

# α-晶状体蛋白的结构和功能及基因学研究进展

屈凌寒<sup>1</sup>, 韩笑<sup>1</sup>, 刘阁<sup>1</sup>, 严宏<sup>2</sup>

基金项目:军队医学杰出人才基金(No. 04J011)

作者单位:<sup>1</sup>(710032)中国陕西省西安市,第四军医大学口腔医学系;<sup>2</sup>(710038)中国陕西省西安市,第四军医大学唐都医院眼科

作者简介:屈凌寒,在读本科,研究方向:白内障的发病机制和临床防治。

通讯作者:严宏,主任医师,研究方向:白内障的发病机制和临床防治、儿童眼外肌病和弱视的临床防治. yhongb@fmmu.edu.cn

收稿日期:2012-03-02 修回日期:2012-05-31

## Recent research progress in the function, structure and genetics of alpha-crystallin

Ling-Han Qu<sup>1</sup>, Xiao Han<sup>1</sup>, Ge Liu<sup>1</sup>, Hong Yan<sup>2</sup>

**Foundation item:** Supported by Fund for Distinguished Medical Scholars of Chinese PLA(No. 04J011)

<sup>1</sup>Department of Oral Medicine, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China;<sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Tangdu Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, Shaanxi Province, China

**Correspondence to:** Hong Yan. Department of Ophthalmology, Tangdu Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, Shaanxi Province, China. yhongb@fmmu.edu.cn

Received:2012-03-02 Accepted:2012-05-31

## Abstract

• Alpha-crystallin consists of two subunits: αA- and αB-crystalline, and is a major protein component of the mammalian eye lens. Being a member of the small heat-shock protein family, alpha-crystallin possesses chaperone-like function. It prevents aggregation of partially denatured proteins and the inactivation of enzymes. Mutations in alpha-crystallin genes can cause cataract and myopathy. This review focused on some of the expression, structure, function and genetics of alpha-crystallin.

• **KEYWORDS:** alpha-crystallin; molecular chaperones; genetics; cataract

**Citation:** Qu LH, Han X, Liu G, *et al.* Recent research progress in the function, structure and genetics of alpha-crystallin. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2012;12(7):1301-1303

## 摘要

α-晶状体蛋白包括 αA-、αB-晶状体蛋白,是哺乳动物晶状体的主要蛋白,属于小热休克蛋白家族成员,具有分子伴侣功能,可以抑制变性蛋白质的凝聚和酶的失活。α-晶状体蛋白基因突变可导致白内障和肌病。本文对 α-晶状体蛋白的分布、结构、功能以及基因学等方面综述。

**关键词:** α-晶状体蛋白;分子伴侣;基因学;白内障

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2012.07.23

**引用:** 屈凌寒,韩笑,刘阁,等. α-晶状体蛋白的结构和功能及基因学研究进展. 国际眼科杂志 2012;12(7):1301-1303

## 0 引言

晶状体蛋白的概念是由 Berzelius 在 1830 年提出的,主要存在三种形式即 α、β 和 γ 晶状体蛋白。α-晶状体蛋白在哺乳动物中占到晶状体总蛋白含量的 40%,包括 αA-、αB-晶状体蛋白,摩尔浓度比值为 3:1。α-晶状体蛋白属于小热休克蛋白(sHsp)家族,可发挥分子伴侣作用,抑制变性蛋白的凝聚并且能够促进变性酶活性的恢复<sup>[1]</sup>。关于 α-晶状体分子伴侣功能的前期研究成果,我们早期有相关综述及论著<sup>[2-4]</sup>。

## 1 α-晶状体蛋白的分布

αA-晶状体蛋白主要存在于晶状体中,在其他组织如脾和胸腺中也有微量表达;αB-晶状体蛋白在晶状体上皮细胞中很容易被发现,其在心脏、骨骼肌、肾脏以及在很多神经系统疾病中大量表达。近年研究表明,αB-晶状体蛋白可以通过调节血管内皮生长因子的分泌而控制眼内应激性新生毛细血管。αA-、αB-晶状体蛋白均有分子伴侣功能,在细胞处于应激和病理状态时,它们能阻止细胞程序性死亡和蛋白变性聚集,从而在维持晶状体透明性方面发挥重要作用<sup>[5,6]</sup>。

## 2 α-晶状体蛋白的分子量

采用在线光散射体积排阻色谱法、吸收和折射率探测器对 22 岁正常成年人晶状体中的 α-晶状体蛋白进行分子量测定,在色谱仪的一半带宽时,分子量为 660000 ~ 940000Da,在高峰期时平均分子质量为 770000Da。但是 α-晶状体蛋白精确的分子质量一直没有定论,主要原因是 α-晶状体蛋白分子量的测定依赖于很多参数:浓度、温度、pH 值、离子强度,以及所研究动物物种及晶状体的年龄等,也和研究所使用的方法有关<sup>[7]</sup>。

## 3 α-晶状体蛋白的结构

α-晶状体蛋白属于小热休克蛋白家族,这些小热休克蛋白由 10 ~ 25kDa 的多肽聚合而成,它们共同的中心结构域由大约 90 个氨基端残基组成。此结构域(外显子 3) 106 ~ 175 位氨基酸残端在同物种的小分子 HSP 之间高度保守,在不同物种之间也有很高的保守性。通过对比大量不同生物的 αA-和 αB-氨基酸序列发现,两者源于共同的古老基因而且进化很慢,其氨基酸序列平均每一百年只改变 3%。牛的 αA-晶状体蛋白和巨头鲸的 αB-晶状体蛋白氨基酸序列对比显示,两者具有近亲关系,这表明 α-晶状体蛋白具有结构和功能的约束性,能够阻止过多的氨基酸改变<sup>[8]</sup>。

对 $\alpha$ -晶状体蛋白一级结构的研究显示: $\alpha$ -晶状体蛋白的一个短而非保守的中间域(外显子2)64~105位氨基酸残端,将N末端域(外显子1)1~63位氨基酸残端与一个较大的 $\alpha$ -晶状体蛋白结构域相连。通过循环二色谱和红外测量对其二级结构研究表明,60%~70%的 $\alpha$ -晶状体蛋白多肽排列为 $\beta$ 折叠,几乎不存在 $\alpha$ 螺旋,这种 $\beta$ 折叠的排列形式可以由与其结构相似的Hsp16.5和16.9推测出来。迄今为止, $\alpha$ -晶状体蛋白的三、四级结构的高分辨率数据仍然不是很清楚<sup>[9]</sup>。

#### 4 $\alpha$ -晶状体蛋白的功能

**4.1 参与屈光指数形成**  $\alpha$ -晶状体蛋白在晶状体中的浓度很高,是产生晶状体屈光指数的蛋白质成分之一,在大多数哺乳动物的晶状体中,其含量达35%以上。在人的晶状体中央,其浓度达到450g/L。

**4.2 分子伴侣功能**  $\alpha$ -晶状体蛋白可与 $\beta$ -和 $\gamma$ -晶状体蛋白结合而阻止其进一步聚集和沉淀,延缓晶状体混浊。即使有其他分子伴侣存在时,底物蛋白也会优先和 $\alpha$ -晶状体蛋白结合。而 $\alpha$ -晶状体蛋白的基因变异引起其分子伴侣作用的消失可导致遗传性白内障<sup>[10]</sup>。

**4.3 在晶状体发育过程中的作用**  $\alpha$ -晶状体蛋白的表达随个体发育过程而变化。在刚出生的大鼠的晶状体,只能检测到低聚热休克因子复合物,而在胎儿期大鼠晶状体中可检测到晶状体蛋白单体,表明 $\alpha$ -晶状体蛋白基因的转录是受发育调控的<sup>[11]</sup>。 $\alpha$ -晶状体蛋白可增加 $\gamma$ -晶状体蛋白的溶解性,是正常晶状体发育所必需的。

**4.4 细胞保护作用**  $\alpha$ -晶状体蛋白是一种抗凋亡蛋白。通过应激诱导细胞 $\alpha$ B-晶状体蛋白过表达,可延缓caspase-3的成熟,而caspase-3是一个参与细胞凋亡的核心酶<sup>[12]</sup>。 $\alpha$ A-晶状体蛋白比 $\alpha$ B-晶状体蛋白有更强的抗细胞凋亡能力,而且 $\alpha$ A-和 $\alpha$ B-晶状体蛋白抑制应激诱导细胞凋亡的机制有明显不同<sup>[13]</sup>。

**4.5 与蛋白酶体相互作用**  $\alpha$ B-晶状体蛋白能特异性结合到20S蛋白酶体,与C8/ $\alpha$ 7亚基发生作用,影响蛋白酶体聚集并使其易于降解。在细胞周期的磷酸化过程中, $\alpha$ B-晶状体蛋白可与FBX4发生作用,这对细胞周期蛋白D1的降解是必需的<sup>[14]</sup>。

**4.6 与细胞骨架的联系**  $\alpha$ -晶状体蛋白具有保护肌动蛋白的作用,可能机制有二:(1)和肌动蛋白直接接触;(2)与可溶性肌动蛋白发生反应<sup>[15]</sup>。对 $\alpha$ A-和 $\alpha$ B-晶状体蛋白基因敲除的晶状体上皮细胞研究表明, $\alpha$ A-和 $\alpha$ B-晶状体蛋白可抑制微管蛋白变性和凝集,对微管蛋白有保护作用<sup>[16]</sup>。

**4.7 参与晶状体上皮细胞的生长**  $\alpha$ A-晶状体蛋白基因敲除的小鼠晶状体上皮细胞比正常晶状体上皮细胞生长慢50%。这些晶状体上皮细胞形成的微管骨架更细,更长,且微管蛋白水平显著降低,细胞易凋亡,其凋亡发生在有丝分裂后期,胞质分裂没有完成,这与中后期微管的结构不完整性相关<sup>[17]</sup>。 $\alpha$ B-晶状体蛋白基因敲除的小鼠晶状体上皮细胞的基因组不稳定,出现过度增生,其纺锤体组装不正确,不能完成胞质分裂<sup>[18]</sup>。此外, $\alpha$ B-晶状体蛋白在晶状体上皮细胞迁移中发挥重要作用,并在高尔基体合成中发挥作用,从而影响细胞的生长<sup>[19]</sup>。与单独 $\alpha$ A-或 $\alpha$ B-晶状体蛋白基因敲除不同,同时敲除 $\alpha$ A-和 $\alpha$ B-晶状体蛋白基因的小鼠晶状体上皮细胞进入S期延迟并且S期延长,出现严重的微管重组异常。

**4.8 在视网膜中的作用** 随着年龄增加,视网膜中 $\alpha$ -晶状体蛋白的表达水平下降,导致其伴侣功能下降。 $\alpha$ A-晶状体蛋白与视网膜萎缩症的发生发展有关, $\alpha$ B-晶状体蛋白能保护视网膜色素上皮细胞对抗应激诱导的细胞凋亡。此外, $\alpha$ -晶状体蛋白能特异性结合高尔基体膜,并参与新合成的视紫红质的运输<sup>[20]</sup>。

**4.9 在晶状体外的作用** 心脏中的 $\alpha$ -晶状体蛋白与肌动蛋白结合,心肌缺血可致心肌细胞钙超载, $Mg^{2+}$ 浓度升高,pH值下降,诱导细胞内 $\alpha$ B-晶状体蛋白浓度增高,发挥保护作用。一些神经系统疾病如Alexander病、阿尔茨海默病、帕金森病、Lewy体病、Pick病等与 $\alpha$ -晶状体蛋白在神经系统的反常聚集有密切关系。此外,晶状体蛋白是多发性硬化的自身免疫性反应的主要抗原<sup>[21]</sup>。

#### 5 $\alpha$ -晶状体蛋白的基因学研究

**5.1  $\alpha$ -晶状体蛋白基因**  $\alpha$ A-和 $\alpha$ B-晶状体蛋白由单个基因Cryaa和Cryab编码,这两个基因均包含三个外显子和两个内含子,其中三个外显子分别编码:63~67位、41位、67~69位氨基酸残基。在人类, $\alpha$ A-和 $\alpha$ B-基因分别位于不同的染色体上: $\alpha$ A-基因位于21号染色体,编码173个氨基酸残基,分子量为20kDa; $\alpha$ B-基因位于11号染色体,编码175个氨基酸残基,分子量为22kDa。 $\alpha$ A-和 $\alpha$ B-氨基酸序列的同源性大约为57%<sup>[22]</sup>。

**5.2  $\alpha$ -晶状体蛋白基因突变可导致白内障** Cryaa基因突变可导致隐性或显性白内障,这除了与 $\alpha$ A-晶状体蛋白的分子伴侣活性有关外,还与 $\alpha$ A-晶状体蛋白和细胞骨架结合的改变以及 $\alpha$ A-晶状体蛋白引导晶状体上皮细胞迁移作用的改变有关<sup>[23,24]</sup>。第一个导致显性白内障的Cryaa基因突变是Litt等发现的Arg116Cys突变。2006年,Graw等<sup>[25]</sup>报道,白内障可能是由Cryaa基因中的Arg211Lys突变引起。在小鼠,有多个Cryaa突变位点,其中一种突变160C→T在小鼠和人都可观察到,然而,这种突变导致的白内障在人类是隐性遗传,在小鼠是显性遗传;而小鼠基因161G→A突变,导致的小鼠白内障是隐性遗传。在人类,另一种隐性白内障由27G→A突变引起。此外,小鼠 $\alpha$ -晶状体蛋白的V124E突变也可导致白内障<sup>[26]</sup>。基因修饰,如单核苷酸多态性(SNP),可改变某些氨基酸的构成。Cryaa基因编码区也有SNPs,但处于沉默状态,而不改变氨基酸的序列,这种沉默的SNPs的一种可能的功能是某个特定等位基因甲基化<sup>[27]</sup>。研究表明,突变蛋白的分子伴侣活性降低,但伴侣活性下降不是Cryaa突变导致白内障的共同特征。与野生型相比,G98R突变产生的蛋白质能形成更大的低聚物,伴侣活性增强,但聚集 $\alpha$ 乳清蛋白的能力减弱<sup>[28]</sup>。此外,发生Arg120Cys突变的 $\alpha$ -晶状体蛋白与Bax和Bcl-2结合的作用减弱,导致抗凋亡作用减弱,另有实验证明,人的Arg49Cys突变会产生相似的结果<sup>[29]</sup>。

Cryab基因突变与多种神经系统、心脏及肌肉疾病有关。R120G基因突变对结蛋白的聚合有重要作用,可导致结蛋白相关肌病和白内障。后来又发现, $\alpha$ B-晶状体蛋白基因突变可导致先天性后极性白内障<sup>[30]</sup>。

#### 6 展望

$\alpha$ -晶状体蛋白属于重要的小热休克蛋白,是晶状体的主要屈光介质。 $\alpha$ -晶状体蛋白分子伴侣活性的发现为白内障的发病机制、临床药物以及延缓晶状体衰老的研究开辟了新的领域。但是 $\alpha$ -晶状体蛋白的四级结构以及

保护体内微管蛋白的机制仍需要进一步研究,而且还有更多的基因突变位点有待我们去探索。

#### 参考文献

- 1 Biswas A, Das KP. Alpha-crystallin assisted refolding of enzyme substrates: optimization of external parameters. *Protein J* 2007;26(4):247-255
- 2 严宏,惠延年.  $\alpha$ -晶状体蛋白分子伴侣活性在白内障发病中作用的研究进展. *眼科学报* 2000;16(2):91-96
- 3 严宏,惠延年,范建国,等. 糖基化对  $\alpha$ -晶体蛋白的修饰和分子伴侣活性的降低. *眼科新进展* 2003;23(2):86-89
- 4 严宏,惠延年,王建伟,等. 高相对分子质量  $\alpha$ -晶体蛋白分子伴侣活性在年龄相关性白内障中的变化. *眼科研究* 2006;24(1):5-8
- 5 Gangadhariah MH, Wang B, Linetsky M. Hydroimidazolone modification of human  $\alpha$ A-crystallin: Effect on the chaperone function and protein refolding ability. *BBA-Molecular Basis of Disease* 2010;1802(4):432-441
- 6 Kerr BA, Byzova TV.  $\alpha$ B-Crystallin; a novel VEGF chaperone. *Blood* 2010;115(16):3398-3406
- 7 Horwitz J. Alpha-Crystallin. *Exp Eye Res* 2003;76(2):145-153
- 8 Ghahghaei A, Rekas A, Carver JA, et al. Structure/function studies of dogfish alpha-crystallin, comparison with bovine alpha-crystallin. *Mol Vis* 2009;15:2411-2420
- 9 Horwitz J. Alpha-Crystallin; The quest for a homogeneous quaternary structure. *Exp Eye Res* 2009;88(2):190-194
- 10 Koteiche HA, McHaourab HS. Mechanism of a hereditary cataract Phenotype: mutations in alphaA-crystallin activate substrate binding. *Biol Chem* 2006;281(20):14273-14279
- 11 Somasundaram T, Bhat SP. Canonical heat shock element in the alpha B-crystallin gene shows tissue-specific and developmentally controlled interactions with heat shock factor. *Biol Chem* 2000;275(22):17154-17159
- 12 Kamradt MC, Werner L. The small heat shock protein alpha B-crystallin is a novel inhibitor of TRAIL-induced apoptosis that suppresses the activation of caspase-3. *J Biol Chem* 2005;280(12):11059-11066
- 13 Liu JP, Schlosser R, Ma WY, et al. Human alphaA- and alphaB-crystallins prevent UVA-induced apoptosis through regulation of PKC $\alpha$ ,RAF/MEK/ERK and AKT signaling pathways. *Exp Eye Res* 2004;79(6):393-403
- 14 Lin DI, Barbash O, Kumar KG, et al. Phosphorylation-dependent ubiquitination of cyclin D1 by the SCF (FBX4-alphaB crystallin) complex. *Mol Cell* 2006;24(3):355-366
- 15 Quinlan R. Cytoskeletal competence requires protein chaperones. *Prog Mol Subcell Biol* 2002;28:219-233
- 16 Xi JH, Bai F, McGaha R, et al. Alpha-crystallin expression affects microtubule assembly and prevents their aggregation. *Faseb J* 2006;20(7):846-857
- 17 Xi JH, Bai F, Andley UP. Reduced survival of lens epithelial cells in the alphaA-crystallin-knockout mouse. *J Cell Sci* 2003;116(6):1073-1085
- 18 Bai F, Xi JH, Wawrousek EF, et al. Hyperproliferation and p53 status of lens epithelial cells derived from alphaB-crystallin knockout mice. *J Biol Chem* 2003;278(38):36876-36886
- 19 Gangalum RK, Schibler MJ, Bhat SP. Small heat shock protein alphaB-crystallin is part of cell cycle-dependent Golgi reorganization. *J Biol Chem* 2004;279(42):43374-43377
- 20 Deretic D, Aebersold RH, Morrison HD, et al. Alpha A- and alpha B-crystallin in the retina. Association with the post-Golgi compartment of frog retinal photoreceptors. *J Biol Chem* 1994;269(24):16853-16861
- 21 van Noort JM, van Sechel AC, Bajramovic JJ, et al. The small heat-shock protein alpha B-crystallin as candidate autoantigen in multiple sclerosis. *Nature* 1995;375(6534):798-801
- 22 Graw J. Genetics of crystallins: Cataract and beyond. *Exp Eye Res* 2009;88(2):173-189
- 23 Andley UP. Crystallins in the eye: function and pathology. *Prog Retin Eye Res* 2007;26(1):78-98
- 24 Maddala R, Rao PV.  $\alpha$ -Crystallin localizes to the leading edges of migrating lens epithelial cells. *Exp Cell Res* 2005;306(1):203-215
- 25 Graw J, Klopp N, Illig T, et al. Congenital cataract and macular hypoplasia in humans associated with a de novo mutation in CRYAA and compound heterozygous mutations in P. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006;244(8):912-919
- 26 Graw J, Loster J, Soewarto D, et al. Characterization of a new dominant V124E mutation in the mouse  $\alpha$ A-crystallin-encoding gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(12):2909-2915
- 27 Kerker K, Spadola A, Yuan E, et al. Genomic surveys by methylation-sensitive SNP analysis identify sequence-dependent allele-specific DNA methylation. *Nat Genet* 2008;40(7):904-908
- 28 Murugesan R, Santhoshkumar P, Sharma KK. Cataract-causing  $\alpha$ AC98R mutant shows substrate-dependent chaperone activity. *Mol Vis* 2007;13:2301-2309
- 29 Xi J, Bai F, Gross J, et al. Mechanism of small heat shock protein function *in vivo*. *J Biol Chem* 2008;283(9):5801-5814
- 30 Berry V, Francis P, Reddy MA, et al. Alpha-B crystallin gene (CRYAB) mutation causes dominant congenital posterior polar cataract in humans. *Am J Hum Genet* 2001;69(5):1141-1145