extraction et coloration du glycogène

publié le 01.02.11 |par didier pol

cet article présente un protocole d'extraction du glycogène à partir de foie ou de muscle. le glycogène extrait peut ensuite être employé dans différents buts, qu'il s'agisse d'une simple mise en évidence par coloration à l'eau iodée, ou pour une utilisation comme substrat de réactions chimiques.

1. introduction

le glycogène est une macromolécule glucidique présente chez de nombreux animaux où il constitue une forme de stockage du glucose. il s'agit d'un polyoside de structure moléculaire proche de celle de l'amidon, forme de stockage du glucose rencontrée chez les végétaux, ce qui lui a valu d'être longtemps qualifié d'amidon animal. dans la molécule de glycogène, comme dans celle d'amidon, des unités glucose reliées par des liaisons osidiques alpha 1-4 forment une chaîne hélicoïdale sur laquelle des chaînes secondaires de même constitution se branchent par des liaisons osidiques alpha 1-6. dans le glycogène, ces ramifications sont présentes environ tous les dix résidus de glucose tandis que dans l'amidon, elles sont présentes environ tous les trente résidus. en présence d'iode, le glycogène se colore en brun acajou alors que l'amidon se colore en bleu-violet. le glycogène est présent en quantité importante surtout dans le foie (15 à 50 g/kg) et dans les muscles (1 à 10 g/kg). dans les cellules, le glycogène se trouve dans le cytosol où il forme des granulations de 10 à 40 nm de diamètre souvent regroupées en rosettes.

l'extraction du glycogène peut être menée soit à partir d'organes de vertébrés comme le foie et les muscles, soit à partir d'invertébrés comme les mollusques. les moules et les huîtres en contiennent en effet des quantités notables. le glycogène extrait peut être mis en évidence par sa coloration en présence d'eau iodée (lugol). il peut aussi servir, comme l'amidon, de substrat aux amylases. il peut être hydrolysé entièrement par voie chimique (à chaud, en milieu acide) ou enzymatique (par une amyloglucosidase) pour montrer qu'il est exclusivement formé d'unités glucose ou pour déterminer la quantité de glucose stockée dans tel ou tel organe.

2. protocole

1. **peser 10 g de foie ou de muscle.**
2. **découper l'échantillon en petits morceaux.**
3. **broyer dans un mixer électrique (ou avec mortier et pilon en présence de sable de fontainebleau) dans 30 ml d'acide trichloroacétique à 4 % (figure 1a).**
4. **répartir le broyat dans des tubes de centrifugeuse (figure 1b).**
5. **centrifuger à 5000 tours par minute pendant 5 minutes (figure 1c).**
6. **récupérer le surnageant.**

7. **ajouter deux volumes d’alcool à 95 % à un volume de surnageant pour faire précipiter le glycogène : des flocons blanchâtres apparaissent dans le tube si du glycogène est présent dans l'extrait et le contenu du tube devient trouble (figure 1d).**
8. **mélanger en retournant plusieurs fois le tube.**
9. **centrifuger à 5 000 tours par minute pendant 5 minutes pour récupérer le précipité. le glycogène forme un culot blanchâtre (figures 1e et 1f).**
10. **pour récupérer le glycogène, éliminer le surnageant.**
11. **après dissolution du glycogène isolé dans de l'eau distillée, une goutte de lugol ajoutée à la solution fait apparaître la coloration spécifique du glycogène (figure 1g).**

remarques :

- **préparation du lugol : dissoudre 1 g de diiode et 2 g d'iodure de potassium dans de l'eau distillée (de 20 ml à 200 ml selon la concentration désirée)/**
- **il est possible de dissoudre le glycogène contenu dans le culot dans de l'eau distillée et de le faire précipiter de nouveau avec de l'alcool pour obtenir un produit plus pur.**
- **si l’on veut peser précisément le glycogène extrait, il est nécessaire de le sécher. pour cela, mettre le tube dans une l’étuve à 45 °c pendant 24 à 48 h.**

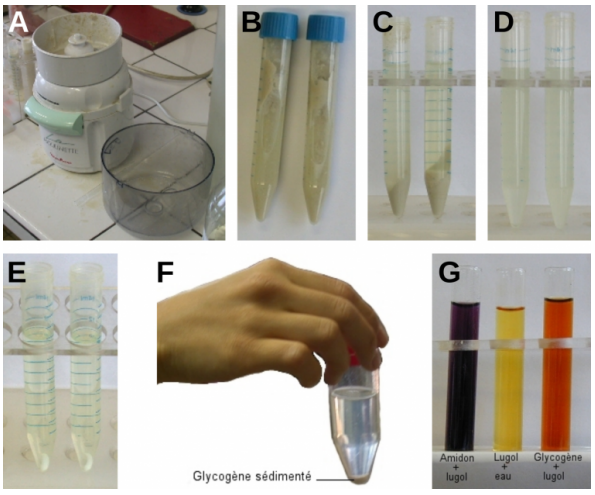


figure 1 - extraction et coloration du glycogène
a : broyage au mixer. b : broyat avant centrifugation. c : broyat après centrifugation. d : précipitation du glycogène. e et f : sédimentation. g : coloration par l'iode de l'amidon et du glycogène.

auteur(s)/autrice(s) : gilles camus et didier pol licence : pas de licence spécifique (droits par défaut)

CRÉDITS

AUTEUR(S)/AUTRICE(S)

didier pol

agrégé de sciences de la vie et de la terre.

MISE EN LIGNE

gilles camus

professeur agrégé de svt. il a été le responsable éditorial du site planet-vie de 2004 à 2016.

LICENCE DU TEXTE DE L'ARTICLE

