

Microscopie

Microscope photonique

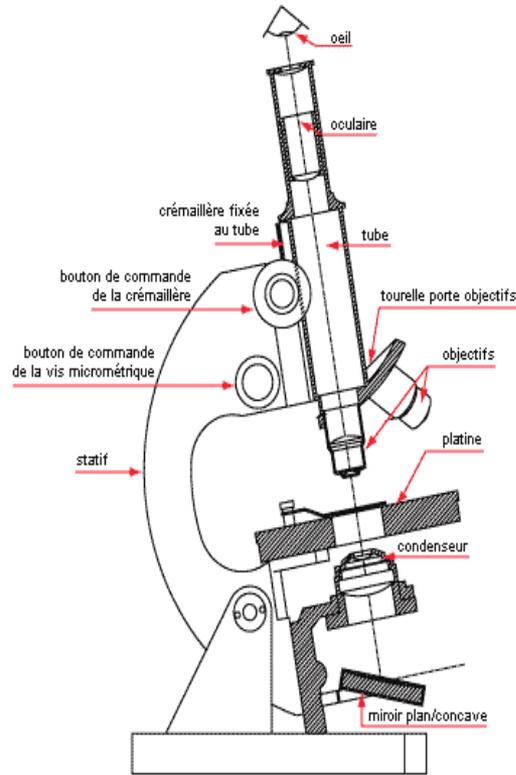
Une microscopie classique .

L'échantillon à étudier est posé sur une plaquette en verre appelée: porte objet ou lame.

Cette préparation est déposée sur la platine du microscope.

elle est maintenue en place par deux pinces valets.

- La lumière fournie par la lampe ou un miroir, est concentré par une lentille appelé condensateur, avant de traverser l'objet.
- La lumière transmise est captée par l'un des objectifs du microscope.
- Ces objectifs sont montés sur une pièce tournante appelée revolver.
- Le grossissement de l'oculaire multiplié par celui de l'objectif fournissent le grossissement total de l'image du microscope.



Microscope photonique

Microscopie électronique à transmission

- Composé d'un canon à électrons.
- Un tube ou une pompe à vide.
- Une série de lentille électromagnétiques
- Une grille porte objet
- Un écran fluorescent relié à un écran de télévision.

Microscopie électronique à balayage

- Un canon à électrons.
- Un tube à vide
- Une grille porte objet
- Un circuit de balayage
- Un écran de TV.

- **Principe du fonctionnement :**
- MP: l'observation par transmission
- MET: l'observation par réflexion.

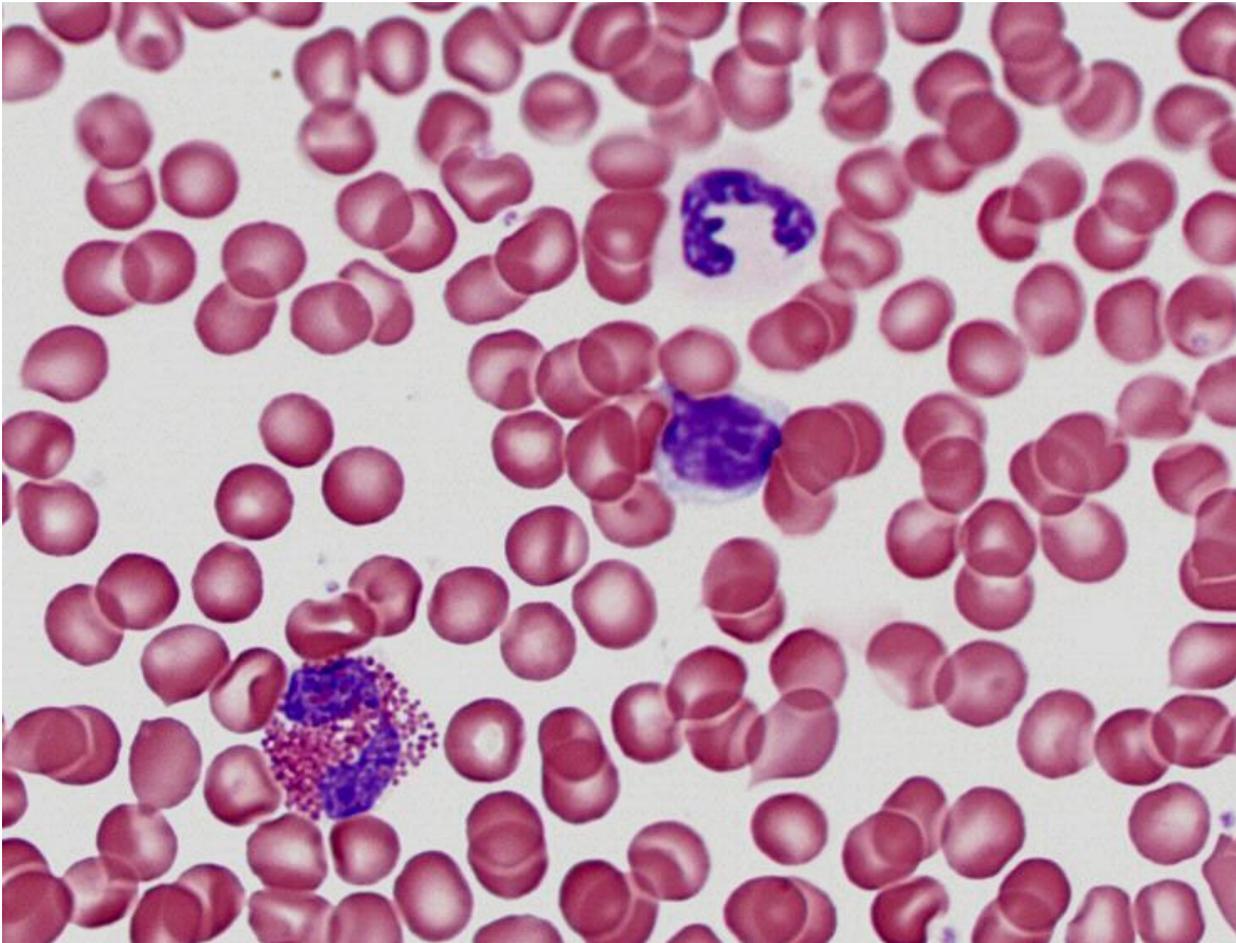
Préparation d'échantillons

- **1. Frottis sanguin (May-Grünwald-Giemsa)**

Du sang animal est utilisé pour réaliser un frottis coloré par une technique de coloration rapide (variante de la coloration de May-Grünwald-Giemsa) de façon à observer au microscope les éléments figurés.

Protocole

- Déposer une goutte de sang la plus petite possible à l'extrémité d'une lame avec une pipette Pasteur.
- Placer sur la goutte une lamelle inclinée à 45° de façon à ce que le sang s'étale sous la lamelle par capillarité.
- Faire glisser la lamelle maintenue à 45° le long de la lame pour étaler uniformément la goutte.
- Sécher la lame en l'agitant dans l'air.
- Tremper la lame 5 fois de suite pendant une seconde dans le fixateur et bien égoutter sur papier filtre.
- Tremper la lame 5 fois de suite pendant une seconde dans le colorant 1 et bien égoutter sur papier filtre.
- Tremper la lame 5 fois de suite pendant une seconde dans le colorant 2.
- bien égoutter sur papier filtre puis rincer à l'eau distillée en commençant par enlever l'excès de colorant sur le dos de la lame puis en laissant couler doucement l'eau distillée sur le frottis.



Frottis sanguin

Techniques d'isolement cellulaire

1 . Homogénéisation ou fractionnement cellulaire

- Cette technique permet d'obtenir un homogénat .
- Une préparation à partir de plusieurs cellules identiques(sang,organe,micro-organismes ...)
- ces cellules sont placées dans des tubes à essais contenant une solution isotonique.

- La suspension est fractionnée suite à:
- Un traitement physique(ultrasons)
- Un traitement chimique(détergent acide ou basique).
- Un traitement mécanique(écrasement par un piston, mortier) .

Centrifugation

- Cette technique permet de séparer l'homogénat en différentes parties.
- Isole les organites selon leurs coefficient de sédimentation .
- **Il existe plusieurs types de centrifugation :**

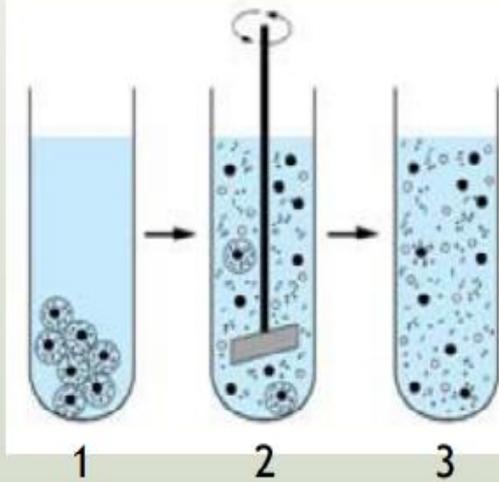
UCD: Ultracentrifugation différentielle

Cette technique assure la séparation des organites contenus dans un même culot

- **UGD:** Ultracentrifugation sur gradient de densité.
- Elle consiste à déposer l'échantillon dans :
- un gradient de chlorure de césium(**pour l'isolement des acides nucléiques**).
- Un gradient de saccharose (pour les organites).
- Après centrifugation les organites se répartissent dans les zones de gradient de même densité qu'eux.
- Pour la récupération des organites isolés, on perce le tube.

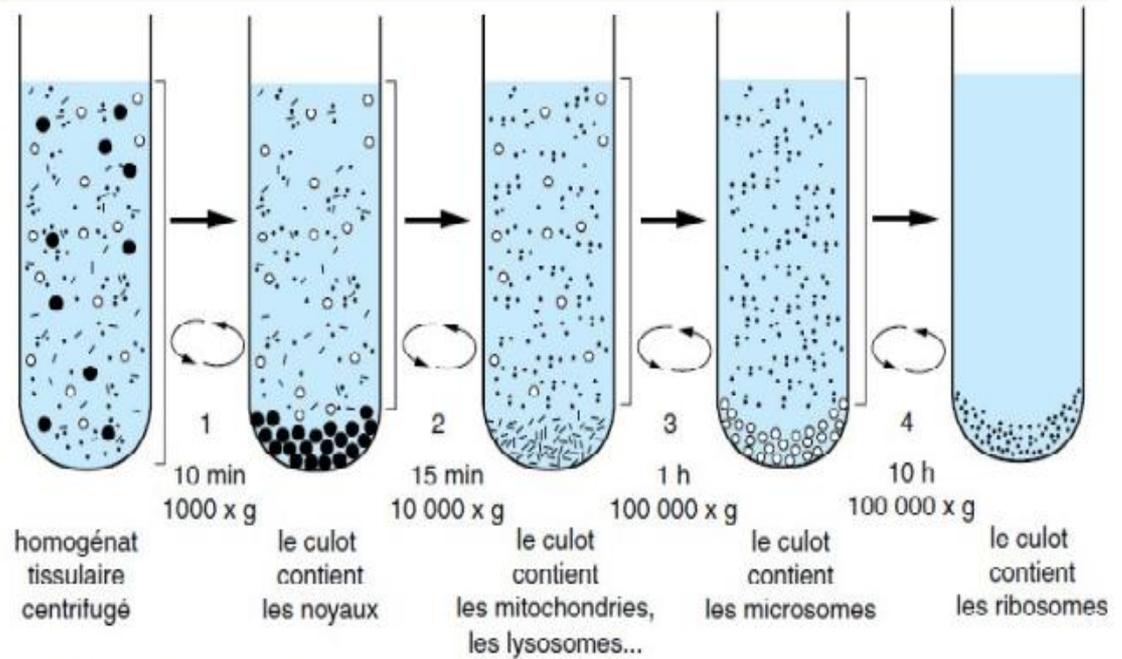
UCD

Homogénéisation



1. Fragment de tissu
2. Broyage mécanique au mixer
3. Homogénat tissulaire

Centrifugation



Centrifugations successives

1) basse vitesse 2) vitesse moyenne 3) vitesse élevée 4) vitesse élevée, longue durée

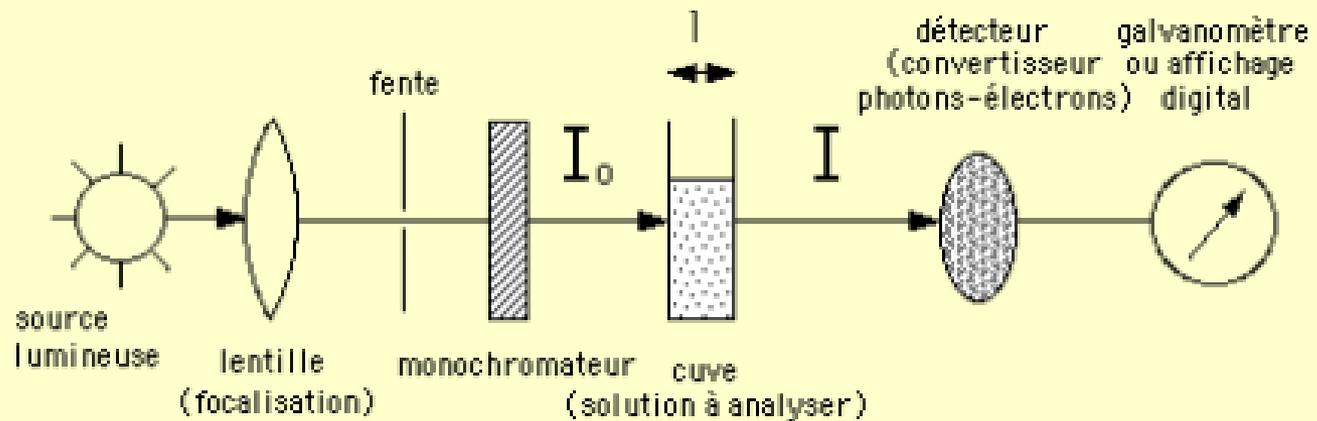
Spectrophotométrie

- Par cette technique on peut :
- Déterminer la concentration d'une espèce chimique colorée en solution à partir de l'absorbance.
- Suivre la cinétique d'une transformation chimique lente.

Pourquoi une solution de permanganate de potassium est elle de couleur pourpre?

- Pour cela, on va étudier le spectre d'une solution de KMnO_4 .
- La solution de KMnO_4 absorbe certaines radiations lumineuses (spectre) .
- la couleur sélectivement absorbé par la solution de KMnO_4 est le vert.

Principe de spectrophotométrie



Etude du graphe d'absorbance

- Dans quel domaine de longueur d'ondes, les radiation lumineuses sont elle absorbées?
- Pour le KMnO_4 l'absorption à lieu dans le domaine 500nm 600 nm.
- Quels sont les couleurs qui ne sont pas absorbées?
- Le violet , bleu , rouge
- La couleur résultante :pourpre.