



УДК 547.993

**АМИНОКИСЛОТНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
ИНСЕКТОТОКСИНА И₁ ИЗ ЯДА СРЕДНЕАЗИАТСКОГО
СКОРПИОНА *BUTHUS EREUS****Жданова Л. Н., Адамович Т. Б., Назимов И. В.,
Гришин Е. В., Овчинников Ю. А.**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

Из яда среднеазиатского скорпиона *Buthus ereus* выделен инсектотоксин полипептидной природы, обладающий паралитической активностью на насекомых. Гомогенность токсина доказана с помощью диск-электрофореза, анализом аминокислотного состава и N-концевого аминокислотного остатка. При определении аминокислотной последовательности токсина применялся новый метод установления структуры C-концевой части полипептида с использованием остаточного пептидного материала после автоматической деградации. Показано, что инсектотоксин состоит из 36 аминокислотных остатков с четырьмя внутримолекулярными дисульфидными связями. Установлено существование нового структурного типа токсинов яда скорпионов.

Природные нейротоксины являются удобными инструментами для изучения молекулярных механизмов нервной проводимости. Так, в яде скорпионов содержатся полипептидные нейротоксины молекулярного веса 6000—8000, для которых характерно ярко выраженное действие на трансмембранный натриевый ток в нервных клетках позвоночных [1, 2]. Вместе с тем в яде скорпионов существуют так называемые инсектотоксины, обладающие мощным паралитическим действием на насекомых и абсолютно неактивные по отношению к млекопитающим [3].

Ранее нами было показано, что яд среднеазиатского скорпиона *Buthus ereus* наряду с токсинами, действующими на позвоночных, содержит три различных инсектотоксина молекулярного веса ~4000 [4]. Представлялось интересным установить структурные различия между двумя типами токсинов скорпиона, которые вызывают столь существенную разницу в физиологическом действии. Настоящая работа посвящена установлению аминокислотной последовательности одного из инсектотоксинов, И₁, яда скорпиона *Buthus ereus*, паралитическая активность которого проявляется в дозах от 3 мкг и выше на таракана *Nauphoeta cinerea* (Oliver).

Судя по аминокислотному составу, инсектотоксин И₁ существенно отличается от уже известных ранее токсинов яда скорпионов (табл. 1). Действительно, инсектотоксин состоит только из 36 аминокислотных остатков и содержит в своем составе три остатка метионина, присутствие которых совершенно нехарактерно для токсинов скорпионов. Кроме того, в молекуле инсектотоксина И₁ не удалось установить наличие триптофана (рис. 1). Результаты количественного определения сахаров и фосфолипидов показывают, что эти остатки не входят в состав молекулы инсектотоксина.

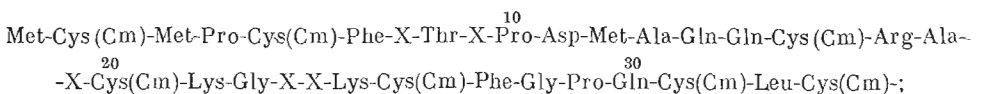
Аминокислотный состав токсинов яда скорпионов и триптических пептидов инсектотоксина I_1

Аминокислота	<i>A. australis</i>		<i>B. ereus</i>		Т-1	Т-2	Т-3	Т _h -III
	инсектотоксин	нейротоксин	нативный I_1	карбоксимет. I_1				
Cys (Cm)				7,17(8)	2,50(3)	1,13(2)	2,75(3)	0,95(1)
Asp	11,30(11)	8,9(9)	2,24(2)	2,16(2)	1,20(1)		1,14(1)	1,30(1)
Thr	3,70(4)	2,1(2)	2,06(2)	2,01(2)	1,91(2)			
Ser	5,70(6)	5,8(6)						
Glu	3,07(3)		3,22(3)	3,15(3)	2,23(2)		1,25(1)	
Pro	1,15(1)	6,0(6)	3,12(3)	3,06(3)	2,12(2)		1,20(1)	
Gly	3,98(4)	6,0(6)	4,16(4)	4,15(4)		1,20(1)	3,12(3)	1,17(1)
Ala	2,92(3)	1,0(1)	2,12(2)	2,03(2)	1,06(1)	1,04(1)		
$\frac{1}{2}$ Cys	7,12(8)	6,9(8)	7,45(8)					
Val	2,88(3)	4,2(5)						
Met			2,32(3)	2,68(3)	2,06(3)			
Ile	2,58(2-3)	1,4(2)						
Leu	5,52(5-6)	3,8(4)	0,92(1)	0,96(1)			0,85(1)	0,95(1)
Tyr	5,23(5)	2,7(3)	0,84(1)	0,85(1)			0,83(1)	0,75(1)
Phe	0,96(1)	1,0(1)	2,01(2)	1,96(2)	0,94(1)		1,20(1)	
His	0,92(1)	1,0(1)						
Lys	7,25(7)	5,8(6)	2,18(2)	2,01(2)		1,0(1)	1,04(1)	
Arg	0,94(1)	1,9(2)	3,09(3)	2,86(3)	1,67(2)	0,9(1)		
Trp	1,01(1)	1,01(1)						
Всего	67	63	36	36	17	6	13	5
N-Концевая	Lys	Lys	Met	Met	Met	Ala	Gly	Leu

Аминокислотный анализ нативного (табл. 1) и окисленного надмуравьиной кислотой инсектотоксина позволил установить присутствие восьми остатков цистеина, что наряду с данными об отсутствии свободных сульфгидрильных групп свидетельствует о наличии четырех внутримолекулярных дисульфидных связей.

Полная аминокислотная последовательность инсектотоксина I_1 . Для установления полной аминокислотной последовательности инсектотоксина I_1 предварительно проводилось восстановление его дисульфидных связей и карбоксиметилирование образовавшихся сульфгидрильных групп цистеиновых остатков. Карбоксиметилирование осуществлялось ^3H -содержащей иодуксусной кислотой, что позволило облегчить детекцию триптических пептидов при их разделении и идентификацию цистеиновых остатков при автоматической деградации белка. Аминокислотный анализ карбоксиметилированного токсина свидетельствовал о том, что модификация прошла количественно (табл. 1).

N-Концевая аминокислотная последовательность карбоксиметилированного инсектотоксина I_1 , определенная на секвенаторе, оказалась следующей:



причем при определении положений цистеиновых остатков существенную помощь оказало измерение радиоактивности аликвот из элюатов каждого цикла автоматической деградации (табл. 2).

Для определения C-концевой аминокислотной последовательности использовали карбоксипептидазу А (была установлена последовательность Tyr-Asp-COOH), а также остаток пептидного материала, вымытого из реакционного стакана секвенатора после 33 циклов деградации. Для этого остаток полипептида растворяли в 50% уксусной кислоте, органические

примеси отделяли гель-фильтрацией на биогеле Р-6 (рис. 2). Наличие пептидного материала во фракциях С-I—С-V устанавливали с помощью определения N-концевых аминокислотных остатков. Фракцию С-II после предварительной модификации всех свободных аминогрупп янтарным ангидридом подвергли термолитическому гидролизу. Из гидролизата методом бумажной хроматографии с проявлением пептидов флуорескаминоном [5] выделили пятичленный тирозинсодержащий пептид Th-III с N-концевым остатком лейцина (табл. 1). Структура этого пептида была установлена ручным методом Эдмана с идентификацией Dns-аминокислот: Leu-Cys (Cm)-Gly-Tyr-Asp. Эти данные и результаты, полученные при использовании карбоксипептидазы А, позволяют предположить, что данный пептид является С-концевым. Присутствие такого пептида в остатке пептидного материала после 33-го цикла автоматической деградации можно объяснить неполнотой процесса отщепления аминокислотных остатков и образованием пептидных цепей с «закрытой» N-концевой аминокислотой. Естественно, что в этом случае выход искомого пептида был крайне мал — только 4%.

Для получения недостающей информации об аминокислотной последовательности молекулы инсектотоксина был осуществлен ограниченный триптический гидролиз по остаткам аргинина с предварительной модификацией токсина малеиновым ангидридом. Исходя из результатов аминокислотного анализа инсектотоксина (табл. 1), при данном типе гидролиза следовало ожидать образования четырех пептидов.

При разделении триптического гидролизата на колонке с биогелем Р-6 было получено семь фракций (рис. 3). Для уточнения картины разделения проводилась детекция меченных тритием остатков карбоксиметилцистеина.

Методом тонкослойной хроматографии было показано, что фракции III и IV представляли собой индивидуальные пептиды Т-1 и Т-3 соответственно. Фракция VI являлась смесью двух пептидов и была подвергнута дополнительному разделению (рис. 4). В результате был выделен пептид Т-2. Фракции I, II, V, VII не содержали достаточного для исследований количества пептидного материала.

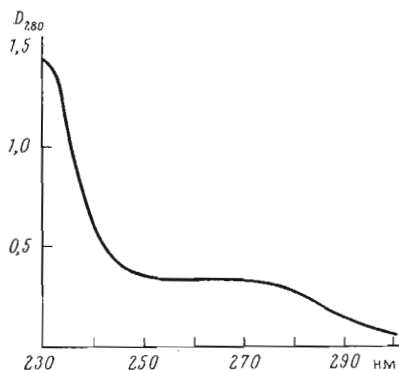


Рис. 1. УФ-спектр инсектотоксина I_1 в 0,01 М фосфатном буфере (рН 8,0), содержащем 10^{-4} моль/л этилендиаминтетрауксусной кислоты и 1% додецилсульфата натрия

Таблица 2

Результаты измерения относительной радиоактивности во фракциях циклов автоматической деградации инсектотоксина I_1

№ цикла	Радиоактивность, расп/мин	№ цикла	Радиоактивность, расп/мин	№ цикла	Радиоактивность, расп/мин	№ цикла	Радиоактивность, расп/мин
1	455	13	494	20	5910	27	1685
2	34 005	14	606	21	2808	28	1673
4	2260	15	592	22	2804	29	805
5	21 956	16	4224	23	763	30	719
6	4125	17	2065	24	813	31	1256
7	2064	18	1223	25	800	32	2052
12	1068	19	2684	26	1950	33	3401

Примечание. Для измерения радиоактивности отбирали $1/20$ часть каждой фракции.

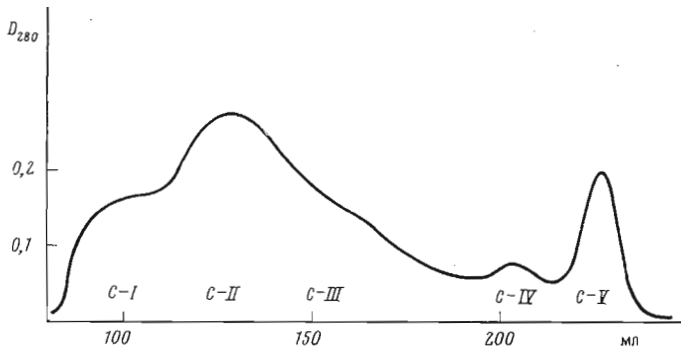


Рис. 2. Гель-фильтрация остатка пептидного материала после 33-го цикла автоматической деградации на биогеле Р-6 в 30% уксусной кислоте (колонка $1,5 \times 80$ см, скорость 18 мл/ч)

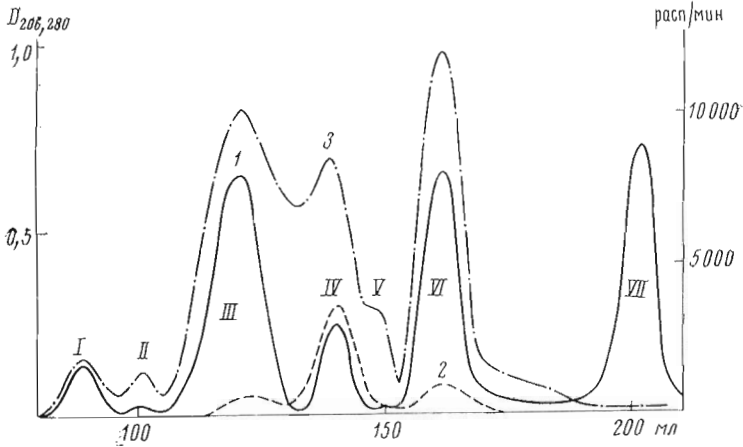


Рис. 3. Разделение продуктов триптического гидролиза карбоксиметилированного инсектотоксина I_1 на биогеле Р-5 в $0,1$ М NH_4HCO_3 , рН 8,0 (колонка $1,5 \times 175$ см, скорость 12,8 мл/ч). Детекция пептидов: 1 — при 206 нм, 2 — при 280 нм, 3 — путем измерения радиоактивности

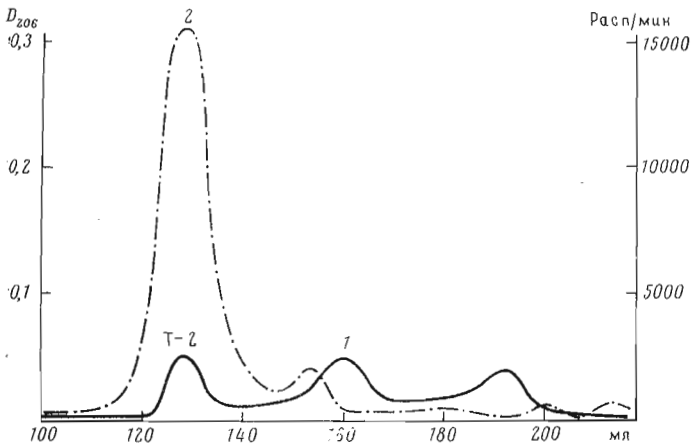


Рис. 4. Разделение фракции VI на сефадексе G-15 в $0,1$ М NH_4HCO_3 , рН 8,0 (колонка $1,5 \times 180$ см, скорость 18,3 мл/ч). Детекция пептидов: 1 — при 206 нм, 2 — путем измерения радиоактивности

Таблица 3
Результаты определения аминокислотной последовательности пептидов Т-1 и Т-3 из триптического гидролизата инсектотоксина И₁

Методы анализа	Результаты						Полная структура пептида (стрелками отмечены места действия химотрипсина)
	1	2	3	4	5	6	
Постатинная деградация смеси фрагментов химотриптического гидролизата пептида Т-1 с идентификацией Pth-аминокислот	Met Cys(Cm) Thr Ala Cys(Cm)	Met Thr Gln Arg	Pro Arg Gln	Cys(Cm) Pro	Phe Asp	Met	$\begin{array}{c} \downarrow \\ \text{Met-Cys(Cm)-Met-Pro-Cys(Cm)-Phe-Thr-Thr-Arg-} \\ \text{-Pro-Asp-Met-Ala-Gln-Gln-Cys(Cm)-Arg} \end{array}$
пептида Т-3 с идентификацией Pth-аминокислот	Gly Gly Cys(Cm) Cys(Cm) Asp	Lys Pro Leu Gly	Cys(Cm) Gln Tyr	Phe			$\begin{array}{c} \downarrow \\ \text{Gly-Lys-Cys(Cm)-Phe-Gly-Pro-Gln-Cys(Cm)-Leu-} \\ \text{-Cys(Cm)-Gly-Tyr-Asp} \end{array}$

Таким образом, из триптического гидролизата малеилированного карбоксиметилированного инсектотоксина I_1 были выделены три пептида, аминокислотный состав которых приведен в табл. 1. Аминокислотная последовательность триптических пептидов определялась по методу Эдмана с идентификацией аминокислотных остатков в виде их дансильных (Dns) или фенилтиоугидантоиновых (Pth) производных.

Для установления аминокислотной последовательности пептида Т-1 после удаления малеильной защиты сначала была проведена деградация по методу Эдмана с идентификацией Dns-аминокислот и найдена последовательность 12 остатков пептида Т-1: Met-Cys(Cm)-Met-Pro-Cys(Cm)-Phe-Thr-Thr-Arg-Pro-Asx-Met-. Параллельно был осуществлен химотриптический гидролиз пептида Т-1. Полученную смесь пептидов анализировали по прямому методу Эдмана с использованием данных по частичной аминокислотной последовательности (табл. 3).

Таким образом, были установлены аминокислотные остатки в положениях 7 и 9 в N-концевой части последовательности молекулы токсина, определенной автоматическим методом. Было выявлено также наличие связи Arg-Pro в положении 9—10, что и объясняет факт образования только трех триптических пептидов, а не четырех, как предполагалось ранее.

Структура пептида Т-2 определялась деградацией по методу Эдмана с идентификацией Dns-аминокислот: Ala-Cys(Cm)-Cys(Cm)-Lys-Gly-Arg. При этом было установлено положение третьего остатка аргинина в аминокислотной последовательности молекулы токсина. Данные измерения радиоактивности элюата 19-го цикла автоматической деградации позволили установить в этом положении остаток карбоксиметилцистеина (табл. 2). Структура пептида Т-2 также подтверждает наличие остатка цистеина в положении 19.

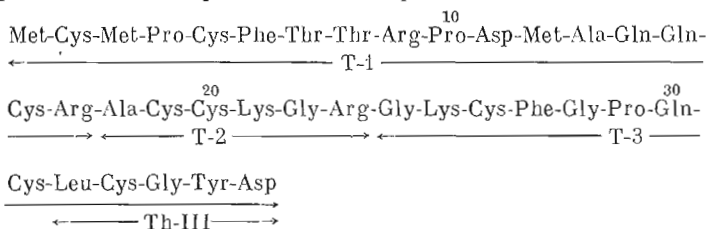
Пептид Т-3 являлся С-концевым пептидом, поскольку содержал в своем составе остаток тирозина (табл. 1). Судя по данным расщепления токсина карбоксипептидазой А, единственный остаток тирозина находился во втором положении от С-концевого аминокислотного остатка. Следует заметить, что С-концевой пептид Th-III, полученный из термолитического гидролизата пептидного остатка после автоматической деградации, представлял собой часть пептида Т-3. Деградация по методу Эдмана с идентификацией Dns-аминокислот помогла установить последовательность девяти аминокислотных остатков пептида Т-3: Gly-Lys-Cys(Cm)-Phe-Gly-Pro-Glx-Cys(Cm)-Leu.

Для определения полной аминокислотной последовательности С-концевого пептида Т-3 было предпринято его химотриптическое расщепление. Полученную смесь фрагментов анализировали методом Эдмана, используя данные по частичной аминокислотной последовательности (табл. 3).

На основании установленной структуры триптических пептидов Т-1, Т-2 и Т-3 и аминокислотной последовательности, определенной автоматическим методом и служащей перекрывающимся блоком для этих трех пептидов, удалось вывести однозначную структуру инсектотоксина I_1 .

Схема 1

Полная аминокислотная последовательность инсектотоксина из яда скорпиона *Buthus ereus*: Т и Th — триптические и термолитические пептиды соответственно.



Полная аминокислотная последовательность этого токсина приведена на схеме 1.

Можно отметить лишь отдаленное сходство между инсектотоксином I_1 из яда среднеазиатского скорпиона *Buthus epeus* и N-концевой последовательностью частично изученного токсичного для насекомых компонента яда скорпиона *Androctonus australis Hector* [6]. Действительно, сравнение положений цистеиновых остатков показывает, что только положения 16 и 26 идентичны для двух токсинов (схема 2). В молекуле инсектотоксина I_1 , кроме того, остатки цистеина находятся еще в положениях 2, 5, 19 и 20.

Схема 2

N-Концевая аминокислотная последовательность инсектотоксина из яда скорпиона *Androctonus australis Hector* [3]

Lys-Lys-Asn-Gly-Tyr-Ala-Val-Asp-Ser-Ser¹⁰-Lys-Lys-Ala-Pro-Glu-Cys-Ile-Ile-X-Ser²⁰-Tyr-Cys-Glu-X-Asp-Cys-

Настоящие результаты, и прежде всего данные о том, что величина инсектотоксина I_1 существенно меньше величины ранее известных токсинов [1, 3], уникальное расположение цистеиновых остатков, отсутствие таких аминокислот, как изолейцин, валин, триптофан, серин, и наличие остатков метионина в составе полипептидной цепи позволяют отнести инсектотоксин I_1 из яда скорпиона *Buthus epeus* к новому структурному типу токсинов яда скорпионов.

Экспериментальная часть

Для ферментативного расщепления применяли трипсин, химотрипсин, карбоксипептидазу А (Worthington, США), термолизин (Serva, ФРГ). При хроматографировании использовали хроматографическую бумагу (Wathman 1, Англия), целлюлозные пластинки (Schleicher-Schüll, ФРГ), сефадекс G-15 (Pharmacia, Швеция), биогель P-6 (Bio-Rad, США).

Гомогенность инсектотоксина определяли при помощи диск-электрофореза в 15% полиакриламидном геле [7], молекулярный вес токсина устанавливали тем же методом в присутствии додецилсульфата натрия и мочевины с использованием Dns-производного токсина [8].

Количественное определение сахаров и фосфолипидов в молекуле инсектотоксина проводили по методам [9] и [10] соответственно. Окисление инсектотоксина надмуравьиной кислотой осуществляли по методу [11]. Присутствие свободных сульфгидрильных групп в молекуле токсина устанавливали по методу [12].

УФ-спектр инсектотоксина регистрировали на спектрофотометре Gilford-240 (Франция) (рис. 1).

Модификация инсектотоксина. Инсектотоксин восстанавливали β -меркаптоэтанолом и карбоксиметилировали по известной методике [13]. Для карбоксиметилирования использовали препарат иодуксусной кислоты, меченной тритием (Amersham, Англия), с удельной активностью 61 мКи/ммоль. Иодуксусную кислоту перекристаллизовывали из гептана и смешивали в соотношении 1 : 27 с немеченой иодуксусной кислотой.

Малеилирование 1 мкмоль карбоксиметилированного инсектотоксина проводили в ячейке титратора (Radiometer, Дания) при pH 9,2 и температуре 3°. Небольшими порциями добавляли 50-кратный избыток сублимированного малеинового ангидрида в расчете на каждую свободную аминогруппу, pH смеси поддерживали $\sim 8,1$ с помощью 2,5 M NaOH. Через 2 ч реакционную смесь обессоливали на биогеле P-6 в 0,001 M водном растворе аммиака.

Триптический гидролиз. Триптический гидролиз 1 мкмоль малеилированного карбоксиметилированного инсектотоксина осуществляли в ячейке титратора при pH 8,3 в течение 4 ч при 37°. Отношение фермент — субстрат составляло 1 : 100 (по весу). pH смеси поддерживали ~8,3 с помощью 1 М водного раствора аммиака. Полученный гидролизат упаривали на роторном испарителе и хранили при -10°.

Продукты триптического гидролиза инсектотоксина разделяли на колонке с биогелем P-6 (рис. 3).

Одновременно проводили дополнительный анализ элюата из каждой пробирки путем измерения радиоактивности аликвот (сцинтилляционный жидкостный счетчик Mark II (Nuclear Chicago, США) в стандартной сцинтилляционной смеси Unisolve I (Koch-Light, Англия).

Удаление малеильной защиты в пептиде T-1 и пептидной фракции VI осуществляли при pH 3 в атмосфере азота в течение 40 ч при температуре 40°.

Выделение триптического пептида T-2 проводили гель-фильтрацией на сефадексе G-15 (рис. 4). Элюат из каждой пробирки дополнительно анализировали путем измерения радиоактивности аликвот.

Химотриптический гидролиз триптического пептида T-1. К раствору 0,07 мкмоль триптического пептида в 0,17 мл 0,1 М NH₄HCO₃ (pH 8,3) добавляли химотрипсин в отношении фермент — субстрат 1 : 100 (по весу). Расщепление проводили 2 ч при 37°. Затем гидролизат тщательно упаривали на роторном испарителе до полного удаления солей и хранили при -10°.

Химотриптический гидролиз триптического пептида T-3. К раствору 0,1 мкмоль пептида T-3 в 0,2 мл 0,1 М NH₄HCO₃ (pH 8,3) добавляли химотрипсин в отношении фермент — субстрат 1 : 50 (по весу). Гидролиз длился 4 ч при 37°. Затем гидролизат упаривали до полного удаления солей. Полученную смесь фрагментов химотриптического расщепления пептидов T-1 и T-3 анализировали методом Эдмана без разделения, используя данные по частичной аминокислотной последовательности [14].

Аминокислотный анализ проводили на автоматическом анализаторе аминокислот D-500 (Durrum, США).

Определение аминокислотной последовательности. N-Концевую аминокислотную последовательность карбоксиметилированного инсектотоксина определяли с помощью секвенатора Beckman 890 C (США) с использованием стандартной медленной пептидной 071474 программы. Идентификацию фенилтиогидантоиновых производных аминокислот осуществляли на газожидкостном хроматографе Beckman GC-65 (США) и с помощью ТСХ. Структуру пептидов устанавливали методом Эдмана по описанным ранее методикам [15, 16].

S-Концевую аминокислотную последовательность токсина находили при помощи карбоксипептидазы А и последующего анализа отщепленных аминокислотных остатков на аминокислотном анализаторе.

В другом варианте S-концевую аминокислотную последовательность определяли с использованием остатка пептидного материала после 33-го цикла автоматической деградации. Для этого пептидный материал вымывали 50% уксусной кислотой из реакционного стакана секвенатора, раствор упаривали досуха на роторном испарителе, а остаток растворяли в 2 мл 65% уксусной кислоты. После полного растворения вещества проводили его гель-фильтрацию на биогеле P-6 (рис. 2).

При сукцинировании 0,25 мкмоль полученной фракции С-II растворяли в 0,7 мл 1 М K₂HPO₄ (pH 9,0) с добавлением гуанидинхлорида и модификацию осуществляли в ячейке титратора при 22°. Небольшими порциями при перемешивании добавляли 100-кратный молярный избыток янтарного ангидрида, pH реакционной смеси поддерживали на заданном уровне с помощью 2,5 М NaOH. После сукцинирования в течение 2 ч реакционную смесь обессоливали на биогеле P-6 в 0,001 М водном растворе аммиака.

Термолитический гидролиз сукцинированного пептидного материала фракции С-II. К раствору 0,15 мкмоль пептидного материала фракции С-II в 0,25 мл 0,1 М NH_4HCO_3 (рН 8,3) добавляли термолитин в отношении фермент — субстрат 1 : 50 (по весу). Гидролиз вели 3 ч при 37°. Затем термолитический гидролизат тщательно упаривали до полного удаления солей. Пептиды выделяли с помощью препаративной бумажной хроматографии, зоны обнаруживали флуорескаминном [5] и элюировали с бумаги 20% уксусной кислотой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Miranda F., Kupeyan C., Rochat H., Rochat C., Lissitzky S. (1970) Eur. J. Biochem., 16, 514—523.
2. Hille B. (1970) Progr. Biophys. and Mol. Biol., 21, 1—32.
3. Zlotkin E., Rochat H., Kupeyan C., Miranda F., Lissitzky S. (1971) Biochimie, 53, 1073—1078.
4. Grishin E. V., Sukhikh A. P., Adamovich T. B., Zhdanova L. N., Soldatov N. M., Ovchinnikov Yu. A., Atakusiev B. U., Tashmukhamedov B. A. (1976) Abstr. USSR — FRG Symp. on Chem. of Peptides and Proteins, p. 91, Dushanbe.
5. Mendez E., Lai C. Y. (1975) Anal. Biochem., 65, 281—292.
6. Rochat H., Rochat C., Miranda F., Lissitzky S., Edman P. (1970) FEBS Lett., 10, 349—351.
7. Reisfeld R. A., Lewis U. G., Williams D. E. (1962) Nature, 195, 281—283.
8. Kato T., Sasaki M., Kimura S. (1975) Anal. Biochem., 66, 515—522.
9. Dische Z. (1962) in Methods in Carbohydrate Chem., I, pp. 490—491, Acad. Press, N. Y. — London.
10. Gerlach E., Deutiche B. (1963) Biochim. Z., 337, 477—479.
11. Hirs C. H. W. (1967) in Methods in Enzymol., XI, pp. 59—62, Acad. Press, N. Y. — London.
12. Habeeb A. F. S. A. (1973) Anal. Biochem., 56, 60—65.
13. Crestfield A. M., Moore S., Stein W. H. (1963) J. Biol. Chem., 238, 622—627.
14. Липкин В. М., Алданова Н. А., Фейгина М. Ю., Жикюлина Е. Б., Виноградова Е. И. (1972) Биохимия, 37, 410—413.
15. Gray W. R. (1967) in Methods in Enzymol., XI, pp. 469—475, Acad. Press, N. Y. — London.
16. Sjöquist J. (1960) Biochem. et biophys. acta, 41, 20—25.

Поступила в редакцию
10.XI.1976

AMINO ACID SEQUENCE OF INSECTOTOXIN I₁ FROM THE VENOM OF MIDDLE-ASIAN SCORPION *BUTHUS EPEUS*

ZHDANOVA L. N., ADAMOVICH T. B., NAZIMOV I. V., GRISHIN E. V.,
OVCHINNIKOV Yu. A.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

The toxin which is capable of inducing the paralysis in insects was isolated from the venom of the Middle-Asian scorpion *Buthus epeus*. The insectotoxin was homogeneous according to disc-electrophoresis, amino acid composition and N-terminal residue analyses. A new method for the determination of C-terminal part of the polypeptide was exploited which utilizes the peptide material left after automatic sequencing procedure. The insectotoxin was shown to contain 36 amino acid residues and 4 intramolecular disulfide bonds, hereby the toxin of a new structural type being found in the scorpion venom.