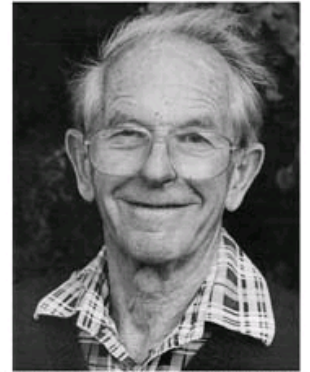


# Proteinsequenzanalyse am Beispiel des Kobratoxins



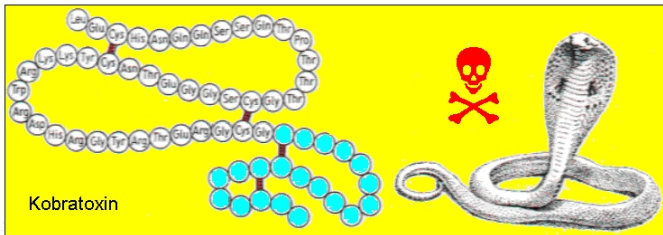
Aus dem Kobragift wurde erstmals 1965 ein Neurotoxin (Nervengift) aus der chinesischen Kobra (*Naja naja atra*) isoliert. Es handelt sich dabei um ein Polypeptid mit 62 Aminosäuren dem so genannten Kobratoxin. Neurotoxine bewirken eine neuromuskuläre Blockade, genauer blockieren sie die Acetylcholinrezeptoren und verhindern so die neuromuskuläre Reizübertragung durch den Transmitterstoff Acetylcholin - im Unterschied zum Pfeilgift



Courtesy of Dr. F. Sanger, MRC, Cambridge. Noncommercial, educational use only.

Curare teilweise sogar irreversibel.

Die giftigste Schlange ist übrigens die seltene, im östlichen Zentralaustralien beheimatete Zornschlange (*Parademansia microlepidota*) gefolgt von der australischen Taipan (*Oxyuranus scutellatus*).



**Abb. 1:** Kobratoxin (markiert = gesuchtes Endstück)

- Ermitteln Sie die Peptidsequenz des in Abbildung 1 markierten Stückes des Kobratoxin!
- Welche spezifischen Schneideigenschaften haben die jeweils verwendeten drei Enzyme?

Enzym A:	Pro	Ser	Val	Lys	Asn	Gly	Asn	Asn	Cys	
	Ile	Glu	Ile	Asn	Cys	Thr	Thr	Asp	Arg	Cys
Enzym B:	Cys	Pro	Ser	Val	Lys	Asn	Asp	Arg	Cys	Asn
	Gly	Ile	Glu	Ile	Asn	Cys	Cys	Thr	Thr	Asn
Enzym C:	Cys	Pro	Ser	Val	Lys	Asn	Gly	Cys	Asn	Asn
	Cys	Thr	Thr	Asp	Arg	Ile	Glu	Ile	Asn	Cys

**Abb. 2 :** erhaltene Bruchstücke nach dem Schneiden des gesuchten Kobratoxinstückes mit Enzymen

Bildquelle (oben rechts): <http://www.dnafb.org/23/bio.html>, noncommercial educational use only, Stand: 11.6.2017

Lösung:

## Die Proteinsequenzierung nach dem Prinzip der Überlappungsmethode

(Hier soll nur das Prinzip an einem Stück des Kobratoxins gezeigt werden.)

- Schneiden der gesuchten Sequenz mit je einem spezifisch schneidenden Enzym (A - C) in drei Ansätzen
- elektrophoretische Trennung der Bruchstücke je Ansatz
- Analyse der Aminosäurenreihenfolge in den Bruchstücken mit einem Aminosäureanalysator
- durch überlappendes Aneinanderlegen der Bruchstücke (mit bekannter Aminosäurereihenfolge) wird die Proteinsequenz des gesuchten Kobratoxinstückes ermittelt

Die fehlende Peptidsequenz lautet:

Cys	Pro	Ser	Val	Lys	Asn	Gly	ILe	Glu	ILe	Asn	Cys	Cys	Thr	Thr	Asp	Arg	Cys	Asn	Asn
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Die eingezeichneten Brücken im Kobratoxin stellen Disulfidbrücken zwischen Cysteinmolekülen dar.

Das Enzym A schneidet demnach **nach Cys** und **nach Gly**.  
Das Enzym B schneidet demnach **nach Asn** und **nach Thr**.  
Das Enzym C schneidet demnach **vor ILe** und **vor Cys**.

(Wegen der determinierten Enden des Peptids sei nur eine Schneidrichtung der Enzyme möglich:  
hier, die von links nach rechts gesehen.)