

江浙蝮蛇毒中性磷脂酶 A2 中的色氨酸荧光

郑 乐 林南琴 钱 嵘 周元聪 阮康成

(中国科学院上海生物化学研究所)

关键词 磷脂酶 A2, 荧光, 色氨酸 (Trp)

以往有关江浙蝮蛇毒中性磷脂酶 A2 (下文称 N-PLA2) 氨基酸组成和一级结构的研究均没有报道过该酶含有色氨酸残基^[1,2]。最近我们用荧光光谱学方法研究了该酶, 非常肯定地观察到该酶具有色氨酸特征的荧光, 特作简要报道如下:

N-PLA2 的分离和纯化: 按陈远聪等报道的方法^[3], 从江浙蝮蛇毒中纯化了 N-PLA2, 即突触前神经毒素, 经碱性 PAGE 和 Bio-Rad 公司 Model III Mini leg Cell 等电聚焦仪检测, 均为一条带。

图 1 是 N-PLA2 的荧光发射谱 (曲线 a) 与自由色氨酸 (Trp) 在同样缓冲液中的荧光发射谱 (b)。从图中不难看出二者形状十分相似, 只是前者较后者在最大发射波长有 6 nm 左右的光谱蓝移。图中的激发光波长是 295 nm, 在此条件下蛋白分子中仅有色氨酸能产生荧光^[3], 这说明 N-PLA2 分子中存在色氨酸残基。上述的 6 nm 左右的光谱蓝移意味着 N-PLA2 中色氨酸残基侧链吲哚基团没有直接暴露于溶剂分子而是处在一定的构象之中。用 280 nm 波长的光激发 N-PLA2 时, 得到的荧光发射谱和图中的 a 完全一样, 观察不到酪氨酸的荧光, 这样的现象在既含有 Tyr 又含有 Trp 的“B”类蛋白中是屡见不鲜的^[3]。这也从另一角度说明 N-PLA2 中确实含有 Trp。在 0.05 mol/L Tris-Cl, pH 7.5 缓冲液中按 Spande 方法^[4]进行的 NBS 滴定实验表明, 在天然状态下, 每个分子 N-PLA2 中约有 0.6 个 Trp 残基可被修饰。

我们还进行了 bis-ANS 与 N-PLA2 相

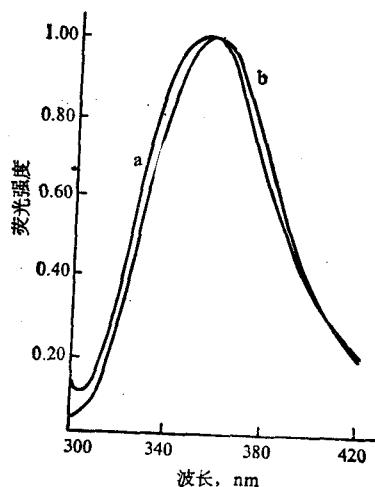


图 1 N-PLA2 与自由色氨酸的荧光发射谱 (未经校正)

曲线 a: N-PLA2 (72 μmol/L) 曲线 b: 自由 Trp (20 μmol/L)

缓冲液: 0.05 mol/L Tris-Cl, pH7.5 激发光波长: 295 nm

互作用的实验, 结果表明 bis-ANS 与 N-PLA2 有强烈的结合, 结合后的 bis-ANS 荧光有相当大的增加和蓝移, 说明 N-PLA2 分子中有疏水区存在。有意思的是我们还观察到 N-PLA2 中色氨酸与 bis-ANS 之间的能量传递。

目前我们正在对上述现象进行更深入的研究。

参 考 文 献

- 1 陈远聪等. 生物化学与生物物理学报, 1981; 13(2):205
- 2 Kiyoshi Konodo *et al* J Biochem, 1989; 105:196
- 3 Lakowicz J R. Principles of Fluorescence Spectroscopy, New York London: Plenum Press, 1981
- 4 阮康成等. 生物化学与生物物理学报, 1992; 24(1):66
- 5 Spande T F, Witkop B. Methods in Enzymology, 1967; 11:528

收稿日期: 1991-12-24