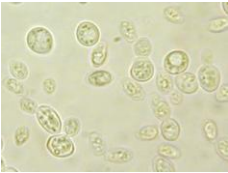


TP1 - LE METABOLISME DES LEVURES ET DISPONIBILITES EN O2



Pour réaliser des contractions une cellule musculaire a besoin d'énergie. Cette énergie provient de l'utilisation en continue d'un nucléotide : l'**adénosine triphosphate** ou **ATP**. La consommation continue de l'ATP, alors que ses réserves cellulaires sont extrêmement faibles, nécessite sa **régénération permanente*** et on sait depuis les travaux de K. Lohmann (1934) que sa synthèse est couplée à la dégradation de **métabolites organiques****.

*Pour info: lors d'un exercice physique de forte intensité, la consommation d'ATP par l'organisme peut atteindre $0,5 \text{ kg} \cdot \text{min}^{-1}$ et on estime que les besoins énergétiques de l'organisme nécessitent l'hydrolyse d'environ 40 kg d'ATP par jour !

**molécules organiques qui subissent ou proviennent d'une des réactions biochimiques qui se déroulent dans une cellule

On cherche à caractériser les voies métaboliques par lesquelles des cellules peuvent exploiter un métabolite organique pour produire l'ATP.

DOCUMENT DE REFERENCE

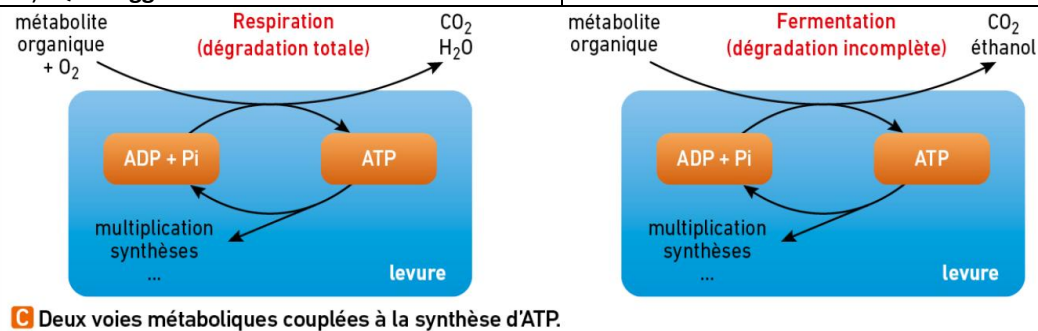
L'expérimentation étant difficile sur les fibres musculaires humaines, on peut, dans une première approche, utiliser des levures comme modèle d'étude du métabolisme énergétique à l'échelle cellulaire. Les levures sont des eucaryotes unicellulaires qui se multiplient par bourgeonnement à conditions d'être cultivées dans un milieu qui leur est favorable pour produire leur ATP.

Les travaux de Louis Pasteur

Au cours de ses études sur la fermentation alcoolique de l'orge pour la fabrication de la bière, Pasteur réalise des expériences de cultures de levures (*Saccharomyces cerevisiae*) dans différentes conditions. (Louis Pasteur – « Études sur la bière » - 1861).

Comparer la croissance de la colonie de levures dans les différents milieux. Pour cela, calculer le « rendement de production » (= grammes de levures produites par gramme de glucose consommé). Que suggèrent ces résultats ?

Durée de l'expérience (en jours)	Oxygénation du milieu	Volume du milieu de culture (en mL)	Teneur en glucose du milieu de culture		Masse de levures formées
			Masse initiale (en g)	Masse finale (en g)	
3	riche	200	10	0	0,44
9	moins riche	3 000	150	0	1,97
19	pauvre	3 000	150	4,5	1,36
90	nulle	3 000	150	105	0,25



UTILISER DES TECHNIQUES – UTILISER UNE CHAÎNE EXAO

Des postes correspondant à 2 manipulations différentes sont proposés

- **Réaliser** le montage en suivant les consignes de la manipulation indiquée sur le poste.
- **Paramétrer** ensuite la mesure en suivant les consignes de la fiche protocole mise à disposition.
- **Effectuer** les mesures des concentrations en dioxygène, dioxyde de carbone et éthanol dans la suspension de levures en respectant les étapes de la fiche protocole.
- **Ajuster** l'affichage de manière optimale.
- **Titre** et **légende** votre graphique – **Imprimer**.

APPELER LE PROFESSEUR POUR VÉRIFICATION

Matériel :

Chaîne EXAO : logiciel d'acquisition – bioréacteurs – sondes à O₂, CO₂, éthanol – Suspension de levures du boulanger – diverses solutions de métabolites organiques (glucose – saccharose – maltose – lactose ...)

RAISONNER

À l'aide du document de référence et des résultats obtenus au cours des manipulations **indiquez** quelles sont les voies métaboliques utilisées pour produire l'ATP nécessaire à la multiplication des levures.

❖ Pour l'ensemble des postes : **Réalisation du montage**

- **Installer** dans l'enceinte la sonde à dioxygène et à dioxyde de carbone (manip. 1 et 2) ainsi que la sonde à éthanol (manip.3)
- **Verser** à l'aide d'une éprouvette graduée ou équivalent, la quantité de suspension de levures nécessaire pour remplir l'enceinte jusqu'à un demi centimètre du bord. **Repérer** ce volume. (les têtes de sonde doivent baigner dans la solution).
- **Fermer** l'enceinte en évitant toute bulle d'air au niveau des sondes et que ces dernières ne touchent l'agitateur. **Éponger** en cas de débordement.
- **Lancer** l'agitation modérée (*on ne doit pas entendre de bruit*)

MANIPULATION 1 : Métabolisme et concentration du métabolite glucidique

❖ **Acquisition des mesures**

- **Sélectionner** sur le module « généraliste »
- **Choisir** les paramètres de la mesure : temps en abscisse (durée = 9 mn *que l'on peut augmenter en cours de manipulation* ; courbe en continue, nombre de points, couleur de la courbe...), concentration en O₂ et CO₂ en ordonnées.
- **Préparer** une seringue de solution de glucose la moins concentrée - à 5 g.L⁻¹ (0,5 mL suffisent).
- **Lancer** l'enregistrement levures seules (= 2 min) et 2 mn après le début de la mesure injecter 0,5 mL de solution de glucose la moins concentrée. **Poursuivre** l'enregistrement pendant le temps restant.
- Après l'enregistrement, **vider** le bioréacteur, **rincer** et le **remplir** à nouveau de suspension de levures pour réaliser d'autres mesures.
- **Conserver** la première courbe et **changer** la couleur pour la mesure suivante.

- **Recommencer** la manipulation avec des solutions de glucose de plus en plus concentrées en prenant soin à entre chaque mesure de **rincer** le bioréacteur.
- **Présenter** les résultats de façon optimale en utilisant les fonctionnalités du logiciel.
- **Imprimer** le graphe obtenu.

MANIPULATION 2 : Métabolisme et disponibilité en dioxygène

❖ **Acquisition des mesures**

- **Sélectionner** sur le module « généraliste »
- **Choisir** les paramètres de la mesure : temps en abscisse (durée = 9 mn *que l'on peut augmenter en cours de manipulation* ; courbe en continue, nombre de points, couleur de la courbe...), concentration en O₂, CO₂ et éthanol en ordonnées.
- **Lancer** l'acquisition et...
- 2 mn après le début de la mesure, **injecter** 0,5 mL de solution de glucose et **poursuivre** l'enregistrement pendant le temps restant.
- **Présenter** les résultats de façon optimale en utilisant les fonctionnalités du logiciel.
- **Imprimer** le graphe obtenu.

NB : l'éthanol est une molécule organique carbonée de formule chimique : C₂H₅OH