

·综述·

DOI: 10.16605/j.cnki.1007-7847.2016.06.014

胶原研究进展

刘向东, 李 戡, 张建新, 赵俊星*

(山西农业大学 动物科技学院, 中国山西 太谷 030801)

摘要: 胶原是哺乳动物体内含量最多的蛋白质, 占体内总蛋白质含量的25%~35%。作为动物体内重要的结构蛋白, 胶原不仅是细胞外基质的主要构成成分, 还在细胞增殖和分化、组织发育方面发挥了重要作用。胶原纤维分布广泛, 主要分布于动物的骨骼、皮肤、角膜、肌腱、软骨、韧带、内脏等组织和器官中。骨骼肌胶原纤维的含量约占总重的1%~2%。骨骼肌胶原含量及交联方式是肉产品嫩度的重要决定因素。通过对胶原结构、功能、合成调控及测定方法进行综述, 旨在为提高肉类产品品质提供参考。

关键词: 胶原; 功能; 生物合成; 检测方法; 肉品质; 改良

中图分类号: Q513

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2016)06-0542-06

Progresses on Study of Collagen

LIU Xiang-dong, LI Kan, ZHANG Jian-xin, ZHAO Jun-xing*

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shanxi Agriculture University, Taigu 030801, Shanxi, China)

Abstract: Collagen is one of the most abundant proteins in mammals, which accounts for 25%~35% of the total protein content. Serving as the main structure protein, collagen is not only the main component of extracellular matrix, but also plays an important role in organogenesis, cell structure maintenance, cell determination, proliferation and differentiation. Collagen fibril is widely distributed in various tissues and viscera in body, including bones, skin, corneas, tendons, cartilages, ligaments, etc. In skeletal muscle, collagen fibril accounts for about 1%~2% of its weight. The content and crosslinking manner of collagen in skeletal muscle are one of the major factors that are responsible for meat tenderness. The structure and function of collagen and the regulation of its synthesis were reviewed to provide a theory basis for improving meat product quality.

Key words: collagen; function; biosynthesis; measurement; meat quality; improvement

(*Life Science Research*, 2016, 20(6): 542~547)

胶原蛋白是哺乳动物体内含量最多的蛋白质。作为细胞外最重要的不溶性纤维蛋白, 胶原蛋白不仅对机体和器官起支持作用, 还在细胞增殖、分化和组织发育等方面发挥了重要作用。目前发现的胶原蛋白共有28种, 广泛分布于皮肤、肌腱、血管、韧带、骨骼、软骨和肌肉等组织和器官中。典型的胶原蛋白具有3条多聚肽链(α 肽链), 每条 α 单链均为左手螺旋, 3条 α 链通过右手螺旋聚合在一起形成前胶原(procollagen)。经细胞膜表面酶处理后, 位于前胶原两端的疏松结构

被切除, 形成原胶原(tropocollagen)。原胶原经过进一步的聚合形成胶原纤维。

胶原蛋白合成受一系列基因和信号网络调控, 控制其合成的基因多达30多种^[1,2]。其中包括胶原(collagen, col)基因家族、基质金属酶(matrix metalloproteinases, MMPs)基因家族、金属蛋白酶抑制因子(tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs)基因家族、赖氨酰氧化酶(lysyl oxidase, LOX)基因、赖氨酰羟化酶(lysyl hydroxylase 2b, LH2b)基因、脯氨酰4-羟化酶-a (prolyl 4-hydroxylase,

收稿日期: 2016-04-18; 修回日期: 2016-06-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31402053); 山西省回国留学人员科研资助项目(2014-039); 山西农业大学科技创新基金(20132-01)

作者简介: 刘向东(1990-), 男, 山西大同人, 硕士研究生, 主要从事肌肉与脂肪发育研究; * 通讯作者: 赵俊星(1982-), 男, 山西太谷人, 山西农业大学副教授, 博士, 主要从事肌肉与脂肪发育研究, Tel: 0354-6288335, E-mail: junzhang@163.com。

P4Ha)基因等。在胶原合成过程中起重要作用的蛋白质、酶以及主要调控因子有:纤维连接蛋白(*fibronectin*, FN)、辅助细胞和其他细胞外基质(*extracellular matrix*, ECM)、LOX、LH2b、转化生长因子- β (*transforming growth factor*- β , TGF- β)、胰岛素样生长因子(*insulin-like growth factor* I, IGF-I)、干扰素 γ (*interferon*- γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (*tumor necrosis factor*- α , TNF- α)等。

胶原含量以及胶原交联程度是影响肉产品嫩度的重要因素^[3]。胶原含量的检测主要包括以下几种:总胶原含量测定,可溶性胶原、不溶性胶原以及胶原交联程度的检测。胶原交联程度主要是通过检测胶原蛋白中交联产物含量进行判断。交联产物包括成熟产物和非成熟产物两大类。在骨骼肌中非成熟、可还原交联很快转化为成熟的交联^[4]。

本文主要对胶原蛋白结构、功能、合成调控及骨骼肌中胶原含量的测定方法进行综述,旨在为使用分子生物学手段改变胶原含量及性质提供理论参考。

1 胶原的种类、结构和功能

1.1 胶原种类和结构

目前为止,在哺乳动物体内发现的胶原超家族成员共有28种,以罗马数字I~XXVIII命名^[5]。胶原多样性主要源于组成胶原 α 链的多样性、胶原分子存在同分异构体、单种胶原的超分子结构、启动子以及链接类型的不同。目前,胶原命名的标准尚不统一,狭义的胶原超家族并不包括含有单个三螺旋结构的蛋白质,但其中有些具有胶原样三螺旋结构域的蛋白质被称为可溶性防御胶原^[6]。

具有3条多聚肽链(α 肽链)是胶原的标志结构。3条 α 肽链可相同也可不同,每条肽链包含一个至多个重复氨基酸基序,该基序的模式为Gly-Pro-X或Gly-X-Hyp,其中X和Y可以是任意的氨基酸^[7]。 α 单链的结构为左手聚脯氨酸II型螺旋,而3条邻近的 α 链则以右手螺旋的方式聚合在一起形成三螺旋结构,且相邻 α 链之间相差一个残基。三螺旋具有一定的稳定性,这主要依赖于其中甘氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸、赖氨酸和天冬氨酸之间的静电作用以及 α 链之间的氢键。正常情况下三螺旋为棒状结构,但由于Gly-X-Y结构的缺失和 α 链的断裂,三螺旋结构也可弯曲。

根据胶原分子聚合后的形状,胶原可进一步

分为纤维状、球状、锚状和网状胶原。纤维状胶原呈节状,每64~67 nm为一个周期^[8]。胶原纤维的直径具有组织特异性,一般在15~500 nm^[9]。不同于传统胶原,胶原XXVII为非条纹纤维,其直径为10 nm^[8,10]。

1.2 胶原的功能

哺乳动物胶原对维持机体组织结构发挥着重要作用。除了作为支架维持细胞外结构,胶原还可作为配体与某些受体结合,参与细胞的生长、分化和迁移等过程的调控^[11-14]。

胶原的功能具有组织特异性。在发生纤维化的组织中,ECM沉积的纤维可负反馈抑制新纤维的合成,进而抑制组织纤维化发生^[15]。II型胶原是软骨组织的重要组成成分,在细胞外软骨基质中,II型胶原的含量占大约50%^[16]。但在增生性软骨中,可见胶原X的特异性表达,其对于软骨骨化及造血干细胞的生长和功能的发挥具有重要作用^[17]。Internal elastic lamella (IEL)紊乱与胶原III的沉积呈显著相关性^[18]。胶原XXVII只在成人软骨中表达,其参与软骨钙化及软骨转化为骨骼的调节^[19]。COL22A1能够与血清中的肌酐结合,进而影响骨骼肌中蛋白质的合成^[20]。胶原XXIV在调控成骨细胞分化及骨骼形成的过程中发挥重要作用^[21]。此外, XI型胶原对维持皮肤的正常功能及完整性有着重要作用^[1]。

膜胶原是胶原另一种重要的存在方式,由于其具有细胞相容性和可降解性,被广泛地应用于临床治疗当中^[22]。不同的膜胶原具有不同的生物学功能。比如:胶原VIII影响骨骼的形成,胶原XVII是半桥粒的主要结构组成部分^[23],胶原XXIII与前列腺癌的复发与转移存在密切关系^[24]。

此外,胶原对哺乳动物神经系统的发育同样具有重要作用。胶原IV作为突触前形成体,可进一步发育为神经肌肉接头^[25]。胶原XIX在中枢神经系统中表达,对海马体突触的形成必不可少^[26]。COL25A1的高表达可能是阿尔茨海默病发病的原因之一^[27]。有研究表明,胶原VI可增强神经元的毒性耐受性^[28]。

2 胶原的生物合成与降解

2.1 前胶原 α 链的合成

胶原主要是由成纤维细胞合成。前胶原 α 链的合成与普通蛋白质的合成过程类似,包括转录、翻译及翻译后的加工与修饰。合成的前体蛋

白质在信号肽切除后, 会进行复杂的修饰。翻译后修饰主要包括脯氨酸和赖氨酸残基的羟基化、与 O 或 N 相连基团的糖基化、 α 链的聚合、二硫键的生成、脯氨酰顺-反异构及三螺旋结构的折叠。

赖氨酸残基羟基化是胶原最重要的翻译后修饰方式, 其修饰程度因组织而异, 在胚胎组织中的程度最高。一方面羟赖氨酸是胶原交联反应的主要底物, 其含量对于胶原的稳定至关重要。另一方面, 羟赖氨酸是糖基化修饰发生的基础。赖氨酸残基羟基化依赖于 LH, 而且 LH 只作用于 Y 位置的赖氨酸残基。LH 家族共有 3 个成员, 分别为 LH1、LH2 和 LH3, 其中 LH2 特定作用于端肽区域的赖氨酸, 该区域的赖氨酸和羟赖氨酸是赖氨酰氧化酶作用的底物, 影响胶原交联程度。当体内缺少 LH2 时, 会导致 Bruck 综合症^[29]。

胶原蛋白中的羟赖氨酸能够依次与半乳糖、葡萄糖通过共价键连接, 形成糖基化。该反应目前仅发现于胶原蛋白中, 参与该过程的酶尚不明确。研究表明, LH3 除了作为赖氨酰羟化酶外, 还具有半乳糖转移酶(galactosyltransferase, GT)和葡萄糖转移酶(glucosyltransferase, GGT)的功能。若将 LH3 分子失活, 会导致由于基膜紊乱而产生的死胚^[30]。

脯氨酸残基羟基化一方面可以增加分子间氢键的作用, 另一方面羟基的电子牵拉作用可增加 Y 位置四级结构前膜的稳定性。P4H 是催化羟脯氨酸形成的主要因子, 能够将 Gly-X-Y 中 Y 位置的脯氨酸羟基化。P3H 可将 X 位置的脯氨酸羟基化。相对于 Y 位置, X 位置的羟基化较少发生, 在 I 型和 II 型胶原中, 每条 α 链只有一个 X 位置上的脯氨酸发生羟基化。当 P3H 失活后, 会导致病变发生^[31]。

2.2 前胶原分子的形成

脯氨酸和赖氨酸羟基化以及羟赖氨酸糖基化完成后, 3 条前胶原 α 链会以三螺旋的形式关联, 从而形成前胶原分子。前胶原分子由氨基端前肽链、非螺旋 N-端肽、位于中心的三螺旋结构域、C-端肽和羧基端前肽链构成。

在前胶原分子形成过程中, 羧基端前肽链发挥着重要作用。研究表明, 前胶原纤维的羧基端前肽链中除邻近中部的 15 个不连续氨基酸外, 其余的氨基酸序列均高度保守^[32]。Lees 等^[33]通过交换不同羧基端前肽链区域的该序列, 认为该序列包含有 α 链识别所需的区域。 α 链区的特定识

别能够保证其稳定性, 防止氨基酸序列错排。除此之外, 羧基端前肽链中的卷曲螺旋同样发挥着重要作用。该结构能够保证核心部位的稳定^[34]。由于相互关联的多肽链含有重复序列 $(abcdefg)_n$, 且 a 和 d 为典型的疏水氨基酸, 而 e 和 g 通常为带电氨基酸, 因此该卷曲螺旋结构广泛存在于由多肽链关联形成的寡聚基序中^[35]。

由于三螺旋结构首先在羧基端前肽链形成, 因此对于大多数的胶原来说, 三螺旋沿着 C 端到 N 端方向进行。但对于跨膜胶原和胶原类蛋白质, 卷曲螺旋位于氨基端前肽链, 三螺旋沿着 N 端向 C 端进行^[36]。参与三螺旋形成过程的酶和伴侣蛋白主要有 P4H、protein disulphide isomerase (PDI) 和热应激蛋白 47 (heat shock protein 47, HSP47)。P4H 除具有酶的功能外, 还可作为伴侣蛋白选择性地与未折叠的前胶原 α 链结合, 从而避免未成熟的胶原形成三螺旋结构^[37, 38]。此外, P4H 中的 β 亚基与 PDI 具有相同的功能, 能够催化二硫键的形成与重排。PDI 除了可催化胶原前肽链分子间和分子内二硫键的形成外, 也可作为伴侣蛋白选择性地与未折叠的 α 链结合^[39]。HSP47 只在合成胶原的细胞中表达。与其他伴侣蛋白不同, HSP47 只与胶原中折叠后的三螺旋结构结合。在体温状态, 三螺旋结构不稳定, HSP47 与 Gly-X-Y 中 Y 位置的精氨酸结合可使三螺旋结构更加稳定, 并防止未成熟的前胶原分子聚合^[32]。若敲除小鼠的 *Hsp47* 基因, 会导致胚胎死亡现象^[40]。

2.3 前胶原分子的加工

经修饰后的前胶原分子在外壳蛋白复合体 II (coat protein complex II, COP II) 的作用下, 进入囊泡小管群(vesicular tubular clusters, VCTs), 并运送到高尔基体。在高尔基体中, 前胶原分子与低聚糖聚合, 然后经分泌小泡运出细胞。在由高尔基体到细胞间的整个过程中, 前胶原分子以“束”的形式存在。

前胶原分子的加工可能发生在由高尔基体分泌后接近细胞膜的过程^[41]。在此过程中, 前胶原分子中的前肽链在解聚酶、金属蛋白酶^[42]、BMP1/Tolloid 样家族^[43]和弗林样蛋白转化酶的作用下被切掉, 纤维性胶原开始形成。金属蛋白酶属于 ADAMTS 家族。其中 ADAMTS-2, -3, -14 能够与前胶原分子的 N 端结合, 进而切掉前胶原的氨基端前肽链; ADAMTS-2 和 ADAMTS-3 可分别作用于前胶原 II 和前胶原 III。BMP1/Tolloid 样蛋白

酶家族包含4种酶,主要作用于羧基端前肽链,而且均可作用于I~III前胶原。

2.4 胶原纤维的形成

共价交联是胶原生物合成的最后一步,经此过程后,前胶原分子最终形成胶原纤维。参与此过程的酶主要为LOX家族。

LOX家族是依赖铜的氨基酸氧化酶^[44],包括5种成员,各成员的羧基端组成相似,均包含催化区和细胞因子受体样区。LOX的激活依赖于BMP1/Tolloid样家族成员,后者可将LOX的前肽切除,从而激活LOX。LOX可将位于端肽区域的赖氨酸和羟赖氨酸转化为肽基乙醛(peptidyl aldehydes),而肽基乙醛可自发与其他的肽基乙醛或者未反应的赖氨酸和羟赖氨酸形成分子内或分子间的共价键^[45,46]。胶原聚合成纤维以后,可增强LOX的活性。除了催化胶原分子聚合外,LOX还具有抑制肿瘤的功能^[47]。

胶原交联终产物的类型取决于组织,胶原的中间产物为醛亚胺和(或)酮亚胺。在骨骼和软骨中,醛亚胺和酮亚胺会进一步氧化为吡啶啉和脱氧吡啶啉,在骨骼中还可发生吡咯交联,而皮肤中则多见组氨酸-羟赖氨酸-亮氨酸交联^[48]。此外,近年来在软骨中还发现了另一种成熟交联产物,即精氨酸酮亚胺^[49]。

另一种参与体内胶原交联的酶为组织转谷氨酰胺酶(tissue transglutaminase, TG2)^[50]。在胶原II、III、V、VII和XI的合成过程中, TG2能够催化谷氨酰胺残基上的 γ -甲酰胺与赖氨酸上的 ϵ -氨基酸形成异肽键。该酶除参与胶原交联过程外,还与GTP酶的活性有关^[50]。

2.5 胶原降解

动物体内的胶原平衡依赖于合成与降解。参与胶原蛋白降解的酶主要为基质金属酶(MMPs)。MMPs是依赖锌的肽链内切酶,属于甲硫氨酸锌蛋白家族。不同MMP所作用的胶原类型不同, MMP-13主要作用于胶原II;胶原I和III的裂解主要依赖MMP-1和MMP-8^[51]; MMP-2和MMP-9作用的底物为胶原IV和已失活胶原。对于I型胶原,当 α 链不同时,裂解酶为胶原酶;但当 α 链相同时,由于MMP作用位置的三螺旋结构更加稳定, MMP无法使其降解,因此降解该胶原的酶为非胶原蛋白酶^[52]。MMPs酶的活性受TIMPs调控。生物体内MMPs和TIMPs的相对平衡对于ECM的富集以及其他生理学过程至关重要。另一

组参与胶原降解的酶为脱落酶^[53],它能够使膜胶原以可溶形式释放外功能区。

3 胶原含量及交联的检测

骨骼肌间胶原的含量和溶解性对动物宰后肌肉的嫩度有重要影响。胶原含量的检测包括胶原总含量、可溶性和不溶性胶原含量以及胶原交联程度的测定。胶原总含量主要是通过计算胶原蛋白中羟脯氨酸含量来间接求得。可溶性胶原的检测是先通过Ringer溶液将可溶性蛋白分离,然后通过测定分离液中羟脯氨酸的含量来计算可溶性蛋白的含量。胶原总含量减去可溶性胶原含量为不溶性胶原含量。胶原交联程度主要与胶原蛋白中交联产物的含量有关。

3.1 胶原总含量的测定

羟脯氨酸是胶原蛋白特有的氨基酸,因此可通过测定羟脯氨酸的含量来间接测定胶原的含量。羟脯氨酸含量的测定方法有比色法、高效液相色谱法、气相色谱法和酶解法。这些方法均具有一定的局限性,如特异性不强、灵敏度不高、准确性差、步骤繁琐、所需的时间较长等。目前对于总胶原含量的测定多采用化学法,即通过强酸水解作用,使肌肉组织释放出单体羟脯氨酸,然后用氯胺T将其氧化形成类似吡咯的氧化物,并与显色剂二甲氨基苯甲醛缩合生成红色的产物,最后通过测定其吸光值,根据公式即可计算出总胶原蛋白的含量^[54]。

3.2 可溶性胶原含量的测定

可溶性胶原含量的检测与总胶原含量的检测原理相同。在测定前,使用Ringer溶液将可溶性胶原分离,通过检测分离出来的可溶性羟脯氨酸的含量,即可间接计算可溶性胶原的含量^[55]。

3.3 胶原交联程度的测定

通过对胶原交联产物含量的测定可判断胶原的交联程度。近年来,测定的交联产物主要包括成熟产物吡啶啉(pyridinoline, PYD)、脱氧吡啶啉(deoxy pyridinoline, DPD)和非成熟产物二价酮亚胺等^[56]。吡啶啉具有自然荧光,而且酸性条件下不易水解,因此通常使用高效液相色谱来检测其含量。而非成熟二价酮亚胺交联不具有荧光性,且在酸性条件下易分解,故不能使用传统的高效液相色谱进行检测。Gineyts等^[56]提出首先使用硼氢化钠将其还原为更加稳定的二羟基赖正己氨酸(dihydroxylysionorleucine, DHLNL)和羟基赖正己

氨酸(hydroxylysino-norleucine, HLNL), 然后通过高效液相色谱-质谱联用技术(HPLC-ESI-MS)可同时测定 PYD、DPYD、DHLNL 和 HLNL 的含量。

4 小结

胶原作为结缔组织中最重要结构蛋白, 在动物机体中发挥着重要作用。胶原蛋白在肌肉组织中的含量及性质直接影响肉类的感官性质和加工特性。因此, 在畜牧生产领域当中, 解析胶原蛋白的合成机制, 通过分子手段实现胶原蛋白含量及其性质的改变, 可为提高肉质的遗传改良提供依据。除此以外, 胶原在纤维化、癌细胞迁移等某些病理学过程发挥着重要作用, 通过调控胶原的合成可以为某些人类疾病的治疗提供参考。

参考文献(References)

- [1] SÖDERHÅLL C, MARENHOLZ I, KERSCHER T, *et al.* Variants in a novel epidermal collagen gene (*COL29A1*) are associated with atopic dermatitis[J]. *PLoS Biology*, 2007, 5(9): e242.
- [2] VEIT G, HANSEN U, KEENE D R, *et al.* Collagen VII interacts with avian tenascin-X through its NC3 domain[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(37): 27461-27470.
- [3] 祁艳霞, 张小辉, 王玉琴, 等. 牛肌肉组织中胶原和 *ADAMTS2* 基因表达与肉质的相关性分析[J]. 云南农业大学学报(QI Yan-xia, ZHANG Xiao-hui, WANG Yu-qin, *et al.* The expression of *ADAMTS2* and collagen genes in muscle tissue and its relationship with meat quality characters in cattle[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University*), 2014, 29(2): 173-178.
- [4] DU M, MCCORMICK R J. *Applied Muscle Biology and Meat Science*[M]. CRC Press, 2009.
- [5] RICARD-BLUM S. The collagen family[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2011, 3(1): a004978.
- [6] FRASER D A, TENNER A J. Directing an appropriate immune response: the role of defense collagens and other soluble pattern recognition molecules[J]. *Current Drug Targets*, 2008, 9(2): 113-122.
- [7] MANDAL A, MEDA V, ZHANG W J, *et al.* Synthesis, characterization and comparison of antimicrobial activity of PEG/TritonX-100 capped silver nanoparticles on collagen scaffold[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2012, 90: 191-196.
- [8] BRUCKNER P. Suprastructures of extracellular matrices: paradigms of functions controlled by aggregates rather than molecules[J]. *Cell and Tissue Research*, 2010, 339(1): 7-18.
- [9] KADLER K E, BALDOCK C, BELLA J, *et al.* Collagens at a glance[J]. *Journal of Cell Science*, 2007, 120(Pt 12): 1955-1958.
- [10] PLUMB D A, DHIR V, MIRONOV A, *et al.* Collagen XXVII is developmentally regulated and forms thin fibrillar structures distinct from those of classical vertebrate fibrillar collagens[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(17): 12791-12795.
- [11] HEINO J, HUHTALA M, KÄPYLÄ J, *et al.* Evolution of collagen-based adhesion systems[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2009, 41(2): 341-348.
- [12] HEINO J. The collagen family members as cell adhesion proteins[J]. *BioEssays*, 2007, 29(10): 1001-1010.
- [13] LEITINGER B, HOHENESTER E. Mammalian collagen receptors[J]. *Matrix Biology*, 2007, 26(3): 146-155.
- [14] RICARD-BLUM S, BALLUT L. Matricryptins derived from collagens and proteoglycans[J]. *Frontiers in Bioscience*, 2011, 16: 674-697.
- [15] CHUNG H J, STEPLEWSKI A, CHUNG K Y, *et al.* Collagen fibril formation: a new target to limit fibrosis[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(38): 25879-25886.
- [16] VILAR J M, RUBIO M, SPINELLA G, *et al.* Serum collagen type II cleavage epitope and serum hyaluronic acid as biomarkers for treatment monitoring of dogs with hip osteoarthritis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0149472.
- [17] SWEENEY E, ROBERTS D, CORBO T, *et al.* Congenic mice confirm that collagen X is required for proper hematopoietic development[J]. *PLoS One*, 2010, 5(3): e9518.
- [18] KRISHNAN P, PURUSHOTHAMAN K R, PURUSHOTHAMAN M, *et al.* Relation of internal elastic lamellar layer disruption to neointimal cellular proliferation and type III collagen deposition in human peripheral artery restenosis[J]. *The American Journal of Cardiology*, 2016, 117(7): 1173-1179.
- [19] HJORTEN R, HANSEN U, UNDERWOOD R A, *et al.* Type XXVII collagen at the transition of cartilage to bone during skeletogenesis[J]. *Bone*, 2007, 41(4): 535-542.
- [20] PATTARO C, DE GRANDI A, VITART V, *et al.* A meta-analysis of genome-wide data from five European isolates reveals an association of *COL22A1*, *SYT1*, and *GABRR2* with serum creatinine level[J]. *BioMed Central Medical Genetics*, 2010, 11: 41.
- [21] MATSUO N, TANAKA S, YOSHIOKA H, *et al.* Collagen XXIV (*Col24a1*) gene expression is a specific marker of osteoblast differentiation and bone formation[J]. *Connective Tissue Research*, 2008, 49(2): 68-75.
- [22] ORTOLANI E, QUADRINI F, BELLISARIO D, *et al.* Mechanical qualification of collagen membranes used in dentistry[J]. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 2015, 51(3): 229-235.
- [23] HAS C, KERN J S. Collagen XVII[J]. *Dermatologic Clinics*, 2010, 28(1): 61-66.
- [24] BANYARD J, BAO L, HOFER M D, *et al.* Collagen XXIII expression is associated with prostate cancer recurrence and distant metastases[J]. *Clinical Cancer Research*, 2007, 13(9): 2634-2642.
- [25] FOX M A. Novel roles for collagens in wiring the vertebrate nervous system[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2008, 20(5): 508-513.
- [26] SU J, GORSE K, RAMIREZ F, *et al.* Collagen XIX is expressed by interneurons and contributes to the formation of hippocampal synapses[J]. *The Journal of Comparative Neurology*, 2010, 518(2): 229-253.
- [27] FORSELL C, BJÖRK B F, LILIUS L, *et al.* Genetic association to the amyloid plaque associated protein gene *COL25A1* in Alzheimer's disease[J]. *Neurobiology of Aging*, 2010, 31(3): 409-415.
- [28] CHENG J S, DUBAL D B, KIM D H, *et al.* Collagen VI protects neurons against Abeta toxicity[J]. *Nature Neuroscience*, 2009, 12(2): 119-121.
- [29] VAN DER SLOT A J, ZUURMOND A M, BARDOEL A F J, *et al.* Identification of *PLOD2* as telopeptide lysyl hydroxylase, an important enzyme in fibrosis[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(42): 40967-40972.
- [30] RUOTSALAINEN H, SIPILA L, VAPOLA M, *et al.* Glycosylation catalyzed by lysyl hydroxylase 3 is essential for basement membranes[J]. *Journal of Cell Science*, 2006, 119(Pt 4): 625-635.
- [31] CABRAL W A, CHANG W, BARNES A M, *et al.* Prolyl 3-hydroxylase 1 deficiency causes a recessive metabolic bone disorder resembling lethal/severe osteogenesis imperfecta[J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(3): 359-365.
- [32] HULMES D J S. *Collagen Diversity, Synthesis and Assembly*[M]/FRATZL P. *Collagen: Structure and Mechanics*. Springer US, 2008. 15-47.
- [33] LEES J F, TASAB M, BULLEID N J. Identification of the molecular recognition sequence which determines the type-specific assembly of procollagen[J]. *The EMBO Journal*, 1997, 16(5): 908-916.
- [34] MCALINDEN A, SMITH T A, SANDELL L J, *et al.* Alpha-helical coiled-coil oligomerization domains are almost ubiquitous in the collagen superfamily[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(43): 42200-42207.
- [35] PARRY D A. Structural and functional implications of sequence repeats in fibrous proteins[J]. *Advances in Protein Chemistry*, 2005, 70: 11-35.
- [36] SNELLMAN A, TUOMISTO A, KOSKI A, *et al.* The role of disulfide bonds and alpha-helical coiled-coils in the biosynthesis of type XIII collagen and other collagenous transmembrane proteins[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(20): 14898-14905.

- [37] KOIDE T. Triple helical collagen-like peptides: engineering and applications in matrix biology[J]. *Connective Tissue Research*, 2005, 46(3): 131-141.
- [38] WALMSLEY A R, ZHOU T, BORGES-WALMSLEY M I, *et al.* The ATPase mechanism of ArsA, the catalytic subunit of the arsenite pump[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(23): 16153-16161.
- [39] BOTTOMLEY M J, BATTEN M R, LUMB R A, *et al.* Quality control in the endoplasmic reticulum: PDI mediates the ER retention of unassembled procollagen C-propeptides[J]. *Current Biology*, 2001, 11(14): 1114-1118.
- [40] ISHIDA Y, KUBOTA H, YAMAMOTO A, *et al.* Type I collagen in Hsp47-null cells is aggregated in endoplasmic reticulum and deficient in N-propeptide processing and fibrillogenesis[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2006, 17(5): 2346-2355.
- [41] RENTZ T J, POOBALARAH F, BORNSTEIN P, *et al.* SPARC regulates processing of procollagen I and collagen fibrillogenesis in dermal fibroblasts[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(30): 22062-22071.
- [42] PORTER S, CLARK I M, KEVORKIAN L, *et al.* The ADAMTS metalloproteinases[J]. *The Biochemical Journal*, 2005, 386(Pt 1): 15-27.
- [43] HOPKINS D R, KELES S, GREENSPAN D S. The bone morphogenetic protein 1/Tolloid-like metalloproteinases[J]. *Matrix Biology*, 2007, 26(7): 508-523.
- [44] HERCHENHAN A, UHLENBROCK F, ELIASSON P, *et al.* Lysyl oxidase activity is required for ordered collagen fibrillogenesis by tendon cells[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(26): 16440-16450.
- [45] WU J J, WEIS M A, KIM L S, *et al.* Differences in chain usage and cross-linking specificities of cartilage type V/XI collagen isoforms with age and tissue[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(9): 5539-5545.
- [46] WU J J, WEIS M A, KIM L S, *et al.* Type III collagen, a fibril network modifier in articular cartilage[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(24): 18537-18544.
- [47] LUCERO H A, KAGAN H M. Lysyl oxidase: an oxidative enzyme and effector of cell function[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 2006, 63(19-20): 2304-2316.
- [48] ROBINS S P. Biochemistry and functional significance of collagen cross-linking[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2007, 35(Pt 5): 849-852.
- [49] EYRE D R, WEIS M A, WU J J. Maturation of collagen ketoimine cross-links by an alternative mechanism to pyridinolone formation in cartilage[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(22): 16675-16682.
- [50] VERDERIO E A, JOHNSON T S, GRIFFIN M. Transglutaminases in wound healing and inflammation[J]. *Progress in Experimental Tumor Research*, 2005, 38: 89-114.
- [51] KLEIN T, BISCHOFF R. Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteinases[J]. *Amino Acids*, 2011, 41(2): 271-290.
- [52] HAN S, MAKAREVA E, KUZNETSOVA N V, *et al.* Molecular mechanism of type I collagen homotrimer resistance to mammalian collagenases[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(29): 22276-22281.
- [53] MURPHY G. Regulation of the proteolytic disintegrin metalloproteinases, the 'Sheddases'[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2009, 20(2): 138-145.
- [54] WOESSNER JR J F. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1961, 93: 440-447.
- [55] 包新见. 猪肌肉组织 *Col3a1* 基因表达的发育性变化及其对肌内胶原的影响[D]. 泰安: 山东农业大学(Bao Xin-jian. The Developmental Changes of *Col3a1* mRNA Expression in Muscle and Their Association with Intramuscular Collagen in Pigs[D]. Taian: Shandong Agricultural University), 2006.
- [56] GINEYTS E, BOREL O, CHAPURLAT R, *et al.* Quantification of immature and mature collagen crosslinks by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry in connective tissues[J]. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2010, 878(19): 1449-1454.

(上接第 529 页)

- [17] 杨筱慧, 朱道弘, 刘志伟, 等. 湖南三地区麦氏安痲蜂体内 *Wolbachia* 的感染及其 *usp* 基因序列分析[J]. *昆虫学报*(YANG Xiao-hui, ZHU Dao-hong, LIU Zhi-wei, *et al.* Sequencing and phylogenetic analysis of the *usp* gene of *Wolbachia* in three geographic populations of an oak gall wasp, *Andricus mairii* (Hymenoptera: Cynipidae), from Hunan, South China[J]. *Acta Entomologica Sinica*), 2012, 55(2): 247-254.
- [18] WANG Z Y, DENG C, YUN Y L, *et al.* Molecular detection and the phylogenetic of *Wolbachia* in Chinese spiders (Araneae)[J]. *The Journal of Arachnology*, 2010(38): 237-241.
- [19] WERREN J H. Biology of *Wolbachia*[J]. *Annual Review of Entomology*, 1997, 42: 587-609.
- [20] THIPAKSORN A, JAMNONGLUK W, KITTAYAPONG P. Molecular evidence of *Wolbachia* infection in natural populations of tropical odonates[J]. *Current Microbiology*, 2003, 47(4): 314-318.
- [21] RIGAUD T, JUHAULT P. Success and failure of horizontal transfers of feminizing *Wolbachia* endosymbionts in woodlice[J]. *Journal of Evolutionary Biology*, 1995, 8(2): 249-255.
- [22] BANDI C, ANDERSON T J, GENCHI C, *et al.* Phylogeny of *Wolbachia* in filarial nematodes[J]. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 1998, 265(1413): 2407-2413.
- [23] SINTUPACHEE S, MILNE J R, POONCHAI S, *et al.* Closely related *Wolbachia* strains within the pumpkin arthropod community and the potential for horizontal transmission via the plant[J]. *Microbial Ecology*, 2006, 51(3): 294-301.
- [24] CASPI-FLUGER A, INBAR M, MOZES-DAUBE N, *et al.* Horizontal transmission of the insect symbiont *Rickettsia* is plant-mediated[J]. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 2012, 279(1734): 1791-1796.
- [25] NODA H, KOIZUMI Y, ZHANG Q, *et al.* Infection density of *Wolbachia* and incompatibility level in two planthopper species, *Loedelphax striatellus* and *Sogatella furcifera*[J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, 31(6): 727-737.
- [26] 云月利. 草间钻头蛛体内 *Wolbachia* 的分子检测及对宿主生殖的影响[D]. 武汉: 华中农业大学(YUN Yue-li. Molecular Detection of *Wolbachia* and Its Effect on Reproduction in *Hyllyphantes graminicola*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University), 2010.
- [27] 谭耀庚, 赵敬钊. 蜘蛛的寄生蜂初报[J]. *蛛形学报*(TAN Yao-geng, ZHAO Jing-zhao. A preliminary report on parasitoid wasp of spider[J]. *Acta Arachnologica Sinica*), 1999, 8(2): 70-72.
- [28] 刘科科, 王占峰, 陈志武, 等. 皱胸尖裂姬蜂对机敏异漏斗蛛的拟寄生行为及其发育特征[J]. *动物学杂志*(LIU Ke-ke, WANG Zhan-feng, CHEN Zhi-wu, *et al.* Parasitoidism of the ichneumon *Oxyrrhexis rugosus* on the funnel-web spider *Allagelena difficilis* and developmental characteristics of the parasitoid[J]. *Chinese Journal of Zoology*), 2015, 50(6): 931-939.
- [29] 杨庭榜, 杨自忠, 石爱民. 蜘蛛寄生蜂名录及狼蛛科 5 种蜘蛛卵囊的寄生蜂记录[J]. *安徽农业科学*(YANG Ting-bang, YANG Zi-zhong, SHI Ai-min. A checklist of parasitoid wasps of spider, with notes on parasitoid of five wolf spider species (Araneae, Lycosidae)[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*), 2013, 41(9): 3875-3890.