

# QUELQUES ASPECTS DE L'ÉTUDE DES PROTÉINES FOSSILES EN RAPPORT AVEC LA PHYLOGÉNIE ANIMALE

par M. F. VOSS-FOUCART

Université de Liège, Institut Ed. Van Beneden,  
Laboratoire de Morphologie,  
Systématique et Écologie animales

---

## RÉSUMÉ

L'auteur fait une synthèse des connaissances actuelles sur la composition chimique des restes protéiques d'organismes fossiles, plus spécialement des matrices coquillères des Céphalopodes, et sur les transformations subies par les constituants organiques de coquilles actuelles soumises à l'action accélérée de facteurs qui sont intervenus au cours de la fossilisation. Ces travaux ont permis de mettre en évidence que, lors de la fossilisation, les constituants protéiques sont altérés de telle sorte qu'il y a une certaine uniformisation des compositions. Les altérations dépendent essentiellement de l'influence du facteur température au cours des âges. Elles conduisent relativement rapidement à l'obtention d'un résidu stable, n'évoluant plus, quelle que soit la durée ultérieure de l'enfouissement.

Il y a moins de 25 ans, on n'envisageait guère que certains constituants d'organismes ayant vécu il y a plusieurs millions d'années puissent avoir échappé au processus général de minéralisation de la matière organique. Or, actuellement, plus de cinquante substances organiques ont été identifiées dans des matériaux géologiques divers.

C'est Florkin et ses collaborateurs qui ont été les premiers à démontrer, en 1961, que des substances protéiques pouvaient subsister chez des fossiles et ceci à la suite de la mise en évidence par la microscopie électronique de reliquats de conchioline dans des fossiles dont l'âge variait de 10.000 à 180 millions d'années (Grégoire, 1958, 1959). Cette découverte ouvrait des

perspectives dans le domaine de l'information phylogénique. Il est peu probable, en effet, qu'il puisse subsister une information phylogénique, par exemple, au niveau des acides aminés libres des fossiles, dont l'étude avait déjà été abordée antérieurement. Par contre, la découverte de substances protéiques chez des fossiles faisait naître l'espoir de pouvoir utiliser les données de la paléobiochimie afin de préciser la position systématique et la phylogénie de groupes, même disparus.

Nous nous sommes proposé de rechercher quel pouvait être l'apport de la paléobiochimie à l'étude d'un certain nombre d'organismes fossiles appartenant plus spécialement à des groupes éteints à l'heure actuelle. Nos recherches ayant été consacrées en ordre principal aux protéines coquillières des Céphalopodes fossiles, nous développerons cet aspect plus en détail.

#### CONCHIOLINE DE NACRE DU NAUTILE ACTUEL

L'étude des constituants organiques persistant chez les fossiles postule une connaissance approfondie des mêmes constituants chez les espèces actuelles les plus proches. Aussi avons nous abordé tout d'abord l'étude de la conchioline de nacre du Nautilé, le seul matériel disponible actuellement qui permette d'entrevoir ce que devaient être les Ammonites vivantes.

Afin de déterminer si la fraction retrouvée chez les fossiles correspondait à l'une ou l'autre fraction de la conchioline, restée stable à travers les âges, nous avons cherché à séparer les constituants de la conchioline de nacre du Nautilé actuel à l'aide de techniques diverses (solubilisation, ultracentrifugation, précipitation fractionnée, hydrolyse enzymatique, hydrolyse ménagée par l'acide chlorhydrique etc.). Nous avons pu distinguer dans la conchioline une fraction soluble dans l'acide chlorhydrique, une fraction soluble dans un tampon de borate à pH 9,2, et enfin, un résidu insoluble dans la plupart des solvants et très peu sensible à l'action des enzymes protéolytiques, actuellement dénommé nacroïne (Florkin, 1971).

CONSTITUANTS PROTÉIQUES DES COQUILLES  
 DE CÉPHALOPODES FOSSILES

Disposant de données précises concernant la conchioline du Nautilus actuel, nous avons entrepris l'étude de Nautiloïdes miocènes, éocènes, crétacés, jurassiques, permien, carbonifères et dévoniens, ces derniers datant de plus de trois cent millions d'années et d'Ammonoïdes jurassiques et crétaciques.

Dans la coquille de tous les spécimens étudiés, qu'il s'agisse de Nautiloïdes ou d'Ammonoïdes, quel que soit leur âge géologique et le gisement dont ils proviennent, nous avons pu mettre en évidence des protéines, qui diffèrent par leur composition des protéines de la conchioline de nacre du Nautilus actuel (Fig. 1). Elles se caractérisent par leur teneur élevée en glycolle, sérine et acide glutamique; l'acide aspartique et l'alanine viennent ensuite.

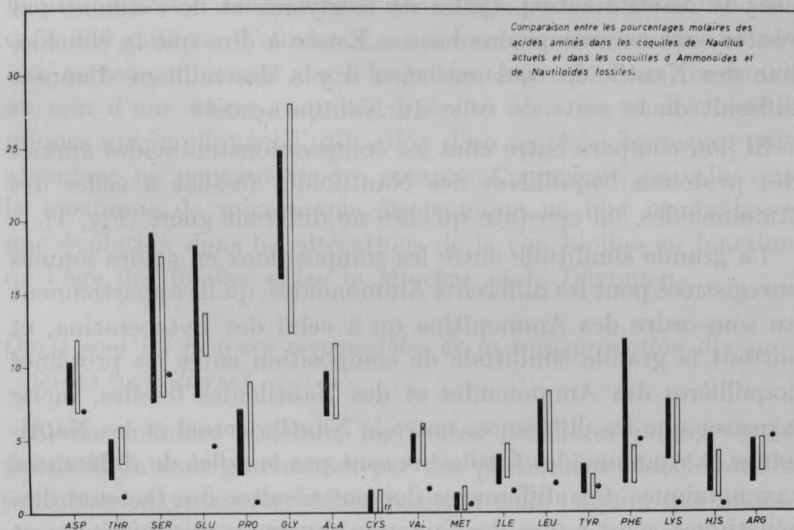


Fig. 1

Nautiloïdes fossiles  
 Ammonoïdes  
 Nautilus actuel



N.B. : La hauteur des rectangles rend compte de la dispersion des résultats.

Ces protéines, dosées en très faibles quantités dans les coquilles fossiles, correspondent aux restes des matrices initiales de conchioline. Il ne peut s'agir de substances d'origine étrangère dues par exemple à des contaminations. En effet, l'étude au microscope électronique du matériel fossile analysé biochimiquement (Grandjean, Grégoire et Lutts, 1964; Grégoire, 1959*a, b*, 1966; Voss-FoucART et Grégoire, 1971) a permis de déceler des restes structuraux correspondant à des dentelles de conchioline plus ou moins altérées.

#### TRANSFORMATION DES PROTÉINES COQUILLIÈRES

##### AU COURS DES AGES

Les teneurs de la conchioline en acide glutamique, valine, leucine, lysine et histidine sont plus élevées chez les fossiles que chez le Nautilé actuel. Celles de la glycine et de l'alanine par contre sont beaucoup plus basses. Est-ce à dire que la conchioline des Nautiloïdes qui ont vécu il y a des millions d'années différerait de la sorte de celle du Nautilé actuel?

Si l'on compare entre elles les compositions en acides aminés des protéines coquillières des Nautiloïdes fossiles à celles des Ammonoïdes, on constate qu'elles ne diffèrent guère (Fig. 1).

La grande similitude entre les compositions en acides aminés enregistrées pour les différents Ammonoïdes, qu'ils appartiennent au sous-ordre des Ammonitina ou à celui des Lytoceratina, et surtout la grande similitude de composition entre les protéines coquillières des Ammonoïdes et des Nautiloïdes fossiles, incite à penser que les différences entre le Nautilé actuel et les Nautiloïdes et Ammonoïdes fossiles ne sont pas le reflet de différences taxonomiques. Ces différences doivent résulter des facteurs diagénétiques, c'est-à-dire des facteurs physiques, biochimiques et physicochimiques qui modifient les sédiments après leur dépôt.

Cette conclusion n'exclut pas évidemment que certaines différences puissent avoir existé originellement, lorsque les organismes étaient vivants, mais ces différences sont probablement masquées par des changements plus importants dus à la fossilisation.

*Quand ces transformations se sont-elles déroulées ?*

Dans le cas des coquilles de Nautiloïdes, les proportions des divers acides aminés dans les protéines des spécimens tertiaires s'écartent légèrement des proportions des spécimens secondaires et primaires. Cependant, à travers la série des échantillons allant de spécimens miocènes à des spécimens dévoniens, il n'existe pas de différences importantes dans les proportions des acides aminés protéiques. Ces observations suggèrent que, lors de la fossilisation, les protéines coquillières ont été altérées relativement rapidement après l'enfouissement. Les altérations une fois établies, les constituants auraient été en quelque sorte stabilisés. Il n'y aurait plus guère eu de modifications quelle qu'ait été la durée de l'enfouissement.

Cette conception est en parfait accord avec les données fournies par la microscopie électronique : des dentelles plus ou moins altérées ont été décelées dans un grand nombre de coquilles de Nautiloïdes et d'Ammonoïdes dont l'âge pouvait atteindre jusqu'à 430 millions d'années. La microscopie électronique révèle une certaine diversité dans les altérations que l'on rencontre au sein d'une même coquille, diversité dont les études biochimiques qui impliquent l'utilisation d'un matériel beaucoup plus abondant ne peuvent rendre compte. Cependant, pas plus que la biochimie, la microscopie électronique ne met en évidence une évolution dans les altérations de la conchioline en fonction de l'âge des fossiles entre le Miocène et le Dévonien.

*Quels sont les facteurs responsables de la transformation des protéines coquillières ?*

D'une manière générale, les toutes premières phases de la fossilisation sont gouvernées par des phénomènes biochimiques (autolyse enzymatique, décomposition sous l'action des microorganismes) et par des phénomènes chimiques (solubilisation, oxydation); ensuite les facteurs physiques exercent une action prépondérante (Grégoire, 1968).

Les matrices coquillières, enfermées dans leur gangue minérale, sont protégées de l'action des microorganismes et des facteurs agissant au cours des premières phases de la fossilisation,

du moins en partie. Elles n'échappent pas cependant à l'influence des agents physiques et notamment aux effets de la température. Dans cette optique, nous avons entrepris l'étude des effets d'un séjour à température élevée, processus dit de pyrolyse, sur les constituants protéiques de la nacre du Nautilé actuel. La microscopie électronique avait d'ailleurs démontré que la pyrolyse de la nacre de Nautilés modernes reproduit les altérations morphologiques des conchiolines fossiles (Grégoire, 1964).

De l'ensemble des résultats qui ont été obtenus, il apparaît qu'il subsiste des protéines dans les nacres pyrolysées comme dans les nacres fossiles. Il semble de plus que l'on puisse conclure que sous l'effet de la pyrolyse, pour autant que la température dépasse 300°, la conchioline se transforme en un résidu stable n'évoluant plus, même si la température est portée à 900°. La composition de ce résidu n'est guère affectée par les conditions de la pyrolyse. Elle ne diffère pas sensiblement de celle des protéines décelées dans les coquilles de Nautiloïdes et d'Ammonoïdes fossiles.

Il y aurait donc, en ce qui concerne les matrices coquillières, similitude des effets de la pyrolyse et de la fossilisation. Les matrices coquillières, enfermées dans leur gangue minérale, seraient transformées par l'action prépondérante du facteur température.

#### CONSTITUANTS PROTÉIQUES DES FOSSILES ET PHYLOGÉNIE

Comparons entre elles les diverses données dont on dispose concernant les protéines de structure qui persistent chez les fossiles.

La composition des paléoprotéines des coquilles de Nautiloïdes miocènes à dévoniens est très voisine de celle des Ammonoïdes jurassiques ou crétaciques et aussi de celle des Gastéropodes tertiaires, des *Pinna* éocènes, des *Inoceramus* crétaciques et des *Pecten* secondaires et tertiaires étudiés par divers auteurs (Degens et Love, 1965; Bricteux-Grégoire, Florkin et Grégoire, 1968; Akiyama et Wyckoff, 1970; Akiyama, 1971).



Cette similitude de composition pourrait être liée à la parenté qui lie ces organismes. Cependant, l'analyse comparée des protéines correspondantes des formes actuelles révèle des différences considérables (Voss-Foucart, 1970).

La composition des protéines de la coquille des Nautiloïdes fossiles est aussi très proche de celle des protéines que nous avons décelées dans le test des Graptolites (Foucart, Bricteux-Grégoire, Jeuniaux et Florkin, 1965).

Elle est également voisine de celle des paléoprotéines de structure des coquilles de Brachiopodes fossiles, articulés et inarticulés, que nous avons analysées, bien que la composition des protéines correspondantes des spécimens actuels présente des divergences considérables (Voss-Foucart, 1970).

L'ensemble de ces résultats incite à penser que, lors de la fossilisation, la composante protéique est altérée de telle sorte qu'il y a une certaine uniformisation des compositions. Les altérations, ainsi que nous l'avons démontré dans le cas des coquilles de Nautilus, dépendent essentiellement de l'influence du facteur température au cours des âges. Cette conception est confirmée par les résultats de l'étude de tests d'oursins actuels pyrolysés ainsi que par l'examen comparé de coquilles de Lingules fossiles et de coquilles de Lingules actuelles pyrolysées : la composition des protéines des coquilles de Lingules et des tests d'oursins pyrolysés est proche de celle des protéines des coquilles de Nautilus pyrolysées ou fossiles (fig. 2).

L'uniformité de composition des protéines fossiles après un certain laps de temps pourrait être le résultat de la disparition de certains constituants moins résistants, variables d'une structure à l'autre, ne laissant subsister qu'un constituant commun à l'ensemble des structures étudiées. Cependant l'étude détaillée de la conchioline de nacre des coquilles actuelles ne plaide pas en faveur de cette hypothèse.

L'uniformité de composition pourrait aussi être due à une transformation complète des protéines au cours des âges sous l'influence de la température. L'hypothèse d'une repolymérisation éventuelle d'acides aminés libérés par la dégradation des protéines originelles ne s'avère cependant pas compatible avec les données de la microscopie électronique : dans les coquilles

fossiles, tout comme dans les coquilles pyrolysées, on peut observer des structures qui correspondent à des stades d'altération progressifs de la conchioline.

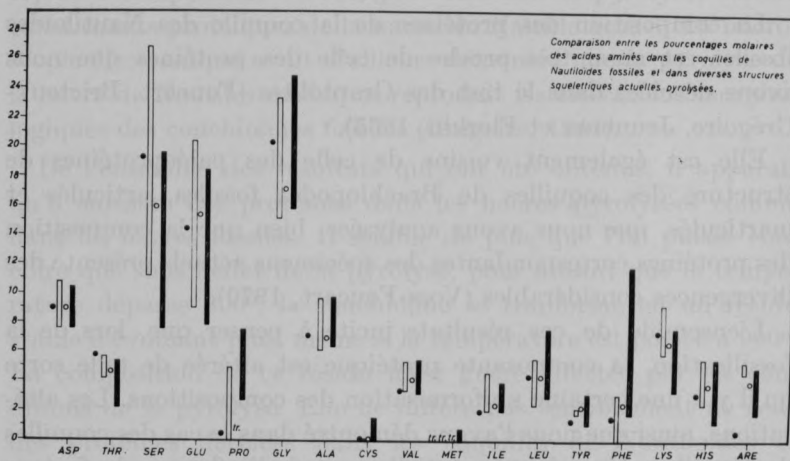
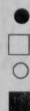


Fig. 2

Oursin actuel pyrolysé  
Nautilus actuel pyrolysé  
Lingules actuelles pyrolysées  
Nautilus fossiles



Par contre, l'hypothèse de la rupture de liaisons covalentes entraînant la disparition de fragments de chaînes, variables d'une protéine à l'autre, reliant les éléments d'une armature commune à l'ensemble des protéines étudiées, pourrait expliquer cette uniformité.

Le parallélisme de composition des paléoprotéines à partir du Miocène exclut donc la possibilité d'une étude de la phylogénie des groupes disparus basée sur l'analyse de la composition des résidus protéiques persistant chez leurs fossiles. Il exclut aussi la possibilité d'une comparaison entre composition de protéines d'organismes actuels et d'organismes éteints afin d'en tirer des arguments biochimiques à l'appui d'hypothèses phylétiques.

Le caractère uniforme des paléoprotéines peut cependant être plus apparent que réel. La microscopie électronique révèle en effet dans la plupart des échantillons fossiles une certaine diver-



sité de structure, diversité dont les analyses biochimiques qui impliquent l'utilisation d'un matériel plus abondant ne peuvent rendre compte actuellement.

La séparation et l'analyse des diverses structures que l'on peut déceler par la microscopie électronique chez les fossiles se heurte encore au problème de la sensibilité des méthodes d'investigation, étant donné le faible pourcentage de matière organique qui subsiste chez les fossiles. Certaines tentatives dans le sens d'une augmentation de la sensibilité des méthodes ont cependant déjà été réalisées mais l'amélioration des méthodes biochimiques implique en retour une étude des plus rigoureuse des possibilités de contamination du matériel analysé et notamment leur contrôle au microscope électronique.

Lorsque ces contingences auront été écartées, on peut espérer que des arguments nouveaux concernant la phylogénie des protéines conservées chez les fossiles pourront être tirés de la détermination des séquences en acides aminés des fragments isolés et de la comparaison de ces séquences dans des chaînes homologues d'organismes actuels.

# BIBLIOGRAPHIE

- AKIYAMA, M. (1971). — The amino acid composition of fossil scallop shell proteins and non proteins. *Biom mineralization Research reports*, **3**, 65.
- AKIYAMA, M. and WYCKOFF, W. G. (1970). — The Total Amino Acid Content of Fossil *Pecten* Shells. *Proc. Ntl. Acad. Sciences*, **67**, 3, 1097.
- BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., FLORKIN, M. and GRÉGOIRE, Ch. (1968). — Prism conchiolin of modern or fossil molluscan shells. An example of protein paleization. *Comp. Biochem. Physiol.*, **24**, 567.
- DEGENS, E. T. and LOVE, S., (1965). — Comparative studies of amino acids in shell structure of *Gyraulus trochiformis* Stahl, from the Tertiary of Steinheim, Germany. *Nature*, **205**, 876.
- FLORKIN, M. (1971). — The present state of molecular paleontology. Molecular Evolution. I. Chemical Evolution and the Origin of Life, eds. R. Buvet and C. Ponnamperna. North-Holland Company, 10.
- FLORKIN, M., GRÉGOIRE, Ch., BRICTEUX-GRÉGOIRE, S. et SCHOFFE-NIELS, E. (1961). — Conchiolines de nacres fossiles. *C. R. Acad. Sci.*, **252**, 440.

- FOUCART, M. F., BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., JEUNIAUX, Ch. and FLORKIN, M. (1965). — Fossil Proteins of Graptolites. *Life Sciences*, **4**, 467.
- GRANDJEAN, J., GRÉGOIRE, Ch. and LUTTS, A. (1964). — On the mineral components and the remnants of organic structures in shells of fossil molluscs. *Bull. Acad. roy. Belg., Cl. Sci.*, **50**, 562.
- GRÉGOIRE, Ch. (1958). — Essai de détection au microscope électronique des dentelles organiques dans les nacres fossiles (ammonites, nautiloïdes, gastéropodes et pélécy-podes). *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **66**, 674.
- GRÉGOIRE, Ch. (1959a). — A study on the remains of organic components in fossil mother-of-pearl. *Bull. Inst. roy. Sci. natur. Belg.*, **35**, 13, 1.
- GRÉGOIRE, Ch. (1959b). — Conchiolin remnants in mother-of-pearl from fossil Cephalopoda. *Nature*, **184**, 1157.
- GRÉGOIRE, Ch. (1964). — Thermal changes in Nautilus shell. *Nature*, **203**, 868.
- GRÉGOIRE, Ch. (1966a). — Experimental diagenesis of the Nautilus shell in Advances in Organic Geochemistry. Edit. by G. D. Hobson and G. C. Speers, Pergamon, 429.
- GRÉGOIRE, Ch. (1966b). — On organic remains in shells of Paleozoic and Mesozoic Cephalopods. (Nautiloids and Ammonoids). *Bull. Inst. roy. Sci. nat. Belg.*, **42**, 39, 1.
- GRÉGOIRE, Ch. (1968). — Experimental alteration of the Nautilus shell by factors involved in diagenesis and metamorphism I. Thermal changes in conchiolin matrix of mother-of-pearl. *Bull. Inst. roy. Sci. nat. Belg.*, **44**, 25, 1.
- GRÉGOIRE, Ch. (1972). — Experimental alteration of the Nautilus shell by factors involved in diagenesis and metamorphism III. Thermal and Hydrothermal changes in the organic and mineral components of mother-of-pearl. Sous presse.
- GRÉGOIRE, Ch. et VOSS-FOUCART, M. F. (1970). — Proteins in shells of fossil Cephalopods (Nautiloids and Ammonoids) and experimental simulation of their alterations. *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **78**, 2, 191.
- VOSS-FOUCART, M. F. (1970). — Constituants organiques de la Coquille des Céphalopodes et Phénomènes de Paléisation. Thèse de Doctorat en Sciences Zool., Université de Liège, 210 p.

- VOSS-FOUCART, M. F. et GRÉGOIRE, Ch. (1971). — Biochemical composition and submicroscopic structure of matrices of nacreous conchiolin in fossil Cephalopods (Nautiloids and Ammonoids). *Bull. Inst. r. Sci. nat. Belg.*, **47**, 41.
- VOSS-FOUCART, M. F. et GRÉGOIRE, Ch. (1972). — Experimental alteration of Nautilus shell by factors of diagenesis and metamorphism II. Amino acid patterns in the conchiolin matrix of pyrolyzed modern mother-of-pearl (sous presse).