

Zeitschrift: Mémoires de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles
Band: 12 (1958-1961)
Heft: 6

Artikel: Étude du catabolisme des auxines marquées par du radiocarbone : méthodes et premiers résultats
Kapitel: ABIA marque par du C14
Autor: Pilet, Paul-Emile / Lerch, Pierre
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-257915>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 08.11.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

sais, doit venir de la qualité différente de l'ABIA non radioactif utilisé pour ces dilutions.

Les radiochromatogrammes montrent nettement un traînage plus ou moins accentué qui indique que la pureté radiochimique de l'ABIA* n'est pas excellente : les impuretés également marquées, éloignées par la séparation chromatographique, contribuent à expliquer les différences importantes qui existent entre les valeurs des dernières colonnes des tableaux 5 et 6. L'hétérogénéité du papier et la répartition de l'ABIA contribuent à expliquer aussi l'imprécision des résultats d'une part, et les différences entre les valeurs des tableaux 5 et 6.

5.3.4. CONCLUSIONS.

S'il est théoriquement possible d'utiliser la méthode radiochromatographique d'une manière absolue, pratiquement les difficultés de mise au point portent à y renoncer. Les raisons principales peuvent être résumées ainsi :

- a) le processus chromatographique n'est jamais strictement quantitatif.
- b) la non uniformité de l'épaisseur du papier et de la répartition du matériel chromatographié entraînent, *dans le cas d'émetteurs de radiations β molles comme celles du C^{14} notamment (a fortiori dans le cas du tritium)*, des erreurs de géométrie et d'auto-absorption assez considérables pour rendre la mesure de radioactivité peu précise.
- c) Lorsque la pureté radiochimique des substances chromatographiées n'est pas grande (substances autodégradées sous l'action de leurs propres radiations par exemple) un artefact est créé.

C'est pourquoi dans la pratique du laboratoire, l'emploi de la radiochromatographie comme méthode relative est préférable, pour les radioéléments à radiations molles notamment (H^3 , C^{14} , S^{35} ...).

6. ABIA MARQUE PAR DU C^{14}

Dans les essais dont il est fait mention ici, nous avons utilisé deux types de molécules d'ABIA marquées par du C^{14} :

- 1) celle dont le C^{14} se trouve dans la chaîne latérale ;
- 2) celle dont le C^{14} est contenu dans le cycle.

6.1. C^{14} dans la chaîne latérale.

Deux types de composés sont actuellement en vente dans le commerce :

- a) C^{14} dans le - COOH.

Il s'agit de l'acide β -indolyl-acétique [$C^{14}OOH$] qu'on peut appeler aussi acide indolyl-3-acétique [$C^{14}OOH$].

Ce produit est relativement peu intéressant pour des essais biologiques. Mentionnons qu'il a été toutefois utilisé avec succès par SHAW et HAWKINS (1958) dans des essais de décarboxylation de l'ABIA. On le fabrique à partir de la gramine et du $NaC^{14}N$ (FANG et BUTTS, 1957).

b) C^{14} dans le $-CH_2-$.

Il s'agit de l'acide β -indolyl-acétique [$C^{14}\alpha'$] appelé aussi acide indolyl-3-acétique [$C^{14}\alpha$]. Cette substance se prépare actuellement selon la technique de STUTZ, ATKINSON et GORDON (voir STUTZ, 1957), également à partir de gramine (marquée par la combinaison de l'indole avec le diméthylamino-hydroxy-méthane, substance marquée par du C^{14} en $-CH_2-$).

6.2. C^{14} dans le cycle.

Il s'agit surtout d'ABIA marqué en position α du noyau et qu'on appelle acide β -indolyl-acétique [$C^{14}\alpha$] ou acide β -(C^{14} -2-indolyl) acétique ou encore acide indolyl-3-acétique [C^{14}]-2.

Ce produit qui a été employé pour la première fois par RAY et THIMANN (1956) pour des expériences d'inactivation enzymatique de l'ABIA, est préparé selon la technique de PICHAT, AUDINOT et MONNET (1954). Ce procédé consiste à traiter l'o-formo-toluidine par du formiate d'éthyle marqué par du C^{14} ; l'o-formo-toluide formée donnera de l'indole marqué.

6.3. Molécules employées.

Nous avons utilisé :

1. de l'acide β -indolyl-acétique [$C^{14}\alpha'$] fabriqué par le « Radiochemical Centre » d'Amersham (England); l'activité spécifique de cette substance est de 3,82 mc/mM;
2. de l'acide β -indolyl acétique [$C^{14}\alpha$] synthétisé par le « Centre d'Etudes nucléaires » de Saclay (France); l'activité spécifique de ce produit est de 6,9 mc/mM.

La première substance a, avant tout, servi à des essais préliminaires, les graphiques que nous donnons dans ce travail ont tous été construits à partir de résultats obtenus avec le second composé.

6.4. Protection.

Lorsqu'on travaille avec le C^{14} , les précautions à prendre sont relativement modérées. En effet, le C^{14} figure dans la classe 4, celle des radioéléments les moins toxiques. Pour un laboratoire de re-

cherches en biochimie, il est actuellement admis¹¹ que des quantités allant jusqu'à 10 mC peuvent être manipulées sans précautions spéciales. A titre d'indication, le soufre-35 et le phosphore-32 figurent dans la classe 3 et la limite est fixée à 1 mC. Il est rare qu'on soit appelé à manipuler des quantités de radioisotopes supérieures à ces normes.

L'organisme inhalant du C¹⁴ sous forme de C¹⁴O₂ ou de poussières contenant des produits marqués au C¹⁴, ne garde pas longtemps ces composés, le danger ne doit pas être toutefois sous-estimé. Au cours des manipulations, une grande propreté doit être observée. C'est par ailleurs une garantie quant aux mesures suivantes, la contamination des instruments conduisant aux erreurs les plus insidieuses.

Par surcroît de précaution, le personnel porte en permanence des films dosimétriques qui renseignent sur la dose accumulée. Ces films sont développés tous les quinze jours dans un centre spécialisé: ils doivent donner les doses β et γ . Les locaux et en particulier les tables de travail sont périodiquement contrôlés pour la contamination, à l'aide d'un instrument muni d'un compteur Geiger-Müller. La manipulation des quantités plus importantes se fait sous hotte ventilée: les surfaces de travail sont recouvertes d'un revêtement facilement détachable et remplaçable en cas de contamination.

Enfin, les règles générales pour la manipulation des radioisotopes sont observées.

7. DOSAGE RADIOCHROMATOGRAPHIQUE

L'essentiel de la technique a déjà été dit à propos de la discussion de la méthode biochromatographique, aussi serons-nous très bref dans la description de cette méthode.

7.1. Extrait enzymatique.

Des extraits aqueux sont préparés comme précédemment (v. p. 217): puis la période d'incubation enzymatique achevée, on récupère l'ABIA par de l'éther (v. p. 226).

7.2. Séparation chromatographique.

On applique une fraction de cette solution étherée (tache initiale), (v. p. 225).

La préparation du papier est toutefois légèrement différente, on utilise du papier Whatmann n° 1, mais les feuilles sont de plus petit format que celles qu'on emploie pour le dosage biochromatographique. De plus, pour éviter une dispersion des composants auxiniques au cours de la diffusion du solvant, on utilise des papiers perforés (fig. 15).

7.3. Recherche du Rf.

Des essais contrôle sont réalisés, en partant d'une solution étherée ne contenant que de l'ABIA*. On détermine alors les valeurs

¹¹ Safety Serie n° 1, International atomic Energy Agency, Vienna, 1958.