

Protocole : extraction et coloration du glycogène

Auteur : Gilles Camus et Didier Pol

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 %
4. Répartir le broyat dans des tubes de centrifugeuse.
5. Centrifuger à 5000 tours par minute pendant 5 minutes.
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.
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.
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.

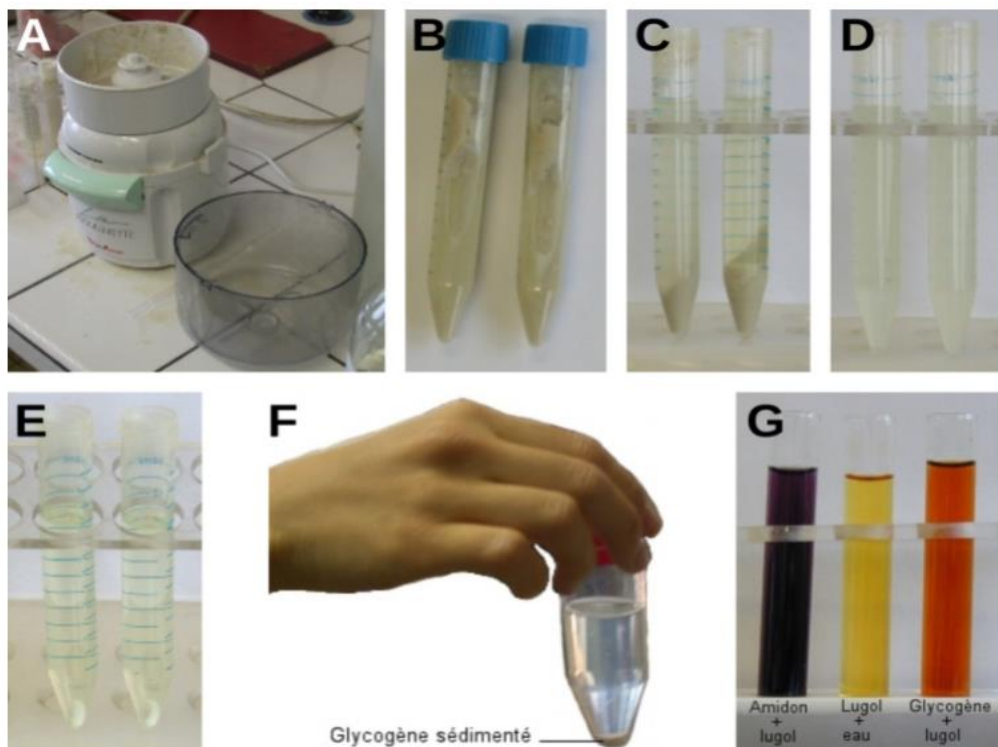


Figure 1 - Extraction et coloration du glycogène

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.

Précautions de la manipulation :



Protocole de recherche de glycogène hépatique

d'après l'ouvrage de Monsieur Didier Pol

- ▶ couper 10 g. de **foie congelé** en petits cubes,
- ▶ faire bouillir dans de l'eau distillée,
- ▶ broyer après égouttage puis porter à nouveau à ébullition,
- ▶ filtrer et ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique au filtrat,
- ▶ filtrer à nouveau et ajouter de l'alcool (4 fois le volume du filtrat),
- ▶ filtrer, **recupérer le précipité** dans le filtre puis le dissoudre dans quelques millilitres d'eau,
- ▶ tester la présence de glycogène à l'aide de l'eau iodée. *NB : le glycogène donne une coloration brun-acaïou en présence d'eau iodée.*

Précautions de la manipulation :

