

金属硫蛋白

赵新民 江冠群 龙立平 熊文高 编著

 中南大学出版社

金属硫蛋白

赵新民 江冠群 龙立平 熊文高 编著

中南大学出版社

内 容 简 介

1957 年 Margoshes 和 Vallee 在研究金属生物学作用时,从动物器官分离出一种新的蛋白质,它含有丰富的巯基,能螯合大量的金属离子,此物质称为金属硫蛋白(英文为 Metallothionein,简称 MT)。人体、动物、植物以及微生物体内均含金属硫蛋白(MT),金属硫蛋白(MT)具有广泛的生物学功能,它的研究已经成为当前的热门。2005 年 10 月在北京召开了第五届金属硫蛋白(MT)国际学术大会,对金属和金属硫蛋白的某些分子生物学理论(基因转录,诱导与调控,蛋白质分子折叠,分子进化等),临床医学(重大疾病:肿瘤,心血管疾病,糖尿病,老年性痴呆,金属代谢失常症等的病理机制、防治和诊断),环境保护(重金属污染土壤和水域的治理)等多个前沿学科进行了广泛研讨。

本书全面反映了目前金属硫蛋白(MT)最新研究进展,重点突出金属硫蛋白(MT)的结构和功能之间的关系,并用一定的篇幅介绍金属硫蛋白(MT)在生物医药和环境保护方面的应用,结合作者在金属硫蛋白(MT)方面多年的研究实践,介绍了金属硫蛋白(MT)的分离、纯化和检测的一些理论和实践操作技术,简要介绍了金属硫蛋白(MT)的工业化生产和质量标准以及金属硫蛋白(MT)的应用研究。本书可作为生物医药科技工作者和蛋白质分离、纯化技术人员的参考书。

目 录

第一章 金属硫蛋白的发现、分类和分布	1
第一节 金属硫蛋白的发现和概况	1
第二节 金属硫蛋白的定义	2
第三节 金属硫蛋白的分布	2
第四节 金属硫蛋白的分类	6
第二章 金属硫蛋白的结构	22
第一节 金属硫蛋白分子一级结构	23
第二节 金属硫蛋白分子高级结构	25
第三节 金属硫蛋白基因	29
第三章 金属硫蛋白主要生物学功能	33
第一节 金属硫蛋白(MT)对重金属的解毒和调节作用	33
第二节 参与细胞调节	36
第三节 金属硫蛋白(MT)对免疫系统的调节	37

第四节	金属硫蛋白(MT)与自由基	40
第五节	金属硫蛋白(MT)的抗辐射作用	43
第六节	金属硫蛋白(MT)与神经系统	52
第七节	金属硫蛋白(MT)与人类疾病	53
第四章	金属硫蛋白基因工程	66
第一节	利用基因工程研究金属硫蛋白结构	66
第二节	利用基因工程治理环境中重金属污染	67
第三节	国内外有关金属硫蛋白(MT)转基因研究	72
第五章	金属硫蛋白应用研究	81
第一节	关于金属硫蛋白(MT)的吸收及动力学研究	81
第二节	金属硫蛋白在医学上的应用	88
第三节	金属硫蛋白与环境污染	95
第四节	金属硫蛋白(MT)与化妆品	101
第五节	金属硫蛋白(MT)与保健食品	110
第六节	金属硫蛋白(MT)与药品	114
第六章	金属硫蛋白制备的产业化	124
第一节	原料生产	124
第二节	金属硫蛋白(MT)的分离与纯化	126
第三节	金属硫蛋白(MT)的检测与鉴定	129
第四节	国内金属硫蛋白(MT)产业化制备情况	139
参考文献		146

第一章 金属硫蛋白的发现、 分类和分布

第一节 金属硫蛋白的发现和概况

1957 年 Margoshes 和 Vallee 在研究金属生物学作用时,从动物器官分离出一种新的蛋白质,它含有丰富的巯基,能螯合大量的金属离子,此物质称为金属硫蛋白(英文为 Metallothionein,简称 MT)。人体、动物、植物以及微生物体内均含金属硫蛋白(MT),而且其理化特性基本一致。金属硫蛋白(MT)分子呈椭圆形,分子质量为 6500u,直径 30~50Å ($1\text{Å} = 10^{-10}\text{m}$),分两个结构域,每个分子含 7~12 个金属原子,具有特殊的光吸收。金属硫蛋白(MT)构象较坚固,具有较强的耐热性。自从金属硫蛋白(MT)被发现以来,它就成为基础科学研究的热点之一。从 1978 年到 2005 年共举行了五次金属硫蛋白的国际专题研讨会,2005 年 10 月在我国举行了第五次金属硫蛋白(MT)国际会议。会议上各国科学家对金属和金属硫蛋白的某些分子生物学理论(基因转录,诱导与调控,蛋白质分子折叠,分子进化等),临床医学(重大疾病:肿瘤,心血管疾病,糖尿病,老年性痴呆,金属代谢失常症等的病理机制、防治和诊断),环境保护(重金属污染土壤和水域的治理)等多个前沿学科进行广泛的研讨。我国北京大学金属硫蛋白结构与功能的研究早在 1986 年就已经开始

并被列入国家 863 计划，在许多研究方面引起了国际学术界的高度关注和认同。此外，各国科学家也在探索利用外源金属硫蛋白 (MT) 的可行性。大量的科学实验和医学研究表明：金属硫蛋白 (MT) 在抗电离辐射、紫外线照射、解除金属毒素、治疗消化道溃疡、心肌梗死、各种炎症、各种癌症、美容护肤、减轻吸烟及环境污染对人体的危害及抗过敏等方面显示出潜在的应用价值。

第二节 金属硫蛋白的定义

金属硫蛋白顾名思义，就是结合金属的蛋白质。1985 年国际金属硫蛋白 (MT) 命名委员会对金属硫蛋白 (MT) 作了明确定义，凡符合以下特征的多肽即可称之为金属硫蛋白 (MT)：①低分子质量；②高巯基含量；③特征氨基酸组成（高半胱氨酸含量、不含芳香族氨基酸和组氨酸）；④独特的氨基酸序列结构（半胱氨酸残基分布有特征性，如 cys-x-cys ）；⑤金属硫醇盐的光谱特征；⑥金属硫醇盐簇结构。

可以说金属硫蛋白 (MT) 是指一类低分子质量高巯基含量、能大量结合金属离子的性能独特的蛋白质或活性肽。

第三节 金属硫蛋白的分布

金属硫蛋白 (MT) 是一类小分子金属结合蛋白，尽管对它的研究从发现以来已经有近 50 年了，有关它的文章每年有数百篇之多，其中主要是对金属硫蛋白 (MT) 的分布、结构、功能、相互作用等多方面进行研究。一种蛋白能引起科学工作者如此多的关注是很少见的。蛋白的功能与其作用位点有密切的关系，近年来随着研究手段的发展，金属硫蛋白 (MT) 亚型、亚亚型的分布研究有一些新的进展，下面将近年对金属硫蛋白 (MT) 的

亚型、亚亚型在正常组织器官中的分布、肿瘤中的分布及细胞、亚细胞分布和功能的研究进行总结，也有助于我们更全面更深入地认识金属硫蛋白（MT）的功能及其可能的作用机制。

金属硫蛋白（MT）广泛存在于动物、植物和微生物中。MT-1 和 MT-2 分布广泛，MT-3 的表达严格局限于动物神经组织，MT-4 主要分布于角质化上皮细胞中。中枢神经系统（CNS）中只有 MT-1、MT-2 和 MT-3。脑中 MT-1 和 MT-2 主要分布在星形细胞、微型胶质细胞、柔脑膜细胞、室管膜和脉络丛上皮。而 MT-3 主要分布于海马 CA1~CA3 区锥体细胞、齿状回颗粒细胞以及大脑皮质、小脑的浦肯野细胞内。MT-3 在脑组织尤其是海马脑区的特异性分布预示着它对脑功能有着特殊的意义。

大多数哺乳动物组织、血清和尿中都含有金属硫蛋白（MT），但金属硫蛋白（MT）的含量因年龄和组织而异。在人体器官中以肝脏和肾脏中金属硫蛋白（MT）的含量较高，但在不同发育时期肝肾中金属硫蛋白（MT）的含量又有很大差异。人在胎儿期和出生后早期肝脏金属硫蛋白（MT）的含量很高，出生后不久金属硫蛋白（MT）的含量便迅速下降，中老年时又出现一个高峰。从发育的角度看，金属硫蛋白（MT）的分布与细胞的旺盛分裂有密切联系，但除细胞分裂的因素外，还受到其他多种因素的影响。

一、金属硫蛋白（MT）在昆虫组织中的分布

金属硫蛋白（MT）最早发现于马的肾脏中，其后发现凡是具有解毒功能的器官如肝脏、肾脏中，金属硫蛋白（MT）含量均相当高。那么作为昆虫主要的储存和排泄器官——脂肪体和马氏管，是否是金属硫蛋白（MT）的主要存在部位？一些实验证明，昆虫体内金属硫蛋白（MT）主要存在于消化道中，尤其在中肠部分。经解剖学研究发现，大约 90% 的镉（Cd）存在于麻

蝇幼虫的消化道之中,而这些铜主要与蛋白质结合以金属硫蛋白(MT)的形式存在,因此可推论麻蝇幼虫的金属硫蛋白(MT)分布在消化道中。后来经 $^{109}\text{Cd}^{2+}$ 放射性原子示踪实验,Maroni发现95%的放射性物质存在于果蝇幼虫的消化道,尤以中肠为主。Tapp用组织化学和X射线结合的方法,研究了果蝇幼虫铜的积累情况,发现大多数铜都聚集在中肠的嗜铜性细胞中。然而并非所有的金属离子进入昆虫体内后都分布在中肠。如Sohal通过组织切片观测到金属离子在家蝇成虫中的分布情况:铜主要在中肠,而锌和钙却主要储存在马氏管。此外,蟑螂成虫的回肠是主要储存汞的部位,汞也是以金属硫蛋白(MT)的形式存在。

二、金属硫蛋白(MT)在人脑内的分布

应用免疫组化和原位杂交方法进行研究,结果表明金属硫蛋白(MT)广泛存在于人和鼠大脑皮质、基底神经节、丘脑、海马、嗅球、小脑和脑干组织中。金属硫蛋白(MT)阳性细胞主要为星形胶质细胞,而脑组织中少突胶质细胞、神经胶质细胞和神经元中均未发现MT-1和MT-2。研究发现脑内存在3种金属硫蛋白(MT)异构体,它们在脑组织中的分布亦不相同,MT-1和MT-2在大脑皮质和基底节的含量较高,MT-3在大脑皮质的含量较低,而在海马齿状回的颗粒细胞层中占优势;在嗅球3种金属硫蛋白(MT)的表达较其他部位相对较高,说明了各种金属硫蛋白(MT)异构体在脑内具有不同的调控方式和不同的生理功能。利用转基因技术研究脑内各种金属硫蛋白(MT)不同的异构体含量,结果表明MT-1或MT-2缺乏的大鼠(仅表达MT-3和MT-4),脑组织中金属硫蛋白(MT)含量较正常对照鼠明显减少,脑内金属硫蛋白(MT)中MT-3大约占65%,而且这些缺乏MT-1或MT-2的大鼠脑内MT-3在大脑皮质和纹状体内明显增高,说明了不同种类的大鼠、不同脑区、不同类型

金属硫蛋白 (MT) 的含量并不相同。

三、家兔组织中金属硫蛋白 (MT) 含量

利用参考 Onasaka 等的方法, 赵新民等研究了锌离子诱导家兔组织中金属硫蛋白 (MT) 含量的变化 (见图 1-1 和表 1-1)。

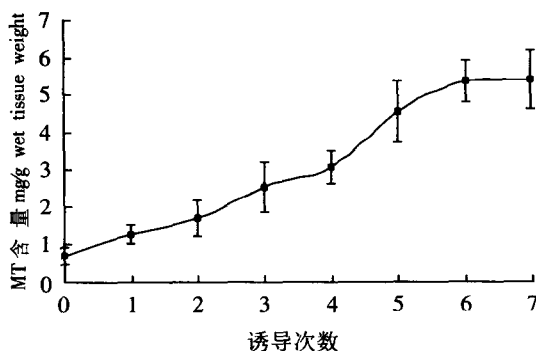


图 1-1 诱导期间肝脏 MT 含量的变化

表 1-1 诱导期间组织金属硫蛋白 (MT) 含量
(mg/g 湿组织重, mg/mL) 变化 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

家兔组织	肉	血浆	肝	肾	肺	肠
对照组	0.07 ± 0.01	0.41 ± 0.05	0.71 ± 0.08	0.63 ± 0.07	0.49 ± 0.14	0.68 ± 0.09
7 次诱导组	0.24 ± 0.06	2.63 ± 0.02	5.42 ± 0.07	4.26 ± 0.11	3.24 ± 0.04	5.21 ± 0.12

第四节 金属硫蛋白的分类

一、主要分类

由于金属硫蛋白 (MT) 的多态性, 金属硫蛋白 (MT) 的分类比较复杂, 所以金属硫蛋白 (MT) 家族实际上为一个超级家族 (superfamily)。有人进行了专门的研究。Ebadi 等根据结构将金属硫蛋白 (MT) 分为三大类: I 型金属硫蛋白 (MT)、II 型金属硫蛋白 (MT)、III 型金属硫蛋白 (MT)。I 型金属硫蛋白 (MT) 包括哺乳动物的各种金属硫蛋白 (MT), 含有 61 ~ 69 个氨基酸, 其中有 20 个半胱氨酸, 序列非常保守; I 型金属硫蛋白 (MT) 又分为 4 个不同的亚型: MT-1、MT-2、MT-3、MT-4, 亚型中又分为亚亚型; II 型金属硫蛋白 (MT) 中半胱氨酸的位置与 I 型金属硫蛋白 (MT) 有相似之处, 但序列差异较大; III 型金属硫蛋白 (MT) 是主要存在于植物中的一些具有类似于 I 型金属硫蛋白 (MT) 的高含半胱氨酸序列结构的化合物或多肽。

根据蛋白序列已经发现有近 200 种金属硫蛋白 (MT), 主要包括 81 种脊椎动物金属硫蛋白 (MT)、31 种无脊椎动物金属硫蛋白 (MT)、12 种微生物金属硫蛋白 (MT) 和 45 种植物金属硫蛋白 (MT)。相信还会有更多的金属硫蛋白 (MT) 被发现。

金属硫蛋白 (MT) 家族 (MT family): 包括特定序列在内, 金属硫蛋白 (MT) 是一个进化相关的大家庭。通过进化树相互可以把每一个家族联系起来。每一家族有特定的数字和分类学范畴, 如金属硫蛋白 (MT) 家族 1——脊椎动物金属硫蛋白 (MT) (vertebrate MTs), 分布在脊椎动物中。第三个外显子的开始有 K-x (1, 2) -C-C-x-C-C-P-x (2) -C 序列, 20 (21) 个 Cys, 19 个保守氨基酸, 60 ~ 68 个氨基酸, 2 个结构域, 3 个

外显子, 2 个内含子, 亚家族主要有: m1, m2, m3, m4, m, a, a1, a2, b, ba, t。金属硫蛋白 (MT) 家族 2——软体动物金属硫蛋白 (MT)。亚家族主要有: mo1, mo2, mog, mo。分别代表贝类 MT-1、贝类 MT-2、腹足动物金属硫蛋白 (MT) 和其他软体动物金属硫蛋白 (MT)。目前共有 15 大家族, 如金属硫蛋白 (MT) 家族 6 为线虫金属硫蛋白 (MT), 金属硫蛋白 (MT) 家族 15 为植物金属硫蛋白 (MT)。

金属硫蛋白 (MT) 亚家族 (MT subfamily): 除有家族的特性外, 它们在进化上更加接近。在蛋白氨基酸序列或核苷酸有特定的单源关系 (monophyletic relationship)。有时存在序列上的重复性和保守性。亚家族常由一个字母缩写并带一个阿拉伯数字, 如哺乳动物 MT-1 (mammalian MT-1) 缩写为 m1。金属硫蛋白 (MT) 亚组 (MT subgroup) 常在进化上经过统计分析, 它们的序列在进化树上通过单源进化与其他亚组分开。如: m2U2 为有蹄类动物 MT-2 (ungulate MT-2), 即哺乳动物亚家族 MT-2 的亚组 (subgroup of the m2 subfamily)。

异构体或等位体 (Isoforms or allelic forms): 它们为金属硫蛋白 (MT) 家族、金属硫蛋白 (MT) 亚家族和金属硫蛋白 (MT) 亚组下的成员。由 Kojima 等提出, 例如 human MT-1E。

表 1-2 列出了各种人金属硫蛋白的生化性质。

表 1-2 人金属硫蛋白的生化性质

金属硫蛋白	氨基酸数量	分子质量 (u)	理论 pI	Swiss - Prot 蛋白质序列号
MT-1A	61	6133.2	8.38	P04731
MT-1B	61	6115.3	8.47	P07438
MT-1E	61	6014.1	8.38	P04732
MT-1F	61	6086.2	8.23	P04733
MT-1G	61	6070.2	8.38	P13640
MT-1H	61	6039.2	8.49	P80294

续表

金属硫蛋白	氨基酸数量	分子质量 (u)	理论 pl	Swiss - Prot
				蛋白质序列号
MT - 1I	61	6040. 2	8. 38	P80295
MT - 1K	62	6141. 3	8. 38	P80296
MT - 1L	61	6068. 2	8. 38	P80297
MT - 1R	61	6062. 2	8. 38	Q93083
MT - 2	61	6042. 1	8. 23	P02795
MT - 3	68	6926. 9	4. 79	P25713
MT - 4	62	6418. 7	8. 38	P47944

二、动物金属硫蛋白 (MT) 的进化

金属硫蛋白 (MT) 是一种小分子质量蛋白, 在自然界中存在得十分广泛, 几乎可见于所有已查检过的无脊椎动物、脊椎动物体内, 其一级结构具有很高的保守性。金属硫蛋白 (MT) 结构保守的这种程度导致这样的结论, 即金属硫蛋白 (MT) 的大多数结构基序早在脊椎动物出现之前就已固定, 几百万年来的选择压力使这种氨基酸序列一直完整地保持了下来。鉴于目前无脊椎动物金属硫蛋白 (MT) 的研究比较薄弱, 已经阐明的无脊椎动物金属硫蛋白 (MT) 的一级结构仅十余种, 因此我们很难将无脊椎动物金属硫蛋白 (MT) 放在动物金属硫蛋白 (MT) 的进化背景中去考虑。就目前的研究来看, 无脊椎动物金属硫蛋白 (MT) 和哺乳动物金属硫蛋白 (MT) 相比, 在金属硫蛋白 (MT) 的氨基酸组成、一级结构等方面均具有基本相似的特性。相似性表现在: ①两者金属硫蛋白 (MT) 的 Cys 含量都很高; ②均具有典型的 Cys 排列构型, 即 Cys - X - Cys; ③金属硫蛋白 (MT) 的功能十分相似, 即调控体内 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 等必需重金属的内稳态平衡和重金属解毒。但是, 两者的差异也是十分明显的: 其一, 无脊椎动物某些种类金属硫蛋白 (MT) 含有芳香族氨基酸, 而哺乳动物金属硫蛋白 (MT) 一般不含芳香族氨基酸; 其

二，哺乳动物金属硫蛋白（MT）各亚型序列相似性很高，而无脊椎动物金属硫蛋白（MT）各亚型序列相似性较低。从无脊椎动物金属硫蛋白（MT）到哺乳动物金属硫蛋白（MT）的进化来看，金属硫蛋白（MT）的进化可能是一种趋同进化（convergent evolution）的模式，即越到高等动物金属硫蛋白（MT）的结构、特性就越趋于稳定。当然，这一结论还需要更多有关无脊椎动物金属硫蛋白（MT）、哺乳动物金属硫蛋白（MT）的研究来验证和支持。无脊椎动物作为动物类群中最大的一类，研究无脊椎动物金属硫蛋白（MT）对于最终完成动物金属硫蛋白（MT）的进化系统树具有很重要的意义。动物金属硫蛋白（MT）的进化如图 1-2 所示。

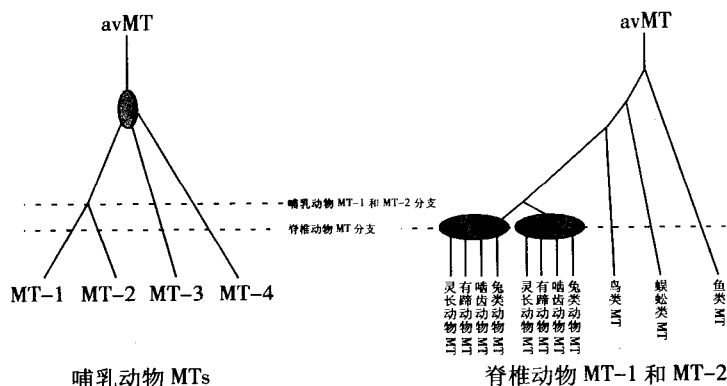


图 1-2 各种脊椎动物 MT 从单一的脊椎动物 MT 祖先基因 (avMT) 的进化

1. 无脊椎动物金属硫蛋白（MT）结合金属元素的多样性

无脊椎动物金属硫蛋白（MT）多样性的最显著的特点是其结合金属元素种类及其总量变化的多样性。由于金属硫蛋白（MT）上 Cys 残基含有易与金属结合的巯基，因此金属硫蛋白（MT）能结合大量金属元素。一般在无脊椎动物金属硫蛋白

(MT) 中, 每摩尔金属硫蛋白 (MT) 结合 6 个或 7 个金属原子, 巯基与金属元素比例为 3:1 或 3.5:1。在通常情况下, Zn、Cu 和 Cd 是金属硫蛋白 (MT) 中最常见的结合金属元素。在特定诱导条件下, 还能结合其他具有更高亲和性的非必需金属元素, 如 Hg、Ag、Pb、Sn、Ca、Bi、Au 等。研究表明, 金属硫蛋白 (MT) 的存在形式及其稳定性与它所结合金属的种类、是否结合了金属及环境 pH 值等密切相关。这些金属硫蛋白 (MT) 结合金属元素的异质性与特定器官的吸收和供应或金属硫蛋白 (MT) 同形体的金属元素结合能力有关。同一种金属硫蛋白 (MT) 同形体的金属元素组成随其生物、生理和其他条件的不同而发生变化, 即使同一个器官的金属硫蛋白 (MT) 同形体也一样, 主要取决于蛋白质的来源、生物的生理状态、受金属元素暴露的程度以及所暴露的金属元素种类。不同的金属硫蛋白 (MT) 同形体在体内具有明显的金属元素结合顺序, 并且行使着不同的生理生态功能。金属硫蛋白 (MT) 结合金属元素被取代的顺序是: $\text{Hg} > \text{Cu} > \text{Cd} > \text{Zn}$ 。在自然状态下, 生物体金属硫蛋白 (MT) 具有一定的结合金属元素比, 如 Cd/Zn 比。 Cd/Zn 比与器官中金属硫蛋白 (MT) 合成有关, 但其生物学意义目前尚不清楚。据 Dallinger 等 (1999) 报道, 天然罗马陆生蜗牛 (*Helix pomatia*) 中肠腺金属硫蛋白 (MT) 与外套膜金属硫蛋白 (MT) 不仅初级结构上存在差异, 而且结合金属成分上具有明显区别。中肠腺金属硫蛋白 (MT) 几乎只含 Cd, 而 Zn 和 Cu 含量甚微, 摩尔金属元素比为 $\text{Cd}:\text{Zn}:\text{Cu} = 100:6.6:2$, 而其外套膜金属硫蛋白 (MT) 却主要是结合 Cu, 摩尔金属元素比为 $\text{Cu}:\text{Cd}:\text{Zn} = 100:1:6$ 。从这两种金属硫蛋白 (MT) 氨基酸序列来看, 它们高度同源 (约 57%), 但在结合金属元素上却明显不同, 这一点表明它们在体内行使着不同的生理功能: 中肠腺金属硫蛋白 (MT) 的基本功能之一是 Cd 解毒作用, 而外套膜金属硫蛋白 (MT) 根本没有解

毒功能，而是参与血蓝蛋白生物合成中 Cu 调节作用。同样的生理功能也在海洋十足目动物中得到证明。另外，有的金属硫蛋白 (MT) 并非诱导产生，还可以作为血蓝蛋白的铜供体，在动物体内起着携氧蛋白的作用，如美国大螯虾 (*Homarus americanus*) 肝胰腺 CuMT-3。同样的生理作用也在果蝇中得到证实。这些研究报道是金属硫蛋白 (MT) 具有生理功能的极少数直接证据之一，也为金属硫蛋白 (MT) 这种蛋白的多重生理功能机制的解释提供了参考模型。

2. 无脊椎动物金属硫蛋白 (MT) 的遗传多样性

无脊椎动物金属硫蛋白 (MT) 多样性的第二个明显特点是具有广泛的遗传多样性，主要表现在同形体及其变体蛋白和基因多样性两个方面。前者表现在氨基酸组成、一级结构和空间结构、同形体及其变体多态性上，后者主要表现于基因组成上的差异。但目前对绝大多数无脊椎动物金属硫蛋白 (MT) 具有广泛遗传多态性的生态学意义并不清楚，一种解释认为，是金属硫蛋白 (MT) 基因在不同组织、发育和再生中不同表达的需要，是生物选择性适用于金属元素、激素和细胞毒素引起挑战的需要，这种选择是金属硫蛋白 (MT) 基因进化的基础。

(1) 金属硫蛋白 (MT) 多样性

所有 I 类金属硫蛋白 (MT) 一级结构的共同特征是 Cys 的保守性。哺乳动物金属硫蛋白 (MT) 具有 20 个保守的 Cys，无脊椎动物金属硫蛋白 (MT) 至少有 15 个 Cys 与哺乳动物金属硫蛋白 (MT) 相同，这些 Cys 残基在金属硫蛋白 (MT) 中的空间分布非常重要，它们构成了金属硫蛋白 (MT) 主要的金属元素结合配位体。迄今为止，一个易被忽视的特征是，无脊椎动物金属硫蛋白 (MT) 自由 N-末端不具有 N-乙酰甲硫氨酸，而后者在所有脊椎动物金属硫蛋白 (MT) 中都存在。不过，所有无脊椎动物金属硫蛋白 (MT) 的 N-末端氨基酸序列，尤其是 N-末端

氨基酸残基具有显著差异,金属硫蛋白(MT)异构体仅在N-末端氨基酸的乙酰化上具有差异,与非乙酰化形态相比,金属硫蛋白(MT)异构体表现出诱导时间格局的稍微差异。因此,金属硫蛋白(MT)功能上的一些差异不能够用一般的相似规律来进行解释。N-末端上具有脯氨酸、缬氨酸以及丝氨酸,因而在线虫(*Caenorhabditis elegans*)和美洲牡蛎中,N-末端残基在核苷酸序列中是倒数第二个核苷酸编码的残基,首位残基甲硫氨酸明显在共同翻译过程中不具有初生多肽。牡蛎金属硫蛋白(MT)只有一种结构,因为它是一个同时具有乙酰化和非乙酰化形式的金属硫蛋白(MT)。此外,有趣的是,罗马陆生蜗牛(*H. pomatia*)中肠腺金属硫蛋白(MT)与外套膜金属硫蛋白(MT)两者初级结构(包括Cys在内)的同源率只有58%,与中肠腺金属硫蛋白(MT)相比,外套膜金属硫蛋白(MT)中有几个位置的氨基酸被Asn残基所取代,这些金属硫蛋白(MT)上氨基酸残基的取代及其差异是否会导致其功能上的不同,还有待于确认。不过,金属硫蛋白(MT)异构体间的变异程度就已经表明,它们的生理功能差异是显著的。

到目前为止,对无脊椎动物金属硫蛋白(MT)的高级结构知之甚少。圆二色性光谱和核磁共振(NMR)研究表明,无脊椎动物金属硫蛋白(MT)的三级空间结构以两个球状结构域为特征,两个结构域在主链上的位置物种间存在差异。海胆、线虫金属硫蛋白(MT)的 α 结构域位于N-末端, β 结构域位于C-末端,而蓝蟹(*Callinectes sapidus*)则与之相反。每一个结构域具有一个巯基,多肽主链的折叠中具有典型的 $I\beta$ 折叠,无 $II\beta$ 折叠。 α 区含有11个Cys残基和4(或3)个金属原子, β 区含有9个Cys和3个金属原子,所有金属原子都与巯基结合,没有自由巯基存在;规则的二级结构中,在2个结构域Lys42与Thr48之间具有一短螺旋片段;2个结构域在功能上相对较独立,域内相