



HAL
open science

Toxines et défensines de scorpions

M Goyffon, C. Landon

► **To cite this version:**

M Goyffon, C. Landon. Toxines et défensines de scorpions. Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales, 1998, 192 (3), pp.445-462. hal-02121214

HAL Id: hal-02121214

<https://hal.science/hal-02121214v1>

Submitted on 1 Jun 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Toxines et défensines de scorpions

Scorpion toxins and defensins

par MAX GOYFFON* et CÉLINE LANDON**

* *Muséum national d'Histoire naturelle, LERAI,
57, rue Cuvier, 75005 Paris,*

et ** *Département des Sciences de la Vie, DBCM-SBPM,
CEN de Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex*

Summary. — The scorpion venoms possess many neurotoxic peptides which constitute a group of molecular families with a common architecture and a high degree of polymorphism. This architecture is found also in circulating antimicrobial peptides belonging to the defensins family, which are especially structurally related to the blocking potassium channels neurotoxins. The diversification in functions with a unique architectural scheme is discussed taking in account the biophysiological characteristics of the scorpion order.

Résumé. — Les venins de scorpion contiennent un grand nombre de neurotoxines peptidiques qui constituent un ensemble de familles moléculaires à haut degré de polymorphisme, mais qui ont en commun une architecture semblable. Cette architecture se retrouve dans des peptides antibactériens circulants de la famille des défensines, qui s'apparentent tout particulièrement à celle des neurotoxines actives sur les canaux potassium. Cette diversification de fonctions à partir d'un schéma structurel identique est discutée à la lumière des caractéristiques biophysologiques des scorpions.

INTRODUCTION

Au sein du vaste embranchement des Arthropodes qui rassemble 80 % des espèces animales recensées, les scorpions, avec environ 1 400 espèces, toutes venimeuses, forment un ordre numériquement mineur. A titre anecdotique, on relèvera que les scorpions comptent parmi eux les plus grands des arthropodes terrestres (*Pandinus imperator*, d'Afrique équatoriale, dépasse 20 cm) et qu'ils sont les seuls dont la carapace chitineuse est entièrement fluorescente sous une lumière

ultraviolette (2) : ainsi peut-on aisément collecter les scorpions, animaux nocturnes, en s'équipant d'une lampe à émission UV (lumière de Wood) et a-t-on pu vérifier par l'examen des fèces — car le pigment fluorescent, de nature chimique inconnue, résiste à la digestion — que les scorpions comptent de nombreux prédateurs occasionnels parmi les reptiles, les oiseaux, les mammifères. Cependant, ils ont retenu l'attention des zoologistes par bien d'autres particularités, comme leurs capacités de résistance aux agressions de l'environnement (34) et donc leur aptitude à occuper les biotopes les plus divers (mais chacune des espèces est généralement inféodée à un biotope particulier et pratiquement aucune espèce n'est réellement ubiquiste), leur panchronisme, la puissance de leurs venins et les problèmes de santé publique qui peuvent en découler (36). Dans un passé récent, la résistance exceptionnelle des scorpions aux infections bactériennes a été décrite sans recevoir à l'époque d'explication (69, 70, 71). A eux seuls leurs venins, dont l'étude s'est développée considérablement depuis une quarantaine d'années, ont fait des scorpions un animal familier des laboratoires (35). Y aurait-il une quelconque relation, bien peu évidente à première vue, entre la puissance des venins et la résistance à l'agression bactérienne? Les études et les résultats de ces dernières années conduisent à poser une telle question dont on analysera les aspects actuels (20) et à laquelle on tentera d'apporter quelques éléments de réponse ou de réflexion.

LES VENINS DE SCORPIONS

Les venins de loin les plus étudiés et les mieux connus sont ceux des espèces appartenant à l'importante famille des Buthidés qui regroupe 40 % des espèces et rassemble la quasi totalité des espèces dangereuses pour l'homme. Cette famille constitue à elle seule l'un des deux sous-ordres de scorpions, celui des Buthoïdes. L'autre sous-ordre, hétérogène, contient les autres familles, six à neuf selon les auteurs. C'est assez indiquer que la classification des scorpions reste un sujet de discussion, et que les deux sous-ordres décrits correspondent plus à une certaine commodité de langage qu'à une systématique solidement étayée. Deux faits d'observation ancienne contribuent cependant à maintenir cette manière de voir. D'une part, on a relevé que partout où vivent des scorpions coexistent un ou plusieurs Buthoïdes et un ou plusieurs Chactoïdes, à l'exception de l'Italie qui apparaît comme une zone de transition de la faune scorpionique, une « faille chorologique » (95). D'autre part, les venins de Buthidés sont pauvres en activités enzymatiques dont sont mieux pourvus les venins de Chactoïdes (37) : cette différence importante entre les deux groupes se vérifie cependant au mieux pour les venins obtenus par excitation manuelle de l'animal et non par une stimulation électrique qui altère la glande à venin et entraîne la libération d'enzymes intra-cellulaires. L'importance de la qualité du prélèvement dans l'étude des composants du venin, déjà

signalée en 1896 par Phisalix (76) qui paraît avoir été le premier à utiliser la traite électrique du venin de scorpion, a du reste été soulignée à plusieurs reprises (80).

L'effet neurotoxique des venins de scorpion semble avoir été démontré expérimentalement pour la première fois par Paul Bert (4), au milieu du siècle dernier : « j'ai montré que c'est un poison du système nerveux qui paraît agir à la fois sur l'excito-motricité de la moelle qu'il exalte comme la strychnine et sur l'extrémité périphérique des nerfs moteurs qu'il paralyse comme le curare » (5). Par la suite, les recherches furent sporadiques et les résultats parfois discordants (42, 49, 76, 90, 98). Elles ne devaient être reprises de façon systématisée qu'un siècle plus tard par une équipe française, pour aboutir au premier isolement d'une neurotoxine purifiée à partir du venin du scorpion Buthidé *Androctonus australis* (67). Dès lors, les recherches sur les venins de scorpion connaissent un essor qui ne s'est jamais ralenti.

Les venins de scorpion sont caractérisés par la prédominance et la variété des neurotoxines, toutes de nature protéique. Cette variété (62) s'exprime à la fois dans les cibles que sont les divers canaux ioniques des cellules dites excitables et dans le polymorphisme moléculaire de chaque catégorie. En fonction de la cible, les travaux actuels (58) permettent de distinguer quatre grandes familles de neurotoxines d'inégale importance.

Les toxines agissant sur les canaux sodium

Historiquement, ces toxines furent les premières à être identifiées (64, 66, 67), et les premières dont les séquences en amino-acides furent établies (83, 84). Constituant généralement moins de 5 % du poids sec du venin (39, 60, 65, 79), exceptionnellement près de 10 % (56), elles en sont cependant les plus abondantes, et responsables tant des symptômes que des effets létaux de l'envenimation (22, 60). De masse molaire de l'ordre de 7 kDa, elles se présentent sous la forme d'une chaîne polypeptidique unique de 60 à 70 résidus d'aminoacides, dépourvue de copule glucidique et comportant quatre ponts disulfure (80). Plusieurs dizaines de séquences de ces toxines sont aujourd'hui déterminées. On les appelle parfois encore « toxines longues » par opposition aux autres familles de toxines dites « courtes », en particulier celles qui agissent sur les canaux potassium et qui comptent moins de quarante résidus d'amino-acides. Elles constituent une véritable famille de molécules polymorphes (23, 24, 82) dont les espèces cibles sont cependant bien caractérisées (16, 81). Ainsi peut-on distinguer des toxines actives spécifiquement sur les mammifères, d'autres actives spécifiquement sur les insectes, d'autres encore sur les crustacés. Dans quelques cas, cette spécificité n'est pas absolue (16, 58).

Les toxines actives contre les mammifères : elles comprennent deux sous-types, les toxines α et les toxines β dont la position des quatre

ponts disulfure est conservée (12). Les toxines α , potentiel-dépendantes, induisent une inhibition de la fermeture du canal sodium en se fixant sur le site 3 de ce canal et sont caractéristiques des venins des espèces paléotropicales (43, 58). Les toxines α se fixent sur le site 4 du canal sodium. Leur action est indépendante du potentiel de membrane. Elles agissent en abaissant le potentiel d'ouverture du canal et entraînent un train d'ondes successives. Elles ne se trouvent que dans les venins des scorpions néotropicaux, qui peuvent contenir aussi en faible quantité des toxines de type α (12).

Quel que soit le mode d'action, ces toxines provoquent une entrée massive d'ions sodium dans la cellule et une intense dépolarisation s'accompagnant d'une libération massive de neuromédiateurs, en particulier d'acétyl-choline (92). D'un point de vue antigénique, ces toxines se répartissent en cinq types immunologiques distincts (39, 80) : les anticorps préparés avec une toxine d'une classe donnent des réactions croisées avec les autres toxines de la même classe mais non avec celles des autres classes (19, 22, 23, 24, 26).

Les toxines actives contre les insectes : deux sous-types ont été décrits qui tous deux entraînent une paralysie de l'insecte, les toxines contracturantes (ou excitatrices) et les toxines relaxantes (ou flaccides ou flasques). Les toxines contracturantes, qui ont un de leurs quatre ponts disulfure dans une position différente de celle des toxines précédentes, induisent une diminution de l'amplitude des potentiels d'action et une dépolarisation membranaire. Leur fixation est indépendante du potentiel de membrane (32), à la manière des toxines β anti-mammifères. Les toxines relaxantes, dont la position des ponts disulfure est conservée, bloquent les potentiels d'action par inhibition des courants sodiques, entraînant une paralysie flasque (103).

Il existe aussi des toxines, peu nombreuses, à double spécificité, par exemple anti-mammifères et anti-insectes (toxines Ts VII du scorpion sud-américain *Tityus serrulatus*, AaHIT4 du scorpion nord-africain *Androctonus australis*, Lqg III du scorpion africano-asiatique *Leiurus quinquestriatus*) (18, 46, 59). En fait, les sites récepteurs des toxines longues affectant l'inactivation des canaux sodium chez les mammifères et les insectes seraient de structure très voisine (33).

On a de plus identifié dans les venins d'*A. australis hector* et de *T. serrulatus* des analogues peptidiques inactifs des toxines actives sur les canaux Na^+ , qui pourraient être utilisés comme anatoxines naturelles vaccinales (6, 68).

Les toxines actives contre les crustacés : elles sont peu nombreuses et leur spécificité a été contestée (16). Récemment, on a isolé du venin du Buthidé américain *Centruroides limpidus limpidus* une toxine réellement spécifique de cette classe d'arthropodes (56).

Les toxines agissant sur les canaux potassium

Encore appelées « toxines courtes », ces toxines se caractérisent par la présence d'une séquence d'acides aminés inférieure à quarante résidus

et de trois ponts disulfure. Ces trois ponts sont dans une configuration identique à celle de trois des quatre ponts des toxines longues : les toxines courtes apparaissent structurées comme des toxines longues dont les extrémités C- et N- terminales auraient été élaguées, ce raccourcissement aux deux extrémités de la chaîne s'accompagnant de la suppression d'un des ponts disulfure, les trois autres conservant leur position. De la même façon, on retrouve dans les toxines courtes la structure dite α/β composée d'une hélice α et d'un feuillet β et stabilisée par deux ponts disulfure reliant hélice α et feuillet β (7). Les séquences actuellement connues sont en nombre plus restreint que celles de la catégorie précédente. Par ailleurs, leur toxicité s'exprime avant tout par voie intra-cérébrale (elles sont alors convulsivantes) et leur rôle en pathologie humaine est en conséquence négligeable. Cependant, l'activité de ces bloqueurs peut se manifester non seulement sur les tissus excitables, mais encore sur des tissus ou des cellules dits non excitables (1). La classification actuelle (58) retient deux familles principales pouvant comporter plusieurs groupes.

Les toxines très courtes (29-35 résidus d'acides-amino) sont hautement spécifiques des canaux SK apamine-sensible, y compris les canaux de cellules de tissus dits « non-excitables » comme les hépatocytes. Appartiennent à ce groupe la leurotoxine I (LTX ou scyllatoxine) de *L. quinquestriatus*, la toxine POS d'*Androctonus mauretanicus*, la toxine TSK de *T. serrulatus*. La synthèse de plusieurs analogues a servi de base à l'étude fonctionnelle de la LTX et de la POS (87, 88, 102).

Les toxines courtes (37-39 résidus d'acides-amino) de spécificité moins étroite que les précédentes, se répartissent en trois groupes principaux (28, 48) :

— le groupe de la charybdotoxine (CTX) : la CTX a été l'une des premières toxines actives sur les canaux potassium à être isolée d'un venin de scorpion, *L. quinquestriatus* (63), puis à être synthétisée (51, 73). C'est actuellement la toxine active sur les canaux K^+ la plus étudiée, la mieux connue tant dans sa structure que dans ses effets, au point qu'elle sert en quelque sorte de toxine de référence. Elle agit sur les canaux K^+ calcium-dépendants à large conductance (BK) et sur les canaux voltage-dépendants de divers tissus (29). L'ibériotoxine (IbTX) du venin de *Buthotus* (= *Buthus*, = *Mesobuthus*) *tamulus*, qui appartient à ce groupe et possède 68 % de similitude avec la CTX (27), bloque uniquement les canaux de type BK. Des chimères CTX-IbTX ont été réalisées et ont permis de préciser les rôles respectifs des parties C-terminale et N-terminale dans les interactions toxine-récepteurs (31);

— le groupe de la noxiustoxine (NTX) : la NTX a été la première toxine de venin de scorpion active sur les canaux K^+ à être isolée, à partir du venin du scorpion mexicain *Centruroides noxius* (77). Elle agit sur de nombreux canaux K^+ voltage-dépendants et calcium-dépendants de nombreux tissus excitables ou non excitables. C'est donc bien une toxine à spécificité élargie. Appartiennent à ce groupe la

margatoxine (MgTX) extraite du venin du scorpion latino-américain *Centruroides margaritatus* (30), la hongotoxine-1 (HgTX) du venin de *C. limbatus* (47). Les feuilletts β de ces toxines sont plus longs que dans les autres toxines de venin de scorpion (58);

— les kaliotoxines (KTX) : ce groupe très homogène (70 % et plus de similitude) comprend les kaliotoxines proprement dites, du venin des scorpions nord-africains *A. mauretanicus* (13) et *A. australis* (55), et les agiotoxines du venin de *L. quinquestriatus* (28). Les premières, dont on a synthétisé de nombreux analogues (85), sont spécifiques des canaux K^+ calcium-dépendants, les secondes des canaux K^+ voltage-dépendants.

La liste de ces toxines n'est pas close, et les publications sur l'isolement et l'identification de nouvelles molécules se poursuivent régulièrement: ainsi de la toxine d'insecte de *Buthus eupeus* (3) et de la maurotoxine à quatre ponts disulfure, du venin du Scorpionidé africain *Scorpio maurus* (44), des PiTX du venin du Scorpionidé africain *Pandinus imperator* (17, 72, 75, 93), de quatre nouvelles toxines du venin du scorpion chinois *Buthus martensi*, actives sur les canaux SK (86), parmi d'autres exemples. En outre, on a isolé dans le venin de *L. quinquestriatus* (9), dans le venin de *P. imperator* (72), à la manière des analogues inactifs des toxines actives sur les canaux Na^+ du venin d'*A. australis hector* (6), des analogues peptidiques inactifs de toxines actives sur les canaux K^+ .

Les toxines agissant sur les canaux calcium

Des toxines ou des fractions toxiques de venin de scorpion agissant sur les canaux calciques ryanodine-dépendants du réticulum sarcoplasmique ont été identifiées chez un Buthidé, *Buthotus hottentota*, et chez un Scorpionidé, *Pandinus imperator*. Une protéine activatrice de ces récepteurs a été identifiée dans le venin de *B. hottentota*, de masse molaire s'élevant à 8 kDa environ (61, 96). Dans le venin de *P. imperator*, un activateur et un inhibiteur des récepteurs à la ryanodine ont été isolés (96). L'inhibiteur est une protéine hétérodimérique comportant une sous-unité à activité phospholipasique A₂ de 104 résidus d'acides-amino liée de façon covalente à une sous-unité de 27 résidus. La sous-unité enzymatique présente une grande similitude avec les PLA₂ de venins d'abeille et d'héloderme (100). L'activateur, d'abord considéré comme un peptide de masse molaire de 5 kDa environ (25), est un peptide de 33 acides-amino sans parenté avec les neurotoxines de venin de scorpion jusqu'ici connues, mais se rapprochant de certaines toxines de venins d'araignée, comme l'agélénine (101).

Ce groupe de toxines encore mal connu s'écarte des types moléculaires des deux précédentes classes de toxines.

Les toxines agissant sur les canaux chlore

Un bloqueur de canaux chlore à basse conductance a été isolé dans le venin de *L. quinquestriatus*. Son activité a été mise en évidence

sur des cellules de l'épithélium de côlon de rat (14, 15). Il s'agit d'un peptide à 37 amino-acides et 4 ponts disulfure, dont la séquence révèle la parenté avec les toxines d'insectes courtes. Cette toxine produit du reste des effets paralysants chez les Arthropodes (insectes et crustacés) : une action sur les récepteurs au glutamate du système nerveux des arthropodes a été postulée (14).

SCORPIONS ET DÉFENSES ANTI-BACTÉRIENNES

Les zoologistes avaient été frappés depuis longtemps par la qualité et l'efficacité des défenses antibactériennes des insectes (41), principaux représentants des arthropodes, embranchement auquel appartiennent les scorpions. Cette défense passe par l'existence de phénomènes de phagocytose, mais dès 1920, la constatation d'une protection efficace induite dès après l'injection de bactéries à un insecte fut signalée simultanément en France par deux équipes indépendantes (*in* 41, *in* 52). Chez les scorpions, on décrit ultérieurement l'existence de phénomènes immunitaires comparables à ceux des invertébrés (40). Il fallut en fait attendre encore une soixantaine d'années pour pouvoir donner un support moléculaire à ce phénomène avec la découverte des premiers peptides circulants antibactériens par Steiner et coll. en 1981 (91).

Peptides anti-bactériens et défensines

Les insectes (et pas seulement les insectes) ont la capacité de répondre à une agression bactérienne par la synthèse de peptides antibactériens, dont la rapidité de production est un gage d'efficacité. Cette forme de réponse immunitaire inductible est dépourvue de mémoire (41, 74). Ces peptides anti-bactériens appartiennent à quatre familles : les peptides à trois ponts disulfure encore appelés « défensines », les hélices amphipathiques dépourvues de cystéine (cécropines), les peptides riches en proline, les peptides riches en glycine. Les molécules identifiées dans l'hémolymphe de scorpion se rattachent pour l'essentiel à la première catégorie.

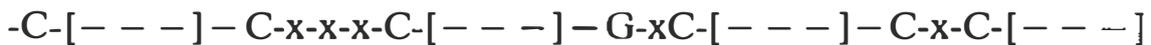
Les défensines sont des peptides cationiques non glycosylés de 29 à 43 résidus d'acides aminés dont les cystéines sont engagées dans trois ponts disulfure. Le terme de défensine a été utilisé pour la première fois chez les insectes pour des molécules isolées chez une mouche, *Phormia terranovae* (50) en raison d'une certaine similitude avec des peptides antibactériens décrits chez les mammifères et ainsi désignés par Selsted et coll. en 1985 (89). Ces molécules ont été trouvées chez un certain nombre d'insectes supérieurs (hémiptères, coléoptères, diptères, hyménoptères) puis chez des insectes inférieurs (odonates). On en connaît actuellement une vingtaine (52), dont l'activité s'exerce principalement sur les bactéries Gram+. Cependant, leur mode d'action reste encore largement incompris. Chez la libellule *Aeschna cyanea*

(odonate), une seule défensine à trente-huit résidus d'acides aminés a été identifiée, contrairement aux insectes des autres ordres qui en produisent plusieurs. Elle possède une séquence un peu différente de celle des défensines des autres insectes et son spectre d'activité est large.

La structure tertiaire des défensines comprend une hélice α et un feuillet β à deux brins antiparallèles, hélice et feuillet étant stabilisés par deux ponts disulfure. Ce motif a été appelé motif $CS\alpha\beta$ pour « Cystein Stabilized α -helix β -sheet » (11). Ce motif se retrouve aussi bien dans les toxines bloquant les canaux sodium (53, 54, 56) que dans les toxines bloquant les canaux potassium des venins de scorpion, ces dernières ayant pour chef de file la CTX du venin de *L. quinquestriatus* (7). On ne trouve pas dans cet aspect commun de la structure l'explication de l'activité spécifique des neurotoxines d'une part, des défensines d'autre part.

Les défensines de scorpion

Dans un premier temps, la présence d'un motif d'une séquence consensus commune à la charybdotoxine et aux défensines d'insectes fut établie (8). Cette séquence à trois ponts disulfure a le schéma suivant :



Une question se posait alors immédiatement : la CTX provenant du venin de *L. quinquestriatus*, ce scorpion possédait-il une ou plusieurs défensines circulantes ? La réponse vint rapidement : on identifia (10) dans l'hémolymphe de ce Buthidé une défensine aux caractéristiques suivantes :

— elle possède la séquence consensus ci-dessus décrite à trois ponts disulfure, et une longueur de chaîne qui l'apparente aux toxines bloqueurs de canaux potassium, en particulier la CTX,

— elle présente un degré élevé de similarité avec les autres défensines d'insectes dont la séquence a été établie, et plus particulièrement avec la défensine isolée chez l'odonate *Aeschna cyanea* (26 résidus sur trente-huit). Comme chez cet odonate, une seule défensine a été isolée chez *L. quinquestriatus*,

— cette défensine est constitutive, c'est-à-dire toujours présente dans l'hémolymphe, et non comme chez les insectes inductible, c'est-à-dire n'apparaissant qu'à l'occasion d'une infection ou d'un traumatisme.

Une deuxième question venait alors : existe-t-il des défensines chez d'autres espèces de scorpions ? Les analyses de l'hémolymphe d'*Androctonus australis* (21), espèce voisine de *L. quinquestriatus*, ont montré la présence de plusieurs peptides anti-bactériens constitutifs dont deux appartiennent à la classe des défensines d'insectes. L'un d'eux, la buthinine, à trente-quatre acides aminés, présente un haut degré de similarité (44 à 50 %) avec des toxines bloqueurs de canaux potassium de venin

de scorpion, telles que les agitoxines de *L. quinquestriatus* ou les kalio-toxines d'*A. mauretanicus*, ou encore (35-40 %) l'ibériotoxine du scorpion indien *Buthotus tamulus* et la CTX. Avec les toxines bloquant les canaux potassium apamine-sensibles telles que la LTX et la POS, le pourcentage de similarité est encore de 33 %. Une deuxième défensine d'*A. australis* possède une structure très proche, quasi identique, de la défensine de *L. quinquestriatus*, n'en différant que par une position, en réalité une permutation de deux amino-acides conservés. Ainsi la présence de défensines constitutives est certaine chez les scorpions de la famille des Buthidés. Ces défensines se rattachent structurellement d'une part aux autres défensines d'insectes, d'autre part aux neurotoxines présentes dans leur propre venin et constitutives elles aussi.

DISCUSSION

Un travail déjà ancien, resté à la fois unique et quelque peu ignoré, avait montré chez les scorpions une résistance aux infections bactériennes d'un niveau exceptionnel parmi les arthropodes terrestres (69, 70, 71). Le tableau I montre des exemples tirés des travaux de Morel, particulièrement nets avec les bactéries Gram négatif ou avec la bactérie entomopathogène *Bacillus thuringiensis* (70), le tableau II est tiré des travaux de Cociancich (données personnelles, 1994). Cependant, aucune explication de cette résistance ne pouvait être fournie, encore qu'un travail datant à peu près de l'époque des travaux de Morel ait signalé l'existence chez le scorpion de phénomènes immunitaires

TABLEAU I. — D. L. infectieuses (d'après Morel, 1972).

	<i>B. thuringiensis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. marcescens</i>
<i>Buthus occitanus</i>	> 2,5 . 10 ⁶ (entre 10 ⁷ et 10 ⁹)	> 2 . 10 ⁶	> 400 000 (entre 4,10 ⁵ et 2,10 ⁶)
<i>Bombyx mori</i>	0,5	2-10	2-7
<i>Galleria mellonella</i>	400-2 000	10-30	5-20
<i>Melolontha melolontha</i>	5 000-20 000	n. d.	150-800
<i>Locusta migratoria</i>	40 000	n. d.	n. d.
<i>Schistocerca gregaria</i>	n. d.	40-150	10-50
<i>Gryllus domesticus</i>	23 000-85 000	40 000-200 000	200 000-600 000

TABLEAU II. — DMT infectieuses *E. coli* (d'après Cociancich, 1994).

<i>Leiurus quinquestriatus</i>	> 2,10 ⁶
<i>Zophobas</i> sp. (Coléoptère)	10 ⁶
<i>Pyrrochoris</i> sp. (Hémisphère)	2 500
<i>Aeschna</i> sp. (Odonate)	5 000

comparables à ceux des vertébrés (40). La découverte de défensines à large spectre d'activité apporte un nouvel éclairage à ces observations premières.

Par la longueur de leur chaîne d'acides-amino, par l'existence d'une séquence consensus commune fondée sur le nombre et la disposition des ponts disulfure, par le degré élevé de similarité des séquences de résidus d'acides-amino, les défensines d'insectes se rattachent à la famille des toxines bloqueurs de canaux potassium présentes dans le venin des scorpions. Ceux-ci possèdent aussi des défensines dans leur hémolymphe, constitutives et non pas inductibles, à la différence des défensines identifiées chez les insectes. Les défensines des scorpions, animaux panchroniques figurant au nombre des arthropodes terrestres les plus anciennement connus, ont la plus grande ressemblance avec celle de l'ordre des odonates, considérés comme des insectes primitifs. Cependant, les scorpions sont seuls à posséder à la fois défensines et toxines venimeuses. Celles-ci agissent sur les flux ioniques des membranes de cellules excitables (ou parfois non excitables) d'Eucaryotes, les défensines agiraient comme substances « pore-forming » sur les flux ioniques membranaires de Procaryotes (97). On a supposé que chez le scorpion les toxines bloqueurs de canaux potassium et les défensines pourraient dériver d'un précurseur génomique commun (10). Il apparaît en réalité que l'organisation génomique des séquences nucléiques codant pour les toxines bloqueurs de canaux potassium et de canaux sodium est comparable, et qu'elle diffère de l'organisation génomique des séquences nucléiques codant pour les défensines (57, 58). Ce résultat va plutôt à l'encontre de l'hypothèse initialement proposée.

Précisément, les toxines bloqueurs de canaux potassium des venins de scorpion diffèrent des toxines bloqueurs de canaux sodium des mêmes venins par une séquence d'acides-amino plus courte (moins de quarante acides-amino contre une soixantaine) et un pont disulfure en moins. Le pont disulfure des toxines bloqueurs de canaux sodium relie la première et la dernière cystéine de la chaîne d'acides-amino en sorte que les trois autres ponts ont la même configuration dans les deux types de toxines. Schématiquement, les toxines bloqueurs potassium apparaissent comme des toxines bloqueurs de canaux sodium qui auraient été amputées aux deux extrémités de la chaîne et dont la partie centrale est conservée. Dans les deux types de toxines ainsi que dans les défensines on trouve dans le même ordre de position les trois motifs suivants :

- un premier motif -C-x-x-x-C-,
- un motif suivant -G-x-C- (présent sous la forme - G - Y - C - dans les toxines bloqueurs de canaux sodium),
- un dernier motif -C-x-C- enfin, tout proche de l'extrémité C-terminale de la chaîne.

Ces motifs séquentiels ainsi que la structure dite CSa β (52) se retrouvent encore dans les défensines de plantes antifongiques et dans les

thionines de plantes. On peut ainsi décrire une superfamille de protéines de défense (52) qui rassemble des peptides de diverses origines : toxines de venins de scorpion longues, agissant sur les canaux sodium de cellules excitables, courtes, agissant sur les canaux potassium, défensines antibactériennes d'arthropodes, protéines antifongiques d'arthropodes et de plantes, thionines de plantes.

On notera encore que le premier de ces motifs, le motif -C-x-x-x-C-, se retrouve dans un certain nombre de neuropeptides courts toxiques ou biologiquement actifs, comptant une vingtaine d'acides aminés et deux ponts disulfure : apamine et peptide MCD du venin d'abeille, androctonine à activité de défensine à large spectre du scorpion *A. australis*, sarafotoxine du venin du serpent *Atractaspis* sp., endothélines très proches structurellement des sarafotoxines. L'existence de ce motif commun aux toxines bloqueurs de canaux sodium et aux endothélines avait été signalée dès l'identification en 1988 de la première endothéline à partir de l'endartère de porc (99). Un autre motif, -C-x-C-, se retrouve aussi dans ces petites molécules, mais à l'extrémité N-terminale de la chaîne peptidique et non plus à l'extrémité C-terminale (45) comme dans le cas des toxines de venin de scorpion et des défensines.

CONCLUSION

Sur la base d'une même architecture moléculaire, le scorpion produit dans son venin des toxines capables de neutraliser ses proies par modification des flux ioniques transmembranaires de leurs cellules excitables, et dans son hémolymphe des défensines capables de neutraliser les bactéries par modification aussi de leurs flux ioniques transmembranaires. Il se dégage là l'apparence d'une réelle économie de moyens pour diversifier des fonctions apparemment finalisées, en tout cas essentielles à la survie de l'espèce, à partir d'un minimum de schémas de molécules. Cette économie de moyens à l'échelle moléculaire se retrouve chez le scorpion au moins dans un autre exemple, celui de l'hémocyanine circulante, cupro-protéine transporteur d'oxygène. L'hémocyanine de scorpion possède une triple activité enzymatique, de type catalasique (94), peroxydasique (38) et superoxyde-dismutasique (78) liée à la fonction oxyphorique et pourrait ainsi jouer un rôle dans la radiorésistance élevée observée chez un certain nombre de Buthidés. On a rapproché et tenté d'expliquer par cette économie de moyens le caractère panchronique, de fossile vivant, des scorpions, qui seraient capables de s'adapter sans changement structurel ou morphologique fondamental aux pressions de l'environnement par une diversification fonctionnelle moléculaire à partir d'un minimum de schémas moléculaires dont les toxines du venin et leurs défensines sont actuellement l'une des meilleures illustrations.

BIBLIOGRAPHIE

1. Abia A., Lobaton C. D., Moreno A. & Garcia-Calvo J., *Leiurus quinquestriatus* venom inhibits different kinds of Ca^{++} -dependent K^+ channel. *Biochem. Biophys. Acta*, 1986, 856, 403-407.
2. Anglade F., Ricordel I. & Goyffon M., Données spectroscopiques sur la fluorescence de la cuticule de scorpion. *Bull. Soc. eur. Arachnol.*, 1990, HS 1, 5-9.
3. Arseniev A. S., Kondakov V. I., Maiorov V. N. & Bystrov V., NMR solution spatial structure of « short » scorpion insectotoxin I₅A. *FEBS Lett.*, 1984, 165, 57-62.
4. Bert P., Contribution à l'étude des venins. *CR Soc. Biol.*, 1865, 7, 136-137.
5. Bert P., Venin du scorpion. *CR Soc. Biol.*, 1885, 27, 574-575.
6. Blanc E., Hassani O., Meunier S., Mansuelle P., Sampieri F., Rochat H. & Darbon H., 1H-NMR-derived secondary structure and overall fold of a natural anatoxin from the scorpion *Androctonus australis hector*. *Eur. J. Biochem.*, 1997, 247, 1118-1126.
7. Bontems F., Roumestand C., Boyot P., Gilquin B., Doljanski Y., Ménez A. & Toma F., Three-dimensional structure of natural charybdotoxin in aqueous solution by ¹N-NMR, *Eur. J. Biochem.*, 1991, 196, 119-128.
8. Bontems F., Roumestand C., Gilquin B., Ménez A. & Toma F., Refined structure of charybdotoxin: common motifs in scorpion toxins and insect defensins. *Science*, 1991, 254, 1521-1523.
9. Buisine E., Wieruszkeski J. M., Lippens G., Wouters D., Tartar A. & Sautière P., Characterization of a new family of toxin-like peptides from the venom of the scorpion *Leiurus quinquestriatus hebroides*. 1H-NMR structure of leiuropeptide II. *J. Peptide Res.*, 1997, 49, 515-555.
10. Cociancich S., Goyffon M., Bontems F., Bulet P., Bouet F., Ménez A. & Hoffmann J., Purification and characterization of a scorpion defensin, a 4 kDa antibacterial peptide presenting structural similarities with insect defensins and scorpion toxins. *Biochem. Biophys. Res. Communic.*, 1993, 194, 17-22.
11. Cornet B., Bonmatin J. M., Hetru C., Hoffmann J. A., Ptak M. & Vovelle F., Refined three-dimensional solution structure of insect defensin A. *Structure*, 1995, 3, 435-448.
12. Couraud F., Jover E., Dubois J. M. & Rochat H., Two types of scorpion toxin receptor sites, one related to the activation, the other to the inactivation of the action potential sodium channel. *Toxicon*, 1982, 20, 9-16.
13. Crest M., Jacquet G., Gola M., Zerrouk H., Benslimane A., Rochat H., Mansuelle P. & Martin-Eauclaire M. F., Kaliotoxin, a novel peptidyl inhibitor of neuronal BK-type Ca^{++} -activated K^+ channels characterized from *Androctonus mauretanicus mauretanicus* venom. *J. Biol. Chem.*, 1992, 267, 1640-1647.
14. DeBin J. A., Maggio J. E. & Strichartz G. R., Purification and characterization of chlorotoxin, a chloride channel ligand from the venom of the scorpion. *Am. J. Physiol.*, 1993, 264, C361-C369.
15. DeBin J. A. & Strichartz G. R., Chloride channel inhibition by the venom of the scorpion *Leiurus quinquestriatus*. *Toxicon*, 1991, 29, 1403-1408.
16. De Dianous S., Hoarau F. & Rochat H., Re-examination of the specificity of the scorpion *Androctonus australis hector* insect toxin towards arthropods. *Toxicon*, 1987, 25, 411-417.
17. Delepierre M., Prochnicka-Chalufour A. & Possani L. D., A novel potassium channel blocking toxin from the scorpion *Pandinus imperator*: a 1H-NMR analysis using a nano-NMR probe. *Biochemistry*, 1997, 36, 2649-2658.

18. De Lima M. E., Martin M. F., Diniz C. R. & Rochat H., *Tityus serrulatus* toxin TsVII bears pharmacological properties of both β -toxin and insect-toxin from scorpion venom. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1986, 139, 296-302.
19. Delon P., Van Rietschoten J. & Rochat H., Scorpion venoms and neurotoxins: an immunological study. *Toxicon*, 1981, 19, 383-387.
20. Dumestre A., Elefteriou F. & Goyffon M., Toxines et perspectives thérapeutiques. *Biofutur*, 1997, 168, 14-20.
21. Ehret-Sabatier I., Loew D., Goyffon M., Fehlbaum P., Hoffmann J. A., Van Dorsselaer A. & Bulet P., Characterization of novel cystein-rich antimicrobial peptides from scorpion blood. *J. Biol. Chem.*, 1996, 271, 29537-29544.
22. El Ayeb M. & Delori P., Immunology and immunochemistry of scorpion neurotoxins. In: Handbook of natural toxins (A.T. Tu), vol. 2, Marcel Dekker Inc., New York, 1984, 607-638.
23. El Ayeb M., Delon P. & Rochat H., Immunochemistry of scorpion α -toxins: antigenic homologies checked with radioimmunoassays (RIA). *Toxicon*, 1983, 21, 709-716.
24. El Ayeb M., Martin M. F., Delori P., Bechis G. & Rochat H., Immunochemistry of alphaneurotoxins. Determination of the antigenic site number and isolation of a highly enriched antibody specific to a single site of toxin II of *Androctonus australis hector*. *Molec. Immunol.*, 1983, 20, 697-708.
25. El Ayek R., Lokuta A. J., Arévalo C. & Valdivia H. H., Peptide probe of ryanodine receptor function. Imperatoxin A, a peptide from the venom of the scorpion *Pandinus imperator*, selectively activates skeletal-type ryanodine receptor isoforms. *J. Biol. Chem.*, 1995, 270, 28696-28704.
26. Fourquet P., Bahraoui E., Fontecilla-Camps J. C., Van Rietschoten J., Rochat H. & Granier C., Immunochemistry of scorpion toxins. *Int. J. Peptide Protein Res.*, 1988, 32, 81-88.
27. Galvez A., Gimenez-Gallego G., Reuben J. P., Roy-Constancin L., Feigenbaum P., Kaczorowski G. J. & Garcia M. L., Purification and characterization of a unique, potent peptidyl probe for high conductance calcium-activated potassium channel from venom of the scorpion *Buthus tamulus*. *J. Biol. Chem.*, 1990, 265, 11083-11090.
28. Garcia M. L., Garcia-Calvo M., Hidalgo P., Lee A. & MacKinnon R., Purification and characterization of three inhibitors of voltage-dependent K^+ channels from *Leiurus quinquestriatus* var. *hebraeus* venom. *Biochemistry*, 1994, 33, 6384-6389.
29. Garcia M. L., Knaus H. G., Munujos P., Slaughter R. S. & Kaczorowski G. J., Charybdotoxin and its effects on potassium channels. *Am. J. Physiol.*, 1995, 269, C1-C10.
30. Garcia-Calvo M., Leonard R. J., Novick J., Stevens S. P., Schmalhofer W., Kaczorowski G. & Garcia M. L., Purification, characterization and biosynthesis of margatoxin, a component of *Centruroides margaritatus* venom that selectively inhibits voltage-dependent potassium channels. *J. Biol. Chem.*, 1993, 268, 18866-18874.
31. Giangiacomo K. M., Sugg E. E., Garcia-Calvo M., Leonard R. J., McManus O. B. & Kaczorowski G. J. & Garcia M. L., Synthetic charybdotoxin-iberiotoxin chimeric peptides define toxin binding sites on calcium-activated and voltage-dependent potassium channels. *Biochemistry*, 1993, 32, 2363-2370.
32. Gordon D., Jover E., Couraud F. & Zlotkin E., The binding site of the insect selective neurotoxin AaIT from scorpion venom to locust synaptosomal membrane. *Biochim. Biophys. Acta*, 1984, 778, 349-358.

33. Gordon D., Martin-Eauclaire M. F., Cestele S., Kopeyan C., Carlier E., Ben Khalifa R., Pelhate M. & Rochat H., Scorpion toxins affecting sodium current inactivation bind to distinct homologous receptor sites on rat brain and insect sodium channels. *J. Biol. Chem.*, 1996, *271*, 8034-8045.
34. Goyffon M., Panchronisme et résistance aux agressions de l'environnement chez les scorpions. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1983, *108*, 585-592.
35. Goyffon M., Billiald P., Benlasfar Z. & El Ayeb M., Le scorpion comme animal de laboratoire. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1993, *118*, 335-336.
36. Goyffon M. & Heurtault J., La fonction venimeuse, 1 vol., Masson édit., Paris, 1995, 284 p.
37. Goyffon M. & Kovoov J., Chactoid venoms. In: *Arthropod venoms*, S. Bettini (ed.), Springer Verlag, Berlin, 1978, pp. 395-418.
38. Goyffon M., Le Fichoux Y. & Lamy J., Hétérogénéité du protéinogramme de l'hémolymphe des scorpions *Androctonus australis* (L.), *A. mauretanicus* (Pocock) et *A. amoreuxi* And. et Sav. en gel de polyacrylamide. *CR Soc. Biol.*, 1970, *164*, 374-378.
39. Granier C., Novotny J., Fontecilla-Camps J. C., Fourquet P., El Ayeb M. & Bahraoui M., The antigenic structure of a scorpion toxin. *Molec. Immunol.*, 1989, *26*, 503-513.
40. Gysin J. & Brahmi Z., Mise en évidence de cellules productrices d'anticorps hémolytiques chez le scorpion *Androctonus australis hector*. *CR Acad. Sci. Paris*, 1971, *273*, 1175-1177.
41. Hoffmann J. A., Dimarcq J. L. & Bulet P., Les peptides antibactériens inducibles des insectes. *Méd. Sci.*, 1992, *8*, 432-439.
42. Jousset M., Essai sur le venin de scorpion. *Rec. Mém. Méd. Chir. Pharm. milit.*, 1871, *27*, p. 59.
43. Kharrat R., Darbon H., Rochat H. & Granier C., Structure/activity relationships of scorpion alpha-toxins. Multiple residues contribute to the interaction with receptors. *Eur.J. Biochem.*, 1989, *181*, 381-390.
44. Kharrat R., Mansuelle P., Sampieri F., Crest M., Oughideni R., Van Rietschoten J., Martin-Eauclaire M. F., Rochat H. & El Ayeb M., Maurotoxin, a four disulfide bridge toxin from *Scorpio maurus* venom: purification, structure and action on potassium channels. *FEBS Lett.*, 1997, *406*, 284-190.
45. Kobayashi Y., Takashima H., Tamaoki H., Kyogoku Y., Lambert P., Kuroda H., Chino N., Watanabe T. X., Kimura T., Sakakibara S. & Moroder L., The cystine-stabilized α -helix: a common structural motif of ion-channel blocking neurotoxic peptides. *Biopolymers*, 1991, *31*, 1213-12120.
46. Kopeyan C., Mansuelle P., Martin-Eauclaire M. F., Rochat H. & Miranda F., Characterization of toxin III of the scorpion *Leiurus quinquestriatus quinquestriatus*: a new type of alpha-toxin highly toxic both to mammals and insects. *Nat. Toxins*, 1993, *1*, 308-312.
47. Koschak A., Bugianesi R. M., Mitterdorfer J., Kaczorowski G. J., Garcia M. L. & Knaus H. G., Subunit composition of brain voltage-gated potassium channels determined by hongotoxin-1, a novel peptide derived from *Centruroides limbatus* venom. *J. Biol. Chem.*, 1998, *273*, 2639-2644.
48. Krezel A. M., Kasibhatla C., Hidalgo P., MacKinnon R. & Wagner G., Solution structure of the potassium channel inhibitor agitoxin 2: caliper for probing channel geometry. *Protein Sci.*, 1995, *4*, 1478-1489.
49. Kubota S., An experimental study of the venom of the Manchourian scorpion. *J. Pharmacol.*, 1918, *11*, 379-388.
50. Lambert J., Keppi E., Dimarcq J. L., Wicker C., Reichhart J. M., Dunbar B., Lepage P., Van Dorsselaer A., Hoffmann J. A., Fothergill J. & Hoffmann D.,

- Insect immunity: isolation from immune blood of the dipterian *Phormia terranova* of two insect antibacterial peptides with sequence homology to rabbit lung macrophage bactericidal peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86, 262-266.
51. Lambert P., Kuroda H., Chino N., Watanabe T. X., Kimura T. & Sakakibara S., Solution synthesis of charybdotoxin (CTX), a K⁺ channel blocker. *Biochem. biophys. Res. Commun.*, 1990, 170, 684-690.
 52. Landon C., Détermination de la structure tridimensionnelle d'une toxine de scorpion et d'une protéine de défense d'insectes par résonance magnétique nucléaire et modélisation moléculaire. *Thèse Doct. Sci.*, Orléans, 1997, 314 p.
 53. Landon C., Comet B., Bonmatin J. M., Kopeyan C., Rochat H., Vovelle F. & Ptak M., IHNMR-derived secondary structure and the overall fold of the potent anti-mammal and antiinsect toxin III from the scorpion *Leiurus quinquestriatus quinquestriatus*. *Eur. J. Biochem.*, 1996, 236, 395-404.
 54. Landon C., Sodano P., Bonmatin J. M., Kopeyan C., Rochat H., Vovelle F. & Ptak M., Refined structure of the anti-mammal and anti-insect Lq₃ III scorpion toxin: comparison with other scorpion toxins. *Proteins: struct. funct. gen.*, 1997, 28, 360-374.
 55. Laraba-Djebari F., Legros C., Crest M., Céard B., Romi R., Mansuelle P., Jacquet G., Van Rietschoten J., Gola M., Rochat H., Bougis P.E. & Martin-Eauclaire M.F., The kaliotoxin family enlarged. Purification, characterization and precursor nucleotide sequence of KTX₂ from *Androctonus australis venom*. *J. Biol. Chem.*, 1994, 269, 32835-32843.
 56. Lebreton F., Delepierre M., Ramirez A. N., Balderas C. & Possani L. D., Primary and NMRthree dimensional structure determination of a novel crustacean toxin from the venom of the scorpion *Centruroides limpidus limpidus* Karsch. *Biochemistry*, 1994, 33, 11135- 11149.
 57. Legros C., Bougis P. E. & Martin-Eauclaire M. F., Genomic organization of the KTX₂ gene encoding a « short » scorpion toxin active on K_v channels. *FEBS Lett.*, 1997, 402, 45-49.
 58. Legros C. & Martin-Eauclaire M. F., Les toxines de scorpion. *CR Soc. Biol.*, 1997, 191, 345-380.
 59. Loret E., Martin-Eauclaire M. F., Mansuelle P., Sampieri F., Granier C. & Rochat H., An anti-insect toxin purified from the scorpion *Androctonus australis hector* also acts on the α- and β-sites of the mammalian sodium channel: sequence and circular dichroism study. *Biochemistry*, 1991, 30, 633-640.
 60. Martin M. F., Rochat H., Marchot P. & Bougis P. E., Use of high performance liquid chromatography to demonstrate quantitative variation in components of venom from the scorpion *Androctonus australis hector*. *Toxicon*, 1987, 25, 569-573.
 61. Martin-Eauclaire M. F. & Couraud F., Scorpion neurotoxins: effects and mechanisms. In: *Handbook of Neurotoxicology* (L. W. Chang & R. S. Dyer), 1 vol., Marcel Dekker Inc., New York, EUA, 1995, 683-716.
 62. Ménez A. & Dauplais M., The diversity of toxins in scorpion venoms, *Science Spectra*, 1997, 8, 44-50.
 63. Miller C., Moczydlowski E., Latorre R. & Phillips M., Charybdotoxin, a protein inhibitor of single Ca²⁺-activated K⁺ channels from mammalian skeletal muscle. *Nature*, 1985, 313, 316-318.
 64. Miranda F., Purification et caractérisation des neurotoxines des venins de scorpions (scorpamines). *Thèse Doct. Sci.*, Aix-Marseille, 1964, 187 p.
 65. Miranda F., Kopeyan C., Rochat H., Rochat C. & Lissitzky S., Purification of animal neurotoxins. Isolation and characterisation of eleven neurotoxins from

- the venom of the scorpion *Androctonus australis hector*, *Buthus occitanus tunetanus* and *Leiurus quinquestriatus quinquestriatus*. *Eur. J. Biochem.*, 1970, 16, 514-523.
66. Miranda F. & Lissitzky S., Scorpamins: the toxic proteins of scorpion venoms. *Nature*, 1961, 190, 443-444.
 67. Miranda F., Rochat H. & Lissitzky S., Sur la neurotoxine du venin des scorpions. I. Purification à partir du venin de deux espèces de scorpions nord-africains. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1960, 42, 979-391.
 68. Moreira-Ferreira A. M. B., Kalapothakis E., Diniz C. R. & Chavez-Olortegui C., *In vivo* protection against *Tityus serrulatus* scorpion toxins by immunization of mice with a non-toxic protein. *Toxicon*, 1998, 36, 333-339.
 69. Morel G., Recherches sur l'action de bactéries entomopathogènes chez le scorpion *Buthus occitanus*. (Am.) Thèse Doct. Sci., 1972, Montpellier, 166 p.
 70. Morel G., Étude de l'action de *Bacillus thuringiensis* chez le scorpion *Buthus occitanus*. *Entomophaga*, 1974, 19, 85-95.
 71. Morel G., Histopathologie du scorpion *Buthus occitanus* Amoureux au cours d'infections expérimentales par *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1974, 99, 479-487.
 72. Olamendi-Portugal T., Gomez-Lagunas F., Gurrola G. B. & Possani L. D., Two similar peptides from the venom of the scorpion *Pandinus imperator*, one highly effective blocker and the other inactive on K⁺ channels. *Toxicon*, 1998, 36, 759-770.
 73. Park C. S., Hausdorff S. F. & Miller C., Design, synthesis and functional expression of a gene for charybdotoxin, a peptide blocker of K⁺ channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 2046-2050.
 74. Pattus F., Les armes peptidiques de la défense antimicrobienne : un champ d'investigation en pleine expansion. *Méd./Sci.*, 1992, 8, 420-422.
 75. Peter M. Jr, Varga Z., Panyi G., Bene L., Damjanovich S., Pied C., Possani L. D. & Gaspar R. Jr, *Pandinus imperator* scorpion venom blocks voltage-gated K⁺ channels in human lymphocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998, 242, 621-625.
 76. Phisalix C. & Varigny H. de, Recherches expérimentales sur le venin du scorpion (*Buthus australis*). *Bull. Mus. His. nat.*, 1896, 2, 67-73.
 77. Possani L. D., Martin B. M. & Svendsen I., The primary structure of noxiustoxin: a K⁺ channel blocking peptide, purified from the venom of the scorpion *Centruroides noxius* Hoffmann. *Carlsberg Res. Commun.*, 1982, 47, 285-289.
 78. Quéinnec E., Gardès-Albert M., Goyffon M., Ferradini C. & Vuillaume M., Antioxidant activity of hemocyanin; a pulse radiolysis study. *Biochim. Biophys. Acta*, 1990, 1041, 153-159.
 79. Rochat C., Rochat H., Miranda F. & Lissitzky S., Purification and some properties of the neurotoxins of *Androctonus australis hector*. *Biochemistry*, 1967, 6, 578-585.
 80. Rochat H., Bemard P. & Couraud F., Scorpion venoms: chemistry and mode of action. *Adv. Cytopharmacol.*, 1979, 3, 325-334.
 81. Rochat H., Darbon H., Jover E., Martin M. F., Bablito J. & Couraud F., Interaction of scorpions toxins with the sodium channel. *J. Physiol. Paris*, 1984, 79, 334-337.
 82. Rochat H., Rochat C., Kupeyan C., Miranda F., Lissitzky S. & Edman P., Scorpion neurotoxins: a family of homologous proteins. *FEBS Lett.*, 1970, 10, 349-351.
 83. Rochat H., Rochat C., Miranda F., Lissitzky S. & Edman P., The amino acid sequence of neurotoxin I of *Androctonus australis hector*. *Eur. J. Biochem.*, 1970, 17, 262-266.

84. Rochat H., Rochat C., Sampieri F. & Miranda F., The amino-acid sequence of neurotoxin II of *Androctonus australis hector*. *Eur. J. Biochem.*, 1972, 28, 381-388.
85. Romi R., Crest M., Gola M., Sampieri F., Jacquet G., Zerrouk H., Mansuelle P., Sorokine O., Van Dorsselaer A., Rochat H., Martin-Eauclaire M. F. & Van Rietschoten J., Synthesis and characterization of kaliotoxin: is the 26-32 sequence essential for potassium channel recognition? *J. Biol. Chem.*, 1993, 268, 26302-26309.
86. Romi-Lebrun R., Martin-Eauclaire M. F., Escoubas P., Wu F. Q., Lebrun B., Hisada M. & Nakajima T., Characterization of four toxins from *Buthus martensi* scorpion venom, which act on apamin-sensitive Ca^{++} -activated K^+ channels. *Eur. J. Biochem.*, 1997, 245, 457-464.
87. Sabatier J. M., Frémont V., Mabrouk K., Crest M., Darbon H., Rochat H., Van Rietschoten J. & Martin-Eauclaire M. F., Leiurotoxin I, a scorpion toxin specific for Ca^{++} -activated K^+ channels: structure-activity analysis using synthetic analogs. *Int. J. Peptide Prot. Res.*, 1994, 43, 486-495.
88. Sabatier J. M., Zerrouk H., Darbon H., Mabrouk K., Benslimane A., Rochat H., Martin-Eauclaire M. F. & Van Rietschoten J., POS, a new leiurotoxin I-like scorpion toxin: synthesis and structure activity relationships of the α -amidated analog, a ligand of Ca^{++} -activated K^+ channels with increased affinity. *Biochemistry*, 1993, 32, 2763-2770.
89. Selsted M. E., Harvig S. L. S., Ganz T., Schilling J. W. & Lehrer R. I., Primary structure of three human neutrophil defensins. *J. Clin. Invest.*, 1985, 76, 1436-1439.
90. Shulov A., The venom of the scorpion *Buthus quinquestriatus* and the preparation of an antiserum. *Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1939, 33, 253-256.
91. Steiner H., Hultmark D., Engström A., Bennich H. & Boman H. G., Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity. *Nature*, 1981, 292, 246-248.
92. Tazieff-Depierre F. & Métézeau P., Action du venin de scorpion (*Androctonus australis*) sur la transmission neuro-musculaire de grenouille inhibée par la toxine botulique. *CR Acad. Sci. Paris*, 1977, 285, 1335-1338.
93. Tenenholz T. C., Rogowski R. S., Collins J. H., Blaustein M. P. & Weber D. J., Solution structure for *Pandinus* toxin K- α (PiTX-K α), a selective blocker of A-type potassium channels. *Biochemistry*, 1997, 36, 2763-2771.
94. Vuillaume M., Ducancel F., Calvayrac R., Rabilloud T., Hubert M. & Goyffon M., Correlation between the catalase-like activity and the H_2O_2 -ATP production of hæmocyanin and its subunits; implication with the radioresistance of the scorpion *Androctonus australis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1989, 92B, 17-23.
95. Vachon M., *Études sur les scorpions*. 1 vol., Institut Pasteur d'Alger, 1952, 484 p.
96. Valdivia H. H., Kirby M. S., Lederer W. J. & Coronado R., Scorpion toxins targeted against the sarcoplasmic reticulum Ca^{++} -release channel of skeletal and cardiac muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, 89, 12185-12189.
97. White S. H., Wimley W. C. & Selsted M. E., Structure, function and membrane integration of defensins. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 1995, 5, 521-527.
98. Wilson W. H., The physiological action of the scorpion venom. *Proc. Physiol. Soc.*, 1904, Jul. 29, 48-49.
99. Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S., Tomobe Y., Kobayashi M., Mitsui Y., Yasaki Y., Goto K. & Masaki T., A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 1988, 332, 411-415.
100. Zamudio F. Z., Conde R., Arévalo C., Becerril B., Martin B. M., Valdivia H. H. & Possani L. D., The mechanism of inhibition of ryanodine receptor channels by imperatoxin I, a heterodimeric protein from the scorpion *Pandinus imperator*. *J. Biol. Chem.*, 1997, 272, 11886-11894.

101. Zamudio F. Z., Gurrola G. B., Arévalo C., Sreekumar R., Walker J. W., Valdivia H. H. & Possani L. D., Primary structure and synthesis of imperatoxin A (IpTx(a)), a peptide activator of Ca⁺⁺ release channels/ryanodine receptors. *FEBS Lett.*, 1997, 405, 385-389.
102. Zerrouk H., Mansuelle, Benslimane A., Rochat H. & Martin-Eauclaire M. F., Characterization of a new leiurotoxin I-like scorpion toxin. *FEBS Lett.*, 1993, 320, 189-192.
103. Zlotkin E., Kadouri D., Gordon D., Pelhate M., Martin M. F. & Rochat H., An excitatory and a depressant insect toxin from scorpion venom both affect sodium conductance and possess a common binding site. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1985, 240, 877-887.