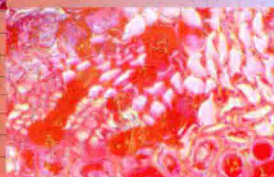
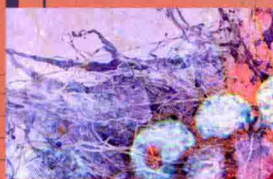


钙蛋白酶系统

◎ 常泓 尹淑琴 编著



中国农业科学技术出版社

钙蛋白酶系统

◎ 常 泓 尹淑琴 编著

中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

钙蛋白酶系统 / 常泓, 尹淑琴编著. —北京: 中国农业科学技术出版社,
2016. 12

ISBN 978 - 7 - 5116 - 2904 - 3

I. ①钙… II. ①常…②尹… III. ①钙 - 蛋白酶 - 研究 IV. ①Q556

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 318067 号

责任编辑 张孝安 崔改泵

责任校对 李向荣

出版者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010)82109708(编辑室) (010)82109702(发行部)

(010)82109709(读者服务部)

传 真 (010)82106650

网 址 <http://www.castp.cn>

经 销 者 各地新华书店

印 刷 者 北京富泰印刷有限责任公司

开 本 710mm × 1 000mm 1/16

印 张 11.25

字 数 230 千字

版 次 2016 年 12 月第 1 版 2016 年 12 月第 1 次印刷

定 价 60.00 元

— 版权所有 · 翻印必究 —

前言

钙蛋白酶系统 *CAPNs* (Calpain system) 是高度可调的、依赖于 Ca^{2+} 的蛋白质水解酶系统。钙蛋白酶 (calpain) 的研究始于 1964 年, 钙蛋白酶抑制蛋白 CAST (calpastatin) 的研究始于 1976 年, 而钙蛋白酶激活蛋白 (calpain activator) 的研究始于 1982 年。钙蛋白酶系统的研究是畜牧学领域、医学领域和肉类科学领域的热门研究课题。

Calpain 是一种钙激活中性半胱氨酸内肽酶 (EC 3.4.22.17), 分布于所有脊椎动物细胞中, 在果蝇属和昆虫中发现了此酶, 最新的研究发现植物细胞也含有此酶。虽然不同生物细胞中的钙激活蛋白酶的结构略有不同, 但是, 钙激活蛋白酶的结构都是由大小两个结构域组成。

钙蛋白酶系统的体外研究表明, *CAPNs* 仅裂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。这些蛋白酶是高度可调、且依赖于 Ca^{2+} 的蛋白水解酶系统复合体。该系统在许多细胞骨架蛋白的结合与分解中起一定作用, 尤其对依附于质膜或亚细胞结构的细胞骨架纤维部位。*CAPNs* 降解作用较彻底, 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, *CAPNs* 在动物机体屠宰后, 肌肉蛋白的水解引起肉的嫩化中起相当重要的作用。它还参与居间纤维的分解、神经丝蛋白的水解、表皮作用因子受体的降解、成肌细胞融合、磷酸化酶 b 激酶和蛋白激酶 c 的活性、类固醇激素结合蛋白的转化、血小板的凝集等。*CAPNs* 不仅参与上述正常的细胞内级联信号转导, 也与机体内发生的各种病理状态, 肿瘤、局部缺血、老年性痴呆症、白内障、肌肉萎缩、脓毒、切东二氏综合征、炎症、关节炎、疟疾等各种疾病相关联。

迄今, 钙蛋白酶系统已成为最广泛和深入研究的蛋白酶系统之一, 美国、日本、法国、以色列、英国、加拿大和意大利等国家的科学家都对它产生了浓厚的兴趣。我国关于钙蛋白酶系统的研究始于 20 世纪 90 年代, 本书作者曾于 2006 年出版过《钙激活蛋白酶与基础研究》一专著, 本书更完整、系统地对钙蛋白酶系统的研究史、生物进化、系统命名、活性调节与结构的关系及与疾病的关系进行了叙述和总结。在书的撰写过程中作者还将近年来的科研成果进

行了融合和整理，是一本该领域研究的系统性较强的学术专著。

本书由常泓和尹淑琴共同编著，其中第一章钙蛋白酶系统的研究史及分类、第二章钙蛋白酶系统具有显著特征的成员——CAPN1 (μ CL)、CAPN2 (mCL) 和 CAST 及第三章钙蛋白酶系统的其他成员由常泓编著；第四章钙蛋白酶系统的活性调节、第五章钙蛋白酶系统与相关疾病及第六章钙蛋白酶系统与肉的品质及肉的嫩化由尹淑琴编著。在编著过程中，研究生张晓红、周全和冯晓赟等同学协助提供资料并进行编辑审核，在此一并表示感谢。由于我们水平有限，加之钙蛋白酶涉及各学科领域广泛，学科发展迅速，书中的疏漏及不妥之处在所难免，殷切期待各位读者和同行的惠正。

本书适合于生物学、畜牧学、兽医学、食品科学、医学领域的研究生、科研人员和肉类科学工作者以及其他科学爱好者阅读参考。

编著者

2016 年 10 月

目 录

1 钙蛋白酶系统的研究史及分类	(1)
1.1 钙蛋白酶的研究史及定义	(1)
1.2 钙蛋白酶的命名	(4)
1.3 钙蛋白酶的生物进化和分类	(7)
1.3.1 脊椎动物的钙蛋白酶	(7)
1.3.2 经典 CAPNs 进化的路线图	(11)
1.3.3 理解经典 CAPNs 在脊椎动物发展史中的价值	(12)
1.3.4 进化过程中赋予经典 CAPNs 的选择性特征	(12)
1.3.5 跨越脊椎动物类群, 经典 calpain mRNA 具有不同的表达 ...	(12)
1.3.6 人类中经典 calpains 的表达	(14)
1.4 人类的钙蛋白酶	(14)
1.5 其他物种中的钙蛋白酶	(15)
1.6 线粒体中的钙蛋白酶	(17)
1.6.1 线粒体中的钙蛋白酶	(21)
1.6.2 线粒体钙蛋白酶的调控	(22)
1.6.3 线粒体钙蛋白酶的功能	(23)
1.6.4 线粒体钙蛋白酶在神经元细胞死亡	(26)
2 钙蛋白酶系统具有显著特征的成员——CAPN1 (μ CL)、CAPN2 (mCL) 和 CAST	(28)
2.1 CAPN1 (μ CL)、CAPN2 (mCL) 的特性	(28)
2.1.1 CAPN1 (μ CL)、CAPN2 (mCL) 的 cDNA 序列	(28)
2.1.2 CAPN1 和 CAPN2 的基因组序列	(33)
2.1.3 CAPNs 的 3D 结构研究	(35)
2.1.4 CAPNs 功能表达研究	(41)
2.1.5 自溶和酶原问题	(42)

2.2	CAST (calpastatin) 的特性	(44)
2.2.1	CAST 的 DNA 序列	(45)
2.2.2	CAST 的结构域结构	(47)
2.2.3	与 CAPNs 的结合	(47)
2.2.4	CAST 的遗传学研究	(48)
2.3	CAPNs 和 CAST 的纯化及活性检测	(48)
2.3.1	CAPNs 及 CAST 的分离提纯	(48)
2.3.2	Caipains 的活性测定	(49)
3	钙蛋白酶系统的其他成员	(50)
3.1	非经典 CAPNs 成员中的亚家族	(51)
3.1.1	严格的 PalB 同系物 (PalB 亚家族中的 PalB 群)	(51)
3.1.2	PalB 亚家族的 TRA-3 群	(54)
3.1.3	PalB 亚家族的 CAPN10 群	(54)
3.1.4	SOL 亚家族	(55)
3.1.5	植物 calpain	(55)
3.1.6	其他 calpain 成员	(55)
3.2	普遍存在的组织特异性 CAPNs	(56)
3.2.1	组织特异性 CAPNs 的表达	(56)
3.2.2	CAPN3 [p94]	(57)
3.2.3	CAPN8 [nCL-2] 和 CAPN9 [nCL-4]	(64)
4	钙蛋白酶系统的活性调节	(66)
4.1	钙离子对 CAPNs 的调节作用	(66)
4.1.1	钙离子协助 CAPNs 对底物的精准定位	(66)
4.1.2	钙离子直接结合于 CAPNs 的核心结构	(67)
4.1.3	钙离子与 CAPNs 的其他结合位点	(67)
4.2	CAPNs 的自溶	(70)
4.2.1	CAPN1 和 CAPN2 的自溶是分子内反应	(70)
4.2.2	体外人工纯化后的 CAPN1 和 CAPN2 的自溶反应	(71)
4.3	小亚基解离对 CAPNs 的调节作用	(71)
4.3.1	生理条件下, 小亚基解离与否	(71)
4.3.2	小亚基在 CAPNs 聚集中的作用	(73)
4.4	CAPNs 核心酶的作用	(74)
4.4.1	抑制剂与 CAPNs 核心酶的结合	(74)

4.4.2	使用 CAPNs 核心酶可以筛选理想的底物序列	(74)
4.4.3	非核心结构域对 CAPNs 活性的辅助功能	(74)
4.4.4	为何 CAPN2 核心酶的活性较差?	(75)
4.4.5	其他 CAPNs 核心酶	(75)
4.5	CAPNs 磷脂化作用	(76)
4.6	CAPNs 活性的负调节——CAST	(77)
4.7	钙蛋白酶是与膜结合、发生自溶而发挥蛋白酶活性的吗?	(78)
4.8	钙蛋白酶是受 Ca^{2+} 和钙蛋白酶抑制蛋白调节的吗?	(80)
4.9	钙蛋白酶激活因子 (CAPNs activator)	(82)
4.9.1	钙蛋白酶激活因子 (UK114) 的结构	(84)
4.9.2	钙蛋白酶激活因子对钙蛋白酶的激活特性	(84)
4.9.3	钙激活蛋白酶激活蛋白 (UK114) 研究进展	(88)
5	钙蛋白酶系统与相关疾病	(93)
5.1	CAPN3 与相关疾病	(94)
5.1.1	CAPN3 与 LGMD2A	(94)
5.1.2	与 CAPN3 相作用的分子	(96)
5.1.3	CAPN3 的抑制和激活	(98)
5.1.4	CAPN3 可能参与细胞周期调控	(98)
5.1.5	CAPN3 对疾病的防御作用	(99)
5.2	CAPNs 系统与肿瘤	(103)
5.2.1	CAPNs 在癌症中的上调或下调	(103)
5.2.2	CAPNs 与细胞发育	(105)
5.2.3	CAPNs 和细胞迁移—侵袭	(108)
5.2.4	非典型的和组织特异性的 CAPNs 与肿瘤的关系	(109)
5.3	CAPNs 系统与糖尿病	(111)
5.3.1	CAPN10 的结构、功能	(111)
5.3.2	CAPN10 与 II 型糖尿病的作用	(111)
5.4	CAPNs 系统与眼部疾病	(115)
5.4.1	LEC 凋亡是白内障形成的细胞学基础	(115)
5.4.2	CAPNs 的激活在白内障发生机制中的作用	(116)
5.5	胃肠特异性 CAPNs	(117)
5.6	CAPNs 系统与阿尔茨海默症	(118)
5.6.1	阿尔茨海默病的发病机理	(118)

5.6.2	CAPNs 在阿尔茨海默病症中的作用	(119)
5.7	CAPNs 系统与脑部疾病	(121)
5.7.1	CAPNs 与脑缺血疾病	(121)
5.7.2	CAPNs 与脑外伤、脊髓损伤、脱髓鞘性疾病等的神经 元退变	(122)
6	钙蛋白酶系统与肉的品质及肉的嫩化	(124)
6.1	牛肉的品质性状	(125)
6.2	影响畜禽肉品质的因素	(126)
6.2.1	肉本身的因素	(126)
6.2.2	屠宰前的影响因素	(129)
6.2.3	宰后的影响因素	(131)
6.3	有关牛肉用性状的基因	(132)
6.3.1	有关牛肉用品质基因标记的概述	(132)
6.3.2	一些牛肉品质候选基因的概述	(133)
6.4	钙蛋白酶系统与肉品质的关系	(135)
6.4.1	CAPNs 对肌肉/细胞骨架蛋白质的影响	(135)
6.4.2	起始肌原纤维蛋白的转换	(137)
6.4.3	促进肌肉微观组织结构的改变	(139)
6.4.4	促进宰后动物肌体的蛋白质水解	(139)
6.4.5	对肌肉嫩化的作用	(140)
6.5	钙蛋白酶系统是动物宰后促进肌肉嫩化的重要酶系统	(141)
6.5.1	宰后肉嫩化的机制: 酶假说与钙理论	(141)
6.5.2	内源蛋白酶在肉嫩化中的作用	(144)
6.6	肉嫩化的方法及机理	(148)
6.6.1	物理嫩化法	(148)
6.6.2	化学嫩化法	(150)
6.6.3	生物嫩化法	(151)
	参考文献	(154)

1 钙蛋白酶系统的研究史及分类

1964 年, Gordon Guroff 发现钙蛋白酶是一种细胞内的 Ca^{2+} 依赖性半胱氨酸蛋白酶 (EC3.4.22.17; Clan CA, C02 家族) (Frickel, et al., 2004; Silvennoinen, et al., 2004)。在 1990 年之前, 钙蛋白酶被称为 CANP (calcium-activated neutral protease, Ca^{2+} -激活中性蛋白酶)、CASF (Ca^{2+} -activated sarcoplasmic factor)、CDP (Ca^{2+} -dependent protein), KAF (kinase activating factor) 等。1990 年后钙蛋白酶统称为 calpain, 缩写为 CAPNs。钙蛋白酶存在于几乎所有真核生物及一部分细菌中, 但在古细菌中不存在。最近的研究发现植物中也存在钙蛋白酶。钙蛋白酶具有一定的蛋白酶水解活性, 对底物的结构和活性具有转化或调节功能, 所以被认为是一种调节蛋白酶。在人类基因组中, 有 15 个基因, 如 CAPN1, CAPN2 等, 编码一个类似于钙蛋白酶的蛋白酶结构域。它们的产物都是钙蛋白酶的同源物, 这种同源物具有不断变化的结构并且由不同的功能结构域组成。

1.1 钙蛋白酶的研究史及定义

1964 年, Gordon Guroff (1933—1999) 从鼠脑中部分纯化得到一种依赖于 Ca^{2+} 的中性蛋白酶, 随后被证明是 calpain (Guroff, 1964)。同年, Meyer, Fischer 和 Krebs 报道了被 Ca^{2+} 激活的小鼠骨骼肌磷酸化酶 b 激酶和部分纯化的反应蛋白产物, 他们称该酶为 KAF (kinase activating factor) (Meyer, et al., 1964)。4 年后, Huston Krebs (Huston, Krebs, 1968) 和 Drummond Duncan (Ono, et al., 2016) 分别报道了这种蛋白酶是依赖于 Ca^{2+} 的蛋白酶, 并证实了这种酶对磷酸化酶 b 激酶的蛋白水解激活作用不是生理必需的。Krebs 和 Fishers 的研究兴趣便转向磷酸化及级联反应, 于 1992 年获得诺贝尔奖 (Fischer, Krebs, 1955a; Krebs, Fischer, 1955b), 从此, Krebs 就改变了对蛋白水解激活的生理重要性的想法。1972 年, Darrel E. Goll 和他的同事, 鉴定了一种因子, 它依赖于 Ca^{2+} 打断骨骼肌-Z-线, 并命名它为 CASF (Ca^{2+} -activated sarcoplasmic factor), 这个因子随后也被证明是 calpain (Busch, et al.,

1972), 这一研究开始了 calpain 在肉的宰后嫩化中的作用的研究。1977 年, Yasutomi Nishizuka 和他的同事鉴定 calpain 为蛋白激酶 c (PKC) 的激活因子 (Takai, et al., 1977), 并开辟了一系列 calpain 与 PKC 的相互联系研究 (Takai, et al., 1982a; Kishimoto, et al., 1983b; Ogawa, et al., 1981c; Kishimoto, et al., 1981d)。1978 年, Kazutomo Imahori (1920—) 和他的同事首次纯化得到了单一组分的鸡钙蛋白酶, 命名为 CANP (Ishiura, et al., 1978)。这一研究开启了钙蛋白酶系列的、重点的研究, 并使钙蛋白酶成为细胞内重要的激活酶类 (Suzuki, Ishiura, 1983a; Suzuki, 1983b; Suzuki, et al., 1981)。随着这一里程碑式的研究工作的开辟, Imahori 团队建立了 calpain 研究课题组, 并发表了许多重要的研究报告, 主要是关于底物特异性 (Ishiura, et al., 1979), 人肌肉 (Suzuki, et al., 1979) 中纯化 calpain, 抑制剂 (Sugita, et al., 1980a, b), 自溶 (Suzuki, et al., 1981,) 和激活 (Suzuki, Tsuji, 1982a; Suzuki, 1982b) 等。同年, Takashi Murachi (1926—1990) 和他的同事报道了一种内源性钙蛋白酶特异性抑制蛋白 (Nishiura, et al., 1978), 并在 1981 年提出以 calpain 代替 CANP 和以 calpastatin 为蛋白酶抑制剂的名称 (Murachi, et al., 1980)。1984 年, Koichi Suzuki (1939-2010) 和他的同事揭示了钙蛋白酶催化亚基 (Ohno, et al., 1984) 的完整的一级结构, 并且对钙蛋白酶的研究转向其结构与功能关系的研究。此后, CANP 和 calpain 一直同时被使用。直到 1990 年, Suzuki 和 Imahori 才解决了这一复杂的问题。在第八届蛋白质水解和蛋白质转换 (Suzuki, 1991) 的国际会议上提出了 calpain 为授权名称。在 1991 年 (Croall, DeMartino, 1991) 和 2003 (Goll, et al., 2003) 年的两个经典文献及以后的综述 (Zatz, Starling, 2005; Murachi, 1990b; Yamashima, 2004c; Wendt, et al., 2004d; Wells, et al., 2005e; Turner, et al., 2005f; Tian, et al., 2004g; Sorimachi, Kawabata, 2003h; Ray, et al., 2003i; Ridderstråle, et al., 2005j; Ray, Banik, 2003k; Nixon, 2003; Mehendale, Limaye, 2005m; Liu, et al., 2004n; Laval, Bushby, 2004o; Horikawa, 2005p; Harwood, et al., 2005q; Friedrich, et al., 2004r; Franco, Huttenlocher, 2005s; Costelli, et al., 2005t; Carragher, 2006u; Branca, 2004v; Biswas, et al., 2005w, 2004x; Bartoli, Richard, 2005y; Baud, et al., 2003z; Kuchay, Chishti, 2007; Liu, et al., 2008; Bertipaglia, Carafoli, 2007; Croall, Ersfeld, 2007; Suzuki, et al., 2004; Sorimachi, et al., 1997) 对 calpains 的研究做了详尽的阐述。

Calpain 的纯化工作, 1976 年 (Reville, et al., 1976) 为 90% 纯度, 1978

(Ishiura, et al., 1978) 年达到单一组分。研究最广泛的就是哺乳动物的 μ -calpain 和 m-calpain 及鸡的 μ /m-calpain, 之后称它们为传统的 calpains (Ohno, et al., 1991)。鸡的 μ /m-calpain (Suzuki, 1991) 是介于 μ -calpain 和 m-calpain 之间的一种 calpain (Ishiura, et al., 1978, 1979; Sorimachi, et al., 1995), 它的催化亚基与哺乳动物的 CAPN11 同源 (Macqueen, et al., 2010)。calpain 的结构研究表明, calpain 由大亚基 (80kDa) 和小亚基 (30kDa) 组成, 这是另一个重要的 calpain 特性。

从 1984 年 Suzuki 的文章 (Ohno, et al., 1984) 发表以后, cDNA 基因克隆的研究迅速增长, 鉴定了许多钙蛋白酶及相关分子, 这些分子中包括 15 个人类 calpain 基因, 现在称为 CAPNn ($n=1, 2, 3$, 和 $5 \sim 16$)。有 2 个基因为 calpain 调节小亚基, CAPNS1 和 CAPNS2, CAST 代表 calpastatin。鸡 μ /m-calpain 的催化亚基的 cDNA 于 1984 (Ohno, et al., 1984) 年被克隆。其后, 许多种类的 calpain 的 cDNAs 被克隆并测序。

在获得的氨基酸序列中, 有一组肽酶含有蛋白酶结构域, 这个蛋白酶结构域在这一组肽酶结构域中相互相似但却明显地区别于其他肽酶 (Berti, Storer, 1995)。在保守性结构域的 NCBI (Marchler-Bauer, et al., 2009) 数据库中搜索 “CysPc” 得到不同的生物有机体包括: 植物、真菌、酵母菌, 甚至细菌中几乎所有的 calpain 同源物的序列。因此, 根据其氨基酸序列与哺乳动物 μ -calpain 和 m-calpain 的相关性, calpain 被定义为与人类 μ -calpain 大亚基蛋白酶结构域具有氨基酸序列极度相似性的蛋白质。Calpain 属于木瓜蛋白酶超级家族中的半胱氨酸蛋白酶, 其结构分类和家族成员如图 1-1 和图 1-2 所示。

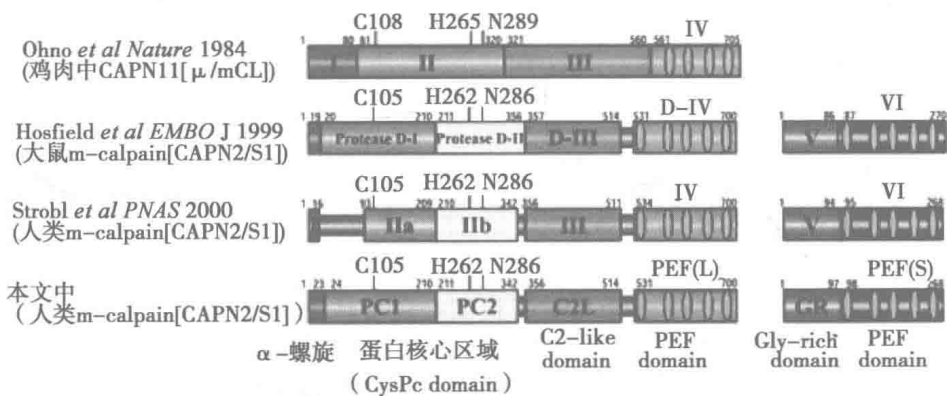


图 1-1 calpain 超级家族的结构分类发展历史

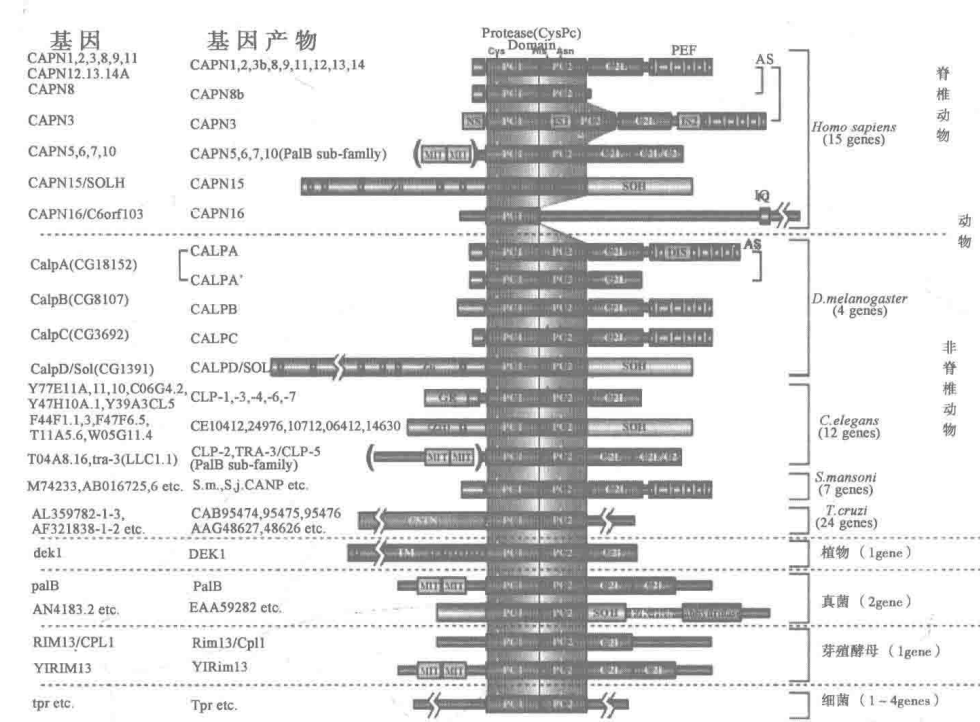


图 1-2 CAPNs 超家族成员的图表结构

注：Calpain 同源物存在于几乎所有的真核生物及一部分细菌中。在历史上，有一些系统命名法命名结构域。在本书中为避免混淆，这些结构域在相应的结构上写上其缩写，如：PC1（蛋白酶核心结构域 1），PC2（蛋白酶核心结构域 2），C2L（类似 C2 结构域），PEF（penta-EF-hand）等。标记有：N 和 N-端、PEF（L）和 PEF（F）分别表示大催化亚基和小调节亚基的 PEF 结构域；GR 表示富含 Gly 疏水结构域；AS 表示选择性剪接产物；NS/IS1/IS2 为 CAPN3 独特的序列。C2 表示 C2 结构域；MIT 表示微管相互作用和运输模型；Zn 表示锌指结构；SOH 表示 SOL 同源物结构域；DIS 表示 CALPA 具体的插入序列；TM 表示横跨膜的结构域；CSTN 表示类似 calpastatin 结构域；IQ 表示与钙调蛋白互动的模型

1.2 钙蛋白酶的命名

早期钙蛋白酶的命名是由发现者根据来源、结构特点、分子大小等情况而确定的，随着钙蛋白酶研究的深入和一些会议的召开，该领域的专家一致同意采用基因—产物命名法，如下表所示，如哺乳动物 CAPN1 基因的产物为 CAPN1（ μ -calpain 催化大亚基，缩写为 μ CL）；CAPN2 基因的产物为 CAPN2（m-calpain 催化大亚基，缩写为 mCL）。方括号里的为旧名称，如 CAPN1

表 人类 CAPN 的相关基因

基因	染色体定位	基因产物	别名	蛋白酶活性 ^{a)}	Domains ^{b)}			表达部位	基因缺陷型小鼠的表型	备注
					C2L ^{c)}	C2	PEF			
催化亚基										
CAPN1	11q13	CAPN1	μ -calpain large subunit (μ CL), μ 80K, μ CANP/calpain-I large subunit, calpain-1	+	+	-	+	ubiquitous	platelet dysfunction	μ -calpain dimerizes with CAPN1/30K
CAPN1	1q41-q42	CAPN2	m-calpain large subunit (mCL), m80K, mCANP/calpain-II large subunit, calpain-2	+	+	-	+	ubiquitous (except for erythrocytes)	embryonic lethal	m-calpain dimerizes with CAPN1/30K
CAPN3	15q15.1-q21.1	CAPN3	p94, calpain-3, calpain-3a, nCL-1	+	+	-	+	skeletal muscle		termination codon in human first exon
		(CAPN3b, ...)	Lp82, Lp85, etc,	+	+	-	+	lens, retina	muscular dystrophy	Ups, Tps, and Mps are transcribed from an alternative promoter
		CAPN3c, ...	p94; Δ ex15, Tp36, Mp18, Up84 etc.	+	+	-	+	ubiquitous		
CAPN5	11q14	CAPN5	hTPA-3, nCL-3, calpain-5	+	+	+	-	ubiquitous (abundant in testis and brain)	sudden death?	nematode TRA-3 homolog
CAPN6	Xq23	CAPN6	calpainmodulin, CANPX, calpain-6	-	+	+	-	embryonic muscles, placenta	n. d.	nematode TRA-3 homolog; hite active site Cys - > Lys in all mammals, and His - > Tyr in mice and below; authentic C-H-N sequences in birds and below
CAPN7	3p24	CAPN7	PalBH, calpain-7	+	+	+	-	ubiquitous	n. d.	<i>Aspergillus</i> PalB and yeast CplI homolog
CAPN8	1q41	CAPN8	nCL-2, calpain-8, calpain-8a	+	+	-	+	gastrointestinal tracts	stress-induced gastric ulcer	G-calpain is a complex of CAPN8 and CAPN9
		CAPN8b	nCL-2'	+	-	-	-	gastrointestinal tracts		
		CAPN8c	nCL-2; Δ ex10, 17 ~ fs	+	+	-	+	gastrointestinal tracts		
CAPN9	1q42, 11-q42.3	CAPN9	nCL-4, calpain-9, calpain-9a	+	+	-	+	gastrointestinal tracts	stress-induced gastric ulcer	G-calpain is a complex of CAPN8 and CAPN9
		CAPN9b	nCL-4; Δ ex8	+	+	-	+	gastrointestinal tracts		

(续表)

基因	染色体定位	基因产物	别名	蛋白酶活性 ^{a)}	Domains ^{b)}			表达部位	基因缺陷型小鼠的表型	备注
					C2L ^{c)}	C2	PEF			
CAPN10	2q37.3	CAPN10	calpain-10, calpain-10a	+	++	-	-	ubiquitous	no significant phenotype	SNP is associated with NIDDM
		CAPN10b, -10c, ...		n.d.	+/-	-	-			
CAPN11	6p12	CAPN11	calpain-11	n.d.	+	-	-	testis	n.d.	
		CAPN12	calpain-12a	n.d.	+	-	+			
CAPN12	19q13.2	CAPN12b, 12c, ...		n.d.	+	-	+	hair follicle	n.d.	
CAPN13	2p22-p21	CAPN13	calpain-13	n.d.	+	-	+	ubiquitous	n.d.	
CAPN14	2p23.1-p21	CAPN14	calpain-14	n.d.	+	-	+	ubiquitous	n.d.	
capn15/SOLH	16p13.3	CAPN15	SOLH, calpain-15	n.d.	-	-	-	ubiquitous	n.d.	<i>Drosophila</i> SOL homolog contains only PC1 domain
		CAPN16/C6orf103	Demi-calpain, C6orf103, calpain-16	-	-	-	-	ubiquitous	n.d.	
调节亚基										
CAPNS1	19q13.1	CAPNS1 ^{d)}	CANP/calpain small subunit, 30K, css1, CAPNS1, CAPN4, calpain-s1	-	-	-	+	ubiquitous	embryonic lethal	regulatory subunit for CAPN1/ μ CL and CAPN2/mCL
CAPNS2	16q12.2	CAPNS2 ^{d)}	calpain small subunit 2.30K-2, css2, CAPNS, calpain-s2	-	-	-	+	ubiquitous	n.d.	intron-less gene; CAPNS2 overlaps with <i>LPCAT2</i> (lysophosphatidylcholine acyltransferase 2)
Calpain										
CAST	5q15	calpastatin	CANP inhibitor	-	-	-	-	ubiquitous	excitotoxicity in neuronal cells	specific inhibitor for μ - and m-calpains; many splicing variants exist

a) + 表示其分子被实验证明有蛋白酶活性, - 表示没有活性位点的半胱氨酸、天冬氨酸以及组氨酸残基。

b) + 或 - 分别表示有或没有对应的结构域; +/- 表示有 1 个或多个但少于 5 个 EF 手模型。

c) 缩写: n.d. 表示尚未确定; CAPNX 表示 x 染色体上的 calpain; nCL 表示新的 calpain 大亚基; LGMD2A 表示肢带型肌营养不良 2A 型; TRA-3 表示转基因型的雌雄同体; PalB 表示磷酸酶突变体, 在碱性 pH 值下失活, 但是在酸性 pH 值下正常或活性增加; PalBH 表示 PalB 同源物; SNP 表示单核苷酸多态性; NIDDM 表示非胰岛素依赖型糖尿病; SOL 表示小视叶; SOLH 表示 SOL 的同源物。

d) 根据本书的定义备注不是“calpain”的基因产物

[μ CL] 和 CAPN2 [mCL]、CAPN3 [P94]、CAPN5 (hTRA-3)、CAPN7 (Pal-BH)、CAPN8 [nCL-2]、CAPN9 (nCL-4)、CAPN15 (SOHL) 和 CAPN16 (C6 或 f103) 等。

1.3 钙蛋白酶的生物进化和分类

根据 CAPNs 在组织中的表达情况, 可以将其分为“普遍存在的”和“组织特异性”2 种 (Sorimachi, et al., 2011; Ono, Sorimachi, 2012), 这种分类系统在过去 10 年的许多综述文章中都可以看到, 在最近关于哺乳动物的文章中可以查到。但是, 最近一篇文献的报道与这一分类法不相符合, 即“组织特异性”的 CAPN3 也表达于许多其他组织中, 而不仅仅表达于肌肉组织 (Farkas, et al., 2003)。这一研究工作引起了一定的重视, 一些过去被广泛认为的组织特异性表达的钙蛋白酶也可能在其他位点表达。

CAPNs 研究的另一个局限就是大多研究都集中于哺乳动物, 从这个意义上讲, 我们所观察到的基因表达模式和功能是广泛适用于所有的生物吗? CAPNs 家族的进化史研究充分说明了这一问题。CAPN11 过去称为鸟中的 μ /m-calpain, 它在胎盘哺乳动物中以一种高度限制的方式表达, 但它最初的功能是在各种组织中广泛表达 (Macqueen, et al., 2010), 表明 CAPN11 在 CAPNs 家族中占有非常关键的位置; 特别是 CAPN1 和 CAPN2 的标志性的普遍存在的基因型遗传自 CAPN11, 因此 CAPN11 的功能与 CAPN1 和 CAPN2 功能同样重要。尽管如此, 各类综述文章都毫无疑问地称之为“组织特异性”CAPNs (Macqueen, et al., 2010; Johnston, et al., 2011), 而且 CAPN11 的重要性被广泛地认为是不重要的。从这个角度来说, 其他 CAPNs 在脊椎动物进化中的不同的表达和功能达到一个什么程度, 目前还不知道。

1.3.1 脊椎动物的钙蛋白酶

Macqueen DJ 等从最新研究的 200 多个用贝叶斯系统发育分析中确定了脊椎动物谱系中经典 CAPNs 的序列 (Macqueen, Wilcox, 2014)。结果与目前关于经典关系的假说基本一致 (Macqueen, et al., 2010a; Jékely, Friedrich, 1999b), 仅有两个主要分支与以前的不同 (图 1-3 和图 1-4)。

1.3.1.1 CAPN13: 所有经典 calpain 之父

进化树的根部将公认的人类 CAPN13 和 CAPN14 的序列从所有其他序列中分离出来 (不包含七鳃鳗或鲨鱼/银鲛), 人类 CAPN14 是四足动物序列的一部分, 从人类 CAPN13 和其他总鳍鱼类的姐妹群中分离出来, 在这个群中, 腔

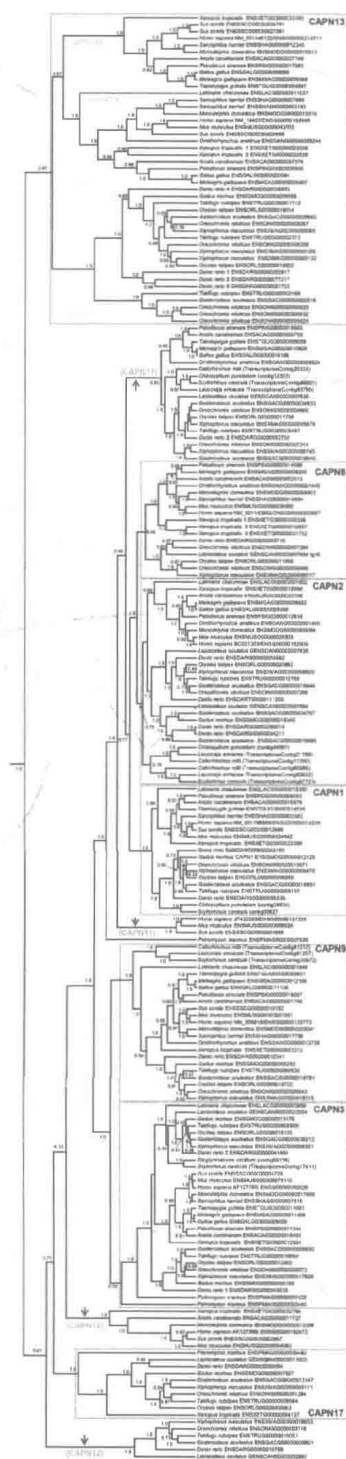


图1-3 贝叶斯系统发育分析脊椎动物进化的210个经典CAPNs序列