

差异蛋白质组学在乳蛋白研究中的应用进展

陈静廷^{1,2} 马露¹ 杨晋辉¹ 张娟霞¹ 李发第² 卜登攀^{1*}

(1. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 动物营养学国家重点实验室, 北京 100193;

2. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 兰州 730070)

摘要: 蛋白质组学是后基因时代的重要研究方向之一, 有助于了解乳蛋白的组成、表达水平及修饰状态等, 在乳蛋白的研究中具有广泛的应用前景。而差异蛋白质组学是蛋白质组学研究的主要内容之一, 可反映蛋白质的动态本质。本文主要就差异蛋白质组学在乳蛋白含量及组分、疾病生物学标记的鉴定及乳蛋白热处理的变化等方面的研究进行综述。

关键词: 差异蛋白质组学; 牛乳; 乳蛋白

中图分类号: Q51

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2013)08-1683-06

乳蛋白是牛乳的重要组成成分之一, 含有人体所需的多种必需氨基酸且生物活性物质含量丰富, 具有较高的营养价值和多种潜在的生物学功能, 在维持人体健康方面具有重要作用。乳蛋白的合成受到诸多因素的影响, 致使乳蛋白的合成及表达呈现出一定的差异。此外, 蛋白质间还存在复杂的相互作用, 在执行生理功能时表现出多样性、动态性^[1]。因此, 传统的对单个蛋白质进行研究的方式已无法满足后基因时代的要求。蛋白质组学能够直观、整体地研究蛋白质的组成与调控的活动规律, 便于全面深入地了解蛋白质的表达信息, 近年来受到了广泛关注。本文主要从差异蛋白质组学分析的角度, 探讨蛋白质组学在乳蛋白研究方面的应用, 以期对相关研究提供一定的参考。

1 乳蛋白的组成

牛乳成分复杂, 营养价值极高, 是人们生命活动中重要的营养源之一。乳蛋白是牛乳的主要成分之一, 也是人类膳食蛋白质的重要来源。牛乳中乳蛋白的含量为 3.0% ~ 3.7%, 按结构、功能及溶解性的不同主要分为 3 大类: 酪蛋白(CN)、乳

清蛋白(WP)和乳脂球膜蛋白(MFGM)。酪蛋白约占牛乳蛋白的 80%, 主要包括 α_{s1} -酪蛋白(α_{s1} -CN)、 α_{s2} -酪蛋白(α_{s2} -CN)、 β -酪蛋白(β -CN)和 κ -酪蛋白(κ -CN)。乳清蛋白主要组分包括 β -乳球蛋白(β -LG)、 α -乳白蛋白(α -LA)、血清白蛋白(SA)、乳铁蛋白(Lf)、免疫球蛋白 G(IgG), 还存在多种小分子蛋白质, 如酶类、金属结合蛋白等低丰度蛋白质^[2-3]。乳脂球膜蛋白包括黏液蛋白 1、黄嘌呤氧化酶、嗜乳脂蛋白、乳凝集素及脂肪分化相关蛋白等, 在常乳乳蛋白中的含量仅为 1% ~ 4%, 营养价值较低, 但在初乳中含量较高, 在新生儿的防御机制及细胞生长过程中具有重要作用^[4-5]。乳中蛋白质种类繁多, 经过大量的遗传变异和丰富的翻译后修饰, 乳蛋白的组成变得异常复杂、庞大^[6]。

2 蛋白质组学概述

蛋白质组学以蛋白质组为研究对象, 在整体水平上对复杂蛋白质混合物中动态变化的蛋白质组成成分、表达水平与修饰状态进行同步、高通量分析, 以对测定成分进行检测、鉴定以及特性描述, 有助于了解蛋白质之间的相互作用与联系, 从

收稿日期: 2013-02-01

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划(2012BAD12B02-05); 动物营养学国家重点实验室自主研究课题(2004DA125184G1103)

作者简介: 陈静廷(1987-), 女, 河北石家庄人, 硕士研究生, 研究方向为反刍动物营养。E-mail: chenjingting911@163.com

* 通讯作者: 卜登攀, 副研究员, 硕士生导师, E-mail: burdenpan@gmail.com

而认识生命活动的机理和疾病发生的分子机制^[7-9]。蛋白质组学的研究内容主要涉及组成蛋白质组学、相互作用蛋白质组学和差异蛋白质组学^[10],其中差异蛋白质组学主要通过比较分析不同状态或近似物种间蛋白质的表达图谱,实现对体系内代谢调控的动态监测,从而揭示机体对内外界环境变化产生反应的本质规律,能够反映蛋白质的动态本质^[11]。蛋白质样品的制备、蛋白质浓度测定、蛋白质分离、质谱分析、肽质量指纹图谱的检索和蛋白质鉴定及生物信息学分析是蛋白质组学研究的基本步骤,其关键技术主要包括高通量的蛋白质分离技术、大规模的蛋白质鉴定技术和生物信息学。目前最常用的蛋白质分离技术有二维凝胶电泳(2-DE)和液相分离技术^[12-13]。质谱(MS)技术是蛋白质鉴定分析的主要支撑技术^[14-15]。生物信息学是基因组和蛋白质组研究中必不可少的工具,生物信息学涉及的数据库有 Mascot、ExPasy、Peptide Search、Protein Prospector 和 PRIDE 等^[16-17]。

随着蛋白质组学的不断发展,大量灵敏度高的研究方法,如双向荧光差异凝胶电泳(2D-DIGE)、多维液相色谱、相对和绝对定量同位素标记(iTRAQ)、蛋白质芯片(PC)及串联亲和纯化(TAP)等技术得到了普遍应用^[18-20],促进了蛋白质组学的成熟与完善。基因组学、转录组学、代谢组学和生物信息学等领域与蛋白质组学相互结合进行的系统研究也逐渐增多,促进了蛋白质组学的迅速发展。

3 差异蛋白质组学在乳蛋白研究中的主要应用现状

利用差异蛋白质组学技术可以对多种乳蛋白含量及组分的变化进行鉴定,也可对乳蛋白的糖基化、磷酸化等翻译后修饰的改变进行特征性描述,差异蛋白质组学已成为乳蛋白表达差异分析和翻译后修饰分析的重要工具,对全面揭示不同条件下乳蛋白的动态变化具有重要意义。

3.1 乳蛋白含量及组分差异的鉴定

近年来,不少学者利用差异蛋白质组学的方法对不同条件下乳蛋白的含量及组分差异进行了鉴定,为全面了解乳蛋白的表达信息提供了参考。

3.1.1 遗传差异

反刍动物乳中蛋白质组成成分相似,主要由

酪蛋白(α_{s1} -酪蛋白、 α_{s2} -酪蛋白、 β -酪蛋白和 κ -酪蛋白)、 β -乳球蛋白和 α -乳白蛋白组成,但存在一定的含量差异。与反刍动物乳相比,人乳中蛋白质种类更为丰富,但含量却低于牛乳、羊乳。人乳、牛乳和山羊乳中酪蛋白与乳清蛋白的比率不同,分别为30:70、85:15和80:20^[21]。水牛乳酪蛋白和奶牛乳酪蛋白的二维凝胶电泳图谱分析显示有14个差异蛋白质点,水牛乳酪蛋白和山羊乳酪蛋白的二维凝胶电泳图谱分析显示有10个差异蛋白质点。经质谱鉴定分析,得到4个属于水牛乳酪蛋白的主要组分,为发现不同乳源蛋白质中未知蛋白质提供了依据^[22]。

3.1.2 胎次及泌乳阶段差异

采用 iTRAQ 技术对分娩后第 7 天与第 1 天的乳脂肪球膜蛋白表达模式进行比较,发现嗜乳脂蛋白、黄嘌呤脱氢酶、脂肪酸结合蛋白等 26 种蛋白质的表达上调,阿朴脂蛋白 A1 等 19 种蛋白质的表达下调,说明定量差异蛋白质组学在奶牛泌乳机制的研究中具有较大的应用前景^[23]。对分娩后初乳中转铁蛋白进行分析,结果显示初乳中转铁蛋白表达丰度增加,表明初乳为新生犊牛矿物质的供给提供了重要保障^[24-25]。张乐颖等^[26]采用二维凝胶电泳结合液相色谱串联质谱的方法研究发现,与初产奶牛第 1 天的乳蛋白表达模式相比,第 3 胎奶牛第 1 天的乳蛋白表达图谱上有 4 种蛋白质表达量上调,而 2 个胎次第 21 天的乳蛋白表达模式无显著差异。这些差异表达的乳蛋白包括免疫球蛋白 G、免疫球蛋白 M、乳铁蛋白及具有运输功能的白蛋白。这些发现为揭示胎次及泌乳阶段对泌乳奶牛乳蛋白表达的影响机制奠定了基础。

3.1.3 饲粮差异

Yang 等^[27]采用二维凝胶电泳结合质谱(2DE-MS)技术研究十二指肠灌注 α -亚麻酸对泌乳奶牛乳蛋白组成的影响,结果发现当灌注量为0、100、200 g/d时乳蛋白组成未发生变化,灌注量为400 g/d时, β -酪蛋白 A2、 α_{s1} -酪蛋白变异体和白蛋白含量增加,说明用十二指肠瘘管灌注高剂量的 α -亚麻酸可引起奶牛小肠代谢应激而改变乳蛋白组成。用二维凝胶电泳结合高效液相色谱串联质谱对产前补充维生素AD₃E(V-AD₃E)的奶牛乳蛋白组成进行分析,结果发现V-AD₃E参与了乳蛋白的合成,提高了初乳中免疫球蛋白

G 和白蛋白的含量,上调了产后第 1 天乳中免疫球蛋白 G 和白蛋白含量,对产后第 21 天的乳蛋白表达没有影响,为饲料因素对乳蛋白表达的影响机制研究提供了一定的参考^[28]。

3.2 疾病生物学标记的检测

在疾病发生过程中,与疾病相关的遗传信息的变化常常会导致蛋白质的种类和数量发生改变。乳房炎是奶牛养殖过程中最常见的一种疾病,会导致乳汁中乳脂、乳蛋白的组成发生较大的变化,使牛乳产量及品质降低^[29]。通常用于奶牛乳房炎鉴定的方法有牛奶导电性、体细胞数和乳酸脱氢酶活力等的测定^[30-32]。近年来,差异蛋白质组学在奶牛疾病生物学标记检测中展示了其广阔的应用前景。

Wedholm 等^[33]对不同体细胞数牛乳多肽进行了反相高效液相色谱串联质谱的测定分析,结果表明酪蛋白降解产物的增加与体细胞数的增加相关。杨永新等^[34]采用二维凝胶电泳结合液相色谱串联质谱技术分析了不同体细胞数牛乳中乳蛋白的表达变化,结果发现在体细胞数增高时乳中酪蛋白水解产物和白蛋白含量增加,在临床乳房炎牛乳中 α -酪蛋白、 β -酪蛋白和 κ -酪蛋白几乎全部水解,而白蛋白、转铁蛋白、纤维蛋白原 β 链和结合珠蛋白等乳清蛋白表达量增加。沈维军等^[35]采用二维凝胶电泳结合质谱技术分析了高体细胞数低乳糖牛乳和正常牛乳,研究表明高体细胞数低乳糖牛乳中酪蛋白含量降低,而白蛋白、结合珠蛋白、乳铁蛋白、转铁蛋白和抗菌肽 1 等乳清蛋白表达量增加,表明随着牛乳中乳糖含量的降低,乳清蛋白组分表达量增加,这可能是奶牛乳腺在乳糖合成降低时乳腺上皮细胞完整性破坏引起的防御应答。Boehmer 等^[36]采用液相色谱串联质谱以及定量蛋白质组学方法对大肠杆菌诱导乳房炎奶牛感染前后的乳清蛋白进行了分析,发现感染后奶牛乳清蛋白中白蛋白含量增加。众多研究采用二维凝胶电泳结合质谱技术也发现了感染大肠杆菌后奶牛乳清蛋白表达发生了变化^[37-39]。

蛋白质组学在寻找和分析乳房炎标志蛋白质分子及病理过程引起的相关蛋白质修饰方面具有一定的优势^[40]。利用差异蛋白质组学分析患病奶牛和健康奶牛表达存在差异的蛋白质点,可为进一步监测疾病的分子诊断及深入开展疾病抗性的分子机理研究提供理论基础,有助于疾病的早期

诊断与治疗。

3.3 乳蛋白热处理变化的研究

3.3.1 热处理后乳蛋白含量及组分的鉴定

超高温处理可能导致乳蛋白发生变性。超高温灭菌(UHT)乳与巴氏杀菌乳的毛细管区带电泳图谱相比更为杂乱,表明热处理使乳蛋白发生变性聚集或分解,对其形态结构有较大的影响^[41]。乳蛋白含量及组分因热处理的不同而发生一定程度的变化。Chevalier 等^[42]研究指出经 90 °C 处理 30 min 后,牛乳中血清白蛋白、 β -乳球蛋白和 κ -酪蛋白含量分别减少 85%、75% 和 75%,随着加热时间的增加单分子的 κ -酪蛋白位点也逐渐减少。臧长江等^[43]采用比较蛋白质组学方法研究发现经 75 °C、15 s 巴氏杀菌,牛乳中蛋白质含量及组成无显著变化。高温灭菌(135 °C、4 s 和 145 °C、4 s)可造成乳中 α -乳白蛋白、 β -酪蛋白变体、 κ -酪蛋白和免疫球蛋白含量降低。因此,鲜牛乳经巴氏杀菌能够最大程度地保留乳中蛋白质组分和含量。利用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)对少量不同强度热处理牛乳中酪蛋白磷酸肽(CPP)进行鉴定,发现不同的热处理方式对乳中酪蛋白磷酸肽的影响较大,可将糖基化酪蛋白磷酸肽作为牛乳热处理强度特殊的检测指标之一^[44]。利用蛋白质组学分析不同热处理条件下乳蛋白的表达情况,可使我们在分子水平对不同热处理条件下牛乳的营养特性有更为深入的了解。

3.3.2 乳蛋白热敏感性的分析

经过不同时间的热处理,首先观察到 β -乳球蛋白二聚体减少,随后 α -乳白蛋白减少,但整个热处理阶段没有发现酪蛋白发生聚合^[45],说明与酪蛋白相比,乳清蛋白更易受热处理影响而变性^[46],其中血清白蛋白对热最敏感,85 °C 加热 5 min 几乎全部消失,而 α -乳白蛋白的耐热性较强。脱脂牛乳经 55 和 65 °C 热处理后, β -乳球蛋白 A 和 β -乳球蛋白 B 的变性率均低于 10%,95 °C 处理 5 min 后 β -乳球蛋白 A 和 β -乳球蛋白 B 均消失^[47]。牛乳经热处理引起乳清蛋白发生变性后,经质谱鉴定 β -乳球蛋白水解产生的 2 种多肽 41Val-Lys60 和 15Val-Arg40,在热处理过程中保持稳定状态,可作为定量分析乳制品中未降解乳清蛋白含量的目标蛋白^[48]。因此,应选取适当的加热温度及时间,提高乳蛋白的热稳定性

以降低其营养损失。

3.3.3 储存条件对乳蛋白的影响

已有学者对不同储存条件下乳蛋白的变化进行了研究。Holland 等^[49]研究发现热处理后由于基因的多态性及磷酸化变异使 α_{s1} -酪蛋白在凝胶上呈现出 5 个以上位点,超高温灭菌乳在储存过程中随着温度的提高,凝胶上酸性 α_{s1} -酪蛋白增多且分辨率降低。对保存于 4、28、40 °C 条件下的超高温灭菌乳进行二维凝胶电泳结合 MALDI-TOF-MS 分析,结果发现随着储存温度的升高,热处理引起蛋白质的变性程度增加, α -酪蛋白、 β -酪蛋白发生非二硫键结合,脱酰氨基作用使 α_{s1} -酪蛋白等酸性蛋白增多,乳清蛋白发生糖基化,应结合质谱分析对这些变化进行进一步分析^[50]。

4 小 结

差异蛋白质组学技术为乳蛋白的研究提供了新的思路和手段。目前,差异蛋白质组学已在不同条件下乳蛋白差异分析检测等研究中取得了一定的进展,但仍有很大的发展空间。相信随着蛋白质组学研究技术的逐步发展与完善,乳蛋白的合成、分泌、翻译后修饰及蛋白质之间的相互作用等生命活动规律的研究将会有所突破,乳蛋白表达的影响机制将获得更好的揭示。差异蛋白质组学将为完善不同条件下乳蛋白表达图谱、寻找疾病分子标记及疾病的临床诊断和治疗、乳品加工保存条件的优选等方面提供新的理论依据。

参考文献:

- [1] 何大澄,肖雪媛. 差异蛋白质组学及其应用[J]. 北京师范大学学报:自然科学版,2002,38(4):558-562.
- [2] CUNSOLO V, MUCCILLI V, SALETTI R, et al. Applications of mass spectrometry techniques in the investigation of milk proteome[J]. European Journal of Mass Spectrometry, 2011, 17: 305-320.
- [3] GAGNAIRE V, JARDIN J, JAN G, et al. Proteomics of milk and bacteria used in fermented dairy products: from qualitative to quantitative advances[J]. Journal of Dairy Science, 2009, 92: 811-825.
- [4] CAVALETTI M, GIUFFRIDA M G, CONTI A. Milk fat globule membrane components—a proteomic approach[J]. Advances in Cirrhosis, Hyperammonemia, and Hepatic Encephalopathy, 2008, 606: 129-141.
- [5] AFFOLTER M, GRASS L, VANROBAEYS F, et al. Qualitative and quantitative profiling of the bovine milk fat globule membrane proteome[J]. Journal of Proteomics, 2010, 73: 1079-1088.
- [6] ZHANG K, CHEN Y, ZHANG Z, et al. Unrestrictive identification of non-phosphorylation PTMs in yeast kinases by MS and PTMap[J]. Proteomics, 2010, 10(6): 896-903.
- [7] NILOFER S A, NABILA R, CHRISTINA M A K. Proteomics in clinical trials and practice present uses and future promise[J]. Molecular & Cellular Proteomics, 2006, 5: 1819-1829.
- [8] 赵楠,王桂媛,王玲姝,等. 蛋白质组学关键技术研究进展[J]. 生物技术通讯, 2011, 22(4): 580-583.
- [9] PENQUE D. Two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry for biomarker discovery[J]. Proteomics Clinical Applications, 2009, 3: 155-172.
- [10] PANDEY A, MANN M. Proteomics to study genes and genomes[J]. Nature, 2000, 405: 837-846.
- [11] 赵珺,李金泉,杜瑞平,等. 蛋白质组学技术的发展及其在肉质研究中的应用[J]. 畜牧与饲料科学, 2012, 33(2): 22-24.
- [12] ISSAQ H, VEENSTRA T. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2D-PAGE): advances and perspectives[J]. Biotechniques, 2008, 44(5): 697-700.
- [13] ALI I, ABUL-ENEIN H Y, SINGH P, et al. Separation of biological proteins by liquid chromatography[J]. Saudi Pharmaceutical Journal, 2010, 18: 59-73.
- [14] O' DONNELL R, HOLLANDA J W, DEETH H C, et al. Milk proteomics[J]. International Dairy Journal, 2004, 14: 1013-1023.
- [15] WILKINS M R, APPEL R D, VAN EYK J E, et al. Guidelines for the next 10 years of proteomics[J]. Proteomics, 2006, 6: 4-8.
- [16] 董书伟,荔霞,刘永明,等. 蛋白质组学研究进展及其在中兽医学中的应用探讨[J]. 中国畜牧兽医, 2012, 39(1): 45-49.
- [17] MARTENS L, HERMJAKOB H, JONES P, et al. PRIDE: the proteomics identifications database[J]. Proteomics, 2005, 5: 3537-3545.
- [18] MARTYNIUK C J, ALVAREZ S, DENSLow N D. DIGE and iTRAQ as biomarker discovery tools in aquatic toxicology[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2012, 76: 3-10.
- [19] SAUER U, DOMNANICH P, PREININGER C. Protein chip for the parallel quantification of high and low

- abundant biomarkers for sepsis [J]. *Analytical Biochemistry*, 2011, 419:46–52.
- [20] LI Y F. The tandem affinity purification technology: an overview [J]. *Biotechnology Letters*, 2011, 33: 1487–1499.
- [21] TAY E P, GAM L H. Proteomics of human and the domestic bovine and caprine milk [J]. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 2011, 19(1):45–53.
- [22] 向明霞,王丽娜,李子超,等. 基于双向电泳和质谱联用技术的水牛乳源酪蛋白的研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(12):188–200.
- [23] REINHARDT T A, LIPPOLIS J D. Developmental changes in the milk fat globule membrane proteome during the transition from colostrum to milk [J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(6):2307–2318.
- [24] STELWAGEN K, CARPENTER E, HAIGH B, et al. Immune components of bovine colostrum and milk [J]. *Journal of Animal Science*, 2009, 87:3–9.
- [25] PRZYBYLSKA J, ALBERA E, KANKOFER M. Antioxidants in bovine colostrum [J]. *Reproduction in Domestic Animals*, 2007, 42(4):402–409.
- [26] 张乐颖,王加启,杨永新,等. 胎次对泌乳初期奶牛低丰度乳蛋白表达的影响[J]. *东北农业大学学报*, 2011, 42(3):34–38.
- [27] YANG Y X, WANG J Q, YUAN T J, et al. Effect of duodenal infusion of free α -linolenic acid on the plasma and milk proteome of lactating dairy cows [J]. *Animal*, 2013, 7(2):293–299.
- [28] 张乐颖. 影响奶牛初乳中低丰度乳蛋白表达的因素研究[D]. 博士学位论文. 北京:中国农业科学院, 2010:28–32.
- [29] TURK R, PIRAS C, KOVACIC M, et al. Proteomics of inflammatory and oxidative stress response in cows with subclinical and clinical mastitis [J]. *Journal of Proteomics*, 2012, 75:4412–4428.
- [30] DE MOL R, OUWELTJES W. Detection model for mastitis in cows milked in an automatic milking system [J]. *Preventive Veterinary Medicine*, 2001, 49: 71–82.
- [31] KAMPHUIS C, SHERLOCK R, JAGO J, et al. Automatic detection of clinical mastitis is improved by inline monitoring of somatic cell count [J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91:4560–4570.
- [32] CHAGUNDA M, FRIGGENS N, RASMUSSEN M D, et al. A model for detection of individual cow mastitis based on an indicator measured in milk [J]. *Journal of Dairy Science*, 2006, 89:2980–2998.
- [33] WEDHOLM V, MOLLER A, LINDMARK-MANSSON H S, et al. Identification of peptides in milk as a result of proteolyses at different levels of somatic cell counts using LC MALDI MS/MS detection [J]. *Journal of Dairy Research*, 2008, 75(1):76–83.
- [34] 杨永新,王加启,卜登攀,等. 不同体细胞数牛乳中乳蛋白的比较蛋白质组学研究[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(12):2545–2552.
- [35] 沈维军,杨永新,王加启,等. 高体细胞数低乳糖含量时牛乳清蛋白组分变化的研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2012, 43(5):755–760.
- [36] BOEHMER J L, WARD J L, PETERS R R, et al. Proteomic analysis of the temporal expression of bovine milk proteins during coliform mastitis and label-free relative quantification [J]. *Journal of Dairy Sciences*, 2010, 93(2):593–603.
- [37] BOEHMER J L, BANNERMAN D D, SHEFCHECK K, et al. Proteomic analysis of differentially expressed proteins in bovine milk during experimentally induced *Escherichia coli* mastitis [J]. *Journal of Dairy Sciences*, 2008, 91(11):4206–4218.
- [38] HOGARTH C J, FITZPATRICK J L, NOLAN A M, et al. Differential protein composition of bovine whey: a comparison of whey from healthy animals and from those with clinical mastitis [J]. *Proteomics*, 2004, 4: 2094–2100.
- [39] SMOLENSKI G, HAINES S, KWAN F Y S, et al. Characterization of host defense proteins in milk using a proteomic approach [J]. *Journal of Proteome*, 2007, 6:207–215.
- [40] BOEHMER J L, DEGRASSEB J A, MCFARLAND M A, et al. The proteomic advantage: label-free quantification of proteins expressed in bovine milk during experimentally induced coliform mastitis [J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2010, 138: 252–266.
- [41] 李响镡. 南方水牛奶乳清蛋白与乳源乳清蛋白差异性的研究及其图谱系统的建立[D]. 硕士学位论文. 广州:暨南大学, 2011:64.
- [42] CHEVALIER F, KELLY A L. Proteomic quantification of disulfide-linked polymers in raw and heated bovine milk [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58:7437–7444.
- [43] 臧长江,王加启,杨永新,等. 热处理牛乳中乳蛋白变化的比较蛋白质组学的研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2012, 43(11):1754–1759.

- [44] PINTO G, CUOLLO M, NICOLAI M A, et al. Lactosylated casein phosphopeptides as specific indicators of heated milks [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 402: 1961 – 1972.
- [45] JOHNSON P, PHILO M, WATSON A, et al. Rapid fingerprinting of milk thermal processing history by intact protein mass spectrometry with non-denaturing chromatography [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59: 12420 – 12427.
- [46] CONSIDINE T, PATEL H A, ANEMA S G, et al. Interactions of milk proteins during heat and high hydrostatic pressure treatments—a review [J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2007, 8: 1 – 23.
- [47] ZHU X X, YU J H, ZHAO Z, et al. Distinction of different heat-treated skim milk by RP-HPLC of their whey proteins [J]. *Advanced Materials Research*, 2012, 468/469/470/471: 1482 – 1485.
- [48] CUCU T, MEULENAER B D, KERKAERT B, et al. MALDI based identification of whey protein derived tryptic marker peptides that resist protein glycation [J]. *Food Research International*, 2012, 47: 23 – 30.
- [49] HOLLAND J W, GUPTA R, DEETH H C, et al. UHT milk contains multiple forms of α S1-casein that undergo degradative changes during storage [J]. *Food Chemistry*, 2012, 133: 689 – 696.
- [50] HOLLAND J W, GUPTA R, DEETH H C, et al. Proteomic analysis of temperature-dependent changes in stored UHT milk [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59: 1837 – 1846.

Application of Differential Proteomics in Milk Protein Studies

CHEN Jingting^{1,2} MA Lu¹ YANG Jinhui¹ ZHANG Juanxia¹ LI Fadi² BU Dengpan^{1*}

(1. *State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China*; 2. *College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China*)

Abstract: Proteomics, as one of important research directions after genomics, had a wide range of application for studying the composition, expression level and modification status of milk proteins. Differential proteomics as one of the main contents of proteomics could reflect the dynamic nature of proteins. This article mainly reviewed the researches of differential proteomics in milk protein content and composition, disease biomarkers identification and the influence of thermal treatment on milk proteins, etc. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2013, 25 (8): 1683-1688]

Key words: differential proteomics; cow milk; milk protein