

- 8 Andersen B, Rosenfeld M G. Pit-1 determines cell types during development of the anterior pituitary gland: A model for transcriptional regulation of cell phenotypes in mammalian organogenesis. *J Biol Chem*, 1994, **269** (47): 29335~ 29338
- 9 Witta S E, Sato S M. XLPOU-2 is a potential regulator of Spemann's organizer. *Development*, 1997, **124**: 1179~ 1189
- 10 Fyodorow D, Deneris E. The POU domain of SCIP/Tst-1/Oct-6 is sufficient for activation of any acetylcholine receptor promoter. *Mol Cell Biol*, 1996, **16** (9): 5004~ 5014
- 11 McEvilly R J, Rosenfeld M G. Genetically defined roles of class I, III and IV POU domain factor in the development of the mammalian endocrine and nervous systems. *Curr Opin Endocrinol Diabetes*, 1997, **4** (2): 172~ 183

POU-domain Protein Structure and Its Function in Development. YANG Qi-Sheng, WU Min
(*Department of Biology Science and Technology, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China*).

Abstract POU domain proteins contain two highly conserved subdomains (POU_H and POU_S) and variable linker between them. POU proteins interact with DNA by POU_H and POU_S. In aid of the domain flexibility and requirement of cofactors, POU proteins exhibit very complicated ability to bind and recognize DNA in function of regulator and transcription factors. In vertebrate and invertebrate, POU proteins take part in early embryogenesis, exert much regulation in cell lineage differentiation and neural development.

Key words POU homeodomain proteins, protein-DNA interaction, embryonic development, neural cell differentiation

Wnt 基因与生物发育和肿瘤发生*

庄立岩¹⁾ 郭应禄

(北京医科大学第一医院, 北京 100034)

张志文

(北京医科大学生理学系, 北京 100083)

摘要 Wnt 基因所编码的蛋白质与许多生长因子一样具有分泌型生长因子的结构特点; 分泌后能与细胞表面基质及其特异性受体 Frizzled 蛋白相互作用, 通过其下游的一系列诸如 Dsh (Dishevelled)、 β -连环蛋白、GSK3 (glycogen synthase kinase 3)、APC (adenomatous polyposis coli) 等蛋白质的磷酸化与去磷酸化的过程来完成 Wnt 信号的传导, 在脊椎动物至原虫的生物发育及肿瘤发生中具有重要作用。

关键词 Wnt, Frizzled, 生物发育, 肿瘤发生

学科分类号 R73

1 Wnt 基因家族

Wnt 基因是小鼠乳腺癌中克隆出的一种原癌基因, 当时称为 int 基因 (小鼠的 int-1 和 int-3)^[1], 后来的研究发现 int-1 基因与果蝇的 wingless (wg) 基因属直系同源基因 (orthologous gene), 因而将二者合称为 Wnt。利用这些 Wnt 基因中保守序列作为引物运用 PCR 技术发现了大量 Wnt 家族成员。从脊椎动物到原虫的许多物种中都有 Wnt 基因家族成员存在, 但是否所有 Wnt 基因都已被发现仍不清楚。

Wnt 基因的开放读码框架预示 Wnt 蛋白是一种分泌型的蛋白质, 具有一个或多个 N 端糖基化的位点, 几乎在相平行的位置都有 23 或 24 个保守的半胱氨酸残基。大多数蛋白质由 350 至 380 个氨

基酸组成, 在整个序列中平均分布着 100 多个保守的残基。一些 Wnt 基因有着附带的细胞内氨基端或羧基端的功能区。

比较一个物种的两种 Wnt 蛋白或两个物种的同源 Wnt 蛋白其氨基酸序列都具有 30%~60% 的同源性。Wnt 基因在漫长的生物进化过程中, 氨基酸的替换过程是十分缓慢的, 正如所预测的那样, 小鼠和人的 Wnt 基因相比较几乎没有任何差别。

2 Wnt 蛋白的生化及生物学特性

Wnt 基因所编码的蛋白质有着分泌型生长因子的特点: 含有一段疏水的信号肽, 其后是一个可

* 国家自然科学基金资助项目 (39870841)。

¹⁾ 通讯地址: 北京医科大学第一医院泌尿外科, 北京 100034。

收稿日期: 1997-10-20, 修回日期: 1998-03-27

被信号肽酶识别的位点, 不含跨膜功能区, 富含可交联形成二硫键的半胱氨酸残基, 并带有四个与 N 端相连的糖基化位点. 尽管如此, 到目前仍无法分离出有活性的游离的 Wnt 蛋白. 由于目前只制备了针对小鼠 Wnt-1、人 Wnt-2 及果蝇 Wg 的抗血清, 所以 Wnt 蛋白的生化特性都是通过研究上述基因得到的. Wnt-1 蛋白合成后进入分泌途径: 首先去掉信号肽生成一种 36 ku 的蛋白质, 而后在多个位点糖基化产生 38 ku、40 ku、42 ku 的 Wnt-1 蛋白, 在一些细胞还可产生少量的 44 ku 的蛋白. 蛋白质分泌后, 42 ku 及 40 ku 的 Wnt 蛋白与细胞外基质紧密结合在一起. 而在一些转染了 Wnt-1 cDNA 的纤维母细胞系, 大部分已表达的 Wnt-1 蛋白质存在于内质网内, 并与一种 78 ku 的内质网伴侣蛋白 (chaperonin) Bip 相结合.

对于 Wnt 蛋白究竟是与细胞膜表面结合还是与细胞外基质中的糖氨多糖 (GAGs) 结合目前还不清楚. Reichsman 等^[2]的研究表明细胞外基质的主要成分是蛋白糖原 (proteoglycans), 磺化后产生 GAGs, 能与 Wnt 蛋白产生非特异的、非共价的紧密结合. 而 Schryver 等^[3]的实验结果刚好相反, 认为 Wnt 是直接和细胞膜表面未知结构相结合. 苏拉明与细胞膜一样是带有负电荷的亲脂型化合物, 所以推测 Wnt 易与该类化合物结合. 尽管目前仍无法证明哪种理论对 Wnt 和细胞膜间的相互作用的解释更符合生理状态, 但这种结合正如 FGF、TGF β 等生长因子与细胞膜的相互作用一样起到了辅助受体 (coreceptor) 的作用, 便于 Wnt 与其特异性的高亲和力受体相结合.

尽管无法得到游离的、有生物活性的 Wnt 蛋白, 但通过细胞转化实验可证明 Wnt 蛋白生物活性的存在. 在对果蝇胚胎的研究中, 通过免疫组化染色发现 Wg 在含有 Wg mRNA 的细胞表面表达, 并且同时出现在相邻的细胞内. 上述实验说明 Wnt 蛋白是通过旁分泌或自分泌途径发挥其在细胞间的相互联系作用.

3 Wnt 基因对生物发育的调控

Wg 作为 Wnt-1 的同源基因在果蝇胚胎体节形成中起重要作用. 在果蝇胚胎发育的前几小时内, 果蝇的胚胎迅速被分成小的封闭区域 (compartments) 称为副体节 (parasegments), 而后这种副体节进一步发育成果蝇体节, 这些过程是由一些体节极性基因控制的, 这些基因的突变会引起体节极

性的消失或角质层的镜相复制^[3].

Wg 的胚胎致死等位基因有很强的体节极性表型, 并且所有的无效突变都发生在 Wg 的蛋白编码功能区上. 当该基因缺失时角质层的裸区 (naked zone) 就会被一层连续的锯齿状结构 (denticle) 所替代, 使副体节和体节的界限消失. Wg 的无效突变亦会引起中枢神经系统的细微缺陷. 这些等位基因对果蝇胚胎的发育也具有重要的作用, 如调控视神经盘和翅盘 (wing disc) 的形成.

发育生物学家认为蛙胚中胚层的形成是最早发生的, 将 Wnt 家族中不同的 mRNA 注入蛙的受精卵会产生不同的诱导作用. 如使原始轴 (primary axis) 在前端裂开, 产生双头胚胎; 当注入二个卵裂球时有时会产生四个体轴; 另外经紫外线照射过的胚胎亦可通过注射 Wnt mRNA 而恢复活性; 蛙的 Wnt-1、小鼠 Wnt-3A、Wg 和蛙 Wnt-8 的 mRNA 能诱导背轴形成. 上述现象的部分原因是由于 Wnt 基因参与了蛙胚胎形成中缝隙连接的调节, Wnt mRNA 的注入使原来处于关闭状态的缝隙连接开放, 因此产生细胞间信息传递 (cellular communication).

Wnt-1 基因在成年小鼠和胚胎期小鼠特定部位的表达提示 Wnt 基因在哺乳动物的发育中起调节作用. 用两种方法获得了 Wnt-1 等位基因无效突变小鼠, 一种是通过基因打靶, 将 neo 插入小鼠胚胎干细胞的 Wnt-1 第二外显子中. 另一种是在天然的移码 (swaying) 突变鼠中, 由于一个核苷酸的缺失突变而引起翻译 Wnt-1 开放读码框架的中间部位时翻译终止. 观察 Wnt-1^{neo}, Wnt-1^{sw} 纯合子及 Wnt-1^{neo}、Wnt-1^{sw} 杂合子可发现一系列的表型: 损伤最严重时造成新生鼠的死亡, 全部小脑及中脑的大部分缺失, 最轻的是一些纯合子突变小鼠能生存至成年但患有共济失调 (ataxia), 并且小脑前部缺如. 在 8~14 d 的小鼠胚胎中 Wnt-1 表达于发育中的中枢神经系统, 部分与 Wnt-1 突变所侵犯的区域一致. 由此说明 Wnt 基因在小鼠胚胎发育中具有相当重要的作用. 尽管 Wnt 基因在出生后分化中的作用尚不清楚, 但乳腺是学者研究的热点, 至少有六种 Wnt 基因在乳腺中表达, 并且有一定的时间顺序, 在成年动物的其他器官发育中也可能起重要的调节作用.

4 Wnt 基因与肿瘤

Wnt 基因在生物的正常发育中是组织分化的

诱导信号,但它们在通过局部作用而引发的肿瘤发生过程中亦有很大的潜能,特别是在乳腺癌的发生中^[4]. Wnt 基因在肿瘤发生中的作用可以用细胞转化实验得以证实.以小鼠 3T3, rat-1 及 HeLa 细胞系为供者细胞,一经转染 Wnt-1 基因都能使来源于正常小鼠乳腺的 C57MG 细胞系发生形态学变化,与直接用 Wnt-1 转染 C57MG 细胞产生的形态学变化是一致的.除 Wnt-1、Wnt-3 能引起 C57MG 细胞转化外,用病毒载体分别将 Wnt-1, Wnt-7A, Wnt-4, Wnt-7B 等几种 Wnt 家族基因转入 C57MG 细胞系发现不同的 Wnt 基因引起细胞恶变的程度存在差别^[5].小鼠转基因实验对阐明 Wnt-1 在肿瘤发生过程中的潜在作用是一很好的证据,将 Wnt-1 基因转入小鼠,能产生激素非依赖性的乳腺上皮细胞增生,一年后其乳腺癌与病毒引发的小鼠乳腺癌已无区别.由此可见,Wnt-1 蛋白在肿瘤发生早期是一种生长刺激因子,但在肿瘤发生晚期中的恶性转化、逃避激素依赖性及获得转移的潜能中的作用仍不清楚.

Wnt 基因在多种恶性肿瘤中的表达情况已经相继被报道.Iozzo 等^[6]通过对 100 多份正常和肿瘤组织及 10 个人类肿瘤细胞系的研究发现在肺、乳腺、前列腺、及黑色素瘤中存在 Wnt-5A mRNA 的过度表达,并且证明 Wnt-5A 的上调不是由基因重排或扩增引起的.利用 RT-PCR 半定量的方法对不同分期的结肠直肠癌 (CRC) 进行检测,Wnt-2 在正常结肠组织中表达量很低,而在肿瘤组织中有过高表达,说明 Wnt-2 在消化系统肿瘤的发生发展中起一定的作用^[7].用 RNA 酶保护法及原位杂交的方法发现在正常人类乳腺纤维母细胞中 Wnt-2 表达量很低,但在上皮细胞中未见表达,而在 11 例浸润性癌患者中 5 例有 Wnt-2 高表达,在 6 例纤维腺瘤病人中有 2 例高表达^[4].

5 Wnt 受体的发现

Wang 等^[8]采用随机 cDNA 测序 (random cDNA sequencing) 及变性 PCR 扩增等方法克隆出 10 多个新的基因,这些基因均与决定果蝇极性的 Frizzled (Fz) 基因有相似的结构,目前从脊椎动物到无脊椎动物发现 10 个家族成员.这些蛋白质都有一个信号序列,即由 120 个保守氨基酸组成的细胞外功能区含有 10 个不变的半胱氨酸残基 (富含半胱氨酸功能区, cystein rich domain, CRD),一个由 40~100 个氨基酸组成的高变区,七个跨膜

功能区及一个短的胞浆内功能区.Bhanot 等^[9]的实验证明 Dfz2 是果蝇 Wg 的受体.在脊椎动物,将人的 hFz5 基因转入蛙胚中即可诱导体轴的复制及异位 Spemann 组织原 (orgnizer) 的形成.而 GSK3 (glycogen synthase kinase3) 及破坏了跨膜功能区的 Fz5 的转入可拮抗 Wnt-5A/hFz5 的信号传导通路,由此可以证明 Wnt/Fz 传导通路的存在及 Fz 是 Wnt 的受体^[10].

Hoang 等^[11]在研究牛的关节软骨发育中发现了一种与目前已知骨骼肌分化过程中所具有的蛋白质皆不相同的片段,与果蝇和大鼠 Frizzled-1 的结合区有 50% 同源性,分子质量 36 ku,无 Frizzled 家族蛋白质的 7 个跨膜功能区,被命名为 frzb, frz 代表 Frizzled 的基序 (motif), b 表示其与骨的发育相关.1997 年 Wang 等^[12]分离出蛙的 Frzb.几乎同时 Leyns 等^[13]克隆了小鼠和人的 Frzb.他们的实验证明了 Frzb 能够与 Wnt 结合,并可阻断 Wnt 的信号传导.人的 frzb-1 基因位于染色体的一个特定区域内,该区域可能与某种肿瘤抑制基因相关.Frzb-1 是否是一种肿瘤抑制基因还有待于进一步研究.

6 Wnt/Fz 信号传导通路

由于 Wnt 特异受体的发现,推动了 Wnt/Frizzled 系统信号传导通路的研究,该传导途径中的相关成分也逐一被阐明.由 Wnt 通过 Frizzled 下游 Dishevelled (Dsh), Shaggy/Zeste white3 (GSK3), Armadillo (β -catenin) 及其他一些基因的表达产物共同构成了 Wnt 的信号传导通路 (图 1)^[9,10].Dsh 是果蝇细胞浆内的一种蛋白质,几乎没有同源蛋白质.Dsh 有一个 PDZ 功能区 (domain),而 Frizzled 家族的蛋白质在 C 端的相同位置都含有能与 PDZ 功能区相连接的 SXV 序列,这使 Dsh 可能与 Fz 在细胞膜处直接相互作用.

Shaggy/Zeste white3 是哺乳动物糖原合成激酶 3 (GSK3) 蛋白激酶的功能同源物.活化的 Dsh 可成为 GSK3 的抑制物 (inhibitor)^[14].GSK3 的底物是一种蛋白质,这种蛋白质一经磷酸化即可阻断 Wnt 的信号传递过程,但目前还没有确切的实验来证实是哪一种蛋白质.近来的研究表明 GSK3 很有可能作用于 Armadillo 或一种能与 Armadillo 相互作用的蛋白质,如结肠腺癌样息肉基因的产物 (adenomatous polyposis coli, APC)^[15].Armadillo 是哺乳动物 β 环形蛋白 (β -catenin) 的同源物,环

形蛋白 (catenins) 是能与钙粘着蛋白 (cadherin) 胞浆内功能区相结合的一种蛋白质。APC 能与 α 或 β 环形蛋白 (catenin) 相结合并且通过促进游离 β 环形蛋白的降解来使细胞内 β 环形蛋白保持在较低水平。GSK3 可通过与 APC 结合使 APC 磷酸化, 增加 APC 与 β 环形蛋白的结合, 因此 β 环形蛋白的降解依赖于 GSK3 的活性。 β 环形蛋白自身也可能是 GSK3 的作用底物, 因为野生型的 GSK3 可在一保守型位点使 β 环形蛋白磷酸化, 而且该位点的突变可增强 β 环形蛋白的稳定性。由此可见, APC 的丧失 (缺乏或突变) 或 GSK3 失活均会通过这种网状作用导致游离 β 环形蛋白的增加。

游离的 β 环形蛋白传导信号的实质在于它能够与 TCF/LEF 家族中的 HMG box 转录因子 (HMG box transcription factor) 相结合。这种相互作用使 LEF-1/ β -catenin 复合物在细胞核内积聚并启动转录^[16, 17]。与 β 环形蛋白在 Wnt 信号传导通路上的功能一致, Wingless 使果蝇细胞浆内 Armadillo 增加。正是通过这种途径 Wnts 可诱导细胞的增殖分化, 使组织产生癌变, 也使胚胎按正常的模式发展。

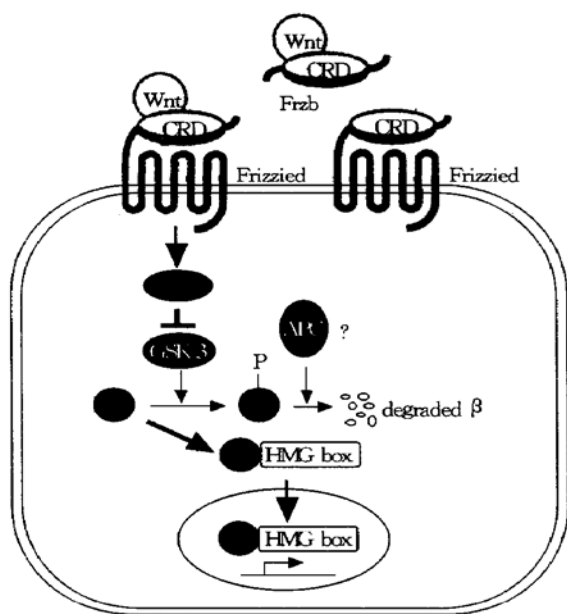


图1 Wnt/Fz 信号传导示意图

总之, 随着对 Wnt 及做为 Wnt 受体的 Frizzled 家族研究的进一步加深, 人们对 Wnt 的传导路径逐渐清楚, 今后的研究热点可能在于 Wnt 传导通路的调控及其传导通路上各种蛋白质的相互作用上, 该物质在肿瘤发生及生物发育中的作用将会进一步明确。

参考文献

- 1 Nusse R, Varmus H E. Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. *Cell*, 1982, **31** (109): 99~109
- 2 Reichsman F, Smith L, Cumberledge S. Glycosaminoglycans can modulate extracellular localization of the wingless protein and promote signal transduction. *J Cell Biol*, 1996, **135** (3): 819~827
- 3 Schryver B, Hinck L, Papkoff J. Properties of Wnt-1 protein that enable cell surface association. *Oncogene*, 1996, **13** (2): 333~342
- 4 Dale T C, Weber-Hall S J, Smith K, *et al.* Compartment switching of Wnt-2 expression in human breast tumors. *Can Res*, 1996; **56** (19): 4320~4323
- 5 Bradley R S, Brown A M C. A soluble form of Wnt-1 with mitogenic activity on mammary epithelial cells. *Mol Cell Biol*, 1995, **15** (8): 4616~4622
- 6 Iozzo R V, Eichstetter I, Danielson K G. Aberrant expression of the growth factor Wnt-5A in human malignancy. *Can Res*, 1995, **55** (16): 3495~3499
- 7 Vider B I, Zimmer A. Evidence for the involvement of Wnt2 in human colorectal cancer. *Oncogene*, 1996, **12**: 153~158
- 8 Wang Y, Macke J P, Abella B S, *et al.* A large family of putative transmembrane receptors homologous to the product of the *Drosophila* tissue polarity gene frizzled. *J Bio Chem*, 1996, **271** (8): 4468~4476
- 9 Bhanot P, Brink M, Samos C H, *et al.* A new member of the frizzled family from *Drosophila* functions as a Wingless receptor. *Nature*, 1996, **382** (6588): 225~230
- 10 He X, Saint-Jeannet J, Wang Y. A member of the frizzled protein family mediating axis induction by Wnt-5A. *Science*, 1997, **275** (5306): 1652~1654
- 11 Hoang B, Moos M, Vukicevic S. Primary structure and tissue distribution of Frzb. *J Biol Chem*, 1996, **271** (42): 26131~26137
- 12 Wang S, Krinks M, Lin K, *et al.* Frzb, a secreted protein expressed in the Spemann Organizer binds and inhibits Wnt-8. *Cell*, 1997, **88** (6): 757~766
- 13 Leyns L, Bouwmeester T, Kim S-H, *et al.* Frzb1 is a secreted antagonist of Wnt signaling expressed in the Spemann organizer. *Cell*, 1997, **88** (6): 752~756
- 14 Cook D, Fry M J, Hughes K, *et al.* Wingless inactivates glycogen synthase kinase-3 via an intracellular signalling pathway which involves a protein kinase C. *EMBO J*, 1996, **15** (17): 4526~4536
- 15 Kinzler K W, Vogelstein B. Lesions from hereditary colorectal cancer. *Cell*, 1996, **87** (2): 159~170
- 16 Behrens J, von Kries J P, Kuhl M, *et al.* Functional interaction of β -catenin with the transcription factor LEF-1. *Nature*, 1996, **382** (6592): 638~642
- 17 Molenaar M, van de Wetering M, Oosterwegol M, *et al.* XTcf-3 transcription factor mediates β -catenin-induced axis formation in *Xenopus* embryos. *Cell*, 1996, **86** (3): 391~399

Wnt Genes in Biological Development and Oncogenesis. ZHUANG Li-Yan, GUO Ying-Lu (Department of Urology, The First Teaching Hospital of Beijing Medical University, Beijing 100034, China); ZHANG Zhi-Wen (Department of Physiology, Beijing Medical University, Beijing 100083, China).

Abstract The Wnt genes belong to an ever-expanding family of proto-oncogenes that express in species ranging from *Drosophila* to man. Wnt proteins, as well as other growth factors or signaling molecules, have the characteristics of secreted growth factors. As recently, a group of proteins in Frizzled (Fz) family have been identified as the putative receptors of Wnt family, several components are implicated in the downstream of Wnt/Fz signaling

pathway, such as Dishevelled, GSK3 (glycogen synthase kinase 3), APC (adenomatous polyposis coli) and β -catenin. This signal transduction pathway plays a pivotal role not only in the formation and organization of developing organs, but also in biological tumorigenesis.

Key words Wnt, Frizzled, biological development, oncogenesis

RNA 和蛋白质的相互作用

张庆硕 王恩多

(中国科学院上海生物化学研究所, 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031)

摘要 RNA 与蛋白质的相互作用是许多基本的细胞生理过程得以实现的决定性因素。近年来, 随着技术的改进和新方法的建立, RNA 和蛋白质的相互作用研究取得了长足进步。目前科研人员已经鉴定了许多 RNA 上的蛋白质结合位点, 也发现了许多蛋白质中的 RNA 结合结构域, 并对它们的结构特征进行了比较详细的研究。这些都为最终阐明 RNA 和蛋白质相互作用的分子机制, 从而从本质上认识相关的细胞生理过程打下了坚实的基础。

关键词 识别, 结构域, RNA 结合蛋白

学科分类号 Q512, Q522

RNA 参与许多基本的细胞生理过程: 携带来自 DNA 的遗传信息, 参与形成核糖体、拼接体、端粒酶等许多核酸蛋白颗粒的结构, 有些 RNA 还具有酶活性。但是, 几乎所有的 RNA 生物功能的发挥都需要蛋白质可逆或不可逆地结合。而且, 在绝大多数情况下, 蛋白质与 RNA 的相互作用在上述那些生理过程中起着决定性的作用^[1]。

RNA 和蛋白质相互作用的研究过去一直远远落后于 DNA 和蛋白质相互作用的研究, 主要原因是很难大量制备序列确定的纯 RNA。近年来, 科研工作者建立了运用噬菌体 RNA 聚合酶进行体外转录的系统并改进了 RNA 化学合成的技术, 大大促进了 RNA 与蛋白质相互作用的研究^[2]。目前已经鉴定了许多 RNA 中的蛋白质结合位点, 也发现了为数不少的蛋白质中的 RNA 识别结构域。

1 蛋白质识别的 RNA 的二级结构单元

RNA 的结构非常复杂。RNA 链内的碱基配对产生各种各样的二级结构, 除螺旋 (helix) 外, 还有发夹 (hairpin)、膨泡 (bulge)、内环 (bubble)

和假结 (pseudoknot)。这些结构单元之间进一步的相互作用使 RNA 形成复杂的三级结构。另外, RNA 中还含有为数不少的非沃森-克里克碱基对如 G-U 和 C-U 等。这些不规则的碱基对使经典的 A 型螺旋扭曲变形, 大沟加宽。膨泡和内环也可以使核糖磷酸骨架扭曲而改变沟的宽度。

RNA 的复杂结构使 RNA-蛋白质的识别比 DNA-蛋白质的识别要复杂得多。DNA 具有规则的双螺旋结构, 差别主要在于碱基对 (一般是相对暴露的大沟中的碱基对) 所提供的氢键受体和供体的不同, 因而 DNA 和蛋白质的相互作用主要是蛋白质中的基团和 DNA 中的碱基对形成专一性的氢键及其与胸腺嘧啶的甲基间的疏水作用, 这种“直接读出” (direct readout) 机制已经证明基本上是正确的。尽管某些 DNA 的骨架构象也会显示出一些微妙的变化, 如在 *EcoR* I 核酸酶位点中发现有纽结 (kinks) 结构^[3], 在 TATA 结合蛋白与 DNA 形成的复合物中发现有螺旋的强烈弯曲和碱基对去堆积现象^[4], 但是蛋白质和 DNA 的这种特殊构象