

Disparition de l'uracil et de la thymine sur le chromatogramme par irradiation avec des rayons ultraviolets

D'après les travaux consacrés à la photodégradation des acides nucléiques, des nucléotides et des nucléosides, la photolyse de certaines matières est réalisée par les rayons ultraviolets (UV)^{1,2,3}. Quant aux bases, on sait, par exemple, que la thymine en solution aqueuse est dégradée par irradiation, avec formation d'urée et d'acide pyruvique comme produits principaux⁴. En étudiant la photolyse des bases déposées sur du papier filtre, nous avons observé que cette photolyse est accompagnée d'une diminution de l'absorption UV des bases pyrimidiques, particulièrement de l'uracil et de la thymine. Le but de cette communication est d'attirer l'attention sur les possibilités d'application de ce phénomène à l'identification des bases puriques et pyrimidiques sur le chromatogramme.

Nous avons utilisé des échantillons préparés au laboratoire dont la pureté a été vérifiée par chromatographie sur papier. De plus, pour chacune de nos préparations, nous avons vérifié l'accord des spectres d'absorption avec ceux qui avaient déjà été étudiés précédemment⁵. Parmi les préparations employées, seule la guanine en raison de sa mauvaise solubilité, a été introduite sous forme de sel chlorhydrique, tandis que les autres ont été utilisées sous forme libre. Chaque échantillon a été employé en solution aqueuse à la concentration de 15 mM. Les irradiations ont été effectuées sur les composés déposés sur du papier filtre (Toyo No. 51-A) à la température ordinaire, en présence d'air, à 30 mm de distance, sans filtre, au moyen de la lampe germicide commerciale à vapeur de mercure à basse pression "National, GY-176-G, 15 W" (Matsushita Electric Ind. Co. Ltd., Osaka) qui émet principalement à 253.7 m μ . La révélation des substances a été réalisée au moyen de la même source avec un filtre (253.7 m μ) qui nous a été généreusement donné par le Laboratoire du Dr. IWASE à l'Institut de Recherches scientifiques, Tokyo.

Nous avons d'abord examiné la possibilité de diminution ou disparition des taches de quelques échantillons par cette technique. Dans ce but, on dépose 10 μ l de solution sur la feuille de papier en taches de 7 à 9 mm de diamètre qui renferment donc 0.15 μ M d'échantillons. Après séchage à la température ordinaire, la feuille est irradiée comme indiqué ci-dessus. La Fig. 1(a) qui montre un exemple typique de cette expérience, permet de se rendre compte de la diminution de l'absorption UV au cours de l'irradiation. On peut voir que l'absorption de l'uracil et de la thymine disparaît pratiquement après 7-9 heures d'irradiation, tandis qu'il n'apparaît pas de différences notables chez les bases puriques. De même, on peut voir que l'absorption de la cytosine diminue très lentement. En comparant ces résultats à ceux qui ont été obtenus par irradiation à travers un filtre en verre de 1 mm d'épaisseur, on peut déceler un effet protecteur du verre ou mettre en évidence une photosensibilité des bases pyrimidiques envers les rayons UV (Fig. 1(b)). Nous avons examiné ensuite les

possibilités d'application de ce phénomène à l'identification des bases sur le chromatogramme. A cet effet, nous avons déposé sur la ligne de départ une partie aliquote contenant la même quantité d'échantillon que dans l'expérience décrite ci-dessus. Les taches obtenues avaient environ 6 mm de diamètre. Après séchage, la feuille a été irradiée pendant 10 heures. Le chromatogramme a été développé selon la technique

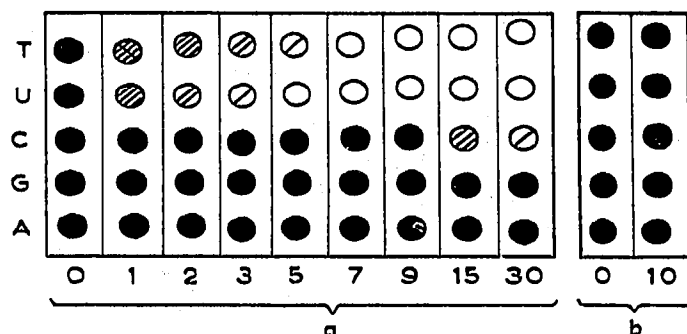


Fig. 1. Modification de l'absorption UV des bases déposées sur le papier filtre en fonction du temps d'irradiation par rayonnement UV (a) sans filtre ou (b) à travers un filtre en verre. Les chiffres montrent la durée d'irradiation en heures. A, adénine; G, guanine; C, cytosine; U, uracil; T, thymine.

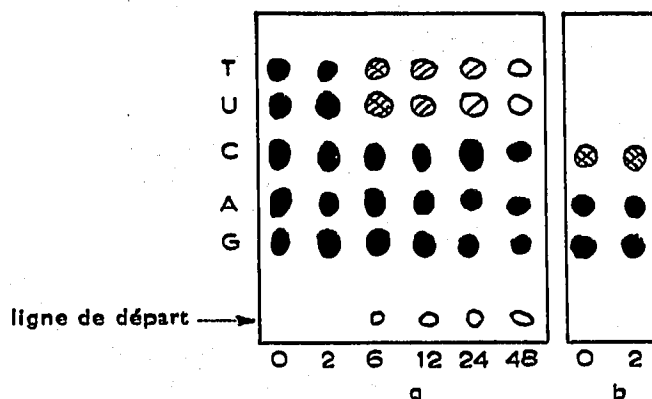


Fig. 2. Chromatogramme du mélange synthétique dans l'isopropanol/acide chlorhydrique/eau, mettant en évidence la diminution ou disparition des taches des bases pyrimidiques, en particulier de l'uracil et de la thymine. (a) Les chiffres indiquent la durée d'irradiation en heures avant développement. (b) La partie gauche du chromatogramme correspond au temps zéro et à 2 heures d'irradiation dans la Fig. 2(a), qui a été révélée après 6 heures d'irradiation.

ascendante unidimensionnelle par le solvant de WYATT⁶. Le papier a été alors retiré et abandonné à la température du laboratoire, à une lumière diffuse. Les résultats ainsi obtenus ont été plus nets pour l'uracil et la thymine, dont les taches n'apparaissent point. Il faut signaler cependant, que, dans les expériences avec le mélange des bases, il faut un temps d'irradiation plus long pour diminuer l'absorption des deux taches (Fig. 2(a)). Par contre, les deux taches sur le chromatogramme disparaissent après 6 heures d'irradiation (Fig. 2(b)). Lorsqu'on se sert de butanol-ammoniacal⁷ comme solvant, on obtient à peu près le même résultat.

Nous nous limitons ici à remarquer que la technique proposée peut rendre

service à l'identification des bases à cause de la photosensibilité de l'uracil et de la thymine envers les rayons UV.

Nous remercions M. le Professeur F. EGAMI de l'Université de Tokyo qui nous a aimablement guidé et encouragé durant ces travaux.

Laboratoire de Chimie, Université municipale de Nagoya,
Mizuho-ku, Nagoya (Japon)

HIROSHI ISHIHARA

¹ M. ERRERA, *Biochim. Biophys. Acta*, 8 (1952) 30.

² D. SHUGAR ET K. L. WIERZCHOWSKI, *J. Polymer. Sci.*, 31 (1958) 269.

³ D. SHUGAR ET K. L. WIERZCHOWSKI, *Biochim. Biophys. Acta*, 23 (1957) 657.

⁴ L. W. BASS, *J. Am. Chem. Soc.*, 46 (1924) 190.

⁵ E. CHARGAFF ET J. N. DAVIDSON, *The Nucleic Acids*, vol. 1, Academic Press, Inc., New York, 1955, p. 504.

⁶ G. R. WYATT, *Biochem. J.*, 48 (1951) 584.

⁷ W. S. MACNUTT, *Biochem. J.*, 50 (1952) 384.

Reçu le 8 juin 1959

J. Chromatog., 3 (1960) 94-96

Extraction et purification par chromatographie sur papier de Ra E contenu dans les solutions de radio-plomb

De nombreuses méthodes ont été décrites en vue d'obtenir le Ra E pur à partir de solutions de radio-plomb^{1, 2}.

La méthode décrite ici présente l'avantage de ne nécessiter que des opérations simples et permet d'obtenir du Ra E très pur. Elle s'effectue en trois stades:

1. Extraction du Ra E de ses solutions.
2. Purification par: (a) chromatographie descendante sur papier; (b) chromatographie ascendante sur papier.

1. Extraction du Ra E

La solution que nous avons utilisée était une solution chlorhydrique 0.3 N contenant environ 10 mC de Ra D, ses descendants (Ra E, Po ou Ra F, Ra G) et quelques dizaines de mg de chlorure de plomb. Elle provenait de résidus de minerais d'uranium traités en vue de l'extraction du radium.

Dans la solution chauffée au bain-marie aux environs de 60° est immergée une lame de nickel d'environ 1 cm² animée d'un mouvement rotatif (environ 1 tour/sec). Sur cette lame se déposent le Ra E et le Po par dépôt spontané, le Ra D et le Pb par adsorption. Après quelques minutes, la lame de nickel est extraite de la solution, lavée à l'eau distillée, puis attaquée superficiellement par quelques gouttes d'acide nitrique concentré. La solution nitrique ainsi obtenue qui contient Ni, Ra E, Po et très peu de Ra D + Pb est évaporée, reprise par HCl concentré, évaporée de nouveau; le résidu est finalement dissous par une goutte de HCl N (solution A).