

学校编码: 10384
学号: 24020051302561

分类号 _____ 密级 _____
UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

海洋贻贝粘附蛋白新型生物粘合剂的研究

Research on a novel bioadhesive made of marine mussel
adhesive protein

刘加鹏

指导教师姓名: 张其清教授/博导
金利华 讲师

专 业 名 称: 生物医学工程

论文提交日期: 2008 年 6 月

论文答辩时间: 2008 年 7 月

学位授予日期: 2008 年 月

答辩委员会主席: _____
评 阅 人: _____

2008 年 6 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为（ ）课题（组）的研究成果，获得（ ）课题（组）经费或实验室的资助，在（ ）实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目录

中文摘要.....	I
英文摘要.....	II
第一章 绪论	1
1.1 粘附蛋白的分子结构和功能.....	1
1.2 粘附蛋白的粘附机理.....	9
1.3 粘附蛋白用于生物粘合剂.....	14
1.4 立题意义.....	15
参考文献.....	17
第二章 翡翠贻贝粘附蛋白用作生物粘合剂的研究	21
2.1 引言.....	21
2.2 材料与方法.....	22
2.3 结果与讨论.....	29
2.4 结论.....	38
参考文献.....	40
第三章 厚壳贻贝粘附蛋白重组肽段 Mcfp-1-12 用作生物粘合剂的研究	45
3.1 引言.....	45
3.2 材料与方法.....	46
3.3 结果与讨论.....	58
3.4 结论.....	69
参考文献.....	70
全文结论与展望	73
硕士期间发表论文情况	75
致 谢	77

Contents

Abstract in Chinese	I
Abstract in English	II
Chapter 1 Reviews	1
1. 1 Structure and Function of Adhesive Protein	1
1. 2 Adhesive Mechanism of Adhesive Protein	9
1. 3 Potential of Adhesive Protein to Be Bioadhesive	14
1. 4 Main Focus of This Thesis	15
References	17
Chapter 2 Research on <i>Perna viridis</i> Adhesive Protein Extract as Bioadhesive	21
2. 1 Introduction	21
2. 2 Materials and Methods	22
2. 3 Results and Discussion	29
2. 4 Summary	38
References	40
Chapter 3 Recombinant <i>Mytilus coruscus</i> Adhesive Protein Mcfp-1-12 as Bioadhesive	45
3. 1 Introduction	45
3. 2 Materials and Methods	46
3. 3 Results and Discussion	58
3. 4 Summary	69
References	70
Conclusions and Future Works	73
Selected Publications	75
Acknowledgement	77

摘要

海洋贻贝粘附蛋白具有高强度、高韧性、高防水性和极强粘附基体的功能，这与其特殊的分子结构—多巴(DOPA)介导的链间交联和与基体之间的相互作用方式有关。它还具有很好的生物相容性和可降解性，是一类极具优势和潜力的生物粘合剂。本文首先根据丙酮沉淀蛋白的原理从翡翠贻贝足部直接提取粘附蛋白 Pvpf (*Perna viridis* foot protein)，同时利用基因重组法制备厚壳贻贝粘附蛋白 Mcfp-1 (*Mytilus coruscus* foot protein 1)的功能肽段(命名为Mcfp-1-12)，然后对这两种方法得到的粘附蛋白或肽段进行系列性能研究，结果如下：

(1) Pvpf 和 Mcfp-1-12 在玻片、聚苯乙烯细胞培养皿、铝和钛的表面都具有较好的粘附效果，与商业化的细胞和组织粘附剂 CELL-TAK™ 相比，具有相似甚至更好的粘附能力。

(2) 石英晶体微天平(QCM)定量检测粘附蛋白在金表面粘附量的结果表明，两种粘附蛋白都比 CELL-TAK™ 具有更高的粘附量。

(3) Pvpf 和 Mcfp-1-12 在 1 h 内就能很好的粘附细胞，其粘附细胞的能力与 CELL-TAK™ 相比，Mcfp-1-12 具有类似的粘附效果，Pvpf 甚至具有更好的粘附效果；与多聚赖氨酸(PLL)相比，两种粘附蛋白都具有更强的粘附能力，并体现出其优于 PLL 的防水优越性。

(4) Pvpf 和 Mcfp-1-12 都具有良好的细胞相容性。

(5) 潮湿条件下微量的粘附蛋白就能粘接塑料耗材和断裂的小鼠股骨；大量蛋白的粘接强度测试表明，Pvpf 具有高于医用粘合剂 Fibrin 近一倍的粘接强度。

以上结果显示，本研究制备的贻贝粘附蛋白具有优良的防水性，较高的粘接强度和良好的细胞相容性，有望在生物医学领域用作生物粘合剂。

关键词：生物粘合剂；生物材料；贻贝粘附蛋白

Abstract

The characteristics of marine mussel adhesive proteins, such as strong intensity, tenacity, moisture-resistance and strong adhesive ability, are due to their peculiarity of molecular structure, cross-linking of bonds and the interaction between proteins and substrata mediated by DOPA. Furthermore, they are biocompatible and biodegradable. Therefore, marine mussel adhesive proteins may be a preponderant and potential bioadhesive. This thesis focused on the research of two new type of mussel bioadhesive, naturally extracted *Perna viridis* foot protein (Pvfp) and recombinant functional peptide of *Mytilus coruscus* foot protein 1 (Mcfp-1). We extracted Pvfp from the feet of *P. viridis* according to acetone precipitation. At the same time, recombinant DNA technology was used to obtain the peptide of Mcfp-1 and named Mcfp-1-12. We analyzed the function of adhesive proteins obtained by these two methods. Results as follows:

(1) The coating ability on several surfaces, such as glass slide, polystyrene cell culture plate, titanium sheet and aluminium plate were observed, and the results showed that coating ability of Pvfp and Mcfp-1-12 were stronger than CELL-TAK™.

(2) Quartz crystal microbalance (QCM) showed that the adsorption ability of the two obtained adhesives were more than CELL-TAK™ on gold surface.

(3) Pvfp and Mcfp-1-12 could achieve cell adhesion within 1 h. Compared with CELL-TAK™, Mcfp-1-12 had similar ability and Pvfp behaved much better. In comparison with poly-L-Lysine (PLL), these two proteins had better adhesion ability and higher superiority in waterproof.

(4) Pvfp and Mcfp-1-12 were biocompatible.

(5) Under humid environment, plastic consumables could be adhered with very small quantity, as well as femur of mouse. In addition, the tensile strength of Pvfp was twofold higher than medical Fibrin adhesive in large scale test.

These results suggested that mussel adhesive proteins made in this reseach had high-performance waterproof, strong adhesion ability and good biocompatibility. So

they were expected to be a favorable bioadhesive in medicine.

Key words: bioadhesive; biomaterial; mussel adhesive protein

厦门大学博硕士学位论文摘要库

第一章 绪论

海洋贻贝属于软体动物门瓣鳃纲，大多数隶属贻贝科(*Mytilidae*)，是沿岸和近海中普遍存在的一种生物，尤其是冷水海域。其足丝腺能分泌足丝并在足丝末端形成一个粘附盘附着于基体，使贻贝能在巨浪冲刷下仍紧紧附着于基体而不分离。这种足丝的主要成分是足丝蛋白(foot protein, fp)，它具有高强度、高韧性和防水性，其粘度超过绝大多数的粘胶。这种源于海洋生物的粘胶具有广泛的应用前景，如临床方面可用于粘接断裂骨骼、修复牙裂、粘合软组织、修复皮肤创伤等；也可应用于细胞培养的吸附介质；它还在海水设备的防水、抗菌和密封等水下作业方面存在潜在的应用价值。

1.1 粘附蛋白的分子结构和功能

贻贝通过分泌足丝粘附在不同的基体上，并在足丝与基体接触部分形成一个粘附盘，它是通过贻贝足部的分泌腺分泌出的一种蛋白复合体。这种蛋白复合体遇海水后即变成贝壳素性质的足丝，用以固着在基体上(图 1.1)。

早在上世纪70年代，人们就对贻贝粘附蛋白(mussel adhesive protein, MAP)的结构和组成产生了兴趣^[1]。到80年代，研究者在对紫贻贝(*Mytilus edulis*)分泌腺体中分离出的贻贝粘附蛋白前体^[2]序列和结构的初步研究中发现，紫贻贝的粘附蛋白Mefp-1 (*M. edulis* foot protein 1)中含有大量的羟脯氨酸Hyp (13%)和二羟基苯丙氨酸(即多巴DOPA，它来源于Tyr的羟基化作用，11%)。这种蛋白因储存在贻贝足部的外分泌腺—酚腺内，所以被称为多酚蛋白，且在形成足丝时由足部分泌并粘附于基体上。纯化的多酚蛋白在酸性条件下聚丙烯酰胺凝胶电泳分析发现，该多酚蛋白含有分子量约130 KDa的两种成分，经胶原酶处理，分子量减少到约108 KDa，具有胶原酶抗性的这一肽段即为Mefp-1。它含有大量的Hyp和多巴，经胰蛋白酶消化后约80%的多肽由包含Hyp和多巴的十肽重复序列Y-[KN]-[PALKTS]-K-[LPMIKST]-[ST]-[YN]-[PK]-[PAS]-[STA]组成，其中第二和

第三位的Pro羟基化修饰为Hyp，第十位的Tyr羟基化修饰为多巴，重复序列串连次数高达75次^[2]。90年代末，粘附蛋白的研究取得了较大进展。科研人员利用RT-PCR技术测定了粘附蛋白cDNA序列并通过确定多种贻贝粘附蛋白基因^[3]的结果证明，粘附蛋白是贻贝足丝起粘附作用的主要蛋白成分。该蛋白室温下不溶解，研究者在4-8℃酸性条件下成功地得到了可溶的粘附蛋白，并对蛋白序列进行确定。迄今为止，已获得多种贻贝粘附蛋白基因及氨基酸序列(表 1.1)。

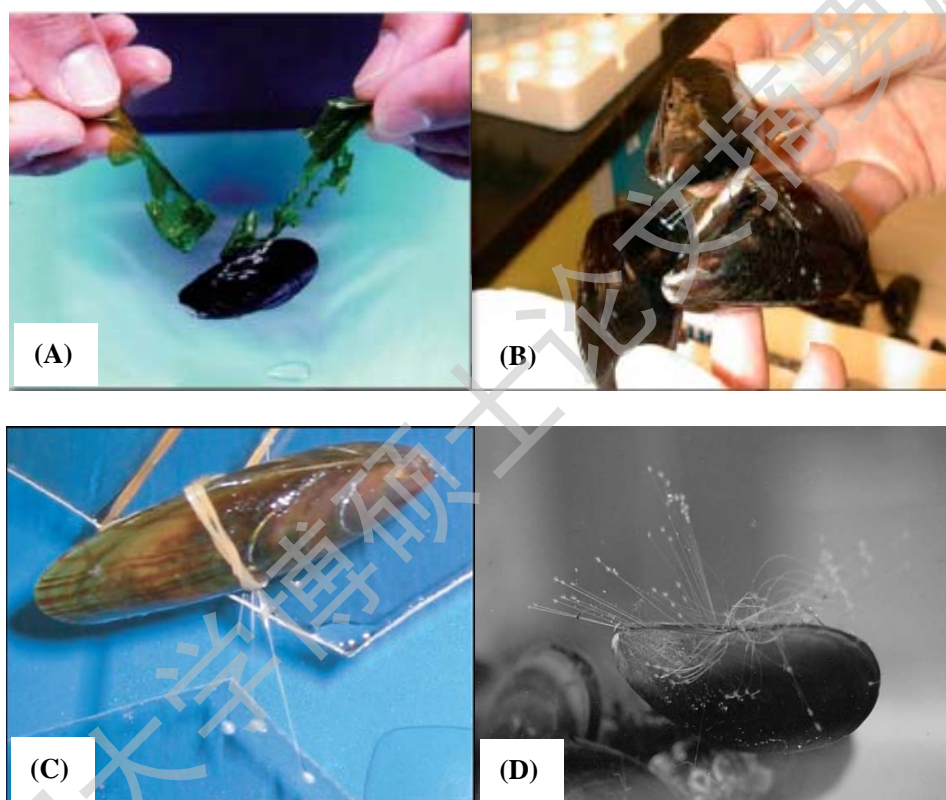


图 1.1 贻贝分泌足丝蛋白

Fig 1.1 Mussel secreted foot protein

(A)紫贻贝粘附于海藻上^[46] (B)厚壳贻贝粘附于其它贻贝上^[46]

(C)翡翠贻贝粘附于玻璃上^[10] (D)翡翠贻贝分泌足丝^[10]

表 1.1 各种海洋贻贝粘附蛋白

Tab 1.1 Various mussel adhesive proteins

Resource	Adhesive protein	mr/ KDa	Repeats	pI	Dopa mol (%)	Ref
<i>Mytilus edulis</i>	Mefp-1 (<i>M. edulis</i> foot protein 1)	108	Decapeptide repeats Y-[KN]- [PALKTS]-K-[LPMIKST]- [ST]-[YN]-[PK]-[PAS]-[ST A]	10	10-15	2, 4-9
<i>M. edulis</i>	Mefp-2 (<i>M. edulis</i> foot protein 2)	45	Repeats similar to epidermal growth factor (EGF) domain motif	9	5	10-12
<i>M. edulis</i>	Mefp-3 (<i>M. edulis</i> foot protein3) families	5-7	Short and dispersal repeats, eg. Tetrapeptide repeats R/NRY	8-10	10-20	6,10
<i>M. edulis</i>	Mefp-4 (<i>M. edulis</i> foot protein 4)	90	n/r	10.5	2	10
<i>M. edulis</i>	Mefp-5 (<i>M. edulis</i> foot protein 5)	9.5	Dipeptide repeats YK	9-10	25-30	8,10
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Mgfp-1 (<i>M. galloprovincialis</i> foot protein 1)	n/r	Decapeptide repeats Y-[KR]-[APTS]-K-[KPMS LTIVA]-[STR]-Y-[PLS]- [PASRQT]-[STI]	Alk- alinit y	10-15	3, 13-15
<i>M. galloprovincialis</i>	Mgfp-2 (<i>M. galloprovincialis</i> foot protein 2)	Abo- ut64	Homologize with Mefp-2	Alk- alinit y	n/r	12
<i>M. galloprovincialis</i>	Mgfp-3A (<i>M. galloprovincialis</i> foot protein 3A)	Abo- ut8.9	n/r	Alk- alinit y	n/r	14
<i>M. galloprovincialis</i>	Mgfp-3B (<i>M. galloprovincialis</i> foot protein 3B)	Abo- ut9.8	n/r	Alk- alinit y	n/r	14

<i>M. galloprovincialis</i>	Mgfp-5 (<i>M. galloprovincialis</i> foot protein 5)	18	Homologize with Mefp-5	9.3	25-30	16
<i>Mytilus californianus</i>	Mcfp-1 (<i>M. Californianus</i> foot protein 1)	n/r	n/r	n/r	n/r	GenBank No. AAY29131 No. AAY29132
<i>M. californianus</i>	Mcfp-3 (<i>M. Californianus</i> foot protein 3)	5.2-6.7	n/r	Alkalinity	28	17
<i>M. californianus</i>	Mcfp-4 (<i>M. Californianus</i> foot protein 4)	93	Decapeptide repeats HVHTHR in N terminus, undecapeptide repeats DDHVNDIAQTA in C termini	Alkalinity	2	18
<i>M. californianus</i>	Mcfp-5 (<i>M. Californianus</i> foot protein 5)	8.9	n/r	Alkalinity	30	19
<i>M. californianus</i>	Mcfp-6 (<i>M. Californianus</i> foot protein 6)	11.6	n/r		10	<5 10, 19
<i>Mytilus coruscus</i>	Mcfp-1 (<i>M. coruscus</i> foot protein 1)	n/r	Decapeptide repeats YKPK(I/P)(S/T)YPP(T/S)	n/r	10-15	20
<i>Perna viridis</i>	Pvfp-1 (<i>P. viridis</i> foot protein 1)	89	Decapeptide repeats APPKPX ₁ TAX ₂ K and APPPAX ₁ TAX ₂ K	n/r	n/r	21
<i>Perna canaliculus</i>	Pcfp-1 (<i>P. canaliculus</i> foot protein 1)	48-52	Tetrapeptide repeats PY*VK	n/r	n/r	22

<i>Dreissena polymorpha</i>	Dpfp-1 (<i>D. polymorpha</i>)	48.6, 54.5	Heptapeptide repeats P-[V/E]-Y- P-[T/S/δ]-[K/Q]-X in N terminus, tridecapeptide repeats K-P-G-P-Y-D-Y -D-G-P-Y-D-K in C terminus	5.3-6.5	n/r	23, 24
-----------------------------	---------------------------------	------------	---	---------	-----	--------

n/r: not reported

*Mytilus*属fp-1的分子结构都具有相似的特性，含有类似的十肽重复序列，其中大量的Hyp和多巴是其发挥粘附活性的结构基础。*Perna*属fp-1则显示出与*Mytilus*属fp-1明显不同的特点。*P. viridis*的足含有多种具有氧化还原活性的氨基酸—DOPA。Ohkawa等人^[21]通过NBT (四唑氮蓝nitroblue tetrazolium)氧化还原分析，在翡翠贻贝足部的酸提取物中发现八种蛋白，而Pvfp-1的活性不是因为含有DOPA，而是由于含有另外的氧化还原活性衍生物。实验证明，Pvfp-1中这一氧化还原衍生物与任何已知的氨基酸残基修饰不同，它包括甘露糖、葡萄糖或海藻糖对Thr的O-糖基化修饰。与其它已知种类的fp-1一样，Pvfp-1 (89 KDa)含有两类十肽重复序列：APPKPX₁TAX₂K和APPPAX₁TAX₂K，其中P指Pro或Hyp，X₁指双海藻糖修饰的Thr，X₂指Tyr或DOPA的氧化还原敏感衍生物。这两种与众不同的氨基酸残基中X₂是唯一属于翡翠贻贝fp-1蛋白。在淡水贻贝粘附蛋白中未发现O-糖基化修饰的Thr。Pvfp-1的序列分析表明它可能在翡翠贻贝足丝中作为表层包被蛋白^[22]。同样，从*P. canaliculus*中得到的Pcfp-1也与Mfp-1在多个方面存在明显的区别。Pcfp-1主要由四种氨基酸组成：DOPA、Lys、Pro和Val在该蛋白质总氨基酸组成中各占约20%。SDS-PAGE电泳和MALDI-TOF质谱分析表明，Pcfp-1分子量约48-52 KDa。与其它种属的同源蛋白相比，Pcfp-1在多个方面存在很大差异：它的分子量只有其它同源蛋白的一半，序列主要为75次四肽串联重复序列，即PYVK，其中Y代表多巴，P为非羟基化脯氨酸，羟硫基半胱氨酸在氨基末端和羧基末端成簇出现。Cys通过与多巴醌形成加合物在Pcfp-1的交联过程中起着重要作用，而其它的贻贝足丝中仅有微量的半胱氨酸与多巴交联^[22]。

Mefp-1和Mefp-2两个亚类是Mefp家族中性质最为突出、最容易纯化的两个亚类，它们分别占粘附盘总蛋白含量的5%和25%。推测Mefp-1在足丝中的功能主要是间接结合到要附着的基础而上而Mefp-2则更多的对足丝的结构起形成作用。

研究表明,在一分钟内Mefp-1和Mefp-2在不同材料[锗germanium (Ge)、聚苯乙烯 polystyrene (PS)和八聚甲基丙烯酸盐octpolymethacrylic acid (POMA)]的内在吸附率和表面覆盖率都是相似的^[25]。美国BD Bioscience公司商品化的用于细胞和组织粘附的产品CELL-TAKTM就是从*M. edulis*中提取的Mefp-1和Mefp-2的混合物。

Mefp-2是贻贝粘附蛋白(MAP)中含量最高的一种蛋白,富含有胱氨酸,它含有11个串连的表皮生长因子(EGF)片段重复序列,这些重复序列夹在末端为C-和N-、高酸性且富含多巴的链段之间。胱氨酸残基在生物进化过程中被完整的保存下来,而表皮生长因子的同一性容易进一步扩展到形成二硫化物之间的配对,研究推断在每个重复序列中有3对起内部稳定作用的二硫化物^[5]。

fp-3主要存在于粘附盘与基体的交界处,可能作为主要的粘附功能分子^[26]。Waite^[26]实验组通过MALDI-TOF质谱分析发现,*M. californianus*分泌到玻片上的粘附盘足迹蛋白中主要含有一系列分子量从5.2 KDa到6.7 KDa不等的蛋白,这就是Mcfp-3蛋白质家族。该家族的蛋白富含Gly和Asn,并且都有翻译后对Tyr和Arg经羟基化修饰成的多巴和4-羟基精氨酸。Mfp-3家族成员的分子量很小,且仅有少量的短而分散的重复序列。电泳分析中表现出快慢两种类型,快的一类含有两倍多的Lys+Arg。这一系列蛋白经序列分析,获得12种电泳变异体^[17]。以前有人猜测,不同亚类Mfp-3的表达可能由贻贝粘附的基体诱导表达和分泌的,通过对*M. galloprovincialis*和*M. edulis*两种贻贝的研究发现,表达和分泌不同亚类Mfp-3不是由不同基体诱导的^[28]。Mcfp-3是高度两性分子,含有高达28%的多巴,这可能是它在金属和矿物质表面起粘附作用的关键^[17]。

fp-4是一类质量约90 KDa的蛋白质。Waite^[18]实验组通过对Mcfp-4的MALDI-TOF和氨基酸序列分析发现,Mcfp-4分子量约为93 KDa,富含His (22%),且Lys、Arg和Asp含量也比较多,而多巴含量很少(约2%);它含有多种高度重复序列,N端有约36个连续的富含His的十肽重复序列,如HVHTHRVLHK, C端有16个相对更加简并的富含Asp的十一肽重复序列,如DDHVNDIAQTA。研究表明,Mcfp-4在*M. californianus*足丝胶原纤维与粘附盘之间的连接处起着关键作用^[18]。

在*M. californianus*分泌到玻片上的粘附盘足迹蛋白中除了含有大量的Mcfp-3外还发现存在两种分子量分别为8.9 KDa和11.6 KDa的Mcfp-5和Mcfp-6。

Mcfp-5是所有贻贝粘附蛋白中多巴含量最高的,含有74个氨基酸残基,分子量为9.5 KDa,多巴摩尔分数达到30%,且具有较高的一级结构同源性。Mcfp-5中芳香族氨基酸、Lys和Gly占了全部氨基酸组成的65%,该蛋白所有氨基酸残基中超过三分之一的氨基酸被羟基化或磷酸化修饰,其中Tyr转变为多巴和Ser转变为O-磷酸化丝氨酸就分别由羟基化和磷酸化修饰而来。超过75%的多巴与碱性氨基酸残基相邻,如以Lys相邻的形式Lys-DOPA和DOPA-Lys出现。含磷酸丝氨酸的蛋白质对钙的亲和力很强,所以磷酸化现象经常发生在蛋白与酸性矿物质结合的区域,这可能是对贻贝经常需要粘附于石灰质等基体的一种适应性^[8]。Mcfp-6的多巴含量较少(< 5%),呈碱性。与Mcfp-3和Mcfp-5不同,Mcfp-6的Tyr含量高达20%,Cys含量11%,其中三分之一有炔硫基化修饰。由于多巴和Cys在海水pH 8.2的条件下氧化性不稳定,足丝通过形成硫醇加合物来清除多巴醌。研究表明,Mcfp-6可能在富含多巴的足丝表面粘附蛋白与粘附盘蛋白之间起连接作用^[19]。

除Waite实验组在对*M. edulis*、*M. galloprovincialis*和*M. californianus*的各粘附蛋白相关报道外(表 1.1),其它种属粘附蛋白分子结构也进行了研究。Burzio^[28]等人将*Aulacomya ater*和*Choromytilus chorus*中分子量分别为135 KDa和105 KDa的多酚蛋白用胰蛋白酶消化,分别得到5和12个主要肽段,氨基酸序列分析显示,这两个多酚蛋白在一级结构中含有重复序列的结构单元:*A. ater*粘附蛋白的结构单元为7肽重复序列AGYGGXK, Tyr总是以多巴形式出现,第6位的X是Val、Ile或者Leu,在羧基末端是Lys或者羟赖氨酸;*C. chorus*的粘附蛋白中主要是6到21个氨基酸的肽段,AKPSKYPTGYKPPVK是主要的序列单元。这两种贻贝的粘附蛋白都具有类似的粘附能力^[30]。斑纹贻贝*D. polymorpha*是已知的可以分泌足丝的少数淡水贝类,Waite实验组报道了它的粘附蛋白Dpfp-1和Dpfp-2^[24,29]。研究表明,Dpfp-1和Dpfp-2分子量分别为76 KDa和26 KDa,基本序列中含有多巴,但是与海洋贻贝的多酚蛋白不同的是其多巴蛋白呈串连重复的独特的寡肽序列,包含Trp,并且Thr上发生O-糖基化修饰,这些蛋白组成了一个等电点范围在5.3-6.5的多肽家族,分布在足丝的丝和粘附盘之间的结合点,在足丝的组成和粘附功能方面起着重要作用。

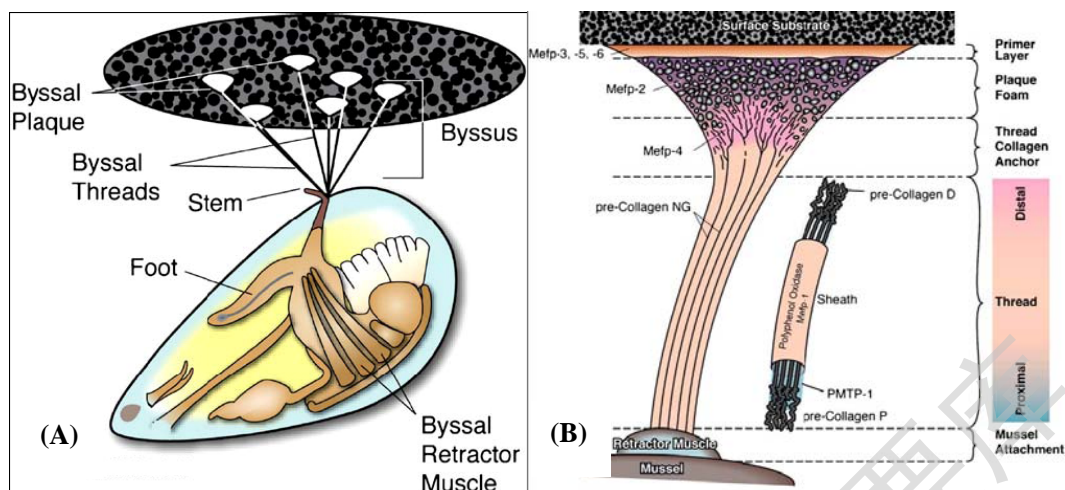


图 1.2 足丝结构及组成

Fig 1.2 Structure and composition of byssus

(A)剖析贻贝足丝结构^[46] (B)紫贻贝足丝粘附蛋白组成^[46]

海洋贻贝足丝的结构组成中，除了发挥粘附功能的粘附蛋白外还有一系列的足丝胶原蛋白在足丝的结构组成中也起着主要作用。粘附盘位于足丝最末端，是贻贝粘附于基体的直接接触部分；茎位于足丝基部，是众多足丝的聚集点并连接贻贝的机体与非生物活性的体外足丝，事实上，细胞外的足丝通过茎与足基部的肌肉牵引连接。足丝的丝可进一步分为近端和末梢端两部分，近端部分呈皱缩状，末梢端部分呈光滑状，两部分之间形成梯度过渡使足丝成为混合的结构。近端有弹性，末梢端坚硬并具有奇特的降低外界机械压力和自我缓解的特性(图 1.2 A)。足丝主要由三种胶原蛋白构成胶原共聚物，其中两种在沿足丝方向呈梯度分布，胶原前体preCol-P (precollagen P)在足丝近端分布最多，沿着足丝方向逐渐减少，并由逐渐增多的preCol-D补充，第三种胶原前体preCol-NG则分布于整个足丝。这些胶原前体具有结构和功能的相关性，与粘附蛋白一起使足丝形成一个结构和功能完善的整体。三种胶原前体都含有中间的胶原质区域，两侧翼由独特的结构区域组成，preCol-P的N端侧翼区域由富含His的结构域紧接着一段弹性结构域，C端含有酸性结构域、第二个弹性结构域和末端富含His的结构域。preCol-D中也有两端的富含His结构域和酸性结构域，但是弹性区由丝状区域代替。preCol-D中也含有多巴，preCol-D的N端侧翼有四个多巴，与足丝粘附蛋白一样，多巴在这里主要是在足丝的交联中起作用。富含His的结构域和酸性结构域也存在于

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库