

蜘蛛毒素及蜘蛛丝的结构与药理作用研究进展

毕建云^a, 刘尧^b, 杨文翠^b, 刘文静^b(山东中医药大学, a.实验中心, b.药学院, 济南 250355)

摘要: 蜘蛛来源于野生动物资源, 其毒素和蜘蛛丝均具有较强的生物学活性, 在生物学领域和材料工程领域应用广阔。本文对国内外蜘蛛毒素及蜘蛛丝的结构及药理作用研究文献进行了总结分析, 综述了近年来蜘蛛毒素在对离子通道的作用、神经保护、抗肿瘤、抗菌及对酶活性作用等方面的研究进展, 蜘蛛丝在促凝血、神经修复、作为复合载体方面的应用。为今后蜘蛛毒素及蜘蛛丝的进一步研究提供参考, 为发展人工养殖及新药研发打下基础。

关键词: 蜘蛛毒素; 蜘蛛丝; 结构; 药理

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2021)19-2475-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.19.024

引用本文: 毕建云, 刘尧, 杨文翠, 等. 蜘蛛毒素及蜘蛛丝的结构与药理作用研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(19): 2475-2480.

Research Progress on Structure and Pharmacology Effect of Spider Toxin and Spider Silk

BI Jianyun^a, LIU Yao^b, YANG Wencui^b, LIU Wenjing^b(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, a. Experimental Center; b.School of Pharmacy, Jinan 250355, China)

ABSTRACT: Spiders are derived from wild animal resources, and their toxins and spider silk have strong biological activities, which are widely used in the field of biology and material engineering. In this paper, research literature on the structure and pharmacology effect of spider venom and spider silk at home and abroad are summarized and analyzed, focus on the research progress of spider toxin on ion channel, neuroprotection, anti-tumor, antibacterial and enzyme activity in recent years. And the application of spider silk in procoagulant, nerve repair and composite carrier are reviewed as well. It will provide a reference for the further research on spider toxin and spider silk, and lay a foundation for the development of artificial breeding and new drug research.

KEYWORDS: spider toxin; spider silk; structure; pharmacology

蜘蛛是一种小型动物, 在生活中随处可见, 其属于节肢动物门蛛形纲蜘蛛目。在中国有四千多种, 种类较多的科有漏斗蛛科、园蛛科、狼蛛科、球蛛科等, 现代研究较多的蜘蛛为黑寡妇蜘蛛、海南捕鸟蛛、敬钊缨毛蛛等^[1]。蜘蛛自古以来便可入药, 有其独特的药用价值。从蜘蛛整体来说, 蜘蛛味咸, 微苦, 有大毒, 具有消炎、消毒、抗肿瘤等作用, 临床可用于多种疾病的治疗。蜘蛛可以分泌蜘蛛毒素, 多为蛋白质、多肽类, 对神经系统具有毒性作用^[2]。除了蜘蛛毒素有药用价值外, 蜘蛛分泌的蜘蛛丝也具有较大的药理活性。蜘蛛丝拥有纤维独特的韧性和弹性, 其作为蛋白与空气接触时可使硬度增加^[3]。现分别综述蜘蛛毒素及蜘蛛丝的结构及药理作用。

1 蜘蛛毒素

1.1 蜘蛛毒素主要成分

蜘蛛毒素中主要含有小分子物质、多肽类、蛋白质(可分为毒性蛋白、非毒性蛋白)及一些酶类。

1.1.1 小分子物质 蜘蛛毒素中的小分子物质主要包含一些无机盐、脂类、有机酸、游离氨基酸, 有的还含有生物碱和多糖。有学者在阿肯色他兰登图蜘蛛中发现了磷脂酸; 在棕隐士蜘蛛中发现了鞘磷脂酸 D 及溶血素; 在南美流浪者蜘蛛中发现了组胺、5-羟色胺; 在悉尼漏斗网蜘蛛中发现了聚胺、精胺等^[4]。但目前对这些小分子物质的作用研究文献较少。

1.1.2 蛋白质及酶类 研究发现在黑腹滨藜蜘蛛毒中, 除了富含半胱氨酸的肽毒素外, 还有其他可能的毒液成分, 如蛋白酶抑制剂、防御素和丝氨酸蛋白酶。此外, 还鉴定出富含甘氨酸的蛋白质, 这是一类在该属中从未被描述过的毒液成分^[5]。Khamtorn 等^[6]对棕寡妇蜘蛛毒液进行粗分离, 通过 LC-MS/MS 对所分离出的肽和蛋白质进行鉴定, 结果表明, 粗毒液中含有多种物质, 包括拿铁毒素、载脂蛋白、血青素、几丁质酶、精氨酸激酶、过敏原抗原 5 样蛋白、类虾青素金属蛋白

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目(2019-0020); 山东中医药大学科学基金项目(2018zk43)

作者简介: 毕建云, 女, 硕士, 实验师 Tel: (0531)89628551 E-mail: bjy1217@126.com

酶、丝氨酸蛋白酶等。澳大利亚漏斗蜘蛛中分离出透明质酸酶、碱性磷脂酶、非特异性水解酶、乙酰胆碱酯酶等^[7]。

1.1.3 多肽类 大多数蜘蛛毒液的主要成分是多肽。蜘蛛是仅次于昆虫的陆地生物的最大分类群,在意识到蜘蛛毒肽的巨大药物潜力之后,研究才成为焦点。其中,在众多的毒素成分中研究最多且最深入的也是多肽类成分。多肽类成分可作用于靶位细胞上的离子通道而起到镇痛、抗炎作用;也可以起到明显的抗肿瘤、神经保护及抗菌作用。

研究者从蜘蛛毒液中分离出 2 个新的肽毒素 Cl6a 和 Cl6b,对电压门控钠(NaV)1.7 的抑制程度最高。对 NaV1.7/NaV1.8 嵌合通道的分析显示 Cl6b 是一种位点 4 神经毒素。定点突变分析表明, D816、V817 和 E818 显著影响了 Cl6b-NaV1.7 相互作用的效果,表明这些残基可能直接影响 NaV1.7 与 Cl6b 的相互作用^[8]。蜘蛛毒素中存在的抗菌肽,是起抗菌活性的主要物质,能抑制和杀死病原微生物,抗菌肽在结构上为 α -螺旋阳离子抗菌肽,具有两亲性,二级结构为螺旋结构,在结构两侧,有亲水性和疏水性氨基酸残基,形成亲水面与疏水面使得细胞膜相互作用,进而细胞膜通透性增大,细胞膜裂解,从而导致细菌死亡^[9]。

1.2 蜘蛛毒素相关生物学活性

1.2.1 对离子通道的调控作用

1.2.1.1 对钠离子通道调控 NaV 通道对心血管、肌肉和神经系统的正常功能至关重要,可以起到调节细胞膜电位、中枢神经系统、细胞增殖和凋亡等作用,并构成细胞膜动作电位^[10]。根皮毒素(phlotoxin-1, PhlTx1)是在狼蛛毒液中发现的一种多肽,属于抑制性半胱氨酸毒素家族,通过对 31 种离子通道类型的 PhlTx1 进行功能测试,确定了 NaV1.7 是该毒素的主要靶点,体内测试结果显示,鞘内注射 PhlTx1 降低了小鼠在急性疼痛和炎症阶段对福尔马林的反应,而没有神经毒性的迹象^[11]。裂腹天鹅蛛毒中分离得到的新肽 cyrotoxin-1a (CyrTx-1a),这种由 33 个氨基酸组成的毒素属于半胱氨酸抑制剂,在低纳摩尔范围内抑制 hNav 1.1-1.3 和 1.6-1.7 通道,而在微摩尔范围内抑制 hNav 1.4-1.5 和 1.8 通道,从而起到镇痛、抗伤害作用^[12]。蟹蛛的门控修饰剂毒素 Hm-3 与 NaV1.4 通道 VSD-I 中的 S3-S4 细胞外环结合,并通过 VSD-I 的突变抑制门控孔电流通过该通道,导致低

钾和正常钾周期性麻痹^[10]。PhTx2-1 是从毒素级分 PhTx2 中分离出的 53 个氨基酸残基的肽,发现这一类毒素以双功能的方式调节心脏 NaV 通道,导致失活过程的改变和钠峰电流的降低^[13]。

1.2.1.2 对钾离子通道调控 电压门控钾通道(K_V)、钙激活钾通道(K_{Ca})在信号传导过程中具有重要作用,在调节神经递质释放、心率、神经细胞分泌等方面发挥重要作用。从蜘蛛毒中提取的肽神经毒素(heteropodatoxin 3, HpTx3)可以抑制 K_V4.2 通道。从拉切萨纳属蜘蛛的毒液中纯化的成孔肽 LaFr26 被选择性地结合到表达 K⁺通道的超极化细胞中^[14]。而拉切萨纳蜘蛛毒素可能是通过抑制其机械门控传感器,对心脏敏感的钾通道有抑制作用^[15]。海南捕鸟蛛毒素-I(Hainan ornithotoxin-I, HNTX-I)则主要利用 N 端氨基酸作用于迟发性外向钾电流(IK)通道,IK 通道上与毒素结合的关键位点可能在 HNTX-I 上的第 1, 3, 5, 7 位氨基酸残基^[16]。

1.2.1.3 对钙离子通道调控 电压门控钙通道存在于突触前神经末梢,天然钙通道通常根据电生理和药理学特性分类为 L、N、P、Q 或 R 型通道或 T 型通道。蜘蛛毒肽可激活外周伤害性感受器,通过感受器产生的刺激,动作电位发生改变,从初级传入神经到达背根神经节的感觉神经元。继续通过感觉神经元之间的轴突传入脊髓,传出神经使膜去极化、电压门控钙通道(voltage-gated calcium channel, VGCC)激活和钙内流,突触兴奋,产生神经递质(包括谷氨酸)、疼痛肽(如 P 物质)和与降钙素基因有关的肽,从而激活投射离子神经元和脊柱周围神经元对突触的作用,将脊髓边缘信号调节为感觉信号^[17]。因此, VGCC 在疼痛诱导条件下的表达和功能的变化可能成为疼痛治疗的潜在靶点。小频率的电刺激可使大鼠输精管产生收缩,虎纹毒素-XVI(HWTX-XVI)可以几乎完全抑制这种现象,其机理为 HWTX-XVI 对大鼠背根神经节细胞(IC₅₀=60 nmol·L⁻¹)N 型钙通道具有特异性抑制作用^[18]。然而,还有一些研究表明 α 1 β -蜘蛛毒素(非特异性钙通道拮抗剂)与 ω -MVIIA 锥蝾毒素(选择性 N 型钙通道拮抗剂)相比,可以逆转周围炎症的所有胶质病理特征,具有更加明显的抗伤害和抗炎症疼痛的作用^[19]。

1.2.2 对神经保护作用 在认知功能中有一类起主要作用的兴奋性神经递质,为 L-谷氨酸

(*L*-glutamic acid, *L*-Glu), 它存在于哺乳动物的中枢神经系统中。许多神经系统疾病的继发性损伤是由于 *L*-Glu 在突触间大量存在、聚集, 从而产生兴奋性毒性。以往的研究已经表明, 从蜘蛛异构体的毒液中提取的神经活性化合物在体内外都具有神经保护作用。目前从蜘蛛毒液中提取的部分 RT10 型多肽对 *L*-Glu 兴奋性毒性损伤的神经元和胶质细胞原代培养存在潜在的神经保护作用^[20]。敬钊缨毛蛛毒素能提高超氧化物歧化酶的活性, 促进细胞抗氧化能力, 下调环氧化酶-2 表达量, 对于脑缺血再灌注损伤有神经保护作用^[21]。在成年小鼠进行的局部缺血研究中, 紫檀毒素 1 具有神经保护作用在短暂脑中动脉闭塞 1 h 后, 注射紫檀毒素 1 可阻断酸敏感离子通道, 可将同侧半球梗死的百分比降低 50% 以上^[22]。

1.2.3 抗肿瘤活性 蜘蛛毒素中的肽类毒素具有抗肿瘤活性, 能够通过调节细胞周期、激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶途径或使线粒体失活, 而对肿瘤细胞产生致死作用。其中一些还针对各种类型的离子通道, 如 VGCC、Nav 通道等, 以及其他与疼痛相关的靶点产生抗肿瘤活性。番茄红素-I 是从穴居狼蛛中分离出来的一种阳离子肽, 通过激活双重信号通路, 包括抑制增殖和诱导凋亡, 在体外和体内都能抑制肿瘤的生长, 还能激活线粒体介导的死亡途径以使肿瘤细胞对凋亡敏感, 并上调 p27 以抑制细胞增殖^[23]。来源于敬钊缨毛蛛的重组敬钊毒素(Jingzhaotoxin, JZTX)-III, 对小鼠肝癌细胞株 Hepal-6 有影响。重组大肠杆菌与 TrxJZTX-III 多肽能显著抑制 Hepal-6 细胞的增殖, 阻止干细胞的聚集, 抑制增殖细胞核抗原蛋白的表达, 防止迁移^[24]。相关研究发现, 采用电刺激提取蜘蛛毒, 其毒性成分中极性最小的可诱导肿瘤坏死, 主要诱导 A549 细胞凋亡或坏死而起作用。研究还发现细胞毒性组分的 PLA2 活性在所有组分中也显示出细胞毒性, 但 PLA2 的比活性与细胞毒性之间没有关系^[25]。王恩军等^[26]进一步研究发现蜘蛛毒素对人肺腺癌细胞株 A549 的抑制作用强度与它的浓度和与其在细胞上的作用时间呈正相关。Bonfanti 等^[27]研究发现黑蜘蛛毒(phoneutria nigriventer, PnV)是胶质母细胞瘤(glioblastoma, GB)细胞系中抗肿瘤活性成分的潜在来源。PnV 在体外激活巨噬细胞, 使其具有不同的 M1, 有效地抑制肿瘤的发展。其主要的作用

机制: 生物分子诱导的较小坏死的异种 GB; PnV 激活了天然免疫系统; 毒液增加了血单核细胞和巨噬细胞向肿瘤的迁移; 活化的 PnV 巨噬细胞具有不同于 M1 的特性, 有可能在不促进肿瘤发生的情况下对抗肿瘤。而体内抗肿瘤活性与体外有一定的区别, 主要在激活巨噬细胞时不产生抗炎和促炎细胞因子; PnV 治疗的动物中, 巨噬细胞可以被募集到肿瘤中, 因为肿瘤高度坏死, 肿瘤微环境很可能缺氧, 进一步加速肿瘤细胞凋零; PnV 可诱导血液单核细胞增加, 并且这些细胞优先被定向到肿瘤。蜘蛛毒素除对以上肿瘤细胞有杀伤作用外, 还对人胶质瘤(NG97)、胶质母细胞瘤(U-251)和宫颈腺癌(HeLa)细胞以及小鼠非肿瘤成纤维细胞(L929)均具有杀伤作用。其作用机制: 通过诱导细胞死亡来降低 U-251 细胞的活力, 及抑制细胞周期来降低 NG97 细胞的活力, 而对正常细胞(L929)没有细胞毒性作用^[28]。

1.2.4 抗菌活性 从狼蛛的毒素中提取分离的抗菌肽 LyeTx I, 在抑制大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等方面有较强活性, 在抑制克鲁西假丝酵母、新生隐球菌等有中等强度活性, 除以上作用外, 还可对兔红细胞具有一定的溶血活性^[29]。通过测试来自拉切萨纳塔拉巴耶维毒素的 5 种抗菌肽(latacin1, 2a, 3a, 4b 和细胞昆虫毒素 CIT1a)具有抑制沙眼衣原体感染的能力。用含所选肽基因的质粒载体转染 HEK293 细胞, 外源基因的控制表达导致沙眼衣原体在感染细胞内的活性显著降低。CIT1a 肽在病原体生命周期的早期发挥其强大的抗衣原体作用^[30]。

1.2.5 对酶活性的影响 在很长一段时间里, 酶和蛋白质在许多蜘蛛毒液中被认为次要角色。大多数文献局限于酶的描述, 以细胞外基质或细胞膜为靶标, 促进毒素在猎物中的运动, 成为所谓的传播因子。这些酶包括透明质酸酶、胶原酶和磷脂酶。透明质酸酶在细胞外基质的关键成分透明质酸中裂解 *N*-乙酰氨基葡萄糖和葡萄糖酸钠之间的 1-4-键。鞘磷脂酶是水解鞘磷脂并生成了磷酸胆碱及神经酰胺的酶。

鞘磷脂酶 D 是存在于菱形蜘蛛毒液中的主要毒素成分, 它在结构上分为 2 种异构体。I 类鞘磷脂酶 D 含有单一的二硫键和可变环。II 类鞘磷脂酶 D 提供一个额外的链内二硫键, 它连接一个柔性环和一个催化环^[31]。这些分子在磷酸二酯键的

末端催化细胞膜磷脂的降解,如鞘磷脂,以释放胆碱并产生神经酰胺 1-磷酸。鞘磷脂酶 D 还能以 Mg^{2+} 依赖的方式降解溶血磷脂酰胆碱,释放溶血磷脂酸,在对照试验中,天然形式和重组形式的鞘磷脂酶 D 都可以触发皮肤坏死损害,导致血管通透性增加,在接种部位和全身产生强烈的炎症反应,促进血小板聚集^[32]。

1.2.6 其他药理活性 蜘蛛毒素除具有以上功能外,还可以通过其他机制起到镇痛、调节细胞分泌、抗炎等作用。蜘蛛毒素中 PnTx4(5-5)对前列腺素 E2、角叉菜胶和 L-Glu 诱导的大鼠不同疼痛模型均有镇痛作用,其作用机制可能与抑制 L-Glu 能系统有关^[33]。

2 蜘蛛丝

蜘蛛丝是一种有各种用途的天然材料。在古代,希腊人和罗马人用蜘蛛丝软膏覆盖战伤止血,这些软膏还被用作收敛、止血和退烧。由于其强度和延伸性的结合,蜘蛛丝具有非凡的机械性能,在生物学领域和材料工程领域应用广阔^[34]。

2.1 蜘蛛丝的结构特点

蜘蛛丝是天然的纤维蛋白,每种丝由不同的丝腺分泌,能产生不同类型的丝。据研究,蜘蛛有 8 种丝腺,如大壶状腺、小壶状腺、柱状腺、葡萄状腺等。大壶腹丝(major ampullate silk, MA)被大多数蜘蛛用作安全线,也被圆网蜘蛛用作网框和半径。它具有高强度、高延伸性的机械性能^[35]。

MA 由一层脂类和一层糖蛋白组成,覆盖纤维状的外核和内核。核心由 2 种蛋白质或蜘蛛蛋白组成,称为 MaSp1(来源于主要壶腹蜘蛛蛋白 1)和 MaSp2(主要壶腹蜘蛛蛋白 2)。这些蛋白质包含有序的晶状区和无序的非晶状区。晶状区包含堆叠的褶皱 β 片层,而非晶状区根据氨基酸组成以 310 个螺旋、 β -转角或 β -螺旋以及其他蛋白质二级结构的矩阵排列。MaSp1 和 MaSp2 包含一个高度重复的氨基酸序列区域和非重复但保守的 C-和 N-末端区域。这些末端结构域对蛋白质二级结构的形成有重要作用^[36]。

蛛丝蛋白 N 末端结构域(N-terminal domain, NTD)在这一过程中起着关键的作用:它通过复杂的二聚机制聚合蛛丝蛋白。研究者分析了 NTDs 的序列,发现其中氨基酸蛋氨酸的含量异常高。同时将蜘蛛丝蛋白 NTD 疏水核心中的所有蛋氨酸从一种幼蛛的拖曳丝突变为亮氨酸。突变后的 NTD

具有很强的稳定性,并在理论速度极限下折叠。突变体的结构被保留了下来,但是它的二聚能力却受到了严重的损害。发现核心蛋氨酸的侧链起到了激活折叠的作用,从而可以获得各种构象,并使结合界面适应紧密结合。疏水核中的蛋氨酸使蛋白质具有动态改变形状从而优化其功能的能力^[37]。

2.2 蜘蛛丝在医学上的应用

蜘蛛丝在医学上的应用研究较少,但因其结构的特殊性,及其无溶血、无细胞毒性等安全性,常作为临床药物的包合材料或者载体使用^[38];也可作为促凝血材料及神经修复支撑材料使用。

2.2.1 促凝血作用 凝血过程一般有 2 种,一种是内源性凝血途径,另一种是外源性凝血途径。研究者通过体外凝血与止血试验,以云南白药为对照组,研究蜘蛛丝的止血效果,结果表明,蜘蛛丝能显著降低活化部分凝血活酶时间、凝血酶原时间、凝血酶时间。蛛丝蛋白具有的蛋白质多级结构通过激活内源性凝血途径和外源性凝血途径来发挥凝血与止血作用。由于蜘蛛丝这种良好的凝血与止血性能,临床上常将其应用于伤口包覆上,例如作为血管伤口修复材料,止血片和缝合线应用,使用蜘蛛丝作为覆盖材料也有不错的疗效^[39]。

2.2.2 神经修复作用 周围神经损伤后的快速恢复对于神经修复的成功和最佳功能预后至关重要。关于供体部位的发病率,自体移植显示出很大的局限性,这就迫切需要神经重建的替代选择品。蜘蛛丝被认为是一种有利于细胞黏附、迁移和增殖的材料,其在导管中的应用引起了人们的极大兴趣,尤其是与细胞结合促进神经再生方面,显示了巨大的潜能。研究者将人类雪旺细胞和脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)在蜘蛛丝上共培养。经免疫染色后,将 ADSCs 和雪旺细胞接种于蜘蛛丝支架上共培养 21 d。结果表明,细胞贴附在丝上,沿着丝纤维排列。随着培养时间的延长,细胞沿丝向迁移,数量增加,形成一个几乎融合的细胞层。免疫染色结果表明,细胞层由 ADSCs 和雪旺细胞组成。因此,蜘蛛丝通过为定向生长和支持神经再生和再髓鞘化的细胞提供指导结构,可以找到一种有效的替代自体神经移植的方法^[40]。

2.2.3 作为复合载体 蜘蛛丝是一种具有出色机械性能、生物相容性和生物降解性的生物材料。氧化铁纳米颗粒可作为 MRI 造影剂和基于热疗的

肿瘤治疗剂,用于生物分子的检测和分析,靶向药物的输送。用蜘蛛丝作为载体与氧化铁制备磁性氧化铁纳米微球,该微球具有很高的磁性和增强化疗药物负载潜力,可潜在地应用于磁共振成像和作为肿瘤治疗的药物载体。复合球体可通过高温和药物输送潜在地用于联合肿瘤治疗^[41]。蜘蛛丝还可以作为抗菌剂包合材料,带正电荷的重组蜘蛛丝蛋白 eADF4(κ 16)包被的硒纳米粒(Se-NPs)对革兰氏阴性细菌 E、大肠杆菌两者的最小杀菌浓度大约比带负电荷的 Se-NPs 低 50 倍,显示出良好的杀菌效果,并克服了培养液中微粒稳定性低的问题。药物的释放是通过蜘蛛丝蛋白的表面电荷来调节^[42]。用多聚赖氨酸结构域对蜘蛛丝中 MS2 生物工程丝进行功能化,制备出杂交丝 MS2KN,基于 RNA 的治疗药物(CpG-siRNA)与 MS2KN 有效结合,能保护 CpG-siRNA 不被血清核酸酶降解,被 TLR9 阳性的巨噬细胞有效地内化和加工。其动力学和活性的改变有可能提高体内的免疫治疗效果^[43]。

3 讨论

目前蜘蛛已成为一大研究热点。随着科学技术的提高和研究水平的加强,蜘蛛毒素在经提取分离后,其多种成分均显示出镇痛抗炎、抗肿瘤、抗菌和抗病毒感染等的生物活性。蜘蛛毒素主要还是通过控制离子通道起到镇痛、抗肿瘤等作用,但是在抗菌、抑菌方面研究的还是较少,这就给蜘蛛毒素的进一步开发研究提出了新的挑战^[44]。蜘蛛丝因其结构的特殊性,如免疫原性低,可生物降解性好,已经是一种应用较为久远且广泛的材料。现阶段在医学上可以作为药物使用,多数还是作为材料使用。在开发韧带、神经、骨骼和皮肤的人工移植方面具有先进的潜在应用前景。基于蜘蛛毒素和蜘蛛丝的药理作用广泛,可推广药用蜘蛛的人工养殖,并在毒素相关成分的分离提取及新药开发方面加大研究投入,为人类造福。

REFERENCES

- [1] LI S Q, LIN Y C. Advances in spider bioinventory in China[J]. Biodivers Sci(生物多样性), 2015, 23(2): 267-270.
- [2] TIAN J P, HU Y Y, ZHANG M N, et al. History and application characteristics of domestic spider used for medicine and edible resources[J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2018, 24(3): 214-218.
- [3] SAHAR S, KIM K, THOMAS S. Spider silk for tissue

- engineering applications[J]. Molecules, 2020, 25(3): :737. Doi:10.3390/molecules25030737.
- [4] KHAMTORN P, RUNGSA P, JANGPROMMA N, et al. Partial proteomic analysis of brown widow spider (*Latrodectus geometricus*) venom to determine the biological activities[J]. Toxicon X, 2020(8): 100062. Doi: 10.1016/j.toxcx.2020.100062.
- [5] PAIVA A L B, MUDADU M A, PEREIRA E H T, et al. Transcriptome analysis of the spider *Phoneutria pertyi* venom glands reveals novel venom components for the genus *Phoneutria*[J]. Toxicon, 2019(163): 59-69.
- [6] KHAMTORN P, RUNGSA P, JANGPROMMA N, et al. Partial proteomic analysis of brown widow spider (*Latrodectus geometricus*) venom to determine the biological activities[J]. Toxicon X, 2020(8): 100062.
- [7] HERZIG V, SUNAGAR K, WILSON D T R, et al. Australian funnel-web spiders evolved human-lethal δ -hexatoxins for defense against vertebrate predators[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(40): 24920-24928.
- [8] ZHANG Q F, SI Y X, YANG L, et al. Two novel peptide toxins from the spider *Cyriopagopus longipes* inhibit tetrodotoxin-sensitive sodium channels[J]. Toxins, 2020, 12(9): 529.
- [9] MAYOR A B R, GUEVARRA L A, SANTIAGO-BAUTISTA M R, et al. *Phlogiellus bundokalbo* spider venom: Cytotoxic fractions against human lung adenocarcinoma (A549) cells[J]. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis, 2020, 26(13). Doi: 10.1590/1678-9199-jvatitd-2019-0104.
- [10] LANGENEGGER N, NENTWIG W, KUHN-NENTWIG L. Spider venom: Components, modes of action, and novel strategies in transcriptomic and proteomic analyses[J]. Toxins, 2019, 11(10): 611. Doi: 10.3390/toxins11100611.
- [11] MYSHKIN M Y, MÄNNIKKÖ R, KRUMKACHEVA O A, et al. Cell-free expression of sodium channel domains for pharmacology studies. noncanonical spider toxin binding site in the second voltage-sensing domain of human Nav1.4 channel[J]. Front Pharmacol, 2019(10): 953. Doi: 10.3389/fphar.2019.00953.
- [12] NICOLAS S, ZOUKIMIAN C, BOSMANS F, et al. Chemical synthesis, proper folding, nav channel selectivity profile and analgesic properties of the spider peptide phlotoxin 1[J]. Toxins, 2019, 11(6): 367. Doi: 10.3390/toxins11060367.
- [13] GONÇALVES T C, BENOIT E, KURZ M, et al. From identification to functional characterization of cyriotoxin-1a, an antinociceptive toxin from the spider *Cyriopagopus schioedtei*[J]. Br J Pharmacol, 2019, 176(9): 1298-1314.
- [14] PEIGNEUR S, PAIVA A L B, CORDEIRO M N, et al. *Phoneutria nigriventer* spider toxin PnTx2-1 (δ -Ctenitoxin-Pn1a) is a modulator of sodium channel gating[J]. Toxicon, 2019(159): S17. Doi: 10.3390/toxins10090337.
- [15] OKADA M, ORTIZ E, CORZO G, et al. Pore-forming spider venom peptides show cytotoxicity to hyperpolarized cancer cells expressing K⁺channels: A lentiviral vector approach[J]. PLoS One, 2019, 14(4): e0215391. Doi: 10.1371/journal.pone.0215391.
- [16] TANG X D, LI H, DU X R, et al. Inhibitory effect of spider toxin GsMTx-4 on stretch-activated large conductance calcium-activated potassium channel in the heart[J]. Jiangsu Med J(江苏医药), 2017, 43(1): 2, 4-7.
- [17] HUANG J. Molecular mechanism of calcium-activated

- potassium channel in the activation of Hainan tarantula toxin[D]. Changsha: Hunan Normal University, 2019.
- [18] DENG M C, LUO X, XIAO Y C, et al. Huwentoxin-XVI, an analgesic, highly reversible mammalian N-type calcium channel antagonist from Chinese tarantula *Ornithoctonus huwena*[J]. *Neuropharmacology*, 2014, 79: 657-667.
 - [19] WU T, WANG M, WU W, et al. Spider venom peptides as potential drug candidates due to their anticancer and antinociceptive activities[J]. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 2019(25): e146318. Doi: 10.1590/1678-9199-JVATITD-14-63-18.
 - [20] TENZA-FERRER H, MAGNO L A V, ROMANO-SILVA M A, et al. Phal β spider toxin reverses glial structural plasticity upon peripheral inflammation[J]. *Front Cell Neurosci*, 2019(13): 306. Doi: 10.3389/fncel.2019.00306.
 - [21] PRIMINI E O, LIBERATO J L, FONTANA A C K, et al. Neuroprotective properties of RT10, a fraction isolated from *Parawixia bistriata* spider venom, against excitotoxicity injury in neuron-Glia cultures[J]. *J Venom Animals Toxins Trop Dis*, 2019(25): e148818. Doi: 10.1590/1678-9199-JVATITD-1488-18.
 - [22] MI X Y, SHI X J, WANG W L. Neuroprotective effect of Chinese tarantula *Chilobrachys jingzhao* venom on cerebral ischemiareperfusion injury in mice[J]. *Chin J Neuromedicine(中华神经医学杂志)*, 2011, 10(10): 1005-1008.
 - [23] LIU Z, DENG M, XIANG J, et al. A novel spider peptide toxin suppresses tumor growth through dual signaling pathways[J]. *Curr Mol Med*, 2012, 12(10): 1350-1360.
 - [24] SUN M N, ZHAO X J, ZHAO H D, et al. Recombinant *Escherichia coli* Trx-JZTX-III represses the proliferation of mouse hepatocellular carcinoma cells through induction of cell cycle arrest[J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(6): 1800-1804.
 - [25] ANNA B M, LEONARDO G JR, MYLA S, et al. Phlogiellus bundokalbo spider venom: cytotoxic fractions against human lung adenocarcinoma(A549) cells[J]. *J Venom Anim Toxins Incl Trop*, 2020, 26(13). Doi:10.1590/1678-9199-jvatitd-2019-0104.
 - [26] 王恩军, 靳伟, 孟翠丽, 等. 4 种蜘蛛毒素对人肺腺癌细胞株 A549 体外增殖的影响[J]. *中成药*, 2012, 34(4): 728-730.
 - [27] BONFANTI A P, BARRETO N, MUNHOZ J, et al. Spider venom administration impairs glioblastoma growth and modulates immune response in a non-clinical model[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 1-16.
 - [28] BARRETO DOS SANTOS N, BONFANTI A P, ROCHA-E-SILVA T A A D, et al. Venom of the *Phoneutria nigriventer* spider alters the cell cycle, viability, and migration of cancer cells[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(2): 1398-1415.
 - [29] SANTOS D M, VERLY R M, PILÓ-VELOSO D, et al. LyeTx I, a potent antimicrobial peptide from the venom of the spider *Lycosa erythrognatha*[J]. *Amino Acids*, 2010, 39(1): 135-144.
 - [30] LAZAREV V N, POLINA N F, SHKARUPETA M M, et al. Spider venom peptides for gene therapy of Chlamydia infection[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(11): 5367-5369.
 - [31] PEDROSO A, MATIOLI S R, MURAKAMI M T, et al. Erratum: Adaptive evolution in the toxicity of a spider's venom enzymes[J]. *BMC Evol Biol*, 2016, 16: 58. Doi: 10.1186/s12862-016-0623-2.
 - [32] CHAVES-MOREIRA D, MATSUBARA F H, SCHEMCZSEN-GRAEFF Z, et al. Brown spider (*Loxosceles*) venom toxins as potential biotools for the development of novel therapeutics[J]. *Toxins (Basel)*, 2019, 11(6): E355. Doi: 10.3390/toxins11060355.
 - [33] OLIVEIRA C F B, ALVES D P, EMERICH B L, et al. Antinociceptive effect of PnTx4(5-5), a peptide from *Phoneutria nigriventer* spider venom, in rat models and the involvement of glutamatergic system[J]. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 2019, 25(2). Doi: 10.1590/1678-9199-jvatitd-2019-0022.
 - [34] SALEHI S, KOECK K, SCHEIBEL T. Spider silk for tissue engineering applications[J]. *Molecules*, 2020, 25(3): E737. Doi: 10.3390/molecules25030737.
 - [35] JIANG P, WU L H, JIANG L Q, et al. Composition, structure and biological functions of spider silk[J]. *Chin J Zool(动物学杂志)*, 2014, 49(5): 778-791.
 - [36] BLAMIRE S J, BLACKLEDGE T A, TSO I M. Physicochemical property variation in spider silk: Ecology, evolution, and synthetic production[J]. *Annu Rev Entomol*, 2017(62): 443-460.
 - [37] KUHBIER J W, COGER V, MUELLER J, et al. Influence of direct or indirect contact for the cytotoxicity and blood compatibility of spider silk[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2017, 28(8): 127. Doi: 10.1007/s10856-017-5936-1.
 - [38] HEIBY J C, GORETZKI B, JOHNSON C M, et al. Methionine in a protein hydrophobic core drives tight interactions required for assembly of spider silk[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 4378. Doi: 10.1038/s41467-019-12365-5.
 - [39] FAN Z K, QIN T, ZHENG J, et al. Preliminary discussion on procoagulant role and mechanism of spider silk protein[J]. *J Hunan Univ Chin Med(湖南中医药大学学报)*, 2017, 37(10): 1052-1055.
 - [40] RESCH A, WOLF S, MANN A, et al. Co-culturing human adipose derived stem cells and schwann cells on spider silk-A new approach as prerequisite for enhanced nerve regeneration[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 20(1): 71. Doi: 10.3390/ijms20010071.
 - [41] KUCHARCZYK K, RYBKA J D, HILGENDORFF M, et al. Composite spheres made of bioengineered spider silk and iron oxide nanoparticles for theranostics applications[J]. *PLoS One*, 2019, 14(7): e0219790. Doi: 10.1371/journal.pone.0219790.
 - [42] HUANG T, KUMARI S, HEROLD H, et al. Enhanced antibacterial activity of Se nanoparticles upon coating with recombinant spider silk protein eADF κ (16)[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020(15): 4275-4288.
 - [43] KOZŁOWSKA A K, FLORCZAK A, SMIALEK M, et al. Functionalized bioengineered spider silk spheres improve nuclease resistance and activity of oligonucleotide therapeutics providing a strategy for cancer treatment[J]. *Acta Biomater*, 2017(59): 221-233.
 - [44] HAN X Y, SONG Y L, BAI P, et al. Systematic classification of antifungal drugs, resistance mechanisms and development of new drugs[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2019, 36(11): 1430-1436.

收稿日期: 2021-03-24
(本文责编: 陈怡心)