

- Proc Natl Acad Sci USA*, 1987; **84**: 4372
- 13 Nowycky M C, Fox A P, Tsien R W. Three types of neuronal calcium channels with different calcium agonist sensitivity. *Nature* (London), 1985; **316**: 440
 - 14 Aosaki T, Kasai H. Characterization of two kinds of high-voltage-activated Ca-channel currents in chick sensory neurons. Differential sensitivity to dihydropyridines and ω -conotoxin GVIA. *Pflugers Arch*, 1989; **414**: 150
 - 15 Regan L J, Sah D W Y, Bean B P. Ca^{2+} channels in rat central and peripheral neurons: high-threshold current resistant to dihydropyridine blockers and ω -conotoxin. *Neuron*, 1991; **6**: 269
 - 16 Jones S W, Jacobs L S. Dihydropyridine actions on calcium currents of frog sympathetic neurons. *J Neurosci*, 1990; **10**: 2261
 - 17 Llinas R, Sugimori M, Lin J-W *et al.* Blocking and isolation of calcium channels from neurons in mammals and cephalopods utilizing a toxin fraction (FTX) from funnel-web spider poison. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; **86**: 1689
 - 18 Suszkiw J B, Murawsky M M, Fortner R C. Heterogeneity of presynaptic calcium channels revealed by species differences in the sensitivity of synaptosomal ^{45}Ca entry to ω -conotoxin. *Biochem Biophys Res Commun*, 1987; **145**: 1283
 - 19 De Aizpurua H J, Lambert E N, Griesmann G E *et al.* Antagonism of voltage-gated calcium channels in small cell carcinomas of patients with and without lambert-eaton myasthenic syndrome by autoantibodies, ω -conotoxin and adenosine. *Cancer Res*, 1988; **48**: 4719

室温下三重态探针在生物大分子研究中的应用

卑其新 程极济

(复旦大学生理学及生物物理学系, 上海 200433)

提 要

综述了室温下三重态探针的制备和测量技术, 并举例说明了室温下三重态探针在各种生物大分子的结构、功能和动力学研究中的应用。

关键词 三重激发态, 三重态探针, 磷光

长时间以来, 人们一直使用荧光探针研究生物大分子的结构、功能和动力学, 较少使用三重态探针。过去曾认为, 磷光只能在低温下观测到。近来发现这种观念是错误的。在解决了仪器测量及除氧等技术问题后, 在室温下可以观测到溶液中蛋白质等生物大分子的磷光。由于三重态至单线态的跃迁是自旋禁戒的, 因而三重态的寿命较长, 范围在毫秒至秒之间。因此, 三重态探针比单线态探针有更多的有利之处, 可以对生物大分子运动中的慢过程如酶转换数、脂和蛋白质在膜中的旋转运动, 生物大分子复合物的运动, 蛋白质和 DNA 结构域的挠性等进行研究。通过磷光发射的物理参数, 如光谱特性、偏振特性、寿命等可以了解以上过程。

1 三重激发态的探测

有很多方法可以探测三重态^[1]。磷光的测量是最直接的方法。由于许多样品的荧光强度比磷光强度大很多, 而且荧光和磷光发射光谱常常有一定程度的重叠, 因此, 大多数磷光测量仪采用脉冲方法, 即用闪光激发分子, 通过瞬时控制一个机械光闸, 除去寿命仅几纳秒的瞬间荧光后测量磷光。目前, 仪器采用氙灯闪光灯, 时间分辨率达毫秒级。而使用激光系统时间分辨率达亚微秒级。测量磷光的另一种方法是相位方法。这种方法采用一个连续的激发光源, 强度调制成正弦函数。这样, 发射光强

度也随时间变化,而且调制的相位也延迟了.从相移和调制情况中可以计算出三重态寿命及各向异性.

延迟荧光强度大于磷光强度时,也可通过延迟荧光探测三重态.延迟荧光是当三重态探针 T_1-S_1 能级间隙和热力学能量 kT 相当时,热诱导三重态 T_1 向单线激发态 S_1 跃迁,接着发出荧光,弛豫至基态.延迟荧光寿命与三重态寿命相同.一些室温下可发射延迟荧光的三重态探针有曙红、赤藓红和吡啶衍生物二氨基吡啶、吡啶橙.

三重激发态也可通过瞬态三重态-三重态吸收光谱来测量.用很强的氙灯或激光闪光产生 $S_0 \rightarrow S_1$ 跃迁,通过系间交叉 $S_1 \rightarrow T_1$ 产生三重态 T_1 ,再用第二个弱光源激发,通过 $T_1 \rightarrow T_2$ 瞬态吸收可探测三重态.当三重态寿命较短时,这种方法尤其有用.

通过基态衰竭三重态吸收各向异性方法也可研究三重态的特性.因为三重态寿命相对较长,在几次强光之后,可使许多分子跃迁至 T_1 态,引起基态 S_0 的布居数减少,因而通过部分漂白的基态的恢复,可以间接测量三重态寿命.这可通过直接测量 $S_0 \rightarrow S_1$ 吸收的变化或间接测量 $S_1 \rightarrow S_0$ 荧光的变化而知.

2 三重态探针

几乎所有发荧光的分子都发磷光,因此有很多合适的三重态探针可供人们用于生物分子的研究.通过分子修饰,如芳香环中掺入重原子溴或碘,化合物重氢化等,可获更多的三重态探针.

有些生物分子本身就含有三重态探针,如蛋白质中的 Trp 残基,在合适的环境下发射长寿命磷光.一些铜离子的蛋白复合物,如二孢蘑菇中酪氨酸的 Cu-CO 复合物及大蜗牛中的血蓝蛋白 Cu-CO 复合物在室温下发射长寿命磷光.此外,维生素 B_6 也能形成长寿命的三重激发态.

血红素本身不发光,但移去铁原子可以发射荧光和磷光.若进一步在卟啉中掺入闭壳层

的金属原子,可影响系间交叉速率,进而影响荧光和磷光产额.这些修饰后的血红素分子可作为生物分子的内在三重态探针.

曙红和赤藓红是最常用的外在的三重态探针,它们是荧光素经溴化或碘化后形成的,可发射磷光.量子产额相对较大,但具体产额依赖于环境.另一些三重态探针二氨基吡啶、甲烯蓝、四溴罗丹明 123 等,可插入 DNA 双螺旋堆积的碱基中,用以研究 DNA 构象的变化.此外,还有很多在室温下发射磷光的三重态探针分子.

3 生物大分子磷光的内部猝灭及外部猝灭

蛋白质内部某些残基能猝灭磷光.马细胞色素 c 中有一个埋藏的 Trp 残基,它能通过单线态——单线态能量转移把能量几乎 100% 转移给邻近的血红素基团,因而不发射磷光.蛋白质中的含硫残基,由于硫原子可增加系间交叉,因此也能猝灭磷光.

外部分子也能猝灭磷光,提出的模型有: a. 猝灭剂渗透到分子内部; b. 蛋白质有部分的伸展,产生瞬时暴露; c. 猝灭剂连接; d. 猝灭剂与三重激发态通过长程转移相互作用.这些模型预言了不同的大小、电荷、温度、粘度对猝灭作用的影响^[2]. 一个猝灭剂作用的具体机制与被猝灭分子及猝灭剂有关.

室温下,氧是磷光最主要的猝灭剂.因此,室温下观测磷光需严格除氧.除氧有各种方法.如采用连二亚硫酸盐或酶法除氧或二者联合使用,有的采用样品在真空下充氮气重新平衡的方法来除氧.

其他小分子 NO, CO, H_2S 也能猝灭 Trp 的磷光.

4 Trp 磷光探测蛋白质的结构与动力学

室温下蛋白质中长寿命三重激发态最先是瞬态吸收方法观测到的.1967年,Hastings和 Gibson^[3]报道了无氧条件下,在细菌荧光

素酶中观察到长寿命磷光。1974 年 Saviotti 和 Galley^[4] 报道了几种蛋白质在高温下的磷光光谱,显示了 Trp 磷光的特征振动结构。这些光谱使人确信,在室温下只要仔细除去氧,就可以观察到蛋白质中 Trp 的磷光。

磷光寿命在室温范围内跨越 5 个数量级,蛋白质的构象变化对磷光产额和寿命有很大影响。Kai^[5] 等研究了温度猝灭的起始对蛋白质的依赖性,结果表明某一蛋白质中各种结构域的熔化温度是不一样的。在种系较远的脱铁卟啉肌红蛋白中观察到磷光产额与寿命对温度具有不同依赖性,表明磷光对构象的细微变化敏感。Gonnelli^[6] 等跟踪测量了肝乙醇脱氢酶在尿素变性过程中残基 Trp-134 磷光的变化,得知变性发生磷光也消失,反应动力学是高协同变性反应。蛋白质在结晶态与溶液中有几乎一样的磷光寿命。氧猝灭常数及寿命对温度的依赖性说明溶液中与晶体状态中蛋白质构象几乎是一样的。

晶状体中的 α -晶体蛋白的磷光衰减有两个不同寿命的组分,表明 Trp 残基至少存在于两类不同微环境中。磷光寿命的 Arrhenius 图中的曲线在 26—29℃ 是不连续的,反映此时片段挠性发生了突然转变。另在 6mol/L 盐酸胍及 8mol/L 尿素中分别得到 3ms 与 7ms 两个长寿命组分,说明即使在高浓度变性剂中,这些特别稳定的蛋白也能保存某些结构特征。

Strambini^[7] 等研究了粘度对 Trp, 1-甲基色氨酸酰胺和含 Trp 肽的磷光的作用。粘度在 10^3 — $1\text{kPa}\cdot\text{s}$ 范围变化时,磷光衰减速率变化了 100 倍。由于平面外扭曲会增加三重态与单线态混合使寿命减小,因此基于磷光对粘度的依赖关系,得知蛋白质中 Trp 磷光寿命长是反映了 Trp 位点的刚性。而快速的片段运动则表现出短磷光寿命。

对于含单个 Trp 的蛋白质,长寿命磷光与荧光相对蓝移有关。由于蓝移与吡啉微环境的疏水性有关,因此磷光寿命越长说明基团埋藏越深。

Strambini^[8] 等发现,室温下真空干燥后的

蛋白质晶体中 Trp 磷光强而且寿命长,与 Trp 位置无关。分子水化后则磷光强度与寿命都减小。可见,脱水蛋白质有刚性结构。蛋白质表面带电基团间静电相互作用提供四级结构的稳定化能量,水分子的运动则减少了静电稳定化能量,导致表面残基的涨落,这表明位点的刚性导致磷光寿命长。

5 三重态探测蛋白质分子的旋转运动

三重态技术提供了在 μs 至 ms 时间尺度上研究分子运动的可能性。通过磷光或延迟荧光各向异性衰减,可以探测分子的旋转运动。三重态瞬间偏振吸收及偏振荧光衰减也可用来测量旋转运动。到目前为止,使用内部与外部三重态探针,已研究了许多生物大分子的片段挠性和旋转运动。

Trp 是蛋白质中的内在三重态探针。Berger 和 Vanderkooi^[9] 通过测量 TMV 病毒衣壳蛋白质中 Trp 磷光,观察了时间分辨的磷光各向异性。在 85% 甘油中,5—20℃ 下的双相各向异性的衰减与圆柱形病毒的大小与形状一致。

血红素是蛋白质中另一种三重态探针。用偏振光光解后血红素-CO 加合物的偏振吸收各向异性可测量含血红素蛋白质的旋转运动。不能形成 CO 复合物的血红素蛋白,可以用一个能够通过增加系间交叉而增强吡啉磷光的金属原子代替铁,然后用三重态各向异性技术测量旋转运动。

红细胞血影膜中带 3 蛋白是第一个用三重态探针偏振测量的膜蛋白。Cherry^[10] 等用闪光光解和瞬态吸收研究了曙红异硫氰化物标记的带 3 蛋白的旋转运动。最初结果表明:带 3 蛋白能围绕垂直于膜平面的轴进行旋转扩散,扩散常数为 $10^3/\text{s}$ 。进一步实验表明,有快慢两种旋转形式共存。两者平衡决定于温度,在低温下是慢旋转。这表明,依赖于温度的蛋白质与蛋白质的缔合作用能极大影响膜动力学。其后,蛋白水解研究证实了这一发现。40% 的带 3 蛋白是与红细胞的骨架相连的,蛋白质聚集作用受胆固醇及连于带 3 蛋白的蛋白质和多肽

的影响。在重组的脂质体中观察到蛋白的自我聚集是依赖于浓度和温度的，这与完整红细胞膜中的观察结果一致。

血型糖蛋白是红细胞膜中的另一种蛋白。对它研究可了解脂与蛋白的相互作用及它们在生物膜结构与功能中的作用。Jovin^[11]等用赤藓红异硫氰化物标记血型糖蛋白，用磷光去偏振测量蛋白质的旋转运动。标记的血型糖蛋白在99%甘油及重组于二甲基磷脂酰胆碱(DMPC)囊泡中磷光各向异性衰减表明：在甘油中蛋白旋转相关时间是 $1\mu\text{s}$ — 1ms ，且有非零的剩余各向异性。这些结果反应了非常快速的片段挠性及大聚集体的存在。在DMPC中观察到相关时间在 1 — $2\mu\text{s}$ 及 10 — $20\mu\text{s}$ 范围内，显示高度有限的各向异性。这相应于显著的片段挠性及很大的聚集体的形成。初始的及剩余的各向异性随温度增加而减小，反映了聚集态对温度的依赖性。

肌细胞中肌浆内质网膜上的Ca-ATPase能调节肌肉运动中的钙浓度。ATPase活性是高度调控的。Hoffmann^[12]等用曙红异硫氰化物标记蛋白，用闪光诱导的瞬间三重态的二色性来研究旋转运动。旋转运动的Arrhenius曲线在 15°C 与 35°C 都表现出不连续性。而酶活性的Arrhenius曲线在 15°C 时有一转折。表明 15°C 时，ATPase构象发生突然转变从而引起酶活性的突然转变。Restall^[13]等观察了在亚微秒级的衰减组分，提出一个模型：磷光团本身在亚微秒时间范围内可围绕连于大结构域的轴重新取向，而大结构域则在微秒范围内旋转。一部分蛋白在 100 — $200\mu\text{s}$ 自由扩散，另一部分在亚毫秒时间尺度里静止。加入 Ca^{2+} 后，各向异性发生变化，说明蛋白质构象起了变化。

病毒融合时必定发生构象变化。有人认为病毒运动有助于融合。为验证这一观点，Lee^[14]等用闪光诱导曙红探针的瞬态二色性研究仙台病毒糖蛋白的旋转扩散运动。在 37°C 观察到 100 — $200\mu\text{s}$ 的各向异性组分，这组分是绕垂直于膜平面轴进行旋转的运动。初始具有低值的

各向异性，反映了糖蛋白片段的挠性。片段旋转运动依赖于温度，并在 30°C 至 35°C 有一陡然增加，这与病毒诱导的溶血的温度依赖性是一致的，表明融合活性与旋转运动是相关的。

6 三重态探测脂、脂蛋白和核酸的运动

关于这方面的研究目前还比较少。Blatt^[15]等研究了曙红标记的不同链长的脂肪酸在DMPC囊泡中的磷光性质。曙红分别标记在脂肪酸16位和12位碳原子上。二价铜离子能猝灭12位的磷光，而疏水分子N-N二甲基苯胺能猝灭16位的磷光，因而16位碳是埋藏在膜的疏水中心。相变点以上，磷光各向异性的旋转相关时间为 $5\mu\text{s}$ ，进行单指数衰减但并不减至零。相变点以下，衰减是多指数的。作者认为，曙红探针阻碍了旋转运动。采用磷光各向异性技术和荧光漂白恢复技术，Blatt等人在长时间和短时间尺度上研究了 Ca^{2+} 对于脂分子在囊泡中旋转与侧向扩散的影响。在相变点下，增加 Ca^{2+} 浓度，所有运动都减慢了，说明发生很强的脂与脂的聚集作用。相变点以上，加入 Ca^{2+} 后，在磷光时间尺度内挠性增加了，但在荧光时间尺度内，由于脂、水界面结构发生变化导致运动性减小。

Tilley^[16]等研究了曙红标记的极低密度脂蛋白、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白的旋转运动。观察到两种运动：短时间常数属于生色团的片段挠性，长时间常数反映了整体的翻转运动。在受体结合时，旋转运动受限制，但是片段挠性依然保持，即使在膜结合的脂蛋白中也是如此。

Wang^[17]等研究了核小体中DNA构象的挠性，得到30ns时间常数。数据与核小体的扭曲运动及旋转运动一致。核小体中DNA的扭曲刚性与未络合的DNA是一样的，表明核小体中DNA保持着扭曲的特性。

Hoggan^[18]等用DNA特异嵌合剂甲烯蓝及代替 Ca^{2+} 的发光阳离子 Tb^{3+} 来研究核小体的结构。据甲烯蓝各向异性衰减及氧猝灭研究

表明,有 Ca^{2+} 时,核小体中有二类不同的甲烯蓝分子位点,第一种显示刚性,很象甲烯蓝分子嵌合到直链 DNA 中。第二种位点显示大尺度自由运动,而且易于被氧猝灭。Berkoff^[19] 等用氧猝灭甲烯蓝分子三重态研究 DNA,发现相对于 dG-dC 寡聚核苷酸,小分子更易进入 dA-dT 寡聚核苷酸内部。

Austin^[20] 等用玫瑰红或曙红异硫氰化物标记 RNA 多聚酶,研究其溶液状态或与 DNA 形成非特异复合物状态中的各向异性。在溶液中各向异性不是单指数衰减,说明分子非球形而且运动复杂。对盐浓度敏感与依赖于离子的二聚体形成相一致。在 DNA-蛋白复合物中的各向异性衰减,则可用一个 DNA 扭曲变形运动模型来说明,他们的数据表明 DNA 并不是一个刚性棒构象。

7 细胞及组织中的三重态及应用

室温下,多数蛋白质会发磷光,当然较大聚集集体也会发磷光。骨骼肌中肌浆内质网膜主要含 Ca^{2+} -ATPase 和磷脂,完整分离出来的膜和纯化的 ATPase 都发射磷光,有相似的多指数衰减特征。在完整的人红细胞、白细胞及其他各种来源的完整细胞中(酵母、鸡胚等)也测得室温下长寿命磷光。

三重态在组织中有一重要应用:即对组织中的氧分布可原位成像。氧可以猝灭三重态,三重态的寿命是氧浓度的函数,因此可以用磷光检测氧这个代谢中的重要分子。Pd-卟啉中系间交叉很快,磷光产额比荧光产额高很多,因而可用连续光源直接测量磷光。这一特征使磷光有一潜在的用途:通过磷光获得氧在组织中分布的原位成像。当用含氧的灌注液迅速灌注到样品中,组织中的氧浓度就很高,因此不会有磷光。当灌注速率减慢时,由于组织消耗了一部分氧,氧浓度就会降低,磷光强度也就增加。整个组织磷光强度分布不均匀,磷光强的区域氧浓度就低,反之则氧浓度就高。因此用磷光测定组织中的氧,就可提供一个常规的技术获得氧在组织中分布的图像。

小 结

室温下三重激发态的应用拓宽了生物分子研究中的时间尺度。磷光与荧光探针一起,使人们可在 ns—s 范围内研究生物大分子的结构、功能与动力学。此外生化体系中在无光条件下也可能产生三重激发态,这使三重激发态应用前景更加广阔。

参 考 文 献

- 1 Vanderkooi J M, Berger J W. Excited triplet states used to study biological macromolecules at room temperature. *Biochim Biophys Acta*, 1989; 976(1): 1
- 2 Papp S, Vanderkooi J M. Tryptophan phosphorescence at room temperature as a tool to study protein structure and dynamics. *Photochem Photobiol*, 1989; 49(6): 775
- 3 Hastings J W, Gibson Q H. The role of oxygen in the photoexcited luminescence of bacterial luciferase. *J Biol Chem*, 1967; 242(1): 720
- 4 Saviotti M L, Galley W C. Room temperature phosphorescence and dynamic aspects of protein structure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974; 71(10): 4154
- 5 Kai Y, Imakubo K. Temperature dependence of the phosphorescence lifetimes of heterogeneous tryptophan residues in globular proteins between 293 and 77 K. *Photochem Photobiol*, 1979; 29(2): 261
- 6 Gonnelli M, Strambini G B. The rate of equine liver alcohol dehydrogenase denaturation by urea dependence on temperature and denaturant concentration. *Biophys Chem*, 1986; 24: 161
- 7 Strambini G B, Gonnelli M. The indole nucleus triplet-state lifetime and its dependence on solvent microviscosity. *Chem Phys Lett*, 1985; 115(2): 196
- 8 Strambini G B, Gabellieri E. Intrinsic phosphorescence from proteins in the solid state. *Photochem Photobiol*, 1984; 39(6): 725
- 9 Berger J W, Vanderkooi J M. Rotational diffusion of the tobacco mosaic virus as measured by the anisotropy of the native phosphorescent emission. *Photochem Photobiol*, 1988; 47: 10s
- 10 Cherry R J, Bürkli A, Busslinger M *et al*. Rotational diffusion of band 3 proteins in the human erythrocyte membrane. *Nature*, 1976; 263: 389
- 11 Jovin T M, Bartholdi M, Vaz W L C *et al*. Rotational diffusion of biological macromolecules by time-resolved delayed luminescence (phosphorescence, fluorescence) anisotropy. *Ann NY Acad Sci*, 1981; 366: 176
- 12 Hoffman W, Sarzala M G, Chapman D. Rotational motion and evidence for oligomeric structures of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -activated ATPase. *Proc Natl Acad Sci*, 1979; 76(8): 3860
- 13 Restall C J, Cobe M, Murray E K *et al*. Conformational changes in the (Ca^{2+} , Mg^{2+})-ATPase of sarcoplasmic reticulum detected using phosphorescence polarization.

- Biochim Biophys Acta*, 1985; 813(1): 96
- 14 Lee P M, Cherry R J, Bächi T. Correlation of rotational mobility and flexibility of sendai virus spike glycoproteins with fusion activity. *Virology*, 1983; 128(1): 65
 - 15 Blatt E, Corin A F. The microsecond rotational motions of eosin-labelled fatty acids in multilamellar vesicles. *Biochim Biophys Acta*, 1986; 857(1): 85
 - 16 Tilley L, Sawyer W H, Morrison T R *et al.* Rotational diffusion of human lipoproteins and their receptors as determined by time-resolved phosphorescence anisotropy. *J. Biol Chem*, 1988; 263(33): 17541
 - 17 Wang J, Hogan M, August R H. DNA motions in the nucleosome core particle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982; 79(19): 5896
 - 18 Hogan M E, Rooney T F, Austin R H. Evidence for kinks in DNA folding in the nucleosome. *Nature*, 1987; 328: 554
 - 19 Berkoff B, Hogan M, Legrange J *et al.* Dependence of oxygen quenching of intercalated methylene blue triplet lifetime on DNA base-pair composition. *Biopolymers*, 1986; 25(2): 307
 - 20 Austin R H, Karohl J, Jovin T M. Rotational diffusion of *Escherichia coli* RNA polymerase free and bound to deoxyribonucleic acid in non-specific complexes. *Biochemistry*, 1983; 22(13): 3082

螺旋-环区-螺旋蛋白质——DNA 结合蛋白的新类型

李建义 童坦君

(北京医科大学生化教研室,北京 100083)

提 要

最近发现了一种特殊的蛋白质结构域,它广泛地存在于动、植物体的 DNA 结合蛋白 (DBP) 中.此结构称为螺旋-环区-螺旋 (helix-loop-helix, HLH) 结构. *c-myc* 基因和 *MyoD* 基因的蛋白质产物有此结构.在增强子结合蛋白 (EBP) 中也发现了 HLH 结构,如 *E2A* 基因的产物——*E12/E47*.已报道的 20 多种 HLH 蛋白质几乎全与转录的调节和肿瘤的发生有关.

关键词 HLH 蛋白, DNA 结合蛋白 (DBP), *c-myc* 基因

目前关于 DNA 结合蛋白的研究已成为分子生物学的热点. DBP 可结合在 DNA 的某一特定部位,它不仅可以调节 DNA 的复制,重组和转录,还在染色质的解旋、盘绕和折叠过程中起重要作用.基因的活化蛋白和阻遏蛋白研究较为深入.这些蛋白质分子有以下几种特殊结构: a. 螺旋-转折-螺旋 (helix-turn-helix, HTH) 结构.它最初是在细菌的蛋白质中发现的^[1]. b. 锌指结构 (zinc fingers), 含有此结构的蛋白质是一类真核细胞基因的调节因子^[2], *TFIIIA* 中有 9 个锌指结构, c. 亮氨酸拉链 (leucine zipper, LZ), 此结构存在于 *fos*, *Jun*, *myc* 基因编码的蛋白质中^[1]. d. 螺旋-环区-螺旋结构^[3]. 本文主要介绍 HLH 结构.

1 HLH 结构特点

HLH 结构由三部分组成,两端为 α -螺旋,中间是由一个或几个 β -转角组成的环区. 大约有 60 个氨基酸残基^[4]. 两个 α -螺旋含有许多高度保守的疏水氨基酸. α -helix I 中有 12 个疏水氨基酸残基. 在 α -螺旋的疏水侧, *Leu* 和 *Phe* 具有高度的保守性,与它们相连的氨基酸残基也是疏水氨基酸. α -helix II 中有 13 个疏水氨基酸,其中有 5 个具有高度保守性^[5] (见图 1).

中间的环区一般含有多个阻碍 α -螺旋形