مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

شناسایی پپتید "alpha-conotoxin-like" در زهر حلزون دریایی گونه‌ی *Conus pennaceus* Born, 1778

هادی دهقانی[۱]، مهدی فاضلی[۱*]، حمید رجائیان[۱]، سعید حسین‌زاده[۲]، محبوبه اشرافی[۱]

[۱] گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز

[۲] گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۷/۰۱/۲۱
اصلاح: ۹۷/۰۲/۱۰
پذیرش: ۹۷/۰۳/۰۳

کلمات کلیدی:
حلزون مخروطی
کونوتوکسین
طیف‌سنجی جرمی
فیلوژنی
خلیج‌فارس

چکیده

حلزون‌های مخروطی گوشت‌خوارانی کم‌تحرک هستند که برای شکار از زهری بسیار قوی استفاده می‌کنند. این زهر ترکیبی از سموم متفاوتی از خانواده‌ی کونوتوکسین‌ها است. این تحقیق به شناسایی گونه *Conus pennaceus quasimagnificus* از حلزون‌های مخروطی دریایی در ساحل شیب‌دراز در بخش جنوبی جزیره‌ی قشم می‌پردازد. در این تحقیق پس از نمونه‌برداری از حلزون، زهر آن با استفاده از بافر و انجام سانتریفیوژ جداسازی شد. سپس آزمون قدرت کشندگی آن بر موش، آنالیز و کونوتوکسین‌های مختلف موجود در آن شناسایی شد. برای اولین بار وجود کونوتوکسینی تحت عنوان alpha-conotoxin-like از کونوتوکسین‌های فوق‌خانواده A- در زهر نمونه‌های جمع‌آوری شده مشخص شد. اثر ضدباکتریایی این پپتید پس از ساخته شدن، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از آنالیز DNA جدا شده نشان داد که گونه‌ی مورد مطالعه *C. pennaceus* است و در ادامه آزمون‌های توالی یابی مشخص کردند که نزدیک‌ترین فاصله را به زیرگونه *C. pennaceus quasimagnificus* دارد. زهر این حلزون مخروطی قدرت کشندگی (LD_{50}) معادل ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نشان داد. این پپتید بر روی سویه‌های مختلف باکتریایی اثری نداشت. با این وجود، با توجه به اثر قوی آن در مهار گیرنده‌های نیکوتینی استیل کولینی (nAChR) می‌تواند در تحقیقات آینده اثرات ضد درد آن مد نظر قرار گیرد.

مقدمــه

شکم‌پایان بزرگ‌ترین گروه از نرم‌تنان را با بیش از ۷۰۰۰۰ گونه‌ی شناخته شده زنده و ۱۵۰۰۰ گونه فسیل شده تشکیل می‌دهند. این نرم‌تنان، جانورانی کند و کم‌تحرک هستند که دلیل آن وجود صدفی سنگین در اغلب آن‌هاست و وسیله‌ای دفاعی در آن‌ها محسوب می‌شود. برخی از گونه‌های شکم‌پایان برای شنا، بالا رفتن از اجسام و حفر بستر برای مخفی شدن تخصص یافته‌اند. صدف در این موجودات معمولاً یک تکه است و به صورت مارپیچ یا ساده قرار دارد (Espino *et al.*, 2008; Hickman *et al.*, 2008; Olivera *et al.*, 2015). آن‌ها در تمام مناطق حاره و نیمه‌حاره‌ای پراکنده‌اند اما بیشترین پراکنش این موجودات مربوط به محدوده‌ی جغرافیایی هند- آرام است. البته گونه‌های محدودی هم در نوار ۴۰ درجه‌ی شمالی و جنوبی و یا در مناطقی همچون جنوب آفریقا، جنوب استرالیا، جنوب ژاپن و دریای مدیترانه یافت شده‌اند. این نرم‌تنان اغلب در

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: mfazeli@shirazu.ac.ir

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.2.10.4]

صخره‌های مرجانی و معمولاً در آب‌های کم‌عمق، در زیر پوشش‌های مرجانی، درون صخره‌ها یا زیر دانه‌های ریز سنگ و ماسه خود را مخفی می‌کنند. با تخریب صخره‌های مرجانی، این شکم‌پایان هم کاهش می‌یابند. نکته‌ی جالب این که برخی از این جانوران حتی در مانگروها و یا در مناطق دور از ساحل با عمق حدود ۴۰۰ متر هم زندگی می‌کنند (Dutertre and Lewis, 2012).

خانواده کونوئیدا (Conoidae)، گروه بزرگی از شکم‌پایان را تشکیل می‌دهند که به نام حلزون‌های دریایی شناخته می‌شوند. این خانواده شامل ۸۰۳ گونه شناسایی شده است که به تازگی در ۴ جنس *Conus*، *Conasprella*، *Profundiconus* و *Californiconus* (در گذشته همه گونه‌ها فقط در جنس Conus قرار می‌گرفتند) و ۷۱ زیر جنس متفاوت قرار گرفته‌اند. جنس *Conus* به عنوان بزرگ‌ترین جنس از بی‌مهرگان دریایی شناخته می‌شود (Dutertre and Lewis, 2012; Puillandre, 2015; Puillandre *et al.*, 2014).

صدف در گونه‌ی *Conus pennaceus* به رنگ سفید خاکی می باشد که با رنگ آبی مایل به بنفش خاکستری پوشیده شده است. صدف در این گونه دارای خطوط نازک و ضخیمی است که به صورت مشبک قرار گرفته‌اند و اشکال مثلثی را ایجاد می‌کنند. اندازه در آن‌ها متفاوت و مربوط به زیرگونه‌ای است که به آن تعلق دارد (CM Pereira, 2010; James, 1980).

اغلب حلزون‌های مخروطی شب شکار هستند. حلزون مخروطی از زهر خود برای شکار یا دفاع از خود استفاده می‌کند. گونه‌های مختلف، عادات غذایی خاصی دارند و از نظر نوع تغذیه به سه گروه تقسیم می‌شوند: کرم خواران[1] که اصولاً از انواع متفاوتی از کرم‌ها خصوصاً پرتاران تغذیه می‌کنند. نرم‌تن خواران[2] که از انواع نرم‌تنان دریایی کوچک تغذیه می‌کنند و ماهی‌خواران[3] که از ماهی‌های دریایی کوچک تغذیه می‌کنند. دو گروه اخیر بیش‌تر در مناطق زیر جزر و مدی[4] یافت می‌شوند (Biass *et al.*, 2009; Dutertre and Lewis, 2012; Gerwig *et al.*, 2013; Kohn, 2001; Olivera *et al.*, 1990a; Prashanth *et al.*, 2014; Puillandre *et al.*, 2014; Zauner and Zuschin, 2016).

صدف‌های مخروطی به عنوان جانوران شکارچی زهرآگین شناخته می‌شوند که از زهر قدرتمندی برای صید استفاده می‌کنند. این زهر ترکیبی از سموم کوچک حاوی پیوندهای دی‌سولفیدی تحت عنوان "کونوتوکسین‌ها[5]" می‌باشند (Civera, 1999; Gerrit, 2013; Magbubah Essack, 2012; Olivera *et al.*, 1999; Olivera, 1990b). زهر این موجودات به‌طور قابل ملاحظه‌ای پیچیده است، به شکلی که در هر فرد و گونه، دارای بیش از ۱۰۰ کونوتوکسین منحصربه‌فرد است. این پپتیدها به شدت مورد علاقه‌ی محققان زیست-پزشکی هستند چرا که بسیاری از آن‌ها قدرت غیرقابل باور و انتخابی در اثرگذاری بر اهداف مولکولی، شامل: کانال‌های یونی، گیرنده‌های محل اتصال جی-پروتئین و یا انتقال‌دهنده‌های عصبی شیمیایی دارند (Lewis *et al.*, 2012; Norton and Olivera, 2006; Olivera *et al.*, 1999).

ساخت کونوتوکسین‌ها در سلول‌های اپی‌تلیالی مجرای زهر صورت می‌گیرد و پس از آن به داخل لومن مجرای زهر ترشح می‌شود. این مجرا به کیسه‌ی زهر متصل است، عمل کیسه، انقباض و انتقال زهر به نیش است. این نیش زهرآگین حلزون‌های مخروطی نقش مهمی را در شکار ایفا می‌کند. به عنوان مثال حلزون‌هایی که ماهی شکار می‌کنند، به زهری فلج کننده نیاز دارند که سریعاً ماهی را فلج کرده و مانع حرکات شدید ماهی گردد تا حلزون آسیب ندیده و همچنین موجب جلب توجه سایر شکارچیان نگردد (Kroenke *et al.*, 2009; Olivera *et al.*, 1985).

[1] Vermivorous
[2] Molluscivorous
[3] Piscivorous
[4] Subtidal
[5] Conotoxins

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.2.10.4]

در حال حاضر طبقه‌بندی "فوق‌خانواده‌های ژنی" روش اصلی برای رده‌بندی کونوتوکسین‌ها است. با این تعریف، کونوتوکسین‌های فوق‌خانواده‌های مختلف توالی پپتید سیگنال مشابهی دارند، ولی تمایز در ساختار اصلی و نوع فعالیت در پپتیدهای فعال کدگذاری شده وجود دارد. تفاوت‌های ایجاد شده در نتیجه‌ی رمزگذاری‌های متفاوت پس از تکثیر ژن، به عنوان مکانیسم عامل ایجاد تفاوت در توالی پپتید فعال در بین فوق‌خانواده‌های کونوتوکسین معرفی شده است (Chang and Duda, 2012; Puillandre *et al.*, 2010; Robinson *et al.*, 2014).

فوق خانواده-A، کونوتوکسین‌هایی را شامل می‌شود که مشخصه‌ی بارز آن‌ها وجود سیستئین نوع I با ترتیب (CC-C-C) می‌باشد اگرچه که ساختارهای سیستئینی II, IV, VI/VII, XIV, XXII هم در میان آن‌ها مشاهده می‌شود. این گروه از کونوتوکسین‌ها به صورت قدرتمند و انتخابی به زیرگروه‌های مختلف از گیرنده‌های نیکوتینی استیل کولینی در سیستم عصبی و عصبی- عضلانی متصل می‌شوند. این کونوتوکسین‌ها تحت عنوان آلفا کونوتوکسین‌ها[1] نام‌گذاری شده‌اند، خصوصیات بسیاری از اعضای آن شناسایی شده‌اند و اثرات مولکولی متفاوتی از آن‌ها شامل مهار گیرنده‌های نیکوتینی استیل‌کولینی، بلاک کانال‌های پتاسیمی، تعدیل کردن گیرنده‌های آدرنرژیکی و برخی موارد دیگر مشاهده شده است (Robinson *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2004).

در این تحقیق با شناسایی توالی پپتیدهای موجود در ترکیبات غده‌ی زهری صدف مخروطی گونه‌ی *Conus pennaceus*، توالی پپتیدی متعلق به کونوتوکسینی از فوق خانواده-A که تاکنون در این گونه از شکم‌پایان گزارش نشده بود، شناسایی شد و پس از ساخت پپتید، اثرات زیستی آن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از بخش سنگی و صخره‌ای منطقه‌ی بین جزرومدی ساحل شیب‌دراز در بخش جنوبی جزیره‌ی قشم، حد فاصل ("۵۵°۵۵′۳۳/۲۵ شرقی/ "۲۶°۴۱′۶,۷۴ شمالی و "۵۵°۵۸′۱۲,۹۴ شرقی/ "۲۶°۴۲′۲۶,۷۱ شمالی) طی ماه‌های آذر تا بهمن سال‌های ۹۵-۹۴ انجام گرفت (شکل ۱). منطقه نمونه‌برداری با انجام گشت‌های شناسایی در طول سواحل جنوبی جزیره قشم انتخاب گردید. تصویربرداری از نمونه‌های جانوری به دست آمده توسط دوربین Canon مدل EOS 60D انجام گرفت.

نمونه‌های کونوس جمع‌آوری شده درون یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. پس از قرار گرفتن در فریزر ۱۸- و اطمینان از مرگ در نتیجه‌ی سرما، صدف آن‌ها شکسته شد و غده‌ی زهری به همراه لوله‌ی انتقال زهر جدا و درون یخچال ۸۰- نگهداری شد.

شناسایی مولکولی گونه

در مرحله‌ی اول، شناسایی گونه با استفاده از روش مولکولی انجام گردید. برای این کار نمونه DNA از عضلات پایی نمونه‌ها با استفاده از کیت استخراج DNA[2] با استفاده از روش اعلام شده توسط شرکت سازنده، جداسازی و مقدار DNA با استفاده از اسپکتوفوتومتر ANG 100[3] اندازه‌گیری شد.

در ادامه بر روی DNA استخراج شده، عملیات PCR انجام گرفت (Fretz *et al.*, 2007). برای این کار از پرایمرهای عمومی مشهور به Folmer استفاده شد (Folmer *et al.*, 1994) که شامل LCO-1490 (GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG) / HCO-2189 (TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA) بودند. ژن‌های تکثیر شده از روی ژل با استفاده از کیت خالص‌سازی از ژل QIAquick (Bioneer، کره جنوبی) خالص‌سازی شدند و

[1] α-conotoxins
[2] Bioneer, ساخت کره جنوبی
[3] ساخت شرکت Nanodrop Technologies آمریکا

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.2.10.4]



شکل ۱. محل نمونه‌برداری در منطقه شیب‌دراز در سواحل جنوبی جزیره قشم

محصول خالص مورد تعیین توالی قرار گرفت (Macrogen، کره جنوبی). بررسی‌های تبارشناسی بر روی توالی به دست آمده انجام شد تا گونه و ارتباطات خانوادگی حلزون مخروطی مورد مطالعه، شناسایی شود (Lorenz and Puillandre, 2015).

جداسازی زهر

به این منظور غده‌ها و مجاری زهر جدا شده از جانور با استفاده از نیتروژن مایع منجمد و سپس له شدند تا محتویات آن به‌طور کامل تخلیه شود؛ سپس با استفاده از مخلوط آب و استونیتریل (به نسبت مساوی، ۱:۱) حاوی ۰/۱ درصد تری‌فلورواستیک اسید[1] با pH معادل ۷/۴، به میزان ۲۰ میلی لیتر و انجام سانتریفیوژ در ۱۴۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و جمع‌آوری بخش مایع رویی، زهر از سایر ترکیبات اضافی جدا شد. سپس ترکیب به دست آمده در دستگاه Freeze-Drier خشک شد و به صورت پودر در آمد.

شناسایی و ساخت پپتید

پودر زهر به دست آمده جهت شناسایی پپتیدهای موجود در محلول ۰/۱٪ تری فلورو استیک اسید (TFA) حل شده و به دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد سریع (FPLC) با ستون G-25 تزریق گردید و پس از جمع آوری بخش‌های[2] مختلف، جهت بررسی محتوای پپتیدی این فراکشن‌ها توسط دستگاه Mass Spectrometry ارسال گردید (دانشگاه بن، آلمان)، که در نتیجه آن پپتیدهای متعددی در بخش‌های متفاوت زهر این گونه شناسایی شدند؛ با این حال کونوتوکسینی که تا کنون از این گونه گزارش نشده بود برای آزمایش‌های بعدی انتخاب گردید. پپتید مشخص شده برای ساخت به شرکت JPT Peptide Technologies (کشور چین) سفارش داده شد و سپس اثر ضد باکتریایی آن مورد مطالعه قرار گرفت.

تعیین قدرت کشندگی زهر (LD_{50})

قدرت کشندگی زهر خام جداسازی شده و پودر شده با تزریق درون صفاقی محاسبه گردید. به این منظور با استفاده از روش بالا و پایین کردن[3] و سپس روش دو برابر کردن[4] دوز کشندگی زهر خام به دست می‌آید (Hoffman, 2015; Spielmann *et*

[1] Trifluoroacetic acid (TFA)
[2] Fractions
[3] Up and Down
[4] Duplication

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.2.10.4]

al., 1999). برای انجام این آزمایش از ۶ گروه موش سوری balb/C که در هر کدام ۶ موش نر با وزن ۲۲ تا ۲۵ گرم وجود داشت استفاده شد. موش‌ها در یک اتاق کنترل شده از نظر حرارت و رطوبت در سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با آب و غذای کافی قرار گرفتند و ۴۸ ساعت قبل از آزمون به محل انجام آزمون منتقل شدند. درجه حرارت محل نگهداری در محدوده ۲۲ درجه ثابت نگهداری شد و تلاش شد که مراحل تزریق زهر با سرعت و حداقل تحریک و استرس انجام گیرد. گروه‌ها به ترتیب مقادیر ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از زهر را دریافت کردند و در گروه آخر هم حجم معادل تزریقی در گروه‌های مورد مطالعه (۴۰۰ میکرولیتر) محلول نمکی ۰/۰۹ درصد استریل تزریق گردید. مرگ و میر حیوانات تا ۴۸ ساعت مورد مشاهده و ثبت قرار گرفت (Parveen *et al.*, 2017).

بررسی اثر ضد باکتریایی

برای بررسی اثرات ضد باکتریایی این پپتید، حداقل غلظت کشندگی[1] آن بر روی باکتری‌های *Staphylococus aureus* و *Klabsiella pneumoniae* با استفاده از محیط Muler Hinton در پلیت‌های ۹۶ خانه ELISA در طی مدت ۲۴ ساعت توسط دستگاه Plate reader با فاصله‌ی زمانی یک ساعت، اندازه‌گیری شد. به منظور مقایسه، از آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین به عنوان کنترل استفاده گردید.

آنالیز داده‌ها

جهت بررسی داده‌های مولکولی برای شناسایی گونه از نرم‌افزار Chromas 2.6، تبارشناسی از نرم‌افزار MEGA7 و جهت آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ استفاده گردید.

نتایـج

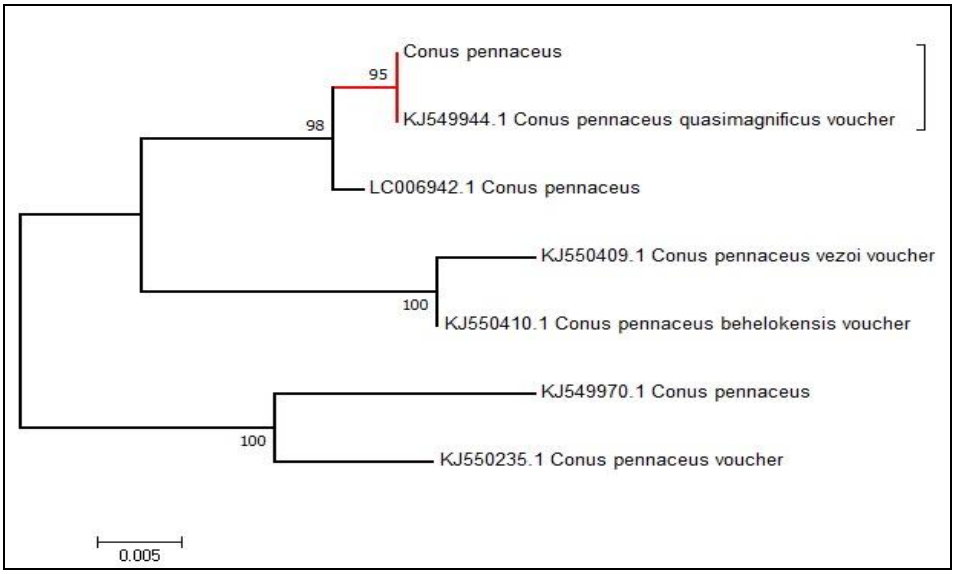
با جستجوی توالی نوکلئوتیدی به دست آمده از فرآیند بررسی مولکولی در NCBI[2]، مشخص شد که گونه‌ی مورد مطالعه در این پژوهش *C. pennaceus* (شکل ۲) بوده است و در همین راستا، توالی نوکلئوتیدی در بانک ژنی[3] با شماره دسترسی MG788239 ثبت گردید. در ادامه، جهت شناسایی خصوصیات تبارشناسی، توالی به دست آمده تحت آزمون‌های حداکثر درست‌نمایی[4] و اتصال-همسایگی[5] قرار گرفت (شکل ۳). در نتیجه مشخص شد که نمونه‌ی صدف مخروطی مورد مطالعه بیشترین نزدیکی را به زیرگونه‌ی *Conus pennaceus quasimagnificus* Motta, 1982 دارد.



شـــــکل ۲. صـــدف مخروطـــی گونـــه *C. pennaceus* تصویربرداری شـده در سـاحل شیب‌دراز جزیره‌ی قشم

[1] Minimum Lethal Concentration
[2] *National Center for Biotechnology Information*
[3] GenBank
[4] Maximum Likelihood (ML)
[5] Neighbor-Joining (NJ)

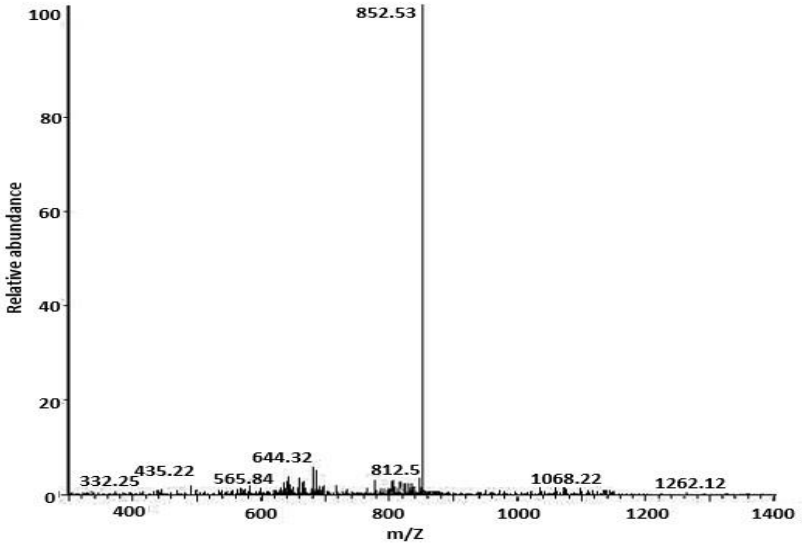
[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.2.10.4]



شکل ۳. آزمون اتصال- همسایگی (Neighbor-Joining) 1000 Boosted مربوط به کلیه گزارش‌های ثبت شده از ژن COI در NCBI.

نتایج حاصل از بررسی زهر با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی جرمی[1]، حضور پپتیدهای مختلفی را از گروه‌های متفاوت کونوتوکسین‌ها نشان داد که پپتید انتخاب شده برای بررسی خصوصیات زیستی، alpha-conotoxin like با توالی آمینواسیدی (AANDKASDLMALRDGCCSDPACAVNHPDICGGGR) متعلق به فوق خانواده A- (آلفا کونوتوکسین‌ها) بود (شکل ۴).

با تزریق زهر خام به موش، قدرت کشندگی ۵۰٪ (LD_{50}) آن به میزان ۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم مشخص شد (شکل ۵). آزمون حداقل غلظت کشندگی (MLC) نشان داد که این پپتید بر روی هیچ‌یک از دو نوع باکتری گرم مثبت *Staphylococcus oreous* و گرم منفی *Klebsiella pneumonia* اثر بازدارنده قدرتمندی ندارد (شکل ۶).

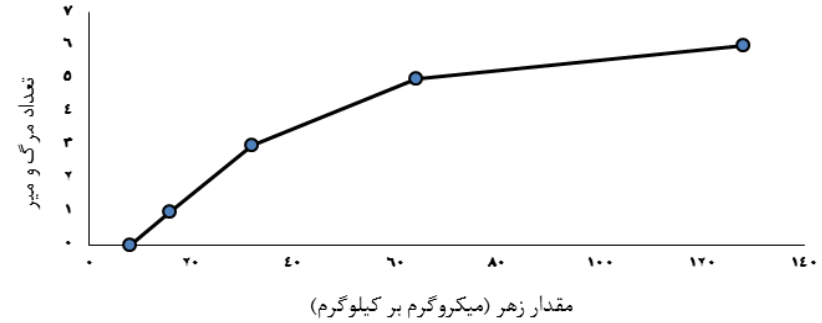


شکل ۴. منحنی Mass-spectrometry مربوط به بخش حاوی پپتید alpha-conotoxin-like خالص‌سازی شده از زهر *C. pennaceus*

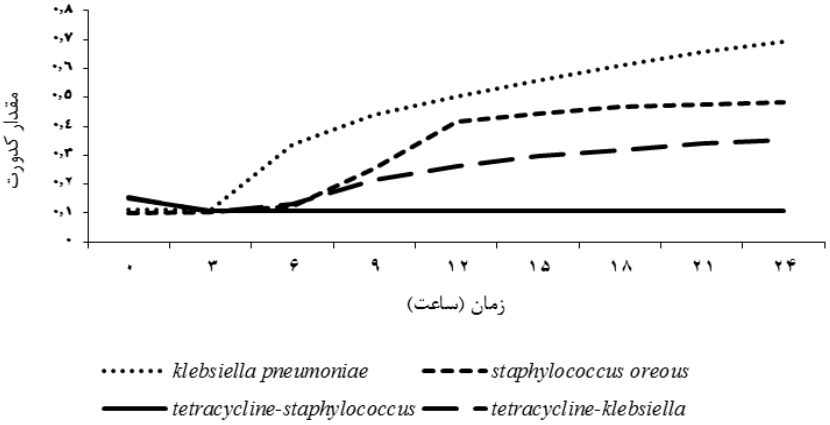
[1] Mass-Spectrometry

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.2.10.4]



شکل ۵. قدرت کشندگی (LD_{50}) زهر خام بر روی موش‌های سوری balb/C



شکل ۶. نتایج آزمون حداقل غلظت کشندگی (MLC). نمودار اثر پپتید بر روی باکتری *Staphylococcus oreous* و *Klebsiella pneumonia*

بحث

حلزون‌های مخروطی تحرک کمی دارند و این عدم جابجایی منطقه‌ای باعث شده که این نرم‌تن دچار جدایی گونه‌ای جغرافیایی شدیدی در برخی گونه‌ها، حتی در مناطق نزدیک به هم شود و در نتیجه بررسی‌های فیلوژنتیکی در مورد آن‌ها می‌تواند نتایج بسیار جالبی را نشان دهد (Espino *et al.*, 2008; Olivera *et al.*, 2015).

در نمونه‌برداری‌های انجام شده در این تحقیق، صدف‌های مخروطی تنها در محدوده‌ی بین جزرومدی جمع‌آوری شدند، درحالی‌که در گزارش منتشر شده از خلیج عقبه در دریای سرخ، محل بیش‌ترین تجمع آن‌ها منطقه زیر جزرومدی اعلام شده بود. این جانوران خصوصاً در سواحل صخره‌ای و مرجانی و استخرهای ساحلی خیلی کوچک که حاوی ماسه بودند، مشاهده شده‌اند (Zauner and Zuschin, 2016).

بررسی‌های مولکولی، گونه‌ی مورد مطالعه را *C. pennaceus* معرفی کرد که تأیید کننده گزارش ثبت شده از سوی Sharifat و همکاران در NCBI می‌باشد (Coordinators, 2016). نکته‌ی قابل توجه در بررسی فیلوژنتیکی توالی نوکلئوتیدی به دست آمده این است که این توالی بیش‌ترین نزدیکی را در آزمون‌های حداکثر درست‌نمایی (ML) و اتصال- همسایگی (NJ) به زیرگونه *C. pennaceus quasimagnificus* نشان می‌دهد و به احتمال زیاد شکم‌پایی که در این منطقه حضور دارد متعلق به این زیرگونه باشد.

گونه *C. pennaceus quasimagnificus* پیش از این در دریای عمان (سواحل کشور عمان) و همچنین دریای سرخ (خلیج عقبه) گزارش شده بود. حداکثر اندازه‌ی مشاهده شده آن در دریای سرخ ۴۳ میلی‌متر و دریای عمان ۸۸ میلی‌متر بوده است (Coomans and Moolenbeek, 1990; Wils, 1986) در حالی که حداکثر اندازه در نمونه‌های جمع‌آوری شده در این تحقیق ۵۱ میلی‌متر می‌باشد. رابطه سطح شوری آب در این سه منطقه با اندازه صدف حلزون‌های هر منطقه جالب است (با افزایش شوری اندازه صدف کوچک می‌شود). این زیرگونه دارای شکل، الگوهای سطحی و رنگ‌های متنوعی است ولی به‌طورکلی از

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.2.10.4]

ظاهر عمومی سایر اعضای گونه *C. pennaceus* پیروی می‌کند (Bosch and Bosch, 1982). در این گونه صدف به رنگ سفید خاکی است که با رنگ آبی مایل به بنفش خاکستری پوشیده شده است. البته سایر طرح‌ها مثل شبه زرد تا صورتی کرمی، نارنجی تا قهوه‌ای روشن و یا صورتی رنگ تا قرمز هم قابل مشاهده هستند. صدف در این گونه دارای خطوط نازک و ضخیمی است که به صورت مشبک قرار گرفته‌اند و اشکال مثلثی را ایجاد می‌کنند (CM Pereira, 2010). نمونه‌های مشاهده شده در این تحقیق نیز دارای زمینه سفید رنگ بودند که یک رنگ قهوه‌ای روشن آن را می‌پوشاند و خطوط مشبک هلالی بر روی آن ایجاد می‌کرد.

نتایج آنالیز فیلوژنتیکی نشان‌دهنده‌ی انشعاب زیادی در میان اعضای این گروه است. همان گونه که ذکر شد توالی به دست آمده شباهت بسیار زیادی (فاصله صفر) را به زیرگونه *C. pennaceus quasimagnificus* (گزارش شده از جزیره Masirah، کشور عمان) با شماره دسترسی KJ549944.1 دارد و پس از آن بیش‌ترین نزدیکی را به توالی دیگر گزارش شده از جزیره‌ی قشم توسط Sharifat و همکاران (به شماره دسترسی LC006942) دارد. حداکثر فاصله را هم از توالی ثبت شده KJ549970.1 (گزارش شده از ماداگاسکار) دارد (Puillandre *et al.*, 2015).

زهر این شکم‌پایان حاوی کونوتوکسین‌های مختلفی است که در گونه‌ها، افراد و مکان‌های جغرافیایی مختلف، متفاوت‌اند. دامنه‌ی حضور کونوتوکسین‌های مختلف در گروه‌های متفاوت کونوس‌ها همچنان در حال بررسی است. alpha-conotoxin-like مشخص شده در زهر، کونوتوکسینی است که در سایت یونیپورت[1] با شماره H9N3W9-CONQU ثبت شده است و از سال ۲۰۱۲ تا کنون ۲۱ گزارش مربوط به آن فقط از گونه *Conus quercinus* گزارش شده و هیچ گزارشی از حضور آن در گونه‌های دیگر وجود ندارد. لذا تحقیق حاضر اولین گزارش در اثبات وجود این کونوتوکسین در گونه‌ای غیر از *C. quercinus* می‌باشد. این alpha-conotoxin-like به عنوان عضوی از این گروه، ساختار سیستئینی عمومی در فوق خانواده-A را به شکل CC-C-C (ساختار نوع I) نشان می‌دهد (Chang and Duda Jr, 2012)، که ساختار اصلی سیستئینی در این فوق خانواده می‌باشد (Robinson *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2004). این پپتید از طریق اثر بر غشای پس سیناپسی با اتصال به گیرنده‌های نیکوتینی استیل کولینی[2] و مهار آن‌ها در سیستم عصبی و خصوصاً در محل اتصالات عصبی- عضلانی (استیل کولین انتقال دهنده منحصر به فرد در اتصال سیستم عصبی به همه عضلات اسکلتی است)، مانع از انتقالات عصبی در آن‌ها شده و در نتیجه می‌تواند مانع از انتقال حس درد از عضلات اسکلتی به سیستم عصبی مرکزی شده و بنابراین بالقوه می‌تواند اثر ضد درد قدرتمندی داشته باشد (Jungo *et al.*, 2012; Katzung *et al.*, 2017)، بنابراین بررسی‌های زیست‌شناختی برای شناخت اثرات جانبی احتمالی بر موجودات زنده لازم است. نتیجه‌ی آزمون حداقل غلظت کشندگی این پپتید هیچ اثری را بر روی هر دو نوع باکتری‌های گرم مثبت و منفی مورد آزمایش نشان نداد. این نتیجه نشان داد که این پپتید علی‌رغم امکان اثر بر انتقالات عصبی، بر روی سلول‌های زنده اثری ندارد؛ لذا می‌تواند گزینه مناسبی برای بررسی‌های دیگر آزمایشگاهی و کلینیکی جهت رسیدن به داروی ضد درد باشد. پیش از این هم بر روی پپتیدهای دیگری از کونوتوکسین‌ها تحقیقات دارویی انجام شده و نتایج بسیار مطلوبی به دست آمده است و برخی داروها همچون زیکونتید[3] حتی آزمایش‌های کلینیکی را هم پشت سر گذاشته‌اند (Cesare Bonezzi and Group, 2011; McGivern, 2007; Schmidtko *et al.*, 2010; Staats *et al.*, 2004).

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مراتب قدردانی خود را از کمک و همراهی آقایان دکتر احمد نوری و دکتر شریف رنجبر که در امر نمونه‌برداری این پروژه کمک فراوان نمودند و دکتر جعفر جلایی که در انجام مراحل آزمایشگاهی کمک مؤثر بودند و همچنین دکتر علی‌رضا دهقانی و دکتر *Dominic* Winter که آنالیز دستگاهی را در دانشگاه بن کشور آلمان انجام دادند، ابراز می‌دارند.

[1] Uniprot
[2] Nicotinic Acetyl Choline Receptor (nAChR)
[3] Ziconotide

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.2.10.4]

منابـع

Biass, D., Dutertre, S., Gerbault, A., Menou, J.-L., Offord, R., Favreau, P., Stöcklin, R. 2009. Comparative proteomic study of the venom of the piscivorous cone snail Conus consors. Journal of Proteomics. 72(2): 210-218.

Bosch, D., Bosch, E. 1982. Seashells of Oman: 1-206. London/New York.

Civera, C., Sevilla, A.V.Z., Bruix, M., Gago, F., Garci, A.G., Sevilla. P. 1999. Solution Structure Determination by Two-Dimensional H NMR of v-Conotoxin MVIID, a Calcium Channel Blocker Peptide. Biochemical and Biophysical Research Communications. 254(1): 32-35.

Cesare Bonezzi, M., Group, I.Z. 2011. Italian registry on long-term intrathecal ziconotide treatment. Pain Physician. 14: 15-24.

Chang, D., Duda Jr, T.F. 2012. Extensive and continuous duplication facilitates rapid evolution and diversification of gene families. Molecular Biology and Evolution. 29(8): 2019-2029.

Pereira, J.R., Seabra, S.G., Pina-Martins, F., Paulo, O.S., Fonseca, P.J. 2010. *Conus pennaceus*: a phylogenetic analysis of the Mozambican molluscan complex. African Journal of Marine Science. 32(3): 591-599.

Coomans, H., Moolenbeek, R. 1990. Mollusca; Gastropoda. Bijdragen tot de Dierkunde. 60(3/4): 257-262.

Coordinators, N.R. 2016. Database resources of the national center for biotechnology information. Nucleic acids research. 44(Database issue): D7.

Dutertre, S., Lewis, R.J. 2012. Cone snail biology, bioprospecting and conservation. Snails: Biology, Ecology and Conservation: 85-105.

Espino, S.S., Heralde, F.M., Olivera, B.M., Kohn, A.J., Corneli, P.S., Santos, A.D., Villanueva, J.A., Concepcion, G.P. 2008. Feeding behavior, phylogeny, and toxinology of Conus furvus Reeve, 1843 (Gastropoda: Neogastropoda: Conidae). Nautilus. 122(3): 143-150.

Folmer, O., Black, W., Hoen, R., Lutz, R., Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology. 3(5): 294-299.

Fretz, R., Schaeren, W., Tanner, M., Baumgartner, A. 2007. Screening of various foodstuffs for occurrence of Coxiella burnetii in Switzerland. International Journal of Food Microbiology. 116(3): 414-418.

Gerrit, J., Gerwig, H.G.H., Reto Stöcklin, J.P., Kamerling, RB. 2013. Glycosylation of Conotoxin. Marine Drugs. 11: 623-642.

Gerwig, G.J., Hocking, H.G., Stöcklin, R., Kamerling, J.P., Boelens, R. 2013. Glycosylation of conotoxins. Marine Drugs. 11(3): 623-642.

Hickman, C.P., Roberts, L.S., Larson, A., Ober, W.C., Garrison, C. 2008. Integrated principles of zoology. McGraw-Hill New York.

Hoffman, J.I. 2015. Biostatistics for Medical and Biomedical Practitioners. Academic Press.

James, M.J. 1980. Comparative morphology of radular teeth in Conus: observations with scanning electron microscopy. Journal of Molluscan Studies. 46(1): 116-128.

Jungo, F., Bougueleret, L., Xenarios, I., Poux, S. 2012. The UniProtKB/Swiss-Prot Tox-Prot program: A central hub of integrated venom protein data. Toxicon. 60(4): 551-557.

Katzung, B.G., Masters, S.B., Trevor, A.J .2017. Basic & Clinical Pharmacology. 1264 p.

Kohn, A. 2001. Maximal species richness in Conus: diversity, diet and habitat on reefs of northeast Papua New Guinea. Coral Reefs. 20(1): 25-38.

Kroenke, K., Krebs, E.E., Bair, M.J. 2009. Pharmacotherapy of chronic pain: a synthesis of recommendations from systematic reviews. General Hospital Psychiatry. 31(3): 206-219.

Lewis, R.J., Dutertre, S., Vetter, I., Christie, M.J. 2012. Conus venom peptide pharmacology. Pharmacological Rviews. 64(2): 259-298.

Lorenz, F., Puillandre, N. 2015. Conus hughmorrisoni, a new species of cone snail from New Ireland, Papua New Guinea (Gastropoda: Conidae). European Journal of Taxonomy. 129: 1-15.

Magbubah Essack, V.B.B.A.J.A.C.A. 2012. Conotoxins that confer therapeutic possibilities. Marine Drugs. 10: 1244-1265.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.2.10.4]

McGivern, J.G. 2007. Ziconotide: a review of its pharmacology and use in the treatment of pain. Neuropsychiatric Disease and Treatment. 3(1): 69-85.
Puillandre, N., Duda, T.F., Meyer, C., Olivera., B.M., Bouchet. P. 2015. One, four or 100 genera? A new classification of the cone snails. Journal of Molluscan Studies. 81: 1-23.
Norton, R.S., Olivera, B.M. 2006. Conotoxins down under. Toxicon. 48(7): 780-798.
Olivera, B.M., Gray, W.R., Zeikus, R., McIntosh, J.M., Varga, J., Rivier, J., De Santos, V., Cruz, L.J. 1985. Peptide neurotoxins from fish-hunting cone snails. Science. 230(4732): 1338-1343.
Olivera, B.M., Rivier, J., Clark, C., Ramilo, C.A., Corpuz, G.P., Abogadie, F.C., Mena, E.E., Hillyard, D., Cruz, L. 1990a. Diversity of Conus neuropeptides. Science. 249(4966): 257-263.
Olivera, B.M., R.J., Clark, C., Ramilo, C.A., Corpuz, G.P., Abogadie, F.C., Mena. E.E., Woodward S.R., Hillyard, D.R., Cruz, L.J. 1990b. Diversity of Conus neuropeptides. Science. 249(4966): 257-263.
Olivera, B.M., Seger, J., Horvath, M.P., Fedosov, A.E. 2015. Prey-capture strategies of fish-hunting cone snails: behavior, neurobiology and evolution. Brain, Behavior and Evolution. 86(1): 58-74.
Olivera, B.M., Walker, C., Cartier, G.E., Hooper, D., Santos, A.D., Schoenfeld, R., Shetty, R., Watkins, M., Bandyopadhyay, P., Hillyard, D.R. 1999. Speciation of cone snails and interspecific hyperdivergence of their venom peptides: potential evolutionary significance of introns. Annals of the New York Academy of Sciences. 870(1): 223-237.
Parveen, G., Khan, F., Ali, H., Ibrahim, T., Shah, R. 2017. Determination of lethal dose (LD50) of Venom of four different poisonous snakes found in Pakistan. Biochemistry & Molecular Biology Journal. 3(3):1-4.
Prashanth, J.R., Brust, A., Jin, A.H., Alewood, P.F., Dutertre, S., Lewis, R.J. 2014. Cone snail venomics: from novel biology to novel therapeutics. Future Medicinal Chemistry. 6(15): 1659-1675.
Puillandre, N., Bouchet, P., Duda, T., Kauferstein, S., Kohn, A., Olivera, B., Watkins, M., Meyer, C. 2014. Molecular phylogeny and evolution of the cone snails (Gastropoda, Conoidea). Molecular Phylogenetics and Evolution. 78: 290-303.
Puillandre, N., Duda, T., Meyer, C., Olivera, B., Bouchet, P. 2015. One, four or 100 genera? A new classification of the cone snails. Journal of Molluscan Studies. 81(1): 1-23.
Puillandre, N., Watkins, M., Olivera, B.M. 2010. Evolution of Conus peptide genes: duplication and positive selection in the A-superfamily. Journal of Molecular Evolution. 70(2): 190-202.
Robinson, S.D., Safavi-Hemami, H., McIntosh, L.D., Purcell, A.W., Norton, R.S., Papenfuss, A.T. 2014. Diversity of conotoxin gene superfamilies in the venomous snail, Conus victoriae. PLoS One. 9(2): e87648.
Santos, A.D., McIntosh, J.M., Hillyard, D.R., Cruz, L.J., Olivera, B.M. 2004. The A-superfamily of conotoxins structural and functional divergence. Journal of Biological Chemistry. 279(17): 17596-17606.
Schmidtko, A., Lötsch, J., Freynhagen, R., Geisslinger, G. 2010. Ziconotide for treatment of severe chronic pain. The Lancet. 375(9725): 1569-1577.
Spielmann, H., Genschow, E., Liebsch, M., Halle, W. 1999. Determination of the starting dose for acute oral toxicity (LD50) testing in the up and down procedure (UDP) from cytotoxicity data. ATLA. 27(6): 957-966.
Staats, P.S., Yearwood, T., Charapata, S.G., Presley, R.W., Wallace, M.S., Byas-Smith, M., Fisher, R., Bryce, D.A., Mangieri, E.A., Luther, R.R. 2004. Intrathecal ziconotide in the treatment of refractory pain in patients with cancer or AIDS: a randomized controlled trial. Jama. 291(1): 63-70.
Wils, E. 1986. Red Sea Malacology III. Revisie: de Conidae van de Rhode Zee. Gloria Maris. 25: 161-206.
Zauner, S., Zuschin, M. 2016. Diversity, habitats and size-frequency distribution of the gastropod genus *Conus* at Dahab in the Gulf of Aqaba, Northern Red Sea. Zoology in the Middle East. 62(2): 125-136.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1397.8.2.10.4]