

枸杞成熟与干制过程中多糖积累的蛋白质组学 研究进展

房 想, 魏超昆, 刘关瑞, 王 旭, 龚 媛, 刘敦华*

(宁夏大学农学院, 银川 750021)

摘 要: 随着后基因组时代的到来, 蛋白质组学越来越广泛地应用到生命科学领域, 目前主要应用于医学、生物学、植物学, 近些年在食品科学方面也进行了相关研究。应用蛋白质组学在植物生长发育和成熟衰老方面的研究比较常见, 但在加工环节中的应用并不多见。该方法能通过研究植物体相关蛋白质而在本质上动态地揭示植物从生长发育到成熟衰老过程的机制, 为研究枸杞果实成熟及干制过程中多糖积累提供了新的思路和理论支撑。本文综述了枸杞果实成熟及干制过程中多糖积累的研究进展, 简单介绍蛋白质组学、蛋白质组学的研究技术及其在植物及加工环节中的研究进展, 并展望蛋白质组学技术在枸杞果实成熟及干制过程中多糖积累的研究前景, 为今后蛋白质组学的应用与发展提供一定的参考和理论依据。

关键词: 枸杞; 多糖; 蛋白质组学; 代谢; 酶

Progress of proteomics of *Lycium barbarum* polysaccharide accumulation in the process of maturing and drying

FANG Xiang, WEI Chao-Kun, LIU Guan-Rui, WANG Xu, GONG Yuan, LIU Dun-Hua*

(School of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

ABSTRACT: With the advent of the post genomic era, proteomics is becoming more and more widely used in the field of life sciences especially in medicine, biology and botany. Proteomics has also been used in the area of food science in recent years. Application of proteomics in plant growth and ripening research is more common; however, there are little researches in applications in process. This method focuses on the related proteins revealing the mechanism of plant growth and ripening naturedly, and provides a new way of ideas and theoretical support for the research on the development of *Lycium barbarum* ripening and drying process. This article summarized the process of *Lycium barbarum* polysaccharide accumulation in the maturing and drying, and briefly introduced proteomics, proteomics technology and its research progress in plant and processing. The researches of proteomics of *Lycium barbarum* polysaccharide accumulation in the maturing and drying were prospected, which provided some references and theoretical basis for the application and development of proteomics in the future.

KEY WORDS: *Lycium barbarum*; polysaccharide; proteomics; metabolism; enzyme

基金项目: 国家自然科学基金项目(31560436)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31560436)

*通讯作者: 刘敦华, 博士, 教授, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: dunhualiu@126.com

*Corresponding author: LIU Dun-Hua, Doctor, Professor, School of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750021, China. E-mail: dunhualiu@126.com

1 引言

枸杞既是我国传统的中药材,又是一种可做食材的营养滋补佳品,自中国进入国际市场以来,中国枸杞越来越被世界熟知。宁夏枸杞皮厚多汁,入口甘甜,最为驰名。现代医学研究表明,枸杞中有多种活性成分,而枸杞多糖是最主要的活性成分,其具有抗肿瘤、抗衰老、提高免疫力、降血脂、补肾养肝等作用^[1-3]。世界研究人员对枸杞多糖的研究也越来越热衷,从细胞水平到分子水平一步步深化,研究的技术也越来越先进。有关枸杞多糖的提取、分离、纯化、结构以及功能的研究颇多,而对于枸杞果实在生长发育和初加工过程中的多糖变化较少。蛋白质是生物细胞和组织的重要组成部分,是生命活动的承载者和生理功能的体现者。近年来,将新兴的蛋白质组学应用于生物学、医学、化学、食品等领域方兴未艾。基于蛋白质组学来研究枸杞果实成熟与干制过程中多糖的变化定将会有新的突破。本文综述了近几年来有关枸杞果实在生长发育过程及干制过程中多糖变化,并且简单介绍应用蛋白质组学研究枸杞成熟与干制过程中多糖积累的理论依据,提出有关枸杞多糖积累变化今后的研究发展趋势。

2 枸杞多糖

众所周知,枸杞自古以来是一种中草药,更是一种营养丰富的保健品。研究表明^[4],枸杞的营养成分包含蛋白质、碳水化合物、膳食纤维、胡萝卜素、VB、尼克酸、抗坏血酸、钙、铁、磷、镁、锌、锰、硒等。此外,枸杞中还含有丰富的生物活性物质,如枸杞多糖、甜菜碱、生物碱、甙类等。近年来,已经从枸杞中分离到生物碱类、酰胺类、多肽类、黄酮及其苷类、萜醌类、香豆素类、木脂素、菇类、甾类、有机酸类、糖脂类、类胡萝卜素类共计200多种化合物^[5]。Yahara^[6]从枸杞中分离到玉蜀黍黄素及玉蜀黍黄素二棕榈酸、环肽及枸杞素A-D、脑甙脂类等。Toyode-Onoy等^[7]从枸杞中首次分离到2-O-(β -D-吡喃葡萄糖基)抗坏血酸,它是维生素C重要的前体化合物,含量可与新鲜柠檬中维生素C媲美。枸杞中类胡萝卜素含量丰富,已经检出11种类胡萝卜素酯和7种游离类胡萝卜素^[8,9]。研究者们从宁夏枸杞中鉴定出了20多种多糖、11种单糖、18种氨基酸、18种微量元素和30多种挥发油类^[10-13]。

枸杞多糖是枸杞果实中最主要的活性物质,具有抗肿瘤、抗衰老、提高免疫力、降血脂、补肾养肝等作用。研究表明,多糖含量占枸杞糖蛋白总量的70%以上,主要由木糖、半乳糖、甘露糖、葡糖糖、阿拉伯糖、鼠李糖等6种单糖组成,糖苷键类型为-O-链接型^[14]。目前,枸杞多糖的研究主要停留在提取、分离、纯化、结构、功能分析方面,对枸杞果实多糖不同生长及加工阶段积累量的研究较少,今后必须立足于国内外研究的基础上,利用先进的

科学技术多枸杞多糖进行更全面深入的研究。

3 枸杞果实生长发育及干制过程中多糖积累的研究概况

3.1 枸杞果实生长发育多糖积累的规律

多糖在植物生长、发育、代谢过程中担当重要角色,既是光合作用的产物又是植物体进行呼吸作用和新陈代谢的重要物质。糖代谢是生物体内蛋白质代谢、脂类代谢、核酸代谢及次生物质代谢的枢纽。多糖是枸杞果实生长发育过程的次级代谢产物,多糖、总糖含量与枸杞果实内的蔗糖代谢关系十分密切,枸杞在进行蔗糖代谢的同时也在进行枸杞多糖及总糖的合成、代谢和积累。枸杞果实的形成可分为:花蕾期、开花期、果实发育期和果熟期^[15]。郑国琦等^[16]研究表明宁夏枸杞果实发育呈双S型曲线,枸杞果实从开花到果实成熟约需要34d,果实的发育可明显划分为快速生长期(花后2~8d)、缓慢生长期(花后8~24d)和第2次快速生长期(花后24~34d)3个阶段,果实主要以积累己糖为主。张宁等^[17]研究了枸杞果实成熟过程中多糖含量变化,结果表明,发育前期含量较低,于花后27d迅速增加,到成熟时达最大值。

3.2 内在因素对枸杞果实生长发育过程中多糖的影响

枸杞果实在生长发育过程中糖的积累量受内源素及相关酶的代谢调节,王彦波^[18]在研究不同激素处理对嫁接西瓜果实糖分积累的影响时发现,在嫁接西瓜果实发育中后期,几种激素处理均促进果实中可溶性总糖含量的增加。杨晓婉^[19]研究表明,枸杞果实中的内源素可以促进枸杞活性成分的积累,其中生长素、玉米素和枸杞果实中多糖呈显著正相关。Zhao等^[20]提出在研究糖积累机制时应考虑蔗糖代谢相关酶的综合作用。蔗糖磷酸合成酶(SPS)活性在果实发育初期处于下降,在花后19d开始上升,果实转色后又逐渐下降;枸杞果实发育过程中,蔗糖合成酶(SS)的活性分解方向大于合成方向;酸性转化酶(AI)和中性转化酶(NI)的活性随果实发育呈上升趋势,但在果实成熟后期有所下降,且AI和NI活性高于合成酶类的活性,较高的转化酶类活性促进果实内部己糖的积累^[18]。

3.3 外界因素对枸杞果实生长发育过程中多糖的影响

枸杞果实在生长发育过程中多糖的积累量不仅受内在因素的调节,外界因素影响也很重要。张晓煜等^[21]研究认为枸杞多糖含量受土壤、气象因子的共同影响,且土壤因子的影响大于气象因子,全磷含量是影响枸杞多糖含量的最主要因子。韩宏伟等^[22]研究表明,枸杞不同成熟期鲜果营养成分与土壤肥力因子密切相关。温美佳^[23]研究了不同地域、地形、温度和降水量对枸杞的影响,结果显示这些因素都可影响到多糖的积累。

3.4 干制加工对枸杞多糖含量变化的影响

目前我国加工枸杞干果仍然占据主导地位, 干制方法有传统的晒干、烘干, 新兴的方法有冷冻干燥、微波干燥、远红外干燥和太阳能干燥等。贾夏等^[24]研究不同干制方式对香菇多糖含量的影响, 结果表现为晒干处理的香菇多糖含量最低, 阴干的含量大于晒干, 烘干的含量最高。郭亚娟^[25]研究结果表明, 热风干制、真空微波干制和真空冷冻干制等对果肉粗多糖理化组成、分子量分布、光谱特征的影响有显著差异性。如克亚·加帕尔^[26]在研究枸杞不同干燥方式对多糖含量的影响中得出多糖含量鲜果>阴干>日晒。可见不同的干制方式对多糖含量有显著差异, 较鲜果中多糖含量都要低。不同的干燥方式处理对多糖相关酶的影响不同, 进而影响多糖的含量。

4 蛋白质组学在植物学及加工环节中的创新应用

4.1 蛋白质组学概述

蛋白质组(proteome)是指由基因组编码的全部蛋白质, 是 1994 年由 Wilkins 等提出^[27]。蛋白质组学(proteomics)是基于基因组学发展的基础上应运而生的, 是以蛋白质组为研究对象的一门新学科。蛋白质组学研究的内容包括: 认识某种特定的细胞、组织或器官的蛋白质种类及功能; 明确各种蛋白质之间以及其他分子的相互网络; 描绘蛋白质的翻译后修饰、高级结构, 揭示药物靶点关键位点。该研究是动态的, 具有时间性和空间性, 可以研究生物不同生长阶段和不同环境下蛋白质的表达、蛋白质翻译后的加工修饰以及蛋白质间的相互作用信息^[28]。

蛋白质组学主要包括比较蛋白质组学、功能蛋白质组学和结构蛋白质组学^[29-31]。比较蛋白质组学是对生物体表达的蛋白质进行比较、分析、鉴定不同组织、不同生长阶段、不同环境条件、不同品种间表达的蛋白差异, 目前比较蛋白质组学在蛋白质组学中应用最为广泛。结构蛋白质组学是针对有基因组或转录组数据库的生物体或组织、细胞, 绘制出蛋白质或亚蛋白质组及蛋白质组连锁群的一种全景式蛋白质组学研究, 从而获得有机体生命活动的全景式认识; 功能蛋白质组学是蛋白质间、核酸与蛋白质间的相互作用的研究, 针对细胞内与某个功能有关或某个条件下的一群蛋白质为主要研究内容, 建立细胞内外信号传递的复杂网络^[32]。

4.2 蛋白质组学研究技术

蛋白质组学的研究以鉴定细胞或组织中表达的所有蛋白质且明确每一个蛋白质的特殊性能作为蛋白质组学研究的核心内容, 过程主要由蛋白质的分离、鉴定和结果分析构成。

双向聚丙烯酰胺凝胶电泳(two-dimensional gelelectrophoresis, 2-DE)和荧光差异凝胶电泳(two-

dimensional fluorescence difference gel electrophoresis, 2D-DIGE)是最为常用的蛋白质分离技术。早在 1975 年 2-DE 技术就开始应用, 其原理是根据不同的分子量和等电点将蛋白质分离^[33]。在 DIGE 技术中引进内标, 可以定量分析凝胶蛋白质点, 使蛋白质丰度的变化能更加真实的反出来^[34], 但此方法必须用荧光染料来标记蛋白质, 因此, 出现了一些相应的问题如步骤繁琐, 重现性差。为了使蛋白质分离技术更加优化, 近些年来开发了一些新的技术, 如高效液相色谱技术(high performance liquid chromatography, HPLC)操作方便, 适用范围广, 已经广泛应用到蛋白质分析中^[35]。

蛋白质的鉴定技术主要有质谱鉴定技术和同位素相对和绝对定量标记技术(iTRAQ)。质谱技术原理是通过检测离子间质荷比(m/z)来确定离子化样品分子的质量, 优点是特异性高、检测快、灵敏度高, 缺点是无法区分赖氨酸、谷氨酰胺、异亮氨酸及某些固有序列的肽^[36,37]。iTRAQ 是一种多肽体外标记技术, 其原理是将裂解的肽段用 iTRAQ 试剂进行差异标记后同时比较 4 种或 8 种不同的样品。其优点在于: 可定性分析、分离能力强、覆盖范围广、灵敏度高、分析时间快、自动化程度高。iTRAQ 技术可以发现更多的蛋白数量和种类, 结合使用 2-DE 技术则可以得到更优的实验结果^[38]。除上述技术外, 目前还开发了其他蛋白质鉴定技术, 如蛋白质芯片技术、表面增强激光解析电离飞行时间-质谱(SELDT-TOF-MS)、同位素亲和标签(isotope coded affinity, iCAT)技术和无标记的质谱定量方法(label-free)等。

蛋白质组学研究技术过程的最后一部分是利用生物信息学对数据进行处理和分析, 这也是十分重要的部分。蛋白质数据库按不同的功能主要分为序列数据库、结构数据库和功能数据库。目前蛋白质组学研究中最常用的序列数据库有 SWISS-PROT、PIR、POB、NCBI、CATH、MIPS、PRINTS、Pfam、SMART 等。其中对数据录入最为严格的是 SWISS-PROT, 信息包含最全面的是 NCBI, PIR 包含自然界中所有序列已知的野生型蛋白质信息。通常情况下是采用几个数据库联合搜索对蛋白质序列进行搜寻比较, 然后分析和预测相应蛋白质的功能。

4.3 蛋白质组学在植物学方面及加工环节中的研究进展

蛋白质组学已经应用于生命科学各个领域, 应用范围也不断扩展, 虽然是一门新兴的学科, 但发展却是如火如荼, 在植物学中发展初期主要应用于水稻^[39-43]和拟南芥^[44-46], 随后不仅将应用扩展到农作物其他方面而且在食品加工环节的应用也卓有成效。

应用蛋白质组学可以很好地研究不同品种和不同阶段植物发育、逆境胁迫对植物生长的影响, 还可以用来研究植物亚细胞结构中蛋白质的翻译、修饰及后加工从而明

确细胞的功能。Konozy 等^[47]分析比较 3 种成熟番茄果实的蛋白质组,有 25 种细胞壁蛋白被鉴定出来,它们分别参与了多糖、氧化还原等代谢,为研究果实的成熟、衰老提供了重要信息。Khatoon 等^[48]利用差异蛋白质组学方法研究了低氧和水胁迫条件下大豆幼苗的生长情况机制,共鉴定出 27 种差异蛋白,这些蛋白质参与了物质代谢和能量代谢。Kruft 等^[49]的试验在拟南芥线粒体总蛋白质中鉴定出 52 个蛋白点,这些蛋白质参与多种生化过程,如线粒体组装、蛋白质合成、呼吸作用和糖代谢等。

由于加工过程中对食品中的一些营养成分、蛋白组织、蛋白酶等产生影响,因此,可应用蛋白质组学研究不同处理方式和不同加工过程对食品品质及营养的影响。Kjaersgard 等^[50]分析了不同冷藏温度和时间下鳕鱼肌肉蛋白的变化,发现冷藏温度对鳕鱼肉中相关蛋白质影响很小,但储藏时间的不同使鳕鱼肉中磷酸丙糖异构酶、醛缩酶 A、 $2-\alpha$ 肌动蛋白片段等蛋白质的含量差异很大,储藏时间越长鱼肉品质越差。除此外还应用于肉、乳、蜂蜜、人参、燕窝等食品中用以鉴别产品真伪。在食品加工环节的应用不多,可以应用蛋白质组学研究加工环节中营养物质的变化、酶的变化和活性成分的变化,这必将是一片开阔的新天地。

5 蛋白组学在果实生长、发育、成熟及干制过程中多糖积累的创新应用

近年来蛋白质组学在研究果蔬生长、成熟及衰老方面的应用颇多,Prinsi 等^[51]运用差异蛋白脂组学研究 2 个不同品种的桃在不同生长发育时期的蛋白质组,共鉴定出 53 个蛋白点在生长发育过程中有明显的变化,这些蛋白质既参与了生物体基础代谢又参与了次级代谢,为研究果蔬不同品种、不同成熟时期代谢产物的积累提供重要依据。Ambrosiocd 等^[52]研究了杏果实 3 个不同成熟阶段的差异蛋白,运用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-PMF)和相色谱-电喷雾串联质谱法(LC-ESI-LIT-MS/MS)对其进行鉴定,显示大部分蛋白质在糖类和能量代谢、次级代谢、乙烯的生物合成等过程中作为相关的酶发挥作用。Pan 等^[53]提取突变体“Hong Anliu”甜橙及其野生型的 4 个不同成熟阶段中的蛋白质,通过 2-DE 结合 MALDI-TOF-TOF MS 鉴定,结果显示有 74 种差异表达的蛋白质,多数也作为参与了胁迫响应、糖/能量代谢和次级代谢。Giribaldi 等^[54]研究了内比奥罗葡萄(Nebbiolo)果实不同生长阶段蛋白质组,鉴定结果显示,果实发育的整个过程中蛋白质的变化大多与新陈代谢密切相关。

以上试验都为运用蛋白质组学研究枸杞不同成熟及干制过程多糖积累变化提供了重要理论依据和支撑。可见想要探索植物生长发育及加工环节中多糖积累变化的机制

可以通过研究蛋白质的变化进而研究植物生长及加工过程的新陈代谢。枸杞在生长发育过程中不断进行基础代谢、次级代谢,其中多糖是次级代谢产物,其积累量与糖代谢有关的酶密切相关,干制过程中多糖的变化也与酶的变化息息相关,因此,可以利用近年来新兴的蛋白质组学技术更全面、动态地研究枸杞不同生长阶段及后续加工过程中相关蛋白质的变化进而研究多糖的积累变化。

6 展 望

目前对于枸杞果实生长、发育、成熟及干制过程中多糖积累的动态变化有些研究,但都是从宏观方面运用一些常规技术来研究的,不能从本质上说明这些变化的机制。蛋白质组学技术是一种先进的科学技术,它从细胞水平和分子水平更加深入、全面、动态地研究生命科学,为研究枸杞果实生长、发育、成熟及干制过程中每一阶段多糖积累的变化提供新思路,这不仅能使研究者更加全面、动态研究多糖的积累变化,而且可以从本质上说明多糖积累变化的机制。应用蛋白质组学研究枸杞多糖是一个新的领域,面临着重重困难,需要大量的实验摸索,但相信在不久的将来定会有突破性的发展。

参考文献

- [1] 刘铜华, 吕仁和. 中医药防治糖尿病及其并发症的作用途径[J]. 北京中医药大学学报, 2000, 23(3): 69-71.
Liu TH, Lv RH. The role of traditional Chinese medicine in preventing and treating diabetes and its complications [J]. J Beijing Univ TCM, 2000, 23(3): 69-71.
- [2] 张静丽, 王宏勋, 张雯, 等. 灵芝、枸杞多糖复合抗氧化作用[J]. 食品与机械, 2004, 2(6): 11-12.
Zhang JL, Wang HX, Zhang W, et al. Anti-oxidation activity of ganoderma lucidum and *Lycium chinensis* polysaccharides compounds [J]. Food Mach, 2004, 2(6): 11-12.
- [3] 王建华. 枸杞多糖的结构与保健功能评价[D]. 武汉: 华中农业大学, 2001.
Wang JH. Structure and health care functions of polysaccharides fructus lycii [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2001.
- [4] 张云霞, 王萍, 刘敦华. 枸杞活性成分的研究进展[J]. 农业科学研究, 2008, 29(2): 79-83.
Zhang YX, Wang P, Liu DH. Research progress of active constituents of *Lycium barbarum* [J]. J Agric Sci, 2008, 29(2): 79-83.
- [5] Chen ZS. Polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum* L. is a novel stimulus of dendritic cell immunogenicity [J]. J Immunogenicity, 2009, 182: 3503-3509.
- [6] Yahara, Shigegama-c. Cyclic pep-tides, acyclic diterpene glycosides and other compounds from *Lycium* [J]. Chin Mill Chem Pharm Bull Tokyo, 1993, 41(4): 703-707.
- [7] Toyoda-onoy, Maedam, Nakaom, et al. 2-O-(beta-D-glucopyranosyl)-ascorbic acid, a novel ascorbic acid analogue isolated from *Lycium* fruit [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(7): 2092-2096.
- [8] 李红英, 吴东. 宁夏枸杞叶茶中微量元素含量与其它茶叶的比较[J].

- 微量元素与健康研究, 2008, 25(4): 34–35.
- Li HY, Wu D. Compared to trace elements content in wolfberry leaf tea of Ningxia and in other teas [J]. Trace Element Health Res, 2008, 25(4): 34–35.
- [9] Mi XS, Feng Q, Lo AC, *et al.* Protection of retinal ganglion cells and retinal vasculature by *Lycium barbarum* polysaccharides in a mouse model of acute ocular hypertension [J]. PLoS One, 2012, 7(10): e45469.
- [10] Gan L. A polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum* upregulates cytokine expression in human peripheral blood mononuclear cells [J]. Eur J Pharmacol, 2003, 471(3): 217–222.
- [11] Duan H. Far infrared-assisted extraction followed by capillary electrophoresis for the determination of bioactive constituents in the leaves of *Lycium barbarum* Linn [J]. J Chromatogr A, 2010, 1217(27): 4511–4516.
- [12] Peng Y, Ma C, Ya WL, *et al.* Quantification of zeaxanthin dipalmitate and total carotenoids in *Lycium* fruits [J]. Plant Food Human Nutr, 2005, 60: 161–164.
- [13] 蔡新, 惠伯棣, 蒋继志, 等. 一种测定枸杞鲜果中总类胡萝卜素含量的方法[J]. 中国食品添加剂, 2013, 12(2): 250–256.
- Cai J, Hui BD, Jiang JZ, *et al.* A method to determine total carotenoid amount from fresh wolfberry fruit [J]. Chin Food Addit, 2013, 12(2): 250–256.
- [14] 田庚元, 王晨, 冯宇澄. 枸杞子糖蛋白的分离纯化、物化性质及糖肽键特征[J]. 生物化学与生物物理学报, 1995, 27(2): 201–206.
- Tian GY, Wang C, Feng YC. Purification, medlar glycoprotein properties and glucopeptide bond characteristics [J]. Acta Biochim Biophys Sin, 1995, 27(2): 201–206.
- [15] 李茜, 刘松涛, 秦萍. 枸杞生长发育习性及其规律的调查研究[J]. 北方园艺, 2014, 15: 168–169.
- Li Q, Liu ST, Qing P. Fruit quality comparison of *Lycium barbarum* L. from different producing area [J]. North Hortic, 2014, 15: 168–169.
- [16] 郑国琦, 罗霄, 郑紫燕, 等. 宁夏枸杞果实糖积累和蔗糖代谢相关酶活性的关系[J]. 西北植物学报, 2008, 28(6): 1172–1178.
- Zheng GQ, Luo X, Zheng ZY, *et al.* Relationship between sugar accumulation and its metabolizing enzymes in *Lycium barbarum* L. [J]. J Plant Sci Technol Northwest China, 2008, 28(6): 1172–1178.
- [17] 张宁, 冯美, 宋长冰. 枸杞果实发育模式及营养物质含量变化研究[J]. 干旱地区农业研究, 2006, 24(3): 104–107.
- Zhang N, Feng M, Song CB. Study on development patterns of Chinese wolfberry fruit and changes of nutrient contents [J]. Agric Res Arid Areas, 2006, 24(3): 104–107.
- [18] 王彦波. 不同激素处理对嫁接西瓜果实糖分积累的影响[D]. 石河子: 石河子大学, 2007.
- Wang YB. Effects of different hormone treatment on sugar accumulation in fruit of grafted watermelon [D]. Shihezi: Shihezi University, 2007.
- [19] 杨晓婉. 宁夏枸杞果实内源激素含量变化及其与果实发育关系的研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2013.
- Yang XW. Study on the Changes of endogenous hormone contents and fruit development and their relationship in *Lycium barbarum* L [D]. Yinchuan: Ningxia University, 2013.
- [20] Zhao ZZ, Zhang SL, Chen JW, *et al.* The physiological mechanism on the difference of sugar accumulation in citrus varieties [J]. Sci Agric Sin, 2002, 35(5): 541–545.
- [21] 张晓煜, 刘静, 袁海燕, 等. 不同地域环境对枸杞蛋白质和药用氨基酸含量的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2004, 22(3): 100–104.
- Zhang XY, Liu J, Yuan HY, *et al.* Effects of different geographical conditions on the content of protein and amino acids in Chinese wolfberry [J]. Agric Res Arid Areas, 2004, 22(3): 100–104.
- [22] 韩宏伟, 王建友, 李勇, 等. 枸杞不同成熟期鲜果营养成分与土壤肥力因子间的关系[J]. 经济林研究, 2015, 01: 17–24.
- Han HW, Wang JY, Li Y, *et al.* Relationship between soil fertility factors and nutrients in *Lycium barbarum* fruits at different mature periods [J]. Nonwood Forest Res, 2015, 01: 17–24.
- [23] 温美佳. 基于气候特征的不同产地枸杞品质及生态适宜性区划研究[D]. 太原: 山西大学, 2013.
- Wen MJ. Study on the quality and ecological suitability of *Lycium Barbarum* from different producing areas based on the climate characteristics [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2013.
- [24] 贾夏, 赵娜. 不同干制方式对香菇多糖和还原糖含量的影响[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(2): 396–397.
- Jia X, Zhao N. Effects of different drying methods on the content of polysaccharide and reducing sugar in the mushroom [J]. Jiangsu Agric Sci, 2011, 39(2): 396–397.
- [25] 郭亚娟. 不同干制方式对荔枝果干品质及其粗多糖理化特性的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
- Guo YJ. Effect of different drying methods on the quality of dried fruit and litchi polysaccharide physicochemical properties [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013.
- [26] 如克亚·加帕尔. 枸杞烘干技术及其冲泡液抗氧化和植物化学成分的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- RuKY-JPE. Research on the drying technology of the Chinese wolfberry, antioxidant capacity and phytochemicals of wolfberry brewed liquid [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014.
- [27] Wasinger VC, Cordwell SJ, Cerpa-Poljak A, *et al.* Progress with geneprodect mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium* [J]. Electrophoresis, 1995, 16: 1090–1094.
- [28] 王英超, 党源, 李晓艳, 等. 蛋白质组学及其技术发展[J]. 生物技术通讯, 2010, (001): 139–144.
- Wang YC, Dang Y, Li XY, *et al.* Proteomics and the development of proteomics techniques [J]. Lett Biotechnol, 2010, (001): 139–144.
- [29] Aggarwal K, Lee KH. Functional genomics and proteomics as a foundation for systems biology [J]. Brief Funct Genomic Proteomic, 2003, 2: 175–184.
- [30] Patterson SD, Aebersold RH. Proteomics: the first decade and beyond [J]. Nat Genet, 2003, 33(Suppl): 311–323.
- [31] Schmid MB. Structural proteomics: the potential of high-throughput structure determination [J]. Trends Microbiol, 2002, 10: 27–31.
- [32] 尹稳, 伏旭, 李平. 蛋白质组学的应用研究进展[J]. 生物技术通报, 2014, (1): 032–038.
- Yin W, Fu X, Li P. Application research progress of proteomics [J]. Lett Biotechnol, 2014, (1): 032–038.
- [33] O'Farrell RH. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins [J]. J Biol Chem, 1975, 250: 4007–4021.
- [34] Marouga R, David S, Hawkins E. The development of the DIGE system: 2D fluorescence difference gel analysis technology [J]. Anal Bioanal Chem, 2005, 382: 669–678.

- [35] Fields S. Proteomics in genomel and Proteomics [J]. Science, 2001, 291: 1221–1224.
- [36] Noble WS, Maccoss MJ. Computational and statistical analysis of protein mass spectrometry data [J]. PLoS Comput Biol, 2012, 8: e1002296.
- [37] Sidoli S, Cheng L, Jens ON. Proteomics in chromatin biology and epigenetics: elucidation of post-translational modifications of histone proteins by mass spectrometry [J]. J Proteomics, 2012, 75: 3419–3433.
- [38] Evans C, Noirel J, Ow SY, *et al.* An insight into iTRAQ: where do we stand now? [J] Anal Bioanal Chem, 2012, 404: 1011–1027.
- [39] Cui SX, Huang F, Wang J, *et al.* A proteomic analysis of cold stress responses in rice seedlings [J]. Proteomics, 2005, 5: 3162–3172.
- [40] Zhang YP, Jin F, Chai XQ, *et al.* 2-DE method and proteomic map analysis in rice leaves under iron deficient stress [J]. China J Bio-inform, 2004, 2(3): 6–10.
- [41] Trisiriro JA, Jeyachok N, Chen ST. Proteomics characterization of different bran proteins between aromatic and nonaromatic rice (*Oryza sativa* L. ssp. indica) [J]. Proteomics, 2004, 4: 2047–2057.
- [42] Hajduch M, Rakwal R, Garawal GK, *et al.* High-resolution two-dimensional electrophoresis separation of proteins from metal-stressed rice (*Oryza sativa* L.) leaves: drastic reductions/fragmentation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and induction of stress-related proteins [J]. Electrophoresis, 2001, 22(13): 2824–2831.
- [43] Nazrul I, Lonsdale M, Upadhyaya NM, *et al.* Protein extraction from mature rice leave for two-dimensional gel electrophoresis and its application in proteome analysis [J]. Proteomics, 2004, 4: 1903–1908.
- [44] Kamo M, Kawakami T, Miyatake N, *et al.* Separation and characterization of *Arabidopsis thaliana* proteins by two-dimensional gel electrophoresis [J]. Electrophoresis, 1995, 16: 423–430.
- [45] Gallardo K, Job C, Groot SPC, *et al.* Proteomic analysis of *Arabidopsis* seed germination and priming [J]. Plant Physiol, 2001, 126: 835–848.
- [46] Santoni V, Bellini C, Caboche M. Use of two-dimensional protein-pattern analysis for the characterization of *arabidopsis thaliana* mutants [J]. Planta, 1994, 192: 557–566.
- [47] Konozy EHE, Rogniaux H, Causse M, *et al.* Proteomic analysis of tomato (*Solanum lycopersicum*) secretome [J]. J Plant Res, 2013, 126(2): 251–266.
- [48] Khatoon A, Rehman S, Oh MW, *et al.* Analysis of response mechanism in soybean under low oxygen and flooding stresses using gel-base proteomics technique [J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(12): 10581–10594.
- [49] Kruff V, Eubel H, Jansch L, *et al.* Proteomic approach to identify novel mitochondrial proteins in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 2001, 127: 1694–1710.
- [50] Kjaersgard IV, Norrelvkke MR, Jessen F. Changes in cod muscle proteins during frozen storage revealed by proteome analysis and multivariate data analysis [J]. Proteomics, 2006, (5): 1606–1618.
- [51] Prinsi B, Negri AS, Fedelic, *et al.* Peach fruit ripening: a proteomic comparative analysis of the mesocarp of two cultivars with different flesh firmness at two ripening stages [J]. Phytochem, 2011, 72(10): 1251–1262.
- [52] Ambrosiocd, Arenas, Roccom, *et al.* Proteomic analysis of apricot fruit during ripening [J]. J Proteomics, 2013, 78(14): 39–57.
- [53] Pan ZY, Liu Q, Yun Z, *et al.* Comparative proteomics of a lycopene-accumulating mutant reveals the important role of oxidative stress on carotenogenesis in sweet orange (*Citrus sinensis* L. osbeck) [J]. Proteomics, 2009, 9(24): 5455–5470.
- [54] Giribaldi M, Perugini L, Sauvage F X, *et al.* Analysis of protein changes during grape berry ripening by 2-DE and MALDI-TOF [J]. Proteomics, 2007, 7: 3154–3170.

(责任编辑: 李振飞)

作者简介



房想, 硕士研究生, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: 652229506@qq.com



刘敦华, 博士, 教授, 主要研究方向为食品科学及食品质量与安全。
E-mail: dunhualiu@126.com