

**TD N° 3 : applications sur les méthodes d'étude cellulaire** Dr/ ZOUAGHI.Y

**Questions à compléter :**

- 1) Le microscope électronique à balayage permet d'observer ....., pour cela, la préparation des échantillons n'a pas besoins ni à ..... ni à .....
- 2) Les cellules vivantes peuvent être observées par le microscope ..... ou le microscope .....
- 3) Pour la déshydratation des cellules ou échantillons, on utilise .....
- 4) Le microscope électronique à transmission permet d'observer ..... donc il nécessite .....

**Questions à répondre par vrai ou faux :**

- 5) La technique d'immunofluorescence repose sur les réactions Antigène-Anticorps .....
- 6) La technique d'autoradiographie nécessite l'utilisation de substances fluorescentes .....
- 7) Les métaux lourds sont utilisés pour le contraste en microscopie électronique à transmission et à balayage .....
- 8) Dans la microscopie optique, l'échantillon observé est traversé par des électrons .....
- 9) Les fluorochromes sont des substances radioactives qui permettent la détection des protéines cellulaires .....
- 10) La première centrifugation d'un homogénat tissulaire à 1000g, conduit à l'obtention d'une fraction purifiée très riche en mitochondries. ....

**Questions aux réponses courtes (QROC) :**

- 11) Quel est le chemin optique dans le microscope photonique ? Répondre en indiquant l'ordre exact :  
 a. Lentille oculaire.    b. Lentille du condenseur.    c. Lentille objectif.    d. Echantillon.  
 e. Source lumineuse
- 12) Classer les étapes suivantes qui concernent la préparation d'un échantillon pour la microscopie électronique par cryodécapage :  
 a. Sublimation de la glace.  
 b. Congélation de l'échantillon.  
 c. Métal lourd évaporé obliquement.  
 d. Fracture de l'échantillon à très basse température et sous vide.
- 13) A propos de la préparation de coupes au microscope optique, remettre dans l'ordre les différentes étapes.  
 a. Inclusion    b. Fixation    c. Déshydratation    d. Coloration    e. Coupe  
 f. Réhydratation    g. prélèvement
- 14) Pourquoi la déshydratation de l'échantillon se fait avant l'inclusion dans la paraffine ?
- 15) Après la réalisation des coupes, comment déparaffiner les échantillons ?
- 16) Pourquoi on réhydrate l'échantillon avant la coloration ?

**Questions à choix multiple (QCM) : Cochez la(les) réponse(s) juste(s):**

- 17) Parmi les substances suivantes quel(s) est (sont) celle(s) habituellement utilisée(s) pour une fixation  
a. Liquide de Bouin   b. Formol   c. Platine   d. Paraffine   e. Tétraoxyde d'osmium
- 18) Concernant le microscope électronique à balayage (MEB) :  
a. L'échantillon est traversé par un faisceau d'électrons.  
b. La coloration se fait par ombrage métallique.  
c. La surface de l'échantillon est recouverte d'une couche de métal.  
d. Les électrons balayent la surface de l'échantillon mais ne le traversent pas.
- 19) A propos de l'autoradiographie, quelles sont les propositions vraies ?  
a. Elle permet la mise en évidence du lieu de biosynthèse des macromolécules.  
b. Les précurseurs métaboliques sont nécessairement radiomarqués.  
c. Quel que soit le type de macromolécule mis en évidence, on utilise un seul et unique type de précurseur métabolique radiomarqué.  
d. Ce sont les rayonnements issus de l'échantillon qui transforment les cristaux d'AgBr en Ag métal dans l'émulsion photographique.
- 20) A propos du fractionnement cellulaire, quelles sont les propositions vraies ?  
a. La centrifugation différentielle permet d'obtenir des culots d'organites purs.  
b. L'ultracentrifugation en gradient de densité permet d'obtenir une séparation des constituants cellulaires en une seule étape.  
c. La première étape (broyage) détruit la membrane plasmique sans endommager les organites.  
d. L'ultracentrifugation différentielle constitue en une succession de centrifugations de plus en plus rapides et de plus en plus courtes.
- 21) L'ombrage métallique :  
a. Le métal lourd est vaporisé perpendiculairement à la surface de l'échantillon.  
b. Le métal lourd est vaporisé obliquement à la surface de l'échantillon.  
c. Permet d'accentuer le relief d'un échantillon.  
d. Permet d'obtenir une réplique de la surface de fracture.
- 22) La coloration négative :  
a. Est particulièrement utilisée pour observer les objets de très petites dimensions.  
b. Les structures observées apparaissent sombres sur fond clair.  
c. Les structures observées apparaissent claires sur fond sombre.  
d. Les structures observées sont traversées par les électrons.  
e. Permet de contraster le contour de petits objets
- 23) Dans la technique dite d'immunofluorescence, le second anticorps employé doit être :  
a. Produit par la même espèce qui a fourni le premier anticorps.  
b. Marqué par un fluorochrome afin de pouvoir être décelé.  
c. Dirigé contre le constituant cellulaire à étudier.  
d. Spécifiquement dirigé contre l'anticorps primaire.