

Isomérisation de position des glycérides partiels durant la biosynthèse des triglycérides dans la muqueuse intestinale

La monoglycéride transacylase (acyl-CoA:monoglycéride acyltransférase, sous-groupe EC 2.3.1), caractérisée récemment dans la muqueuse intestinale¹, soulève quelques problèmes d'isomérisation de position. Elle doit en effet utiliser les β -MG (réfs. 2 et 3) formés par la lipase pancréatique et, si la spécificité de la diglycéride transacylase est la même dans la muqueuse que dans d'autres tissus^{4,5}, fournir à cet enzyme des α,β -DG. La réaction principale catalysée par la monoglycéride transacylase est donc vraisemblablement :



L'isomérisation des glycérides partiels est très rapide en milieu aqueux⁶. Celle de la β -monopalmitine et de la β -monooléine* en dispersion dans la sérumalbumine à 37° et pH 8.0 (voir la légende de la Fig. 1) est presque totale au bout de quelques minutes. Mais à pH 6.0, où les deux transacylases sont fort actives, les deux composés sont à peu près stables durant 15 min environ. La stabilité des α,β -DG à chaînes longues est également satisfaisante à ce pH durant les incubations et les extractions ultérieures, pourvu que les solvants soient dépourvus d'alcool.

Des préparations riches en monoglycéride et en diglycéride transacylases sont obtenues à partir de muqueuses intestinales de rat¹. Les acyl-CoA radioactifs sont synthétisés à l'avance au moyen d'une technique chimique⁵ ou enzymatique⁷. Les incubations sont réalisées dans les conditions indiquées par les légendes des figures. Après élimination des acides par l'Amberlite IRA-400 forme OH⁻, les glycérides sont

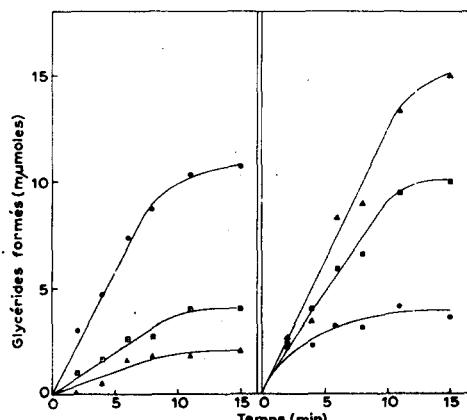


Fig. 1. Cinétique de l'acylation de l' α - et de la β -monopalmitine par le [$1-^{14}\text{C}$]palmitoyl-CoA. Les mélanges¹ contiennent dans 1 ml: 50 mg de sérumalbumine et 0.1 mg d' α -monopalmitine (diagramme de gauche) ou de β -monopalmitine (diagramme de droite). Ils sont 45 mM en KCl, 100 mM en NaCl, 15 mM en phosphate monopotassique, 1.5 mM en MgCl_2 et 1.5 mM en CaCl_2 . Ils sont incubés à 37° et pH 6.0 avec du [$1-^{14}\text{C}$]palmitoyl-CoA (concentration, 0.13 mM) et une quantité d'enzyme correspondant à 0.3 mg de protéines. \square , $\alpha,\beta\text{-DG}$; \circ , $\alpha,\alpha'\text{-DG}$; \blacktriangle , TG.

Abréviations: MG, monoglycérides; DG, diglycérides; TG, triglycérides.

* Les α - et β -MG ainsi que les α,α' -DG ont été préparés au Laboratoire par Drs. P. SAVARY et B. ENTRÉSSANGLES au moyen de techniques classiques⁸. Les α,β -DG ont été isolés par chromatographie d'un hydrolysat de TG par la lipase pancréatique.

fractionnés⁸ sur des couches minces d'acide silicique dans le système éther de pétrole-oxyde d'éthyle (60:40, v/v). Les zones contenant les MG (plus les phosphatides éventuellement présents), les α,β -DG, les α,α' -DG et les TG sont révélés à la rhodamine B et leur radioactivité est comptée par scintillation (spectromètre Tricarb Packard). La radioactivité relativement faible trouvée chez les MG prouve que les possibilités d'échange durant l'incubation sont assez limitées. La radioactivité trouvée chez les DG et les TG traduit donc, au moins pour l'essentiel, une synthèse nette de ces composés¹ et elle permet de la quantifier après soustraction des témoins réalisés en l'absence de MG.

La Fig. 1 permet de comparer l'acylation de l' α - et de la β -monopalmitine pour des concentrations non saturantes de substrat et de palmitoyl-CoA par rapport à l'enzyme. On voit que les produits formés dans les deux cas sont bien différents. L' α -monopalmitine engendre principalement des α,α' -DG, ce qui suggère que la monoglycéride transacylase agit de préférence sur les positions externes de son accepteur. La β -monopalmitine engendre des α,β -DG* et beaucoup de TG. La β -monopalmitine représente ainsi un accepteur plus efficace en vue de la biosynthèse des TG que son isomère α .

Une deuxième série d'expériences, décrites dans la Fig. 2, est réalisée en présence de quantités variables d' α - ou de β -monopalmitine et de quantités uniformément saturantes de palmitoyl-CoA. Malgré l'apparente hétérogénéité des mélanges due à l'insolubilité du substrat, on voit que la représentation de l'inverse de la vitesse**

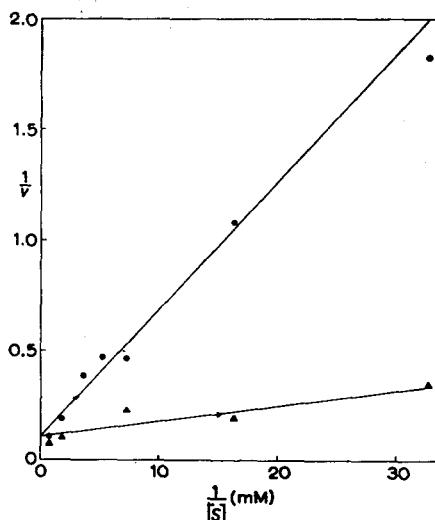


Fig. 2. v_{\max} et K_m de l'acylation de l' α -monopalmitine (○) et de la β -monopalmitine (△) par la monoglycéride transacylase. Les mélanges ont la même composition que dans les essais de la Fig. 1, à l'exception des quantités d' α -monopalmitine ou de β -monopalmitine qui sont variables (abscisses de la figure) et de la concentration uniformément saturante de [$1-^{14}\text{C}$]palmitoyl-CoA qui est égale à $0.22 \cdot 10^{-3}$ M. La durée de l'incubation est de 5 min. Les triglycérides proviennent des diglycérides formés au préalable par la monoglycéride transacylase. La vitesse de la réaction d'acylation des monoglycérides est donc donnée par la somme en μmoles de ces deux types de composés formés en 5 min.

* Les faibles quantités d' α,α' -dipalmitine apparues dans ce cas proviennent évidemment, malgré les précautions prises, d'une légère isomérisation en cours d'opération.

** Déterminée pour une période de 5 min au cours de laquelle les cinétiques sont linéaires (Fig. 1).

en fonction de l'inverse de la concentration du substrat est à peu près linéaire. Les courbes montrent que la position de la chaîne en β dans l'accepteur n'influence pas v_{max} , mais qu'elle diminue considérablement K_m . Un traitement théorique* du problème prouve que la constante d'affinité vraie du complexe monoglycéride transacylase-palmitoyl-CoA est en fait 7 fois plus élevée pour les β -MG que pour les α .

Ainsi, grâce à son affinité plus grande pour les β -MG et sa spécificité dirigée vers les positions externes de l'accepteur, la monoglycéride transacylase forme aisément des α,β -DG. On peut en outre montrer de façon directe que les préparations enzymatiques engendrent les TG presque exclusivement à partir des α,β -DG. La radioactivité incorporée dans les TG est presque nulle lorsque l'accepteur est un α,α' -DG, quelle que soit la nature des chaînes de l'accepteur et de l'acyl-CoA. La biosynthèse des TG dans la muqueuse intestinale s'effectue donc principalement via les β -MG et les α,β -DG, avec, au niveau de ces derniers, une possibilité de raccordement pour la voie classique partant de l' α -glycérophosphate⁴.

L'exécution de ce travail a été facilitée par une aide financière du C.E.A. et de la Fondation Rockefeller.

*Institut de Chimie Biologique, Faculté des Sciences,
Marseille (France)*

G. AILHAUD
D. SAMUEL
P. DESNUELLE

- ¹ J. R. SENIOR ET K. J. ISSELBACHER, *J. Biol. Chem.*, 237 (1962) 1454.
- ² P. SAVARY, M. J. CONSTANTIN ET P. DESNUELLE, *Biochim. Biophys. Acta*, 48 (1961) 562.
- ³ F. H. MATTSON ET R. A. VOLPENHEIM, *J. Biol. Chem.*, 237 (1962) 53.
- ⁴ E. P. KENNEDY, *Ann. Rev. Biochem.*, 26 (1957) 119.
- ⁵ P. GOLDMAN ET P. R. VAGELOS, *J. Biol. Chem.*, 236 (1961) 2620.
- ⁶ F. H. MATTSON ET R. A. VOLPENHEIM, *J. Lipid Res.*, 3 (1962) 281.
- ⁷ A. KORNBERG ET W. E. PRICER, *J. Biol. Chem.*, 204 (1953) 329.
- ⁸ O. S. PRIVETT ET M. L. BLANK, *J. Lipid Res.*, 2 (1961) 37.

Reçu le 6 mai, 1963

* Ce traitement, réalisé au Laboratoire par Dr. M. LAZDUNSKI, sera décrit dans une prochaine publication.