

calpain 及其基因在肉质性状育种中的研究进展

周国利, 吴玉厚 (聊城大学生命科学学院, 山东聊城 252059)

摘要 综述了 calpain 的结构形式及其作用的一般机制, 并介绍了关于 calpain 基因在部分畜禽品种中的遗传变异及相关的研究进展。

关键词 calpain; 肉嫩度; calpain 基因; 多态性

中图分类号 Q786 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)15-3702-01

钙激活酶(calpain)自1964年被鉴定以来,其称呼很不一致,如依钙蛋白酶(Ca^{2+} -dependent protease),钙激活因子(calcium activated factor),钙激活酶(Ca^{2+} -activated enzyme),钙激活中性蛋白酶(calcium activated neutral protease)等。calpain 是在细胞内普遍存在的一种细胞质的巯基丙氨酸蛋白内切酶,它的活性完全依赖于 Ca^{2+} 的浓度来调节^[1]。

1 calpain 的结构形式

到目前为止,2种calpain的活性形式已经被鉴定:一种可被 μmol 水平的 Ca^{2+} 激活称 $\mu\text{calpain}$ (calpain I),另一种可被 mmol 水平的 Ca^{2+} 激活称 mcalpain (calpain II),另外在肉中还存在着一种calpain抑制蛋白calpastatin^[2]。 μ 和 mcalpains 被认为是没有活性的酶原,当 Ca^{2+} 出现时,没有活性的酶原就会通过自体溶解产生有活性的蛋白酶。这些酶原是由断裂基因产生的80 kDa大小的催化亚基和30 kDa大小的调节亚基组成的,并且2个亚基在 μ 和 mcalpains 酶中都存在^[3]。这个80 kDa的催化亚基包含4个结构域(~),并且它的氨基酸序列在 μ 和 mcalpains 是不同的,但它们具有50%的同源性。这个30 kDa的调节亚基在 μ 和 mcalpains 中是一样的,并有由N末端的富含甘氨酸结构()和C末端的 Ca^{2+} 结合结构域组成^[4]。

2 calpain 的作用的一般机制

细胞内大部分蛋白质的降解是由非溶菌酶系统所引起的,calpain就是此系统中的一个重要成员。calpain在所有的哺乳动物组织中都被鉴定并且受到了极大的关注。 μ 和 mcalpains 2种酶都可降解肌原纤维蛋白质,而对肌动蛋白质和肌浆球蛋白不起降解作用^[5]。calpain系统的体外研究表明,calpain仅降解蛋白质有限的专一位点,产生大的多肽片段,而不是分解成小肽或氨基酸。calpain的降解作用可导致横纹肌的肌原纤维Z盘裂解,从而使肌节部位断裂。因此,calpain在动物宰后肌肉蛋白的水解引起肉的嫩化中起着相当重要的作用^[6,7]。

3 calpain 基因的多态性及其在部分畜禽品种中的研究进展

在动物育种中,候选基因法已经被运用,目的是加速符合人类需要的基因型的个体的选择。对于肉质性状的研究当中,基因对于肌原纤维蛋白质水解路径的影响已经被证实^[8]。而且,组织蛋白酶和calpain基因已被证实是影响肉品质的候选基因^[9]。自从得知calpain能够对肌肉蛋白质降解以来,更多的已经集中到对它们基因的研究。

牛的calpain基因被定位到29号染色体上^[7]。Zang等^[10]利用PCR-RFLP的方法发现了安格斯(Angus)等牛的 mcalpain 30 kDa大小的调节亚基的基因具有多态性,并检测了3种基因型。

鸡 $\mu\text{calpain}$ 由2个亚基组成,其中80 kDa的大亚基含有钙离子结合位点和催化蛋白水解的活性域^[11]。 $\mu\text{calpain}$ 基因是非常有潜力的鸡肉嫩度性状的候选基因。美国肉用动物研究中心对牛的 $\mu\text{calpain}$ 基因和嫩度QTL定位的研究结果也证实了这一点。

1997年日本东京大学的Jeong等^[12]首次克隆了完整的鸡 $\mu\text{calpain}$ 基因的cDNA序列,并于1999年进行了修订(在GenBank上提交了mRNA全序列,登录号为AB007775),这为进一步研究 $\mu\text{calpain}$ 基因奠定了较好的基础。

4 结束语

总之,虽然现在关于calpain及其基因的研究还很少,但关于calpain及其基因多态性作用的研究将会大幅度增加。尽管如此,在肉质性状的育种工作中,对肉质性状的度量评价,必须在屠宰后才能进行,经济上的原因使得此项研究更加困难,因此有关肉质性状的度量,争取突破必须屠宰后才能度量这一条件的限制,减少资金的投入,并且使之更加客观而准确,帮助人们认识和分割遗传与环境的效应。评定分析方法应该进一步发展,使之最大限度地反应各个体间肉质性状的总体差异,并且应该具有所需样本小,方法简便,信息量大等特点。在肉质基因研究方面,随着分子生物学和统计学的发展,以及较高密度猪基因图谱的构建,除了上述一些研究比较成熟的肉质基因外,近年来,科学家对一些猪肉质候选基因进行了广泛深入的研究,如肥胖基因leptin基因、黑素皮质受体基因、脂蛋白脂酶基因、激素敏感脂酶基因等^[13],并将它们定位于相应的染色体上。有关影响肉质的嫩度、多汁性、失水率、pH值及肉色的QTL定位,各国也都有相应的报道^[14]。肉质性状基因或QTL的研究对肉质的改良与选育有着重要意义,特别是其主基因的检出与分离,将为动物肉质的遗传育种带来一些新的手段,在实践中全面促进肉质的改良。对主基因的利用可以从以下几方面考虑:首先,主基因分离时,通过有利基因型的固定,以及标记辅助选择(marker assisted selection),可获得大大超过常规选择的进展;其次,主基因的分离和固定可打破某些性状间的遗传拮抗,使育种目标尽快得以实现;第三,主基因的克隆和分离使转基因技术应用于数量性状成为可能,从而产生巨大的经济效益;第四,当有利的主基因在某一品种中被检测出来时,可以通过标记辅助渗入(marker assisted introgression)的方法,将

基金项目 聊城大学科技发展规划基金资助项目(X051005)。

作者简介 周国利(1975-),男,内蒙古赤峰人,硕士,讲师,从事动物分子数量遗传学研究。

收稿日期 2006-04-29

(上接第3702 页)

主基因引入到另一群体。

参考文献

- [1] SORIMACH H, FREIBURG A, KOLMERER B, et al. Tissue-specific expression and a actinin binding properties of the Z disc titin: implications for the nature of vertebrate Z discs[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1997, 270:688 - 695.
- [2] SUZUKI K, SORIMACH H. A novel aspect of calpain activation[J]. *FEBS Letters*, 1998, 433:1 - 4.
- [3] ILIAN MA, GILMOUR R S, BICKERSTAFFE R. Quantification of ovine and bovine calpain I, calpain II, and calpastatin mRNA by ribonuclease protection assay[J]. *Journal of Animal Science*, 1998, 76:853 - 864.
- [4] SIMONJ, ARTHUR C, GREER P A, et al. Structure of mouse calpain small subunit gene[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1998, 1388:247 - 252.
- [5] BELTRANJ A, JAIMEI, SANTOLARIAP, et al. Effect of stress-induced high post-natempHon protease activity and tenderness of beef[J]. *Meat Science*, 1997, 45:201 - 207.
- [6] KOCHMARAIE M. The role of endogenous proteases in meat tenderness[C]// *Proceedings of the 41st Annual Reciprocal Meat Conference*. Laramie: University of Wyoming, 1988:89 - 100.
- [7] SMITH T PL, CASAS E, REXROAD C E, et al. Bovine CAPN1 maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness[J]. *Journal of Animal Science*, 2000, 78:2589 - 2594.
- [8] OUALI A, DEMEYEDR D, RAICHON C. The role of muscle proteinases in muscle growth and meat quality[J]. *Biochimie*, 1992, 74:213 - 215.
- [9] MKAM MA, WHITING H, TAYLOR MAJ, et al. Degradation of myofibrils from rabbit, chicken and beef by cathepsin L and lysosomal lysates[J]. *Meat Science*, 1987, 21:81 - 97.
- [10] ZHANG H M, DENISES K, AX R L. Rapid communication: A novel DNA polymorphism of the bovine calpain gene detected by PCR RFLP analysis[J]. *Journal of Animal Science*, 1996, 74:1441.
- [11] WOLFE F H, SAIHE S K, COLL D E, et al. Chicken skeletal muscle has three Ca^{2+} -dependent proteinases[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1989, 998:236 - 250.
- [12] JEONG S Y, SORIMACH H, LEE H J, et al. Molecular cloning and characterization of cDNAs for the mature large subunit and the small subunit of chicken calpain[J]. *Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol*, 1997, 118:539 - 547.
- [13] 仇学梅, 李宁, 邓学梅, 等. 影响动物肉质主要候选基因的研究进展[J]. *遗传*, 2002, 24:571 - 574.
- [14] 苏玉虹, 熊远著, 邓昌彦. 猪的肉质性状基因定位研究进展[J]. *遗传*, 2000, 28:334 - 338.