

蝎毒神经毒素的一级结构研究

刘建宁 杨 端* 雷克健

(中国科学院生物物理研究所,北京)

蝎毒神经毒素是一种能与可兴奋性细胞质膜钠离子通道结合的低分子量毒素蛋白。我们在分离纯化山东益都产东亚马氏钳蝎 (*Buthus martensii* Karch) 哺乳动物神经毒素 III (简称 Bmk III) 的基础上,完成了东亚地区第一个蝎毒神经毒素的全部氨基酸序列测定。

用聚丙烯酰胺电泳、等电聚焦、HPLC-RP 及 N 末端测定等方法表明,Bmk III 纯度达 90% 以上。以 SDS-聚丙烯酰胺电泳重新测定其分子量为 7,500。用含色胺的 4mol/L 甲磺酸和 Hirs 方法共同确定其氨基酸组成。采用还原羧甲基化拆分该分子中所含的四对硫硫键。应用液相及固相 DABITC/PITC 手工双偶合法和气相自动 Edman 降解法,测出该分子 1—65 位中的大多数残基的排列顺序。

对于未确定的少数残基采用 Tpck-Trysin 降解柠檬酰化的 RCM-Bmk III,并相继用 HPLC-RP 分肽,结合手工液相 DABITC/PITC 双偶合法测出部分肽段的氨基酸排列顺序,予以确认。

用羧肽酶 A 降解法确认 Bmk III 羧端残基。综合上述结果,最后确定了除 47 位残基之外的 Bmk III 全部氨基酸排列顺序,结果如下:

```

      10          20
V R D A Y I A K P E N C V Y E C A T N E
      30          40
Y C N K L C T D N G A E S G Y C Q W V G
      50
R Y G N A C Y / W C I K L P D R V P I R
      60          65
V W G K C H G
    
```

以上结果与吉永华等人报道的 BmkI N 端 30 个残基部分序列中的多个残基不一致,可能属于不同的神经毒素。根据 Bmk III 的一级结构,对照其它种属蝎毒神经毒素的已知序列,我们确认 Bmk III 为 α 类蝎毒神经毒素。利用 Chou-Fasman 方法预测 Bmk III 具有四段 β 折叠,无明显 α -螺旋区,用 J. Kyte 等人的方法,参考 Fontecilla-Camps 等人所报道的 β 类蝎毒神经毒素的三级结构,提出了初步的 Bmk III 分子模型,发现它与 β 类蝎毒神经毒素 CsEV3 分子结构可能存在着一定的镜影对称关系。用该模型可以解释 α 类蝎毒神经毒素已知的结构与功能关系研究的某些事实。

计算 Bmk III 以及其它已知全序列的蝎毒神经毒素之间的同源相关性和各自的相对独立进化时间,建立了蝎毒神经毒素的分子进化树。发现 Bmk III 与非洲苏丹 *Buthus occitanus tunetanus* 神经毒素 II 具最大的亲缘性,而与中亚地区 *Buthus eupeus* 神经毒素 M10 亲缘性较低,参考大陆漂移-板块学说及古生物学的证据,我们提出东亚马氏钳蝎是随 1.2 亿年前离开非洲大陆,0.5 亿年前与亚洲大陆相接的印度次大陆传到东亚地区来的假说。它为各洲蝎毒神经毒素相对独立进化时间与各洲大陆漂移时间基本吻合这一事实所支持。

[本文于 1987 年 1 月 5 日收到]

* 北京大学生命研究中心