



TD N°4 : Applications sur les méthodes d'étude de la cellule

Exercice n°1 : Répondre brièvement et précisément aux questions suivantes.

1) Quel est le rôle de chacune des étapes indiquées dans le tableau suivant :

Etape	Rôle
Inclusion :	
Fixation :	
Déshydratation :	
Coloration :	
Réhydratation	

2) Pourquoi la fixation se fait-elle rapidement et immédiatement après le prélèvement de l'échantillon ?

3) Pourquoi les échantillons sont-ils déshydratés lorsqu'ils sont examinés au MET?

4) Les échantillons préparés pour la microscopie électronique à balayage (MEB) sont-ils déshydratés ? Justifier votre réponse.

5) Mettre en ordre chronologique, les étapes de cryodécoupage (préparation de répliques)

a- Cryofracture b- Isolement de la réplique c- Congélation d- Ombrage métallique
e- Découpage (sublimation)

Exercice n°2 :

6) Des chercheurs ont prélevé un fragment de foie d'un rat et l'ont broyé dans un milieu isotonique. L'extrait de broyage obtenu (homogénat), est soumis à une première centrifugation de 1000 g. Le culot contenant essentiellement des noyaux est récupéré et le surnageant est centrifugé à 10000g (voir figure 2 TD N°3). L'opération est répétée quatre fois afin d'isoler les différents composants cellulaires.

a- Pourquoi le broyage était-il effectué dans un milieu isotonique ?

b- Comment s'appelle ce type de centrifugation ?

c- Pourquoi les composants cellulaires ne sont pas tous retrouvés dans le premier culot ?

d- Le culot obtenu dans la deuxième centrifugation à 10.000 g est un mélange constitué de trois organites : mitochondries, lysosomes et peroxysomes. Comment expliquer la présence des trois composants cellulaires dans le même culot ?

e- Quel type de centrifugation peut-on utiliser pour séparer les organites du mélange ?

Exercice n°3 :

7) On pratique, in vitro, une culture cellulaire dans un milieu contenant la thymidine tritiée (précurseur radioactif). Des groupes cellulaires sont prélevés puis traités par la technique d'autoradiographie, successivement aux temps T1 et T2. Au temps T1, on observe au niveau de l'émulsion photographique la présence des grains denses au dessus de cytoplasme et de noyau. Au temps T2, les grains denses sont tous concentrés au dessus du noyau.

- a - Citez les trois principales étapes de traitement des coupes cellulaires par la technique d'autoradiographie.
- b - Quelle est la nature chimique de la thymidine tritiée ?
- c - Comment expliquer l'apparition des grains denses au dessus de cytoplasme et de noyau au temps T1 ?
- d - Comment expliquer l'accumulation de la thymidine tritiée au niveau du noyau au temps T2 ?
- e - Dans cette expérience, quel est l'objectif de l'utilisation de la thymidine tritiée ?

Exercices n°4 : Complétez les énoncés suivantes

- 8) Le microscope électronique à balayage permet d'observer la des objets en, pour cela, la préparation des échantillons n'a pas besoin à l'étape ni à l'étape de
- 9) Le microscope électronique à transmission (MET) permet d'observer :
- 10) La technique de cryodécoupage est généralement applicable au microscope Elle est utilisée pour mettre en évidence la structure de et les
- 11) La technique d'immunofluorescence repose sur les réactions
- 12) La méthode d'ombrage métallique consiste à pulvériser une fine couche de et de

Exercice n°5 : Questions à choix multiple (QCM)

Cochez la (les) réponse(s) juste(s)

<p>13) L'observation d'un échantillon au microscope optique à fond clair nécessite:</p> <ul style="list-style-type: none">a. Dans l'ordre: prélèvement, déshydratation, fixation puis inclusion.b. Une inclusion dans la résine.c. La vaporisation d'une couche de platine sur la surface de la préparation.d. Une inclusion dans la paraffine après la déshydratation	<p>15) A propos de la technique des répliques :</p> <ul style="list-style-type: none">a. La sublimation est réalisée après la cryofracture.b. La sublimation est réalisée après l'ombrage métallique.c. Elle permet l'étude des surfaces internes.d. Les coupes des échantillons doivent être très fines.
<p>14) Dans la technique dite d'immunofluorescence, le second anticorps employé doit être :</p> <ul style="list-style-type: none">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 le premier anticorps.	<p>16) Parmi les produits suivants, lesquels sont utilisés comme fixateur des tissus ?</p> <ul style="list-style-type: none">a. L'acétate d'uranyle.b. L'araldite.c. Le formol.d. Le glutaraldéhyde.e. Le xylène.

Fin