Institut Pasteur
28 RUE DU Dr ROUX - PARIS XVe
TEL: SÉGUR 01-10
DIRECTION

PARIS, le 3I mars I948

PAR AVION

Dr. J. LEDERBERG
University of Wisconsin
Department of Genetics
MADISON
Wisconsin

Mon cher Joshua,

Je viens de recevoir votre lettre du I7 mars. Je me sens fort coupable de n'avoir pas répondu plus tôt à votre précédente lettre. A la vérité, j'attendais d'avoir quelques résultats sur la lactase de K-I2 ; j'attendais aussi de recevoir les souches que vous aviez mentionnées dans cette lettre. En fin de compte, je n'ai pas reçu ces souches, et je commence à craindre qu'elles ne soient perdues en route.

En ce qui concerne la lactase de K-I2, j'ai obtenu des extraits très actifs. Mais je n'ai pas encore essayé de purification. A priori, j'imagine que le type de purification que j'ai employé pour la lactase de ML doit être adéquat.

Voici l'essentiel de la technique :

1) culture des bactéries en milieu synthétique fortement tamponné avec 1 % de lactose ;

2) centrifugation et lavage avec un tampon phosphate M/I0 , pH 6.8 ;

3) 40 g environ de bactéries (humides) sont mis en suspension dans 50 cc de tampon. On mélange avec du sable fin et on agite pendant 30 minutes dans un appareil à secousses très rapides.

La pâte crémeuse résultant de cette opération est additionnée de I50 cc de tampon. On agite fortement

... / ...

Institut Pasteur
28, RUE DU Dr ROUX - PARIS XVe
TÉL. SÉGUR 01-10
DIRECTION

PAR AVION

et l'on centrifuge pendant I5 minutes à I0.000 tours. Le culot constitué par le sable et les débris bactériens est rejeté. Le liquide surnageant est centrifugé de nouveau à froid pendant 2 heures à I2.000 tours. On élimine le culot (microsomes ??). Le liquide surnageant est éventuellement additionné de tampon de façon à avoir exactement 200 cc de liquide. On ajoute I50 cc de sulfate d'ammoniaque saturé (tampon M/I0, pH 6.8). L'opération se fait à 0°. On centrifuge après 30 minutes à 0°. Le liquide surnageant est rejeté. On reprend le culot par I00 cc de tampon. Ces I00 cc sont additionnés de 50 cc de sulfate d'ammoniaque saturé (toujours dans du tampon à pH 6.8). Après 30 minutes à 0°, on centrifuge de nouveau. Le liquide surnageant est rejeté. Le culot est repris par 3 ou 4 cc de tampon pH 6.8. On agite avec précaution et soigneusement pour redissoudre tout ce qui est soluble. Cette solution trouble est conservée à la glacière pendant une nuit. On centrifuge le lendemain pour éliminer la partie insoluble.

C'est par cette technique que j'ai obtenu les meilleurs résultats. Un point est important : il faut faire la première précipitation par le sulfate d'ammoniaque aussitôt que possible après l'extraction par le sable, sinon la précipitation s'accompagne d'inactivation.

Je n'ai pas encore cherché à pousser la purification beaucoup plus loin. La fraction obtenue par cette méthode est environ I0 à I5 fois plus active que l'extrait brut. Je suis actuellement en train d'essayer de purifier partiellement la maltase, mais cela paraît plus difficile que pour la lactase. Je n'ai pas poursuivi d'essais avec K-I2, la raison principale étant que je n'ai pas obtenu de maltase très active avec cette souche, alors que la maltase de ML est assez active.

J'espère que ces renseignements pourront vous être utiles. Je vous souhaite bonne chance dans vos purifications.

Je continue d'espérer recevoir les mutants maltose négatifs de K-I2 qui m'intéressent fort. J'ai récemment obtenu, d'ailleurs grâce à votre méthode (EMB) des mutants maltose négatif de ML. Je vais essayer aussi d'ob-

... / ...

Institut Pasteur
28, RUE DU Dr ROUX - PARIS XVe
TEL: SÉGUR 01-10
DIRECTION

PAR AVION

tenir des mutants tréhalose-négatif.

Continuez de me tenir au courant ; j'essaierai pour ma part d'être un meilleur correspondant.

Bien amicalement à vous,

Jacques Monod

J. MONOD

P.S.- Depuis le début de ces essais sur les disaccharidases, j'ai été gêné par l'absence de méthode rapide et précise pour mesurer l'hydrolyse du lactose et du maltose. J'ai essayé la méthode de Tauber et Kleiner avec des résultats fort médiocres. Nous venons de mettre au point une technique qui utilise la "notatine" (glucose oxydase du Penicillium) ; cela marche à merveille et permet de faire les mesures d'activité en Warburg ce qui est extrêmement rapide et commode. Si cela vous intéresse, je vous enverrai les détails.