

Introduction :

La levure *Saccharomyces cerevisiae* synthétise des protéines enzymatiques capables d'hydrolyser des diosides en oses pour être utilisés comme source d'énergie. La **saccharase** et la **maltase** synthétisées par cette levure hydrolysent respectivement le **saccharose** (en glucose et fructose) et le **maltose** (en glucose).

L'hydrolyse enzymatique se produit soit dans le milieu extracellulaire si l'enzyme est sécrétée (exportée vers l'extérieur de la cellule) soit dans le milieu intracellulaire si l'enzyme n'est pas sécrétée (non exportée vers l'extérieur de la cellule). Dans ce dernier cas, le dioside doit être transporté à l'intérieur cellulaire pour être hydrolyser. Le passage d'un dioside à travers la membrane cellulaire nécessite la présence d'un **transporteur membranaire**.

Le but du TP est de savoir si l'assimilation du saccharose et/ou du maltose par *Saccharomyces cerevisiae* nécessite la présence de transporteurs membranaires ou une sécrétion de la saccharase et/ou de la maltase.

Matériel et méthodes :

Les levures de *Saccharomyces cerevisiae* vont être incubées en présence de deux diosides le saccharose et le maltose afin de savoir si leur hydrolyse en oses va se produire dans le milieu extracellulaire (enzyme sécrétée) ou dans le milieu intracellulaire (enzyme non sécrétée).

solutions : milieu de culture (eau stérile additionnée de saccharose ou de maltose à 10 g/l), tampon PBS (Phosphate Buffered Saline) 10 µM pH 5,8, solution de saccharose (10 g/l), solution de maltose (10 g/l), H₂O stérile.

réactifs : bandelettes réactives au glucose (lecture après **10 secondes**)

souche de micro-organismes : *Saccharomyces cerevisiae*

Protocole expérimentale :

1. Préparer 4 tubes à essai comme indiqué dans le schéma suivant :

abréviations :

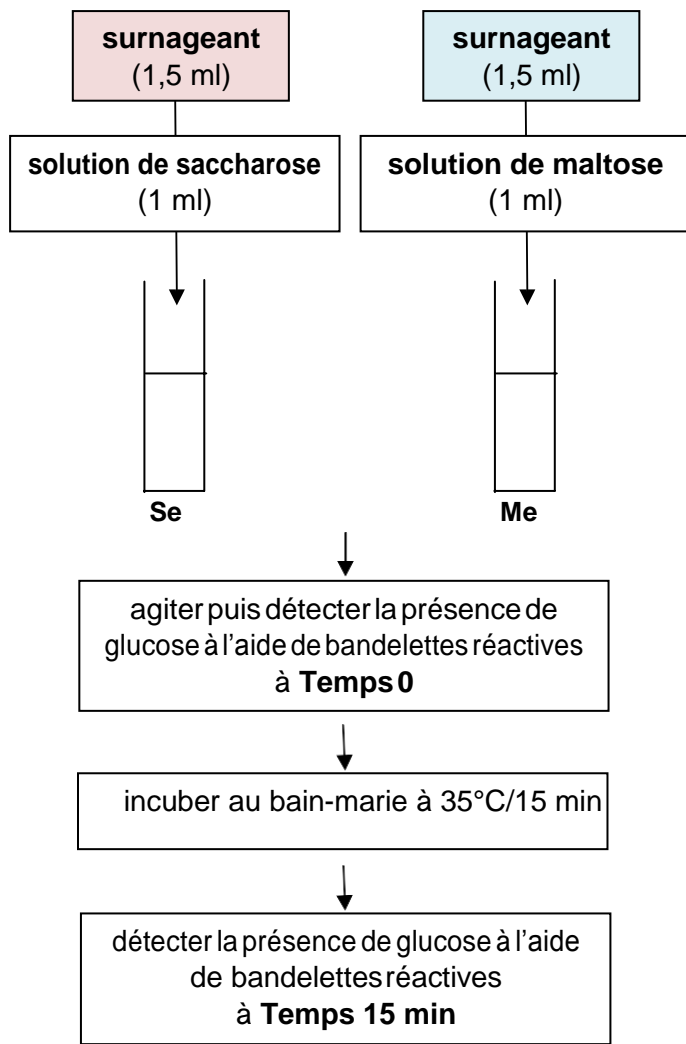
Se : Saccharase extracellulaire

Me : Maltase extracellulaire

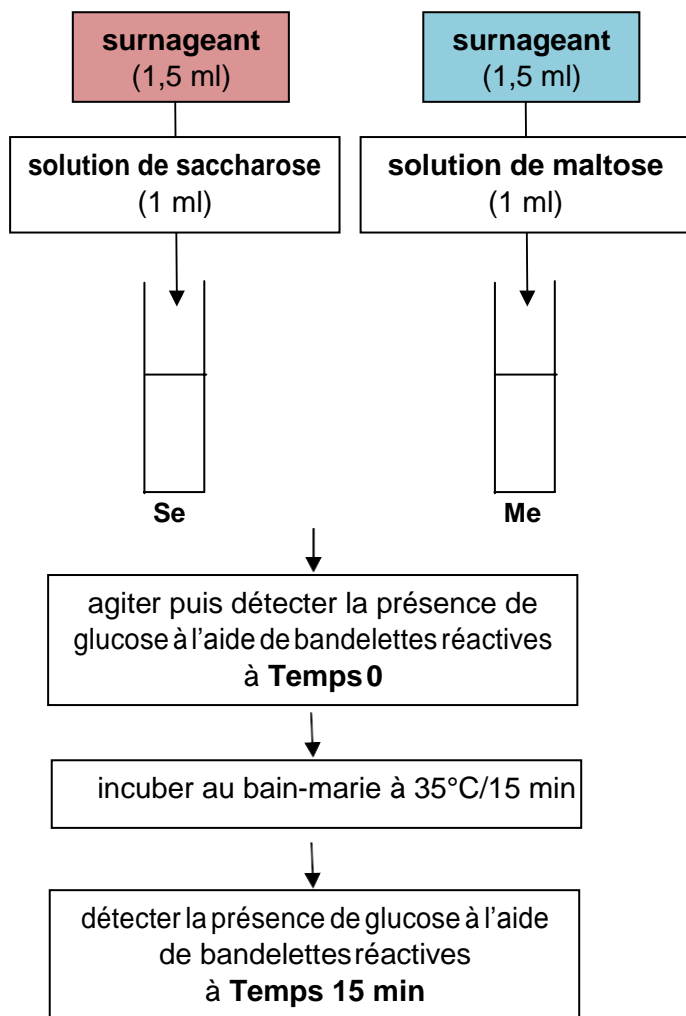
Si : Saccharase intracellulaire

Mi : Maltase intracellulaire

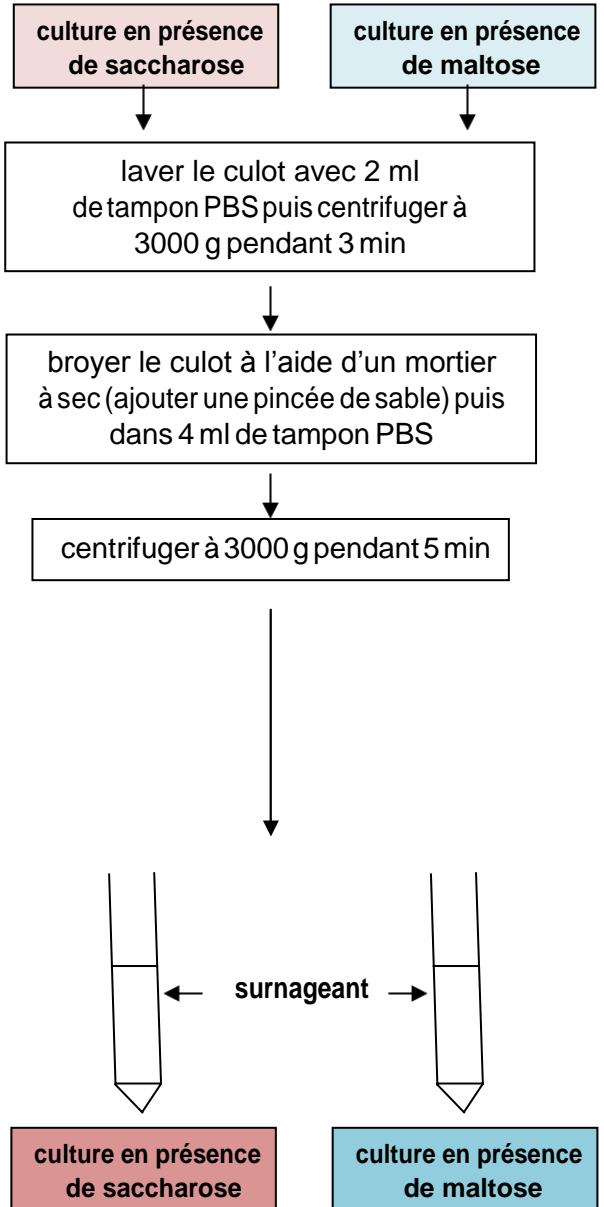
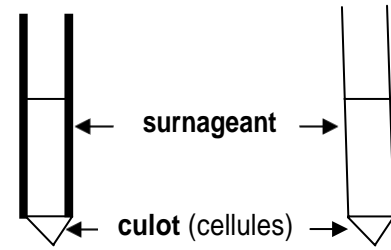
recherche d'enzymes dans le milieu extracellulaire



recherche d'enzymes dans le milieu intracellulaire



Tubes de culture de *Saccharomyces cerevisiae* après centrifugation



TP N°2 : détection de la saccharase et de la maltase chez *Saccharomyces cerevisiae*
 (UE : Relation structure et fonction des protéines et des lipides membranaires)

Nom :

Prénom :

Compte rendu :

1. Compléter le tableau récapitulatif des résultats : coller les bandelettes réactives

| | | enzymes dans le milieu extracellulaire | | enzymes dans le milieu intracellulaire | |
|---|-------------|--|----|--|----|
| tubes | temps (min) | Se | Me | Si | Mi |
| résultats : glucose (+) ou glucose (-) | t = 0 | | | | |
| | t = 15 | | | | |
| bandelettes réactives | | | | | |

2. Quelle est la nature biochimique d'un transporteur membranaire ?

3. Ce processus de transport membranaire est-il passif ou actif ? Expliquez.

4. Donner une conclusion sur les résultats obtenus dans ce TP en répondant à cette question : l'hydrolyse du saccharose et du maltose se produit dans le milieu extracellulaire (enzyme sécrétée) ou dans le milieu intracellulaire (enzyme non sécrétée) ?