

Apport de la protéomique à la découverte de biomarqueurs pour l'étude de la couleur de la viande bovine

Mohammed GAGAOUA¹, Claudia TERLOUW², Brigitte PICARD²

¹Food Quality and Sensory Science Department, Teagasc Food Research Centre, Ashtown, Dublin 15, Ireland

²Université Clermont Auvergne, INRAE, VetAgro Sup, UMR Herbivores, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France

Courriel : mohammed.gagaoua@teagasc.ie

■ La couleur rouge de la viande bovine est une caractéristique de la qualité sensorielle majeure qui conditionne la décision d'achat du consommateur. La stabilité de la couleur est recherchée pour éviter le gaspillage et les pertes économiques dans la filière viande. Cette synthèse, sous forme d'une analyse intégrative des études internationales récentes de protéomique, a pour but d'illustrer les principaux mécanismes biologiques ainsi que les potentiels biomarqueurs protéiques identifiés à ce jour, susceptibles d'être impliqués dans la variation de la couleur de la viande bovine.¹

Introduction

La couleur est un critère de qualité essentiel pour la commercialisation de la viande bovine car elle influence les décisions d'achat et l'attractivité du point de vente pour les consommateurs (Mancini et Hunt, 2005 ; Ramanathan *et al.*, 2020a). Cependant, les défauts associés à la couleur qu'ils soient liés aux viandes à coupe sombre (viande de type DFD : « Dark, Firm, Dry » pour sombre, ferme et sèche) ou à la décoloration au cours de la conservation, sont dommageables pour la commercialisation car ils induisent des réactions de rejet (Monin, 1991 ; Gagaoua *et al.*, 2021d). Pour les industriels de la filière, les défauts de couleur engendrent aussi des pertes économiques considérables (Ramanathan *et al.*, 2020a). L'apparence de la viande dépend de facteurs physiques et chimiques : la

teneur en myoglobine (Mb) du muscle, un pigment protéique contenant un atome de fer, l'état chimique de la Mb et l'état réfractaire de la surface de la viande (Suman et Joseph, 2013 ; Purslow *et al.*, 2021). Les caractéristiques de la couleur de la viande fraîche, lors de la vente, les plus importantes sont *i*) la luminance mesurée par la CIE- L^* à l'aide d'un chromamètre ; *ii*) l'indice de rouge mesuré par la CIE- a^* et la teinte (h°) et *iii*) l'indice de jaune (brunissement) mesuré par la CIE- b^* et la teinte (h°). La luminance est liée à la concentration de Mb ainsi qu'à la diffusion de la lumière, tandis que les indices a^* et b^* sont liés à la concentration et à l'état chimique de Mb (Purslow *et al.*, 2021). L'humidité en surface de la viande ainsi que la présence d'exsudat influencent aussi l'intensité de réflexion de la lumière et la luminance (ou brillance) mesurée au chromamètre ou perçue par l'œil humain.

La couleur plus pâle des viandes de volailles et de porc et de la chair des poissons s'explique par leur teneur plus faible en Mb. L'état d'oxydation ou d'oxygénation de l'atome de fer de la Mb et/ou le ligand attaché détermine l'état chimique de la Mb. À l'intérieur de la viande fraîche, la Mb est sous forme réduite, de couleur pourpre, en raison de l'absence d'oxygène. En surface de la viande, la Mb qui est au contact de l'air se fixe de l'oxygène pour former de l'oxymyoglobine (OxyMb), de couleur rouge vif, appréciée par le consommateur lors de l'achat. Cette couleur est instable car après une exposition prolongée à l'air, le pigment s'oxyde en metmyoglobine (MetMb), de couleur brunâtre, qui peut induire une réaction de rejet lors de l'achat (Mancini et Hunt, 2005 ; Suman et Joseph, 2013). Par ailleurs, les différentes fibres musculaires possèdent des teneurs

1 Cet article est une adaptation en français d'un article publié dans la revue *Trends in Food Science & Technology* par Gagaoua *et al.* (2020).

variables en Mb selon qu'il s'agisse de fibres à métabolisme oxydatif (riches en Mb) ou à métabolisme glycolytique (pauvres en Mb ; Picard et Gagaoua (2020b)). La proportion des différents types de fibres au sein d'un muscle influence donc directement sa couleur. L'oxydation de la Mb dans les viandes à proportion élevée de fibres oxydatives détériore la stabilité de la couleur rouge en induisant la formation de MetMb (Renner, 1990). La couleur est aussi liée à la structure du muscle réfléchissant la lumière, elle-même influencée par l'évolution du pH *post-mortem* (Gagaoua *et al.*, 2015b ; Purslow *et al.*, 2020). Par exemple, la diminution du pH est associée au transfert d'eau intracellulaire des fibres musculaires vers l'espace extracellulaire, ce qui favorise la réflexion de la lumière incidente (Offer *et al.*, 1989 ; Gagaoua *et al.*, 2018). Ce phénomène confère un aspect clair aux viandes à bas pH (< 5,7) et sombre dans le cas des viandes à pH élevé (> 6,0) (Ponnampalam *et al.*, 2017 ; Gagaoua *et al.*, 2021d). Le pH joue donc un rôle important dans l'absorption de la lumière par la viande et influence sa luminosité. La stabilité de la couleur, qui a aussi fait l'objet d'études, varie au cours de la conservation en fonction de l'emballage, qui module la forme prédominante de la Mb (Mancini et Hunt, 2005) en fonction de la présence et absence d'oxygène. En effet, la myoglobine à la surface du muscle/morceau de viande réagit avec l'oxygène et prend différentes couleurs. Lorsqu'elle est oxygénée, la viande est rouge vif ; lorsqu'elle est oxydée, la viande est brune et lorsqu'elle est réduite, la viande est pourpre. Pour avoir la couleur rouge désirée, un mélange avec un très fort taux d'oxygène (> 60 %) est utilisé dans les emballages.

Malgré ces différents travaux, tous les mécanismes biologiques à l'origine de la variabilité de la couleur de la viande ne sont pas complètement élucidés. Par conséquent, les technologies de la « Foodomics » ont été proposées au cours des deux dernières décennies et appliquées à la viande pour mieux comprendre les bases/mécanismes biologiques de la qualité, y compris ceux de la couleur (Nair *et al.*, 2017 ; Munekata *et al.*, 2021). En particulier,

le développement d'approche sans *a priori*, notamment la protéomique, a constitué une étape importante vers une meilleure compréhension des mécanismes biochimiques complexes régissant la transformation du muscle en viande et les qualités sensorielles qui en découlent (Ouali *et al.*, 2013 ; Picard *et al.*, 2017 ; Gagaoua *et al.*, 2021a) y compris les défauts de qualité comme la viande à coupe sombre (Gagaoua *et al.*, 2021d). Cependant, jusqu'à récemment, très peu d'études ont synthétisé les masses d'informations publiées sur les biomarqueurs protéiques identifiés et corrélés avec les différents paramètres de la couleur de la viande bovine. Le présent article s'appuie sur les résultats d'une analyse intégrative récente des études protéomiques (Gagaoua *et al.*, 2020) qui avait pour but de faire le point sur les connaissances acquises sur l'origine de la variation de la couleur de la viande bovine au travers d'une part, de l'agrégation dans un seul répertoire des protéines biomarqueurs identifiées, et d'autre part, de l'identification des voies métaboliques révélées par analyse bio-informatique.

1. La protéomique pour l'identification de biomarqueurs de la couleur de la viande

■ 1.1. Objectifs d'identification de biomarqueurs pour la filière viande

Face aux demandes récurrentes et croissantes de la filière viande ainsi que celles des consommateurs de plus en plus exigeants en termes de la qualité de la viande, les industriels ont changé leurs méthodes de production et modernisé les pratiques d'élevages, induisant des modifications des potentiels qualités des races, ce qui n'est pas sans effets sur les qualités des produits obtenus et leur variabilité (Gagaoua et Picard, 2020). Par conséquent, la prédiction de la qualité des produits devient une nécessité absolue pour la filière viande (Berri *et al.*, 2019). En outre, les méthodes d'évaluation de la qualité de la viande (qu'elles soient sensorielles, biochimiques ou instrumentales) sont

jugées destructrices, lourdes à mettre en place et dans certains cas, non adaptées ou applicables qu'après abattage. Aussi, il est aujourd'hui nécessaire de trouver une alternative et de développer des outils simples et rapides ne demandant pas de grandes quantités d'échantillons pour pouvoir classer les carcasses ou pièces de viande et/ou prédire le potentiel de qualité des animaux. L'analyse protéomique est une solution efficace pour répondre à cette problématique. Introduit en 1996, le terme « protéomique » peut être décrit comme l'étude globale de l'expression protéique d'une cellule ou d'un organisme dans des conditions données et à un moment donné (Wilkins *et al.*, 1996). Complémentaire de la génomique qui concerne l'étude de l'expression des gènes, le protéome, ensemble des produits finaux d'expression des gènes, est plus représentatif de la fonction d'une cellule que le gène lui-même. Contrairement au génome qui est identique dans la plupart des cellules, l'analyse protéomique est très dynamique selon le contexte et le stade de développement de la cellule (Horvatovich *et al.*, 2014). L'étude globale ou partielle du protéome permet de proposer des mécanismes explicatifs sur l'origine de la variabilité des qualités de la viande et des biomarqueurs potentiels (Bendixen, 2013). L'identification de biomarqueurs permet, par exemple, la conception de puces à protéines permettant de prédire la qualité de la viande (Gagaoua *et al.*, 2018 ; Picard *et al.*, 2019 ; Gagaoua *et al.*, 2020). Ainsi, un des objectifs est d'expliquer et/ou prédire la qualité de la viande, en comparant ses signatures moléculaires à celles de groupes de références rassemblés dans une base de donnée et constitués sur la base d'un critère de qualité recherché. Les biomarqueurs de qualité de la viande peuvent être définis comme étant des indicateurs des processus biologiques mesurables quantitativement, qui peuvent jouer un rôle essentiel dans *i)* la compréhension de la transformation du muscle en viande ; *ii)* les programmes de sélection génétique ; *iii)* la prédiction précoce de l'évolution et la mise en place de la qualité et/ou *iv)* la classification des carcasses et des viandes.

■ 1.2. Bref aperçu sur l'utilisation de l'analyse protéomique pour l'étude de la qualité de la viande et l'identification de biomarqueurs

En raison de la diversité des protéines et de la grande quantité d'information générée par la protéomique, la production, le traitement et l'interprétation de ces données est une tâche très complexe. En effet, les échantillons de tissus de mammifères contiennent des milliers de protéines différentes, ce qui nécessite l'utilisation de différentes méthodes pour préparer, isoler et quantifier les abondances de ces protéines (Picard *et al.*, 2017).

Globalement, deux stratégies protéomiques permettent l'identification et la quantification de protéines biomarqueurs : l'approche « *bottom-up* » et l'approche « *top-down* » (Ohlendieck, 2011). La première qui a longtemps été la plus utilisée repose sur une stratégie basée sur la digestion protéolytique des protéines d'intérêt suivie de leur identification par spectrométrie de masse. La seconde repose sur la fragmentation directe des protéines d'intérêt sans digestion au préalable (Catherman *et al.*, 2014). Aujourd'hui, c'est l'usage de la seconde méthode qui est plébiscitée pour l'analyse du protéome en raison des multiples avancées techniques des 20 dernières années. Ces méthodes ont comme ultime objectif de quantifier l'abondance (relative ou absolue) de toutes (ou partie) des protéines présentes dans un tissu, un fluide ou une cellule ou dans une fraction protéique spécifique. La protéomique permet non seulement d'inventorier et cartographier le protéome d'un tissu, comme cela a été appliqué pour le muscle bovin (Bouley *et al.*, 2004 ; Chaze *et al.*, 2013), mais aussi de déterminer les différences qualitatives et quantitatives induites par un phénotype particulier (Picard et Gagaoua, 2020a).

Dans le cas des premières études de protéomique principalement basées sur les gels d'électrophorèse, les protéines musculaires extraites sont globalement séparées par électrophorèse monodimensionnelle en fonction de la

masse moléculaire des protéines ou par électrophorèse bidimensionnelle, en deux étapes successives. Dans le deuxième cas, les protéines sont d'abord séparées dans une première dimension selon leur point isoélectrique (étape d'électroisofocalisation) puis selon leur masse moléculaire dans la seconde dimension (gel de polyacrylamide de type SDS-PAGE en conditions dénaturantes) (Bouley *et al.*, 2004 ; Chaze *et al.*, 2013). Ainsi, les protéines séparées constituent des spots individuels, chaque spot correspondant le plus souvent à une protéine majoritaire. Une analyse d'image est réalisée après coloration afin de quantifier l'abondance de chaque protéine. La comparaison d'abondance permet de déterminer si certaines protéines sont différentielles entre les traitements étudiés (Bouley *et al.*, 2004 ; Chaze *et al.*, 2013 ; Picard et Gagaoua, 2020a). Dans le cas où une protéine est identifiée comme différentielle, le spot est découpé sur le gel puis traité avec des enzymes protéolytiques, le plus souvent la trypsine, afin d'obtenir des peptides spécifiques de la protéine. Ces peptides sont ensuite identifiés par spectrométrie de masse. Dans le cas de l'analyse protéomique sans gel, les protéines présentes après extraction sont digérées par des enzymes protéolytiques conduisant au relargage de fragments peptidiques. C'est cet ensemble de peptides ou fragments qui est ensuite analysé par spectromètre de masse (Zhu *et al.*, 2021).

2. Intégration des études protéomiques sur la couleur de la viande bovine

■ 2.1. Préparation du premier répertoire de biomarqueurs de la couleur de la viande bovine

L'analyse protéomique n'a été que récemment proposée pour étudier le protéome musculaire associé à la stabilité et/ou variation de la couleur de la viande bovine (tableau 1). L'ensemble des études protéomiques conduites sur la couleur de la viande bovine ayant pour but d'identifier des biomarqueurs

a récemment fait l'objet d'une étude intégrative de type intégromique² (Gagaoua *et al.*, 2020).

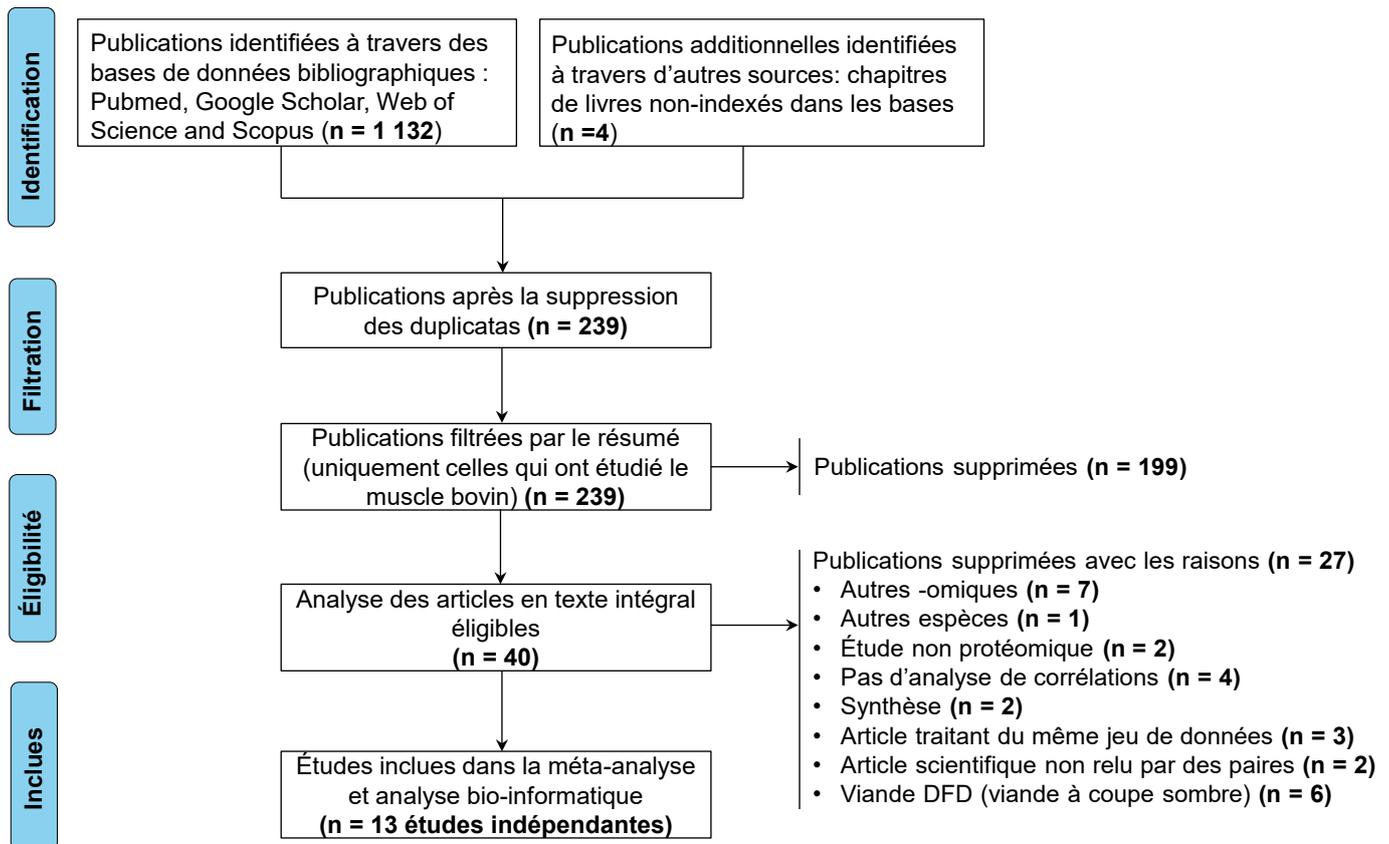
Cette étude intégromique s'est basée sur une recherche informatisée s'appuyant sur plusieurs bases de données bibliographiques (Google Scholar, Web of Science et Scopus) pour identifier toutes les études protéomiques traitant la question de la couleur de la viande. Brièvement, plusieurs mots-clés comme « protéomique », « omique », « protéome », « protéine », « biomarqueur » et « couleur », ont été utilisés en combinaison avec « viande » ou « muscle » pour identifier les articles pertinents (figure 1). Seuls les articles en texte intégral publiés dans des revues à comité de lecture ont été considérés afin de s'assurer de leur qualité méthodologique. Ainsi, 239 articles ont été sélectionnés à partir de cette première recherche bibliographique (figure 1). Ils ont ensuite fait l'objet d'un examen d'éligibilité (filtration) dont les principaux critères d'inclusion/exclusion pour construire le premier répertoire étaient : *i*) analyse du protéome bovin ; *ii*) uniquement les protéines dont il a été démontré dans l'article qu'elles étaient significativement corrélées ($P < 0,05$) avec les paramètres de couleur et *iii*) exclusion des articles sur la viande à pH élevé (viande à coupe sombre, DFD). Les études traitant de ce défaut de qualité ont été sélectionnées de la même façon et indexées dans une autre base de données (Gagaoua *et al.*, 2021d). Au final, 13 articles ont été retenus pour constituer la base de données (tableau 1) de biomarqueurs candidats de la couleur dite « normale » de la viande bovine (par opposition aux défauts de couleur).

■ 2.2. Bref aperçu sur le premier répertoire de biomarqueurs de la couleur de la viande bovine

Le répertoire constitué a intégré des données de 5 muscles qui diffèrent

² Les données générées par les méthodes -omiques sont colossales et multidimensionnelles. La bio-informatique et les bio-statistiques permettent de les intégrer (intégromique) afin de déterminer avec précision leur signification biologique.

Figure 1. Étapes de sélection des études protéomiques pour construire la base de données des biomarqueurs de la couleur de la viande bovine.



par leurs propriétés contractiles et métaboliques et la stabilité de leur couleur : LT, *Longissimus thoracis* (un muscle oxydo-glycolytique mixte, de couleur stable) ; ST, *Semitendinosus* (glycolytique rapide, de couleur très stable) ; RA, *Rectus abdominis* (oxydo-glycolytique mixte rapide, de couleur stable mais très peu étudié) ; SM, *Semimembranosus* (oxydo-glycolytique, faible stabilité de la couleur) et PM, *Psoas major* (oxydatif, de couleur stable). Selon les études, les appareils de mesure de couleur utilisés (tableau 1) sont les chromamètres Minolta (CR-300 et CR-400), HunterLab (labscan, XE ou XE plus) et les spectrophotomètres X-rite mesurant les paramètres L^* , a^* et b^* .

Ainsi, une base de 79 protéines dont l'abondance est significativement corrélée ($P < 0,05$) avec les paramètres de la couleur a été construite (figure 2). Le plus grand nombre de protéines a été identifié pour le muscle LT, car le plus fréquemment étudié, avec 59 protéines associées aux différents paramètres de couleur (figure 3), dont 54 d'entre elles corrélées avec les paramètres L^* , a^* ou b^* . Le mus-

cle ST suit avec 27 protéines identifiées (dont 25 corrélées avec L^* , a^* ou b^*), puis le muscle PM avec 19 protéines (17 corrélées avec L^* , a^* ou b^*), le muscle RA avec 14 protéines (12 corrélées avec L^* , a^* ou b^*) et le muscle SM avec 6 protéines, corrélées uniquement avec l'activité de réduction de la metmyoglobine (MRA : *Metmyoglobin Reducing Activity*) et la stabilité de la couleur de surface (R630/580) (figure 2). Le diagramme de Venn de la figure 3 illustre les protéines communes entre les muscles et celles spécifiques à chaque muscle.

L'analyse de la liste des protéines a permis de constater à travers le diagramme de Venn de la figure 4A que 73 des 79 protéines identifiées indépendamment des races/types d'animaux et muscles étaient corrélées aux paramètres L^* (25 protéines dont 3 spécifiques à ce caractère), a^* (66 protéines dont 43 spécifiques à ce caractère) ou b^* (24 protéines dont 2 spécifiques à ce caractère). Un total de 17 protéines étaient communes aux trois paramètres de couleur : HSPB6, HSPB1, CRYAB, DNAJA1, HSPA8, HSPA2, HSPA9, ENO3,

MDH1, PGM1, PRDX6, MYH7, MYH2, MYH1, ACTA1, TTN et CAPN1. L'analyse du muscle LT seul, illustrée dans la figure 4B, a montré que 54 des 59 protéines sont corrélées aux paramètres L^* (23 protéines dont 3 spécifiques), a^* (45 protéines dont 25 spécifiques) ou b^* (23 protéines dont 2 spécifiques). Dans ce muscle, 13 protéines étaient communes aux trois paramètres de couleur : HSPB6, HSPB1, CRYAB, DNAJA1, HSPA8, HSPA2, HSPA9, ENO3, MDH1, PRDX6, MYH2, ACTA1 et TTN (figure 4B).

■ 2.3. Recherche documentaire et analyse bio-informatique du répertoire de biomarqueurs de la couleur de la viande bovine

Le répertoire de 79 protéines décrit ci-dessus a permis d'effectuer plusieurs analyses bio-informatiques comprenant des annotations sur l'ontologie des gènes à l'aide de l'outil ProteINSIDE (<https://www.proteinside.org/>) qui analyse des processus et fonctions

Tableau 1. Détails des 13 études retenues dans pour créer le répertoire de biomarqueurs de la couleur « normale » de la viande bovine.

Étude (Premier auteur, année)	Race/type animal	Muscle	Nombre d'animaux	Paramètres de couleurs étudiés/temps de mesure/outil/conditions	Approche protéomique
(Kim <i>et al.</i> , 2008)	Korean/Taurillons, Bœufs	LT	12	L^* , a^* , b^* / NA/Chromamètre Minolta CR-300/30 min d'exposition à 1°C	2DE + MALDI-TOF
(Joseph <i>et al.</i> , 2012)	ND	LT et PM	7	L^* , a^* , b^* + R630/580 + MRA/24h/ colorimètre HunterLab LabScan XE	2DE + MALDI-TOF TOF
(Canto <i>et al.</i> , 2015)	ND	LT	20	L^* , a^* , b^* + R630/580/11 jours/ colorimètre HunterLab Miniscan XE	2DE + MALDI-TOF TOF
(Gagaoua <i>et al.</i> , 2015b)	Blonde d'Aquitaine /Taurillons	LT	21	L^* , a^* , b^* /24 h/Chromamètre Minolta CR-300/1 h d'exposition à 1°C	21 biomarqueurs par Dot-Blot
(Wu <i>et al.</i> , 2015)	Chinese Luxi yellow	ST	4	L^* , a^* , b^* /0, 5, 10 et 15 jours /Chromamètre Minolta CR-400	2DE + MALDI-TOF TOF
(Nair <i>et al.</i> , 2016)	ND	SM	8	L^* , a^* , b^* + R630/580/48h/ Colorimètre HunterLab LabScan XE	2DE + MALDI-TOF TOF
(Wu <i>et al.</i> , 2016)	Chinese Luxi yellow	L et PM	4	L^* , a^* , b^* / / 24 h/ Chromamètre Minolta CR-400	2DE + MALDI-TOF TOF
(Yu <i>et al.</i> , 2017)	Holstein	ST	3	L^* , a^* , b^* /0, 4, et 9 jours/Chromamètre Minolta CR-400	HPLC-MS/MS
(Gagaoua <i>et al.</i> , 2017a)	PDO Maine Anjou /Vaches	LT et RA	48	L^* , a^* , b^* + C^* et h^* /24 h/Chromamètre Minolta CR-400/1h d'exposition à 1°C	21 biomarqueurs par Dot-Blot
(Gagaoua <i>et al.</i> , 2017b)	PDO Maine Anjou /Vaches	LT	110	L^* , a^* , b^* + C^* et h^* / 24 h/Chromamètre Minolta CR-400/1 h d'exposition à 4°C	26 biomarqueurs par Dot-Blot
(Gagaoua <i>et al.</i> , 2017c)	Angus et Limousin /Taurillons	LT	42	L^* , a^* , b^* + C^* et h^* /24 h/Chromamètre Minolta CR-400/1h d'exposition à 4°C	21 biomarqueurs par Dot-Blot
(Yang <i>et al.</i> , 2018)	Chinese Luxi yellow	LT et PM	4	L^* , a^* , b^* + C^* + MRA + OCR/48 h et 15 jours/Spectrophotomètre X-Rite/30 min d'exposition à 2°C	2DE + MALDI-TOF TOF
(Gagaoua <i>et al.</i> , 2018)	Charolais/Taurillons	LT	43	L^* , a^* , b^* + C^* et h^* /24 h/Chromamètre Minolta CR-400/1h d'exposition à 4°C	29 biomarqueurs par RPPA

2DE : Électrophorèse bidimensionnelle ; MALDI-TOF : Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation – Time of Flight ; RPPA : Reverse Phase Protein Array ; MRA : Metmyoglobin reducing activity ; OCR : Oxygen Consumption Rate ; R630/580 : Surface colour stability. LT, *Longissimus* ; RA : *Rectus abdominis* ; ST : *Semitendinosus* ; SM : *Semimembranosus* et PM : *Psoas major*.

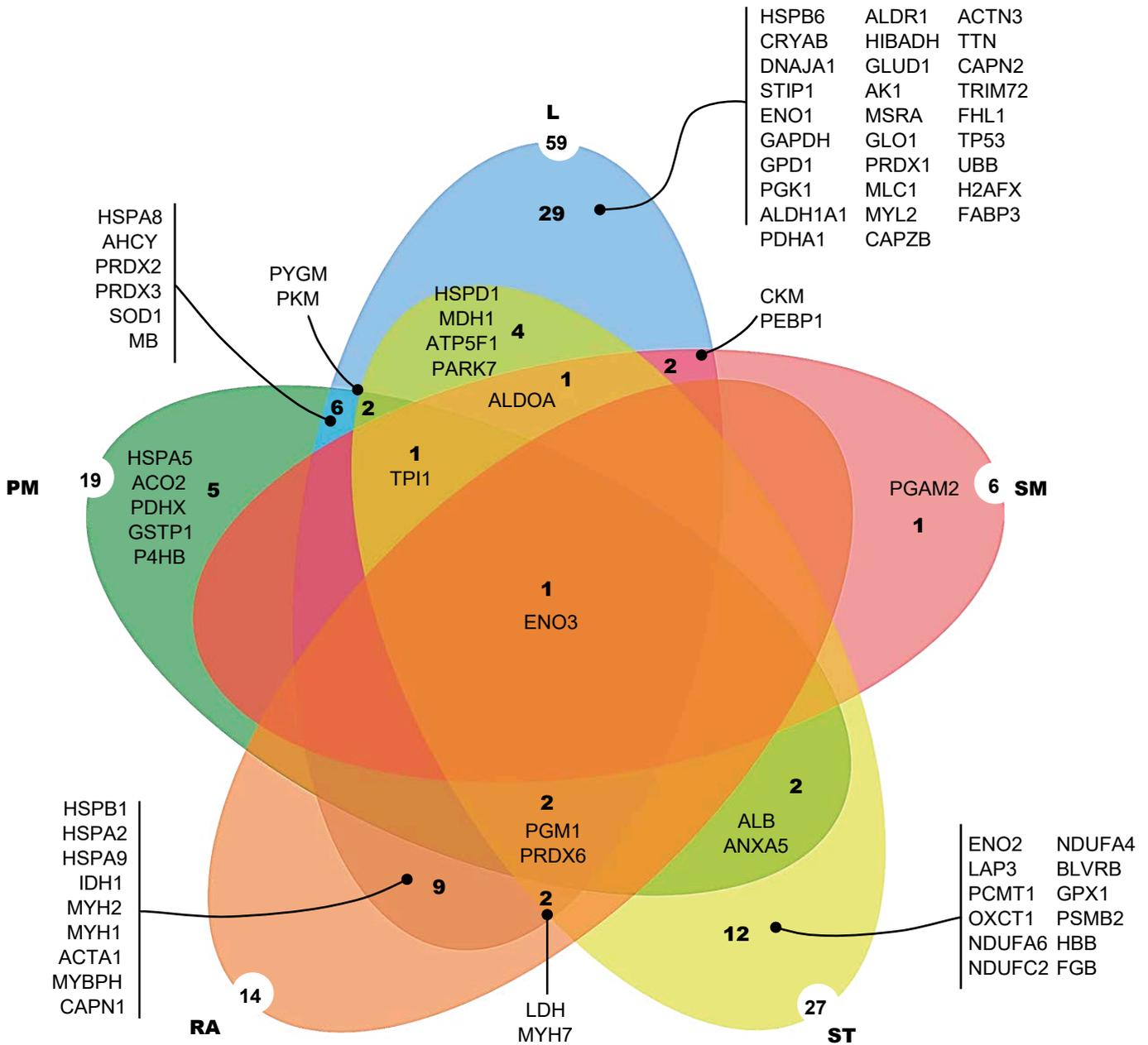
biologiques concernées. L'analyse des interactions protéine-protéine effectuée à l'aide de la base de données du service web String.V11 (<https://string-db.org/>) a permis de générer un réseau protéique illustrant les interactions entre les 79 protéines et les principales voies biologiques.

3. Six principales voies métaboliques gouvernent la couleur de la viande bovine

L'analyse des ontologies et fonctions biologiques a permis d'identifier 6 voies

biologiques distinctes (figure 2) fortement interconnectées (figure 5) jouant un rôle important dans la variabilité de la couleur « normale » (hors défaut DFD) de la viande bovine. Les 79 protéines, toutes détaillées dans la figure 2, sont réparties de la manière suivante : i) métabolisme énergétique, catalyse

Figure 3. Répartition des 79 biomarqueurs entre les 5 muscles : L : longissimus ; RA : Rectus abdominis ; ST : Semitendinosus ; SM : Semimembranosus et PM : Psoas major.



Le nombre total de protéines pour chaque muscle est indiqué dans les cercles blancs près du nom de l'abréviation de chaque muscle. Le nombre de protéines spécifiques au muscle ou communes à tous les muscles est indiqué en caractères gras noirs. Les noms des gènes correspondant aux protéines sont donnés pour chaque situation et les détails complets des protéines et de leurs identifiants Uniprot sont donnés dans la figure 2.

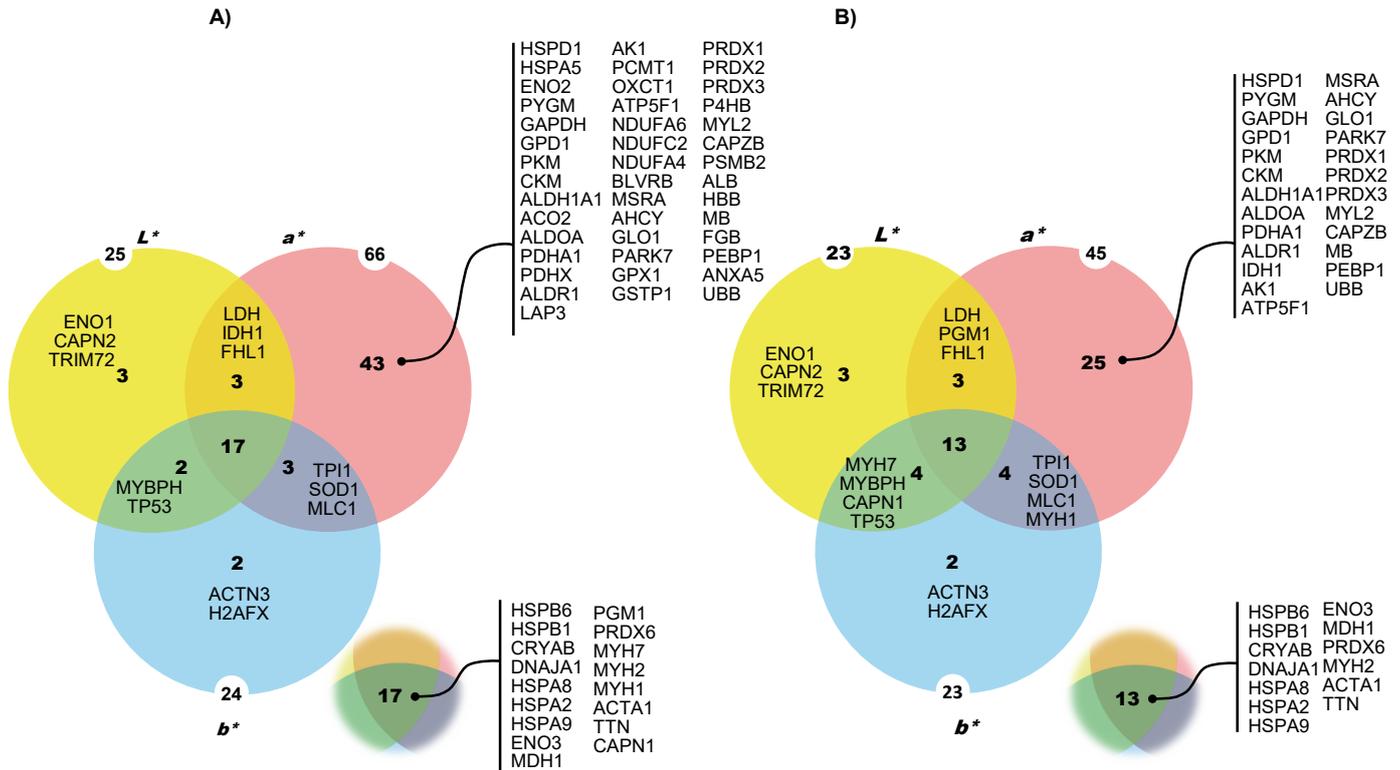
et production d'ATP (n = 35) ; ii) stress oxydant et détoxification (n = 9) ; iii) protéines contractiles et de structure (n = 10) ; iv) protéines chaperonnes et de stress thermique (n = 10) ; iv) transport, signalisation cellulaire et apoptose (n = 12) et vi) protéolyse (n = 3). Il est intéressant de voir que ces voies sont similaires à celles identifiées comme intervenant dans le déterminisme de la tendreté de la viande bovine (Gagaoua *et al.*, 2021a) mais différentes de celles impliquées dans le défaut DFD

(Gagaoua *et al.*, 2021c). Ceci suggère que les processus biologiques liés aux variations de la tendreté et la couleur de la viande sont communs. Dans le cas de la couleur, comme attendu, la voie du métabolisme énergétique (notamment la glycolyse) est dominante, alors que ce sont plutôt les protéines myofibrillaires et de structure qui sont associées de façon prédominante à la tendreté.

L'analyse des 79 protéines les plus fréquemment identifiées par les

13 études retenues a permis d'identifier 27 biomarqueurs (rapportés au seuil de 3 fois minimum) jugés dans cette étude comme étant pertinents (le plus souvent identifiés et liés à plus de trois paramètres de la couleur) et corrélés aux paramètres de la couleur de la viande bovine comme illustré dans la figure 2. La première protéine de cette liste est l'énolase 3 (ENO3 : du métabolisme énergétique, catalyse et production d'ATP) qui est corrélée aux paramètres de couleur dans 8 études (figure 2 : L*,

Figure 4. Diagrammes de Venn illustrant A) les 73 protéines de la liste des 79 identifiées indépendamment des races/type animaux et muscles ; et B) 54 protéines sur les 59 biomarqueurs du muscle LT, identifiées comme étant corrélées avec les paramètres L*, a*, b* de la couleur de la viande bovine.



Les noms complets des protéines et leur identifiants Uniprot sont donnés dans la figure 2. Le nombre total de protéines pour chaque paramètre de couleur est indiqué dans les cercles blancs près de chaque paramètre. Le nombre de protéines spécifiques à chaque paramètre de couleur ou communes est indiqué en caractères gras. Seules 6 protéines (STIP1, PGAM2, PGK1, HIBADH, GLUD1 et FABP3) n'ont pas encore été identifiées pour être corrélées avec les paramètres L*a*b* dans l'ensemble du répertoire. Les protéines en couleurs vertes ou rouges et en caractère gras représentent les relations positives et négatives identifiées indépendamment des facteurs identifiés à partir d'un minimum de deux études (figure 2). Les protéines communes aux trois paramètres de couleur en A et B sont indiquées à droite de chaque diagramme de Venn.

a*, b*, C*, h°, R630/580 et MRA) suivie par la peroxyredoxine 6 (PRDX6 : du stress oxydant et détoxification) identifiée dans 7 études (figure 2 : L*, a*, b*, C*, h°, MRA et OCR) et HSP27 (appartenant aux protéines chaperonnes et de stress thermique) dans 6 études (figure 2 : L*, a*, b*, C* et R630/580). La phosphoglucomutase 1 (PGM1), la superoxyde dismutase (SOD1) et la μ-calpaïne (CAPN1) ont été identifiées dans 5 études (figure 2). Huit autres protéines : HSP40 (DNAJA1), HSP70-8 (HSPA8), HSP70-Grp75 (HSPA9), malate déshydrogénase 1 (MDH1), triosephosphate isomérase 1 (TPI1), lactate déshydrogénase (LDH), myosine-7 (MYH7) et myosine-2 (MYH2) ont été rapportées 4 fois et 13 autres biomarqueurs de cette liste ont été rapportés 3 fois : HSP20 (HSPB6), αB-cristalline (CRYAB), HSP72 (HSPA2), pyruvate kinase M 2 (PKM), créatine kinase M type (CKM), fructose-bisphosphate aldolase A (ALDOA), DJ-1 (PARK7), PRDX2, la chaîne

légère de myosine (MLC1), myosin-1 (MYH1), α-actin, (ACTA1), myosin binding protein-H (MYBPH) et phosphatidylethanolamine-binding protein 1 (PEBP1).

Sur cette liste de 27 protéines biomarqueurs robustes de la couleur de la viande bovine, 8 appartiennent à la voie du métabolisme énergétique, catalyse et production d'ATP (ENO3, PGM1, MDH1, TPI1, LDH, PKM, CKM et ALDOA) ; 7 sont des protéines chaperonnes et de réponse au stress cellulaire (HSP20, HSP27, αB-cristalline, HSP40, HSP70-8, HSP70-Grp75 et HSP72) ; 6 sont des protéines contractiles et de structure (MYH1, MYH2, MYH7, MLC1, ACTA1 et MYBPH) ; 4 de la voie du stress oxydant et détoxification (PRDX2, PRDX6, SOD1 et DJ-1) et une protéine pour chacune des deux autres voies (protéolyse (μ-calpaïne) et transport ; signalisation cellulaire et apoptose (PEBP1)). Dans les sections suivantes, nous discuterons

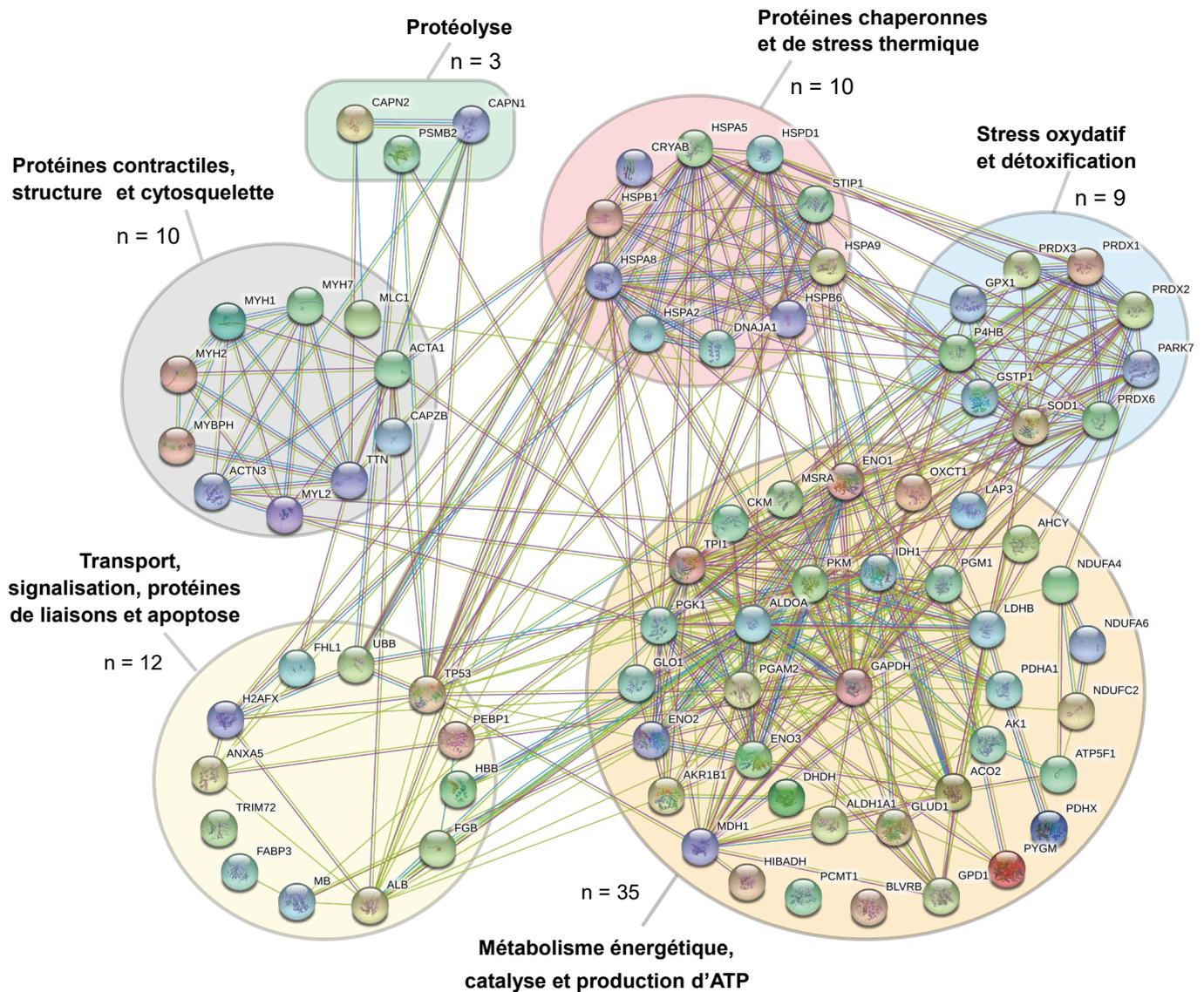
les mécanismes biologiques et les fonctions biologiques des biomarqueurs le plus souvent identifiés.

4. Protéines majeures impliquées dans la variation de la couleur de la viande bovine et mécanismes biologiques associés

■ 4.1. Biomarqueurs des protéines du métabolisme énergétique et production d'ATP

Parmi les 8 enzymes de cette voie énergétique associées aux paramètres de couleur, 6 sont glycolytiques (ENO3, PGM1, TPI1, LDH, PKM, et ALDOA) et correspondent aux phases dite préparatoire, qui conduit du glucose à deux glycéraldéhyde-3-phosphate

Figure 5. Réseaux d'interactions protéine-protéine construit en utilisant les 79 protéines et illustrant les six principales voies métaboliques impliquées dans le déterminisme de la couleur de la viande bovine.



Le réseau de protéines a été généré à partir d'une recherche en ligne dans la base de données STRING (<http://string-db.org/>). Les paramètres par défaut ont été utilisés.

(G-3-P) avec consommation d'ATP, ou finale d'oxydo-réduction couplée à la formation du pyruvate et d'ATP, confirmant ainsi l'importance de la glycolyse dans le déterminisme de la couleur de la viande (Mancini et Hunt, 2005). Parmi les deux autres enzymes, l'une appartient au cycle de Krebs (MDH1) et l'autre à la voie de régénération de l'ATP (CKM). Il est à noter que le sens de la corrélation entre ces protéines et les paramètres de couleur diffèrent selon le muscle et le paramètre considérés (figure 2). L'inversion des corrélations se produit lorsque le mécanisme biochimique qui sous-tend la corrélation a une contribution majeure au phénomène étudié mais que d'autres facteurs

sont également impliqués comme l'âge de l'animal, la race, le type du muscle, les facteurs d'élevages, etc. (Gagaoua *et al.*, 2021a ; Gagaoua *et al.*, 2021d ; Terlouw *et al.*, 2021). Le caractère multifactoriel et interdépendant de l'influence du métabolisme *post-mortem* et des propriétés oxydatives sur la couleur de la viande est bien connu et peut partiellement expliquer l'inversion des corrélations observées. Par exemple, le lactate, produit dans les conditions anaérobies de la dégradation du glycogène, peut influencer le statut redox du muscle, ce qui peut avoir un impact sur la couleur de la viande (Joseph *et al.*, 2012). Le turnover de l'ATP a pour conséquence une acidification du muscle dont l'amplitude

est dépendante de la teneur en glycogène musculaire à l'abattage (Robergs *et al.*, 2004). La valeur du pH ultime va moduler l'espace entre les myofibrilles et du diamètre des myofibrilles, ce qui affecte la luminance (L^*) par les processus achromatiques de la diffusion de la lumière (Purslow *et al.*, 2020).

a. ENO3, un biomarqueur robuste de la couleur de la viande bovine

L'énolase, corrélée avec presque tous les paramètres de couleur et muscles, est une enzyme cytosolique impliquée dans l'étape intermédiaire de la glycolyse et responsable de la conversion du 2-phosphoglycérate

en phosphoénolpyruvate. C'est une enzyme associée au stress et aux conditions hypoxiques et, chez certaines espèces, elle est surexprimée lorsque les conditions du milieu sont défavorables (Didiasova *et al.*, 2019). L'énolase est un dimère existant sous trois isoformes : ENO1 (formée par 2 sous-unités α), ENO2 (formée par 2 sous-unités γ) et ENO3 (formée par 2 sous-unités β). L'isoforme ENO3 semble jouer un rôle important dans la couleur de la viande bovine (8 études). ENO1 et ENO2 n'ont été identifiées que dans une seule étude, corrélées négativement (figure 2) dans le muscle LT et ST, respectivement. Chez le bovin, ENO3 a aussi été corrélée à la tendreté dans plusieurs études (Gagaoua *et al.*, 2021a). De plus, Jia *et al.*, (2006) ont montré une augmentation importante dans le muscle *Longissimus thoracis* de ENO3 peu de temps après l'abattage. L'apparition récurrente de ENO3 comme biomarqueur robuste indépendamment du muscle et du paramètre de la couleur (figures 2 et 3) peut être liée à son rôle dans le métabolisme du glucose pendant l'hypoxie et la protection cellulaire (Sedoris *et al.*, 2010). Les corrélations entre l'abondance de ENO3 et les paramètres L^* , a^* , b^* et MRA sont positives ou négatives suggérant des interactions complexes entre cette étape de la glycolyse et d'autres mécanismes affectant la couleur. Par exemple, ENO3 participe à des complexes multi-enzymes présents sur le sarcomère, peut-être en association avec d'autres protéines comme illustré dans le réseau d'interactions protéiques de la figure 5 et impliquées dans la couleur : protéines de stress (Wulff *et al.*, 2012) et de structure (Hughes *et al.*, 2020). En accord avec nos résultats, (Nair *et al.*, 2018), en comparant la partie intérieure à couleur labile et extérieure à couleur stable du muscle SM, ont trouvé des différences dans le protéome sarcoplasmique, dont ENO3.

b. PGM1, TPI1, LDH et PKM : des enzymes glycolytiques biomarqueurs de la couleur de la viande bovine

Quatre enzymes de la glycolyse (PGM1, TPI1, LDH et PKM) sont fortement corrélées avec la couleur de la viande bovine indépendamment des propriétés contractiles et métaboliques

et de la stabilité de la couleur des muscles. La phosphoglucomutase 1 (PGM1) est une enzyme qui joue un rôle central dans la glycolyse et la glycogénèse, catalysant de manière réversible la conversion du glucose-1-phosphate (G-1-P) en glucose-6-phosphate (G-6-P). Elle est corrélée avec les paramètres de couleur (L^* , a^* , b^* , h° , R630/580 et MRA) dans 4 muscles de 5 études (figure 2) : négativement pour ST (a^*) et PM (a^* et MRA) et positivement dans le RA (b^*). Dans le muscle LT, PGM1 était positivement liée à la luminance (L^*) et, selon l'étude, positivement ou négativement au paramètre a^* (Gagaoua *et al.*, 2020). La relation entre PGM1 et plusieurs paramètres de couleur de différents muscles et types d'animaux est en accord avec le rôle que la glycolyse joue dans le déterminisme de la tendreté et de la couleur (Ramanathan *et al.*, 2020a ; Ramanathan *et al.*, 2020b). En effet, les conditions hypoxiques qui se produisent dans le muscle *post-mortem* augmentent l'abondance et l'activité de PGM1, qui régule au moins en partie l'équilibre entre G-1-P et G-6-P. Ce dernier peut être associé à la couleur, par le biais de son effet sur la chute du pH. Par exemple, les profils de métabolites, y compris le G-6-P, dans les échantillons prélevés tôt après abattage (Yu *et al.*, 2019) différaient entre les muscles, mais aussi en termes de stabilité de la couleur (Abraham *et al.*, 2017). À des niveaux relativement élevés de G-1-P, une plus grande activité de PGM1 augmente le taux de sa conversion en G-6-P, qui, selon les besoins énergétiques de la cellule, est soit utilisé dans la voie glycolytique, soit pour la régénération du NADH, ce dernier étant un déterminant majeur de la stabilité de la couleur de la viande (Mancini et Hunt, 2005 ; Ramanathan *et al.*, 2020b).

La triosephosphate isomérase (TPI1) a été corrélée avec les paramètres de couleur (a^* , b^* , R630/580 et MRA) dans 4 études et 4 muscles (figure 2). Les relations étaient négatives pour les muscles ST (a^* et MRA) et PM (a^*), positives pour le muscle SM (R630/580 et MRA) et dans des directions différentes selon le paramètre de couleur considéré pour le muscle LT (négative avec a^* et positive avec b^*). TPI1 catalyse la conversion réversible du dihydroxyacétone

phosphate en d-glyceraldéhyde 3-phosphate, complétant ainsi l'étape de fractionnement de la première phase de la glycolyse. L'abondance de TPI1 était positivement liée au taux de diminution du pH (Gagaoua *et al.*, 2018), ce qui peut expliquer en partie son association avec la couleur.

Le lactate déshydrogénase (LDH) était corrélée aux paramètres de la couleur dans 4 études, impliquant 3 muscles (figure 2) : positivement liée dans les muscles RA (L^*) et ST (a^* et MRA) et dans les deux sens dans le muscle LT (négative avec L^* et positive avec a^*). La LDH catalyse la conversion réversible du pyruvate en lactate avec la conversion du NADH en NAD⁺. Le NADH est connu pour favoriser la réduction de la MetMb et des niveaux plus faibles de NADH ou plus élevés de NAD⁺, favorisent la formation de MetMb (Mancini et Hunt, 2005 ; Ramanathan *et al.*, 2020b).

La pyruvate kinase M (PKM) possède quatre isoformes dont PKM1 et PKM2 qui prédominent dans le muscle. Cette enzyme a été identifiée dans 3 études corrélée négativement avec les paramètres a^* et MRA dans les muscles ST et PM, et le sens de corrélation est positif ou négatif pour le muscle LT pour les paramètres a^* , R630/580 et MRA (figure 2). Cette enzyme catalyse la dernière étape de la glycolyse. La déphosphorylation du phosphoénolpyruvate en pyruvate et une plus grande abondance de PKM peut refléter une production plus importante de pyruvate. Le pyruvate transporté dans la mitochondrie favorise la régénération du NADH (Ramanathan *et al.*, 2020b).

c. ALDOA, un biomarqueur corrélé négativement avec les paramètres de la couleur dans les muscles bovins de couleur stable

L'enzyme fructose-bisphosphate aldolase A (ALDOA) était négativement corrélée avec a^* et MRA pour les muscles LT, SM et ST (figure 2). Pendant la glycolyse, l'aldolase catalyse la conversion du fructose 1,6-diphosphate en G-3-P. Des niveaux plus élevés d'aldolase indiquent une proportion élevée de fibres à contraction rapide, qui ont un métabolisme oxydatif faible et

un métabolisme glycolytique élevé. Malgré que les fibres glycolytiques contiennent significativement moins de myoglobine, quelle que soit sa forme, une faible consommation d'oxygène peut conduire à une formation plus importante d'OxyMb, c'est-à-dire une viande plus rouge contenant relativement peu de MetMb. En plus, l'aldolase peut directement influencer la couleur en stimulant la glycolyse par la voie de signalisation phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/Akt (Hu *et al.*, 2016). La relocalisation de l'aldolase en réponse à la signalisation PI3K nécessite une action coordonnée entre la dynamique du cytosquelette et la glycolyse. Selon Hu *et al.*, (2016), certaines enzymes glycolytiques sont associées au cytosquelette, qui sont vraisemblablement libérées lorsque la dynamique de dégradation de l'actine augmente pendant l'apoptose (Ouali *et al.*, 2013), et la modification du flux glycolytique semble être principalement médiée par la mobilisation de l'aldolase. Ceci est en accord avec les travaux de Hughes *et al.*, (2020) montrant que l'aldolase peut influencer la diffusion de la lumière des fibres musculaires. En association avec d'autres enzymes métaboliques, l'aldolase contribue à la création de liens transversaux entre les filaments d'actine adjacents ou à la liaison de la tropoline aux filaments fins, ce qui affecte la distance entre les myofibrilles et donc la diffusion de la lumière (Hughes *et al.*, 2020).

d. CKM, un biomarqueur corrélé positivement avec les paramètres de la couleur dans les muscles bovins de couleur stable

La CKM était corrélée positivement avec (a^* , R630/580 et MRA) dans les muscles LT (a^* et MRA) et SM (R630/580 et MRA) de 3 études (figure 2). Cette enzyme a été identifiée comme un biomarqueur de plusieurs paramètres de la qualité de la viande (Picard *et al.*, 2017) dont la tendreté (Gagaoua *et al.*, 2021a) et la viande DFD (Gagaoua *et al.*, 2021d). Dans les muscles striés, la CKM est associée au transfert d'un groupe phosphate de phosphocréatine à l'ADP pour générer l'ATP. Pendant les premières heures *post-mortem*, la CKM permet le maintien de la régénération de

l'ATP (Robergs *et al.*, 2004), et a donc une influence sur la vitesse de diminution du pH. Pendant la maturation de la viande, la CKM est progressivement fragmentée (Gagaoua *et al.*, 2021b) et devient inactive (Bjarnadottir *et al.*, 2010). Cette fragmentation peut influencer le turnover de l'ATP, expliquant son association à la variabilité des qualités de la viande. En outre, la créatine a aussi des propriétés antioxydantes (Sestili *et al.*, 2011), et pourrait réduire l'oxydation de la Mb.

e. MDH1, un biomarqueur corrélé avec les paramètres de la couleur dans les muscles bovins de couleur stable

La malate déshydrogénase 1 (MDH1) était corrélée dans 4 études avec plusieurs paramètres de couleur et dans les muscles LT (L^* , a^* , b^* , C^* et MRA) et ST (MRA) (figure 2). Cette enzyme joue un rôle dans la navette malate-aspartate opérant entre le cytosol et la mitochondrie. Elle utilise également la réduction du NAD⁺ en NADH pour catalyser de manière réversible l'oxydation du malate en oxaloacétate, lors de la dernière étape du cycle de Krebs. Le NADH généré peut être utilisé dans la chaîne de transport d'électrons pour produire l'ATP (Ouali *et al.*, 2013). Ainsi, la variation de l'activité et la teneur en MDH1 peut révéler des différences dans la capacité de la phosphorylation oxydative du muscle et donc de la couleur.

■ 4.2. Biomarqueurs de la famille des protéines de réponse au stress

La deuxième famille de biomarqueurs la plus importante identifiée dans cette méta-analyse comme étant impliquée dans la variation de la couleur de la viande bovine est celle regroupant les protéines chaperonnes appelées aussi protéines de choc thermique (HSP, « Heat Shock Protein ») (figures 2 et 5). Extrêmement conservées au sein de toutes les espèces, ces protéines jouent un rôle important dans le repliement et le dépliage des protéines nouvellement synthétisées, l'assemblage protéique, le contrôle et la signalisation cellulaire ainsi que dans la protection des cellules contre le stress et/ou l'apoptose (Lomiwes *et al.*, 2014). Dans le cas du

muscle « *post-mortem* », les cellules stimulent la production de cette superfamille de protéines pour faire face aux conditions de stress cellulaire afin de protéger les organites et structures intracellulaires des risques associés à la perte de fonction (Lomiwes *et al.*, 2014). La surexpression des protéines HSP aurait un rôle anti-apoptotique (Ouali *et al.*, 2013). En effet, elles sont capables de former un complexe avec les caspases ainsi qu'avec d'autres protéases musculaires pour les inhiber (Arrigo *et al.*, 2002 ; Lomiwes *et al.*, 2014). En raison de leurs propriétés anti-apoptotiques, l'hypothèse de l'implication des HSPs dans la transformation du muscle en viande a été proposée et plusieurs études protéomiques ont permis d'identifier plusieurs membres dont l'abondance varie au cours de la période *post-mortem* et selon les propriétés de qualité de la viande. Trois petites HSP (HSPB1, HSPB6 et CRYAB), une co-chaperone (DNAJA1) et 3 HSPs de 70 kDa (HSPA8, HSPA9 et HSPA2) ont été identifiées comme les principaux biomarqueurs de la couleur de la viande bovine (figures 2 et 5).

a. HSP27, la chaperonne la plus souvent identifiée à jouer un rôle dans la variation de la couleur de la viande bovine

La HSP27 (HSPB1) est la seule petite HSP corrélée aux paramètres de la couleur (L^* , a^* , b^* , C^* et R630/580) dans les muscles LT et RA de 6 études (figure 2). Les corrélations indépendamment du paramètre étaient positives dans le muscle RA (L^*) et dans différentes directions dans le muscle LT en fonction du paramètre de couleur (L^* , a^* , b^* , C^* et R630/580) et du type d'animal/race considérés (Gagaoua *et al.*, 2020). Il est important de noter que l'HSP27 a été la seconde protéine identifiée comme biomarqueur robuste de la tendreté de la viande bovine (Gagaoua *et al.*, 2021a). Les relations positives et négatives observées dans le muscle LT peuvent être dues aux raisons abordées précédemment ainsi qu'à des différences dans le niveau de stress de l'animal avant l'abattage et/ou au type de l'isoforme impliqué (Chaze *et al.*, 2013 ; Ouali *et al.*, 2013 ; Picard et Gagaoua 2020a ; Gagaoua *et al.*, 2021a ; Terlouw *et al.*,

2021). Dans le muscle, l'HSP27 ainsi que les deux autres petites HSP (HSPB6 et CRYAB) protègent contre l'ischémie, le stress et les dysfonctionnements métaboliques (Lomiwes *et al.*, 2014). Ces protéines ont la capacité d'interagir avec les myofibrilles (Lomiwes *et al.*, 2014) comme il a été mis en évidence dans l'interactome de la **figure 5**, protégeant ainsi le muscle squelettique par le biais de complexes protéiques structurels. Par exemple, des niveaux élevés de CRYAB sont associés, en fonction des types de fibres, à une dégradation lente des protéines myofibrillaires pendant la maturation (Lomiwes *et al.*, 2014). Leur rôle dans la protection contre la dénaturation des protéines musculaires induite par le stress peut expliquer en partie leur relation avec la couleur de la viande. Plus particulièrement, la prévention de la dénaturation des protéines sarcoplasmiques y compris la myosine, peut affecter la réflectance, la diffusion de la lumière et la Mb, ce qui peut impacter les coordonnées chromatiques (Hughes *et al.*, 2020 ; Purslow *et al.*, 2020). D'autres effets peuvent être liés à leur capacité à influencer le statut redox de la cellule. Par exemple, une augmentation de la teneur en protéines de stress est associée à une diminution du niveau de stress oxydatif des cellules (Jammes *et al.*, 2009).

b. Corrélation négative des protéines de stress avec la luminance (L^*) dans le muscle LT

Les 7 HSPs mentionnées précédemment (**figure 2**) sont toutes corrélées avec les paramètres L^* , a^* et b^* dans le muscle LT (**figure 4B**) et toutes les corrélations avec la luminance (L^*) étaient négatives. Cependant, les corrélations étaient de sens opposés pour a^* (négatives pour HSPB1 et HSPB6, positives pour CRYAB, DNAJA1 et HSPA9, et de sens opposés pour HSPA8 et HSPA2) et b^* (directions différentes à l'exception de HSPB6 qui était toujours positive). Les corrélations systématiquement négatives entre les HSPs et la luminance (L^*) dans le muscle LT s'expliquent en partie par leur forte expression dans ce muscle (Gagaoua *et al.*, 2015a ; Gagaoua *et al.*, 2017a). Comme indiqué précédemment, leur relation avec L^* peut s'expliquer par leur action protectrice

sur les protéines de structure, y compris pendant le phénomène d'apoptose (Ouali *et al.*, 2013). Nous pensons donc que si les protéines de structure sont mieux préservées, la luminance aura tendance à diminuer. Les protéines de stress semblent donc jouer un rôle majeur dans le développement de la couleur, au moins par leur action protectrice contre la dénaturation des protéines, affectant ainsi la réflectance, l'aspect visuel et la diffusion de la lumière (Purslow *et al.*, 2021).

4.3. Les protéines contractiles et de structure comme biomarqueurs de la couleur bovine

Dix protéines contractiles et de structure sont corrélées avec les paramètres de couleur, dont 6 ont été rapportées dans au moins 3 études (**figure 2**). La plupart de ces protéines sont constitutives des filaments fins (α -actine : ACTA1) ou épais du sarcomère par les isoformes de chaînes lourdes (MYH1, MYH2, MYH7) ou légère (MLC1) de la myosine ou des protéines de liaison à la myosine (MYBPH) (**figure 5**). La dégradation protéolytique des chaînes lourdes et légères de myosine, des protéines de liaison et de l'actine joue un rôle central dans la transformation du muscle en viande (Huff-Lonergan *et al.*, 2010 ; Gagaoua *et al.*, 2021b). Au cours de la protéolyse et la maturation de la viande, les protéines myofibrillaires sont dégradées par les systèmes protéolytiques endogènes au muscle, notamment la μ -calpaïne, les cathepsines et les caspases (Ouali *et al.*, 2013 ; Gagaoua *et al.*, 2021b). En effet, les changements dans la structure du muscle influencent non seulement la texture de la viande, mais aussi les aspects de la couleur, en partie en raison des effets sur la diffusion de la lumière découlant des éléments structurels (Purslow *et al.*, 2021). L'ampleur de la dénaturation et de la dégradation des protéines myofibrillaires au cours de la période *post-mortem* est influencée par la température, ainsi que par la vitesse et l'amplitude de la diminution du pH, et tous peuvent affecter la densité des protéines le long du sarcomère. Par exemple, la dégradation de

la myosine influence l'espacement du réseau des myofilaments et le rétrécissement des fibres musculaires, ce qui a également un impact sur la diffusion de la lumière (Purslow *et al.*, 2020), notamment dans le cas des viandes à coupe sombre (Gagaoua *et al.*, 2021d).

La corrélation entre les 3 isoformes de chaîne lourde de myosine et les paramètres de couleur peut également refléter le rôle des enzymes métaboliques (Picard et Gagaoua, 2020b). En effet, les variations dans leur abondance et celles des enzymes glycolytiques et de la protéolyse sont fortement interconnectées (**figure 5**). Par exemple, les fibres rouges, à contraction lente, possèdent plus de mitochondries, plus de systèmes enzymatiques permettant la consommation d'oxygène et de chaîne de transport d'électrons situés dans les. Les proportions des types de fibres musculaires diffèrent aussi selon les muscles et les races (Picard et Gagaoua, 2020b), ce qui peut expliquer les différentes directions trouvées pour les corrélations. De plus, les différents types de fibres contiennent des quantités différentes d'autres molécules autres que la Mb, comme le glycogène et les lipides, qui peuvent également influencer la stabilité de la couleur de la viande (Suman et Joseph, 2013 ; Ramanathan *et al.*, 2020a). Par ailleurs, la quantité d'eau libre et les modifications structurales provoquées par les processus protéolytiques qui s'installent notamment après l'apoptose, peuvent influencer les propriétés de réflexion et de diffusion de la lumière de la viande (Hughes *et al.*, 2020 ; Purslow *et al.*, 2020 ; Purslow *et al.*, 2021). Ainsi, la relation complexe entre les protéines myofibrillaires et la couleur s'explique par les nombreuses relations directes : ampleur de la dégradation myofibrillaire ; et indirectes : variabilité dans les propriétés des différents types de fibres et du degré d'interaction avec d'autres voies métaboliques (**figure 5**).

■ 4.4. Biomarqueurs appartenant à la voie du stress oxydatif et détoxification

Durant la transformation du muscle en viande, le muscle (un grand consommateur d'oxygène) est soumis

à diverses espèces oxygénées réactives qui peuvent affecter à la fois la fraction lipidique et la fraction protéique (Domínguez *et al.*, 2019). Ainsi, le muscle *post-mortem* est sujet au stress oxydatif causant la production par exemple du 4-hydroxynonéal (4-HNE). Le 4-HNE est un aldéhyde fortement réactif issu de la peroxydation des lipides. Celle-ci est initiée par l'attaque des radicaux oxygénés libres (ROS, *reactive oxygen species*) sur des acides gras polyinsaturés présents dans la membrane ou le microenvironnement cellulaire et induit la formation des aldéhydes dont le 4-HNE. La réactivité du 4-HNE est responsable de sa capacité à former des adduits avec tout type de macromolécules : ADN, lipides et surtout les protéines (Dalleau *et al.*, 2013). De nombreuses protéines musculaires peuvent être des cibles potentielles de ce puissant aldéhyde, par exemple la Mb, les protéines de structure et les enzymes glycolytiques (Suman et Joseph, 2013), ce qui peut considérablement affecter la stabilité de la couleur (Ramanathan *et al.*, 2020b). Plusieurs agents protecteurs et piègeurs endogènes protègent la cellule contre le stress oxydant et jouent un rôle pivot dans la variation de la couleur de la viande. Cette méta-analyse a identifié les peroxyredoxines (PRDX1, 2, 3 et 6), la superoxyde dismutase (SOD1), la DJ-1 (codée par le gène *PARK7*) et le système thiorédoxine, comme étant des déterminants majeurs de la couleur de la viande bovine, en particulier de sa stabilité. Leur rôle est principalement lié à leur capacité à piéger les ROS et à réduire les protéines oxydées par le biais de leur site actif ou du système glutathion.

a. Les peroxyredoxines sont des biomarqueurs de la couleur de la viande

Les peroxyredoxines (PRDX) sont des peroxydases capables de dégrader non seulement le peroxyde d'hydrogène, mais aussi les peroxydes organiques, grâce à leur résidu cystéinyl (Fisher, 2017). Elles constituent une famille d'enzymes ubiquitaires contrôlant le taux de peroxydes induit par les cytokines et interviennent de ce fait dans les mécanismes de transduction du signal dans les cellules de

mammifères (Fisher, 2017). Leur activité peut être régulée par phosphorylation, changement d'état d'oxydoréduction et également par oligomérisation. On distingue les PRDX 1-Cys et les PRDX 2-Cys. Elles partagent le même mécanisme catalytique de base, dans lequel un résidu de cystéine du site actif est oxydé en acide sulfénique – SOH par le peroxyde agissant comme substrat (Claiborne *et al.*, 1999). La distinction entre les deux, repose sur la façon dont l'acide sulfénique est réduit en thiol – SH pour redonner le résidu de cystéine. Les enzymes 1-Cys peuvent être réduites en présence d'acide ascorbique ou de glutathion S-transférase, tandis que les PRDX 2-Cys le sont par des composés riches en thiols tel que le glutathion.

La PRDX6 appartient à la seconde classe, sa particularité est de posséder trois activités enzymatiques : peroxydase, phospholipase A2 (PLA2) et acyltransférase (Fisher 2017). Identifié dans 7 études et 4 muscles, la PRDX6 constitue le deuxième biomarqueur le plus pertinent de la couleur de la viande bovine dans cette méta-analyse (figure 2). L'hypothèse émise est que la PLA2 de PRDX6 est activée en cas de stress cellulaire (Gong *et al.*, 2006). La relation positive entre les PRDX et l'indice de rouge, révélée par les corrélations positives entre PRDX6, PRDX1, PRDX2 et PRDX3 et les valeurs de a^* du muscle LT, peut être liée à différentes fonctions des peroxyredoxines. D'une part, elles peuvent agir comme antioxydants, protégeant l'OxyMb des attaques des peroxydes. La limitation du stress oxydant limiterait également l'oxydation des lipides, et par conséquent l'oxydation de la Mb (Suman et Joseph, 2013). Enfin, la PRDX6 peut contrer les processus sous-jacents à la décoloration de la viande en entrant en compétition avec la Mb pour l'oxygène ou les produits des réactions de stress oxydatif. PRDX6 est en outre impliqué dans divers processus cellulaires, notamment le métabolisme énergétique (figure 5), l'apoptose et le vieillissement cellulaire (Fisher, 2017). PRDX6 a été proposé dans une autre étude intégrative comme un biomarqueur potentiel de la tendreté de la viande bovine (Gagaoua *et al.*, 2021a).

b. SOD1, un biomarqueur corrélé avec les paramètres de couleur indépendamment du muscle

La superoxyde dismutase (SOD1) était corrélée dans 5 études et 2 muscles avec les paramètres de la couleur (figure 2). Les corrélations étaient positives pour le muscle PM (a^* et MRA) et dans le sens opposé pour les paramètres a^* et b^* du muscle LT. SOD1 est un membre d'une famille ubiquitaire de métalloenzymes antioxydantes qui permettent la décomposition rapide de l' O_2^- à l' O_2 puis à l' H_2O_2 et l'élimination de l'excès en radicaux oxygénés libres (ROS), prévenant ainsi les dommages causés par les radicaux libres dans les cellules (Domínguez *et al.*, 2019). Cette enzyme endogène au muscle agit donc pour réduire le radical superoxyde actif à un état plus stable. Ainsi, l'élimination de l'anion superoxyde et les espèces réactives de l'oxygène en excès par SOD1, pourrait protéger la stabilité des formes redox de la myoglobine (Wu *et al.*, 2016).

c. DJ-1, un biomarqueur corrélé négativement avec la couleur de la viande bovine dans les muscles à couleur stable

La protéine DJ-1 (également appelée PARK7), une autre protéine sécrétée en réponse au stress oxydatif était corrélée négativement avec a^* , MRA et C^* dans les muscles LT et PM de 3 études, indépendamment du type d'animal ou de la race (figure 2). DJ-1 est décrite comme un oncogène responsable de l'apparition précoce de la maladie de Parkinson (Bonifati *et al.*, 2003), mais elle est également une protéine antioxydante qui a la capacité d'être oxydée et transloquée à la mitochondrie en réponse à un stress oxydatif. Elle possède ainsi un rôle anti-apoptotique et protecteur contre la toxicité cellulaire en réponse au stress oxydant en limitant la fragmentation mitochondriale. Comme indiqué précédemment, en raison de leur rôle dans la consommation d'oxygène et de leur capacité de réduction, les mitochondries jouent un rôle majeur dans la couleur de la viande (Ramanathan *et al.*, 2020a ; Ramanathan *et al.*, 2020b). DJ-1 semble donc jouer un rôle dans la couleur de la viande *via* la protection des mitochondries, probablement

en interagissant avec d'autres voies, notamment les protéines de réponses au stress et le métabolisme énergétique (figure 5).

Conclusion

Cette synthèse intégrative des études protéomiques sur la couleur de la viande bovine a passé en revue les différentes voies biologiques impliquées dans la variation de la couleur de la viande bovine. Elle a ainsi confirmé le rôle de plusieurs protéines et voies biochimiques dont on savait auparavant qu'elles étaient impliquées dans le déterminisme de la couleur de la viande, notamment le métabolisme énergétique, les protéines myofibrillaires et de structure, la protéolyse, les protéines de réponse au stress (chaperonnes), le stress oxydatif et l'apoptose. Le métabolisme énergétique, en particulier la glycolyse et d'autres mécanismes associés sont les voies fonctionnelles prédominantes dans cette étude intégrative des données protéomiques. Ceci reflète les connaissances existantes sur le rôle central du métabolisme énergétique dans le déterminisme de la couleur de la viande, ainsi que son rôle dans d'autres caractéristiques de qualité telles que la tendreté et le pH.

La nouveauté de cette méta-analyse est l'accent mis sur le stress oxy-

dant, l'oxydoréduction cellulaire et les protéines de structure, ainsi que sur les interactions entre ces différentes signatures moléculaires comme illustré par l'analyse de l'interactomique. Alors que le mécanisme prédominant des changements de couleur dans le muscle *post-mortem* de la viande bovine repose sur des modifications dans la distribution de l'oxygène dans le tissu et les différents états redox de la Mb, l'importance des voies atténuant le stress oxydatif et l'homéostasie redox a été mise en évidence dans cette étude intégrative. L'interaction des voies du métabolisme énergétique et l'intégrité des protéines contractiles sont également liées aux mécanismes structurels de la diffusion de la lumière entre les myofilaments. Les changements induits par le pH dans l'espacement du réseau des myofilaments et le dépôt de certaines protéines sarcoplasmiques dénaturées, comme l'énolase (ENO3), sur les myofilaments dans certaines conditions de pH et de température *post-mortem* sont deux mécanismes majeurs impliqués dans la diffusion de la lumière et qui méritent d'être explorées avec des méthodes appropriées.

En perspectives, l'utilisation combinée de la métabolomique comme nouvel outil -omique peut permettre d'autres avancées et un meilleur ciblage/identification de biomarqueurs prédictifs des différentes voies du méta-

bolisme énergétique, qui sont liées à la couleur et permettraient une compréhension plus approfondie des mécanismes sous-jacents. L'identification de ces biomarqueurs ouvrirait la voie, à long terme, à des interventions *pré-* et *post-mortem* susceptibles d'améliorer l'aspect visuel de la viande sans impacter ses autres qualités. De plus, cette étude intégrative a montré qu'en combinant et en comparant les résultats de plusieurs études protéomiques, il est possible de mieux comprendre les modifications et interactions entre protéines pour proposer une liste de biomarqueurs pertinents pour une validation en utilisant des méthodes ciblées.

Remerciements

Cette synthèse a été conduite dans le cadre de la bourse individuelle CareerFIT (MF20180029) de Dr. Mohammed Gagaoua octroyée par les actions Marie Skłodowska-Curie agrément No. 713654. Cette synthèse a été rendue possible en partie grâce au soutien financier du programme « Ulysses Irlande-France » de recherche collaborative Irish Research Council 2020 Ulysses Programme project et Campus France PHC Ulysses 2020 n° 45382WG « *Proteomics based tools to assess and improve beef quality and characterize fifth quarter products* ».

Références

- Abraham A., Dillwith J.W., Mafi G.G., VanOverbeke D.L., Ramanathan R., 2017. Metabolite Profile Differences between Beef Longissimus and Psoas Muscles during Display. *Meat Muscle Biol.*, 1, 18-27. <https://doi.org/10.22175/mmb2016.12.0007>
- Arrigo A.P., Paul C., Ducasse C., Manero F., Kretz-Remy C., Virost S., Javouhey E., Mounier N., Diaz-Latoud C., 2002. Small Stress Proteins: Novel Negative Modulators of Apoptosis Induced Independently of Reactive Oxygen Species. In: *Small Stress Proteins*. Arrigo A.P., Müller W.E.G. (Eds), 185-204. Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-56348-5_10
- Bendixen E., 2013. Understanding the Proteome. In: *Proteomics in Foods*. Toldrá F., Nolle L.M.L. (Eds). 3-19. Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5626-1_1
- Berri C., Picard B., Lebret B., Andueza D., Lefevre F., Le Bihan-Duval E., Beauclercq S., Chartrin P., Vautier A., Legrand I., Hocquette J.F., 2019. Predicting the Quality of Meat: Myth or Reality? *Foods* 8, 436. <https://doi.org/10.3390/foods8100436>
- Bjarnadottir S.G., Hollung K., Faergestad E.M., Veiseth-Kent E., 2010. Proteome changes in bovine longissimus thoracis muscle during the first 48 h postmortem: shifts in energy status and myofibrillar stability. *J. Agric. Food Chem.* 58, 7408-7414. <https://doi.org/10.1021/jf100697h>
- Bonifati V., Rizzo P., Squitieri F., Krieger E., Vanacore N., van Swieten J.C., Brice A., van Duijn C.M., Oostra B., Meco G., Heutink P., 2003. DJ-1 (PARK7), a novel gene for autosomal recessive, early onset parkinsonism. *Neuro. Sci.*, 24, 159-160. <https://doi.org/10.1007/s10072-003-0108-0>
- Bouley J., Chambon C., Picard B., 2004. Mapping of bovine skeletal muscle proteins using two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics*, 4, 1811-1824. <https://doi.org/10.1002/pmic.200300688>
- Canto A.C., Suman S.P., Nair M.N., Li S., Rentfrow G., Beach C.M., Silva T.J., Wheeler T.L., Shackelford S.D., Grayson A., McKeith R.O., King D.A., 2015. Differential abundance of sarcoplasmic proteome explains animal effect on beef longissimus lumborum color stability. *Meat Sci.*, 102, 90-98. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.11.011>
- Catherman A.D., Skinner O.S., Kelleher N.L., 2014. Top Down proteomics: Facts and perspectives. *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 445, 683-693. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.02.041>
- Chaze T., Hocquette J.F., Meunier B., Renand G., Jurie C., Chambon C., Journaux L., Rousset L., Denoyelle C., Lepetit J., Picard B., 2013. Biological markers for meat tenderness of the three main french beef breeds using 2-DE and MS approach. In: *Proteomics in Foods*. Toldrá F., Nolle L.M.L. (Eds). 127-146, Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5626-1_8

- Claiborne A., Yeh J.I., Mallett T.C., Luba J., Crane E.J., 3rd, Charrier V., Parsonage D., 1999. Protein-sulfenic acids: diverse roles for an unlikely player in enzyme catalysis and redox regulation. *Biochem.*, 38, 15407-15416. <https://doi.org/10.1021/bi992025k>
- Dalleau S., Baradat M., Guéraud F., Huc L., 2013. Cell death and diseases related to oxidative stress: 4-hydroxynonenal (HNE) in the balance. *Cell Death Differ.*, 20, 1615-1630. <https://doi.org/10.1038/cdd.2013.138>
- Didiasova M., Schaefer L., Wygrecka M., 2019. When Place Matters: Shuttling of Enolase-1 Across Cellular Compartments. *Front Cell Dev. Biol.*, 7, 61. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00061>
- Domínguez R., Pateiro M., Gagaoua M., Barba F.J., Zhang W., Lorenzo J.M., 2019. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8, 429. <https://doi.org/10.3390/antiox8100429>
- Fisher A.B., 2017. Peroxiredoxin 6 in the repair of peroxidized cell membranes and cell signaling. *Archives Biochem. Biophys.*, 617, 68-83. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.12.003>
- Gagaoua M., Picard B., 2020. Current Advances in Meat Nutritional, Sensory and Physical Quality Improvement. *Foods*, 9, 321. <https://doi.org/10.3390/foods9030321>
- Gagaoua M., Terlouw E.M., Boudjellal A., Picard B., 2015a. Coherent correlation networks among protein biomarkers of beef tenderness: What they reveal. *J. Proteomics*, 128, 365-374. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.08.022>
- Gagaoua M., Terlouw E.M., Micol D., Boudjellal A., Hocquette J.F., Picard B., 2015b. Understanding early post-mortem biochemical processes underlying meat color and pH decline in the longissimus thoracis muscle of young blond d'Aquitaine bulls using protein biomarkers. *J. Agric. Food Chem.* 63, 6799-6809. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02615>
- Gagaoua M., Couvreur S., Le Bec G., Aminot G., Picard B., 2017a. Associations among Protein Biomarkers and pH and Color Traits in Longissimus thoracis and Rectus abdominis Muscles in Protected Designation of Origin Maine-Anjou Cull Cows. *J. Agric. Food Chem.*, 65, 3569-3580.
- Gagaoua M., Monteils V., Couvreur S., Picard B., 2017b. Identification of Biomarkers Associated with the Rearing Practices, Carcass Characteristics, and Beef Quality: An Integrative Approach. *J. Agricult. Food Chem.*, 65, 8264-8278. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03239>
- Gagaoua M., Terlouw E.M.C., Picard B., 2017c. The study of protein biomarkers to understand the biochemical processes underlying beef color development in young bulls. *Meat Sci.*, 134, 18-27. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.07.014>
- Gagaoua M., Bonnet M., De Koning L., Picard B., 2018. Reverse Phase Protein array for the quantification and validation of protein biomarkers of beef qualities: The case of meat color from Charolais breed. *Meat Sci.* 145, 308-319. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.039>
- Gagaoua M., Hughes J., Terlouw E.M.C., Warner R.D., Purslow P.P., Lorenzo J.M., Picard B., 2020. Proteomic biomarkers of beef colour. *Trends Food Sci. Technol.*, 101, 234-252. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.005>
- Gagaoua M., Terlouw E.M.C., Mullen A.M., Franco D., Warner R.D., Lorenzo J.M., Purslow P.P., Gerrard D., Hopkins D.L., Troy D., Picard B., 2021a. Molecular signatures of beef tenderness: Underlying mechanisms based on integromics of protein biomarkers from multi-platform proteomics studies. *Meat Sci.*, 172, 108311. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108311>
- Gagaoua M., Troy D., Mullen A.M., 2021b. The extent and rate of the appearance of the major 110 and 30 kDa proteolytic fragments during post-mortem aging of beef depend on the glycolysis rate of the muscle and aging time: An LC-MS/MS Approach to Decipher Their Proteome and Associated Pathways. *J. Agric. Food Chem.*, 69, 602-614. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c06485>
- Gagaoua M., Warner R.D., Purslow P., Ramanathan R., Mullen A.M., López-Pedrouso M., Franco D., Lorenzo J.M., Tomasevic I., Picard B., Troy D., Terlouw E.M.C., 2021c. Dark-cutting beef: A brief review and an integromics meta-analysis at the proteome level to decipher the underlying pathways. *Meat Sci.*, 181, 108611. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108611>
- Gagaoua M., Warner R.D., Ramanathan R., Purslow P., Mullen A.M., López-Pedrouso M., Franco D., Lorenzo J.M., Tomasevic I., Picard B., Troy D., Terlouw E.M.C., 2021d. Dark-cutting beef: a brief review and an integromics meta-analysis at the proteome level to decipher the underlying pathways. *Meat Sci.*, In press. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108611>
- Gong M.C., Arbogast S., Guo Z., Mathenia J., Su W., Reid M.B., 2006. Calcium-independent phospholipase A2 modulates cytosolic oxidant activity and contractile function in murine skeletal muscle cells. *J. Appl. Physiol.*, 100, 399-405. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00873.2005>
- Horvatovich P., Franke L., Bischoff R., 2014. Proteomic studies related to genetic determinants of variability in protein concentrations. *J. Proteome Res.*, 13, 5-14. <https://doi.org/10.1021/pr400765y>
- Hu H., Juvekar A., Lyssiotis Costas A., Lien Evan C., Albeck John G., Oh D., Varma G., Hung Yin P., Ullas S., Luring J., Seth P., Lundquist Mark R., Tolan Dean R., Grant Aaron K., Needleman Daniel J., Asara John M., Cantley Lewis C., Wulf Gerburg M., 2016. Phosphoinositide 3-Kinase Regulates Glycolysis through Mobilization of Aldolase from the Actin Cytoskeleton. *Cell*, 164, 433-446. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.12.042>
- Huff-Lonergan E., Zhang W., Lonergan S.M., 2010. Biochemistry of postmortem muscle – lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Sci.*, 86, 184-195. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.004>
- Hughes J., Clarke F.M., Purslow P., Warner R.D., 2020. Meat color is determined not only by chromatic heme pigments but also by the physical structure and achromatic light scattering properties of the muscle. *Compreh.Rev. Food Sci. Food Safety*, 19, 44-63. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12509>
- Jammes Y., Steinberg J.G., Delliaux S., Bregéon F., 2009. Chronic fatigue syndrome combines increased exercise-induced oxidative stress and reduced cytokine and Hsp responses. *J. Int. Med.*, 266, 196-206. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2009.02079.x>
- Jia X., Hildrum K.I., Westad F., Kummen E., Aass L., Hollung K., 2006. Changes in enzymes associated with energy metabolism during the early post mortem period in longissimus thoracis bovine muscle analyzed by proteomics. *J. Proteome Res.*, 5, 1763-1769. <https://doi.org/10.1021/pr060119s>
- Joseph P., Suman S.P., Rentfrow G., Li S., Beach C.M., 2012. Proteomics of muscle-specific beef color stability. *J. Agric. Food Chem.*, 60, 3196-3203. <https://doi.org/10.1021/jf204188v>
- Kim N.K., Cho S., Lee S.H., Park H.R., Lee C.S., Cho Y.M., Choy Y.H., Yoon D., Im S.K., Park E.W., 2008. Proteins in longissimus muscle of Korean native cattle and their relationship to meat quality. *Meat Sci.*, 80, 1068-1073. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.04.027>
- Lomiwes D., Farouk M.M., Wiklund E., Young O.A., 2014. Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: a review. *Meat Sci.*, 96, 26-40. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.06.008>
- Mancini R.A., Hunt M.C., 2005. Current research in meat color. *Meat Sci.*, 71, 100-121. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.003>
- Monin G., 1991. Facteurs biologiques des qualités de la viande bovine. *INRAE Productions Animales* 4, 151-160. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.1991.4.2.4327>
- Munekata P.E.S., Pateiro M., López-Pedrouso M., Gagaoua M., Lorenzo J.M., 2021. Foodomics in meat quality. *Current Opinion Food Sci.*, 38, 79-85. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.003>
- Nair M.N., Suman S.P., Chatli M.K., Li S., Joseph P., Beach C.M., Rentfrow G., 2016. Proteome basis for intramuscular variation in color stability of beef semimembranosus. *Meat Sci* 113, 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.11.003>
- Nair M.N., Costa-Lima B.R.C., Wes Schilling M., Suman S.P., 2017. Proteomics of Color in Fresh Muscle Foods A2 – Colgrave, Michelle L. In: *Proteomics in Food Science* pp. 163-75. Academic Press. Chapter 10 – <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804007-2.00010-2>
- Nair M.N., Li S., Beach C., Rentfrow G., Suman S.P., 2018. Intramuscular variations in color and sarcoplasmic proteome of beef semimembranosus during post-mortem aging. *Meat Muscle Biol.*, 2, 92-101. <https://doi.org/10.22175/mmb2017.11.0055>
- Offer G., Knight P., Jeacocke R., Almond R., Cousins T., Eley J., Parsons N., Sharp A., Starr R., Purslow P., 1989. The structural basis of the water-holding, appearance and toughness of meat and meat products. *Food microstructure* (USA).

- Ohlendieck K., 2011. Skeletal muscle proteomics: current approaches, technical challenges and emerging techniques. *Skeletal Muscle*, 1, 6. <https://doi.org/10.1186/2044-5040-1-6>
- Quali A., Gagaoua M., Boudida Y., Becila S., Boudjellal A., Herrera-Mendez C.H., Sentandreu M.A., 2013. Biomarkers of meat tenderness: present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanisms involved. *Meat Sci.*, 95, 854-870. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.010>
- Picard B., Gagaoua M., 2020a. Meta-proteomics for the discovery of protein biomarkers of beef tenderness: An overview of integrated studies. *Food Res. Int.*, 127, 108739. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108739>
- Picard B., Gagaoua M., 2020b. Muscle Fiber Properties in Cattle and Their Relationships with Meat Qualities: An Overview. *J. Agric. Food Chem.*, 68, 6021-6039. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02086>
- Picard B., Gagaoua M. et Hollung K., 2017. Gene and Protein Expression as a Tool to Explain/Predict Meat (and Fish) Quality In: *New Aspects of Meat Quality: From Genes to Ethics* (ed. by P. Purslow), pp. 321-54. Woodhead Publishing, United Kingdom. Chapter 12 – <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100593-4.00013-8>
- Picard B., Gagaoua M., Al Jammal M., Bonnet M., 2019. Beef tenderness and intramuscular fat proteomic biomarkers: Effect of gender and rearing practices. *J. Proteomics*, 200, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.03.010>
- Ponnampalam E.N., Hopkins D.L., Bruce H., Li D., Baldi G., Bekhit A.E.-d., 2017. Causes and Contributing Factors to "Dark Cutting" Meat: Current Trends and Future Directions: A Review. *Compreh. Rev. Food Sci. Food Safety* 16, 400-430. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12258>
- Purslow P.P., Warner R.D., Clarke F.M., Hughes J.M., 2020. Variations in meat colour due to factors other than myoglobin chemistry; a synthesis of recent findings (invited review). *Meat Sci.*, 159, 107941. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107941>
- Purslow P.P., Gagaoua M., Warner R.D., 2021. Insights on meat quality from combining traditional studies and proteomics. *Meat Sci.* 174, 108423. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108423>
- Ramanathan R., Hunt M.C., Mancini R.A., Nair M.N., Denzer M.L., Suman S.P., Mafi G.G., 2020a. Recent updates in meat color research: Integrating traditional and high-throughput approaches. *Meat Muscle Biol.*, 4. <https://doi.org/10.22175/mmb.9598>
- Ramanathan R., Suman S.P., Faustman C., 2020b. Biomolecular Interactions Governing Fresh Meat Color in Post-mortem Skeletal Muscle: A Review. *J. Agricult. Food Chem.*, 68, 12779-12787. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b08098>
- Renerre M., 1990. Factors involved in the discoloration of beef meat. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 25, 613-630. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb01123.x>
- Robergs R.A., Ghiasvand F., Parker D., 2004. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 287, R502-516. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00114.2004>
- Sedoris K.C., Thomas S.D., Miller D.M., 2010. Hypoxia induces differential translation of enolase/MBP-1. *BMC, Cancer*, 10, 157. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-157>
- Sestili P., Martinelli C., Colombo E., Barbieri E., Potenza L., Sartini S., Fimognari C., 2011 Creatine as an antioxidant. *Amino Acids*, 40, 1385-1396. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0875-5>
- Suman S.P., Joseph P., 2013. Myoglobin chemistry and meat color. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, 4, 79-99. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030212-182623>
- Terlouw E.M.C., Picard B., Deiss V., Berri C., Hocquette J.F., Lebret B., Lefèvre F., Hamill R., Gagaoua M., 2021. Understanding the determination of meat quality using biochemical characteristics of the muscle: stress at slaughter and other missing keys. *Foods*, 10, 84. <https://doi.org/10.3390/foods10010084>
- Wilkins M.R., Pasquali C., Appel R.D., Ou K., Golaz O., Sanchez J.C., Yan J.X., Gooley A.A., Hughes G., Humphery-Smith I., Williams K.L., Hochstrasser D.F., 1996. From Proteins to Proteomes: Large Scale Protein Identification by Two-Dimensional Electrophoresis and Amino Acid Analysis. *Nat. Biotech.*, 14, 61-65. <https://doi.org/10.1038/nbt0196-61>
- Wu W., Gao X.-G., Dai Y., Fu Y., Li X.-M., Dai R.T., 2015. Post-mortem changes in sarcoplasmic proteome and its relationship to meat color traits in M. semitendinosus of Chinese Luxi yellow cattle. *Food Res. Int.*, 72, 98-105. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.03.030>
- Wu W., Yu Q.Q., Fu Y., Tian X.J., Jia F., Li X.M., Dai R.T., 2016. Towards muscle-specific meat color stability of Chinese Luxi yellow cattle: A proteomic insight into post-mortem storage. *J. Proteomics*, 147, 108-118. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.10.027>
- Wulff T., Jokumsen A., Højrup P., Jessen F., 2012. Time-dependent changes in protein expression in rainbow trout muscle following hypoxia. *J. Proteomics*, 75, 2342-2351. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.02.010>
- Yang X., Wu S., Hopkins D.L., Liang R., Zhu L., Zhang Y., Luo X., 2018. Proteomic analysis to investigate color changes of chilled beef longissimus steaks held under carbon monoxide and high oxygen packaging. *Meat Sci.*, 142, 23-31. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.04.001>
- Yu Q., Wu W., Tian X., Hou M., Dai R., Li X., 2017. Unraveling proteome changes of Holstein beef M. semitendinosus and its relationship to meat discoloration during post-mortem storage analyzed by label-free mass spectrometry. *J. Proteomics*, 154, 85-93. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.12.012>
- Yu Q., Tian X., Shao L., Li X., Dai R., 2019. Targeted metabolomics to reveal muscle-specific energy metabolism between bovine longissimus lumborum and psoas major during early postmortem periods. *Meat Sci* 156, 166-173. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.05.029>
- Zhu Y., Gagaoua M., Mullen A.M., Viala D., Rai D.K., Kelly A.L., Sheehan D., Hamill R.M., 2021. Shotgun proteomics for the preliminary identification of biomarkers of beef sensory tenderness, juiciness and chewiness from plasma and muscle of young Limousin-sired bulls. *Meat Sci.*, 176, 108488. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108488>

Résumé

Cette synthèse s'intéresse à l'apport de l'analyse protéomique et à la découverte de biomarqueurs pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à la variabilité et la stabilité de la couleur de la viande bovine. L'analyse intégrative des données protéomiques de la littérature révèle les principales signatures moléculaires et les mécanismes biologiques à l'origine de la couleur de la viande bovine. Une fouille de données des études protéomiques récentes sur la couleur de la viande a permis d'agrégier 79 protéines biomarqueurs potentiels issues de 13 études. Les protéines sont associées à 6 processus biologiques interconnectés : métabolisme énergétique, réponses au stress cellulaire et oxydant, structure, voies de signalisation, protéolyse et apoptose. Avec un seuil d'identification dans au moins 3 études, 27 protéines ont été présélectionnées parmi lesquelles la β -énolase, la peroxiredoxine 6, la protéine de stress HSP27, la phosphoglucomutase 1, la superoxyde dismutase 1 et la μ -calpaïne ont été identifiées par au moins 5 études comme jouant un rôle significatif dans les variations de la couleur de la viande bovine.

Abstract

Contribution of proteomics to discovery of putative biomarkers for the study of beef color

This review, based on data integration, focuses on the potential of proteomics to study beef color variation and protein biomarkers discovery. It discusses the molecular pathways and underlying mechanisms of beef color recently revealed by proteomics studies. The data-mining integromics of normal beef color gathered 79 putative biomarkers from 13 studies. The proteins belong to six interconnected molecular pathways: energy metabolism, responses to heat and oxidative stress, muscle structure, signaling, proteolysis and apoptosis. With a cut-off level ≥ 3 studies that identified a given protein, 27 potential biomarkers were shortlisted as robust from which β -enolase, peroxiredoxin 6, HSP27, phosphoglucomutase 1, superoxide dismutase and μ -calpain were consistently reported (cut-off level ≥ 5) by multiple studies as being differentially expressed and having a significant role in beef color.

GAGAOUA M., TERLOUW C., PICARD B., 2021. Apport de la protéomique à la découverte de biomarqueurs pour l'étude de la couleur de la viande bovine. INRAE Prod. Anim., 34, 227-244.

<https://doi.org/10.20870/productions-animales.2021.34.3.4899>



Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY 4.0).

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.fr>

La citation comme l'utilisation de tout ou partie du contenu de cet article doit obligatoirement mentionner les auteurs, l'année de publication, le titre, le nom de la revue, le volume, les pages et le DOI en respectant les informations figurant ci-dessus.

