



## NGHIÊN CỨU CẤU TẠO TUYẾN NỌC ĐỘC VÀ MÔ HÌNH HÓA CẤU TRÚC KHÔNG GIẠN 3D BẬC 3 CỦA PROTEIN ĐỘC TỔ LOÀI ỐC CỎI *CONUS TESSULATUS*

Nguyễn Thị Anh Thu<sup>1</sup>, Đặng Thúy Bình<sup>1</sup> và Phan Dũng<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nha Trang

<sup>2</sup> Sinh viên 52 Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Nha Trang

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 10/6/2014

Ngày chấp nhận: 04/8/2014

### Title:

Researching on venom glands' composition and modeling three-dimensional structure of toxin protein in *Conus tessulatus*

### Từ khóa:

*Conus*, răng kitin, tuyến độc, Ốc cỏi, cấu trúc không gian 3D protein

### Keywords:

*Conus*, radular teeth, venom duct, conus snail, Protein 3D structure modelling

### ABSTRACT

The morphological characteristic, anatomical venom duct, structure of radular teeth, a.a sequence of toxin and three-dimensional structure of *Conus tessulatus*'s (vermivorous feeding mode) toxin protein in Nha Trang Bay, Khanh Hoa Province were studied. The results showed that venom buld of *C. tessulatus* has a sickle milky white shape, venom duct has pale yellow, radular sac has reddish, radular teeth of *C. tessulatus* are soft structure and small size, have serration, one bard. Results of  $\alpha$ -conotoxin protein sequencing were used to construct deduced a.a sequence of the toxin protein from *C. tessulatus*. From this a.a sequence, framework of CC-C-C specific to  $\alpha$ -conotoxin be determined and three dimensional of *C. tessulatus*'s toxin protein structure be modeled to understand the functions of  $\alpha$ -conotoxin from *C. tessulatus* based on homological proteins known in the database. This study provides a protein database for applications in the production of drugs used in the treatment for neurological diseases.

### TÓM TẮT

Đặc điểm hình thái, giải phẫu tuyến độc tổ, cấu trúc răng kitin, trình tự amino acid (a.a) và cấu trúc không gian bậc 3 của protein độc tổ ốc cỏi *Conus tessulatus* (loài ăn giun biển) thu tại vịnh Nha Trang, Khánh Hòa được tiến hành trong nghiên cứu này. Kết quả cho thấy loài *C. tessulatus* có túi độc màu trắng sữa hình lưỡi liềm, ống dẫn độc màu vàng nhạt, túi răng kitin màu cam hơi đỏ, răng kitin có cấu trúc mềm và kích thước nhỏ, có đường răng cưa, có 1 ngạnh. Kết quả giải trình tự gen độc tổ  $\alpha$ -conotoxin được dùng để xây dựng trình tự a.a suy diễn của protein độc tổ loài *C. tessulatus*. Dựa trên trình tự a.a thu được, khung cystenin (CC-C-C) đặc trưng cho  $\alpha$ -conotoxin được xác định và cấu trúc không gian 3D bậc 3 của protein độc tổ được mô hình hóa nhằm tìm hiểu chức năng của  $\alpha$ -conotoxin *C. tessulatus* dựa trên các protein tương đồng đã biết trong cơ sở dữ liệu. Nghiên cứu này cung cấp dữ liệu protein phục vụ cho ứng dụng trong quá trình sản xuất thuốc điều trị bệnh liên quan đến thần kinh.

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Ốc cối (*Conus* spp.) là một trong những loài động vật thân mềm có kích thước lớn gồm khoảng 700 loài (Cunha và ctv., 2005). Ốc cối ăn môi sống, có nọc độc, phân bố trong các rạn san hô trên thế giới đặc biệt là ở vùng biển nhiệt đới và vùng biển ấm (Rockel và ctv., 1995). Ngoài giá trị về kinh tế, các loài ốc cối còn được biết đến như là một nguồn dược liệu quý chữa các bệnh thần kinh, động kinh, ung thư và triệu chứng đau mãn tính (Olivera, 2002; Terlau and Olivera, 2004).

Thức ăn chính của ốc cối (*Conus* spp.) là các loài cá nhỏ, động vật thân mềm, giun biển hoặc các loài ốc cối khác (Olivera, 2002; Terlau and Olivera, 2004). Tùy thuộc vào con môi mà phương thức tấn công, hình thái và cấu trúc răng kitin cũng khác nhau, loài ăn cá có 3 ngạnh với các đầu uốn cong; không có đường răng cưa, eo răng, cựa đáy. Loài ăn động vật thân mềm có một ngạnh và một lưỡi hoặc lưỡi thay thế bằng ngạnh thứ 2, có đường răng cưa, có cựa đáy. Loài ăn giun biển có một ngạnh và một lưỡi, có đường răng cưa, eo răng, có cựa đáy (Franklin và ctv., 2007).

Đặc tính của ốc là loài di chuyển chậm nên dễ bị các loài động vật ăn thịt khác tấn công. Do đó, muốn tồn tại và phát triển cơ thể chúng phải có cấu tạo đặc biệt để thích nghi với điều kiện môi trường. Cơ quan đó chính là tuyến độc. Tuyến nọc độc của ốc cối gồm các bộ phận: túi nọc độc, ống dẫn độc, vòi hút và túi răng kitin (Franklin và ctv., 2007).

Theo Peng và ctv. (2010), độc tố *Conus tessulatus* có khung cystein CC-C-C, có 2 cầu nối disulfua C1-C3 và C2-C4 và trình tự bảo tồn ở vùng peptide tín hiệu giống  $\alpha$ -conotoxin (thuộc A-superfamily). Peptide độc tố tách chiết từ *C. tessulatus* ( $\alpha$ 1-conotoxin) có khả năng ức chế các thụ thể nicotinic acetylcholine  $\alpha$ 3 $\beta$ 2 và  $\alpha$ 1 $\beta$ 1 $\gamma$ đ của tế bào thần kinh chuột.

Nghiên cứu này khảo sát hình thái tuyến nọc độc, cấu trúc, hình thái răng kitin của loài *Conus tessulatus* có phương thức dinh dưỡng ăn giun biển (Polychaete) tại Nha Trang, Khánh Hòa; đồng thời xác định trình tự a.a của vùng độc tố, xây dựng mô hình cấu trúc không gian bậc 3 của protein nhằm làm sáng tỏ mối quan hệ giữa cấu trúc và chức năng của độc tố để làm cơ sở cho các nghiên cứu chuyên sâu.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Đối tượng, địa điểm nghiên cứu

Loài *Conus tessulatus* (5 cá thể) thu tại vịnh Nha Trang, Khánh Hòa, có chiều cao thân trung bình 6,40±1,53cm, khối lượng trung bình 70,44±28,64g, vận chuyển về phòng thí nghiệm và bảo quản ở -40°C.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1 Mô tả đặc điểm hình thái

Mẫu ốc được rửa sạch, để ráo và đặt lên khay đá. Tiến hành chụp ảnh và quan sát số lượng đường xoắn ốc, đường suture, màu sắc và hoa văn. Đo chiều cao vỏ, chiều cao tầng thân, chiều rộng, chiều cao tháp vỏ của từng cá thể ốc cối. Ốc được định danh dựa vào đặc điểm hình thái theo Röckel và ctv. (1995) và Nguyen (2007).

#### 2.2.2 Giải phẫu tách tuyến độc

Dùng búa đập bỏ vỏ ốc, đặt nội quan vào đĩa petri (được giữ trên khay đá). Dùng dao mổ và kéo cắt tại vị trí chứa tuyến nọc độc, chuyển tuyến nọc độc sang đĩa petri mới để tách các cơ quan, cân đo các bộ phận (khối lượng và chiều dài của tuyến độc, túi độc, ống dẫn độc, và túi răng kitin).

Để nghiên cứu răng kitin, dùng kéo cắt túi chứa răng kitin, sau đó tách các răng, rửa sạch bằng cồn đặt lên lam kính, quan sát dưới kính hiển vi có gắn camera và kết nối máy tính (Olympus BX45) ở vật kính 10 $\times$ , chụp ảnh và đo kích thước (chiều dài răng và ngạnh răng).

#### 2.2.3 Tách chiết RNA tổng số

ARN tổng số của tuyến độc tố ốc cối được tách chiết bằng bộ kit tách chiết RNA IQ<sup>TM</sup>2000 (GeneReach Biotechnology - Đà Loan). Tuyến độc tố (khoảng 30mg) được nghiền nhuyễn trong dung dịch tách chiết RNA. Sau khi loại các protein khỏi dịch tách chiết bằng cách ly tâm với chloroform, RNA hòa tan trong pha nước được kết tủa bằng isopropanol và được thu hồi qua ly tâm. Cặn RNA được rửa bằng ethanol 75%, hòa tan RNA tổng với nước DEPC và bảo quản ở -40°C.

#### 2.2.4 Tổng hợp cDNA và tiến hành phản ứng RT-PCR

cDNA của tuyến độc tố ốc cối được tổng hợp bằng bộ kit tổng hợp cDNA của Công ty cổ phần Việt Á. 5 $\mu$ g RNA tổng số của mỗi mẫu được

chuyển từ mRNA thành cDNA bằng enzyme Reverse Transcriptase với mỗi chung oligo(dT)<sub>15</sub> theo chu trình nhiệt 25°C trong 5 phút, 42°C trong 30 phút và cuối cùng là 85°C trong 5 phút.

Đoạn gen mã hóa cho  $\alpha$ -conotoxin được khuếch đại bằng cặp mồi gồm mỗi xuôi (5' TCT G ATG GCA GGA ATG ACG CAG 3') và mỗi ngược (5' TCG TGG TTC AGA GGG TCC TGG 3') (Lou và ctv., 2006) được thiết kế dựa trên vùng bảo tồn của đoạn propeptide và của vùng không dịch mã (3'UTR). Phản ứng PCR được tiến hành với tổng thể tích 50  $\mu$ l (bao gồm 20 ng khuôn DNA, Dream Taq buffer 1X (Fermentat), 0,25 nM mỗi loại dNTP, 0,2 pM mỗi mồi, 2 mM MgCl<sub>2</sub> và 1 đơn vị Dream Taq polymerase (Fermentat) trên máy luân nhiệt Icycler (Bio-rad) theo chương trình nhiệt như sau: biến tính ban đầu tại 94°C trong 3 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ của 94°C trong 30 giây, 55°C trong 30 giây, 72°C trong 30 giây và giai đoạn cuối ở 72°C trong 2 phút. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,2% nhuộm ethidium bromide. Kết quả được ghi nhận thông qua việc sử dụng hệ thống ghi ảnh gel tự động Geldoc và phần mềm Quantity One® (Bio-rad).

2.2.5 Cloning (tạo dòng) và giải trình tự

Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch bằng bộ kit Wizard DNA Clean-Up System (Promega) theo hướng dẫn của nhà sản xuất, được chèn vào vector pGEM-T Easy thông qua bộ kit TOPO TA nhân dòng để giải trình tự (Invitrogen). Các vector sau đó được biến nạp vào *E. coli*. Khuẩn lạc có mang gen được chọn lọc bằng phương pháp sàng lọc trắng – xanh để chuẩn bị cho việc giải trình tự. Các vector cho khuẩn lạc màu trắng có mang gen mã hóa cho các conopeptide tiền thân được giải trình tự và phân tích trên máy phân tích trình tự tự động

ABI Prism® 3700 DNA Analyser (Applied Biosystems). Các trình tự được kết nối bằng phần mềm Vector NTI v.9.

2.2.6 Danh pháp và phân tích trình tự của họ  $\alpha$ -conotoxin

Trình tự DNA độc tố  $\alpha$ -conotoxin thu được từ loài *C. tessulatus* được ký hiệu Ts1.1. Trình tự độc tố được xác nhận bằng chương trình BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) Sau đó, sử dụng phần mềm chuyển trình tự nucleotide thành a.a (<http://www.fr33.net/translator.php>) và chọn frame không có các mã kết thúc, đồng thời có khung CC-C-C để phân tích.

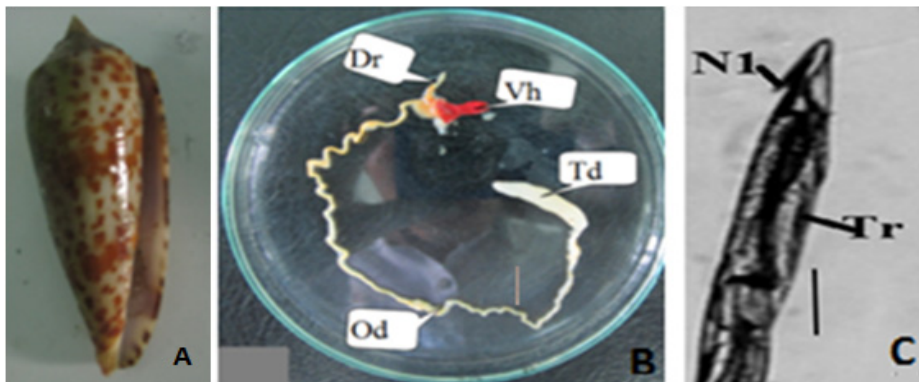
2.2.7 Xây dựng cấu trúc không gian bậc 3 của protein từ trình tự a.a Ts1.1

Sử dụng phần mềm Swiss-PdbViewer 4.1.0 (Nicolas và ctv., 2012) và phần mềm Jmol (<http://jmol.sourceforge.net/>) để dự đoán cấu trúc bậc 3 của protein. Server MOLPROBITY (<http://molprobity.biochem.duke.edu/>) được sử dụng để đánh giá chất lượng của mô hình cấu trúc protein của loài *C. tessulatus*.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Cấu tạo tuyến độc tố và cấu trúc răng kitin

Cấu tạo chung tuyến độc tố của các loài ốc gồm các bộ phận: túi độc có màu trắng sữa là cơ quan lớn nhất trong tuyến độc; ống dẫn độc có màu vàng nhạt dẫn chất độc từ túi độc đến răng kitin, đường kính nhỏ nhưng dài nhất trong các bộ phận; vòi hút hình chóp cụt, rỗng, là phần cuối cùng của tuyến độc; túi răng kitin chứa các răng kitin bao gồm hai nhánh, nhánh dài có màu đỏ ở phần nối với ống dẫn và vàng nhạt ở phần còn lại, nhánh còn lại trong suốt. Tuyến độc tố của loài *Conus tessulatus* (Hình 1A) được mô tả ở Hình 1B.



Hình 1: A: Hình thái bên ngoài, B: Cấu tạo tuyến độc, C: Cấu trúc răng kitin của *C. tessulatus*.

Vh: Vòi hút, Od: Ống dẫn độc, Dr: Túi răng kitin, Td: Túi nọc độc, N1: nhánh 1, Tr: Thân răng. Kích thước (Hình 1C)= 250µm

Túi độc của loài *C. tessulatus* có màu trắng sữa hình lưỡi liềm với chiều dài (CD)  $1,54 \pm 0,61$  cm, khối lượng (KL)  $0,11 \pm 0,09$  g. Ống dẫn độc có màu

vàng nhạt có CD  $10,96 \pm 1,06$  cm, KL  $0,04 \pm 0,03$  g. Túi răng kitin có màu cam hơi đỏ CD  $0,50 \pm 0,00$  cm, KL  $0,01 \pm 0,00$  g (Hình 1A, 1B, Bảng 1).

**Bảng 1: Khối lượng và chiều dài các bộ phận tuyến độc của ốc cối *Conus tessulatus* (n= 5)**

| Khối lượng (g) | Toàn thân         | Tuyến độc        | Ống dẫn độc      | Túi độc         | Túi răng kitin  |                 |
|----------------|-------------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                | $70,44 \pm 28,64$ | $0,18 \pm 0,15$  | $0,04 \pm 0,03$  | $0,11 \pm 0,09$ | $0,01 \pm 0,00$ |                 |
| Chiều dài (cm) | Vỏ                | Tuyến độc        | Ống dẫn độc      | Túi độc         | Túi răng kitin  | Răng kitin      |
|                | $6,40 \pm 1,53$   | $13,02 \pm 1,25$ | $10,96 \pm 1,06$ | $1,54 \pm 0,61$ | $0,50 \pm 0,00$ | $0,11 \pm 0,01$ |

Kết quả cho thấy có sự tương đồng với nghiên cứu về loài *C. vexillum* là loài ăn giun biển, có túi độc màu trắng sữa, hình lưỡi liềm, ống dẫn màu cam nhạt, túi răng màu cam đỏ (Đặng Thúy Bình và ctv, 2013). Theo Đặng Thúy Bình và ctv, (2012) nghiên cứu về loài *C. badanus* cho thấy túi độc có màu trắng sữa, hình lưỡi liềm, răng kitin có cấu trúc mềm và kích thước nhỏ, có lưỡi răng và eo răng.

**Cấu trúc răng kitin**

Sau khi phân tách và làm sạch, răng kitin của loài *C. tessulatus* được mô tả ở Hình 1C. Răng kitin của *C. tessulatus* có cấu trúc mềm và kích thước nhỏ, có đường răng cưa, có một ngạnh, CD  $0,11 \pm 0,01$  cm (n=5) (Bảng 1).

Theo Đặng Thúy Bình và ctv. (2013) răng kitin loài *C. vexillum* khá cứng, một ngạnh, một lưỡi, có đường răng cưa và có eo răng. James (1980) nghiên cứu răng kitin của 22 loài ốc cối thu ở vùng biển Ấn Độ - Thái Bình Dương ghi nhận loài ăn giun biển (13 loài) thể hiện sự biến dị loài cao với hai ngạnh phía trước, vùng răng cưa gần đỉnh, lưỡi kim ở vị trí cựa đáy. Franklin và ctv. (2007) mô tả cấu trúc răng kitin 22 loài ốc cối (trong đó có 17 loài ăn giun biển) ở vùng biển Ấn Độ cũng cho thấy loài ăn giun biển có một ngạnh và một lưỡi hoặc lưỡi được thay thế bằng một ngạnh thứ hai, có

đường răng, có hoặc không có eo răng, có cựa đáy. Kết quả cho thấy cấu trúc răng kitin của loài nghiên cứu đại diện cho phương thức dinh dưỡng ăn giun biển có sự tương đồng với các nghiên cứu trước đây (Franklin và ctv., 2007; James, 1980).

Răng kitin của ốc cối (*Conus* spp.) giống như kim tiêm trong suốt, có vai trò trực tiếp đưa chất độc vào cơ thể con mồi. Răng kitin của ốc cối có ngạnh đầu, một số có ngạnh thứ hai, ngoài ra còn tìm thấy một số rất ít loài có ngạnh thứ ba, các ngạnh giúp giữ con mồi. Lưỡi răng kitin có vai trò cắt và mở rộng diện tích tiếp xúc khi phóng kim tiêm vào con mồi. Đường răng cưa là một dải răng nhỏ chạy dọc trong thành răng từ ngạnh đầu xuống gần giữa răng kitin. Hầu hết tất cả các loài có một hàng răng nhỏ, chỉ có một số ít có hai hàng, một số loài không có đường răng cưa này. Phần eo răng kitin là một điểm co lại phần nửa trên của răng kitin. Cựa ở đáy là một răng nhỏ nhô ra từ u nổi lên ở cuối răng kitin (Franklin và ctv., 2007; James, 1980).

**Trình tự a.a của  $\alpha$ -conotoxin**

Sản phẩm PCR được nhân dòng và giải trình tự, đoạn trình tự thu được có chiều dài là 153bp. Tiên thân độc tố của loài *C. tessulatus* được ký hiệu là Ts1.1 có chiều dài 42 a.a. Vùng độc tố trưởng thành của Ts1.1 được phân tách với vùng tiền trưởng thành tại vị trí XR, có 20 a.a (Hình 2).

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |      |                          |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|--------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| ATT | TCT | GAT | GGC | AGG | AAT | GAC | GCA | GCC | AAC | GAC  | AAA                      | GCG | TCT | GAC | CTG | 48  |
| I   | S   | D   | G   | R   | N   | D   | A   | A   | N   | D    | K                        | A   | S   | D   | L   |     |
| GTC | GGT | CTG | AAC | GTC | AGG | GGA | TGC | TGT | TCT | CAT  | CCT                      | GCC | TGT | TAC | GTG | 96  |
| V   | G   | L   | N   | V   | R   | G   | C   | C   | S   | H    | P                        | A   | C   | Y   | V   |     |
| AAT | AAT | CCA | CAC | ATT | TGT | ACT | CGA | AGA | CGC | TGA  | tgctccaggaccctctgaaccacg |     |     |     |     | 153 |
| N   | N   | P   | H   | I   | C   | T   | R   | R   | R   | STOP | C-terminal               |     |     |     |     |     |

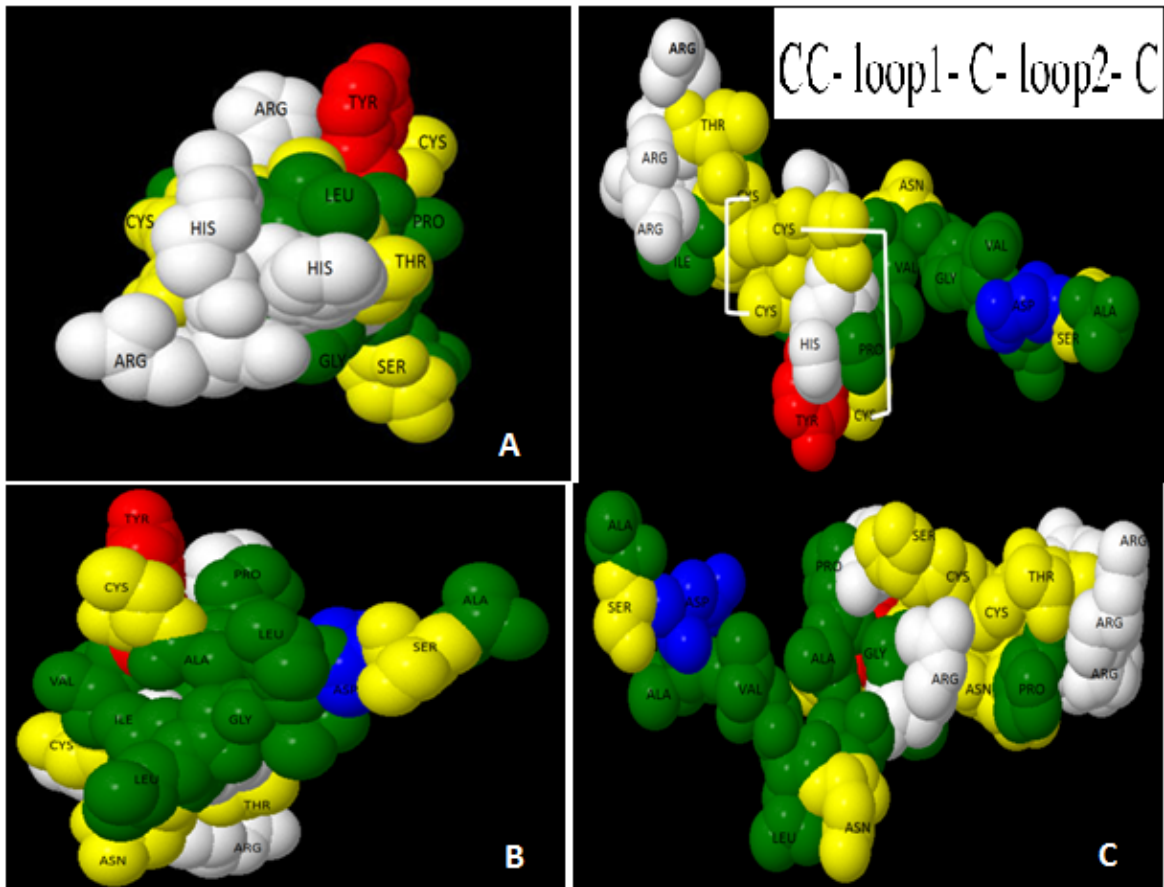
**Hình 2: Trình tự nucleotide và peptide của trình tự Ts1.1, Ký hiệu a.a theo danh pháp quốc tế. a.a có nhóm bên kỵ nước được gạch chân, khung CC-C-C được in đậm**

**3.2 Xây dựng cấu trúc không gian bậc 3 của protein từ đoạn peptide Ts1.1**

Sự sắp xếp các a.a Cysteine và các vòng lặp

trong khung CC-C-C được mô tả ở Hình 3C. Cấu trúc protein 3D của  $\alpha$ -conotoxin của trình tự đoạn peptide Ts1.1 được trình bày ở Hình 3A, B, C.





**Hình 3: Cấu trúc không gian bậc 3 của trình tự a.a Ts1.1. (A):** Thể hiện chủ yếu là các a.a có nhóm bên tích điện dương. **(B):** Thể hiện các a.a có nhóm bên kỵ nước. **(C):** Thể hiện liên kết disulfide và các vòng lặp khung CC-C-C. Các a.a có nhóm bên không phân cực, kỵ nước được ký hiệu bằng màu xanh lá cây; các a.a có nhóm bên phân cực, không tích điện được ký hiệu bằng màu vàng; các a.a có nhóm bên tích điện dương ký hiệu bằng màu trắng; các a.a có nhóm bên tích điện âm được ký hiệu bằng màu xanh da trời; các a.a có nhóm bên chứa nhân thơm được ký hiệu bằng màu đỏ

Đánh giá mô hình cấu trúc protein của độc tố loài *C. tessulatus* thông qua giản đồ Ramachandran cho thấy có 77,8% a.a nằm ở vùng ủng hộ, 92,6% a.a nằm trong vùng cho phép và 2 a.a nằm ngoài vùng cho phép. Đoạn peptide thu từ *C. tessulatus* có gốc Cysteine tạo nên liên kết disulfide với các gốc Cysteine tại vị trí khác nhau tạo thành cấu trúc xoắn của protein (Hình 3C), những cầu nối này đóng vai trò quan trọng trong việc ổn định cấu trúc protein của độc tố  $\alpha$ -conotoxin. Bộ khung Cysteine bảo tồn xác định bằng server PROSITE (<http://prosite.expasy.org/>) đánh số I – IV, vị trí giữa CysI, II và CysIII là loop1, giữa CysIII và CysIV là loop2 (Hình 3C). Trong các loop1 và loop2 thì chủ yếu là các a.a có nhóm bên kỵ nước và tích điện. Nghiên cứu cho thấy Conotoxin có khung CC-C-C tương tự nhưng khác biệt về các liên kết disulfide. Giữa  $\alpha$ -Conotoxin và chi-

Conotoxin đều có khung CC-C-C nhưng khung Cysteine của  $\alpha$ -conotoxin là CysI-CysIII và CysII-CysIV, trong khi chi-Conotoxin (tách chiết từ *Conus marmoreus*) là CysI-CysIV và CysII-CysIII. Các liên kết disulfide khác nhau tạo ra cấu trúc với các nếp gấp khác nhau dẫn đến chức năng của protein khác nhau, do vậy độc tố tác động lên các kênh ion khác nhau (Kang và *ctv.*, 2006).

Olivera (2002) cho rằng độc tố  $\alpha$ -conotoxin của ốc cối tác động lên các kênh ion khác nhau, trong đó có kênh  $K^+$  của tế bào thần kinh. Nghiên cứu này tập trung đến các a.a có nhóm bên mang điện tích (K, H, R, D chiếm 25,6%) và kỵ nước (G, A, P, V, L, I chiếm 37,2%) (Hình 3B) để làm nổi bật tầm quan trọng của tương tác kỵ nước và tương tác tích điện. Các a.a có nhóm bên kỵ nước- $CH_3$  không tích điện (được gạch chân ở Hình 2), hình thành

lực hút khi đứng gần nhau, thông qua liên kết này các a.a kết hợp với nhau tạo thành khối, đóng vai trò quan trọng trong việc ổn định cấu trúc protein và ảnh hưởng rất nhiều đến tính tan của protein (Alexei, 2002). Bên cạnh đó, a.a có nhóm bên mang điện dương tạo nên vùng nhạy cảm điện thế, có thể di chuyển và kiểm soát mở kênh  $K^+$ . Trong trình tự Ts1.1, các a.a có nhóm bên tích điện dương chia làm hai cụm, một là ở đầu N-terminal gồm a.a Arg5, hai là ở đầu C-terminal gồm a.a Arg41, Arg42, Arg43 (Hình 2), các a.a có nhóm bên tích điện dương này giúp cho độc tố tiếp cận với cửa kênh  $K^+$  (Harvey và ctv., 2007).

Annette và ctv. (2003) nghiên cứu cấu trúc protein độc tố  $\alpha/4/7$ -conotoxin tác động lên thụ thể nAChR thu nhận từ *Conus geographus*, cho thấy cấu trúc protein có sự phân bố chủ yếu của các a.a có nhóm bên kỵ nước và tích điện, có các liên kết disulfide khung CC-C-C giúp ổn định cấu trúc protein và có sự phân bố của a.a Arg đầu khung N-terminal. Mô hình cấu trúc protein của *C. tessulatus* trong nghiên cứu này tương đồng với mô hình cấu trúc protein của *Conus geographus* đã được nghiên cứu trước đây.

Độc tố conotoxin từ ốc cối có tính đa dạng cao (50,000 - 400,000 đoạn peptide được phát hiện) và có tiềm năng ứng dụng trong y dược. Nghiên cứu hiện tại mô tả hình thái, cấu trúc tuyến độc và răng kitin, đồng thời xây dựng mô hình cấu trúc 3D của protein độc tố loài *C. tessulatus*. Dữ liệu này góp phần quan trọng trong nghiên cứu dược tính của độc tố ốc cối, cũng như cung cấp thông tin cho công tác quản lý và bảo tồn nguồn dược liệu sinh học biển Việt Nam.

#### 4 KẾT LUẬN

Loài *C. tessulatus* đại diện cho phương thức dinh dưỡng ăn giun biển có túi độc màu trắng sữa, hình lưới liềm, ống dẫn màu cam nhạt, túi răng màu cam đỏ. Răng kitin có kích thước nhỏ và yếu, có đường răng cưa, có một ngạnh.

Khung CC-C-C đặc trưng cho  $\alpha$ -conotoxin được xác định và cấu trúc không gian 3D bậc 3 của protein độc tố loài *C. tessulatus* được mô hình hóa.

#### 5 ĐỀ XUẤT

Cần có những nghiên cứu chuyên sâu về cấu tạo tuyến độc, cấu trúc răng kitin và cấu trúc protein độc tố để góp phần quan trọng trong nghiên cứu dược tính của độc tố ốc cối, cũng như cung cấp thông tin cho công tác quản lý và bảo tồn nguồn dược liệu sinh học biển Việt Nam.

#### LỜI CẢM ƠN

Các tác giả chân thành cảm ơn sự hỗ trợ từ nhóm nghiên cứu Đa dạng Sinh học và Bảo tồn, Viện CNSH&MT, Trường Đại học Nha Trang và đề tài Bảo tồn nguồn gen đã tài trợ kinh phí và hỗ trợ thực hiện nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đặng Thủy Bình, Khúc Thị An, Nguyễn Thị Thúy Hà, 2012. Định danh một số loài ốc cối (*Conus* spp.) ở vùng biển Nam Trung Bộ Việt Nam dựa trên đặc điểm hình thái và di truyền. Tạp chí Khoa học – Công nghệ Thủy sản số 2/2012. p:37-41.
2. Đặng Thủy Bình, Ngô Đăng Nghĩa, and Nguyễn Lương Hiếu Hòa, 2013. Cấu tạo tuyến độc và mối quan hệ với đặc điểm dinh dưỡng của ba loài ốc cối *Conus striatus*, *Conus textile*, *Conus vexillum* tại vùng biển Nam Trung Bộ Việt Nam. Tạp chí Nông nghiệp và Phát Triển Nông Thôn-kỳ 1-tháng 1/2013:75-80.
3. Annette N., Marion L.L., Emma L.M., Paul F.A., David J.A., Norelle L.D., David J.C., and Richard J.L., 2003. Isolation, Structure, and Activity of GID, a Novel 4/7-Conotoxin with an Extended N-terminal Sequence. p: 3137–3144.
4. Alexei V., Finkelstein O.B., Ptitsyn, 2002. Protein Physics: A Course of Lectures. Academic press. London. p: 4.
5. Cunha R.L., Castilho R., Ruber L., and Zardoya R., 2005. Patterns of Cladogenesis in the Venomous Marine Gastropod Genus *Conus* from the Cape Verde Islands. Systematic Biology. 54. P: 634-650.
6. Franklin J.B., Fernando S.A., Chalke B.A., and Krishnan K.S., 2007. Radular morphology of *Conus* (Gastropoda: Caenogastropod: Conidae) from India. Molluscan Research. 27(3). P: 111-122.
7. Harvey L., Arnold B., Lawrence Z., Paul M., David B., and James D., 2007. Molecular Cell Biology 4<sup>th</sup> edition. W.H. Freeman. New York: P 438.
8. James J.M., 1980. Comparative morphology of radular teeth in *Conus*: observations with scanning electron microscopy. J. Mollus. Stud. 46(1): p. 116-128.
9. Kang T.S., Jois S.D., and Kini R.M., 2006. Solution structures of two structural

- isoforms of CMrVIA chi/lambda-conotoxin. *Biomacromolecules*. **7**(8): p 2337-46.
10. Luo S., Dongting Z., Ben Z., Yaru Q and Yong W., 2006, Novel  $\alpha$ -conotoxins identified by gene sequencing from cone snails native to Hainan, and their sequence diversity, *J. Pept. Sci* **12**: 693–704.
  11. Nguyen N. T. 2007. Recently collected shells of Vietnam. L , Informator Piceno & N.N.T. Italy, p: 63-65.
  12. Olivera B. M., 2002. Conus venom peptides: reflections from the biology of clades and species. *Annual Review of Ecology and Systematics*. **33**. p: 25-47.
  13. Peng C., Mingyu y., Wang Y., Shao X., Yuan D., Liu J., Hawrot E., Wang C., Chi C., 2010. A new subfamily of conotoxins belonging to the A-superfamily. *Peptides.*, **31**(11). p: 2009-2016.
  14. Röckel D., Korn W., and Kohn A. J., 1995. *Manual of the living Conidae (Vol. I: Indo-Pacific Region)*. Verlag Christa Hemmen, Wiesbaden, Germany.
  15. Terlau H., and Olivera B. M., 2004. "Conus Venoms: A Rich Source of Novel Ion Channel-Targeted Peptides". *Physiol Reviews*. **84**. p: 41-68.
  16. <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
  17. <http://www.fr33.net/translator.php>
  18. <http://molprobity.biochem.duke.edu/>
  19. <http://prosite.expasy.org/>