

〔J. Biochem., 96, 1903 (1984)〕

**Bindings of  $\text{Ca}^{2+}$  and Substrate Analogs to a Cobra Verom Phospholipase  $\text{A}_2$  in which the  $\alpha$ -Amino Group is Modified to an  $\alpha$ -Keto-Group**

KEIZO TESHIMA\*, YUJI SAMEJIMA\*, SAJU KAWAUCHI\*,  
KIYOSHI IKEDA\*\*, KYOZO HAYASHI

修飾したコブラ毒ホスホリパーゼ  $\text{A}_2$  に対する  $\text{Ca}^{2+}$  および基質アナログの結合

手島圭三\*, 鮫島勇次\*, 河内佐十\*, 池田 潔\*\*, 林 恭三

$\alpha$ -アミノ基を化学修飾して  $\alpha$ -ケト基にしたコブラ毒ホスホリパーゼ  $\text{A}_2$  の活性部位の His 48 と p-ブロムフェナシルブロミドの反応速度の pH 依存性を調べ、 $\alpha$ -アミノ基修飾酵素の His 48 の pK 値を7.9と決定した。一方、未修飾酵素の反応は二相性の pH 依存曲線を示し、pK 7.3 と約 8.5 の解離基のイオン化を反映する。したがって、これらの二つの解離基はそれぞれ、His 48 および  $\alpha$ -アミノ基と同定した。 $\alpha$ -アミノ基修飾酵素に対する  $\text{Ca}^{2+}$  の結合には、Asp 49 および His 48 が関与し、 $\alpha$ -アミノ基の関与はないことが明らかになった。また、 $\alpha$ -アミノ基修飾酵素に対するミセル状基質の結合定数は未修飾酵素に対する値とよく似ていることがわかった。 $\alpha$ -アミノ基修飾酵素に対するミセル状基質の結合定数は、 $\text{Ca}^{2+}$  存在下では未修飾酵素の値とよく似ており、pH 依存曲線は His 48 の関与で説明できた。しかし  $\text{Ca}^{2+}$  非存在下では、結合定数は  $\alpha$ -アミノ基の修飾によって著しく減少したにもかかわらず、pH 依存曲線は、未修飾酵素の場合と同様、His 48 と Asp 49 の関与で説明できた。

\* 星薬科大学 \*\* 大阪薬科大学

〔Biochemistry, 23, 4913 (1984)〕

**Photochemically Induced Polarization Study of Exposed Tyrosines, Tryptophans, and Histidines in Postsynaptic Neurotoxins and in Membranotoxins of Elapid and Hydrophid Snake Venoms**

KAROL A. MUSZAKAT\*, IGOR KHAIT\*, KYOZO HAYASHI,  
NOBUO TAMIYA\*\*

コブラ科およびウミヘビ科の後シナプス性神経毒のチロシン, トリプトファン, ヒステジン残基の存在状態

KAROL A. MUSZAKAT\*, IGOR KHAIT\*, 林 恭三, 田宮信雄\*\*

ヘビ, トカゲ, カエル, クモなどの毒液中には, 多くの生理活性物質が含まれている。著者らは, ウミヘビ, コブラなどの毒液から数種の神経毒を電気泳動的に均一に分離精製した。これらの精製神経毒には, 長鎖神経毒 (アミノ酸残基数71-74個) と短鎖神経毒 (アミノ酸残基数60-62個) が含まれている。これらの神経毒のチロシン, トリプトファン, ヒステジン残基の存在状態を, 270MHz プロトン NMR スペクトルにより解析した。その結果, 短鎖および長鎖神経毒の Trp-29 残基は動き易い状態で分子の表面に存在していること, Trp-25 残基は分子中に固定されていること, コブロットキシンの Trp-39 残基や,  $\alpha$ -ブンガロトキシンの Try-55 残基は flexible であることなどがわかった。分子の堅さは,  $\alpha$ -ブンガロトキシンの  $\geq$   $\alpha$ -コブラトキシンの  $\geq$  エラプトキシンのであった。これらの結果, ヘビ神経毒では S-S 結合に近いアミノ酸残基は固定された状態で, S-S 結合から遠いアミノ酸残基は動き易い状態で存在していることが明らかになった。

\* イスラエル, ワイズマン研究所 \*\* 東北大学理学部