

Quelques observations sur le symplexe, pseudoglobuline-lécithine dans le vitellus.

Par Koichi SATO.

(Reçu le 4 Octobre 1940.)

L'étude du symplexe de pseudoglobuline et lécithine présente un grand intérêt biologique et immunologique. Chick a formulé l'hypothèse que l'euglobuline est un complexe, pseudoglobuline-lécithine. Pirotsky et Modern⁽¹⁾ ont recherché si l'insolubilisation de la pseudoglobuline par l'action de la lécithine est un simple changement de degré de dispersion ou bien une véritable transformation chimique. Ils ont décidé immunologiquement que le complexe pseudoglobuline-lécithine se comporte comme la pseudo-globuline exempte d'euglobuline.

La méthode de la délipidation à peu près totale des protéides est celle de Hardy et Gardiner. Il nécessite l'emploi des appareils permettant de réaliser une longue série de lavage des protéides par l'alcool absolu à une température inférieure à -5°C . Ce lavage doit être suivi d'une série d'épuisement à l'éther. Macheboeuf et Tayeau⁽²⁾ ont réussi à trouver les méthodes permettant de délipider, sans dénaturation, par une solution d'oléate de sodium, de palmitate ou dibromstéarates de potassium ou de sodium.

J. Needham et J. R. Robinson⁽³⁾ ont préparé la livetine, pseudo-globuline de vitellus dont la description classique est celle de Kay et Marshall. Ils ont observé une réfraction double d'écoulement assez marquée, thixotropie et rhéopexie chez la livetine. D'après eux, la vitel-

(1) I. Pirotsky et F. Modern, *C. r. soc. Biol.*, **114** (1933), 387-389.

(2) M. A. Macheboeuf et F. Tayeau, *ibid.*, **129** (1938), 1181-1183, 1184-1186.

(3) J. Needham et J. R. Robinson, *ibid.*, **126** (1937), 163-165.

line elle-même ne donnait rien de ces effets, la vitellomucoïde (protéine précipitable par l'alcool après la récolte de la livetine) non plus.

Nous avons étudié si la vitelline est un symplexe, pseudoglobuline-lécithine, qu'on peut préparer sans dénaturation, et en même temps recherché si on peut produire le symplexe par l'addition de lécithine à livetine.

(1) *La séparation de la pseudoglobuline et la lécithine dans le vitellus.* Nous avons employé de diverses méthodes pour la séparation de pseudoglobuline. Les voici:

1°. On peut préparer livetine et lécithovitelline de vitellus d'après Kay et Marshall. On mélange le vitellus avec une solution de chlorure de soude (10 pour 100) et après l'extracton des substances lipidiques avec de l'éther, on précipite la lécithovitelline en soumettant la solution à la dialyse. La livetine précipite quand on porte la solution à la demi-saturation avec le sulfate d'ammonium. La lécithovitelline précipitée par dialyse est extraite avec de l'éther, et puis on l'agite fortement. Mais on ne peut plus voir aucun changement.

2°. On porte la solution (NaCl 10 pour 1000) de lécithovitelline à la demi-saturation avec le sulfate d'ammonium (pH 3.8). On introduit le précipité avec une grande quantité d'éther dans une bouteille, où on place des perles en verre, et on l'agite fortement. Après la répétition de ce traitement, on y verse cinq volumes d'eau et obtient une solution transparente, dont la lécithovitelline délipidée, c'est à dire, pseudoglobuline précipite à demi-saturation avec sulfate d'ammonium. Dans ce cas, une petite partie de protéine pourrait être dénaturée et précipitée.

3°. T. Mori⁽⁴⁾ a employé une solution diluée de chlorure de soude (1 pour 100) au lieu de sa solution concentrée (10 pour 100). Après précipitation avec le sulfate d'ammonium (ajoutant une petite quantité de l'acide chlorhydrique), on agite fortement le précipité dans une bouteille avec des perles en verre. Alors on obtient uniquement pseudoglobuline, livetine.

4°. La lécithovitelline peut être bien séparée par la méthode de Hardy et Gardiner.

5°. On ajoute de l'éther à la lécithovitelline précipitée par le sulfate d'ammonium et on l'expose aux ondes ultrasonores pendant 30 secondes, et puis on renouvelle l'éther et l'expose de nouveau pendant 30 secondes.⁽⁵⁾ On peut ainsi obtenir la pseudoglobuline.

6°. La lécithovitelline peut être délipidée avec l'éther à 40°C. Dans ce cas la dénaturation partielle est inévitable.

7°. On peut séparer par l'emploi de mélange de l'éther et le chloroforme ou bien de l'éther et l'alcool à la température basse.

(2) *Synthèse du symplexe de la livetine et la lécithine.*

Nous ajoutons en agitant fortement deux ou trois gouttes de solution étherique saturée de lécithine dans la solution de la livetine (1 pour 100).

(4) Nous remercions M. Takeshi Mori de l'institut de botanique de l'Université Impériale de Tokyo qui nous a prodigué des conseils judicieux.

(5) M. Nobuzo Narusé, l'assistant de SIOMI-Institut des recherches physiques et chimiques, a trouvé que cette méthode est applicable. Nous l'en remercions bien cordialement.

Au-dessus de pH 4 le symplexe livetine-lecithine précipite complètement, et au-dessous de pH 4 le symplexe est assez instable. En outre, chez la solution de chlorure de soude (10 pour 100), il paraît que le smplexe soit soluble au-dessus de pH 4; tandis qu'au-dessous de pH 4 il précipite comme lécithovitelline. Conséquemment, nous avons filtré la solution salée du symplexe au-dessus de pH 4 avec le papier et l'avons dialysé. Ainsi la précipitation en fut induite. Ce précipité se dissoud dans la solution de chlorure de soude. Quand j'avait déjà écrit ce rapport, j'ai trouvé le travail de Hofer cité par J. A. Smith⁽⁶⁾. Les lécithine-protéines synthétiques ont été produits par Hofer en ajoutant la solution alcoolique de lécithine à l'albumine de la sérum.

L'union chimique entre la pseudoglobuline et la lécithine est séparable au-dessous de pH 4 à l'existence de sulfate d'ammonium par l'éther sous le traitement mécanique. Cette union est instable à l'alcool ou l'éther chauffé.

Malheureusement, il nous manque de méthode pour rechercher la mode d'union entre ces deux substances, et nous ne pouvons pas assurer si les deux pseudoglobuline, livetine et lécithovitelline délipidée sont égales.

Nous tenons à temoigner nos profonds remerciements à M. le Prof. Y. Go qui nous a donné toujours l'aide et l'encouragement.

*L'Institut des recherches de fibre,
L'Université Impériale d'Osaka.*

(6) J. A. B. Smith, *Annual Rev. of Biochem.*, 9 (1940), 110.