

INFLUENCE DE LA NATURE DES IONS SUR L'EXTRACTIBILITÉ DES PROTÉINES DE MUSCLES AU REPOS OU CONTRACTURÉS

par

M. DUBUISSON

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

1. Si l'on agite de la pulpe musculaire de Lapin, hachée au microtome à congélation (DUBUISSON¹), pendant 15 minutes avec 1.5 vol. de solution de KCl de force ionique 0.5, on obtient un extrait qui fournit, après dialyse, le cliché électrophorétique représenté Fig. 1 (Technique de TISELIUS-LONGSWORTH). On y distingue (DUBUISSON²) les protéines du groupe du myogène (M), des globulines: α , actomyosine β , myosine β , protéine Y (cette dernière, le plus difficilement extractible, n'apparaît que si la force ionique de la solution d'extraction est ≥ 0.5) et une ou plusieurs composantes plus rapides. Il existe une si forte asymétrie cathode — anode que les images cathodiques sont malaisées à interpréter.

L'emploi de solutions d'extraction de force ionique équivalente, mais préparées avec d'autres électrolytes, fournit des extraits différemment riches en protéines, comme le montre le tableau ci-dessous:

TABLEAU I

	Concentration saline utilisée	Concentration de l'extrait en protéines totales
Acétate de K	2.00 m	3.35 %
CaCl ₂	0.33 m	4.55 %
KCl	0.5 m	6.00 %
Pyrophosphate de K	0.09 m	6.4 %
KI	0.5 m	6.85 %

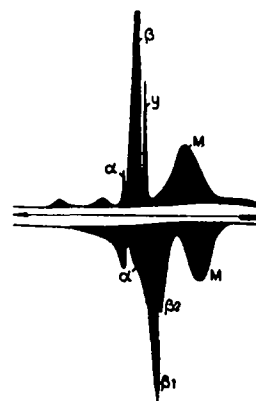


Fig. 1. Tracé électrophorétique d'un extrait de muscle de Lapin préparé en faisant agir 1.5 volumes de solution de KCl 0.5 m, dialysé contre NaCl + phosphates (μ 0.40, pH 7.39). Au dessus, frontières ascendantes; en dessous, frontières descendantes. 77 000 secondes d'électrophorèse à 1.65 volt/cm

On voit qu'avec les pyrophosphates et KI, l'on extrait environ deux fois plus de protéines qu'avec l'acétate de K.

Mais le taux de toutes les protéines extractibles du muscle n'est pas augmenté de

façon parallèle: les différences portent sur le groupe α , β et surtout Y, comme le montrent les diverses images de la Fig. 2.

Ces variations doivent être attribuées à l'action dissociante plus ou moins grande — selon la nature des ions utilisés — des électrolytes sur les forces de liaison qui maintiennent, *in loco et in situ*, ces différentes protéines en place. Les pyrophosphates et KI sont les électrolytes qui possèdent l'action la plus efficace sur ces forces, surtout sur celles qui maintiennent en place la protéine Y.

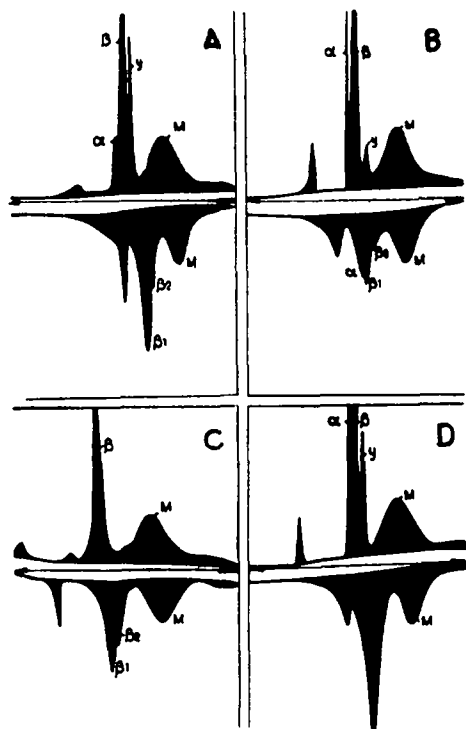


Fig. 2. Idem que Fig. 1, mais en A: extrait par KI, en B: par CaCl_2 , en C: par l'acétate, en D, par le pyrophosphate. Voir texte.

2. Mais ces forces de liaison, *in vivo et in situ*, sont de solidité différente, dans un même muscle, selon que celui-ci se trouve à l'état de repos et relâché ou à l'état contracté ou de contracture. C'est ainsi que si l'on utilise une solution d'extraction au KCl, le cliché électrophorétique correspondant à l'extrait du muscle contracté (par stimulation et immobilisation instantanée dans l'air liquide, DUBUISSON²) ou contracturé (par *rigor mortis* ou par le monobromacétate, CREPAX, JACOB ET SELDESLACHTS³) diffère de celui du muscle normal par un certain nombre de caractéristiques bien reproductibles: absence de myosine β et de protéine Y et apparition d'une composante nouvelle: la contractine. Tout se passe comme si, dans un muscle contracté, les protéines β et Y se trouvaient liées de telle façon que la solution de KCl ne peut plus les dissocier de leur support tandis qu'au contraire la contractine, inextractible d'un muscle au repos, se trouvait accrochée de façon beaucoup plus lâche dans un muscle contracté (DUBUISSON⁴).

Il s'imposait par conséquent d'étudier, dans le cas du muscle contracté, l'action d'autres solutions d'extraction que celle constituée de KCl, et en particulier la solution de KI qui possède une action très efficace sur les forces de liaison des protéines du groupe α , β et surtout Y.

On voit, par la comparaison des deux clichés de la Fig. 3, correspondant à un même muscle contracturé, extrait d'une part par la solution classique de KCl, d'autre part par la solution de KI, qu'il existe d'énormes différences. Dans le cas du KCl, on obtient le cliché caractéristique des contractures: absence de myosine β et peu ou point de protéine Y, présence de quantité appréciable de contractine (indiquée par γ sur la Fig. 3, pour des raisons que nous verrons plus loin). Dans le cas du KI, on retombe sur une figure qui ne se différencie pas de celle d'un muscle au repos et relâché: présence de quantités abondantes de myosine β et de protéine Y, absence de contractine*.

* Le fait que la contractine et la myosine β (plus la composante Y) sont des protéines dont la présence s'exclue dans une certaine mesure dans les extraits pourra peut-être jeter quelque lumière sur les relations qui peuvent exister, *in vivo et in situ*, sur ces composantes.

Ces faits prouvent que l'inextractibilité de certaines globulines musculaires dans l'état de contraction est bien, comme nous l'avions supposé antérieurement (DUBUISSON⁴), une notion quantitative: l'extractibilité d'une protéine dépend à chaque instant de deux facteurs: l'intensité des forces de liaison qui la maintiennent dans le muscle et le pouvoir de dissociation que possèdent les électrolytes utilisés pour l'extraction.

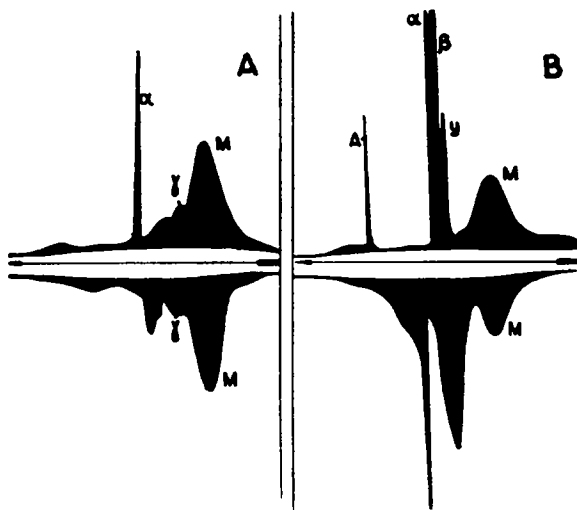


Fig. 3. En A, extrait par KCl (cf. Fig. 1) de muscle contracturé par *Rigor mortis*: pas de myosine β ni de protéine Y, mais présence de contractine (γ). En B, même muscle, mais extrait par KI 0.6 M. La myosine β et la protéine Y sont libérées, ainsi qu'une composante rapide (A) qui est de l'actine dépolymérisée (voir M. DUBUISSON, *Biochim. Biophys. Acta*, 5 (1950) 426).

Si ces expériences ne nous permettent pas encore d'être informés sur la nature de ces forces de liaison, elles sont cependant susceptibles de nous indiquer: a. que ces forces varient selon le moment du cycle de la contraction et b. que les ions, selon leur nature, ont une action labile sélective sur ces forces.

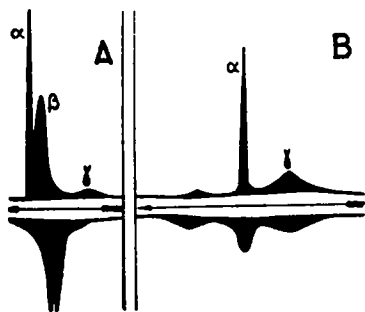


Fig. 4. En B, myosine de WEBER-EDSALL préparée à partir de muscles contracturés par le *Rigor mortis*: absence de myosine β , présence de contractine (γ).

En A, même muscle, mais la myosine de WEBER-EDSALL est préparée à partir d'un extrait au KI.

à la myosine γ décrite antérieurement (DUBUISSON⁶, ?), ce qui avait déjà été suggéré (DUBUISSON⁴).

RÉSUMÉ

L'extractibilité de l'actomyosine, de la myosine β et de la protéine Y dépend:

1. De la solidité des forces de liaison qui maintiennent ces protéines *in loco* et *in situ*;

2. Du pouvoir de dissociation des sels qui entrent dans la composition de la solution d'extraction.

Ceci explique pourquoi la myosine β et la protéine Y, qui sont inextractibles d'un muscle contracté si on utilise KCl, deviennent extractibles si on utilise par exemple KI.

La contractine, qui est une protéine largement représentée dans les extraits de muscles contractés, est identique à la myosine γ précédemment décrite.

SUMMARY

The extractability of the muscle globulins: actomyosin, β myosin and Y protein depends upon the firmness of the binding forces which maintain those proteins *in loco* and *in situ* and upon the dissociation power of the salts used. This explains why β myosin and Y protein, which are inextractable from contracted muscle by KCl, become extractable by KI.

Contractin, which is a protein largely present in the contracted muscle extracts, is the same protein as the γ myosin previously described.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Extrahierbarkeit der Muskelglobuline: Aktomyosin, β -Myosin und Y-Protein hängt von der Stärke der Bindungen ab, welche diese Proteine *in loco* und *in situ* halten und von der dissoziierenden Wirkung der zur Extraktion verwendeten Salze. Dies erklärt warum β -Myosin und Y-Protein die aus dem kontrahierten Muskel durch KCl nicht extrahiert werden können, durch KI wohl extrahiert werden.

Contractin, ein Protein, das im kontrahierten Muskel viel vorkommt, ist identisch mit dem früher beschriebenen γ -Myosin.

BIBLIOGRAPHIE

¹ M. DUBUISSON, *Experientia*, 3 (1947) 372.

² M. DUBUISSON, *Experientia*, 4 (1948) 437.

³ P. CREPAX, J. JACOB ET J. SELDESCHLAGTS, *Biochim. Biophys. Acta*, 4 (1950) 410.

⁴ M. DUBUISSON, *Biochim. Biophys. Acta*, 4 (1950) 25.

⁵ J. P. GREENSTEIN ET J. J. EDSALL, *J. Biol. Chem.*, 123 (1940) 397.

⁶ M. DUBUISSON, *Experientia*, 2 (1946) 258.

⁷ M. DUBUISSON, *Exposés annuels de Bioch. Méd.*, 9e série, Paris 1947.

Reçu le 5 décembre 1949