



توکسینولوژی کرم‌های زهر آگین دریایی؛ یک مقاله مروری

غلامحسین محبی (PhD)^{۱*}، عمار مریم‌آبادی (PhD)^۱، ایرج نبی‌پور (MD)^{۱**}

^۱ مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۹/۱/۱۸ - پذیرش مقاله: ۹۹/۲/۲۰)

چکیده

با وجود توزیع گسترده کرم‌های زهر آگین دریایی در سراسر گیتی، اما مطالعات ساختاری و توکسینولوژی زهر آن‌ها، هنوز محدود است. این مطالعه با هدف بررسی سمیت کرم‌های دریایی زهر آگین انجام گردید. تماس با تارهای کرم‌های دریایی کلویه فلاوا و سیونکولا، موجب التهاب دردناک پوست می‌گردند. بسیاری از گونه‌های نم‌تین‌ها، با یک پروپوسیس منعطف و موکوس غلیظی در سطح پوست خود، قربانی خود را شکار می‌کنند. آن‌ها اخیراً، به سه گروه پالئونم‌تا، پیلیدیوفورا و هاپلونم‌تا، طبقه‌بندی گردیده‌اند. توکسین‌های آن‌ها شامل سه گروه اصلی پپتیدها، آلکالوئیدهای پیریدینی و تترادوتوکسین و مشتقات آن‌ها هستند. ترکیب نیکوتینوئیدی آمفیپورین، آناپازین و مشتقات آن، نم‌رتلین و آناپازین، از توکسین‌های آلکالوئیدی هستند. آن‌ها به‌طور انتخابی گیرنده‌های نیکوتینی، به ویژه گیرنده‌های نوع $\alpha-7$ را تحریک می‌نمایند. نم‌رتلین‌ها، انواع توکسین‌های پپتیدی را تولید می‌نمایند. برجسته‌ترین فعالیت "سربراتولوس توکسین‌های A-I تا A-IV، فعالیت همولیتیک می‌باشد. سیتوتوکسین A-III، با تشکیل فرم‌های تترامری در غشاء بسیاری از سلول‌های مختلف و ایجاد منافذ بزرگ، آن‌ها را بسیار نفوذپذیر می‌کند. توکسین، در غلظت‌های زیر لیزکنندگی، موجب مهار پروتئین کیناز C و کانال‌های سدیمی و کلسیمی انتخابی کاتیونی دریچه ولتاژ در سیستم‌های عصبی و قلبی - عروقی می‌گردد. از چهار پروتئین اصلی "سربراتولوس توکسین‌های B-I-B-IV"، به نظر می‌رسد که توکسین B-II، سمی‌ترین ترکیب باشد. سنجش عصاره لینیوس نشان داد که آن‌ها در واقع زهری‌تر از عصاره‌های سربراتولوس هستند. آلفا و بتا - نم‌رتیدها، به ترتیب مربوط به خانواده سه و شش کیلو دالتونی نورو توکسین‌ها هستند. نم‌رتید $\alpha-1$ ، یک توکسین بی‌نهایت قدرتمند در برابر کانال سدیمی دریچه ولتاژ (VGSC) می‌باشد. ژن توکسین‌های فراوانی در ژنوم و ترانسکریپتوم‌های نم‌رتین‌ها پیش‌بینی یا کشف شده‌اند. از برجسته‌ترین ژن توکسین‌ها، توالی پلانسیتوکسین-۱، پپتید استیکوداکتیل توکسین (Shk toxin)، اس‌ای - سفالوتوکسین، توکسین تشکیل دهنده منفذ β آنرولیزین و چندین توالی مرتبط با نورو توکسین نظیر دلتا اکتیتوکسین-Amc1a، پرویتلین-۲، مو-ترافتوکسین-Hhn2a 4 و تورپپتید Gsg9.2، توالی‌های مختلف آلفا- و بتا- نم‌رتید (آنالوگ‌های B- نورو توکسین) و پاربورلیزین بودند. به احتمال زیاد، پاربورلیزین‌ها به همان خانواده سیتوتوکسین‌های AI تا AIV تعلق دارند. مطالعه بر روی توکسین‌های این زیست‌مندان دریایی، می‌تواند پروب‌های مفیدی را برای بررسی گیرنده‌ها، کانال‌های یونی و حتی مکانیسم‌های ایمنی ذاتی نسبت به ویروس‌های عفونی، انگل‌ها و سایر میکروب‌ها فراهم نماید.

واژگان کلیدی: کرم دریایی، توکسین، پپتیدها، آلکالوئیدهای پیریدینی، تترادوتوکسین، توکسین ژن

^{**} بوشهر، مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

Email: mohebbihsn@yahoo.com

*ORCID: 0000-0003-3393-702X

**ORCID: 0000-0002-1785-0883

مقدمه

توکسین‌های جانوری به دلیل توانایی در تنظیم فعالیت کانال‌های یونی و تأثیر بر عملکرد سلول شناخته شده هستند. بنابراین، آن‌ها به عنوان سرنخ‌هایی برای توسعه آنالوگ‌هایی با فعالیت توکسیک یا پتانسیل درمانی مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۱). ونوم‌های جانوری، یک منبع بسیار غنی از پپتیدهای دارویی را ارائه می‌دهند (۲). این پپتیدها، عموماً از ۱۰ تا ۷۰ اسید آمینه تشکیل شده‌اند. اخیراً، جهت تعیین پروفایل پروتئومیک این ونوم‌ها، به طور فزاینده‌ای از تکنیک‌های تجزیه‌ای نظیر طیف‌سنجی جرمی MALDI-TOF مورد استفاده قرار می‌گیرد و اطلاعات مهمی را در مورد جرم پپتیدها، پیوندهای دی‌سولفیدی و یا تعداد توکسین‌های موجود در ونوم را در اختیار می‌گذارد. بر اساس بسیاری از مطالعات اولیه، ونوم‌ها به طور متوسط حاوی بیش از ۱۰۰ پپتید هستند. اطلاعات دقیق‌تر در مورد هویت پپتیدها را می‌توان با آنالیز پروتئومیک همراه با مطالعات ترانسکریپتومیک بر اساس جداسازی mRNA غده زهری به دست آورد (۱).

معمولاً، توکسین‌های پپتیدی، با هدف قرار دادن گیرنده‌های مهم، در کانال‌های یونی سطح سلولی و گیرنده‌های متصل به پروتئین G، برای فعال‌سازی زیستی درون تنی^۱، مناسب هستند. گرچه، برخی از توکسین‌های زهر ممکن است دارای سمیت مشخص درون تنی باشند، اما بسیاری از توکسین‌های دیگر موجود در همان زهر، می‌توانند دارای اثرات شگفت‌انگیزی باشند (۳). به طور کلی، زهرها به صورت زیر جلدی تزریق می‌شوند و با انتشار مؤثر در داخل بدن به جریان خون می‌رسند. برخی از اثرات زیان‌آور آن‌ها می‌توانند ساعت‌ها به طول انجامند که این نشان از یک نیمه عمر دلگرم‌کننده پپتیدهای فعال درون تنی برای مقاصد دارویی و

زیست‌فناورانه باشد (۱). همچنین، ونوم‌ها، حاوی توکسین‌هایی با تمایل و انتخاب‌گری عالی برای اهداف فارماکولوژیک هستند (۳). بنابراین، دور از انتظار نیست که ونوم جانوران، به عنوان منبع نامتناهی پپتیدهای زیست‌فعال، مورد علاقه علوم و صنایع دارویی باشند و به چشم یک مبنای عالی برای برنامه‌های غربالگری نگریسته شوند (۱). در بین ترکیبات زیستی استخراج شده از ارگانیسم‌های دریایی، توکسین‌ها به طور منحصربفرد، به دلیل توانایی اتصال به گیرنده‌های خاص و تداخل در مسیرهای تخصصی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند و همین امر موجب جذابیت آن‌ها برای استفاده در طیف گسترده‌ای از کاربردها، از سموم دفع آفات سازگار با طبیعت گرفته تا آنتی‌بیوتیک‌ها و مسکن‌های جدید گردیده است (۴). بر همین اساس، تعداد فزاینده‌ای از ونوم‌ها و توکسین‌ها از بی‌مهرگان دریایی مورد شناسایی گرفته‌اند (۵).

توسعه شیمی ترکیبات طبیعی دریایی را می‌توان با تعداد ترکیبات جداسازی یا کشف شده در هر سال نسبت داد. تعداد این ترکیبات، از یک مورد در سال ۱۹۶۳ به ۱۲۷۷ ترکیب در سال ۲۰۱۶ رسید (۶). تعداد هفت مورد از ۱۴۵۳ داروی تأیید شده توسط FDA تا سال ۲۰۱۳، دارای منشأ دریایی بودند (۷ و ۸). توکسین‌های بی‌مهرگان معمولاً گیرنده‌های بی‌مهرگان را مورد هدف قرار می‌دهند چرا که آن‌ها عموماً، با شکارچیان و طعمه‌های بی‌مهره سر و کار دارند. محتمل است که چنین مولکول‌هایی در انسان نیز ارزش درمانی وجود داشته باشند (۹).

حداقل ۱۲ شاخه جانوری کرم وجود دارد. آن‌ها از نظر علمی مورد توجه کمی قرار گرفته‌اند مگر اینکه دارای اثرات خاصی بر انسان بوده باشند. با این وجود، مطالعه بر روی ترکیباتی که کرم‌ها برای حمله یا دفاع استفاده

¹ *in vivo*

می‌کنند پروب‌های مفیدی را برای بررسی گیرنده‌ها، کانال‌های یونی و حتی مکانیسم‌های ایمنی ذاتی نسبت به ویروس‌های عفونی، سایر میکروب‌ها و انگل‌ها را فراهم می‌نماید (۱۰ و ۱۱). با این وجود، برای دستیابی به محصولات مختلف زیستی با منشاء دریایی، مشکلات فراوان پیدا و پنهانی وجود دارد. کلاس پلیکته^۲، نیز از این قاعده مستثنی نیستند و گزارش‌های زیادی از گونه‌های آن‌ها برای شناسایی محصولات زیستی آن‌ها وجود ندارد (۱۲). هر چند، برخی از این توکسین‌ها، راه خود را به عنوان دارو یا ابزار فارماکولوژیکی در بازار باز نموده اند (۱۳).

کرم‌ها ساختار بدنی نسبتاً ساده‌ای دارند که بدون نیاز به دگرگونی، امکان رشد آن‌ها را فراهم می‌آورد. در راستای طول آن‌ها، یک واحد پایه آناتومیک عملکردی^۳، تکرار می‌شود که ممکن است مانند آنلیدها از منظر بیرونی تقسیم شده باشد. کرم‌های موجود در یک شاخه، در اندازه‌های متفاوتی از میوفونای^۴ ریز تا گونه‌های بلند و باریکی چون نمترین لینیوس لانگیسیموس^۵، با طولی متجاوز از ۳۰ متر، دیده شوند (۱۰).

کرم‌ها غالباً سرعت حرکت ضعیف خود را با توانایی پنهان شدن در شکاف‌های بین صخره‌ها، گودال زدن در خاک یا تولید یک ماده شیمیایی سمی در برابر شکارچیان جبران می‌نمایند. برخی از آن‌ها حاوی ونوم‌هایی هستند که توانایی مؤثری در بی‌حرکت نمودن طعمه خود دارند. کرم‌ها، همچون اکثر جانوران دارای حیات، دارای پپتیدهای ضد میکروبی هستند که یک مکانیسم ایمنی ذاتی در برابر ارگانیزم‌های عفونی

از خود نشان می‌دهند (۱۴). کرم‌های دریایی گوشتخوار نم‌ترینی تعداد زیادی نوروکسین پپتیدی و سیتولیزین‌ها تولید می‌نمایند. یکی از آنلیدهای دریایی بنام آرینیکولا^۶، پپتیدهای ضد میکروبی با ساختارهای مختلفی را تولید می‌نماید. کرم‌های انگلی دیگری چون فلوک‌های کبدی، نماتودها و کرم‌های هلمینت، پپتیدهایی با خصوصیات سیتولیتیک (پپتیدهای تشکیل دهنده منافذ یا شبه دترجنت‌ها) را جهت هضم سلول‌ها و بافت‌های میزبان به کار می‌برند (۱۰). در حالی که، برخی از آنلیدهای^۷ دریایی درنده نظیر گلیسیرا^۸، با توکسین‌های پروتئینی بسیار بزرگی چون گلیسروتوکسین^۹، کانال‌های کلسیمی سیناپسی خاصی (کانال‌های Cav نوع-N) را مورد هدف قرار می‌دهند و موجب تحریک ترشح نروترانسمیتر در سیناپس‌های عصبی عضلانی دوزیستان- و نه در پستانداران می‌گردند (۱۱). این مطالعه مروری، دانش فعلی موجود در متون، مربوط به توکسین‌های کرم‌های دریایی به‌ویژه نم‌ترین‌ها را با توجه به شیمی، مکانیسم‌های عمل و فعالیت‌های بیولوژیکی، مورد بررسی قرار می‌دهد.

گلیسروتوکسین

کرم‌های دریایی گلیسرا کونولاتا^۱، آنلیدهای پلیکته شکارچیان گوشت‌خوار بسیار فعالی هستند که در آبراه‌های مناطق ساحلی زندگی می‌کنند. آن‌ها طعمه‌های خود را که عمدتاً، سخت‌پوستان و پلیکته‌های دیگر هستند با حس تغییرات هیدرواستاتیک و حمله با پرتاب پروپوسیس منعطف تشخیص داده و شکار می‌کنند (شکل ۱). آن‌ها از چهار نیش کیتینی

² Polychaeta

³ Anatomical-Functional

⁴ Meiofauna

⁵ *Lineus longissimus*

⁶ *Arenicola*

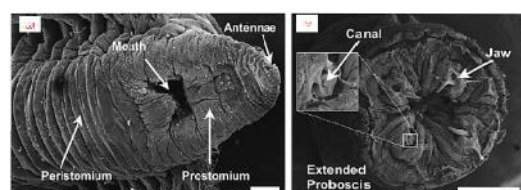
⁷ Annelids

⁸ *Glycera*

⁹ Glycerotoxin

¹⁰ *Glycera convoluta*

حاوی مس، برای تزریق طعمه‌های خود با زهر کشنده آن استفاده می‌نمایند (۱۵).



شکل ۱) اسکن میکروگراف‌های الکترونی روبشی سر کرم گلیسرا کونولتا (الف) و انتهای نوک پروبوسیس جانور، نشانگر چهار دندان‌واره کیتینی متصل به غدد زهری از طریق یک مجرا (ب). پروبوسیس با یک حرکت انقباضی سریع، بیرون آمده و به کرم اجازه تزریق زهر به طعمه را می‌دهد (مقیاس: ۵۰۰ میکرومتر) (۱۶).

در اوایل دهه ۱۹۸۰، این ونوم به دلیل توانایی تحریک ترشح استیل کولین در محل اتصالات عصبی-عضلانی قورباغه مورد مطالعه قرار گرفت (۱۷). این زهر موجب تخلیه طولانی مدت، اما فرکانس بالای کاملاً برگشت پذیر پتانسیل‌های صفحه انتهایی مینیاتوری (MEPPs)، بدون تغییر در ویژگی‌های فراساختاری اتصالات عصبی-عضلانی می‌شود. به همین دلایل، این ترکیب فعال، ابزاری ارزشمند برای مطالعه تنظیم باز یافت وزیکولی سیناپسی است. تلاش‌های اولیه برای خالص سازی مؤلفه فعال زهر، نشان داده است که فعالیت بیولوژیکی با یک گلیکوپروتئین با وزن مولکولی بالا مرتبط است (۱۸). با این حال، تا مطالعه منیر (Meunier) و همکاران، تلاش دیگری برای جداسازی توکسین، شناسایی گیرنده آن یا رمزگشایی نحوه عملکرد آن انجام نشده بود. در این مطالعه آن‌ها، خالص سازی و توصیف موفقیت آمیز یک گلیکوپروتئین فعال ۳۲۰ کیلودالتونی به نام گلیسیروکسین (GLTx) گزارش گردید (۱۶). با استفاده از یک استراتژی مبتنی بر فارماکولوژی

کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ، کانال کلسیمی Cav2.2 (از نوع-N)، به عنوان هدف پیش سیناپسی GLTx شناخته شد. قابل ذکر است که کانال‌های Cav2.2، از کانال‌های اصلی پیش سیناپسی کلسیمی هستند و در رهاسازی سریع نروترانسمیتر نقش دارند. آن‌ها توسط ارتباط زیر واحد تشکیل کانال α_1B با زیر واحدهای کمکی β و $\alpha_2\delta$ که به عنوان تعدیل کننده عمل می‌کنند؛ سرهم بندی می‌شوند. اینتراکشن‌های Cav2.2 از طریق یک ناحیه α_1B به نام سینپرینت^{۱۱} با اعضای دستگاه آگروسیتوزی، امکان کنترل دقیق رهاسازی وزیکولی را می‌دهد (۱۹). گلیسیروتوکسین، موجب یک هجوم گذرای کلسیم حساس به مسدود کننده‌های انتخابی Cav2.2، در سلول‌های کرومافین و سلول‌های کلیوی جنینی انسان (HEK293)، بیش از حد بیان Cav2.2 می‌شود. آنالیز پیچ-کلامپ نشان داد که پس از افزودن GLTx، رابطه ولتاژ-جریان، به سمت پتانسیل‌های هایپرپلاریزه و کمک به تنظیم فعالیت موجود، میل می‌کند. گلیسیروتوکسین، با تعامل ویژه با Cav2.2، یک ابزار اصلی جدید با پتانسیل بسیار چشمگیر برای مشخص نمودن نقش Cav2.2 در طیف گسترده‌ای از فرآیندهای عصبی در سیستم‌های عصبی مرکزی و محیطی به شمار می‌آید (۱۶).

کرم تاردار^{۱۲}

برخی کرم‌های دریایی، دارای تارهایی هستند که موجب التهاب پوست می‌گردند. آن‌ها مسئول گزش‌های دردناکی هستند و تظاهرات بالینی ناشی از آن‌ها، شباهت زیادی با جراحات ناشی از اسفنج‌های دریایی دارند (۲۰). دو کرم قابل بحث در این گروه را می‌توان کرم‌های دریایی کلویه فلاوا^{۱۳} و سیپونکولا^{۱۴} نام برد.

¹¹ Synprint

¹² Bristle Worm

¹³ *Chloeia flava*

¹⁴ *Sipuncula*

کلویه فلاوا

این کرم بزرگ، ضخیم و اسپیندل شکل است که تا طول حدود ۲۰۰ میلی متر نیز رشد می نماید (۲۱) و به راحتی با آبشش های قرمز روشن، لکه های بنفش و بزرگ و تارهای زرد آشکار و شفاف در هر قسمت آن شناخته می شود (شکل ۲- الف). در صورت مواجهه با این کرم، این تارها در پوست متلاشی شده و می توانند موجب تحریک شدید پوست گردند. آن ها در ناحیه تحت جزر و مد در انواع بسترها یافت می شوند؛ اما به طور معمول، در ماسه های ریز و شن ها یا لجن های درشت تر دیده می شوند. این شکارچی، در جستجوی مواد غذایی، گودالی در لایه های سطحی ایجاد می کند. این کرم ها، دارای یک حلق بزرگ و عضلانی قابل ارتجاع بدون فک می باشند. آن ها، غالباً در تورهای ماهی و گاهی در طعمه های میگو و ماهی نیز دیده شده اند. این کرم ها در نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری اقیانوس هند و غرب اقیانوس آرام یافت می شوند (۲۱).

کرم های دریایی سیپونکولان یا کرم بادام زمینی

کرم های دریایی سیپونکولان یا کرم بادام زمینی (شکل ۲- ب)، شاخه ای از کرم ها هستند که مشتمل بر حدود ۳۰۰ گونه می باشند. آن ها جانورانی با تقارن دو طرفه و بدون بند شبه کرم هستند که از ۲ میلی متر تا ۷۲ سانتی متر طول دارند ولی بیشتر گونه های آن ها زیر ۱۰ سانتی متر هستند. آن ها در آب های کم عمق، در خس و خاشاک، پوسته های بر جای مانده از جانداران دیگر و در چاله های صخره ها، دیده می شوند. بدن آن ها به دو قسمت، یکی بخش تنه بدون بند و دیگری بخش باریک و قابل ارتجاع در نزدیکی سر تقسیم می شود که به آن "ایتروورت" ^{۱۵}

یا درون بر یا همان پروبوسیس ^{۱۶} می گویند. سیپونکولان ها ^{۱۷} دارای دیواره بدنی شبیه به آنیلیدها ولی بدون تقسیم بندی هستند. آن ها در صورت تهدید، می توانند بدن خود را به شکلی شبیه به هسته بادام زمینی جمع کنند؛ رفتاری که موجب شده است نام "کرم بادام زمینی" ^{۱۸} بر آن ها نهاده شود. هنگامی که این درون بر، در حفره بدن است، مانند انگشت دستکش است که به روش نادرست قرار دارد و فقط هنگام تغذیه یا در صورت احساس مزاحمت، از حفره بدن بیرون می آید. سیستم عصبی آن ها شامل یک حلقه عصبی در اطراف مری است که به مثابه یک مغز عمل می نماید و یک طناب عصبی و نترال منفرد که به پایین بدن آن ها می رود (۲۲). دستگاه گوارش آن ها شامل دهان، مری و روده ای است که به مارپیچ مضاعف و یک مقعد منتهی می گردد. دهان، توسط تانتاکل هایی احاطه گردیده است که برای جمع آوری زباله های آلی استفاده می شود و احتمالاً به عنوان یک آبشش نیز عمل می کند. ذرات غذا با تانتاکل ها جمع آوری و سپس کل درون بر از تنه خارج شده و ذرات غذایی توسط آن به درون هدایت می شود. بعلاوه، تاژک های روی تانتاکل ها ذرات را در امتداد دستگاه ها به دهان منتقل می کنند (۲۱) و (۲۲). اسپیکولان ها به صورت جنسی و غیرجنسی تولید مثل می نمایند؛ گرچه، تولید مثل غیرجنسی، معمول نیست. باروری آن ها در آب صورت می گیرد. بعضی گونه ها مستقیماً به شکل بالغ تخم گذاری می کنند. برخی دیگر مرحله لارو دارند که بسته به نوع آن، بعد از یک روز تا یک ماه، به یک کرم بالغ دگرگون می شوند (۲۲).

¹⁵ Introvert¹⁶ Proboscis¹⁷ Sipunculans¹⁸ Peanut Worm



شکل ۲) کرم‌های پر تاردار. الف: کرم آتشین بنفش رنگ کلویه فلاوا، خلیج مورتون (۲۱)؛ ب: کرم دریایی بادام زمینی (سیپونکولا) (۲۲).

نمرتین‌ها^{۱۹} یا کرم‌های نواری^{۲۰}

مارها، عقرب‌ها، عنکبوت‌ها، مارمولک‌ها، شکم‌پایان و حلزون‌های مخروطی، تولیدکنندگان نامی توکسین‌های پیتیدی هستند. اما کلاس‌های دیگری از ارگانیسم‌ها نظیر نمرتین‌ها یا کرم‌های نواری وجود دارند که شیمی ترکیبات آن‌ها تا حد زیادی ناشناخته و مغفول مانده است (۲۳). نمرتینا^{۲۱}، توسط نویسندگان مختلف، رینکوسلا^{۲۲}، یا نمرتینا^{۲۳} یا نمرتینی^{۲۴} نیز نامیده شده است. هیستوشیمی فلورسانسی برخی از گونه‌های متعلق به این شاخه عجیب و غریب از موجودات دریایی، از وجود برخی آمین‌های بیورژنیک در سلول‌های نورواندوکرین معبر گوارشی (۲۴) و در تنه، کناره‌ها و جوانب سلول‌های عصبی، پرده برداشته است (۲۵). حدود ۱۳۰۰ گونه از شاخه‌های نمرتین‌ها یا کرم‌های روبان شناسایی شده‌اند (۲۶). بیشتر گونه‌ها در محیط‌های دریایی یافت می‌شوند اما ۱۳ گونه زمینی (۲۷) و ۲۲ گونه آب شیرین (۲۸) مشخص شده‌اند. حدود ۱۱۰۰ گونه آن‌ها عمدتاً انواع درنده را تشکیل می‌دهند (۲۹).

با وجود توزیع گسترده کرم‌های مسطح در سراسر جهان، آن‌ها از نظر شیمیایی مورد مطالعه محدودی قرار گرفته‌اند. بسیاری از گونه‌ها، سمیت‌های قابل ملاحظه‌ای را نشان داده‌اند. تجویز داخل صفاقی عصاره‌های پلاناریان‌ها، موجب واکنش‌های شدید در مهره‌داران شده است. سلول‌های غدد اپیدرمال و زیراپیدرم کرم‌های مسطح، انواع مختلفی از ترشحات جامد غده تخمک (رابدوئیدها^{۲۵})، که ویژه نوعی رابدیتوفورا^{۲۶} هستند را تولید می‌نمایند. مشخصه این ترشحات پروتئینی جامد، تورم و ظرفیت جذب^{۲۷} فوق‌العاده می‌باشد (۳۰). این ماده، یک محافظت‌کننده در برابر باکتری‌ها و قارچ‌ها بوده و می‌تواند موجب بسته شدن زخم‌ها گردد و یک عامل بازدارنده در برابر ماهی‌ها باشد. علاوه بر این، اپیدرم‌های چندلایه^{۲۸} به همراه غدد پیشانی بسیاری از گونه‌ها ممکن است مقادیر زیادی موکوس را برای ایجاد حرکت یا نگهداری طعمه پلانارین ترشح نماید یا مخاطی را تولید نماید که از

19 Nemerteans
20 Ribbon Worms
21 Nemertea
22 Rhynchocoela
23 Nemertinea
24 Nemertini
25 Rhabdoids
26 Rhabditophora
27 Sorption
28 Multiciliar



شکل ۳) کرم لینیوس لانگیسیموس، طولی ترین جانور جهان. همین طور که دیده می شود کل بدن را موکوس پوشانده است (۳۴).

پروبوسیس منعطف نمرتین ها می تواند به یک استیلت^{۳۴} مسلح گردد. برخی از گونه های نمرتین، حاوی توکسین های بسیار قوی آلکالوئیدهای پیریدینی، تترودوتوکسین (TTX) و پپتیدهای نوروتوکسیک یا سیتولیتیک می باشند. به جرأت می توان گفت که گروه کم (Kem) و همکاران، پیشگام اصلی در زمینه شیمی و سم شناسی نمرتین ها هستند (۱۴ و ۳۵). هر چند روش ها و اکتشافات جدید، روزرسانی جامع اطلاعات در این زمینه را تسریع نموده اند. نمرتین ها هم به عنوان طعمه (۳۶) و هم شکارچی (۳۷)، ایفای نقش می نمایند. البته، دانش موجود بیشتر در تعیین اینکه آیا یک سم خاص برای دفاع یا شکار استفاده می شود؛ کافی نیست.

تاکسونومی و فیلوژنی نمرتین ها

طبقه بندی نمرتین ها، در سطح درون شاخه ای و نیز با توجه به جایگاه شاخه در بین متازوان ها^{۳۵}، همواره در حال تغییرات مداوم بوده اند. طبق گروه بندی جانستون، آن ها به طور سنتی به دو راسته آنوپلا^{۳۶} و

رابدیت ها^{۲۹} تشکیل شده باشد (۳۱). تعداد محدودی از گونه ها نیز ممکن است با اندام های جنسی نر خود به درون طعمه نفوذ و آن ها را با مترشحات غدد زهری خود، فلج نمایند. از پلانارین های درنده نظیر مزوستوما، روش "صید مخاطی"^{۳۰} طعمه (۳۲) و رهاسازی نوروتوکسین شیمیایی ناشناخته در آب برای صید طعمه نیز گزارش گردیده اند (۳۳). گونه های میکروستوموم^{۳۱}، جهت دفاع در برابر متجاوزین، ممکن است از پولیپ های هیدرا^{۳۲}، نماتوسیت های زهرآگینی را دریافت نمایند. اکثر کرم های روبان، شاخه نمرتا، به عنوان شکارچیان و صیادان محیط های دریایی شناخته می شوند. آن ها با یک پروبوسیس منعطف مشخص می شوند که همراه با موکوس غلیظ پوشانیده شده بر روی پوست آن ها، طعمه خود را شکار می کنند (۳۴). کرم های روبان از این منظر تحقیقات توکسیکولوژی زیاد شناخته شده نیستند و بیشتر مطالعات در این زمینه، به مطالعات زیست شناسی و اکولوژی محدود شده اند. با ذکر این مطلب که این گونه به مراتب نسبت به کرم های دریایی دیگر مورد مطالعه بیشتری قرار گرفته اند. با این حال، این شاخه شامل برخی از گونه های شگفت انگیزی هستند. پاربورلاسیا کوروگاتوس^{۳۳}، بزرگترین جاروب کننده کف دریا در قطب جنوب است. لینیوس لانگیسیموس (شکل ۳)، به عنوان طولی ترین جانور روی زمین شناخته شده است و طول آن به ۵۰ متر نیز می رسد (۳۴).

²⁹ Rhabdites

³⁰ Mucus-Trapping

³¹ Microstomum

³² Hydra

³³ *Parborlasia corrugatus*

³⁴ Stylet

³⁵ Metazoans

³⁶ Anopla

انوپلا^{۳۷} تقسیم شده‌اند (۳۸)، که بر اساس حضور یا عدم حضور دستگاه استیلت در پروبوسیس است. اخیراً، این گروه‌بندی زیر راسته دریاها کنار گذاشته شدند (۳۹) و به جای آن سه گروه‌های طبیعی پالئونمرتتا^{۳۸}، پیلیدیوفورا^{۳۹} و هاپلونمرتتا^{۴۰}، جایگزین گردیدند. هاپلونمرتین‌ها دارای یک استیلت یا بارب^{۴۱} هستند که در بیرونی‌ترین قسمت آن قرار دارد (۴۰) و به همراه یک کیسه حاوی توکسین‌ها می‌باشد (۴۱). این پیشاب مسلح می‌تواند طعمه را سوراخ، آن را به سرعت بی‌حرکت و از آن تغذیه نماید. نمرتین‌ها با وجودی که متعلق به هاپلونمرتین‌ها نیستند و معمولاً فاقد استیلت هستند اما هنوز هم می‌توانند شکارچیان بسیار مؤثری باشند. سلول‌های ویژه‌ای با ساختارهای پاپیلوسی بر روی پروبوسیس، ترشحات غده‌ای را رهاسازی می‌کنند (۴۲)، که ممکن است حاوی توکسین‌ها و مواد چسبناکی باشند و به نگه‌داشتن طعمه تا زمان مرگ یا بی‌حرکتی آن‌ها کمک می‌نماید (شکل ۴) (۱۱). برخی از این ترکیبات، ظرفیت‌های هضم شونده‌گی بافتی از خود نشان داده‌اند. در میان این ساختارها، سودوسنیده‌ها^{۴۲}، مورد مطالعه دقیق قرار گرفته‌اند (۴۳). اما، هنوز سئوال‌ات زیادی برای نقش آن‌ها در تولید و انتقال توکسین باقی‌مانده است. بیشتر گونه‌ها مخاط اپیدرمی را ترشح می‌کنند که کل بدن را می‌پوشاند و حرکت روان جانور را تسهیل می‌نماید. در بسیاری از گونه‌ها، در پاسخ به محرک‌های لمسی، مخاط بیشتری ترشح می‌شوند.

این موکوس از نظر شیمیایی به خوبی مورد کاوش قرار نگرفته است؛ گرچه، برخی از مطالعات، وجود توکسین‌های سیتولیتیک و نوروکسین‌ها را نشان داده‌اند (۴۴). نوروکسین‌های موکوئیدی، می‌توانند در دفاع شیمیایی یا فعالیت‌های فرومونی یا بو (سیگنالینگ شیمیایی) نقش عملکردی داشته باشند؛ اما شواهد تجربی کمی در متون در این باره به چشم می‌خورند.

پالئونمرتین‌ها^{۴۳}، به عنوان ابتدایی‌ترین نمرتین‌ها در نظر گرفته می‌شوند. هترونمرتین‌ها^{۴۴} نیز یکی دیگر از سه گروه اصلی این شاخه هستند (۱۰). پالئونمرتین‌ها و هترونمرتین‌ها، ظاهراً فاقد وسیله تزریق ونوم به طعمه‌های خود هستند. در یک طبقه‌بندی، هترونمرتین‌ها و پالئونمرتین‌های فاقد دستگاه پروبوسیس را در یک دسته بنام آنوپلان‌ها^{۴۵} تقسیم‌بندی نموده‌اند (۳۵). گرچه توکسین‌های هاپلونمرتین‌ها برای اهداف تهاجمی و دفاعی استفاده می‌گردند اما اعتقاد بر این است که دو گروه دیگر از زهر خود، برای دفع شکارچیان خود استفاده می‌نمایند (۱۰). کرم‌های روبان دریایی، شکارچیان حلزون‌ها، سخت‌پوستان کوچک، صدف‌ها و برخی پلیکته‌ها هستند (۱۱). نمرتین‌ها، شباهت چشمگیری با حلزون‌های مخروطی دارند. هر دو گروه برای شکار طعمه از پروبوسیس استفاده می‌کنند. یک زیر طبقه از نمرتین‌ها نیز با یک استیلت، دارای عملکرد ظاهری مشابه دندان رادولای حلزون مخروطی و

37 Enopla

38 Palaeonemertea

39 Pilidiophora

40 Hoplonemertea

41 Barb

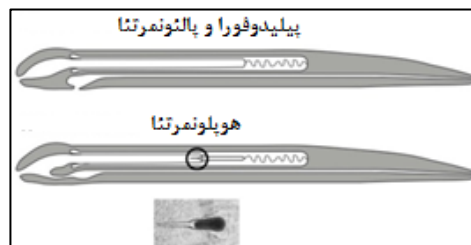
42 Pseudocnidae

43 Paleonemertines

44 Heteronemertines

45 Anoplans

تزریق زهر می‌باشد. با این حال، این موکوس است که اپیدرم نمرتین‌ها را می‌پوشاند و به نظر می‌رسد آشکارترین منبع شیمیایی این جانوران می‌باشد (۴۵).



شکل ۴) تفاوت بین آناتومی‌های پیلیدیفورا و هاپلومریتنا. بالا: شروع دهان پیلیدیفورا و پالئونمریتنا با پروبوسیس مجزا است. پایین: پروبوسیس هاپلومریتنا (دایره مشکی) حاوی یک استیلت (یا چند مورد در پلی - ستیلفرا^{۴۶}) است که با استفاده از آن، اپتلیوم طعمه سوراخ می‌گردد (۳۴).

برخی نقش‌های اکولوژیکی توکسین‌های نمرتین‌ها

نمرتین‌ها به عنوان طعمه

در مقیاس بزرگ، نمرتین‌ها به ندرت توسط دیگران خورده می‌شوند. مک‌درموت (McDermott) و همکاران، محتوای روده ماهی و پرندگان را مورد مطالعه قرار دادند. به‌طور کلی، درصد کمی از نمرتین‌ها از جمله گونه‌های سربراتولوس در محتویات غذای ماهی‌های تخت مشاهده گردیدند. با وجودی که نشان داده شده بود برخی از گونه‌های سربراتولوس، دارای توکسین‌هایی هستند؛ اما تأثیر آن‌ها بر روی دستگاه گوارش ماهی تخت مورد مطالعه قرار نگرفت (۳۶). هرچند، برخی از گونه‌ها،

نظیر سربراتولوس لاکتئوس^{۴۷}، گونه‌های ملکوبدلا^{۴۸}، اوتوتیفلونمرتس برویس^{۴۹} (۴۶) و پلیبراپیورینکوس دایی^{۵۰} (۴۷)، می‌توانند به‌عنوان طعمه برای صید ماهی مورد استفاده قرار گیرند. در مقابل، سایر گونه‌های نمرتین نظیر توبولانوس انولاتوس^{۵۱}، و یا بر اساس مشاهدات شخصی، مالین استراند (Malin Strand)، گونه‌های کوتیده^{۵۲} در صورت بلع توسط ماهی مجدداً برگردانده می‌شوند. در مطالعه کاجیه‌ها (Kajihara) و همکاران، نشان داده شد که ماهی بادکنکی تاکیفوگو نیفوبلس^{۵۳}، کرم سفالوتریکس سیمولا^{۵۴} را هضم می‌کند. در این مطالعه پیشنهاد گردید که TTX نمرتین می‌تواند در ماهی تجمع یابد. گردید که TTX نمرتین می‌تواند در ماهی تجمع یابد. ماهی بادکنکی هیچ اشتیایی برای باسیودیوسکوس کورتوس^{۵۵} نشان نداد و در همان مطالعه، یک ماهی گاوی هر دو گونه را رد کرد (۴۸). بر اساس مشاهدات شخصی مالین استراند، تعداد کمی از اکینودرم‌ها برخی از نمرتین‌ها را هضم می‌کنند. اوفیورویدهای کوچک اوفیوکومینا نیگراکان^{۵۶}، برخی گونه‌های مختلف لینیوس نظیر ویریدیس یا روبر و رامفوغوردیوس سانگویینوس^{۵۷} را می‌بلعند و همین مورد در ستاره دریایی مارتاستریاس گلاسیالیس^{۵۸} نیز صادق است. نمرتین‌ها، تا حدی یکدیگر را نیز می‌خورند. مشاهده شده است که لینیوس

⁴⁶ Polystilifera

⁴⁷ *Cerebratulus lacteus*

⁴⁸ *Malacobdella*

⁴⁹ *Ototyphlonemertes brevis*

⁵⁰ *Polybrachyiorhynchus dayi*

⁵¹ *Tubulanus annulatus*

⁵² *Cottidae*

⁵³ *Takifugu niphobles*

⁵⁴ *Cephalothrix simula*

⁵⁵ *Baseodiscus curtus*

⁵⁶ *Ophiocoma nigra*

⁵⁷ *Ramphogordius sanguineus*

⁵⁸ *Marthasterias glacialis*

سانگوئینوس^{۵۹}، می‌تواند آمفیپوروس لاکتیفلوریوس^{۶۰} را بخورد (۴۹). در متون، مطلبی در مورد این فرضیه که تولید توکسین از طعمه شدن جلوگیری می‌کند، وجود ندارد. مولس (Moles) و همکاران، نشان دادند که عصاره‌های لیپوفیلی گونه‌های قطب جنوب پارابورلازیا کوروگاتوس بازدارندگی خوراکی قابل توجهی را هنگام تجویز به ستاره دریایی اودونتاستر ولیدوس^{۶۱}، ایجاد می‌نماید (۵۰).

نمرتین‌ها بعنوان شکارچیان و صیادها

گفته شده است که نمرتین‌ها گوشتخوار هستند و از طعمه‌های مرده و زنده تغذیه می‌نمایند (۴۶). برخی از گونه‌های شکارچی از طریق مکیدن بافت میزبان تغذیه می‌کنند، اما، دانش کنونی این است که بسیاری از نمرتین‌ها، شکارچیان بی‌پروایی هستند که فعالانه طعمه‌های زنده را شکار می‌کنند (۳۷). هاپلونمرتین‌های مسلح می‌توانند طعمه خود را با استیلت که به توکسین‌ها مرتبط است را گرفته و به عنوان فلج‌کننده و همچنین هضم‌کننده بافتی استفاده نمایند. طعمه در طی چند ثانیه بی‌حرکت شده و پس از آن نمرتین می‌تواند طعمه را با خیال راحت بخورد. به نظر می‌رسد بسیاری از هاپلونمرتین‌ها، بندپایان را به عنوان طعمه ترجیح می‌دهند؛ گرچه، شواهدی مربوط به حملات آن‌ها به صدف‌ها و دیگر کرم‌ها نیز وجود دارد (۵۱). همان‌گونه که در مورد آلکالوئیدهای پیریدینی تأیید شده است غلظت توکسین‌ها در پروبوسیس هاپلونمرتین‌ها، مؤکد نقش آن‌ها را در شکار می‌باشد. به نظر می‌رسد که

هترونمرتین‌ها نیز که فاقد استایلت هستند به همان اندازه شکارچیان فعال و توسعه یافته‌ای باشند (۵۲). نشان داده شده است که پروبوسیس برای بی‌حرکت و یا کند نمودن حرکت طعمه پلیکنه، مؤثر است. ظاهراً یک تماس کوتاه میان طعمه و زائده پروبوسیس برای تأثیر بر تحرک طعمه کافی است. پروبوسیس لینئوس سانجینیوس^{۶۲}، به سلول‌های ترشحی با ساختارهای میله‌ای شکل مجهز شده است که ممکن است برای گرفتن و احتمالاً سوراخ نمودن طعمه باشد که ورود توکسین‌ها را امکان‌پذیر نماید (۵۳). مثال دیگر، تماس مستقیم سربراتورولوس لاکتیوس با سطح طعمه خود از گروه نرم‌تن میا ارناریا^{۶۳}، کافی بود و این حمله حتی بدون پیشروی پروبوسیس، موجب بلع طعمه شد (۵۴). به‌طور مشابه، رفتارهای شکارچانه رسریلوس اوکولتوس^{۶۴} هم در مشاهدات میدانی و هم تست‌های آزمایشگاهی، توسط بکرز (Beckers) و همکاران، ثبت گردید. نشان داده شد که نمرتین‌ها به درون بافت نرم گاستروپود پاتلا نفوذ نموده و با از بین بردن آن، بدون ایجاد هرگونه واکنش قابل تشخیصی، شروع به خوردن آن می‌کند. در مورد گیبولا اومبیلیکالیس^{۶۴}، حمله به یک صدف، با جزئیات زیادی پایش شد. این نمرتین، ابتدا به پای حلزون حمله نمود و سپس پروبوسیس را به داخل حفره جبه چسبانیده و فروبرد. از این طریق، پروبوسیس در کنار آبشش‌ها قرار گرفت. اندکی پس از آن، حباب‌های کف ماندنی به‌عنوان یک واکنش محافظتی، پدیدار شدند. اندکی بعد، پا به آرامی جمع و توکسین وارد عمل شد. نمرتین به سمت جلوی

⁵⁹ *Lineus sanguineus*

⁶⁰ *Amphiporus lactifloreus*

⁶¹ *Odontaster validus*

⁶² *Mya arenaria*

⁶³ *Riseriellus occultus*

⁶⁴ *Gibbula umbilicalis*

صدف حرکت و از آنجا شروع به خوردن و هضم طعمه نمود (۵۵).

نمرتین‌های همسفره^{۶۵}

تقریباً ۴۰ گونه که بیشتر آن‌ها هاپلونمرتین‌ها در ملکوبدلیده^{۶۶}، کارسینونمرتیده^{۶۷}، تتراستماتیده^{۶۸} و امپلکتونماتیده^{۶۹} محسوب می‌شوند؛ جزو کامنسال‌ها محسوب می‌شوند (۵۶). اما اینکه آیا نمرتین‌ها غالباً همسفره یا انگلی باشند مشخص نیست. شش گونه از ملکوبدلیده، در حفره جبهه دوکفه‌ای‌ها یافت شده‌اند. مطالعه روی ملکوبدلا گروسا^{۷۰} نشان داده است که آن‌ها به میزبان خود آسیب نمی‌رسانند که از طبقه‌بندی ملکوبدلیده به عنوان اندوکامنسال‌ها^{۷۱} پشتیبانی می‌کند (۵۷). در مقابل، برخی از گونه‌های کارسینونمرتین‌ها، شکارچیان ویژه تخم سخت‌پوستان دکاپود هستند و از استیلت برای سوراخ کردن رویه‌های تخم برای دسترسی به زرده استفاده می‌نمایند (۵۸). این فقط منحصر به کارسینونمرتین‌ها نمی‌باشد و گاهی شکار تخم، آنقدر شیوع پیدا می‌کند که موجب مرگ و میر فراوانی در خانواده سخت‌پوستان می‌شود (۵۹). مزیت تولید توکسین در نمرتین‌های کامنسال چندان آشکار نیست. اما این توکسین‌ها به‌طور بالقوه می‌توانند میزبان را از صیادان محافظت نمایند. به نظر نمی‌رسد که مطالعه

عملکردی ویژه توکسین‌های نمرتین‌های کامنسال وجود داشته باشد. اما با این وجود، حضور توکسین در چند مطالعه که در اینجا ذکر می‌گردد؛ نشان داده شده است. مطالعه ترانسکریپتوم ولان (Whelan)، حضور تعدادی توالی توکسین پیشنهادی نظیر زیر واحد بتا نوووروکوتین^{۷۲}، یک ونوم پروتئین غنی از سیستمین شبه سودوچتوکسین^{۷۳} و پلاکتوکسین^{۷۴} را در ملکبدلا گروسا، نشان داد (۶۰). در مطالعه محتوای توکسین‌های ملکبدلا گروسا، توسط ژاکوبسون (Jacobsson) و همکاران، آنالیز ترانسکریپتوم، وجود هیچ‌کدام از توالی‌های آلفا یا بتا-نمرتید یا پاربورلیزین نشان داده نشد (۲۳). کم و همکاران، موفق به یافتن آلکالوئیدهای پیریدینی در ملکبدلا گروسا نشدند (۵۲). همچنین، TTX نیز یافت نگردید (۶۱). ظاهراً، حتی متداول‌ترین توکسین‌های شناخته شده نمرتین‌ها در مقادیر بسیار کم در این جانوران وجود دارد. آساکاوا (Asakawa) و همکاران، حضور احتمالی ۴،۹-انیدرو-تترادوتوکسین^{۷۵} را در ملکبدولا جاپونیکا^{۷۶} نشان دادند (۶۲). علاوه بر این، کم تعدادی از گونه‌های نادر از نظر آلکالوئیدهای پیریدین نیز غربالگری گردید. کارسینونمرتس ارانس^{۷۷}، حاوی آلکالوئیدهای پیریدینی نبود؛ در حالی‌که، حضور ترکیبات "ناشناس" از نوع پیریدینی در تتراستما کاندیدوم^{۷۸} و تتراستما

⁶⁵ Commensal

⁶⁶ Malacobdellidae

⁶⁷ Carcinonemertidae

⁶⁸ Tetrastemmatidae

⁶⁹ Emplectonematidae

⁷⁰ *Malacobdella Grossa*

⁷¹ Endocommensals

⁷² Neoverrucotin

⁷³ Pseudechetoxin-Like Cysteine-Rich Venom Protein

⁷⁴ Plancitoxin-1

⁷⁵ 4,9-Anhydro-TTX

⁷⁶ *Malacobdella japonica*

⁷⁷ *Carcinonemertes errans*

⁷⁸ *Tetrastemma candidum*

رتیکولاتوم^{۷۹} در آن‌ها نشان داده شد (۶۳). نتایج آزمایشگاهی نشان داده‌اند که تتراستما ورکی^{۸۰} حاوی آنابازین است (۵۲). توکسین‌های هاپلونمرتین، در دفاع شیمیایی علیه شکارچیان یا برای شکار طعمه استفاده می‌شوند؛ در حالی که توکسین‌های آنوپلان، عمدتاً برای دفع شکارچیان به کار برده می‌شوند. توکسین‌های مختلفی در بافت‌های محصور بخصوص سودوسینیدا^{۸۱}، و رابدوئیدها و همچنین اپیتلیای غده‌ای وجود دارند که با استیلت و پروبوسیس همراه هستند. توکسین‌های شناخته شده، توکسین‌های نوروتوکسیک پیریدیلی چون آنابازین^{۸۲}، ۲،۳-بپیریدیل و نم‌رتین^{۸۳} می‌باشند که انتهای آن‌ها از چهار زیرواحد پیریدینی تشکیل شده‌اند. هرچند، پپتیدهای سمی نظیر سربراتولوس توکسین‌های^{۸۴} A II و A III, B II, B IV و همچنین سیتولیزین‌ها^{۸۵}، آمفیپورین^{۸۶} و نیم‌رتین^{۸۷} نیز یافت شده‌اند. گفته شده است که توکسین‌های پروتئینی، به‌عنوان ابزار دفاع شیمیایی در برابر شکارچیان عمل می‌کنند؛ در حالی که توکسین‌های آلکالوئیدی پیریدینی هر دو خاصیت تهاجمی و دفاعی را نشان می‌دهند (۲۹). این توکسین‌ها در جای خود، مورد بحث قرار می‌گیرند.

مروری بر توکسین‌های اولیه کرم‌های روبان

شاید اولین توصیف کرم روبان در متون مربوط به سمیت آن باشد. اولائوس مگنوس (Olaus Magnus) سوئدی، در مقاله خود توضیح داد که این کرم کاملاً

بی‌ضرر است مگر اینکه با دست انسان لمس شود. در این حالت، انگشتان هنگام تماس با پوست جانور متورم می‌شوند (۶۴). یک تصویر اولیه از کرم روبان که احتمالاً مربوط به لینیوس لانگیسیموس سواحل ویلمینگتون امریکا باشد، در تاریخ طبیعی کورنوال ویلیام بورلاز^{۸۸}، دیده شده است (۶۵). در این کتابت، به "کرم دریایی طولیل^{۸۹}" اشاره و سپس بدون هیچ مطلبی در مورد سمیت آن، در "گونه جانوران دریایی پست‌تر از عالی"، طبقه‌بندی شده بود.

ویلسون (Wilson)، در مطالعه خود بر روی هترونمرتین سربراتولوس لاکتئوس، پس از قرار دادن قطره‌ای از موکوس این کرم بر روی زبان، سمیت موکوس را چنین توصیف نمود: "آنقدر شدید است که تمام دهان را خشک و لکه‌دار می‌کند و طعم آن تا مدت زیادی باقی می‌ماند" (۶۶). ریسینجر (Reisinger)، در مطالعه خود تهاجم کرم پروستوما گراسنس^{۹۰} را تشریح نمود و اظهار داشت که زهر فلج کننده از اپیتلیوم پروبوسیس خلفی نشات می‌گیرد (۶۷). نخستین مطالعات متمرکز در مورد ماده زهری، در دهه ۱۹۳۰ توسط باک (Bacq)، انجام گردیدند (۶۸ و ۶۹). در سال ۱۹۳۶، این فارماکولوژیست بلژیکی، از کشف مهم دو نوع فعالیت توکسیک در نم‌رتین‌ها خبر داد (۶۸). هم‌وزنات‌های هاپلونمرتین آمفیپوروس لاکتیفلورئوس، به شدت عضله ایزوله اسکلتی قورباغه را منقبض و گانگلیون اتونوم دهانه رحم گربه را به روشی شبیه به

⁷⁹ *Tetrastemma reticulatum*

⁸⁰ *Tetrastemma worki*

⁸¹ *Pseudocnidia*

⁸² *Anabaseine*

⁸³ *Nemertelline*

⁸⁴ *Cerebratulus Toxins*

⁸⁵ *Cytolysins*

⁸⁶ *Amphiporine*

⁸⁷ *Nemertine*

⁸⁸ William Borlase's Natural History of Cornwall

⁸⁹ Sea Long Worm

⁹⁰ *Prostoma graecense*

نیکوتین تحریک نموده بود. از آنجا که این فعالیت بیولوژیکی، تحت شرایط قلیایی بسیار بالا دوام می‌آورد؛ نمی‌توانست ناشی از ناقل عصبی استیل کولین باشد که به‌طور عادی این سیناپس‌ها را تحریک می‌نماید. عصاره‌های پالئونمرتین‌ها و هترونمرتین‌ها نوع دیگری از فعالیت نوروتوکسیک را شامل می‌شدند که به جای تأثیر بر سلول‌های پاسخ دهنده نیکوتینی، موجب ایجاد فعالیت اسپایکینگ (پتانسیل عمل) در اعصاب سخت پوستان می‌شدند. آن‌ها به ترتیب، "آمفیورین" و "لانمرتین"^{۹۱} نامیده شدند. هر دو نوع هموژنات، موجب تشنج، پارالیزی و مرگ در هنگام تزریق به خرچنگ‌های ساحلی شدند. حدود ۳۰ سال سپری شد تا تحقیقات مجدد روی توکسین‌های نم‌رتین از سر گرفته شد. مطالعه کم، نشان داد که عصاره کامل آبی هاپلونمرتین‌های آمفیوروس لاکتیفلوریوس و درپانوفوروس کراسوس^{۹۲}، می‌تواند یک اثر شبه نیکوتینیک بر عضلات صاف قورباغه را ایجاد نماید (۷۰). بسیاری از روش‌های تجزیه‌ای جدید، موجب تسهیل در جداسازی این ترکیبات طبیعی حتی در مقادیر نسبتاً ناچیز گردیدند. این روش‌ها شامل کروماتوگرافی لایه نازک، کروماتوگرافی ستونی و سپس HPLC و همچنین آنالیز اسید آمینه و روش‌های توالی ادمن جهت تجزیه پپتیدها بود (۱۰).

توکسین‌های کرم روبانی

به‌طور کلی، توکسین‌های کرم‌های روبان را می‌توان به سه گروه اصلی شامل پپتیدها، آلكالوئیدهای پیریدینی و تترادوتوکسین و مشتقات آن‌ها تقسیم

نمود. کشف توکسین‌های کرم روبانی در سطح مولکولی را می‌توان به چند گروه محدود تحقیقاتی نسبت داد که هر یک بر انواع ویژه‌ای از ترکیبات هدف متمرکز شده بودند. همان‌گونه که اشاره گردید کم و همکاران، در مطالعه آلكالوئیدهای پیریدینی پیش‌گام بودند (۳۴). تترادوتوکسین و آنالوگ‌های آن، مورد توجه گروه‌های تحقیقاتی از هیروشیما و توکیو و سپس ولادیوستوک (Vladivostok) بوده‌اند. توکسین‌های پپتیدی نیز توسط گروه‌های کم و بلومنتال (Blumenthal)، کشف گردیدند. در سال‌های اخیر، با توسعه تکنیک‌هایی چون پپتیدومیک و تعیین توالی نسل جدید، علاقه به این زمینه مجدداً زنده شده است. علاوه بر توکسین‌های شناخته شده، توالی‌های ژنی سایر پپتیدها و پروتئین‌های مرتبط با این توکسین‌ها از ارگانسیم‌های دیگر نیز شناسایی شده‌اند. این توالی‌ها، یک گروه چهارم را نیز مشخص نموده‌اند؛ لکن، هنوز حضور مولکول‌های واقعی مورد تأیید قرار نگرفته‌اند (۳۴).

آلكالوئیدهای پیریدینی

کم و همکاران، در حدود ده هزار نمونه پارانمرتز پرگرینا^{۹۳} را در امتداد ساحل جزیره سن ژوان^{۹۴}، با هدف کشف هویت آمفیورین باک (۶۹)، جمع‌آوری نمودند. پس از هموژناسیون نم‌رتین‌ها، سانتریفیوژ و سپس با کلروفرم استخراج گردیدند. اثرات عصاره-های حاصل، در سنجش زیستی خرچنگ‌های همیگراسپوس نودوس^{۹۵} و کامباروس ویریلیس^{۹۶} مورد مطالعه قرار گرفتند. یک فراکشن توکسیک

⁹¹ la nemertine

⁹² *Drepanophorus crassus*

⁹³ *Paranemertes peregrina*

⁹⁴ San Juan

⁹⁵ *Hemigrapsus nudus*

⁹⁶ *Cambarus virilis*

به‌دست آمد که توسط طیف سنجی جرمی و NMR مورد آنالیز قرار گرفت و ترکیب فعال اصلی آن تحت عنوان آنا بازئین (شکل ۵)، شناسایی گردید (۷۱). بر اساس مطالعه آن‌ها، اولین توکسین جدا شده، آلکالوئید آنا بازئین هاپلونمرتینی، یک ترکیب نیکوتینوئیدی با مشخصات بیولوژیکی و پروفایل شیمیایی مشابه "آمفیپورین" باک بود (۷۱). در سال ۱۹۹۷، خصوصیات فارماکولوژیک آنا بازئین و انواع مشتقات آن مورد ارزیابی قرار گرفت (۷۲). یکی از مشتقات آن، GTS-21 یا DMXBA بود که به‌طور اختصاصی گیرنده‌های استیل کولینی نیکوتینیک آلفا-۷ را که در عملکرد شناختی مغز نقش دارند تحریک نمود. سپس، این ترکیب تحت آزمون‌های بالینی قرار گرفت (۷۳ و ۷۴). مطالعات گسترده‌ای در مورد آنا بازئین در پارانمرتز پراگرینا، و بروز آن در سایر گونه‌های نم‌ترین‌های مختلف توسط کم، دنبال شده بود (۵۲). بر اساس مطالعه آن‌ها، غلظت آنا بازئین در نواحی قدامی و میانه پروبوسیس، دارای بیشترین میزان بود. همچنین، غلظت‌های بالایی نیز در بخش محیطی دیواره بدن یافت شد. علاوه بر پارانمرتز پراگرینا، آنا بازئین در استایلت حامل آمفیپوروس لاکتیلوروس و تتراستما ورکی نیز یافت گردیدند؛ در حالی‌که، این ترکیب، در گونه‌های دیگر مورد مطالعه آن‌ها یافت نگردید. کم و همکاران، دو آلکالوئید اصلی نورو توکسیک ۳،۲-بیپیریدیل و یک

تتراپیریدیل را در آمفیپوروس انگولاتوس شناسایی نمودند که به‌علت شباهت آن‌ها با آلکالوئید نیکوتلین^{۹۷} توتون، آن‌را نم‌رتلین (شکل ۵) نام نهادند (۷۵). بعدها، ساختار نم‌رتلین، توسط کروسکی (Cruskie) و همکاران، تجدید نظر شد (۷۶). در یک مطالعه دیگر، محتوای آلکالوئیدهای پیریدینی در ۱۹ گونه نم‌رتلین مورد بررسی قرار گرفتند. به دلیل محدودیت در دسترسی به نمونه برخی گونه‌ها و همچنین، زمان طولانی ذخیره‌سازی و در نتیجه احتمال تجزیه اجزای سمی، آنالیز آن‌ها، با مشکلاتی روبرو بود. با این وجود، نشان داده شد که آنا بازئین^{۹۸} (و نه آنا بازئین^{۹۹})، در دو گونه آمفیپوروس انگولاتوس و زیگونمرتز ویرسنس^{۱۰۰} وجود دارد (شکل ۵) (۶۳).

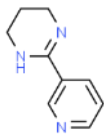
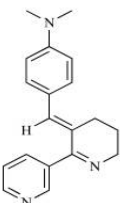
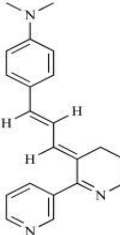
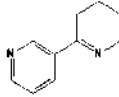
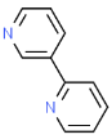
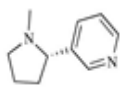
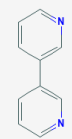
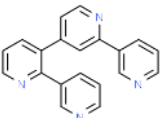
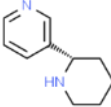
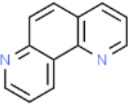
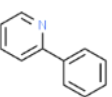
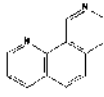
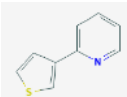
علاوه بر این، چند پیریدین ناشناخته دیگر در بین گونه‌های مورد آنالیز یافت گردید. بعدها در سال ۲۰۰۱، در یک مطالعه توسط کم و سوتی (Soti)، حضور ۱۵ آلکالوئید مختلف را در یک فراکشن کلروفرمی بازی مشتق از آمفیپوروس انگولاتوس نشان داده شد. با این حال، جزئیات آنالیز و شناسایی آلکالوئیدها تشریح نگردید (۷۷). هشت سال پس از آن، یکی از ترکیبات موجود در آمفیپوروس انگولاتوس، یعنی ۳-متیل-۳،۲-بیپیریدیل، شناسایی و سنتز شد (۷۸).

⁹⁷ Nicotelline

⁹⁸ Anabesine

⁹⁹ Anabaseine

¹⁰⁰ *Zygonemertes Virescens*

				
*PTHP	3-DMAB-anabaseine	3-DMAC-anabaseine	Anabaseine	2,3'-Bipyridyl
				
(S)-Nicotine	3,3'-Bipyridyl	Nemertelline	(S)-Anabasine	1,7-Phenanthroline
				
	2-Phenylpyridine	1,9-Phenanthroline	2-(3-Thienyl)-pyridine	
*(2-(3-Pyridyl)-3,4,5,6-tetrahydropyrimidine.)				

شکل (۵) برخی آکالوئیدهای پیریدینی در نمرتین‌ها

کردن موکوس از نمرتین، موجب مصرف آن‌ها شد. علاوه بر این، نمرتلین که در سنجش‌های دیگر غیرفعال بود همراه با آنا بازئین و ۳،۲-بی‌پیریدیل، کانال کلسیمی گیرنده نیکوتینی عضله گوارش خرچنگ را تحریک نمود. عدم فعالیت مشتقات کاتیونی پایدار ۳،۲-بی‌پیریدیل، روی این گیرنده، ظاهراً به دلیل بار پایدار و ممانعت عبور از سد خونی- مغزی بود. در مجموع، پیشنهاد گردید که ترکیبات پیریدینی مختلف، ممکن است فعالیت‌های متفاوتی داشته باشند و حضور ترکیبی آن‌ها موجب دفاع چند حالتی می‌گردند (۷۷). کم و همکاران، در مطالعه خود نشان دادند که ۳،۲-بی‌پیریدیل، آنا بازئین، نمرتیلین و آنا بازین موجب سمیت در لارو بارناکل می‌گردند.

بر اساس مطالعه کم و همکاران، همه ترکیبات پیریدیل شناسایی شده، در برابر بی‌مهرگان در محدوده میکرومولار فعال بودند (جدول ۱). برخی از سنجش‌های زیستی چون فلج در خرچنگ، رفتار تغذیه‌ای بر روی لابسترها، ثبت الکتروفیزیولوژیکی گیرنده‌های شیمیایی و مطالعات مهاری کانال‌های کلریدی در معده برای طیف وسیعی از ترکیبات و مشتقات صناعی انجام شدند. نتایج نشان دادند که فلج خرچنگ، ناشی از اثر توکسین‌های پیریدیل بر روی گیرنده‌های کولینرژیک نیکوتینیک در سیستم عصبی مرکزی سخت‌پوست است (۳۴ و ۷۹). نتایج مطالعه، اثر بازدارندگی نسبی مصرف توکسین کرم آمفیپوروس انگولاتوس، توسط لابسترهای خاردار را نشان داد. تمیز

جدول ۱) فعالیت‌های بیولوژیکی آلکالوئیدهای پیریدیلی نمرتین بر اساس مطالعه کم و همکاران (۲۰۰۳) (۷۹)

ترکیب	لارو بارناکل IC ₅₀ (میکرومولار)	خرچنگ PD ₅₀ [*] (میکروگرم)	لارو بارناکل LC ₅₀ ^{**} (میکرومولار)
۳،۲-بی‌پیریدیل	۴/۱	۰/۸۸	۱/۹
آنابازین	۱۰	۳/۶	۲
نمرتین	۳/۲	>۱۲۰	-
آنابازین	۳	۳/۹	-

*Acute Paralytic Dose; **Median Lethal Concentration

مطالعه اثرات یک سری آنالوگ‌های آلکالوئیدهای پیریدیلی طبیعی نشان داد که هر دو اتم نیتروژن ۳،۲-بی‌پیریدیل برای عملکرد آن در موقعیت‌های خاصی، دارای اهمیت می‌باشد. هر چند، پروتوئین‌های این نیتروژن‌ها فعالیت آنتی‌فولینگ را مهار می‌نمایند (۷۹). این ترکیبات و ترکیبات مرتبط، به‌عنوان یک عامل ضد‌رسوب، ثبت اختراع گردیده‌اند (۸۰). هر چند که این ترکیبات، بدین منظور توسعه بیشتری نیافتند. در دهه ۱۹۷۰، کم مشاهده نمود که سمیت آنابازین منحصر به خرچنگ نیست و به اندازه نیکوتین، هنگام تزریق به موش قدرتمند است (۷۵). این مطالعات، موجب گردیدند تا فعالیت‌های فارماکولوژیکی بالقوه آن افزایش یابد. متعاقباً، مایر (Meyer) و همکاران، نشان دادند که آنابازین موجب تحریک آزادسازی استیل کولین از قشر مغز موش صحرایی می‌گردد (۸۱). پس از آن، فعالیت آنابازین نسبت به گیرنده‌های نیکوتینریک مهره‌داران، در مقایسه با آلکالوئیدهایی چون نیکوتین و آنابازین مورد مطالعه قرار گرفت. نشان داده شد که آنابازین به‌طور انتخابی، گیرنده‌های نیکوتین، به ویژه گیرنده‌های نوع α -7 و عصبی - عضلانی را تحریک می‌نماید. آنالیزهای مقایسه‌ای درک برخی از جنبه‌های ساختاری تشخیص آنابازین را ارائه

دادند. همچنین، نشان داده شد که چگونه ساختار مولکولی در واکنش تعادلی محلول آنابازین با pH تغییر می‌کند (۷۲). زولتویچ (Zoltewicz) و همکاران، نشان دادند که در pH خنثی، در یک تعادل با مقدار تقریباً مساوی و در pH کمتر، تعادل به سمت هیدرولیز محصول پیش می‌رود. در حالی که آنابازین حلقوی به pH بالاتر تمایل دارد (۸۲). این امر درک منطقی اثرات یک سری مشتقات سینامینیلیدنی^{۱۰۱} و بنزیلیدنی^{۱۰۲} آنابازین، را فراهم نمود. در این میان، ترکیب باصطلاح، ۳-(۲،۴-دی‌متوکسی بنزیلیدین)-آنابازین^{۱۰۳} یا (DMXBA) یا (GTS-21)، شناسایی گردید (۸۲). مشتقات آنابازین به کاربردهای دارویی نزدیک شدند. توکسین DMXBA، تأثیر طولانی اثری را از طریق پیوند انتخابی به گیرنده‌های α -7 استیل کولینی نیکوتینی را نشان داد (۸۳). این امر، به سبب شباهت به اثرات نیکوتین بر رفتارهای مرتبط با حافظه، به‌ویژه بیماری آلزایمر، موجب ایجاد علاقه در محققان این حوزه گردید (۸۴). توکسین DMBXA، نتایج مطلوبی را در یک مدل خرگوشی، در تهیه مطبوع کلاسیک چشم^{۱۰۴} (EBCC) با افزایش سن نشان داد (۸۵). همچنین، موجب بهبود رفتار مرتبط با حافظه در موش صحرایی نژاد اسپارگو-داولی گردید (۸۶). مطالعه

¹⁰¹ Cinnamylidene¹⁰² Benzylidene¹⁰³ 3-(2,4-dimethoxybenzylidene)-anabaseine¹⁰⁴ Eyeblink Classical Conditioning

جدول ۲) توزیع آنابازئین در بخش‌های مختلف بدن پارانمرتز پرگرینا بر اساس مطالعه کرن (۱۹۷۱) (۵۲)	
ارگان	غلظت آنابازئین (میکروگرم بر گرم)
بدن کامل	۳۱۷۰
بدن منهای پروبوسیس	۲۴۲۰
پروبوسیس قدامی	۱۰۸۳۰
پروبوسیس میانی	۷۲۸۰
پروبوسیس تحتانی	۲۲۱۰
بخش دیواره بدن	۱۱۸۰
بافت مرکزی بدن	۸۰

در جدول ۳، برخی از مطالعات مربوط به آنالیز ترکیبات مرتبط با آنابازئین در برخی گونه‌های هاپلونمرتین‌ها در راسته مونوستیلیفرا نشان داده می‌شود. تلاش‌های "کم" و همکاران در این زمینه قابل تحسین است.

زاویجا (Zawieja) و همکاران، بر روی اثرات DMXBA بر روی آلزایمر نشان داد که این ترکیب دارای پتانسیل درمان علامتی با بهبود مهار ضعف حسی دادند (۸۷). قبل از آن نیز مطالعاتی در مورد استفاده از آنابازئین و DMXBA در مقابل دست دادن حافظه و اسکیزوفرنی صورت گرفته بود (۸۲). از ژانویه سال ۲۰۱۹، هشت مطالعه در مورد DMXBA در ClinicalTrials.gov ثبت شده است، اما نتیجه‌ای از آن در دست نمی‌باشد (۳۴). بر اساس مطالعات، غلظت آنابازئین در همه نقاط جانور یکسان نیست (۸۸ و ۵۲). جدول ۲، توزیع آنابازئین در پارانمرتز پرگرینا را بر اساس مطالعه کرن (Kern)، در بخش‌های مختلف بدن نشان می‌دهد (۵۲).

جدول ۳) بررسی برخی گونه‌های هاپلونمرتینی برای آنابازین و ترکیبات مرتبط، بر اساس مطالعه گورانسون و همکاران (۲۰۱۹) (۳۴)				
گونه	نمونه	توکسین	مشتاء	منبع
کلاس هاپلونمرتا		راسته مونوستیلیفرا		
آمفیپوروس انگولاتوس	کل بدن	آنابازئین	سواحل ماین و نیوهمپشیر، امریکا	(۷۰ و ۵۲)
آمفیپوروس انگولاتوس	کل بدن	آنابازئین	سواحل ماین و نیوهمپشیر، امریکا	(۷۵)
آمفیپوروس انگولاتوس	کل بدن	نمرتلین	سواحل ماین و نیوهمپشیر، امریکا	(۷۵)
آمفیپوروس انگولاتوس	کل بدن	۳،۲- بی‌پیریدیل	سواحل ماین و نیوهمپشیر، امریکا	(۷۵)
آمفیپوروس انگولاتوس	کل بدن	۳- متیل -۳،۲- بی‌پیریدیل	سواحل ماین و نیوهمپشیر، امریکا	(۷۵ و ۷۸)
آمفیپوروس انگولاتوس	جانور زنده	توکسین‌های بی‌پیریدیل	بیان نگردیده	(۸۹)
آمفیپوروس انگولاتوس	کل بدن فریزشده	۳،۲- بی‌پیریدیل، نمرتلین و ۴ مورد ناشناخته	ایستپورت، امریکا	(۶۳)
آمفیپوروس انگولاتوس	کل بدن فریزشده	پیریدیل ناشناخته	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۶۳)
کرونتاتوس امفیپوروس	کل بدن فریزشده	۵ مورد ناشناخته	وودس‌هول، امریکا	(۶۳)
آمفیپوروس لاکتیفلورئوس	کل بدن فریزشده	سه مورد ناشناخته	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۶۳)
آمفیپوروس لاکتیفلورئوس	کل بدن	فعالیت آنابازئین پایین	بیان نگردیده	(۵۲)
آمفیپوروس لاکتیفلورئوس	کل بدن	فعالیت آنابازئین پایین	بیان نگردیده	(۷۰)
آمفیپوروس لاکتیفلورئوس	کل بدن فریزشده	آنابازین	بنگور، ولز، انگلستان	(۶۳)
آمفیپوروس اوکراسئوس	کل بدن	یافت نشد	بیان نگردیده	(۷۰ و ۵۲)
آمفیپوروس اوکراسئوس	کل بدن فریزشده	۵ مورد ناشناخته	وودس‌هول، امریکا	(۶۳)
آرگونمرتس دندنی	کل بدن فریزشده	یک مورد ناشناخته	خلیج تومالس، امریکا	(۶۳)
کارسینونمرتس ارانس	کل بدن فریزشده	یافت نشد	خلیج بودگا، امریکا	(۶۳)
امپلکتونما گراسیل	کل بدن فریزشده	یک مورد احتمالی ناشناخته	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۶۳)
امپلکتونما گراسیل	کل بدن فریزشده	یک مورد ناشناخته	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۶۳)
امپلکتونما نیسی	کل بدن فریزشده	یافت نشد	بنگور، ولز، انگلستان	(۶۳)
فاسیکولونمرتس آرنیکولا	کل بدن فریزشده	۵ مورد ناشناخته	لوس‌مولس، شیلی	(۶۳)
ژئونمرتس پلانتسیس	کل بدن فریزشده	یک مورد ناشناخته	میامی، امریکا	(۶۳)
مالاکوبلا گروسا	کل بدن	یافت نشد	بیان نگردیده	(۵۲)
نیپونمرتس پولچرا	کل بدن فریزشده	یک مورد ناشناخته	هلستینگور، دانمارک	(۶۳)
پارانمرتس پرگرینا	کل بدن	آنابازئین	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۷۱)
پارانمرتس پرگرینا	دیواره پروبوسیس	آنابازئین	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۵۲)
پارانمرتس پرگرینا	پروبوسیس قدامی	آنابازئین	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۵۲)

گونه	نمونه	توکسین	منشاء	منبع
پارانمرتس پریگرینا	پروپوسیس میانی	آنانازئین	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۵۲)
پارانمرتس پریگرینا	پروپوسیس خلفی	آنانازئین	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۵۲)
پارانمرتس پریگرینا	دیواره بافت محیطی	آنانازئین	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۵۲)
پارانمرتس پریگرینا	دیواره بافت محیطی	آنانازئین	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۷۰)
پارانمرتس پریگرینا	بافت مرکزی بدن	آنانازئین پایین	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۵۲)
پارانمرتس پریگرینا	بافت مرکزی بدن	آنانازئین پایین	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۷۰)
پارانمرتس پریگرینا	کل بدن	آنانازئین	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۵۲)
پارانمرتس پریگرینا	کل بدن فریز شده	دو مورد ناشناخته	خلیج بودگا، امریکا	(۶۳)
پروسادونوپوروس کالیفورنیئیس	کل بدن فریز شده	دو مورد ناشناخته	خلیج تومالس، امریکا	(۶۳)
پروستوما گرانسنس	کل بدن فریز شده	احتمالاً آنانازئین	بیان نگردیده	(۷۰ و ۵۲)
تتراستما کاندیدوم	کل بدن فریز شده	یک مورد ناشناخته	وودس هول، امریکا	(۶۳)
تتراستما رتیکولاوم	کل بدن فریز شده	یک مورد ناشناخته	جزیره سان‌جوان، واشنگتن، امریکا	(۶۳)
تتراستما ورکی	کل بدن	آنانازئین	بیان نگردیده	(۷۰ و ۵۲)
زیگونمرتس ویرسنس	کل بدن	یافت نشد	بیان نگردیده	(۷۰)
زیگونمرتس ویرسنس	کل بدن فریز شده	آنانازئین	وودس هول، امریکا	(۶۳)

همچنین، برخی از مطالعات مهم کاوش برای آنانازین و تلاش‌ها برای مشاهده این ترکیبات در کلاس ترکیبات مرتبط با آن در پالئونمرتین‌ها و پیلیدیوفورا در جدول ۴ آورده شده است. همان‌گونه که مشخص است

جدول ۴) مطالعات مربوط به جستجوی آنانازین و ترکیبات مرتبط با آن در کلاس‌های پالئونمرتینه و پیلیدیوفورا				
گونه	نمونه	توکسین	منشاء	منبع
کلاس پالئونمرتینا				
گونه کارینوما	کل بدن	یافت نشد	بیان نگردیده	(۷۰)
کارینوما ترمافوروس	کل بدن فریز شده	گزارش نشد	وودس هول، امریکا	(۶۳)
سفالوتریکس اسپیرالیس	کل بدن	یافت نشد	بیان نگردیده	(۵۲)
راسته هترونمرتینا				
سربراتوس لاکتئوس	کل بدن	یافت نشد	وودس هول، امریکا	(۷۰ و ۵۲)
سربراتوس لاکتئوس	کل بدن فریز شده	یافت نشد	بوستون، امریکا	(۶۳)
لینئوس روبیر	کل بدن	آنانازئین /نمرتین. زیر حد تشخیص	بیان نگردیده	(۵۲)
لینئوس روبیر	کل بدن	آنانازئین /نمرتین. زیر حد تشخیص	سواحل ماین و نیوهمپشیر، امریکا	(۷۰)
لینئوس سانجینئوس	کل بدن	آنانازئین /نمرتین. زیر حد تشخیص	بیان نگردیده	(۷۰ و ۵۲)
لینئوس ویردیس	کل بدن	آنانازئین /نمرتین	بیان نگردیده	(۵۲)
لینئوس ویردیس	کل بدن	آنانازئین /نمرتین	سواحل ماین و نیوهمپشیر، امریکا	(۷۰)
لینئوس ویردیس	کل بدن فریز شده	یافت نشد	وودس هول، امریکا	(۶۳)
میکروا لیدئی	کل بدن	آنانازئین /نمرتین	بیان نگردیده	(۵۲)
میکروا لیدئی	کل بدن فریز شده	یافت نشد	وودس هول، امریکا	(۶۳)
میکروا لیدئی	کل بدن	آنانازئین /نمرتین. زیر حد تشخیص	بیان نگردیده	(۷۰)
پارویسیروس دوبیوس	کل بدن	آنانازئین /نمرتین. زیر حد تشخیص	بیان نگردیده	(۷۰)
سیفوننترون بیکولور	کل بدن	آنانازئین /نمرتین. زیر حد تشخیص	بیان نگردیده	(۷۰)
سیفوننترون بیکولور	کل بدن فریز شده	یافت نشد	وودس هول، امریکا	(۶۳)

تترادوتوکسین (TTX)

توکسین‌های تولید شده توسط میکروارگانیسم‌های دریایی توجه ویژه‌ای را به خود جلب نموده‌اند؛ زیرا ممکن است از طریق زنجیره‌های غذایی به صدف‌های مختلف، ماهی‌ها و سایر ماکروارگانیسم‌ها منتقل گردند. تجمع توکسین‌ها، در این جانوران دریایی می‌تواند آن‌ها را برای مصارف انسانی خطرناک نماید. تترادوتوکسین (TTX)، جداسازی شده با منشاء میکروبی، در سال ۱۹۰۹ در ژاپن توسط تاهارا (Tahara)، اولین توکسین دریایی خالص‌سازی شده و از نظر شیمیایی مورد مطالعه قرار گرفته بود (۲۰). ساختار آن توسط مطالعات کلاسیک وودوارد (Woodward) (۹۰) و دو گروه از دانشمندان ژاپنی تسودا و گوتو (Tsuda & Goto)، در دهه ۱۹۶۰ مشخص گردید (۹۱ و ۹۲). نخستین سنتز نامتقارن TTX در اوایل دهه ۲۰۰۰، توسط اونیابو (Onyabu) انجام گرفت (۹۳). این توکسین در کبد، گنادها و گاهی در پوست ماهی بادکنکی متعلق به خانواده تترادونتیده^{۱۰۵}، تجمع می‌گردد. برخی از ماهی‌های زهرآگین، نظیر تاکی‌فوگو (اسفروئیدس رابریپس)^{۱۰۶}، جهت تهیه غذاهای خوشمزه در رستوران‌های ویژه ژاپن مورد استفاده قرار می‌گیرند و

سالانه مسمومیت‌های مرگباری به دنبال مصارف انسانی آن‌ها رخ می‌دهند. این توکسین ابتدا، تحت عنوان تاریکاتوکسین^{۱۰۷}، در پوست خشن و تازه متعلق به جنس تاریکا^{۱۰۸} و برخی کرم‌های پروبوسیس دریایی (شاخه نم‌رتا)، در حیات دریایی یافت گردید (۹۴ و ۹۵). تترودوتوکسین، در شاخه‌های گوناگون بی‌مهرگان نیز یافت شده‌است. برخی از گونه‌های زهرآگین، نظیر ستاره‌های دریایی، اکتینودرم‌های گونه استروپکتین^{۱۰۹}، از خانواده استروپکتینیده^{۱۱۰}، کرم پیکانی پارازاگیتا الگانس^{۱۱۱}، در شاخه چتوگناتا^{۱۱۲}، و بندپایانی چون برخی خرچنگ‌های خانواده زانتیده^{۱۱۳} از شاخه کروسئاسه^{۱۱۴} و خرچنگ‌های نعل اسبی در خانواده لیمولیده^{۱۱۵} از راسته زیفوسورا^{۱۱۶} نیز حاوی TTX هستند. در شاخه حلزونیان^{۱۱۷}، اختاپوس حلقه آبی نیز دارای TTX در غدد بزاقی خلفی خود بوده‌است. این سفالوپودهای زهرآگین، احتمالاً از این توکسین برای گرفتن طعمه خود استفاده می‌نمایند. تترودوتوکسین، همچنین در شکم پایان دریایی خانواده‌های تروکیده^{۱۱۸}، ناتیسیده^{۱۱۹}، سیماتیده^{۱۲۰}، بورسیده^{۱۲۱}، بوکسینیده^{۱۲۲}

¹⁰⁵ Tetraodontidae¹⁰⁶ *Spheroide rubripes*¹⁰⁷ Tarichatoxin¹⁰⁸ Taricha¹⁰⁹ *Astropecten* spp¹¹⁰ Astropectinidae¹¹¹ *Parasagitta elegans*¹¹² Chaetognatha¹¹³ Xanthidae¹¹⁴ Crustacea¹¹⁵ Limulidae¹¹⁶ Xiphosura¹¹⁷ Mollusca¹¹⁸ Trochidae¹¹⁹ Naticidae¹²⁰ Cymatiidae¹²¹ Bursidae¹²² Buccinidae

ملونژنیده^{۱۲۳}، ناساریده^{۱۲۴} و اولیویده^{۱۲۵} نیز شناسایی گردیده است. صدف‌های نارنجی کارونیا سائولیه^{۱۲۶}، صدف عاجی بابیلونیا ژاپونیکا^{۱۲۷} و گلانس ناسای^{۱۲۸}، ناساریوس^{۱۲۹} (الکتریون) در ژاپن و گونه‌های خاصی از خانواده ناساریده (نظیر نیوتا کلاتراتا^{۱۳۰}، زیوکسیس سیمپلیکوتوس^{۱۳۱} و زیوکسیس سیکوجورنسیس^{۱۳۲} و گونه‌های مرتبط به آن)، در تایوان و چین موجب مسمومیت و حتی مرگ در اثر مصرف آن‌ها گردیده است. سایر بی‌مهرگان حاوی TTX، شامل آنیلدهای سودوپوتامیلا اوکلاتا^{۱۳۳} در خانواده سابلیده^{۱۳۴} از شاخه آنلیده^{۱۳۵}، کرم نواری در خانواده‌های لیئیده^{۱۳۶}، توبولانیده^{۱۳۷} و سفالوتریسیده^{۱۳۸} از شاخه نم‌رتینه و کرم پهن در خانواده پلانوسریده^{۱۳۹} از شاخه پلی‌هلمیتس^{۱۴۰} می‌باشند. مقدار ناچیزی از TTX نیز در جلبک جانیا ادھیرنس^{۱۴۱}، عضوی از خانواده کورالیناسه^{۱۴۲} دیده شده است. علاوه بر این، وقوع TTX و یا اجزای مرتبط با

آن در گونه‌های خاصی از باکتری‌های دریایی نظیر ویبریوها از جمله آلجینولیتیکوس^{۱۴۳} و پاراهمولیتیکوس^{۱۴۴} و گونه‌های ائروموناس از جمله تترادودونیس^{۱۴۵} و گونه‌های شوانلا^{۱۴۶} از جمله آلگا^{۱۴۷} و پوترفاسینس^{۱۴۸}، و همچنین گونه‌های سودوموناس و پلسیوموناس^{۱۴۹} نشان داده شده است (۹۶). اکثر باکتری‌های تولید کننده TTX از ارگانیسم‌های حاوی TTX مانند کبد، تخمدان، پوست، دستگاه گوارش ماهی بادکنکی دریایی، روده ستاره دریایی، توتیای دریایی و خرچنگ زانثیده، غده بزاقی خلفی و سایر قسمت‌های نرم اختاپوس حلقه آبی و جلبک آهکی قرمز دریایی بدست آمده‌اند (۹۷). با کمال تعجب، TTX، در هیچ یک از خزندگان زمینی یا جانوران عالی بالاتر درخت تکاملی، به جز کبد مار معمولی تامنوفیس سیرتالیس^{۱۵۰}، شناسایی نشده است (۹۸).

- 123 Melongenidae
- 124 Nassariidae
- 125 Olividae
- 126 *Charonia sauliae*
- 127 *Babylonia japonica*
- 128 *Glans nassa*
- 129 Nassarius
- 130 *Niotha clathrata*
- 131 *Zeuxis simplicutus*
- 132 *Z. siquijorensis*
- 133 *Pseudopotamilla ocelata*
- 134 Sabellidae
- 135 Annelida
- 136 Lineidae
- 137 Tubulanidae
- 138 Cephalothricidae
- 139 Planoceridae
- 140 Platyhelminthes
- 141 *Jania adhaerens*
- 142 Corallinaceae
- 143 *Vibrio alginolyticus*
- 144 *Vibrio parahaemolyticus*
- 145 *A. tetraodonis*
- 146 *Shewanella*
- 147 *S. alga*
- 148 *S. putrefaciens*
- 149 *Plesiomonas*
- 150 *Thamnophis sirtalis*

این توکسین، از طریق پیوند به جایگاه ۱ دهانه منافذ خارج سلولی (حلقه P بین دامنه V و VI)، در کانال‌های سدیمی دریچه ولتاژ (VGSC) عمل می‌کند. به عبارتی، تترادوتوکسین، وارد وستیبول بیرونی منافذ کانال می‌شود و به بقایای اسید آمینه کنترل کننده نفوذ، پیوند می‌یابد. در نتیجه، هدایت یون سدیم را مهار و پتانسیل‌های عمل در عصب و عضلات را مسدود و موجب اثرات پارالیتیک قوی آن می‌گردد (۹۹). تترادوتوکسین یک ابزار کلیدی برای توصیف کانال‌های یونی و مطالعات بنیادی در عصب‌شناسی به عنوان یک مسدود کننده انتخابی می‌باشد (۱۰۰). پس از کشف مکانیسم عمل مولکولی آن در دهه ۱۹۶۰، این ترکیب در آزمایشگاه‌های نوروفیزیولوژی و فارماکولوژیکی بسیار مفید واقع شده است (۱۰۱) و هنوز هم به‌طور گسترده‌ای به عنوان یک ابزار فارماکولوژی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در کارآزمایی‌های بالینی، اثر ضد دردی آن در زیر دوزهای سمی، در ۵۰ درصد از بیماران مبتلا به دردهای شدید ناشی از سرطان مؤثر بوده است (۱۰۲). سمیت این توکسین، به‌ویژه پس از تجویز داخل وریدی بسیار زیاد است (LD₅₀ ~ ۸ میکروگرم بر کیلوگرم)؛ اما سمیت خوراکی آن ۴۰ برابر کمتر می‌باشد (LD₅₀ ~ ۳۳۰ میکروگرم بر کیلوگرم). علت اصلی مرگ در انسان، فلج دیافراگم و در نتیجه دپرسیون تنفسی است. بیوسنتز TTX روشن نیست، اما مسیرهای باکتریایی و یا همزیستی برای آن پیشنهاد گردیده است (۹۶). با این حال، هیچ روشی برای تولید TTX در محیط‌های پایدار شناخته نشده است (۱۰۳) و گفته می‌شود تولید TTX، برای سنتز تجاری امکان‌پذیر

نیست (۱۰۴). بنابراین، تولید TTX به خالص‌سازی از ماهی بادکنکی وابسته است. استحصال مقدار ۱-۲ گرم TTX از صد کیلوگرم تخمدان‌های ماهی بادکنکی بازده خوبی محسوب می‌شود (۱۰۵). تترادوتوکسین، نقش مهمی در رابطه شکارچی و طعمه، به ویژه در محیط دریایی ایفاء می‌نماید. نشان داده شده است که این توکسین توسط برخی باکتری‌ها به‌ویژه بعضی از سوبه‌های ویبریو آلیجینولیتیکوس و سودوالتروموناس تترادونیس^{۱۵۱} تولید می‌شود. با این حال، شناسایی توکسین در محیط کشت‌های میکروبی پس از تغییر شکل آن به ترکیبات تجزیه شده، با استفاده از روش‌های عمدتاً کروماتوگرافی کاملاً قابل اعتماد نبوده است (۱۰۶). در نتیجه، مباحث مربوط به منشاء تترادوتوکسین در متون هنوز ادامه دارد (۹۶).

میزاوا (Miyazawa) و همکاران، اولین کسانی بودند که وجود TTX را در کرم‌های روبان لینیوس فوسکوویریدیس^{۱۵۲} و توبولانوس پانکتاتوس^{۱۵۳} جمع‌آوری شده از مناطق سواحلی جنوب ژاپن گزارش دادند. روش TLC، حضور TTX را نشان داد و نتایج آن، با استفاده از HPLC و GC-MS مورد تأیید قرار گرفتند. همچنین، اثرات مهلک آن بر روی موش‌ها بر حسب واحد موش^{۱۵۴} (MU)، اندازه‌گیری شدند. یک واحد موش (۱ MU)، برابر با غلظتی است که موجب مرگ یک موش در طی ۳۰ دقیقه می‌گردد. از ۵۶ نمونه، در هر دو گونه، ۳۲ مورد حاوی توکسین‌هایی در محدوده ۵۰۰-۱۰ واحد موش بر گرم (نمترین زنده بودند. همان گروه نشان داد که سفالوتریکس لینیاریس^{۱۵۵}، حدود ده برابر فعال‌تر است (۱۰۷). این

¹⁵¹ *Pseudoalteromonas tetraodonis*

¹⁵² *Lineus fuscoviridis*

¹⁵³ *Tubulanus punctatus*

¹⁵⁴ Mouse Unit

¹⁵⁵ *Cephalotrix linearis*

سمیت مجدداً به TTX نسبت داده شد و پیشنهاد گردید که جایگاه این ترکیبات در پروبوسیس است؛ زیرا قدرت کشندگی آن (واحد موش بر گرم)، تقریباً دو برابر بیش از سایر مناطق بدن است. قدرت موکوس، حدوداً یک چهارم پروبوسیس بود (۱۰۸). بر اساس مطالعات پیشین، ممکن است ترکیبات دیگری نیز در این نتایج نقش داشته باشند. یک مطالعه همزمان توسط نوگوشی (Noguchi) و همکاران، نشان داد که یک توکسین ناشناخته تحت عنوان "ماده شبه تترودونیک اسید"^{۱۵۶}، می‌تواند پیش‌ساز TTX باشد؛ اگرچه، هیچ ساختاری برای آن مشخص نگردید (۱۰۹).

بر اساس مطالعه تاکاتانی (Takatani) و همکاران، مشخص گردید شش مورد از ۳۰ گونه صدف جمع‌آوری شده در جزیره فوکور^{۱۵۷}، ناگازاکی از جولای ۱۹۹۵ تا اکتبر ۱۹۹۶ شامل پکتن آلبیکانس^{۱۵۸} (اسکالوپ)، کلامیس فاریری^{۱۵۹} (اسکالوپ)، سپیفر ویرگاتوس^{۱۶۰} (ماسل)، پینا بیکولور^{۱۶۱}، آرکا بوکاردی^{۱۶۲} و سودوچاما رتروو^{۱۶۳} حاوی توکسین‌های PSP می‌باشند. دو گونه صدف پکتن آلبیکانس و کلامیس فاریری، حاوی مقادیر بالاتر از حد مجاز (۴۰۰ واحد موش بر صد گرم) بودند و فقط غده گوارشی زهری بود. بیشترین مقدار (۳۳۸۰ واحد موش بر گرم)، در پکتن آلبیکانس یافت شد. علاوه بر این، پینا بیکولور

حاوی مقداری بیش از حد مجاز، یعنی ۴۹۰ (واحد موش بر صد گرم) بود. کمترین مقادیر (زیر حد مجاز) در سودوچاما رتروو (۳۲۰)، آرکا بوکاردی (۲۳۰) و سپیفر ویرگاتوس (۲۰۰ واحد موش بر صد گرم)، مشاهده شدند. کرم خزه^{۱۶۴}، حاوی سطوح کمی از توکسین‌های PSP بود که اجزای اصلی آن dcGNTX2 و GNTX2 به همراه dcGNTX3 و GNTX3 بودند که مشخصاً، متفاوت از پروفایل میزبان کلامیس فاریری بود (۱۱۰).

چند سال بعد، آساواکا (Asawaka) و همکاران، مزارع صدف خلیج هیروشیما را از نظر منابع مسمومیت پارالیتیک صدف (PSP) مورد پایش قرار دادند. مطالعه آن‌ها نشان داد کرم هیوموشی^{۱۶۵} (گونه سفالوتریکس)، با چسبیدن به کفه‌های صدف، سمیت فلجی را ایجاد می‌نماید. این امر، به TTX و مشتقات آن‌ها که توسط HPLC و GC-MS مشخص گردیده بود نسبت داده شد (۱۱۱). آنالیزهای HPLC و GC نشان دادند که TTX در گونه‌های دیگری چون لینیوس تورکواتوس^{۱۶۶}، لینیوس البوروستراستوس^{۱۶۷} و نیپونمرتس پانکتاتولا^{۱۶۸} نیز وجود دارد. همچنین، بیان گردید که به نظر نمی‌رسد TTX توسط خود نم‌ترین‌ها سنتز گردد. بنابراین، چگونگی وجود توکسین در این کرم‌ها مورد سؤال بود. تجمع زیستی^{۱۶۹}، نظیر آنچه در

¹⁵⁶ Tetrodonic Acid-Like Substance

¹⁵⁷ Fukue

¹⁵⁸ *Pecten albicans*

¹⁵⁹ *Chlamys farreri*

¹⁶⁰ *Sepifer virgatus*

¹⁶¹ *Pinna bicolor*

¹⁶² *Arca boucardi*

¹⁶³ *Pseudochama retrove*

¹⁶⁴ Mossworm

¹⁶⁵ Himomushi

¹⁶⁶ *Lineus torquatus*

¹⁶⁷ *Lineus alborostratus*

¹⁶⁸ *Nipponemertes punctatula*

¹⁶⁹ Bioaccumulation

فوگو هنگام خوردن کرم‌های نواری حاوی TTX مشاهده می‌شود؛ یک احتمال بود (۱۱۲) با این حال، یک فرضیه نشان می‌دهد که وجود TTX، به دلیل تولید در باکتری‌های کامنسال است. از نظر تئوری، باکتری‌های ویبریو آلژینولیتیکوس، در محتویات روده به عنوان منبع احتمالی TTX شناخته شدند. در مطالعات پیش از این، مک‌اوی (McEvoy) و همکاران و همچنین کارول (Carroll) و همکاران، این ایده را تشریح نمودند که رابطه همزیستی بین باکتری‌های ویبریو و نم‌رتین‌ها، ممکن است احتمال منشاء TTX باشد (۱۱۳ و ۱۱۴). باکتری ویبریو آلژینولیتیکوس از عصاره‌های موکوس اپیدرمی و بافت کامل گونه‌های نم‌رتینی جمع‌آوری شده در خارج از نورث‌ولز (NW)^{۱۷۰}، جداسازی گردیده است. آنالیز طیف سنجی ماوراء بنفش عصاره‌ها و کشت‌های باکتریایی در حضور نمونه‌های نم‌رتین، نشان داد که TTX در بسیاری از این نمونه‌ها وجود دارد. البته با یک نگاه دقیق‌تر به این داده‌ها چنین نتیجه‌گیری غیرقابل پذیرش هستند. مقایسه آنالیز HPLC نمونه‌ها با تترودوتوکسین ماهی بادکنکی، زمان بازداری^{۱۷۱} (RT) متفاوتی را برای نمونه‌ها نشان داد. بر اساس مطالعه استراند (Strand) و همکاران، یک ایده الهام‌بخش برای تولید یک سیستم مداوم TTX، استفاده از کشت ویبریو آلژینولیتیکوس با موکوس لینیوس لانگیسیموس است (۱۱۵). با وجود سمیت آشکار بر خرچنگ سبز کارسینوس مناس^{۱۷۲}، آنالیز کامل این سیستم قادر به شناسایی هیچ مقدار ناچیزی از TTX نگردید. هرچند، در مطالعه استراند و همکاران، مشخص گردید که عملکرد سمی از مخاط ناشی

می‌شود و ارتباطی به حضور باکتری ویبریو آلژینولیتیکوس ندارد (۴۴). این کار، دشواری نشان دادن قطعی حضور مولکول پیچیده TTX را برجسته کرد و این اولین بار نبود که شک و تردید مطرح می‌شد. ماتسومورا (Matsumura)، در مطالعه خود، ادعای تولید TTX در محیط کشت‌های گونه ویبریو را به چالش کشید (۱۱۶). در مطالعه آن‌ها، دو روش استاندارد HPLC-UV و GC-MS استفاده گردید. پیک‌های قابل ملاحظه "TTX" در هر دو روش دیده شدند؛ اما این پیک‌ها در عصاره‌های پلی‌پپتونی و مخمر مورد استفاده در کشت نیز یافت شد. بدیهی است که استفاده تنها از HPLC-UV، ممکن است موجب مشاهده مثبت کاذب TTX گردد. علاوه بر این، روش معمول GC-MS بر پایه هیدرولیز قلیایی شدید استوار است و می‌تواند منجر به یک تولید ترکیب پایه C9 گردد که برای گروهی از ترکیبات مرتبط، مشترک است. سالویتی (Salvitti) و همکاران، نیاز به احتیاط بیشتر در این زمینه را مورد تأکید قرار دادند (۱۱۷). آن‌ها در یک مطالعه، ۱۰۲ سویه باکتریایی جدا شده از لیسه دریایی پلئوروبرانچه ماکولاتا^{۱۷۳} و کرم پهن دریایی گونه استیلوپلانا را که قبلاً محتوای TTX آن توسط خودشان نشان داده شده بود (۱۱۸)، آنالیز نمودند و به موجب آن، هیچ مدرکی برای حضور TTX در این محیط کشت‌ها یافت نگردید (۱۱۷).

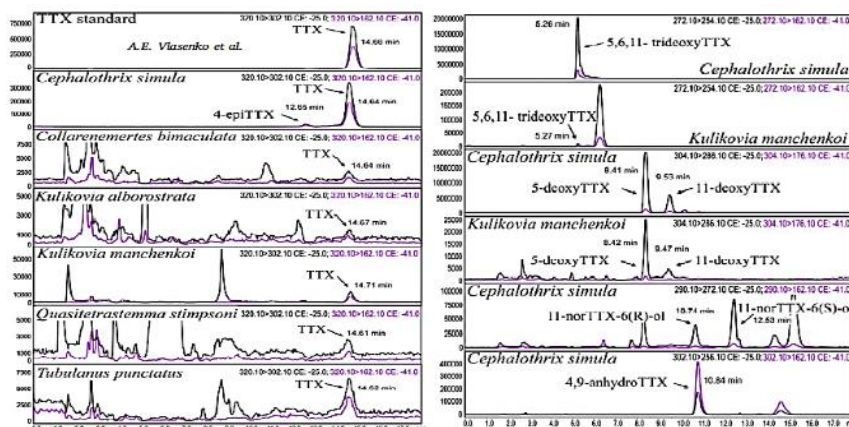
غربالگری محیط کشت باکتریایی، تعدادی از گونه‌های جداسازی شده از نم‌رتا در سال ۲۰۱۷، نشان داد که هوبرچتیلا جولیه^{۱۷۴} و لینیوس آلبروستراتوس حاوی TTX می‌باشند (۶۱). در یک مطالعه، برای شناسایی

170 North Wales

171 Retention time

172 *Carcinus maenas*173 *Pleurobrancheaea maculata*174 *Hubrechtella juliae*

حضور هفت آنالوگ TTX مختلف در عصاره‌های سفالوتریکس سیمولا و سه مورد را در کولیکوویا منچنکوئی^{۱۷۵} نشان داد (شکل ۶). با این حال، حضور خود TTX مشاهده نگردید (۱۲۰).



شکل ۶) کروماتوگرام LC-MS / MS عصاره‌های نم‌ترین‌های جمع‌آوری شده در خلیج پتربکیر (۱۲۰)

نم‌ترین‌های حاوی TTX، از دریای ژاپن یا مجاور آن سرچشمه می‌گیرند. هرچند، در یک گزارش اخیر، آنالیز HPLC-MS/MS کرم سفالوتریکس سیمولای دست آمده کورنوال انگلستان، نشان‌دهنده محتوای TTX و مشتقات آن بود (۱۲۲). اگرچه، منشأ اصلی آن‌ها اقیانوس آرام است ولی به نظر می‌رسد که این گونه‌ها در اروپا نیز در حال شکل‌گیری هستند (۴۸). به همین دلیل، این اولین گزارش مشاهده در انگلستان، غیر متظره نبود. البته می‌توان چنین نیز تفسیر نمود که تجمع جغرافیایی تترودوتوکسین در نم‌ترین‌ها در این مناطق، می‌تواند تابعی از محدود بودن مطالعات در مناطق دیگر و تمرکز مطالعات در این نواحی باشد. برخی از مطالعات ترکیبات مرتبط با TTX در کلاس هاپلومرترتا در راسته مونوستیلیفرا در جدول ۵ آورده شده است.

از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال ضد TTX در چندین قسمت اپیتلیال و روده در گونه سفالوتریکس استفاده گردید (۱۱۹). در یک مطالعه توسط ولاسنکو (Vlasenko) و همکاران، مدارک HPLC-MS/MS،

در مطالعه وون (Kwon) و همکاران، با استفاده از ترکیب روش‌های MALDI-MS با سنجش‌های سمیت سلولی روی فراکشن‌های HPLC به دست آمده از ینینم‌رتس پراتنسیس^{۱۷۶} جمع‌آوری شده از مصب رودخانه هان در کره جنوبی، جرم‌های مختلف مربوط به مشتقات شناخته شده TTX را با سمیت سلولی مرتبط، در فراکشن‌های خاصی یافت نمودند. البته، همبستگی بین این دو ضعیف بود و مجدداً سؤال منشأ فعالیت مطرح گردید (۱۲۱). شواهدی مبتنی بر تجمع TTX، در طیف وسیعی از نم‌ترین‌ها به‌ویژه برای گونه سفالوتریکس جمع‌آوری شده در آب‌های ژاپن و روسیه وجود داشت. اما بسیاری از این مشاهدات، بر مبنای انتخابگری آنتی‌بادی‌های TTX، متکی بودند. برای نویسندگان این مطالعه، مشخص نگردید که می‌توان خطر واکنش‌های متقاطع را به‌طور کامل حذف نمود (۱۲۱). تقریباً به‌طور واضح، نشان داده شده‌است که نمونه‌های کرم

¹⁷⁵ *Kulikovia manchenkoi*

¹⁷⁶ *Yinimermes pratensis*

جدول ۵) برخی از مطالعات ترکیبات مرتبط با TTX در کرم‌های کلاس هاپلومرنا

کلاس هاپلومرنا؛ راسته مونوستیلیفرا				
گونه	نمونه	توکسین	منشاء	منبع
آمفیپوروس لاکتیلورئوس	عصاره تام اسیدی	ترکیب شبه-TTX	ولز، انگلستان	(۱۱۳)
گونه آمفیپوروس	عصاره تام اسیدی	TTX + آنالوگ‌ها	خلیج آکشی، ژاپن	(۶۲)
نیپونمرتس بیاکولانا	عصاره متانولی اسیدی	TTX بسیار کم	خلیج پطر کبیر (روس/ژاپن)	(۱۲۰)
ملکبدلا جاپونیکا	عصاره تام اسیدی	TTX + آنالوگ‌های انیدرو-TTX	خلیج آکشی، ژاپن	(۶۲)
ملکبدلا گروسا	هموژنات بافت کامل - باکتری	فعالیت‌های ضدباکتری. بدون TTX	خلیج پطر کبیر	(۶۲)
نمرتلینا یامانوکای	عصاره تام اسیدی	یافت نشد	خلیج آکشی، ژاپن	(۶۲)
نیپونمرتس پانکتاتولا	عصاره تام اسیدی	TTX، ای -، انیدرو-TTX	خلیج اوتسوچی، ژاپن	(۶۲)
گونه پارانمرتز	عصاره متانولی اسیدی	یافت نشد	خلیج پطر کبیر	(۱۲۰)
کواسیتراستما نیگریفرونس	عصاره تام اسیدی	یافت نشد	خلیج آکشی، ژاپن	(۶۲)
کواسیتراستما استیمپسونی	عصاره تام اسیدی	(TTX و آنالوگ‌ها) آنالیز نشد	خلیج آکشی، ژاپن	(۶۲)
کواسیتراستما استیمپسونی	باکتری از هموژنات بافت کامل	فعالیت ضدباکتری، TTX	خلیج پطر کبیر	(۶۱)
کواسیتراستما استیمپسونی	عصاره متانولی اسیدی	TTX بسیار کم	خلیج پطر کبیر	(۱۲۰)

برخی از مطالعات مربوط به جستجوی TTX و پالئونمرتین‌های کرم‌های روبان در جدول ۶، نشان داده مشتقات آن‌ها در نمونه‌های مختلف کلاس شده است.

جدول ۶) برخی از مطالعات مربوط به جستجوی TTX و مشتقات آن در نمونه‌های مختلف کلاس پالئونمرتین‌های کرم‌های روبان

کلاس پالئونمرتا				
گونه	نمونه	توکسین	منشاء	منبع
سفالوتریکس لینیاریس	پروبوسیس، بدن	شبه‌تترودونیک اسید (TDA، TTX، ای -، انیدرو-TTX	شیمودا، ژاپن	(۱۰۸)
سفالوتریکس لینیاریس	موکوس مترشح	شبه-TDA	شیمودا، ژاپن	(۱۰۸ و ۱۰۹)
سفالوتریکس روفیرونس	عصاره تام اسیدی	ترکیبات شبه-TTX	ولز، انگلستان	(۱۱۳)
سفالوتریکس سیمولا	عصاره تام اسیدی و ایزوله باکتری	در عصاره هیچ کدام-اما TTX در باکتری جداسازی شده	کورنوال، انگلستان	(۱۲۲)
سفالوتریکس سیمولا	عصاره تام اسیدی	TTX، ای -، انیدرو - TTX	خلیج هیروشیما، ژاپن	(۶۲)
سفالوتریکس سیمولا	عصاره تام اسیدی	TTX، ای -، انیدرو - TTX	خلیج آکشی، ژاپن	(۶۲)
سفالوتریکس سیمولا	عصاره تام اسیدی	TTX، ای -، انیدرو - TTX	خلیج اوتسوچی، ژاپن	(۶۲)
سفالوتریکس سیمولا	جدا شده باکتری	گونه باسیلوس - TTX	خلیج پطر کبیر	(۱۲۳ و ۱۲۴)
سفالوتریکس سیمولا	عصاره متانولی اسیدی	هفت مشتق TTX	خلیج پطر کبیر	(۱۲۰)
سفالوتریکس سیمولا	عصاره تام اسیدی و ایزوله شده باکتری	TTX و مشتقات	کورنوال، انگلستان	(۱۲۲)
گونه سفالوتریکس	عصاره تام اسیدی	TTX، ای -، انیدرو - TTX	خلیج هیروشیما، ژاپن	(۱۱۱)
گونه سفالوتریکس	بدن کامل فریز شده	TTX، ای -، انیدرو - TTX	خلیج هیروشیما، ژاپن	(۱۲۵)
گونه سفالوتریکس	بدن کامل متقاطع،	TTX	خلیج هیروشیما، ژاپن	(۱۱۹)
توبولانوس آنولانوس	عصاره تام اسیدی و ایزوله شده باکتری	یافت نشد	کورنوال، انگلستان	(۱۲۲)
توبولانوس پلیمورفوس	بیان نشده	TTX	بیان نشده	(۱۲۶)
توبولانوس پانکتانوس	بدن کامل	انیدرو - TTX	هیروشیما، ژاپن	(۱۰۷)
توبولانوس پانکتانوس	عصاره متانولی اسیدی	TTX بسیار کم	خلیج پطر کبیر	(۱۲۰)

علاوه بر این، چند مطالعه مهم جستجوی TTX و مشتقات آن‌ها در کرم‌های روبان کلاس پیلیدیوفورا در جدول ۷، نشان آورده شده است.

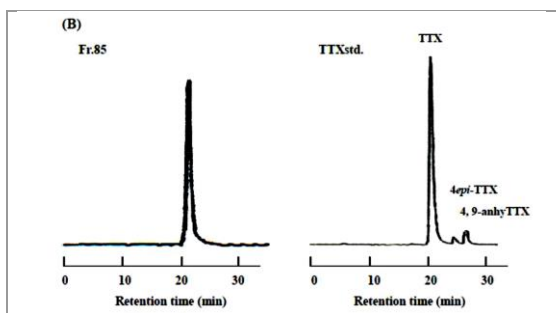
جدول ۷) برخی از مطالعات مربوط به جستجوی TTX و مشتقات آن‌ها در کرم‌های روبان کلاس پیلیدیوفورا				
کلاس پیلیدیوفورا				
گونه	نمونه	توکسین	منشاء	منبع
کلاس پیلیدیوفورا		راسته هترونمرثا		
سربراتورولوس مارژینوس	عصاره متانولی اسیدی	یافت نشد	خلیج پطر کبیر	(۱۲۰)
دوشیا آترا	بیان نشده	TTX	بیان نشده	(۱۲۶)
کولیکوویا البورستراتا	عصاره متانولی اسیدی	TTX بسیار کم	خلیج پطر کبیر	(۱۲۰)
کولیکوویا منچنکوی	عصاره متانولی اسیدی	TTX و سه مشتق آن	خلیج پطر کبیر	(۱۲۰)
لینیوس آلبورستاتوس	عصاره تام اسیدی	TTX، اپی -، انیدرو - TTX	خلیج آکشی (Akkeshi)، ژاپن	(۶۲)
لینیوس آلبورستاتوس	بدن کامل	TTX	خلیج پطر کبیر	(۱۲۷)
لینیوس آلبورستاتوس	باکتری از هموزنات کامل	کشت باکتری برای TTX، اثرات ضد میکروبی	خلیج پطر کبیر	(۶۱)
لینیوس بیلینتاتوس	عصاره تام اسیدی	یافت نشد	خلیج آکشی، ژاپن	(۶۲)
لینیوس فوسکوویریدیس	بدن کامل	TTX، انیدرو - TTX	هیروشیما، ژاپن	(۱۰۷)
لینیوس لانگیسموس	عصاره تام اسیدی و موکوس	ترکیبات شبه - TTX	ولز، انگلستان	(۱۱۳)
لینیوس لانگیسموس	موکوس و کشت‌های ویبریو	ترکیبات کمتر از 5 kDa	انگلستان و سوند	(۴۴)
لینیوس روبیر	عصاره تام اسیدی	ترکیبات شبه - TTX	ولز، انگلستان	(۱۱۳)
لینیوس سانجینتوس	عصاره تام اسیدی	ترکیبات شبه - TTX	ولز، انگلستان	(۱۱۳)
لینیوس تورکواتوس	عصاره تام اسیدی	TTX، انیدرو -، اپی - TTX	خلیج آکشی، ژاپن	(۶۲)
لینیوس ویردیس	عصاره تام اسیدی	ترکیبات شبه - TTX	ولز، انگلستان	(۱۱۳)
میکرورا اکشینسیس	عصاره تام اسیدی	یافت نشد	خلیج آکشی، ژاپن	(۶۲)
میکرورا بلا	عصاره متانولی اسیدی	یافت نشد	خلیج پطر کبیر	(۱۲۰)
میکرورا وریلی	بیان نشده	TTX	بیان نشده	(۱۲۶ و ۱۲۸)
نیپونمرتیکورا اوچیدای	عصاره متانولی اسیدی	یافت نشد	خلیج پطر کبیر	(۱۲۰)
رسیریلوس اوکولاتوس	عصاره تام اسیدی	ترکیبات شبه - TTX	ولز، انگلستان	(۱۱۳)
نینیمرتس پراتنسیس	عصاره اتانولی	TTX + آنالوگ‌ها، مشتقات، جرم ترکیبات سمی	رودخانه هان، کره جنوبی	(۱۲۱)
هوبرچنلا جولایی	باکتری از هموزنات کامل بدن	کشت باکتریایی برای TTX، اثرات ضد میکروبی	خلیج پطر کبیر	(۶۱)

مطالعه سمیت کرم گونه سفالوتریکس توسط آساکاوا و همکاران، نشان داد که تمام نمونه‌ها، حاوی توکسین‌های فلج‌دهنده قوی در موش‌های سوری هستند. همچنین، نشان داده شد که توکسین‌های کرم نواری سفالوتریکس سیمولای چسبیده به صدف‌های پرورشی کراسوستره گیگاس^{۱۷۷} و یا آویزان به قایق‌های شناور به‌دست آمده

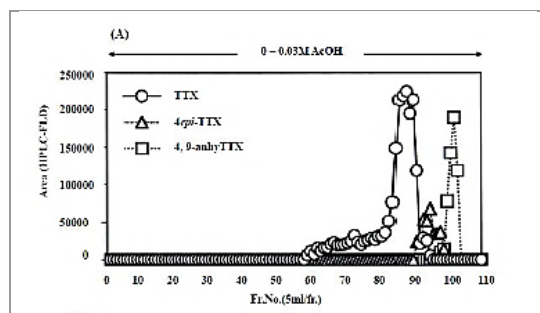
از خلیج هیروشیما، موجب پارالیزی شدید در موش‌ها می‌گردند (۱۲۵). در مطالعه آن‌ها، تزریق داخل صفاقی عصاره استیک اسیدی یک دهم درصدی این کرم‌ها، موجب بی‌قراری، فلج در اندام‌های تحتانی و راه رفتن با لرزش و متعاقباً، گاز گرفتن، پرش و مرگ در موش‌ها گردید. تعداد ۶۱۵ کرم روبان جمع‌آوری گردیدند. تمام

متانول ۸۰ درصد استخراج گردید. سوپرناتانت حاصله با سمیت ۲۸۹۷۰۰۰ واحد موش، چندین بار توسط کلروفرم استخراج شد. لایه آبی (۲۷۵۰۰۰۰ واحد موش)، برای یک ستون ذغال فعال آماده شد و توکسین جذب سطحی شده با اسید استیک یک درصد در اتانول شستشو داده شد. پس از تبخیر حلال شستشو، باقیمانده با سمیت کل ۲۴۳۳۰۰۰ واحد موش؛ سمیت ویژه ۹۹ واحد موش/ میلی گرم، در مقدار کمی آب حل و pH آن با سدیم هیدروکسید یک نرمال در ۵/۵ تنظیم شد. این محلول برای یک ستون Bio-Gel P2 ($\phi 3.5 \times 100\text{cm}$) به کار برده شد. ستون با ۳ لیتر آب شسته و با ۲ لیتر از استیک اسید ۰/۰۳ مولار عبور داده شد. سمیت، منحصراً در فراکشن استیک اسید ۰/۳ مولار دیده شد. بنابراین، این فراکشن، تحت فشار، خشک و تغلیظ شد و باقیمانده (۳۳۰۰ واحد موش/ میلی گرم) در حجم کمی از آب حل گردید. محلول، با استفاده از گرادیان خطی از ۰ تا ۰/۰۳ مولار استیک اسید بر روی یک ستون Bio-Rex 70 ($\phi 1.0 \times 100\text{cm}$, H^+) کروماتوگرافی شد (شکل ۷).

نمونه‌های مورد آزمون، در طول فصل مورد مطالعه دارای سمیت با درجه‌ای بین ۲۵۵۹۳-۱۶۹ واحد موش بر گرم بودند. نسبت‌های حداکثر به حداقل، حدود ۱۵۱؛ به شدت سمی (بیش از ۱۰۰۰ واحد موش بر گرم)، حدود ۸۱ درصد کل نمونه‌ها و بی‌نهایت سمی (بیش از ۲۰۰۰ واحد موش بر گرم)، حدود ۵۳ درصد از کل نمونه‌ها بودند. در مقابل، نسبت نمونه‌های نسبتاً سمی^{۱۷۸} (بین ۹۹۹-۱۰۰ واحد موش بر گرم)، حدود ۱۰۰ درصد بود. هیچ ارتباط آشکاری بین اندازه کرم و سمیت وجود نداشت. نمونه‌هایی با اندازه، زمان و مکان جمع‌آوری مشابه، تغییرات گسترده‌ای را در سمیت نشان دادند. میزان سمیت کل این نمونه تقریباً ۵۶۳۱ واحد موش محاسبه گردید که تقریباً معادل نصف MLD توکسین TTX در انسان (۱۰۰۰۰ واحد موش)، بود. با وجود سمیت زیاد این کرم‌ها، اما هیچ گونه سمیت فلج در صدف‌های آلوده شده با آن‌ها، مشاهده نگردید. برای جداسازی TTX به عنوان مؤلفه سمی اصلی سفالوتریکس سیمولا، حدود ۳۹۰ گرم نمونه کرم روبان با سه حجم از استیک اسید یک درصد در



ب

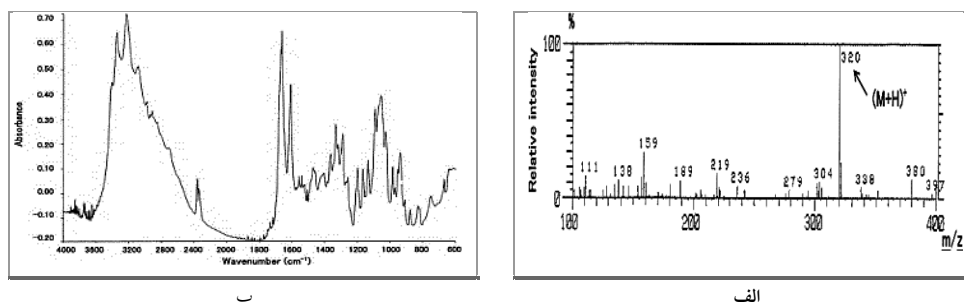


الف

شکل ۷) پروفایل شستشوی کرم سفالوتریکس سیمولا از ستون Bio-Rex 70 با گرادیان خطی صفر تا ۰/۰۳ مولار استیک اسید. (الف): دیاگرام شستشو؛ (ب): توکسین‌های موجود در یکی از فراکشن‌های آن (Fr.85) توسط HPLC-FLD. فراکشن (۸۵) (سمت چپ)، استانداردهای تروودوتوکسین (راست).

وزن مولکولی آن ۳۱۹ تعیین گردید که مطابق با وزن مولکولی گزارش شده برای TTX می‌باشد. باندهای جذبی در ۳۳۵۳، ۳۲۳۵، ۱۶۶۶، ۱۶۱۲ و 1076 cm^{-1} در طیف مادون قرمز این توکسین مشاهده شدند. این طیف از TTX غیر قابل تشخیص بود. در حالی‌که، طیف $^1\text{H-NMR}$ ، برای توکسین کریستاله، شبیه TTX بود (شکل ۸).

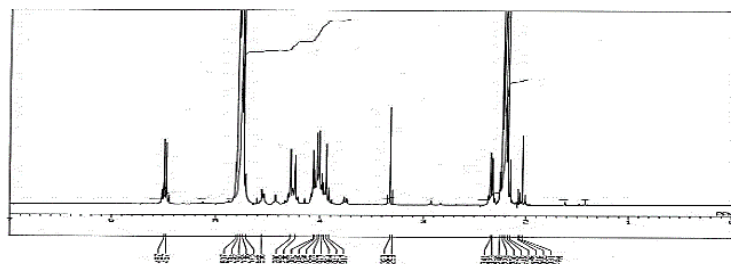
توکسین رکیستاله، سمیت ویژه‌ای در حدود 3520 (MU/mg) را نشان داد. این توکسین، یک پیک بلند یون قوی $(M+H)^+$ در $m/z: 320$ و یک پیک یونی ضعیف از $(M+H-H_2O)^+$ در $m/z: 302$ را با استفاده از اسپکترومتری جرمی یونیزاسیونی الکترواسپری^{۱۷۹} (ESI-MS) نشان داد. این اسپکتروم جرمی، به خوبی با TTX دارای انطباق بود. بدین ترتیب،



شکل ۸) الف: طیف جرمی یونیزاسیون الکترواسپری از توکسین (HMT) جدا شده از کرم روبان گونه سفالوتریکس در خلیج هیروشیما توسط طیف سنج جرمی ESI-MS؛ ب: طیف IR از این توکسین توسط FT-IR، مجهز به میکروسکوپ FT-IR (۱۲۵).

TTX حاصل از TMS-C9 بود. کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی (GC-MS)، حضور اسکلت کینازولینی^{۱۸۱} (C9-base) ویژه TTX، از هیدرولیز بازی این توکسین را نشان داد. طیف $^1\text{H-NMR}$ هیوموشی توکسین، توسط طیف‌سنج رزونانس مغناطیسی هسته و استون به‌عنوان استاندارد داخلی، طیف مربوطه حاصل شد (شکل ۹) (۱۲۵).

در کروماتوگرام جرمی پایش یونی انتخابی^{۱۸۰} (SIM)، با استفاده از مشتقات تری‌متیل‌سیلیل (TMS)، جهت هیدرولیز قلیایی توکسین‌های کرم روبان و آنالیز کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی گازی (GC-MS)، پیک‌های یون فراگمنت جرمی در ۴۰۷ و ۳۹۲، m/z در زمان‌های بازداری ۸/۳۳ و ۸/۳۴ دقیقه ظاهر گردیدند که تقریباً مشابه با نتیجه مشتق پایه



شکل ۹) طیف $^1\text{H-NMR}$ توکسین جدا شده از کرم سفالوتریکس سیمولای خلیج هیروشیما. استفاده از پنج میلی گرم HMT در نیم میلی‌لیتر CD_3COOD یک درصد در D_2O ، برای تعیین طیف $^1\text{H-NMR}$ توسط طیف سنج JNM-500 NMR و استون به‌عنوان استاندارد داخلی (۱۲۵).

¹⁷⁹ Electrospray Ionization-Mass Spectrometry

¹⁸⁰ Selected Ion-Monitored

¹⁸¹ Quinazoline

سربراتولوس توکسین‌ها

گرچه سربراتولوس لاکتیوس، متعلق به یک خانواده بسیار بزرگ هترومرتین لیکنده است و به‌طور گسترده در عرض جغرافیایی آب‌های سرد اقیانوس اطلس و آرام توزیع شده‌اند؛ اما بزرگ‌ترین گونه آن یعنی پاربورلاسیا کوروگاتوس، محدود به قطب جنوب و آب‌های سرد نیمکره جنوبی است. بر اساس مطالعه کم (Kem) و همکاران، نورو توکسین‌های سربراتولوس، با اندازه‌های مولکولی حدود ۶۰۰۰ دالتون، توسط سه پیوند دی‌سولفیدی به هم پیوند یافته‌اند (۷۵). در اوایل دهه ۱۹۷۰، برخی پیشرفت‌ها در شناسایی و تعیین ماهیت نمرتین باک گزارش گردید (۵۲ و ۷۰). با این حال، برای روشن شدن بیشتر ویژگی نمرتین، کم به استخراج و سپس خالص‌سازی چندمرحله‌ای ۱۶۰ نمونه موکوس سربراتولوس لاکتوس پرداخت (۱۳۰). دو فراکشن توسط کروماتوگرافی اندازه طردی^{۱۸۲} بدست آمدند. با توجه به میزان فعالیت سمی آن‌ها، اولین فراکشن حاوی چندین ترکیب تقریباً ۱۱ کیلودالتونی بود. این توکسین‌ها تحت عنوان "سربراتولوس توکسین‌های-A"^{۱۸۳} تعیین گردیدند. فراکشن توکسین-A، برای موش‌ها و همچنین خرچنگ‌ها سمی بود. با وجود سمیت بیشتر، ولی فلج آن شدت کمتری نسبت به مورد فراکشن دوم به نظر می‌رسید. فراکشن دوم که حاوی پروتئین‌های کوچک‌تری بود تحت عنوان "سربراتولوس توکسین‌های-B"^{۱۸۴}، معرفی گردید. توالی‌های بسیار مشابه دو مورد از عمده‌ترین و فعال‌ترین زهر، تحت عناوین B-II و B-IV شناسایی شدند (۱۳۱ و ۱۳۲). هر دو پپتید بسیار بازی و حاوی یک باقیمانده واحد ۴-

با توجه به مطالعات، می‌توان گفت نورو توکسین بسیار قدرتمند تر و دوتوکسین، به‌عنوان یکی از توکسین‌های کرم‌های روبان شناخته می‌شود. بر اساس گزارش‌های موجود، مدارک و شواهد مربوط به شناسایی TTX در کرم‌های روبان، به‌طور قابل ملاحظه‌ای متفاوت هستند. در بعضی موارد، فقط از زمان بازداري HPLC برای تأیید حضور TTX استفاده گردیده است که قطعاً به تنهایی کافی نمی‌باشد. علاوه بر این، مواردی از آنالیزهای بافت‌شناسی بر اساس آنتی‌بادی-TTX نیز به چشم می‌خورد. شواهد قوی‌تری از استفاده HPLC-MS، در ترکیب با GC-MS به جای HPLC با استاندارد داخلی، نیز ارائه شده‌اند. بر اساس گزارش‌های منتشر شده تا سال ۲۰۱۶، می‌توان گفت که کرم‌های روبان کلاس آنوپلا که در آب‌های ژاپن صید شده‌اند؛ به‌طور قطع، حاوی TTX بوده‌اند که البته، می‌تواند تابعی از محدود بودن تلاش‌ها برای جستجوی آن، در مناطق دیگر نیز باشد (۱۲۹).

زهرهای پپتیدی نمرتین‌ها

نمرتین‌ها انواع توکسین‌های پپتیدی را تولید می‌نمایند که فقط تعداد معدودی از آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته‌اند. هترومرتین‌های آنوپلان (نمرتین‌های غیرمسلح)، توکسین‌های پایه پپتیدی با جرم مولکولی کم، نظیر سیتولیزین‌های پپتیدی که تاکنون در هاپلونمرتین‌ها یافت نشده‌اند را با هدف کانال‌های یونی برای تولید پتانسیل‌های عمل ترشح می‌نمایند (۱۱ و ۱۳۰).

¹⁸² Size exclusion

¹⁸³ Cerebratulus A-toxins

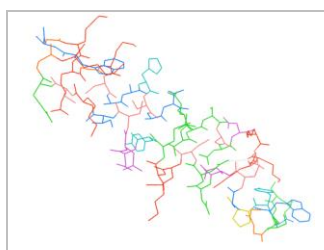
¹⁸⁴ Cerebratulus B-toxins

هیدروکسی پرولین^{۱۸۵} در نزدیکی N- ترمینال بودند. بر خلاف نوروکسین‌های پپتیدی کانال سدیمی عقرب و شقایق دریایی که ساختارهای ثانویه آنها عمدتاً از رشته‌های B- غیرموازی تشکیل شده‌اند، توکسین‌های B، خالی از ساختار ورقه‌ای- B، اما غنی از مارپیچ آلفا بودند.

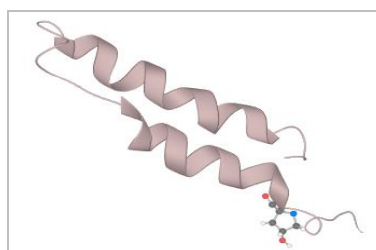
سربراتورولوس نوروتوکسین‌های "B"

نشان داده شده است که توکسین‌های B، برای خرچنگ بسیار سمی است و منجر به تشنج، فلج مداوم و مرگ می‌گردد. چندین مرحله خالص‌سازی گرادپانی کربوکسی

متیل-سلولز، منجر به شناسایی چهار پروتئین اصلی B-I تا B-IV گردید. فرض بر این بود که چهار پروتئین با اوزان مولکولی حدود ۵/۴ (B-I) و ۵/۹ (B-II تا B-IV) کیلودالتون، حاوی شش (B-I) یا هشت (B-II تا B-IV) سیستمین هومولوگ هستند. به نظر می‌رسید که B-II، سمی‌ترین ترکیب باشد (شکل ۱۰)، بنابراین، علیه پروکامباروس کلارکی^{۱۸۶} مورد سنجش قرار گرفت. با این‌وجود، ترکیب B-IV به دلیل در دسترس بودن (B-1: ۷، B-II: ۶، B-III: ۳/۹ و B-IV: ۱۰۱ میلی‌گرم)، مورد توجه بیشتری قرار گرفت.



سربراتورولوس توکسین B-II



سربراتورولوس توکسین B-IV

شکل ۱۰) ساختار شیمیایی سربراتورولوس توکسین‌های B-II و B-IV

عصبی ایزوله در خرچنگ شده بود. همچنین، توکسین B-IV، در غلظت‌های میکرومولار، برخی از لکه‌های تکراری در اعصاب ایزوله خرچنگ را ایجاد نمود. این احتمال وجود دارد که این توکسین، تعدادی از کانال‌های سدیمی را برای تولید پتانسیل‌های عمل عصبی خود به‌خودی فعال نماید که موجب رهاسازی گسترده ناقل عصبی تحریکی در سیناپس عصبی - عضلانی می‌گردد (۷۵).

توالی آمینواسیدهای سربراتورولوس توکسین‌های B-II و B-IV

توالی کامل اولیه B-IV، توسط بلومنتال و کم تعیین (۱۳۱) و سپس توسط گروه بلومنتال اصلاح گردید

گرچه سربراتورولوس B-IV، هنگام تزریق داخل وریدی به موش‌ها، حشرات و حلزون‌ها دارای سمیت قابل ملاحظه‌ای نبود ولی، برای سخت‌پوستان، به‌ویژه خرچنگ‌های آب شیرین بسیار توکسیک بود. این توکسین موجب لرزش و تپش دم در سخت‌پوست گردید. سپس با انقباض گسترده در اندام‌ها و دم، پیشروی نمود و در عرض چند دقیقه فلج انقباضی، منجر به فلج شل و در نهایت مرگ گردید. علاوه‌براین، بیان گردید که سمیت توکسین‌های سربراتورولوس B، از طریق عملکرد آن بر اعصاب سخت پوستان انجام می‌شود. زیرا تترودوتوکسین، به‌طور مؤثری موجب مهار عملکرد B-IV در آماده‌سازی‌های عضلانی -

¹⁸⁵ 4-hydroxyproline

¹⁸⁶ *Procambarus clarkii*

دی سولفیدی بودند. شکل ۱۱، توالی آمینواسیدهای سربراتولوس توکسین های B-II و B-IV را نشان می دهد (۱۳۲).

(۱۳۲). پس از آن، توالی اولیه B-II گزارش شد که نشان دهنده درجه بالایی از همسانی بین دو پپتید (یکسانی ۴۱ اسید آمینه از ۵۵ مورد) بودند. هر دو حاوی هیدروکسی پرولین در موقعیت ۱۰ و چهار پیوند



شکل (۱۱) توالی آمینواسیدهای سربراتولوس توکسین های B-II و B-IV (۱۳۲)

کانال های سدیمی وابسته به ولتاژ یا کانال های پتاسیمی باشد. در یک مطالعه توسط لیبرمن (Lieberman) و بلومنتال، تلاش گردید که B-IV با آزیدوسالیسیلیک اسید I¹⁸⁸ ۱۲۵ (ASA) کونژوگه گردد و پس از آن، این مشتق به ترتیب با وزیکول های آکسونی و عضلانی لابستر هوماروس ولگاریس^{۱۸۹} انکوباسیون و به طور فتوشیمیایی به گیرنده متصل گردد. پس از الکتروفورز SDS-PAGE، باندهای اصلی برای دو تیمار، با جرم های مولکولی ۴۰ و ۳۸ کیلودالتون با زیر واحدهای $\beta 1$ و $\beta 2$ کانال های سدیمی پستانداران مطابقت داشتند. براین اساس، نویسندگان اظهار داشتند که ممکن است پیوند در این مؤلفه های کانال سدیمی اعصاب لابستر اتفاق افتاده باشد (۱۳۷). مطالعات دقیقی در مورد ساختار سه بعدی B-IV انجام شده است. کم و همکاران، با استفاده از دی کرویسیم چرخشی^{۱۹۰} (CD) و طیف سنجی رامان، نشان دادند که B-IV دارای محتوای بالایی از مارپیچ α - (۴۹-۷۸ درصد)، بدون صفحه بتای

به موازات آن، ویژگی های ساختاری مرتبط با فعالیت B-IV مشخص شد. نشان داده شد که نیتراسیون تیروزین-۹ بدون ایجاد هرگونه اختلال اساسی در ساختار ثانویه، تقریباً به طور کامل فعالیت سمیت را در پروکامباروس کلارکی از بین می برد (۱۳۳). همچنین، از طریق واکنش با ۲-هیدروکسی-۵-نیتروبنزیل برمید (HNB)، نشان داده شد که Trp-30، برای فعالیت بسیار مهم می باشد (۱۳۴). کاهش دی سولفیدها ساختاری را ایجاد نمود که فعالیت خود را بر روی پروکامباروس کلارکی از دست می داد و احیاء فعالیت را تجدید می نمود (۱۳۵). در تلاش برای شناسایی گیرنده هدف، توث (Toth) و بلومنتال از فراکشن های خالص سازی شده با سوکروز گرادینانی، بر بافت عصبی خرچنگ هوماروس آمریکوس^{۱۸۷} استفاده نمودند (۱۳۶). فعالیت فارماکولوژیکی B-IV، با اثرات بر روی کانال های یونی در غشای عصبی سازگار بود. پیشنهاد گردید که این عمل احتمالاً به دلیل اثرات آن روی

¹⁸⁷ *Homarus americanus*

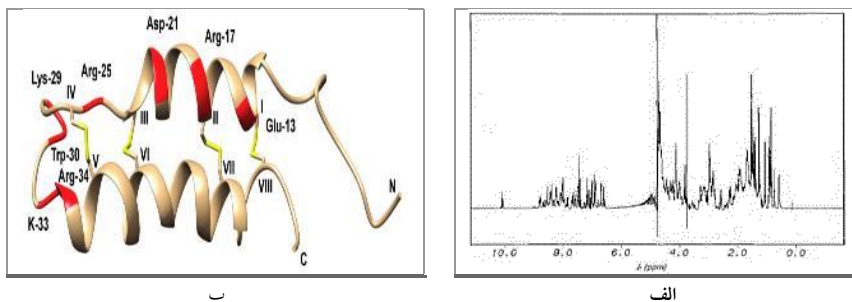
¹⁸⁸ I-azidosalicylic acid

¹⁸⁹ *Homarus vulgaris*

¹⁹⁰ Circular dichroism

تأیید شد نشانگر حضور دو α -مارپیچ ترکیبی از بقایای ۱۳-۲۶ و ۳۳-۴۹ و یک ساختار شبه‌مارپیچ در پنج باقیمانده C-ترمینال بود؛ در حالی که بنظر می‌رسید باید یک N-ترمینال نامنظم باشد (شکل ۱۲)(۱۳۹).

قابل ملاحظه‌ای هستند. همچنین، ساختار ثانویه B-IV محاسبه شده با استفاده از CD با توالی پیش‌بینی شده، مشابهت داشت (۱۳۸). این ویژگی که پس از آن توسط هانسن (Hansen) و همکاران، با استفاده از $^1\text{H-NMR}$



شکل ۱۲ الف: طیف $^1\text{H-NMR}$ یک‌بعدی در ۵۰۰ مگاهرتز توکسین B-IV (۱۳۹). ب: ساختار ^1NMR توکسین (B-IV) شناسه RCSB: VIB (۱۴۰)؛ رنگ قرمز: بقایای مهم برای فعالیت؛ عدد رومی: بقایای Cys؛ رنگ زرد: پیوندهای دی‌سولفیدی

که پپتید حاصل، کاملاً فعال است. با استفاده از روش نوترکیب، یک سری جهش‌ها از Met-B-IV ایجاد گردید که در آن آلانین‌های N-ترمینال (۳ و ۸)، با سرین یا گلیسین جایگزین شدند. جهش مضاعف، کمی فعال‌تر از شکل والدین خود بود (۱۴۲). ون (Wen) و بلومتال در دو مطالعه خود، یک سری اصلاحات را در ساختار نوترکیب انجام و تأثیر آن‌ها را مورد بررسی قرار دادند (۱۴۳ و ۱۴۴). مطالعات گسترده نورو توکسین B-IV، توسط بلومتال و همکاران، درک مفصلی از ویژگی‌های ساختاری که برای فعالیت بسیار مهم هستند را فراهم نمود. نشان داده شد آرژینین-۱۷، یک اسید آمینه کلیدی برای فعالیت است که با جایگزینی توسط گلیسین، آلانین یا لیزین از بین می‌رود. به همین ترتیب، هنگام جایگزینی آرژینین-۲۵ توسط گلیسین، فعالیت آن از بین می‌رود. در حالی‌که، جایگزینی با لیزین، تغییری در فعالیت حاصل نمی‌گردد. تریپتوفان در

بارنام (Barnham) و همکاران، ساختار موین مارپیچ کاملاً شناخته شده در محلول را با استفاده از یک $^1\text{H-NMR}$ ششصد مگاهرتزی مورد تأیید قرار دادند (۱۴۰). نشان داده شد که دو قطعه طویل α -مارپیچ موجود در موقعیت‌های ۱۱-۲۳ و ۳۴-۴۹، توسط یک حلقه متشکل از دو چرخش گاما^{۱۹۱} و یک بتا-چرخش^{۱۹۲} معکوس به هم اتصال می‌یابند و منطقه حدود بقایای ۱۱-۴۹، یک ساختار مارپیچی نسبتاً تند منحصر به فرد را تشکیل می‌دهد (۱۴۰). محصول نوترکیب اولین بار توسط هاول (Howell) و بلومتال در سال ۱۹۸۹ گزارش شد. پپتیدی تحت عنوان B-IV طبیعی تاشو، تنها با تفاوت در یک متیونین اضافی در N-ترمینال و جایگزینی هیدروکسی‌پرولین-۱۰ با پرولین، با سمیت ویژه ۳۵-۴۰ درصد نسبت به فرم طبیعی آن ایجاد گردید. (۱۴۱). کدون اضافی برای متیونین در مطالعه بعدی حذف گردید و نشان داده شد

¹⁹¹ Gamma-turns

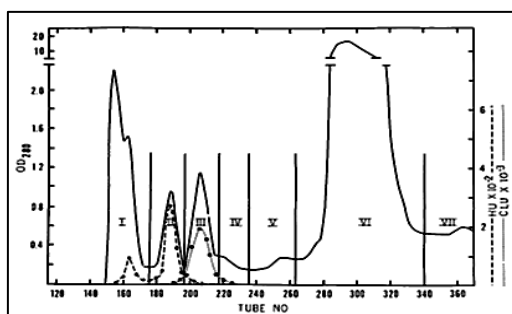
¹⁹² Beta-turn

موقعیت ۳۰ را می‌توان با سایر اسیدهای آمینه آروماتیک، بدون از بین رفتن فعالیت، جایگزین نمود. در حالی که، جایگزینی با سرین، منجر به کاهش ۴۰ برابری فعالیت آن می‌گردد. همچنین دیده شد که برخی از اسیدهای آمینه دارای بار مثبت نیز از نظر فعالیت از اهمیت بالایی برخوردارند (۱۴۳). نتایج قابل توجهی در مورد برخی زنجیره‌های جانبی اسید آمینه، در عملکرد سمیت توکسین B-IV موجود است. مطالعات اولیه با استفاده از یک روش اصلاح شده شیمیایی، روی برخی بقایای آروماتیک (۲-تیروزیل‌ها، ۲-تریپتوفانیل‌ها)، متمرکز گردید. با دستکاری در شرایط واکنش‌ها، امکان برجسب‌گذاری این بقایا امکان‌پذیر گردید که قبلاً توسط نیتراسیون (۱۳۳) و سپس آلکیلاسیون انجام پذیرفته بود. با سنجش زیستی نمونه‌های توکسین در درجه‌های مختلف مدیفیکاسیون، مشخص گردید که Tyr9 و Trp30 احتمالاً در اتصال گیرنده دخیل هستند و سمیت آن، بدون تغییرات در ساختار ثانویه به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (۱۳۳). بعضی از زنجیره‌های جانبی دخیل در سمیت B-IV شامل زنجیره‌های جانبی گوانیدینیل از آرژینین‌های ۱۷، ۲۵ و ۳۴ و زنجیره‌های جانبی آروماتیک Tyr 9 و Trp 30 بودند. مطالعات دیگری از این نوع جهش‌ها و تأثیر آن‌ها در فعالیت‌های بیولوژیک انجام گردیده است که در مطالعه گورانسون (Göransson) و همکاران، به خوبی با برخی مطالعات پیشین مقایسه گردیده‌اند. در یک جمله، می‌توان بیان نمود که گروه بلومنتال و همکاران،

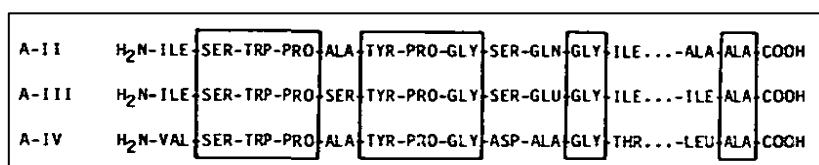
پیشرو مطالعات در زمینه جهش‌ها و اصلاحات در نوروتوکسین B-IV و تأثیر آن‌ها در فعالیت‌های بیولوژیک بودند (۱۳۳-۱۳۵ و ۱۴۵).

سربراتورولوس توکسین‌های A-

آزمون‌های اولیه روی اولین فراکشن کروماتوگرافی اندازه طردی، بر روی زهر ناخالص انجام و عمل لیزکنندگی سلولی توکسین A - مشخص گردید (۱۳۰). در مطالعه بعدی توسط کم و بلومنتال، خالص‌سازی نسبی توکسین (A-I) و کامل توکسین‌های (A-II تا A-IV) حاصل شدند و پپتیدها برای مطالعات ساختاری و نیز فعالیت‌های آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفتند. شکل ۱۳، جداسازی سیتوتوکسین‌ها و نوروتوکسین‌های سربراتورولوس با استفاده از سفادکس G5۰ را نشان می‌دهد. تعیین توالی نهایی با تخریب N-ترمینال ادمن انجام شد. همسانی شیمیایی (یکسانی هفت موقعیت از ۱۲ مورد)، از نتایج این مطالعه بود. همچنین، آنالیز اسیدهای آمینه، مقدار بسیار بالای لیزین و حضور سه (در A-II و A-III)، یا چهار (در A-IV) پیوند دی‌سولفیدی را نشان داد (۱۴۶). شکل ۱۴، مقایسه توالی آمینواسیدهای سربراتورولوس توکسین‌های A-II، A-III و A-IV را نشان می‌دهد (۱۴۶).



شکل ۱۳) جداسازی سیتوتوکسین‌های سربراتولوس (فراکشن‌های I و II) و نورو توکسین‌ها (فراکشن III)، توسط سفادکس ۵۰. فعالیت‌های ویژه فراکشن‌ها به صورت واحدهای همولیتیک (HU) و واحدهای مهلک خرچنگ (CLU) نمایش داده شده است (۱۴۷).



شکل ۱۴) مقایسه توالی آمینواسیدهای سربراتولوس توکسین‌های A-II، A-III و A-IV (۱۴۶).

یون‌های تک‌ظرفیتی و دوظرفیتی موجب مهار همولیز به دلیل مهار خودبخودی A-III، در مطالعه آن‌ها گردید (۱۴۷). کو (Kuo) و همکاران، نشان دادند که توکسین A-IV، موجب مهار پروتئین کینازهای وابسته به کلسیم می‌گردد (۱۴۸). بیشتر تلاش‌های بعدی، بر روی توکسین A-III متمرکز گردید. توالی اولیه کامل (۱۴۹) و متعاقباً پیوند دی‌سولفیدی آن (۱۴۵) تعیین گردیدند. بر اساس مطالعه توکسین A-III-لیپوزوم بلومنتال، انتهای N-ترمینال، نقش مهمی در ورود پپتید به غشاء دارد (۱۵۰). این کار با مطالعات انتشار روی لیپوزوم‌های حاوی-DOPC ادامه یافت که نشانگر رهاسازی وابسته به غلظت توکسین A-III از مارکرهای کوچک مولکولی بود (۱۵۱). یک محتوای بالایی از α -مارپیچ در این مطالعات پیشنهاد شد. مطالعه دومونت (Dumont) و بلومنتال، بر روی این پپتید با استفاده از CD، نشان داد توکسین A-III حاوی ۳۷ درصد α -مارپیچ و ۱۴ درصد ساختار ورقه‌ای است. تعیین LD₅₀ توکسین‌های

در این مطالعه نشان داده شد که شکاف آنزیمی، فعالیت سیتولیتیک را چهار برابر کمتر از پپتیدهای اولیه نشان می‌دهد. بنابراین، پیشنهاد داده شد که توالی مارپیچ C-ترمینال، برای فعالیت لیتیک دارای اهمیت زیادی است. هر چند که این فعالیت، از مطالعه پیشین این گروه تحقیقاتی با استفاده از توکسین خالص شناخته شده بود. علاوه بر این، تعدادی از آزمون‌ها انجام شده بود که برجسته‌ترین نتیجه آن، فعالیت همولیتیک توکسین A-III، روی اریتروسیت‌های انسانی (۵۰/۳) HC₅₀ میکرومول بر لیتر) بود (۱۴۶). در مطالعه پوسنر (Posner) و کم، اثرات قلبی توکسین A-III بر روی فیبرهای پورکنز قلبی سگ‌سانان مورد بررسی قرار گرفت. مواجهه مختصر در غلظت‌های زیر غلظت لیزکنندگی، منجر به دیلاریزاسیون برگشت‌پذیر غشاء و افزایش کلسیم موجب کاهش این اثر گردید. غلظت بیش از ۲ میلی‌گرم در لیتر، موجب آسیب غیر قابل برگشت سلول شد. به‌طور خلاصه، غلظت بالای

A-II تا A-IV بر روی خرچنگ‌های آب شیرین و فیدلر، مقادیری بین ۰/۱ تا ۰/۵ و همچنین در موش نیز بین ۱/۵ - ۲/۸ میلی گرم در کیلوگرم را نشان داد (۱۵۲). بلومنتال و همکاران، مکانیسم فعالیت همولیتیک توکسین A-III را در یک سری مطالعات مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج، توکسین A-III فرم‌های تترامری را در غشاء تشکیل می‌دهد، ساختاری که توسط پیوند اولئیک اسید در جایگاه‌های ویژه‌ای از پپتیدها پشتیبانی می‌شود (۱۵۳-۱۵۵).

فلوئورسانس توکسین‌ها^{۱۹۳}

یک توکسین پروتئینی فلورسنت، در مخاط پوست پلیکنه دریایی یولالیا ویردیس^{۱۹۴}، در ساحل صخره‌ای پرتغال یافت گردید که دارای ویژگی‌های توکسیکولوژی و فتوشیمیایی برجسته‌ای بود (۴۵). بر اساس مطالعه رودریگو (Rodrigo) و همکاران، یولالیا حاوی ترکیب جدیدی است که دارای پتانسیل‌های مختلف بیوتکنولوژی می‌باشد. توانایی پیوند توکسین با گروه خاصی از لیگاندها، و عمل سریع به‌عنوان یک نشانگر فلورسنت، قادر است با تعدیل وضعیت ردوکس، بصورت روشن/خاموش درآید که این ویژگی می‌تواند در موارد استفاده بیوتکنولوژی، سهم به‌سزایی داشته باشد (۴۵). در مطالعه مشابه دیگری، فانگ (Fang) و همکاران، نشان دادند که بافر فسفات در نمونه‌های خام و خالص، موجب افزایش میزان نشر در ۴۰۰ نانومتر می‌شود. علاوه بر این، به دلیل سمیت بالای شناخته شده آن بر رده‌های سلولی سرطان پستان آدنوکارسینومای انسانی MCF7، با میزان IC_{50} (۰/۱۵۴) $\pm$ ۴ میکرومولار،

می‌تواند به‌عنوان یک کاندید عامل ضد توموری باشد (۱۵۶). آن‌ها در مطالعه پیشین خود نیز بیان نموده بودند که این کرم، ماده‌ای را در فرم احیاء با خاصیت فلورسانس، ترشح می‌نماید. عصاره‌های خام این کرم، دارای پیگمان‌هایی هستند که جذب نور ماوراء بنفش، موجب رنگارنگی در آن‌ها می‌گردند (۱۵۷). خاصیت سمیت سلولی پروتئین‌های خالص موکوس و همچنین، فلورسانس طبیعی تحت شرایط ردوکس، پتانسیل بیوتکنولوژیکی خوبی را از این کرم‌ها نشان داده است (۱۵۸). همچنین، پلیکنه توبولیک چاتوپتروس^{۱۹۵} مخاط فلورسنتی تولید می‌کند که این خاصیت با عوامل اکسید کننده و برخی فاکتورهای دیگر چون دما تعدیل می‌شود (۱۵۹).

پاربورلازیا توکسین‌ها^{۱۹۶}

در سال ۱۹۹۱، هین (Heine) و همکاران، نتایج مطالعات چند جانبه‌ای را در مورد پاربورلازیا کوروگاتوس، به‌عنوان یک شکارچی و صیاد برتر در قطب جنوب گزارش دادند. تست سمیت سلولی عصاره‌های آبی کامل بدن (۳ درصد)، کشندگی اسپرماتوزوای توتبای استرچینوس نیومایری^{۱۹۷} دریاچه قطب جنوب را نشان داد. علاوه بر این، آزمون‌های تغذیه‌ای، بازدارندگی قابل توجهی را هم برای دیسوستیکوس ماوسونی کود^{۱۹۸} قطب جنوب و هم برای ماهی تراماتوموس برناچی^{۱۹۹} نشان داد. تعیین یا شناسایی توکسین‌ها، مورد بررسی قرار نگرفتند (۱۶۰). در بررسی بعدی اظهار شد که این کرم دارای یک "نوروپپتید

¹⁹³ Flourence toxin

¹⁹⁴ *Eulalia viridis*

¹⁹⁵ *Chaetopterus*

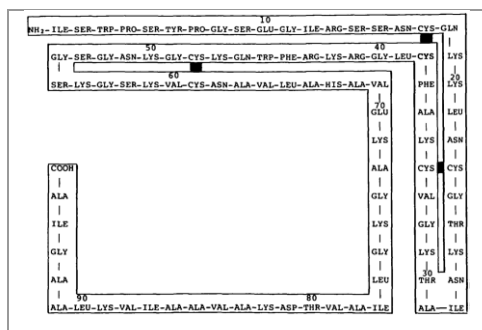
¹⁹⁶ *Parborlasia Toxins*

¹⁹⁷ *Sterechinus Neumayeri*

¹⁹⁸ *Dissosticus mawsoni*

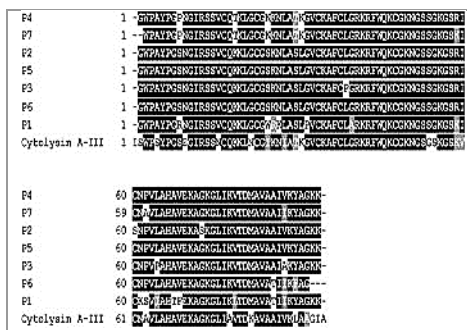
¹⁹⁹ *Trematomus bernacchi*

تراز توالی ۲۵ اسید آمینه‌ای اول پروتئین، تحت عنوان "پاربورلین" ۲۰۱ شهرت یافت که با سربراتولوس سیتولیزین A-III، همسانی ۷۰ درصدی را نشان داد (شکل ۱۵). با این حال، برخی اختلافات مشهود بودند. لیز اریتروسیت توسط سربراتولوس توکسین-A، نسبت به کلسیم حساس بود اما اثر پاربورلین با کلسیم نسبت عکس داشت. بعدها، توالی پاربورلین با طول کامل توسط بوتالا (Butala) و همکاران، گزارش گردید (۱۶۳). تأثیر عمیق بیولوژی مولکولی موجب پیشرفت تحقیقات بر روی توکسین‌های نم‌رثا گردید. تعداد محدودی از مطالعات از روش‌های ژنومی برای کشف توکسین‌های جدید پپتیدی استفاده نموده بودند؛ مانند آنچه در مطالعات بوتالا و همکاران، منجر به کشف توالی‌های بیشتر پاربورلین گردید (۱۶۳).



ب

توکسین قوی^{۲۰۰} است (۱۶۱). در مطالعه برن (Berne) و همکاران، موکوس یخ‌زده پاربورلاسیا کوروگاتوس مورد آنالیز شیمیایی قرار گرفت. این مطالعه شامل کروماتوگرافی اندازه طردی مخاط لیوفیلیزه و پس از آن فراکشن‌گیری با HPLC، توسط یک ستون هیدروکسی آپاتیت بود (۱۶۲). فراکشن‌های همولیتیک با استفاده از گروماتوگرافی روی ستون‌های C₄ و C₁₈ با گرادیان MeCN/H₂O به‌دست آمدند. یک فراکشن، نسبت به گلبول‌های قرمز دارای فعالیت همولیتیک بود. آنالیز الکتروفورز و متعاقب آن آنالیز با MALDI-TOF، حضور دو یون، یکی در ۱۰۳۲۴ دالتون و دیگری با برجستگی کمتر در ۱۰۹۷۷ دالتون را نشان داد. توالی N- ترمینال ادمن، یک توالی نسبی N- ترمینال را فراهم نمود که نشان از وجود ایزوتوکسین‌ها داشت؛ اما نویسندگان قادر به تفکیک این ترکیبات نبودند.

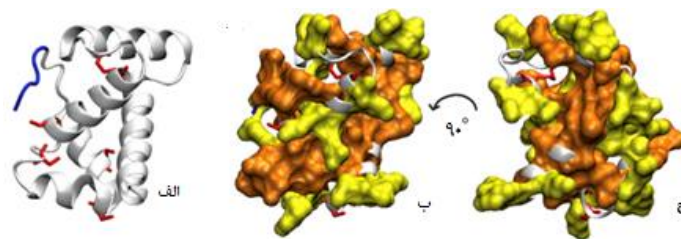


الف

شکل ۱۵) الف: تراز توالی اسید آمینه ایزوفرم‌های پاربورلین (P1-P7) و سیتولیزین A-III سربراتولوس لاکتئوس. اسیدهای آمینه یکسان به رنگ سیاه و بقایای با خصوصیات فیزیکوشیمیایی مشابه به رنگ خاکستری (۱۶۳)؛ ب: ساختار کووالانسی سیتولیزین A-III بر اساس بلومنتال (۱۹۸۰) (۱۳۴)

۱۰ تا ۱۰/۴ بودند. یک ساختار پیشنهادی با استفاده از توالی ab initio مدل‌سازی و یک پپتید کروی با ساختار ثانویه صرفاً تشکیل شده از مارپیچ‌های آلفا، پیشنهاد گردید. مدل سه بعدی ایزوفرم پاربورلین ۱ در شکل ۱۶، نشان داده شده است.

با تقویت و تعیین توالی PCR، شش پاربورلین دیگر مشخص شدند که به موجب آن، همه به‌جز یک مورد حاوی شش سیستئین، پیشنهاد سه دی‌سولفید در ساختار داده شدند. پپتیدها، همه در محدوده ۱۰۱۰-۹۴۰۰ دالتون با یک pI محاسبه شده در فاصله



شکل ۱۶) مدل سه بعدی ایزوفریم پارابولیزین ۱ (الف): ساختار پیش بینی شده ایزوفریم پارابولیزین ۱ به رنگ سفید و ناحیه N-ترمینال در نمایش روبان به رنگ آبی و بقایای به رنگ قرمز نشان داده شده است. (ب): جهت گیری مدل پارابولیزین مشابه پانل الف (ج): یک جهت گیری ۹۰ درجه نسبت به جهت گیری "ب". در هر دو شکل (ب و ج)، سطوح آبرگری، نارنجی رنگ و بقایای باردار آن زرد رنگ است (۱۶۳).

جدول ۸، برخی از مطالعات مربوط به شناسایی پارابولیزین ها و یا هومولوگ های آن ها در گونه های مختلف کرم های نمرتینه را نشان می دهد.

جدول ۸) برخی از مطالعات مربوط به شناسایی پارابولیزین ها و هومولوگ های این توکسین ژن در گونه های مختلف کرم های نمرتینه			
گونه	هومولوگ توکسین ژن	عملکرد پیشنهادی	منبع
پاربولازیا کوروگاتوس	پاربولیزین-۴	احتمال تشکیل منافذ، همولیتیک	(۱۶۳)
پاربولازیا کوروگاتوس	پاربولیزین-۵	احتمال تشکیل منافذ، همولیتیک	(۱۶۳)
پاربولازیا کوروگاتوس	پاربولیزین-۶	احتمال تشکیل منافذ، همولیتیک	(۱۶۳)
پاربولازیا کوروگاتوس	پاربولیزین-۷	احتمال تشکیل منافذ، همولیتیک	(۱۶۳)
سربراتولوس مارژیناتوس	پاربولیزین / هومولوگ ۱ سیتوتوکسین (Locus-۹۷۷۸)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
سربراتولوس مارژیناتوس	پاربولیزین / هومولوگ ۲ سیتوتوکسین (Locus-۹۷۷۸)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
هوبرچتلا ایچیمای	پاربولیزین / هومولوگ ۳ سیتوتوکسین (Locus-۴۰۸۳۰)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لاکتوس a	پاربولیزین / هومولوگ ۴ سیتوتوکسین (comp1۷۱۹۹)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لاکتوس a	پاربولیزین / هومولوگ ۵ سیتوتوکسین (comp۵۵۵۸۲۱)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لاکتوس a	پاربولیزین / هومولوگ ۶ سیتوتوکسین (contig۱۴۶۳)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لاکتوس a	پاربولیزین / هومولوگ ۷ سیتوتوکسین (comp۱۶۲۹۸)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لاکتوس a	پاربولیزین / هومولوگ ۸ سیتوتوکسین (comp۹۲۲۶)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لاکتوس a	پاربولیزین / هومولوگ ۹ سیتوتوکسین (contig۴۶۰۵۵)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لانگیسیموس	پاربولیزین / هومولوگ ۱۰ سیتوتوکسین (comp۴۵۲۵۸)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لانگیسیموس	پاربولیزین / هومولوگ ۱۱ سیتوتوکسین (comp۴۸)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لانگیسیموس	پاربولیزین / هومولوگ ۱۲ سیتوتوکسین (contig۲۱۷۰۲)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لانگیسیموس	پاربولیزین / هومولوگ ۱۳ سیتوتوکسین (contig۴۹۱۲۹)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لانگیسیموس	پاربولیزین / هومولوگ ۱۴ سیتوتوکسین (comp۱۷۸۲۳/۱۷-۱۳۴)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لانگیسیموس	پاربولیزین / هومولوگ ۱۵ سیتوتوکسین (contig۳۱۷۴۸)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لانگیسیموس	پاربولیزین / هومولوگ ۱۶ سیتوتوکسین (comp۱۷۸۲۳/۱۷-۱۴۷)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لانگیسیموس	پاربولیزین / هومولوگ ۱۷ سیتوتوکسین (comp۱۷۸۲۳/۱۷-۱۴۵)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس لانگیسیموس	پاربولیزین / هومولوگ ۱۷ سیتوتوکسین (contig۵۶۸۱۵)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس روبر	پاربولیزین / هومولوگ ۱۸ سیتوتوکسین (comp۵۲۳۹۲)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس روبر	پاربولیزین / هومولوگ ۱۹ سیتوتوکسین (contig۶۳۹۹۶)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس روبر	پاربولیزین / هومولوگ ۲۰ سیتوتوکسین (contig۲۲۳۴)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس روبر	پاربولیزین / هومولوگ ۲۱ سیتوتوکسین (comp40150/seq2)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس روبر	پاربولیزین / هومولوگ ۲۲ سیتوتوکسین (comp 40150 seq2)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس سانجینیوس	پاربولیزین / هومولوگ ۲۳ سیتوتوکسین (contig۲۱۵۲۷)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
لینیوس سانجینیوس	پاربولیزین / هومولوگ ۲۴ سیتوتوکسین (contig۶۱۴۴۵)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)

گونه	هومولوگ توکسین ژن	عملکرد پیشنهادی	منبع
رامفوگوردیوس سودولاکتئوس b	پاربولیزین / هومولوگ ۲۵ سیتوتوکسین (contig۲۰۷۳)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
رامفوگوردیوس سودولاکتئوس b	پاربولیزین / هومولوگ ۲۶ سیتوتوکسین (contig۶۵۴۱)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
ریسریرلوس اوکولتئوس	پاربولیزین / هومولوگ ۲۷ سیتوتوکسین (Locus-۸۴۷۵)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
ریسریرلوس اوکولتئوس	پاربولیزین / هومولوگ ۲۸ سیتوتوکسین (Locus-۳۹۴۱۰)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)
ریسریرلوس اوکولتئوس	پاربولیزین / هومولوگ ۲۹ سیتوتوکسین (Locus-۱۳۵۷۱)	احتمال تشکیل منافذ	(۲۳)

لینیوس توکسین‌ها^{۲۰۲}

سنجش عصاره سایر هترونمرتین‌ها متعلق به جنس لینیوس نشان داد که آن‌ها در واقع زهراکین‌تر از عصاره‌های سریراتولوس هستند (۵۲). کم در مطالعه‌ای در سال ۱۹۷۱، غربالگری گونه‌های نمرتینا را برای فعالیت آنابازین گزارش داد (۵۲). در میان ۱۴ گونه مورد بررسی، سه مورد لینیوس روبر^{۲۰۳}، لینیوس سانگینیوس و لینیوس ویردیس^{۲۰۴} فعالیت پارالیتیک را بر روی خرچنگ نشان دادند. لینیوس توکسین به عنوان یک نوروتوکسین پلی‌پپتیدی، مطابق با نمرتین باک توصیف شد (۶۸ و ۶۹). آزمون‌های اندازه‌طردی بر روی این پلی‌پپتیدها نشان‌دهنده یک جرم مولکولی تقریبی ۳۵۰۰ دالتونی بود. جزء توکسین پلی‌پپتیدی در عصاره‌های موکوسی لینیوس روبر، موجب فعالیت اسپایک در آماده‌سازی‌های جداسازی شده از لایستر هوماروس امریکانوس^{۲۰۵} گردید. در حالی که در آزمون‌ها، هیچ اثری بر روی قورباغه یا همولیز گلبول‌های قرمز انسانی مشهود نبود. برخی محدودیت‌ها نظیر کم بودن این مواد، مانع از تلاش‌های بیشتر در جهت شناسایی و تشخیص این پپتیدها گردید (۷۰). در مطالعه استراند و ساندبرگ (Strand and Sundberg)، نمرتین‌های

لینیوس به‌عنوان یک سیستم تولید TTX، مورد بررسی قرار گرفت (۱۱۵). با وجودی که مشخص شد موکوس برای سخت‌پوستان بسیار سمی است لکن هیچ تترادوتوکسینی شناسایی نگردید (۴۴). در مقابل، کروماتوگرافی اندازه‌طردی موکوس لینیوس لانگیسیموس و متعاقباً آنالیز UPLC-MS، منجر به کشف یک پپتید به نام نمرتید^{۲۰۶} B-1، بسیار شبیه به نوروتوکسین B-IV و مهم‌تر از همه، دو پپتید با جرم‌های پایین به ترتیب ۳۳۰۸ و ۳۳۶۰ دالتون گردید (۲۳). آنالیز LC-MS و MALDI-MSI، پپتیدهایی را در موکوس لینیوس لانگیسیموس نشان دادند. به‌طور خلاصه، پپتید خشک، کاهش یافته و آلکیل شده در آزمایش‌های جداگانه با استفاده از تریپسین، کیموتریپسین یا اندوپروتئیناز Glu-C برش داده شدند (شکل ۱۷).

پپتیدها توسط یک اسپکترومتر جرمی نانواسپری UPLC-QTOF شناسایی گردیدند (۲۳). همچنین، α -نمرتین‌ها از نظر اندازه و جهت با نمرتین باک و نیز با پپتیدهای لینیوس کشف گردیده توسط کم، مشابهت داشتند. تصویربرداری MALDI بر روی سطح مقطع‌های نمرتین‌ها، نشان داد که حضور هر سه پپتید در لایه اپیتلیال/ مخاط آن متمرکز شده‌اند.

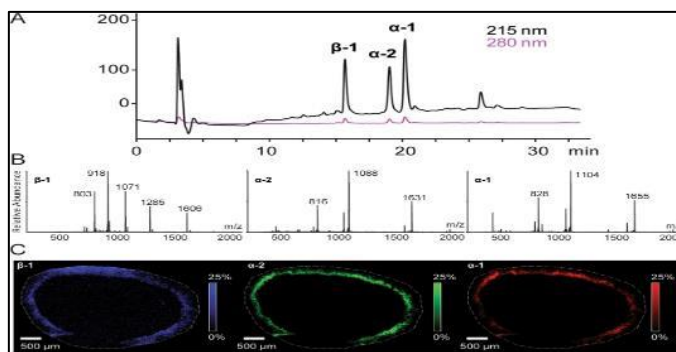
²⁰² Lineus Toxins

²⁰³ Lineus ruber

²⁰⁴ Lineus viridis

²⁰⁵ Homarus americanus

²⁰⁶ Nemertide B-1

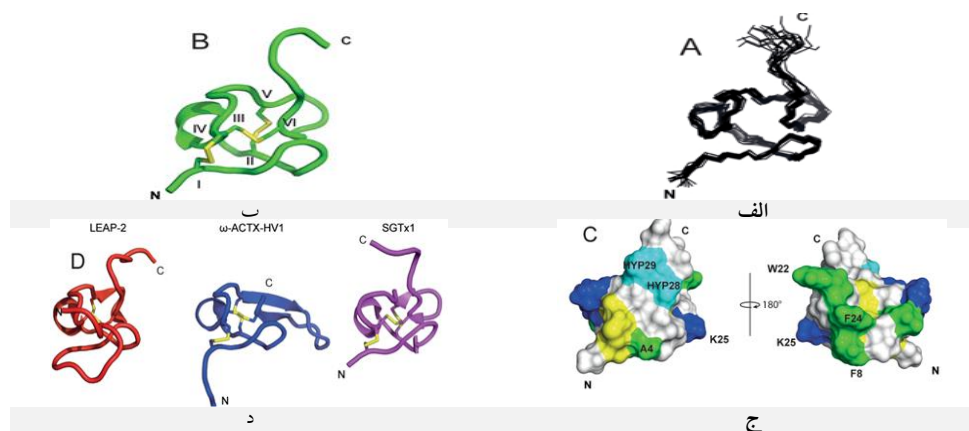


شکل ۱۷) کشف نمرتیدها. الف: ردیابی RP-HPLC-UV یک فراکشن با وزن مولکولی بالا پس از SEC، نمرتیدهای α -1، α -2 و β -1 را نشان داد. ب: طیف MS از سه پپتید α -1 (راست)، α -2 (وسط) و β -1 (چپ). ج: آنالیز نمرتیدهای α -1 (قرمز: $3308/767 \pm 0/5$ دالتون)، α -2 (سبز: $3260/738 \pm 0/5$ دالتون) و β -1 (آبی: $6419/821 \pm 0/5$ دالتون) توسط MALDI-MSI از یک مقطع عرضی از منطقه میانی لینیوس لانگیسموس (۲۳).

با افزایش رشد شناخت توکسین‌های پپتیدی نمرتین‌ها، اصطلاح نمرتید^{۲۰۷}، معرفی و پیشنهاد گردید که به عنوان یک اصطلاح کلی برای توکسین‌های پپتیدی نمرتین به کار رود. سپس پیشوندهای یونانی برای نشان دادن خانواده‌ها به کار رفتند (۲۳). بنابراین، آلفا-نمرتیدها^{۲۰۸}، برای خانواده ۳ کیلودالتونی نورو توکسین گره سیستم استفاده گردید. استدلال این بود که بتا-نمرتیدهای^{۲۰۹} ۶ کیلودالتونی، در واقع، می‌توانند به عنوان بخشی از همان خانواده به عنوان نورو توکسین‌های BI تا BIV دیده شوند. به طور مشابه، به احتمال زیاد پاربورلیزین‌ها به همان خانواده سیتو توکسین‌های AI تا AIV تعلق دارند. برای ارزیابی بیشتر نمرتید آلفا-۱، تمرکز اولیه بر روی پپتید با $m/z: 3308$ قرار گرفت. متعاقباً، توالی یابی پپتید، سنتز و ساختار محلول آن با استفاده از NMR دو

بعدی تعیین گردیدند (شکل ۱۸). آلفا-۱ نمرتید، دارای ۳۱ باقیمانده حاوی دو هیدروکسی پرولین و سه دی سولفید سازنده یک مهارکننده موتیف گره سیستم در هسته پپتید بود. نشان داده شد که توالی حلقه‌ها بین سیستمین‌ها مماس بر سطح هستند. با وجود استحکام N-ترمینال توسط یک دی سولفید (Cys2-Cys16)، لکن C-ترمینال منعطف به نظر می‌رسد. تنها بخش ساختار منظم ثانویه، یک مارپیچ α کوتاه در حلقه بین Cys-9 و Cys-15 و یک سری چرخش‌های محکم می‌باشد. سه موقعیت (Phe-8، Trp-22 و Phe-24)، یک قطعه هیدروفوبیک را تشکیل می‌دهند. پپتید α -2 تنها با یک جایگزینی والین با Phe-8 با پپتید اول متفاوت است. شکل (۱۸)، ساختار NMR نمرتیدهای α -1 و برخی هومولوگ‌های آن را نشان می‌دهد (۲۳).

207 nemertide
208 α -nemertides
209 β -nemertides



شکل ۱۸). ساختار NMR نمرتیدهای α -1 و شناسایی همولوگ‌های آن. (الف): نمایش خطی مدل با کمترین امتیاز MolProbity (ب): نمایش روبانی با دی سولفیدها (اعداد رومی)، C و N-ترمینال‌ها نمایش داده شدند. (ج): مدل سطحی. بقایای اساسی به رنگ‌های آبی؛ غیر قطبی به رنگ سبز؛ سیستین‌ها به رنگ زرد و هیدروکسی‌پرولین‌ها در سیان نشان داده شده‌اند. اسیدهای آمینه آروماتیک F8، F22 و W24، نشان‌دار هستند. اسیدهای آمینه F8 تنها تفاوت بین α -1 و α -2 است. ساختارها با استفاده از MOLMOL و PyMOL نمایش داده شده‌اند. شناسه PDB نمرتیدهای α -1: 6ENA بود. (د): نزدیک‌ترین همولوگ ساختاری α -1 مشخص شده از PDB با استفاده از Daliserver: پپتید ضد میکروبی بیان شده کبدی ۲ (LEAP-2, PBD: 2l1q-A)، ω -آتراکوتوکسین HV1a-^{۲۱۰} (SGTx1, PBD: 1la4-A) Scg1a-^{۲۱۱} و K-ترافوتوکسین ω -ACTX-HV1, PBD: 1axh-A).

نمی‌یابد. توکسین همچنین غیرفعال‌سازی کانال‌های Nav1.1/SCN1A، Nav1.4/SCN4A، Nav1.5/SCN5A و Nav1.6/SCN8A را با EC50 معادل ۸۰۰ نانومولار به تأخیر می‌اندازد. فراکشن α -1، هنگام تزریق به کارسینوس مائناس بسیار سمی بود. در شرایط درون تنی، تزریق به این خرچنگ‌های سبز، با دوزهای پایین ۱ تا ۵ میکروگرم بر کیلوگرم، موجب فلج‌های دائمی سریع و آهسته و تزریق دوزهای زیاد بیش از ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم موجب مرگ گردید. تزریق در دوزهای بالاتر از ۷/۱ میکروگرم بر کیلوگرم به سوسک‌های جوان بلاپتیکا دوبیا^{۲۱۵}، منجر به مرگ یا فلج دائمی شد (۲۳). آزمایش‌های ولتاژ-ثابت^{۲۱۶}، با استفاده از کانال‌های سدیمی دریچه ولتاژ (VGSC) پستانداران نیز سمیت

نشان داده شد که α -1، بی‌نهایت قدرتمند است. نمرتید آلفا-۱، یک توکسین بسیار قوی در برابر کانال سدیمی دریچه ولتاژ (VGSC)، در حشرات (Nav) و حدود ۱۰۰ برابر کمتر از آن در برابر کانال‌های سدیمی پستانداران می‌باشد. این توکسین، به‌طور بسیار قوی، موجب مهار غیرفعال‌سازی کانال‌های سدیمی در بی‌مهرگانی چون سوسک آلمانی (BgNav1) بلاتلا ژرمانیکا^{۲۱۲} (EC50: ۸/۶ nM)، مگس سرکه دروزوفیلا ملانوگاستر^{۲۱۳} (VdNav1)، کنه انگلی وارا دستروکتور^{۲۱۴} (VdNav1) شده است. یک میکرومولار برای مهار کامل غیرفعال‌سازی کافی است. علاوه بر این، توکسین، بازگشت از غیرفعال شدن را به میزان قابل توجهی تقویت می‌نماید و حالت باز برای ایتراکشن توکسین با کانال، ضرورتی

²¹⁰ ω -atracotoxin

²¹¹ κ -theraphotoxin

²¹² *Blattella germanica*

²¹³ *Drosophila melanogaster*

²¹⁴ *Varroa destructor*

²¹⁵ *Blaptica dubia*

²¹⁶ Voltage-clamp

در حد یک EC₅₀ در محدوده میکرومولار نشان داد. نتایج آزمون‌ها بر روی بلاتلا ژرمانیکا، این فرضیه را ایجاد می‌کند که $\alpha-1$ از طریق پیوند با اصطلاح جایگاه سه^{۲۱۷} عمل می‌نماید؛ در نتیجه، مهار غیرفعال‌سازی این کانال منجر به فعالیت جایگزین می‌شود (۱۶۴). برخی از داده‌های فعالیت اولیه، با استفاده از روش سنجش زیستی آرتیمیا سالینا^{۲۱۸}،

نشان داد که نمرتیدهای $\alpha-2$ تا $\alpha-6$ ، سمیت‌های مشابه با $\alpha-1$ در محدوده EC₅₀ بین ۰/۵ تا ۵ میکرومولار را ایجاد می‌نمایند (۱۶۵). جدول (۹)، برخی از مطالعات مربوط به شناسایی نمرتیدهای مختلف آلفا و بتا در گونه‌های مختلف کرم‌های نمرتینه را نشان می‌دهد.

جدول ۹) برخی از مطالعات مربوط به شناسایی نمرتیدهای مختلف α و β و هومولوگ‌های این توکسین ژن‌ها در گونه‌های مختلف کرم‌های نمرتین (۲۳)

گونه	هومولوگ توکسین ژن	عملکرد پیشنهادی
لینیوس لاکتئوس a	نمرتید $\alpha-1$	فعال‌کننده VGSC، پارالیتیک
لینیوس لانگیسموس	نمرتید $\alpha-1$	فعال‌کننده VGSC، پارالیتیک
لینیوس روبر	نمرتید $\alpha-1$	فعال‌کننده VGSC، پارالیتیک
لینیوس لانگیسموس	نمرتید $\alpha-1$	احتمالاً فعال‌کننده VGSC، پارالیتیک
لینیوس روبر	نمرتید $\alpha-2$	احتمالاً فعال‌کننده VGSC، پارالیتیک
لینیوس لاکتئوس a	نمرتید $\alpha-2$	احتمالاً فعال‌کننده VGSC، پارالیتیک
رامفوگوردیوس	نمرتید $\alpha-3$	احتمالاً فعال‌کننده VGSC، پارالیتیک
سودولاکتئوس b	نمرتید $\alpha-3$	احتمالاً فعال‌کننده VGSC، پارالیتیک
لینیوس سانجیوس	نمرتید $\alpha-4$	احتمالاً فعال‌کننده VGSC، پارالیتیک
رامفوگوردیوس	نمرتید $\alpha-5$	احتمالاً فعال‌کننده VGSC، پارالیتیک
سودولاکتئوس b	نمرتید $\alpha-6$	احتمالاً فعال‌کننده VGSC، پارالیتیک
لینیوس سانجیوس	نمرتید $\alpha-7$	احتمالاً فعال‌کننده VGSC؛ پارالیتیک؛ توالی ناکامل
لینیوس روبر	نمرتید $\alpha-8$	هومولوگ نوروتوکسین B-IV، احتمالاً پارالیتیک
ریسرلیوس اوکولتوس	نمرتید $\beta-1$	هومولوگ نوروتوکسین B-IV، احتمالاً پارالیتیک
لینیوس لانگیسموس	نمرتید $\beta-1$	هومولوگ نوروتوکسین B-IV، احتمالاً پارالیتیک
لینیوس روبر	نمرتید $\beta-2$	هومولوگ نوروتوکسین B-IV، احتمالاً پارالیتیک
لینیوس لانگیسموس	نمرتید $\beta-2$	هومولوگ نوروتوکسین B-IV، احتمالاً پارالیتیک
لینیوس روبر	نمرتید $\beta-3$	هومولوگ نوروتوکسین B-IV، احتمالاً پارالیتیک
لینیوس لانگیسموس	نمرتید $\beta-4$	هومولوگ نوروتوکسین B-IV، احتمالاً پارالیتیک
لینیوس لاکتئوس a	نمرتید $\beta-5$	هومولوگ نوروتوکسین B-IV، احتمالاً پارالیتیک
رامفوگوردیوس	نمرتید $\beta-6$	هومولوگ نوروتوکسین B-IV، احتمالاً پارالیتیک
سودولاکتئوس b	نمرتید $\beta-7$	هومولوگ نوروتوکسین B-IV، احتمالاً پارالیتیک
رامفوگوردیوس	نمرتید $\beta-8$	هومولوگ نوروتوکسین B-IV، احتمالاً پارالیتیک

پروتئین تشکیل‌دهنده منافذ، سوراخ‌های هیدروفیلی انتخابی کاتیونی حدود یک نانومتر را ایجاد می‌نماید و موجب تحریک قلبی و همولیز می‌گردد. تشکیل منفذ،

فرآیندی چند مرحله‌ای است که شامل تشخیص ویژه اسفنگومیلین غشایی (و نه کلسترول و فسفاتیدیل-کولین) با استفاده از ناحیه غنی از آروماتیک و جایگاه

²¹⁷ Site three

²¹⁸ *Artemia salina*

اتصال فسفوکولین مجاور (POC)، پیوند محکم به غشاء عمدتاً توسط اینتراکشن‌های آب‌گریز، همراه با انتقال منطقه N-ترمینال به رابط لیپید-آب و سرانجام شکل‌گیری منافذ پس از الیگومریزاسیون مونومرها می‌باشد و موجب فعالیت‌های همولیتیک و مهلک می‌گردد (۱۶۶). جدول ۱۰، برخی مطالعات مربوط به توکسین‌های پپتیدی مورد بررسی شناسایی شده در نمرتین‌ها و فعالیت آن‌ها را نشان می‌دهد.

جدول ۱۰ خلاصه‌ای از توکسین‌های پپتیدی شناسایی شده در نمرتین‌ها و عملکرد آن‌ها

گونه	توکسین	عملکرد	منطقه جغرافیایی	منبع
ایجاد منفذ [*] /همولیتیک				
سربراتورولوس لاکتئوس	سیتوتوکسین A-I	ایجاد شکاف، همولیتیک	وودهولس، آمریکا	(۷۰ و ۱۴۶)
سربراتورولوس لاکتئوس	سیتوتوکسین A-II	ایجاد شکاف، همولیتیک	وودهولس، آمریکا	(۷۰ و ۱۴۶)
سربراتورولوس لاکتئوس	سیتوتوکسین A-III	ایجاد شکاف، همولیتیک	وودهولس، آمریکا	(۷۰ و ۱۴۶)
سربراتورولوس لاکتئوس	سیتوتوکسین A-IV	ایجاد شکاف، همولیتیک	وودهولس، آمریکا	(۱۴۶)
لینیوس لانگیسموس	نمرتید α -1	فعال کننده VGSC، پارالیتیک	کسترفورد، سوئد	(۲۳)
لینیوس لانگیسموس	نمرتید α -2	احتمالاً فعال کننده VGSC، پارالیتیک	کسترفورد، سوئد	(۲۳)
لینیوس لانگیسموس	نمرتید β -1	هومولوگ نوروتوکسین B-IV، احتمال پارالیتیک	کسترفورد، سوئد	(۲۳)
لینیوس روبر	”نمرتین“	امکان نمرتید	بیان نشده	(۷۰)
تنولینیوس بیکولور	”نمرتید“	امکان نمرتید	بیان نشده	(۷۰)
لینیوس ویردیس	”نمرتید“	امکان نمرتید	بیان نشده	(۷۰)
لینیوس لانگیسموس	ترکیب کمتر از ۵ kDa	پارالیتیک، احتمالاً الفا-نمرتید	میلپورت انگلستان	(۴۴)
سربراتورولوس لاکتئوس	نوروتوکسین B-I	احتمالاً پارالیتیک	لانگ ایلند جنوبی، آمریکا	(۱۳۰)
سربراتورولوس لاکتئوس	نوروتوکسین B-II	پارالیتیک	لانگ ایلند جنوبی، آمریکا	(۱۳۰)
سربراتورولوس لاکتئوس	نوروتوکسین B-II	پارالیتیک	وودهولس، آمریکا	(۱۴۶)
سربراتورولوس لاکتئوس	نوروتوکسین B-III	احتمالاً پارالیتیک	لانگ ایلند جنوبی، آمریکا	(۱۳۰)
سربراتورولوس لاکتئوس	نوروتوکسین B-IV	پارالیتیک	وودهولس، آمریکا	(۱۴۶)

^{*}Pore-forming

برخی توکسین ژن‌های مفروض در ژنوم نمرتین‌ها

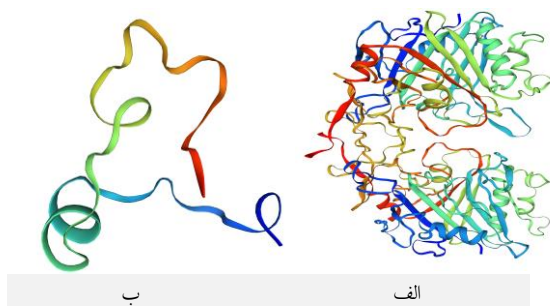
توکسین ژن‌های فراوانی در ژنوم و ترانسکریپتوم‌های نمرتین‌ها پیش‌بینی یا کشف شده‌اند. به عنوان مثال، در ژنوم هترونمرتین نوتوسپرموس ژنکولاتوس، ۶۳ توکسین ژن مورد پیش‌بینی، تشریح گردید (۱۶۷).

پلانیستوکسین-۱

ولان و همکاران، ترانسکریپتوم‌های نه گونه نمرتین، شامل هترونمرتین‌های سربراتورولوس مارزیناتوس^{۲۱۹}، لینیوس لاکتئوس^{۲۲۰}، لینیوس لانگیسموس، لینیوس روبر و هاپلونمرتین‌های ملکبدلا گروسا، پارانمرتس پرژرین^{۲۲۱}، و پالئونمرتین‌های توبولانوس پلیمورفوس^{۲۲۲}، سفالوتریکس هانکونژینسیس^{۲۲۳} و سفالوتریکس لیناریس^{۲۲۴} را مورد

219 *Cerebratulus marginatus*220 *Lineus lacteus*221 *Paranemertes peregrine*222 *Tubulanus polymorphus*223 *Cephalothrix hongkongiensis*224 *Cephalothrix linearis*

کبدی موش صحرایی می‌گردد. این عمل از طریق پیوند با یک گیرنده خاص در غشای سیتوپلاسمی، به سلول و سپس به هسته و سرانجام تخریب DNA وارد می‌گردد و موجب برش اندونوکلوئیتیک به محصولات نهایی نوکلئوزید ۳'-فسفات و ۳'-فسفولیگلو نوکلئوتید می‌شود (۱۶۹ و ۱۷۰).



شکل ۱۹) سیتوتوکسین A-III (الف)، پلانکتوکسین-۱ (ب) (منبع: پاکم)

جدول ۱۱)، برخی از مطالعات دیگر مربوط هومولوگ توکسین ژن‌های پلانکتوکسین-۱ و سیتوتوکسین A-III در گونه‌های مختلف کرم‌های نمرینه را نشان می‌دهد.

آنالیز قرار دادند. برخی توالی‌های توکسین‌های شناسایی شده از پیش مشخص شده و یا مشابه آن کشف شده بودند. سیتوتوکسین A-III^{۲۲۵}، در چهار هترونمرتین یافت شد. اما برجسته‌ترین توالی آن مشابه پلانسیتوکسین-۱ بود که در همه گونه‌ها وجود داشت (۶۰). سیتوتوکسین A-III (شکل ۱۹-الف)، بسیاری از سلول‌های مختلف را نفوذپذیر می‌کند و منافذ بزرگی را تشکیل می‌دهد که موجب آزاد شدن پروتئین‌های بزرگ تقریباً به همان سرعت مولکول‌های آلی کوچک و یون‌های معدنی می‌شود. همچنین توکسین، در غلظت‌های زیر لیزکنندگی، موجب مهار پروتئین‌کیناز C و کانال‌های سدیمی و کلسیمی انتخابی کاتیونی دریچه ولتاژ سیستم‌های عصبی و قلبی-عروقی می‌گردد (۱۶۸). پلانسیتوکسین-۱ (شکل ۱۹-ب)، یک هیاتوتوکسین DNase II است که ابتدا در خارهای ستاره دریایی آکانتاستر پلانسی^{۲۲۶} یافت گردید (۱۶۹). این توکسین، DNA را در pH ایتیمم ۷/۲ هیدرولیز می‌کند. پلانسیتوکسین-۱، به شدت هیاتوتوکسیک است و موجب القاء آپوپتوز مستقل از کاسپاز بر روی سلول‌های

جدول ۱۱) برخی از مطالعات مربوط به شناسایی توکسین ژن‌های پلانکتوکسین-۱ و سیتوتوکسین A-III در گونه‌های مختلف نمرینه‌ها

هومولوگ توکسین ژن	مکانیسم پیشنهادی	گونه	منبع
سیتوتوکسین A-III	تشکیل منفذ، همولیتیک	سربراتولوس مارژیناتوس	(۶۰)
سیتوتوکسین A-III	تشکیل منفذ، همولیتیک	لینیوس لاکتئوس	(۶۰)
سیتوتوکسین A-III	تشکیل منفذ، همولیتیک	لینیوس لانگیسیموس	(۶۰)
سیتوتوکسین A-III	تشکیل منفذ، همولیتیک	لینیوس روبر	(۶۰)
سیتوتوکسین A-III	تشکیل منفذ، همولیتیک	نوتوسپرموس ژنیکولاتا	(۱۶۷)
پلانکتوکسین-۱	هیاتوتوکسین	سفالوتریکس هانگکونژینسیس	(۶۰)
پلانکتوکسین-۱	هیاتوتوکسین	نوتوسپرموس ژنیکالوتوس	(۱۶۷)
پلانکتوکسین-۱	هیاتوتوکسین	سفالوتریکس لیناریس	(۶۰)
پلانکتوکسین-۱	هیاتوتوکسین	سربراتولوس مارژیناتوس	(۶۰)
پلانکتوکسین-۱	هیاتوتوکسین	لینیوس لاکتئوس	(۶۰)
پلانکتوکسین-۱	هیاتوتوکسین	لینیوس لانگیسیموس	(۶۰)
پلانکتوکسین-۱	هیاتوتوکسین	لینیوس روبر	(۶۰)
پلانکتوکسین-۱	هیاتوتوکسین	ملکیدولا گروسا	(۶۰)
پلانکتوکسین-۱	هیاتوتوکسین	پارانترس پرگرینا	(۶۰)
پلانکتوکسین-۱	هیاتوتوکسین	توبولانوس پلیمورفوس	(۶۰)

²²⁵ Cytotoxin A-III

²²⁶ *Acanthaster planci*

استونوستوکسین^{۲۲۹}، نیز مشاهده شد (جدول ۱۲). این پروتئین‌ها دارای خاصیت سیتولیتیک هستند؛ اما نقش عملکردی آن‌ها در نمرتین‌ها نامشخص است.

نئوروکوتوکسین^{۲۲۷}، وروکوتوکسین^{۲۲۸}، یا استونوستوکسین در مطالعه ولان و همکاران، توالی‌های مربوط به خانواده پروتئین نئوروکوتوکسین، وروکوتوکسین، یا

گونه	عملکرد پیشنهادی	هومولوگ توکسین ژن
سربراتولوس مارژیناتوس	توکسین SNTX/VTX، همولیتیک	نئوروکوتوکسین زیرواحد آلفا
پارانمرتز پرگرین	توکسین SNTX/VTX، همولیتیک	نئوروکوتوکسین زیرواحد آلفا
لینوس لانگیسموس	توکسین SNTX/VTX، همولیتیک	نئوروکوتوکسین زیرواحد بتا
ملکبدلا گروسا	توکسین SNTX/VTX، همولیتیک	نئوروکوتوکسین زیرواحد بتا
لینوس لاکتوس	توکسین SNTX/VTX، تشکیل منفذ، همولیتیک	استونوستوکسین
لینوس روبر	توکسین SNTX/VTX، تشکیل منفذ، همولیتیک	استونوستوکسین
توبولانوس پلیمورفوس	توکسین SNTX/VTX، تشکیل منفذ، همولیتیک	استونوستوکسین زیرواحد بتا

پتاسیم وابسته به ولتاژ، با دندروتوکسین I و آلفا-دندروتوکسین برای پیوند با غشای سیناپتوزومی مغز موش رقابت می‌کند، رهاسازی استیل‌کولین در یک محل اتصال عصبی و عضلانی پرندگان را تسهیل و شار پتاسیمی را در کشت نورون‌های گانگلیونی ریشه پشتی در موش سرکوب می‌نماید. توالی اسید آمینه آن R1SCIDTIPKS10RCTAFQCKHS20MKY ShK در RLSFCRK30TCGTC35 است و بجز در توکسین شقایق دریایی بوندوزوما گرانولیفرا (BgK)، همسانی با سایر پپتیدهای مسدودکننده کانال K^+ دیده نشده است و به نظر می‌رسد که ShK و BgK در یک طبقه ساختاری متفاوت از دیگر توکسین‌های مؤثر در کانال‌های K^+ قرار داشته باشند (۱۷۲). کانال‌های پتاسیمی دریچه ولتاژ (KV)، عملکردهای مختلف فیزیولوژیکی را تنظیم می‌کنند و اهداف درمانی مهمی

استیکوداکتیلا توکسین^{۲۳۰} (Shk toxin) و توالی‌های شبیه به آن

در مطالعه هاروی (Harvey)، نشان داده شد که توکسین Shk به عنوان مسدودکننده کانال پتاسیمی عمل می‌نماید. بنابراین، آن‌ها به عنوان برخی تارگت‌های فارماکولوژیکی نظیر علیه واکنش‌های اتوایمیون مورد توجه قرار گرفتند (۱۷۱). نام این توکسین از منشاء آن یعنی شقایق دریایی استیکوداکتیلا هلیاتوس^{۲۳۱} گرفته شده است. جالب توجه است که دو توالی شبه توکسین Shk، شامل یک پروتئین ونوم شبه سودوچتوکسین^{۲۳۲} در ملکبدلا گروسا و پارانمرتز پرگرینا و همچنین، یک ونوم پروتئین غنی از سیستم (ENH1) در سفالوتریکس لیناریس یافت گردید (۶۰).

در مطالعه کاستاندا (Castañeda) و همکاران، نشان داده شد که توکسین پپتیدی ShK، مسدودکننده کانال‌های

²²⁷ Neoverrucotoxin

²²⁸ Verrucotoxin

²²⁹ Stonustoxin

²³⁰ Stichodactyla toxin

²³¹ Stichodactyla helianthus

²³² Pseudechetoxin-Like Venom Protein

را در درمان برخی اختلالات بالینی نشان می‌دهند. اگرچه برخی از این کانال‌ها به خوبی مشخص شده‌اند، اما برخی مطالعات دیگر چون کانال‌های Kv3 به دلیل محدودیت در ابزارهای فارماکولوژیکی متوقف مانده‌اند. در مطالعه یان (Yan) و همکاران، بر روی سلول‌های تخمدان همستر چینی K1-CHO، در تلاش برای شناسایی مسدود کننده‌های قوی کانال Kv3.2، مشخص گردید که پپتید ShK، یک مسدود کننده با تمایل بسیار بالای کانال‌های Kv1.1 و Kv1.3 است و قویا جریان Rb^{+} از CHO-K1.hKv3.2b با IC_{50} حدود 0.6 نانومولار را مهار می‌نماید. در ثبت-های الکتروفیزیولوژیکی کانال‌های Kv3.2b بیان شده در تخمک‌های زنوپوس لویس^{۲۳۳}، استیکوداکتیل توکسین به کانال hKv3.2b را با IC_{50} حدود 0.3 نانومولار مهار نمود. با وجود حضور پروتئین Kv3.2 در سلول‌های بتا پانکراس انسانی، این توکسین هیچ تأثیری بر جریان Kv این سلول‌ها نداشت که این نشان دهنده بعید بودن نقش قابل توجه کانال‌های Kv3.2 هوموترامری، در جریان یکسوساز تأخیری سلول‌های ترشح‌کننده انسولین است. همچنین، این توکسین در اینترنرون‌های اسپایک سریع گابائریک قشری موش، تولید اثرات سازگار با مهار کانال‌های Kv3، مثل افزایش در پتانسیل عمل نیمه‌عرضی^{۲۳۴} و کاهش در دامنه پتانسیل عمل پس از هایپرپولاریزاسیون نمود. در مجموع، این نتایج نشان‌دهنده یک اثر مهارکنندگی قوی کانال Kv3.2 این توکسین است و شاید بتواند یک پروب فارماکولوژیکی مفید برای مطالعه این کانال‌ها در نمونه‌های واقعی باشد. (۱۷۳). در مطالعه میدلتون (Middleton) و همکاران، نیز میل بالای مهارکنندگی

انتخابی کانال‌های پتاسیمی دارای ولتاژ دردار 1. K(v)1 و Kv1.3 با یک تمایل یکسان، توسط ShK توکسین و یک مشتق صناعی آن به نام (۲۲) ShK-Dap که یک دی‌آمینوپروپانویک‌اسید، جایگزین (۲۲) لیزین شده بود، نشان داده شد. همچنین، داده‌های این مطالعه نشان داد که اثرات برون تنی سرکوب‌کنندگی سیستم ایمنی ShK-Dap22، مشابه دیگر مسدودکننده‌های Kv1.3، مانند مارگاتوکسین^{۲۳۵}، یا ShK توکسین نمی‌باشد. هرچند، بیان گردید که شک-دپ۲۲ نیز ممکن است به دلیل تعامل با کانال‌های هترومولتیمریک Kv1.2 (V)-1.1 تعامل با K(v)K مانند سایر موارد موجود دیگر، در مغز و یا بافت‌های محیطی عوارض جانبی ناخواسته داشته باشد (۱۷۴). اثر قوی سرکوب‌کنندگی اختصاصی ShK-Dap22 گزارش شده است. کانال پتاسیمی دریچه ولتاژ Kv1.3، در لنفوسیت‌های T، یک تارگت مهم مولکولی برای عوامل سرکوب‌کننده سیستم ایمنی است. توکسین ShK، قویاً موجب مهار Kv1.3 و همچنین Kv1.1، Kv1.4 و Kv1.6 را در غلظت‌های زیر نانومولار گردید. بر اساس اطلاعات توپولوژیکی و داکینگ مطالعه آن‌ها، ShK-Dap22، یک مسدود کننده بسیار انتخابی و قوی کانال لنفوسیت T بود که در غلظت‌های زیر نانومولار، موجب سرکوب آنتی-CD3 القاء شده از لنفوسیت T [3H] تیمیدین انسانی در شرایط آزمایشگاهی گردید. سمیت این پپتید جهش یافته در مدل جوندگان، با متوسط دوز پارالیتیک داخل وریدی حدود 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، بسیار کم بود. بر اساس نتایج، آن‌ها پیشنهاد دادند که ShK-Dap22، ممکن است به‌عنوان یک سرکوب‌کننده

233 *Xenopus laevis*

234 Half-width

235 Margatoxin

سیستم ایمنی برای جلوگیری از رد پیوند و برای درمان بیماری‌های خود ایمنی قابل استفاده باشد (۱۷۵). در یک مطالعه مشابه، پنینگتون (Pennington) و همکاران، نیز با موفقیت فرم فعال بیولوژیکی پپتید استیکوداکتیل توکسین حاوی سه پیوند دی‌سولفید درون مولکولی را با استفاده از استراتژی FMOC را سنتز نمودند. توانایی توکسین سنتزی ShK برای مهار پیوند اختصاصی به $I^{۱۲۵}$ -دندروتوکسین I به غشاهای مغز موش کمی از قوی‌تر از نمونه توکسین طبیعی ShK بود که اما با نتایج مطالعات پیشین قابل مقایسه بود. توکسین پپتیدی، موجب مهار پیوند $I^{۱۲۵}$ -کاریدوتوکسین^{۲۳۶} به لنفوسیت‌های T جورکات با IC_{50} حدود ۳۲ پیکومولار گردید. علاوه بر این، کانال‌های پتاسیمی $Kv1.3$ لنفوسیت‌های T جورکات، با IC_{50} حدود ۱۳۳ پیکومولار مهار شدند. در مطالعه آن‌ها نیز بیان گردید که با توجه به ساختار منحصر به فرد و تمایل زیاد آن‌ها برای حداقل برخی کانال‌های پتاسیمی، توکسین SHK، ممکن است به‌عنوان کاوشگرهای مولکولی مفیدی برای بررسی کانال‌های پتاسیم تبدیل گردند (۱۷۶).

اس ای - سفالوتوکسین^{۲۳۷}

در مطالعه ولان و همکاران، ژن اس ای - سفالوتوکسین در نمرتین‌های سربراتولوس مارژیناتوس، لینئوس لاکتئوس، لینئوس لانگیسموس، لینئوس روبر، سفالوتریکس هانکونژینسیس و سفالوتریکس لیناریس یافت گردید (۶۰). علت نامگذاری این توکسین‌های پروتئینی به سفالوتوکسین‌ها، به دلیل خالص‌سازی آن‌ها در غدد بزاقی سفالوپودها است. در مطالعه

یودا (Ueda) و همکاران، نشان داده شد که اس ای - سفالوتوکسین، در غدد بزاقی صدف سپیا اسکولنتا^{۲۳۸} نقش مهمی در شکار دارد (۱۷۷). با اینکه کشندگی این توکسین‌ها در خرچنگ مشخص گردیده بود، اما خصوصیات دقیق و ساختارهای اولیه آن‌ها ناشناخته بود. در مطالعه آن‌ها نشان داده شد که حلالیت این توکسین پروتئینی، تنها در حلال‌های نمکی بالا است. این توانایی حلالیت منحصر به فرد، موجب خالص‌سازی سفالوتوکسین-SE، با استفاده از فیلتراسیون ژلی و HPLC گردید. سفالوتوکسین-SE به‌عنوان یک گلیکوپروتئین مونومری ۱۰۰ کیلودالتونی با LD_{50} برابر ۲ میکروگرم بر کیلوگرم در خرچنگ نشان داده شد. بر اساس توالی نسبی اسید آمینه، یک کدگذاری cDNA طولی (۳۴۰۲ جفت باز)، برای SE-سفالوتوکسین توسط RT-PCR و RACE کلون گردید. پروتئین پیش‌ساز SE- سفالوتوکسین (۱۰۵۲ باقیمانده اسید آمینه)، از یک پپتید سیگنال (ناحیه ۱-۲۱)، پروپپتید (ناحیه ۲۲-۲۹) و پروتئین بالغ (ناحیه ۳۰-۱۰۵۲) تشکیل شده بود. در جستجوی بانک اطلاعاتی برای یافتن اشتراک پروتئین‌ها با SE-سفالوتوکسین، موردی یافت نشد (۱۷۷). بعدها، یک توزیع مشابه برای توالی مربوط به اکوتوکسین-۲^{۳۹۲} همولیتیک یافت شد (۳۴). اکوتوکسین-۲، با جرم ملکولی 24135 ± 19 دالتون، پروتئینی با فعالیت‌های همولیتیک و کشنده است که قبلاً از غدد بزاقی شکم‌پای دریایی مونوپلکس اکو که نام توکسین نیز از آن گرفته شده‌است خالص‌سازی گردید (۱۷۸).

236 125I-charybdotoxin

237 Se-Cephalotoxin

238 Sepia Esculenta

239 Echotoxin-2

توالی‌های مرتبط با ناترین-۴

بر اساس مطالعه ولان، در ژنوم نوتوسپرموس ژنیکولاتوس^{۲۴۰} علاوه بر سیتوتوکسین A-III و پلانسیتوتوکسین-۱، تعدادی از پروتئین‌های SNTX / VTX یا توالی‌های مرتبط با پروتئین Shk و توالی ناترین^{۲۴۱} نیز مشاهده شدند (شکل ۲۰). در دو گونه سفالوتریکس هانکونژینسیس و سربراتولوس مارژیناتوس نشان داده شد که توالی‌های مرتبط با ناترین-۴، حاوی یک بخش آنرولیزین^{۲۴۲} هستند. این دوماين با ادم و احساس درد مرتبط است (۱۷۹). ناترین‌ها، خانواده جدیدی از پروتئین‌ها با فعالیت کینینوژنازی و ساختار اولیه منحصر به فرد هستند که با استفاده از رویکردهای ترکیبی فارماکولوژیکی، پروتئومی و ترانسکریپتومی از زهر ماهی تالاسوفرین ناتری مشخص شدند (۱۸۰). اجزای اصلی زهر در مطالعه مگالس (Magalhaes) و همکاران، جداسازی شد. همان‌گونه که ذکر گردید اثرات اصلی سنجش زیستی آن‌ها درد و ادم بود. این فعالیت‌ها بیشتر در یک فراکشن دیده شد و پس از جداسازی، ناترین نام گرفت که قادر به القاء ادم، درد و شکستن کینینوژن انسانی و پپتیدهای سنتزی مشتق از کینینوژن و رهاسازی کالیدین (لیزین-برادی‌کینین) بود. تا آن زمان، پپتید N- ترمینال ناترین هیچ شباهتی به پروتئین‌های شناخته شده موجود در بانک داده‌ها نشان نداشت. ساختار اولیه ناترین توسط یک روش ترانسکریپتومی با استفاده از یک کتابخانه cDNA غدد زهری تالاسوفرین ناتری بدست آمد. چندین

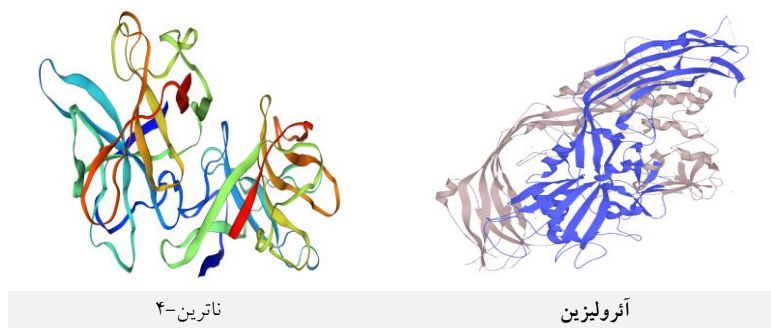
برچسب (تگ) توالی بیان شده (ESTs)، با استفاده از بیوانفورماتیک، یک گروه عمده (۱۸ درصد) از توالی‌های مرتبط ناشناخته برای ژن یا پایگاه داده توالی پروتئین، به دست آمدند و پردازش شدند. این گروه، شامل توالی‌هایی بود که N- ترمینال ناترین جدا شده را نشان می‌داد و از خانواده ناترین نامگذاری می‌شد. آنالیز این خانواده امکان شناسایی پنج توالی مرتبط را داد که به ناترین‌های ۱-۴ و P معروف گردیدند (۱۸۰).

مطابق با مطالعه دیپ (Diep) و همکاران، آنرولیزین، یک توکسین باکتریایی تشکیل‌دهنده کانال است که به ساختار لنگری گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول (GPI) در ساختارهای سطح سلول میزبان متصل می‌شود (۱۸۱). این توکسین عضو اساسی خانواده فوق‌العاده ای از توکسین‌های تشکیل‌منفذ β است که ساختار منافذ آن ناشناخته است (۱۸۲). آنرولیزین، سلول‌ها را با تشکیل کانال‌های هپتامریک در غشای پلاسمایی از بین می‌برد. چرخش بتا-هیرپین از پنج بقایای آبگریز الاستیک تشکیل شده است. یاکوواش (Iacovache) و همکاران، نشان دادند که این چرخش آبگریز، موجب ورود از غشاء کانال در حال تشکیل می‌گردد و پیشنهاد گردید که پس از عبور از دولایه لیپیدی، موازی با صفحه غشاء به شکلی شبیه به پرچین برگشت می‌خورد. این کانفورماسیون شبه‌پرچینی مدل‌سازی شد و تراز توالی نشان داد که چنین کانال پرچینی ممکن است برای بسیاری از توکسین‌های ایجادکننده منفذ دیگر نیز همین‌گونه عمل نماید (۱۸۳ و ۱۸۴).

240 *Notospermus Geniculatus*

241 Natterin

242 Aerolysin



توکسین‌های کرم‌های زهراگین دریایی

اطلاعات ناچیزی در دست است و هنوز مسایل زیادی برای کشف وجود دارد. این مسئله بیشتر توسط مطالعه ژاکوبسون (Jacobsson) و همکاران، ۱۷ ترانسکریپتوم آنالیز و تأیید گردید (۲۳) که برخی از آن‌ها نیز پیش از این گزارش شده بود (۶۰، ۱۶۳ و ۱۸۶). این آنالیزها هفت الف-نمرتید جدید، هشت توالی جدید بتا-نمرتید^{۲۴۹} (آنالوگ‌های B-نوروتوکسین) و ۲۹ توالی مربوط به پاربورلیزین را نشان دادند با وجودی که صرفاً داده کاوی تنها، محدودیت‌هایی را در یافتن خانواده‌های کاملاً جدید توکسین‌ها به وجود می‌آورد، موارد مذکور نشان می‌دهد که چگونه تکنیک‌های بیولوژی مولکولی سرعت کشف توکسین را در شاخه نم‌رتینه تسریع نموده‌اند. دلتا اکتیتوکسین Amc1a- (Delta-AITX-Amc1a)، یا همان پپتید توکسین Am I (۱۸۷)، یک نوروتوکسین با یک LD50 حدود ۸۳۰ میکروگرم بر کیلوگرم در خرچنگ می‌باشد. این توکسین ممکن است موجب مهار کانال‌های سدیمی دارای ولتاژ دریچه‌دار (Nav) گردد. جرم ملکولی حاصل از MALDI برابر ۲۸۱۴/۵ دالتون بدست آمد.

توکسین ژن مجموعه حمله غشایی (MACPF)

دو گونه سفالوتریکس هانکونژینسیس و سفالوتریکس لیناریس حاوی توکسین ژن‌های مجموعه حمله غشایی^{۲۴۳}/پرفورین^{۲۴۴}، یا همان MACPF یعنی PsTX 60B و ATX-60-A بودند که دارای نقش‌های شناخته شده مختلفی هستند اما معمولاً به عنوان مؤلفه‌هایی در مصونیت ذاتی نقش دارند (۱۸۵).

دلتا اکتیتوکسین-Amc1a و برخی توالی‌های مرتبط با نوروتوکسین

چندین توالی مرتبط با نوروتوکسین نظیر دلتا اکتیتوکسین-Amc1a^{۲۴۵}، که قبلاً در نم‌رتین‌ها مشاهده نشده بودند همچون مو-ترافتوکسین-4^{۲۴۶}Hhn2a، پریویتلین^{۲۴۷}-۲ و تورپپتید^{۲۴۸}Gsg9.2 و یک سری از توالی‌های مختلف درگیر در انعقاد خون یافت شدند. تعداد انگشت‌شماری از توالی توکسین‌های شناسایی شده با عملکرد ناشناخته نیز یافت شد. همچنین، پروتئین‌هایی در این مطالعات شناسایی شدند و در مورد ارتباط و نقش‌های واقعی این پروتئین‌ها در نم‌رتین‌ها،

²⁴³ Membrane attack complex

²⁴⁴ Perforin

²⁴⁵ delta-actitoxin-Amc1a

²⁴⁶ Mu-theraphotoxin Hhn2a 4

²⁴⁷ Perivitellin-2

²⁴⁸ turripetide Gsg9.2

²⁴⁹ β -nemeritide

نتیجه‌گیری

هدف از این مطالعه مروری، بررسی زهر توکسین‌های کرم‌های دریایی، بویژه نم‌رتین‌ها است. در حال حاضر سه گروه اصلی توکسین‌های آن‌ها شامل آلکالوئیدهای پیریدینی، تترادوتوکسین و مشتقات آن‌ها و همچنین پپتیدها تشخیص داده شده‌اند. آلکالوئیدهای پیریدینی که تلاش‌های محدودی نیز برای کشف آن‌ها انجام گرفته است عمدتاً در هاپلونم‌رتین‌ها یافت می‌شوند. شاید گسترده‌ترین مطالعه در این موضوع، در سال ۱۹۸۸ توسط کم منتشر شد. ولی بسیاری از ترکیبات مرتبط با آن در مطالعه آن‌ها مشخص نشده باقی ماند. این مسئله نشان می‌دهد که هنوز ترکیبات زیادی شناسایی نشده‌اند و جای مطالعات وسیعی را باز گذاشته‌اند. تترادوتوکسین و ترکیبات مرتبط با آن در نم‌رتین‌ها، یک حوزه فعال تحقیقات است. به احتمال زیاد، TTX توسط خود نم‌رتین‌ها تولید نمی‌شود و نقش این ترکیب در آن‌ها نامشخص است. گرچه اکثر مطالعات، نشانگر وجود تترادوتوکسین در نم‌رتین‌های مورد آنالیز در دریای ژاپن یا خلیج پتر کبیر است. اما اخیراً در آب‌های اروپا نیز پدید آمده است. مطالعاتی برای درک مکانیسم این "مهاجرت TTX" بسیار ارزشمند است که هنوز مورد علاقه محققان این حوزه است. تعدادی از توکسین ژن‌های پپتیدی و پروتئینی شناسایی شده، در این مطالعه مروری، مورد توجه قرار گرفته‌اند. با این حال، در سطح پپتیدی، فقط سه خانواده اصلی توکسین‌های پپتیدی تأیید شده‌اند که شامل نورو توکسین‌های حدود ۳ کیلودالتونی؛ نورو توکسین‌های حدود ۶ کیلودالتونی و پپتیدهای سیتولیتیک در گستره ۸-۱۰ کیلودالتونی بوده‌اند. توکسینولوژی منحصر بفرد نورو توکسین‌ها نشان داده است که آن‌ها ممکن است کاربردهای عملی پیدا کنند

هر پپتید Am I، ممکن است دارای دو پیوند دی سولفید باشد. به نظر می‌رسد که پیش‌ساز پروتئین در توالی، شامل آزاد شدن پپتید سیگنال و پروپپتید، تولید شش پپتید یکسان ۳۴ باقیمانده‌ای با شکافتگی بین Arg و Glu، رهاسازی بقایای چهار N-ترمینال و سه C-ترمینال از هر پپتید و هیدروکسیلاسیون هر پروتئین در موقعیت ۶ از پپتیدهای ۲۷ باقیمانده‌ای حاصله، پردازش شود. بر اساس مطالعات، پرویتیلین II، یک نورو توکسین و پروتئین ذخیره‌ای در برخی تخم‌ها است که هنگام خوردن حتی می‌تواند کشنده باشد. این توکسین، در دامنه گسترده‌ای از pH، از خود ثبات نشان می‌دهد و در برابر پروتئازهای تریپسین و پپسین نیز مقاوم است. پرویتیلین II، با پیوند شدن با زیر واحد تاکیلیکتین به‌طور ویژه، انتروسیتهای بالغ را به‌هم متصل می‌کند. با تجویز خوراکی این نورو توکسین، ممکن است از سد روده عبور کند و قادر است سیستم ایمنی بدن را در موش‌های سوری و صحرایی تحریک نماید. همچنین، فعالیت هماگلوتینه کنندگی در برابر گلبول‌های قرمز خرگوش نیز دیده شده است. دوزهای زیر مهلک این توکسین، موجب ایمن سازی می‌گردند. میزان LD₅₀ تزریق داخل صفاقی به موش‌های سوری، ۲۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم گزارش گردیده است (۱۸۸). در مورد ساختار زیر واحد ۳۱ کیلودالتونی پرویتیلین II، این توکسین یک هترواکتامر ساخته شده از ۴ هترودیمر ۹۸ کیلودالتونی مشابه می‌باشد که هر کدام از یک زیر واحد ۳۱ کیلودالتونی و یک زیر واحد ۶۷ کیلو دالتونی تشکیل شده است. زیرواحدهای هترودیمر ۹۸ کیلودالتونی، توسط پل‌های دی سولفیدی در کنار یکدیگر نگه‌داشته می‌شوند در حالی که هترودیمرها توسط نیروهای غیر کووالانسی به داخل اکتامر پرویتیلین II اصلی سرهم‌بندی می‌شوند (۱۸۹).

به همان خانواده سیتوتوکسین های AI تا AIV تعلق دارند. مطالعه بر روی توکسین‌های این زیست‌مندان دریایی، می‌تواند پروب‌های مفیدی را برای بررسی گیرنده‌ها، کانال‌های یونی و حتی مکانیسم‌های ایمنی ذاتی نسبت به ویروس‌های عفونی، سایر میکروب‌ها و انگل‌ها فراهم نماید.

این پژوهش تحت حمایت مالی هیچ سازمان یا مؤسسه‌ای نبوده است.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

و بدون شک این امر موجب می‌گردد تا تحقیقات بیشتری در این حوزه انجام شود. با افزایش رشد شناخت توکسین‌های پپتیدی نمرتین‌ها، اصطلاح نمرتید، معرفی و پیشنهاد گردید که به‌عنوان یک اصطلاح کلی برای توکسین‌های پپتیدی نمرتین به کار رود. سپس پیشوندهای یونانی برای نشان دادن خانواده‌ها به کار رفتند. بنابراین، آلفا-نمرتیدها، برای خانواده سه کیلودالتونی نورو توکسین گره سیستم استفاده می‌شود؛ استدلال این بود که بتا-نمرتیدهای شش کیلودالتونی، در واقع، می‌تواند به‌عنوان بخشی از همان خانواده به عنوان نورو توکسین های BI تا BIV دیده شود. به‌طور مشابه، به احتمال زیاد پاربورلیزین‌ها

References:

1. Sabatier JM, Michel DW. Handbook of Biologically Active Peptides. Chapt: 57. Animal Toxins, 2013, 407-415. (Available at <http://Dx.Doi.Org/10.1016/B978-0-12-385095-9.00057-9>)
2. Mohebbi GH, Nabipour I, Vazirizadeh A. Neurotoxic Syndromes In Marine Poisonings; A Review. Iran South Med J 2014; 17(3): 451-75. (Persian)
3. Mohebbi GH, Nabipour I, Vazirizadeh A. The Sea, The Future Pharmacy. Iran South Med J 2014; 17(4): 748-88. (Persian)
4. Hornbeak KB, Auerbach PS. Marine Envenomation. Emerg Med Clin North Am 2017; 35(2): 321-37.
5. Von Reumont BM, Blake A, Richter S, et al. The First Venomous Crustacean Revealed By Transcriptomics And Functional Morphology: Remipede Venom Glands Express A Unique Toxin Cocktail Dominated By Enzymes And A Neurotoxin. Mol Biol Evol 2014; 31(1): 48-58.
6. Blunt JW, Carroll AR, Copp BR, et al. Marine Natural Products. Nat Prod Rep 2018; 35(1): 8-53.
7. Kinch MS, Haynesworth A, Kinch SL, et al. An Overview Of FDA-Approved New Molecular Entities: 1827-2013. Drug Discov Today 2014; 19(8): 1033-9.
8. Jaspars M, De Pascale D, Andersen JH, et al. The Marine Biodiscovery Pipeline And Ocean Medicines Of Tomorrow. J Mar Biol Assoc UK 2016; 96(Special Issue 1): 151-8.
9. Rangel M, Falkenberg M. An Overview Of The Marine Natural Products In Clinical Trials And On The Market. J Coast Life Med 2015; 3(6): 421-28.
10. Kem WR. Handbook Of Biologically Active Peptides. Chapter 65. Worm Peptides, 2013, 483-87. (Available at <http://Dx.Doi.Org/10.1016/B978-0-12-385095-9.00065-8>)
11. Andreotti N, Jouirou B, Mouhat S, et al. Therapeutic Value Of Peptides From Animal Venoms. Comprehensive Natural Products II, 2010, 287-303.
12. Coutinho MCL, Teixeira VL, Santos CSG. A Review Of "Polychaeta" Chemicals And Their Possible Ecological Role. J Chem Ecol 2018; 44: 72-94.
13. Lewis RJ, Garcia ML. Therapeutic Potential Of Venom Peptides. Nat Rev Drug Discov 2003; 2(10): 790-802.
14. Kem WR. Structure And Activity Of Nemertine Toxins. Am Zool 1985; 25(1): 99-111.

15. Lichtenegger HC, Schoeber T, Bart MH, et al. High Abrasion Resistance With Sparse Mineralization: Copper Biomineral In Worm Jaws. *Science* 2002; 298(5592): 389-92.
16. Meunier FA, Feng ZP, Molgó J, et al. Glycerotoxin From *Glycera Convoluta* Stimulates Neurosecretion By Up-Regulating N-Type Ca^{2+} Channel Activity. *EMBO J* 2002; 21(24): 6733-43.
17. Manaranche R, Thieffry M, Israel M. Effect Of The Venom Of *Glycera Convoluta* On The Spontaneous Quantal Release Of Transmitter. *J Cell Biol* 1980; 85(2): 446-58.
18. More N, Thieffry M, Manaranche R. Binding Of A *Glycera Convoluta* Neurotoxin To Cholinergic Nerve Terminal Plasma Membranes. *J Cell Biol* 1983; 97(6): 1737-44.
19. Jarvis SE, Zamponi GW. Distinct Molecular Determinants Govern Syntaxin 1A-Mediated Inactivation And G-Protein Inhibition Of N-Type Calcium Channels. *J Neurosci* 2001; 21(9): 2939-48.
20. Haddad V. Miscellaneous Marine Toxins Of Medical Significance. In: Gopalakrishnakone P, Haddad Jr V, Tubaro A, Kim E, Kem W, editors. Dordrecht: Marine And Freshwater Toxins. Toxinology. Springer, 2016.
21. Chloeia Flava. Queensland Museum. (Accessed Jun 3, 2020, at https://www.qm.qld.gov.au/Find+Out+About/Animals+Of+Queensland/Sea+Life/Worms/Segmented+Worms+Annelida/Bris-tle+Worm#.Xj_Mxnizam8 Queensland)
22. MESA. Marine Worms - Sipunculid Worms Or Peanut Worms Peanutworm. (Accessed Jun 3, 2020, at http://www.mesa.edu.au/Marine_Worms/Marine_Worms08.asp)
23. Jacobsson E, Andersson HS, Strand M, et al. Peptide Ion Channel Toxins From The Bootlace Worm, The Longest Animal On Earth. *Sci Rep* 2018; 8: 4596.
24. Markosova TG, Zaitseva OV, Smirnov RV. Monoamine- And Peptide-Containing Elements In The Nemertine Digestive Tract. *J Evol Biochem Physiol* 2007; 43: 69-79.
25. Zaitseva OV, Markosova TG, Smirnov RV. Monoamine- And Peptide-Containing Elements In The Body Wall And Nervous Trunks Of Nemerteans. *Russ J Mar Biol* 2007; 33: 245-53.
26. Kajihara H, Chernyshev AV, Sun SC, et al. Checklist Of Nemertean Genera And Species Published Between 1995 And 2007. *Spec Div* 2008; 13(4): 245-74.
27. Moore J, Gibson R, Jones HD. Terrestrial Nemerteans Thirty Years On. *Hydrobiologia* 2001; 456: 1-6.
28. Sundberg P, Gibson R. Global Diversity Of Nemerteans (Nemertea) In Freshwater. *Hydrobiologia* 2008; 595: 61-6.
29. Dettner K. Chemical Defense And Toxins Of Lower Terrestrial And Freshwater Animals. Reference Module In Chemistry, Molecular Sciences And Chemical Engineering. *Comprehensive Natural Products II. Chem Biol* 2010; 4: 387-410. (Available at <https://doi.org/10.1016/B978-008045382-8.00100-3>)
30. Reisinger E, Kelbetz S. Feinbau Und Entladungsmechanismus Der Rhabditen. *Z Wiss Mikrosk* 1964; 65: 472-508.
31. Martin GG. A New Function Of Rhabdites: Mucus Production For Ciliary Gliding. *Zoomorphologie* 1978; 91: 235-48.
32. Blaustein L, Dumont HJ. Typhloplanid Flatworms (*Mesostoma* And Related Genera): Mechanisms Of Predation And Evidence That They Structure Aquatic Invertebrate Communities. *Hydrobiologia* 1990; 198: 61-77.
33. Dumont HJ, Carets I. Flatworm Predator (*Mesostoma* Cf. *Lingua*) Releases A Toxin To Catch Planktonic Prey (*Daphnia* Magna). *Limnol Oceanogr* 1987; 32(3): 699-702.
34. Göransson U, Jacobsson E, Strand M, et al. The Toxins Of Nemertean Worms. *Toxins* 2019; 11(2): 120.
35. Kem WR. Worm Venom Peptides. Chapter 57, In *Handbook Of Biologically Active Peptides*; Kastin AJ, editors. Burlington, VT, USA: Academic Press, 2006, 397-401.
36. McDermott JJ. Status Of The Nemertea As Prey In Marine Ecosystems. *Hydrobiologia* 2001; 456: 7-20.
37. Thie M, Kruse I. Status Of The Nemertea As Predators In Marine Ecosystems. *Hydrobiologia* 2001; 456: 21-32.

38. Johnston G. *Miscellanea Zoologica*. A Description Of Some Planarian Worms. *Mag Zool Bot* 1837; 1: 529-38.
39. Strand M, Norenburg J, Alfaya JE, et al. Nemertean Taxonomy-Implementing Changes In The Higher Ranks, Dismissing Anopla And Enopla. *Zool Scr* 2019; 48(1): 118-19.
40. Stricker SA, Cloney RA. The Stylet Apparatus Of The Nemertean *Paranemertes peregrina*: Its Ultrastructure And Role In Prey Capture. *Zoomorphology* 1981; 97: 205-23.
41. Stricker SA, Cloney RA. The Ultrastructure Of Venom-Producing Cells In *Paranemertes peregrina* (Nemertea, Hoplonemertea). *J Morphol* 1983; 177(1): 89-107.
42. Montalvo S, Roldan C, Junoy J, et al. Ultrastructural Study Of Two Glandular Systems In The Proboscoidal Glandular Epithelium Of *Riseriellus occultus* (Nemertea, Heteronemertea). *Zoomorphology* 1998; 117: 247-57.
43. Magarlamov TY, Chernyshev AV, Turbeville JM. Pseudocnidae Of Archinemerteans (Nemertea, Palaeonemertea) And Their Implications For Nemertean Systematics. *J Morphol* 2018; 279(10): 1444-54.
44. Strand M, Hedström M, Seth H, et al. The Bacterial (*Vibrio alginolyticus*) Production Of Tetrodotoxin In The Ribbon Worm *Lineus longissimus*-Just A False Positive?. *Mar Drugs* 2016; 14(4): 63.
45. Rodrigo AP, Lopes AR, Baptista PV, et al. The Great Biotechnological Potential Of A Marine Polychaete: An Alliance Between Toxin And Natural Fluorescence. *Front Mar Sci*. Conference Abstract: IMMR'18, International Meeting On Marine Research, 2019. (Available at Doi:10.3389/Conf.FMARS.2018.06.00015)
46. Mcdermott JJ, Roe P. Food, Feeding Behavior And Feeding Ecology Of Nemerteans. *Am Zool* 1985; 25(1): 113-25.
47. Napier VR, Turpie JK, Clark BM. Value And Management Of The Subsistence Fishery At Knysna Estuary, South Africa. *Afr J Mar Sci* 2009; 31(3): 297-310.
48. Kajihara H, Sun SC, Chernyshev AV, et al. Taxonomic Identity Of A Tetrodotoxin-Accumulating Ribbon-Worm *Cephalothrix Simula* (Nemertea: Palaeonemertea): A Species Artificially Introduced From The Pacific To Europe. *Zoolog Sci* 2013; 30(11): 985-97.
49. Jennings JB, Gibson R. Observations On The Nutrition Of Seven Species Of Rhynchocoelan Worms. *Biol Bull* 1969; 136(3): 405-33.
50. Moles J, Núñez-Pons L, Taboada S, et al. Anti-Predatory Chemical Defences In Antarctic Benthic Fauna. *Mar Biol* 2015; 162: 1813-21.
51. Kruse I, Buhs F. Preying at The Edge Of The Sea: The Nemertine *Tetrastemma melanocephalum* And Its Amphipod Prey On High Intertidal Sandflats. *Hydrobiologia* 2000; 426: 43-55.
52. Kem WR. A Study Of The Occurrence Of Anabaseine In *Paranemertes* And Other Nemertines. *Toxicon* 1971; 9(1): 23-32.
53. Caplins SA, Turbeville JM. The Occurrence Of *Ramphogordius sanguineus* (Nemertea, Heteronemertea) In The Intertidal Zone Of The Atlantic Coast Of Virginia And New Observations On Its Feeding Behavior. *Banisteria* 2011; 38: 65-70.
54. Bourque D, Miron G, Landry T. Predator- Prey Relationship Between The Nemertean *Cerebratulus lacteus* And The Soft-Shell Clam, *Mya arenaria*: Surface- Exploration Activity And Qualitative Observations On Feeding Behaviour. *Can J Zool* 2002; 80(7): 1204-11.
55. Beckers P, Bartolomaeus T, Von Döhren J. Observations And Experiments On The Biology And Life History Of *Riseriellus occultus* (Heteronemertea: Lineidae). *Zoolog Sci* 2015; 32(6): 531-46.
56. Jensen K, Sadeghian PS. Nemerteans (Ribbon Worms). In: Rohde K, editor. *Marine Parasitology*. Clayton, Australia: CSIRO Publishing, 2005, 205-210.
57. Gibson R. Studies On The Biology Of The Entocommensal Rhynchocoelan *Malacobdella grossa*. *J Mar Biol Assoc UK* 1968; 48(3): 637-56.
58. Roe P. Laboratory Studies Of Feeding And Mating In Species Of *Carcinonemertes* (Nemertea: Hoplonemertea). *Biol Bull* 1984; 167(2): 426-36.

59. Kuris AM, Wickham DE. Effect Of Nemertean Egg Predators On Crustaceans. *Bull Mar Sci* 1987; 41(2): 151-64.
60. Whelan NV, Kocot KM, Santos SR, et al. Nemertean Toxin Genes Revealed Through Transcriptome Sequencing. *Genome Biol Evol* 2014; 6(12): 3314-25.
61. Melnikova DI, Beleneva IA, Tyunin AP, et al. The Taxonomic Composition, Characteristics, And Neurotoxic Activities Of Ribbon Worm-Associated Bacteria From The Sea Of Japan. *Russ J Mar Biol* 2017; 43: 383-91.
62. Asakawa M, Katsutoshi I, Kajihara H. Highly Toxic Ribbon Worm *Cephalothrix Simula* Containing Tetrodotoxin In Hiroshima Bay, Hiroshima Prefecture, Japan. *Toxins* 2013; 5(2): 376-95.
63. Kem WR. Pyridine Alkaloid Distribution In The Hoplonemertines. *Hydrobiologia* 1988; 156: 145-51.
64. Magnus O. *Historia De Gentibus Septentrionalibus*, Rome 1555. Translated Into Swedish. 1909, 1925.
65. Borlase W. *The Natural History Of Cornwall*. Wilmington, NC, USA: Coastal, 1758.
66. Wilson CB. *The Habits And Early Development Of Cerebratulus Lacteus (Verrill) J. And A. A Contribution To Physiological Morphology*. London, UK: Churchill Ltd, 1900.
67. Reisinger E. Nemertini. *Biol Tiere Deutchl* 1926; 1: 1-24.
68. Bacq ZM. Les Poisons Des Nemertiens. *Bull Cl Sci Acad Roy Belg* 1936; 22(5): 1072-9.
69. Bacq ZM. L' "Amphiporine" Et La "Nemertine", Poisons Des Vers Némertiens. *Arch Int Physiol* 1937; 44: 109-24.
70. Kem WR. Biochemistry Of Nemertine Toxins. *Marine Pharmacognosy. Action Of Marine Biotoxins At The Cellular Level*. In: Martin D, Padilla G, editors. New York, NY, USA: Academic Press, 1973, 38-85.
71. Kem WR, Abbott BC, Coates RM. Isolation And Structure Of A Hoplonemertine Toxin. *Toxicon* 1971; 9(1): 15-22.
72. Kem WR, Mahnir VM, Papke RL, et al. Anabaseine Is A Potent Agonist Upon Muscle And Neuronal Alpha-Bungarotoxin Sensitive Nicotinic Receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 283(3): 979-92.
73. Catterall WA. Structure And Regulation Of Voltage-Gated Ca^{2+} Channels. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2000; 16: 521-55.
74. Kem WR. The Brain Alpha7 Nicotinic Receptor May Be An Important Therapeutic Target For The Treatment Of Alzheimer's Disease: Studies With DMXB A (GTS-21). *Behav Brain Res* 2000; 113(1-2): 169-81.
75. Kem WR, Scott KN, Duncan JH. Hoplonemertine Worms-A New Source Of Pyridine Neurotoxins. *Experientia* 1976; 32(6): 684-6.
76. Cruskie MPJ, Zoltewicz JA, Abboud KA. Revised Structure And Convergent Synthesis Of Nemertelline, The Neurotoxic Quaterpyridine Isolated From The Hoplonemertine Sea Worm. *J Org Chem* 1995; 60(23): 7491-5.
77. Kem WR, Soti F. Amphiporus Alkaloid Multiplicity Implies Functional Diversity: Initial Studies On Crustacean Pyridyl Receptors. *Hydrobiologia* 2001; 456: 221-31.
78. Kem WR, Rocca J, Garraffo HM, et al. Synthesis And Spectroscopic Comparison Of The Eight Methyl-2,3'-Bipyridyls And Identification Of A Hoplonemertine Alkaloid As 3-Methyl-2,3'-Bipyridyl. *Heterocycles* 2009; 79(1): 1025-41.
79. Kem WR, Soti F, Rittschof D. Inhibition Of Barnacle Larval Settlement And Crustacean Toxicity Of Some Hoplonemertine Pyridyl Alkaloids. *Biomol Eng* 2003; 20(4-6): 355-61.
80. Kem WR, Soti F, Rittschof D. Materials And Methods For Inhibiting Fouling Of Surfaces Exposed To Aquatic Environments. Patent US730717B2, U.S., 2006.
81. Meyer EM, Arendash G, Judkins JH, et al. Effects Of Nucleus Basalis Lesions On The Muscarinic And Nicotinic Modulation Of (3H) Acetylcholine Release In The Rat Cerebral Cortex. *J Neurochem* 1987; 49(6): 1758-62.
82. Zoltewicz JA, Bloom LB, Kem WR. Quantitative Determination Of The Ring-Chain Hydrolysis Equilibrium Constant For Anabaseine And Related Tobacco Alkaloids. *J Org Chem* 1989; 54(18): 4462-8.

83. Hunter BE, De Fiebre CM, Papke RL, et al. A Novel Nicotinic Agonist Facilitates Induction Of Long-Term Potentiation In The Rat Hippocampus. *Neurosci Lett* 1994; 168(1-2): 130-4.
84. Sahakian B, Jones G, Levy R, et al. The Effects Of Nicotine On Attention, Information Processing, And Short-Term Memory In Patients With Dementia Of The Alzheimer Type. *Br J Psychiatry* 1989; 154: 797-800.
85. Woodruff-Pak DS, Li YT, Kem WR. A Nicotinic Agonist (GTS-21), Eyeblink Classical Conditioning, And Nicotinic Receptor Binding In Rabbit Brain. *Brain Res* 1994; 645(1-2): 309-17.
86. Meyer EM, Tay ET, Papke RL, et al. 3-(2,4-Dimethoxybenzylidene) Anabaseine (DMXB) Selectively Activates Rat A7 Receptors And Improves Memory-Related Behaviors In A Mecamylamine-Sensitive Manner. *Brain Res* 1997; 768(1-2): 49-56.
87. Zawieja P, Kornprobst JM, Métais P. 3-(2,4-Dimethoxybenzylidene)-Anabaseine: A Promising Candidate Drug For Alzheimer's Disease?. *Geriatr Gerontol Int* 2012; 12(3): 365-71.
88. Kem W, Soti F, Wildeboer K, et al. The nemertine toxin anabaseine and its derivative DMXBA (GTS-21): Chemical and pharmacological properties. *Marine Drugs* 2006; 4(3): 255-73.
89. Kline JK. Behavioral Responses Of The Spiny Lobster (*Panulirus Argus*) To Live Amphiporous *Angulatus* And Its Bipyridyl Toxins, 1986. Biology Senior Project Report, Kalamazoo College. (Accessed March 13, 2020, at <http://hdl.handle.net/10920/23073>)
90. Woodward RB. The Structure Of Tetrodotoxin. *Pure Appl Chem* 1964; 9(1): 49-74.
91. Tsuda K, Ikuma S, Kawamura M, et al. Tetrodotoxin. VII. On The Structures Of Tetrodotoxin And Its Derivatives. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1964; 12(11): 1357-74.
92. Goto T, Kishi Y, Takahashi S, et al. Tetrodotoxin. *Tetrahedron* 1965; 21(8): 2059-88.
93. Onyabu N, Nishikawa T, Isobe M. First Asymmetric Total Synthesis Of Tetrodotoxin. *J Am Chem Soc* 2003; 125(29): 8798-805.
94. Noguchi T, Arakawa O. Tetrodotoxin-Distribution And Accumulation In Aquatic Organisms, And Cases Of Human Intoxication. *Mar Drugs* 2008; 6(2): 220-42.
95. Miyazawa K, Noguchi T. Distribution And Origin Of Tetrodotoxin. *J Toxicol Toxin Rev* 2001; 20(1): 11-33.
96. Chau R, Kalaitzis JA, Neilan BA. On The Origins And Biosynthesis Of Tetrodotoxin. *Aquat Toxicol* 2011; 104(1-2): 61-72.
97. Hwang DF, Noguchi T. Tetrodotoxin Poisoning. *Adv Food Nutr Res* 2007; 52: 141-236.
98. Hanifin CT. The Chemical And Evolutionary Ecology Of Tetrodotoxin (TTX) Toxicity In Terrestrial Vertebrates. *Mar Drugs* 2010; 8(3): 577-93.
99. Stevens M, Peigneur S, Tytgat J. Neurotoxins And Their Binding Areas On Voltage-Gated Sodium Channels. *Front Pharmacol* 2011; 2: 71.
100. Blankenship JE. Tetrodotoxin: From Poison To Powerful Tool. *Perspect Biol Med* 1976; 19(4): 509-26.
101. Fozzard H, Lipkind G. The Tetrodotoxin Binding Site Is Within The Outer Vestibule Of The Sodium Channel. *Mar Drugs* 2010; 8(2): 219-34.
102. Nieto FR, Cobos EJ, Tejada MÁ, et al. Tetrodotoxin (TTX) As A Therapeutic Agent For Pain. *Mar Drugs* 2012; 10(2): 281-305.
103. Magarlamov TY, Melnikova DI, Chernyshev AV. Tetrodotoxin-Producing Bacteria: Detection, Distribution And Migration Of The Toxin In Aquatic Systems. *Toxins* 2017; 9(5): 166.
104. Bane V, Lehane M, Dikshit M, et al. Tetrodotoxin: Chemistry, Toxicity, Source, Distribution And Detection. *Toxins* 2014; 6(2): 693-755.
105. Zhou M, Shum FHK. Method Of Extracting Tetrodotoxin. Patent US6552191B1, U.S., 2003.
106. Piel J. Metabolites From Symbiotic Bacteria. *Nat Prod Rep* 2004; 21(4): 519-38.
107. Miyazawa K, Higashiyama M, Ito K, et al. Tetrodotoxin In Two Species Of Ribbon Worm (Nemertini), *Lineus Fuscoviridis* And *Tubulanus Punctatus*. *Toxicon* 1988; 26(9): 867-74.

108. Ali AE, Arakawa O, Noguchi T, et al. Tetrodotoxin And Related Substances In A Ribbon Worm Cephalothrix Linearis (Nemertean). *Toxicon* 1990; 28(9): 1083-93.
109. Noguchi T, Ali AE, Arakawa O, et al. Tetrodonic Acid-Like Substance; A Possible Precursor Of Tetrodotoxin. *Toxicon* 1991; 29(7): 845-55.
110. Takatani T, Akaeda H, Arakawa O, et al. Occurrence Of Paralytic Shellfish Poison (PSP) In Bivalves, Along With Mossworm Adherent To Their Shells, Collected From Fukue Island, Nagasaki, Japan During 1995 And 1996. *J Food Hyg Soc Japan* 1997; 38(6): 430-4.
111. Asakawa M, Toyoshima T, Shida Y, et al. Paralytic Toxins In A Ribbon Worm Cephalothrix Species (Nemertean) Adherent To Cultured Oysters In Hiroshima Bay, Hiroshima Prefecture, Japan. *Toxicon* 2000; 38(6): 763-73.
112. Ueda H, Itoi S, Sugita H. TTX-Bearing Planoceric Flatworm (Platyhelminthes: Acotylea) In The Ryukyu Islands, Japan. *Mar Drugs* 2018; 16(1): 37.
113. Carroll S, Mcevoy EG, Gibson R. The Production Of Tetrodotoxin-Like Substances By Nemertean Worms In Conjunction With Bacteria. *J Exp Mar Biol Ecol* 2003; 288(1): 51-63.
114. Mcevoy EG, Rogers A, Gibson R. Preliminary Investigation Of *Vibrio Alginolyticus*-Like Bacteria Associated With Marine Nemerteans. *Hydrobiologia* 1997; 365: 287-91.
115. Strand M, Sundberg P. Sustainable Method For Synthesizing Tetrodotoxin (TTX). Patent US20110081690A1, U.S., 2011.
116. Matsumura K. No Ability To Produce Tetrodotoxin In Bacteria. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67(5): 2393-4.
117. Salvitti L, Wood SA, McNabb P, et al. No Evidence For A Culturable Bacterial Tetrodotoxin Producer In Pleurobranchaea Maculate (Gastropoda: Pleurobranchidae) And Stylochoplana Sp. (Platyhelminthes: Polycladida). *Toxins* 2015; 7(2): 255-73.
118. Salvitti L, Wood SA, Taylor DI, et al. First Identification Of Tetrodotoxin (TTX) In The Flatworm Stylochoplana Sp.; A Source Of TTX For The Sea Slug Pleurobranchaea Maculate. *Toxicon* 2015; 95(1): 23-9.
119. Tanu MB, Mahmud Y, Arakawa O, et al. Immunoenzymatic Visualization Of Tetrodotoxin (TTX) In Cephalothrix Species (Nemertea: Anopla: Palaeonemertea: Cephalotrichidae) And Planocera Reticulate (Platyhelminthes: Turbellaria: Polycladida: Planoceridae). *Toxicon* 2004; 44(5): 515-20.
120. Vlasenko AE, Velansky PV, Chernyshev AV, et al. Tetrodotoxin And Its Analogues Profile In Nemertean Species From The Sea Of Japan. *Toxicon* 2018; 156: 48-51.
121. Kwon YS, Min SK, Yeon SJ, et al. Assessment Of Neuronal Cell-Based Cytotoxicity Of Neurotoxins From An Estuarine Nemertean In The Han River Estuary. *J Microbiol Biotechnol* 2017; 27(4): 725-30.
122. Turner A, Fenwick D, Powell A, et al. New Invasive Nemertean Species (Cephalothrix Simula) In England With High Levels Of Tetrodotoxin And A Microbiome Linked To Toxin Metabolism. *Mar Drugs* 2018; 16(11): 452.
123. Beleneva I, Magarlamov TY, Kukhlevsky A. Characterization, Identification, And Screening For Tetrodotoxin Production By Bacteria Associated With The Ribbon Worm (Nemertea) Cephalotrix Simula (Ivata, 1952). *Microbiology* 2014; 83(3): 220-6.
124. Magarlamov TY, Beleneva IA, Chernyshev AV, et al. Tetrodotoxin-Producing Bacillus Sp. From The Ribbon Worm (Nemertea) Cephalothrix Simula (Iwata, 1952). *Toxicon* 2014; 85: 46-51.
125. Asakawa M, Toyoshima T, Ito K, et al. Paralytic Toxicity In The Ribbon Worm Cephalothrix Species (Nemertea) In Hiroshima Bay, Hiroshima Prefecture, Japan And The Isolation Of Tetrodotoxin As A Main Component Of Its Toxins. *Toxicon* 2003; 41(7): 747-53.
126. Lousalet M, Campbell ME, Schwartz ML. Microdistribution Of Tetrodotoxin In Three Species Of Nemerteans [Abstract]. *Proceedings Of The 7th International Conference On Nemertean Biology*. 2009 July. 29 June-3 July, Santa Barbara, CA, USA.
127. Magarlamov TY, Shokur OA, Chernyshev AV. Distribution Of Tetrodotoxin In The Ribbon Worm Lineus Albostratus (Takakura,

- 1898) (Nemertea): Immunoelectron And Immunofluorescence Studies. *Toxicon* 2016; 112: 29-34.
128. Campbell ME, Schwartz ML. Immunohistological Visualization Of Tetrodotoxin In *Micrura Verrilli* And *Dushia Atra* (Phylum Nemertea), 2008. (Accessed February 20, 2020, at: https://apps.cur.org/ncur2018/Archive/Display_NCURL.aspx?Id=10545)
129. Andersson HS, Jacobssonb E, Erikssonb C, et al. The Toxicity Of Ribbon Worms: Alpha-Nemertides Or Tetrodotoxin, Or Both?. *Planta Med* 2016; 81(S 01): S1-S381.
130. Kem WR. Purification And Characterization Of A New Family Of Polypeptide Neurotoxins From The Heteronemertine *Cerebratulus Lacteus* (Leidy). *J Biol Chem* 1976; 251(14): 4184-92.
131. Blumenthal KM, Kem WR. Structure And Action Of Heteronemertine Polypeptide Toxins. Primary Structure Of *Cerebratulus Lacteus* Toxin B-IV. *J Biol Chem* 1976; 251(19): 6025-9.
132. Blumenthal KM, Keim PS, Heinrikson RL, et al. Structure And Action Of Heteronemertine Polypeptide Toxins. Amino Acid Sequence Of *Cerebratulus Lacteus* Toxin B-II And Revised Structure Of Toxin B-IV. *J Biol Chem* 1981; 256(17): 9063-7.
133. Blumenthal KM, Kem WR. Structure And Action Of Heteronemertine Polypeptide Toxins: Inactivation Of *Cerebratulus Lacteus* Toxin B-IV By Tyrosine Nitration. *Arch Biochem Biophys* 1980; 203(2): 816-21.
134. Blumenthal KM. Structure And Action Of Heteronemertine Polypeptide Toxins: Inactivation Of *Cerebratulus Lacteus* Toxin B-IV Concomitant With Tryptophan Alkylation. *Arch Biochem Biophys* 1980; 203(2): 822-6.
135. Blumenthal KM. Renaturation Of Neurotoxin B-IV From The Heteronemertine *Cerebratulus Lacteus*. *Toxicon* 1986; 24(1): 63-9.
136. Toth GP, Blumenthal KM. Structure And Action Of Heteronemertine Polypeptide Toxins: Binding Of *Cerebratulus Lacteus* Toxin B-IV To Axon Membrane Vesicles. *Biochim Biophys Acta (BBA) - Biomembranes* 1983; 732(1): 160-9.
137. Lieberman DL, Blumenthal KM. Structure And Action Of Heteronemertine Polypeptide Toxins. Specific Cross-Linking Of *Cerebratulus Lacteus* Toxin B-IV To Lobster Axon Membrane Vesicles. *Biochim Biophys Acta (BBA) - Biomembranes* 1986; 855(1): 41-8.
138. Kem WR, Tu CK, Williams RW, et al. Circular Dichroism And Laser Raman Spectroscopic Analysis Of The Secondary Structure Of *Cerebratulus Lacteus* Toxin B-IV. *J Protein Chem* 1990; 9: 433-43.
139. Hansen PE, Kem WR, Bieber AL, et al. ¹H-NMR Study Of Neurotoxin B-IV From The Marine Worm *Cerebratulus Lacteus*. Solution Properties, Sequence-Specific Resonance Assignments, Secondary Structure And Global Fold. *Eur J Biochem* 1992; 210(1): 231-40.
140. Barnham KJ, Dyke TR, Kem WR, et al. Structure Of Neurotoxin B-IV From The Marine Worm *Cerebratulus Lacteus*: A Helical Hairpin Cross-Linked By Disulphide Bonding. *J Mol Biol* 1997; 268(5): 886-902.
141. Howell ML, Blumenthal KM. Cloning And Expression Of A Synthetic Gene For *Cerebratulus Lacteus* Neurotoxin B-IV. *J Biol Chem* 1989; 264(26): 15268-73.
142. Howell ML, Blumenthal KM. Mutagenesis Of *Cerebratulus Lacteus* Neurotoxin B-IV Identifies NH₂-Terminal Sequences Important For Biological Activity. *J Biol Chem* 1991; 266: 12884-8.
143. Wen PH, Blumenthal KM. Role Of Electrostatic Interactions In Defining The Potency Of Neurotoxin B-IV From *Cerebratulus Lacteus*. *J Biol Chem* 1996; 271(47): 29752-8.
144. Wen PH, Blumenthal KM. Structure And Function Of *Cerebratulus Lacteus* Neurotoxin B-IV: Tryptophan-30 Is Critical For Function While Lysines-18, -19, -29, And -33 Are Not Required. *Biochemistry* 1997; 36(43): 13435-40.
145. Blumenthal KM. Structure And Action Of Heteronemertine Polypeptide Toxins. Disulfide Bonds Of *Cerebratulus Lacteus* Toxin A-III. *J Biol Chem* 1980; 255(17): 8273-4.

146. Kem WR, Blumenthal KM. Purification And Characterization Of The Cytotoxic Cerebratulus A Toxins. *J Biol Chem* 1978; 253(16): 5752-7.
147. Posner P, Kem WR. Cardiac Effects Of Toxin A-III From The Heteronemertine Worm *Cerebratulus Lacteus* (Leidy). *Toxicon* 1978; 16(4): 343-9.
148. Kuo J, Raynor RL, Mazzei GJ, et al. Cobra Polypeptide Cytotoxin I And Marine Worm Polypeptide Cytotoxin A-IV Are Potent And Selective Inhibitors Of Phospholipid-Sensitive Ca^{2+} -Dependent Protein Kinase. *FEBS Lett* 1983; 153(1): 183-6.
149. Blumenthal KM, Kem WR. Structure And Action Of Heteronemertine Polypeptide Toxins. Primary Structure Of *Cerebratulus Lacteus* Toxin A-III. *J Biol Chem* 1980; 255(17): 8266-72.
150. Blumenthal KM. Structure And Action Of Heteronemertine Polypeptide Toxins. Membrane Penetration By *Cerebratulus Lacteus* Toxin A-III. *Biochemistry* 1982; 21(18): 4229-33.
151. Blumenthal KM. Release Of Liposomal Markers By *Cerebratulus* Toxin A-III. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 121(1): 14-8.
152. Dumont JA, Blumenthal KM. Structure And Action Of Heteronemertine Polypeptide Toxins: Importance Of Amphipathic Helix For Activity Of *Cerebratulus Lacteus* Toxin A-III. *Arch Biochem Biophys* 1985; 236(1): 167-75.
153. Liu JW, Blumenthal KM. Membrane Damage By *Cerebratulus Lacteus* Cytolysin A-III. Effects Of Monovalent And Divalent Cations On A-III Hemolytic Activity. *Biochim Biophys Acta (BBA) - Biomembranes* 1988; 937: 153-60.
154. Liu J, Blumenthal KM. Identification Of Oleic Acid Binding Sites In Cytolysin A-III From The Heteronemertine *Cerebratulus Lacteus*. *Toxicon* 1991; 29(1): 13-20.
155. Liu JW, Blumenthal KM. Functional Interaction Between *Cerebratulus Lacteus* Cytolysin A-III And Phospholipase A2. Implications For The Mechanism Of Cytolysis. *J Biol Chem* 1988; 263(14): 6619-24.
156. Fang M, Wang J, Han S, et al. Protective Effects Of Ω -Conotoxin On Amyloid-B-Induced Damage In PC12 Cells. *Toxicol Lett* 2011; 206(3): 325-38.
157. Rodrigo AP, Costa MH, Alves De Matos AP, et al. A Study On The Digestive Physiology Of A Marine Polychaete (*Eulalia Viridis*) Through Microanatomical Changes Of Epithelia During The Digestive Cycle. *Microsc Microanal* 2015; 21(1): 91-101.
158. Kuzmenkov AI, Nekrasova OV, Kudryashova KS, et al. Fluorescent Protein-Scorpion Toxin Chimera Is A Convenient Molecular Tool For Studies Of Potassium Channels. *Sci Rep* 2016; 6: 1-10.
159. Deheyn DD, Enzor LA, Dubowitz A, et al. Optical And Physicochemical Characterization Of The Luminous Mucous Secreted By The Marine Worm *Chaetopterus* Sp. *Physiol Biochem Zool* 2013; 86(6): 702-5.
160. Heine JN, McClintock JB, Slaterry M, et al. Energetic Composition, Biomass, And Chemical Defense In The Common Antarctic Nemertean *Parborlasia Corrugatus* (Mcintosh). *J Exp Mar Biol Ecol* 1991; 153(1): 15-25.
161. McClintock JB, Baker BJ. A Review Of The Chemical Ecology Of Antarctic Marine Invertebrates. *Am Zool* 1997; 37(4): 329-42.
162. Berne S, Sepcic K, Krizaj I, et al. Isolation And Characterisation Of A Cytolytic Protein From Mucus Secretions Of The Antarctic Heteronemertine *Parborlasia Corrugatus*. *Toxicon* 2003; 41(4): 483-91.
163. Butala M, Segal D, Tomc B, et al. Recombinant Expression And Predicted Structure Of Parborlysin, A Cytolytic Protein From The Antarctic Heteronemertine *Parborlasia Corrugatus*. *Toxicon* 2015; 108: 32-7.
164. Rogers JC, Qu Y, Tanada TN, et al. Molecular Determinants Of High Affinity Binding Of A-Scorpion Toxin And Sea Anemone Toxin In The S3-S4 Extracellular Loop In Domain IV Of The Na^+ Channel A Subunit. *J Biol Chem* 1996; 271(27): 15950-62.
165. Solis PN, Wright CW, Anderson MM, et al. A Microwell Cytotoxicity Assay Using *Artemia Salina* (Brine Shrimp). *Planta Med* 1993; 59(3): 250-2.

166. Shiomi K, Kawashima Y, Mizukami M, et al. Properties Of Proteinaceous Toxins In The Salivary Gland Of The Marine Gastropod (Monoplex Echo). *Toxicon* 2002; 40(5): 563-71.
167. Luo YJ, Kanda M, Koyanagi R, et al. Nemertean And Phoronid Genomes Reveal Lophotrochozoan Evolution And The Origin Of Bilaterian Heads. *Nat Ecol Evol* 2018; 2(1): 141-51.
168. Balasubramaniam A, Murphy RF, Blumenthal KM. Synthesis Of Sequences I-16, And 63-95 Of *Cerebratulus Lacteus* Toxin A-III. Hemolytic Activity In A Toxin Fragment. *Int J Pept Protein Res* 1986; 27(5): 508-13.
169. Shiomi K, Midorikawa S, Ishida M, et al. Plancitoxins, Lethal Factors From The Crown-Of-Thorns Starfish *Acanthaster Planci*, Are Deoxyribonucleases II. *Toxicon* 2004; 44(5): 499-506.
170. Ota E, Nagashima Y, Shiomi K, et al. Caspase-Independent Apoptosis Induced In Rat Liver Cells By Plancitoxin I, The Major Lethal Factor From The Crown-Of-Thorns Starfish *Acanthaster Planci* Venom. *Toxicon* 2006; 48(8): 1002-10.
171. Harvey AL. Toxins And Drug Discovery. *Toxicon* 2014; 92: 193-200.
172. Castañeda O, Sotolongo V, Amor AM, et al. Characterization Of A Potassium Channel Toxin From The Caribbean Sea Anemone *Stichodactyla Helianthus*. *Toxicon* 1995; 33(5): 603-13.
173. Yan L, Herrington J, Goldberg E, et al. *Stichodactyla Helianthus* Peptide, A Pharmacological Tool For Studying Kv3.2 Channels. *Mol Pharmacol* 2005; 67(5): 1513-21.
174. Middleton RE, Sanchez M, Linde AR, et al. Substitution Of A Single Residue In *Stichodactyla Helianthus* Peptide, Shk-Dap22, Reveals A Novel Pharmacological Profile. *Biochemistry* 2003; 42(46): 13698-707.
175. Kalman K, Pennington MW, Lanigan MD, et al. Shk-Dap22, A Potent Kv1.3-Specific Immunosuppressive Polypeptide. *J Biol Chem* 1998; 273(49): 32697-707.
176. Pennington MW, Byrnes ME, Zaydenberg I, et al. Chemical Synthesis And Characterization Of Shk Toxin: A Potent Potassium Channel Inhibitor From A Sea Anemone. *Int J Pept Protein Res* 1995; 46(5): 354-8.
177. Ueda A, Nagai H, Ishida M, et al. Purification And Molecular Cloning Of SE-Cephalotoxin, A Novel Proteinaceous Toxin From The Posterior Salivary Gland Of Cuttlefish *Sepia Esculenta*. *Toxicon* 2008; 52(4): 574-81.
178. Kawashima Y, Nagai H, Ishida M, et al. Primary Structure Of Echotoxin 2, An Actinoporin-Like Hemolytic Toxin From The Salivary Gland Of The Marine Gastropod *Monoplex Echo*. *Toxicon* 2003; 42(5): 491-7.
179. Xue Z, Liu X, Pang Y, et al. Characterization, Phylogenetic Analysis And Cdna Cloning Of Natterin-Like Gene From The Blood Of Lamprey, *Lamprpetra Japonica*. *Immunol Lett* 2012; 148(1): 1-10.
180. Magalhaes GS, Lopes-Ferreira M, Junqueira-De-Azevedo ILM, et al. Natterins, A New Class Of Proteins With Kininogenase Activity Characterized From *Thalassophryne nattereri* Fish Venom. *Biochimie* 2005; 87(8): 687-99.
181. Diep DB, Nelson KL, Raja SM, et al. Glycosylphosphatidylinositol Anchors Of Membrane Glycoproteins Are Binding Determinants For The Channel-Forming Toxin Aerolysin. *J Biol Chem* 1998; 273: 2355-60.
182. Degiacomi MT, Iacovache I, Pernot L, et al. Molecular Assembly Of The Aerolysin Pore Reveals A Swirling Membrane-Insertion Mechanism. *Nat Chem Biol* 2013; 9(10): 623-9.
183. Iacovache I, Paumard P, Scheib H, et al. A Rivet Model For Channel Formation By Aerolysin-Like Pore-Forming Toxins. *EMBO J* 2006; 25(3): 457-66.
184. Iacovache I, Degiacomi MT, Pernot L, et al. Dual Chaperone Role Of The C-Terminal Propeptide In Folding And Oligomerization Of The Pore-Forming Toxin Aerolysin. *PLoS Pathog* 2011; 7(7): e1002135.
185. Rosado CJ, Kondos S, Bull TE, et al. The MACPF/CDC Family Of Pore-Forming Toxins. *Cell Microbiol* 2008; 10(9): 1765-74.

186. Riesgo A, Andrade SC, Sharma PP, et al. Comparative Description Of Ten Transcriptomes Of Newly Sequenced Invertebrates And Efficiency Estimation Of Genomic Sampling In Non-Model Taxa. *Front Zool* 2012; 9(1): 33.
187. Honma T, Hasegawa Y, Ishida M, et al. Isolation And Molecular Cloning Of Novel Peptide Toxins From The Sea Anemone *Antheopsis Maculata*. *Toxicon* 2005; 45(1): 33-41.
188. Dreon MS, Frassa MV, Ceolin M, et al. Novel Animal Defenses Against Predation: A Snail Egg Neurotoxin Combining Lectin And Pore-Forming Chains That Resembles Plant Defense And Bacteria Attack Toxins. *PloS One* 2013; 8(5): e63782.
189. Frassa MV, Ceolín M, Dreon MS, et al. Structure And Stability Of The Neurotoxin PV2 From The Eggs Of The Apple Snail *Pomacea Canaliculata*. *Biochim Biophys Acta BBA - Proteins Proteom* 2010; 1804(7): 1492-9.

Review Article

Toxinology of Venomous Marine Worms; A Review

Gh. Mohebbi (PhD)^{1*}, A. Maryamabadi (PhD)¹, I. Nabipour (MD)^{1**}

¹ The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

(Received 6 Apr, 2020

Accepted 9 May 2020)

Abstract

Although the widespread distribution of venomous marine worms around the world, the structural and toxinological studies of their toxins are still limited. This study was aimed to evaluate the toxicity of poisonous marine worms. Touching the cilium of *Chloeia flava* and Sipuncula marine worms cause painful inflammation of the skin. Many species of nemertines prey their victims by a flexible proboscis and dense mucus on the surface of the skin. They have recently been classified into three groups of the Palaeonmerteia, Pilidiophora, and Hoplonemertea. Their toxins comprise the three main groups of peptides, pyridine alkaloids, and tetratoxin and their derivatives. The nicotinoide amphiporine compound, anabaseine and its derivatives, Nemertelline, and anabasine are as alkaloid toxins. They are selectively stimulated the nicotinic receptors, in particular the type of α -7 receptors. Nemerteans are produced a variety of peptide toxins. The hemolytic activity is the most prominent activity of the cerebratulus toxins A-I to A-IV. Cytotoxin A-III, by forming tetrameric forms in the membranes of many different cells, and creating large pores, makes them very permeable. The toxin inhibits the protein kinase C and the selective cationic sodium and calcium channels of the voltage-gate in the nervous and cardiovascular systems at low lytic concentrations. From four main proteins "Cerebratulus toxins- B-II to B-IV", the toxin B-II performed to be the most toxic compound. The assessment of the Lineus extract showed that they are actually more toxic than Cerebratulus extracts. The neurotoxins α - and β -nemertides, respectively, belong to the family of three and six kilodaltons. The nemertide α -1 is highly potent toxin against the VGSC. Dose-dependent injections have caused permanent paralysis to death. Many toxin genes have been predicted or discovered in the genomes and transcriptomes of nemerteans. The most prominent of the toxin genes were the Plancitoxin-1 sequence, Stichodactyla toxin peptide (Shk toxin), Se-Cephalotoxin, β pore-forming toxin aerolysin, and several neurotoxin-related sequences, such as delta-actitoxin-Amc1a, Perivitellin-2, Mu-theraphotoxin Hhn2a 4 and turriptide Gsg9.2, different α - , β -nemertides (B-neurotoxins analogs), and Parborlysin. Most likely, the Parborlysin belongs to the same family of cytotoxins AI-AIV. Study on these marine organism toxins can provide useful probes for examining receptors, ion channels, and even innate immunity mechanisms against infectious viruses, parasites, and other microbes.

Keywords: Marine Worm, Toxin, Peptides, Pyridine Alkaloids, Tetratoxin, Toxin gene.

©Iran South Med J. All right reserved

Cite this article as: Mohebbi Gh, Maryamabadi A, Nabipour I. Toxinology of Venomous Marine Worms; A Review. Iran South Med J 2020; 23(4): 371-430

Copyright © 2020 Mohebbi, et al This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

^{**Address for correspondence:} The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

Email: mohebbihsn@yahoo.com

*ORCID: 0000-0003-3393-702X

**ORCID: 0000-0002-1785-0883

Website: <http://bpums.ac.ir>

Journal Address: <http://ismj.bpums.ac.ir>