

---

## Sur l'extractibilité des protéines de structure des muscles de Tortue et ses modifications au cours de la contraction

Marcel Dubuisson

### Résumé

Les protéines de structure (myosine et actomyosine) ont, chez la Tortue, les mêmes propriétés électrocinétiques que chez les Poissons, Batraciens et Mammifères.

Dans l'état de contraction, les forces de liaison de ces protéines sont renforcées, mais il n'apparaît pas de contractine comme chez les Mammifères.

---

### Citer ce document / Cite this document :

Dubuisson Marcel. Sur l'extractibilité des protéines de structure des muscles de Tortue et ses modifications au cours de la contraction. In: Bulletin de la Classe des sciences, tome 39, 1953. pp. 35-41;

doi : <https://doi.org/10.3406/barb.1953.69826>;

[https://www.persee.fr/doc/barb\\_0001-4141\\_1953\\_num\\_39\\_1\\_69826](https://www.persee.fr/doc/barb_0001-4141_1953_num_39_1_69826);

---

Fichier pdf généré le 22/02/2024

**Sur l'extractibilité des protéines de structure des muscles de Tortue et ses modifications au cours de la contraction,**

par M. DUBUISSON,

Correspondant de la Classe.

(Laboratoire de Biologie générale, Faculté des Sciences, Université de Liège).

*Résumé.* Les protéines de structure (myosine et actomyosine) ont, chez la Tortue, les mêmes propriétés électrocinétiques que chez les Poissons, Batraciens et Mammifères.

Dans l'état de contraction, les forces de liaison de ces protéines sont renforcées, mais il n'apparaît pas de contractine comme chez les Mammifères.

Nous avons montré antérieurement (DUBUISSON, 5, 6, 7 ; CREPAN, 1) que, chez le Lapin, les états de contraction et de contracture (celle-ci provoquée par des agents pharmacologiques ou par le *rigor mortis*) sont accompagnés de diminutions considérables de l'*extractibilité* de certaines protéines de structure (myosine, actomyosine, protéine Y) tandis qu'une autre protéine, appelée myosine  $\gamma$  ou contractine, devient extractible.

Chez le Lapin, lors de la contraction induite par stimulation électrique, les résultats ne sont pas constants, pour des raisons qui tiennent à des difficultés expérimentales : le temps de la secousse simple est trop bref pour que l'on puisse à coup sûr immobiliser le muscle dans l'air liquide, avant que la mise en tension des fibres soit terminée. Le recours aux contractions téaniques est encore moins sûr, puisque les processus fondamentaux de contraction et de relâchement se succèdent ici alternativement et que, si la tension mécanique reste constante dans un téanos parfait, ceci n'est dû qu'à l'intervention passive d'éléments élastiques (voir HILL, 13).

Les muscles de Tortue, en raison de la lenteur relative de la

secousse simple, constituent un matériel de choix pour l'étude des modifications physico-chimiques qui accompagnent les différentes étapes du cycle de la contraction. A 0° C, la période de tension croissante qui suit un stimulus électrique dure 3,5 secondes, temps suffisant pour que l'expérimentateur ait le temps de congeler le tissu par immersion dans l'air liquide, avant que les fibres n'aient commencé de se relâcher.

Nous avons donc pensé qu'il était indiqué d'étudier l'extractibilité des protéines de structure des muscles de la Tortue et de vérifier si, pendant le cycle de la contraction, on observe des modifications analogues à celles constatées antérieurement chez le Lapin.

#### TECHNIQUE.

Deux types de muscles ont été utilisés : *Fileofibularis* <sup>(1)</sup> et le *retractor capitis* de *Testudo graeca*. Ces muscles, surtout le dernier, doivent être isolés avec le moins d'atouchements possible : ils se mettent facilement en état de contracture prolongée. Ils fournissent, dans ces conditions et sans autre intervention, des extraits semblables aux muscles contractés par stimulation. Pour éviter cet inconvénient, nous avons trouvé utile, dès l'exérèse des muscles, de les immerger dans une solution de Ringer saturé de 5 % de CO<sub>2</sub> et de 95 % d'O<sub>2</sub> pendant une heure, dans la chambre froide, après les avoir fixés, par les morceaux d'os laissés à leurs extrémités, à un support qui permet de les maintenir à une longueur correspondant à peu près à celle qu'ils présentent *in vivo* et *in situ*, à l'état relâché. Cette précaution a pour effet de permettre d'obtenir des extraits de composition plus reproductible.

La stimulation du muscle se fait par décharge d'un condensateur de 10 $\mu$ F, chargé à 12 volts. L'augmentation de tension est enregistrée sur papier enfumé. Au moment choisi, un récipient contenant la substance réfrigérante est brusquement relevé, de manière que le muscle tout entier, son support et les électrodes d'excitation, soient immergés en un temps aussi bref que possible.

<sup>(1)</sup> Terminologie de Gadow (10).

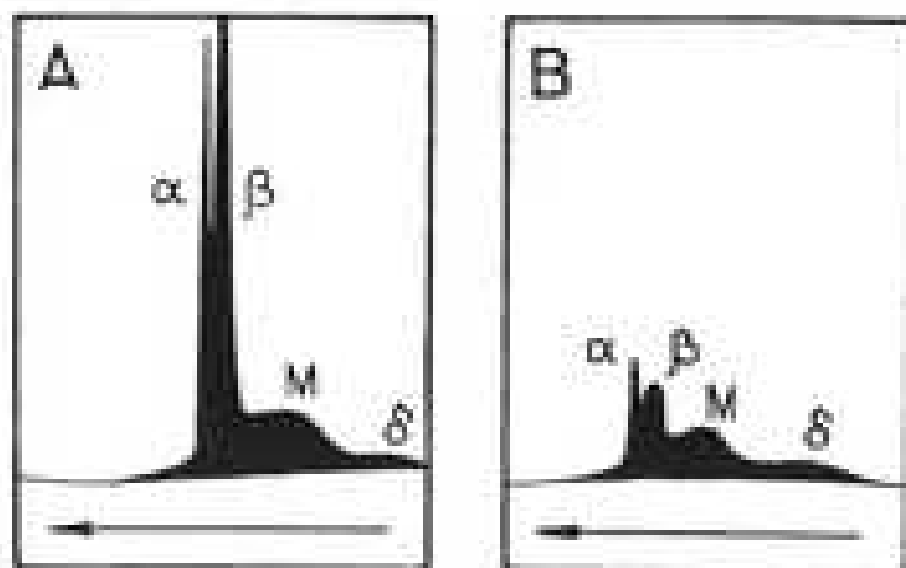


FIG. 1. — Diagrammes électrophorétiques d'extraits de muscles de Tortues (*retractor capitis*). Solution d'extraction :  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  :  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$   $\mu$  0,15 :  $\text{NaCl}$   $\mu$  0,30, pH : 7,40, 3 volumes. Temps d'extraction : 20 minutes. Extraits dialysés contre  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  :  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$   $\mu$  0,15 :  $\text{NaCl}$   $\mu$  0,20, pH 7,40.

A. Muscle normal, reposé dans du Ringer oxygéné pendant 1 heure. 54.800 secondes d'électrophorèse à 1.39 volts/cm<sup>2</sup>.

B. Muscle homolatéral reposé de la même manière, mais congelé ensuite dans l'isopentane pendant la période de tension croissante (tracécourcissement isotonique de 10,1 cm à 7,2 cm), puis traité de la même manière que le muscle A témoin.

M, myogène :  $\beta$ , myosine ;  $\alpha$ , actomyosine.

Dans nos premiers essais, nous avons utilisé l'air liquide comme liquide congélateur. Cette substance présente l'inconvénient d'entrer en ébullition au contact du muscle et le bouillonnement qui en résulte crée une couche de bulles d'air isolantes qui perturbent la régularité et l'instantanéité de la congélation. Aussi, après avoir vérifié que l'isopentane n'a, par lui-même, aucune action sur l'extractibilité des protéines de structure, nous avons remplacé l'air liquide par l'isopentane préalablement refroidi dans l'air liquide. Le point d'ébullition de l'isopentane <sup>(1)</sup> étant de 28° C., la congélation se fait rapidement et sans à-coups.

L'extraction des protéines des muscles de Tortue, reposés ou contractés, est effectuée comme il est d'usage dans ce laboratoire :

<sup>(1)</sup> Butane 2-méthyle.

pulpe musculaire obtenue avec un microtome automatique à congélation (DUBUISSON, 3) et extraction par des solutions tampons appropriées (DUBUISSON, 5). L'analyse des extraits est effectuée par l'appareil de Tiselius-Longsworth (DUBUISSON, DISTÈCHE et DEBOT, 8).

## RÉSULTATS.

### *Muscles au repos.*

Les myosines n'apparaissent dans les extraits que si la force ionique des solutions d'extraction atteint ou dépasse 0.45 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{NaH}_2\text{PO}_4$   $\mu$  0.15 +  $\text{NaCl}$  0.30  $\mu$ , pH 7.40).

Ces myosines sont la myosine proprement dite (gradient électrophorétique  $\beta$ ) et l'actomyosine (gradient électrophorétique  $\alpha$ ), avec une proportion beaucoup plus élevée de la première si le temps d'extraction ne dépasse pas 30 minutes. Les vitesses de ces deux gradients, aux mêmes pH et force ionique, sont identiques chez la Tortue, le Lapin (DUBUISSON, 2, 4), la Grenouille (GODEAUX, 11), la Carpe (HAMOIR, 12) et le Homard. (DUBUISSON-BROUHA, 9).

Si l'on augmente la force ionique de la solution d'extraction, il faut atteindre une valeur de  $\mu$  1.00 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  :  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$   $\mu$  0.15 +  $\text{NaCl}$   $\mu$  0.85) pour qu'une modification apparaisse sur les clichés : elle consiste en l'apparition d'une protéine, de vitesse beaucoup plus élevée que les myosines, représentée par la lettre Z sur la figure 2 (sa vitesse, au pH 7.30,  $\mu$  0.35 est - 3.40 cm/volt/sec.). Chez le Lapin, l'utilisation d'extraits de force ionique élevée ( $> 0.50$ ) conduit également à l'extraction d'une protéine qui n'existe pas dans les extraits de moindre force ionique : c'est la protéine Y ; mais sa vitesse est ici plus faible que celle des myosines (- 2.7 cm/volt/sec.). La seule analogie existant ici entre le gradient Z de la Tortue et la protéine Y du Lapin repose donc sur le fait que tous deux n'apparaissent dans les extraits que si ceux-ci sont préparés avec des solutions de force ionique considérable. Nous verrons plus loin, à propos des muscles contractés, que cette analogie n'est pas la seule.

Nous avons vu antérieurement que, chez le Lapin (DUBUISSON, 7), les solutions à base d'iodures ou de pyrophosphates,

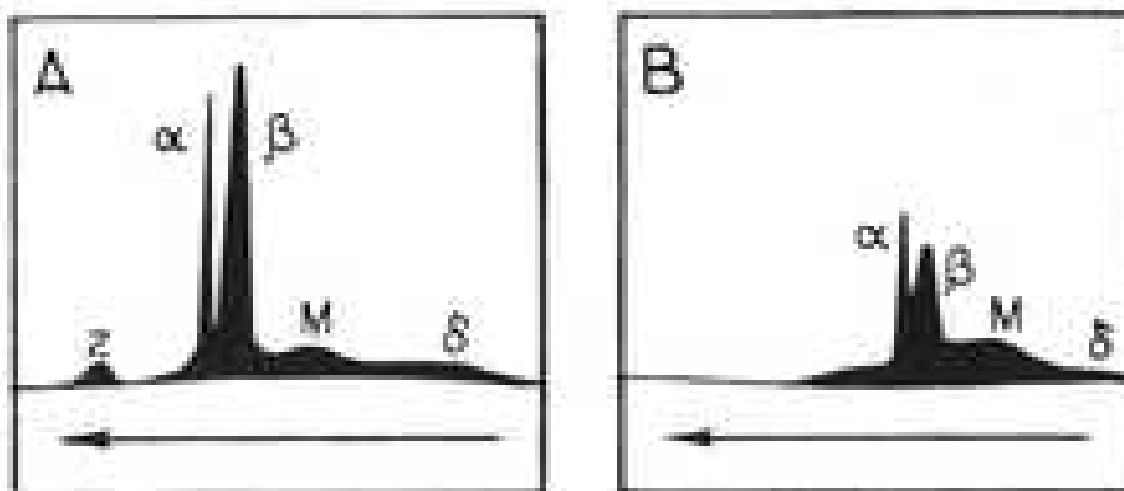


Fig. 2. — Idem que fig. 1, mais la solution d'extraction est ici :

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$  —  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$   $\mu$  0.15 —  $\text{NaCl}$   $\mu$  0.85, pH 7.20

Dans le tracé correspondant au muscle témoin normal et reposé (A), on remarque la présence de la protéine Z, qui disparaît dans l'état de contraction (B).

ont un grand pouvoir d'extraction. Chez la Tortue, les solutions de pyrophosphates ( $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7$ , 10  $\text{H}_2\text{O}$ , 44.2 gr/litre) fournissent des extraits semblables à ceux obtenus par les solutions de phosphates/ $\text{NaCl}$   $\mu$  1.00, avec cependant moins d'actomyosine, tandis que les solutions d'iodure ( $\text{KI}$  8.3 % +  $\text{NaHCO}_3$  0.03 m), même après 15 minutes d'extraction, donnent au contraire beaucoup d'actomyosine et point de myosine.

#### *Muscles en contraction.*

Comme chez le Lapin, aucune modification dans la distribution qualitative et quantitative des protéines *aisément extractibles* du muscle de Tortue n'apparaît lorsque le muscle est en état de contraction. Par contre, une extractibilité nulle ou très fortement diminuée de la myosine ( $\beta$ ) et de l'actomyosine ( $\alpha$ ) accompagne la mise en tension du muscle tandis que, dans aucun cliché électrophorétique d'un extrait de muscle contracté de Tortue, on n'aperçoit la contractine ou myosine  $\gamma$ , extractible du muscle contracté de Lapin.

Si l'extrait a été préparé avec une solution d'extraction de  $\mu$  1.00, le gradient Z, présent dans les extraits de muscles au

repos, est *absent* dans ceux des muscles contractés. A ce point de vue, la protéine Z du muscle de Tortue présente une autre analogie avec la protéine Y du muscle de Lapin.

#### DISCUSSION.

De tout ceci il résulte que, bien que chez la Tortue comme chez le Lapin, la Souris, la Grenouille, la Carpe, le Homard, on peut extraire deux protéines de structure (la myosine et l'actomyosine), présentant des propriétés de solubilité, optiques et électrocinétiques remarquablement identiques, les conditions nécessaires à leur extraction sont différentes. Tandis que des myosines apparaissent déjà dans les extraits de muscles de Homard à  $\mu$  0.20 (DUBUISSON-BROUHA, 9), il faut  $\mu$  0.35 chez le Lapin et la Grenouille (DUBUISSON, 3 ; GODEAUX, 11),  $\mu$  0.45 chez la Tortue et  $\mu$  0.50 chez la Carpe (HAMOIR, 12). Il s'agit là, sans doute, d'une inégalité dans les forces de liaison qui maintiennent ces protéines en place *in vivo* et *in situ*. Remarquons que cette inégalité est sans rapport avec les propriétés fonctionnelles de ces muscles et il paraît particulièrement intéressant de constater que des muscles à contraction lente (Tortue) ou rapide (Grenouille, Homard), contiennent des protéines de structure qui paraissent identiques.

Identiques aussi sont les brusques renforcements des forces de liaison de ces protéines dans l'état de contraction ou de contraction, du moins chez le Lapin, la Grenouille et la Tortue (des recherches de ce genre n'ont point encore été entreprises ni chez le Homard ni chez la Carpe). Chez le Lapin, la Grenouille et la Carpe, il existe une autre protéine de structure que nous avons appelée protéine Y (DUBUISSON, 7) et qui, dans les trois cas, n'est extractible que par l'emploi de forces ioniques très élevées. Chez la Tortue, les images électrophorétiques montrent également une protéine qui n'apparaît que si la force ionique de l'extrait est élevée ; mais cette protéine n'a pas la même vitesse électrocinétique que la protéine Y (nous l'avons appelée ici gradient Z sur nos clichés). Ces deux constituants ont cependant en commun (a) d'être difficilement extractibles et (b) d'être absents des extraits de muscles contractés.

Enfin, la contractine, extractible des muscles contractés du Lapin, n'a pu être retrouvée ni chez la Grenouille ni chez la Tortue. Il n'est pas possible dès à présent de savoir si cette différence tient à une composition dissemblable des éléments structuraux fondamentaux de ces muscles, ou, plus simplement, à des degrés de liaison variables qui font que l'extraction, aisée chez le Lapin, n'a pas pu encore être réussie chez les autres espèces étudiées.

---

#### BIBLIOGRAPHIE

1. CREPAN, P., JACOB, J. et SELDESCHUTS, J., Contribution à l'étude des protéinogrammes électrophorétiques d'extraits de muscles contracturés. *Biochim. Biophys. Acta*, 1950, **4**, 410.
2. DUBUISSON, M. et PEZET, H., Étude électrophorétique des myosines de muscles au repos et fatigués, de Mollusques et de Mammifères. *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 800.
3. DUBUISSON, M., Accessibilité, solubilité et association, in situ, de la myosine  $\beta$ . *Experientia*, 1947, **3**, 372.
4. - Étude électrophorétique des protéines musculaires. *Bull. Acad. Sc. Belg.*, 1947, **33**, 769.
5. - Muscle activity and muscle proteins. *Biolog. Reviews*, 1950, **25**, 46.
6. - Some physical and chemical aspects of muscle contraction and relaxation. *Proc. Roy. Soc., London*, B, 1950, **137**, 63.
7. - Influence de la nature des ions sur l'extractibilité des protéines de muscles au repos ou contracturés. *Biochim. Biophys. Acta*, 1950, **5**, 489.
8. DUBUISSON, M., DISTÈCHE, A. et DEBOT, A., Appareillage d'électrophorèse du type Tiselius-Longworth réalisable au laboratoire. *Biochim. Biophys. Acta*, 1950, **6**, 97.
9. DUBUISSON-BROCHA, A., Recherches sur les protéines musculaires du Homard. *Bull. Ac. Roy. Sc. Belg.*, sous presse.
10. GADOW, H., Beiträge zur Myologie der hinteren Extremität der Reptilien. *Morphol. Jahrbuch*, 1882, **7**, 329.
11. GODEAUX, J., Recherches électrophorétiques sur les myosines de la Grenouille. *Bull. Ac. Roy. Sc. Belg.*, 1952, **38**, 1163.
12. HAMOIR, G., The electrophoretic study of the muscle structural proteins. *Trans. Faraday Soc.*, sous presse.
13. HILL, A. V., A discussion on muscular contraction and relaxation: their physical and chemical basis. *Proc. Roy. Soc., London*, B, 1950, **137**, 40.