

CHROM. 5313

Dosage des cérébrosides et sulfatides cérébraux par chromatographie en couche mince (technique sans élution préalable)

La chromatographie en couche mince est couramment utilisée dans l'analyse des lipides cérébraux. Sur le plan quantitatif ce procédé nécessite généralement entre le stade de la migration et celui du dosage proprement dit une élution des lipides. Nous avons mis au point pour les cérébrosides et sulfatides cérébraux une technique de dosage par chromatographie en couche mince où l'évaluation quantitative se fait sans élution préalable.

Nous avons comparé notre technique à celles où l'on utilise l'élution préalable¹.

Matériel et techniques

Le mélange de cérébrosides et sulfatides utilisé a été préparé dans notre laboratoire à partir de cerveaux de lapins.

La chromatographie en couche mince est effectuée sur des plaques de Silica Gel G Merck. Épaisseur de la couche de Silica Gel G, 0,25 mm; solvant de migration, chloroforme-méthanol-acide acétique-eau (5:1:2:1:0,5); dépôt sur 10 cm du mélange cérébrosides et sulfatides (correspondant à 200 μ g de galactose).

Après migration et séchage, les zones correspondant à l'emplacement des cérébrosides et sulfatides sont grattées. Ces zones sont soit traitées séparément pour doser les sulfatides et les cérébrosides, soit mélangées pour évaluer le mélange cérébrosides-sulfatides (ce que nous avons fait dans ce travail).

Les cérébrosides et sulfatides sont hydrolysés par de l'acide sulfurique 6 N à 100° en présence de la silice. La silice est ensuite éliminée par centrifugation.

Pour la suite du dosage nous utilisons la technique de SVENNERHOLM² légèrement modifiée.

TABLEAU I

COMPARAISON DES RÉSULTATS SUIVANTS LES TECHNIQUES UTILISÉES

Résultats exprimés en μ g de galactose; m = moyenne, σ = écart type, ρ = rendement.

Technique sans élution	Technique par élution No. 1	Technique par élution No. 2
192	122	201
203	114	176
194	126	174
190	135	185
192	134	201
192	135	187
193	123	182
202	135	188
200	132	180
202	131	177
$m = 196$	$m = 128$	$m = 185$
$\sigma = 5.1$	$\sigma = 7.2$	$\sigma = 9.6$
$\rho = 96 \text{ à } 101 \%$	$\rho = 57 \text{ à } 67.5 \%$	$\rho = 90 \text{ à } 100.5 \%$

Pour comparer nos résultats avec ceux obtenus par élution nous avons utilisé deux systèmes d'élution: (1) élution No. 1: élutions successives par chloroforme-acétone (1:1), acétone, chloroforme-méthanol (2:1) (2 fois); (2) élution No. 2: élution par chloroforme-méthanol-eau (2:1:0.1) (3 fois).

Résultats

Nous rapportons dans le Tableau I les résultats que nous avons obtenus.

Ces résultats montrent: (1) que la technique sans élution est indiscutablement la meilleure; (2) que le rendement des techniques par élution varie en fonction des solvants utilisés pour l'élution.

Nous avons soumis ces résultats à l'analyse statistique: l'étude des variances estimées à partir de ces échantillons expérimentaux montre qu'elles ne diffèrent pas significativement pour le risque de 5%. La comparaison des moyennes au moyen de l'analyse de la variance montre que les moyennes diffèrent significativement dans leur ensemble pour le risque de 1%.

En conclusion, notre technique de dosage sans élution préalable des cérébrosides et sulfatides présente un avantage certain sur les techniques avec élution: elle est plus simple, plus rapide, son rendement est meilleur et les résultats qu'elle fournit sont plus homogènes.

*Unité de Recherches Neuro-Biologiques de l'I.N.S.E.R.M.,
280, Boulevard de Ste Marguerite,
13-Marseille IXe (France)*

E. MESDJIAN*

- 1 P. WALRAVENS ET H. P. CHASE, *J. Neurochem.*, 16 (1969) 1477.
- 2 L. SVENNERHOLM, *J. Neurochem.*, 1 (1956) 42.

Reçu le 2 février 1971

* Avec la collaboration technique de M. FAUDON