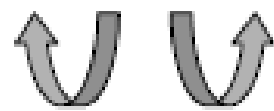
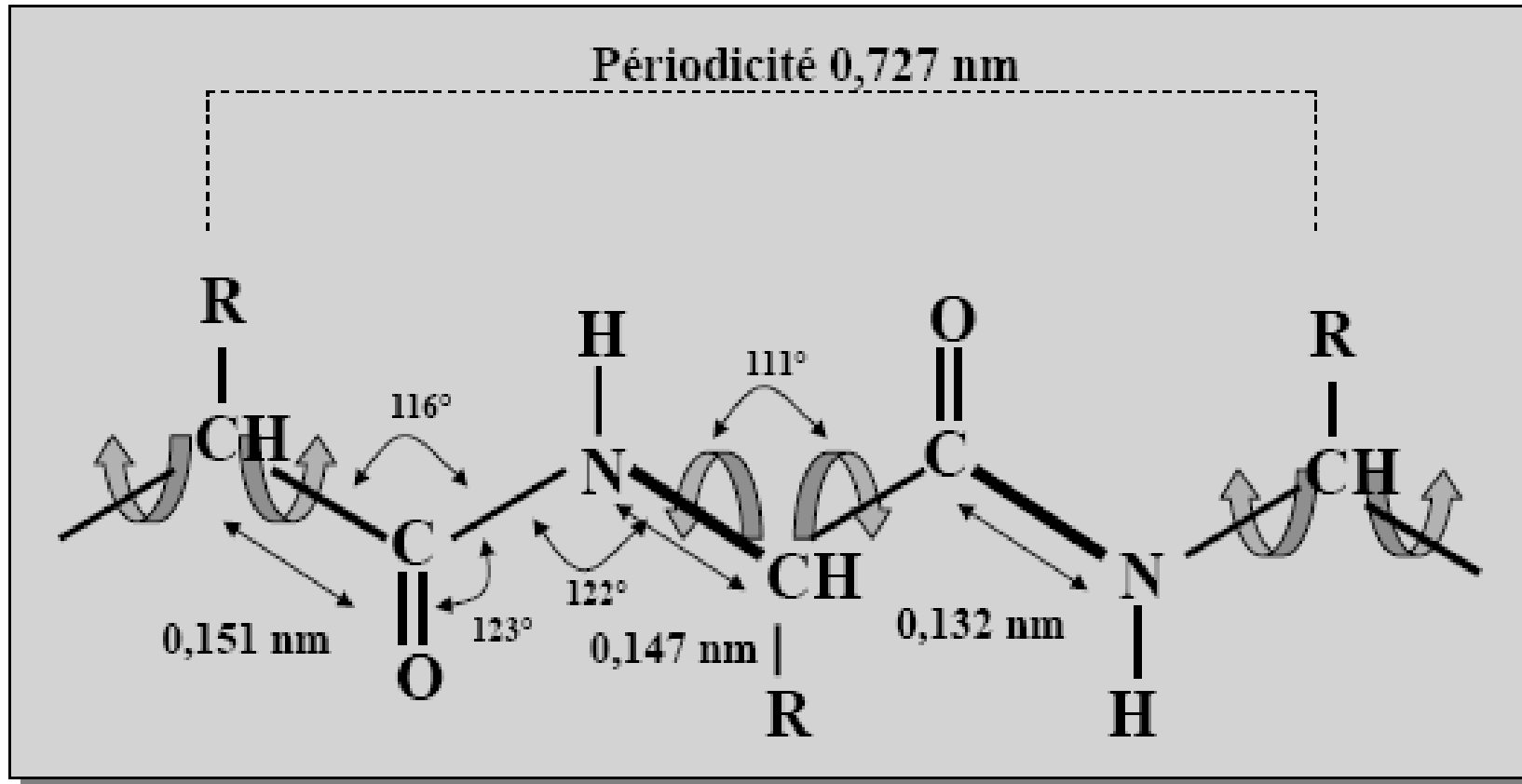


Les propriétés de la liaison peptidique

- Elle possède le caractère d'une double liaison ce qui implique que tous les atomes ($C\alpha$, C, O, N, H et $C\alpha'$) sont coplanaires (situés dans le même plan).
- Il existe une possibilité d'isomérisation cis-trans pour les 2 carbones C_n et C_{n+1} par rapport à cette liaison. Dans les peptides et dans les protéines naturelles on trouve essentiellement la configuration trans.
- La chaîne principale qui constitue le squelette est en zig zag
- Il existe une possibilité de rotation autour de $C\alpha+1-N$ (angle φ) et $C\alpha+1-C$ (angle ψ).
- Elle est très stable et rigide .



Possibilités de rotation autour des carbones α



Liaisons peptidiques, rotations impossibles.

IV) PROPRIETES ACIDO-BASIQUES DES PEPTIDES

De nombreux petits peptides ont été obtenus à l'état pur sous forme cristalline. Ils ont des points de fusion élevés.

Aucune des fonctions α -carboxyliques et α -aminées combinées dans les liaisons peptidiques ne pouvant s'ioniser dans la zone de pH 0 à 14, le comportement acido-basique des peptides est dû à la fonction -aminée libre de l'acide aminé N-terminal, à la fonction -carboxylique libre de l'acide aminé C-terminal et à celles des chaînes latérales capables de s'ioniser.

V) ETUDE DES SEQUENCES PEPTIDIQUES

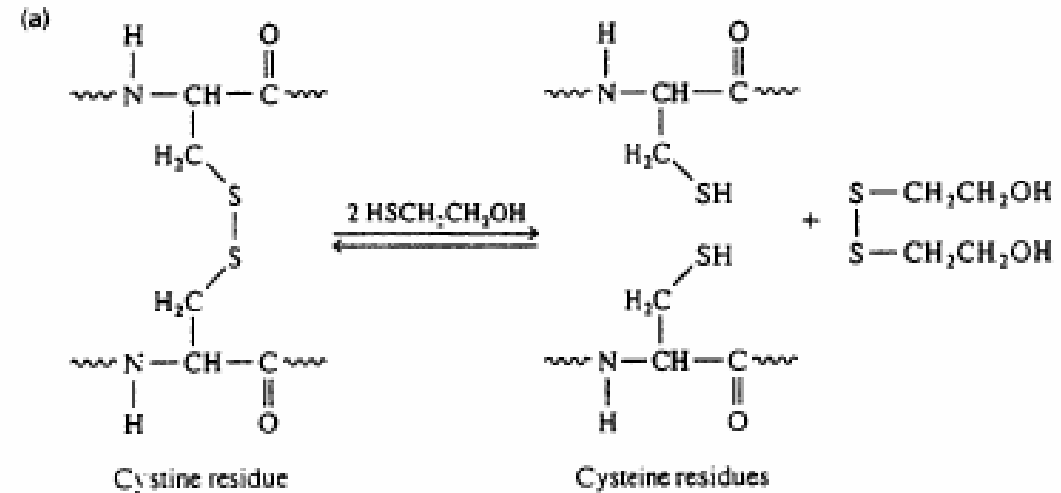
La détermination de la nature exacte, des proportions de chacun des AA constitutifs et de l'ordre de leur enchaînement dans un peptide ou une protéine donné nécessite en premier lieu le clivage des liaisons covalentes.

A/ CLIVAGE DES PONTS DISULFURES ET SEPARATION DES CHAINES PEPTIDIQUES

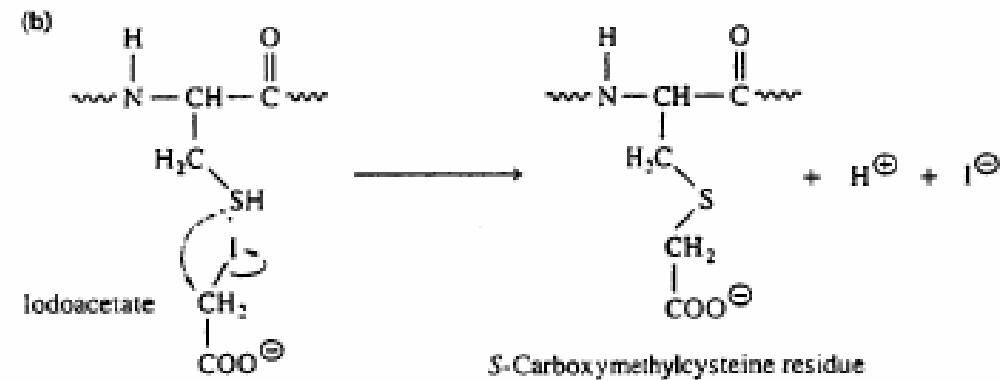
La structure covalente des peptides représente des ponts disulfures qui peuvent s'établir entre les chaînes dans le cas de molécules pluripeptidiques. Ces liaisons disulfure sont engagées entre deux demi-résidus de cystine. La dissociation de cette liaison se fait par :

Scission de ponts disulfures au β -mercaptoéthanol et substitution par l'iodoacétate.

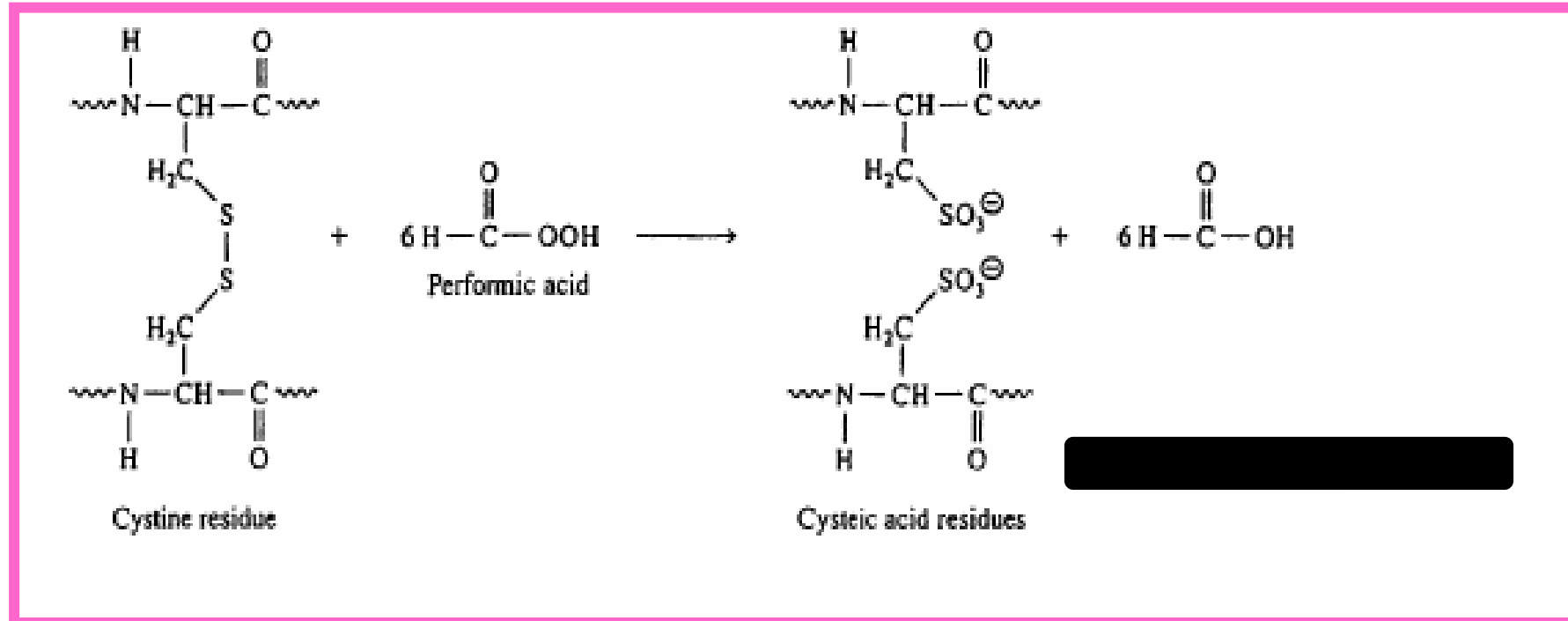
(a) En présence de β -mercaptoéthanol, la protéine échange avec celui-ci ses groupes SS; chaque cystine est réduite en deux cystéines et 2 molécules de β -mercaptoéthanol sont oxydées en disulfure.



(b) La protéine réduite est alors traitée par l'iodoacétate, un agent alkylant qui convertit les résidus cystéines libres en S-carboxyméthylcystéine. Ainsi substitués, les sulfhydryles sont soustraits à la réoxydation en SS.



Scission et substitution des ponts disulfures par l'acide performique. HCOOOH scinde les ponts SS des protéines et prévient leur reformation en transformant le résidu cystine en deux résidus d'acide cystéique.

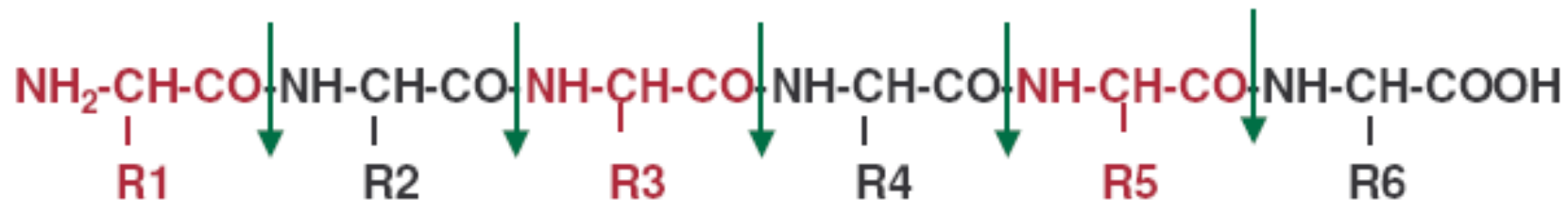


B) DETERMINATION DE LA COMPOSITION EN AA D'UNE CHAINE PEPTIDIQUE

Hydrolyse des liaisons peptidiques

La rupture des liaisons peptidiques qui permet d'obtenir les amino-acides à l'état libre, est réalisée par action, soit d'un acide fort à chaud, soit d'enzymes protéolytiques. On utilise l'acide chlorhydrique 6N à 120°, en ampoules scellés sous vide, pendant des périodes variant de 24 à 72 heures.

Les résidus de la glutamine et de l'asparagine sont transformés en acide glutamique et aspartique avec libération d'ammoniac.



C) DETERMINATION DE LA SEQUENCE PEPTIDIQUE

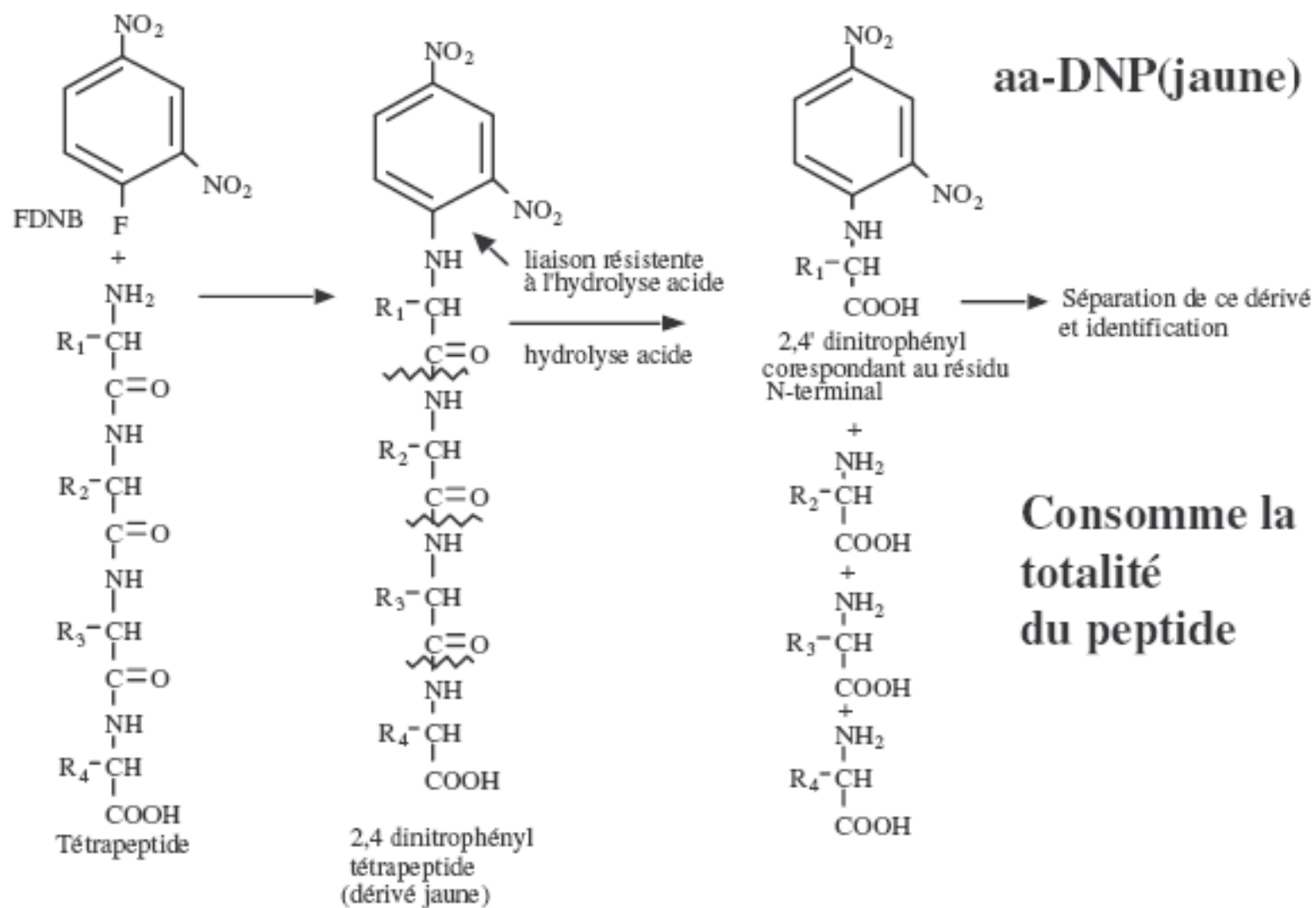
Pour connaître la séquence en AA il faut d'abord déterminer les AA N et C—terminaux, puis l'ordre d'enchaînement des autres AA.

C1) IDENTIFICATION DE ACIDE AMINE N—TERMINALE

METHODES CHIMIQUES Trois méthodes sont utiles:

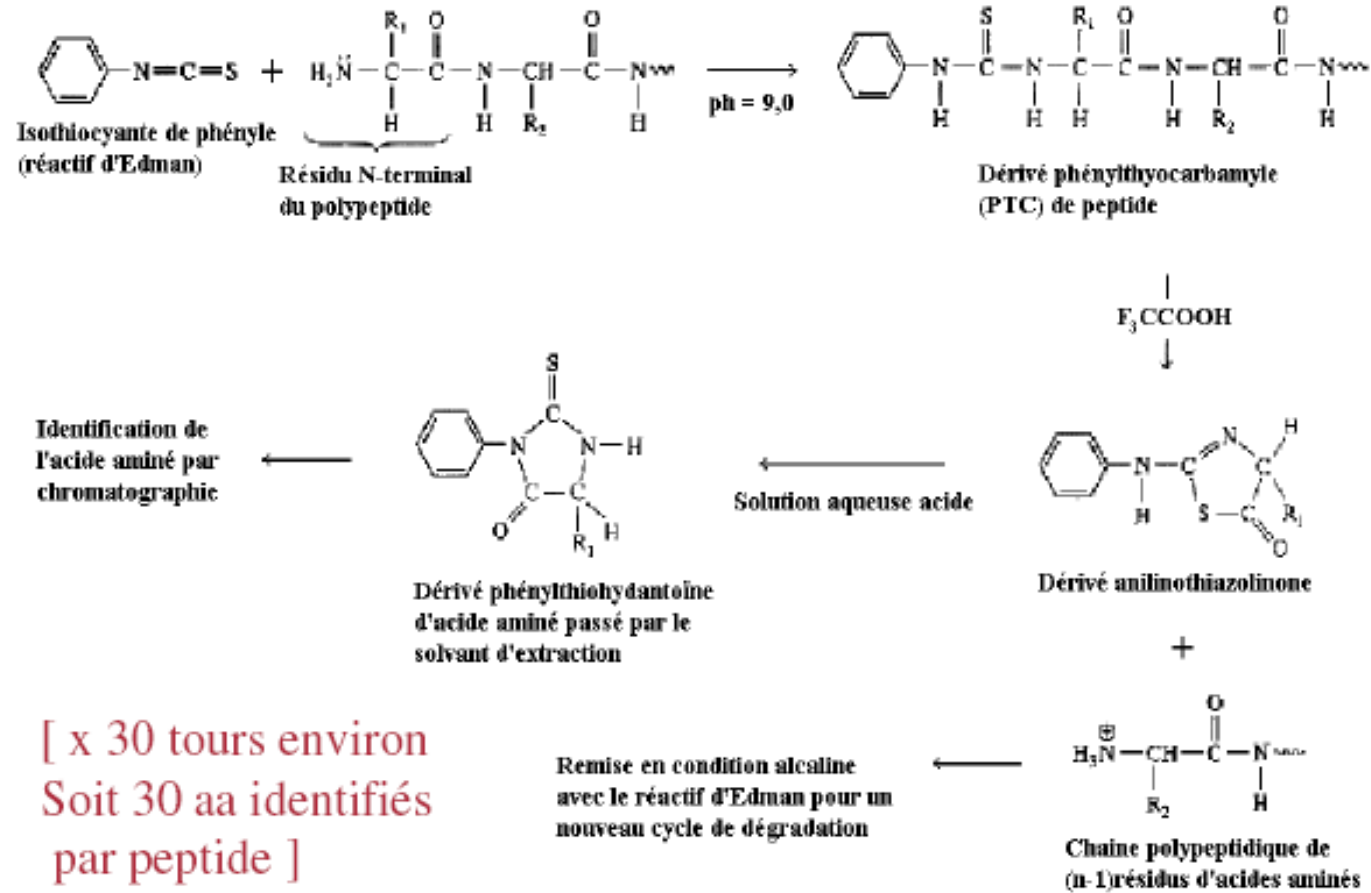
* **ACTION DU 1 FLUORO- 2,4-DINITROBENZENE** Le 1-fluoro-2,4-dinitrobenzène (FDNB) réagit avec les fonctions aminés libres et en particulier la fonction aminée terminale pour former un peptide dinitrophénylé. Une hydrolyse acide totale de la chaîne peptidique libère les composés dinitrophénylés dont l'-dinitrophényl-amino-acide (DNPA), correspondant à l'acide aminé N-terminale, que l'on peut extraire par l'éther, identifier par chromatographie sur papier, et doser spectrophotométriquement grâce à sa couleur jaune.

méthode de Sanger



* ACTION DU PHENYLISOTHIOCYANATE (méthode réccurente)

méthode d'Edman

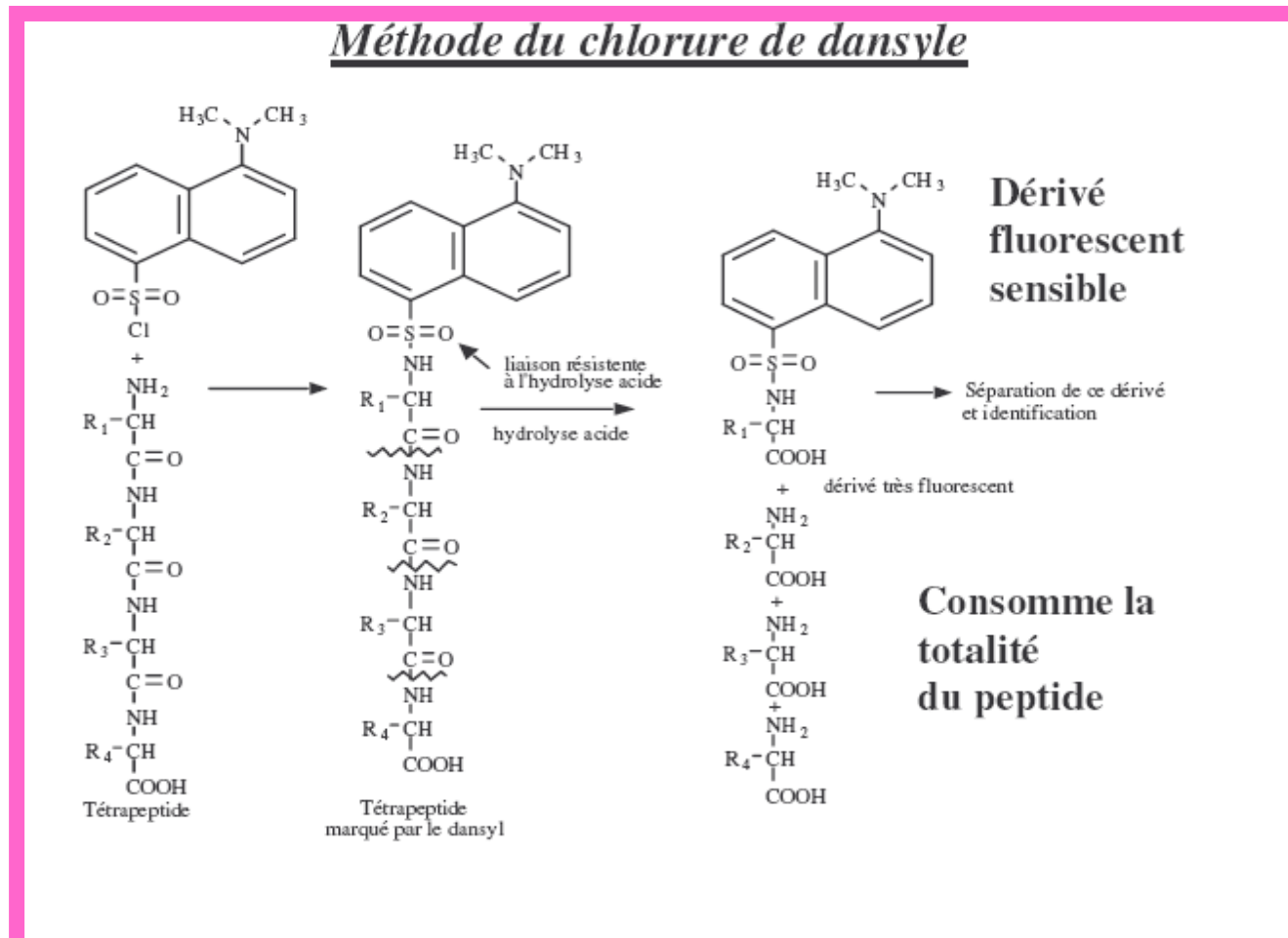


[x 30 tours environ
Soit 30 aa identifiés
par peptide]

La carbamylation avec le phénylisothiocyanate (PTC), à un pH basique de 9, donne des dérivés qui absorbent dans l'ultraviolet et facilement séparable par chromatographie. De plus la réaction avec l'acide aminé terminal d'une protéine libère le dérivé d'addition et une protéine amputée de son acide aminé N-terminal

*_DANSYLATION DES AMINOACIDES

Le chlorure de l'acide 1-diméthylamino-naphtalène-5-sulfonique (ou chlorure de dansyle) réagit très facilement avec les fonctions aminées et conduit à des dérivés sulfonamides très fluorescents après hydrolyse du dansyl peptide dansyl.



L'intérêt fondamental des trois dernières réactions réside en leur très large utilisation dans la détermination de La structure primaire des protéines.

METHODES ENZYMATIQUES

L'hydrolyse enzymatique complète d'une chaîne peptidique est longue et difficile. Les enzymes présentent une certaine spécificité dans l'attaque des liaisons peptidiques; ils sont surtout utilisés pour des hydrolyses partielles des chaînes peptidiques.

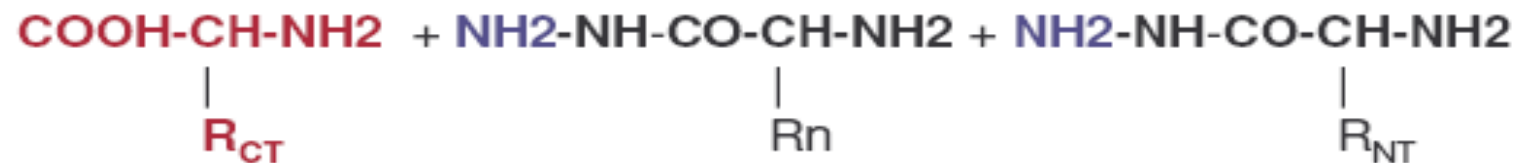
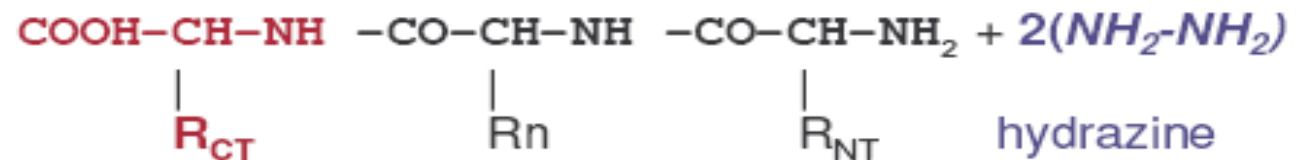
Il existe des exopeptidases, qui catalysent spécifiquement la libération des résidus terminaux d'une chaîne peptidique: la présence d'une fonction α -aminée ou d'une fonction α -carboxylique libre est nécessaire à leur activité.

L'action de ces enzymes est continue, chaque AA libéré démasquant un nouveau AA terminal qui sera à son tour détaché. Une aminopeptidase, nommée Leucineaminopeptidase (LAP), bien qu'elle ne soit pas spécifique de cet AA, détache tous les AA N terminaux sauf la proline qui sera libéré par *une prolinase*.

C2) IDENTIFICATION DE L'ACIDE AMINE C TERMINAL *METHODES CHIMIQUES*

La plus satisfaisante est hydrazinolyse qui consiste à traiter le peptide par l'hydrazine à 100°. Les liaisons peptidiques sont rompues et les acides aminés apparaissent sous forme d'hydrazides

Hydrazinolyse



seul l' aa_{CT} est un acide aminé libre

aa_{CT} est purifié et identifié

METHODES ENZYMATIQUES

On peut également utiliser des **carboxypeptidases** qui coupent l'extrémité C-terminale, il en existe plusieurs types: Il en existe plusieurs de ces enzymes de spécificités variées, par exemple parmi les carboxypeptidases, on trouve :

- . **La carboxypeptidase A**, clive l'acide aminé C-terminal lorsque celui-ci est **acide** (**Asp et Glu**) **ou neutre**.
- . **La carboxypeptidase B**, clive l'acide aminé C-terminal lorsque celui-ci est **basique** (**Arginine** **ou** **Lysine**)
- .
- . **La carboxypeptidase Y** à spectre large.
- . ***La prolidase*** spécifique de proline.

C3) HYDROLYSE PARTIELLE DES CHAINES PEPTIDIQUES

Hydrolyse des séquences peptidiques intra chaînes: Si la chaîne peptidique est trop longue, il est important de réaliser des coupures en des points précis de la chaîne.

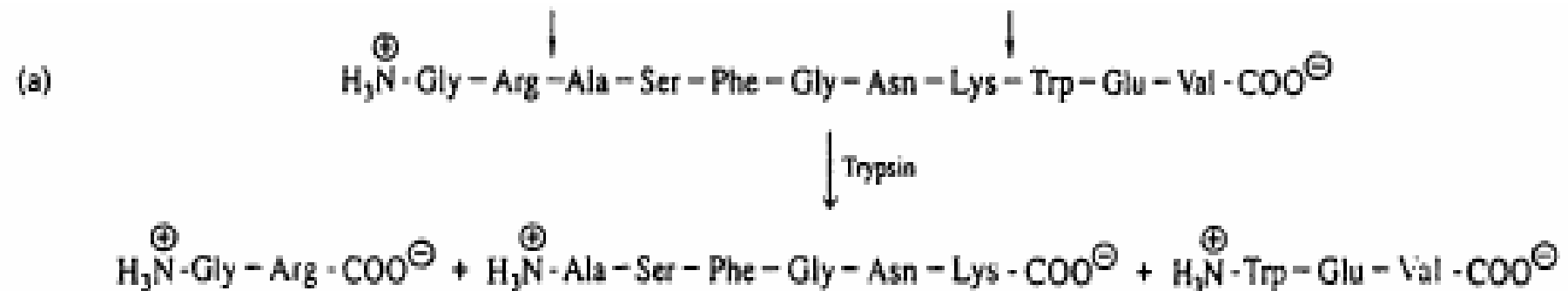
Deux méthodes sont utilisables

METHODES ENZYMATIQUES

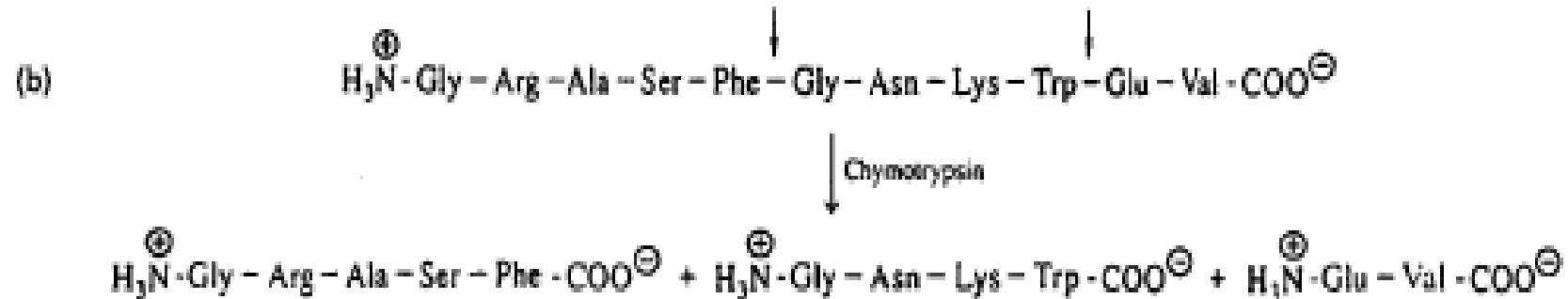
Ce sont des endopeptidases à spécificité d'action étroite qui permet des coupures très localisées.

Pepsine = enzyme gastrique, attaque spécifiquement les liaisons peptidiques qui incluent le –NH- de la phe, tyr et trp et à moindre degré leu, asp et glu sauf si Pro est à gauche.

Trypsine = enzyme pancréatique, attaque spécifiquement les liaisons peptidiques qui incluent le carboxyle de la lysine ou de l'arginine sauf si R_{n+1}=Pro.



Chymotrypsine = élaborée également par le pancréas, attaque les liaisons auxquelles participe, le carboxyle d'un amino-acide aromatique (tyrosine, tryptophane, phénylalanine) sauf si $R_{n+1} = \text{Pro}$



Thermolysine = spécifique des aa hydrophobes coupure de type N avant **Leu, Ile, Val** sauf si $R_{n-1} = \text{Pro}$

Protéinase V8 = spécifique des aa acides coupure type C après **Asp, Glu** sauf si $R_{n+1} = \text{Pro}$

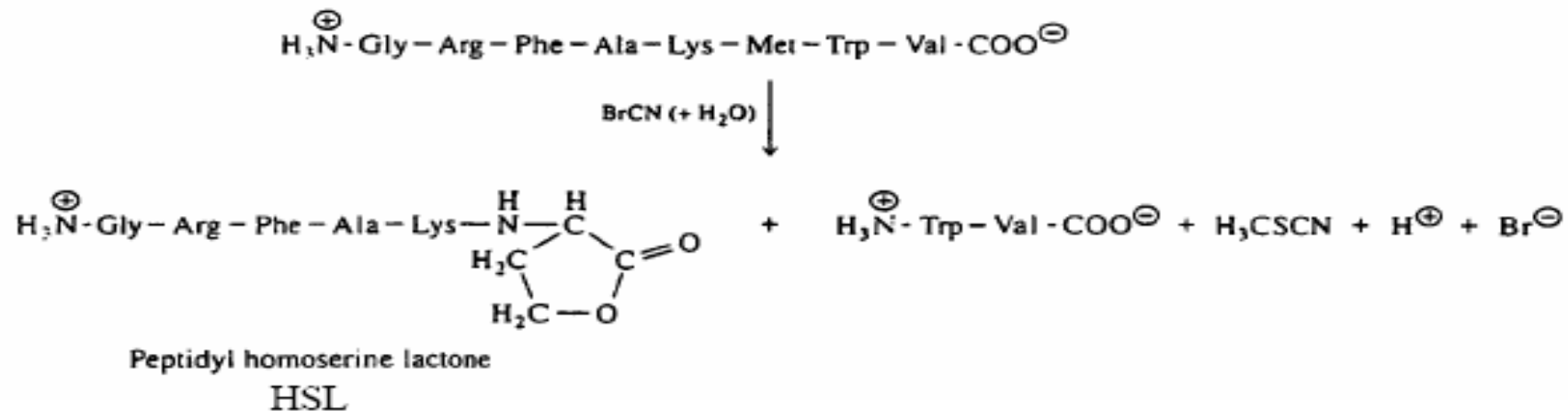
*En milieu carbonate d'ammonium après **Glu** seulement.*

Clostripaine = spécifique de l'arginine coupure type C.

METHODES CHIMIQUES

* Au bromure de cyanogène

Scission de la chaîne protéique avec le bromure de cyanogène. Le bromure de cyanogène scinde les chaînes poly-peptidiques du côté C-terminal des résidus méthionine. Une peptidylhomosérine-lactone est produite par l'action de BrCN sur le peptide.



* **Au 2 nitro 5 thiocyanobenzoate** spécifique de la cystéine coupure type NH.

VI) ETUDE DE QUELQUES PEPTIDES D'INTERET BIOLOGIQUE

Mises à part les peptides identifiés dans les produits d'hydrolyse partielle des protéines, on trouve dans la matière vivante de nombreux peptides ne dérivant pas des protéines. Ces peptides diffèrent par leur structure. Par exemple: le glutathion tripeptide trouvé dans toutes les cellules des animaux supérieurs.

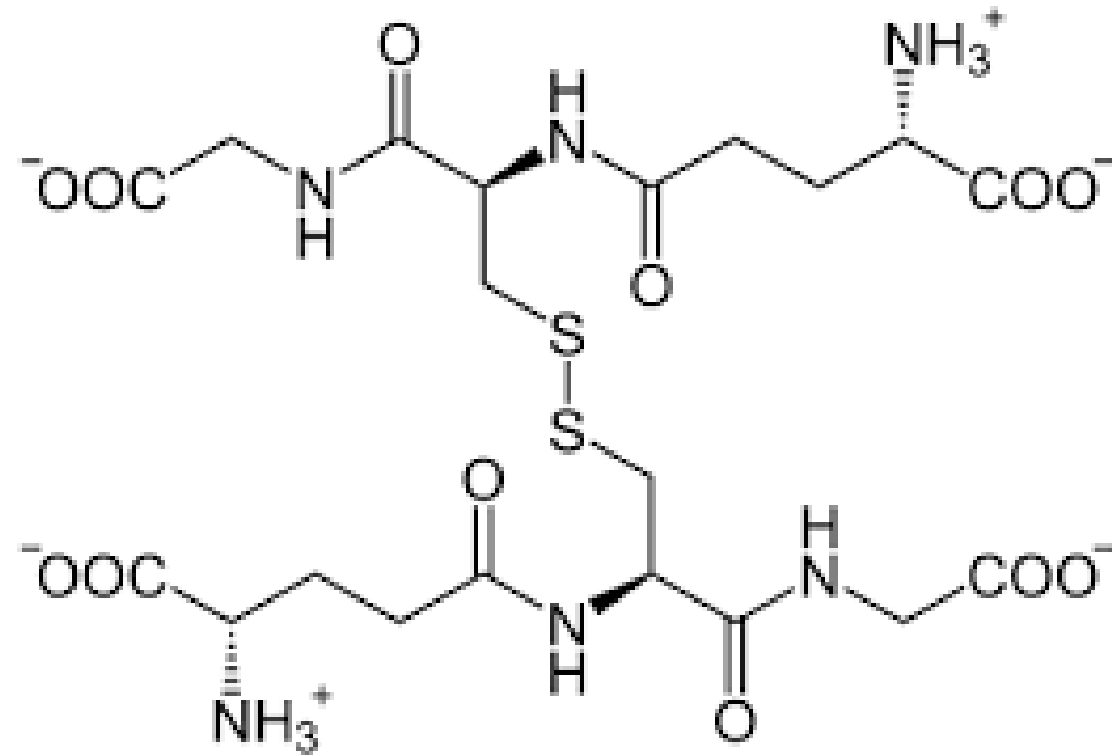
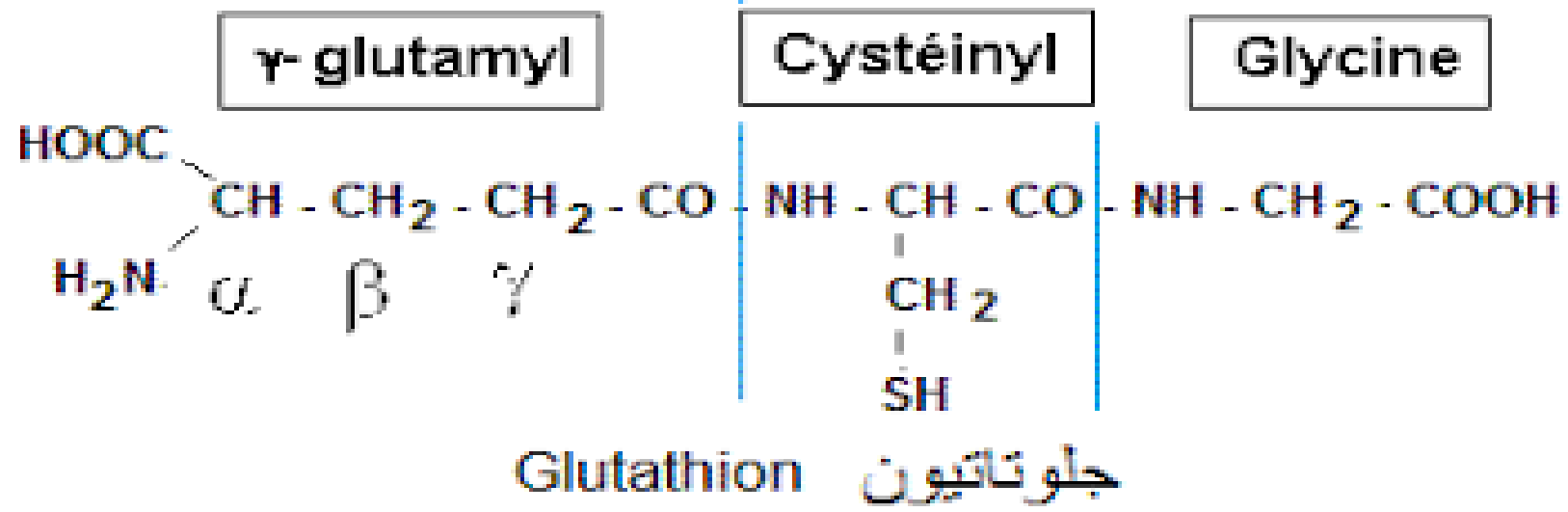
A. LES OLIGOPEPTIDES

1) Dipeptide

Carnosine : β alanyl histidine (constituant du muscle)

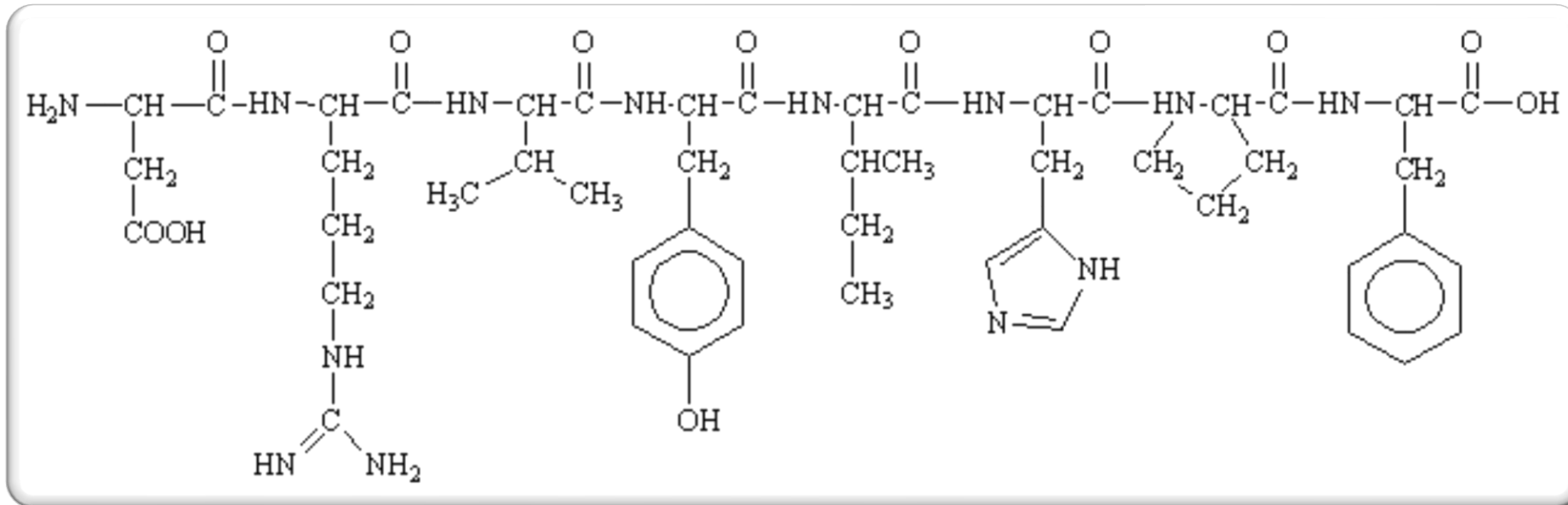
2) Tripeptide *Le glutathion* : γ -glutamyl-cystéinyl-glycine

Il existe sous la forme réduite et oxydée ce qui lui permet de jouer un rôle dans certaines réactions d'oxydoréduction .



3) **Octapeptide** comme *l'angiotensine II* une hormone du sang qui régule la pression sanguine.

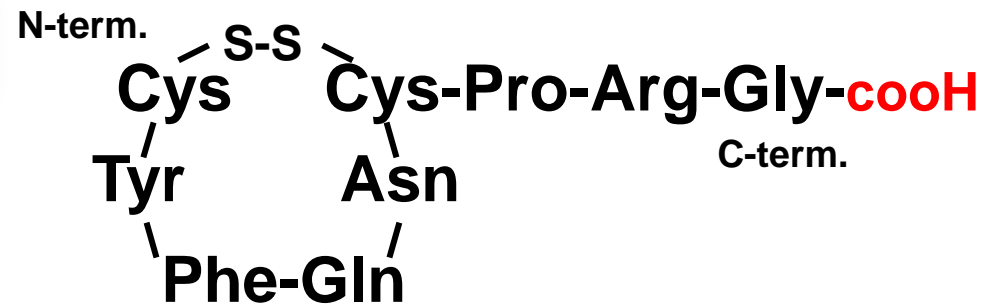
Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe



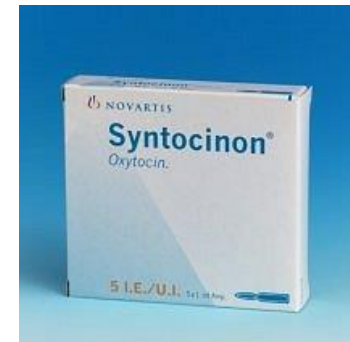
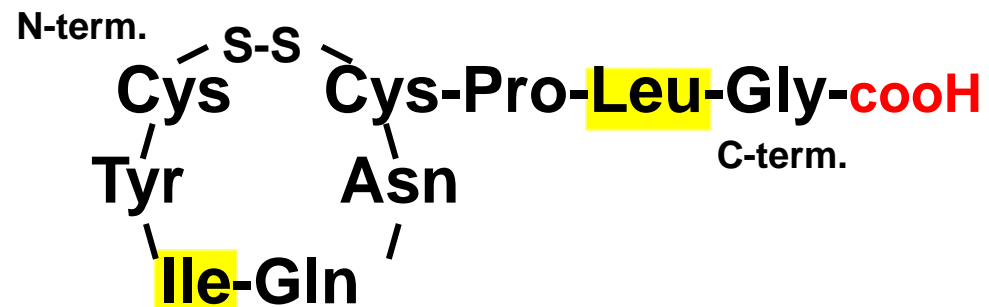
Certains peptides possèdent une activité hormonale, par exemple: les hormones post-hypophysaires ocytocine et vasopressine. De nombreux antibiotiques sont des peptides ou des dérivés de peptides, par exemple: gramicidine.

4) Ocytocine et la vasopressine ADH: Hormones de structure très voisine, fabriquée par la post-hypophyse. L'ocytocine stimule la contraction du muscle utérin alors que la vasopressine augmente la pression sanguine et a une action antidiurétique

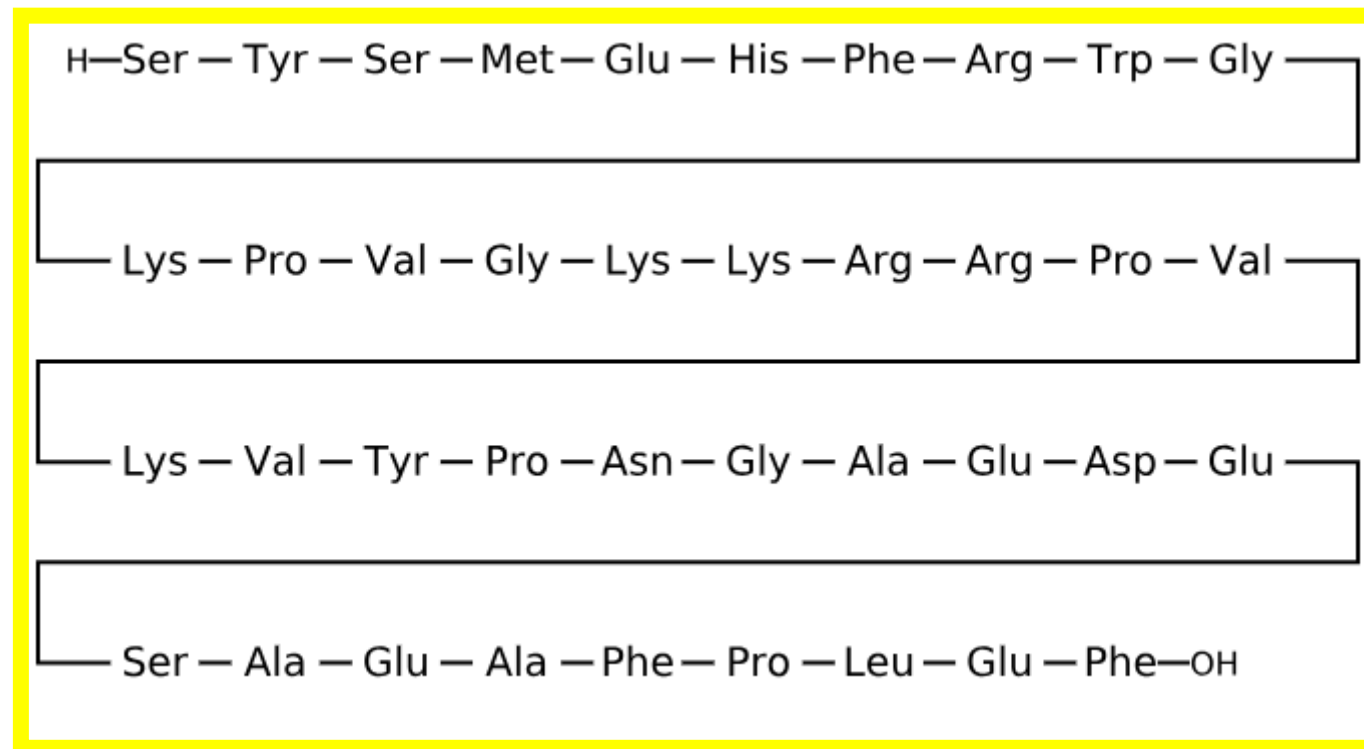
Vasopressine



Ocytocine

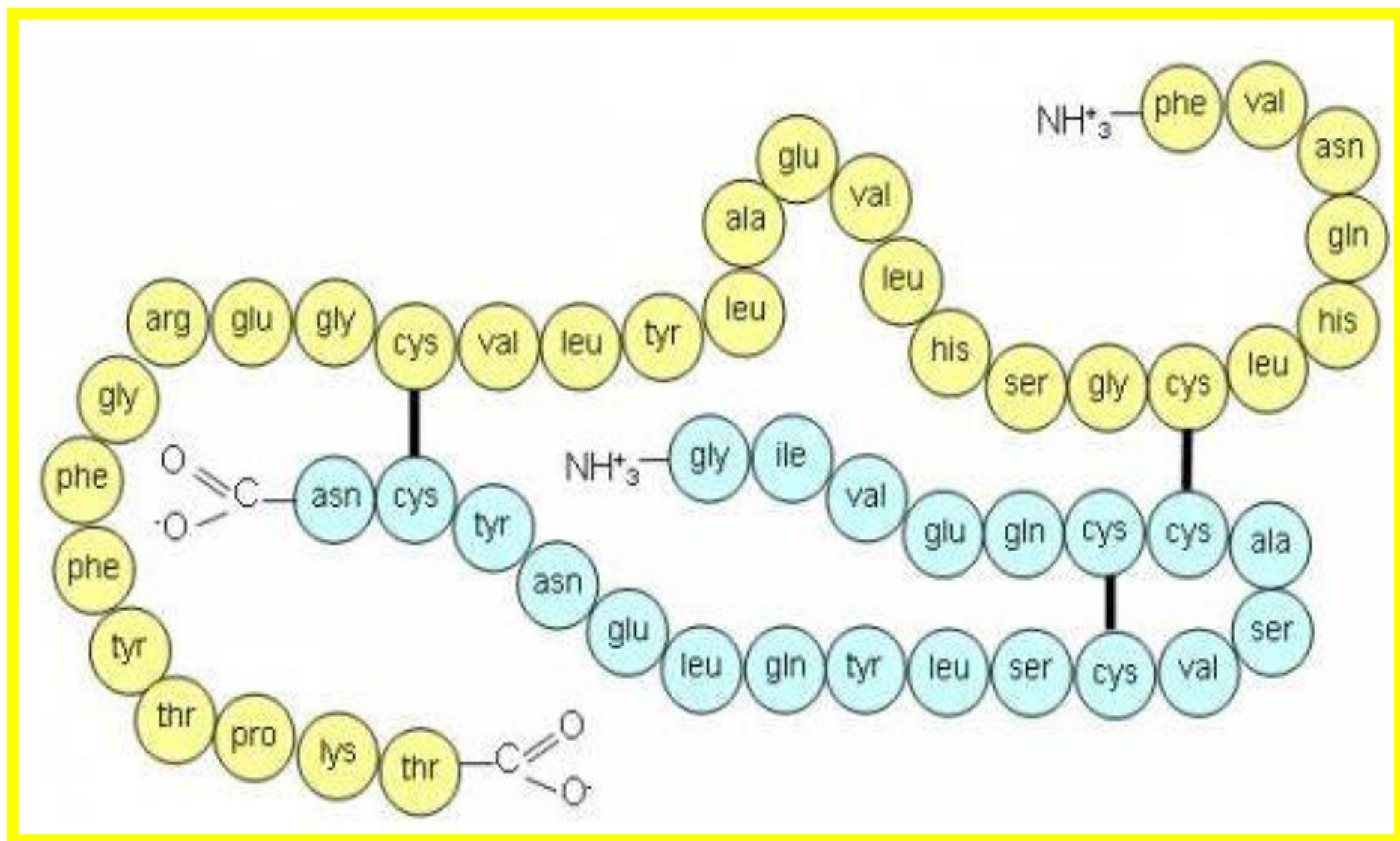


5) L'hormone adrénocorticotrope ou ACTH : Hormone de l'anté-hypophyse qui stimule la synthèse et la sécrétion des hormones stéroïdes par la cortico-surrénale.

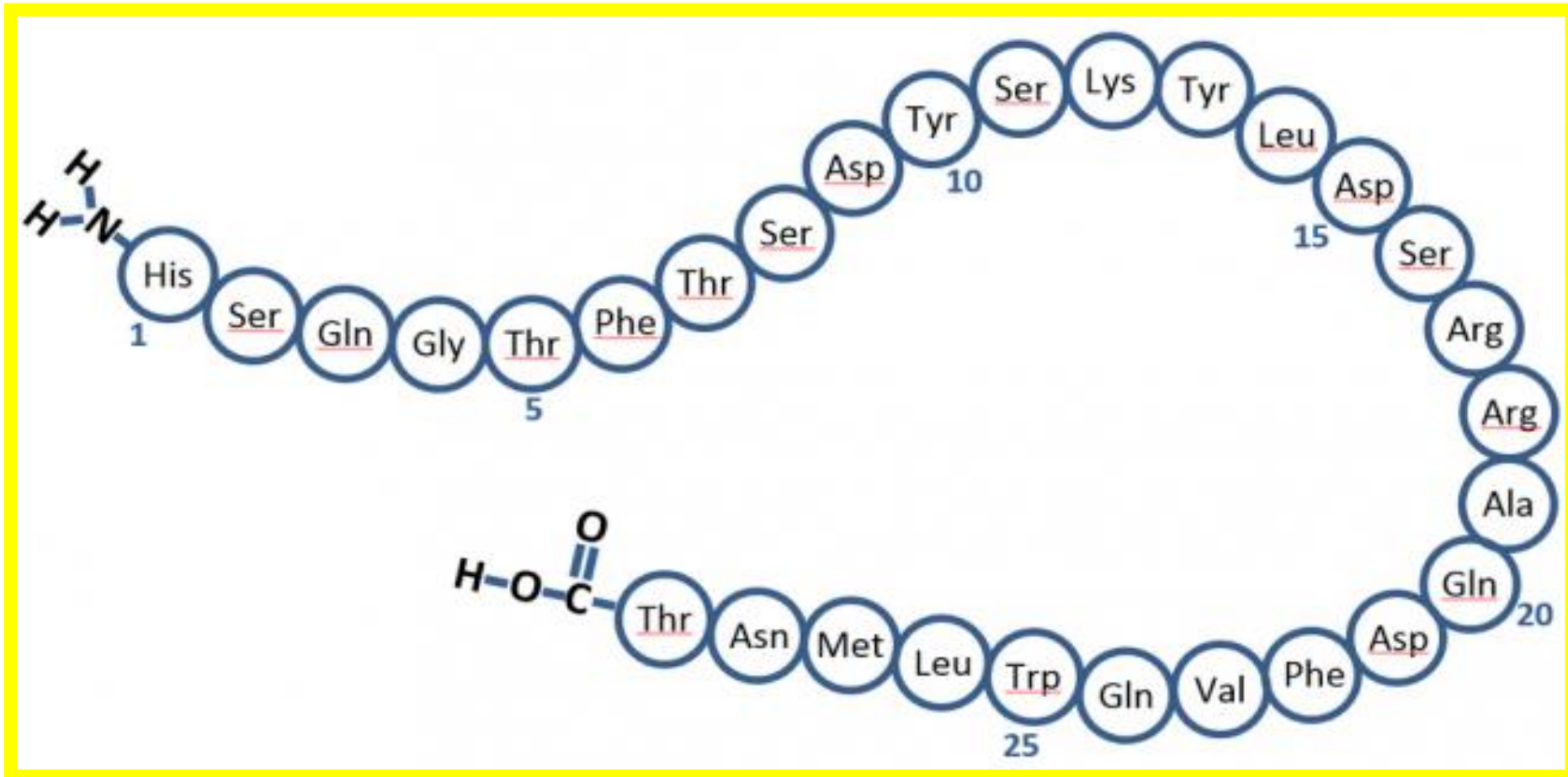


6) L'insuline : Hormone hypoglycémiante sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans. Dès que le taux de glucose dans le sang (glycémie) dépasse $6 \cdot 10^{-3}$ M.

Son effet est hypoglycémiant : elle favorise le retour de la glycémie à la valeur basale de $5 \cdot 10^{-3}$ M. La structure de l'insuline a été la première structure polypeptidique connue grâce aux travaux de Sanger. L'insuline comporte 2 chaînes : la chaîne A de 21 a.a et la chaîne B de 30 a.a. Il y a 3 ponts disulfures : 2 interchaînes (A7/B7 et A20/B19) et un intrachaîne (A6/A11).

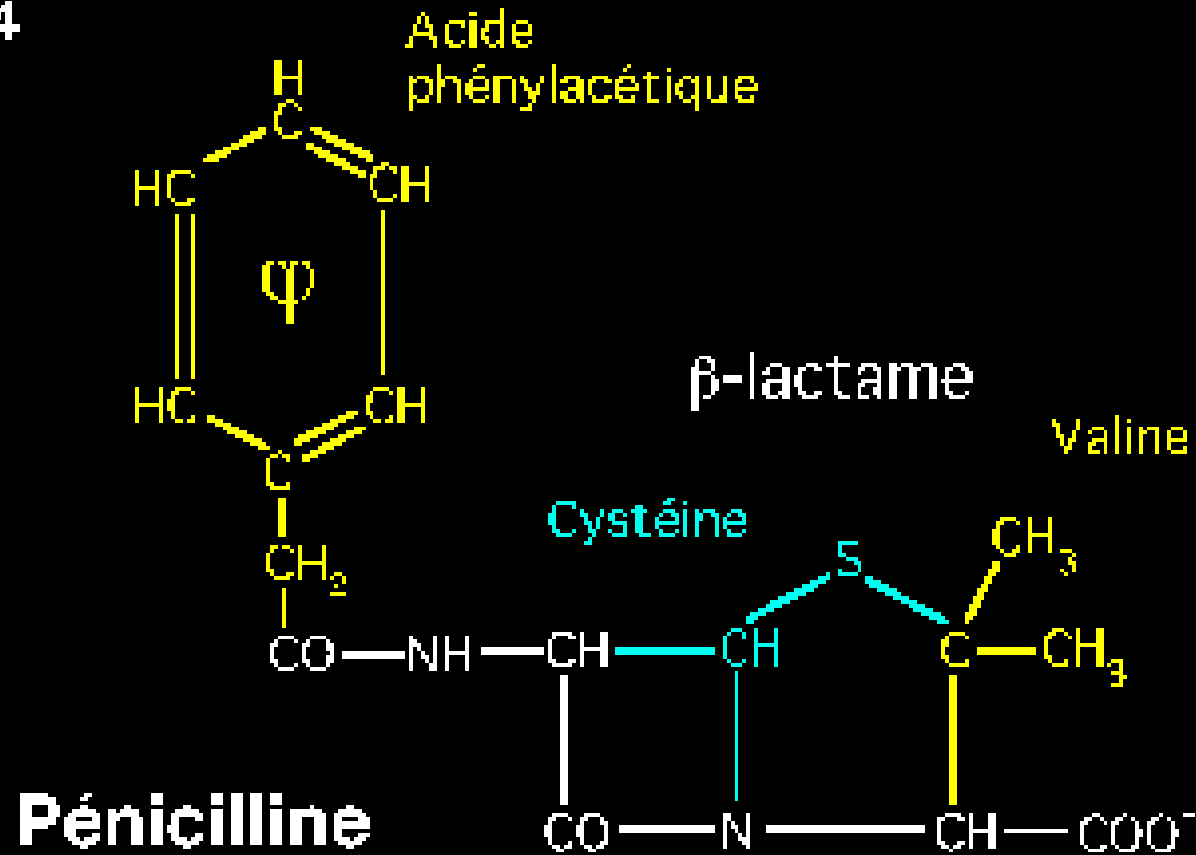


- 7) Le glucagon est un peptide de 29 acides aminés. Sécrété par le pancréas (cellules α des îlots de Langerhans), dès que le taux de glucose dans le sang (glycémie) est inférieur à $4 \cdot 10^{-3}$ M. **Son effet est hyperglycémiant : il favorise le retour de la glycémie à la valeur basale de $5 \cdot 10^{-3}$ M.**



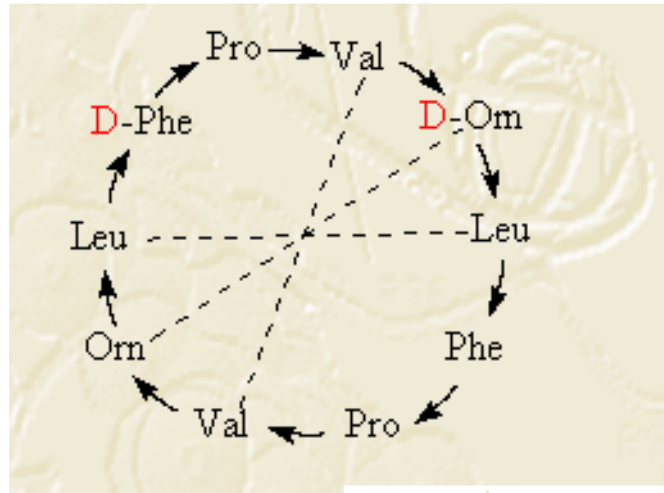
8) La pénicilline est un tripeptide produit par un champignon *Penicillium chrysogenum*, qui a été le premier antibiotique naturel découvert par Fleming.

344



9) La Gramicidine:

Peptide ayant une activité antibiotique.



Bacitracine

