

视黄醇结合蛋白及其基因的分子生物学

郭晓红¹, 储明星², 周忠孝¹

(1. 山西农业大学动物科技学院, 太谷 030801; 2. 中国农业科学院畜牧研究所, 北京 100094)

摘要:视黄醇结合蛋白(RBP)是一类维生素 A(VitA)的运载蛋白,参与血清和细胞内视黄醇/视黄酸的转运,是疏水小分子结合蛋白家族的成员。这类 RBP 主要在肝脏中合成并释放入血液进而进入各种组织。血清 RBP 通过与视黄醇、前白蛋白及细胞表面受体相互作用,在 VitA 的储存、代谢、转运到周围靶器官中具有重要功能;细胞 RBP 则主要在细胞内发挥类似作用。介绍了视黄醇结合蛋白的作用机理、组织定位和发育性表达,还介绍了视黄醇结合蛋白基因的结构、染色体定位以及与动物繁殖性能的关系。

关键词:视黄醇结合蛋白;视黄醇结合蛋白基因;繁殖性能

中图分类号:Q953

文献标识码:A

文章编号:0253-9772(2004)02-0257-06

Progress on Retinol-binding Proteins and Their Genes

GUO Xiao-Hong¹, CHU Ming-Xing², ZHOU Zhong-Xiao¹

(1. College of Animal Science and Technology, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China;

2. Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China)

Abstract: Retinol-binding proteins (RBPs) are a kind of circulating carrier proteins for serum and cellular retinol and retinol acid, which are lipid-soluble vitamins, and are members of hydrophobic binding protein family. Serum RBPs were synthesized primarily in liver, then was released into blood streams, and then to various tissues. Under the interaction with substances such as retinol, pre-albumin and the receptors of cellular surface, they play important roles in storage, metabolism of VitA and transport of VitA to the target cells. Cellular RBPs play the similar function as serum RBPs in intracell. This review introduces action mechanism, tissue localization and developmental expression of retinol-binding proteins. This review also introduces the structure, chromosome mapping and their relationships with reproductive performance of retinol-binding protein genes.

Key words: retinol-binding proteins; retinol-binding protein genes; reproductive performance

视黄醇结合蛋白(retinol-binding proteins, RBPs)是体内一类将 VitA 从肝中转运至靶组织以及实现 VitA 的细胞内转运代谢的特异的运载蛋白,在协助 VitA 发挥生理功能中起着不可替代的作用。自从 1968 年 Kanai 等首次分离发现 RBP 后,在人、小鼠、大鼠、蝶螈、狒狒及猪、牛、绵羊等中对其进行了广泛研究。介导 VitA 转运及行使功能的蛋白质很多,其中包括血清视黄醇结合蛋白(Serum RBP, 一般简称 RBP)和细胞视黄醇结合蛋白(Cellular RBP, CRBP)在内的

多种视黄醇结合蛋白的 X 射线衍射结构已经研究清楚^[1]。

RBP 和 CRBP 分别是细胞外和细胞内主要的视黄醇结合蛋白。RBP 为 21kDa 的多肽,与全反式视黄醇结合,属 α_1 -球蛋白之一种,是将 VitA 及其衍生物从肝脏中转运至靶组织的细胞外转运特异蛋白;CRBP 属于低分子量(15kDa)RBP 家族,可分为 CRBP I 和 CRBP II 两种,大量存在于哺乳动物组织细胞质中,也与全反式视黄醇结合,参与细胞内视黄醇的转运和代谢。本文将主要就 RBP 和 CRBP

收稿日期:2003-01-24;修回日期:2003-10-17

基金项目:国家高技术研究发展专项经费资助(课题编号:2002AA211081)[Supported by National High Technology Research and Development Program of China (No. 2002AA211081)]

作者简介:郭晓红(1978-),女,山西文水人,在读硕士,专业方向:分子遗传学。Tel:0354-6289295, E-mail:guoxiaohong313@163.com

通讯作者:储明星(1968-),男,安徽贵池人,博士,副研究员,从事分子数量遗传学研究。Tel:010-62816001, E-mail:mxchu@263.net

这两种视黄醇结合蛋白作一简要的综述。

1 视黄醇结合蛋白基因的结构及染色体定位

1.1 血清视黄醇结合蛋白基因

1.1.1 人类 RBP 基因的结构

Colantuoni 等对人类肝脏 RBP 的 cDNA 进行分离测序的结果表明, RBP 的 cDNA 序列含有一段 51 个碱基的短 5' 非翻译区(5' UTR)和一个负责编码 200 个氨基酸的从 51~651 核苷酸的可译框(包括 RBP 信号肽序列)^[2]。从核苷酸序列推导的氨基酸序列显示 RBP 含有一条 16 个氨基酸的信号肽,它具有所有信号肽前期结构的共同特征:①在 N 末端存在 1 个或 2 个带电残基(赖氨酸残基),对磷脂膜的极性头部具有重要的离子互作;②第 10 位氨基酸周围存在高疏水区;③在疏水区与剪切点之间存在由 3 个丙氨酸残基组成的开放区。另外,发现在 132 和 148 位点分别是苏氨酸和谷氨酸盐脂类而非天冬氨酸和谷氨酸,在终止密码子之前有一个亮氨酸残基,3' 非翻译区为 231bp,结尾是 poly(A)⁺ 尾巴。

总之,人类血清 RBP 基因约 10kb,含 6 个外显子和 5 个内含子,外显子较短,内含子大小变化很大。基因的旁侧序列至少包括 3 个不同的控制元件^[1],即①一个非组织特异性增强子——能够在一些不同的细胞系中激活的启动子;②一个负性顺式激活元件——可能结合阻抑蛋白;③启动子元件。这些控制元件如何相互作用,共同调节 RBP 基因表达仍不十分清楚,须进一步研究。

1.1.2 基因表达的特点

(1)单拷贝基因。Colantuoni 等对人类染色体 DNA 进行 Southern 和 Northern 杂交分析表明该基因在单倍体基因组中存在一个或几个拷贝,并由特定 mRNA 转录^[2]。Dore 等利用限制性内切核酸酶对绵羊基因组 DNA 的分析结果也表明 RBP 由单倍体基因组中的单一基因编码^[3]。

(2)特异性表达。尽管只是单基因编码,该基因在不同物种的同种组织中、同一个体的特异组织(如:孕体、外胚膜、内胚膜、子宫内膜、卵巢、输卵管、肝脏、小肠、卵泡、黄体、睾丸、附睾等等)中、以及同一个体特异组织的不同发育时期的表达都存在着差异。

(3)转录产物稳定。Colantuoni 等除了对肝脏 RBP 的 cDNA 进行研究外,还对人类肝脏的培养细胞系(Hep3B)的染色体 DNA 的 poly(A)⁺ mRNA 作了同样的分析,发现这两种情况的特定 mRNA 都为 1000~1100bp 大小,这表明该基因可以成熟稳定地转录^[2]。

1.1.3 人类 RBP 蛋白的合成

在合成 RBP 蛋白时,它首先以一个单链多肽前体合成,然后脱去前导肽变为成熟的分泌性蛋白,该蛋白是单一肽链蛋白质,分子质量约 21kDa,含有 184 个氨基酸残基和 3 个二硫键,有一个结合一分子的全反式视黄醇的位点^[2]。

1.2 细胞视黄醇结合蛋白基因

1.2.1 大鼠 CRBP I 基因结构

Levin 等从 λgt11 大鼠肝脏 cDNA 文库中分离得到 CRBP I 的 cDNA,对所克隆的 DNA 的 674bp 的核苷酸序列分析表明,CRBP I mRNA 的 5' 端非翻译区有 24 个碱基,编码区有 405 个碱基,3' 端非翻译区有 194 个碱基,还有 51 个碱基的 poly(A)尾巴^[4]。这与 Edman 法降解细胞蛋白所得的氨基酸序列相一致,只是初始 Met 在成熟的多肽中不存在。

1.2.2 大鼠 CRBP II 基因结构

Li 等从大鼠肝脏中分离 CRBP II 的 cDNA 克隆,分析表明起始密码子在 56 位,随后是可译框,终止于 458 位的终止密码子,全长共 570 多个碱基,共编码分子质量为 15 580 Da 的 134 个氨基酸^[5]。

1.2.3 大鼠 CRBP I 和 CRBP II 蛋白比较

(1)氨基酸的保守性比较。对大鼠 CRBP I 蛋白和 CRBP II 蛋白的比较测序分析结果表明,两种细胞视黄醇结合蛋白都是单链多肽^[6,7],都有 3 个 Cys 残基。这两种蛋白的前两个 Cys 在 95 和 126 位,形成二硫键^[8],是保守的;第 3 个 Cys 位点则不同,CRBP I 蛋白在 82 位,CRBP II 蛋白在 122 位。CRBP II 蛋白中第 9、89、107 和 110 的 4 个位点上的 Try 残基在 CRBP I 蛋白中是极端保守的。Levin 等比较了大鼠 CRBP I 和 CRBP II cDNA 的 596 个核苷酸,其中有 317 个完全相同(相同率 53%)^[4]。

(2)蛋白大小及组织特异性表达的比较。斑点印迹和 Northern 杂交分析结果表明,大鼠两种细胞视黄醇结合蛋白的大小和组织特异性也均不同,CRBP I mRNA 存在于肝脏、肺和小肠中,在肺中的表达水平最高,长 850bp;CRBP II 存在于消化道中,长 800bp。

1.3 视黄醇结合蛋白基因的染色体定位

目前已将部分视黄醇结合蛋白基因定位于人^[9~15]、小鼠^[10,16,17]、猪^[18,19]等动物的不同染色体位点上,如表 1 所示。

2 视黄醇结合蛋白的作用机理

视黄醇结合蛋白在机体内担负着转运视黄醇的任务,主要在肝脏中合成(190mg/天),由全反式视黄醇刺激 RBP 的分泌^[20]。其作用机理目前认为主要有以下几点:

(1)当靶组织需要 VitA 时,VitA 从肝中释放出来,运输到靶组织。这个过程首先将肝内储存 VitA 酯经酯酶水解为醇式,与 RBP 结合,再与前白蛋白(prealbumin, PA)等体积结合,形成 VitA-RBP-PA 复合体后,才离开肝脏,经血流入靶组织。VitA 为脂溶性维生素,在一般情况下必须与蛋白质结合,一方面使之具有水溶性,较稳定;另一方面,还可减少 VitA 对细胞的毒性。这是因为细胞膜对复合体有识别力,但对未结合的 VitA 无识别力,从而限制了细胞对 VitA 的摄取,避免了过多 VitA 进入细胞而产生毒性。

表 1 部分 RBP 基因定位

Table 1 Chromosome mapping for partial RBP genes

基因 Gene	物种 Species	定位 Chromosome mapping	相关信息 Related information	参考文献 References
CRBP I	人 Human	3q21-q22	CRBP I、CRBP II 紧密连锁且同源性很高。4 个外显子编码 24、59、33 和 16 个氨基酸;3 个内含子大小为 0.4、18.3 和 0.7kb	[9]
	小鼠 Mouse	9chr	CRBP I、CRBP II 在 3.0cM 范围内紧密连锁。其 mRNA 的表达水平在肺中最高	[10]
CRBP II	人 Human	3chr		[10]
	小鼠 Mouse	9chr	该基因是从大鼠中分离出来的。4 个外显子编码 24、59、34 和 16 个氨基酸,3 个内含子大小为 5.3、9.2 和 1.4kb。表达范围不如 CRBP I 广泛	[10]
RBP1	人 Human	3q21-q22		[11]
RBP3	人 Human	10q11.2		[12~14]
	小鼠 Mouse	13chr		[16]
RBP4	人 Human	10q24	位于 CYP2C(124 020Da)基因簇中心	[15]
	小鼠 Mouse	19chr	在 19 号染色体远端与苯巴比妥诱导的细胞色素 P450-2c(Cyp-2c)基因紧密连锁	[17]
	猪 Swine	14chr	Messer 等以 RBP4 为探针,将基因 cDNA 片段在 Southern 膜上进行 RFLP 检测,Sac I 膜显示出 12.1kb 和 7.8kb 两个等位基因片段 ^[18] ;Harney 等用猪肝脏 RBP cDNA 作为探针,在妊娠母猪(15 天)子宫内膜和孕体中检测到 1.0~1.1kb 的转录产物 ^[19]	[18,19]

(2) VitA-RBP-PA 复合体进入血流中,由于分子较大,不能从肾脏滤出。该复合体随血流到肠黏膜、膀胱、角膜及上皮组织等靶细胞,其中的 RBP 与细胞膜上的 RBP 特殊受体结合后, VitA 被释放出来进入细胞内。

(3) RBP 与 VitA 分开后发生变性,丧失了与 VitA、PA 或细胞膜上受体结合的能力。这种游离的 RBP 可在肾小球中滤过,在肾小管被重吸收,为肾皮层细胞所摄取,并在其溶酶体中分解为氨基酸。

(4) VitA 进入到靶细胞后,先结合到膜受体上,这时 CRBP 则在细胞膜内与受体作用,接受此视黄醇分子,CRBP 再发生构象变化,形成 VitA-CRBP 复合物并从膜上分离。

综合这几个要点,视黄醇结合蛋白就协同完成了将 VitA 从细胞外转入细胞内,以及在细胞内转运 VitA 的使命。这也说明了视黄醇结合蛋白的这种转运 VitA 的过程是蛋白质的相互作用过程。该机制可作为研究许多天然疏水小分子物质转运过程中蛋白质-蛋白质相互作用的模型^[21]。

3 视黄醇结合蛋白的组织定位和发育性表达

RBP 虽然被证明是肝脏合成的,但是许多肝外组织也有分泌,比如大鼠的卵黄囊,猪、绵羊和奶牛的孕体、子宫及胎盘组织。RBP 基因 mRNA 在哺乳动物的多种组织(如子宫内、卵巢、输卵管、孕体、胎盘上皮细胞、肝脏、小肠、卵

泡、黄体、睾丸、附睾等)中表达。在不同动物、同种动物的不同器官和不同发育时期都有所不同。许多学者对其进行了组织免疫化学定位及发育性表达的研究,现介绍如下:

3.1 猪

Johansson 等为了分清视黄醇的转运路线,首次对乳晕腺亚体及乳晕间区的调控作了针对性研究^[22]。对猪的上皮绒毛膜胎盘母胎接界面 RBP 的组织免疫化学定位研究结果表明,免疫反应 RBP(ir-RBP)、免疫反应 CRBP(ir-CRBP)都存在于发育中的猪胎盘中,并参与其生长和发育。ir-RBP 和 ir-CRBP 存在于子宫腺及乳晕滋养层中,子宫腺分泌 ir-RBP,滋养层吸收 RBP-VitA 的复合体;这两种蛋白也都存在于乳晕间区,ir-CRBP 还存在于子宫上皮及滋养层,而 ir-RBP 则仅存在于子宫上皮中。这些研究结果同时表明乳晕腺亚单位对于视黄醇及视黄醇-RBP 复合体的转运很重要。

Harney 等的研究表明,在猪发情期第 0、5 和 10 天,妊娠期第 10 天时,RBP 基因的表达水平太低而难以检测;发情期和妊娠期 RBP mRNA 的水平从 10~12 天一直到第 15 天($P < 0.06$)增强,发情期第 18 天开始下降($P < 0.01$),但在妊娠母猪子宫内中仍保持上升趋势^[23]。

3.2 绵羊

Dore 等用 RBP 的 cDNA 克隆研究了绵羊孕体及子宫内 RBP mRNA 的早期妊娠表达^[3]。结果表明早期妊娠和发情第 13 天 RBP 表达不存在差异。在发情期动物中,第

13 到 16 天间 *RBP* mRNA 表达双倍下降,据推测是这个时期黄体退化而导致孕酮水平下降的结果。在妊娠动物中,尽管存在有功能的黄体,子宫内膜 *RBP* mRNA 表达水平在妊娠第 13 天到 16 天间同样下降,并保持该水平直到第 30 天。绵羊胚胎 *RBP* mRNA 表达的起始与第 13 天早期胚泡的延伸相一致,其表达水平随着孕体的发育急剧上升,第 23 天达到峰值,此后开始下降。

输卵管 *RBP* 位于输卵管上皮细胞中,其合成、分泌及表达均受到类固醇的调节。哺乳动物的输卵管是类固醇应答器官,提供运输精子、受精及早期胚胎发育的环境。视黄醇对于雄性和雌性动物的繁殖都很关键, *VitA* 的缺乏将导致输卵管变小、繁殖性能下降、流产及胎儿先天性畸形等。绵羊输卵管中,在雌二醇存在时孕酮对 *RBP* 基因的表达是负调控的,而雌二醇-17 β 则刺激 *RBP* 的合成和分泌^[24]。

值得注意的是,妊娠早期子宫 *RBP* 基因表达的调控在猪和绵羊中存在着物种的差异,猪胚泡对 *RBP* 表达可能是正调控的,绵羊胚泡不产生雌激素,对 *RBP* 的表达是负调控的。

3.3 牛

MacKenzie 等研究了牛发情期和妊娠早期 *RBP* 的分泌、mRNA 的表达和细胞学定位^[25]。用原位杂交法将 *RBP* mRNA 定位于牛子宫内腔和腺体上皮细胞中,并发现 *RBP* 的 mRNA 在发情第 1 天的表达水平中等,第 5 天开始下降,第 10 天最低,15~17 天时有明显回升,第 20 天达到峰值。妊娠第 15 天 *RBP* mRNA 的水平与发情期的情况类似,妊娠 17~20 天时倍增,直到第 22 天保持该水平不变,此后又有所增加。用 ELISA 法测定了发情期子宫内腔中 *RBP* 的浓度,发现第 1~10 天之间持续下降,到第 15 天时又急剧上升,第 20 天之后开始下降。奶牛妊娠 15 天子宫潮红时 *RBP* 的浓度与发情期情况类似,直到第 17 天都保持该相对恒定的水平。奶牛子宫内腔中 *RBP* 的转录和分泌相互关联,卵巢类固醇可能与子宫中类固醇激素受体的浓度有关,调节子宫 *RBP* 的表达。

3.4 鼠

大鼠、小鼠中 *CRBP I* 和 *CRBP II* 这两种基因的分布及其 mRNA 在不同性别、不同组织和不同发育阶段的表达存在显著差异,表明它们各自发挥着不同的生理功能。

Levin 等发现紧密连锁基因 *CRBP I* 和 *CRBP II* mRNA 在成年雄性大鼠中的组织分布具有特异性^[4]。在成年雄性大鼠的 10 种组织(小肠、结肠、肾上腺、睾丸、肝、肾、胰、肺、脑、心)中,肾中 *CRBP I* mRNA 最多,而 *CRBP II* mRNA 则主要在小肠中,肾、脑及睾丸中仅有微量存在。妊娠后期雌性大鼠 *CRBP I* mRNA 在肝、肾中分布最多,小肠、胎盘膜、胎盘中仅有少量存在,其中肝脏 *CRBP I* 的量可增加 6 倍,小肠中 *CRBP I* 的浓度保持妊娠 16 天首次出现时的低水平,并在整个围产期和产后都将保持该水平不变;

分娩后肝脏中 *CRBP I* 的量迅速下降 10 倍,降到与成年雄性大鼠相似的水平。妊娠后期雌性大鼠 *CRBP II* mRNA 主要分布于小肠中,在妊娠 16 天到出生这段时间可增加 4 倍,整个泌乳期都保持上升趋势。分娩前后雌性大鼠与成年雄性大鼠肝脏中都不存在 *CRBP II* mRNA。

在胎儿组织中,Kato 等的研究表明大鼠 *CRBP I* 主要存在于绒毛尿囊胎盘的滋养层和卵黄囊的内胚层,其 mRNA 在出生后期胎儿的肝脏、小肠、肺和肾中存在,但不存在于脑和心脏^[26]。*CRBP I* 的水平在出生后 24 小时可上升 4 倍,出生第 2 天则突然又降低 4 倍,在整个断奶早期(14 天)都存在;*CRBP II* mRNA 的水平则一直保持恒定直到断奶后才消失。Northern 杂交分析表明每种组织中 *CRBP I* mRNA 的量都与成年大鼠和小鼠中的量不同,*CRBP II* 基因在胎儿肝脏及小肠中表达,在肾脏、胎盘膜及胎盘中均不表达。胎儿肝脏中两种细胞视黄醇结合蛋白在妊娠 16 天时都表达,哺乳期及早期断奶期肝中 *CRBP I* 浓度显著提高,而 *CRBP II* mRNA 水平在出生后已显著下降。

3.5 狒狒

Fazleabas 等对灵长类动物狒狒妊娠 18~32 天的子宫和胎儿组织的研究表明,子宫内膜 *RBP* 首先在胎儿器官生成时合成^[27],这很可能是胚胎发育关键时期视黄醇转入胎儿区所必需的。中腺和基底腺免疫反应类 *RBP* (*ir-RBP*) 起初有所增加,第 25 天其 mRNA 水平达到峰值,在子宫上颞基片区比在功能基片区有较高水平的表达,移植位点的 *RBP* 免疫活性较非移植位点的高。与猪、牛、羊的情况不同,在狒狒孕体和胎盘中都未检测到 *RBP* 蛋白及相关信息。

4 视黄醇结合蛋白基因与繁殖性能的关系

目前研究表明 *RBP* 对于家畜的生产性能,尤其是猪繁殖性能和胚胎发育影响重大。子宫内膜及子宫肌膜中 *RBP* 基因的充分表达说明了发育中孕体的视黄醇的转运是子宫生长、胚胎发育、外胚膜分化形成绒毛膜、尿囊和卵黄囊以及胎盘形成等所必需的。由于 *RBP* 四种形式之一的 *RBP4* 在妊娠关键期的转运作用和在胚胎发育过程中的显著作用,已将其作为猪高产仔数的有力候选基因。

4.1 与猪产仔数的关系

孕体、子宫内膜及肝脏等组织中的 *RBP* 基因是由组织特异性的复杂机制调节的,这对动物的繁殖性状至关重要。猪子宫 *RBP* 是在孕酮的影响下分泌产生的,存在 4 种主要形式。孕体能否获得视黄醇受到视黄醇能否从母体毛细血管穿过几层上皮细胞被转运到子宫腔中的限制^[28],孕体 *RBP* 对视黄醇的亲合性较对视黄酸(*RA*)的亲合性要高^[29],在这一限制过程中发挥着运载视黄醇的重要作用。Stallings-Mann 等跟踪研究猪两个假妊娠期之间子宫 *RBP* 的分泌情况,发现在第 13 天时 *RBP1* ($P < 0.01$) 和 *RBP3* ($P < 0.05$) 占优势,而在第 45 天时 *RBP2* ($P < 0.05$) 和 *RBP4* ($P < 0.01$) 的

量最多^[30]。

RBP4 是孕体产生的主要蛋白质之一,在猪的妊娠关键时期表达^[23],影响猪的产仔数。Messer 等报道了 RBP4 基因在 LWH(法国超高产大白猪)中窝产仔数加性效应为 0.52 ± 0.30 头/窝,在 LW(法国对照组大白猪)中为 0.45 ± 0.43 头/窝,同时窝产仔数的等位替代效应从表型标准差的 5%变化到 17%^[18]。Rothschild 等对 6 个商品系 1300 头母猪的 2555 头仔猪进行了 RBP4 标记基因型检测,用内切酶 *Msp* I 酶切 PCR 产物(1 为有利等位基因),电泳观察到 11 基因型分离出 190bp、154bp 和 136bp 3 种大小的片段,22 基因型分离出 154bp、136bp 和 126bp 3 种大小的片段,11 基因型与 22 基因型间的差异为 0.5 头/窝(TNB,总产仔数)和 0.26 头/窝(NBA,产活仔数)^[31]。他们对商品系猪的 RBP4 效应分析结果为,TNB 加性效应为 0.23 头/窝($P < 0.05$),NBA 加性效应为 0.15 头/窝,表明 RBP4 基因在某些商品系(尤其是长白系)中对产仔数存在中等增强的效应。Ollivier 等分析高产仔系和对照组母猪,估计 RBP4 的效应为 0.4 头/窝^[32],因此,RBP4 基因是一个较为合理的产仔数候选基因。RBP4 基因效应只有雌激素受体基因(*ESR*)的一半左右^[33],但由于 *ESR B* 等位基因频率极低或不存在,可以将 RBP4 这样的附加标记作为进行梅山猪中 *ESR B* 等位基因标记辅助导入的替代方法^[34]。

Drogemuller 等在对不同德系猪产仔数候选基因标记的研究中发现 RBP4 等位基因 A 的频率在合成系、德系长白和杜洛克中分别为 0.62、0.67、0.85,在检测了基因型的合成系母猪中,未表明 A 等位基因对产仔数存在有利效应,表现为不同品系或群体间等位基因效应不同^[35],这可能是由于不同品系间的原因突变和标记间的连锁不同造成的。

4.2 与胚胎发育的关系

Bavik 等通过对小鼠胚胎的卵黄囊注射反义寡脱氧核苷酸产生缺失 RA 胚胎,结果卵黄囊 RBP 合成受到抑制,导致发育后期的胚胎卵黄血管、脑神经血管和眼部畸形;当为胚胎加入 RA 后,胚胎发育恢复正常,这表明 RBP 在胚胎 RA 合成中具有重要作用^[36]。

Kato 等证明 CRBP 广泛存在于胎儿卵黄囊的内胚层及绒毛膜尿囊胎盘的滋养层中,这两种组织均参与母体-胎儿间的营养传输,前者合成大量包括血清 RBP 在内的分泌性蛋白,很可能在后期发育的胎儿肝脏中发挥功能^[26]。出生后胎儿肝脏中 VitA 的储存受母体 VitA 的影响非常明显,为满足小鼠 VitA 的需要,母体很可能动用其肝脏中储存的 VitA 并提高小肠吸收视黄醇的能力,在这些过程中 CRBP 基因可能起着重要作用^[36]。

5 结语

视黄醇结合蛋白为脂溶性维生素 A 的循环转运蛋白,VitA 的储存、代谢必须依靠视黄醇结合蛋白的协助,一旦

RBP 基因发生突变,引起氨基酸改变,则体内 VitA 的吸收、储存、转运等环节将会改变,引起组织中 VitA 的分布不均,进而引发各种疾病,如夜盲症、结膜干燥症,并影响上皮组织和骨组织的生长、分化与繁殖以及胚胎发育等。近年来,视黄醇结合蛋白被认为是猪、牛、羊等许多物种中孕体、外胚膜、子宫内膜所分泌合成的主要产物,因此,推测视黄醇结合蛋白在家畜的许多生物学过程如上皮组织维持、骨骼发育、胚胎发育、繁殖等中发挥着至关重要的作用。目前,有关视黄醇结合蛋白的化学结构、基因结构及其表达的研究较为深入,但关于 RBP 基因对动物繁殖性能的影响等方面的研究还不是很透彻,还有待进一步的研究。

参 考 文 献 (References):

- [1] LIANG Xue-Ying, XU Qi-Shou. Molecular biology of the retinol-binding protein. *Progress in Physiological Sciences*, 2000, 31(3):277~279.
梁学颖,徐琪寿. 视黄醇结合蛋白的分子生物学. *生理科学进展*, 2000, 31(3):277~279.
- [2] Colantuoni V, Romano V, Bensi G, Santoro C, Costanzo F, Raugei G, Cortese R. Cloning and sequencing of a full length cDNA coding for human retinol-binding protein. *Nucleic Acids Research*, 1983, 11(22):7769~7776.
- [3] Dore J J, Roberts M P, Godkin J D. Early gestational expression of retinol-binding protein mRNA by the ovine conceptus and endometrium. *Molecular Reproduction and Development*, 1994, 38(1):24~29.
- [4] Levin M S, Li E, Ong D E, Gordon J I. Comparison of the tissue-specific expression and developmental regulation of two closely linked rodent genes encoding cytosolic retinol-binding protein. *The Journal of Biological Chemistry*, 1987, 262(15):7118~7124.
- [5] Li E, Demmer L A, Sweetser D A, Ong D E, Gordon J I. Rat cellular retinol-binding protein: use of a cloned cDNA to define its primary structure, tissue-specific expression, and developmental regulation. *Biochemistry*, 1986, 83:5779~5783.
- [6] Ong D E. A novel retinol-binding protein from rat, purification and partial characterization. *J Biol Chem*, 1984, 259:1476~1482.
- [7] Sporn M B, Roberts A B, Goodman D S. *The Retinoids*. Orlando FL: Academic, 1984, 2:89~122.
- [8] Sundelin J, Anundi H, Tragardh L, Eriksson U, Lind P, Ronne H, Peterson P A, Rask L. The primary structure of rat liver cellular retinol-binding protein gene. *J Biol Chem*, 1985, 260:6488~6493.
- [9] Nilsson M H, Spurr N K, Lundvall J, Rask L. Human cellular retinol-binding protein gene organization and chromosomal localization. *J Biol Chem*, 1988, 173(1):35~44.
- [10] Demmer L A, Birkenmeier E H, Sweetser D A, Levin M S,

- Zollman S, Sparkes R S, Mohandas T, Lusia A J, Gordon J I. The cellular retinol-binding protein gene, sequence analysis of the rat gene, chromosomal localization in mice and humans, and documentation of its close linkage to the cellular retinol-binding protein gene. *J Biol Chem*, 1987, 262:2458~2467.
- [11] Rocchi M, Covone A, Romeo G, Faraonio R, Colantuoni V. Regional mapping of RBP4 to 10q23-q24 and RBP1 to 3q21-q22 in man. *Somat Cell Mol Genet*, 1989, 15(2):185~190.
- [12] Farrer L A, Castiglione C M, Kidd K K. A linkage group of five DNA markers on human chromosome 10. *Genomics*, 1988, 3:72~77.
- [13] Nakamura Y, Lathrop M, Bragg T, Leppert M, White R. An extended genetic linkage map of markers for human chromosome 10. *Genomics*, 1988, 3:389~392.
- [14] Carson N L, Simpson N E. A physical map of 13 markers on chromosome 10 from dosage studies on abnormal cell lines. *Cytogenet Cell Genet*, 1989, 51:974~975.
- [15] Seeliger M W, Biesalski H K, Wissinger B. Phenotype in retinol deficiency due to a hereditary defect in retinol binding protein synthesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1999, 40(1):3~11.
- [16] Danciger M, Kozak C A, Nickerson J, Redmond T M, Farber D B. Localization of the gene for interphotoreceptor retinoid-binding protein to mouse chromosome 14 near Np-1. *Genomics*, 1990, 8(4):727~731.
- [17] Chainani M, Sampsell B, Elliott R W. Localization of the gene for plasma retinol-binding protein to the distal half of mouse chromosome 19. *Genomics*, 1991, 9(2):376~379.
- [18] Messer L, Wang L, Legault C, Rothschild M F. Mapping and investigation of candidate gene for litter size in French Large White pigs. *Animal Genetics*, 1996, 27(Suppl. 2):114.
- [19] Harney J P, Smith L C, Simmen R C, Fliss A E, Bazer F W. Retinol-binding protein: immunolocalization of protein and abundance of messenger ribonucleic acid in conceptus and maternal tissues during pregnancy in pigs. *Biology of Reproduction*, 1994, 50(5):1126~1135.
- [20] Helen M N, Newcomer M E. The structure of human retinol-binding protein (RBP) with its carrier protein transthyretin reveals an interaction with the carboxy terminus of RBP. *Biochemistry*, 1999, 38:2647~2653.
- [21] Monaco H L, Rizzi M, Coda A. Structure of a complex of two plasma protein: transthyretin and retinol-binding protein. *Science*, 1995, 268:1039~1041.
- [22] Johansson S, Dencker L, Dantzer V. Immunohistochemical localization of retinol-binding protein at the materno-fetal interface of the porcine epitheliochorial placenta. *Biology of Reproduction*, 2001, 64:60~68.
- [23] Harney J P, Ott T L, Geisert R D, Bazer F W. Retinol-binding protein gene expression in cyclic and pregnant endometrium of pigs, sheep, and cattle. *Biology of Reproduction*, 1993, 49:1066~1073.
- [24] Eberhardt D M, Jacobs W G, Godkin J D. Steroid regulation of retinol-binding protein in the ovine oviduct. *Biology of Reproduction*, 1999, 60(4):714~720.
- [25] MacKenzie S H, Roberts M P, Liu K H, Dore J J, Godkin J D. Bovine endometrial retinol-binding protein secretion, messenger ribonucleic acid expression, and cellular localization during the estrous cycle and early pregnancy. *Biology of Reproduction*, 1997, 57(6):1445~1450.
- [26] Kato M, Kato K, Goodman D S. Immunochemical studies on the localization and on the concentration of cellular retinol-binding protein in rat liver during perinatal development. *Lab Invest*, 1985, 52(5):475~484.
- [27] Fazleabas A T, Donnelly K M, Mavrogianis P A, Verhage H G. Retinol-binding protein in the Baboon (*Papio anubis*) uterus: immunohistochemical characterization and gene expression. *Biol Reprod*, 1994, 50(6):1207~1215.
- [28] Roberts R M, Xie S, Trout W E. Embryo-uterine interaction in pigs during week 2 of pregnancy. *J Reprod Fertil*, 1993, 48(Suppl.):171~186.
- [29] Harney J P, Ali M, Vedeckis W V, Bazer F W. Porcine conceptus and endometrial retinol-binding proteins. *Reprod Fertil Dev*, 1994, 6:211~219.
- [30] Stallings-Mann M L, Trout W E, Roberts M. Porcine uterine retinol-binding proteins are identical gene products to the serum retinol-binding protein. *Biology of Reproduction*, 1993, 48:998~1005.
- [31] Rothschild M F, Messer L, Day A, Wales R, Short T, Southwood O, Plastow G. Investigation of the retinol-binding protein 4 (RBP4) gene as a candidate gene for increased litter size in pigs. *Mammalian Genome*, 2000, 11(1):75~77.
- [32] Ollivier L, Messer L A, Rothschild M F, Legault C. The use of selection experiments for detecting quantitative trait loci with an application to the INRA hyperprolific pig. *Genet Res*, 1997, 69:227~232.
- [33] Short T H, Rothschild M F, Southwood O I, McLaren D G, de Vries A. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines. *J Anim Sci*, 1997, 75:3138~3142.
- [34] Linville R C, Pomp D, Johnson R K, Rothschild M F. Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine. *J Anim Sci*, 2001, 79:60~67.
- [35] Drogemuller C, Hamann H, Distl O. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *J Anim Sci*, 2001, 79:2565~2570.
- [36] Bavik C, Ward S J, Chambon P. Developmental abnormalities in cultured mouse embryos deprived of retinoic acid by inhibition of yolk-sac retinol-binding protein synthesis. *Developmental Biology*, 1996, 93(7):3110~3114.