

TABLE I

Stage	Purity*	Times purification
Hemolysate (I)	101	—
Stroma (II)	2,070	20.5
Buffer extract (III)	2,460	24.3
1st AS prec. (IV)	10,100	100.0
3rd AS prec. (V)	8,800	87.2
After Lloyds reagent (VI)	12,000	119.0
Final preparation (VII)	37,200	368.0

* The figures express purity in units activity per mg nitrogen

REFERENCES

- ¹ B. MENDEL AND H. RUDNEY, *Biochem. J.*, 37 (1943) 59.
- ² M. G. ORD AND R. H. S. THOMPSON, *Biochem. J.*, 49 (1951) 191.
- ³ A. LESUK, U.S. Patent, 2,475,793 (1949).
- ⁴ K. BULLOCK, *Biochem. J.*, 49 (1951) vii.
- ⁵ J. MENTHA, H. SPRING AND R. D. BERNARD, *J. Biol. Chem.*, 167 (1947) 623.
- ⁶ C. A. ZITTLE, E. S. DELLA MONICA AND J. H. CUSTER, *Federation Proc.*, 11 (1952) 316.
- ⁷ AMMON, *Pflüger's Arch. Ges. Physiol.*, 233 (1933) 486.
- ⁸ W. A. L. DEKKER, *Klinisch Chemisch Onderzoek*, Leyden 1940, p. 165.

Received November 13th, 1952

SÉPARATION PAR PRÉCIPITATION ACÉTONIQUE DES DEUX CONSTITUANTS DE LA LACTÉNINE

par

J. E. AUCLAIR*

*Station Centrale de Microbiologie et Recherches Laitières, Institut National de la Recherche
Agronomique, Paris (France)*

ET

N. J. BERRIDGE

National Institute for Research in Dairying, University of Reading (England)

Le terme de "lacténine" a été donné par JONES ET SIMMS¹ à une substance existant dans le lait cru, responsable de l'inhibition exercée par ce lait cru sur divers microorganismes et en particulier sur les streptocoques hémolytiques. JONES ET SIMMS montrèrent que cette substance, non dialysable et thermolabile, est précipitée avec les protéines du lait. Ils obtinrent une préparation concentrée de lacténine par digestion trypsique de lactosérum, suivie de dialyse et concentration.

Dans une publication récente², nous avons montré que l'inhibition de *Streptococcus pyogenes* par le lait cru est due en réalité à deux substances distinctes agissant en association, lacténine 1 (L₁) et lacténine 2 (L₂). La teneur du lait en ces deux substances dépend essentiellement du stade de lactation de la vache; le colostrum se montre particulièrement riche en L₁ tandis que L₂ se trouve normalement dans le lait de vache en cours de lactation. Des méthodes ont été décrites pour le dosage de L₁ et L₂ séparément.

* Boursier du British Council au National Institute for Research in Dairying.

Nous avons procédé au fractionnement par l'acétone de la lacténine, suivant une méthode suggérée par le travail de ARKONAS³. Du lactosérum, obtenu par coagulation de lait écrémé par de la présure cristallisée, est refroidi à 0° C et additionné d'un volume égal d'acétone, l'addition se faisant par petites portions et la température étant progressivement abaissée de 0° à -7° C. Le liquide est centrifugé à basse température de façon à ne pas dépasser 3 à 4° C. Le précipité ainsi obtenu est repris dans de l'eau glacée et dialysé pendant 48 heures contre de l'eau distillée maintenue à 2° C. La solution obtenue après dialyse est additionnée d'acétate de sodium jusqu'à une concentration finale de 0.015 M et le pH ajusté à 6.8-7.0. L'acétone est ajoutée comme précédemment par petites portions, mais après chaque addition, le précipité est aussitôt séparé par centrifugation à basse température et repris dans de l'eau glacée. Les fractions ainsi obtenues sont alors soumises au dosage pour leur teneur en L₁ et L₂².

Le tableau ci-dessous donne les résultats d'une expérience effectuée dans ces conditions. Plusieurs expériences semblables ont donné des résultats concordants.

On voit d'une part que les deux substances L₁ et L₂ se retrouvent en bonne proportion dans les fractions précipitées, d'autre part que la substance L₂ est précipitée avec les premières fractions, la substance L₁ avec les dernières fractions. La concentration de ces substances dans les fractions les plus actives (20 à 30 fois l'activité du lactosérum) est comparable aux chiffres de JONES ET SIMMS qui avaient obtenu une fraction 200 fois plus active que le lait¹.

Nous avons pu ainsi obtenir par ce moyen une séparation chimique des deux constituents de la lacténine dont l'existence avait été démontrée par des méthodes purement biologiques.

TABLEAU I
FRACTIONNEMENT DU LACTOSÉRUM PAR L'ACÉTONE À BASSE TEMPÉRATURE

	L ₁		L ₂	
	Nombre total d'unités L ₁ (milliers d'unités)	Activité relative (unités L ₁ par mg du poids sec)	Nombre total d'unités L ₂ (milliers d'unités)	Activité relative (unités L ₂ par mg du poids sec)
Lactosérum (750 ml)	49	1.0	62	1.3
Solution dialysée du premier précipité (190 ml)	42	—	42	—

Fractions dissoutes dans 10 ml	Volume d'acétone ajouté à la solution précédente	L ₁		L ₂	
		Nombre total d'unités L ₁ (milliers d'unités)	Activité relative (unités L ₁ par mg du poids sec)	Nombre total d'unités L ₂ (milliers d'unités)	Activité relative (unités L ₂ par mg du poids sec)
1	45	1.0	3.0	10	30
2	55	1.5	5.5	10	36
3	65	1.5	5.0	7.6	25
4	75	2.2	7.7	5.0	17
5	90	3.4	8.1	5.0	12
6	110	4.5	8.7	2.2	4.3
7	135	12	19	1.0	1.5
8	160	10	23	0.1	0.3
9	190	2.2	12	0.0	0.2
		Total 38.3		Total 40.9	

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ F. S. JONES ET H. S. SIMMS, *J. Exptl. Med.*, 51 (1930) 327.
- ² J. E. AUCLAIR ET A. HIRSCH, *J. Dairy Research*, (sous presse).
- ³ B. A. ARKONAS, *Biochem. J.*, 48 (1951) 42.

Reçu le 30 novembre 1952