

Microscopie optique :

Résolution → 200 nm

La cellule est transparente → généralement besoin de colorant

Microscopie à contraste de phase

- Pas de colorant
- Bon contraste, moins de brillance
- Microcinéma / Timelapse

Microscopie confocale

- 3D
- Utilise un laser
- Plan par plan

Microscopie confocale

- Limite de résolution < 200nm
- Excitation **séquentielle** des fluorochromes
- Superposition des images

Microscopie à fluorescence

- Une molécule fluo absorbe un photon pour en restituer ensuite un d'énergie plus faible.
- On envoie un photon primaire qui interagit avec le fluorochrome pour finalement observer un photon secondaire d'énergie plus faible et donc d'une autre couleur.
- La GFP est une molécule fluo venant de la méduse et dont la fluorescence est intrinsèque
- La GFP émet du vert, la CFP dans le cyan, la YFP dans le jaune...
- On peut rendre directement une molécule fluo, ou rendre fluo un Ac qui reconnaîtra indirectement la molécule.

Techniques d'introduction dans la cellule :

- ✓ Micro-injection
- ✓ Electroporation
- ✓ Vectorisation par vésicule

- ✓ Faire exprimer un gène par la cellule
 - On peut créer des protéines de fusion pour localiser des protéines dans la cellule
- Les techniques spé de la fluorescence :
- FRET → Intra ou inter moléculaire
→ Permet de déduire la proximité de 2 mol'
 - Photoblanchiment
→ FRAP = fluo revient
 - ✓ Blanchiment non-permanent
 - ✓ Observation de la zone blanche



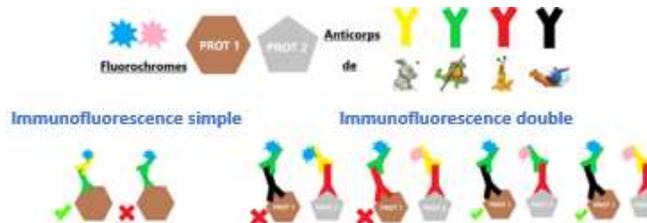
- FLIP = Loose la fluo (perdue)
- ✓ Blanchiment en continu
 - ✓ Observation hors de la zone blanchie



Fluorescence induite

- Une molécule devient fluorescente en se fixant à la molécule étudiée.
- Hoechst + DAPI → spécifique sur A et T
- Bromure d'éthidium + iodure de propidium
→ intercalants de l'ADN non-spécifiques

Immunofluorescence indirecte



FISH

- Permet de visualiser les acides nucléiques
- Grâce à des sondes fluo spécifiques
 - ✓ Dénaturation
 - ✓ Hybridation
 - ✓ Révélation
- Incorporation de nucléotides marqués ou les nucléotides sont marqués par un complexe AG/AC

Microscopie électronique :

Microscopie électronique à transmission

Résolution → 0.2 nm

L'échantillon est traversé par les électrons

Colorations :

- ✓ L'immunogold
- ✓ Coloration par ombrage (*indirecte*)
- ✓ Cryofracture (*mieux conservé + indirecte*)

Microscopie électronique à balayage

Résolution → 10 nm

Les électrons rebondissent sur l'échantillon

Microscopie à force atomique (à champs proches) :

- Récente et **très utilisée**
- Une pointe frôle la surface d'un échantillon
- Résolution comparable à celle de la MET et dépendante de la taille de la pointe
- Permet d'avoir :
 - ✓ Topographie
 - ✓ Force
 - ✓ Dureté
 - ✓ D'étudier les structures cellulaires
 - ✓ De mesurer la plasticité des membranes