

## RECHERCHES SUR LA CONSTITUTION DU FUSEAU ACHROMATIQUE.

### II. — ÉTUDES RHÉOLOGIQUES DE QUELQUES MODÈLES PROTÉIQUES.

par M. JOLY et B. RYBAK.

(Mémoire présenté à la séance du 17 octobre 1950).

Dans la mesure où ce sont des complexes protéine à point isoélectrique acide-protéine à point isoélectrique basique qui interviennent dans la constitution du fuseau achromatique et des asters [1, 2], ceux-ci étant caractérisés par leur forme filamenteuse, ces complexes devraient *a priori* présenter une propriété fondamentale : l'anisotropie. Nous avons entrepris en conséquence de vérifier l'existence d'une éventuelle anisotropie de complexes protéine à point isoélectrique acide-protéine à point isoélectrique basique en utilisant la technique de biréfringence d'écoulement dont on connaît les résultats dans le cas des particules asymétriques, particulièrement des myosines [3] et des ultra-virus [4]. Une note préliminaire a déjà signalé que certains complexes hétéropolaires entre protéines quelconques présentaient une biréfringence d'écoulement [5]. Nous donnons dans ce mémoire un ensemble de nos résultats.

#### MATÉRIEL ET APPAREILLAGE.

Nous avons utilisé comme substrats protéiques les préparations de sérumalbumine de cheval amorphe ou cristallisée, d'euglobuline du sérum de cheval, de sulfate de salmine et de sulfate d'histone qui ont été décrites dans le mémoire précédent [2]. Il en va de même pour l'acide adénosinetriphosphorique (ATP) et de la polymyxine B.

Les mesures photométriques ont été effectuées à l'aide de l'électrophotomètre Klett-Summerson avec des tubes calibrés.

Pour les diverses solutions examinées, on a mesuré l'angle d'extinction en fonction du gradient de vitesse. Les déterminations ont été effectuées à l'aide d'un appareil pour mesure de biréfringence d'écoulement à cylindre interne tournant [6, 7]. Toutes les mesures ont été faites à la température ordinaire (22° C environ) et sauf indications contraires en eau distillée.

#### RÉSULTATS.

##### *Allure du phénomène.*

Le Tableau I donne les résultats obtenus avec un certain nombre de systèmes. On constatera que dans tous les cas on a observé des valeurs relativement petites de l'angle d'extinction associées à une très

N°	Désignation des systèmes	pour un gradient de vitesse de (sec <sup>-1</sup> )			pour des bâtonnets allongés		pour des bâtonnets peu asymétriques	
		447	1190	3570	Constante de diffusion de rotation apparente moyenne	Longueur moyenne en Å	Constante de diffusion de rotation apparente moyenne	Diamètre équatorial moyen en Å
1	32 cm <sup>3</sup> sérumalbumine amorphe à 0,026 g N/100 cm <sup>3</sup> + 8 cm <sup>3</sup> sulfate d'histone à 0,00046 g N/100 cm <sup>3</sup> (densité optique en lumière bleue = 29)	13°	8°5	6°	26	7.400	73	1.110
2	Même système que le n° 1 mais après 5 jours de conservation à + 4° C (densité optique en lumière bleue = 29)	13°5	9°	6°5	28,5	7.100	78	1.080
3	8 cm <sup>3</sup> sérumalbumine amorphe à 0,106 g N/100 cm <sup>3</sup> + 2 cm <sup>3</sup> sulfate d'histone à 0,004 g N/100 cm <sup>3</sup> , le tout dilué 2,5 fois par de l'eau distillée (densité optique en lumière bleue = 30); système amené au point isoélectrique par SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> M/100	8°	5°	3°5	12,5	9.500	42	1.330
4	20 cm <sup>3</sup> sérumalbumine amorphe à 0,106 g N/100 cm <sup>3</sup> + 2 cm <sup>3</sup> sulfate d'histone à 0,03 g N/100 cm <sup>3</sup> + 3 cm <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O distillée, l'ensemble dilué 3 fois par de l'eau distillée (d. o. l. bleue = 95; pH = 6,75)	10°25	5°	4°25	15,5	9.000	49	1.270
5	Même système que le n° 4 mais où les 3 cm <sup>3</sup> d'eau distillée sont remplacés par 3 cm <sup>3</sup> de colchicine à 0.1 p. 100 (d.o.l. bleue = 130; pH = 6,70)	7°5	3°	3°5	10,5	10.200	37	1.390
6	2 cm <sup>3</sup> sérumalbumine cristallisée à 0,236 g N/100 cm <sup>3</sup> + 2 cm <sup>3</sup> sulfate d'histone à 0,03 g N/100 cm <sup>3</sup> + 18 cm <sup>3</sup> eau distillée	10°75	8°5	5°	21,5	7.750	63	1.170
7	20 cm <sup>3</sup> sérumalbumine cristallisée à 0,0236 g N/100 cm <sup>3</sup> + 2 cm <sup>3</sup> sulfate de salmine à 0,0718 g N/100 cm <sup>3</sup> + 3 cm <sup>3</sup> d'eau distillée, l'ensemble dilué par un volume d'eau distillée	8°5	3°	3°	7,5	11.500	34	1.430
8	20 cm <sup>3</sup> sérumalbumine amorphe à 0,165 g N/100 cm <sup>3</sup> + 5 cm <sup>3</sup> sulfate de salmine à 0,0718 g N/cm <sup>3</sup> , le tout dilué à 200 cm <sup>3</sup> par de l'eau distillée	12°	8°	5°75	23,5	7.600	69	1.130
9	Le système n° 8 conservé 8 jours à 4° C floccule et ne présente plus de biréfringence d'écoulement. 20 cm <sup>3</sup> de cette suspension + 1 cm <sup>3</sup> NaCl M (d. o. l. bleue = 8)	11°5	3°75	2°5	11,5	10.000	36	1.400
10	12 cm <sup>3</sup> séralbumine amorphe à 2,464 mg N/cm <sup>3</sup> + 20 cm <sup>3</sup> sulfate de polymyxine B à 445 mg/100 cm <sup>3</sup> (1 mg = 4635 unités antibiotiques). (d. o. l. bleue = 50)	11°	8°	5°	20,9	7.800	62	1.170
11	2 cm <sup>3</sup> euglobuline sérique à 0,046 g N/100 cm <sup>3</sup> + NaCl 0,14 M + 19 cm <sup>3</sup> eau distillée. (Après 1 heure)	11°5	6°5	5°	19,5	8.150	58	1.200
12	2 cm <sup>3</sup> euglobuline sérique à 0,046 g N/100 cm <sup>3</sup> + NaCl 0,14 M + 2 cm <sup>3</sup> sulfate d'histone à 0,03 g N/100 cm <sup>3</sup> + 18 cm <sup>3</sup> NaCl 0,1 M; l'ensemble dilué de moitié	6°5	5°25	opaque	7,5	10.500	21,5	1.670

faible intensité de la biréfringence. Cette particularité peut s'interpréter de deux façons différentes :

— ou bien la biréfringence d'écoulement de nos solutions est due à l'existence d'un très petit nombre de particules ou d'agrégats très allongés ;

— ou bien elle est provoquée par la présence d'un grand nombre de grosses particules à *peu près* globulaires (peu asymétriques).

Le Tableau I donne les tailles moyennes approximatives des particules dans les deux hypothèses précédentes. Les constantes de diffusion de rotation apparentes ont été déduites des valeurs de l'angle d'extinction à l'aide des données numériques d'EDSALL [8].

Dans le cas de l'hypothèse des particules peu asymétriques, nous les avons assimilées à des ellipsoïdes de révolution allongés et admis que le rapport de leurs axes était compris entre 1 et 1,5 ; la valeur moyenne approchée de leur diamètre équatorial a été déduite de la valeur moyenne de la constante de diffusion de rotation apparente à l'aide de la formule de GANS [9].

Dans le cas de l'hypothèse des particules très allongées on a utilisé la relation approchée de KUHN [10] pour évaluer l'ordre de grandeur de la longueur moyenne des particules à partir de la valeur moyenne de la constante de diffusion de rotation apparente.

Rappelons que nous prenons comme valeur moyenne de la constante de diffusion de rotation apparente la valeur de la constante de diffusion de rotation des particules d'un système monodispersé et infiniment dilué dont la courbe théorique angle d'extinction - gradient de vitesse serait la plus voisine possible de la courbe expérimentale donnée par le système étudié (11).

Sauf le témoin euglobuline (n° 11), aucun de nos témoins (\*) n'a présenté de biréfringence d'écoulement.

#### *Comportement en présence d'adénosinetriphosphate de sodium.*

La conception de VAN BENEDEN [24] relative aux mouvements anaphasiques du fuseau achromatique amène tout naturellement à l'idée de son caractère paramusculaire ; DANIELLI particulièrement a considéré comme probable que les gels astériens sont constitués par des protéines du type myosinique [25]. En postulant, comme nous [2] le faisons dans notre hypothèse de travail, que les formations astériennes et fusoriales sont analogues et en considérant de plus la propriété adénosinetriphosphatase des myosines [15], nous pensons que toute étude morphochimique sur le fuseau achromatique doit comporter l'examen d'une éventuelle activité adénosinetriphosphatase. Nous avons donc été amenés à étudier cette propriété diastase sur nos modèles, bien que, du fait de leur caractère semi-arbitraire, une telle propriété parût *a priori* peu probable.

(\*) Polymyxine seule, albumine seule ou précipitée par  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$  (densité optique en lumière bleue = 61), salmine seule, histone seule ou précipitée par  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$  (densité optique en lumière bleue = 120) ou encore précipitée par le taurocholate de sodium à 0,5 p. 100 [12] (densité optique en lumière bleue = 16) : aucune biréfringence d'écoulement même à 3750 sec<sup>-1</sup>. De plus, nous avons constaté qu'un système euglobuline-histone entièrement redissous par adjonction d'une solution d'Edsall-urée ne présentait plus aucune biréfringence d'écoulement.

D'autre part dans leur étude sur les modifications de la biréfringence d'écoulement de la myosine préparée selon BAILÉY [13] sous l'influence de l'adénosinetriphosphate (ATPx), NEEDHAM et ses collaborateurs [14] ont montré que l'ATPx réduisait la biréfringence d'écoulement de la myosine (p. 374) mais que ce système myosine-ATPx évoluait avec le temps de telle sorte que la biréfringence d'écoulement revenait à sa valeur initiale après quelques heures. On pouvait alors réduire de nouveau cette biréfringence par adjonction d'ATPx et de nouveau le système myosine-ATPx revenait à sa valeur initiale de biréfringence d'écoulement. Avec une même préparation ils ont pu ainsi obtenir 3 chutes et 3 restaurations successives de la valeur de la biréfringence (p. 380). NEEDHAM et ses collaborateurs en ont déduit que ce phénomène devait être en relation avec l'activité ATPasique de la myosine [15]. Or :

1° nous avons vu [2] que l'ATP ou l'ATPx (avec  $x = Na$ ) dissolvait (dissociait ?) les complexes que nous étudions soit par l'effet de son pH soit par celui de sa force ionique, il était en ce sens comparable aux autres acides sous forme d'ATP ou aux autres sels sous forme d'ATPNa ;

2° nous avons signalé [voir (\*)] que lorsqu'il y a dissolution totale des complexes hétéropolaires, leur biréfringence d'écoulement disparaît et on sait [16, 17] que l'ATP agissant à certaines concentrations sur l'actomyosine en présence de KCl la dissocie complètement ;

3° la restauration quasi totale de la biréfringence d'écoulement du système myosine - LiCl constatée par NEEDHAM et ses collaborateurs (p. 373, fig. 8) peut laisser dans le doute quant au caractère enzymatique de cette restauration dans le cas du système myosine - ATPx.

Il est bien connu que les solutions d'euglobuline (ou de pseudoglobuline) sont peu stables : la globuline flocule par vieillissement mais auparavant les particules globuliniques s'agrègent ; nous avons constaté que l'opacité des sols des complexes protéiques augmentait après rotation dans l'appareil à biréfringence d'écoulement. Etant donné que de nombreux caractères rapprochent les complexes qui font l'objet des présentes études (\*\*) des molécules protéiques hautement condensées — comme les globulines ([2] et les données de ce mémoire § Allure du phénomène) nous avons posé comme hypothèse que le comportement de la myosine dans l'expérience de NEEDHAM et de ses collaborateurs devait être celui des globulines en général et qu'en conséquence nous pouvions retrouver le phénomène décrit en [14] avec des systèmes protéine à point isoélectrique acide + protéine à point isoélectrique basique + ATPNa. Pour cela, il convenait en premier lieu de nous assurer que nos systèmes protéiques hétéropolaires étaient dépourvus d'activité ATPasique, ce que nous avons vérifié. Voici le protocole d'une expérience :

Après 1 h d'incubation à 37° C en présence d'un tampon  $BO_3H_3$ -NaOH-KCl de pH 8,45, les incubats sont déféqués par 4 volumes d'acide trichloracétique à 10 p. 100 (la salmine, n° 6, ne précipite pas dans ces conditions) ; on dose le phosphore sur 1 cm<sup>3</sup> des incubats déféqués, filtrés ou centrifugés, en utilisant la coloration de Bell-Doisy

(\*\*) Et particulièrement ceux du type albumine-salmine (ou histone) qui sont évidemment les seuls démonstratifs en l'occurrence.

(lectures en lumière rouge à 21° C) (Tableau II). On obtient des résultats analogues si on opère à pH 7,1 - 7,2 sans tampon et en remplaçant  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  par  $\text{Cl}_2\text{Mg}$ .

TABLEAU II.

N°	Désignation	Valeurs opacimétriques		Valeurs colorimétriques des dosages	
		avant incubation	après incubation	après 35 min	après 50 min
1	Blanc : 0,1 cm <sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub> -6 Aq. M/100 + 0,5 cm <sup>3</sup> tampon + 4,4 cm <sup>3</sup> eau distillée.....	0	0	17	15
2	1 cm <sup>3</sup> ATPNa (pH 7,4) à 0,2 p. 100 + 0,5 cm <sup>3</sup> tampon + 3,6 cm <sup>3</sup> eau distillée.....	0	0	43,5	53
3	10 γ PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> K .....	0	0	45	51
4	1 cm <sup>3</sup> A + 2,5 cm <sup>3</sup> eau distillée + 0,5 cm <sup>3</sup> tampon + 1 cm <sup>3</sup> ATPNa + 0,1 cm <sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub>	0	0	49	60
5	1 cm <sup>3</sup> E + 2,5 cm <sup>3</sup> KCl 0,1 M + 0,5 cm <sup>3</sup> tampon + 1 cm <sup>3</sup> ATPNa + 0,1 cm <sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub>	4	—	50	52
6	1 cm <sup>3</sup> S + 2,5 cm <sup>3</sup> eau distillée + 0,5 cm <sup>3</sup> tampon + 1 cm <sup>3</sup> ATPNa + 0,1 cm <sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub>	74	70	44	48
7	1 cm <sup>3</sup> tampon + 4,1 cm <sup>3</sup> eau distillée ...	0	0	11	14
8	1 cm <sup>3</sup> S + 4,1 cm <sup>3</sup> eau distillée .....	0	0	2	—
9	1 cm <sup>3</sup> A + 4,1 cm <sup>3</sup> eau distillée .....	0	0	53	60
10	1 cm <sup>3</sup> E + 4,1 cm <sup>3</sup> KCl 0,1 M.....	0	0	39	—
11	2,5 cm <sup>3</sup> A + 1 cm <sup>3</sup> S + 0,5 cm <sup>3</sup> tampon + 1 cm <sup>3</sup> ATPNa + 0,1 cm <sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub> .....	17	18	65	72
12	id.	6	9	55	63
13	2,5 cm <sup>3</sup> E + 1 cm <sup>3</sup> S + 0,5 cm <sup>3</sup> tampon + 1 cm <sup>3</sup> ATPNa + 0,1 cm <sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub> .....	214	—	59	70
14	id.	218	—	50	59

Substrats : Albumine cristallisée à 249,6 mg N/1 (A).  
Euglobuline à 1174 mg N/1 dans KCl 0,1 M (E).  
Sulfate de salmine à 350 mg/1 à pH 9,35 (soude) (S).

N. B. — On remarquera la formation d'un système insoluble ATPNa-Salmine-SO<sub>4</sub> (n° 6) déjà décrit dans le cas de la clupéine par FÉLIX et MAGER [18].

Ceci posé nous avons effectivement vérifié l'exactitude de notre hypothèse et nous avons complété notre démonstration en étudiant l'action de NaCl. Les Tableaux III et IV résument certains de nos résultats.

TABLEAU III.

N°	Désignation des systèmes	Angle d'extinction observé (en °) pour un gradient de vitesse de (sec-1)			Hypothèse des particules allongées		Hypothèse des particules peu asymétriques	
		447	1190	3370	Constante de diffusion de rotation apparente moyenne	Longueur moyenne en Å	Constante de diffusion de rotation apparente moyenne	Diamètre équatorial moyen en Å
1	(P <sub>1</sub> + P <sub>2</sub> ) + 2 cm <sup>3</sup> eau distillée (d. o. l. bleue = 45) .....	10	—	—	11,1	9.900	26,3	1.580
2	Système 1 au bout de 1 heure (d. o. l. bleue = 80) .....	6,75	5	4	12,1	9.500	44,2	1.310
3	Système 1 au bout de 24 heures (précipitation) .....	—	—	—	—	—	—	—
4	(P <sub>1</sub> + P <sub>2</sub> ) + 20 cm <sup>3</sup> ATPNa (dissolution) (d. o. l. bleue = 14) .....	—	—	—	—	—	—	—
5	Système 4 après 1 heure (d. o. l. bleue = 16) .....	9	8	6	21,7	7.800	67,3	1.140
6	Système 4 après 2 h 30 min. ....	8	6,75	5,25	17,7	8.450	57,7	1.200
7	Système 4 après 24 heures .....	9	8	7	24,8	7.400	74	1.100
8	Système 4 après 30 heures .....	9	5	4	17,9	9.000	46,2	1.290
9	Système 4 après 30 heures + 10 cm <sup>3</sup> ATPNa .....	—	—	—	—	—	—	—
10	(P <sub>1</sub> + P <sub>2</sub> ) + 20 cm <sup>3</sup> eau distillée (nouvel essai) .....	9	6,5	5,25	18,1	8.200	58	1.200
11	Système 10 après 3 h 30 min. ....	7,75	5	3	11,1	9.700	38,3	1.370
12	(P <sub>1</sub> + P <sub>2</sub> ) + 20 cm <sup>3</sup> ATPNa .....	—	—	—	—	—	—	—
13	Système 12 après 3 h 30 min .....	10,75	7,75	6	22,8	7.600	68,6	1.130
14	(P <sub>1</sub> + P <sub>2</sub> ) + 20 cm <sup>3</sup> NaCl 0,5 M (d. o. l. bleue = 7) .....	—	—	—	—	—	—	—
15	Système 14 après 3 h 50 min (d. o. l. bleue = 23) .....	—	—	—	—	—	—	—
16	(P <sub>1</sub> + P <sub>2</sub> ) + 20 cm <sup>3</sup> NaCl 0,1 M (d. o. l. bleue = 10) .....	—	—	—	—	—	—	—
17	Système 16 après 3 h 45 min (d. o. l. bleue = 16) .....	9,75	6,25	5,25	18,4	8.200	58,2	1.200

N. B. — 1) Les valeurs des densités optiques des essais n°s 14, 15, 16 et 17 ne permettent pas d'établir une relation simple entre la turbidité et la biréfringence d'écoulement. — 2) On voit (n°s 14 et 15) que lorsque la force ionique est trop élevée le système protéique ne retrouve pas sa biréfringence d'écoulement dans le délai de 3 h 50 m, alors que pour une force ionique plus faible (n°s 16 et 17) le système retrouve sa biréfringence d'écoulement après 3 h 45 m.

TABLEAU IV.

N°	Designation des systèmes	Angle d'extinction observé (en °) pour un gradient de vitesse de (sec <sup>-1</sup> )			Hypothèse des particules allongées		Hypothèse des particules peu asymétriques	
		447	4190	3370	Constante de diffusion de rotation apparente moyenne	Longueur moyenne en Å	Constante de diffusion de rotation apparente moyenne	Diamètre équatorial moyen en Å
1	P <sub>3</sub> dans NaCl 0,5 M.....	—	—	—	—	—	—	
2	Système 1 après 6 h 15 min (second laminage).....	9	6	3,25	13,3	9.300	43,6	1.320
3	Système 1 conservé 7 heures sans rotation à 20° C.....	—	—	—	—	—	—	
4	20 cm <sup>3</sup> P <sub>3</sub> + 23 cm <sup>3</sup> P <sub>4</sub> (d. o. l. bleue = 24) (d. o. l. bleue après rotation = 119).....	7,25	3	opaque	5,8	12.100	19,4	1.730
5	Système n° 4: 15 cm <sup>3</sup> + 10 cm <sup>3</sup> eau distillée (d. o. l. bleue = 28)	8,25	3,75	opaque	7,3	11.600	27,6	1.620
6	Système n° 5 après 2 h 40 min.....	opaque	opaque	opaque	—	—	—	—
7	Système n° 5 après 3 h 30 min (20 cm <sup>3</sup> ) + 13 cm <sup>3</sup> NaCl M/3	8,75	4	3	10,8	10.000	36,8	1.390
8	Système n° 7 après 5 h 30 min (20 cm <sup>3</sup> ) + 10 cm <sup>3</sup> NaCl M/3	—	—	8	57,6	5.750	166	850
9	Système n° 8 après 50 minutes.....	9,25	6,25	5	17,8	8.500	56,3	1.210
10	20 cm <sup>3</sup> P <sub>3</sub> + 20 cm <sup>3</sup> P <sub>4</sub> (d. o. l. bleue = 119) + 43 cm <sup>3</sup> ATPNa ; (d. o. l. bleue = 66).....	14	9,5	7,5	33,3	6.900	87,3	1.050
11	Système n° 10 après 1 h (d. o. l. bleue = 94 après rotation)	7,25	3,75	opaque	6,6	11.800	22	1.660
12	Système n° 11 après 3 h 30 min (18 cm <sup>3</sup> ) + 15 cm <sup>3</sup> ATPNa (d. o. l. bleue = 61).....	13,5	7,75	6,25	26,2	7.400	73	1.110
13	Système n° 12 après 5 heures.....	5,75	3,25	2	7	11.600	25,7	1.570

N. B. — Nous n'avons pas observé la formation de filaments comme dans les systèmes salmine-albumine.

Le système protéique qui a fait l'objet des études rapportées dans le Tableau III était constitué de la sorte : 15 cm<sup>3</sup> de séralbumine cristallisée à 249,6 mg N/1 (soit P<sub>1</sub>) + 15 cm<sup>3</sup> de sulfate de salmine à 350 mg/1 de pH 5,3 (soit P<sub>2</sub>). Ce système est amené à 125 cm<sup>3</sup> par de l'eau distillée (\*\*\*) (densité optique en lumière bleue à 22° C = 78). La solution d'ATP était à 0,1 p. 100 et à pH 6,55 (amenée à cette valeur par de la soude).

Le système protéique qui a fait l'objet de l'étude rapportée dans le Tableau IV était constitué de la sorte : euglobuline dans NaCl 0,5 M (1 cm<sup>3</sup> = 0,1185 mg N total) (soit P<sub>3</sub>) + sulfate de salmine à 0,35 mg/cm<sup>3</sup> de pH 7,1 - 7,2 — soude — (soit P<sub>4</sub>). Le tableau indique pour chaque système étudié les volumes respectifs des constituants. La solution d'ATP était à 0,1 p. 100 et à pH 6,25 (amenée à cette valeur par de la soude).

## DISCUSSION.

Remarquons tout d'abord que la colchicine agit comme lorsque le système s'approche du pH isoélectrique, soit que l'un ou l'autre de ces agents augmente la quantité du système précité, soit que l'anisotropie de celui-ci s'accroisse, soit encore que les deux phénomènes coexistent.

Les sels ont deux actions qui peuvent paraître contradictoires : ils peuvent amener une chute plus ou moins prononcée de la biréfringence d'écoulement ou au contraire restaurer celle-ci. C'est que ces deux propriétés correspondent à des actions similaires mais sur des systèmes qui, s'ils sont chimiquement identiques, sont physiquement dissemblables. Les sels peuvent intervenir par leur force ionique ( $\mu$ ) : 1) en séparant les particules biréfringentes quand elles sont engagées dans des agrégats amorphes (système floculé dépourvu de biréfringence d'écoulement) avec *restauration* de la biréfringence d'écoulement ; 2) quand  $\mu$  est plus fort dans le cas d'un système *floculé* ou s'il est par exemple du même ordre de grandeur qu'en 1) mais qu'il agit sur un système *non floculé*, en dissociant les unités biréfringentes en ses constituants avec *perte* plus ou moins totale (suivant  $\mu$  plus ou moins fort) de la biréfringence d'écoulement. Signalons à ce sujet que EDSALL et MEHL [19] ont montré que LiCl, KCl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, etc... diminuaient la biréfringence d'écoulement de solutions de myosine préparée [20] selon une modification de la technique d'EDSALL [21]. NEEDHAM et ses collaborateurs ont confirmé cette étude [14]. Ce fait rapproche encore les systèmes protéine à point isoélectrique acide-protéine à point isoélectrique basique des myosines (\*\*\*\*).

En ce qui concerne le phénomène signalé par NEEDHAM (courbe en dents de scie), nous avons vu qu'il n'est pas nécessairement lié à l'activité ATPasique de la myosine puisqu'aussi bien on peut l'obtenir

(\*\*\*) Lorsque le système est trop opaque on ne peut réaliser de mesures de biréfringence d'écoulement.

(\*\*\*\*) (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 1,6 M (environ le 1/4 de la saturation) diminue la biréfringence d'écoulement [19] ; on se reportera à ce sujet à la courbe (fig. 3) donnée en [2] relative au pouvoir solvant de ce sel sur un système histone-albumine.

13. Système n° 12 après 5 heures...

N. B. — Nous n'avons pas observé la formation de filaments comme dans les systèmes salmine-albumine.

14.600 | 25,7 | 1.570

7

2

3,25

5,75

avec des complexes protéiques dépourvus d'activité ATPasique. D'ailleurs d'après EDSALL et MEHL [19] il n'y a pas de corrélation entre la chute de la biréfringence d'écoulement et les changements dans les groupes -SH titrables, changements obtenus sous l'influence de la guanidine-HCl ou de l'urée (augmentation) ou encore des sels ammoniacaux, du glyco-colle (diminution) et certains arguments [voir par exemple 22, 13] tendent à montrer que les groupements thiols sont nécessaires à l'activité ATPasique de la myosine. Signalons encore que par des mesures de viscosité réalisées dans différentes conditions sur le système actomyosine B-ATP, MOMMAERTS [24] a montré que l'effet de l'ATP sur la myosine est indépendant de l'activité ATPasique de cette dernière. A notre sens le phénomène décrit par NEEDHAM est de caractère purement physico-chimique et pourrait s'expliquer de la façon suivante : l'ATPx par sa force ionique —  $\mu$  — dissout (dissocie ?) la myosine, amenant une chute de la biréfringence d'écoulement par désorganisation des éléments anisotropes ; puis, par vieillissement dans des conditions qui leur sont favorables, les forces spontanées de cohésion, qui existent dans les solutions de protéine type globulinique, rassemblent en structures anisotropes les particules séparées par les forces de dissociation ( $\mu$ ) et le processus se poursuivant conduirait à la formation d'agglomérats amorphes (floculation).

## RÉSUMÉ.

1) Alors que séparément la sérumalbumine de cheval (amorphe ou cristallisée) le sulfate de salmine, le sulfate d'histone, le sulfate de polymyxine B sont dépourvus de biréfringence d'écoulement, ces protéines conjuguées en complexes hétéropolaires possèdent une biréfringence d'écoulement qui a été mesurée. La sérumeuglobuline, seule, possède également une biréfringence d'écoulement, ce fait semble d'ailleurs significatif du comportement globulinoïdique des complexes étudiés.

2) Cette biréfringence d'écoulement est diminuée, et peut même être annulée par augmentation de la force ionique du milieu, mais pour certaines forces ioniques et pour certains temps de vieillissement la biréfringence d'écoulement revient à une valeur peu différente (si ce n'est égale) de la valeur initiale ; par un nouvel accroissement de la force ionique la biréfringence d'écoulement baisse et remonte de nouveau ; dans ces conditions le phénomène, décrit par NEEDHAM et ses collaborateurs avec des systèmes myosine -ATPx semble relever du même mécanisme, c'est-à-dire qu'il pourrait être indépendant de l'activité adénylpyrophosphatasique de la myosine et il rendrait compte des forces antagonistes de dissociation et d'agrégation auxquelles sont soumises les particules des protéines globulinoïdiques.

(Institut Pasteur, Paris).

## BIBLIOGRAPHIE.

1. RYBAK (B.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1949, 31, 464.
2. RYBAK (B.). — *Bull. Soc. Chim. biol.* (sous presse).
3. VON MURALT (A.) et EDSALL (J. T.). — *J. Biol. Chem.*, 1930, 89, 315 et 351.

BULL. STÉ. CHIM. BIOL., 1950, 32, nos 11-12.

4. BAWI 19
5. JOLY
6. JOLY
7. JOLY
8. SHER of Cc
9. GANS
10. KUHT
11. JOLY
12. RYBA
13. BALI
14. DAIN (J. 35
15. ENGE
16. SZENY Ne
17. MOMI
18. FELI
19. EDSA
20. GREE
21. EDSA
22. ZIFF
23. MOMI
24. BENE
25. DANI 19

BULL. STÉ

4. BAWDEN (F. C.), PIRIE (N. W.), BERNAL (J. D.) et FANKUCHEN (I.), *Nature*, 1939, 138, 1051.
5. JOLY (M.) et RYBAK (B.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1950, 230, 1214.
6. JOLY (M.). — *Koll. Ztschr.*, 1949, 115, 83.
7. JOLY (M.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1948, 30, 404.
8. SHERAGA (H. A.), EDSALL (J. T.) et ORTEN GADD (J.). — Double refraction of flow and the dimensions of large asymmetrical molecules. 1949. Communication personnelle.
9. GANS (R.). — *Ann. d. Physik*, 1928, 86, 628.
10. KUHN (W.). — *Z. f. Physik. Chem.*, 1932, 161 A, 427.
11. JOLY (M.) et BARBU (E.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1949, 31, 1642.
12. RYBAK (B.) et GROS (F.). — *Experientia*, 1948, 4, 396.
13. BAILEY (K.). — *Bioch. J.*, 1942, 36, 121.
14. DAINY (M.), KLEINZELLER (A.), LAWRENCE (A. S. C.), MIALI (M.), NEEDHAM (J.), NEEDHAM (D. M.) et SHIH-CHANG Shen. — *J. Gen. Phys.*, 1944, 27, 355.
15. ENGELHARDT (W. A.) et LYUBIMOVA (M. N.). — *Nature*, 1939, 144, 668.
16. SZENT-GYORGYI (A.). — *Chemistry of muscular contraction*. Acad. Press, New-York, 1947.
17. MOMMAERTS (W. F. H. M.). — *Nature*, 1945, 156, 156.
18. FELIX (K.) et MAGER (A.). — *Ztschr. f. Phys. Chim.*, 1937, 249, 126.
19. EDSALL (J. T.) et MEHL (J. W.). — *J. Biol. Chem.*, 1940, 133, 409.
20. GREENSTEIN (J. P.) et EDSALL (J. T.). — *J. Biol. Chem.*, 1940, 133, 397.
21. EDSALL (J. T.). — *J. Biol. Chem.*, 1930, 89, 289.
22. ZIFF (M.). — *J. Biol. Chem.*, 1944, 153, 25.
23. MOMMAERTS (W. F. H. M.). — *J. Gen. Phys.*, 1948, 31, 361.
24. BENEDEN (P. v.). — *Arch. Biol.*, 1883, 4, 265.
25. DANIELLI (J. F.) in G. BOURNE. — « *Cytology and Cell Physiology* », Oxford, 1945, chap. III, p. 95.