

# Research Progress on Molecular Structure and Biological Functions of Hemocyanin

Zhenhuan Du, Jian Jing\*

Department of Biological Chemistry, Beijing Normal University, Beijing

Email: [jjing@bnu.edu.cn](mailto:jjing@bnu.edu.cn)

Received: Sep. 5<sup>th</sup>, 2015; accepted: Sep. 23<sup>rd</sup>, 2015; published: Sep. 29<sup>th</sup>, 2015

Copyright © 2015 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

---

## Abstract

Hemocyanin is one of three main types of respiratory proteins and currently only occurs in minority animal groups including arthropoda and molluscan species, respectively. Here we summarized the distribution and structural characteristics of hemocyanin superfamily members existing in the arthropoda and molluscan species, and the major biological features ever found were also introduced in detail. Commonly used techniques and methods during the investigation and research for the hemocyanin were listed and explained here. The above helps to understand the research status of hemocyanin and expand the practical application of it.

## Keywords

Hemocyanin, Arthropoda, Molluscan, Molecular Structure, Biological Functions

---

# 血蓝蛋白分子结构与生物学功能

杜震环, 井 健\*

北京师范大学生物化学系, 北京

Email: [jjing@bnu.edu.cn](mailto:jjing@bnu.edu.cn)

收稿日期: 2015年9月5日; 录用日期: 2015年9月23日; 发布日期: 2015年9月29日

---

\*通讯作者。

文章引用: 杜震环, 井健. 血蓝蛋白分子结构与生物学功能[J]. 生物过程, 2015, 5(3): 30-37.

<http://dx.doi.org/10.12677/bp.2015.53005>

## 摘要

血蓝蛋白是三大类呼吸功能都之一, 目前仅发现存在于节肢动物门和软体动物门等少数动物类中。本文系统介绍了节肢动物门和软体动物门血蓝蛋白的分子结构特征, 并基于血蓝蛋白的独特结构, 详细阐述了动物体内迄今发现的有关血蓝蛋白的主要生物学功能特点, 同时对当前针对血蓝蛋白研究过程中常用的技术与方法进行了介绍。通过以上内容, 有助于深入认识血蓝蛋白这种独特的呼吸功能蛋白的研究现状, 也有助于拓展对血蓝蛋白开发利用前景的认识。

## 关键词

血蓝蛋白, 节肢动物, 软体动物, 分子结构, 生物学功能

## 1. 引言

目前已知动物界中存在三类呼吸蛋白: 血红蛋白、血蓝蛋白(hemocyanin)和蚯蚓血红蛋白。其中, 高等动物依赖血红蛋白运输氧气。在多毛类、曳腮类、星虫类和腕足类等少数较原始的海洋无脊椎动物中以蚯蚓血红蛋白运送和储存氧。而无脊椎动物最大的两个门——节肢动物门和软体动物门的部分动物则以血蓝蛋白为呼吸蛋白; 此外, 在节肢动物的近亲有爪动物中也发现一个可能的血蓝蛋白。

血蓝蛋白游离于部分节肢动物和软体动物的血淋巴中, 不与血细胞结合, 是目前已知的唯一可与氧可逆结合的铜蛋白, 脱氧状态呈无色, 结合氧状态呈蓝色。血蓝蛋白的分子量大, 结构复杂, 且节肢动物门与软体动物门的血蓝蛋白的结构有所差异。节肢动物血蓝蛋白多为由相对分子质量 75 kDa 的亚基构成的六聚体, 或以六聚体为单位构成多六聚体; 而软体动物血蓝蛋白一般为相对分子质量为 350 kDa 或 400 kDa 的亚基构成的十聚体、双十聚体或多十聚体。

血蓝蛋白是一种多功能蛋白, 它不仅能运输氧气, 还具有其他多种生理功能。血蓝蛋白的免疫功能是近年来研究的热点, 它不仅具有酚氧化酶活性, 还有一定的抗菌和抗病毒活性, 并且与免疫球蛋白超家族具有同源性。此外, 血蓝蛋白还具有调节蜕皮过程和储存蛋白质等多种功能。本文较为系统地论述了血蓝蛋白的结构特征与功能特点, 同时对在血蓝蛋白研究过程中一些重要的技术和方法进行了介绍, 探讨了血蓝蛋白的未来利用前景, 同时, 为继续深入研究血蓝蛋白及相关功能蛋白提供一定的理论信息与研究思路。

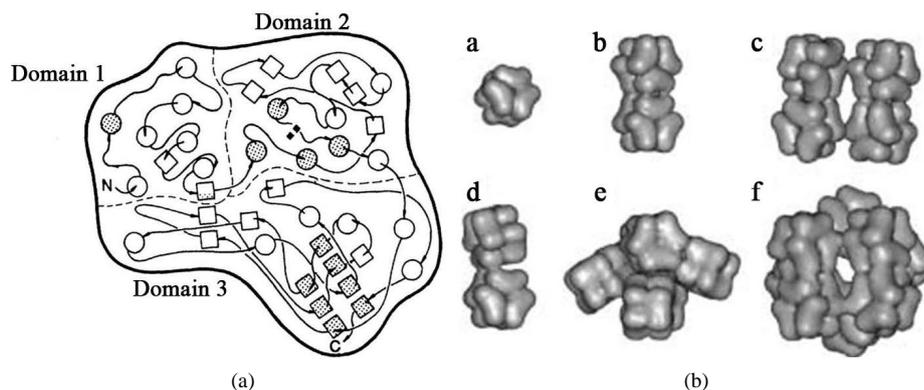
## 2. 血蓝蛋白的分子结构

### 2.1. 节肢动物门血蓝蛋白的结构

目前, 已在节肢动物门的甲壳类、螯肢类、多足类和蜘蛛类中发现血蓝蛋白。在节肢动物门的最大类群昆虫类中虽然未发现血蓝蛋白, 但发现了与血蓝蛋白同源的六聚蛋白(hexamer)。

典型的血蓝蛋白是由六个相同或相似的分子量为 75 kDa 的亚基组成的六聚体(近似球形), 或者由多个六聚体组成的多六聚体, 分子量从 500 kDa 到 3500 kDa 不等。六聚体的每个亚基都有三个结构域: 第一个结构域是亚基蛋白的 N 端, 主要由  $\alpha$  螺旋组成; 第二个结构域中含有两个铜离子结合位点 CuA 和 CuB, 组成血蓝蛋白活性中心, 结合一分子氧; 第三个结构域是亚基蛋白的 C 端, 主要由  $\beta$  折叠组成[1], 如图 1 所示。

节肢动物血蓝蛋白超家族包括: 1) 酚氧化酶(phenoloxidasases), 是一种有铜结合位点的酪氨酸酶; 2) 昆



**Figure 1.** The structure of arthropod hemocyanins. (a) The three domains of arthropod hemocyanins subunits, separated by dashed lines.  $\circ$  means  $\alpha$  helices and  $\square$  means  $\beta$  strands; (b) Simplified structures of arthropod hemocyanins. a:  $1 \times 6$  (many arthropod taxa), b:  $2 \times 6$  (spider), c:  $4 \times 6$  (spider), d:  $2 \times 6$  (crustacean), e:  $6 \times 6$  (myriapod), f:  $8 \times 6$  (xiphosura)

**图 1.** 节肢动物血蓝蛋白结构。(a) [1]节肢动物血蓝蛋白亚基的 3 个结构域, 以虚线隔开,  $\circ$  表示  $\alpha$  螺旋,  $\square$  表示  $\beta$  折叠; (b) [3]节肢动物血蓝蛋白简化结构, 其中, a 表示  $1 \times 6$  (大部分节肢动物), b 表示  $2 \times 6$  (蜘蛛), c 表示  $4 \times 6$  (蜘蛛), d 表示  $2 \times 6$  (甲壳类), e 表示  $6 \times 6$  (多足类), f 表示  $8 \times 6$  (剑尾类)血蓝蛋白多亚单位的复合结构组成

虫的六聚蛋白, 没有铜结合位点也不能结合氧, 是储存蛋白; 3) 甲壳类的拟血蓝蛋白(pseudohemocyanins or cryptocyanins), 结构与血蓝蛋白相似但无铜结合位点, 是储存蛋白; 4) 双翅目的六聚蛋白受体(hexamerin receptors); 5) 血蓝蛋白[2]。

## 2.2. 软体动物门血蓝蛋白的结构

血蓝蛋白在软体动物门的分布不如节肢动物那样广泛, 目前, 仅在头足类和腹足类中发现血蓝蛋白。

软体动物血蓝蛋白的亚基包含 7~8 个功能单位(function unit, FU), 命名为 FU-a 到 FU-h, 每个功能单位的大小约 50 kDa。头足类血蓝蛋白亚基含 7 个功能单位: a-b-c-d-e-f-g, 腹足类中含有 8 个功能单位, a-b-c-d-e-f-g-h。每个功能单位都包括两个结构域: 第一个结构域主要由  $\alpha$  螺旋组成, 含铜结合位点; 第二个结构域由六条  $\beta$  折叠反向平行组成  $\beta$  桶[4]。在头足类中, 由十个亚基组成中凹圆柱状的十聚体; 在腹足类中则形成二十聚体或多十聚体。在双十聚体中, 两个十聚体都沿对称轴旋转 36 度, 在多十聚体中, 十聚体以相同的旋转角度(36 度)加入[5]。

十个重复的 a-b-c-d-e-f 片段组成软体动物血蓝蛋白十聚体的墙(wall), 内侧是 5 个 FU-g 对组成的拱(arc), 最里面是 5 个 FU-h 对组成的领(collar) [6]。

头足类的章鱼不含 FU-h 领结构, 但其四级结构仍是稳定的。软体动物血蓝蛋白十聚体包括 5 个亚基二聚体, 每个亚基二聚体中的两个 a-b-c-d-e-f 片段方向相反, 显示出完美的对称性(图 2)。

## 2.3. 节肢动物血蓝蛋白与软体动物血蓝蛋白的比较

从四级结构来看两大类血蓝蛋白, 发现节肢动物血蓝蛋白是六聚体, 呈球形; 而软体动物血蓝蛋白是十聚体, 成中凹的圆柱状。

从亚基组成比较两大类血蓝蛋白, 发现节肢动物血蓝蛋白亚基比软体动物血蓝蛋白亚基多一个结构域, 即节肢动物血蓝蛋白的第一个结构域。软体动物血蓝蛋白的第一个和第二个结构域分别对应节肢动物血蓝蛋白的第二个和第三个结构域, 有相当的重叠, 提示两大类血蓝蛋白可能存在远缘亲缘关系。

从两大类血蓝蛋白的分子系统树来看, 二者分别聚合成各自的蛋白超家族: 节肢动物血蓝蛋白超家族和软体动物血蓝蛋白超家族。图 3 为软体动物血蓝蛋白功能单位的分子进化树。

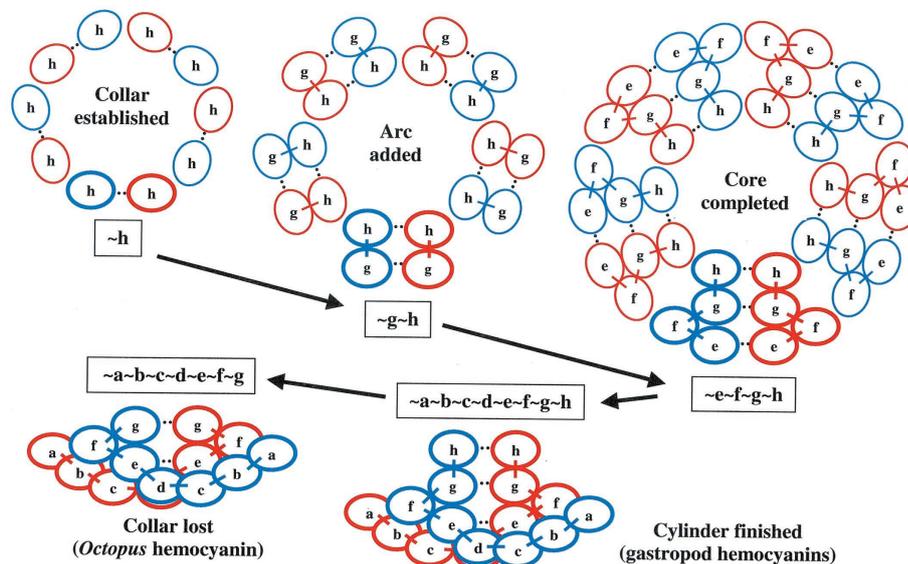


Figure 2. The model of the eight-FU (a-h) molluscan hemocyanin units

图 2. 8 个功能单位(a-h)组成的软体动物血蓝蛋白模型[7]

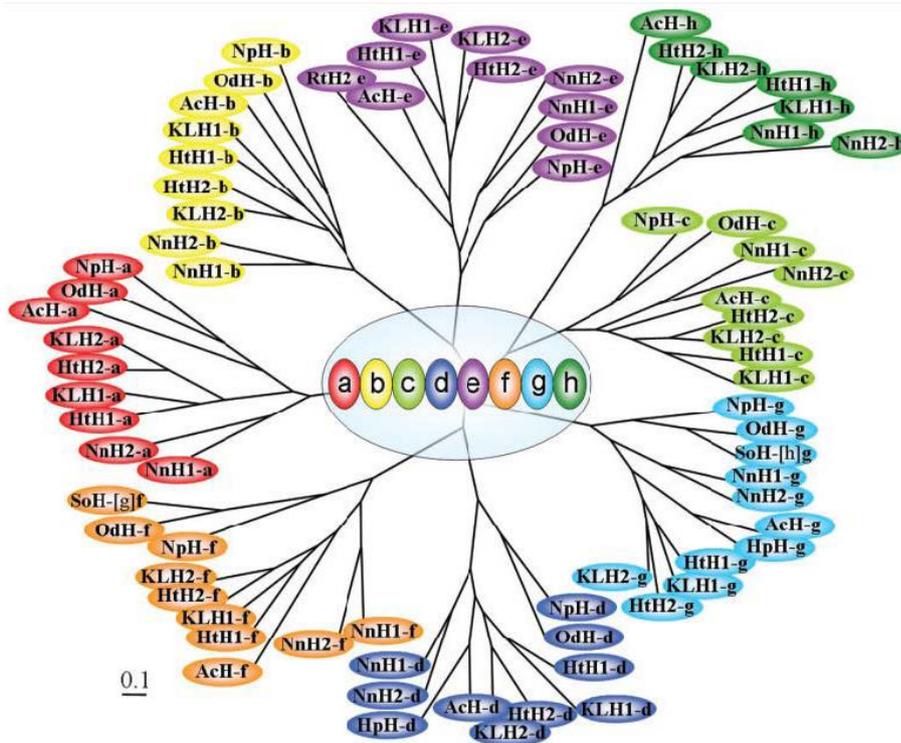


Figure 3. Phylogenetic tree of the molluscan hemocyanin functional units

图 3. 软体动物血蓝蛋白功能单位的分子进化树[8]

### 3. 血蓝蛋白的功能

#### 3.1. 血蓝蛋白的呼吸功能

血蓝蛋白是部分节肢动物和软体动物的呼吸蛋白，以一价铜离子为辅基。氧合血蓝蛋白的铜为二价

铜离子, 呈蓝色; 脱氧血蓝蛋白呈无色。

虽然血蓝蛋白与氧的亲合力较低, 但在气体交换部位或者在组织缺氧的情况下, 它是重要的氧化介质。血蓝蛋白运输氧的能力受血液 pH 值影响较大, 血液 pH 值升高会增强其与氧的结合能力。此外, 血液中的盐浓度降低也会改变血蓝蛋白的载氧能力。在不同氧分压条件下, 血蓝蛋白与氧气的结合能力几乎没有变化, 这一特点有利于它在不同环境中维持其功能状态, 应对各种极端环境[9]。

### 3.2. 血蓝蛋白的免疫功能

国内外的许多研究表明, 血蓝蛋白及其降解片段具有多种免疫学功能。

#### 3.2.1. 血蓝蛋白的酚氧化酶活性

血蓝蛋白与酚氧化酶都属于三型铜蛋白, 含有两个铜结合区域(CuA 和 CuB), 每个铜原子都和三个高度保守的组氨酸相连接, 促进氧结合在 Cu 和  $\mu: \eta^2-\eta^2$  位置[10]。Decker 等[11]发现狼蛛血蓝蛋白被胰蛋白酶或胰凝乳蛋白酶水解时表现出酚氧化酶活性, 而酚氧化酶是非特异性免疫系统成员, 提示血蓝蛋白有潜在的免疫功能。

#### 3.2.2. 血蓝蛋白的抗菌活性

章跃陵等[12]研究了凡纳滨对虾血蓝蛋白的细菌凝集活性, 发现血蓝蛋白对副溶血弧菌、溶藻酸弧菌、河弧菌、哈维氏弧菌、嗜水气单胞菌和金黄色葡萄球菌等 6 种虾类致病菌具有凝集活性, 且血蓝蛋白的细菌凝集活性可被  $\alpha$ -D-葡萄糖和 N-乙酰神经氨酸部分或全部抑制, 提示血蓝蛋白有细菌凝集活性。刘瑶等[13] [14]研究了凡纳滨对虾血蓝蛋白的抗黑曲霉活性, 结果发现血蓝蛋白在质量浓度为 0.1~0.8 mg/mL 时对黑曲霉表现出明显抑制, 且在血蓝蛋白作用下黑曲霉孢子囊萎缩, 分生孢子积聚成团, 菌丝裂解、扭曲、变短、没有分生孢子囊, 说明对虾血蓝蛋白有抗黑曲霉活性, 其抗菌机制可能与血蓝蛋白抑制黑曲菌孢子的生长和促使病态菌丝产生有关。这些研究对于揭示血蓝蛋白的非特异性免疫机理具有重要意义。

#### 3.2.3. 血蓝蛋白的抗病毒活性

Zhang 等[15]研究了斑节对虾血蓝蛋白的抗病毒活性, 从斑节对虾血清中分离得到 73 kDa 和 75 kDa 的两个多肽, 可分别与白斑杆状病毒(WSSV)和虹彩病毒(SGIV)结合, 质谱证明是血蓝蛋白。该研究首次证明血蓝蛋白有非特异性抗病毒活性, 它在低浓度时是潜在病毒抑制物, 但不能完全抑制病毒的复制。

#### 3.2.4. 血蓝蛋白与免疫球蛋白超家族的同源关系

章跃陵等[16]比较了凡纳滨对虾血蓝蛋白与免疫球蛋白超家族(immunoglobulin superfamily, IgSF)的同源关系, 结果发现血蓝蛋白 75 kDa 单体 Ig-like 区与人的 Ig 存在 5 个同源模序, 同源率为 52%~69%, 其中, IgLH<sub>611-625</sub> 模序在很有可能与 5 种 IgSF 分子归属于同一大类。此研究初步提示血蓝蛋白与 IgSF 分子具有同源性, 血蓝蛋白与 IgSF 分子存在共同演化关系。

#### 3.2.5. 其他

节肢动物血蓝蛋白 C 末端的结构对其免疫功能至关重要: 其 C 末端含有细胞外调节蛋白激酶(ERK1/2)结合结构域、免疫球蛋白样结构域、AMP 释放位点, 并且在患有病毒血症时 AMP 释放增加[17]。

总之, 血蓝蛋白具有多种免疫活性, 提示血蓝蛋白有可能应用于抗菌抗病毒药物的开发以及增强免疫力的保健品开发等方面。

### 3.3. 血蓝蛋白调节蜕皮过程

Jaenicke 等[18]研究了狼蛛血蓝蛋白与其蜕皮过程的关系, 发现其血蓝蛋白能与蜕皮激素相结合, 并介导蜕皮激素的转运和调节蜕皮过程。王文锋等[19]发现, 日本沼虾的肝胰腺血蓝蛋白基因在蜕皮间期表

达量最高, 蜕皮前期和蜕皮后期表达量较低, 提示血蓝蛋白的含量与蜕皮过程有一定的相关性。这些研究提示可通过监测动物体内血蓝蛋白的含量变化来监测其蜕皮过程, 从而监测动物的发育过程是否正常。

### 3.4. 血蓝蛋白作为储存蛋白质

节肢动物血蓝蛋白的氨基酸序列与烟草天蛾储存蛋白(LSP)具有高度相似性, 推测血蓝蛋白可以作为动物体内的蛋白质储存物。同样, 有研究者发现, 血蓝蛋白在动物体内的浓度随着飞蛾食物的摄入量的增加而增加, 相当多的血蓝蛋白似乎不负担机体氧气运输的功能[20]。

## 4. 血蓝蛋白研究技术与方法

科学家已使用多种方法研究血蓝蛋白的四级结构, 其中, 最常用的是光谱和电镜等。

### 4.1. 光谱技术

光谱法(Spectroscopy)可用于确定血蓝蛋白的结构, 或者是用于研究小分子与血蓝蛋白的相互作用。如 Elena 等[21]用荧光光谱法确定了软体动物血蓝蛋白糖链的位置。郭维等[22]利用荧光光谱和紫外吸收光谱研究了硝苯柳胺以及氯硝柳胺与钥孔戚血蓝蛋白的相互作用, 发现了硝苯柳胺和氯硝柳胺灭螺的原理, 硝苯柳胺和氯硝柳胺能被血蓝蛋白储存和转运, 但结合时对蛋白构象有一定影响。

### 4.2. 电镜技术

使用投射式电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)和三维电子显微镜技术(3D electron microscopy, 3D-EM)研究血蓝蛋白的四级结构。例如, 1972年, Mellema 和 Klug [23]首次使用透射式电子显微镜观察到血蓝蛋白的四级结构。1974年, Siezen 和 Bruggen [24]利用透射式电子显微镜技术确定了软体动物血蓝蛋白解聚/聚合的主要中间体系是二聚体, 五个二聚体组合成旋转对称的十聚体。1993年, Lamy 等[25]首次使用三维电子显微镜技术研究软体动物血蓝蛋白的结构。2007年, Catsogiannis [26]等借助 3D-EM 技术和计算机数码成像技术对软体动物血蓝蛋白在亚纳米水平上进行了三维重构。

### 4.3. 质谱技术

质谱法(mass spectrometry, MS)可准确测定相对分子量, 绘制肽谱, 也广泛应用于对血蓝蛋白的鉴定分析中。目前已发展出新的质谱技术, 如电喷雾质谱(electrospray ionization mass spectrometry, ESI-MS)。Dolashka [27]曾利用 ESI-MS 技术和 MALLs (多角度激光光散射)技术联用, 分析了软体动物的四级结构, 根据解离前后的相对分子量, 判断出血蓝蛋白在真蛸中是十聚体, 脉红螺是二十聚体。

## 5. 总结

尽管血蓝蛋白与血红蛋白具有相似的呼吸功能, 其分子结构和机制仍有很多不同。血蓝蛋白的铜原子需要组氨酸残基的辅助, 而血红蛋白携带的是卟啉铁。正常情况下, 血蓝蛋白携氧量仅为等量的血红蛋白携氧量的 1/4, 而在低温且缺氧的环境下, 血蓝蛋白运输效率高于血红蛋白[28]。血蓝蛋白与氧的结合受多种因素调控, 如血淋巴的 pH、温度, 血淋巴中的乳酸盐、尿酸盐、多巴胺、二氧化碳和无机离子等。

物质和能量代谢是有机体的基本生命特征, 血蓝蛋白作为一种重要的功能蛋白, 不仅为节肢动物门和软体动物门生物提供了呼吸功能支持, 还参与了多种类型的生命活动, 这些功能对于维持生物体的正常生理活动起到了非常重要的作用。随着各种新技术的应用, 对血蓝蛋白的结构特征和功能特点的认识愈加深入, 进一步研究血蓝蛋白结构与功能的关系, 有可能使血蓝蛋白成为未来新的抗菌、抗病毒和抗肿瘤药物等的新来源。

## 参考文献 (References)

- [1] Linzen, B., Soeter, N.M., Riggs, A.F., Schneider, H.J., Schartau, W., Moore, M.D., Yokota, E., Behrens, P.Q., Nakashima, H. and Takagi, T. (1985) The structure of arthropod hemocyanins. *Science*, **229**, 519-524. <http://dx.doi.org/10.1126/science.4023698>
- [2] Brumester, T. (2001) Molecular evolution of the arthropod hemocyanin superfamily. *Molecular Biology and Evolution*, **18**, 184-195. <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a003792>
- [3] Brumester, T. (2002) Origin and evolution of arthropod hemocyanins and related protein. *Journal of Comparative Physiology B*, **172**, 95-107. <http://dx.doi.org/10.1007/s00360-001-0247-7>
- [4] Cuff, M.E., Miller, K.I., van Holde, K.E. and Hendrickson, W.A. (1998) Crystal structure of a function unit from octopus hemocyanin. *Journal of Molecular Biology*, **278**, 855-870. <http://dx.doi.org/10.1006/jmbi.1998.1647>
- [5] Lie, B., Genbauer, W., Gatsogiannis, C., Depoix, F., Hellmann, N., Harasewych, M.G., Strong, E.E. and Markl, J. (2010) Molluscan mega-hemocyanin: An ancient oxygen carrier tuned by a ~550 kDa polypeptide. *Frontiers in Zoology*, **7**, 14. <http://dx.doi.org/10.1186/1742-9994-7-14>
- [6] Harris, J.R. and Markl, J. (1999) Keyhole limpet hemocyanin (klh): A biomedical review. *Micron*, **30**, 597-623. [http://dx.doi.org/10.1016/S0968-4328\(99\)00036-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0968-4328(99)00036-0)
- [7] Lieb, B., Altenhein, B., Markl, J., Vincent, A., van Olden, E. and Miller, K.I. (2001) Structures of two molluscan hemocyanin genes: Significance for gene evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**, 4546-4551. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.071049998>
- [8] Decker, H., Hellman, N., Jaenicke, E., Bernhard, L., Meissner, U. and Markl, J. (2007) Minireview: Recent progress in hemocyanin research. *Integrative and Comparative Biology*, **47**, 631-644. <http://dx.doi.org/10.1093/icb/icm063>
- [9] Charlotte, P.M. (1980) Respiration function of the hemocyanins. *American Zoologist*, **20**, 19-38.
- [10] Itoh, S. and Fukuzumi, S. (2007) Monooxygenase activity of type 3 copper proteins. *Accounts of Chemical Research*, **40**, 592-600. <http://dx.doi.org/10.1021/ar6000395>
- [11] Decker, H. and Rimke, T. (1998) Tarantula hemocyanin shows phenoloxidase activity. *The Journal of Biological Chemistry*, **273**, 25889-25892. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.273.40.25889>
- [12] 章跃陵, 林伯坤, 陈俊, 胡忠, 黄通旺, 严芳 (2006) 凡纳滨对虾血蓝蛋白的细菌凝集活性. *中国水产科学*, **6**, 1006-1011.
- [13] 刘瑶, 陈若泓, 王泽焕, 陈洁辉, 张楠, 章跃陵 (2013) 凡纳滨对虾血蓝蛋白的抗黑曲霉活性. *中国水产科学*, **4**, 802-807.
- [14] Lee, S.Y., Lee, B.L. and Siderhall, K. (2003) Processing of an anti-bacterial peptide from hemocyanin of the freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *The Journal of Biological Chemistry*, **278**, 7927-7933. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M209239200>
- [15] Zhang, X.B., Huang, C.H. and Qin, Q.W. (2004) Antiviral properties of hemocyanin isolated from shrimp *Penaeus monodon*. *Antiviral Research*, **61**, 93-99. <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2003.08.019>
- [16] 章跃陵, 杜志恒, 赵贤亮, 闵少颖, 陈洁辉, 黄通旺 (2009) 血蓝蛋白与 IgSF 同源关系的研究. *汕头大学学报(自然科学版)*, **3**, 49-53.
- [17] Coates, C.J. and Naire, J. (2014) Diverse immune function of hemocyanins. *Development & Comparative Immunology*, **45**, 43-55. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dci.2014.01.021>
- [18] Jaenicke, E., Föll, R. and Decker, H. (1999) Spider hemocyanin binds ecdysone and 20-OH-ecdysone. *The Journal of Biological Chemistry*, **274**, 34267-34271. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.274.48.34267>
- [19] 王文锋, 夏西超, 王雪参, 吕黎, 杨洪, 宁黔冀 (2012) 日本沼虾血蓝蛋白基因 cDNA 全长克隆及表达分析. *解剖学报*, **2**, 214-219.
- [20] Paul, R.J., Bergner, B., Pfeffer-Seidl, A., Decker, H., Efinger, R. and Storz, H. (1994) Gas transport in the haemolymph of arachnids I. Oxygen transport and physiological role of haemocyanin. *The Journal of Experimental Biology*, **188**, 25-46.
- [21] Kostadinova, E., Dolashka, P., Velkova, L., Dolashki, A., Stevanovic, S. and Voelter, W. (2013) Positions of the glycans in molluscan hemocyanin, determined by fluorescence spectroscopy. *Journal of Fluorescence*, **23**, 753-760. <http://dx.doi.org/10.1007/s10895-013-1171-4>
- [22] 郭维, 吴勇权, 郑绿茵, 许丽荣, 范小林 (2009) 氯硝柳胺及其衍生物与钥孔戚血蓝蛋白的相互作用. *高等学校化学学报*, **7**, 1314-1321.
- [23] Mellema, J.E. and Klug, A. (1972) Quaternary structure of gastropod haemocyanin. *Nature*, **239**, 146-150. <http://dx.doi.org/10.1038/239146a0>

- [24] Siezen, B.J. and van Bruggen, E.F.J. (1974) Structure and properties of hemocyanins: XII. Electron microscopy of dissociation products of *Helix pamotia* alpha-hemocyanin: Quaternary structure. *Journal of Molecular Biology*, **90**, 77-89. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-2836\(74\)90257-5](http://dx.doi.org/10.1016/0022-2836(74)90257-5)
- [25] Lamy, J., Gielens, C., Lambert, O., Taveau, J.C., Motta, G., Loncke, P., De Geest, N., Préaux, G. and Lamy, J. (1993) Further approaches to the quaternary structure of *Octopus* hemocyanin: A model based on immunoelectron microscopy and image processing. *Archive of Biochemistry and Biophysics*, **305**, 17-29. <http://dx.doi.org/10.1006/abbi.1993.1388>
- [26] Gatsogiannis, C., Moeller, A., Depoix, F., Meissner, U. and Markl, J. (2007) *Nautilus pompilius* hemocyanin: 9Å cryo-EM structure and molecular model reveal the subunit pathway and the interfaces between the 70 functional units. *Journal of Molecular Biology*, **374**, 465-486. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmb.2007.09.036>
- [27] Doashka, P., Zal, F., Dolashki, A., Molin, L., Traldi, P. and Salvato, B. (2012) ESI-MS and MALLS analysis of quaternary structure of molluscan hemocyanins. *Journal of Mass Spectrometry*, **47**, 940-947. <http://dx.doi.org/10.1002/jms.2967>
- [28] Strobel, A., Hu, M.Y.A., Gutowaka, M.A., Lieb, B., Lucassen, M., Melzner, F., Pörtner, H.O. and Mark, F.C. (2012) Influence of temperature, hypercapnia, and development on the relative expression of different hemocyanin isoform in the common cuttlefish *Sepia officinalis*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, **317**, 511-523. <http://dx.doi.org/10.1002/jez.1743>