

交配与未交配三疣梭子蟹肝胰腺蛋白质组学的初步分析

徐 洲, 母昌考, 李荣华, 宋微微, 王春琳*

(宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 采用双向电泳和基质辅助激光解析串联飞行时间质谱(MALDI-TOF/TOF)研究三疣梭子蟹交配与未交配雌性个体肝胰腺蛋白质表达。使用 PDQuest 软件分析双向电泳凝胶图像, 结果显示: 交配组和未交配组凝胶图像上分别能检测到 (400 ± 25) 和 (530 ± 16) 个蛋白点, 其中共有 15 个蛋白点表达量有显著性差异($P<0.05$)。与未交配组相比, 交配组三疣梭子蟹肝胰腺中 6 个蛋白点的表达量显著性上升。经质谱鉴定为: 磷酸丙糖异构酶、磷酸丙酮酸水合酶、过氧化氢酶、 δ -谷胱甘肽 S-转移酶、ATP 合酶 α -亚基和胰凝乳蛋白酶。此外, 交配组三疣梭子蟹肝胰腺中 9 个蛋白点的表达量显著性下降。经质谱鉴定为: 延伸因子 2、长链酰基 CoA 脱氢酶、假血蓝蛋白 1、假血蓝蛋白 2、异柠檬酸脱氢酶、线粒体乙醛脱氢酶 X、转酮醇酶、血蓝蛋白 α -亚基和腺苷高半胱氨酸酶 A。该结果可为揭示三疣梭子蟹卵巢发育机理提供重要参考。

关键词: 三疣梭子蟹; 蛋白质组学; 交配; 肝胰腺

中图分类号: Q513

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2013) 04-0001-06

三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*), 隶属于甲壳纲、十足目、梭子蟹科, 广泛分布于中国、日本和韩国沿海地区, 是我国重要的海产经济蟹类, 在全球海水养殖业也占据了极其重要的地位^[1]。众所周知, 肝胰腺是甲壳动物的重要器官, 在甲壳类动物生长、免疫反应和代谢等多种生理过程中发挥着重要作用^[2]。其中, 肝胰腺某些蛋白质功能会影响卵巢的发育。例如, 普通滨蟹(*Carcinus maenas*)维甲酸 X 受体会刺激卵巢的发育, 而中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)卵蛋白 M 在个体快速发育期参与生殖调控^[3]。但关于肝胰腺蛋白质在雌性三疣梭子蟹卵巢发育中表达量变化和所发挥主要功能的文献还未见报道。

有学者指出三疣梭子蟹生殖蜕壳后没有交配的个体卵巢会停止发育, 因为交配是诱导滤泡细胞向卵母细胞迁移和卵黄发生的前提^[4]。吴旭干等^[5]指出某些三疣梭子蟹卵巢发育过程中, 肝胰腺中

蛋白质和脂肪含量变化会发生规律性变化。虽然以往学者对三疣梭子蟹肝胰腺蛋白质含量在卵巢发育过程中的变化趋势已有报道, 但研究方法大多是对肝胰腺进行组织切片和生化成分测定, 而没有蛋白表达水平研究的报道。笔者旨在探究三疣梭子蟹卵巢发育过程中, 交配和未交配三疣梭子蟹肝胰腺中蛋白质表达差异情况, 并对产生差异的原因进行分析。对交配与未交配雌性三疣梭子蟹肝胰腺开展差异蛋白质组学研究有助于深入了解肝胰腺的功能。

1 材料与方法

1.1 三疣梭子蟹交配及样品采集

三疣梭子蟹饲养于浙江宁波鑫亿鲜活水产有限公司, 随机挑选健康成年雄性和雌性三疣梭子蟹各 30 只, 每只体重约为 180 g。雄性和雌性分别饲养于塑料饲养筐内(40 cm×40 cm×40 cm)。于

收稿日期: 2013-03-25。

宁波大学学报(理工版) 网址: <http://journal.lg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家自然科学基金(41106123); 浙江省农业新品种选育重大专项(2012C12907-3); 浙江省海水养殖重点科技创新团队项目(2010R50025-08); 宁波市海洋与渔业专项(2011-1-7); 浙江省教育厅科研项目(Z201121258); 宁波市农业科技专项(201015); 宁波市海洋蟹类产业科技创新团队项目(2011B81003)。

第一作者: 徐 洲(1989-), 男, 江西九江人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 遗传育种与种质保护。E-mail: xuzhou9559@163.com

*通信作者: 王春琳(1965-), 男, 浙江台州人, 博导/教授, 主要研究方向: 水产养殖。E-mail: wangchunlin@nbu.edu.cn

2011年9月将雌蟹和雄蟹各30只以1:1的数量比例放入同一饲养筐内,共30对.使用塑料栅栏将其中15对雌蟹和雄蟹分隔开,阻止其抱对和交配,视为未交配组.交配组雌蟹和雄蟹不做上述处理.观察发现,交配组雌蟹生殖蜕壳后,雌雄蟹能抱对并交尾,交尾结束后可观察到纳精囊中精英呈桃红色,并随着雌蟹甲壳硬化,精英逐渐缩小并褪色.而未交配组内的三疣梭子蟹不交配,纳精囊中无精英.交配完成后,将2组共30只雌性三疣梭子蟹置于相同环境下饲养,经过6个月(2011年9月到2012年3月)至第一次卵巢发育期后,解剖分离出交配组15只雌蟹肝胰腺组织,并将肝胰腺组织混合均匀,未交配组以相同方法操作.将肝胰腺在液氮中速冻, -80℃条件下保存.

1.2 肝胰腺蛋白质提取

肝胰腺组织于液氮中研磨至粉末状,称取0.5g组织粉末,加入200μL裂解液(7mol·L⁻¹尿素,2mol·L⁻¹硫脲,4%CHAPS,60mmol·L⁻¹DTT,2%IPG buffer pH 3~10).匀浆液冰上放置1h后,12000g 4℃,离心20min,弃沉淀,考马斯亮蓝法测定上清液蛋白浓度.

1.3 电泳、凝胶染色和图像分析

第1向等电聚焦(IEF)采用17cm pH 5~8非线性IPG胶条,蛋白上样量为1mg,水化上样缓冲液体积为350μL(8mol·L⁻¹尿素,4%CHAPS,65mmol·L⁻¹DTT,0.5%IPG buffer pH 3~10),IEF程序:50V 12h,250V 1h,1000V 1h,10000V 5h,10000V至总电压达到40000Vh. IEF完成后,分别在胶条平衡缓冲液母液(30%甘油,2%SDS,0.375mol·L⁻¹Tris-HCL (pH 8.8),6mol·L⁻¹尿素)中加入1%DTT和2.5%碘乙酰胺,配制成平衡缓冲液1和2.将胶条依次放入平衡缓冲液1和2中平衡各15min.

第2向采用12%的SDS-PAGE胶,先以80V电泳30min,然后加大电压至200V至溴酚蓝到达距离凝胶底部0.5cm处停止电泳.使用考马斯亮蓝G-250法对凝胶进行染色,扫描双向电泳胶为图像格式后,使用PDQuest图像分析软件对其进行分析.进行自动斑点检测和匹配后使用归一化功能以校正上样量的差异,交配组和未交配组中同一蛋白点强度差异超过2倍的被视为差异表达的蛋

白质点.

1.4 酶解和质谱鉴定

将切取的每个蛋白质点单独放入0.5mL离心管中,加超纯水漂洗2次.加入300μL考染脱色液(25mmol·L⁻¹ NH₄HCO₃,50%乙腈的水溶液),脱色30min.吸出脱色液,加入200μL 100%乙腈溶液,脱水30min.吸出脱水液后,加入10μL含0.02μg·μL⁻¹胰蛋白酶,25mmol·L⁻¹ NH₄HCO₃,10%乙腈水溶液的酶解工作液于冰上放置30min.再于每管中加入20μL含25mmol·L⁻¹ NH₄HCO₃,10%乙腈水溶液的酶解覆盖液,于37℃下酶解过夜.将酶解后上清转移至另一离心管中,加入50μL含5%三氟乙酸(TFA),67%乙腈的蛋白萃取液于37℃温浴30min,5000g离心5min,上清冷冻干燥后作为质谱样品.

将酶解后干粉重新溶于5μL含10mg·mL⁻¹ α-氰基-4-羟基肉桂酸,50%乙腈,0.05%TFA的饱和溶液中,取1μL进行质谱点靶鉴定,仪器为ABI 4700串联飞行时间质谱仪(MALDI-TOF/TOF).采用正离子模式和自动获取数据模式采集数据.肽质量指纹图谱的质谱扫描范围为800~3500Da.使用GPS 3.6和Mascot 2.1软件对质谱数据进行分析 and 蛋白鉴定.搜索参数如下:数据库为NCBI nr;允许最大酶切漏切位点为1;固定化修饰为脲基甲基化半胱氨酸(Cysteine carbamido methylation);可变修饰为氧化型甲硫氨酸;一级质谱(MS)所允许偏差为0.15Da;二级质谱(MS/MS)所允许偏差为0.25Da.

2 结果与分析

三疣梭子蟹肝胰腺蛋白质组双向电泳凝胶图谱如图1所示,图1中(a)和(b)分别表示交配与未交配三疣梭子蟹肝胰腺蛋白质双向电泳结果.交配组中每张胶能检测到(400±25)个蛋白点,而未交配组为(530±16)个.与未交配组相比,交配组6种蛋白质的表达量上升,在图1中被标记为2,4,5,9,10,14.经过质谱鉴定为胰凝乳蛋白酶、δ-谷胱甘肽S-转移酶(δ-GST)、过氧化氢酶(CAT)、磷酸丙糖异构酶(TIM)、磷酸丙酮酸水合酶(PEP)和三磷酸腺苷合酶α亚基.此外,与未交配组相比,交配组中9种蛋白质的表达量下降.其中1,3,6,7,8,11,12,13,

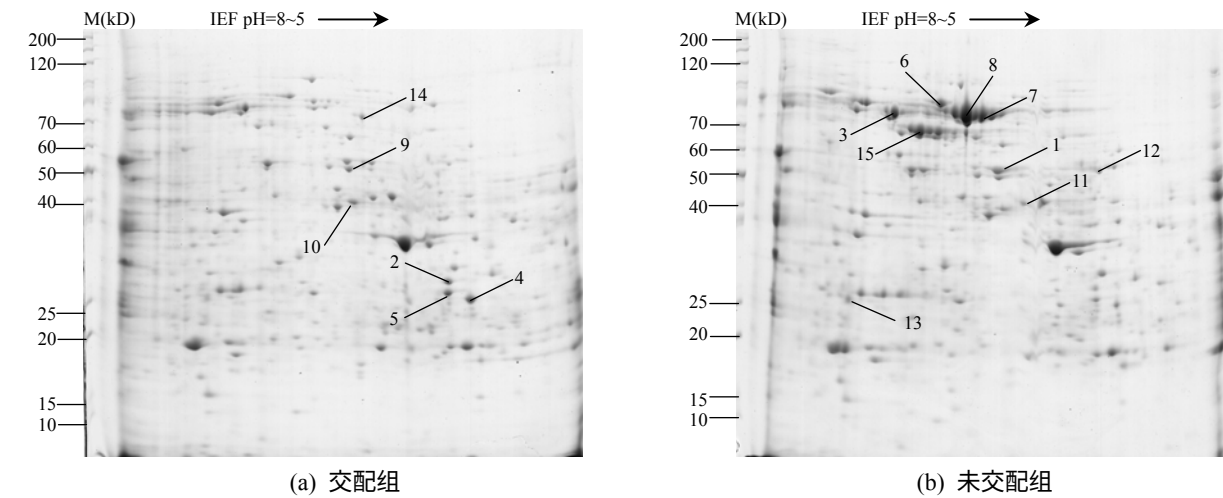


图 1 三疣梭子蟹肝胰腺蛋白质组双向电泳凝胶图谱

表 1 交配与未交配三疣梭子蟹肝胰腺差异蛋白点表达

蛋白点 序号	相似 蛋白	数据库 登录号	物种名	(分子量/kD)/ 等电点	表达趋势(交配组 vs 未交配组)
1	假血蓝蛋白 1	gi 121484232	<i>Portunus pelagicus</i>	50.1/5.83	↓
2	胰凝乳蛋白酶	gi 332168659	<i>Scylla paramamosain</i>	28.5/6.11	↑
3	长链酰基辅酶 A 脱氢酶	gi 113931598	<i>Xenopus tropicalis</i>	49.4/8.69	↓
4	δ-谷胱甘肽 S-转移酶	gi 254680851	<i>Eriocheir sinensis</i>	24.5/5.69	↑
5	磷酸丙糖异构酶	gi 238477329	<i>Crangon crangon</i>	26.9/5.54	↑
6	线粒体乙醛脱氢酶 X	gi 345489547	<i>Nasonia vitripennis</i>	96.5/6.66	↓
7	假血蓝蛋白 2	gi 81230850	<i>Metacarcinus magister</i>	78.3/5.71	↓
8	延伸因子 2	gi 239949527	<i>Homarus americanus</i>	94.3/6.25	↓
9	过氧化氢酶	gi 260586476	<i>Portunus trituberculatus</i>	53.5/5.94	↑
10	磷酸丙酮酸水合酶	gi 3885968	<i>Penaeus monodon</i>	47.3/6.18	↑
11	腺苷高半胱氨酸酶 A	gi 148230513	<i>Xenopus laevis</i>	47.7/6.04	↓
12	血蓝蛋白 α-亚基	gi 7105883	<i>Homarus americanus</i>	77.2/5.37	↓
13	异柠檬酸脱氢酶	gi 290756758	<i>Geometra papilionaria</i>	27.1/7.81	↓
14	ATP 合酶 α-亚基	gi 170043178	<i>Culex quinquefasciatus</i>	68.2/5.26	↑
15	转酮醇酶	gi 336455050	<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	67.6/7.23	↓

注: “↑”表示表达量上升, “↓”表示表达量下降。

15 分别被鉴定为假血蓝蛋白 1、长链酰基 CoA 脱氢酶、线粒体乙醛脱氢酶 X、假血蓝蛋白 2、延伸因子 2、腺苷高半胱氨酸酶 A、血蓝蛋白 α-亚基、异柠檬酸脱氢酶和转酮醇酶。蛋白点数字编号见图 1。经质谱所鉴定蛋白质的具体信息见表 1。

3 讨论

实验中交配组与未交配组共有 15 种差异表达蛋白。交配组中 6 种蛋白质表达上调, 其中磷酸丙

糖异构酶和磷酸丙酮酸水合酶参与到糖酵解途径中。磷酸丙糖异构酶参与催化磷酸丙糖异构体(磷酸二羟丙酮、3-磷酸-D-甘油醛)的可逆转化, 这一过程广泛存在于大部分生物体中, 包括哺乳动物和两栖类动物等脊椎动物, 节肢动物和棘皮动物等无脊椎动物^[6]。磷酸丙糖异构酶在糖酵解和快速产能过程中发挥重要作用, 此过程受到酶底物进入或远离酶活性位点扩散速率的限制^[7-8]。另外, 磷酸烯醇式丙酮酸是糖酵解过程的中间产物, 它

是由烯醇化酶作用于 2-磷酸甘油酸而产生的高能化合物^[9]。交配组中这些关键酶的表达上调说明交配蟹与未交配蟹相比,其体内糖酵解反应更活跃,更需要快速产能。

正如刀额新对虾中所报道,与未交配蟹相比,处于卵巢发育期的交配蟹的新陈代谢加快,并且耗氧量也会增加,使得交配蟹更可能受到活性氧簇的毒害^[11]。中华绒螯蟹 δ -谷胱甘肽 S-转移酶能防御活性氧簇对细胞产生的损伤,因为其具有抗氧化活性,能将细胞内过氧化物转换为低毒害或无害物质,并抑制过量自由基对细胞的氧化损伤作用^[12]。而过氧化氢酶是一种重要的抗氧化酶,通常存在于过氧化物酶体细胞器中,它催化过氧化氢生成低活性的 O_2 和 H_2O 分子^[13]。交配组中 δ -谷胱甘肽 S-转移酶和过氧化氢酶的表达上升有助于稳定细胞结构,阻止细胞内氧化应激作用,防止细胞和组织氧化损伤。

胰凝乳蛋白酶在分类上属于丝氨酸蛋白酶超家族,是一种重要的消化酶,负责进行蛋白质和多肽的消化分解。在实验中,交配组胰凝乳蛋白酶表达上升,证明交配组肝胰腺蛋白质消化分解比未交配组活跃。Dall^[14]认为甲壳动物饥饿时主要是动用肝胰腺中蛋白质维持卵巢营养和能量的稳定。交配组中表达上升可能是由于卵巢发育到达 V 期时,交配组三疣梭子蟹肝胰腺蛋白质大量的消化分解。

交配组中 ATP 合酶的主要功能是利用呼吸链产生的质子的电势,进行 ATP 的合成。据研究报道,ATP 合酶的蛋白表达水平与线粒体的能量代谢密切相关,代谢活动和能量的产生对卵子的成熟,受精后卵裂以及胚胎着床是极为重要的^[15]。

长链酰基 CoA 脱氢酶和线粒体乙醛脱氢酶 X 参与调节细胞中线粒体脂质过氧化反应,是重要的脂类代谢酶。前者根据其氨基酸序列活性位点位置的不同,分为短链和长链 2 种类型,在脂肪酸 β -氧化过程中,2 种类型都拥有催化起始反应的能力^[16-17]。在交配组中 2 种酶的表达显著性降低,预示交配组中肝胰腺脂类氧化产能被抑制,所消耗的脂类物质减少。姚桂桂等^[18]已报道三疣梭子蟹第 1 次卵巢发育期间,肝胰腺脂类物质显著减少。产生此现象可能有以下 2 种原因:(1)肝胰腺中的脂

类可能经过血淋巴被转移至卵巢或其他组织进行脂肪积累,而不是用于氧化产能,肝胰腺所消耗的脂肪减少,所以参与脂质代谢的长链酰基 CoA 脱氢酶表达下降。(2)可能是由于在卵巢发育期包括了越冬期,三疣梭子蟹亲本基本不摄食,主要消耗肝胰腺内储存的脂类物质用于氧化产能,肝胰腺组织中脂肪被耗尽,所以长链酰基 CoA 脱氢酶表达下降。

在生物体内有 2 个主要的生化途径用于进行葡萄糖代谢,分别是糖酵解途径和磷酸戊糖途径(PP 途径)。20 世纪 30 年代学者发现,肌肉提取物能催化葡萄糖转化为乳酸,并以此发现了糖酵解途径。而 PP 途径的功能是增加细胞内还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)的合成,从而提高生物体的解毒功能并促进脂质合成。转酮醇酶(TK)是磷酸戊糖旁路非氧化分支的关键酶,催化二碳单位在供体物质(酮糖)和受体物质(醛糖)间进行可逆转移,并通过中间产物将磷酸戊糖途径和糖酵解途径联系起来,促进物质的互相转变,使细胞在不同环境条件下满足不同代谢需求^[10]。这一实验结果也证实了未交配组三疣梭子蟹脂质合成速率高于交配组。

假血蓝蛋白 1 和 2 属于节肢动物血蓝蛋白超家族成员,参与调节节肢动物的蜕皮活动^[19]。蜕皮是甲壳动物的重要生理活动,它调控着动物的生长、变态活动和繁殖。假血蓝蛋白的结构特殊,不同于血蓝蛋白超家族的其他成员。因为用来结合铜离子的组氨酸残基数目不足,所以它没有氧化酶活性或运输氧气的能力。在蜕皮间期,三疣梭子蟹体内的高浓度假血蓝蛋白有助其角质层的合成并维持结构完整性,此外,还有助于形成新的外壳^[20]。交配组三疣梭子蟹即将排卵,不进行蜕皮活动,所以其表达显著性低于未交配组。

延伸因子 2 是真核细胞延伸因子家族中的一员,具有转位酶活性,能在 GTP 水解供能条件下,促进多肽链延伸,是促进蛋白质生物合成的重要蛋白质^[21]。在实验交配组中延伸因子 2 的表达下调,表明卵巢发育至 V 期时,肝胰腺中蛋白质合成减少。有研究表明,三疣梭子蟹卵巢发育过程中,肝胰腺大量合成卵黄蛋白,并经血淋巴转移至卵巢中,从而促进卵巢发育与成熟。而在本实验中肝

胰腺蛋白质合成减少可能由于交配组卵巢发育中期(Ⅱ至Ⅲ期)以后, 肝胰腺中卵黄合成能力显著下降, 蛋白质的合成速率低于未交配组^[22]。

此外, 未交配组中血蓝蛋白 α -亚基、异柠檬酸脱氢酶和腺苷高半胱氨酸酶 A 的表达也高于交配组。其中, 血蓝蛋白 α -亚基能与氧气进行可逆性结合, 其表达上升证明处于低溶氧环境下的甲壳动物会启动血蓝蛋白的合成来满足动物机体生命活动对氧气的需求。其结果与 Brouwer 等^[23]对小长臂虾(*Palaemonetes pugio*)研究结果相一致。异柠檬酸脱氢酶(IDH)在三羧酸循环中负责催化异柠檬酸转变为 α -酮戊二酸, 将 NAD⁺或 NADP⁺还原成为 NADH 或 NADPH。它在生物体的能量代谢、生物合成和抗氧化胁迫中发挥重要作用。并据报道^[24], 在碳源缺乏时, NADP-依赖型 IDH 能通过可逆磷酸化对 TCA 循环和乙醛酸旁路碳通量的分配起关键的调控作用。而对于腺苷高半胱氨酸酶 A 在三疣梭子蟹卵巢发育中作用的研究还有待深入。

从实验结果可知, 交配组三疣梭子蟹个体调控糖酵解途径的关键酶、蛋白质代谢酶、抗氧化酶类和 ATP 合成酶, 证明交配组个体需要更多的能量用于卵巢发育。此时加强投喂富含脂类和蛋白质的饲料将有助于促进雌体卵巢的发育。

参考文献:

- [1] 谢忠明, 刘洪军, 冯蕾. 海水经济蟹类养殖技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002:15-27.
- [2] Chai Y M, Yu S S, Zhao X F, et al. Comparative proteomic profiles of the hepatopancreas in *Fenneropenaeus chinensis* response to white spot syndrome virus[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2010, 29:480-486.
- [3] Lu W, Li W W, Jin X K, et al. Reproductive function of selenoprotein M in Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*)[J]. Peptides, 2012, 34:168-176.
- [4] 贾磊. 三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)卵巢发育的初步研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008.
- [5] 吴旭干, 姚桂桂, 杨筱珍, 等. 东海三疣梭子蟹第一次卵巢发育规律的研究[J]. 海洋学报, 2007, 29(4):120-127.
- [6] Seigle J L, Celotto A M, Palladino M J. Degradation of functional triose phosphate isomerase protein underlies sugarkill pathology[J]. Genetics, 2008, 179:855-862.
- [7] Casteleijn M G, Alahuhta M, Groebel K, et al. Functional role of the conserved active site proline of triosephosphate isomerase[J]. Biochemistry, 2006, 45:15483-15494.
- [8] Gonzalez-Mondragon E, Zubillaga R A, Saavedra E, et al. Conserved cysteine 126 in triosephosphate isomerase is required not for enzymatic activity but for proper folding and stability[J]. Biochemistry, 2004, 43:3255-3263.
- [9] Schwerin S, Zeis B, Lamkemeyer T, et al. Acclimatory responses of the *Daphnia pulex* proteome to environmental changes II Chronic exposure to different temperatures (10 and 20 degrees C) mainly affects protein metabolism[J]. BMC Physiol, 2009, 9:8.
- [10] Horecker B L. The pentose phosphate pathway[J]. Biol Chem, 2002, 277:47965-47971.
- [11] Wu L T, Chu K H. Characterization of an ovary-specific glutathione peroxidase from the shrimp *Metapenaeus ensis* and its role in crustacean reproduction[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 2010, 155:26-33.
- [12] Zhao D, Chen L, Qin C, et al. A delta-class glutathione transferase from the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*: cDNA cloning, characterization and mRNA expression[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2010, 29: 698-703.
- [13] Terevinto A, Ramos A, Castroman G, et al. Oxidative status, in vitro iron-induced lipid oxidation and superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rhea meat[J]. Meat Science, 2010, 84:706-710.
- [14] Dall W. Lipid absorption and utilization in the norwegian lobster, *Nepbrops norvegicus*[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1981, 50:33-45.
- [15] 黄睿, 彭文林, 张敏芳, 等. 人卵和胚胎线粒体 ATP 合酶表达的研究[J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2005, 34(1):92-93.
- [16] Kim J J, Miura R. Acyl-CoA dehydrogenases and acyl-CoA oxidases: Structural basis for mechanistic similarities and differences[J]. European Journal of Biochemistry, 2004, 271:483-493.
- [17] Lamm T R, Kohls T D, Saenger A K, et al. Comparison of ligand polarization and enzyme activation in medium- and short-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase-novel analog complexes[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2003, 409:251-261.
- [18] 姚桂桂, 吴旭干, 成永旭, 等. 东海三疣梭子蟹雌体不同生理阶段肝胰腺的生化组成与其组织学结构的关系[J]. 海洋学报, 2008, 30(6):122-131.

- [19] Terwilliger N B, Ryan M C. Functional and phylogenetic analyses of phenoloxidasases from brachyuran (*Cancer magister*) and branchiopod (*Artemia franciscana*, *Triops longicaudatus*) crustaceans[J]. Biological Bulletin, 2006, 210:38-50.
- [20] Terwilliger N B, Ryan M, Phillips M R. Crustacean hemocyanin gene family and microarray studies of expression change during eco-physiological stress[J]. Integrative and Comparative Biology, 2006, 46:991-999.
- [21] Covi J A, Bader B D, Chang E S, et al. Molt cycle regulation of protein synthesis in skeletal muscle of the blackback land crab, *Gecarcinus lateralis*, and the differential expression of a myostatin-like factor during atrophy induced by molting or unweighting[J]. Journal of Experimental Biology, 2010, 213:172-183.
- [22] Mak A S, Choi C L, Tiu S H, et al. Vitellogenesis in the red crab *Charybdis feriatus*: Hepatopancreas-specific expression and farnesoic acid stimulation of vitellogenin gene expression[J]. Molecular Reproduction and Development, 2005, 70:288-300.
- [23] Brouwer M, Brown-Peterson N J, Larkin P. Molecular and whole animal responses of grass shrimp, *Palaemonetes pugio*, exposed to chronic hypoxia[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2007, 341: 16-31.
- [24] 朱国萍, 黄恩后, 赵昂军. NADP-异柠檬酸脱氢酶的结构与功能[J]. 安徽师范大学学报: 自然科学版, 2007, 30(3):366-371.

Comparative Proteomics of Hepatopancreas in Mated and Unmated Marine Crab *Portunus trituberculatus*

XU Zhou, MU Chang-kao, LI Rong-hua, SONG Wei-wei, WANG Chun-lin *

(School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: Two-dimensional electrophoresis and matrix-assisted laser desorption ionization tandem time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF/TOF) are used to analyze proteomics of hepatopancreas in mated and unmated female *Portunus trituberculatus*. The two-dimensional electrophoresis gel images analyzed using PDQuest software demonstrate that 15 spots are significantly distinctive. The quantitative expression of 6 spots is incremented in hepatopancreas in the mated group which is identified as triosephosphate isomerase, phosphopyruvate hydratase, catalase, δ -glutathione S-transferase, ATP synthase alpha subunit and chymotrypsin. In contrast, the quantitative expression of 9 spots is decremented in the mated group which is identified as elongation factor 2, long-chain acetyl-CoA dehydrogenase, cryptocyanin 1, cryptocyanin 2, isocitrate dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase X mitochondrial-like, transketolase, hemocyanin alpha-subunit and adenosyl-homocysteinase A. The results provide important theoretical support for completing ovary maturation research on the female *Portunus trituberculatus*.

Key words: *Portunus trituberculatus*; proteomics; mating; hepatopancreas

(责任编辑 史小丽)