

## APPAREILLAGE D'ÉLECTROPHORÈSE DU TYPE TISELIUS LONGSWORTH RÉALISABLE AU LABORATOIRE

par

M. DUBUISSON, A. DISTÈCHE \* ET A. DEBOT

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

M. DUBUISSON ET J. JACOB<sup>1</sup> ont décrit, en 1945, un appareillage d'électrophorèse dont la construction pouvait être entreprise aisément dans n'importe quel laboratoire ayant à sa disposition un atelier de mécanique bien équipé.

Depuis 1945, nous n'avons cessé de développer et d'améliorer notre technique, afin d'obtenir un matériel robuste, de maniement facile, bien adapté à l'étude des protéines musculaires dont nous nous occupons principalement. Les caractéristiques techniques imposées par la nature des solutions souvent visqueuses, turbides et colorées de protéines du muscle n'empêchent pas l'utilisation de nos cellules pour d'autres problèmes analytiques de la chimie des protéines.

A la demande d'un grand nombre de chercheurs, nous présenterons ici les détails de la construction de notre appareillage. Cette première note est relative aux cellules d'électrophorèse.

Les avantages que l'on retire de la fabrication de ses propres cellules à électrophorèse compensent largement et au delà les difficultés techniques:

1. le nombre de cellules dont on peut disposer est illimité (prix de revient peu élevé; durée de construction de quelques jours);
2. les réparations se font aisément;
3. on peut adapter la forme et la capacité de la cellule à un problème analytique particulier.

### I. DESCRIPTION DES CELLULES D'ÉLECTROPHORÈSE ET DE LEURS ACCESSOIRES

#### *A. Cellules*

Dans toutes nos cellules, l'établissement des limites de séparation entre les solutions tampon et de protéine se fait par le *cisaillement rotatif* de plateaux en verre. Il en résulte une *commande mécanique centrale*, une *symétrie radiale* entraînant un centrage rigoureux et automatique, un montage rapide et un maniement aisé.

La cellule se compose de trois parties (voir Fig. 1 et 2):

1. une partie supérieure (*I*) constituée de deux tubes en Y de section circulaire, portés par un plateau (*1*);
2. une partie médiane (*II*) constituée de deux cuves soutenues par deux plateaux (*2* et *3*). Ces cuves ont une section carrée ou rectangulaire et ont deux faces en verre optique plan-parallèles;

\* Chargé de recherches au Fonds National de la Recherche Scientifique.

*Bibliographie p. III.*

3. une partie inférieure (*III*) comprenant un plateau (*4*) portant un tube en U.

Le principe d'assemblage et de fonctionnement de nos cellules est le suivant (Fig. 1 et 2). La section *I* est rendue solidaire du support *S* de la cellule. L'adhérence des sections *I*, *II* et *III* est obtenue par la pression réglable des ressorts *R<sub>1</sub>* et *R<sub>2</sub>*. Les sections *II* et *III* sont mobiles autour d'un axe central *a*. La rotation de la section *III*, rendue solidaire de l'axe *a*, est assurée par la commande d'un levier *L<sub>1</sub>*; la rotation de la section *II*, rendue solidaire d'un tube *C* coulissant autour de l'axe *a*, est assurée par la commande d'un levier *L<sub>2</sub>*. Les mouvements de rotation des deux sections mobiles sont limités par des butées: *B<sub>1</sub>* pour *L<sub>1</sub>* et *B<sub>2</sub>* pour *L<sub>2</sub>*.

On peut disposer les tubes en Y, les cuves optiques et le tube en U inférieur *sur* un diamètre, ou *en avant* d'un diamètre des plateaux. Nous appellerons *symétriques* les cellules montées selon le premier dispositif et *asymétriques* celles montées selon le second.

#### a. Cellules symétriques

Les Fig. 1 et 2 montrent l'assemblage des pièces en verre. La hauteur des cuves optiques est de 9 à 10 cm. La section est carrée (6 × 6 mm intérieur). Cette caractéristique est très différente de celle des cuves du type TISELIUS qui ont une section rectangulaire (2 × 20 mm).

On trouve cependant avantage à utiliser des cuves peu profondes et pas trop étroites. En effet:

1. Les solutions visqueuses coulent plus aisément si la largeur des cuves est suffisante; le remplissage de la cellule en est facilité et on peut enlever sans difficultés les bulles d'air éventuelles. De plus, les frontières de solutions visqueuses seront moins déformées lors de leurs déplacements si les cuves ont une section suffisante;

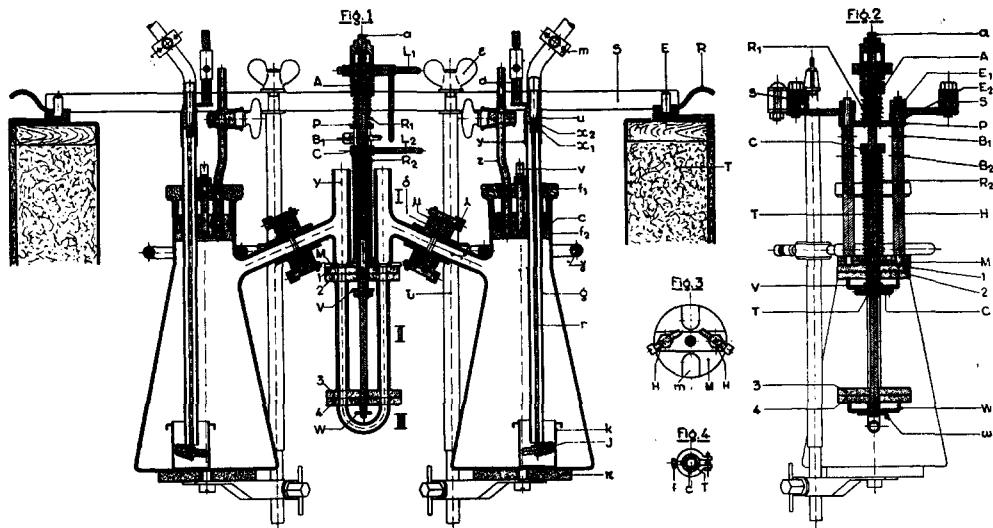


Fig. 1 et 2. Cellule symétrique et vases latéraux (coupes longitudinale et transversale); explication des lettres dans le texte.

Fig. 3 et 4. Détails de la monture métallique des cellules symétriques (vues en place); explication des lettres dans le texte.

2. Le chemin optique n'étant pas trop long, on conserve une excellente luminosité dans le cas de produits très turbides ou colorés. Ajoutons enfin que la fabrication des cellules de section carrée est plus aisée, surtout le perçage des plateaux de verre.

Les désavantages sont:

1. La sensibilité optique est plus faible. Cet effet peut être aisément compensé par le choix judicieux des lentilles et du rapport déplacement couteau/plaque dans le dispositif d'enregistrement de LONGSWORTH-MACINNES que nous utilisons;

2. le refroidissement des cuves est moins bon, ce qui empêche d'utiliser des champs électriques élevés (4 à 5 volts/cm à  $\mu$  0.10, 1.5 à 1.8 à  $\mu$  0.30 ou 0.40).

La quantité totale de solution de protéine nécessaire, quand on emploie les cellules symétriques, est de 8.5 à 9 ml.

Examinons les Fig. 1 et 2 représentant deux coupes verticales dans deux plans perpendiculaires entre-eux passant par l'axe central de la cellule.

Les trois sections de la cellule sont enfilées sur l'axe central  $a$ . La goupille  $w$  sous le plateau 4 maintient l'ensemble. Le plateau 1 vient s'appuyer contre la pièce métallique  $M$ , les tubes en Y se plaçant dans les encoches  $m$  (voir Fig. 3 représentant la pièce  $M$  vue de face). Sur  $M$  sont fixées les tiges hexagonales  $H$ . Celles-ci servent à fixer la cellule sur son support  $S$ , par l'intermédiaire de deux plaquettes qui sont bloquées au moyen des écrous  $E_1$  et  $E_2$  sur la partie supérieure filetée des tiges  $H$ .

En dévissant la vis de pression  $A$ , on comprime le ressort  $R_1$  sur la butée rectangulaire  $P$ . Les quatre plateaux viennent s'appuyer les uns sur les autres, ce qui assure l'étanchéité de leurs surfaces rodées et graissées.

Le mouvement des trois sections est obtenu grâce aux dispositifs de verrouillage et d'entraînement  $V$  et  $W$  (Fig. 2).

$V$  et  $W$  sont des ponts dont les extrémités repliées, pointues, s'adaptent dans des trous coniques creusés dans les plateaux 2 et 4. Le pont  $W$  est enfilé sur l'extrémité équarrie de l'axe  $a$  et est entraîné par la rotation de celui-ci. La goupille  $w$  maintient  $W$  en place. Le levier  $L_1$ , solidaire de l'axe central, commande la rotation du plateau inférieur (4). La course est limitée par deux butées à vis  $B_1$  placées sur les tiges  $H$ . Le pont  $V$  est solidaire du collier  $C$  (voir aussi Fig. 4) qui est serré sur le tube  $T$  coulissant autour de l'axe  $a$ . Ce collier est bloqué par la vis  $f$  (Fig. 4), qui s'introduit dans une rainure pratiquée dans  $T$ . La pièce  $V$  est pressée contre le plateau 2 par le ressort  $R_2$  qui s'appuie sur la bague  $C$  à laquelle est fixé le levier  $L_2$  qui assure la commande de la partie centrale de la cellule. La course est limitée par les butées à vis  $B_2$ .

### b. Cellules asymétriques

Ces cellules ont été construites afin d'obtenir un appareillage de capacité réduite. Dans le modèle précédent, une quantité assez importante (4 ml) de solution de protéines est nécessaire pour remplir le tube en U (section III). Nous avons réduit fortement les dimensions de ce dernier en le déplaçant vers l'avant du plateau 4, le mécanisme d'entraînement et de serrage restant central. Le U est formé par les trous dans les plateaux et par une cuvette de section rectangulaire ou carrée appliquée à même le plateau. La capacité du tube en U inférieur est seulement de 1.6 ml pour les cellules  $6 \times 6$  et de 1 ml pour celles de  $6 \times 3$ .

Les cuves optiques sont soit de section carrée ( $6 \times 6$ ) soit de section rectangulaire ( $6 \times 3$ ); leur hauteur est de 9 cm. Nous avons également fait une micro-cellule dont les cuves n'ont que 5 cm de hauteur. La quantité *totale* de solution protéinique nécessaire, quand on utilise des cellules asymétriques, est de:

5.5 ml pour les cellules  $6 \times 6 \times 90$  mm

3.0 ml pour les cellules  $6 \times 3 \times 90$  mm

2.0 ml pour les cellules  $6 \times 3 \times 50$  mm

Les tubes en Y sont identiques à ceux des modèles symétriques, mais la partie mécanique des cellules est modifiée.

La Fig. 5 représente la cellule vue de face. La Fig. 6 est une coupe verticale passant par l'axe central. Pour plus de clarté, le tube en Y, la cuve centrale et la cuvette du plateau 4 ont été représentés en coupe, bien que se trouvant en arrière du premier plan de coupe.

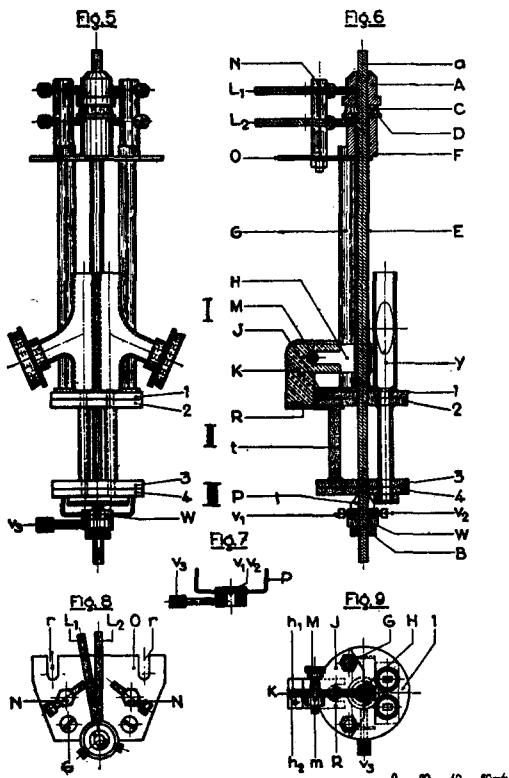


Fig. 5. Cellule asymétrique (vue en élévation); explication des lettres dans le texte.

Fig. 6. Cellule asymétrique (vue en coupe transversale); explication des lettres dans le texte.

Fig. 7, 8 et 9. Détails de la monture métallique des cellules asymétriques (vue en plan); explication des lettres dans le texte.

Le réglage et le maniement des commandes mécaniques des cellules asymétriques est en général plus délicat que celui des cellules symétriques. Ces dernières sont, à ce point de vue, plus robustes. Les cellules asymétriques sont très intéressantes quand on ne dispose qu'assez peu de solution protéinique.

On remarquera que nos cellules présentent deux surfaces libres au niveau des tubes en Y. Ceci introduit, dans le calcul des mobilités, une erreur systématique par défaut, due à la pression hydrostatique de la colonne de protéine. D'après TISELIUS<sup>8</sup>, la correction peut se calculer, dans le cas d'un seul constituant, par la formule:

$$\frac{\Delta l}{l} = \frac{S}{q} (D_p - D_t)$$

Les trois parties de la cellule sont enfilées sur un axe central *a* et sont maintenues par le dispositif de serrage *W*, muni d'un pont *P* à ergots triangulaires qui entraîne le plateau 4. Ce pont *P* peut osciller légèrement sur les vis de fixation *v*<sub>1</sub> et *v*<sub>2</sub>, afin de s'appliquer convenablement au plateau 4. L'écrou *B*, à l'extrémité inférieure de l'axe *a*, permet de serrer les trois sections de la cellule l'une contre l'autre en écrasant la bague de caoutchouc *C* placée à la partie supérieure de l'axe *a*, entre la bague *A* et le disque *D*.

Le levier *L*<sub>1</sub> fixé sur la bague *A*, soudée sur l'axe central *a*, entraîne le verrou *W* dont la position est fixée par la vis *V*<sub>3</sub> qui s'introduit dans une rainure pratiquée dans la partie inférieure de l'axe central *a*. Le mouvement du plateau 4 est ainsi assuré.

La rotation de la section *II* est assurée par un pont amovible formé par la réunion des pièces soudées *R* et *K*. La fourche *R* s'emboîte autour du pilier de soutien *t*, tandis que la plaque *K* s'introduit entre les lamelles *h*<sub>1</sub> et *h*<sub>2</sub> du collier *H* qui est solidaire du tube *E*, coulissant autour de l'axe *a*. Le levier *L*<sub>2</sub>, fixé sur la bague *F*, commande la rotation du tube *E* et par conséquent du pont amovible *R* et *K*. Le pont est maintenu en place entre les lamelles *h*<sub>1</sub> et *h*<sub>2</sub>, grâce au serrage de la vis *M* dont l'écrou *m* est soudé à *h*<sub>2</sub>.

La plaque métallique *J* contre laquelle s'appuie le plateau *I* supporte les colonnes *G*. La position de cette plaque par rapport au plateau est fixée par un ergot conique à ressort qui s'encastre dans une alvéole creusée dans le verre du plateau.

Les colonnes *G* supportent la plaque *O* (voir Fig. 8) sur laquelle sont montés les supports *N* des vis d'arrêt qui délimitent la course des leviers de commande *L*<sub>1</sub> et *L*<sub>2</sub>. Cette course est notablement plus faible que dans les cellules symétriques.

Les encoches *r*, dans la plaque *O*, permettent de fixer la cellule à son support.

où  $l$  est le déplacement de la limite sous l'influence du champ électrique;  $\Delta l$  le déplacement de la limite dû à la pression hydrostatique;  $\frac{\Delta l}{l} \cdot 100$  l'erreur en % sur la valeur de la mobilité;  $S$  la surface libre des tubes en Y de la cellule;  $q$  la section des cuves optiques;  $D_p - D_t$  la différence de densité des solutions de protéine et de tampon, soit  $2.5 \cdot 10^{-3}$  pour une solution de protéine à 1%.

Dans nos conditions expérimentales, la correction est de l'ordre de 0.5 à 1% ( $100 \cdot \frac{\Delta l}{l} \approx \frac{0.8}{0.4} \cdot 2.5 \cdot 10^{-3} \cdot 10^2 = 0.5\%$  pour les cellules  $6 \times 6$ ; on trouve 1% pour les cellules  $6 \times 3$ ).

Une erreur de cet ordre de grandeur est couverte par les erreurs accidentelles. L'erreur relative dans le repérage de la position des gradients de concentration est d'ailleurs du même ordre.

On peut également calculer que les frontières de départ subissent, immédiatement après la mise en communication des trois sections de la cellule, un déplacement de 0.02 cm pour les cellules  $6 \times 6$ , de 0.04 cm pour celles de  $6 \times 3$ . Un tel déplacement n'affecte en rien les qualités des limites.

### B. Vases latéraux et Electrodes

Les vases latéraux sont des fioles coniques en verre, munies d'une tubulure latérale. Leur capacité est de 850 ml. Leur forme assure un champ électrique très faible au niveau des godets à électrodes. Ces dernières ( $j$ ) (Fig. 1) sont en Cu et plongent dans les godets  $k$ , en ébonite, qui sont remplis d'une solution saturée de  $\text{CuSO}_4$ . Ces électrodes sont réversibles et impolarisables. Leur emploi nous a donné entière satisfaction. La migration des ions  $\text{Cu}^{++}$  est lente et, de plus, quand on travaille avec des tampons phosphatiques, il se forme au niveau du godet  $k$ , à la surface du  $\text{CuSO}_4$ , une couche de phosphate de Cu insoluble qui freine la diffusion et la migration des ions  $\text{Cu}^{++}$ . Les changements de volume au niveau des électrodes n'ont pu être calculés, les phénomènes chimiques et électrochimiques étant trop complexes. Nos valeurs de mobilité étant en bon accord avec celles mesurées à l'aide d'autres appareillages, les erreurs introduites par ces variations de volume sont certainement négligeables.

L'électrode  $j$  est prolongée par la tige  $r$  qui se visse dans la douille  $u$  qui supporte une fiche femelle  $d$  pour l'arrivée du courant. La douille  $u$  est fixée au moyen d'un manchon de caoutchouc  $y$  au tube de verre  $g$  qui descend jusqu'au niveau de l'électrode  $j$  et qui sert à introduire le  $\text{CuSO}_4$  dans le godet  $k$ .

Le passage de la solution de  $\text{CuSO}_4$  dans la pièce  $u$  se fait par deux trous obliques  $x_1$  et  $x_2$ .

Le tube en verre  $g$ , de même que le tube à robinet  $z$  qui sert, comme nous le verrons, lors du remplissage des vases avec la solution tampon, passent au travers d'un bouchon en ébonite ( $f_1$  et  $f_2$ ) qui ferme hermétiquement le vase latéral. Ce bouchon est formé d'un cylindre creux  $f_1$  dans lequel coulissoit un cylindre plein  $f_2$ . Les deux pièces sont maintenues par la vis de serrage  $v$ . Celle-ci permet de rapprocher  $f_2$  de  $f_1$ , ce qui comprime la bague de caoutchouc  $c$  et assure l'étanchéité du bouchon.

Les tubes en verre  $z$  et  $g$  passent librement dans  $f_1$ , mais sont coincés par une bague de caoutchouc dans  $f_2$ . La partie inférieure de  $f_2$  est légèrement évidée, afin de rassembler les bulles d'air que l'on évacue par aspiration au travers du tube à robinet  $z$ .

Les vases latéraux sont attachés au support général  $S$  par le collier  $\gamma$  garni de caoutchouc et la plaque  $\pi$  dont la position sur la tige verticale  $\tau$  est réglable. La tige  $\tau$  coulisse le long du support  $S$  et s'y fixe au moyen des écrous papillons  $e$ .

### C. La jonction cellule — vases latéraux

Cette jonction doit être très souple, afin d'éviter toute tension mécanique, parfaitement étanche, facile à monter.

Pour ce faire, les tubes latéraux des cellules et des vases latéraux sont munis de deux bouchons de caoutchouc  $\delta$  (Fig. 1) que l'on découpe facilement hors de bouchons ordinaires en se servant du tour. Le joint étanche est constitué par l'accrolement des faces bien graissées des deux bouchons qui dépassent légèrement le bout des tubes latéraux. Les vis de serrage  $\lambda$  permettent de comprimer fortement les anneaux de caoutchouc entre les grandes rondelles métalliques  $\mu$ .

#### D. Support des cellules et des vases latéraux

Le support est constitué par un cadre rectangulaire métallique  $S$  qui s'appuie sur les bords de la cuve thermostatique  $T$  dans laquelle plonge la cellule. Deux ergots  $E$ , fixés sur la cuve, fixent la position du cadre par rapport à l'axe optique. Les plaquettes recourbées  $R$  servent de poignées pour porter l'appareil. Pendant le montage des cellules et le transport de l'ensemble, le support rectangulaire se pose sur deux tiges métalliques verticales fixées sur une planchette.

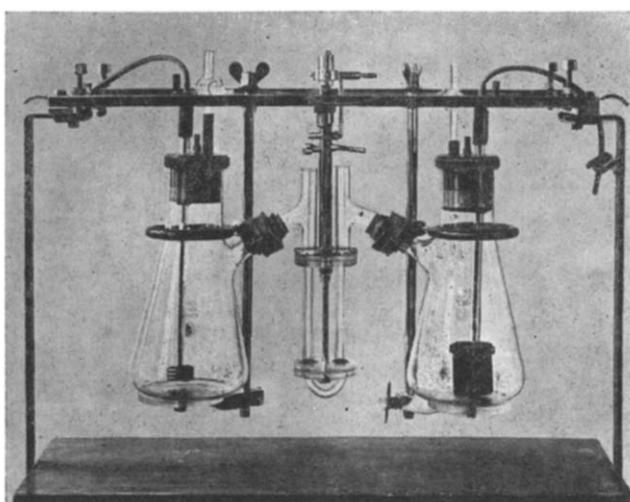


Fig. 10. Reproduction photographique d'une cellule d'électrophorèse entièrement montée et prête à l'emploi

Une vue d'ensemble d'une cellule prête à l'emploi est montrée par la photographie Fig. 10.

## II. MANIEMENT DES CELLULES: NETTOYAGE - MONTAGE - REMPLISSAGE DE L'APPAREIL - FRONTIÈRES DE DÉPART

#### A. Nettoyage

Les différentes parties de l'appareillage sont démontées, débarrassées de la graisse par savonnage et sont rincées à l'eau distillée. Dans le cas de protéines insolubles dans l'eau, on lave d'abord les cellules avec des solutions salines. On sèche ensuite avec un drap bien propre. Les cuves optiques sont essuyées et séchées en y passant des bandlettes bien souples et propres de peau de chamois. Quand on fait plusieurs électrophorèses successives avec la même cellule, on peut se dispenser de sécher, à condition de réserver un peu de solution de protéine et de tampon pour le rinçage.

### B. Montage

#### I. Cellules

a. *Cellule symétrique*: les plateaux de verre sont graissés\* soigneusement, de façon homogène, et appliqués les uns sur les autres. On chasse, par la pression des doigts, les bulles d'air et on enlève délicatement la graisse qui pourrait s'être accumulée dans la lumière des cuves au moyen d'une tige de verre ou de métal inoxydable, bien effilé. Les trois parties de la cellule étant collées par la graisse, on enfile le tout sur l'axe *a* de l'armature métallique. La plaquette supérieure *P* se place sur les supports hexagonaux *H* et, avant de faire passer l'axe au travers des deux plateaux *3* et *4*, on enfile le verrou *V*. Le second verrou *W* est alors placé et fixé par la goupille *w*. On fixe alors la plaquette *p* par les écrous *E*<sub>1</sub>. Le ressort *R*<sub>2</sub> est comprimé en faisant glisser la bague *C* le long de l'axe et le tube coulissant *T* apparaît sous le second plateau. On serre alors la vis de blocage *f* (Fig. 4) du verrou *V* dont les ergots sont introduits dans les alvéoles du plateau *z*. L'entraînement mécanique de la partie médiane est ainsi assuré. Il ne reste plus qu'à armer la cellule, c'est-à-dire comprimer suffisamment les trois parties l'une sur l'autre afin de réaliser une bonne étanchéité: à cet effet, on dévisse la vis *A*, ce qui comprime le ressort *R*<sub>1</sub> et on applique le verrou *W* contre le plateau *4*.

b. *Cellule asymétrique*: les trois parties de la cellule étant graissées et adhérentes les unes aux autres, on enfile l'ensemble sur l'axe *a* et l'on place le verrou *W* que l'on maintient par l'écrou *B*. Le plateau *x* s'applique contre la plaque métallique *J*. On met alors en place le pont d'entraînement *R + K*, la fourche *R* s'emboîtant autour du pilier en verre *t*; on serre la vis *M*. Pour armer la cellule, on serre l'écrou *B* afin de comprimer la bague de caoutchouc *C*; on fixe alors le verrou *W* en serrant la vis de calage *v*<sub>3</sub>.

La cellule montée est fixée au cadre rectangulaire *S* posé sur son support. On s'assure qu'elle est bien d'aplomb. On règle ensuite la position des vis de butées des leviers de commande, afin de pouvoir isoler et remettre exactement en communication les trois parties de la cellule.

#### 2. Vases latéraux et jonctions cellule — vases latéraux

Les vases latéraux sont placés sur leur support *π* (Fig. 1) et leur col est maintenu par les anneaux *γ* calés à hauteur convenable sur la tige *τ* qui est fixée au support rectangulaire *S* par les écrous papillons *ε*. On place ensuite les bouchons d'ébonite portant les électrodes et les tubes de remplissage. Les godets *k*, en ébonite, destinés à recevoir le CuSO<sub>4</sub>, sont pendus aux spirales des électrodes par un anneau de caoutchouc et vont se poser au fond des vases. La partie supérieure (*f*<sub>1</sub>) du bouchon repose sur le corps du ballon et on visse la vis de serrage *v*, ce qui comprime l'anneau de caoutchouc *C* et assure l'étanchéité du bouchon. La hauteur du vase et sa position latérale par rapport à la cellule sont réglées de façon à faire coïncider les extrémités des tubulures latérales. Les bouchons de caoutchouc *δ*, que l'on laisse en permanence sur les cellules et les vases latéraux, sont graissés et on les serre l'un contre l'autre au moyen des vis *λ*.

La cellule est maintenant prête pour l'expérience.

#### C. Remplissage

Toutes les solutions sont maintenues aux environs de 0° C. On commence par

\* Vigzoleum Ball Bearing grease, 113, Park Street, London.

remplir les vases latéraux de solution tampon jusqu'au deux tiers. Ceci se fait avant de mettre en place les bouchons d'ébonite porte-électrode. Le godet d'ébonite *k* est rempli également et descendu dans le vase avec son électrode. On serre les bouchons et on aspire la solution tampon par le tube *g*, jusqu'au dessus de la pince de Mohr *m* (Fig. 1) que l'on serre. La cellule et les vases latéraux sont alors introduits dans la cuve thermostatique et le cadre-support est mis en place. On s'assure que l'ensemble est bien d'aplomb et dans l'axe optique.

Les trois sections de la cellule communiquent et on procède ensuite au remplissage du tube en U inférieur. Ceci se fait au moyen d'une pipette longue et effilée, munie d'un long tube d'aspiration en caoutchouc. Le bout de cette pipette est appuyé contre la paroi non optique d'une des cuves médianes, immédiatement sous le plateau *z*, et on laisse couler lentement la solution de protéine le long de la paroi de verre jusqu'à ce que le niveau du liquide ait dépassé le plateau *z* de 1 mm environ. On attend quelques minutes et on isole le tube en U inférieur en faisant tourner le levier de commande *L<sub>1</sub>*, tout en maintenant le levier *L<sub>2</sub>* en place. Au moyen de la pipette, on enlève par succion la solution de protéine dans une des cuves optiques, la gauche par exemple. On évite autant que possible de toucher les parois en verre optique, afin de ne pas les tacher de graisse. On procède ensuite au remplissage de la cuve droite avec la solution de protéine, en suivant la même technique. On amène le liquide au dessus du plateau *x*. Si des bulles restent accrochées, on les décroche au moyen d'une fine baguette de verre effilée et crochue ou d'une tige de métal inoxydable. Une tache sur les parois optiques s'enlève par nettoyage au moyen d'un petit tampon d'ouate que l'on enroule sur la pointe de la baguette. La cuve gauche est rincée trois fois avec la solution tampon et finalement remplie de cette dernière, au moyen de la pipette. Après quelques minutes d'attente pour réaliser l'équilibre thermique, on isole la partie médiane en manœuvrant les deux leviers *L<sub>1</sub>* et *L<sub>2</sub>* ensemble. Le tube en U inférieur revient à sa position normale, tandis que la section I est complètement isolée de la section II. On rince ensuite trois fois le tube en Y de droite qui a contenu un peu de protéine. On introduit maintenant de la solution tampon dans les vases latéraux par les tubes en Y. Dès que le niveau du liquide atteint la base des bouchons d'ébonite, on aspire le liquide et les bulles, qui se sont rassemblées dans l'évidement à la base du bouchon, par le tube *Z* et on ferme le robinet de verre. L'étanchéité de ce robinet est obtenue d'abord par un graissage convenable, ensuite par un peu de mercure que l'on introduit dans le tube de verre au dessus du robinet.

On procède ensuite à la mise en place de la solution de CuSO<sub>4</sub> saturée dans laquelle doivent baigner les électrodes. On adapte un petit entonnoir dans le tube en caoutchouc qui termine le tube à électrode *g*, au dessus de la pince de Mohr *m*. Cet entonnoir se place sur un petit support amovible que l'on introduit dans la douille *d* qui recevra plus tard la fiche d'arrivée du courant électrique. On le remplit de CuSO<sub>4</sub> et on enlève les bulles d'air emprisonnées à l'aide d'une petite tige de cuivre crochue. On ouvre doucement la pince de Mohr et on laisse s'écouler lentement la solution. Dès que l'on a introduit un volume de CuSO<sub>4</sub> égal à la capacité du godet d'ébonite *k*, on ferme la pince de Mohr. On s'assure du niveau du tampon dans les tubes en Y et on en ajoute ou on en enlève selon le cas. On place enfin un siphon amorcé, rempli de tampon, à cheval sur les deux tubes en Y, afin de réaliser l'équilibre hydrostatique des deux vases latéraux. On met en place les fiches pour le courant et le dispositif pour déplacer les limites de séparation entre les colonnes de tampon et de protéine (voir plus loin). Après quelques minutes,

le siphon est enlevé, les différentes parties de la cellule sont mises en communication en manœuvrant les leviers de commande: en un premier temps, on fait tourner à la fois le tube en U inférieur et la portion médiane, mettant ainsi en communication les plateaux 1 et 2; en un second temps, on fait tourner le tube en U, en maintenant la partie médiane en place, et on met ainsi les plateaux 3 et 4 en communication.

Il ne reste plus qu'à faire apparaître les limites dans les cuves optiques en les déplaçant par l'injection d'une quantité appropriée de liquide dans l'une des branches de l'appareil.

#### D. Les frontières de départ

On peut imaginer plusieurs dispositifs pour déplacer les limites de séparation entre les colonnes de solution tampon et protéinique. Le plus simple consiste à laisser s'écouler lentement d'une burette un peu de solution tampon dans le tube en Y immédiatement au dessus de la colonne protéinique. Malheureusement un écoulement lent, constant et reproductible est difficile à réaliser de cette façon.

Un système beaucoup plus régulier et efficace consiste à injecter un volume approprié de solution saturée de  $\text{CuSO}_4$  dans le compartiment à électrode *k* des vases latéraux.

Nous avons utilisé avec succès deux dispositifs d'injection:

1. Une seringue médicale de capacité appropriée, dont le piston est mû par un mouvement d'horlogerie. La mise en place de la seringue remplie au préalable de sulfate se fait dès que l'introduction du  $\text{CuSO}_4$  dans le godet à électrode est terminée. Le bout de la seringue est introduit dans le tube en caoutchouc, immédiatement au dessus de la pince de Mohr *m*. On chasse les bulles en les aspirant et les refoulant dans la seringue. Celle-ci est alors mise en place dans l'appareil à mouvement d'horlogerie. On déclenche celui-ci dès la mise en communication des différentes parties de la cellule. Après l'injection, on referme la pince de Mohr, afin d'éviter les inconvénients d'un déplacement accidentel du piston de la seringue.

2. Le tube en caoutchouc qui sert à introduire le  $\text{CuSO}_4$  est allongé considérablement au dessus de la pince de Mohr *m* et on l'introduit entre deux roulettes métalliques à gorge. Ces roulettes sont montées de façon à ce que l'on puisse, au moyen d'une vis de pression, pincer entre elles le tube de caoutchouc. Dès que le remplissage du godet à électrode est fini, on serre le tube en caoutchouc dans les roulettes, en s'arrangeant pour que le tube fasse une boucle entre les poulies à gorge et le vase à électrode. Une des roulettes est montée en poulie folle, l'autre est entraînée par un moteur électrique fortement démultiplié. Quand on met le dispositif en mouvement, le tube de caoutchouc serré entre les roulettes est entraîné vers le haut et le  $\text{CuSO}_4$  y contenu est injecté dans le vase latéral. En employant des tubes de divers diamètres, on obtient des temps d'écoulement différents. Le temps d'écoulement dépend de la section de la cellule et de la viscosité de la solution de protéine. Il oscille généralement entre 10 et 20 minutes et peut atteindre une heure dans les cas difficiles.

Les diverses manipulations qui s'étendent depuis le montage de la cellule jusqu'à la photographie de la position des limites de départ dans la cellule, durent en moyenne 45 minutes.

## III. FABRICATION DES CELLULES

*A. Matériaux*

*1. Verrerie:* Les lamelles de verre à face optiquement planes et parallèles, servant à la fabrication des cuves, sont fournies par une usine d'instrument d'optique\*. Leur épaisseur est de 2 mm. La taille de lamelles plus fines de très bonne qualité présente de grosses difficultés à cause de l'élasticité du verre. Les lames doivent être rigoureusement rectangulaires.

Les plateaux de verre peuvent être fabriqués aisément à partir de verre à glace de 6 mm d'épaisseur. Ils sont d'abord découpés grossièrement et percés au centre. Le plateau brut est enfilé et calé sur un axe animé d'un mouvement de rotation lent. Une meule à verre, tournant en sens inverse, rode le bord du plateau. Celui-ci est maintenu contre la meule par un ressort et une vis à butée permet d'avancer progressivement l'axe porte-plateau vers la meule.

La fabrication des tubes en U et Y n'offre aucune difficulté, de même l'adjonction de tubulures latérales obliques aux fioles coniques servant de vases latéraux. Il convient de choisir des verres ayant un coefficient de dilatation sensiblement égal pour les diverses parties des cellules; sinon les opérations de collage sont rendues difficiles, même impossibles, et tout est à craindre à l'usage, quand on porte brusquement la cellule de la température ambiante dans l'eau à 0° de la cuve thermostatique.

*2. Colle à verre:* Les meilleurs résultats au point de vue solidité et étanchéité ont été obtenus au moyen d'une résine artificielle appelée *Araldite*\*\*. L'Araldite est fournie en bâtonnets, sous une forme non polymérisée. On étend la matière sur les surfaces à coller préalablement chauffées, on assemble et on réalise le durcissement de la colle par polymérisation à chaud dans une étuve ou sur une plaque chauffante. Le temps de polymérisation est d'autant plus long que la température est basse. A la température ordinaire, la résine se polymérisé lentement et est inutilisable après quelques mois. La Fig. 11 donne le temps de polymérisation en fonction de la température. Nous avons

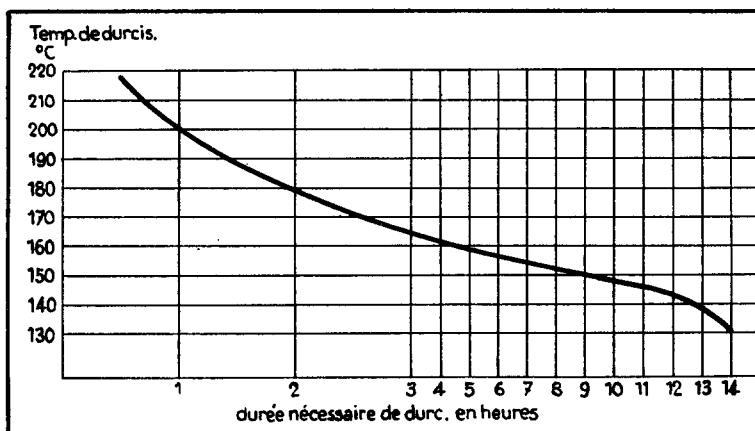


Fig. 11. Diagramme donnant le temps nécessaire au durcissement de la résine Araldite en fonction de la température.

\* Société Belge d'Optique et de Précision, à Gand.

\*\* S. A. Ciba, à Bâle.

choisi 165° C comme température de polymérisation, ce qui nécessite trois à quatre heures de chauffage.

La résistance et l'adhérence de cette résine polymérisée sont extrêmement grandes et très souvent, lors du bris d'une cellule, on voit se casser le verre plutôt que la soudure. La résine est absolument imperméable, résiste aux acides dilués et à l'alcool. On la dissout assez facilement dans le mélange sulfochromique ou sulfonitrique *chaud*.

*3. Pièces métalliques:* Les ressorts sont en acier inoxydable. Les électrodes sont en cuivre rouge ( $\varnothing$  4.5 mm). Les autres pièces métalliques sont en laiton ou en bronze, nickelé ou chromé.

Si la réalisation de l'armature métallique des cellules n'offre aucune difficulté particulière, par contre le forage des plateaux et l'assemblage des pièces de verre demandent de l'habileté et surtout de la pratique. Nous allons décrire successivement ces opérations.

#### B. Forage des trous

Les trous des quatre plateaux d'une cellule devant correspondre très exactement, un marquage rigoureux s'impose. On y arrive facilement en utilisant un calibre métallique constitué par un plateau de bronze de 2 mm d'épaisseur, d'un diamètre égal à celui des plateaux de verre. Ce calibre est percé au centre d'un trou de 6 mm de diamètre et de plusieurs trous de 3 mm, dont chacun marque la position de chaque cuve et des alvéoles coniques dans lesquelles s'encastrent les verrous d'encastrément.

Les plateaux sortent de fabrication, centrés par rapport à leur trou central de 6 ou 8 mm. On les chauffe sur une platine chauffante et on les enduit de braï. Le calibre est ensuite collé sur le plateau en le centrant soigneusement à l'aide d'une broche métallique que l'on introduit dans les trous centraux. On laisse refroidir progressivement et on marque le plateau au moyen d'une petite mèche à verre de 3 mm que l'on passe dans les trous du calibre. On décolle ensuite le calibre en le réchauffant légèrement, puis on nettoie le tout à l'essence.

Le forage des trous se fait au moyen de mèches à verre triangulaires, en carbure de tungstène. La vitesse de rotation des mèches est lente, de l'ordre de 250 t/minute. Comme lubrifiant, nous utilisons l'essence de téribenthine. Le mélange suivant donne également satisfaction: camphre 10 g, huile d'amandes douces 50 g, benzol, 100 g.

Sitôt que l'avant-trou est à quelques millimètres de l'autre paroi du plateau, on retourne celui-ci et on reprend le forage par l'envers. On évite ainsi de faire partir des éclats de verre au bord de l'orifice de sortie de la mèche.

Pour les cellules de section 6 × 6 mm, les trous pour les cuves sont forés à 6 mm; pour celles de section 3 × 6 mm, les trous ont 3 mm. Les alvéoles coniques sont creusées avec la mèche de 6.

Il ne reste plus maintenant qu'à équarrir les orifices pratiqués dans les plateaux.

Cette opération se fait à la main, le plateau étant pincé dans l'étau, entre deux feuilles de caoutchouc. L'équarrissage se fait au moyen de limes à métaux de section carrée et triangulaire, de très bonne qualité. On lubrifie continuellement avec l'essence de téribenthine. Les carrés de 6 × 6 mm sont assez faciles à réaliser, les rectangles de 3 × 6 mm demandent plus de temps et de patience. Le trou est terminé quand on peut y introduire un calibre de section appropriée.

Les trous des plateaux de la partie centrale des cellules sont équarris complètement des deux côtés du plateau, ceux des plateaux supérieurs et inférieurs ne le sont que du côté tourné vers la partie médiane. Le raccord entre les cuves carrées ou rectangulaires avec le tube en U et les tubes en Y de section ronde, se fait ainsi de façon aussi continue que possible.

### C. Assemblage des cuves optiques

Attrions d'abord l'attention sur le fait que les surfaces à coller à la résine Araldite doivent être parfaitement planes, soigneusement rodées ou polies et absolument propres. Les plaquettes de verre pour les cuves sont nettoyées au mélange sulfonitrique chaud, lavées à l'eau distillée et séchées à l'étuve. On les manipule ensuite avec une pince à mors plats.

Pour maintenir la cuve en place pendant le collage, nous utilisons le petit appareil métallique représenté Fig. 12 (vue en plan) et Fig. 13 (vue en élévation).

Les quatre lamelles de la cuve sont échauffées progressivement sur une platine chauffante. Désignons les lames optiques par 1 et 2 et les côtés de la cuve par 3 et 4. La lame 1, constituant la face avant ou arrière d'une cuve, est enduite très légèrement de résine sur le lieu des soudures et est déposée dans les encoches des plaques  $p_1$  et  $p_2$  qui sont soudées sur champ sur le longeron  $k$ . (La Fig. 14 représente une coupe transversale un peu en avant de la plaque  $p_2$ ). Les tiges  $t_1$  et  $t_2$  qui coulissent dans les guides  $g_1$  et  $g_2$  servent de calibre autour duquel on construit la cuve; on les avance au dessus de la lamelle 1.

On enduit ensuite d'Araldite les arrêtes de la plaque latérale 3 de la cuve. Pour ce faire, on passe un bâtonnet d'Araldite sur les arrêtes de la lamelle chaude. La résine doit fondre au contact du verre. Si elle grésille ou brunit, la plaque est trop chaude. On réchauffe rapidement, avec la flamme éclairante d'un micro-brûleur à gaz, la lame 1 qui est sur le support et on y dépose la lame 3 enduite de résine. On l'applique contre les tiges calibrées et on la maintient en place grâce aux deux petits leviers  $l_1$  et  $l_2$  latéraux qui sont enfoncés à frottement dur dans le bloc  $b$ .

On répète l'opération pour le second côté de la cuve (lame 4). Enfin, on réchauffe très rapidement avec le brûleur l'Araldite déposée sur les arrêtes des lames 3 et 4 et on y dépose la lame optique 2 garnie au préalable d'un peu de résine au niveau des soudures. Pour homogénéiser ces dernières, cette lame est réchauffée à la flamme et on assure l'adhérence par une légère pression. Les premières soudures sont traitées de même: on laisse refroidir la cuve, on écarte les tiges  $t_1$  et  $t_2$ , puis on retourne la cuve; on réchauffe la face avant à la flamme et quand la résine est suffisamment fluide, on presse légèrement. Après refroidissement, l'adhérence est suffisante pour qu'on puisse manipuler la cuve délicatement. On examine les surfaces de collage à la loupe pour vérifier l'homogénéité de la soudure. Si un défaut se révèle, on peut y remédier en réchauffant doucement la face incriminée et en la comprimant légèrement. Quand le collage est défectueux, on enlève l'Araldite au mélange sulfonitrique et on recommence. Si les soudures semblent parfaites, on porte la cuve à l'étuve et on polymérise la résine. La cuve est déposée sur une des faces optiques, sur un support métallique qu'elle ne touche qu'en deux points, aux deux extrémités. On la laisse 3 à 4 heures à 165° C. La résine est alors légèrement brune et extrêmement résistante.

Le collage terminé, la cuve est placée verticalement dans un support disposé au dessus d'une meule à verre horizontale. On rode parfaitement les deux bouts de la cellule et on amène exactement les deux cuves à la même hauteur.

### D. Assemblage de la partie médiane des cellules

La soudure des cuves optiques sur les plateaux de verre se fait en deux temps. Les cuves sont d'abord collées sur un plateau et le second plateau est mis en place après polymérisation de la première soudure.

Nous utilisons le dispositif de la Fig. 15 (coupe verticale) pour maintenir les cuves en place par rapport au plateau et pour polymériser.

Le plateau de verre  $v_1$  est enfillé sur l'axe  $a$  et vient se poser sur le plateau métallique  $m$ , qui est lui-même posé sur une plaque chauffante (non représentée sur la Fig. 15). Un thermomètre  $W$  plonge dans un bain d'huile  $H$  et permet d'estimer la température du plateau. On prend la précaution d'intercaler une fine feuille de papier d'aluminium entre le plateau  $v_1$  et la plaque  $m$ , afin d'éviter, lors du collage, qu'une coulée d'Araldite ne vienne souder le plateau de la cellule à la plaque du support.

La position relative des deux cuves optiques entre-elles, et par rapport aux plateaux de verre, est assurée par un support à brides  $S$  qui est enfillé sur l'axe  $a$ . La Fig. 16 montre en coupe comment les deux cuves  $6 \times 6$  d'une cellule symétrique (Fig. 1 et 2) sont coincées entre les deux plaquettes du support à brides. Ces plaquettes sont garnies de peau de chamois destinées à protéger les faces optiques des cuves. La Fig. 17 montre un dispositif analogue employé pour les cuves  $6 \times 3$  d'une cellule asymétrique (Fig. 6).

Les cuves sont d'abord fixées, sans les serrer, dans leur support  $S$  que l'on enfile ensuite par dessus le ressort  $R_1$  sur l'axe  $a$ . En appuyant les cuves sur le plateau inférieur, on les met d'aplomb, on règle leur écartement d'après les trous du plateau et on les serre définitivement dans le support  $S$ .

Tout l'appareil est posé sur la plaque chauffante et on échauffe le plateau jusqu'à ce que l'Aralite fonde à son contact. On enlève momentanément le support  $S$  avec les cuves et on étend la résine autour des trous du plateau. On réchauffe à la flamme éclairante les extrémités des cuves sur lesquelles on étend aussi un peu de résine. On enfile à nouveau les cuves et on place le second plateau de verre  $v_2$  par dessus. Le ressort  $R_2$  est alors enfilé sur l'axe et on comprime l'ensemble au moyen de la bague  $b$  à vis de pression. La colerette  $c$  sert à centrer le plateau supérieur dont le trou central est plus large que celui du plateau inférieur (voir Fig. 1 et 2). On élève ensuite la température de la plaque chauffante de façon à terminer la polymérisation en 3-4 heures, ce qui correspond à une température de 165°C au niveau du plateau et de 200° dans le bain d'huile  $H$ . On laisse ensuite refroidir et on répète l'opération pour souder le second plateau.

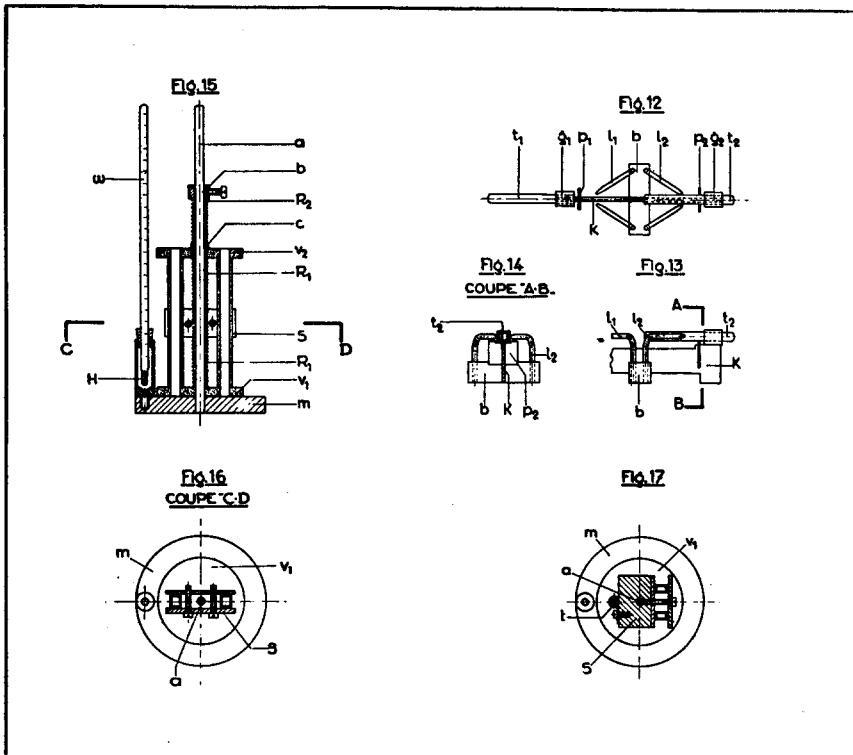


Fig. 12, 13, 14. Appareil utilisé pour assembler et coller les cuves optiques des cellules; explication des lettres dans le texte.

Fig. 15, 16, 17. Dispositifs employés pour assembler et coller les parties médianes des cellules; explication des lettres dans le texte.

Nous avons plusieurs fois essayé de réaliser le collage simultané des deux plateaux, la polymérisation se faisant ensuite à l'étuve. A chaque essai, la cellule s'est brisée lors du refroidissement, à cause de tensions internes. L'opération en deux temps, telle que nous l'avons décrite, réussit toujours.

#### E. Assemblage des plateaux supérieurs et inférieurs

1. Plateau supérieur: le collage des tubes en Y se fait avec le même dispositif employé pour la partie médiane des cellules. Seule la forme du support maintenant les tubes en place varie.

*Bibliographie p. III.*

2. Plateau inférieur : le collage du tube en U des cellules symétriques et asymétriques se fait sur plaque chauffante, la polymérisation est faite à l'étuve.

Pour les cellules asymétriques, le moyen le plus simple de réaliser la cuvette du plateau inférieur consiste à souder d'abord sur celui-ci un petit rectangle de verre percé d'un trou rectangulaire ou ovale, dans lequel viennent déboucher les deux trous du plateau. Il suffit ensuite de coller une lamelle de verre rectangulaire par dessus pour terminer la cuvette de jonction. On polymérisé à l'étuve.

Les diverses pièces de la cellule étant collées, on enlève soigneusement à la lime les bavures d'Araldite et on enlève les taches éventuelles sur les faces optiques au moyen de quelques gouttes de mélange sulfochromique que l'on promène sur le verre en le frottant doucement avec le bout arrondi d'un agitateur en verre.

La cellule est graissée et montée. On remplit les divers compartiments d'une solution de KCl, 0.1 M par exemple, et on trempe la cellule dans un vase contenant la même solution. Au moyen d'un ohmmètre, on s'assure de l'étanchéité parfaite. Si une fuite se révèle, on la localise en isolant successivement les trois sections de la cellule. La partie incriminée est démontée, nettoyée à chaud au mélange sulfonitrique ou chromique et on colle à nouveau la pièce défectueuse.

Le collage d'une cellule se fait facilement en une journée de travail d'un technicien entraîné. Le forage des plateaux demande également une journée. Notre machine à tourner les plateaux nous permet de faire six plateaux semi-automatiquement en un jour. Il faut compter deux jours pour fabriquer l'armature métallique de la cellule et trois autres jours pour les supports des vases latéraux, bouchons d'ébonite, électrodes, support rectangulaire. En résumé, une cellule complète demande une semaine de travail. Dès que l'on a à sa disposition un nombre suffisant de supports et d'armatures métalliques, le seul problème technique restant est celui des réparations et de la construction des pièces en verre.

Une cellule fait, en moyenne, 30 à 50 électrophorèses avant de présenter un défaut. Les cuves optiques, présentant les plus longues soudures, souffrent le plus des changements brusques de température. Les tubes en Y se décollent parfois sous la traction d'un vase latéral mal placé. Le tube en U inférieur résiste le plus longtemps. De toute façon, les plateaux sont presque toujours récupérables et la réparation ne demande que très rarement plus d'une journée de travail.

Toutes les analyses électrophorétiques faites dans notre laboratoire ont été réalisées au moyen des cellules décrites ci-dessus. Le lecteur trouvera ci-après une liste des travaux qui ont été basés sur ces analyses. Le nombre d'électrophorèses réalisées jusqu'à maintenant s'élève à environ 900, dont plus de 600 ont été des électrophorèses prolongées pendant plus de 10 heures (forte concentration ionique). Elles ont été faites en l'espace de cinq ans. Depuis 1948, nous disposons de deux postes d'enregistrement du type LONGSWORTH-MACINNES. Ajoutons que deux postes d'électrophorèses utilisant nos cellules fonctionnent à Alger, l'un au Centre des Maladies infectieuses et de Transfusion sanguine (Prof. BENHAMOU), l'autre à l'Institut de Physiologie (Prof. J. MALMÉJAC), depuis 1946.

## RÉSUMÉ

Deux modèles de cellules à électrophorèse sont décrits ainsi que leur maniement et leur construction. Leurs avantages sont:

1. Construction aisée qui peut être entreprise au laboratoire à un faible prix de revient.
2. Matériel robuste, de maniement facile grâce à sa commande rotative centrale.
3. Forme et capacité peuvent être adaptées à un problème analytique particulier.

## SUMMARY

The construction and operation of two types of electrophoresis cells are described. Their advantages are:

1. Construction is readily carried out with small expense in an ordinary laboratory.
2. The instrument is robust; it can be easily operated by means of the central rotating lever.
3. The shape and capacity of the cells can be adapted to various analytical problems.

## ZUSAMMENFASSUNG

Bau und Bedienung zweier Elektrophorese-Zellen wurden beschrieben. Ihre Vorteile sind:

1. Der Aufbau ist einfach und kann mit geringen Kosten im Laboratorium ausgeführt werden.
2. Das Instrument ist widerstandsfähig und kann leicht mit Hilfe des zentralen Drehhebels gesteuert werden.
3. Form und Kapazität der Zelle können an verschiedene analytische Probleme angepasst werden.

## BIBLIOGRAPHIE

<sup>1</sup> M. DUBUISSON ET J. JACOB, *Bull. soc. roy. sci., Liège*, 3 (1945) 133.

<sup>2</sup> A. TISELIUS, *Nova Acta Regiae soc. Sci. Upsaliensis*, 4 (1930) IV, 7.

## ANNEXE

ÉTUDES ÉLECTROPHORÉTIQUES RÉALISÉES AU LABORATOIRE  
DE BIOLOGIE GÉNÉRALE (LIÈGE)

- M. DUBUISSON ET J. JACOB: Recherches sur les protéines musculaires. II. Appareillage d'électrophorèse. Fabrication des tubes en U de section carrée. Précision des mesures. *Bull. soc. roy. sci. Liège*, 3 (1945) 133.
- M. DUBUISSON ET J. JACOB: Recherches sur les protéines musculaires. III. L'électrophorèse des protéines des muscles striés, normaux et fatigués de la Grenouille. *Bull. soc. roy. sci. Liège*, 3 (1945) 145.
- M. DUBUISSON ET J. JACOB: L'électrophorèse des protéines des muscles striés, normaux et fatigués de la Grenouille. *Rev. can. biol.*, 4 (1945) 426.
- M. DUBUISSON ET J. JACOB: Electrophorèse de protéines musculaires. *Experientia*, 1 (1945) 272.
- M. DUBUISSON: Différenciation électrophorétique de myosines dans les muscles au repos et fatigués de Mammifères et de Mollusques. *Experientia*, 2 (1946) 258.
- M. DUBUISSON: Sur l'origine d'asymétries particulières dans les diagrammes électrophorétiques de solutions de grande viscosité. *Experientia*, 2 (1946) 368.
- M. DUBUISSON ET L. ROUBERT: Electrophorèse d'extraits protidiques de muscles de Mollusques. *Compt. rend. soc. biol.*, 141 (1947) 802.
- M. DUBUISSON: Etude électrophorétique des myosines, de muscles au repos et fatigués, de Mollusques et de Mammifères. *Compt. rend. soc. biol.*, 141 (1947) 800.
- M. DUBUISSON: Différenciation électrophorétique et séparation de diverses composantes dans les myosines de muscles au repos et fatigués, de Mammifères et de Mollusques. Un symposium sur les protéines, Paris, 1947.
- M. DUBUISSON: Les conceptions actuelles de la contraction musculaire. *Experientia*, 3 (1947) 213.
- M. DUBUISSON: Les protéines musculaires. *Exposés annuels de Biochimie Médicale*, 9ème série, Paris, 1948.

- M. DUBUISSON: Myosines  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  dans les muscles normaux, fatigués et contracturés. *Congrès Intern. Physiol.*, Oxford, 1947.
- M. DUBUISSON: Etude électrophorétique des protéines musculaires. *Bull. acad. roy. Sci. Belg.*, 33 (1947) 769.
- M. DUBUISSON: ATP et extractibilité des myosines. *Experientia*, 4 (1948) 152.
- M. DUBUISSON: Myosines  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  dans les muscles normaux, fatigués et contracturés. *Proc. 6th Intern. Congr. Exp. Cyt.*, Stockholm (1947) 257.
- M. DUBUISSON: Contribution à l'étude des protéines musculaires. *Arch. intern. physiol.*, 61 (1948) 93.
- M. DUBUISSON: Apparition d'une protéine nouvelle, la contractine, dans les extraits de muscles contractés. *Experientia*, 4 (1948) 437 et *Bull. soc. chim. biol.*, 31 (1949) 114.
- M. DUBUISSON: Modifications caractéristiques de certaines protéines dans divers états fonctionnels du muscle strié. *Bull. acad. roy. sci. Belg.*, 34 (1948) 978.
- M. DUBUISSON: Muscle activity and muscle proteins. *Biol. Rev.*, (1949) sous presse.
- M. DUBUISSON: Modifications dans la structure physico-chimique de l'édifice contractile au cours du cycle de la contraction musculaire. *Biochim. Biophys. Acta*, 4 (1950) 25.
- M. DUBUISSON: Le cycle de la contraction musculaire et la structure physicochimique de l'édifice contractile. *Congrès de l'Assoc. des Physiol. de langue française*, Montpellier (1949).
- M. DUBUISSON: Some physical and chemical aspects of muscle contraction and relaxation. *Proc. Roy. Soc. London*, (1949) sous presse.
- M. DUBUISSON: Contribution à l'étude de la transformation G-actine-F-actine. *Biochim. Biophys. Acta*, 5 (1950) 426.
- M. DUBUISSON: Sur la polymérisation de la G-actine. *Experientia*, 6 (1950) 103.
- M. DUBUISSON: Sur les protéines de structure des muscles striés. *Experientia*, 6 (1950) 102.
- M. DUBUISSON: Influence de la nature des ions sur l'extractibilité des protéines de muscles au repos ou contracturés. *Biochim. Biophys. Acta*, 5 (1950) 489.
- M. DUBUISSON: Sur les protéines extractibles du muscle strié après traitement de la pulpe par quelques solvants organiques. *Experientia*, 6 (1950) 269.
- J. JACOB: Recherches sur les protéines musculaires. IV. Différenciation électrophorétique des protéines musculaires de la Grenouille et du Lapin. *Bull. soc. roy. sci. Liège*, 4 (1945) 231.
- J. JACOB: Electrophorèse de protéines musculaires de Lapin. *Experientia*, 2 (1946) 110.
- J. JACOB: The electrophoretic analysis of protein extracts from striated rabbit muscle. *Biochem. J.*, 41 (1946) 83.
- J. JACOB: Classification et caractérisation des protéines musculaires. Un symposium sur les protéines. Paris (1946) 249.
- J. JACOB: The electrophoretic analysis of protein extracts from striated rabbit muscle. II. Denaturation in acetic buffers. *Biochem. J.*, 42 (1948) 71.
- J. JACOB: Etude électrophorétique des variations de composition d'extraits musculaires de Lapin sous l'influence de la fatigue et de la contracture par le monobromacétate de soude. *Experientia*, 3 (1947) 241 et *Congrès Intern. Physiol., Oxford*, 1947.
- A. DISTÈCHE: Etude des conditions de précipitation et de cristallisation des protéines musculaires du groupe du myogène. *Biochim. Biophys. Acta*, 2 (1948) 265.
- A. DISTÈCHE: Calcul des franges de diffraction observées sur les clichés d'électrophorèse obtenus par l'appareil de Longsworth. *Biochim. Biophys. Acta*, 3 (1949) 146.
- G. HAMOIR: Etude comparative des myosines de Poisson et de Lapin. *Bull. soc. chim. biol.*, 31 (1949) 118.
- P. CREPAX: Influence de l'éervation sur la composition protidique des extraits de muscles striés. *Experientia*, 5 (1949) 167.
- P. CREPAX, J. JACOB ET J. SELDES LACHTS: Contribution à l'étude des protéinogrammes électrophorétiques d'extraits de muscles contracturés. *Biochim. Biophys. Acta*, 4 (1950) 410.
- P. CREPAX: Ricerche elettroforetiche sulla composizione proteica di estratti di muscoli contratturati. *Boll. soc. ital. biol. sper.*, 25 (1949) 426.
- P. CREPAX: Sulla composizione proteica del muscolo scheletrico di coniglio in corso di atrofia da denervazione. *Boll. soc. ital. biol. sper.*, 25 (1949) 353.
- P. CREPAX: Etude des protéinogrammes électrophorétiques des muscles énervés. *Arch. sci. biol. Italy*, 33 (1949) 362.

Reçu le 17 février 1950