

· 综 述 ·

I-超家族芋螺毒素研究进展

黄丽君¹, 王春光¹, 戚正武^{1,2*}

(1. 同济大学 蛋白质所, 中国上海 200092;

2. 中国科学院 上海生命科学研究院 生物化学与细胞生物学研究所, 中国上海 200031)

摘 要: I-超家族芋螺毒素是芋螺毒素中较复杂的超家族之一, 它可分为 I₁ 和 I₂ 两组. 通常由 33~46 个氨基酸所组成, 具有相同的 4 对半胱氨酸骨架, 可特异性作用于各种离子通道及受体. 现对该芋螺毒素的生物化学及分子生物学特征、生理学活性、结构与功能的关系及应用前景等方面的研究进行综述.

关键词: I-超家族芋螺毒素; 离子通道; 二硫键; 翻译后修饰

中图分类号: Q516; Q71; R996.3

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2007)04-0283-06

Progress on the Study of I-superfamily Conotoxins

HUANG Li-jun¹, WANG Chun-guang¹, CHI Cheng-wu^{1,2*}

(1. Institute of Protein Research, Tongji University, Shanghai 200092, China;

2. Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institute of Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract: I-superfamily is one of the most complicated families among conotoxins, which is composed of two groups: I₁ and I₂. Usually, I-superfamily conotoxins contain 33~46 amino acid residues with four disulfide bonds. These disulfide-rich peptides can potently and selectively interfere with ion channels or receptors. The biochemical characteristics, physiological functions, structure-function relationship, and application perspective of I-superfamily conotoxins are reviewed.

Key words: I-superfamily conotoxins; ion channel; disulfide bond; post-translational modification

(Life Science Research, 2007, 11(4):283~288)

芋螺 (conus) 属于腹足纲软体动物, 栖息在热带海洋的浅海水域. 芋螺种类复杂, 外壳花纹美丽, 因外形呈圆锥形或芋头状而得名. 目前全世界大约有 500 多种芋螺, 按其食性不同可分为 3 类: 食虫性、食螺性和食鱼性. 其中食虫性芋螺最为多见, 大多以捕食多毛目环节动物为主, 有些则捕食半索海生动物及蛭虫; 其次是食螺性芋螺, 能捕食其他腹足动物; 最被注目的是食鱼性芋螺, 因其毒性对人和哺乳类动物危害较大^[1].

芋螺毒素 (conotoxin, CTX) 是芋螺分泌出来的用于捕食和防御的武器, 能特异性作用于各种离子通道及神经递质受体. 从结构上看, 芋螺毒素通常是由 10~46 个氨基酸残基组成的活性多肽小分子, 结构多样, 富含半胱氨酸, 具有高度保守的二硫键骨架. 芋螺毒素生物活性强, 作用靶位广且具有高度选择性, 可直接用作药物, 又可以作为设计新药的先导化合物, 具有重要的理论和应用价值, 因而受到全世界科学家们的广泛关注^[2,3].

收稿日期: 2007-09-10; 修回日期: 2007-10-30

基金项目: 国家“973”计划项目 2004CB719904

作者简介: 黄丽君 (1982-), 女, 湖北荆州人, 硕士研究生, 主要从事多肽毒素研究; 王春光 (1976-), 女, 黑龙江佳木斯人, 同济大学生命科学与技术学院教授, 主要从事蛋白质研究, Tel: 021-65984347, E-mail: chunguangwang@mail.tongji.edu.cn; 戚正武 (1932-), 男, 浙江宁波人, 中科院上海生命科学研究院生化细胞所研究员, 同济大学蛋白质研究所所长及化学系主任, 中国科学院院士, 第三世界科学院院士, 从事活性多肽及酶蛋白结构与功能的研究, E-mail: zwc@sibs.ac.cn

芋螺毒素种类繁多,成分复杂多样,按含二硫键对数的多少大致分为非富含二硫键芋螺毒素和富含二硫键芋螺毒素两大类(表 1)。非富含二硫键芋螺毒素指不含二硫键或只含单个二硫键的多肽毒素,如芋螺迟缓肽(contulakin)、芋螺睡眠肽(conantokin)、芋螺升压肽(conopressin)等^[1]。富含二硫键芋螺毒素指含有两对或两对二硫键以上的多肽毒素。芋螺毒素按每个成员高度保守的信号肽序列及其作用靶位又可分为若干个超家族和家族(表 1),其中 I-超家族芋螺毒素种类较为复杂,相异也大。由于信号肽序列的不同,又可分为 I₁、I₂ 两组^[4]。相对其它超家族而言,I-超家族芋螺毒素的研究才刚起步,大多只停留于对一级结构的表征描述,对其高级结构和生理学功能方面涉及不多。

1 I-超家族芋螺毒素的分类、生物化学及分子生物学特征

I-超家族芋螺毒素相对于其它芋螺毒素发现较晚,于 2003 年由 3 家实验室同时报道^[5-7],它

们含量丰富,分布广泛,在食虫性、食螺性和食鱼性芋螺中都有发现。目前已发现了几十个 I-超家族芋螺毒素 I-CTX,该家族毒素比一般的芋螺毒素要大,并且成熟肽超变异。I-超家族芋螺毒素通常由 33~46 个氨基酸组成,含有 4 对二硫键。分子生物学研究发现,每个芋螺毒素均有单一的 mRNA 编码,原始翻译产物是它们的蛋白前体。前体通常由 N-端的信号肽,中间的 Pro 区和 C-端的成熟肽组成。Buczek 等对 I-超家族芋螺毒素的 cDNA 序列分析发现其家族成员之间的信号肽序列同源性很低,按信号肽序列可将之分为 I₁ 和 I₂ 两组(表 2)。第 1 组 I₁-超家族芋螺毒素可视有无翻译后修饰分为 A、B 两类,其中 A 类芋螺毒素的 C-末端倒数第 3 个氨基酸一般为 Phe、Leu 或 Met,都是 D 型氨基酸,B 类芋螺毒素的信号肽和 pro 区与 A 类的较为相似,但其成熟肽的长度比 A 类的短,而且没有翻译后修饰。第 2 组 I₂-超家族芋螺毒素没有 pro 区,而在其前体的 C-端有一段约 6~13 个氨基酸的序列,被称作 postpeptide(表 2)。

表 1 芋螺毒素的分类
Table 1 Conotoxin superfamilies

超家族 Superfamily	二硫键骨架 Disulfide pattern	家族 Family	作用靶位 Target
富含二硫键芋螺毒素 Disulfide-rich conotoxins			
O	C-C-CC-C-C C-C-CC-C-C C-C-CC-C-C C-C-CC-C-C C-C-CC-C-C	μ	延迟 Na ⁺ 通道失活 Na ⁺ 通道阻断剂 电压敏感性 Ca ²⁺ 通道阻断剂 K ⁺ 通道阻断剂 Pacemaker channel 阻断剂
M	CC-C-C-CC CC-C-C-CC CC-C-C-CC	μ	电压敏感性 Na ⁺ 通道阻断剂 nACh 受体非竞争性拮抗剂 K ⁺ 通道阻断剂
A	CC-C-C CCC-C-C-C CC-C-C CC-C-C-C-C CC-C-C-C-C	A A	nACh 受体竞争性拮抗剂 nACh 受体竞争性拮抗剂 1 肾上腺素受体非竞争性拮抗剂 nACh 受体竞争性拮抗剂 电压敏感性 K ⁺ 通道阻断剂
S	C-C-C-C-C-C-C-C-C-C		5-HT ₃ 受体拮抗剂
T	CC-CC CC-C-C		突触前 Ca ²⁺ 通道阻断剂 去甲肾上腺素转运体抑制剂
P	C-C-C-C-C-C	spastics	未知
I	C-C-CC-CC-C-C C-C-CC-CC-C-C	I ₁ I ₂	Na ⁺ 通道 K ⁺ 通道
非富含二硫键芋螺毒素 Non-disulfide-rich conotoxins			
	C-C	conopressin	血管加压素受体激动剂
	C-C	contryphan	未知
	无 C-C	contulakin	神经紧张素受体激动剂
	无 C-C	conantokin	NMDA 受体拮抗剂
	无 C-C	conorfamide	Rfamide 受体
	无 C-C	conodipine-M	磷脂

值得指出的是: 在已知的 postpeptide 序列中 (-BtX 是唯一蛋白质与基因序列都被阐明的, 其余主要是从 cDNA 序列推测而来), 其 N-端都有保守的 GKR 序列, 根据 -BtX 蛋白序列测定结果, 很可能在 postpeptide 中保守的双碱性残基 KR 的肽键上先被类 furin 酶所裂解, 再被 carboxypeptidase B 将两碱性残基移去, 而剩下的 Gly 则被用作毒素 N-末端残基的酰胺化, 如 -BtX 的 C-末端残基的 Pro 被酰胺化. Postpeptide 的作用不清楚, 有可能是作为毒素翻译后修饰的信号序列, 或在毒素的多肽折叠中起作用. 最近我们实验室又从唐草芋螺 (*C. characteristicus*) 中分离了几种新型毒素, 它们具有 I-超家族芋螺毒素的半胱氨酸骨架, 但其信号肽与 I₁ 和 I₂ 毒素都不同, 也许属于 I-超家族的一个家族分支. 从以上分类可看出, I-超家族芋螺毒

素是十分趋异的. 随着更多家族成员地发现, 也许会对该超家族提出新的分类原则.

芋螺毒素是迄今为止所发现的翻译后加工最为复杂的一类生物多肽^[6]. 成熟肽的高度翻译后修饰是芋螺毒素多样性的一个重要途径, 蛋白前体中有被翻译后修饰酶类识别的特殊信号序列, 经过修饰后可生成有高活性的成熟肽. 其中 I-超家族芋螺毒素中最常见的加工方式是 C-末端的酰胺化、脯氨酸的羟基化及谷氨酸的羧基化, 另一种翻译后修饰方式是 L-氨基酸的异构化, 如将苯丙氨酸或亮氨酸转换成 D-型, 可以提高其对某类亚型受体的特异性^[8,9]. 其它芋螺毒素还发现有色氨酸溴代及丝氨酸或苏氨酸糖基化的修饰等 (表 3).

表 2 I-超家族芋螺毒素的前体序列
Table 2 Complete precursor sequences of I-superfamily conotoxins

Group I	Signal sequence	Propeptide	Mature toxin	References
A				
S11.2a	<u>MKLCLTFLLVLMILASVTG</u>	EKSSKHTLSRAA---GCKKDRKPCSYQADCCNCCPIGTCAPSTNWIILPGCSTGPFMAR		[4]
R11.6 (r11a)	<u>MKLCLTFLLVLMILASVTG</u>	EKSSKHTLSRAAGOSFCKADEKPCYHADCCNCLSGICAPSTNWIILPGCSTSSFFKI		[7]
R11.14 (r11b)	<u>MKLCLTFLLVLMILASVTG</u>	EKSSKHTLSRAAGOSFCKANGKPCSYHADCCNCLSGICKPSTNWIILPGCSTSSFFRI		[7]
R11.4 (r11c)	<u>MKLCLTFLLVLMILASVTG</u>	EKSSKHTLSRAAGPSFCKADEKPKYHADCCNCLGGICKPSTSWIGCSTNVFLT		[7]
B				
Bt11.1	<u>MKLCVAFLLVLI LPSVIG</u>	GKPSERTLSGATRRGDRRMCLSLGQRCERHSNCCGYLCCFYDKCVVTAIGCGHY		[4]
Ep11.1	<u>MKLCVTFLLI LVI LPSVIG</u>	EKSSKRTL SGAALRGDWGMCSGIGQGGQDSNCCGDMCCYGIICAMTFAACGP		[4]
Group II				
Sx11.2	<u>MMFVRTSVGCFLLVIVFLNLLVVPVPTSA</u>	-CRAEGTYCENDSQCLNECCWGGCGHPCRHPGKRSLQEFFRQR		[4]
Ep11.12	<u>MMFVRTSVGCFLLVIVSLNLLVVLVLTNA</u>	-CLSEGSPCSMSGSCCHKSCCRSTCTFPCLIPGKRKALREFFRQR		[4]
-BtX	<u>MMFVRTSVGCLLLVIVFLNLLVVPVPTSA</u>	-CRAEGTYCENDSQCLNECCWGGCGHPCRHPGKRSLQEFFRQR		[5]
ViTx	<u>MMFRLTSVSCFLLVIACLNLFQVVLTS</u>	SRCFPPGIYCTSYLPCCWIGCCSTCRNVCHLRIGKRATFQE		[6]
Ve1	<u>MMFRLTSVSCFLLVIACLNLFQVVLTS</u>	SRCFPPGIYCTSYLPCCWIGCCDTCRNVCHLRIGKRATFQE		[21]
Ve2	<u>MMFRLTSVSCFLLVIACLNLFQVVLTS</u>	SRCFPPGIYCTSYLPCCWIGCCSTCRNVCHLRFQKRATFQE		[21]

注: M: D-甲硫氨酸; F: D-苯丙氨酸; L: D-亮氨酸. 下划线序列表示 postpeptides, 它们会被不同的蛋白酶切除.
Notes: S: *C. striatus*; R: *C. radiatus*; Bt: *C. betulinus*; Ep: *C. episcopatus*; Sx: *C. striolatus*; Ve: *C. vexillum*; M: D-methionine; F: D-phenylalanine; L: D-leucine. The underlined sequences are postpeptides removed by different proteases.

芋螺毒素分子的翻译后修饰的重要作用在于可使单一基因衍生为结构不同的多种肽分子, 即生成不同于母体分子的新的肽分子模体, 从而大大增加了芋螺毒素分子的多样性, 并且提高了其对靶位分子的识别能力与专一性^[8,10], 同时这些结构变化也常能提高芋螺毒素对蛋白酶的抗性,

翻译后的修饰也往往与芋螺毒素的功能活性密切相关^[4].

这些氨基酸的修饰与加工均需要特定的酶, 同时也需要相应的识别序列或者特征结构^[8]. I₁组中 A 类的 I-CTX, 其序列中有一对 D-型异构偏爱的位点 (表 2). 在此位点上氨基酸能发生

D-型异构修饰, 这与氨基酸的种类无关. 已知的研究结果表明, N-末端顺数第 2 个氨基酸及 C-末端倒数第 2 或第 3 个氨基酸往往是 D-型异构的偏爱位点^[11]. 如蜘蛛毒素 *-agatoxin TK*, 它虽与芋螺毒素 r11a 序列同源性低, 发生 D-型异构修饰的氨基酸也不同 (前者为 Ser, 后者为 Phe), 但其所处位置相同, 均处于 C-末端倒数第 3 位^[11]. 这些修饰酶的作用机理、识别序列及其选择性加工的分子机制还不清楚, 亟待进一步研究.

2 I-超家族芋螺毒素的生理学活性及结构与功能关系

对 I-超家族芋螺毒素的结构、功能及生理学活性等方面的研究才刚起步. 目前 I₂组中的两个毒素 ViTx 和 -BtX 其生理学活性得到了较清晰的阐明, 确定了它们的分子靶点, 对于其它毒素如 I₁组中的 r11a, r11b 和 r11c 等也作了一定的生理学活性的探索^[7], 其中对于 r11a (另命名 -RXIA), 最近已确定了其分子靶点^[12].

-BtX 是目前多肽类毒素中唯一的一个钾离子通道激活剂, 并且选择性地作用于钙激活的、电压门控的 BK 通道^[9]. -BtX 的成熟肽含 31 个氨基酸残基, 其前体肽的 C-端有一段 13 个氨基酸的序列 (GKRSLQEFFRQR), 在翻译后加工中被蛋白酶移去. -BtX 经翻译后修饰, 3 个谷氨酸全被羧基化, 27 位脯氨酸被羟基化, 31 位脯氨酸被酰胺化 (表 3). 全细胞膜片钳实验表明 -BtX 对钠离子、钙离子通道无作用, 只作用于 BK 钾通道, 对钾离子通道的其它亚型如 SK 通道几乎不作用. -BtX 最大的特点在于它是钾离子通道的激活剂, 而以往所发现的作用于钾离子通道的毒素都是阻断剂或拮抗剂, 如 -PVIIA 是第一个被发现的作用于钾离子通道的芋螺毒素, 能以高亲和力阻断 shaker 钾离子通道^[13]. -BtX 毒素并不影响单通道的电流/电导, 但可增加通道的开放概率及整体开放时间, 从而表现出激活活性.

目前还不清楚 -BtX 与 BK 通道的具体结合位点, 根据已知的研究结果可推测: 1) 它可能结合在 BK 通道的胞外区^[9]; 2) 它与钾离子通道的结合位点可能不同于蝎毒毒素的 charybdotoxin^[14]; 3) 其结合位点不可能在 BK 通道的 亚基上^[15].

1997 年, Dauplais 等人在综合比较了海葵钾通道毒素和蝎钾通道毒素的重要功能残基后提出功能对的假说^[16]. 2002 年, Srinivasan 等人对功能对假说进行了修改, 将它的适用范围进行了一定的约束^[17]. 修改后的假说认为: 作用于电压门控钾通道 (Kv) 的动物毒素, 都含有 Lys-Tyr/Phe 所组成的功能对, Lys 和 Tyr/Phe 的距离符合 $6.0 \pm 1.0 \text{ \AA}$, 并且功能对是毒素与通道结合中最重要的功能残基. 芋螺毒素 -PVIIA 就是通过一个保守的功能对 (Lys7-Phe9) 而与钾离子通道结合的^[13].

同属于 I₂ 组的 ViTx 其成熟肽含 35 个氨基酸残基, 膜片钳实验表明该毒素可抑制哺乳动物钾离子通道 Kv1.1 和 Kv1.3, 但对 Kv1.2 却无抑制活性. 虽然 ViTx 对钾离子通道有很强的选择性和特异性, 但相对其它毒素而言其亲和力却不强, 这种低亲和力也许暗示 ViTx 可能有特殊的结构特征, 也有可能尚未找到与 ViTx 有更强亲和力的分子靶点.

Mondal 等根据同源建模得到了 ViTx 的理论三维结构^[18]. 在与 -PVIIA 比较后, 他们认为 ViTx 的 Lys35 不可能参与通道的结合, 而 Arg26 极可能在通道结合中起关键作用. 他们用原位锚定 *in silico docking* 研究了 ViTx 与 Kv1.1 的相互作用, 发现 Lys35 远离通道的孔区, Arg26 也远离孔区, 而 Arg26 和 Arg32 靠近孔区. 也许 ViTx 就是靠带正电荷的残基而锚定于钾离子通道的孔区, 这样 ViTx 像一个盖子一样盖住了通道, 从而起到了阻断作用. 这种阻断机制与 M-RIIIA 及 Tshal 钾离子通道的作用机制十分相似^[19], 而不同于 -PVIIA, 后者通过一个保守的功能对 (Lys7-Phe9) 与钾离子通道结合^[13].

表 3 I-超家族芋螺毒素的翻译后加工
Table 3 Post-translational modification of I-superfamily conotoxins

Peptide	Sequence	Conus species	References
-BtX	CRA GTYC NDSQCCLN CCWGGCGHOCRHP*	C.betulinus	[5]
r11a	GOSFCKADEKCOCEYHADCCNCLSGICAOSTNWILPGCSTSSFFKI	C.radiatus	[7]
r11b	GOSFCKANGKOCYSYHADCCNCLSGICKOSTNVILPGCSTSSFFRI	C.radiatus	[7]
r11c	GOSFCKADEKOCKYHADCCNCLGGICKOSTS/WLGCSTNVFLT	C.radiatus	[7]
r11e	ECKTNKMCSLH CCRFCRCCFHGKCQTSVFGCW [#] VDP*	C.radiatus	[7]
sr11a	CRTEGMSC NQQCCWRSCCRGECEAPCRFGP*	C.spurius	[20]

注: : 羧基化谷氨酸; O: 羟基化脯氨酸; W: 溴代色氨酸; F: D-苯丙氨酸; L: D-亮氨酸; *: C-末端酰胺化.

Notes: : carboxy glutamate; O: 4-trans-hydroxyproline; W[#]: 6-bromo-tryptophan; F: D-phenylalanine; L: D-leucine; *: C-terminal amidation.

Jimenez 等从食鱼芋螺 *C.radiatus* 中分离纯化出 5 个 I-超家族芋螺毒素^[7], 并且用基因克隆手段从该螺中得到十几个 I-超家族成员. 动物实验表明当其注入小鼠体内时会引发兴奋症状. 他们还进一步研究了 I₁ 组中属于 A 类的 r11a、r11b、r11c 和 r11e 的电生理活性, 发现它们作用于周质轴突, 引发重复性动作电位, 表现为兴奋活性. 因此这几个毒素的分子靶点可能参与调控轴突的膜兴奋性.

在最近的一篇报道中, Buczek 等发现 r11a 作用于钠离子通道, 并且解析得到了其三级结构^[12]. r11a 具有抑制剂半胱氨酸绳结模体 (inhibitor cysteine knot motif, ICK motif) 的结构, 这个 motif 由 3 对二硫键 (Cys5-Cys19、Cys12-Cys22 及 Cys18-Cys27) 稳定, 第 4 对二硫键 (Cys21-Cys38) 将 ICK motif 与 C-端连接起来.

r11a、r11b 和 r11c 中都有 D-型氨基酸, 而且氨基酸的异构现象对芋螺毒素的功能活性有很大影响. 对 r11c 而言, r11c [L-Leu42] 和 r11c[D-Leu42] 在神经细胞和肌肉细胞上均可引发重复性动作电位, 而 r11a 和 r11b 的 D-Phe44 转变为 L-Phe44 后就无此活性. 此外 r11a 和 r11b 只在神经细胞中引发重复性动作电位, 再由突触将之传给肌肉细胞, 而 r11c 可直接在肌肉细胞上引发重复性动作电位. 序列同源性比较, 发现 r11a 和 r11b 之间的同源性高, 因此功能相似, 而 r11c 却与两者的同源性低 (表 2).

Aguilar 等从食虫芋螺 *C.spurius* 中纯化得到一个 32 个氨基酸的 I-超家族芋螺毒素 sr11a^[20]. 序列同源性分析发现其与 -BtX 之间的同源性高 (51%), 而与 ViTx 同源性较低 (31%). 因此推断 sr11a 可能作用于 BK 通道, 而不作用于 K_v1.1 和 K_v1.3. 动物实验也表明 sr11a 会引起小鼠身体僵直、竖尾等症状, 这种现象与 -BtX 具有激活性是相符的, 但是 sr11a 的具体分子靶点还需通过进一步的电生理实验才能确定.

Kaufstein 等对 11 种芋螺的粗毒液进行电生理实验, 发现 3 种芋螺的毒液对 K_v1.1 和 K_v1.3 有阻断活性, 而对 K_v1.2 却无作用活性^[21]. 这说明其中很可能存在与 ViTx 功能相似的多肽. 根据基因克隆结果从螺中得到了其 cDNA 序列, 由之推断得到氨基酸序列. 发现它们与 ViTx 同源性极高, 其中两个来自 *C.vexillum* 的毒素多肽与 ViTx 各仅有一个氨基酸的差异 (表 2).

总之, 对 I-超家族芋螺毒素的活性研究才刚起步, 目前只有 ViTx、-BtX 以及 r11a 确定了它们的分子靶点, 前两者虽都作用于钾离子通道, 却有完全相反的功能, ViTx 是钾离子通道的阻断剂, -BtX 却是激活剂. ViTx 和 -BtX 具有相似的信号肽序列, 同属于 I₂ 组, 但却功能差异大, 也许这与其序列多样性有关. 属于 I₁ 组中的 r11a 作用于钠离子通道, 是钠离子通道拮抗剂. I₁ 和 I₂ 两家族成员有不同的信号肽序列, 并且在成熟肽序列上更加趋异, 半胱氨酸环间的氨基酸数目差异也大, 也许这暗示两家族成员完全不同的生理功能.

3 I-超家族芋螺毒素的应用前景

I-超家族芋螺毒素分布广, 种类繁多, 生物活性强. 从目前的研究结果来看, I-超家族芋螺毒素多为兴奋肽, 其中一些已确定了其分子靶点 (如 ViTx 和 -BtX), 它们对钾离子通道有高度选择性和亲和性, 可以作为研究钾离子通道极好的探针, 可能成为神经科学研究的重要工具, 因而具有良好的研究价值和广阔的应用前景. 从 *C.radiatus* 中发现了十几个可诱发轴突兴奋性的 I-超家族毒素, 这无疑对了解及研究周质轴突的分子多样性提供了有力的工具, 可鉴定介导轴突兴奋性的分子, 从而阐明其分子作用机制. 由于每种多肽毒素都会与其特异的靶分子结合, 而从同一种芋螺中能得到多种同一超家族的相关多肽毒素, 这说明它们很可能作用于一群功能和或结构彼此关联的离子通道或受体的不同亚基. 各家族成员在功能上互为补充, 起协同作用.

由于芋螺毒素在生物化学及药理学特征上的多样性, 常用于鉴定离子通道或受体的亚型及变体, 如 -芋螺毒素已成为鉴定突触前钙离子通道的探针, -芋螺毒素用于鉴定 nAChR 受体的各种亚型. 钾离子通道是最复杂的一种离子通道, 在心脏速率的调节、肌肉的收缩、神经递质的释放等诸多生理过程中起着至关重要的作用. 与作用于钠离子通道和钙离子通道的芋螺毒素相比较, 目前能够作用于钾离子通道的芋螺毒素不多, 仅有 (O-超家族)、A(A-超家族)、M(M-超家族) 及 I-等 4 种超家族的芋螺毒素作用于钾离子通道. I-超家族芋螺毒素成员复杂, 序列趋异, 为研究钾离子通道提供了丰富的材料, 可作为探针用于分离和鉴别钾离子通道各种亚型, 以及用于

测定通道的生理、药理、生化、生物物理及结构特征, 从而阐明各种钾离子通道亚型在生理过程中的重要作用。

芋螺毒素有着各自特定的药理学作用范围和生物学活性, 因而具有重要的理论和应用价值。深入研究芋螺毒素, 不仅对海洋制药工业具有重要意义, 也将为我国芋螺海洋资源的开发利用提供重要理论依据。由于它们对靶分子作用的高度选择性及结构多样性, 有望可直接开发成药物或成为新药的先导化合物。 α -BtX 是第一个被发现的天然多肽钾离子通道开放剂, 相对其他作用于钾离子通道的毒素而言, 其对通道具有更高的特异性和选择性, 因此可作为研究钾离子通道的有效工具。除 α -BtX 外目前还有其它 4 种可激活 BK 钾通道的试剂^[22], 分别为: 药草、抗发炎芳香复合物、苯并咪唑和根皮素。它们的选择性不强, 效力不高, 而且水溶性差, 给药不便, 而 α -BtX 作用于通道的胞外区, 无须穿膜, 便于给药, 则可用于治疗由于细胞膜超兴奋引起的综合症。

总之, 目前对 I-超家族芋螺毒素的研究才刚起步, 目前的工作仅集中于毒素的分离纯化及其分子生物学表征方面的研究, 而对其结构与生理功能的了解还很少。相信对芋螺毒素的深入研究, 将会发现更多的家族成员, 最近我们已发现其它新的 I-超家族成员, 其信号肽序列不同于以往已知的。对毒素高级结构的解析将有助于其生理学及分子作用机制的阐明, 而对其生理活性的研究将有助于鉴别更多的钾离子通道亚型, 甚至发现其它的新靶点, 从而为研究离子通道提供有力的工具。

参考文献 (References):

[1] TERLAU H, OLIVERA B M. Conus venoms: a rich source of novel ion channel-targeted peptides[J]. *Physiol Rev*, 2004, 84: 41-68.

[2] 王承忠, 蒋辉, 戚正武. 芋螺毒素研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展* WANG Cheng-zhong, JIANG Hui, CHI Cheng-wu. The progress in studies on conotoxins[J]. *Prog Biochem Biophys*, 2003, 30(4): 537-545.

[3] 陈冀胜. 药物开发的新领域-芋螺毒素[J]. *中国天然药物* (CHEN Ji-sheng. Conotoxins-a new developing approach for drug research[J]. *Nat Med*), 2004, 2(3): 129-134.

[4] BUCZEK O, YOSHIKAMI D, WATKINS M, et al. Characterization of D-amino-acid-containing excitatory conotoxins and redefinition of the I-conotoxin superfamily[J]. *FEBS J*, 2005, 272(16): 4178-4188.

[5] FAN C X, CHEN X K, ZHANG C, et al. A novel conotoxin from *Conus betulinus*, kappa-BTX, unique in cysteine pattern

and in function as a specific BK channel modulator[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(15): 12624-12633.

[6] KAUFERSTEIN S, HUYSI, LAMTHANH H, et al. A novel conotoxin inhibiting vertebrate voltagesensitive potassium channels[J]. *Toxicon*, 2003, 42(1): 43-52.

[7] JIMENEZ E C, SHETTY R P, LIRAZAN M, et al. Novel excitatory Conus peptides define a new conotoxin superfamily [J]. *J Neurochem*, 2003, 85(3): 610-621.

[8] BUCZEK O, BULAJ G, OLIVERA B M. Conotoxins and posttranslational modification of secreted gene products [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2005, 62: 3067-3079.

[9] JACOBSEN R, JIMENEZ E C, CRUZ R G, et al. A novel D-leucine-containing Conus peptide: diverse conformational dynamics in the contryphan family[J]. *J Peptide Res*, 1999, 54(2): 93-99.

[10] LOUGHNAN M, BOND T, ATKINS A, et al. α -Conotoxin Epl, a novel sulfated peptide from *Conus episcopatus* that selectively targets neuronal nicotinic acetylcholine receptors[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(25): 15667-15674.

[11] BUCZEK O, YOSHIKAMI D, BULAJ G, et al. Post-translational amino acid isomerization: a functionally important D-amino acid in an excitatory peptide [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(6): 4247-4253.

[12] BUCZEK O, WEI Da-xiu, BABON J J, et al. Structure and sodium channel activity of an excitatory I₁-superfamily conotoxin[J]. *Biochemistry*, 2007, 46(35): 9929-9940.

[13] SAVARIN P, MARC G, BERNARD G, et al. Three-dimensional structure of k-PVIIA potassium channel-blocking toxin from cone snails[J]. *Biochemistry*, 1998, 37(16): 5407-5416.

[14] PARK C S, MILLER C. Interaction of charybdotoxin with permeant ions inside the pore of a K⁺ channel [J]. *Neuron*, 1992, 9(2): 307-313.

[15] WALLNER M, MEERA P, TORO L. Molecular basis of fast inactivation in voltage and Ca²⁺-activated K⁺ channels: A transmembrane α -subunit homolog[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(7): 4137-4142.

[16] DAUPLAIS M, LECOQ A, SONG J, et al. On the convergent evolution of animal toxins. Conservation of a diad of functional residues in potassium channel-blocking toxins with unrelated structures[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(7): 4302-4309.

[17] SRINIVASAN K N, SVARAJA V, HUYSI, et al. Kappa-Hefutoxin1, a novel toxin from the scorpion *Heterometrus fulvipes* with unique structure and function: Importance of the functional diad in potassium channel selectivity[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(33): 30040-30047.

[18] MONDAL S, VIJAYAN R, SHICHINA K, et al. I-superfamily conotoxins: sequence and structure analysis[J]. *In Silico Biol*, 2005, 5: 557-571.

[19] VERDIER L, AHMED A, JEAN E F R, et al. Identification of a pharmacophore for peptide toxins interacting with K⁺ channels[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(22): 21246-21255.

[20] AGUILAR M B, ESTUARDO L V, EDGAR P H, et al. I-conotoxins in vermivorous species of the West Atlantic: peptide sr11a from *Conus spuriosus*[J]. *Peptides*, 2007, 28(1): 18-23.

[21] KAUFERSTEIN S, HUYSI, KUCH U, et al. Novel conopeptides of the I-superfamily occur in several clades of cone snails[J]. *Toxicon*, 2004, 44(5): 539-548.

[22] LATORRE R, VERGARA C, STEFANI E, et al. *Handbook of Experimental Pharmacology*[M]. New York: Springer-Verlag, 2000. 197-223.