دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و چهارم، شماره ۵، صفحه ۵۸۱-۵۰۵ (آذر و دی ۱۴۰۰)

Iran South Med J 2021; 24(5): 505-581

توکسینولوژی حلزون‌های زهرآگین دریایی

غلامحسین محبی (PhD)[1*]، ایرج نبی‌پور (MD)[1]**

[1] مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج‌فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۵/۲۵- پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۷/۳۰)

چکیده

تعداد گونه‌های حلزون‌های دریایی زهراگین به‌طرز شگفت‌آوری زیاد هستند. ونوم‌های مخروطی‌ها، در یک مجرای لوله‌ای طویل از یک دستگاه زهری پیچیده، تولید می‌شوند و کوکتلی از توکسین‌های متعدد به‌ویژه کونوتوکسین‌ها را تشکیل می‌دهند که از قدرت و اختصاصیت بالایی برای گیرنده‌های اختصاصی اهداف خود برخوردار هستند. آن‌ها کانال‌ها، گیرنده‌های مختلف عصبی عضلانی و یا هورمون‌های قربانی را مهار و موجب تداخل در سیگنال‌های انتقالی طعمه یا بازداری شکارچیان می‌گردند. حلزون‌های مخروطی، توانایی شگفت‌انگیزی برای جابجایی سریع بین دو نوع مختلف ونوم‌های شکاری یا دفاعی در پاسخ به محرک‌های دفاعی یا شکاری را دارا می‌باشند. کونوتوکسین‌ها و کونوپپتیدهای مختلفی چون α-کونوتوکسین‌ها، σ-کونوتوکسین‌ها، ω-کونوتوکسین‌ها، μ-کونوتوکسین‌ها، ψ-کونوتوکسین‌ها، τ-کونوتوکسین‌ها، δ-کونوتوکسین‌ها و κ-کونوتوکسین‌ها، کونکونیتزین‌ها، کونانتوکین‌ها، کونتریفان‌ها، کونوتوکسین‌های Ac1، کونوانسولین‌ها، کونوتوکسین‌های شبه-گرانولین از کونوئیدها؛ اوگرپپتیدها از ونوم‌پپتیدهای خانواده تربریده؛ توریپپتیدها از ونوم‌پپتیدهای خانواده توریده؛ کراسیپپتیدها از ونوم‌پپتیدهای حلزون‌های کراسیسپیریده؛ کلاتورلیپپتیدها از ریزکونوئیده‌های زهرآگین کلاتورلیده و توکسین‌های دیگری چون پپتیدهای آرفامید و شبه‌نوروپپتیدهای درون‌زایی نظیر کونوپرسین‌ها و نیز کونتولاکین‌ها در زهر مخروطی‌ها دیده شده‌اند که عمکردهای زیستی و فارماکولوژیک شگفت‌انگیزی را نشان داده‌اند. با توجه به مورد تأیید قرارگرفتن برخی کونوتوکسین‌ها از جمله داروی ضددرد زیکونیتاید (Prialt®)، در کارآزمایی‌های بالینی و پتانسیل زیست پزشکی آن‌ها، تحقیقات فعلی به این توکسین‌ها معطوف گشته است. استفاده از رویکردهای ونومیکس یکپارچه، سرعت کشف توالی‌های کونوتوکسین بیان شده را به طرز چشمگیری افزایش داده است. امید است که با درک بهتر و شناسایی کونوتوکسین‌ها و سایر توکسین‌های به‌دست آمده از سایر حلزون‌های دریایی، در درمان بیماری‌هایی که بشر در برابر آن‌ها تسلیم شده است، مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: حلزون‌های دریایی، ونوم، توکسین، مکانیسم عمل

[**] بوشهر، مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج‌فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

Email: inabipour@gmail.com
***ORCID: 0000-0003-3393-702X**
****ORCID: 0000-0002-1785-0883**

مقدمه

حلزون‌های مخروطی

ونوم‌های جانوران زهرآگین، بارها و بارها به‌طور مستقل، در دودمان‌های مختلف فیلوژنتیک تکامل یافته‌اند. تنوع زیستی جانوران زهرآگین که امروزه در زیستگاه‌های مختلف زندگی می‌کنند ممکن است بیش از ۱۰۵ گونه باشد. بدون شک، گروه‌های زمینی همچون مارها، عنکبوت‌ها، عقرب‌ها، و زنبورها جزو شناخته شده‌ترین‌ها هستند (۱). با این حال، محیط زیست دریایی نیز دارای یک تنوع زیستی قابل مقایسه با جانوران زهرآگین خشکی است و در مورد برخی از آن‌ها چون عروس‌های دریایی که اغلب موجب آسیب به انسان می‌گردند اطلاعات بیشتری وجود دارد (۲).

گاستروپودهای دریایی غارتگر از تیره کونوس، متعلق به کلاس طبقه‌بندی نئوگاستروپودا[1] هستند که شامل سه بالاخانواده موریکوئیده[2]،کنسلاریوده[3] و کونوئیده [4] می‌باشند (۱).

به طرز شگفت‌آوری تعداد کل گونه‌های حلزون‌های گاستروپود دریایی زهراگین زیاد است. محتمل است که بیشترین تنوع زیستی در میان تمام نژادهای نرم‌تنان، مربوط به بالا خانواده کونوئیده یا زیرمجموعه توکسوگلوسا[5]، باشد. این جانوران شکارچی زهرآگین شامل هزاران گونه توصیف شده هستند که احتمالاً تعداد زیادی از آن‌ها حتی به ثبت نیز نرسیده‌اند. به‌طور سنتی، درون شاخه کونوئیده، سه خانواده حلزون دریایی زهرآگین مشتمل بر حلزون‌های مخروطی (خانواده کونیده[6](کوناسه[7] یا توکسوگلوسا)، اوگرها (خانواده تربریده)[8]، و توریدها (خانواده توریده[9]، سنسو لاتو[10]) می‌باشد (۳). از این میان، توریدها ناشناخته‌ترین و دارای بیشترین ناهمگونی هستند. بر اساس برآوردهای موجود، ۷۰۰-۵۰۰ گونه حلزون مخروطی، ۵۰۰-۳۰۰ گونه اوگر و احتمالاً بیش از ۱۰۰۰۰ توریده وجود دارد. در بررسی سیستماتیک بوکت (Bouchet) و همکاران، در تنوع زیستی در کالدونیای جدید، فقط ۵۱ گونه کونوس و بیش از ۱۵۰۰ گونه "توريد" یافت گردیده بود که بیشتر آن‌ها هم نامگذاری نشده بودند (۴). بر اساس شناسایی بسترهای فسیلی چندین گروه بنیادی توکسوگلوسان[11]، منشاء اصلی توکسوگلوسات‌ها در سنوزوئیک بوده است (۱). بر اساس داده‌های جدید فیلوژنتیک مولکولی، گونه‌های مختص خانواده کلاسیک توریده به ۱۲ گروه جدیدتر تفکیک می‌شوند (۵).

بر اساس آمار کوئینزلند نیز خانواده کاملاً دریایی حلزون‌های مخروطی (کونیده) تقریباً از ۶۰۰-۵۰۰ گونه زنده تشکیل شده‌اند که حدود ۱۶۶ گونه از آن‌ها در آب‌های استرالیا یافت شده‌اند و از این میان، ۱۳۳ مورد نیز در کوئینزلند[12] به ثبت رسیده‌اند (۶).

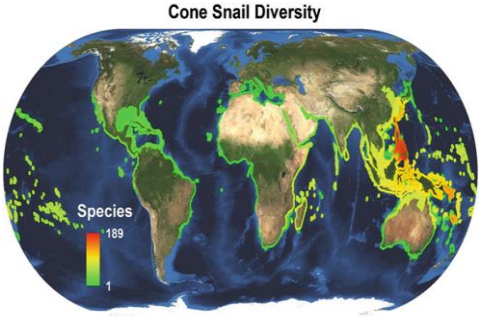
حلزون‌های مخروطی، عمدتاً به دلیل زیبایی پوسته‌هایشان شناخته شده‌اند و در بسیاری از "سوغات‌سراهای کنار دریا"[13]، در سراسر گیتی یافت می‌شوند (۷).

حلزون‌های مخروطی در آب‌های گرمسیری و نیمه گرمسیری در سراسر جهان یافت می‌شوند؛ آن‌ها در مناطق هند و آرام بسیار زیاد به‌چشم می‌خورند و یک مرکز عمده از تنوع زیستی آن‌ها در اطراف فیلیپین

[1] Neogastropoda
[2] Muricoidea
[3] Cancellarioidea
[4] Conoidea
[5] Toxoglossa
[6] Conidae
[7] Conacea

[8] Terebridae
[9] Turridae
[10] *Sensu lato*
[11] Toxoglossan
[12] Queensland
[13] Sea Side Souvenir Shops

می‌باشد (شکل ۱) (۳). تربریدها و حلزون‌های مخروطی[14] عمدتاً گروه‌های گرمسیری هستند و توریدها فقط با محیط‌های آب سرد سازگار شده‌اند (۳). به‌علاوه، تنوع‌های استثنایی در اقیانوس‌های اطلس نظیر جزایر کیپ ورد[15] و هند (ماداگاسکار) دیده می‌شوند (۸). کونوئیدها را بسته به نوع گونه می‌توان در زیر سنگ‌ها، قلوه سنگ‌های مرجانی، شن و ماسه و علف‌های هرز در مناطق مختلف گرمسیری و نیمه‌گرمسیری، و همچنین آب‌های معتدل جنوب استرالیا نیز مشاهده نمود (۶ و ۹).



شکل ۱) تنوع و توزیع حلزون‌های مخروطی. حلزون‌های مخروطی در تمام مناطق گرمسیری کره زمین یافت می‌شوند اما به‌ویژه در مناطق هند–اقیانوس آرام و فیلیپین بسیار زیاد هستند (۳).

Fig 1) Diversity and distribution of cone snails. Cone snails are found in all tropical areas of the world, though are especially abundant in the Indo-Pacific and Philippine regions (3).

این زیست‌مندان دریایی، اولین گروه از جانوران زهراگین نیستند که بحث و مطالعه در مورد زهر آن‌ها به ذهن انسان خطور نموده است (۱)؛ هرچند اطلاعات موجود در مورد زهرهای آن‌ها به هیچ‌وجه با تعداد واقعی گونه‌ها مطابقت ندارد.

بیولوژی حلزون‌های دریایی، به‌عنوان شکارچیان کند بسیار جذاب است. آن‌ها حدود ۵۰۰ گونه شناخته شده جانوران دیگر را از حلزون‌های دیگر گرفته تا کرم‌ها یا حتی ماهی‌ها را شکار می‌کنند. بی‌حرکت نمودن طعمه در نتیجه عملکرد ونوم‌های نسبتا پیچیده‌ای حاصل می‌شود که با استفاده از دندانک‌های نیزه مانند آن‌ها به قربانیان تزریق می‌گردد. ونوم هر گونه می‌تواند حاوی تا ۲۰۰ ترکیب فعال فارماکولوژیکی باشد که عمدتاً کانال‌های یونی مختلف دریچه–ولتاژ و دریچه–لیگاند را هدف قرار می‌دهند (۱۰ و ۱۱).

تقریباً همه توکسین‌های شناسایی شده از ونوم توکسوگلوسان تا به امروز از حلزون‌های مخروطی است. در یک فراگرد کلی، عمده بررسی‌ها، پیرامون کونوتوکسین‌های ونوم کونوس متمرکز هستند. با این‌حال، اخیراً توکسین‌های ونوم‌های سایر نرم‌تنان نیز کم و بیش در حال بررسی هستند و به‌دلیل پتانسیل فارماکولوژیکی زیاد آن‌ها، مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند. غفلت از نرم‌تنان زهرآگین دیگر بجز حلزون‌های مخروطی در گذشته تا حدی ناشی از غیرقابل دسترس و ناکافی بودن ونوم جهت آنالیزهای بیوشیمیایی معمول آن‌ها بوده است. به‌علاوه، تقریباً همه گونه‌های غیرکونوس توکسوگلوسان، بسیار کوچک و نسبتاً کمیاب هستند (۴ و ۱۲). میزان بیشتر گونه‌های کونوس و فراوانی نسبی برخی از آن‌ها در زیستگاه‌های دریایی کم عمق، ونوم‌های کونوس را برای خالص‌سازی استاندارد و تعیین خصوصیت

[14] Cone Snails
[15] Cape Verde

پپتیدهای آن‌ها، بسیار امکان‌پذیرتر نموده است. با این‌حال، روش‌های میان‌رشته‌ای جدید برای کشف پپتیدها، امکان دسترسی به پپتیدها را از گروه‌های مورد غفلت مربوط به نرم‌تنان زهرآگین دیگر، مهیاتر نموده‌است. به‌طور خاص، پلتفورم "کشف هماهنگ"[16] که برای کشف پپتید کونوس توسعه یافته است، به‌راحتی می‌تواند برای سایر گروه‌های نرم‌تنان زهرآگین نیز سازگار باشد (۱۲). در واقع، کشف پپتید به جای نیاز به ونوم از صدها نمونه از یک گونه خاص، می‌تواند با استفاده از یک نمونه از حلزون‌های زهراگین، حتی یک نمونه ریز انجام شود. با این‌حال، استفاده کارآمد از پلتفورم کشف هماهنگ، نیازمند به یک دانش فیلوژنی مولکولی خانواده حلزون‌های زهرآگین مورد آنالیز و همچنین اطلاعات پایه در مورد بالاخانواده‌های پپتید بیان شده در مجاری زهر گونه می‌باشد. با استفاده از این چهارچوب، آنالیز ترانسکریپتومیکس مجاری زهری، همراه با سنتز شیمیایی و یا بیان پپتیدهای پیش‌بینی شده، تولید پپتیدهای ونوم ویژه‌ای را برای خصوصیات عملکردی بیشتر، ممکن می‌سازد (۱۰).

خانواده خاصی از ونوم‌پپتیدها که در گروهی از نرم‌تنان مرتبط بیان می‌شوند، می‌توانند یک خانواده متناظر از کانال‌های یونی، گیرنده‌ها یا ناقل‌ها را نیز هدف قرار دهند. در نتیجه، شناسایی موفقیت‌آمیز هر یک از اعضای خانواده ونوم پپتیدها، چراغی برای شناسایی بیشتر خصوصیات فارماکولوژیکی پپتیدهای دیگر خانواده می‌گردد. بنابراین، برای کشف موثر، فیلوژنی مولکولی، شناسایی بالاخانواده‌های ژن ونوم‌پپتید، ترانسکریپتومیکس، سنتز پپتیدها و خصوصیات عملکردی پپتیدهای جداگانه باید به‌طور یکپارچه با یکدیگر ادغام گردند. برای استفاده از پلتفورم "کشف هماهنگ"، اطلاعات دیگری نیز لازم است. برای انجام مؤثر آنالیز ترانسکریپتومیکس، مهارت تشریح آناتومیک قابل توجهی نیز مورد نیاز است. بنابراین، محدوده تخصص میان رشته‌ای ضروری، دامنه چشم‌گیری از زمینه‌ها را نظیر تاکسونومی و فیلوژنی‌شناسی، بیوشیمی پپتیدها، علوم اعصاب، ژنتیک مولکولی، آناتومی و زیست‌شناسی میدانی (برای جمع‌آوری تنوع زیستی) نیز شامل می‌شود. پپتیدهای کشف نشده موجود در ونوم‌های نرم تنان می‌توانند به طور فزاینده‌ای استخراج شوند و ابزارهای فارماکولوژیکی منحصر به‌فردی را در آینده فراهم نمایند. بدین‌ترتیب، بسیاری از تحولات مهم در رابطه با پپتیدهای حلزون‌ها را می‌توان پیش‌بینی نمود. تحول مهم دیگر مورد پیش‌بینی، استفاده روزافزون از کونوپپتیدها و سایر ونوم پپتیدهای کونوئیدی، جهت تمایز بین ایزوفرم‌های مولکولی کانال‌های یونی و خانواده‌های گیرنده مورد بیان در سیستم‌های عصبی است. زهر حلزونیان، منبع اصلی برای چنین پپتیدهای خاص در گذشته بوده است و به نظر می‌رسد که این ونوم‌ها بخش عمده‌ای از ابزارهای فارماکولوژیکی جدید مورد نیاز برای بررسی کانال‌های یونی پیچیده‌تر یا خانواده‌های گیرنده‌ها را فراهم نمایند که خصوصیات عملکردی ایزوفرم‌های مولکولی منحصر به‌فردی برای آن‌ها وجود ندارد (۴).

کونوئیدها

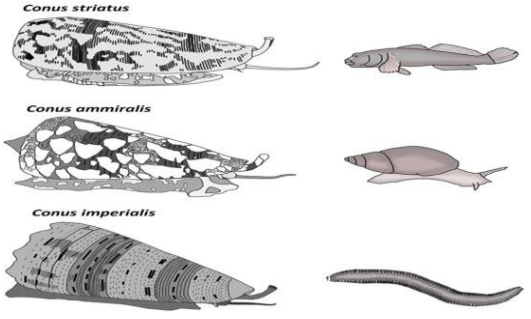
کونوئیدها، شکارچیان فعالی هستند که به‌طور معمول، شب‌ها در حال نگهبانی برای شکار طعمه

[16] Concerted Discovery

هستند. به‌طور خلاصه، دستگاه تغذیه‌ای اکثر حلزون‌ها، متشکل از پروبوسیس[17]، دهان، رادولا[18] (ردیف‌هایی از دندان‌های ریز قرار گرفته در یک نوار) و فک می‌باشد. در حلزون‌های مخروطی، دندان‌های رادولاری، به شکل تیغ‌های توخالی و کشیده و به شکل نیزه چیده شده‌اند (۶). یک غده زهری، تهیه ونوم را برای پر نمودن بارب‌ها[19] (تیغ‌ها)، بر عهده دارد و پس از آن، یکی از این تیغ‌ها، توسط پروبوسیس به گوشت طعمه‌ای که ممکن است کرم، نرم‌تنان یا ماهی باشد، تزریق می‌گردد. طعمه پس از بی‌حرکت شدن، توسط پروبوسیس کونوس بلعیده می‌شود. خطرناک‌ترین مخروطیان، گونه‌های ماهی‌خوار[20] و نرم‌تن‌خوار[21] هستند که مسئول صدمات جدی و بسیاری از تلفات هستند. گونه کرم‌خواران[22] نیز ممکن است موجب آسیب گردند، گرچه، آسیب آن‌ها معمولاً تهدید کننده حیات نمی‌باشد (۶).

طبقه‌بندی حلزون‌های مخروطی بر اساس وضعیت تغذیه‌ای

گونه‌های حلزون مخروطی دارای الگوهای پوسته، اندازه و عادات غذایی متنوعی هستند و همانگونه که اشاره شد گونه‌های کرم‌خوار[23]، نرم‌تن‌خوار[24] و ماهی‌خوار[25] سه گروه اصلی آن‌ها هستند (شکل ۲).



شکل ۲) تقسیم‌بندی حلزون‌های مخروطی بر اساس رژیم غذایی آن‌ها. سه گروه اصلی کرم‌خوار، نرم تن‌خوار و ماهی‌خوار (۸).

Fig 2) Classification of cone snails based on their diet. The three main groups of vermivorous, molluscivorous, and piscivorous (8).

گونه‌های ماهی‌خوار

گونه‌های مخروطی ماهی‌خوار با پوسته هایی با روزنه‌های پهن مشخص می‌شوند. مواجهه با کونوس ژئوگرافوس[26]، کونوس تولیپا[27]، کونوس استرایتوس[28]، کونوس کاتوس[29] و کونوس مگوس[30]، فوق‌العاده خطرناک هستند (شکل ۳). در موزه کوئینزلند، نمونه واقعی کونوس ژئوگرافوس مسئول قتل معروف سال ۱۹۳۵ در جزیره هایمن[31]، در سواحل مرکزی کوئینزلند نگهداری می‌شود. قربانی بدشانس، مردی ۲۰ ساله بود که هنگام تمیز کردن سطح پوسته، با آن مواجهه داشته است (۱۳). رنگ روشن یا طرح‌دار پوسته‌های بسیاری از گونه‌های این مخروطی‌ها در سواحل، توجه غیرمنتظره افراد، خصوصاً کودکان را به خود جلب می‌نماید. یک پوسته مخروطی در کنار ساحل ممکن است هنوز یک حیوان زنده را در خود داشته باشد و در آب نیز به احتمال قریب به یقین جانور هنوز زنده باشد (۶).

[17] Proboscis
[18] Radula
[19] Barbs
[20] Fish-eating species
[21] Mollusc-eating species
[22] Worm-eating species
[23] Vermivorous
[24] Molluscivorous
[25] Piscivorous
[26] *Conus geographus*
[27] *C. tulipa*
[28] *C. striatus*
[29] *C. catus*
[30] *C. magus*
[31] Hayman

الف | ب | ج

شکل ۳) **الف**: برخی گونه‌های مخروطی ماهی‌خوار؛ چپ به راست: کونوس استرایتوس، کونوس ژئوگرافوس (بلندترین آن‌ها در شکل، ۱۳۰ میلی‌متر جهت قیاس)، کونوس تولیپا، کونوس مگوس و کونوس کاتوس (پایین سمت راست). **ب**: گونه‌های مخروطی نرم‌تن خوار. چپ به راست: کونوس تکستایل، کونوس اومریا، کونوس اولیکوس، کونوس مرمورئوس (بلندترین ۹۰ میلی‌متر). **ج**: گونه‌های مخروطی کرم‌خوار. چپ به راست: کونوس کاپیتانئوس، کونوس لئوپاردوس (۱۰۰ میلی‌متر)، کونوس وکسیلیوم، کونوس مایلس، کونوس لیتراتوس.

Fig 3) **A**: Some species of fish-eating cones; Left to right: *Conus striatus*, *C. geographus* (highest in the figure, 130 mm for analogy), *C. tulipa*, *C. Magus*, and *C. catus* (bottom, right). **B:** Molluscivorous cone species. Left to right: *C. textile*, *C. omaria*, *C. aulicus*, *C. marmoreus* (tallest 90 mm). **C**: Vermivorous cone species. Left to right: *C. capitaneus*, *C. leopardus* (100 mm), *C. vexillum*, *C. miles*, *C. litteratus*.

گونه‌های نرم‌تن خوار

گونه‌های مخروطی نرم‌تن‌خوار با نشان‌های برجسته چتری روی پوسته مشخص می‌شوند. به دلیل توانایی آن‌ها در ایجاد آسیب زیاد و گاهی اوقات مرگ، نگهداری جانور زنده عاقلانه نیست. گونه‌های بزرگ‌تری چون کونوس تکستایل[۳۲]، کونوس اولیکوس[۳۳]، کونوس اومریا[۳۴] و کونوس مرمورئوس[۳۵] باید خطرناک تلقی شوند. گونه نادر معروف کونوس گلوریاماریس[۳۶] (گونه آسیای جنوب شرقی و ملانزی)، به این گروه تعلق دارد (۱۴).

گونه‌های کرم‌خوار

گونه‌های مخروطی کرم‌خوار، توسط پوسته‌هایی با روزنه باریک مشخص می‌شوند. اکثر گونه‌های صدف‌های مخروطی در این گروه قرار می‌گیرند. گرچه، تاکنون هیچ یک مسئول مرگ ومیرهای شناخته شده‌ای نیستند، لکن دست زدن به گونه‌های زنده بزرگ‌تری چون کونوس کاپیتانئوس[۳۷]، کونوس لئوپردوس[۳۸]، کونوس وکسیلیوم[۳۹]، کونوس لیتراتوس[۴۰] و کونوس مایلس[۴۱]، جایز به‌نظر نمی‌رسد (۱۵).

ونوم حلزون‌های مخروطی

ونوم‌های حلزون‌های مخروطی درنده دریایی تیره کونوس برای شکار طعمه و یا دفاع تکامل یافته‌اند و زمینه را برای بقاء و تنوع سریع بیش از ۷۵۰ گونه فعلی را فراهم می‌نمایند. این پپتیدهای غنی از دی سولفید و خوش‌ساخت، حاوی کوکتل متنوعی از صدها تا هزاران پپتید غنی از دی سولفید زیست فعال، به نام کونوتوکسین‌ها هستند که بر روی طیف وسیعی از اهداف از جمله کانال‌های یونی، گیرنده های همراه G– پروتئین (GPCRs)، ناقل‌ها و آنزیم‌ها عمل می‌کنند (۱۶).

ویژگی قابل توجه ونوم‌های حلزون دریایی پیچیدگی آن‌هاست. بر اساس خالص‌سازی‌های اولیه بیوشیمیایی ونوم‌های حلزون مخروطی، برآورد شده است که هر گونه حلزون مخروطی دارای مجموعه‌ای

[32] *Conus textile*
[33] *C. aulicus*
[34] *C. omaria*
[35] *C. marmoreus*
[36] *C. gloriamaris*

[37] *C. capitaneus*
[38] *C. leopardus*
[39] *C. vexillum*
[40] *C. litteratus*
[41] *C. miles*

بین ۵۰ تا ۲۰۰ جزء مختلف ونوم باشند که عمدتاً پپتیدهای کوچک غنی از دی‌سولفید هستند (۱۰). براساس آنالیزهای طیف سنجی جرمی هو (Hu) و همکاران، نیز حداقل ۲۰۰ جزء ناخالص از اجزای زهر وجود دارد (۱۷). در طیف‌سنجی جرمی ونوم در مطالعه بیاس (Biass) و همکاران، در برخی از آن‌ها نظیر کونوس کونسورس[۴۲]، بیش از ۱۰۰۰ اجزای سازنده تشخیص داده شده است (۱۸).

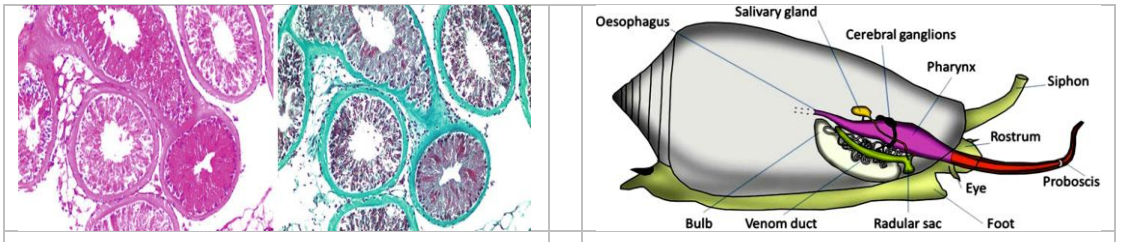
کونوتوکسین‌ها، به‌دلیل قدرت و انتخابگری منحصربفرد خود، مورد توجه دانشمندان علوم مغز و اعصاب و همچنین تولیدکنندگان دارو قرار گرفته‌اند. آن‌ها نه تنها در شکار طعمه، بلکه منبع غنی از پروب‌های مولکولی و سرنخ‌های درمانی را فراهم می‌کنند. ظهور ونومیکس یکپارچه، کشف کونوتوکسین را تسریع نموده است و اکنون بیش از ده هزار توالی کونوتوکسین منتشر شده است. با این‌حال، خصوصیات ساختاری و فارماکولوژی بسیاری از آن‌ها، به‌طور قابل‌توجهی ناشناخته مانده است (۱۹ و ۲۰).

ونوم مخروطی‌ها، به‌طور انحصاری در یک مجرای لوله‌ای طویل، در غده زهری تولید می‌شود و یک کوکتلی از پپتیدهای کوتاه متعدد کونوتوکسین تشکیل می‌دهند که کانال یا گیرنده‌های عصبی عضلانی طعمه و یا هورمون‌ها را مهار و موجب تداخل در سیگنال‌های انتقالی طعمه می‌گردند (۲۱). برخی از گونه‌ها، به‌طور بالقوه برای انسان خطرناک هستند و حدود سه دوجین مرگ به گزش با کونوس ژئوگرافوس نسبت داده می‌شود که دوز کشنده آن بین ۰/۰۲۹ تا ۰/۰۳۸ میلی‌گرم در کیلوگرم برآورد شده است که در محدوده LD_{50} گزارش شده موش برای مرگ‌بارترین مارهای کره زمین است (۲۲).

دستگاه زهری حلزون‌های مخروطی

حلزون‌های مخروطی یک دستگاه زهری پیچیده برای تولید یک کوکتل پیچیده‌ای از توکسین‌ها که به‌صورت عضلانی موجب بی‌حرکت نمودن سریع طعمه یا بازداری شکارچیان می‌شوند را مورد استفاده قرار می‌دهند. از ویژگی‌های ظاهری و برجسته جانور می‌توان به پا، بدن (بخشی از آن توسط گوشته یا منتل پوشانده شده)، سیفون، چشم‌ها و روستروم[۴۳] قابل اتساع و پروبوسیس اشاره نمود. دستگاه زهری، پس از خارج نمودن پوسته جانور و برداشتن گوشته، در معرض دید قرار می‌گیرد. اولین گزارش دقیق در مورد آناتومی حلزون مخروطی توسط شاو (Shaw) انجام شد (۲۳). دستگاه کامل زهری را می‌توان به چندین ارگان عملکردی اصلی شامل پیاز عضلانی[۴۴]، غده زهری[۴۵] یا مجرای زهر[۴۶]، کیسه رادیولار[۴۷] و پروبوسیس تقسیم نمود (شکل ۴). همچنین، غده بزاقی ممکن است در تولید توکسین‌ها و یا آنزیم‌هایی که هضم و جذب طعمه را تسهیل می‌نمایند، نقش داشته باشد.

[42] *C. consors*
[43] Rostrum
[44] Muscular Bulb
[45] Venom Gland
[46] Venom Duct
[47] Radular Sac



الف ب

شکل ۴) **الف:** آناتومی عمومی دستگاه زهری یک حلزون مخروطی. این نرم‌تنان درنده یک دستگاه زهرآگین پیچیده را به وجود آورده‌اند که اندام‌های خاصی از جمله پروبوسیس، کیسه رادولا، مجرای زهر و پیاز عضلانی را با هم ادغام نموده‌اند؛ **ب:** مقاطع عرضی مجرای زهری حلزون مخروطی. پانل سمت چپ با پریدیک اسید–شیف (PAS) و پانل سمت راست با تری‌کروم گوموری[۴۸] رنگ آمیزی شده‌اند (فیبرهای عضلانی به رنگ قرمز، لکه‌های کلاژن به‌رنگ سبز و هسته‌ها به رنگ آبی / مشکی).

Fig 4) **A**) General anatomy of the venom system of a cone snail. These predatory snails have created a complex venomous system that combines specific organs, including the proboscis, the radular sac, the venom duct, and the Muscular Bulb; **B**) Crosswise sections of cone snail venom duct. The left panel is stained with periodic Acid-Schiff (PAS) and the right panel is dyed with Gomori trichrome (muscle fibers as red, collagen spots as green, and nucleuses as blue/black colors)

پیاز عضلانی

در انتهای پروگزیمال دستگاه زهری، یک ارگان بزرگ لوبیایی شکل دیده می‌شود که در واقع، "غده لیبلئین"[۴۹] است و توسط شاو، به اشتباه "غده سمی"[۵۰] فرض گردید. اما به نظر هرمیت (Hermitte)، این کیسه زهر[۵۱]، ظاهرا فقط یک کیسه ذخیره‌سازی و اندام محرکه برای زهری بود که احتمالاً توسط لوله پیچ خورده[۵۲] ترشح می‌شد (۲۴). بر اساس مطالعات بافت‌شناسی نیز این اندام از عضلات طولی، مورب و عمدتاً دایره‌ای شکل، همراه با بافت‌های همبند تشکیل گردیده است (۲۵). در سال ۱۹۶۳ نیز توسط ویسنر و ساندرس (Whysner & Saunders)، نشان داده شد که تزریق عصاره این بافت، اثرات قابل‌مشاهده‌ای در موش‌های سوری ایجاد نمی‌نماید (۲۶).

یک کانال یا لومن که توسط یک اپیتلیوم مکعبی غیر ترشحی پوشانیده شده‌است، در موقعیت عرضی قرار دارد و به یک صورت یک برآمدگی مجرای زهر پروگزیمال ظاهر می‌شود. داده‌های پروتئومیکس، ژنومیکس و مورفولوژیک در مورد این حباب عضلانی نشان داده‌اند که سطوح بالایی از پروتئین‌هایی که در حرکت سریع عضلات آن نقش دارند وجود دارد و پروتئین‌های مشخصه بیوسنتز زهر ناچیز است. حباب ونوم از طریق انقباض عضله می‌تواند پروبوسیس را با زهر شکارچیانه یا دفاعی در قبل از تزریق طعمه پر نماید (۲۷).

مجرای ونوم

مجرای زهری، به صورت لوله‌ای بلند و پیچ خورده به قطر نیم تا یک و نیم میلی‌متر، در حفره بدن بین حباب زهری و حلق یا مری دیده می‌شود (شکل ۴). طول این لوله، بسته به گونه‌ها، متفاوت است، اما در آن‌ها، یک روند پیروی از رژیم غذایی وجود دارد که در آن گونه‌های ماهی‌خوار، دارای مجرای نسبتاً کوتاهی و

[48] Gomori
[49] Gland Of Leiblein
[50] Poison Gland
[51] Poison Sac
[52] Coiled Tube

تقریباً دو تا سه برابر طول پوسته بوده و کرم‌خواران و نرم‌تن خواران دارای یک مجرای طولانی و تا شش برابر طول پوسته می‌باشند. مجرای زهری، "غده زهری" واقعی است و مسئول تولید کونوتوکسین‌ها و آنزیم‌های تزریق شده به طعمه یا صیاد است (۲۸). در اوایل، نظر بر آن بود که تولید ونوم در امتداد مجرا، همگن نیست. در مطالعه ویت و اندین (Whyte & Endean)، تزریق عصاره زهر کونوس ژئوگرافوس، از قسمت دیستال به موش‌ها بدون تأثیر و همین عصاره از قسمت پروگزیمال آن کشنده بود (۲۹). مطالعه اندین و دوکمین (Endean & Duchemin) نیز یک گرادیان "زهر نابالغ تا بالغ" را از انتهای پیاز تا انتهای حلق نشان داد (۲۵). این عملکرد منطقه سازی[53] تا زمانی‌که مشخص گردید حلزون‌های مخروطی می‌توانند در واکنش به محرک‌های تهاجمی یا دفاعی، به‌سرعت زهرهای متمایزی را جابجا کنند، به‌صورت یک راز باقی مانده بود. ونوم‌های ناشی از شکار و دفاع به‌ترتیب از مناطق دیستال و پروگزیمال مجرای زهر سرچشمه می‌گیرند (۸). برش‌های عرضی غده زهری در مطالعه اندین و دوکمین نشان داده شد که مجرای داخلی توسط یک اپیتلیوم متراکم نازک پوشانیده شده است که تقریباً به‌طور کامل لومن را اشغال می‌نماید (۲۵). در واقع، بر اساس مشاهدات مارشال (Marshall) و همکاران، چندین لایه سلول ستونی کشیده، حاوی گرانول‌های سیتوپلاسمی قابل مشاهده، لومن را به یک ناحیه نازک ستاره شکل محدود می‌کند (شکل ۴). دیواره خارجی مجرا، از بافت‌های همبند (کلاژن) و فیبرهای عضلانی طولی تشکیل شده است که دارای یک لایه میانی عضلات حلقوی است. نمای میکروسکوپی الکترونی عبوری از قسمت پروگزیمال مجرا، یک اپیتلیوم پیچیده را نشان داد که می‌تواند به جای ترشح، در انتقال فعال دارای نقش داشته باشد. مجرای دیستال نیز حداقل دو نوع سلول مختلف را نشان داد که ترشح هولوکرین[54] را با گرانول‌های برجسته داخل سلولی نشان می‌دهد. گرانول‌های مشابهی نیز برای پر کردن مجرای لومن یافت شدند (۳۰).

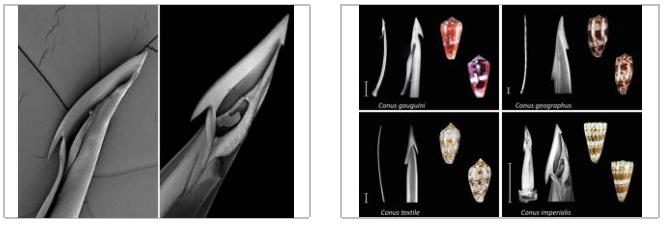
کیسه رادولار

رادولای کاملاً اصلاح شده که برای تزریق ونوم بکار برده می‌شود، در یک بافت تخصصی به نام غلاف رادولار[55] یا به عبارت ساده تر، کیسه رادولار تولید می‌شود. این ارگان همراه یک استخوانچه[56] Y شکل با یک بازوی کوتاه و بلند است (۲۴) که بازوی بلندتر شامل تعداد مختلفی از دندان‌ها در مراحل مختلف بلوغ می‌باشند و تمام آن‌ها در امتداد محور آن قرار دارند و نوک آن به انتهای کور می‌رسد؛ در حالی‌که بازوی کوتاه‌تر بیشتر به عنوان ذخیره‌سازی دندان‌های کاملاً بالغ عمل می‌کند (۳۱). اندازه این ارگان، با توجه به اندازه رادولا متفاوت است. به‌طور کلی، مخروطی‌های ماهی‌خوار و نرم‌تن‌خوار دارای کیسه‌ای بزرگ‌تر و رشد یافته‌تر و در شکارگران کرم، نسبتاً کوچک است. تعداد دندان‌های موجود در کیسه رادولا در گونه‌ها نیز با توجه به تفاوت در رژیم‌ها متفاوت هستند. به‌عنوان مثال، تعداد دندان‌ها در کونوس تکستایل و کونوس مرمرئوس نرم‌تن‌خوار از ۷۰ (شامل ۲۰ عدد در بازوی کوتاه و ۵۰ عدد در بازوی بلند) و در کونوس مایلس شکارگر کرم فقط ۱۹ عدد (۱ مورد در بازوی کوتاه و ۱۸ مورد در بازوی بلند) است (۳۲).

دیواره‌های کیسه رادولار از بافت‌های همبند و رشته‌های صاف عضلانی تشکیل شده است؛ لومن پوشیده شده از

[53] Regionalization
[54] Holocrine
[55] Radular Sheath
[56] Wishbone

اپیتلیوم، از سلول‌های ستونی ساخته شده است. به‌نظر می‌رسد که این اپیتلیوم، مسئول تولید دندان‌های کیتینوئیدی رادولا باشد (۲۵). مورفولوژی رادولا بسیار جذاب است و برای عبور ونوم از آن به صورت توخالی و برای نفوذ به اعماق بافت‌های طعمه به صورت تیز و خاردار در آمده‌است. رادولا، اغلب به‌عنوان سوزن زیر جلدی[57] نیز شناخته می‌شود (شکل ۵) (۲۴).



ب الف

شکل ۵) الف: رادولای حلزون مخروطی. رادولای هر گونه، متناسب با نوع طعمه‌ای است که شکار می‌کند و شامل یک شافت بلند و یک قسمت قدامی توسعه یافته است (نوار مقیاس، نشان‌دهنده ۱ میلی‌متر). ب: تصاویر مقایسه‌ای میکروسکوپی الکترونی اسکنینگ و کانفوکال از رادولای کونوس ایمپریالیس[58].

Fig 5) ***A:*** Cone snail radula. The radula of each species is appropriate for the type of prey that hunts and comprises a long shaft and an extended anterior part (scale bar, indicating 1 mm). ***B:*** comparative scanning and confocal electron microscopic images of *Conus imperialis* radula.

در گونه‌های ماهی‌خواری چون کونوس گاگوینی[59]، رادولا به خوبی به یک چنگالک کوچک توخالی تبدیل شده است که علاوه بر تزریق ونوم، طعمه را نیز می‌بندد. گونه‌هایی چون کونوس ژئوگرافوس و شکارگران نرم‌تنی چون کونوس تکستایل نیز دارای یک رادولای بلند و باریک و شکارچیان کرمی نظیر کونوس ایمپریالیس دارای یک رادولای ضخیم و کوتاه هستند. نوک رادولا دارای یک تیغه، بارب (خار) و یک زایده جانبی بلند قلاب مانند در انتها است که به شکل یک چنگالک[60] دیده می‌شود. یک طبقه‌بندی سیستماتیک اخیر از کونوئیدان‌ها نیز بر اساس مورفولوژی رادولا تکیه دارد (۳۳).

بر اساس تصاویر، دندان رادولای کونوس ایمپریالیس، یک ورقه کیتینی است که بصورت لوله‌ای، دو و نیم دور چرخش نموده‌است. دندانه‌های پیچیده‌ای در امتداد لبه چین داخلی همراه با لبه‌های چین تاشو خارجی و بارب‌ها برای تسهیل نفوذ و کمک به ایمنی دندان در داخل طعمه بوجود آمده‌است (شکل ۵) (۳۴). شمای نیزه‌ها[61] و سیمیتارهای[62] مشاهده شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی، جهت کدگذاری در مطالعات تاکسونومیک و فیلوژنتیک مورد استفاده قرار گرفته‌است (۳۴). موارد فرعی دیگری نظیر طول دندانه‌ها، وجود خارها[63]، تیغه‌ها[64]، لبه‌ها[65] و سیخک‌ها[66] و همچنین عرض نسبی پایه دندان و نسبت طول کل رادولا به طول پوسته نیز مبنایی برای شناسایی آن‌ها گردید. نسبت کوچک‌تر از ۲۰، کرم‌خواران را از گونه‌های نرم‌تن‌خوار و ماهی‌خوار جدا می‌کند.

[57] Hypodermic Needle
[58] *C. imperialis*
[59] *C. gauguini*
[60] Mini-Harpoon
[61] Spears
[62] Scimitars
[63] Barbs
[64] Blades
[65] Cusp
[66] Spur

گونه‌های نزدیک به‌هم و دارای عادات غذایی مشابه، ساختار رادولای تقریباً یکسانی را نشان می‌دهند (۳۵).

غده بزاقی[۶۷] و سایر غدد جلدی

غده بزاقی به‌صورت یک بافت انتشار یافته در نزدیکی حلق دیده می‌شود و از آن دو مجرای بزاقی نازک به‌وجود می‌آیند که به بازوی کوتاه کیسه رادولا ختم می‌شوند. بر اساس مطالعات بافت‌شناسی، مجاری بزاقی با یک اپیتلیوم مکعبی مژک‌دار پوشانیده شده‌اند و سلول‌های غدد نیز حاوی گرانول‌ها در خوشه‌های کوچکی می‌باشند (۲۵). آنالیز هیستوشیمی این گرانول‌ها، وجود پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها را نشان داده است (۳۶). حرکات مژگانی، مسئول دفع ترشحات به مجرای لومن است (۳۶). در غده بزاقی فعالیت‌های پروتئازی نیز تشخیص داده شده است، اما نقش ترشح آنزیم‌های پروتئولیتیک درون بازوی کوتاه کیسه رادولار مورد بررسی چندانی قرار نگرفته‌است. در غدد بزاقی، توالی‌های شبه کونوتوکسین، توسط بیگز (Biggs) و همکاران، شناسایی شدند و احتمال داده شد که این ارگان بخشی از دستگاه زهری باشد و در تولید ونوم مشارکت نماید (۳۷). علاوه بر غده بزاقی اصلی، یک غده بزاقی ثانویه یا جانبی و همچنین غده پوزه[۶۸] در برخی از گونه‌های کونوس گزارش شده است (۳۶). برخلاف ظاهر منتشر غده بزاقی، غده بزاقی ثانویه، دارای یک شکل کاملاً مشخص لوله‌ای است که در یک مجرای ظریف باریک می‌شود و به سمت قدامی شکمی پروبوسیس طویل‌شده و نزدیک دهان باز می‌شود (۳۶).

مطالعات میکروسکوپی نوری و الکترونی شولتز (Schultz)، ساختاری متشکل از اپیتلیوم لومینال[۶۹]، یک لایه فیبروماسکولار[۷۰]، یک لایه تحت عضلانی[۷۱] و یک کپسول را نشان داده است (۳۸). ترشح غده بزاقی ثانویه، موجب تولید پلی‌ساکارید و پروتئین‌ها می‌شود. ترشحات غده پوزه که در نزدیکی کیسه رادولار دیده می‌شود، از مواد مخاطی سولفاته به شدت اسیدی تشکیل شده است که عملکرد ناشناخته‌ای دارند (۳۶).

پروبوسیس

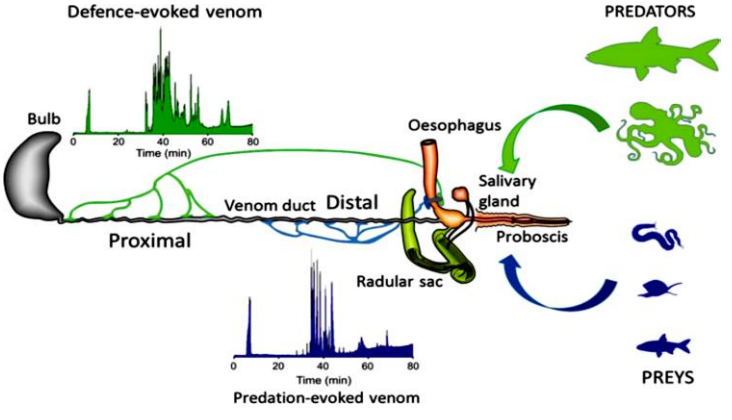
حلزون‌های مخروطی برای انتقال رادولای پر از ونوم به داخل طعمه، پروبوسیس پلئورمبولیک[۷۲] را مورد استفاده قرار می‌دهند (۳۹). پروبوسیس، یک عضو قابل ارتجاع است که در صورت محصور شدن در روستروم، قابل مشاهده نیست. در انتهای پروگزیمال، پروبوسیس به حلق متصل می‌شود و انتهای دیستال اندام قدامی دستگاه تغذیه‌ای یا به عبارت دیگر دهان آناتومیکی واقعی جانور را تشکیل می‌دهد. بر اساس مطالعات بافت‌شناسی، دیواره پروبوسیس از لایه‌های عضلانی حلقوی، مارپیچی و طولی ساخته شده‌اند؛ در حالی که لومن با یک لایه سلول‌های مکعبی پوشانده شده است (۲۵). اعصاب و هموسل[۷۳]، بین لایه‌های عضلانی و لومن یافت می‌شوند که عملکرد هیدرواستاتیک آن‌ها را امکان‌پذیر می‌سازد (۴۰). انتهای پروگزیمال پروبوسیس به شکل یک عضله اسفنکتر دیده می‌شود که این اسفنکتر ممکن است دندان رادولا را نگه داشته و از حرکت به عقب آن جلوگیری کند یا با تحت فشار قرار دادن ونوم، تزریق به جانور قربانی را تسهیل نماید (۴۰). نوک پروبوسیس با

[67] Salivary Gland
[68] Snout
[69] Luminal Epithelium
[70] Fibromuscular Layer
[71] Submuscular Layer
[72] Pleurembolic Proboscis
[73] Haemocoel

پاپیل‌های حسی[۷۴] پوشانیده شده است و تصور می‌شود که اطلاعات مربوط به نوع طعمه و مکان شکار را پس از تماس اولیه تقویت نماید (۴۱). قابل ذکر است که یک پروبوسیس قطع شده مثلاً توسط ماهی‌های درنده، ظرف مدت ۱۰ روز به طور کامل احیاء می‌گردد.

ونوم‌های شکار و دفاعی

مطالعه دوترتر (Dutertre)، یکی از مهم‌ترین جنبه‌های بیولوژی کونوس را آشکار نمود که از تحقیقات گذشته دور مانده بود (۸). همانگونه که اشاره گردید، تصور بر آن بود که حلزون‌های مخروطی مانند سایر جانوران زهراگین، احتمالاً همان کوکتل توکسین‌ها را به طعمه‌ها و شکارچیان برای شکار و دفاع تزریق می‌کنند. اما در یک خیز غافلگیرکننده مشخص گردید که حلزون‌های مخروطی، توانایی شگفت‌انگیزی برای جابجایی سریع بین دو نوع مختلف از ترکیبات ونوم در پاسخ به محرک‌های شکاری یا دفاعی دارا می‌باشند. به عنوان مثال، کونوس مرمرئوس، می‌تواند در طی چند دقیقه، مخلوط ونوم را تغییر دهد. شگفت‌آورتر، عدم وجود کونوتوکسین‌های پارالیتیک معروف و وجود تسهیل کننده‌های صید طعمه در ونوم برانگیخته با شکار[۷۵] در حلزون کونوس ژئوگرافوس بود. در عوض، مشخص گردید که این توکسین‌های کشنده در تلقیح زهر کونوس ژئوگرافوس در انسان، به‌عنوان ونوم دفاعی شده چیرگی داشتند. یک مجرای تخصصی ونوم، مسئول این ویژگی منحصر به‌فرد است که در مناطق دیستال و پروکسیمال، به‌ترتیب زهرهای برانگیخته شکاری و دفاعی تولید می‌گردند (شکل ۶)(۸). این اطلاعات، به گانگلیون مغزی اطراف مری منتقل و یک جریان یکپارچه، تولید و به سلول عصبی مرتبط منتقل می‌شود. ترشح ونوم پپتیدهای دیستال، برای تولید زهر برانگیخته با شکار یا ونوم پپتیدهای پروگزیمال، برای پاسخ دفاعی از طریق تحریک عصب بخش مرتبط مجرای زهر انجام می‌شود. احتمالا، پیاز عضلانی مسئول بیرون راندن پپتیدهای آزاد شده از لومن بوده و امکان تغییر سریع بین دو نوع زهر را فراهم می‌نماید (۸). با این حال، درک کامل روند تلقیح زهر حلزون‌های مخروطی، مکانیسم و چگونگی این تفاوت‌ها بین گزش‌های حمله‌ای و دفاعی، هنوز جای مطالعات زیادی دارد.



شکل ۶) مکانیسم پیشنهادی برای آزادسازی مجرای ونوم‌های برانگیخته با شکار و دفاعی. محرک زهرهای شکاری (آبی) یا دفاعی (سبز)، ممکن است مکانیکی، بصری و یا توسط حسگرهای بویایی حلزون‌های مخروطی باشد.

Fig 6) Proposed mechanism for release of the predation-evoked, and defence- evoked venom ducts. The stimulus of predatory (blue) or defensive (green) venoms of cone snails may possibly be mechanical, optical, or by olfactory sensors

[74] Sensory Papillae
[75] Predatory-Evoked Venom

مکانیسم تلقیح زهر[۷۶]

با وجود توصیف منطقی آناتومی دستگاه زهری حلزون مخروطی، درک مکانیسم تلقیح زهر هنوز بسیار سطحی به‌نظر می‌رسد. معمولاً، یک محرک شیمیایی از سمت طعمه موجب فعال‌سازی فوری پروبوسیس می‌گردد. پس از تماس با بافت مناسب، روند تلقیح زهر با سرعت انفجاری پیش می‌رود. در حلزون‌های مخروطی شکارگر ماهی و نرم‌تن، مکانیسم بالستیک با سرعت بالای ۰/۶۶ تا ۳ متر بر ثانیه، رادولا را به داخل بافت طعمه سوق می‌دهد (۴۲ و ۴۳). تصور می‌شود که یک انقباض در نزدیکی نوک پروبوسیس، فشار لازم برای پیشرانه دندان رادولا فراهم می‌آورد و اسفنکتر عضلانی نیز جریان ونوم و فشار آن را تنظیم می‌نماید. یکی از جالب‌ترین معماهایی که هنوز روشن نشده‌است، مربوط به بارگیری دندان[۷۷]، از کیسه رادولا تا نوک پروبوسیس است. غلاف‌شدگی [۷۸] پروبوسیس به‌عنوان مکانیسم احتمالی مطرح شده‌است (۲۴).

حلزون‌های مخروطی زنده، توانایی چشم‌گیری در تزریق چندین برابری به طعمه خود در فواصل کوتاه دارند و تزریق‌های پی در پی می‌تواند بدون جمع‌شدن کامل پروبوسیس انجام شود. بنابراین، امکان فشار از طریق انقباضات هماهنگ شده چندین عضله، از جمله کیسه رادولا، حلق و پروبوسیس، یک دندان مجزا را از بازوی کوتاه کیسه رادولا به نوک پروبوسیس بوجود می‌آورد. محتملاً، اندام تولید کننده فشار ونوم قبل از تزریق، حباب (پیاز)[۷۹] بزرگ عضلانی در انتهای پروگزیمال مجرای زهر است، اما حلق نیز می‌تواند در این عمل مشارکت نماید. ونوم استخراجی از غده، برخلاف مایع ونوم تزریقی، به صورت خمیری غلیظ می‌باشد. منشاء مایع رقیق کننده ترشحات مجرای زهر نیز ناشناخته است (۴۳). برای فلج نمودن طعمه و تداخل در انتقال عصبی عضلانی، حلزون‌های مخروطی همزمان کانال‌های کلسیم پیش‌سیناپسی، گیرنده‌های نیکوتینی پس‌سیناپسی و کانال‌های سدیم ولتاژدار را روی غشای عضلانی طعمه، مورد هدف قرار می‌دهند. بر اساس مطالعه ترلاو (Terlau) و همکاران، به ترکیب پپتیدهای کونوس "واحدهای توکسینی"[۸۰] و ترکیب ایجاد کننده تداخل در انتقال عصبی عضلانی، "واحد موتوری"[۸۱] گفته می‌شود. در ونوم‌های بسیاری از حلزون‌های مخروطی شکارگر ماهی، ترکیبی متفاوت از توکسین‌ها، موجب بی‌حرکتی بسیار سریع و آنی سمیت هیجانی[۸۲] طعمه و به تبع، فلج تتانیک "واحد حمله برق آسا "[۸۳] می‌گردند (۴۴). یک استراتژی جایگزین برای یک مجموعه متفاوت از گونه‌های حلزون مخروطی ماهی شکار، گرفتن طعمه بالقوه آرام و بی‌سرو صدا و باصطلاح "کابال نیروانا"[۸۴] است. کونوتوکسین‌های متعلق به کابال توکسین به‌طور معمول از قدرت و اختصاصیت بالایی برای اهداف گیرنده‌های اختصاصی برخوردار هستند. با توجه به قدرت و انتخابگری هدف آن‌ها، تعداد فزاینده‌ای از کونوتوکسین‌ها کاربردهای تشخیصی و درمانی بدست آورده‌اند (۴۵).

[76] Envenomation
[77] Tooth
[78] Invagination
[79] Bulb
[80] Toxin Cabals
[81] Motor Cabal
[82] Excitotoxic
[83] Lightning-Strike Cabal
[84] Nirvana Cabal

کونوتوکسین‌ها

انواع مختلفی از حلزون‌های مخروطی وجود دارند و هر نوع حلزون مخروطی دارای توکسین‌های مختلفی می‌باشد. بنابراین، مطالعه گونه‌های جدید حلزون مخروطی به معنای به‌دست آوردن ساختار جدیدی از توکسین‌ها است که ممکن است دارای عملکرد جدیدی باشند (۴۶ و ۴۷). ونوم‌های کونوس، به‌طور غیرمعمولی پیچیده‌اند؛ هر گونه کونوس می‌تواند فهرستی حدود ۲۰۰–۱۰۰ توکسین مختلف پپتیدی را در مجرای زهر بیان کند. از آنجا که بین پپتیدهای یافت شده در گونه‌های مختلف کونوس، عملاً هیچ‌گونه همپوشانی مولکولی وجود ندارد، برآورد می‌شود که در ونوم‌های حلزون مخروطی زنده، بیش از ۵۰۰۰۰ پپتید مختلف وجود داشته باشد (۱۰). کشف کریگ کلارک (Craig Clark)، دانشجوی ۱۹ ساله در آن زمان، در دانشگاه یوتا[85]، مبنی بر اینکه اجزای مختلف ونوم کونوس ژئوگرافوس، هنگام تزریق به سیستم عصبی مرکزی موش‌ها، موجب انواع مختلفی از رفتارها می‌گردند، منجر به شناسایی خصوصیات گروهی از پپتیدهای کونوس گردید که دارای فعالیت بیولوژیکی روی سلول‌های عصبی پستانداران بودند (۷). این اولین کونوتوکسین خالص‌سازی و مشخص شده از ونوم این کونوس بود که موجب فلج ماهی یا موش شده و نشان داده شد که کانال‌های یونی که برای انتقال عصبی عضلانی مهم هستند، مورد هدف قرار می‌گیرد (۴۸).

مطالعه ترلاو و الیورا (Terlau & Olivera)، در مورد ترکیبات ونوم حلزون‌های مخروطی نیز نشان داد که هر یک از گونه‌های آن‌ها در طول تکامل مجموعه اختصاصی کونوپپتیدهای مربوط به خود را ایجاد می‌نمایند و تخمین زده شد که احتمالاً بیش از ۵۰۰۰۰ کونوپپتید مختلف در ونوم‌های گونه‌های حلزون مخروطی وجود دارد (۱۰). هر چند، در یک تخمین در سال ۲۰۰۴، گفته شد که حلزون‌های مخروطی با یک میلیون کونوتوکسین مختلف، یکی از متنوع‌ترین ونوم‌ها را تولید می‌کنند که از این میان کمتر از یک درصد تعیین توالی گردیده و تنها بخش کوچکی از آن از نظر فارماکولوژیکی مشخص شده‌اند (۱۰). بر اساس مطالعات دهه اخیر، بالغ بر ۹۰۰ نوع کونوس، مخزنی از کونوتوکسین‌های منحصر به فرد خود را تولید می‌کنند که نه تنها می‌توانند در هر موجود متفاوت باشند (۴۹)، بلکه بسته به شرایط فیزیولوژیکی (۵۰) یا استفاده زهر، حتی برای شکار یا دفاع (۵۱)، متفاوت هستند و یکی از چالش‌های اصلی در ونومیکس مخروطی‌ها، فهرست‌بندی ترکیب دقیق مجموعه کونوتوکسین‌های هر یک از این گونه‌ها است (۴۹ و ۵۲). برای سال‌های متمادی، ونوم‌های ترشح شده کونوتوکسین‌های بالغ با استفاده از روش‌های مختلف کروماتوگرافی، خالص‌سازی و توالی‌یابی اسیدهای آمینه گردیدند و نقش‌های فیزیولوژیکی برخی از آن‌ها مشخص شد (۷) که یک روش بسیار مفید برای تشخیص کونوتوکسین‌های منحصربه فرد با ارزش پزشکی به‌شمار می‌آمد. در سال‌های اخیر، ظهور تکنیک‌های عظیم توالی RNA (RNA-seq)، انقلابی در سرعت فهرست‌بندی ونوم مخروطی‌ها ایجاد نموده است (۵۳). کونوتوکسین‌ها، توکسین‌های پپتیدی کوتاهی هستند که طول آن‌ها معمولاً ۲۵ اسید آمینه می‌باشد (۵۴). ویژگی مشترک این پپتیدها، وجود بقایای سیستئین در ساختار اولیه آن‌ها است که معمولاً در طی رشد، پیوندهای دی‌سولفیدی تشکیل می‌دهند (۵۵). در برخی موارد، از این ویژگی، برای نامگذاری آن‌ها به‌عنوان کونوپپتیدها[86] (پپتیدهای فقیر

[85] Utah
[86] Conopeptides

دی‌سولفید: صفر یا یک)، یا کونوتوکسین‌ها[87] (پپتیدهای غنی از سولفید: دو یا بیشتر) استفاده شده است (۵۶)؛ هر چند که بیشتر کونوتوکسین‌ها از ۱۲ تا ۴۰ بقایای اسیدآمینه تشکیل شده‌اند و معمولاً، حاوی ۲ تا ۳ جفت پیوند دی سولفیدی هستند. آن‌ها از کوچک‌ترین پپتیدهای نوروتوکسین جانوری رمزگذاری شده با اسید نوکلئیک و دارای بیشترین دانسیته پیوند دی‌سولفیدی هستند (۵۷).

اکثریت اجزای سازنده زهر کونوس، از نظر بیولوژیکی، پپتیدهایی هستند که در ابتدا از طریق ترجمه ریبوزومی به‌عنوان پیش‌سازهای پلی‌پپتیدی سنتز می‌شوند و پس از ترجمه برای پردازش ونوم‌پپتیدهای بالغ و فعال بیولوژیکی پردازش می‌شوند. این پروتئین‌های کوچک رمزگذاری شده ژنتیکی، در ابتدا به صورت پیش‌سازهای پیش‌پروپپتیدی متشکل از یک توالی سیگنال (منطقه "پیش")[88] و به دنبال آن یک منطقه "pro" بوده و در بخش C- ترمینال بیان‌کننده منطقه توکسین بالغ، ترجمه می‌شوند. پپتید فعال فارماکولوژیکی، توسط تجزیه آنزیمی قسمت C- ترمینال پیش پروپپتید[89] ایجاد می‌شود. در طول سنتز، پیش‌ماده به سه دامنه شکافته و پیوندهای دی‌سولفیدی در کونوتوکسین بالغ ایجاد می‌شود که تا شده و پس از ترجمه اصلاح می‌گردد (۵۸). وجود انواع اصلاحات پس ترجمه‌ای از ویژگی‌های بارز کونوپپتیدها می‌باشد که شامل هیدروکسیلاسیون پرولین‌ها، کربوکسیلاسیون گلوتامات، D-آمینواسیدها یا تیروزین سولفاته می‌باشند (۵۹). بر اساس یافته‌ها، حلزون‌های مخروطی، آنزیم‌های مهمی را برای آن تغییرات در مجاری زهری خود بیان می‌کنند (۶۰). از تغییرات کاملاً مشخص پس ترجمه‌ای ممکن در انتهای یک توکسین پپتید بالغ کونوس می‌توان به آمیداسیون C-ترمینال و تغییر گلوتامین به پیروگلوتامات در N-ترمینال اشاره نمود. بنابراین، بسیاری از پپتیدهای کونوس دارای آمینواسیدهای غیراستاندارد هستند که از طریق یک مدیفیکاسیون آنزیم از یک اسید آمینه استاندارد صورت می‌گیرد. وجود این اسیدهای آمینه غیرمعمول، یکی از مشخصه‌های توکسین‌های پپتیدی این گروه از جانوران زهراگین است (۵۹ و ۶۱). از دیگر ویژگی پپتیدهای کونوس، تنوع زیادی از "چین‌های پپتیدی" در هر ونوم است. آرایش مشخصه بقایای سیستئین در توالی اولیه توکسین‌های پپتید بالغ کونوس ("الگوهای Cys")، الگوهای پیوند عرضی دی‌سولفید را نشان می‌دهد. همه پپتیدهای متعلق به بالاخانواده کونوتوکسین، یک "الگوی Cys"[90] اصلی یکسان دارند. الگوهای فرعی Cys دیگری نیز ممکن است در برخی از بالاخانواده‌ها مشاهده شوند. همه پپتیدهای موجود در یک بالاخانواده کونوکسین احتمالاً دارای کانفورماسیون‌های کلی مشابهی هستند (۶۲ و ۶۳). این الگوهای مختلف Cys، چین‌های مختلف ساختاری را در پپتیدهای رمزگذاری شده توسط بالا خانواده‌های مختلف ژن کونوپپتیدی ایجاد می‌نمایند. بنابراین، در زهرهای کونوس، تنوع بیشتری از "چین"های پپتیدی نسبت به ونوم‌های سایر جانوران، یافت می‌شود. اکثریت قریب به اتفاق پپتیدهای کوچک ونوم کونوس، غنی از دی‌سولفید و از نظر کانفورماسیونی سخت هستند. اقلیتی از پپتیدهای کونوس فاقد کراس‌لینک‌های دی‌سولفیدی هستند و احتمالاً بسیار انعطاف‌پذیرتر هستند. الگوهای Cys از بالاخانواده‌های مختلف کونوتوکسین توسط ترلاو و اولیورا، مورد بررسی قرار

[87] Conotoxins
[88] “Pre” Region
[89] Prepropeptide
[90] Cys Pattern

گرفته‌اند (۱۰). تعداد به روز شده از همه چهارچوب‌های پپتیدی کونوس، در وب‌سایت کونوسرور[91] نگهداری می‌شود (۶۴). یکی دیگر از ویژگی‌های بارز ابرخانواده‌های ژنی پپتیدی کونوس، تکامل آن‌ها با یک سرعت بی‌سابقه است. در نتیجه، اساساً هیچ همپوشانی مولکولی بین پپتیدهای ونوم موجود در دو گونه مختلف حلزون مخروطی وجود ندارد (۶۵). همانگونه که اشاره گردید، کونوپپتیدها را با توجه به توالی اسید آمینه آن‌ها می‌توان به دو گروه گسترده پپتیدهای غنی از دی‌سولفید[92] و پپتیدهای غیرغنی از دی‌سولفید[93] طبقه‌بندی نمود (۱۰). پل‌های دی‌سولفیدی برای عملکرد بیولوژیکی پپتیدهای غنی از سیستئین، ضروری شناخته شده‌اند. علاوه بر این، پل‌های دی‌سولفیدی به مثابه یک ستون فقرات برای ساختار این پپتیدها هستند که معمولاً نسبتاً پایدار هستند (۶۶). برای پپتیدهای غنی از سولفید، چندین بالاخانواده با توجه به تفاوت در اتصال سیستئین آن‌ها تعریف شده است. در این بالاخانواده‌ها، پپتیدهای مختلف ممکن است اهداف مختلفی داشته باشند. بنابراین، یک بالاخانواده، ممکن است از چندین خانواده کونوتوکسین که با توجه به خواص فارماکولوژیک آن‌ها گروه‌بندی شده‌اند، تشکیل شده باشد (۶۶). به عنوان مثال، در بالاخانواده– O، حداقل چهار خانواده مختلف از کونوپپتیدهای غنی از دی‌سولفید، شش سیستئین با آرایشی از پپتیدهای با ریشه‌های مختلف (نقش "گره مهار کننده سیستین"[94]، شناسایی شده‌اند. δ- کونوتوکسین‌ها[95]، در مهار غیرفعال‌سازی سریع کانال‌های سدیمی دریچه–ولتاژ، μO–کونوتوکسین‌ها[96] در مهار جریان سدیمی ولتاژ–دریچه، κ–کونوتوکسین‌ها[97]، در تعامل با کانال‌های پتاسیمی دریچه–ولتاژ، و نیز ω–کونوتوکسین‌های مهارکننده کانال‌های کلسیمی ولتاژ–فعال[98] شناخته شده‌اند. از نظر بی‌حرکت نمودن طعمه، پپتیدهای این خانواده‌های مختلف می‌توانند در واحد حمله برق آسا[99] یا در بخش موتوری درگیر شوند. برای گونه‌های ماهی شکار، نظیر کونوس پورپوراسنس[100]، نشان داده شده است که δ-کونوتوکسین PVIA و κ-کونوتوکسین PVIIA برای واحد حمله برق آسا بسیار حیاتی است (۴۴). بنابراین، یکی از برجسته‌ترین ویژگی‌های کونوپپتیدها، خواص فارماکولوژیکی آن‌ها است. فعالیت کونوتوکسین‌ها متفاوت است. کونوتوکسین Mo1659 روی کانال K^+ عمل می‌کند. کونومپ–Vt[101]، می‌تواند بافت عضلانی را تحریک کند، اما نقش آن در گیرنده‌ها مشخص نشده است. کونتولاکین– G[102] بر روی گیرنده نوروتانسین عمل می‌کند (۶۱).

برخی پپتیدهای کونوس عملکرد گیرنده‌های پیوند با پروتئین G (GPCRS) را تحت تأثیر قرار می‌دهند. نشان داده شده است که برخی پپتیدهای کونوسی که عملکرد GPCRS را هدف قرار می‌دهند از خانواده‌های متنوع هستند و تاکنون هیچ خانواده عمده‌ای شناسایی نشده است.

[91] Conoserver
[92] Disulfide-Rich Peptides
[93] Non-Disulfide-Rich Peptides
[94] Inhibitor Cystine Knot" Motif
[95] δ-conotoxins
[96] μO-conotoxins
[97] κ-conotoxins
[98] voltage-activated
[99] Lightning Strike Cabal
[100] *Conus purpurascens*
[101] Conomap-Vt
[102] Contulakin-G

علاوه بر این، پپتیدهای کونوس ممکن است حامل‌های حامل‌های کاتکول‌آمین را هدف قرار دهند (۶۷).

نشان داده است که کونوپپتیدها، فوق‌العاده قوی و بسیار اختصاصی هستند. به‌عنوان مثال، ω-کونوتوکسین MVIIA، به‌طور اختصاصی کانال‌های کلسیمی نوع-N ($Ca_v2.2$) را با تمایل کم به سایر زیرگروه‌های کانال کلسیمی، مورد هدف قرار می‌دهد (۶۸). از آنجا که کانال‌های کلسیمی نوع-N در درجه اول در فضای پیش‌سیناپسی واقع شده‌اند، عملکرد ω- کونوتوکسین MVIIA، منجر به مهار انتقال سیناپسی می‌گردد و بنابراین، این پپتید در طی تلقیح زهر به طعمه، در بخش موتوری درگیر است. کونوتوکسین‌ها، می‌توانند به‌طور خاص بر روی کانال‌های یونی دریچه-ولتاژ (Na^+، K^+، Ca^{2+})، کانال‌های یونی دریچه- لیگاند (nAchR، 5-HT_3R، NMDAR) و گیرنده‌های پروتئینی G عمل نمایند و مورد توجه گسترده‌ای در زمینه علوم اعصاب و توسعه داروهای جدید قرار گیرند. آن‌ها گیرنده‌های، α، αA و ψ-CTx با nAchR را به‌صورت‌های رقابتی و غیررقابتی آنتاگونیزه می‌کنند (۶۹). برخی از کونوتوکسین‌ها با یا بدون یک جفت پیوند دی‌سولفیدی، می‌توانند به‌طور انتخابی بر روی گیرنده‌های وازوپرسین (مانند کونوپرسین[103]) (۷۰)، گیرنده‌های NMDA (مانند کونانتوکین‌ها[104]) (۷۱) و گیرنده‌های سروتونین عمل نمایند (۷۲). با توجه به ویژگی خارق‌العاده کونوپپتیدها، هر تک پپتید، یک "متخصصی" است که برای یک هدف خاص بهینه شده است و عملکرد فردی ولی هماهنگ پپتیدهای مختلف موجود در ونوم، منجر به عملکرد بیولوژیکی مورد نیاز جهت درندگی این حلزون‌ها می‌شود. با توجه به این خصوصیات فارماکولوژیک، کونوپپتیدها می‌توانند به‌سان ابزاری ایده‌آل برای مطالعه ساختار و عملکرد یک هدف مشخص باشند (۶۶).

خانواده‌های بزرگ پپتیدی کونوس به خانواده‌های جداگانه کوچک‌تر تقسیم می شوند. ویژگی برجسته‌ای که خانواده‌های مختلف کونوتوکسین متعلق به یک بالاخانواده مشابه را از هم متمایز می‌کند، اثرات فارماکولوژی آن‌ها است که مشخص می‌کند کدام گروه از کانال‌های یونی، گیرنده‌ها یا ناقل‌ها هدف مورد نظر آن‌ها هستند (۷۳)؛ برخی از خانواده‌های کونوتوکسین به‌طور گسترده‌ای در کل جنس کونوس توزیع شده‌اند. نمونه‌هایی از آن، α- کونوتوکسین‌هایی هستند که گیرنده‌های استیل کولینی نیکوتینی و نیز δ-کونوتوکسین‌هایی که کانال‌های سدیمی دریچه ولتاژ را هدف قرار می‌دهند (۷۴).

اگرچه پیش‌بینی اینکه کدام‌یک از کونوتوکسین‌ها در ونوم یک گونه خاص مخروطی یافت می‌شود، دور از علم دقیق است؛ لکن زیر گروه ژنریکی که یک گونه حلزون مخروطی به آن تعلق دارد، به شدت پیش‌بینی کننده کونوتوکسین‌هایی است که در ونوم آن یافت می‌شود. به‌عنوان مثال، به نظر می‌رسد گروه‌های مختلف حلزون مخروطی ماهی شکار، دارای توکسین‌های مختلف تخصصی برای هدف قرار دادن گیرنده استیل‌کولینی نیکوتینیک عصبی عضلانی هستند. به موجب این امر، فیلوژنی مولکولی کونوس به یک کاتالیزور قدرتمند برای تسریع در کشف تبدیل شده است. با این حال، گونه‌های خاصی نیز، غالباً دارای اجزای سازنده زهر خاص هستند که حتی در گونه‌های بسیار نزدیک کونوس نیز یافت نمی‌شوند. در طی دهه گذشته، بیشترین کونوتوکسین‌ها از طریق توالی نسل

[103] Conopressin
[104] Conantokins

بعدی (NGS)[۱۰۵]، از ترانسکریپتوم کانال ونوم کشف شده‌اند (۷۵). همان‌گونه که اشاره شد با توجه به عملکرد ونوم روی قربانی و با توجه به نقش بیولوژیکی آن‌ها برای بی‌حرکتی طعمه، نیز می‌توان کونوتوکسین‌های مختلف را طبقه‌بندی نمود (۷). همانگونه که نشان داده شد، برخی از کونوپپتیدها برای بی‌حرکت نمودن سریع طعمه ("کابال برخورد صاعقه")، دارای اهمیت زیادی هستند؛ در حالی‌که برخی فعالیت خود را در مراحل بعدی تلقیح زهر انجام می‌دهند که منجر به یک مهار برگشت‌ناپذیر انتقال عصب عضله می‌گردند که به اصطلاح "کابال حرکتی" گفته می‌شود.

کونوتوکسین‌ها به دلیل خصوصیات پیوند ویژه خود، می‌توانند ابزار ارزنده‌ای برای به‌دست آوردن اطلاعات ساختاری در مورد هدف مربوطه خود باشند؛ به‌عنوان مثال، برای پروتئین‌های غشایی که اطلاعات ساختاری آن‌ها کم و یا در دسترس نمی‌باشد؛ می‌توان از برهم‌کنش این توکسین‌های پپتیدی برای به‌دست آوردن اطلاعات ساختاری پروتئین هدف با استفاده از سطح برهم‌کنش پپتید استفاده نمود (۷۶). داده‌های به دست آمده از NMR حالت جامد در مطالعه لانگ (Lange) و همکاران، نشان دادند که در طی اتصال توکسین‌های پپتیدی به اهداف خود، برخی تغییرات کانفورماسیونی در هر دو بخش اتصال در طی برهم‌کنش‌های دارو- هدف رخ می‌دهد (۷۷). از آنجا که کانال‌های یونی دریچه- ولتاژ و دریچه- لیگاند به‌عنوان پروتئین‌های هدف کونوپپتیدها، در انواع عملکردهای مختلف فیزیولوژیکی نقش دارند، مشخص می‌شود که برخی از کونوپپتیدها پتانسیل این را دارند که به‌عنوان ترکیبات اساسی برای داروهای جدید عمل کنند.

بر همین اساس، هم اکنون چندین کونوپپتید تحت کارآزمایی‌های بالینی قرار دارند. با آنکه استفاده از پپتیدها به عنوان دارو محدود است، اما این پپتیدها به درک ما در زمینه تأثیر متقابل ترکیبات با هدف و در نتیجه باز کردن زمینه‌های جدید تحقیقات دارویی کمک خواهند کرد. از آنجا که چندین کونوپپتید در کارآزمایی‌های بالینی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند و همچنین با توجه به مورد تأیید قرارگرفتن ω-کونوتوکسین MVIIA[۱۰۶]، به‌عنوان یک داروی ضددرد زیکونیتاید[۱۰۷] (Prialt®)، نیاز به تولید بیشتر کونوپپتیدها، افزایش یافته است (۶۶). این پتانسیل زیست پزشکی کونوپپتیدها است که تحقیقات فعلی در زمینه خصوصیات آن‌ها را به خود معطوف داشته است و با این روند محتمل است که کونوپپتیدهای بیشتری با خواص فارماکولوژیکی شگفت‌انگیز، کشف شوند (۶۶).

طبقه‌بندی و نامگذاری کونوتوکسین‌ها

یکی از ویژگی‌های اصلی کونوتوکسین‌ها چهارچوب سیستئینی بسیار محافظت شده آن‌ها است که برای طبقه‌بندی آن‌ها استفاده می‌شود. پیوندهای دی سولفید حاصل اغلب ساختارهای ثانویه پروتئین مانند و چین‌های زیست فعال بی نظیر را تثبیت می‌کنند. در حال حاضر، ۲۸ خانواده چهارچوب در کونوسرور بر اساس تعداد بقایای سیستئینی، اندازه حلقه آن‌ها، و قابلیت اتصال پیوند سولفیدی وجود دارد. سه چهارچوب کونوتوکسین‌های VI/VII که دارای گره سیستین بازدارندگی پایدار[۱۰۸] (ICK) هستند، با ۷۱۹ عضو شناسایی شده؛ چهارچوب I، یا همان

[105] Next-Generation Sequencing
[106] ω- conotoxin MVIIA
[107] Ziconitide
[108] Inhibitory cystine knot

α-کونوتوکسین‌ها[109]، با ۶۹۱ عضو و پس از آن چهارچوب III، یا μ- کونوتوکسین‌ها، با ۴۳۰ عضو، به‌ترتیب بر سایرین، غالب هستند (شکل ۱).

به‌عنوان مثال، بالا خانواده A، اکنون دارای شش چهارچوب I، II،IV، VI / VII، XIV و XXII می‌باشد. نامگذاری کونوتوکسین‌ها بر اساس اتحادیه بین‌المللی فارماکولوژی پایه و بالینی (IUPHAR) و بر طبق چهارچوب کونوتوکسین و بالاخانواده ژنی استفاده می‌شود (۱۶ و ۶۴). بر اساس این فارماکولوژی، مثلاً α-GI که α نشان دهنده آن است کونوتوکسین گیرنده استیل کولینی نیکوتینی را هدف قرار می‌دهد (nAChR)،G نشانگر منشاء آن که در اینجا کونوس ژئوگرافوس است و I چهارچوب آن را نشان می‌دهد (۱۶، ۶۴ و ۷۵). هنگامی که هدف ناشناخته است، حرف یونانی حذف می‌شود و حرف گونه با حروف کوچک با یک عدد عربی برای چهارچوب و حروف کوچک برای انواع کونوتوکسین‌ها (به‌عنوان مثال، reg3b) نوشته می‌شود. این روش، به طرح اصلی مکینتوش، معروف است (۷۳).

در سال ۲۰۰۸، یک نامگذاری جایگزین، برای توکسین‌های پپتیدی توسط کینگ (King) و همکاران، پیشنهاد شد (۷۸) که نام توکسین را به سه قسمت فعالیت، منبع بیولوژیکی و ارتباط با توکسین‌های دیگر تقسیم می‌کند ولی به‌طور گسترده مورد استفاده قرار نگرفت. عملکرد توالی‌های جدید، بر اساس چهارچوب‌های سیستئین آن‌ها توصیف می‌گردند.

چهارچوب I (CC–C–C). این چهارچوب سیستئینی متداول، α-کونوتوکسین‌هایی که در بیشتر ونوم‌های کونوس مشاهده می‌شوند را توصیف می‌کند.

چهارچوب II (CCC–C–C). فقط چهار کونوتوکسین از این چهارچوب، با سه باقیمانده سیستئین متوالی شناسایی شده است. به‌عنوان مثال، کونوتوکسین VxII، خالص سازی شده از ونوم کونوس واکسیلیوم (۷۹)، کونوتوکسین Cp2-DD02 کشف شده در سطح نوکلئیک اسید (۸۰) و Cp2-DD02، از این چهارچوب هستند. تزریق VxII سنتزی به‌صورت داخل جمجمه‌ای به موش‌های ۴ هفته‌ای، منجر به علائمی چون آرامبخشی، سفتی دم و القای پرش در موش‌ها گردید (۷۹).

چهارچوب III (CC–C–C–CC). μ-کونوتوکسین‌ها ابزار بسیار ارزنده‌ای برای مطالعه زیرگروه‌های کانال سدیم بوده‌اند (۸۰ و ۸۱). در طی سال‌های گذشته، μ-کونوتوکسین‌های متعددی کشف یا مجدداً بازنگری شده‌اند. بسته به تعداد بقایای واقع در حلقه آخر (بین Cys4 و Cys5)، این چهارچوب به زیر شاخه‌های M-۱ تا M-۴ تقسیم شده‌اند (۸۲). پیوندهای دی سولفیدی مختلفی برون و درون کونوتوکسین‌های زیرشاخه‌ها گزارش شده‌اند (۸۳). زیرگونه‌ها همسانی توالی کمی را نشان می‌دهند و اندازه حلقه آن‌ها متنوع می‌باشد (۸۴).

چهارچوب IV (CC–C–C–C–C). بیشتر کونوتوکسین‌های چهارچوب IV، از ونوم شکارگران ماهی مشخص گردیده‌اند و به خانواده κA کونوپپتیدها تعلق دارند (۷۵).

چهارچوب V (CC–CC). پپتیدهای چهارچوب V، کوچک و حاوی ۸ تا ۱۷ اسید آمینه هستند و در انواع مختلفی از گونه‌ها یافت می‌شوند (۸۵). فارماکولوژی

[109] α-conotoxins

آن‌ها ناشناخته است و برخلاف الفا- کونوتوکسین‌ها، توالی آن‌ها بسیار متنوع است. آن‌ها همچنین بسیاری از اصلاحات پس‌ترجمه (PTMs)، نظیر γ-کربوکسی گلوتامات، بروموتریپتوفان، هیدروکسی پرولین، ترئونین گلیکوزیله و آمیداسیون C- ترمینال را نشان می‌دهند. نمونه‌هایی از این موارد TxVA، Gla-MrIII و Gla-MrIV هستند (۸۶).

چهارچوب VI/VII (C–C–CC–C–C). چهارچوب VI/VII با ۷۱۹ ورودی در کونوسرور، بزرگ‌ترین گروه کونوتوکسین‌ها، به‌شمار می‌آید. داروی مورد تأیید FDA، یعنی ω-MVIIA و یا کونوتوکسین‌های ω-MoVIA و ω-MoVIB جداسازی شده از گونه مخروطی کرم‌خوار کونوس مونکوری، یا δ-SuVIA یک δ- کونوتوکسین قوی برای hNav1.3، hNav1.4 و hNav1.6 با EC_{50} زیر نانومولار و یا پپتید جالب μO§-GVIIJ یک فریم‌ورک VI/VII هستند (۸۷).

چهارچوب VIII(C–C–C–C–C–C–C–C–C–C). چهارچوب VIII با مجموع ۱۸ ورودی در کونوسرور مورد توجه فارماکولوژیکی زیادی قرار گرفته‌است. کونوتوکسین σ-GVIIIA خالص شده از ونوم کونوس ژئوگرافوس با فعالیت مهارکنندگی گیرنده ($5\text{-}HT_3$) (۸۸) و کونوتوکسین RVIIIA، از کونوس رادیاتوس[110]، مؤثر بر زیرگروه‌های گیرنده استیل کولینی نیکوتینیک (nAChR)، از اعضای چهارچوب VIII هستند (۸۹).

چهارچوب IX (C–C–C–C–C–C). آن‌ها دارای ۲۴ ورودی در کونوسرور هستند. کونوتوکسین TxIXA، نتیجه خالص‌سازی اولین پپتید با این چهارچوب، از ونوم کونوس تکستایل بود که یک علامت اسپاسمودیک متمایز را در موش‌ها ایجاد می‌نماید (۹۰).

چهارچوب X (CC–CXOC). کونوتوکسین‌های χ-MrIA و χ-MrIB دو پپتید کشف شده از ونوم کونوس مرمرئوس با عملکرد مهارکنندگی انتخابی انتقال دهنده عصبی نوراپی نفرین انسانی (hNET) و کاندیداهای دارویی بالقوه برای کاهش درد مزمن نوروپاتیک از اعضای خانواده این چهارچوب هستند (۹۰).

چهارچوب XI (C–C–CC–CC–C–C). کوتوتوکسین‌های فراوانی با ۶۷ ورودی کونوسرور از چهارچوب XI هستندکه کاوشگرهای ارزشمندی برای تشریح اجزای مولکولی آکسون‌ها به‌شمار می‌آیند (۹۱ و ۹۲). پپتیدهایی چون r11a، r11b، r11c، r11d و r11e خالص‌سازی شده از ونوم کونوس رادیاتوس (۹۳)، با توانایی تحریک پتانسیل‌های عمل در آکسون‌های محیطی دوزیستان و نیز بی‌حرکت نمودن بی‌درنگ شکار ماهی، در گروه چهارچوب XI گروه‌بندی می‌شوند (۹۳). کونوتوکسین Xm11a، عضو کشف شده اخیر چهارچوب XI از ونوم کونوس زیمنس[111]، موجب مهار رشد مایکوپلاسما توبرکولوزیس در غلظت در حد میکرومولار شده است (۹۴).

چهارچوب XII (C–C–C–C–CC–C–C). اولین پپتید کشف شده با چهارچوب XII، از کونوس گلوریاماریس، Gla-MrII بود که حاوی ۵۰ اسید آمینه، چهار پیوند دی سولفیدی و پنج بقایای اسید γ- کربوکسی گلوتامیک بود و فارماکولوژی مشخصی در مورد آن گزارش نشده است (۹۱).

[110] *Conus radiatus*
[111] *Conus ximenes*

چهارچوب XIII (C–C–C–CC–C–C–C). یک چهارچوب غیرمعمول برای de13a، یک جزء عمده اصلی در زهر کونوس دلسرتی[۱۱۲]، با محتوای بالایی از اصلاحات پس‌ترجمه‌ای از جمله هیدروکسیلاسیون چهار باقیمانده، برومیناسیون یک باقیمانده و آمیداسیون C–ترمینال و همچنین یک آنالوگ نزدیک به آن یعنی De13b که با کلونینگ cDNA کشف شد و نیز Mi044 به‌دست آمده از کونوس مایلس با اندازه‌های مختلف حلقه که با استفاده از یک رویکرد ونومیکس یکپارچه کشف شد از این چهارچوب هستند؛ هر چند که فارماکولوژی آن‌ها نیز چندان مشخص نیست (۹۲).

چهارچوب XIV (C–C–C–C). این چهارچوب، با کشف FlfXIVA-C از ونوم کونوس فلوریدانوس فلوریدنسیس[۱۱۳] و VilXIVa از زهر کونوس ویلیپینی[۱۱۴]، به‌عنوان یک کونوتوکسین چهار سیستئینی و سه حلقوی در سال ۲۰۰۵، توصیف شد (۹۵)؛ هرچند، یک پپتید با این چهارچوب، بنام پپتید اسکراچر[۱۱۵]، در سال ۱۹۹۰ کشف شده بود (۷). در سال ۲۰۱۶، اولین کونوتوکسین گزارش شده دارای فعالیت آپوپتوز در رده‌های سلول سرطانی ریه، یعنی کونوتوکسین Cal14.1a از حلزون دریایی کونوس کالیفرنیکوس[۱۱۶] به‌دست آمد که با کاهش زنده‌مانی سلولی، کاسپازها را فعال کرده و میزان بیان پروتئین پیش‌زنده مانی NFκB-1 را کاهش می‌داد. (۹۶).

چهارچوب XV (C–C–CC–C–C–C–C). فرض بر این بود که چهارچوب XV، اتصال پیوند دی سولفید "ICK + 1" را اتخاذ می‌کند، اما این فرض در سطوح ساختاری و فارماکولوژیکی، مشخص نگردید. اولین پپتید شناسایی شده چهارچوب XV، از ونوم گونه شکارچی کرم کونوس ویرگو[۱۱۷] بود (۹۷).

چهارچوب XVI (C–C–CC). از ونوم کونوس کرم‌خوار کونوس کوئرسینوس[۱۱۸]، یک توکسین به نام کونوتوکسین Qc16a با چهارچوب XVI به‌دست آمد که تزریق داخل جمجمه‌ای آن به موش، موجب علائم افسردگی گردید. ساختار رزونانس مغناطیسی هسته‌ای Qc16a، یک کانفورماسیون روبانی با یک موتیف ساده β-turn مشابه χ-MrIA تطابق داشت (۹۸).

چهارچوب XVII (C–C–CC–C–CC–C). پپتید ca16a که قبلاً در چهارچوب XVI توصیف شده بود، مجدداً توسط کونوسرور، به‌عنوان چهارچوب XVII تعیین گردید. این کونوتوکسین، در سال ۲۰۰۸، از حلزون مخروطی شکارگر کرم کونوس کاراکتریستیکوس[۱۱۹]، خالص‌سازی، توالی‌یابی و شبیه‌سازی شد (۹۹). فارماکولوژی این پپتید بسیار آب دوست غنی از بقایای قطبی Gly، Ser و Thr و همچنین Pro هیدروکسیله، مشخص نگردیده است (۱۹).

چهارچوب XVIII (C–C–CC–CC). در سال ۱۹۹۹، کونوتوکسین BeTXIIa، با چهارچوب XVIII،

[112] *C. delessertii*
[113] *C. floridanus floridensis*
[114] *C. villepinii*
[115] Scratcher
[116] *Conus californicus*
[117] *C. virgo*
[118] *C. quercinus*
[119] *C. caracteristicus*

از کونوس بتولینوس[120]، جداسازی و توالی‌یابی گردید. ساختار سه بعدی، سنتز و فارماکولوژی این چهارچوب غیرمعمول، مورد مطالعه و بررسی قرار دارد (۱۰۰).

چهارچوب XIX (C–C–C–CCC–C–C–C–C). کونوتوکسین DiXIXA با چهارچوب غیرمعمول XIX، از ونوم کونوس دیستانس خالص‌سازی گردید که در دوزهای پایین موجب تحریک‌پذیری بیش از حد و در دوزهای بالاتر بی‌حالی در موش‌ها را ایجاد می‌نمود. کونوتوکسین DiXIXA، دارای پنج PTM مشتمل بر یک γ-کربوکسی گلوتامات و چهار باقی‌مانده هیدروکسی پرولین است (۱۰۱). Pu19.1 نیز یک توالی پیش‌بینی شده توسط ترانسکریپتوم مجاری زهری کونوس پولیکاریوس[121] است.

چهارچوب XX (C–CC–C–CC–C–C–C–C). چهارچوبی که در ابتدا XII فرض می‌گردید، به چهارچوب XX تغییر یافت. اخیراً، پپتیدهای چهارچوب XX مربوط به کونوس وکسیلیوم توسط ترانسکریپتومیکس مورد تجدید نظر قرار گرفته‌اند. به‌علاوه، αD-کونوتوکسین‌های[122] VxXXA تا VxXXC، به‌عنوان نسخه اصلی شناسایی شدند و منحصراً در زهرهای دفاعی یافت گردیدند (۱۰۲). در سال ۲۰۱۵ نیز توسط زو (Xu) و همکاران یک چهارچوب XX برای پپتید αD-GeXXA کشف شده از کونوس جنرالیس[123] تعریف گردید. مطالعه ساختار بلوری آن یک جایگاه اتصال تازه روی nAChRs برای این پپتید را نشان داد که می‌تواند مبنایی ارزشمند، جهت طراحی منطقی ترکیبات جدید مورد هدف قرار دهنده nAChR، فراهم نماید (۱۰۳).

چهارچوب XXI (CC–C–C–C–CC–C–C–C). ترکیب P21a، جداسازی شده از ونوم کونوس پورپوراسنس دارای یک چهارچوب ۱۰ سیستئینی و ۷ حلقوی است (۱۰۴). با وجود همسانی ۴۸ درصدی توالی آن با con-ikot-ikot کونوس استریاتوس، لکن دیمری ایجاد نمی‌کند. این کونوتوکسین چهارچوب XXI، نشان می‌دهد که منبع زهر کونوس، می‌تواند شامل مولکول‌های بزرگی نیز باشد که مستقیماً به طعمه تزریق می‌شوند. بنابراین، حلزون‌های مخروطی می‌توانند از توکسین‌هایی استفاده نمایند که از نظر اندازه، قابل مقایسه با توکسین‌های یافت شده در سایر جانوران زهرآگین است (۱۰۴). افزون‌بر این، Vc21.1 توالی پیش‌بینی شده از ترانسکریپتوم کونوس ویکتوریه[124] (۱۰۵) و همچنین G21.1 با هویت توالی بالا اما با یک باقیمانده سیستئین اضافی نزدیک به C- ترمینال کشف شده‌اند (۵۱).

چهارچوب XXII (C–C–C–C–C–C–C–C–C). چهارچوب XXII، از آنالیز cDNA کونوس کالیفورنیکوس با شش نمونه پپتید پیش‌بینی شده (Cal22a-f) تعریف گردید (۱۰۶). پپتیدهای شناسایی شده از گونه‌های دیگر نظیر Mr22.1، Vc22.1 و cl10.1، اما کاملاً متفاوت از نظر اندازه‌های حلقه و طول نیز دارای چهارچوب XXII هستند (۱۰۶ و ۱۰۷).

چهارچوب XXIII (C–C–C–CC–C). آنالیز NMR کونوتوکسین Im23a، از چهارچوب XXIII، نشان داد که این پپتید دارای الگوهای I-II، III-IV، و V-VI از پل‌های دی‌سولفیدی و یک چین تیز حلقوی

[120] *C. betulinus*
[121] *C. pulicarius*
[122] *αD-conotoxins*
[123] *C. generalis*
[124] *C. victoriae*

است. تزریق داخل جمجمه‌ای Im23a به موش‌ها موجب القاء عوارض تحریکی شده است (۱۰۸).

چهارچوب XXIV (C–CC–C). چهارچوب غیرمعمول XXIV، فقط دو ورودی کونوسرور دارد. کونوتوکسین αVxXXIVA به‌دست آمده از کونوس وکسیلیوم که ترجیحاً nAChR زیر گونه α9α10 را مهار می‌کند (۱۰۹) و نیز Mi041 از کونوس مایل، با ۱۱ باقیمانده اسید آمینه و سه پرولین در این توالی نسبتاً کوتاه دارای چهارچوب XXIV هستند (۹۲).

چهارچوب XXV (C–C–C–C–CC). تنها ورودی در کونوسرور، برای فریم‌ورک XXV، کونوتوکسین as25a، از ونوم کونوس کنسلاتوس[۱۲۵] جداسازی شد و تزریق داخل جمجمه‌ای آن به موش موجب فلج اندام‌های پشتی و حتی مرگ در دوز پایین ۲۴۰ پیکومولار گردید (۱۱۰).

چهارچوب XXVI (C–C–C–CC–CC). یک پپتید منفرد از این چهارچوب، RsXXIVA، توسط برنالدز (Bernaldez) و همکاران، از مجرای زهر کونوس رگولاریس[۱۲۶] جدا شد (۱۱۱).

تنوع ساختاری کونوتوکسین‌ها

تا سال ۲۰۱۲، تعداد ۲۱۸ ساختار سه بعدی کونوتوکسین در کونوسرور گزارش گردید (۷۵). به‌عنوان بخشی از به‌روزرسانی در مورد ساختارهای این توکسین‌ها، نامگذاری مرتبط با فولدهای (گروه‌ها[۱۲۷]) و زیرگروه‌های[۱۲۸] به‌روز شده آن‌ها در سال ۲۰۱۴ توسط آکوندی (Akondi) و همکاران، پیشنهاد گردید (۱۶). فولدها با یک حرف بزرگ مشخص می‌شوند و زیرگروه‌های آن (ساب‌فولدها)، با اضافه کردن یک عدد به جلوی حروف نشان داده می‌شوند. به‌عنوان مثال، "A1"، یک ساب‌فولد از "فولد A " است. از زمان انتشار اولیه نام‌گذاری و گروه‌بندی کونوتوکسین، ساختارهای جدید به اصلاح گروه‌بندی کمک کرده است و هفت گروه کاملاً جدید کشف شده‌اند (۱۶ و ۵۱).

مکانیسم‌های بیولوژیکی

اثرات بیولوژیکی خاص یک ونوم کونوئیدی، تابعی از اهداف فیزیولوژیکی توکسین‌های خاصی است که در آن ونوم بیان می‌شوند. از بین اهداف گیرنده ونوم‌پپتیدهای نرم‌تنان، فقط برای بخش بسیار کوچکی از پپتیدهای کونوس روشن شده است. در حال حاضر، آن‌ها به سه کلاس گسترده کانال‌های یونی دریچه‌دار لیگاند؛ کانال‌های یونی ولتاژ دریچه‌دار و همچنین اهداف دیگری غیر از اهداف متعلق به این دو گروه بزرگ کانال‌های یونی، تقسیم می‌شوند (۱۱۲).

α-کونوتوکسین‌ها

α-کونوتوکسین‌ها، به‌طور قابل‌توجهی با آمیداسیون کربوکسی-ترمینال (C-ترمینال)، مهارکننده‌های گیرنده‌های استیل کولینی نیکوتینیک پنتامریک (nAChRs) هستند (۱۱۳). آن‌ها کانال‌های یونی گیرنده استیل کولین نیکوتینی دردار با لیگاند را مورد هدف قرار داده و با تغییر ساختار دینامیکی پس از پیوندی که منجر به بسته شدن کانال می‌شود، موجب مهار جریان یونی می‌گردد. گیرنده‌های nAChR،

[125] *C. cancellatus*
[126] *C. regularis*
[127] Fold
[128] Subfold

پروتئین‌های کانال غشایی میان‌غشایی[۱۲۹] پنتامریک هستند که ترکیبات مختلفی از زیرگروه‌های هومومریک (زیرگروه‌های α7 و α9 هومومریک) و هتروپنتامریک (زیر واحد α و β (β2-4) را تشکیل می‌دهند (۱۱۴ و ۱۱۵)، نقش مهمی در انتقال پیام واسطه بین نورون‌ها دارند (۱۱۶). بنابراین، آن‌ها با اختلالات عصبی و بیماری‌های متعددی چون پارکینسون، آلزایمر، زوال عقل، اسکیزوفرنی و اعتیاد، مرتبط هستند. (۱۲۰-۱۱۷) α-کونوتوکسین‌های به‌دست آمده از ونوم کونوس، به‌عنوان آنتاگونیست‌های رقابتی nAChR شناخته می‌شوند و برخی ممکن است از پتانسیل درمانی برخوردار باشند (۱۲۱ و ۱۲۲). به‌طور معمول، α-کونوتوکسین‌ها از ۱۲-۲۰ آمینو اسید که با چهار سیستئین منجر به ایجاد دو حلقه می‌شوند تشکیل یافته‌اند و بر اساس اندازه‌های مختلف، حلقه‌های آن‌ها نیز طبقه‌بندی می‌شوند (۱۲۳). به‌عبارتی از نظر تئوری، چهار باقیمانده Cys می‌توانند سه اتصال دی‌سولفیدی ایجاد نمایند و سه ایزومر از جمله ایزومرهای کروی[۱۳۰] (CysII-CysIV ،CysI-CysIII)، روبان[۱۳۱] (CysII-CysIII ،CysI-CysIV) و مهره[۱۳۲] (CysIII-CysIV ،CysI-CysII) تشکیل دهند (۱۲۴).

با وجودی که α-کونوتوکسین‌ها به‌عنوان ابزارهای فارماکولوژیکی و سرنخ‌های دارویی مفید در نظر گرفته شده‌اند، اما آن‌ها نیز با مشکلات عمومی پپتیدها، از جمله هیدرولیز آسان توسط پروتئازها، نیمه عمر کوتاه و فراهم‌آوری زیستی پایین، در شرایط *in vivo* مواجه هستند که بر پتانسیل فارماکولوژیکی آن‌ها تأثیر می‌گذارد (۱۲۵)؛ هر چند که مطالعات متعددی در رفع این محدودیت‌ها انجام گردیده‌اند (۱۶). برخی از α-کونوتوکسین‌ها، مورد بررسی قرار می‌گیرند.

α-کونوتوکسین LsIA

α-کونوتوکسین LsIA، قدرت مهاری بالایی را در زیرگروه‌های α3β2 (IC_{50} ۱۰/۳ نانومولار) و α7 (IC_{50} ۱۰ نانومولار) از nAChR از خود نشان داده‌اند (۱۲۶). زیرگروه α3β2 در سیستم‌های عصبی مرکزی و محیطی، از جمله مخچه، نخاع و سلول‌های عصبی گانگلیونی اتونومیک، بیان می‌گردد (۱۲۷). در مطالعه اینسرا (Inserra) و همکاران، نشان داده‌شد که α-کونوتوکسین LsIA، جدا شده از ونوم کونوس لیمپوسی[۱۳۳]، موجب مهار nAChR α3β2 موش صحرایی با قدرت در حدود نانومولار می‌گردد (۱۲۶). مشابه با طیف بسیاری از α-کونوتوکسین‌ها، LsIA اولیه دارای یک C- انتهایی (C-T) و دو پل دی‌سولفیدی است که با چهار باقیمانده سیستئین (Cys1-Cys3، Cys2-Cys4)، تعامل می‌کند (۱۲۸). در مطالعه ابراهام (Abraham) و همکاران، نشان داده شد که LsIA به‌طور انتخابی، α7 انسانی و α3β2 موشی nAChRs بیان‌شده در اووسیت‌های[۱۳۴] زنوپوس لیاویس[۱۳۵] را مهار می‌کند (۱۲۹). مطالعات تجربی نظیر جهش‌زایی یا سنتز شیمیایی α-کونوتوکسین‌های اصلاح شده که اطلاعاتی را برای بهبود انتخابگری و اختصاصیت LsIA برای nAChR فراهم نماید ممکن است در آینده برای بهبود اثر بخشی فعالیت گیرنده‌های نیکوتینی، به‌عنوان داروهای مولکولی برای درمان‌های جدید با عوارض جانبی کمتر مفید واقع شوند نتایج

[129] Transmembrane
[130] Globular
[131] Ribbon
[132] Bead
[133] *C. limpusi*
[134] Oocyte
[135] *Xenopus laevis*

تجربی نشان داده‌اند که کربوکسیلاسیون C-ترمینال، تمایل پیوند LsIA در α3β2 nAChR موش صحرایی را سه برابر افزایش می‌دهد؛ هرچند، این اصلاح LsIA، منجر به کاهش تمایل سه برابری در α7 nAChR انسانی می‌شود (۱۱۳). جدول ۱، برخی خصوصیات توالی و جرمی α-کونوتوکسین LsIA را بر اساس داده‌های یونیپرات نشان می‌دهد.

جدول ۱) برخی خصوصیات توالی و جرمی α- کونوتوکسین LsIA (منبع: UniProtKB - P0DL68 ((CA1A_CONLM

عنوان	یافته‌ها
توالی	SGCCSNPACR VNNPNIC
طول توالی	۱۷
جرم توالی (Da)*	۱۷۵۲
وزن ملکولی (Da)**	۱۷۴۶/۶

* بر اساس میزان قید شده در یونیپروت؛** بر اساس MALDI

α-کونوتوکسین MII[136]

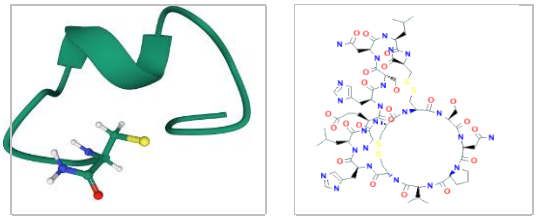
کونوتوکسین‌ها داربست‌های سفت و سختی دارند و از مهارکننده‌های بسیار قوی nAChR به‌شمار می‌آیند و آن‌ها را برای کاوش پیوندهای nAChR مؤثر می‌سازند. مطالعاتی در روابط ساختار- فعالیت α-CTx و آنالوگ‌های آن‌ها موجود هستند که منجر به کشف زیرگروه‌های nAChR مربوط به بیماری و شناسایی جایگاه‌های پیوند لیگاند- nAChR جدید گردیده‌اند (۱۱۵ و ۱۳۰). مطالعات گسترده رابطه فعالیت ساختار فعالیت (SAR)[137]، برای روشن کردن بر هم‌کنش‌های بین α-کونوتوکسین‌ها و ایزوفرم‌های nAChR و هدایت منطقی سنتز و توسعه آنتاگونیست‌های قوی‌تر و انتخابی‌تر از نظر درمانی انجام گردیده‌اند (۱۳۱-۱۲۹).

α-کونوتوکسین MII، به‌عنوان یک بازدارنده بسیار قوی و انتخابی ایزوفرم rα3β2 nAChR مشخص شده است. α-CTx MII دارای یک الگوی سیستئین چهارچوب I از CC-CC و یک پپتید ۱۶ اسید آمینه‌ای با توالی اولیه GCCSNPVCHLEHSNLC و پیوندهای دی‌سولفید بین C_2-C_8 و C_3-C_{16} می‌باشد که آن را به یک الگوی اتصال کروی تبدیل می‌نماید و معمول بسیاری از α-CTx ها می‌باشد (شکل۷) (۱۶). یکی از ویژگی‌های مربوط به بسیاری از انواع تومورها، افزایش بیان گیرنده‌های استیل‌کولین نیکوتینیک (nAChRs) است. همان‌گونه که اشاره گردید ترکیبی از زیرواحدهای مختلف nAChR، منجر به تشکیل زیرگروه‌های مختلفی از این گیرنده می‌شود که می‌تواند هترومری متشکل از زیر واحدهای مختلف، یا هوموری، متشکل از زیر واحدهای یکسان باشند. همراه با سلول‌های منشاء عصبی، nAChR در انواع مختلفی از سلول‌های غیر عصبی بیان می‌شوند و در تنظیم بسیاری از عملکردهای سلولی شرکت می‌کنند. این گیرنده‌ها به‌طور اختصاصی، در افزایش تکثیر و زنده‌مانی سلول‌های تومور و تسریع رشد تومور نقش ایفاء می‌کنند (۱۳۲). بنابراین، مسدود کننده‌های nAChR، ممکن است به‌عنوان عوامل ضد تومور در نظر گرفته شوند. α-کونوتوکسین‌های حاصل از ونوم حلزون‌های دریایی از تیره کونوس، مسدود کننده‌های انتخابی این زیرگروه‌های خاص nAChR هستند و بنابراین می‌توان از آن‌ها انتظار فعالیت ضدتوموری داشت. ترپینسکایا (Terpinskaya) و همکاران، نشان داده بودند که برخی از α-کونوتوکسین‌ها موجب مهار پیشرفت کارسینومای ارلیخ می‌گردند و فعال‌ترین آن α-کونوتوکسین MII است (۱۳۳).

[136] α-Conotoxin MII
[137] Structure−Activity Relationship

α-کونوتوکسین MII، یک مسدود کننده زیرگروه‌های α6 و α3β2 از nAChR، اثر سیتوتوکسیک ایندومتاسین را ۱/۹ برابر پس از ۴۸ ساعت کشت افزایش می‌دهد. بر اساس مطالعه اوسیپوو (Osipov) و همکاران، در شرایط In vivo، بایکالئین و α-کونوتوکسین MII موجب مهار رشد کارسینومای ارلیچ و افزایش بقای موش می‌گردند. این اثرات با استفاده ترکیبی از α-کونوتوکسین MII با ایندومتاسین یا بایکالئین، بسیار افزایش می‌یابند و بین فعالیت ضدتوموری α-کونوتوکسین و مهارکننده‌های آبشار آراشیدونیک اسید، هم‌افزایی دیده می‌شود (۱۲۰).

در میان انواع مختلف کوتوکسین‌های سیکلیزه شده، α-Ctx MII اولین کونوتوکسینی بود که به چرخش در آمد. مطالعه کلارک و همکاران، نشان داد که این چرخش MII، موجب بهبود و ثبات در پلاسمای انسان می‌گردد (۱۳۴). داده‌های اپیدمیولوژیک نشان می‌دهند که استفاده منظم از داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی مهارکننده COX، احتمال ابتلا به سرطان، به‌ویژه سرطان‌های روده بزرگ، سر و گردن و همچنین سرطان پستان را کاهش می‌دهند. اعتقاد بر این است که اثر ضدتوموری داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی، ممکن است تا حدی به دلیل مهار COX-2 و کاهش سطح PGE2 در ریز محیط تومور باشد (۱۳۵). نتایج مطالعه ترپینسکایا، بر روی موش‌ها، یک اثر ضد توموری α-کونوتوکسین MII را در in vivo نشان داد (۱۳۳). استفاده ترکیبی α-کونوتوکسین MII و ایندومتاسین، در in vivo نیز موجب مهار آشکار و طولانی مدت رشد سلول‌های کارسینومای ارلیش (EAC)[138]، در مقایسه با استفاده هر یک از این داروها به‌صورت جداگانه شده است (۱۲۰). داده‌های این مطالعات نشان می‌دهند که α-کونوتوکسین‌ها می‌توانند موجب افزایش اثر سیتوتوکسیک مهارکننده‌های سیکلواکسیژناز و لیپوکسیژناز، در سلول‌های EAC گردند.



الف ب

MGMRMMFTVF LLVVLATTVV SFPSDRASDG RNAAANDKAS DVITLALKGC CSNPVCHLEH SNLCGRRR

ج

شکل۷) ساختارهای دو بعدی (الف) و سه بعدی (ب) و توالی (ج) α- کونوتوکسین MII. (منبع: UniProtKB - P56636 ((CA12_CONMA

Fig 7) Two-dimensional (**a**) and three-dimensional (**b**) and sequence (c) of α- conotoxin MII. (Source : Uni-ProtKB - P56636- (CA12_CONMA).

بر اساس یونیپروت (UniProtKB-P56636(CA12_CONMA))، طول توالی توکسین ۶۸ و جرم آن ۷۳۵۷ دالتون‌بود. در مطالعه کارتیر (Cartier) و همکاران، جرم ملکولی تعیین شده α-کونوتوکسین MII باLSI برابر ۱۷۱۰/۶ دالتون به‌دست آمد (۱۳۶).

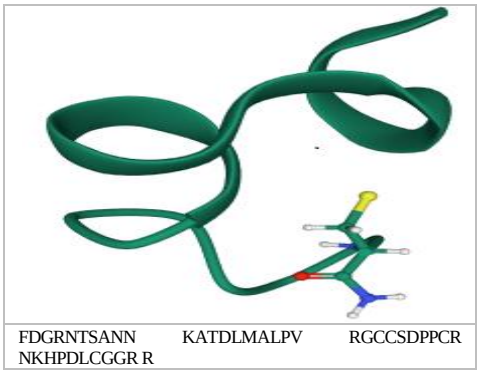
α-کونوتوکسین TxIB

لو (Luo) و همکاران، α-کونوتوکسین TxIB (شکل ۸) را از کونوس تکستایل کشف نمودند که ایزومر کروی آن به‌طور انتخابی قادر به مهار nAChRs α6β2* موش صحرایی با IC_{50}:۲۸ نانومولار بود اما تأثیر آشکاری بر دیگر انواع زیرگروه‌های nAChR نداشت (۱۰۹). گیرنده‌های

[138] Ehrlich carcinoma Cell

استیل‌کولینی نیکوتینیک (α6/α3β2β3(α6β2*، در ناحیه نورون‌های دوپامینی مغز میانی (DA)[۱۳۹]، در سیستم عصبی مرکزی بسیار بیان می‌شوند که رهاسازی دوپامین را تنظیم می‌کنند و اهداف مهمی هستند که با برخی اختلالات عصبی روانپزشکی از جمله بیماری پارکینسون و اعتیاد به نیکوتین در ارتباط هستند (۱۳۷-۱۳۹).

بر اساس مطالعه لی (Li) و همکاران، مهار اختصاصی گیرنده‌های استیل کولین (nAChRs) α6/α3β2β3، توسط α- کونوتوکسین TxIB می‌تواند یک پروب بالقوه برای مطالعه اعتیاد و سایر بیماری‌های مربوط به گیرنده‌های استیل‌کولین α6/α3β2β3 باشد. با این حال، TxIB به‌عنوان یک پپتید، ممکن است از پایداری پایین، نیمه عمر کوتاه و فراهمی زیستی ضعیف رنج ببرد. در مطالعه آن‌ها، یک استراتژی چرخش برای بهبود ثبات TxIB در سرم انسان و حفظ فعالیت بیولوژیکی آن برای α6β2* nAChRs موش انتخاب شد. بنابراین، چهار آنالوگ TxIB با چهار تا هفت باقیمانده در منطقه پیوند دهنده بر اساس فاصله بین انتهای N- و C توکسین TxIB دوباره طراحی شدند. بر اساس نتایج آن‌ها، چرخش N- و C- ترمینال، یک استراتژی مؤثر برای افزایش ثبات متابولیکی کونوپپتیدها است. بنابراین، TxIB کروی می‌تواند به عنوان یک پروب برای مطالعه عملکرد و ساختار α6β2* nAChRs و همچنین اختلالات عصبی نظیر اعتیاد به نیکوتین و بیماری پارکینسون توسعه یابد (۱۴۰). با این‌حال، بر اساس مطالعه ژانگسون (Zhangsun)، فرم‌های مهره‌ای و روبان TxIB، برای α6β2* nAChRs غیرفعال هستند (۱۴۱).



شکل ۸) ساختار سه‌بعدی α-کونوتوکسین TxIB با جرم ۴۴۴۵ دالتون و توالی آن با طول ۴۱ (منبع: UniProtKB-K4RNX9 CA1B_CONTE).

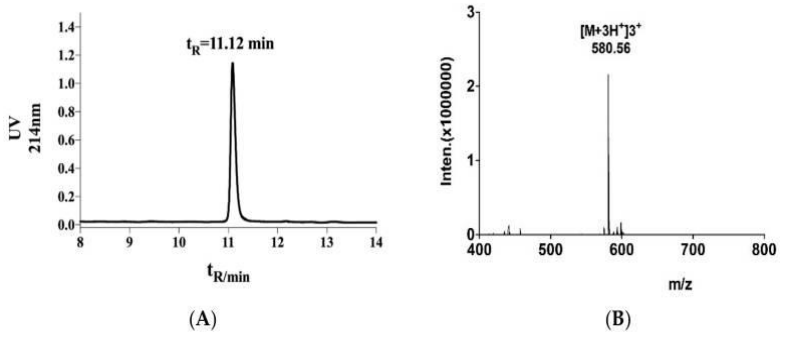
Fig 8) The three-dimensional structure of α-conotoxin TxIB with MW: 4445 Da, and its sequence with length: 41 (Source: UniProtKB-K4RNX9) CA1B_CONTE).

در مطالعه یو (You) و همکاران، با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی و طیف‌سنجی α- کونوتوکسین TxIB را جداسازی و سپس شناسایی گردید (شکل ۹) (۱۴۲).

α-کونوتوکسین RegIIA

α-کونوتوکسین RegIIA قوی‌ترین آنتاگونیست α3β4 nAChR انسانی شناخته شده‌است (شکل ۱۰)؛ این کونوتوکسین، با انتخابگری ضعیف‌تر در برابر زیرگروه‌های α3β2 و α7 نیز فعال است (۱۴۳). در مطالعه محاسباتی کینگلیانگ (Qingliang) و همکاران نیز اثر مهارکنندگی انتخابی گیرنده نیکوتینیک α3β2 توسط RegIIA تأیید گردید (۱۴۴).

[139] Midbrain Dopamine (DA)



شکل ۹) کروماتوگرام HPLC (**A**)؛ و طیف‌سنجی جرمی α- کونوتوکسین TxIB (**B**). میزان TxIB شناسایی شده با HPLC ناچیز و زمان بازداری (t_R) آن حدود ۱۱/۱۲دقیقه بود. آنالیز HPLC توسط یک ستون ویداک[140] C_{18} تجزیه‌ای (5 µm, 4.6 mm × 250 mm) انجام گردید. جداسازی با استفاده از یک گرادیان ۱۰ تا ۳۰ درصد حلال B تا ۳۰ دقیقه انجام گرفت (حلال *A*: تری‌فلورو استیک‌اسید (TFA) ۰/۱ درصد در H_2O و حلال *B*: تری¬فلورو استیک¬اسید ۰/۰۵ درصد در ۹۰ درصد ACN بود. جرم محاسبه‌شده TxIB توسط آنالیز MS برابر ۱۷۳۸/۶۸ دالتون بود (۱۴۲).

Fig 9) The HPLC chromatogram (***A***); and mass spectroscopy of α-conotoxin TxIB (***B***). The amount of TxIB detected by HPLC was insignificant, and its retention time (t_R) was about 11.12 min. The HPLC analysis was performed by a Vydac C_{18} column (5 µm, 4.6 mm × 250 mm). Purification was performed using a gradient of 10- 30% solvent B for up to 30 min (solvent A: 0.1% trifluoroacetic acid (TFA) in H_2O, and solvent B: 0.05% TFA in ACN 90%. The calculated mass of TxIB by MS analysis was 1738.68 Da (142).

توالی	MGMRMMFTVFLLVVLTTTVVSSTSVRASDGRNAAA DNRASDLIAQIVRRGCCSHPACNVNNPHICG
طول توالی	۶۶
جرم توالی (Da)	۷۰۳۸

شکل ۱۰) ساختار سه‌بعدی (۱۴۴) و توالی مربوط به α-کونوتوکسین RegIIA (منبع: (CA12A_CONRE(UniProtKB - P85013).

Fig 10) 3-D structure (144), and sequence of the α-conotoxin RegIIA (Source: (CA12A_CONRE(UniProtKB - P85013).

α-کونوتوکسین RgIA

α-کونوتوکسین RgIA (شکل ۱۱) از جمله α-کونوتوکسین‌های دارای فعالیت ضددرد قوی هستند. این مسدود کننده‌های انتخابی α9α10 nAChRs، قویاً کانال‌های کلسیمی فعال‌شده با ولتاژ بالا (HVA) را از طریق مکانیسم واسطه گیرنده $GABA_B$ مهار می‌کنند (۱۴۵ و ۱۴۶).

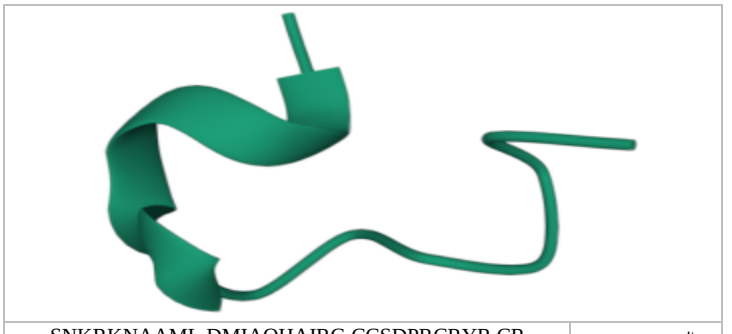
اثرات ضد توموری مهارکننده‌های COX و LOX در جانوران آزمایشگاهی و مطالعات بالینی نشان داده شده‌اند (۱۴۷). در مطالعه اوسیپو و همکاران، مهار دو مسیر ترکیبی منجر به اثر ضد توموری برجسته‌تری گردید. آن‌ها

[140] Vydac

نشان دادند که بایکالئین[۱۴۱] (مهارکننده انتخابی ۱۲- لیپوکسیژناز)، نوردی‌هیدروگواآیریتیک اسید[۱۴۲] (مهار کننده غیرانتخابی لیپوکسیژناز) و ایندومتاسین (مهارکننده غیرانتخابی سیکلواکسیژناز) برای سلول‌های کارسینومای ارلیش در شرایط *in vitro*، سیتوتوکسیک هستند (۱۲۰). بر اساس مطالعه آن‌ها، α-کونوتوکسین RgIA از حلزون دریایی در شرایط آزمایشگاهی، مهارکننده nAChR زیر گروه α9α10، اثرات سیتوتوکسیک نوردی‌هیدروگواآیریتیک اسید و بایکالئین را افزایش می‌دهد و موجب افزایش فعالیت ۱/۴ برابری ضدتومری بایکالئین پس از ۲۴ ساعت و ۳/۹-۱/۸ برابری نوردی هیدروگواآیریتیک اسید پس از ۴۸ ساعت از زمان کشت سلول می‌گردند. در مطالعه آن‌ها اثرات هم‌افزایی فعالیت‌های ضدتوموری α-کونوتوکسین RgIA و مهار کننده‌های اکسیژناز COX و LOX سرکوب رشد EAC مشخص گردید (۱۲۰).

در میان استراتژی‌های مختلف بهبود عملکرد α-کونوتوکسین‌ها، روش چرخش سر به دم به دلیل عدم توانایی آنزیم‌ها برای دسترسی به انتهای N و C آن‌ها به‌طور گسترده‌ای برای افزایش توانایی پپتید در مقاومت در برابر تخریب آنزیمی به کار گرفته شده است (۱۴۸). از جمله کونوتوکسین‌های با موفقیت چرخش یافته، RgIA است که پایداری آن تا درجات مختلف بهبود یافت (۱۴۹).

آنالوگ‌های کونوتوکسین دیگر α-RgIA[۱۴۳]، نیز توجه قابل ملاحظه‌ای را برای پتانسیل خود به عنوان مولکول‌های ضددرد جلب نموده‌اند (۱۵۰). یک آنالوگ اخیر RgIA به‌نام RgIA4، یک قدرت زیر نانومولار و انتخابگری بالا را بر nAChRs α9α10 انسانی و موش‌های سوری و صحرایی نشان داده‌است و محافظت در برابر آلودینیای سرماخوردگی ناشی از اگزالیپلاتین (۱۵۱) و نیز جلوگیری از دردهای نوروپاتیک ناشی از شیمی درمانی در موش‌های سوری و صحرایی موجب شده‌است (۱۵۲).



توالی	SNKRKNAAML DMIAQHAIRG CCSDPRCRYR CR
طول توالی	۳۲
جرم توالی (Da)	۳۷۲۵

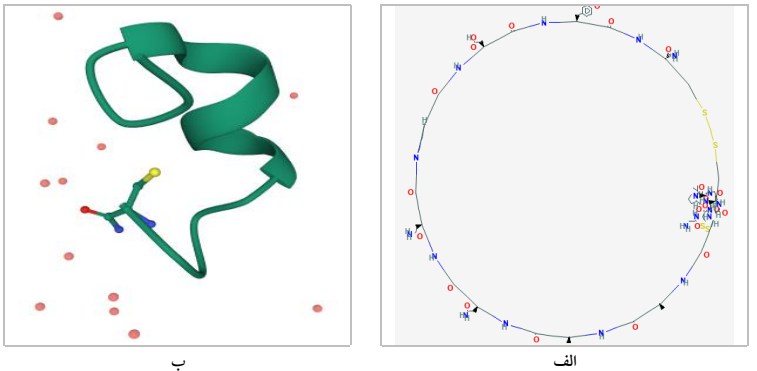
شکل ۱۱) ساختار سه‌بعدی و توالی مربوط به α-کونوتوکسین RegIA (منبع UniProtKB - P0C1D0 (CA1A_CONRE)).

Fig 11) Three-dimensional structure and sequence of α-conotoxin RegIA (sourece: UniProtKB - P0C1D0 (CA1A_CONRE)).

[141] Baicalein
[142] Nordihydroguaiaretic acid
[143] Conotoxin α-RgIA

α-کونوتوکسین PnIA

α-کونوتوکسین PnIA، حاصل از ونوم حلزون‌های دریایی از تیره کونوس، از مسدود کننده‌های انتخابی زیرگروه‌های خاص nAChR، به‌ویژه زیر گروه‌های α6β2 / α3β2 است (۱۲۰ و ۱۵۳)، یک اثر ضدتوموری را در شرایط in vivo نشان داده است (۱۳۳). همچنین نشان داده شده است که اثرات ضدتوموری بایکالئین با استفاده ترکیبی از بایکالئین و α-کونوتوکسین PnIA افزایش می‌یابد و ترکیب α-کونوتوکسین‌ها و مهار کننده‌های اکسیژناز و آبشار آراشیدونیک اسید در سرکوب رشد EAC اثرات سینرژیسم ایجاد می‌نماید (شکل ۱۲) (۱۲۰).



توالی	GCCSLPPCAA NNPDYC
طول توالی	۱۶
جرم توالی (Da)	۱۶۲۸

شکل ۱۲) ساختارهای دو بعدی (منبع: پابکم) (الف)؛ و سه‌بعدی (ب) α-کونوتوکسین PnIA (منبع: CA1A_CONPE(UniProtKB - P50984).

Fig 12) Two-dimensional structures (Source: Pubchem) (**a**); and three-dimensional (**b**) α-conotoxin PnIA (Source: CA1A_CONPE(UniProtKB - P50984).

α-کونوتوکسین MrIC

α-کونوتوکسین MrIC که توسط ترانسکریپتوم کونوس مرمرئوس شناسایی شده است با وجود پیوند دی‌سولفیدی، یک آگونیست نسبی در α7 nAChR در حضور تعدیل کننده‌های آلوستریک مثبت nAChR نوع II، از جمله PNU120592، TQS و SB-206553 می‌باشد (۱۵۴).

α-کونوتوکسین Vc1.1

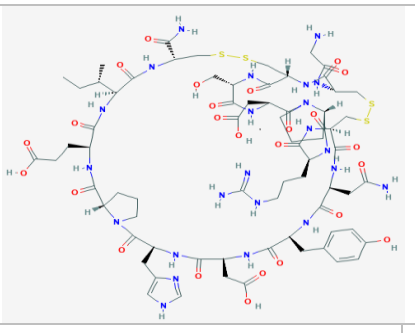
α-کونوتوکسین Vc1.1[144]، پتانسیل چشمگیری را به‌عنوان یک مولکول ضد درد دارا است (۱۵۰). این α-کونوتوکسین، قویا کانال‌های کلسیمی فعال‌شونده با ولتاژ بالا (HVA) را از طریق مکانیسم واسطه گیرنده GABAB مهار می‌کند (۱۴۵ و ۱۴۶). با تلاش‌های فراوان، α-کونوتوکسین Vc1.1، وارد کارآزمایی بالینی شد، اما به‌دلایل مختلف، روند پیشرفت آن متوقف گردید (۱۵۵ و ۱۵۶).

زیست داروها، از جمله پروتئین‌ها و پپتیدها، به دلیل ویژگی، قدرت و فعالیت بالا و سمیت کمتر در مقایسه با دیگر مولکول‌های کوچک، مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند (۱۵۷). با این حال، بیشتر پپتیدها، در نتیجه فراهمی زیستی پایین، جذب و نیمه عمر کوتاه در گردش خون، به‌راحتی توسط پروتئازها در داخل بدن تخریب می شوند (۱۵۸).

[144] Conotoxin α-Vc1.1

بنابراین، بهبود فراهم‌آوری زیستی، پایداری و جذب داروهای پپتیدی، با اصلاحات شیمیایی نظیر چرخش، مهندسی پیوند دی سولفیدی، جایگزینی‌های باقیمانده، استیلاسیون N ترمینال، گلیکوزیلاسیون و پلی‌اتیلن‌گیکولاسیون[145] بسیار حائز اهمیت هستند (۱۴۰ و ۱۵۹). α-کونوتوکسین Vc1.1 نیز از جمله کونوتوکسین‌هایی بود که برای بهبود پایداری آن با موفقیت چرخانده شد (۱۴۹ و ۱۶۰). α- کونوتوکسین Vc1.1 حلقوی، مهندسی شده با هدف قرار دادن کانال‌های کلسیمی HVA، بیش از ۸۰۰۰ مرتبه انتخابگری بیشتری برای گیرنده GABAB، در مقایسه با سایر مهارکننده‌های α9α10 nAChRs دارا است و به‌عنوان یک ضددرد قوی، در یک مدل موشی مزمن مطرح است (۱۶۱).

α-کونوتوکسین Vc1.1 حلقوی (شکل ۱۳)، در یک مدل درد نوروپاتیک در مطالعه کلارک و همکاران نیز از طریق تجویز خوراکی، فعالیت ضد درد داشته است (۱۶۲).



توالی	GCCSDPRCNYDHPEIC
طول توالی	۱۵
ساختار فشرده ایوپاک	H-Gly-Cys(1)-Cys(2)-Ser-Asp-Pro-Arg-Cys(1)-Asn-Tyr-Asp-His-Pro-Glu-Ile-Cys(2)-NH2
فرمول ملکولی	$C_{71}H_{103}N_{23}O_{25}S_4$
وزن ملکولی (Da)	۱۸۰۷

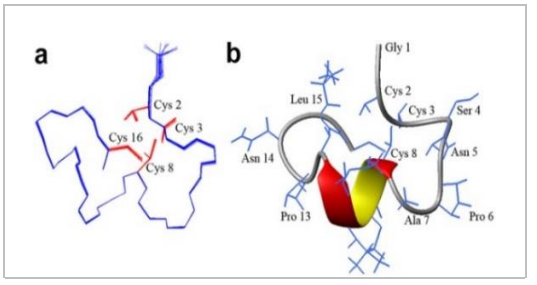
شکل ۱۳) ساختار سه‌بعدی، توالی و برخی خصوصیات مربوط به α-کونوتوکسین Vc1.1 (منبع: پابکم).

Fig 13) Three-dimensional structure, sequence and some properties related to α-conotoxin Vc1.1 (Source: Pubchem).

α-کونوتوکسین Eu1.6

بحث متقابل احتمالی بین α9α10 nAChRs و گیرنده GABAB با واسطه مهار کانال‌های کلسیمی برای ایجاد اثر ضددرد، هنوز وجود دارد. بر اساس مطالعه لیو (Liu) و همکاران، α-کونوتوکسین Eu1.6 یکی از α-کونوتوکسین‌های غیرمعمول جدید است که از زهر کونوس ابورنئوس[146] کشف شده است (شکل ۱۴). این α-کونوتوکسین، یک منع کننده قوی Cav2.2 نوع N- و نیز مسدودکننده ضعیف در α7 و α3β4 nAChRs است. این ترکیب در مدل‌های درد حاد عصب سیاتیک و همچنین انقباضات مزمن دارای فعالیت ضددردی قوی است (۱۶۳).

[145] PEGylation
[146] *Conus eburneus*



الف

Eu1.6 GCCSNPACMLKNPNLC-NH_2

ب

شکل ۱۴) ساختار NMR محلول Eu1.6. (**الف**): زنجیره‌های جانبی بقایای Cys با رنگ قرمز نشان داده شده است (*a*)؛ نمایش روبانی نزدیکترین ساختارترکیب (*b*)؛ (ب): ساختار توالی اولیه Eu1.6 (۱۶۳).

Fig 14) the NMR structure of Eu1.6 solution. (A): The side chains of Cys residues are shown in red (a); the ribbon illustration of the adjacent composition structure (b); (**B**): Primary sequence structure of Eu1.6 (163).

α-کونوتوکسین VnIB

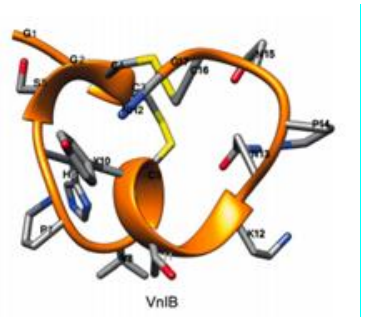
بیشتر α-کونوتوکسین‌های کشف شده در چند سال اخیر در گروه آنتاگونیست‌های کلاسیک nAChR قرار می‌گیرند؛ اگرچه نشان داده شده است بسیاری از α–کونوتوکسین‌ها به‌طور انتخابی روی زیرواحدهای مختلف nAChR عمل می‌کنند.α-VnIB کشف شده از کونوس ونتریکسوس[۱۴۷]، اولین α–کونوتوکسین اصلی است (شکل ۱۵) که به‌طور قاطع و انتخابی α6β4 nAChR عصبی را آنتاگونیزه می‌کند (۱۶۴).

α-کونوتوکسین VnIB

بیشتر α-کونوتوکسین‌های کشف شده در چند سال اخیر در گروه آنتاگونیست‌های کلاسیک nAChR قرار می‌گیرند؛ اگرچه نشان داده شده است بسیاری از α–کونوتوکسین‌ها بهطور انتخابی روی زیرواحدهای مختلف nAChR عمل می‌کنند.α-VnIB کشف شده از کونوس ونتریکسوس، اولین α–کونوتوکسین اصلی

[147] *Conus ventricosus*

است (شکل ۱۵) که به‌طور قاطع و انتخابی α6β4 nAChR عصبی را آنتاگونیزه می‌کند (۱۶۴).



شکل ۱۵) ساختار روبانی α-کونوتوکسین VnIB (۱۶۴)

Fig 15) Ribbon structure of α-conotoxin VnIB (164).

در جدول (۲) برخی خصوصیات عملکردی α-Ctx VnIB در زیرگونه‌های مختلف nAChR آورده شده است.

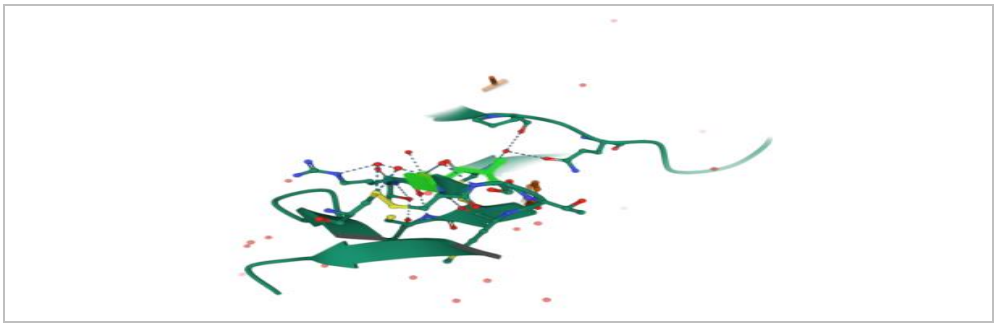
جدول ۲) میزان اثرات مهاری (IC_{50}) α-کونوتوکسین VnIB بر زیرنوع‌های مختلف nAChR (۱۶۴)

گیرنده nAChR	IC_{50} (nM)	گیرنده nAChR	IC_{50} (nM)
rα6β4	۱۲	rα4β2	>۱۰۰۰۰
rα6/α3β4	۱۸	rα4β4	>۱۰۰۰۰
rα3β4	۳۲۰	rα7	>۱۰۰۰۰
rα6/α3β2β3	۴۰۰۰	rα9α10	>۱۰۰۰۰
hα1β1δε	>۱۰۰۰۰	hα6/α3β4	۵/۳
rα2β2	>۱۰۰۰۰	hα3β4	>۱۰۰۰۰
rα2β4	>۱۰۰۰۰	hα6/α3β2β3	>۱۰۰۰۰
rα3β2	>۱۰۰۰۰	hα4β2	>۱۰۰۰۰

برخی بالا خانواده‌های غیر A از α– کونوتوکسین‌ها

α–کونوتوکسین‌های ابرخانواده A، از رایج‌ترین تعدیل‌کننده‌های nAChR هستند که در زهر حلزون‌های مخروطی یافت می‌شوند. سایر کونوتوکسین‌هایی که گیرنده‌های nAChR را هدف قرار می‌دهند در هشت بالاخانواده (D،B ، J، L، M، O1، S و T) توزیع می‌شوند (۱۰۳).

در میان سایر α-کونوتوکسین‌های بالاخانواده غیر از A، ترکیب αD-کونوتوکسین‌های مهارکننده nAChR در بالا خانواده D، به نسبت، بیشتر مشخص شده‌اند. مولکول‌های نسبتاً بزرگ αD-کونوتوکسین‌ها، به‌عنوان دیمرهای هوموری با اتصال کووالانسی وجود دارند (۱۰۳). پیشنهاد شده است که αD-GeXXA به‌طور مشترک به دو رابط بین زیر واحد در بالای سطح nAChR پیوند و در نتیجه، موجب مزاحمت در باز شدن گیرنده می‌شود (شکل ۱۶). دوماین N-ترمینال دیمریک داخلی (NTD)، از αD-GeXXA، ترجیحاً به زیر واحدهای بتای nAChR متصل می‌شود و بخش NTD از αD-GeXXA به‌عنوان مهارکننده nAChR "پوشاننده" عمل می‌کند و یک مکانیسم مهاری جدید، متمایز از سایر لیگاندهای آلوستریک nAChRs، نشان می‌دهد. فعالیت بازدارندگی CTD (دوماین C-ترمینال) و NTD توکسین αD-GeXXA بر روی hα9α10 nAChR مشابه است. این مکانیسم آنتاگونیستی جدید αD-GeXXA، از طریق یک سایت اتصال جدید در nAChRs، راهی نو را برای طراحی ترکیبات جدید هدف قرار دهنده nAChR فراهم می‌نماید (۱۶۵). مطالعه پراشانث (Prashanth)، در مورد استراتژی‌های دفاعی حلزون‌های مخروطی شکارگر کرم نشان داد که αD- کونوتوکسین‌ها، تقریباً به‌طور انحصاری، در طی گزش دفاعی توسط کونوس وکسیلوم[148] تزریق می‌شوند (۱۰۲).



توالی	MPKQEKMMLV LLILPLPYCN AAGVTTVQWG GHGDGLDRYL QRGVRDVHRP CQSVRPGRVW GKCCLTRLCS TMCCARADCT CVYHTWRGHG CSCVM
طول توالی	۹۵
جرم توالی(Da)	۱۰۶۴۴

شکل ۱۶) ساختار سه‌بعدی و توالی مربوط به α-کونوتوکسین αD-GeXXA (منبع: (CDKA_CONGR)(UniProtKB - A0A0A0VBX4).

Fig 16) Three-dimensional structure and sequence of α-conotoxin αD-GeXXA (Source: (CDKA_CONGR) (UniProtKB - A0A0A0VBX4).

αS-کونوتوکسین‌های[149] بالاخانواده S، با پنج پیوند دی‌سولفیدی یکی از زیرکلاس‌های غیرمعمول مهارکننده‌های nAChR هستند. تا به امروز، فقط دو پپتید از این زیر کلاس از حلزون‌های مخروطی ماهی شکار، یعنی αS-RVIIIA از کونوس رادیاتس (۸۹) و αS-GVIIIB از کونوس ژئوگرافوس شناسایی شده‌اند (۱۶۶). کونوتوکسین αSGVII، یک مهارکننده انحصاری رقابتی α9α10 است که به جایگاه پیوند ارتوستریک در رابط زیر واحدهای α10 / α9 متصل می‌شود (۱۶۶). در جدول (۳)، برخی خصوصیات توالی و جرمی αS- کونوتوکسین RVIIIA بر اساس داده‌های یونیپرات و جرم ملکولی (Da) آن آورده شده است (۸۹).

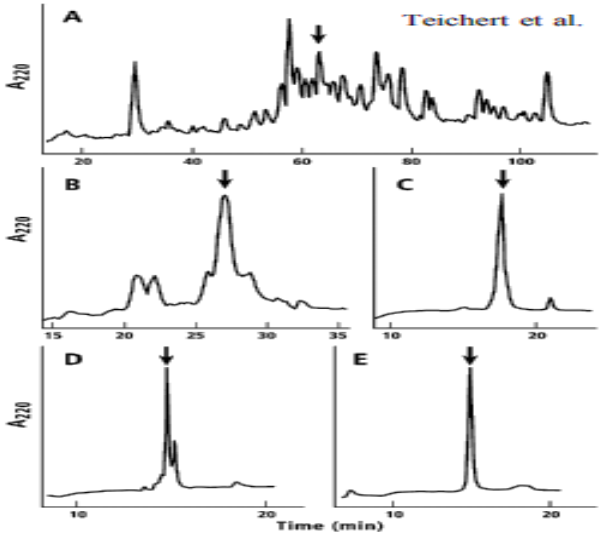
[148] *Conus radiates*

[149] αS-conotoxins

جدول ۳) برخی خصوصیات توالی و جرمی (منبع:**UniProtKB - P0C1W3 (CSA8A_CONRA)**)	
عنوان	**یافته‌ها**
توالی	MMSKMGAMFV LLLLFTLASS QQEGDVQARK THPKREFQRI LLRSGRKCNF DKCKGTGVYN CGESCSCEGL HSCRCTYNIG SMKSGCACIC TYY
طول توالی	۹۳
جرم توالی (Da)*	۱۰۳۸۳
جرم ملکولی (Da)**	۵۱۶۸/۹۹

* بر اساس میزان قید شده در یونیپروت؛ **بر اساس MALDI (۸۹).

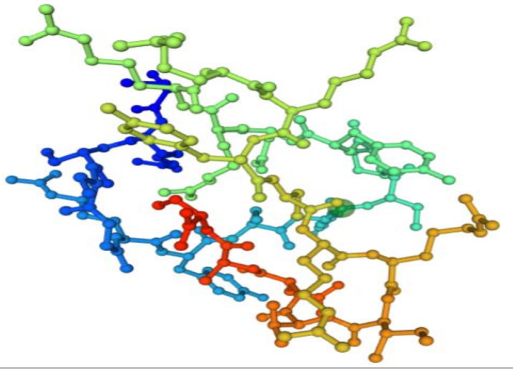
در مطالعه تیچرت (Teichert) و همکاران، خالص‌سازی RVIIIA توسط HPLC فاز معکوس طی چند مرحله انجام گرفت (شکل ۱۷) (۸۹)



شکل ۱۷) خالص‌سازی S-RVIIIA توسط HPLC فاز معکوس. (**A**): فراکشناسیون عصاره زهر خام با استفاده از یک ستون نیمه‌تهیه‌ای C_{18} با یک گرادیان صفر تا ۶۰ درصد حلال B90 (۰/۰۸۵ درصد TFA در ۹۰ درصد استونیتریل) برای ۱۲۰ دقیقه با فلوی ۵ میلی‌لیتر در دقیقه شستشو شد. علامت پیکان فراکشن حاوی RS-RVIIIA را نشان می‌دهد؛ (**B**): شستشوی مجدد فراکشن مشخص شده با فلش درمرحله A، با استفاده از ستون تجزیه‌ای C_{18} در ۳۵-۲۰ درصد حلال B90 بیش از ۴۵ دقیقه با فلوی ۱میلی‌لیتر در دقیقه؛ (**C**): شستشوی فراکشن زیست‌فعال – مشخص با پیکان در B – با گرادیان ۲۰-۵۰ درصد B90 بیش از ۳۰ دقیقه با فلوی ۱ میلی‌لیتر در دقیقه؛ (**D**): خالص‌سازی بیشتر فراکشن – با یک پیکان در قسمت C نشان داده شده است- با یک گرادیان ۲۰-۶۰ درصدی B90، بیش از ۲۰ دقیقه با فلوی ۱ میلی‌لیتر در دقیقه؛ (**E**): اجرای مجدد فراکشن قسمت D با استفاده از همان فلو و گرادیان (۸۹).

Fig 17) Purification of S-RVIIIA by reverse- phase HPLC. (**A**): Fractionation of crude venom extract was washed using a semi-preparative C_{18} column with a gradient of 0 to 60% B90 solvent (0.085% TFA in 90% ACN) for 120 minutes at a flow rate of 5 ml/min. The arrow symbol indicates the fraction containing RS-RVIIIA; (**B**): reWashing the indicated fraction with a flash in step A, using a C_{18} analytical column in 20-35% B90 solvent for more than 45 minutes with a flow rate of 1 ml/min; (**C**): Wash the bioactive fraction - marked with an arrow in B - with a gradient of 20-50% B90 over 30 minutes with a flow of 1 ml/min; (**D**): Further fraction purification - indicated by an arrow in section C - with a gradient of 20-60% B90, over 20 minutes at a flow rate of 1 ml/min; (**E**): Re-perform the fraction of part D using the same flow and gradient (89).

یک مهار کننده انتخابی جالب آلوستریک زیر نوعnAChR α9α10، یعنی GeXIVA که به بالاخانواده O1 تعلق دارد از کونوس ژنرالیس جدا شد (شکل ۱۸) (۱۶۷). ترکیب بالغ این کونوتوکسین، به دلیل تراکم بالای بقایای آرژی‌نین، با ۹ باقی‌مانده آرژینین در ۲۸ اسید آمینه پپتید، کاملاً از سایر اعضای بالاخانواده O1 متمایز است.



توالی	MKLTCVLIIT VLFLTACQLT TAVTYSRGEH KHRALMSTGT NYRLPKTCRS SGRYCRSPYD RRRRYCRRIT DACV
طول توالی	۷۴
جرم توالی (Da)	۸۶۲۱

شکل ۱۸) ساختار سه‌بعدی و توالی مربوط به α- کونوتوکسین αD- GeXIVA (منبع: (UniProtKB - J7GY56 (CO1EA_CONGR).

Fig 18) Three-dimensional structure and sequence of α-conotoxin αD-GeXIVA (Source: (CO1EA_CONGR) Uni-ProtKB - J7GY56).

پپتید α-VxXXIVA از بالا خانواده B که گیرنده α9α10 nAChR را با تمایل زیر میکرومولار مهار می‌کند، از طریق جستجوی کتابخانه cDNA کونوس وکسیلیوم[150] یافت گردید (۱۰۹). در جدول (۴)، برخی خصوصیات توالی و جرمی αS- کونوتوکسین VxXXIVA بر اساس داده‌های یونیپرات آورده شده است.

جدول ۴) برخی خصوصیات توالی و جرمی α-کونوتوکسین VxXXIVA
(منبع: (UniProtKB - J7JU64(CBOA_CONVX)

عنوان	یافته‌ها
توالی	METLTLLWRA SSSCLLVVLS HSLLRLLGVR CLEKSGAQPN KLFRPPCCQK GPSFARHSRC VYYTQSRE
طول توالی	۶۸
جرم توالی (Da)*	۷۷۲۴

* بر اساس میزان قید شده در یونیپروت

α-کونوتوکسین صناعی KTM

KTM، یک پپتید ۱۶ اسید آمینه با توالی WCCSYPGCYWSSSKWC است. طراحی KTM با استفاده از ویژگی‌های فارماکولوژیک α-CTx MII الهام گرفته شد و پیش بینی می‌شد که همان اتصال دی‌سولفیدی کروی را نیز اتخاذ نماید

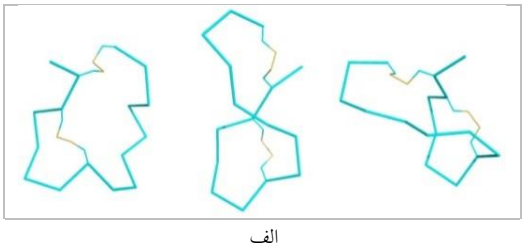
[150] *Conus vexillium*

(شکل ۱۹). فعالیت KTM در nAChRs به روش کیفی با استفاده از روش لومینسانس PC12 مبتنی بر سلول in vitro و از نظر کمی با مهار ایزوفرم‌های rα3β2 nAChR با استفاده از الکتروفیزیولوژی گیره ولتاژ دو الکترودی ارزیابی و نشان داده شد که KTM موجب مهار قابل توجه و انتخابی زیرگروه‌های nAChR می‌گردد (۱۱۵). این ارزیابی کیفی فعالیت زیستی، تأیید نمود که KTM احتمالاً با مهار nAChR، میزان دوپامین ترشح شده از سلول‌ها را کاهش می‌دهد (۱۶۸). KTMبا یک IC_{50} برابر ۰/۰۲±۰/۱۹ نانومولار، موجب مهار rα3β2-nAChRs، در مقایسه با میزان ۰/۰۸±۰/۳۵ نانومولار برای α-CTx MII گردید. بنابراین، اثر مشابه KTM در مقایسه با α-CTx MII، از این فرضیه پشتیبانی می‌کند که پپتید صناعی، یک آنتاگونیست مؤثر rα3β2-nAChR می‌باشد. KTM مهار قوی rα3β2-nAChRs موش صحرایی معادل با α-CTx MII را نشان می‌دهد. توالی α-CTx MII و KTM هر دو حاوی ۱۶ اسید آمینه هستند (۱۱۵).

مطالعه مارکوارت (Marquart) و همکاران، به دنبال تأیید صحت و سودمندی برای طراحی منطقی یک آنتاگونیست انتخابی ایزوفرم خاص nAChR بر اساس داروی دریایی α-CTx MII است (۱۱۵).

σ-کونوتوکسین‌ها

σ-کونوتوکسین ها، گروهی از مهارکننده‌های کانال‌های یونی بسته به لیگاند هستند. چهارچوب VIII با مجموع ۱۸ ورودی در کونوسرور مورد توجه فارماکولوژیکی قرار گرفته است. بر اساس مطالعه انگلند (England) و همکاران، کونوتوکسین σ-GVIIIA که اولین عضو کشف شده از این چهارچوب است از ونوم کونوس ژئوگرافوس خالص‌سازی شده است (۸۸). این σ-کونوتوکسین، گیرنده ۵-هیدروکسی تریپتامین یا سروتونین (5-HT3)، را که یک کانال یونی دریچه‌دار تحریک کننده سروتونین می‌باشد مسدود می‌کند. σ-GVIIIA دارای یک تریپتوفان برومینه و یک مشتق هیدروکسیله تریپتوفان است (جدول ۵) (۸۸ و ۸۹).



الف

ب

شکل ۱۹) ساختارهای روبانی KTM (از چپ به راست)در زمان‌های صفر، ۲۵ و ۵۰ نانوثانیه در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی[151] (**الف**)؛ توالی KTM و مقایسه آن با توالی α-CTx MII (**ب**).

Fig 19) The ribbon structures of KTM (left to right), at zero, 25, and 50 nanoseconds in molecular dynamics simulation (**A**); sequence of the KTM and its comparison with α-CTx MII sequence (**B**).

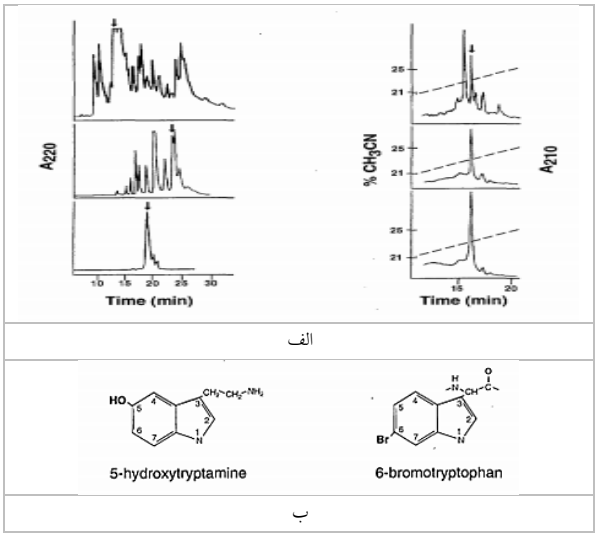
[151] Molecular Dynamics Simulation

جدول ۵) برخی خصوصیات توالی و جرمی σ-کونوتوکسین GVIIIA-
(منبع: UniProtKB - P58924((CS8A_CONGE)

عنوان	یافته‌ها
توالی	MMSKMGAMFV LLLLFTLASS LQEGDVQARK TRLKSDFYRA LARDDRGCTR TCGGPKCTGT CTCTNSSKCG CRYNVHPSGW GCGCACSG
طول توالی	۸۸
جرم توالی (Da)*	۹۴۳۰
جرم ملکولی (Da)**	۴۱۸۷/۶

* بر اساس میزان قید شده در یونیپروت؛ **بر اساس ESI. جرم مونوایزوتوپیک (۸۸).

در مطالعه انگلند و همکاران، خالص‌سازی σ-کونوتوکسین GVIIIA- از ونوم کونوس اکرافوس[۱۵۲] توسط HPLC فاز معکوس انجام گردید و پپتید زیست فعال خالص، تحت توالی شیمیایی و طیف‌سنجی جرمی قرار گرفت. σ-GVIIIA دارای یک تریپتوفان برومینه و یک مشتق تریپتوفان هیدروکسیله است (شکل ۲۰) (۸۸).



شکل ۲۰) الف: خالص‌سازی σ-کونوتوکسین GVIIIA- از ونوم *C. geographus* در سه مرحله با HPLC فاز معکوس (کروماتوگرام‌های فوقانی، میانی و پایینی) (**چپ**) ؛پپتید زیست‌فعال خالص (مشخص شده با فلش، کروماتوگرام پایین)، تحت توالی شیمیایی و طیف‌سنجی جرمی (**راست**)؛ ب: تریپتوفان برومینه و مشتق هیدروکسیله تریپتوفان در σ-GVIIIA(۸۸).

Fig 20) **A**: Purification of σ-conotoxin-GVIIIA from *C. geographus* venom in three steps by RP- HPLC (up, middle and Down chromatograms) (left); Pure bioactive peptide (indicated by the arrow, down chromatogram), under chemical sequencing and mass spectrometry (right); **B**: Brominated tryptophan and hydroxylated derivative of tryptophan in σ-GVIIIA (88).

ω-کونوتوکسین‌ها[۱۵۳]

ω-کونوتوکسین‌ها، در بالاخانواده O، از کونوپپتیدهای غنی از دی‌سولفید شناخته شده‌اند (۴۴). ω-کونوتوکسین‌ها، به‌طور گسترده برای تحقیقات بنیادی نوروبیولوژی استفاده می‌شوند. یکی از برجسته‌ترین ویژگی‌های این کونوتوکسین‌ها، خواص

[152] *C. aeoqraphus*
[153] ω-conotoxins

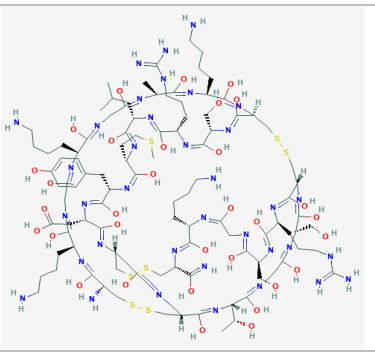
فارماکولوژیکی آن‌ها است. آن‌ها به‌طور انتخابی انواع مختلفی از کانال‌های Ca^{2+} حساس به ولتاژ را مهار می‌کنند (۱۶۹).

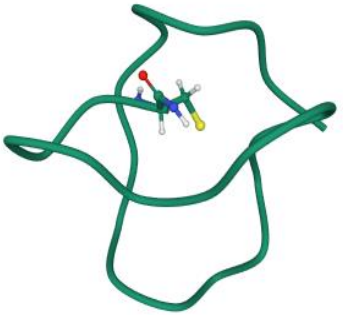
ω-کونوتوکسین MVII، که یک پپتید خالص‌سازی شده از کونوس مگوس است موجب لرزش در موش‌ها می‌گردد (شکل ۲۱). این اولین ونوم‌پپتید بود که تنها بر اساس توالی پیش‌بینی شده از یک کلون cDNA مشخص شد (۶۸). به دلیل ساختار پایدار، اندازه نسبتاً کوچک و انتخابگری هدف، کونوتوکسین‌ها را می‌توان به‌عنوان پروب‌های ملکولی ایده‌ال برای اعتبارسنجی هدف و کشف داروهای پپتیدی تبدیل نمود. با توجه به اینکه کونوتوکسین‌ها اغلب کانال‌های یونی را هدف قرار می‌دهند؛ بنابراین، مطالعه تعدیل‌کننده های درد جدید منطقی بود (۱۷۰). نتیجه این زحمات، داروی مورد تأیید FDA با نام تجاری پریالت[۱۵۴] بود. این ترکیب، در دسامبر ۲۰۰۴ به‌عنوان دارویی برای دردهای شدید مزمن، مورد تأیید قرار گرفت (۱۷۱). این داروی مورد تأیید FDA، یک فریم‌ورک VI/VII است. ω-کونوتوکسین MVIIA، به‌طور اختصاصی کانال‌های کلسیمی نوع N- ($Ca_v2.2$) و با تمایل کمتر، سایر زیرگروه‌های کانال کلسیمی را مورد هدف قرار می‌دهد (۶۸). از آنجا که کانال‌های کلسیمی نوع N-، در درجه اول در فضای پیش‌سیناپسی واقع شده‌اند، عملکرد ω-کونوتوکسین MVIIA، منجر به مهار انتقال سیناپسی می‌گردد و بنابراین، این پپتید در طی تلقیح زهر به طعمه، در بخش موتوری درگیر است (۶۹). اثر ضددردی ترکیب ω-کونوتوکسین MVIIA، علاوه بر نشان دادن تداخل عملکرد خاص کونوپپتیدها در مسیرهای مختلف پیام‌دهی احساس درد، به درک مکانیسم‌های مولکولی درد نیز کمک می‌نماید و مشخص گردید که کانال‌های کلسیمی نوع N-، یک هدف دارویی بالقوه برای دردهای شدید هستند (۶۵ و ۶۶).

دسترس‌پذیری ناچیز کوتوکسین‌ها از منابع طبیعی خود، آن‌ها را برای کاربردهای تحقیقاتی و پزشکی محدود می‌کند. به‌طور معمول، برای دستیابی به مقادیر بیشتری از این پپتیدها، از دو روش سنتز شیمیایی و تولید نوترکیب در سیستم‌های بیان هترولوگ، استفاده می‌گردد. سنتز شیمیایی از طریق سنتز پپتید فاز جامد[۱۵۵] (SPPS)، بر روی یک رزین، روش انتخابی تولید مقادیر زیاد کونوتوکسین‌ها می‌باشد (۱۷۲). این روش برای سنتز پپتیدهای تا ۳۰ -مریک به‌خوبی عمل می‌کند. از آنجا که شناخته شده‌ترین کونوتوکسین‌ها از حدود ۳۰-۱۰ بقایای اسید آمینه تشکیل شده‌اند SPPS برای تولید آن‌ها کاملاً مناسب است (۱۰). از نمونه‌های کلاسیک برای کونوتوکسین‌های سنتزی توسط SPPS می‌توان از ω-کونوتوکسین GVIA، به‌عنوان مهارکننده‌های کانال کلسیمی نام برد (۱۷۳). در تولید نوترکیب در سیستم‌های بیان، مشکلاتی چون بیان بیش از حد مستقیم پپتیدهای کوچک در *E. coli*، بدلیل تخریب سریع این پپتیدها توسط پروتئازهای سلولی و یا تجمع آن‌ها به صورت توده‌های نامحلول و تشکیل به اصطلاح اجسام انسدادی[۱۵۶] (۱۷۴) و یا جلوگیری از تشکیل پیوندهای دی سولفیدی به‌سبب کاهنده بودن محیط سیتوپلاسم اشریشیا کلی(۱۷۵)، وجود دارند. بیان پپتیدهای کوچک در همجوشی با پروتئین‌های حامل بزرگ‌تر و خوش‌بیان (۱۷۶)، همچون، پروتئین متصل به مالتوز (۱۷۷)، تیوردوکسین[۱۵۷] (۱۷۸)، یا گلوتاتیون S- ترانسفراز (۱۷۹)، یا استفاده از سویه‌های میزبان کم‌پروتئاز جهت جلوگیری از تخریب پروتئولیتیک غیراختصاصی (۱۸۰)، از موفقیت آمیزترین رویکرد

[154] Prialt
[155] Solid Phase Peptide Synthesis
[156] Inclusion Bodies
[157] thioredoxin

تاکنون بوده است. تولید ω-کونوتوکسین MVIIA، نیز به‌صورت محلول به‌عنوان یک پروتئین همجوشی با گلوتاتیون S-ترانسفراز توسط زیا (Xia) و همکاران (۱۸۱)، ماحصل استفاده از نتایج این تجربیات بود.





الف		ب

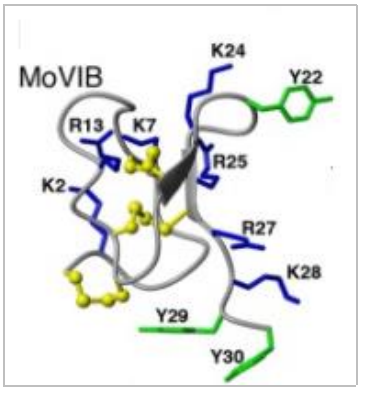
توالی	MKLTCVVIVA VLLLTACQLI TADDSRGTQK HRALRSTTKL STSTRCKGKG AKCSRLMYDC CTGSCRSGKC G
طول توالی	۷۱
جرم توالی (Da)	۷۵۸۷

شکل ۲۱) ساختارهای دو بعدی (منبع: پابکم) (الف)؛ و سه‌بعدی و توالی (ب) ω- کونوتوکسین MVIIA. (Ziconitide, Prialt®) (منبع: (O17A_CONMA) UniProtKB- P05484).

Fig 21) Two-dimensional (Source: Pubchem) (**a**); three-dimensional structures and sequence (**b**) of ω-conotoxin MVIIA. (Ziconitide, Prialt®) (Source: (O17A_CONMA) UniProtKB- P05484).

ω-MoVIA و ω-MoVIB از گونه مخروطی کرم‌خوار کونوس مونکوری[158] جداسازی (شکل ۲۲) و مشخص گردید که آن‌ها به‌طور قوی، کانال‌های Cav2.2 انسانی را در آزمایش‌های فلوریمتری و Cav2.2 موشی در مطالعات گیره پچ مهار می‌نمایند (۸۷).

مشخص شده است که آرژینین در موقعیت ۱۳ در ω-MoVIA و ω-MoVIB برای فعالیت حیاتی است؛ گرچه از لحاظ عملکردی، در ω-کونوتوکسین‌های ماهی‌خوار منقاری، در این موقعیت معمولاً یک تیروزین است (۸۷).



ب الف

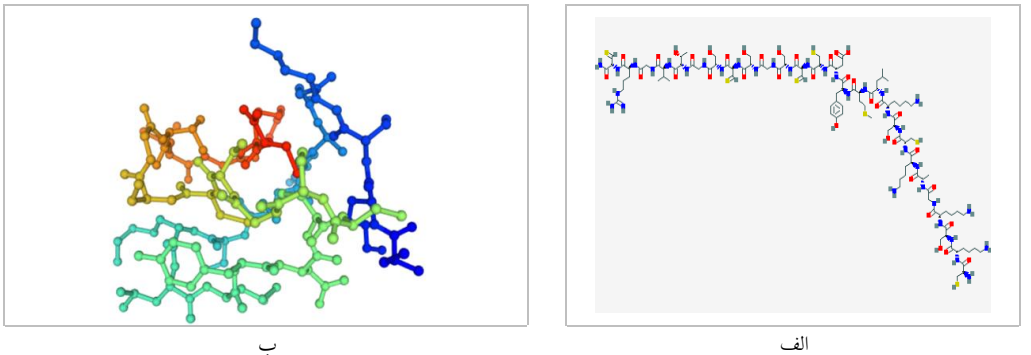
شکل ۲۲) ساختارهای ω-MoVIA (منبع: (O16A_CONMB) UniProtKB - A0A384E129) (**الف**)؛ ω-MoVIB (منبع: ۸۷)(**ب**).

Fig 22) the structures of ω-MoVIA (source: (O16A_CONMB) UniProtKB - A0A384E129) (**a**); and ω-MoVIB (source: 87) (**b**).

[158] *Conus moncuri*

کانال‌های کلسیمی ولتاژدار (VGCC)، در انتقال، توسعه و نگهداری دردهای مزمن نقش مهمی دارند و بیانگر این است که مهارکننده‌ها یا تعدیل کننده‌های VGCC می‌توانند به‌عنوان داروهای مفید برای درمان درد نوروپاتیک توسعه یابند (۱۸۲). بسیاری از ω-کونوتوکسین‌ها، آنتاگونیست‌های انتخابی VGCC نوع N یا P/Q هستند و ترجیحاً درد را در مدل‌های درد التهابی و آلودینیا و یا هایپرآلژزیا[۱۵۹] در مدل‌های درد نوروپاتیک مسدود می‌کنند. با توسعه داروی پریالت (ω-MVIIA) به بازار عرضه، مسلماً ω-کونوتوکسین‌ها از نظر ارزش درمانی و امکانات کاربردی، موفق‌ترین کلاس کونوتوکسین‌ها محسوب گردیدند. توسعه، تنوع، سنتز، فارماکولوژی، SAR و آنالیز بر هم‌کنش‌های ω-کونوتوکسین‌های VGCC به‌طور جامع بررسی گردید (۱۲۳).

گرچه، کونوتوکسین ω-MVIIA (پریالت، الان[۱۶۰])، مشتق از کونوس مگوس، توسط FDA تأیید شد تا درد مزمن شدید بیمارانی که به درمان با اپیوئیدها پاسخ نمی‌دهند را درمان کند لکن، عوارض جانبی عصبی و روانی، آن را محدود نمود (۱۸۳). بنابراین، کشف به سوی نسل دوم ω- کونوتوکسین‌هایی با اثربخشی بهتر و عوارض جانبی کمتر هدایت شد. بنابراین، با تلاش فراوان، ω-CVID نیز با نام لکونوتاید[۱۶۱] وارد کارآزمایی بالینی شد (شکل ۲۳)؛ اگرچه CVID مشتق شده از کونوس کاتوس (AMRAD، AM336)، نسبت به ω-MVIIA، انتخابگری بهتری به Cav2.2 و عوارض جانبی کمتری داشت، اما به دلیل عدم علاقه تجاری در توسعه درمان‌های داخل تراشه‌ای، کارآزمایی‌های بالینی پس از فاز I/IIa متوقف شد (۱۸۴ و ۱۸۵).



ب الف

توالی	MKLTCVVIVA VLLLTACQLI TADDSRGTQK HRALRSDTKL SMSTRCKSKG AKCSKLMYDC CSGSCSGTVG RCG
طول توالی	۷۳
جرم توالی (Da)	۷۷۴۸
فرمول ملکولی	$C_{107}H_{179}N_{35}O_{36}S_7$
وزن ملکولی	۲۷۵۶/۳

شکل ۲۳) ساختارهای دو بعدی (منبع: پابکم) (**الف**)؛ و سه‌بعدی و توالی (ب) ω- کونوتوکسین CVID یا لکونوتاید (منبع: (O16D_CONCT) UniProtKB - P58920).

Fig 23) Two-dimensional (source: Pubchem) (a); and three-dimensionality structures and sequence of (b) ω-conotoxin CVID or Leconotide (Source: (O16D_CONCT) UniProtKB - P58920).

[159] Hyperalgesia
[160] Elan
[161] Leconotide

پپتید منفرد RsXXIVA که دو حلقه از آن بسیار شبیه به توالی اسیدهای آمینه ω-MVIIA است، در سال ۲۰۱۳ از مجرای زهر کونوس رگولاریس جدا شد (جدول ۶) (۱۱۱). این کونوتوکسین حاوی ۴۰ اسید آمینه است و در آن زمان، ترتیب جدیدی از هشت بقایای سیستئین (CC–C–C–CC–CC) را به نمایش گذاشته‌بود. آنالیزهای الکتروفیزیولوژیک با استفاده از نرون‌های گانگلیون دهانه رحم قدامی (SCG) نشان دادند که RsXXIVA جریان کانال Cav2.2 را به روش وابسته به دوز با EC_{50} برابر ۲/۸ میکرومولار مهار می‌کند. علاوه بر این، روش‌های صفحه داغ برای تعیین اثر ضد درد بالقوه به یک محرک حرارتی حاد، نشان داد که RsXXIVA، یک اثر ضد درد در درد حرارتی حاد و مدل درد فرمالین است. با این‌حال، تمایل کم برای CaV2.2، نشان داد که هدف اصلی این پپتید می‌تواند متفاوت از ω-MVIIA باشد.

جدول ۶) برخی خصوصیات توالی و جرمی ω-کونوتوکسین RsXXVIA (منبع: (CXQA_CONRG (UniProtKB - P0DL31

عنوان	یافته‌ها
توالی	CKGQSCSSCS TKEFCLSKGS RLMYDCCTGS CCGVKTAGVT
طول توالی	۴۰
جرم توالی (Da)*	۴۱۲۱
* بر اساس میزان قید شده در یونیپروت.	

طراحی یک سری هیبریدهای ω-MVIIA/SO_3^-، موجبات کاهش سمیت و عوارض جانبی ω-کونوتوکسین‌ها را فراهم نمود (۱۸۶). علی‌رغم پتانسیل درمانی، در سال‌های گذشته، میزان کشف جدید ω-کونوتوکسین‌ها کند شده است. اکثر اکتشافات جدید ω-کونوتوکسین‌ها، نظیر CVIA-F، GVIA، MVIIA-D، SO_3، SVIA و SVIB از گونه‌های ماهی شکار، به‌دست آمده‌اند. بر اساس متون، شکارچیان ماهی متعلق به کلادهای پیونوکونوس[162] و گاستریدیوم[163]، ω-کونوتوکسین‌ها را به عنوان اجزای اصلی زهر خود تولید می‌کنند. در ابتدا، اعتقاد بر این بود که ω-کونوتوکسین‌ها، بخشی از "واحد موتوری" شکارچیان ماهی هستند که اجازه بی‌حرکت نمودن سریع طعمه‌ها را می‌دهند؛ هر چند، مکانیسم‌های شکار و دفاع جداگانه مطالعه دوترتر و همکاران، نشان داد که ω-کونوتوکسین‌ها، یک قسمت اساسی از استراتژی دفاعی در کونوس ژئوگرافوس نیز هستند (۵۱).

ω-کونوتوکسین‌ها، گهگاهی در ونوم‌های شکارچیان کرم و نرم‌تن (TxVII، PnVIA، PnVIB، PuIA، PuIIA) نیز یافت می‌شوند و خصوصیات توالی این پپتیدها از ω-کونوتوکسین‌های ماهی‌شکار متفاوت است (۱۸۷).

μ-کونوتوکسین‌ها

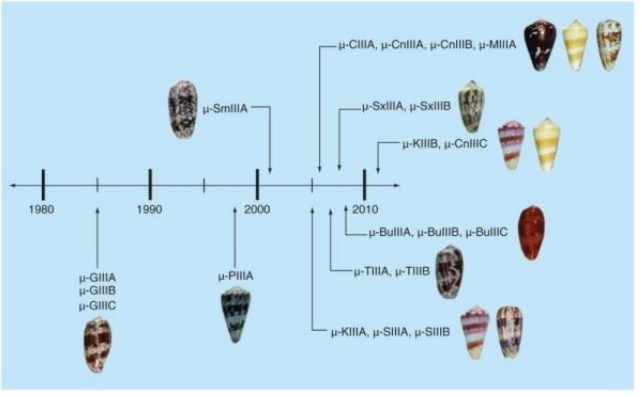
با توجه به نقش حیاتی کانال‌های Nav در CNS و PNS، شاید تعجب‌آور نباشد که حلزون‌های مخروطی چندین روش مختلف برای هدف‌گیری انتخابی این کانال‌ها ایجاد کرده باشند. تا به امروز، پنج کلاس از کونوتوکسین‌ها (μ-، μO-، μO-S-، δ- و ι- کونوتوکسین‌ها) شناخته شده‌اند که کانال‌های Nav را هدف قرار می‌دهند. علی‌رغم اینکه آن‌ها بر روی یک هدف مشابه عمل می‌کنند، لکن از نظر ساختاری متمایز هستند و فارماکولوژی‌های مختلفی را در کانال‌های Nav ایجاد می‌نمایند. کونوتوکسین‌های μ، μO و

[162] Pionoconus

[163] Gastridium

μO–S بازدارنده‌های کانال Nav و کونوکسین‌های δ- و ι فعال کننده این کانال‌ها هستند.

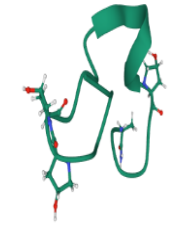
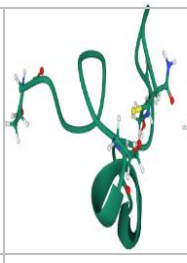
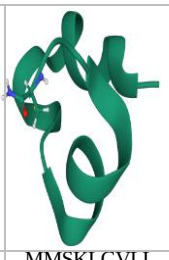
μ-کونوتوکسین‌ها، به جایگاه ۱ واقع در نزدیکی منفذ هدایت یونی پیوند می‌یابند و منافذ را مسدود می‌کنند. در برخی مطالعات، کونوتوکسین‌های مختلفی که بر روی Nav1.4، Nav1.2 و Nav1.8 عمل می‌کنند مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۲۸ و ۱۸۷). μ-کونوتوکسین‌ها، ابزار بسیار ارزنده‌ای برای مطالعه زیرگروه‌های کانال سدیم هستند (شکل ۲۴) (۸۱).



شکل ۲۴) برخی μ- کونوتوکسین¬ها، به‌عنوان ابزارهای پپتیدی نوپدید مسدود کننده کانال‌های سدیمی (۴۰).

Fig 24) Some μ-conotoxins, as emerging sodium channel blocker peptide tools (40).

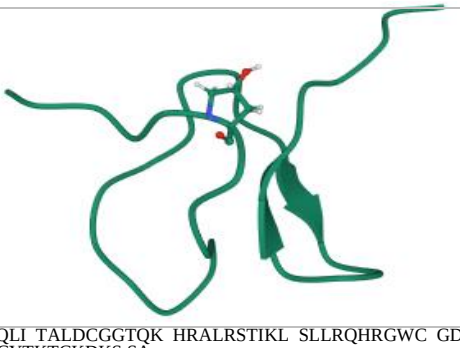
در طی چند سال گذشته، μ- کونوتوکسین‌های مختلفی از جمله μ-Mi0، μ-SmIIIA، μSIIIA، μ-GIIIA، μ-PIIIA، μ-SxIIIA، μ-BuIIIB، μ-Vx3-VV01، μreg3b و μ-KIIIA کشف یا مجدداً بازنگری شده‌اند (۸۲). عملکردهای μ و μO کونوتوکسین‌ها، بر روی کانال Na^+ حساس ولتاژ، به‌طور انتخابی می‌باشند (۱۸۸). (شکل ۲۵)، برخی از ساختارها و برخی خصوصیات توالی و جرمی برخی μ- کونوتوکسین¬ها را نشان می‌دهد.

-						
ساختار						
توالی	PLFDKRQRCC NGRRGCSSRW CRDHSRCCGR R	MMSKLGVLLT VCPLLFPLTA LPPDGDQPAD RPAERMQDDI SSDEHPLFDK RQNCCNGGCS SKWCRDHARC CGR	MMSKLGVLLT ICLLLFPLTA LPMDGDEPAN RPVERMQDNI SSEQYPLFEK RRDCCTPPKK CKDRQCKPQR CCAGR	MSKLGVLLTI CLLLFPITAL PMDGDQPADR LAERMQDNIS SEEHPFEKRQ RLCCGFPKSC RSRQCKPHRC CGR	MMSKLGVLLT ICLLLFPLFA LPQDGDQPAD RPAERMQDDI SSEQNSLLEK RVT-DRCCKGK RECGRWCRD H SRCCGRR	RCCTGKK GSC SGRACKN LKC CA
طول توالی	۳۱	۷۳	۷۵	۷۳	۷۷	۲۲
جرم توالی (Da)*	۳۷۵۶	۸۱۰۵	۸۵۸۶	۸۳۳۴	۸۸۵۵	۲۲۷۸
کونوتوکسین -M	μ-SmIIIA	μSIIIA	μ-GIIIA	μ-PIIIA	μ-BuIIIB	μ-SxIIIA
منبع	UniProtKB - P60207 (CM3A_CONSE)	UniProtKB- Q86DU6 (CM3A_CONST	UniProtKB - P01523 (CM3A_CONGE)	UniProtKB - P58925 (CM3A_CONPU)	UniProtKB - C1J5M5 (CM3A_CONBU)	UniProtKB - P0C8V2 (CM3A_CONSR)

شکل ۲۵) برخی ساختارها، خصوصیات توالی و جرمی μ-کونوتوکسین¬ها (منبع: یونیپروت).

Fig 25) Some structures, sequence and mass properties of some μ-conotoxins (Source: Uniport).

در مطالعه گاژویاک (Gajewiak) و همکاران، یک پپتید جالب از این گروه کونوتوکسین‌ها، بنام μO§-GVIIJ از کونوس ژئوگرافوس، کشف گردید که دارای PTM منحصر به فرد، سیستئین S-سیستئینیلاته بوده که امکان ایجاد یک پیوند کووالانسی پپتید به کانال‌های سدیمی مورد هدف در یک جایگاه پیوند- لیگاند را فراهم می‌نماید (شکل ۲۶) (۱۸۹).



توالی	MKLTCVVIVA ALLLTACQLI TALDCGGTQK HRALRSTIKL SLLRQHRGWC GDP-GATCGKL RLYCCSGFCD CYTKTCKDKS SA
طول توالی	۸۲
جرم توالی (Da)*	۸۸۷۱
جرم ملکولی (Da)**	۳۹۳۴/۴۹

* بر اساس میزان قید شده در یونیپروت؛ **بر اساس MALDI (۱۸۹).

شکل ۲۶) ساختار سه‌بعدی و توالی مربوط به- μO§ کونوتوکسین GVIIJ (منبع: (O17J_CONGE) UniProtKB - X5IWS1).

Fig 26) Three-dimensional structure and sequence of μO§-conotoxin GVIIJ (Source: (O17J_CONGE) UniProtKB-X5IWS1).

در وضعیت فعلی دانش ما، کونوتوکسین‌هایی که مطابق گروه B هستند، یک چهارچوب III نیز دارند. عوارض جانبی ناشی از فلج سریع ناخوشایند و مرگ در مدل‌های درد التهابی و نوروپاتیک در استفاده‌های وریدی μ- کونوتوکسین‌ها، احتمالاً به دلیل فعالیت خارج از هدف[۱۶۴] در زیر گونه NaV1.4 اسکلتی، ممکن است موجب ناامیدی در جستجوی مسدود کننده‌های جدید کانال‌های Nav از حلزون‌های مخروطی جهت درمان درد گردد. تلاش‌هایی برای مهندسی شیمیایی μ-کونوتوکسین‌ها انجام شده است تا بتوانند ضمن رفع این عیوب، ایزوفرم-های Nav مهم درمانی را هدف قرار دهند (۱۹۰).

از سال ۲۰۱۸، تعداد کمی از کشف‌های جدید مسدود کننده‌های کانال Nav مربوط به μ- کونوتوکسین‌ها بوده است(۱۹۰). یک توکسین تحت عنوان μ-BtIIIA در مطالعه فرانکو (Franco) و همکاران، به‌دست آمده است که در چهارچوب III قرار دارد (۸۴).

μC-کونوتوکسین‌ها نیز فراتر از پتانسیل درمانی خود، به‌عنوان مواد آرایشی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. μ-CnIIIC که با عنوان XEPTM-018، ثبت تجاری گردیده است، یک آنتاگونیست قوی Nav1.4 با IC_{50} برابر ۱/۳ نانومولار می‌باشد (۱۹۳). یک فرمولاسیون کرم از μ-CnIIIC به‌صورت موضعی (Lirikos Marine Botoxin1؛ Amorepacific)، برای صاف کردن خطوط صورت در زیبایی پوست موجود است (۱۹۴).

μO-کونوتوکسین‌ها، از طریق تعدیل سنسورهای ولتاژ در دامنه II، کانال‌های Nav را مهار می‌کنند تا باز شدن کانال را محدود نمایند؛ بنابراین، آن‌ها مسدود کننده منافذ نیستند. به دلیل ماهیت آبگریز و بنابراین سنتز چالش برانگیز،

[164] Off-Target

بسیاری از μO-کونوتوکسین‌ها به‌درستی مورد مطالعه قرار نگرفته‌اند و از سال ۲۰۱۴ هیچ μO-کونوتوکسین جدیدی نیز کشف نشده‌اند.

μO§-کونوتوکسین‌ها[165]، از جدیدترین گروه‌های مسدود کننده کانال Na هستند و در حال حاضر، μO§-کونوتوکسین GVIIJ جدا شده از کونوس ژئوگرافوس، تنها عضو این گروه است (۱۸۹). در مقایسه با کونوتوکسین‌های مسدود کننده کانال Nav معمول، μO§-کونوتوکسین GVIIJ دارای هفت باقیمانده سیستئین است که شش مورد از آن‌ها به‌هم پیوند خورده و سه پیوند دی سولفیدی ایجاد می‌نمایند و Cys24 نیز S-سیستئینه است (۱۸۹).

نه زیر واحد α مختلف کانال سدیم پستانداران (NaV1.1 تا NaV1.9) وجود دارد که منفذ هدایت یونی[166] را تشکیل می‌دهند و با زیرواحدهای β کمکی (β_1 تا β_4)، مونتاژ شده و دریچه کانال را تنظیم نموده و عمل انتقال را انجام می‌دهند (۱۹۵ و ۱۹۶). بر اساس مطالعه الکتروفیزیولوژیک گاژویاک و همکاران، کونوتوکسین GVIIJ S-گلوتاتینیله[167]، همه زیرگروه‌های حساس rNaV1 حساس به TTX را مهار می‌کند؛ هرچند که تأیید شد که GVIIJ، یک مسدود کننده کلاسیک منفذ نیست (۱۸۹).

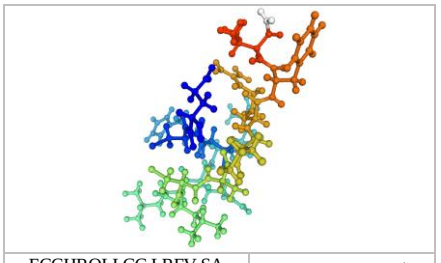
برخی از μ-کونوتوکسین‌ها می‌توانند کانال‌های پتاسیمی ولتاژدار از خانواده Kv1 را نیز به‌طور انتخابی آنتاگونیزه کنند. در مطالعه لیپولد (Leipold) و همکاران، نشان داده شد که کونوتوکسین‌های μ-PIIIA و μ-SIIIA، موجب مهار کانال‌های Kv1.1 و Kv1.6 در محدوده نانومولار می‌گردند ولی بر روی Kv1.2–1.5 و Kv2.1 غیرفعال هستند (۱۹۷). فعالیت این توکسین‌ها روی کانال‌های Kv، تا حد زیادی توسط نواحی منفذ کانال‌ها از جمله دومین "برجک[168]" تعیین می‌شود. این نتایج، نه تنها اهداف متعددی از برخی از μ-کونوتوکسین‌ها را آشکار کرده است بلکه سؤال مهمی نیز در مورد در نظر گرفتن μ-کونوتوکسین‌ها به‌عنوان مسکن ایجاد می‌کند. هر چند، ذکر گردید که اثرات خارج از هدف آن‌ها می‌تواند به‌طور بالقوه منجر به عوارض جانبی شدید گردد.

ψ- کونوتوکسین‌ها

دو کونوتوکسین ψ -PIIIE و ψ -PIIIF که محتوای مارپیچی ندارند قادر به مسدود نمودن nAChRها می‌باشند (۱۹۱ و ۱۹۲).

τ-کونوتوکسین‌ها[169]

کونونوتوکسین τ-CnVA[170] (شکل ۲۷)، با چهارچوب V که گیرنده سوماتواستاتین را هدف قرار می‌دهد، دارای یک کانفورماسیون سنجاق موی مشابه با توکسین‌های زیر گروه D2 می‌باشد (۱۵۰). برخی τ- کونوتوکسین‌ها، همچون δ-کونوتوکسین‌ها، فعال کننده کانال‌های Nav هستند.



توالی	ECCHRQLLCC LRFV SA
طول توالی	۱۴
جرم توالی (Da)*	۱۷۲۳
جرم ملکولی (Da)**	۳۹۳۴/۴۹

* بر اساس میزان قید شده در یونیپروت. ** بر اساس MALDI

شکل ۲۷) ساختار سه‌بعدی و توالی مربوط به τ-کونوتوکسین CnVA (منبع: UniProtKB - P0DJL6 (CT5A_CONCN)).

Fig 27) Three-dimensional structure and sequence of τ-conotoxin CnVA.

[165] μO§-Conotoxins
[166] Ion-Conducting Pore
[167] S-glutathionylated GVIIJ
[168] Turret
[169] ι-conotoxins
[170] Conotoxin τ-CnVA

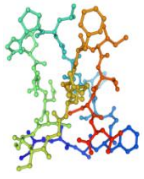
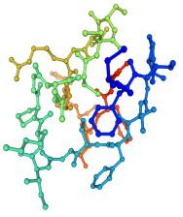
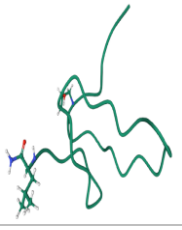
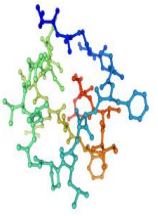
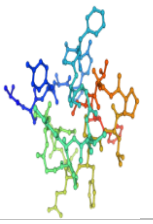
δ-کونوتوکسین‌ها

برخی از خانواده‌های کونوتوکسین به‌طور گسترده‌ای در کل جنس کونوس توزیع شده‌اند. نمونه هایی از آن، δ-کونوتوکسین‌ها هستند (شکل ۲۸)(۷۴). این کونوپپتیدهای غنی از دی‌سولفید، در مهار غیرفعال‌سازی سریع کانال‌های سدیمی دریچه ولتاژ شناخته شده هستند (۴۴). آن‌ها، کانال‌های Nav را از طریق تأخیر مکانیسم غیرفعال‌سازی کانال فعال می‌نمایند که منجر به شلیک عصبی مداوم می‌شود. به‌نظر می‌رسد که δ-کونوتوکسین‌ها، با بقایای آبگریز واقع در اتصال دهنده S3/S4 دامنه IV کانال Nav اتصال برقرار نمایند. این توکسین‌ها برای افتراق زیرگروه‌های خاص کانال سدیمی نیز به‌کار برده شده شده‌اند (۱۹۸).

برای گونه‌های ماهی شکار، نظیر کونوس پورپوراسنس، نشان داده شده است که δ-کونوتوکسین PVIA نیز همچون κ-کونوتوکسین PVIIA برای واحد حمله برق آسا بسیار حیاتی است (۴۴). δ-کونوتوکسین‌های PVIA، SVIA، EVIA و NgVIA جداسازی شده از حلزون‌های شکارگر ماهی، قادر به فعال‌سازی کانال‌های Nav پستانداران نیز می‌باشند. δ-کونوتوکسین‌های جدا شده از گونه‌های کرم شکار کلاد تسلیکونوس[۱۷۱]، یعنی کونوتوکسین‌های TsVIA (کونوس تسولاتوس[۱۷۲]) (۱۹۹)؛ ErVIA (کونوس ابورنئوس) (۱۹۹) و SuVIA (کونوس سوتوراتوس[۱۷۳]) نیز فعال‌کننده‌های قوی کانال‌های Nav مهره‌داران هستند (۲۰۰). δ-کونوتوکسین SuVIA، به‌طور اختصاصی کانال‌های Nav1.3، Nav1.4 و Nav1.6 انسانی را با EC_{50} زیر نانومولار فعال می‌نماید. این توکسین، در میان پپتیدهای مشخص شده چهارچوب V/VII، یک δ-کونوتوکسین قوی است که از یک حلزون مخروطی ماهی‌خوار کونوس سوتوراتوس شناسایی شده است (۲۰۰). شباهت توالی قابل توجه بین δ-کونوتوکسین‌های شکارگر ماهی و کرم، منجر به این فرضیه شد که δ-کونوتوکسین‌های شکارچیان کرم در درجه اول برای دفاع در برابر شکارچیان بزرگتر، از جمله ماهی‌ها تکامل یافته است (۲۰۰).

با وجود این اکتشافات جدید، پتانسیل درمانی δ-کونوتوکسین‌ها به خوبی مورد بررسی قرار نگرفته است. محدودیت اصلی مطالعه فارماکولوژی δ-کونوتوکسین‌ها، سنتز و خالص‌سازی چالش برانگیز به دلیل ماهیت آبگریز آن‌ها است. این چالش، اخیراً با استفاده از تگ حلالیت برطرف شده است و امید است که به‌زودی بینش بیشتری در مورد فارماکولوژی آن‌ها و نیز ابزارهای جدیدی برای رمزگشایی بیشترساز و کارهای فعالیت کانال Nav فراهم گردد.

[171] Tesseliconus
[172] *C. tessulatus*
[173] *C. suturatus*

					ساختار
CAAFGSFCGL PGLVDCCSGR CFIVCLL	SKCFSPGTFC GIKPGLCCSV RCFSLFCISF E	DDCIKPYGFC SLP-ILKNGLC CSGACVGVCA DL	CAGIGSFCGL PGLVDCCSDR CFIVCLP	MKLTCVMIVA VLFLTAWTFV TADDSKNGLE NHFWKARDEM KNREASKLDK KEACYAPGTF CGIKPGLCCS EFCLPGVCFG G	توالی
۲۷	۳۱	۳۲	۲۷	۸۱	طول توالی
۲۷۵۵	۳۳۶۸	۳۲۷۹	۲۷۴۹	۸۹۴۵	جرم توالی (Da)
δ -conotoxin TsVIA	δ -conotoxin NgVIA	δ -conotoxin EVIA	δ -conotoxin SuVIA	δ-conotoxin PVIA	کونوتوکسین
UniProtKB - P0DL66 (O16A_CONTS)	UniProtKB - P56710 (O16A_CONNI)	UniProtKB - P60513 (U6A_CONER)	UniProtKB - P0DL67 (O16A_CONSC)	UniProtKB- P58913 (O16A_CONPU)	منبع

شکل ۲۸) برخی ساختارها و خصوصیات توالی و جرمی برخی δ -کونوتوکسین¬ها (منبع: یونیپروت).

Fig 28) Some structures, and sequence and mass properties of some δ-conotoxins (Source: UniProt).

کاپا- کونوتوکسین‌ها[۱۷۴]

κ-کونوتوکسین‌ها، یکی از حداقل چهار خانواده مختلف بالاخانواده –O، از کونوپپتیدهای غنی از دی‌سولفید می‌باشند. آن‌ها در تعامل با کانال‌های پتاسیمی دریچه- ولتاژ، شناخته شده‌اند (۴۴). تعدیل‌کننده‌های کانال‌های پتاسیم (Kv)، یکی از فراوان‌ترین و متنوع‌ترین خانواده‌های کانال‌های یونی با حدود ۷۰ ایزوفرم متفاوت هستند. برای مطابقت با این تنوع هدف‌ها، چندین خانواده از کونوتوکسین‌ها برای تعدیل کانال‌های پتاسیم دریچه-ولتاژ تکامل‌یافته‌اند و هشت کلاس مسدود کننده کانال پتاسیمی یعنی κ-کونوتوکسین‌ها، شامل κA، κO، κM، κJ، κI، کانتریفان‌ها[۱۷۵]، کونکونیتزین‌ها [۱۷۶]و کونورفامیدها[۱۷۷] وجود دارند. فارماکولوژی κ-کونوتوکسین‌ها، در سال ۲۰۱۲، توسط لوئیس (Lewis) و همکاران شرح داده شد (۲۸). از آن زمان تاکنون، کشف قابل توجهی از این گروه کونوتوکسین‌ها صورت نگرفته است.

مهار کانال‌های پتاسیمی حساس به ولتاژ توسط κ-کونوتوکسین‌ها، به‌طور انتخابی صورت می‌گیرد (۲۰۱)، این توکسین، موجب مهار کانال شاکر حشرات می‌شود. جایگاه تعامل بین کانال شاکر و این توکسین در حلقه S_5-S_6 کانال شاکر است. این توکسین در ماهی، موجب بیش فعالی و به دنبال آن انقباض مداوم و باز شدن و بی‌حرکتی باله‌های اصلی، یا مرگ شده است. تزریق این پپتید، همراه با دلتا کونوتوکسین PVIA، موجب سندرم شکار ناگهانی تتانوس (STOP)[۱۷۸] می‌شود که یک "فین-پاپ"[۱۷۹] منفرد و کشنده در ماهی‌های تلقیح شده با زهر می‌باشد (۴۴ و ۲۰۲). همچنین در موش نیز موجب بیش‌فعالی می‌گردد (۲۰۳).

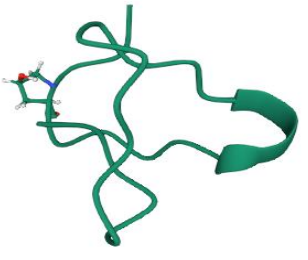
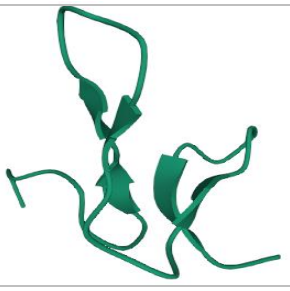
[174] κ -conotoxins
[175] Contryphans
[176] Conkunitzins
[177] Conorfamides
[178] Sudden Tetanus Of Prey (STOP) Syndrome
[179] Fin-Pop

اولین و بیشترین مطالعه کونوتوکسین با فعالیت روی کانال-های پتاسیمی، مربوط به κ-PVIIA جدا شده از ونوم کونوس پورپوراسنس است که متعلق به توالی‌های بالاخانواده O1 است. کونوتوکسین κ-PVIIA با IC_{50} برابر ۶۰ نانومولار برای کانال پتاسیمی شاکر است و هیچ فعالیتی بر زیرگروه‌های Kv1.1 و Kv1.4 پستانداران ندارد (۴۴). نشان داده شده است که κ-کونوتوکسین PVIIA، برای گونه‌های ماهی شکار، نظیر کونوس پورپوراسنس، برای واحد حمله برق‌آسا بسیار حیاتی است (۴۴).

در مطالعه لوبرس (Lubbers) و همکاران، نشان داده شد که κ-کونوتوکسین PVIIA[180]، در شرایط *in vivo* میزان انفارکتوس میوکارد را در مدل ایسکمی/ رپرفیوژن در مدل حیوانی کاهش می‌دهد (۶۶). این نتایج قبلاً توسط ژانگ (Zhang) و همکاران، نیز مشخص شده بود (۲۰۴).

اکثر ۵۸ کونوتوکسین چهارچوب IV، از ونوم کونوس‌های شکارگر ماهی مشخص گردیده‌اند. آن‌ها به خانواده κA کونوپپتیدها تعلق دارند (۷۵). κ-کونوتوکسین κ-Mo3964، تنها عضو چهارچوب XXVIII، از کونوس مونیل[181] است. این توکسین، موجب مهار کانال‌های پتاسیمی دریچه ولتاژ در نورون‌های گانگلیون ریشه پشتی (DRG) می‌گردد (۲۰۵).

در مطالعه اگیلار (Aguilar) و همکاران، نشان داده شد که κ-کونوتوکسین‌های κM-RIIIJ و κJ-PlXIVA، جدا شده از حلزون‌های ماهی شکار کونوس رادیاتوس و کرم شکار کونوس پلانوربیس[182]، دارای فعالیت مهاری بر کانال‌های Kv1.6، به‌ترتیب با ۸: IC_{50} و ۱/۵۹ میکرومولار می‌باشند. علاوه‌براین، نشان داده‌شد که κ-ViTx جدا شده از حلزون شکارگر کرم کونوس ویرگو، دارای فعالیت مهاری بر کانال Kv1.3 با IC_{50}:۲/۰۹ میکرومولار می‌باشد (۲۰۶). برخی ساختارها و خصوصیات توالی و جرمی برخی κ-کونوتوکسین‌ها در شکل (۲۹) آورده شده است.

ساختار		-	
توالی	MKLTCVVIVV VLFLTACQLI TADDSRRTQK HRALRSTTKL SLSTRCRIPN QKCFQHLDDC CSRK-CNRFNK CV	LPPCCTPPKK HCPAPACKYK PCCKS	DGECGDKDEP CCGRPDGAKV CNDPWVCILT SSRCENP
طول توالی	۷۲	۲۵	۳۷
جرم توالی (Da)	۸۳۱۷	۲۷۰۱	۳۹۷۰
جرم ملکولی (Da)	۳۲۶۸/۴ توسط FAB جرم مونوایزوتوپیک	۲۸۰۵/۸۴ توسط ESI مونوایزوتوپیک	-
κ-کونوتوکسین	κ-conotoxin PVIIA	κM -conotoxin RIIIJ	κ-conotoxin Mo3964
منبع	UniProtKB - P56633 (O17A_CONPU)	UniProtKB - P0CG45 (CM3J_CONRA)	UniProtKB - A0A0R4I952 (CXRA_CONMO)

شکل ۲۹) برخی ساختارها و خصوصیات توالی و جرمی برخی κ-کونوتوکسین¬ها (منبع: یونیپروت)

Fig 29) Some structures, and sequence and mass properties of some κ-conotoxins (Source: UniProt)

[180] κ-conotoxin PVIIA
[181] *Conus monile*
[182] *Conus planorbis*

کونکونیتزین‌ها

کونکونیتزین‌ها، یکی از هشت کلاس کونوتوکسین‌های مسدود کننده کانال پتاسیمی یعنی κ-کونوتوکسین‌ها هستند (۲۸). در چند دهه گذشته، بسیاری از کونوتوکسین‌های با اسیدهای آمینه اصلاح شده پس از ترجمه با موفقیت توسط روش SPPS تولید شده‌اندکه نتیجه آن تولید پلی‌پپتیدهای طویل‌تر حاوی تا چند صد آمینو اسید بوده است (۲۰۷). یکی از سنتزهای موفق با استفاده از این روش، سنتز یک کلاس جدید کونوتوکسین‌ها به نام کونوکونیتزین S1 (Conk-S1)[۱۸۳] توسط گروه دای (Dy) و همکاران بود که از نظر ساختاری با پروتئین‌های کونیتز[۱۸۴] بسیار مرتبط هستند (شکل ۳۰)(۲۰۸). با توجه به هزینه‌های بالای سنتز و محافظت اسیدهای آمینه برای سنتز چنین پپتیدهای بزرگی، روش جایگزین مقرون به‌صرفه برای تولید این پپتیدها در مقادیر بیشتر همان استفاده از سیستم‌های بیان باکتریایی و یوکاریوتی است. اشریشیا کلی، به دلایل مختلفی چون کم هزینه بودن و زمان کوتاه کشت، بهترین مشخصه و پرکاربردترین میزبان باکتریایی برای تولید پروتئین‌های نوترکیب است (۲۰۹).

توالی	MEGRRFAAVL ILTICMLAPG TGTLLPKDRP SLCDLPADSG SGT-KAEKRIY YNSARKQCLR FDYTGQGGNE NNFRRTYDCQ RTCLYT
طول توالی	۸۶
جرم توالی (Da) *	۹۶۶۱

* بر اساس میزان قید شده در یونیپروت

شکل ۳۰) ساختار سه‌بعدی و توالی مربوط به کونوکونیتزین- S1(Conk-S1) (منبع(VKTS1_CONST) UniProtKB - P0C1X2).

Fig 30) Three-dimensional structure and sequence of Conk-S1 (source (VKTS1_CONST) UniProtKB-P0C1X2).

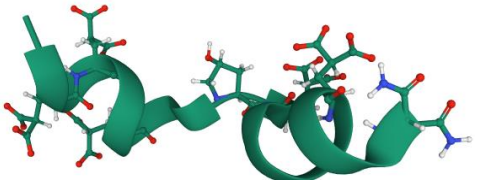
کونانتوکین‌ها

کونوتوکسین‌هایی که دارای بیش از یک پیوند دی‌سولفید نباشند در گروه کونوتوکسین‌های دارای فقر دی‌سولفید[۱۸۵] طبقه‌بندی می‌گردند (۵۶). در میان آن‌ها، کونانتوکین‌ها هستند که از کونوتوکسین‌های مارپیچی ۲۰ اسید آمینه‌ای، حاوی بقایای γ-کربوکسی گلوتامات و برابر گروه K می‌باشند (۱۶). آن‌ها به‌طور آلوستریک، موجب مهار گیرنده‌های NMDA که دومین گروه اصلی گیرنده‌های گلوتاماتی هستند (علاوه بر گیرنده‌های AMPA)، می‌گردند (۲۱۰). ساختار این پپتیدهای غیرمعمول، به جای استفاده از لینک‌های عرضی دی‌سولفید (که به‌طور کلی در کونانتوکین‌ها وجود ندارد)، توسط آمینواسید اصلاح شده

[183] Conkunitzin-S1
[184] Kunitz
[185] Disulfide-Poor Conotoxins

پس از ترجمه γ–کربوکسی گلوتامات، تثبیت می‌شود. وجود زنجیره‌های جانبی γ–کربوکسی گلوتامات در هر سه یا چهار اسید آمینه، به این پپتیدها در حضور کلسیم، یک ساختار مارپیچی پایدار می‌بخشد. کونانتوکین‌هایی چون کونتانوکین G، در حضور کاتیون‌های دو ظرفیتی نظیر منیزیم یا کلسیم، یک کانفورماسیون مارپیچی به وجود می‌آورند (۲۱۱). شلاته شدن یون‌های منیزیم توسط زنجیره‌های جانبی γ–کربوکسی گلوتامات، کانفورماسیون کونانتوکین‌ها و فعالیت آن‌ها را در گیرنده GluN2B NMDA کنترل می‌کند. بنابراین، این γ–کربوکسی گلوتامیک اسید کونانتوکین‌ها هستند که محلی برای اتصال به یون‌های فلزی ایجاد نموده‌اند (۲۱۲).

ساختار کونانتوکین–RIB کونوس رولانی[186]، توسط NMR تعیین و نشان داده شد که دارای یک چین‌خوردگی در وسط مارپیچ است که توسط یک هیدروکسی‌پرولین ایجاد می‌گردد (شکل ۳۱). جایگزینی هیدروکسی پرولین توسط یک پرولین یا آلانین، به‌طور چشمگیری فعالیت زیستی آن را کاهش می‌دهد (۲۱۳). بر اساس مطالعه مایلو (Maillo) و همکاران، کوناتانوکین‌ها تنها مهارکننده‌های NMDAR از نوع پپتیدی با اثرات محافظت‌کنندگی قوی عصبی هستند و همچنین دارای اثرات ضددرد قابل ملاحظه‌ای می‌باشند. باقیمانده‌های C–ترمینال کونانتوکین‌های آنتاگونیست NMDAR، از پپتیدها آمیدار شده‌اند (۲۱۴).



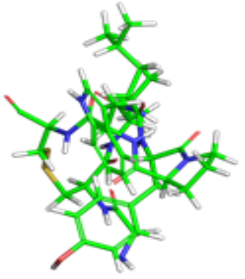
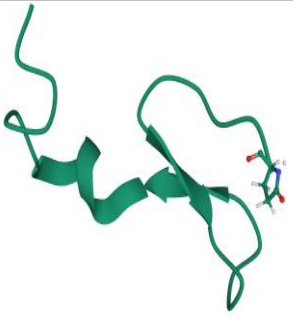
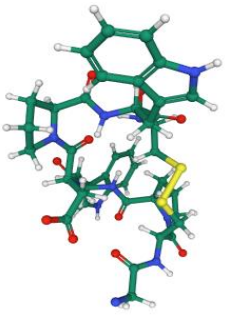
شکل ۳۱) ساختار روبانی کونانتوکین–RIB
Fig 31) Conantokin-RIB ribbon structure

کونتریفان‌ها

کونتریفان‌ها، کونوتوکسین‌های کوچکی هستند که دارای یک ساختار حلقوی پنج باقیمانده حاوی یک D–آمینواسید بوده و توسط یک پیوند دی‌سولفید تثبیت می‌شوند که به‌عنوان فولد J طبقه‌بندی گردیده‌اند (۱۶). هدف مولکولی کانتریفان‌ها ناشناخته مانده است، اما هنگام تزریق به موش، یک فنوتیپ افسردگی و یا بیش‌فعالی را القاء می‌نمایند (۲۱۵).

کونتریفان–In ازکونوس اینسکریپتوس[187] و کونتریفان Lo[188] از کونوس لورویسی[189] به‌دست آمدند (۲۱۶). کونتریفان–Vc1[190] کونوس ویکتوریا، هیچ همسانی توالی و ساختاری با سایر کونتریفان‌ها ندارد، اما براساس شباهت توالی پپتید سیگنال پیش‌ماده خود با سایر اعضای خانواده، کونتریفان نام‌گذاری گردید (۱۰۵). مطالعه ساختار کونتریفان– Vc1156[191]، یک فولد (گروه) جدیدی ایجاد کرد که فولد P نامیده شد. این فولد با یک β–ورقه‌ای کوچک و یک پیوند دی‌سولفید مشخص می‌شود که یکی از رشته‌های بتای C–ترمینال را به N–ترمینال متصل می‌کند و دوباره برروی ورق β قرار می‌گیرد. این فولد به‌عنوان یک بتا– سنجاقی دی سولفیدی هدایت شده است و یک زیر شاخه ثابت از ICK است (۲۱۷). شکل (۳۲)، ساختارهای سه بعدی و توالی برخی کونتریفان‌ها را نشان می‌دهد.

[186] *Conus rolani*
[187] *Conus inscriptus*
[188] Contryphan-Lo
[189] *Conus loroisii*
[190] Contryphan-Vc1
[191] Contryphan-Vc1156

			ساختار
GCVLYPWC	MGKLTILFLV AAALLSTQVM VQGDGAHERT EAEEPQHHGA KRQDGTGGYP VDDVDMMQRI FRTPLKRQWC QPGYAYNPVL GICTITLSRI EHPGNYDYRR GRQ	MGKLTILVLV AAVLLSTQVM VQGDGDQPAD RNAVRRDDNP GGTRGRFMNI LRRTGCPWDP WC	توالی
۸	۱۰۳	۶۳	طول توالی
۹۴۰	۱۱۶۲۹	۶۸۹۷	جرم توالی (Da)
۹۳۷ بر اساس MALDI	-	۹۶۰/۱ توسط ESI. جرم مونوایزوتوپیک	جرم ملکولی (Da)
Contryphan-In	Contryphan-Vc1	Contryphan-Lo	کونتریفان
UniProtKB - P0C249 (COW_CONIN)	UniProtKB - W4VSF6 (O2VC1_CONVC)	UniProtKB - P0C250 (COW1_CONBL)	منبع

شکل ۳۲) ساختارهای سه‌بعدی و توالی برخی کونتریفان‌ها (منبع: (UniProtKB)).

Fig 32) Three-dimensional structures and sequences of some Contryphans (Source: (UniProtKB)).

کونوتوکسین‌های Ac1[192]

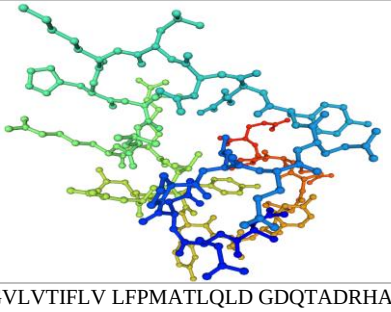
بر اساس مطالعه ترلاو و همکاران، بیشتر CTxها حاوی پیوندهای دی‌سولفیدی هستند (۱۰)، در حالی‌که کونوتوکسین-Ac1 در کونوس آکاتینوس، یک توکسین خطی فاقد سیستئین است. کونوتوکسین Ac1 و واریانت آن کونوتوکسین Ac1-O6P[193]، از مجرای ونوم کونوس اکاتینوس[194]، یک گونه حلزون مخروطی ماهی شکار جمع‌آوری شده در دریای‌هاینان، چین جداً شد. کونوتوکسین Ac1 پپتیدی خطی است که حاوی ۱۵ اسید آمینه است. در مطالعه لیو و همکاران، علاوه بر سنتز، خصوصیات ساختاری و عملکردی کونوتوکسین Ac1 و همچنین ۱۹ گونه آن مورد بررسی قرار گرفتند (۲۱۲). بر اساس نتایج الکتروفیزیولوژیک مطالعه آن‌ها، کونوتوکسین Ac1، زیر واحد گیرنده N- متیل -D-آسپارتات زیرگروه 2B (NR2B) را با IC_{50} حدود ۰/۰۲۲±۸/۲۲ میکرومولار مهار می‌کند. مطالعات بیشتر ساختار- فعالیت کونوتوکسین Ac1 نشان داد که بقایای اسید آمینه قطبی، برای تعدیل فعالیت آن مهم است. علاوه بر این، در آزمون‌های تعیین فعالیت ضددرد، روش‌های هات-پلیت[195] و تایل فلیک[196] پاسخ به محرک گرمایی حاد کونوتوکسین‌های Ac1 و Ac1-O6P، تأیید نمود که کونوتوکسین Ac1، یک مهار کننده NMDAR در یک حالت وابسته به دوز است و فعالیت ضددردی را نشان می‌دهد (۲۱۲). در مطالعه کشف رابطه ساختار- فعالیت بین کونوتوکسین Ac1 و تارگت لیو (Liu) و همکاران، اثرات ۱۰ میکرومولار کونوتوکسین Ac1- و کونوتوکسین Ac1-O6P بر فعالیت کانال‌های یونی Na^+، K^+، Ca^{2+} و NMDAR با استفاده از فناوری پچ گیره[197] سلول تام نشان داد که ۱۰ میکرومولار کونوتوکسین Ac1- و

[192] Conotoxin-Ac1
[193] Conotoxin-Ac1-O6P
[194] *Conus achatinus*
[195] Hot-plate
[196] Tail-flick
[197] Patch-Clamp

کونوتوکسین Ac1-O6P-، تقریباً هیچ اثر مهاری بر Na^+ و K^+ ندارد، ۱۰ میکرومولار کونوتوکسین Ac1-O6P، یک اثر مهاری بر کانال‌های یونی Ca^{2+} و ۱۰ میکرومولار کونوتوکسین Ac1 مهار حدود ۵۶/۹۰ درصدی را روی کانال‌های یونی NMDAR نشان دادند (۲۱۲).

همچنین، نتایج کلی ارزیابی فعالیت حیوانی کونوتوکسین‌های Ac1 و Ac1-O6P، توسط لیو و همکاران، نشان داد که این دو می‌توانند موجب کوتاه شدن قابل توجهی تأخیر خواب و طولانی شدن زمان خواب گردند (۲۱۲). به‌علاوه، نشان داده شد که کونوتوکسین Ac1- و کونوتوکسین Ac1-O6P-، دارای اثرات تثبیت کننده هستند. همچنین، بررسی نتایج فعالیت ضد درد این دو کونوتوکسین با استفاده از روش صفحه داغ و روش سوختگی- دم[198] نشان داد که دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم بر کیلوگرم این دو کونوتوکسین، دارای فعالیت ضددرد قابل ملاحظه‌ای می‌باشد (۲۱۲).

کونوتوکسین Ac1-، حاوی ۱۵ بقایای اسید آمینه مشتمل بر شش بقایای اسید آمینه آروماتیک، N-ترمینال وC- ترمینال، بسیار آبگریز و لیپوفیل است در حالی که دارای یک واسط (ROENS) آب‌دوست است (شکل ۳۳). کونوتوکسین‌های فاقد سیستئین در حلزون‌های مخروطی تقریباً به شش دسته تقسیم می‌شوند (۲۱۲).

ساختار	
توالی	LGVLVTIFLV LFPMATLQLD GDQTADRHAG ERDQDPLEQY RNLKHVLRRT RNYYLYPARP ENSWWT
طول توالی	۶۶
جرم توالی (Da)	۷۸۶۰
جرم ملکولی (Da)	۱۹۷۶/۱۱ توسط MALDI
کونوتوکسین	Conotoxin-Ac1-O6P
منبع	UniProtKB - P0CH24 (CA1_CONAH)

شکل ۳۳) ساختار و برخی خصوصیات توالی و جرمی کونوتوکسین Ac1 (منبع: یونیپروت).

Fig 33) Structure and some sequence and mass characteristics of conotoxin Ac1 (Source: Uniprot).

کونوتوکسین Ac1-N1A[199]، کونوتوکسین Ac1-Y2A[200]، کونوتوکسین Ac1-N11A[201](۴۶) و کونوتوکسین Ac1-S12A[202] نه تنها درد را کاهش می‌دهند بلکه، حداکثر پس از ۶۰ دقیقه از زمان تجویز، به حداکثر اثر ضد دردی خود می‌رسند. کونوتوکسین- Ac1 پس از ۱۲۰ دقیقه تجویز، به حداکثر بی‌دردی می‌رسد. علاوه بر این، آستانه درد کونوتوکسین

[198] Tail-burn
[199] Conotoxin-Ac1-N1A
[200] Conotoxin-Ac1-Y2A
[201] Conotoxin-Ac1-N11A
[202] Conotoxin-Ac1-S12A

Ac1-E10A[۲۰۳] و کونوتوکسین Ac1-T15A[۲۰۴] پس از ۶۰ دقیقه تجویز بود (۶۱). برخی دیگر از کونوتوکسین-Ac1، شامل کونوتوکسین‌های Ac1-E10γ[۲۰۵] (۲۱۸) و Ac1-E10γW14γ15[۲۰۶] هستند (۲۱۹).

توکسین‌های سایر حلزون‌های دریایی زهرآگین

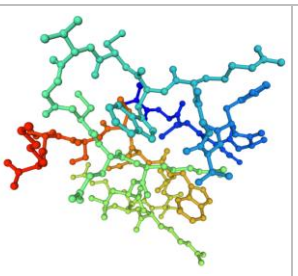
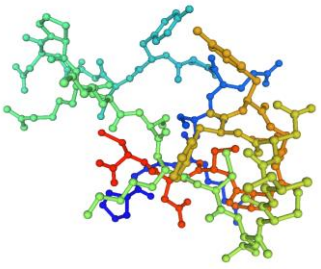
همان‌طور که ذکر گردید، علاوه بر خانواده کونیده، دو گروه حلزون‌های خانواده تربریده و توریده از حلزون‌های دریایی زهرآگین شناخته شده‌اند. بیش از ۱۰ هزار گونه در گروه آخر پیشنهاد شده است که نشان داده شده است پلیفیلتیک[۲۰۷] هستند و اخیراً در ۱۲ گروه خانوادگی تعریف شده‌اند (۵). ونوم‌پپتیدهای حلزون‌های اوگر (خانواده تربریده)، از نظر بیوشیمیایی، مشخص شده‌اند. از ۱۲ گروه پیشنهاد شده توریده در سطح خانواده، سه مورد توریدها، کریس اسپیریدها[۲۰۸] و کلاتورلیدها[۲۰۹] مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

اوگرپپتیدها[۲۱۰]: ونوم‌پپتیدهای خانواده تربریده

حلزون‌های آوگر (خانواده تربریده)، گروه متمایزی از نرم‌تنان گرمسیری ساکن شن و ماسه هستند و اعتقاد بر این است که از کرم‌های پلیکته تغذیه می‌کنند. آن‌ها از معروف‌ترین حلزون‌های دریایی، با پوسته‌های مشخص، بلند، باریک و چند حلقوی هستند که برای سبک زندگی در ماسه سازگار شده‌اند.

برخی گونه‌های حلزون آوگر، غدد زهری خود را از دست داده‌اند. ونوم‌پپتیدهای این حلزون‌ها، به نام "اوگرپپتید" شناخته می‌شوند. اوگرپپتیدها در دو گونه‌تر بریده شناسایی گردیده‌اند. در مطالعه ایمپریال (Imperial) و همکاران، مشخص گردید که ونوم پپتیدهای خالص‌سازی شده تربرا سوبولاتا[۲۱۱]، دارای ساختارهای مشابه با O-بالاخانواده‌های معروف کونوپپتیدی هستند (۲۲۰). پس از آن، در مطالعه‌ای دیگر توسط آن‌ها، آنالیز بسیار گسترده‌ای، با استفاده از خالص‌سازی مستقیم ونوم و کلونینگ cDNA در گونه هاستلولا هکتیکا[۲۱۲] از تربریده انجام گردید؛ توالی‌های پپتیدی نیز تعیین شدند. با وجودی که برخی از چهارچوب‌های سیستئین موجود در پیش‌سازهای پیش‌بینی شده اوگرپپتید هستلولا هکتیکا توسط کلون‌های cDNA، شبیه بالاخانواده‌های-O و P-پپتیدها بودند، لکن هیچ توالی سیگنال همسانی مشاهده نشد (۲۲۱). ساختارهای سه‌بعدی و توالی برخی اوگرپپتیدها در شکل (۳۴) آورده شده است.

[203] Conotoxin-Ac1-E10A
[204] Conotoxin-Ac1-T15A
[205] Conotoxin-Ac1-E10γ
[206] Conotoxin-Ac1-E10γW14γ15
[207] Polyphyletic
[208] Crassispirids
[209] Clathurellids
[210] Augerpeptides
[211] *Terebra subulata*
[212] *Hastula hectica*

ساختار		-	
توالی	GLSQSGCQAF TGRWCVGCER LRSRVVWECS PKRVVNSI	GECCTDCAQT AAANYC	NEVCPPGRCE PYCCDPRKCK CLSIDFYGLV CNCDS
طول توالی	۳۸	۱۶	۳۵
جرم توالی (Da)	۴۲۵۶	۱۶۲۴	۳۹۳۲
اوگرپپتید	Augerpeptide hhe53	Augerpeptide hhe1a	Augerpeptide hheTx5
منبع	UniProtKB - P0CI21 (TE53_HASHE)	UniProtKB - P0CI06 (TEIA_HASHE)	UniProtKB - P0CI12 (TEF5_HASHE)

شکل ۳۴) ساختارهای سه‌بعدی و توالی برخی اوگرپپتیدها (منبع: (UniProtKB)).

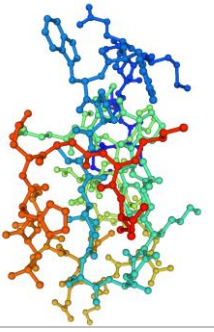
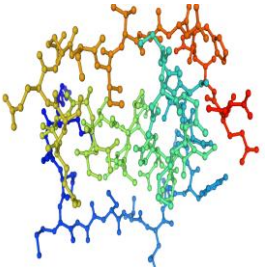
Fig 34) Three-dimensional structures and sequences of some augerpeptides (Source: (UniProtKB)).

توریپپتیدها[۲۱۳]: ونوم¬پپتیدهای خانواده توریده

گسترده‌ترین گروه ونوم‌پپتیدهای غیرکونوسی، توریپپتیدها هستند. خانواده توریده، قبلاً شامل همه گونه‌های توریدها بود؛ اما، یک توافق در حال ظهور وجود دارد که خانواده توریده را به شاخه مونوفیلتیک کونوئیده محدود کنند که شامل گونه‌های جنس توریس[۲۱۴] و توریس بابیلونیا[۲۱۵] هستند. بنابراین، توریپپتیدها با استفاده از این تعریف متمرکزتر، به‌عنوان ونوم‌پپتیدهای چندین جنس شناخته شده توریس، گمولا[۲۱۶]، لوفیوتوما[۲۱۷]، اوندوگمولا[۲۱۸]، پلی‌ستیرا[۲۱۹] و توریدروپا[۲۲۰] تعریف می‌شوند.

در حال حاضر، توالی ونوم‌پپتیدهای چندین گونه توردیدس، از جمله پلیستیرا البیدا[۲۲۱]، گمولا دیومدئا[۲۲۲]،گمولا کینری[۲۲۳]، گمولا سوگودنسیس[۲۲۴]، گمولا اسپشیوسا[۲۲۵] و لوفیوتوما اولانگوئنسیس[۲۲۶] مشخص شده‌اند (۲۲۲). شکل (۳۵)، ساختارهای سه¬بعدی و توالی سه توریپپتید را نشان می‌دهد.

[213] Turripeptides
[214] Turris
[215] *Turris babylonia*
[216] *Gemmula*
[217] *Lophiotoma*
[218] *Unedogemmula*
[219] *Polystira*
[220] *Turridrupa*
[221] *Polystira albida*
[222] *Gemmula diomedea*
[223] *G. kieneri*
[224] *G. sogodensis*
[225] *G. speciosa*
[226] *Lophiotoma olangoensis*

ساختار		-	
توالی	CMTICTMEYW PVCGSDGKTY PNK-CHLTSTA CTSQKDITVL HEGKC	EACDDSHPCN KTLACSGNKC LIPYGSTVWD CESGFDCVIG VVCTYHGGDK VGRCTQDHRC QRGACTNPAT ECDEDEVCGY KEGETCYGPC RKGLTCRLGR CRP	MKVYCLLVVL LVGLVSQTQG QLDKKCNMAC TLDYRPVCGS DGKTYP-NRCA LTSTACESQQ SITVLHDGEC
طول توالی	۴۵	۱۰۳	۷۰
جرم توالی (Da)	۴۹۸۶	۱۱۱۶۶	۷۶۰۲
توریپپتید	Turripeptide OL11-like	Turripeptide OL55-like	Turripeptide Pal9.2
منبع	UniProtKB - P0DKM9 (TU11_LOPAL)	UniProtKB - P0DKP2 (TU55_LOPAL)	UniProtKB - P0DKT1 (TU92_POLAB)

شکل ۳۵) ساختارهای سه‌بعدی و توالی برخی توریپپتیدها (منبع: (UniProtKB))

Fig 35) Three-dimensional structures and sequences of some turripeptides (Source: (UniProtKB))

دو پپتید gsp9a و gsp9b، مستقیماً از زهر گمولا اسپشیوزا خالص‌سازی شده‌اند (جدول ۷). این پپتیدها از این جهت قابل توجه هستند که حاوی دو آمینو اسید اصلاح شده پس از ترجمه ۴–هیدروکسی پرولین و γ-کربوکسی گلوتامات هستند که در کونوپپتیدها یافت می‌شوند. دو پپتید خالص با شباهت توالی قابل توجه و همان چهارچوب بقایای cys، با یکدیگر همولوگ بودند و این فریم‌ورک مشابه بالاخانواده P–کونوپپتید[۲۲۷] بود، اما کلونیگ از ونوم گمولا اسپشیوزا نشان داد که هیچ همسانی توالی واضحی بین توالی‌های سیگنال پیش‌سازهای پپتید گمولا اسپشیوزا و بالا خانواده P–کونوپپتید وجود ندارد. پیشنهاد گردید که به این بالا خانواده توریپپتیدها، بالاخانواده Pg[۲۲۸] (G برای جنس گمولا)، عنوان گردد (۲۲۲). پس از انجام PCR استاندارد بر روی دیگر گونه‌های گمولا، پپتیدهای هومولوگ دیگری از سه گونه گمولا سوگودنسیس، گمولا دیومدیا و گمولا کینری به‌دست آمدند. توالی‌های بالاخانواده– Pg به دو گروه تقسیم شدند که نشان از این داشت که آن‌ها ممکن است روی دو هدف مولکولی متفاوت، اما هومولوگ عمل نمایند. خالص‌سازی توریپپتیدهای gsp9a و gsp9b، توسط هرالد (Heralde) و همکاران انجام شده است (۲۲۳).

[227] P-conopeptide

[228] Pg-superfamily

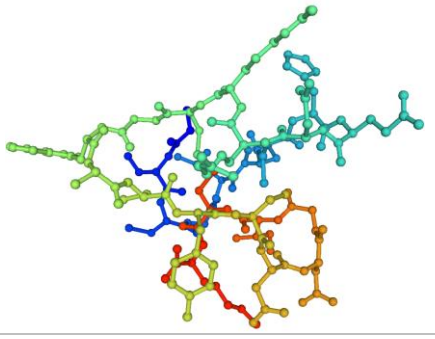
جدول ۷) برخی خصوصیات توالی و جرمی توریپپتیدهای **gsp9a** و **gsp9b**، (منبع: یونیپروت)		
عنوان	**یافته**	
توالی	IDPPRYCNHI ICYEDSECSQ WCTAGCNSIT SKCDT	GDPPRFCRDK LCSGDGDCSV WCTAGCNHDM GKCDTL
طول توالی	۳۵	۳۶
جرم توالی (Da)	۳۹۵۷	۳۸۶۴
جرم ملکولی (Da) توسط MALDI	۴۰۷۱/۵	۴۵۲۲/۲
توریپپتید	gsp9a	gsp9b
منبع	UniProtKB - P0C844 (C9A_GEMSP)	UniProtKB - P0C849 (C9B_GEMSP)

یکی از جنبه‌های غیرمعمول ونوم‌های توریده، ونوم پپتیدهایی بدون هیچ بقایای سیستئین و ترکیبات اسید آمینه بسیار غیرمعمول هستند. آنالیز پپتیدهای زهر لوفیوتوما (زنوروتوریس[۲۲۹]) اولانگوئنسیس[۲۳۰] و نیز بالا خانواده‌های توریپپتیدی با استفاده از کلونینگ cDNA، یک بالاخانواده پپتیدی کدگذاری شده با ۱۶ بقایای سیستئین، مجموعه‌ای از اجزاء ونوم بسیار بزرگ‌تر از هر بالاخانواده پپتیدی کونوس را نشان داد. پپتیدهای هر دو زهر، غنی از متیونین و لوسین، کاملاً برخلاف هر یک از کونوپپتیدهای مشخص شده، از ونوم‌های توریده شناسایی گردیدند (۲۲۲).

کراسیپپتیدها[۲۳۱]: ونوم‌پپتیدهای حلزون‌های کراسیسپیرید[۲۳۲]

کراسیسپیریدها به گروه بزرگی از گونه‌هایی تعلق دارند که زمانی به خانواده توریده اختصاص داده شده بودند. داده‌های فیلوژنتیک مولکولی اخیر نشان داده اند که آن‌ها یک گروه بزرگ از تنوع زیستی حلزون‌های زهراگین هستند که شاخه‌ای متفاوت از توریدها را تشکیل می‌دهند. شواهد فیلوژنتیک نشان می‌دهند که آن‌ها به خانواده دریلیده[۲۳۳] شبیه‌تر هستند (۲۲۴ و ۲۲۵). تعیین دقیق طبقه‌بندی این گروه (خانواده کراسیسپیریده یا سودوملاتومیده[۲۳۴]) هنوز مشخص نگردیده است. به ونوم‌پپتید کراسیسپیریدها "کراسیپپتید" گویند. در منابع، فقط ونوم گونه کراسیسپیرا سریتینا[۲۳۵] مورد بررسی قرار گرفته‌است. در مطالعه کابانگ (Cabang) و همکاران یک کراسیپپتید به‌نام"Cce9a"، توصیف و از نظر شیمیایی نیز به‌صورت یک ترکیب فعال بیولوژیکی سنتز شده است (شکل ۳۶). این پپتید، علائم جدیدی را در تزریق به CNS موش ایجاد می‌کند که وابسته به دوز و دوره رشد جانور است و نشان می‌دهد که این کراسی‌پپتید ممکن است یک تارگت مولکولی جدید در CNS موش داشته باشد. اخیراً، آنالیز کلون‌های cDNA از کراسیسپیرا سریتینا، هفت بالاخانواده مختلف ونوم ژن را شناسایی کرده است که پپتیدهایی را با ۱ تا ۴ پیوند دی‌سولفید کدگذاری می‌کند (۲۲۴).

[229] *Xenuroturris*
[230] *olangoensis*
[231] Crassipeptides
[232] Crassispirid
[233] Drillidae
[234] Pseudomelatomidae
[235] *Crassispira cerithina*

	ساختار
ADNHARVAGP RAVASGRYAT EKAFLQMMTR GSCGLPCHEN RRCGWACYCD DGICKPLRV	توالی
۵۹	طول توالی
۶۴۷۱	جرم توالی (Da)
۳۲۰۴/۱۱	جرم ملکولی (Da) توسط MALDI
Crassipeptide cce9a	کراسیپپتید
UniProtKB - G8FZS4(CX9A_CRACE)	منبع

شکل ۳۶) ساختار سه بعدی و برخی خصوصیات توالی و جرمی کراسیپپتید Cce9a (منبع: یونیپروت)

Fig 36) Three-dimensional structure and some sequence and mass characteristics of crassipeptide Cce9a (Source: UniProt)

کلاتورلیپپتیدها[۲۳۶]: **از ریز کونوئیده‌های زهراگین**

کلاتورلیدها، متعلق به یکی از گروه‌های اصلی توریدری هستند که توسط بوکت و همکاران در خانواده کلاتورلیده[۲۳۷] جای گرفتند (۵). اعتقاد بر این است که آن‌ها یکی از نزدیک‌ترین گروه‌های تورید به کونوس می‌باشند. در واقع، در یک طرح طبقه‌بندی پیشین، پیشنهاد گردیده بود که کلاتورلیدها با کونوس در خانواده کونوئیده گنجانیده شوند (۲۲۶). اتفاق نظر این است که این یک گروه بسیار متنوع از نرم‌تنان زهراگین، در آب‌های عمیق هستند که بر اساس داده‌های فیلوژنتیک مولکولی، یک شاخه کاملاً مشخص از کونوئیده هستند. بنابراین، به پپتیدهای موجود در زهرهای خانواده کلاتورلیده، "کلاتورلیپپتید" اطلاق می‌گردد. به دلیل اندازه بسیار کوچک اکثر کلاتوریلیدها، تاکنون تعداد کمی از آن‌ها آنالیز شده‌اند. با این حال، سه توالی منتشر شده است که یکی از آن‌ها یک پیش‌ساز معمولی شبه‌کونوپپتید می‌باشد. با بهبود تکنیک‌های کنونی دستیابی به توالی ونوم‌پپتیدها در حلزون‌های میکرو، می‌توان انتظار داشت که فارماکولوژی جدیدی از این گروه بسیار متنوع، گسترش یابد.

کونوانسولین‌ها [۲۳۸]

کونوانسولین‌ها، کلاس جدیدی از کونوتوکسین‌ها را تشکیل می‌دهند که به‌طور گسترده در حلزون‌های مخروطی شکارگر ماهی یافت شده‌اند. بر اساس مطالعه صفوی- همتی (Safavi-Hemami) و همکاران، این ترکیبات موجب ایجاد شوک هیپوگلیسمی در ماهی می‌گردند (۲۲۷).

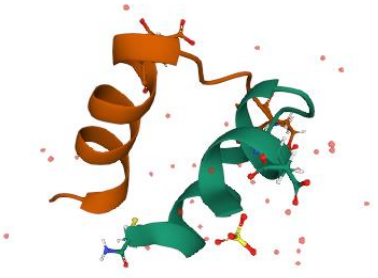
کونوانسولین G1[۲۳۹]

کونوانسولین G1، کوچک‌ترین آنالوگ انسولین است که تاکنون به‌طور طبیعی شناسایی گردیده‌است. اندازه

[236] Clathurellipeptides
[237] Clathurellidae
[238] Conoinsulins
[239] Con-Ins G1

کوچک‌تر آن، ممکن است با فراهمی زیستی بهتری همراه باشد (شکل ۳۷) (۲۲۸).

شباهت توالی به انسولین مهره‌داران و اندازه کوچک‌تر، فرصت منحصر به فردی را برای بررسی پتانسیل فارماکولوژیکی این مولکول‌های خاص برای توسعه بیشتر فراهم نموده است تا تأثیر آن‌ها بر هموستازی گلوکز مورد بررسی قرار گیرد. در مطالعه منتینگ (Menting) و همکاران، مشخص گردید که Con-Ins G1، یک مقلد انسولین انسانی با زنجیره B کوتاه می‌باشد (۲۲۹). گرچه، Con-Ins G1 فاقد قسمت C- ترمینال انسولین انسانی در زنجیره B که واسط اتصال در گیرنده انسولین و مونتاژ فرم ذخیره هگزامریک هورمون است، اما تمام ویژگی‌های ساختاری دیگر انسولین مهره‌داران از جمله زنجیره A و الگوهای پیوند دی‌سولفید متعارف را حفظ نموده است (۲۲۸). کونوانسولین G1، شامل دو زنجیره پپتیدی متفاوت است که بوسیله دو پیوند دی‌سولفیدی بین زنجیره‌ای به هم پیوند می‌یابند (۲۲۹). همانگونه که اشاره گردید، ساختار Cons-Ins-G1، بسیار شبیه به انسولین‌های پستانداران است با این تفاوت که یک قطعه ۱۰ اسید آمینه‌ای در N- ترمینال زنجیره دوم که یک ساختار β- رشته‌ای برای انسولین‌های پستانداران تشکیل می‌دهد را از دست داده است. نکته قابل توجه این است که Con-Ins G1، گیرنده انسولین انسانی را فقط با ۱۰ برابر فعالیت کمتر از انسولین انسانی فعال می‌کند (۲۲۹).

ساختار	
توالی	MTTSSYFLLM ALGLLLYVCQ SSFGNQHTRT FDTPKHRCGS EIT-NSYMDLC YRKRNDAGEK RGRASPLWQR RGSLSKLKAR AKRN-GAFHLP RDGRGVVEHC CHRPCSNAEF KKYCG
طول توالی	۱۱۵
جرم توالی (Da)	۱۳۱۳۴
جرم ملکولی (Da) توسط ESI	۵۰۳۰/۱
کونوانسولین	کونوانسولین G1
منبع	UniProtKB - A0A0B5AC95 (INS1A_CONGE)

شکل ۳۷) ساختارو برخی خصوصیات توالی و جرمی کونوانسولین G1 (منبع: یونیپروت).

Fig 37) Structure and some sequence and mass properties of Con-Ins G1 (Source: UniProt).

با وجود فقدان بقایای زنجیره B معادل، کونوآنسولین‌های مونومریک G_3 ،TIB ،T_1A ،T_2 ،K_1 ،K_2 و G_1 و به شدت به ایزوفرم B گیرنده انسولین انسانی متصل می‌گردند و سیگنالینگ گیرنده را فعال می‌نمایند. نشان داده شده است که کوانسولین‌ها، گلوکز خون را در مدل دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین بر زبرافیش و موش کاهش می‌دهند (۲۳۰). این کوانسولین‌های جدید، می‌توانند یک داربست جدید

برای طراحی یک کلاس بهبود یافته از آنالوگ‌های مقلد انسولین انسانی درمانی، با عمل یکپارچه و سریع ذاتی باشند (۲۳۱).

پپتیدهای آرفامید

کونورفامیدها، دارای شباهت توالی زیادی با تتراپپتید آرفامید[۲۴۰] ($Phe-Met-Arg-Phe-NH_2$)، محرک قلبی نرم‌تنان (FMRFamide) و سایر پپتیدهای مرتبط با FMRF هستند که در شاخه‌های مختلف بی‌مهرگان و مهره‌داران یافت می‌شوند (۲۳۲). کونورفامیدها دارای پلی‌فارماکولوژی هستند (۲۳۳).

کونورفامیدهای Sr1[۲۴۱]و Sr2[۲۴۲] از کونوس اسپوریوس[۲۴۳] از اولین کونوپپتیدهای کشف شده از یک گونه کونوس شکارگر کرم آتلانتیک بودند (۲۳۲). در مطالعه کمپوس- لیرا (Campos-Lira)، نشان‌داده شد که کونورفامید-Sr1، یک هایپراکتیویته مشابه با نوروپپتید $FMRF-NH_2$، در موش ایجاد می‌نماید. همچنین، تزریق کونورفامید -Sr2 به موش، فعالیت‌های پارالیتیک در لیمپت پاتلا اوپئا[۲۴۴] و هایپراکتیویتی در حلزون‌های آب شیرین پوماسه پالودوزا [۲۴۵] مشاهده شد. کونورفامید-Sr2 به توالی نوروپپتیدهای آرفامید نرم‌تنان دریایی و آب شیرین شباهت دارد که می‌توان فعالیت‌های بیولوژیکی آن را در مقابل نرم‌تنان توجیه نمود. همچنین توالی کونورفامید-Sr2، بسیار شبیه به نوروپپتیدهای آرفامید از پلی‌کته ها، طعمه‌های کونوس اسپوریوس است و نقش اکولوژیکی قابل قبولی را در شکار فراهم می‌نماید (۲۳۲).

اخیراً، کونورفامید-Sr3 (CNF-Sr3)[۲۴۶]، از ونوم کونوس اسپوریوس توسط لوپز-ورا (López-Vera.) و همکاران، جداسازی و نشان داده شد که یک اثر مهاری وابسته به دوز روی کانال پتاسیمی شاکر[۲۴۷] دارد (۵۵). کانال‌های پتاسیمی دریچه- ولتاژ، در سیگنالینگ سلولی، از رژنراسیون پتانسیل‌های عمل در نورون‌ها گرفته تا تنظیم ترشح انسولین در سلول‌های پانکراس در پستانداران، نقش مهمی را ایفاء می‌نمایند (۲۳۲). کونورفامید-Sr3، از نظر توالی دارای شباهت بالایی با CNF-Sr1 و CNF-Sr2 است. تزریق این کونورفامید به موش، موجب بیش‌فعالی در آن‌ها گردیده است (۲۳۴). بخش C-ترمینال کونورفامید-Sr3، فاقد بقایای سیستئین، شبیه تتراپپتید $Phe-Met-Arg-Phe-NH_2$، محرک قلبی نرم‌تنان حلزونی است که در ابتدا در کلاس بیوالویا[۲۴۸] شاخه مولوسکا و پس از آن در دیگر شاخه‌های بی‌مهرگان و مهره داران یافت گردید (۲۳۵). در مطالعه کمپوس-لیرا و همکاران، کونورفامید-Sr3، موجب مهار کانال‌های پتاسیمی وابسته به ولتاژ و زیر گروه شاکر بر روی خانواده دروزوفیلا[۲۴۹] گردید لکن تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای بر سایر خانواده‌های اصلی کانال‌های پتاسیمی ولتاژ-فعال (Shab، Shaw، Shal و *Eag*) نداشت (۲۳۲).

در پستانداران، حداقل ۴۰ ژن وجود دارد که کانال‌های پتاسیمی ولتاژ- دریچه دار را کدگذاری می‌کنند. با توجه به تنوع بسیار زیاد این کانال‌ها و استفاده اثبات شده از کونوتوکسین‌ها به عنوان ابزاری برای تشخیص کانال‌های یونی مختلف لیگاند و ولتاژ دردار[۲۵۰]، بررسی اثر احتمالی CNF-Sr3 بر چهار زیرگروه همولوگ

[240] RFamide
[241] Cono-RFamide-Sr1
[242] Cono-RFamide-Sr2
[243] *Conus spurius*
[244] Limpet Patella Opea
[245] *Pomacea paludosa*

[246] Conorfamide- Sr3
[247] Shaker
[248] Bivalvia
[249] Drosophila
[250] Ligand- and Voltage-Gated Ion Channels

کانال پتاسیمی ولتاژ دردار کانال شاکر، از اهداف مطالعه لوپز–ورا و همکاران بود. از نتایج این مطالعه، میل ترکیبی بالای CNF-Sr3 به‌ترتیب برای زیرگروه‌های Kv1.6 و Kv1.3 نسبت به Kv1.4 و Kv1.5 بود و پیشنهاد گردید که این کونورفامید ممکن است به یک پروب مولکولی جدید برای مطالعه جنبه‌های مختلف کانال‌های Kv1.3 و Kv1.6 انسانی تبدیل گردد (۵۵).

در پستانداران، هشت عضو مربوط به خانواده شاکر (Kv1.1 - Kv1.8) وجود دارد. جهش در برخی از این اعضاء منجر به بیماری‌های مختلفی در انسان می‌شود. تغییرات کانال Kv1.1، ممکن است موجب آتاکسیای اپیزودیک نوع ۱ شود (۲۳۶)؛ کانال Kv1.3 با بیماری مولتیپل اسکلروزیس، دیابت نوع ۱ و آرتریت روماتوئید مرتبط است (۲۳۷). مارتل (Martel) و همکاران، با ثبت الکتروشیمیایی در استریاتوم خلفی[۲۵۱] موش صحرایی، نقش Kv1.2 و Kv1.6 را در انتشار دوپامین تأیید کردند (۲۳۸) و همچنین در برخی مطالعات نشان داده است که Kv1.4 و Kv1.5 با اثرات قلبی مرتبط هستند (۲۳۹ و ۲۴۰).

بر اساس مطالعات متعدد، تعداد انگشت‌شماری از کونوتوکسین‌ها یا کونوپپتیدها، از جمله CNF-Sr3 دارای فعالیت بر روی کانال‌های پتاسیمی وجود دارند که فاقد بقایای Cys باشند و بیشتر آن‌ها پپتیدهای حاوی دی‌سولفید هستند (۲۴۱ و ۲۴۲). بر اساس مطالعه لوپز–ورا و همکاران، CNF-Sr3 قادر است کانال‌های Kv1.6 و Kv1.3 انسانی را به همان اندازه کونوتوکسین‌ها یا کونوپپتیدهای گزارش شده پیشین، مهار نماید (۵۵).

یکی از علل تمایل نسبتاً کم این توکسین در برابر کانال‌های Kv1، ممکن است استفاده از کانال‌های پتاسیمی پستانداران در مطالعات باشد (۲۴۳). حتی اگر CNF-Sr3 میل نسبتاً کمی به کانال‌های Kv1 انسانی داشته باشد، توالی کوتاه آن که متشکل از ۱۵ باقیمانده اسید آمینه، بدون بقایای سیستئین است، در مقایسه با سایر کونوتوکسین‌ها یا کونوپپتیدهای با متوسط ۲۵ اسید آمینه در طول چهار تا هشت باقیمانده سیستئین، ممکن است اجازه دهد که به عنوان یک ابزار مولکولی مفید برای روشن کردن نقش کانال‌های Kv1.6 و Kv1.3 در انسان و سایر گونه‌های پستانداران و یا به‌عنوان داربست برای طراحی و سنتز مولکول‌های پروب اختصاصی‌تر برای این کانال‌ها ایفای نقش نماید (۵۵). برخی کونورفامیدها و خصوصیات توالی و جرمی آن‌ها در جدول (۸) آورده شده است.

جدول ۸) برخی کونورفامیدها و خصوصیات توالی و جرمی آن‌ها (منبع: یونیپروت)

عنوان	یافته		
توالی	GPMGWVPVFY RF	GPMEDPLEII RI	ATSGPMGWLP VFYRF
طول توالی	۱۲	۱۲	۱۵
جرم توالی (Da)	۱۴۵۶	۱۳۸۳	۱۷۲۹
جرم ملکولی (Da) توسط ESI	۱۴۵۴/۸ توسط ESI	۱۴۶۸/۷ توسط ESI	۱۷۲۶/۷۷ توسط MALDI
کونورفامید	Conorfamide-Sr1	Conorfamide-Sr2	Conorfamide- Sr3
منبع	UniProtKB - P58805 (CRFA1_CONSP)		UniProtKB - P0DM28 (CRFA3_CONSP)

[251] Dorsal striatum

در سال ۲۰۱۵، یک آرفامید شبه‌کونوتوکسین، تحت عنوان کونورفامید-Vc1[۲۵۲]، از کونوس ویکتوریا کشف گردید. (۲۴۴). مشابه با کونورفامید-Sr1، تزریق دوزهای پایین کونورفامید- Vc1 به موش، موجب هایپراکتیویته و دوزهای بالاتر (۲۰-۲/۵ نانومول)، موجب ناتوانی کامل موش‌ها در ۲۰ دقیقه گردید. در ارزیابی فعالیت زیستی آن مشخص گردید که کونورفامید-Vc1، موجب نوسان در سطح یون کلسیم در طیف وسیعی از سلول‌های DRG عصبی و غیرعصبی می‌شود (۲۴۴).

هدف فارماکولوژیکی کونورفامیدها، با کشف کونوپرفامید Tx1.1[۲۵۳] توسط ریمرز (Reimers) و همکاران مشخص گردید (۲۴۵). کونوپرفامید Tx1.1، به‌طور اختصاصی از طریق افزایش تحریک‌پذیری نورون‌های حسی، موجب افزایش جریان‌های ASIC3 کانال یونی مخصوص گیرنده درد می‌گردد. کونوپرفامید Tx1.1 با وجود تعلق به خانواده مشابه آرفامید، کانال‌های سدیمی دریچه‌دار FMRFa را فعال نمی‌کند که اختصاصی بودن آن‌را برای کانال‌های ACIC3 تأیید می‌نماید. تمایل ده برابری به ASIC3 به FMRFamide، موجب می‌گرددکه کونوپرفامید Tx1.1، قوی‌ترین ارفامید تعدیل‌کننده ASIC شناخته شده تاکنون باشد. توانایی RPRF-amide در افزایش درد عضلانی ناشی از اسید در موش‌ها از طریق فعال‌سازی زیرگروه‌های ASIC3 نشان می‌دهد که این پپتید می‌تواند ابزاری مفید برای مطالعه بیشتر نقش ASIC3 در درد باشد (۲۴۵). قابل ذکر است که تنها چهار توکسین رتیل PcTx1 مهارکننده ASIC1a (۲۴۶)، توکسین APETx2 شقایق دریایی بازدارنده ASIC3 (۲۴۷)، توکسین MitTx مار مرجانی فعال‌کننده pan-ASIC (۲۴۸) و توکسین مار مامبالژینز[۲۵۴] مهارکننده‌های ASIC1a و b۱ (۲۴۹)، جهت هدف قرار دادن ASIC یافت شده‌اند. این توکسین‌ها در آشکار کردن عملکردهای فیزیولوژیکی و ساختار ASIC نقش مهمی داشته‌اند.

اخیراً، دو کونورفامید As1a- و As2a-، از حلزون مخروطی مکزیکی کونوس اوستینی[۲۵۵] شناسایی شده‌اند (۲۳۳). خصوصیات فارماکولوژیکی این پپتیدها در مطالعه جین (Jin) و همکاران نشان داد که As2a جریان‌های ASIC1a را با EC_{50} حدود ۱۰/۹ میکرومولار تقویت می‌کند؛ در حالی‌که تا ۲۰۰ میکرومولار As1a نیز تأثیر کمی بر جریان پیک دارد. فعالیت بر nAChR، قوی‌ترین هدف شناخته شده کونورفامید تا به امروز است. به نظر می‌رسد که نقش اکولوژیکی بالقوه کونورفامیدها می‌تواند ایجاد افزایش درد یا ناراحتی در هنگام تزریق به شکارچیان با هدف قرار دادن ASICها و یا nAChRهای عضلانی باشد (۲۳۳).

کونوتوکسین های شبه-گرانولین[۲۵۶]

ونومیکس کونوس مایلس، یک کونوتوکسین تحت عنوان "φMiXXVIIA"، متعلق به بالاخانواده بسیار جدید G2 را معرفی نمود (۲۵۰). کونوتوکسین φMiXXVIIA با چهارچوب XXVII، دارای هشت بقایای سیستئین (C–C–C–CCC–C–C) مشتمل بر سه بقایای نادر سیستئینی متوالی (CCC) و چهار پیوند دی‌سولفیدی هستند و یک توپولوژی منحصر به فرد را نشان می دهد که شامل دو β-hairpins شبیه به φ-دامنه N-ترمینال تنظیم کننده تکثیر سلولی گرانولین

[252] Cono-RFamide-Vc1
[253] RPRF-amide Tx1.1
[254] Mambalgins
[255] *Conus austini*
[256] Granulin-Like

A انسانی می‌باشد و یک فعالیت ملایم شبه‌گرانولینی برای این پپتید کشف شده است (۲۵۰).

ساختار φ-MiXXVIIA توسط طیف سنجی NMR تعیین شده است (شکل ۳۸). گرانولین A، یک فاکتور رشد اجدادی است که در ترمیم زخم نقش دارد. همچنین، نشان داده شده است که φ-MiXXVIIA با EC_{50} حدود ۱۷/۸۵ میکرومولار، موجب پرولیفراسیون سلولی هر چند نه چندان قوی در رده سلولی کولانژیوسیت[۲۵۷] کبدی انسان H69 می‌گردد (۲۵۱). با وجود عدم عاملیت قوی تکثیر سلولی، لکن φMiXXVIIA از مرگ سلولی آپوپتوتیک (۲/۲: EC_{50} میکرومولار)، محافظت می‌کند (۲۵۰). کونوتوکسین‌های با فعالیت ضد آپپتوز بسیار نادر هستند. توکسین s-cal14.1a از کونوس کالیفورنیکوس نیز دارای فعالیت آپوپتوز در حد میکرومولار در سلول‌های سرطانی ریه انسانی است.

ساختار	
توالی	MRFFFLLLTV ALFLTSITGD DAERMLGMKE GGYVREDCGS DCMPCGGECC CEPNSCIDGT CHHESSPN
طول توالی	۶۸
جرم توالی (Da)	۷۴۰۲
جرم ملکولی (Da) توسط ESI	
کونوتوکسین شبه-گرانولین	Conotoxin phi-MiXXVIIA
منبع	UniProtKB - A0A0E3SVE7 (CG2RA_CONMI)

شکل ۳۸) ساختار روبانی سه¬بعدی و توالی (منبع: UniProtKB).

Fig 38) Three-dimensional ribbon structure and φ-MiXXVIIA sequence of φ-MiXXVIIA (Source: UniProtKB).

یک پپتید HVc7.2 از بالاخانواده H- از کونوس ویکتوریا با ساختاری شبیه به ناحیه N- ترمینال پروتئین گرانولین انسانی گزارش شده است که علی‌رغم داشتن اتصالات معمولی ICK (CysI -CysIV/CysII-CysV/CysIII-CysVI)، از چهارچوب سیستئین VI/VII، یک فولد شبه گرانولین به‌دست آورده است. دامنه C-ترمینال αD-GeXXA نیز دارای یک فولد گرانولین است (۲۵۲). موارد مذکور، نشان می‌دهد که ساختارهای شبه‌گرانولینی، ممکن است در توکسین‌ها وجود داشته باشند.

شبه نوروپپتیدهای درونزا

با رویکردهای ونومیکس یکپارچه، لایه دیگری از تنوع کونوتوکسین‌ها آشکار شده است. برخی کونوتوکسین‌ها با ویژگی‌های ساختاری جدید فعالیت‌های جدیدی را نشان داده‌اند. در میان این موارد، شبه نوروپپتیدهای درونزا و یا هورمون‌ها هستند که نشانگر منشاء تکاملی آن‌ها است. در مطالعات پیشین، توالی شبه نوروپپتیدهایی چون کونوپرسین‌ها، کونتولاکین‌ها و کونانتوکین‌های یافت شده در ونوم‌های حلزون مخروطی، مشخص شده‌اند (۱۶ و ۲۸). در سال‌های

[257] Cholangiocyte

اخیر، چندین کلاس جدید از مولکول‌های شبه نوروپپتیدی یا هورمونی در حلزون‌های مخروطی با هدف قرار دادن فرایندهای نوروآندوکرینی کشف شده‌اند. کونوپپتیدهای CPY-Fe1 جدا شده از کونوس فروژینوئس و CPY-Pl1، فرم جدا شده از کونوس پلانوربیس، زیرگروه Kv ۱/۶ را با میل ترکیبی بسیار بالاتری نسبت به CNF-Sr3، مسدود می‌کنند (۲۵۳). و خصوصیات توالی و جرمی این کونوپپتیدها در جدول (۹) آورده شده است.

جدول ۹) کونوپپتیدهای CPY-Fe1 و CPY-Pl1، و خصوصیات توالی و جرمی آن‌ها (منبع: یونیپروت)

عنوان	یافته	
توالی	MSKLGVVLFV FLLLLPLAAP QPVGDQPADQ PADRNAEARG TY-LYPFSYYR LWRYFTRFLH KQPYYYVHI	MSKLGVVLFV FLLLLPLAAP QPVGDQPADQ PADRNAEARA RFLHPFQYYT LYRYLTRFLH RYPIY-YIRY
طول توالی	۶۹	۶۹
جرم توالی (Da)	۸۱۸۴	۸۲۳۶
جرم ملکولی (Da) توسط ESI	۴۰۴۰/۱	۴۰۹۲/۱
کونوپپتیدها	Conopeptide Y-Fe1	Conopeptide Y-Pl1
منبع	UniProtKB - B3SVF1(CPY1_CONFR)	UniProtKB - B3SVF0 (CPY1_CONPO)()

ونومیکس یکپارچه[۲۵۸]

آنالیز ترانسکریپتومیکس از مجاری ونوم حلزون‌های مخروطی، منجر به افزایش چشمگیری از توالی رونویسی کونوتوکسین شده است. اصطلاح "ونومیکس یکپارچه"، مطالعه سیستماتیک پروفایل توکسین‌های کل ونوم و مجاری ونوم را با ادغام ترانسکریپتومیکس، پروتئومیکس و بیوانفورماتیکس، تشریح می‌نماید (۲۵۴ و ۲۵۵). این رویکرد، یک روش بسیار قدرتمند است زیرا توالی نسل بعدی می‌تواند پیش‌سازها و همچنین انواع نادر را تشخیص دهد که از طریق پروتئومیکس کلاسیک تنها امکانپذیر نمی‌باشد (۲۵۶). این روش، همراه با طیف‌سنجی جرمی با حساسیت بالا، سطح جدیدی از تنوع کونوتوکسین را نشان داده است (۱۵۶ و ۲۵۷).

ترانسکریپتومیکس

ظهور فناوری‌های توالی‌یابی با توان بالا، نظیر سیستم عامل‌های ۴۵۴ جی‌اس اف‌الایکس تیتانیوم (رش)[۲۵۹]، سولکسا GAII (ایلومینا)[۲۶۰]، آپی‌جی سالید ۳ (لایف)[۲۶۱]، سولکسا جی‌اس اف‌الایکس تیتانیوم (روش)[۲۶۲]، یا هلیسکوپ (هلیکوس بیوساینسیس)[۲۶۳]، موجب تحول در مطالعات ترانسکریپتومیکس گردید. تا سال ۲۰۱۷، رونویسی از مجاری زهر ۳۰ گونه (۵ شکارگر ماهی، ۴ شکارگر نرم‌تن و ۲۰ شکارگر کرم) و نیز کونوس کالیفورنیایکوس توالی‌بندی شده و یک مجموعه داده (۳۰ قطعه ۷۵۰ تایی WoRMS در whole jigsaw: http://www.marinespecies.org/)، از کل حلزون‌های مخروطی جهان را تشکیل داده‌اند.

بین سال‌های ۲۰۰۸ تا ۲۰۱۳، پلتفرم پیروسکوئنسینگ Roche 454، به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار

[258] Integrated venomcs
[259] 454 GS FLX Titanium(Roche)
[260] Solexa GAII (Illumina)
[261] APG SOLiD 3 (Life)
[262] Solexa GS FLX Titanium(Roche)
[263] HeliScope (Helicos Biosciences)

گرفت و درک دانشمندان را در مورد تنوع ونوم، فرایندهای پس ترجمه‌ای و مکانیسم‌های کونوتوکسین، افزایش داد (۲۵۸). به‌طورکلی، پلتفورم ۴۵۴، در یک اجرا تا ۷۵۰٫۰۰۰ برچسب توالی بیان شده (EST) را در مقایسه با تنها حدود ۸۹۷ EST تولید شده توسط توالی سنگر، ایجاد نموده است (۲۵۹). ترانسکریپتوم مجاری زهر بسیاری از گونه‌های حلزون مخروطی، از کونوس ژئوگرافوس کشنده (۵۱ و ۲۶۰)، تا کونوس گلوریاماریس زیبا (۲۶۱)، کونوس تولیپای ماهی‌خوار (۲۵۶)، کونوس مرمرئوس نرم‌تن‌خوار (۹۱)، کونوس ایمپریالیس کرم‌خوار (۲۶۲) تا کونوس کالیفرنیکوس رفتگر (۲۵۸) مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. به‌طور متوسط، بیش از ۱۰۰ توالی کونوتوکسین در سطح توالی ژنی و بیش از ۱۰۰۰ کونوتوکسین در سطح پپتیدی، برای هر گونه مشخص شده‌است (۱۶، ۲۰، ۱۵۶ و ۲۵۷).

پروتئومیکس

پروتئومیکس در کشف توانایی تغییر شکل بین ترکیبات مختلف ونوم حلزون‌های مخروطی در حمله و دفاع، نقش اصلی را بازی نمود (۲۵۴). در مطالعه دوترتر و همکاران، ونوم القاء شده از شکار دو نمونه کونوس ایمپریالیس، ارتباط بسیار زیادی بین رونویسی و ترجمه کوتوکسین‌های بیان شده را نشان داد (۵۱).

اخیرا، در کنار ابزارهای موجود، متدولوژی‌های مختلفی برای بهبود صحت تعیین توالی و طبقه‌بندی اتوماتیک درون بالاخانواده‌ها توسعه یافته‌اند (۵۸ و ۲۶۳).

فناوری‌های پر توان مورد استفاده در ونومیکس به ویژه ترانسکریپتومیکس (۲۶۴)، مجموعه داده‌های بزرگی را ایجاد می‌نمایند که برای بررسی کامل پتانسیل آن‌ها به یک پشتیبانی بیوانفورماتیکی نیاز است (۲۶۵).

برای بهبود دقت شناسایی توالی و طبقه‌بندی خودکار و طبقه‌بندی بالا خانواده‌های کوتوتوکسین در کنار ابزارهای موجود کونوسرور (۷۵)، کونوسورتر[۲۶۴] (۲۶۶)، کونودیکتور[۲۶۵] (۲۶۷)، از متدولوژی‌های دیگر با استفاده از رویکردهای in silico، و نمایش‌های ریاضی یک پپتید استفاده می‌گردد (۲۶۸). از بین روش‌های آزمایش شده (بلاست[۲۶۶]، پیش‌بین ایزورت[۲۶۷]، حداقل الگوریتم فاصله عملگر [۲۶۸]، حداقل الگوریتم فاصله اقلیدسی[۲۶۹] و ماشین‌های بردار پشتیبان چند گروهی (SVM)[۲۷۰])، با یک صحت عملکرد کلی ۸۸ درصدی، پیش‌بینی‌های صحیحی از دسته آزمون‌هایی چون بالاخانواده‌های A، M و O را داشتند. همچنین، یک رویکرد مبتنی بر ویژگی (PredCSF) (۲۶۹)، پیش‌بینی با استفاده از کاهش ابعاد نقشه نفوذ و یک طبقه‌بندی زیر فضا (dHKNN) (۲۷۰)، توزیع دوجمله‌ای و روش شبکه عملکرد شعاعی (۲۷۱)، و پیش‌بین مبتنی بر توالی (نوع- iCTX)، به ترتیب دقت‌های ۹۱، ۹۲، ۸۶ و ۹۱ درصد پیش‌بینی دقیق را ارائه می‌دهند (۲۳۹).

به‌طور کلی، به‌نظر می رسد که در رویه‌های *in silico* می‌توان با موفقیت با تدوین‌های دستی و تفسیری رقابت کرد، اگرچه ریاضیات پیچیده‌ای که در آن‌ها وجود دارد احتمالاً از استفاده گسترده آن‌ها جلوگیری می‌کند. اخیراً، برخی از آن‌ها در وب سرورهای کاربرپسند در دسترس قرار گرفته‌اند (۲۳۹). ابزارهای یادگیری ماشین[۲۷۱] نیز جهت طبقه‌بندی کونوتوکسین‌ها به بالاخانواده‌های خود، بکار رفته‌اند (۵۸). کونوس

[264] ConoSorter
[265] ConoDictor
[266] Blast
[267] ISort predictor

[268] least Hamming distance algorithm
[269] least Euclidean distance algorithm
[270] multiclass support vector machines
[271] Machine learning

پایپ[۲۷۲]، ابزاری جدید که سه مدل یادگیری ماشینی رگرسیون لجستیک، یادگیری نیمه نظارت شده و شبکه عصبی مصنوعی را یکپارچه کرده و توالی کونوتوکسین از ترانسکریپتوم‌های غدد زهری ۱۰ گونه مختلف کونوس را با دقت کلی ۹۸-۹۶ درصد، بازیابی نموده است (۲۷۲).

اخیراً، رزونانس مغناطیسی هسته‌ای (NMR)، برای شناسایی برچسب‌های[۲۷۳] توالی کوتاه، مورد استفاده قرار گرفته است که می‌تواند برای بازیابی سریع توالی پپتیدهای تمام قد، از پایگاه داده ترانسکریپتوم استفاده شود. در این روش که صرفه‌جویی در نمونه است، نیازی به دستکاری قبلی نمونه همچون هضم پروتئازی و نظایر آن نمی‌باشد (۲۶۳).

نتیجه‌گیری

ونوم‌های مخروطی‌ها، به‌طور انحصاری در یک مجرای لوله‌ای طویل، در غده زهری تولید می‌شوند و یک کوکتلی از پپتیدهای کوتاه متعدد کونوتوکسین تشکیل می‌دهند که کانال یا گیرنده‌های عصبی عضلانی طعمه و یا هورمون‌ها را مهار و موجب تداخل در سیگنال‌های انتقالی طعمه می‌گردند. حلزون‌های مخروطی، توانایی شگفت‌انگیزی برای جابجایی سریع بین دو نوع مختلف از ترکیبات ونوم در پاسخ به محرک‌های شکاری یا دفاعی دارا می‌باشند. برآورد می‌شود که در ونوم‌های حلزون مخروطی زنده، بیش از ۵۰۰۰۰ پپتید مختلف وجود داشته باشد. انواع مختلفی از حلزون‌های مخروطی وجود دارند و هر نوع حلزون مخروطی دارای توکسین‌های مختلفی می‌باشد تعداد به روز شده از همه چهارچوب‌های پپتیدی کونوس، در وب سایت کونوسرور نگهداری می‌شود. کونوتوکسین‌ها و کونوپپتیدهای مختلفی چون α-کونوتوکسین‌ها، σ-کونوتوکسین‌ها، ω-کونوتوکسین‌ها، μ-کونوتوکسین‌ها، ψ-کونوتوکسین‌ها، τ-کونوتوکسین‌ها، δ-کونوتوکسین‌ها و κ-کونوتوکسین‌ها، کونکونیتزین‌ها، کونانتوکین‌ها، کونتریفان‌ها، کونوتوکسین‌های Ac1، کونوانسولین‌ها، کونوتوکسین‌های شبه- گرانولین از کونوئیدها؛ اوگرپپتیدها از ونوم‌پپتیدهای خانواده تربریده؛ توریپپتیدها از ونوم‌پپتیدهای خانواده توریده؛ کراسیپپتیدها، ونوم‌پپتیدهای حلزون‌های کراسیسپیریده؛ کلاتورلیپپتیدها از ریز کونوئیده‌های زهرآگین و ترکیبات دیگری چون پپتیدهای آرفامید و شبه‌نوروپپتیدهای درون‌زا در زهر مخروطی‌ها دیده شده است که عمکردهای زیستی شگفت‌انگیزی را نشان داده‌اند. از آنجا که چندین کونوپپتید در کارآزمایی‌های بالینی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند و همچنین با توجه به مورد تأیید قرارگرفتن ω-کونوتوکسین MVIIA، به‌عنوان یک داروی ضددرد زیکونیتاید (Prialt®)، نیاز به تولید بیشتر کونوپپتیدها، افزایش یافته است. این پتانسیل زیست پزشکی کونوپپتیدها است که تحقیقات فعلی در زمینه خصوصیات آن‌ها را به خود معطوف داشته است و با این روند محتمل است که کونوپپتیدهای بیشتری با خواص فارماکولوژیکی شگفت‌انگیز، کشف شوند. با توجه به ماهیت بسیار قوی و انتخابی کونوتوکسین‌ها، در طیف وسیعی از گیرنده‌ها، می‌توانند به عنوان عوامل درمانی نوظهوری پدیدار شوند.-پیشرفت‌های عمده‌ای با استفاده از رویکردهای ونومیکس یکپارچه صورت گرفته است که سرعت کشف توالی‌های کونوتوکسین بیان شده را به طرز چشمگیری افزایش داده است. امید است که با درک بهتر و شناسایی کونوتوکسین‌ها و سایر

[272] ConusPipe

[273] Tags

توکسین‌های به‌دست آمده از حلزون‌ها و سایر شکم‌پایان در درمان بیماری‌هایی که بشر در برابر آن‌ها تسلیم شده است، مورد استفاده قرار گیرند.

این مقاله تحت حمایت مالی هیچ سازمان یا مؤسسه‌ای نمی‌باشد.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Olivera BM, Watkins M, Bandyopadhyay P, et al. Adaptive Radiation Of Venomous Marine Snail Lineages And The Accelerated Evolution Of Venom Peptide Genes. Ann N Y Acad Sci 2012; 1267: 61-70.
2.Tu AT, editor. Handbook Of Natural Toxins. Vol 3. Marine Toxins And Venoms. New York: Marcel Dekker Inc, 1988.
3.Pimm SL, Jenkins CN, Abell R, et al. The Biodiversity Of Species And Their Rates Of Extinction, Distribution, And Protection. Science 2014; 344(6187): 1246752.
4.Bouchet P, Lozouet P, Maestrati P, et al. Assessing The Magnitude Of Species Richness In Tropical Marine Environments: High Num Bers Of Molluscs At A New Caledonia Site. Biol J Lin Soc 2002; 75(4): 421-36.
5.Bouchet P, Kantor YI, Sysoev A, et al. A New Operational Classification Of The Conoidea (Gastropoda). J Molluscan Stud 2011; 77(3): 273-308.
6.Cone snails. Queensland Museum. (Accessed January 12, 2021, at https://www.qm.qld.gov.au/Find+out+about/Animals+of+Queensland/Molluscs/Venomous+marine+snails/Cone+snails).
7.Olivera BM, Rivier J, Clark C, et al. Diversity Of Conus Neuropeptides. Science 1990; 249(4966): 257-63.
8.Grandal M, Hoggard M, Neely B, et al. Proteogenomic Assessment Of Intraspecific Venom Variability: Molecular Adaptations In The Venom Arsenal Of Conus Purpurascens. Mol Cell Proteomics 2021; 20: 100100.
9.Tucker JK, Tenorio MJ. Illustrated Catalog Of The Living Cone Shells. Wellington FL, USA: MDM Publishing, 2013, 517.
10.Terlau H, Olivera BM. Conus Venoms: A Rich Source Of Novel Ion Channel-Targeted Peptides. Physiol Rev 2004; 84(1): 41-68.
11.Olivera BM. Conus Venom Peptides: Reflections From The Biology Of Clades And Species. Ann Rev Ecol Syst 2002; 33: 25-47.
12.Olivera BM, Teichert RW. Diversity Of The Neurotoxic Conus Peptides: A Model For Concerted Pharmacological Discovery. Mol Interv 2007; 7(5): 251-60.
13.Fish–eating species. (Accessed February 10, 2021, at https://www.qm.qld.gov.au/Explore/Find+out+about/Animals+of+Queensland/Molluscs/Venomous+marine+snails/~/link.aspx?_id=02E6FB8580544832BF61E5CF3D038532&_z=z).
14.Queensland Mollusc, 2021. Mollusc-eating species. (Accessed February 10, 2021, at https://www.qm.qld.gov.au/Find+out+about/Animals+of+Queensland/Molluscs/Venomous+marine+snails/Cone+snails/Mollusc-eating+species).
15.Queensland Worm, 2021. Worm-eating species. (Accessed March 20, 2021, at https://www.qm.qld.gov.au/Find+out+about/Animals+of+Queensland/Molluscs/Venomous+marine+snails/Cone+snails/Worm-eating+species)
16.Akondi KB, Muttenthaler M, Dutertre S, et al. Discovery, Synthesis, And Structure Activity Relationships Of Conotoxins. Chem Rev 2014; 114(11): 5815-47.
17.Hu H, Bandyopadhyay PK, Olivera BM, et al. Characterization Of The *Conus Bullatus* Genome And Its Venom-Duct Transcriptome. BMC Genomics 2011; 12: 60.
18.Biass D, Dutertre S, Gerbault A, et al. Comparative Proteomic Study Of The Venom Of The Piscivorous Cone Snail *Conus Consors*. J Proteomics 2009; 72(2): 210-8.
19.Calderon-Celis F, Cid-Barrio L, Encinar JR, et al. Absolute Venomics: Absolute Quantification Of Intact Venom Proteins Through Elemental Mass Spectrometry. J Proteomics 2017; 164: 33-42.

20.Pennington MW, Czerwinski A, Norton RS. Peptide Therapeutics From Venom: Current Status And Potential. Bioorg Med Chem 2018; 26(10): 2738-58.
21.Robinson SD, Li Q, Bandyopadhyay PK, et al. Hormone-Like Peptides In The Venoms Of Marine Cone Snails. Gen Comp Endocrinol 2017; 244: 11-18.
22.Dutertre S, Jin AH, Alewood PF, et al. Intraspecific Variations In The Defence-Evoked Venom Of *Conus geographus* And Estimation Of The Human Lethal Dose. Toxicon 2014; 91: 135-44.
23.Shaw HON. On The Anatomy Of *Conus tulipa* And *Conus textile*, Linn. Q J Microsc Sci 1914; 60: 1-60.
24.Hermitte LCD. Venomous Marine Molluscs Of The Genus Conus. Trans R Soc Trop Med Hyg 1946; 39: 485-512.
25.Endean R, Duchemin C. The Venom Apparatus Of *Conus magus*. Toxicon 1967; 4(4): 275-84.
26.Whysner JA, Saunders PR. Studies On The Venom Of The Marine Snail *Conus californicus*. Toxicon 1963; 1(3): 113-22.
27.Safavi-Hemami H, Young ND, Williamson NA, et al. Proteomic Interrogation Of Venom Delivery In Marine Cone Snails: Novel Insights Into The Role Of The Venom Bulb. J Proteome Res 2010; 9(11): 5610-9.
28.Lewis RJ, Dutertre S, Vetter I, et al. Conus Venom Peptide Pharmacology. Pharmacol Rev 2012; 64(2): 259-98.
29.Whyte JM, Endean R. Pharmacological Investigation Of The Venoms Of The Marine Snails *Conus Textile* And *Conus geographus*. Toxicon 1962; 1(1): 25-31.
30.Marshall J, Kelley WP, Rubakhin SS, et al. Anatomical Correlates Of Venom Production In *Conus californicus*. Biol Bull 2002; 203(1): 27-41.
31.Marsh H. The Radular Apparatus Of Conus. J Molluscan Stud 1977; 43(1): 1-11.
32.Dutertre S, Lewis RJ. Cone Snail Biology, Bioprospecting And Conservation. In: Gotsiridze-Columbus NS, editors. Snails: Biology, Ecology And Conservation. New York: Nova Science Publisher, 2011, 85-105.
33.Tucker JK, Tenorio MJ. Systematic Classification Of Recent And Fossil Conoidean Gastropods. Hackenheim: ConchBooks, 2009.
34.Kohn AJ, Nishi M, Pernet B. Snail Spears And Scimitars: A Character Analysis Of Conus Radular Teeth. J Molluscan Stud 1999; 65(4): 461-81.
35.Nishi M, Kohn AJ. Radular Teeth Of Indo-Pacific Molluscivorous Species Of Conus: A Comparative Analysis. J Molluscan Stud 1999; 65(4): 483-97.
36.Marsh H. The Foregut Glands Of Vermivorous Cone Shells. Aust J Zool 1971; 19(4): 313-26.
37.Biggs JS, Olivera BM, Kantor YI. Alpha-Conopeptides Specifically Expressed In The Salivary Gland Of *Conus pulicarius*. Toxicon 2008; 52(1): 101-5.
38.Schultz MC. A Correlated Light And Electron Microscopic Study Of The Structure And Secretoryactivity Of The Accessory Salivary Glands Of The Marine Gastropods, *Conus flavidus* And *C. vexillum* (Neogastropoda, Conacea). J Morphol 1983; 176(1): 89-111.
39.Miller JA. The Toxoglossan Proboscis Structure And Function. J Molluscan Stud 1989; 55(2): 167-81.
40.Green BR, Bulaj G, Norton RS. Structure And Function Of M-Conotoxins, Peptide-Based Sodium Channel Blockers With Analgesic Activity. Future Med Chem 2014; 6(15): 1677-98.
41.James D, Prator CA, Martin GG, et al. Morphology Of Sensory Papillae On The Feeding Proboscis Of Cone Snails (Mollusca, Gastropoda). Invertebr Biol 2014; 133(3): 221-31.
42.Schulz JR, Norton AG, Gilly WF. The Projectile Tooth Of A Fish-Hunting Cone Snail: *Conus Catus* Injects Venom Into Fish Prey Using A High-Speed Ballistic Mechanism. Biol Bull 2004; 207(2): 77-9.
43.Salisbury SM, Martin GG, Kier WM, et al. Venom Kinematics During Prey Capture In Conus: The Biomechanics Of A Rapid Injection System. J Exp Biol 2010; 213(5): 673-82.
44.Terlau H, Shon KJ, Grilley M, et al. Strategy For Rapid Immobilization Of Prey By A Fish-Hunting Marine Snail. Nature 1996; 381(6578): 148-51.
45.Han TS, Teichert RW, Olivera BM, et al. Conus Venoms-A Rich Source Of Peptide-Based Therapeutics. Curr Pharm Des 2008; 14(24): 2462-79.

58.Mansbach RA, Travers T, McMahon BH, et al. Snails In Silico: A Review Of Computational Studies On The Conopeptides. Mar Drugs 2019; 17(3): 145.
59.Buczek O, Bulaj G, Olivera BM. Conotoxins And The Posttransla Tional Modification Of Secreted Gene Products. Cell Mol Life Sci 2005; 62(24): 3067-79.
60.Stanley TB, Stafford DW, Olivera BM, et al. Identification Of A Vitamin K-Dependent Carboxylase In The Venom Duct Of A Conus Snail. FEBS Lett 1997; 407(1): 85-8.
61.Craig AG, Norberg T, Griffin D, et al. Contulakin-G, An O-Glycosylated Invertebrate Neurotensin. J Biol Chem 1999; 274(20): 13752-9.
62.Grant MA, Morelli XJ, Rigby AC. Conotoxins And Structural Biology: A Prospective Paradigm For Drug Discovery. Curr Protein Pept Sci 2004; 5(4): 235-48.
63.Daly NL, Craik DJ. Structural Studies Of Conotoxins. IUBMB Life 2009; 61(2): 144-50.
64.Kaas Q, Westermann JC, Halai R, et al. Conoserver, A Database For Conopeptide Sequences And Structures. Bioinformatics 2008; 24(3): 445-6.
65.Olivera BM. Conus Peptides: Biodiversity-Based Discovery And Exogenomics. J Biol Chem 2006; 281(42): 31173-7.
66.Becker S, Terlau H. Toxins From Cone Snails: Properties, Applications And Biotechnological Production. Appl Microbiol Biotechnol 2008; 79(1): 1-9.
67.Sharpe IA, Gehrmann J, Loughnan ML, et al. Two New Classes Of Conopeptides Inhibit The A1-Adrenoceptor And Noradrenaline Transporter. Nature Neurosci 2001; 4(9): 902-7.
68.Hillyard DR, Monje VD, Mintz IM, et al. A New Conus Peptide Ligand For Mammalian Presynaptic Ca^{2+} Channels. Neuron 1992; 9(1): 69-77.
69.Kim HW, McIntosh JM. Alpha6 nAChR Subunit Residues That Confer Alpha-Conotoxin BuIA Selectivity. FASEB J 2012; 26(10): 4102-10.
70.Stewart MJ, Harding BI, Adamson KJ, et al. Characterisation Of Two Conopressin Precursor Isoforms In The Land Snail, *Theba pisana*. Peptides 2016; 80: 32-9.
71.Reyes-Guzman EA, Vega-Castro N, Reyes-Montano EA, et al. Antagonistic Action On NMDA/GluN2B Mediated Currents Of Two

46.Liu L, Chew G, Hawrot E, et al. Two Potent Alpha3/5 Conotoxins From Piscivorous *Conus achatinus*. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai) 2007; 39(6): 438-44.
47.Gowd KH, Dewan KK, Iengar P, et al. Probing Peptide Libraries From *Conus achatinus* Using Mass Spectrometry And Cdna Sequencing: Identification Of Delta And Omega-Conotoxins. J Mass Spectrom 2008; 43(6): 791-805.
48.Olivera BM, Gray WR, Zeikus R, et al. Peptide Neurotoxins From Fish-Hunting Cone Snails. Science 1985; 230(4732): 1338-43.
49.Abalde S, Tenorio MJ, Afonso CML, et al. Conotoxin Diversity In *Chelyconus ermineus* (Born, 1778) And The Convergent Origin Of Piscivory In The Atlantic And Indo-Pacific Cones. Genome Biol Evol 2018; 10(10): 2643-62.
50.Dutertre S, Biass D, Stöcklin R, et al. Dramatic Intraspecimen Variations Within The Injected Venom Of *Conus consors*: An Unsuspected Contribution To Venom Diversity. Toxicon 2010; 55(8): 1453-62.
51.Dutertr S, Jin AH, Vetter I, et al. Evolution Of Separate Predation- And Defence-Evoked Venoms In Carnivorous Cone Snails. Nat Commun 2014; 5: 3521.
52.Phuong MA, Mahardika GN. Targeted Sequencing Of Venom Genes From Cone Snail Genomes Improves Understanding Of Conotoxin Molecular Evolution. Mol Biol Evol 2018; 35(5): 1210-24.
53.Pardos-Blas JR, Irisarri I, Abalde S, et al. Conotoxin Diversity In The Venom Gland Transcriptome Of The Magician's Cone, *Pionoconus magus*. Mar Drugs 2019; 17(10): 553.
54.Puillandre N, Duda TF, Meyer C, et al. One, Four Or 100 Genera? A New Classification Of The Cone Snails. J Molluscan Stud 2015; 81(1): 1-23.
55.López-Vera E, Martínez-Hernández L, Aguilar MB, et al. Studies Of Conorfamide-Sr3 On Human Voltage-Gated Kv1 Potassium Channel Subtypes. Mar Drugs 2020; 18(8): 425.
56.Lebbe EK, Tytgat J. In The Picture: Disulfide-Poor Conopeptides, A Class Of Pharmacologically Interesting Compounds. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis 2016; 22: 30.
57.Qiuyun D. Progress In Toxicology And Pharmacology Of Conotoxins. Chin J Pharmacol Toxicol 2016; 12(30): 1397-410.

Peptides That Were Conantokin-G Structure-Based Designed. BMC Neurosci 2017; 18: 44.
72.McIntosh JM, Jones RM. Cone Venom - From Accidental Stings To Deliberate Injection. Toxicon 2001; 39(10): 1447-51.
73.McIntosh JM, Santos AD, Olivera BM. Conus Peptides Targeted To Specific Nicotinic Acetylcholine Receptor Subtypes. Annu Rev Biochem 1999; 68: 59-88.
74.Röckel D, Korn W, Kohn AJ. Manual of the living Conidae. WiesBaden, Germany: Verlag Christa Hemmen, 1995.
75.Kaas Q, Yu R, Jin AH, et al. Conoserver: Updated Content, Knowledge, And Discovery Tools In The Conopeptide Database. Nucleic Acids Res 2012; 40(D1): D325-30.
76.Doyle DA, Cabral JM, Pfuetzner RA, et al. The Structure Of The Potassium Channel: Molecular Basis Of K^+ Conduction And Selectivity. Science 1998; 280(5360): 69-77.
77.Lange A, Giller K, Hornig S, et al. Toxin-Induced Conformational Changes In A Potassium Channel Revealed By Solid-State NMR. Nature 2006; 440(7086): 959-62.
78.King GF, Gentz MC, Escoubas P, et al. A Rational Nomenclature For Naming Peptide Toxins From Spiders And Other Venomous Animals. Toxicon 2008; 52(2): 264-76.
79.Jiang H, Wang CZ, Xu CQ, et al. A Novel M-Superfamily Conotoxin With A Unique Motif From *Conus vexillum*. Peptides 2006; 27(4): 682-9.
80.Zhou M, Wang L, Wu Y, et al. Characterizing The Evolution And Functions Of The M-Superfamily Conotoxins. Toxicon 2013; 76: 150-9.
81.Tosti E, Boni R, Gallo A. μ-Conotoxins Modulating Sodium Currents In Pain Perception And Transmission: A Therapeutic Potential. Mar Drugs 2017; 15(10): 295.
82.Corpuz GP, Jacobsen RB, Jimenez EC, et al. Definition Of The M-Conotoxin Superfamily: Characterization Of Novel Peptides From Molluscivorous Conus Venoms. Biochemistry 2005; 44(22): 8176-86.
83.Du WH, Han YH, Huang FJ, et al. Solution Structure Of An M-1 Conotoxin With A Novel Disulfide Linkage. FEBS J 2007; 274(10): 2596-602.
84.Franco A, Dovell S, Möller C, et al. Structural Plasticity Of Mini-M Conotoxins - Expression Of All Mini- M Subtypes By Conus Regius. FEBS J 2018; 285(5): 887-902.
85.Remigio EA, Duda Jr TF. Evolution Of Ecological Specialization And Venom Of A Predatory Marine Gastropod. Mol Ecol 2008; 17(4): 1156-62.
86.Hansson K, Furie B, Furie BC, et al. Isolation And Characterization Of Three Novel Gla-Containing Conus Marmoreus Venom Peptides, One With A Novel Cysteine Pattern. Biochem Biophys Res Commun 2004; 319(4): 1081-7.
87.Sousa SR, McArthur JR, Brust A, et al. Novel Analgesic Ω-Conotoxins From The Vermivorous Cone Snail *Conus moncuri* Provide New Insights Into The Evolution Of Conopeptides. Sci Rep 2018; 8: 13397.
88.Englan LJ, Imperial J, Jacobsen R, et al. Inactivation Of A Serotonin-Gated Ion Channel By A Polypeptide Toxin From Marine Snails. Science 1998; 281(5376): 575-8.
89.Teichert RW, Jimenez EC, Olivera BM. αS-conotoxin RVIIIA: A Structurally Unique Conotoxin That Broadly Targets Nicotinic Acetylcholine Receptors. Biochemistry 2005; 44(21): 7897-902.
90.Lirazan MB, Hooper D, Corpuz GP, et al. The Spasmodic Peptide Defines A New Conotoxin Superfamily. Biochemistry 2000; 39(7): 1583-8.
91.Dutertre S, Jin AH, Kaas Q, et al. Deep Venomics Reveals The Mechanism For Expande Peptide Diversity In Cone Snail Venom. Mol Cell Proteomics 2013; 12(2): 312-29.
92.Jin AH, Dutertre S, Kaas Q, et al. Transcriptomic Messiness In The Venom Duct Of *Conus miles* Contributes To Conotoxin Diversity. Mol Cell Proteomics 2013; 12(12): 3824-33.
93.Jimenez EC, Shetty RP, Lirazan M, et al. Novel Excitatory Conus Peptides Define A New Conotoxin Superfamily. J Neurochem 2003; 85(3): 610-21.
94.Figueroa-Montiel A, Bernaldez J, Jimenez S, et al. Antimycobacterial Activity: A New Pharmacological Target For Conotoxins Found In The First Reported Conotoxin From *Conasprella ximenes*. Toxins 2018; 10(2): 51.
95.Moller C, Rahmankhah S, Lauer-Fields J, et al. A Novel Conotoxin Framework With A

Helix-Loop-Helix (Cs α/α) Fold. Biochemistry 2005; 44(49): 15986-96.
96.Oroz-Parra I, Navarro M, Cervantes-Luevano KE, et al. Apoptosis Activation In Human Lung Cancer Cell Lines By A Novel Synthetic Peptide Derived From *Conus californicus* Venom. Toxins 2016; 8(2): 38.
97.Peng C, Liu L, Shao X, et al. Identification Of A Novel Class Of Conotoxins Defined As V-Conotoxins With A Unique Cysteine Pattern And Signal Peptide Sequence. Peptides 2008; 29(6): 985-91.
98.Ye M, Hong J, Zhou M, et al. A Novel Conotoxin, Qc16a, With A Unique Cysteine Framework And Folding. Peptides 2011; 32(6): 1159-65.
99.Yuan DD, Liu L, Shao XX, et al. Isolation And Cloning Of A Conotoxin With A Novel Cysteine Pattern From *Conus caracteristicus*. Peptides 2008; 29(9): 1521-5.
100.Chen JS, Fan CX, Hu KP, et al. Studies On Conotoxins Of *Conus betulinus*. J Nat Toxins 1999; 8(3): 341-9.
101.Chen P, Garrett JE, Watkins M, et al. Purification And Characterization Of A Novel Excitatory Peptide From Conus Distans Venom That Defines A Novel Gene Superfamily Of Conotoxins. Toxicon 2008; 52(1): 139-45.
102.Prashanth JR, Dutertre S, Jin AH, et al. The Role Of Defensive Ecological Interactions In The Evolution Of Conotoxins. Mol Ecol 2016; 25(2): 598-615.
103.Xu S, Zhang T, Kompella SN, et al. Conotoxin αDGeXXA Utilizes A Novel Strategy To Antagonize Nicotinic Acetylcholine Receptors. Sci Rep 2015; 5: 14261.
104.Moller C, Mari F. 9.3 KDa Components Of The Injected Venom Of *Conus Purpurascens* Define A New Five-Disulfide Conotoxin Framework. Biopolymers 2011; 96(2): 158-65.
105.Robinson SD, Safavi-Hemami H, McIntosh LD, et al. Diversity Of Conotoxin Gene Superfamilies In The Venomous Snail, *Conus victoriae*. PLoS One 2014; 9(2): e87648.
106.Elliger CA, Richmond TA, Lebaric ZN, et al. Diversity Of Conotoxin Types From *Conus californicus* Reflects A Diversity Of Prey Types And A Novel Evolutionary History. Toxicon 2011; 57(2): 311-22.
107.Biggs JS, Watkins M, Puillandre N, et al. Evolution Of Conus Peptide Toxins: Analysis Of *Conus californicus* Reeve, 1844. Mol Phylogenet Evol 2010; 56(1): 1-12.
108.Ye M, Khoo KK, Xu S, et al. Ahelical Conotoxin From *Conus imperialis* Has A Novel Cysteine Framework And Defines A New Superfamily. J Biol Chem 2012; 287(18): 14973-83.
109.Luo S, Christensen S, Zhangsun D, et al. A Novel Inhibitor ofα9α10 Nicotinic Acetylcholine Receptors From *Conus vexillum* Delineates A New Conotoxin Superfamily. PLoS One 2013; 8(1): e54648.
110.Aguilar MB, Zugasti-Cruz A, Falcon A, et al. A Novel Arrangement Of Cys Residues In A Paralytic Peptide Of *Conus cancellatus* (Jr. Syn.: *Conus austini*), A Worm-Hunting Snail From The Gulf Of Mexico. Peptides 2013; 41: 38-44.
111.Bernaldez J, Roman-Gonzalez SA, Martinez O, et al. A Conus Regularis Conotoxin With A Novel Eightcysteine Framework Inhibits Cav2.2 Channels And Displays An Antinociceptive Activity. Mar Drugs 2013; 11(4): 1188-202.
112.Santos AD, McIntosh JM, Hillyard DR, et al. The A-Superfamily Of Conotoxins: Structural And Functional Divergence. J Biol Chem 2004; 279(17): 17596-606.
113.Wen J, Adams DJ, Hung A. Interactions Of The α3β2 Nicotinic Acetylcholine Receptor Interfaces with α-Conotoxin LsIA and its Carboxylated C-terminus Analogue: Molecular Dynamics Simulations. Mar Drugs 2020; 18(7): 349.
114.Paterson D, Nordberg A. Neuronal Nicotinic Receptors In The Human Brain. Prog Neurobiol 2000; 61(1): 75-111.
115.Marquart LA, Turner MW, Warner LR, et al. Ribbon α-Conotoxin KTM Exhibits Potent Inhibition of Nicotinic Acetylcholine Receptors. Mar Drugs 2019; 17(12): 669.
116.Ellison M, Gao F, Wang HL, et al. α -Conotoxins ImI and ImII Target Distinct Regions Of The Human α7 Nicotinic Acetylcholine Receptor And Distinguish Human Nicotinic Receptor Subtypes. Biochemistry 2004; 43(51): 16019-26.
117.Dineley KT, Pandya AA, Yakel JL. Nicotinic ACh Receptors As Therapeutic Targets In CNS Disorders. Trends Pharmacol Sci 2015; 36(2): 96-108.

118.Singh S, Pillai S, Chellappan S. Nicotinic Acetylcholine Receptor Signaling In Tumor Growth And Metastasis. J Oncol 2011; 2011: 456743.
119.Hurst R, Rollema H, Bertrand D. Nicotinic Acetylcholine Receptors: From Basic Science To Therapeutics. Pharmacol Ther 2013; 137(1): 22-54.
120.Osipov AV, Terpinskaya TI, Yanchanka T, et al. α-Conotoxins Enhance Both The In Vivo Suppression Of Ehrlich Carcinoma Growth And In Vitro Reduction In Cell Viability Elicited By Cyclooxygenase And Lipoxygenase Inhibitors. Mar Drugs 2020; 18(4): 193.
121.Napier IA, Klimis H, Rycroft BK, et al. Intrathecal α-conotoxins Vc1.1, AuIB and MII Acting On Distinct Nicotinic Receptor Subtypes Reverse Signs Of Neuropathic Pain. Neuropharmacology 2012; 62(7): 2202-7.
122.Jin AH, Vetter I, Dutertre S, et al. MrIC, A Novel A-Conotoxin Agonist In The Presence Of PNU At Endogenous α7 Nicotinic Acetylcholine Receptors. Biochemistry 2014; 53(1): 1-3.
123.Giribaldi J, Dutertre S. Alpha-Conotoxins To Explore The Molecular, Physiological And Pathophysiological Functions Of Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors. Neurosci Lett 2018; 679: 24-34.
124.Lebbe EK, Peigneur S, Wijesekara I, et al. Conotoxins Targeting Nicotinic Acetylcholine Receptors: An Overview. Mar Drugs 2014; 12(5): 2970-3004.
125.Craik DJ, Fairlie DP, Liras S, et al. The Future Of Peptide-Based Drugs. Chem Biol Drug Des 2013; 81(1): 136-47.
126.Inserra MC, Kompella SN, Vetter I, et al. Isolation And Characterization Of α-conotoxin LsIA With Potent Activity At Nicotinic Acetylcholine Receptors. Biochem Pharmacol 2013; 86(6): 791-9.
127.Millar NS, Gotti C. Diversity Of Vertebrate Nicotinic Acetylcholine Receptors. Neuropharmacology 2009; 56(1): 237-46.
128.Dutertre S, Nicke A, Lewis RJ. Beta2 Subunit Contribution To 4/7 α -conotoxin Binding To The Nicotinic Acetylcholine Receptor. J Biol Chem 2005; 280(34): 30460-8.
129.Abraham N, Healy M, Ragnarsson L, et al. Structural Mechanisms For α-Conotoxin Activity At The Human α3β4 Nicotinic Acetylcholine Receptor. Sci Rep 2017; 7: 45466.
130.Turner MW, Marquart LA, Phillips PD, et al. Mutagenesis Of Alpha-Conotoxins For Enhancing Activity And Selectivity For Nicotinic Acetylcholine Receptors. Toxins 2019; 11(2): 113.
131.Daniel JT, Clark RJ. Molecular Engineering Of Conus Peptides As Therapeutic Leads. Adv Exp Med Biol 2017; 1030: 229-54.
132.Friedman JR, Richbart SD, Merritt JC, et al. Acetylcholine Signaling System In Progression Of Lung Cancers. Pharmacol Ther 2019; 194: 222-54.
133.Terpinskaya TI, Osipov AV, Kuznetsova TE, et al. α -conotoxins Revealed Different Roles Of Nicotinic Cholinergic Receptor Subtypes In Oncogenesis Of Ehrlich Tumor And In The Associated Inflammation. Dokl Biochem Biophys 2015; 463(1): 216-9.
134.Clark RJ, Fischer H, Dempster L, et al. Engineering Stable Peptide Toxins By Means Of Backbone Cyclization: Stabilization Of The α-conotoxin MII. Proc Natl Acad Sci USA 2005; 102(39): 13767-72.
135.Cai Y, Yousef A, Grandis JR, et al. NSAID Therapy For PIK3CA-Altered Colorectal, Breast, And Head And Neck Cancer. Adv Biol Regul 2020; 75: 100653.
136.Cartier GE, Yoshikami D, Gray WR, et al. A New Alpha-Conotoxin Which Targets alpha3beta2 Nicotinic Acetylcholine Receptors. J Biol Chem 1996; 271(13): 7522-8.
137.Berry JN, Engle SE, McIntosh JM, et al. α6-Containing Nicotinic Acetylcholine Receptors In Midbrain Dopamine Neurons Are Poised To Govern Dopamine-Mediated Behaviors And Synaptic Plasticity. Neuroscience 2015; 304: 161-75.
138.Sanjakdar SS, Maldoon PP, Marks MJ, et al. Differential Roles Of alpha6beta2* And alpha4beta2* Neuronal Nicotinic Receptors In Nicotine- And Cocaine-Conditioned Reward In Mice. Neuropsychopharmacology 2015; 40(2): 350-60.
139.Mackey EDW, Engle SE, Kim MR, et al. α6* Nicotinic Acetylcholine Receptor Expression And Function In A Visual Salience Circuit. J Neurosci 2012; 32(30): 10226-37.
140.Li X, Wang S, Zhu X, et al. Effects Of Cyclization On Activity And Stability Of α-Conotoxin TxIB. Mar Drugs 2020; 18(4): 180.

141.Zhangsun D, Wu Y, Zhu X, et al. Antagonistic Activity Of α-Conotoxin TxIB Isomers On Rat And Human α6 /α3β2β3 Nicotinic Acetylcholine Receptors. Chin Pharm J 2017; 52: 574-80.
142.You S, Li X, Xiong J, et al. α-Conotoxin TxIB: A Uniquely Selective Ligand For α6/α3β2β3 Nicotinic Acetylcholine Receptor Attenuates Nicotine-Induced Conditioned Place Preference In Mice. Mar Drugs 2019; 17(9): 490.
143.Cuny H, Yu R, Tae HS, et al. α- Conotoxins Active At α3-Containing Nicotinic Acetylcholine Receptors And Their Molecular Determinants For Selective Inhibition. Br J Pharmacol 2018; 175(11): 1855-68.
144.Xu Q, Tae HS, Wang Z, et al. Rational Design Of α-Conotoxin RegIIA Analogues Selectively Inhibiting The Human α3β2 Nicotinic Acetylcholine Receptor Through Computational Scanning. ACS Chem Neurosci 2020; 11(18): 2804-11.
145.Gu HF, Li N, Tang YL, et al. Nicotinate-Curcumin Ameliorates Cognitive Impairment In Diabetic Rats By Rescuing Autophagic Flux In CA1 Hippocampus. CNS Neurosci Ther 2019; 25(4): 430-41.
146.Adams DJ, Berecki G. Mechanisms Of Conotoxin Inhibition Of N-type (Ca(v)2.2) Calcium Channels. Biochim Biophys Acta 2013; 1828(7): 1619-28.
147.Gautam S, Roy S, Ansari MN, et al. DuCLOX-2/5 Inhibition: A Promising Target For Cancer Chemoprevention. Breast Cancer 2017; 24(2): 180-90.
148.Cheneval O, Schroeder CI, Durek T, et al. Fmoc-Based Synthesis Of Disulfide-Rich Cyclic Peptides. J Org Chem 2014; 79(12): 5538-44.
149.Wu X, Huang YH, Kaas Q, et al. Backbone Cyclization Of Analgesic Conotoxin GeXIVA Facilitates Direct Folding Of The Ribbon Isomer. J Biol Chem 2017; 292(41): 17101-12.
150.Van Lierop BJ, Robinson SD, Kompella SN, et al. Dicarba α-conotoxin Vc1.1 Analogues With Differential Selectivity For Nicotinic Acetylcholine And GABAB Receptors. ACS Chem Biol 2013; 8(8): 1815-21.
151.Christensen SB, Hone AJ, Roux I, et al. RgIA4 Potently Blocks Mouse α9α10 nAChRs and Provides Long Lasting Protection against Oxaliplatin-Induced Cold Allodynia. Front Cell Neurosci 2017; 11: 219.
152.Romero HK, Christensen SB, Mannelli LDC, et al. Inhibition of α9α10 Nicotinic Acetylcholine Receptors Prevents Chemotherapyinduced Neuropathic Pain. Proc Natl Acad Sci USA 2017; 114(10): E1825-32.
153.Zouridakis M, Papakyriakou A, Ivanov IA, et al. Crystal Structure Of The Monomeric Extracellular Domain Of α9 Nicotinic Receptor Subunit In Complex With α-conotoxin RgIA: Molecular Dynamics Insights Into RgIA Binding To α9β10 Nicotinic Receptors. Front Pharmacol 2019; 10: 474.
154.Mueller A, Starobova H, Inserra MC, et al. α-Conotoxin MrIC Is A Biased Agonist At α7 Nicotinic Acetylcholine Receptors. Biochem Pharmacol 2015; 94(2): 155-63.
155.Starobova H, Himaya SW, Lewis RJ, et al. Transcriptomics In Pain Research: Insights From New And Old Technologies. Mol Omics 2018; 14(6): 389-404.
156.Himaya SWA, Mari F, Lewis RJ. Accelerated Proteomic Visualization Of Individual Predatory Venoms Of *Conus purpurascens* Reveals Separately Evolved Predation-Evoked Venom Cabals. Sci Rep 2018; 8(1): 330.
157.Pawar VK, Meher JG, Singh Y, et al. Targeting Of Gastrointestinal Tract For Amended Delivery Of Protein/Peptide Therapeutics: Strategies And Industrial Perspectives. J Control Release 2014; 196: 168-83.
158.Ismail R, Csoka I. Novel Strategies In The Oral Delivery Of Antidiabetic Peptide Drugs-Insulin, GLP1 And Its Analogs. Eur J Pharm Biopharm 2017; 115: 257-67.
159.Lovelace ES, Gunasekera S, Alvarmo C, et al. Stabilization Of Alpha-Conotoxin Auib: Influences Of Disulfide Connectivity And Backbone Cyclization. Antioxid Redox Signal 2011; 14(1): 87-95.
160.Halai R, Callaghan B, Daly NL, et al. Effects Of Cyclization On Stability, Structure, And Activity Of Alpha-Conotoxin RgIA At The Alpha9alpha10 Nicotinic Acetylcholine Receptor And GABA(B) Receptor. J Med Chem 2011; 54(19): 6984-92.
161.Grau V, Richter K, Hone AJ, et al. Conopeptides [V11L; V16D] ArIB and RgIA4: Powerful Tools Forthe Identification Of Novel Nicotinic Acetylcholine Receptors In Monocytes. Front Pharmacol 2019; 9: 1499.

162.Clark RJ, Jensen J, Nevin ST, et al. The Engineering Of An Orally Active Conotoxin For The Treatment Of Neuropathic Pain. Angew Chem Int Ed Engl 2010; 49(37): 6545-8.
163.Liu Z, Bartels P, Sadeghi M, et al. A Novel α-conopeptide Eu1.6 Inhibits N-Type (CaV2.2) Calcium Channels And Exhibits Potent Analgesic Activity. Sci Rep 2018; 8: 1004.
164.Van Hout M, Valdes A, Christensen SB, et al. α-Conotoxin VnIB From Conus Ventricosus Is A Potent And Selective Antagonist Of α6β4 Nicotinic Acetylcholine Receptors. Neuropharmacology 2019; 157: 107691.
165.Yang L, Tae HS, Fan Z, et al. A Novel Lid-Covering Peptide Inhibitor Of Nicotinic Acetylcholine Receptors Derived From αD-Conotoxin GeXXA. Mar Drugs 2017; 15(6): 164.
166.Christensen SB, Bandyopadhyay PK, Olivera BM, et al. αS-Conotoxin GVIIIB Potently And Selectively Blocks α9α10 Nicotinic Acetylcholine Receptors. Biochem Pharmacol 2015; 96(4): 349-56.
167.Luo S, Zhangsun D, Harvey PJ, et al. Cloning, Synthesis, And Characterization Of αO-conotoxin GeXIVA, A Potent α9α10 Nicotinic Acetylcholine Receptor Antagonist. Proc Natl Acad Sci USA 2015; 112(30): E4026-35.
168.Marquart LA, Turner MW, McDougal OM. Qualitative Assay To Detect Dopamine Release By Ligand Action On Nicotinic Acetylcholine Receptors. Toxins 2019; 11(12): 682.
169.Yu S, Li Y, Chen J, et al. TAT-Modified Omega-Conotoxin MVIIA For Crossing The Blood-Brain Barrier. Mar Drugs 2019; 17(5): 286.
170.Pope JE, Deer TR. Ziconotide: A Clinical Update And Pharmacologic Review. Expert Opin Pharmacother 2013; 14(7): 957-66.
171.Miljanich GP. Ziconotide: Neuronal Calcium Channel Blocker For Treating Severe Chronic Pain. Curr Med Chem 2004; 11(23): 3029-40.
172.Merrifield RB. Solid Phase Peptide Synthesis. 1. Synthesis Of A Tetrapeptide. J Am Chem Soc 1963; 85(14): 2149-54.
173.Becker S, Atherton E, Gordon RD. Synthesis And Characterization Of Mu-Conotoxin IIIa. Eur J Biochem 1989; 185(1): 79-84.
174.Georgiou G, Valax P. Expression Of Correctly Folded Proteins In *Escherichia coli*. Curr Opin Biotechnol 1996; 7(2): 190-7.
175.Prinz WA, Aslund F, Holmgren A, et al. The Role of The Thioredoxin and Glutaredoxin Pathways In Reducing Protein Disulfide Bonds In The *Escherichia coli* Cytoplasm. J Biol Chem 1997; 272(25): 15661-7.
176.Malakhov MP, Mattern MR, Malakhova OA, et al. SUMO Fusions And SUMO-Specific Protease for Efficient Expression and Purification of Proteins. J Struct Funct Genomics 2004; 5: 75-86.
177.Kapust RB, Waugh DS. *Escherichia coli* Maltose-Binding Protein Is Uncommonly Effective at Promoting the Solubility of Polypeptides to Which It Is Fused. Protein Sci 1999; 8(8): 1668-74.
178.Lavallie ER, Diblasio EA, Kovacic S, et al. A Thioredoxin Gene Fusion Expression System That Circumvents Inclusion Body Formation in the *Escherichia coli* Cytoplasm. Biotechnology 1993; 11(2): 187-93.
179.Nygren PA, Stahl S, Uhlen M. Engineering Proteins To Facilitate Bioprocessing. Trends Biotechnol 1994; 12(5): 184-8.
180.Gottesman S. Proteases And Their Targets In *Escherichia coli*. Annu Rev Genet 1996; 30: 465-506.
181.Xia Z, Chen Y, Zhu Y, et al. Recombinant Omega-Conotoxin MVIIA Possesses Strong Analgesic Activity. BioDrugs 2006; 20(5): 275-81.
182.Zamponi GW. Targeting Voltage-Gated Calcium Channels In Neurological And Psychiatric Diseases. Nat Rev Drug Discov 2016; 15: 19-34.
183.Sanford M. Intrathecal Ziconotide: A Review Of Its Use In Patients With Chronic Pain Refractory To Other Systemic Or Intrathecal Analgesics. CNS Drugs 2013; 27(11): 989-1002.
184.Lewis RJ, Nielsen KJ, Craik DJ, et al. Novel ω-Conotoxins From *Conus catus* Discriminate Among Neuronal Calcium Channel Subtypes. J Biol Chem 2000; 275(45): 35335-44.
185.Kolosov A, Aurini L, Williams ED, et al. Intravenous Injection Of Leconotide, An ω-Conotoxin: Synergistic Antihyperalgesic Effects With Morphine In A Rat Model Of Bone Cancer Pain. Pain Med 2011; 12(6): 923-41.
186.Wang F, Yan Z, Liu Z, et al. Molecular Basis Of Toxicity Of N-type Calcium Channel Inhibitor MVIIA. Neuropharmacology 2016; 101: 137-45.

187.Sousa SR, Vetter I, Lewis RJ. Venom Peptides As A Rich Source Of Cav2.2 Channel Blockers. Toxins 2013; 5(2): 286-314.
188.Pan X, Li Z, Huang X, et al. Molecular Basis For Pore Blockade Of Human Na(+) Channel Nav1.2 By The mu-Conotoxin KIIIA. Science 2019; 363(6433): 1309-13.
189.Gajewiak J, Azam L, Imperial J, et al. A Disulfide Tether Stabilizes The Block Of Sodium Channels By The Conotoxin μO§-GVIIJ. Proc Natl Acad Sci USA 2014; 111(7): 2758-63.
190.Chen F, Huang W, Jiang T, et al. Determination of the μ- Conotoxin PIIIA Specificity Against Voltage-Gated Sodium Channels From Binding Energy Calculations. Mar Drugs 2018; 16(5): 153.
191.Van Wagoner RM, Ireland CM. An Improved Solution Structure For ψ-Conotoxin PiiiE. Biochemistry 2003; 42(21): 6347-52.
192.Van Wagoner RM, Jacobsen RB, Olivera BM, et al. Characterization And Three-Dimensional Structure Determination Of ψ-conotoxin piiif, A Novel Noncompetitive Antagonist Of Nicotinic Acetylcholine Receptors. Biochemistry 2003; 42(21): 6353-62.
193.Violette A, Biass D, Dutertre S, et al. Large-Scale Discovery Of Conopeptides And Conoproteins In The Injectable Venom Of A Fishhunting Cone Snail Using A Combined Proteomic And Transcriptomic Approach. J Proteomics 2012; 75(17): 5215-25.
194.Del Rio-Sancho S, Cros C, Coutaz B, et al. Cutaneous Iontophoresis Of μ-conotoxin CnIIIC-A Potent Nav1.4 Antagonist with Analgesic, Anaesthetic and Myorelaxant0 Properties. Int J Pharm 2017; 518(1-2): 59-65.
195.Bennett DL, Clark AJ, Huang J, et al. The Role Of Voltage-Gated Sodium Channels In Pain Signaling. Physiol Rev 2019; 99(2): 1079-151.
196.Deuis JR, Mueller A, Israel MR, et al. The Pharmacology Of Voltage-Gated Sodium Channel Activators. Neuropharmacology 2017; 127: 87-108.
197.Leipold E, Ullrich F, Thiele M, et al. Subtype-Specific Block Of Voltage-Gated K (+) Channels By μ-Conopeptides. Biochem Biophys Res Commun 2017; 482(4): 1135-40.
198.Wilson MJ, Yoshikami D, Azam L, et al. Block Of Sodium Channels NaV1.1-1.8 By A Panel Of μ-Conotoxins: Identity Of Channels Responsible For Action Potentials In Sciatic Nerve. PNAS 2011; 338: 689-93.
199.Aman JW, Imperial JS, Ueberheide B, et al. Insights Into The Origins Of Fish Hunting In Venomous Cone Snails From Studies Of *Conus tessulatus*. Proc Natl Acad Sci USA 2015; 112(16): 5087-92.
200.Jin AH, Israel MR, Inserra MC, et al. δ-Conotoxin SuVIA Suggests An Evolutionary Link Between Ancestral Predator Defence And The Origin Of Fish-Hunting Behaviour In Carnivorous Cone Snails. Proc Royal Soc B Biol Sci 2015; 282(1811): 20150817.
201.Boccaccio A, Conti F, Olivera BM, et al. Binding Of Kappa-Conotoxin PVIIA To Shaker K^+ Channels Reveals Different K^+ And Rb^+ Occupancies Within The Ion Channel Pore. J Gen Physiol 2004; 124(1): 71-81.
202.Naranjo D. Inhibition Of Single Shaker K Channels By Kappa-Conotoxin-PVIIA. Biophys J 2002; 82(6): 3003-11.
203.Shon KJ, Stocker M, Terlau H, et al. Kappa-Conotoxin PVIIA Is A Peptide Inhibiting The Shaker K^+ Channel. J Biol Chem 1998; 273(1): 33-8.
204.Zhang SJ, Yang XM, Liu GS, et al. CGX-1051, A Peptide From Conus Snail Venom, Attenuates Infarction In Rabbit Hearts When Administered At Reperfusion. J Cardiovasc Pharmacol 2003; 42(6): 764-71.
205.Kancherla AK, Meesala S, Jorwal P, et al. A Disulfide Stabilized B-Sandwich Defines The Structure Of A New Cysteine Framework M-Superfamily Conotoxin. ACS Chem Biol 2015; 10(8): 1847-60.
206.Aguilar MB, Pérez-Reyes LI, López Z, et al. Peptide Sr11a From *Conus spurius* Is A Novel Peptide Blocker For Kv1 Potassium Channels. Peptides 2010; 31(7): 1287-91.
207.Dawson PE, Kent SBH. Synthesis Of Native Proteins By Chemical Ligation. Annu Rev Biochem 2000; 69: 923-60.
208.Dy CY, Buczek P, Imperial JS, et al. Structure Of Conkunitzin-S1, A Neurotoxin And Kunitz-Fold Disulfide Variant From Cone Snail. Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 2006; 62: 980-90.
209.Baneyx F. Recombinant Protein Expression In *Escherichia coli*. Curr Opin Biotechnol 1999; 10(5): 411-21.

210.Donevan SD, McCabe RT. Conantokin G Is An NR2Bselective Competitive Antagonist Of N-Methyl-D-Aspartate Receptors. Mol Pharmacol 2000; 58(3): 614-23.
211.Chen Z, Blandl T, Prorok M, et al. Conformational Changes Inconantokin-G Induced Upon Binding Of Calcium And Magnesium As Revealed By NMR Structural Analysis. J Biol Chem 1998; 273(26): 16248-58.
212.Liu X, Yao G, Wang K, et al. Structural And Functional Characterization Of Conotoxins From *Conus achatinus* Targeting NMDAR. Mar Drugs 2020; 18(3): 135.
213.Yuan Y, Balsara RD, Zajicek J, et al. Discerning The Role Of The Hydroxyproline Residue In The Structure Of Conantokin Rl-B And Its Role In Glun2b Subunit-Selective Antagonistic Activity Toward N-Methyl-d-Aspartate Receptors. Biochemistry 2016; 55(51): 7112-22.
214.Maillo M, Aguilar MB, Lopez-Vera E, et al. Conorfamide, A Conus Venom Peptide Belonging To The Rfamide Family Of Neuropeptides. Toxicon 2002; 40(4): 401-7.
215.Drane SB, Robinson SD, MacRaild CA, et al. Structure And Activity Of Contryphan-Vc2: Importance Of The D-Amino Acid Residue. Toxicon 2017; 129: 113-22.
216.Sonti R, Gowd KH, Rao KN, et al. Conformational Diversity In Contryphans From Conus Venom: Cis-Trans Isomerisation And Aromatic/Proline Interactions In The 23-Membered Ring Of A 7-Residue Peptide Disulfide Loop. Chem Eur J 2013; 19(45): 15175-89.
217.Robinson SD, Chhabra S, Belgi A, et al. A Naturally Occurring Peptide With An Elementary Single Disulfide-Directed β-hairpin Fold. Structure 2016; 24(2): 293-9.
218.Balsara R, Li N, Weber-Adrian D, et al. Opposing Action Of Conantokin-G On Synaptically And Extrasynaptically-Activated NMDA Receptors. Neuropharmacology 2012; 62(7): 2227-38.
219.Warder SE, Blandl T, Klein RC, et al. Amino Acid Determinants For NMDA Receptor Inhibition By Conantokin-T. J Neurochem 2001; 77(3): 812-22.
220.Imperial JS, Watkins M, Chen P, et al. The Augertoxins: Biochemical Characterization Of Venom Com Ponents From The Toxoglossate Gastropod *Terebra subulata*. Toxicon 2003; 42(4): 391-8.
221.Imperial JS, Kantor Y, Watkins M, et al. Venomous Auger Snail *Hastula* (Impages) *Hec tica* (Linnaeus, 1758): Molecular Phylogeny, Foregut Anatomy And Comparative Toxinology. J Exp Zool B Mol Dev Evol 2007; 308(6): 744-56.
222.López-Vera E, De La Cotera EPH, Maillo M, et al. A Novel Structural Class Of Toxins: The Methionine-Rich Peptides From The Venoms Of Turrid Marine Snails (Mollusca, Conoidea). Toxicon 2004; 43(4): 365-74.
223.Heralde FM 3rd, Imperial J, Bandyopadhyay PK, et al. A Rapidly Diverging Superfamily Of Peptide Toxins In Venomous Gemmula Species. Toxicon 2008; 51(5): 890-7.
224.Cabang AB, Imperial JS, Gajewiak J, et al. Characterization Of A Venom Peptide From A Crassispirid Gastropod. Toxicon 2011; 58(8): 672-80.
225.Puillandre N, Meyer CP, Bouchet P, et al. Genetic Divergence And Geographic Variation In The Deep-Water *Conus orbignyi* Complex (Mollusca: Conoidea). Zool Scr 2011; 40(4): 350-63.
226.Taylor JD, Kantor YI, Sysoev AV. Foregut Anatomy, Feeding Mecha Nisms, Relationships And Classification Of The Conoidea (=Toxo Glossa) (Gastropoda). Bull Nat Hist Museum Zool S 1993; 59(2): 125-70.
227.Safavi-Hemami H, Gajewiak J, Karanth S, et al. Specialized Insulin Is Used For Chemical Warfare By Fish-Hunting Cone Snails. Proc Natl Acad Sci USA 2015; 112(6): 1743-8.
228.Robinson SD, Safavi-Hemami H. Insulin As A Weapon. Toxicon 2016; 123: 56-61.
229.Menting JG, Gajewiak J, MacRaild CA, et al. A Minimized Human Insulin-Receptor-Binding Motif Revealed In A *Conus geographus* Venom Insulin. Nat Struct Mol Biol 2016; 23(10): 916-20.
230.Ahorukomeye P, Disotuar MM, Gajewiak J, et al. Fish-Hunting Cone Snail Venoms Are A Rich Source Of Minimized Ligands Of The Vertebrate Insulin Receptor. Elife 2019; 8: e41574.
231.Menting JG, Whittaker J, Margetts MB, et al. How Insulin Engages Its Primary Binding Site On The Insulin Receptor. Nature 2013; 493(7431): 241-5.
232.Campos-Lira E, Carrillo E, Aguilar MB, et al. Conorfamide-Sr3, A Structurally Novel Specific

Inhibitor Of The Shaker K^+ Channel. Toxicon 2017; 138: 53-8.
233.Jin AH, Cristofori-Armstrong B, Rash LD, et al. Novel Conorfamides From *Conus austini* Venom Modulate Both Nicotinic Acetylcholine Receptors And Acid-Sensing Ion Channels. Biochem Pharmacol 2019; 164: 342-8.
234.Aguilar MB, Luna-Ramírez KS, Echeverría D, et al. Conorfamide-Sr2, A Gamma-Carboxyglutamate-Containing Fmrfamide-Related Peptide From The Venom Of *Conus spurius* With Activity In Mice And Mollusks. Peptides 2008; 29(2): 186-95.
235.López-Vera E, Aguilar MB, De La Cotera EPH. FMRFamide And Related Peptides In The *Phylum mollusca*. Peptides 2008; 29(2): 310-7.
236.Lee H, Wang H, Jen JC, et al. A Novel Mutation In KCNA1 Causes Episodic Ataxia Without Myokymia. Hum Mutat 2004; 24(6): 536.
237.Frolov RV, Bagati A, Casino B, et al. Potassium Channels In Drosophila: Historical Breakthroughs, Significance, And Perspectives. J Neurogenet 2012; 26(3-4): 275-90.
238.Martel P, Leo D, Fulton S, et al. Role Of Kv1 Potassium Channels In Regulating Dopamine Release And Presynaptic D2 Receptor Function. PLoS ONE 2011; 6(5): e20402.
239.Ding H, Deng EZ, Yuan LF, et al. iCTX-Type: A Sequence-Based Predictor For Identifying The Types Of Conotoxins In Targeting Ion Channels. Biomed Res Int 2014; 2014: 286419.
240.Suzuki S, Baba A, Kaida K, et al. Cardiac Involvements In Myasthenia Gravis Associated With Anti-Kv1.4 Antibodies. Eur J Neurol 2014; 21(2): 223-30.
241.Sudarslal S, Singaravadivelan G, Ramasamy P, et al. A Novel 13 Residue Acyclic Peptide From The Marine Snail, *Conus monile*, Targets Potassium Channels. Biochem Biophys Res Commun 2004; 317(3): 682-8.
242.Mahdavi S, Kuyucak S. Why The Drosophila Shaker K^+ Channel Is Not A Good Model For Ligand Binding To Voltage-Gated Kv1 Channels. Biochemistry 2013; 52(9): 1631-40.
243.Al-Sabi A, Lennartz D, Ferber M, et al. kM-Conotoxin RIIIK, Structural And Functional Novelty In A K^+ Channel Antagonist. Biochemistry 2004; 43(27): 8625-35.
244.Robinson SD, Safavi-Hemami H, Raghuraman S, et al. Discovery By Proteogenomics Andcharacterization Of An RF-Amide Neuropeptide From Cone Snail Venom. J Proteomics 2015; 114: 38-47.
245.Reimers C, Lee CH, Kalbacher H, et al. Identification Of A Cono-Rfamide From The Venom Of *Conus textile* That Targets ASIC3 And Enhances Muscle Pain. Proc Natl Acad Sci USA 2017; 114(17): E3507-15.
246.Escoubas P, De Weille JR, Lecoq A, et al. Isolation Of A Tarantula Toxin Specific For A Class Of Proton-Gated Na^+ Channels. J Biol Chem 2000; 275(33): 25116-21.
247.Diochot S, Baron A, Rash LD, et al. A New Sea Anemone Peptide, Apetx2, Inhibits ASIC3, A Major Acid-Sensitive Channel In Sensory Neurons. EMBO J 2004; 23(7): 1516-25.
248.Bohlen CJ, Chesler AT, Sharif-Naeini R, et al. A Heteromeric Texas Coral Snake Toxin Targets Acidsensing Ion Channels To Produce Pain. Nature 2011; 479: 410-14.
249.Diochot S, Baron A, Salinas M, et al. Black Mamba Venom Peptides Target Acid-Sensing Ion Channels To Abolish Pain. Nature 2012; 490: 552-5.
250.Jin AH, Dekan Z, Smout MJ, et al. Conotoxin φ-MiXXVIIA From The Superfamily G2 Employs A Novel Cysteine Framework That Mimics Granulin And Displays Anti-Apoptotic Activity. Angew Int Ed Chem 2017; 56(47): 14973-6.
251.Smout MJ, Mulvenna JP, Jones MK, et al. Expression, Refolding And Purification Of Ov-GRN-1, A Granulin-Like Growth Factor From The Carcinogenic Liver Fluke, That Causes Proliferation Of Mammalian Host Cells. Protein Expr Purif 2011; 79(2): 263-70.
252.Nielsen LD, Foged MM, Albert A, et al. The Three-Dimensional Structure Of An H-Superfamily Conotoxin Reveals A Granulin Fold Arising From A Common ICK Cysteine Framework. J Biol Chem 2019; 294(22): 8745-59.
253.Imperial JS, Chen P, Sporning A, et al. Tyrosine-rich Conopeptides Affect Voltage-gated K^+ Channels. J Biol Chem 2008; 283(34): 23026-32.
254.Calvete JJ. Venomics: Integrative Venom Proteomics And Beyond. Biochem J 2017; 474(5): 611-34.

255.Oldrati V, Arrell M, Violette A, et al. Advances In Venomics. Mol Biosyst 2016; 12(12): 3530-43.
256.Dutt M, Dutertre S, Jin AH, et al. Venomics Reveals Venom Complexity Of The Piscivorous Cone Snail *Conus tulipa*. Mar Drugs 2019; 17(1): 71.
257.Gao C, Peng C, Yang J, et al. Cone Snails: A Big Store Of Conotoxins For Novel Drug Discovery. Toxins 2017; 9(12): 397.
258.Mardis ER. DNA Sequencing Technologies: 2006−2016. Nat Protoc 2017; 12(2): 213-8.
259.Pi C, Liu Y, Peng C, et al. Analysis Of Expressed Sequence Tags From Venom Ducts Of *Conus striatus*: Focusing On The Expression Profile Of Conotoxins. Biochimie 2006; 88(2): 131-40.
260.Hu H, Bandyopadhyay PK, Olivera BM, et al. Elucidation Of The Molecular Envenomation Strategy Of The Cone Snail *Conus geographus* Through Transcriptome Sequencing Of Its Venom Duct. BMC Genomics 2012; 13: 284.
261.Robinson SD, Li Q, Lu A, et al. The Venom Repertoire Of *Conus gloriamaris* (Chemnitz, 1777), The Glory Of The Sea. Mar Drugs 2017; 15(5): 145.
262.Jin AH, Dutertre S, Dutt M, et al. Transcriptomic-Proteomic Correlation In The Predation-Evoked Venom Of The Cone Snail *Conus imperialis*. Mar Drugs 2019; 17(3): 177.
263.Wilson D, Daly NL. Nuclear Magnetic Resonance Seq (NMRseq): A New Approach To Peptide Sequence Tags. Toxins 2018; 10(11): 437.
264.Vetter I, Davis JL, Rash LD, et al. Venomics: A New Paradigm For Natural Products-Based Drug Discovery. Amino Acids 2011; 40(1): 15-28.
265.Prashanth JR, Lewis RJ. An Efficient Transcriptome Analysis Pipeline To Accelerate Venom Peptide Discovery And Characterisation. Toxicon 2015; 107(Pt B): 282-9.
266.Lavergne V, Dutertre S, Jin AH, et al. Systematic Interrogation Of The *Conus marmoreus* Venom Duct Transcriptome With Conosorter Reveals 158 Novel Conotoxins And 13 New Gene Superfamilies. BMC Genomics 2013; 14: 708.
267.Koua D, Brauer A, Laht S, et al. Conodictor: A Tool For Prediction Of Conopeptide Superfamilies. Nucleic Acids Res 2012; 40(W1): W238-41.
268.Mondal S, Bhavna R, Mohan Babu R, et al. Pseudo Amino Acid Composition And Multi-Class Support Vector Machines Approach For Conotoxin Superfamily Classification. J Theor Biol 2006; 243(2): 252-60.
269.Fan YX, Song J, Shen HB, et al. PredCSF: An Integrated Feature-Based Approach For Predicting Conotoxin Superfamily. Protein Pept Lett 2011; 18(3): 261-7.
270.Yin JB, Fan YX, Shen HB. Conotoxin Superfamily Prediction Using Diffusion Maps Dimensionality Reduction And Subspace Classifier. Curr Protein Pept Sci 2011; 12(6): 580-8.
271.Yuan LF, Ding C, Guo SH, et al. Prediction Of The Types Of Ion Channel-Targeted Conotoxins Based On Radial Basis Function Network. Toxicol In Vitro 2013; 27(2): 852-6.
272.Li Q, Watkins M, Robinson SD, et al. Discovery Of Novel Conotoxin Candidates Using Machine Learning. Toxins 2018; 10(12): 503.

Review Article

Toxinology of Marine Venomous Snails

GH. Mohebbi (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 16 Aug, 2021 Accepted 22 Oct, 2021)

Abstract

A surprisingly large number of sea snail species are venomous. Cone snail venoms are produced in a lengthy tubular duct from a complex venom gland and form a cocktail of many toxins, particularly conotoxins which have high potency and specificity for their target specific receptors. They inhibit various channels, neuromuscular receptors or hormones of the victim, and interfere in the transmitted signals of the prey, or dissuade predators. Cone snails have an amazing ability to quickly convert between two different types of defense-evoked and predation-evoked venoms in response to defensive or predatory stimuli. Various conotoxins and conopeptides such as α-conotoxins, σ-conotoxins, ω-conotoxins, μ-conotoxins, ψ-conotoxins, τ-conotoxins, δ-conotoxins, κ-conotoxins and conkunitzins, conantokins, contryphans, Ac1 conotoxins, conoinsulins, granulin-like conotoxins from conoides; augerpeptides derived from the venom peptide family Terebridae; turripeptides from the venom peptide family Turridae; crassipeptides venom peptides from Crassispirids; clathurellipeptides from venomous micro-conoides Clathurellidae, and other toxins such as RFamide peptides and endogenous neuropeptide-like peptides such as conopressins, as well as contulakins have been found in cone snail venoms, which have demonstrated remarkable biological and pharmacological functions. Given the approval of some conotoxins, such as the analgesic medication ziconitide (Prialt®) in clinical trials as well as their biomedical potential, current research has focused on these toxins. The use of integrated venomics approaches has dramatically accelerated the detection of conotoxin sequences. It is anticipated that a better understanding and identification of conotoxins and other toxins derived from other sea snails will lead to their use for the treatment of diseases to which humans have succumbed.

Keywords: Sea snails, Venom, Toxin, Mode of action

©Iran South Med J.All right sreserved

Cite this article as: Mohebbi GH, Nabipour I. Toxinology of Marine Venomous Snails. Iran South Med J 2021; 24(5): 505-581

Copyright © 2021 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: inabipour@gmail.com
*ORCID: 0000-0003-3393-702X
**ORCID: 0000-0002-1785-0883