

ADAMs 与哺乳动物受精*

徐存拴 熊 蕾 卢龙斗

(河南师范大学生命科学院 新乡 453002)

摘要: ADAMs 是近几年发现的一类具有多个结构区和广泛生物学功能的糖蛋白,它们在哺乳动物受精中的作用日益得到实验结果的支持,本文简要总结了近几年 ADAMs 在哺乳动物受精中作用的研究进展。

关键词: 哺乳动物;受精;ADAMs;受精素;整联蛋白

中图分类号: Q513, Q492 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2001)02-51-04

Function of ADAMs in Mammalian Fertilization

XU Cun-Shuan XIONG Lei LU Long-Dou

(College of Life Sciences, Henan Normal University Xinxiang 453002, China)

Abstract: ADAMs are a group of transmembrane glycoproteins found recently, which possess multidomain and function. Their action in mammalian fertilization was confirmed by more and more experiments. The progress that got from research on their action in mammalian fertilization were summarized in this paper.

Key words: Mammal; Fertilization; A disintegrin and metalloproteinase (ADAM); Fertilin; Integrin

ADAMs (a disintegrin and metalloproteinase) 亦称 MDC (metalloproteinase-disintegrin-cysteine-rich protein), 是近几年才发现的一类具有多个功能区的跨膜糖蛋白^[1], 大约由 800 个氨基酸残基组成, 通常包含信号肽区、前调控区、金属蛋白水解酶区、去整合蛋白区、富半胱氨酸区、表皮生长因子区、跨膜区和胞质区^[2], 分布于哺乳动物的许多器官、组织和细胞中, 例如, 脑、精巢、附睾、卵巢、乳腺、胎盘、肝、心脏、肺、骨、肌肉等均有发现^[3]。ADAMs 的具体功能正在研究中, 但根据目前的研究结

果推测, ADAMs 的作用可能包括控制配基从细胞表面释放、调节配体与配基结合、在细胞外基质水解中起作用、作为整联蛋白的配基、信号传导等, 通过这些功能参与细胞与细胞、细胞与外基质之间的相互作用^[3]。现在知道, 精巢特异性表达 12 种 ADAMs (ADAM2、3、5、

* 河南省生物工程重点实验室开放课题资助 (No. 99001);

第一作者介绍 徐存拴, 男, 42 岁, 教授, 博士; 研究方向: 哺乳动物细胞分化和去分化;

收稿日期: 2000-09-20, 修回日期: 2000-11-27

16、18、20、21、24 ~ 26、29 和 30), 还有 3 种 ADAMs (ADAM1、4 和 6) 虽然在其他组织、器官中有表达, 但主要是在精巢中表达^[4]。现将性细胞成熟和受精过程涉及的 ADAMs 简要总结如下。

1 ADAM1 和 ADAM2 与哺乳动物受精

1.1 ADAM1 和 ADAM2 与哺乳动物精子成熟 研究表明, 成熟的受精素 (fertilin) 是精子表面的异二聚体 (即 α 、 β 两个亚单位组成的复合体) 跨膜糖蛋白, 这个异二聚体的前提物是精巢中的 ADAM1 和 ADAM2, 它们存在于大鼠、兔、小鼠、猕猴、人类及两种豚鼠的精子表面^[5]。人类的受精素 α 基因是一个假基因, 能转录 mRNA, 但不表达成熟的蛋白质。精巢中新合成的 ADAM1 和 ADAM2 具有 ADAMs 的 9 个基本结构区 (信号肽区、前调控区、金属蛋白水解酶区、去整合蛋白区、富半胱氨酸区、表皮生长因子区、跨膜区和胞质区), 可以说具有完整的 ADAMs 结构。新合成的 ADAMs 在装配到细胞膜的过程中, 随着精原细胞发育成初级精母细胞、次级精母细胞、精细胞和精子, ADAM1 和 ADAM2 的结构也在不断被加工修饰, 最后成为只含去整合蛋白区、富半胱氨酸区、表皮生长因子区、跨膜区和胞质区的不完整 ADAM1 和 ADAM2^[6], 它们就是早先从精子表面分离到的受精素 α 和 β 。受精素, 特别是受精素 β 是哺乳动物受精所必须的, 最近的研究表明, 剔除受精素 β 基因的小鼠精子, 无法进行受精^[6]。

1.2 哺乳动物卵细胞表面的受精素受体 存在于哺乳动物卵细胞表面的受精素受体——整联蛋白 $\alpha_6\beta_1$ 是一个以非共价键结合的异二聚体。通常, 整联蛋白通过识别其配基 (包括 ADAMs 的去整合蛋白区) 含的裂解子 (disintegrin loop) 而与之结合, 整联蛋白 (integrin) 的 α 、 β 亚基均参加二价阳离子介导的受体配基结合。就目前的研究结果来看, 几乎所有的哺乳动物受精素都是通过其去整合蛋白区的裂解子与整联蛋白 $\alpha_6\beta_1$ 相互作用^[7]。其证据是: (1) 豚鼠受精素 β 的裂解子类似物阻碍了离体受精; (2) 整联蛋白 $\alpha_6\beta_1$ 出现于哺乳动物卵细胞表面; (3) 精卵融合需要二价阳离子; (4) 含有 RGD 的多肽抑制人和仓鼠精子与金仓鼠卵融合; (5) 整联蛋白的抗体抑制精卵融合; (6) 精子可结合到表达 $\alpha_6\beta_1$ 的培养细胞上^[8]。

1.3 受精素与整联蛋白 $\alpha_6\beta_1$ 结合 去整合蛋白 (disintegrin) 是典型的含有裂解子的蛋白, 由 48 ~ 84 个氨基酸残基组成, 因它们的裂解子像传统整联蛋白配基 (如血纤维蛋白原和玻连蛋白) 那样具有 RGD 样结构, 被称为“真”裂解子。而 ADAMs 的这一序列为其它序列代替,

所以它们的去整合蛋白区被命名为裂解子样区。人受精素 β 的该位点为 ECD 序列, 小鼠为 QECD 序列。研究表明, 如果该序列被其它序列取代, 则受精素 β 的粘附功能受到影响。如该序列末端的天冬氨酸被取代, 活性大大降低; 该序列的谷氨酸残基或半胱氨酸残基被取代, 活性部分丧失; 该序列的第一个天冬氨酸残基被取代, 对其活性影响不大。可见, 该序列末端天冬氨酸残基比其他氨基酸残基更重要^[9]。成熟精子表面的受精素 β 包含一个去整合蛋白区, 其上有一个裂解子^[10]。受精素 β 通过其裂解子与整联蛋白 $\alpha_6\beta_1$ 结合。

1.4 影响受精素 β 与整联蛋白 $\alpha_6\beta_1$ 结合的因素 整联蛋白可以不同功能形式存在, 它们对特定配基的结合能力亦不同。有人认为, ADAMs 的去整合蛋白区通过层粘连蛋白而参与细胞与细胞外基质相互作用, 用佛波酯处理胞外基质或加入 Mn^{2+} , $\alpha_6\beta_1$ 结合层粘连蛋白的能力提高 2 ~ 5 倍, 但结合受精素能力降低。相反, 抑制 $\alpha_6\beta_1$ 与层粘连蛋白结合的试剂, 促进了 $\alpha_6\beta_1$ 与精子结合^[11]。

另外, 在鼠卵表面存在着一种四跨膜蛋白 CD9, 研究表明该蛋白影响了受精素与 $\alpha_6\beta_1$ 结合, 进而影响了精卵结合。CD9 是一种四跨膜蛋白, 具有四个跨膜区, 两个胞外环, 三个短的胞质片段。研究表明, 四体蛋白作为分子易化剂 (molecular facilitator) 结合或稳定分子复合物。据报道, CD9 与整联蛋白 $\alpha_3\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_1$ 、 $\alpha_4\beta_1$ 和 $\alpha_{IIb}\beta_3$ 相互作用, 参与整联蛋白介导的信号传导、细胞迁移及底物与胞外基质结合。离体实验表明, 抗 CD9 的抗体 JF9 以剂量依赖性抑制了精卵结合和融合。这种抑制是通过抑制受精素 β 与整联蛋白结合而实现的, CD9 的抗体 JF9 抑制了包裹着完整受精素 β 或受精素 β 裂解子区的重组蛋白的荧光颗粒与 $\alpha_6\beta_1$ 的结合^[6]。可见, 受精素与整联蛋白的作用受到复杂的调控。

2 ADAM20 和 ADAM21 与受精

ADAM20 和 ADAM21 的 mRNA 仅在精巢中表达, 出现在成熟的精子中。像 ADAM1 和 ADAM2 那样, 它们也以异二聚体形式存在。通常, 虽然 ADAMs 包含多个功能区, 但不是所有 ADAMs 都能随时进行蛋白水解、细胞粘附、融合和细胞间信号传递, 对大多数 ADAMs 而言, 只有当前调控区被裂解掉后, 蛋白水解酶区才被激活, 这一结果归因于“半胱氨酸开关”的存在, “半胱氨酸开关”为一短的氨基酸序列, 上有一未配对的半胱氨酸, 可与催化区的 Zn^{2+} 相互作用而“激发”蛋白水解酶活性。ADAM20 和 ADAM21 没有明显的降解位点, 说明它

的水解是受到调控的,这类类似于受精素 α 和 β ,仅在精子形成晚期才被活化,符合受精的需要。

2.1 金属蛋白水解酶区 一般来说,ADAM20的金属蛋白水解酶区的 Zn^{2+} 结合位点是HEXGHNNGXXHD序列,因此,ADAM20可能像受精素 α 、ADAM12、TNF- α 转化酶和ADAM5那样, Zn^{2+} 结合点位于紧邻蛋氨酸的拐角处,该结构折叠并固定 Zn^{2+} 配基后,具有金属蛋白水解酶活性^[12,13]。相反,ADAM21该序列的 Zn^{2+} 结合位点为组氨酸残基,它直接与金属阳离子相互作用,这使ADAM21不太可能具有蛋白水解酶功能。

2.2 裂解子区 据估计,ADAM20和ADAM21裂解子区的三联体序列是酸性时,才是活性的配基。

2.3 潜在的融合肽 从受精素 α 和融合素 α 的富半胱氨酸区鉴定出了融合肽,参与细胞融合。它们与从融合病毒中鉴定出来的多肽具有共同的特征,能够折叠成两性亲水性和疏水性面。这个多肽虽然很短,但与ADAM20和ADAM21介导细胞与细胞融合作用有关。

2.4 胞质区 有的ADAMs有着相当长的胞质尾区,ADAM8~ADAM10、12、13和15还具有酪氨酸激酶SH3结合区^[14]。而ADAM20和ADAM21胞质区相当短,缺乏酪氨酸残基和SH3相关序列,似乎不参与信号传导,因此,推测它们不具有(通过受精)调控细胞代谢功能作用^[15]。

3 其它ADAMs与受精

3.1 ADAMTs ADAMTs虽属ADAMs家族,但其结构不同于一般ADAMs,它缺乏一个表皮生长因子样的重复序列,取而代之的是血小板反应蛋白I型的重复序列^[16,17]。到目前为止,已有11种ADAMTs被鉴定出来^[18,19]。其中,ADAMTs-1具有金属蛋白水解酶活性^[13],为正常生长、受精所必须^[20],ADAMTs-1通过其C-末端的空间构型和血小板反应蛋白I型的重复序列锚定在胞外基质上,其底物和反应机制尚不清楚。

3.2 tMDC I、II、III和IV 从猴子生殖系统中克隆出了另外四个与受精作用有关的ADAMs家族成员tMDC I~IV,tMDC I(又称Cyrtestin)属于ADAM3,tMDC II属于ADAM5,tMDC III属于ADAM18和tMDC IV属于ADAM6。现在知道,tMDC I、II和III存在于精子表面,通过裂解子与卵膜上受体结合^[5,21,22],参与受精过程,而tMDC IV的功能有待进一步研究。

综上所述,ADAMs的发现将有助于人们进一步了解受精的分子机理,加快受精和发育生物学研究进程。

参 考 文 献

- [1] Lawrence, L., S. R. Martha, P. B. Carl. Intracellular maturation of the mouse metalloproteinase. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273(40):26 236 ~ 26 247.
- [2] Brent, J. G., L. Frosty, M. G. Mattei *et al.* A novel, secreted form of human ADAM12(meltrin) provokes myogenesis *in vivo*. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273(1):157 ~ 166.
- [3] Anne, L. S., K. Michaela, A. S. Qingxiang. Structure-function analysis of the ADAM family of disintegrin-like and metalloproteinase-containing proteins. *J. Protein. Chem.*, 1999, 18(4):447 ~ 464.
- [4] Keith, B., D. Deendayal, N. Hideaki. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochem. Biophys. Acta*, 2000, 147(7):267 ~ 283.
- [5] Jan, F., A. C. Elizabeth, J. A. J. Dimsey *et al.* Transcripts encoding the sperm surface protein tMDC11 are non-functional in the human. *Biochem. J.*, 1999, 341:771 ~ 775.
- [6] Lum, L., C. P. Blobel. Evidence for distinct serine protease activities with a potential role in processing the sperm protein fertilin. *Dev. Biol.*, 1997, 191(1):131 ~ 145.
- [7] Koji, S. Y. O., H. Yoshikazu, T. Issa. Metalloproteinase-like, disintegrin-like, cysteine-rich protease moc2 and moc3; novel human cellular disintegrins highly expressed in the brain. *Biochem. J.*, 1998, 315:93 ~ 98.
- [8] Almeida, E. A. C., A. P. J. Houvila, A. Z. Sutherland *et al.* Mouse egg integrin $\alpha_6\beta_1$ functions as a sperm receptor. *Cell*, 1995, 81:1 095 ~ 1 104.
- [9] Xiao, L. Z., N. H. P. Bansal, P. J. Evans. Identification of key functional amino acids of the mouse fertilin β (ADAM2) disintegrin loop for cell-cell adhesion during fertilization. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275(11):7 677 ~ 7 683.
- [10] Dora, B., T. Yuji, M. A. Lecurie *et al.* Sequence-specific interaction between the disintegrin domain of mouse ADAM2 (fertilin β) and murine eggs. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275(16):11 576 ~ 11 584.
- [11] Chen, M. S., E. A. C. Almeida, A. P. J. Hnovila *et al.* Evidence that distinct states of the integrin $\alpha_6\beta_1$ interact with laminin and an ADAM. *J. Cell Biol.*, 1999, 144(3):549 ~ 561.
- [12] Karenk, N., S. Jhoannes, P. B. Carl *et al.* Evidence for an interaction of the metalloprotease-disintegrin tumour necrosis factor a convertase(TACE) with mitotic arrest deficient 2(MAD1), and of the metalloprotease-disintegrin MDCH with a novel MAD2-related protein. *MAD1B*, 1999, 343:673 ~ 680.
- [13] Kouji, K., T. Yuya, M. W. Kouji. ADAMTS-1 is an active

- metalloproteinase associated with the extracellular matrix. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274(21): 18 821 ~ 18 826.
- [14] Linda, H., K. N. Karen, A. M. Rose. Interaction of the metalloproteinase disintegrins MDC9 and MDC15 with two SH3 domain containing proteins endophilin I and SH3 PX1. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274(44): 31 693 ~ 31 699.
- [15] Rob, H. V. H. ADAM20 and 21: two novel human testis-specific membrane metalloproteinases with similarity to fertilin-2. *Gene*, 1998, 206: 273 ~ 282.
- [16] Kouji, K., K. Naomi, N. Emi *et al.* Molecular cloning of a gene encoding a new type of metalloproteinase disintegrin family protein with thrombospondin motifs as an inflammation associated gene. *J. Biol. Chem.*, 1997, 272(1): 556 ~ 562.
- [17] Kouji, K., M. Kouji. ADAMTS-1 protein anchors at the extracellular matrix through the thrombospondin: Type I motifs and its spacing region. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273(22): 13 912 ~ 13 917.
- [18] Tinal, H., H. Satoshi, F. S. Michael. ADAM-TS5, ADAM-TS7, novel members of a new family of zinc metalloproteinases. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274(36): 25 555 ~ 25 563.
- [19] Ilgar, A., Q. L. Rui, Y. F. Rosenfeld. Cloning and characterization of ADAMTS11, an aggrecanase from the ADAMTS family. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274(33): 23 443 ~ 23 450.
- [20] Takayuki, S., K. Hiroki, K. Kouji *et al.* ADAMTS-1 a metalloproteinase-disintegrin essential for normal growth, fertility and organ morphology and function. *J. Biol. Chem.*, 2000, 105(10): 1 345 ~ 1 352.
- [21] Anthony, C. F. P., J. Roy, H. Len. Analysis of transcripts encoding novel members of the mammalian metalloproteinase-like, disintegrin-like, cystein-rich (MDC) protein family and their expression in reproductive and non-reproductive monkey tissues. *Biochem. J.*, 1995, 312: 239 ~ 244.
- [22] Chen, M. S., K. K. Tung, S. A. Coonrod *et al.* Role of the integrin-associated protein CD9 in binding between sperm ADAM2 and the egg integrin $\alpha_6\beta_1$: implications for murine fertilization. *PNAS*, 1999, 96(21): 11 830 ~ 11 835.