

Hamalainen X., Pette X., 1995. Patterns of myosin isoforms in mammalian skeletal muscle fibres. *Microsc. Res. Tech.*, 30, 381-9.

Picard B., Robelin J., Pons F., Geay Y., 1994. Comparison of the foetal development of fibre types in four bovine muscles. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, 15, 473-486.

Picard B., Gagnière H., Robelin J., Pons F., Geay Y., 1995. Presence of an unidentified myosin isoform in certain bovine foetal muscles. *Meat Sci.*, 41, 315-324.

Picard B., Duris M.-P., Jurie C., 1998. Classification of bovine muscle fibers by different histochemical techniques. *Histochem. J.*, à paraître.

Schiaffino S., Gorza L., Satore S., Saggin L., Ausoni S., Vianello M., Gundersen K., Lomo T., 1989. Three myosin heavy chain isoforms in mammalian skeletal muscle. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, 10, 197-205.

Valin C., 1988. Différenciation du tissu musculaire. Conséquences technologiques pour la filière viande. *Reprod. Nutr. Dev.*, 28, 845-856.

L. LEFAUCHEUR,
P. ECOLAN

INRA Station de
Recherches Porcines,
35590 Saint-Gilles

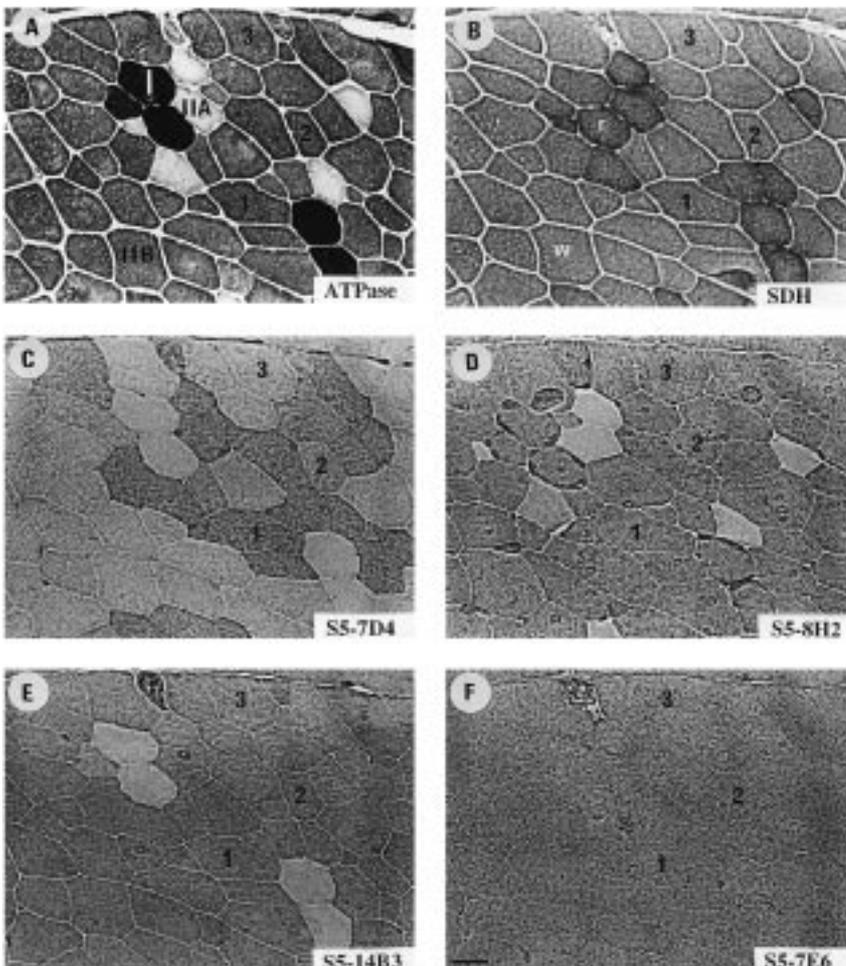
Composition en chaînes lourdes de myosine des fibres musculaires de type II chez le porc

Les trois types de fibres musculaires classées I, IIA et IIB par les techniques histoenzymatiques existent dans les muscles squelet-

tiques du porc au poids commercial d'abattage (Lefaucheur *et al* 1991). Cette typologie repose sur un polymorphisme des chaînes lourdes de la myosine (MHC) (Schiaffino et Reggiani 1996). Chez diverses espèces de laboratoire, quatre MHC ont été identifiées dans le muscle squelettique adulte : I, IIA, IIX et IIB (Bär et Pette 1989, Schiaffino *et al* 1989, DeNardi *et al* 1993). Ces auteurs ont ainsi montré que les fibres classées IIB lorsqu'elles sont typées par la méthode ATPase constituent une population hétérogène en regard de leur composition en MHC. A notre connaissance, la caractérisation du polymorphisme des MHC de type II n'a pas été réalisée chez le porc, notamment en raison de l'absence d'anticorps spécifiques de chacune des isoformes de MHC. Ce texte rapporte les résultats d'histoimmunologie obtenus avec les anticorps anti-MHC sélectionnés dans le projet Noé.

Figure 1. Coupes transversales sériées de muscle longissimus dorsi chez un porc de 100 kg de poids vif.

A) ATPase après préincubation à pH 4,35. B) Révélation de l'activité de la succinodéshydrogénase. C-F) Détection histoimmunologique des MHC à l'aide d'anticorps issus du projet Noé. Les chiffres 1, 2 et 3 repèrent 3 fibres homologues sur les différentes coupes sériées. Barre d'échelle : 50 μ m.



Conditions expérimentales

L'étude a été réalisée sur le muscle *longissimus dorsi* (LD) et la partie rouge du muscle *semitendinosus* (STR) chez des porcs femelles de race Large White abattus à 100 kg de poids vif (165 jours d'âge). Les échantillons de muscle ont été prélevés environ 30 minutes après l'abattage, congelés par immersion dans de l'isopentane refroidi par de l'azote liquide et stockés à -80°C jusqu'aux analyses histologiques.

Des coupes transversales sériées de 10 μ m d'épaisseur ont été réalisées à l'aide d'un microtome à congélation (-20°C). La coloration ATPase après une préincubation de la coupe à pH 4,35 a permis d'identifier les fibres de types I, IIA et IIB (Brooke et Kaiser 1970). L'activité de la succinodéshydrogénase (SDH) est révélée sur une coupe sériée (Nachlas *et al* 1957), elle permet de distinguer des fibres rouges (r), intermédiaires (i) et blanches (w) (figure 1B). Les colorations histoimmunolo-

giques sont réalisées à l'aide d'anticorps monoclonaux anti-MHC issus du projet Noé : S5 7D4, S5 8H2, S5 14B3, et S5 7E6). La liaison des anticorps est visualisée par l'activité peroxydase à l'aide du kit Vectastain ABC (Laboratoires Vector, référence PK 4002).

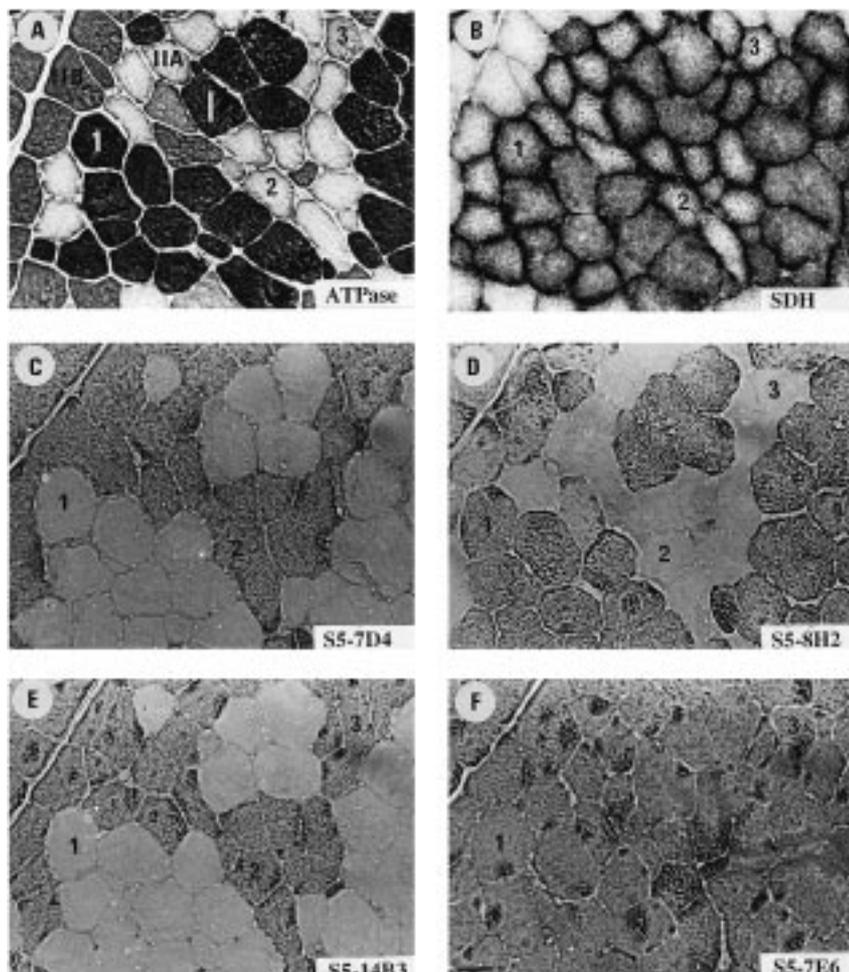
Résultats et discussion

Dans les 2 muscles étudiés, la coloration ATPasique révèle trois types de fibres : des fibres colorées en noir (type I), en blanc (type IIA) ou en gris (type IIB) (figures 1A et 2A). Les proportions de fibres de type I, IIA et IIB sont respectivement de 10 %, 6 % et 84 % dans le muscle LD, et 40 %, 25 % et 35 % dans le muscle STR. Les fibres de types I et IIA sont toujours riches en SDH (type r). En revanche, les fibres IIB constituent une population hétérogène en regard de la coloration SDH. Dans le muscle LD, environ 12 % des fibres IIB sont de type métabolique intermédiaire (IIBi), et 88 % sont de type blanc (IIBw). Dans le muscle STR, 100 % des fibres IIB sont de type métabolique intermédiaire (IIBi) ou rouge (IIBr).

Dans le muscle LD, l'anticorps S5 7D4 marque fortement les fibres IIA de manière homogène, alors que les fibres IIB présentent un marquage hétérogène (figure 1C). Les fibres IIB les plus marquées par l'anticorps S5 7D4 sont celles qui présentent la plus forte activité SDH, elles sont généralement en contact avec les îlots de fibres I et IIA. La majorité des fibres IIB n'est pas reconnue par l'anticorps S5 7D4, elles sont pauvres en SDH (IIBw) et sont les plus éloignées du centre des îlots de fibres I et IIA. Chez diverses espèces de laboratoire, les fibres initialement classées IIB par la méthode ATPase correspondent en fait à un mélange de fibres contenant des MHC Iix et/ou Iib (Bär et Pette 1989, Schiaffino *et al* 1989, DeNardi *et al* 1993). D'autre part, une diminution de l'activité SDH dans l'ordre $I > IIA > IIX > IIB$ a été mise en évidence chez ces espèces (Gorza 1990). Nos résultats suggèrent donc que l'anticorps S5 7D4 reconnaît spécifiquement les MHC IIA et Iix porcines, alors que la MHC Iib, probablement présente dans les fibres IIB pauvres en SDH (IIBw), situées à la périphérie des îlots de fibres I-IIA-IIX, n'est pas reconnue. Dans le muscle STR, l'anticorps S5 7D4 marque fortement et de manière homogène les fibres IIA et IIB en ATPase (figure 2C). Ce résultat suggère que l'ensemble des fibres IIB du muscle STR sont en fait de type IIX, en accord avec un métabolisme oxydatif plus élevé que celui des véritables fibres IIB du muscle LD. Cet anticorps ne reconnaît pas les fibres de type I. Des observations réalisées dans le muscle *semitendinosus* chez des fœtus de 75 jours (naissance à 113 jours) suggèrent que l'anticorps S5 7D4 ne reconnaît pas les MHC embryonnaire et fœtale (non montré). En conséquence, l'anticorps S5 7D4 semble spécifique des MHC IIA et Iix et peut être utilisé pour

Figure 2. Coupes transversales sériées de muscle *semitendinosus* chez un porc de 100 kg de poids vif.

A-F : *idem* figure 1.



révéler leur présence chez le porc au cours du développement. Cependant, il ne permet pas de distinguer les MHC IIA des Iix.

Dans les 2 muscles étudiés, l'anticorps S5 8H2 marque les fibres de type I et IIB en ATPase, et ne réagit pas avec les fibres de type IIA (figures 1D et 2D). Cet anticorps reconnaît donc les MHC I, Iix et Iib dans le muscle squelettique du porc de 100 kg de poids vif. Il marque l'ensemble des fibres dans le muscle *semitendinosus* chez des fœtus de 75 jours (non montré), suggérant des réactions croisées avec les formes de MHC embryonnaire et/ou fœtale. De ce fait, l'anticorps S5 8H2 peut difficilement être utilisé pour caractériser le polymorphisme des MHC au cours du développement chez le porc. En revanche, il est utile pour identifier les fibres matures qui ne renferment que la MHC IIA (fibres pures IIA).

L'anticorps S5 14B3 marque l'ensemble des fibres de type II en ATPase dans les muscles LD et STR (figures 1E et 2E). Il reconnaît donc les MHC de type IIA, Iix et Iib chez le porc de 100 kg de poids vif. La réaction positive avec l'ensemble des fibres de la seconde génération dans le muscle *semitendinosus* chez le fœtus de 75 jours suggère une réaction

Tableau 1. Marquage ou non des différentes fibres par les 4 anticorps anti-MHC dans le muscle squelettique du porc de 100 kg de poids vif.

Anticorps	S5 7D4	S5 8H2	S5 14B3	S5 7E6
Type de fibres				
I	non	oui	non	oui
IIA	oui	non	oui	oui
IIX	oui	oui	oui	oui
IIB	non	oui	oui	oui

croisée avec les formes embryonnaire et/ou fœtale. Cet anticorps peut donc servir à révéler l'ensemble des MHC adultes de type II (IIa+IIx+IIb) après la disparition des formes embryonnaire et fœtale.

L'anticorps S5 7E6 reconnaît toutes les MHC adultes du muscle squelettique du porc (figures 1F et 2F). Il reconnaît également les formes de MHC embryonnaire et/ou fœtale (non montré). Il présente un intérêt en histologie pour visualiser la totalité des fibres musculaires au cours du développement.

Conclusion

Le tableau 1 récapitule les propriétés des 4 anticorps utilisés. L'anticorps S5 7D4 est particulièrement intéressant. Sa réaction positive homogène avec les fibres IIA et IIB du muscle STR, associée à un marquage négatif d'une sous-population de fibres IIB dans le muscle LD, suggère que cet anticorps reconnaît spécifiquement les MHC IIa et IIx chez le porc, démontrant ainsi l'existence d'au moins 3 isoformes rapides de MHC dans le muscle LD de porc de 100 kg de poids vif. Les trois isoformes rapides n'avaient jusqu'à présent été observées que chez les petites espèces de laboratoires (souris, rat, lapin et cobaye). Mal-

gré les apports du projet Noé, d'autres travaux sont encore nécessaires pour disposer d'anticorps spécifiques de chacune des MHC chez le porc.

Références

- Bär A., Pette D., 1989. Three fast myosin heavy chains in adult rat skeletal. *Fed. Eur. Biochem. Soc.*, 235, 153-155.
- Brooke M.H., Kaiser K.K., 1970. Muscle fiber types : How many and what kind ? *Arch. Neurol.*, 23, 369-379.
- DeNardi C., Ausoni S., Moretti P., Gorza L., Velleca M., Buckingham M., Schiaffino S., 1993. Type 2X-myosin heavy chain is coded by a muscle fiber type-specific and developmentally regulated gene. *J. Cell Biol.*, 123, 823-825.
- Gorza L., 1990. Identification of a novel type 2 fiber population in mammalian skeletal muscle by combined use of histochemical myosin ATPase and anti-myosin monoclonal antibodies. *J. Histochem. Cytochem.*, 38, 257-265.
- Lefaucheur L., Le Dividich J., Mourot J., Monin G., Ecolan P., Krauss D., 1991. Influence of environmental temperature on growth, muscle and adipose tissue metabolism, and meat quality in swine. *J. Anim. Sci.*, 69, 2844-2854.
- Nachlas N.M., Tsou K.G., DeChang C.S., Seligman A.M., 1957. Cytochemical demonstration of dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenol-substituted ditetrazole. *J. Histochem. Cytochem.*, 5, 420-436.
- Schiaffino S., Reggiani C., 1996. Molecular diversity of myofibrillar proteins : Gene regulation and functional significance. *Physiol. Rev.*, 76, 371-423.
- Schiaffino S., Gorza L., Sartore S., Saggin L., Ausoni S., Vianello M., Gundersen K., Lomo T., 1989. Three myosin heavy chain isoforms in type 2 skeletal muscle fibers. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, 10, 197-205.

B. FAUCONNEAU,
G. PABOEUF

INRA Physiologie
des Poissons,
Campus
de Beaulieu,
35042 Rennes Cedex

Etude histoimmunologique de l'expression des chaînes lourdes de myosine dans le muscle squelettique chez la truite arc-en-ciel

Le muscle squelettique de la truite arc-en-ciel est composé de fibres de type lent oxydatif formant le muscle rouge superficiel et de fibres de type rapide glycolytique formant le muscle blanc profond. Ces fibres sont constituées de différents types de myosine (Rowlerson *et al* 1985). A la périphérie du muscle

blanc, des fibres de type intermédiaire rapide oxydo-glycolytique forment un muscle rose en continuum avec le muscle blanc profond (Rowlerson *et al* 1985).

Dans les jeunes stades, le muscle blanc se développe grâce à la persistance d'une myogé-