

- [6] 穆豪放,张盾,殷才湧,等. 北方汉族 21 个常染色体 STR 基因座和 1 个 Y 染色体 STR 基因座的群体遗传学调查[J]. 中国司法鉴定,2015,32(2):67-71.
- [7] 纪凤卿,滕菁,赖力,等. 基于 Sinofiler 检测系统的福建汉族群体遗传多态性研究[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(21):2835-2836.
- [8] 段莹,肖南,于卫建,等. 21 个非 CODIS 系统基因座在二联体亲子鉴定中的应用[J]. 中国法医学杂志,2015,30(6):604-606.
- [9] 阮修艳,王伟妮,杨雅冉,等. 北京汉族群体 39 个短串联重复序列基因座多态性及其遗传关系[J]. 遗传,2015,37(7):683-691.
- [10] Clayton TM, Guest JL, Urquhart AJ, et al. A genetic basis for anomalous band patterns encountered during DNA STR profiling[J]. J Forensic Sci, 2004, 49(6):1207-1214.
- [11] Crouse CA, Rogers S, Amriott E, et al. Analysis and interpretation of short tandem repeat microvariants and three-banded allele patterns using multiple allele detection systems[J]. J Forensic Sci, 1999, 44(1):87-94.
- [12] 陈玲,刘超,邱平明,等. 常染色体 STR 基因座三带型的观察与分析[J]. 中国法医学杂志,2014,29(4):316-318.
- [13] Picanco JB, Raimann PE, Paskulin GA, et al. Tri-allelic pattern at the TPOX locus: a familial study[J]. Gene, 2014, 535(2):353-358.
- [14] Szibor R. X-chromosomal markers: past, present and future[J]. Forensic Sci Int Genet, 2007, 31(2):93-99.
- [15] Uchigasaki S, Tie J, Takahashi D. Genetic analysis of twelve X-chromosomal STRs in Japanese and Chinese populations[J]. Mol Biol Rep, 2013, 40(4):3193-3196.
- [16] Shrivastava P, Jain T, Gupta U, et al. Genetic polymorphism study on 12 X STR loci of investigator Argus X STR kit in Bhil tribal population of Madhya Pradesh, India[J]. Leg Med (Tokyo), 2015, 17(3):214-217.
- [17] Poulsen L, Tomas C, Drobnic K, et al. NGMSelect™ and investigator() Argus X-12 analysis in population samples from Albania, Iraq, Lithuania, Slovenia, and Turkey[J]. Forensic Sci Int Genet, 2016, 22(1):110-112.
- [18] Nishi T, Nakamura T, Honda K. Detection of a novel X-chromosomal short tandem repeat marker in Xq28 in four ethnic groups[J]. Leg Med (Tokyo), 2016, 19(1):43-46.
- [19] Li L, Yu G, Li S, et al. Genetic analysis of 17 Y-STR loci from 1 019 individuals of six Han populations in East China[J]. Forensic Sci Int Genet, 2016, 20(1):101-102.
- [20] Shan W, Ablimit A, Zhou W, et al. Genetic polymorphism of 17 Y chromosomal STRs in Kazakh and Uighur populations from Xinjiang, China[J]. Int J Legal Med, 2014, 128(5):743-744.
- [21] Ballantyne KN, Goedbloed M, Fang RX, et al. Mutability of Y-Chromosomal microsatellites: rates, characteristics, molecular bases, and forensic implications[J]. Am J Hum Genet, 2010, 87(3):341-353.
- [22] Ballantyne KN, Keerl V, Wollstein A, et al. A new future of forensic Y-chromosome analysis: rapidly mutating Y-STRs for differentiating male relatives and paternal lineages[J]. Forensic Sci Int Genet, 2012, 6(2):208-218.
- [23] 马立宇,胡利平,聂爱婷,等. 云南白族人群 13 个快速突变(RM)Y-STR 基因座多态性研究[J]. 昆明医科大学学报, 2015, 36(7):170-177.
- [24] Olofsson JK, Mogensen HS, Buchard A, et al. Forensic and population genetic analyses of Danes, Greenlanders and Somalis typed with the Yfiler Plus PCR amplification kit[J]. Forensic Sci Int Genet, 2015, 16(1):232-236.
- [25] Ballantyne KN, Ralf A, Aboukhalid R, et al. Toward male individualization with rapidly mutating y-chromosomal short tandem repeats[J]. Hum Mutat, 2014, 35(8):1021-1032.

(收稿日期:2016-09-02 修回日期:2016-10-22)

• 综 述 •

βB2 晶体蛋白的功能及相关机制研究进展^{*}

刘 鹏 综述,孙建明[△]审校

(上海中医药大学附属第七人民医院男性病科 200137)

关键词:βB2 晶体蛋白; 生殖; 表达; 机制

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 04. 028

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)04-0505-03

晶体蛋白是脊椎动物眼晶状体上皮细胞的主要成分,占晶状体中水溶性蛋白的 90%^[1]。晶体蛋白根据相对分子质量大小顺序分为 α、β 和 γ 3 种,各自均由许多亚单位构成。其中 α 晶体蛋白是结构和功能蛋白,α 晶体蛋白属小热休克蛋白家族,发挥分子伴侣作用,可促进 βγ-晶体蛋白的正确折叠,在应

激时可阻止蛋白变性聚集、沉淀及程序性死亡^[2]。γ 晶体蛋白占晶状体水溶性蛋白的 30%,其惰性维持晶状体结构。以往研究认为 β 族晶体蛋白仅仅是一种结构蛋白,随着研究深入发现,β 晶体蛋白也具备功能蛋白的一些特性。近年来研究表明 βB2 晶体蛋白不仅存在晶状体内,而且在晶状体外也有较高水

^{*} **基金项目:**上海市科委项目(14401972300);上海市浦东新区名中医及名中医工作室建设项目(PDZYXK-3-2014011);上海市浦东新区科技发展基金(PKJ2014-Y17)。

[△] **通信作者,**E-mail:shsdqrmynk@sina.com。

平的表达,并发挥重要生物学功能,最为突出的是对视网膜神经节细胞的再生和小鼠生殖功能方面的影响。本文对 β B2 晶体蛋白及基因在晶状体内外功能和相关机制进行综述。

1 β B2 晶体蛋白结构及其在晶状体内的功能

β 族晶体蛋白约占总晶体蛋白 35%,属于水溶性蛋白,根据蛋白质等电点不同,分为酸性蛋白和碱性蛋白 2 个亚组:包括酸性蛋白 β A1/3、 β A2、 β A4 和碱性蛋白 β B1、 β B2、 β B3,分别由相应基因编码。而 β B2 晶体蛋白是 β 族晶体蛋白中最多的一种,占晶状体蛋白的 14%~20%^[3]。人类 β B2 晶体蛋白的编码基因(CRYBB2)位于 22q11.2,由 6 个外显子组成,其中第 1 个外显子不参与表达,第 2 个外显子编码 β B2 晶体蛋白的 N 末端,其余 4 个外显子分别编码一个“Greek-key”基序。而小鼠 β B2 晶体蛋白的编码基因(CRYBB2, Gene ID: 12961)位于第 5 号染色体上。完整的 β B2 晶体蛋白由 205 个氨基酸组成,相对分子质量约 23 379,等电点 6.54。其结构上由 N 端和 C 端 2 个亚基构成,亚基之间以连接肽相接,每个亚基包含 2 个高度保守的“Greek-key”基序,“Greek-key”基序是由 4 条反平行 β 折叠股构成,与蛋白质的稳定性和蛋白间的相互作用密切相关^[4]。研究发现单独的 C 端结构域仅以单体存在,而单独的 N 端结构域可与其他 β 族晶体蛋白非共价结合形成二聚体或多聚体,另外低浓度下的 C 端结构比 N 端结构更稳定, N 端和 C 端结构域在序列上虽然一致程度高,结构类似,但 N 端结构域有更好的结合点,有利于形成二聚体或多聚体,维持及保护其他晶体蛋白免于变性, N 端和 C 端结构域的稳定性影响 β B2 晶体蛋白的稳定性^[5-8]。

在哺乳类动物晶状体中 CRYBB2 基因主要表达于纤维细胞,CRYBB2 是一个出生后表达基因,在出生后 2 周内剧增,在晶体蛋白中所占比例越来越高,且 β B2 水溶性成分随老化升高,对晶状体的透光性具有重要的维持作用。近年来研究表明 β B2 晶体蛋白的异常与多种类型白内障相关。晶体蛋白随着年龄增长可发生广泛的翻译后修饰(PTM),从而影响蛋白质功能。 β B2 晶体蛋白发生 PTM 主要包括谷胱甘肽加合物形成、脱酰胺作用、消旋及异构化、截尾^[9-13]。其中谷胱甘肽加合物形成可增加 β B2 晶体蛋白的可溶性,而脱酰胺作用对其可溶性影响不大。虽 β B2 晶体蛋白也经历截尾作用,但是 β B2 晶体蛋白依旧能保持其可溶性的 N 末端。 β B2 晶体蛋白是受到 PTM 最少的晶状体蛋白。研究表明,在维持晶状体的透明性和屈光性方面, α 晶体蛋白在晶状体发育的早期发挥主要作用, β B2 晶体蛋白在其发育晚期起主要作用。另外,CRYBB2 基因可发生突变,突变位点为第 6 外显子,造成氨基酸折叠异常,造成晶状体结构异常,最终形成先天性白内障。目前虽明确 β B2 晶体蛋白在维持老化晶状体的透明性中起到重要作用,但是其作用机制尚未十分明确,尤其是 CRYBB2 基因的突变导致白内障的分子机制仍需深入研究。

2 β B2 晶体蛋白在晶状体外的功能及相关机制

目前已有较多研究表明 β B2 晶体蛋白也表达于眼晶状体外组织,如视网膜、大脑、睾丸、卵巢等组织^[14]。Ganguly 等^[15]研究发现脑内 β B2 晶体蛋白主要表达于小脑、嗅觉区、大脑皮质和海马区,对于 β B2 晶体蛋白在这些组织中的功能还不明确。 β B2 晶体蛋白在晶状体外的表达及功能已成为研究热点,以 β B2 晶体蛋白与视网膜神经节细胞的再生和小鼠生殖功能研究较为突出。

2.1 β B2 晶体蛋白在视网膜神经节细胞再生中的作用 视网膜神经节细胞(RGCs)是视网膜神经上皮层中的传出神经细胞,参与视网膜内神经环路的构成和神经信号的传递及初步整合,其功能复杂。在大鼠 RGCs 的研究中发现, β B2 晶体蛋白与视网膜神经节细胞再生关系密切, β B2 晶体蛋白相对含量随着生长期增长在 1 d 至 1 年期间上调最为显著,其神经保护作用逐渐增强, β B2 晶体蛋白是保护 RGCs 存活及促进突起生长的重要成分^[16]。国外对成人 RGCs 研究表明其再生过程中细胞上清液中 β B2 晶体蛋白明显上调,促进轴突生长和神经节细胞再生^[17-18]。 β B2 晶体蛋白促进轴突生长及 RGCs 再生的分子机制尚需进一步研究。

2.2 β B2 晶体蛋白对小鼠生殖功能的影响 新近研究表明 β B2 晶体蛋白在雄性小鼠睾丸内存在较高水平的表达,并定位于睾丸组织精原细胞内,且 CRYBB2 基因敲除后雄性小鼠生殖功能显著降低,表明 β B2 晶体蛋白与雄性小鼠的生殖功能密切相关^[19]。精子发生是一个非常复杂的过程,睾丸生殖细胞的增殖和凋亡对于保证精子的正常发生具有十分重要的作用^[20]。睾丸生殖细胞凋亡受多个基因控制,以 Bcl-2 抗凋亡家族和 Bax 促凋亡家族蛋白成员之间表达量的平衡尤为重要。Bcl-2、Bcl-x、Bcl6 和 Bax 等蛋白表达缺失或功能受损都会导致生殖功能下降,甚至不育。Xiang 等^[19]研究表示 CRYBB2 基因缺乏降低小鼠睾丸内 CaMKIV 表达量,进而导致 Bcl-2 表达量减低^[21],从而促使睾丸生殖细胞过度增殖和凋亡^[22],影响雄性小鼠生殖功能。另外 CRYBB2 基因缺失也导致小鼠血清睾酮降低,使精子发生受损影响生育能力^[23]。另外,最新研究提示 CRYBB2 基因敲除后,可能是由于 lncRNA A-30-P01019163 的表达量降低,导致 P2rx7 的表达量下调,影响睾丸组织内细胞信号转导和细胞周期,最终影响睾丸组织发育导致生育功能受损^[24],其中确切关系有待进一步研究。

β B2 晶体蛋白也在雌性小鼠卵巢组织内有较高水平表达,主要表达在卵巢颗粒细胞胞浆内^[25]。高谦等^[25]研究表明 CRYBB2 基因敲除的雌性小鼠卵巢发育不良,相对重量减轻,原始和次级卵泡数目均减少,闭锁卵泡增多,小鼠动情周期紊乱,排卵减少,影响生殖功能。可见 β B2 晶体蛋白对雌性小鼠卵巢发育影响显著。颗粒细胞在各期卵泡发育过程中有重要调控作用,而在调控颗粒细胞凋亡的因素中以 Bcl-2 抗凋亡家族最为主要,Bcl-2 蛋白表达缺失或功能受损会减弱生殖能力。研究发现 CRYBB2 基因敲除的雌性小鼠雌激素分泌增多,可能是 β B2 晶体蛋白基因缺失导致 ER α 表达下降,进一步引起雌激素分泌增加^[25]。至于 ER α 表达于 β B2 晶体蛋白之间具体作用机制以及通过什么途径作用于相关基因影响生殖功能,尚需深入研究。

3 小 结

β B2 晶体蛋白在晶状体内外都发挥着重要作用,行使其特殊生物学功能。以往研究更多的是 β B2 晶体蛋白在晶状体内的相关功能和机制,近年来该蛋白在晶状体外的研究备受关注,研究也越来越深入,尤其是该蛋白在生殖功能方面的研究。目前 β B2 晶体蛋白对生殖功能的研究还停留在动物小鼠模型上,并且 β B2 晶体蛋白参与调节生殖过程的作用机制还不够明确。后期可以从人类精子 RNA 角度研究该蛋白是否表达及更进一步探讨,如果 β B2 晶体蛋白及基因在人类精子存在表达,且表达水平与人类生殖功能密切相关,影响男性生育能力,

这将为人类生殖学提供新的理论知识,给相关疾病的预防和治疗带来新的思路和方法。

参考文献

- [1] 姚瑶,徐国兴.晶状体蛋白与年龄相关性白内障研究进展[J].国际眼科杂志,2014,14(2):255-258.
- [2] Un DI,Barbash O,Kumar KG,et al. Phosphorylation dependent ubiquitination of cyclin D1 by the SCF(FBX4-alphaB crystallin) complex[J]. Mol Cell,2006,24(3):355-366.
- [3] 蒋燕,康刚劲,徐曼华,等. β B2 晶状体蛋白与白内障[J].国际眼科杂志,2016,16(2):261-264.
- [4] 齐艳华,马兰茗.晶状体蛋白 β B2 基因突变导致常染色体显性遗传先天性白内障[J].眼科新进展,2008,28(9):676-678.
- [5] Suman SK,Mishra A,Ravindra D,et al. Evolutionary remodeling of betagamma-crystallins for domain stability at cost of Ca^{2+} binding[J]. J Bio Chem,2011,286(51):43891-43901.
- [6] Srivastava SS,Mishra A,Krishnan B,et al. Ca^{2+} -binding motif of betagamma-crystallins[J]. J Bio Chem,2014,289(16):10958-10966.
- [7] Mishra A,Krishnan B,Raman R,et al. Ca^{2+} and betagamma-crystallins: An affair that did not last[J]. Biochim Biophys Acta,2016,18(1):299-303.
- [8] Zhang K,Zhao WJ,Leng XY,et al. The importance of the last strand at the C-terminus in betaB2-crystallin stability and assembly [J]. Biophys Acta,2014,16(1):44-45.
- [9] Michiel M,Duprat E,Skouripanet F,et al. Aggregation of deamidated human betaB2-crystallin and incomplete rescue by alpha-crystallin chaperone[J]. Exp Eye Res,2010,90(6):688-698.
- [10] Yanshole LV,Cherepanov IV,Snytnikova OA,et al. Cataract-specific posttranslational modifications and changes in the composition of urea-soluble protein fraction from the rat lens[J]. Mol Vis,2013,19(1):2196-2208.
- [11] Lampi KJ,Wilmarth PA,Murray MR,et al. Lens betaB2-crystallin: the role of deamidation and related modifications in aging and cataract[J]. Prog Biophys Mol Biol,2014,115(1):21-31.
- [12] Fujii N,Kawaguchi T,Sasaki H,et al. Simultaneous stereoinversion and isomerization at the Asp-4 residue in betaB2-crystallin from the aged human eye lenses[J]. Biochemistry,2011,50(40):8628-8635.
- [13] Hooi MY,Truscott RJ. Racemisation and human cataract. D-Ser,D-Asp/Asn and D-Thr are higher in the life-long proteins of cataract lenses than in age-matched normal lenses[J]. Age(Dordr),2011,33(2):131-141.
- [14] Duprey M,Robinson M,Wang Yan,et al. Subfertility in mice harboring a mutation in betaB2-crystallin[J]. Mol Vis,2007,13(40/41):366-373.
- [15] Ganguly K,Favor J,Neuhäuserklaus A,et al. Novel allele of crybb2 in the mouse and its expression in the brain[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2008,49(4):1533-1541.
- [16] 王文军,唐罗生,杨新光.不同生长期晶状体蛋白对体外培养的大鼠视网膜神经节细胞存活的促进作用[J].西安交通大学学报:医学版,2011,32(2):175-179.
- [17] Liedtke T,Schwamborn C,Schröer U,et al. Elongation of axons during regeneration involves retinal crystallin beta b2 (crybb2) [J]. Mol Cell Proteomics,2007,6(5):895-907.
- [18] Fischer D,Hauk G,Müller A,et al. Crystallins of the beta/gamma-superfamily mimic the effects of lens injury and promote axon regeneration[J]. Mol Cell Neurosci,2008,37(3):471-479.
- [19] Xiang F,Cui B,Gao Q,et al. Decreased levels of Ca^{2+} -calmodulin-dependent protein kinase IV in the testis as a contributing factor to reduced fertility in male Crybb2-/- mice[J]. Int J Mol Med,2012,30(5):1145-1151.
- [20] Corriero A,Medina A,Mylonas C,et al. Proliferation and apoptosis of male germ cells in captive Atlantic bluefin tuna (Thunnus thynnus L) treated with gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa)[J]. Anim Reprod Sci,2009,116(3/4):346-357.
- [21] Illario M,Giardino-Torchia L,Sankar U,et al. Calmodulin-dependent kinase IV links Toll-like receptor 4 signaling with survival pathway of activated dendritic cells[J]. Blood,2008,111(2):723-731.
- [22] 相芬芬. β B2-晶体蛋白调控雄性小鼠生殖功能的机制研究[D].上海:第二军医大学,2012.
- [23] Xiang FF,Cui B,Gao Q,et al. Clinical significance of serum biochemistry changes in mice with targeted disruption of β B2-crystallin gene[J]. Int J Ophthalmol,2012,5(1):55-58.
- [24] 任含笑,高谦,贾音,等. β B2 基因敲除小鼠睾丸组织长链非编码 RNA 的差异性表达分析[J].第二军医大学学报,2016,37(1):59-64.
- [25] 高谦,杨晓妍,谷明莉,等. β B2 晶状体蛋白对小鼠卵巢发育及动情周期的影响[J].生殖与避孕,2013,33(4):217-223.

(收稿日期:2016-09-04 修回日期:2016-10-25)