

## Örümcek Zehirlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi

Nazife Yiğit <sup>1</sup>

### Özet

Dünya üzerinde çok geniş bir yayılışa sahip örümceklere çok değişik habitatlarda rastlanılabilmektedir. Zehir bezine sahip bütün örümcekler zehirli olarak kabul edilmektedir. Örümcek zehirleri ve toksinleri omurgasız hayvanlar ve omurgalı hayvanlarda nöronların sinaptik fonksiyonlarının ve iyon kanallarının çalışılması için gerekli araçlar olarak düşünülmektedir. Buna ilaveten tarımda hayvan kaynaklı özel böcek toksinlerinin kullanımı için büyük bir ilgi vardır. Bu nedenle örümcekler başta olmak üzere birçok hayvanın zehirleri üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Birçok antimikrobiyal peptid böceklerde tanımlanmış, diğer arthropodalarda varlığı ile ilgili çok az çalışma rapor edilmiştir. Örümcek zehirlerinde bulunan antimikrobiyal peptidler, antibiyotiğe dirençli mikroorganizmaların mücadelesinde doğal kaynaklı, yeni ve etkili antibiyotik üretiminde önemli modeller oluşturmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Antimikrobiyal peptid, örümcek zehri, toksin.

### 1. Örümcekler ve Örümcek Zehirleri

Örümcekler, *Arthropoda* filumunun *Arachnida* sınıfı içinde yer alan en geniş ve önemli hayvan gruplarından biridir. Örümcekler, karbonifer periyodundan 300 milyon yıl öncesine ait fosil kayıtları olan ve bilinen en eski gruptur. Böcekler hariç tutulursa, örümcekler karada en başarılı omurgasızlardır. Dünya yüzeyinde tanımlanmış yaklaşık 40.000 türü bulunmaktadır. Örümcekler; Everest dağının zirvesi gibi ekstrem yerler de dahil, tabiatta çok değişik habitatlarda yaşayabilen hayvanlardır. Ayrıca, birçok örümcek türü, insanların yaşadığı yerlere iyi bir uyum sağlamıştır ve insanoğlunun var olduğundan bu yana uzun bir süredir aynı habitatları paylaşmaktadır (1, 2).

Örümcekler ilginç bir beslenme şekline sahiptir. Av, örümcek tarafından zehirli bir ısırma veya ağ ile yakalanır; avın üstüne sindirim sıvıları salınır. Birkaç dakika sonra sindirim enzimleriyle sindirilmiş av yavaş yavaş emilir. Yani, sindirim vücudun dışında başlar. Bazı türlerde sindirim sıvısı, avda açılan küçük bir delikten verilir ve sindirilen kısımlar delikten dışarı güçlü emici mideleriyle çekilir; geride avın –özellikle böceklerin- boş bir kitin iskeleti kalır. Bazı keliseral (zehir çengelini ait) dişlere sahip örümcekler, avlarını tanınmaz biçimde ezerek öldürür ve daha sonra sindirir.

<sup>1</sup> Araştırma Görevlisi, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü 06100 Tandoğan, Ankara. Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: [yigitn@science.ankara.edu.tr](mailto:yigitn@science.ankara.edu.tr)

Tarantula<sup>2</sup> adlı büyük bir örümcek, yakaladığı kurbağayı bir yandan keliserleri ile ezer, diğer taraftan da sindirim sıvıları ile parçalar. Bir müddet sonra kurbağa, birkaç kemikten ibaret tanınmayacak bir kütleye dönüşür. Yakalama metodu ne olursa olsun avın öldürülmesi zehrin enjeksiyonuyla gerçekleştirilmektedir (3).

Zehir aygıtına sahip olan tüm örümcekler zehirli olarak düşünülmektedir. Örümcekler, insan için tehlikeli olmasa da onların avları olan böcekleri etkileyecek derecede zehirlidir (4). Zehirli hayvanların temsilinde hep yılanlar ve akrepler ön plana çıkmıştır. Ancak son yıllarda örümcek zehirlerinin ve toksinlerinin kimyasal yapılarının ve fonksiyonlarının açıklanması, ilgiyi bu hayvanlara çevirmiştir. Yılanlar ve akrepler gibi diğer zehirli hayvanların zehirleri gibi örümcek zehirleri de türe özgüdür ve oldukça karmaşık ve heterojen bir yapıya sahiptir. Örümcek zehirleri biyolojik olarak aktif ve inaktif maddelerin bir karışımıdır. Zehirlerin esas yapısını proteinler, peptidler, poliamin nörotoksinler, enzimler, nükleik asitler, serbest amino asitler, monoaminler ve inorganik tuzlar oluşturmaktadır. Ancak esas biyolojik aktiviteye protein ve peptid komponentlerinin sahip olduğu ileri sürülmektedir (5). Örümcek zehirlerinde nörotoksinler, nekrotoksinler ve bunların yanında insektisidal ve antibakteriyal peptidler izole edilmiştir. Örümcek zehirlerinden izole edilen biyolojik olarak aktif maddeler kimyasal olarak incelendiğinde üç farklı gruba ayrılmaktadır: 1) glutamik asit reseptörleriyle etkileşim gösteren nöromusküler (sinir- kas) geçişin engellenmesine sebep olan poliamin benzeri toksinler, 2) membranlara ait iyon kanal ve reseptörlerini etkilemek için pre- ya da post-sinaptik olarak iş gören düşük molekül ağırlıklı protein ve peptidlerin bir grubu, 3) özel presinaptik reseptörlerle etkileşim gösteren yüksek molekül ağırlıklı nörotoksinler (6, 7).

Nörotoksinler, genel olarak hem omurgasız hem de omurgalı sinir sistemini etkileyen zehirlerdir. Birçok örümcek, avları olan böcekleri yakalayıp felç ettiğinden zehirlerinde nöroaktif maddelerin bulunması doğaldır. Nörotoksik zehirler iki özel grupta incelenmektedir: Birinci grup, hücre zarındaki kanalları açar ve elektrolitlerin serbest geçişine imkan verir. İkinci grup ise, kanalları kapatır ve elektrolitlerin geçişini engeller (8).

1980'lere kadar karadul örümceği (*Latrodectus* cinsine ait örümcekler) ve birkaç örümcek zehrinin nöroaktif olduğu biliniyordu. Bu nedenle son yıllara kadar insanlar için tehlikeli örümcek toksinleri ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Günümüzde birçok örümceğin zehirlerinin sinaptik etki gösteren nörotoksik peptidler içerdiği bilinmektedir. Örümcek zehirleri nöronlarda reseptör ve iyon kanallarının işleyişini etkileyen bir çok madde içermektedir. İnsan için zararsız olduğu düşünülen toksinlerin çalışılması, nörobiyolojik açıdan son yıllarda aktif bir çalışma konusu haline gelmiştir (9, 10).

*Latrodectus* cinsine ait olan karadul örümcekleri dünya üzerinde bilinen en tehlikeli örümcek türleridir. En iyi bilinen iki türü: Amerikan karadul örümceği (*Latrodectus mactans*) ve Akdeniz karadul örümceği (*Latrodectus tedecimguttatus*) olup bunların zehirleri ile ilgili birçok çalışmalar yapılmıştır (11). *Latrodectus* zehiri, kas-sinir bağlantı bölgesini etkileyen yoğun nörotoksinleri içermektedir. Nöromusküler geçişte rol oynar, nöromusküler geçiş ile presinaptik membrandan postsinaptik membrana ve presinaptik nörondan reseptöre uyarı iletimi sağlanmaktadır. Böylece sinir uçlarından

<sup>2</sup> Tarantula, ismini İtalya'daki Taranto şehriden almaktadır. İlk kez Linné tarafından *Lycosa tarantula* olarak tanımlanmıştır.

nörotransmitterin yoğun olarak serbest kalmasına sebep olur (9, 10, 11). Çeşitli tabii toksinler sinir uçlarının fonksiyonlarını etkilemektedir. Botulin ve tetanoz toksini nörotransmitter salınımını bloke eden bakteri toksinleridir. *Latrodectus* toksini, botulin toksini ile aynı yerde fakat zıt yönde rol oynamaktadır (4, 6). Çünkü botulin toksini, sinapslardan sinir implus geçişi için gerekli olan asetilkolinin serbest bırakılmasını engellemekte ve felce (paralize) neden olmaktadır. Yine bir bakteri toksini olan tetanoz toksini, kasların gevşemesini inhibe ederek sinir sistemi üzerinde etkili olan bir nörotoksindir (12).

Nekrotoksinler, zehirlenmenin olduğu bölgede doku nekrozunu uyaran örümcek toksinleri olarak tanımlanmaktadır. Bu hasarlar ülser ya da daha yoğun doku tahribatı şeklinde olmaktadır. *Loxosceles* cinsine ait kahverengi örümceklerinin zehirleri canlılarda yavaş iyileşen nekrotik lezyonlara neden olurlar (13).

Son yıllarda birçok araştırmacı örümcek zehirlerinin insektisidal komponentlere sahip olduğunu belirtmiş ve bu tabii insektisidal toksinler *Agelenopsis aperta*, *Atrax robustus*, *Segesteria florentina*, *Hololena curta*'dan izole etmiştir. Örümceklerden izole edilen bu tür insektisidal toksinler tipik olarak böceklerde paralyze (felce) sebep olmaktadır. Sisteince zengin peptidler 55-60 amino asit uzunluğundadır. Tarımda, kimyasal pestisidlerin yerine hayvan kaynaklı bu özel böcek toksinlerinin kullanımı için büyük bir ilgi vardır. Örümceklerden elde edilen peptidlerin incelenmesiyle, çevreyle dost ve daha etkili yeni insektisidlerin üretimine çalışılmaktadır (14).

## 2. Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Peptidler

Çin'de geleneksel tıp uygulamalarında akrep, kırkayak ve örümceklerden elde edilen çeşitli özütler yüzyıllardır kullanılmaktadır. Bu canlıların zehirleriyle ilgili bilimsel çalışmalar son yıllarda batılı araştırmacıların ilgi odağı olmuştur.

Bakterilerin antibiyotiklere direnç kazanması araştırmacıları etkili yeni tedavi ajanları aramaya itmiştir. Bunun üzerine son yıllarda antimikrobiyal aktiviteye sahip peptidler ve bunları üreten canlılar üzerine araştırmalar yoğunlaştırılmıştır. İlk antimikrobiyal peptid, bir güve türü olan *Hyalophora cecropia*'dan izole etmiş ve sekropinler olarak tanımlamıştır (15). Daha sonra farklı çalışmalar sonucunda antimikrobiyal aktiviteye sahip bu tür peptidler bakterilerden, farklı böcek takımlarından, kırkayaklardan, örümceklerden, akreplerden, çeşitli kabuklu hayvanlardan, amfibilerden, memelilerden ve insanlara kadar çeşitli tabii kaynaklardan elde edilmiştir (16).

Böcekler bakteriyal enfeksiyonlara oldukça dirençlidirler. Bu nedenle çalışmalar özellikle böcekler üzerine yoğunlaştırılmıştır. Bu direncin sebebi araştırılmış, bakteriyal direncin, enfeksiyondan 2 ile 4 saat sonra hızlı bir şekilde sentezlenen küçük molekül ağırlıklı ve pozitif yüklü peptidler ile açıklanmıştır (17).

Sekropinlerin keşfinden sonra 100'den fazla antimikrobiyal aktiviteye sahip peptidler, elde edilmiştir. Bu peptidlerin yapısal farklılıkları göz önünde tutularak dört esas gruba ayrılmıştır: 1) Sekropinler, yaklaşık 4 kDa ağırlığında, gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler üzerinde etkili linear heliks şeklinde peptidlerdir (18, 19). 2) Defensinler, yaklaşık 4 kDa ağırlığında anti-gram-pozitif peptidlerdir. Bu peptidler 6 sistein ve moleküller arasında 3 disülfid köprüsü bulunduran  $\beta$ -tabaka yapısındadır

(20), 3) Prolin ve arjinince zengin küçük peptidlerdir. Özellikle gram-negatif bakterilere etkilidir. Apidaesinler, abaesinler bu grupta yer alan peptidlerdir (21, 22). 4) Diğer antimikrobiyal peptidler. 8-27 kDa ağırlığında, çoğunluğu glisince zengin, disülfid köprülerine sahip peptidleri içermektedir. Bu peptidlerin çoğu gram-negatif bakterilere etkilidir. Attasinler, sarkotoksin, dipterinler (23), kolepterinler (24) bu gruba örnektir.

Çeşitli hayvan gruplarından elde edilen antimikrobiyal aktiviteye sahip peptidler pozitif yüklü ve küçük yapıları olması ve de amfipatik yapıları oluşturma kabiliyeti gibi ortak özellikleri vardır. Bu peptidler ya bakteriyel enfeksiyonu takiben uyarılarak bağışıklık sisteminin ilk savunması olarak(defensinler), ya da bir kurbağa türü olan *Xenopus leavis*'in deri yüzeyinde olduğu gibi sürekli olarak(magaininler) sentezlenirler (25, 26, 27).

At nalı yengəcinden de antimikrobiyal aktiviteye sahip peptidler izole edilmiştir. Sisteince zengin pozitif yüklü bu peptidler, diğer hayvanlarda elde edilen antimikrobiyal peptidler gibi hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakteriler üzerinde etkilidir (28, 29, 30).

Akrepler de böcekler gibi bakteriyel enfeksiyonlara oldukça dirençlidir ve bu direnç mekanizmasının açıklanması oldukça ilgi çeken bir konudur. Böceklerden sonra akrepler üzerinde de çalışılmış, akrep hemolenflerinden izole edilen savunma peptidlerine yapı olarak akrep zehirlerinden elde edilen toksik peptidlere benzediği anlaşılmıştır (31). *Leiurus quinquestriatus* ve *Androctonus australis* akreplerinin hemolenfinden defensinler ailesine ait antimikrobiyal peptidler izole edilmiştir. Ayrıca *Androctonus australis* akrebinin zehrinden elde edilen buthinin, bakterisidal ve fungisidal bir peptiddir. *Hadrurus aztecus* (hadrurin) ve *Parabuthus schlechteri* (parabuthorin) akreplerinin zehirinden heliks şeklinde antimikrobiyal bir peptid rapor edilmiştir (32). Yine Afrika akrebinin (*Pandinus imperator*) zehrinden iki yeni antimikrobiyal peptid tanımlanmıştır. Pandinin 1 ve 2 adı verilen bu peptidler heliks şeklinde ve polikatyoniktir. Pandinin 1: daha önce böcek, kurbağa ve akrelerde tanımlanmış antibakteriyel peptidler grubuna, Pandinin 2: kurbağalardan elde edilen kısa, heliks şeklinde magainin tipi antimikrobiyal peptidler grubuna dahildir edilmektedir Her iki peptid de gram-pozitif bakterilerin geniş bir spektrumuna karşı yüksek derecede etkilidir, fakat gram-negatiflere karşı daha az etkilidir (33). Akrep zehirleri ve diğer arthropodaların zehirleri yeni antibiyotiklerin keşfedilmesi için yeni bir model oluşturmaktadır. Akrep zehirlerinde antibakteriyel peptidlerin yanında aynı zamanda sıtma etkeni olan parazitlere karşı da etkili olan bir polipeptid de izole edilmiştir (34).

### 3. Örümceklerden Elde Edilen Antimikrobiyal Peptidler

*Lycosa singoriensis*'den (kurt örümceği) ilk antimikrobiyal peptid izole edilmiş ve tanımlanmıştır(35). Daha sonra yine bir kurt örümcek olan *Lycosa carolinensis*'in zehrinden antimikrobiyal aktiviteye sahip iki toksin tanımlanmıştır. Her iki peptid ayrı, ayrı izole edilmiş ve bunlara likotoksin I ve II adları verilmiş ve amino asit dizileri belirlenmiştir. Bu peptidler membranda bulunan iyon ve voltaj gradientlerini düşürebilme yeteneğine sahiptirler. Antimikrobiyal denemeler, her iki likotoksinin bakteri ve mayaların üremesini inhibe ettiğini göstermiştir (36).

Birkaç yıl önce yapılan başka bir çalışmada neotropikal gezici bir örümcek olan *Cupiennius salei*'nin zehrinden antimikrobiyal aktiviteye sahip beş ayrı peptid izole edilmiş ve tanımlanmıştır (37). Peptidlerin 3-4 kDa arasında bir molekül ağırlığına sahip olduğu belirlenmiş ve bu peptidlerin antimikrobiyal etkisi, beş farklı bakteri türü üzerinde denenmiştir. Bakterinin hepsinin bu beş antimikrobiyal peptide de duyarlı olduğu bulunmuştur. Bu peptidler, gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler üzerinde etki göstermektedir. Bilinen antimikrobiyal peptidlerin çoğunluğu bakteri hücrelerini lisize uğrattığı düşünülmektedir. Fakat bu mekanizmanın nasıl gerçekleştirildiği henüz açıklanamamaktadır (37, 38).

*Cupiennius salei* örümceğinin zehrinde bulunan antimikrobiyal peptidlerle ilgili yapılan başka bir çalışmada da, *Cupiennius salei*'nin zehrinden yeni bir antimikrobiyal peptid grubu tanımlanmıştır. Kupiennin 1 olarak adlandırılan bu grup içinde birbirine oldukça benzer yapıya sahip dört farklı peptid izole edilmiştir ve bunlar sırasıyla Kupiennin 1a, 1b, 1c ve 1d olarak adlandırılmıştır. Pozitif yüklü bu peptidlerin amino asit sekansları belirlenmiş ve *Cupiennius salei*'nin zehrinden elde edilen peptidlerin prokaryot hücreler üzerinde yüksek derecede antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları saptanmıştır (39).

Bir tarantula örümceği olan *Acanthoscurria gomesiana*'nın hemolenfinden izole edilen sisteince zengin antimikrobiyal peptide Gomesin adı verilmiştir. Gomesin'in, bakteriyel gelişimi güçlü bir şekilde inhibe ettiği, aynı zamanda küf ve mayaların gelişimini de engellediği belirtilmiştir. Bunlara ilaveten, gomesinin; bir parazit olan *Leishmania amazonensis* üzerinde de etkisi saptanmıştır (40). Gomesinin tanımlanması için yapılan çalışmalarda pozitif yüklü bir peptid olduğu, 18 amino asitten oluştuğu, 4 sistein ve 2 disülfid köprüsü bulundurduğu ortaya konulmuştur (41). Yapısal olarak gomesinin bazı özelliklerinin akreplerden elde edilen androkonin ve porkine benzerliği saptanmıştır. Yapısal bu benzerlikten dolayı membran reaksiyonlarının da benzer olabileceği ileri sürülmüştür (40, 41).

#### 4. Örümcek Antimikrobiyal Peptidlerinin Muhtemel Etki Şekilleri

Örümcekler ilginç bir beslenme şekli ile sindirimi vücudun dışında başlatmaktadır. Örümcek zehirlerinde bulunan toksinler örümceğin avını yakalamasında ve avın sindirilmesi sırasında mikroorganizmalardan doğacak enfeksiyonlardan korumasında rol alabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda bazı örümcekler, zehir enjekte ederek yakaladıkları avları günlerce bozulmadan saklayabilmektedirler. Avın bozulmadan saklanmasında antimikrobiyal peptidlerin iş gördüğü düşünülmektedir (3, 36).

Örümcek zehir peptidlerinin nasıl iş gördüğü, son yıllarda üzerinde çokça durulan bir konudur. Bilinen antimikrobiyal peptidlerin çoğu bakteri hücrelerini lisize uğratmakta, fakat bu lizinin nasıl gerçekleştirildiği henüz açıklanamamaktadır (37). Bu peptidlerin bakteri membranında farklı kanal ya da porlar oluşturarak ve hücre fizyolojilerini bozarak hücreyi lisize götürdüğü düşünülmektedir (36,39). Amfipatik alfa heliks yapısına sahip tabii antimikrobiyal peptidlerin biyolojik membranlarda por oluşturarak membranları tahrip ettiği ileri sürülmüştür. Bu peptidler, peptid monomerlerinin kendi kendine toplanmasıyla kanallar oluştururlar. Öyle ki, alfa heliks yapısındaki hidrofobik amino asit kökleri çift tabakalı lipid membrandaki yağ asitleri ile etkileşime girerek por oluştururlar (33, 36).

Kuhn-Nentwig ve arkadaşları (38), pozitif yüklü antimikrobiyal peptidlerin bakterisidal etkilerini, tabii peptidlerin ve kimyasal olarak değiştirilmiş analoglarının, pozitif yükleri ile açıklamışlardır. Pozitif yüklü, küçük molekül ağırlığı olan antimikrobiyal peptidler, negatif yükle yüklenmiş bakteri membranlarını tanımakta ve membran üzerine birirmektedir. Antimikrobiyal aktiviteyi artırmak, peptide yüksek derecede hidrofobik etki sağlayan iyi gelişmiş hidrofobik bir alana sahip olmasıyla mümkündür (38).

## 5. Sonuç

Antimikrobiyal peptidler, virüsler de dahil olmak üzere gram-pozitif, gram-negatif bakteriler, protozoanlar, maya ve mantarlara karşı oldukça etkili non-spesifik aktiviteye sahiptir. Bu peptidler hem omurgalı hem de omurgasızlarda tanımlanmıştır. Bu peptidler omurgalıların derisinde, epitel hücrelerinde ve kanında, böceklerin hemolenfinde, arı, akrep ve örümceklerin zehir salgılarında bulunmuştur. Bu peptidlerin hepsi, değişik uzunluklarda, sekanslarda, bazik, amfipatik ve oldukça küçük (2-5 kDa) peptidlerdir (25, 26, 31, 34). Bu peptidlerin, hücre membranında por ya da kanal oluşturarak hücre geçirgenliğini ve hücre fizyolojisini bozarak etki ettiği düşünülmektedir (36, 39).

Antibakteriyal peptidler hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakterileri lize uğrattırır. Fakat ökaryot hücrelere zararlı etkilerinin olmadığı ya da çok az zararlı etkilerinin olduğu düşünülmektedir. Örneğin defensinlerin ve maganinlerin az da olsa ökaryot hücreleri üzerinde zararlı etkilileri bilinmektedir. Ökaryot hücreler özgül membranları sayesinde hücrelerini tahrip edilmekten korurlar. Antimikrobiyal peptidler, bakterileri membranlarında bulunan D-amino asitlerden tanımaktadır. Ökaryotik hücre membranları D-aminoasit içermemeleri nedeniyle antimikrobiyal peptidler sadece prokaryot hücrelerde etki gösterirler. Genellikle antibakteriyal peptidlerin, geniş etki spektrumlu olması ve üretim maliyetinin düşük olması istenir. Bu nedenle bakteriyal enfeksiyonlara karşı primer savunmanın önemli parçasını oluşturan antimikrobiyal peptidler araştırmaların odak noktası olmuşlardır (17, 19).

Antimikrobiyal peptidlerin çalışılması, mikroorganizmalar ve konukçular arasındaki dinamik etkileşiminde yeni anlayışlar ve hastalıkların tedavisinde yeni gelişmeler sağlamaktadır. Yüksek organizasyonlu ökaryotlardan elde edilen antimikrobiyal peptidler, yapısal olarak bakteri ve funguslar tarafından üretilen geleneksel antibiyotiklerden farklıdır. Her geçen gün mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direncinin arttığı düşünülürse, mikroorganizmalara karşı daha etkili yeni farmostatik bileşiklere ihtiyaç vardır. Bu bileşiklerin üretilmesi için yeni modeller aranmakta ve sunmaktadır (42).

Hastanelerde çok yaygın, patojen bir bakteri olan *Staphylococcus aureus* suşlarının bir çoğu metisillin ve türevi antibiyotiklere dirençlidirler. Yine tıbbi açıdan önemli olan enterokoklar tedavi için yaygın olarak kullanılan vankomisin ve türevi antibiyotiklere dirençlidirler (42). Bu nedenle hali hazırda kullanılan antibiyotiklere direnç geliştirmiş bakterilerle mücadele ve yeni antibiyotiklerin üretilmesinde, antimikrobiyal aktiviteye sahip peptidleri içeren örümcek zehirleri gibi doğal kaynakların, alternatif olabileceği düşünülmektedir.

## Kaynaklar

1. Levi, W. H. And Levi, L.R. 1990. A Gold Guide: Spider and Their Kin, New York.
2. Preston, K. 1982. Identifying Spiders, Chartwell Books, Inc., Mafham.
3. Foelix R F. 1982. Biology of Spiders, 3<sup>rd</sup> Edition. Cambridge University Press, England.
4. Maretić, Z. 1987. Spider Venoms and their Effects, in Ecophysiology of Spiders, Nentwig, W., Springer-Verlag, New York.
5. Jackson H and Usherwood , 1988. Spider Toxins As Tools For Dissecting Element of Excitatory Amino Acid Transmission. T I N S, Vol. 11, No. 6, pp. 278-283.
6. Rash, L.D., Hodgson, W. C. 2002. Pharmacology and Biochemistry of Spider Venoms. *Toxicon*, 40, 225-254.
7. Ori, M., and Ikeda, H., Spider Venoms and Spiders Toxins. *J. Toxicol.-Toxin Reviews*, 17(3), 405-426, 1998.
8. Anderson P C, 1990. Venoms: Important Opportunities in Research. *Int. J. Dermatol*, 29(6), 411-412.
9. Grishin, E., Polypeptide Neurotoxins from Spider Venoms. *Eur. J. Biochem.*, 264, 276-280, 1990.
10. Grishin, E.V., 1996. Neurotoxin from Black Widow Spider Venom. *Natural Toxins II*, Edited by Singh B.R., and Tu, A.T., Plenum Press, New York, 231-236.
11. Grasso, A., 1992. Report and Abstracts of Meeting on *Latrodectus* Neurotoxins from Venom Gland to Neuronal Receptors, Gaet (Lt), Italy. *Toxicon*, 30:2, 117-122.
12. Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L. 1998. *Microbiology: An Introduction*. Sixth Edition. An Imprint of Addison Wesley Longman, USA.
13. Geren C R, 1986. Neurotoxins and Necrotoxins of Spider Venoms. *J. Toxicol.-Toxin Reviews*, 5(2), 161-170.
14. Lipkin, A., Kozlov, E., Nosyreva, A., Blake, A., Windass, J.D., Grishin, E. 2002. Novel Insecticidal Toxins from the Venom of the Spider *Segestria florentina*. *Toxicon*, 40, 125-130.
15. Steiner, H., Hultmark, D., Engström, Å., Bennich, H., Boman, H.G. 1981. Sequence and Specificity of Two Antimicrobial Proteins Involved in Insect Immunity. *Nature*, 292, 246-248.
16. Vizioli, J., and Salzet, M. 2002. Antimicrobial peptides from Animals: Focus on Invertebrates. *Trends Pharmacol. Sci.* , 23(11), 494-496.
17. Meister, M., Lemaitre, B., and Hoffman, J.A. 1997. Antimicrobial Peptide Defense in *Drosophila*. *BioEssays*, 19(11), 1019-1026.
18. Boman, H.G., faye, I., Gudmundsson, H.G., Lee, J.Y., and Lidholm, D.A. 1991. Cell-Free Immunity in *Cecropia*. A Model System for Antibacterial Proteins. *Eur. J. Biochem.*, 201, 23-31.

19. Boman, H.G. 1991. Antibacterial peptides: Key Components Needed in Immunity. *Cell*, 65, 205-207.
20. Lehrer, R.I., Ganz, T., and Selsted, M.E. 1991. Defensins: Endogenous Antibiotic Peptides of Animal Cells. *Cell*, 64, 229-230.
21. Castle, M., Nazarian, A., Yi, S.S., and Tempst, P. 1999. Lethal Effects of Apidaecin on *Escherichia coli* Involve Sequential Molecular Interactions with Diverse Targets. *J. Biol. Chem.*, 274(46), 32555-32564.
22. Casteels, P., Ampe, C., Riviere, L., Damme, J.V., Elicone, C., Fleming, M., Jacobs, F., and Tempst, P. 1990. Isolation and Characterization of Abaecin, a Major Antibacterial Response peptide in the Honeybee (*Apis mellifera*). *Eur. J. Biochem.*, 187, 381-386.
23. Dimarcq, J.L., Keppi, E., Dunbar, B., Lambert, J., Reichhart, J.M., Hoffman, D., Rankine, S.M., Fothergill, J.E., and Hoffman, J.A. 1988. Purification and Characterization of a Family of Novel Inducible Antibacterial Proteins from Immunized Larvae of the Dipteran *Phormia terranavae* and Complete Amino-Acid Sequence of the Predominant Member, Dipteracin A. *Eur. J. Biochem.*, 171, 17-22.
24. Bulet, P., Cociancich, S., Dimarca, J.L., Lambert, J., Reichhart, J.M., Hoffman, D., Hetru, C., and Hoffman, J.A. 1997. Isolation from a Coleopteran Insect of a Novel Inducible Antibacterial Peptide and of New Members of the Insect Defensin Family. *J. Biochem. Chem.*, 266(36), 25420-25425.
25. Lehrer, R.I., and Ganz, T. 1999. Antimicrobial Peptides in mammalian and Insect Host Defence. *Curr. Opin Immunol.*, 11, 23-27.
26. Salzet, M., 2002. Antimicrobial peptides are Signaling Molecules. *Trends in Immunology*, 23(6), 283-284.
27. Bulet, P., Dimarcq, J.L., Hetru, C., Lagueux, M., Charlet, M., Hegy, G., Dorsselaer, A.V., and Hoffmann, J.A. 1993. A Novel Inducible Antibacterial Peptide of *Drosophila* Carries an O-Glycosylated Substitution. *J. Biol. Chem.*, 268(20), 14893-14897
28. Osaki, T., Omotezako, M., Nagayama, R., Hirata, M., Iwanaga, S., Kasahara, J., Hattori, J., Ito, I., Sugiyama, H., and Kawabata, S. 1999. Horseshoe Crab Hemocyte-Driven Antimicrobial Polypeptides, Tachystatins, with Sequence Similarity to Spider Neurotoxins. *J. Biol. Chem.*, 274(37), 26172-26178.
29. Kawabata, S., Tokunaga, F., Kugi, Y., Motoyama, S., Miura Y., Hirata, M., Iwanaga, S. 1996. Limulus Factor D, a 43 kDa Protein Isolated from Horseshoe Crab Hemocytes, is a Serine Protease Homologue with Antimicrobial Activity. *F E B S Lett.*, 398(2-3), 146-150.
30. Tam, J.P., Ya, L., Yang, Y.L. 2000. Marked Increase in Membranolysis Selectivity of Novel Cyclic Tachyplesins Constrained with an Antiparallel Two-Beta Strand Cystine Knot Framework. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 267(3), 783-790.
31. Ehret-Sabatier, L., Loew, D., Goyffon, M., Fehlbaum, P., Hoffman, J.A., Dorsselaers, A., and Bulet, P. 1996. Characterization of Novel Cysteine-rich Antimicrobial Peptides from Scorpion Blood. *J. Biol. Chem.*, 271(47), 29537-29577.
32. Torres-Larios, A., Gurrola, G.B., Zamudio, F.Z., Possani, L.D. 2000. Hadrurin, a New Antimicrobial Peptide from the Venom of the Scorpion *Hadrurus aztecus*. *Eur. J. Biochem.*, 267(16), 5023-5031.



33. Corzo, G., Escoubas, P., Villegas, E., Barnham, K.J., He, W., Norton, R.S., and Nakajima, T. 2001. Characterization of Unique Amphipathic Antimicrobial Peptides from Venom of the Scorpion *Pandinus imperator*. *Biochem. J.*, 359, 34-45.
34. Conder, R., Zamudio, F.Z., Rodriguez, M.H., Possani, L.D. 2000. Scorpine, an Anti-Malaria and Anti-Bacterial Agent Purified from Scorpion Venom. *F E B S Lett.*, 471(2-3), 165-168.
35. Xu, K., Ji, Y., and Qu, X. 1989. Purification and Characterization of an Antibacterial Peptide from Venom of *Lycosa singoriensis*. *Acta Zool. Sinica*, 35, 300-305.
36. Yan, L., and Adams, M.E. 1998. Lycotoxins, Antimicrobial Peptides from Venom of the Wolf spider *Lycosa carolinensis*. *J. Biol. Chem.*, 273(4), 2059-2066.
37. Haerberli, S., Kuhn-Nentwig, L., Schaller, J., Nentwig, W. 2000. Characterization of Antibacterial Activity of Peptides Isolated from the Venom of the Spider *Cupiennius salei* (Araneae:Ctenidae). *Toxicon*, 38, 373-380.
38. Kuhn-Nentwig, L., Schaller, J., Streb, B., and Kämpfer, U. 1998. CSTX<sub>4</sub>, a Novel Bactericidal and Insecticidal Peptide in the Venom of *Cupiennius salei*. *Toxicon*, 36, 1276-1277.
39. Kuhn-Nentwig, L., Müller, J., Schaller, J., Walz, A., Dathe, M., and Nentwig, W. 2002. Cupiennin 1, a New Family of Highly Basic Antimicrobial Peptides in the Venom of the Spider *Cupiennius salei* (Ctenidae). *J. Biol. Chem.*, 277(3), 11208-11216.
40. Silva, I.P., Daffre, S., and Bulet, P. 2000. Isolation and Characterization of Gomesin, an 18-Residue Cysteine-rich Defense Peptide from the Spider *Acanthoscurria gomesiana* Hemocytes with Sequence Similarities to Horseshoe Crab Antimicrobial Peptides of the Tachyplesin family. *J. Biol. Chem.*, 275(3), 33464-33470.
41. Madrad, N., Bulet, P., Callej, A., Daffre, S., and Vovelle, F. 2002. The Solution Structure of Gomesin, an Antimicrobial Cysteine-rich Peptide from Spider. *Eur. J. Biochem.*, 269, 1190-1198.
42. Ganz, T., Lehrer, R.I. 1999. Antibiotic Peptides from Higher Eukaryotes: Biology and Applications. *Mol. Med. Today*, 5(7), 292-297.