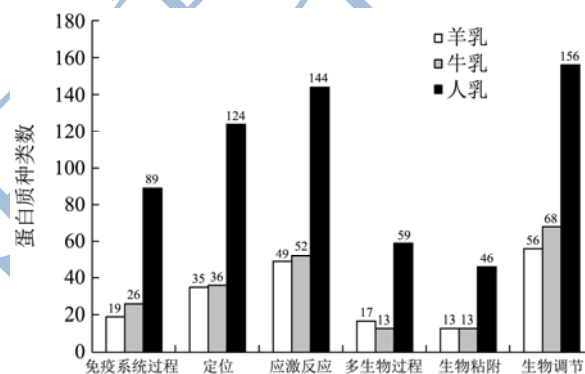


图3 羊乳、牛乳、人乳中乳清蛋白参与的生物过程

Fig.3 Biological process of whey protein in goat milk, bovine milk and human milk

对三种乳的乳清蛋白进行数据库检索,选择主要的生物过程(如图3)。三种乳乳清蛋白的生物过程主要是免疫系统过程、定位作用、应激反应、多生物过程、生物粘附和生物调节等。通过对三种乳乳清蛋白参与生物过程的分析可知,三种乳乳清蛋白在生物调节过程中发挥的作用最高,其次是对刺激的反应,其中人乳在参与各项生物过程的乳清蛋白种类数明显高于牛乳与羊乳,而羊乳与牛乳差异不明显。生物调节包括,神经调节、体液调节、反馈调节、分级调节等,是人体所需要的重要生物过程,对婴幼儿的生长发育起到关键作用。应激反应也极其重要,婴儿离开母体体内环境,接触外界不同的环境,这种环境转变,需要婴儿机体具有良好的应激反应能力,这样才可以让孩子尽早地适应外界环境变化,维持机体健康生长。羊乳乳清蛋白在以上几个生物过程中都有参与,且参与的蛋白质种类数与牛乳相近,表明羊乳可以与牛乳作为婴幼儿功能性食品来源,但不能完全替代人乳。

2.3.2 人乳、牛乳、羊乳乳清蛋白参与的分子功能分析

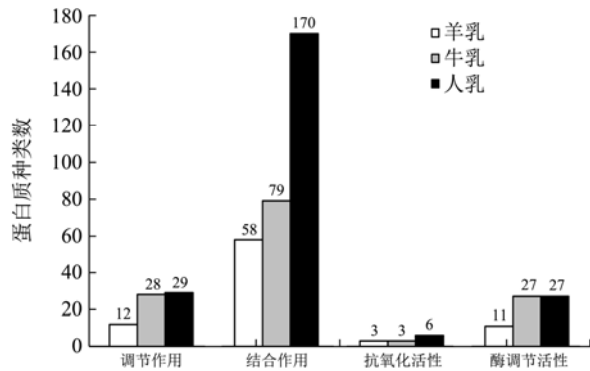


图4 羊乳、牛乳、人乳中乳清蛋白具有的分子功能

Fig.4 Molecular function of whey protein in goat milk, bovine milk and human milk

通过 GO 功能注释中的分子功能分析 (如图 4), 可知三种乳清蛋白主要具有的分子功能为调节作用、结合作用、抗氧化活性和酶调节活性等。其中, 羊乳乳清蛋白在抗氧化活性、酶调节活性以及调节作用上与人乳、牛乳的乳清蛋白相接近, 但在结合作用上与人乳具有较大差异。通过数据库分析可知, 三种乳清蛋白的结合作用主要体现在蛋白质结合、碳水化合物结合、抗原结合和离子结合等, 这些都对婴幼儿的成长发育起到重要作用。例如, 蛋白质的结合作用可以将其他物质与蛋白质相结合, 形成结合蛋白, 以此扩展蛋白质功能; 碳水化合物衍生物结合作用影响着婴幼儿对碳水化合物及其衍生物的吸收和利用; 抗原结合能够起到激活补体, 促进吞噬的作用等^[23]。羊乳在以上几个结合功能中都有良好表现, 该数据也为羊乳的进一步开发和研究, 提供了一定的理论参考依据。

2.3.3 人乳、牛乳、羊乳乳清蛋白的细胞组成分析

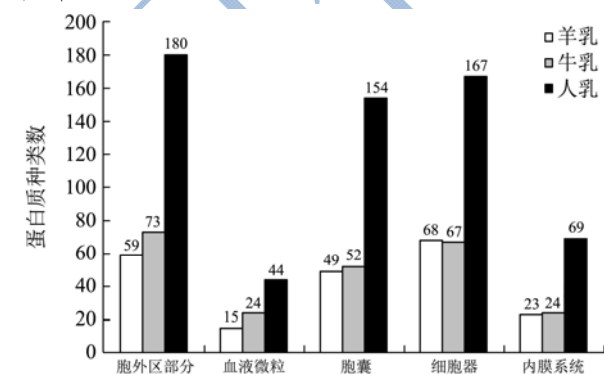


图5 羊乳、牛乳、人乳中乳清蛋白参与的细胞组成

Fig.5 Composition of cells involved for whey protein in goat milk, bovine milk and human milk

由图 5 可知, 三种乳清蛋白参与形成的细胞组

成有胞外区、血的微粒、胞囊、细胞器以及内膜系统等。其中主要是胞外区及细胞器区。胞外区是许多细胞表面功能分子的特异结构区, 在此区域发生很多细胞激活反应, 是分子发挥结合功能的重要区域。细胞器包含, 线粒体、内质网、高尔基体和核糖体等细胞器, 对婴幼儿生长发育起重要作用^[24]。羊乳乳清蛋白虽然较人乳乳清蛋白在参与细胞组成功能有较大差距, 但其能够参与大多对人体有益的细胞组成功能, 且不逊与牛乳乳清蛋白, 因此羊乳乳清蛋白能够一定程度上代替牛乳在婴幼儿生长发育过程中发挥关键作用。

2.4 KEGG 通路分析

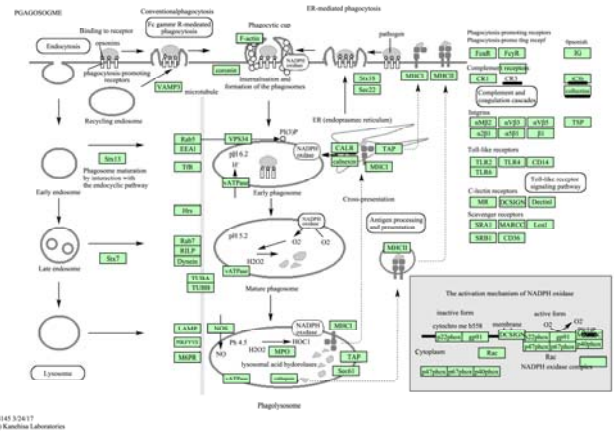


图6 羊乳乳清蛋白吞噬功能 KEGG 通路

Fig.6 Phagocytosis KEGG pathway of whey protein in goat milk

如表 1 所示, 羊乳、牛乳、人乳乳清蛋白分别参与 13 种、12 种以及 24 种 KEGG 通路, 其中三种乳共有的通路有 5 种, 人乳与牛乳共有的通路有 3 种, 人乳与羊乳共有通路有 3 种。在 5 种三者共有的通路中, 补体和凝血级联反应以及吞噬作用, 作为人体固有免疫系统反应, 对婴幼儿具有重要作用。以吞噬作用为例, 人体吞噬作用主要依靠吞噬细胞和中性粒细胞等的协同作用, 以及起辅助作用的补体系统^[25]。羊乳乳清蛋白中, 蛋白质名为补体 C3 (loc443475)、类补体 C3 (LOC101103133) 以及类补体 C3 (LOC101113831) 等的蛋白, 能够对补体受体 CR3 等造成积极影响 (如图 6), 从而间接促进婴幼儿免疫能力的提高。另外, 从表 1 中可以看出, 羊乳乳清蛋白虽然和牛乳乳清蛋白一样, 与人乳乳清蛋白有多种共有通路, 但还有许多人乳乳清蛋白特有的通路, 如半乳糖代谢、丙酮酸代谢等是羊乳乳清蛋白无法代替的。综上可知, 羊乳可以作为婴幼儿功能性食品的来源之一, 但无法完全替代人乳。

表1 羊乳、牛乳、人乳中乳清蛋白参与 KEGG 通路种类数表

Table 1 Number of KEGG pathway in whey protein in goat milk, bovine milk and human milk

通路名称	pathway name	参与通路乳清蛋白种类数		
		羊乳	牛乳	人乳
脂肪消化吸收	Fat digestion and absorption		3	3
戊糖磷酸途径	Pentose phosphate pathway			3
半乳糖代谢	Galactose metabolism			3
淀粉与蔗糖代谢	Starch and sucrose metabolism			3
丙酮酸代谢	Pyruvate metabolism			3
百日咳	Pertussis	5	6	4
疟疾	Malaria		3	4
肾素血管紧张素系统	Renin-angiotensin system			4
抗原处理与展示	Antigen processing and presentation			4
造血细胞谱系	Hematopoietic cell lineage			4
系统红斑性狼疮	Systemic lupus erythematosus	5	7	5
内质网蛋白质加工	Protein processing in endoplasmic reticulum	7		6
金黄色葡萄球菌感染	Staphylococcus aureus infection	5	10	6
氨基酸生物合成	Biosynthesis of amino acids	4		6
肺结核	Tuberculosis		5	6
溶酶体	Lysosome			6
碳代谢	Carbon metabolism	4		7
PPAR 信号通路	PPAR signaling pathway			7
ECM 受体相互作用	ECM-receptor interaction			7
吞噬	Phagosome	5	6	9
糖酵解途径	Glycolysis / Gluconeogenesis			9
PI3K/Akt 信号通路	PI3K-Akt signaling pathway			9
补体和凝血级联反应	Complement and coagulation cascades	8	20	10
抗生素生物合成	Biosynthesis of antibiotics			10
军团杆菌病	Legionellosis	8		
细胞周期	Cell cycle	5		
病毒致癌	Viral carcinogenesis	6		
HIF-1 信号通路	HIF-1 signaling pathway	4		
查加斯病 (美洲锥虫病)	Chagas disease (American trypanosomiasis)	4		
维生素消化吸收	Vitamin digestion and absorption		4	
朊粒病	Prion diseases		3	
非洲锥虫病	African trypanosomiasis		3	
阿米巴病	Amoebiasis		4	

3 结论

3.1 利用液质联用,从羊乳中鉴定出 156 种蛋白。从 GO 功能注释分析中可以看出,羊乳乳清蛋白在生物过程中主要参与生物调节过程;在分子功能上主要发挥结合作用;在细胞组成上主要参与胞外区和细胞器区的组成。主要参与的 KEGG 通路为补体和凝血级联反应以及吞噬作用,能够对免疫系统的补体系统产生

积极影响。

3.2 通过对羊乳乳清蛋白的 GO 功能注释及 KEGG 通路的分析可知,羊乳乳清蛋白在生物过程、分子功能、细胞组成上发挥重要的功能,可以一定程度上对婴幼儿发挥生长发育起作用,能够作为婴幼儿食品的良好替代品。

参考文献

- [1] Milani F X, Wendorff W L. Goat and sheep milk products in the United States (USA) [J]. *Small Ruminant Research*, 2011, 101: 134-139
- [2] Toral P G, Chilliard Y, Rouel J, et al. Comparison of the nutritional regulation of milk fat secretion and composition in cows and goats [J]. *Journal of Dairy Science*, 2015, 98(10): 7277-7279
- [3] 李贺,马莺.羊乳营养及其功能性特性[J].*中国乳品工业*, 2017,45(1):29-33,49
LI He, MA Ying. Nutrition and functional properties of goat milk [J]. *Chinese Dairy Industry*, 2017, 45(1): 29-33, 49. DOI:10.3969/j.issn.1001-2230.2017.01.008
- [4] 陈天鹏.羊乳营养成分及功能特性的研究进展[J].*中国食物与营养*,2016,22(3):71-76
CHEN Tian-peng. Research progress on nutritional components and functional property of goat milk [J]. *Food and Nutrition in China*, 2016, 22(3): 71-76. DOI:10.3969/j.issn.1006-9577.2016.03.017
- [5] Krissansen G W. Emerging health properties of whey proteins and their clinical implications [J]. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2007, 26(6): 713S-723S
- [6] AARTI S. Efficacy of fermented milk and whey proteins in *Helicobacter pylori* eradication: A review [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(3): 724
- [7] Wolfgang J, Fredi S. HPLC-MS/MS-detection of caseins and whey proteins in meat products [J]. *Procedia Food Science*, 2015, 5: 129-132
- [8] Marie C, Alain R, Christelle L, et al. Aggregated whey proteins and trace of caseins synergistically improve the heat stability of whey protein-rich emulsions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 61: 487-495
- [9] Krissansen G W. Emerging health properties of whey proteins and their clinical implications [J]. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2007, 26(6): 713S-723S
- [10] YANG Mei, CAO XueYan, WU RiNa, et al. Comparative proteomic exploration of whey proteins in human and bovine colostrum and mature milk using iTRAQ-coupled LC-MS/MS [J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2017, 20: 1-11
- [11] YAN PingMei, WANG Qing, YAN XiaoYan, et al. Evaluation of amino acid and vitamin b2 and e composition of genetically modified antidwarf mosaic maize by automatic amino acid analyzer and HPLC [J]. *Asian Journal of Chemistry*, 2013, 25(6): 3525-3526
- [12] SINGH H. The milk fat globule membrane e a biophysical system for food applications [J]. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 2006, 11(2/3): 154-163
- [13] Thien L, Griet D, William G, et al. Distribution and isolation of milk fat globule membrane proteins during dairy processing as revealed by proteomic analysis [J]. *International Dairy Journal*, 2013, 32(2): 110-120
- [14] Anderghem C, Blecker C, Danthine S, et al. Proteome analysis of the bovine milk fat globule: enhancement of membrane purification [J]. *International Dairy Journal*, 2008, 18(9): 885-893
- [15] WANG ChaoFeng, GAO MingXia, ZHANG Peng, et al. Efficient proteolysis of glycoprotein using a hydrophilic immobilized enzyme reactor coupled with MALDI-QIT-TOF-MS detection and μ HPLC analysis [J]. *Chromatographia*, 2014, 77(5-6): 413-418
- [16] ŞEYDA K. Determination of Phenolic Composition of *tilia tomentosa* flowers using UPLC-ESI-MS/MS [J]. *International Journal of Secondary Metabolite*, 2017, 1: 249-256
- [17] Günter Kahl, Electrospray ionization (ESI) mass spectrometry (ESI-MS) [M]. *The Dictionary of Genomics, Transcriptomics and Proteomics*, online: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2015:1-1
- [18] WANG JinFeng, JIA ZiYao, ZHANG ZhiHao, et al. Analysis of Chemical Constituents of *Melastoma dodecandrum* Lour. by UPLC-ESI-Q-Exactive Focus-MS/MS [J]. *Molecules*, 2017, 22(3): 476
- [19] Esmail E, Mario F, Seyyed H M N, et al. Gene ontology-based analysis of zebrafish omics data using the web tool comparative gene ontology [J]. *Zebrafish*, 2017, 14(5): 492-494
- [20] LIAO Yalin, Alvarado R, Phinney B, et al. Proteomic characterization of human milk fat globule membrane proteins during a 12 month lactation period [J]. *Journal of Proteome Research*, 2011, 10: 3530-3541
- [21] MINORU K. Enzyme Annotation and Metabolic Reconstruction Using KEGG [J]. *Molecular Biology*, 2017, 1611: 135:145
- [22] YANG Mei, CAO XueYan, WU RiNa, et al. Comparative proteomic exploration of whey proteins in human and bovine colostrum and mature milk using iTRAQ-coupled LC-MS/MS [J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2017, 68(6): 671-681
- [23] DONALD W. *Infant Feeding* [M]. Oxford University: Lesley Caldwell and Helen Taylor Robinson, 2016(2): 1939-1945

- [24] 叶清,石佳鑫,杨梅,等.人初乳与牛初乳中乳清蛋白组成的对比研究[J].乳业科学与技术,2016,39(4):7-12
YE Qing, SHI Jia-xin, YANG Mei, et al. Comparative study on the composition of whey protein in human colostrum and bovine colostrum [J]. Dairy Science and Technology, 2016, 39(4): 7-12
- [25] 黄河玉.补体在适应性免疫中的调节作用[J].中国免疫学杂志,2016,32(4):600-604
- [26] HUANG He-yu. The regulation of complement in adaptive immunity [J]. Chinese Immunology Journal, 2016, 32(4): 600-604

现代食品科技