

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2025.80303

虾壳活性肽对中华鳖肌肉抗氧化能力和昼夜节律的调控作用

杨赛杰^{1,2} 李虹辉^{2,3} 黄超⁴ 杨虎城⁴ 雷艳丽¹ 周杰²

(1. 长沙理工大学食品与生物工程学院, 湖南 长沙 410114; 2. 长沙学院生物与化学工程学院, 湖南 长沙 410022;

3. 湖南省两栖爬行动物资源保护与产品加工工程技术研究中心, 湖南 长沙 410022;

4. 湘阴县水产科学研究所, 湖南 岳阳 414699)

摘要: [目的] 分析虾壳活性肽(PCSBP)对中华鳖生长性能、肌肉抗氧化能力和昼夜节律相关基因表达的影响。[方法] 通过在日粮中添加不同浓度(0.05%, 0.10%, 0.20%, 0.50%)的 PCSBP 饲喂中华鳖 70 d, 测定其生长指标、肌肉抗氧化性能以及昼夜节律相关基因的表达水平, 初步探究 PCSBP 对中华鳖肌肉抗氧化能力和昼夜节律的调控作用。[结果] 随着日粮中 PCSBP 浓度的增加, 中华鳖的终末体重、增重率和特定生长率呈显著升高趋势, 并降低了饲料转化率。中华鳖肌肉总超氧化物歧化酶(T-SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活性随着 PCSBP 浓度的升高呈显著升高趋势; 同时, PCSBP 显著上调抗氧化关键信号分子 *nrf2*、*keap1* 基因表达, 并激活抗氧化酶基因 *sod1*、*sod2*、*cat*、*gpx1*、*gpx2*、*gpx4*、*gstl1*、*gstz1* 表达。此外, PCSBP 显著调节昼夜节律核心基因 *bmal1*、*clock*、*nr1d2*、*per1*、*per2*、*cry1*、*cry2*、*npas2* 的表达, 且在 PCSBP 介导下抗氧化信号通路 *nrf2-keap1* 与昼夜节律核心基因表达存在显著相关性, 与 *bmal1*、*clock*、*per2*、*cry1*、*cry2*、*aanat* 的表达呈显著正相关, 与 *npas2*、*rora*、*rorc* 的表达呈显著负相关。[结论] PCSBP 对中华鳖肌肉抗氧化能力和昼夜节律具有调控作用, 可有效增强机体的抗氧化应激能力。

关键词: 虾壳活性肽; 中华鳖; 肌肉; 抗氧化能力; 昼夜节律

Regulatory effect of *Procambarus clarkii* shell bioactive peptides on muscle antioxidant capacity and circadian rhythm of *Pelodiscus sinensis*

YANG Saijie^{1,2} LI Honghui^{2,3} HUANG Chao⁴ YANG Hucheng⁴ LEI Yanli¹ ZHOU Jie²

(1. School of Food Science and Bioengineering, Changsha University of Science & Technology, Changsha, Hunan 410114, China; 2. College of Biology and Chemical Engineering, Changsha University, Changsha, Hunan 410022, China; 3. Hunan Engineering Technology Research Center for Amphibian and Reptile Resource Protection and Product Processing, Changsha, Hunan 410022, China; 4. Xiangyin County Aquatic Science Research Institute, Yueyang, Hunan 414699, China)

Abstract: [Objective] To analyze the effects of *Procambarus clarkii* shell bioactive peptides (PCSBP) on the growth performance, muscle antioxidant capacity, and circadian rhythm related gene expression of *Pelodiscus sinensis*. [Methods] In this experiment, different concentrations (0.05%, 0.10%, 0.20%, and 0.50%) of PCSBP are added to the diets of *P. sinensis* for 70 days. The growth performance, muscle antioxidant capacity, and expression levels of circadian rhythm related genes are measured to preliminarily explore the regulatory effect of PCSBP on the muscle antioxidant capacity and circadian rhythm of *P. sinensis*. [Results] With the increase of PCSBP concentration in diets, the final body weight, weight gain rate, and specific growth rate of *P. sinensis* show a significant upward trend, and

基金项目: 湖南省自然科学基金区域联合基金(编号: 2025JJ70255); 国家自然科学基金青年项目(编号: 32102816)

通信作者: 李虹辉(1989—), 男, 长沙学院副教授, 博士。E-mail: lee19890925@163.com

收稿日期: 2025-04-01 改回日期: 2025-07-19

引用格式: 杨赛杰, 李虹辉, 黄超, 等. 虾壳活性肽对中华鳖肌肉抗氧化能力和昼夜节律的调控作用[J]. 食品与机械, 2025, 41(8): 126-134.

Citation: YANG Saijie, LI Honghui, HUANG Chao, et al. Regulatory effect of *Procambarus clarkii* shell bioactive peptides on muscle antioxidant capacity and circadian rhythm of *Pelodiscus sinensis*[J]. Food & Machinery, 2025, 41(8): 126-134.

the feed conversion rate decreases. The activities of total superoxide dismutase (T-SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GSH-PX) in the muscle of *P. sinensis* show a significant increase trend with the increase of PCSBP concentration. Meanwhile, PCSBP significantly up-regulates the expression of *nrf2* and *keap1*, key signaling molecules for antioxidant capacity and activates the expression of antioxidant enzyme genes *sod1*, *sod2*, *cat*, *gpx1*, *gpx2*, *gpx4*, *gstk1*, and *gstz1*. In addition, PCSBP significantly regulates the expression of circadian rhythm core genes *bmal1*, *clock*, *nrl1d2*, *per1*, *per2*, *cry1*, *cry2*, and *npas2*. There is a significant correlation between the antioxidant signaling pathway of *nrf2-keap1* mediated by PCSBP and the expression of core genes of circadian rhythm. It is significantly positively correlated with the expression of *bmal1*, *clock*, *per2*, *cry1*, *cry2*, and *aanat*, while significantly negatively correlated with the expression of *npas2*, *rora*, and *rorc*. [Conclusion] PCSBP has a regulatory effect on the antioxidant capacity and circadian rhythm of *P. sinensis*, effectively enhancing the body's oxidative stress resistance.

Keywords: *Procambarus clarkii* shell bioactive peptides; *Pelodiscus sinensis*; muscle; antioxidant capacity; circadian rhythm

生物活性肽(bioactive peptides, BP)是由氨基酸通过共价键连接而成的有机物质,对机体健康具有重要作用^[1-2]。研究^[2]发现,生物活性肽可通过与特定受体结合发挥类似激素或药物的生物调节功能,并根据其作用方式分为抗氧化、抗菌、抗血栓、抗高血压、免疫调节和矿物质结合等。作为一类新型生物活性调节剂,生物活性肽不仅能够有效抑制食品氧化变质和微生物腐败,还因其靶向调控特性在预防和治疗疾病方面具有巨大潜力^[3]。许多生物活性肽具有营养、促消化、抗菌、免疫活性和抗氧化等功能特性,对促进蛋白质合成,提高水产品品质具有重要意义^[4-5]。生物活性肽可有效清除体内过量的活性氧自由基,保护细胞和线粒体的正常结构和功能,还可促进超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)等活性,以及降低脂质过氧化产物丙二醛(MDA)含量,在保护机体免受氧化应激损伤中起着重要作用^[6-8]。

虾壳活性肽(*Procambarus clarkii* shell bioactive peptides, PCSBP)是一种从小龙虾壳中提取的生物活性物质,因其富含多种蛋白质和功能氨基酸等营养物质,可作为潜在的天然食品抗氧化剂与代谢调节剂。唐志红等^[9-11]研究表明,PCSBP在体外具有较强的自由基清除能力和还原能力,并对 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶和胰脂肪酶活性具有较强的抑制作用,证明其具有良好的抗氧化和降糖降脂活性。

昼夜节律是生物体内源性调控系统,其核心调控机制通过生物钟基因构成的转录—翻译反馈环路(TTFL)精确调控生理功能和行为节律,在维持机体稳态和适应环境变化中发挥重要作用^[12-13]。生物钟基因不仅在维持生物体昼夜节律中起重要作用,还参与调控机体多种重要生理活动^[14-16]。Mcclean等^[17-19]研究表明,昼夜节律与抗氧化系统之间存在紧密联系,昼夜节律紊乱可通过干扰氧化还原稳态,促进蛋白质羰基化和脂质过氧化产物积累,进而造成机体损伤。然而,关于昼夜节律核心调控因子在肌肉抗氧化稳态中的作用机制尚不明确,仍需进一步深入探究。

中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)是中国重要的特色水产品,具有较高的营养和食用价值,可提供优质的动物蛋白,深受消费者喜爱^[20]。但其肌肉组织在养殖过程中易受氧化应激影响,导致脂质过氧化和蛋白质变性,严重影响其肉品质^[21-22]。研究拟探究虾壳活性肽(PCSBP)对中华鳖生长性能、肌肉抗氧化能力及昼夜节律相关基因表达的影响,阐明其发挥抗氧化作用的分子机制,为开发基于生物活性肽的功能型水产食品及品质调控技术提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂及仪器

中华鳖:平均体重(63.53 ± 3.68) g,湘阴县水产科学研究所;

中华鳖基础日粮:主要原料包括鱼粉、酵母、蛋白粉、面粉、维生素预混料和微量元素预混料等,张家界市新瑞生物有限公司;

蛋白浓度、总超氧化物歧化酶(T-SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)测定试剂盒:南京建成生物工程研究所;

Trizol试剂:莫纳生物科技有限公司;

琼脂糖:北京索莱宝科技有限公司;

逆转录试剂:江苏康为世纪生物科技股份有限公司;

荧光定量PCR试剂:江苏康为世纪生物科技股份有限公司;

异丙醇:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

多功能酶标仪:Multiskan GO型,美国 Thermo Fisher Scientific公司;

全自动凝胶成像分析系统:Gel Doc XR+型,美国 Bio-Rad公司;

超微量分光光度计:Nanodrop型,德国 Implen公司;

实时荧光定量PCR仪:CFX96 Touch型,美国 Bio-Rad公司。

1.2 试验方法

1.2.1 样品预处理及分组 根据文献^[10]的方法制备虾壳活性肽(PCSBP)。将225只中华鳖随机分为5组,每组

3个重复,每个重复15只。分别为正常组(ND)、0.05%虾壳活性肽组(0.05% PCSBP)、0.10%虾壳活性肽组(0.10% PCSBP)、0.20%虾壳活性肽组(0.20% PCSBP)和0.50%虾壳活性肽组(0.50% PCSBP),其中正常组饲喂基础日粮,试验组分别在基础日粮中添加0.05%、0.10%、0.20%、0.50%的PCSBP,养殖周期为70 d,期间水温为(28±1)℃,pH值为7.0~8.0,溶解氧含量>4 mg/L。每天定时投喂两次(上午8:30和下午16:30),日投喂量为体重的2%,以投喂后1~2 h内吃完为宜,并通过残饵回收计算摄食率。试验结束后,从每组随机选取9只中华鳖,采集肌肉组织,液氮速冻后保存于-80℃,用于后续试验分析。

1.2.2 生长指标测定 根据文献[23]的方法对各组中华鳖进行称重和测量,测定中华鳖的初始体重、终末体重和存活率,分别按式(1)~式(4)计算增重率、特定生长率、饲料转化率和存活率,评价中华鳖的生长性能。

$$WGR = 100\% \times \frac{W_f - W_i}{W_i}, \quad (1)$$

式中:

WGR——增重率,%;

W_f ——终末体重,g;

W_i ——初始体重,g。

$$SGR = 100\% \times \frac{\ln(W_f) - \ln(W_i)}{t}, \quad (2)$$

式中:

SGR——特定生长率,%/d;

W_f ——终末体重,g;

W_i ——初始体重,g;

t ——养殖时间,d。

$$FCR = \frac{F}{W_f - W_i}, \quad (3)$$

式中:

FCR——饲料转化率;

F ——饲料消耗量,g;

W_f ——终末体重,g;

W_i ——初始体重,g。

$$SR = 100\% \times \frac{N_f}{N_i}, \quad (4)$$

SR——存活率,%;

N_f ——最终存活数量;

N_i ——初始存活数量。

1.2.3 抗氧化酶活性测定 根据文献[10]的方法。准确称取肌肉样品,按料液比1:9(g/mL)加入9倍体积生理盐水进行匀浆,4℃、4 000 r/min离心15 min,取上清液待测。根据试剂盒说明书测定肌肉中蛋白浓度、T-SOD、CAT和GSH-PX活性。

1.2.4 抗氧化及昼夜节律相关基因表达分析

(1) RNA的浓度及纯度:根据文献[24]的方法并修改。称取新鲜肌肉样品50~100 mg,使用Trizol试剂提取肌肉总RNA,RNA质量经1%琼脂糖凝胶电泳检测,并使用超微量分光光度计测定RNA的浓度和纯度,通过测定 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 比值(1.8~2.0)与 $A_{260\text{ nm}}/A_{230\text{ nm}}$ 比值(>2.0)来评估RNA的浓度及纯度。

(2) PCR检测:根据文献[25]的方法并修改。采用逆转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA,使用SYBR Green qPCR Mix进行实时荧光定量PCR检测,反应程序:95℃预变性3 min,95℃变性5 s,58℃退火/延伸25 s采集荧光(反应40个循环),65~95℃绘制熔解曲线,每0.5℃读数一次,分析肌肉中抗氧化及昼夜节律相关基因的表达情况。根据NCBI数据库中已知的中华鳖基因序列设计特异引物包括抗氧化相关基因*nrf2*、*keap1*、*sod1*、*sod2*、*cat*、*gpx1*、*gpx2*、*gpx3*、*gpx4*、*gstk1*、*gstl1*、*gstp1*、*gstz1*、*gsr*,昼夜节律相关基因*bmal1*、*clock*、*nrl1d2*、*per1*、*per2*、*cry1*、*cry2*、*aanat*、*rorα*、*rorb*、*rorc*、*npas2*、*npas3*。采用CFX Maestro V2.2软件分析实时荧光定量PCR数据,以 β -actin为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因相对表达量。

1.2.5 数据处理与分析 采用SPSS 18.0软件进行统计分析。数据结果以平均值±标准差表示,组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),多重比较采用Duncan法。抗氧化与昼夜节律基因表达的相关性采用皮尔逊(Pearson)相关系数分析。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 PCSBP对中华鳖生长性能的影响

饲喂过程中,各组中华鳖初期均表现为主动抢食且活力旺盛,随着摄食时间的延长,正常组和低浓度虾壳活性肽组中出现摄食速度减缓等选择性摄食行为,而在高浓度虾壳活性肽组中可观察到中华鳖摄食状态良好,活力明显增强,生长速度加快,中华鳖摄食行为未见异常,说明虾壳活性肽被有效摄入。

由图1可知,随着日粮中PCSBP浓度的增加,中华鳖的生长性能逐渐上升。与正常组相比,添加PCSBP饲喂后显著提高了中华鳖的终末体重、增重率和特定生长率,其中0.50% PCSBP组的终末体重、增重率和特定生长率均高于其他组,并显著降低了饲料转化率($P<0.05$),各组间中华鳖存活率无显著差异($P>0.05$)。表明PCSBP对中华鳖具有显著促生长作用,且能有效提高日粮利用率,其作用效果呈浓度依赖性。Wang等^[26]研究发现,将棉籽粕蛋白水解物替代日粮中90 g/kg的鱼粉蛋白可维持中华鳖正常生长,同时通过提升消化酶活性改善其营养代谢功能。Qiu等^[27]用酶解棉籽蛋白替代鱼粉显著增加了中

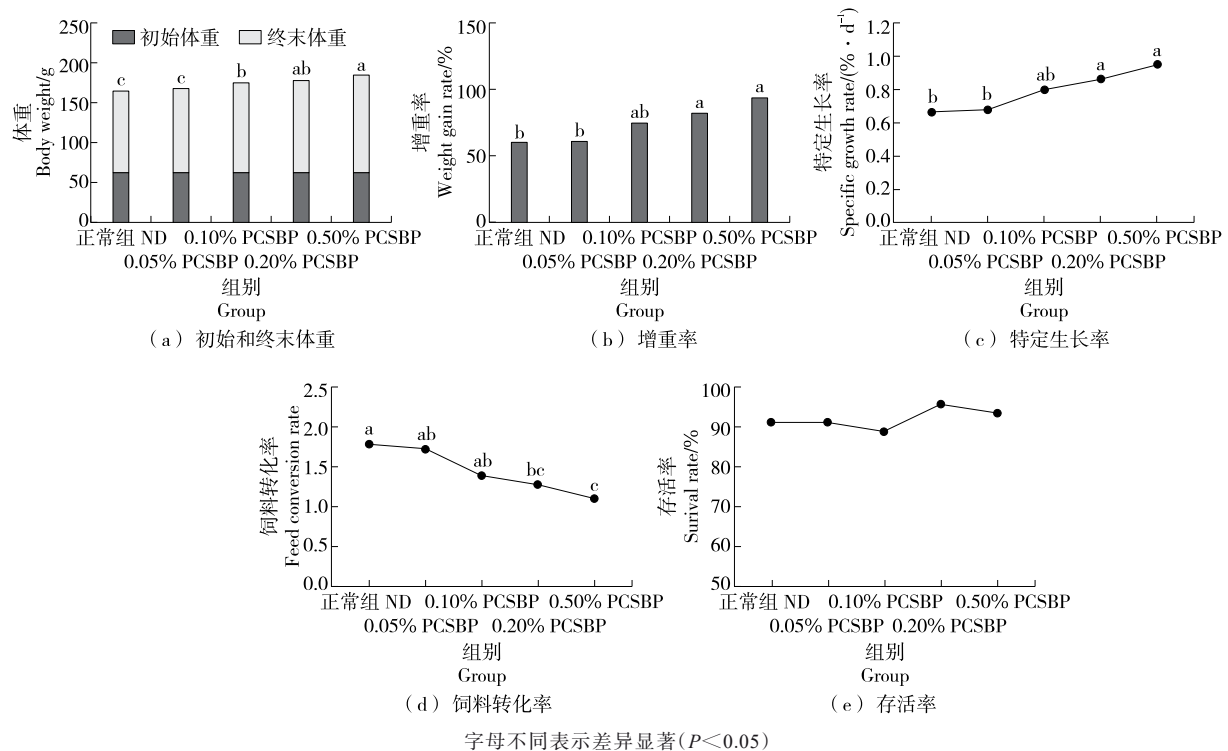


图1 PCSBP对中华鳖生长性能的影响

Figure 1 Effects of PCSBP on growth performance of *P. sinensis*

华鳖的终末体重、增重率和特定生长率,并降低了饲料系数,与试验结果相似。酶解蛋白和生物活性肽在中华鳖的应用中兼具促生长和节约蛋白质的潜力,未来需进一步解析其分子机制并评估长期应用效益。

2.2 PCSBP对中华鳖肌肉抗氧化能力的影响

由图2可知,与正常组相比,日粮中添加不同浓度的PCSBP可显著提高中华鳖肌肉中T-SOD、CAT和GSH-PX活性($P < 0.05$),且随着浓度的增加,抗氧化酶活性呈上升趋势,其中0.50% PCSBP组的效果最显著。抗氧化酶活性的提升可通过协同清除活性氧自由基,维持细胞内氧

化还原平衡,从而降低组织发生氧化损伤的风险。这与贺舒雯等^[10]的研究结果一致,均表明PCSBP可通过增加抗氧化酶活性改善机体健康。吴远彩等^[28]研究表明,日粮中添加0.1%小肽后,对虾血清中超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶活力和总抗氧化能力均达到最高。日粮中添加还原型谷胱甘肽可显著提高黄颡鱼血清谷胱甘肽含量、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性,增强机体抗氧化能力和免疫力^[29]。

由图3、图4可知,PCSBP显著上调了抗氧化关键信号分子 *nrf2* 和 *keap1* 的表达,同时激活了其下游靶基因

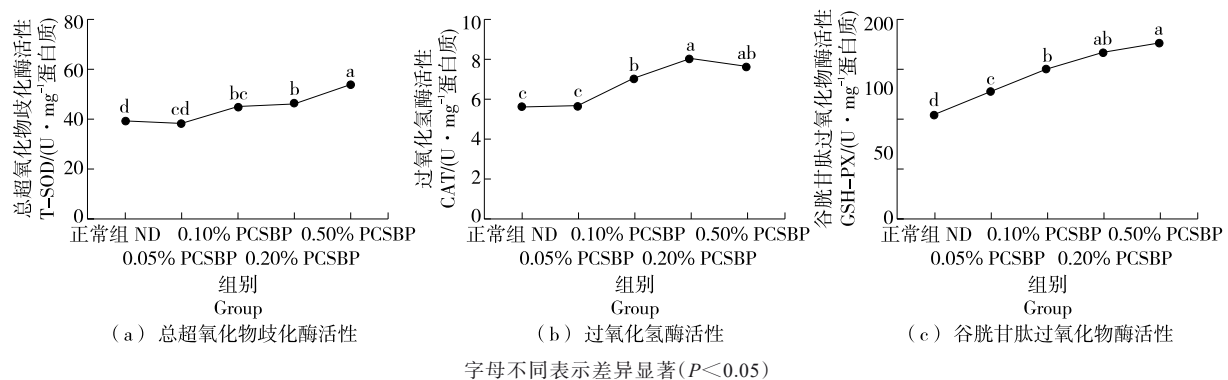
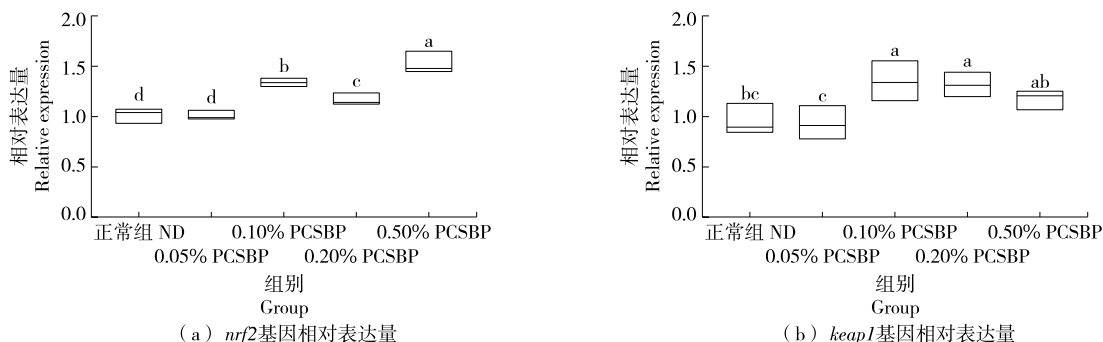


图2 PCSBP对中华鳖肌肉抗氧化酶活性的影响

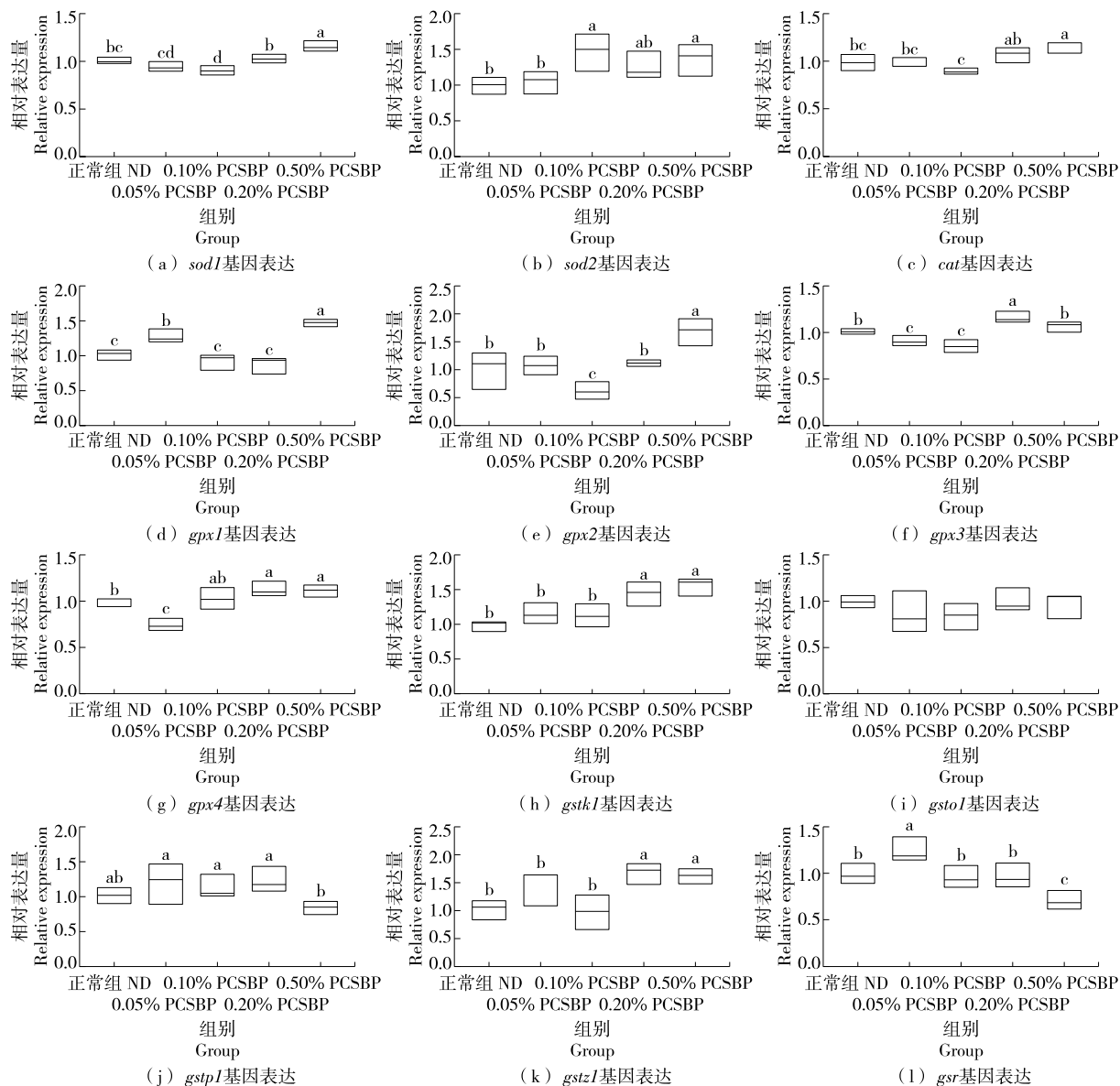
Figure 2 Effects of PCSBP on the activity of antioxidant enzymes in muscle of *P. sinensis*



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 3 PCSBP对中华鳖肌肉抗氧化关键信号分子 *nrf2* 和 *keap1* 基因表达的影响

Figure 3 Effects of PCSBP on the expression of *nrf2* and *keap1*, key signaling molecules for muscle antioxidant capacity of *P. sinensis*



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 4 PCSBP对中华鳖肌肉抗氧化酶相关基因表达的影响

Figure 4 Effects of PCSBP on the expression of antioxidant enzyme related genes in muscle of *P. sinensis*

sod1、*sod2*、*cat*、*gpx1*、*gpx2*、*gpx4*、*gstl1*、*gstz1* 表达 ($P < 0.05$), 提示 *nrf2-keap1* 信号通路在 PCSBP 介导的抗氧化效应中起关键作用, 与机体抗氧化调控的主流机制一致。*nrf2-keap1* 通路是一条重要的抗氧化通路, 通过调节超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化酶, 将过氧化物转化为毒性较小或无害的物质, 在抗氧化过程中发挥重要作用。Bian 等^[30] 全面综述了 *nrf2-keap1* 通路对氧化应激的调节功能, 并深入研究了 *nrf2*、*keap1* 的分子结构, 为水生生物抗氧化防御的生理调节提供了依据。Han 等^[31] 从金枪鱼卵中筛选的新型肽 ICRD 和 LCGEC 可通过调节小鼠 *nrf2-keap1* 通路发挥抗氧化活性。Li 等^[23] 研究发现, 虾壳活性肽可通过激活 *nrf2* 通路显著提升抗氧化酶活性, 其下游基因表达模式与试验高度相似, 提示虾壳活性肽可能具有保守的抗氧化调控靶点。综上, 日粮添加 PCSBP 能够有效增强中华鳖肌肉抗氧化能力, 其剂量依赖性效应表明该调控作用具有稳定性, 但仍需通过多组学技术深入解析其分子调控网络。

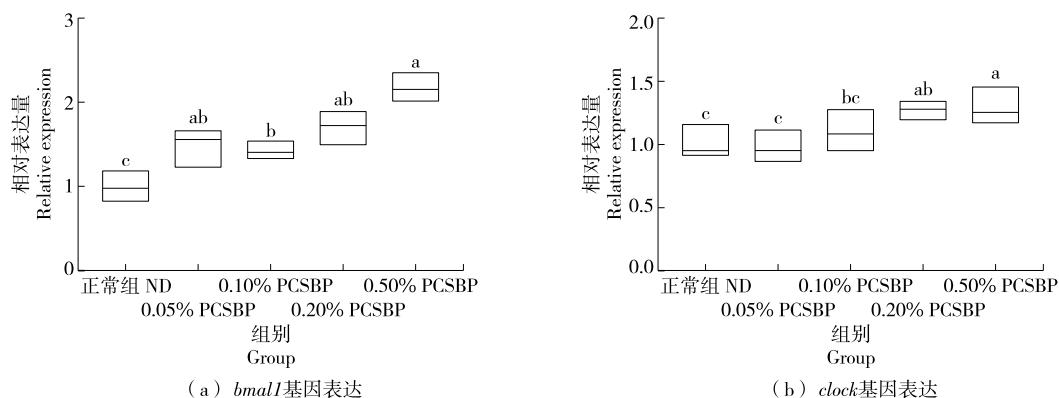
2.3 PCSBP 对中华鳖肌肉昼夜节律相关基因表达的影响

除抗氧化系统外, 生物体的生理稳态还受到昼夜节律网络的精密调控, 而二者在分子层面可能存在交互作用。由图 5、图 6 可知, 随着日粮 PCSBP 浓度的增加, 显著激活了中华鳖肌肉昼夜节律核心调控元件 *bmal1* 和 *clock* 的转录活性 ($P < 0.05$), 同时上调负反馈调节因子 *per1*、*cry1*、*cry2* 的表达, 并下调 *npas2* 的表达, 而 *nr1d2* 的表达呈先升高后降低趋势, 说明 PCSBP 可能通过调控昼夜节律基因网络的动态平衡, 协调核心正负反馈环路的相互作用, 共同维持昼夜节律振荡的精确性。昼夜节律可通过控制营养通量和氧化、解偶联、抗氧化防御和线粒体动力学参与活性氧的产生和解毒^[32]。昼夜节律核心调控元

件 *bmal1* 和 *clock* 的激活不仅能驱动下游节律基因的转录, 还可通过调控抗氧化酶的表达增强氧化应激防御能力^[33]。Sengupta 等^[34] 研究发现, *cry* 能通过抑制 NADPH 氧化酶活性而减少氧化损伤, 试验中 *cry1*、*cry2* 的上调可能进一步强化了这一过程。*npas2* 的下调提示可能减少昼夜节律对氧化应激的依赖, 转而依赖核心环路维持氧化还原平衡^[35]。*nr1d2* 的表达变化趋势可能与昼夜节律核心环路和氧化还原信号的相位耦合相关。*nr1d2* 作为核心时钟抑制因子, 其峰值表达会抑制 *clock:bmal1* 异二聚体的活性, 导致自身转录被负向调控, 形成表达回路^[36]。此外, 活性氧的节律性积累通过修饰 *nr1d2* 蛋白的半胱氨酸残基, 增强其与 *bmal1* 启动子的结合, 促使 *nr1d2* 初期表达上调^[37]。

2.4 PCSBP 作用下中华鳖肌肉抗氧化与昼夜节律相关基因表达的相关性分析

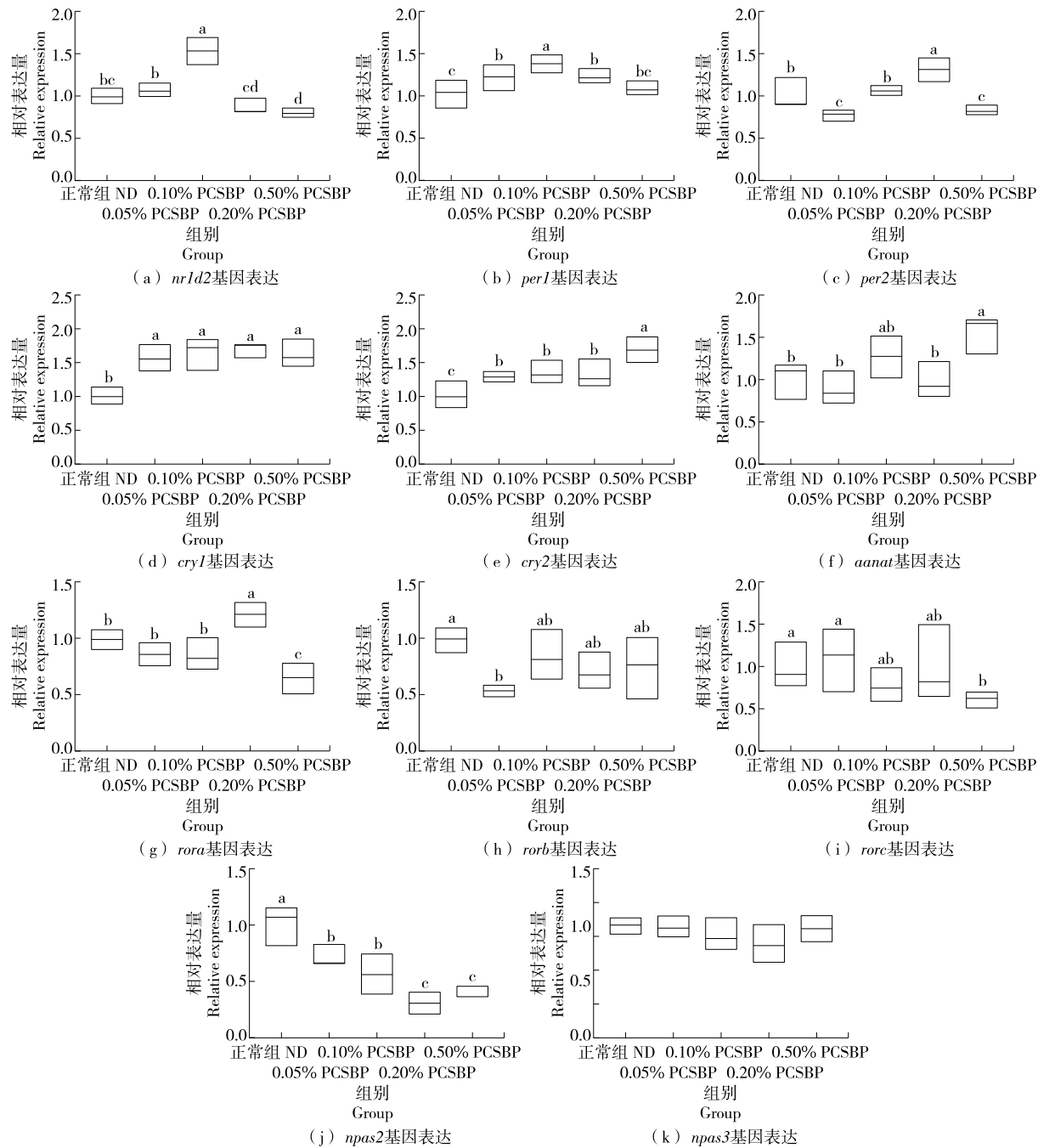
利用 Pearson 相关系数分析 PCSBP 作用下中华鳖肌肉抗氧化与昼夜节律相关基因表达的关系。如图 7 所示, PCSBP 作用下中华鳖肌肉抗氧化信号通路 *nrf2-keap1* 与 *bmal1*、*clock*、*per2*、*cry1*、*cry2*、*aanat* 基因表达呈显著正相关, 而与 *npas2*、*rora*、*rorc* 基因表达呈显著负相关 ($P < 0.05$)。表明 PCSBP 可能通过调节昼夜节律相关基因的表达来增强中华鳖肌肉抗氧化能力。*nrf2-keap1* 通路作为抗氧化防御的核心调控系统, 其与昼夜节律核心调控元件 *bmal1*、*clock* 的正相关性提示二者可能存在转录协同机制, 与 Li 等^[23] 的相关性结果类似。*bmal1* 可通过结合 *nrf2* 启动子增强抗氧化酶基因表达^[38], 与试验发现的昼夜节律正调节因子 *per2*、*cry1*、*cry2*、*aanat* 与 *nrf2* 的正相关趋势相吻合。此外, *npas2*、*rora*、*rorc* 的负相关可能反映了昼夜节律负反馈环路与抗氧化系统的拮抗作用^[39]。综上,



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 5 PCSBP 对中华鳖肌肉昼夜节律关键信号分子 *bmal1* 和 *clock* 基因表达的影响

Figure 5 Effects of PCSBP on the expression of *bmal1* and *clock*, key signaling molecules for circadian rhythms, in muscle of *P. sinensis*



字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图6 PCSBP对中华鳖肌肉昼夜节律核心基因表达的影响

Figure 6 Effects of PCSBP on the expression of circadian rhythm core genes in muscle of *P. sinensis*

PCSBP可能通过调控昼夜节律基因网络增强中华鳖肌肉抗氧化能力。

3 结论

研究揭示了虾壳活性肽对中华鳖肌肉稳态调控的双重作用。结果表明,虾壳活性肽不仅显著改善了中华鳖

的生长性能和日粮利用率,还通过分子层面的调控网络建立了肌肉抗氧化与昼夜节律基因表达的生物学联系。虾壳活性肽通过激活抗氧化信号通路 *nrf2-keap1*,上调超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化酶的基因表达;昼夜节律核心调控基因 *bmal1*、*clock*等与 *nrf2-keap1* 通路存在显著的正向协同作用,提示虾壳活性肽可能通过

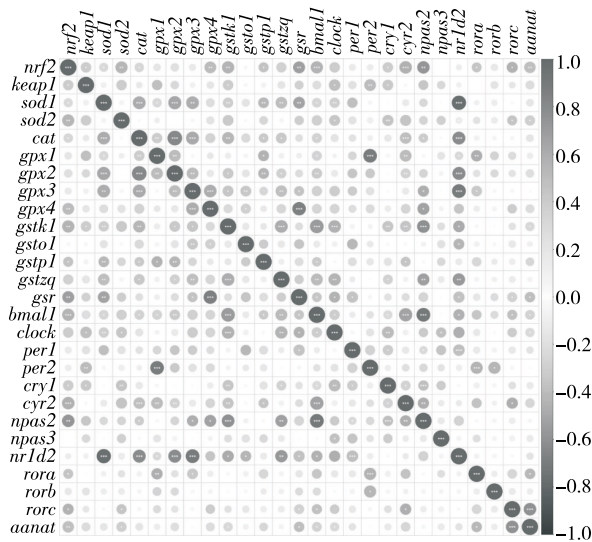


图7 PCSBP介导下中华鳖肌肉抗氧化与昼夜节律基因表达的相关性分析

Figure 7 Correlation analysis of muscle antioxidant capacity and circadian rhythm genes expression mediated by PCSBP in *P. sinensis*

调节昼夜节律来增强抗氧化功能。未来需建立虾壳活性肽剂量效应与昼夜节律基因表达的动态模型,解析其在不同生长环境下的调控特异性,进而构建水产食品全产业链的精准调控技术体系,推动水产食品健康可持续发展。

参考文献

- [1] 倪策, 曹天红, 陈敏, 等. 核桃粕源抗氧化活性肽的酶解制备及活性分析[J]. 食品与机械, 2024, 40(5): 51-61.
- [2] NI C, CAO T H, CHEN M, et al. Enzymatic hydrolysis preparation and activity analysis of antioxidant peptides derived from walnut dregs[J]. Food & Machinery, 2024, 40(5): 51-61.
- [3] ZAKY A A, SIMAL-GANDARA J, EUN J B, et al. Bioactivities, applications, safety, and health benefits of bioactive peptides from food and by-products: a review[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 8: 815640.
- [4] JIANG Y S, SUN J Y, CHANDRAPALA J, et al. Recent progress of food-derived bioactive peptides: extraction, purification, function, and encapsulation[J]. Food Frontiers, 2024, 5(3): 1 240-1 264.
- [5] MOYA MOREIRA T F, GONÇALVES O H, LEIMANN F V, et al. Fish protein hydrolysates: bioactive properties, encapsulation and new technologies for enhancing peptides bioavailability[J]. Current Pharmaceutical Design, 2023, 29(11): 824-836.
- [6] SINGH B P, ALUKO R E, HATI S, et al. Bioactive peptides in the management of lifestyle-related diseases: current trends and future perspectives[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(17): 4 593-4 606.

- [6] AKBARIAN M, KHANI A, EGHBALPOUR S, et al. Bioactive peptides: synthesis, sources, applications, and proposed mechanisms of action[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(3): 1 445.
- [7] MARDANI M, BADAKNÉ K, FARMANI J, et al. Antioxidant peptides: overview of production, properties, and applications in food systems[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2023, 22(1): 46-106.
- [8] JIA L T, WANG L, LIU C, et al. Bioactive peptides from foods production, function, and application[J]. Food & Function, 2021, 12(16): 7 108-7 125.
- [9] 唐志红, 余良, 孙雍荣, 等. 小龙虾副产物分离蛋白抗氧化肽的制备[J]. 食品科技, 2019, 44(12): 140-145.
TANG Z H, YU L, SUN Y R, et al. Preparation of antioxidant peptides of protein isolate from crayfish by-products[J]. Food Science and Technology, 2019, 44(12): 140-145.
- [10] 贺舒雯, 朱豪杰, 韩鹏薇, 等. 虾壳活性肽对斑马鱼氧化应激损伤的保护作用[J]. 食品与机械, 2023, 39(9): 140-147.
HE S W, ZHU H J, HAN P W, et al. Protective effects of *Procambarus clarkii* shell bioactive peptides on oxidative stress injury of zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Food & Machinery, 2023, 39(9): 140-147.
- [11] 韩鹏薇, 易彤, 李虹辉, 等. 虾壳源蛋白水解物降糖降脂活性评价及肽序分析[J]. 食品与机械, 2024, 40(4): 148-157.
HAN P W, YI T, LI H H, et al. Study on hypoglycemic and lipid-lowering activity of shrimp shell-derived enzymatic hydrolysate and peptide sequence function analysis[J]. Food & Machinery, 2024, 40(4): 148-157.
- [12] PATKE A, YOUNG M W, AXELROD S. Molecular mechanisms and physiological importance of circadian rhythms [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2020, 21(2): 67-84.
- [13] FAGIANI F, DI MARINO D, ROMAGNOLI A, et al. Molecular regulations of circadian rhythm and implications for physiology and diseases[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2022, 7(1): 41.
- [14] SCHRADER L A, RONNEKLEIV-KELLY S M, HOGENESCH J B, et al. Circadian disruption, clock genes, and metabolic health[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2024, 134(14): e170998.
- [15] CRNKO S, DU PRÉ B C, SLUIJTER J P G, et al. Circadian rhythms and the molecular clock in cardiovascular biology and disease[J]. Nature Reviews Cardiology, 2019, 16(7): 437-447.
- [16] COX K H, TAKAHASHI J S. Circadian clock genes and the transcriptional architecture of the clock mechanism[J]. Journal of Molecular Endocrinology, 2019, 63(4): R93-R102.
- [17] MCCLEAN C, DAVISON G W. Circadian clocks, redox homeostasis, and exercise: time to connect the dots? [J]. Antioxidants, 2022, 11(2): 256.
- [18] CHHUNCHHA B, KUBO E R, SINGH D P. Clock protein Bmal1 and Nrf2 cooperatively control aging or oxidative

- response and redox homeostasis by regulating rhythmic expression of Prdx6[J]. *Cells*, 2020, 9(8): 1 861.
- [19] RAY S, VALEKUNJA U K, STANGHERLIN A, et al. Circadian rhythms in the absence of the clock gene Bmal1[J]. *Science*, 2020, 367(6 479): 800-806.
- [20] 吴聪聪, 姜群, 张晓君, 等. 中华鳖 5 个养殖群体肌肉营养成分分析与评价[J]. *广东海洋大学学报*, 2024, 44(2): 54-61.
- WU C C, JIANG Q, ZHANG X J, et al. Analysis and evaluation of muscle nutrient composition in five cultured populations of *Pelodiscus sinensis*[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2024, 44(2): 54-61.
- [21] LI H H, PAN Y X, LIU L, et al. Effects of high-fat diet on muscle textural properties, antioxidant status and autophagy of Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*) [J]. *Aquaculture*, 2019, 511: 734228.
- [22] 邓紫连, 宋伟, 芮千龙, 等. 脯氨酸对中华鳖生长性能、抗氧化能力和抗嗜水气单胞菌感染能力的影响[J]. *动物营养学报*, 2023, 35(5): 3 213-3 227.
- DENG Z L, SONG W, RUI Q L, et al. Effects of proline on growth performance, antioxidant capacity and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection of *Pelodiscus sinensis*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2023, 35(5): 3 213-3 227.
- [23] LI H H, ISAAC N, HE S W, et al. Dietary supplementation with protein hydrolysates from the shell of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) affects growth, muscle antioxidant capacity and circadian clock genes expression of zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Aquaculture Reports*, 2022, 27: 101390.
- [24] ZHONG Y W, PAN Y X, LIU L, et al. Effects of high fat diet on lipid accumulation, oxidative stress and autophagy in the liver of Chinese softshell turtle (*Pelodiscus sinensis*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 2020, 240: 110331.
- [25] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T} method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [26] WANG K Z, XU W N, ZHOU M, et al. Effects of fishmeal replacement with cottonseed meal protein hydrolysate on growth, digestion and intestinal histology of juvenile Chinese soft - shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2018, 24(5): 1 406-1 415.
- [27] QIU Z S, ZHAO J T, XIE D Z, et al. Effects of replacing fish meal with enzymatic cottonseed protein on the growth performance, immunity, antioxidation, and intestinal health of Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2023, 2 023(1): 6628805.
- [28] 吴远彩, 李日美, 申光荣, 等. 小肽对凡纳滨对虾生长、抗氧化能力、非特异性免疫及肠道菌群结构的影响[J]. *广东海洋大学学报*, 2021, 41(5): 1-9.
- WU Y C, LI R M, SHEN G R, et al. Effects of dietary small peptides on growth, antioxidant capacity, nonspecific immunity and gut microflora structure of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2021, 41(5): 1-9.
- [29] 易建华, 王辉, 王钦, 等. 饲料中添加还原型谷胱甘肽对黄颡鱼幼鱼生长性能、血清生化、抗氧化和免疫指标的影响[J]. *中国饲料*, 2023(15): 167-171.
- YI J H, WANG H, WANG Q, et al. Effects of dietary supplementation with reduced glutathione on growth performance, serum biochemical indices, antioxidant capacity and immunity of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. *China Feed*, 2023(15): 167-171.
- [30] BIAN D D, ZHANG X, ZHU X R, et al. The Nrf2-Keap1/ARE signaling pathway in aquatic animals[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2025, 308: 142595.
- [31] HAN J J, HUANG Z B, TANG S S, et al. The novel peptides ICRD and LCGEC screened from tuna roe show antioxidative activity via Keap1/Nrf2-ARE pathway regulation and gut microbiota modulation[J]. *Food Chemistry*, 2020, 327: 127094.
- [32] MEZHININA V, EBEIGBE O P, POE A, et al. Circadian control of mitochondria in reactive oxygen species homeostasis [J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2022, 37(10/11/12): 647-663.
- [33] HONG Y H, BOITI A, VALLONE D, et al. Reactive oxygen species signaling and oxidative stress: transcriptional regulation and evolution[J]. *Antioxidants*, 2024, 13(3): 312.
- [34] SENGUPTA S, LEE Y, TAO J Q, et al. Circadian control of pulmonary endothelial signaling occurs via the NADPH oxidase 2-NLRP3 pathway[J]. *Journal of Biological Rhythms*, 2022, 6: 493624.
- [35] MURGO E, COLANGELO T, BELLET M M, et al. Role of the circadian gas-responsive hemeprotein NPAS2 in physiology and pathology[J]. *Biology*, 2023, 12(10): 1 354.
- [36] 宗尤佳, 李雨浓, 郭家彬, 等. 斑马鱼模型在昼夜节律研究中的应用进展[J]. *军事医学*, 2024, 48(1): 75-80.
- ZONG Y J, LI Y N, GUO J B, et al. Application progress of zebrafish (*Danio rerio*) model in circadian rhythm research[J]. *Military Medical Sciences*, 2024, 48(1): 75-80.
- [37] MILEV N B, REDDY A B. Circadian redox oscillations and metabolism[J]. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2015, 26(8): 430-437.
- [38] EARLY J O, MENON D, WYSE C A, et al. Circadian clock protein BMAL1 regulates IL-1 β in macrophages via NRF2[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(36): E8 460-E8 468.
- [39] RUAN W, YUAN X Y, ELTZSCHIG H K. Circadian rhythm as a therapeutic target[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2021, 20(4): 287-307.