
Utiliser la glucose-oxydase pour déduire la glycémie d'un sujet en spécialité de TS

OBJECTIFS

Le thème de spécialité de Terminale S « Glycémie et diabète » a pour fil directeur l'origine du glucose sanguin issu de l'action des enzymes digestives sur les macromolécules des glucides alimentaires, l'existence d'une glycémie régulée chez le sujet normal et mal régulée chez les sujets diabétiques. Il s'agit d'utiliser la glucose-oxydase pour tester l'influence de la concentration du substrat sur sa cinétique enzymatique, pour comprendre comment on peut déduire la concentration en glucose en situation de test d'hyperglycémie provoquée. En effet, la glucose-oxydase catalyse la réaction : $\text{glucose} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{acide gluconique} + \text{H}_2\text{O}_2$.

Liée à la peroxydase et un chromogène, cette glucose-oxydase se colore en rose plus ou moins dense en fonction de la concentration de glucose converti. Ainsi, la concentration en glucose peut-elle être déduite d'une gamme colorimétrique. On obtient une gamme étalon (représentée par une courbe étalon). C'est le principe du fonctionnement des lecteurs de glycémie utilisés par les diabétiques.

DÉMARCHE POSSIBLE

Séance 1 : on veut construire la courbe vitesse de réaction en fonction de la concentration en glucose pour une même concentration en glucose-oxydase.

Séance 2 : on veut comprendre le principe du dosage de la glycémie et comparer l'évolution de la glycémie chez un sujet normal et chez celle d'un diabétique afin d'interpréter le résultat d'un test d'hyperglycémie provoquée d'un sujet inconnu.

MATÉRIEL UTILISÉ

Séance 1

- Un système ExAO avec sonde oxymétrique et bioréacteur permettant de suivre l'évolution de la teneur en O_2 en fonction du temps et en fonction des différentes concentrations en glucose, pour une même concentration en enzyme.
- Solution de glucose-oxydase fraîche
- 4 solutions de glucose de différentes concentrations : 2 g.L^{-1} , $1,5 \text{ g.L}^{-1}$, 1 g.L^{-1} , $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ et 0 g.L^{-1}
- seringue de 1 mL.

Séance 2

- Fiche technique Mesurim
- Photo gamme étalon de différentes solutions de glucose colorées par l'association glucose-oxydase - peroxydase et chromogène
- Gamme étalon standard préparée à l'avance au bureau
- Résultats des deux tests d'hyperglycémie provoquée (site de Jean-Jacques Auclair)

GUIDE D'EXPLOITATION

Séance 1

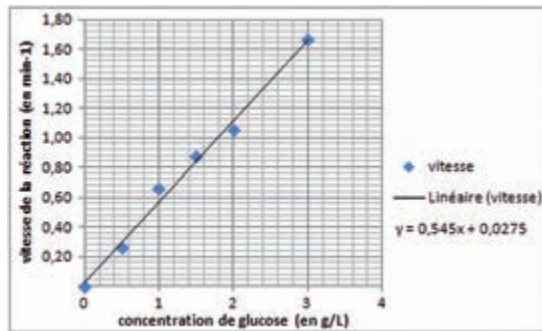
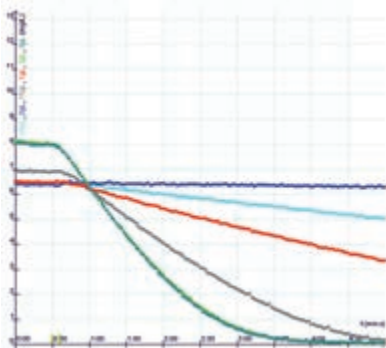
- Mettre en œuvre le protocole expérimental en n'oubliant pas de superposer les courbes.
- Repérer pour chaque courbe la pente de consommation de O_2 . Cette dernière est la vitesse de réaction enzymatique pour une concentration donnée de glucose.

– Tracer sous tableur (Mesurim, Excel, Latis bio, etc..) la courbe d'évolution de la vitesse de réaction enzymatique en fonction de la concentration en glucose.

Séance 2

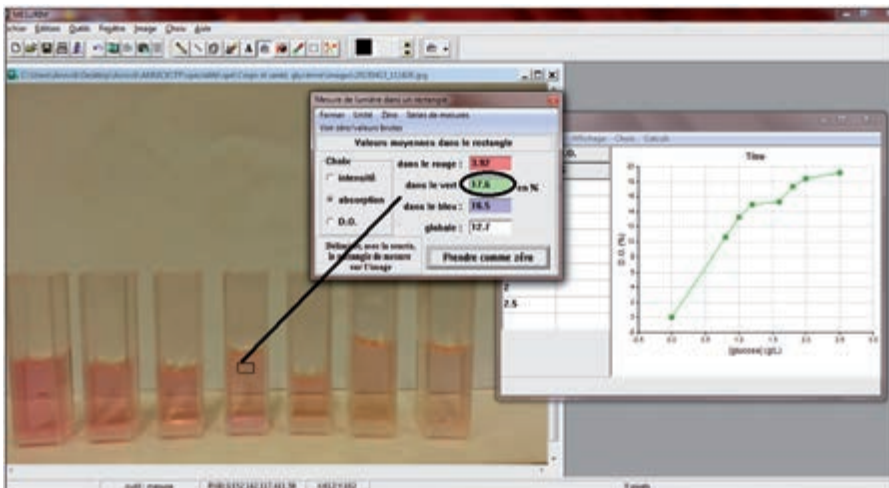
- Définir la glycémie.
- Construire la courbe étalon de l'évolution de l'absorbance en fonction de la concentration de glucose.
- Expliquer la relation entre l'activité de la glucose-oxydase, l'absorbance mesurée et le dosage de la glycémie.
- Comparer les résultats des deux tests d'hyperglycémie provoquée.

RÉSULTATS



Enregistrement de l'évolution de la concentration en O₂ en fonction de la concentration en glucose

Courbe d'évolution de la vitesse de réaction enzymatique en fonction de la concentration de glucose



Exemple de courbe étalon obtenue à partir de la mesure de la densité optique des solutions photographiées

Annick Boulanger, professeur de SVT, Lycée Robert de Luzarches, Amiens