

Expériences de biologie

Naima Chaib & Nadia Clara Costa

Professeures de biologie à A.R. de Jette et l'A.R. d'Ottignies

Expériences simples avec des cellules d'oignon

Buts de la manipulation

- Observer des cellules végétales
- Mettre en évidence des phénomènes d'osmose

Matériel et produits

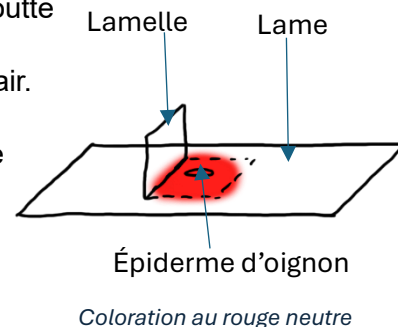
- Oignon (préférentiellement rouge pour mettre mieux en évidence le contenu de la vacuole)
- Microscope
- Lames et lamelles
- Chiffon ou essuie-tout
- Un cristalliseur avec eau pour y déposer les lamelles usagées
- Pincettes et ciseaux fins
- Verres de montre
- Papier absorbant ou filtre
- Colorant (rouge neutre, bleu de méthylène, vert de méthyl acétique, eau iodée)
- Solution de saccharose à 40 %
- Eau déminéralisée
- Pipettes pasteur

Préparation des échantillons et observation

1. Couper un oignon en quatre et prélever un des fragments d'écaïlle avec une pince.
2. Soulever avec la pince l'épiderme interne, c'est-à-dire la mince pellicule qui tapisse intérieurement (côté concave) l'écaïlle.
3. Découper avec des ciseaux fins un fragment de quelques mm de côté.



4. Déposer soigneusement ce fragment sur une lame, dans une goutte de rouge neutre (ou autre colorant).
5. Recouvrir le tout d'une lamelle en évitant la formation de bulles d'air.
6. Laisser reposer pendant 2-3 minutes.
7. Observer la préparation au microscope, d'abord à un faible grossissement, puis au moyen et plus fort grossissement.
8. Repérer les différentes structures cellulaires : la paroi cellulosique, la vacuole, le cytoplasme et le noyau.
9. Réaliser un dessin d'observation à un grossissement moyen.



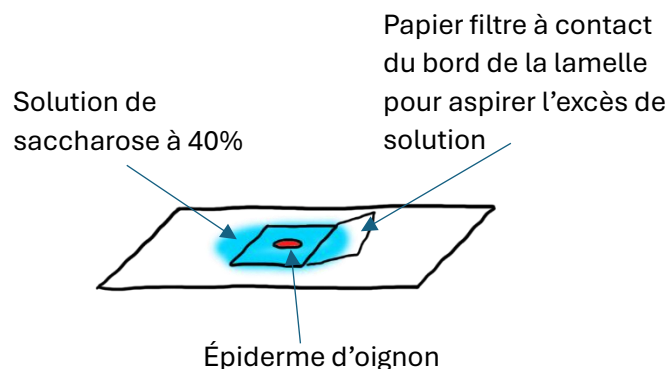
NB : chaque coloration permet de mettre en évidence des structures bien précises de la cellule.

- Rouge neutre → vacuole
- Bleu de méthylène → paroi, noyau
- Vert de méthyl acétique → noyau
- Eau iodée → rends plus visible le noyau et la granulosité du cytoplasme. Tue la cellule.

Turgescence et plasmolyse

Pour cette deuxième partie de l'expérience on peut utiliser la préparation précédente si elle a été colorée avec du rouge neutre ou toute autre coloration qui ne tue pas la cellule.

1. Placer sur la lame, au contact de la lamelle (sans retirer du microscope), 1 ou 2 gouttes de solution concentrée de saccharose à 40 %. De l'autre côté de la lamelle, on aspire la solution de rouge neutre avec du papier filtre. Les cellules d'oignon sont maintenant en milieu très concentré.
2. Observer et noter les observations.
 - a. La forme de la vacuole change ? De la paroi ?
 - b. Réaliser un dessin d'observation.
3. Placer 1 à 2 gouttes d'eau déminéralisée à contact de la lamelle (sans retirer du microscope). De l'autre côté de la lamelle, aspirer la solution de colorant avec du papier filtre.
4. Observer (l'effet peut prendre quelque minute à se manifester). Noter les observations.
 - a. La cellule est-elle retournée à son état original ?



Simulation de tests ABO et Rhésus

Introduction

Il existe plusieurs systèmes antigéniques qui permettent d'identifier les cellules sanguines. Les plus connus sont les systèmes ABO et Rh qui définissent la compatibilité et l'incompatibilité sanguine entre le donneur et le receveur.

Le système ABO permet d'attribuer à chaque individu une lettre qui caractérise son groupe sanguin : A, B, AB ou O. Le système Rh détermine si vous êtes Rh positif ou négatif.

Ce laboratoire consiste à simuler les tests ABO et Rhésus avec les produits chimiques dont nous disposons dans nos laboratoires. Cette manipulation technique se base sur des réactions de précipitation et non sur des réactions d'agglutination.

Matériel

- Pipettes
- Cure-dents
- Plaquettes avec des puits
- Tubes avec sangs simulés
- Tubes avec sérums simulés



Préparation des solutions

Sangs simulés

Sang A Sulfate de zinc ($ZnSO_4$) à 1 mol/L + colorant alimentaire rouge ⚠


Sang B Acide chlorhydrique (HCl) à 1 mol/L + colorant alimentaire rouge ⚠


Sang AB Mélange 1V/1V sang A et sang B

	Groupe A	Groupe B	Groupe AB	Groupe O
Globule Rouge				
Anticorps			Aucun	
Antigène	Antigène A	Antigène B	Antigène A et B	Pas d'antigène




Sang O Sulfate de magnésium ($MgSO_4$) à 0,1 % + colorant alimentaire rouge

Sérums simulés

Anti A Soude ($NaOH$) à 1 mol/L  + colorant alimentaire bleu

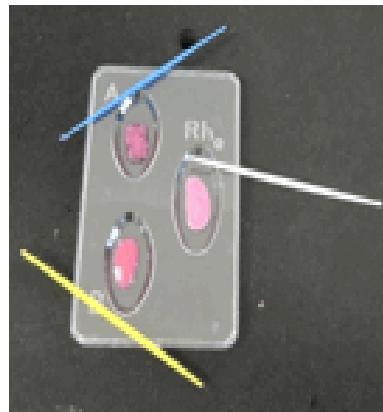
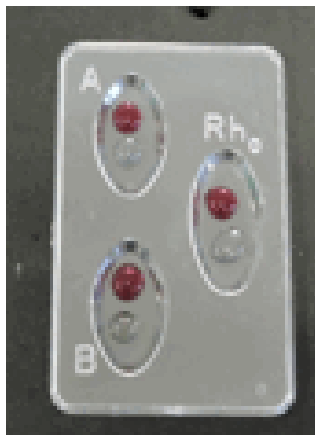
Anti B Nitrate d'argent ($AgNO_3$) à 2 %  + colorant alimentaire jaune

Anti RH Plusieurs possibilités selon le résultat que l'on veut obtenir :

- Soude ($NaOH$) à 1 mol/L 
- Nitrate d'argent ($AgNO_3$) à 2 % 
- Chlorure de baryum ($BaCl_2$) à 0,5 mol/L 
- Eau

Protocole

1. Mettre une goutte de sang A dans chaque puits d'une plaquette.
2. Faire de même avec les 3 autres sangs sur 3 autres plaquettes.
3. Mettre une goutte de sérum anti-A dans le puits A des plaquettes.
4. Mettre une goutte de sérum anti-B dans le puits B des plaquettes.
5. Mettre une goutte de sérum anti-RH dans le puits RH des plaquettes.
6. Mélanger, avec un cure-dent, les gouttes (changer de cure-dent à chaque fois).



Résultats

	Sang A Sulfate de zinc	Sang B HCl	Sang AB sulfate de zinc +HCl	Sang O Sulfate de magnésium
Anti A NaOH				
Anti B AgNO3				
AntiRH NaOH				
Résultats				

L'activité enzymatique de la catalase

Les expériences qui suivent sont tirées et adaptées des publications du CAF (www.lecaf.be)

- *Activités minutes pour le cours de biologie au DS*
- *Pratiques de laboratoire en biologie au DS*

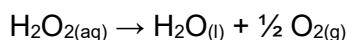
Buts de la manipulation

- Introduire les notions d'enzyme (catalyseur biologique) et de thermosensibilité.
- Découvrir le rôle enzymatique des protéines.

Introduction

Le peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée (H₂O₂) est le sous-produit de nombreuses réactions du métabolisme cellulaire.

La décomposition spontanée (ou dismutation) de l'eau oxygénée est lente, selon la réaction :






Or, cette molécule, toxique pour la cellule, doit être éliminée au fur et à mesure qu'elle est produite

La catalase est l'une des protéines à rôle enzymatique capable d'accélérer cette décomposition. Elle est présente dans presque toutes les cellules vivantes.

Dans ces expériences, nous allons étudier l'activité de la catalase dans deux légumes courants : le céleri et la pomme de terre.

Matériel

- Balance (précision au g)
- Blender
- Bouilloire électrique
- Moufle de préhension
- Serviettes jetables en papier
- Couteau
- Planche à découper
- Nacelle de pesée
- Filtre
- Entonnoir
- 4 éprouvettes graduées de 100 mL
- Erlenmeyer de 250 mL
- Chronomètre
- 3 thermomètres dont 1 supportant des températures proches de 100 °C
- 3 tubes à essais (Ø 3 cm)
- Portoir à tubes à essais
- Spatule
- Gants
- Tige en bois (type brochette)
- Boîte d'allumettes
- Tablier de laboratoire
- Lunettes de sécurité
- Céleri-branche vert
- Solution de peroxyde d'hydrogène 6 % (20 V) ou plus  
- Eau de distribution
- Glaçons
- Oxyde de manganèse (IV) solide 
- Tubercules (« frites ») de pomme de terre cru et cuit

Partie 1 : pommes de terre

Le rôle principal de la catalase est de catalyser la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en dioxygène.

Dans cette partie de l'expérience nous allons comparer la réaction spontanée (sans catalyseur) et la réaction en présence d'un catalyseur : soit inorganique (l'oxyde de manganèse) soit organique (l'enzyme présente dans les pommes de terre).

La présence du produit (dioxygène) peut être mise en évidence grâce un tison incandescent → le tison se rallume en présence de O₂.

La comparaison avec des pommes de terre cuites permet de mettre en évidence la thermosensibilité de l'enzyme (la protéine est dénaturée par la cuisson).

Mode opératoire

1. Verser une hauteur d'environ 2 cm de solution de peroxyde d'hydrogène dans les trois tubes à essais et les numéroter de 1 à 3.
2. Observer le dégagement gazeux (toutes petites bulles) indicateur de la décomposition très lente du peroxyde d'hydrogène.
3. Verser une pointe de spatule de dioxyde de manganèse (IV) le tube 1.
4. Observer le dégagement gazeux et tester le gaz dégagé à l'aide d'un tison incandescent.
5. Placer dans le tube 2 une « frite » de pomme de terre crue, fraîchement coupée (max 3 à 4 cm de hauteur).
6. Comparer la réactivité entre les tubes 1 et 2, et conclure sur le rôle enzymatique de la catalase.
7. Placer dans tube 3 une « frite » de pomme de terre cuite (maximum 3 à 4 cm de hauteur).
8. Comparer la réactivité entre des tubes 2 et 3, et conclure sur la thermosensibilité des protéines enzymatiques.

Partie 2 : céleri

Dans cette partie de l'expérience on compare les effets de différentes températures sur l'activité de la catalase.

Mode opératoire

9. Numéroter les trois éprouvettes graduées (de 1 à 3) et les trois béchers (de 1 à 3).
10. Couper 25 g de céleri en petits morceaux et les mixer au blender pendant 1 minute avec 100 mL d'eau de distribution (utiliser la quatrième éprouvette graduée).
11. Débrancher le blender.
12. Filtrer le mélange et récolter le filtrat dans l'erenmeyer.
13. Mettre des glaçons et un peu d'eau dans le bûcher (1).
14. Chauffer de l'eau dans la bouilloire électrique. À ébullition, verser le contenu de la bouilloire dans le bûcher (2) (± 200 mL).
15. Verser 10 mL de filtrat dans les trois éprouvettes graduées.
16. Placer un thermomètre dans chaque éprouvette graduée.
17. Placer les éprouvettes graduées dans les béchers correspondants.
18. Laisser incuber durant 10 minutes. Noter la température moyenne d'incubation dans chaque éprouvette.

19. Enlever le thermomètre dans l'éprouvette (1) et y verser 5 mL de peroxyde d'hydrogène tout en la laissant dans son bécher.
20. Relever la hauteur de la mousse toutes les 30 secondes ainsi que le niveau de mousse maximal atteint.
21. Répéter l'opération avec les éprouvettes (2) et (3).
22. Comparer la vitesse de production de la mousse dans les éprouvettes graduées.
23. Conclure à propos des effets de la température sur l'activité enzymatique de la catalase.

Notes

Pour éviter une filtration, il est possible d'augmenter le temps de mixage. Sinon, une première filtration grossière à l'aide d'une petite passoire permet de faciliter et de réduire le temps de filtration.

L'emploi d'un céleri BIO est conseillé afin d'éviter que certaines substances présentes ne perturbent l'expérience.

La température d'incubation haute doit être impérativement supérieure à 60 °C.

Les temps d'incubation doivent être respectés et particulièrement au froid.