

METHODES D'ETUDE DE LA CELLULE

ETUDE DE L'ORGANISATION CELLULAIRE

⇒ Techniques morphologiques

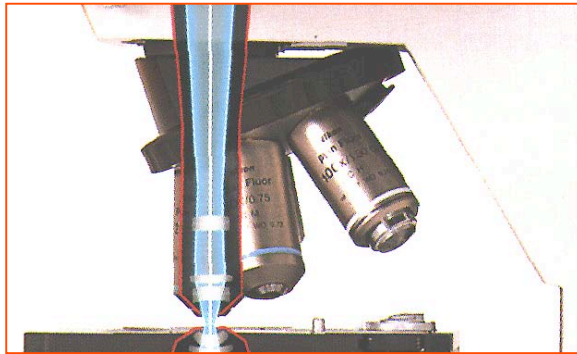
1 Les microscopes

Les microscopes utilisent la déviation d'un flux ondulatoire de particules, soit non chargées **les photons**, soit chargées électriquement **les électrons** au travers d'un système de lentilles de manière à former d'un objet à étudier une image agrandie.

Le microscope composé est un instrument optique où s'effectue un double grossissement. Une lentille donne une image primaire agrandie de l'objet, cette image est reprise et agrandie par une seconde lentille grossissante simple.

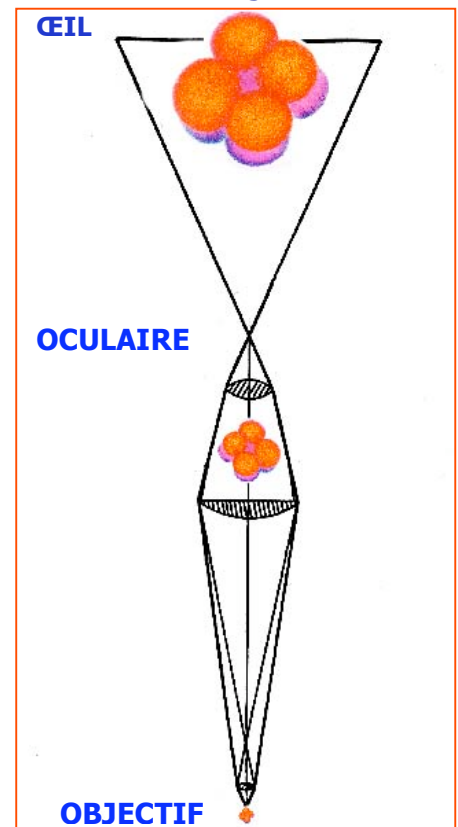
⇒ **La lentille de l'objectif** effectue le grossissement primaire et donne une image réelle.

⇒ **La lentille de l'oculaire** effectue le grossissement secondaire. Elle permet à l'oeil de former une image virtuelle agrandie de l'image réelle formée par la lentille de l'objectif.



◆ Photoniques

- ◆ fond clair
- ◆ fond noir
- ◆ contraste de phase
- ◆ contraste d'interférence différentiel
- ◆ UV. Microscopie à fluorescence

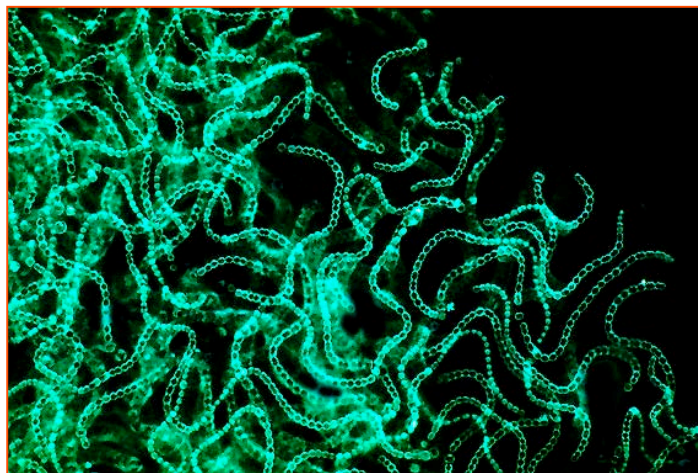


Le microscope photonique ou optique courant à fond clair, utilise comme source lumineuse la lumière visible (radiations de 400 à 760 nm). Son pouvoir séparateur ou limite de résolution est de l'ordre de $0,2\mu\text{m}$. Il est utilisé en microbiologie, parasitologie, cytologie et histologie.

- ◆ Le microscope à fond clair est équipé de trois système de lentilles transparentes (verre).
- ◆ Un condenseur D1 concentre la lumière sur l'objet
- ◆ Un objectif et un oculaire L1 et L2 grossissent l'image.

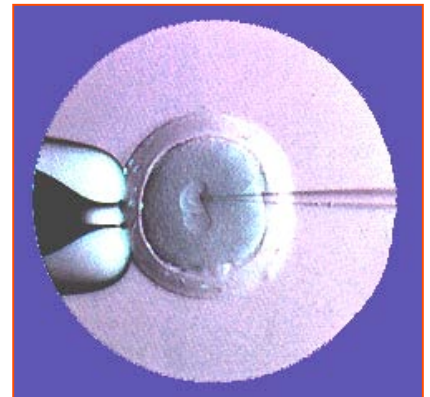
Les microscopes photoniques peuvent subir des modifications qui portent sur l'éclairage

Le microscope optique à fond noir possède un condenseur à fond noir et les rayons lumineux arrivent latéralement sur l'objet. La cellule apparaît comme un objet brillant sur le fond noir.



Les microscopes photoniques peuvent subir des modifications qui portent sur l'optique

Le microscope à contraste de phase et le microscope à contraste d'interférence différentielle possèdent des systèmes optiques conçus pour exploiter les propriétés de diffraction des cellules vivantes. La lumière traversant les parties relativement denses ou épaisses de la cellule est retardée par rapport à celle qui traverse une région voisine plus mince. Il se crée ainsi des effets d'interférences produits par la recombinaison de ces deux séries d'ondes donnant des images fortement contrastées.



MO à fond noir et à contraste de phase ou à contraste d'interférence différentielle, permettent d'observer des cellules vivantes en action (déplacement, division, phagocytose, etc..)

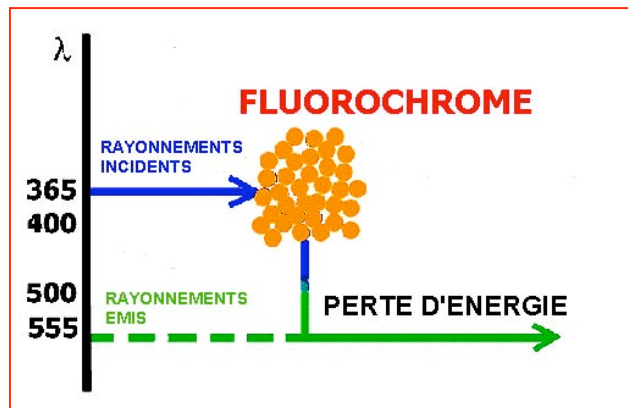


Larve d'oursin

Les microscopes photoniques peuvent subir des modifications qui portent sur la source lumineuse

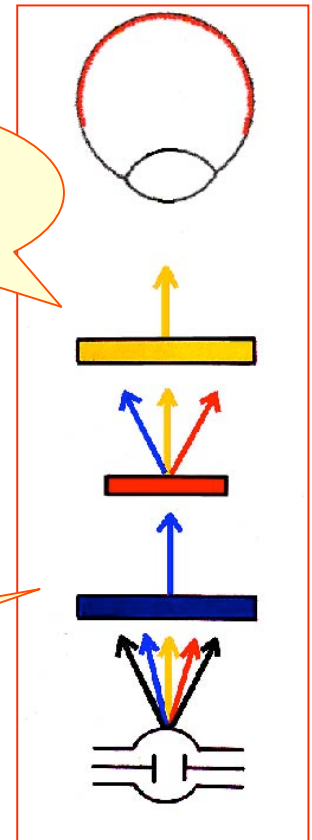
Le microscope à fluorescence est un microscope classique avec une lampe à vapeur de mercure sous pression. Certaines substances ont la propriété d'émettre une lumière visible lorsqu'elles reçoivent un flux de rayons ultra-violets. L'objet peut émettre directement cette lumière ou bien après avoir été imprégné de substances fluorochromes.

(un filtre d'arrêt des UV est indispensable à l'oculaire).



FILTRE D'ARRET

FILTRE D'EXCITATION



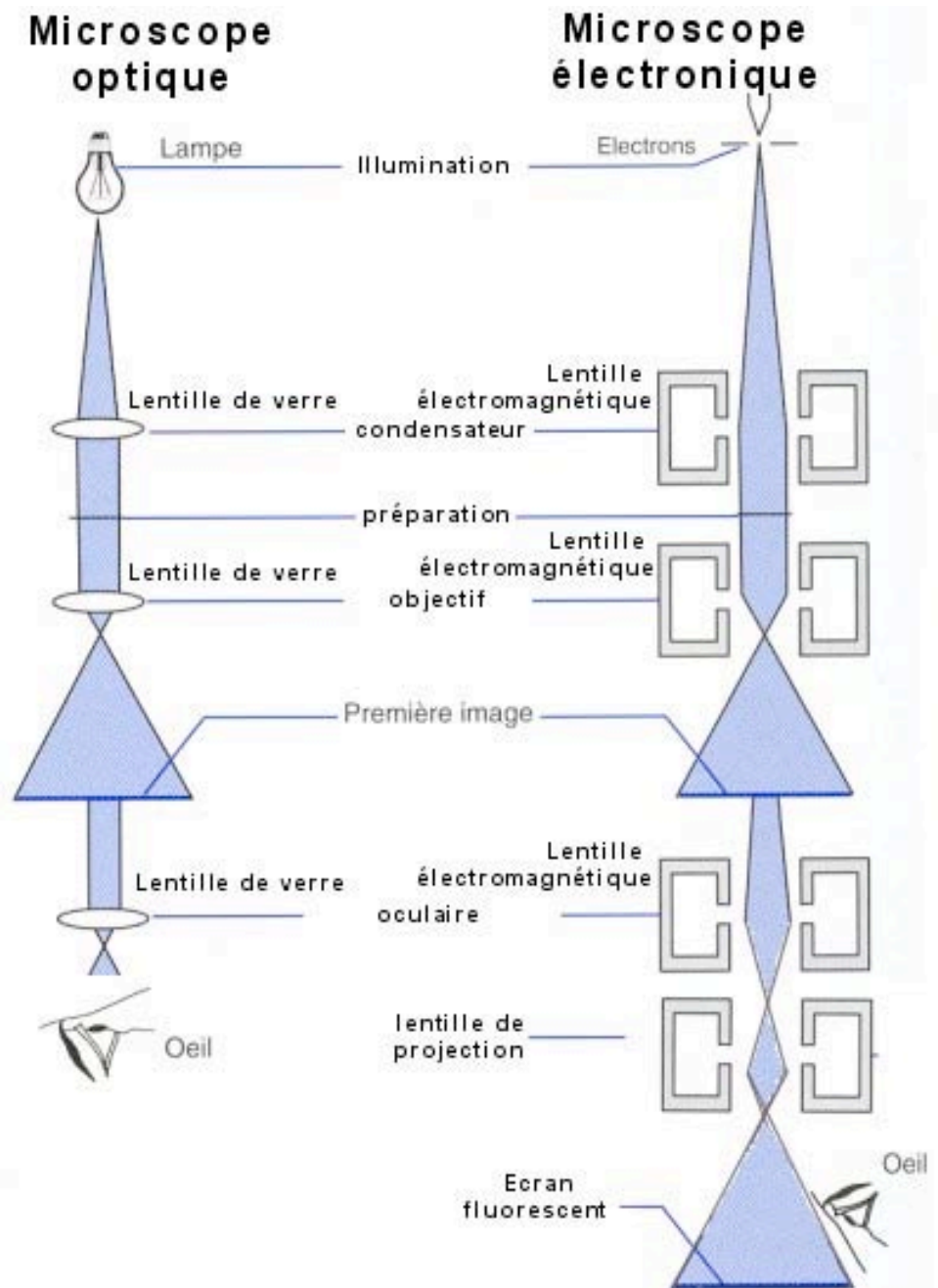
◆ **électroniques**

Les électrons ayant une longueur d'onde bien inférieure à celle de la lumière visible ou ultra-violette, la limite de résolution des microscopes électroniques se trouve très améliorée. Dans ces microscopes, le faisceau de photons est remplacé par un faisceau d'électrons émis sous vide, accélérés par une forte différence de potentiel et canalisés par une série de lentilles électromagnétiques.

L'image est formée :

⇒ soit à partir d'électrons transmis à travers l'échantillon **MET** et focalisés sur un écran fluorescent, ou une plaque photographique .

⇒ soit à partir d'électrons réfléchis par l'objet **MEB** collectés par un détecteur, l'image de l'objet étant reconstituée sur un écran de télévision.



Microscopes	Photoniques		Electroniques	
	à lumière	à UV	TEM	SEM
Limite de résolution	0, 2 μm	0, 1 μm	1 nm	7 nm
Grossissement maximum	x 2000		X 150 000	X 30 000

⇒ 2 La préparation des échantillons

- ◆ observation sur le vivant
- ◆ préparation de frottis
- ◆ préparation de coupes
- ◆ préparation de répliques
- ◆ préparation pour observation au SEM

ETUDE DE LA CONSTITUTION PHYSICO-CHIMIQUE DES CELLULES

⇒ Techniques analytiques

1 Procédés physiques

- ◆ Cytophotométrie
- ◆ Diffraction aux rayons X
- ◆ Cytophotométrie de flux

2 Procédés chimiques

- ◆ Cytochimie
- ◆ Cytoenzymologie
- ◆ Immunocytochimie

⇒ **Méthodes biochimiques**

1 Fractionnement

- ◆ Ultracentrifugation
- ◆ Chromatographie
- ◆ Electrophorèse

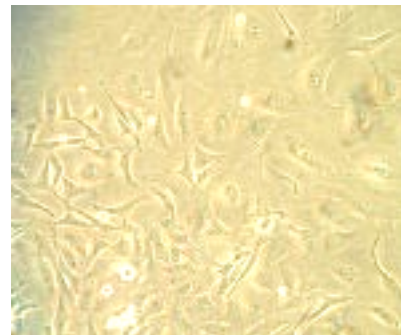
2 Caractérisation

- ◆ Spectrophotométrie
- ◆ Hybridation moléculaire

ETUDE DU FONCTIONNEMENT CELLULAIRE

⇒ **Techniques expérimentales**

1 Cultures cellulaires



2 Méthodes expérimentales

- ◆ Utilisation de marqueurs
- ◆ Utilisation de traceurs
- ◆ Utilisation de précurseurs marqués
- ◆ Utilisation de précurseurs radioactifs
- ◆ Micromanipulations