



奶牛营养学北京市重点实验室

简 报

简字[2020] 第02期

总第2期

2020年06月11日(星期四)

报告题目: Heat stress induces proteomic changes in the liver and mammary tissue of dairy cows independent of feed intake: An iTRAQ study

文章来源: PLOS ONE

报告人: 李义

摘要: 热应激会降低产奶量,并损害乳成分。饲料摄取量的减少部分解释了热应激的一些后果,但与牛奶合成相关的乳腺组织和肝脏的代谢变化尚未得到彻底的评估。本研究采用iTRAQ蛋白质组学方法,研究了热应激下随意摄食奶牛和同等饲喂量非热应激奶牛乳腺组织和肝脏蛋白质丰度的变化。热应激奶牛和同等饲喂量非热应激奶牛的乳腺组织和肝脏差异蛋白的表达大多与蛋白质代谢过程的蛋白相关。途径分析表明,乳腺组织差异表达的蛋白与丙酮酸、乙醛酸和二羧酸代谢途径有关,而肝脏差异表达的蛋白参与氧化磷酸化和抗原加工递呈途径。几种热休克蛋白直接相互作用,被认为是蛋白质相互作用网络中的中心“枢纽”。这些发现为理解肝脏和乳腺组织中蛋白质生物合成途径的转换提供了新的见解,这些途径可能导致热应激奶牛的牛奶成分发生变化。

关键词: 热应激; 奶牛; 肝脏; 乳腺; 同位素标记定量蛋白质组学

研究背景: 热应激对奶牛泌乳产生不利影响,从而给全球乳制品行业造成巨大的经济损失。在热应激期间,奶牛会经历一系列的生理和行为反应,这些反应可能是用来确保成功适应热负荷的生存策略。在炎热的夏季,除总产奶量外,乳脂

和蛋白质含量逐年下降。

乳的合成和分泌被认为是对生理和环境因素都非常敏感的系统过程。传统上认为，奶牛产奶量下降和乳成分含量变化是由于营养摄入减少所致，但最近的实验采用了成对饲养模型，表明采食量不足仅占热应激奶牛乳合成下降的 50%左右。因此，吸收后代谢和营养分配的变化可能导致热应激奶牛乳腺蛋白合成能力的不协调变化。

在泌乳过程中，肝脏和乳腺组织具有互补和协调的代谢作用。例如，来自肝脏的葡萄糖被乳腺组织吸收并用于多种乳合成过程；最显著的是乳糖的产生，这是泌乳量的主要决定因素。此外，氨基酸、甘油三酯和酮从肝脏中输出，是合成牛奶的关键前体。此外，热应激奶牛的循环热休克蛋白(HSP)和 amp 激活的蛋白激酶升高。与系统能量和蛋白质代谢相关的几个变量也受到热应激的影响。然而，很少有实验关注肝脏或乳腺组织的蛋白质组变化，这可以部分解释热应激对生产力的负面影响。因此，我们假设，在哺乳期奶牛的乳腺组织和肝脏内的内源性蛋白谱被热应激改变，而与饲料摄入量减少无关。本试验通过 iTRAQ 方法研究热应激诱导的乳腺组织和肝脏蛋白的变化，为探讨热应激条件下，奶牛肝脏和乳腺组织中蛋白质生物合成促进乳成分形成的分子机制提供新的信息。

学术讨论

对于李义同学的汇报，老师和同学提出如下问题及建议：

1. 肝脏组织是不是多部位取样，混合检测？

答：不是

2. NADH 脱氢酶复合物的几个亚基的下调说明什么问题？

答：NADH 脱氢酶是一种位于线粒体内膜催化电子从 NADH 传递给辅酶 Q 的酶。此酶是线粒体中氧化磷酸化的“入口酶”。 NADH 脱氢酶复合物的几个亚基

是复合物 I 的核心亚基之一，与复合物 I 的稳定性和活性有关。复合物 I 的缺陷与氧化应激有关。因此，热应激奶牛肝脏 NADH 脱氢酶复合物的几个亚基的下调造成了复合物 I 的缺陷并引起奶牛肝脏的氧化应激。

报告题目： Isolation and Identification of Anthocyanin Component in the Fruits of *Acanthopanax Sessiliflorus* (Rupr. & Maxim.) Seem. by Means of High Speed Counter Current Chromatography and Evaluation of Its Antioxidant Activity

文章来源： molecules

报告人： 熊安然

摘要： 无梗五加是刺五加属中最丰富的种类之一。无梗五加的果实在传统医学方案中用作止痛剂、滋补剂、抗糖尿病剂、抗高血压剂、抗炎剂、抗肿瘤剂和免疫刺激剂。本工作对无梗五加果实中的花青素成分进行了全面的研究。采用 HPLC / DAD 检测法测定无梗五加鲜果中花青素的含量，采用 HSCCC 分离出花青素成分，并通过 ESI / MS、¹H 和 ¹³C-NMR 进行鉴定。用铁还原抗氧化能力(FRAP)和 2, 2-二苯基-1-苦基肼(DPPH)评价其抗氧化活性。我们发现无梗五加总花青素含量为 121.35 mg/100g。HSCCC 成功地用于分离和纯化主要花青素成分 Cya-3-Xyl-Gal。抗氧化和自由基清除试验表明 Cya-3-Xyl-Gal 是一种有效的抗氧化剂。

关键词： 花青素；无梗五加；HSCCC；抗氧化活性

研究背景： 无梗五加是五加科最丰富的物种之一，无梗五加是原产于中国东北地区、日本和韩国的一种多年生植物。无梗五加的根、茎和叶引发一系列生物学功能，包括抗胰脂肪酶、抗血小板聚集和抗炎作用。植物的不同部分被广泛用于传统医学应用，包括根、芽、皮、叶和果实。无梗五加的果实在传统医学方案中用作止痛剂、滋补剂、抗糖尿病剂、抗高血压剂、抗炎剂、抗肿瘤剂和免疫刺激剂。

从无梗五加果实的干燥物中提取并鉴定了许多具有生物功能的化合物，如甜菊素、异秦皮啶、金丝桃苷、东莨菪内酯、原儿茶酸、熊果酸、齐墩果酸、川芎素、芝麻素、胡萝卜素、 β -谷甾醇等。虽然上述大多数化合物在镇痛、抗凝或抗炎作用方面提供了潜在的健康益处，但仅鉴定出非常少的抗氧化化合物。描述了一种来自无梗五加的未知化合物(AE-7-CII)，该化合物具有抗氧化特性，并被表征为 O_2 抑制剂和清除剂。到目前为止，无梗五加果实中花青素分析的报道很少。花青素为水果的表皮提供从紫色到黑色的颜色，并具有多种生物学特性，例如抗糖尿病、抗炎和抗肿瘤特性。

高速逆流色谱(HSCCC)是一种用于放大分离的创新技术，具有最少的样品制备，允许正相和反相操作。HSCCC 是一种无支撑液-液分配色谱技术，被证明是从天然产物中纯化化合物的有用工具。因此，HSCCC 通过消除固体支持物基质引起的各种复杂情况，如样品的吸附损失和失活、溶质峰的拖尾、污染等，比传统的液-固色谱法具有一些主要优势。这是一种相对简单的(低压法)技术，由于使用了工业级溶剂，操作成本相对较低。最后，它具有出色的产量和惊人的样品回收率。

本研究采用 HPLC / DAD 检测器测定了无梗五加鲜果中的花青素含量，采用 HPLC / DAD 检测器分离出其中的花青素成分，并通过 ESI / MS、 1H 和 ^{13}C -NMR 对其进行了鉴定。抗氧化活性通过 2, 2-二苯基-1-苦基肼(DPPH)和铁还原抗氧化能力(FRAP)来评价。

学术讨论

对于熊安然同学的汇报，老师和同学提出如下问题及建议：

1.文章中为什么要从无梗五加果实中提取花青素，提取量相对来说也不是很多，是因为价格实惠吗？

答：从无梗五加果实中提取的大多数化合物在镇痛、抗凝或抗炎作用方面提供了潜在的健康益处，但仅鉴定出非常少的抗氧化化合物。无梗五加果实中花青

素为水果的表皮提供从紫色到黑色的颜色，并具有多种生物学特性，例如抗糖尿病、抗炎和抗肿瘤特性。但目前关于无梗五加果实中花青素分析的报道很少。

2.对文章中的 C 谱图和 H 谱图不是很懂，可以解释吗？

答：关于文章中的 C 谱图和 H 谱图的数据作者已经整合到一个表中了，具体表达的意思可以从表中分析得出。但是关于 C 谱图和 H 谱图所表达的化学结构的关系还需要从课后详细了解。

报告题目： Lactoferrin affects the adherence and invasion of *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *dysgalactiae* in mammary epithelial cells

文章来源： J. Dairy Sci

报告人： 吴富鑫

摘要： 停乳链球菌乳腺功能障碍是全世界牛乳腺炎的重要病因。乳铁蛋白是一种天然免疫蛋白，具有许多功能，包括免疫调节，抗增殖和抗菌特性。这项研究旨在研究乳铁蛋白和临床牛乳腺炎分离株链球菌（停乳链球菌 DPC5345）之间的相互作用。最初，使用链球菌进行了牛乳腺感染。结果表明，在输注后 7 h 的对照组和实验组之间，乳细胞中乳铁蛋白 mRNA 水平存在显著差异。48 h 后牛奶中乳铁蛋白表达量相比均显著增加。体外研究表明，乳铁蛋白对链球菌的生长具有抑菌作用。停乳链球菌 DPC5345 内化到 HC-11 乳腺上皮细胞的能力显著下降。共聚焦显微镜图像进一步证明了细菌对 HC-11 细胞的侵袭减少，从而进一步支持了这一作用。综合数据表明牛对链球菌体内乳铁蛋白表达的显著增加，并且基于体外数据，乳铁蛋白通过与细菌结合并阻止其粘附来限制这种病原体的乳腺细胞入侵。

关键词： lactoferrin, *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *dysgalactiae*, mastitis

研究背景： 牛乳腺炎感染会对牛奶质量产生严重的有害影响，并且是限制全球奶业盈利的重要限制因素。当细菌病原体通过乳头通道进入乳腺时，发生乳腺

炎感染。然后通过细菌逃避乳腺的解剖和体液防御机制来建立感染。

停乳链球菌乳腺功能不全已被描述为一种传染性乳腺炎病原体和环境病原体，并已在临床和亚临床牛乳腺炎病例中检测到。传统的乳腺炎控制程序在减少链球菌病的发生上效果有限。由于细菌的适应性而引起的乳汁分泌不良（博尔顿）。停乳链球菌具有细胞相关和细胞外毒力因子，有助于 IMI 的建立和持久性。体外研究表明，该细菌可以粘附于乳腺上皮细胞并内在化。细菌一旦在细胞内被内化，就可以通过逃避抗菌药物的作用和宿主免疫防御成分的生存。

乳腺炎的常规治疗包括施用抗生素。尚未将乳腺炎病原体中的抗生素耐药性视为临床相关问题；但是，大量使用抗生素会导致产生耐药菌株。此外，奶牛还生产牛奶供人类食用。因此，牛奶中的抗生素痕迹是公共卫生问题。开发出有效的替代方法来控制或治疗乳腺炎（或两者兼有）将对乳品业产生重大利益。一种方法是操纵和增强自然的宿主防御机制。但是，不同的病原体表现出不同的入侵和致病机理。建立和发展 IMI 所需的特定宿主-病原体相互作用的详细知识是设计适当的治疗和控制策略的基础。

乳铁蛋白是一种先天免疫蛋白，主要由嗜中性粒细胞和特定的腺体组织在体内分泌。它的产生受到组织特异性方式的组成性和差异性调控。乳铁蛋白是一种多功能蛋白，具有抗菌，免疫调节，抗黏附和铁结合特性。它被描述为广谱的，影响多种革兰氏阴性和革兰氏阳性病原体的生长和增殖具有抑菌和杀菌作用。牛乳中的乳铁蛋白水平随泌乳过程以及乳腺感染而变化，还证明了乳铁蛋白基因启动子内的遗传多态性可以影响牛奶的乳铁蛋白水平。

通常，链球菌被认为对乳铁蛋白的抗菌作用更具抵抗力。这可能是由于链球菌物种对铁的需求较低，或者可能是由于它们有能力从含铁宿主蛋白中提取金属。实际上，乳铁蛋白结合蛋白已经在包括链球菌在内的几种链球菌物种中发现。乳房链球菌，无乳链球菌和停乳链球菌。提示乳铁蛋白在链球菌感染中的作用，这可能对 IMI 的发病机制具有重要意义。证明了停乳链球菌通过表面暴露的粘附

分子（称为链球菌）与乳铁蛋白结合。乳房粘连分子。这些体外研究提示链球菌。乳房链球菌劫持乳铁蛋白作为宿主的乳腺上皮细胞中的细菌细胞表面和乳铁蛋白受体之间的桥接分子。这允许链球菌。乳房粘连，侵入并在牛乳腺上皮细胞内建立。有趣的是，通过 Chaneton 证明在亚临床性乳腺炎病例中，牛乳中乳铁蛋白的水平在链球菌中显着增加。与未感染的地方比较，乳房被感染的地方（ $P < 0.001$ ）。据推测是链球菌。乳房分离物对牛乳铁蛋白活性有抗性，牛奶中高水平的乳铁蛋白促进了链球菌的发病。体内的乳房。其他引起乳腺炎的细菌，包括金黄色葡萄球菌，链球菌。乳汁分泌不良在这些亚临床病例中，和 CNS 与牛乳中乳铁蛋白水平的显着增加无关。这些研究表明，牛乳腺中的乳铁蛋白分泌是病原体特异性反应。，使用 SDS-PAGE 和 Western 印迹，证实了 2 种乳铁蛋白结合蛋白在链球菌中的表达。停乳链球菌中的抗乳腺乳杆菌分离蛋白（52 和 74 kDa）和 3 种乳铁蛋白结合蛋白。无乳链球菌菌分离株（52、70 和 110 kDa）。然而，关于这些链球菌物种和乳铁蛋白之间的特异性相互作用的研究是有限的，因此乳铁蛋白结合蛋白在链球菌的发病机理中的作用。功能障碍和链球菌。无乳乳房内感染仍必须阐明。

这项研究的目的是调查乳铁蛋白和链球菌之间的相互作用。乳腺分泌不良，以识别这种牛奶蛋白是对抗还是促进链球菌。乳汁分泌不良。进行了体内研究，以量化因故意感染链球菌引起的乳腺感染过程中乳铁蛋白水平的变化。乳汁分泌不良。

学术讨论

对于吴富鑫同学的汇报，童津津老师提出如下问题及建议：

1. 乳铁蛋白有何功能？

答：乳铁蛋白是一种多功能蛋白，具有抗菌，免疫调节，抗黏附和铁结合特性

2. 乳铁蛋白有提高抵抗力的效果，在感染后含量会增加，那是否牛奶更好？

答：不会，虽然乳铁蛋白分泌增加，但乳房炎后牛奶会发生变性营养成分会流失，乳脂乳蛋白会降解，且病原菌数会增加。

报告题目： Teuvincenone F suppresses LPS-induced inflammation and NLRP3 inflammasome activation by attenuating NEMO ubiquitination

文章来源： Frontiers in Pharmacology

报告人： 牛慧

摘要： 炎症导致许多严重威胁人类健康的疾病。然而，炎症调控和炎性小体激活的分子机制尚不完全清楚，从而延误了临床迫切需要的新抗炎药物的发现。在此，我们发现从思茅茎叶中分离纯化的天然化合物 Teuvburone F 能显著抑制脂多糖(LPS)诱导的促炎细胞因子的产生和 NLRP3 炎症体的激活。我们的结果表明，Teuvburone F 减弱了 K63 连接的 NF- κ B-Essential Modator(NEMO，也称为 IKK γ)的泛素化，从而抑制了 LPS 诱导的 NF- κ B 的磷酸化，并抑制了 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 NLRP3 的 mRNA 表达。此外，我们还发现 Teuvburone F 降低 NLRP3 的表达，抑制 NLRP3 炎性小体的激活和 IL-1 β /IL-18 的成熟。在体内，我们发现 Teuvburone F 治疗可以减轻 LPS 诱导的炎症反应。综上所述，Teuvburone F 是一种高效的天然化合物，通过减轻 K63 连接的 NEMO 泛素化来抑制 LPS 诱导的炎症，提示 Teuvburone F 可能是一种潜在的抗炎新药，用于治疗炎性疾病和 NLRP3 炎症性疾病。

关键词： Teuvincenone F，炎症，NLRP3 炎性小体，泛素化，NEMO

研究背景： 在脂多糖的刺激下，TLR4 被招募到脂筏上，并与其接头分子相互作用，导致 MyD88 依赖和 MyD88 非依赖的信号通路激活，进而导致核因子- κ B (NF- κ B)

的激活，干扰素调节因子 3 和促炎细胞因子的产生。NF- κ B 是许多生理过程和细胞功能的关键转录因子，调节免疫发育、免疫反应、炎症反应和癌症。经典的 NF- κ B 途径激活涉及 I- κ B 激酶 (IKK) 复合体。IKK 复合体由两个催化亚基 IKK α 和 IKK β 以及关键的调节亚基 NEMO 组成。IKK 可以磷酸化 I- κ B，并通过泛素-蛋白酶体途径促进 NF- κ B 活化抑制剂的降解，导致 NF- κ B 移位到细胞核。在这个 NF- κ B 激活过程中，调节亚单位 NEMO 线性多泛素化是必不可少的。在过去的几十年里，研究揭示了许多 NEMO 泛素化和去泛素化的分子机制。接头蛋白 Bcl10 通过副半胱氨酸酶和 UBC13 依赖的 NEMO 泛素化促进 NF- κ B 转录因子的激活，这一结果表明 UBC13 可能是 NEMO 的 E3 连接酶。然而，在这一过程中，HSCARG 和 USP7 在抑制 NEMO 多泛素，进而抑制 NF- κ B 活性方面发挥了重要作用，表明 USP7 是 NEMO 的一种脱泛素酶。此外，c-IAP1 也是 NEMO 泛素化所必需的，并通过肿瘤坏死因子- α 的激活调节 IKK 信号体复合物的正确激活。因此，这些研究表明，抑制 NEMO 泛素化可能是治疗感染引起的过度炎症的理想方法。

马鞭草科植物以其药用特性而闻名，如在中国用于治疗化脓性感染、创伤、骨折、痢疾、痔疮、风湿性关节炎，在印度用于治疗腹泻、胃和肝病。思茅松属于马鞭草科，主要分布在云南省南部，当地居民用树叶治疗受伤和骨折。然而，其在体内外的药理活性尚不明确。在这里，我们证明了 Teuvburone F 可能是通过减弱 NEMO 的 K63 泛素化来抑制 LPS 诱导的炎症反应的，强调了其作为一种新的抗炎药物治疗炎性和 NLRP3 炎症性疾病的潜力。

学术讨论

对于牛慧同学的汇报，老师和同学提出如下问题及建议：

1. Teuvincenone F 属于哪一种化合物？

答：二萜化合物

2. 泛素化与去泛素化的关系？

答：泛素连接酶（E3）与去泛素化酶（DUB）主导了蛋白质的泛素化修饰与去泛素化修饰，其动态平衡决定了蛋白质的质量水平、亚细胞精确定位以及与其他蛋白质的相互作用，因此影响了细胞信号转导的正常进行。

3. 泛素化是什么？

答：泛素化是指泛素（一类低分子量的蛋白质）分子在一系列特殊的酶作用下，将细胞内的蛋白质分类，从中选出靶蛋白分子，并对靶蛋白进行特异性修饰的过程。

例会主持：贺李莹

简报整理：栗明月、熊安然、牛慧、吴富鑫、李义

审 核：蒋林树

参会人员：蒋林树、王慧、童津津、方洛云、栗明月、吴富鑫、李义、熊安然、牛慧、韩思雨、贺李莹、赵璐宇、张静、潘予琮、黄新、余诗强、李玉琴、张书阅、沈义媛、詹经纬

发布日期：2020年6月11日