

TP5 : Le métabolisme à l'échelle cellulaire

Objectifs :

- (*notionnel*) : avoir ce qu'est le métabolisme – savoir quels sont les paramètres qui contrôlent le métabolisme
- (*méthodologique*) : suivre un protocole expérimental – tirer les conclusions d'une expérience
- (*d'attitude*) : travailler en autonomie – respecter le matériel

Partie A : Etudier l'utilisation des métabolites par les cellules

On a placé un même volume de solution de levure (= champignon unicellulaire) dans deux milieux différents :

- Milieu A : eau + sels minéraux (solution A)
- Milieu B : eau + sels minéraux + glucose (solution B).

La concentration initiale de la solution de levure est de $5 \cdot 10^8$ levures par litre de solution.

Au bout de 24h on a prélevé un volume de la solution A et on l'a placé sur une lame quadrillée (1 carré contient un volume de $1 \cdot 10^{-8}$ L) que l'on a observé au microscope (photo A). On a fait de même pour la solution B (photo B).

Calculer le nombre de cellules par litre au bout de 24h pour chaque solution.

Aide : compter le nombre de levure de quelques carrés puis faites en la moyenne et trouver la concentration pour 1L.

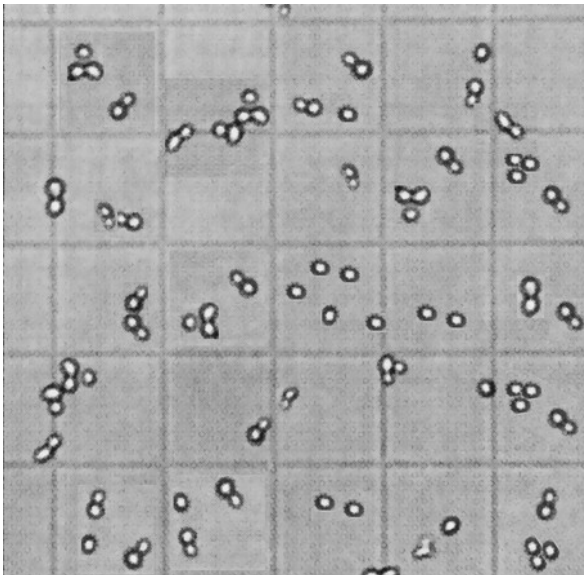


Photo A

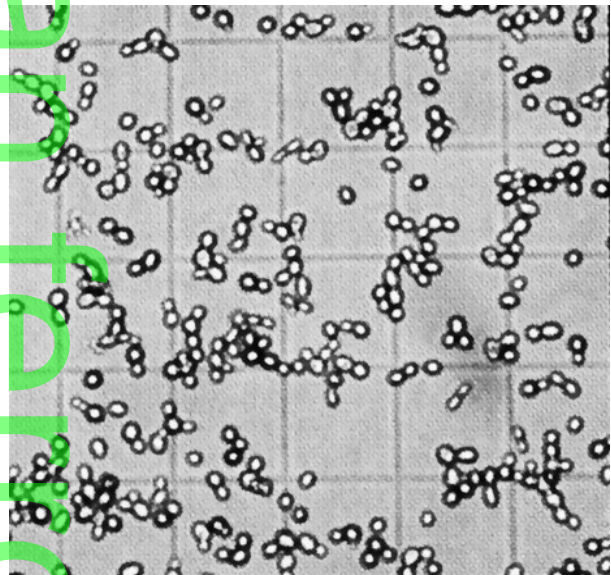


Photo B

Interpréter le résultat et en **déduire** à quoi sert le glucose pour la levure.

Partie B : Les échanges entre la cellule et le milieu extérieur

Vous disposez d'une solution de levure affamée pendant 48h à 15g/L et d'une solution de glucose à 5g/L. Nous allons suivre l'évolution de la quantité de glucose au cours du temps dans une suspension de levures.

Prélever un volume de 20 mL de solution de levures et **l'introduire** dans le récipient fourni.

Prélever ensuite un volume de 5 mL de solution de glucose et **l'introduire** dans le même récipient.

Agiter un peu et **mesurer** la concentration en glucose grâce à une bandelette gluco-test

Noter la couleur et en **déduire** la concentration approximative :

Au bout de **10** minutes, **mesurer** à nouveau la concentration en glucose

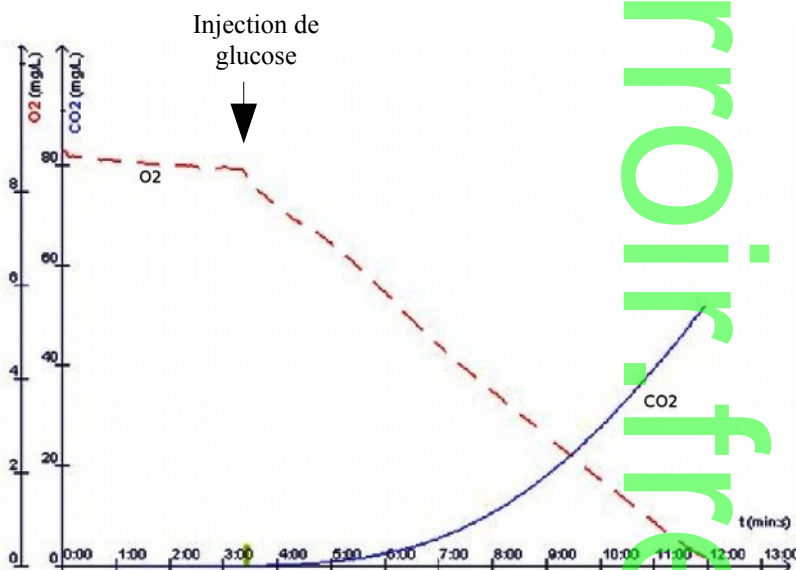
Noter la couleur et en **déduire** la concentration approximative :

Au bout de **30** minutes, mesurer à nouveau la concentration en glucose

Noter la couleur et en **déduire** la concentration approximative :

Interpréter et **conclure** quant à l'évolution de la quantité de glucose au cours de l'expérience.

On peut réaliser la même expérience mais on cherche cette fois-ci à caractériser les échanges gazeux (CO_2 et O_2) entre la cellule (levure) et le milieu extérieur. Le graphique suivant pourrait être tiré de cette expérience.

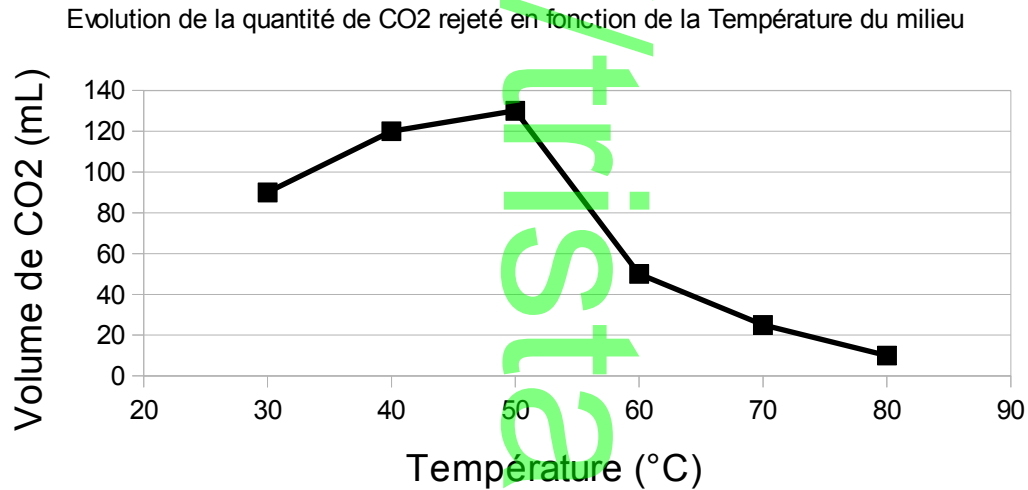


Evolution de la quantité d'O₂ et de CO₂ dans une culture de levures.

A partir du graphique, **décrire** et **conclure** quant aux échanges de gaz (CO_2 et O_2) entre la cellule et le milieu extérieur.

Partie C : Etudier les paramètres contrôlant le métabolisme

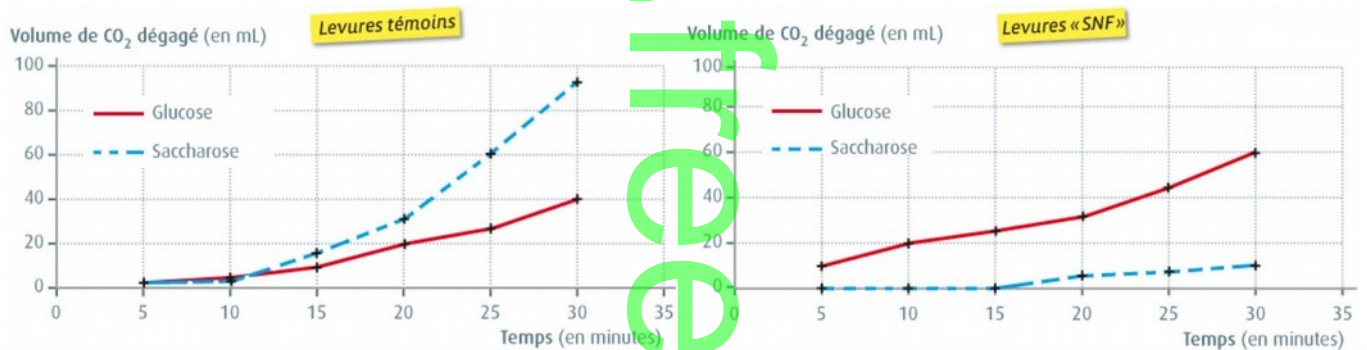
On étudie une suspension de levures en présence de glucose pour différentes températures. Pour chaque température, on a introduit une quantité identique de solution de levures et de solution de glucose. Au bout de 30 minutes, on mesure le volume de CO₂ rejeté pour chacune des températures. Le résultat est présenté dans le graphique suivant



Question 1 : Écrire l'équation bilan de la réaction qui se produit lors de cette expérience

Question 2 : Analyser (= décrire) et interpréter (=conclure) sur le graphique proposé en se demandant notamment quel facteur contrôle ici le métabolisme des levures.

On étudie maintenant une souche de levure dite « mutante ». Les mutants ont subi une altération d'un gène indispensable à la transformation du saccharose en glucose (mutation).



Evolution de la quantité de CO₂ dégagé en fonction du temps pour des levures témoins ou des levures mutantes en présence de glucose ou de saccharose cultivée à 30°C.

Remarque : Le saccharose doit être décomposé en glucose + fructose par la levure pour que la fermentation soit possible.

Question 3 : Dans ces expériences, quel est le paramètre mesuré ?

Question 4 : D'après vos connaissances, que peut traduire la variation du paramètre mesuré ?

Question 5 : **Réaliser** une description comparée des deux graphiques concernant l'utilisation du saccharose par les levures témoins et par les levures mutantes SNF.

Question 6 : **Donner** une interprétation aux différences constatées.

Question 7 : **Déterminer** le facteur capable de contrôler le métabolisme mis en évidence cette expérience et justifier votre réponse.