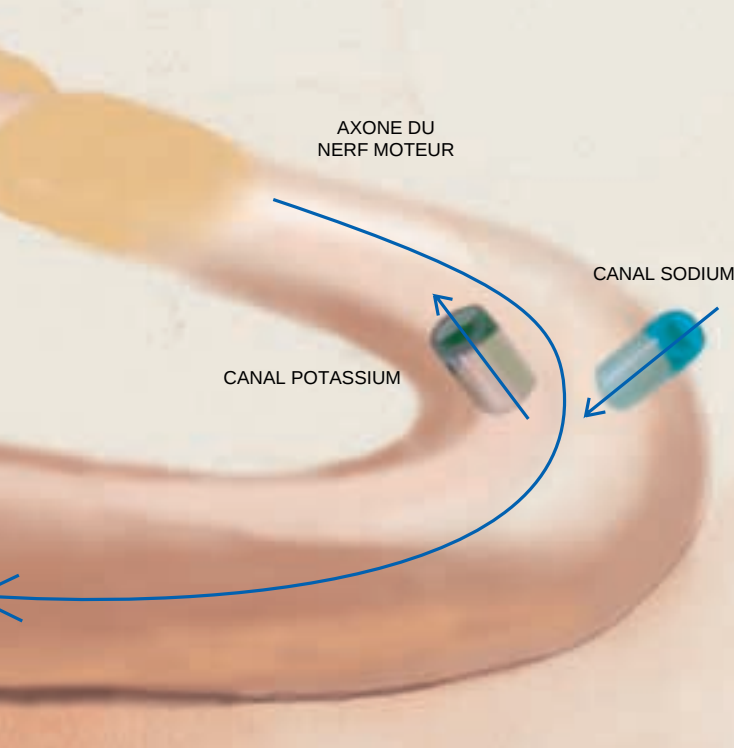




	CONOTOXINE	RÉCEPTEUR	TYPE DE PARALYSIE
PÊCHE AU HARPON	CONOTOXINES DE TYPE δ : δ -P ₆ A	CANAL SODIUM PRÉSYNAPTIQUE	CHOC EXCITOTOXIQUE
	CONOTOXINES DE TYPE κ : κ -P ₇ A	CANAL POTASSIUM	
	CONOTOXINES DE TYPE ψ : ψ -P ₃ E	RÉCEPTEUR NICOTINIQUE DE L'ACÉTYLCHOLINE	PARALYSIE FLASQUE
	CONOTOXINES DE TYPE α : α -G ₁ , α -Cn ₁ A, α A-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

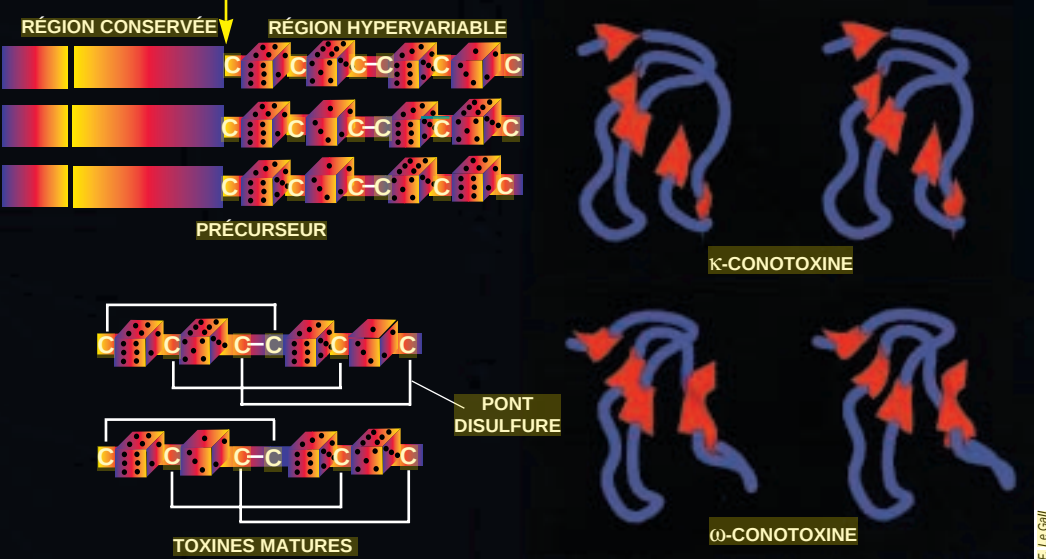
La centaine de conotoxines identifiées montre que les venins d'espèces différentes sont composés de toxines dont les séquences divergent. Cette divergence est également observée pour plusieurs conotoxines qui ont la même cible physiologique. Ainsi, les conotoxines α -G₁, α A-P₄A et la ψ -P₃E qui toutes

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-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.



5. LE PRÉCURSEUR DES CONOTOXINES est constitué d'une région conservée et d'une autre qui correspond à la séquence des toxines. Ces dernières renferment un arrangement d'acides aminés cystéine conservé (C- C- CC- C- C) et des séquences d'acides aminés (symbolisées par les dés) «hypervariables» (en haut à gauche). Les conotoxines matures sont obtenues après coupure du précurseur (à l'endroit de la flèche). Elles se replient alors par formation de ponts disulfure, qui s'établissent entre atomes de soufre des résidus cystéine (traits blancs, en bas, à gauche). On observe la structure tridimensionnelle de deux familles de conotoxines sur les images stéréographiques (à droite) ; pour les visualiser, on doit approcher la revue des yeux sans essayer d'accommoder, puis la reculer lentement, sans jamais chercher à obtenir une image nette.

Les applications thérapeutiques

Beaucoup de substances naturelles sont potentiellement utilisables comme agents thérapeutiques, mais la plupart d'entre elles n'ont pas une spécificité suffisante pour leur récepteur cible ; ce manque de spécificité est responsable d'effets secondaires indésirables. Les pharmacologues recherchent de nouvelles substances plus spécifiques. Dans ce contexte, les peptides des venins de cônes, parce qu'ils ont cette propriété, permettent l'étude de récepteurs et de canaux ioniques, cibles potentielles dans le traitement de nombreuses pathologies.

La plupart des conotoxines agissant sur le récepteur nicotinique empêchent l'acétylcholine de se lier à l'un ou l'autre des deux sites récepteurs de l'acétylcholine. Ce récepteur est constitué de cinq sous-unités qui forment un canal ; les sites de liaison du neuro-médiateur sont localisés aux interfaces des sous-unités α/γ , et α/δ . Lorsque deux molécules de neuro-médiateur se fixent sur ces sites, la protéine-canal change de conformation et s'ouvre. La spécificité d'interaction des conotoxines avec le récepteur nicotinique est illustrée par la conotoxine $\alpha\text{-G}_1$ qui se lie uniquement sur le site récepteur situé à l'interface des sous-unités α et γ du récepteur nicotinique du muscle squelettique.

De surcroît, certaines conotoxines agissent sélectivement et avec une forte

affinité sur les récepteurs nicotiniques neuronaux de l'acétylcholine, récepteurs constitués de sous-unités différentes de celles des récepteurs du muscle squelettique. Un autre exemple est celui des conotoxines de type μ . Ainsi, la $\mu\text{-G}_3\text{A}$ bloque spécifiquement les canaux sodium du muscle squelettique sans aucune affinité pour ceux du système nerveux central. Au contraire, la $\mu\text{-P}_3\text{A}$, qui a le même motif cystéine, inhibe aussi les canaux sodium de neurones de rat. Ainsi, ces deux conotoxines de type μ sont des outils de choix pour les biologistes qui étudient la pharmacologie des différents types de canaux sodium. De la même façon, les ω -conotoxines qui sont spécifiques de certains types de canaux calcium ont été largement utilisées pour la caractérisation des fonctions physiologiques de ces canaux.

Parce qu'elles sont très spécifiques, ces ω -conotoxines ont des applications thérapeutiques. Ainsi, l'accumulation excessive de calcium intracellulaire est en partie responsable de la dégénérescence neuronale après une ischémie cérébrale (une insuffisance d'oxygénation après un accident vasculaire cérébral notamment). Certaines conotoxines de type ω , en inhibant des canaux calcium, sont efficaces sur des modèles expérimentaux d'ischémie chez l'animal : la conotoxine $\omega\text{-M}_{7\text{A}}$ prévient la destruction des neurones, même quand elle est injectée plusieurs heures après un choc ischémique provoqué.

Par ailleurs, ces canaux calcium sont abondants dans la moelle épinière, là où arrivent les terminaisons des fibres nociceptives (les fibres nerveuses associées à la douleur). L'administration, dans la moelle épinière de rat, de la conotoxine $\omega\text{-M}_{7\text{A}}$ supprime la douleur (l'effet observé est proportionnel à la dose administrée). Son efficacité est notablement supérieure à celle des opioïdes et la tolérance vis-à-vis de la conotoxine $\omega\text{-M}_{7\text{A}}$ n'augmente pas. Des tests cliniques sur l'homme ont été entrepris aux États-Unis : l'activité analgésique de cette conotoxine ne s'accompagne pas d'effets secondaires indésirables. La conotoxine $\omega\text{-M}_{7\text{A}}$ est la première molécule issue des venins de cônes à entrer dans la dernière phase d'essais cliniques. D'autres peptides de venins de cônes, également à l'étude, inhibent les convulsions qui accompagnent les crises d'épilepsie : c'est le cas des conantokines spécifiques des récepteurs NMDA du glutamate.

Six cents espèces de Conidae, une centaine de peptides par espèce : une multitude de substances thérapeutiques potentielles !

Frédéric LE GALL, docteur en neurobiologie, travaille au Laboratoire de neurobiologie cellulaire et moléculaire du CNRS, à Gif-sur-Yvette. Philippe FAVREAU travaille au Laboratoire de synthèses et études des substances naturelles à activités biologiques de l'Université de La Rochelle, où Georges RICHARD est professeur au Laboratoire de biologie et environnement marins.

B.M. OLIVERA, *Conus Venom Peptides, Receptors and Ion Channel Targets and Drug Design : 50 Millions Years of Neuropharmacology*, in *Molecular Biology of the Cell*, vol. 8, pp. 2101-2109, 1997.

F. LE GALL et al., *The Strategy Used by some Piscivorous Cone Snails to Capture their Prey : the Effects of their Venoms on Vertebrates and on Isolated Neuromuscular Preparations*, in *Toxicon*, n° 37, vol. 7, pp. 985-998, 1999.

P. FAVREAU et al., *Biochemical Characterization and NMR Structure of Novel Conotoxins Isolated from the Venom of Conus Consors*, in *Biochemistry*, n° 38, vol. 19, pp. 6317-6326, 1999.

F. LE GALL et al., *A new Conotoxin Isolated from Conus Consors Venom that Discriminates between Nerve and Muscle Voltage-Gated Sodium Channels*, in *European Journal of Neuroscience*, 1999 (à paraître).