

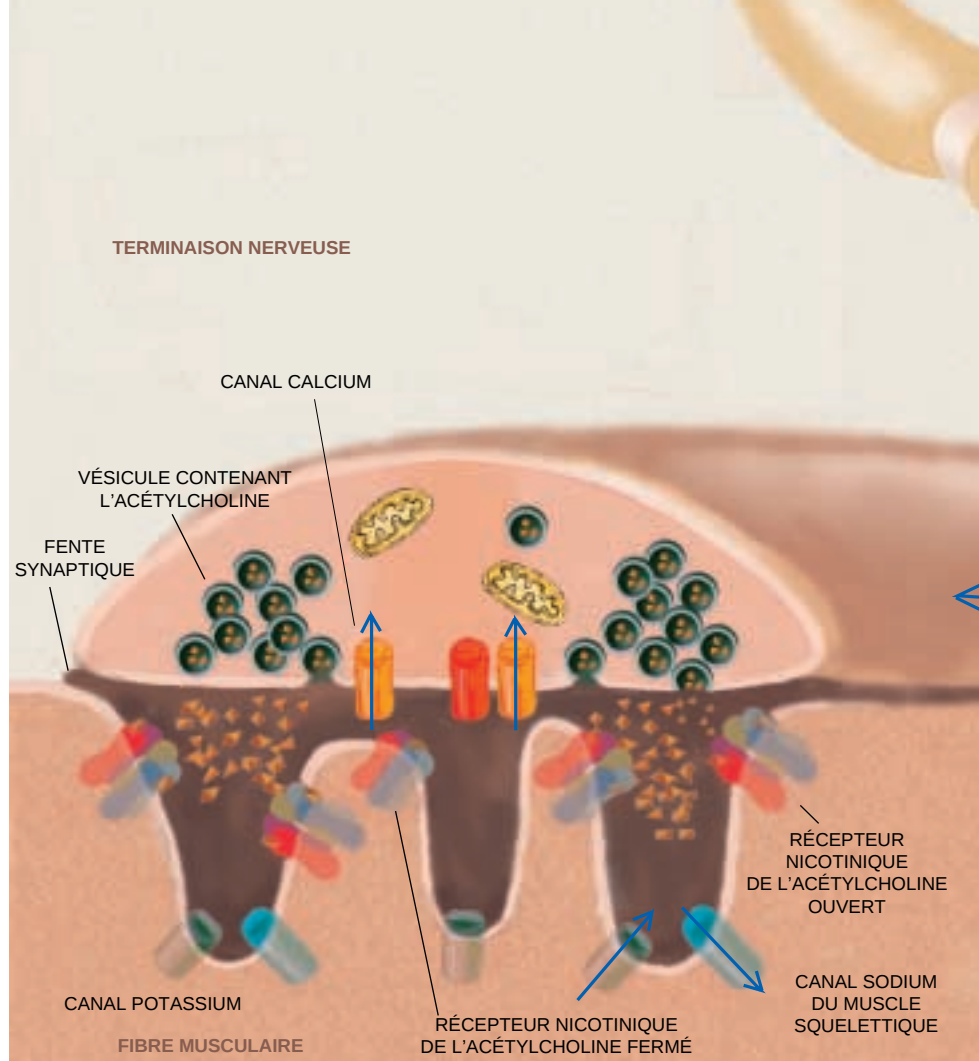
l'action de la δ -P₆A, se traduit par des contractions répétées du muscle. Selon B. Olivera, la κ -P₇A agit en synergie avec la δ -P₆A : la combinaison d'une entrée prolongée d'ions sodium et d'un blocage de la sortie des ions potassium se manifeste par une forte dépolarisation de la membrane des cellules excitables. Cela aboutit à des contractions musculaires répétées qui provoquent une tétanie (paralysie rigide) de la proie.

La paralysie flasque

Le deuxième symptôme provoqué par l'injection du venin de *Conus purpurascens* se caractérise par une paralysie flasque du poisson. Au moins trois toxines agissent en synergie pour bloquer la transmission neuromusculaire : l' α A-P₄A et la ψ -P₃E, qui bloquent toutes les deux des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, et la μ -P₃A, qui bloque les canaux sodium du muscle squelettique. Dans ce cas, les toxines n'agissent plus sur les terminaisons nerveuses (présynaptiques), mais sur les fibres musculaires (postsynaptiques). En empêchant l'acétylcholine de se fixer sur ses récepteurs, les toxines α A-P₄A et ψ -P₃E bloquent la transmission neuromusculaire. Quant à la μ -P₃A, elle inhibe les canaux sodium, bloquant ainsi directement l'émission des potentiels d'action musculaire. Ainsi, l'action simultanée de ces toxines se traduit par un blocage de la contraction musculaire, qui se caractérise par une paralysie flasque.

Comme *Conus purpurascens*, *Conus consors* utilise la technique de la pêche au harpon. Avec l'équipe de Jordi Molgo, au laboratoire de neurobiologie cellulaire et moléculaire du CNRS, à Gif-sur-Yvette, nous avons montré que, dans le venin de *Conus consors*, il existe deux familles de conotoxines : l'une agit au niveau présynaptique en augmentant l'excitabilité des terminaisons nerveuses (l'action se traduit par un choc excitotoxique), et l'autre inhibe la transmission neuromusculaire (il en résulte une paralysie flasque).

À La Rochelle, dans le Laboratoire de synthèses et études des substances naturelles à activités biologiques, le SESNAB, dirigé par Yves Letourneux, nous avons alors isolé, à partir du venin brut de *Conus consors*, trois nouvelles conotoxines : la CcTx, la α -Cn₁A et la α -Cn₁B. La CcTx semble activer sélectivement les canaux sodium de la ter-



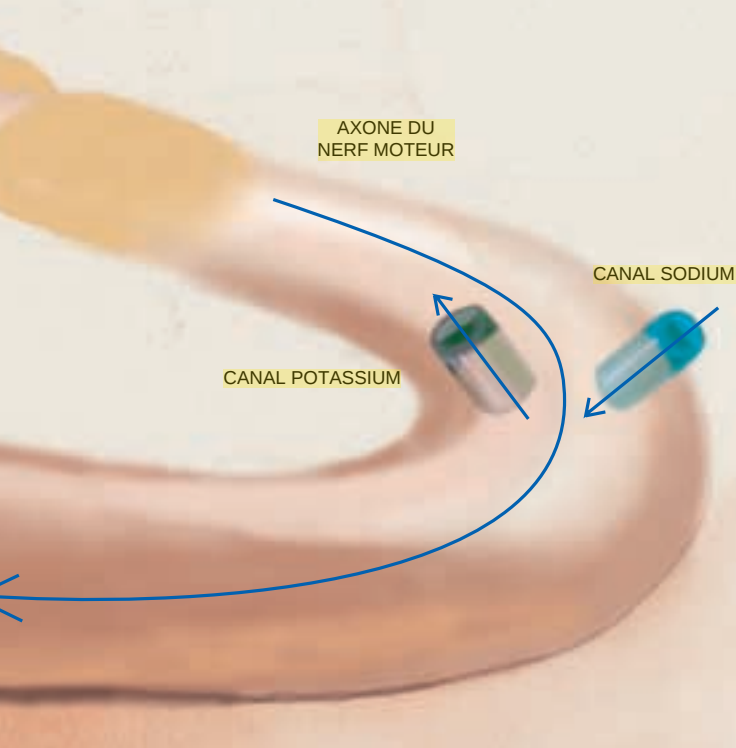
minaison, ce qui, par une entrée massive d'ions sodium, augmente l'excitabilité nerveuse. Cette toxine est responsable, du moins en partie, du choc excitotoxique provoqué par le venin brut de *Conus consors* (qui se manifeste par la tétanie des nageoires). Les deux conotoxines α -Cn₁A et α -Cn₁B bloquent les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine et participent ainsi à l'inhibition de la transmission neuromusculaire. Ainsi, *Conus consors* et *Conus purpurascens* utilisent deux groupes de toxines. Le premier agit rapidement et tétanise la proie : le poisson est immobilisé jusqu'à l'entrée en action de l'autre groupe de conotoxines qui bloque la transmission neuromusculaire. Par cette « stratégie pharmacologique » et la morphologie élaborée de leurs dents, ces cônes optimisent leurs chances d'immobiliser leurs proies.

La pêche au filet

Le cône le plus étudié, et aussi le plus dangereux, est *Conus geographus* qui a adopté la stratégie de la pêche au filet et non pas celle du harpon. Les premières études de toxicité de son venin

ont été entreprises dès 1962 par R. Endean, de l'Université de Queensland, en Australie, mais ce n'est qu'en 1978 que l'équipe de B. Olivera a isolé la première conotoxine de type α , l' α -G₁. En plus de cette toxine, *Conus geographus* en utilise deux autres (α -G₁A, α -G₂), trois conotoxines de type μ (μ -G₃A, μ -G₃B et μ -G₃C), qui bloquent sélectivement les canaux sodium du muscle squelettique, et une conotoxine de type ω (ω -G₆A) qui inhibe les canaux calcium présynaptiques. Cette dernière conotoxine empêche donc la libération d'acétylcholine qui se produit, normalement, après l'entrée d'ions calcium. Ces conotoxines agissent en synergie afin de bloquer la transmission neuromusculaire.

La stratégie de *Conus geographus*, qui ne paralyse ses proies qu'après les avoir piégées par la bouche, ne nécessite pas de toxines telles que δ -P₆A, κ -P₇A ou CcTx. En revanche, l'équipe de B. Olivera a récemment identifié dans le venin de *Conus geographus* trois autres toxines qui agissent spécifiquement sur le système nerveux central, et non pas sur la jonction neuromusculaire : la σ -G₆A, la conantokine-G et la contulakine-G.



	CONOTOXINE	RÉCEPTEUR	TYPE DE PARALYSIE
PÊCHE AU HARPON	CONOTOXINES DE TYPE δ : δ -P ₆ A	CANAL SODIUM PRÉSYNAPTIQUE	CHOC EXCITOTOXIQUE
	CONOTOXINES DE TYPE κ : κ -P ₇ A	CANAL POTASSIUM	
	CONOTOXINES DE TYPE ψ : ψ -P ₃ E	RÉCEPTEUR NICOTINIQUE DE L'ACÉTYLCHOLINE	PARALYSIE FLASQUE
	CONOTOXINES DE TYPE α : α -G ₁ , α -Cn ₁ A, α -P ₄ A	RÉCEPTEUR NICOTINIQUE DE L'ACÉTYLCHOLINE	PARALYSIE FLASQUE
	CONOTOXINES DE TYPE μ : μ -G ₃ A, μ -G ₃ B, μ -P ₃ A	CANAL SODIUM DU MUSCLE SQUELETTIQUE	PARALYSIE FLASQUE
PÊCHE AU FILET	CONOTOXINES DE TYPE ω : ω -M ₇ C, ω -G ₆ A, ω -M ₇ A	CANAL CALCIUM PRÉSYNAPTIQUE	PARALYSIE

4. UNE JONCTION NEUROMUSCULAIRE est une zone de contact entre les ramifications d'un nerf moteur et une fibre musculaire. C'est une cible privilégiée des conotoxines. L'arrivée d'un influx nerveux (ou potentiel d'action) provenant de l'axone d'un nerf moteur provoque une dépolarisation (une variation de la différence de potentiel membranaire) ; des canaux calcium s'ouvrent et des ions calcium pénètrent dans la terminaison présynaptique. Les vésicules contenant l'acétylcholine fusionnent avec la membrane et leur contenu se déverse dans la fente synaptique. Quelques molécules de ce neurotransmetteur se fixent sur leurs récepteurs nicotiniques du muscle squelettique, qui changent de conformation et s'ouvrent, laissant passer

des ions. Cette dépolarisation locale atteint le seuil d'excitabilité de la fibre et engendre un potentiel d'action musculaire qui active la machinerie de la contraction. Normalement, l'ouverture des canaux ioniques (pré- et postsynaptiques) est transitoire : à un potentiel d'action correspond une seule contraction de la fibre musculaire. La plupart des conotoxines perturbent le fonctionnement de ces canaux. Certaines empêchent la fermeture de canaux ioniques présynaptiques (sodium), de sorte que les contractions persistent, créant une paralysie rigide nommée choc excitotoxique. D'autres conotoxines agissent sur les canaux ioniques postsynaptiques et bloquent la transmission neuromusculaire, ce qui provoque une paralysie flasque.

La σ -G₈A est la première toxine peptidique connue qui inactive sélectivement le récepteur 5-HT₃ ouvert par la sérotonine. Les conantokines, isolées des venins de *Conus geographus* (conantokine-G) et de *Conus tulipa* (conantokine-T), bloquent le récepteur NMDA du glutamate, inhibant ainsi l'influx d'ions calcium dans les neurones du système nerveux central et, par conséquent, la transmission des messages nerveux. Ces trois toxines inhiberaient le «circuit sensoriel» des proies, les plongeant dans un «état de sédation». Les poissons, piégés par la bouche de *Conus geographus*, seraient dans un état léthargique avant même d'être paralysés par les conotoxines de type α , ω ou μ .

Séquences hypervariables et structures conservées

La centaine de conotoxines identifiées montre que les venins d'espèces différentes sont composés de toxines dont les séquences divergent. Cette divergence est également observée pour plusieurs conotoxines qui ont la même cible physiologique. Ainsi, les conotoxines α -G₁, α -P₄A et la ψ -P₃E qui toutes

bloquent les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine de la jonction neuromusculaire ont des séquences très différentes. Il en va de même pour les ω -G₆A et ω -M₇A qui agissent sur le même sous-type de canaux calcium.

Quelle est l'origine de cette hypervariabilité? L'analyse des ARN messagers de ces peptides (les gènes sont transcrits en ARN messagers, eux-mêmes traduits en protéines) a montré qu'ils sont dans un premier temps traduits en précurseurs de 70 à 80 acides aminés, ayant trois régions distinctes : la séquence signal, la région propeptide et une région correspondant à une copie de la toxine. La comparaison des séquences des précurseurs des ω -G₆A et ω -M₇A a montré que la partie N-terminale (correspondant à la séquence signal) est quasi identique, tandis que la partie C-terminale (aboutissant à la toxine mature) est très variable, les résidus cystéine étant conservés (voir la figure 5). La cystéine est un acide aminé, et la plupart des conotoxines en contiennent plusieurs. Ces résidus, en se liant par des ponts disulfure (entre atomes de soufre), guident le repliement des conotoxines et leur confèrent

leur structure tridimensionnelle biologiquement active. Par un mécanisme génétique spécialisé, les cônes introduisent de nouvelles séquences spécifiquement entre les résidus cystéine. Ces hypermutations permettent la formation de nouvelles conotoxines aux fonctions biologiques très variées, à partir d'un même motif cystéine. Aujourd'hui, on connaît cinq familles de conotoxines ayant le même motif cystéine (C-C-CC-C) et des acides aminés inter-cystéine hypervariables et dont le précurseur a une séquence signal conservée. Ces toxines sont actives sur trois types de canaux ioniques : les canaux potassium, calcium et sodium.

De plus, l'équipe d'André Menez, au département d'ingénierie et d'études des protéines, au Centre d'études nucléaires de Saclay, a récemment montré que plusieurs de ces conotoxines (ω -G₆A, ω -M₇A et κ -P₇A) ont une structure tridimensionnelle similaire (voir la figure 5). Cette «stratégie biochimique» assure ainsi aux cônes un arsenal de toxines aux structures similaires et dont les actions physiologiques sont très variées.