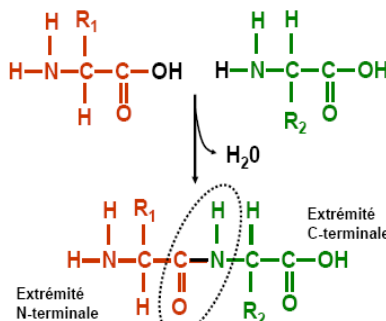


LES PEPTIDES :

I) Définitions :

Un peptide est un enchaînement d'acides aminés relativement restreint (inférieur à 50 ou 100 acides aminés) toujours constitué d'une seule chaîne (contrairement aux protéines). Les liaisons entre acides aminés sont dites liaisons peptidiques. Cependant, cette définition n'est pas très stricte. Ainsi, l'insuline peut être considérée comme un peptide bien qu'elle soit constituée de deux chaînes différentes.

Un liaison peptidique est une liaison amide qui se forme grâce à une déshydratation des acides aminés qui a lieu pendant la traduction. On peut noter que dans deux acides aminés consécutifs, les deux chaînes latérales seront généralement en position trans ainsi que le O de la fonction acide et le H de la fonction amine de l'acide aminé voisin.



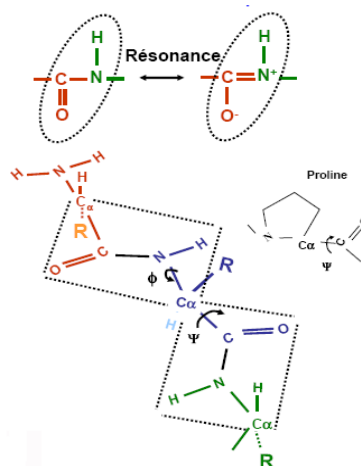
De plus, on peut remarquer que la distance entre le C et le N est plus courte que pour une liaison simple typique. c'est donc une double liaison partielle, il y a un phénomène de résonance (voir diapo 3).

Il faut noter qu'en tout, 6 atomes de deux acides aminés consécutifs sont sur le même plan : les quatre atomes de la liaison ainsi que les deux carbones alpha des deux acides aminés voisins (: les pointillés entourent 6 atomes qui sont dans un même plan. Chaque couleur représente un acide aminé.).

Enfin, on peut définir deux angles :

l'angle phi que est l'angle de rotation possible entre le N et le carbone alpha d'un acide aminé

l'angle psy qui est l'angle de rotation possible en le carbone alpha et le COOH d'un acide aminé.



Ces angles serviront à définir les chaînes peptidiques et on peut noter que la proline ne possède pas d'angle phi à cause la liaison covalente qui cyclise la chaîne latérale.

II) Les propriétés physico-chimiques :

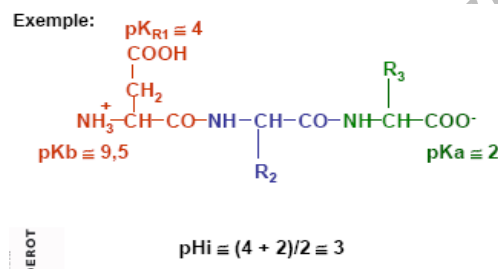
Le poids moléculaire est de $n \times 110$ Daltons.

L'absorbance d'un peptide dépend de sa composition en acides aminés : s'il y a des acides aminés aromatiques, il y aura une lecture à 260/280 nm mais s'il n'y en a pas, elle sera à 210 nm.

Il faut savoir que les peptides sont stables in vitro mais pas in vivo à cause des protéases présentes dans l'organisme (leur durée de vie sera alors de quelques minutes).

De même, leur solubilité est dépendante de leur composition en acides aminés mais aussi du pH du milieu dans lequel ils se trouvent. la solubilité est bien sûr minimale au pHi du peptide.

Le pH isoélectrique dépend des chaînes latérales des différents acides aminés et non pas de leur groupement COOH ou NH₂ car ceux-ci sont pris dans les liaisons peptidiques.

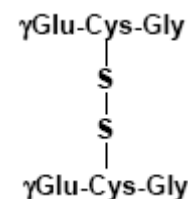
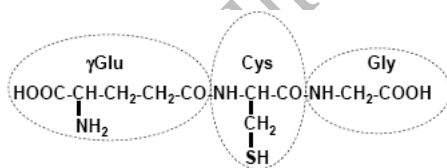


III) L'importance biologique des peptides :

1) Le GSH/GSSG

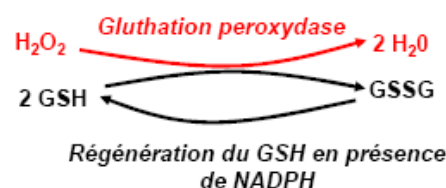
Note : Glutamyl = acide glutamique = glutamate.

Le glutathion réduit ou GSH est un tripeptide dont la formule est gammaGlutamyl-Cysteine-Glycine (le gamma glutamyl est en fait un glutamyl qui n'est pas relié par son COOH du carbone alpha mais par celui de la chaîne



latérale donnant ainsi une liaison pseudo peptidique conférant une grande résistance aux peptidases). Ce peptide peut être oxydé formant du glutathion oxydé (et ouai ! :-P) ou GSSG. Il y a alors un équilibre entre le GSH et le GSSG .

Le GSH a un rôle antioxydant lorsqu'il est en grande quantité. Il sera alors oxydé par la glutathion peroxydase en présence de H₂O₂ mais pourra être régénéré par la glutathion reductase en présence de NADPH (voir diapo 5).



On peut noter que le paracétamol détruit le GSH en grande quantité et ça, c'est un peu mauvais (c'est comme ça que fonctionnent les suicides au paracétamol)...

2) Les hormones peptidiques

Les hormones sont des substances synthétisées par une glande endocrine et sont transportées par le sang pour agir à distance via des récepteurs spécifiques.

On peut les diviser en trois groupes :

- _ Les hormones dérivées d'acides aminés aromatiques (la thyroxine donne des hormones thyroïdiennes et les catécholamines comme l'adrénaline)
- _ Les stéroïdes qui sont des hormones dérivées du cholestérol (les oestrogènes et androgènes)
- _ Les hormones peptidiques ou protéiques dont nous allons voir quelques exemples maintenant.

a) La vasopressine (AVP) et l'ocytocine (OT) sont toutes les deux des nanopeptides sécrétés par la post hypophyse.

L'AVP est un antidiurétique sécrétée en cas d'hypotension ou de manque d'eau.

L'OT est une hormone permettant la contraction de l'utérus ainsi que la lactation.

Ces deux hormones ont la même structure (avec un pont disulfure intrachaine entre deux cystéines) mais dans l'OT, une phénylalanine est remplacée par une isoleucine et une arginine est remplacée par une leucine.

Seuls deux acides aminés suffisent à changer totalement la fonction de l'hormone.

Vasopressine, hormone antidiurétique

Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly



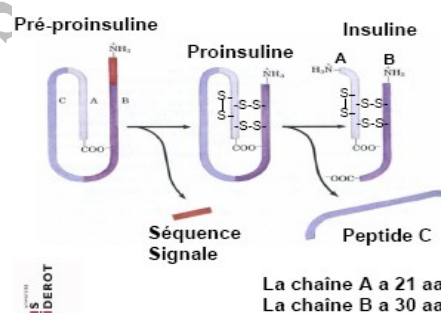
Ocytocine, contraction de l'utérus

Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly



b) L'insuline ou hormone hypoglycémiante (qui peut être considérée comme un peptide ou comme une protéine).

Sa synthèse est particulière : on part de la pré-pro-insuline à laquelle on clive la séquence signal pour arriver à la pro-insuline qui portera des ponts disulfures et qui verra sa partie C être retirée pour devenir insuline, avec un brin A possédant 21 acides aminés un pont disulfure intra chaîne, un brin B de 30 acides aminés et deux ponts disulfures reliant ces deux brins.



c) Le Brain Natriuretic Peptide ou BNP est constitué de 32 acides aminés avec un pont disulfure et a une demi vie de 30 mn environ.

Cette hormone sert à l'élimination urinaire du sodium (on dit qu'elle augmente la natriurèse). Elle est synthétisée par les ventricules cardiaques dans le cas de distension pariétale. Sa concentration sanguine s'élève donc en cas de défaillance cardiaque (quand le coeur est ralenti) et c'est donc un bon marqueur cardiaque.



d) L'hépcidine est une hormone peptidique de 25 acides aminés sécrétée par le foie.

Elle inhibe l'absorption intestinale du fer donc son inactivation entraîne une surcharge en fer et sa surexpression entraîne une anémie (en effet, une baisse en fer va créer une baisse en hémoglobine).

IV) La composition en acides aminés et le séquençage des peptides :

.Tout d'abord, on va purifier le peptide (on rompt les liaisons entre les chaînes si le peptide est issu d'une protéine dimérique par exemple)

S'il s'agit de liaisons non covalentes (liaisons faibles), on utilise de l'urée ou du SDS (qui est un détergent).

L'urée et le SDS sont des agents dissociants.

S'il s'agit de ponts disulfures : on peut faire une rupture réversible par réduction au bêta mercaptoéthanol

on peut faire une rupture irréversible par oxydation à l'acide performique formant ainsi deux acides cystéiques).

.Ensuite on peut vérifier la pureté du peptide par électrophorèse et chromatographie.

.Puis il faudra fragmenter la chaîne peptidique si elle est plus grande que 60 acides aminés soit par une enzyme endopeptidase comme la trypsine qui coupe après une lysine ou une arginine ou la chymotrypsine qui coupe après une phénylalanine, une tyrosine ou un tryptophane soit par une coupure chimique. comme le bromure de cyanogène BrCN qui coupe après une méthionine.

.Après, pour avoir la composition brute en acides aminés, on peut réaliser une hydrolyse par HCl 6N à 110°C ce qui va libérer les acides aminés (qui pourront être identifiés et quantifiés par chromatographie) mais ce n'est pas sans conséquences : le tryptophane sera totalement détruit, la cystéine sera partiellement détruite (mais pas l'acide cystéique), l'asparagine sera transformée en acide aspartique et la glutamine sera transformée en acide glutamique.

.On peut également analyser les extrémités

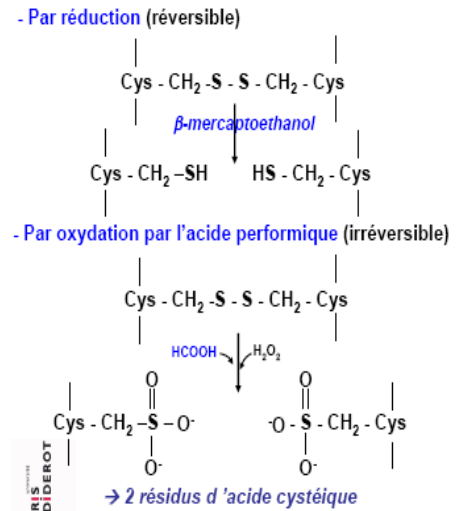
grâce à des exopeptidases coupant la liaison en N ter (on parlera d'aminopeptidase) ou en C ter (on parle de carboxypeptidase). Cependant, si de la proline se trouve en deuxième position (en partant du N ter) ou en C ter, le clivage ne marchera pas, l'exopeptidase sera inefficace.

grâce à l'hydrazine H₂N-NH₂ à 100°C qui va faire une hydrazinolyse permettant l'analyse de l'extrémité C ter. l'hydrazine va transformer tous les résidus en aminoacyl hydrazides sauf l'acide aminé en C ter qui ne sera pas modifié et donc facilement identifiable (voir diapo 10).

grâce à la méthode de Sanger qui permet d'étudier l'extrémité N ter. Le 2,4-dinitrofluorobenzène ou DNFB réagira avec le NH₂ terminal et produira un DNP peptide. On utilise ensuite le HCl 6N pour libérer le DNP aaN ter (tous les autres acides aminés seront également libérés ainsi). le DNP aaN ter sera identifié par chromatographie de partage.

On peut également utiliser du chlorure de dansyl (DNS) qui est plus sensible que le DNFB.

.Enfin, on peut séquencer tout un peptide grâce à la méthode d'Edman. Le phénylisothiocyanate réagira avec le NH₂ terminal et induira une rupture de la liaison peptidique du premier acide aminé formant un phénylthiohydantoïne (PTH) aa identifiable par CLHP. Le peptide sera alors à n-1 acide aminé et comme c'est une méthode récurrente, on peut séquencer toute la chaîne de cette façon (voir diapo 11).



Ce document ainsi que l'intégralité des cours de P1 sont disponibles gratuitement à l'adresse suivant: <http://cours1bichat-larib.weebly.com/>