

MISE EN EVIDENCE D'UNE CONFORMATION STABLE D'UN PEPTIDOLIPIDE

G. LANEELLE

Faculté des Sciences de Toulouse, 31 Toulouse, France

Received 28 June 1969

The Peptidolipide J ($\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n\text{-CO-D Phe-L Ile-L Ile-L Phe-L Ala-O-CH}_3$) is obtained also in acidic form by a chromatographic artefact. In chloroformic solutions the ester and the acid behave in a very different way: the acid has a stable conformation, as shown by the infra-red spectra and the optical rotary dispersion; this conformation is stabilized by hydrogen bonding between two peptide chains associated as a carboxylic dimer.

1. Introduction

Depuis quelques années on assiste à une multiplication des études conformationnelles sur les oligopeptides. A côté d'études systématiques réalisées sur des peptides synthétiques [1], de nombreux travaux ont été consacrés à des peptides à propriétés antibiotiques et à structure cyclique ou partiellement cyclique [2-5]. Très peu d'études portent sur des peptides linéaires naturels. Cet intérêt croissant pour la conformation des oligopeptides nous incite à signaler les observations que nous avons faites sur une substance isolée des lipides d'une mycobactérie (*Mycobacterium johnnei*) [6].

2. Matériels et méthodes

L'isolement et la détermination de la structure de la substance étudiée (Peptidolipide J) ont été publiés antérieurement [6,7].

Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés sur un polarimètre Perkin-Elmer permettant d'effectuer des mesures à 589 m μ , 546 m μ , 436 m μ , 365 m μ , et 313 m μ . Ils ont été mesurés, soit en solution dans le chloroforme séché sur CaCl_2 , soit dans le chlorure de

méthylène, ce dernier solvant ayant été choisi en raison de son utilisation dans l'ultra-violet. Les valeurs de (α) sont mesurées à $\pm 1^\circ$. Les pouvoirs rotatoires sont indépendants de la concentration en dessous de 20 à 30 mg/ml.

Nous avons calculé, pour la seule partie peptidique des substances étudiées, une rotation moléculaire ramenée au poids moléculaire moyen des résidus d'acides aminés:

$$(R') = (\alpha) \times \frac{M \text{ de la substance}}{M \text{ de la partie peptidique}} \times \frac{M \text{ moyen des résidus}}{100} \times \frac{3}{n^2 + 2}$$

M = masse molaire.

3. Resultats et discussion

La substance étudiée ici est un peptidolipide (Peptidolipide J), ayant la structure suivante [6,7]: $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n\text{-CO-D Phe-L Ile-L Ile-L Phe-L Ala-O-CH}_3$ avec $n = 16, 18$ ou 20 .

Lors de la purification de cet ester, obtenu très pur, on isole l'acide correspondant, qui se forme par artéfact chromatographique [6]. La filiation entre les deux fractions peut-être mise en évidence, entre autres, en repassant de l'acide à l'ester (par le diazométhane):

$$\text{Ester } (\alpha)_D^{\text{CHCl}_3} = -88^\circ \quad (c=1,37)$$

$$\text{Acide } (\alpha)_D^{\text{CHCl}_3} = -28^\circ \quad (c=1,44)$$

$$\text{Acide estérifié } (\alpha)_D^{\text{CHCl}_3} = -86^\circ \quad (c=1,37).$$

Il s'agit d'expliquer la grande différence entre les pouvoirs rotatoires de l'acide et de l'ester, différence très supérieure à celle observée pour un modèle simple, la N-stéaroyl D-phénylalanine:

$$\text{Ester } (\alpha)_D^{\text{CHCl}_3} = -54^\circ$$

$$\text{Acide } (\alpha)_D^{\text{CHCl}_3} = -60^\circ.$$

Les spectres infra-rouge de l'acide et de l'ester (en solution dans le chloroforme) sont nettement différents dans la région des bandes NH (33 cm^{-1}) et Amide I (1660 cm^{-1}). Ils indiquent que, dans l'acide, existent des liaisons hydrogène impliquant les liaisons peptidiques [8].

On trace un début de courbe de dispersion rotatoire (dans CH_2Cl_2) en utilisant le pouvoir rotatoire (R') défini comme indiqué au paragraphe précédent. On obtient des courbes très proches pour le N-stéaroyl D-phénylalaninate de méthyle et l'ester du peptidolipide. La courbe qui correspond au peptidolipide acide est d'allure très différente des deux autres, et les valeurs de (R') correspondantes sont très éloignées des précédentes (voir la figure 1).

On peut en conclure que, pour l'ester, il doit y avoir additivité du pouvoir rotatoire dû à chacun des acides aminés, alors que pour l'acide intervient une conformation stable.

A partir des courbes de dispersion rotatoire (tracées entre 589 et 313 $\text{m}\mu$) on peut calculer les coefficients de l'équation de Moffit [9]. On constate que pour l'ester cette équation peut être utilisée avec la valeur usuelle de $\lambda_0 = 212 \text{ m}\mu$, alors que pour l'acide il faut prendre $\lambda_0 = 200 \text{ m}\mu$, cette dernière ne convenant pas pour l'ester. On ne peut donc comparer entre elles les valeurs des coefficients a_0 et b_0 , obtenues pour l'acide et l'ester; de plus, ces deux corps se comportent comme deux molécules très différentes.

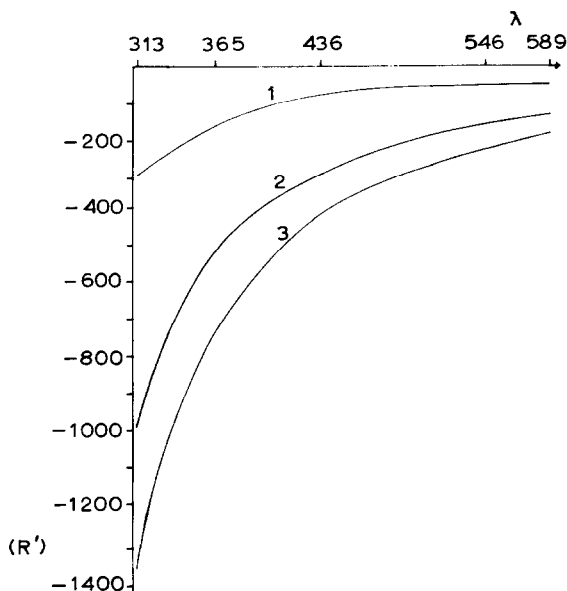


Fig. 1. Courbes de dispersion rotatoire (1) Peptidolipide J-acide; (2) Peptidolipide J-ester méthylique; (3) N-stéaroyl-D-phénylalaninate de méthyle; (abscisses: λ en $\text{m}\mu$; ordonnées (R') en degrés).

Des déterminations de poids moléculaire par tonométrie dans le chloroforme montrent que l'ester est sous forme de monomère, et l'acide sous forme de dimère. Le spectre infra-rouge de l'acide à l'état solide présente une bande "dimère d'acide" (925 cm^{-1}).

De ces divers résultats on peut conclure que le peptidolipide acide est sous forme de dimère d'acide, et que cette dimérisation rend possible l'apparition d'une conformation stabilisée par des liaisons hydrogène s'établissant entre des liaisons peptidiques de deux chaînes liées par leurs carboxyles. A l'aide de modèles moléculaires on peut construire plusieurs conformations, mais nous ne pouvons en choisir une pour l'instant.

Cette conformation liée à la dimérisation amène à envisager qu'un tel phénomène ait pu être observé au cours d'études conformationnelles de petits peptides; si cela ne se vérifiait pas, nous serions conduits à supposer que la longue chaîne aliphatique du reste acyl joue un rôle dans la conformation du peptidolipide acide. Cela permet également d'envisager des modes d'associations possibles entre les protéines et

les peptides, souvent très peu hydrophiles que l'on rencontre en particulier dans les microorganismes.

Références

- [1] M. Goodman, E.E. Schmitt et D.A. Yphantis, J. Amer. Chem. Soc. 84 (1962) 1288;
M. Goodman et M. Fried, J. Amer. Chem. Soc. 89 (1967) 1264.
- [2] D.T. Warner, Nature 190 (1961) 120.
- [3] F. Quadrioglio et D.W. Urry, Biochem. Biophys. Res. Commun. 29 (1967) 785.
- [4] A.M. Liquori et F. Conti, Nature 217 (1968) 635.
- [5] M. Bodanszky et A. Bodanszky, Nature 220 (1968) 73.
- [6] G. Laneelle, Thèse de doctorat ès-sciences (Toulouse, 1967).
- [7] G. Laneelle, J. Asselineau, W.A. Wolstenholme et E. Lederer, Bull. Soc. Chim. France (1965) 2133.
- [8] J.A. Schelman et C. Schelman, in: Proteins (Academic Press, New York, 1964) p. 1.
- [9] P. Urnes et P. Doty, in: Advances in Protein Chemistry vol. 16 (Academic Press, New York, 1961) p. 402–536.