

Hydrolyse de la liaison isopeptidique ϵ -N-L-Méthionyl-L-lysine par l'aminopeptidase intestinale, par H. F. GAERTNER, A. J. PUIGSERVER, Centre de Biochimie et de Biologie Moléculaire du C. N. R. S., 31, chemin Joseph-Aiguier, B.P. 71, 13277 Marseille Cedex 9, France.

La fixation covalente de méthionine sur les résidus lysyl d'une protéine alimentaire modèle, la caséine, fait apparaître un nouveau type de liaison dite liaison isopeptidique. Suivant le réactif utilisé, N-carboxyanhydride de la méthionine ou ester actif (N-hydroxy-succinimide) de la tert-butylloxycarbonyl-méthionine, une polymérisation ou une mono-addition de l'acide aminé est obtenue sur chaque site de greffage de la protéine. Dans les conditions de polymérisation, seule la première liaison formée est isopeptidique. Nos travaux antérieurs (Puigserver *et al.*, 1979) ont montré que la méthionine ainsi fixée peut être facilement détachée du squelette peptidique et devient, de ce fait, disponible pour l'organisme. C'est l'aminopeptidase de la bordure en brosse des entérocytes qui est principalement responsable de cette hydrolyse. Afin de mieux définir les conditions et les limites d'utilisation de l'acide aminé ajouté, chez l'animal, il est indispensable de connaître avec précision les paramètres cinétiques de l'hydrolyse de la liaison isopeptidique par l'enzyme intestinale.

L'isodipeptide ϵ -N-L-méthionyl-L-lysine a été synthétisé au laboratoire à partir de techniques classiques de synthèse peptidique (Puigserver *et al.*, 1979). Le peptide normal correspondant α -N-L-méthionyl-L-lysine provient de la firme Bachem. L'hydrolyse des 2 substrats en solution dans du tampon phosphate de sodium 50 mM, pH 7,0 a été réalisée à 37° par des préparations purifiées d'aminopeptidase N de lapin (Feracci et Maroux, 1980) et de porc (Maroux, Louvard et Baratti, 1973). La méthionine libérée par hydrolyse est quantifiée par analyse automatique réalisée sur un appareil Beckman modèle 120 C.

La détermination des paramètres cinétiques (Km et kcat) de l'hydrolyse comparée de l'isodipeptide et du dipeptide normal par les aminopeptidases N de lapin et de porc montre que l'hydrolase la plus représentée de la muqueuse intestinale reconnaît aussi bien la liaison isopeptidique que peptidique et qu'elle peut les cliver avec la même efficacité (tableau).

Hydrolyse comparée d'un dipeptide et de l'isodipeptide correspondant par l'aminopeptidase intestinale

Aminopeptidase N	α -Met-Lys		ϵ -Met-Lys	
	Km (mM)	kcat (s ⁻¹)	Km (mM)	kcat (s ⁻¹)
Lapin	0.35	45	0,17	22
Porc	0.05	70	0,17	31

Ces résultats expliquent la bonne disponibilité de la méthionine fixée sur les résidus de lysine de la caséine lors d'expériences d'alimentation chez le rat (Puigserver *et al.*, 1979). Ils indiquent aussi que les aminopeptidases peuvent intervenir à un stade précoce de la digestion des protéines alimentaires alors que, généralement, leur action se situe au niveau des étapes finales de la digestion. Dans notre cas, l'action de l'aminopeptidase précède forcément celle de la trypsine. Enfin, on peut penser que la méthionine fixée sur les chaînes latérales des acides aspartique ou glutamique est utilisable pour l'organisme comme le suggèrent d'autres travaux portant sur la lysine (Li-Chan *et al.*, 1979).

Feracci H., Maroux S., 1980. Rabbit intestinal aminopeptidase N. Purification and molecular properties. *Biochim. biophys. Acta*, **599**, 448-463.

Li-Chan E., Helbig N., Holbek E., Chau S., Nakai S., 1979. Covalent attachment of lysine to wheat gluten for nutritional improvement. *J. agric. Food Chem.*, **27**, 877-882.

Maroux S., Louvard D., Baratti J., 1973. The aminopeptidase from hog intestinal brush border. *Biochim. biophys. Acta*, **321**, 282-295.

Puigserver A. J., Sen L. C., Clifford A. J., Feeney R. E., Whitaker J. R., 1979. Covalent attachment of amino acids to casein. Bioavailability of methionine and N-acetylmethionine covalently linked to casein. *J. agric. Food Chem.*, **27**, 1286-1293.