

## 2種のアマガサ蛇の毒に含まれるlethal toxinの一次構造決定

○矢ノ下良平<sup>1</sup>、小川裕子<sup>1</sup>、村山信浩<sup>2</sup>、佐口健一<sup>2</sup>、佐藤保<sup>3</sup>、樋口成定<sup>2</sup>、鮫島勇次<sup>1</sup>

<sup>1</sup>星薬大・医薬研、<sup>2</sup>昭和大・薬、<sup>3</sup>タイ赤十字社

【目的】タイに生息する2種のアマガサ蛇(*Bungarus flaviceps*および*Bungarus candidus*)から新規のlethal toxinを探索した。精製とcDNAクローニングを行ったところ、*B. flaviceps*から新規 $\beta$ -ブンガロトキシン( $\beta$ -Bgt)と考えられる配列が得られたので報告する。

【方法】*B. flaviceps*の毒腺からマウス致死毒性を指標としてlethal toxinを精製した。on membrane digestionによって部分アミノ酸配列を決定した。既知の*B. multicinctus*由来 $\beta$ -Bgtのシグナルペプチドおよび3'-非翻訳領域の塩基配列からプライマーを作製し、*B. flaviceps*の毒腺mRNAからRT-PCRを行った。得られたDNA断片をプローブとして、*B. flaviceps*および*B. candidus*の毒腺cDNAライブラリーのスクリーニングを行った。

【結果と考察】HPLC精製標品は13kDaと8kDaの2本のポリペプチド鎖から構成され、部分アミノ酸配列が $\beta$ -Bgtに類似していた。またホスホリパーゼA2(PLA2)活性を示した。 $\beta$ -Bgtはアマガサ蛇由来の神経毒で、13 kDaのPLA2活性を持つA鎖と8 kDaのB鎖がジスルフィド結合している。2つのcDNAライブラリーのスクリーニングの結果、 $\beta$ -BgtのA鎖とB鎖のバリエーションを得た。*B. flaviceps*からA鎖は2つのバリエーションが得られ、15個のシステイン残基を持っていた。これまで報告されているA鎖のシステインの数はすべて13個であり、新しいタイプであった。また、B鎖は1つのバリエーションを得たが、システイン残基は7個であり、既知のB鎖と同じ構造であった。一方、*B. candidus*からは、新規のバリエーションとしてはA鎖は1つ、B鎖は3つのバリエーションが得られたが、いずれもシステインの数は既知のバリエーションと同じだった。*B. flaviceps*のA鎖は1A型(11番目と71番目にシステインが存在する)のPLA2に属する初めての例であった。*Bungarus*属の蛇由来 $\beta$ -BgtのA鎖について近隣結合法による系統樹を作成したところ、*B. flaviceps*のA鎖は別のクラスターを形成していた。