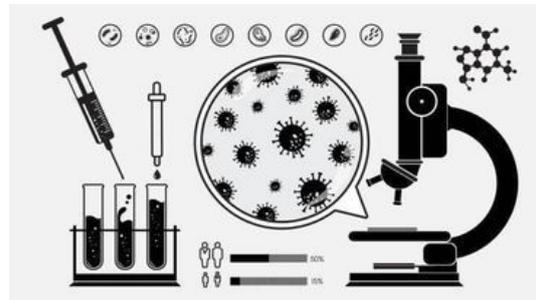


Chapitre II : Les méthodes d'étude de la cellule

BIOLOGIE CELLULAIRE



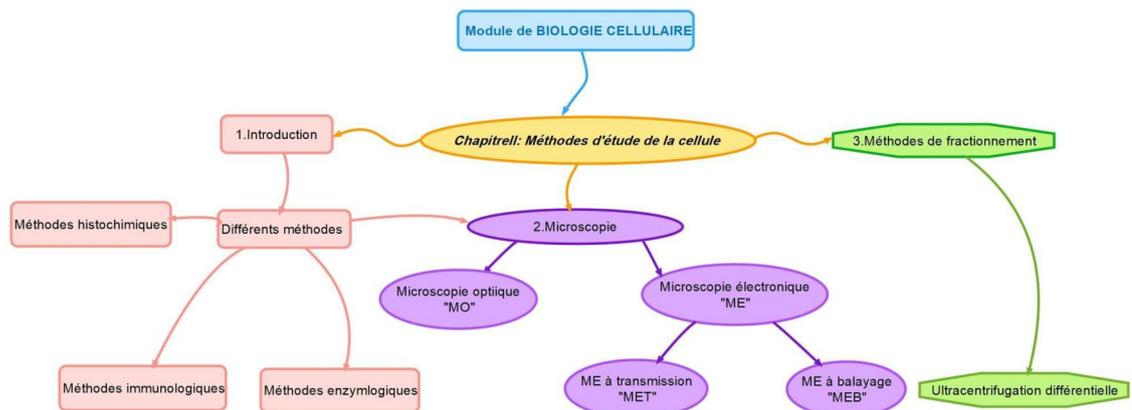
Manallah Ahlem

Table des matières



Introduction	3
I - La microscopie	4
1. Le microscope optique	4
2. Le microscope électronique	5
II -	
L'ultracentrifugation différentielle comme une méthode de fractionnement subcellulaire	7
III - Exercice : Q1	8
IV - Exercice : Q2	9
V - Exercice : Q3	10
VI - Exercice : Q4	11
VII - Exercice : Complétez la proposition 01	12
VIII - Exercice : Complétez la proposition 02	13
IX - Exercice : Complétez la proposition 03	14
X - Exercice : Complétez la proposition 04	15
XI - Exercice : Complétez la proposition 05	16
XII - TEST DE SORTIE (Examen finale) PARTE I	17
XIII - TEST DE SORTIE (Examen finale) Parte II	19
Solutions des exercices	20
Abréviations	22
Bibliographie	23

Introduction



La carte conceptuelle Chapitre 2

L'observation des cellules est délicate du fait de leurs très petites tailles, et nécessite un certain nombre de techniques pour les mettre en évidence.

Ces méthodes:

- Permettent l'observation de l'organisation morphologique des cellules.
- Étudient la structure de cellules mortes ou vivantes.

Les types de microscope optique

1. *Le microscope à fluorescence* : est un microscope optique qui porte deux filtres interposés entre l'échantillon coloré par des molécules fluorescentes, app: *fluorochromes*:

- Le premier filtre ne laisse passer que la lumière qui excite le fluorochrome.
- Le deuxième filtre ne laisse passer que la lumière émise par le fluorochrome.

Les fluorochromes absorbent une lumière spécifique, et émettent une lumière différente. Ex : la Fluorescéine et la Rhodamine.

Dans ce type de microscope les structures à étudier apparaissent très colorées sur un fond noir.

2. *Le microscope à contraste de phase* : il est basé sur le fait que l'onde lumineuse qui traverse les structures est retardée et change de phase par rapport à l'onde qui arrive directement à l'observateur. Ce type de microscope permet l'observation de structures vivantes, non fixées et non colorées, en absence de coloration ces structures sont peu ou pas visibles. Les structures observées apparaissent en relief.

2. Le microscope électronique

Le ME ^{p.22} ^{AA} va nous permettre à l'intérieur de la cellule d'étudier des objets extrêmement petits, jusqu'à l'échelle d'une macromolécule. Le microscope électronique

va nécessiter une préparation spéciale des cellules qui est différente de celle de la microscopie optique

Il donne des photos en noir et blanc.

Les types de Le microscope électronique

Le microscope électronique à transmission :

- Le MET ^{p.22} ^{AA} utilise un rayonnement électronique
- possède un pouvoir séparateur 40 000 fois supérieur à celui du microscope optique et deux millions de fois plus que l'oeil humain, et qui est théoriquement de 2nm.
- Les microscopes électroniques nécessitent la déshydratation de l'échantillon et donc la mort des cellules et du fait du faible pouvoir pénétrant des électrons les échantillons doivent être sous forme de coupes ultra fines (< 0,1µm) après inclusion dans une résine.
- L'objet fixé est bombardé d'électrons, ces derniers permettent d'obtenir une image agrandie, qui se formera sur un écran fluorescent.
- Technique de coloration négative : Certaines structures échappent à la microscopie électronique, la coloration négative permet de les mettre en évidence. L'échantillon biologique est placé sur un film et on attend que les sels de métaux lourds se déposent autour de l'échantillon, qui est coincé dans une pellicule de colorant imperméable aux électrons. Il apparaît en clair sur un fond sombre.

Le microscope électronique à balayage :

LE MEB ^{p.22 AA} consiste à balayer un échantillon par un faisceau d'électrons, la surface est préalablement recouverte d'un film de platine obtenu par ombrage métallique.

- *L'ombrage métallique* de l'échantillon à étudier consiste à vaporiser sous vide une très fine couche de métal lourd, qui recouvre l'échantillon d'une fine pellicule. L'ombrage métallique permet d'accentuer les reliefs.
- Le microscope électronique à balayage donne des images tridimensionnelles de l'échantillon, et permet d'étudier les surfaces cellulaires, les organites et même à l'intérieur des membranes.



Figure 1 : Le microscope optique MO et le microscope électronique ME.

L'ultracentrifugation différentielle comme une méthode de fractionnement subcellulaire



Les méthodes de fractionnement subcellulaire consistent à séparer les différents composants cellulaires par destruction de la membrane plasmique, puis par désorganisation de la cellule.

L'ultracentrifugation différentielle a été développée au milieu des années 1923 par *Theodor Svedberg* ^{p.23} et elle est une méthode de centrifugation dont le but est de séparer des particules très fines dispersées dans un liquide de densité pratiquement égale ^{p.23}. Pour que cette séparation ait lieu, la vitesse de rotation de la centrifugeuse doit dépasser les 15 000 tours par minute. La centrifugeuse utilisée est appelée ultracentrifugeuse. Le rotor de cet appareil se déplace dans un vide, de sorte qu'aucune résistance de l'air ne se produise. L'ultracentrifugation

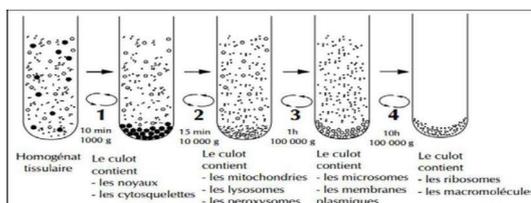


Figure 2: Fractionnement cellulaire par ultracentrifugation différentielle

L'ultracentrifugation peut être utilisée pour des fins analytiques ou préparatives. La centrifugation différentielle permet la purification de l'homogénat en fonction de la taille et de la densité de ses constituants. L'homogénat est placé dans une centrifugeuse ; à chaque vitesse, différents organites se déposent dans le culot, qui sera prélevé.

Exercice : Q1



[solution n°1 p.20]

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

- vrai
- faux

Exercice : Q2



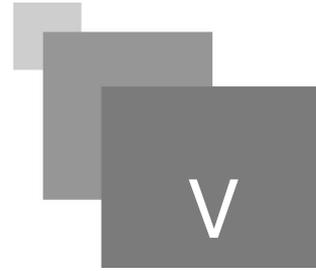
IV

[solution n°2 p.20]

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

- vrai
- faux

Exercice : Q3

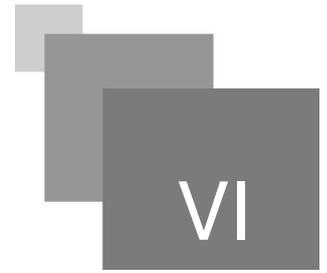


[solution n°3 p.20]

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

- vrai
- faux

Exercice : Q4



[solution n°4 p.20]

4. La coloration négative permet de contraster le contour de petits objets.

- vrai
- faux



Exercice : Complétez la proposition 01



[solution n°5 p.20]

1. Pour la déshydratation des cellules on utilise.....

Exercice : Complétez la proposition 02



[solution n°6 p.21]

2. La limite de résolution d'un microscope optique classique est d'environ



Exercice : Complétez la proposition 03



[solution n°7 p.21]

Le microscope électronique à transmission permet d'observer

Exercice : Complétez la proposition 04



[solution n°8 p.21]

4. Le microscope électronique à balayage permet d'observer :



Exercice : Complétez la proposition 05



[solution n°9 p.21]

5. Pour le MEB, La coloration se fait par

TEST DE SORTIE (Examen finale) PARTE I

XII

Exercice : Quizz QCM : une ou plusieurs bonnes réponses par question

Les mitochondries :

- Synthétisent les protéines
- Produisent de l'énergie
- Contrôlent l'activité cellulaire
- Ont une membrane interne sous forme de crêtes

Exercice

Les eucaryotes :

- Ont un noyau, mitochondries, REL, REG, appareil de Golgi et lysosomes
- Ont un noyau non organisé
- Ont un cytosquelette formé de micro-filaments et de microtubules
- Ont de faibles dimensions

Exercice

Les mycètes sont :

- Des bactéries
- Des champignons
- Des cellules procaryotes autotrophes
- Des cellules eucaryotes

Exercice

Où se trouve l'ADN ?

- Dans le noyau d'une cellule
- Dans le muscle cardiaque
- Dans le sang
- Toutes ces réponses

Exercice

Notre bagage génétique est inclu dans des bâtonnets appelés :

- Cytoplasmes
- Ribosomes
- Chromosomes
- Centrosomes

Exercice

Quel matériel biologique liquide est compris entre la membrane nucléaire et plasmique ?

- Le réticulum endoplasmique
- Le noyau
- Le cytoplasme
- L'appareil de Golgi

Exercice

Quels sont les composés organiques les plus abondants chez les êtres vivants ?

- Glucides (sucres)
- Protéines
- Lipides
- Acides nucléiques

TEST DE SORTIE (Examen finale) Partie II

XIII

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.

Question 1

a- Pourquoi le broyage était-il effectué dans un milieu isotonique ?

Question 2

b- Comment s'appelle ce type de centrifugation ?

Question 3

c- Pourquoi les composants cellulaires ne sont pas tous retrouvés dans le premier culot ?

Question 4

d-Connaissez-vous une autre méthode pour séparer les organites cellulaires par centrifugation ? Expliquez son principe.

Pour aller loin

[cf.]

> **Solution n° 5**

Exercice p. 12

1. Pour la déshydratation des cellules on utilise.....

des bains d'alcools de degrés croissants, 70°, 80°, 90°, 100°, ... et enfin dans deux bains de solvant (toluène ou xylène).

> **Solution n° 6**

Exercice p. 13

2. La limite de résolution d'un microscope optique classique est d'environ

0,2 μm

> **Solution n° 7**

Exercice p. 14

Le microscope électronique à transmission permet d'observer

l'organisation et de la structure interne de l'échantillon (les organites intracellulaires, des virus, des cristaux).

> **Solution n° 8**

Exercice p. 15

4. Le microscope électronique à balayage permet d'observer :

la surface et la forme d'un échantillon (image en trois dimensions).

> **Solution n° 9**

Exercice p. 16

5. Pour le MEB, La coloration se fait par

ombrage métallique.

Abréviations



ME : Microscope électronique

MEB : Microscope électronique à balayage

MET : Microscope électronique à transmission

MO : Microscope optique ou photonique

Bibliographie

XIII

Biologie Cellulaire. Abrégés. MarcMaillet. 9ème édition, Masson 2002.

Cytologie & Physiologie cellulaire. M. Abdelali, H. Benzine-Challam, A. Madoui- Dekar. Office des Publications Universitaires 2008.

La cellule et sa physiologie : M Bendjelloul. Office des Publications Universitaires 2011.

Emilian Koller, Dictionnaire encyclopédique des sciences des matériaux, Dunod, 2008

Jean Lemerle, L'ultracentrifugation et ses applications en chimie minérale, L'Actualité chimique, p. 3-28, Paris, Mars 1974