

## LE MARQUAGE RADIOACTIF EN BIOCHIMIE

La biochimie, à l'instar d'autres disciplines, a beaucoup bénéficié de l'utilisation de composés radioactifs artificiels ou traceurs. Un traceur radioactif est une substance radioactive dont la présence se détecte facilement et peut donc être suivie par l'utilisateur pendant toute la durée de l'expérience. Les traceurs radioactifs les plus utilisés sont, soit des isotopes stables ( $^2\text{H}$  ou Deutérium,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) dont le devenir est suivi par spectrométrie de masse, soit des isotopes radioactifs ( $^3\text{H}$  ou tritium,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{36}\text{Cl}$ ,  $^{45}\text{Ca}$ ) émetteurs de particules  $\beta$ -détectables et mesurables avec une très grande sensibilité par diverses techniques : compteur à scintillateur liquide, autoradiographie, radiochromatographie, etc. L'élément radioactif administré (sous forme de précurseur c'est-à-dire substrat marqué dont un atome de la molécule est remplacé par son isotope radioactif) à un organisme vivant, est, en général, reconnu et métabolisé par les systèmes biologiques, de façon identique à celle du substrat non marqué (voir encart discrimination isotopique). Les radiations émises sont mesurées et permettent de le distinguer des autres, de mesurer son taux d'incorporation, de localiser les sites métaboliques où il intervient, d'identifier les différents composés résultant de son métabolisme. Cette technique est très utilisée pour les études de structure, pour mettre en évidence les voies métaboliques et pour élucider les mécanismes de réaction.

Beaucoup d'aspects du métabolisme (comme la vitesse de renouvellement des métabolites, la biosynthèse des protéines et des acides nucléiques, l'existence du cycle de Calvin, du cycle glyoxylique, etc.) ont été mis en évidence et caractérisés grâce à l'utilisation de métabolites marqués.

L'utilisation de radioisotopes permet une analyse fine au niveau des molécules. Ainsi, dans le monde végétal, on prépare une solution du composé approprié contenant l'un ou l'autre de ces isotopes et l'on y place, soit des racines (isolées ou celles de la plante entière), soit des fragments de tissus de différentes parties de la plante. En nutrition minérale, par exemple, par autoradiographie de coupes sériées de tissus, on obtient des renseignements qualitatifs sur l'absorption, le transport et après extraction, des renseignements quantitatifs sur l'accumulation d'un ion donné qui a été marqué.

Une autre démarche moins contraignante car elle ne génère pas de déchets radioactifs est l'utilisation de précurseurs marqués à l'aide d'isotopes lourds au cours de certaines synthèses (ex. : l'ADN marqué à l'aide de bases nucléotidiques  $^{15}\text{N}$ ). Elle permet, entre autres, de séparer par ultracentrifugation les molécules ainsi marquées.

Dans le monde animal, la méthode des traceurs isotopiques permet également, en général sur un animal modèle, de mesurer avec précision la vitesse d'un processus métabolique, le devenir d'un médicament ou d'une molécule active ; elle permet aussi d'affirmer ou d'infirmier si une voie métabolique donnée représente la voie principale ou secondaire empruntée par le métabolite marqué fourni.

L'utilisation des isotopes radioactifs s'est avérée être une méthode bien supérieure à toutes les méthodes analytiques classiques. Elle permet aussi d'analyser le mouvement des ions dans les cellules et les tissus et de montrer en même temps par des marquages non uniformes au  $^{14}\text{C}$  ou au  $^3\text{H}$ , par exemple, quelle est la partie active d'une molécule donnée.