

鲫血清转铁蛋白推导序列分析及空间结构预测^{*}

龙 华^{1,2}

(1. 中国水产科学研究院长江水产研究所 // 农业部淡水鱼类种质资源与生物技术重点实验室, 湖北 荆州 434000;
2. 武汉大学生命科学院, 湖北 武汉 430072)

摘 要: 用 DNA Club 分析软件推导出鲫血清转铁蛋白序列, 并对该序列进行分析。推导的蛋白质长度为 807 个氨基酸残基, M_w 约为 90 000。其中半胱氨酸 43 个, 可以组成 21 对二硫键。疏水性和二级结构几率分析表明: 有两个非常相似的结构域分别存在于 1—390 和 390—807 区域。旋管结构和螺旋结构的分布区域, 均分别集中在上述两个区段中, 同样位于两个结构域中, 结构也非常类似。证实了转铁蛋白 (Tf) 由 2 个同源性较高的结构域 (N 结构域和 C 结构域) 组成。Tf 的三级结构呈“V”字形, 每个结构域又各自分为 3 个小的结构小区 (即 N_1 、 N_2 、 N_3 和 C_1 、 C_2 、 C_3)。两个糖基位于 N_1 和 C_1 区, 呈“Y”字型结构; 铁链位于 N_2 和 C_2 区; 受体结合位点 R_1 和 R_2 位于 N_3 和 C_3 区。

关键词: 鲫; 转铁蛋白; 序列分析; 空间结构

中图分类号: Q78 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2004) S1-0100-05

转铁蛋白 (transferrin, Tf) 基因是一组编码包括血转铁蛋白、卵转铁蛋白、乳转铁蛋白、黑素转铁蛋白以及其它生物中转铁蛋白类似物的基因家族^[1-6]。Tf 又称为铁传递蛋白、运铁蛋白、嗜铁蛋白 (siderophilin) 或 β_1 金属结合蛋白, 是脊椎动物体中一种非血红素结合铁的 β 球蛋白, 相对分子质量为 70 000 ~ 80 000, 单一肽链, 糖基约占 6% (实际上是一种聚糖)^[7-18]。自 1945 年首次在人血清中发现这种非血红素结合铁的铁链蛋白以来, 人们又在其它哺乳动物以及鱼类、鸟类、两栖类、爬行类以及其它生物的血清或其它体液中发现了 Tf 的存在。不同种属及组织的 Tf 差别较大, 而且原始祖先 Tf 以及脊椎动物与非脊椎动物之间的差异更大, 但 Tf 氨基酸序列也有很强的保守性。鱼类与其它脊椎动物 Tf 的氨基酸有 23.8% ~ 69.9% 的同源性; 而鱼类 Tf 自身的氨基酸序列同源性则在 60% 以上, Tf 基因序列的同源性在 30% 以上^[4,18,19]。Tf 的相对分子质量、糖基、结构域和受体的研究, 证明了 Tf 是由含单铁结合部位的原始 Tf 分子进化而来的假说; 不同来源 Tf 结构与功能的相似性也是基于其基因的相似性。鱼类血清 Tf 的耐低氧性能、热稳定性以及抗病性能等可能与其空间结构的稳定性有密切关系, 这与 Tf 进化的

保守性和氨基酸序列的保守性是一致的^[20-23]。本文通过对鲫血清转铁蛋白推导序列的分析, 预测了的转铁蛋白的空间结构。

1 序列分析方法

鲫 *Carassius auratus* 血清转铁蛋白 cDNA 的克隆及序列分析见文献^[24]。采用 DNA Club 分析软件, 推导出鲫血清转铁蛋白序列 (见图 1)。再用上述软件对蛋白质序列进行氨基酸成分、疏水性、二级结构以及三级结构分析。

2 分析与讨论

2.1 鲫鱼血清 Tf 推导序列的氨基酸分析

根据克隆的鲫鱼 Tf cDNA 序列 (2 444 bp), 推导出鲫鱼 Tf 的蛋白质序列, 其氨基酸数量以及摩尔比和质量比见表 1。推导的蛋白质长度为 807 个氨基酸, M_w 约为 90 000。其中半胱氨酸 (Cys) 43 个, 可以组成 21 对二硫键。

由 Tf 序列 (图 1) 以及表 1 可以读出半胱氨酸位点分别为: 8、16、18、21、24、40、69、76、116、140、143、173、177、195、227、233、249、253、279、289、304、305、330、365、366、374、395、448、483、486、548、556、568、583、691、

* 收稿日期: 2003-09-22

基金项目: 农业部“948”国际引进项目 (983094)

作者简介: 龙 华 (1964 年生), 男, 副研究员; E-mail: longhua0000@yahoo.com.cn

AGCCTCTCCTCCTCTTGGCACTGCTCTAATATGACCATCATGTCTTGCCGCTGCGTCTCG
S L S S S W H C S N M T I M S C R C V S
61 TGTTTGTCCTGCCTCTCTGTGGCACTGCCCTCAGCCAGTGCTCAAAAAGTCAAAATGGTGT
21 C L S C L S V A L P S A S A O K V K W C
121 GTGAAGTCTCAGCAGCTGCATAAACCTGCCAACACCTTGCCACCAAAATCACCAGAGCTTC
41 V K S Q Q L H K P A N T L P P N H Q S F
181 TCATCTTATACAGACCTGAAAGACTGCGGCATCTCCCTGAGTGCATGTCAAGCATCAAGA
61 S Y T D L K D C G I S L S A C Q A S R
241 AATGGTGATACAGATGCTATCACTGTAGGTGCAGACCATGTTTATCAGGCTGGACTCATA
81 N G D T D A I T V G A D H V Y O A G L I
301 AATTATGGCCTCCGTCCTATCATTGCGCGAGAATAATAAAGCTGTATGTTCTTATGCTGTG
101 N Y G L R P I I A E N N K A V C S Y A V
361 GCTTTGGTCAAGAGAGACACAGACTTCAGCATCAACGATCTCAAAGGAAAGACTTCATGC
121 A L V K R D T D F S I N D L K G K T S C
421 CACAGTTGTTATCAAAGCCCTCAGGCTGGTGAAGCAGATGCCGAGACCTGGTTGCACAAA
141 H S C Y Q S P Q A G E A D A E D W L H K
481 ACAAGATTCCCTGGGAGGGTATTGATGAGAAAGCAGTGTACCCAAACCTGTGTCAAGCTT
161 T R F P G R V L M R K Q C T Q T C V K L
541 GCCAGGGTGACTGCAGCTGCTCAGACAGTGAAAATCGCATGCTCCCGGCCGCCATGGCCG
181 A R V T A A A Q T V K I A C S R P P W P
601 CGGGATTGCGAGGCTGGAACATTCCCATTTGGAAGACTGGTTGCACAAAATAAGATTCTCT
201 R D L Q A G T F P L E D W L H K I R F S
661 GGGATGGTCTGTATGACATGCCCTCTTGAAGGGCTGTGTCACAATTTCTTTCAAGCAGTT
221 G M V L M T C L L K R L C H N S F Q A V
721 GCATTCTTGAATATCGAAAGCACTGTACCCAAACCTGTGTCAAGCTTGCCAGGGTGACT
241 A F L E Y R K H C T Q T C V K L A R V T
781 GCAGCTGCTCAGACAGGGAAGAACTACTCTGGTGATGGAGAGCCTTCCAGTGCTTGTAAA
261 A A A Q T G K S T L V M E E P S S A C K
841 GTGGTGTGGAACAGTTGCCCTTATGTGTTATGATGAAATCCCAAGGAGGAGGCGAGG
281 V V M D K L P L C V M M K S H R A R G R
901 ACTATCAGCTGTTGTGCATATATGGCAGCAGGAAAAGCATTGAGGAGTACAAGGACTGCT
301 T I S C C A Y M A A G K A L R S T R T A
961 ACCTCCTCAAAGAGCTTACCATTGCTGTTCAGTCGCAAGGATGCTGATTACAGACAGA
321 T S S K S F T M L C S V A R M L I O S R
1021 TTTATAAAGTCCTTAAACAGATTCCGGATTACAGATCTTTCTCTTCTGCTGCTTTTGGCG
341 F I L N R F R I Q I F S L L L L A
1081 GAAAGGACCTGTTGTTCTCAGACTCTATATCTGATCTGTTGGAGCTTCCCAAGATCATGG
361 E R T T C C S Q T L Y L I C W S F P R S W
1141 ACTCCTTCTCTACCAGAGAGAAGATTATTATGAAGCCATGCGTGGCCTTAGAGCTGGGA
381 T P S S T R E K I I M K P C V P L E L G
1201 ACCCACCAGCTCCACCTCAAGACGGTAAATTTGAATGGTGATACCATTTGGCCATGCAGAGC
401 T H O L H L K T V K L N G V P L A M Q S
1261 AACAGAAGTGTGACAGTTTACAGATTCTCATATGGAGTGCCGAAGGGCATCATCTGTGG
421 N R S V T V Y R F L I W S A E G H H L W
1321 AAGAGTGCTCCAGAAAATCATGCGCAAAGCAGATGCAATGGCAGTGGATGGAGGAA
441 K S A S R K S C A K K O M Q W M E E
1381 TCACTAGTGCAGCGCGCTGCAGGTGCACCATATGGGAGAGCTCCCAACGCGTTGGATGCA
461 S L V R P P A G R P Y G R A P N A L D A
1441 CAAACATGTGTGAAGTGTGTAAAGGCAGTGAGAAGGCAGTGGGAGATGACAGCAAGTGCA
481 Q T C V N C V K A V R R Q W E M T A S A
1501 AAGCCTCTTCTGAAGAAAGATATTATGGCTATGATGGGGCTTTCAGTGTCTTGCAGAAA
501 K P L L K K D I M A M M G L S G V L Q K
1561 AAACCTGGTGAAGTTGCTTTCATCAAGCACAAATATGTTGGGGATTACATGATGGTAAAG
521 K L V K L S S S T I L L G I T L M V K
1621 GACCAGCGTGGGCTAAGGATCTGTAGTCAGAAGATTTTGAAGTGTCTGTCCAGAATTAC
541 D Q R G L R I C S Q K I L N C S V Q N Y
1681 CAGAGACACAGCATGCCCTCTTGTGAAGCTGTGTCACAATTTCTTCAAGCAGTTGCAT
561 Q R Q Q H A S C E G C V T I L F K Q L H
1741 TCCGGAATATCTAAACACACTGATTTAAATGGTAGATGTAATCTTGCCAAAGTGCCAGCT
581 S G I S K H T D L N G R C N L A K V P A
1801 CATGCTGTGATCACCCGAGAAGATGCACGGAAGACGTGGTGAAGGTTCTGAAGGAGGCT
601 H A V I T R E D A R K D V V K V L K E A
1861 CAAGCCAATACAGATTTTCAAGACAAGCTGTTCAAGTCAGAGGTTGAAAGAAACAGGGGA
621 Q A N T D F Q D K L F K S E G E R N R G
1921 AATTCTCTGATTCCACTAAACGTGGACAATGCTTCAGGAGATTACTCAACGTTTAAAGAA
641 N S L I P L N V D N A S G D Y S T F K E
1981 TTCCTGACACAAAATACATTGACATGATTGAAAAGACCTACATGACTGGCAAGGGGTCA
661 F L T Q K Y I D M I E K T Y M T G K G S
2041 TTAACACAGATCTGGTCAAGGCATGCACAATGTAATTTGTATTGTAGTCAGATTCCC
681 L N Q I W S R H A Q C K F V F V S R V P
2101 GTGCAATCTCGACGCGCAAAGAAGCAGATGCCAATAAAATTTTGTGCCATTGAGCTTTAT
701 V Q S R R A K K Q M P I K F C A I E L Y
2161 CTTGATGTTTTCGGACAAAATAAGAATCTACATTTCTGAATCACTCTACTTAATCAAATTA
721 L A C F G Q I R I Y I S E S L Y L I K L
2221 AGGACCAGACAGGCGCAACTCCTGGGAAAGTTACCAGCATGAGGAAAAACACAATGTTCA
741 R T R Q A A T P G K V T S M R K T Q C S
2281 TGTATTGCAGCAGTTTTCATATCTTATTATCAAATTCAAATCTATGATGATCAAAGTGT
761 C Y A A V F I S Y Y Q I O I Y D D O T V
2341 CACACGCATGAAGTTACAATGTGTTTCGAGTTTCTGTTTATTATACCACAAGGGTTGTGAT
781 H T H E V T M C S S F C L L Y H K G C D
2401 CAACCTGTGTATATAAAATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
801 Q P V Y I K L

图 1 鲫血清转铁蛋白 cDNA 序列及推导的蛋白质序列

Fig 1 Sequence of serum transferrin cDNA of *Crucian* carp and deduced protein sequence

表 1 鲫鱼 Tf 的蛋白质序列氨基酸分析

Tah 1 Analysis of amino acid residues of
Crucian carp Tf sequence

氨基酸	数量	摩尔比	质量比	氨基酸	数量	摩尔比	质量比
A Ala	65	8.05	5.50	N Asn	24	2.97	3.01
C Cys	43	5.33	4.95	P Pro	29	3.59	3.17
D Asp	27	3.35	3.42	Q Gln	47	5.82	6.53
E Glu	24	2.97	3.36	R Arg	50	6.20	8.28
F Phe	24	2.97	3.77	S Ser	76	9.42	7.59
G Gly	33	4.09	2.35	T Thr	50	6.20	5.66
H His	22	2.73	3.24	L Leu	78	9.67	9.72
I Ile	40	4.96	4.99	V Val	51	6.32	5.68
K Lys	62	7.68	8.61	W Trp	13	1.61	2.52
L Leu	78	9.67	9.72	Y Tyr	23	2.85	3.96
M MET	26	3.22	3.69				

716、723、759、761、788、792 及 799 号。按结构域的理论, 可将它们分为两组: 8—395 号为第一组, 形成第一个结构域, 448—799 号为第二组, 形成第二个结构域。这样的分布可配成 20 对左右的二硫键, 对 Tf 的空间结构形成和维持是十分有利的。另外, 可以形成 α 螺旋的丙氨酸 Ala (A)、谷氨酸 Glu (E) 和赖氨酸 Lys (K) 的数目分别是 65、24 和 62, 而可以形成 β 折叠的甘氨酸 Gly (G) 数目为 33。表 1 的结果与文献报道结果接近 [7—10, 13, 14]。这些氨基酸的存在对形成和维护 Tf 的二、三级结构以及最终完成其生理功能等起着关键作用。

2.2 鲫鱼血清 Tf 推导序列的二级结构分析

借助于分析软件, 可通过对蛋白质疏水性能的分析了解其二级结构的。图 2 中, 正值为疏水, 负值为亲水。某些肽段对应的峰值在上方, 表示疏水性高, 处于蛋白质分子内部; 反之, 某些肽段对应的峰值在下方, 表示亲水性高, 处于蛋白质分子表面。从图 2 可以看出: 鲫鱼 Tf 蛋白质二级结构的疏水肽段和亲水肽段几乎等量分布, 表现出球蛋白的特征; 1—390 左右以及约 390—807, 可以宏观地划分为两个结构域, 尤其是两个结构域中在 110—190 和 410—500 的两个区域, 有非常相似的两个结构, 可以推测是两个铁离子的结合部位, 这与文献报道一致 [7, 13 14, 19, 23, 25—29]。

根据软件的绘图 (图 3) 和程序的计算, 可以得出鲫鱼 Tf 氨基酸二级结构的几率分布 (表 2)。在旋管结构的分布区域中, 1—209 和 463—601 两个区段分别有 3 个主要分布区, 位于两个结构域中, 结构非常类似; 而在螺旋结构的分布区域中, 92—317 和 446—673 两个区段分别有 4 个主要分布区, 同样位于两个结构域中, 结构也非常类似。结果分析印

证了 Tf 蛋白质二级结构具有两个结构域的事实。

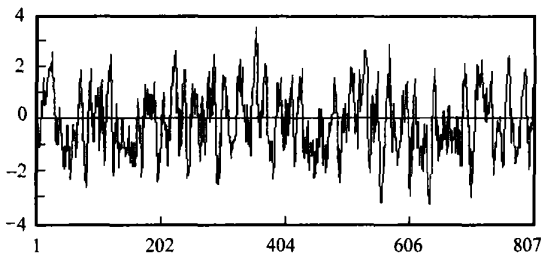


图 2 鲫鱼 Tf 的蛋白质二级结构的疏水性分布图
Fig. 2 Hydrophobicity distribution curve of protein 2-D structure of crucian carp Tf

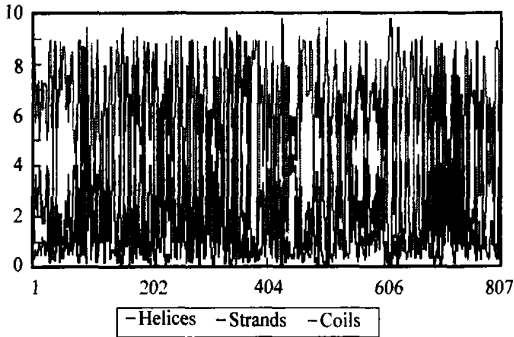


图 3 鲫鱼 Tf 的蛋白质二级结构几率图谱
Fig. 3 Probability curve of second level structure of crucian carp Tf

表 2 鲫鱼 Tf 氨基酸二级结构几率分布

Tah 2 Probability distribution of protein 2-D
struction of crucian carp Tf

项目	旋管	螺旋	线状
氨基酸数目	425	211	170
主要分布区	1—36, 43—85, 194—209, 463—484, 547—571, 577—601	92—97, 153—159, 178—189, 307—317, 446—462, 485—498, 512—526, 657—673	
二级结构几率/%	52.66	26.15	21.19

2.3 鲫鱼血清 Tf 推导序列的三级结构分析

20 世纪 80 年代后期, 人们开始对各类 Tf 基因的结构、序列以及表达等进行了较为广泛的研究。哺乳类、鸟类、爬行类以及鱼类等的 STf、OTf 以及 LfTf 基因相继被克隆。研究表明: Tf 是由一个大小超过 10 kb 的基因编码的, 而且存在大量的重复结构, 其功能蛋白基因编码区仅有大约 2.5~3.0 kb, 氨基酸残基约有 630~680 个。新合成的 Tf 在细胞内传递伴随着它的相对分子质量的变化, 内质网前体 Tf 相对分子质量是 88 000, 高尔基体的 Tf 相对分子质量是 84 000,

成熟的Tf 相对分子质量为 79 000。Tf 前体分子比成熟 Tf 分子长 19~20 个氨基酸残基,但最后会被水解掉。Tf 蛋白质分子在进入循环之前还必须首先进行糖基化^[4,7-12,24,30,31]。

Tf 的氨基酸序列通常具有重复结构,而且还有保护性阴离子链、铁链、半胱氨酸残基和两个糖基位点。Tf 二硫键对于维持蛋白质构象起很重要的作用,这不仅可以稳定二级和三级的肽链内部结构,而且可以介导肽链间四级结构的形成。作为一种β 球蛋白,可以形成α-螺旋的丙氨酸Ala(A)、谷氨酸Glu(E)和赖氨酸Lys(K)以及可以形成β 折叠的甘氨酸Gly(G)的大量存在,是形成和维护Tf 的三级结构以及最终完成其生理功能的关键因子^[18,27]。位于其表面的保护性阴离子链在防止其被水解和酶解过程中起到作用。综上所述(图2、图3、表1和表2),并根据对人血清Tf 的晶体结构的研究^[32-34],可以推测Tf 的一般三级结构模型(图4)。

由文献报道^[35-40]和图4得知:Tf 由两个同源性较高的结构域(N 结构域和 C 结构域)组成,呈“V”字形,每个结构域又各自分为 3 个小的结构小区(即 N₁、N₂、N₃ 和 C₁、C₂、C₃)。两个糖基位于 N₁ 和 C₁ 区,呈“Y”字型结构,在 Tf 与受体结合中起定位作用;铁链位于 N₂ 和 C₂ 区,该区空间构象的变化会影响铁离子的结合;R₁ 和 R₂ 位于 N₃ 和 C₃ 区,为受体结合位点。

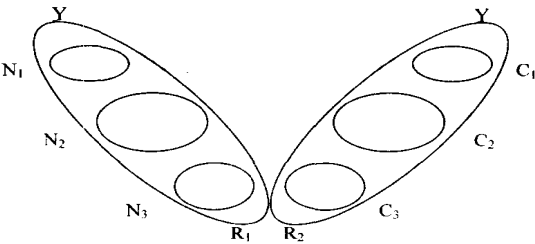


图4 Tf 三级结构预测模型

Fig 4 The forecast model of third level structure of Tf

参考文献:

[1] PARK I, SCHAEFFER E, SIDOLI A, et al. Organization of the human transferrin gene: Direct evidence that it originated by gene duplication [J] . Proc Natl Acad Sci USA, 1985, 82: 3149.

[2] PETROPOULOS I, CORINNE A G, ZAKIN M M. Characterization of the active part of the human transferrin gene enhancer and purification of two liver nuclear factors interacting with the TGTTCG motif present in this region [J] . J Biological Chemistry, 1991, 266(35): 24220—24225.

[3] REY M W, WOLOSHUK S L, DeBOER H A, et al. Complete nucleotide sequence of human mammary gland lactoferrin [J] .

Nuc Acids Res, 1990, 18: 5288.

[4] WILLIAMS J. The evolution of transferrin [J] . Trends Biochem Sci, 1982, 7: 394—397.

[5] YANG F. Human transferrin: cDNA characterization and chromosomal localization[J] . Proc Natl Acad Sci USA, 1984, 81: 2752—2756.

[6] ZAKIN M M. Regulation of transferrin gene expression [J] . FASEB J, 1992, 6: 3252—3258.

[7] BALDWIN D A. The Biochemistry and physiology of iron, Section I: Structure and function of transferrins[M] . New York: Elsevier Science Publishing Co Inc, 1982: 57—65.

[8] BALDWIN G S. Comparison of transferrin sequences from different species [J] . Comp Biochem Physiol, 1993, 106B (1): 203—218.

[9] BOISSIER F, CORINNE A G, SCHAEFFER E, et al. The enhancer of the human transferrin gene is organized in two structural and functional domains [J] . J Biological Chemistry, 1991, 266(15): 9822—9818.

[10] BROCK J H. Transferrins, Metalloproteins [M] . HongKong: Machillan Press, 1985: 183.

[11] FLETCHER J, HUEHNS E R. Function of transferrin [J] . Nature, 1968, 218: 1211.

[12] JAMIESON A. A survey of transferrin in 87 teleostean species [J] . Anim Genetic, 1990, 21: 295—301.

[13] MacGILLIVERAY R T A, MENDEZO E, SHEWALE J G, et al. The primary structure of human serum transferrin, the structure of seven cyanogen bromide fragments and the assembly of the complete structure [J] . J Biol Chem, 1983, 258(6): 3543.

[14] SPIK G. The biochemistry and physiology of iron, section I: structure and function of transferrins [M] . New York: Elsevier Science Publishing Co Inc, 1982: 49—56.

[15] 孔凡德, 刘建新, 吴跃明. 血浆转铁蛋白的研究进展 [J] . 饲料博览, 2001, 8: 12—14.

[16] 刘丽均. 转铁蛋白 [J] . 黑龙江畜牧兽医, 1999(9): 35—36.

[17] 龙华, 曾勇, 李谷. 鱼类血清转铁蛋白的研究现状与应用前景[J] . 水产学报, 2001, 25(2): 181—186.

[18] 龙华, 曾勇, 郑英. 转铁蛋白的研究与发展 [J] . 生物工程进展, 2001, 21(2): 32—39.

[19] 侯宪玉, 冯佑民. 转铁蛋白结构域的研究及转铁蛋白的进化 [J] . 生物化学与生物物理进展, 1988, 15(4): 270—274.

[20] 龙华, 刘曼西. 淡水养殖鱼类血清转铁蛋白耐低氧特性的研究 [J] . 华中理工大学学报, 2000(1): 85—88.

[21] 龙华, 曾勇, 刘曼西. 淡水鱼类血清转铁蛋白抗菌性能研究 [J] . 淡水渔业, 1998, 28: 34—41.

[22] 龙华, 曾勇, 刘曼西. 鲤鱼血清转铁蛋白的纯化及铁离子结合特性的研究 [J] . 中国水产科学, 2000, 20(1): 68—71.

[23] 沈志民, 冷晓华, 冯佑民, 等. 白鲢鱼与黄鳝鱼血清转

- 铁蛋白的分离纯化及其结构和性质的比较 [J]. 生物化学杂志, 1991, 7(3): 269—274.
- [24] 龙华. 鲫血清转铁蛋白 cDNA 克隆及其序列分析 [J]. 中山大学学报 (自然科学版), 2003, 42(增刊): 231—234.
- [25] MacGILLIVRAY R T A, BREW K. Structure and evolution of serum transferrin, protein of iron metabolism [M]. New York, San Francisco, London: Grune and Stratton, 1977: 133.
- [26] 冯佑民, 冯敏绮, 张新堂, 等. 转铁蛋白结构与功能的研究 V. 水蛇血清转铁蛋白半分子的制备和鉴定 [J]. 生物化学与生物物理学报, 1990, 22(3): 257—262.
- [27] 冯佑民, 孙嘉琳, 童春香, 等. 转铁蛋白结构与功能的研究 [J]. 生物化学与生物物理学报, 1987, 19(4): 322—327.
- [28] 侯宪玉, 冯佑民, 张友尚. 转铁蛋白结构与功能的研究——骆驼血清转铁蛋白的分离纯化及其单一铁结合部位的结构域的制备和鉴定 [J]. 生物化学杂志, 1988, 4(4): 289—295.
- [29] 侯宪玉, 冯佑民, 张友尚, 等. 转铁蛋白结构与功能的研究——鸭血清转铁蛋白含单一铁结合部位的结构域的制备和鉴定 [J]. 生物化学杂志, 1988, 4(3): 244—251.
- [30] ROSSENEU MOTREFF M Y. Size and shape determination of apo-transferrin and transferrin monomers [J]. Biopolymers, 1971, 10: 1037.
- [31] 冯佑民, 张新堂, 冯敏绮. 青岛文昌鱼 (*Branchiostoma belcheri*)“转铁蛋白”的分离纯化和鉴定——一种最原始祖先转铁蛋白的可能形式 [J]. 生物化学与生物物理学报, 1990, 22(2): 177—183.
- [32] ANDERSON B F, BAKER H M, NORRIS G E, et al. Structure of human lactoferrin: Crystallographic structure analysis and refinement at 2.8 Å resolution [J]. J Mol Biol, 1989, 209: 711—734.
- [33] ANDERSON B F. Structure of human lactoferrin at 3.2 Å resolution [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1987, 84: 1769.
- [34] Bailey S, Evans R W, Garratt R C, et al. Molecular structure of serum transferrin at 3.3 Å resolution [J]. Biochemistry, 1988, 27: 5804—5812.
- [35] BEZKOROVAINY A. Comparative study of metal-free, iron-saturated and sialic acid free transferrins [J]. Biochim Biophys Acta, 1966, 127: 535.
- [36] CHASTEEN N D. The identification of the probable locus of iron and anion binding in the transferrin [J]. Trends Biochem Sci, 1983, 8: 272.
- [37] COX L A, ADRIAN G S. Posttranscriptional regulation of chimeric human transferrin genes by iron [J]. Biochemistry, 1993, 32: 4738—4745.
- [38] DAVIS B, BENSON. The stability constants of the iron-transferrin complex [J]. Biochem Biophys Res Comm, 1962, 8: 56.
- [39] 冯佑民, 张新堂, 张友尚. 结合铁及其他金属离子的转铁蛋白与其受体的相互作用 [J]. 生物化学与生物物理学报, 1987, 19(4): 333.
- [40] 黄勇, 顾建新. 转铁蛋白糖链结构对其受体亲和性的影响 [J]. 生物化学与生物物理学报, 1996, 28(4): 352—357.

Deduced Sequence Analysis and Space Structure Forecast of Serum Transferrin in *Carassius auratus*

LONG Hua^{1,2}

- (1. Key Laboratory of Freshwater Fish Germplasm Resources & Biotechnology, Ministry of Agriculture, Yangtze River Fisheries Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Jingzhou 434000, China;
2. The Laboratory of Animal Development and Heredity, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: The protein sequence of crucian carp serum transferrin was deduced and analyzed by DNA Club. The deduced protein has 807 amino acid residues and its MW is about 90 000. 21 disulfide bonds would be composed by 43 cysteines. The analysis of hydrophobicity and second level structure probability shows that there are two greatly similar domains located at 1—390 and 390—807 areas respectively. The distribution areas of coil and helix structures focus on two above areas respectively. They locate at the same two domains with greatly similar structures. The results confirm that transferrin is composed of two domains (N domain and C domain) with higher homology. The third level structure of transferrin appears a “V” letter shape while each domain is divided into 3 small structures (viz. N1, N2, N3 and C1, C2, C3). The two saccharide groups locate at N1 and C1 areas and appear a “Y” letter shape respectively. The iron chains locate at N2 and C2 areas respectively. R1 and R2 (receptors’ tying situses) locate at N3 and C3 areas respectively.

Key words: *Carassius auratus*; transferrin; sequence analysis; space structure