

Les échanges gazeux entre les cellules et leur milieu de vie

Cellule, ADN et unité du vivant – La cellule fonde l'unité et la diversité du vivant – T.P. 3 ExAO

Logiciel Jeulin « Cell C » utilisant les sondes de mesure de concentration en O_2 et en CO_2 du milieu (la sonde à CO_2 n'est pas disponible sur tous les postes), une sonde de température et une sonde photométrique.

A. Objectif

▷ Étude comparative du comportement métabolique de deux types de cellules, l'une hétérotrophe (une culture de levures) et l'autre autotrophe (cellules chlorophylliennes de feuilles de plantes aquatiques).

B. Présentation de la manipulation ExAO.

▷ Mesurer les échanges gazeux avec le milieu de culture en fonction du type de métabolisme (A et B1).
▷ Rechercher l'origine des métabolites utilisés par les cellules hétérotrophes (B1 et B2).

1. Matériel vivant.

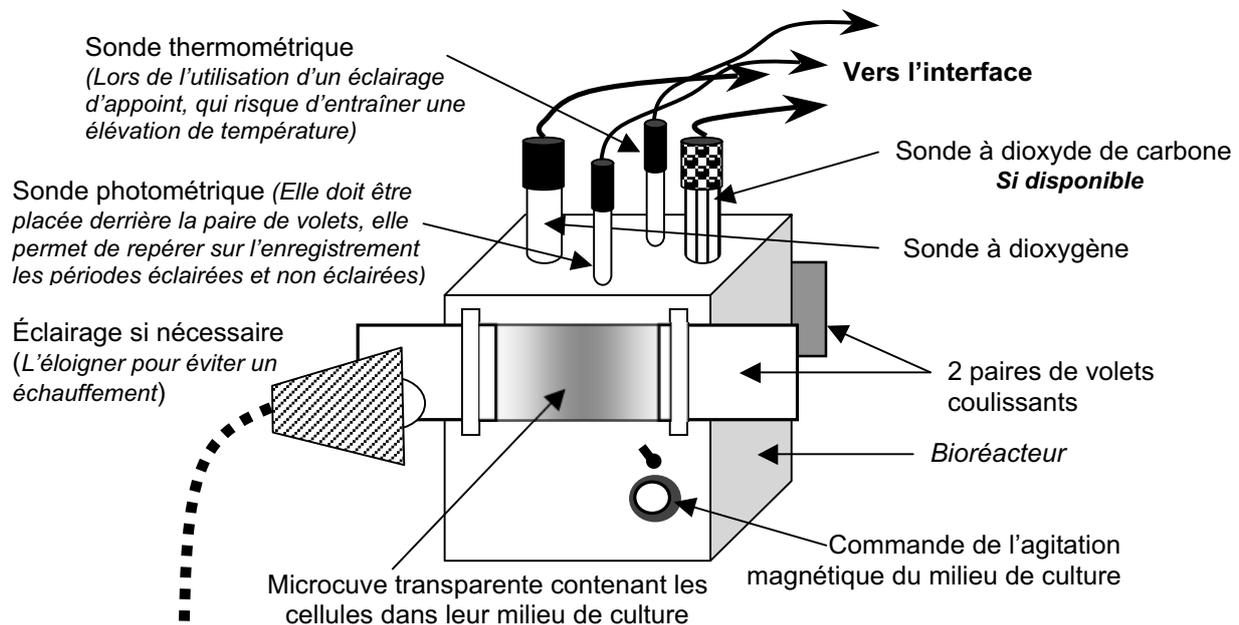
- Une suspension A de cellules chlorophylliennes de feuilles très finement hachées d'une plante aquatique (Elodée ou Cabumba), placées dans de l'eau distillée.
- Une suspension B1 de cellules de levure de boulanger ($10g.L^{-1}$) dans de l'eau distillée, préparée une heure avant la manipulation et aérée constamment.
- Une suspension B2 de cellules de levure de boulanger ($10g.L^{-1}$) dans de l'eau distillée, préparée deux jours avant la manipulation et aérée constamment.

2. Planning de la séance.

- Chaque groupe ne travaille qu'avec une suspension. Le temps de manipulation est de 15 minutes.
- La manipulation terminée, chaque groupe enregistre et imprime les résultats graphiques en 6 exemplaires en suivant les consignes habituelles : classe suivie du n° de la manip A, B1 ou B2 suivi de 4 lettres (exemple : 21B1toto), nom du fichier idem et choix de la couleur d'impression noire pour les courbes.
- Chaque groupe prend connaissance des résultats obtenus avec les 2 autres suspensions.
- Chaque groupe réalise un compte-rendu expérimental en répondant aux questions pour les trois manipulations.

C. Montage commun aux trois manipulations

- On travaillera à la température ambiante, mesurée par un thermomètre situé dans la salle.
- Les manipulations utilisant les suspensions A et B1 nécessitent l'apport d'un éclairage d'appoint (la sonde thermométrique permet alors d'effectuer une correction si l'élévation de température s'avère être trop important).



Préparation du matériel.

- Réaliser le placement des sondes dans le couvercle du Bioréacteur.
- Placer l'agitateur magnétique dans la microcuvette avec de l'eau et tester en tournant le bouton la vitesse de rotation afin que le liquide soit doucement agité. Vérifier que les sondes ne touchent ni le fond de la microcuvette ni l'agitateur. Jeter l'eau.
- Vérifier que les deux paires de volets du Bioréacteur sont bien closes.
- Lancer l'application Jeulin « Cell C ».
- Ranger, nettoyer et essuyer le matériel à la fin de la manipulation, avant d'interpréter les résultats, mais ne pas quitter le logiciel.

D. Protocoles expérimentaux spécifiques.

1. Avec la suspension A.

- Placer l'éclairage éteint à une certaine distance du *Bioréacteur*, face à l'ouverture des volets du côté de la sonde photométrique.
- Placer l'agitateur magnétique dans la microcuve.
- Remplir la partie interne de la microcuve de la suspension A (*presque jusqu'en haut*). Mettre en marche l'agitation.
- Placer le couvercle muni des 3 ou 4 sondes.
- Vérifier que les volets du *Bioréacteur* sont bien fermés.
- Lancer le menu « *Suivi des concentrations* ». Les sondes ont été étalonnées le matin même. Compléter la durée de l'expérience : 15 minutes. Cocher les sondes utilisées: température et lumière.
- Démarrer les mesures pour une durée de 15 minutes.

Les 15 minutes de mesure se répartissent de la manière suivante :

- de 0 à 4 minutes, obscurité (volets fermés, éclairage éteint).
 - à 4 minutes placer un repère sur l'axe des abscisses (si absence de sonde photométrique) et ouvrir les deux paires de volets.
 - de 4 à 12 minutes, lumière (volets ouverts, éclairage allumé).
 - à 12 minutes placer un repère sur l'axe des abscisses (si absence de sonde photométrique) et fermer les deux paires de volets.
 - de 12 à 15 minutes, obscurité (volets fermés, éclairage éteint).
 - 15 minutes fin des mesures.
- Effectuer les réglages de la courbe (échelles des ordonnées).
 - Nommer la manipulation, enregistrer le fichier et imprimer les résultats graphiques en x exemplaires (**appeler le professeur**).

2. Avec la suspension B1.

- Placer l'éclairage éteint à une certaine distance du *Bioréacteur*, face à l'ouverture des volets du côté de la sonde photométrique.
- Placer l'agitateur magnétique dans la microcuve.
- Remplir la partie interne de la microcuve de la suspension B1 (*presque jusqu'en haut*). Mettre en marche l'agitation.
- Placer le couvercle muni des 3 ou 4 sondes.
- Vérifier que les volets du *Bioréacteur* sont bien fermés.
- Lancer le menu « *Suivi des concentrations* ». Les sondes ont été étalonnées le matin même. Compléter la durée de l'expérience : 15 minutes. Cocher les sondes utilisées : température et lumière.
- Démarrer les mesures pour une durée de 15 minutes.

Les 15 minutes de mesure se répartissent de la manière suivante :

- de 0 à 4 minutes, obscurité (volets fermés).
 - à 4 minutes placer un repère sur l'axe des abscisse (absence de sonde photométrique) et ouvrir les deux paires de volets.
 - de 4 à 12 minutes, lumière (volets ouverts).
 - à 12 minutes placer un repère sur l'axe des abscisses (absence de sonde photométrique) et fermer les deux paires de volets.
 - de 12 à 15 minutes, obscurité (volets fermés).
 - 15 minutes fin des mesures.
- Effectuer les réglages de la courbe (échelles des ordonnées).
 - Nommer la manipulation, enregistrer le fichier et imprimer les résultats graphiques en x exemplaires (**appeler le professeur**).

3. Avec la suspension B2.

- Vérifier que la solution de glucose à 5 % est prête à l'emploi, remplir la microseringue de 0,5mL de solution glucosée.
- Repérer l'orifice qui permet d'injecter la solution de glucose dans le *Bioréacteur*.
- Placer l'agitateur magnétique.
- Remplir la partie interne de la microcuve de la suspension B2 (*presque jusqu'en haut*). Mettre en marche l'agitation.
- Placer le couvercle muni des 3 ou 4 sondes.
- Vérifier que les volets du *Bioréacteur* sont bien fermés, ils le resteront durant toute la manipulation.
- Lancer le menu « *Suivi des concentrations* ». Les sondes ont été étalonnées le matin même. Compléter la durée de l'expérience : 15 minutes. Cocher les sondes utilisées: température et lumière.
- Démarrer les mesures pour une durée de 15 minutes.

Les 15 minutes de mesure se répartissent de la manière suivante :

- de 0 à 4 minutes, obscurité (volets fermés).
 - à 4 minutes **placer un repère** sur l'axe des abscisses et **injecter 0,5 mL de solution glucosée**.
 - de 4 à 15 minutes, obscurité (volets fermés).
 - 15 minutes fin des mesures.
- Effectuer les réglages de la courbe (échelles des ordonnées).
 - Nommer la manipulation, enregistrer le fichier et imprimer les résultats graphiques en x exemplaires (**appeler le professeur**).

E. Exploitation des résultats

(Le compte-rendu sera accompagné des 3 graphiques interprétés)

▷ Prendre connaissance du protocole expérimental et des résultats obtenus par les 2 autres groupes. Donner un titre à chaque impression de résultats. Différencier clairement la feuille de résultats de votre groupe.

▷ Analyser et interpréter les résultats graphiques des trois expériences.

▷ Conclure en effectuant une interprétation comparative des résultats des expériences A et B1, puis des expériences B1 et B2.

Répondre en page 3.

