

Le fragment peptidique (336-449) de la lipase pancréatique de porc (1-449) hydrolyse l'acétate de p-nitrophénol, substrat des estérases, par Josiane De CARO, P. ROUIMI, M. BOUSSET-RISSO, J. BONICEL et Mireille ROVERY. *Centre de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CNRS, 31, chemin Joseph-Aiguier, BP 71, 13402 Marseille Cedex 9.*

Ayant déterminé la séquence des 449 amino acides de la lipase (1), il était intéressant de rechercher si cette enzyme était formée de plusieurs domaines. En général, le segment de séquence qui relie deux domaines a une structure assez lâche, facilement hydrolysée par les enzymes protéolytiques. La chymotrypsine clive préférentiellement la liaison Phe 335-Ala 336 (2). Le fragment B (336-449), isolé par filtration sur Sephadex G-100, a conservé plusieurs propriétés de la lipase. Bien qu'il n'attaque pas les substrats spécifiques de la lipase, il hydrolyse, comme la plupart des estérases, l'acétate de p-nitrophénol. Cette hydrolyse est tout-a-fait comparable à celles effectuées par la chymotrypsine et la lipase selon le mécanisme classique de type acyl-enzyme. On observe au début de l'hydrolyse une rapide libération de p-nitrophénol (1 mol/mol de fragment) qui traduit la formation de l'acétyl-fragment, ensuite une libération plus lente (ordre zéro) due à la déacétylation et à la formation d'un nouveau de l'acétylfragment. De nombreux arguments ont prouvé que l'hydrolyse de l'acétate de p-nitrophénol par la lipase est effectuée par le site catalytique de l'enzyme (3). Il serait assez invraisemblable que le site qui, dans le fragment, préside à l'hydrolyse de l'acétate de p-nitrophénol, ne soit pas le même que celui de la lipase. La présence dans le fragment d'un site catalytique « minimum » est envisagée.

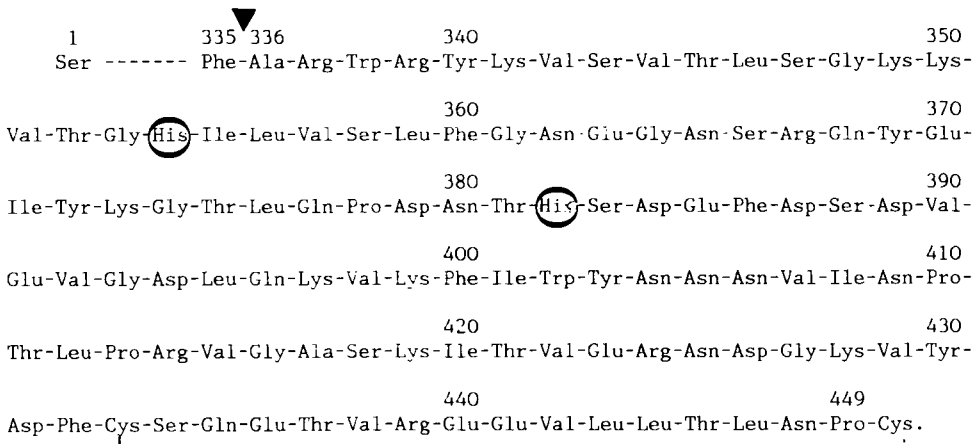


FIG. — Fragment B (336-449) obtenu après hydrolyse chymotrypsique de la lipase native.

- (1) De Caro J., Boudouard M., Bonicel J., Guidoni A., Desnuelle P., Rovery M., 1981. *Biochim. Biophys. Acta*, **671**, 129-138.
- (2) Bousset-Risso M., Bonicel J., Rovery M., 1985. *FEBS Lett.*, **182**, 323-326.
- (3) Chapus C., Sémériva M., Bovier-Lapierre C., Desnuelle P., 1976. *Biochemistry*, **15**, 4980-4987.