

Les précurseurs des dermaseptines : une boîte de Pandore

La grande majorité des peptides actifs sécrétés par les cellules, en particulier les hormones peptidiques et les neuropeptides, sont issus de la maturation post-traductionnelle de précurseurs polypeptidiques de grande taille appelés prépro-formes. Une séquence signal de 10 à 70 résidus est localisée à l'extrémité amino-terminale de ces précurseurs, et permet à la cellule de reconnaître ces protéines et de les diriger vers la voie de sécrétion. Dans la plupart des cas, le clivage de la séquence signal par une peptidase liée à la membrane du réticulum endoplasmique rugueux donne naissance à un précurseur tronqué, la pro-forme, qui sera empaquetée dans des vésicules puis convoyée dans ces navettes vers l'appareil de Golgi afin d'être transformée en une forme mûre. Dans le cas le plus simple, la prépro-forme ne comprend que la séquence signal de translocation dans le réticulum et la séquence progénitrice du peptide actif. Dans d'autres cas, le précurseur contient une ou plusieurs séquences additionnelles, ou séquences cryptiques, situées en aval et/ou en amont de la séquence progénitrice. Des étapes supplémentaires de protéolyse limitée et contrôlée seront nécessaires pour produire le peptide mature. Enfin, de nombreux précurseurs sont plurifonctionnels, car ils comprennent plusieurs copies d'une même séquence progénitrice, ou plusieurs séquences progénitrices de peptides actifs différents.

Il n'y a donc qu'une relation distante entre la taille et la nature de la séquence codante du gène et celles du peptide biologiquement actif. De nombreux autres événements, post-transcriptionnels et post-traduction-

nels peuvent survenir et contribuer à rendre cette relation encore plus complexe. Parmi ceux-ci on peut citer l'épissage alternatif et l'édition des ARN messagers, et de multiples modifications covalentes de la protéine précurseur, allant de la protéolyse limitée à la greffe de groupes chimiques exogènes sur les chaînes latérales et/ou les extrémités amino- et carboxy-terminales de la chaîne polypeptidique. L'ensemble de ces modifications permet de contourner les limitations imposées par le code génétique et de créer, dans différents tissus, une grande diversité de peptides actifs de nature chimique différente à partir d'un gène ou d'un précurseur biosynthétique unique.

Alors que les séquences progénitrices de peptides actifs sont très conservées dans les précurseurs biosynthétiques de différentes espèces animales, la séquence signal et les séquences cryptiques ne le sont pas, ou très peu, qu'il s'agisse de filiations inter- ou intra-espèces. Le peptide signal a, par exemple, une taille, une composition en acides aminés et une séquence extrêmement variables. Seule sa configuration générale est constante : celle-ci associe une extrémité amino-terminale comprenant 1 ou 2 résidus basiques suivie d'un domaine hydrophobe puis de quelques résidus polaires à courte chaîne [1].

La peau des amphibiens : une usine à peptides

Les glandes granuleuses de la peau des amphibiens possèdent toutes les propriétés des glandes endocrines des mammifères mais portées à un niveau exacerbé [2, 3]. Chez le xénope, par

exemple, ces glandes sont localisées sur la face latéro-dorsale du corps et se présentent sous forme d'un syncytium dans lequel les granules sphéroïdaux contenant le sécrétat occupent la partie centrale du cytoplasme alors que les noyaux, entourés de réticulum endoplasmique rugueux et de complexes de Golgi, sont localisés à la périphérie. La membrane plasmique entoure la glande de façon continue de la base à l'extrémité inférieure d'un canal qui communique avec la surface de la peau. Entre la membrane plasmique du compartiment sécrétoire et celle des cellules myoépithéliales qui bordent la glande, se trouvent des fibres nerveuses de type adrénergique. La stimulation adrénergique stimule les cellules myoépithéliales qui, en comprimant le compartiment sécrétoire, entraîne l'expulsion de son contenu granulaire selon un mécanisme holocrine (type de sécrétion où tout le contenu cellulaire est éliminé en même temps que les produits de sécrétion).

Les glandes granulaires synthétisent et sécrètent en abondance un nombre extraordinairement élevé de peptides dotés d'activités biologiques variées [2, 3]. Certains sont des hormones, d'autres des neuropeptides, ou encore des facteurs de croissance, et une myriade de petits peptides anti-microbiens à large spectre d'action, qui fonctionnent comme une première ligne de défense contre les invasions microbiennes [4-6]. Tous ces peptides sont les produits de la maturation post-traductionnelle de précurseurs polypeptidiques de grande taille, uni- ou pluri-fonctionnels, dont l'organisation est tout à fait identique à celle des précurseurs d'hormones et de neuropeptides chez les mammifères.

La plupart des peptides de la peau d'amphibien sont similaires ou identiques à ceux que les mammifères produisent et utilisent dans leur système nerveux central et gastro-intestinal, ou dans la régulation de leur système endocrinien. Cette analogie est telle qu'elle a engendré le concept du triangle peau-cerveau-intestin [7]. Celui-ci stipule que tout peptide détecté dans un de ces compartiments doit être également présent dans les 2 autres, sous la forme d'un peptide de structure identique ou très voisine. Plus de 1 000 peptides actifs, originaires de plusieurs dizaines d'espèces de batraciens ont été caractérisés à ce jour. Chaque espèce produit son propre répertoire qui peut compter jusqu'à 50 ou 100 peptides différents [2].

Les pré-pro-dermaseptines de la peau d'amphibiens : une famille de précurseurs d'antibiotiques peptidiques et de peptides opioïdes

Parmi les précurseurs de peptides de la peau d'amphibien, ceux de la famille des pré-pro-dermaseptines sont singuliers puisqu'ils partagent une région amino-terminale d'environ 50 acides aminés extrêmement conservée alors que leur domaine carboxy-terminal est, lui, hypervariable [8-15]; il correspond à la séquence progénitrice de peptides actifs, les dermaseptines, les phylloxines, les dermorphines, les deltorphines, les brévinines, les esculentines et les temporines, très différents tant par la taille, 5 à 46 acides aminés, que par la séquence, la conformation, le mode d'action et l'activité biologique (Tableau I). Les pré-pro-dermaseptines sont présentes dans plusieurs espèces de batraciens anoures (dont la parenté évolutive est lointaine) phylogénétiquement distantes dont les biotopes (l'un des deux ordres composant le super-ordre des batraciens) sont géographiquement séparés, comme les Phyllo-médusa, des grenouilles arboricoles d'Amérique du Sud, et les *Rana* qui peuplent l'Europe et l'Asie.

La région amino-terminale constante des pré-pro-dermaseptines est composée d'une séquence signal classique de 22 résidus suivie d'une séquence

cryptique de 16-25 résidus particulièrement riche en acides aminés acides et enfin d'un doublet d'acides aminés basiques qui constitue un site spécifique de reconnaissance et de clivage par les convertases de prohormones (figure 1). Une autre propriété caractéristique de ces précurseurs est la conservation de la séquence nucléotidique de la région non codante en 5' de leur ARN messager. La similitude est plus faible dans la région 3' non codante.

La conservation remarquable de la séquence du peptide signal et de la séquence cryptique adjacente dans des précurseurs biosynthétiques de peptides actifs qui n'ont aucun autre lien de parenté structurale et/ou fonctionnelle suggère que tout ou partie des gènes correspondants sont issus d'un ancêtre commun. Chez *P. bicolor*, plusieurs gènes codant pour les dermaseptines B ont été clonés [16, 17]. Deux exons séparés par un intron de petite taille (62 pb) constituent la partie codante de ces gènes. Le premier exon code pour la séquence 5' non traduite de l'ARNm, le peptide signal et une partie de la séquence cryptique, alors que le

second code pour le reste de la séquence cryptique, la séquence progénitrice d'une dermaseptine B et la séquence 3' non traduite de l'ARNm. Dans tous ces gènes, le petit intron séparant les 2 exons codants est lui aussi particulièrement bien conservé. Cela suggère que l'accroissement de la taille de cette famille de gènes est relativement récent, soit que des événements spécifiques de conversion de gène nécessitent la conservation de certains éléments présents dans cette séquence intronique. La présence conjointe de tous les éléments constitutifs de l'ARNm mûr des pré-pro-dermaseptines B dans la séquence du gène exclut que des événements post-transcriptionnels, comme l'épissage alternatif, soient à l'origine de la diversité des peptides actifs qui dérivent des précurseurs polypeptidiques de la famille des pré-pro-dermaseptines.

Les peptides issus de la maturation des pré-pro-dermaseptines

Plus de 60 peptides actifs différents [8-15, 18-24], tous issus de la maturation post-traductionnelle de pré-

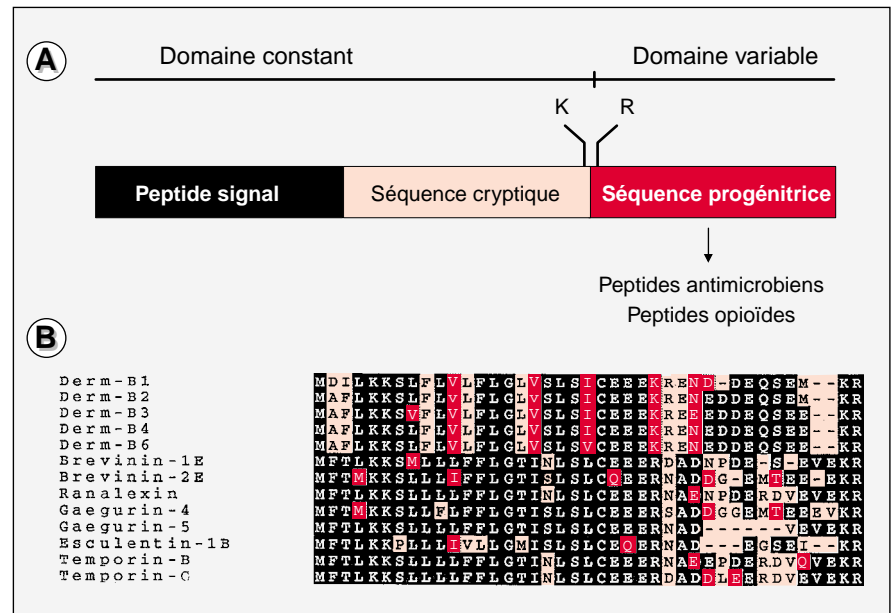


Figure 1. **A.** Représentation schématique des précurseurs de la famille des pré-pro-dermaseptines de la peau des amphibiens. **B.** Alignement des séquences en acides aminés du peptide signal (résidus 1-22) et de la séquence cryptique acide du domaine constant des préprodermaseptines. Les résidus identiques sont sur fond noir, les résidus similaires sur fond rouge.

Tableau I
CLASSIFICATION EN SOUS-FAMILLES DES PEPTIDES
ISSUS DES PRÉ-PRO-DERMASEPTINES

Familles de peptides*	Séquences	Références
Peptides antimicrobiens		
<i>Dermaseptines</i>		
Dermaseptine-B1	AMWKDVLKKIGTVALH----AGKAALGAVADTISQ--a	[10, 21]
Dermaseptine-B2	GLWSKI-KEVGKEAAKAAAKAAGKAALGAVSEAV----a	[20, 21]
Dermaseptine-B3	ALWKNMLKGIGK-----LAGOALGAVKTLVGA--	[10]
Dermaseptine-B4	ALWKDILKNVGK-----AAGKAVLNTVDMVNO--a	[10]
Dermaseptine-B5	GLWNKI-KEAAK-----SAGKAALGFVNEMV----a	[10]
Dermaseptine-B6	ALWKDILKN-----AGKAALNEINQLVNO--a	[10]
Dermaseptine-S1	ALWKTMLKKLGTMALH----AGKAALGAAADTISOGTQ	[18]
Dermaseptine-S2	ALWFTMLKKLGTMALH----AGKAALGAAANTISOGTQ	[19]
Dermaseptine-S3	ALWKNMLKGIGK-----AGKAALGAVKLVGAES-	[19]
Dermaseptine-S4	ALWMTLLKKVLKAAA-----KAALNAVLVGANA--	[19]
Dermaseptine-S5	GLWSKI-KTAGKSVAKAAA-----KAAVKAVTNAV----	[19]
<i>Phylloxines</i>		
Phylloxin	GWMSKIASGIGTFLSGIGQOa	[b]
<i>Brevinines-1</i>		
Brevinine-1	FLPVLGIAAAKVVPAALFCKITKKC	[22]
Brevinine-1E	FLPLLAGLAANFLPKIFCKITRKC	[11, 23]
Brevinine-1EA	FLPAIFRMAAAKVVPTIICSITKKC	[11, 23]
Brevinine-1EB	VIPFVASVAEEMMQHVYCAASRKC	[11]
Brevinine-1EC	FLPLLAGLAANFFPKIFCKITRKC	[11, 23]
Ranalexine	FLGGLIKIVPAMICAVTKKC	[12]
Gaegurine-5	FLGALFKVASKVLPSVFCAITKKC	[13]
Gaegurine-6	FLPLLAGLAANFLPTIICKISYKC	[13]
<i>Brevinines-2</i>		
Brevinine-2	G-LLDSLKGF AATAGKGV LQSLSTASCKLAKTC	[22]
Brevinine-2E	G-IMDTLKNLAKTAGKGALQSLLNKASCKLSGQC	[11, 23]
Brevinine-2EA	G-ILDTLKLN AISAAKGA AQLV NKASCKLSGQC	[11, 23]
Brevinine-2EB	G-ILDTLKLN LAKTAGKGALQGLVKMASCKLSGQC	[11, 23]
Brevinine-2EC	GILLDKLNFAKTAGKGV LQSLNTASCKLSGQC	[11, 23]
Brevinine-2ED	G-ILDSLKNLAKNAG----OILLNKASCKLSGQC	[11, 23]
Brevinine-2EE	G-IFDKLNFAK----GVAQSLLNKASCKLSGQC	[11, 23]
Brevinine-2EF	G-IMDTLKNLAKTAGKGALQSLVKMASCKLSGQC	[11, 23]
Gaegurine-1	S-LFSLIKAGAKFLGKNLLKQGACYAAACKASKQC	[13]
Gaegurine-2	G-IMSIVKDVAKNAAKEAAKALSTLSCKLAKTC	[13]
Gaegurine-3	G-IMSIVKDVAKTAAKEAAKALSTLSCKLAKTC	[13]
Rugosine-A	G-LLNTFKDW AISIAKGA GKGVL TTLSCKLDKSC	[24]
Rugosine-B	S-LFSLIKAGAKFLGKNLLKQGAQYAAACKVSKC	[24]
<i>Esculentines-1</i>		
Esculentine-1	GIFSKLGRKKIKNLLISGLKNVGKEVGM DVVRTGIDIAGCKIKGEC	[23]
Esculentine-1A	GIFSKLAGKKIKNLLISGLKNVGKEVGM DVVRTGIDIAGCKIKGEC	[11]
Esculentine-1B	GIFSKLAGKKIKNLLISGLKNVGKEVGM DVVRTGIDIAGCKIKGEC	[11]
<i>Esculentines-2</i>		
Esculentine-2A	GILSLVKGVAKLAGKGLAKEGGKFGLELIACKIAKQC	[11]
Esculentine-2B	GIFSLVKGA AKLAGKGLAKEGGKFGLELIACKIAKQC	[11]
Gaegurine-4	GILDTLKQFAKGVGKDLVKGAAQGLSTVSCCKLAKTC	[14]
Rugosine-C	GILDSFKQFAKGVGKDLKIGAAQGLSTVMSCKLAKTC	[24]
<i>Temporines</i>		
Temporine-A	FLPLIGRVLSGILa	[15]
Temporine-B	LLPIVGNLLKSLLa	
Temporine-C	LLPILGNLLNGLLa	
Temporine-D	LLPIVGNLLNSLLa	
Temporine-E	VLPIIGNLLNSLLa	
Temporine-F	FLPLIGKVLSGILa	
Temporine-G	FFPVIGRILNGILa	
Temporine-H	LSPNLLKSLLa	
Temporine-K	LLPNLLKSLLa	
Temporine-L	FVQWFSKFLGRILa	
Peptides opioïdes		
<i>Dermorphines</i>		
Dermorphine	YAFGYPSa	[26]
[W4, N7] dermorphine	YAFWYPN	
[K7]dermorphine	YAFGYPK	
[W4, N5] dermorphine	YAFWN	
<i>Deltorphines</i>		
Dermentképhaline	YMFHLMa	[26]
Deltorphine-I	YAFDVVGa	
Deltorphine-II	YAFEVVGa	

* On distingue 9 sous-familles : 7 dans les peptides antimicrobiens et 2 parmi les peptides opioïdes.
a : extrémité carboxylique amidée ; b : P. Nicolas, M. Amiche et al. (soumis pour publication).

courseurs de la famille des pré-pro-dermaseptines, ont été isolés à ce jour dans une demi-douzaine d'espèces de batraciens (Tableau 1). Ces peptides, des anti-microbiens et des morphino-mimétiques, sont regroupés en 8 sous-familles sur la base de leurs origines et/ou de leurs caractéristiques structurales et fonctionnelles. Parmi les peptides anti-microbiens on peut citer les dermaseptines B et S et la phylloxine, isolées de diverses espèces de *Phyllo-medusa*, les brévinines-1 et 2 et les esculentines-1 et 2, présents chez *Rana brevidipora* et *Rana esculenta*, et les temporines, de petits peptides qui sont sécrétés par la peau de *Rana temporaria*.

Les dermaseptines B et S sont constituées de 24 à 34 résidus. Ces peptides linéaires et polycationiques ont un spectre antibiotique très étendu puisque à des concentrations de l'ordre du micromolaire, ils tuent très rapidement les bactéries, les levures, les champignons et les protozoaires. Ils sont en revanche inoffensifs pour les cellules différenciées des mammifères. Les dermaseptines adoptent une structure en hélice α en présence de bicouches lipidiques. Une des faces de l'hélice renferme la majorité des acides aminés polaires et chargés alors que les acides aminés hydrophobes sont confinés sur la face opposée. Cette amphipathie de la structure confère à ces peptides la propriété de s'insérer dans les bicouches lipidiques, d'en perturber l'organisation et d'induire ainsi rapidement la lyse cellulaire et la mort des micro-organismes. La persistance d'une activité pour des analogues obtenus par synthèse chimique et tronqués dans leur partie carboxy-terminale, montre que cette structure peut être raccourcie de 16 résidus [25]. Les dermaseptines synthétiques constituées d'acides aminés de configuration D (hélice gauche) conservent toute leur activité, laissant ainsi envisager la possibilité de fabriquer à coût réduit des molécules susceptibles de résister à l'action des protéases lors d'une administration par voie orale ou intraveineuse [25]. Les brévinines et les esculentines (24 à 46 résidus) possèdent un pont disulfure liant le résidu de cystéine carboxy-terminal et celui en position

– 6. En solution, la structure de ces peptides est très différente de celle des dermaseptines. Les brévinines de type 1, par exemple, ont une région amino-terminale apolaire ne comportant pas de structure régulière et une région carboxy-terminale amphipathique. Dans un environnement lipidique, la boucle créée par le pont disulfure permettrait la stabilisation d'une zone hélicoïdale couvrant les résidus 8 à 17. Les brévinines et les esculentines ont des spectres d'activité assez larges mais distincts [11-14, 22-24]. A la différence des dermaseptines B et S, ces peptides sont également fortement hémolytiques. Les temporines, 10 à 13 résidus, sont les plus petits peptides anti-microbiens de vertébrés connus à ce jour. Elles ne sont actives que contre un nombre très limité d'espèces bactériennes [15].

Les peptides opioïdes codés par les précurseurs de la famille des pré-pro-dermaseptines sont très particuliers [26]. La dermorphine, les deltorphines et les peptides apparentés sont très courts, 5 à 7 résidus, et possèdent un acide aminé de configuration D en position 2, une séquence amino-terminale commune Tyr-D-Ala(D-Met)-Phe, deux motifs qui les distinguent des opioïdes de mammifères, une affinité et une sélectivité de liaison remarquables pour un type unique de récepteur opioïde (μ pour la dermorphine; δ pour la dermenképhaline ou les deltorphines) et une puissance pharmacologique inégalée. La dermorphine, par exemple, est 1000 fois plus active que la morphine, et 100 fois plus active que la β -endorphine pour induire l'analgésie après injection intracérébrale chez la souris. Les résidus D-Ala et D-Met en position 2 dans les peptides mûrs sont spécifiés par les codons usuels du code génétique dans les ARNm des précurseurs correspondants. Des expériences récentes suggèrent que l'incorporation d'acides aminés D dans ces peptides s'effectue par isomérisation post-traductionnelle [27]. Il existerait donc, chez les vertébrés, des systèmes enzymatiques spécifiques capables d'isomériser un résidu d'acide aminé inclus dans une chaîne peptidique.

Conclusions

La conservation de la séquence d'un peptide signal de translocation dans le réticulum parmi des précurseurs biosynthétiques de peptides sans parenté structurale et fonctionnelle est un phénomène rare. Chez les mammifères, une famille de précurseurs polypeptidiques, les cathélines, présente des caractéristiques voisines de celles des pré-pro-dermaseptines [28]. Ces précurseurs de peptides anti-microbiens, présents dans les neutrophiles, possèdent un peptide signal et une prorégion très conservés pour des peptides matures très différents mais exerçant la même fonction. Il est donc probable que, dans ce type de précurseurs, la séquence topogénique du peptide signal ait en plus une autre fonction encore inconnue, cible d'une pression de sélection particulièrement forte. Plusieurs mécanismes peuvent être envisagés pour expliquer la fabrication de précurseurs peptidiques constitués d'une région amino-terminale conservée associée à une séquence progénitrice hypervariable. Si les gènes codant pour les dermaseptines B sont représentatifs des autres gènes de la famille des pré-prodermaseptines, leur organisation en 2 exons codants peut favoriser des processus de recombinaison impliquant la dissémination du premier exon qui code pour la séquence du peptide signal en plusieurs points du génome et son association avec des exons sans parenté évolutive. La dissémination de cet exon, véritable cassette de sécrétion, s'est vraisemblablement effectuée assez tôt dans l'évolution, peut-être pour évaluer les bénéfices potentiels de la sécrétion du matériel génétique situé en aval du point d'insertion ■

RÉFÉRENCES

1. Nielsen H, Engelbrecht J, Brunak S, Von Heijne G. Identification of prokaryotic and eukaryotic signal peptides and prediction of their cleavage sites. *Protein Eng* 1997; 10: 1-6.
2. Erspamer V. In: H. Heatwole (Ed.) *Amphibian Biology*, vol 1, Surrey Beatty and Sons, 1994: pp 178.
3. Lazarus LH, Attila M. The toad, ugly and venomous, wears yet a precious jewel in his skin. *Prog Neurobiol* 1993; 41: 473-507.

RÉFÉRENCES

4. Barra D, Simmaco M. Amphibian skin: a promising resource for antimicrobial peptides. *Trends Biotechnol* 1995; 13: 205-9.
5. Boman HG. Peptide antibiotics and their role in innate immunity. *Annu Rev Immunol* 1995; 13: 61-92.
6. Nicolas P, Mor A. Peptides as weapons against microorganisms in the chemical defense system of vertebrates. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49: 277-304.
7. Erspamer V, Melchiori P, Falconieri-Erspamer G, Montecucchi P, de Castiglione R. Phylomedusa skin: a huge factory and store-house of a variety of active peptides. *Peptides* 1985; 6: 7-12.
8. Amiche M, Ducancel F, Boulain JC, Lajeunesse C, Menez A, Nicolas P. Cloning of the adenoregulin precursor: relationships with dermaseptin. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 191: 983-90.
9. Amiche M, Ducancel F, Mor A, Boulain JC, Menez A, Nicolas P. Precursors of vertebrate peptide antibiotics Dermaseptin b and adenoregulin have extensive sequence identities with precursors of opioid peptides dermorphin, dermenkephalin and deltorphins. *J Biol Chem* 1994; 269: 17847-52.
10. Charpentier S, Amiche M, Mester Y, et al. Structure, synthesis and molecular cloning of dermaseptins B, a family of skin peptide antibiotics. *J Biol Chem* 1998; 273: 14690-7.
11. Simmaco M, Mignogna G, Barra D, Bossa F. Antimicrobial peptides from skin secretions of *Rana esculenta*. Molecular cloning of cDNAs encoding esculentin and brevinins and isolation of new active peptides. *J Biol Chem* 1994; 269: 11956-61.
12. Clark DP, Durell S, Maloy WL, Zasloff M. Ranalexin. A novel antimicrobial peptide from bullfrog (*Rana catesbeiana*) skin, structurally related to the bacterial antibiotic, polymyxin. *J Biol Chem* 1994; 269: 10849-54.
13. Park JM, Lee JY, Moon HM, Lee BJ. Molecular cloning of cDNAs encoding precursors of frog skin antimicrobial peptides from *Rana rugosa*. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1264: 23-8.
14. Park JM, Jung JE, Lee BJ. Antimicrobial peptides from the skin of a Korean frog, *Rana rugosa*. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 205: 948-52.
15. Simmaco M, Mignogna G, Cannofeni S, Miele R, Mangoni ML, Barra D. Temporins, antimicrobial peptides from the European red frog *Rana temporaria*. *Eur J Biochem* 1996; 242: 788-94.
16. Vouille V, Amiche M, Nicolas P. Structure of genes for dermaseptins B, antimicrobial peptides from frog skin. *FEBS Lett* 1997; 414: 27-32.
17. Fleury Y, Vouille V, Beven L, Amiche M, Wroblewski H, Delfour A, Nicolas P. Synthesis, antimicrobial activity and gene structure of a novel member of the dermaseptin B family. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1396: 228-36.
18. Mor A, Nguyen VH, Delfour A, Miglior-Samour D, Nicolas P. Isolation, amino acid sequence and synthesis of dermaseptin, a novel antimicrobial peptide of amphibian skin. *Biochemistry* 1991; 30: 8824-30.
19. Mor A, Nicolas P. Isolation and structure of novel defensive peptides from frog skin. *Eur J Biochem* 1994; 219: 145-54.
20. Daly WJ, Caceres J, Moni WR, et al. Frog secretions and hunting magic in the upper Amazon: identification of a peptide that interacts with an adenosine receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 10960-3.
21. Mor A, Amiche M, Nicolas P. Structure, synthesis and activity of dermaseptin B. *Biochemistry* 1994; 33: 6642-50.
22. Morikawa N, Hagiwara K, Nakajima T. Brevinin-1 and -2, unique antimicrobial peptides from the skin of the frog, *Rana brevipoda porsa*. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 189: 184-9.
23. Simmaco M, Mignogna G, Barra D, Bossa F. Novel antimicrobial peptides from skin secretion of the European frog *Rana esculenta*. *FEBS Lett* 1993; 324: 159-61.
24. Suzuki S, Olic Y, Okubo T, Kakegawa T, Tatemoto K. Isolation and characterization of novel antimicrobial peptides, rugosins A, B and C, from the skin of the frog, *Rana rugosa*. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 212: 249-54.
25. Mor A, Nicolas P. The NH²-terminal helical domain 1-18 of dermaseptin is responsible for antimicrobial activity. *J Biol Chem* 1994; 269: 1934-9.
26. Amiche M, Delfour A, Jollès P, ed. Nicolas P. Opioid peptides from frog skin. In: Jollès P, ed., *D aminoacids in sequence of secreted peptides of multicellular organisms*, Basel, Switzerland: Birkhauser Verlag, 1998: 57-71.
27. Volkmann RA, Heck SD. Biosynthesis of D-amino acid-containing peptides; exploring the role of peptide isomerases. In: Jollès P, ed., *D aminoacids in sequence of secreted peptides of multicellular organisms*, Basel, Switzerland: Birkhauser Verlag, 1998: 57-71.
28. Zanetti M, Gennaro R, Romeo D. Cathelicidins: a novel protein family with a common proregion and a variable C-terminal antimicrobial domain. *FEBS Lett* 1995; 374: 1-6.

Pierre Nicolas
Mohamed Amiche

*Laboratoire de Bioactivation des Peptides,
Institut Jacques-Monod, 2, place Jussieu,
75251 Paris Cedex 05, France.*

TIRÉS À PART

P. Nicolas.