

## Proteins of mineralized tooth enamel matrix

Cerny R

### Proteiny mineralizované matrix zubní skloviny

#### Abstract

Cerny R:

Proteins of tooth enamel mineralized matrix.  
Bratisl Lek Listy 2000; 101 (5): 288–293

The organic matrix of the developing enamel is highly heterogeneous, comprising proteins derived from a number of different genes, including amelogenin, amelotin, ameloblastin, tuftelin, dentine sialophosphoprotein, enzymes and serum proteins. Each of these classes appears to undergo post-secretory sequential degradation which contributes towards further matrix heterogeneity. Possible functions of these proteins are discussed. Proteins of the organic matrix are presumed to play an important role in the modulation of mineral deposition and growth during tooth morphogenesis but the precise functions of individual matrix proteins remain unclear. (Tab. 1, Fig. 2, Ref. 47)

**Key words:** enamel proteins, amelogenin, ameloblastin, amelotin, tuftelin, sequence.

Mineralizovaná tkáň se tvoří prostřednictvím agregace proteinů mezibuněčné hmoty a následným formováním apatitových krystalů. V kosti a chrupavce je vláknitá síť kolagenu a mnoha dalších proteinů v neustálé přestavbě, a to jak během vývoje, tak v důsledku hormonálních změn a mechanických podnětů. Stále probíhající resorpce a nová tvorba mezibuněčné hmoty společně se změnami buněk, které tuto hmotu syntetizují, vytváří složitý histologický obraz.

Ve vznikající zubní korunce se resorpce nevyskytuje a výstavba tkáně je tedy jednoznačnější. Vznikají dva druhy mineralizované mezibuněčné hmoty, dentin (zubovina) a email (sklovina), které se tvoří tak, že přiléhají k příslušným buněčným vrstvám, které tvoří na straně dentinu odontoblasty a na straně emailu ameloblasty. Architektura dentinové mezibuněčné hmoty je založena na kolagenových fibrilách (Linde a Goldberg, 1993), avšak architektura mezibuněčné hmoty emailu je méně jasná. Mineralizace doprovází vznik emailové mezibuněčné hmoty, tj. není zde není zde jasná fáze formování nemineralizované mezibuněčné hmoty

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Charles University, Plzen, Czech Republic. [cerny@lfp.cuni.cz](mailto:cerny@lfp.cuni.cz)

**Address for correspondence:** R. Cerny, MD, PhD, Dpt of Biochemistry, Faculty of Medicine, Karlovarska 48, CZ-301 66 Plzen, Czech Republic. Phone: +420.19.7597222 Fax: +420.19.521943

#### Abstrakt

Černý R.:

Proteiny mineralizované matrix zubní skloviny  
Bratisl. lek. Listy, 101, 2000, č. 5, s. 288–293

Organická matrix vyvíjející se zubní skloviny je vysoce heterogenní, neboť obsahuje proteiny produkované řadou různých genů, mj. amelogenin, amelotin, ameloblastin, tuftelin, dentinový sialofosfoprotein, enzymy a sérové proteiny. Každý z uvedených druhů prochází postsekretorickou postupnou degradací, což přispívá k další heterogenitě. Je diskutována možná role těchto proteinů. O proteinech organické matrix se předpokládá, že hrají důležitou roli při modulaci formování minerálu a jeho růstu během morfogeneze zubu, avšak přesná funkce jednotlivých proteinů zůstává nejasná. (Tab. 1, obr. 2, lit. 47.)

**Klíčová slova:** proteiny sklovinné matrix, amelogenin, ameloblastin, amelotin, tuftelin, sekvence.

jako je tomu v případě dentinu (Eisenmann, 1994). Je proto obtížné studovat proteinové „lešení“ emailu, které poskytuje oporu rostoucím apatitovým krystalům a které zahajuje proces mineralizace. Navzdory tomu je dnes již dost informací ohledně složek mezibuněčné hmoty, i když přesná role těchto komponent zůstává nejasná. Až doposud byly identifikovány následující proteiny emailové matrix.

#### Amelogenin

Amelogeniny představují hlavní objem organické matrix (90 %) produkované ameloblasty v sekreční fázi vývoje skloviny (Termine a spol., 1980). Amelogenin je nejprve secernován jakožto nascentní protein o hmotnosti 25 kd (Fukae a spol., 1980), avšak jeho distribuce se omezuje na nově secernovanou sklovinu na vnějším povrchu vrstvy ameloblastů. Je přeměňován relativně rychle na 20 kd amelogenin, který dominuje vnitřní sklovině (Brookes a spol., 1995; Fincham a Moradian-Oldak, 1995). I jeho pře-

Ústav lékařské chemie a biochemie, lékařská fakulta University Karlovy v Plzni

**Adresa:** Doc. MUDr. R. Černý, CSc., Ústav lékařské chemie a biochemie LF UK, Karlovarska 48, 301 66 Plzeň.

měna však pokračuje, aby se vytvořily vysoce rozpustné 11–13 kD fragmenty (Aoba a spol., 1987a) a nerozpustný „tyrosinem bohatý amelogeninový peptid“ (TRAP) (Aoba a spol., 1987 a; Fincham a spol., 1982). Konečná úprava patrně spočívá v tvorbě velmi malých peptidů a volných aminokyselin, které se postupně z tkáně ztrácejí. Heterogenní charakter amelogeninů je zdůrazněn alternativním sestřihem mRNA (Gibson a spol., 1991; Lau a spol., 1992; Simmer a spol., 1994) a pohlavním dimorfismem u člověka a dalších druhů (Fincham a spol., 1991; Nakahori a spol., 1991; Gibson a spol., 1992).

Aminokyselinová sekvence amelogeninů vykazuje značný stupeň evoluční konservace (Hu a spol., 1996), přičemž nejdříve identifikovaná sekvence byla nalezena u morčete (Černý a Hammarström, 1998). Úplný otevřený čtecí rámec nukleotidové sekvence u tohoto druhu kóduje 226 aminokyselin včetně signálního peptidu, nejkratší sestřihová varianta je pak dlouhá pouhých 59 aminokyselin (tab. 1). Výjimečné vlastnosti s nízkým stupněm evoluční konservace vykazuje amelogeninový exon 4 (Hu a spol., 1997a). Dosud známé aminokyselinové sekvence amelogeninu jsou prezentovány na obrázku 1.

Názory na předpokládanou funkci amelogeninů se měnily od kalciových chelátorů (Glimscher, 1979) přes inhibitory růstu krystalů (Doi a spol., 1984; Aoba spol., 1987 b) po regulátory krystalového růstu a jejich orientace (Fearnhead, 1979; Aoba a spol., 1989; Robinson a spol., 1989). Poslední předpokládaná funkce je podpořena experimenty s „antisense“ oligonukleotidy (Diekwisch a spol., 1993) a s ribozymy (Lyngstadaas a spol., 1996), s jejichž pomocí byla zablokována translace amelogeninové mRNA. Důležitost amelogeninu je demonstrována onemocněním *amelogenesis imperfecta*, u nějž byly identifikovány mutace uvnitř amelogeninového genu na X-chromozomu (Lagerström-Fermer a spol., 1995).

### Enamelin

Enamelin byl dříve názvem pro všechny neamelogeninové komponenty vyvíjející se emailové matrix (Termine a spol., 1980), avšak nyní byl klonován specifický genový produkt, byl izolován a rovněž sekvenován jako protein (Fukae a spol., 1996). Enameliny byly lokalizovány imunohistochemicky v jádrech prizmat společně s amelogeniny (Uchida a spol., 1991), jsou fosforylovány a glykosylovány (Fukae a spol., 1996). Vzhledem k amelogeninům jsou enameliny podstatně větší, kyselejší a více hydrofilní. Enameliny jsou rovněž procesované bílkoviny. Nascenní 150 kD prekursor je přeměňován na 89 kD a 65 kD druhy a konečně na 32 kD molekuly se silnou afinitou k apatitu (Tanabe a spol., 1990). Detailní role enamelinů není jasná.

### Ameloblastin/amelin/sheathlin

Jde o trojici názvů pro nepochybně tentýž protein. Byl objeven simultánně dvěma výzkumnými skupinami v cDNA knihovnách, připravených ze zubů potkaních mláďat (Černý a spol., 1996; Krebsbach a spol., 1996). Třetí skupina popsala odpovídající protein v prasečí sklovině (Hu a spol., 1997 b). Nyní je rovněž k dispozici myší cDNA sekvence (v databázi) a morčecí sekvence (Černý a spol., 1998). Tento protein je produkovan v ameloblastech, avšak ve srovnání s amelogeninem je ameloblastin exprimován

**Tab. 1. Composition of individual splicing variants of guinea-pig amelogenin.**

**Tab. 1. Složení jednotlivých sestřihových variant morčecího amelogeninu.**

Exon	Počet nukleotidů	Počet aminokys.	AG226	AG212	AG187	AG65
1+2	106	18	+	+	+	+
3	48	16	+	+	+	+
4	42	14	+	0	0	0
5	45	15	+	+	+	+
6a	75	25	+	+	0	0
6b	336	112	+	+	+	0
6c	75	25	+	+	+	+
7	158	1	+	+	+	+

Four variants are marked with symbol AG (amelogenin) and with the number of amino acids (AG 65 – AG 226). Given lengths include the signal peptide (16 amino acids).

Čtyři varianty jsou označeny symbolem AG (amelogenin) a číslem udávajícím počet aminokyselin (AG 65 – AG 226). Uvedené délky jsou včetně signálního peptidu (16 aminokyselin).

v časově delším rozsahu, tj. od presekreční fáze do pozdní maturationální fáze vývoje ameloblastů (Lee a spol., 1996; Fong a spol., 1996). Navíc, vedle exprese v ameloblastech je ameloblastinová mRNA detegována i v epitelálních kořenových pochvách (Fong a spol., 1996) a dokonce v preodontoblastech a časných odontoblastech ještě před tím, než nastane masivní produkce v ameloblastech (Fong a spol., 1998). Tento náleznaznačuje možnou úlohu ameloblastinu v epitelálně-mesenchymových interakcích, zvláště když v aminokyselinové sekvenci ameloblastinu potkana byly identifikovány domény pro vazbu na buněčný povrch (Černý a spol., 1996). Na druhé straně absence stejných domén u jiných druhů (Hu a spol., 1997 b; Černý a spol., 1998) zpochybňuje tuto hypotézu. Rovněž ameloblastin prochází „processingem“ v emailové matrix. Při sledování vývoje potkaního řezáku byly detegovány komponenty o velikostech od 65 kD až po 25 kD (Uchida a spol., 1997). Každá z popsaných sekvencí ameloblastinu vykazuje 2 splicingové varianty (Černý a spol., 1996; Hu a spol., 1997 b; Černý a spol., 1998), i když ne u všech druhů jde o totéž místo v sekvenci (Černý a spol., 1998). Přehled dosud stanovených ameloblastinových sekvencí a míst jejich alternativního splicingu je na obrázku 2.

Vedle toho se další skupině autorů podařilo izolovat lidský genomový klonus, který byl mapován a výsledek naznačuje možnou účast poruch i tohoto proteinu v etiologii *amelogenesis imperfecta* (MacDougall a spol., 1997).

### Tuftelin

Tuftelin je další specifický protein produkovaný v raném stadiu vývoje sklovin. Byl nejprve detegován jako cDNA klonus izolovaný z bovinního emailu (Deutsch a spol., 1991) a později také nalezen v myším embryu (Zeichner-David a spol., 1997). Tuftelinové transkripty byly detegovány v proliferujícím vnitřním epitelu po 13 dnech embryonálního vývoje myši, což je ve stadiu pupenu vývoje zubu. Předpokládaná funkce tuftelinu a dalších



	1				50
mouse	MSASKIPLFK	MKGLILFLSL	VKMSLAVPAF	PQQPGAQGMA	PPGMASLSLE
rat	MSASKIPLFK	MKGLLLFLSL	VKMSLAVPAF	PQQPGAQGMA	PPGMASLSLE
guinea-pig	MSPSKIPLFK	MKDLMLFLSL	LKISFAVPAF	PQQPGAPNMA	PPGMASLSLE
pig	MPALKIPLFK	MKDMVLILCL	LKMSSAVPAF	PRQPGT....	.PGVASLSLE
	51				100
mouse	TMRQLGSLQG	LNALSQYSRL	GFGKALNSLW	LHGLLPPHNS	FPWIGPREHE
rat	TMRQLGSLQG	LNALSQYSRL	GFGKALNSLW	LHGLLPPHNS	FPWIGPREHE
guinea-pig	TMRQLGSLQG	LNALSQYSRF	GFGKSLNSLW	LQGLLPPPSS	FPWLRPREHE
pig	TMRQLGSLQG	LNMLSQYSRF	GFGKSFNSLW	MHGLLPPHSS	FQWMRPREHE
	101				150
mouse	<u>TQQ.....</u>	<u>.....PS</u>	LQPHQPGLKP	FLQPTAATGV	QVTPQKPGPQ
rat	<u>TQQYEYSLPV</u>	<u>HPPPLPSQPS</u>	LQPHQPGLKP	FLQPTAATGV	QVTPQKPGPH
guinea-pig	<u>TQQYEYSLPV</u>	<u>HPPPLPSQPS</u>	<u>QPPQPGMKH</u>	FQPTATPAI	QDTPQKAGPQ
pig	<u>TQQYEYSLPV</u>	<u>HPPPLPSQPS</u>	LQPQPGQKP	FLQPTVVTSI	QNPVQKGVPO
	151				200
mouse	PPMHPGQLPL	QEGELIAPDE	PQVAPSENPP	TPEVPIMDFA	DPQFPTVFQI
rat	PPMHPGQLPL	QEGELIAPDE	PQVAPSENPP	TPEVPIMDFA	DPQFPTVFQI
guinea-pig	PPMHPRQLPL	KDAELPEAHE	.QVAPTEML	NPELPVLDFA	DPQIPSVFQI
pig	PPYIQGHPP	QQVEGPMVQQ	.QVAPSEKPP	EAELPGLDFA	DPQDPSMFPI
	201				250
mouse	ARSISRGPMA	HNKASAFYPG	MFYMSYGANQ	LNAP.ARIGF	MSSEEMPGER
rat	AHSLSRGPMA	HNKVPTFYYPG	MFYMSYGANQ	LNAP.ARIGF	MSSEEMPGER
guinea-pig	ARFVSRVVP	QNKPAMLYPG	MVYMSYGTNQ	LSAPAAARLGF	MSSEEMPGR
pig	ARLISQGPV	QDKPSPLYPG	MFYMSYGANQ	LNSPA.RLGI	LSSEEMAGGR
	251				300
mouse	GSPMAYGTLF	PRFGGFRQTL	RRLNQNSPKG	GDFTVEVDSP	VSVTKGPEKG
rat	GSPMAYGTLF	PGYGGFRQTL	RGLNQNSPKG	GDFTVEVDSP	VSVTKGPEKG
guinea-pig	VAPVTYGGLL	PGLTGVRHTI	RRVPQDPTMA	GDFTLEFDTP	.AATKGPEKG
pig	GGPLAYGAMF	PGFGGMRPNL	GGMPPNSAKG	GDFTLEFDSP	AAGTKGPEKG
	301				350
mouse	<u>E.GPEGSPLO</u>	<u>EANPGKREN</u>	<u>ALLSQMAPGA</u>	<u>HAGLLAFPND</u>	<u>HIPSMARGPA</u>
rat	<u>E.GPEGSPLO</u>	<u>EASPDGENP</u>	<u>ALLSQMAPGA</u>	<u>HAGLLAFPND</u>	<u>HIPNMARGPA</u>
guinea-pig	EGGAQGSPLH	ETKGEDPENA	ALLSQIAPGA	HTGLFGFPND	NVPSMARGPS
pig	EGGAEGSPVA	EANTADPESP	ALFSEVASGV	LGLLANPKG	KIPNLARGPA
	351				400
mouse	<u>G..QRLLGVT</u>	<u>PAAADPLITP</u>	<u>ELAEVYETYG</u>	<u>ADVTTPLG.D</u>	<u>GEATMDITMS</u>
rat	<u>G..QRLLGVT</u>	<u>PAAADPLITP</u>	<u>ELAEVYETYG</u>	<u>ADVTTPLG.D</u>	<u>GEATMDITMS</u>
guinea-pig	GHRNRPLEVT	PVTADPLITP	ELAEIYETYG	GDVTTPL...	GEATMETTMT
pig	GRSRGPPGVT	PADADPLMTP	GLADAYETYG	ADETTTLGLQ	EEMTMDSTAT
	401		428		
mouse	<u>PDTQQPLLPG</u>	<u>NKVHQPQ.VH</u>	<u>NAWRQEP</u>	<i>(407 aminokyselin)</i>	
rat	<u>PDTQQPPMPG</u>	<u>NKVHQPQ.VH</u>	<u>NAWRQEP</u>	<i>(422/407 aminokyselin)</i>	
guinea-pig	<u>PDTPQTPMPG</u>	<u>NKVRQPQMVH</u>	<u>EPWHFQEP</u>	<i>(423/407 aminokyselin)</i>	
pig	<u>PYSEHTSMPG</u>	<u>NKAQQPQIKR</u>	<u>DAWRQEP</u>	<i>(421/406 aminokyselin)</i>	

Fig. 2. Amino acid alignment of ameloblastins. Alternatively spliced sequences are underlined.

Obr. 2. Porovnání aminokyselinových sekvencí ameloblastinů. Podtrženy jsou sekvence vykazující alternativní splicing.



anionických proteinů je možná nukleace při tvorbě apatitových krystalů, avšak přímý důkaz zatím neexistuje.

### Ostatní proteiny sklovinné matrix

Ve vznikající sklovinné matrix byl detegován dentinový sialofosfoprotein (McDougall a spol., v tisku), který byl dosud považován za výhradně specifický pro dentin. Vedle toho byly v emailové matrix detegovány především sérové proteiny, jako albumin, fetuin,  $\alpha_2$ -HS glykoprotein a gama-globuliny, přičemž není rozhodnuto, zda jde skutečně o normální součásti matrix, nicméně alespoň albumin je odstraněn v průběhu maturační fáze (Robinson a spol., 1994)

Proteolytické enzymy emailové matrix jsou nepochybnou součástí matrix a patří jednak k metaloproteasám, jednak k serinovým proteasám (Woessner, 1997). Metaloproteasová aktivita se zdá být ve volně rozpustné formě a je omezena na sekreční stadium vývoje emailové matrix a patrně zabezpečuje specifickou úpravu proteinů (processing), kdežto serinové proteasy jsou aktivní během pozdní maturační fáze a mohou mít roli spíše v odstraňování všech zbývajících proteinů, které eventuálně brání růstu anorganických krystalů. Zdá se, že dokonce existují proteasy specifické pro sklovinnou matrix, neboť se podařilo klonovat tzv. enamelysin (Bartlett a spol., 1996) a tzv. „enamel matrix serine protease-1“ (Simmer a spol., 1998).

### Úloha proteinů při mineralizaci

Dnes je bez jakýchkoliv výhrad všeobecně přijat názor, že jsou to právě proteiny extracelulární matrix, které rozhodnou o rozsahu a způsobu mineralizace příslušné tkáně. V případě zubní skloviny nacházíme proteinové spektrum zcela odlišné od dentinu nebo kosti, rovněž tak i sklovinný minerál je odlišný, podstatně pevnější, s mimořádnou délkou prismatic a velmi nízkým organickým obsahem. Jak ovšem tento minerál vzniká, není zcela jednoznačně vyjasněno. Předpokládá se, že nukleace minerálních krystalů probíhá v blízkosti dentino-emailového spojení, přičemž řada autorů doporučuje právě „svůj“ protein pro tuto funkci — např. dentinový sialofosfoprotein, tuftelin, v minulosti i amelogenin. Tato otázka není dosud rozhodnuta. Poněkud přesnější představa je o dalších fázích vývoje skloviny. Procesované proteiny (s převahou amelogeninu) vytvářejí agregáty s určitým obsahem kalcia a fosfátu a svoji přítomností omezují růst minerálních krystalů do stran, tj. usměrňují růst ve směru podélné osy. Jakmile však zasáhnou nespecifické serinové proteasy, většina proteinu je likvidována, končí jeho inhibiční role a krystaly nyní dokončí svůj růst bez omezení, tj. vyplní uvolněný prostor ve všech směrech. Podrobnější informace o tomto procesu shrnují přehledné články (Robinson a spol., 1998; Smith, 1998).

Závěrem je nutno připomenout, že je nanejvýš pravděpodobné, že výčet proteinů matrix zubní skloviny, ale i jiných mineralizovaných tkání, není ještě zdaleka úplný, stejně jako funkce již známých proteinů není přesně zjištěna. Proto lze další pokrok v tématice mineralizované tkáně očekávat především od nálezů dosud neznámých proteinových struktur a od vynalézavých experimentů, jimiž se objasní jejich funkce.\*

### Literatura

**Aoba T., Tanabe T., Moreno E.C.:** Proteins in the enamel fluid of immature porcine teeth. *J. Dent. Res.*, 66, 1987 a, s. 1721–1726.

**Aoba T., Fukae M., Tanabe T., Shimizu M., Moreno E.C.:** Selective adsorption of porcine-amelogenins onto hydroxyapatite and their inhibitory activity on hydroxyapatite growth in supersaturated solutions. *Calcif. Tissue Int.*, 41, 1987 b, s. 281–289.

**Aoba T., Moreno E.C., Kresak M., Tanabe T.:** Possible roles of partial sequences at N- and C-terminal of amelogenin in protein-enamel mineral interaction. *J. Dent. Res.*, 68, 1989, s. 1331–1336.

**Bartlett J.D., Simmer J.P., Xue J., Margolis H.C., Moreno E.C.:** Molecular cloning and mRNA tissue distribution of a novel matrix metalloproteinase isolated from porcine enamel organ. *Gene*, 183, 1996, s. 123–128.

**Brookes S.J., Robinson C., Kirkham J., Bonass W.A.:** Biochemistry and molecular biology of amelogenin proteins of developing enamel. *Arch. Oral. Biol.*, 40, 1995, s. 1–14.

**Černý R., Slaby I., Hammarström L., Wurtz T.:** A novel gene expressed in rat ameloblasts codes for proteins with cell binding domains. *J. Bone Miner. Res.*, 11, 1996, s. 883–891.

**Černý R., Hammarström L.:** Cloning, cDNA sequence, and alternative splicing of guinea-pig amelogenin mRNAs. 6th International Conference on the Chemistry and Biology of Mineralize Tissue, Vittel, France, November 1–6, 1998.

**Černý R., Balvín M., Černá E.:** Cloning and cDNA sequence of guinea-pig ameloblastin mRNAs. *Chem. Papers*, 52, 1998, s. 261.

**Diekwisch T., David S., Bringas P., Santos V., Slavkin H.C.:** Antisense inhibition of AMEL translation demonstrates supramolecular controls for enamel HAP crystal growth during embryonic mouse molar development. *Development*, 117, 1993, s. 471–482.

**Deutsch D., Palmon A., Fischer L.W., Kolodny A., Termine J.D., Young M.F.:** Sequencing of bovine enamelin („Tuftelin“) a novel acidic enamel protein. *J. Biol. Chem.* 266, 1991, s. 16 021–16 028.

**Doi Y., Eanes E.D., Shimokawa H., Termine J.D.:** Inhibition of seeded growth of enamel apatite crystals by amelogenin and enamelin proteins in vitro. *J. Dent. Res.*, 63, 1984, s. 98–105.

**Eisenmann D.R.:** Amelogenesis and enamel structure. S. 218–256. In: Ten Cate A.R. (Ed.): *Oral Histology*. St. Louis, Missouri, USA, Mosby 1994.

**Fearnhead R.W.:** Matrix-mineral relationship in enamel tissues. *J. Dent. Res.*, 58B, 1979, s. 909–916.

**Fincham A.G., Belcourt A.B., Termine J.D.:** Changing patterns of enamel matrix proteins in the developing bovine tooth. *Caries Res.*, 16, 1982, s. 64–71.

**Fincham A.G., Bessem C.C., Lau E.C., Pavlova Z., Shuler C., Slavkin H.C., Snead M.L.:** Human developing enamel proteins exhibit a sex-linked dimorphism. *Calcif. Tissue Int.*, 48, 1991, s. 288–290.

**Fincham A.G., Moradian-Oldak J.:** Recent advances in amelogenin biochemistry. *Connect. Tissue Res.*, 32, 1995, s. 119–124.

**Fong C.D., Slaby I., Hammarström L.:** Amelin: an enamel-related protein transcribed in the cells of epithelial root sheath. *J. Bone Miner. Res.*, 11, 1996, s. 892–898.

**Fong C.D., Černý R., Hammarström L., Slaby I.:** Sequential expression of an amelin gene in mesenchymal and epithelial cells du-

\*Experimentální část této práce byla podpořena grantem č. 3735-3 OK10 IGA Ministerstva zdravotnictví ČR.

- ring odontogenesis in rats. *Europ. J. Oral. Sci.*, 106, 1998, Suppl. 1, s. 324—330.
- Fukae M., Tanabe T., Ijiri H., Shimizu M.:** Studies on porcine enamel proteins: A possible original enamel protein. *Tsurumi Univ. Dent. J.*, 6, 1980, s. 87—94.
- Fukae M., Tanabe T., Murakami C., Dohi N., Uchida T., Shimizu M.:** Primary structure of the porcine 89 KDa enamelin. *Adv. Dent. Res.*, 10, 1996, s. 111—118.
- Gibson C.W., Golub E., Ding W., Shimokawa H., Young M., Termine J., Rosenbloom J.:** Identification of the leucine-rich amelogenin peptide (LRAP) as the translation product of an alternatively spliced transcript. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 174, 1991, s. 1306—1312.
- Gibson C.W., Golub E.E., Abrams W.R., Shen G., Ding W., Rosenbloom J.:** Bovine amelogenin message heterogeneity: alternative splicing and Y-chromosomal gene transcription. *Biochemistry*, 31, 1992, s. 8384—8388.
- Glimscher M.J.:** Phosphopeptides of enamel. *J. Dent. Res.*, 58B, 1979, s. 790—806.
- Hu C.C., Yhang C., Quian Q., Ryu O.H., Moradia-Oldak J., Fincham A.G., Simmer J.P.:** Cloning, DNA sequence, and alternative splicing of opossum amelogenin mRNAs. *J. Dent. Res.*, 75, 1996, 1728—1734.
- Hu C.C., Ryu O.H., Quian Q., Zhang C.H., Simmer J.P.:** Cloning, characterization, and heterologous expression of exon-4-containing amelogenin mRNAs. *J. Dent. Res.*, 76, 1997 a, s. 641—647.
- Hu C.C., Fukae M., Uchida T., Qian Q., Zhang C.H., Ryu O.H., Tanabe T., Yamakoshi Y., Murakami C., Dohi N., Shimizu M., Simmer J.P.:** Sheathlin: cloning, cDNA/polypeptide sequences, and immunolocalization of porcine enamel sheath proteins. *J. Dent. Res.*, 76, 1997 b, s. 648—657.
- Krebsbach P.H., Lee S.K., Matsuki Y., Kozak C.A., Yamada K.M., Yamada Y.:** Full-length sequence, localization, and chromosomal mapping of ameloblastin. *J. Biol. Chem.*, 271, 1996, s. 4431—4435.
- Lagerström-Fermer M., Nilsson M., Backman B., Salido E., Shapiro L., Petterson U., Landegren U.:** Amelogenin signal peptide mutation: correlation between mutations in the amelogenin gene (AMGX) and manifestations of X-linked amelogenesis imperfecta. *Genomics*, 26, 1995, s. 159—162.
- Lau E.C., Simmer J.P., Bringas P., Hsu D., Hu C.C., Zeichner-David M., Thiemann F., Snead M.L., Slavkin H.C., Fincham A.G.:** Alternative splicing of the mouse amelogenin primary mRNA transcript contributes to the amelogenin heterogeneity. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 188, 1992, s. 1253—1260.
- Lee S.K., Krebsbach P.H., Matsuki Y., Nanci A., Yamada K.M., Yamada Y.:** Ameloblastin expression in rat incisors and human tooth germs. *Int. J. Dev. Biol.*, 40, 1996, s. 1141—1150.
- Linde A., Goldberg M.:** Dentinogenesis. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 4, 1993, s. 679—728.
- Lyngstadaas S.P., Risnes S., Sproat B.S., Thrane P.S., Prydz H.P.:** A synthetic, chemically modified ribozyme eliminates amelogenin, the major translation product in developing mouse enamel in vivo. *EMBO J.*, 14, 1996, s. 5224—5229.
- MacDougall M., DuPont B.R., Simmons D., Reus B., Krebsbach P., Karrman C., Holmgren G., Leach R.J., Forsman K.:** Ameloblastin gene (AMBN) maps within the critical region for autosomal dominant amelogenesis imperfecta at chromosome 4q21. *Genomics*, 41, 1997, s. 115—118.
- MacDougall M., Gul T.T., Simmons D., Luan X., Cavender A., D'Souza R.N.:** Dentin sialophosphoprotein: an enamel matrix protein? *Connect. Tissue Res.*, v tisku.
- Nakahori Y., Takenaka O., Nakagome Y.:** A human X-Y homologous region encodes amelogenin. *Genomics*, 9, 1991, s. 264—269.
- Robinson C., Kikham J., Shore R.C.:** Extracellular processing of enamel matrix and origin and function of tuft protein. S. 59—68. In: Fearhead R.W. (Ed.): *Tooth Enamel*. Yokohama, Florence Publishers 1989.
- Robinson C., Kikham J., Brookes S.J., Shore R.C., Bonass W.A.:** Uptake and metabolism of albumin by rodent incisor enamel in vivo and post mortem: implication for control of mineralisation by albumin. *Calcif. Tissue Int.*, 55, 1994, s. 467—472.
- Robinson C., Brookes S.J., Shore R.C., Kikham J.:** The developing enamel matrix: nature and function. *Europ. J. Oral Sci.*, 106, 1998, Suppl. 1, s. 282—291.
- Simmer J.P., Hu C.C., Lau E.C., Slavkin H.C., Fincham A.G.:** Alternative splicing of the mouse amelogenin primary RNA transcript. *Calcif. Tissue Int.*, 55, 1994, s. 302—310.
- Simmer J.P., Fukae M., Tanabe T., Yamakoshi Y., Uchida T., Xue J., Margolis H.C., Shimizu M., DeHart B.C., Hu C.C., Bartlett J.D.:** Purification, characterization, and cloning of enamel matrix serine proteinase 1. *J. Dent. Res.*, 77, 1998, s. 377—386.
- Smith C.E.:** Cellular and chemical events during enamel maturation. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 9, 1998, s. 128—161.
- Tanabe T., Aoba T., Moreno E.C., Fukae M., Shimizu M.:** Properties of phosphorylated 32 kDa nonamelogenin proteins isolated from porcine secretory enamel. *Calcif. Tissue Int.*, 46, 1990, s. 205—215.
- Termine J.D., Belcourt A.B., Christner P.J., Conn K.M., Nylen M.U.:** Properties of dissociatively extracted fetal tooth matrix proteins. I. Principle molecular species in developing bovine enamel. *J. Biol. Chem.*, 255, 1980, s. 9760—9768.
- Uchida T., Tanabe T., Fukae M., Shimizu M., Yamada M., Miake K., Kobayashi S.:** Immunochemical and immunohistochemical studies, using antisera against porcine 25 kDa amelogenin, 89 kDa enamelin and the 13—17 kDa nonamelogenins, on immature enamel of the pig and rat. *Histochemistry*, 96, 1991, s. 129—138.
- Uchida T., Murakami C., Dohi N., Wakida K., Satoda T., Takahashi O.:** Synthesis, secretion, degradation, and fate of ameloblastin during the matrix formation stage of the rat incisor as shown by immunocytochemistry and immunochemistry using region specific antibodies. *J. Histochem. Cytochem.*, 45, 1997, s. 1329—1340.
- Woessner J.F.:** Matrix proteinases. In *Enamel 6*, Lake Arrowhead, California, May 11—15, 1997.
- Zeichner-David M., Vo H., Tan H., Diekwisch T., Berman B., Thiemann F., Alcocer M.D., Hsu P., Wang T., Eyna J., Caton J., Slavkin H.C., MacDougall M.:** Timing of the expression of enamel gene products during mouse tooth development. *Int. J. Dev. Biol.*, 41, 1997, s. 27—38.

Received November 2, 1999.

Accepted April 7, 2000.