

卵黄蛋白原研究及其进展^{*}

REVIEW ON VITELLOGININ

张士瑾 孙旭彤 李红岩

(青岛海洋大学生命学院 266003)

卵黄蛋白原是特异地存在于非哺乳类性成熟的卵生雌性动物血液中的一种蛋白,是几乎所有卵生动物卵黄蛋白的前体。 V_g 最初是Pan等人^[15]1969年对雌性昆虫血液淋巴蛋白的特称,后来这一名称被广泛用于特指雌性动物血浆中卵黄蛋白原。 V_g 为正在发育的胚胎提供氨基酸、脂肪、碳水化合物、维生素、磷和硫等营养和功能性物质。随着研究的深入,人们发现,卵黄蛋白原不仅为胚胎发生时提供营养物质,它在生物体内还具有其他的生物学功能。

1 卵黄蛋白原的合成方式

卵子发生过程中卵黄的形成对于胚胎发生时所需营养物质的提供具有至关重要的作用。卵黄形成的原料有两种来源:一是可以从卵母细胞本身中合成,称为内源性卵黄合成或自动合成,二是自卵母细胞以外的地方合成,然后进入卵母细胞,称为外源性卵黄合成。从目前掌握的资料来看,不同门类的动物或同一门类不同种的动物中卵黄蛋白原的合成方式各不相同,既有内源性合成的也有外源性合成的,还有同一种中不同的发育时期采取不同的合成方式的。

内源性卵黄蛋白原合成的证据主要来自于正在发育的卵母细胞内细胞器中,可以从形态学上观察到卵黄蛋白原的合成,与卵黄形成有关的细胞器主要有内质网、高尔基体和线粒体等,但实际上是由哪一种细胞器形成的,证据也不一致,在不同动物中,形成方法也有差异。多毛纲的巢沙蚕(*Dipatm cuprea*),卵黄体是由卵母细胞内高尔基体合成的,此外,在不同种类的沙蚕中,*Nereis diversicolor*, *Perinereis cultriform*和*Nereis virens*的卵黄蛋白原也是内源性合成的。腔肠动物没有血液循环系统,在水母体时期,可在其高尔基体液泡中找到卵黄颗粒,很可能卵黄颗粒是由粗面内质网上的核糖体和高尔基体联合合

成的。腹足类软体动物,在线粒体里面或线粒体群之间也发现结晶状的蛋白质卵黄小板, *Pulmonate snail* (*Planorbis cornutus*)的卵黄蛋白原、贻贝的卵黄蛋白原、太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)的卵黄蛋白原都是由卵母细胞产生的。甲壳类中河虾的卵黄蛋白原是由卵母细胞内的粗面内质网合成的,在河虾的卵母细胞内质网的潴泡里可观察到卵黄的存在,凡纳对虾(*Penaeus vannamei*)的卵黄蛋白原也是内源性合成的。

外源性卵黄合成,包括所有的脊椎动物如鱼类、两栖类、爬行类及鸟类等。无脊椎动物中常见于线虫、海胆、某些沙蚕、部分软体动物、大多数昆虫、甲壳类等。不同门类动物中, V_g 的产生、分泌及其裂解成卵黄蛋白的途径是不同的。在节肢动物中,对于卵黄蛋白及其前体的形成和生化特性已经有了比较深入的了解,大多数昆虫的 V_g 是在脂肪体内形成,有一些甲壳类动物的卵黄蛋白原也是由脂肪体合成。大多数甲壳类的卵黄蛋白原是由肝胰腺或滤泡细胞合成,到目前为止,甲壳类中有关卵母细胞本身合成的卵黄蛋白原只有很少的报道^[1]。线虫(*Caenorhabditis elegans*)的 V_g 是在肠细胞内合成,被卵母细胞吸收后并不裂解;而海胆 V_g 则由消化道细胞和体腔细胞合成,分泌到体腔液,运送到卵巢被卵母细胞吸收并裂解成卵黄蛋白^[2];沙蚕中的*Nereis virens*和*Perinereis cultriform*、软体动物中的乌贼都是外源性合成的卵黄蛋白原。在脊椎动物中,如鱼类、两栖类和鸟类中, V_g 由肝脏合成。外源性合成的卵黄蛋白原分泌到血液中,经血液

^{*} 国家自然科学基金资助项目 30070110 号。

第一作者:张士瑾,出生于1957年,博士,教授。国家自然科学基金资助项目“从卵黄蛋白原的形成探索文昌鱼类肝组织”。E-mail: zscshab@public.qd.sd.cn

收稿日期:2001-02-20;修回日期:2001-04-11

运送到卵巢后,被卵母细胞通过受体介导的内吞作用吸收到细胞内。最近,Snigirevskaya^[3]对昆虫卵母细胞膜上卵黄蛋白原受体的内化(internalization)及再循环机制进行了研究;Rees等^[4]在对外源性合成卵黄蛋白原的沙蚕的研究中发现,卵母细胞对卵黄蛋白原的吸收受光照、温度等环境因素的影响。

在无脊椎动物中,同一门类的动物,如软体动物门以及甲壳类中,不同种的卵黄蛋白原的合成方式不同,有些种的卵黄蛋白原是由滤泡细胞合成,有些种的卵黄蛋白原是由卵母细胞本身合成。在某些种类的脊椎动物,如鱼类和两栖类中,同一种动物,既有内源性的卵黄合成,也有外源性的卵黄合成,而且不同的发育时期卵黄蛋白原产生的部位不同。人们用放射自显影和电镜方法发现:鱼类的卵母细胞能产生卵黄蛋白,并通过胞饮作用积累外源性合成的卵黄蛋白。两栖类在卵黄发生早期,*Xenopus laevis*的卵黄产生主要在卵母细胞多泡体内,这些多泡体的外面有膜包裹,多泡体来自高尔基体和内质网,而某些两栖类(特别是蛙科的),其内源性卵黄在卵母细胞线粒体内产生。两栖类在卵黄发生后期,才开始有外源性卵黄发生,即依靠肝脏合成卵黄蛋白原。

2 卵黄蛋白原的主要特性

卵黄蛋白原是一种高分子量的含糖、含磷、含脂的蛋白。不同门类动物中如昆虫^[5]、甲壳类^[6]、棘皮动物、脊索动物、鱼类^[7]、两栖类^[8]、爬行类^[9]和鸟类等都已纯化得到了卵黄蛋白原并进行了特性研究。脊椎动物在鱼类、两栖类和鸟类中对卵黄蛋白原的研究比较广泛,无脊椎动物如线虫和节肢动物关于卵黄蛋白原的研究比较广泛。不同的动物之间,卵黄蛋白原的分子量存在较大的差异,无脊椎动物的卵黄蛋白原多是由分子量不同的多个亚基组成,而脊椎动物特别是鱼类的卵黄蛋白原通常是以两个150~220 kDa的同源二聚体组成,介于无脊椎动物和脊椎动物之间的文昌鱼的卵黄蛋白原是由两个160 kDa的同源二聚体组成。卵黄蛋白原分子内N-端是由1100个残基组成脂磷蛋白I部分,中间是由富含磷酸化的丝氨酸的高磷蛋白部位,C-段是脂磷蛋白、卵黄磷蛋白和卵黄糖蛋白部位。鱼类、两栖类和爬行类的卵黄蛋白原的氨基酸全序列或部分序列已从它们各自的卵黄蛋白原的cDNA序列推导出来。Norberg^[16]1995年证明鱼类卵黄蛋白原中脂和磷的含量分别为20%和0.6%。

从不同种属的鱼中分离得到的V_g在脂化、糖基化和磷酸化的程度上存在差别,由这种差别所引起的功能的不同目前还不清楚。在无脊椎动物中经常看到V_g被卵母细胞捕获后失去一部分脂质,这一过程的意义及V_g卸下的脂质的功能目前仍不十分清楚。它们也许在卵黄颗粒内堆积作为正在发育的胚胎的食物,也有可能它们在卵黄发生期间对于加速卵母细胞的生长起作用,因为从一些动物的卵黄蛋白原中释放出的脂类已被证明是磷脂和固醇,它们可能被卵母细胞用做构建新的生物膜的成分,如果这一假设成立那么卵黄蛋白原将具有双重功能。Baker等人^[17]1988年证明无脊椎动物线虫*Caenorhabditis elegans*及脊椎动物蛙类*Xenopus laevis*的V_g的部分片段结构与人类的apoB-100,一种结合和转运脂类的蛋白的一部分非常相似,而果蝇*Drosophila melanogaster*的V_g与一些脂酶有些相似,并且,V_g已被证明在某些方面与人类Von Willebrand因子相似。所有这些发现都表明V_g不只是作为卵黄提供胚胎发育的营养而是具有较复杂的生物学功能。

以前的报道认为卵黄蛋白原是存在于成熟雌性动物血液中的“雌性特异性”蛋白,随着研究的深入,人们普遍发现雄性及未成熟的雌性动物受雌性激素刺激后也能在体内合成卵黄蛋白原。人们已经用免疫电镜、放射免疫、ELISA及生物化学的方法对鱼类血液中卵黄蛋白原的变化进行了定性和定量的研究。由于检测方法的不同,实验结果也存在很大差异,So等^[18]1985年用提高了灵敏度以后的放射免疫的方法检测出雄鱼及未成熟的雌鱼体内都含有卵黄蛋白原。Pacdi^[19]1990年在沟鲈中证明,血液中卵黄蛋白原的浓度随着生殖季节的不同而产生一些变化,产卵后浓度降到最低,但仍能检测到。大多数研究过的鱼类中,血液中卵黄蛋白原的水平含量在排卵后下降,然而在排卵后至卵黄发生之前这一段时期,血液中的卵黄蛋白原一直存在。这说明卵黄蛋白原的产生并没有停止,或者说即使停止了,在产卵后第一个月又开始合成。不同门类或不同种的动物中,卵黄蛋白原产生的规律也存在很大的差异。卵黄蛋白原具有种的特异性,来自昆虫的卵黄蛋白原抗体和鱼类、两栖类的卵黄蛋白原都不能发生交叉反应,甚至不同种鱼类之间的卵黄蛋白原及其抗体也不能产生交叉反应。

3 卵黄蛋白原的生物学功能

虽然不同门类、不同种属的卵黄蛋白原产生的方式不同,同源性较差,但总的来说,即从无脊椎动物到脊椎动物,包括蠕虫、海胆、鱼类、蛙类和鸟类等所有的非哺乳类卵生动物,卵黄蛋白原在结构和功能上仍是非常相似的,它们在不同的生物体内行使相似的生物学功能。研究表明, V_g 为正在发育的胚胎提供氨基酸、脂肪、碳水化合物、维生素、磷和硫等营养和功能性物质,卵黄蛋白原还能促进培养中的动物卵母细胞的生长和分化。人们在对海胆、蛙类以及昆虫等动物的研究中发现,卵黄蛋白不仅在胚胎发育中具有重要作用,而且在幼虫阶段也起作用。海胆的卵黄蛋白与其它的卵生动物不同,早在1986年,Shyu等人^[20]就发现,雄性海胆的体腔液中也含有大量的卵黄蛋白,在海胆(*Strongylocentrotus purpuratus*)的两种性别的性腺中都有卵黄蛋白原 mRNA 的表达。最近,Unuma^[21]用免疫组化和 Western blot 方法证明,两种性别的海胆(*Pseudocentrotus depressus*)的性腺中都含有卵黄蛋白原,不同的是性腺成熟过程中,精巢中的卵黄蛋白原量减少,卵巢中此蛋白积累成为卵黄蛋白,首次证明精巢中的卵黄蛋白原为精子的发生提供营养物质。Montorzi^[21]1995年证明 V_g 除了含有糖、磷、脂和其他营养成分外,它还结合钙离子、锌离子、铁离子、镍离子等金属离子并运送到卵母细胞。研究发现卵黄蛋白原中的脂磷蛋白结合锌离子,而高磷蛋白结合钙离子。

随着研究的深入,人们发现卵黄蛋白原除了具有营养功能外,在生物体内还具有其他的生物学功能。1996年Komatsu等人^[22]报道无脊椎动物甲壳纲的螯虾(*Sand cmyfish*)以及鳗鱼的 V_g 具有潜在的钙离子依赖性的蛋白酶活性且这一蛋白酶活性只有在 V_g 被卵内具有蛋白酶活性的低密度脂蛋白降解后才显现出来。 V_g 不仅能结合并转运金属离子,它还作为甲状腺素、维生素 A 醛、类胡萝卜素以及核黄素等结合蛋白将其运送至卵母细胞,细胞以这种方式摄入的维生素或胆固醇是信息物质,而载体蛋白本身没有信息作用,仅仅是运载工具,但与一般载体蛋白明显不同的是,它们对所载物质具有严格的选择性,同时又被细胞膜上受体特异性的识别摄入,通常称这种载体蛋白为 acceptor,以区别于药理学上的 receptor。脊椎动物的 V_g 对其繁殖的成功是至关重要的,因为 V_g 不仅是

胚胎发育的能源物质并且还具有作为非极性分子或酶的载体的功能。

4 研究意义及展望

不论脊椎动物还是无脊椎动物, V_g 都是在激素的严格控制下合成的。因此对 V_g 产生机制的研究为研究激素控制下的基因表达提供了理想的系统。在脊椎动物中体内实验和体外实验都已证明通过雌激素能诱导肝脏合成这一大分子量的蛋白。因此 V_g 被广泛用来研究激素诱导蛋白的产生过程及机理。卵黄蛋白原能结合锌离子,又知锌离子能与受体相互作用,如雌激素受体,因此可以推测卵黄蛋白原有可能间接参与了甾类激素介导的信号转导过程,卵黄蛋白原结合的锌离子很可能在卵黄蛋白原与卵母细胞膜上的卵黄蛋白原受体相结合过程中起重要作用,这方面的研究将有助于进一步揭示受体的作用机理。

V_g 是所有的卵生的脊椎动物和无脊椎动物的卵黄蛋白的前体,它属于一个基因家族,这一基因家族编码大量的脂蛋白,其中包括人类载脂蛋白,载脂蛋白参与了胆固醇的运输及其它的脂类代谢过程。脊椎动物中,卵黄蛋白原通常情况下是雌性动物在 17β ~雌二醇(E_2)的诱导下大量产生,雄性动物或未成熟的雌性动物在 E_2 或其类似物的诱导下也可以大量合成。随着人们对杀虫剂、去污剂及其它化工产品对人类及野生动物内分泌产生危害的程度的关注,人们把受异雌二醇影响雄性动物体内非正常表达的卵黄蛋白原作为一种生物指标,来检测环境中的污染物质^[10,11]。在脊索动物中许多动物的卵黄蛋白原的 N 端序列已经测出, N 端序列是卵黄蛋白原全序列中最保守的部分,通过对不同动物之间 N 端序列的比较,可以从某一方面进一步确定动物在系统发育中的分类学地位^[12]。文昌鱼为头索类,属于由无脊椎过渡到脊椎动物的过渡型动物,被广泛认为与脊椎动物始祖亲缘关系最近^[13,14]。但是,迄今为止,尚未见任何关于文昌鱼卵黄蛋白原的报道。肝脏是由消化道衍生出的器官,是脊椎动物特有的一种组织。在系统演化中,最早出现于无颌类如七鳃鳗中。文昌鱼只有消化道向前突出形成的肝盲囊(hepatic caecum)。文昌鱼肝盲囊是否是脊椎动物肝脏的前体尚缺乏统一认识。如果文昌鱼肝盲囊类似于脊椎动物肝脏前体,它可能就是合成卵黄蛋白原的组织,对文昌鱼卵黄蛋白原的研究有助于了解脊椎动物肝脏的起源。

参考文献

- 1 Pateraki L., Stratakis E.. Synthesis and organization of vitellogenin and vitellin molecules from the land crab *Potamon potamios*, *Comp. Bioch. Physiol. Part B*, 2000, 125: 53 ~ 61
- 2 Unuma T., Suzuki T. *et al.*. A protein identical to the yolk protein is stored in the testis in male red sea urchin *Pseudocentrotus depressus*, *Biol. Bull.*, 1998, 194: 92 ~ 97
- 3 Snigirevskaya E.S., Sappington T. W., Raikhel A.S.. Internalisation and recycling of vitellogenin receptor in the mosquito oocyte, *Cell Tissue Res.*, 1997, 290: 175 ~ 183
- 4 Rees S. W., Olive P.. Photoperiodic changes influence the incorporation of vitellin yolk protein by oocytes of the semelparous polychaete *Nereis (Nereis) virens*, *Comp. Bioch. Physiol. Part A*, 1999, 123: 213 ~ 220
- 5 Venugopal K.J., Kumar D.. Vitellins and vitellogenins of *Dysdercus koenigii* (Heteroptera: Pyrrhocoridae) — identification, purification and temporal pattern, *Comp. Biochem. Physiol. Part B*, 1999, 124: 215 ~ 223
- 6 Pateraki L.E., Stratakis E.. Characterization of vitellogenin and vitellin from land crab *Potamon potamios*: identification of a precursor polypeptide in the molecule, *J. Exp. Zool.*, 1997, 279: 597 ~ 608
- 7 Johnsen H.K., Tveiten H. *et al.*. Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) vitellogenin: development and validation of an enzyme-linked immunosorbent assay, *Comp. Bioch. Physiol. Part B*, 1999, 124: 355 ~ 362
- 8 Yoshizaki N., Moriyama A. *et al.*. Purification and properties of embryonic cysteine proteinase which participates in yolklysis of *Xenopus laevis*, *Comp. Bioch. Physiol. Part B*, 1998, 119: 571 ~ 576
- 9 Janeiro-Cinquini T. R. F., Ribolla P. E. M. *et al.*. Vitellogenin and yolk protein processing in *Bothrops jarrovi* (Wied), a tropical venomous snake, *Comp. Bioch. Physiol. Part B*, 1999, 122: 189 ~ 198
- 10 Roubal W.T., Lomax D.P. *et al.*. Purification and partial characterization of English sole (*Pleuronectes vetulus*) vitellogenin, *Comp. Bioch. Physiol. Part B*, 1997, 118: 613 ~ 622
- 11 Lomax D., Roubal W. T. *et al.*. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for measuring vitellogenin in English sole (*Pleuronectes vetulus*): development, validation and cross-reactivity with other pleuronectids, *Comp. Biochem. Physiol. Part B*, 1998, 121: 425 ~ 436
- 12 Brown M., Carne A., Chambers G. *et al.*. Purification, partial characterization and peptide sequences of vitellogenin from a reptile, the Tuatara (*Sphenodon punctatus*), *Comp. Bioch. Physiol. Part B*, 1997, 117: 159 ~ 168
- 13 Zhang S.C., Holland N. D. and Holland L. Z.. Topographic changes in nascent and early mesoderm in amphioxus embryos studied by DI labeling and by in situ hybridization for a *Bmchyry* gene, *Dev. Genes Evol.*, 1997, 206: 532 ~ 535
- 14 Yasui K., Zhang S. C. *et al.*. Expression of a twist-Related gene, Btwist, during the development of a lancelet species and its relation to cephalochordate anterior structures, *Developmental Biology*, 1998, 195: 49 ~ 59
- 15 Pan M. L., Bell W.J. *et al.*. Vitellogenic blood protein synthesis by insect fat body, *Science N.Y.*, 1969, 165: 393 ~ 394
- 16 Norberg B.. Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) vitellogenin: Induction, isolation, and partial characterization, *Fish Physiol. Biochem.*, 1995, 14: 1 ~ 13
- 17 Baker M. E.. Invertebrate vitellogenin is homologous to human von Willebrand factor, *Biochem. J.*, 1988, 256, 1059 ~ 1063
- 18 So Y. P., Idler D. R. *et al.*. Hwang Plasma vitellogenin in landlocked Atlantic salmon (*Salmosalarouaniche*): isolation, homologous radioimmunoassay and immunological cross-reactivity with vitellogenin from other teleosts, *Comp. Biochem. Physiol. Part B*, 1985, 81: 63 ~ 71
- 19 Pacoli C. Q., Grizzle J. M. *et al.*. Seasonal levels of serum vitellogenin and oocyte growth in the channel catfish, *Ictalurus punctatus*, *Aquaculture*, 1990, 90: 353 ~ 367
- 20 Shyu A. B., Raff R. A. *et al.*. Expression of the vitellogenin gene in female and male sea urchin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, 83: 3865 ~ 3869
- 21 Montorzi M., Falchuk K. H. and Vallee B. L.. Vitellogenin and Lipovitellin: zinc proteins of *Xenopus laevis* oocytes, *Biochemistry*, 1995, 34: 10851 ~ 10858
- 22 Komatsu M., Matsumoto W. *et al.*. Protease activity appeared after trypsin treatment of the purified vitellogenin from eel *Anguilla japonica*, *Comp. Biochem. Physiol. Part B*, 1996, 113: 561 ~ 571

(本文编辑:刘珊珊)