蜘蛛毒素研究进展*

梁海勇, 李 骞 综述, 陈金军[△] 审校(湖南农业大学生物科学技术学院, 长沙 410128)

【关键词】 蜘蛛毒素; 小分子物质; 多肽类毒素; 组成及功能

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.19.065 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)19-2612-02

蜘蛛在全世界达四万余种, 我国已记载的有近 3 000 种, 其中剧毒蜘蛛有 10 多种^[1-2]。蜘蛛毒素含有多种化学成分, 根据其相对分子质量大小分为小分子物质、蛋白质和多肽类毒素三类。其中最为丰富也是目前研究最多的是相对分子质量在 $(1\sim 10)\times 10^3$ 的多肽类毒素, 包括多肽神经毒素、激肽类似物、凝集活性肽和抗菌肽等。在这些多肽类毒素中, 神经毒素又是多肽毒素中含量最多的成分, 其主要生物学功能是作用于靶细胞膜上的各种离子通道, 如钾、钙、钠、酸敏感通道等^[3-4]。此外蜘蛛毒液中还含有无机盐、三磷酸腺苷、氨基酸、核苷酸、单胺类以及多胺类等, 统称为蜘蛛毒素中的小分子物质^[5-6]。由于蜘蛛毒素成分具有多样性和多功能性, 蜘蛛毒素不仅在分子毒理学、分子药理学和神经生物学等领域有着广泛应用, 此外在临床新药研究和农药生产开发等方面也有着广泛的前景^[7]。本文主要对近年蜘蛛毒素几类成分的研究进展进行一个综述, 为更好地对蜘蛛毒素进行研究奠定基础。

1 蜘蛛毒素中的小分子物质

蜘蛛毒素中的小分子物质主要有无机盐类(Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^-)、氨基酸、核苷酸、有机碱、多胺类物质和神经递质(如多巴、GABA、肾上腺素)等^[8]。目前, 很多小分子物质的作用和意义还不清楚, 有人认为小分子物质可能会加强毒素对猎物的伤害, 还有人认为只是一些降解产物。

在对小分子物质的研究中, 对多胺类物质的研究已经呈现一个新的领域。Moon 等^[6]认为一些多胺类是潜在的辣椒素受体的配体。日本有科学家发现多胺类小分子 JSTX-3 能阻断突触后膜的谷氨酸受体。通过对越来越多的多胺类物质结构的解析, 发现多胺类的毒素都有一些共同的特点, 分子头部通常是一个苯酚基团或是一个吡啶基团, 分子尾部通常是一个胺基或是一个胍基, 中间是多胺构成的主链。通过对多胺类的了解深入, 人们开始意识到它们可以成为选择性作用于离子通道的工具试剂, 在医药和科研上发挥更大的作用。

2 蜘蛛毒素中的蛋白质成分

蜘蛛蛋白质类成分富含多种活性酶、血蓝蛋白、未知蛋白以及少量的毒素蛋白。

酶类主要包括: (1) 能量代谢相关酶类, 如 ATP 合成酶、NADH 脱氢酶、ATP-NAD 激酶、乙酰辅酶 A 氧化酶、谷胱甘肽转移酶等; (2) 消化相关酶类, 如淀粉酶等; (3) 脂类代谢相关酶类, 如磷脂酶 A1、阿朴脂蛋白酶等; (4) 其他酶类, 如过氧化物酶、转移酶等。

血蓝蛋白在变性后具有多种催化作用, 在特定条件下其具有过氧化氢酶、多酚氧化酶和脂氧化酶等活性^[9]。毒素相关蛋白中以黑寡妇蜘蛛中发现的 Latrotoxins(LTX) 最著名。它可以通过三种方式作用于细胞膜: 一是能通过钙离子依赖的方式结合突触前膜外生蛋白, 激活某种信号通路, 从而释放突触小

泡; 二是在其作用的细胞膜形成一种非特异性的孔道, 使其允许钙离子和一些谷氨酸、乙酰胆碱等小分子量物质通过, 进而引起对靶细胞的伤害; 三是与 G 蛋白耦联受体结合, 并通过 G 蛋白信号通路促使突触小泡大量释放神经递质^[10]。

3 蜘蛛毒素的多肽类成分

蜘蛛毒液中含有最丰富也是研究最多最深入的一类就是相对分子质量在 $(1\sim 10)\times 10^3$ 的多肽类成分, 一般含有 3 对或是 4 对的二硫键。目前已有成百上千种蜘蛛多肽毒素被研究, 它们的主要生物学功能是能够作用于靶体细胞膜上的各种离子通道, 从而实现捕食猎物和防御天敌的目的。

3.1 作用于钠离子通道的多肽类毒素 电压门控钠通道(VGSCs)毒素与钠通道 α 亚基的不同部位之间可以进行特异性的结合, 从而改变该钠离子通道的动力学上的特征, 如阻塞通道口、通道去失活、易化激活、慢失活等。能够激活钠离子通道的毒素其化学本质都为小分子或多肽。但是相较于小分子类毒素, 多肽类毒素又具有活性高、专一性强的特点。从美洲光漏斗蛛 *Agelenopsis aperta* 毒液中分离纯化而得到的 μ -agatoxin I-VI 这一组多肽毒素, 就是典型的作用于钠离子通道的毒素。 μ -agatoxin I-VI 这六个多肽毒素由序列同源性很高, 长度均在 36~38 个氨基酸残基左右, 含有 8 个半胱氨酸, 含有 4 对二硫键, 这类多肽毒素通过作用于昆虫的神经肌肉接头突触前膜, 使昆虫突触前膜释放大量的神经递质, 导致钠离子通道受电压而激活, 从而引起昆虫不可逆的麻痹。

3.2 作用于钾离子通道的多肽类毒素 钾离子通道(VG-PCs)在调节静息电位、细胞膜的复极化等重要的细胞生理过程有着重要的作用。电压门控钾通道可分为三种类型^[11]: 外向延迟整流钾通道(Kv)、瞬时外向钾通道(Ka)、内向整流钾通道(Kir)。目前在蜘蛛中发现的钾离子通道抑制剂主要作用在 Kv2(shab-related K^+ channels)和 Kv4(shab-related K^+ channels)。最早从蜘蛛毒液中分离的 hanatoxin-I(HaTx1)是一种可以抑制钾离子通道多肽毒素, 它由 35 个氨基酸残基折叠成抑制剂胱氨酸结构模体(ICK motif)。它对 Kv2.1 钾离子通道表现出很高的亲和性, 而对 Kv1、Kv3 钾离子通道没有作用, 对于 Kv4 只有较弱的抑制作用。目前 hanatoxin-I 是研究 Kv2.1 离子通道的一个常用试剂。Hanatoxin-I 能够结合电压敏感元件 S3b-S4 的跨膜螺旋所形成的电压敏感浆叶结构, 并形成稳态复合物, 它的持续作用时间比电压敏感元件从负电位时的静息状态转变成正电位时的活化开放状态的时间要长得多。通过定点突变技术证实, Kv2.1 离子通道的 I273、F274 和 E277 很有可能是 hanatoxin-I 的结合位点^[12]。

3.3 作用于钙离子通道的多肽类毒素 Hagiwara 和 Naka 于 1964 年在甲壳动物的肌肉上发现了一种新的离子通道, 这类离子通道广泛的参与整个细胞的生理过程并且是神经系统的

重要组成成分。从 funnel web spider 这类蜘蛛的毒液中分离纯化得到一种新的多肽类毒素 presynaptic antagonists (“omega-agatoxins”), 通过生理学实验可以发现这类新的多肽类毒素都可以特异性的作用于钙离子通道。这三类毒素(omega-Aga- I A, omega-Aga- I B, and omega-Aga- II A)都可以破坏昆虫的神经肌肉突触传导, 其中 omega-Aga- I A, omega-Aga- I B 的蛋白分子量在 7.5×10^3 左右, omega-Aga- II A 的蛋白分子量在 11.5×10^3 左右。研究发现毫微摩尔浓度级的 omega-Aga- II A 毒素可以特异性的抑制小鸡的突触小体前膜; 而相同条件下的 omega-Aga- I A, omega-Aga- I B 确不能抑制。因此 omega-agatoxins 被定义为具有不同结构特征的, 可以与钙离子通道结合的特异性神经元钙通道毒素。

3.4 作用于其他通道的多肽类毒素 一些多肽类毒素除了能够作用于钠、钾、钙离子通道外, 还可以作用于酸敏感通道、机械敏感通道和一些辣椒素受体。Trinidad tarantula 这类蜘蛛中分离的 Psalmotoxin 毒素会分别在 pH 为 7.25 和 5.5 时激发鸡的酸敏感通道(ASIC1a)中的非选择性和钠选择性电流。ASIC1a-psalmotoxin 复合物的晶体结构显示了毒素结合位点位于胞外域, 并表明毒素结合是如何触发胞外前庭的扩大以及稳定开放通道孔隙的^[18]。布法罗大学生理学和生物物理学系的 Frederick Sachs 发现蜘蛛毒液中的肽还能抑制机械敏感通道, 这意味着这种多肽还能作为一种潜在药物来治疗那些因红细胞调节细胞容量发生缺陷而导致的血液疾病。近来的一些研究还表明, 蜘蛛毒素同样可以作用于分子结构与离子通道类似的辣椒素受体。

4 研究展望

天然蜘蛛毒素是一个巨大的分子宝库, 对蜘蛛毒素结合离子通道作用机制的研究有力地推动了神经生物学、分子药理学的发展^[19]。目前发现蜘蛛毒素在转基因植物抗虫基因育种研究、新药研究开发、生物农药开发等各个方面显示出广阔的应用前景。相信通过对天然蜘蛛毒素各种成分的理化性质及功能的研究, 可以更好地开发出蜘蛛毒素这一分子宝库更大的经济以及应用价值。

参考文献

[1] Hynes RO. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines[J]. Cell, 2002, 110(6): 673-687.
 [2] Coppelino MG, Dedhar S. Bi-directional signal transduction by integrin receptors[J]. Int J Biochem Cell Biol,

2000, 32(2): 171-188.

[3] Dib-Hajj SD, Yang Y, Black JA, et al. The Na(V)1.7 sodium channel: from molecule to man[J]. Nat Rev Neurosci, 2013, 14(1): 49-62.
 [4] Chen ZY, Hu YT, Yang WS, et al. Hg1, novel peptide inhibitor specific for Kv1.3 channels from first scorpion Kunitz-type potassium channel toxin family[J]. J Biol Chem, 2012, 287(17): 13813-13821.
 [5] Maria I, Glenn K. Natural Born Insect Killers: Spider-venom Peptides and Their Potential for Managing Arthropod Pests[J]. Outlooks on Pest Management, 2013, 24(1): 16-19.
 [6] Moon MJ, Tillinghast EK. Immunoreactivity of Glutamic Acid Decarboxylase (GAD) Isoforms in the Central Nervous System of the Barn Spider, Araneus cavaticus [J]. Entomol Res, 2013, 43(1): 47-54.
 [7] Sharma A, Rao Z, Fry E, et al. Specific interactions between human integrin alpha v beta 3 and chimeric hepatitis B virus core particles bearing the receptor-binding epitope of foot-and-mouth disease virus[J]. J Virol, 1997, 239(1): 150-157.
 [8] 梁映霞, 赵树进. 疼痛相关受体和离子通道及其应用[J]. 广东医学, 2008, 29(1): 154-155.
 [9] 汤辉. 虎纹捕鸟蛛毒素-I 和 ψ -芋螺毒素 MVIIA 嵌合体的合成和活性鉴定[D]. 长沙: 湖南师范大学, 2002.
 [10] Novabiochem, CataLog&peptide synthesis handbook[J]. Biochemistry, 1997(2): 98-100.
 [11] 吴丽金, 陈宇光. 包含体内重组蛋白质的复性[J]. 生命的化学, 2001, 21(4): 315-318.
 [12] Malmberg AB, Yaksh TL. Antinociceptive actions of spinal nonsteroidal anti-inflammatory agents on the formalin test in the rat[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1992, 263(1): 136-146.
 [13] Bacongus I, Gouaux E. Structural plasticity and dynamic selectivity of acid-sensing ion channel-spider toxin complexes[J]. Nature, 2012, 489(7416): 400-405.

(收稿日期: 2013-01-11 修回日期: 2013-04-17)

MicroRNA-146a 与风湿性疾病*

荀春华, 韩峰 综述, 胡志坚 审校(九江学院附属医院检验科, 江西九江 332000)

【关键词】 非编码 RNA; Micro RNA-146a; 风湿性疾病

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.19.066 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)19-2613-02

MicroRNAs (miRNAs) 是一类短小(20~24 nt)的非编码 RNA, 通过对基因表达的转录后调节参与很多生物学过程。越来越多的研究证明, miRNAs 尤其 miRNA-146a 在免疫和自身免疫中发挥着重要作用。本文将 miRNA-146a 在风湿性疾病中的生物学功能及研究进展作一综述。

1 miRNA-146a 生物学特征

GenBank 显示 miRNA-146a 定位于人类第 5 号染色体长臂 3 区 4 带, 其原始转录本含有 99 bp 碱基对; 大多数 miRNA 通过 Droscha 将长链的原始转录本剪切成长度约为 65 个碱基且含有颈环结构的 miRNA 前体, 再通过 Dicer 的剪切作用将

* 基金项目: 江西省教育厅青年科学基金(GJJ12625)。