



Structural-functional studies of peptides derived from a long-chain snake neurotoxin *Naja naja oxiana*

Adak Nasiripourdori¹, Bijan Ranjbar^{1*}, Hossein Naderi-Manesh¹, Faramarz Mehrnejad¹,
Safie Soofian¹, Goudarz Sadeghi², Saeed Kolahian²

1. Dept. Biophysics, Faculty of Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

2. Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran.

Received: 16 Jul 2008

Revised: 20 Sep 2008

Accepted: 24 Sep 2008

Abstract

Introduction: Today the design and structural characterization of mini-proteins with a compact folded structure provide insight into the complex architecture of proteins and has long been a challenging issue in structural-functional studies. Alpha neurotoxins from snake venom have a distinct folded structure comprised of a disulphide core and three loops or "fingers"; each of these loops are considered as a separate functional domain. Because of the selectivity and specificity of snake alpha neurotoxins, they are ideal candidates for structural-functional studies.

Methods: With the assumption that each "loop" in the structure of alpha neurotoxin is able to fold as a structurally independent unit and could possibly have functional properties, we have minimized the structure of a long-chain alpha neurotoxin into 18 and 31 amino acid peptides using solid-phase synthesis and cloning methods, respectively. The molecules are structurally studied using circular dichroism spectroscopy and also in vitro using organ bath apparatus and chick biventer cervicis muscle (CBCM).

Results: The 18 and 31-mer peptides form predominant beta structures (β -turn and β -sheet/alpha helix) in aqueous solutions which vary with solvent ionic strength. Data from in vitro and in silico studies indicate that these minimized structures block the twitches in CBCM with concentrations higher than 0.5 μ M; and this effect is absolutely dose dependent. On the other hand, the long-chain alpha neurotoxin completely and irreversibly blocks the CBCM even at 50 nanomolar concentration and both effects are post synaptic.

Conclusion: These data support the primary assumption that the peptides derived from the second loop of snake alpha neurotoxin can have a distinct folded structure and also exist as an independent biological unit.

Keywords: LTP, GABAergic neuron, Fast-spiking neuron, Metabotropic glutamate receptor, Visual cortex, Transgenic mouse.

* Corresponding author e- mail: ranjbarb@modares.ac.ir
Available online @: www.phypha.ir/ppj

مطالعات ساختاری - عملکردی پپتیدهای طراحی شده از نوروتوکسین *Naja naja oxiana* بلند زنجیره مار کبری گونه

آداک نصیری پور، بیژن رنجبر^{۱*}، حسین نادری منش^۱، فرامرز مهرنژاد^۱، صفیه صوفیان^۱، گودرز صادقی^۲، سعید کلاهیان^۲

۱. گروه بیوفیزیک دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲. دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران

دریافت: ۲۶ تیر ۸۷ بازبینی: ۳۰ شهریور ۸۷ پذیرش: ۳ مهر ۸۷

چکیده

مقدمه: آلفا نوروتوکسین سم مار دارای چارچوب سرشتگی مشخص متشکل از یک هسته دی سولفیدی و سه حلقه است که هر یک از این حلقه‌ها یک دُمین عملکردی مجزا محسوب می‌شوند. این مولکول به علت پایداری و اختصاصی بودن زیاد برای گیرنده هدف، گزینه مطلوبی برای مطالعات ساختاری - عملکردی محسوب می‌شود.

روش‌ها: در تحقیق حاضر با این فرض که هریک از دُمین‌های مولکول آلفا نوروتوکسین قابلیت این را دارند که بصورت مستقل سرشته شده و احتمالاً واجد عملکرد نیز باشند، با تقلیل ساختار نوروتوکسین سم مار کبری به پپتیدهای ۱۸ و ۳۱ اسید آمینه‌ای با استفاده از روش‌های کلون کردن و سنتز پپتید به روش فاز جامد، ساختار و عملکرد این پپتیدها در محیط آبی به ترتیب با استفاده از روش دورنگ‌نمایی دورانی و مطالعه اثر آن‌ها بر عضله دوقلوی گردن جوجه (*Chick biventer cervicis muscle*)، مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: ساختار پپتیدهای ۱۸ و ۳۱ اسید آمینه‌ای در حالت محلول به ترتیب به دور بتا و مخلوطی از صفحات بتا و ماریچ آلفا متمایل شد و مشاهده شد که تغییر pH محلول، بر شدت ساختار دوم پپتیدها تأثیر می‌گذارد؛ همچنین اثر پپتیدها بر روی گیرنده‌های استیل کولین عضله جوجه (CBCM) با سم نوروتوکسین مادر مقایسه شد. داده‌های بدست آمده از مطالعات تئوری و تجربی نشان می‌دهند که این مولکول‌ها با غلظت بیشتر از ۰/۵ میکرومولار اثر خود را اعمال می‌کنند و این اثر به شدت وابسته به دوز است در حالی که اثر برگشت ناپذیر سم نوروتوکسین مار کبری تا غلظت ۵۰ نانومولار نیز دیده می‌شود و هر دو اثر از نوع پس سیناپسی است.

نتیجه‌گیری: مولکول‌های طراحی شده از حلقه دوم سم مار علاوه بر داشتن ساختار در حالت محلول، قادر هستند به عنوان یک واحد زیستی مستقل، عملکرد نسبی را در مقایسه با سم اصلی نشان دهند.

واژه‌های کلیدی: طراحی پروتئین، نوروتوکسین، گیرنده استیل کولین.

مقدمه

منجر به مرگ قربانی می‌شوند. اثرات مرگبار گزش یک مار مربوط به حضور انواع اجزای سمی در زهر آن هاست، فراوانترین این اجزای مرگبار متعلق به گروه پلی پپتیدهای سمی مؤثر بر سیستم عصبی (نوروتوکسین‌ها) و سیستم قلبی (کاردیوتوکسین‌ها) است [۲۰]. زهر مارهای خانواده کبری (کبری، افعی) حاوی تعداد زیادی پلی پپتید آلفا نوروتوکسین پس سیناپسی است که از جمله مهمترین آن‌ها می‌توان به

زهر مارهای متعلق به خانواده مار کبری بسیار سمی است و اثراتی همانند فلج خفیف و نقصان در دستگاه تنفسی در جانداران عالی‌تر ایجاد می‌کند که در اغلب موارد این اثرات

ranjbarb@modares.ac.ir
www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:
وبگاه مجله: