

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: Dosage radiochromatographique
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>

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.

du Rf de l'ABIA* ; on procède à l'analyse 1° dans le sens de la migration du solvant, 2° perpendiculairement.

Des analyses parallèles sont faites avec notre réactif (v. p. 219). On peut remarquer (fig. 16) que la technique radiochimique est plus sensible que la méthode colorimétrique : en effet, la zone périphérique de la tache, dont les contours sont révélés par le *ratemeter*, n'est pas marquée par la coloration (la concentration de l'ABIA y étant vraisemblablement trop faible).

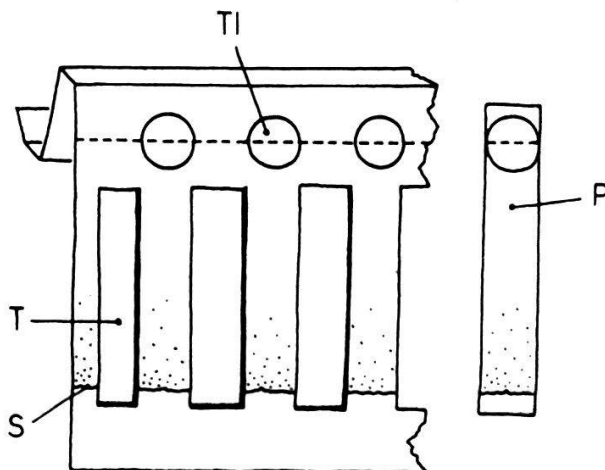


FIG. 15. — Type de papier chromatographique employé pour la séparation (chromatographie descendante) des produits marqués.
P : chromatogramme — Ti : tache initiale — T : trou — S : front du solvant.

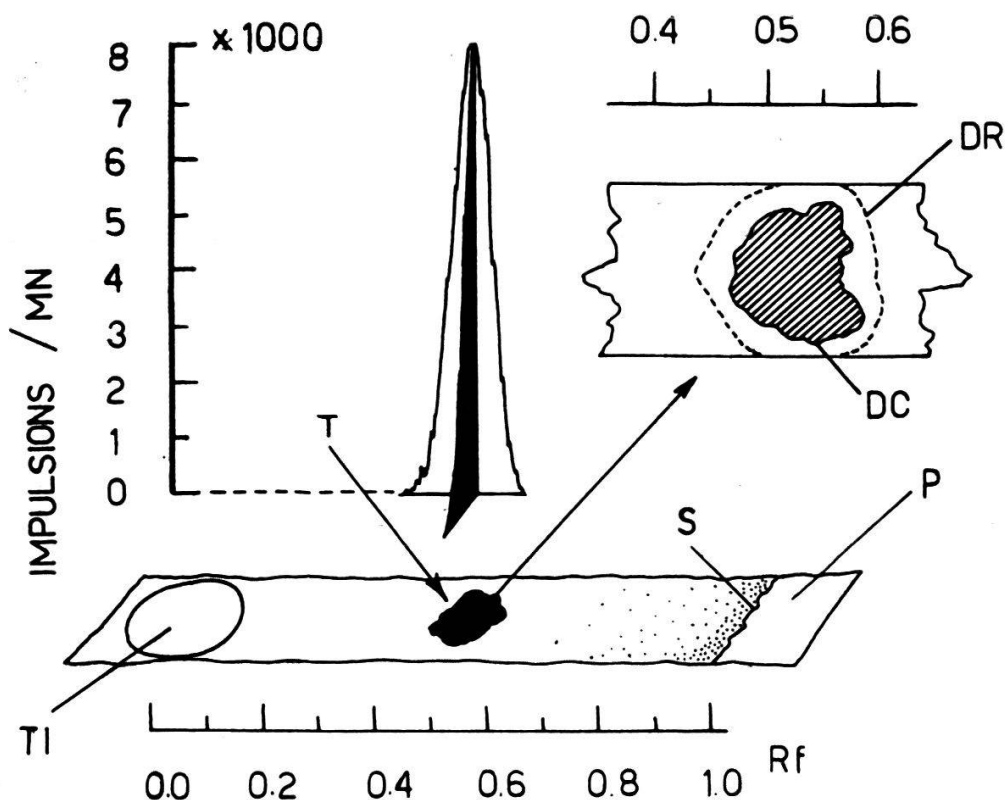


FIG. 16. — Comparaison de la méthode radiochimique et de la technique colorimétrique TI : tache initiale — S : front du solvant — T : tache révélée — DC : région détectée par un dosage colorimétrique — DR : région détectée par un dosage radiochimique — P : papier chromatographique.

7.4. Correction.

On procède à des expériences témoins pour déterminer les valeurs des facteurs de correction α (v. p. 227) et β (v. p. 231).

7.5. Mesures.

Le papier, une fois séché, est alors passé directement sous le compteur (v. p. 236) et les impulsions correspondant à la présence du C^{14} sont immédiatement enregistrées (v. p. 237).

7.6. Expression des résultats.

La distribution sur le chromatogramme de l'ABIA* et des divers composés auxiniques contenant du C^{14} et qui résultent de la dégradation enzymatique de l'ABIA* peut être donnée de diverses façons :

a) Valeurs d'impulsion.

On peut indiquer directement le nombre d'impulsions par minute enregistrées au compteur et représenter la variation du nombre d'impulsions en fonction du Rf.

b) Valeurs planimétriques.

A partir des courbes d'impulsions, on peut, à l'aide de mesures planimétriques, déterminer (v. p. 240 et 254) la surface comprise entre la courbe et l'axe. A cet effet, nous utilisons l'instrument suivant : Kompensations-Planimeter Coradi n° 37-III.

c) Valeurs en μg d'ABIA.

Connaissant l'activité spécifique de l'ABIA*, on peut construire une courbe étalon qui donne la correspondance entre le nombre d'impulsions/mn et la concentration en μg d'ABIA. Par suite, on peut traduire les valeurs correspondantes données en a), en μg d'ABIA. Ces données quantitatives seront calculées en tenant compte des coefficients de correction α et β .

d) Valeurs en %.

Enfin, on peut exprimer le % d'ABIA* (et par conséquent le % des composés auxiniques, marqués par du C^{14} , formés) en partant directement des valeurs planimétriques. Supposons, par exemple, que l'on ait, au début de l'expérience, de l'ABIA* (à un Rf déterminé) correspondant à S mm². Après une incubation enzymatique de t mn, on constate que la surface correspondant à l'ABIA a baissé, elle vaut par exemple S' et qu'un autre composé marqué apparaisse pour un autre Rf et corresponde à une mesure planimétrique de s mm². Tenant compte des facteurs α et β , on doit pouvoir écrire :

$$S - S' = s \text{ mm}^2$$

mais on peut poser que :

$$S \text{ mm}^2 = 100 \text{ ‰}$$

par conséquent :

$$S' \text{ mm}^2 = \frac{S'}{S} \cdot 100 \text{ ‰}$$

et

$$s \text{ mm}^2 = \frac{s}{S} \cdot 100 \text{ ‰} = \frac{S - s'}{S} \cdot 100 \text{ ‰} = \left(1 - \frac{S'}{S}\right) \cdot 100 \text{ ‰}.$$

8. DESTRUCTION ENZYMATIQUE DE L'ABIA*

8.1. Principe.

A une quantité déterminée d'extrait (on emploie le plus souvent le mélange suivant : *a*) extrait brut ... 4 ml — *b*) Sol. tampon (pH 6,1) ... 4 ml — *c*) Eau déionisée ... 8 ml), on ajoute de l'ABIA* en solution aqueuse (4 ml d'ABIA* à 50 µg/ml). Après une incubation variable qui se déroule dans les mêmes conditions que pour l'analyse biochromatographique (v. p. 234) on récupère l'ABIA qui n'a pas encore été détruit dans la solution, ainsi que les composés qui se sont formés par dégradation enzymatique, dans de l'éther (v. p. 226). On procède ensuite à la séparation chromatographique du mélange et on détermine la distribution du C¹⁴ sur le chromatogramme (v. 249).

L'ABIA qui reste sera représenté par la teneur en C¹⁴ trouvée dans les zones de Rf correspondant à l'ABIA (Rf compris entre 0,45 et 0,60) et les composés résultant de la décomposition de l'ABIA seront également caractérisés par la présence de C¹⁴ sur le chromatogramme ailleurs que dans les régions où s'est accumulé l'ABIA.

8.2. Premiers résultats.

Ainsi qu'on l'a vu plus haut, on peut exprimer la teneur en C¹⁴ de diverses façons. Pour une analyse préliminaire, on se borne à reporter, en fonction du Rf, les résultats :

- a*) en impulsions / mm (fig. 16 A) :
- b*) en mm² (planimètre) (fig. 16 B).

Ces graphiques, qui donnent la distribution du C¹⁴ sur le chromatogramme en fonction de la durée d'incubation enzymatique, permettent de tirer quelques conclusions :

- 1° C'est dans une zone à peu près identique à celle où l'on avait localisé l'ABIA que se trouve, du moins pour un temps d'incubation faible, le maximum du C¹⁴ décelé.