DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250923002
引用格式: 于晓清, 纪蕾, 卢珺, 等. 基于蛋白质组学揭示长牡蛎中汞的富集、形态转化与代谢解毒机制[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(3): 165–175.
YU XQ, JI L, LU J, *et al*. Proteomics-based investigation into the mechanisms of mercury enrichment, speciation transformation and depuration in *Magallana gigas* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(3): 165–175. (in Chinese with English abstract).

基于蛋白质组学揭示长牡蛎中汞的富集、形态转化与代谢解毒机制

于晓清[1], 纪　蕾[1], 卢　珺[1], 朱怡静[2], 孙元芹[1], 朱佳怡[1,2], 苏　函[3], 李　莉[1], 刘天红[1*], 王　颖[1*]

(1. 山东省海洋科学研究院海洋食品与医药研究所, 青岛　266000; 2. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 青岛　266404; 3. 华东师范大学河口海岸学全国重点实验室, 上海　200241)

摘　要: 目的　探究牡蛎对汞的富集、形态转化及代谢净化机制, 阐明 MeHg 的形成与清除动力学。**方法**　采用双箱动力学模型模拟汞在长牡蛎体内的累积、转化与净化过程; 采用 Label-free 非标记定量蛋白质组学技术对高浓度汞暴露组(Hg-H)牡蛎消化腺进行蛋白质鉴定与差异表达分析, 开展亚细胞定位、结构域预测、基因本体(gene ontology, GO)功能和京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)数据库通路富集分析; 利用实时荧光定量(quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR)技术分析 0~60 d 时间内消化腺中金属硫蛋白(metallothionein, *MT*)和热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, *Hsp70*)基因的表达。**结果**　汞胁迫与净化实验结果显示, 牡蛎消化腺中汞、甲基汞含量与胁迫浓度成正比, 并且甲基汞含量最高峰出现延迟效应; qPCR 结果显示 *Hsp70* 与 *MT* 基因表达呈时序性协同变化, *Hsp*70 于胁迫 5 d 迅速上调(7.15 倍), 净化 40 d 达峰值(32.09 倍); *MT* 表达呈双峰模式(胁迫 10 d 5.81 倍, 净化 40 d 3.55 倍), 其动态与蛋白组结果一致。蛋白质组学分析共定性蛋白 5487 个, 筛选得到多个时间点对比下的显著差异表达蛋白, 差异蛋白显著富集于细胞核、胞外区、细胞膜等区域, 涉及热休克蛋白(Hsp20/Hsp70)、C 型凝集素、过氧化氢酶、C1q 等结构域。GO 和 KEGG 分析表明, 差异蛋白主要参与应激反应、免疫应答、抗氧化过程、氨基酸代谢和信号转导等生物过程, 且花生四烯酸代谢通路可能与汞的排出过程密切相关。**结论**　汞胁迫可显著影响牡蛎消化腺蛋白质表达谱, 触发包括热休克蛋白、免疫因子和代谢酶在内的多蛋白协同响应, 且与汞/甲基汞的累积、转化及排出过程密切相关。本研究通过蛋白组、qPCR 与汞富集与净化的整合分析, 揭示了牡蛎应对汞胁迫的分子机制, 为贝类污染毒理研究和水产品安全监测提供了理论支撑。

关键词: 长牡蛎; 汞; 蛋白质组学; 生物标志物; 分子机制

收稿日期: 2025-09-23
基金项目: 山东省自然科学基金面上项目(ZR2022MD091); 山东省海洋科学研究院青年科研配套基金项目(2023003); 山东省现代农业产业技术体系建设项目(SDAIT-14-02)

第一作者: 于晓清(1982—), 男, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为水质与疫病检测。E-mail: bddwyxq@163.com
***通信作者:** 刘天红(1982—), 女, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为水产品安全与质量控制。E-mail: oucthl@126.com
王颖(1971—), 女, 硕士, 研究员, 主要研究方向为食品科学与工程。E-mail: food_rc@sina.com

Proteomics-based investigation into the mechanisms of mercury enrichment, speciation transformation and depuration in *Magallana gigas*

YU Xiao-Qing[1], JI Lei[1], LU Jun[1], ZHU Yi-Jing[2], SUN Yuan-Qin[1], ZHU Jia-Yi[1,2], SU Han[3], LI Li[1], LIU Tian-Hong[1*], WANG Ying[1*]

(1. *Research Institute of Marine Food and Medicine*, *Marine Science Research Institute of Shandong Province*, *Qingdao* 266000, *China*; 2. *College of Food Science and Engineering*, *Ocean University of China*, *Qingdao* 266404, *China*; 3. *State Key Laboratory of Estuarine and Coastal Research*, *East China Normal University*, *Shanghai* 200241, *China*)

ABSTRACT: Objective To investigate the mechanisms of mercury accumulation, speciation transformation and metabolic depuration in *Magallana gigas*, clarify the kinetics of methylmercury formation and elimination. **Methods** A two-compartment kinetic model was employed to simulate the accumulation, transformation, and depuration processes of mercury in *Magallana gigas*. Label-free quantitative proteomics technology combined with MaxQuant software was used to identify and analyze differentially expressed proteins in the digestive gland of oysters from the high-concentration mercury exposure group (Hg-H). Analyses included subcellular localization prediction, domain prediction, gene ontology (GO) Functional enrichment analysis and kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) Database Pathway enrichment analysis. The expression dynamics of metallothionein (*MT*) and heat shock protein 70 (*Hsp70*) genes in the digestive gland over 0–60 d were detected using quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR). **Results** The results of mercury accumulation and depuration experiments indicated that the content of mercury and methylmercury in the digestive gland of oysters were positively proportional to the stress concentration, and a lag effect occurred in the peak content of methylmercury. qPCR results showed temporally coordinated changes in *Hsp*70 and *MT* gene expression: *Hsp*70 was rapidly up-regulated (7.15-fold) on 5 d of stress and peaked (32.09-fold) on 40 d of depuration; *MT* expression showed a bimodal pattern (5.81-fold on 10 d of stress and 3.55-fold on 40 d of depuration), consistent with proteomic findings. Proteomic analysis identified 5487 proteins, and differentially expressed proteins were significantly enriched in subcellular locations such as the nucleus, extracellular region, and plasma membrane, and were associated with domains including heat shock proteins (*Hsp*20/*Hsp*70), C-type lectins, catalase, and C1q. GO and KEGG analyses indicated that these proteins were primarily involved in biological processes such as stress response, immune response, antioxidant processes, amino acid metabolism and signal transduction (*e.g.*, PI3K-Akt and MAPK pathways). The arachidonic acid metabolism pathway might be closely associated with mercury elimination. **Conclusion** Mercury stress significantly alters the protein expression profile in oyster digestive glands, triggering a coordinated response involving molecular chaperones, immune factors, and metabolic enzymes, which is closely related to the accumulation, transformation, and elimination of mercury/methylmercury. Through integrated analysis of proteomics, qPCR, as well as mercury bioaccumulation and depuration processes, this study systematically elucidated the molecular mechanisms by which oysters cope with mercury stress, providing a theoretical foundation for toxicological studies on shellfish contamination and safety surveillance of aquatic products.

KEY WORDS: *Magallana gigas*; mercury; proteomics; biomarkers; molecular mechanisms

0 引 言

牡蛎作为全球范围内重要的海洋经济贝类，是人类优质蛋白来源，也是监测沿海环境的指示生物[1]。然而，由于其对重金属极强的富集能力，其食用安全性与健康风险备受关注[2–4]。其中，汞(Hg)，特别是其有机形态甲基汞(methylmercury, MeHg)，因其显著的神经毒性和生物放大效应，成为最具威胁的污染物之一[5–7]。前期研究表明[8]，长牡蛎组织对 MeHg 的转化富集系数极高，且 Hg 在其不同组织(如鳃、消化腺、闭壳肌等)中的富集、迁移与形态转化规律存在显著差异，消化腺是牡蛎富集、转化和代谢 Hg 的主要靶器官[9]，是 Hg 富集与转化的核心场所，但其介导上述过程的精确分子机制仍亟待阐明。热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, Hsp70)和金属硫蛋白(metallothionein, *MT*)已被广泛认为是重金属胁迫的关键生物标志物[10]。关于牡蛎消化腺在 Hg 胁迫下的分子应答特征，尤其是相关代谢通路的调控作用，仍缺乏系统性研究。

本研究利用双箱动力学模型模型，分析 Hg 胁迫下，

长牡蛎(*Magallana gigas*, *M. gigas*)消化腺中 Hg 及 MeHg 含量的变化, 揭示其代谢转化规律, 进一步采用 Label-Free 非标记定量蛋白质组学技术, 构建消化腺响应 Hg 胁迫的蛋白质表达谱, 以期筛选出关键差异表达蛋白, 利用实时定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR)技术在转录水平验证 *HSP70*、*MT* 等候选基因, 实现转录与翻译层面交叉验证。本研究旨在阐明牡蛎消化腺响应 Hg 胁迫的分子适应与调控机制, 以期发现介导 Hg 形态转化为 MeHg 与净化的关键功能蛋白与基因, 将为准确评估贝类产品 Hg 污染风险、追溯环境 Hg 污染源以及潜在的高特异性生物标志物开发提供重要的理论依据和数据支撑。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

长牡蛎[壳长(53.21±5.32) mm, 壳高 (78.66±5.31) mm, 壳厚(39.46±4.89) mm, 体质量(87.10±8.32) g, 2024 年 4 月采自山东省青岛市即墨区神汤沟某养殖场]; 小球藻(*Platymonas* spp.)膏(浓度为 4×10^{10} cell/g, 辽宁盘锦光合蟹业有限公司); $HgCl_2$ (分析纯, 上海埃彼化学试剂有限公司); 国家标准物质 GBW10029 鱼肉(中国计量科学研究院); 十二烷基硫酸钠、三羟甲基氨基甲烷盐酸盐、二硫苏糖醇、乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); *L*-半胱氨酸、甲醇、氨水、乙酸铵(色谱纯, 上海麦克林生化科技股份有限公司); 核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)提取试剂盒[TaKaRa MiniBEST universal rna extraction kit, 宝生物工程(大连)有限公司]; 反转录试剂盒(HiScript IV RT SuperMix for qPCR)、荧光定量 PCR 试剂盒(ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix)(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)。

1.2　仪器与设备

CR-6 微波消解仪(美国 CEM 公司); Lab-24 赶酸仪(北京莱伯泰科仪器股份有限公司); U3000-ICPQ 液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪(美国赛默飞世尔科技公司); SCIENTZ-30F/A 原位冷冻干燥机(宁波新芝生物科技股份有限公司); CFX96 Real-Time System 实时荧光定量 PCR 仪(伯乐生命科学研究公司); Centrifuge 5430 R 高速冷冻离心机[艾本德(中国)有限公司]; TP-313 电子天平(感量 0.01 mg, 北京赛多利斯仪器系统有限公司); Dionex Ionpac™ AS7 C_{18} 色谱柱(4.6 μm×12.5 mm, 5 μm, 美国赛默飞世尔科技公司); Empore™ SPE Cartridges C_{18} 柱(德国默克公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　无机 Hg 胁迫与净化实验

用砂滤海水去除牡蛎外表面泥沙, 清理表面附着物, 于循环水实验室(水温 16~18 ℃、pH 7.90~8.20、盐度 28‰、溶氧 7~8 g/L)暂养 7 d[期间每天早晚投喂小球藻(投喂终浓度为 4×10^5 cell/mL)并更换一半海水, 死亡率低于 5%], 之后随机分组, 每组 50 只/100 L 海水/桶, 设 3 组平行实验。实验浓度设计依据同前期研究[8], 分别为低 Hg 浓度组(Hg-L, 实验海水质量浓度 THg_L=0.065 μg/L)、中 Hg 浓度组(Hg-M, 实验海水质量浓度 THg_M=0.245 μg/L)、高 Hg 浓度组(Hg-H, 实验海水质量浓度 THg_H=2.045 μg/L)、自然海水组(NS, 海水中本底总 Hg THg_{sw}=0.045 μg/L), 各组实验用海水中未检出 MeHg。采用“暴露-净化”实验设计, 胁迫阶段: 将牡蛎在不同 Hg 浓度胁迫环境下暴露 30 d(实验第 0~30 d); 净化阶段: 30 d 后转移至经砂滤处理海水进行 30 d 净化(实验第 30~60 d)。在胁迫阶段, 每天上午 8:30 捡出死亡及活力低下的贝类(贝壳肌出水后不能闭合), 投喂小球藻, 2 h 后更换全部海水, 并根据分组浓度添加适量的 Hg 母液。净化阶段, 除不添加 Hg 外, 其他处理同上。于实验开始的 0、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60 d 取消化腺, 用于以下指标的测定。

1.3.2　Hg 与 MeHg 检测

牡蛎消化腺样品于原位冷冻干燥机真空冷冻干燥 72 h, 研磨成粉, 依据 GB 5009.268—2025《食品安全国家标准 食品中多元素的测定》第一篇第一法, 采用微波消解法消解, 赶酸后, 定容 50 mL, 由电感耦合等离子体质谱法测定总 Hg 含量。依据 GB 5009.17—2021《食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定》第二篇第二法, 采用液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用法测定 MeHg 含量。对国家标准物质 GBW10029 鱼肉[MeHg 标准值(0.82±0.03) mg/kg]中 MeHg 测量值为(0.81±0.04) mg/kg, 置信水平为 95%, 实验数据可靠。

1.3.3　牡蛎消化腺关键基因表达的 qPCR 检测

取约 20 mg 牡蛎消化腺样品至 1.5 mL 无酶离心管中, 按照 RNA 提取试剂盒说明提取总 RNA, 反转录后采用 qPCR 试剂盒检测 *MT*、*Hsp70* 相对表达量, 引物设计表见表 1, 内参为延伸因子 1-*α* 基因(*CgEF*, LOC105338957), 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法计算基因的相对表达量, 每个样品测定 3 个样品平行, 6 个技术重复。

表 1　实时-qPCR 实验引物
Table 1　Primers used in real time-qPCR experiments

引物名称	序列(5' to 3')
CgEF	F: AGTCACCAAGGCTGCACAGAAAG
	R: TCCGACGTATTTCTTTGCGATGT
MT	F: ATGTGTCTGCTCTGATTCGTGT
	R: GCCTGAACATTTACACCCGT
Hsp70	F: CCCATCTACGAAGGTTACGC
	R: GTTCTCGGCGATGGTGGTA

1.3.4 牡蛎消化腺蛋白组学测定

取 Hg-H 组的 0、30、60 d 消化腺约 0.1 g, 采用 SDT [4% (*m*/*V*)十二烷基硫酸钠, 100 mmol/L 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐 pH7.6, 0.1 mol/L 二硫苏糖醇]裂解法提取蛋白质, 利用过滤辅助样品制备(filter aided proteome preparation, FASP)方法进行胰蛋白酶酶解, 采用 C_{18} Cartridge 柱对肽段进行脱盐, 肽段冻干后加入 40 μL 0.1%甲酸溶液复溶。样品经色谱分离后用 Q-Exactive 质谱仪进行质谱分析。检测方式为正离子, 母离子扫描范围 300~1800 *m*/*z*, 全扫描在质荷比 200 处的分辨率为 70000, 自动增益控制目标值为 1×10^6, 最大离子累积时间为 50 ms, 动态排除时间为 60.0 s。多肽和多肽碎片的质量电荷比按照下列方法采集: 每次全扫描后采集 20 个碎片图谱(二级质谱扫描), 二级质谱碎裂方式为高能碰撞解离, 离子隔离窗口为 2 质荷比, 二级质谱分辨率在 200 质荷比处为 17500, 标准碰撞能量为 30 eV, 填充不足率为 0.1%。参考基因 NCBI_*Crassostrea_gigas*_65823_20231121.fasta。

1.4 数据处理

数据采用平均值±标准偏差表示, 利用 SPSS 26.0 进行统计分析, 数据服从正态分布情况下, 组间数据比较采用单因素方差分析, 反之采用非参数检验, 以 $P<0.05$ 为检验水准。采用 OriginPro 2021、GraphPad Prism 8.0 软件作图, 采用基因本体(gene ontology, GO)、京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路数据库对蛋白质解析注释[11]。

2 结果与分析

2.1 牡蛎消化腺中 Hg 与 MeHg 分布

从图 1 可以看出, 胁迫阶段时 Hg-H 组在 0~20 d 呈现直线上升的趋势, 20~30 d 上升趋势趋于平缓进入平台期, 第 30 d 达到峰值(23.05 μg/g), 进入净化期后第 35 d 的总 Hg 含量降低, 推断牡蛎转入自然海水后, 消化腺中多余的 Hg 快速排出, 而到了 40 d 后又出现缓慢上升, 极有可能出现了二次吸附, 这与后期关键基因的检测结果相互吻合; Hg-M 组在 0~25 d 呈现持续增加的趋势, 第 25 d 和 30 d Hg 含量变化不显著($P>0.05$); Hg-L 组在 Hg 胁迫周期内均呈现直线上升趋势, 进入自然海水净化后呈现逐步下降的趋势, 第 60 d 时, Hg 含量仍高于起始值, 相对于该组 MeHg 含量接近起始水平(图 2); 净化阶段时, Hg-H 组和基本呈现直线下降的趋势, 第 60 d 时 Hg-H 组 Hg 含量是起始值的 74 倍、是 Hg-M 组终点值的 7.93 倍, 显示 Hg 残留量与初始暴露浓度呈正相关关系; Hg-L 组下降速率 0.04 μg/(100 g·d), 第 60 d 时 Hg 含量是起始值的 3 倍, 表明低浓度暴露下的净化效果相对有限; MeHg 含量变化如图 2 所示, 在胁迫阶段牡蛎消化腺中 MeHg 的含量与周围海水中 Hg 含量成正相关, 在胁迫阶段结束时(30 d), Hg-H 组含量最高(1.89 μg/100 g), 其次为 Hg-L 组。进入净化阶段后, Hg-M 组和 Hg-H 组 MeHg 含量均呈现先上升后下降的趋势, 分别于第 35 d (1.05 μg/g)和第 40 d (6.80 μg/g)达到峰值, 而低浓度组 Hg-L 组的 MeHg 含量在胁迫阶段结束时达到最高峰, 与 Hg-M 组的第 35 d 含量相当, 这与低浓度的毒物兴奋效应有关[12]。

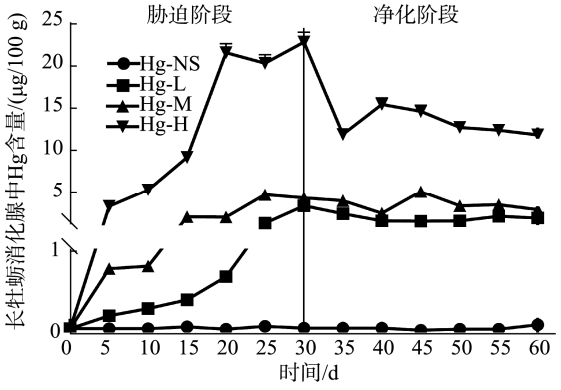


图 1 各实验组长牡蛎消化腺中总 Hg 含量(n=3)

Fig.1 Total mercury content in the digestive gland of *M. gigas* by different group (n=3)

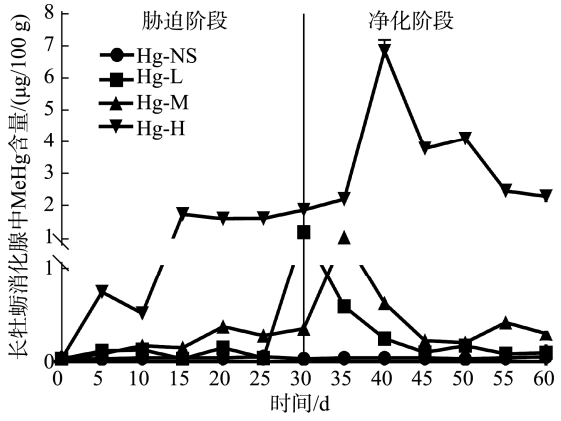


图 2 各实验组长牡蛎消化腺中 MeHg 含量(n=3)

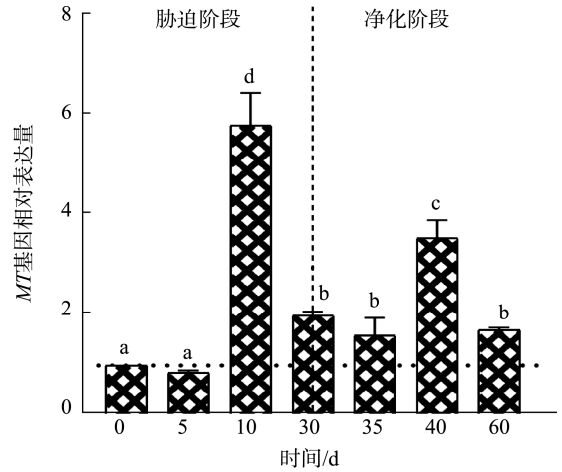
Fig.2 Methylmercury content in the digestive gland of *M. gigas* by different group (n=3)

2.2 长牡蛎消化腺关键基因表达的 qPCR 检测结果

由 2.1 研究得知 Hg-H 组 Hg 与 MeHg 含量具有明显的上升和下降趋势, 故后续实验均选取该组消化腺进行实验。其中 *MT* 基因、*Hsp70* 表达情况如图 3~4 所示。

MT 的诱导性表达是牡蛎应对重金属胁迫的一种重要解毒机制[13], 如图 3 所示, 牡蛎消化腺中 *MT* 基因在 Hg 胁迫及净化过程中呈现动态变化, 并与蛋白质组学结果基本一致。在胁迫初期(5 d), *MT* 表达量与对照组相比无显著变化($P>0.05$)。然而, 在胁迫至 10 d 时, *MT* 表达量显著上调, 达到起始表达量的 5.81 倍($P<0.01$), 提示 Hg 显著诱导了 *MT* 的转录。胁迫第 30 d, 表达量虽低于 10 d 的峰值, 但仍为起始表达量的 2.01 倍($P<0.05$)。在进入净化阶段后, *MT* 表达量在 35 d 迅速下降至 1.26。值得注意的是, 在净化第

40 d, *MT*表达出现了显著的二次诱导(是起始表达量的3.55倍, $P<0.05$), 这与前期实验发现 Hg 含量出现延迟现象[8–9]相印证。至净化阶段结束(60 d), 其表达量始终高于初始值。这与蛋白质组学中发现的*MT*蛋白表达增加相一致, 表明 *MT* 在螯合细胞内 Hg^{2+}、降低其生物毒性方面发挥了核心作用。



注: 不同字母表示组间具有显著性差异($P<0.05$)。图 4 同。

图 3　Hg-H 组消化腺中 *MT* 基因相对表达量($n=6$)

Fig.3　Relative expression level of the *MT* gene in the digestive gland of the Hg-H group ($n=6$)

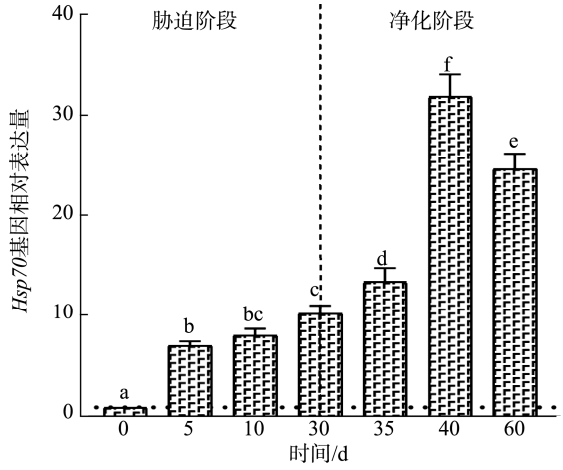


图 4　Hg-H 组消化腺中 *Hsp70* 基因相对表达量($n=6$)

Fig.4　Relative expression level of the *Hsp70* gene in the digestive gland of the Hg-H group ($n=6$)

图 4 表明, Hg 胁迫显著诱导了牡蛎消化腺中 *Hsp70* 的基因表达($P<0.01$), 与蛋白质组学中观测到的 *Hsp* 家族蛋白表达变化高度一致。胁迫期间(0~30 d), *Hsp*70 的表达量呈现时间依赖性上升, 第 5 d 快速上调至 7.15 倍, 至第 30 d 时已达到对照组(0 d)的 10.3 倍($P<0.01$)。而在净化阶段, *Hsp70* 的表达水平在第 40 d 达到峰值(是起始表达量的 32.09 倍, $P<0.01$), 随后虽有所下降, 至净化结束时(第 60 d)维持在 24.8 倍($P<0.01$)的高水平, 显著高于对照组。该表达变化趋势与 *MT* 的二次诱导现象一致。

2.3　蛋白组学结果

2.3.1　高浓度组牡蛎消化腺中蛋白质鉴定与差异蛋白筛选

将 Hg-H 组的蛋白质质谱分析原始数据采用 MaxQuant 软件(版本号 1.5.3.17)进行查库鉴定及定量分析, 如表 2 所示, 牡蛎消化腺蛋白组学鉴定到谱图 660682 个、鉴定肽段 49984 条、定性蛋白 5487 个。

表 2　牡蛎消化腺中蛋白鉴定结果($n=6$)

Table 2　Protein identification results from the digestive gland of *M. gigas* ($n=6$)

质谱图		肽段个数		蛋白个数	
总谱图	鉴定谱图	总肽段	唯一肽段	总蛋白数	定性蛋白
2812560	660682	58910	49984	5697	5487

以"$P<0.05$、表达倍数(fold change, FC)>2.0"对蛋白鉴定结果进行差异筛选以分析两组间具有表达差异的蛋白质, 如表 3 所示。

表 3　牡蛎消化腺蛋白质定量差异结果($n=6$)

Table 3　Differential protein expression results in the digestive gland of *M. gigas* ($n=6$)

组别	上调蛋白	下调蛋白	总蛋白
Hg-H-30 d *vs* Hg-H-0 d	158	81	239
Hg-H-60 d *vs* Hg-H-30 d	55	189	244
Hg-H-60 d *vs* Hg-H-0 d	71	131	202

如表 3 所示, 牡蛎消化腺在胁迫阶段结束时(30 d)相较于实验初始(0 d), 共有 158 个上调蛋白, 同时 81 个蛋白下调。进入净化阶段后(60 d), 上调蛋白数目减少至 71 个, 而下调蛋白增加至 131 个。而第 60 d 时(转入净化阶段 30 d 后)较实验初始时(0 d)上调蛋白减少至 71 个, 而相应的下调蛋白由 81 个变为 131 个, 上述结果表明, 在胁迫期内, 即 0~30 d 随着环境中 Hg 含量的上升, 上调蛋白增加, 提示牡蛎可能通过激活相关蛋白质表达以应对 Hg 的毒性作用。30~60 d 转入自然海水后, 随着体内 Hg 含量的下降, 上调蛋白的数量也开始减少, 说明参与 Hg 胁迫或者 Hg 转化的蛋白受环境中 Hg 水平变化的调控较为敏感。

2.3.2　鉴定蛋白功能分析

(1)差异蛋白亚细胞定位预测

亚细胞器是细胞质内具有一定形态和功能的微器官(如线粒体、内质网等), 它是蛋白发挥不同功能的重要场所[14–15]。不同亚细胞器往往行使不同细胞功能, 故分析蛋白的亚细胞定位有助于进一步探究蛋白质在细胞中发挥的作用。一般, 将真核细胞的亚细胞定位分为 11 类: 细胞骨架、细胞质基质、内质网、内体、细胞外间隙、高尔基体、线粒体、细胞核、过氧化物酶体、细胞膜、液泡[16]。

采用亚细胞结构预测软件 CELLO[17]对所有差异表达的蛋白质进行亚细胞定位分析(图 5)。结果显示, 差异蛋白主要分布于细胞骨架、细胞核及胞外间隙, 占比为

78.07%~83.04%,其余蛋白分布于细胞膜、线粒体、过氧化物酶体等亚细胞器。上述结果表明，牡蛎在 Hg 胁迫及净化过程中蛋白质表达变化主要集中在结构支撑、基因调控及胞外分泌相关单元，可能与细胞应激反应、能量代谢调控及解毒排泄过程密切相关。

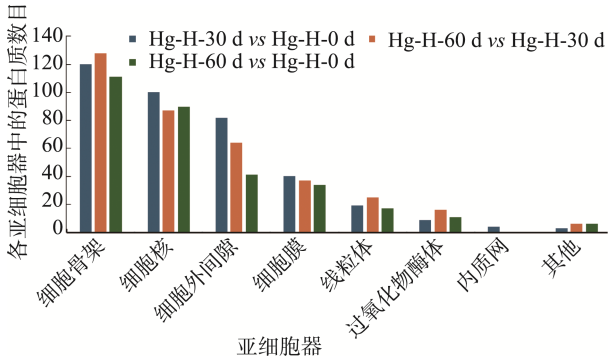


图 5 各组牡蛎消化腺亚细胞单元中蛋白质的分布

Fig.5 Distribution of proteins in subcellular fractions of *M. gigas* digestive gland among different groups

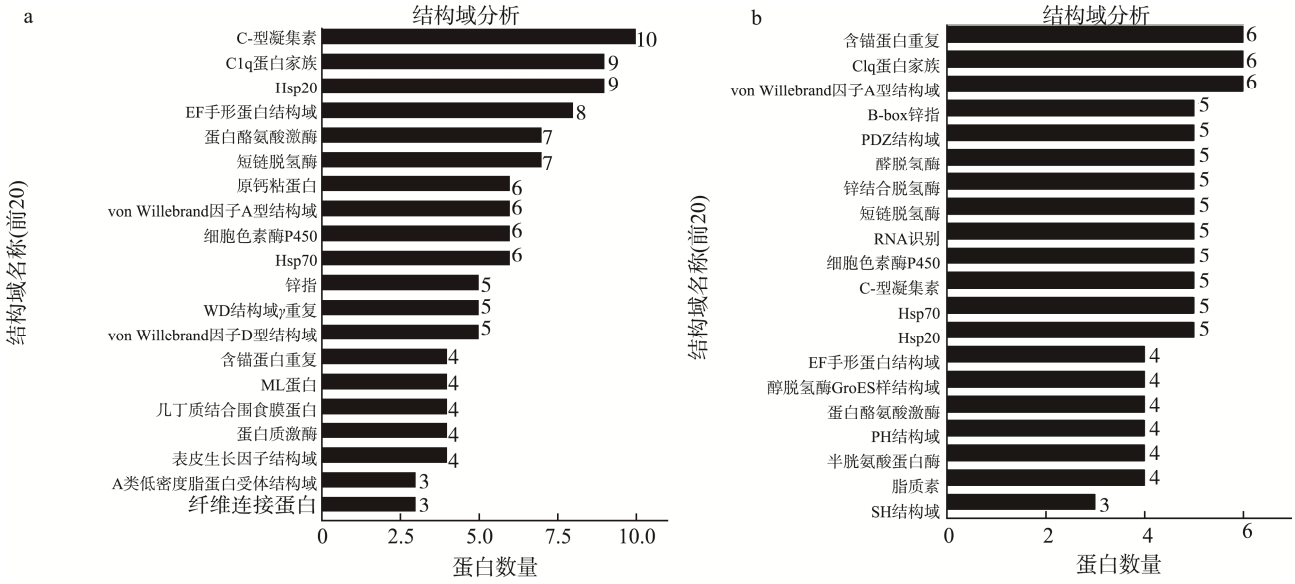
(2)蛋白质结构域分析

蛋白质结构域是在较大的蛋白质分子中，由于多肽链上相邻的超二级结构紧密联系，形成两个或多个在空间上可以明显区别的局部区域[18]。一般每个结构域由几十至几百个氨基酸残基组成，各有独特的空间结构，并承担不同的生物学功能[19]。一般来说，蛋白与蛋白(或其他小分子)的相互作用常以结构域为单位，结构域内氨基酸或修饰发生改变，可能引起蛋白关键功能的改变[20]，故后续氨基酸突变功能实验可以以此为参考。因此，结构域预测对于研究蛋白关键功能区域及其发挥的潜在生物学作用具有重要意义。

采用结构域预测软件 interproscan[21]对差异表达蛋白进行了结构域预测与富集分析。结果显示，不同实验组中差异表达蛋白涉及多个结构域(见图 6)，其中前 20 个富集结构域的差异蛋白数量变化显著。进一步采用 Fisher 精确检验进行富集分析，揭示了差异蛋白在特定结构域上的富集特征。这些结果提示，牡蛎在应对 Hg 胁迫及净化过程中，部分关键结构域可能在维持蛋白功能与细胞稳态中发挥重要作用。

从图 6a 所示，Hg-H 组在胁迫阶段结束时(30 d)与初始阶段(0 d)相比，差异蛋白主要富集于 C-型凝集素、热休克蛋白 Hsp20 及 C1q 补体蛋白结构域，其中 Hsp20 的表达水平差异最为显著(图 6d)；在净化阶段(60 d)与初始阶段对比(图 6b)，差异蛋白主要集中于与补体经典途径相关的蛋白 C1q 和 von Willebrand 因子 D 型结构域等、C-型凝集素及用于抵御应激的热休克蛋白 Hsp20/Hsp70 家族，其中与免疫相关的过氧化氢酶及其相关的免疫反应蛋白、与免疫调控相关的脂质素/胞质脂肪酸结合蛋白家族、Hsp20 及与细胞解毒和氨基酸代谢相关的锌结合脱氢酶、醛脱氢酶体现出了显著差异，这可能与 Hg 净化实验第 60 d 时牡蛎体内 MeHg 和 Hg 水平仍处于较高水平密切相关。

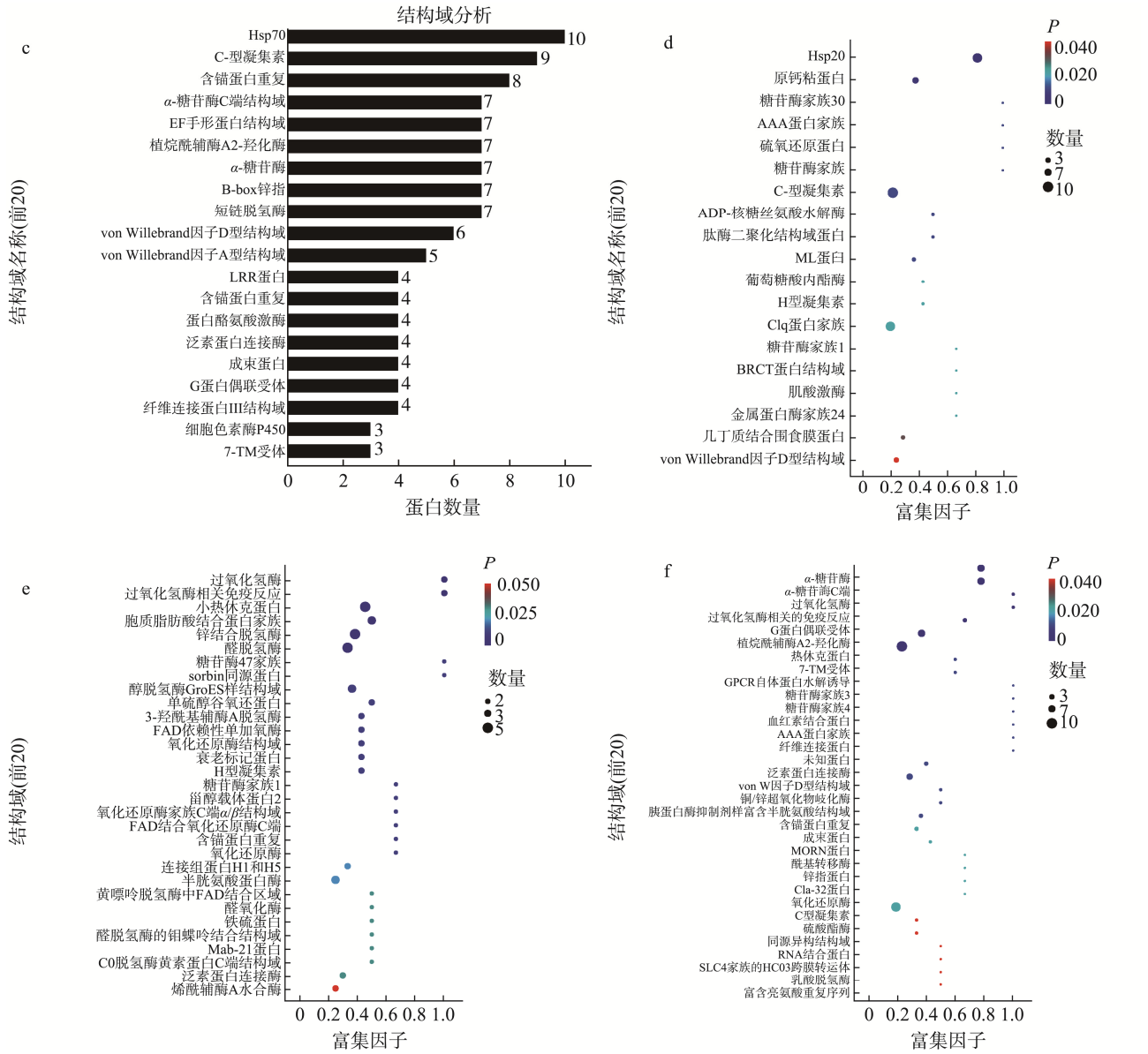
进一步比较净化阶段(60 d)与胁迫阶段末期(30 d)的差异蛋白(图 6c)，其中 Hsp70、C-型凝集素及参与转录调



注: a. Hg-H-30 d 与 Hg-H-0 d 差异蛋白结构域预测及分布; b. Hg-H-60 d 与 Hg-H-0 d 差异蛋白结构域预测及分布; c. Hg-H-60 d 与 Hg-H-30 d 差异蛋白结构域预测及分布; d. Hg-H-30 d 与 Hg-H-0 d 差异蛋白结构域富集特征; e. Hg-H-60 d 与 Hg-H-0 d 差异蛋白结构域富集特征; f. Hg-H-60 d 与 Hg-H-30 d 差异蛋白结构域富集特征。

图 6 各实验组差异蛋白结构域预测(a~c)及富集显著性评价(d~f)

Fig.6 Prediction of differential protein domains (a-c) and enrichment significance evaluation (d-f) among different experimental groups



注: a. Hg-H-30 d 与 Hg-H-0 d 差异蛋白结构域预测及分布; b. Hg-H-60 d 与 Hg-H-0 d 差异蛋白结构域预测及分布; c. Hg-H-60 d 与 Hg-H-30 d 差异蛋白结构域预测及分布; d. Hg-H-30 d 与 Hg-H-0 d 差异蛋白结构域富集特征; e. Hg-H-60 d 与 Hg-H-0 d 差异蛋白结构域富集特征; f. Hg-H-60 d 与 Hg-H-30 d 差异蛋白结构域富集特征。

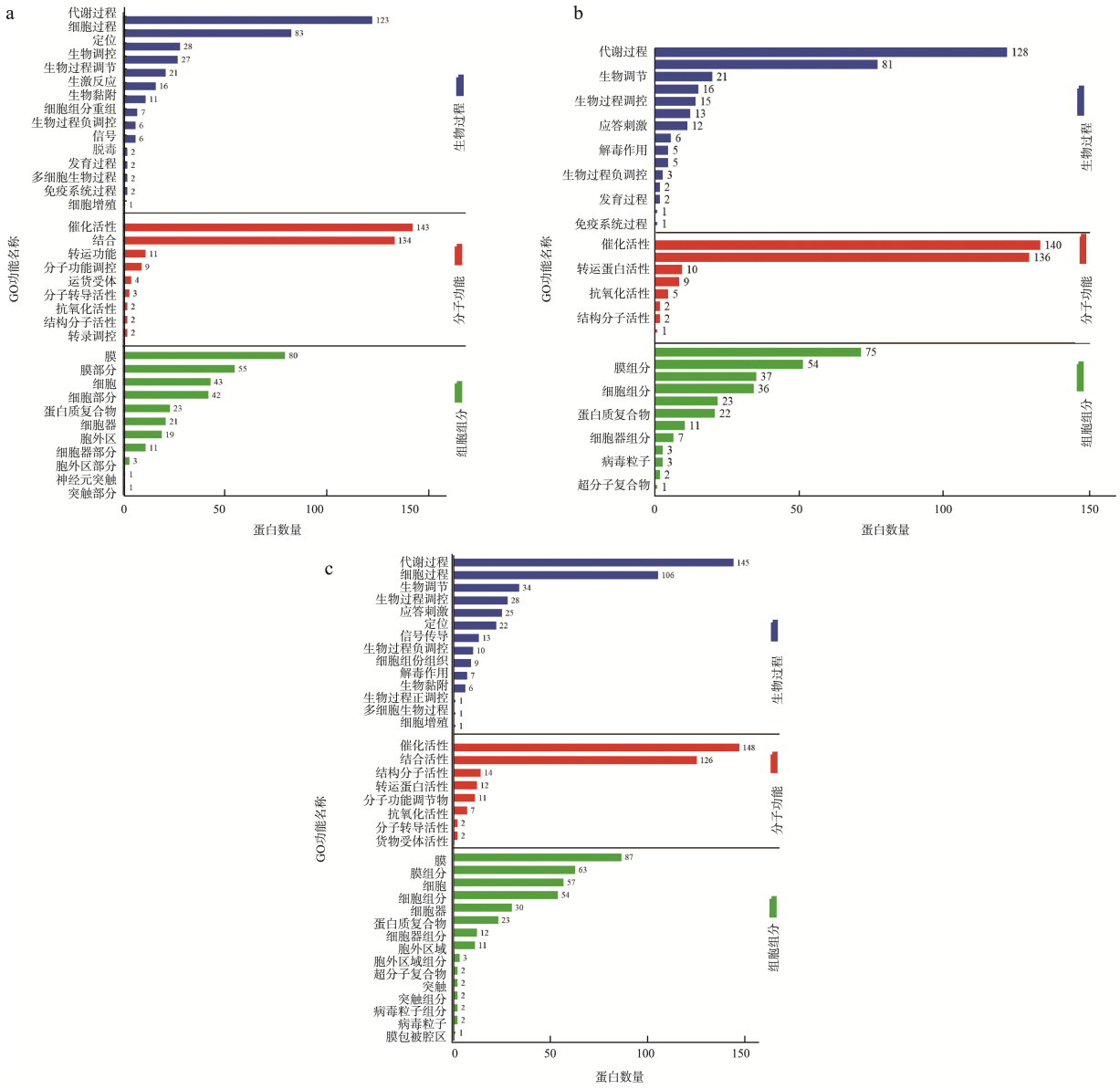
图 6(续)　各实验组差异蛋白结构域预测(a~c)及富集显著性评价(d~f)

Fig.6　Prediction of differential protein domains (a-c) and enrichment significance evaluation (d-f) among different experimental groups

控、细胞周期控制、信号转导等过程的锚蛋白为前 3 位的显著富集结构域。此外, α-糖苷酶家族、G 蛋白偶联受体、*Hsp70*、过氧化氢酶及其相关的免疫反应蛋白、参与 3-甲基支链脂肪酸的 α-氧化的过氧化物酶体蛋白质、植烷酰辅酶 A2-羟化酶(phytanoyl-CoA dioxygenase, PhyH)、von Willebrand 因子 D 型结构域蛋白是差异显著蛋白质。综上所述，结构域预测与富集分析结果表明，热休克蛋白 Hsp20/Hsp70 家族、过氧化氢酶以及 C 型凝集素在牡蛎应对 Hg 胁迫过程中发挥关键作用。这一发现与 qPCR 结果相一致，进一步支持了其在 Hg 胁迫应答和解毒反应中的核心地位。

2.3.3　基因本体功能分析

GO 是一个标准化的功能分类体系，可以全面了解蛋白在生物体中的功能、定位及参与的生物学途径[22]。GO 功能注释主要分为 3 类: 生物过程，分子功能和细胞组分[23]。本研究采用 Blast2Go (https://www.blast2go.com/)[24]软件对所有差异表达蛋白质进行 GO 功能注释，同时在 GO 二级功能注释层级上对差异蛋白数目进行统计(图 7)。



注: a. Hg-H-30 d 与 Hg-H-0 d 差异表达蛋白质的 GO 二级功能注释图; b. Hg-H-60 d 与 Hg-H-0 d 差异表达蛋白质的 GO 二级功能注释图; c. Hg-H-60 d 与 Hg-H-30 d 差异表达蛋白质的 GO 二级功能注释图。

图 7 消化腺差异表达蛋白质的 GO 二级功能注释

Fig.7 GO secondary functional annotation of differentially expressed proteins in the digestive gland

结果显示各对比组的差异表达蛋白质均参与了生物过程中负责应激反应的生物调控、细胞组分重组、脱毒及免疫应答等; 差异蛋白富集于分子功能的催化、结合和分子功能调节; 胞外区、细胞器和神经元突触等细胞组分均参与了蛋白响应。采用 Fisher 精确检验对差异表达蛋白质进行 GO 功能富集显著性分析(P<0.05), 差异表达蛋白质在 GO 3 大分类下的 GO 条目富集显示, Hg-H-30 d 与 Hg-H-0 d 组对比发现生物学过程中羧酸与有机酸跨膜运输、氨基酸家族代谢、阴离子转运、受体介导的胞吞作用及生物与细胞黏附等重要蛋白质发生了显著变化; Hg-H-60 d 与 Hg-H-0 d 组对比主要表现在氨基酸家族合成与代谢差异, 过氧化氢的分解与代谢过程蛋白也表现出了明显的变化; Hg-H-60 d 与 Hg-H-30 d 组对比体现在氧化应激反应和糖代谢功能差异蛋白, 其中值得注意的是岩藻糖代谢蛋白的显著变化与抗氧化和脂质代谢密切相关, 这与差异蛋白结构域预测结果相吻合。分子功能方面, Hg-H-30 d 与 Hg-H-0 d 组对比涉及清道夫受体、运货受体及单氧化酶活性等; Hg-H-60 d 与 Hg-H-0 d 组对比差异显著表现在氧化还原酶活性蛋白、金属离子结合蛋白等; Hg-H-60 d 与 Hg-H-30 d 组对比差异显著蛋白主要集中在作用于糖苷键家族的水解酶等。细胞组分方面, 3 组对比差异蛋白多集中在胞外区, 其中 Hg-H-30 d 相对于对照组(Hg-H-0 d 组)胶

原蛋白富集数目差异显著, 这与实验过程中观察到牡蛎分泌出较多的黏液相吻合; 而 Hg-H-60 d 组较对照组在早期溶酶体、GMP 复合体、转录子复合体等方面有了更多的蛋白表达; Hg-H-60 d 组较 Hg-H-30 d 组显著的差异蛋白主要表现在于神经突触相关的蛋白功能条目, 这与实验进入 Hg 净化阶段牡蛎表现出闭壳肌闭合能力明显改善现象一致。

2.3.4　KEGG 通路分析

将所有差异表达蛋白质进行 KEGG 通路注释, 对差异表达蛋白质对应的蛋白质数目进行统计, 各对比组差异表达蛋白数目表达通路可分为 6 大类: 细胞结构与运输系统、核心信号通路网络、细胞外基质互作、代谢调控系统、细胞动态调控和特殊代谢途径[25–26]。进一步通过 Fisher 精确检验(P<0.05)进行 KEGG 通路富集分析, 结果如下。Hg-H-30 d 与 Hg-H-0 d 组差异蛋白富集通路集中在信号分子与相互作用、信号转导、氨基酸代谢等信号通路, 磷脂磷脂酰肌醇(-3)激酶/蛋白激酶 B 信号通路(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K-Akt)信号通路、三磷酸鸟苷水解酶相关蛋白(Ras protein, Rap1)信号通路、钙离子信号通路、三磷酸鸟苷水解酶(Ras protein, Ras)信号通路与丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路是信号分子与相互作用的关键通路, 溶酶体、吞噬体、内吞作用是关键的信号转导蛋白, 色氨酸、半胱氨酸-蛋氨酸代谢在氨基酸代谢通路中显著富集; Hg-H-60 d 与 Hg-H-0 d 组差异蛋白富集通路集中在氨基酸代谢、运输与分解代谢、信号转导与碳水化合物代谢等信号通路, 其中涉及色氨酸、甘氨酸、丝氨酸等 12 种氨基酸的代谢通路的变化, 运输与分解代谢通路主要分布于溶酶体、过氧化物酶体、内吞作用等信号通路, PI3K-Akt 信号通路和 Rap1 信号通路表现为核心富集途径; Hg-H-60 d 与 Hg-H-30 d 组对比差异显著蛋白富集在运输与分解代谢、信号转导、糖链生物合成与代谢、氨基酸代谢等信号通路, 其中溶酶体、过氧化物酶体、内吞作用、吞噬体蛋白在 Hg 和 MeHg 的运输与分解代谢起到关键作用, 糖胺聚糖降解是在牡蛎消化腺中 Hg 与 MeHg 的代谢中关键变化糖类物质, 差异蛋白质参与了色氨酸、精氨酸与脯氨酸代谢, 信号转导的关键通路为 Rap1 信号通路、FoxO 信号通路和 MAPK 信号通路。

将所有差异表达蛋白质与参考物种的全部蛋白质以 KEGG 的注释结果进行对照比较, 通过 Fisher 精确检验(P<0.05)得出两者差异的显著性, 从而找到所有差异表达蛋白质富集的通路类别。结果表明 Hg-H-30 d 与 Hg-H-0 d 组差异蛋白在己内酰胺降解、细胞外基质-受体相互作用、脂肪酸延长、PI3K-Akt 信号通路等重要通路发生了显著变化; Hg-H-60 d 与 Hg-H-0 d 组差异蛋白在过氧化物酶、己内酰胺降解、色氨酸代谢等重要通路发生了显著变化; Hg-H-60 d 与 Hg-H-30 d 组差异蛋白在糖胺聚糖降解和溶酶体通路发生了显著变化。通过对比发现, 各对比组中差异蛋白富集的通路均有花生四烯酸代谢的参与, 参与的蛋白数目分别是 5、6、7, Hg-H-60 d 与 Hg-H-30 d 组差异蛋白中花生四烯酸代谢参与的最多, 说明花生四烯酸代谢可能与牡蛎消化腺中 Hg 和 MeHg 的排出过程密切相关。

3　讨　论

3.1　消化腺内源性 Hg 甲基化形态转化与分子应答机制

在无机 Hg 胁迫下, 消化腺中 Hg 含量显著升高, MeHg 含量也呈现快速升高, 且其峰值出现时间晚于 Hg。Hg-H 组 Hg 含量在整个胁迫期(0~30 d)持续急剧上升, 并在第 30 d 达到峰值(23.05 μg/g), MeHg 含量从第 5 d (0.72 μg/g)开始逐渐升高, 并于净化中期(第 40 d)达到最高值(6.80 μg/g), 峰值出现时间明显滞后于 Hg, 说明 Hg 的形态变化极有可能主要发生在消化腺中, 与李亮红[27]研究认为 Hg(II)迁移主要发生在鳃和消化腺中结论一致。qPCR 结果显示, *MT* 基因在胁迫第 10 d 和净化第 40 d 出现两个显著表达峰, 其中第 40 d 的表达水平为对照的 3.55 倍, 与 MeHg 峰值高度一致。*Hsp70* 的表达亦表现出类似趋势, 与起始表达量相比, 在第 40 d 达到 32.09 倍的最高值, 显著高于胁迫期末水平(P<0.001)。上述结果表明, MeHg 的峰值滞后于 Hg, 提示其主要来源于体内无机 Hg 的二次转化, 而非外源直接输入。这种转化过程需要时间, 因此在停止胁迫后, MeHg 仍持续生成并在净化中期达到最高水平。结合已有研究推测, 该过程可能与牡蛎消化腺自身代谢作用或特定微生物群落介导的甲基化活动有关[28]。分子标志物的响应进一步印证了这一结论。*MT* 在 40 d 的二次诱导激活与 MeHg 峰值同步, 说明其主要应答对象可能是新生成的 MeHg 而非无机 Hg。*MT* 具有对多种金属离子的螯合作用[29], 其表达与 MeHg 浓度同步升高, 表明牡蛎消化腺正试图通过合成更多的 *MT* 来应对 MeHg 带来的新增毒性压力。*Hsp70* 的表达也验证了这一推测, *HSP70* 的显著高表达提示细胞在 MeHg 峰值期经历了最强烈的蛋白毒性应激。MeHg 可通过破坏蛋白质二硫键导致三级结构改变[30], 细胞毒性远强于无机 Hg, 因此第 40 d 的 *Hsp70* 高峰很可能反映了 MeHg 在细胞损伤中的主导作用。

3.2　基于蛋白质组学的 Hg 应激响应、转化、解毒分子机制

蛋白质组学结果显示在细胞骨架、细胞核和细胞外间隙中富集了大量差异蛋白, 细胞骨架蛋白的显著变化可能与 Hg 离子与巯基的高亲和力有关[31], 这与刘欣梅等[32]报道的重金属可诱导细胞骨架重排的结果一致。细胞核定位蛋白的变化反映了 Hg 对基因转录调控过程的干扰, 而细胞外间隙蛋白的变化则与实验观察到的黏液分泌现象相吻

合，表明这可能是一种重要的隔离防御机制。热休克蛋白(Hsp20/Hsp70 家族)、C-型凝集素和补体相关蛋白的显著富集，表明牡蛎可能通过多种分子机制应对 Hg 胁迫。特别值得注意的是，Hsp20/Hsp70 家族在 3 个对比组中的持续富集，与 qPCR 结果相互印证，共同证实了蛋白毒性应激是 Hg 毒性的核心机制。这一发现与 WANG 等[33]关于 Hg 及 MeHg 诱导蛋白错误折叠的研究结论相符。C 型凝集素作为模式识别受体的富集，表明 Hg 暴露可能触发了先天免疫应答。代谢通路分析显示，氨基酸代谢通路(特别是色氨酸、半胱氨酸-蛋氨酸代谢)的持续紊乱表明 Hg 暴露干扰了牡蛎的基础代谢稳态。溶酶体和内吞作用通路的富集提示细胞可能通过增强内吞活性来隔离 Hg 离子，这与李孔栋[34]报道的溶酶体在重金属解毒中的作用机制一致。特别值得注意的是，花生四烯酸代谢通路在 3 组中呈现递增趋势，该通路不仅参与炎症反应[35]，其代谢产物如前列腺素等也可能是重要的细胞信号分子，可能在调节 Hg 的解毒与排出过程中发挥重要作用。由此推断，无机 Hg 进入消化腺细胞后，一方面直接破坏细胞骨架和蛋白质结构，另一方面可能通过内源性甲基化转化为 MeHg。而机体通过诱导 *MT* 和 *Hsp70*/*Hsp20* 分别执行金属螯合和蛋白修复功能，启动免疫应答和抗氧化防御，重构代谢网络以提供能量和底物支持解毒过程。净化过程中观察到的溶酶体和内吞作用通路激活，可能是机体最终排出 Hg 的关键机制。

4 结 论

综上所述，本研究从 Hg 的形态转化、分子应答到功能调控，阐明长牡蛎通过金属螯合(MT)、蛋白修复(Hsp70)、免疫调节(C-型凝集素等)及代谢重构组成的复杂网络来应对 Hg 胁迫及形态转化。研究结果认为在评估 Hg 污染水产品的安全性与制定净化策略时，必须充分考虑其内部生物转化过程和持续的生理毒性效应，而并不仅仅依赖于 Hg 含量的检测。本研究所鉴定的关键基因与蛋白(如 *Hsp20*、过氧化氢酶、C1q)可作为潜在的生物标志物，这些发现不仅具有重要的理论价值，也为水产品安全评估提供了潜在的分子标志物，对制定科学的水产养殖和食品安全标准具有指导意义。

参考文献

[1] YU JK, CUI WX. Evolution of marine litter governance policies in China: Review, performance and prospects [J]. Marine Pollution Bulletin, 2021, 167: 112325.

[2] 胡月, 任娣, 王鹭, 等. 江苏重点养殖海域贝类肌肉铅镉含量特征及健康风险评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(24): 301–307.
HU Y, REN D, WANG L, *et al*. Characteristics and health risk assessment of lead and cadmium content in shellfish muscle of key aquaculture areas in Jiangsu Province [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(24): 301–307.

[3] 孙瑶, 慕铮, 姜玲玲. 大连地区虾夷贝、赤贝中重金属元素含量变化研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(7): 25–32.
SUN Y, MU Z, JIANG LL. Study on the variation of heavy metal elements content in *Mizuhopecten yessoensis* and *Anadara broughtonii* in the Dalian Region [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(7): 25–32.

[4] 王韬, 常通, 彭程, 等. 2023 年山东省海产品元素含量水平及重金属污染状况分析[J]. 中国卫生工程学, 2025, 24(3): 299–303.
WANG T, CHANG T, PENG C, *et al.* Analysis on element content levels and heavy metal pollution statusof seafood in Shandong Province in 2023 [J]. Chinese Journal of Public Health Engineering, 2025, 24(3): 299–303.

[5] 张微, 杨峥, 李松旌, 等. 典型海水生态养殖模式下汞的累积、营养级传递及健康风险研究[J]. 环境化学, 2026, 45(5): 1–13.
ZHANG W, YANG Z, LI SJ, *et al*. Accumulation, trophic transfer, and health risk assessment of mercury under typical ecological mariculture models [J]. Environmental Chemistry, 2026, 45(5): 1–13.

[6] 孙振伟, 孙畅, 屈佩, 等. 海洋食物网中汞生物放大效应研究进展[J]. 生态毒理学报, 2025, 20(4): 23–43.
SUN ZW, SUN C, QU P, *et al*. Research progress on the biomagnification of mercury in marine food webs [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2025, 20(4): 23–43.

[7] 郑正男, 张秋平, 朱婷婷, 等. 珠海市市售水产品中常见重金属含量监测及初步膳食暴露风险评估[J]. 中国食品卫生杂志, 2024, 36(12): 1366–1372.
ZHENG ZN, ZHANG QP, ZHU TT, *et al*. Monitoring of common heavy metals in sold aquatic products and preliminary dietary exposure risk assessment in Zhuhai City [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2024, 36(12): 1366–1372.

[8] 于晓清, 张帅中, 纪蕾, 等. 长牡蛎对水环境中汞(II)的富集及其甲基化研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(20): 61–70.
YU XQ, ZHANG SZ, JI L, *et al*. Study on mercury (II) accumulation and its methylation in water environment by *Magallana gigas* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(20): 61–70.

[9] LIU TH, SU H, WANG Y, *et al*. Analysis of the accumulation, depuration and methylation of mercury in pacific oysters (*Magallana gigas*) and clams (*Meretrix meretrix*) using the two-compartment kinetic model [J]. Aquaculture Research, 2021, 52(7): 2998–3004.

[10] GAGNÉ F, BLAISE C, SALAZAR M, *et al*. Evaluation of estrogenic effects of municipal effluents to the freshwater mussel elliptio complanata [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, 2001, 128(2): 213–215.

[11] MINOR U, KANEHI SA, SUSUM U, *et al*. KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets [J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(D1): 109–114.

[12] 刘天红, 于晓清, 孙福新, 等. 汞及 MeHg 在栉孔扇贝全组织内的积累与净化[J]. 渔业科学进展, 2013, 34(5): 10.
LIU TH, YU XQ, SUN FX, *et al*. Accumulation and depuration of mercury and methylmercury in the whole tissue of *Chlamys farreri* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2013, 34(5): 10

[13] 郭安琪, 柯才焕, 王恬, 等. 不同金属富集能力品系福建牡蛎铜、锌耐受性分析[J]. 渔业研究, 2024, 46(4): 338–346.
GUO ANQ, KE CH, WANG T, *et al*. Analysis of copper and zinc tolerance in the different metal accumulation ability strains of *Crassostrea angulata*

[J]. Journal of Fisheries Research, 2024, 46(4): 338–346.

[14] XU YY, YAO LX, SHEN HB, *et al*. Bioimage-based protein subcellular location prediction: A comprehensive review [J]. Frontiers of Computer Science, 2018, 12(1): 26–39.

[15] 李玉林. 分子病理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2022.
LI YL. Molecular pathology [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2022.

[16] LEI XJ, ZHAO J, FUJITA H, *et al*. Predicting essential proteins based on RNA-Seq, subcellular localization and GO annotation datasets [J]. Knowledge-based Systems, 2018, 151: 136–148.

[17] YU CS, LIN CJ, HWANG JK. Predicting subcellular localization of proteins for gram-negative bacteria by support vector machines based on *n*-peptide compositions [J]. Protein Science, 2004, 13(5): 1402–1406.

[18] YU S, HAO LL, WANG X, *et al*. Temperature effects on plasmalogen profile and quality characteristics in pacific oyster (*Magallana gigas*) during depuration [J]. Food Research International, 2024, 186: 114356.

[19] 范志越. 基于转录组学和蛋白质组学的虾夷扇贝响应高温胁迫的分子机制研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2024.
FAN ZY. Study on the molecular mechanism of the *Yesso scallop* (*Patinopecten yessoensis*) in response to heat stress based on transcriptomics and proteomics [D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2024.

[20] PENG CX, LIANG F, XIA YH, *et al*. Recent advances and challenges in protein structure prediction [J]. Journal of Chemical Information and Modeling, 2023, 64(1): 76–95.

[21] FINN RD, COGGILL P, EBERHARDT RY, *et al*. The pfam protein families database: towards a more sustainable future [J]. Nucleic Acids Research, 2016(D1): 279–285.

[22] 曹鑫, 张雅楠, 毛侃敏, 等. 基于 T*MT* 蛋白组学技术探讨氯化汞致小鼠肝脏损伤的机制[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2022, 51(5): 585–591.
CAO X, ZHANG YN, MAO KM, *et al*. Exploring the mechanism of mercury chloride-induced hepatotoxicity in mice based on T*MT* proteomics [J]. Journal of Huazhong University of Science and Technology (Medical Sciences), 2022, 51(5): 585–591.

[23] ASHBURNER M, BALL CA, BLAKE JA, *et al*. Gene ontology: Tool for the unification of biology. The gene ontology consortium [J]. Nature Genetics, 2000, 25(1): 25–29.

[24] GÖTZ S, GARCÍA-GÓMEZ JM, TEROL J, *et al*. High-throughput functional annotation and data mining with the Blast2GO suite [J]. Nucleic Acids Research, 2008, 36(10): 3420–3435.

[25] ZHANG QH, HUANG L, ZHANG Y, *et al*. Proteomic approach for identifying gonad differential proteins in the oyster (*Crassostrea angulata*) following food-chain contamination with $HgCl_2$ [J]. Journal of Proteomics, 2013, 94: 37–53.

[26] VAROTTO L, DOMENEGHETTI S, ROSANI U, *et al*. DNA damage and transcriptional changes in the gills of *Mytilus galloprovincialis* exposed to nanomolar doses of combined metal salts (Cd, Cu, Hg) [J]. PLoS One, 2013, 8(1): e54602.

[27] 李亮红. 以微塑料为载体的 Hg(II)在牡蛎中的富集特征及联合毒性效应研究[D]. 南宁: 广西大学, 2024.
LI LH. Study on the enrichment characteristics and combined toxic effects of Hg(II) with microplastics as carriers in oysters [D]. Nanning: Guangxi University, 2024.

[28] 褚博伟, 郭瑛瑛, 胡立刚, 等. *hgcA/B* 基因介导的汞甲基化分子机制及其应用[J]. 化学进展, 2023, 35(10): 1438–1449.
CHU BW, GUO YY, HU LG, *et al*. Molecular mechanism of mercury methylation mediated by *hgcA/B* genes and its application [J]. Progress in Chemistry, 2023, 35(10): 1438–1449.

[29] 霍礼辉, 林志华, 包永波. 重金属诱导贝类金属硫蛋白研究进展[J]. 水生态学杂志, 2011, 32(1): 7–13.
HUO LH, LIN ZH, BAO YB. The research advances of mollusca metallothionein induced by heavy metals [J]. Journal of Hydroecology, 2011, 32(1): 7–13.

[30] 冀军, 刘扬. 汞对免疫球蛋白 IgG 分子构象的体外研究[J]. 高分子通报, 2019(8): 29–34.
JI J, LIU Y. In *vitro* study of mercury and immunoglobulin IgG [J]. Polymer Bulletin, 2019(8): 29–34.

[31] AJSUVAKO VA, OLGA P, TINK OV, *et al*. Sulfhydryl groups as targets of mercury toxicity [J]. Coordination Chemistry Reviews, 2020, 417: 213343.

[32] 刘欣梅, 项黎新, 邵健忠, 等. 重金属诱导细胞凋亡的分子机制[J]. 细胞生物学杂志, 2004, 26(3): 6.
LIU XM, XIANG LX, SHAO JZ, *et al*. The molecular mechanisms of apoptosis induced by heavy metals [J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2004, 26(3): 6.

[33] WANG C, LIU HH, XU S, *et al*. Study of ATF4/CHOP axis-mediated mitochondrial unfolded protein response in neuronal apoptosis induced by methylmercury [J]. Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2023, 182: 114190.

[34] 李孔栋. 溶酶体在镉诱导脂质代谢异常中的作用机理研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2023.
LI KD. Study on the mechanism of lysosome in cadmium induced abnormal lipid metabolism [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2023.

[35] SUZUKI Y, INOUE T, RA C. Autoimmunity-inducing metals (Hg, Au and Ag) modulate mast cell signaling, function and survival [J]. Current Pharmaceutical Design, 2011, 17(34): 3805–3814.

(责任编辑: 韩晓红　安香玉)