

小分子热休克蛋白在宰后牛肉成熟中的作用

黄 峰^{1,2,3}, 丁振江¹, 孙红霞¹, 张春江^{1,2,3}, 张 良^{1,2,3}, 张 泓^{*1,2,3}

(1. 中国农业科学院 农产品加工研究所(北京), 北京 100193; 2. 中国农业科学院 合肥食品营养与健康创新研究院, 安徽 合肥 238000; 3. 中国农业科学院 农产品加工研究所(哈尔滨), 黑龙江 哈尔滨 151900)

摘要: 宰后牛肉成熟过程是一系列内源酶和调节因子协同作用的结果。动物被宰杀放血后, 肌肉内环境胁迫机体发生免疫应答, 热休克蛋白首先被激活。蛋白组学数据发现, 小分子热休克蛋白与嫩度之间具有显著相关性, 可能是成熟过程中嫩度变化的一个关键调控因子。作者综述了小分子热休克蛋白的结构和主要功能, 并分析了其在宰后肌肉内环境条件下的变化, 重点讨论了小分子热休克蛋白在成熟过程中的潜在作用。

关键词: 成熟; 小分子热休克蛋白; 肌肉内源酶; 细胞死亡

中图分类号: TS 251.1 文章编号: 1673-1689(2019)09-0011-06 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.09.002

Review about the Roles of Small Heat Shock Proteins in Postmortem Aging of Skeletal Muscles

HUANG Feng^{1,2,3}, DING Zhenjiang¹, SUN Hongxia¹, ZHANG Chunjiang^{1,2,3},
ZHANG Liang^{1,2,3}, ZHANG Hong^{*1,2,3}

(1. Institute of Food Science and Technology CAAS, Beijing 100193, China; 2. Academy of Food Nutrition and Health Innovation CAAS, Hefei 238000, China; 3. Institute of Food Science and Technology CAAS, Harbin 151900, China)

Abstract: Postmortem aging process of beef muscle is regulated by a series of endogenous enzymes and regulatory factors. After bleeding, skeletal muscle cells will trigger an immune response to resistance harmful intramuscular environment. Small heat shock proteins (sHSPs) are firstly activated. Meanwhile, proteomic data also revealed that sHSPs have a significant correlation with the tenderness of postmortem skeletal muscle and maybe played an important regulation role during the postmortem tenderization process. The structure and function of sHSPs are briefly reviewed, and meanwhile the changes of sHSPs in postmortem intramuscular environment are also analyzed in the paper. In the last, the potential role of sHSPs to during aging process are discussed in the review.

Keywords: aging, small heat shock protein, endogenous enzyme, cell death

收稿日期: 2017-01-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(31571858); 中央级科研院所基本科研业务费专项(Y2016JC40)。

作者简介: 黄 峰(1982—), 男, 博士, 副研究员, 主要从事农产品加工及贮藏研究。E-mail: huangfeng226@163.com

* 通信作者: 张 泓(1958—), 男, 博士, 研究员, 主要从事农产品加工及贮藏研究。E-mail: tfpmlab@163.com

引用本文: 黄峰, 丁振江, 孙红霞, 等. 小分子热休克蛋白在宰后牛肉成熟中的作用[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(09): 11-16.

动物品种、性别、肌肉的部位和营养情况等都可以影响肉的嫩度,但本质上影响嫩度改善的因素主要包括结缔组织含量、肌节长度和肌原纤维蛋白的水解程度 3 个方面^[1]。结缔组织的含量主要影响肉的“本底硬度”,肌节长度主要在僵直过程中对肉嫩度产生影响,而肌原纤维蛋白的有限降解是成熟过程中肌肉嫩度得到改善的主要原因。目前,控制宰后嫩化的方法主要有化学、物理、生物和酶类嫩化法等,其中钙激活酶体系是酶类嫩化法的主要研究对象^[2]。钙激活酶被认为是宰后肌肉成熟过程中发挥关键作用的内源酶类^[3-4]。但最近研究发现除钙激活酶外,细胞凋亡酶也参与了宰后肌肉的嫩化过程,成熟是多种内源酶和调控因子协同作用的结果^[5-7]。热休克蛋白作为一种机体保护蛋白,在动物被屠宰放血后,正常的生理状态被打破,促使机体释放热休克蛋白而产生免疫应答。随着蛋白质组学技术在肉品中的应用,许多的小分子热休克蛋白(small heat shock proteins, sHSPs)在宰后肌肉中被检测到,并发现与宰后肌肉嫩度、保水性等食用品质变化具有显著相关性,并被认为是宰后肌肉成熟过程中的一个重要调控因子^[8-9]。作者主要对小分子热休克蛋白的种类、结构与功能及对宰后肌肉成熟过程的调控机制进行探讨。

1 小分子热休克蛋白的种类与结构

热休克蛋白是指生物体遭受外界高于其正常生长温度或剧烈震动时,新合成或过表达的一类保护机体自身的蛋白质,又称为胁迫蛋白。最早由遗传学家 Ritossa^[10]在 1962 年研究果蝇唾液腺时发现。根据单聚体相对分子质量大小和同源程度不同,可将热休克蛋白分为 sHSPs, HSP 60, HSP 70, HSP 90 及 HSP110 五大家族^[11]。sHSPs 是热休克蛋白的亚单位之一,相对分子质量在 12 000~43 000 之间,和其他热休克蛋白相比,该类蛋白不需要 ATP 即能发挥作用。目前已在哺乳动物中发现了 11 种 sHSPs,且在不同组织中表达不同(表 1)^[4]。Taylor 等^[12]依据其在组织中的表达把 sHSPs 分为两类,一类是在所有组织中均表达;另一类是只在特定组织中表达。sHSPs 作为一种重要的分子伴侣蛋白,结构上高度保守,在氨基酸序列 C 末端具有一段由 80~100 个氨基酸残基组成特定区域,因与 $\alpha\beta$ -晶体蛋白具有很高的同源性,所以也称为 $\alpha\beta$ -晶体蛋白区域^[13]。除

了一个灵活的 C 端, sHSPs 还有一个连接着一个保守序列区域 WDPF 的 N 端^[14]。sHSPs 在体内以高度有序的寡聚体形式存在,其寡聚体的结构和组成均取决于每个小分子热休克蛋白单体的 α -晶体结构以及 C 端和 N 端的长度和结构。受到应激反应时, sHSPs 会发生解离或聚合,可形成相对分子质量达到 $2\times 10^5\sim 8\times 10^5$ 的低聚体复合物,从而发挥其生物学功能。

表 1 小分子热休克蛋白家族

Table 1 Small heat shock proteins family

热休克蛋白	别名	表达部位
HSPB1	CMT2F;HMN2B;HSP27;HSP28;HSP25;HS.76067;DKFZp586P1322	无组织特异性
HSPB2	MKBP;HS.78846;LOH11CR1K;MGC133245	心肌和骨骼肌
HSPB3	HSPL27	心肌和骨骼肌
HSPB4	Crystallin alpha A;CRYAA;CRYA1	眼状晶体
HSPB5	Crystallin alpha B;CRYAB;CRYA2	无组织特异性
HSPB6	HSP20;FLJ32389	无组织特异性
HSPB7	cvHSP;FLJ32733;DKFZp779D0968	心肌和骨骼肌
HSPB8	H11;HMN2;CMT2L;DHMN2;E2IG1;HMN2A;HSP22	无组织特异性
HSPB9	FLJ27437	睾丸组织
HSPB10	ODF1;ODF;RT7;ODF2;ODFP;SODF;ODF27;ODFPG;ODFGA;ODFPG;MGC129928;MGC129929	睾丸组织
HSPB11	HSP16.2;Clorf41;PP25	胎盘组织

2 小分子热休克蛋白的主要生物学功能

2.1 稳定细胞骨架

细胞骨架由微丝、微管和中间纤维构成,小热休克蛋白具有稳定和修复细胞骨架结构的作用。HSP 27 和 $\alpha\beta$ -晶状体蛋白是 sHSPs 家族中的重要成员,有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等作用^[15]。肌动蛋白是微丝系统的主要组成部分,肌动蛋白受温度影响较大,在高温下以不溶性形式聚集,破坏细胞骨架;而 HSP 27 能使不可溶性肌动蛋白转变为可溶性,从而稳定细胞骨架^[16]。此外,强氧化刺激通过产生 ROS 破坏细胞中的微丝系统,并导致肌动蛋白的解聚和片段化,而 HSP 27 可以通过抑制 ROS 的产生而保护细胞骨架^[17]。

2.2 分子伴侣功能

分子伴侣作用是指能够结合或释放其他蛋白质的不稳定构象,使得多肽链可以进一步的折叠,多聚体的组合或降解以及细胞器蛋白跨膜转运的一种功能^[18]。虽然 sHSPs 在哺乳动物细胞中的分子伴侣作用机制还未研究清楚,但是 sHSPs 在细胞中的作用是不可否认的。例如:HSP 27 可以与甾体激素受体结合,不仅可以避免不良反应的发生;结合物还可通过激活蛋白酶活性生成超氧化物歧化酶(SOD)等,增强细胞耐热、抗理化反应及抗氧化物损伤的功能;同时可提供结合蛋白,协同参与抗原递呈、加工、“T”细胞导航以及免疫球蛋白装配^[19]等作用。HSP 22 可与抗凋亡蛋白 Bag3 (又称 Bcl-2 interacting death suppressor)结合形成分子伴侣复合物^[20]。HSP 22 与 HSP 27 和其它分子伴侣相互作用,有刺激心肌细胞生存的作用^[21]。研究表明,磷酸化程度较低的 HSP 27 多聚体的分子伴侣作用较强^[22]。

2.3 抑制细胞凋亡

1972 年 Kerr^[23]等首次提出细胞凋亡(apoptosis)的概念。细胞凋亡是指机体细胞收到凋亡信号的刺激后,在多个凋亡因子的相互作用下进行信号传导并规律性完成的细胞程序性死亡,不同的凋亡诱导信号所形成的传导途径不同,目前发现的传导途径主要包括死亡受体通路(外通路)、线粒体通路(内通路)和内质网通路^[24]。目前已有许多关于热休克蛋白抑制细胞凋亡方面的报道,都是通过某种方式阻断细胞凋亡通路。Mehlen 等^[25]探究到人类 HSP 27 表达可抑制 Fas 受体介导的细胞凋亡通路,即通过封闭接头蛋白 Daxx 与细胞凋亡信号调节激酶 I 之间的相互作用;Concannon CG 等^[26]发现 HSP 27 可以与 procaspase-3 结合阻碍其活化而抑制细胞凋亡。上述都是由于阻断了细胞凋亡的死亡受体通路即外通路而抑制细胞凋亡。Mehlen 等发现 sHSPs 对肿瘤坏死因子(TNF- α)的作用主要依赖于解毒分子谷胱甘肽(GSH),阻止细胞色素 C(Cytochrome C, Cyt-C)的释放,进而抑制细胞凋亡;Rane MJ 等^[27]研究发现 HSP27 可通过调控 caspase-9 抑制细胞凋亡;Mao^[28]报道 $\alpha\beta$ -晶体蛋白在十字孢碱所致的凋亡过程中与 bax, bcl-Xs 结合,抑制两者向线粒体的移位,从而起到抑制细胞凋亡的作用。上述都是由于阻断了线粒体通路即内通路而抑制细胞凋亡。

2.4 心脏保护作用

研究表明血浆中 HSP B1 抗原浓度明显提高主要表现在冠状动脉疾病患者中^[29],且机体血浆中 HSP B1 抗体浓度与是否患有该疾病及病情严重程度有明显的相关性^[30]。在缺血心肌组织中 HSP B5 表达量明显增高,研究证明影响 HSP B5 以何种磷酸化形式参与缺血病理过程的因素较多,缺血时间可能是其一。Wang X 等^[31]研究发现向大鼠体内注射带有 HSP B6 基因的骨髓间充质干细胞有利于治疗心肌梗死。有实验表明 HSP B8 的过表达可以增强线粒体产生 NO,进而保护心脏^[32]。目前 HSP 保护缺血心肌组织的机制还需进一步研究。

3 小分子热休克蛋白在成熟过程中的作用

3.1 小分子热休克蛋白与宰后牛肉嫩度的关系

随着蛋白质组学技术在肉品中的应用,许多的小分子热休克蛋白在宰后肌肉中被检测到。在哺乳动物中共检测到 11 种 sHSPs,其中 HSP 27、HSP 20 和 $\alpha\beta$ -晶体蛋白在骨骼肌中的表达量最高^[8]。Ouali 等^[33]首次提出小分子热休克蛋白可能对肉品质有影响。各类小分子热休克蛋白可以不同程度的抑制细胞凋亡,并通过分子伴侣作用维持细胞稳定,此外,小分子热休克蛋白还可以延缓肌肉的老化速度、减弱肌原纤维蛋白降解。宰后肌肉中小分子热休克蛋白的表达和对肉品质的影响机制还有待研究。

在嫩度预测因子的研究中发现 HSP 27 及其降解产物的含量可解释 91%的嫩度变化,高于之前发现的最高嫩度预测因子琥珀酸脱氢酶解释的 57.8%嫩度变化^[34],因此,被许多学者认为 HSP 27 是最有可能参与嫩化过程的热休克蛋白。目前,针对 sHSPs 的表达与宰后牛肉的嫩度的关系,有两种对立的看法。Kim 等^[35]在宰后牛肉中发现 HSP 27 的表达与宰后牛肉嫩度之间存在正相关。Bernard 等^[36]研究表明由于 sHSPs 的分子伴侣作用,HSP 27 和 $\alpha\beta$ -晶体蛋白的共同调节有利于肌动蛋白和肌球蛋白的降解,进而提高肉的嫩度。Morzel 等^[35]也发现 HSP 27 的表达与宰后牛肉嫩度之间存在正相关,并认为 HSP27 可能是由于抑制蛋白聚集,从而有利于肌原纤维蛋白的降解,最终提高了宰后牛肉嫩度。相反,Lomiwes 等^[37]在不同嫩度的牛肉中发现 HSP 27 表达量显著不同,HSP 27 含量越高的牛肉其嫩度越差。Balan 等^[38]在宰后牛肉中发现 HSP27 发生降解,且降解程

度显著相关与肌间线蛋白和肌钙蛋白-T 的降解,并推测降解后的 HSP27 丧失了其保护功能,从而提高内源酶对肌原纤维蛋白的水解能力。

3.2 sHSPs 调控宰后牛肉嫩度的潜在机制

Bernard 等^[39]认为 HSP 27 可以和 $\alpha\beta$ -晶体蛋白、HSP B8 相互作用而影响宰后肌肉的嫩度。有研究表明 HSP 27 的下调会导致肌动蛋白的聚合,提高肌动蛋白微丝的稳定性,而肌动蛋白和肌球蛋白的降解和宰后肌肉的嫩度有密切联系,推测肌动蛋白和肌球蛋白的降解影响肉的质地,肌动蛋白的降解有利于宰后肌肉的嫩化,并且发现肌球蛋白轻链 II 和磷酸丙糖异构酶 I 也和肌肉嫩度有明显的联系。此外,HSP 27 也是一种抗细胞凋亡蛋白,可以和细胞凋亡信号通路的关键控制蛋白结合,通过影响细胞凋亡的进程进而影响宰后肌肉的嫩度。

研究表明:pH 值从 7.4 降低到 6.5,会伴随着 $\alpha\beta$ -晶体蛋白和肌原纤维蛋白的结合程度增加,也意味着肌肉中 sHSPs 浓度的降低是和结合肌原纤维蛋白有关联^[40]。通过体外模拟实验,将 $\alpha\beta$ -晶体蛋白添加到肌原纤维蛋白提取物中会降低肌间线蛋白和肌联蛋白的降解,进一步可以说明 $\alpha\beta$ -晶体蛋白可以作为 μ -钙激活酶的底物,并竞争性的抑制 μ -钙激活酶的活性^[41],进而影响肉的嫩度,而 $\alpha\beta$ -晶体蛋白对宰后肌肉嫩化的作用机制还有待研究。

3.3 pH 值对 sHSPs 调控作用的影响

最近的研究还发现宰后肌肉的极限 pH 值 (pHu) 与 HSP 表达及嫩度变化相关,Pulford 等^[41]认为 pHu 的降低会导致 HSP 20、HSP 27 和 $\alpha\beta$ -晶体蛋白在肌肉中的浓度降低,并且在处于中间 pHu 的宰后肌肉中可以检测出 sHSPs,在低 pHu 或高 pHu 条件下,只能检测出很少的 sHSPs,推测损失的部分 sHSPs 是由于生成了由磷酸化或脱磷酸化的 sHSPs、ATP 以及信号传导等控制的低聚体络合物。

pHu 在 5.8~6.0 之间牛肉其嫩度较其他 pH 范围的差,这种嫩度差异可能是由于 pH 改变了 HSP 27 对钙激活酶的水解活性,最终造成钙激活酶对肌原纤维蛋白的水解程度不同所造成^[37,42-43]。也有学者推测在中间 pHu,内源性蛋白水解活动和高浓度 sHSPs 的共同作用会稳定肌原纤维蛋白,并阻碍肌原纤维蛋白的水解,进而降低肉的嫩度^[43]。此外,Lomiwes 等^[43]研究表明高 pHu 条件下的 sHSPs 浓度高于低 pHu 条件下 sHSPs 的浓度,尽管如此,在高 pHu 条件下,sHSPs 也会随着肉品质的成熟发生降解,可能是由于在此 pH 是 μ -钙激活酶的最佳活性条件。另外,许多学者利用蛋白质组学在宰后肌肉中检测到 HSP 27 不同等电点的异构体^[44],而磷酸化作为改变蛋白等电点的一种常见方式值得关注。

4 展望

目前有关热休克蛋白 27 在细胞培养或在病理状态下(如神经肌肉失调、肌炎、肌萎缩等)下的调控机制研究已相对成熟。许多学者最近发现热休克蛋白 27 与宰后肌肉嫩度之间存在显著相关性,但对这种相关性的内在机制存在两种推测:一是 HSP 27 由于降解或沉淀丧失保护功能,从而提高内源酶水解能力;另一种是 HSP 27 可能抑制肌肉蛋白聚集更有利于其降解。目前有关 HSP 27 在宰后嫩化过程中的调控机制研究还较少,直接的支撑数据更是有限,特别是宰后肌肉嫩化过程中 HSP 27 对肌原纤维蛋白、细胞凋亡酶和钙激活酶的结构修饰及修饰后肌原纤维蛋白对肌肉内源酶水解敏感性变化以及修饰后钙激活酶或细胞凋亡酶对肌原纤维蛋白的水解活性变化等。因此,热休克蛋白 27 在宰后肌肉嫩化过程中的调控机制有待深入研究,从而丰富和发展肉的嫩化理论,进一步完善嫩化过程中的内源酶调控网络提供新的理论依据。

参考文献:

- [1] KOOHARAIE M, GEESINK G H. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system[J]. *Meat Science*, 2006, 74(1): 34-43.
- [2] TANG Yiyu, ZHANG Min, TANG Wenlin, et al. Effect of composite processing to cooked pork thin meat tenderizer[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2015(6): 584-591. (in Chinese)
- [3] GEESINK G H, KUCHAY S, CHISHTI A H, et al. μ -calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins[J]. *Journal of Animal Science*, 2006, 84(10): 2834-2840.
- [4] HUFFLONERGAN E, ZHANG W, LONERGAN S M. Biochemistry of postmortem muscle — Lessons on mechanisms of meat

- tenderization[J]. **Meat Science**, 2010, 86(1):184-195.
- [5] KEMP C M, PARR T. Advances in apoptotic mediated proteolysis in meat tenderisation[J]. **Meat Science**, 2012, 92(3):252-259.
- [6] HUANG F, HUANG M, ZHANG H, et al. Cleavage of the calpain inhibitor, calpastatin, during postmortem ageing of beef skeletal muscle[J]. **Food Chemistry**, 2014, 148(0):1-6.
- [7] OUALI A, HERRERA-MENDEZ C, COULIS G, et al. Meat tenderisation and muscle cell death, two highly related events[J]. **Tehnologija Mesa**, 2007, 48(1/2):1-15.
- [8] LAVILLE E, SAYD T, MORZEL M, et al. Proteome changes during meat aging in tough and tender beef suggest the importance of apoptosis and protein solubility for beef aging and tenderization [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2009, 57(22):10755-10764.
- [9] LOMIWES D, FAROUK M M, WIKLUND E, et al. Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review[J]. **Meat Science**, 2014, 96(1):26-40.
- [10] PANASENKO O O, KIM M V, MARSTON S B, et al. Interadion of the small heat shock protein with molecular mass 25 kDa (hsp25) with actin[J]. **Eur J Biochem**, 2003, 270:892-901.
- [11] RITOSSA F M. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila* [J]. **Cellular and Molecular Life Sciences**, 1962, 18(12):571-573.
- [12] TAYLOR P, BENJAMIN J. Small heat shock proteins: a new classification scheme in mammals [J]. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, 2005, 38(3):433-444.
- [13] KAPPE G, BOELENS W C, JONG W D. Why proteins without an alpha-crystallin domain should not be included in the human small heat shock protein family HSPB[J]. **Cell Stress Chaperones**, 2010, 15(4):457-461.
- [14] ZOUBEIDI A, GLEAVE M. Small heat shock proteins in cancer therapy and prognosis [J]. **Int J Biochem Cell Biol**, 2012(44):1646-1656.
- [15] WANG Xiaohui, YE Dafeng. The research progress of HSP27 expression and the drug resistance of tumor[J]. **Zhejiang Medical**, 2007, 29(11):1238-1241. (in Chinese)
- [16] GAO Qianjin, MA Xindong, XIE Lirong, et al. The research progress of skeletal muscle cytoskeleton proteins and small molecules heat shock protein[J]. **Sports Science**, 2005, 25(3):70-74. (in Chinese)
- [17] THOMPSON H S, SCORDILIS S P. A single bout of eccentric exercise increases Hsp27 and HSC/HSP70 in human skeletal muscle[J]. **Acta Physiologica Scandinavica**, 2001, 171(2):187-193.
- [18] 赵伟. 热休克蛋白 27 在老年性白内障晶状体上皮细胞的表达及意义[D]. 广州:暨南大学, 2004.
- [19] ARNOLDSCHILD D, HANAU D, SPEHNER D, et al. Cutting edge: receptor-mediated endocytosis of heat shock proteins by professional antigen-presenting cells[J]. **Journal of Immunology**, 1999, 162(7):3757-3760.
- [20] CARRA S, SEGUIN S J, LANDRY J. HspB8 and Bag3: a new chaperone complex targeting misfolded proteins to macroautophagy[J]. **Autophagy**, 2008, 4(2):237-239.
- [21] SUN X, FONTAINE J M, REST J S, et al. Interaction of human HSP22 (HSPB8) with other small heat shock proteins[J]. **Journal of Biological Chemistry**, 2004, 279(4):2394-2402.
- [22] ROGALLA T, EHMSPERGER M, PREVILLY X, et al. Regulation of Hsp27 oligomerization, chaperone function, and protective activity against oxidative stress/tumor necrosis factor α by phosphorylation [J]. **Journal of Biological Chemistry**, 1999, 274(27):18947-18956.
- [23] KERR J F, WYLLIE A H, CURRIE A R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implication in tissue kinetics[J]. **Br J Cancer**, 1972, 26(4):239-257.
- [24] GUPTA S, GOLLAPUDI S. Susceptibility of naive and subsets of memory T cells to apoptosis via multiple signaling pathways[J]. **Autoimmunity Reviews**, 2007, 6(7):476-481.
- [25] MEHLEN P, SCHULZEOSTHOFF K, ARRIGO A P. Small stress protein as novel regulators of apoptosis. Heat shock protein 27 blocks Fas/APO-1- and staurosporin-induced cell death[J]. **Journal of Biological Chemistry**, 1996, 277(28):16510-16514.
- [26] CONCANNON C G, ORRENIUS S, SAMALI A. Hsp27 inhibits cytochrome c-mediated caspase activation by sequestering both pro-caspase-3 and cytochrome c[J]. **Gene Expression**, 2001, 9(4-5):195-201.
- [27] RANE M J, PAN Y, SINGH S, et al. Heat shock protein 27 controls apoptosis by regulating Akt activation [J]. **Journal of**

- Biological Chemistry**, 2003, 278(30):27828-27835.
- [28] MAO Y W, LIU J P, XIANG H, et al. Human α A and α B-crystallins bind to Bax and Bcl-XS to sequester their translocation during staurosporine-induced apoptosis[J]. **Cell Death and Differentiation**, 2004, 11(5):512-526.
- [29] KARDYS I, RIFAI N, MEILHAC O, et al. Plasma concentration of heat shock protein 27 and risk of cardiovascular disease: a prospective, nested case-control study[J]. **Clinical Chemistry**, 2008, 54(1):139-146.
- [30] POURGHADAMYARI H, MOOHEBATI M, PARIZADEH S M, et al. Serum antibody titers against heat shock protein 27 are associated with the severity of coronary artery disease[J]. **Cell Stress Chaperones**, 2011, 16(3):309-316.
- [31] WANG X, ZHAO T, HUANG W, et al. Hsp20-Engineered mesenchymal stem cells are resistant to oxidative stress via enhanced activation of Akt and increased secretion of growth factors[J]. **Stem Cells**, 2009, 27(12):3021-3031.
- [32] LAURE L, LONG R, LIZANO P, et al. Cardiac H11 kinase/Hsp22 stimulates oxidative phosphorylation and modulates mitochondrial reactive oxygen species production: Involvement of a nitric oxide-dependent mechanism[J]. **Free Radical Biology & Medicine**, 2012, 52(11-12):2168-2176.
- [33] OUALI A, HERRERA-MENDEZ C H, COULIS G, et al. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms[J]. **Meat Science**, 2006, 74(1):44-58.
- [34] MORZEL M, TERLOUW C, CHAMBON C, et al. Muscle proteome and meat eating qualities of Longissimus thoracis of "Blonde d'Aquitaine" young bulls: A central role of HSP27 isoforms[J]. **Meat Science**, 2008, 78(3):297-304.
- [35] KIM N K, CHO S, LEE S H, et al. Proteins in longissimus muscle of Korean native cattle and their relationship to meat quality[J]. **Meat Science**, 80(80):1068-1073.
- [36] BERNARD C, CASSARMALEK I, DUBROEUCQ H, et al. New indicators of beef sensory quality revealed by expression of specific genes[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2007, 55(13):5229-5237.
- [37] LOMIWES D, FAROUK M M, Frost D A, et al. Small heat shock proteins and toughness in intermediate pHu beef [J]. **Meat Science**, 2013, 95(3):472-479.
- [38] BALAN P, KIM Y H B, BLIGENBURG 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.
- [39] BERNARD C, CASSAR-MALEK I, LE-CUNFF M, et al. New indicators of beef sensory quality revealed by expression of specific genes[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2007, 55(13):5229-5237.
- [40] PULFORD D J, VAZQUEZ S F, FROST D F, et al. The intracellular distribution of small heat shock proteins in post-mortem beef is determined by ultimate pH[J]. **Meat Science**, 2008, 79(4):623 - 630.
- [41] LOMIWES D, HURST S M, DOBBIE P, et al. The protection of bovine skeletal myofibrils from proteolytic damage post mortem by small heat shock proteins[J]. **Meat Science**, 2004, 97(4):548-557.
- [42] PULFORD D J, DOBBIE P, VAZQUEZ S F, et al. Variation in bull beef quality due to ultimate muscle pH is correlated to endopeptidase and small heat shock protein levels[J]. **Meat Science**, 2009, 83(1):1-9.
- [43] LOMIWES D, FAROUK M M, Wu G, et al. The development of meat tenderness is likely to be compartmentalised by ultimate pH[J]. **Meat Science**, 2014, 96(1):646-651.
- [44] LAVILLE E, SAYD T, MORZEL M, et al. Proteome Changes during Meat Aging in Tough and Tender Beef Suggest the Importance of Apoptosis and Protein Solubility for Beef Aging and Tenderization [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2009, 57(22):10755-10764.