

**Universität Zürich,
Fallstudie SS 2006,
Wahlmodul Mikro-Biologie, Bio-126, Gruppe 07**

Wie gross ist die evolutionäre Distanz zwischen dem von Clostridium tetani gebildeten Tetanustoxin und den sieben von Clostridium botulinum produzierten Neurotoxinserotypen



Abstract

Tetanus and botulinum neurotoxin are the most potent toxins known and cause tetanus and botulism, respectively. They are both zinc dependent endopeptidases acting in the cytosol, where they cleave SNARE proteins of the synaptic vesicles in the neuromuscular end-plate. Because of this functional connection I will report on the phylogenetical relationship between them, based on a sequence-alignment.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Fragestellung	S.3
2. Vorgehen	S.4
3. Ergebnisse	S.6
3.1 Sequenzidentitäten	S.6
3.1.1 Erläuterung zu den Statistiken	S.7
3.2 Evolutionäre Distanzen der Neurotoxine	S.8
4. Diskussion	S.10
4.1 Paarweises Sequenzalignment	S.10
4.2 Evolutionäre Distanzen im Gesamtkontext	S.11
4.3 Eignung als evolutionärer Zeitmesser	S.12
5. Quellen- und Literaturverzeichnis	S.13
6. Anhang	S.14
6.1 Verwendete Sequenzen	S.14
6.2 Durchgeführte Sequenzalignment's	S.15

1. Einleitung und Fragestellung

Die moderne Systematik bedient sich seit längerem molekularer Methoden zur Bestimmung taxonomischer Grade. SSU rRNA Sequenzvergleiche¹, DNA-DNA Hybridisierungen², phylogenetische Sonden³ und FISH⁴ gehören mittlerweile zu den gängigen Werkzeugen der phylogenetischen Systematik. Viele der heute erstellten Stammbäume basieren auf einem SSU rRNA Sequenzvergleich. Es existieren bereits gewaltige Datenmengen sequenzierter SSU rRNA's, mit denen neu entschlüsselte Sequenzen sofort zur Erörterung der phylogenetischen Beziehung abgeglichen werden können. Die zurzeit wohl bekannteste Sammlung ribosomaler RNA Sequenzen ist dabei online unter der Adresse: <http://rdp.cme.msu.edu> für jedermann zugänglich [1].

Obschon sich die SSU rRNA's als evolutionäre Zeitmesser durchgesetzt haben, finden sich durchaus noch weitere geeignete Verwandtschaftsindikatoren. Zu den vor allem in der Mikrobiologie gängigen phylogenetischen Vergleichsmolekülen gehören beispielsweise auch die im Energiemetabolismus bedeutsamen ATPasen oder RecA, ein Enzym, das die genetische Rekombination ermöglicht, sowie bestimmte Translationsproteine.

Grundsätzlich hat ein geeigneter molekularer Zeitmesser eine Reihe von Kriterien zu erfüllen, um als phylogenetisches Werkzeug anerkannt zu werden. Folgende drei Charakteristika sind dabei zentral für die Eignung eines molekularen Chronometers: Erstens sollte das Biomolekül über die für die Untersuchung ausgewählten Organismen universell verteilt sein, um einen Vergleich überhaupt erst möglich zu machen. Zweitens, sollte das gewählte Vergleichsmolekül in den ausgewählten Organismen funktionell homolog sein und drittens, sollte es Regionen von Sequenzkonservierung aufweisen, damit die Sequenzen richtig angeordnet werden können [1].

¹ Methode, bei der definierte Sequenzen der kleinen ribosomalen Untereinheit aliniert werden.

² Nachweisverfahren struktureller Verwandtschaft zwischen DNA, basierend auf dem Komplementaritätsprinzip.

³ Chemisch oder radiaktiv markiertes Oligonucleotid, mit welchem, aufgrund Hybridisierung, spezifische Nucleinsäuresequenzen identifiziert werden können

⁴ Fluoreszenz in situ Hybridisierung: Vorgang bei dem eine Zelle mit einer spezifischen Nucleinsäuresonde fluoreszenzmarkiert wird

Moleküle, die, aufgrund ihrer engen funktionellen Verwandtschaft, als Verwandtschaftsindikatoren in Betracht gezogen werden können, sind die von *Clostridium tetani* und *Clostridium botulinum* gebildeten Neurotoxine. *C. tetani* produziert nach *C. botulinum* mit dem Neurotoxin TetX die zweitgiftigste Substanz auf Erden. Bei *C. botulinum* sind sieben Neurotoxine verschiedener Antigenstrukturen (BoNT A, B, C1, D, E, F und G = Serotypen) bekannt [2]. Wie das von *C. tetani* gebildete TetX gehören sie zu den A-B Toxinen und gelten als die stärksten bekannten Neurotoxine biologischer Herkunft überhaupt. Sowohl TetX als auch die sieben Botulinum Serotypen ähneln einander stark in Wirkungsweise und Angriffspunkt [1]. Beide wirken als Zink-Endopeptidasen im Zytosol und blockieren die Exozytose von synaptischen Vesikeln in den Nervenenden der motorischen Endplatte durch proteolytische Spaltung der SNARE Rezeptoren [3], was im Falle von *Tetanus* zu einer spastischen Paralyse durch Hemmung des Neurotransmitters Glycin, bei *Botulismus* zu einer schlaffen Paralyse durch Hemmung von Acetylcholin, führt [1]. Diese auffällige funktionelle Homologie verleitete mich dazu, die Neurotoxine weiter auf molekularer Ebene zu vergleichen, um zu ergründen, wie weit sie voneinander evolutionär distanziert sind und ob sie sich gegebenenfalls als evolutionäre Zeitmesser eignen.

Ziel dieser Arbeit ist es nun, mit Hilfe eines selbst durchgeführten Sequenzalignment's die Neurotoxine beider Arten auf Sequenzidentität zu prüfen und weiter in einem globalen Vergleich mit Hilfe des Neighbour-joining Verfahrens die Verwandtschaftsbeziehung zwischen dem Tetanustoxin TetX und den sieben von *C. botulinum* gebildeten Neurotoxin-Serotypen abzuleiten. Als Vergleichskriterium sollen dabei die Aminosäuresequenzen der jeweiligen Neurotoxine herangezogen werden, die alle von bereits sequenzierten *Clostridium* Stämmen aus der NCBI (National Center for Biotechnology Information) Datenbank stammen.

2. Vorgehen

Im ersten Teil dieser Arbeit werden die sieben verschiedenen Neurotoxinserotypen von *C. botulinum* (BoNT A, B, C1, D, E, F, G) mit Hilfe des Sequenzanalyseprogramm Geneious mit dem Tetanus Toxin TetX in einem Vergleich auf Sequenzhomologie überprüft und anschliessend mit einem Neighbor-joining Algorithmus in Beziehung gebracht.

Im zweiten Teil wird dann, aufgrund der ermittelten Homologien und den abgeleiteten phylogenetischen Beziehungen, die Eignung der Neurotoxine als evolutionäre Zeitmesser diskutiert.

Alle verwendeten Sequenzdaten stammen, wie bereits in der Einleitung erwähnt, aus der molekularen Sequenzdatenbank NCBI. Die Beschaffung der Daten erfolgte über die Suchfunktion des im Juni 2006 neu erschienenen und kostenlos erhältlichen Sequenzalignmentprogramms Geneious, das ich, aufgrund seiner einfachen Handhabung und Benutzerfreundlichkeit, wirklich sehr empfehlen kann.

3. Ergebnisse

3.1 Sequenzidentitäten

Die höchste Aminosäuresequenzhomologie wurde zwischen dem von *C. botulinum* Stamm B gebildeten Serotypen BoNT B und dem von *C. tetani* produzierten Neurotoxin TetX festgestellt. Das Sequenzalignment ergab eine Aminosäureidentität von 41%. Zwischen BoNT G und TetX trat eine Sequenzidentität von 40% auf. BoNT C1 und Tet X waren zu 33% homolog, BoNT E sowie BoNT zu 10%, BoNT D zu 3% und BoNT A zu 2%.

Die Alignmentoptionen wurden dabei folgendermassen gewählt:

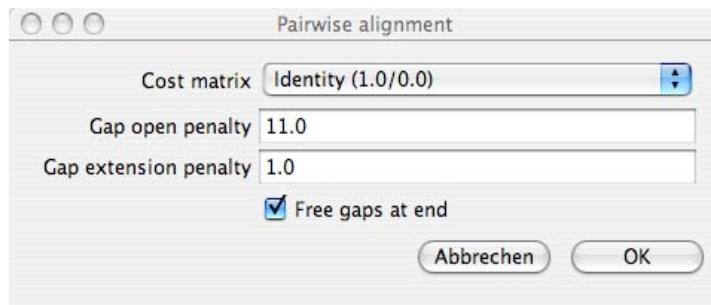


Abb. 1: Zeigt die gewählten Alignment Einstellungen. Es sei darauf hingewiesen, dass ich aufgrund meiner Unerfahrenheit im Erstellen von Sequenzalignment (dies war mein erstes) möglicherweise nicht die optimale Einstellung getroffen habe.

Die folgende statistische Übersicht zeigt den kompletten Datenertrag des durchgeführten Sequenzvergleichs:

▼ **Statistics (1338, 41%)**
 Length: 1338
 Pairwise % Similarity: 41%
 Identical Sites: 548 (41%)
 Residue Frequencies:

A:	95	(03,6%)	(03,6%)
C:	20	(00,7%)	(00,8%)
D:	174	(06,5%)	(06,7%)
E:	163	(06,1%)	(06,3%)
F:	132	(04,9%)	(05,1%)
G:	121	(04,5%)	(04,6%)
H:	21	(00,8%)	(00,8%)
I:	288	(10,8%)	(11,1%)
K:	224	(08,4%)	(08,6%)
L:	207	(07,7%)	(07,9%)
M:	47	(01,8%)	(01,8%)
N:	252	(09,4%)	(09,7%)
P:	91	(03,4%)	(03,5%)
Q:	77	(02,9%)	(03,0%)
R:	77	(02,9%)	(03,0%)
S:	187	(07,0%)	(07,2%)
T:	125	(04,7%)	(04,8%)
V:	117	(04,4%)	(04,5%)
W:	27	(01,0%)	(01,0%)
Y:	160	(06,0%)	(06,1%)
*:	1	(00,0%)	
-:	70	(02,6%)	

Abb. 2: Sequenzidentität zwischen TetX und BoNT B

▼ **Statistics (1343, 40%)**
 Length: 1343
 Pairwise % Similarity: 40%
 Identical Sites: 536 (40%)
 Residue Frequencies:

A:	106	(03,9%)	(04,1%)
C:	21	(00,8%)	(00,8%)
D:	182	(06,8%)	(07,0%)
E:	131	(04,9%)	(05,0%)
F:	134	(05,0%)	(05,1%)
G:	124	(04,6%)	(04,8%)
H:	25	(00,9%)	(01,0%)
I:	270	(10,1%)	(10,3%)
K:	201	(07,5%)	(07,7%)
L:	211	(07,9%)	(08,1%)
M:	51	(01,9%)	(02,0%)
N:	260	(09,7%)	(10,0%)
P:	96	(03,6%)	(03,7%)
Q:	88	(03,3%)	(03,4%)
R:	73	(02,7%)	(02,8%)
S:	193	(07,2%)	(07,4%)
T:	144	(05,4%)	(05,5%)
V:	121	(04,5%)	(04,6%)
W:	28	(01,0%)	(01,1%)
Y:	151	(05,6%)	(05,8%)
-:	75	(02,8%)	
X:	1	(00,0%)	

Abb. 3: Sequenzidentität zwischen TetX und BoNT G

▼ **Statistics (1361, 33%)**
 Length: 1361
 Pairwise % Similarity: 33%
 Identical Sites: 444 (33%)
 Residue Frequencies:

A:	97	(03,6%)	(03,7%)
C:	16	(00,6%)	(00,6%)
D:	169	(06,2%)	(06,5%)
E:	141	(05,2%)	(05,4%)
F:	128	(04,7%)	(04,9%)
G:	123	(04,5%)	(04,7%)
H:	24	(00,9%)	(00,9%)
I:	262	(09,6%)	(10,1%)
K:	191	(07,0%)	(07,3%)
L:	208	(07,6%)	(08,0%)
M:	47	(01,7%)	(01,8%)
N:	271	(10,0%)	(10,4%)
P:	98	(03,6%)	(03,8%)
Q:	77	(02,8%)	(03,0%)
R:	89	(03,3%)	(03,4%)
S:	197	(07,2%)	(07,6%)
T:	152	(05,6%)	(05,8%)
V:	133	(04,9%)	(05,1%)
W:	27	(01,0%)	(01,0%)
Y:	154	(05,7%)	(05,9%)
-:	118	(04,3%)	

Abb. 4: Sequenzidentität zwischen TetX und BoNT C1

▼ Statistics (1322, 10%)
 Length: 1322
 Pairwise % Similarity: 10%
 Identical Sites: 135 (10%)
 Residue Frequencies:

A:	63	(02,4%)	(03,7%)
C:	11	(00,4%)	(00,7%)
D:	107	(04,0%)	(06,4%)
E:	93	(03,5%)	(05,5%)
F:	71	(02,7%)	(04,2%)
G:	76	(02,9%)	(04,5%)
H:	16	(00,6%)	(01,0%)
I:	173	(06,5%)	(10,3%)
K:	144	(05,4%)	(08,6%)
L:	144	(05,4%)	(08,6%)
M:	31	(01,2%)	(01,8%)
N:	173	(06,5%)	(10,3%)
P:	58	(02,2%)	(03,5%)
Q:	58	(02,2%)	(03,5%)
R:	46	(01,7%)	(02,7%)
S:	128	(04,8%)	(07,6%)
T:	89	(03,4%)	(05,3%)
V:	80	(03,0%)	(04,8%)
W:	18	(00,7%)	(01,1%)
Y:	102	(03,9%)	(06,1%)
-:	963	(36,4%)	

Abb. 5: Sequenzidentität zwischen TetX und BoNT E

▼ Statistics (1326, 10%)
 Length: 1326
 Pairwise % Similarity: 10%
 Identical Sites: 136 (10%)
 Residue Frequencies:

A:	63	(02,4%)	(03,7%)
C:	12	(00,5%)	(00,7%)
D:	102	(03,8%)	(06,1%)
E:	101	(03,8%)	(06,0%)
F:	69	(02,6%)	(04,1%)
G:	75	(02,8%)	(04,5%)
H:	18	(00,7%)	(01,1%)
I:	177	(06,7%)	(10,5%)
K:	137	(05,2%)	(08,1%)
L:	145	(05,5%)	(08,6%)
M:	31	(01,2%)	(01,8%)
N:	167	(06,3%)	(09,9%)
P:	58	(02,2%)	(03,4%)
Q:	53	(02,0%)	(03,1%)
R:	55	(02,1%)	(03,3%)
S:	132	(05,0%)	(07,8%)
T:	89	(03,4%)	(05,3%)
V:	77	(02,9%)	(04,6%)
W:	19	(00,7%)	(01,1%)
Y:	103	(03,9%)	(06,1%)
-:	969	(36,5%)	

Abb. 6: Sequenzidentität zwischen TetX und BoNT F

▼ Statistics (1325, 3%)
 Length: 1325
 Pairwise % Similarity: 3%
 Identical Sites: 36 (3%)
 Residue Frequencies:

A:	57	(02,2%)	(03,9%)
C:	13	(00,5%)	(00,9%)
D:	94	(03,5%)	(06,4%)
E:	74	(02,8%)	(05,1%)
F:	63	(02,4%)	(04,3%)
G:	71	(02,7%)	(04,9%)
H:	15	(00,6%)	(01,0%)
I:	149	(05,6%)	(10,2%)
K:	119	(04,5%)	(08,1%)
L:	125	(04,7%)	(08,5%)
M:	27	(01,0%)	(01,8%)
N:	134	(05,1%)	(09,2%)
P:	58	(02,2%)	(04,0%)
Q:	47	(01,8%)	(03,2%)
R:	44	(01,7%)	(03,0%)
S:	115	(04,3%)	(07,9%)
T:	83	(03,1%)	(05,7%)
V:	69	(02,6%)	(04,7%)
W:	16	(00,6%)	(01,1%)
Y:	90	(03,4%)	(06,2%)
-:	1187	(44,8%)	

Abb. 7: Sequenzidentität zwischen TetX und BoNT D

3.1.1 Erläuterung zu den Statistiken (Abb. 2-8)

Die linke Spalte gibt jeweils die Aminosäurefrequenz im Ein-Buchstaben-Code wieder. Die mittlere und die rechte Spalte zeigt die prozentuale Häufigkeit dieser Base bzw. Aminosäure in TetX und dem jeweiligen Botulinum Toxin. Die Zeile, welche mit einem Strich gekennzeichnet ist, gibt die Gapkosten wieder, letzten Endes also die Anzahl eingeführter Lücken zur optimalen Anordnung der Sequenz.

Alle verwendeten Proteinsequenzen und auch die Umsetzung der Alignment's finden sich im Anhang dieser Arbeit.

▼ Statistics (1317, 2%)
 Length: 1317
 Pairwise % Similarity: 2%
 Identical Sites: 27 (2%)
 Residue Frequencies:

A:	53	(02,0%)	(03,8%)
C:	11	(00,4%)	(00,8%)
D:	93	(03,5%)	(06,7%)
E:	72	(02,7%)	(05,2%)
F:	58	(02,2%)	(04,2%)
G:	70	(02,7%)	(05,0%)
H:	14	(00,5%)	(01,0%)
I:	141	(05,4%)	(10,1%)
K:	113	(04,3%)	(08,1%)
L:	119	(04,5%)	(08,6%)
M:	26	(01,0%)	(01,9%)
N:	130	(04,9%)	(09,3%)
P:	55	(02,1%)	(04,0%)
Q:	43	(01,6%)	(03,1%)
R:	43	(01,6%)	(03,1%)
S:	106	(04,0%)	(07,6%)
T:	77	(02,9%)	(05,5%)
V:	69	(02,6%)	(05,0%)
W:	13	(00,5%)	(00,9%)
Y:	85	(03,2%)	(06,1%)

Abb. 8: Sequenzidentität zwischen TetX und BoNT A

3.2 Evolutionäre Distanzen der Neurotoxine

Neben den mittels paarweisem Alignment festgestellten Sequenzhomologien konnte weiter, in einem globalen Vergleich aller untersuchten Proteinsequenzen, die evolutionäre Entfernung der Neurotoxine durch Anwendung eines Neighbour-joining Algorithmus' ermittelt werden. Die unten dargestellten Baumdiagramme spiegeln dabei die direkten Verwandtschaftsbeziehungen der verglichenen Neurotoxine, sowohl als Dendogramm, als auch in Form eines Neighbor-joining Tree's, wider.

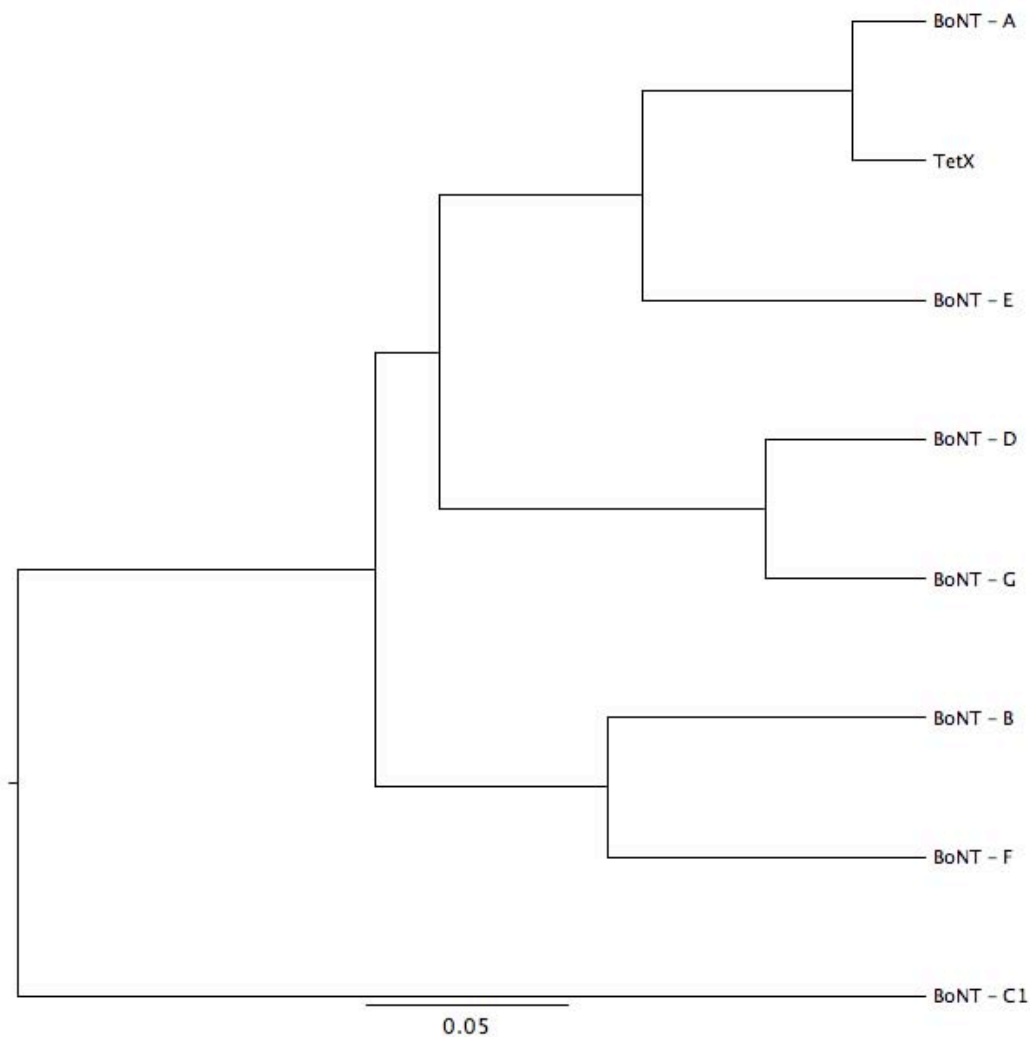


Abb. 9: Phylogenetische Beziehung zwischen den von *C. tetani* und *C. botulinum* gebildeten Neurotoxinen, in Form eines Dendogramms

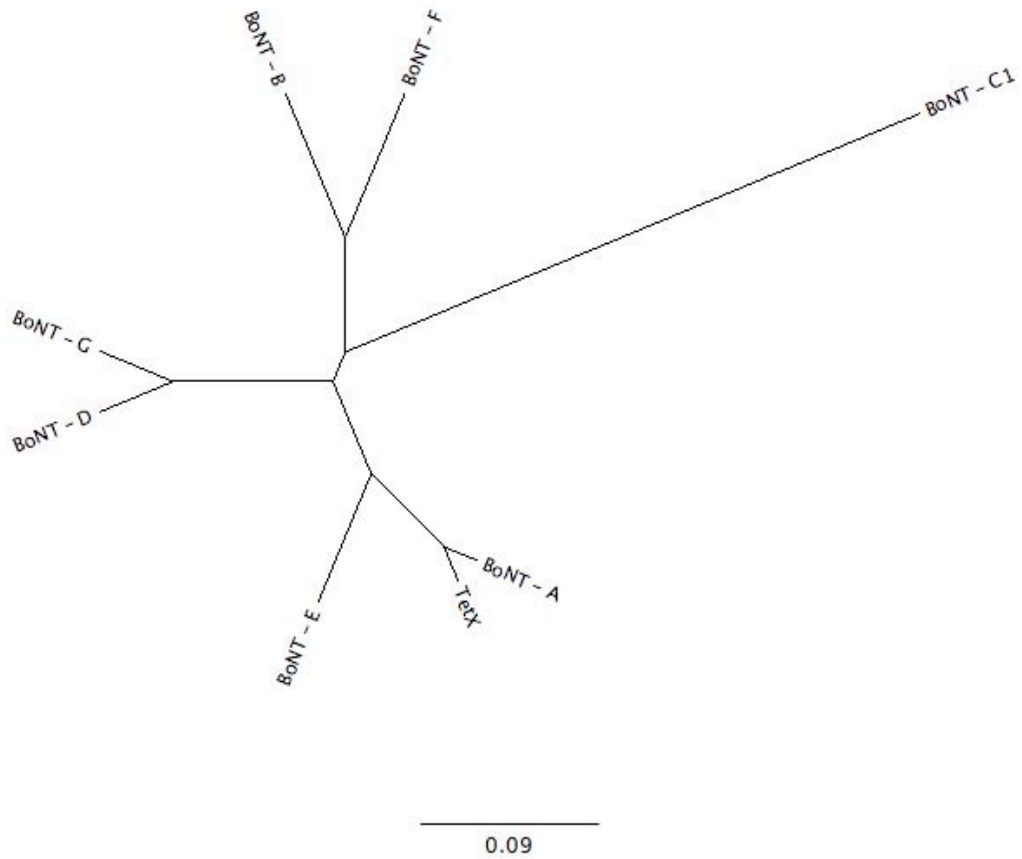


Abb. 10: Phylogenetische Beziehung der von *C. tetani* und *C. boulinum* gebildeten Neurotoxine anhand eines Neighbour-joining Tree's

4. Diskussion

4.1 Paarweises Sequenzalignment

Die Prüfung der Neurotoxine auf Aminosäureidentität sollte Aufschluss über den Grad der Sequenzkonservierung geben. Wie bereits in 3.1 erwähnt, ergab sich die höchste Sequenzhomologie zwischen BoNT B und TetX (41%) sowie zwischen BoNT G und TetX (40%), was auf eine mögliche Sequenzkonservierung deutet.

Dieser Befund soll mit den beiden unten dargestellten BLAST Dot-Plot's hier noch verdeutlicht werden.

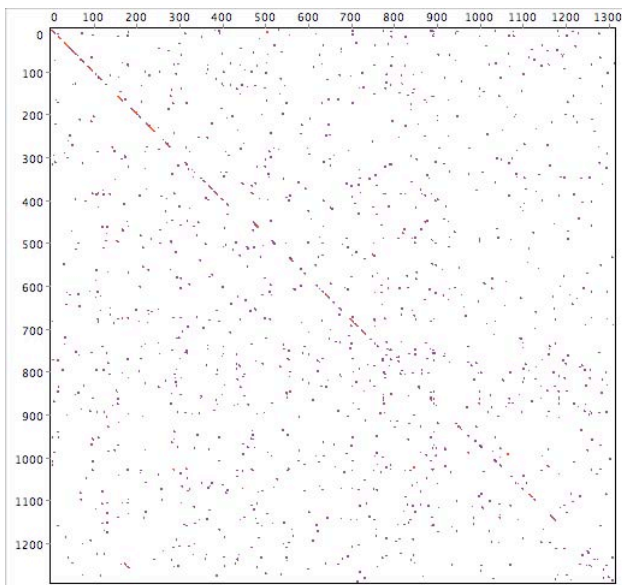


Abb. 11: BLAST-Abgleich von BoNT B und TetX – Die Diagonalen, die aus der Überlagerung der Punkte entstanden sind, weisen auf eine konservierte Genordnung in diesem Bereich. Einzelne Punkte stellen homologe Aminosäuren mit einem BLAST-Erwartungswert kleiner als 10^{-5} dar.

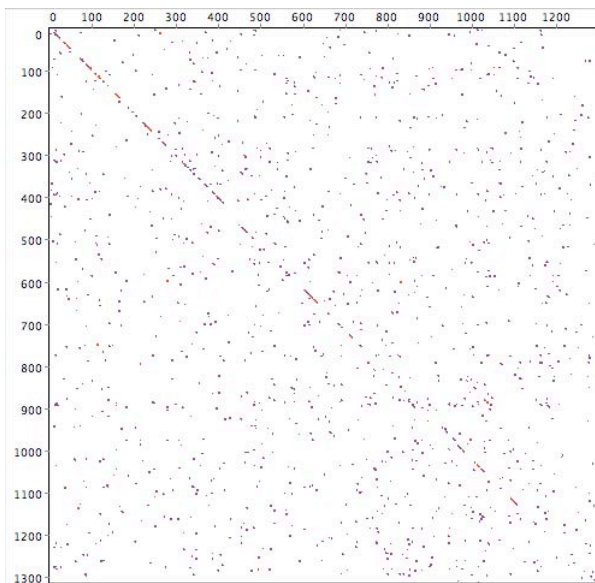


Abb. 12: BLAST-Abgleich von BoNT G und TetX

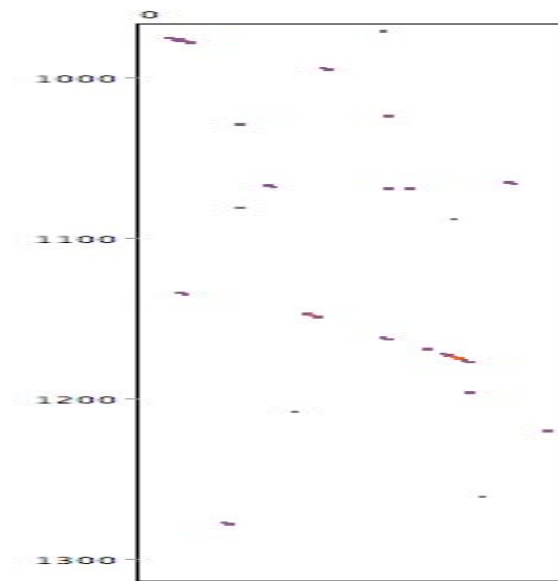


Abb. 13: BLAST-Abgleich von BoNT D und TetX

4.2 Evolutionäre Distanzen im Gesamtkontext

Nachfolgend sollen die mit dem Neighbour-Joining Algorithmus erörterten verwandtschaftlichen Beziehungen der von *C. tetani* und *C. botulinum* gebildeten Neurotoxine in einem Vergleich mit dem zurzeit geltenden, auf 16S rRNA basierenden, phylogenetischen Stammbaum der Clostridien in einen Gesamtkontext gebracht werden.

Phylogenetisch gesehen ist die Gattung *Clostridium* sehr divers. Insgesamt sind 19 verschiedene verwandtschaftliche Cluster definiert. Die meisten pathogenen Arten, darunter auch *C. tetani* und *C. botulinum* befindet sich in Cluster 1, wie folgendem Dendrogramm zu entnehmen ist [4]

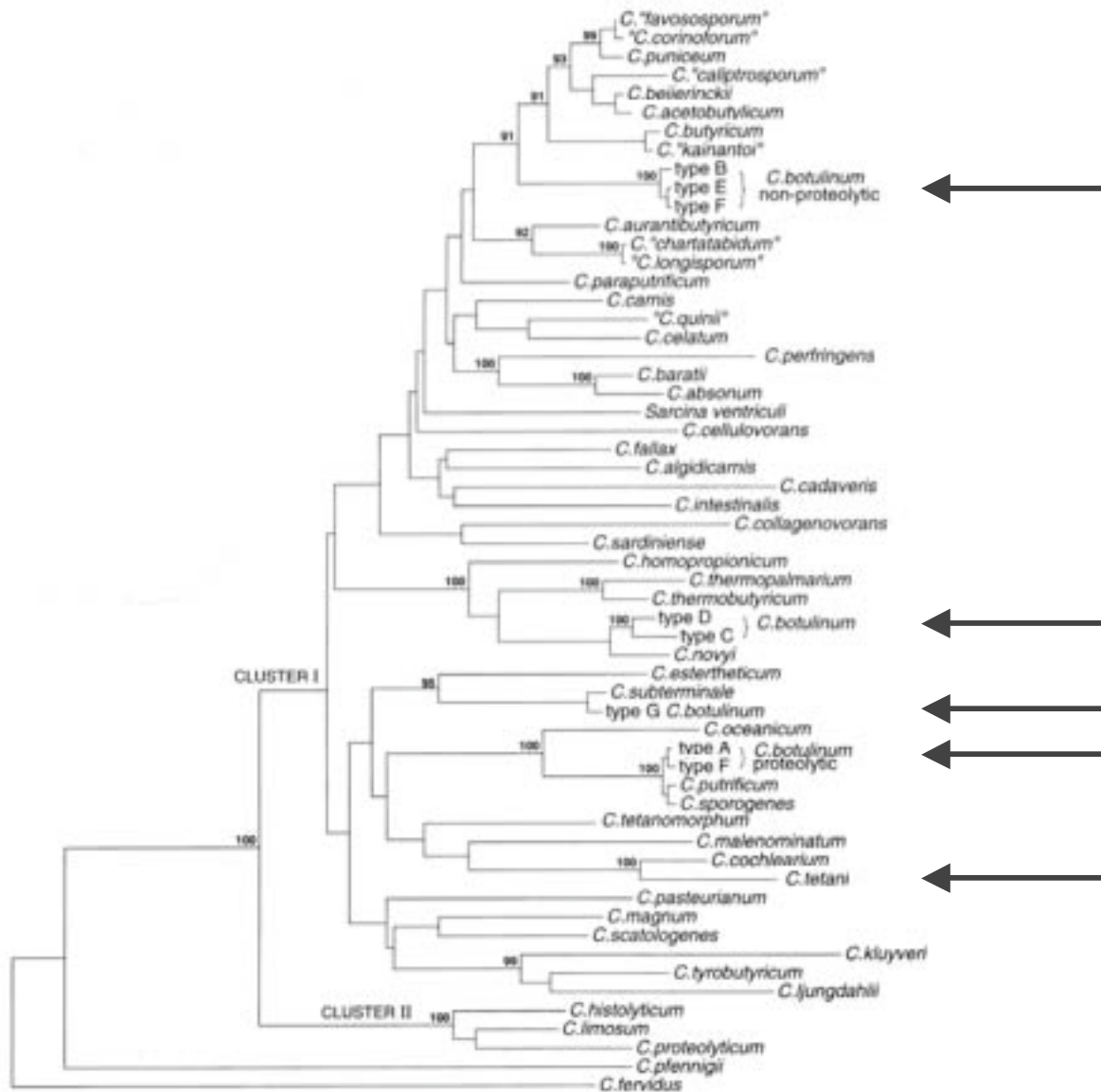


Abb. 14: Dendrogramm der Verwandtschaftsbeziehungen von *C. tetani* und *C. botulinum* innerhalb des Clostridien-Clusters 1 [5]

Wird nun 16S rRNA als evolutionäres Chronometer verwendet, so ergeben sich die folgenden unmittelbaren Verwandtschaftsbeziehungen:

Phylogenie anhand 16S rRNA Sequenzen. Die evolutionäre Distanz nimmt von links nach rechts zu.

C. tetani < *C. botulinum* Stamm A << *C. botulinum* Stamm G <<< *C. botulinum* Stamm C <<<< *C. botulinum* Stamm D <<<<< *C. botulinum* Stamm F (nonproteolytic) <<<<<< *C. botulinum* Stamm E <<<<<<< *C. botulinum* Stamm B

Werden die Neurotoxine als Vergleichsmolekül verwendet, so zeigt sich die unten aufgeführte Phylogenie:

Phylogenie anhand der Neurotoxinsequenzen. Die evolutionäre Distanz nimmt von links nach rechts zu.

C. tetani < *C. botulinum* Stamm A << *C. botulinum* Stamm E <<< *C. botulinum* Stamm D <<<< *C. botulinum* Stamm G <<<<< *C. botulinum* Stamm B <<<<<< *C. botulinum* Stamm E <<<<<<< *C. botulinum* F (nonproteolytic)

4.3 Eignung als evolutionärer Zeitmesser

Obschon die Verwendung unterschiedlicher Stämme beim oben durchgeführten Vergleich (4.2) nicht berücksichtigt wurde, zeigt sich bei der Gegenüberstellung ein recht kongruentes Verwandtschaftsbild. In diesem Sinne ist die Eignung von Neurotoxinen als phylogenetisches Vergleichsmolekül durchaus als Möglichkeit zu betrachten. Auch die in der Einleitung erwähnte und als Kriterium für ein Chronometer geltende funktionelle Homologie wie auch die teilweise beobachtete Sequenzkonservierung spricht für eine Verwendung neurotoxinaler Vergleichsmoleküle in der Taxonomie prokaryotischer Exotoxinbildner.

Gegen eine Eignung spricht vor allem, dass Neurotoxine keineswegs ubiquitär über alle Organismen verteilt sind. Dieser gewichtige Punkt schliesst wohl eine gesamtheitliche Verwendung von Neurotoxinen als taxonomisches Mittel aus. Dennoch könnte das Erstellen von phylogenetischen Stammbäumen basierend auf Neurotoxinsequenzvergleichen von grossem Interesse sein, vor allem in









medizinischer Hinsicht. Denkbar wäre, dass mittels phylogenetischer Stammbäume, die auf Virulenzfaktoren basieren, der Ursprung der Pathogenität verschiedener Organismen ergründet werden und somit besser bekämpft werden könnte.

5. Quellen- und Literaturverzeichnis

- [3] **Blasi, J., Chapman, E.R., Yamasaki, S., Binz, T., Niemann, H., Jahn, R.,** 1993: Botulinum neurotoxin C1 blocks neurotransmitter release by means of cleaving HPC-1/syntaxin. In: The EMBO Journal, No. 12, S. 4821
- [4] **Brüggemann, H.,** 2002: Die vollständige Entschlüsselung der Genomsequenz des Tetanus Erregers *Clostridium tetani* und die Analyse seines genetischen Potentials, S. 139
- [5] **Collins, M. D., Lawson, P. A., Willems, A., Cordoba, J. J., Fernandez-Garaysabal, J., Garcia, P., Cai, J., Hippe, H., Farrow, J. A.,** 1994: The phylogenie of the genus *Clostridium*: proposal of five new genera and eleven new species combination, Int. J. Syst. Bacteriol, S.813
- [2] **Deutsche Gesellschaft für Neurologie,** 1999: Botulismus. In: <http://www.dgn.org/225.0.html>, (27.6.06))
- [1] **Madigan, M., Martinko, J.,** 2006: Biology of Microorganisms, Pearson Prentice Hall, 11ed., S.309-311, S. 718-719,
- Titelbild: Mikroskopische Aufnahme von *Clostridium botulinum*, In: <http://www.livsmedelssverige.org/sakermat/bild/bakterier.jpg> (5.7.06)

6. Anhang

6.1 Verwendete Sequenzen – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Name ▲	Summary		
 BoNT - A	AAQ16533. botulinum neurotoxin type A [Clostridium botulinum] kgrscisssminlfdpnkyv...(Length: 77)		
 BoNT - B	neurotoxin type B CDS translated from DQ417354. Clostridium botulinum neurotoxin type B (bontb) gene, complete cds		
 BoNT - C	Extraction from Botulinum neurotoxin type C1 precursor - Clostridium botulinum. Botulinum neurotoxin type C1 precursor -		
 BoNT - D	BAE53579. botulinum neurotoxin type D precursor [Clostridium botulinum D phage]		
 BoNT - E	CAA50146. botulinum neurotoxin type E [Clostridium botulinum] aqkgnfkdalellgagille...(Length: 367)		
 BoNT - F	CAA50147. botulinum neurotoxin type F [Clostridium botulinum] aekgnfeeafellgvigille...(Length: 369)		
 BoNT - G	CAA52275. BoNT/G [Clostridium botulinum] mpvnikxfnyndpinnddii...(Length: 1.297)		
 tetX protseq	tetanus toxin tetX CDS reverse complemented from tetX unreversed. Clostridium tetani E88 plasmid pE88, complete sequence		30 Jun 2006 9:07 PM

Description	Sequence Length	Size
botulinum neurotoxin type F [Clostridium botulinum]	369	6 KB
botulinum neurotoxin type E [Clostridium botulinum]	367	6 KB
botulinum neurotoxin type A [Clostridium botulinum]	77	5 KB
botulinum neurotoxin type D precursor [Clostridium botulinum D...]	149	6 KB
BoNT/G [Clostridium botulinum]	1297	7 KB
Clostridium botulinum neurotoxin type B (bontb) gene, complete...	1292	4 KB
Botulinum neurotoxin type C1 precursor - Clostridium botulinum	1290	4 KB

Size	Accession	Organism	GID
6 KB	CAA50147	Clostridium botulinum	407789
6 KB	CAA50146	Clostridium botulinum	407787
5 KB	AAQ16533	Clostridium botulinum	33356573
6 KB	BAE53579	Clostridium botulinum D p...	83281004
7 KB	CAA52275	Clostridium botulinum	441276
4 KB	-	-	-
4 KB	-	-	-

6.2 Durchgeführte Sequenzalignment's

