

INFLUENCE DE LA NATURE DE LA CHAÎNE LATÉRALE SUR LES SPECTRES DE DICHROISME CIRCULAIRE MAGNÉTIQUE DE QUELQUES POLYPEPTIDES

M. GABRIEL, D. LARCHER, H. RINNERT et C. THIRION

Laboratoire de Physique Expérimentale, Case officielle 140, 54037 Nancy Cedex, France

Reçu le 11 juin 1973

1. Introduction

Le dichroïsme circulaire magnétique (D.C.M.) dépend de l'interaction du champ magnétique avec les différents niveaux énergétiques de la molécule et non, comme le dichroïsme circulaire naturel (D.C.), de la structure de l'échantillon [1, 2]. L'analogie entre les propriétés physicochimiques des polypeptides synthétiques et des protéines en font des modèles simples idéaux pour l'étude des molécules biologiques. Les propriétés optiques de telles substances ont fait l'objet de nombreuses études durant les dix dernières années [3]. Le D.C.M. est, par exemple, utilisé pour l'étude des hémoprotéines [4, 5] et des molécules de faible symétrie [6].

Trois polypeptides de chaînes latérales différentes sont étudiés. La poly-L-alanine (P.L.A.) ne possède aucun chromophore autre que le groupement peptidique. Le spectre D.C.M. est alors attribué à cette liaison. L'acide poly-L-glutamique (A.P.L.G.) comporte un chromophore carboxyle dans sa chaîne latérale responsable du changement de signe du spectre D.C.M. Par contre, le D.C.M. du chromophore phénolique de la poly-L-tyrosine (P.L.T.), très intense, masque celui des autres bandes.

2. Partie expérimentale

Les spectres de dichroïsme circulaire naturel et magnétique sont effectués sur dichrographe Roussel-Jouan, modifié par l'adjonction d'une bobine supraconductrice, au département de Biologie du C.E.N. à

Saclay [7]. La concentration et la longueur de cuve sont choisies pour obtenir une densité optique voisine de l'unité. Toutes les substances étudiées possèdent un D.C. important qu'il est nécessaire de retrancher de l'effet obtenu en présence de champ magnétique. Les résultats sont exprimés en $\text{degré} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mole}^{-1}$ par résidu pour un champ de 6,8 T. Les produits proviennent des laboratoires Schuchardt et sont utilisés sans autre purification après dessiccation sous P_2O_5 pendant 24 hr. Les solutions sont étudiées à une concentration de 10^{-4} g/ml. La P.L.A. se dissout facilement dans un mélange (15/85) d'acide trifluoroacétique et d'hexafluoroisopropanol. Une dilution dans l'hexafluoroisopropanol pur permet d'obtenir la solution étudiée. L'A.P.L.G. est insoluble dans l'eau. Il se dissout facilement dans 1 N NaOH. Les sels sont éliminés par dialyse contre de l'eau distillée pendant 24 hr. La P.L.T. est dissoute dans 1 N NaOH et ensuite diluée dix fois dans de l'eau distillée.

3. Résultats et discussions

La solution de P.L.A. avec 1,5% d'acide trifluoroacétique [8] montre les trois bandes caractéristiques de D.C. de la forme hélice α [9]. Deux nappes de signes opposés correspondent à la séparation de la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ par résonance excitonique entre les chromophores et une bande négative due à la transition de transfert de charge $n \rightarrow \pi^*$. Le spectre D.C.M. (fig. 1) présente une bande positive de faible amplitude vers 220 nm ($\theta_M = 4.600$ pour 6,8 T). La poly-L-tyrosine sous forme hélice α présente une bande similaire

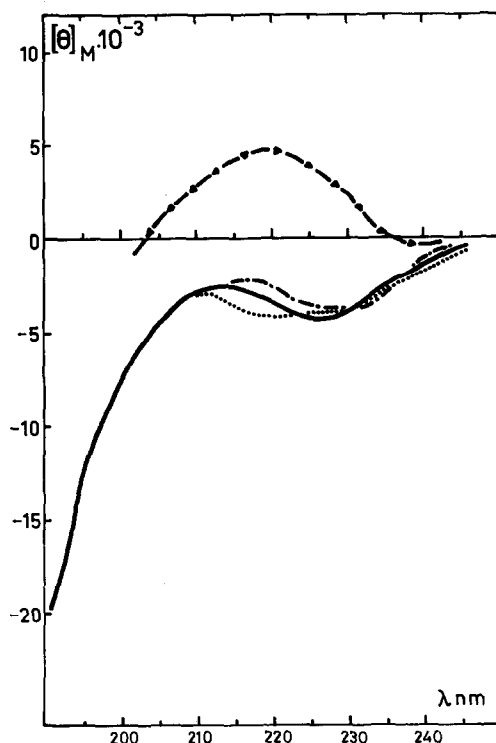


Fig. 1. D.C.M. de l'A.P.L.G. dans l'eau (sans sel) (—); dans l'eau à pH 4,1 (----); dans MeOH-H₂O (50:50 v/v) (•—•—•) et de la P.L.A. dans un mélange acide trifluoroacétique-hexafluoroisopropanol (1,5:98,5 v/v) (▲—▲—▲).

qui est située au voisinage de la bande de D.C. Comme la chaîne latérale ne comporte aucun chromophore Barth et al. [10] ont attribué cette bande à la transition $n \rightarrow \pi^*$ peptidique.

L'A.P.L.G. est étudié sous trois formes. La première est obtenue en ajoutant uniquement de l'eau distillée à la solution initiale. Le spectre de D.C. est identique à celui obtenu par Tiffany et Krimm [11]. L'A.P.L.G. se trouve alors sous une forme partiellement ordonnée. Le spectre M.C.D. (fig. 1) présente une bande négative de faible amplitude vers 225 nm et l'amorce d'une courbe négative plus intense vers les courtes longueurs d'onde due à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ du chromophore peptidique. Le minimum situé à 225 nm provient de l'addition du spectre correspondant à la transition $n \rightarrow \pi^*$ peptidique trouvé pour la P.L.A. et d'une bande négative située vers les mêmes longueurs d'onde, induite par la transition $n \rightarrow \pi^*$ du

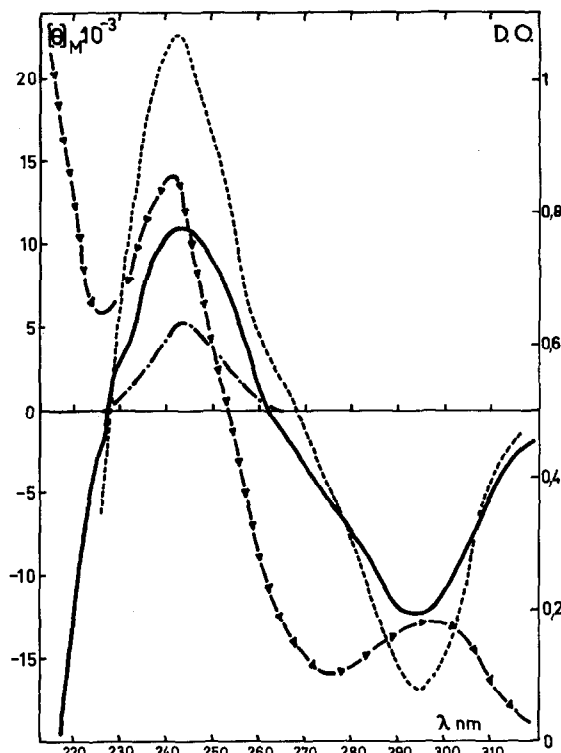


Fig. 2. D.C.M. de la tyrosine à pH 12 (----); spectre UV (▲—▲—▲); D.C. (---) et D.C.M. (—) de la P.L.T. dans NaOH 0,1 N.

groupe C=O de la chaîne latérale. Les deux autres formes de l'A.P.L.G. présentent des spectres D.C.M. très similaires au précédent, ce qui confirme que le D.C.M. est peu sensible à la structure [3]. La forme désordonnée est obtenue dans un mélange eau-méthanol (50/50). La forme hélice α , pour laquelle on retrouve le D.C. caractéristique, est obtenue à pH 4,1.

La solution de P.L.T. présente un spectre de dichroïsme circulaire naturel (fig. 2) semblable à celui obtenu par Beychok et Fasman [12] ou Shiraki et Imahori [13] pour une forme désordonnée. La courbe D.C.M. est très intense et les longueurs d'onde des extremums coïncident avec celles de l'absorption. De plus, elle ressemble à celle que fournit la tyrosine à pH basique [14]. Les bandes qui correspondent aux transitions $A_1 \rightarrow B_2$ à 293 nm et $A_1 \rightarrow B_1$ à 243 nm masquent l'effet trop faible du groupement peptidique

Il est à noter que la bande située à 293 nm est caractéristique et permet la détermination du rapport tyrosine/tryptophane dans les protéines [10, 15].

En conclusion, le D.C.M. est sensible à la nature de la chaîne latérale. Pour la P.L.A. le spectre correspond à la transition peptidique. La présence de C=O dans la chaîne latérale de l'A.P.L.G. change le signe du spectre. L'intensité du D.C.M. du chromophore phénolique permet une analyse quantitative.

Remerciement

Les auteurs désirent remercier MM. J. Thierry et C. Schneider du C.E.N. Saclay d'avoir permis les mesures de dichroïsme circulaire dans leur laboratoire.

References

- [1] Briat, B. and Djerassi, C. (1968) *Nature* 217, 918.
- [2] Buckingham, A.D. and Stephens, P.J. (1966) *Ann. Rev. Phys. Chem.* 17, 399.
- [3] Jirgensons, B. (1969) in: *Optical Rotatory Dispersion of Proteins and other Macromolecules*, Springer Verlag, New York.
- [4] Breton, J. and Hilaire, M. (1972) *Compt. Rend.* 274 D, 678.
- [5] Briat, B., Berger, D. and LeLiboux, M. (1972) *J. Chem. Phys.* 57, 5606.
- [6] McCarville, M.E. (1967) Ph. D. Thesis, Iowa University.
- [7] Blondet, R., Rappanelli, D. and Schneider, C. (Mai 1970) *Proc. Third Intl. Cryog. Eng. Conf.*, Berlin, p. 238.
- [8] Quadrifoglio, F. and Urry, D.W. (1968) *J. Am. Chem. Soc.* 90, 2755.
- [9] Yang, J.T. (1967) in: *Conformation of Biopolymers* (Ramachandran, G.N., ed), Academic Press, New York.
- [10] Barth, G., Voelter, W., Bunnenberg, E. and Djerassi, C. (1972) *J. Am. Chem. Soc.* 94, 1293.
- [11] Tiffany, M.L. and Krimm, S. (1968) *Biopolymers* 6, 1379.
- [12] Beychok, S. and Fasman, G.D. (1964) *Biochemistry* 3, 1675.
- [13] Shiraki, M. and Imahori, K. (1966) *Sci. Papers Coll. Gen. Educ. Univ. Tokyo* 16, 215.
- [14] Gabriel, M., Larcher, D., Rinnert, H., Thirion, C. and Grange, J. (1973) *Compt. Rend.* 276 B, 39.
- [15] Gabriel, M. Thèse 3ème cycle (Juin 1971) Nancy.