

**Hydrolyse enzymatique de l'isotripeptide N- $\epsilon$ -acétyl-L-méthionyl-L-Lysyl-L-alanine amide**, par N. LUPI et A. PUIGSERVER. *Centre de Biochimie et de Biologie moléculaire du C.N.R.S., BP 71, 13402 Marseille Cedex 9, France.*

La N-acétyl-L-méthionine libre (Boggs et al., 1975) ou greffée sur les groupements  $\alpha$ -aminés ou  $\epsilon$ -aminés des résidus de lysine d'une protéine (Puigserver et al., 1978) permet d'améliorer la valeur nutritionnelle des protéines alimentaires. La méthionine N-protégée est ainsi soustraite à toute réaction secondaire de dégradation. Lorsqu'elle est greffée sur une protéine, il y aura également protection de la lysine et on peut s'attendre, dans ce cas, à une modification des propriétés fonctionnelles ou organoleptiques de la protéine modifiée. Ce dernier point est très important si l'on songe à une utilisation possible des protéines ou des acides aminés modifiés en nutrition humaine.

Des expériences nutritionnelles réalisées chez le rat (Puigserver et al., 1979) indiquent que la N-acétyl-L-méthionine greffée sur la caséine est disponible.

L'étude des enzymes responsables de l'utilisation métabolique des peptides et isopeptides N-acétylés a été entreprise. La N-acylpeptide hydrolase intestinale de porc a été ainsi purifiée et caractérisée pour la première fois. La méthode de purification retenue comporte une précipitation sélective au sulfate d'ammonium et 3 chromatographies successives sur DEAE-cellulose, sépharose 6 B et hydroxyapatite. Le substrat synthétique de l'enzyme est la N acétyl-L-alanyl-p-nitroanilide.

La N-acylpeptide hydrolase cytosoluble de l'entérocyte, qui libère des N-acylaminoacides à partir des N-acylpeptides, est une glycoprotéine de 300 000 daltons ( $4 \times 75\ 000$ ) essentiellement localisée au niveau du jéjunum. Cette enzyme a un pH optimum de 7,6 et nécessite la présence de groupements sulfhydryl libres pour être active. L'hydrolyse comparée du tripeptide N- $\alpha$ -acétyl-L-méthionyl-L-lysyl-L-alanine amide et de l'isotripeptide correspondant, tous deux synthétisés au laboratoire, montre que l'enzyme reconnaît aussi bien les 2 structures ( $K_m = 0,78$  mM et  $0,74$  mM, respectivement). Son efficacité catalytique (kcat/km) est sensiblement en faveur du tripeptide :  $59\ s^{-1}\ mM^{-1}$  au lieu de  $17\ s^{-1}\ mM^{-1}$  pour l'isotripeptide. Nous avons pu aussi montrer que les acyl-peptide-hydrolases intestinale, hépatique et rénale de porc sont immunologiquement identiques. L'homologie est partielle avec les enzymes de rat. Bien que le rôle premier de cette enzyme ne soit pas encore élucidé, son efficacité à hydrolyser des liaisons isopeptidiques lui confère une importance indéniable dans l'utilisation biologique des protéines artificiellement modifiées.

Boggs R. W., Rotruck J. T., Damico R. A., 1975. Acetyl methionine as a source of methionine for the rat. *J. Nutr.*, **105**, 326-330.

Puigserver A. J., Sen. L. C., Clifford A. J., Feeney R. E., Whitaker J. R., 1978. A method for improving the nutritional value of food proteins : covalent attachment of amino acids. *Adv. exp. Med. Biol.*, **105**, 587-612.

Puigserver A. J., Sen L. C., Clifford A. J., Feeney R. E., Whitaker J. R., 1979. Covalent attachment of amino acids to casein. 2. Bioavailability of methionine and N-acetyl-methionine covalently linked to casein. *J. agric. Food Chem.*, **27**, 1286-1293.