

Liens : <http://www.takween.com>,  
<http://www.takween.com/metabolisme/neoglucogenese-glucose-phosphatase.html>

UNIVERSITE CAD AYYAD      FACULTE DES SCIENCES-SEMLALIA, MARRAKECH  
 DEPARTEMENT DE BIOLOGIE    SERVICE DE BIOCHIMIE

Nom:	Prénom:	N° Examen:	N° Table
------	---------	------------	----------

**EXAMEN DE TRAVAUX PRATIQUES**  
**S4: METABOLISME 2012/2013**  
 Durée 45 minutes

L'activité de la glucose -6-phosphatase hépatique est mesurée en dosant la quantité de phosphore ( Pi ) libérée après hydrolyse du glucose 6 phosphate exogène. Les homogénats de foie à 10 % ( P/V ) de lapin à jeun pendant 24 heures et de lapin nourri normalement ont été préparés dans le tampon adéquat. La réaction d'hydrolyse est réalisée comme indiqué sur le tableau suivant :

Volumes en ml des réactifs	BLANCS				TESTS			
	1 FN	2 FN	3 FA	4 FA	5 FN	6 FN	7 FA	8 FA
Tampon pH=6,5 Citrate (ml)	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
EDTA 0,01 M (ml)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Homogénat à 10 % (ml)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
TCA 10 % (ml)	0,5	0,5	0,5	0,5	***	***	***	***
Glu-6-Pte 0,1 M (ml)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Ce milieu réactionnel a été incubé après agitation pendant 30minutes à 37°C								
TCA 10% (ml)	***	***	***	***	0,5	0,5	0,5	0,5

Justifier l'utilisation de l'EDTA dans le milieu réactionnel / ( 2 points ).

.....

.....

.....

.....

Le phosphate inorganique est quantifié selon la méthode de macheboeuf et Delsal sur une fraction de 0,5 ml de chaque surnageant obtenu après centrifugation des milieux réactionnels. Les résultats obtenus par spectrophotométrie sont indiqués dans le tableau suivant:

TUBES	TUBES BLANCS				TUBES TESTS				GAMME ÉTALON				
	1 FN	2 FN	3 FA	4 FA	5 FN	6 FN	7 FA	8 FA	A	B	C	D	E
Solution étalon (Pi) à 100 µg/ml													
Surnageants	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5					
H <sub>2</sub> O QSP 6ml													
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentré	0,3 ml d'H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentré ont été ajoutés dans chaque tube												

**Incubation pendant 15 minutes à 100°C**

Molybdate	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Sulfite de Na	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Hydroquinone	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

**Incubation pendant 20 minutes à l'obscurité**

Densité optique à 690 nm	0,061	0,071	0,089	0,091	0,228	0,281	0,391	0,398	0	0,175	0,335	0,505	0,695
Quantité de Pi en µg									0	20	40	60	80

QSP : quantité suffisante pour

- 1 - Compléter soigneusement le tableau ci-dessus. / ( 2 points )
- 2 - Tracer sur un papier millimétré la droite étalon représentant la DO à 690 nm en fonction de la quantité de Pi en microgrammes. / ( 4 points ).
- 3 - En tenant compte de toutes les données dont vous disposez, calculer l'activité de la glucose -6-phosphatase exprimée en:

- microgrammes de Pi par heure et par ml d'homogénat de foie nourri normalement ( expliquer au mieux toutes les étapes de calcul ). Donner le résultat pour le foie à jeun.

-micromoles de Pi par heure et par ml d'homogénat de foie nourri normalement ( expliquer au mieux toutes les étapes de calcul ). Donner le résultat pour le foie à jeun. ( Masse molaire de Pi = 31 ) / ( **8 points** ).

4 - Comparer les résultats obtenus et les commenter en 4 lignes . / ( **4 points** )