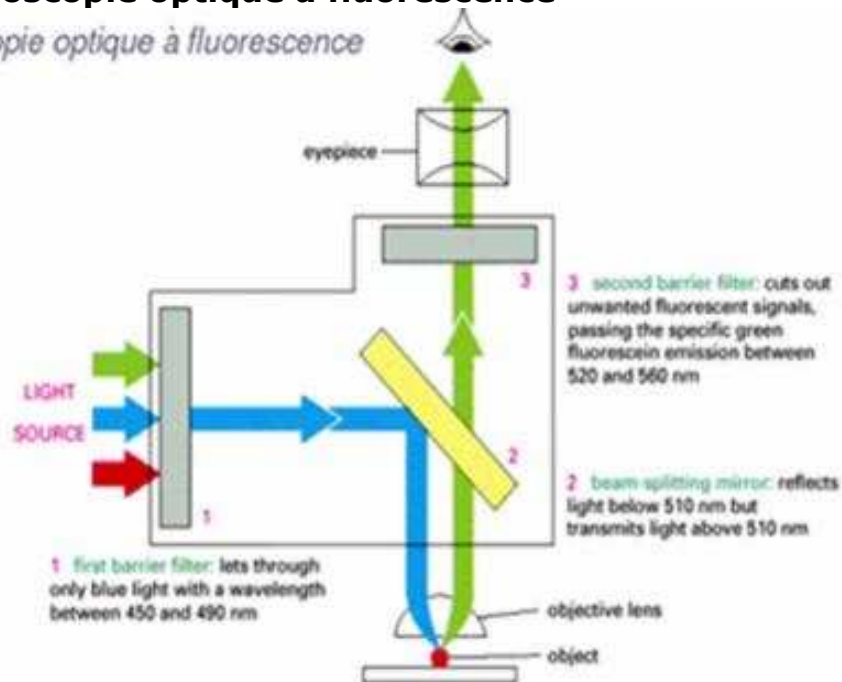


➤ Microscopie optique à fluorescence

Microscopie optique à fluorescence

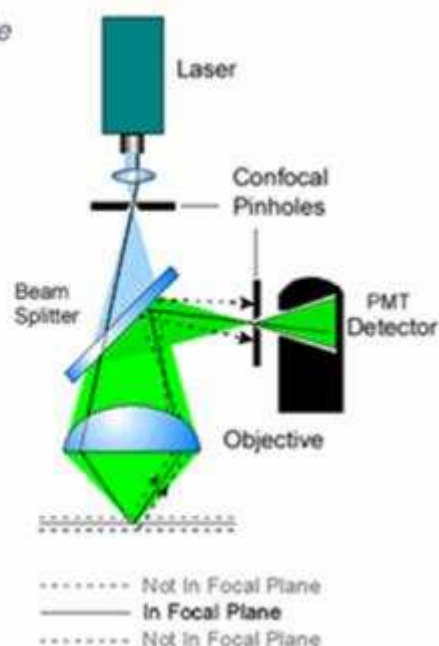


Principe de fonctionnement d'un microscope optique à fluorescence

Ce type de microscope permet d'observer des éléments fluorescents dans une cellule. Ces éléments fluorescents peuvent être naturelles, mais le plus souvent ce sera une molécule spécifique ; un **ARNm** ou une protéine par exemple, que l'on aura marqué à l'aide d'une sonde spécifique couplé à un fluorochrome. Ce type de microscope permet donc de localiser chaque type de molécule recherchée dans la cellule. L'objet est d'excité par une lumière de longueur d'onde définie par un filtre. La fluorescence émise est observée.

➤ Microscope confocale

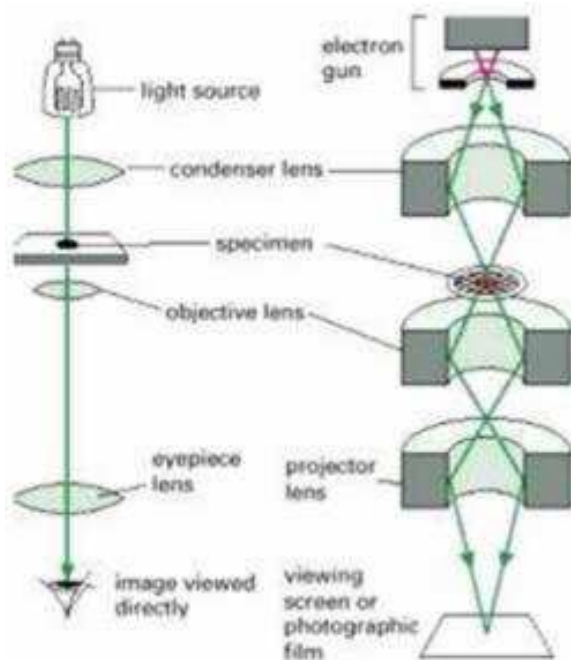
Microscopie confocale



Principe de fonctionnement d'un microscope confocal

Le principal intérêt d'un microscope confocal est d'augmenter la qualité de l'image en éliminant le flou. Il est généralement utilisé pour faire de la microscopie en fluorescence. Le principe est de capter l'image non pas de toute l'épaisseur de l'objet, mais uniquement d'un plan donné.

➤ Microscopie électronique à transmission



Principe de fonctionnement d'un microscope électronique à transmission

Le principal intérêt du microscope électronique par rapport au microscope optique est d'augmenter le grandissement. Au lieu d'être éclairé, l'objet est bombarde par un faisceau d'électrons. L'image mettra en évidence les structures plus ou moins opaques aux électrons. L'objet doit être préalablement coupé en tranches ultrafines puis imprégné de sels de métaux lourds qui vont se fixer différentiellement sur les différentes structures intracellulaires et les rendre plus ou moins opaques aux électrons.

Culture de cellules

Culture de bactéries

Dans un milieu de culture on retrouve;

- une source de CD (glucose)
- Une source de N (NH_4^+)

- ions : Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺
- Oligoéléments

Milieu

- Liquide
- Solidifié par de l'agar

En conditions stériles, Laboratoires de sécurité

1 bactérie _____ 24 heures _____ 1 clone = 10⁶ bactéries.



Colonies de Pseudomonas aeruginosa cultivées sur agar

Dans un milieu de culture liquide :

- glucose
- Acides aminés
- Nucleotides
- Ions : Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺
- Oligoéléments
- 10% de sérum (car contient des facteurs de croissance)

En conditions stériles, Laboratoires de sécurité

Si cellules normales : culture limitée dans le temps

Si cellules tumorales : culture indéfinie

Culture en masse de cellules de méristème → plante

Culture de cellules isolées : enlever la paroi

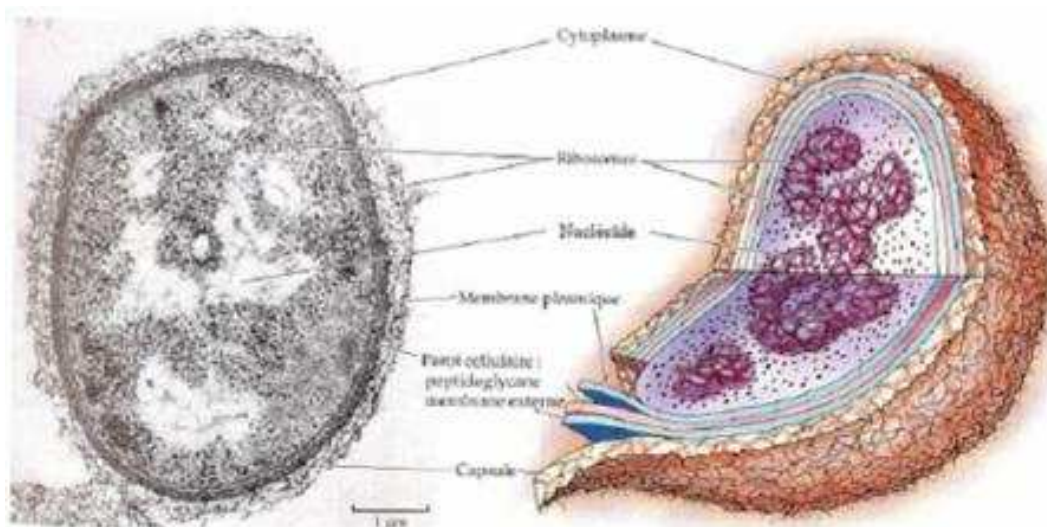
Une cellule procaryote : La bacterie *Pseudomonas aeruginosa* présente des structures cellulaires typiques de procaryotes. La photographie en

microscopie électronique a un agrandissement de 80 000 fois. Noter l'existence de nombreuses structures de protection externes à la membrane plasmique.

Exemple de Pseudomonas aeruginosa



Aspect au microscope optique à transmission



Aspect au microscope électronique à transmission

Organisation microscopique des cellules eucaryotes



Kératinocyte de la muqueuse buccale observé au microscope à lumière transmise
Seul le noyau est clairement observable

