**TP Effet de l’insuline et du glucagon sur le foie**

**Matériel :**

1 balance, 1 bain marie et un thermomètre, 2 demi-boîtes de Pétri en verre, 2 béchers de 50 mL, 1 éprouvette de 25 mL, 1 pipette de 5 mL avec 1 propipette, 2 agitateurs en verre, 1 feutre, des ciseaux, 2 passoires, 1 flacon avec 100 mL liquide de Ringer,

1 support en mousse pour tubes Eppendorf, tube Eppendorf contenant hormone, 1 pissette d’eau distillée.

Deux types de postes de travail :

- **1 poste A** aves témoin et glucagon : 1 Eppendorf avec 2 mL de glucagon

- **1 poste B** avec témoin et (insuline + glucagon) : 1 Eppendorf avec 2 mL de glucagon, 1 Ependorf avec 2 mL d’insuline

- pour les deux postes : 1 bécher avec 12 bandelettes de Keto-diastix.

**Protocole :**

**Postes A et B**

|  |  |
| --- | --- |
| 1 - Brancher le bain marie à 37 °C2 - Mettre dans 2 béchers **20 mL de liquide de Ringer** avec l’éprouvette et numéroter les deux béchers avec le feutrepuis les placer immédiatement à 37 °C.bécher 1 : bécher témoinbécher 2 : avec hormone | Ringer : 20 mL12Bain-marie 37°C |
| 3 - Prélever 2 fragments de foie de 20 g chacun (balance, ciseau, boîte de Pétri)4 - Découper les fragments de foie de chaque lot en petits morceaux5 – Rincer l’un après l’autre, sous l’eau du robinet, les 2 lots de foie placés dans des passoires. Il faut au moins 5  minutes pour éliminer le glucose présent. | Foie lavé avec liquide de Ringer |
| 6 – Placer ces fragments dans les deux béchers clairement identifiés (au crayon indélébile : bécher témoin, bécher  avec hormones) ; Vérifier très rapidement s’il n’y a plus de glucose grâce aux bandelettes, **sinon** vider les béchers (en conservant les morceaux de foie) et recommencer les étapes 2, 5 et 6. |  |
| **Pour le poste A**7- Verser 4 mL d’eau distillée dans le bécher témoin (1) - Verser 2 mL d’eau distillée à l’aide d’une pipette et le contenu du tube Eppendorf contenant 2mL de glucagon (verser directement sans utiliser de pipette) dans le bécher (2) | tube Eppendorf2 mL de glucagon +2mL EDdans bécher 1dans bécher 24 mL d’eau distillée |
| **Pour le poste B**7- Verser 4 mL d’eau distillée dans le bécher témoin (1) - Verser 2 mL d’eau distillée à l’aide d’une pipette et le contenu du tube Eppendorf contenant d’insuline (verser directement sans utiliser de pipette) dans le bécher (2) | 2 mL d’Insuline +2mL EDdans bécher 2dans bécher 14 mL d’eau distillée |
| 8- Mesurer, grâce aux bandelettes, la concentration en glucose à t = 10 min, t = 20 min puis t = 30 min. Indiquer les résultats dans le tableau ci-dessous. Penser à agiter le milieu avant les tests avec la bandelette. |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **T0 après lavage** | **T = 10 min** | **T = 20 min** | **T = 30 min** |
| **Foie + Ringer (témoin)** |  |  |  |  |
| **Foie + glucagon** |  |  |  |  |
| **Foie + insuline** |  |  |  |  |