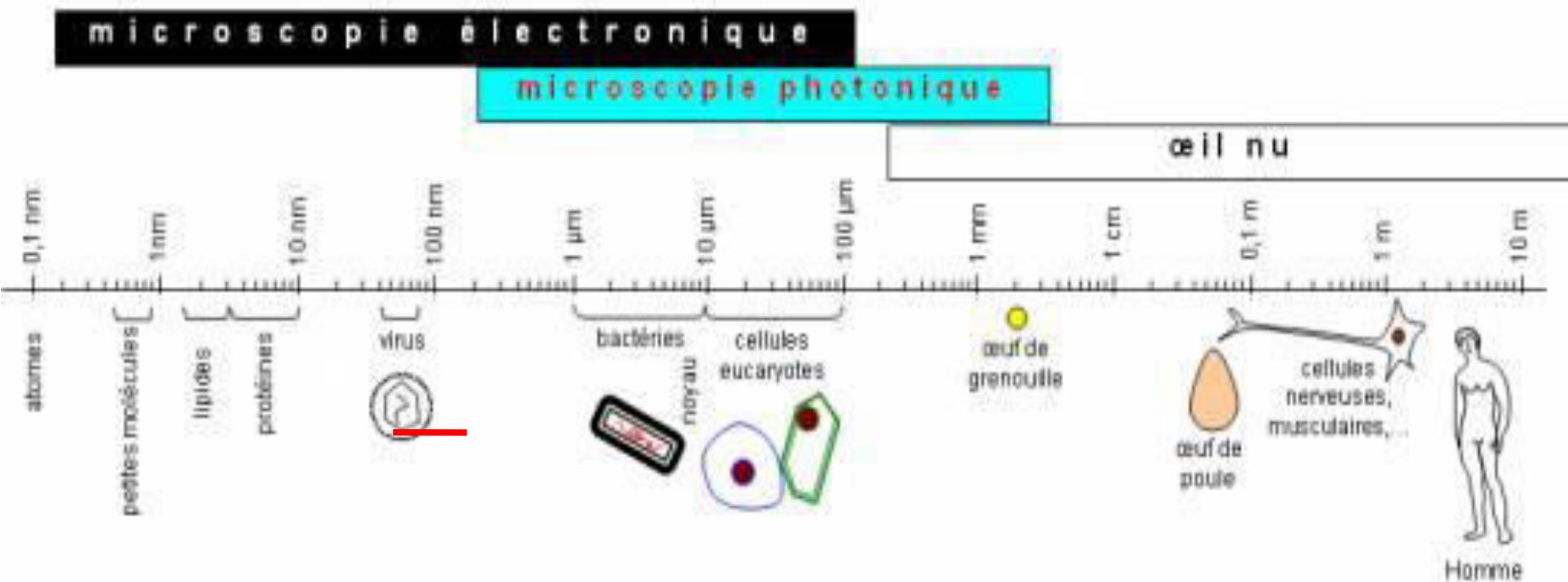
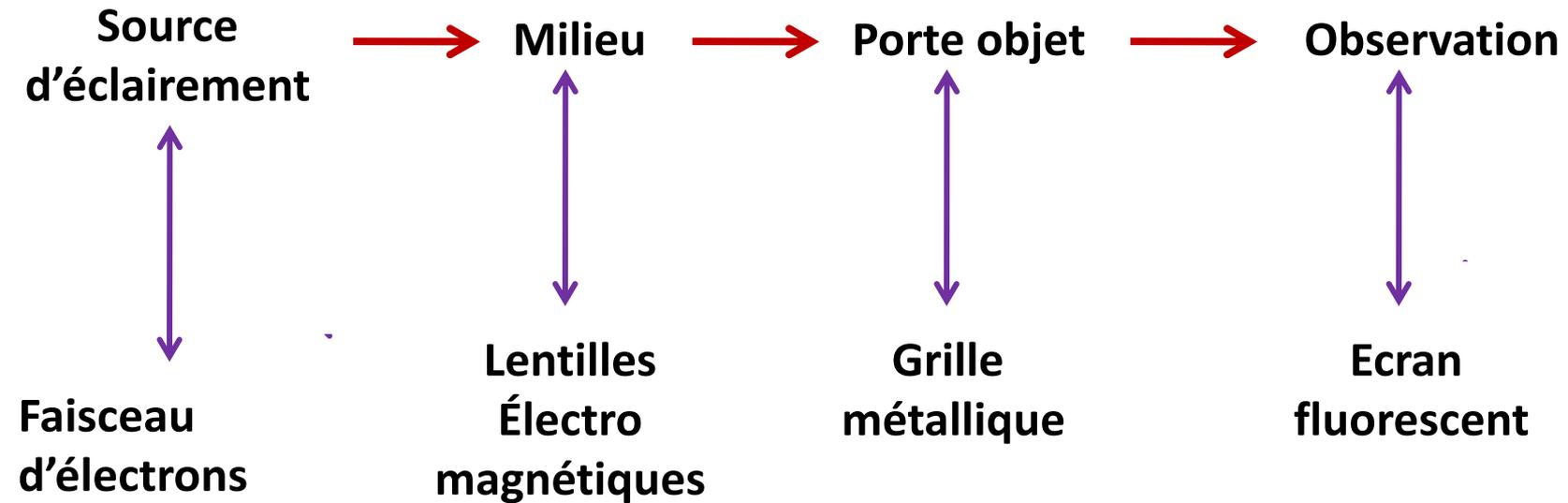


Echelle d'observation du vivant



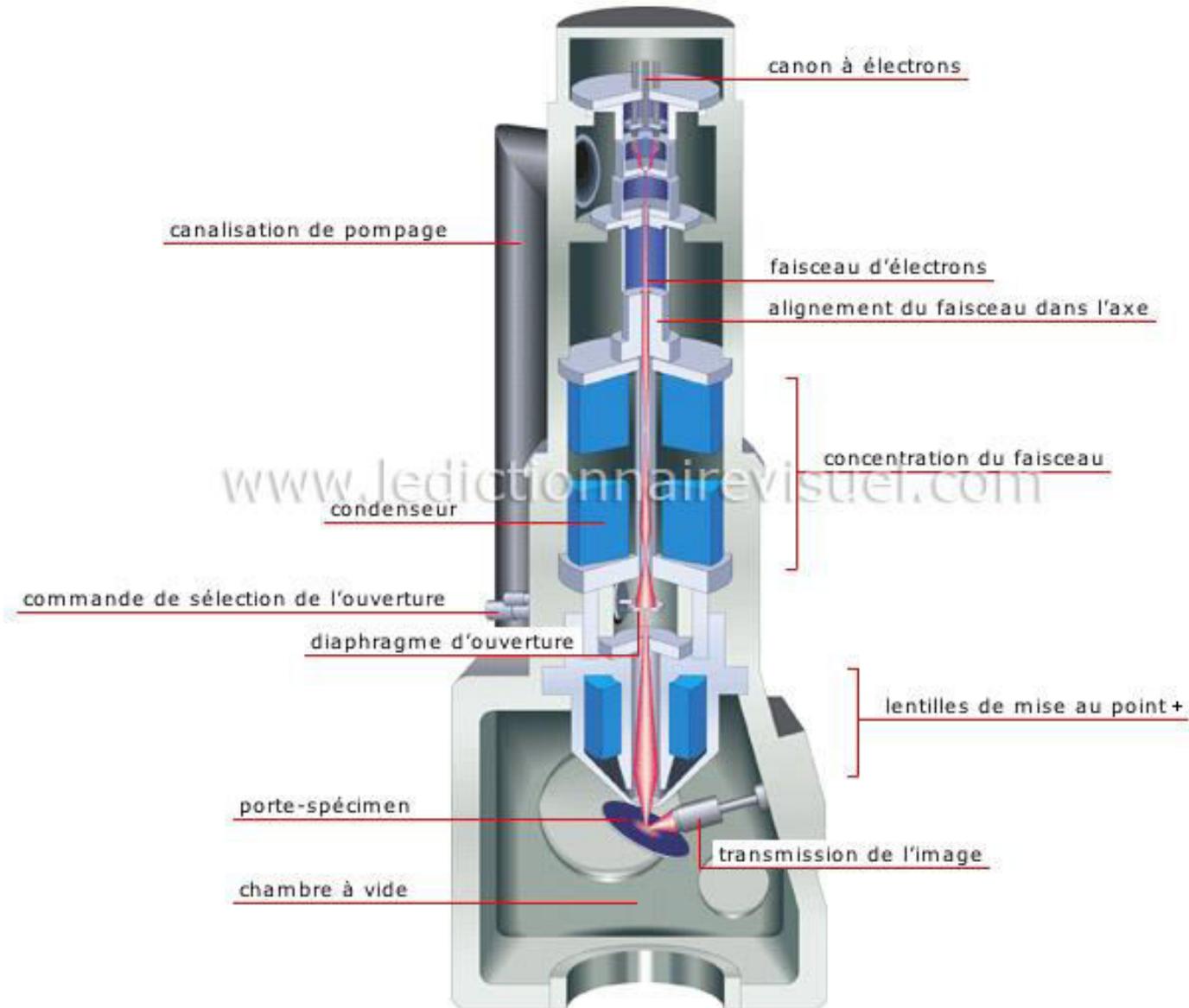


Principe de fonctionnement du MET

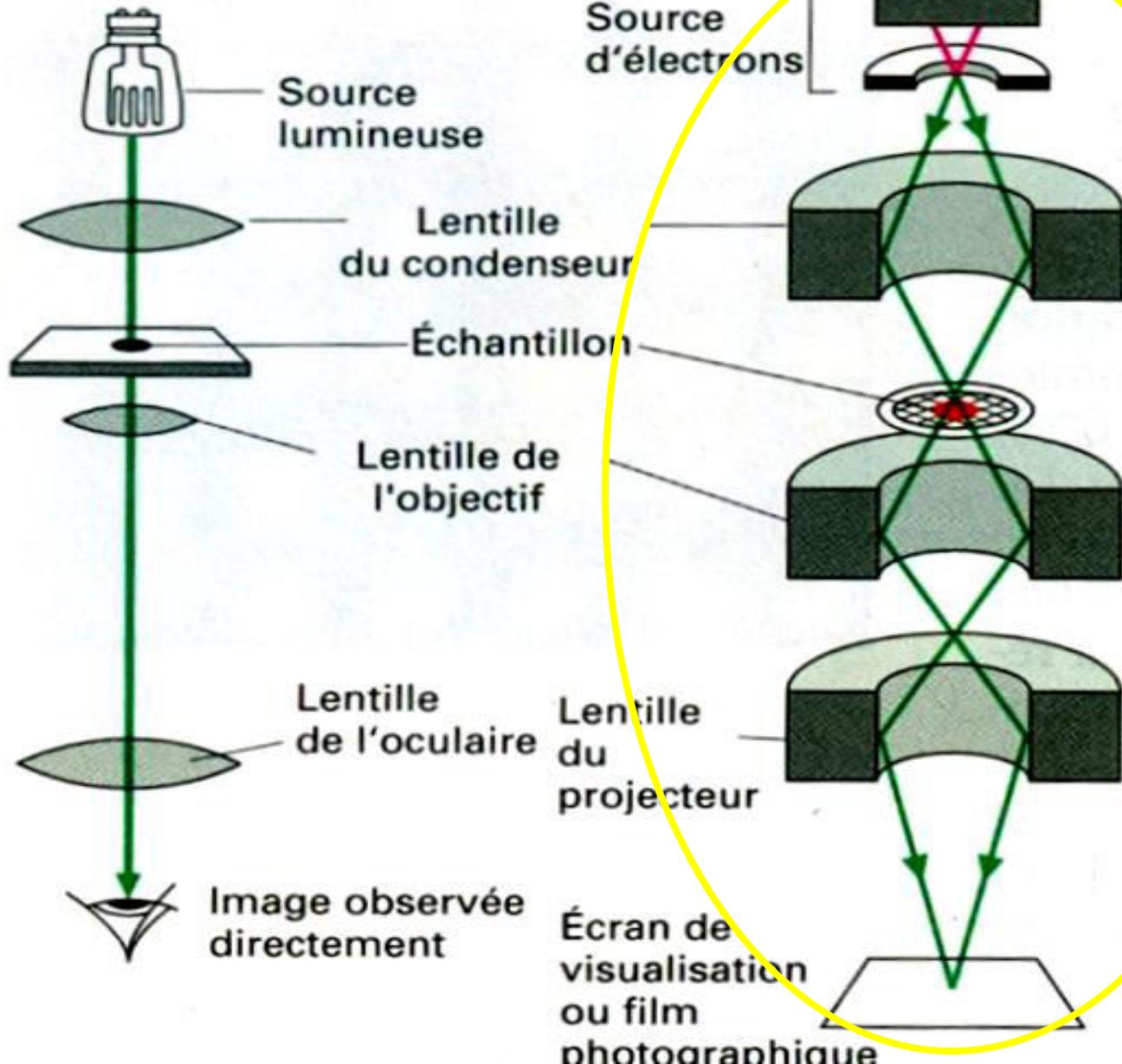


Résultat : image en noir et blanc

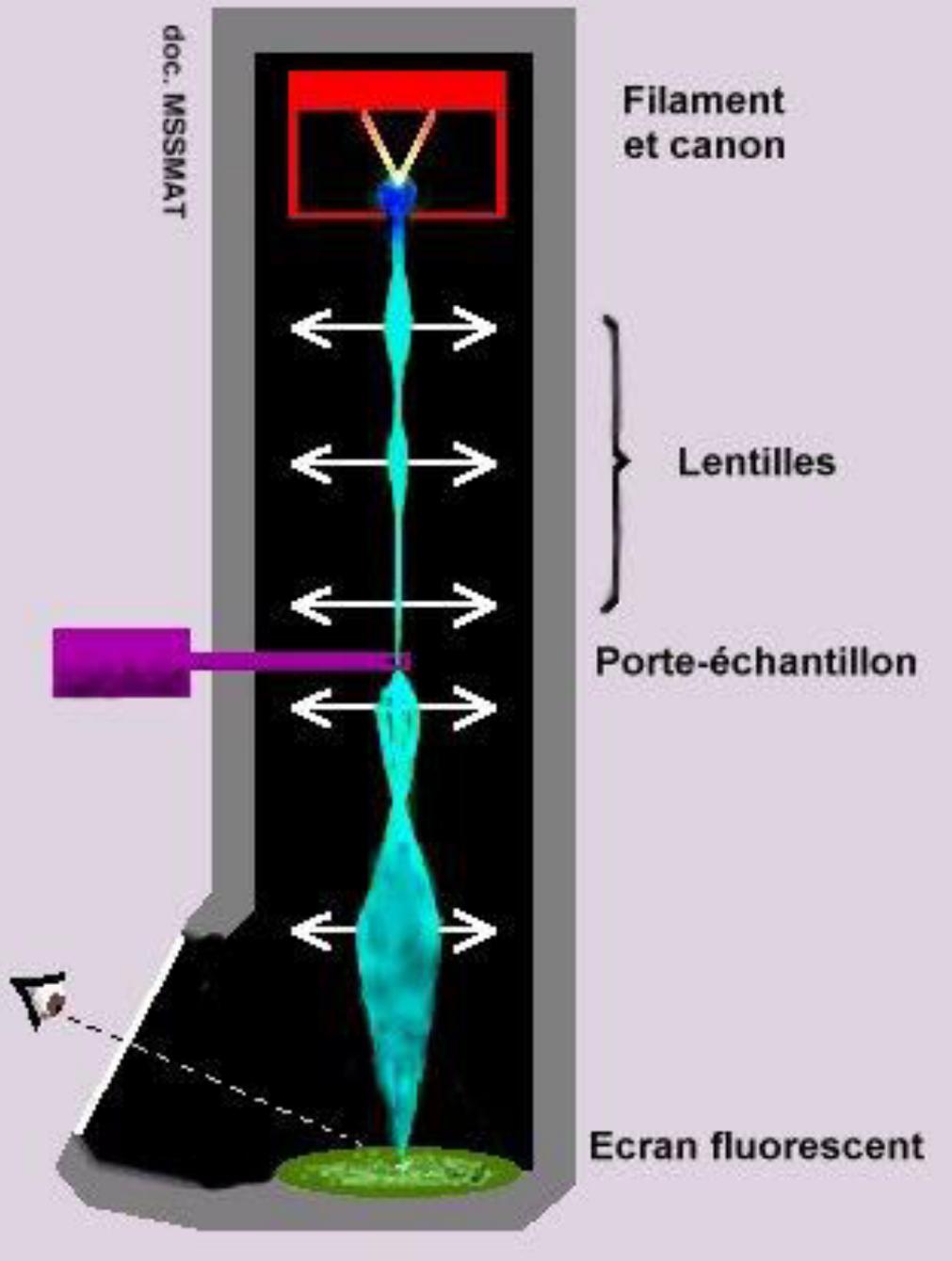
coupe d'un microscope électronique



Principe de transmission dans le M. PH et le MET



doc. MSSMAT



Filament
et canon

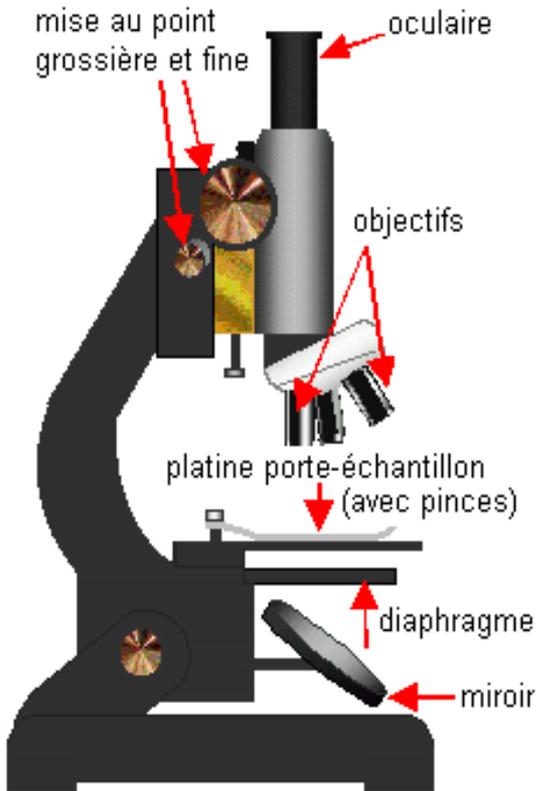
Lentilles

Porte-échantillon

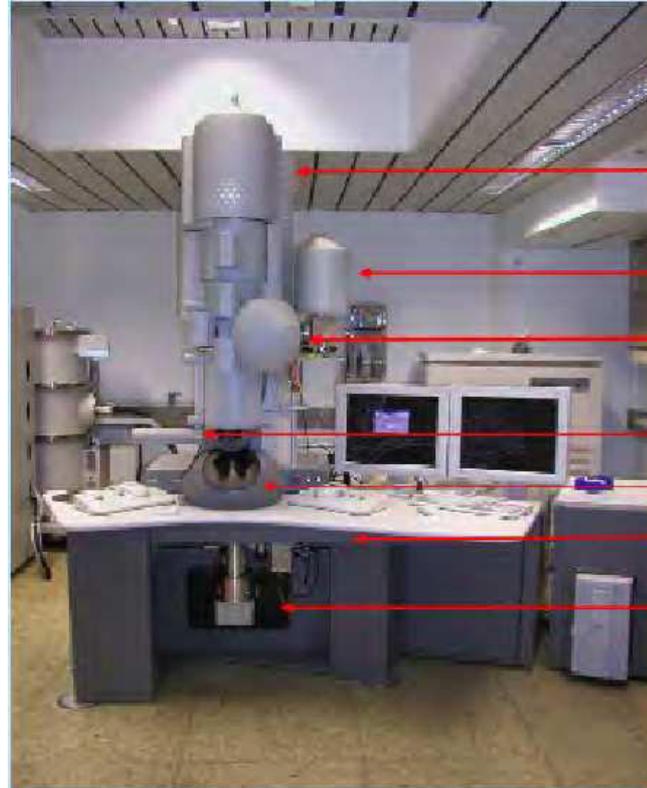
Ecran fluorescent



L'OBSERVATION PAR TRANSMISSION DE PHOTONS OU D'ELECTRONS



Microscope photonique



- FE-source
- EDX detector
- Sample
- Z contrast detector
- Screen
- Integrated active damping isolation
- 2k CCD camera

Microscope Electronique

Intérêt du MET

- un pouvoir de résolution 200 000 fois supérieur à celui de l'oeil humain,
- a permis de découvrir l'ultrastructure de la cellule révélant, avec précision, l'existence d'**organites cellulaires** : noyau, mitochondries, lysosomes, vacuoles, corps de Golgi, ribosomes, centrioles, chloroplastes,

Techniques associées au MET:

1. Technique des coupes minces et coloration positive



Etude ultrastructurale de la cellule

La technique des coupes minces et coloration positive

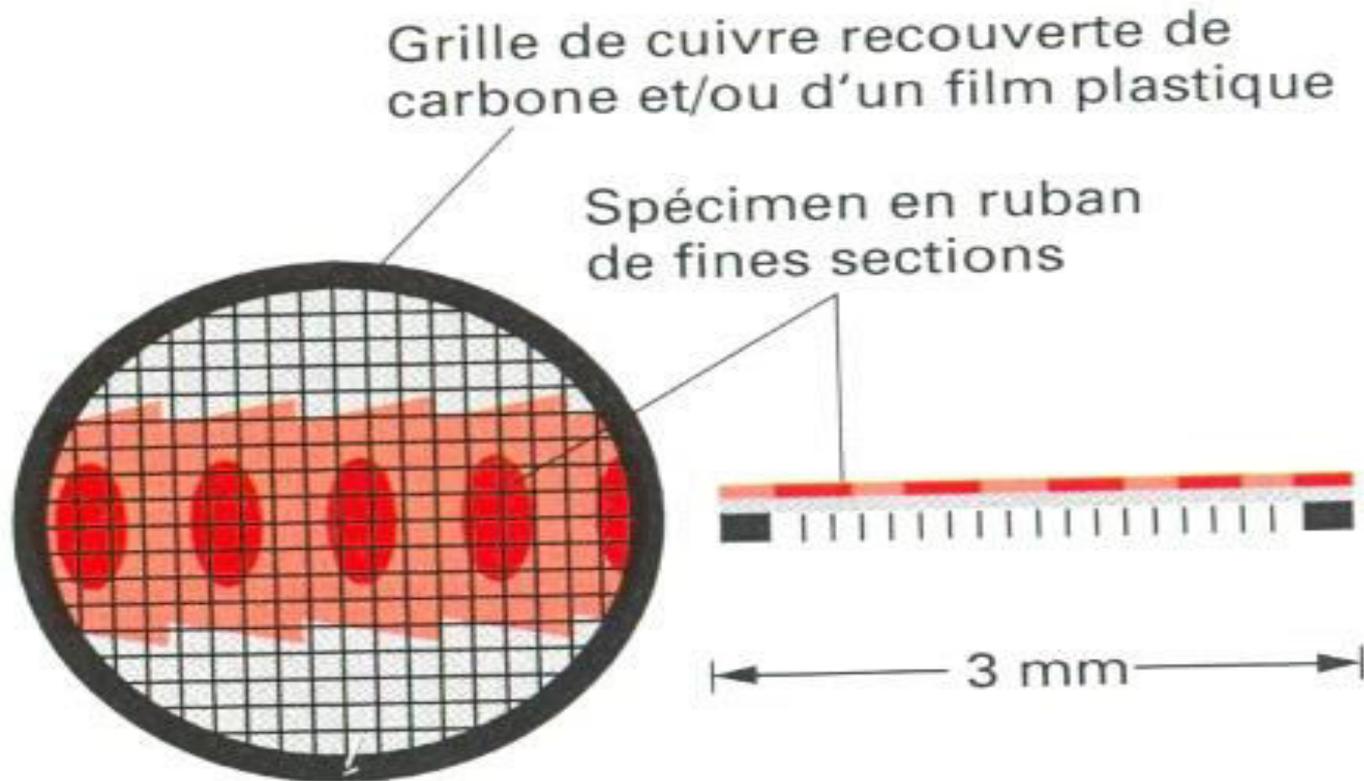
Le principe et le procédé sont les mêmes que pour la technique histologique la différence est dans les produits et les outils utilisés

- Coupes de 500Å sur Ultramicrotome
- Coupes étalées sur grille métallique
- Contraste aux métaux lourds
- Photos en noir et blanc



Coupes de 500 \AA d'épaisseur sur un ultramicrotome

Récupération des coupes sur grille métallique



Coloration aux métaux lourds
(interaction avec les électrons du faisceau)

Ultrastructure d'un monocyte



Zones noires =
électrons arrêtés

Zones claires =
Électrons transmis

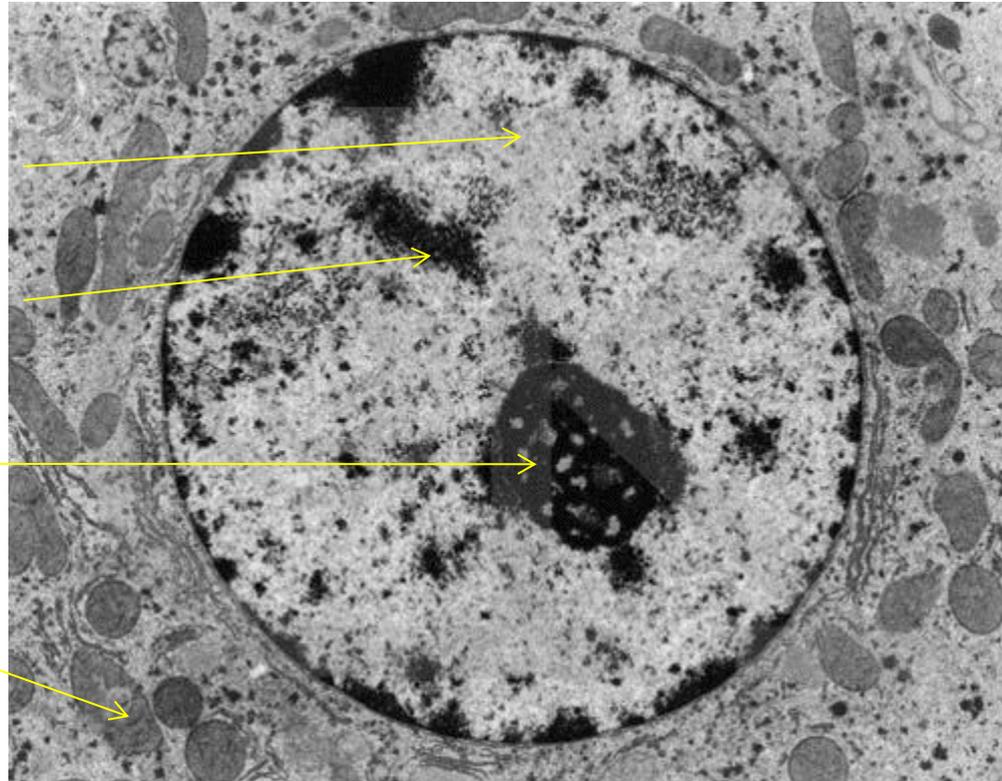
Portion de cellule glandulaire

Chromatine claire

Chromatine dense

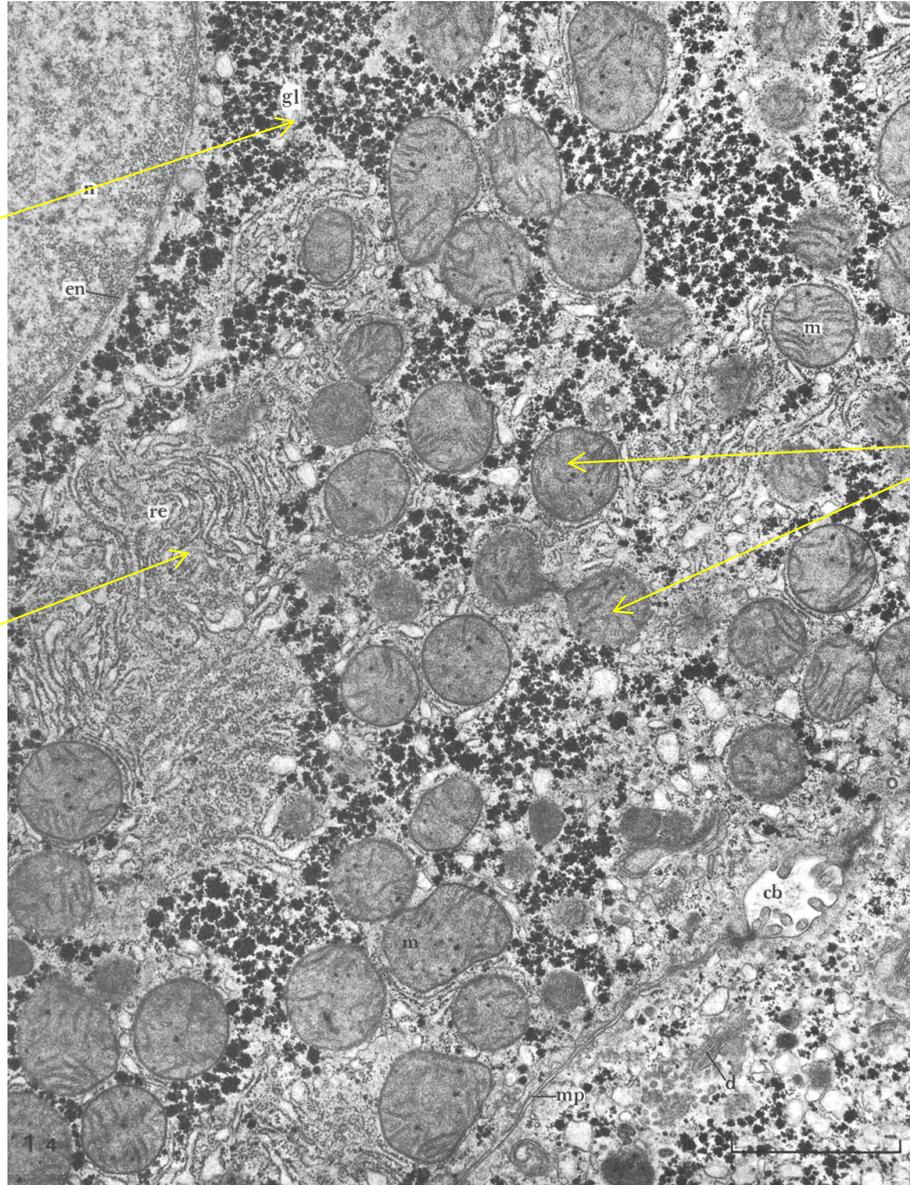
Nucléole

Mitochondries



Portion d'un hépatocyte

Grains de Glycogène



Mitochondries

Réticulum endoplasmique
rugueux

2. Technique d'autoradiographie

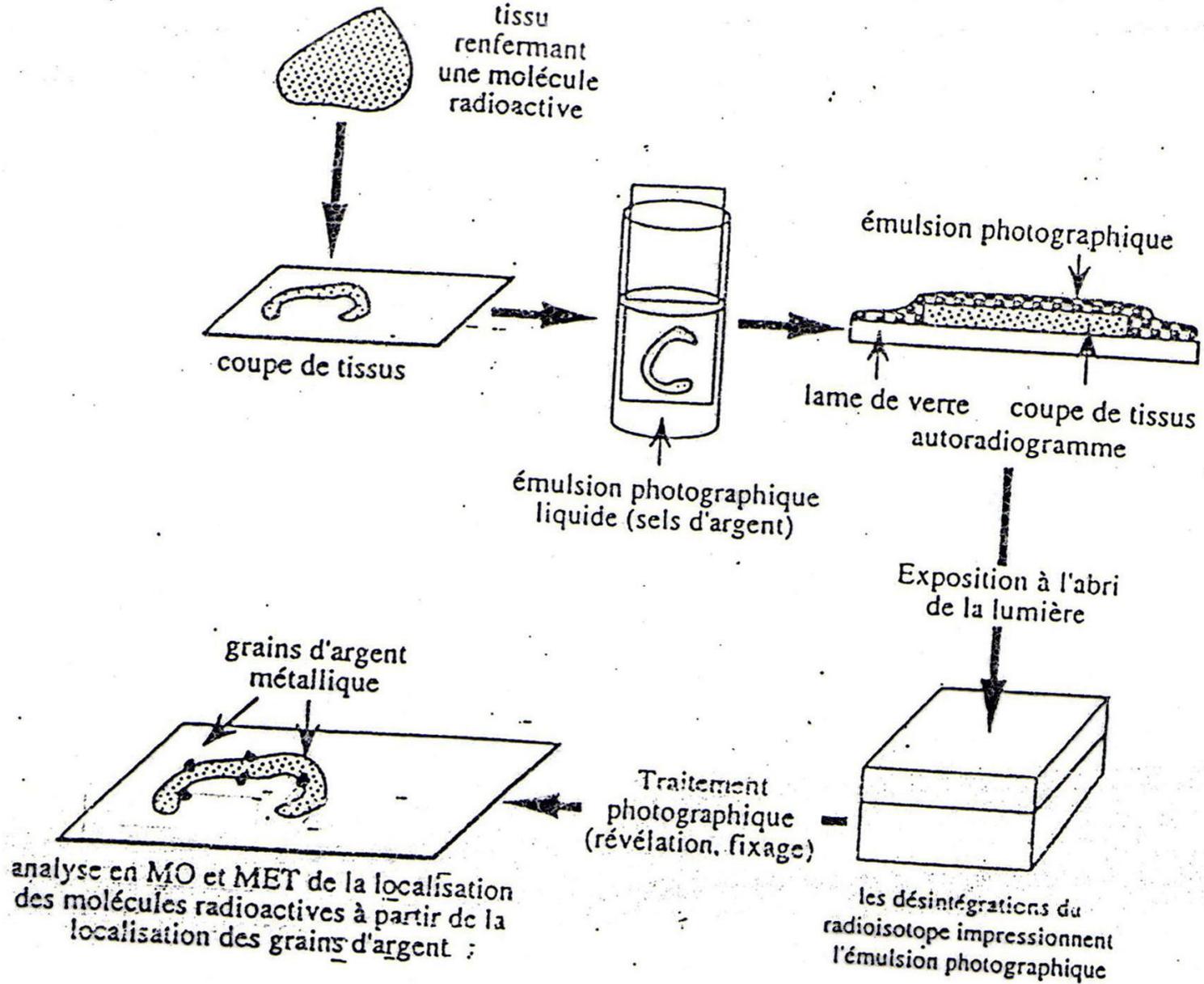
But

- ✓ Cinétique d'un métabolisme cellulaire

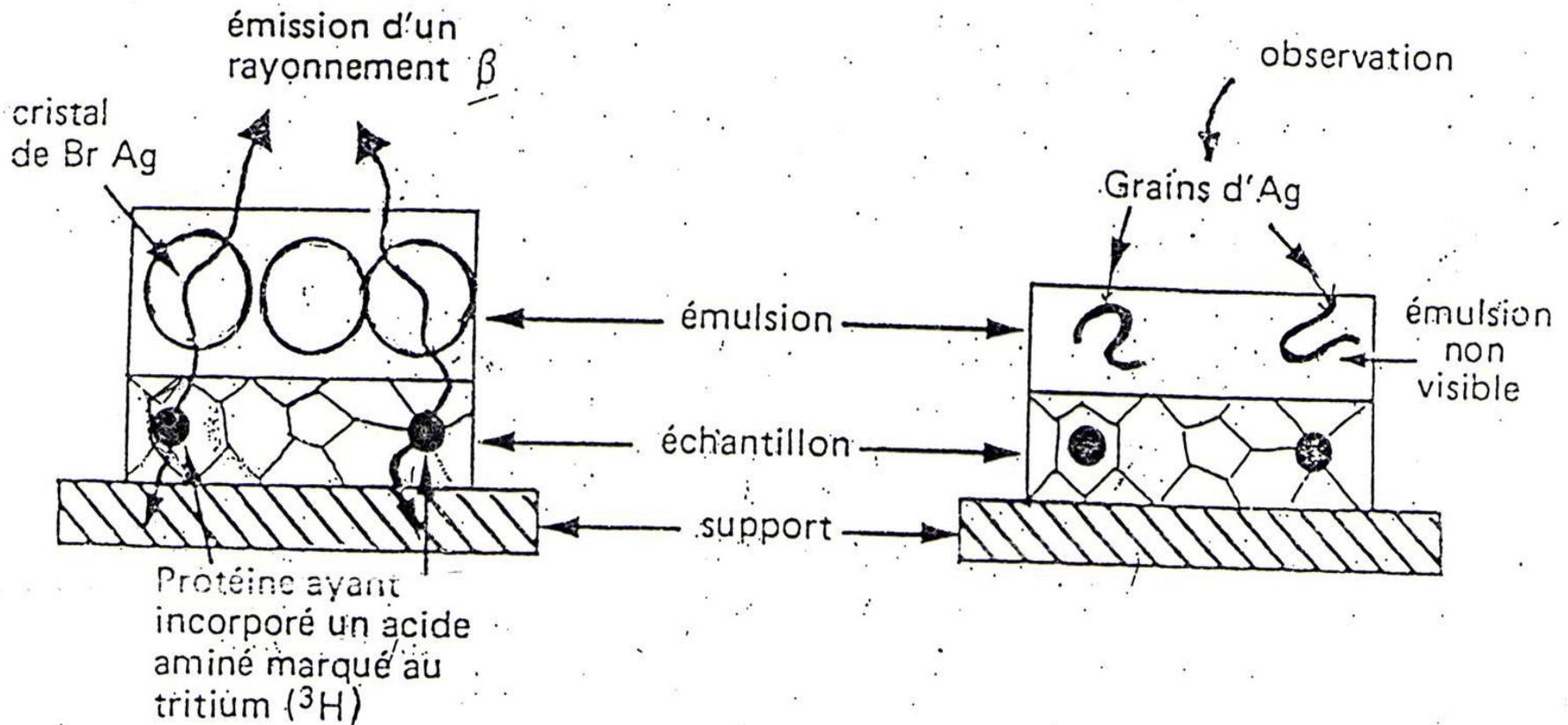
Principe

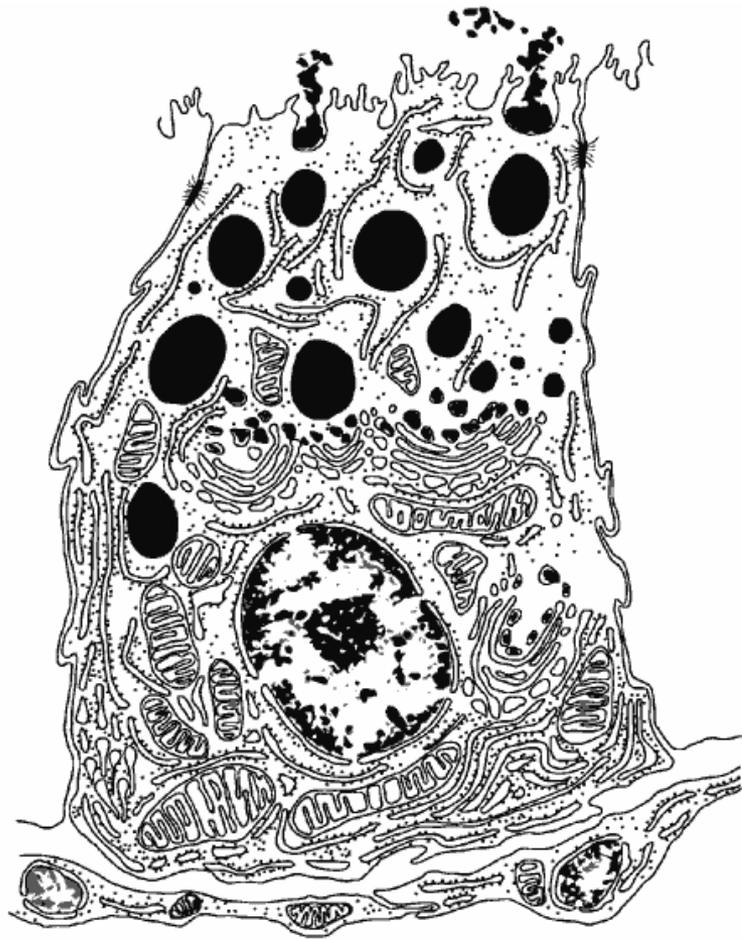
- ✓ Marquage et suivi de molécules intracellulaires par des isotopes radioactifs

Procédé de la technique d'autoradiographie (P: 34)

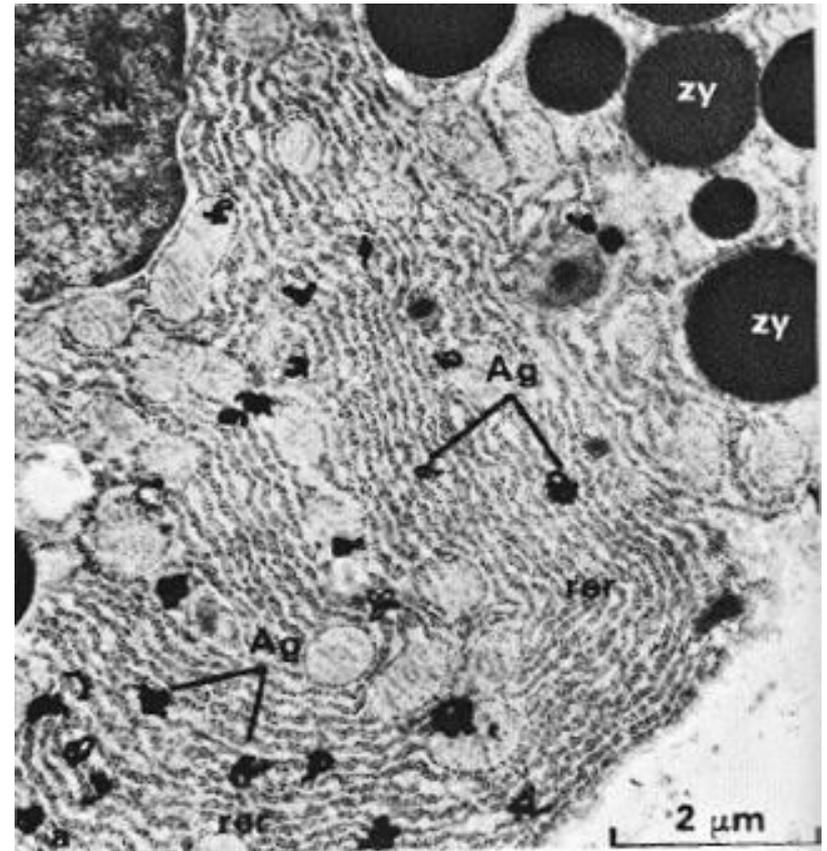


Les sels de bromures d'argent (Br Ag) contenus dans L'émulsion photographique sont réduits par le rayonnement radioactif et apparaissent sous forme de grains noirs



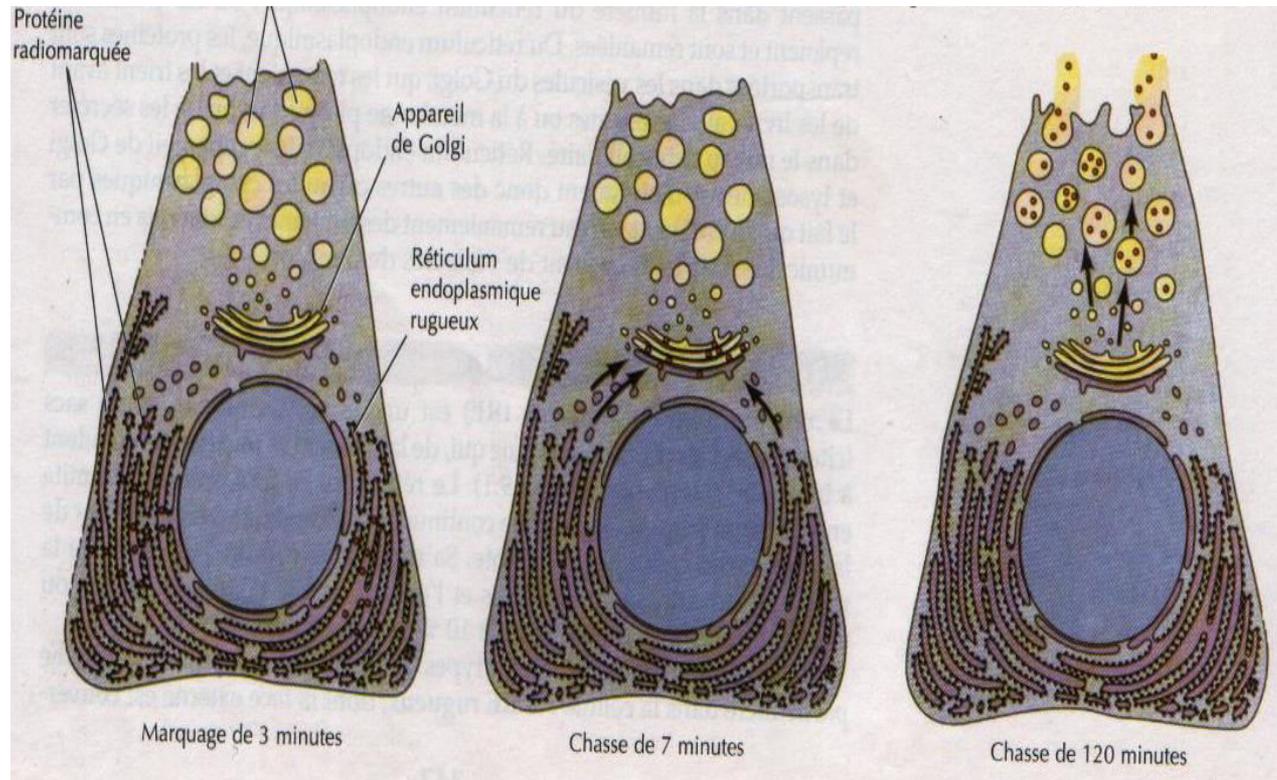


©JCLEHR



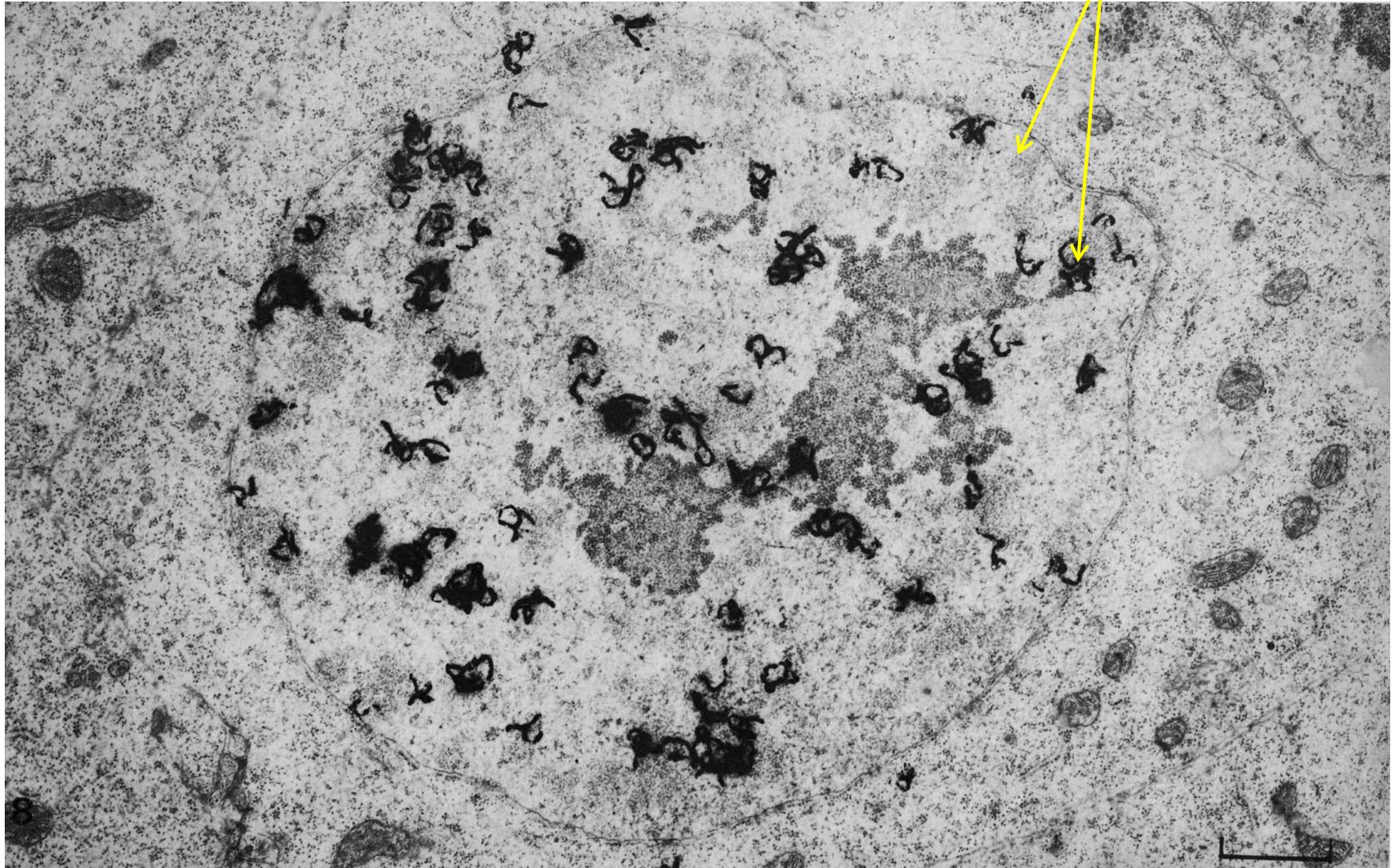
Dans cet exemple, on localise, la **Leucine** au sein de la cellule pancréatique,

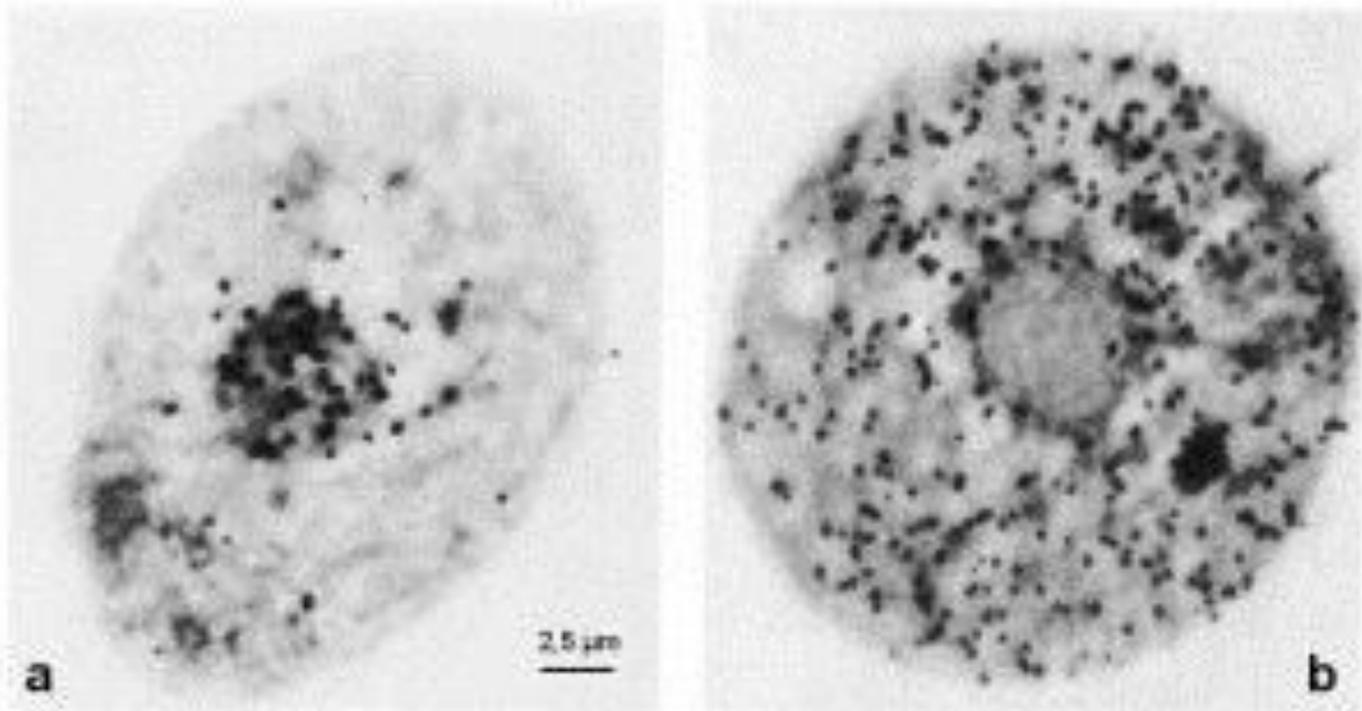
Cinétique de la synthèse et de l'emballage des produits de sécrétion



Technique de l'autoradiographie

Localisation de l'ADN / Marquage à la thymine tritiée





autoradiographies de cellules cultivées en présence d'un **précurseur radioactif spécifique de l'ARN (Uridine)** Chaque tache noire repère un endroit où se trouve de l'ARN ayant incorporé le précurseur radioactif à des temps différents .

3. Technique de coloration négative après isolement



Etude de l'architecture moléculaire d'organites isolés

Technique d'isolement

```
graph TD; A[Technique d'isolement] --> B[Homogénéisation du tissu]; A --> C[Ultra centrifugation]; B --> D[Homogénat cellulaire]; C --> E[Ultra centrifugation différentielle UCD]; C --> F[Ultra centrifugation sur gradient de densité UGD]; E --> G[Culots]; E --> H[Surnagants]; F --> I[Bandes];
```

The diagram is a flowchart titled "Technique d'isolement". It starts with a central box "Technique d'isolement" which branches into two main paths. The left path, marked with a "1" in a red box, leads to "Homogénéisation du tissu", which then leads to "Homogénat cellulaire". The right path, marked with a "2" in a red box, leads to "Ultra centrifugation". From "Ultra centrifugation", two sub-paths emerge: "Ultra centrifugation différentielle UCD" and "Ultra centrifugation sur gradient de densité UGD". The UCD path leads to "Culots" and "Surnagants", while the UGD path leads to "Bandes".

1

Homogénéisation du tissu



Homogénat cellulaire

2

Ultra centrifugation

Ultra centrifugation
différentielle
UCD



Culots



Surnagants

Ultra centrifugation sur
gradient de densité
UGD



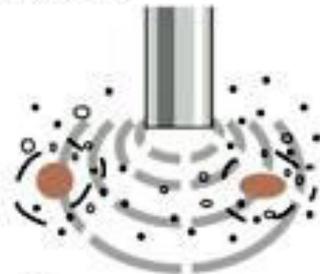
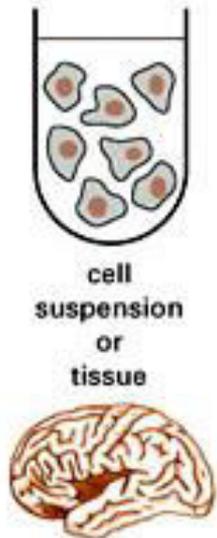
Bandes

Procèdes d'homogénéisation (P:37)

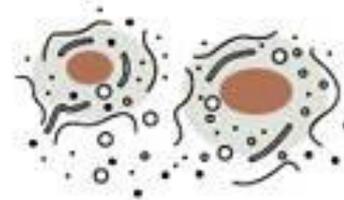
The first step in the purification of most proteins is to disrupt tissues and cells in a controlled fashion.

Using gentle mechanical procedures, called homogenization, the plasma membranes of cells can be ruptured so that the cell contents are released. Four commonly used procedures are shown here.

The resulting thick soup (called a homogenate or an extract) contains large and small molecules from the cytosol, such as enzymes, ribosomes, and metabolites, as well as all the membrane-bounded organelles.



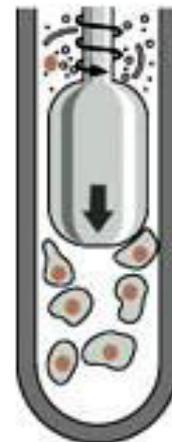
- ① break cells with high frequency sound



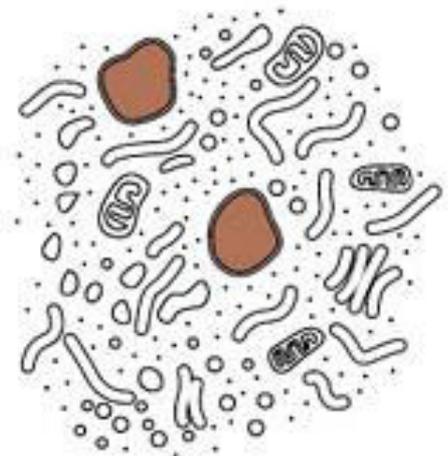
- ② use a mild detergent to make holes in the plasma membrane



- ③ force cells through a small hole using high pressure



- ④ shear cells between a close-fitting rotating plunger and the thick walls of a glass vessel



When carefully applied, homogenization leaves most of the membrane-bounded organelles intact.

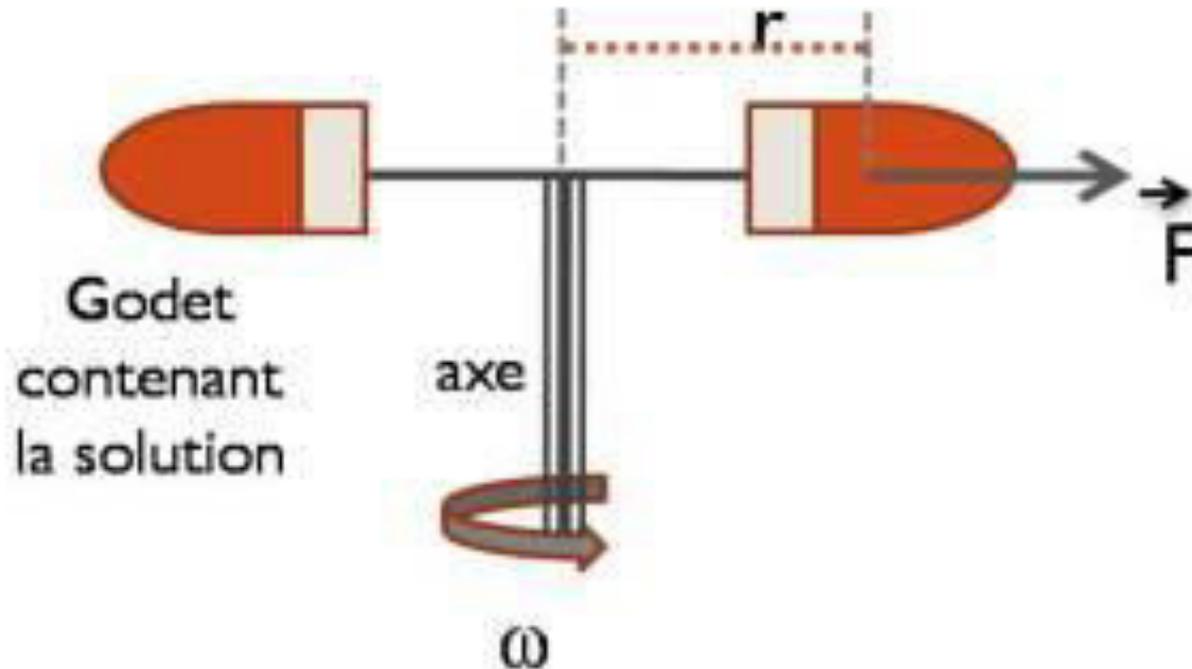
Centrifugeuse et centrifugation

Une centrifugeuse est constituée d'un axe portant un **rotor spécial**. Le rotor porte des **emplacements**, situés symétriquement de part et d'autre de l'axe, qui peuvent recevoir des tubes contenant les préparations biologiques.

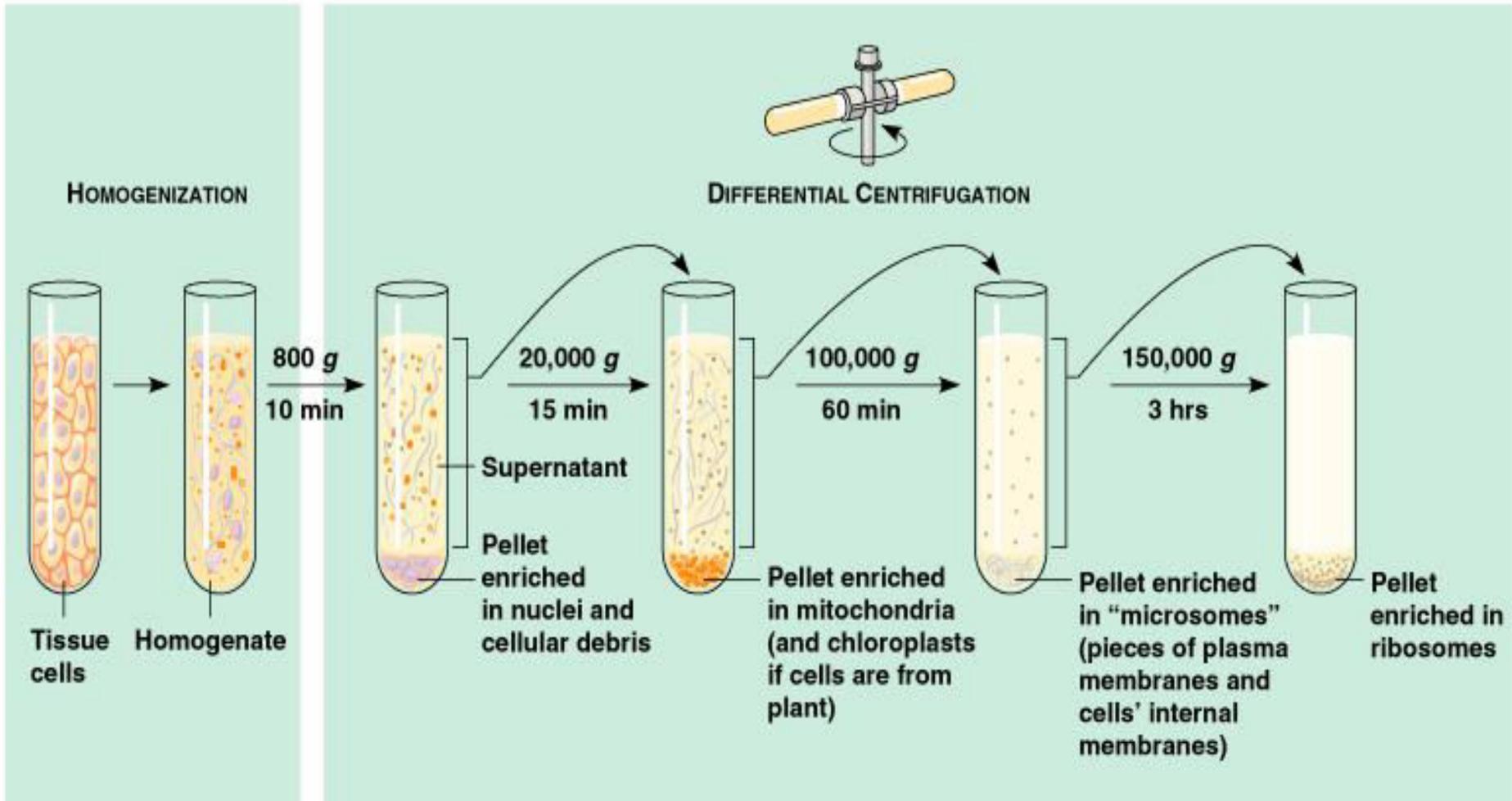


La macromolécule est soumise à une force centrifuge

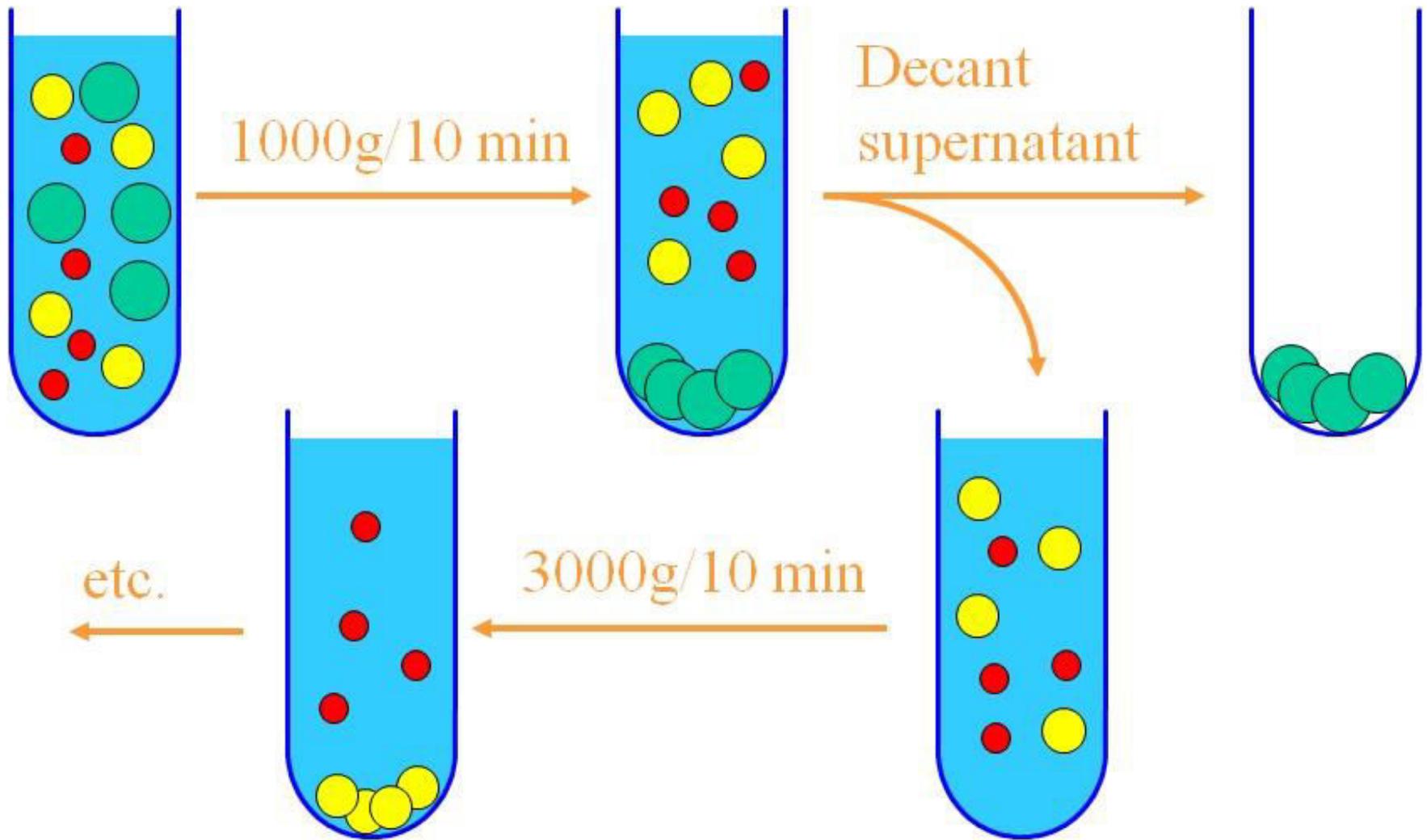
Sous l'effet de F , les molécules se déplacent vers le fond du godet tournant

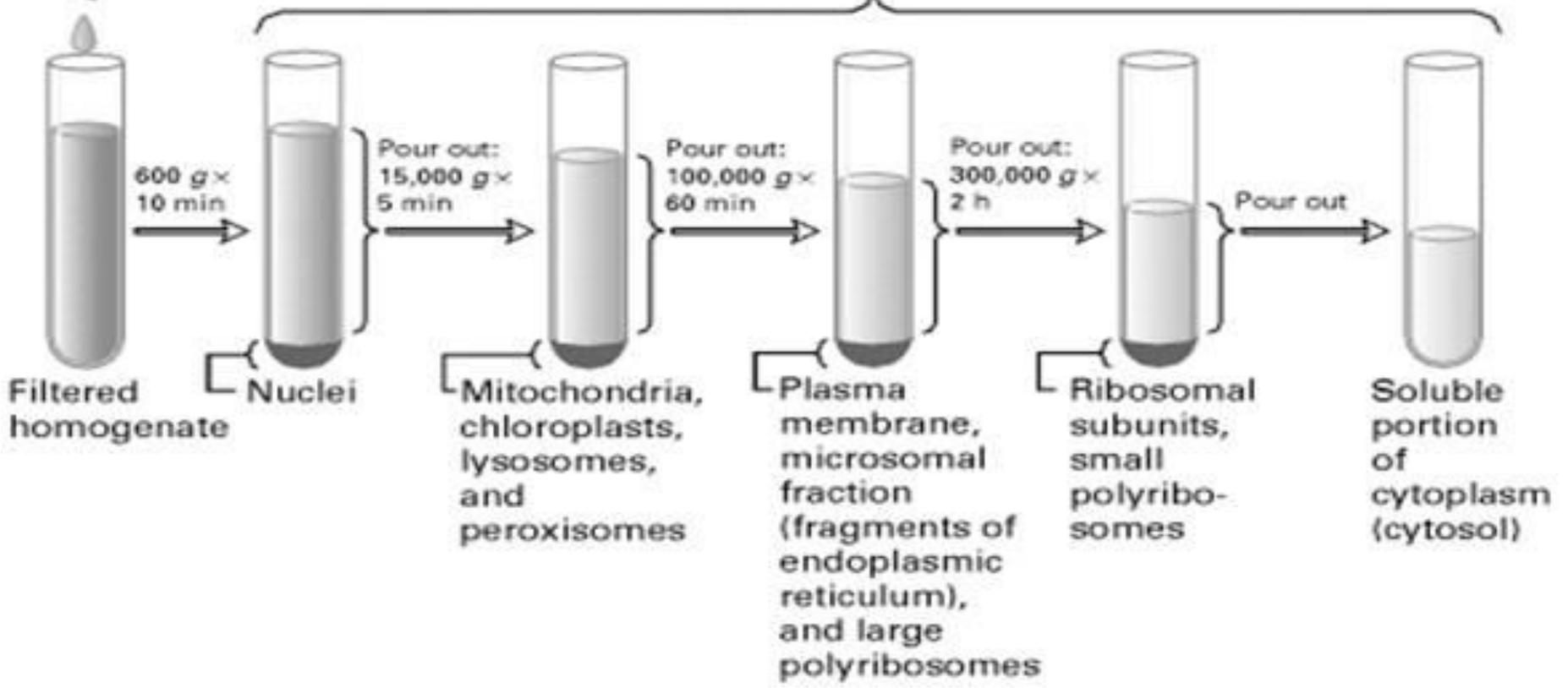
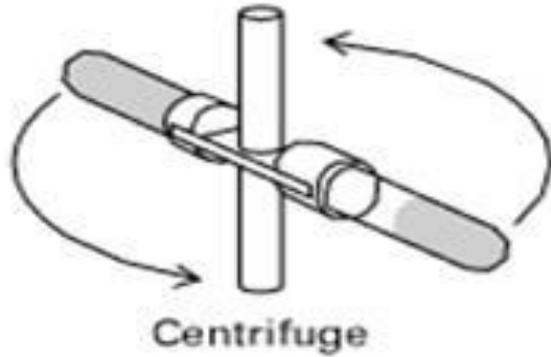


Procédé d'Ultracentrifugation différentielle (P: 39°)

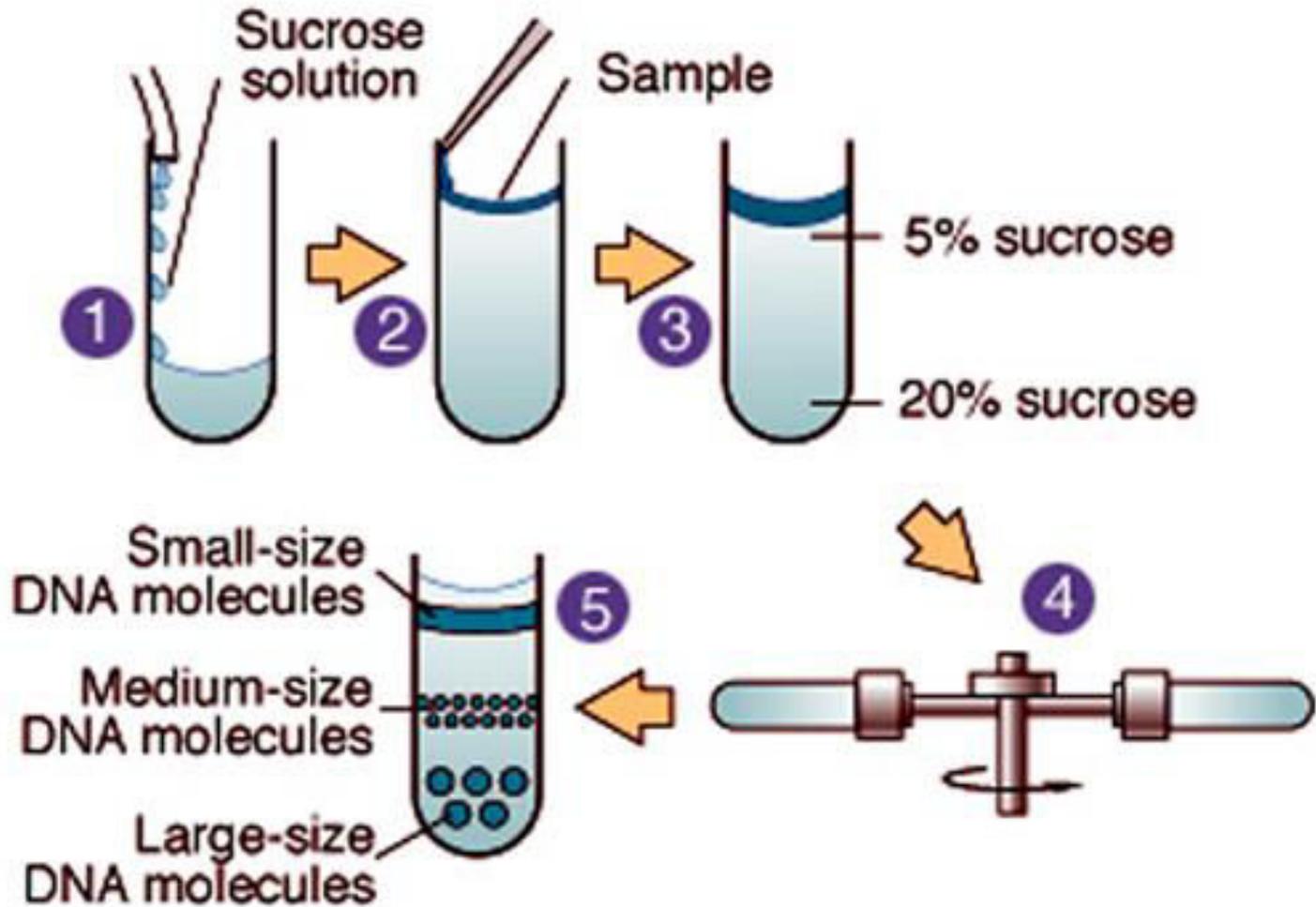


Les éléments se déposent selon leur taille et poids



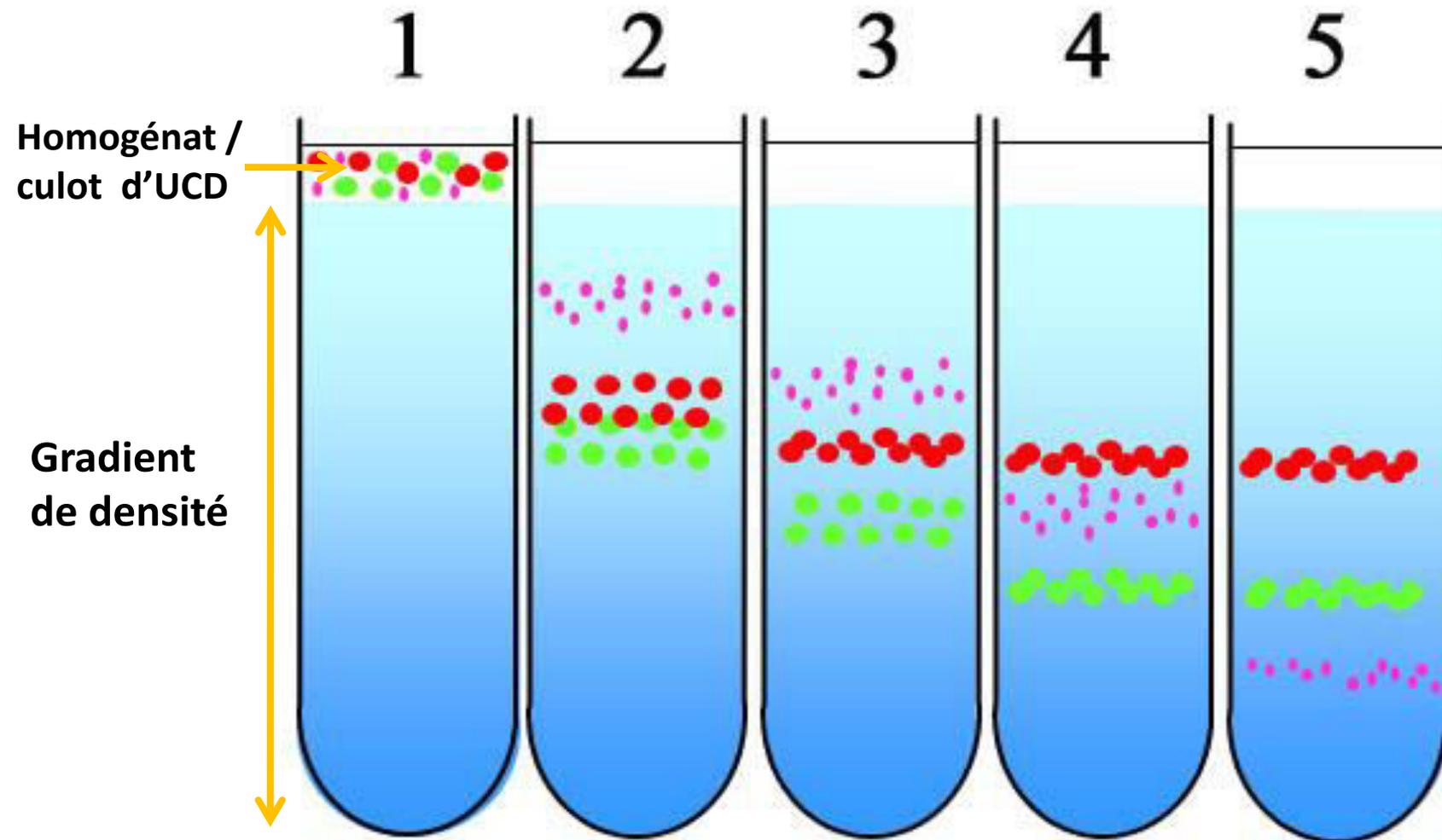


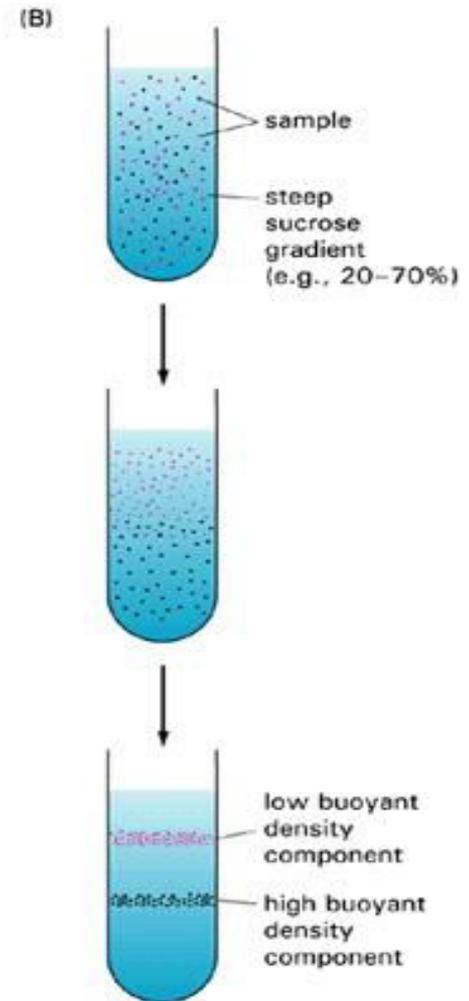
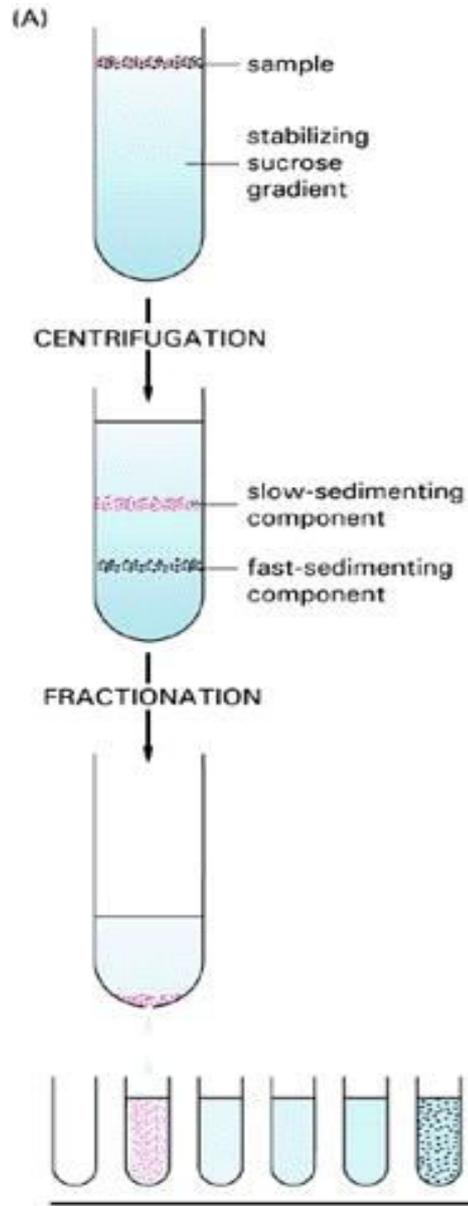
Procedé d' UGD



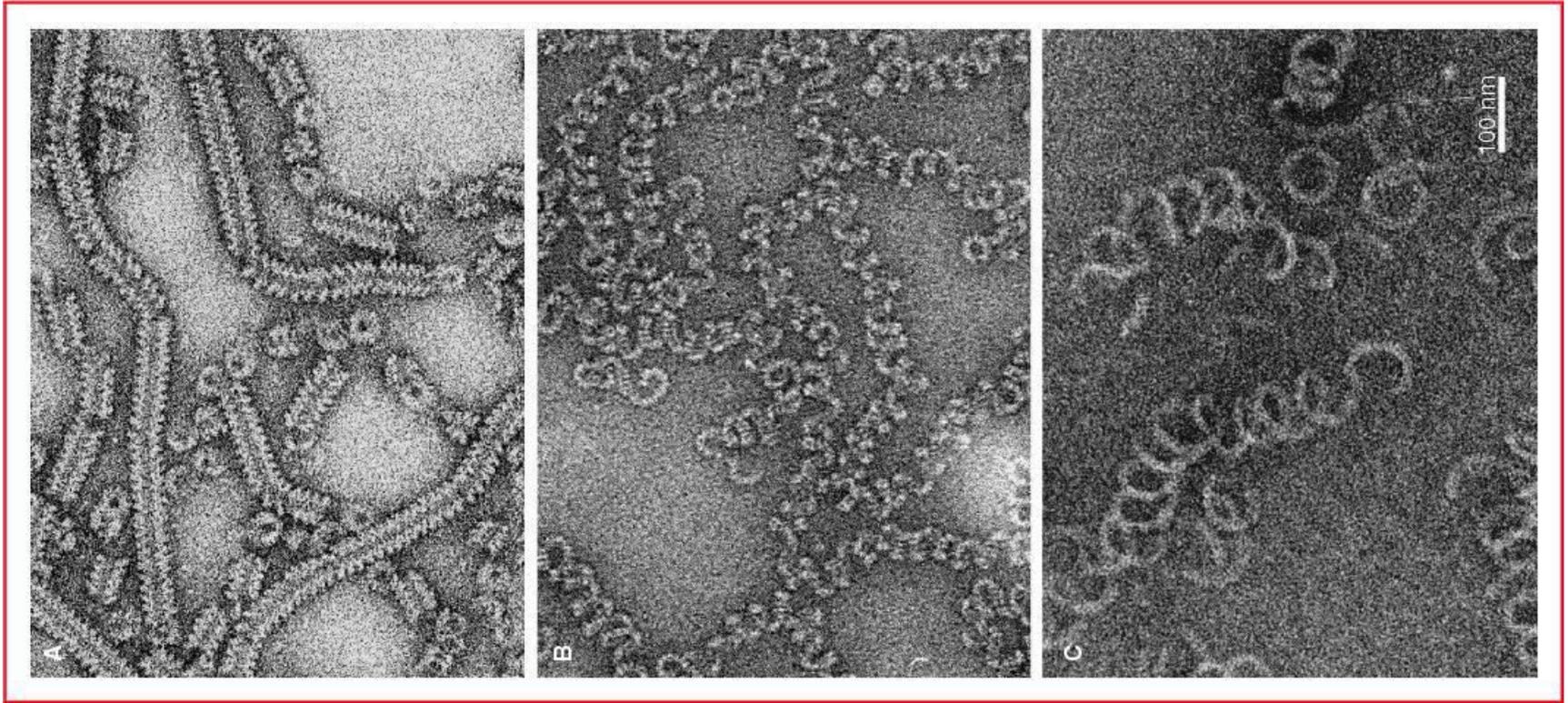
(a)

La centrifugation entraîne le déplacement des composants de l'homogénat ou du culot à travers le gradient de densité et s'arrêtent en une bande à leur densité





Contraste par coloration négative de virus isolés de cellules infectées (P: 32)



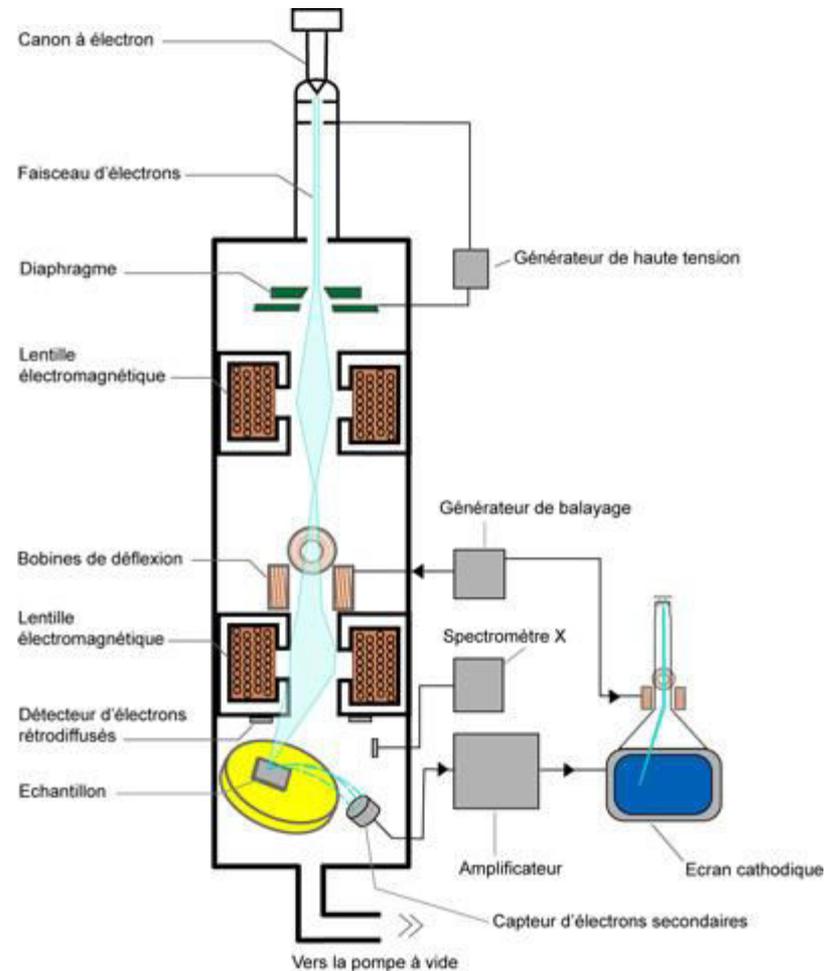
Micrographies de microscopie électronique de nucléocapsides préparées en coloration négative : **A)** Nucléocapside du virus de la rougeole. **B)** Nucléocapside du virus de la rage. **C)** Nucléocapside recombinante du virus de Marbourg.

Le microscope électronique à balayage



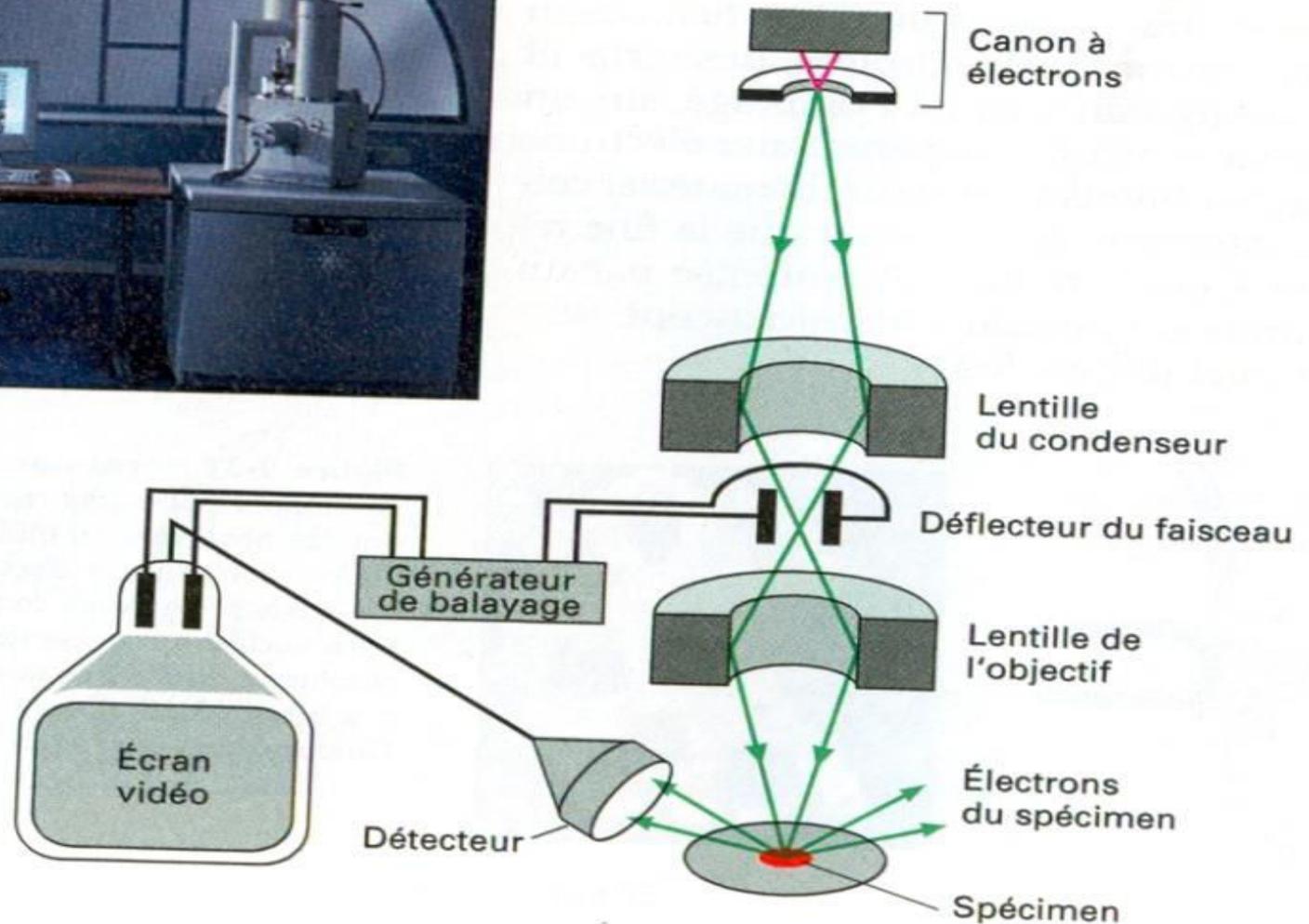
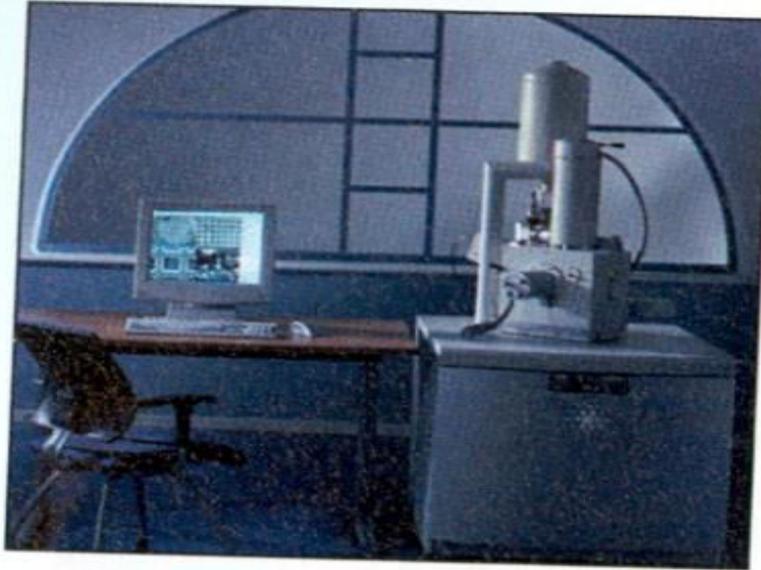
Etude morphologique en 3D

Microscope à Balayage : observation par réflexion



Le microscope électronique à balayage

L'OBSERVATION PAR REFLEXION: SYSTÈME DE BALAYAGE (MEB)



Principe de fonctionnement

