



河豚毒素的来源与生物合成研究进展

伍伟, 喻淳宁, 杨星驰, 孙鹏, 储智勇

Research progress on the source and biosynthesis of tetrodotoxin

WU Wei, YU Dunning, YANG Xingchi, SUN Peng, CHU Zhiyong

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202306029>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

齐墩果酸和熊果酸衍生物的化学合成及体外抗丙肝病毒作用的研究

Synthesis and *in vitro* antiviral effects against hepatitis C virus of oleanolic acid and ursolic acid derivatives

药学实践与服务. 2025, 43(10): 503-508 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202502045

生物制剂治疗强直性脊柱炎的研究进展

Research progress on biological agents in the treatment of ankylosing spondylitis

药学实践与服务. 2025, 43(7): 320-324 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202502005

苦参碱及衍生物的抗炎作用及其机制研究进展

Research progress on anti-inflammatory effect and mechanism of matrine and its derivatives

药学实践与服务. 2025, 43(4): 163-168, 194 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202406035

ANXA3基因及蛋白的研究进展

Research progress on ANXA3 gene and protein

药学实践与服务. 2025, 43(2): 47-50, 74 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202309023

RRx-001衍生物的合成和抗肿瘤活性研究

Synthesis and antitumor activity of novel RRx-001 derivatives

药学实践与服务. 2025, 43(8): 400-403 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202408053

食管癌的靶向治疗与免疫治疗研究进展

Research progress on targeted therapy and immunotherapy for esophageal cancer

药学实践与服务. 2024, 42(6): 231-237 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202306008



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 综述 ·

河豚毒素的来源与生物合成研究进展

伍 伟¹, 喻淳宁¹, 杨星驰², 孙 鹏², 储智勇¹ (1. 江西中医药大学药学院, 江西南昌 330004; 2. 海军军医大学药学系, 上海 200433)

[摘要] 河豚毒素(TTX)是一种强效神经毒素, 因具有特异性的钠通道阻断作用而被广泛用于生物医学领域研究。虽然既往研究者已从不同的海洋生物中鉴定出 TTX, 但 TTX 的真正来源尚不明确, 具体的生物合成途径也不清楚。本文综述了已报道的 TTX 来源以及 TTX 的生物合成研究进展, 重点关注 TTX 可能的微生物来源, 为 TTX 的生产与生物合成研究提供科学参考。

[关键词] 河豚毒素; 来源和产生; 生物合成

[文章编号] 2097-2024(2026)01-0001-06

[DOI] [10.12206/j.issn.2097-2024.202306029](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202306029)

Research progress on the source and biosynthesis of tetrodotoxin

WU Wei¹, YU Dunning¹, YANG Xingchi², SUN Peng², CHU Zhiyong¹ (1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang, 330004 China; 2. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Tetrodotoxin(TTX)is a potent neurotoxin known for its specific sodium channel blocking effects, widely used in biomedical research. While TTX has been identified in various marine organisms, its true origin remains unclear, and the specific biosynthetic pathways are yet to be elucidated. The reported sources of TTX and the progress in research on TTX biosynthesis was summarized, with a focus on potential microbial sources of TTX, which could provide scientific reference for the production and biosynthesis studies of TTX.

[Key words] tetrodotoxin; source and production; biosynthesis

河豚毒素(TTX)是一种在自然环境中产生的致命神经毒素。其化学结构包含一个单独的胍基团, 连接到一个高度氧化的碳主链上, TTX 的碳主链由 2,4-二噁金刚烷结构组成, 并有 5 个羟基修饰, TTX 是氨基全氢喹唑啉型化合物(图 1)。TTX 通过抑制神经和肌肉细胞的动作电位发挥作用, 已成为研究可兴奋细胞的有用工具。一项使用乌贼巨大轴突的研究表明, TTX 只阻断了钠通道而对静息膜电位没有影响^[1], 钠通道的结构被认为是一个钟形分子, 含有多个腔, 相对分子质量约为 3×10^5 ^[2]。自此以后, TTX 成为神经生理学研究中的一种热门化学物质^[3]。此外, TTX 有望成为治疗偏头痛、海洛因成瘾者戒断和麻醉的药物, TTX 在疼痛医学领域得到了较高的重视^[4,5]。本文通过综述 TTX 的来源以及 TTX 的生物合成研究进展, 重点关注 TTX 可能的微生物来源, 为 TTX 的生产与生

物合成研究提供科学参考。

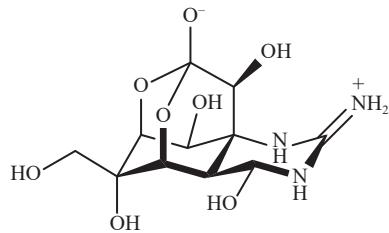


图 1 河豚毒素的结构

1 河豚毒素的来源

1.1 外源性学说

外源性学说认为 TTX 是通过环境中的生物摄取而产生的、并在生物体内形成, 这个过程通常耗时较长, 导致摄入生物的突变和进化, 使它们对 TTX 产生抵抗力。Matsui 等人用人工饲养的幼鱼进行饲养实验以验证 TTX 外源的可能性, 研究人员将河豚鱼随机分配到试验组和对照组, 确保两组之间在外观或其他特征上没有显著差异, 试验组和对照组的河豚鱼都主动摄取了绝大部分饲料, 并没有出现产毒迹象^[6,7], 然后将毒性卵巢投喂给试验组的河豚鱼, 在第 5 天试验组河豚鱼的所有组织已具

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82273849)

[作者简介] 伍 伟, 硕士研究生, 研究方向: 天然药物化学, Email: 1255260404@qq.com

[通信作者] 储智勇, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 中药药理, Tel: 13661808511, Email: zhiyongchuleader@163.com

有毒性,尽管不同组织的毒性程度不同,但是研究人员认为产生TTX的生物体是可以从外界获得TTX^[8]。根据另外一个研究,TTX的外源来源被证明是一种贝类(*Charonia sauliae*),它在摄入有毒的海藻后在体内累积了TTX^[9]。

TTX通过食物链在河豚体内积累的机制于2006年提出,研究者给河豚投喂不含TTX的饲料时,海底网箱养殖的26个河豚的肌肉、皮肤、性腺和其他脏器以及陆地养殖的14个河豚标本的卵巢完全没有毒性。如果阻止产生TTX的微生物入侵,在海底网箱或陆地养殖一年的5000多个河豚标本也变得无毒,但当无毒的河豚被喂食含有TTX的饲料时,河豚变得有毒^[10]。

1.2 内源性学说

内源性学说认为TTX可能是一种偶然产生的代谢产物,存在于产生TTX的生物体内时可能具有某些生理功能,而非仅仅是一种毒素。1963年,研究者从蝾螈*Taricha*颗粒中分离出一种新的神经毒素,此神经毒素最初被归类为芋螺毒素^[11]。1964年,研究者对芋螺毒素和TTX的结构进行对比,认为这两种毒素的结构是相同的^[12]。自此以后,人们用TTX来命名这种毒素。后来,Hanifin

等的研究发现,当蝾螈被长时间圈养后,它们体内的TTX水平会增加^[13]。当对蝾螈的背部进行电刺激时,身体上特有的*Taricha*颗粒会释放出TTX,并且经过9个月的人工饲养, *Taricha*颗粒似乎能够自主产生TTX。蝾螈体内TTX的来源可能是背侧皮肤和卵巢组织,因为除了这两个组织外,其他组织中只有低水平的TTX。此外,有研究发现蝾螈的TTX自主产生与性别无关,并且刺激背侧皮肤后TTX的增加不是由于卵巢组织中TTX的补充,这表明蝾螈背部的*Taricha*颗粒可以自主产生TTX。

1.3 共生微生物学说

共生微生物学说认为TTX可能是由产生它的动物和体内的微生物之间共生合成的。既往学者对河豚体内产生TTX的微生物进行了广泛的研究,普遍认为微生物是产生TTX的生物体内的真正来源^[9]。有研究表明,当把产生TTX的微生物从河豚体内分离出来后,这些河豚在人工饲养时就失去了产生TTX的能力,这支持了TTX通过共生微生物产生的假说^[10]。对产生TTX的微生物诸多研究发现,来自不同地区的微生物所产生的TTX浓度不同,采用不同的分析检测方法所检测到的TTX的浓度也有所不同,详见表1。

表1 不同来源微生物中的河豚毒素含量和检测方法

产生TTX的微生物	国家/地区	TTX检测方法	TTX浓度($\rho_B/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
<i>Vibrio alginolyticus</i>	日本	HPLC-MS; UV-Vis; GC-MS	0.08 ^[14]
<i>Vibrio alginolyticus</i>	日本	HPLC-FLD; GC-MS	0.001 2 ^[15]
<i>Bacillus</i> sp.	菲律宾	HPLC-FLD; GC-MS	0.001 5 ^[16]
<i>Pseudomonas</i> sp	菲律宾	HPLC-FLD; GC-MS	0.002 5 ^[17]
<i>Shewanella putrefaciens</i>	日本	HPLC-FLD; GC-MS	0.012 ^[18]
<i>Vibrio alginolyticus</i>	日本	HPLC-FLD	0.28 ~ 0.79 ^[19]
<i>Microbacterium</i>	中国香港	TLC; LC-ESI-MS	0.042 ^[20]
<i>Arabinogalactanolyticum</i>	中国香港	TLC; LC-ESI-MS	0.04 ^[21]
<i>Serratia marcescens</i>	中国香港	TLC; LC-ESI-MS	0.03 ^[22]
<i>Vibrio alginolyticus</i>	中国	TLC	0.32 ^[22]
<i>Bacillus</i> sp	中国	HPLC-FLD; LC-ESI-MS	0.32 ^[23]
<i>Actinomyces</i> sp	中国	HPLC-FLD	0.1 ^[24]
<i>Nocardiopsis dassonvillei</i>	夏威夷	TLC; LC-ESI-MS; UV-Vis	0.1 ^[24]
<i>Vibrio harveyi</i>	中国	HPLC-MS	0.5 ~ 15.7 ^[24]
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	中国	LC-ESI-MS	0.024 ^[24]
<i>Aeromonas</i> sp	中国香港	ELISA; HPLC-MS	0.002 ^[17]
<i>Raoultella terrigena</i>	泰国	ELISA; LC-MALDI-TOF	0.008 ^[17]
<i>Shewanella putrefaciens</i>	越南	MS; HPLC-MS-MS	0.195 ~ 0.366 ^[25]
<i>Providencia rettgeri</i>	越南	HPLC-FLD; TLC	0.015 ~ 0.021 ^[25]
<i>Enterococcus faecium</i>	中国	HPLC-FLD; TLC	0.015 ~ 0.030 ^[26]
<i>Enterobacter cloaca</i>	中国	HPLC-FLD; TLC	0.96 ^[26]
<i>Rahnella aquatilis</i>	英国	ELISA; HPLC-MS-MS	0.6 ^[27]
<i>Vibrio cholerae</i>	英国	ELISA; HPLC-MS-MS	(4.2 ~ 71.8) $\times 10^{-5}$ ^[28]

注: HPLC-MS: 高效液相色谱-质谱联用; HPLC-FLD: 高效液相色谱-荧光法; UV-Vis: 紫外可见分光光度法; GC-MS: 气相色谱-质谱联用; TLC: 薄层色谱法; ELISA: 酶联免疫吸附试验; LC-ESI-MS: 液相色谱-电喷雾质谱; HPLC-MS-MS: 二级质谱; MS: 质谱。

2 河豚毒素的需求

TTX 是一种选择性阻断电压门控钠通道的化合物,由于其特异性作用,TTX 成为神经科学研究中的重要化学工具。除神经科学研究领域外,TTX 在麻醉和镇痛领域也获得了广泛关注。由此可见,诸多领域对 TTX 的需求不断增加。目前,获取 TTX 的主要方法是从河豚的肝脏和卵巢中提取,但这种方法对河豚种群有不利影响并且效率较低,因此亟需探索其他途径来获取 TTX。

理论上可以通过化学合成的方式获取 TTX,但该方法所用原料昂贵,化学反应步骤多、耗时长、产量低且过程复杂^[29]。因此,需要寻找一种可靠、成本效益高且可持续的 TTX 获取方法。目前,现代分子遗传学方法已取得了重大突破,其能够有效解释类似 TTX 的天然产物的组装过程。通过在遗传水平层面全面了解这些产物的生物合成方式,有望对微生物开展精确的基因工程,从而大规模生产 TTX,这将极大地推动 TTX 的应用和开发。在此背景下,利用 TTX 的生物合成基因来产生稳定且可持续的 TTX 成为了相对可靠的方法。

3 河豚毒素的生物合成

3.1 同位素标记实验

河豚毒素的骨架结构来源可以分为两部分:胍基部分来源于精氨酸前体,而糖环部分来源于 C₅ 糖(apiose)或者异戊二烯焦磷酸(图 2)。Shimizu 等的研究采用了两种基于 TTX 碳主链的生物合成方法来研究蝾螈的摄食机制,研究结果表明当毒性蝾螈被喂食含有放射性的 [2-¹⁴C]-醋酸盐、[胍-¹⁴C]-精氨酸、[尿素-¹⁴C]-瓜氨酸或 [U-¹⁴C]-葡萄糖的饲料时,在初级代谢物(如胆固醇和某些酰胺)中检测到放射性,但蝾螈产生的 TTX 却没有放射性^[30]。后续实验通过注射或完全浸泡蝾螈,对 [2-¹⁴C]-醋酸盐、[胍-¹⁴C]-精氨酸、[尿素-¹⁴C]-瓜氨酸或 [U-¹⁴C]-葡萄糖的检测也得到了阴性结果。尽管喂养实验无法证实标记底物通过预测的生物

合成途径进入 TTX,但也不能完全排除 TTX 由这些生物合成前体组装而成的可能性。如果蝾螈体内的 TTX 来自微生物,蝾螈可能无法通过喂食途径来准确地将标记的底物输送到微生物生物合成 TTX 的位点。此外,在标记的底物到达微生物的生物合成位点之前,可能被蝾螈代谢利用,因此在胆固醇和氨基酸等初级代谢物中可以检测到标记物。

蝾螈合成 TTX 的前体可能并非从头开始,而是通过食物摄入获取,就像河豚一样,这也可能解释研究结果呈阴性的原因。当喂食不含 TTX 的饲料时,蝾螈的毒性会随着时间的推移而增加,而河豚的毒性会随着时间的推移而降低^[10]。该结果表明蝾螈体内 TTX 的生物起源可能与其他生物不同,是内源性而非外源性饮食来源。

3.2 河豚毒素生物合成途径遗传基础

目前对于 TTX 的生物合成路径知之甚少,Shimizu 仅提出了 2 种可能的途径(图 2),并且没有强有力的数据来支持这些假设。由于 TTX 的结构较为独特,目前缺乏类似的生物合成研究,这阻碍了可揭示其生物合成途径的分子工具的发展。TTX 的生物合成及其组装的遗传学基础是基于概念:编码生物合成酶的基因聚集在产生生物体的基因组上。因此,对于被提议的编码基因或区域的确认可以帮助确定完整的基因簇。

基于 TTX 的独特结构,它包含一个单独的胍基团,连接到一个高度氧化的碳主链上,它的碳主链由 2,4-二噁金刚烷结构组成,并有 5 个羟基修饰,存在多种可能的途径,并且也有许多潜在的酶参与生物合成。

3.2.1 河豚毒素的胍基部分

胍基部分在 TTX 的毒性方面具有重要作用,当与电压门控钠通道结合时,胍基部分与钠通道上的羟基之间形成盐桥^[31],促进 TTX 与钠通道受体的正确结合^[32]。胍基部分是研究 TTX 生物合成的良好起点,TTX 中胍基结合有两种途径:一是通过

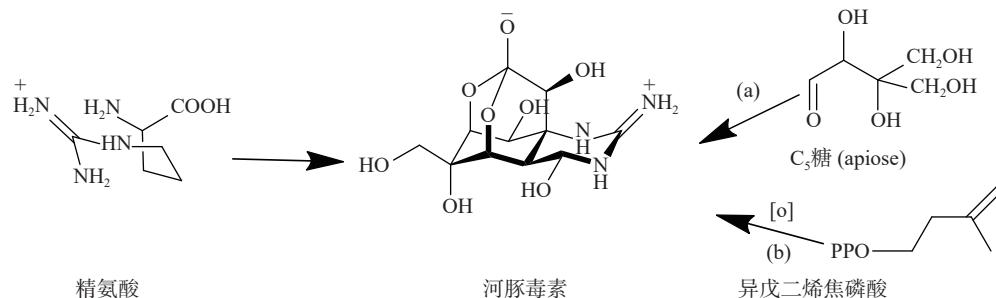


图 2 Shimizu 等提出的河豚毒素的生物合成步骤

氨基转移酶从氨基供体转移，二是通过非核糖体肽合成酶(NRPS)结合精氨酸^[33]。

(1)氨基转移酶参与河豚毒素生物合成。

氨基转移酶是负责将胍基从供体转移到受体的酶,TTX中胍基部分的起源被认为是通过氨基转移酶从氨基供体(如精氨酸)到TTX生物合成的前体底物,这些酶也参与河豚毒素类似物的生物合成。例如蛤蚌毒素(saxitoxin)的生物合成研究中,首先氨基转移酶将氨基从精氨酸转移到蛤蚌毒素的前体4,7-双胍-3-氧庚烷,然后将前体4,7-双胍-3-氧庚烷引入到后续的生物合成中(图3)^[34]。在该生物合成途径中,编码氨基转移酶的基因与包括

NRPS 和聚酮合成酶(PKS)的其他生物合成酶聚集在一起。蛤蚌毒素与 TTX 有许多相似之处, 均是分子量相对较小的毒素 [蛤蚌毒素($C_{10}H_{17}N_7O_4$)分子量是 299 g/mol, TTX($C_{11}H_{17}N_3O_8$)分子量是 319 g/mol]、化学结构有胍基、两者都是钠通道阻滞剂、且与钠通道的电压门控结合在同一位置点。更重要的是, 两者都已经被证明可以由微生物进行生物合成。因此, 蛤蚌毒素和 TTX 的生物合成可能涉及类似的机制。在 TTX 生物合成中, 氨基转移酶可以促进氨基与丙氨酸结合形成胍基丙酸酯, 该底物可以被用作后续生物合成的前体, 由后续 PKS 基因编码蛋白继续完成 TTX 的合成(图 4)^[35]。



图 3 蛤蚌毒素生物合成中氨基转移

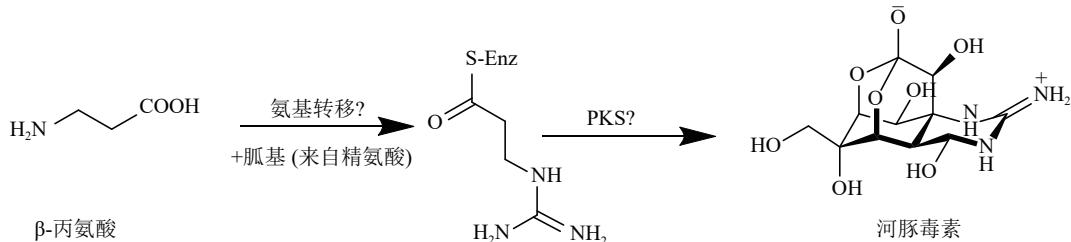


图 4 河豚毒素生物合成中氨基转移

注：“？”表示推测，尚未被实验证实。

(2)非核糖体肽合成酶(NRPS)参与河豚毒素生物合成。

TTX 的氨基部分最初被认为是由精氨酸与一个支链的阿松糖或异戊二烯单元形成的(图 5)。精

氨酸以这种方式结合可能需要使用多肽的生物合成机制^[36]。然而,这种多肽途径在 TTX 的生物合成中很难发现,很有可能出现在 NRPS-PKS 组装中(NRPS 和 I 型 PKS 是多功能酶复合物)。

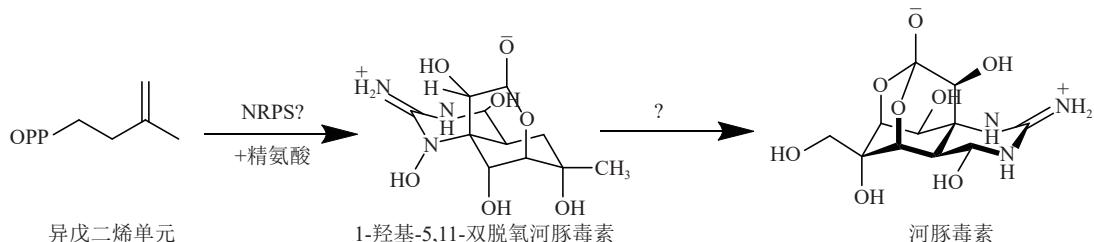


图 5 河豚毒素碳骨架合成假设

注：“？”表示推测，尚未被实验证实。

NPRS 模块主要包括 3 个结构域: ①依赖 ATP 的腺苷化酶结构域, 用于激活特定的氨基酸; ②肽键载体用于固定底物; ③结构域 C, 用于催化肽键

载体与底物之间的肽键形成。与核糖体肽键合成酶不同的是, NPRS 可以加工处理非蛋白质前体(修饰氨基酸或非蛋白质氨基酸)。PKS 模块也包括

3 个结构域: ①对乙酰 CoA 硫酯化底物具有高亲和力的酰基转移酶; ②酰基载体蛋白; ③催化 2 个酰基载体蛋白底物结合的酮缩合酶。这些模块通常包含许多额外的催化域, 这些催化域的作用是调整组装分子, 从而产生进一步的结构多样性。最后, 组装的分子从酶复合物中释放出来, 通常是通过硫酯酶, 该结构域也可以直接作用于最终产物的环化。

3.2.2 河豚毒素的碳骨架部分

TTX 含有一种独特的、高度含氧的 2,4-二噁金刚烷碳链, 研究者对 TTX 碳链的来源提出假说, 包括聚酮^[37]来源、C₅ 支糖^[36]来源和 C₅ 异戊二烯来源^[38]。在 TTX 中引入 C₅ 单元需要通过精氨酸引导, 而非依赖酰胺基转移酶促进胍基转移, 以解释 TTX 中所有碳原子的来源。

(1) 聚酮链衍生碳骨架

Woodward 等提出胍基可能是从氨基转移到一个三碳单元受体上得到的, 然后由丙二酰辅酶 A 衍生的乙酸延伸, 以合成主链中的所有碳骨架^[39]。

(2) 糖环衍生碳骨架

Shimizu 等人提出 TTX 的高度氧化的结构可能是通过精氨酸与含有氧的、支链 C₅ 糖(如 apiose)的缩合得到的^[35]。在天然产物中掺杂 apiose 的现象很少见, 只在少数植物天然产物中出现, 如由熊胆草产生的锥藻皂苷含有 apiose^[40]。在对 TTX 的研究发现, 在 TTX 中加入 apiose 会产生高度氧化的碳链, 然而在脱氧的 TTX 前体中可能不存在 apiose^[35]。

(3) 莨衍生碳骨架

莨烯类的天然产物来源于 C₅ 异戊二烯单元, 如二甲基烯丙基焦磷酸(DMAPP)和异戊烯基二磷酸(IPP)。Yasumoto 等人提出通过异戊二烯和单一精氨酸的混合合成 TTX 是可行的(图 5)^[38], 即在 NRPS 的调控下生成 1-羟基-5,11-双脱氧河豚毒素, 随后通过逐步的氧化反应, 生成 TTX 中的高度氧化的碳链。无论 TTX 生物合成是否包含聚酮、糖或莨类底物, 所采用的途径都是独特的, 不同于迄今为止所研究的任何其他途径。同时, 环境因素在 TTX 的生物合成中也起着重要作用, 这也可能是陆地和海洋生物的生物合成存在差异的一个重要原因。

4 展望

TTX 的历史悠久, 从毒性和药理学角度对其已有深入的了解, 但关于 TTX 的来源以及生物合成

途径的争论仍在继续。有关 TTX 的来源仍存在多种学说, 主要包括外源性学说、内源性学说和共生微生物学说。外源性学说认为 TTX 可能源自环境中的生物, 这些生物摄取了 TTX 并通过食物链的传递积累在生物体内。内源性学说认为这些生物自身具有生物合成 TTX 的能力, 可能通过特定的生理过程或代谢途径合成这种毒素。共生微生物学说认为 TTX 是通过生物体内的共生微生物合成的, 这些微生物可能是细菌或真菌, 它们与宿主形成共生关系, 通过代谢过程产生 TTX 并与宿主动物共存。虽然这些学说各有支持者, 但关于 TTX 真正的来源仍有待科学进一步研究和阐明。

分子技术的进步使我们在遗传水平上更深入地认识小分子的生物合成途径。目前, 基于遗传学的方法揭示了非常规结构的分子的部分或完全组装的生物合成基因簇。通过对生物合成基因簇的研究, 不仅可以鉴定催化底物的酶, 还可以鉴定特定酶的首选底物和辅助因子。此外, 结构上与 TTX 相似的其他天然产物可能存在与之共同的生物合成途径或前体。

虽然对 TTX 的生物合成进行研究比较困难, 但这篇综述试图根据现有的知识强调 TTX 可能存在的生物合成途径。由于 TTX 结构的新颖性, 目前的研究仍面临诸多困难, 并且很多研究尚未得出具体结果。针对这一问题建议采用传统方法和现代方法相结合的研究策略, 以进一步阐明 TTX 的生物合成机制。通过结合传统的实验方法和现代的分子技术, 可以更全面地揭示 TTX 组装的机制, 并有望发现新的生物合成酶, 这些酶也可能具有一定商业潜力。

【参考文献】

- [1] NARAHASHI T, DEGUCHI T, URAKAWA N, et al. Stabilization and rectification of muscle fiber membrane by tetrodotoxin[J]. *Am J Physiol*, 1960, 198: 934-938.
- [2] SATO C, UENO Y, ASAI K, et al. The voltage-sensitive sodium channel is a bell-shaped molecule with several cavities[J]. *Nature*, 2001, 409(6823): 1047-1051.
- [3] NARAHASHI T. Pharmacology of tetrodotoxin[J]. *J Toxicol Toxin Rev*, 2001, 20(1): 67-84.
- [4] GONZÁLEZ-CANO R, RUIZ-CANTERO M C, SANTOS-CABALLERO M, et al. Tetrodotoxin, a potential drug for neuropathic and cancer pain relief?[J]. *Toxins*, 2021, 13(7): 483.
- [5] 赖晓慧, 肖义军. 河豚毒素的研究进展 [J]. *福建畜牧兽医*, 2019, 41(4): 23-24,29.
- [6] MATSUI T, HAMADA S, KONOSU S. Difference in accumulation of puffer fish toxin and crystalline tetrodotoxin in the puffer fish, *Fugu rubripes rubripes*[J]. *NIPPON SUISAN GAKKAISHI*, 1981, 47(4): 535-537.
- [7] MATSUI T, OHTSUKA Y, SAKAI K. Recent advances in

- tetrodotoxin research[J]. *Yakugaku Zasshi*, 2000, 120(10): 825-837.
- [8] YAMADA R, TSUNASHIMA T, TAKEI M, et al. Seasonal changes in the tetrodotoxin content of the flatworm *Planocera multitentaculata*[J]. *Mar Drugs*, 2017, 15(3): 56.
- [9] KONO M, MATSUI T, FURUKAWA K, et al. Accumulation of tetrodotoxin and 4, 9-anhydrotetrodotoxin in cultured juvenile kusafugu Fugu niphobles by dietary administration of natural toxic komonfugu Fugu poecilonotus liver[J]. *Toxicology*, 2008, 51(7): 1269-1273.
- [10] NOGUCHI T, ARAKAWA O, TAKATANI T. Toxicity of pufferfish *Takifugu rubripes* cultured in netcages at sea or aquaria on land[J]. *Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics*, 2006, 1(1): 153-157.
- [11] BROWN M S, MOSHER H S. Tarichatoxin: isolation and purification[J]. *Science*, 1963, 140(3564): 295-296.
- [12] MOSHER H S, FUHRMAN F A, BUCHWALD H D, et al. Tarichatoxin: tetrodotoxin: a potent neurotoxin[J]. *Science*, 1964, 144(3622): 1100-1110.
- [13] HANIFIN C T, BRODIE E D 3rd, BRODIE E D Jr. Tetrodotoxin levels in the rough-skin newt, *Taricha granulosa*, increase in long-term captivity[J]. *Toxicology*, 2002, 40(8): 1149-1153.
- [14] STRAND M, HEDSTRÖM M, SETH H, et al. The bacterial (*Vibrio alginolyticus*) production of tetrodotoxin in the ribbon worm *Lineus longissimus*-Just a false positive?[J]. *Mar Drugs*, 2016, 14(4): 63.
- [15] NOGUCHI T, HWANG D F, ARAKAWA O, et al. *Vibrio alginolyticus*, a tetrodotoxin-producing bacterium, in the intestines of the fish Fugu vermicularis vermicularis[J]. *Mar Biol*, 1987, 94(4): 625-630.
- [16] HWANG D F, ARAKAWA O, SAITO T, et al. Tetrodotoxin-producing bacteria from the blue-ringed *Octopus octopus maculosus*[J]. *Mar Biol*, 1989, 100(3): 327-332.
- [17] YU V C, YU P H, HO K C, et al. Isolation and identification of a new tetrodotoxin-producing bacterial species, *Raoultella terrigena*, from Hong Kong marine puffer fish *Takifugu niphobles*[J]. *Mar Drugs*, 2011, 9(11): 2384-2396.
- [18] THUESEN E V, KOGURE K. Bacterial production of tetrodotoxin in four species of Chaetognatha[J]. *Biol Bull*, 1989, 176(2): 191-194.
- [19] WU Z L, YANG Y, XIE L P, et al. Toxicity and distribution of tetrodotoxin-producing bacteria in puffer fish *Fugu rubripes* collected from the Bohai Sea of China[J]. *Toxicology*, 2005, 46(4): 471-476.
- [20] WU Z L, XIE L P, XIA G L, et al. A new tetrodotoxin-producing actinomycete, *Nocardiopsis dassonvillei*, isolated from the ovaries of puffer fish *Fugu rubripes*[J]. *Toxicology*, 2005, 45(7): 851-859.
- [21] WANG X J, YU R C, LUO X, et al. Toxin-screening and identification of bacteria isolated from highly toxic marine gastropod *Nassarius semiplicatus*[J]. *Toxicology*, 2008, 52(1): 55-61.
- [22] CAMPBELL S, HARADA R M, DEFELICE S V, et al. Bacterial production of tetrodotoxin in the pufferfish *Arothron hispidus*[J]. *Nat Prod Res*, 2009, 23(17): 1630-1640.
- [23] WANG J, FAN Y H, YAO Z G. Isolation of a *Lysinibacillus fusiformis* strain with tetrodotoxin-producing ability from puffer fish *Fugu obscurus* and the characterization of this strain[J]. *Toxicology*, 2010, 56(4): 640-643.
- [24] YANG G M, XU J L, LIANG S H, et al. A novel TTX-producing *Aeromonas* isolated from the ovary of *Takifugu obscurus*[J]. *Toxicology*, 2010, 56(3): 324-329.
- [25] AUAWITHOOTHIJ W, NOOMHORM A. *Shewanella putrefaciens*, a major microbial species related to tetrodotoxin(TTX)-accumulation of puffer fish *Lagocephalus lunaris*[J]. *J Appl Microbiol*, 2012, 113(2): 459-465.
- [26] NGUYEN T H K, NGUYEN H N, NGHE D V, et al. Biological activities of tetrodotoxin-producing *Enterococcus faecium* AD1 isolated from puffer fishes[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 973235.
- [27] WEI F, MA T L, GONG X L, et al. Identification of tetrodotoxin-producing bacteria from goby *Yongeichthys criniger*[J]. *Toxicology*, 2015, 104: 46-51.
- [28] TURNER A D, POWELL A, SCHOFIELD A, et al. Detection of the pufferfish toxin tetrodotoxin in European bivalves, England, 2013 to 2014[J]. *Euro Surveill*, 2015, 20(2): 21009.
- [29] KISHI Y, FUKUYAMA T, ARATANI M, et al. Synthetic studies on tetrodotoxin and related compounds. IV. Stereospecific total syntheses of DL-tetrodotoxin[J]. *J Am Chem Soc*, 1972, 94(26): 9219-9221.
- [30] SHIMIZU Y, KOBAYASHI M. Apparent lack of tetrodotoxin biosynthesis in captured *Taricha torosa* and *Taricha granulosa*[J]. *Chem Pharm Bull*, 1983, 31(10): 3625-3631.
- [31] LEE C H, RUBEN P C. Interaction between voltage-gated sodium channels and the neurotoxin, tetrodotoxin[J]. *Channels (Austin)*, 2008, 2(6): 407-412.
- [32] FOZZARD H A, LEE P J, LIPKIND G M. Mechanism of local anesthetic drug action on voltage-gated sodium channels[J]. *Curr Pharm Des*, 2005, 11(21): 2671-2686.
- [33] HERNÁNDEZ-GUZMÁN G, ALVAREZ-MORALES A. Isolation and characterization of the gene coding for the amidino-transferase involved in the biosynthesis of phaseolotoxin in *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*[J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2001, 14(4): 545-554.
- [34] KELLMANN R, MIHALI T K, JEON Y J, et al. Biosynthetic intermediate analysis and functional homology reveal a saxitoxin gene cluster in cyanobacteria[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74(13): 4044-4053.
- [35] ADAMS S, CHE D S, QIN G X, et al. Novel biosynthesis, metabolism and physiological functions of L-homoarginine[J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2019, 20(2): 184-193.
- [36] KOTAKI Y, SHIMIZU Y. 1-Hydroxy-5, 11-dideoxytetrodotoxin, the first N-hydroxy and ring-deoxy derivative of tetrodotoxin found in the newt *Taricha granulosa*[J]. *J Am Chem Soc*, 1993, 115(3): 827-830.
- [37] BANE V, LEHANE M, DIKSHIT M, et al. Tetrodotoxin: chemistry, toxicity, source, distribution and detection[J]. *Toxins*, 2014, 6(2): 693-755.
- [38] KUDO Y, YASUMOTO T, KONOKI K, et al. Isolation and structural determination of the first 8-epi-type tetrodotoxin analogs from the newt, *Cynops ensicauda* popei, and comparison of tetrodotoxin analogs profiles of this newt and the puffer fish, *Fugu poecilonotus*[J]. *Mar Drugs*, 2012, 10(3): 655-667.
- [39] BAIDILOV D, RYCEK L, TRANT J F, et al. Chemoenzymatic synthesis of advanced intermediates for formal total syntheses of tetrodotoxin[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2018, 57(34): 10994-10998.
- [40] SU Y F, KOIKE K, GUO D A, et al. New apiose-containing triterpenoid saponins from *Conyza blinii*[J]. *Tetrahedron*, 2001, 57(31): 6721-6726.