

**Il existe un site d'interaction de la lipase avec la colipase dans la région C terminale (336-449) de l'enzyme du pancréas chez le porc**, par Nicole MAHE, C. LEGER, Mireille ROVERY (\*), J.-M. ALESSANDRI. *Station de Recherches de Nutrition, I.N.R.A., 78350 Jouy-en-Josas.* (\*) *Centre de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CNRS, 31, chemin J. Aiguier, 13274 Marseille Cedex 2.*

La lipase et la colipase sont deux protéines génétiquement indépendantes, synthétisées et sécrétées par le pancréas. La lipase catalyse l'hydrolyse des triglycérides alimentaires émulsionnés dans la lumière intestinale. Des substances amphiphiles (sels biliaires, phospholipides) constituent une barrière tensio-active qui empêche l'adsorption de la lipase sur son substrat. La colipase rétablit la lipase à l'interface et lui permet d'exercer son activité lipolytique. Cette enzyme est constituée d'une simple chaîne polypeptidique de 449 acides aminés. Une hydrolyse ménagée par la chymotrypsine (temps d'incubation 15 h, température 25 °C, rapport chymotrypsine/lipase = 0,01) a permis d'obtenir 2 fragments A et B préparés à partir du mélange d'isolipases (Bousset-Risso *et al.*, 1985). Le fragment B est identifié comme la région C terminale de la lipase native (336-449). Ce peptide de PM 12 000 est incapable de s'adsorber à l'interface et ne présente aucune activité envers les triglycérides.

Le peptide B est étudié par chromatographie d'Affinité Haute Performance (CAHP). La résine choisie est le « Lichrosorb diol » (Merck), gel de silice portant à sa surface un groupement fonctionnel : le GPTS (glycidoxypropyltriméthoxysilane). Par oxydation avec l'acide périodique, les fonctions diols sont transformées en aldéhydes qui vont pouvoir réagir avec une fonction amine libre de la colipase : 15 mg de colipase pure sont ainsi fixées par gramme de silice. Une colonne de longueur 5 cm est remplie sous 300 bars. Elle contient environ 0,4 g de silice greffée. Le fragment B est élué de la colonne avec des tampons de pH différents ( $7,2 < \text{pH} < 4,7$ ). Il engage des interactions spécifiques avec le cofacteur immobilisé et la mesure du volume d'éluion varie avec la quantité déposée au sommet du gel. Il obéit donc au modèle théorique déjà vérifié avec le mélange d'isolipases et avec la lipase B (Mahé *et al.*, 1986). Les valeurs de  $K_D$  calculées pour le peptide B sont très voisines de celles obtenues avec le mélange d'isolipases (tabl. 1). De plus, le pH d'interaction maximale relevé entre le peptide B et la colipase est de 5,5, valeur voisine de celle obtenue avec le mélange d'isolipases.

TABL. 1. — Variation de la constante de dissociation  $\bar{K}_D$  (en  $\mu\text{M}$ ) du complexe lipase-colipase et du complexe peptide B-colipase en fonction du pH.

pH	7,20	6,40	5,50	4,70
Mélange d'isolipases	1,16	0,75	0,44	0,49
Peptide B	1,07	0,71	0,47	0,70

Ces résultats suggèrent que le site d'interaction de la lipase avec la colipase est localisé dans la région C terminale et que la protéolyse ménagée a conservé intacte la structure tertiaire du fragment B de la lipase native. Erlanson (1977) a montré qu'au moins un des résidus lysine de l'enzyme joue un rôle dans le site de fixation sur la colipase. Ce résidu essentiel serait donc localisé dans la région C terminale de la lipase.

Bousset-Risso M., Bonicel J., Rovery M., 1985. Limited proteolysis of porcine pancreatic lipase. Lability of the Phe 335-Ala 336 bond towards chymotrypsin. *FEBS Letters*, **182**, 323-326.  
Erlanson C., 1977. Chemical modification of pancreatic lipase. Effect on the colipase-reactivated and the « true » lipase activity. *FEBS Letters*, **84**, 79-82.  
Mahé N., Léger C., Alessandri J. M., 1986. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **26** (sous presse).