

会员登录

用户名:
密码:
验证码: 3828

相关文章

- 生物类黄酮在畜禽生产上的应...
- 大豆蛋白中的主要抗营养因子...
- 6种优势固沙植物饲用营养成分...
- 脂肪酸结合蛋白生物学特性及...
- 酵母对硒元素的富集研究和改...
- 胰岛素样生长因子-1 的生物学...
- 锌的营养作用及鸡对锌需要量...
- 日粮配制中能量和蛋白质的关...
- 牛膝多糖的生物学功能研究进...
- 反刍动物的理想氨基酸与小肠...

合作伙伴



产蛋鸡卵母细胞卵黄生成受体 (OVR) 的研究进展

作者:崔学平 陈代文 张克英 期号:2007年第9期

摘要 OVR介导大量的血浆蛋白被产蛋鸡吸收到生长的卵母细胞中,是卵黄前体进入卵母细胞的瓶颈。到目前为止发现它不仅与最丰富、最重要的卵黄前体极低密度脂蛋白(VLDL)、卵黄蛋白原(VTG)结合,还结合从生蛋白、 α 2-巨球蛋白(α 2-M)、受体相关蛋白(RAP)、乳铁蛋白、核黄素结合蛋白(ribBP)等,这些成分占蛋黄干物质的绝大部分。OVR发生突变的蛋鸡,不能繁殖,并且具有严重的高血脂症。它所内吞的VLDL的数量是蛋黄胆固醇含量的决定因素,因此期望通过调控OVR来控制蛋黄胆固醇的含量。

关键词 产蛋鸡;卵母细胞卵黄生成受体(OVR);胆固醇;脂蛋白
中图分类号 S852.21

Advance in oocyte vitellogenesis receptor of the laying hen
Cui Xueping, Chen Daiwen, Zhang Keying

Abstract Oocyte vitellogenesis receptors (OVR) mediates the uptake of plasma proteins into growing oocytes of laying hen, a choke point of yolk precursors into oocytes. Quantitatively important yolk precursors are very low density lipoproteins and vitellogenin. Up to now, OVR is not only the receptor for both of these ligands, but also for clusterin, α 2-Macroglobulin, Receptor-associated Protein (RAP), lactoferrin, Riboflavin binding protein (ribBP) and so on. They are major constituents of yolk solids form. Mutant strain hens lacking functional OVR are sterile and display severe hyperlipidemia. The content of egg yolk cholesterol depends on the amount of VLDL transported into oocyte. It is hopeful to control the content of egg cholesterol by modifying OVR.

Key words laying hen; oocyte vitellogenesis receptor; cholesterol; lipoprotein

产蛋鸡的卵母细胞有很快的生长速度,在排卵前7~10 d卵泡的直径从7 mm增加到35 mm,重量从0.2 g增加到17 g左右,每天大约吸收1.5~2 g蛋白。这些蛋白主要为极低密度脂蛋白(VLDL)、卵黄脂磷蛋白(LV)、卵黄高磷蛋白及少量的免疫球蛋白、白蛋白、维生素结合蛋白等。同时肝脏产生的脂质丰富的颗粒(VLDL和vitellogenin, VTG),如果不从血液排到卵母细胞,也会产生有害作用;用雌激素处理的公鸡,会快速形成大动脉小半鞘翅,证明了这一点。

有研究发现这些卵黄前体都通过生长的卵母细胞,以受体介导的内吞方式被特异的吸收。此受体因最先发现结合VTG或VLDL,曾叫VgR、VLDLR或VLDL/VTG receptor,后来发现其具有多种功能,并给它取了一个意义较为广泛的名字:卵母细胞卵黄生成受体(oocyte vitellogenesis receptor, OVR)。

OVR是卵黄前体进入卵母细胞的瓶颈。本文总结了OVR的主要研究进展,并提出了其可能参与胆固醇代谢的假设及研究前景。

1 OVR的生化特点

OVR的分子量为95 kDa,是一种糖蛋白,属于LDLR家族的成员。其所运输的脂蛋白占蛋黄干重的95%。

1.1 OVR的存在部位

OVR在卵母细胞外周清晰可见,主要与内陷小窝和小囊泡相连,并只在卵母细胞上表达,在颗粒细胞内外都未检测到。Dwayne[1]研究认为OVR在直径3~15 mm的卵泡中含量最高。Shen[2]表明,OVR在休眠的卵母细胞中已经存在,集中在细胞的中心部位;在卵母细胞的快速生长期,OVR重新分布到外周区,发挥它的内吞功能。Recheis[3]研究表明,在卵母细胞成熟以前已含有丰富的OVR的mRNA和蛋白,但只是选择性地让一些卵母细胞吸收卵黄前体,OVR就结合、内化、沉积那些卵黄物质。由此可见,OVR的发生发展可能还需要进一步研究,尤其在营养或生理状态发生变化的时候。

1.2 OVR的结构特点

OVR的结构由4个部分组成,从N端开始依次为:①配体结合区,具有8个富含半胱氨酸的重复簇组成,介导受体与配体的相互作用;②表皮生长因子(EGF)前体同源区,大约400个氨基酸构成,通过基因敲除的方法证明它可能参与OVR的解离及再循环利用;③跨膜区,由22~25个疏水性氨基酸组成,参与锚定受体、信号转导、离子通道的形成;④胞质尾区,含有50个氨基酸残基,介导OVR的细胞内吞作用,内化序列是保守的肽(Phe-Asp-Asn-Pro-Val-Tyr),同时也可能参与信号转导[4]。Bujo等[5]比较OVR与哺乳动物的LDLR的氨基酸顺序时发现二者有极大的同源性,如在N端的配体结合区存在84%的同源性,其下游的表皮生长因子同源区的同源性为85%。即使是在LDLR家族中保守性最差的跨膜区也有64%的同源性。OVR与LDLR家族成员之间最突出的差异在于配体结合区富含半胱氨酸的重复序列的数目,LDLR只有7个,而OVR含8个;并且OVR不含有氧连接的糖基,链长较短,因此从结构上OVR又叫LR8-。

1.3 OVR的理化性质

到目前为止,对OVR的提取所用的提取试剂有octyl glucoside、CHAPS、Nonidet P-40和Triton X-100,它们对OVR的溶解性没有什么不同。

苏拉明(suramin)可抑制OVR与其配体的结合。VLDL在24℃与OVR结合,在40 min内达到完全结合,在4 h没有检测到解离情况,然而加入苏拉明,结合的VLDL很快从受体中释放出来,增加苏拉明的量可完全抑制VLDL与OVR结合。OVR也对链霉菌蛋白酶非常敏感,存在巯基化合物时,抗OVR抗体与鸡OVR反应减弱,因为OVR的链内二硫键(主要位于配体结合区)被打开。另外,40 mmol/l EDTA也可抑制配体与受体的相互作用。OVR在-70℃储存2月,还能完全保持与VLDL和LDL的结合活性;但在90℃加热5 min就可破坏其结合活性。

2 OVR的配体

产蛋鸡卵母细胞生长需要两步调节:第一是在雌激素的控制下由肝脏合成卵黄前体;第二是OVR介导卵黄前体进入卵母细胞。通过此模型进入卵母细胞的有VTG、VLDL、转铁蛋白、视黄醇结合蛋白、硫酸素结合蛋白。近年来还发现了一些OVR的新配体。

2.1 VLDL与VTG

OVR的主要生理功能是介导产蛋鸡的卵细胞从血浆中吸收卵黄蛋白的前体物质,如VLDL和VTG。VTG是一种磷脂糖蛋白,是蛋黄中卵黄脂磷蛋白(Lipovitellin-VTG的氨基端部分)和卵黄高磷蛋白(Phosvitin-VTG的C端多肽)的前体。VLDL是以甘油三酯和胆固醇酯为核心,外面包被磷脂、游离胆固醇和载脂蛋白所构成的。VLDL是蛋黄中甘油三酯和胆固醇的主要来源,VTG是蛋黄蛋白的主要来源。

OVR既与VLDL结合又与VTG结合[6]。当OVR分别与VTG和VLDL进行配体印迹反应时,具有一样的迁移率。若加入免疫抗OVR,会抑制VTG和VLDL与OVR的结合。VLDL与VTG竞争结合OVR,VTG在OVR上的结合位点可能是VLDL识别位点的基础,VTG可能减少OVR对VLDL的亲合性,但反过来不成立[4]。可见,OVR可能是单链聚肽,具有双重结合空间。总之,VLDL和VTG占卵黄的大部分,它们都通过OVR吸收入卵母细胞,充分显示了物种进化的经济性。

2.2 OVR的其它配体

鸡从生蛋白(clusterin)在颗粒细胞中合成,与卵泡的发展相关,是卵泡闭锁和再吸收的标记,在卵黄生成伊始、闭锁卵泡、排卵卵

泡以及排卵后的卵泡中有较高的转录水平。Michelle[7]认为它作为OVR的结合载体而与OVR结合。 $\alpha 2$ -巨球蛋白($\alpha 2$ -M)属于鸡卵黄的成分之一,它的作用可能是在胚胎发生早期使卵黄中的组织蛋白酶D(cathepsin D)失活。就母鸡每天产生2~5g卵黄的吸收效率来讲, $\alpha 2$ -M可能是卵黄其它成分的piggyback机制。Linda[8]表明人 $\alpha 2$ -M和鸡 $\alpha 2$ -M都与OVR结合。将OVR转染到COS-7细胞, $\alpha 2$ -M被COS-7细胞内吞入卵母细胞。受体相关蛋白(RAP)是39kDa细胞内蛋白,原本认为只在哺乳动物中表达,它的功能是作为低密度脂蛋白受体(LDLR)家族的分子伴侣。现发现鸡也表达,它的功能还不清楚,可能也是OVR的分子伴侣;鸡乳铁蛋白可能是鸡最原始的免疫屏障。Thomas[9]表明,鸡RAP和乳铁蛋白与OVR结合,在转染了OVR的COS-7细胞内,RAP被纳入细胞。核黄素结合蛋白(ribBP)是鸡卵黄的必需成分,它供给卵黄足够的维生素B,以维持胚胎发展。血清中ribBP与VTG结合,被OVR内吞,此相互作用需要Ca²⁺和PO₄³⁻的参与。补体因子3(C3)不仅是体液补体系统的关键成分,也是鸡卵黄的成分。Recheis[3]研究认为C3是被OVR内吞而进入卵母细胞的。

2.3 OVR与配体的亲和性比较

将OVR提取物与配体孵化,经Scatchard分析的结果见表1。配体与OVR的亲和力大小为VTG>人apoE>鸡apoB>人apoB。OVR对VTG亲和性比apoB高,与哺乳动物LDLR对apoE的亲和性比apoB高类似,所以VTG可能是哺乳动物apoE的相似物,是物种进化的产物。Thomas[9]研究表明,鸡RAP和乳铁蛋白与OVR结合的亲和性大于VLDL、VTG和 $\alpha 2$ -M。

表1 脂蛋白与鸡OVR结合的参数

受体	配体	亲和常数 Kd(μ g/ml)	资料来源
OVR	β -VLDL	1.6	Dwayne ^[1]
	VLDL	3.4	
	VTG	2.8	

2.4 OVR的解离

卵母细胞的快速生长需要高速的吞噬作用以吸收蛋黄物质,通过原生质膜的OVR的循环才能保证卵母细胞的正常发育生长。在蛋黄前体混合物进入卵母细胞不久,OVR在蛋黄中相对低的pH值下被解离,重返原生质膜。一旦VLDL被OVR吸收,其载脂蛋白apoB被鸡所特有的cathepsin-D蛋白水解切割,但这些降解片段不抑制VLDL与OVR结合[10]。

3 OVR与蛋鸡健康和生产

综上所述,OVR有非常重要和广泛的生物学功能,如果OVR不能正常工作,将严重威胁蛋鸡的健康和生产。OVR基因位于禽性染色体上,该基因缺损的母鸡[如限制性排卵(RO)品系]不能繁殖,并呈现内源性高脂血症和动脉粥样硬化。将正常产蛋鸡与RO品系鸡的OVR进行序列分析发现,单个核苷酸置换(G→C)造成OVR缺陷,这一点突变导致OVR上的半胱氨酸-682(二硫键形成的供体)残基变成了丝氨酸残基[5]。由于该半胱氨酸残基位于OVR上的一个重要区域,导致OVR功能下降,卵细胞中不能累积正常量的蛋白前体,因而抑制卵细胞发育而影响产蛋;同时又不能抑制肝脏的脂蛋白合成与分泌,使血浆中累积大量的脂肪而产生高脂血症和动脉粥样硬化。Elkin[11]研究表明,公鸡中也存在LRB-,若其中一个等位基因突变,将导致子代母鸡的生殖和孵化能力降低。Elkin[12]进一步发现RO母鸡能够产蛋,但数量少,并且很小(<42g),蛋黄颜色深,卵黄结构被破坏。这暗示可能存在非OVR介导的卵黄生成机制。候选基因低密度受体相关蛋白(LRP,380kDa),它存在于突变和野生型中,它可能和OVR互补,介导卵黄生成,使RO母鸡可以排卵,少量产蛋,但不能维持正常水平。Robert[13]给RO鸡和正常鸡0.06% atorvastatin(AT),AT使RO鸡血浆胆固醇和甘油三酯分别降低了60.3%和70.1%;使正常鸡的血浆胆固醇和甘油三酯分别降低45.1%和34.3%;与正常鸡相比,RO鸡参与VLDL组装的几个关键基因的mRNA的表达受抑制,但不受AT的影响。这暗示OVR可能还参与胆固醇合成的调控。

4 OVR与蛋黄胆固醇转运的可能关系

鸡蛋胆固醇含量已引起国内外学者的高度关注,通过遗传选择、调整饲料或应用降血脂药物等方法,对降低鸡蛋胆固醇含量作了不少探索,可效果不甚理想。蛋黄胆固醇主要来源于肝脏合成的蛋黄前体VLDL和VTG,而又主要取决于VLDL进入卵母细胞的数量。蛋黄胆固醇难以降低有它客观的原因。首先,血浆中的脂蛋白是完整地转移到蛋黄中的;蛋黄中的脂类组成是由血浆脂蛋白的脂类组成所决定的,而遗传选择或抑制胆固醇合成的研究表明,也许能改变血浆脂蛋白的浓度,但不能改变脂蛋白的组成成分。其次,蛋鸡肝脏中合成的脂蛋白十分微细,并且大小一致,这样它们才能顺利通过卵泡壁的基底膜,但如此细微的脂蛋白,其表面积与体积比例的变异机会是有限的,即胆固醇含量的变异是有限的,因为胆固醇是脂蛋白的表面成分。最后,卵母细胞质膜上的OVR具有很强的亲和力,这意味着卵黄脂蛋白前体从血浆中的吸收率以及它们在蛋黄中的浓度与血浆中的脂蛋白浓度基本无关[14]。通过OVR调控鸡蛋胆固醇的研究还未见报道,但这蕴藏着巨大的价值。当肝脏合成或血清中卵黄前体减少时,OVR可能不会上调。因为OVR在不成熟的卵母细胞中已存在,可能不会从头合成。这时卵母细胞的能量被用作质膜合成,细胞内局部构像的建立和维持,以及卵黄的形成和排卵[2]。在注入放射标记的卵黄前体到直径10~15mm的鸡卵母细胞中未产生OVR的免疫沉淀物。然而OVR可能循环利用增加,内吞能力可能提高以保证有足够的卵黄前体进入卵母细胞,保证卵生物种的胚胎发育需要。

但也有假设认为,当肝脏合成或血清中卵黄前体减少时,OVR的表达可能会上调。这主要基于哺乳动物上的LDL和LDLR的关系而联想到的。

Brown与Goldstein在受体水平阐明了胆固醇代谢的负反馈调节过程,他们因此而获得诺贝尔生物学奖。他们认为,(1)细胞内胆固醇的合成与摄入受到LDLR的控制。(2)当细胞内胆固醇水平低时,细胞膜的LDLR大量增加,与血循环中富含胆固醇的LDL(或IDL)结合后,经过内吞作用进入细胞。(3)LDL-LDLR复合物在细胞内经溶酶体作用释放出胆固醇,引起以下效应:①抑制HMGCR(胆固醇生物合成限速酶)活性,因此细胞内胆固醇合成减少;②促进酰基CoA、胆固醇酰基转移酶(ACAT)活性,使胆固醇酯化增加;③抑制LDLR的合成,以减少细胞继续摄入胆固醇。Susanna[15]对公鸡给予雌激素,刺激VLDL产生,增加肝脏LDLR表达。鸡胚成纤维细胞与statin孵化LDL表达增加,在孵化前,加抗OVR抗体来阻断LDL内吞,这在产蛋鸡上还需要进一步研究。

可能由于产蛋鸡的胆固醇代谢缓慢,过程冗长复杂,研究方法还有待完善,所以OVR对其的调控尚未弄清楚,还有待进一步研究。总的来说,OVR所内吞的VLDL的数量是蛋黄胆固醇含量的决定因素,因此期望通过调控OVR来控制蛋黄胆固醇的含量。

参考文献

- 1 Dwayne L. The Receptor for Yolk Lipoprotein Deposition in the Chicken Oocyte[J]. Journal of Biological Chemistry, 1991,266(28): 18761~18770
- 2 Shen X, Steyrer E, Retzek H, et al. Chicken oocyte growth: receptor-mediated yolk deposition [J]. Cell Tissue Res., 1993,272(3): 459~471
- 3 Recheis B, Rumpler H, Schneiderand WJ, et al. Receptor-mediated transport and deposition of complement component C3 into developing chicken oocytes[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2005, 62(16): 1871~1880
- 4 Nimpf J. From cholesterol transport to signal transduction: low density lipoprotein receptor, very low density lipoprotein receptor, andapolipoprotein E receptor-2[J]. Biochimicaet Biophysica Acta,2000,1529:287~298
- 5 Bujo H. Mutant oocytic low density lipoprotein receptor gene family member causes atherosclerosis and female sterility Proc[J]. Natl. Acad. Sci. USA,1995, 92:9905~9909
- 6 Stefano S. A single chicken oocyte plasma membrane protein mediates uptake of verylow density lipoprotein and vitellogenin[J]. Cell Biology,1990, 87:1955~1959
- 7 Michelle GM, Ken A. Lindstedt, et al. Multiple Involvement of Clusterin in Chicken Ovarian Follicle Development[J]. J. Biol. Chem.,1999, 274(7):4036~4044
- 8 Linda J. The Chicken Oocyte Receptor for Lipoprotein Deposition Recognizes $\alpha 2$ -Macroglobulin[J].Biochemistry and Molecular Biology,1995, 270(12):6468~6475
- 9 Thomas H. The Chicken Oocyte Receptor for Yolk Precursors as a Model for Studying the Action of Receptor-associated

- Protein and Lactoferrin[J]. Biochemistry and Molecular Biology, 1995,270(31):18 219~18 226
- 10 Marcela H, Michelle GM, Ken A. Lindstedt, et al. Lipoprotein Receptors in Extraembryonic Tissues of the Chicken [J].J. Biol.Chem., 2000, 275(22):16 837~16 844
- 11 Elkin R G, Zhong Y.Assessment of Reproductive Function in Mutant Restricted Ovulator Carrier Roosters[J].Poult Sci.,2002,81: 1 280~1 282
- 12 Elkin R G, Zhong Y, Porter R E Jr, et al. Validation of a modified PCR-based method for identifying mutant restricted ovulator chickens: substantiation of genotypic classification by phenotypic traits [J]. Poult Sci., 2003,82(4):517~525
- 13 Robert G E , Zhong Y, Shawn S,et al. Effects of atorvastatin on lipid metabolism in normolipidemic and hereditary hyperlipidemic, non-laying hens[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2006,143(3):319~329
- 14 Griffin H.D. Egg cholesterol resists change[J] .Poultry International, 1990(8):20~22
- 15 Susanna H. Molecular characterization of the first avian LDL receptor: role in sterol metabolism of ovarian follicular cells [J]. Journal of Lipid Research, 2003(44): 1 633~1 642
- (编辑: 张学智, mengzai007@163.com)

...评论...

发表
评论

*40字以内

提交

重置

[关于我们](#) | [网站导航](#) | [友情连接](#) | [联系我们](#) | [会员须知](#) | [广告服务](#) | [服务条款](#)

版权所有:饲料工业杂志社 Copyright © [Http://www.feedindustry.com.cn](http://www.feedindustry.com.cn) 2004-2005 All Rights 辽 ICP备 05006846号

饲料工业杂志社地址:沈阳市皇姑区金沙江街16号6门 邮编:110036 投稿:E-mail:tg@feedindustry.com.cn 广告:E-mail:ggb@feedindustry.com.cn

编辑一部:(024)86391926(传真) 编辑二部:(024)86391925(传真) 网络部、发行部:(024)86391237 总编室:(024)86391923(传真)