



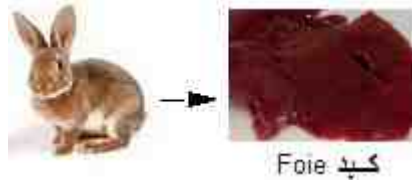
## S4. Module: Enzymologie et Métabolisme

Travaux Pratiques (TP)

Enseignement à distance

### TP Métabolisme : NEOGLUCOGENESE

Fichier guide (à télécharger sur PC ou Mobile)



#### IMPORTANT:

- Les TP à distance exigent plus d'attention. Pour mieux les comprendre lisez d'abord votre cours. Des évaluations à distance (quiz, rapport) faits par les étudiants, sont **bonifiées** pour chaque étudiant.
- Pour tirer profit de vos documents, en particulier les fichiers pdf, il faut les **TELECHARGER** d'abord sur votre PC ou mobile pour les lire offline. Ceci **rendra cliquables les liens web** du fichier et permet d'économiser sur les frais de connexion à internet.
- Suivre l'**ordre pédagogique** des actions mentionnées dans ce fichier guide.

**1/** Rendez vous sur votre **polycopié de TP Métabolisme**. Si vous ne l'avez pas encore téléchargé, faites le sur la plateforme **learn.uca.ma** (encore fonctionnelle): FSSM – Biologie – TP Enzymologie – Métabolisme ou à partir de cette page web (dépôt provisoire) :

<https://www.takween.com/metabolisme/neoglucogenese-glucose-phosphatase.html>

Lisez bien le protocole expérimental et le but du TP (Extraction d'une enzyme de la néoglucogénèse et glycogénolyse, la glucose 6-phosphatase, à partir de foies de deux lapins l'un mis à jeun et l'autre nourri)

**2/** Ecoutez la **vidéo du TP** : <https://youtu.be/XHiAxSBmdTw> . Ceci permet de mémoriser les principaux gestes dans le travail pratique

# PREPARATION DES HOMOGENATS DE FOIE DE LAPIN

Tris-HCl 5mM (pH 6,5)

**Homogénats 10% (p/v)**

Saccharose 0,25 M

EDTA 0,1 mM.



## Glucose 6-phosphatase. Test in vitro

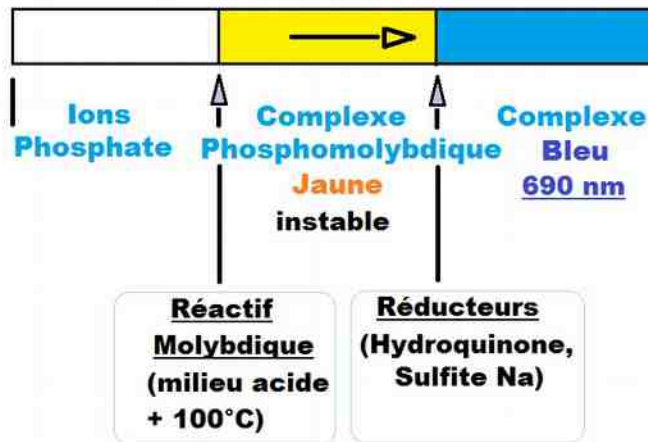
Tubes	Témoins de la réaction P préexistant				Tests de la réaction P préexistant + P réaction = P total			
	FN1 1	FN2 2	FAJ1 3	FAJ2 4	FN1 5	FN2 6	FAJ1 7	FAJ2 8
Tampon citrate pH 6,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
EDTA (mL)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
HOMOGENAT 10% ENZYME (mL)	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
TCA 10% (mL)	0,5				0			
Gluc 6-P 0,1 M (mL)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Incubation à 37°C	30 min après agitation							
TCA 10% (mL)	0				0,5			
Centrifugation à 7000 g	3 minutes après transfert des contenus des tubes à essai dans des microtubes pour centrifugation. On récupère les surnageants pour y doser le phosphate							



**Volume: 1,6 mL/tube**

# DOSAGE DU PHOSPHORE

## PAR LA METHODE DE MACHEBOEUF-DELSAL



## NEOGLUCOGENESE. TEST DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE DE LA GLUCOSE 6-PHOSPHATASE DE FOIE DE LAPIN

### CALCULS :

1 **TRACE DE LA GAMME ETALON DO 690 nm = f((Pi))**

2 **Calcul Pi net**

**Calcul de Pi libéré par lapin nourri (FN):**

**Pi net FN = Pi total - Pi préexistant, avec :**

*(Pi) préexistant moyen =  $[(Pi)FN1 + (Pi)FN2]/2$ , (Pi) total moyen =  $[(Pi)FN1' + (Pi)FN2']/2$ , Si on calcule la concentration en  $\mu\text{g/ml}$ , il faudra multiplier les quantités de phosphore trouvées par 2, sachant que les essais ne concernaient que 0,5 ml de surnageant.*

**Calcul de Pi libéré par lapin à jeun (FJ):**

**Pi net FJ = Pi total - Pi préexistant, avec :**

*(Pi) préexistant moyen =  $[(Pi)FJ1 + (Pi)FJ2]/2$ , (Pi) total moyen =  $[(Pi)FJ1' + (Pi)FJ2']/2$ ,*

3 **Calculs:**

**Pi libéré dans milieu réactionnel: (volume 1,6mL)**

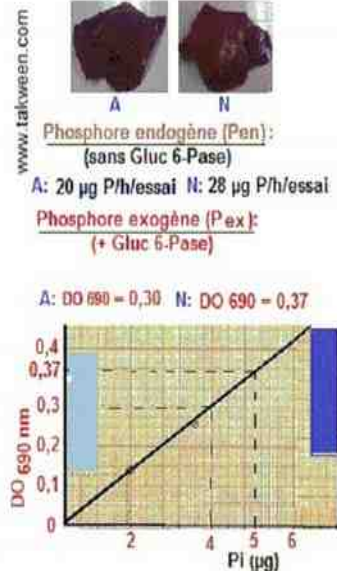
*multiplier les valeurs (Pi) (exprimées en  $\mu\text{g/ml}$ ) par 1,6.*

*Cette quantité de Pi est libérée par 30 min Pour calculer (Pi) par heure (60 minutes), il faut multiplier encore par X 2*

**Pi libéré/h/mL Homogénat** *il faut multiplier la quantité de Pi libérée/h par x 2,5 car le volume de l'homogénat utilisé dans le test de la réaction était 0,4 mL*

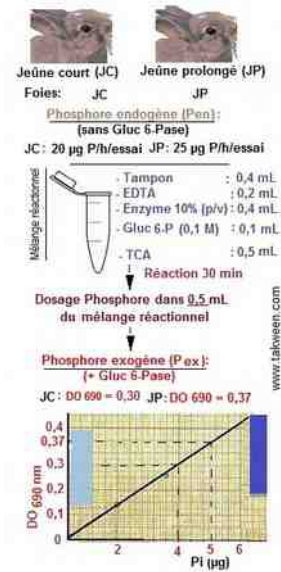
*Expression de l'activité de la glucose-6 phosphatase en  $\mu\text{mole de Pi/h/ml d'homogénat}$ : 1  $\mu\text{mole}$  correspond à 31  $\mu\text{g}$ .*

**Pi/h/g foie: 10% (p/v)**



# GLUCOSE 6-PHOSPHATASE DE FOIE DE LAPIN NEOGLUCOGENESE.

## EVALUATION DU TP :



### 4/ Interprétations des résultats

A l'aide de cette **vidéo d'interprétation du TP**, essayer de répondre aux différentes questions posées dans le compte rendu du TP :

[https://youtu.be/eNDuec5\\_Yds](https://youtu.be/eNDuec5_Yds)

5/ En gardant le **polycopié comme référence officielle du TP**, vous pouvez voir des compléments d'information sur la néoglucogenèse en visitant les pages (facultatif, pour complément d'information) :

- <https://www.takween.com/metabolisme/neoglucogenese-glucose-phosphatase.html>

Avec quelques calculs et interprétations des résultats du TP

6/ Faire votre évaluation sous forme de quelques quiz formatifs :

- **Quiz blanc du TP Métabolisme** sur la plateforme learn.uca.ma

- **Quiz sur le site takween.com** :

- <https://www.takween.com/QCM-neoglucogenese-TP.html>

- <https://www.takween.com/QCM/neoglucogenese-metabolisme-qcm.html>

Préparez vous au **quiz évaluatif** prochain (avec une seule tentative) se déroulant sur la **plateforme**

Contact : [baaziz@uca.ac.ma](mailto:baaziz@uca.ac.ma)

Cadi Ayyad University, Faculty of Sciences ; Marrakech, Morocco