

三种蜘蛛粗毒对 NG108-15 细胞 电压门控钠通道的抑制作用

肖玉成, 彭宽, 陈湘定, 梁宋平
(湖南师范大学 生命科学学院, 中国湖南 长沙 410081)

摘要: 利用小鼠神经细胞瘤×大鼠神经胶质细胞的杂交细胞 NG108-15, 通过全细胞记录 (whole-cell recording) 模式的膜片钳技术, 检验了虎纹捕鸟蛛 (*Selenocosmia huwena*)、海南捕鸟蛛 (*Selenocosmia hainana*) 和广西大疣蛛 (*Macrothele guangxia* sp) 的粗毒对 NG108-15 细胞膜上电压门控 TTX 敏感型钠电流和延迟整流钾电流的作用。结果表明, 三种蜘蛛粗毒对外向延迟整流钾电流没有明显作用, 但对 TTX 敏感型的快钠电流表现出较强的抑制效应。抑制效应呈量效关系。三种粗毒抑制钠电流的 EC_{50} 相应约为: 3.4 mg/L; 1.8 mg/L 和 11.0 mg/L。

关键词: 蜘蛛; NG108-15 细胞; 钠电流; 全细胞记录

中图分类号: Q424

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2001)01-0042-06

Inhibition of Voltage-gated Sodium Channel in NG108-15 by the Venoms from Three Kinds of Spider

XIAO Yu-cheng, PENG Kuan, CHEN Xiang-ding, LIANG Song-ping
(College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 410081, Hunan, China)

Abstract: Using whole-cell patch-clamp technology, the effects of the venoms from three kinds of spider (*Selenocosmia huwena*, *Selenocosmia hainana* and *Macrothele guangxia* sp) on voltage-activated TTX-sensitive (TTX-S) Na^+ current and delay-rectified K^+ current of undifferentiated NG108-15 were observed. The results showed that they had no evident effect of outward delay-rectified K^+ current, while they could inhibit TTX-S fast Na^+ current. The inhibitions were dose-dependent. The EC_{50} values of them were approximate 3.4 mg/L (*Selenocosmia huwena*); 1.8 mg/L (*Selenocosmia hainana*); 11.0 mg/L (*Macrothele guangxia* sp), respectively.

Key words: spider; NG108-15; sodium current; whole-cell recording

(Life Science Research, 2001, 5(1): 42~47)

药理学实验结果表明, 很多蜘蛛粗毒中含有对哺乳动物及昆虫神经系统有很强阻断作用的神经毒素。而神经毒素能阻断神经系统兴奋传导的重要机制之一便是对钠通道的影响。神经毒素影响钠通道是通过选择作用于通道 6 个位点来进行的, 并据此已将毒素分为 6 大类: 位点 1 毒素~位点 6 毒素。它们分别能使通道发生堵塞(如河豚毒素, 甲藻

毒素, μ -芋螺毒素), 去除失活(如箭毒蛙毒素, 藜芦碱), 延缓失活(如 α -蝎毒素, 海葵毒素), 易化激活(如 β -蝎毒素), 易化激活和延缓失活(如双鞭甲藻素, Ciguat oxin) 以及激活与失活均变慢(如杀虫剂)等^[1]。蜘蛛粗毒中已发现多种以钠通道为靶受体的活性成分。到目前为止研究得比较清楚的有: 澳洲漏斗网蛛 (*Atrax robustus*, *Atrax versutus*)

收稿日期: 2000-10-10; 修回日期: 2001-12-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(39771058)

作者简介: 肖玉成(1975-), 男, 湖南岳阳人, 硕士研究生; 彭宽(1975-), 男, 湖南长沙人, 硕士研究生; 陈湘定(1964-), 男, 湖南岳阳人, 湖南师范大学副教授; 梁宋平(1946-), 男, 湖南安化人, 湖南师范大学教授, 博士生导师。

毒素 δ -Atracotoxins^[2,3]; 美洲漏斗网蛛 (*Ageles nopsis aperta*) 毒素 μ -agatoxin -^[4]; 黑腹节足蛛 (*Phoneutria nigriventer*) 毒素 PhTx2^[5]; *Lycosa erthrogna* 毒素 Lyc^[6]; *Dugesi* 毒素 DTX9.2^[7] 等。已知的作用于钠通道的蜘蛛毒素多为 40~80 个残基的碱性多肽。它们基本上是以同一种方式影响突触前膜 TTX 敏感型钠通道, 且与 α -蝎毒素^[8] 相同, 即作用于通道位点 3, 延缓钠电流的失活相, 使动作电位时程延长而造成 Ca^{2+} 大量内流, 因而导致 Ach 过度释放, Ach 的衰竭最终造成神经肌肉传递的阻断。这也预示着蜘蛛毒将是继蝎毒、河豚毒及芋螺毒等获得影响钠通道天然神经毒素的又一重要来源。

虎纹捕鸟蛛 (*Selenocosmia huwena*)^[9], 海南捕鸟蛛 (*Selenocosmia hainana*)^[10] 和广西大疣蛛 (*Macrothele guangxiensis* sp) 均是最近发现的蜘蛛新种, 其栖息环境附近常有伤及人畜的报道。本室对虎纹捕鸟蛛粗毒进行了初步的生物活性鉴定^[11,12], 并对其中含量最高的成分 Huwentoxin-I 进行了较为深入的研究^[15~17]。而其它两种蛛毒的生物学活性研究还未见报导。本文通过在 NG108-15 细胞上进行的膜片钳全细胞记录实验, 研究了此三种蜘蛛粗毒对电压激活 TTX 敏感型钠通道和延迟整流钾通道的影响, 并对所表现出的钠通道阻断活性进行了初步分析。

1 材料与方 法

1.1 粗毒和细胞

虎纹捕鸟蛛粗毒, 海南捕鸟蛛粗毒和广西大疣蛛粗毒毒液的采集及干粉的准备按文献[11]方法进行。

NG108-15 细胞由上海细胞生物所引进。培养参照文献[13]方法进行。培养液组成为: 95% DMEM, 5% 小牛血清, 次黄嘌呤-氨基喋呤-胸腺嘧啶 (HAT) 添加剂以及青霉素和链霉素 (各 10⁵ IU/L)。细胞培养于 37℃、5% CO₂ 和 95% 空气的混合湿润环境中。电生理实验前将细胞由培养瓶转移至 35 mm 培养皿中, 经 3~4 h 细胞贴壁后即可进行膜片钳实验。

1.2 溶液

电极内液 (mmol/L): KCl 155, MgCl₂ 1, ATP 3, Tris phosphocreatine 5, Hepes 10 (pH 7.4, 用 KOH 和 HCl 各 1 mol/L 调节)。

MgCl₂ 1, CdCl₂ 2, Glucose 10, Hepes 10 (pH 7.4, 用 NaOH 和 HCl 1 mol/L 调节)。电极内液和细胞外液均经 0.22 μ m 滤膜过滤。

河豚毒素 (TTX, Sigma) 溶于双蒸水配成 10 μ mol/L 储液, 虎纹捕鸟蛛毒, 海南捕鸟蛛粗毒和广西大疣蛛粗毒溶于双蒸水配成 100 mg/L 储液。储液均保存于 -20℃ 冰箱中, 实验前用细胞外液新鲜配制至所需浓度。

1.3 全细胞记录 (whole-cell recording)

实验前将培养皿内培养液用细胞外液置换, 20~25℃ 室温条件下置于倒置显微镜 (Olympus IX70, Japan) 下进行膜片钳实验。参考电极与细胞外液用 150mmol/L NaCl-琼脂盐桥连接。玻璃电极经两步拉制仪 (PC-10, Narishige) 两步拉制后热抛光, 所得电极尖端口径为 1.5~2.0 μ m, 充电极内液后入水电阻为 2~4 M Ω 。细胞与电极形成千兆封接后即可抽破形成全细胞记录模式。稳定 4~6 min 后施加去极化脉冲测试电流大小。记录电流经 EPC-9 膜片钳放大器以 10 kHz 滤波过滤。数据和图形用 pulsefit pulse 8.0 软件采集分析并储存在 586 微机硬盘上。线性漏电流和电容电流用 p/4 程序予以删除。

1.4 加药

实验过程中均采用微量注射器 (IM-5B, Narishige) 进行加药。加药电极经一步拉制而成, 尖端口径 30~50 μ m。加药时电极尖端离实验细胞 80~100 μ m 左右。加药剂量为 10 μ L。药液在 1~2 min 之内加完。实验过程中系统电阻 (R_s) 始终保持在 5~10 M Ω 的范围内。

2 结果与讨论

2.1 NG108-15 细胞电压激活钠电流和延迟整流钾电流性质

在实验中, 我们始终选用胞质均匀呈半透明状, 膜光滑清晰可见且无明显长突起的健康细胞作为实验细胞。细胞大小一般在 50~100 pF 之间。经电流钳模式测得膜静息电位值 (RMP) 为 (-33±6) mV (n=46), 与文献报导^[13] 的 -35 mV 一致。未分化 NG108-15 细胞形成全细胞记录模式后, 将膜电位钳制在 -80 mV, 进行去极化诱导, 可观察到一明显的快速激活失活的内向钠电流 (I_{Na}) (图 1) 和一明显的外向延迟整流钾电流

(I_k) (图 2), I_k 在 -10 mV 开始激活, 并随指令电压的升高不断增大, 具有电压依从性, 不失活($I-V$ 曲线图未给出); I_{Na} 在 -40 mV 开始激活, -20 mV 达峰值 (见图 1B), 与文献报道^[14] 的分化 NG108-15 细胞诱导钠电流激活性质一致。 I_{Na} 峰值因细胞不同大小差异性较大, 在 $-3.00 \sim -17.5$ nA 之间, 但大多数细胞 (80%) I_{Na} 是分布

在 $-5.0 \sim -10.0$ nA 之间。所有实验细胞的 I_{Na} 平均值为 -7.5 nA ($n=100$)。未分化 NG108-15 细胞诱导 I_{Na} 能被 100 nmol/L 河豚毒(TTX) 完全阻断(图 1A), 表明此 I_{Na} 成分单一, 为 TTX 敏感型, 不含 TTX 非敏感型。且电流非常稳定, 我们观察到在 1 h 之内连续刺激 12 次也未见钠电流的明显衰减(图 1B)。

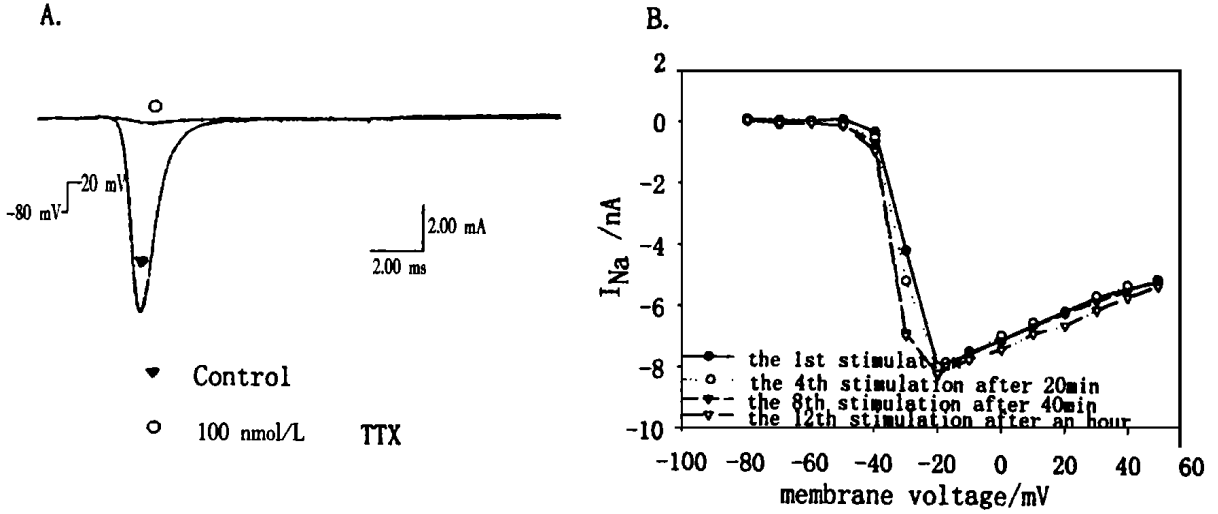


图 1 A. 河豚毒(TTX)阻断 NG108-15 细胞诱导 I_{Na} ($n=7$)
B. NG108-15 细胞 TTX 敏感型 I_{Na} 的衰减 ($n=3$) ($I-V$ 曲线)。

(钳制电位 -80 mV, 以 $+10$ mV 步幅去极化至 $+50$ mV, 持续时间 25 ms.)

Fig. 1 A. TTX block I_{Na} on NG108-15 ($n=7$)

B. The rundown of TTX-S I_{Na} on NG108-15 ($n=3$) ($I-V$ curve)

(Holding potential, -80 mV. Depolarize potential, 25 ms, from -80 mV to $+50$ mV, step $+10$ mV.)

2.2 三种蜘蛛粗毒对 NG108-15 细胞延迟整流钾电流的影响

将细胞钳制在 -80 mV, 从 -80 mV 去极化至 $+30$ mV 时可观察到一明显的外向延迟整流钾电流, 加入 50.0 mg/L 的三种蜘蛛粗毒后, 再施以相同去极化参数, 电流几乎不受任何影响(图

2), 表明三种蜘蛛粗毒中均不含阻断延迟整流钾通道的活性成分。

2.3 三种蜘蛛粗毒对未分化 NG108-15 细胞钠电流 (I_{Na}) 的抑制

为了保证实验结果的可靠性和明显性, 诱导 I_{Na} 峰值小于 4.00 nA 或大于 4.00 nA 但对对照 I_{Na}

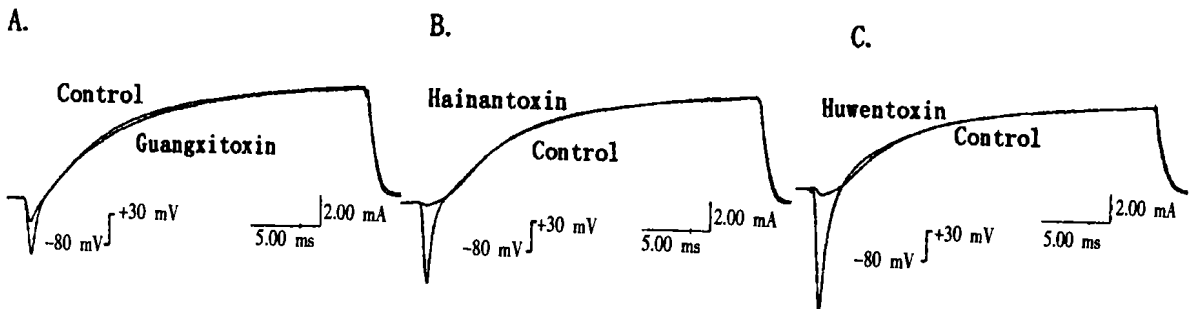


图 2 三种蜘蛛粗毒 (50.0 mg/L) 对延迟整流钾电流的影响 ($n=5$)

Fig. 2 The venoms from three kinds of spider (50.0 mg/L) influenced delay-rectified K^+ current ($n=5$)

重复性较差的细胞舍弃之。未分化 NG108-15 细胞诱导 I_{Na} 的去极化参数见图 1B, 用微量注射器加药后即施以相同去极化参数进行多次去极化, 直到诱导 I_{Na} 峰值不再进一步降低为止。三种粗毒影响未分化 NG108-15 细胞 I_{Na} 见图 3。50 mg/L 的三种蜘蛛粗毒对 I_{Na} 均有明显的抑制效应, 但阻断程度不同, 其中虎纹捕鸟蛛毒阻断了 53.2%,

海南捕鸟蛛毒阻断了 64.1%, 而广西大疣蛛毒则只能阻断 45.8%。它们均不改变 I_{Na} 的起始激活电压, 也不影响 I_{Na} 达到峰值的时程, I_{Na} 达到峰值时程分别为 $(1.45 \pm 0.05) \text{ ms}$, $(1.60 \pm 0.07) \text{ ms}$ 和 $(1.46 \pm 0.27) \text{ ms}$ ($n=5$), 与加粗毒之前 I_{Na} 达到峰值的时程 $(1.50 \pm 0.09) \text{ ms}$ ($n=15$) 基本一致, 但能使 I_{Na} 达到峰值的激活电压有所漂移, 从图

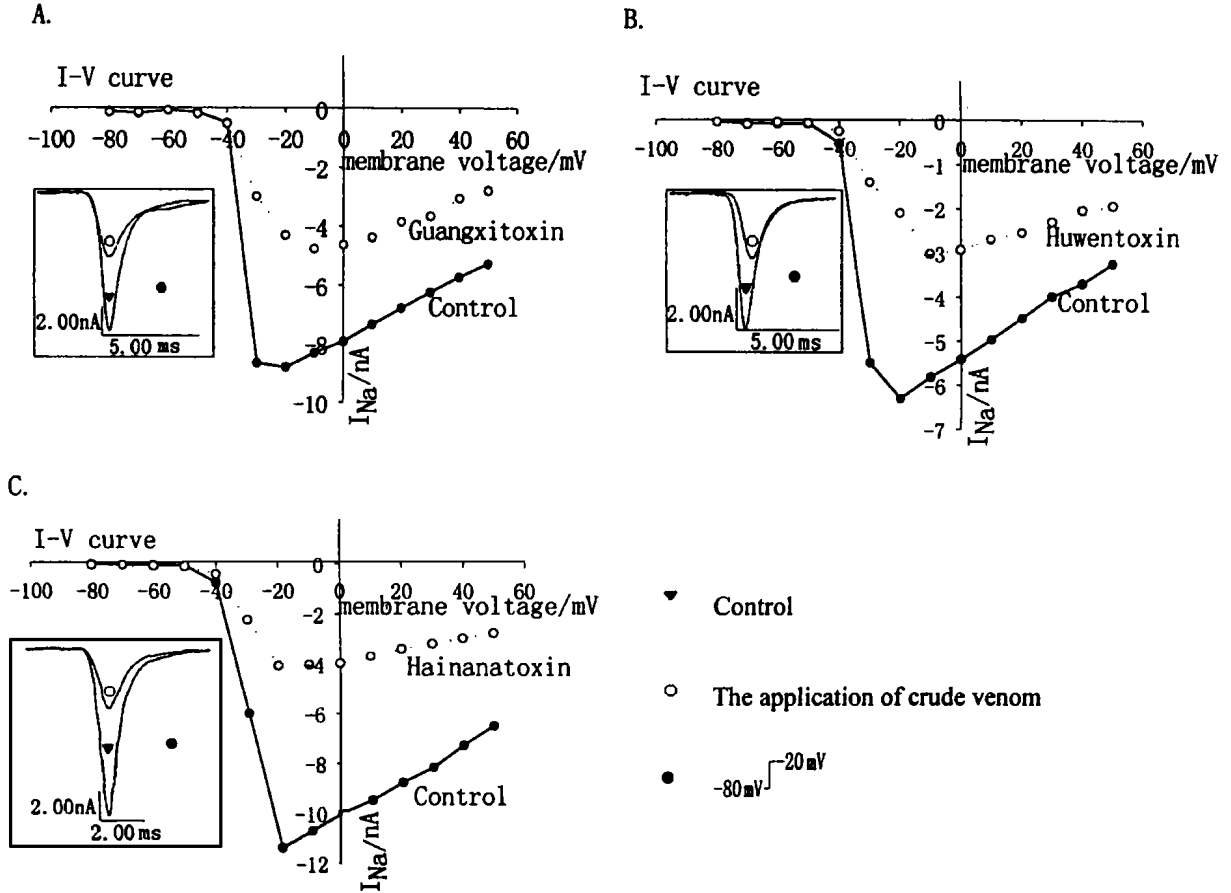


图 3 三种蜘蛛粗毒(5.0 mg/L)对 TTX 敏感型 I_{Na} 的影响($n=5$)

Fig. 3 The venoms from three kinds of spider (5.0 mg/L) influenced TTX-S I_{Na} ($n=5$)

A. *Macrothele guangxia*; B. *Selenocosmia huwena*; C. *Selenocosmia hainana*.

3I-V 曲线图中我们可看出, 加虎纹捕鸟蛛粗毒和广西大疣蛛粗毒后电压有 +10 mV 的漂移, 而海南捕鸟蛛粗毒则无。虎纹捕鸟蛛粗毒和海南捕鸟蛛粗毒在加药后 2 min 内即可达到阻断最大值, 且 10 min 之内无明显自动恢复, 而广西大疣蛛粗毒阻断 I_{Na} 速度较为缓慢, 自动恢复程度也比前二者要明显, 如在 10 mg/L 的浓度下, 粗毒 4 min 达到最大阻断后 6 min 时即可见明显的恢复现象, 至 8 min 后可有 $(15 \pm 4.4) \%$ ($n=3$) 的最大恢复。说明与广西大疣蛛粗毒相比, 海南捕鸟蛛粗毒和虎纹捕鸟蛛粗毒中可能含有与 TTX 敏感型钠

通道结合能力更强的配体。

三种蜘蛛粗毒对未分化 NG108-15 细胞电压激活钠电流的抑制效应均有浓度依从性(图 4)。其中海南捕鸟蛛粗毒的抑制效应对浓度的依从性要明显强于虎纹捕鸟蛛粗毒和广西大疣蛛粗毒。根据浓度效应曲线(图 4)推知三蜘蛛粗毒阻断 I_{Na} 的 EC_{50} 分别约为: 1.8 mg/L (海南捕鸟蛛粗毒); 3.4 mg/L (虎纹捕鸟蛛粗毒) 和 11.0 mg/L (广西大疣蛛粗毒)。可见, 相同浓度条件下, 对未分化 NG108-15 细胞 I_{Na} 阻断活性最高的是海南捕鸟蛛粗毒, 其次是虎纹捕鸟蛛粗毒, 广西大疣蛛粗毒活

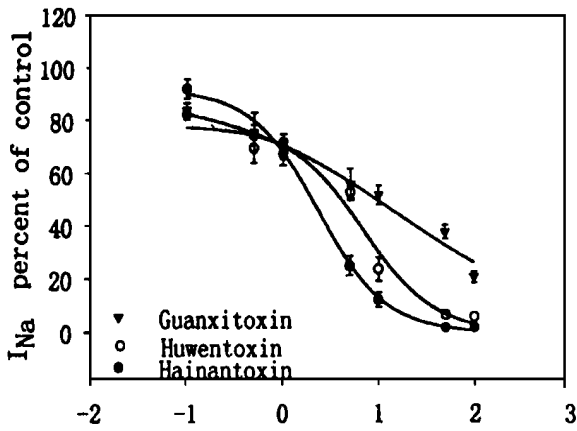


图 4 三种蜘蛛粗毒抑制 TTX 敏感型 I_{Na} 的浓度依赖性

Fig. 4 The dose-dependent inhibition of TTX-S I_{Na} by the venoms from three kinds of spider (every black dot's data came from five cells, mean \pm SEM)

性最弱, 几乎只有海南捕鸟蛛粗毒的 1/10.

综上所述, 三种蜘蛛粗毒中均含有具有 TTX 敏感型钠通道阻断活性的成分, 但是由于在粗毒中的组成与含量不同, 因而在阻断程度上表现出强弱的差异. 虎纹捕鸟蛛粗毒阻断 I_{Na} 的 EC_{50} 要明显低于广西大疣蛛粗毒, 但与海南捕鸟蛛粗毒相差不是很远, 这可能与此两蜘蛛种类在进化上有密切的亲缘关系而致使粗毒中部分活性成分具有同源性有关^[9, 10]. 另外, 本室对三种粗毒的阳离子交换色谱中所获得的碱性多肽进行 MALDI-TOF 质谱分析表明: 海南捕鸟蛛毒和虎纹捕鸟蛛毒中含小分子质量的多肽 (3 000 ~ 4 000), 而广西大疣蛛粗毒内所含的碱性多肽相对而言相对分子质量较大 (4 500 ~ 5 500) (图未给出). 如分离自虎纹捕鸟蛛粗毒和海南捕鸟蛛毒的两个小分子质量多肽 (3 607, 含 33 个残基; 4 107, 含 35 个残基), 均表现出较强的阻断 TTX 敏感型钠通道的活性 (结果尚未发表). 这也许是造成三种粗毒阻断程度强弱差异的原因之一. 三种蜘蛛单从其粗毒水平来看, 似乎均不影响钠电流的失活相, 与目前已知的蜘蛛肽类毒素 δ -Atracotoxins、 μ -agatoxin - 等^[2-8] 通过作用于钠通道位点 3 来延缓电流的失活相存在明显不同, 这也就预示着将极有可能从此三类蜘蛛粗毒中获得以其它不同方式阻断钠通道的新型蜘蛛肽类毒素.

虎纹捕鸟蛛粗毒具有神经细胞钠通道阻断作用, 与它能阻断神经肌肉标本兴奋传递的实验结果相吻合, 但虎纹捕鸟蛛粗毒不影响神经干动作

电位, 微终板电位以及肌肉的正常收缩^[11, 12], 说明这些部位的钠通道很可能不是虎纹捕鸟蛛粗毒的靶受体, 而突触前膜钠通道则有可能是虎纹捕鸟蛛粗毒的靶受体. 粗毒和靶受体结合后可以阻断突触间隙 Na^+ 向突触前膜内流, 突触前膜不能产生去极化, Ca^{2+} 也因此不能发生内流, 进而阻断乙酰胆碱 (Ach) 的释放使兴奋传导终止于突触前膜上. 当然兴奋阻断也可能是由于粗毒中所含的钙通道阻断剂直接阻断 Ca^{2+} 内流造成的, 如本实验室从虎纹捕鸟蛛粗毒中分离出的一种含 33 个残基的小分子质量多肽毒素 Huwentoxin-I 就是突触前膜 N 型钙通道专一性阻断剂^[17]. 不难想象粗毒同时作用于神经肌肉传递的多个环节, 对于蜘蛛迅速麻痹猎物或防御敌害而言是至关重要的. 对于上述三种蜘蛛毒素中的钠离子通道阻断毒素本实验室正在进行分离纯化, 以期进行深入的结构与功能研究.

参考文献 (References):

- [1] 邹冈. 基础神经药理学 (第二版) [M]. 北京: 科学出版社 (ZOU Gang. Basic nerve pharmacology (the 2nd version) [M]. Beijing: Science Press), 1999. 382-384.
- [2] NICHOLSON G M, WALSH R, LITTLE M J, et al. Characterisation of the effects of robustoxin, the lethal neurotoxin from the Sydney funnel-web spider *Atrax robustus* on sodium channel activation and inactivation [J]. *Pflügers Arch*, 1998, 436(4): 117-126.
- [3] FLETCHER J I, CHAPMAN B E, MACHAY J P, et al. The structure of veratoxin (δ -atracotoxin-Hv1) provides insights into the binding of site 3 neurotoxins to the voltage-gated sodium channel [J]. *Structure*, 1997, 5 (11): 1525-1535.
- [4] SKINNER W S, ADAMS M E, QUISTAD G B, et al. Purification and characterization of two classes of neurotoxins from the funnel web spider, *Agelenopsis aperta* [J]. *J Biochem*, 1989, 264(4): 2150-2155.
- [5] ARAUJO D A, CORDEIRO M N, DINIZ C R, et al. Effect of a toxic fraction, PhTx2, from the spider *Phoneutria nigriventer* on the sodium current [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 1993, 347(2): 205-208.
- [6] CRUZ J S, COTTA G. Partial purification and pharmacological characterization of a neurotoxic fraction isolated from the spider *Lycosa erythrognatha* [J]. *Braz J Med Biol Res*, 1994, 27(11): 2653-2659.
- [7] BLOOMQUIST J R, KINNE L P, DEUSCH V, et al. Mode of action of an insecticidal peptide toxin from the venom of a weaving spider (*Diguetia canities*) [J]. *Toxicon*, 1996, 34 (9): 1072-1075.
- [8] WANG G K, STRICHARTZ G R. Kinetic analysis of the action of *Leiurus* scorpion α -toxin on ionic currents in myelinated nerve [J]. *J Gen Physiol*, 1985, 86: 739-762.
- [9] 王家福, 彭贤锦. 我国南方捕鸟蛛一新种 [J]. 湖南师范大学自然科学学报 (WANG Jia-fu, PENG Xian-jin. A new species of genus *Selenocosmia* from south China [J]. *Acta Sci Nat Univ Norm Hunan*), 1993, 16(1): 51-54.
- [10] 梁宋平, 彭贤锦, 黄仁槐. 我国南方捕鸟蛛一新种的生物

化学鉴定(蜘蛛目,捕鸟蛛科)[J]. 生命科学研究(LIANG Song-ping, PENG Xian-jin, HUANG Ren-huai. Biochemical identification of *Selenocosmia hainana* sp. nov. from South China [Araneae, Theraphosidae]. Life Science Research), 1999, 3(4): 299-303.

- [11] 梁宋平, 覃于宾, 张东裔等. 虎纹捕鸟蛛毒的生物活性鉴定[J]. 动物学报(LIANG Song-ping, QIN Yu-bing, ZHANG Dong-yi, et al. Biological characterization of spider (*Selenosmia huwena*) crude venom. Zoological Research, 1993, 14(1): 60-65.
- [12] 陈湘定, 潘兴, 纵湘, 等. 虎纹捕鸟蛛(*Selenocosmia huwena*)粗毒对蟾蜍神经肌肉接头传递的影响[J]. 湖南师范大学自然科学学报(CHEN Xiang-ding, PAN Xin, ZONG Xiang, et al. Effects of the venom of the spider (*Selenocosmia huwena*) on the toad neuromuscular junction. Acta Sci Nat Univ Norm Hunan), 1994, 17(4): 66-73.
- [13] ROU ZAIRE-DUBOIS B, DUBOIS J M. K⁺ channel block-induced mammalian neuroblastoma cell swelling: a

possible mechanism to influence proliferation [J]. J Physiology, 1998, 510(1): 93-102.

- [14] 胡谦, 施玉琛. 丹皮酚对 NG108-15 细胞电压门控 K⁺, Na⁺, Ca²⁺ 流的抑制[J]. 生理学报(HU Qian, SHI Yuchan. Inhibition of voltage-gated K⁺, Na⁺ and Ca²⁺ currents in neuroblastoma × glioma hybrid cells by paeonol. Acta Physiologica Sinica), 1994, 46(6): 575-580.
- [15] LIANG S P, ZHANG D Y, ZHOU P A. Properties and amino acid sequence of Huwentoxin-I, a neurotoxin purified from the venom of the Chinese bird spider *Selenocosmia huwena*[J]. Toxicon, 1993, 31: 969-978.
- [16] LIANG S P, CHEN X D, SHU Q, et al. The presynaptic activity of huwentoxin-I, a neurotoxin from the venom of the Chinese bird spider *Selenocosmia huwena*[J]. Toxicon, 2000, 38(9): 1237-1246.
- [17] PENG Kuan, CHEN Xiang-ding, LIANG Song-ping. The effect of huwentoxin-I on Ca²⁺ channel in differentiated NG108-15 cells, a patch-clamp study[J]. Toxicon, 2001, 39(4): 491-498.

• 高科技产业项目 •

蜘蛛毒素的应用开发

我国有丰富的蜘蛛资源,估计不少于 3 000 种. 其中很多种蜘蛛在捕食或防卫时能从其螯爪末端排放毒液. 根据结构上的特点,可把这些蜘蛛毒素分为两大类:一类是蛋白质与多肽类毒素;另一类是分子量较小的非肽类毒素. 由于蜘蛛毒素的研究对神经生物学、药理学的研究与发展具有重要的意义,所以,目前对蜘蛛毒素的研究呈现很大的发展势头.

梁宋平教授主持的湖南省蛋白质化学与分子生物学重点实验室从 90 年代初开始着重研究我国蜘蛛毒素的结构与功能. 目前已从我国的虎纹捕鸟蛛、六疣蛛和长尾地蛛等毒蜘蛛的粗毒中分离到数十种不同生物功能的活性物质,并对其中的多种活性多肽进行了深入细致的研究,取得了一系列国内领先、国际前沿的研究成果. 在国内外有关权威杂志上发表研究论文数十篇,是目前国内蜘蛛毒素研究最深入、水平最高的实验室. 该实验室在进行基础研究的同时,正选择蜘蛛毒素中具有开发前景的成分进行开发应用的研究. 目前以下几个方面已取得应用开发前景的效果.

1 虎纹捕鸟蛛镇痛肽与应用开发

我们从虎纹捕鸟蛛毒中分解出一种多肽神经毒素,发现其有很强的镇痛作用,命名为虎纹镇痛肽. 其作用机制是通过钙通道与抑制阻断痛觉传递,由于其作用机制不同于吗啡,因而没有吗啡类镇痛药的成瘾性等毒副作用,这在动物实验中已

证实. 虎纹镇痛肽对于癌症和手术后疼痛病人将是一种很有前景的多效低毒镇痛药. 目前该项目已获两项国家专利,并已与北京某制药集团公司签约,展开了临床前实验和中试开发研究.

2 蜘蛛抗虫毒素及其基因的应用开发研究

我们已从虎纹捕鸟蛛、海南捕鸟蛛和广西六疣蛛毒中分离出多种杀虫肽,它们能使蟑螂等昆虫迅速麻痹致死. 这些杀虫肽对农林业的生物防治有重要应用前景,我们已建立根据蜘蛛毒素的氨基酸序列建立化学合成其基因并表达的实验程序. 将蜘蛛杀虫肽基因转入农作物,对培育抑虫作物具有重要的应用开发前景.

3 蜘蛛抗菌与抗癌活性肽的应用研究

我们通过平面内环管抑菌实验发现几种不同蜘蛛的粗毒中,存在对枯草芽孢杆菌、短小芽孢杆菌及大肠杆菌有明显抑菌作用的抗菌活性肽. 蜘蛛毒中已证明含有对肺癌传代细胞和鼻咽癌传代细胞有抑抗性的多肽. 上述工作的进一步深入研究将有可能开发出新型抗菌药和抗癌药物.

4 其他蜘蛛毒素的应用开发研究

蜘蛛毒中已分离出十多种不同的肽毒素,其中有钙离子通道阻断剂、钠离子通道阻断剂、细胞凝集素等,这些毒素的结构与功能之间的关系已经清楚,它们可以作为神经生物学和细胞学研究的专一性工具试剂,而且有很大的市场价值.