

# 芋螺毒素研究进展

王承忠<sup>1,2)</sup> 蒋 辉<sup>1,3)</sup> 戚正武<sup>1)\*</sup>

(<sup>1)</sup> 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, 上海 200031;

<sup>2)</sup> 复旦大学上海医学院生物化学与分子生物学系, 上海 200032; <sup>3)</sup> 北京药物化学研究所, 北京 102005)

**摘要** 芋螺毒素是近年来国际上的一个研究热点, 它属于一类海洋生物活性多肽, 多数由 12~46 个氨基酸残基所组成, 能特异性地作用于体内各种离子通道和细胞膜上神经递质和激肽的受体, 具有分子质量小、结构多样、作用靶点广泛、功能专一、组织特异性强等优点, 因而较之其他生物来源的活性多肽有更多的优越性。芋螺毒素是一待挖掘的“富矿区”, 可作为体内一些具有重要生理功能靶点的探针和“解密器”, 亦可作为新药的先导化合物或直接开发成新药, 因此对芋螺毒素的研究有重要的理论和实际意义。

**关键词** 活性多肽, 芋螺毒素, 离子通道, 神经递质和激肽受体, 拮抗剂, 激动剂

**学科分类号** Q71

芋螺毒素 (conotoxin, CTx) 是一类来源于芋螺 (*Conus*) 毒液的活性多肽。对芋螺自身而言, CTx 主要用于捕食与防御。近几十年来的研究表明, 它主要作用于细胞膜上各种离子通道和神经递质/激肽的受体, 有很强的生物学活性。芋螺毒素有如下特点: 分子质量小, 富含二硫键; 前导肽高度保守而成熟肽具有多样性; 作用靶点广且具有高度组织选择性。芋螺毒素常被作为探针用于各种离子通道和受体的类型及亚型的分类和鉴定, 也极有望直接开发成药物或作为先导化合物用于新药的开发。

## 1 芋螺毒素的分类及分子生物学特征

芋螺属于腹足纲软体动物, 分布于热带海洋中的浅水区。据估计全世界有 500 多种芋螺, 我国有百余种。每种芋螺的毒液中含 50~200 种活性多肽, 而且不同种的芋螺所含的活性多肽也各不相同, 因而理论上应有 5 万多种活性肽组分存在于芋螺毒液中。迄今, 它们中已被阐明的仅百余种, 多数由 12~46 个氨基酸残基组成, 含两对或三对二硫键, 包括了至今发现的最小神经肽毒素。它们作用靶点广泛, 能结合细胞膜上神经递质和激肽的受体和各种离子通道。籍此它们能干扰神经或其他细胞中的信号传递, 具有很强神经毒性。比如  $\alpha$ 、 $\alpha A$  和  $\phi$ -CTx 能分别竞争性和非竞争性拮抗 N 型 ACh 受体,  $\omega$ -CTx 选择性抑制突触前的 N 型电压敏感

性  $Ca^{2+}$  通道,  $\kappa A$  和  $\kappa$ -CTx 选择性抑制电压敏感性  $K^+$  通道, 而  $\mu$ 、 $\mu O$  和  $\delta$ -CTx 则选择性作用于电压敏感性  $Na^+$  通道。另外还有一些芋螺毒素, 它们能选择性作用于血管加压素受体 (如 conopressin)、NMDA 受体 (如 conantokin) 和 5-羟色胺的 3 型 ( $5-HT_3$ ) 受体 (如  $\sigma$ -CTx)<sup>[1]</sup>。芋螺在捕食时利用毒液中的活性成分来阻断神经肌肉间兴奋信号的传递, 整个捕食过程可分为两个时相: 快时相 (兴奋性休克) 和紧接着的慢时相 (神经肌肉间兴奋信号传递的阻断)。前者主要由于  $\delta$ -CTx 延迟电压敏感性  $Na^+$  通道的失活及  $\kappa A$  和  $\kappa$ -CTx 选择性抑制电压敏感性  $K^+$  通道, 从而使细胞异常兴奋, 造成被食者瞬间休克而无法动弹。后一时相则主要由于  $\omega$ -CTx 通过抑制突触前 N 型电压敏感性  $Ca^{2+}$  通道来抑制神经递质的释放,  $\alpha$  和  $\phi$ -CTx 直接阻断突触后膜上的 ACh 受体及  $\mu$ -CTx 对骨骼肌细胞上电压敏感性  $Na^+$  通道的抑制, 进而完全阻断神经肌肉间的兴奋传递, 使被食者肌细胞动作电位无法产生而造成麻痹。慢时相涉及多种毒素的协同作用, 需要相对较长时间。快时相正好为慢时相中相关毒素到达靶点并发挥阻断作用提供缓冲时间<sup>[2,3]</sup>。

\* 通讯联系人。

Tel: 021-54921165, Fax: 021-54921011

E-mail: chi@sunm.shnc.ac.cn

收稿日期: 2003-01-23, 接受日期: 2003-02-28

芋螺毒素的种类繁多, 生物活性多样, 一级结构多变, 需要有一简单合理的分类和命名. 对它们的分类, 目前主要采用如下原则: 按每个成员保守的二硫键骨架和高度保守的前导肽序列, 并结合其药理学活性, 将芋螺毒素分为若干个超家族和家族(表 1)<sup>[4]</sup>. 它们的命名则综合以下的一些规则. 比如同一个超家族的成员具有相似且独特的二硫键骨架和高度保守的信号肽序列; 一个已知功能的芋螺毒素的最终命名包括一个希腊字母 (表明药理学活性), 一个连字号用于连接 “conotoxin” 单词, 一或两个字母 (常大写, 代表芋螺种属, 可从网上 <http://conus.biology.utah.edu> 获得), 一个罗马数字 (指明二硫键骨架和配对方式) 及一个大写字母 (代表一个特异肽的变异体). 如  $\omega$ -conotoxin GVIA 中,  $\omega$  指出药理学活性, G 代表芋螺种属, VI

为二硫键骨架类型, 而 A 为肽的特殊变异体. 当还不知某个肽的功能时, 名称上就没有用于指出药理学活性的希腊字母, 而仅用一或两个小写字母代表芋螺种属, 一个阿拉伯数字表明二硫键骨架和配对方式, 或再加上一个小写字母代表肽的特殊变异体, 如 tx5a. 一旦它的功能得到阐明, 就将采用前一种命名方法获得的名称. 如果出现功能相同而二硫键骨架和配对方式不同的芋螺毒素, 则在名称中的希腊字母后加个大写字母予以区分, 如都作用于 AChR 的  $\alpha$  与  $\alpha$ A 和均能抑制钾通道的  $\kappa$  和  $\kappa$ A 等. 其余的活性多肽由于数量少且分布的芋螺种属也相对窄, 往往在名称后加一或两个用于表明来源芋螺种属的字母即可, 如 conopressin-S、contryphan-R、contulakin-G 等<sup>[4]</sup>.

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

| 超家族           | 二硫键骨架           | 家族          | 药理学活性                        | 举例                 |
|---------------|-----------------|-------------|------------------------------|--------------------|
| A             | CC-C-C          | $\alpha$    | ACh 受体竞争性拮抗剂                 | $\alpha$ -G I      |
|               | CCC-C-C-C       | $\alpha$    | ACh 受体竞争性拮抗剂                 | $\alpha$ -S II     |
|               | CC-C-C          | $\rho$      | $\alpha$ 1 肾上腺素非竞争性受体拮抗剂     | $\rho$ -T I A      |
|               | CC-C-C-C-C      | $\alpha$ A  | ACh 受体竞争性拮抗剂                 | $\alpha$ A-EIV A   |
|               | CC-C-C-C-C      | $\kappa$ A  | 电压敏感性 K <sup>+</sup> 通道阻滞剂   | $\kappa$ A-SIV A   |
| M             | CC-C-G-CC       | $\mu$       | 电压敏感性 Na <sup>+</sup> 通道阻滞剂  | $\mu$ -G III A     |
|               | CC-C-G-CC       | $\psi$      | ACh 受体非竞争性拮抗剂                | $\psi$ -P III E    |
| O             | C-C-CC-C-C      | $\omega$    | 电压敏感性 Ca <sup>2+</sup> 通道阻滞剂 | $\omega$ -GVIA     |
|               | C-C-CC-C-C      | $\kappa$    | K <sup>+</sup> 通道阻滞剂         | $\kappa$ -P VII A  |
|               | C-G-CC-C-C      | $\delta$    | 延迟 Na <sup>+</sup> 通道失活      | $\delta$ -TxVI A   |
|               | C-C-CC-C-C      | $\mu$ O     | Na <sup>+</sup> 通道阻滞剂        | $\mu$ O-MrVIB      |
|               | C-C-CC-C-C      | $\gamma$    | Pacemaker-channel blocker    | $\gamma$ -Pn VII A |
| P             | C-C-C-C-C-C     | spastics    | ?                            | gm9a, tx9a         |
| S             | C-C-C-C-C-C-C-C | $\sigma$    | 5-HT <sub>3</sub> 受体拮抗剂      | $\sigma$ -GVIII A  |
| T             | CC-CC           | $\tau$      | 突触前 Ca <sup>2+</sup> 通道阻滞剂   | $\epsilon$ -TxIX   |
|               |                 | $\chi$      | 去甲肾上腺素转运体抑制剂                 | $\chi$ -Mr I       |
| I             | C-C-CC-CC-C-C   | excitatory  | ?                            | r11a, r11b         |
| No assignment | C-C             | conopressin | 血管加压素受体激动剂                   | conopressin-S      |
| No assignment | C-C             | contryphans | ? K <sup>+</sup> 通道阻滞剂       | contryphan-R       |
| No cysteines  | linear          | conantokins | NMDA 受体拮抗剂                   | conantokin-G       |
| No cysteines  | linear          | contulakins | 神经紧张素受体激动剂                   | contulakin-G       |

虽然芋螺毒素种类繁多, 它们的 cDNA 序列分析却发现有很多共同点. 大多数芋螺毒素均来自一

个由 70~120 个氨基酸残基组成的多肽前体. 此前体可分为三个区域: Pre 区 (信号肽)、Pro 区 (前

体肽)和成熟肽区,并且在结构基因上被内含子所间隔.其Pre区由N端的约20个氨基酸残基组成,而成熟肽区由C端的12~46个氨基酸残基组成.同一超家族中的不同芋螺毒素,即便来源于不同的芋螺种属,它们的Pre、Pro区均高度保守,而成熟肽区却超变异.这超变异正是芋螺毒素分子多样性的基础.例如来源于地纹芋螺(*C. geographus*)的

$\omega$ -CTx GVIA和来源于幻芋螺(*C. magus*)的 $\omega$ -CTx MIVA的前体(图1),它们的Pre区和Pro区高度同源,而成熟肽区除二硫键骨架保守外,几乎全不相同.这类似于人体内的抗体结构(包含一个恒定区和一个针对不同抗原演变而成的可变区).由于不同芋螺的食性和所处环境不同,它们的成熟肽可能随着进化而演变为不同的结构.

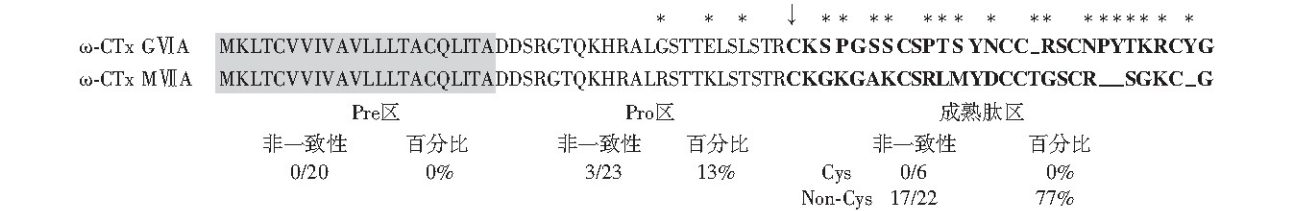


Fig. 1 A comparison of the precursor sequences of two  $\omega$ -conotoxins, GVIA (top) and MIVA (bottom) from *C. geographus* and *C. magus*, respectively

图1  $\omega$ -CTx GVIA和 $\omega$ -CTx MIVA前体的比较

芋螺毒素前体的翻译后加工相当复杂.在其Pre、Pro区常发现有半胱氨酸,推测可能参与成熟肽中二硫键的正确配对.C端甘氨酸在末端酰胺化时被去除.芋螺毒素翻译后加工的复杂性还表现为:分子中含有羟脯氨酸、溴化色氨酸、 $\gamma$ -羧基谷氨酸、D型氨基酸(如D-Trp、D-Leu等)、N端的焦谷氨酸及糖基化的丝氨酸/苏氨酸,甚至还有硫酸化的酪氨酸(如 $\alpha$ -CTx Ep I)<sup>[5]</sup>.来源于芋螺*C. radiatus*的8肽,bromocontryphan,可能是已知多肽中蛋白质翻译后加工密度最高和最复杂的.其分子中Pro3被羟化、Trp7被溴化、Trp4被D型化且C端酰胺化<sup>[6]</sup>.

2 芋螺毒素的药理学活性

2.1 ACh受体拮抗剂

乙酰胆碱(ACh)受体按药理学可分为N型和M型,其中N型ACh受体(nAChRs)属于配体门控通道型. $\alpha$ -CTx因具有蛇毒中 $\alpha$ 神经毒素的相似功能,能选择性拮抗nAChRs而得名.它通过结合神经肌肉接头处突触后膜上nAChRs的 $\alpha$ 亚基而阻断神经肌肉间兴奋信号的传递,并且这种作用可被 $\alpha$ -银环蛇毒所竞争.近年来, $\alpha$ -CTx已成为研究AChRs的理想工具,因为它不仅可区分N型和M型的AChRs,而且还能进一步细分nAChRs的肌肉型和神经型<sup>[7]</sup>.迄今已报道的 $\alpha$ -CTx有20余种,除 $\alpha$ A-PIVA、EIVA和 $\alpha$ SII含三对二硫键外,其余均含两对二硫键并呈交叉分布

(C1-C3, C2-C4),中间形成两个Loop(Loop1和Loop2).保守的二硫键骨架和Loop长度是 $\alpha$ -CTx的一个主要特征. Loop1/Loop2大小为3/5(氨基酸残基之比)的 $\alpha$ -CTx( $\alpha$ E I除外,其值为4/7),能专一结合肌肉型nAChRs的 $\alpha/\delta$ 和 $\alpha/\gamma$ 亚基,而Loop1/Loop2大小为4/7或4/3的,则专一结合神经型nAChRs的 $\alpha 3\beta 2$ 、 $\alpha 3\beta 4$ 和 $\alpha 7$ 亚基.通过进一步比较发现,针对肌肉型nAChRs的 $\alpha$ -CTx的Loop区序列同源性很高,而针对神经型的却变化很大. $\alpha$ -CTx在溶液中的肽骨架象近似“ $\omega$ ”形,此“ $\omega$ ”两端分别代表C端和N端,开口大小表示C端和N端的接近程度.由于每种 $\alpha$ -CTx的一级结构不同,其三级结构也表现为以“ $\omega$ ”刚性结构为骨架,再附加多种柔性的结构.它们对AChRs各种亚型结合的高度选择性和专一性正是由这些柔性结构所赋予.如 $\alpha$ -Pn I A的Ala10Asn11被 $\alpha$ -Pn I B的Leu10Ser11取代后,其作用位点就由AChRs的 $\alpha 3\beta 2$ 亚基变为 $\alpha 7$ 亚基.类似地,由12个残基组成的 $\alpha$ -CTx Im I和Im II,虽然有9个残基一致,却只有前者能与 $\alpha$ -银环蛇毒竞争结合nAChRs的 $\alpha 7$ 亚基<sup>[8]</sup>.有意思的是,最近报道具有特殊二硫键连接方式(C1-C4, C2-C3)的 $\alpha$ -CTx Au I B对大鼠副交感神经元AChRs的拮抗作用要比其天然形式(C1-C3, C2-C4)强10倍.这还是芋螺毒素中非天然的二硫键异构体比天然的具有更高生物活性的首例报道<sup>[9]</sup>.此外,还有另两个家族的成员也能作用于AChRs:具有独特的二

硫键骨架 (C1-C5, C2-C3, C4-C6) 的  $\alpha$ A-PⅣA 和 EⅣA 能竞争性结合骨骼肌上 AChRs 的  $\alpha 7$  亚基;  $\psi$ -CTx PⅢE 以非竞争性方式选择性地拮抗 nAChRs, 并不为  $\alpha$ -环蛇毒素所竞争, 其二硫键骨架与  $\alpha$  和  $\alpha$ A-CTx 不同, 却与抑制钠通道的  $\mu$ -CTx 相似<sup>[10]</sup>.

## 2.2 离子通道的阻断剂或激动剂

**2.2.1 钙离子通道阻断剂:** 电压敏感性  $\text{Ca}^{2+}$  通道 (VSCCs) 可分为 T、L、N、P、Q 和 R 型. 其中 L 型参与一些兴奋-收缩/分泌偶联和心肌的活动, 而 N、P、Q 和 R 型参与神经递质的释放.  $\omega$ -CTx 是一类能选择性作用于 VSCCs 某种亚型的芋螺毒素. 如  $\omega$ -CTx TxⅦ 选择性抑制 L 型 VSCCs, 而  $\omega$ -CTx MⅦA 只抑制 N 型 VSCCs<sup>[11]</sup>. 大多数  $\omega$ -CTx 由 24~29 个氨基酸残基组成, 分子中含有三对二硫键及 4 个 Loop, C 端常被酰胺化. 最初在将粗芋螺毒素注射入小鼠颅腔观察各种行为征状时, 发现有的可导致小鼠摇晃 (shaker), 并将此活性成分称为 “Shaker” 肽. 后来证实, 此 “Shaker” 肽即为  $\omega$ -CTx GⅥA 和 MⅦA.  $\omega$ -CTx 具有很强的组织专一性, 它们多数只作用于神经元而不作用于肌细胞 (对神经元和肌细胞的亲和力之比有的可达  $10^8:1$ ), 并能选择性抑制突触前 N 型 VSCCs, 从而抑制神经递质的释放.  $\omega$ -CTx 在空间结构上表现为由三股被转角连接的反平行  $\beta$  片层所组成, 具有稳定的抑制剂半胱氨酸绳结模体 (inhibitor cysteine knot motif, ICK motif) 的结构<sup>[12]</sup>. 这种保守结构正是  $\omega$ -CTx 能作用于 VSCCs 上宏位点 (macrosite) 的基础 (即它们均具有抑制 VSCCs 的活性), 而它们对 VSCCs 的结合特点及对 VSCCs 特定亚型的选择性 (即对 microsite 的识别) 则归功于分子中 4 个 Loop 区氨基酸序列的超变异<sup>[3]</sup>. 如  $\omega$ -CTx MⅦA 和 GⅥA 均能抑制 N 型 VSCCs, 但前者对 VSCCs 的结合是可逆的, 而后者却不可逆.  $\omega$ -CTx TxⅦ 虽也能作用于 VSCCs, 但只能抑制 L 型. 最近, 从芋螺 *C. consors* 毒液中分离到的在 loop 4 中有一特殊序列 (Ser-Ser-Ser-Lys-Gly-Arg) 的  $\omega$ -CTx CnⅦA, 虽能抑制嗜铬细胞 N 型 VSCCs, 却不具备  $\omega$ -CTx GⅥA 所具有的抑制神经肌肉接头处 ACh 释放的活性<sup>[13]</sup>. 副交感神经元的神经递质释放不被上述  $\omega$ -CTx 所抑制, 而  $\omega$ -CTx CⅣD 却能抑制颌下副交感神经元胆碱能神经的递质释放. 这些提示了 N 型 VSCCs 还可能被进一步细分为各种亚型, 而含

有特殊序列的  $\omega$ -CTx 则有望作为鉴定这些亚型的探针. 鉴于以上特点,  $\omega$ -CTx 已被广泛用作 VSCCs 的探针工具, 为神经生物学研究作出很大贡献. 另一属于 T 超家族的  $\epsilon$ -CTx TxⅨ, 亦能通过阻断突触前 VSCCs 而抑制神经递质的释放, 其二硫键骨架为 CC-CC, 分子中含有丰富的翻译后加工 (如 Trp 溴化、Pro 羟基化、Thr 糖基化及  $\gamma$ -羧基谷氨酸)<sup>[14]</sup>.

**2.2.2 钠离子通道阻断剂或激动剂:** 电压敏感性  $\text{Na}^+$  通道 (VSSCs) 可分为神经型 (I、II 和 III 型) 和肌肉型 (骨骼肌 M1 型和心肌 M2 型), 其典型阻断剂包括河豚毒素 (TTX) 和石房蛤毒素 (STX).  $\text{Na}^+$  通道上至少有 6 个结合位点, 与 TTX 和 STX 一样,  $\mu$ -CTx 也通过结合 Site I 发挥阻断作用, 因而它们可相互竞争.  $\delta$ -CTx 却通过结合 Site VI 而使通道失活减慢.  $\mu$ O-CTx 的结合位点不同于上述两类芋螺毒素.  $\delta$  和  $\mu$ O-CTx 与钙通道阻断剂  $\omega$ -CTx 同属于 O 超家族, 它们分子内三对二硫键也形成 ICK 模体. 而  $\mu$ -CTx 的二硫键骨架与  $\delta$  和  $\mu$ O-CTx 完全不同, 其属于另一超家族——M 超家族. 在空间构型上, 它不形成 ICK 模体, 而具有由一段  $\alpha$  螺旋、一个  $\beta$  发夹和几个转角所组成的紧密 CS $\alpha\beta$  模体 (cysteine stabilized  $\alpha\beta$  motif).

$\mu$ -CTx 是一类分子中常含有羟脯氨酸的芋螺毒素, 至今已阐明的共有 5 种, 它们多数均能选择性作用于 TTX 敏感的 VSSCs.  $\mu$ -CTx GⅢA 是此家族中第一个被发现的成员, 也具有极强的组织专一性, 能高度选择性抑制 TTX 敏感的骨骼肌上 VSSCs 的  $\text{Na}_v1.4$  亚型而不作用于肌肉上的其他亚型和神经型的 VSSCs. 有意义的是, 最近从 *C. stercusmuscarum* 发现到的  $\mu$ -CTx SmⅢA 却能阻断两栖类动物交感神经元和感觉神经元上 TTX 不敏感的 VSSCs, 这是来自芋螺的第一个能选择性抑制 TTX 不敏感 VSSCs 的芋螺毒素<sup>[15]</sup>.  $\mu$ -CTx SⅢA 是我们最近从线纹芋螺 *C. striatus* 中发现的, 其也能选择性抑制大鼠背根神经节细胞上 TTX 不敏感的 VSSCs (未发表数据). 鉴于 TTX 不敏感 VSSCs 在痛觉中发挥着重要作用,  $\mu$ -CTx SmⅢA 和 SⅢA 有望作为先导化合物用于新药的开发. 来源于食软体动物芋螺 *C. pennaceus* 的  $\mu$ -CTx PnⅣA 和 PnⅣB, 虽也能阻断软体动物神经元上的 VSSCs, 但它们二硫键骨架很特殊, 既不属于 O 也不属于 M, 而属于 A 超家族<sup>[16]</sup>. 这

正说明了不同结构的芋螺毒素可具有相似的活性。 $\mu$ -CTx 因能选择性结合 VSSCs 而对  $\text{Na}^+$  通道的研究作出很大贡献, 如 VSSCs 的 4 个同源性结构域在细胞膜上的排列形式就是借助  $\mu$ -CTx GⅢA 才得以阐明<sup>[17]</sup>. 另一同属于 M 超家族的  $\mu$ -CTx PⅢA 的作用靶点相对广泛, 它不仅可作用于肌肉型 VSSCs, 也可作用于神经型. 据此推测, VSSCs 的各种亚型可能藉  $\mu$ -CTx 被进一步鉴定<sup>[18]</sup>. 属于另一超家族的  $\mu$ O-CTx 中目前只发现两个成员分别为  $\mu$ O-CTx MrⅥA 和 MrⅥB, 它们也能阻断软体动物神经元上的 VSSCs, 前者还能抑制大鼠大脑神经元上的 VSSCs<sup>[19]</sup>.

$\delta$ -CTx 对芋螺捕食时的快时相起着重要作用. 它虽与  $\omega$ -CTx 具有相同的二硫键骨架, 却并不作用于 VSCCs, 而是延迟 VSSCs 的失活. 这从另一角度说明, 相似结构的芋螺毒素可表现为不同的生物活性. 来源于食软体动物芋螺 *C. gloriamaris* 的  $\delta$ -CTx GmⅥA, 是第一个从芋螺毒液中分离纯化到, 并能延迟软体动物神经元 VSSCs 失活的兴奋性毒素<sup>[20]</sup>. 而来源于食鱼芋螺 *C. purpurascens* 的  $\delta$ -CTx PⅥA 是第一个被报道能作用于脊椎动物的  $\delta$ -CTx<sup>[21]</sup>. 另一兴奋性毒素  $\delta$ -CTx TxⅥA, 虽对大鼠神经元有高亲和力, 但脊椎动物注射后并不能引起明显反应.  $\delta$ -CTx NgⅥA (来源于 *C. nigropunctatus*) 的序列与  $\delta$ -CTx TxⅥA (来源于 *C. textile*) 很相似, 它们能相互竞争结合软体动物和大鼠神经元上的 VSSCs, 但只有前者不仅能延迟软体动物神经元上 VSSCs 失活, 还能造成脊椎动物麻痹<sup>[22]</sup>. 这说明两者在 VSSCs 上的结合位点既有重叠, 又不尽相同.

**2.2.3 钾离子通道选择性阻滞剂:** 电压敏感性钾通道 (VSPCs) 在生理和病理条件下均发挥着重要作用, 可分为外向整流、内向整流、瞬时钾通道和钙激活钾通道四类.  $\kappa$  和  $\kappa$ A-CTx 能选择性抑制 VSPCs, 也是对芋螺捕食的快时相有重要贡献的一类主要组分. 它们的药理学活性虽然相似, 但两者的二硫键骨架完全不同, 且属于不同超家族, 前者属于 O 超家族, 而后者为 A 超家族. 这也同样说明, 不同结构的芋螺毒素可具有相似的活性.  $\kappa$ -CTx PⅦA 是第一个被发现能阻断钾通道的 CTx, 也是芋螺毒素中研究最多的钾通道阻滞剂, 它能选择性结合并阻断瞬时钾通道.  $\kappa$ -CTx PⅦA 也具有 ICK 模体, 分子中 Lys7 和 Phe9 残基对其结合并封闭钾通道孔区起重要作用<sup>[23]</sup>.  $\kappa$ A-CTx SⅣA 作为芋螺毒素

中第一个被发现分子内存在糖基化修饰的毒素, 含三对二硫键, 也能抑制 VSPCs 并引起鱼和蛙的痉挛性麻痹<sup>[24]</sup>. 最近, 从芋螺 *C. radiatus* 毒液中纯化到的  $\kappa$ M-CTx RⅢK, 其二硫键骨架虽与  $\mu$ -CTx 相同, 但它并不作用于钠通道而表现为抑制 TShal (teleost homolog of Shaker) 钾通道.

### 2.3 5-HT<sub>3</sub> 受体拮抗剂

5-羟色胺 (5-HT), 又名血清紧张素 (serotonin), 其受体可分为 G 蛋白偶联型 (如 5-HT<sub>1</sub> 受体) 和配体门控离子通道型 (如 5-HT<sub>3</sub> 受体). 5-HT<sub>3</sub> 受体广泛分布于中枢和外周神经系统, 参与许多生理病理等过程, 如调节血管的舒张和胃肠道平滑肌的紧张性及腺体的分泌, 诱发疼痛和恶心呕吐, 还与焦虑症及药物戒断症状等相关. 属于 S 超家族的  $\sigma$ -CTx GⅧA 是此超家族中迄今被发现的唯一成员, 它能竞争性并高度选择性地拮抗 5-HT<sub>3</sub> 受体<sup>[25]</sup>. 鉴于 5-HT<sub>3</sub> 受体的内源性配体就是 Trp 的羟基化衍生物,  $\sigma$ -CTx GⅧA 分子中的溴化 Trp 可能对其发挥拮抗作用有着很大贡献. 有意思的是, 在芋螺 *C. imperialis* 毒液中也检测到有相当浓度水平的 5-HT, 至于其对芋螺自身或在捕食过程中的具体作用仍未见任何报道<sup>[26]</sup>.

### 2.4 NMDA 受体拮抗剂

谷氨酸是中枢神经系统中重要的兴奋性神经递质. 其受体可分为配体门控离子型和 G 蛋白偶联型, 前者可进一步细分为 NMDA (N-methyl-D-aspartate) 型和非 NMDA 型. 其中 NMDA 受体对钙离子有很高选择通透性, 它参与中枢神经系统的发育, 并与神经元存活和突触可塑性等有着密切关系, 在学习、记忆以及神经回路形成过程中也起重要作用. 但 NMDA 受体的过度兴奋可导致大量  $\text{Ca}^{2+}$  内流, 引起神经细胞损伤和死亡. 芋螺毒素中 conantokin 家族, 在药理学上就表现为 NMDA 受体的选择性拮抗剂. Conantokin, 又称 “Sleeper/climber” 肽, 迄今发现四个成员: conantokin-G, T, R 和 L. 它们分子中均富含  $\gamma$ -羧基谷氨酸 (Gla), 在序列上也具有很高同源性, 且 N 端部分序列完全一致. Conantokin 因能选择性拮抗 NMDA 受体而在神经元损伤和死亡中具有神经保护作用, 引起了人们极大兴趣. Conantokin-G 能非竞争性拮抗 NMDA 受体, 成年小鼠大脑注射后, 可诱发活动过度症状. 若仅将 conantokin-G 分子中的 Gla 全部置换为 Glu (即形成 Glu-conantokin-G), 则维生素 K 依赖性羧化酶很难再将 Glu-conantokin-G 分子中的 Glu 加工

成 Glu, 而一旦在 Glu-conantokin-G 的 N 端接上其前体肽的 pro 区 (-20 至 -1) 则羧化酶对它的亲和力明显增强<sup>[27]</sup>. 这提示 conantokin-G 前体的 pro 区可能对其翻译后的羧基化加工起重要作用. Conantokin-T 能通过抑制由中枢神经元上 NMDA 受体介导的钙内流而引起小鼠睡眠样症状. 经与 conantokin-G 的序列比较, 提示 conantokin-T 分子中的 4 个 Glu 和 N 端的两个残基可能对发挥活性起重要作用<sup>[28]</sup>. Conantokin-R 是此家族中迄今被发现的一个分子中含有二硫键的成员, 也能非竞争性拮抗 NMDA 受体, 并具有很强抗惊厥/癫痫作用<sup>[29]</sup>. 最近从芋螺 *C. lynceus* 纯化到同样表现为 NMDA 受体非竞争性拮抗剂的 conantokin-L, 其序列 (除 C 端外) 与 conantokin-R 有很高同源性, 但抗惊厥/癫痫作用却明显不如后者, 这提示 conantokin-R 的 C 端序列可能对其发挥抗惊厥/癫痫作用有很大贡献<sup>[30]</sup>.

## 2.5 血管加压素

血管加压素, 又称抗利尿素, 由下丘脑视上核和室旁核神经元分泌并经下丘脑垂体束被运送到垂体后叶贮存. 在适当刺激下释放入血液, 具有抗利尿和升高血压等生理作用. 芋螺毒素中的 conopressin, 又称 “Scratcher” 肽, 就是 G 蛋白偶联型血管加压素受体的激动剂. 早在 1987 年, Cruz 等<sup>[31]</sup>就从芋螺毒液中纯化到 Lys-conopressin-G 和 Arg-conopressin-S, 它们均带正电荷. 这类毒素在小鼠脑室注射后可引起与注射神经垂体激素相似的征状, 如 Lys-conopressin-G 可引起小鼠抓搔和梳理毛发等. 芋螺毒液中存在此类调节血压的毒素, 它们在芋螺捕食时是否通过调节血压来促进其他毒素发挥作用, 迄今还未见有报道.

## 2.6 神经紧张素

contulakin 家族, 又称 “sluggish” 肽, 是 G 蛋白偶联型神经紧张素受体的激动剂. 此家族中的 contulakin-G, 分子中含有糖基化修饰, 其 C 端序列与神经紧张素有很高同源性. 小鼠脑室注射 contulakin-G 后可造成脑区中与运动控制相关的功能受到障碍, 引起懒散征状<sup>[32]</sup>.

## 2.7 其他

contryphan 是一类分子内含 D 型 Trp 或 Leu 的芋螺毒素, 目前已阐明的 9 个成员均含一对二硫键. 它们中有些组分可引起小鼠竖尾 (stiff-tail) 综合征, 但具体机制仍不清楚. contryphan-R 与 contryphan-R/Tx, 虽然它们前体中的 Pre 区、Pro

区有些差别, 但成熟肽完全一致<sup>[33]</sup>. 在不同种属芋螺中存在完全一样的芋螺毒素, 这还是首次报道. Leu-contryphan-P 是芋螺毒素中第一个被报道含 D 型 Leu 的组分, 而 contryphan-Vn 则是第一个从食虫芋螺的毒液中分离到的含 D 型 Trp 成员<sup>[34,35]</sup>. 来源于芋螺 *C. radiatus* 的 8 肽, bromocontryphan, 可能是蛋白质翻译后加工最复杂的一个成员<sup>[6]</sup>.

$\lambda$ -CTx 家族包括 CMr VI A、CMr VI B 和 CMr X, 这三者均来源于芋螺 *C. marmoreus*<sup>[36]</sup>. 它们的二硫键骨架 (CC-C-C) 虽与  $\alpha$ -CTx 相似, 但配对的方式完全不同 (为 C1-C4, C2-C3), 空间结构上也呈独特的丝带状. 小鼠脑室注射后可引起明显的生物学效应, 比如癫痫发作 (如 CMr VI A) 和弛缓性麻痹 (如 CMr X). P 超家族的芋螺毒素 gm9a 和 tx9a, 两者结构相似, 也具有 ICK 模体, 能造成小鼠痉挛<sup>[37]</sup>. 从幻芋螺 (*C. magus*) 的毒液分离纯化到的 conodipine-M, 由 119 个残基组成, 与已知 PLA2s 的同源性很低, 具有磷脂酶 A2 (PLA2s) 活性而没有三酰基/二酰基甘油脂肪酶和磷脂酶 B 的活性<sup>[38]</sup>.

去甲肾上腺素是中枢和外周神经系统的重要神经递质. 能与去甲肾上腺素或肾上腺素结合的受体统称为肾上腺素受体 (adrenoceptors), 可分为  $\alpha$  型受体 (有  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  亚型) 和  $\beta$  型受体 (有  $\beta_1$  和  $\beta_2$  亚型). 最近从芋螺 *C. tulipa* 毒液中纯化到的  $\rho$ -TIA 和从芋螺 *C. marmoreus* 毒液中纯化到的  $\chi$ -Mr I A、 $\chi$ -Mr I B, 它们能分别阻断  $\alpha_1$  肾上腺素受体和去甲肾上腺素转运蛋白, 从而影响去甲肾上腺素发挥作用<sup>[39]</sup>. 12 肽的 conorfamide-Sr1 是最近在大西洋芋螺 *C. spurius* 毒液中发现的, 属于 Rfamamide 家族的神经肽, 分子中没有二硫键<sup>[40]</sup>. 来源于芋螺 *C. radiatus* 的 conophysin-R, 属于神经垂体素运载蛋白家族, 是第一个从无脊椎动物毒液中纯化到具有此类生物活性的组分<sup>[41]</sup>. 它由 84 个残基组成, 分子内含 7 对二硫键, 也是迄今已发现的芋螺毒素中含二硫键最多的成员.

## 3 广阔的应用前景和潜在的开发价值

大约有 5 万种活性成分的芋螺毒液是一个极丰富的神经药理活性多肽库. 它们分子质量小, 结构稳定, 对离子通道、膜受体具有高度选择性和亲和力, 因而具有广阔应用前景和潜在开发价值. 它们可作为研究离子通道和膜受体的极好探针或工具<sup>[42]</sup>, 如  $\omega$ -CTx G VI A 已成为 N 型 VSCCs 的鉴

定和诊断的标准工具.  $\alpha$ -CTx M I 结合肌肉型 nAChRs 的  $\alpha 1\delta$  亚基, 而  $\alpha$ -CTx M II 选择性作用于神经型 nAChRs 的  $\alpha 3\beta 2$  亚基, 使它们可作为鉴定 nAChRs 型及其亚基的有效工具.

芋螺毒素有望被直接开发成药物或作为新药的先导化合物. 作用于 N 型 VSCCs 的芋螺毒素能抑制中枢神经系统的与痛觉相关的神经递质 (如谷氨酸和 P 物质) 释放, 从而减轻动物的神经性疼痛<sup>[43]</sup>, 并引起了人们希望将其开发成为新的肽类止痛剂的浓厚兴趣. 由 Elan 公司进行开发的  $\omega$ -CTx M VII A (SNX111, 商品名 Ziconotide) 有望用于慢性疼痛的治疗, 并得到了美国食品与药物管理局 (FDA) 三期临床批准. 它相对于吗啡, 具有疗效好、不成瘾的独特优点. Livett 等最近报道的另一芋螺毒素 ACV1 具有比吗啡和 Ziconotide 药效更强和持续时间更长的镇痛效果. 它属于  $\alpha$ -CTx 家族, 可能是通过阻断外周初级传入神经元的 nAChRs 而发挥止痛作用. 其给药更方便 (可肌注或脂肪注射), 同时也无吗啡和 Ziconotide 引起的副反应 (如便秘、呼吸抑制等), 极有望开发成为高效止痛药物<sup>[44]</sup>. 此外  $\alpha$ -CTx 因能选择性阻断 nAChRs 的某种亚型, 除有止痛效果外, 也有望开发成用于治疗焦虑症、帕金森氏病、肌肉紧张和高血压等病症的药物.

许多由缺血造成的神经元病理损伤是由突触前、后的钙内流所引起.  $\omega$ -CTx 因能选择性抑制突触前的 N 型 VSCCs 而防止钙内流, 对缺血性神经损伤有保护作用. 作为 NMDA 受体选择性拮抗剂的 conantokin, 也能阻断 NMDA 受体介导的细胞  $Ca^{2+}$  内流, 从而减轻神经细胞的急慢性损伤; 作用于钾通道和 nAChR 的芋螺毒素在减轻神经细胞慢性损伤中也有效果<sup>[45,46]</sup>. 另外, 目前临床上抗癫痫所使用的 NMDA 受体拮抗剂常因缺乏选择性而引起许多副反应, conantokin 作为 NMDA 受体高度选择性拮抗剂, 有望开发成为用于癫痫治疗的药物. 最近发现的  $\rho$ -T I A 和  $\chi$ -Mr I A/ $\chi$ -Mr I B 能分别非竞争性阻断  $\alpha 1$  肾上腺素受体和抑制去甲肾上腺素转运蛋白, 并比现在临床上使用的药物具有更高的选择性, 因而也极有望开发成为作用于  $\alpha 1$  肾上腺素受体和去甲肾上腺素转运蛋白的新药<sup>[39,47]</sup>.

虽然芋螺毒素研究在生化、分子生物学、电生理和药理等方面取得了重要进展, 但深度和广度还十分不够, 有待于进一步研究. 开展芋螺毒素的生

物化学、分子生物学、药理学等研究, 将有助于深入研究它们相应的受体及其作用机制. 芋螺毒素既可以作为药物设计的先导化合物, 又有望直接开发成药物, 在制药上格外受到重视. 我国的芋螺资源丰富, 但芋螺毒素的研究还处于初期, 我们应积极抢占此独特的生物资源, 加紧研究和开发, 赶上国外研发水平.

## 参 考 文 献

- McIntosh J M, Jones R M. Cone venom-from accidental stings to deliberate injection. *Toxicon*, 2001, **39** (10): 1447~1451
- Terlau H, Shon K J, Grille M, *et al.* Strategy for rapid immobilization of prey by a fish-hunting marine snail. *Nature*, 1996, **381** (6578): 148~151
- Olivera B M. E. E. Just Lecture, 1996. *Conus* venom peptides, receptor and ion channel targets, and drug design: 50 million years of neuropharmacology. *Mol Biol Cell*, 1997, **8** (11): 2101~2109
- Olivera B M, Cruzab L J. Conotoxins, in retrospect. *Toxicon*, 2001, **39** (1): 7~14
- Craig A G, Bandyopadhyay P, Olivera B M. Post-translationally modified neuropeptides from *Conus* venoms. *Eur J Biochem*, 1999, **264** (2): 271~275
- Jimenez E C, Craig A G, Watkins M, *et al.* Bromocontryphan: post-translational bromination of tryptophan. *Biochemistry*, 1997, **36** (5): 989~994
- McIntosh J M, Santos A D, Olivera B M. *Conus* peptides targeted to specific nicotinic acetylcholine receptor subtypes. *Annu Rev Biochem*, 1999, **68**: 59~88
- Ellison M, McIntosh J M, Olivera B M.  $\alpha$ -conotoxins Im I and Im II, similar  $\alpha 7$  nicotinic receptor antagonists act at different sites. *J Biol Chem*, 2003, **278** (2): 757~764
- Dutton J L, Bansal P S, Hogg R C, *et al.* A new level of conotoxin diversity, a non-native disulfide bond connectivity in  $\alpha$ -conotoxin AuIB reduces structural definition but increases biological activity. *J Biol Chem*, 2002, **277** (50): 48849~48857
- Shon K J, Grille M, Jacobsen R, *et al.* A noncompetitive peptide inhibitor of the nicotinic acetylcholine receptor from *Conus purpurascens* venom. *Biochemistry*, 1997, **36** (31): 9581~9587
- Kobayashi K, Sasaki T, Sato K, *et al.* Three-dimensional solution structure of  $\omega$ -conotoxin Tx VII, an L-type calcium channel blocker. *Biochemistry*, 2000, **39** (48): 14761~14767
- Norton R S, Pallaghy P K. The cystine knot structure of ion channel toxins and related polypeptides. *Toxicon*, 1998, **36** (11): 1573~1583
- Favreau P, Gilles N, Lamthanh H, *et al.* A new  $\omega$ -conotoxin that targets N-type voltage-sensitive calcium channels with unusual specificity. *Biochemistry*, 2001, **40** (48): 14567~14575
- Rigby A C, Lucas-Meunier E, Kalume D E, *et al.* A conotoxin from *Conus textile* with unusual posttranslational modifications reduces presynaptic  $Ca^{2+}$  influx. *PNAS*, 1999, **96** (10): 5758~5763
- West P J, Bulaj G, Garrett J E, *et al.*  $\mu$ -conotoxin Sm III A, a potent inhibitor of tetrodotoxin-resistant sodium channels in amphibian sympathetic and sensory neurons. *Biochemistry*,

- 2002, **41** (51): 15388~15393
- 16 Fainzilber M, Nakamura T, Gaathon A, *et al.* A new cysteine framework in sodium channel blocking conotoxins. *Biochemistry*, 1995, **34** (27): 8649~8656
  - 17 Li R A, Ennis I L, French R J, *et al.* Clockwise domain arrangement of the sodium channel revealed by  $\mu$ -conotoxin GIII A docking orientation. *J Biol Chem*, 2001, **276** (14): 11072~11077
  - 18 Safo P, Rosenbaum T, Shcherbatko A, *et al.* Distinction among neuronal subtypes of voltage-activated sodium channels by  $\mu$ -conotoxin PIII A. *J Neurosci*, 2000, **20** (1): 76~80
  - 19 Terlau H, Stocker M, Shon K J, *et al.*  $\mu$ O-conotoxin MrVI A inhibits mammalian sodium channels, but not through site I. *J Neurophysiol*, 1996, **76** (3): 1423~1429
  - 20 Shon K J, Hasson A, Spira M E, *et al.*  $\delta$ -conotoxin GmVII A, a novel peptide from the venom of *Conus gloriamaris*. *Biochemistry*, 1994, **33** (38): 11420~11425
  - 21 Shon K J, Grilley M M, Marsh M, *et al.* Purification, characterization, synthesis, and cloning of the lockjaw peptide from *Conus purpurascens* venom. *Biochemistry*, 1995, **34** (15): 4913~4918
  - 22 Fainzilber M, Lodder J C, Kits K S, *et al.* A new conotoxin affecting sodium current inactivation interacts with the  $\delta$ -conotoxin receptor site. *J Biol Chem*, 1995, **270** (3): 1123~1129
  - 23 Jacobsen R B, Koch E D, Lange-Malecki B, *et al.* Single amino acid substitutions in  $\kappa$ -conotoxin PVIIA disrupt interaction with the shaker K<sup>+</sup> channel. *J Biol Chem*, 2000, **275** (32): 24639~24644
  - 24 Craig A G, Zafaralla G, Cruz L J, *et al.* An O-glycosylated neuroexcitatory *Conus* peptide. *Biochemistry*, 1998, **37** (46): 16019~16025
  - 25 England L J, Imperial J, Jacobsen R, *et al.* Inactivation of a serotonin-gated ion channel by a polypeptide toxin from marine snails. *Science*, 1998, **281** (5376): 575~578
  - 26 McIntosh J M, Foderaro T A, Li W, *et al.* Presence of serotonin in the venom of *Conus imperialis*. *Toxicon*, 1993, **31** (12): 1561~1566
  - 27 Bandyopadhyay P K, Colledge C J, Walker C S, *et al.* Conantokin-G precursor and its role in  $\gamma$ -carboxylation by a vitamin K-dependent carboxylase from a *Conus* snail. *J Biol Chem*, 1998, **273** (10): 5447~5450
  - 28 Haack J A, Rivier J, Parks T N, *et al.* Conantokin-T, a  $\gamma$ -carboxyglutamate containing peptide with N-methyl-D-aspartate antagonist activity. *J Biol Chem*, 1990, **265** (11): 6025~6029
  - 29 Blandl T, Warder S E, Prorok M, *et al.* Structure-function relationships of the NMDA receptor antagonist peptide, conantokin-R. *FEBS Lett*, 2000, **470** (2): 139~146
  - 30 Jimenez E C, Donevan S, Walker C, *et al.* Conantokin-L, a new NMDA receptor antagonist: determinants for anticonvulsant potency. *Epilepsy Res*, 2002, **51** (1~2): 73~80
  - 31 Cruz L J, de Santos V, Zafaralla G C, *et al.* Invertebrate vasopressin/oxytocin homologs, characterization of peptides from *Conus geographus* and *Conus straitus* venoms. *J Biol Chem*, 1987, **262** (33): 15821~15824
  - 32 Craig A G, Norberg T, Griffin D, *et al.* Conatulakin-G, an O-glycosylated invertebrate neurotensin. *J Biol Chem*, 1999, **274** (20): 13752~13759
  - 33 Jimenez E C, Watkins M, Juszczak L J, *et al.* Contryphans from *Conus textile* venom ducts. *Toxicon*, 2001, **39** (6): 803~808
  - 34 Jacobsen R B, Jimenez E C, De la Cruz R G, *et al.* A novel D-leucine-containing *Conus* peptide: diverse conformational dynamics in the contryphan family. *J Pept Res*, 1999, **54** (2): 93~99
  - 35 Massilia G R, Schimina M E, Ascenzi P, *et al.* Contryphan-Vn: a novel peptide from the venom of the Mediterranean snail *Conus ventricosus*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, **288** (4): 908~913
  - 36 Balaji R A, Ohtake A, Sato K, *et al.*  $\lambda$ -conotoxins, a new family of conotoxins with unique disulfide pattern and protein folding. Isolation and characterization from the venom of *Conus marmoreus*. *J Biol Chem*, 2000, **275** (50): 39516~39522
  - 37 Lirazan M B, Hooper D, Corpuz G P, *et al.* The spasmodic peptide defines a new conotoxin superfamily. *Biochemistry*, 2000, **39** (7): 1583~1588
  - 38 McIntosh J M, Ghomashchi F, Gelb M H, *et al.* Conodipine-M, a novel phospholipase A2 isolated from the venom of the marine snail *Conus magus*. *J Biol Chem*, 1995, **270** (8): 3518~3526
  - 39 Sharpe I A, Gehrmann J, Loughnan M L, *et al.* Two new classes of conopeptides inhibit the  $\alpha$ 1-adrenoceptor and noradrenaline transporter. *Nat Neurosci*, 2001, **4** (9): 902~907
  - 40 Maillo M, Aguilar M B, Lopez-Vera E, *et al.* Conorfamide, a *Conus* venom peptide belonging to the RFamide family of neuropeptides. *Toxicon*, 2002, **40** (4): 401~407
  - 41 Lirazan M, Jimenez E C, Grey Craig A, *et al.* Conophysin-R, a *Conus radiatus* venom peptide belonging to the neurophysin family. *Toxicon*, 2002, **40** (7): 901~908
  - 42 McIntosh J M, Olivera B M, Cruz L J. *Conus* peptides as probes for ion channels. *Methods Enzymol*, 1999, **294**: 605~624
  - 43 Smith M T, Cabot P J, Ross F B, *et al.* The novel N-type calcium channel blocker, AM336, produces potent dose-dependent antinociception after intrathecal dosing in rats and inhibits substance P release in rat spinal cord slices. *Pain*, 2002, **96** (1~2): 119~127
  - 44 Matt B. Killer snails ease the pain. *Drug Discovery Today*, 2002, **7** (17): 885~886
  - 45 Heading C E. *Conus* peptides and neuroprotection. *Curr Opin Investig Drugs*, 2002, **3** (6): 915~920
  - 46 Castellino F J, Prorok M. Conantokins: inhibitors of ion flow through the N-methyl-D-aspartate receptor channels. *Curr Drug Targets*, 2000, **1** (3): 219~235
  - 47 Harvey A L. Toxins 'R' Us: more pharmacological tools from nature's superstore. *Trends Pharmacol Sci*, 2002, **23** (5): 201~203

## Progress on Conotoxins

WANG Cheng-Zhong<sup>1,2)</sup>, JIANG Hui<sup>1,3)</sup>, QI Zheng-Wu<sup>1)</sup>\*

<sup>(1)</sup> *Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institute of Biological Sciences,  
The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China;*

<sup>(2)</sup> *Department of Biochemistry and Molecular Biology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China;*

<sup>(3)</sup> *Beijing Institute of Pharmaceutical Chemistry, Beijing 102005, China)*

**Abstract** The venoms of predatory cone snails represent a rich combinatorial-like library of evolutionarily selected, neuropharmacologically active peptides. A major fraction of the venom components are conotoxins—small, disulfide-rich peptides that potently and specifically interfere with neurotransmission by targeting a variety of proteins expressed on the cell surface, such as the ion channels of  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^{+}$  and  $\text{K}^{+}$ , and the receptors of acetylcholine, 5-hydroxy tryptamine, NMDA, vasopressin and neurotensin. Because of low molecular mass, diversity of structure and targets, high specificity and tissue selectivity of conotoxins, they have more advantages over other naturally occurring toxins. Conopeptides could be also used as tools in neuroscience or as therapeutic agents. The conopeptides characterized to date are estimated to represent only 0.1% of the total present in 500 known species of *Conus*, therefore many novel conotoxins remain to be elucidated and explored. Pharmaceutical companies are now utilizing *Conus*-derived peptides to develop novel medications for pain, epilepsy and other disorders.

**Key words** active peptide, conotoxin, ion channel, neurotransmitter, receptor, agonist, antagonist

---

\* Corresponding author. Tel: 86-21-54921165, Fax: 86-21-54921011, E-mail: chi@sunm.shnc.ac.cn

Received: January 23, 2003      Accepted: February 28, 2003