

[J. Chromatogr., 281, 389 (1983)]

Separation of cardiotoxins (cytotoxins) from the venoms of *Naja naja* and *Naja naja atra* by reversed-phase high-performance liquid chromatography

NORIO KANEDA*, KYOZO HAYASHI

Naja naja および *Naja naja atra* 毒中のカルジオトキシン
(シトトキシン) の逆相高速液体クロマトグラフィーによる分離

金田典雄*, 林 恭三

1974年 Sarker はインドコブラ毒中に心臓に特異的に作用して、その働きを止める物質が存在することを見出し、塩析により分離精製した。しかしこの標品は単一なタンパクではなく、その後ゾーン電気泳動により3種の画分に分離されている。最近、Lee らは台湾コブラ毒を CM-Sephadex C-50 カラムクロマトグラフィーにより分離し、興奮性膜に対し脱分極をおこす画分を得、特に心臓などではその作用の著しいことからカルジオトキシンと命名した。一方、Braganca らはインドコブラ毒中に吉田肉腫細胞を選択的に破壊する因子が存在していることを見出し、これをシトトキシンと命名したが、これはタンパク化学的に Lee らのカルジオトキシンと同じグループの毒タンパクであった。このように種々の毒性を示す毒タンパクの分離をわれわれはゲルろ過と CM-セルロースクロマトグラフィーを組み合わせる方法で分離してきたが、均一にこれらのタンパクを分離することは困難であった。しかし Nucl-eosil 5CN カラム、溶媒 0.1% TFA-アセトニトリル (5:1) を用いて均一にカルジオトキシン類を分離することが出来た。

* 名古屋大学医学部

[Biopolymers, 22, 139 (1983)]

NMR Analysis of Structure and Function of Snake Neurotoxins

TATSUO MIYAZAWA*, TOSHIYA ENDO**, FUYUHIKO INAGAKI***,
KYOZO HAYASHI, NOBUO TAMIYA****

NMR 解析によるヘビ神経毒の構造と機能

宮沢辰雄*, 遠藤斗志也**, 稲垣冬彦***, 林 恭三, 田宮信雄****

コブラやウミヘビなどの毒液中には、致死活性が高くクラール様の作用を示す神経毒タンパクが含まれている。これらの神経毒タンパクを分離精製し、構造活性相関を 270 MHz プロトン NMR スペクトルにより解析した。神経毒タンパクとしてウミヘビ *L. semifasciata* からのエラプトキシン b, タイワンコブラ *N. naja atra* からのコプトキシン (短鎖神経毒=Ⅰ型神経毒), およびインドコブラからのトキシン B, タイワンアマガサヘビからの α -ブンガロトキシン (長鎖神経毒=Ⅱ型神経毒) を用いた。水溶液中でのエラプトキシン b の高次構造は X線結晶解析の結果とよく一致した。しかし、水溶液中での His 7 の環境は結晶構造中のものと明らかな相違を示した。溶液の pH を変化させるとインドコブラからのトキシン B の場合、中性溶液中でのその高次構造は酸性溶液から成長させた結晶で測定した立体構造とは異なっていることもわかった。

さらに上記4種のヘビ神経毒タンパクのアミドプロトンの重水素交換速度も測定した。その結果構造の硬さの順序は、これらの神経毒タンパクによって惹起される興奮伝達の遮断の不可逆性の順序と同じであることもわかった。

* 東京大学理学部, ** 群馬大学工業短期大学部, *** 東レ リサーチセンター, **** 東北大学理学部