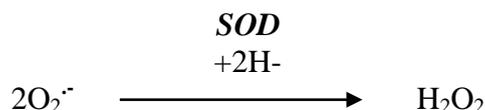


TP 3 : Mesure de l'activité spécifique de superoxyde dismutase (SOD) du miel

I. Introduction

La superoxyde dismutase (SOD : EC 1.15.1.1) est une métalloenzyme qui existe dans la plupart des organismes. Elle représente la première ligne de défense enzymatique contre des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Elle est capable d'éliminer l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) par une réaction de dismutation, à partir de deux anions superoxyde pour former une molécule d'oxygène et une molécule peroxyde d'hydrogène selon l'équation suivante :



L'objectif de ce TP est de mesurer l'activité de superoxyde dismutase du miel, par une méthode spectrophotométrique, en suivant l'inhibition de l'auto-oxydation du pyrogallol en présence de la SOD hépatique.

II. Matériel et réactifs

| Réactifs | Matériel |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée • KH_2PO_4 (potassium phosphate monobasique) $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ (potassium phosphate Dibasic Trihydrate) • Tris HCl (Tris (hydromethyl)amino-methane hydrochloride) • KCl (chlorure de potassium) Acide chlorhydrique (HCL 36 %) • EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique) • Pyrogallol (1, 2, 3, trihydroxybenzène) | Miel Homogénéisateur Eprouvette de 10 et 20 ml Micropipette 100 μ l Micropipette 1000 μ l Vortex Spectrophotomètre UV-1800 Bécher Tube eppendorf 1,5 ml |

III. Dosage des protéines dans l'extrait enzymatique (SOD) du miel

Mesure de l'activité spécifique de SOD

Le dosage de superoxyde dismutase a été effectué selon la méthode rapportée par **Marklund et Marklund, (1974)**.

- Dans un eppendorf, mélanger 1440 μL du tampon Tris-HCl (50 mM) et EDTA (10mM) à pH 8.2 et 100 μl de la solution de miel (0,5 g/ml) ou l'eau distillée.
- Ajouter 100 μl de solution pyrogallol (15 mM)
- Mesurer l'absorbance à 440 nm après 3 minutes de réaction (faire la cinétique).

IV. Ce qui est demandé

-Calculer l'activité spécifique de superoxyde dismutase, sachant qu'une unité de l'activité de la SOD est définie comme l'enzyme qui causerait l'inhibition de 50% de l'autoxydation du pyrogallol.