

Ces autoradiographies montrent que la réaction entre le cyanure de potassium et le nitrate mercurique en proportions stoechiométriques est totale. En effet, sur le quatrième chromatogramme, on ne retrouve que la tache caractéristique du cyanure mercurique.

J. L. GRAND

J. P. VIGNE

## Activités désoxyribonucléasiques mesurées avec un DNA tritié\*

Reçu le 21 Octobre 66

La méthode habituelle de dosage des activités désoxyribonucléasiques consiste à mesurer la quantité d'oligonucléotides acido-solubles libérés après attaque enzymatique de l'acide désoxyribonucléique (DNA) (1). Lorsque le substrat est un DNA marqué par la thymine tritiée (2), la fraction acido-soluble qui en dérive, est dosée directement par comptage de la radioactivité.

Les milieux d'incubation réalisés dans le cas de deux désoxyribonucléases (DNases) étaient constitués de la façon suivante :

### *DNase neutre pancréatique :*

Le milieu final de 0,5 ml contient

$0,65 \times 10^{-2}$   $\mu$ mole de P-DNA marqué

1,25  $\mu$ mole de  $Mg^{++}$

20  $\mu$ mole de tampon Tris-HCl ; pH 7,5  
enzyme

### *DNase acide splénique*

Le milieu final de 0,5 ml contient

$0,65 \times 10^{-2}$   $\mu$ mole de P-DNA marqué

75  $\mu$  mole de tampon acétate ; pH 5,15  
enzyme à concentration convenable.

L'incubation est effectuée à 37°. Ensuite, on ajoute 0,2 ml de DNA de thymus de veau à 6,50  $\mu$ mole de P-DNA/ml utilisé comme entraîneur et enfin

\* Travail effectué dans le cadre d'un contrat avec Euratom.

0,3 ml de solution perchlorique 1 N. On laisse 5 minutes à 0°C. Les tubes sont centrifugés à 10 000 g pendant 10' à 4°C et on recueille le surnageant sur lequel s'effectuent les comptages.

Ces comptages sont réalisés en milieu liquide à partir de 0,2 ml de surnageant.

Les activités enzymatiques sont exprimées en  $\mu$ mole de P-DNA présentes dans la fraction acido-soluble, pour une minute d'incubation.

Dans ces conditions, nous avons vérifié que les caractéristiques cinétiques des deux enzymes étudiés, correspondaient à celles déterminées par les méthodes classiques.

L'utilisation d'un DNA marqué par la thymine tritiée permet de mettre en évidence de très faibles quantités d'enzyme ou de travailler avec des dilutions importantes d'enzyme.

La sensibilité de la méthode de dosage peut être encore améliorée si l'on augmente la concentration en DNA ou/et si l'on utilise un DNA marqué, dont l'activité spécifique est beaucoup plus importante.

L'emploi d'un substrat radioactif nous a permis de doser des activités enzymatiques que d'autres méthodes basées sur les mesures spectrophotométriques et colorimétriques ne pouvaient révéler.

Une communication détaillée sera faite lors de la « Seconde Conférence Internationale sur les méthodes de préparation et de conservation de Composés Marqués ».

L. DIMITRIJEVIC

P. LAUNAY

Unité de Biochimie-Enzymologie Institut Gustave-Roussy, 94-Villejuif, France

#### RÉFÉRENCES

1. KURNITZ, N.B. — Deoxyribonuclease activity of sera of men and some other species. *Arch. Biochem. Biophys.*, **43**/97/1953.
2. SAUCIER, J.M. et TOUTAIN, D. — Isolement et purification d'acide désoxyribonucléique tritié de haute radioactivité spécifique obtenu par incorporation de thymine tritiée par des bactéries. A paraître dans *Journal of Labelled Compounds*.