

孙良格, 张新笑, 卞欢, 等. 骨架蛋白对肉持水性的影响及机制研究进展 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(18): 413-420. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020080206

SUN Liangge, ZHANG Xinxiao, BIAN Huan, et al. Review in the Effect and Mechanism of Cytoskeleton Proteins on Water Holding Capacity of Meat[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(18): 413-420. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020080206

· 专题综述 ·

骨架蛋白对肉持水性的影响及机制研究进展

孙良格¹, 张新笑², 卞欢², 邹 焯^{1,2}, 徐为民^{1,2}, 王道营^{1,2,*}, 李鹏鹏^{1,2,*}

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013;

2. 江苏省农业科学院农产品加工所, 江苏南京 210014)

摘要: 持水性是肉的重要品质指标, 直接影响肉的颜色、多汁性和嫩度。汁液流失常被用来衡量肉的持水性, 宰后过多的汁液流失会给肉类行业造成一定程度的经济损失, 因此, 研究肉的持水性是食品行业的一项重要内容。骨架蛋白作为肌肉细胞的主要成分, 对维持细胞结构和功能起着重要作用, 其在宰后肌肉成熟过程中发生的变化对肉的持水性有一定影响。本文综述了主要骨架蛋白的生理生化性质以及骨架蛋白对肉品持水性的影响, 探讨了影响骨架蛋白降解的重要因素和作用机制, 以期对肉品持水性控制提供理论参考。

关键词: 骨架蛋白, 持水性, 蛋白降解, 作用机理

中图分类号: TS251.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)18-0413-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020080206



本文网刊:

Review in the Effect and Mechanism of Cytoskeleton Proteins on Water Holding Capacity of Meat

SUN Liangge¹, ZHANG Xinxiao², BIAN Huan², ZOU Ye^{1,2}, XU Weimin^{1,2}, WANG Daoying^{1,2,*}, LI Pengpeng^{1,2,*}

(1. College of Food and Bioengineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

2. Institute of Agricultural Products Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Science, Nanjing 210014, China)

Abstract: Water-holding capacity (WHC) is an important quality attribute of meat, which affects the color, juiciness and tenderness of meat. Drip loss is often used as a measure of WHC. Excessive drip loss after slaughter causes a certain amount of economic losses to the meat industry. Therefore, studies on WHC of meat are important for the meat industry. As the main component of muscle cells, cytoskeleton proteins plays a critical role in maintaining the integrity of cell structures and functions, which has effect on the WHC of meat. In this paper, the physiological and biochemical properties of recently identified cytoskeleton proteins and their effects on meat WHC were reviewed. This study further discussed the factors and mechanisms affecting degradation of cytoskeleton proteins in order to provide theoretical reference for the control of WHC of meat.

Key words: cytoskeleton protein; water-holding capacity; protein degradation; mechanism of action

骨架蛋白是肌肉细胞的重要结构成分, 是肌纤维网络结构中维持空间构型、承受外力以及保持内部结构有序性的一类蛋白质。骨架蛋白对肉类品质的影响一直是许多学者研究观察和分析的主题, 骨架蛋白的降解影响宰后肉品的质量, 包括嫩度、持水性等

方面^[1]。肉的持水性(Water-holding capacity, WHC), 是指肌肉保持原有水分的能力。持水性不仅影响肉的嫩度、风味等感官品质, 还直接影响肉类屠宰加工企业的经济效益^[2]。

汁液流失(Drip loss)经常被用来衡量肉的持水

收稿日期: 2020-08-21

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(19)3079); 国家自然科学基金面上基金(31972137); 国家现代农业(肉鸡)产业技术体系建设专项(CARS-41)。

作者简介: 孙良格(1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 畜禽产品加工与质量控制, E-mail: 1137680445@qq.com。

* 通信作者: 王道营(1979-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 畜禽产品加工与质量控制, E-mail: wdy0373@aliyun.com。

李鹏鹏(1986-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 畜禽产品加工与质量控制, E-mail: lipengpeng@jaas.ac.cn。

性。从1860年开始,肉品科学家开始研究肌肉汁液流失的机理,致力于研究影响肌肉持水能力的因素^[2]。1995年 Huff-Lonergan 等^[3]人提出汁液流失可能与蛋白质降解有关,骨架蛋白包括膜结合蛋白踝蛋白(Talin)、肌营养不良蛋白(Dystrophin)等联结肌原纤维和细胞外基质蛋白,对维持细胞结构和细胞与细胞间的粘附起关键作用,因此,骨架蛋白的降解影响宰后肉品的汁液流失^[4]。例如,细胞膜骨架蛋白跨膜蛋白整合素(Integrin)的降解有助于汁液流失通道的形成,增加汁液流失^[5];黏着斑蛋白(Vinculin)的缓慢降解和 Talin 的快速降解影响猪肉宰后成熟过程中肉的汁液流失的增加^[6]。钱书意等^[7]研究表明宰后冻结肉的骨架蛋白结构出现改变,会使骨架蛋白之间聚集,蛋白质溶解度降低。蛋白的疏水作用增强和水合力下降导致肉品持水性降低。

宰后肉品的汁液损失在0.1%~10%之间,在分割和贮藏过程的损失率可达2%~10%,给肉类屠宰加工行业造成数亿元经济损失^[8]。如何降低汁液损失率仍然是肉类研究学者们共同努力的目标。开展宰后肉品持水性与骨架蛋白关系研究,不仅能够提高肉品质量、减少经济损失,而且有助于揭示宰后肉品汁液流失形成机理。Puolanne 等^[9]认为肉的持水机理仍需进一步研究,其中骨架蛋白对持水性的影响需要结合 pH、离子的种类和强度及蛋白质结构性质等进一步研究阐明。本文将对近年来研究发现的骨架蛋白的结构功能、骨架蛋白对持水性的影响及影响骨架蛋白降解的因素进行综述。

1 骨架蛋白概述

细胞骨架在狭义上包括微丝、微管和中间纤维,它们由多种蛋白质以不同方式组装而成。微丝是由肌动蛋白构成;微管是由 α 和 β 管蛋白和少量微管结合蛋白的聚合作用而形成的管状纤维;中间纤维是由 α -螺旋杆状、长状蛋白装配而成。骨骼肌细胞骨架可被分为3种:肌小节内骨架、肌小节外骨架和肌细胞膜骨架。伴肌动蛋白(Nebulin)排在肌原纤维上的肌节内,这种蛋白是肌小节内的主要骨架蛋白;肌小节外骨架蛋白主要包含肌间线蛋白(Desmin)、巢

蛋白(Nestin)、联丝蛋白(Synemin)和核纤层蛋白(Lamins),它们位于肌原纤维周围,连接Z盘、核膜和肌细胞膜之间;肌细胞膜骨架蛋白包括 Vincullin、血影蛋白(Sepectrin)、Dystrophin、Integrins 等跨膜的和与膜相连的蛋白^[5]。表1总结了肌肉中的主要骨架蛋白的分子量、所处肌肉位置以及与之结合的相关蛋白。骨架蛋白的功能主要包括以下几点:①负责信息交流,骨架蛋白能够在肌原纤维与胞外基质两者之间建立联系,使细胞形成一个系统复杂的信息交流中心^[10];②调节和稳定肌肉收缩,骨架蛋白具有维持细胞结构并对肌肉收缩起到调节和稳定的作用^[11];③连接肌节,细丝状的骨架蛋白与细丝、粗丝平行排列,位于肌原纤维的空隙,起到连接肌节的作用^[11];④调节细肌丝的长度,部分骨架蛋白可以作为一个分子尺调节细肌丝的长度以及细肌丝的排列,比如 Desmin^[12]。

2 骨架蛋白与肉持水性的关系

2.1 肌营养不良蛋白(Dystrophin)对肉持水性的影响

Dystrophin 是一种胞内杆状蛋白,定位于肌膜的内表面,由3685个氨基酸组成的分子量为427 kDa的细胞骨架蛋白,占肌肉骨架蛋白比例超过5%以上^[13]。Dystrophin 具有四大功能域,分别包括N端区、棒状区、半胱氨酸富集区、C端区。它的N端和部分中间杆域与细胞骨架丝状肌动蛋白(F-actin)相互作用,而C端区域与多个蛋白质组装DAPC(Dystrophin-associated protein complex)跨越骨骼和心脏肌肉的肌纤维膜^[13]。Dystrophin 主要功能是连接肌细胞中的肌动蛋白与细胞外基质,使得肌肉形成紧密的肌肉束,在收缩过程中保护肌膜对抗机械压力。DAPC的完整性对于收缩肌纤维承受由肌膜产生的机械应力以及防止其脆弱的肌膜因收缩引起的损伤至关重要。此外,Dystrophin 必须与糖蛋白结合成DAGC(Dystrophin-associated glycoprotein complex)才能发挥稳定细胞膜的作用,有实例发现Dystrophin的缺乏使得DAGC复合体形成失败,从而不能稳定细胞膜,最终导致肌细胞坏死^[14]。

Dystrophin 位于膜和肌动蛋白之间,它的破坏会

表1 肌肉中的骨架蛋白

Table 1 Cytoskeletal proteins in muscle

	位置	分子量(kDa)	结合的蛋白
肌联蛋白	肌节	3000~3700	粗丝
伴肌动蛋白	薄丝	600~900	肌动蛋白
肌间线蛋白	Z线	55	网蛋白
辅肌动蛋白	Z线	115	肌动蛋白
整合素	细胞膜	210~295	踝蛋白
踝蛋白	细胞膜	270	整合素,黏着斑蛋白,肌动蛋白
黏着斑蛋白	细胞膜	255	踝蛋白
肌营养不良蛋白	细胞膜	427	糖蛋白复合物肌动蛋白,踝蛋白
桩蛋白	细胞膜	68	NA

注: NA: Not available.

导致 Z 线、M 线、中间丝状体断裂,进而会造成肌纤维之间以及肌纤维与肌膜之间发生解离,引起肉品质构劣化^[15]。Taylor 等^[16] 研究报道在牛肉储存过程中发现宰后 7 d 肌肉中的 Dystrophin 绝大部分发生降解。Wojtysia 等^[17] 以阉割公鸡与未阉割公鸡为原材料研究发现,发现宰后 48 h 后两组公鸡的肌肉纤维中 Dystrophin 的降解都增加,未阉割鸡胸肉中未受损的 Dystrophin 的含量均高于阉割鸡胸肉。可见,畜禽的生理状态对 Dystrophin 降解情况也有影响。贾胜男^[1] 研究发现,以草鱼背部肌肉组织为实验材料,第 1 d 未发现肌肉中 Dystrophin 的降解,这表明 Dystrophin 在动物死后前期以完整的形式存在于肌肉中。随后发现该蛋白的降解逐日加强,在 7 d 达到降解率达到 60%,第 21 d 时 Dystrophin 降解率达 71.14%,滴水损失率与 Dystrophin 的含量呈显著负相关,Dystrophin 的降解最终导致细胞功能的丧失和肌原纤维结构的削弱,使得持水性受到影响。生理学中研究发现,Dystrophin 基因变异引起杜氏或贝克尔肌营养不良症,Dystrophin 的缺失会造成肌肉坏死。在肌肉转变成可食用肉的过程中会对肉制品的外观、营养、质地等方面带来极坏的影响^[18]。

2.2 网蛋白 (Plectin) 对肉持水性的影响

Plectin 是血溶素家族的高分子量多功能细胞骨架蛋白,广泛分布于动物的多种组织细胞中,如肌肉、皮肤、心脏及脑等。迄今为止,已经发现了 16 种网蛋白的亚型,其中 1d、1f、1b 和 1 四种亚型在肌肉细胞中表达量较高。Plectin 存在于中间纤维和微丝的质膜附着部位,如平滑肌的致密斑块、心肌的夹层盘等位置^[19]。Plectin 位于骨骼肌的 Z 盘,骨骼肌中 Plectin 的分布呈纤维依赖性。通过旋转跟踪电子显微镜发现 Plectin 结构为哑弹状,Plectin 的中心位置是 200 μm 长的棒状结构域,两侧是两个大的球状结

构域^[20]。在功能上,作为一种重要的细胞骨架蛋白,Plectin 交联细胞骨架的三种主要成分:微管、中间纤维和肌动蛋白微丝,在稳定细胞结构和维持细胞功能完整性方面具有重要作用^[20]。

Tian 等^[20] 研究表明,猪宰后早期成熟过程中猪肉 Plectin 迅速减少并在宰后 3 d 消失,但是宰后 0 h 就能检测到已经被降解为 240 和 20 kDa 的 Plectin 片段快速积累,并证实 Plectin 与 Desmin 一起在重要的肌细胞部位有规律的存在,正如图 1 所示。这些结果表明,Plectin 在宰后肉品成熟过程中发生了迅速而显著的降解。进一步研究通过比较加入 caspase 抑制剂与 calpain 抑制剂,发现 calpain 抑制剂能明显抑制 Plectin 的降解。在生理上,由 Plectin 的基因突变导致的 Plectin 缺乏表现为肌营养不良等症状,进而影响着宰后肉品的质量^[21]。Plectin 的降解会破坏复杂的蛋白支架网络(图 1),破坏细胞结构,影响汁液流失通道的形成,最终影响肉品的持水性,因此,研究死后衰老过程中 Plectin 降解对肌肉结构变化和肉质的影响是很有必要的。

2.3 踝蛋白 (Talin) 对肉持水性的影响

Talin 作为一个大分子量蛋白,位于细胞膜的内表面,由 2541 个氨基酸组成,长度约为 60 nm,大小 270 kDa^[22]。Talin 由 50 kDa N 端头部区域和 220 kDa 两性分子螺旋束组成的细长棒体组成。Talin 头部包含一个 FERM 结构域,含有 FERM 结构域的蛋白质在许多生物学过程中都是必不可少的,包括细胞粘附、运动、增殖和分化^[23]。含有 FERM 结构域的 Talin 在细胞粘附受体整合素家族的激活中起关键作用,并且为 β-Integrin 亚基和肌动蛋白细胞骨架之间提供直接联系。Talin 作为粘着斑成分介于肌动蛋白和 Integrin 之间,而 Vinculin 是与黏着斑有关的主要细胞骨架蛋白,Vinculin 在胞内过表达可使黏着斑

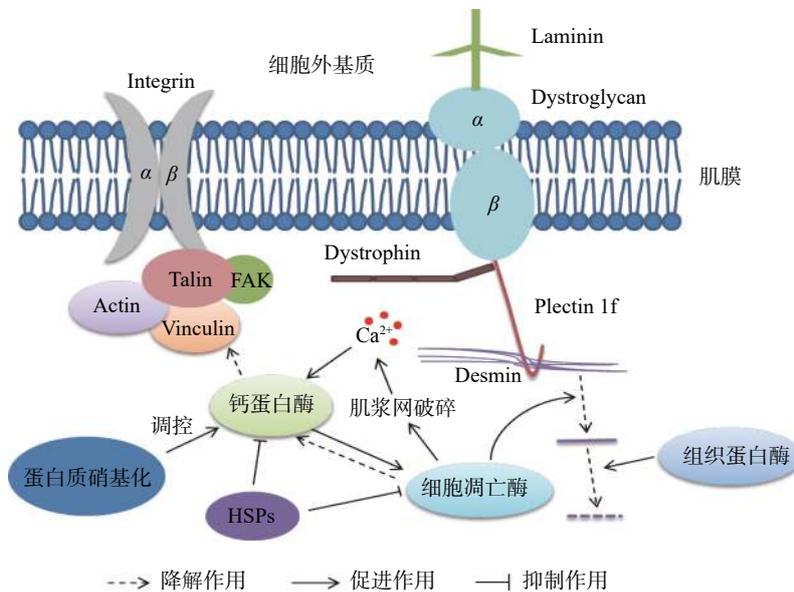


图 1 骨架蛋白位置及降解机制

Fig.1 Cytoskeleton proteins location and degradation mechanism

更加稳定^[24-25]。

先前 Kristensen 等^[6]对 Talin 的研究表明, Talin 发生快速降解, 骨骼肌膜结构被破坏, 随后肌纤维收缩时产生的交联及肌原纤维之间的交联断裂, 挤压细胞内水分的力被消除, 使肌肉的持水能力提高。发生此结果的原因可能是骨架蛋白质的降解使肌细胞横向膨胀。Melody 等^[26]研究发现, Talin 宰第 1 d 开始降解, Kristensen 等^[6]研究发现, 宰后第 4 d Talin 降解达到了 68%。Tomisaka 等^[27]研究了宰后肌肉系水力的变化, 发现 Talin 在宰后第 4 d 降解为最初的 25%。Huff-Lonergan 等^[28]研究发现 Talin 的降解能减少肌肉的汁液流失率。而杨汝男等^[29]测定了 RFN(Reddish, Firm, Non-exudative)与 PSE(Pale, Soft, Exudative)肉样中 Talin 的降解量, 发现宰后各时间点 Talin 的含量与汁液流失率呈不显著正相关($P>0.05$), Talin 的降解对持水性无影响。目前, 宰后肉品 Talin 降解与汁液流的关系仍存在较大争议^[30], Talin 对肌肉持水性影响还有待进一步研究确认。

2.4 肌间线蛋白(Desmin)对肉持水性的影响

Desmin 是中间纤维的重要基础结构, 它的亚基分子量为 55 kDa, 围绕 Z 盘分布并延伸到 Z 盘内部, 是位于 Z 线以及 Z 线和肌细胞膜之间的骨架蛋白, 由两端的 N 端和 C 端以及中间螺旋杆状结构(α -lenticular rod)组成^[31]。Desmin 通过 Z 线将单个肌原纤维连接在一起, 使得收缩运动机械整合在一起, 同时连接线粒体、细胞核和肌膜, 主要为限制肌节在肌肉收缩时过分拉伸。此外, Desmin 帮助邻近肌原纤维正确定位和排列, 在成熟的肌细胞中连接每条肌原纤维并将其与细胞膜联结, 发挥着固定肌原纤维的作用, 进而维持整个骨骼肌细胞的有序性和完整性^[26]。

Desmin 的重要功能决定了其可能对宰后肉品的持水性起重要作用。Desmin 在 4 °C 环境中能够迅速发生降解, 使肌原纤维间的横桥交联断裂, 导致肌原纤维有序结构被破坏, 从而提高持水性。张冬怡等^[32]人发现 Desmin 降解程度、钙蛋白酶自溶程度及汁液流失率呈正相关。此外还发现, PSE 肉中 Desmin 开始发生降解的时间先于 RFN 肉, 说明 PSE 肉中 Desmin 的降解导致的肌原纤维的结构破坏快于 RFN 肉, PSE 肉对肉品持水性影响更大。有研究发现 Desmin 宰后第 1 d 未发生降解, 到了第 4 d 才发生轻微降解, 到第 10 d 降解了 70%。在 7 d 后, 由于骨架蛋白质的降解使得肌细胞横向膨胀导致持水性增加^[3]。郑伟的研究中发现宰后猪肉样品 1~7 h 的 Desmin 完整度与汁液流失均无显著相关性, 这与其他人研究结果不一致^[33]。王颖等^[34]研究发现, Desmin 的含量在高极限 pH 后 2 d 内显著持续下降, 在中极限 pH 组中明显下降至宰后 5 d, 而在低极限 pH 组中宰后 7 d 内一直持续显著下降。由此可见, Desmin 在高极限 pH 的情况下降解速度更快。由上述所知, Desmin 降解程度与肉品温度、pH、蛋

白酶等因素共同作用影响着肉品的持水性。

2.5 整合素(Integrin)对肉持水性的影响

Integrin 是一类异二聚跨膜蛋白, 是由内而外和由外而内的信号通路介导细胞与细胞外环境之间的信息传递者^[5]。如图 1 所示, Integrin 位于肌膜上, 穿过膜内外与其他骨架蛋白结合发生作用。Integrin 分子是由两个子单元称为 α (120~185 kDa)和 β (90~110 kDa), 迄今为止, 超过 24 种不同的 α 和 β 链的组合已被识别, 导致细胞外蛋白识别的高特异性^[35]。 β 链主要负责细胞膜与细胞体的结合, 而 α 链则更多地参与了与基质的相互作用。Integrin 的主要功能是细胞与基质的粘附和细胞间的接触, Integrin 作为一种膜受体, 通过传递细胞环境的结构和组成信息, 参与信号转导和细胞对微环境信号的反应^[36]。Integrin 与细胞骨架有许多信号通路, 如 MAPK 信号通路、RHO 介导的信号通路、整合素-肌动蛋白间信号通路等^[37]。研究发现, 在由胞内向胞外传导信号的过程中, Talin 在调节 Integrin 胞外结构域结合配体亲和力上起着关键的作用。Talin 与 Integrin 亚基的胞质结构域结合, 形成长 C 端杆结构域, 与肌动蛋白细胞骨架形成多重连接。Talin 头域通过与细胞质尾部结合激活整合素 β -integrin 和酸性膜磷脂。磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸(PIP2)可增强 Talin 在质膜上的附着, 从而诱导 Talin 构象改变, 暴露 Integrin 结合位点^[38]。

有个形成滴水通道的假说: 在屠宰后的最初几个小时内, 胴体进入僵直状态, 肌肉纤维收缩, 水从各个肌原纤维之间被挤出, 肌肉纤维表面的钙蛋白酶被激活, Integrin 被降解, 细胞膜脱离纤维, 形成滴水通道, 然后, 水会填补这些空隙, 并很容易以水滴的形式流失^[39]。然而, 如果 calpain 介导的 Integrin 降解发生在开始变硬之后, 那么从纤维中挤出的水分就会被排出到周围的结缔组织中。由于结缔组织本身具有固有的锁水能力, 液体更好地保留在组织中, 最终滴水损失减少^[40]。李华健等^[41]研究表明宰后 3、9、24 h 肉品的汁液流失率与 Integrin 的表达水平呈显著负相关。随着宰后猪肉中 pH 的降低, Integrin 的降解会增加汁液流失。由于 Integrin 是跨膜蛋白, 如图 1 所示, Integrin 的降解会造成膜和黏附结构被破坏, 肌细胞/膜的相互作用减弱, 形成汁液通道, 增加汁液流失。Zhang 等^[42]报道, 宰后 24 h Integrin 的完整性与宰后 24 及 120 h 的滴水损失呈显著负相关, 相关系数分别是 -0.3022 和 -0.2864。Integrin 的降解, 尤其是 Integrin 的 β 亚基的降解, 削弱了细胞膜与细胞的黏附作用, 导致水分更容易从细胞膜与细胞的缝隙中流失。在肌肉组织中, 从细胞骨架到细胞外基质的连续连接是由两个特定的蛋白质家族组成的, 它们分别是肌营养不良蛋白/肌营养不良聚糖复合物和 Integrin。细胞膜通过两种主要类型的粘附复合物附着在细胞体上, 这两种粘附复合物是含 Integrin 的局灶性粘附和蛋白的营养不良蛋白/营养不良聚糖

合物。Integrin 是负责细胞膜粘附在细胞骨架上的主要成分之一^[5]。从以上研究可知, Integrin 的特殊位置对肉品的汁液流失影响较大, 在形成汁液流失通道中有着重要的作用。

3 影响骨架蛋白降解的因素

3.1 钙蛋白酶系统 (calpain)

钙蛋白酶启动骨架蛋白的降解, 在肉质调控方面发挥着重要作用, 图 1 就显示着钙蛋白的降解作用。钙蛋白酶主要位于肌肉纤维 Z 盘附近和肌质网膜上, calpain 蛋白分解系统至少包括 4 种成分。其中: 微摩尔浓度的钙离子可激活 μ -calpain, 也称为 calpain-1; calpain-2 是只有毫摩尔浓度的钙离子可激活, 也称 m-calpain; calpain-3 是骨骼肌中特有的酶, 存在于带皮的纤维和骨骼肌肌浆中, 可被钙离子激活; calpastatin, 它是 μ -calpain 和 m-calpain 的抑制蛋白, 是钙激活蛋白酶的抑制因子, 对调控 calpain 的活性有重要作用。屠宰后, 肌肉肌浆内钙离子浓度升高, 钙蛋白酶发生自溶, μ -calpain 和 m-calpain 都由 80 kDa 大亚基分别变成了 76 和 78 kDa 亚基, 2 种钙蛋白酶的 28 kDa 的亚基降解为 18 kDa 的亚基。钙蛋白酶自溶后则发挥活性, 启动了肌肉蛋白质的降解。因此, 调控钙离子浓度对钙蛋白酶的激活有重要的意义^[43]。钙蛋白破坏肌肉超微结构、Z 线弱化并消失, 促进肌原纤维小片化, 改善肌肉嫩度和持水性。Bee^[44] 等报道, 高 pH 更容易激活 μ -钙蛋白酶的自溶, 生成更多的 76 kDa 亚基, 启动细胞蛋白质降解。钙蛋白酶自溶后, 降解蛋白质, 但钙蛋白酶的活性位点含有组氨酸和半胱氨酸残基, 很容易受到自由基的攻击而失活或活性降低^[45]。

3.2 组织蛋白酶 (lysosomal cathepsins)

组织蛋白酶是参与细胞内蛋白质分解代谢以及其他各种生理和病理过程的溶酶体肽酶^[46]。组织蛋白酶存在于溶酶体中, 溶酶体被破坏后释放出组织蛋白酶参与蛋白的水解过程。与钙蛋白酶相比, 组织蛋白酶在宰后胴体 pH 下降后中发挥着重要的作用^[47]。丰永红等^[48] 研究发现, 畜禽在宰后成熟过程中, 组织蛋白酶的活性基本呈现先升高后下降的趋势, 组织蛋白酶 B、L 活性远高于组织蛋白酶 H 活性。组织蛋白酶 L 活性较组织蛋白酶 B 活性更高, 蛋白水解作用更大。Baron 等^[49] 实验发现, 钙蛋白酶会先破坏 Desmin 的结构, 组织蛋白酶会将产物降解为更小的肽类。颜龙杰等^[50] 研究凡纳滨对虾组织蛋白酶 L 对肌肉蛋白降解过程中发现, 分子量大于 60 kDa 的蛋白均出现降解, 其中肌球蛋白重链最先发生降解, 并在 180 min 之内基本降解完全。可见组织蛋白酶在宰后成熟中降解肌原纤维发挥着重要的作用。研究表明, 在应激过程中 pH 下降, 可能促进溶酶体、线粒体和肌原纤维的膜通透性解体, 使得组织蛋白酶快速释放到肌原纤维中, 促进肌肉降解^[51]。这就解释了组织蛋白酶存在于溶酶体中不能与肌原纤维快速接触

却能够被其降解的原因。

3.3 细胞凋亡酶 (caspase)

细胞凋亡酶是半胱氨酸蛋白酶, 目前已经发现了 14 种, 主要在细胞凋亡过程中发挥作用。宰后肌肉细胞主要是以凋亡的方式死亡且细胞凋亡酶 3、6 和 7 等参与细胞蛋白质的降解, 也参与宰后肉品成熟过程。有实验证明, 细胞凋亡酶 3、7 和 9 在宰后 0 和 32 h 的活性变化比率与肉的嫩度显著相关^[52], 而前文提到嫩度与肉品的持水性有相关性, 从而细胞凋亡酶对持水性有一定的影响作用。将细胞凋亡酶 3 与肌原纤维蛋白进行体外孵育发现, 肌钙蛋白和 Desmin 等会出现降解。自然成熟条件下, 加入 caspase-3 的专一性抑制剂可以抑制 Desmin、伴肌动蛋白等的降解。随着宰后时间的延长, caspase-3 逐渐失活, 并且活性变化与剪切力变化之间相关性不显著^[53]。贾青等^[54] 在牦牛肉中加入 caspase-3 抑制剂 (Ac-DEVD-CHO) 观察肌原纤维降解, 实验发现宰后 12 h 后 caspase-3 抑制剂对牦牛肌原纤维降解抑制效果显著。宰后 120 h 后肌原纤维出现不同程度降解, caspase-3 抑制剂几乎无抑制效果。而 Tian 等^[20] 人的研究发现, 加入 caspase-3 抑制剂 (Ac-DEVD-CHO) 处理组和对照组肉品相比, 未见完整 Plectin 和降解 Plectin 的显著差异, 可以推测完整 Plectin 及其降解产物可能不是死后猪肉中 caspase-3 的底物。对于加入 calpain 抑制剂 (MDL-28170) 的处理组, 含有抑制剂中有明显高强度的完整的 Plectin, 而对照组中几乎消失, 说明 Plectin 的降解主要是由 calpain 降解的。由上所知, 细胞凋亡酶能够加速肌钙蛋白和 Desmin 的降解, 对 Plectin 无明显降解作用。因此, 细胞凋亡酶对蛋白降解底物具有选择性和特异性。

3.4 蛋白质亚硝基化

蛋白质亚硝基化是指一氧化氮及其衍生物修饰蛋白质中的半胱氨酸残基生成亚硝基硫醇的过程。蛋白质亚硝基化能够降低骨架蛋白对钙离子的敏感性以及抑制肌球蛋白 ATP 酶的活性^[55], 主要通过调节细胞内钙离子浓度, 钙蛋白酶需要钙离子的激活才能发挥水解活性, 最终影响着蛋白的降解。李玉品^[56] 等人研究发现 GSNO (一氧化氮供体亚硝基谷胱甘肽) 修饰的肌原纤维蛋白改变了其对钙蛋白酶的敏感性, 提高了 Desmin 和肌联蛋白降解程度 ($P < 0.05$), 抑制了肌钙蛋白的降解程度 ($P < 0.05$)。张朝阳^[57] 等用 GSNO 和一氧化氮合成酶抑制剂 N-单甲基-L 精氨酸乙酸酯 (L-NAME) 调控宰后成熟过程中牛肌肉细胞内一氧化氮的含量, 探究蛋白质亚硝基化对牛肉品质的影响。通过电镜观察肌纤维结构发现, 在成熟第 7 d, 与对照组 GSNO 处理组相比, L-NAME 处理组的肌纤维 M 线已不可辨认、Z 线模糊不清、结构完整度下降。这表明蛋白质亚硝基化能够提高牛肉中蛋白质的氧化水平, 减少肌纤维结构的破坏。

L-NAME 处理降低了蛋白质硝基化程度,可以降低牛肉的极限 pH 和持水力,提高牛肉嫩度和亮度值。

3.5 热休克蛋白 (HSPs)

热休克蛋白是蛋白质组装与拆卸、蛋白质折叠与展开以及受损蛋白的再折叠过程中必不可少的分子伴侣。它们在保护细胞和结构方面发挥重要作用,并具有抗凋亡活性^[58]。HSP 有 5 大类,分别为小分子量 HSP 家族(泛素、HSP10、 $\alpha\beta$ -crystallin、HSP27、HSP32、HSP27)、中等分子量 HSP 家族、HSP70 家族、HSP90 家族和 HSP110 家族,其中 $\alpha\beta$ -crystallin 是 sHSP 家族中的重要成员,它保护细胞骨架蛋白免受各种应激因素的损伤、防止蛋白变性和使变性的蛋白恢复折叠,具有分子伴侣作用,HSP27 也可参与细胞的增殖、分化及细胞凋亡的信号转导调节等。HSP27 对 ROS(Reactive oxygen species)有抑制作用,也可以表达为对骨架蛋白的保护作用,减少蛋白的降解^[59]。Balan 等^[60]以低、中、高 pH 的牛肉研究 sHSP 对肌肉质量的影响,发现宰后第 1 d,与低 pH 牛肉相比,在中 pH 牛肉中观察到更完整的 sHSPs。此外,sHSP 20 和 27 的降解与肌原纤维蛋白 Desmin 和肌钙蛋白的降解之间存在高度显著的相关性。孙金龙等^[61]在研究 HSP27 对肌原纤维影响时发现 HSP27 能够通过抑制 caspase-3、caspase-9 的活性来抑制肌原纤维小片化的发生和 Desmin 和肌钙蛋白的降解。同时发现,Hsp27 能够抑制 μ -钙激活酶和 Caspase-3 对肌原纤维蛋白的降解,如图 1 所示。

4 结论

持水性影响着肉品的加工特性、感官性质和经济效益。肌肉纤维的结构变化与肌肉的持水性密切相关,其中骨架蛋白的降解直接影响到肉品的持水性,本文主要探究了 Dystrophin、Plectin、Desmin、Talin、Integrin 等近年来研究发现的主要骨架蛋白的作用机制及对肉品持水性的影响。钙蛋白酶、组织蛋白酶、细胞凋亡酶、蛋白质亚硝基化、热休克蛋白等,这些因素形成了一个复杂系统共同影响着骨架蛋白的降解。

目前对于影响骨架蛋白降解的因素以及骨架蛋白与肉品持水性关系的研究还有待进一步研究确认,蛋白酶系统的交互作用对于肌肉持水性的影响仍旧是亟需探索的研究方向。通过调控宰后肉品的骨架蛋白降解,提高肉品的持水性,获得优良的肉产品,是肉品行业重要的研究方向。

参考文献

[1] 贾胜男. 骨架蛋白降解对冷鲜草鱼质构影响的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019. [Jia S N. Study on the effect of skeleton protein degradation on the texture of chilled grass carp[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.]

[2] 魏秀丽. 宰后 Calpain 介导的猪肉水分迁移机制研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016. [Wei X L. Study on the mechanism of calpain-mediated pork water migration after slaughter[D]. Beijing:

Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2016.]

[3] Huff L, Parrish F C, Robson R M. Effects of postmortem aging time, animal age, and sex on degradation of titin and nebulin in bovine longissimus muscle[J]. *Anim Science*, 1995, 73(4): 1064–1073.

[4] 金英, 张炯, 王金泉. 肾小球足细胞骨架蛋白的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(4): 971–976. [Jing Y, Zhang J, Wang J Q. Research progress of glomerular podocyte skeletal protein[J]. *Journal of Clinical and Pathology*, 2020, 40(4): 971–976.]

[5] Magdalena Górska, Wojtyśiak D. Integrin degradation during postmortem storage and drip loss in pork[J]. *Medycyna Weterynaryjna*, 2017, 73(6): 325–328.

[6] Kristensen L, Purslow P P. The effect of ageing on the water-holding capacity of pork: Role of cytoskeletal proteins[J]. *Meat Science*, 2001, 58(1): 17–23.

[7] 钱书意. 肌肉蛋白冷冻变性介导的解冻汁液“回吸”机制[D]. 天津: 天津商业大学, 2018. [Qian S Y. The mechanism of muscle protein freezing and denaturation-mediated thawing juice “back sucking”[D]. Tianjin: Tianjin University of Commerce, 2018.]

[8] Huff-Lonergan E, Lonergan S M. New frontiers in understanding drip loss in pork: Recent insights on the role of postmortem muscle biochemistry[J]. *Journal of Animal Breeding & Genetics*, 2015, 124: 19–26.

[9] Puolanne E. New aspects of meat quality: Developments in our understanding of water-holding capacity in meat[J]. 2017: 167–190.

[10] Xie X, Mahmood S R, Gjorgjieva T, et al. Emerging roles of cytoskeletal proteins in regulating gene expression and genome organization during differentiation[J]. *Nucleus(Austin Tex)*, 2020, 11(1): 53–65.

[11] 于滢, 杨诚, 武俸羽. 骨骼肌结构与损伤修复机制研究[J]. *哈尔滨体育学院学报*, 2019(6): 16–21. [Yu Y, Yang C, Wu F Y. Research on skeletal muscle structure and damage repair mechanism[J]. *Journal of Harbin Institute of Physical Education*, 2019(6): 16–21.]

[12] Yuen M, Ottenheijm C A C. Nebulin: Big protein with big responsibilities[J]. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 2020, 41(Pt11): 103–124.

[13] Hoffman E P. The discovery of dystrophin, the protein product of the duchenne muscular dystrophy gene[J]. *The FEBS Journal*, 2020: 287.

[14] 黄巧婷. 低氧暴露对大鼠急性离心运动后 Dystrophin 表达的影响[D]. 北京: 北京体育大学, 2016. [Huang Q T. Effects of hypoxia exposure on the expression of Dystrophin after acute eccentric exercise in rats[D]. Beijing: Beijing Sport University, 2016.]

[15] Skuk Daniel, Tremblay J P. Confirmation of donor-derived dystrophin in a duchenne muscular dystrophy patient allotransplanted with normal myoblasts[J]. *Muscle & Nerve*, 2016, 54(5): 979–981.

[16] Taylor R G, Geesink G H, Thompson V F, et al. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization?[J]. *Journal of Animal Science*, 1995, 73(5): 1351–1367.

[17] Wojtyśiak D, Calik J, Krawczyk J, et al. Postmortem

- degradation of desmin and dystrophin in breast muscles from capons and cockerels[J]. *Annals of Animal Science*, 2019, 19(3): 835–846.
- [18] Nemova N N, Lysenko L A, Kantserova N P. Degradation of skeletal muscle protein during growth and development of salmonid fish[J]. *Russian Journal of Developmental Biology*, 2016, 47(4): 161–172.
- [19] Maria J C, Walko G, Winter L, et al. Plectin–intermediate filament partnership in skin, skeletal muscle, and peripheral nerve[J]. *Histochemistry and Cell Biology*, 2013: 33–53.
- [20] Tian X, Wang Y, Fan X, et al. Expression of pork plectin during postmortem aging[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(42): 11718–11727.
- [21] Argente-Escrig H, Schultheis D, Kamm L, et al. Plectin-related scapuloperoneal myopathy with treatment-responsive myasthenic syndrome[J]. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 2020, 47(2): 352–356.
- [22] 阿依木古丽·艾尼, 叶建蔚, 李静. 踝蛋白的功能及其研究进展[J]. *中国医药导报*, 2019, 16(27): 37–40. [Ayimuguli Aini, Ye J W, Li J. The function of talarin and its research progress[J]. *China Medical Herald*, 2019, 16(27): 37–40.]
- [23] Fehon R G, McClatchey A I, Bretscher A. Organizing the cell cortex: The role of ERM proteins[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2010, 11(4): 276–287.
- [24] Kuroda M, Wada H, Kimura Y, et al. Vinculin promotes nuclear localization of TAZ to inhibit ECM stiffness-dependent differentiation into adipocytes[J]. *Journal of Cell Science*, 2017, 130(5): 989–1002.
- [25] Atherton P, Stutchbury B, Jethwa D, et al. Mechanosensitive components of integrin adhesions: Role of vinculin[J]. *Experimental Cell Research*, 2016, 343(1): 21–27.
- [26] Huff-Lonergan E, Lonergan S M. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes[J]. *Meat Science*, 2005, 71(1): 194–204.
- [27] 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.
- [28] Melody J L, Lonergan S M, Rowe L J, et al. Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles[J]. *Journal of Animal Science*, 2004, 82(4): 1195–1205.
- [29] 杨汝男, 李燕清, 陈韬. 宰后猪背最长肌踝蛋白降解与汁液流失率的关系[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(20): 12–17. [Yang R N, Li Y Q, Chen T. Relationship between degradation of longissimus muscle ankle protein and juice loss rate of pigs[J]. *Food Industry Technology*, 2018, 39(20): 12–17.]
- [30] Schäfer A, Rosenvold K, Purslow P P, et al. Physiological and structural events post mortem of importance for drip loss in pork[J]. *Meat Science*, 2002, 61(4): 355–366.
- [31] Ferry A, Messéant J, Parlakian A, et al. Desmin prevents muscle wasting, exaggerated weakness and fragility, and fatigue in dystrophic mdx mouse[J]. *The Journal of Physiology*, 2020, 598(17): 3667–3689.
- [32] 张冬怡, 陈韬, 吴霜, 等. 猪宰后正常肉与 PSE 肉中肌间线蛋白和钙激活酶的变化与持水性的关系[J]. *食品科技*, 2015, 40(6): 130–135. [Zhang D Y, Chen T, Wu S, et al. The relationship between the changes of myogenin and calcium activating enzyme in normal meat and PSE meat after slaughter and the water holding capacity[J]. *Food Technology*, 2015, 40(6): 130–135.]
- [33] 郑伟. 猪宰后肌肉肌间线蛋白和整联蛋白变化与持水性的关系[D]. 昆明: 云南农业大学, 2013. [Zheng W. The relationship between the changes of muscle myosin and integrin and water holding capacity after slaughter in pigs[D]. Kunming: Yunnan Agricultural University, 2013.]
- [34] 王颖, 李欣, 李铮, 等. 极限 pH 对羊肉宰后成熟过程中肌原纤维蛋白特型的影响[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(2): 13–18. [Wang Y, Li X, Li Z, et al. The effect of extreme pH on the characteristics of myofibrillar protein during the maturation of mutton after slaughter[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(2): 13–18.]
- [35] 张鲁馨, 张欣, 王继红. 整合蛋白内化及再循环机制[J]. *中国细胞生物学学报*, 2017, 39(9): 1228–1233. [Zhang L X, Zhang X, Wang J H. Integrin internalization and recycling mechanism[J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2017, 39(9): 1228–1233.]
- [36] 张西德, 倪豪, 陆文博, 等. 整合素 $\alpha 7$ 与肿瘤关系的研究进展[J]. *癌变·畸变·突变*, 2020, 32(4): 317–320, 324. [Zhang X, Ni H, Lu W B, et al. Research progress of the relationship between integrin $\alpha 7$ and tumor[J]. *Carcinogenesis · Aberration · Mutation*, 2020, 32(4): 317–320, 324.]
- [37] 李洋, 洪莉. 整合素与细胞骨架生物学关系研究进展[J]. *医学综述*, 2019, 25(1): 44–48. [Li Y, Hong L. Research progress on the relationship between integrins and cytoskeleton biology[J]. *Medical Review*, 2019, 25(1): 44–48.]
- [38] Bromberger T, Zhu L, Klapproth S, et al. Rap1 and membrane lipids cooperatively recruit talin to trigger integrin activation[J]. *Journal of Cell Science*, 2019, 132(21): 1799–1809.
- [39] Lawson M A. The role of integrin degradation in post-mortem drip loss in pork[J]. *Meat Science*, 2004, 68(4): 559–566.
- [40] Basser P J, Schneiderman R, Bank R A, et al. Mechanical properties of the collagen network in human articular cartilage as measured by osmotic stress technique[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1998, 351(2): 207–219.
- [41] 李华健, 陈韬, 杨波若, 等. 宰后猪肉 pH、骨架蛋白变化和持水性之间的关系[J]. *食品科学*, 2021, 42(3): 14–20. [Li H J, Chen T, Yang B, et al. Relationships of pH and cytoskeletal protein expression levels with water-holding capacity of pork during post-mortem aging[J]. *Food Science*, 2021, 42(3): 14–20.]
- [42] Zhang W G, Lonergan S M, Gardner M A, et al. Contribution of postmortem changes of integrin, desmin and μ -calpain to variation in water holding capacity of pork[J]. *Meat Science*, 2006, 74(3): 578–585.
- [43] 刘瑞. 一氧化氮在猪肉成熟过程中的作用机理研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2018. [Liu R. Study on the mechanism of nitric oxide in the ripening process of pork[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural College, 2018.]
- [44] Bee G, Anderson A L, Lonergan S M, et al. Rate and extent

- of pH decline affect proteolysis of cytoskeletal proteins and water-holding capacity in pork[J]. *Meat Science*, 2007, 76(2): 359–365.
- [45] Guttman R P, Johnson G V. Oxidative stress inhibits calpain activity in situ[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273(21): 13331–13338.
- [46] Jakoš T, Pišlar A, Fonović U P, et al. Lysosomal peptidases in innate immune cells: implications for cancer immunity[J]. *Cancer Immunology and Immunotherapy*, 2020, 69(2): 275–283.
- [47] 李晶晶, 张瑞红, 韩冬雪, 等. 畜禽宰后肌肉嫩化相关酶研究进展[J]. *食品科学*, 2015, 36(15): 240–244. [Li J J, Zhang R H, Han D X, et al. Research progress on related enzymes of muscle tenderization after slaughter in livestock and poultry[J]. *Food Science*, 2015, 36(15): 240–244.]
- [48] 丰永红, 李海鹏, 张松山, 等. 牛肉肌纤维类型差异及成熟过程中组织蛋白酶活性研究[J]. *农业机械学报*, 2020, 51(7): 355–364. [Feng Y H, Li H P, Zhang S S, et al. Study on the difference of beef muscle fiber types and cathepsin activity during maturation[J]. *Journal of Agricultural Machinery*, 2020, 51(7): 355–364.]
- [49] Baron C P, Jacobsen S, Purslow P P. Cleavage of desmin by cysteine proteases: Calpains and cathepsin B[J]. *Meat Science*, 2004, 68(3): 447–456.
- [50] 颜龙杰, 沈建东, 张凌晶, 等. 凡纳滨对虾组织蛋白酶L性质分析及其对肌肉蛋白的降解[J]. *食品科学*, 2017, 38(22): 34–40. [Yan L J, Shen J D, Zhang L J, et al. Analysis of the properties of cathepsin L in *Litopenaeus vannamei* and its degradation of muscle protein[J]. *Food Science*, 2017, 38(22): 34–40.]
- [51] Zhang L T, Zhang Y Q, Jia S L, et al. Stunning stress-induced textural softening in silver carp(*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets and underlying mechanisms[J]. *Food Chemistry*, 2019, 295(OCT. 15): 520–529.
- [52] Kemp C M, Bardsley R G, Parr T. Changes in caspase activity during the postmortem conditioning period and its relationship to shear force in porcine longissimus muscle[J]. *Journal of Animal Science*, 2006, 84(10): 2841–2846.
- [53] Huang F, Huang M, Zhou G, et al. *In vitro* proteolysis of myofibrillar proteins from beef skeletal muscle by caspase-3 and caspase-6[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2011, 59(17): 9658.
- [54] 贾青. 细胞凋亡酶-3及其抑制剂对宰后牦牛肉品质变化的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016. [Jia Q. Effects of apoptosis enzyme-3 and its inhibitors on the quality of yak meat after slaughter[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2016.]
- [55] 郎玉苗, 孙宝忠, 马立新, 等. 蛋白质巯基亚硝基化及其对宰后成熟肉品质影响的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(8): 330–334. [Lang Y M, Sun B Z, Ma L X, et al. Research progress on protein sulfhydryl nitrosylation and its effect on the quality of mature meat after slaughter[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(8): 330–334.]
- [56] 李玉品. 蛋白质亚硝基化对宰后猪肉钙蛋白酶系统和蛋白质降解的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2015. [Li Y P. The effect of protein nitrosylation on the calpain system and protein degradation of pork after slaughter[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015.]
- [57] 张朝阳. 蛋白质亚硝基化对牛肉成熟过程中品质的影响研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2018. [Zhang C Y. The effect of protein nitrosylation on beef quality during maturation[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2018.]
- [58] 贺学岗, 张广智, 马占军, 等. 热休克蛋白在脊髓损伤中的研究进展[J]. *生命科学研究*, 2020, 24(4): 339–344. [He X G, Zhang G Z, Ma Z J, et al. Research progress of heat shock proteins in spinal cord injury[J]. *Life Science Research*, 2020, 24(4): 339–344.]
- [59] 陆鹰, 郭小芙, 徐蓉. 热休克蛋白27、白细胞介素-37与重症胰腺炎肺损伤的相关性研究[J]. *标记免疫分析与临床*, 2020, 27(8): 1333–1336. [Lu Y, Guo X F, Xu R. The relationship between heat shock protein 27, interleukin-37 and lung injury in severe pancreatitis[J]. *Labeled Immunoassays and Clinics*, 2020, 27(8): 1333–1336.]
- [60] Balan P, Kim Y H B, Blijenburg R. Small heat shock protein degradation could be an indicator of the extent of myofibrillar protein degradation[J]. *Meat Science*, 2014, 97(2): 220–222.
- [61] 孙金龙, 师希雄, 黄峰, 等. 藏羊肉宰后成熟过程中热休克蛋白27对肌原纤维蛋白及细胞凋亡酶的影响[J]. *食品科学*, 2020, 41(3): 24–29. [Sun J L, Shi X X, Huang F, et al. Effects of heat shock protein 27 on myofibrillar protein and apoptosis enzymes during postmortem maturation of Tibetan lamb[J]. *Food Science*, 2020, 41(3): 24–29.]