

was demonstrated by the important lymphoid depletion and by the increased frequency of amyloidosis. The latter can be interpreted as a sign of immunological exhaustion<sup>9,10</sup>, resulting in our case probably from the joint action of GVH-disease and the antigen-load represented by the LCM-infection.

Further – as morphological basis for the protecting effect of GVH-disease against some ill effects of LCM-infection – an inverse correlation between clinical and histological evidence of runting and typical manifestations of LCM-virus infection was demonstrated. Central nervous system changes typical to LCM-infection appeared only in the few mice escaping GVH-disease, whereas in the others either the central nervous system was not damaged, or, instead of lymphocytic choriomeningitis, a peculiar leukocytic meningoencephalitis developed. Though routine bacteriological examination of the organs of these animals did not show bacterial contamination, infection caused possibly by special microbial agents cannot be ruled out. In this case, the leukocytic infiltration would be merely the result of the increased susceptibility to infections. Notwithstanding, as this finding was observed exclusively in this group of animals, the peculiar meningoencephalitis could also be attributed to the LCM-

virus itself, eliciting special and atypical reaction in an organism with impaired immunological functions.

**Résumé.** Comme conséquence de l'interaction de la maladie homologue produite dans des souris F<sub>1</sub> hybrides adultes et de l'infection avec le virus de la chorioménigite lymphocytique, les signes histologiques de la maladie homologue étaient aggravés. D'autre part, une action protectrice inversement proportionnelle à la gravité des altérations histologiques attribuables à la maladie homologue vis-à-vis des manifestations neurologiques de l'infection avec ce virus était évidente.

M. KOLTAY, B. RADNAI,  
Zs. BÁNOS, I. SZERI,  
P. ANDERLIK and I. VIRÁG

Pediatric Clinic, University Medical School, Szeged,  
Institute of Microbiology,  
University Medical School, Budapest and  
Pathology Department, 'István' Hospital,  
Budapest (Hungary), 8 January 1969.

<sup>9</sup> G. TEILUM, Acta path. microbiol. scand. 61, 21 (1964).

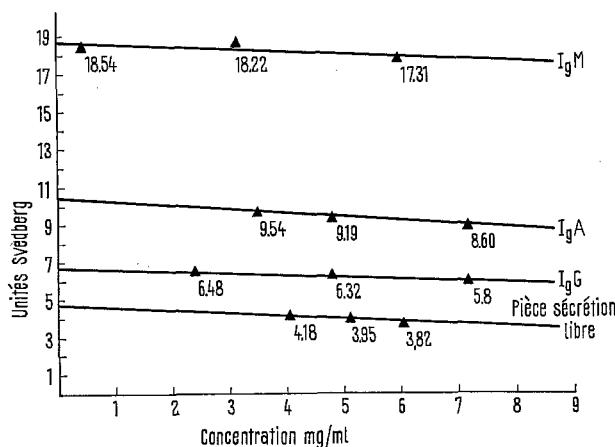
<sup>10</sup> T. J. MUCKLE, Israel J. med. Sci. 4, 1020 (1968).

## Une IgA à coefficient de sédimentation 11 S dans les sécrétions externes de l'espèce bovine<sup>1</sup>

Depuis que TOMASI<sup>2</sup> et HANSON<sup>3</sup> ont démontré la présence d'une IgA particulière, en concentration relativement élevée, dans la salive et le colostrum humain, ce type d'IgA dites de sécrétion, composée d'un dimère d'IgA sérique plus une pièce de sécrétion a été recherché dans plusieurs espèces. Pour l'instant, seuls CEBRA<sup>4</sup> et SELL<sup>5</sup> ont pu isoler, dans le colostrum de lapin, une IgA à coefficient de sédimentation 11 S analogue à celle décrite dans les sécrétions externes humaines. Dans l'espèce bovine, étudiée par les spécialistes des protéines du lait, la situation semblait tout à fait différente. Il existait bien une immunoglobuline très abondante dans le colostrum, isolée par BLANC<sup>6</sup> en 1964, mais cette protéine ne différait pas de son homologue sérique. Il est

maintenant admis que cette immunoglobuline, qui ne contient qu'une faible quantité de glucides et dont le coefficient de sédimentation est de 7 S, est une IgG et non pas une IgA (AALUND<sup>7</sup>, HAMMER<sup>8</sup>). Elle est appelée IgG<sub>1</sub> pour la différencier de la deuxième γ-globuline bovine de mobilité électrophorétique plus lente appelée IgG<sub>2</sub>. Le but de ce rapport est de signaler la présence d'une faible quantité d'IgA 11 S dans le colostrum et la salive bovine et de comparer son coefficient de sédimentation avec celui de l'IgG et de l'IgM, isolées aussi à partir du colostrum bovin.

Cette IgA bovine de mobilité β<sub>2</sub> à γ, a été repérée dans le colostrum bovin total en immuno-électrophorèse par un immunosérum dirigé contre les protéines spécifiques au colostrum (immunsérum anticolostrum absorbé par le sérum bovin). Sa purification a été obtenue par un fractionnement sur DEAE cellulose en paliers et par deux filtrations sur gel de Sephadex G 200. Sur DEAE cellulose cette protéine est élue avec un tampon phosphate pH 7,0, molarité 0,05. Filtrée sur Sephadex G 200, elle sort avant le pic principal d'IgG, prouvant ainsi son poids moléculaire élevé. L'ultracentrifugation analytique de cette fraction, effectuée à trois concentrations diffé-



Coefficient de sédimentation des immunoglobulines et de la pièce de sécrétion libre du colostrum bovin. Valeurs non corrigées par le facteur de viscosité du solvant. (Pour le KCl 0,15 molaire, utilisé ici, le facteur de correction est de 1,033).

<sup>1</sup> Ce texte est le résumé d'une communication faite à la Société Suisse de Biochimie le 17 mai 1969 (un rapport plus détaillé est sous presse dans «Nature»).

<sup>2</sup> T. B. TOMASI, E. M. TAN, A. SALOMON et R. A. PRENDERGAST, J. exp. Med. 121, 101 (1965).

<sup>3</sup> L. A. HANSON, Int. Arch. Allergy appl. Immunol. 18, 241 (1961).

<sup>4</sup> J. J. CEBRA et J. B. ROBBINS, J. Immunol. 97, 12 (1966).

<sup>5</sup> S. SELL, Immunochemistry 4, 49 (1967).

<sup>6</sup> B. BLANC, *Les protéines du lactosérum* (Médecine et Hygiène, Genève 1964).

<sup>7</sup> O. AALUND, *Heterogeneity of Ruminant Immunoglobulins* (Munksgaard, Copenhagen 1968).

<sup>8</sup> D. K. HAMMER, B. KICKHÖFEN et G. HENNING, Europ. J. Biochem. 6, 443 (1968).

rentes, a révélé par extrapolation à une concentration zéro un coefficient de sédimentation de 10,8 S. L'IgG<sub>1</sub> et l'IgM isolées du colostrum bovin donnent des valeurs de 7,1 S et 19,2 S respectivement. Ces chiffres sont obtenus après correction des valeurs déterminées sur la figure, par un facteur de 1,033 dû à la viscosité du solvant, le KCl 0,15 molaire.

La détermination du taux d'hexoses a révélé par la méthode de l'orcinol une valeur de 6% pour la fraction 11 S alors que pour l'IgG, elle n'était que de 1,5%.

L'immunisation de lapins par cette fraction 11 S a permis de produire des immunoséras spécifiques contre cette protéine et d'identifier sa présence en quantité relativement élevée dans la salive de vache. Il existe donc bien dans le colostrum bovin une IgA de sécrétion distincte de l'IgG<sub>1</sub> et de l'IgM et analogue à celle des sécretions externes humaines. Cette protéine n'a pu être démontrée dans le sérum.

Les immunoséras anti IgA ont révélé en outre la présence de pièce de sécrétion libre, c'est-à-dire détachée de l'IgA, dans le colostrum et surtout dans le lait mûr qui ne contient que très peu d'IgA.

Une préparation purifiée de cette pièce de sécrétion libre a permis de déterminer pour cette protéine séparée de l'IgA, un coefficient de sédimentation de 4,95 S (Figure). Cette valeur est légèrement plus élevée que celle trouvée pour la pièce de sécrétion humaine obtenue par réduction et alkylation de l'IgA 11 S (TOMASI<sup>9</sup>).

**Summary.** The sedimentation coefficient of a secretory IgA found in bovine colostrum and saliva is compared with that of IgG and IgM from the same colostrum. The IgA fraction gives a value of 10.8 S, whereas the major part of the IgG has a value of 7.1 S and the IgM 19.2 S. The sedimentation coefficient of the free secretory piece has also been determined: its value is 4.95 S.

J.-P. MACH et J.-J. PAHUD

*Institut de Biochimie de l'Université de Lausanne,  
1005 Lausanne (Suisse), 4 juin 1969.*

<sup>9</sup> T. B. TOMASI et J. BIENENSTOCK, Adv. Immunol. 9, 1 (1968).

## Libération d'un composant du complément par des leucocytes humains in vitro<sup>1</sup>

La chaîne de réactions qui conduit une cellule recouverte d'anticorps spécifiques à sa lyse par le complément est aujourd'hui assez bien connue: L'action de 11 facteurs du complément humain ou de cobaye a pu être mise en évidence dans l'hémolyse immune. Cette suite de réactions est amorcée par la rencontre du premier composant du complément, C1, avec un complexe antigène-anticorps.

Le C1 existe dans le plasma sous forme d'un complexe macromoléculaire de 3 unités, C1q, C1r, C1s, liées par du calcium; ce complexe est facilement dissocié par des chélateurs tels que l'EDTA. Le souscomposant C1q ou composant 11S est la protéine qui s'attache directement sur la molécule d'anticorps. C'est à la suite de cette fixation qu'il y a activation du C1 qui, agissant sur les composants suivants C4 et C2, déclenchera la réaction.

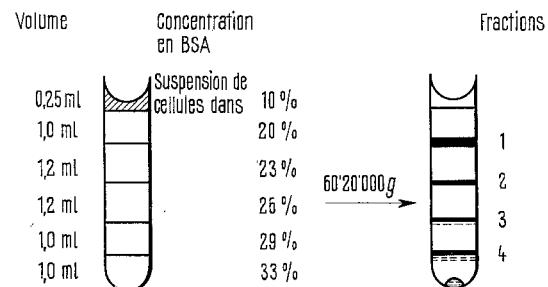
Le C1q peut être purifié à partir de sang frais par précipitation des euglobulines du sérum humain à force ionique faible suivie de chromatographie sur CM-cellulose, filtration sur Sephadex G 200 et électrophorèse préparative<sup>2</sup>.

On aboutit à une protéine hautement purifiée qui migre à l'électrophorèse comme une gamma lente. Injectée à un lapin dans de l'adjuvant de Freund, elle suscite des anticorps qui sont capables de précipiter spécifiquement le C1q, et en outre d'inhiber son activité biologique.

L'activité hémolytique du C1q peut être mesurée en ajoutant du R C1q, c'est-à-dire du sérum frais dépourvu de C1q. L'hémolyse d'érythrocytes de mouton sensibilisés par un anticorps de lapin est mesurée selon la manière classique. Le réactif R C1q est préparé en ajoutant à du sérum humain frais de l'anti-C1q en présence d'EDTA; il y a précipitation du C1q seulement et le surnageant contient tous les autres composants du complément. L'hémolyse peut également être mise en évidence en milieu gélifié: dans un gel d'agarose à 1% contenant des globules rouges sensibilisés et du R C1q on perfore des cavités, on y place les solutions à examiner et incube à 37°C. Une zone d'hémolyse apparaîtra autour des trous contenant le C1q. La réaction est inhibée par l'anticorps spécifique.

Cette technique d'hémolyse en gel a permis d'aborder le problème de la localisation du C1q dans des cellules sanguines. Une suspension de leucocytes humains lavés mélangée à de l'agarose contenant des globules sensibilisés et du R C1q, est coulée en couche mince dans des boîtes de Pétri. Après une heure à 37°C des zones de lyse ou «plaques» apparaissent comme dans la technique de Jerne; ces zones sont centrées sur des cellules mononucléées. Une méthode de séparation de leucocytes a été appliquée pour tâcher de localiser l'activité du C1q dans un groupe de cellules distinct. La technique utilisée, inspirée de celle de DUTTON<sup>3</sup>, consiste en une centrifugation sur un gradient d'albumine des leucocytes provenant de 12 ml de sang hépariné traité au dextran pour éliminer les érythrocytes (figure).

Parmi les quatre couches cellulaires ainsi isolées la fraction 2 est celle qui possède le plus grand nombre de cellules actives. Un exemple de répartition est donné dans le tableau.



Séparation de leucocytes sur gradient d'albumine.

<sup>1</sup> Ce texte est le résumé d'une communication faite à la Société Suisse de Biochimie le 17 mai 1969.

<sup>2</sup> H. MÜLLER-EBERHARD, Adv. Immunol. 8, 1 (1968).

<sup>3</sup> D. J. RAIDT, R. I. MISHELL and R. W. DUTTON, J. exp. Med. 128, 681 (1968).