

TP 04 : LES BESOINS NUTRITIFS DES CELLULES

Partie 2 du cours : *fonctionnement des cellules*

Pour se développer, les cellules ont besoin de matière et d'énergie apportées par les nutriments prélevés dans le milieu : **Recherchons les besoins nutritifs de certaines cellules (c'est le problème scientifique).**

Pour cela : il faut **choisir** les êtres vivants étudiés (*Chlorelles* ou *Levures*) et le milieu de culture; on dispose de :

- 1 milieu contenant de l'**eau distillée** c'est-à-dire sans sels minéraux
- 1 milieu contenant des **sels minéraux**
- 1 milieu contenant de la matière organique sous forme de **glucose** et des **sels minéraux**

Le travail : Concevoir le **protocole**, réaliser les **manipulations**, noter les résultats et rendre un **compte-rendu**, à la fin de la deuxième semaine. Tous les points notés en gras doivent être dans le compte rendu : **Commencer à rédiger le compte-rendu, en classe**, poursuivre à la maison et finir à la fin de la séance 2.

Semaine 1	1- Indiquer le problème de la séance et Rédiger l' hypothèse (<i>les ... ont besoin de ...</i>)	Ra /2+2
<i>Description du protocole et des objectifs</i>	2- Elaborer un protocole expérimental, le décrire (sous forme de <u>schémas</u>, <u>légendés</u> ; indiquer quantités et chronologie ou durées) <i>Préciser les étapes de la démarche, les points importants (témoin et test).</i>	I /2 C /2
<i>Réalisation</i>	Réaliser ce protocole (4 groupes « Chlorelles » 4 ou 5 groupes « levures »)	M (Re) /2
Semaine 2	3- Faire un tableau de résultats attention avec les résultats de tous les groupes notés au tableau (<i>pas seulement les vôtres</i>).	C /2 I /2
<i>analyse</i>	4- Faire une analyse de votre travail et des autres résultats .	Ra /2+2
<i>bilan</i>	5- Rédiger une conclusion : <i>quelles sont les cellules qui ont besoin de matière organique (hétérotrophes) et celles qui peuvent se contenter de matière minérale (Autotrophe)</i>	C /2

Le Comptage (semaine 1 : une fois et semaine 2 : 2 fois) et mise en culture de cellules (semaine 1)

1. La mise en culture doit s'effectuer dans des conditions stériles, ou au moins le plus propre possible :

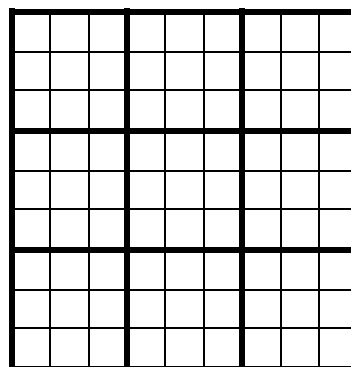
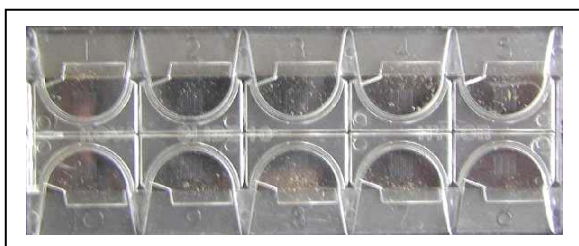
Pour la mise en culture, on utilise des tubes **stérilisés**. *Veillez à avoir les mains propres ; ne pas tousser ! Attention : les cheveux longs doivent être attachés et vous ne devez pas discuter pendant les manipulations !!!*

2. Connaître le nombre de cellules présentes dans un milieu grâce à une cellule de Kova (ou Malassez)

Prélever en milieu stérile une faible quantité du 1° milieu avec une poire (ou pipette) **stérile**.

Déposer **une goutte de suspension** (dans le coin gauche d'une cupule : lame de Kova) **sur une lame** (qui en comporte 10 individuelles. Par capillarité, la solution va pénétrer sous la lamelle. Chaque cupule a une grille quadrillée qui possède **9 cases**, chacune d'entre elles étant subdivisée en 9 petits carrés. *Lame de Kova : voir modèle ci-dessous*) :

Observer au microscope :



← 1 case de 9 petits carrés

En multipliant par 90 le nombre de cellule par carré, on obtient la concentration par microlitre. Exprimer la concentration en cellules par millilitre.

A vérifier

Compter le nombre de **cellules entièrement dans une case** (comportant 9 petits carrés). Répéter l'opération 3 fois et faire la moyenne. Notez les résultats, choisir la **dilution** appropriée pour votre milieu de culture. **Réaliser celle-ci**.

3. Ensemencement (conditions stériles) des deux milieux de culture avec le type de cellules choisies

Prélever avec la pipette **stérile** la quantité de suspension (de levures ou de chlorelle) choisie.

Déposer ce volume dans le milieu de culture **sans tremper la pipette dans celui-ci**. **RINCER** ou **changer l'embout**.

Ne poser pas la pipette sur la paillasse et la tenir dans une zone propre (*changer l'embout selon le modèle*).

Faire de même pour le témoin puis Fermer les tubes (Penser à **marquer les tubes** avec les stylos).