

三链核酸稳定性和生物学功能的研究进展*

孙雪光 曹恩华¹⁾

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 近 10 年来三链核酸的研究发展迅猛, 已经成为分子生物学和基因工程的一个前沿领域. 综述了最近在三链核酸稳定性和生物学功能方面的研究进展. 较为详细地讨论了影响三链稳定性的各种内源和外源因素如: 寡聚脱氧核苷酸 (ODN) 的长短、序列、碱基修饰、骨架结构以及温度、酸度、离子强度、配基等, 同时对三链核酸的生物学功能进行了初步的总结, 这些功能包括: 控制基因转录, 保护靶序列防止酶切, 充当分子剪刀进行特定定位切割等.

关键词 三链核酸, 稳定性, 生物学功能

学科分类号 Q71

1953 年, Waston 和 Crick 提出的 DNA 分子双螺旋结构模型成功地解释了许多生命现象. 但随着研究的深入, 越来越多的结果表明生物体内的 DNA 结构具有多样性. 除了标准的 B 构型外, 还有 Z、P、A 型双螺旋, 甚至在某些生物体系内还存在单链形式的 DNA 分子. 在这些多态结构中, 最引人注目的就是三螺旋 DNA.

1957 年, Felsenfeld 等^[1]首次提出了三链核酸的概念, 并成功地合成出一种三螺旋 RNA. 此后沉寂了近 30 年, 直到 1987 年, Mirkin 等^[2]在一种酸性质粒中发现了一种三螺旋 DNA, 为三链 DNA 可能在体内存在提供了强有力的证据, 才逐渐引起人们的重视. 目前它已成为分子生物学和基因工程的一个前沿领域.

三链核酸是由一条寡聚核苷酸链通过与双链 DNA 形成 Hoogsteen 键或反 Hoogsteen 键, 在其大沟处紧密缠绕而成. 根据结构单元不同, 可以将它分为两种基本类型: 嘧啶-嘌呤-嘧啶型和嘌呤-嘌呤-嘧啶型, 它们在第三条链的序列组成, 各条链的相对方向以及碱基的堆积和结合方式上均存在明显的差别.

1 稳定性研究

三链核酸做为反基因战略的一种重要手

段, 它在生理条件下的稳定性直接关系到其作为一种基因疗法的可行性和现实意义. 通过对影响其稳定性的各种内源和外源因素进行研究将有助于设计、合成出符合需要的核酸序列使它在治疗、诊断、生物技术等方面得到更广泛的应用. 这些影响因素总的说来主要分为两大类. 一类由核酸自身的特性决定, 如寡聚脱氧核苷酸 (ODN) 的长短、序列、碱基修饰、骨架结构等, 另一类是受环境因素的影响, 如温度、酸度、离子强度、配基等^[3].

1.1 核酸结构的影响

1.1.1 ODN 的长短: 一般来说, 要形成三链, ODN 的长度应不少于 10 个核苷酸. 但因条件不同其对长度的要求也会有所变化. Hsieh 等^[4]发现在大肠杆菌 RecA 蛋白的存在下, ODN 要形成平行三螺旋, 识别其同源双螺旋 DNA. 至少要有 15 个核苷酸, 但其中只要有 8 个是同源序列就够了. 如同源序列含有 26 个核苷酸, 即使除去 RecA 蛋白, 它们之间仍能保持彼此结合的状态. 但这并不是说 ODN 越长越好, 特别是对由富含 G 所构成的

* 中国科学院“九五”重大基础研究资助项目 (5-121111-05).

¹⁾ 通讯联系人.

收稿日期: 1997-05-08, 修回日期: 1997-11-16

ODN, 它可通过自身的回折形成四聚体而阻止三链的形成.

1.1.2 碱基序列: 稳定的三链要求其结构单元各碱基间的识别具有专一性, 并且各条链的极性要相互匹配. 若发生碱基错配, 或极性冲突则会明显降低它的稳定性. 实验发现改变 ODN 中某一位点的碱基会导致第三条链的扭曲, 从而需要能量补偿. 例如对于 apt 序列, 在同样条件下, 由 G, A 构成的 ODN 会比由 T, C 构成的 ODN 对靶序列具有更高的亲和性和特异性, 几分钟内就可形成三链. 而对由 T, C 构成的 ODN 则观察不到这种现象^[5], 可见序列对三链的形成是不可忽视的.

1.1.3 碱基修饰: 甲基化是最常使用的碱基修饰手段, 在胞嘧啶的 5 位点甲基化, 不仅能扩大三链存在的酸度范围, 还能提高它的 T_m 和亲和常数^[6]. 通过量子计算和红外光谱测定发现取代后并没有明显改变三螺旋的构象^[7], 所以这种稳定性很可能来源于甲基化所引起的疏水作用, 反应过程中的熵变也进一步证实了这一观点. 但并不是所有取代基都能增加三链的稳定性, 例如用溴或丙基在 C 的 5 位点取代就会降低三链的稳定性, 但有趣的是如用它们在 U 的 5 位点取代, 则又会对三链的形成起促进作用^[8]. 这种差异可能与取代后成键原子的电荷密度有关, 如对于吸电子的溴取代基来说, 它既会增加嘧啶 3 位点电荷密度使氢键供体能力增强, 也会降低 1 位点电荷密度使受体能力减弱, 当这两种效应对成键原子影响不等时就会对三链稳定性产生两种不同的结果.

1.1.4 ODN 骨架修饰: 近年来对 ODN 进行了大量的化学改性, 通过对 ODN 骨架的修饰可增强三链对核酸酶的抗性和膜的通透性, 延长它在组织内的半衰期, 使它更有利于在生物体内的应用. 一类骨架修饰主要集中在寡聚核酸的核糖部分. 由于 DNA 和 RNA 由不同的核糖构成, 所以可提供一个最明显的例子. 当 ODN 的糖基部分是由 2 位点具有羟基的核糖构成时, 它要比相应的由脱氧核糖构成的

ODN 在形成三链时更加稳定^[9]. 另一类骨架修饰主要集中在磷酸集团上. 实验发现对磷酸部分进行甲基化修饰后所形成的三链的稳定性与 ODN 长度密切相关^[10]. 只有小于 19 个碱基时, 才有利于三链的形成. 另外一个比较有趣的现象是在中性 pH 和室温条件下, 当 ODN 是嘧啶链时, 磷酸硫代处理后会降低它对靶分子的亲和性, 而当 ODN 是嘌呤链时, 会适当促进它与靶分子的结合. 此外, 还有一类新的寡聚核酸类似物 PNA (peptide nucleic acid), 它用多肽骨架取代了磷酸二酯骨架, 连上碱基后, 可与 DNA 形成 2PNA: 1DNA 复合物^[11].

1.2 环境因素的影响

1.2.1 pH: 受 pH 影响较大的主要为 C⁺ GC 型三螺旋, 由于它在形成过程中需要对第三条链中的 C 碱基进行质子化, 所以在酸环境下其稳定性取决于第三条链中 C 碱基的比例^[12]. 从 T_m 对酸度的依赖性和反应过程中的焓变, 我们可知大量的质子在�三链解离过程中要被释放, 但通过观察发现释放的质子数要少于第三条链中胞嘧啶的数目. 这表明单链中胞嘧啶是部分质子化的. 造成这种现象的原因既可能是溶液中较低的酸度引起的, 也可能是由于三链的形成就是以胞嘧啶的部分质子化为特征的. 尽管从 NMR 的数据可知在第三条链的每一个胞嘧啶处都可质子化, 这并不排除在质子化与非质子化之间存在一个平衡, 从而使总的结果表现为部分质子化. 由于在体内酸度范围较窄, 所以人们希望通过对碱基进行修饰或引入新的非标准的核苷酸来降低 pH 的影响. 我们已经知道通过对 C 的 5 位点进行甲基化可明显拓宽三链存在的 pH 范围, 而用在异环具有两个氢键供体的核苷酸取代 C 后^[13], 由于它能与 G 的 N⁷ 和 O⁶ 位点相互作用也可在中性条件下形成三链. 这些方法为三链能在生物体内的酸度环境稳定存在提供了可能.

1.2.2 盐离子浓度: 影响三链稳定性的盐离子主要为一价、二价和多价的阳离子. 它们在溶液中能够降低双链和寡聚核苷酸磷酸集团之

间的排斥力, 并使它们形成一些疏水区. Volker 等^[14]发现增加溶液中的钠离子浓度会明显地提高三链的稳定性, 特别是当 ODN 中富含 T 时, 它要比相应的由富含 C 的 ODN 所形成的三链对盐离子浓度具有更高的依赖性. 这可能是由于前者具有较高的负电荷, 而后者由于 C 的部分质子化而使负电荷密度有所降低造成的. 而对 Pur-PuPy 型三链来说二价阳离子则是必不可少的, Pascal 等^[15]在研究寡聚核苷酸介导的特定定位点切割的实验中发现, 在缺少镁离子的情况下会极大地降低切割效率. 除了钠、镁等金属离子外, 还有一类重要的阳离子就是多胺, 它对于一些三链的影响是其他离子不可替代的. 例如当溶液中缺少六胺或精胺时, 即使钾离子浓度高达 500 mmol/L, 也观察不到三链的形成. 最近, Thomas 等^[16]在研究三链形成抑制癌基因转录的实验中加入 1, 3-二氨基丙烷 (1, 3-diaminopropane), 与其他一些多胺相比, 它对正常细胞的生长和免疫没有毒性作用, 不干扰内环境的相对稳定, 而且在细胞内易于运输, 能够促进 ODN 形成三链而降低癌基因的转录.

1.2.3 配基的结合: 为了增加 ODN 对靶分子的亲和性, 通常采用加入配基的手段来调节第三条链与靶分子的结合. 许多嵌入剂如溴乙锭、coralyne、喹啉衍生物等对三链都能起到稳定的作用. 其中, 溴乙锭只对含有单一 TAT 结构单元的三链起作用, 而对同时含有 TAT 和 CGC 结构单元的三链则无能为力. 而 coralyne 和 benzophyridoinole 则不受这种碱基序列的限制. 在这一方面, 方晔等^[17]通过熔融曲线和静态荧光技术对溴乙锭与三螺旋的相互作用进行了较为详细的研究, 证明配基通过嵌入三螺旋的疏水环境而增强三螺旋的稳定性, 并且配基结合后, 溴乙锭有荧光增强的特征. 但还有一些配基, 如与小沟结合的 netropsin 和 distamycin 它们与三链结合后会三链解离. 此外, 配基的影响还取决于溶液的条件, 如随着钠离子浓度的变化 berol 或是加强或是降低三链的稳定性.

2 生物学功能

长期以来, 对三链核酸的研究是与探索其潜在的生物学功能联系在一起的. 目前在体内和体外环境形成三链已不是一件困难的事, 所以越来越多的研究转到探索三链在生物体内的存在意义和可能的生物学功能方面.

2.1 控制基因转录

由寡聚核苷酸介导所形成的三链被认为是在转录水平调节基因表达的非常有效的手段. 它通过作用于控制基因转录的转录子、增强子和启动子区, 增强或抑制基因的转录. 目前已有实验尝试利用上述方法作为一种反基因战略的手段来治疗癌症、艾滋病、病毒性感染等一些疑难病症.

1991 年, Postel 等^[19]把新合成的 27 个碱基长的寡聚核苷酸放入 HeLa 细胞的培养液中孵育, 发现它能够进入细胞核. 把这些经过处理的细胞的核抽提液用 DNase I 酶解, 发现在 c-myc P1 的启动子区由于三链的形成能阻止 DNase I 对它的切割, 并且发现由 c-myc P1 起始位点产生的 mRNA 的量会选择性的下降. 而在没有形成三链时, 这种合成抑制作用则没有观察到. 三链的形成不仅能够抑制基因的转录, 它还可通过阻断转录抑制蛋白 (如 IL2R 负调控因子) 与靶蛋白的结合而增强基因的转录^[20].

与直接作用于基因的调控区不同, Takasugi 等^[21]在 ODN 的末端连上一个光敏剂 psoralen, 在近紫外光的辐射下, 它可与双链交联, 形成共价键嵌入其中. 我们知道在复制的过程中需要对双螺旋进行解链, 而交联结构的形成无疑会阻断这种过程, 从而抑制基因的转录. 但在体内的情况下, 这些交联有可能被一些修复酶识别而导致特定定位点的突变.

2.2 保护靶序列防止酶切

当一些酶的某些位点是寡聚嘌呤 (或嘧啶) 序列时, 通过形成三链可使它防止被酶切, 这种保护作用具有可逆性, 当调节溶液条件使 ODN 与靶序列解离后, 这些位点对酶仍

有敏感性,从而可产生特异性的酶切位点.但由于这种保护对序列有特殊的要求,因而限制了它的更广泛的应用.尽管已尝试用 RecA 蛋白介导任何 DNA 序列形成三链,但还很成熟,特别是在体内的环境条件下.

Ryoiti 等^[22]通过研究提出了一个新的思路,他们把需要保护的序列放在两个可形成三链结构的序列的中间,通过与 ODN 作用可形成一个三链-双链-三链的三明治式的结构,尽管中间序列与两端序列不具有同源性,不能形成三链,但它却同样能被保护.这可能由于两端三链的形成所造成的空间位阻阻碍了酶到达它的底物.这也可从一些具有相同位点的酶对底物的不同切割能力而得到证明,由于各种酶的分子质量大小不同,小分子质量的酶受到的位阻较小,易于到达他的底物从而使中间序列受保护的度降低,而对大分子的酶来说结果则相反.并且还发现这些中间序列不受立体构型的限制,即不管它是线性的,还是超螺旋的,受保护的度是一样的.

2.3 充当分子剪刀

通过三链的形成 ODN 可充当切割靶序列的分子剪刀.其作用机理是在寡聚核苷酸的末端连上一个化学试剂通过氧化损伤或辐射损伤使双链断裂,从而达到切割的目的.与限制性内切酶相比,它具有更高的精确性和专一性.

1990 年在酵母染色体上通过寡聚核苷酸形成三链 DNA 首次实现了特意性切割,他们采用结合有 EDTA、Fe 的长为 15~20 碱基的寡聚核苷酸对在 SECE 染色体上的一个长 20 碱基的三链目标进行作用,结果观察到有着精确位置的双链裂解物.随后,Shimizu 等^[23]把寡聚核苷酸连接的 EDTA、Fe 换成邻菲罗啉的衍生物,发现在铜离子和还原剂的存在下,也可对双链进行切割.并且通过变换寡聚核苷酸中的某一位点的碱基种类,靶分子和切割分子的相对浓度以及不同的还原剂,对切割效率进行了较为详细的研究.结果表明随着三链稳定性的升高,切割效率明显增加.

除了上述通过氧化损伤进行的切割外,还

有一类分子剪刀是通过辐射损伤进行的.Panyutin 等^[24,25]用¹²⁵I 在寡聚核苷酸的 C 的 5 位点标记,然后放在含有 HIV nefgen 基因的质粒中孵育.结果发现通过形成三链,¹²⁵I 的衰变可导致双链位点专一的断裂.约 90% 的断裂位于衰变位点附近 10 个碱基的范围内,衰变数量与距衰变位点的远近密切相关.当加入自由基清除剂后,发现它对断裂的产生和分布没有明显的影响.这些结果表明断裂是由辐射的直接作用产生的,而并不是通过可扩散的自由基所介导的.同时发现嘌呤链发生断裂的几率要比嘧啶链高两倍,这种不同可能与三链的几何构型有关,因第三条链上的胞嘧啶的位点更接近于嘌呤链的糖磷酸骨架,从而使断裂数目有所不同.这种辐射损伤通常是不可修复的,可删除几千个碱基对,所以我们可利用它对原病毒进行切割,但放射性元素较长的半衰期对活细胞是不利的.

此外三链核酸在基因工程领域作为一种生物技术也开始应用^[26].将目标 DNA 序列插入经改造的克隆载体内,经限制性内切酶完全消化后,用带有生物素标记的探针杂交,再经磁珠分离后使三链解离,可得到所需的质粒 DNA 片段,此法快速,简便,易于操作.

综上所述,作为核酸领域一个崭新的分支,三链的研究已越来越引起人们的注意.可以预料随着研究的深入,它必将在分子生物学、基因工程、医疗诊断等方面得到更广泛的应用.

参 考 文 献

- 1 Felsenfeld G, Davies D R, Rich A. Formation of a three-stranded polynucleotide molecule. *J Am Chem Soc*, 1957, **79** (7): 2023~2024
- 2 Mirkin S M, Lyamicher V I, Drushlyak *et al.* DNA H form requires a homopurine-homopyrimidine mirror repeat. *Nature*, 1987, **330** (6147): 495~497
- 3 Eric Plum G, Daniel S P, Scoff F S *et al.* Nucleic acid hybridization: Triplex stability and Energetics. *Ann Rev Biophys Biomol Struct*, 1995, **24**: 319~363
- 4 Jagadeeshwar R, Marie B, Ghales M R. Stable three stranded DNA made by RecA protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88** (8): 2984~2988

- 5 Bruno F, Jean L M. Effect of third strand composition on triple helix formation: purine versus pyrimidine oligonucleotide. *Nucleic Acids Res*, 1996, **24** (15): 3181~ 3188
- 6 Maher L J, Dercan P B, Wold B J *et al.* Kinetic analysis of oligodeoxyribonucleotide-directed triple-helix formation on DNA. *Biochemistry*, 1990, **29** (37): 8820~ 8826
- 7 Fang Y, Bai C, Wei Y *et al.* Effect of selective cytosine methylation and hydration on the conformation of DNA triple helices containing a TTTT loop structure by FT-IR spectroscopy. *J Biomol Struct Dyn*, 1995, **12** (3, 4): 71~ 482
- 8 Colocci N, Dervan P B. Cooperative binding of 8-mer oligonucleotides containing 5'-(1-propynyl)-2'-deoxyuridine to adjacent DNA sites by triple helix formation. *J Am Chem Soc*, 1994, **116** (2): 785~ 786
- 9 Escude C, Francoes J, Sun J S *et al.* Stability of a triple helices containing RNA and DNA strands: experimental and molecular modeling studies. *Nucleic Acids Res*, 1993, **21** (4): 5547~ 5553
- 10 Kibler H, Kell B, Zon G *et al.* Sequence dependent effects in methylphosphonate deoxyribonucleotide double and triple helical complex. *Nucleic Acids Res*, 1990, **18** (12): 3545~ 3555
- 11 Egholm M, Buchardt O, Nielsen P E *et al.* Peptide nucleic acids (PNA). Oligonucleotide analogues with an achiral peptide backbone. *J Am Chem Soc*, 1992, **114** (5): 1895 ~ 1897
- 12 Wilson W P, Hopkins H, Mizan S *et al.* Thermodynamics of DNA triplex formation in oligomers with and without cytosine bases: influence of buffer species, pH, and sequences. *J Am Chem Soc*, 1994, **116** (8): 3607~ 3608
- 13 Koh S K, Dervan P B. Design of a nonnatural deoxyribonucleotide for recognition of GC base pairs by oligonucleotide-directed triple helix formation. *J Am Chem Soc*, 1992, **114** (4): 1470~ 1478
- 14 Volker J, Botes D, Lindsey G *et al.* Energetics of a stable intramolecular DNA triple helix formation. *J Mol Biol*, 1993, **230** (4): 1278~ 1290
- 15 Pascal B, Genevieve P, Bernard M *et al.* Cleavage of double-stranded DNA by metalloporphyrin-linker-oligonucleotide molecules: influence of the linker. *Nucleic Acids Res*, 1995, **23** (19): 3895~ 3901
- 16 Thomas T J, Carol A F, Michael A *et al.* Suppression of c-myc oncogene expression by a polyamine complexed triplex forming oligonucleotide in MCF-7 breast cancer cells. *Nucleic Acids Res*, 1995, **23** (17): 3594~ 3599
- 17 Fang Y, Bai C, Zheng P *et al.* Interaction of ethidium bromide with a triplex DNA dA₁₀•2dT₁₀. *Sciences in China B*, 1994, **37** (11): 1306~ 1311
- 18 Umemoto D, Breslauer K, Stein S *et al.* Structure and Stability of a DNA triple helix in solution: NMR studies on d(T)₆•d(A)₆•d(T)₆ and its complex with a minor groove binding drug. *J Am Chem Soc*, 1990, **112** (11): 4539~ 4545
- 19 Postal E H, Flint S G, Hogan M E *et al.* Evidence that a triple-forming oligodeoxyribonucleotide binds to the c-myc promoter in HeLa cells, thereby reducing c-myc mRNA levels. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88** (18): 8227~ 8231
- 20 Frank M O, Douglas W T, Michael M *et al.* Oligonucleotide inhibition of IL2R α mRNA transcription by promoter region collinear triple formation in lymphocytes. *Nucleic Acids Res*, 1991, **19** (12): 3435~ 3441
- 21 Takasugi M, Guendouz A, Chassignat M *et al.* Sequence-specific photo-induced cross-linking of the two strands of double-helical DNA by a psoralen covalently linked to a triple helix-forming oligonucleotide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88** (13): 5602~ 5606
- 22 Ryoiti K, Michio O. Protection of sequences by triplex-bridge formation. *Nucleic Acids Res*, 1995, **23** (3): 452~ 458
- 23 Miho S, Hideo I, Eiko O *et al.* Detailed study of Sequence-specific DNA cleavage of triple-forming oligonucleotides linked to 1, 10-phenanthroline. *Biochemistry*, 1994, **33** (2): 606~ 613
- 24 Panyutin I G, Neumann R D. Sequence-specific DNA double-strand breaks induced by triplex formation ¹²⁵I labeled oligonucleotides. *Nucleic Acids Res*, 1994, **22** (23): 4979 ~ 4982
- 25 Panyutin I G, Neumann R D. Radioprobng of DNA: distribution of DNA breaks produced by decay of ¹²⁵I incorporated into a triple-forming oligonucleotide correlates with geometry of the triplex. *Nucleic Acids Res*, 1997, **25** (41): 883~ 887
- 26 Huamin J I, Loydm S, Richard A G *et al.* Rapid isolation of cosmid insert DNA by triple-helix-mediated affinity capture. *Genetic Analysis Tech Application*, 1994, **112** (2): 43~ 47

Progress in the Stability and Biological Function of Triple Helix Nucleic Acid. SUN Xue-guang, CAO En-hua (*Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China*).

Abstract The research on triple helix DNA developed very rapidly in the last ten years and has become an important field of both molecular biology and genetic engineering. The current progress in this field was reviewed according to its stability and biological function. the stability of triple helix was discussed in terms of its endogenous and exogenous conditions such as chain length, base sequence, base modification, backbone structure of ODN and temperature, pH, salt, ligand binding. At the same time, its biological functions were summarized. These functions include regulating genetic expression

and transcription, protecting the DNA sequence from enzymes cleavage, serving as a molecular cleaver.

Key words triple helix nucleic acid, stability, biological function

背景氯离子通道研究进展

张光平 施玉樑

(中国科学院上海生理研究所, 神经生物学开放实验室, 上海 200031)

摘要 综述了目前了解得最为充分的一类电压门控氯通道——背景氯通道, 内容涉及选择性、门控和药理学以及通道蛋白的克隆和分子结构。氯通道广泛存在于细胞膜和细胞器膜, 作为“总管家”参与细胞 pH, 体积, 静息膜电位和兴奋性等多种细胞过程的调节。由于种种原因, 对氯通道的研究起步较晚。目前应用膜片钳和分子生物学技术对氯通道结构功能的研究已经成为一个热点。

关键词 背景氯通道, 选择性, 门控, 药理学, 分子结构

学科分类号 Q73

1 前言

Cl^- 是体内最为丰富和常见的阴离子, 多种生物膜存在着可测出的氯电导。氯通道几乎存在于所有利用膜片钳研究过的细胞质膜和细胞器膜。但由于氯通道不象 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 通道那样对兴奋的发生、传导和传递起直接、明显的作用和跨膜氯流 (I_{Cl}) 时程慢及电压依赖性弱, 分离鉴别困难, 常被视为漏电流而忽视, 从而使氯通道的研究迟迟未受重视, 直到膜片钳技术建立后才起步, 并成为近 10 年通道研究中的一个热点。新发现的氯通道种类与日俱增, 数量之多超过了除 K^+ 通道以外的任何通道。

氯离子的广泛分布和多种细胞存在着跨膜氯浓度梯度, 使氯通道参与细胞体积调节, pH 及静息膜电位和兴奋性的调节, 细胞分泌和激素作用等多种生理过程。

目前研究尚不能对氯通道进行系统分类, 但通常依其门控特性分为电压依赖和配体激活的两大类。前者包括背景氯通道, 双桶氯通道和大电导氯通道; 后者包括 γ -氨基丁酸

(GABA)、甘氨酸、乙酰胆碱 (ACh) 以及 Ca^{2+} 激活的氯通道。也有研究者以调制途径和功能特性将某些通道称为 cAMP 依赖的、G 蛋白偶联的或体积依赖的氯通道。

背景氯通道通常指这样一大类阴离子通道, 在包括静息膜电位在内的大范围膜电位水平即有相当开放几率, 在某些骨骼肌静息氯电导可占总静息电导的 70%~80%, 是 K^+ 电导的数倍。背景氯通道的广泛存在, 在很大的电压范围内激活, 长时间不失活等特性为研究提供了方便, 使它成为研究得最为充分的一类氯通道。

2 通道电导、选择性和离子转运机制

2.1 单位电导、电导亚态和外向整流

单位电导值分布很广, 在对称的 150 mmol/L Cl^- 条件下, 从 0.5 pS 到 1 300 pS^[1,2] 可跨越三个数量级。氯通道常常呈外向整流特征, 这不是正电压下通道开放几率增加的结果, 而象是由通道孔道的电学结构不对称造成的。

背景氯通道的另一个特征是电导亚态的存