



秦凯鑫, 潘露霞, 王子龙. 蜂王浆主蛋白研究进展 [J]. 环境昆虫学报, 2023, 45 (4): 892–898.

蜂王浆主蛋白研究进展

秦凯鑫^{1,2}, 潘露霞^{1,2}, 王子龙^{1,2*}

(1. 江西农业大学蜜蜂研究所, 南昌 330045; 2. 江西省蜜蜂生物学与饲养重点实验室, 南昌 330045)

摘要: 作为社会性昆虫, 蜜蜂是研究社会行为和学习记忆的理想模式生物。王浆主蛋白 (Major royal jelly protein, MRJP) 是蜂王浆中蛋白质的主要成分, 该家族一共有 9 个成员, MRJP1 ~ MRJP9。所有 *mrjps* 均以串联排列的形式位于蜜蜂 11 号染色体上一个大约 60 kb 的 DNA 片段上。*mrjp* 的同源体也存在于其他的膜翅目昆虫, 均是通过 *yellow* 进化而来的。随着不断地进化, MRJPs 家族进化出许多重要功能, 其中最主要的就是营养功能。本文从 MRJPs 家族的基因及蛋白质结构、mRNA 表达情况、进化和功能等方面进行综述, 为今后开展相关研究提供理论支持。

关键词: 蜜蜂; 蜂王浆; 王浆主蛋白; 基因及蛋白质结构; 功能

中图分类号: Q968.1; S89

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2023) 04-0892-07

Research progress on major royal jelly proteins

QIN Kai-Xin^{1,2}, PAN Lu-Xia^{1,2}, WANG Zi-Long^{1,2*} (1. Honeybee Research Institute Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Jiangxi Provincial Key Laboratory of Honeybee Biology and Apiculture, Nanchang 330045, China)

Abstract: As social insects, honey bee is ideal model organism for studying social behavior, learning and memory. Major royal jelly proteins (MRJPs) are the main components of royal jelly. There are 9 members in this family, MRJP1 ~ MRJP9. All *mrjp* are located on an approximately 60 kb DNA fragment in a tandem arrangement on honeybee chromosome 11. Homologs of the *mrjp* are also present in other Hymenoptera, which are paralogs from the *yellow*. MRJPs have evolved many important functions and the most important one is nutritional supply. Here, we summarized the gene and protein structures, mRNA expression profiles, and evolution and biological functions of the MRJPs family to provide theoretical support for related research in the future.

Key words: Honey bee; royal jelly; MRJP; structure of gene and protein; function

蜂王浆是蜜蜂工蜂头部咽下腺和上颚腺分泌的淡黄色浆状物 (Knecht and Kaatz, 1990)。只有蜂王和 3 d 内的幼虫被饲喂蜂王浆, 因此, 蜂王浆被认为是影响雌性蜜蜂级型分化的主要因素 (Buttstedt *et al.*, 2014)。蜂王浆中含有 60% ~ 70% 水, 12.5% 粗蛋白, 10.16% 糖, 3% ~ 6% 脂类, 2% ~ 3% 维生素、盐和游离氨基酸等 (Albert

et al., 1999)。其中, 王浆主蛋白是蜂王浆中水溶性蛋白, 为蜂王浆中蛋白质的主要成分, 占总蛋白含量的 46% ~ 89% (Schmitzová *et al.*, 1998)。MRJPs 家族一共有 9 个成员, 依次命名为 MRJP1 ~ MRJP9。本文主要对近几年王浆主蛋白的研究进展进行综述, 为今后开展相关研究提供帮助。

基金项目: 国家自然科学基金 (31860686)

作者简介: 秦凯鑫, 男, 硕士研究生, 主要从事蜜蜂分子生物学研究, E-mail: 764000462@qq.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 王子龙, 男, 博士, 研究员, 主要从事蜜蜂分子生物学研究, E-mail: wzlcqbb@126.com

收稿日期 Received: 2022-03-21; 接受日期 Accepted: 2022-04-25

1 MRJPs 家族鉴定

对蜂王浆中蛋白的研究始于 1960 年, Patel 等人通过电泳分析蜂王浆中的蛋白质, 其目的是为了研究幼虫食物中蛋白质与接受食物时幼虫的年龄和级型分化之间的关系, 结果显示, 与 1~3 龄幼虫相比, 工蜂和雄蜂第 4~6 龄幼虫食物缺少水溶性蛋白质 (Patel *et al.*, 1960)。由于最初人们是通过分子量或者发现顺序对蜂王浆中蛋白质命名的, 这就导致相同的蛋白质却有不同名字 (Kubo *et al.*, 1996; Scarselli *et al.*, 2005)。1992 年, Šimuiith 等人首次发现蜂王浆中分子量为 57 kDa 的蛋白质, 该蛋白在蜂王浆中最为丰富, 被命名为“MRJP”, 后被命名为 MRJP1 (Hanes and Šimuiith, 1992)。MRJP2~5 是通过其 cDNA 的克隆测序鉴定的 (Klaudiny *et al.*, 1994; Schmitzová *et al.*, 1998; Albert *et al.*, 1999), 而 MRJP6~8 是通过蜜蜂脑表达序列标签 (EST) 文库进行同源搜索而检测到的 (Albert and Klaudiny, 2004)。之后人们将蜜蜂咽下腺和毒囊进行蛋白质组学分析, 发现一个蛋白水解片段, 通过克隆测序证实是 MRJP9 (Albert and Klaudiny, 2007)。9 个 *mrjps* 编码基因均在蜜蜂 11 号染色体上 (Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006), 所有 *mrjps* 以串联排列的形式位于一个大约 60 kb 的 DNA 片段上 (Drapeau *et al.*, 2006), 各成员之间的核酸序列和氨基酸序列均具有较高的相似性 (Helbing *et al.*, 2017)。*mrjp* 基因簇两侧是编码 YELLOW 家族蛋白的 5 个基因, 基因组区除了 9 个转录的 *mrjps* 外, 中间还有 1 个非转录的伪基因 *mrjp-ψ* (Drapeau *et al.*, 2006)。

2 MRJPs 家族蛋白质结构

成熟的 MRJPs 由 400~578 个氨基酸组成, 其分子量在 45~68 kDa 之间 (Buttstedt *et al.*, 2014)。MRJP1~5 富含 10 种必需氨基酸, 且 MRJP1~5 是蜂王浆中最为丰富的蛋白质, 占 90%, 说明 MRJP1~5 具有营养作用 (Schmitzová *et al.*, 1998)。MRJPs 家族各成员 N 端含有信号肽序列, 因此被认为是分泌蛋白 (Klaudiny *et al.*, 1994)。所有成员共享 4 个保守半胱氨酸残基和几个高度保守氨基酸区域, 半胱氨酸残基会形成二

硫键 (Buttstedt *et al.*, 2014)。MRJPs 刚合成时 pH 值为 7.0, 在饲喂幼虫之前, 工蜂会将其与上颚腺分泌的脂肪酸混合, 使得蜂王浆 pH 值为 4.0, MRJPs 在酸性 pH 值中更稳定, pH 值为 4.0~4.5 时稳定性最高 (Mureşan and Buttstedt, 2019)。

MRJPs 中具有重复区域。Su 等人研究发现, MRJP2 的 C 端具有 9 个五肽重复区域 (Su *et al.*, 2005)。MRJP3 在编码区 C 端具有可变串联重复序列 (VNTR) 区域, 该区域被认为是导致蛋白质多态性的位点 (Štefan *et al.*, 1999)。MRJP5 在 367 和 540 氨基酸残基之间具有广泛重复区域, 重复三肽基序共出现 58 次, 其中 MRJP3 和 MRJP5 的两个重复区域共同特征是带正电的精氨酸/赖氨酸残基和带负电的天冬氨酸残基有规律的出现 (Albert *et al.*, 1999)。由于 MRJPs 的重复区域中含有大量的富含氮的氨基酸, 这显著增加 MRJPs 中氮含量, 因此重复区域也被认为是生物加工形式储存氮的结构域 (Štefan *et al.*, 1999)。

Klaudiny 等人认为 MRJP3 和 MRJP4 存在潜在的 N 端糖基化和磷酸化位点, 并首次提出 MRJPs 可能具有翻译后修饰 (Klaudiny *et al.*, 1994)。Zhang 等人通过双向凝胶电泳 (2-DE)、鸟枪法分析、高效液相色谱-电喷雾四极杆飞行时间串联质谱和生物信息学相结合的方法对蜂王浆的翻译后修饰进行分析, 检测到 MRJP1 和 MRJP2 具有磷酸化位点, 并且 MRJP1~5 还存在甲基化或脱酰胺化 (Zhang *et al.*, 2012)。此外, MRJP1 和 MRJP2 都被检测出具有糖基化位点 (Bíliková *et al.*, 2009; Kimura *et al.*, 2010)。如今, MRJP1~9 被检测出具有 11~35 个磷酸化和 1~8 个糖基化位点 (Buttstedt *et al.*, 2014)。如此多的数据证明 MRJPs 具有翻译后修饰, 形成许多 MRJP 的异构体。

MRJP1 的二级结构含有 9.6% 的 α 螺旋, 38.3% 的 β 折叠和 20% 的 β 转角, 并且是一种高度稳定的蛋白质 (Cruz *et al.*, 2011)。Watanabe 等人将 MRJP1 溶解于磷酸盐缓冲生理盐水中, 在不同温度中加热 30 min, 结果表明, 60°C 热处理不会影响 MRJP1 的生长刺激活性 (Watanabe *et al.*, 1998)。但是 MRJP1 是一种钙调蛋白结合蛋白 (Calábria *et al.*, 2008), 钙离子会改变 MRJP1 构象, 使其易受温度和 pH 值的影响 (Cruz *et al.*, 2011)。MRJP1 具有独特的六叶 β 螺旋折叠, 即 MRJP1 被折叠成 1 个六叶 β 螺旋桨形状, 其中具有 31 条 β 链和 11 条 α 螺旋, 中间还有一个通道

(Tian *et al.*, 2018)。六叶结构里有 3 个二硫键, 其中 2 个二硫键的半胱氨酸残基在 MRJPs 家族成员中是保守的, 这 2 个二硫键对结构稳定性至关重要 (Tian *et al.*, 2018)。MRJP1 会与 apisimin 形成高浓度的长脂蛋白纤维结构 (MRJP1₄-apisimin₄-24-methylenecholesterol₈), 增加蜂王浆的粘度, 使幼虫不会从王台中掉落 (Buttstedt *et al.*, 2018)。Apisimin 是蜜蜂特有的一种富含丝氨酸-缬氨酸的多肽, 具有形成寡聚体的倾向 (Bíliková *et al.*, 2002)。通过低温电子显微镜可以观察到这种纤维结构是由 4 个 MRJP1 组成的外壳, 内部有 4 个 apisimin, 中间是 8 个被紧密包裹的脂质 (Mattei *et al.*, 2020), 分子之间通过疏水作用和氢键链接, 而 apisimin 分子是将复合物连接在一起的关键桥梁 (Tian *et al.*, 2018)。这种纤维结构在 pH 值为 4.0 时, 各单元之间静电斥力降低, 使其更加稳定, 而另一方面是带正电的 His294 与相邻的 Asp292 之间可能具有静电引力, 因为 Asp292 在 pH 值为 4.0 时部分带负电荷 (Mattei *et al.*, 2020)。虽然对 MRJP1 的二级结构有一定了解, 但是 MRJPs 家族其他成员的二级结构研究却少之又少。

3 MRJPs 在蜂产品中分布

迄今为止, 许多研究者对蜜蜂的蜂王浆进行了蛋白质组学分析, 所有 MRJPs 家族成员都能在蜂王浆中检测出来 (Schmitzová *et al.*, 1998; Sano *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2005; Schönleben *et al.*, 2007)。MRJPs 家族各成员在蜂王浆中含量差异非常大, 其中, MRJP1 ~ 5 在蜂王浆中含量较多, 尤其是 MRJP1, 其所占比例为 31% (Hanes *et al.*, 1992)。除此之外, MRJPs 也可以在其他蜂产品中检测到。Rossano 等人在蜂蜜中检测到 MRJP1 ~ 3 相对应的多肽 (Rossano *et al.*, 2012)。Silva 等人用非靶向 LC-ESI-Triple-TOF-MS/MS 鉴定甘露蜜中 MRJPs, 通过 LC-QqQ-MS/MS 对蜂蜜中 MRJPs 标记多肽进行定量分析, 结果表明, MRJP4 中标记肽 (QNIDVVAR) 的含量可以作为区分甘露蜜和花蜜的指标 (Silva *et al.*, 2020)。MRJP1 和 MRJP2 也在蜜蜂粉脾中被检测到 (Scarselli *et al.*, 2005)。MRJP8 和 MRJP9 在蜜蜂毒液和假定的过敏原中被鉴定出来 (Blank *et al.*, 2012)。因此, 不论是蜂王浆还是其他蜂产品都可以检测到 MRJPs。

4 *mrjps* 家族的表达

4.1 *mrjps* 在蜜蜂体内的表达

mrjps 在蜜蜂多个组织中均有表达。Dobritzsch 等人通过 qRT-PCR 和定量质谱分析发现, 工蜂咽下腺和大脑中 *mrjp1* ~ 5 和 *mrjp7* 的表达具有年龄依赖性, 即 *mrjps* 的表达在哺育蜂时期上调, 而在采集蜂时期下调, 并且咽下腺中的相对丰度高于大脑 (Dobritzsch *et al.*, 2019)。哺育蜂的任务是饲喂幼虫, 其咽下腺 *mrjps* 表达显著高于采集蜂, 从侧面证明 MRJPs 具有营养功能 (Feng *et al.*, 2009)。但是蜜蜂咽下腺细胞具有灵活性, 随着日龄增加, 蜜蜂将不再哺育而是出门采集花粉、蜜和树脂等, 若蜂群需要, 采集蜂将重新激活腺泡, 合成与分泌 MRJPs, 哺育幼虫 (Ohashi *et al.*, 2000)。不仅仅是工蜂, *mrjps* 在蜂王和雄蜂的头部、胸部和腹部都有表达, 其中 *mrjp1* ~ 7 在工蜂头部表达更为显著 (Buttstedt *et al.*, 2013)。李晓燕等人研究表明 *mrjp6* 在蜜蜂幼虫和蛹期时表达量较低, 而三型蜂中, 蜂王与工蜂的表达量显著高于雄蜂 (李晓燕等, 2016)。李江红等人发现 *mrjp8* 在工蜂毒腺组织内表达量高, 而雄蜂体内表达量最低, 这可能暗示 *mrjp8* 与工蜂防御有关 (李江红等, 2014)。有趣的是, *mrjp9* 表达与其他的 *mrjps* 不同, 其在蜂王和工蜂的头部、胸部、腹部表达都很高, 因此 MRJP9 被认为是最古老的王浆主蛋白 (Buttsteds *et al.*, 2013)。

4.2 外界因素对 *mrjps* 表达的影响

mrjps 及蛋白质的表达会受到外界因素影响。在食物中添加 20-羟基蜕皮酮 (20E) 后, 蜜蜂中 *mrjp1* ~ 3 表达下调, 其中 *mrjp3* 表达量最低 (Winkler *et al.*, 2018)。Fent 等人将蜜蜂暴露不同的杀虫剂中, 结果显示毒死蜱会使采集蜂大脑中 *mrjp2* 和 *mrjp3* 表达下调, 吡虫啉会使采集蜂大脑中 *mrjp1* 表达下调 (Fent *et al.*, 2020)。Scharlaken 等人研究表明, 蜜蜂在感染大肠杆菌 8 h 之后, *mrjp3* 在头部的表达上调, 而 *mrjp4* 表达下调 (Scharlaken *et al.*, 2007)。蜜蜂幼虫在感染类芽孢杆菌后, *mrjp1* ~ 3 在蜜蜂血淋巴中的表达下调 (Chan *et al.*, 2009)。多菌灵是一种杀菌剂, 在多菌灵的刺激下, 蜜蜂头部中 *mrjp1* ~ 7 和 9 的表达会下调 (Wang *et al.*, 2021)。因此, *mrjps* 及蛋白质的表达受激素、杀虫剂和细菌的影响。

5 *mrjps* 在其他膜翅目昆虫中同源体

除了蜜蜂之外, *mrjps* 在其他膜翅目中也存在同源体。在寄生蜂 *Nasonia vitripennis* 中鉴定出 10 个与蜜蜂 *mrjps* 类似的基因, 分子证据表明, 这两组基因拥有一个共同祖先 (Werren *et al.*, 2010)。Sumner 等人研究表明, *mrjps* 在群居型黄蜂 *Polistes canadensis* 的蜂王中表达 (Sumner *et al.*, 2015)。Tian 等人的研究发现, 膜翅目蚊科的火蚁也会表达 *mrjps*, 并且认为这与蚁后交配或繁殖行为有关 (Tian *et al.*, 2004)。在阿根廷蚂蚁 *Linepithema humile* 中也鉴定出 10 个 *yellow* 和 10 个 *mrjps* (Smith *et al.*, 2011)。或许 *mrjps* 在其他膜翅目昆虫中具有重要的作用。

6 *mrjps* 家族进化

最初, Albert 等人只鉴定出 5 种王浆主蛋白, 即 MRJP1~5, 并且发现 MRJPs 与果蝇的 YELLOW 有着共同的进化起源, MRJPs 家族的分化可能导致该基因家族有新功能 (Albert *et al.*, 1999)。Drapeau 等人不仅证实了 Albert 等人的研究, 还认为 *mrjp* 家族是由 *yellow-e3* 进化而来 (Drapeau *et al.*, 2006)。Drapeau 等人将内含子/外显子结构进行对比, 发现 *mrjps* 与 *yellow-e3* 内含子/外显子结构高度相似, 通过微阵列表达数据得出 *yellow-e3* 与 *mrjp* 功能上有共同之处 (Drapeau *et al.*, 2006)。Buttstedt 等人认为 *mrjp9* 是 *mrjps* 中的始祖基因, 蜜蜂高拷贝数是由一个古老基因复制而导致的, *mrjp9* 在蜂王和工蜂的头部、胸部、腹部表达都很高, 并且一些只分泌 1 种 MRJP 的物种 (如熊蜂 *Bombus terrestris* 等) 的 *mrjp* 与 *mrjp9* 相似度最高, 因此 *mrjp9* 被认为是最古老的基因 (Buttstedt *et al.*, 2013)。Kupke 等人认为熊蜂是一个过渡物种, 熊蜂的王浆主蛋白称为 BtRJPL (*B. terrestris* royal jelly protein-like), 将熊蜂 BtRJPL 基因簇与西方蜜蜂 *apis mellifera mrjps* 的对比显示, 除了 *yellow-e3* 和 *yellow-h* 之间只有一个 BtRJPL 基因外, 其基因排列顺序相同, 并且发现 BtRJPL 参与食物的消化 (Kupke *et al.*, 2012)。寄生蜂中 5 个 *mrjps* 串联排列在 3 号染色体上, 两侧是 *yellow*, 在染色体远端还有 1 个 *mrjp*, 另外 3 个 *mrjps* 在 4 号染色体上, 最后 1 个在 Scaffold 1011 上 (Buttstedt *et al.*,

2014)。寄生蜂是迄今为止在昆虫中发现 *mrjps* 数量最多的, 与蜜蜂 *mrjps* 具有一个共同起源 (Werren *et al.*, 2010)。阿根廷蚂蚁具有 10 个 *yellow* 和 10 个 *mrjps*, 其中 8 个 *yellow* 与黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的相似, 可能为同源基因 (Smith *et al.*, 2011)。类似于西方蜜蜂和寄生蜂, 阿根廷蚂蚁基因组中 *mrjps* 独立聚类为一类, 这表明祖先基因在分化过程中可能出现复制, 使 *mrjps* 有新的功能 (Johnson and Linksvayer, 2010; Smith *et al.*, 2011)。

7 MRJPs 家族功能

MRJP1 及其酶解产物具有多种生物学活性, 其中最重要的功能是营养功能。Kamakura 研究表明, MRJP1 单体 (称为 royalactin) 在延长蜂王寿命中发挥重要作用, 并且能诱导幼虫分化为蜂王, 是影响蜂王和工蜂级型分化的主要物质 (Kamakura, 2011)。然而, Buttstedt 等人反驳了这个观点, 他们认为决定级型分化的主要因素是摄入的食物量, 充足的摄入量会给幼虫提供更多更均衡的营养物质, 而不是单一的化合物, MRJP1 为蜂王幼虫提供必须营养物质 (Buttstedt *et al.*, 2016)。

MRJP1 对人类骨髓细胞有生长刺激作用 (Watanabe *et al.*, 1998) 并且 MRJP1 单体与 apisimin 所组成的低聚物具有促进细胞增殖作用 (Tamura *et al.*, 2009)。Kamakura 等人通过研究表明 MRJP1 可以刺激原代培养的大鼠肝细胞 DNA 的合成, 从而促进肝细胞的增殖, 在这一过程中 MRJP1 起着有丝分裂原的作用, 而且这种刺激作用呈剂量依赖性 (Kamakura *et al.*, 2001)。MRJP1 还具有杀菌作用, Vezetu 等人研究发现 MRJP1 不仅可以抑制欧洲幼虫腐臭病细菌生长, 还能抑制其病原菌生长 (Vezetu *et al.*, 2016)。Brudzynski 等人通过半定量径向扩散法和微量液稀释法来评估多重耐药菌对 glps (一种包含 MRJP1 的糖蛋白) 的敏感性, 结果表明 glps 具有快速杀菌活性 (Brudzynski *et al.*, 2015)。Fan 等人通过蛋白质组学分析发现, MRJP1 显著降低血管平滑肌细胞收缩、迁移和增殖, 表明 MRJP1 具有降血压作用 (Fan *et al.*, 2016)。胃蛋白酶、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶水解 MRJP1 后得到 11 个血管紧张素 I 型转化酶抑制肽, 可有效地抑制人体血管紧张素 I 型

转化酶的活性 (Matsui *et al.* ,2002)。

除此之外, MRJPs 还有许多其他作用。Šimúth 等人研究表明, MRJP1 和 MRJP2 会刺激小鼠的巨噬细胞释放 TNF- α (Šimúth *et al.* , 2004)。Rosmilah 等人将 53 位蜂王浆过敏患者的血清进行 Western blot 检测, 结果表明 MRJP1 和 MRJP2 是主要过敏原 (Rosmilah *et al.* ,2008)。SARS-CoV-2 是一种新型冠状病毒, MRJP2 可以对 SARS-CoV-2 的非结构蛋白发挥抑制作用, 并且还能与病毒 nsps 上的血红蛋白结合位点结合, 这可能对治疗新冠病毒有一定的作用 (Habashy and AbuSerie , 2020)。Lin 等人通过体外创面愈合模型研究 MRJPs 对人表皮角质形成细胞 (HaCaT) 的影响, 结果表明 MRJP2、MRJP3 和 MRJP7 可以刺激 HaCaT 细胞增值和迁移活性, 促进伤口愈合 (Lin *et al.* ,2019)。

低密度脂蛋白 (LDL) 与氧化修饰的低密度脂蛋白 (Ox-LDL) 是动脉粥样硬化病的主要成分, 王浆素 (Royalisin) 和 MRJP1、MRJP3 的降解产物能与 LDL 和 Ox-LDL 结合, 从而抑制巨噬细胞增值, 减少斑块信息, 有助于治疗动脉粥样硬化 (Sato *et al.* , 2021)。Okamoto 等人研究表明, MRJP3 可以抑制小鼠 T 细胞产生 IL-4 (白细胞介素-4)、IL-2 (白细胞介素-2) 和 IFN- γ , 具有抗过敏作用 (Okamoto *et al.* ,2003)。Maori 等人发现, MRJP3 是一种分泌的非序列特异性 RNA 结合蛋白, 可以与多价 RNA 结合, 使其转变为 eRNP 颗粒, 该颗粒可以浓缩、保护、增强 RNA 的摄取, 促进 RNA 转移 (Maori *et al.* ,2019)。MRJP3 具有细胞增殖和伤口愈合的作用, Minegaki 等人证明 MRJP3 羧基端串联五肽重复序列能促进细胞增殖 (Minegaki *et al.* ,2020)。

MRJP4 对细菌、真菌和酵母具有广泛的抗菌作用 (Kim *et al.* ,2019)。蜂毒中含有 MRJP8 和 MRJP9 (Blank *et al.* ,2012), Kim 发现蜂毒处理哺乳动物细胞后会引发炎症反应, 而 MRJP8 可以调节细胞 H₂O₂ 和促炎症分子的产生, 保护细胞, 并且蜂毒中的 MRJP8 可以降低 caspase-3 的活性, 具有抗凋亡作用 (Kim ,2021)。

8 总结与展望

到目前为止, 人们对 MRJPs 家族进行了大量研究。从蜂王浆中蛋白质的鉴定、MRJPs 的表达

与合成、*mrjps* 家族进化, 到 MRJPs 的结构与功能, 如此多的研究数据让科研人员不断地深入了解 MRJPs 家族, 但是仍然有许多地方不清楚。级型分化机制研究对于社会性昆虫至关重要, MRJP1 能影响蜜蜂的级型分化, 但是其中的机理仍一无所知, 这或许是今后的研究方向。*mrjps* 存在于其他膜翅目昆虫中, 但是其功能我们还是不太了解。或许, 在揭示 *mrjps* 功能时, 不应该仅限于蜜蜂。

参考文献 (References)

- Albert Š, Bhattacharya D, Klaudiny J, *et al.* The family of major royal jelly proteins and its evolution [J]. *J. Mol. Evol.* ,1999 ,49 (2): 290/297.
- Albert Š, Klaudiny J. The MRJP/YELLOW protein family of *Apis mellifera*: Identification of new members in the EST library [J]. *J. Insect Physiol.* ,2004 ,50 (1): 51–59.
- Albert Š, Klaudiny J. MRJP9, an ancient protein of the honeybee MRJP family with non-nutritional function [J]. *J. Apic. Res.* ,2007 ,46 (2): 99.
- Blíková K, Hanes J, Nordhoff E, *et al.* Apisimin, a new serine-valine-rich peptide from honeybee (*Apis mellifera* L.) royal jelly: Purification and molecular characterization [J]. *FEBS Letters* , 2002 ,528 (1–3): 125–129.
- Blíková K, Mirgorodskaya E, Bukovská G, *et al.* Towards functional proteomics of minority component of honeybee royal jelly: The effect of post-translational modifications on the antimicrobial activity of apalbumin2 [J]. *Proteomics* ,2009 ,9 (8): 2131–2138.
- Blank S, Bantleon FI, McIntyre M, *et al.* The major royal jelly proteins 8 and 9 (Api m 11) are glycosylated components of *Apis mellifera* venom with allergenic potential beyond carbohydrate-based reactivity [J]. *Clin. Exp. Allergy.* ,2012 ,42 (6): 976–985.
- Brudzynski K, Sjaarda C, Lannigan R. MRJP1 – containing glycoproteins isolated from honey, a novel antibacterial drug candidate with broad spectrum activity against multi – drug resistant clinical isolates [J]. *Front. Microbiol.* ,2015 ,6: 711.
- Buttstedt A, Moritz RFA, Erler S. More than royal food – major royal jelly protein genes in sexuals and workers of the honeybee *Apis mellifera* [J]. *Front. Zool.* ,2013 ,10 (1): 72.
- Buttstedt A, Moritz RFA, Erler S. Origin and function of the major royal jelly proteins of the honeybee (*Apis mellifera*) as members of the yellow gene family [J]. *Biol. Rev.* ,2014 ,89 (2): 255–269.
- Buttstedt A, Mureşan CI, Lilie H, *et al.* How honeybees defy gravity with royal jelly to raise queens [J]. *Curr. Biol.* ,2018 ,28 (7): 1095–1100. e3.
- Buttstedt A, Ihling CH, Pietzsch M, *et al.* Royalactin is not a royal making of a queen [J]. *Nature* ,2016 ,537 (7621): E10–E12.
- Calábria LK, Hernandez LG, Teixeira RR, *et al.* Identification of calmodulin – binding proteins in brain of worker honeybees [J]. *Comp. Biochem. Physiol.* ,2008 ,Part B, 151 (1): 41–45.
- Chan QWT, Melathopoulos AP, Pernal SF, *et al.* The innate immune

- and systemic response in honey bees to a bacterial pathogen, *Paenibacillus larvae* [J]. *BMC Genom.*, 2009, 10 (1): 387.
- Cruz GCN, Garcia L, Silva AJ, et al. Calcium effect and pH-dependence on self-association and structural stability of the *Apis mellifera* major royal jelly protein 1 [J]. *Apidologie*, 2011, 42 (3): 252–269.
- Dobritzsch D, Aumer D, Fuszard M, et al. The rise and fall of major royal jelly proteins during a honeybee (*Apis mellifera*) workers' life [J]. *Ecol. Evol.*, 2019, 9 (15): 8771–8782.
- Drapeau MD, Albert S, Kucharski R, et al. Evolution of the yellow/major royal jelly protein family and the emergence of social behavior in honey bees [J]. *Genome Res.*, 2006, 16 (11): 1385–1394.
- Fan P, Han B, Feng M, et al. Functional and proteomic investigations reveal major royal jelly protein 1 associated with anti-hypertension activity in mouse vascular smooth muscle cells [J]. *Sci. Rep.*, 2016, 6 (1): 30230.
- Feng M, Fang Y, Li JK. Proteomic analysis of honeybee worker (*Apis mellifera*) hypopharyngeal gland development [J]. *BMC Genom.*, 2009, 10 (1): 645.
- Fent K, Haltiner T, Kunz P, et al. Insecticides cause transcriptional alterations of endocrine related genes in the brain of honey bee foragers [J]. *Chemosphere*, 2020, 260: 127542.
- Habashy NH, AbuSerie MM. The potential antiviral effect of major royal jelly protein 2 and its isoform X1 against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): Insight on their sialidase activity and molecular docking [J]. *J. Funct. Foods*, 2020, 75: 104282.
- Hanes J, Šimůth J. Identification and partial characterization of the major royal jelly protein of the honey bee (*Apis mellifera* L.) [J]. *J. Apic. Res.*, 1992, 31 (1): 22–26.
- Helbing S, Lattorf HMG, Moritz RFA, et al. Comparative analyses of the major royal jelly protein gene cluster in three *Apis* species with long amplicon sequencing [J]. *DNA Res.*, 2017, 24 (3): 279–287.
- Honeybee Genome Sequencing Consortium. Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera* [J]. *Nature*, 2006, 443 (7114): 931.
- Johnson BR, Linksvayer TA. Deconstructing the superorganism: Social physiology, groundplans, and sociogenomics [J]. *Q. Rev. Biol.*, 2010, 85 (1): 57–79.
- Kamakura M. Royalactin induces queen differentiation in honeybees [J]. *Nature*, 2011, 473 (7348): 478–483.
- Kamakura M, Suenobu N, Fukushima M. Fifty-seven-kDa protein in royal jelly enhances proliferation of primary cultured rat hepatocytes and increases albumin production in the absence of serum [J]. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001, 282 (4): 865–874.
- Kim BY. Antiapoptotic role of major royal jelly protein 8 of honeybee (*Apis mellifera*) venom [J]. *J. Asia Pac. Entomol.*, 2021, 24 (3): 666–670.
- Kim BY, Lee KS, Jung B, et al. Honeybee (*Apis cerana*) major royal jelly protein 4 exhibits antimicrobial activity [J]. *J. Asia Pac. Entomol.*, 2019, 22 (1): 175–182.
- Kimura Y, Nagai H, Miyamoto M, et al. Identification of a royal jelly glycoprotein that carries unique complex-type N-glycans harboring the T-antigen (Gal β 1-3GalNAc) unit [J]. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2010, 74 (10): 2148–2150.
- Klaudiny J, Hanes J, Kulifajová J, et al. Molecular cloning of two cDNAs from the head of the nurse honey bee (*Apis mellifera* L.) for coding related proteins of royal jelly [J]. *J. Apic. Res.*, 1994, 33 (2): 105–111.
- Knecht D, Kaatz HH. Patterns of larval food production by hypopharyngeal glands in adult worker honey bees [J]. *Apidologie*, 1990, 21 (5): 457–468.
- Kubo T, Sasaki M, Nakamura J, et al. Change in the expression of hypopharyngeal-gland proteins of the worker honeybees (*Apis mellifera* L.) with age and/or role [J]. *J. Biochem.*, 1996, 119 (2): 291–295.
- Kupke J, Spaethe J, Mueller MJ, et al. Molecular and biochemical characterization of the major royal jelly protein in bumblebees suggest a non-nutritive function [J]. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 2012, 42 (9): 647–654.
- Li JH, Liang QH, Chen DF, et al. Differences in the expression of the major royal jelly protein 8 gene in different castes of *Apis mellifera* [J]. *Acta Entomol. Sin.*, 2014, 57 (1): 1–7. [李江红, 梁庆环, 陈大福, 等. 西方蜜蜂不同级型王浆主蛋白 MRJP8 基因的表达差异 [J]. *昆虫学报*, 2014, 57 (1): 1–7]
- LI XY, Yang WJ, Wang Q, et al. Expression of the major royal jelly protein 6 gene in honeybee (*Apis mellifera* L.) [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2016, 35 (6): 1415–1420. [李晓燕, 杨文静, 王琦, 等. 西方蜜蜂 (*Apis mellifera* L.) 体内王浆蛋白 MRJP6 基因的表达 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2016, 35 (6): 1415–1420]
- Lin Y, Shao QQ, Zhang M, et al. Royal jelly-derived proteins enhance proliferation and migration of human epidermal keratinocytes in an in vitro scratch wound model [J]. *BMC Complement Altern. Med.*, 2019, 19 (1): 1–16.
- Maori E, Navarro IC, Boncristiani H, et al. A secreted RNA binding protein forms RNA-stabilizing granules in the honeybee royal jelly [J]. *Molecular Cell*, 2019, 74 (3): 1–11.
- Matsui T, Yuki Yoshi A, Doi S, et al. Gastrointestinal enzyme production of bioactive peptides from royal jelly protein and their antihypertensive ability in SHR [J]. *J. Nutr. Biochem.*, 2002, 13 (2): 80–86.
- Mattei S, Ban A, Piconi A, et al. Structure of native glycolipoprotein filaments in honeybee royal jelly [J]. *Nat. Commun.*, 2020, 11 (1): 1–7.
- Minegaki N, Koshizuka T, Nishina S, et al. The carboxyl-terminal penta-peptide repeats of major royal jelly protein 3 enhance cell proliferation: Regular articles [J]. *Biol. Pharm. Bull.*, 2020, 43 (12): 1911–1916.
- Mureşan CL, Buttstedt A. pH-dependent stability of honey bee (*Apis mellifera*) major royal jelly proteins [J]. *Sci. Rep.*, 2019, 9 (1): 9014.
- Ohashi K, Sasaki M, Sasagawa H, et al. Functional flexibility of the

- honey bee hypopharyngeal gland in a dequeened colony [J]. *Zool. Sci.*, 2000, 17 (8): 1089 – 1094.
- Okamoto I, Taniguchi Y, Kunikata T, et al. Major royal jelly protein 3 modulates immune responses in vitro and in vivo [J]. *Life Sci.*, 2003, 73 (16): 2029 – 2045.
- Patel NG, Haydak MH, Gochnauer TA. Electrophoretic components of the proteins in honeybee larval food [J]. *Nature*, 1960, 186 (4725): 633 – 634.
- Rosmilah M, Shahnaz M, Patel G, et al. Characterization of major allergens of royal jelly *Apis mellifera* [J]. *Trop. Biomed.*, 2008, 25 (3): 243 – 251.
- Rossano R, Larocca M, Polito T, et al. What are the proteolytic enzymes of honey and what they do tell us? A fingerprint analysis by 2-D zymography of unifloral honeys [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7 (11): e49164.
- Sano O, Kunikata T, Kohno K, et al. Characterization of royal jelly proteins in both Africanized and European honeybees (*Apis mellifera*) by two-dimensional gel electrophoresis [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, 52 (1): 15 – 20.
- Santos KS, Santos LDD, Mendes MA, et al. Profiling the proteome complement of the secretion from hypopharyngeal gland of Africanized nurse-honeybees (*Apis mellifera* L.) [J]. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 2004, 35 (1): 85 – 91.
- Sato A, Unuma H, Ebina K. Royal jelly proteins inhibit macrophage proliferation: Interactions with native-and oxidized-low density lipoprotein [J]. *The Protein Journal*, 2021, 40 (5): 1 – 10.
- Scarselli R, Donadio E, Giuffrida MG, et al. Towards royal jelly proteome [J]. *Proteomics*, 2005, 5 (3): 769 – 776.
- Scharlaken B, De GDC, Memmi S, et al. Differential protein expression in the honey bee head after a bacterial challenge [J]. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 2007, 65 (4): 223 – 237.
- Schmitzová J, Klauđiny J, Albert S, et al. A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. [J]. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.*, 1998, 54 (9): 1020 – 1030.
- Schönleben S, Sickmann A, Mueller MJ, et al. Proteome analysis of *Apis mellifera* royal jelly [J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, 389 (4): 1087 – 1093.
- Silva B, Carolina OCA, Sagu TS, et al. Comparative quantification and differentiation of bracinga (*Mimosa scabrella* Benth) honeydew honey proteins using targeted peptide markers identified by high-resolution mass spectrometry [J]. *Food Res. Int.*, 2020, 141: 109991.
- Šimúth J, Bílíková K, Kováčová E, et al. Immunochemical approach to detection of adulteration in honey: Physiologically active royal jelly protein stimulating TNF- α release is a regular component of honey [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, 52 (8): 2154 – 2158.
- Smith CD, Zimin A, Holt C, et al. Draft genome of the globally widespread and invasive Argentine ant (*Linepithema humile*) [J]. *PNAS*, 2011, 108 (14): 5673 – 5678.
- Štefan A, Jaroslav K, Jozef Š. Molecular characterization of MRJP3, highly polymorphic protein of honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly [J]. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 1999, 29 (5): 427 – 434.
- Su SK, Stefan A, Chen SL, et al. Molecular cloning and analysis of four cDNAs from the heads of *Apis cerana cerana* nurse honeybees coding for major royal jelly proteins [J]. *Apidologie*, 2005, 36 (3): 389 – 401.
- Sumner S, Pereboom JJM, Jordan WC. Differential gene expression and phenotypic plasticity in behavioural castes of the primitively eusocial wasp, *Polistes canadensis* [J]. *Pro. R. Soc. B*, 2005, 273 (1582): 19 – 26.
- Tamura S, Amano S, Kono T, et al. Molecular characteristics and physiological functions of major royal jelly protein 1 oligomer [J]. *Proteomics*, 2009, 9 (24): 5534 – 5543.
- Tian HS, Vinson SB, Coates CJ. Differential gene expression between alate and dealate queens in the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae) [J]. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 2004, 34 (9): 937 – 949.
- Tian WL, Li M, Guo HY, et al. Architecture of the native major royal jelly protein 1 oligomer [J]. *Nat. Commun.*, 2018, 9 (1): 1 – 12.
- Vezeteu TV, Bobi Ş O, Moritz RFA, et al. Food to some, poison to others-honeybee royal jelly and its growth inhibiting effect on European Foulbrood bacteria [J]. *Microbiology Open*, 2017, 6 (1): e00397.
- Wang K, Chen H, Lin ZG, et al. Carbendazim exposure during the larval stage suppresses major royal jelly protein expression in nurse bees (*Apis mellifera*) [J]. *Chemosphere*, 2021, 266: 129011.
- Watanabe K, Shimoto H, Kobori M, et al. Stimulation of cell growth in the U-937 human myeloid cell line by honey royal jelly protein [J]. *Cytotechnology*, 1998, 26 (1): 23 – 27.
- Werren JH, Richards S, Desjardins CA, et al. Functional and evolutionary insights from the genomes of three parasitoid *Nasonia* species [J]. *Science*, 2010, 327 (5963): 343 – 348.
- Winkler P, Sieg F, Buttstedt A. Transcriptional control of honey bee (*Apis mellifera*) major royal jelly proteins by 20-Hydroxyecdysone [J]. *Insects*, 2018, 9 (3): 122.
- Zhang L, Fang Y, Li RL, et al. Towards posttranslational modification proteome of royal jelly [J]. *J. Proteomics*, 2012, 75 (17): 5327 – 5341.