

Application of the Technology about Proteomics in Sericulture Research

Junjun Dai, Rui Shu, Jian Liu, Yuping Zhang, Ming Chen, Lili Zhang, Tao Fan*

Sericultural Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei Anhui
Email: daijunjun1218@126.com

Received: Dec. 3rd, 2017; accepted: Dec. 16th, 2017; published: Dec. 26th, 2017

Abstract

Silkworm (*Bombyx mori*) is not only an important economic insect, but also a model organism in modern life science research. In recent years, with the rapid progress in proteomics research technology, proteomic research of essential organs such as silkworm gonad, silk gland, midgut, hemolymph, antennae and other important organs has made great progress. An abundant information resource is provided by the results of these researches for revealing the important characters of silkworm formation mechanism, reproductive and developmental regulation, tissues and organs function, innate immunity, *et al.* A brief review is given in this paper for discussing the future development trend and application prospect of silkworm proteomics in combination with genomics and bioinformatics.

Keywords

Silkworm, Proteome, Research Technology, Progress, Application

蛋白质组学研究方法在蚕丝学中的应用

代君君, 舒蕊, 刘健, 章玉萍, 陈明, 张丽丽, 范涛*

安徽省农业科学院蚕桑研究所, 安徽 合肥
Email: daijunjun1218@126.com

收稿日期: 2017年12月3日; 录用日期: 2017年12月16日; 发布日期: 2017年12月26日

摘要

家蚕既是具有重要经济价值的绢丝昆虫, 又是现代生命科学研究的模式生物。近年来, 随着蛋白质组学

*通讯作者。

文章引用: 代君君, 舒蕊, 刘健, 章玉萍, 陈明, 张丽丽, 范涛. 蛋白质组学研究方法在蚕丝学中的应用[J]. 农业科学, 2017, 7(9): 686-692. DOI: [10.12677/hjas.2017.79093](https://doi.org/10.12677/hjas.2017.79093)

研究技术的飞速发展,有关家蚕性腺、丝腺、血液、中肠、触角等重要组织器官蛋白质组学的研究取得了很大进展,为揭示家蚕重要性状的形成机制、生殖发育调控、组织器官功能、天然免疫等方面提供了丰富的信息。文章对此作了简要的综述,并结合基因组学、生物信息学的研究技术,讨论了家蚕蛋白质组学今后的发展趋势及其应用前景。

关键词

家蚕,蛋白质组,研究方法,进展,应用

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

随着基因组测序及生物信息技术的成熟及商品化,越来越多生物的基因组完成了测序及分析工作,研究重心已开始从揭示生命的所有遗传信息转移到在整体水平上对大分子功能的研究,随着基因组研究的不断深入,人们发现简单的DNA序列并不能揭示蛋白质水平的表达情况,科学家们又进一步提出了后基因组计划。蛋白质组(proteome)便成为其中一个很重要的研究内容,为进一步了解基因的表达、功能和调控提供了基础。蛋白质组一词是澳大利亚 Macquarie 大学的 Wilkins 和 Williams 在 1994 年首次提出 [1],蛋白质组学研究作为功能基因组的重要支柱,不仅可实现与基因组的对接与关联,而且可直接揭示细胞各项功能、各种生理、生化过程及疾病的病理过程等生命活动规律和本质,可以为临床诊断、病理研究、药物筛选、新药开发、新陈代谢途径研究等提供理论依据和基础,从而全景式地揭示生命活动的本质。

2. 蛋白质组学研究技术

蛋白质组学主要研究蛋白质表达水平、氨基酸序列、翻译后加工和蛋白质的相互作用等内容,蛋白质组研究的技术手段包括蛋白质样本的制备、分离、定量及鉴定等,有双向凝胶电泳、质谱技术、酵母双杂交系统、蛋白质微阵列技术、生物信息学技术等。蛋白质分离是蛋白质组学研究的核心和前提,它在蛋白质组研究中把复杂的蛋白质样品分离成简单的单个蛋白或者一小群蛋白,使得比较 2 个样品间蛋白质的差异更加容易比较,比较常用的蛋白分离技术是双向电泳(two-dimensional electrophoresis, 2-DE)技术 [2],此外,还有一维凝胶电泳(one-dimensional gel electrophoresis, 1-DGE)、高效液相色谱(high-performance liquid chromatography, HPLC)、毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)、等电聚焦(isoelectric focusing, IEF)和亲和层析(affinity chromatography)等技术,如把这些技术加以整合后可以产生功能更为强大的蛋白质多维分离技术。蛋白质间相互作用是细胞生命活动的基础和特征,酵母双杂交系统、噬菌体展示技术等不但可用于检验蛋白质之间及蛋白质与小分子肽、DNA、RNA 之间的相互作用,而且能用于发现新的功能蛋白质。蛋白质生物信息分析技术是应用蛋白质分析软件对有价值的蛋白进行分析和预测,可以实现对蛋白质的等电点、分子量、酶切特性、疏水性、电荷分布等物理性质预测,对已知蛋白质的一级结构、二级结构、三级结构等物化性质进行分析,从而可以对已知或者未知的基因产物进行功能上全面的分析和预测。蛋白质组学定量技术可以实现对蛋白质表达水平及其变化的检测,一种是基于传统双向凝胶电泳及染色基础上的定量,另外一种是基于质谱检测技术的定量。

3. 蛋白质组学研究技术在蚕丝学研究中的应用

由于蛋白质是生命活动的直接执行者,蛋白质组学是后基因组时代的一门学科,对推动生命科学的发展起着重要的作用,蛋白质组学研究技术在蚕丝学研究中的应用越来越广泛。家蚕作为经典的鳞翅目模式生物,早已经建立完成了基因组精细图谱,并且也积累了蛋白质组学研究的许多数据。将这些数据归类整理并建库,对家蚕蛋白质组学研究有着非常重要的意义。家蚕蛋白质组研究是以家蚕及其不同组织器官为材料,采用双向电泳分离技术、质谱分析、生物信息学分析等技术,建立相关图谱库及家蚕蛋白质组数据库,它的应用目前主要集中在生理生化、病理、发育、组织器官的功能基础等方面。

3.1. 蛋白质组学在家蚕生殖及胚胎发育研究中的应用

家蚕是一种重要的经济昆虫,研究家蚕的生殖和胚胎发育,对人类提高家蚕经济价值,利用自然界有益昆虫以及防治有害昆虫具有重要的理论意义和实用价值。毛立明等利用蛋白质双向凝胶电泳和图像分析技术分析家蚕蛹期第二天的雌雄生殖腺细胞蛋白[3],发现了生殖腺除了形态上的明显差异外,总蛋白也存在许多差异。陈金娥[4]用 shotgun 的策略研究了家蚕 P50 品种五龄第 5 天幼虫精巢和卵巢组织的蛋白质组,推测致死基因 12 的表达一定程度上影响了胚胎发育过程中的有丝分裂和形态发生过程。王晓欢[5]对家蚕雄蛾附腺研究表明发现 BmAGSP3, BmAGSP4 在雄蛾第 1 天的附腺组织中特异高量表达,在雄蛾附腺组织中 BmAGSP3 的表达量很少,而 BmAGSP4 的表达量较多,推测出 BmAGSP4 蛋白通过雌雄交配进入雌蛾体内后,可能参与影响雌蛾的产卵。陈玉华[6]鉴定了家蚕 5 龄幼虫和蛹中期精巢蛋白质组,建立了生精囊体外培养系,研究发现家蚕生精囊体外培养时对外源物质敏感,可用作化学物质毒理初筛实验。钟伯雄[7]研究了家蚕胚胎期蛋白质组成变化情况,发现从临界期到点青期,家蚕体内卵特异性蛋白、30 K 蛋白表达量较高;由点青期到转青期再到蚁蚕期,家蚕体内酸性蛋白明显增多,卵特异性蛋白、30 K 蛋白逐渐消失。

3.2. 蛋白质组学在家蚕丝腺及茧丝性状研究中的应用

丝腺是合成分泌丝蛋白、决定蚕丝产量和质量的重要组织器官,其在五龄期间形态、功能上都发生显著变化。刘鸿丽[8]等通过对家蚕中部丝腺组织的蛋白质进行分离,对其中一些表达量较高的蛋白点进行鉴定,分离出 500 个以上和 100 个以上的蛋白点,建立了一整套适合于家蚕蛋白质组研究的方法。颜新培[9]等对家蚕同一品种不同个体,及同一个体后部丝腺细胞的蛋白质组成研究后发现其构成基本一致,推测其新陈代谢水平基本无差异。靳远祥[10]等分别对家蚕限性黄茧品种雌蚕(黄茧)和雄蚕(白茧)的中部丝腺组织蛋白质组成进行比较分析,黄茧中部丝腺组织一些蛋白的表达水平明显高于白茧,且有 2 种蛋白只在黄茧中表达,推测这些差异蛋白可能与有色茧丝的形成有关,或是与 W 染色体的易位片段上其它未知基因有关。统飞英[11]等对 5 龄家蚕中部丝腺细胞不同区段蛋白组成进行研究,发现不同区段存在显著差异。吴卫成[12]等对家蚕 4 龄眠期和 5 龄期后部丝腺细胞蛋白组成进行分析,发现不同发育时期蛋白组成存在差异。Zhang [13]等对家蚕 P25 家族糖基化异构体进行蛋白质组学研究,发现在丝腺中也存在 P25 异构体,因此推测 P25 的异构体可能发生糖基化或磷酸化。张利平[14]等研究表明后部丝腺的蛋白质表达水平与普通丝量品系和高丝量品系之间有差异,且差异表达蛋白种类主要为应激反应相关蛋白、能量相关蛋白、蛋白质合成相关蛋白和一些酶类,推测在茧丝突变品系 Ndx 的后部丝腺中,上述蛋白质表达量的变化可能是导致其不能正常吐丝结茧的原因。兰天云[15]等研究表明 P50 蚕品种五龄第一天、第三天、第五天、第七天及熟蚕后部丝腺蛋白质和磷酸化蛋白质表达有变化,并鉴定出 73 个蛋白斑点。对家蚕后部丝腺发育过程 60 个磷酸化蛋白质进行质谱分析,成功鉴定其中 30 个,表明后部丝腺的变化与蛋白质磷酸化修饰关系不大。余芳[16]等研究表明家蚕裸蛹品种的丝腺细胞蛋白斑点与正常茧品种的蛋

白斑点的匹配率仅在 65%左右, 且存在 35%左右的特异蛋白斑点, 暗示裸蛹性状可能是主效基因控制的微效多基因遗传; 且正常茧、薄皮茧和裸蛹 3 个品种后部丝腺细胞中特异蛋白斑点及上调和下调蛋白斑点中, 可能分别存在着与家蚕高茧层量性状、结薄皮茧性状以及不结茧性状有关的蛋白质。尤征英[17]研究表明 Nd 和 Nd-s 这 2 个低丝量的突变品种的茧丝关键蛋白表达量下降, 丝腺发育相关的蛋白表达下调, 丝蛋白合成及信号通路相关的蛋白表达下调, 丝蛋白的分泌及运输途径相关的蛋白也受到影响, 大量的能量被空耗到无效的代谢途径上, 最终影响了丝蛋白的高效合成。沈飞英[18]等对家蚕品种大造中部丝腺不同时期不同部位的丝腺细胞蛋白质组成进行了研究, 发现 5 龄第 2 天、第 4 天和熟蚕不同时期的中部丝腺细胞蛋白质以及 5 龄第 2 天的中部丝腺前、中、后 3 个不同区段的细胞蛋白质组成具有显著差异。通过对丝腺蛋白的研究有利于阐明家蚕分泌丝素蛋白及蚕茧优质高产的机理, 为深入研究利用丝蛋白的合成、分泌和基因表达提供了丰富的信息。

4. 蛋白质组学在家蚕中肠及相关免疫研究中的应用

中肠是家蚕消化器官最发达的部分, 它不仅是消化吸收食物的场所, 也是进行物质和能量代谢的重要器官, 参与着消化、代谢、氧化还原反应等复杂的生物学过程。对家蚕中肠蛋白组的研究将有助于人们从蛋白质水平认识家蚕中肠组织的生理功能。Kajiwara H. [19]对 5 龄第 3 天家蚕中肠组织蛋白进行了双向电泳分析研究, 发现其中包含了大量的肌肉运动蛋白、ATP 酶、细胞骨架、分子伴侣等。侯勇[20]等研究表明家蚕中肠蛋白质主要集中在分子量 15~80 kD 区域, 等电点 3~8.5 之间。成功鉴定了包括原肌球蛋白以及大量的离子转运蛋白、与代谢相关的酶、与信号传导和细胞凋亡相关的蛋白等 32 个蛋白点。姚慧鹏[21]等利用双向电泳技术对家蚕幼虫 5 龄期第 2 天、第 5 天和第 7 天的中肠蛋白质进行分离和鉴定, 研究发现了构成家蚕中肠组织的一些新的部分结构蛋白和一些可能与消化、吸收相关的蛋白, 以及一些能够抵御外界微生物入侵的相关蛋白。

家蚕对病原微生物的免疫力差, 蚕病一直威胁着蚕业的安全生产, 所以蚕体免疫的研究不仅具有重要的产业价值, 而且具有模式研究的科学意义。蔡克亚[22]等利用遗传学的原理, 通过杂交和回交的方法, 建立家蚕抗 BmNPV、感 BmNPV 以及近等基因系模型, 利用 2-D 电泳和 MALDI TOF/TOF MS 质谱技术, 从蛋白质组水平上研究家蚕对 BmNPV 抵抗力。获得家蚕高抗 NB、高感 306、近等基因系 BC8 五龄起蚕血淋巴液蛋白质差异表达谱, 共获得明显差异蛋白点 12 个, 初步推测是家蚕抗 BmNPV 特有蛋白。姜姗姗[23]以家蚕围食膜作为研究对象, 利用蛋白质组学技术对 BmNPV 抗性、感性及其近等基因的围食膜的蛋白质表达谱以及差异表达谱进行分析, 为进一步探索家蚕对 BmNPV 病毒的抗病机理奠定基础。周洪英[24]等归纳了近年蛋白质组学在家蚕及其他昆虫被细菌感染中的运用, 推断出蛋白质组在家蚕感染研究中的运用, 将帮助人们发现更多的免疫相关因子, 了解昆虫免疫调控机制。崔颖俊[25]研究表明家蚕幼虫消化液中的蛋白质种类较少、分子量小、分布集中; 在 8 个鉴定的蛋白点中, 1 个是 30 kP 蛋白酶 A 原, 5 个是类胰蛋白酶, 其它 2 个是碱性丝氨酸蛋白酶。Kyung H. S. [26]等人利用巨大芽孢杆菌对 5 龄第 4 天家蚕进行了注射诱导, 结果发现诱导后 6 小时的血液当中, 有 30 个蛋白发生了上调反应。利用生物质谱对这些点进行鉴定后发现它们当中不仅包括先天免疫相关蛋白, 还包括一些不属于先天免疫途径的蛋白, 推测他们可能以其他的某种方式参与到家蚕免疫反应当中。

5. 蛋白质组学在家蚕其他组织相关研究中的应用

家蚕的脂肪体、表皮、马氏管、血液等组织对家蚕的营养储存、物质代谢、适应复杂的生存环境、生物防御等起着至关重要的作用, 作为具有巨大经济价值的家蚕, 其相关组织蛋白组学的研究越来越受人们的关注。钟伯雄[27]构建了 5 龄家蚕若干组织的蛋白质数据库。罗冰[28]等建立了家蚕蛋白质数据库

系统(SWPDB),该系统已经收录了家蚕大造品种(P50)胚胎形成期的卵、5龄第3天中部、后部丝腺、血液、中肠、表皮、气管、精巢,5龄第5天马氏管,5龄第5天、上簇第2天脂肪体和化蛹第1天马氏管、化蛹第1天、化蛾第1天精巢、蛾期鳞毛,以及丝腺突变品种 Ndx、21~872 的第5天幼虫后部丝腺等家蚕组织器官等蛋白质的相关信息数据。侯勇[29]等研究发现,经过双向凝胶电泳及其图象分析技术,银染可以分离出 722 个清晰蛋白点,其中包括了大量参与代谢的酶类、不同分子量的热激蛋白、重要的血液蛋白 30 K, Actin3 等。程道军[30]等曾对家蚕不同时期的脂肪体 EST 数据进行过整体分析,比较了幼虫、蛹、成虫脂肪体的基因表达差异。沈以红等人也对五龄第3天脂肪体的 EST 进行过拼接和整理[31]。程廷才[32]等利用细菌感染后的脂肪体研究了抗菌肽基因表达情况。Moghaddam [33]等研究了耐热性(多化性)和热敏感性(二化性)的家蚕品种在热冲击下脂肪体蛋白质组学的变化。他们的研究结果都表明,脂肪体作为家蚕的重要器官,参与了许多重要的生命活动。靳远祥[34]等运用双向电泳和生物质谱相结合的研究方法,以常规家蚕品种与 Ng 突变品种为材料,对不同发育时期的雌性附腺(化蛹第9、10、11、12天及羽化第1天)分泌部蛋白质组成进行了比较,研究表明不同发育时期的蛋白分布图基本相似,并初步鉴定了其中的一些差异蛋白。Zhang [35]等对幼虫期和蛹期节间肌蛋白质组进行了比较,推测出肌钙蛋白 I 在家蚕由幼虫向蛹的变态发育过程中起着十分重要的作用。

6. 蛋白质组学在蚕丝学研究中的展望

家蚕蛋白质组研究虽然已经从各个不同的层面开展了一系列研究,并且已取得一定的研究成果,但是由于蛋白质组学的研究仍依托双向凝胶电泳与生物质谱分析等关键技术,由于双向凝胶电泳技术尚未完善,在实践操作过程中还存在一些不足,如重复性差,疏水蛋白、低表达量蛋白、极酸和极碱性蛋白、分子量较小和较大蛋白的分离较为困难,对于低丰度蛋白质的检测精确度不高,高通量自动化的研究技术尚未实现[36]。蛋白质数据库的完善和生物信息学技术的发展为快速分析蛋白的生物学功能提供了强有力的工具[37],因此,在进一步探讨与研究家蚕蛋白质组的分离与鉴定研究技术的同时加强蛋白质组学与生物信息学的研究,对现有的家蚕基因组功能研究鉴定和补充,完成基因组功能注释以及表达调控规律的解析都具有推动性的作用,从而使生命科学与蚕业科学研究的手段更加先进。

目前家蚕蛋白质组学已经在生殖发育、组织器官、生理生化、病理方面进行了研究。蛋白质组学的重点将从蛋白表达转向蛋白功能研究,但学者们所获得的研究结论还未形成一个完整的系统。完整的家蚕蛋白质组学还要深入研究蛋白质合成、转运、修饰以及蛋白质之间相互作用复杂的网络关系,这将是蛋白质组学研究的一项长期而又艰巨的任务。在蚕学研究中应以家蚕及其组织器官为材料,在建立完善的蛋白质组图谱和丰富的数据库基础上,结合家蚕基因组最新研究成果,利用家蚕丰富的遗传资源,阐明家蚕重要生物学性状的形成机制、主要病害的致病机理及相关功能基因的作用。生产上利用差异蛋白质组学技术,发现与家蚕重要经济性状(高产、优质和抗病性)相关的功能蛋白,探明它们的作用机制和调控模式,加以研究和利用。尽管国内外开展家蚕蛋白质组研究的时间还不长,但已取得可喜的研究进展。有关功能基因组和蛋白质组的研究应可以为蚕业发展提供创新的技术平台,以提升和改造传统的蚕丝业,培育蚕丝业新的经济增长点。

基金项目

国家蚕桑产业技术体系合肥综合试验站(CARS-22-SYZ09)。

参考文献 (References)

- [1] Wasinget, V.C., Cordwell, S.J., Cerpa-Peljak, A., *et al.* (1995) Progress with Gene-Product Mapping of the Mollicutes

- Mycoplasma. Electrophoresis*, **16**, 1090-1094. <https://doi.org/10.1002/elps.11501601185>
- [2] O' Farrell, P.H. (1975) High Resolution Two-Dimensional Electrophoresis of Proteins. *Journal of Biological Chemistry*, **250**, 4007-4021.
- [3] 毛立明, 林建荣, 赵峰, 等. 家蚕蛹期雌雄生殖腺蛋白质双向电泳比较分析[J]. 昆虫学报, 2007, 50(6): 628-633.
- [4] 陈金娥. 家蚕生殖细胞发生与胚胎发育相关功能基因的蛋白质组研究[D]: [博士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- [5] 王晓欢. 家蚕雄蛾附腺的蛋白质组分析及其特异基因的功能研究[D]: [硕士学位论文]. 重庆: 西南大学, 2014.
- [6] 陈玉华. 家蚕精巢蛋白表达谱分析及精子形成的相关研究[D]: [博士学位论文]. 苏州: 苏州大学, 2011.
- [7] 钟伯雄. 家蚕胚胎发育时期的蛋白质变化及构造分析[J]. 遗传学报, 1999(6): 627-633.
- [8] 刘鸿丽, 夏庆友, 侯勇, 等. 家蚕丝腺蛋白质组学研究方法的建立[J]. 生物工程学报, 2007, 23(1): 112-116.
- [9] 颜新培, 钟伯雄, 徐孟奎, 等. 家蚕五龄后部丝腺蛋白质构成与茧层量的关系[J]. 蚕业科学, 2003, 29(4): 344-348.
- [10] 靳远祥, 徐孟奎, 姜永煌, 等. 家蚕茧色限性品种雌雄绢丝腺组织蛋白质组双向凝胶电泳分析[J]. 农业生物技术学报, 2004, 12(4): 431-435.
- [11] 统飞英, 钟伯雄, 楼程富, 等. 家蚕五龄幼虫中部丝腺细胞的蛋白质组成比较[J]. 中国农业科学, 2005, 38(5): 1052-1058.
- [12] 吴卫成, 钟伯雄, 孟智启, 等. 家蚕 4 眠期与 5 龄期后部丝腺细胞蛋白质组成分析[J]. 蚕业科学, 2005, 31(3): 273-279.
- [13] Zhang, P., Yamamoto, K., Aso, Y., *et al.* (2005) Proteomic Studies of Iso-Forms of the P25 Component of Bombyx Mori Fibroin. *BBB*, **69**, 2086-2093.
- [14] 张利平, 钟晓武, 聂红毅, 等. 不同产丝量家蚕品系后部丝腺的蛋白质组学分析[J]. 蚕业科学, 2012(3): 468-474.
- [15] 兰天云. 家蚕后部丝腺和中肠蛋白质组学研究[D]: [硕士学位论文]. 合肥: 安徽农业大学, 2011.
- [16] 余芳, 兰天云, 李建营, 等. 茧层量差异家蚕品种后部丝腺细胞和血液组织的蛋白质表达谱分析[J]. 蚕业科学, 2008(2): 197-201.
- [17] 尤征英. 家蚕后部丝腺基因表达差异的分析与蚕丝性能改良的研究[D]: [博士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [18] 沈飞英, 钟伯雄, 楼程富, 等. 家蚕 5 龄幼虫不同时期中部丝腺细胞蛋白质双向电泳分析[J]. 蚕业科学, 2006, 32(1): 25-35.
- [19] Kajiwara, H., Ito, Y., Imamaki, A., *et al.* (2005) Protein Profile of Silkworm Midgut of Fifth-Instar Day-3 Larvae. *Journal of Electrophoresis*, **49**, 61-69. <https://doi.org/10.2198/jelectroph.49.61>
- [20] 侯勇, 官建, 赵萍, 等. 家蚕中肠组织蛋白质组学研究[J]. 蚕业科学, 2007(2): 216-222.
- [21] 姚慧鹏, 郭爱芹, 何芳青, 等. 家蚕幼虫 5 龄期中肠蛋白质组学[J]. 生物工程学报, 2008(1): 89-94.
- [22] 蔡克亚, 陈克平, 刘晓勇, 等. 家蚕抗 BmNPV 品系与感性品系血淋巴蛋白质组的差异分析[J]. 生物工程学报, 2008(2): 285-290.
- [23] 姜姍彤. 家蚕围食膜与 bmnvp 抗性相关蛋白的蛋白质组学研究[D]: [硕士学位论文]. 镇江: 江苏大学, 2012.
- [24] 周洪英, 孙波, 叶建美, 等. 蛋白质组学及其在细菌诱导家蚕免疫反应中的运用[J]. 广东蚕业, 2013(4): 14-19.
- [25] 崔颖俊, 裘智勇, 赵巧玲, 等. 家蚕幼虫消化液蛋白质组学分析[J]. 蚕业科学, 2008, 34(1): 50-53.
- [26] Song, K.H., Su, J.J., Seo, Y.R., *et al.* (2006) Identification of Up-Regulated Proteins in the Hemolymph of Immunized *Bombyx mori* Larvae. *Comparative Biochemistry & Physiology Part D Genomics & Proteomics*, **1**, 260-266. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2006.01.001>
- [27] 钟伯雄. 五龄家蚕若干组织器官蛋白质数据库构建[J]. 遗传学报, 2001, 28(3): 217-224.
- [28] 罗冰. 家蚕蛋白质数据库的创建和应用[D]: [硕士学位论文]. 重庆: 西南大学, 2012.
- [29] 侯勇, 赵萍, 刘鸿丽, 等. 家蚕脂肪体蛋白质组学研究[J]. 生物工程学报, 2007, 23(5): 867-872.
- [30] Cheng, D., Xia, Q., Zhao, P., *et al.* (2006) EST-Based Profiling and Comparison of Gene Expression in the Silkworm Fat Body during Metamorphosis. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, **61**, 10-23. <https://doi.org/10.1002/arch.20090>
- [31] Shen, Y.H., Cheng, D.J., Zha, X.F., *et al.* (2004) The Gene Expression Profile of the Fat-Body of Silkworm, *Bombyx mori* Gene Expression Profile of the Fat-Body of the 5th Instar *Bombyx mori* Larvae. *Science of Sericulture*, **30**, 24-27.

- [32] Cheng, T.C., Zhao, P., Liu, C., *et al.* (2006) Structures, Regulatory Regions, and Inductive Expression Patterns of Antimicrobial Peptide Genes in the Silkworm *Bombyx mori*. *Genomics*, **87**, 356-365.
<https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2005.11.018>
- [33] Hosseini Moghaddam, S.H., Du, X., Li, J., *et al.* (2008) Proteome Analysis on Differentially Expressed Proteins of the Fat Body of Two Silkworm Breeds, *Bombyx mori*, Exposed to Heat Shock Exposure. *Biotechnology and Bio-Process*, No. 13, 624-631.
- [34] 靳远祥, 徐孟奎, 陈玉银, 等. 家蚕雌性附腺及其 Ng 突变体蛋白质组双向电泳图谱分析[J]. 生物工程学报, 2004, 20(4): 590-594.
- [35] Zhang, P., Aso, Y., Jikuya, H., *et al.* (2007) Proteomic Profiling of the Silkworm Skeletal Muscle Proteins during Larval-Pupal Metamorphosis. *Journal of Proteome Research*, **6**, 2295-2303. <https://doi.org/10.1021/pr070071y>
- [36] Gorg, A., Onermaier, G., Bough, G., *et al.* (2000) The Current State of the Two-Dimensional Electrophoresis with Immobilized pH Gradients. *Electrophoresis*, **21**, 1037-1053.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1522-2683\(20000401\)21:6<1037::AID-ELPS1037>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/(SICI)1522-2683(20000401)21:6<1037::AID-ELPS1037>3.0.CO;2-V)
- [37] Pazos, F. and Sternberg, M.J. (2004) Automated Prediction of Protein Function and Detection of Functional Sites from Structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **101**, 14754-14759.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0404569101>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2164-5507, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
期刊邮箱: hjas@hanspub.org