

Inactivation des lipases par les protéines. par Y. GARGOURI, G. PIERONI, C. RIVIERE, L. SARDA (*) et R. VERGER. Centre de Biochimie et de Biologie Moléculaire du CNRS, 31, Ch. J. Aiguier, 13402 Marseille Cedex 9, (*) Laboratoire de biochimie, Faculté des Sciences St-Charles, 3, place Victor-Hugo, 13331 Marseille Cedex 3.

Nous avons montré que diverses protéines (sérum albumine bovine, ovalbumine, β -lactoglobuline, mélatine, myoglobine, protéines de soja) exerçaient un effet inhibiteur sur l'hydrolyse d'une émulsion de trioléine et de tributyrine par les lipases pancréatique et de *R. delemar* (1, 2). Avec les substrats émulsifiés, il n'est pas possible de maîtriser les différents paramètres de l'interface. Cela nous a donc conduits à utiliser la technique des films monomoléculaires qui permettent de mieux contrôler la « qualité de l'interface ».

La dicaprine maintenue à une pression superficielle constante de 35 dynes/cm a été sélectionnée comme substrat des lipases. Les résultats obtenus avec cette technique montrent que les protéines utilisées inhibent l'activité des lipases pancréatique et de *R. delemar*. Par contre, aucun effet inhibiteur n'a été observé sur les lipases de *R. arrhizus* et de *G. candidum*. Le transfert de films mixtes protéine inactivatrice-dicaprine montre clairement que seules les protéines adsorbées au film lipidique sont responsables de cette inactivation. L'inactivation ne résulte donc pas d'une interaction entre l'enzyme et la protéine inhibitrice dans la phase aqueuse. L'inhibition n'est pas due non plus à une variation de pression superficielle du substrat, puisque à 35 dynes/cm la dicaprine pure est hydrolysée par les lipases pancréatique et de *R. delemar* alors qu'à la même pression, le film mixte dicaprine-protéine ne l'est pas. L'étude cinétique de l'adsorption des protéines nous a permis de définir 3 paramètres caractéristiques : la vitesse initiale de pénétration $\left(\frac{\Delta\pi}{\Delta t}\right)_{t=0}$; la pression

de surface $\Delta\pi$ max. ; la pression critique de pénétration π_c . Une corrélation positive est observée entre les vitesses initiales de pénétration des protéines inhibitrices dans le film lipidique et leurs capacités respectives à inactiver la lipase (3).

Afin de déterminer les quantités relatives de lipases et de protéines inhibitrices adsorbées au film et responsables de l'inactivation de la réaction d'hydrolyse, nous avons radiomarqué la sérum albumine, la β -lactoglobuline et la lipase de *R. delemar* avec l'isotope 125 de l'iode ; la lipase pancréatique utilisée, quant à elle, est le dérivé [^{14}C -TNB] - lipase.

Une inhibition de 50 % est obtenue lorsque la concentration superficielle en protéine inhibitrice atteint en moyenne 7,5 ng/cm². Si l'on suppose que cette quantité de protéine est complètement dépliée, sous forme d'un feuillet β à l'interface, un recouvrement maximum de 7,5 % de la surface du film lipidique peut être ainsi calculé. Ce recouvrement n'est plus que d'environ 1 % si la protéine maintient sa structure tridimensionnelle native. Etant donné qu'une proportion très importante du substrat demeure donc potentiellement accessible à l'enzyme, l'hypothèse selon laquelle l'inhibition résulterait d'un encombrement stérique à l'interface peut être écartée. De plus, nos résultats montrent clairement que les protéines inhibitrices adsorbées préalablement au film lipidique empêchent les lipases pancréatique et de *R. delemar* de se fixer à son substrat. D'autre part, ces lipases sont désorbées de l'interface lorsqu'une protéine inhibitrice est injectée en cours d'hydrolyse (4).

En conclusion, l'inactivation des lipases par les protéines résulterait d'une variation physico-chimique de l'interface lipide/eau (potentiel, viscosité superficielle, orientation des molécules de lipides...) consécutive à l'adsorption des protéines inhibitrices à l'interface.

(1) Gargouri Y., Julien R., Sugihara A., Verger R., Sarda L., 1984. *Biochim. Biophys. Acta*, **795**, 326-331.

(2) Gargouri Y., Julien R., Piéroni G., Verger R., Sarda L., 1984. *J. Lipid Res.*, **25**, 1214-1221.

(3) Gargouri Y., Piéroni G., Rivière C., Sugihara A., Sarda L., Verger R., 1985. *J. Biol. Chem.*, **260**, 2268-2273.

(4) Gargouri Y., Piéroni G., Rivière C., Sarda L., Verger R., 1986. *Biochemistry*, **25**, 1733-1738.