

TD 3 : Application sur les méthodes d'étude cellulaire

I-Répondez brièvement aux questions suivantes :

1) **A propos de la préparation de coupes au microscope** optique, remettre dans l'ordre les différentes étapes.

a) Inclusion b) Fixation c) Déshydratation d) Coloration e) Coupe f) Réhydratation.

2) Pourquoi la déshydratation de l'échantillon se fait avant l'inclusion dans la paraffine ?

3) **Après la réalisation des coupes, comment déparaffiner les échantillons ?**

4) **Quel est le rôle de chacune des étapes suivantes**

a- Inclusion b- Fixation c- Déshydratation

II- Complétez les propositions suivantes :

5) Pour la déshydratation des cellules

on utilise :

6) La limite de résolution d'un microscope optique classique

est d'environ :

7) Le microscope électronique à transmission permet

d'observer :

8) Le microscope électronique à balayage permet

d'observer :

9) Pour le MEB, La coloration se fait

par :

III- Répondez par vrai ou faux aux propositions suivantes

10) Le microscope électronique oblige à ce que l'échantillon soit placé sous vide pendant l'observation.

11) La technique d'autoradiographie nécessite l'utilisation de substances fluorescentes.

12) Pour le MEB, la préparation des échantillons n'a pas besoins ni à l'inclusion ni à la réalisation des coupes.

13) La coloration négative permet de contraster le contour de petits objets.

IV- Cochez la(les) réponse(s) juste(s)

14) Concernant le MEB :

a. L'échantillon est traversé par un faisceau d'électrons.

b. L'ombrage métallique consiste à vaporiser des métaux lourds sur l'échantillon.

c. La surface de l'échantillon est recouverte d'une couche de métal.

d. Le grandissement de l'image est d'environ X1500.

15) Quelles propositions sont vraies à la fois pour le MET et le MP à fond clair :

a. Les échantillons sont généralement fixés, coupés puis contrastés.

b. L'observation se fait par transmission.

c. Après la fixation, l'échantillon subit une déshydratation.

d. La coupe est faite par un ultramicrotome.

16) Concernant la coloration négative :

a. Les structures apparaissent en clair sur un fond sombre.

b. Elle permet la description morphologique des surfaces externes des organites.

c. Elle est souvent utilisée pour une observation au MET.

d. Elle est utilisée pour décrire l'architecture moléculaire des macromolécules.

17) A propos de la technique des répliques :

- a. La sublimation est réalisée après la cryofracture.
- b. La sublimation est réalisée après l'ombrage métallique.
- c. Elle permet l'étude des surfaces internes.
- d. Les coupes des échantillons sont plus ou moins épaisses.

18) A propos de l'ultracentrifugation différentielle

- a. L'unité du coefficient de sédimentation est le m^2/s
- b. Le culot se forme en haut du surnageant.
- c. La vitesse de sédimentation dépend d'un seul paramètre: la taille.
- d. Les particules s'arrêtent en bandes à leurs densités respectives.

V- Exercice :

Des chercheurs ont réalisé un fractionnement cellulaire à partir d'un foie entier. Le foie d'un animal est récupéré et broyé dans un milieu isotonique. L'extrait de broyage est filtré et le filtrat obtenu est soumis à une première centrifugation de 1000 g. Le culot contenant essentiellement des noyaux est récupéré et le surnageant est centrifugé à 10000g. L'opération est répétée quatre fois afin d'isoler les différents composants cellulaires.

- a- Pourquoi le broyage était-il effectué dans un milieu isotonique ?
- b- Comment s'appelle ce type de centrifugation ?
- c- Pourquoi les composants cellulaires ne sont pas tous retrouvés dans le premier culot ?
- d- Connaissez-vous une autre méthode pour séparer les organites cellulaires par centrifugation ? Expliquez son principe