

Centre universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie

Instrumentation et Maintenance en Biotechnologie

1^{ère} Année Master Biotechnologies Et Amélioration des Plantes

2021-2022

Dr, BOUCHEKRIT M.



Le microscope électronique

Le microscope électronique



La microscopie électronique



MET

MEB



Microscope Electronique à Transmission
MET

MEL

Microscope Electronique à Transmission

Définition

Capable de produire des images détaillées sur la morphologie et ultrastructure cellulaire,

Collecte les électrons transmis à travers l'échantillon ultrafine de 60 à 90 nm,

Résolution 0,08 nm et le grossissement 200,000x.

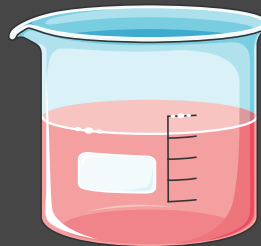
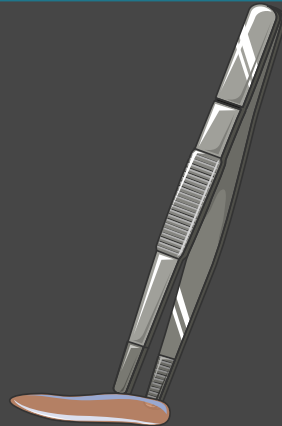
Préparation de l'échantillon

- 1. Fixation**
- 2. Inclusion**
- 3. Préparation des coupes ultrafin**
- 4. Traitement finale**

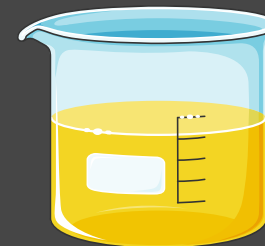
Préparation de l'échantillon

Fixation

par glutaraldéhyde, puis au tétroxyde d'osmium pour éviter la déformation d'échantillon dans le vide.



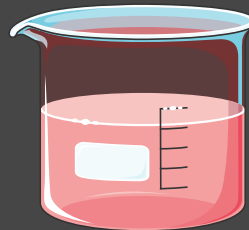
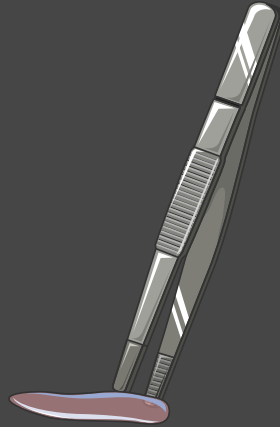
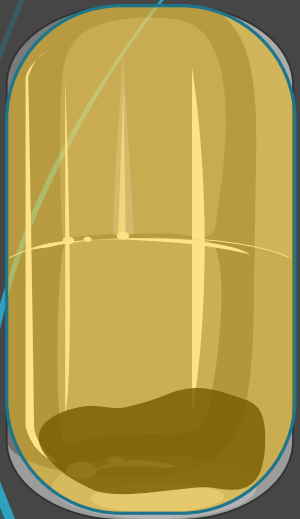
Glutaraldéhyde
3% - 2h



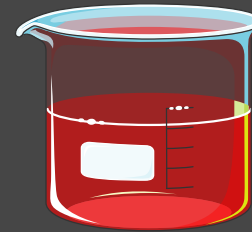
Tétroxyde
d'osmium 1% - 1h

Inclusion

remplace l'eau des tissus par une résine liquide. la résine est durcie (solidifier) à chaud (24h/60C) pour obtenir un bloc dur



1/3 résine
2/3 solvant 30
min



2/3 résine
1/3 solvant 30
min



résine pure
1h

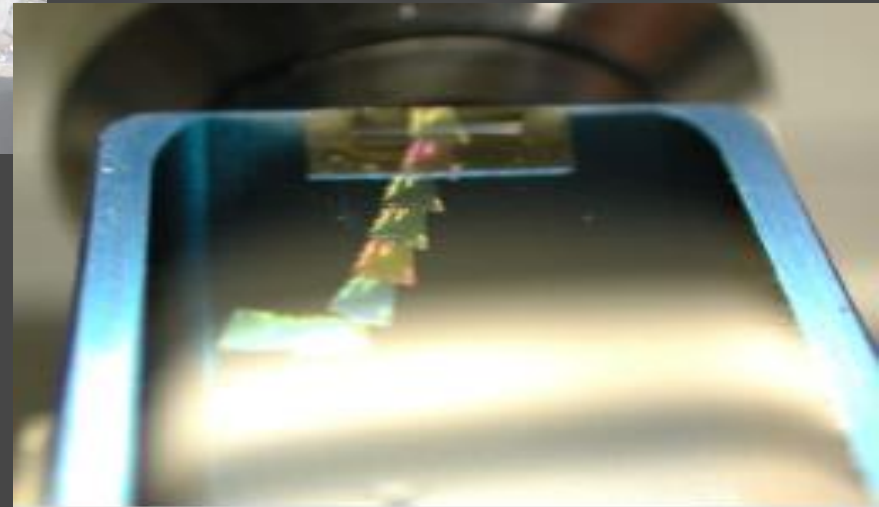
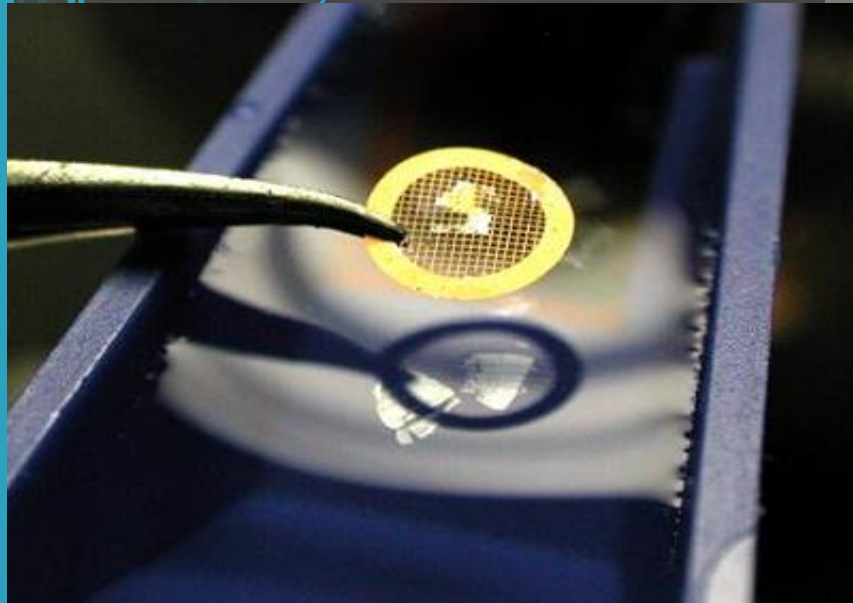
Inclusion

remplace l'eau des tissus par une résine liquide. la résine est durcie (solidifier) à chaud (24h/60C) pour obtenir un bloc dur



Préparation des coupes ultrafines

Couper le bloc de résine en coupe ultrafine (60-90 nm) par un ultramicrotome



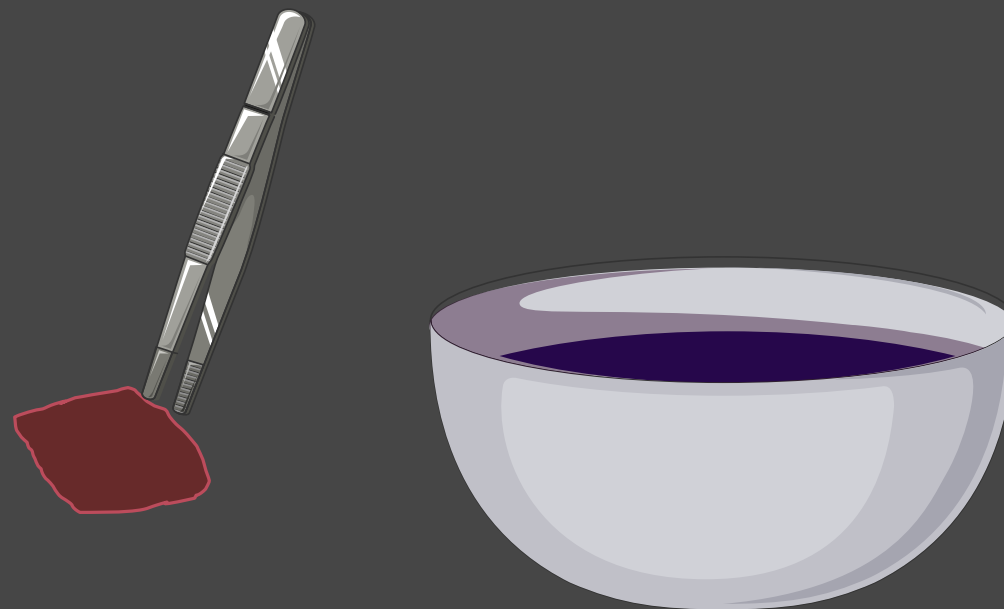
Coupes d'épaisseur 0,25 - 0,5 μm

Step 4: Ultra-thin sectioning



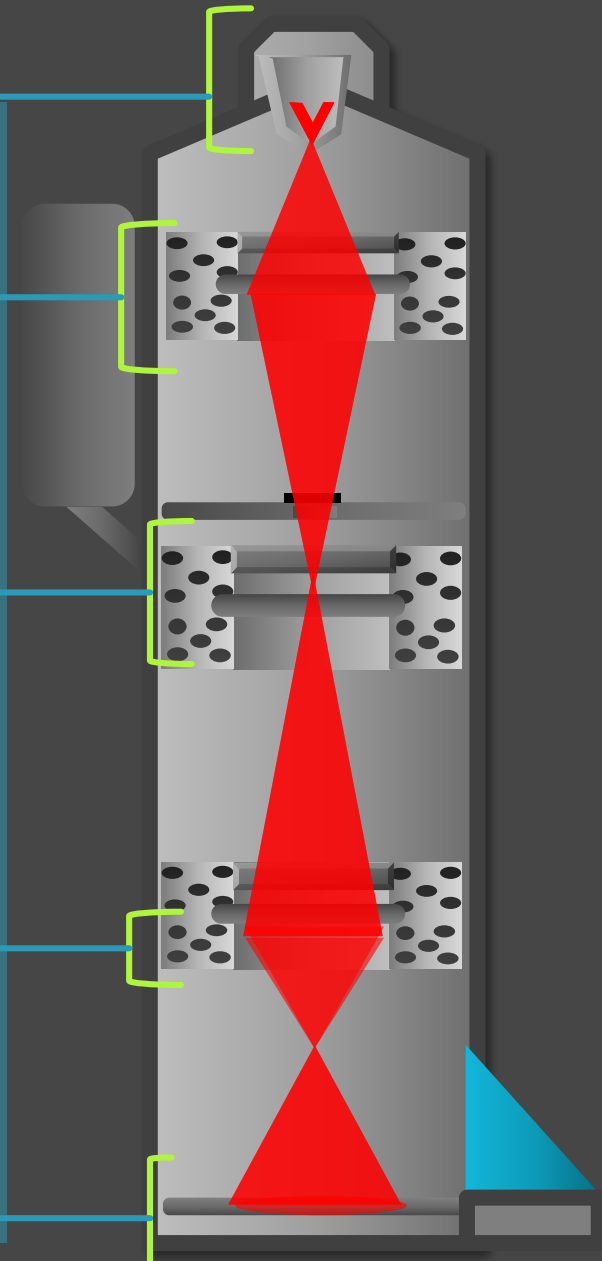
Traitement finale

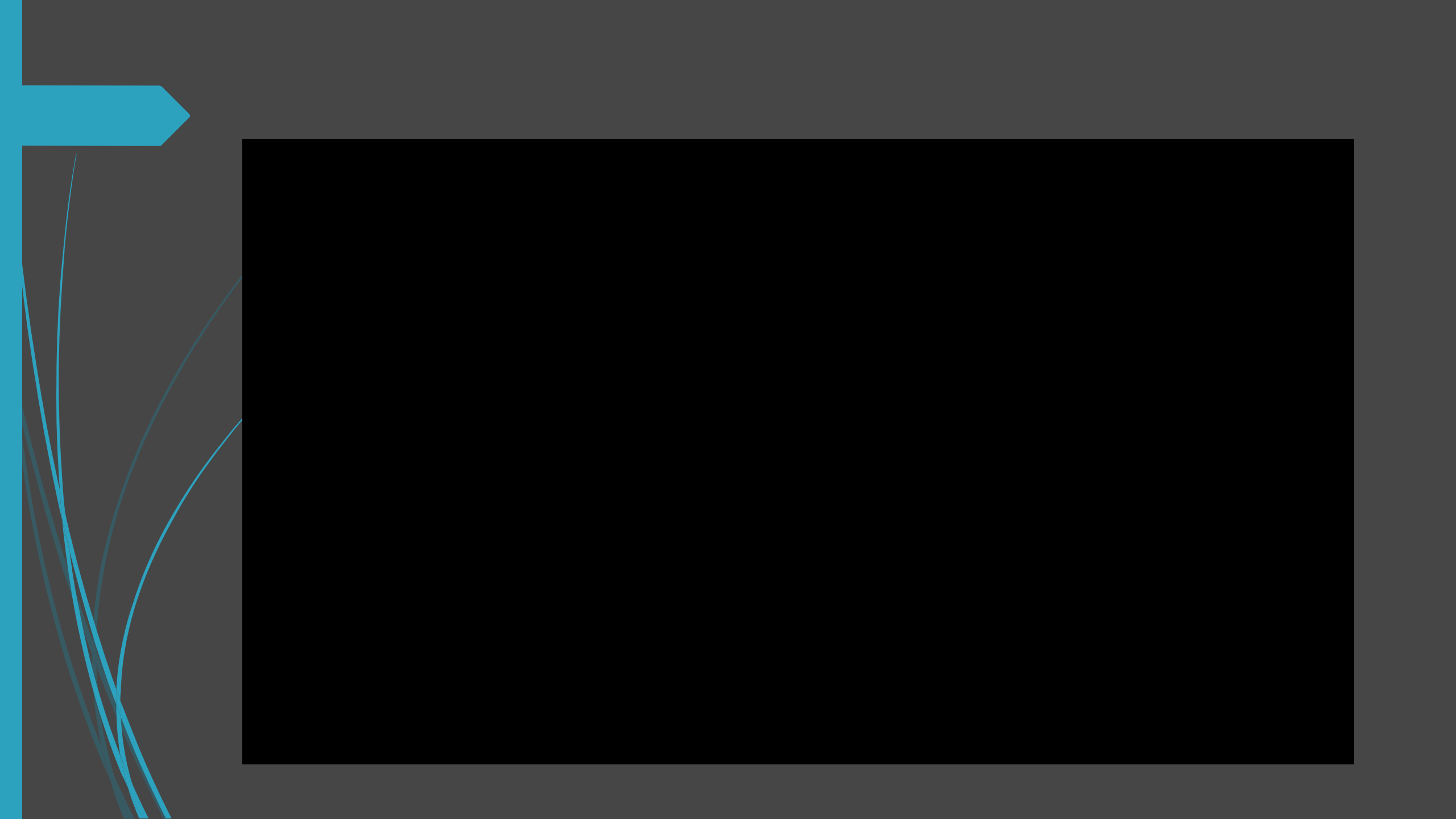
exposer l'échantillon à un produit contenant des atomes lourds
(classiquement acétate d'uranyl et citrate de plomb)



Principe de fonctionnement

1. Le canon: produit un faisceau d'électron,
2. La lentille condenseur :sélectionne la surface à éclairer,
3. L'échantillon ultra fin est posé sur un port objet,
4. La lentille objectif collecte les électrons transmis,
5. le faisceau issu de la lentille objectif est projeté sur un écran par La lentille projecteur,
6. le faisceau d'électron est convertit on un points lumineux sur un écran fluorescent,

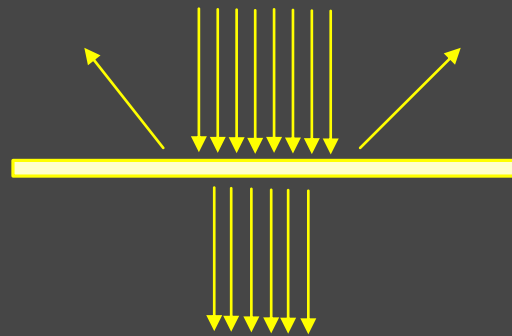
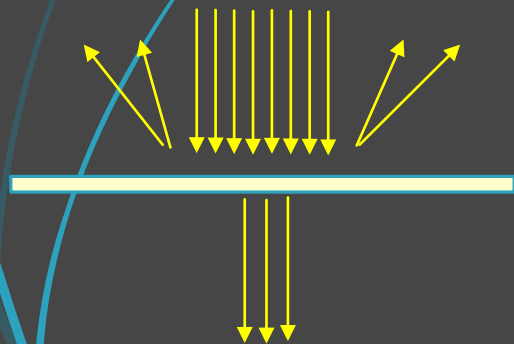




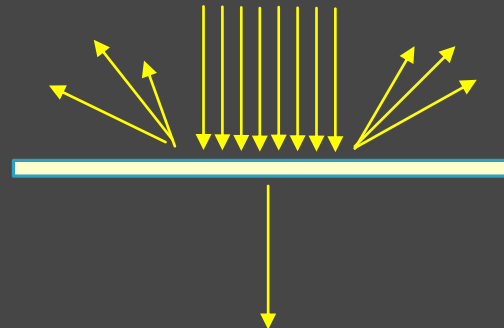
Formation de l'image

Les électrons qui traversent l'échantillon peuvent subir une déviation, la probabilité de déviation **augmente** avec la **charge** des constituants dans l'échantillon

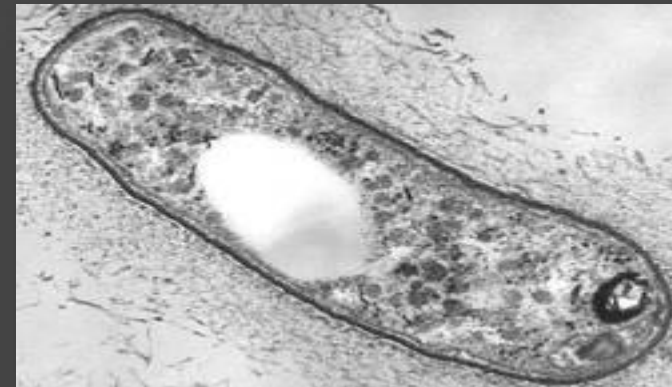
Les zones chargées apparaissent donc les plus sombres. les zones non ou peu chargées apparaît claire dans l'image



Zone non chargé (claire)



Zone chargé (sombre)



Application de MET

- Le MET est utilisé dans les études cytologiques et microbiologiques.
- L'image permet d'obtenir des informations sur les organites existants, identifier plusieurs inclusions cytoplasmique et différent microstructure dans les bactéries.
- En utilisant la spectroscopie à dispersion d'énergie des rayons X couplé avec MET nous permet de connaitre la composition chimique de l'échantillon





Fin