

# 蛋白质组学技术在藻类研究中的应用现状与展望

孙祖莉<sup>1</sup>, 王晶<sup>1,2</sup>, 杨贤庆<sup>2,3</sup>, 魏涯<sup>2,3</sup>, 李春生<sup>2,3</sup>, 相悦<sup>1,2</sup>, 赵永强<sup>2,3\*</sup>

(1. 烟台大学生命科学学院, 烟台 264005;

2. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业农村部水产品加工重点实验室, 广州 510300;

3. 海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 大连工业大学, 大连 116034)

**摘要:** 藻类具有复杂多样的进化历史和生物学特征, 不仅在生态系统中扮演着重要角色, 而且具有许多独特的基因和生物过程。随着后基因组时代的到来, 组学技术受到各界学者的高度重视, 近年来在藻类研究中也得到了应用。高通量技术在藻类研究领域中的应用, 也大大促进了藻类蛋白质组学的发展。本文综述了蛋白质组学技术在藻类品质差异鉴定、养殖胁迫作用、生理机制方面的研究进展, 并对其发展方向和应用前景进行了展望, 为从事藻类组学的研究者提供参考。

**关键词:** 藻类; 蛋白质组学; 多组学

## Application of proteomics technology in algae research

SUN Zu-Li<sup>1</sup>, WANG Jing<sup>1,2</sup>, YANG Xian-Qing<sup>2,3</sup>, WEI Ya<sup>2,3</sup>, LI Chun-Sheng<sup>2,3</sup>,  
XIANG Yue<sup>1,2</sup>, ZHAO Yong-Qiang<sup>2,3\*</sup>

(1. College of Life Science, Yantai University, Yantai 264005, China;

2. Key Laboratory of Aquatic Product Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China; 3. Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

**ABSTRACT:** Algae has complex and diverse evolutionary history and biological characteristics, not only plays an important role in the ecosystem, but also has many unique genetic and biological processes. With the advent of the post-genome era, the omics technology has been highly valued by scholars from all walks of life, and has also been applied in marine algae research in recent years. The application of high-throughput technology in the field of algae research has greatly promoted the development of algal proteomics. This article reviewed the research progress of proteomics technology in the identification of algae quality differences, the effects of aquaculture stress, and physiological mechanisms, and prospected for its development direction and application prospects, so as to provide reference for researchers engaged in algae omics.

**KEY WORDS:** algae; proteomics; multi-omics

**基金项目:** 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-50)、农业部财政重大专项(NFZX2013)、广东省促进经济发展专项资金(现代渔业发展用途)项目(粤农 2019B14)、广州市珠江科技新星专项(201710010167)、“扬帆计划”引进创新创业团队专项(2015YT02H109)

**Fund:** Supported by the China Agriculture Research System (CARS-50), Major Financial Project of Ministry of Agriculture (NFZX2013), Special Fund Project for Promoting Economic Development of Guangdong (Yuenong2019B14), Pearl River S&T Nova Program of Guangzhou (201710010167) and Yangfan Innovative and Entrepreneurial Research Team Project (2015YT02H109)

\***通讯作者:** 赵永强, 博士, 副研究员, 主要研究方向为水产品加工与质量安全。E-mail: zhaoyq@scsfri.ac.cn

\***Corresponding author:** ZHAO Yong-Qiang, Ph.D, Associate Professor, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, No.231, Xingangxi Road, Guangzhou 510300, China. E-mail: zhaoyq@scsfri.ac.cn

## 1 引言

作为中国、日本、韩国及东南亚国家的主要传统植物源海洋食品,以紫菜、麒麟菜、龙须菜、海带等海洋藻类为原料开发的食品形式多样,市场规模逐年增大。近年来海藻的育苗栽培、养殖过程与食品开发过程中品质控制技术逐渐受到重视。我国海藻资源丰富,海水养殖面积广,据统计,2018 年我国藻类养殖产量高达 235.08 万吨,其中海洋藻类养殖总产量为 234.39 万吨,具有巨大的碳汇潜力和经济开发价值<sup>[1]</sup>。迄今,虽然部分海藻已实现工业化培育、养殖和采收,但海洋藻类仍旧作为初级产品进入销售市场,高新技术利用不足,精深加工产品较少。海洋藻类是一个高度多样的生物群体,是地球上最古老的生命类群之一,不仅在生态系统中占据重要地位,而且在进化关系上跨越原核和真核两界,拥有特殊的进化地位,因此其系统进化研究一直是生物学家关注的热点。由于进化历史多样,不同的藻类在代谢途径、细胞进程、发育调控以及生活史等方面也都有其独特性。藻类分子水平的研究将有助于更快、更准确地了解各种藻类的独特之处,获得丰富的基因信息,以便更好地加以利用<sup>[2]</sup>。近年来,高通量测序技术在藻类基因组和转录组研究等方面的应用已取得较大突破,这对藻类基因资源的研究和应用具有重要意义<sup>[2,3]</sup>。

蛋白质组学技术在藻类研究中已广泛应用于品质差异鉴定、养殖胁迫、生理机制研究等方面。已逐渐由基于凝胶的蛋白质组学向基于高通量技术的非凝胶蛋白质组学技术应用转变,大大促进了藻类蛋白质组学的发展。目前,高通量蛋白质测序的进步已经允许常规产生数千种蛋白质的数据集。Zhang 等<sup>[4]</sup>采用基于等重同位素标记相对和绝对定量(isobaric tags for relative and absolute quantitation, iTRAQ)的蛋白质组学技术已鉴定出了甲藻的蛋白质数量有 3488 种,相比于基于凝胶的蛋白质组学有了质的提高。但高通量蛋白质组学相比于基于凝胶的蛋白质组学需要更高的成本,是应用受限的主要原因。本文综述了蛋白质组学概况与分类、藻类蛋白质组学样品制备方法等,并在此基础上对蛋白质组学技术在藻类品质评价、养殖环境胁迫与生理机制等方面的研究进展进行了分类论述,并对其发展趋势及面临的挑战进行展望,旨在为藻类蛋白质组学研究提供参考。

## 2 蛋白质组学

### 2.1 蛋白质组学概况

随着人类基因组计划的实施和推进,生命科学研究已进入了后基因组时代。生命科学的主要研究对象已经从

基因组转变为蛋白质组。尽管现在已有多个物种的基因组被测序,但在这些基因组中通常有一半以上基因的功能是未知的。而蛋白质是生理功能的执行者,是生命现象的直接体现者,对蛋白质结构和功能的研究将更有助于我们直接阐明生命在生理或病理条件下的变化机制<sup>[5]</sup>。蛋白质本身的存在形式和活动规律,如翻译后修饰<sup>[6]</sup>、蛋白质间相互作用以及蛋白质构象等问题<sup>[7]</sup>,仍需要我们利用蛋白质组研究技术直接对蛋白质进行研究来解决。虽然蛋白质的可变性和多样性等特殊性质导致了蛋白质研究技术远比基于核酸水平的研究技术要复杂和困难得多,但正是这些特性参与并影响着整个生命过程。因此在 20 世纪 90 年代中期,国际上产生了一门新兴学科蛋白质组学(proteomics)<sup>[8,9]</sup>,它是以细胞内全部蛋白质的存在及其活动方式为研究对象。蛋白质组研究的开展不仅是生命科学研究进入后基因组时代的里程碑,也是后基因组时代生命科学研究的核心内容之一。

蛋白质组学领域是基因组学和转录组学的补充,因为它提供了有关基因表达和调控的额外信息<sup>[10]</sup>。蛋白质组学包括蛋白质表达水平的测定和蛋白质相互作用的研究。此外,蛋白质组学研究旨在确定蛋白质的翻译后修饰,以及多蛋白复合物中蛋白质的组织及其在组织中的定位。一般来说,蛋白质水平的测量可能比转录物水平的测量提供更准确的细胞催化能力表示,因为蛋白质与观察到的细胞表型比 RNA 水平更直接相关。随着分析仪器和生物信息学的发展和改进,蛋白质组学的研究日益成熟,它既能独立于基因组研究又能与基因组研究相互完善和补充,而其表达图谱比基因组表达图谱更能真实地反映生物体的功能机制<sup>[11]</sup>。

### 2.2 蛋白质组学分类

根据蛋白质分离、质谱分析方式的不同,蛋白质组学可分为:自下而上蛋白质组学(bottom-up proteomics)和自上而下蛋白质组学(top-down proteomics)2 种<sup>[12,13]</sup>。前者是经典的蛋白质组学研究方法,它的主要步骤包括:分离出感兴趣的蛋白,使用蛋白酶(如胰蛋白酶)进行消化,进行质谱分析;而自上而下的蛋白质组学亦称“鸟枪法”(shotgun)蛋白质组学,其基本过程是蛋白质混合物经过简单分离或不经过分离就被酶解为肽段混合物,肽段混合物经液相色谱分离和离子化后,经串联质谱进行分析。该方法具有高灵敏度和重现性,可在短时间内获得大量鉴定结果,因此在蛋白质组研究中被广泛采用,但该方法存在蛋白质亚型信息易丢失、难以识别和表征蛋白质等缺点,尤其是在缺乏全基因组序列信息的一些物种的蛋白质的鉴定与功能研究应用具有一定困难,可通过结合转录组学技术开展多组学联用技术开展相关研究。

蛋白质组学最初的研究是通过双向电泳

(two-dimensional electrophoresis, 2-DE)和氨基酸序列测定(Edman 化学降解法)实现<sup>[14,15]</sup>, 但因其具有高通量和敏感度低、重复性差的缺点, 近年来该项技术的应用已不多见。

与传统的凝胶电泳及蛋白质免疫印迹技术针对蛋白质的较低通量的分析一种或几种蛋白质不同, 在藻类蛋白质组学研究过程中采用的 2-DE 技术可在单次分析中获取数百种蛋白质信息, 但 2-DE 技术存在分辨率低、重现性不高及步骤繁琐等缺点, 尤其是待研究对象中低丰度的蛋白质难以在 2-DE 上进行有效分离或鉴定。此外, 在制备 2-DE 样品时常会遇到化学污染物导致蛋白质分离与鉴定准确率低的问题<sup>[16,17]</sup>。虽然 2-DE 技术有敏感度低、重复性差等缺点的限制, 但由于基于凝胶技术的蛋白质鉴定具有更为简单和精确的优点, 在早期的各种藻类蛋白质组学研究中具有较为广泛的应用。最近关于海洋鞭毛藻类的蛋白质组学研究表明, 在使用质谱技术鉴定之前, 该领域的大多数工作确实使用双向凝胶电泳来分离和可视化差异表达的蛋白质<sup>[18,19]</sup>。

随着质谱技术的快速发展, 通过使用从头测序策略解决了传统凝胶电泳的部分限制, 其中使用手动或自动从头肽序列分析获得部分或完整氨基酸序列<sup>[20]</sup>。最近, 各种无凝胶定量蛋白质组学技术的快速发展, 例如同位素标记相对和绝对定量(isobaric tags for relative and absolute quantification, iTRAQ)在藻类蛋白质组学中得到了应用, 该方法直接将蛋白质消化成肽<sup>[21]</sup>, 然后通过液相色谱分离肽, 具有大的动态蛋白质分离范围, 并已广泛应用于各种生物体。iTRAQ 目前可使 8 个样本同时相对量化, 大大降低了实验过程中所引入的技术误差<sup>[22]</sup>。iTRAQ 技术在生命科学领域中的应用价值已凸显, 必将在未来的蛋白质组学研究中得到更加广泛的应用。

总的来说, 随着基因组和蛋白质组学信息的增加, 大量蛋白质将有助于阐明藻类在海洋生态系统中的重要作用以及它们与其他生物的相互作用, 从而更好地了解生物过程和代谢途径<sup>[23]</sup>。蛋白质组学将越来越多地应用于藻类研究, 并在分子水平上对我们对藻类的认识做出重大贡献。关于藻类蛋白质组学研究将在基于质谱技术的蛋白质组学在质谱仪器的更新与技术进步的驱动下逐渐向高通量、高分辨率的方向发展<sup>[24]</sup>。

### 3 藻类组学样品制备

提取蛋白质是蛋白质组学研究的第一步。鉴于海洋藻类存在多种非蛋白成分, 如细胞壁及多糖、脂质和酚类化合物, 使蛋白质的提取难度增大。在藻类蛋白质提取时通常会通过优化细胞破碎方式、新型辅助提取技术及蛋白质沉淀分离等提取条件, 达到获取适用于后续鉴定分析的目的<sup>[25]</sup>。

由于藻类具有较为坚韧的细胞壁, 且可能含有大量的酚类化合物、碳水化合物以及色素等物质, 会干扰蛋白质组学分析, 因此藻类蛋白质提取时通常靠先解决细胞壁破裂问题, 常用的破壁方法有: 碱处理法、机械破碎法、超声波辅助法及液氮研磨法等<sup>[26,27]</sup>。

在微藻研究方面, Safi 等<sup>[28]</sup>比较了手工研磨, 超声处理, 碱处理, 和高压处理 4 种细胞破碎技术, 对比了具有脆弱和刚性细胞壁的微藻间释放的蛋白质浓度的差异, 结果表明提取蛋白质的浓度不仅受微藻细胞壁的机械刚性的影响, 还取决于藻体本身细胞壁的结构与化学特性, 与其他 3 种方法相比, 高压细胞破碎是对微藻细胞壁最有效的破碎方式。Safi 等<sup>[29]</sup>经化学水解和超声处理小球藻(*Chlorella vulgaris*)后, 细胞完整, 但经球磨和高压均质处理后, 大部分细胞失去球状形态。通过对比多种细胞破碎技术对小球藻细胞壁的破碎效果, 获得最好的细胞破碎方法是珠磨法, 在珠磨后获得最高浓度的蛋白质。Mcmillan 等<sup>[30]</sup>通过直接显微镜技术, 鉴定了微波、热解、激光诱导裂解、固体和液体剪切等方法对新鲜微藻样品细胞破碎的效果, 结果表明最有效的破坏方法是高功率激光处理, 但仅略微好于微波。Ursu 等<sup>[31]</sup>运用了细胞裂解、超声波、酶或化学处理、热或渗透冲击(反复冷冻/解冻)等技术研究了小球藻(*Chlorella vulgaris*)物种, 解决了刚性细胞壁导致的细胞内成分可用性较低的难题。Gao 等<sup>[32]</sup>采用直接裂解缓冲法、三氯乙酸-丙酮法、苯酚法和苯酚/三氯乙酸-丙酮法 4 种蛋白质提取方法用于绿藻小球藻(*Chlorella vulgaris*)进行蛋白质组分析。结果表明, 在提取的蛋白质应用于鸟枪蛋白质组学研究方面, 苯酚/三氯乙酸-丙酮法的提取效果优于其他 3 种方法。

在红藻研究方面, 姚兴存等<sup>[33]</sup>用超声波辅助水提法提取条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)蛋白质, 用响应面法优化了蛋白质提取工艺, 结果表明: 在提取工艺条件为超声时间 10 min、温度 50 °C、料液比 10:1(mg/mL)时, 实际提取率为 37.6%, 该研究结果表明超声波辅助提取法可以使紫菜蛋白提取率从 30%提高到近 40%, 但还有一大部分蛋白不能提取, 可能存在盐离子等杂质干扰的问题。王会芳等<sup>[34]</sup>以龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)为研究对象, 比较了尿素/硫脲法、改良丙酮沉淀法及 Trizol 法 3 种方法对其蛋白质提取效果的影响, 结果表明采用 Trizol 法辅以超声破碎提取龙须菜总蛋白效果优于尿素/硫脲法和改良丙酮沉淀法, 并建立了相应的双向电泳体系, 为龙须菜属和江蓠属其他海藻的蛋白质双向电泳分析提供参考。赵宇鹏等提出采用酚提取法能更好地提取条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)中的蛋白质, 并能除去样品的盐离子及其他干扰杂质, 在该提取方法下可获得更高纯度的蛋白样品, 为提高其他大型海藻的总可溶性蛋白提取提供参考<sup>[35]</sup>。随着植

物蛋白分离技术的不断发展, Pojić 等<sup>[36]</sup>综述了亚临界水萃取(subcritical water extraction)静电分离、反胶束萃取技术(reverse micelles extraction)、双水相体系萃取技术(aqueous two-phase systems extraction)及酶、微波、超声、脉冲电能和高压等辅助萃取技术在植物源加工副产物中蛋白质分离的应用现状, 为植物源食品实现可持续的环境友好型生产提供参考。

综上所述, 大型藻类蛋白质提取技术的核心是破碎细胞壁从而提高得率。一般的海洋藻类目前采用较多的是超声波辅助提取法提取蛋白质, 对于含有刚性细胞壁的海洋藻类最好的细胞破碎方法是珠磨, 并配合苯酚法提取蛋白质。

## 4 藻类蛋白质组学技术研究进展

### 4.1 蛋白质组学技术在海洋藻类品质差异鉴定方面的应用

Mohd 等<sup>[37]</sup>通过十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)研究了产自马来西亚的 15 种海藻, 在绿藻、红藻及褐藻 3 种不同海藻间首次获取高质量蛋白质提取方法—苯酚萃取法, 为进一步进行藻类蛋白鉴定、功能解析的蛋白质组学分析提供了基础。Wang 等<sup>[38]</sup>采用了基于二维电泳的比较蛋白质组学阐明参与海洋甲藻亚历山大藻(*Alexandrium catenella*)的毒素生物过程的 53 种蛋白质。其中, 在产生麻痹性贝类毒素(paralytic shellfish toxins, PST)的蓝细菌中具有已知功能的 9 种蛋白质形成相互作用网络。该研究首次分析了不同毒素生物合成阶段 *A. catenella* 的蛋白质组学, 为甲藻中毒毒素生物合成提供了新的视角。Chan 等<sup>[39]</sup>采用免疫印迹结合二维电泳的方法, 采用优化后的特异性抗血清分别在亚历山大藻属 *A. affine* 和 *A. tamarense* 中鉴定出了 187 和 110 个细胞表面抗原。这种免疫蛋白质组学方法在浮游植物细胞表面蛋白质(cell surface proteins, CSPs)方面研究的应用逐渐受到重视, 并可更深入地阐明海洋环境中有害藻类营养状况、藻华动态与毒素产生的关系。于朋飞<sup>[40]</sup>采用了基于二维电泳的蛋白质组学分别从藻的形态结构、生理生化变化等角度研究了纳米银(AgNPs)和银离子(Ag<sup>+</sup>)对念珠藻(*Nostocsp.*)的急性和亚急性毒性效应, 实验结果表明在 AgNPs 及 Ag<sup>+</sup>作用下, 除相似表达的蛋白质外, 通过二维电泳鉴定到了超过 200 个差异蛋白质。通过对差异蛋白质的分析, 该研究结果表明 AgNPs 和 Ag<sup>+</sup>对念珠藻细胞光合作用、固氮作用、蛋白合成的影响存在明显差异。

张书飞<sup>[41]</sup>采用基于质谱的定量蛋白质组学技术 iTRAQ 研究了在正常培养条件下有毒链状亚历山大藻

(*Alexandrium catenella*)的有毒野生株(ACHK. T)与无毒变异株(ACHK. NT)蛋白质组的差异表达, 共鉴定出 185 个差异表达蛋白, 其中在 ACHK.T 与 ACHK.NT 中具有显著高表达的蛋白质分别有 106 个与 79 个, 生物信息学分析结果表明 ACHK.T 中高表达的蛋白质主要参与碳水化合物代谢、氨基酸及嘌呤合成、蛋白质代谢等过程, 包括转录、翻译、翻译后修饰、降解等; 而 ACHK-NT 中高表达的蛋白质主要参与叶绿体、过氧化物酶体以及线粒体中的一些过程, 包括光合作用、光呼吸、脂肪酸合成、乙醛酸循环以及活性氧代谢等。这些生物学过程的差异表达表明 ACHK. T 及 ACHK-NT 在碳和能量利用策略上存在差异, 这可能与两者不同的产毒能力相关。该研究探讨了亚历山大藻麻痹性贝类毒素的合成机制和途径并确认参与毒素合成的蛋白质及相关的生物学过程。

### 4.2 蛋白质组学技术在海洋藻类养殖胁迫方面的应用

蛋白质组学技术在胁迫方面应用最广, 主要采用二维电泳的组学方法探究差异机制。Xu 等<sup>[42]</sup>采用了二维电泳方法研究坛紫菜(*Pyropia haitanensis*)叶片对干燥胁迫的响应机制, 结果以 5 种不同的失水率进行比较蛋白质组学分析, 在进行半小时补液条件下, 鉴定了 100 个差异表达的蛋白质点, 其中最大的蛋白质组与光合作用和能量代谢有关。通过整合光合生理性能和蛋白质组学分析, 发现 *P. haitanensis* 主要通过抑制光合作用和能量代谢来抵抗干燥胁迫。Zou 等<sup>[43]</sup>、Zhang 等<sup>[44]</sup>采用了二维电泳研究了海洋褐藻羊栖菜(*Sargassum fusiforme*)对铜、对镉胁迫的响应机制, 为进一步研究棕色藻类 *S. fusiforme* 中重金属胁迫响应的分子调控机制提供了必要的基础。Qian 等<sup>[45,46]</sup>采用了基于双向电泳的蛋白质组学研究了低温、淡水胁迫对羊栖菜生存的影响及其机制, 该研究有助于探讨藻类对非生物胁迫的耐受性, 提供必要的理论基础。Contreras 等<sup>[47]</sup>采用了基于二维电泳的蛋白质组学研究了褐藻对铜胁迫的响应机制, 鉴定出可能参与控制褐藻中铜介导的氧化应激的几种蛋白质并确定参与褐藻铜耐受新的靶蛋白, 该研究补充了之前对这种褐藻中铜耐受机制的生理解酶活性的调节。

近年来基于质谱的蛋白质组学应用于海洋藻类胁迫方面的研究报道逐年增加。罗春堃<sup>[48]</sup>采用了基于 iTRAQ 的蛋白质组学研究了假微型海链藻(*Thalassiosira pseudonana*)对短期缺铁响应机制, 结果表明在铁限制和铁充足培养第 4d 的样品中, 得到了 127 个铁限制条件下差异表达的假微型海链藻蛋白(41 个上调, 86 个下调)。分析得出这些蛋白主要与翻译, 翻译后修饰, 蛋白质折叠, 伴侣(posttranslational modification, protein turnover, chaperones), 能量产生和转换, 核糖体结构和生物合成以

及氨基酸转运和代谢相关。该研究阐明了假微型海链藻对铁限制在细胞、生理以及蛋白水平的响应机制,提出了假微型海链藻在铁限制条件下的 3 种适应机制及其生态学意义。张书飞<sup>[41]</sup>采用 iTRAQ 研究了有毒链状亚历山大藻(*Alexandrium catenella*)的有毒野生株(ACHK. T)与无毒变异株(ACHK. NT)对细胞代谢抑制剂-秋水仙素胁迫的响应机制。对比了正常培养和秋水仙素处理条件下 ACHK. T 和 ACHK-NT 的蛋白质组的差异表达,共鉴定到 6988 个蛋白质,主要参与碳水化合物、氨基酸以及能量代谢。该研究分析了差异表达蛋白及其参与的生物学过程,探讨了秋水仙素对细胞周期及毒素合成的影响机理。Xing 等<sup>[49]</sup>采用了转录组及基于 iTRAQ 的蛋白质组学联用,并结合脂肪酸分析首次综合阐述了产油微藻(*Auxenochlorella protothecoides*)在低温和高温胁迫下对温度应激的适应机制的新见解,分别鉴定了 5565 和 4757 个基因、1311 和 728 个差异表达蛋白。其中 65 个活跃表达的基因和参与脂肪酸代谢的 61 个蛋白质,揭示低温和高温诱导的产油微藻中脂肪酸代谢的重编程之间的一致性和差异,从分子水平阐述了温度对产油微藻脂肪酸代谢影响。

#### 4.3 蛋白质组学技术在海洋藻类生理机制研究方面的应用

周伟<sup>[50]</sup>采用基于二维电泳的蛋白质组学对条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)叶状体不同区域光合作用进行比较分析,在类囊体膜蛋白质组和叶状体可溶性蛋白质组学水平上研究光合作用的机制,该研究初步建立了适合紫菜叶状体细胞总可溶性蛋白质组的双向电泳技术体系,为进一步在蛋白水平研究紫菜各项基本生物学问题提供了基础,研究结果表明紫菜叶状体的光合作用过程不同于陆地植物,具有独特性,是研究藻类光合作用尤其是光合进化的重要模式材料,为全面认识紫菜的光合作用过程,深入研究紫菜叶状体不同区域的光合活性奠定了一定基础。刘娜<sup>[51]</sup>采用基于 2-DE 的蛋白质组学研究了 10.0 mg/L 与 4.0 mg/L 氨氮对以小球藻(*Chlorella vulgaris*)氨氮吸收率的影响,结果表明在 2 种不同浓度的氨氮条件下共鉴定出 162 个差异蛋白质点其中有 92 个斑点具有显著性的差异表达,鉴定出有 31 个蛋白分别参与了光合作用、糖代谢、三羧酸循环、氨基酸代谢和蛋白质合成等。该研究以氨氮为唯一氮源下小球藻对氨氮去除的影响以及对氨氮吸收的分子机制。

杜超<sup>[52]</sup>采用基于 iTRAQ 的蛋白质组学对硅藻假微型海链藻硅藻(*Thalassiosira pseudonana*)硅质化结构的形成过程与调控机理研究,结果表明采用硅限制方法进行同步化培养 0、1、5 和 7 h 样品中总共鉴定到 1831 个蛋白质,其中符合差异表达要求的差异蛋白质共有 165 个,通过功能注释

得到了包括细胞周期蛋白、硅转运蛋白、囊泡包被蛋白等与硅代谢和细胞周期紧密相关的蛋白质的表达图谱。黄莹莹等<sup>[53]</sup>采用基于 iTRAQ 的蛋白质组学对加拿大一枝黄花(*Solidago canadensis* L., SCL)提取物作用下的铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)细胞全蛋白质组进行鉴定,以未经 SCL 提取物作用的藻细胞为对照,共鉴定出 576 种差异蛋白质,并对差异蛋白进行生物信息学分析,结果表明 SCL 提取物作用于铜绿微囊藻细胞时,能够同时影响多种物质代谢合成途径及干扰不同的生理生化反应,其中受到影响最大的是细胞的代谢功能,尤其是能量代谢和氨基酸代谢过程。该研究发现了 SCL 提取物对藻细胞生长抑制作用的分子靶点,为从分子层面阐明其抑藻作用提供参考,也为研究植物化感物质的抑藻机理提供了新方法。

## 5 展望

蛋白质组学可以广泛应用于海洋藻类研究中的品质差异鉴定、养殖胁迫、生理机制研究等方面。随着海洋藻类蛋白质组学的研究方法和研究方向将日渐完善,开展基于质谱技术的藻类蛋白质组学研究可进一步从分子水平上揭示海洋藻类的各项生命活动,为海洋藻类栽培技术开发、病害防治、产物资源利用等方面的研究提供理论基础。但仅仅依靠蛋白质组学对生物系统进行探究不够全面,所以与其他组学研究进行良好的结合可以达到更系统的分析效果。基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学基于不同的技术、方法以及研究思路来研究生物机体的奥秘,所涉及的层面存在不同,但各自之间紧密连接。转录组学是基因组学的延伸,蛋白质组学可弥补基因组学的局限性,而代谢组学反映了在内外环境影响下基因组、转录组和蛋白质组相互作用的最终结果。使用基因组数据可以提高遗传预测精度,而转录组、蛋白质组和代谢组有助于发现编码和标签单核苷酸多态性,多组学联用技术研究是一种必然趋势。除此之外,随着蛋白质组学研究的不断深入,除全蛋白质组学技术研究应用外,未来藻类相关蛋白质组学技术应更重视包括亚细胞蛋白质组学、修饰蛋白质组学(氧化还原修饰、磷酸化修饰等)等类型蛋白质组学的应用研究。

藻类蛋白质组学相关研究未来的挑战主要是进一步扩展对不同藻类系统基本组成部分的了解,而在基因组水平上,随着越来越多的藻类基因组计划的建立或完成,藻类蛋白质组学研究逐渐变得更为便利,针对蛋白质组学获得的数据分析更可信可靠。另一方面,在重视藻类相关作用机制、代谢通路等基础研究、更高分辨率的质谱技术建立的同时,应该更注重多组学联用技术应用、基于高性能运算能力计算机与更完善的专业数据库的建立等相关内容的研究,为进行更深入藻类蛋白质组学研究

奠定基础。随着质谱技术和生物信息学的发展和改进, 蛋白质组学技术将会为藻类研究的更多方向提供分子水平上的理论基础。

### 参考文献

- [1] 农业农村部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴 2019[M]. 北京: 中国农业出版社, 2019.  
Fishery and fishery administration of the ministry of agriculture and rural areas. China fishery statistics yearbook 2019 [M]. Beijing: China agriculture press, 2019.
- [2] 赖晓娟, 陈海敏, 杨锐, 等. 藻类基因组研究进展[J]. 遗传, 2013, 35(6): 735–744.  
Lai XJ, Chen HM, Yang R, *et al.* Advances on the genome of algae [J]. Hereditas, 2013, 35(6): 735–744.
- [3] 黄罗冬, 高保燕, 王飞飞, 等. 真核藻类基因组研究进展[J/OL]. 基因组学与应用生物学: 1-35[2019-11-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1369.Q.20190131.1208.002.html>.  
Huang LD, Gao BY, Wang FF, *et al.* Research advances in the genome of eukaryotic algae [J/OL]. Genomics and Applied Biology: 1-35 [2019-11-15].  
<http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1369.Q.20190131.1208.002.html>.
- [4] Zhang SF, Zhang Y, Xie ZX, *et al.* iTRAQ-based quantitative proteomic analysis of a toxigenic dinoflagellate *Alexandrium catenella* its non-toxic mutant [J]. Proteomics, 2015, 15(23-24): 41–50.
- [5] Wilkins MR, Williams KL, Appel RD, *et al.* Proteome research: New frontiers in functional genomics [M]. Berlin: Springer Press, 1997.
- [6] Anderson L, Seilhammer J. A comparison of selected mRNA and protein abundances in human liver [J]. Electrophoresis, 1997, 18(3-4): 533.
- [7] Humphrey-Smith I, Cordwell SJ. Proteome research: Complementarity and limitations with respect to the RNA and DNA worlds [J]. Electrophoresis, 1997, 18(8): 1217–1242.
- [8] Pandey A, Mann M. Proteomics to study genes and genomics [J]. Nature, 2000, 405: 837–846.
- [9] Wasinger VC, Cordwell SJ, Cerpa-Poljak A, *et al.* Progress with gene product mapping of the mollicutes: *Mycoplasma genitalium* [J]. Electrophoresis, 1995, 16(7): 1090–1094.
- [10] 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): 32–38.  
Yin W, Fu X, Li P. Application research progress of proteomics [J]. Biotechnol Bull, 2014, (1): 32–38.
- [11] 许春梅. 蛋白质组学在植物生理学中的应用与研究[J]. 农业与技术, 2008, 28(6): 48–50.  
Xu CM. Application and research of proteomics in plant physiology [J]. Agric Technol, 2008, 28(6): 48–50.
- [12] 赵永强, 李娜, 李来好, 等. 水产品质量与安全控制的蛋白质组学研究[J]. 大连海洋大学学报, 2016, 31(3): 344–350.  
Zhao YQ, Li N, Li LH, *et al.* Application of proteomics in regulation of aquatic products quality and safety [J]. J Dalian Ocean Univ, 2016, 31(3): 344–350.
- [13] 甄艳, 施季森. 质谱技术在蛋白质组学研究中的应用[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2011, 35(1): 107–112.  
Zhen Y, Shi JS. Application of mass spectrometry in proteomics studies [J]. J Nanjing Forest Univ (Nat Sci Ed), 2011, 35(1): 107–112.
- [14] O'Farrell P. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins [J]. J Biol Chem, 1975, 250: 4007–4021.
- [15] 冯雪, 王彬, 黄占景, 等. 蛋白质组学研究的相关技术进展[J]. 生物学教学, 2010, 35(3): 4–5.  
Feng X, Wang B, Huang ZJ, *et al.* Advances in proteomics research [J]. Biol Teach, 2010, 35(3): 4–5.
- [16] Zhang YJ, Zhang SF, He ZP, *et al.* Proteomic analysis provides new insights into the adaptive response of a dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense* to changing ambient nitrogen [J]. Plant Cell Environ, 2015, 38(10): 28–42.
- [17] Zhang H, Wang DZ, Xie ZX, *et al.* Comparative proteomics reveals highly and differentially expressed proteins in field-collected and laboratory-cultured blooming cells of the diatom *Skeletonema costatum* [J]. Environ Microbiol, 2015, 17(10): 76–91.
- [18] Wang DZ, Zhang H, Zhang Y, *et al.* Marine dinoflagellate proteomics: Current status and future perspectives [J]. J Proteom, 2014, 105(1): 21–32.
- [19] Akimoto H, Wu C, Kinumi T, *et al.* Biological rhythmicity in expressed proteins of the marine dinoflagellate *Lingulodinium polyedrum* demonstrated by chronological proteomics [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 315(2): 6–12.
- [20] Nagaraj N, Wisniewski JR, Geiger T, *et al.* Deep proteome and transcriptome mapping of a human cancer cell line [J]. Mol Syst Biol, 2011, 7(1): 548–548.
- [21] Alexander SH, Richards AL, Bailey DJ, *et al.* The one hour yeast proteome [J]. Mol Cell Proteom, 2014, 13(1): 339–347.
- [22] 谢秀枝, 王欣, 刘丽华, 等. iTRAQ 技术及其在蛋白质组学中的应用[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2011, 27(7): 616–621.  
Xie XZ, Wang X, Liu LH, *et al.* iTRAQ technology and its application in proteomics [J]. Chin J Biochem Mol Biol, 2011, 27(7): 616–621.
- [23] Morse D, Tse SPK, Lo SCL. Exploring dinoflagellate biology with high-throughput proteomics [J]. Harmful Algae, 2018, 75: 16–26.
- [24] Matthew P, Iain B, ORourke M, *et al.* A comprehensive guide for performing sample preparation and top-down protein analysis [J]. Proteomes, 2017, 5(4): 11–42.
- [25] 施琰, 裴斐, 周玲玉, 等. 响应面法优化复合酶法提取紫菜藻红蛋白工艺[J]. 食品科学, 2015, 36(6): 51–57.  
Shi Y, Pei W, Zhou LY, *et al.* Optimization of phycoerythrin extraction from lavers by mixed enzymes using response surface methodology [J]. Food Sci, 2015, 36(6): 51–57.
- [26] Tse SPK, Beauchemin M, Morse D, *et al.* Refining transcriptome gene catalogs by ms-validation of expressed proteins [J]. Proteomics, 2017: 1700271.
- [27] Tse SPK, Lo SCL. Comparative proteomic studies of a *Scrippsiella*

- acuminata* bloom with its laboratory-grown culture using a  $^{15}\text{N}$ -metabolic labeling approach [J]. *Harmful Algae*, 2017, 67: 26–35.
- [28] Safi C, Ursu AV, Laroche C, *et al.* Aqueous extraction of proteins from microalgae: Effect of different cell disruption methods [J]. *Algal Res*, 2014, 3: 61–65.
- [29] Safi C, France C, Ursu AV, *et al.* Understanding the effect of cell disruption methods on the diffusion of *Chlorella vulgaris* proteins and pigments in the aqueous phase [J]. *Algal Res*, 2015, 8: 61–68.
- [30] Mcmillan JR, Watson IA, Ali M, *et al.* Evaluation and comparison of algal cell disruption methods: Microwave, waterbath, blender, ultrasonic and laser treatment [J]. *Appl Energy*, 2013, 103(1): 28–34.
- [31] Ursu AV, Marcati A, Satd T, *et al.* Extraction, fractionation and functional properties of proteins from the microalgae *Chlorella vulgaris* [J]. *Biores Technol*, 2014, 157(1): 34–39.
- [32] Gao Y, Lim TK, Lin Q, *et al.* Evaluation of sample extraction methods for proteomics analysis of green algae *Chlorella vulgaris* [J]. *Electrophoresis*, 2016, 37(10): 1270–1276.
- [33] 姚兴存, 舒留泉, 盘赛昆, 等. 条斑紫菜蛋白提取与抗氧化活性 [J]. *食品科学*, 2012, 33(20): 120–125.
- Yao XC, Shu LQ, Pan SK, *et al.* Extraction and antioxidant activity of proteins from *Porphyra yezoensis* [J]. *Food Sci*, 2012, 33(20): 120–125.
- [34] 王会芳, 颜海波, 杜虹. 大型海藻龙须菜蛋白提取及双向电泳体系的优化[J]. *汕头大学学报(自然科学版)*, 2013, 28(4): 34–39.
- Wang HF, Yan HB, Du H. Optimization of extraction method and two imensional electrophoresis conditions for proteome of macroalgae *Gracilaria lemaneiformis* [J]. *J Shantou Univ (Nat Sci Ed)*, 2013, 28(4): 34–39.
- [35] 赵宇鹏, 周伟, 赵佩佩, 等. 适用于条斑紫菜的双向电泳样品制备方法 [J]. *海洋科学*, 2013, 37(5): 19–24.
- Zhang YP, Zhou W, Zhao PP, *et al.* A protein extraction method suitable for two-dimensional electrophoresis analysis of *Porphyra yezoensis* [J]. *Mar Sci*, 2013, 37(5): 19–24.
- [36] Pojić M, Mišan A, Tiwari B. Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2018, 75(1): 93–104.
- [37] Mohd-Rosni S, Faisal A, Azwan A, *et al.* Crude proteins, total soluble proteins, total phenolic contents and SDS-PAGE profile of fifteen varieties of seaweed from Semporna, Sabah, Malaysia [J]. *Int Food Res J*, 2015, 22(4): 1483–1493.
- [38] Wang DZ, Gao Y, Lin L, *et al.* Comparative proteomic analysis reveals proteins putatively involved in toxin biosynthesis in the marine dinoflagellate *Alexandrium catenella* [J]. *Mar Drugs*, 2013, 11(1): 66–69.
- [39] Chan LL, Li X, Sit WH, *et al.* Development of theca specific antisera for the profiling of cell surface proteins in the marine toxic dinoflagellate genus *Alexandrium halim* [J]. *Harmful Algae*, 2012, 16(1): 58–62.
- [40] 于朋飞. 纳米银对念珠藻的毒性效应及其机理研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2016.
- Yu PF. Toxicity and mechanism of nanosilver to *Nostoc* sp [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2016.
- [41] 张书飞. 有毒链状亚历山大藻定量蛋白质组学研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2015.
- Zhang SF. Quantitative proteomics of *Alexandrium* spp. [D]. Xiamen: Xiamen University, 2015.
- [42] Xu K, Xu Y, Ji D, *et al.* Proteomic analysis of the economic seaweed *Pyropia haitanensis* in response to desiccation [J]. *Algal Res*, 2016, 19: 198–206.
- [43] Zou HX, Pang QY, Zhang AQ, *et al.* Excess copper induced proteomic changes in the marine brown algae *Sargassum fusiforme* [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2015, 111(2): 71–80.
- [44] Zhang A, Xu T, Zou H, *et al.* Comparative proteomic analysis provides insight into cadmium stress responses in brown algae *Sargassum fusiforme* [J]. *Aquat Toxicol*, 2015, 163(1): 1–15.
- [45] Qian WG, Li N, Lin LD, *et al.* Parallel analysis of proteins in brown seaweed *Sargassum fusiforme* responding to hyposalinity stress [J]. *Aquaculture*, 2016, 465(1): 89–97.
- [46] 钱卫国. 低渗胁迫影响羊栖菜生理及蛋白组的研究[D]. 温州: 温州大学, 2016.
- Qian WG. Physiological and proteomic study of *sargassum fusiforme* under hypotonic [D]. Wenzhou: Wenzhou University, 2016.
- [47] Contreras L, Moenne A, Gaillard F, *et al.* Proteomic analysis and identification of copper stress-regulated proteins in the marine alga *Scytosiphon gracilis* (Phaeophyceae) [J]. *Aquatic Toxicol*, 2010, 96(2): 85–90.
- [48] 罗春瑾. 短期铁限制条件下假微型海链藻细胞氧化应激及程序性死亡机制研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2014.
- Luo CS. Cellular mechanism associated with oxidative stress and programmed cell death in the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* response to short-term Fe limitation [D]. Xiamen: Xiamen University, 2014.
- [49] Xing G, Yuan H, Yang J, *et al.* Integrated analyses of transcriptome, proteome and fatty acid profilings of the oleaginous microalga *Auxenochlorella protothecoides* UTEX 2341 reveal differential reprogramming of fatty acid metabolism in response to low and high temperatures [J]. *Algal Res*, 2018, 33(1): 6–27.
- [50] 周伟. 条斑紫菜叶状体不同区域光合作用比较分析及相关蛋白质组学研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2013.
- Zhou W. Compared analysis of photosynthetic activities and proteomic research on different tissue areas in *Porphyra yezoensis* thalli [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2013.
- [51] 刘娜. 基于蛋白质组学 and 同位素分馏对小球藻吸收氨氮机制的研究[D]. 湘潭: 湘潭大学, 2015.
- Liu N. Mechanisms of ammonium assimilation in *Chlorella vulgaris* based on proteomic and isotope fractionation techniques [D]. Xiangtan: Xiangtan University, 2015.
- [52] 杜超. 假微型海链藻生物硅化相关过程的蛋白质组学和转录组学研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2013.

Du C. Study on proteomics and transcriptomics of biosilicization related processes in *Thalassiosira pseudonana* [D]. Xiamen: Xiamen University, 2013.

[53] 黄莹莹, 白羽, 王艳, 等. 基于 iTraQ 技术的加拿大一枝黄花提取物作用下铜绿微囊藻细胞差异表达蛋白[J]. 中国环境科学, 2015, 35(6): 22-30.

Huang YY, Bai Y, Wang Y, et al. Differentially expressed proteins in *Microcystic aeruginosa* with *Solidago canadensis* L. extracts using iTraQ labeling technique [J]. China Environ Sci, 2015, 35(6): 22-30.

(责任编辑: 韩晓红)

## 作者简介

孙祖莉, 副教授, 主要研究方向为食品科学与质量安全。

E-mail: sunzuli98@163.com

赵永强, 副研究员, 主要研究方向为水产品加工与质量安全。

E-mail: zhaoyq@scsfri.ac.cn

---

## “粮油质量安全检测与分析”专题征稿函

民以食为天, 食以安为先。食品安全的源头在农业, 粮油产品是基础。我国作为粮食生产大国和人口大国, 粮油质量安全受到政府、产业和消费者的高度关注。与此同时, 随着乡村振兴战略和农业高质量发展, 发掘不同产地、不同品种粮油产品特异品质, 促进优质粮油产品开发, 是推动粮油产业高质量发展、满足人民日益增长的消费需要的重要举措。

鉴于此, 本刊特别策划了“粮油质量安全检测与分析”专题, 由中国农业科学院油料作物研究所张良晓副研究员担任专题主编, 主要围绕粮油质量安全检测技术研究、粮油产品特异品质挖掘与评价、粮油产品质量安全风险评估、真实性与产地溯源、检测方法的标准化和分析质量控制技术以及粮油质量安全管理技术等方面展开论述和研究, 本专题计划在2020年4月出版。

鉴于您在该领域的成就, 本刊编辑部及专题主编张良晓副研究员特别邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述及研究论文均可, 请在2020年1月20日前通过网站或E-mail投稿。我们将快速处理并优先发表。

同时, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和E-mail。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: [www.chinafoodj.com](http://www.chinafoodj.com)

E-mail: [jfoodsq@126.com](mailto:jfoodsq@126.com)(注明专题)

《食品安全质量检测学报》编辑部