

# 蜜蜂蛋白质组研究进展

李建科<sup>1</sup>, 冯毛<sup>1</sup>, 郑爱娟<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>中国农业科学院蜜蜂研究所, 北京 100093; <sup>2</sup>中国农业科学院饲料研究所, 北京 100081)

**摘要:** 蜜蜂在自然界和人类社会中具有举足轻重的作用。蜜蜂授粉不但能够提高农作物的产量和质量, 而且对维持自然界生物多样性具有重要贡献, 同时蜜蜂提供给人类的蜂产品也具有较高的营养和保健功能。随着基因组测序工作的完成, 作为模式生物, 蜜蜂蛋白质组学研究进入了一个新的阶段。目前对蜜蜂蛋白质组的研究比较常用的是双向电泳结合质谱的研究方法, 包括不同品系蜜蜂卵、幼虫、蛹、级型分化、咽下腺等发育相关蛋白质组及差异蛋白质组研究, 蜜蜂毒腺、头部、胸部、血淋巴、精液、受精囊、附腺等器官和组织的蛋白质组分析, 以及蜂王浆、蜂花粉、蜂毒等部分蜂产品的蛋白质组等。本文综述了近年来蜜蜂相关蛋白质组研究进展, 对其今后在蜂业科学的研究应用进行了展望, 以期对蜜蜂研究有所借鉴。

**关键词:** 蜜蜂; 蛋白质组; 进展; 应用

## Advanced Research on Honeybee Proteome

LI Jian-ke<sup>1</sup>, FENG Mao<sup>1</sup>, ZHENG Ai-juan<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Apicultural Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100093; <sup>2</sup>Feed Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

**Abstract:** Honeybee plays an important role for the nature and the human. It is crucial for agriculture as a facilitator of pollination and indispensable to maintain the biological diversity of the ecological system. Also, bee products are widely used for their nutrition and health care functions to the mankind. The proteomic researches on honeybee have been ushered into a new stage since the completion of the honeybee genome sequencing project. And the combination of two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry is the most popular method in honeybee proteome investigations. This paper reviewed the advances in honeybee proteomics concerning the development of honeybee egg, larva, pupa, hypopharyngeal gland and caste differentiation, the comparison between nurses and foragers, the analysis of some tissues and organs such as honeybee head, thorax, hemolymph, venom gland, queen spermathecal gland, male accessory gland and sperm, the studies on royal jelly, pollen, honeybee venom and so on, hoping to provide some clues for future studies.

**Key words:** honeybee; proteome; advance; application

## 0 引言

蜜蜂是维持自然界生物多样性的重要昆虫, 如果没有蜜蜂, 生态系统将会在短期内崩溃<sup>[1]</sup>。蜜蜂授粉不但能够提高农作物的产量和质量, 促进农业增产增收, 而且对增加植物多样性具有重要贡献。同时, 养蜂业所带来的各类蜂产品既具有较高的经济价值, 又

能对人类健康发挥重要作用。因此, 蜜蜂是一种具有重要的经济价值和生态价值的昆虫。蜜蜂具有独特的群体行为、快速的繁殖能力和独特的孤雌生殖等特点, 使其成为被科学界高度关注和利用的模式昆虫, 被广泛用于社会行为学<sup>[2]</sup>、发育生物学<sup>[3]</sup>、神经生物学<sup>[4]</sup>、遗传学<sup>[5-6]</sup>、免疫学<sup>[7]</sup>和衰老<sup>[8]</sup>等方面的研究。2002年, 美国把西方蜜蜂 (*Apis mellifera*) 列入了优先测序的

收稿日期: 2010-10-11; 接受日期: 2011-01-04

基金项目: 国家自然科学基金 (30972148)、国家蜜蜂产业技术体系 (NYCYTX-43)

联系方式: 李建科, Tel: 010-62591449; E-mail: apisljk@126.com

物种名单, 2006年完成了与人类基因组一样精确的基因组图谱<sup>[1]</sup>, 至此蜜蜂研究跨入了新的功能基因组研究时代, 即后基因组时代。蛋白质组学作为功能基因组学的一个重要研究手段, 近年来逐渐成为蜜蜂研究新的热点。

## 1 蛋白质组及蛋白质组学概念

“蛋白质组 (proteome)”的概念最早由澳大利亚科学家Wilkins等于1994年提出, 并于1995年7月在《Electrophoresis》杂志上发表<sup>[9]</sup>。它指的是一个基因、一个细胞或一个组织所表达的全部蛋白质, 与基因组相对应, 是一个整体的概念。由于从基因到蛋白质中间存在着转录水平、翻译水平及翻译后修饰等作用的调控, 仅从mRNA角度考虑, 实际上只包括了转录水平的变化, 并不能完全代表蛋白质表达的真实水平<sup>[10]</sup>, 而且蛋白质复杂的翻译后修饰、亚细胞定位或迁移以及蛋白-蛋白相互作用等都无法在基因水平上得以体现。因此, 要想真正揭开生命活动的奥秘, 必须进行蛋白质水平的研究, 由此产生了一门新的学科——蛋白质组学 (proteomics)。蛋白质组学是以蛋白质组为研究对象, 从蛋白质水平入手, 整体、动态、定量地去研究正在工作的基因组, 是后基因组时代的一个重要组成部分, 便于从蛋白质水平上了解细胞的各项功能, 生理、生化过程及疾病的病理过程等<sup>[11-12]</sup>。

## 2 蛋白质组学研究内容

早期蛋白质组学研究的主要是蛋白质的表达模式, 而随着学科的发展, 蛋白质组学的研究内容也在不断扩充和完善, 目前主要包含以下内容<sup>[13]</sup>: 样品中所有蛋白质种类的发掘和鉴定、蛋白质表达谱的建立、蛋白质网络的建立和蛋白质修饰的定位。

(1) 蛋白质种类鉴定的目的是尽可能多地直接鉴定某一样品中的蛋白质并将其归类, 而不是从基因组序列推测来的蛋白质。

(2) 蛋白质表达谱是鉴定特定组织在特定发育阶段 (如分化、发育阶段、疾病阶段) 所表达的功能蛋白质, 是蛋白质种类鉴定的一种特殊形式, 它通常用来做差异分析, 发现差异表达的靶向蛋白。

(3) 蛋白质网络的构建是决定体内或组织内的蛋白质是如何相互作用形成一个完整的体系。生物体内的蛋白质大多情况下都是与其它的蛋白质联系在一起执行功能的, 正是由于这种相互作用才形成了蛋白质的功能网络。迄今为止, 关于许多蛋白质的相互作

用, 已通过体外的酵母双杂交系统进行了独立研究, 但是蛋白质组学结合其它技术可建立生物体内全面的蛋白质复杂网络, 通过分析蛋白质通路而建立起来的蛋白质网络谱, 可即时地对通路中参与的蛋白质进行分析。由于蛋白质网络谱的强大功能, 它将给蛋白质组学的应用带来巨大的潜力。

(4) 蛋白质修饰定位的任务是鉴定蛋白质在哪里和如何被修饰, 如通过抗体来检测修饰的蛋白质, 但这种方法无法获知蛋白质修饰的精确序列和位点。蛋白质组学的方法可实现蛋白质修饰本质和转录后精确修饰序列的双重鉴定, 同时它也可延伸到研究蛋白质调控网络中蛋白质的修饰状态。因此, 蛋白质组学为研究蛋白质组中化学修饰如何影响整个生命系统提供了一个新的研究通道。

## 3 蛋白质组学研究策略

进行蛋白质组学研究必须具备下列4项基本要求: 大量完成的基因组序列资源、迅速发展的质谱技术、日益强大的生物信息学技术和蛋白质分离技术。

### 3.1 基因组序列、表达序列标签 (EST) 和蛋白质数据库

基因组和蛋白质相关数据库已成为蛋白质组研究和基因组研究的强大技术支撑。以蜜蜂为例, 可登陆NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/bee/>), 也可利用 [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/map\\_search.cgi?taxid=746](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/map_search.cgi?taxid=746) 查询蜜蜂每条染色体上基因的详细信息, 也可登陆expasy (<http://www.expasy.org/cgi-bin/sprot-search-de?honeybee>) 和UniProtKB (<http://www.uniprot.org/>) 等查询蜜蜂蛋白的相关信息。

### 3.2 质谱技术 (mass spectrometry, MS)

质谱技术是目前鉴定蛋白质和多肽的主要手段。质谱技术可为蛋白质组学研究提供3类非常有用的分析: 一是可以准确分析分子量大于100 kD的完整蛋白; 其二可以准确分析经蛋白酶消化后肽片段的分子量; 其三可以准确分析经蛋白酶消化后肽片段的蛋白质序列。

质谱根据其离子化的方式分为电喷雾离子化 (electrospray ionization, ESI) 和基质辅助激光解析离子化 (matrix-assisted laser desorption ionization, MALDI), 质量分析器则有不同的选择, 如三重四级杆、离子阱、飞行时间 (time of flight, TOF)、傅立叶回旋共振等。

### 3.3 分析软件

随着质谱技术的发展, 质谱分析产生的大量数据需要相关分析软件才能和特定的蛋白质数据库相匹配。目前利用质谱数据可快速简便地进行蛋白质功能鉴定的数据库是: [http://www.matrixscience.com/search\\_form\\_select.html](http://www.matrixscience.com/search_form_select.html)。该数据库可以实现肽质量指纹图谱 (peptide mass fingerprinting, PMF)、蛋白质序列和二级质谱的离子强度查询, 进而实现蛋白质功能鉴定。

### 3.4 蛋白质分离技术

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起到两方面的重要作用, 一是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; 二是蛋白质被有效分离后, 使得比较 2 个样品间蛋白质的差异更加容易, 这样就可对感兴趣的目标蛋白进行研究。比较常用的蛋白分离技术是双向电泳 (two-dimensional electrophoresis, 2-DE) 技术, 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。把这些技术加以整合后产生了功能更为强大的分离技术, 如离子交换液相色谱 (ion-exchange liquid chromatography) 与串联反向高压液相色谱 (tandem reverse-phase (RP)-HPLC) 相结合, 是一种功能强大的蛋白质多维分离技术。

## 4 蛋白质组在蜜蜂研究中的应用

### 4.1 蜜蜂卵、幼虫、蛹期头部及工蜂咽下腺发育蛋白质组研究

蜜蜂一生经历卵、幼虫、蛹和成虫 4 个阶段。

蜜蜂的卵期约经历 72 h, 是蜜蜂生长发育的重要阶段。由于蜜蜂的卵期较果蝇长 3 倍, 蜂王在 1 d 内可产卵 1 000 多粒, 因此蜜蜂的卵更适于实验室操作。目前, 蜜蜂卵细胞可在体外长期培养, 因此研究蜜蜂胚胎发育蛋白质组对其作为模式昆虫研究具有重要意义。卵期发育蛋白质组研究结果表明, 经过王浆高产选育而来的王浆高产蜜蜂 (浆蜂) 和未经王浆高产选育的意大利蜜蜂 (意蜂) 的工蜂卵和雄蜂卵蛋白均在 2 日龄表达最活跃<sup>[14-16]</sup>。与工蜂卵期发育相比, 单倍体雄蜂表达的保守蛋白更多, 研究雄蜂卵期发育蛋白质组能为今后蜜蜂的基因改良提供目标蛋白<sup>[15-16]</sup>。对意蜂工蜂卵期发育的蛋白质表达谱进行质谱鉴定和表

达量差异分析, 结果表明与碳水化合物和能量代谢、细胞骨架、抗氧化和生长调节等相关的蛋白在卵的发育过程中发挥重要作用, 而且大部分蛋白在卵发育的中后期表达水平较高<sup>[17]</sup>。

Chan等<sup>[18]</sup>利用LC-MS/MS比较分析了自然发育条件和人工培养条件下工蜂卵蛋白质组的异同, 在所有已鉴定的蛋白中, 有 2/3 的蛋白在人工培养的卵细胞中上调表达, 没有发现蛋白大幅度下调表达的现象。在这些上调表达的蛋白中, 参与应激反应和蛋白质折叠的热激蛋白和分子伴侣占到 40%。在体外氧气充足的情况下, 为了应对外在的氧化压力, 过氧化氢酶 (catalase) 和磷脂过氧化氢谷胱甘肽过氧化物酶 (phospholipid hydroperoxide glutathione oxidase, PHGPx) 大幅上调表达。体外培养时, 由于葡萄糖供应充足, 细胞的代谢发生了改变, 乳糖脱氢酶和醛缩酶上调表达, 以便更好地利用培养基中的葡萄糖。为了保证这些蛋白高表达, 参与染色质浓缩/开放的屏障自整合因子 (barrier to autointegration factor) 也上调表达。

幼虫期是蜜蜂生长发育最快的一个时期, 短短 6 d 时间, 幼虫体重从大约 0.15 mg 增至 150 mg, 体重改变上千倍<sup>[19]</sup>。研究发现, 4 日龄幼虫的蛋白表达最为活跃<sup>[20-22]</sup>。与卡尼鄂拉蜂 (卡蜂) 相比, 各日龄浆蜂幼虫基因表达和代谢都更旺盛; 浆蜂和卡蜂共有蛋白和特异蛋白的表达模式均存在一定差异<sup>[22]</sup>。从 5—6 日龄意蜂幼虫的蛋白质图谱上检测到近 800 个蛋白点, 经质谱鉴定和表达量分析, 发现营养储存蛋白、转运相关蛋白和受体蛋白随着幼虫的发育上调表达, 翻译及蛋白质周转相关蛋白下调表达。免疫因子中, 酚氧化酶和apisimin的量同幼虫发育呈正相关性, 其它具有免疫效应的蛋白表达量随幼虫发育变化不显著, 这可能是大龄幼虫易患由细菌感染引起的美洲幼虫病和真菌引起的白垩病的原因。随着幼虫的发育, 与抗氧化相关的蛋白质和G蛋白逐渐减少。这将有助于了解幼虫发育过程中代谢和免疫系统的变化模式<sup>[23]</sup>。

蜜蜂幼虫发育成熟后便化蛹, 蛹期是蜜蜂最长的胚后发育期。随着蛹的生长发育, 各日龄表达的蛋白质数呈上升趋势, 并且随着日龄的增长, 大多数与细胞骨架、代谢及抗氧化相关的蛋白质表达量显著增高。各日龄浆蜂蛹表达的蛋白质数均多于意蜂, 蛹发育初期浆蜂和意蜂蛋白表达差异较大, 中期差异较小, 表明经过王浆高产选育, 两品系工蜂蛹期蛋白质表达发

生了改变<sup>[24]</sup>。

蜂群由工蜂、蜂王和雄蜂 3 种级型构成。蜂王和工蜂均由受精卵发育而成, 仅仅是因为蜂王整个幼虫期都以王浆为食, 而工蜂幼虫期仅被饲以 3 d 王浆, 于是二者就渐渐向着 2 个不同的级型发育<sup>[25]</sup>。研究发现, 3 日龄和 5 日龄蜂王幼虫表达的蛋白总数和特异表达的蛋白数均高于对应日龄的工蜂幼虫, 表明蜂王幼虫基因表达比工蜂幼虫更加活跃<sup>[26]</sup>。

#### 4.2 哺育蜂和采集蜂蛋白质组研究

蜜蜂在不同的生理阶段从事具有的职能, 按主要劳动分工可分为哺育蜂、守卫蜂、采集蜂和筑巢蜂等。开展不同职能工蜂蛋白质组研究工作, 有利于研究者进一步了解蜜蜂社会行为并更好地加以改造利用。

采集蜂采集能力的提高一方面是他们学习和反复实践的结果, 另一方面采集飞行过程中相关代谢物质的变化也是影响因素之一。为了搞清楚内勤蜂和采集蜂胸部飞行肌生理变化的特点, Schippers 等<sup>[27]</sup>利用 2-DE 对胸部样品进行分离, 经胶内酶切和 Nano-电喷雾四级杆飞行时间质谱 (nano electrospray quadrupole time of flight mass spectroscopy) 鉴定, 发现随着蜜蜂由内勤蜂变为成熟采集蜂, 工蜂胸部肌肉中有一些蛋白会明显上调表达, 包括肌钙蛋白 T10a、醛缩酶和超氧化物歧化酶, 而参与有氧代谢的磷酸果糖激酶、己糖激酶、丙酮酸激酶和细胞色素 c 氧化酶等的活性并没有随工蜂职能的改变和日龄的增加而发生明显的变化, 但柠檬酸盐合成酶的活性却随着采集蜂日龄的增大而增高。

Garcia 等<sup>[28]</sup>利用 2-DE 并结合 MALDI-TOF, 通过比较哺育蜂和采集蜂头部 (去除咽下腺) 蛋白质组, 发现王浆主蛋白 1、2 和 7 在哺育蜂的头部上调表达, 这同哺育蜂行使哺育职能和王浆在蜜蜂级型分化过程中的功能相一致。其它一些与蛋白质合成和嗅觉系统发育相关的蛋白质在哺育蜂头部也呈上调表达趋势。而在采集蜂头部, 参与能量产生、离子结合和代谢信号通路等的蛋白上调表达。个体差异和行使功能的不同可能是造成哺育蜂和采集蜂头部蛋白质表达差异的原因<sup>[28]</sup>。

Wolschin 等<sup>[29]</sup>利用 LC-MS/MS 对哺育蜂和采集蜂 (整只蜜蜂) 蛋白表达状况研究发现, 与哺育蜂相比, 果糖-1, 6-二磷酸醛缩酶、3-磷酸甘油醛脱氢酶和烯醇酶在采集蜂体内表达量显著提高; 参与磷酸戊糖途径的转酮醇酶在采集蜂体内下调表达。糖代谢如糖酵解在采集蜂体内呈增强的趋势。部分与三羧酸循环相关

的酶如苹果酸脱氢酶在采集蜂体内上调表达, 而其它的一些酶如异柠檬酸脱氢酶和酮戊二酸脱氢酶则基本保持不变。ATP 合酶在采集蜂体内含量丰富。为了抵御活性氧对采集蜂飞行肌的氧化损伤, 超氧化物歧化酶在采集蜂体内表达量较高; 由于哺育蜂体内谷胱甘肽转移酶 (GST) 的活性低, GST 在哺育蜂体内高表达。

蕈形体是蜜蜂头部神经细胞和神经纤维的聚集中心, 其发育不仅影响蜜蜂的学习和记忆能力, 而且对蜜蜂的社会行为起至关重要的作用。从具有同样行为特征的意大利蜜蜂工蜂头部解剖出蕈形体和视叶, 通过双向电泳比较后发现, 有 5 个蛋白在蕈形体中特异表达, 3 个在视神经叶中特异表达。经过 LC-MS 鉴定, 保幼激素二醇激酶 (juvenile hormone diol kinase, JHDK) 和 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 分别是蕈形体和视叶特异表达的蛋白质。原位杂交的结果显示 JHDK 在蕈形体内上调表达, GAPDH 下调表达, 表明工蜂头部蕈形体具有不同的蛋白和基因表达模式, 它们的差异表达可能为蜜蜂社会行为的研究提供线索<sup>[30]</sup>。

从蜜蜂的蕈形体、视神经叶和触角叶神经纤维网中发现 3 个多肽: p57、p70 和 p128。p57 同王浆主蛋白 1 (major royal jelly protein 1, MRJP1) 相关, p70 同 MRJP3 相关, 而 p128 可能是 MRJP1 的二聚体或是一种新的类似于王浆主蛋白的物质, 同时 p57 和 p70 在哺育蜂头部的表达水平均高于采集蜂。这些多肽可能同蜜蜂头部神经系统的发育相关<sup>[31]</sup>。

#### 4.3 蜜蜂重要组织器官发育蛋白质组研究

蜜蜂的头部有大脑、腺体等影响其社会行为和经济价值的重要组织和器官, 因此对头部器官和组织的蛋白质组也进行了广泛的研究。工蜂咽下腺和上颚腺位于其头部, 是合成和分泌蜂王浆的主要腺体<sup>[32]</sup>, 分泌的蜂王浆是蜂王和幼虫的主要食物<sup>[33]</sup>, 对蜜蜂的营养和级型分化有至关重要的作用<sup>[34]</sup>。蜂王上颚腺合成信息素而工蜂合成王浆, 分析蜂王和工蜂上颚腺蛋白质组发现, 乙醛脱氢酶 1 (aldehyde dehydrogenase 1, ALDH1)、中链乙酰辅酶 A 脱氢酶 (medium-chain acyl-CoA dehydrogenase, MCAD) 和电子转移黄素蛋白  $\alpha$  (electron transfer flavoprotein  $\alpha$  (ETF $\alpha$ )) 只在蜂王中表达, 而脂肪酸合酶 (fatty acid synthase, FAS) 只在工蜂中表达, 表明蜜蜂上颚腺中乙醛/脂肪酸代谢具有细胞类型和级型选择性<sup>[35]</sup>。

浆蜂和卡蜂越冬期工蜂咽下腺蛋白质主要是由王

浆主蛋白组成，表明了越冬期工蜂的咽下腺具有蛋白储存功能。首次从咽下腺中鉴定出了过氧化物酶和硫氧还蛋白过氧化物酶这 2 个与抗氧化相关的蛋白。与卡蜂相比，浆蜂咽下腺的蛋白储存能力更强，这些储存的蛋白主要用于来年春繁初期的哺育活动。越冬期咽下腺的蛋白储存功能也为咽下腺功能具有一定的灵活性这一论断提供新的证据<sup>[36]</sup>。

通过比较 1、3 和 6 日龄(刚羽化工蜂计为 1 日龄)浆蜂和意蜂工蜂咽下腺的蛋白质组，发现浆蜂咽下腺蛋白表达比意蜂活跃。首次发现 1 日龄咽下腺具有分泌王浆的潜力，3 日龄工蜂咽下腺分泌王浆更活跃，工蜂出房后 6—12 d 咽下腺分泌能力和王浆主蛋白分泌量均达高峰，这是对蜜蜂生物学的补充和发展<sup>[37-38]</sup>。对意蜂 1—20 日龄工蜂咽下腺差异蛋白质的分析发现，与能量代谢、发育调节、蛋白质合成、蛋白质折叠、转运、抗氧化、细胞骨架和王浆主蛋白等相关的蛋白在咽下腺发育前期高表达，而在后期咽下腺则上调表达与花蜜转化相关的蛋白。在咽下腺的蛋白质互作网络中发现 35 个节点蛋白，这些蛋白不但对咽下腺发育起至关重要作用，而且也是进行基因敲除、转基因和 RNAi 等相关操作的靶向蛋白质<sup>[38]</sup>。

#### 4.4 蜜蜂淋巴液蛋白质研究

血淋巴对于蜜蜂营养物质的供给以及参与免疫反应的各种因子的运输有重要作用。通过对蜜蜂血淋巴蛋白质组的分析，酶是淋巴中最为丰富的物质，主要包括参与碳水化合物和蛋白质代谢的酶等。此外还包括结构蛋白如肌动蛋白，转运和储存蛋白如转铁蛋白和卵黄蛋白原，免疫相关蛋白如 peptidoglycan recognition protein SA、王浆主蛋白和其它功能未知的蛋白等<sup>[39]</sup>。

比较发现幼虫和成年蜂，雌性蜂和雄性蜂，蜂王和成年工蜂的淋巴液蛋白质组成均存在比较大的差异。从雄蜂淋巴液中鉴定出被认为是仅存在雌性蜂体内、具有营养储存功能的卵黄蛋白原。与成年雌性蜂相比，卵黄蛋白原在工蜂幼虫中的表达量较低。Hexamerins 是一种营养储存蛋白，在幼虫淋巴中含量较高，在成年蜂中它只存在于蜂王体内。由于幼虫淋巴中具有免疫效应的蛋白含量没有成年蜂丰富，所以幼虫比较容易感染白垩病(chalkbrood)和美洲幼虫病(American foulbrood)。从雄蜂淋巴液中发现一种多聚蛋白(polyprotein, AAP49283)，该蛋白可以作为诊断蜜蜂残翅病(deformed wing virus, DWV)的分子标记<sup>[40]</sup>。

#### 4.5 维持雄蜂精液活性功能蛋白质组研究

精液对于繁殖起着关键作用，通过对蜜蜂精液蛋白质组分析发现，精液中有酶、调控子和结构蛋白质，其中有些蛋白质对于保持精子活力、保护精子(如防止细菌感染以及雌性生理性排斥)有重要作用。雄性精液蛋白质组中有大量糖酵解相关基因过表达，说明精液的储存是一个需要能量的过程，为解释蜜蜂蜂王在早期交配后储存精子达多年奠定了基础<sup>[41]</sup>。

蜂王和雄蜂都能分泌一些用于保持精液活性的物质。雄蜂主要是由附腺分泌，是保证精液具有最大活力的必不可少的物质。而当精液在蜂王体内的受精囊储存时，蜂王受精囊腺会分泌一些物质用于保持精液活性，因此，雄蜂的精液可以在蜂王体内存活达数年。雄蜂附腺的分泌物同蜂王受精囊腺的分泌物的蛋白质组谱图几乎没有重叠，说明了蜂王和雄蜂用来维持精液活力物质的蛋白组成是不一样的。雄蜂的附腺分泌物主要影响精液在短期内的活性，而蜂王的受精囊腺分泌物主要用于保持精液的长期活性<sup>[42]</sup>。

Baer 等<sup>[43]</sup>从意大利蜜蜂蜂王受精囊分泌物蛋白质图谱中鉴定出了 100 多个具有不同功能的蛋白质，其中数量最多的是能量代谢和抗氧化相关的蛋白质，以糖酵解相关类含量最为丰富。说明精液的储存需要多种蛋白的共同参与，形成一个关联的代谢网络来维持精液在受精囊中活力。

#### 4.6 蜂王浆、蜂花粉和蜂毒蛋白质组研究

王浆是工蜂合成和分泌的蜂王和小幼虫的食物，它不仅对于级型分化以及幼虫的发育有重要作用，而且广泛用于医药、化妆品和保健品行业。

采用 2-DE、质谱和从头测序法，从蜂王浆中鉴定出了王浆主蛋白 1、2 和 3<sup>[44]</sup>。对非洲化蜜蜂工蜂咽下腺分泌物的蛋白质组研究发现，在鉴定的 34 个蛋白中，27 个属于王浆主蛋白家族，其余为  $\alpha$ -葡萄糖苷酶、葡萄糖氧化酶、淀粉酶、乙醇脱氢酶和乙醛脱氢酶等与碳水化合物和能量代谢相关的蛋白质，这证实了工蜂咽下腺是合成分泌蜂王浆的腺体<sup>[45]</sup>。Schönleben 等<sup>[46]</sup>分析西方蜜蜂蜂王浆蛋白质组时鉴定出了王浆主蛋白 1—9，并首次从王浆中发现 1 种以前只在蜂毒中发现的蛋白质——venom protein 2。结合 2-DE 和 N-末端测序法分析了非洲化蜜蜂和欧洲化蜜蜂蜂王浆的蛋白质组，除了发现王浆主蛋白和葡萄糖氧化酶存在大量的异形蛋白外，首次从王浆中鉴定出了王浆主蛋白 4<sup>[47]</sup>。用蛋白质组的方法比较分析了 3 个品系的西方蜜蜂——浆蜂、意蜂和卡蜂的蜂王浆，

结果表明 3 个品系西方蜜蜂蜂王浆中含量最为丰富的均是王浆主蛋白, 且王浆主蛋白尤其是王浆主蛋白 3 存在大量的异形体, 并首次从蜂王浆中鉴定出了谷胱甘肽转移酶和过氧化物酶这 2 种与抗氧化相关的蛋白质。浆蜂和意蜂蜂王浆组分没有差异, 但它们蛋白种类都比卡蜂蜂王浆多<sup>[48]</sup>。在比较不同储存温度对王浆的影响时发现, 王浆中的所有蛋白质都会随温度上升而降解, 其中王浆主蛋白 4、5 和葡萄糖氧化酶可作为评价王浆新鲜度的标志, 进一步研究发现用王浆主蛋白 5 来评价王浆新鲜度更可靠。同时证明冷冻储存目前还是一种较好的保存蜂王浆的方式<sup>[49-50]</sup>。意蜂和中华蜜蜂 (*Apis cerana cerana*) (中蜂) 蜂王浆蛋白质组分析表明: 两蜂种蜂王浆的主要组分都是王浆主蛋白, 并且王浆主蛋白 1 在各自王浆中的丰度最高。但两蜂种蜂王浆的组成存在差异, 过氧化物酶 2540、谷胱甘肽转移酶 S1 和王浆主蛋白 5 只存在于意蜂浆中, 王浆主蛋白 7 只存在于中蜂浆中, 并且首次在中蜂浆中鉴定出了葡萄糖氧化酶。意蜂的产浆量及意蜂浆中王浆主蛋白 1、2、3、4 和 5 的丰度均显著的高于中蜂, 表明意蜂在分泌更多的王浆来满足幼虫的发育需求的同时, 还可以给人类提供大量的王浆产品。中蜂由于其生物学的特点, 无论王浆产量还是王浆中蛋白的种类和丰度都次于意蜂<sup>[51]</sup>。

比较不同花期和不同取浆时间点 (24、48 和 72 h) 的蜂王浆蛋白质组, 发现不同花期采集的蜂王浆蛋白图谱存在差异, 而同一花期、不同时间点采集的蜂王浆蛋白图谱则比较相近<sup>[52]</sup>。

蛋白的翻译后修饰作用能够使原蛋白被新功能化 (neofunctionalization)<sup>[53]</sup>。MRJP2 对某些革兰氏阳性菌如幼虫芽孢杆菌 (美洲幼虫病的主要病原)、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌等没有抑菌作用, 但作为 MRJP2 的糖基化产物, MRJP2a 能够抑制这些病菌, 并且 MRJP2a 对幼虫芽孢杆菌的抑菌效果与相近浓度的盐酸四环素相当。由于王浆主蛋白都含有很多异形体, 这为进一步研究王浆的药理学作用提供更广阔的空间。

花粉是采集蜂从植物花朵中采集而来, 是自然条件下蜜蜂唯一的蛋白质来源, 也是人体的微型营养库<sup>[54]</sup>, 具有调节血糖、抗疲劳、抑制前列腺增生和预防心脑血管疾病等功效<sup>[55]</sup>。储存不当会造成花粉的营养损失<sup>[56]</sup>。不同储存条件下花粉蛋白质组分析结果显示, 与 -20℃ 冷冻保存相比, 在室温条件下保存的茶花粉中抗应激蛋白、核酸和脂肪代谢相关蛋白、膜

转运蛋白会大大损失, 但是能量代谢和抗氧化相关蛋白含量却较高, 其它功能蛋白质含量差异不显著, 建议在冷冻条件下保存花粉更易保持其有效成分的功能活性<sup>[56-57]</sup>。

蜂毒是蜜蜂毒腺分泌的苦味且具有芳香气味的微黄色透明液体, 它不仅是蜜蜂保护自身和种群的重要防御武器, 也具有广泛的医药价值, 主要成分为蜂毒多肽、蜂毒明肽和磷脂酶 A2 (PLA2)<sup>[58]</sup>。利用双向电泳和 MALDI TOF/TOF-MS, 从卡蜂蜂毒中成功鉴定出 39 个蛋白质, 蜂毒肽和磷脂酶 A2 是毒液中含量最为丰富的蛋白质。同时发现 3 个以往未曾报道过的新蛋白, 第一个属于血小板衍生生长因子和血管内皮生长因子家族, 第二个同任何已知的蛋白都没有同源性, 第三个可能是王浆主蛋白 8<sup>[58]</sup>。卡蜂毒腺中抗氧化相关蛋白质有 Cu/Zn 超氧化物歧化酶、谷胱甘肽转移酶、过氧化物酶 2540 和硫氧还过氧化物酶 1<sup>[59]</sup>。与成年蜂的其它组织相比, 毒腺中 SOD 的活性较低, 而 GST 则处于中等水平。此外还鉴定出了几种属于热激蛋白家族的蛋白质, 但它们在毒腺中具体行使何种功能尚不得而知。除了王浆主蛋白 8 外, 还从毒腺中发现了王浆主蛋白 9。2 个结构蛋白在毒腺中高表达, 可能是作为表皮结构成分参与保护分泌细胞免于蜂毒素的毒害。

## 5 展望

蜜蜂蛋白质组研究是蛋白质组学、蜜蜂学、生物技术、质谱技术和生物信息学的交叉学科。它将对蜜蜂生物学、蜂产品学、蜜蜂保护学、蜜蜂饲养学带来巨大推动作用。尽管其诞生仅仅几年时间, 但已经取得了长足的发展。随着研究的深入必将为中国蜂业的可持续发展提供强大的源泉和动力。预期将来利用蛋白质组学研究手段, 将更好地阐明蜜蜂重要生命活动的本质、蜜蜂重要优良性状相关的蛋白及基因的功能, 这将为蜜蜂生物学的发展和蜜蜂的品种选育, 如寻找和发现抗病优质高产蜜蜂奠定理论基础, 对推动中国蜂业向世界强国发展具有重要意义。

## References

- [1] The Honeybee Genome Sequencing Consortium. Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature*, 2006, 443(7114): 931-949.
- [2] Robinson G E, Grozinger C M, Whitfield C W. Sociogenomics: social life in molecular terms. *Nature Reviews Genetics*, 2005, 6(4):

- 257-270.
- [3] Graham J M. *The Hive and the Honey Bee*. Illinois: Dadant & Sons, INC, 1992: 106-167.
- [4] Heisenberg M. Mushroombody memoir: from maps to models. *Nature Reviews Neuroscience*, 2004, 4: 266-275.
- [5] Page Jr R E, Peng C Y S. Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. *Experimental Gerontology*, 2001, 36(4/6): 695-711.
- [6] Page R E, Robinson G E. The genetics of division of labour in honey bee colonies. *Advances in Insect Physiology*, 1991, 23: 117-169.
- [7] Evans J D, Aronstein K, Chen Y P, Hetru C, Imler J L, Jiang H, Kanost M, Thompson G J, Zou Z, Hultmark D. Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology*, 2006, 15(5): 645-656.
- [8] Amdam G V, Omholt S W. The regulatory anatomy of honeybee lifespan. *Journal of Theoretical Biology*, 2002, 216(2): 209-228.
- [9] Wasinger V C, Cordwell S J, Cerpa-Poljak A, Yan J X, Gooley A A, Wilkins M R, Duncan M W, Harris R, Williams K L, Humphery-Smith I. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. *Electrophoresis*, 1995, 16(7): 1090-1094.
- [10] Anderson L, Seilhamer J. A comparison of selected mRNA and protein abundances in human liver. *Electrophoresis*, 1997, 18(3/4): 533-537.
- [11] Anderson N L, Anderson N G. Proteome and proteomics: new technologies, new concepts, and new words. *Electrophoresis*, 1998, 19(11): 1853-1861.
- [12] Blackstock W P, Weir M P. Proteomics: quantitative and physical mapping of cellular proteins. *Trends Biotechnology*, 1999, 17(3): 121-127.
- [13] Liebler D C. *Introduction to Proteomics: Tools for New Biology*. New Jersey: Humana Press INC., 2002: 123-185.
- [14] 张 兰, 李建科, 吴黎明. 王浆高产蜜蜂 (*Apis mellifera* L.) 卵期发育蛋白质组分析. 中国农业科学, 2007, 40(6): 1276-1287.  
Zhang L, Li J K, Wu L M. Profile analysis of the proteome of the eggs of the higher royal jelly producing bees (*Apis mellifera* L.). *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(6): 1276-1287. (in Chinese)
- [15] 房 宇, 李建科. 王浆高产蜜蜂和原种意大利蜜蜂雄蜂卵期发育蛋白质组分析. 中国农业科学, 2009, 42(7): 2552-2563.  
Fang Y, Li J K. Comparative analysis of proteome between drone eggs of high royal jelly producing bees (*Apis mellifera* L.) and native Italian bees (*Apis mellifera* L.). *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(7): 2552-2563. (in Chinese)
- [16] 房 宇, 李建科. 意大利蜜蜂 (*A. m. ligustica*) 雄蜂卵期发育蛋白质组分析. 中国农业科学, 2008, 41(11): 3793-3800.  
Fang Y, Li J K. Analysis of developmental proteome at egg stage of drone honeybees (*A. m. ligustica*). *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(11): 3793-3800. (in Chinese)
- [17] Li J K, Zhang L, Feng M, Zhang Z H, Pan Y H. Identification of the proteome composition occurring during the course of embryonic development of bees (*Apis mellifera*). *Insect Molecular Biology*, 2009, 18(1): 1-9.
- [18] Chan M M Y, Choi S Y C, Chan Q W T, Li P, Guarna M M, Foster L J. Proteome profile and lentiviral transduction of cultured honey bee (*Apis mellifera* L.) cells. *Insect Molecular Biology*, 2010, 19(5): 653-658.
- [19] Wang D I. Growth rates of young queen and worker honeybee larvae. *Journal of Apicultural Research*, 1965, 4: 3-6.
- [20] 李建科, 李华玮, 张 兰. 王浆高产蜜蜂 (*Apis mellifera* L.) 工蜂幼虫发育期蛋白质组分析. 中国农业科学, 2008, 41(3): 880-889.  
Li J K, Li H W, Zhang L. Analysis of the proteome of the larvae of the high royal jelly producing worker bees (*Apis mellifera* L.). *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(3): 880-889. (in Chinese)
- [21] Li J K, Li H W, Zhang Z H, Pan Y H. Identification of the proteome complement of higher royal jelly producing bees (*Apis mellifera*) during worker larval development. *Apidologie*, 2007, 38(6): 545-557.
- [22] 陈 健, 李建科. 王浆高产蜜蜂 (*A. m. ligustica*) 与喀尼鄂拉蜂 (*A. m. carnica*) 幼虫期蛋白质组比较. 中国农业科学, 2008, 41(10): 3292-3299.  
Chen J, Li J K. Comparative analysis of proteome complement between worker bee larvae of high royal jelly producing bees (*A. m. ligustica*) and Carniolians (*A. m. carnica*) bees. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(10): 3292-3299. (in Chinese)
- [23] Chan Q W T, Foster L J. Changes in protein expression during honey bee larval development. *Genome Biology*, 2008, 9: R156 (doi:10.1186/gb-2008-9-10-r156).
- [24] 郑爱娟, 房 宇, 冯 毛, 吴 静, 宋飞飞, 李建科. 原种意大利蜜蜂 (*Apis mellifera* L.) 与其王浆高产品系工蜂蛹期头部发育差异蛋白质组分析. 中国农业科学, 2010, 43(8): 1703-1715.  
Zheng A J, Fang Y, Feng M, Wu J, Song F F, Li J K. Proteome comparison between worker pupal head of native Italian honeybee (*Apis mellifera* L.) and higher royal jelly producing strain. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(8): 1703-1715. (in Chinese)
- [25] Allsopp M H, Calis J N M, Boot W J. Differential feeding of worker larvae affects caste characters in the Cape honeybee, *Apis mellifera capensis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 2003, 54: 555-561.

- [26] 吴 静, 李建科. 蜜蜂 (*Apis mellifera* L.) 幼虫级型分化差异蛋白质组分析. 中国农业科学, 2010, 43(1): 176-184.
- Wu J, Li J K. Proteomic analysis of the honeybee (*Apis mellifera* L.) caste differentiation between worker and queens bees larvae. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(1): 176-184. (in Chinese)
- [27] Schippers M P, Dukas R, Smith R W, Wang J, Smolen K, McClelland G B. Lifetime performance in foraging honeybees: behaviour and physiology. *The Journal of Experimental Biology*, 2006, 209: 3828-3836.
- [28] Garcia L, Garcia C H S, Calábria L K, da Cruz G C N, Puentes A S, Bão S N, Fontes W, Ricart C A O, Espindola F S, de Sousa M V. Proteomic analysis of honey bee brain upon ontogenetic and behavioral development. *Journal of Proteome Research*, 2009, 8(3): 1464-1473.
- [29] Wolschin F, Amdam G V. Comparative proteomics reveal characteristics of life-history transitions in a social insect. *Proteome Science*, 2007, 5: 10.
- [30] Uno Y, Fujiiyuki T, Morioka M, Takeuchi H, Kubo T. Identification of proteins whose expression is up- or down-regulated in the mushroom bodies in the honeybee brain using proteomics. *FEBS Letters*, 2007, 581: 97-101.
- [31] Peixoto L G, Calábria L K, Garcia L, Capparelli F E, Goulart L R, de Sousa M V, Espindola F S. Identification of major royal jelly proteins in the brain of the honeybee *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology*, 2009, 55: 671-677.
- [32] Huang Z Y, Otis G W, Teal P E A. Nature of brood signal activating the protein synthesis of hypopharyngeal gland in honey bees *Apis mellifera* (Apidae: Hymenoptera). *Apidologie*, 1989, 20(6): 455-464.
- [33] Crailsheim K. The flow of jelly within a honeybee colony. *Journal of Comparative Physiology B, Biochemical, Systemic and Environmental Physiology*, 1992, 162(8): 681-689.
- [34] Evans J D, Wheeler D E. Differential gene expression between developing queens and workers in the honey bee, *Apis mellifera*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, 96(10): 5575-5580.
- [35] Hasegawa M, Asanuma S, Fujiiyuki T, Kiya T, Sasaki T, Endo D, Morioka M, Kubo T. Differential gene expression in the mandibular glands of queen and worker honeybees, *Apis mellifera* L.: Implications for caste-selective aldehyde and fatty acid metabolism. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2009, 39: 661-667.
- [36] Li J K, Feng M, Zhang Z H, Pan Y H. Identification of the proteome complement of hypopharyngeal glands from two strains of honeybees (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 2008, 39: 199-214.
- [37] 冯 毛, 李建科. 王浆高产蜜蜂和原种意大利蜜蜂咽下腺发育蛋白质组分析. 中国农业科学, 2009, 42(2): 677-687.
- Feng M, Li J K. Proteome analysis of the development of hypopharyngeal gland of high royal jelly producing bees and native Italian bees. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(2): 677-687. (in Chinese)
- [38] Feng M, Fang Y, Li J K. Proteomic analysis of honeybee worker (*Apis mellifera*) hypopharyngeal gland development. *BMC Genomics*, 2009, 10: 645.
- [39] Bogaerts A, Baggerman G, Vierstraete E, Schoofs L, Verleyen P. The henolymph proteome of the honeybee: gel-based or gel-free? *Proteomics*, 2009, 9: 3201-3208.
- [40] Chan Q W T, Howes C G, Foster L J. Quantitative comparison of caste differences in honeybee hemolymph. *Molecular and Cellular Proteomics*, 2006, 5: 2252-2262.
- [41] Collins A M, Williams V, Evans J D. Sperm storage and antioxidative enzyme expression in the honey bee, *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology*, 2004, 13(2): 141-146.
- [42] den Boer S P A, Boomsma J J, Baer B. Honey bee males and queens use glandular secretions to enhance sperm viability before and after storage. *Journal of Insect Physiology*, 2009, 55: 538-543.
- [43] Baer B, Eubel H, Taylor N L, O'Toole N, Millar A H. Insights into female sperm storage from the spermathecal fluid proteome of the honeybee *Apis mellifera*. *Genome Biology*, 2009, 10(6): R67.
- [44] Scarselli R, Donadio E, Giuffrida M G, Fortunato D, Conti A, Balestrieri E, Felicioli R, Pinzauti M, Sabatini A G, Felicioli A. Towards royal jelly proteome. *Proteomics*, 2005, 5: 769-776.
- [45] Santos K S, dos Santos L D, Mendes M A, de Souza B M, Malaspina O, Palma M S. Profiling the proteome complement of the secretion from hypopharyngeal gland of Africanized nurse-honeybees (*Apis mellifera* L.). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2005, 35: 85-91.
- [46] Schönleben S, Sickmann A, Mueller M J, Reinders J. Proteome analysis of *Apis mellifera* royal jelly. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 389:1087-1093.
- [47] Sano O, Kunikata T, Kohno K, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M. Characterization of royal jelly proteins in both Africanized and European honeybees (*Apis mellifera*) by two-dimensional gel electrophoresis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52: 15-20.
- [48] Li J K, Wang T, Zhang Z H, Pan Y H. Proteomic analysis of royal jelly from three strains of western honeybees (*Apis mellifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55: 8411-8422.



- [49] Li J K, Wang T, Peng W J. Comparative analysis of the effects of different storage conditions on major royal jelly proteins. *Journal of Apicultural Research*, 2007, 46(2): 73-81.
- [50] Li J K, Feng M, Zhang L, Zhang Z H, Pan Y H. Proteomics analysis of major royal jelly protein changes under different storage conditions. *Journal of Proteome Research*, 2008, 7(8): 3339-3353.
- [51] Fang Y, Feng M, Li J K. Royal jelly proteome comparison between *A. mellifera ligustica* and *A. cerana cerana*. *Journal of Proteome Research*, 2010, 9(5): 2207-2215.
- [52] Furusawa T, Rakwal R, Nam H W, Shibato J, Agrawal G K, Kim Y S, Ogawa Y, Yoshida Y, Kouzuma Y, Masuo Y, Yonekura M. Comprehensive royal jelly (RJ) proteomics using one- and two-dimensional proteomics platforms reveals novel RJ proteins and potential phospho/glycoproteins. *Journal of Proteome Research*, 2008, 7(8): 3194-3229.
- [53] Biliková K, Mirgorodskaya E, Bukovská G, Gobom J, Lehrach H, Šimúth J. Towards functional proteomics of minority component of honeybee royal jelly: The effect of post-translational modifications on the antimicrobial activity of apalbumin2. *Proteomics*, 2009, 9: 2131-2138.
- [54] Almeida-Muradian L B, Pamplona L C, Coimbra S, Barth O M. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2005, 18: 105-111.
- [55] Nagai T, Inoue R, Inoue H, Suzuki N. Scavenging capacities of pollen extracts from *Cistus ladaniferus* on autoxidation, superoxide radicals, hydroxyl radicals, and DPPH radicals. *Nutrition Research*, 2002, 22(4): 519-526.
- [56] Li J K, Chen J, Zhang Z H, Pan Y H. Proteome analysis of tea pollen (*Camellia sinensis*) under different storage conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56: 7535-7544.
- [57] 胡若洋, 冯 毛, 李建科. 不同贮存温度下茶花蜂花粉蛋白质组的初步研究. *食品科学*, 2008, 29(6): 438-443.
- Hu R Y, Feng M, Li J K. Preliminary study on proteome of honeybee pollen of *Camellia sinensis* at different storage temperatures. *Food Science*, 2008, 29(6): 438-443. (in Chinese)
- [58] Peiren N, Vanrobaeys F, de Graaf D C, Devreese B, Van Beeumen J, Jacobs F J. The protein composition of honeybee venom reconsidered by a proteomic approach. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2005, 1752: 1-5.
- [59] Peiren N, de Graaf D C, Vanrobaeys F, Danneels E L, Devreese B, Van Beeumen J, Jacobs J. Proteomic analysis of the honey bee worker venom gland focusing on the mechanisms of protection against tissue damage. *Toxicon*, 2008, 52: 72-83.

(责任编辑 岳 梅)