

- 22 Hoylaerts M. F, Bollen A, Broe M E D. The application of enzyme kinetics to the determination of dissociation constants for antigen-antibody interactions in solution. *J Immunol Methods*, 1990; 126: 253
- 23 Chapman V, Fletcher S M, Jones M N. A simple theoretical treatment of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and its application to the detection of human blood group antigens. *J Immunol Methods*, 1990; 131: 91
- 24 Inagaki H, Katoh M, Kurosawa-Ohsawa K *et al.* A new sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for transforming growth factor α (TGF α) based upon conformational modification by antibody binding. *J Immunol Methods*, 1990; 128: 27
- 25 Huang P L T, Kolk A H J, Eggelte T A *et al.* Measurement of antigen specific lymphocyte proliferation using 5-bromo-deoxyuridine incorporation. *J Immunol Methods*, 1991; 140: 243

三链 DNA 的形成、结构测定及可能的生物学作用

郭 军 张平城 白春礼

(中国科学院化学研究所, 北京 100080)

提 要

对三链核酸的历史发展进行了简单的回顾。对三链 DNA 的形成条件、制备方法、结构测定手段和量子生物学方法分别加以评述, 指出了近期及今后的研究趋向。简单地讨论了三链核酸可能的生物学作用, 指出它具有特异性裂解正常 DNA 分子的功能并可阻断、诱导基因转录, 在治疗遗传性、病毒性疾病方面可能具有较大应用价值。

关键词 三链 DNA, 三链核酸, 三螺旋, Hoogsteen 碱基对, H-DNA

在过去相当长一段时间内, 三链 DNA 的生物学研究一直是一个比较受冷落的课题。1991 年 6 月 7 日, Moffat 在美国《Science》杂志发表了题为“三链 DNA 终于走向成熟”的文章^[1]。对三链 DNA 的当时最新动向做了简评, 认为三链 DNA 在充当“分子剪刀”以及阻断基因转录方面可能会具有较大的应用价值。Dervan, Helene 及 Hogan 三个研究小组已用第三股 DNA 来专一性地切断 DNA 的结合部位; Moffat 文中还提出, 至少在试管实验中, 三链 DNA 的形成可以选择性地抑制目标基因的转录。这些研究可以说是三链 DNA 领域的重要的转机, 因而引起人们的广泛的重视。

下面大致上从三链 DNA 的形成、结构测定、相应的量子生物学计算及可能的生物学作用等方面将一些有代表性的研究成果分类综

述。由于 DNA 与 RNA 结构及生物学作用的密不可分, 文中也提及了一些 DNA 和 RNA 杂交形成的三链结构的研究工作。

1 三链 DNA 的形成

早在 1957 年, Davis, Felsenfield 及 Rich 等 3 人就提出了三链核酸结构的概念, 他们以二条 poly(U) 和一条 poly(A) 链合成出一种三链物质。但当时并未引起人们的注意。主要原因当然是因为当时 Watson-Crick 双螺旋模型刚提出不久, 它解释了很多遗传现象, 而三螺旋模型却对此无能为力。此外还由于这种三链结构是由 RNA 形成而非 DNA。于是除了少数物理化学家外, 人们对这种实验室合成出

的三链物质没有太多兴趣。

1966 年, Miller 和 Sobell 提出了第三股 RNA 可连接到操纵基因上作为阻遏物的设想, 但由于同年证实了乳糖阻遏物是一种蛋白质, 以 RNA 为阻遏物的设想就被冷落了。

1975 年, 加州大学 Perlmut 等人研究了体外三链 DNA 的形成过程^[2]。按标准 DNA 制备步骤, 从牛脾脏中以 $MgCl_2$ 代替 SSC (氯化钠-柠檬酸钠缓冲液) 制备出牛脾 DNA 的镁盐 ($MgDNA$)。天然牛脾 $NaDNA$ 经热变性可制得相应的单链的 $NaDNA$ 。根据 260nm 处双链 $MgDNA$ 与变性单链 $NaDNA$ 结合时的减色效应, 可推知三链 DNA 的形成, 其浮力密度为 $1.726g/cm^3$ 。

Raaij 等研究了在 T4 聚核苷酸连接酶催化作用下, 三链核酸的链接形成过程^[3]。他们的结果表明, 这些核酸确实能够形成三链结构。在紫外吸收曲线上可以看到有三链核酸的转折点, 低温下混合物吸收曲线的形状表明存在三链和双链化合物, 主要产物还是 1:2 的三链结构, 实验还发现在三链 DNA 中 T4 连接酶仍可催化 dT_{10} 的连接, 并且反应速率同形成双、三链 DNA 的速率大致相同。

研究者们还观察了多胺对反应的影响, 发现低浓度的多胺、腐胺、尸胺及亚精胺 ($<10^{-3} mol/L$) 对 T4 酶在双链载体上的催化连接反应有激活作用。而当浓度较高时, 则又呈明显的抑制作用。由此得出结论: 低浓度的多胺增加三链结构的连接反应速率。

Lee 等研究了 $(Py)_n \cdot (Pu)_n$ DNA (Py 为嘧啶, Pu 为嘌呤) 在 $pH < 6$ 情况下的结构形式与变化^[4]。有四条证据表明这种化合物是由一个三链化合物及一个具有二级结构的多聚 $d(Pu)$ 组成。

以前有人提出, $Py \cdot Pu$ DNA 结构作用的特殊性, 在于 $Py \cdot Pu$ DNA 能与 RNA 形成三链化合物的高度特异性, 例如, $d(TC)_n \cdot d(GA)_n$ 只与 $r(UC)$ 相互作用形成三链化合物 $d(TC)_n \cdot d(GA)_n \cdot r(UC^+)_n$, 两条嘧啶链是反平行的, RNA 链沿着 DNA 的大沟缠绕, 以

Hoogsteen 碱基对方式配对。这就需要有一个质子化的胸腺嘧啶, 因此, 这类结构在较低 pH 值下有利。

Letai 等以琼脂连接的均聚核苷酸亲和柱为手段, 研究了形成三链核酸化合物的特异性^[5], 即均聚、共聚 DNA 和 RNA 碱基互补配对的特异性。

1987 年, Mirkin 等从准天然途径中发现了 DNA 的三螺旋结构^[6], 这为三链 DNA 在生物体内存在的可能性带来了希望之光。以此为转机, 对三链 DNA 研究的势头在国外兴盛了起来。Mirkin 等在酸性溶液的质粒中发现了 DNA 的一种三链结构, 称为 H-DNA (hinged DNA, 可译为“绞链 DNA”)。规则的均聚嘌呤核苷酸-均聚嘧啶核苷酸片段 $(dC-dA)_n \cdot (dT-dC)_n$ 和 $(dG)_n \cdot (dC)_n$ 在低 $pH(4.3)$ 条件下, 经过超螺旋诱导, 发生结构转变, 生成新的 DNA 构型, 即 H 构型 (见图 1)。研究者提出, H 构型可以在任何可以镜象重复的均聚嘌呤核苷酸-均聚嘧啶核苷酸中产生 (核苷酸序列具有 H 回文形式)。为了验证此假设, 采用了一系列裁剪过的质粒片段, 均含有 AAGGGAGA AXGGGGTATAGGGGYAAGAGGGAA 这样的内插序列, 其中 X, Y 为 A 或 G, 通过二维凝胶电泳进行分析。结果表明, 当 $X=Y=G$, 或 $X=Y=A$ 时 (具有 H 回文形式: 正读倒读前后两部分的序列都是一样的), 插入序列很容易转变为 H 构型; 而在 $X=A, Y=G$; 或 $X=G, Y=A$ 两种情况下 (非回文形式), 构

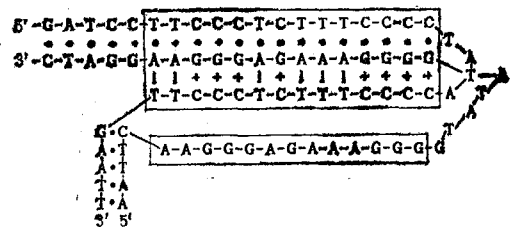


图 1 质粒 pGG32 的 H-DNA 结构示意图

W-C 双螺旋氢键以黑点表示, 三螺旋的氢键以“+”及“-”表示 (Hoogsteen 碱基对)。注意 H-DNA 不但包括了一段三螺旋核酸, 也带有一段单链核酸 (下方长方框内)。两条链在方框内的部分都具有 H 回文序列。可以看出, H-DNA 的作用之一是使 DNA 弯曲转向

型转变要困难得多,几乎不可能。研究者认为, H 构型是 S1 核酸酶超敏性的结构基础。

1990 年底,白春礼等在用扫描隧道显微镜 (STM) 研究噬菌体 λ DNA-Hind III 的变异结构时,发现了一种新的三链 DNA 结构,称为三链辫状 DNA^[7]。实验方法为:将这种 DNA 的水溶液加热到其 T_m 点之上的 100°C ,保持约 15min 左右,然后快速降温到 0°C 。将此经过处理的稀溶液滴到新鲜剥离的裂解石墨表面上,待溶剂蒸发后,在室温条件下用 STM 直接进行观察,从获得的图象上看到了由三条 DNA 链形成的发辫状三链结构,并且还观察到由双螺旋结构片段与三链辫状结构片段的衔接结构,以及右手双螺旋与左手双螺旋结构片段的衔接结构。这种前所未有的三链 DNA 结构引起了国内外学术界的关注。

2 三链核酸的结构及测定

三链也同样的通过氢键作用形成,也有它的专一性。目前一般认为,三链的基本结构有

两种,一种是嘧啶-嘌呤-嘧啶,如 TAT, CGC⁺ 等;第二种是由嘌呤-嘌呤-嘧啶组成,如 AAT, GGC 等(如图 2 所示)。可见,三螺旋的形成,所受的限制要比双螺旋多。首先,中间的碱基一定得是嘌呤;其次,双螺旋的形成只需四个核苷酸以上即可,但三螺旋据推测至少要八个以上,所以,三链结构需要特殊条件才可产生。这种条件在生物体内也许比较难遇,但在实验室中却很容易实现,所以很多有关三链的研究都以人工合成的寡聚核苷酸为样品。对于三链结构的初步研究表明,第三条链一般是沿着双螺旋的大沟缠绕上去。由于 A 型核酸的大沟较 B 型大,所以一般认为三螺旋结构应当是 A 构型。但对三链辫状结构则不然,由于三条 DNA 单链在空间构型上都处于“均等”的位置(见图 3),每条链的作用基本相同。

关于三链核酸的结构,各国研究者已进行过一些有成效的研究工作,获得了很多结构信息。但总的来说,还缺乏足够的认识。

Pilth 等对 $(\text{dA})_{10} \cdot 2(\text{dT})_{10}$ 三螺旋进行

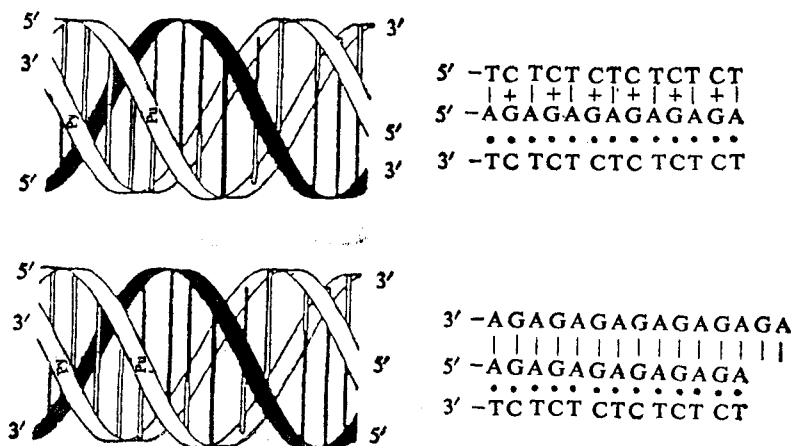


图 2 三链核酸的空间构型图

第一类为嘧啶-嘌呤-嘧啶(上图);第二类为嘌呤-嘌呤-嘧啶



图 3 三链辫状 DNA 的 STM 图象临摹
下方为三链与双链的衔接处

了结构分析^[8]。研究者在中性 pH 的 MgCl_2 溶液中诱发出三螺旋 $(\text{dA})_{10} \cdot 2(\text{dT})_{10}$ 并使之稳定。进行了圆二色谱 (CD) 及核磁共振谱 (NMR) 研究,核 Overhause 效应 (NOE) 对未氘代和 $\text{C}_8\text{-H}$ -氘代的 $(\text{dA})_{10} \cdot 2(\text{dT})_{10}$ 三链的测量表明,在溶液中亚胺上的质子和腺嘌呤 $\text{C}_8\text{-H}$

H 质子及芳香质子 C₂-H 之间有偶极接触,因此,在 MgCl₂ 溶液稳定的三链结构中,胸腺嘧啶亚胺上的质子 N₃-H 既包含 W-C 又含 Hoogsteen 碱基对。

最近的多聚核苷酸纤维衍射研究支持了一种常见的三螺旋的模型,第三条链位于下面的双链大沟中,并以 Hoogsteen 碱基配对方式与双链接触。

NMR 研究也证实了三链形式中存在 W-C 及 Hoogsteen 碱基对,对八聚及十一聚体三链的研究表明,包含有 TAT 及 CGC⁺ 三链碱基,在低 pH 及/或 MgCl₂ 中较稳定。UV 及 CD 实验研究均证实 1:2 的摩尔比形成了三链的 (dA)₁₀ · 2(dT)₁₀。

Rajagopal 等研究了溶液中 DNA 三螺旋的形成及结构^[9]。主要运用了一维及二维质子 NMR 谱及 NOE 测量方法。虽然嘧啶-嘌呤-嘧啶三螺旋的基本结构曾根据纤维衍射研究作出过预测,然而目前的 NMR 研究提供了关于溶液中存在此类结构的第一个直接证据。

第一组使用了两种八聚体, d(G-A)₄ 及 d(T-C)₄, 分析表明,在中性 pH 下,等量的寡聚物形成 B 型双螺旋结构,而在低 pH 下,样品包含了双链和三链的混合物。形成的主要三链有四个 T-A-T 及三个 C-G-C⁺ 三链碱基对,由第二条寡聚嘧啶与具有最后未配对胞苷的寡聚嘌呤平行键合。关于三链的螺旋构型, NMR 数据表明嘧啶链具有 A 构型。

第二组使用了七聚链及十一聚链,由相当随机的嘌呤及嘧啶系列组成。每一组的序列都作了设计,以使寡聚嘌呤能够以一种反平行方式补偿一条寡聚嘧啶链,另一条则为平行方式。NMR 谱证明在酸性 pH (5.0) 条件下, TAT 及 CGC⁺ 三链碱基能够形成,当 pH 值提高至中性,三螺旋又解离为双链和单链组分。三链的总体构型是 A 构型,与纤维衍射研究结果相似。

高分辨 NMR 方法在监测不同的三链碱基异常氢键键合作用上认为是最有用的方法,甚至可扩展至四链或八链结构。然而由于这种方

法限制在相对小分子量化合物 (<50 核苷酸),其它类似方法如 X 射线晶体学、凝胶电泳及酶探针等,可用于研究较大分子量化合物体系如 H-DNA 等。

新近发展起来的一种新方法就是用分辨率极高的扫描隧道显微镜来测定这种结构,我国科技人员已经成功地用这种方法观察到三链 DNA 的存在^[7](见图 3)。

Arnott 等用 X 射线衍射法测定了三链 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 的结构^[10],与前面已描述过的 RNA 三链化合物作了比较,发现 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 在构型上类似 poly(U) · poly(A) · poly(U) 及 poly(I) · poly(A) · poly(I)。对三链 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 的精细结构进行了研究后指出,三链化合物的精细结构远比双链复杂,因为三条多聚核苷酸链彼此各不相同。研究者假定 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 的碱基氢键键合作用与 poly(U) · poly(A) · poly(U) 相同,以 T 替代 U 即可。用原子关联最小二乘法 (LALS) 在计算机内可构造出这种分子结构模型。

Griffith 等人研究了蛋白质 Rec A 催化形成的三链结合体的结构^[11]。在一个线型 ds DNA 和环形 DNA 配对过程中观察到无蛋白的较长三链区域。所有三条链有十分规则的结构,好象典型的正常双螺旋 DNA,然而在上千个碱基长度上却包含着三条紧密相连的 DNA 链。

Htun 等人研究了三链 H-DNA 的形成和拓扑学结构^[12]。重复的共聚物 (dT-dC)_n · (dA-dG)_n。序列 (TC · AG)_n。可假定为是一种 H-DNA 结构,由三链和单链区域组成。研究者提出了形成 H-DNA 的一种模型: H-DNA 的形成始于共聚物内部的一个小的变性包,其中的双链 DNA 在一边轻微旋转、折叠回去,以生成第一个三链碱基对。这种成核过程建立了一种非平衡的 H-DNA 构型。假定为,任一 DNA 分子,捕捉到了一条处于不能进行自由内部转变的亚稳态构型的 DNA 分子,结果,当

单链多聚嘧啶在给体区域由于逐步的变性而松弛时,受体区域缠绕了单链分子。缠绕与变性导致了其余 DNA 分子负超螺旋的松弛。从模型中可以预测:DNA 超螺旋的水平决定着(dT·dC)_n的哪一半将要变成给体第三链。

3' 及 5' 一半的多聚嘧啶链都可以用作 H-DNA 的给体链(分别称为 H-y3 DNA 及 H-y

5 DNA, 如图 4 所示)。在二维图示中, H-y3 及 H-y5 构型是等价的,而形成 H-y3 比 H-y5 更有利于松弛负超螺旋。说明在拓扑学上和能量上是不等价的。两类构型可以在非内部转变的、亚稳态形式中共存。H-DNA 形成的拓扑学模型及决定 H-DNA 给体受体极性的成核前旋转的作用均有详细图示。

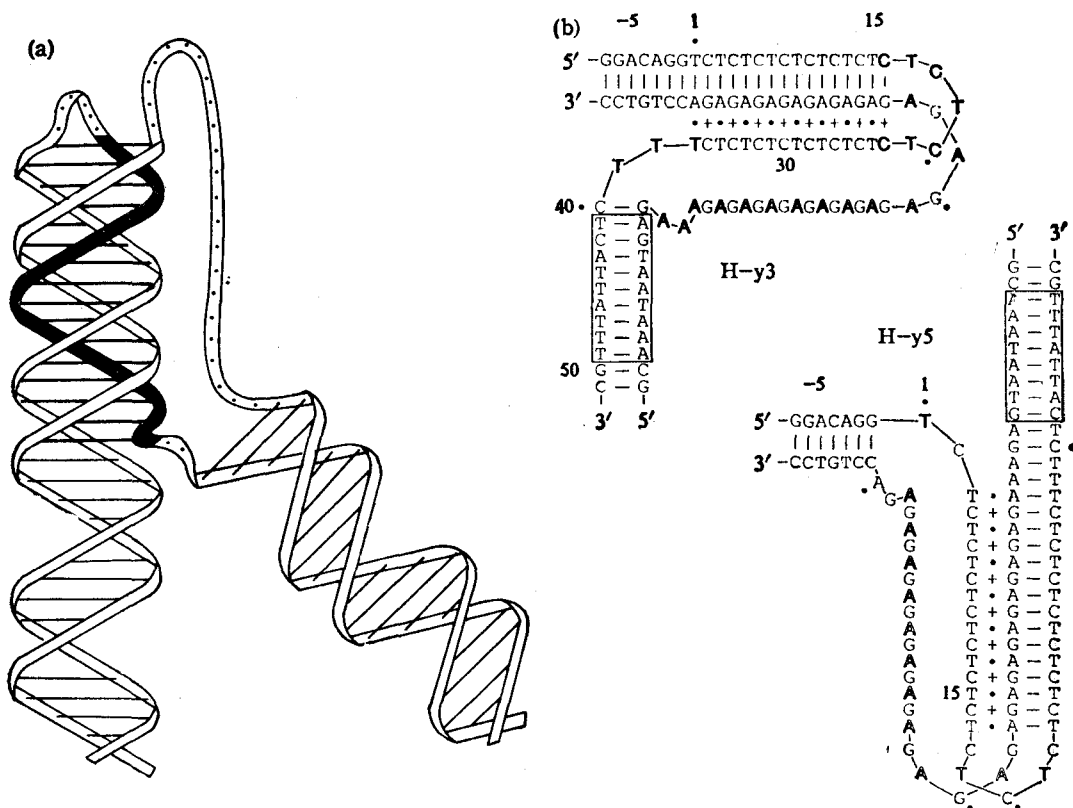


图 4 H-DNA 的结构示意图

(a) (TC·AG)₁₈ 片段的 H-DNA 三维投影图, 3' 一半的多聚嘧啶 (dT·dC)_n 作为三链的给体, 形成 H-y3 构型。此段序列的 5' 一半, 加上 (dA·dG)_n 多聚嘌呤的互补的 3' 一半, 在这种构型中充当给体链。多聚嘧啶链在三螺旋中的两部分是反平行的。W-C 及 Hoogsteen 碱基对分别以粗细线条表示。

(b) (dT·dC) 序列的 3' 和 5' 一半交替用作给体链, 形成 H-DNA 的 H-y3 及 H-y5 构型。W-C 碱基对以直线条表示, 在受体嘌呤和中性 T、质子化的 C⁺ 之间的 Hoogsteen 碱基对分别以 · 和 + 表示。残基序号在旁边标注, 方框内是一段平坦的区域序列。加重字母为 H-DNA 构型中具有某些反应活性的核苷酸

关于三链核酸结构的量子生物学计算, 也有人做过一些初步工作。能够付诸实用的计算程序早已产生, 但应用实例并不很多, 文献报道比较少见。

Gago 等使用了计算机图形学及分子力学计算方法研究了多链化合物的构型^[3]。提出, 在一个超螺旋的 DNA 分子中, 寡聚核苷酸 (链

3) 与两个配对的 (链 1, 2) 的键合作用中, 链 2 会采取一种左旋构型, 而链 1 和链 3 以正常的 W-C B 构型配对。分子模型是在 SGIRIS 3120 工作站中利用互相作用的分子图形程序 HYDRA 来构筑的。

Arnott 等人通过计算机化的原子关联步骤提出了若干种三链化合物的细节性模型^[14]。

并且保留了标准键长、键角及糖环构型。因为被研究样品的有序程度不够,缺少定量 X 射线衍射数据来描述三重折叠的参数数目,为了克服这些困难,必须增加运用从较简单体系中获得立体化学信息。研究者使用计算机程序通过这种信息来预测可能的分子结构,基本方法是采用原子关联最小二乘法(LALS)。分析结果表明,第三条链占据着 A 构型多聚核苷酸双链的大沟,并且与两条 W-C 链之一通过 Hoogsteen 碱基对相互作用。

3 三链 DNA 的生物学作用

三链结构的生物学作用目前仍知之甚少,有人曾提出,双链 DNA 与单链 RNA 的相互作用对基因表达可能会有调控的功能。Arnott 等指出, A 型螺旋可能是转录过程中所需要的,这种机理假定, DNA 中发生 B 构型向 A 构型的转变,在富含 dA, dT 的 DNA 结构中尤为可能。三链核酸对不同的 DNA, RNA 聚合酶可能还会起抑制作用。

Strobel 等人研究了酵母染色体上通过寡聚核苷酸定位形成三螺旋 DNA 来实现特殊位置上裂解的过程^[5]。结合有 EDTA·Fe 的寡聚核苷酸可以通过与双链 DNA 特异结合形成三螺旋,并且在长度大于 12 个 bp 的裂解位上产生双链的裂解。为了证实寡聚核苷酸定位的三螺旋形成是大的 DNA 基因组特异性裂解的可靠化学途径,一条带有 EDTA·Fe (在 5' 及 3' 端)的寡聚核苷酸被定位连接在 SE CE 染色体 III (340kb) 的一个 20bp 序列上。观察到了有着确切尺寸和位置的双链裂解产物,显示出了在 14×10^8 bp DNA 中寡聚核苷酸的连接和裂解靶位,三链的碱基结合形式有 TAT, C⁺GC, GTA 等。长度在 15—20bp 的 EDTA·Fe 寡聚核苷酸在长如 λ 噬菌体 (48.5kb) 的基因组内的靶位上产生特殊序列双链破裂的效率从 5% 至 25%。噬啮寡聚核苷酸在双链 DNA 上形成局域三链的序列特异性依赖于 pH, 温度及有机共溶剂等条件。如在低 pH, 低温或加入乙醇的情况下,观察到寡聚核苷酸结合在

有意义的靶位序列上,但并非完美匹配。因为酵母基因组的完全序列还不清楚,在 SE-CE 染色体 III 上的次级结合位的位置和数目还不能事先作出预测。由于寡聚核苷酸定位的三链核酸的形成有可能成为 DNA 识别的一个一般性方法,故该结果对于染色体的遗传图的测定、基因分离及 DNA 序列的确定具有重要的意义。

三链 DNA 的生物学意义只能进行一些预测,但作为转录过程中 DNA-RNA 三链形成的一个可能模型还是有价值的。有人认为这样的三链形成要求 DNA 大沟的加宽。也有人提出,一个短三链 DNA 片段是 DNA 复制过程中的中间体。

近几年,又有人根据在人体 c-myc 基因特殊位置上 DNA 与寡聚核苷酸的键合作用(在双链结合位上寡聚核苷酸形成共线型三链物),提出三链态的形成(特殊位 RNA 与 DNA 双链的结合)可能是体内基因控制交替程序(alternative program)的基础^[6]。

据发现,在 λ 噬菌体中^[7], DNA 复制的初始过程包含着小的 RNA 寡聚物分子,可以假定这个过程存在三链结构。RNA 在通常是 B 构型二级结构的 DNA 中会充当诱导因子。

可以看出,当今三链 DNA 研究的热点主要集中在两个方面:

- a. 具有特异性裂解正常 DNA 分子的功能。
- b. 在基因转录过程中起诱导、阻断等作用。

可以预想,人们一旦在细胞水平上掌握了这种功能后,就能够通过三链阻断转录机制来治疗一些遗传性疾病和病毒性疾病,如爱滋病、乙型肝炎等。无疑,这是值得生物和医学工作者去努力研究的一个诱人方向。

承中科院昆明动物所刘次全研究员审阅了全文并提出了修改意见,在此谨表谢意。

参 考 文 献

- 1 Moffat A S. Triplex DNA finally comes of age. *Science*, 1991; 252: 1374

- 2 Perlmut L E, Byers D L, Jope R S *et al.* Formation of triple-stranded bovine DNA *in vitro*. *Nature*, 1975; **254**: 86
- 3 Raae A J, Kleppe K. T4 Polynucleotide ligase catalyzed joining on triple-stranded nucleic acids. *Biochemistry*, 1978; **17**(14): 2939
- 4 Lee J S, Johnson D A, Morgan A R. Complexes formed by (pyrimidine)_n·(purine)_n DNAs on lowering the pH are three-stranded. *Nucl Acids Res*, 1979; **6**(9): 3073
- 5 Letai A G, Palladino M A, Fromm E *et al.* Specificity in Formation of Triple-stranded nucleic acid helical complexes: Studies with agarose-linked polyribonucleotide affinity columns. *Biochemistry*, 1988; **27**(26): 9108
- 6 Mirkin S M, Lyamichev V I, Drushlyak K N *et al.* DNA H-form requires a homopurine-homopyrimidine mirror repeat. *Nature*, 1987; **330**: 495
- 7 白春礼,叶坚,龚立三等. DNA 变异结构的扫描隧道显微镜研究,科学通报,1990;(24): 1841
- 8 Pilch D S, Levenson C, Shafer R. Structural analysis of the (dA)₁₀·2(dA)₁₀ triplex helix. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; **8**: 1942
- 9 Rajagopal P, Feigon J. NMR studies of triple-stranded formation from the homopurine homopyrimidine deoxyoligonucleotides d(G-A)₄ and d(T-C)₄. *Biochemistry*, 1989; **28**: 7859
- 10 Arnott S, Seising E. Structures for the polynucleotide complexes poly (dA)·poly(dT) and poly(dT)·poly(dA)·poly(dT). *J Mol Biol*, 1974; **88**: 509
- 11 Griffith J, Bortner C, Christiansen G *et al.* The Structure of three stranded joints catalyzed by the recA protein. In: Richardson C C *et al.* eds, *UCLA symposia on molecular and cellular biology*, new series, vol. **127**: *Molecular mechanisms in DNA replication and recombination*, New York: Wiley-Liss, 1990: 105—114
- 12 Htun H, Dahlberg J. E. Topology and formation of triple-stranded H-DNA. *Science*, 1989; **243**: 1571
- 13 Gago F, Richards W G. One left-handed strand in DNA-oligonucleotide complexes. *FEBS Letters*, 1989; **242**(2): 270
- 14 Arnott S, Bond P J, Seising E *et al.* Models of triple-stranded polynucleotides with optimised stereochemistry. *Nucl Acids Res*, 1976; **3**(10): 2459
- 15 Strobel S A, Dervan P B. Site-specific cleavage of a yeast chromosome by oligonucleotide-directed triple-helix formation. *Science*, 1990; **249**: 73
- 16 Cooney M, czernuszewicz G, Postel E H *et al.* Site-specific oligonucleotide binding represses transcription of the human c-myc gene *in vitro*. *Science*, 1988; **241**: 4566
- 17 Hayes S, Szybalski W Control of short leftward transcripts for the immunity and ori regions in induced coliphage lambda. *Mol Gen Genet*, 1973; **129**: 275

从一级结构预测蛋白质稳定性*

——Guruprasad, Reedy 和 Pandit 方法

郭宇立 倪逸声

(北京大学生物系,北京 100871)

提 要

介绍了一种从一级结构预测蛋白质稳定性的方法。Guruprasad, Reedy 和 Pandit 对 32 种稳定蛋白质和 12 种不稳定蛋白质进行了统计分析,发现存在这样一些二肽,它们在稳定的和不稳定蛋白质中的出现频率是明显不同的。通过一系列的统计学计算处理,计算出所有 400 种二肽各自对蛋白质稳定性(或不稳定性)的影响大小,给它们设计了一个二肽不稳定性权值 (DIWV)。对一个给定的蛋白质,与它的序列长度相一致的这些 DIWV 的加和能帮助区分不稳定蛋白质和稳定蛋白质。这种方法对如何提高蛋白质的稳定性具有一定的指导意义。

我们根据 Guruprasad 等人的方法计算了几个已知序列的蛋白质的稳定性指数,并由此推出它们的稳定性。