

文章编号: 1674 - 5566(2013)02 - 0200 - 06

## 养殖珍珠贝壳基质蛋白研究进展

刘晓军<sup>1</sup>, 李家乐<sup>1,2</sup>

(1. 上海海洋大学 农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 2. 上海海洋大学上海市高校水产养殖学 E-研究院, 上海 201306)

**摘要:** 基质蛋白是一类存在于贝壳和珍珠矿化结构中的蛋白, 在贝壳和珍珠的形成过程中, 碳酸钙在基质蛋白的作用下形成高度复杂有序的生物矿化结构。因此在养殖珍珠贝中进行基质蛋白的研究对阐明珍珠的形成机理具有重要意义。概述了养殖珍珠贝中已发现的基质蛋白和它们的结构特点、矿化功能以及在珍珠形成过程中作用机理的最新研究进展, 旨在为进一步提高珍珠质量提供参考资料。

**研究亮点:** 以合浦珠母贝为典型代表, 系统总结了近年来有关贝壳基质蛋白的研究成果。结合贝壳的结构特点和外套膜的分泌特性, 详细介绍了基质蛋白的分类、一级结构的特点以及在碳酸钙生物矿化过程中的功能。有利于理解贝壳的生物矿化机理和珍珠的形成机理。

**关键词:** 珍珠贝; 贝壳; 基质蛋白

**中图分类号:** S 968.31\*6

**文献标志码:** A

养殖珍珠贝是能够生产珍珠的双壳贝类, 具有重要的经济价值。海水养殖珍珠贝的种类很多, 有珍珠贝 (*Pteria chinensis*)、大珍珠贝 (*Pinctada maxima*)、合浦珍珠贝 (*Pinctada fucata*)、企鵝珍珠贝 (*Pteria penguin*) 等。其中以合浦珍珠贝最普通, 合浦珠母贝在我国主要分布于广西、广东、海南及福建沿海一带, 是我国最主要海水珍珠育珠贝, 其所产海水珍珠质量蜚声国内外。

目前我国珍珠生产过程中普遍存在珍珠质量下降的问题, 严重制约了珍珠产业的健康和可持续发展, 迫切需提高珍珠质量的新措施, 尤其是生物学技术。珍珠形成的分子机理是珍珠生产的理论基础, 建立提高珍珠质量的新的生物学措施需要对其进行充分地研究。然而有关珍珠形成的分子机理目前还不清楚, 相关的研究也处于起步阶段。由于贝壳和珍珠在微观结构和化学组成上被认为是相同的物质, 科学家们普遍认为通过贝壳形成机理的研究可以阐明珍珠的

形成机理<sup>[1-2]</sup>。贝壳和珍珠是在基质蛋白的指导下形成的, 因此日本和我国的科研工作者加大了珍珠贝壳基质蛋白尤其是珍珠层基质蛋白的研究, 近年来随着分子生物学技术的发展, 一批有代表性的基质蛋白被分离和鉴定出来, 对贝壳和珍珠的矿化机理有了进一步的认识。但对于基质蛋白的研究成果缺乏系统的总结, 目前有关贝壳基质蛋白以合浦珠母贝的研究最为详尽, 本文拟研究合浦珠母贝中已发现的贝壳基质蛋白的结构特点和矿化功能以及基质蛋白在珍珠形成过程中作用机理的最新研究进展。

### 1 珍珠贝的贝壳结构及组成

珍珠贝壳可分为两大部分, 有机层与钙化层, 有机层指贝壳外表面的角质层, 由硬化蛋白组成, 而钙化层指角质层内侧的方解石棱柱层和文石珍珠层<sup>[1]</sup>。棱柱层外侧常与角质层相接, 内侧与珍珠层相邻, 由柱状方解石晶体平行排列构成, 每个柱状晶体长轴的外围都被有机鞘包

收稿日期: 2012-09-29 修回日期: 2012-12-06

基金项目: 农业公益性行业科研专项项目(200903028); 上海市科学技术委员会基础研究重点项目(10JC1406300); 中国博士后科学基金(2011M500761)

作者简介: 刘晓军(1979—), 男, 博士, 研究方向为水产动物遗传育种。E-mail: xjliu@shou.edu.cn

通信作者: 李家乐, E-mail: jlli@shou.edu.cn

裹<sup>[1]</sup>。珍珠层是有珍珠光泽的贝壳和珍珠的主要组成部分,具有迷人的光泽。珍珠层由拟六方体形文石小片交叉层叠构成砖墙式结构,文石小片厚 0.4 ~ 0.5  $\mu\text{m}$ 、宽 5 ~ 10  $\mu\text{m}$ <sup>[2-3]</sup>,是典型的纳米结构。珍珠层的光泽正是由于文石片层对入射光的反射形成的。从化学组成来说,珍珠层主要由占总重 95% 以上的碳酸钙晶体和少量的有机基质构成<sup>[1]</sup>。贝壳中珍珠层由外套膜分泌形成,珍珠的珍珠层由珍珠囊分泌形成,二者都是生物矿化的产物。因为珍珠层是一种天然的纳米材料,所以近年来有关珍珠层的形成机理不仅是水产养殖研究的重点,还是材料学家研究的热点。

有机大分子参与了贝壳矿化的过程,如蛋白质、糖蛋白、蛋白聚糖、多糖和脂质等,统称为有机基质。有机基质主要是蛋白质,对碳酸钙生物矿化起调控作用的也主要是这些蛋白,被总称为基质蛋白(matrix proteins)。因此研究珍珠层基质蛋白的组成及其矿化功能有利于理解贝壳尤其是珍珠层的形成机理,对于提高珍珠的质量具有重要的意义。

## 2 已发现的贝壳基质蛋白

目前有关贝壳基质蛋白以合浦珠母贝的研究最为详尽。1996 年日本科学家 MIYAMOTO 等<sup>[4]</sup>首次从合浦珠母贝珍珠层提取得到基质蛋白 nacrein,并克隆得到其全长序列。研究者最初认为其在珍珠层的形成过程中具有重要作用,但后续的研究发现在贝壳棱柱层中也有 nacrein 存在<sup>[5]</sup>,说明 nacrein 是珍珠层和棱柱层共有的基质蛋白,参与了贝壳整个形成过程。

MSI60 和 MSI31 是第二批克隆得到全长序列的基质蛋白,通过对弱酸溶解珍珠层可溶性蛋白进行 N 端测序,以得到的序列信息合成核酸探针,从 cDNA 文库筛选得到了珍珠层基质蛋白 MSI60<sup>[6]</sup>。同时利用筛选 MSI60 的探针从合浦珠母贝的 cDNA 文库中筛选得到了又一贝壳基质蛋白 MSI31<sup>[6]</sup>。清华大学张荣庆教授课题组利用相似的方法从合浦珠母贝中克隆得到一种含 Gly 丰富的棱柱层和珍珠层框架基质蛋白 MSI7<sup>[7]</sup>。

N16 蛋白家族是从珍珠层 EDTA 不可溶性有机基质中利用弱碱溶液分离得到的珍珠层基质蛋白<sup>[8]</sup>。同时,利用尿素溶液从珍珠层 EDTA 不

溶性有机基质中解离出基质蛋白 pearl<sup>[9]</sup>。序列分析发现,pearl 与 N16 家族仅在氨基酸序列的第 3 个位点存在差异,表明 pearl 也属于 N16 家族一员。

Prismalin-14 是利用变性剂 SDS 和 DTT 溶剂从棱柱层弱酸不可溶性基质中分离得到的棱柱层基质蛋白<sup>[10]</sup>。根据 prismalin-14 保守序列(GGYG)和已知基质蛋白特征序列设计的核酸探针,从合浦珠母贝外套膜 cDNA 文库中筛选克隆得到了 3 种棱柱层基质蛋白 KRMP1、2 和 3<sup>[11]</sup>和基质蛋白 Prislkin-39<sup>[12]</sup>。

获得基因全长序列的基质蛋白还有 Aspein 和 Shematrin。Aspein 是利用已知基质蛋白的同源序列合成的核酸探针从合浦珠母贝 cDNA 文库中克隆得到的基质蛋白<sup>[13]</sup>。Shematrin 是研究者通过对合浦珠母贝的 cDNA 文库大量测序得到的基质蛋白,该蛋白含 Gly 丰富,推测为贝壳框架蛋白<sup>[14]</sup>。

研究者还从贝壳中分离得到了一些基质蛋白,这些蛋白没有获得基因全长序列,仅进行了部分鉴定和功能研究。如合浦珠母贝珍珠层粉经 PBS 溶解,通过反相 HPLC 技术分离可溶性有机基质得到了珍珠层基质蛋白 P10<sup>[15]</sup>。N19 是利用尿素溶液从贝壳不可溶性有机基质中溶解出来的珍珠层基质蛋白<sup>[16]</sup>。胰蛋白酶水解肽段的 MALDI-TOF/TOF 分析结果表明,有 3 个酶解肽段序列与合浦珠母贝外套膜 cDNA 文库中 3 个克隆的序列相匹配。P60 是利用层析方法从珍珠层粉的酸可溶性有机基质中提取得到的基质蛋白,为蛋白复合物<sup>[17]</sup>。

## 3 基质蛋白的分类及在外套膜中的合成和分泌部位

基质蛋白根据其在贝壳中的分布可以分为棱柱层基质蛋白、珍珠层基质蛋白和棱柱层珍珠层共有的蛋白。根据基质蛋白是否溶解于用于提取的脱钙溶液如 EDTA 溶液或弱酸(如醋酸)溶液,可以分为可溶性基质蛋白(soluble matrix proteins, SM proteins)和不溶性基质蛋白(insoluble matrix proteins, ISM proteins)。贝壳是由外套膜分泌形成的,因此基质蛋白在外套膜中的表达与其在贝壳中的分布相对应,也具有区域化的特点,外套膜边缘分泌的基质蛋白参与了棱

柱层的形成,可以区分为棱柱层基质蛋白,外套膜中央分泌的基质蛋白主要参与珍珠层的形成,为珍珠层基质蛋白。根据基质蛋白在贝壳中的分布和外套膜中表达的区域性的特点,可以明确所发现的基质蛋白的分类和功能。有关基质蛋白在外套膜中区域性合成分泌的实验性证据是在对 MSI60 和 MSI31 进行研究时得到的,MSI60 是贝壳珍珠层基质蛋白,MSI31 是棱柱层基质蛋白,在同一珠母贝的外套膜中,MSI60 在外套膜中部特异性表达,而 MSI31 则在外套膜边缘特异性表达,二者界限分明,表达区域合起来则是一个完整的外套膜,这一现象现在被广泛用于基质蛋白的定位研究<sup>[6]</sup>。

对于已经得到全长序列的基质蛋白,设计探针通过原位杂交的方法可以直接定位基质蛋白在外套膜中的表达部位。如 N16 的 mRNA 在外套膜中部区域外表皮表达,表明其为珍珠层基质蛋白,主要参与贝壳珍珠层形成<sup>[8]</sup>。MSI31 的 mRNA 主要分布在外套膜边缘外上皮,表明其主要参与贝壳棱柱层形成,为棱柱层基质蛋白<sup>[6]</sup>。nacrein 和 MSI7 的 mRNA 在外套膜边缘与外套线处同时出现表达信号<sup>[4,7]</sup>,为棱柱层和珍珠层共有的基质蛋白,推测 nacrein 和 MSI7 参与了整个贝壳的矿化。

## 4 基质蛋白的结构特点

基质蛋白是存在于贝壳中的蛋白组分,与其它种类的蛋白质相比,氨基酸组成和一级结构具有独特的特点,这些特点与基质蛋白的矿化功能相适应,成为基质蛋白区别于其它蛋白的标志。

### 4.1 富含特定的氨基酸

在已发现的基质蛋白中,Gly 含量普遍都很高,其余含量丰富的氨基酸种类各不相同,主要有 Asp、Asn、Tyr、Ser、Ala 和 Lys。基质蛋白不同酸碱性质的形成原因在于基质蛋白富含特定的氨基酸。当酸性氨基酸含量丰富时,基质蛋白呈酸性。其中以棱柱层为最,已有 3 种极酸性基质蛋白被发现<sup>[6,13,18]</sup>。如 Aspein 的氨基酸组成中含 Asp 的比例为 60.4%,为酸性极强的基质蛋白,理论等电点为 1.45<sup>[13]</sup>。MSI31 C 端含有大量酸性氨基酸残基,理论等电点为 3.8,属于棱柱层极酸性基质蛋白<sup>[6]</sup>。其它种类氨基酸含量丰富时,氨基酸大多呈弱酸性或者中性。珍珠层中大

多数基质蛋白呈弱酸性,如 N16 序列分析表明 N16 含 Gly、Tyr 和 Asn 丰富,一级结构中含有 Asn-Gly 重复序列,等电点为 5.14<sup>[9]</sup>。棱柱层中也含有中性或偏碱性基质蛋白,如 KRMP 家族基因序列中含有大量的 Lys、Gly 和 Tyr,理论等电点较高(9.4~9.6),属于棱柱层碱性基质蛋白<sup>[11]</sup>。与棱柱层形成相关的基质蛋白 Prsilkin-39 富含 Gly、Tyr 和 Ser,3 种氨基酸总和占序列中氨基酸残基总数的 71.6%,等电点为 8.83<sup>[12]</sup>。基质蛋白根据其酸碱性质可以分为酸性基质蛋白和碱性基质蛋白。

### 4.2 一级结构具有模块式结构

由于基质蛋白富含特定的氨基酸,这些氨基酸在一级结构中的分布必然具有不均一性,从而形成了特定氨基酸的富集区域和重复序列。如 MSI7 包含有 3 个 GGG 重复和 3 个 GG 重复的 Gly 丰富的区域。Shematin 家族 7 个成员在序列上具有共同的特征,C 端序列都由 RKKKY,RRKKY 或 RRRKY 组成,一级结构都具有 2 个或更多甘氨酸组成的重复序列,由一个疏水氨基酸残基隔开,Shematin-1、Shematin-2 和 Shematin-3 都具有由 X-Gn-X 重复序列组成的保守结构域(X 是疏水氨基酸残基)<sup>[14]</sup>。Prsilkin-39 具有典型的区段化和模块化特点,依次由 N 端疏水区、两个连续的高度重复区以及 C 端碱性氨基酸残基链组成,是重复性最高的基质蛋白之一<sup>[12]</sup>。

## 5 基质蛋白的矿化功能

### 5.1 基于一级结构推测的基质蛋白矿化功能

前文介绍的基质蛋白有很多已经获得了全长序列,与其它类型的蛋白相比,基质蛋白具有独特的特点,根据这些序列的特点可以推测基质蛋白所具有的功能。

#### 5.1.1 基质蛋白氨基酸序列中 CaCO<sub>3</sub> 结合位点

基质蛋白参与矿化,不可避免地要与 CaCO<sub>3</sub> 发生作用。许多基质蛋白都具有结合 Ca<sup>2+</sup> 或者 CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> 的能力,这是基质蛋白重要的特征。如 MSI60 和 prismaticin-14 序列中的 Asp 可以作为酸性氨基酸残基结合 Ca<sup>2+</sup>,通过 Ca<sup>2+</sup> 的浓缩和定位促进矿化进行<sup>[6,10]</sup>。MSI31 序列中存在大量酸性氨基酸残基,MSI7 N 端亲水区具有一段富含酸性氨基酸残基的序列,这些酸性氨基酸残基都起到结合 Ca<sup>2+</sup> 的作用<sup>[6-7]</sup>。而 KRMP 家族具有富含

Lys 的碱性区域,推测其可以与  $\text{CO}_3^{2-}$  结合<sup>[11]</sup>。

### 5.1.2 基质蛋白参与矿化结构中有机框架的形成

基质蛋白在生物矿化过程中的一个重要作用是通过自组装形成特定的有机框架结构,提供矿化的起始位点。Gly 在已知的基质蛋白中都呈现含量较高的特点,通常在蛋白序列以多聚 Gly 的形式存在,推测多聚 Gly 序列可以参与贝壳有机框架中  $\beta$ -折叠结构的形成<sup>[6]</sup>。贝壳微结构中层间有机框架和晶体间有机框架都比较规则,所以需要组成有机框架的基质蛋白具有大量的  $\beta$ -折叠构象。序列分析表明,MSI60 两端具有多聚 Gly 序列,MSI31 的 N 端具有 10 个由 3 至 5 个 Gly 组成的多聚甘氨酸序列,与贝壳有机质  $\beta$ -折叠构象的形成有关<sup>[6]</sup>。又如含 Gly 丰富的蛋白 Shematin 和 MSI7 也被认为参与了贝壳有机框架的形成<sup>[7,14]</sup>。此外 MSI60 还存在着 2 个富含 Ala 序列和 11 个多聚丙氨酸序列,这些与多聚甘氨酸序列交错排列。多聚丙氨酸重复序列在蛛丝蛋白的序列中比较常见<sup>[19]</sup>,后续研究证实贝壳的框架蛋白可能与蛛丝蛋白有一定的同源性<sup>[20]</sup>。

同时基质蛋白需要具备组装晶体和有机框架形成特定结构的功能,赋予生物矿化的产物以优异的物理化学性质,这需要基质蛋白具有结合其它生物大分子或者晶体的能力。MSI31 序列中存在大量酸性氨基酸残基,起到结合其他基质蛋白的作用<sup>[6]</sup>。KRMP 家族富含 Lys 碱性区域可以与酸性基质蛋白结合,共同形成贝壳的有机框架。KRMP 家族还含有 Gly/Tyr 丰富的区域,推测该区域与蛋白交联有关<sup>[11]</sup>。prismalin-14 蛋白序列中含有 PIYR 重复序列,可以通过该重复序列与其它生物大分子或者无机离子发生相互作用。

### 5.1.3 基质蛋白具有执行特定功能的结构域

如 nacrein 基因序列中有碳酸酐酶结构域,碳酸酐酶可以催化  $\text{CO}_2$  向  $\text{HCO}_3^-$  转化,从而促进碳酸钙结晶。Nacrein 的碳酸酐酶结构域被另一个功能结构域是 Gly-X-Asn (X = Asp, Asn 或 Glu) 重复序列其分成 2 个亚结构域。体外结晶实验显示 nacrein 的 Gly-X-Asn 重复序列具有抑制碳酸钙沉积的能力,表明此结构域在矿化中可能与  $\text{Ca}^{2+}$  结合,可能与碳酸酐酶结构域不同时发生作用<sup>[4]</sup>。

## 5.2 基于结晶实验获得的基质蛋白矿化功能

在珍珠层形成过程中,碳酸钙晶体晶型、晶

貌和生长方式由基质蛋白决定,晶体与有机框架更高形态的组装也是通过基质蛋白完成,有机框架提供了晶体成核和生长的空间,使晶体高度有序和规则排列,并与有机框架紧密结合在一起,使珍珠层展现出独特的结构与优异的力学性能。

### 5.2.1 基质蛋白对碳酸钙晶型晶貌的控制

在利用贝壳各部分总蛋白进行碳酸钙体外结晶实验时发现,珍珠层基质蛋白诱导文石形成,棱柱层基质蛋白诱导方解石形成<sup>[21]</sup>。利用这一特性还可以研究和鉴定单个蛋白的矿化功能。如棱柱层基质蛋白 prismalin-14 和 MSI7 的体外结晶实验结果表明二者能明显影响方解石晶貌<sup>[7,10]</sup>,说明二者都参与了棱柱层的矿化过程。而珍珠层基质蛋白 N40 在体外结晶体系中特异性诱导文石的产生,说明 N40 在珍珠层形成过程中起关键作用<sup>[22]</sup>。如对于一级结构未知的基质蛋白,碳酸钙结晶实验是研究其矿化功能的首选方法。只是部分鉴定的基质蛋白 P10 可以在体外加速碳酸钙结晶速度和诱导文石产生,表明其可能参与了贝壳珍珠层的形成<sup>[15]</sup>。

### 5.2.2 基质蛋白对碳酸钙结晶的负调控

通过体外结晶研究发现,基质蛋白不仅能够促进碳酸钙结晶、对结晶晶貌和晶型产生影响,还能作为负调控因子执行更为复杂的作用。N19 和 N16 蛋白可以抑制碳酸钙结晶,研究者推测 N19 和 N16 作为负调节因素参与珍珠层的生物矿化<sup>[8,16]</sup>。prismalin-14 的体外结晶实验结果表明其也具有抑制碳酸钙结晶的功能<sup>[10]</sup>。这一功能在已发现的基质蛋白中有独特的作用,可以防止晶体过度生长,这其实也是对晶体形貌产生影响的不可缺少的调节手段。

### 5.2.3 贝壳矿化是基质蛋白共同作用的结果

尽管单个基质蛋白可以控制碳酸钙的晶型和晶貌,但形成具有精细而规则微结构的贝壳则是不同基质蛋白共同作用的结果。如 N16 单独存在时抑制碳酸钙晶体的结晶,但在由贝壳水不溶基质制成的结晶底质上则可以诱导文石产生。这些文石与单个基质蛋白诱导的文石的晶貌相比,和合浦珠母贝珍珠层中文石小片晶貌比较类似,为扁平状<sup>[8]</sup>。在 pearlino 的结晶实验中也有类似的现象,pearlino 与珍珠层角蛋白组成的蛋白复合体,在  $\text{Mg}^{2+}$  存在的条件下诱导文石的产生,而在 EDTA 与尿素的共同作用下复合体分离,则不

再具备诱导文石产生的能力,加入  $\text{Ca}^{2+}$  和尿素时,此复合体重新结合,这一功能又恢复,表明复合体的存在可能是执行矿化功能的前提<sup>[23]</sup>。

## 6 基质蛋白与珍珠形成的相关研究

珍珠虽然拥有和贝壳一样的珍珠层,但它们由不同的分泌组织分泌形成,珍珠由育珠贝体内的珍珠囊分泌形成。利用外套膜和贝壳珍珠层中基质蛋白的研究成果来理解珍珠的形成机理,对于珍珠的生产具有重要意义。WANG 等 2009 年第一次检测了贝壳基质蛋白在成熟珍珠囊中的表达,但结果显示大多数基质蛋白在珍珠囊中不表达或表达量很小,只有 N19 有大量表达。根据这一结果,他们提出珍珠层沉积所需的  $\text{CaCO}_3$  并非来自组成珍珠囊的细胞<sup>[24]</sup>。随后的研究发现,在珍珠囊发育过程中,其它贝壳基质蛋白也有大量表达<sup>[25]</sup>。但这些研究都没有将基质蛋白的表达与珍珠层的矿化过程联系起来,因此各个基质蛋白的作用也就无法分析。最近的一项研究将珍珠形成过程和珍珠层基质蛋白表达联系起来,综合评价合浦珠母贝珍珠层基质蛋白在珍珠形成过程中的作用<sup>[26]</sup>。基质蛋白基因在珍珠囊的发育阶段较高的表达量出现在插核手术后第 30 天和第 35 天,在这一阶段,珠核表面沉积物出现独立的成核位点,沉积物的大小受到控制,形状开始变得规则,说明其受到有机基质的调控。珍珠囊发育早期阶段,基质蛋白相对表达量很低,在这一阶段,珍珠囊分泌的沉积物没有受到有机基质的调控。这些结果表明,珍珠层形成过程中基质蛋白起到了关键作用,它们控制碳酸钙晶体的大小、成核、晶型和形状。同时,基质蛋白是作为一个整体参与到了珍珠层的生物矿化中,对碳酸钙晶体的调控是多个基质蛋白共同作用的结果。基质蛋白的表达、合成与分泌情况与珍珠囊细胞增殖和珠核表面珍珠层形成过程一致。珍珠形成由基质蛋白表达和分泌调控,不同基质蛋白最大表达量出现时间存在差异,表明这些基质蛋白在珍珠形成过程中功能各异,珍珠形成过程是这些基质蛋白共同作用的结果<sup>[26-27]</sup>。

## 7 结语

目前对贝壳基质蛋白的研究还不充分,一方面已经分离鉴定的基质蛋白数量不多,贝壳中还

存在大量未知的基质蛋白;另一方面,基质蛋白的结构研究还停留在一级结构,有关基质蛋白的高级构象的研究没有开展。此外有关基质蛋白功能研究目前主要依靠简单的体外碳酸钙结晶体系,亟需建立体内矿化功能研究新方法。尽管如此,现有有关基质蛋白的研究成果对于生物材料的仿生研究起到了一定的促进作用。利用贝壳基质蛋白研究成果研究珍珠形成机理的相关工作正在进行,随着研究的深入,有望建立提高珍珠质量的新的生物技术。

## 参考文献:

- [1] LOWENSTAM H A, WEINE S. On biomineralization [M]. Oxford: Oxford University Press, 1989.
- [2] GREGOIRE C. Topography of the organic components in mother-of-pearl [J]. Journal of Biophysical and Biochemical Cytology, 1957, 3:797-808.
- [3] WATABE N. Studies on shell formation, XI crystal-matrix relationships in the inner layers of mollusk shells [J]. Journal of Ultrastructure Research, 1965, 12:351-370.
- [4] MIYAMOTO H, MIYASHITA T, OKUSHIMA M, et al. A carbonic anhydrase from the nacreous layer in oyster pearls [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93:9657-9660.
- [5] TAKEUCHI T, ENDO K. Biphasic and dually coordinated expression of the genes encoding major shell matrix proteins in the pearl oyster *Pinctada fucata* [J]. Marine Biotechnology, 2006, 8:52-61.
- [6] SUDO S, FUJIKAWA T, NAGAKURA T, et al. Structures of mollusc shell framework proteins [J]. Nature, 1997, 387: 563-564.
- [7] ZHANG Y, XIE L, MENG Q, et al. A novel matrix protein participating in the nacre framework formation of pearl oyster, *Pinctada fucata* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 2003, 135:565-573.
- [8] SAMATA T, HAYASHI N, KONO M, et al. A new matrix protein family related to the nacreous layer formation of *Pinctada fucata* [J]. FEBS Letters, 1999, 462: 225-229.
- [9] MIYASHITA T, TAKAGI R, OKUSHIMA M, et al. Complementary DNA cloning and characterization of pearl-in, a new class of matrix protein in the nacreous layer of oyster pearls [J]. Marine Biotechnology, 2000, 2:409-418.
- [10] SUZUKI M, MURAYAMA E, INOUE H, et al. Characterization of Prismaticin-14, a novel matrix protein from the prismatic layer of the Japanese pearl oyster (*Pinctada fucata*) [J]. Biochemistry Journal, 2004, 382: 205-213.
- [11] ZHANG C, XIE L, HUANG J, et al. A novel matrix protein family participating in the prismatic layer framework formation

- of pearl oyster, *Pinctada fucata* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2006, 344: 735 – 740.
- [12] KONG Y, JING G, YAN Z, et al. Cloning and characterization of Prsilkin-39, a novel matrix protein serving a dual role in the prismatic layer formation from the Oyster *Pinctada fucata* [J]. Journal of Biology Chemistry, 2009, 284: 10841 – 10854.
- [13] TSUKAMOTO D, SARASHINA I, ENDO K D. Structure and expression of an unusually acidic matrix protein of pearl oyster shells [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2004, 320: 1175 – 1180.
- [14] YANO M, NAGAI K, MORIMOTO K, et al. Shematin: A family of glycine-rich structural proteins in the shell of the pearl oyster *Pinctada fucata* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 2006, 144: 254 – 262.
- [15] ZHANG C, LI S, MA Z, et al. A novel matrix protein p10 from the nacre of Pearl Oyster (*Pinctada fucata*) and its effects on both CaCO<sub>3</sub> crystal formation and mineralogenic cells [J]. Marine Biotechnology, 2006, 8: 624 – 633.
- [16] YANO M, NAGAI K, MORIMOTO K, et al. A novel nacre protein N19 in the pearl oyster *Pinctada fucata* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2007, 362: 158 – 163.
- [17] LAO Y, ZHANG X, ZHOU J, et al. Characterization and in vitro mineralization function of a soluble protein complex P60 from the nacre of *Pinctada fucata* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 2007, 148: 201 – 208.
- [18] ZHANG C, ZHANG R. Matrix proteins in the outer shells of mollusks [J]. Marine Biotechnology, 2006, 8: 572 – 586.
- [19] GUERETTE P A, GINZINGER D G, WEBER B H, et al. Silk properties determined by gland-specific expression of a spider fibroin gene family [J]. Science, 1996, 272: 112 – 115.
- [20] PEREIRA L, ALMERIDA M J, RIBEIRO C, et al. Soluble silk-like organic matrix in the nacreous layer of the bivalve *Pinctada maxima* [J]. Europe Journal Biochemistry, 2002, 269: 4994 – 5003.
- [21] FALINI G, ALBECK S, WEINER S, et al. Control of aragonite or calcite polymorphism by mollusk shell macromolecules [J]. Science, 1996, 271: 67 – 69.
- [22] YAN Z, JING G, GONG N, et al. N40, a novel nonacidic matrix protein from pearl oyster nacre, facilitates nucleation of aragonite in vitro [J]. Biomacromolecules, 2007, 8: 3597 – 3601.
- [23] MATSUSHIRO A, MIYASHITA T, MIYAMOTO H, et al. Presence of protein complex is prerequisite for aragonite crystallization in the nacreous layer [J]. Marine Biotechnology, 2003, 5: 37 – 44.
- [24] WANG N, KINOSHITA S, RIHO C, et al. Quantitative expression analysis of nacreous shell matrix protein genes in the process of pearl biogenesis [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 2009, 154: 346 – 350.
- [25] INOUE N, ISHIBASHI R, ISHIKAWA T, et al. Gene expression patterns in the outer mantle epithelial cells associated with pearl sac formation [J]. Marine Biotechnology, 2010, 154: 346 – 350.
- [26] LIU X, LI J, XIANG L, et al. The role of matrix proteins in the control of nacreous layer deposition during pearl formation [J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2012, 279: 1000 – 1007.
- [27] 刘晓军. 贝壳有机基质在贝壳和珍珠形成过程中的作用 [D]. 北京: 清华大学, 2011.

## Matrix proteins in the shell of cultured pearl bivalves

LIU Xiao-jun<sup>1</sup>, LI Jia-le<sup>1,2</sup>

(1. Key Laboratory of Freshwater Fisheries Genetic Resources Certificated by Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. E-Institute of Shanghai Universities, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** Matrix proteins exist in the biomineralization microstructure of shells and pearls. Calcium carbonate forms the high regular and complex biomineralization microstructure under the influence of matrix proteins. It is important to study the matrix proteins in the shells and pearls of the cultured pearl bivalves for the understanding of the mechanism of the pearl formation. This paper reviews the matrix proteins which had been found and studied, their structure and function in biomineralization, and current research progress of the understanding of the mechanism of the pearl formation with the knowledge of matrix proteins.

**Key words:** pearl bivalves; shell; matrix proteins