

小鼠神经系统中蛋白质降解通路 调控分子的表达和分布

宋彬彬, 董文洲, 贾炳泉, 甄 然, 彭 宇, 杨 璇, 于 佳
(北京中医药大学附属北京老年医院, 北京 100095)

[摘要] 目的 探讨细胞蛋白质降解通路调控分子在小鼠神经系统中的表达和分布情况。方法 以6周龄野生型 C57BL/6J 小鼠眼、脑、脊髓、坐骨神经和肌肉组织为材料, 采用蛋白质印迹法检测不同组织、解剖部位和亚细胞结构中蛋白质降解通路相关蛋白的分布和表达差异。结果 蛋白质降解通路相关蛋白组织蛋白酶D (Cathepsin D)、溶酶体关联膜蛋白2 (lysosomal-associated membrane protein 2, LAMP2)、自噬微管相关蛋白轻链3A/B (microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3, LC3A/B)、自噬相关蛋白3 (autophagy-related protein 3, Atg3)、Ras 相关 GTP 结合蛋白7 (Ras-related GTP-binding protein 7, Rab7)、钙蛋白酶 (Calpain) 大小亚基以及钙蛋白酶抑制蛋白 (Calpastatin) 在小鼠眼、脑、脊髓和肌肉中均有分布, 但表达水平有一定差异。与小鼠脊髓相比, 坐骨神经中 Calpastatin 含量没有明显差异 ($P > 0.05$), 但泛素、Cathepsin D、LAMP2、LC3A/B、Atg3、Rab7、Calpain1 大亚基含量明显减少 ($P < 0.05$), Calpain 小亚基含量明显增加 ($P < 0.05$)。结论 生理条件下泛素-蛋白酶体系统和自噬系统在细胞中广泛存在, 且在神经元中其主要发生于胞体; 而 Calpain 系统中剪切型 Calpain 小亚基的含量在轴突束中相对较高, 这提示在神经元轴突中 Calpain 降解通路可能发挥主要功能。

[关键词] 泛素-蛋白酶体系统; 自噬; 钙蛋白酶; 脊髓; 坐骨神经; 小鼠

[中图分类号] R744.8; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2020)06-0463-07

蛋白质降解是细胞重要的生命活动, 具有蛋白质质量控制、清除细胞内错误折叠蛋白质、促进蛋白激活等作用。真核细胞内蛋白质降解通路主要有3种: 泛素-蛋白酶体系统 (ubiquitin-proteasome system, UPS)、自噬 (autophagy) 和钙蛋白酶 (Calpain) 系统, 三者降解底物或作用部位各有不

同^[1-2], 且受到多种分子的精细调控, 包括 UPS 中的泛素 (Ubiquitin), 自噬通路中的组织蛋白酶 D (Cathepsin D)、溶酶体关联膜蛋白2 (lysosomal-associated membrane protein 2, LAMP2)、自噬微管相关蛋白轻链3A/B (microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3, LC3A/B)、自噬相关蛋白3 (autophagy-related protein 3, Atg3) 和 Ras 相关 GTP 结合蛋白7 (Ras-related GTP-binding protein 7, Rab7), 以及 Calpain 途径中的 Calpain 和钙蛋白酶抑制蛋白 (Calpastatin) 等。本实验通过生物化学方法, 以小鼠眼、脑、脊髓、坐骨神经和肌肉组织为材料, 检测 C57BL/6J 小鼠完整的神经信号转导通路中蛋白质降解通路相关蛋白在不同组织、解剖部位和亚细胞结构 (胞体和轴突) 的表达和分布差异。

[收稿日期] 2020-01-02

[基金项目] 北京市自然科学基金资助项目(7202077); 北京市科技新星计划资助项目(Z181100006218045); 北京老年医院科研专项(2019bjlhy-青-4)

[作者简介] 宋彬彬(1988—), 女, 硕士, 研究实习员, 主要从事神经退行性疾病基础研究工作。

E-mail: sbinbin2012@163.com

[通信作者] 于 佳(1983—), 男, 博士, 副研究员, 从事老年医学研究。E-mail: jyu319@163.com

1 材料与方法

1.1 实验动物

6周龄野生型 C57BL/6J 小鼠, 雄性4只, 雌性1只, 体质量16~20 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2016-0011], 饲养于北京老年医院屏障设施[SYXK(京)2019-0012], 根据实验动物相关管理规定进行操作和处理。小鼠处死后迅速取眼 (eye)、嗅球 (olfactory bulb)、皮层 (cortex)、海马体 (hippocampus)、纹状体 (striatum)、中脑 (midbrain)、小脑 (cerebellum)、脑干 (brain stem)、脊髓 (spinal cord, SC)、坐骨神经 (sciatic nerve, SN) 和肌肉 (muscle), 冻存于-80℃冰箱。动物实验经本单位动物福利伦理委员会批准 (2018BJLNY-伦理-意见第2018-013号)。

1.2 主要试剂和仪器

10% 十二烷基硫酸钠 (SDS) 溶液、蛋白酶抑制剂、Pierce™ BCA 蛋白定量试剂盒、蛋白质电泳预制胶和超声波细胞破碎仪均购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 10% TGX Acrylamide Kit、Turbo 小型预制转印包和 Trans-Blot Turbo 转印系统均购自美国 Bio-Rad 公司; 兔抗 Calpain1 大亚基 (large) 多克隆抗体、兔抗 Calpastatin 多克隆抗体、兔抗 LC3A/B 多克隆抗体和兔抗 Atg3 多克隆抗体均购自美国 Cell Signaling Technology 公司, 大鼠抗 LAMP2 单克隆抗体、兔抗 Ubiquitin 单克隆抗体、鼠抗 Rab7 单克隆抗体和鸡抗神经丝重链 (neurofilament heavy polypeptide, NFH) 多克隆抗体均购自英国 Abcam 公司, 鼠抗 β -actin 和 Calpain 小亚基 (small) 单克隆抗体均购自美国 Sigma-Aldrich 公司, 山羊抗 Cathepsin D 多克隆抗体购自美国 R&D Systems 公司; 荧光标记二抗和 Odyssey CLX 双色红外激光成像系统均购自美国 LI-COR Bioscience 公司。

1.3 蛋白质印迹法检测蛋白表达水平

速冻的小鼠组织称质量后, 按 30 μ L/mg 加入 1% SDS 裂解液, 迅速剪碎, 超声破碎, 室温 16 800 $\times g$ 离心 10 min, 收集上清液为总蛋白提取液。用 BCA 试剂盒测定蛋白含量, 取各组等量蛋白提取液, 经 10% SDS-PAGE (Bio-Rad

TGX acrylamide kit) 或 4%~12% NuPAGE Bis-Tris 预制凝胶电泳分离, 再将凝胶中的蛋白质电转移至硝酸纤维素膜上。将硝酸纤维素膜放入 5% 脱脂牛乳中室温封闭 1 h 或 Odyssey 封闭液中室温封闭 30 min 后, 加入山羊抗 Cathepsin D (1:1 000)、大鼠抗 LAMP2 (1:1 000)、兔抗 LC3A/B (1:1 000)、兔抗 Atg3 (1:1 000)、鼠抗 Rab7 (1:1 000)、兔抗 Ubiquitin (1:500)、兔抗 Calpain1 large (1:1 000)、鼠抗 Calpain small (1:500)、兔抗 Calpastatin (1:1 000)、鸡抗 NFH (1:5 000)、鼠抗 β -actin (1:10 000) 一抗, 4℃孵育过夜。PBST (含 0.1% Tween-20 的磷酸盐缓冲液) 漂洗 3 次 (每次 5 min) 后, 将膜放入荧光素 IRDye® 标记的山羊抗兔或山羊抗鼠 IgG (1:5 000) 二抗中, 室温避光孵育 1 h, PBST 充分漂洗后, 采用 Odyssey 凝胶成像系统检测蛋白条带的显色情况, 使用 Image J 软件分析蛋白条带的相对灰度。

1.4 统计学分析

使用统计软件 GraphPad Prism 7 (美国 GraphPad Software 公司) 进行分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 空间分布用柱形图表示, 两组均数间差异比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

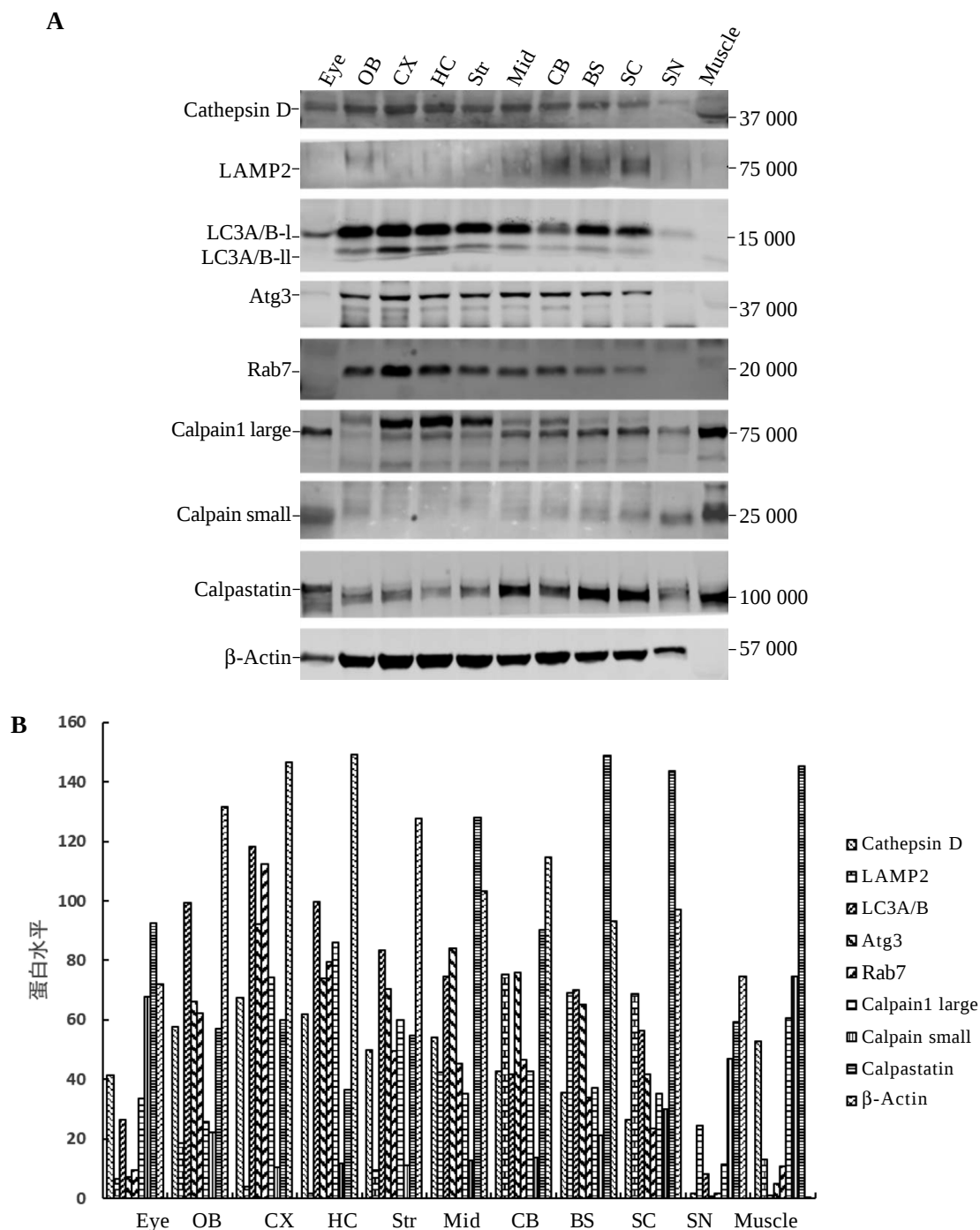
2 结果

2.1 自噬和钙蛋白酶途径调控分子在小鼠神经系统中的分布

蛋白质印迹法检测结果显示, Cathepsin D、LAMP2、LC3A/B、Atg3、Rab7、Calpain 大小亚基和 Calpastatin 在小鼠眼、嗅球、皮层、海马、纹状体、中脑、小脑、脑干、SC、SN 和肌肉中都有一定表达 (图 1A), 但含量具有组织和解剖部位差异性 (图 1B)。肌动蛋白 β -actin 为非肌肉型肌动蛋白, 在神经系统中广泛表达, 在肌肉中不表达。

2.2 蛋白质降解调控分子在小鼠脊髓和坐骨神经中表达和分布

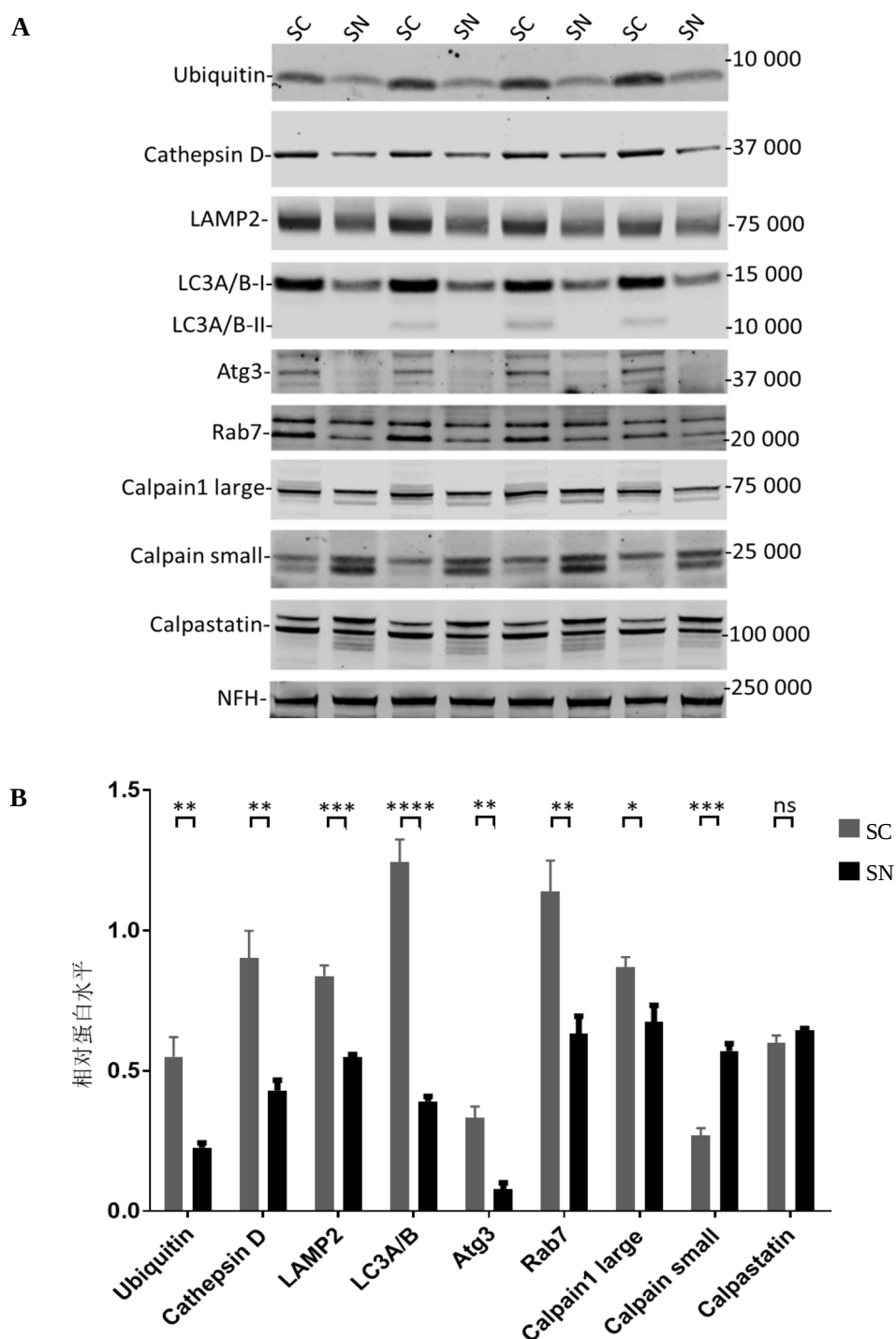
蛋白质印迹法检测结果显示, 蛋白质降解通路调控分子在小鼠 SC 和 SN 中有差异性表达 (图 2A)。与 SC 相比, 小鼠 SN 中 UPS 关键蛋白 Ubiquitin 和自噬通路中的 Cathepsin D、LAMP2、



A 为表达图谱, B 为表达水平; 组织分布包括眼 (Eye)、嗅球 (OB)、皮层 (CX)、海马体 (HC)、纹状体 (Str)、中脑 (Mid)、小脑 (CB)、脑干 (BS)、脊髓 (SC)、坐骨神经 (SN) 和肌肉 (Muscle); 检测蛋白包括组织蛋白酶 D (Cathepsin D)、溶酶体关联膜蛋白 2 (LAMP2)、自噬微管相关蛋白轻链 3A/B (LC3A/B)、自噬相关蛋白 3 (Atg3)、Ras 相关 GTP 结合蛋白 7 (Rab7)、钙蛋白酶 1 大亚基 (Calpain1 large)、钙蛋白酶小亚基 (Calpain small) 和钙蛋白酶抑制蛋白 (Calpastatin)。

图 1 蛋白质印迹法检测自噬和钙蛋白酶途径调控分子在小鼠组织中表达

Figure 1 Expression of autophagy and Calpain pathway molecules in the tissues of mice detected by Western blotting



A 为表达图谱, B 为表达水平; SC 为脊髓, SN 为坐骨神经; 检测分子包括泛素 (Ubiquitin)、组织蛋白酶 D (Cathepsin D)、溶酶体关联膜蛋白 2 (LAMP2)、自噬微管相关蛋白轻链 3A/B (LC3A/B)、自噬相关蛋白 3 (Atg3)、Ras 相关 GTP 结合蛋白 7 (Rab7)、钙蛋白酶 1 大亚基 (Calpain1 large)、钙蛋白酶小亚基 (Calpain small)、钙蛋白酶抑制蛋白 (Calpastatin) 和神经丝重链 (NFH)。ns 指 $P > 0.05$, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$, $***P < 0.001$, $****P < 0.0001$; $n=3$ 。

图 2 蛋白质印迹法检测蛋白质降解通路调控分子在小鼠脊髓和坐骨神经中表达和分布

Figure 2 Expression of protein degradation pathway molecules in the spinal cord and sciatic nerve of mice detected by Western blotting

总 LC3A/B、Atg3、Rab7 含量均明显下降 ($P < 0.01$), 且未检测到 LC3A/B- II 蛋白; 钙蛋白酶途径中的 Calpain1 large 总含量 (包含全长相对分子量 80 000 和剪切型相对分子量 75 000) 明显下降 ($P < 0.05$), 但剪切型 Calpain1 large 含量相对增加; 而 Calpain small 总含量 (包含全长相对分子量 26 000 和剪切型相对分子量 18 000) 明显增加 ($P < 0.001$), 且剪切型 Calpain small 含量增加相对明显; Calpastatin 含量无明显差异 ($P > 0.05$) (图 2 B)。

3 讨论

UPS 是高效、高度选择的蛋白降解途径, 其广泛参与机体多种代谢活动, 主要降解短寿命蛋白质和应激条件下细胞内异常蛋白。UPS 由 Ubiquitin、泛素激活酶 (E1)、泛素结合酶 (E2)、泛素连接酶 (E3)、蛋白酶体和去泛素化酶组成。在 ATP 作用下, Ubiquitin 被活化后与 E1 结合, 转移到 E2, 再通过 E3 与靶蛋白结合, 泛素化的靶蛋白进入 26S 蛋白酶体 (ATP 依赖性蛋白水解复合体) 被降解为多肽或氨基酸。去泛素化酶可将 Ubiquitin 从底物上解离下来, 继续识别其他待降解蛋白质^[3-4]。Pasquini 等^[5]早期研究提出, SN 中不易形成泛素-蛋白质偶联物。本研究发现, 与 SC 相比, SN 中 Ubiquitin 含量明显减少, 这可能使蛋白质泛素化过程受阻, 从而引起轴突束中 UPS 降解蛋白质功能减弱。

自噬是真核细胞中广泛存在的一种溶酶体依赖的降解途径, 较 UPS 具有更强的降解能力, 可降解长寿命蛋白质 (错误折叠蛋白、蛋白质复合物、积聚物) 以及受损细胞器和细胞内病原体^[6]。自噬过程分为 3 个阶段: 起始、成熟和降解^[7]。自噬起始复合物 (ULK1、ULK2、ATG13、FIP200 和 ATG101) 磷酸化后激活, 活化的 ULK1 可以招募自噬相关蛋白 (Atg) 到自噬体形成位点, 触发自噬体形成^[8]。前自噬体结构 (pre-autophagosomal structure, PAS) 初步延伸可包裹待降解物, 随后形成 Atg5-Atg12-Atg16 复合物, 与 3-磷酸磷脂酰肌醇结合且定位到自噬体膜上使膜延伸; 或者 Atg8 经泛素样酶 Atg7 和 Atg3 加工后, 与磷脂酰

乙醇胺 (phosphatidyl ethanolamine, PE) 结合形成 Atg8-PE, Atg8-PE 位于自噬体膜, 促进自噬体膜延伸和招募待降解物^[9]。细胞质内 Atg4 家族蛋白还可以剪切 LC3 前体生成 LC3 I, LC3 I 可通过 Atg7 和 Atg3 与 PE 偶联后形成 LC3 II, 故 LC3 II 特异性与自噬体结合, LC3 II 水平与自噬体数量正相关, 可作为自噬体形成的标志物^[10]。包裹待降解蛋白质或细胞器的自噬体 (autophagosome) 被运输到溶酶体中被降解, 且降解产物可供细胞再循环利用, 以维护细胞内稳态。Cathepsin D 是溶酶体中主要水解酶^[11]。LAMPs 是溶酶体膜上含量丰富的跨膜蛋白, LAMP1 和 LAMP2 共占溶酶体膜蛋白的约 80%, 可维持溶酶体膜完整性^[12]。LAMPs 在溶酶体腔面的氨基末端高度糖基化, 以防止溶酶体腔内酸性水解酶对其自身结构造成破坏^[13]。细胞内吞形成内体, 晚期内体也可携带特定待降解蛋白质, 与溶酶体融合后进行降解。Rab7 既位于晚期内体, 也定位于自噬体, 参与调控自噬体与溶酶体的结合, 影响自噬体成熟和运输^[14]。本研究发现, 与 SC 相比, SN 中 Cathepsin D、LAMP2、总 LC3A/B、Atg3 和 Rab7 含量均明显减少, 且未检测到 LC3A/B-II。这说明自噬体和溶酶体主要分布在神经元胞体, 轴突束中自噬体形成和溶酶体分布均相对减少。有研究发现, 当 SN 受到损伤的早期, LC3-II 蛋白含量显著增加, 自噬水平提高可促进轴突、髓鞘再生和运动功能恢复^[15-16]。

当细胞受损、刺激等引起细胞质中钙离子水平升高时, Calpain 被活化, 发挥蛋白降解功能。Calpain 可水解细胞骨架蛋白、膜相关蛋白、激酶和磷酸酶、转录因子和凋亡相关蛋白等百余种蛋白质, 参与维护细胞结构、信号转导、死亡等过程^[17-18]。根据激活所需钙离子浓度差异可将 Calpain 分为 μ -Calpain (Calpain1) 和 m-Calpain (Calpain2), 二者是哺乳动物普遍表达类型, 均由具有催化活性的大亚基和具有调节活性的小亚基组成^[19]。Calpain 大亚基具有 4 个主要结构域: 当 Calpain 大亚基被钙离子激活后, 结构域 I 发生自溶, 可暴露水解活性域; 结构域 II 是蛋白质水解的主要功能域, 可分为 II a 和 II b, 钙离子水平较低时, 两亚区域分离, 抑制蛋白质水解;

结构域III为调节中心,参与 Calpain 膜转移过程;结构域IV含有 5 个 EF 手性结构域,直接与钙离子结合后,酶构象改变,大小亚基分离,逐步暴露水解活性结构域 II a 和 II b,参与底物水解^[20]。本研究中 Calpain1 large 抗体可检测全长(相对分子量 80 000)和 28 位亮氨酸自剪切后(相对分子量 75 000)的 Calpain1 large 蛋白。与 SC 相比,SN 中总 Calpain1 large 含量明显减少,但剪切型 Calpain1 large 蛋白(相对分子量 75 000)含量相对增加。Calpain1 和 Calpain2 具有相同的 Calpain small, Calpain small 为调节亚基,具有 I、II 两个结构域,对于维持 Calpain 活性具有重要作用。本研究中 Calpain small 抗体可检测全长(相对分子量 26 000)和自溶剪切型(相对分子量 18 000) Calpain small。研究发现,与 SC 相比,SN 中总 Calpain small 含量明显增加,且剪切型 Calpain small 含量增加相对明显,提示 Calpain small 较活化。Calpain 活性随钙离子浓度提高而增加,当 Calpain 过度活化时,Calpastatin 可特异性抑制 Calpain 活性^[21]。Baudry^[22]研究提出,Calpain 广泛分布于机体各组织。本研究进一步发现,在神经系统中,SC 与 SN 相比,Calpastatin 含量无明显差异;而 SC 和 SN 中 Calpain 大小亚基含量和活性具有明显差异,提示 Calpain 调节的蛋白质降解主要发生在神经元轴突,较少发生于胞体。当 SN 受损时,轴突内钙离子水平迅速升高可激活 Calpain^[23],降解细胞骨架蛋白使轴突变性^[24],而 Calpastatin 对轴突和突触结构及功能具有保护作用^[25]。

蛋白质合成与降解平衡是维持细胞内稳态的重要条件,蛋白质降解通路受损引起蛋白质异常积聚可导致多种神经退行性疾病。本研究发现,与 SC 相比,小鼠 SN 中 UPS 和自噬通路相关蛋白含量明显降低,而依赖于钙离子的 Calpain 系统中 Calpain small 含量明显增加,这提示 UPS 和自噬主要降解神经元胞体中蛋白质,而轴突束中主要通过 Calpain 途径降解底物。在正常生理条件下,Calpain 参与调节细胞迁移和轴突发育等;但在氧化应激、创伤、兴奋毒性等病理条件下,钙离子大量内流,Calpain 高度活化,可能导致轴突变性、断裂,甚至神经元死亡。蛋白质降解通

路异常与疾病发生发展紧密相关,深入研究蛋白质降解通路及其关键分子可为神经系统疾病的治疗提供新的思路。

参考文献:

- [1] Pohl C, Dikic I. Cellular quality control by the ubiquitin-proteasome system and autophagy[J]. *Science*, 2019, 366(6467):818-822.
- [2] Duquette PM, Lamarche-Vane N. The calcium-activated protease calpain regulates netrin-1 receptor deleted in colorectal cancer-induced axon outgrowth in cortical neurons [J]. *J Neurochem*, 2020, 152(3):315-332.
- [3] David Y, Ternette N, Edelmann MJ, et al. E3 ligases determine ubiquitination site and conjugate type by enforcing specificity on E2 enzymes[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(51):44104-44115.
- [4] Kleiger G, Mayor T. Perilous journey: A tour of the ubiquitin-proteasome system[J]. *Trends Cell Biol*, 2014, 24(6):352-359.
- [5] Pasquini LA, Marta CB, Adamo AM, et al. Relationship between the ubiquitin-dependent pathway and apoptosis in different cells of the central nervous system: Effect of thyroid hormones[J]. *Neurochem Res*, 2000, 25(5):627-635.
- [6] Chen Y, Yu L. Autophagic lysosome reformation[J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319(2):142-146.
- [7] Lee JK, Shin JH, Lee JE, et al. Role of autophagy in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(11):2517-2524.
- [8] Russell RC, Tian Y, Yuan H, et al. ULK1 induces autophagy by phosphorylating Beclin-1 and activating VPS34 lipid kinase[J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(7):741-750.
- [9] Chun Y, Kim J. Autophagy: An essential degradation program for cellular homeostasis and life[J]. *Cells*, 2018, 7(12):278.
- [10] Moulis M, Vindis C. Methods for measuring autophagy in mice[J]. *Cells*, 2017, 6(2):14.
- [11] Leibiger C, Deisel J, Aufschnaiter A, et al. TDP-43 controls lysosomal pathways thereby determining its own clearance and cytotoxicity[J]. *Hum Mol Genet*, 2018, 27(9):1593-1607.
- [12] Saftig P, Klumperman J. Lysosome biogenesis and lysosomal membrane proteins: Trafficking meets function[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(9):623-635.
- [13] Perera RM, Zoncu R. The lysosome as a regulatory hub[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2016, 32:223-253.
- [14] Hegedus K, Takats S, Boda A, et al. The Ccz1-Mon1-Rab7 module and Rab5 control distinct steps of autophagy[J].

- Mol Biol Cell, 2016, 27(20):3132-3142.
- [15] Huang HC, Chen L, Zhang HX, et al. Autophagy promotes peripheral nerve regeneration and motor recovery following sciatic nerve crush injury in rats[J]. J Mol Neurosci, 2016,58(4):416-423.
- [16] Li R, Li D, Wu C, et al. Nerve growth factor activates autophagy in Schwann cells to enhance myelin debris clearance and to expedite nerve regeneration[J]. Theranostics, 2020, 10(4):1649-1677.
- [17] Neuhof C, Neuhof H. Calpain system and its involvement in myocardial ischemia and reperfusion injury[J]. World J Cardiol, 2014, 6(7):638-652.
- [18] Zatz M, Starling A. Calpains and disease[J]. N Engl J Med, 2005, 352(23):2413-2423.
- [19] Hanna RA, Garcia-Diaz BE, Davies PL. Calpastatin simultaneously binds four calpains with different kinetic constants[J]. FEBS Lett, 2007, 581(16):2894-2898.
- [20] Goll DE, Thompson VF, Li H, et al. The calpain system[J]. Physiol Rev, 2003, 83(3):731-801.
- [21] Hanna RA, Campbell RL, Davies PL. Calcium-bound structure of calpain and its mechanism of inhibition by calpastatin[J]. Nature, 2008, 456(7220):409-412.
- [22] Baudry M. Calpain-1 and Calpain-2 in the brain: Dr. Jekyll and Mr Hyde?[J]. Curr Neuropharmacol, 2019, 17(9):823-829.
- [23] Martensson LB, Blom CL, Dahlin LB. Ca²⁺ involvement in activation of extracellular-signal-regulated-kinase 1/2 and m-calpain after axotomy of the sciatic nerve[J]. Neural Regen Res, 2017, 12(4):623-628.
- [24] Sundaramoorthy V, Green D, Locke K, et al. Novel role of SARM1 mediated axonal degeneration in the pathogenesis of rabies[J]. PLoS Pathog, 2020, 16(2):e1008343.
- [25] Yang J, Weimer RM, Kallop D, et al. Regulation of axon degeneration after injury and in development by the endogenous calpain inhibitor calpastatin[J]. Neuron, 2013, 80(5):1175-1189.

Expression and Distribution of Molecules Regulating Protein Degradation Pathway in Nervous System of Mice

SONG Binbin, DONG Wenzhou, JIA Bingquan, ZHEN Ran, PENG Yu, YANG Xuan, YU Jia
(Beijing Geriatric Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100095, China)

Correspondence to: YU Jia, E-mail: jyu319@163.com

[Abstract] Objective To investigate the expression and distribution of the molecules regulating protein degradation pathway in the nervous system of mice. **Methods** The eye, olfactory bulb, cortex, hippocampus, striatum, midbrain, cerebellum, brainstem, spinal cord, sciatic nerve and muscle of 6 weeks wild-type C57BL/6J mice were collected. Then the distribution and expression of key proteins in protein degradation pathway in different tissues, anatomical sites and subcellular structures were determined by Western blotting. **Results** Cathepsin D, lysosomal-associated membrane protein 2 (LAMP2), microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3 (LC3A/B), autophagy-related protein (Atg3), Ras-related GTP-binding protein7 (Rab7), Calpain and Calpastatin had different expression levels in the eye, brain, spinal cord, sciatic nerve and muscle. Compared to the spinal cord, the sciatic nerve showed decreased levels of ubiquitin, Cathepsin D, LAMP2, total LC3A/B, Atg3, Rab7 and full length of Calpain1 large subunit ($P<0.05$), and increased level of Calpain small subunit ($P<0.05$). **Conclusion** The ubiquitin-proteasome system and autophagy mainly are widespread in the cell under physiological conditions, which mainly occurs in the cell body of neurons; but the level of spliced Calpain small in axon is relatively high, which suggests that Calpain degradation pathway may play a major role in axon.

[Key words] Ubiquitin-proteasome system; Autophagy; Calpain; Spinal cord; Sciatic nerve; Mice