

Microscopie :

Microscopie optique :

Ou photonique car elle utilise des photons

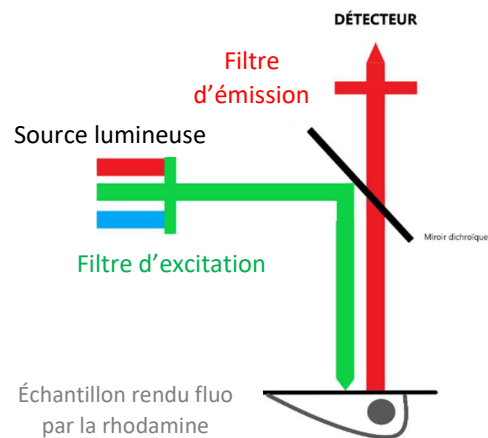
Limite de résolution → 200 nm

Utilise une source de photon (lumière blanche ou laser).

Fluorescence :

On utilise la fluorescence pour visualiser indirectement la molécule (on observera la fluorescence qu'elle émettra).

Chaque molécule fluo absorbera un photon d'excitation d'une longueur d'onde et émettra un photon d'excitation d'une autre.



On peut localiser des molécules, en visualiser plusieurs simultanément, faire du microcinéma...

On utilise beaucoup la GFP dont la fluorescence est intrinsèque.

On peut rendre une protéine fluo grâce à la **recombinaison génétique**.

On peut faire de la **fluorescence induite**, les colorants seront fluo uniquement après fixation sur la molécule ciblée.

On retrouve aussi la technique **d'immunofluorescence indirecte** qui utilise des Acs : un primaire qui reconnaît la molécule ciblée et un secondaire, fluo, qui reconnaît le primaire.

Enfin la méthode **FISH** permet de colorer l'ADN ou l'ARN (*dénaturation*, hybridation, révélation).

Microscopie électronique :

Utilise des électrons

Limite de résolution → 0.2 nm

Nécessite coloration aux métaux lourds

ME à transmission :

Un canon à e- envoie des e- à travers l'échantillon.

ME à balayage :

Limite de résolution → 10 nm

3D

Les e- vont balayer la surface des échantillons.

Manipulations cellulaires :

Obtention des cellules :

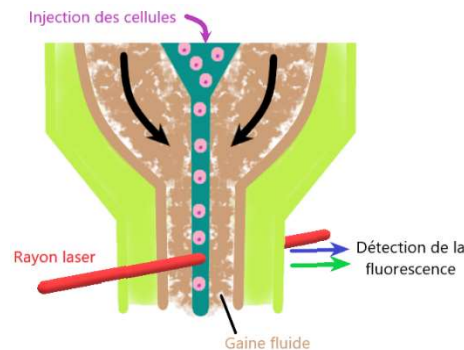
→ Dissociation du tissu (suspension des cellules)

sauf pour le sang circulant

→ Séparation des ≠ types cellulaires

On peut les séparer en fonction de leur **taille**, de leur **forme**, grâce à des **propriétés** (notamment d'adhésion) et par méthodes **moléculaires**.

Cytométrie de flux :



On analyse leur taille et leur forme grâce à leur réflexion de la lumière, et on détectera une éventuelle fluorescence.

→ **Taille + Forme + composition moléculaire**

Culture des cellules :

+ → **Homogénéité**

→ **Contrôle des conditions expérimentales**

→ **Obtention de clones**

- → **Les cellules sont étudiées hors du contexte**

→ **On peut sélectionner des mutants sans contrôler**

On a besoin d'AA essentiels, de vitamines, de sel, de glucose et de sérum.

Beaucoup de cellules poussent sur une surface solide (plastique de la boîte de pétris).

2 types existent :

PRIMAIRES	IMMORTELLES
A partir de tissus dissociés	Obtenus en situations patho ou sont rendus immortelles
Nb limité de division (50)	Pas de nb limite de division

Analyse du contenu cellulaire :

Lyse :

- Ultrason
- Choc osmotique
- Détergents
- Mécanique (frottements)

Séparer l'extrait cellulaire :

- Filtration
- Centrifugation
- Chromatographie et électrophorèse