

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2013.04.017

· 综述 ·

动物携带河豚毒素的分子机制与生态作用

苏捷, 姜琳琳, 吴靖娜, 王茵, 张农

(福建省水产研究所, 福建 厦门 361013)

摘要: 河豚毒素在自然界中分布广泛, 从微生物到植物、动物都有发现。除河豚外, 河豚毒素还在节肢动物、棘皮动物、软体动物、蠕虫、蝶螈、青蛙等其他物种中都有不同含量的分布。不同动物产生、富集河豚毒素的机制可能存在很大差别, 但是河豚毒素对其携带动物在自然选择进化中发挥着重大的作用。目前中国对河豚毒素的研究主要集中在河豚毒素的分离纯化、检测分析及抗体制备等方面, 而对河豚毒素产生的分子机制及生态作用的研究还很少, 文章通过综述国外对河豚毒素分子机制及生态作用的研究, 进一步阐释动物携带河豚毒素的分子机制及河豚毒素对动物的重要生态作用。

关键词: 河豚毒素; 进化; 分子机制; 生态作用

中图分类号: R 996.3

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2013)04-0099-06

Molecular mechanism and ecological function of animal carrying tetrodotoxin

SU Jie, JIANG Linlin, WU Jinna, WANG Yin, ZHANG Nong

(Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361013, China)

Abstract: Tetrodotoxin has a wide range distribution in the wild. In addition to puffer fish, there are many animals, including arthropod, echinodermata, mollusc, worm, newt, frog, etc, contain tetrodotoxin. Although the existing mechanism may be different to various animals, tetrodotoxin plays a very important role in poisonous animal during natural selection and evolution. In China, the studies of tetrodotoxin are mostly on purification, detecting analysis and antibody preparation, while less work has been performed on its molecular mechanism and ecological function. The present study sums up the related researches on tetrodotoxin's molecular mechanism and ecological function and tries to illustrate the molecular mechanism of carrying tetrodotoxin in the animals.

Key words: tetrodotoxin; evolution; molecular mechanism; ecological function

河豚毒素是一种非蛋白, 低分子量的神经毒素, 可以与钠离子通道结合, 进而影响到动物的肌肉与神经功能。河豚毒素最早是在河豚中发现的, 但到目前发现河豚毒素在陆生及水生生物中分布广泛, 如在甲藻孢囊、钙性藻类、节肢动物、棘皮动物、软体动物、蠕虫、蝶螈、青蛙中都有发现^[1]。河豚毒素携带动物对河豚毒素的耐受能力非常强, 有研究表明有毒的河豚对河豚毒素最小致死剂量(腹腔注射)达到 $3.0 \sim 7.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体质量, 而无毒的鱼类如日本

产鲷鱼(*Girella punctata*)、石鲷(*Oplegnathus punctatus*), 河豚毒素最小致死量仅为 $3 \sim 42 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体质量^[2]。含有河豚毒素的铜铸熟若蟹(*Zosimus aeneus*)和花纹爱洁蟹(*Atergatis floridus*)对河豚毒素的耐受力也远高于无毒种类^[3]。这说明这些动物体内有特殊的机制可以积累河豚毒素并抑制其在体内的毒性。目前国内对河豚毒素的分子机制还研究较少, 文章综述了国外对河豚毒素分子机制及生态作用的研究进展, 分析了河豚毒素致毒机制、富集及耐受机制, 并对河

收稿日期: 2013-01-13; 修回日期: 2013-03-22

资助项目: 福建省公益类科研院所基本科研专项“生物标志物结合免疫技术快速检测织纹螺毒素技术方法的研究”; 厦门市科技计划项目(3502Z20122006)

作者简介: 苏捷(1980-), 男, 博士研究生, 助理研究员, 从事河豚毒素毒理作用研究。E-mail: 23256438@qq.com

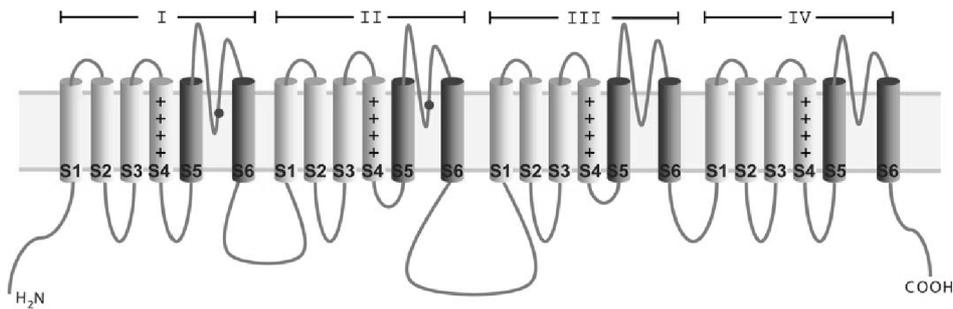


图1 钠离子通道及钙离子通道结构示意图^[5]

柱状图表示跨膜结构, 实线表示亲水部分

Fig. 1 Two-dimensional structure of the sodium channel and calcium channel

Cylinders represent transmembrane helices; solid lines show the hydrophilic portions of the sequence.

豚毒素的研究提出建议, 以期为河豚毒素研究提供参考。

1 河豚毒素的致毒分子机制

钠离子通道在可兴奋组织中如神经、心脏及肌肉组织中分布广泛, 钠离子通道由电压依赖性的跨膜蛋白组成, 随着钠离子的渗透性的增加而启动动作电位。钠离子通道是由1个 α 亚基及 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$ 3个辅助亚基构成, 其中 α 亚基由4个同源区域(I~IV)构成(图1), 每个同源区域又由6次跨膜片段(S1~S6)及1个凹进片段构成, 其中S4带有正电荷, 起着电压传感器的作用, 在电场(膜电位)的作用下, 电压依赖性钠离子通道可以打开或关闭, 在S5与S6之间凹进片段(P-loops)组成通道的外部结构, 起离子选择的作用^[4]。

河豚毒素是个刚性杂环分子, 含有6个羟基与1个胍基, 其中胍基是活性基团, 碳-11羟基是河豚毒素与钠离子通道结合必需的, 它们位于河豚毒素分子相对的两端, 在生理pH下带正电荷(图2)。有研究表明河豚毒素分子中的碳-4、碳-6、碳-8、碳-9、碳-10和碳-11(C-4、C-6、C-8、C-9、C-10和C-11)上的羟基可以与钠离子通道相互作用, 促进河豚毒素与钠离子通道的结合。研究表明河豚毒素的C-11羟基可以与IV区域的1532位的天氨酸形成氢键结合, 胍基可以与P-loops结合(图3)。

河豚毒素除了与钠离子通道结合之外, 河豚毒素还可以与人心肌细胞中的L-型钙离子通道结合^[6]。由于L-型钙离子通道与钠离子通道蛋白序列具有很高的同源性, 结构十分相近, 钙离子通道与钠离子通道的孔径蛋白都含有4个重复的线性序列, 每个重复序列有6个跨膜结构, 其中第4个跨膜结构带有正电荷, 起电压传感器的作用, 在第5到第6个跨膜结构之间有1个凹进的片段, 起离子筛选的作用^[7](图1)。

上述研究显示河豚毒素的致毒作用主要是与一些离子通道特异性的结合, 从而阻止钠离子或钙离子的正常跨膜运输, 进而影响到动物的神经兴奋与传导, 中枢神经系统

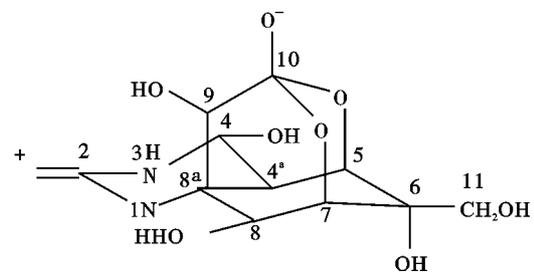


图2 河豚毒素结构

Fig. 2 Structure of tetrodotoxin

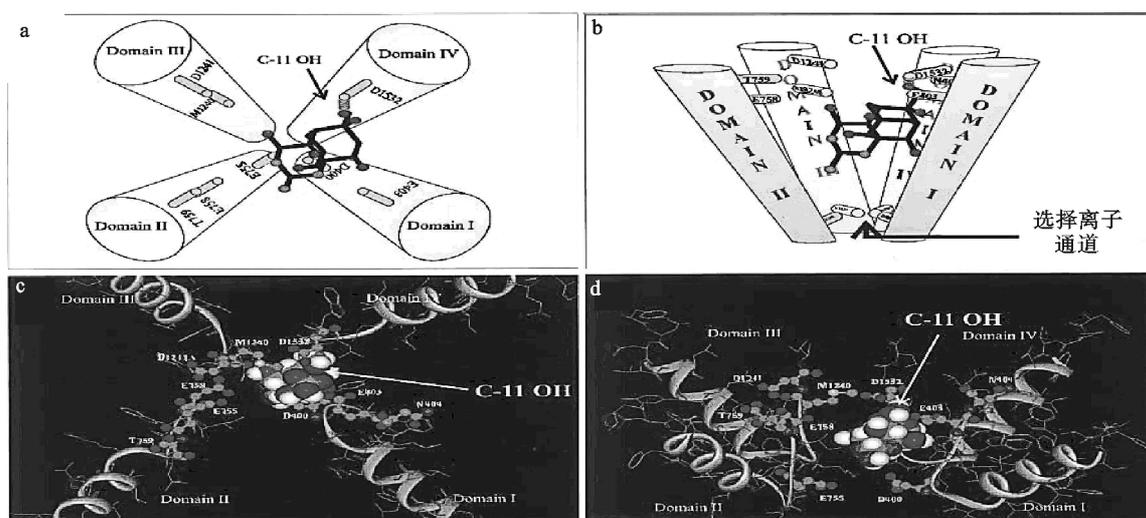
的调控功能, 心脏搏动, 平滑肌蠕动, 骨骼肌收缩, 激素分泌等一系列的生理功能。

2 河豚毒素的耐受机制

2.1 携毒动物钠离子通道特定位置氨基酸发生突变

携带河豚毒素的动物可以耐受很高浓度的河豚毒素, 这与这些动物体内特有的河豚毒素耐受机制有关。钠离子通道关键性氨基酸的改变对动物耐受河豚毒素起重要的作用。YOTSU-YAMASHITA等^[8]从河豚脑组织细胞膜及肌肉细胞膜上分离出钠离子通道蛋白, 对该蛋白 α 亚基(fmNa1)的1880个氨基酸进行序列分析, 发现通道I区的SS2片段的芳香族氨基酸(Phe/Tyr)被天冬酰胺(Asn)所代替。GEFFENEY等^[9]对含有河豚毒素蝾螈的天敌, 美洲花纹蛇(*Thamnophis sirtalis*)的钠离子通道氨基酸组成进行分析, 发现第1561位的异亮氨酸(Ile)被缬氨酸(Val)所取代。由于麻痹性贝毒(STX)与河豚毒素的作用机制类似, 因此对含有麻痹性贝类毒素动物的钠离子通道进行研究也发现部分氨基酸发生突变^[10]。

为进一步确定钠离子通道氨基酸的变化对河豚毒素作用敏感性的影响, VENKATESH等^[5]对小鼠细胞钠离子通道进行定点突变, 使其与河豚具有相一致的氨基酸结构, 利用电生理学方法研究发现河豚毒素与小鼠细胞的钠离子

图3 河豚毒素与钠离子通道结合示意图^[4]

a~b. 河豚毒素与通道蛋白外侧定向结合的俯视图与侧视图; c~d. 河豚毒素在通道外侧模型图;
组带状表示 P-环骨架, 碳原子、氮原子、硫原子、氧原子及氢原子用圆球表示

Fig. 3 Schematic diagram of TTX binding with sodium ion channel

a~b. Schematic emphasizing the orientation of TTX in the outer vestibule as viewed from top and side; c~d. TTX docked in the outer vestibule model. The ribbons indicate the P-loop backbone. Carbon, nitrogen, sulfur, oxygen, and hydrogen are presented in ball.

通道蛋白结合能力明显下降, 细胞对河豚毒素的抵抗耐受能力提高。MEBS 等^[11]利用免疫荧光技术研究河豚毒素在东美鲷(*Notophthalmus viridescens*)体内分布, 研究发现河豚毒素在东美鲷的皮下, 肌肉层、肝脏、肠上皮细胞都有分布。推测东美鲷耐受高浓度河豚毒素的原因可能也是由于体内钠离子通道关键性氨基酸发生了改变。钠离子通道的氨基酸序列比较保守, 而河豚毒素携带动物的钠离子通道部分氨基酸的突变对动物耐受河豚毒素起重要的作用。

2.2 毒素结合蛋白(PSTBP)及毒素体内的运输

河豚毒素携带动物可以抵抗高浓度的河豚毒素还与河豚毒素在动物体内的运输机制有关。对人工培养的无毒红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)进行河豚毒素肌肉注射, 研究发现河豚毒素迅速通过血液传播到鱼的肝脏等其他部位, 最终约 89% 的河豚毒素被贮存在河豚的皮下基层细胞内^[12-13]。通过单克隆抗体免疫荧光技术分析河豚毒素在河豚体内分布, 研究发现河豚毒素主要分布在雄鱼的皮肤和肝脏中, 而雌鱼则分布在皮肤及卵巢中。河豚皮肤中的河豚毒素主要是在皮下基层组织及粘液细胞内^[14]。这些研究表明河豚毒素在携带动物体内分布有一定的规律性, 河豚摄入河豚毒素后被迅速输送到相关部位, 进而减少河豚毒素的致毒作用, 这与河豚毒素的特殊运输机制有关。

从河豚体内分离出河豚毒素结合蛋白(PSTBP)之后^[15-16], 在红脐大玉螺(*Polinices didamy*)、细纹玉螺(*Natica lineata*)、橙口榧螺(*Oliva miniacea*)、台湾榧螺(*O. mustelina*)和平瀨榧螺(*O. hirasei*)体内也分离出能与河豚毒素结合的高分子量蛋白质(HMWS)^[17]。对人工培养的

无毒红鳍东方鲀蛋白质表达研究, 通过飞行质谱鉴定发现 Tr1 和 Tr2 基因表达的 C 端蛋白质区域与 PSTBP 有很高的同源性, 它们都是编码脂质运载蛋白的基因^[18]。PSTBP 是一种可溶性的蛋白, 首先在河豚的肝脏内合成, 通过血液被运输到河豚的皮肤、胆液等部位。PSTBP 在河豚毒素含量最高的肝脏及卵巢部位中的浓度不是特别高, 说明 PSTBP 与河豚毒素的富集没有关系。在肝脏中富集河豚毒素可能与其他的蛋白质有关, 但目前还不清楚。河豚的皮肤存在分泌河豚毒素的分泌腺或类似腺状组织。河豚血液中的河豚毒素含量很低, 而在河豚的特定部位毒素含量很高。这些说明 PSTBP 可能与河豚体内河豚毒素的运输有关^[19]。

MATSUMOTO 等^[20]对红鳍东方鲀的肝脏组织切片后研究, 发现肝脏组织切片可以富集河豚毒素, 河豚毒素的富集呈温度依赖性和钠离子依赖性, 研究还发现在培养液中河豚毒素浓度低时(类似天然条件), 肝脏组织可以富集大量的河豚毒素, 而培养液中河豚毒素浓度很高时, 肝脏则积累较少的河豚毒素。由于人工体外培养, 溶液中没有 PSTBP 存在, 因此推测在河豚中存在跨膜的载体运输蛋白系统负责对河豚毒素进行跨膜运输。目前虽然有许多关于河豚毒素分子机制的研究, 但是动物对河豚毒素的耐受机制还有许多没有阐明, 如动物体内河豚毒素的贮存、运输相关的蛋白, 河豚毒素体内代谢机制等还不清楚。河豚毒素在动物体内的分子机制复杂, 涉及动物的生长、代谢等许多生命活动。如 MATSUMOTO 等^[21]对红鳍东方鲀进行肌肉注射后, 用抑制消减杂交法研究河豚毒素对河豚肝脏基因表达的影响。研究发现河豚毒素可以影响河豚肝脏肝

杀菌肽前体、血清铁传递蛋白、载脂蛋白、原纤维蛋白 β 链及热激蛋白等多个基因的表达。因此动物对河豚毒素的耐受机制还有待进一步的研究。

3 河豚毒素在动物体内的作用

3.1 防御作用

从河豚毒素在动物体内的分布,可以看出河豚毒素对动物防御起重要的作用。河豚、两栖动物、蓝环章鱼(*H. lunulata*)及虾虎鱼的皮肤部位均检测出含有河豚毒素。免疫标签技术研究表明河豚毒素分布在虫纹东方鲀(*Takifugu vermicularis*)的皮肤内腺状组、凹鼻鲀(*Chelonodon patoca*)的皮肤汁液细胞、四齿鲀(*Tetraodon steindachneri*)的皮下基质细胞及汁液细胞中^[22-24]。豹纹东方鲀(*Takifugu pardalis*)、星点东方鲀(*T. niphobles*)、异被东方鲀(*T. poecilonotus*)、环辐东方鲀(*T. vermiculare radiatum*)、紫色东方鲀(*T. vermiculare porphyreum*)把河豚毒素贮存在皮肤外分泌腺中^[25-26]。SAITO等^[2]研究发现星点东方鲀、虫纹东方鲀、豹纹东方鲀在外界刺激时皮肤会分泌大量的河豚毒素。肌肉注射过量的河豚毒素后,红鳍东方鲀在12 h内能把河豚毒素积累到皮肤部位^[25]。在有危险的情况下河豚通常会鼓起肚子,同时伴随河豚毒素的分泌^[26-27]。河豚的塑料模型可以吓退其他鱼类,甚至支持贝茨氏拟态效应^[28-29],这可能就是与河豚含有河豚毒素有关。研究表明产卵后的河豚更容易受到攻击,相比野生幼鱼具有更高的死亡率,这可能与河豚产卵后体内河豚毒素浓度下降有关^[30]。线纹玉螺(*Natica lineata*)在受到外界刺激时肌肉会分泌河豚毒素^[31-32]。纽虫(*Cephalothrix linearis*)把河豚毒素贮存在上皮细胞的杆状细胞内,当受到外界刺激时也会分泌河豚毒素^[33]。蓝纹章鱼(*Hapaloclaena fasciata*)、蓝环章鱼、圈章鱼(*H. maculosa*)、云斑裸颊虾虎鱼(*Yongechthys criniger*)及陆生河豚毒素携带动物也是把河豚毒素贮存在皮肤组织内^[34-36]。河豚毒素存在于这些动物的皮肤组织特别是在分泌颗粒腺体内,受到危险时通过皮肤分泌河豚毒素,避免被其他动物捕食,因此河豚毒素在这些动物体内具有重要的防御性功能。

河豚毒素还大量存在河豚毒素携带动物的卵巢及卵母细胞内,如在河豚、鲎、蓝环章鱼等的卵母细胞都含有河豚毒素^[37-39],这些河豚毒素可以传递给幼鱼。有研究表明河豚幼体可以阻止礁石鱼类的捕食,从而提高它们的成活率^[40]。河豚毒素引发的电反应可以降低褐鳟(*Salmo gairdneri*)及红点鲑(*Salvelinus alpinus*)的味觉效果,许多鱼类会避开食用含有河豚毒素的食物^[41]。这些研究进一步验证了河豚毒素对其携带动物的生存及繁殖起重要的保护作用。

3.2 攻击作用

虽然有大部分研究表明河豚毒素对其携带动物有保护作用,但也有研究表明河豚毒素在某些动物捕食时也起着重要的作用。研究发现一种扁形虫(*Planocercid flatworm*)在

捕食后体内的河豚毒素降低,但在1周后又恢复了正常水平^[42]。含有河豚毒素的箭虫把河豚毒素贮存在头部附近,通过毒素来麻痹它们的食物^[43]。蓝环章鱼把河豚毒素贮存在后唾液腺,遇到猎物时可以释放河豚毒素^[44]。上述研究表明某些动物可以利用河豚毒素作为攻击其他生物的工具。

3.3 生物信号作用

河豚毒素在一些生物内起着生物信号的作用。雌星点东方鲀体内河豚毒素浓度超过 $15 \text{ pmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时就对雄河豚有性诱导作用^[45]。性成熟时期的雌河豚含有较高浓度的河豚毒素,可以吸引雄性河豚进行受精。还有研究表明河豚毒素对带有河豚毒素的螺[广大扁玉螺(*Polinices didyma*)、线纹玉螺(*Natica lineata*)、玉螺(*N. vitellus*)、素面织纹螺(*Zeuxis sufflatus*)、方格织纹螺(*Niotha clathrata*)、红口榧螺(*Oliva miniacea*)、陷顶伶鼬榧螺(*O. mustelina*)及平瀨榧螺(*O. hirasei*)]有诱食作用,而无毒的福寿螺(*Pomacea canalicularata*)和淡水蜗(*Satsuma bairdi*)没有诱食作用,说明带有河豚毒素的螺更倾向于觅食含有河豚毒素的食物^[46]。通过在鱼食中添加河豚毒素标准品研究其对河豚的诱食作用,发现星点东方鲀也有类似功能,它们都更倾向于食用含有河豚毒素的食物^[47]。因此河豚毒素对动物的性诱导及摄食诱导起重要的生物信号作用。

4 小结与展望

河豚毒素携带动物在自然选择长期的进化过程中,形成积累、富集、耐受河豚毒素的复杂机制,同时河豚毒素在动物体内的富集对动物及其幼鱼又起保护作用,某些动物在捕食及性诱导方面,河豚毒素也发挥着重要的作用,因此河豚毒素对其携带动物物种的生存延续有重要的存在意义。由于河豚毒素是一种小分子,是生物的二级代谢产物,研究表明微生物中二级代谢产物的产生受到微生物种间的相互协调作用的影响,如细菌产生的含有GcnE蛋白及AdaB蛋白的saga/ada复合物是细菌诱导构巢曲霉产生二级代谢产物所必需的^[48],目前从河豚中分离的生产河豚毒素细菌经传代后产毒量极大的降低,这说明河豚毒素的产生可能还与微生物种间或微生物与机体的相互协调作用有关,并且这种作用是在携带河豚毒素生物长期进化中形成的。河豚毒素的产生涉及多种蛋白酶的参与,这些蛋白酶可能是由一串基因簇表达的,也可能由多个基因簇共同表达作用的结果,因此对河豚毒素的分子机制进行彻底的研究具有很大的难度。

目前国内对河豚毒素的研究主要集中在河豚毒素的检测、分离纯化、中毒解救、抗体制备等几个方面,而对河豚毒素的生态作用及在动物体内的分子机制等方面的深入研究还很少。河豚毒素在动物体内分子机制的研究对于阐释河豚毒素的来源及其形成机制是必不可少的。因此笔者认为今后有必要在这方面进行更多的研究:1)对河豚及其他携带河豚毒素的动物或微生物的蛋白质组进行研究,分

析与河豚毒素产生、积累、富集有关的蛋白质及它们的作用机制; 2) 对河豚毒素携带生物进行全基因组测序分析, 研究与产生河豚毒素二级代谢产物相关的基因簇, 研究这些基因簇的表达受哪些信号, 是外源还是内源的信号因子调节。只有通过上述两点对河豚毒素进行深入的研究, 才能了解河豚毒素的来源, 它的产生又是如何进行调节, 才能更好的开发与利用河豚毒素, 并最终应用河豚毒素为社会服务。

参考文献:

- [1] NOGUCHI T, ARAKAWA O. Tetrodotoxin-distribution and accumulation in aquatic organisms, and cases of human intoxication[J]. *Mar Drugs*, 2008, 6(2): 220-242.
- [2] SAITO T, NOGUCHI T, HARADA T, et al. Tetrodotoxin as a biological defense agent for puffers [J]. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 1985, 51(7): 1175-1180.
- [3] 王晓杰, 于仁成, 周名江. 河豚毒素生态作用研究进展[J]. *生态学报*, 2009, 29(9): 5007-5013.
- [4] CHOUDHARY G, YOTSU-YAMASHITA M, SHANG L, et al. Interactions of the C-11 hydroxyl of tetrodotoxin with the sodium channel outer vestibule[J]. *Biophysical J*, 2003, 84(1): 287-294.
- [5] VENKATESH B, LU S Q, DANDONA N, et al. Genetic basis of tetrodotoxin resistance in pufferfishes [J]. *Curr Biol*, 2005, 15(22): 2069-2072.
- [6] HEGYI B, BARANDI L, KOMAROMI I, et al. Tetrodotoxin blocks L-type Ca^{2+} channels in canine ventricular cardiomyocytes [J]. *Pflügers Arch: Eur J Physiol*, 2012, 464(2): 167-174.
- [7] HEINEMANN S H, TERLAU H, STÜHMER W, et al. Calcium channel characteristics conferred on the sodium channel by single mutations[J]. *Nature*, 1992, 356(6368): 441-443.
- [8] YOTSU-YAMASHITA M, YAMAKI H, NATSUMI O. Distribution of homologous proteins to puffer fish saxitoxin and tetrodotoxin binding protein in the plasma of puffer fish and among the tissues of *Fugu pardalis* examined by Western blot analysis [J]. *Toxicon*, 2010, 55(6): 1119-1124
- [9] GEFFENEY S L, FUJIMOTO E, BRODIE E D, et al. Evolutionary diversification of TTX-resistant sodium channels in a predator-prey interaction[J]. *Nature*, 2005, 434(7034): 759-763.
- [10] BRICELJ V M, CONNELL L, KONOKI K, et al. Sodium channel mutation leading to saxitoxin resistance in clams increases risk of PSP[J]. *Nature*, 2005, 434(7034): 763-767.
- [11] MEBS D, ARAKAWA O, YOTSU-YAMASHITA M, et al. Tissue distribution of tetrodotoxin in the red-spotted newt *Notophthalmus viridescens*[J]. *Toxicon*, 2010, 55(7): 1353-1357.
- [12] IKEDA K, MURAKAMI Y, EMOTO Y, et al. Transfer profile of intramuscularly administered tetrodotoxin to non-toxic cultured specimens of the pufferfish *Takifugu rubripes*[J]. *Toxicon*, 2009, 53(1): 99-103.
- [13] WANG J, ARAKI T, TATSUNO R, et al. Transfer profile of intramuscularly administered tetrodotoxin to artificial hybrid specimens of pufferfish, *Takifugu rubripes* and *Takifugu niphobles*[J]. *Toxicon*, 2011, 58(6): 565-569.
- [14] ITOI S, YOSHIKAWA S, TATSUNO R, et al. Difference in the localization of tetrodotoxin between the female and male pufferfish *Takifugu niphobles*, during spawning [J]. *Toxicon*, 2012, 6(60): 1000-1004.
- [15] MATSUI T, YAMAMORI K, FURUKAWA K, et al. Purification and some properties of a tetrodotoxin binding protein from the blood plasma of kusafugu, *Takifugu niphobles*[J]. *Toxicon*, 2000, 38(3): 463-468.
- [16] YOTSU-YAMASHITA M, SUGIMOTO A, TERAKAWA T, et al. Purification, characterization, and cDNA cloning of a novel soluble saxitoxin and tetrodotoxin binding protein from plasma of the puffer fish, *Fugu pardalis* [J]. *Eur J Biochem*, 2001, 268(22): 5937-5946.
- [17] HWANG P A, TSAI Y H, LIN H P, et al. Tetrodotoxin-binding proteins isolated from five species of toxic gastropods [J]. *Food Chem*, 2007, 103(4): 1153-1158.
- [18] TATSUNO R, YAMAGUCHI K, TAKATANI T, et al. Two proteins homologous to pufferfish saxitoxinand tetrodotoxin-binding protein (PSTBP) found in the plasma of non-toxic cultured specimens of the pufferfish (*Takifugu rubripes*) [J]. *Toxicon*, 2012, 60(2): 153-153.
- [19] YOTSU-YAMASHITA M, YAMAKI H, OKOSHI N, et al. Distribution of homologous proteins to puffer fish saxitoxin and tetrodotoxin binding protein in the plasma of puffer fish and among the tissues of *Fugu pardalis* examined by Western blot analysis[J]. *Toxicon*, 2010, 55(6): 1119-1124.
- [20] MATSUMOTO T, NAGASHIMA Y, KUSUHARA H, et al. Involvement of carrier-mediated transport system in uptake of tetrodotoxin into liver tissue slices of puffer fish *Takifugu rubripes* [J]. *Toxicon*, 2007, 50(2): 173-179.
- [21] MATSUMOTO T, ISHIZAKI S, NAGASHIMA Y. Differential gene expression profile in the liver of the marine puffer fish *Takifugu rubripes* induced by intramuscular administration of tetrodotoxin[J]. *Toxicon*, 2011, 57(2): 304-310.
- [22] MAHMUD Y, ARAKAWA O, ICHINOSE A, et al. Intracellular visualization of tetrodotoxin (TTX) in the skin of a puffer *Tetraodon nigroviridis* by immunoenzymatic technique [J]. *Toxicon*, 2003, 41(5): 605-611.
- [23] MAHMUD Y, OKADA K, TAKATANI T, et al. Intra-tissue distribution of tetrodotoxin in two marine puffers *Takifugu vermicularis* and *Chelonodon patoca*[J]. *Toxicon*, 2003, 41(1): 13-18.
- [24] TANU M B, MAHMUD Y, TAKATANI T, et al. Localization of tetrodotoxin in the skin of a brackishwater puffer *Tetraodon steindachneri* on the basis of immunohistological study [J]. *Toxicon*, 2002, 40(1): 103-106.
- [25] IKEDA K, MURAKAMI Y, EMOTO Y, et al. Transfer profile of intramuscularly administered tetrodotoxin to non-toxic cultured specimens of the pufferfish *Takifugu rubripes*[J]. *Toxicon*, 2009, 53

- (1): 99–103.
- [26] KODAMA M, SATO S, OGATA T, et al. Tetrodotoxin secreting glands in the skin of puffer fishes[J]. *Toxicon*, 1986, 24(8): 819–829.
- [27] KODAMA M, OGATA T, Sato S. External secretion of tetrodotoxin from puffer fishes stimulated by electric shock[J]. *Mar Biol*, 1985, 87(2): 199–202.
- [28] CALEY M J, SCHLUTER D. Predators favour mimicry in a tropical reef fish[J]. *Proc Biol Sci*, 2003, 270(1516): 667–672.
- [29] TYLER J C. Mimicry between the plectognath fishes *Canthigaster valentini* (Canthigasteridae) and *Paraluteres prionurus* (Aluteridae)[C] Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 1966: 1–13.
- [30] SHIMIZU D, SAKIYAMA K, SAKAKURA Y, et al. Predation differences between wild and hatchery-reared tiger puffer *Takifugu rubripes* juveniles in a salt pond mesocosm[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 2007, 73(3): 461–469.
- [31] HWANG D F, CHUEH C H, JENG S S. Occurrence of tetrodotoxin in the gastropods mollusk *Natica lineata* (Lined Moon Shell)[J]. *Toxicon*, 1990, 28(1): 21–27.
- [32] HWANG D F, CHUEH C H, JENG S S. Tetrodotoxin secretion from the Lined Moon Shell *Natica lineata* in response to external stimulation[J]. *Toxicon*, 1990, 28(10): 1133–1136.
- [33] ALI A E, ARAKAWA O, NOGUCHI T, et al. Tetrodotoxin and related substances in a ribbon worm *Cephalothrix linearis* (Nemertean)[J]. *Toxicon*, 1990, 28(9): 1083–1093.
- [34] WILLIAMS B L, CALDWELL R L. Intra-organismal distribution of tetrodotoxin in two species of blue ringed octopuses (*Hapalochlaena fasciata* and *H. lunulata*) [J]. *Toxicon*, 2009, 54(3): 345–353.
- [35] YOTSU-YAMASHITA M, MEBS D, FLACHSENBERGER W. Distribution of tetrodotoxin in the body of the blue-ringed octopus (*Hapalochlaena maculosa*) [J]. *Toxicon*, 2007, 49(3): 410–412.
- [36] DALY J W. Marine toxins and nonmarine toxins: convergence or symbiotic organisms [J]. *Nat Prod*, 2004, 67(8): 1211–1215.
- [37] KUNGSUWAN A, NAGASHIMA Y, NOGUCHI T. et al. Tetrodotoxin in the horseshoe crab *Carcinoscorpius rotundicauda* inhabiting Thailand [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1987, 53(2): 261–266.
- [38] TANU M B, NOGUCHI T. Tetrodotoxin as a toxic principle in the horseshoe crab *Carcinoscorpius rotundicauda* collected from Bangladesh [J]. *J Food Hyg Soc Jpn*, 1999, 40(6): 426–430.
- [39] SHEUMACK D D, HOWDEN M E, SPENCE I. Occurrence of a tetrodotoxin-like compound in the eggs of the venomous blue-ringed octopus (*Hapalochlaena maculosa*) [J]. *Toxicon*, 1984, 22(5): 811–812.
- [40] GLADSTONE W. The eggs and larvae of the sharpnose pufferfish *Canthigaster valentini* (Pices: Tetradontidae) are unpalatable to other reef fishes [J]. *Copeia*, 1987, 1987(1): 227–230.
- [41] YAMAMORI K, NAKAMURA M, MATSUI T, et al. Gustatory responses to tetrodotoxin and saxitoxin in fish: a possible mechanism for avoiding marine toxins [J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 1988, 45(12): 2182–2186.
- [42] RITSON-WILLIAMS R R, YOTSU-YAMASHITA M, PAUL V. Ecological functions of tetrodotoxin in a deadly polyclad flatworm [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2006, 103(9): 3176–3179.
- [43] NAGASAWA S. The digestive efficiency of the chaetognath *Sagitta crassa Tokioka*, with observations on the feeding process [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1985, 87(3): 67–75.
- [44] NORMAN M, REID A. A guide to squid, cuttlefish, and octopuses of Australasia [M]. Victoria, Australia: Csiro Publishing, 2000: 1–99.
- [45] MATSUMURA K. Tetrodotoxin as a pheromone [J]. *Nature*, 1995, 378(6557): 563–564.
- [46] HWANG P A, NOGUCHI T, HWANG D F. Neurotoxin tetrodotoxin as attractant for toxic snails [J]. *Fish Sci*, 2004, 70(6): 1106–1112.
- [47] SAITO T, KAGEYU K, GOTO H, et al. Tetrodotoxin attracts pufferfish (*Takifugu rubripes*) [J]. *Toxicon*, 1997, 35(4): 489–489.
- [48] NütZMANN H W, REYES-DOMINGUEZ Y, SCHERLACH K, et al. Bacteria-induced natural product formation in the fungus *Aspergillus nidulans* requires Saga/Ada-mediated histone acetylation [J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2011, 108(34): 14282–14287.