

Chapitre II

Méthodes d'études de la cellule

faculté de médecine d'Alger
Cours première année médecine
module de cytologie

2022 -2023

Plan :

A - Les microscopes photoniques (M optiques):

- Microscope photonique à fond clair
- Microscope photonique à fluorescence

B - Les microscopes électroniques :

- ME à transmission / MET
- ME à balayage / MEB

C - Techniques de détection et de localisation des composés cellulaires :

- Technique d'immunofluorescence ou immunomarquage
- Technique d'autoradiographie

D - Les procédés d'isolement des composants cellulaires :

- L'ultracentrifugation différentielle ou UCD
- L'ultracentrifugation sur gradient de densité ou UGD

INTRODUCTION

- Les cellules ou les microorganismes : très petites tailles (micron) et très complexe
- Compréhension des cellules dépend des outils et des techniques d'études
- Ces méthodes :
 - Permettent l'observation de l'organisation morphologique des cellules.
 - Etudient la structure de cellules mortes ou vivantes.

Le microscope

- Grec micro=petit scope = voir
- Donne une image grossie d'un petit objet
- Sépare les détails de cette image : augmente le pouvoir de résolution
- Rend les détails visibles

- Microscope optique photonique (photons= lumière: pouvoir de résolution assez bien)
- Microscope électronique (électron = électricité : pouvoir de résolution très puissant)
- Ces instruments optiques sont utilisés pour la recherche médicale, biologique et médico-légale et sur les matériaux.

1 m	1 dm	1 cm	1 mm	100 μm	10 μm	1 μm	100 nm	10 nm	1 nm	1 Å	0.1 Å
1 m	10^{-1} m	10^{-2} m	10^{-3} m	10^{-4} m	10^{-5} m	10^{-6} m	10^{-7} m	10^{-8} m	10^{-9} m	10^{-10} m	10^{-11} m

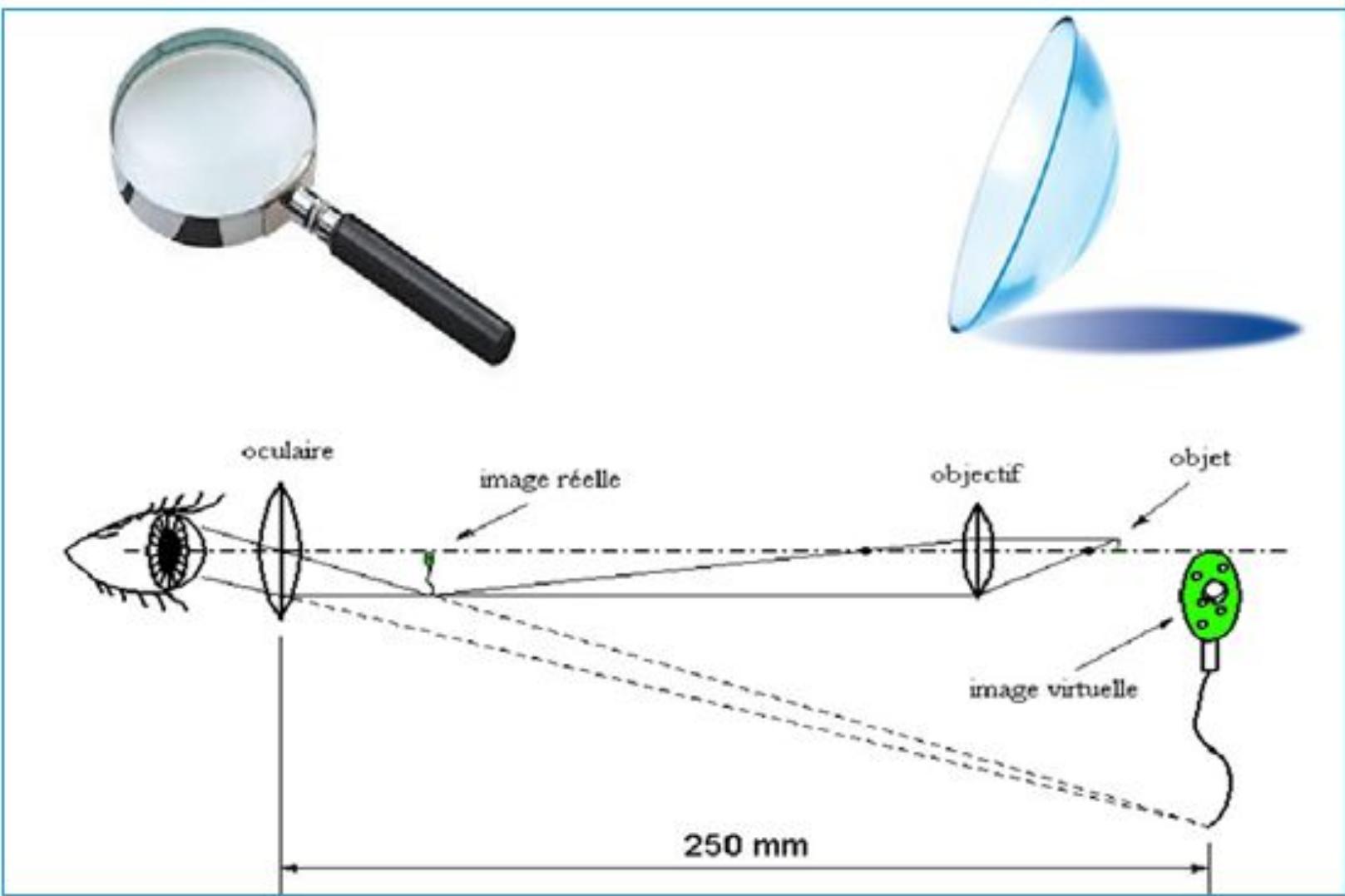


* Light microscope includes phase contrast and fluorescence microscopes. Electron microscope includes transmission electron microscope.

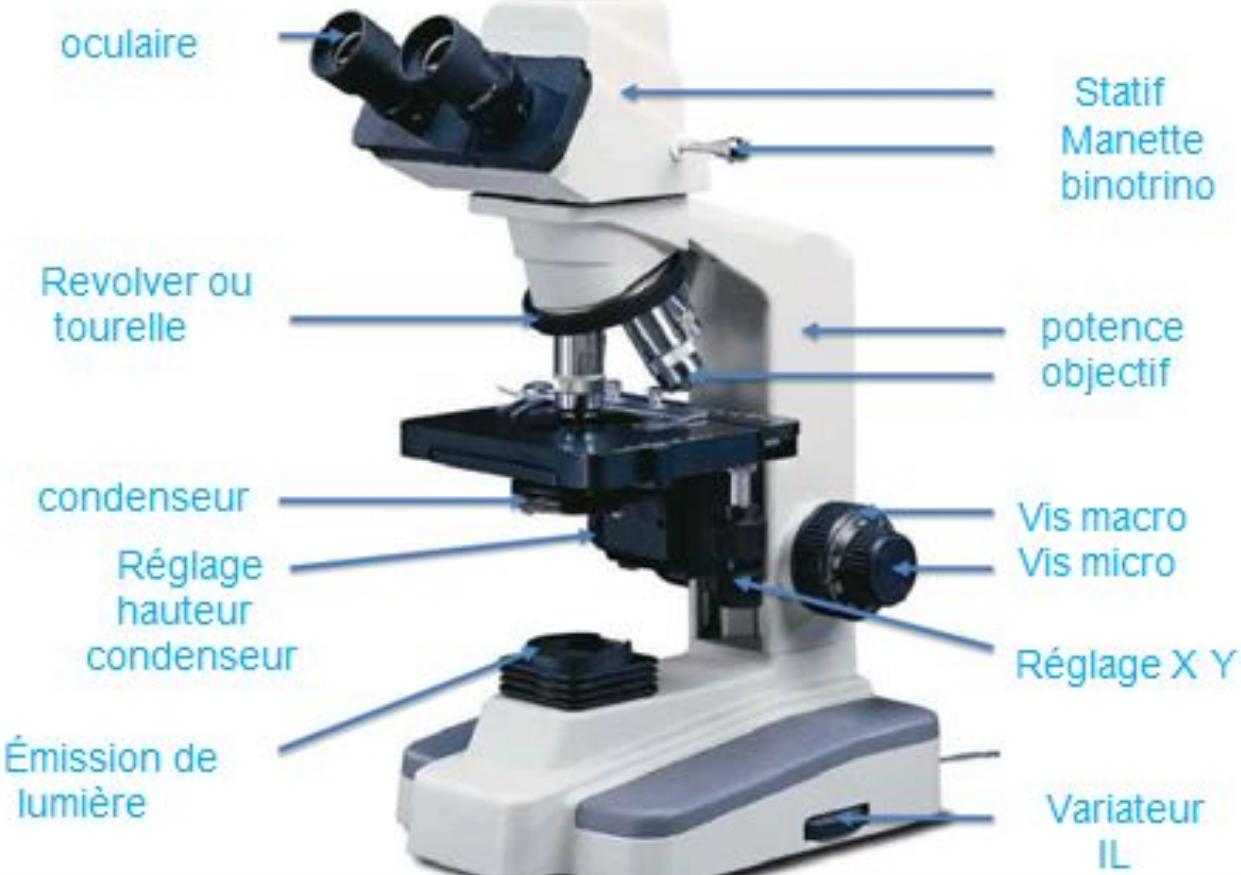
A - Les microscopes photoniques (M optiques):

1 - Microscope photonique à fond clair

2 - Microscope photonique à fluorescence



1 / le microscope photonique à fond clair



Série d'objectifs grossissants



Lentilles en verre

- Source lumineuse = lampe
- L'onde (photons) envoyée par l'échantillon est concentrée sur le condensateur
- L'onde est captée par l'objectif qui grossit l'image
- L'image est visualisée par un oculaire (objectif)
- Structure morte (organes disséqués) ou vivante

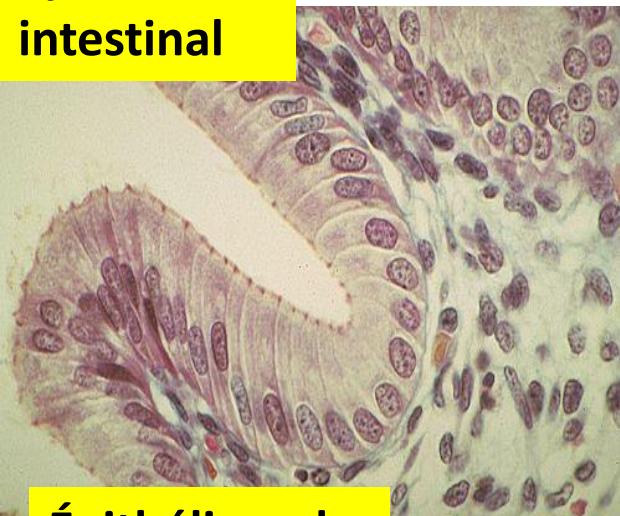


Les domaines d'application de la microscopie photonique

Description structurale des tissus et des cellules ;

- Taille , Forme cellulaire et tissulaire
- Forme et position des noyaux

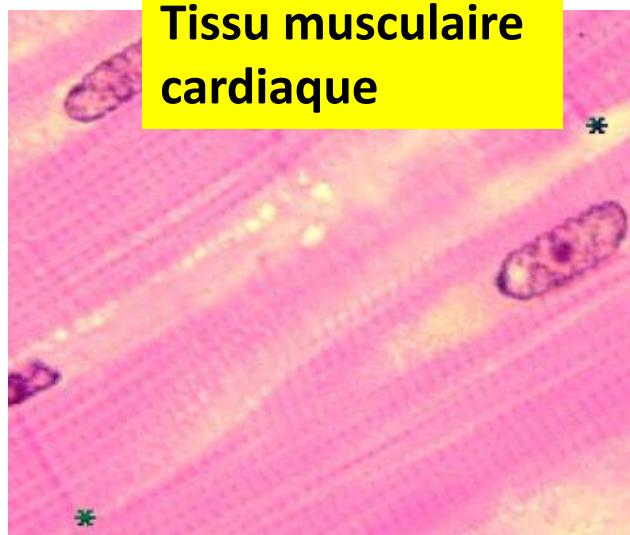
Epithélium intestinal



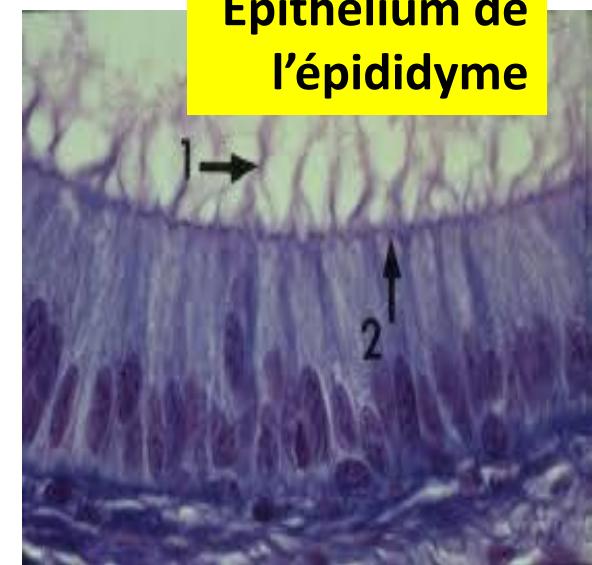
Épithélium de la trachée



Tissu musculaire cardiaque



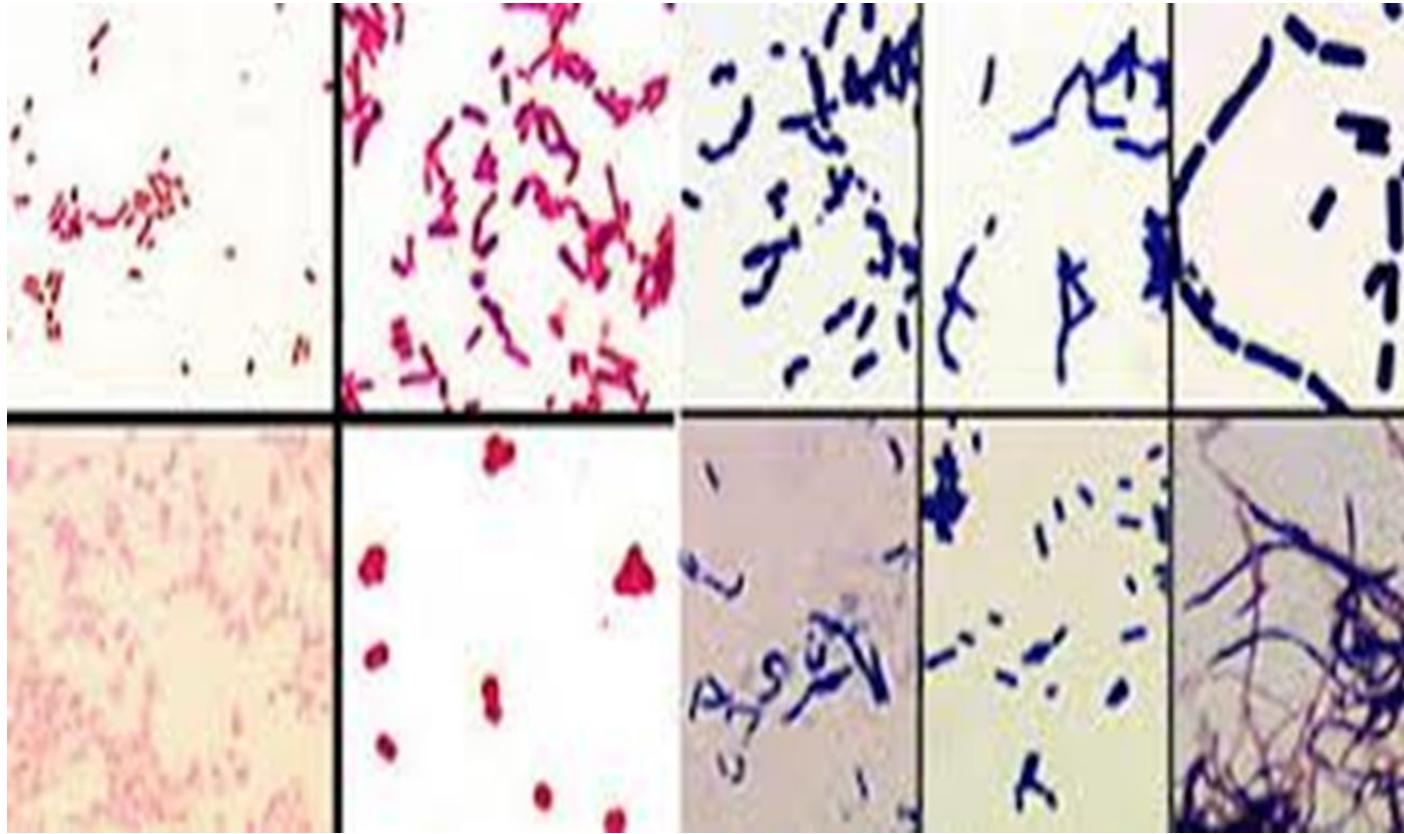
Epithélium de l'épididyme



cellule nerveuse



Le MOP produit une image foncée sur un fond brillant(clair)



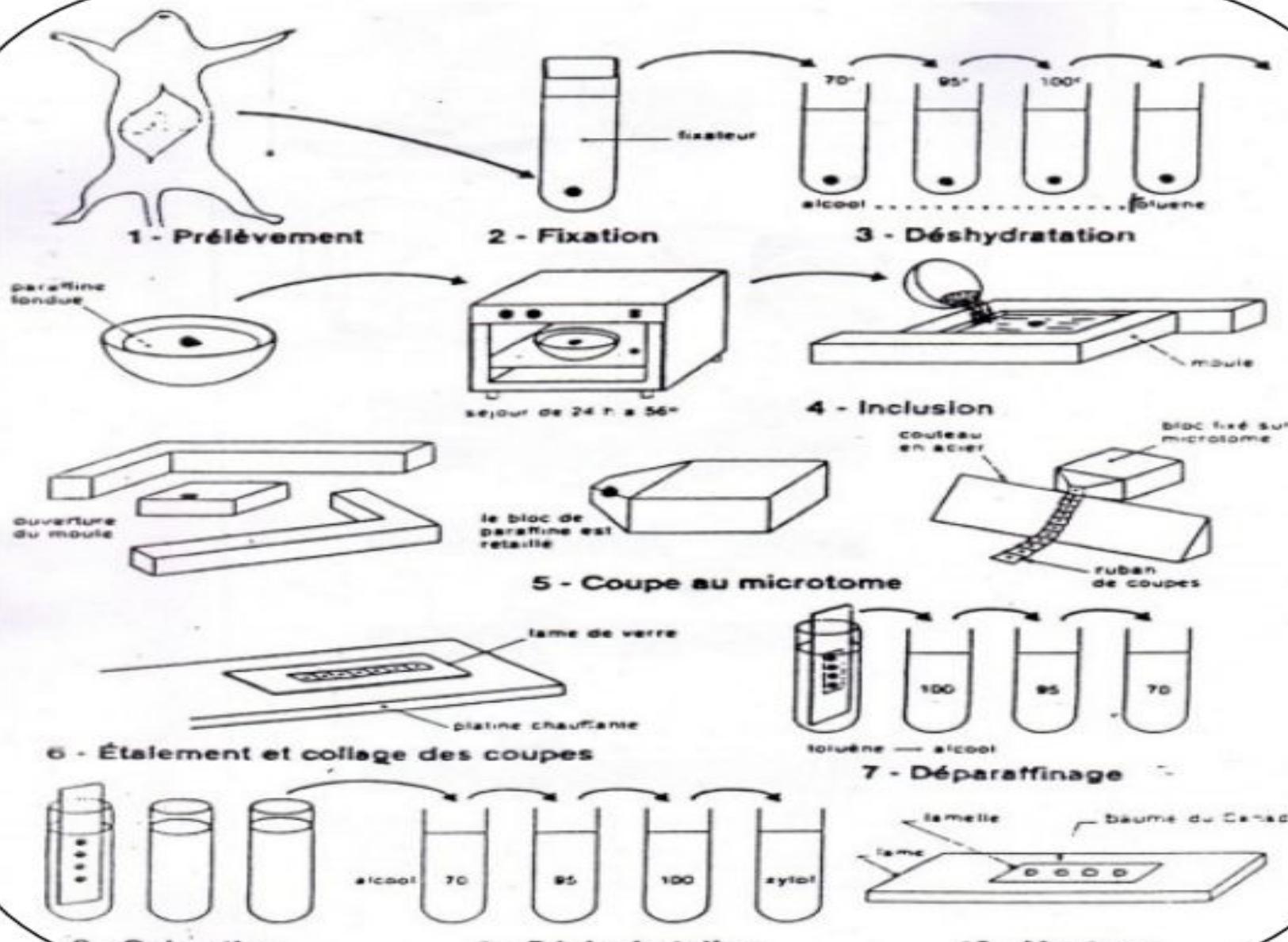
La **microscopie photonique** est utilisée aussi pour l'observation de différentes formes bactériennes après **coloration de Gram**

Les étapes préparatoires d'un échantillon en vue d'une observation au microscope à fond clair (la technique histologique). (Diapos 6)

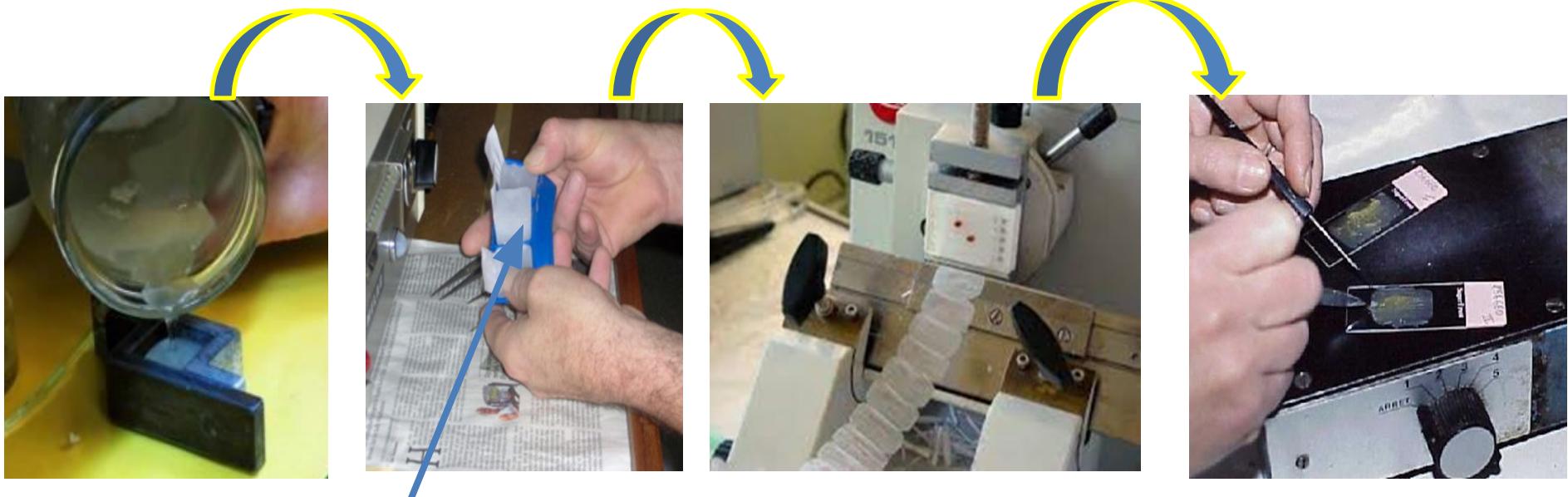
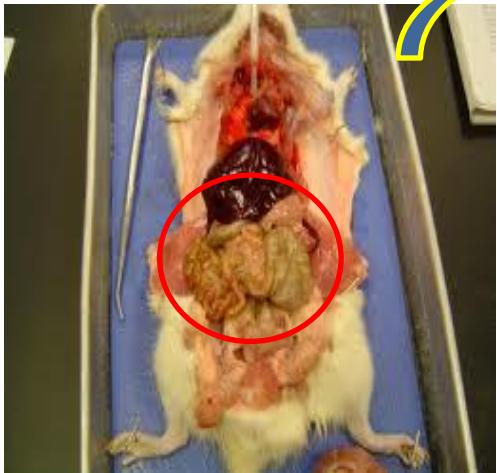
Les étapes de la technique histologique:

- 1 -Prélèvement de l'organe à étudié .
- 2 - Fixation au formol :**conserver** les structures cellulaires tel quelles étaient à l 'état du vivant .
- 3 - Déshydratation : enlever l'eau intracellulaire .
- 4 - Imprégnation : remplacer le solvant (l'eau) par la paraffine
- 5 - Inclusion: enrober l'échantillon dans la **paraffine** pour obtenir des blocs (**solidifier**)
- 6 - Microtomie : obtenir des **coupes** de **2 - 10 µm d'épaisseur**
 - Réhydratation de l'échantillon pour une bonne pénétration du colorant
- 7 - Coloration chimique : **augmenter** les **contrastes** des cellules et de leur constituants (**images colorées**)

Procédé de la technique histologique



Procédé de la technique histologique



Bloc de paraffine

Ruban de coupes de 2 – 10 μm

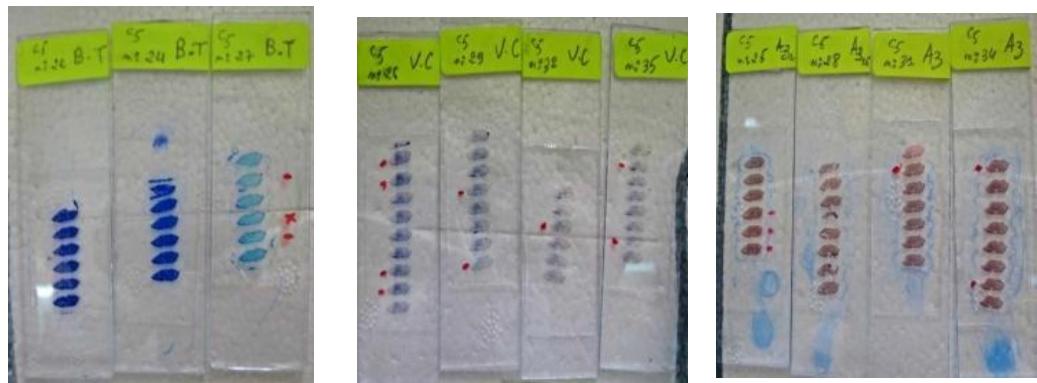
Coupes étalées sur lame de verre

- https://www.youtube.com/watch?v=glgx6_J6V0

Coloration chimique spécifique



Observation de la préparation au microscope photonique



2 / Le microscope photonique à fluorescence

Principe de fonctionnement

Le microscope photonique à fluorescence = type de microscope qui détecte une **lumière fluorescente**



La **fluorescence** est la **propriété physique** de certaines molécules d' émettre une lumière de longueur d'onde supérieure à la longueur d'onde de la lumière d'excitation

Définir un fluorochrome ou fluo marqueur

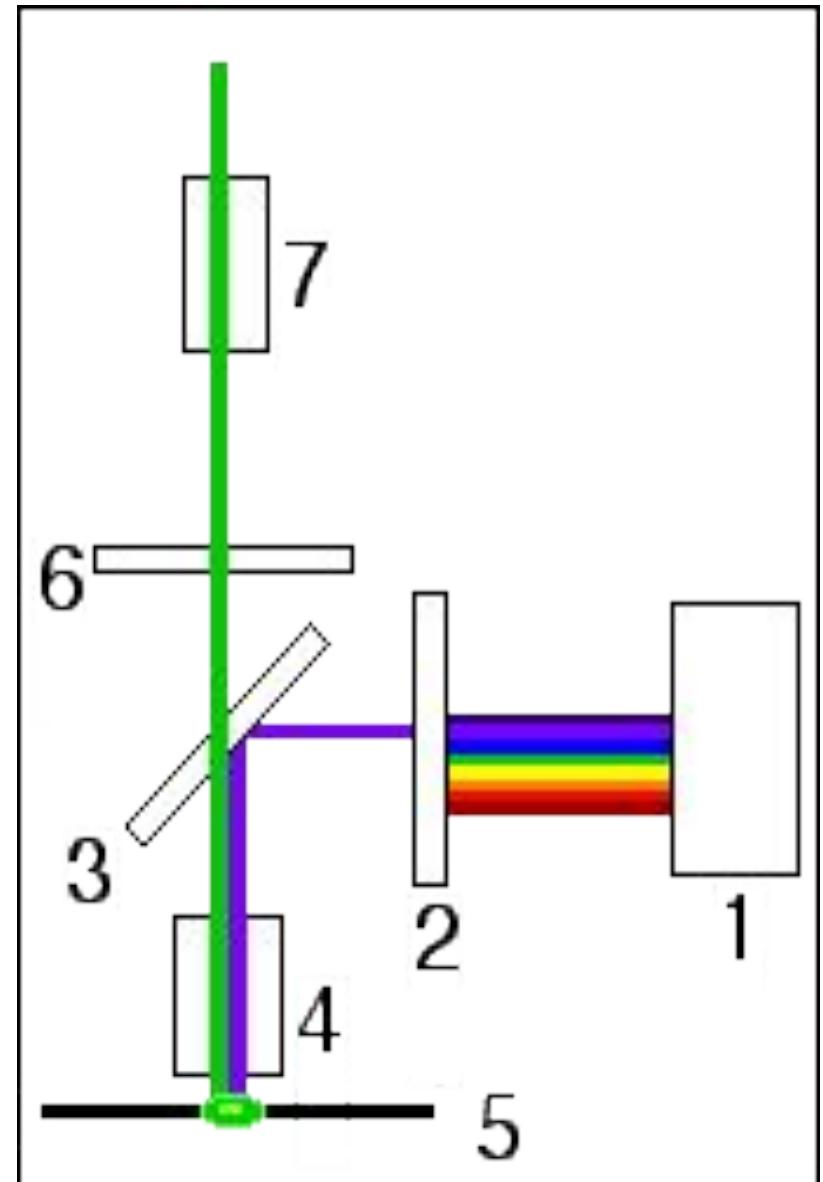
Définition d'un fluorochrome : substance chimique excitable par la lumière, capable d'absorber une énergie lumineuse haute (de faible longueur d'onde) dite lumière d'excitation et de la réémettre sous forme d'une lumière d'énergie basse (et de longueur d'onde forte) dite lumière de fluorescence détectée par l'oculaire.

Ces molécules photo excitables sont :

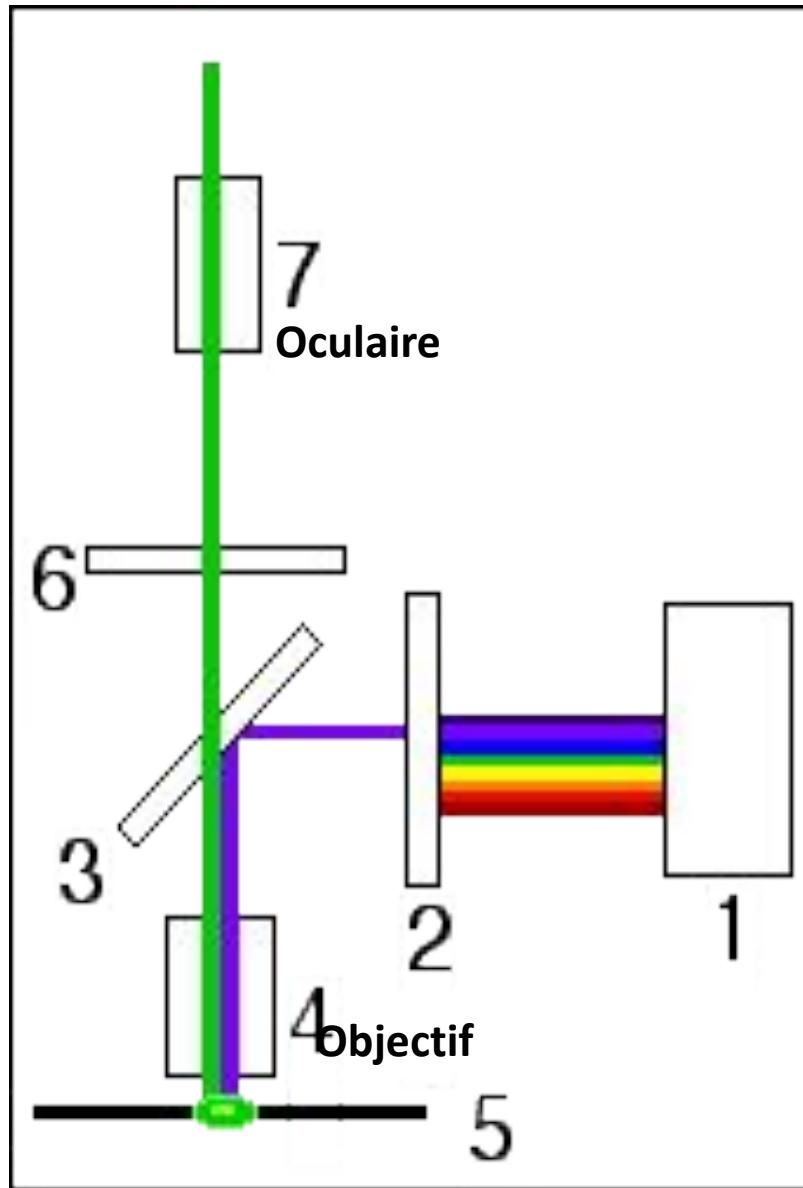
- Endogènes ou naturelles
(Chlorophylle , pigments cellulaires)
- Exogènes ou artificielles
(Fluorescéine , Rhodamine ...)

Le microscope photonique à fluorescence

- microscope optique qui porte deux filtres interposés entre l'échantillon coloré par des molécules fluorescentes, appelées fluorochromes :
- Le premier filtre ne laisse passer que la lumière qui excite le fluorochrome.
- Le deuxième filtre ne laisse passer que la lumière émise par le fluorochrome.



Optique simplifiée du microscope à fluorescence



- 1 - Une source lumineuse**
- 2 - 1 Filtre d'excitation =ne laisse passer que la longueur d'onde d'excitation**
- 3 - Un miroir dichroïque =réfléchi la longueur d'onde d'excitation mais laisse passer la longueur d'onde d'émission**
- 6 - 1 filtre d'émission = sélectionne la longueur d'onde émise par le fluorochrome**

- <https://www.youtube.com/watch?v=-HwG98CUpUc&t=21s>

Déterminer les **domaines d'application** de la microscopie à fluorescence

- Le microscope à fluorescence permet de visualiser des objets qui sont naturellement fluorescents (**chlorophylle , vitamine A ..**) ou des **molécules rendues fluorescentes** pour mieux les observer et éventuellement suivre leur parcours .
- Etudier au niveau cellulaire et moléculaire les structures biologiques, leur fonctionnement et leurs interactions (division cellulaire, motilité, transport, sécrétion , communication neuronale, etc.).
- Elle s'applique maintenant en routine dans le domaine du diagnostic médical, de la recherche biomédicale et pharmaceutique, en microchirurgie

B - Les microscopes électroniques



Le microscope électronique à transmission ou MET

- Utilisé pour voir **l'intérieur d'échantillons très fins**
- Observation **sous vide**



Le microscope électronique à balayage ou MEB

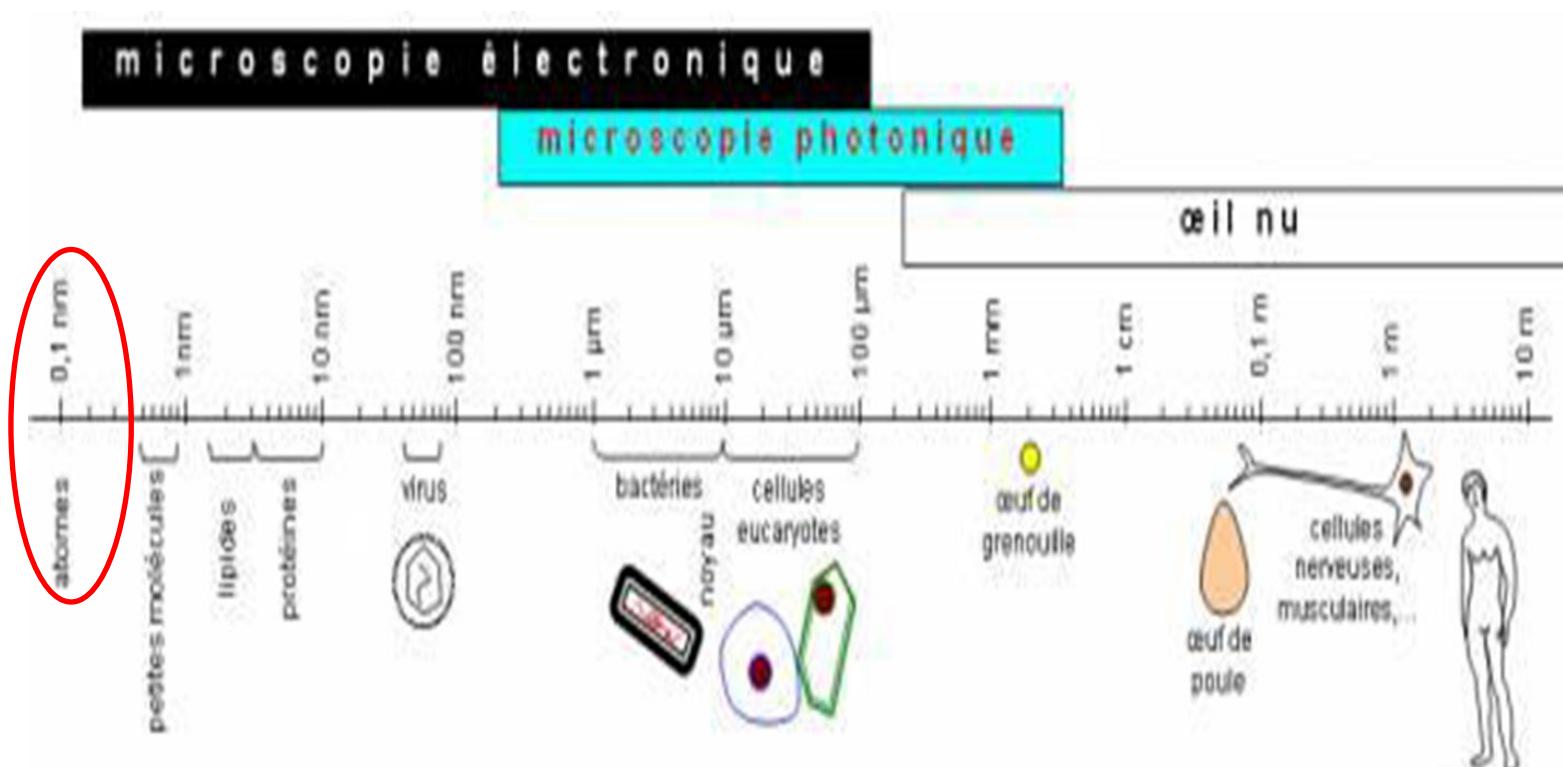


- Utilisé pour voir **l'extérieur(surfaces) des échantillons**
- Observation **sous vide**

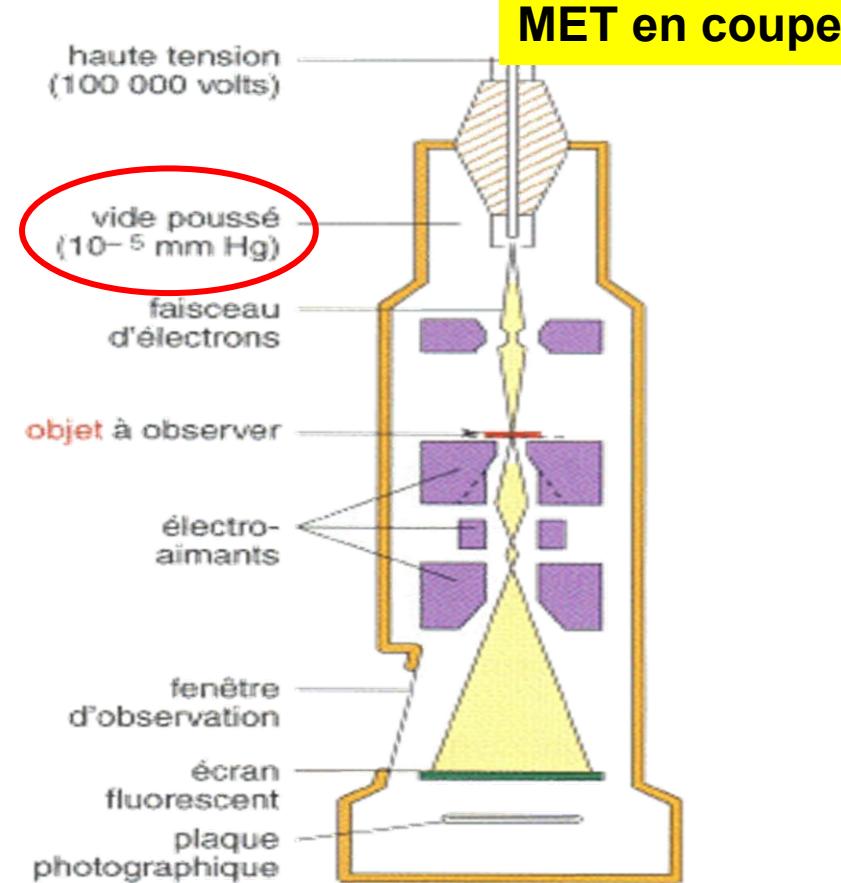
1- Le microscope électronique à transmission

Echelle d'observation du vivant

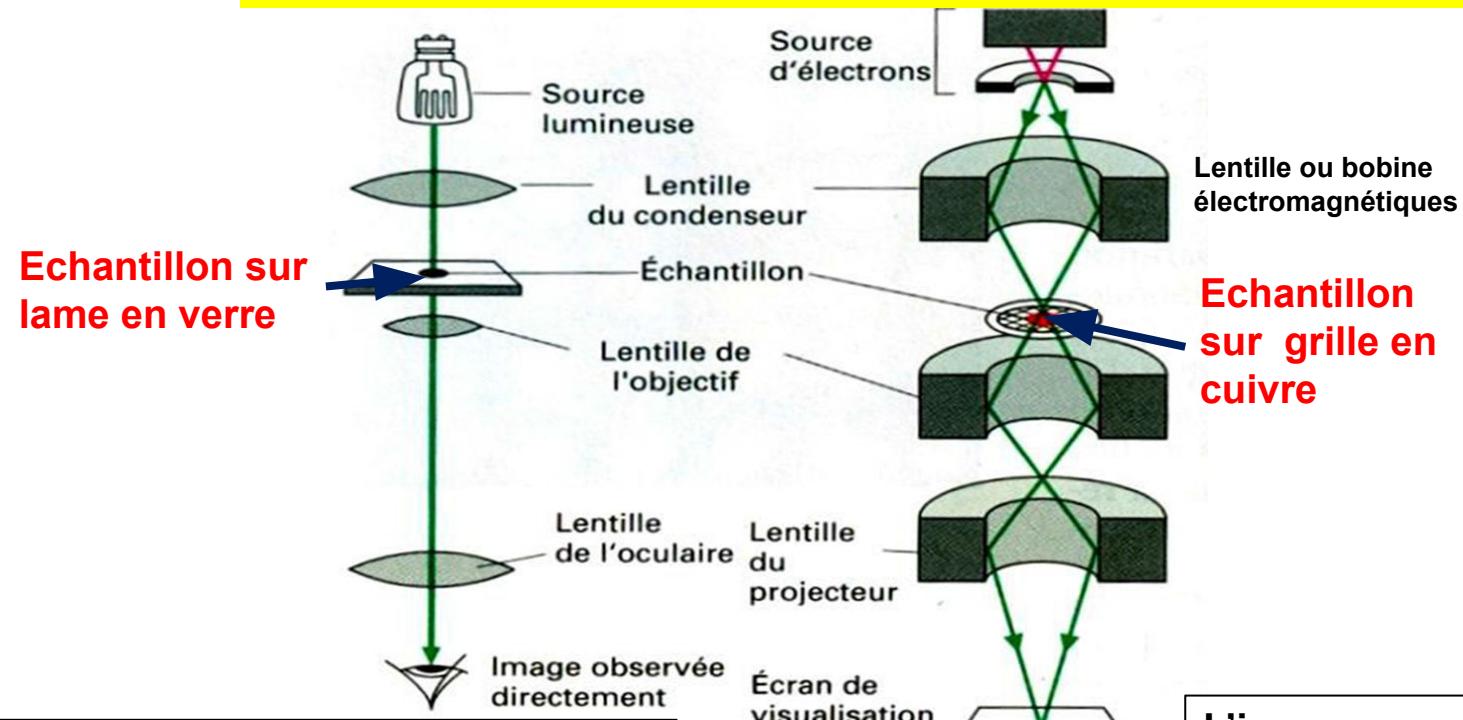
utilise un rayonnement électronique possède un pouvoir séparateur 40 000 fois supérieur à celui du microscope optique et deux millions de fois plus que l'œil humain, et qui est théoriquement de 2nm.



Principe de fonctionnement du microscope électronique à transmission (MET).



Principe de transmission dans le MO et dans le MET

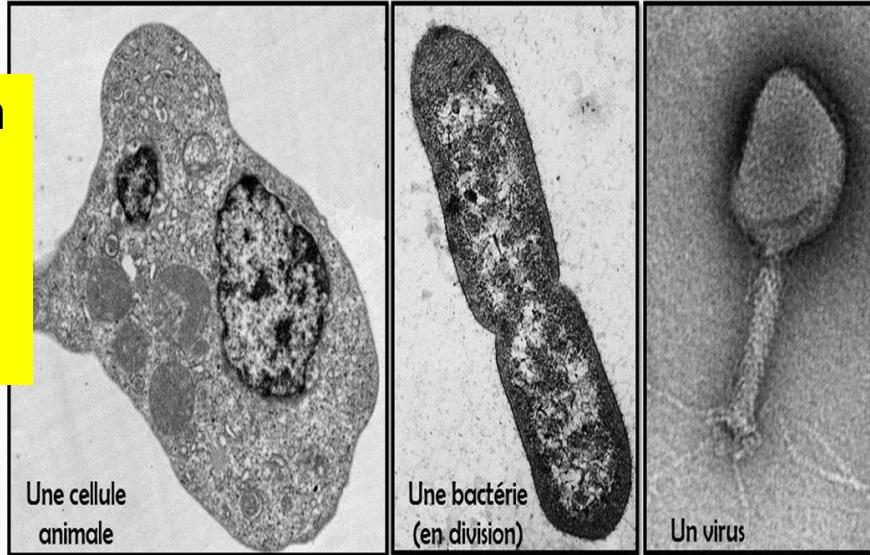


L'image reçue par l'oculaire ensuite par l'œil est donnée par le **faisceau de photons** qui a traversé (transmis) la préparation

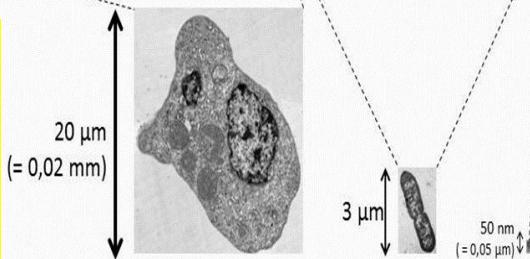
L'image reçue sur écran ou film photographique est donnée par le **faisceau d'électrons** qui à traversé (transmis) la préparation

Les domaines d'utilisation du MET .

**Observation
au MET à
fort
grossissemen
t**
**Grossissement
X 100 000**



**Observation
à faible
grossissemen
t**



Grace à son pouvoir de résolution 2 000 000 fois supérieur à celui de l'oeil humain ; PR = 0,2 nm (2 Å) .

Le MET a permis d'étudier :

- **L' ultrastructure de la cellule révélant , avec précision l'existence d'organites cellulaires : noyau , mitochondries lysosomes, vacuoles , vésicules , Appareil de golgi , RE , ribosomes cytosquelette , centrioles après coloration positive**
- **L'aspect morphologique de macromolécules (ATPosomes), de microorganismes (bactéries ..) de virus isolés après coloration négative**
- **Les surfaces de structures cellulaires isolées ou de macromolécules , de virus ou de bactéries par ombrage métallique**

Les procédés de contraste électronique



**Le
contraste
(coloration
) positif**

**Le
contraste
(
coloration)
négatif**

**L'ombrag
e
métalliqu
e**

■ La technique des coupes minces + contraste positif ou Technique cytologique

But : Réaliser une étude ultrastructurale (analyse morphologique)

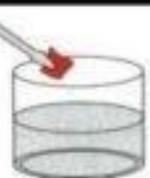
Décrire **finement** les structures intracellulaires

Principe : réaliser des coupes ultrafines permissives aux sels de métaux lourds et aux faisceaux d'électrons

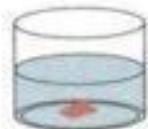
Les étapes de la technique de coupes minces :

Le **principe** et le **procédé** sont les mêmes que pour la technique histologique , la différence est dans les produits et les outils utilisés :

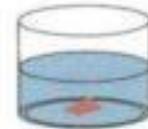
- Fixation double aux aldéhydes (formaldéhyde – glutaraldéhyde) + tétr oxyde d’osmium
- Déshydratation à l’alcool + solvant de la résine
- imprégnation / Inclusion à la résine
- Coupes ultrafines de 300 – 600 Å sur Ultramicrotome
- Coupes étalées sur grille métallique(en cuivre)
- Contraste aux sels de métaux lourds , tel l’acétate d’uranyl et le citrate de plomb
- Observation en noir et blanc



Le tissu est prélevé et placé dans une solution fixatrice.



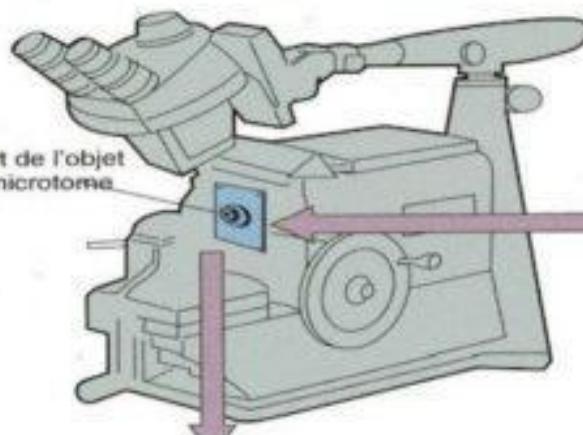
Après rinçage, le tissu est déshydraté en passant par des concentrations croissantes en acétone ou alcool.



Le tissu est maintenant placé dans une solution diluée d'un milieu d'inclusion plastique.



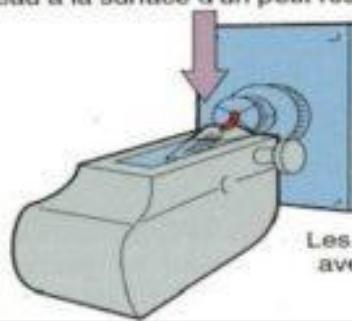
gélule avec l'objet



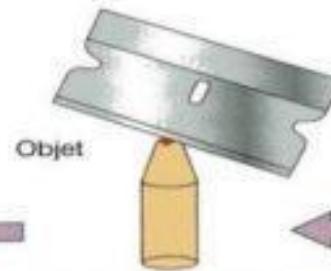
Support de l'objet pour micrотome

Les coupes sont obtenues grâce à un ultramicrotome avec un couteau en verre ou en diamant.

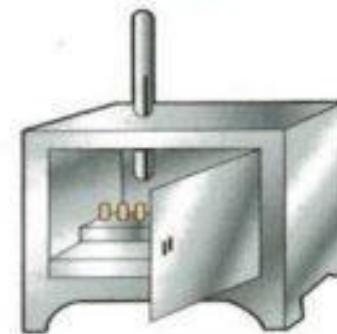
Les coupes flottent à partir de l'arête du couteau à la surface d'un petit réservoir d'eau.



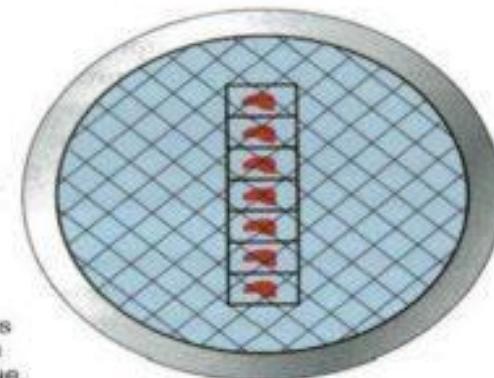
Les coupes sont prélevées avec une grille en cuivre.



Objet
Quand le plastique est dur, le bloc est taillé et prêt pour être coupé.

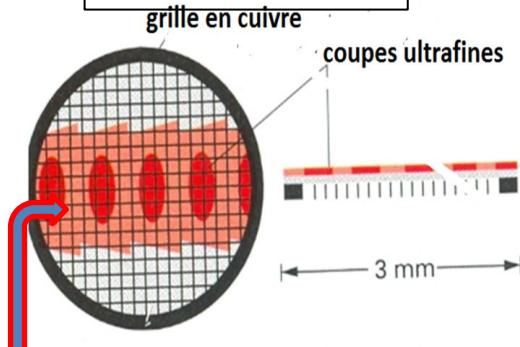


Le tissu est placé dans le milieu d'inclusion final et le plastique est polymérisé dans une étuve.

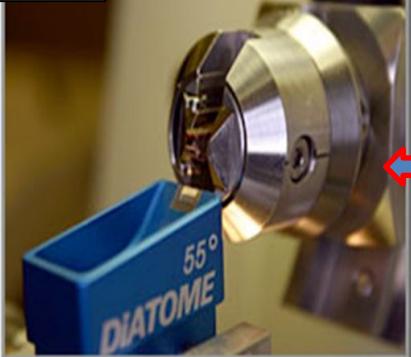
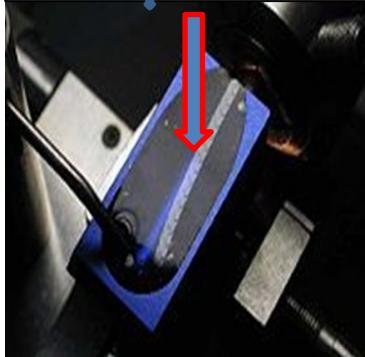


Après séchage, les coupes sont prêtes pour l'observation au microscope électronique.

Récupération
des coupes
sur grille



Coupes ultrafines
de 300 à 600 Å



Imprégnation
dans de la
résine

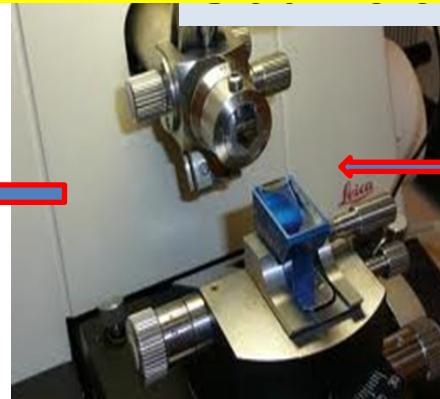
Blocs
de
résine



Puis contraste aux sels de
métaux lourds **Contraste
positif**

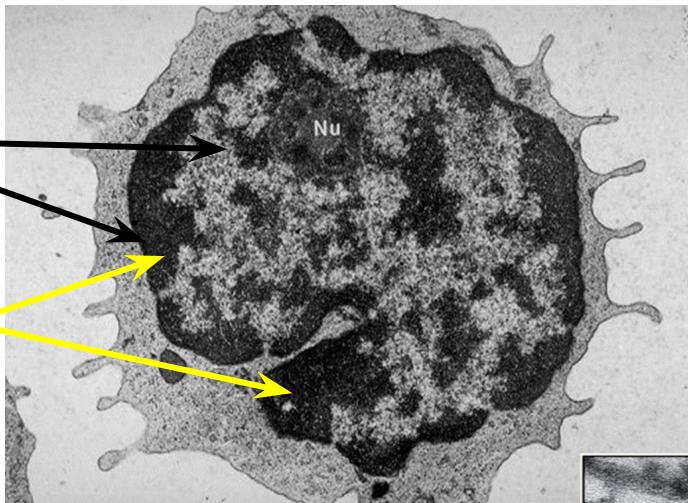
Observation au MET
(contraste d'intensité entre
noir et blanc)

tomie



Intérêt

Ultrastructure d'un monocyte sanguin

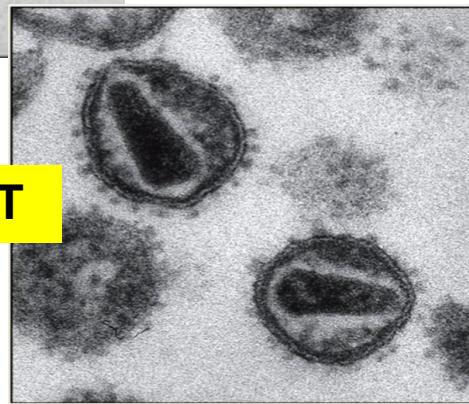


Ultrastructure de

X 20 000 membrane plasmique du globule rouge



Bactérie en scissiparité



VIH au MET



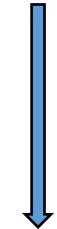
- <https://www.youtube.com/watch?v=7-Mr19fKlu4>

B - Les microscopes électroniques



Le microscope électronique à transmission ou MET

- Utilisé pour voir **l'intérieur** d' échantillons **très fins**
- Observation **sous vide**



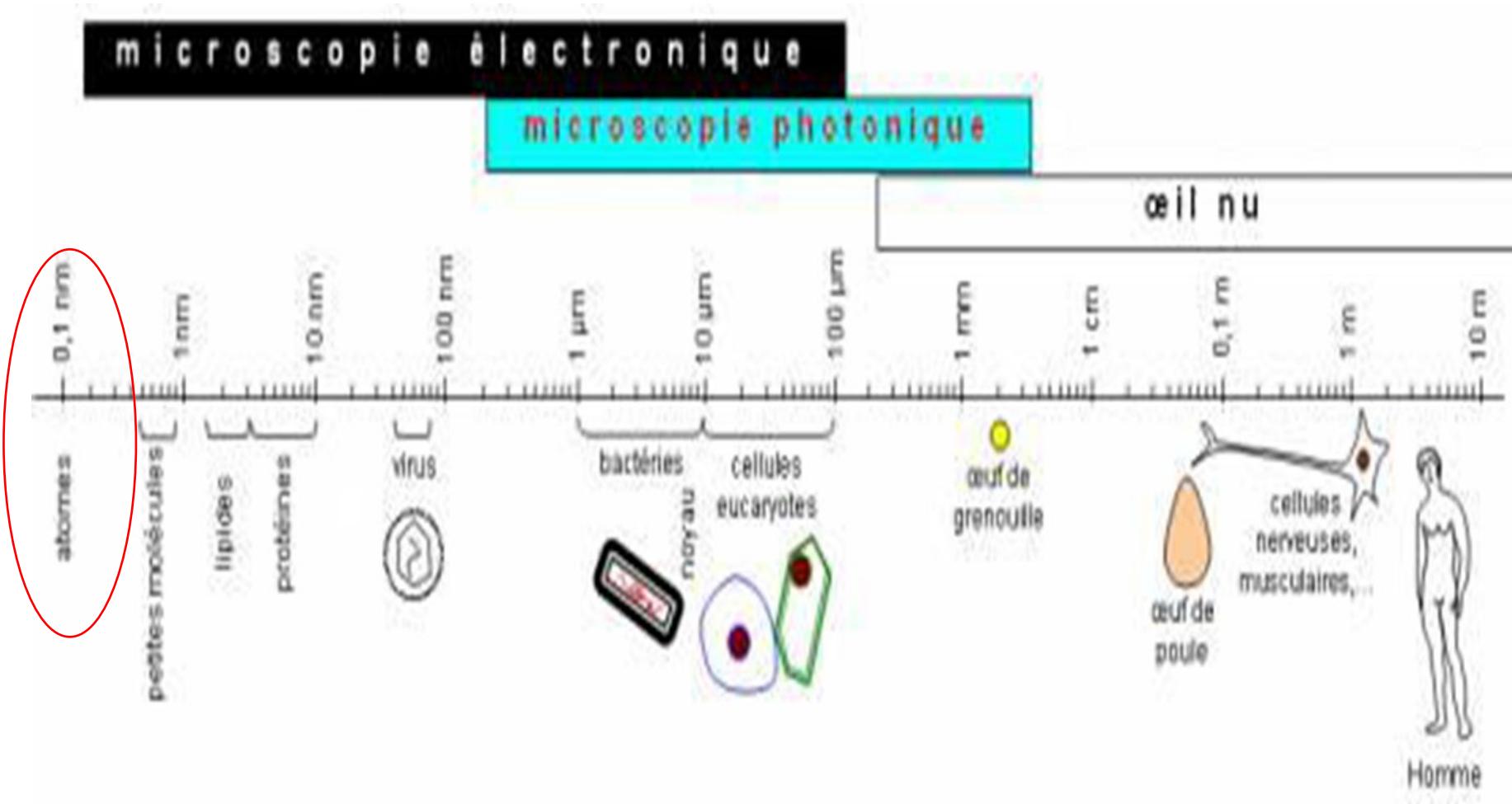
Le microscope électronique à balayage ou MEB

- Utilisé pour voir **l'extérieur(surfaces)** des échantillons
- Observation **sous vide**



1- Le microscope électronique à transmission

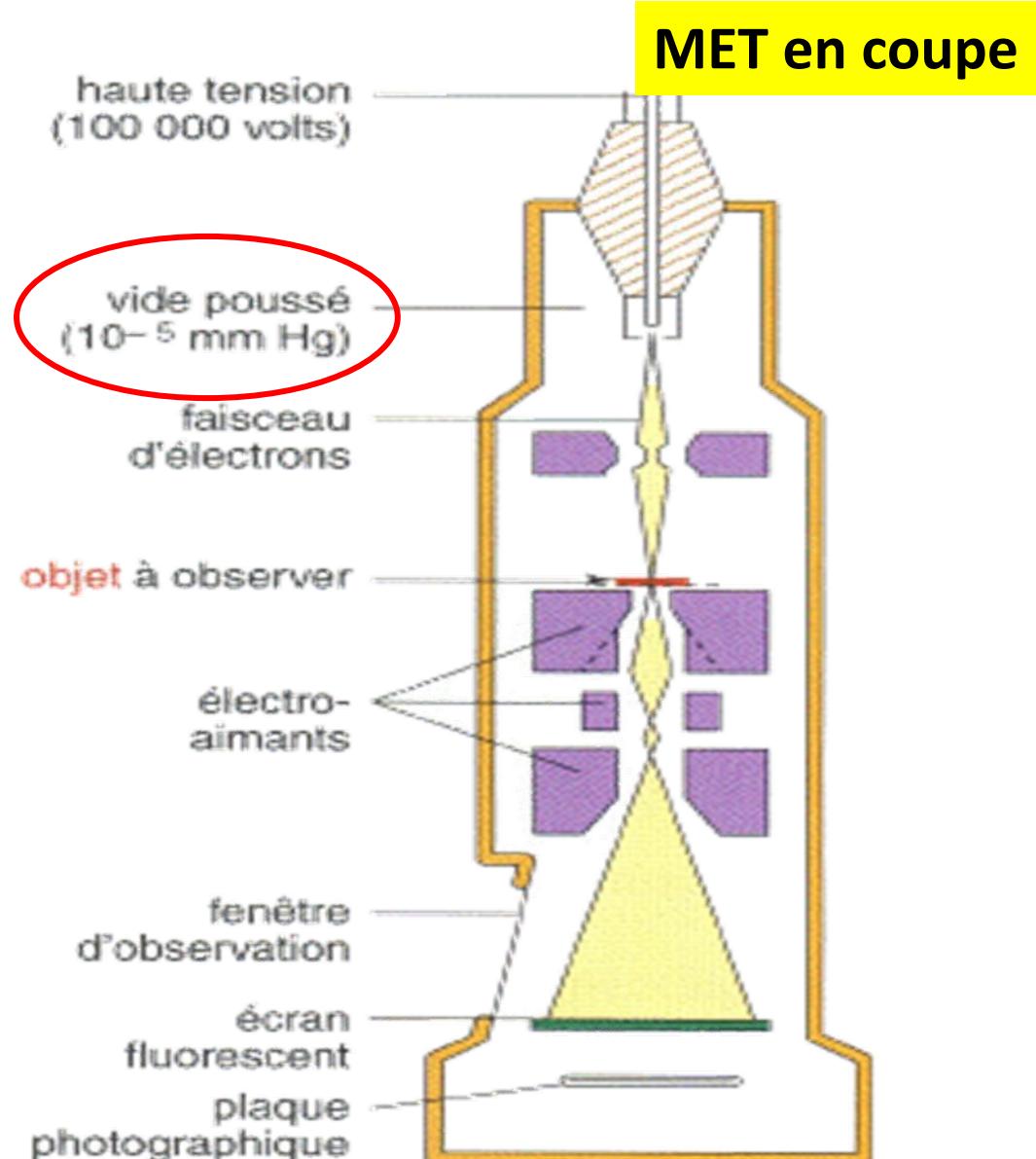
Echelle d'observation du vivant



Principe de fonctionnement du microscope électronique à transmission (MET).

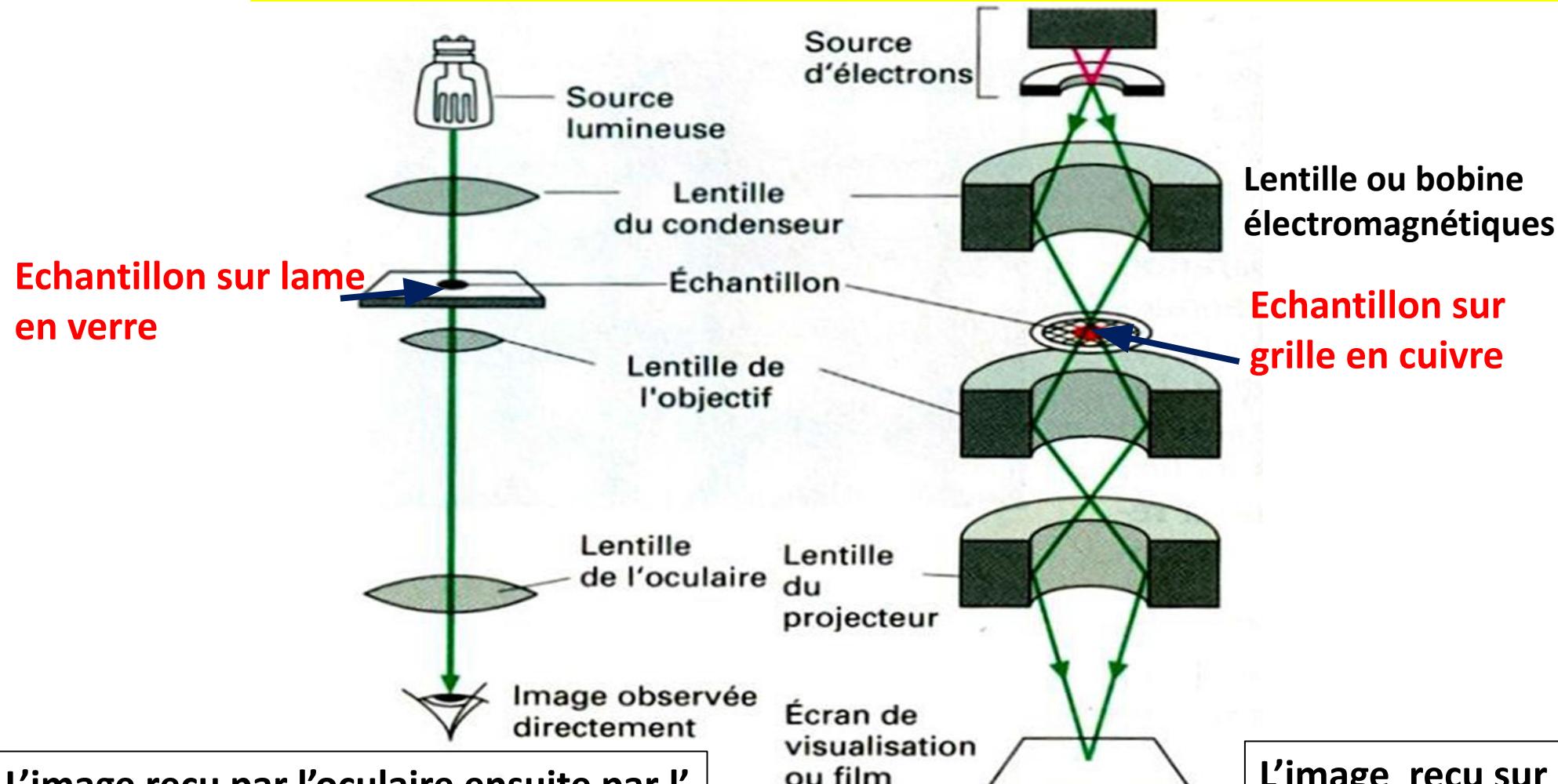


Niveau du filament émetteur d'électrons
Cable d'alimentation électrique à haute tension
Niveau de l'objet
Mandrin du porte objet
Niveau de l'écran d'observation
Niveau du boîtier photo
Tableau de commande



MET en coupe

Principe de transmission dans le MO et dans le MET



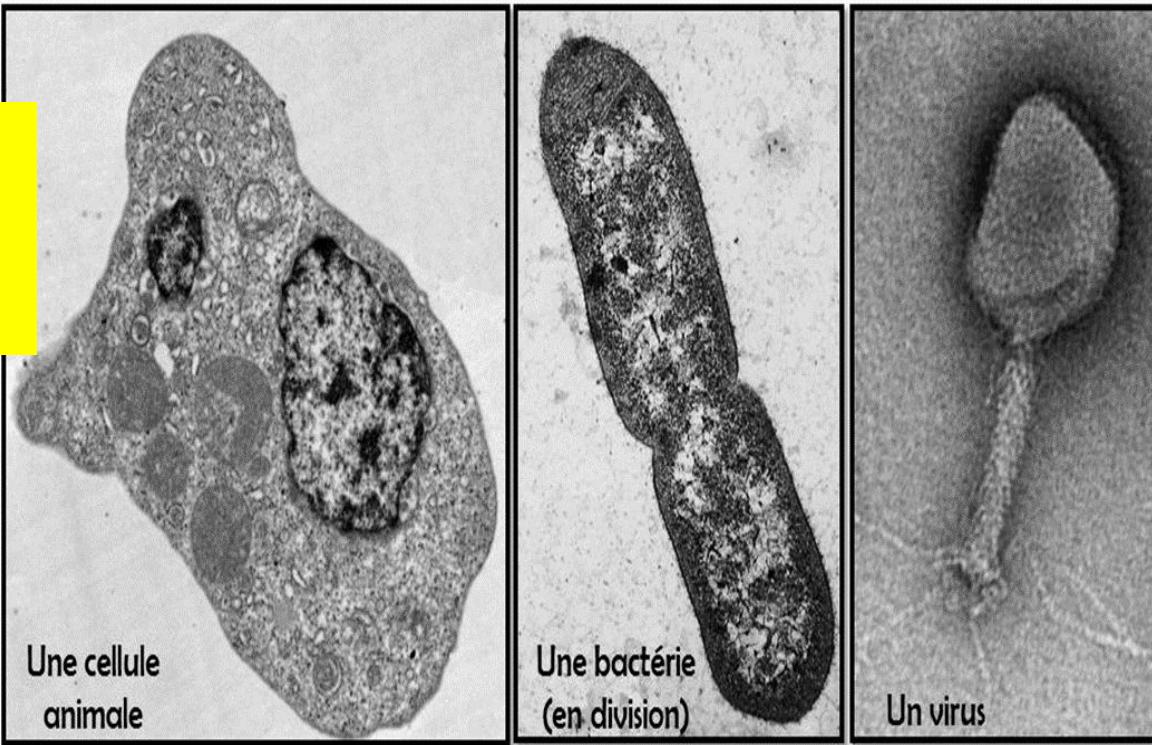
L'image reçue par l'oculaire ensuite par l'œil est donnée par le **faisceau de photons** qui a **traversé (transmis)** la préparation

L'image reçue sur écran ou film photographique est donnée par le **faisceau d'électrons** qui à **traversé (transmis)** la préparation

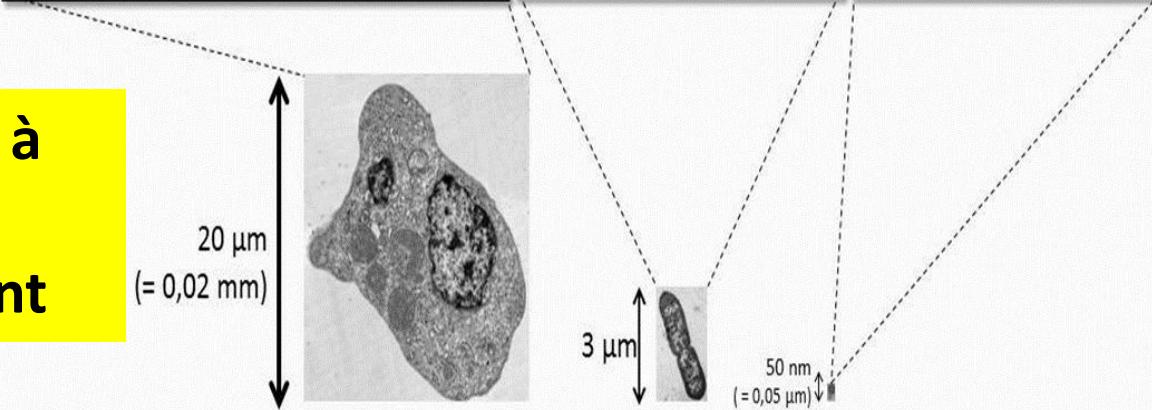
Les domaines d'utilisation du MET .

**Observation
au MET à fort
grossissement**

**Grossissement
X 100 000**



**Observation à
faible
grossissement**



Grace à son **pouvoir de résolution** 2 000 000 fois supérieur à celui de l'oeil humain ; **P R = 0,2 nm (2 Å)** .

Le MET a permis d'étudier :

- **L' ultrastructure de la cellule** révélant , avec précision l'existence d'organites cellulaires : noyau , mitochondries lysosomes, vacuoles , vésicules , Appareil de golgi , RE , ribosomes cytosquelette , centrioles après **coloration positive**
- **L'aspect morphologique** de macromolécules (ATPosomes), de microorganismes (bactéries ..) de virus **isolés** après **coloration négative**
- **Les surfaces** de structures cellulaires **isolées** ou de macromolécules , de virus ou de bactéries par **ombrage métallique**

Les procédés de contraste électronique



**Le contraste
(coloration)
positif**



**Le contraste
(coloration)
négatif**



**L'ombrage
métallique**

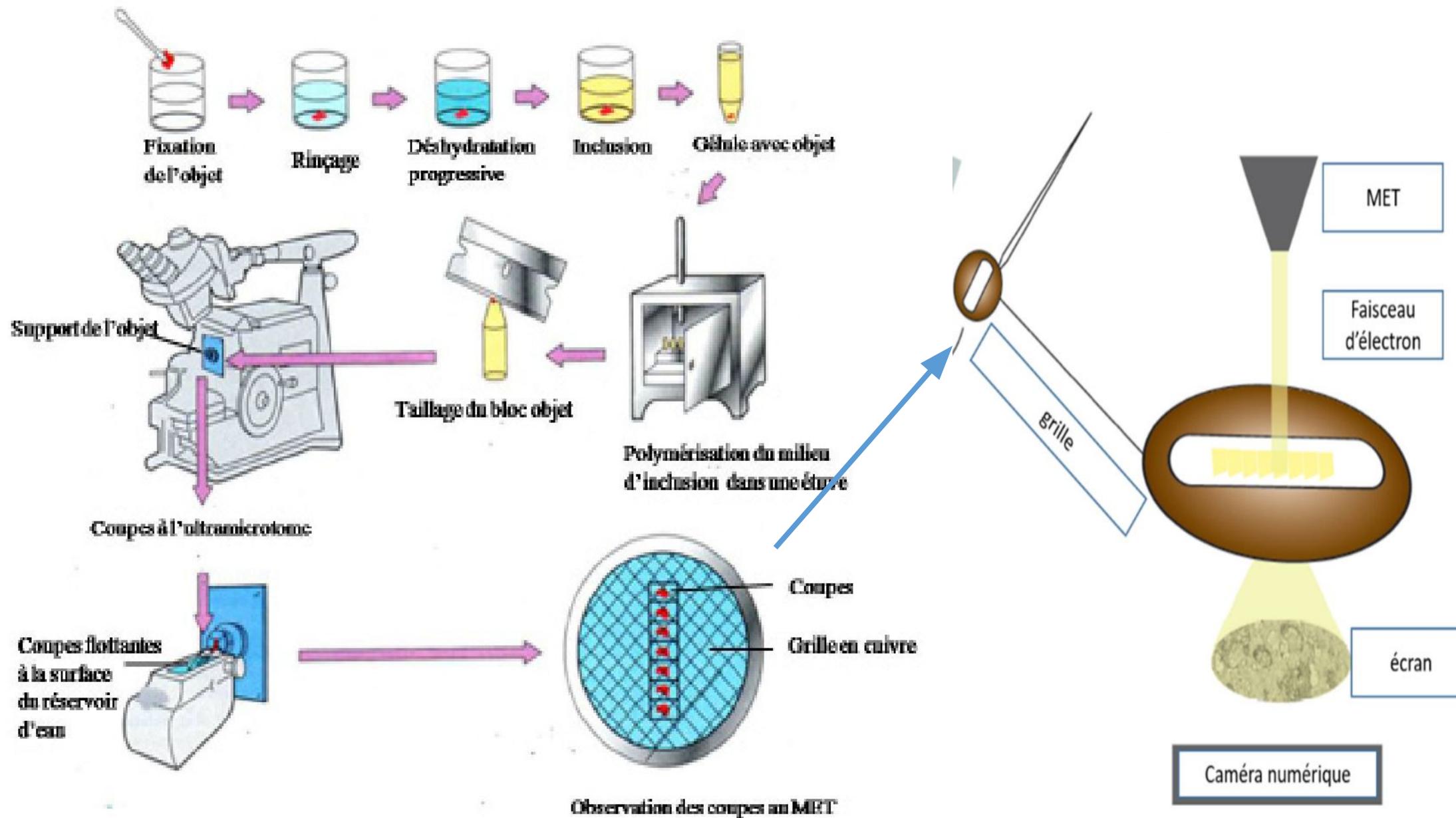
■ La technique des coupes minces + **contraste positif** ou Technique cytologique

But : Réaliser une **étude ultrastructurale (analyse morphologique)**

Décrire **finement** les structures intracellulaires

Principe : réaliser des coupes ultrafines permissives aux sels de métaux lourds et aux faisceaux d'électrons

Procédé de la technique cytologique

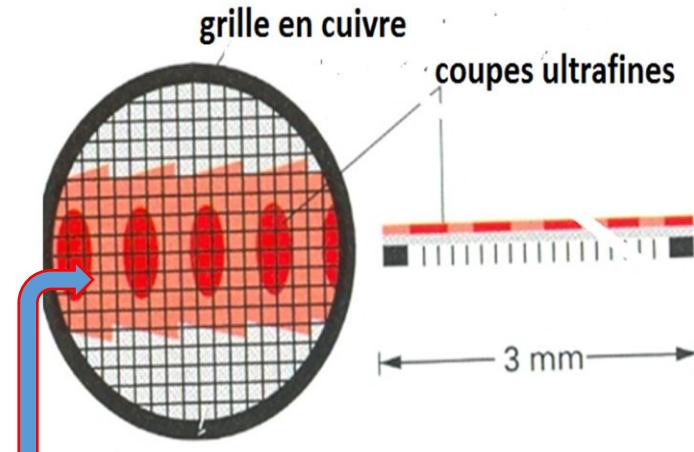


- **Les étapes de la technique de coupes minces :**

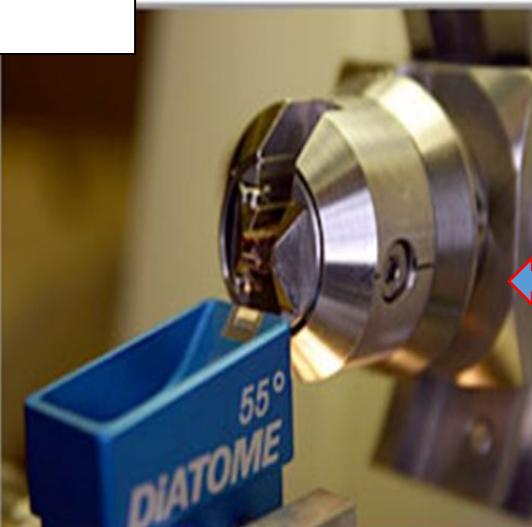
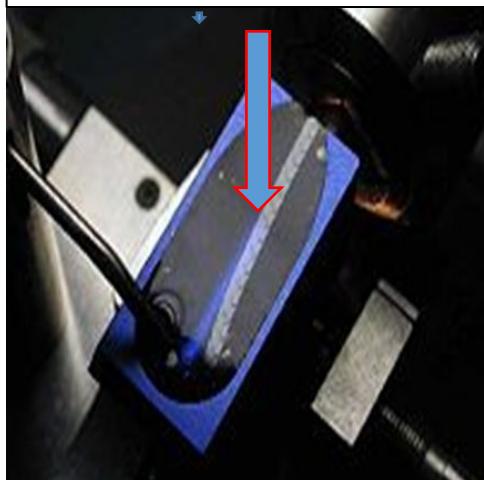
Le **principe** et le **procédé** sont les mêmes que pour la technique histologique , la différence est dans les produits et les outils utilisés :

- Fixation double aux aldéhydes (formaldéhyde – glutaraldéhyde) + tétr oxyde d’osmium
- Déshydratation à l’alcool + solvant de la résine
- imprégnation / Inclusion à la résine
- Coupes ultrafines de 300 – 600 Å sur Ultramicrotome
- Coupes étalées sur grille métallique(en cuivre)
- Contraste aux sels de métaux lourds , tel l’acétate d’uranyl et le citrate de plomb ...
- Observation en noir et blanc

Récupération des coupes sur grille

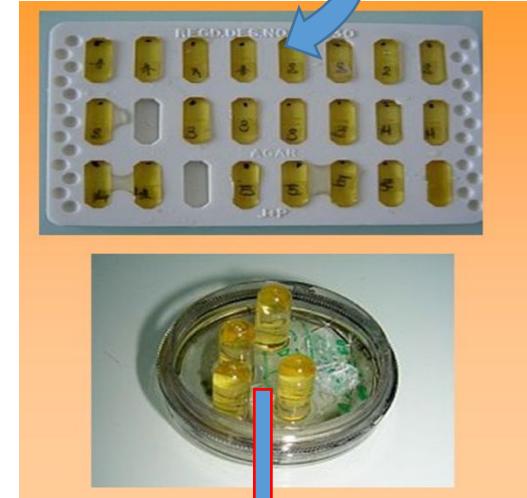


Coupes ultrafines de 300 à 600 Å



Imprégnation dans de la résine

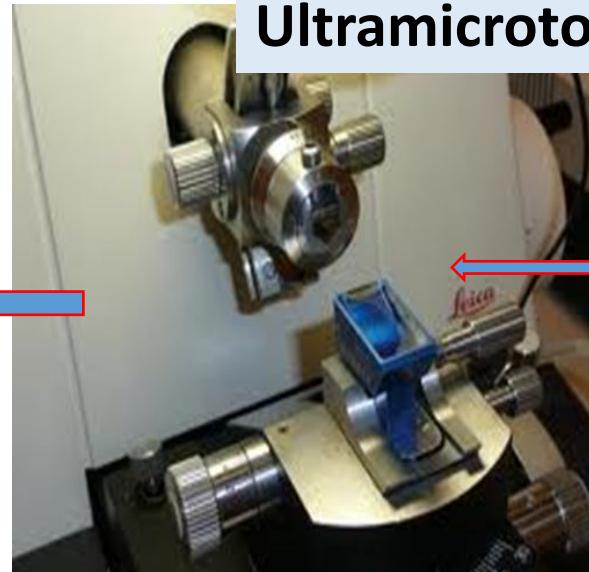
Blocs de résine



Puis contraste aux sels de métaux lourds **Contraste positif**

Observation au MET (contraste d'intensité entre noir et blanc)

Ultramicrotomie



Intérêt

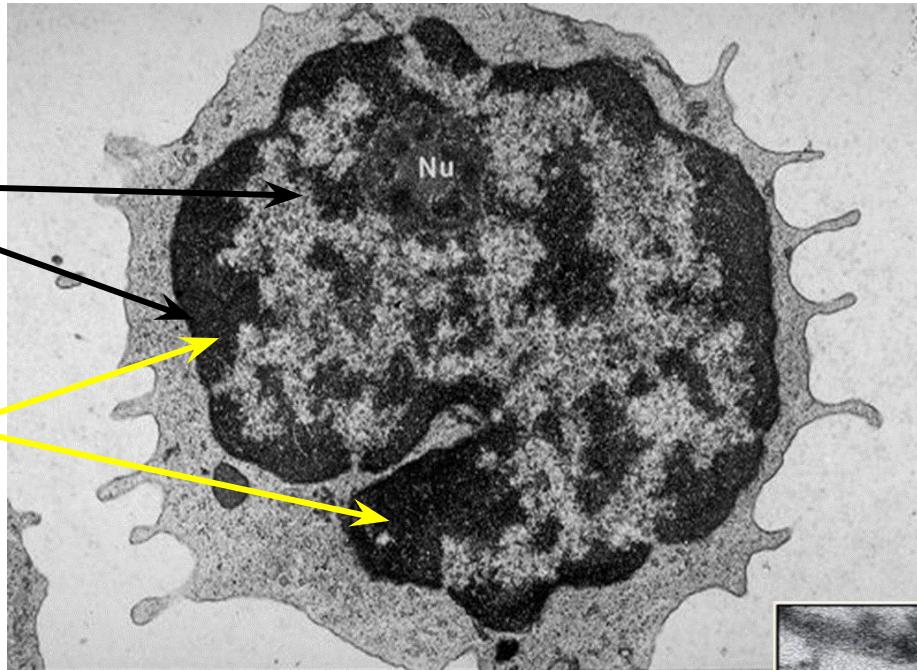
Ultrastructure d'un monocyte sanguin X 20 000

Zones claires

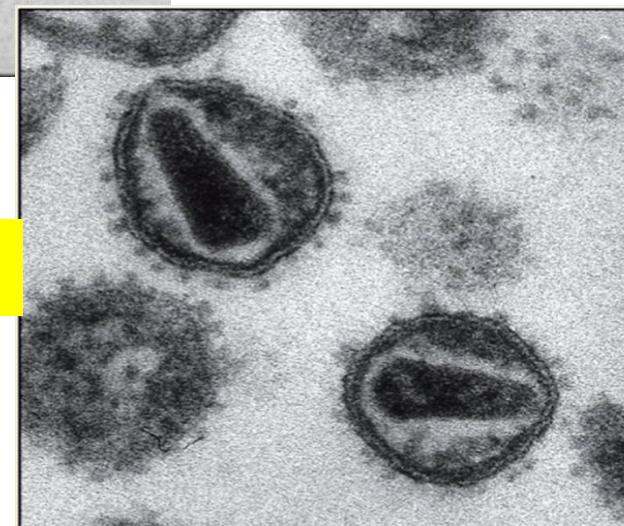
↓
é transmis

Zones sombres
opaques aux é

↓
é arrêtés



VIH au MET



Ultrastructure de membrane plasmique du globule rouge



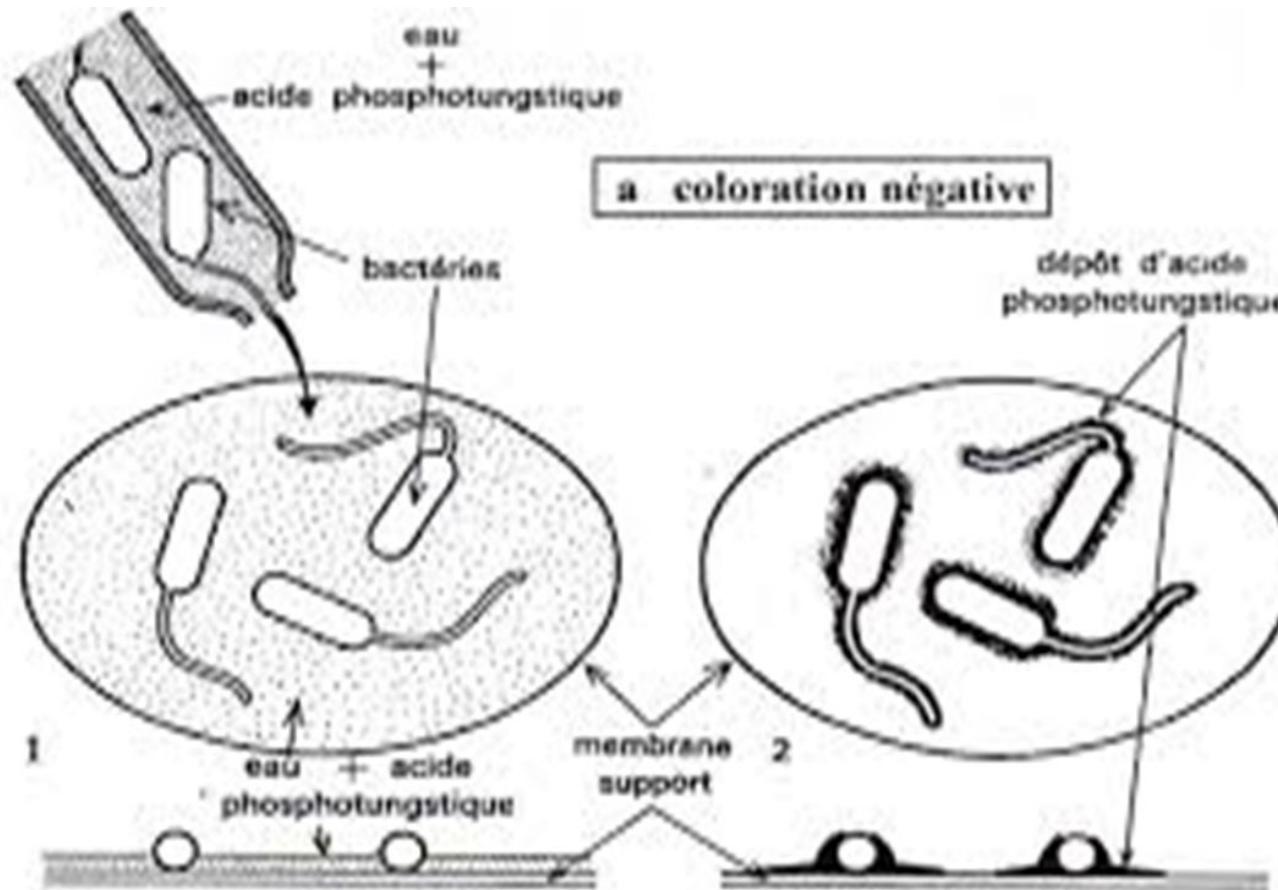
Bactérie en scissiparité



□ La technique de coloration négative

Principe :

Le **contraste négatif** permet d'assombrir le fond sans colorer l'objet lui-même . Les structures apparaissent en « **négatif** » / en **clair sur fond sombre** .



Intérêt

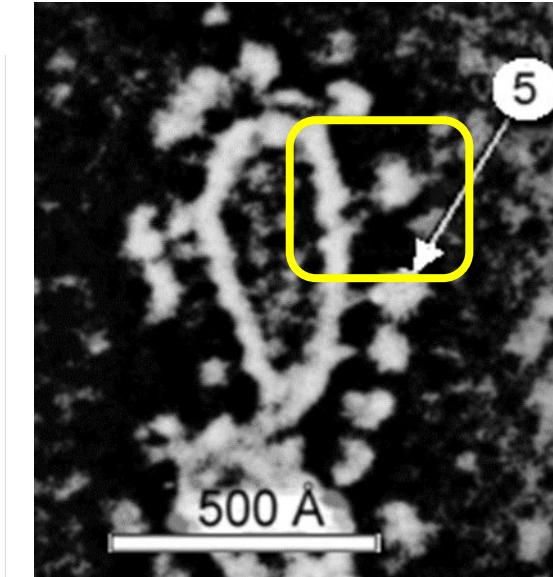
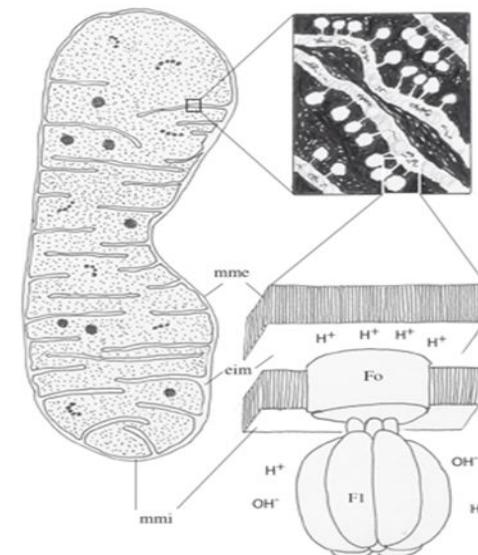
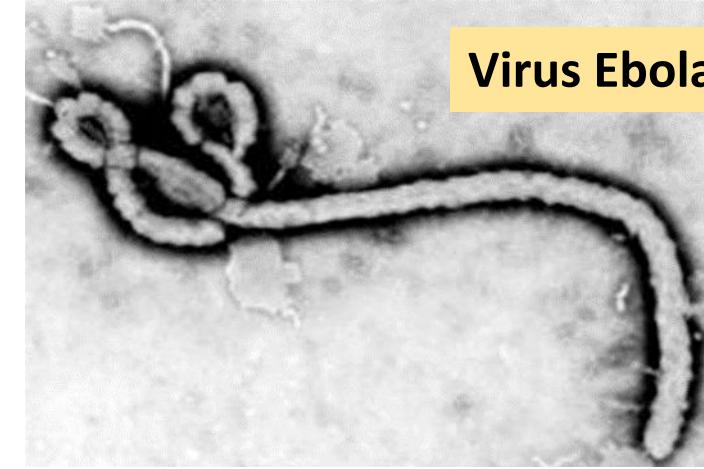
Description morphologique (morphologie externe) de macromolécules(ATP osomes) ou d'organites (ex :les ribosomes), de virus , bactérie, mais après isolement

Bactériophage



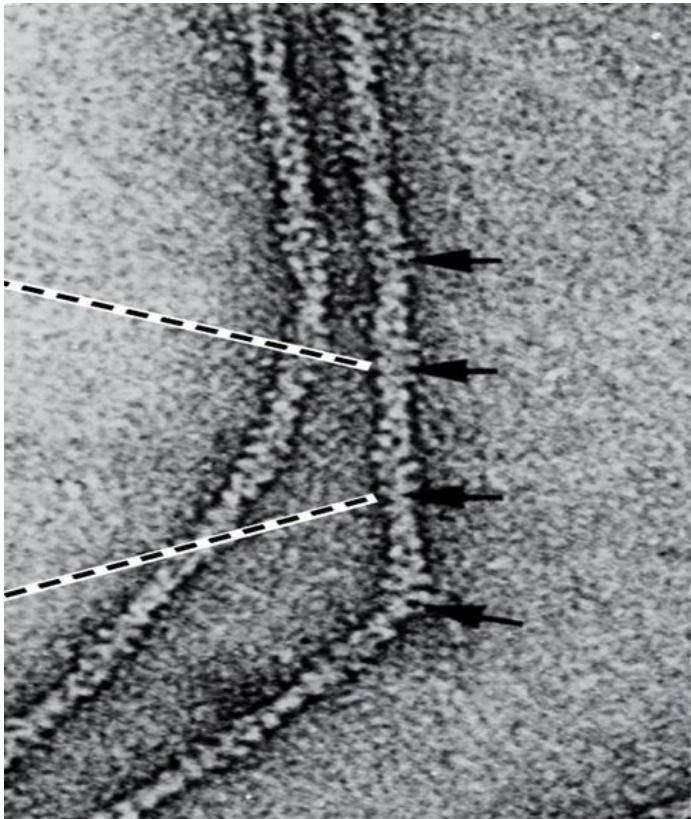
Ces différentes structures apparaissent en clair sur un fond sombre

Virus Ebola



ATP osomes mitochondriales

Architecture moléculaire des éléments du cytosquelette (microtubules , microfilament d'actine..), de la chromatine, des pores nucléaires ,mais après isolement par UCD -UGD.

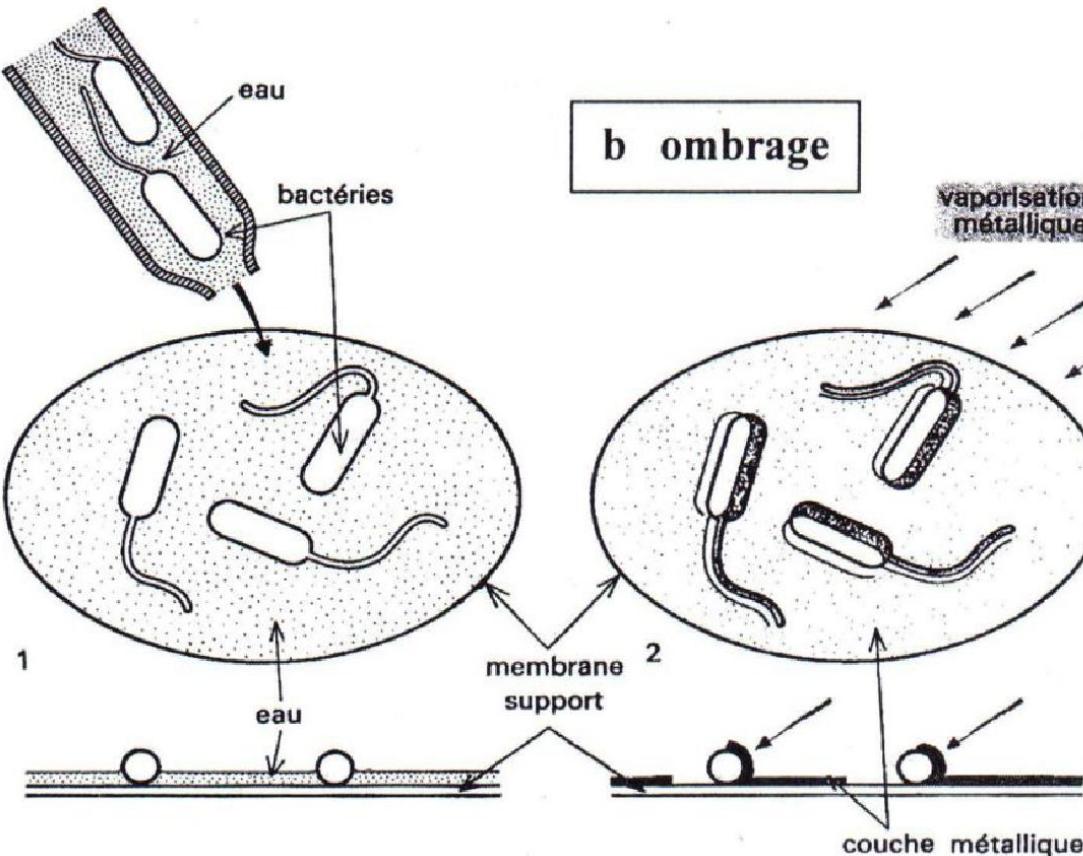


Architecture moléculaire des microfilaments d'actine =arrangement hélicoïdal des éléments de base(voir cours cytosquelette)

□ La technique d'ombrage métallique

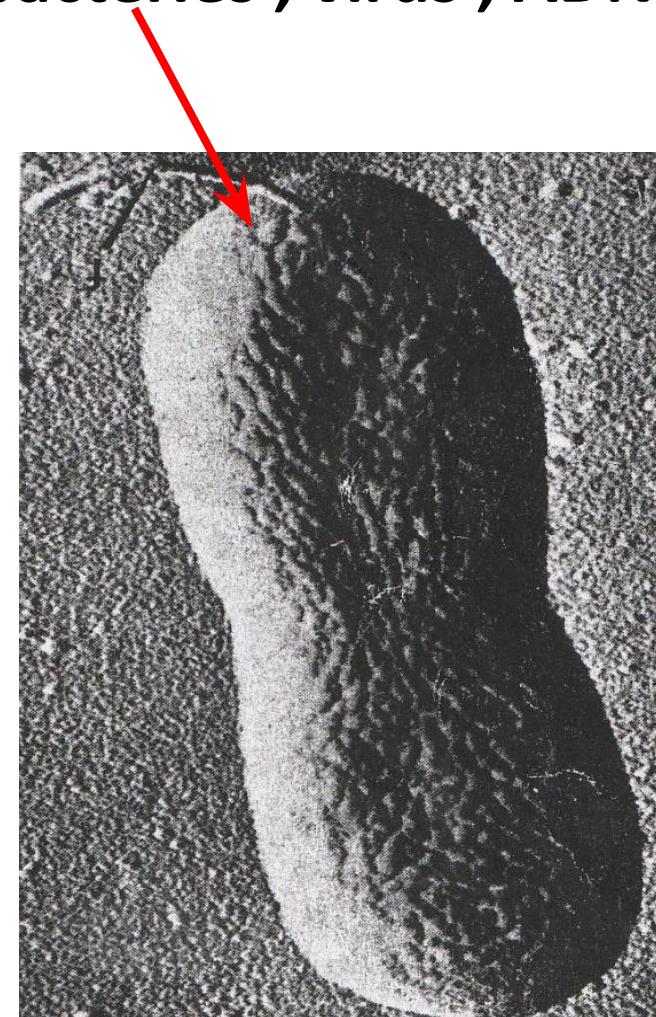
Principe :

Consiste à vaporiser sous vide et sous un angle donné une très fine couche métallique (platine ..) se déposant sur la surface de petites **particules isolées** , créant un **effet d'ombre**



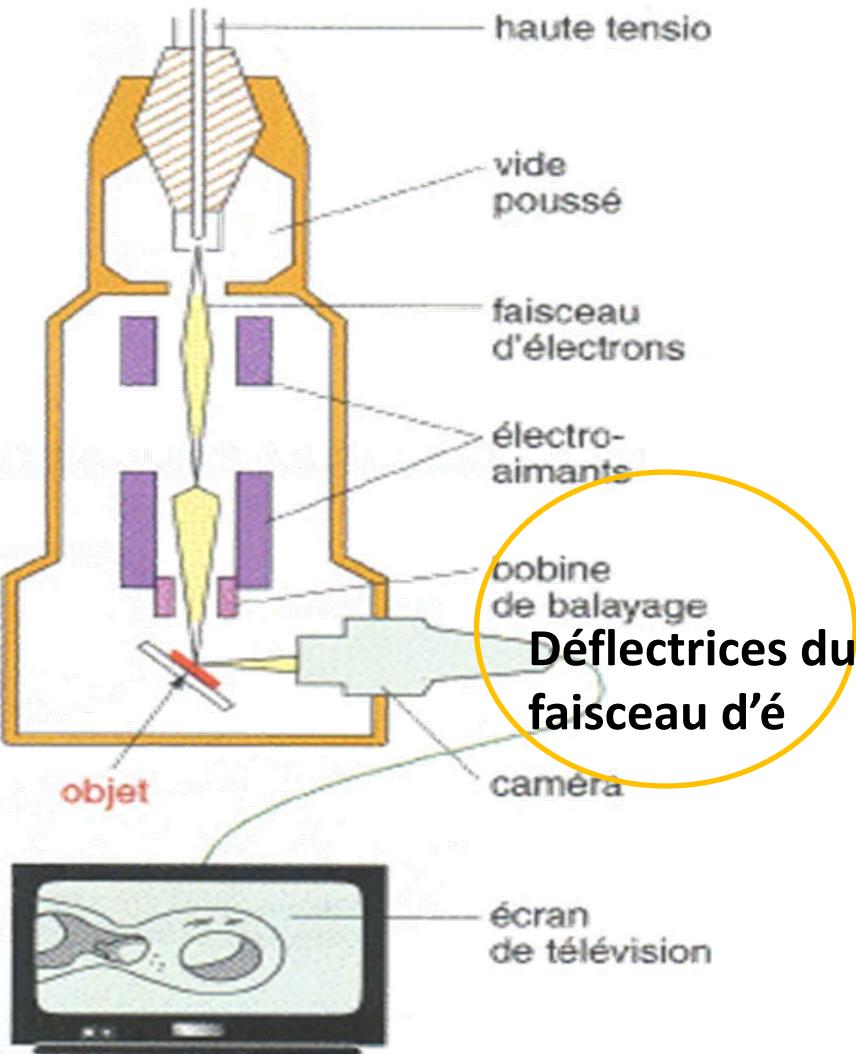
But : obtenir un **effet d'ombre** de la surface des petites particules **isolées** ; bactéries , virus , ADN ou protéines...

→ **Aspect morphologique**



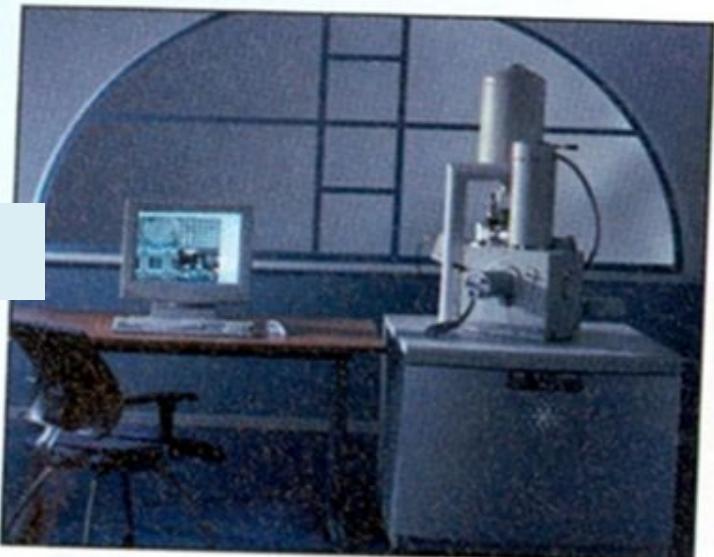
2 - Le microscope électronique à balayage MEB

Principe de fonctionnement du MEB: **observation par réflexion**

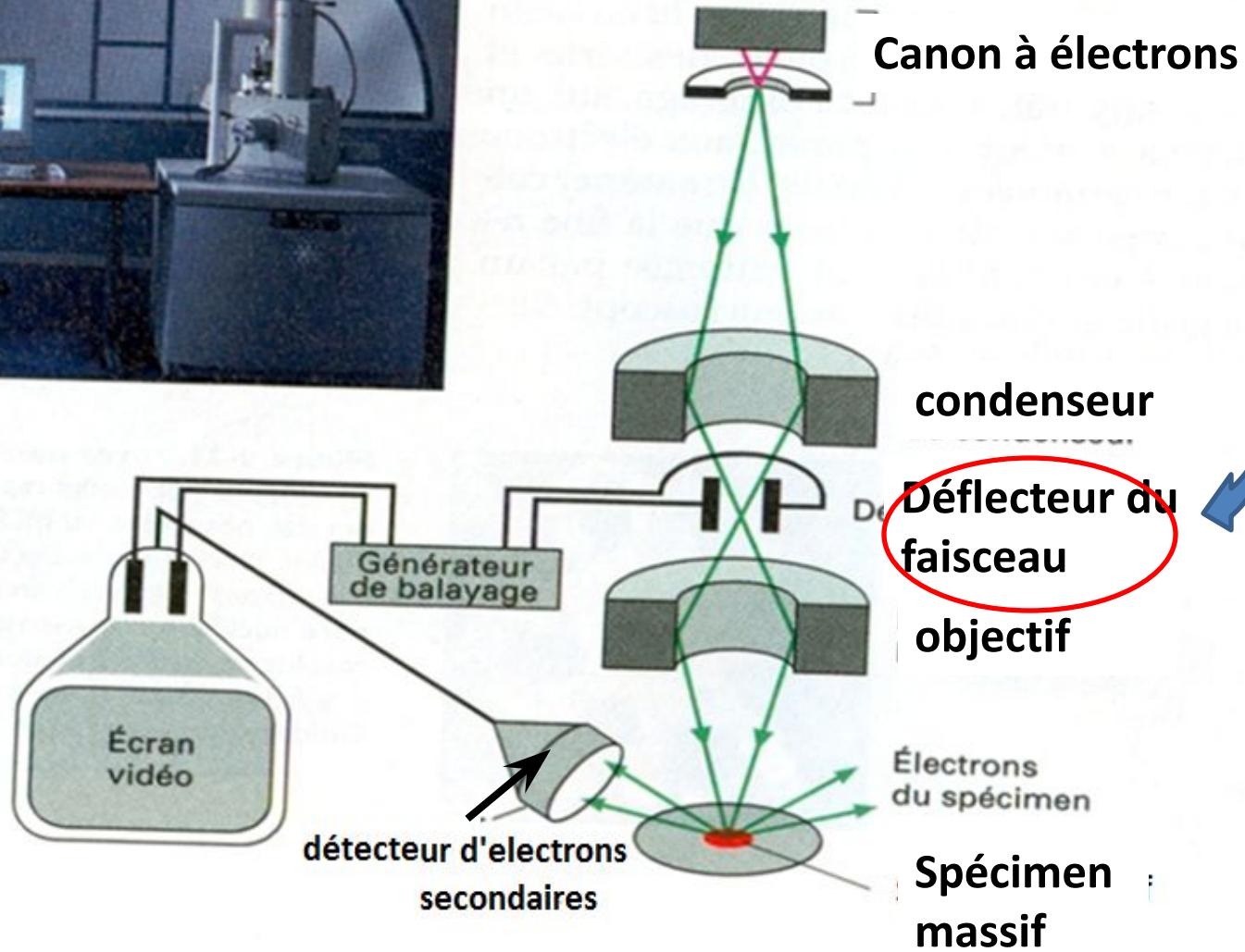


L' observation par réflexion → grâce à un système de balayage

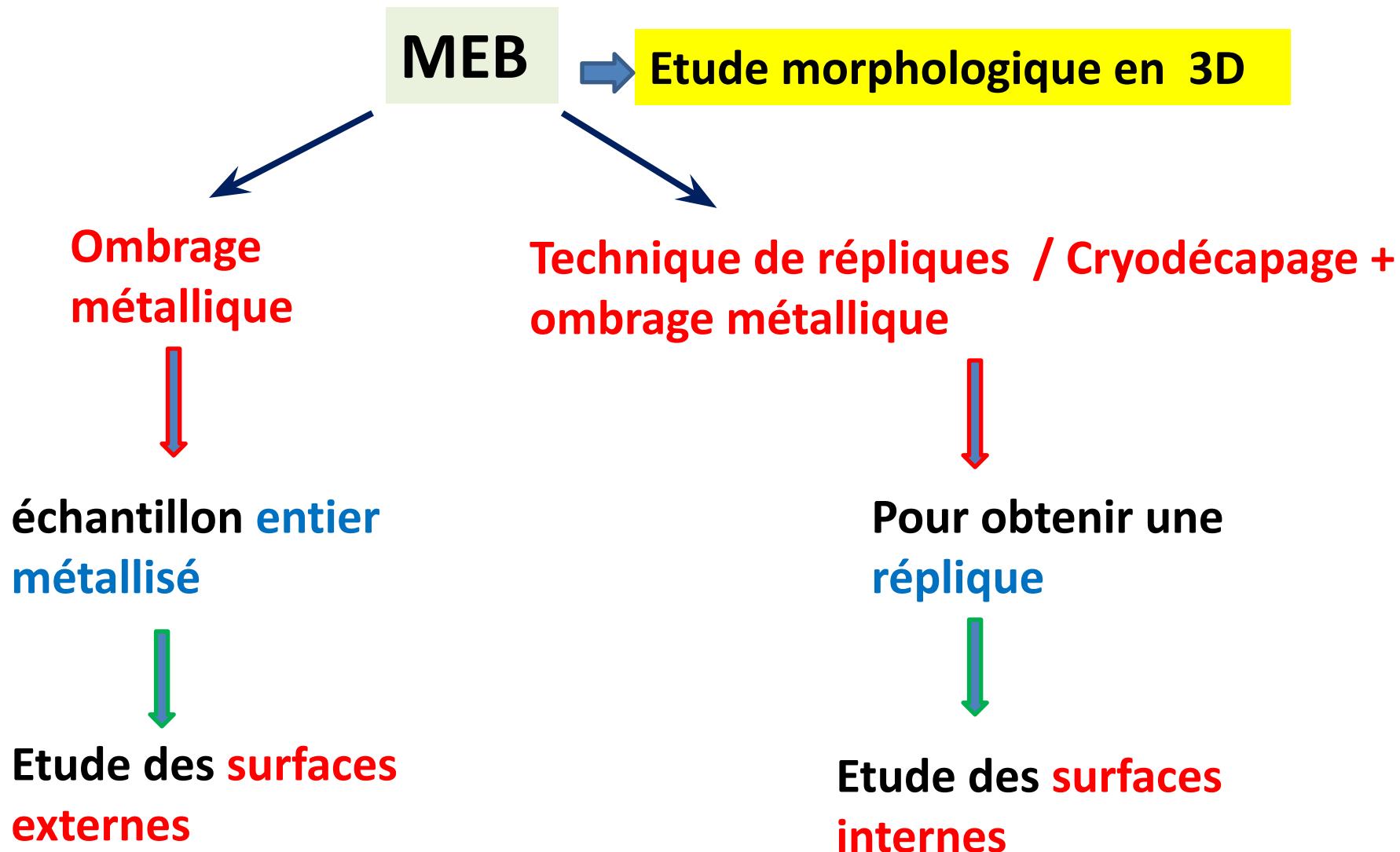
MEB



Pouvoir de résolution = 22 nm

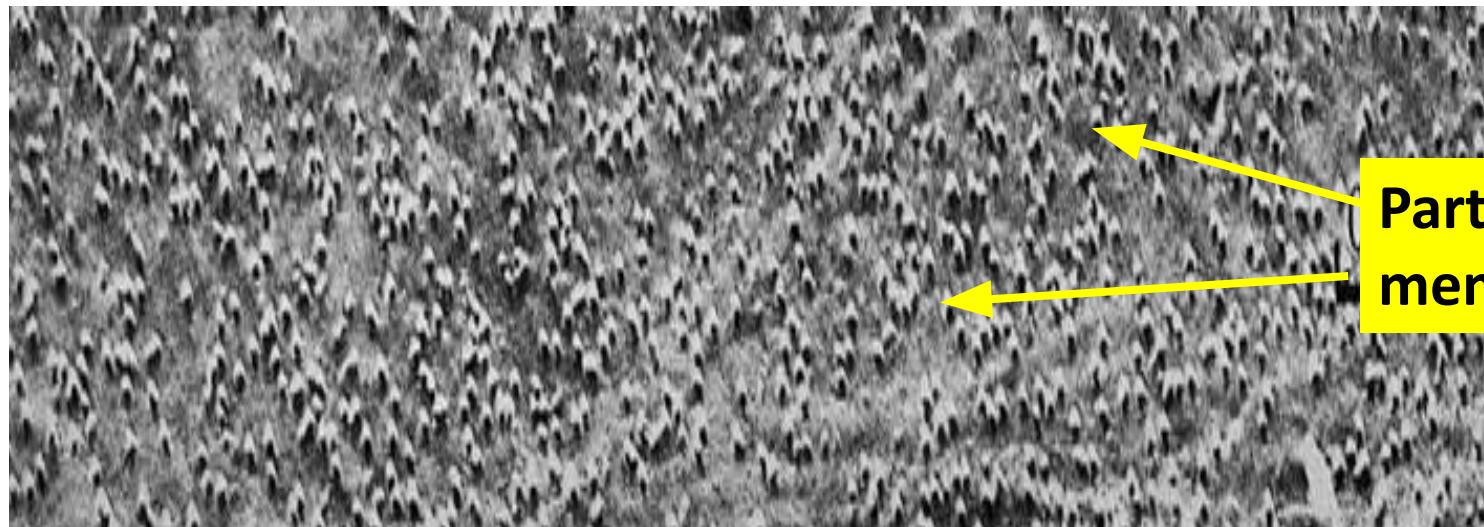
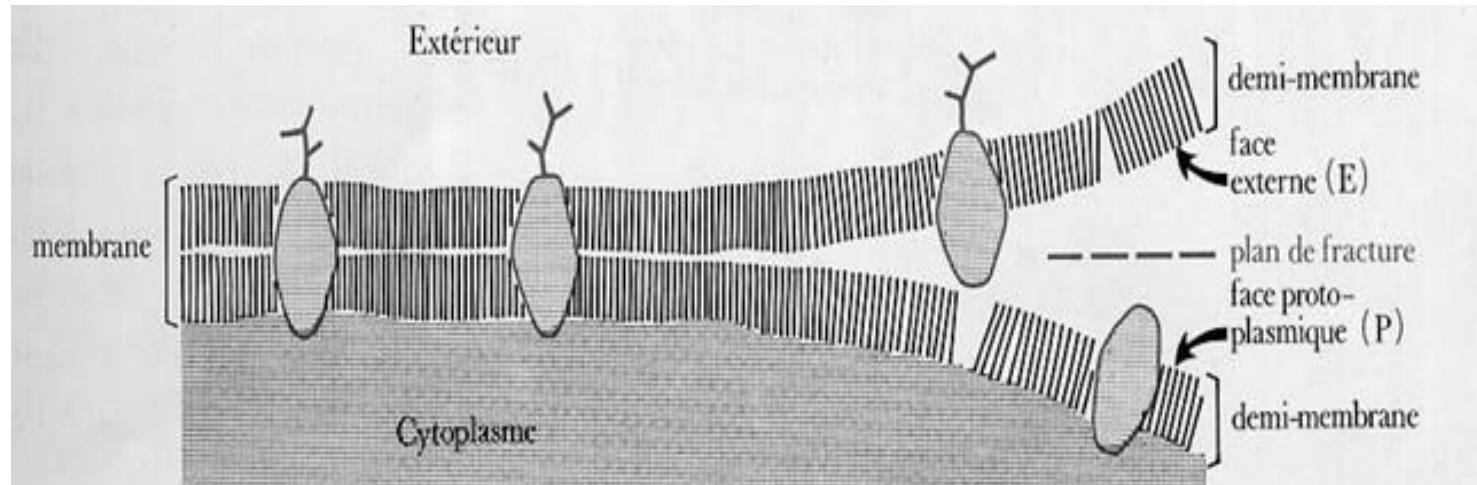


Les domaines d'utilisation du MEB



1 - Observation de réplique après cryodécapage

Réplique de la membrane plasmique (surface interne) et mise en évidence de **particules membranaires** = protéines transmembranaires



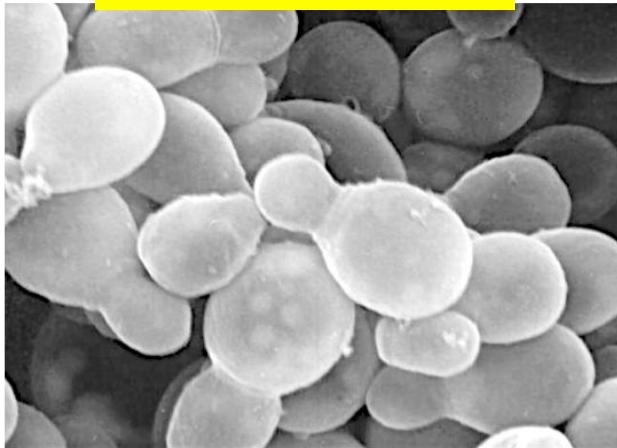
2 - Observation de surfaces externes d'échantillons entiers

Après **ombrage métallique**

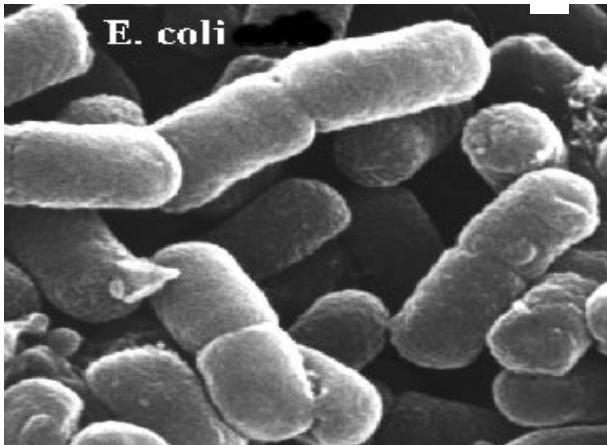


Aspect en 3 D(en relief)

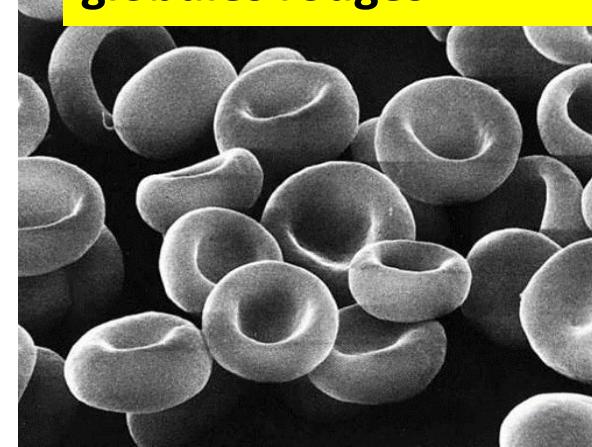
Levures de bière



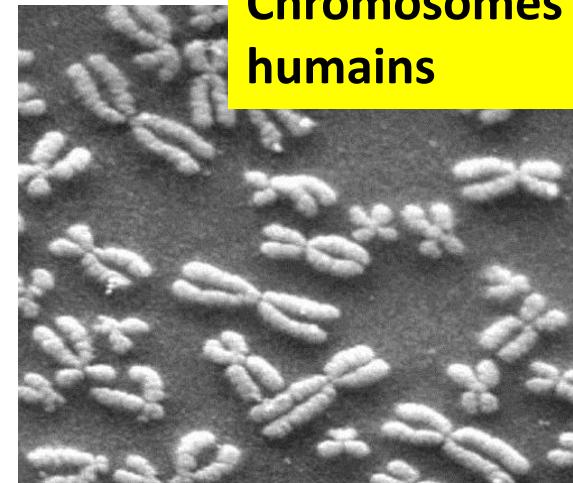
Bactérie E . COLI



Aspect biconcave des globules rouges



Chromosomes humains



La technique de cryodécapage = étapes préparatoires d'un échantillon en vue de son analyse tridimensionnelle

La technique de cryodécapage ou de réplique (surfaces internes) :

La technique de cryodécapage est généralement applicable au MEB et s'effectue comme suit :

La congélation de l'échantillon dans l'azote liquide (à -192°)

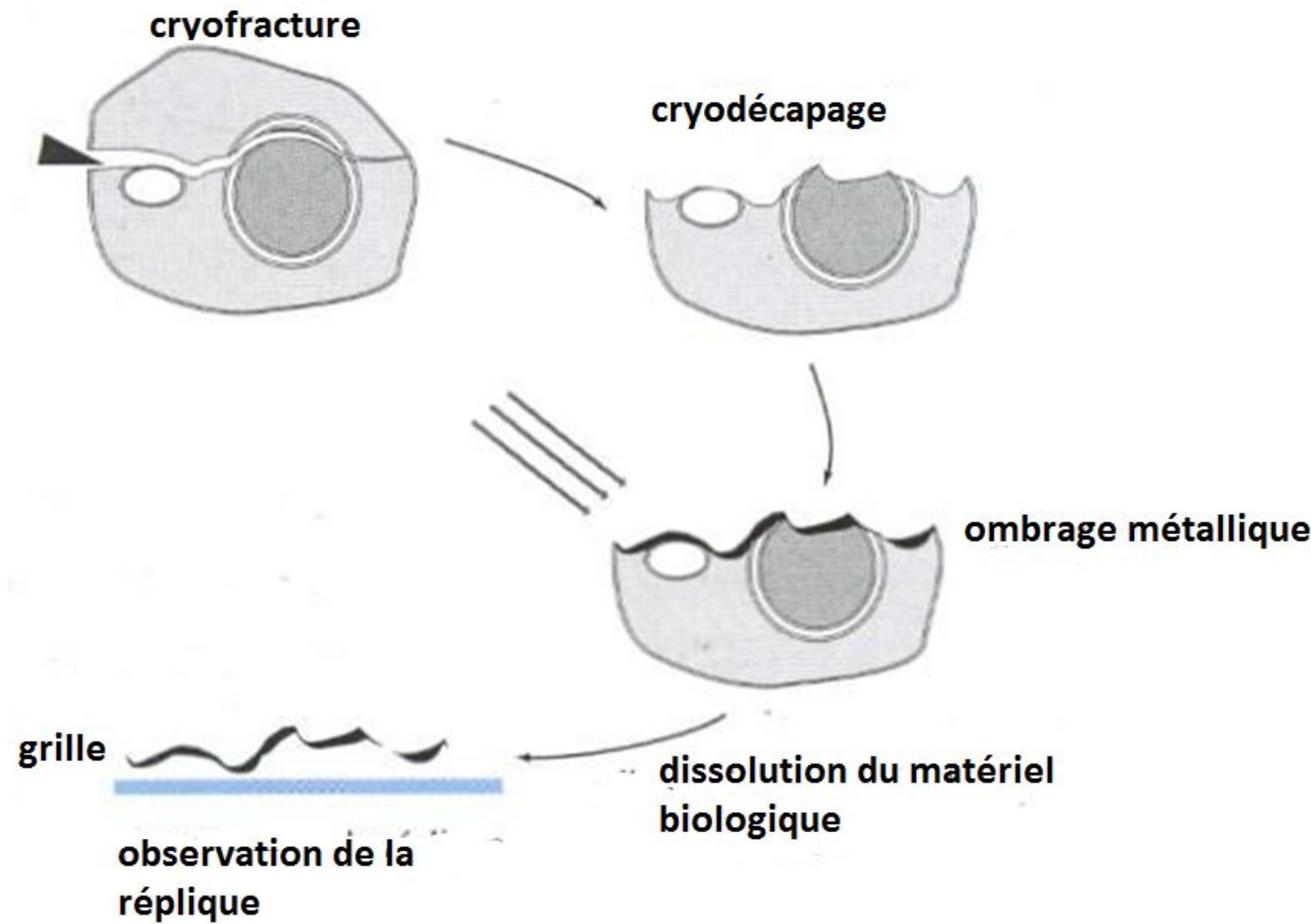
La cryofracture à froid

Le décapage par sublimation

L'ombrage métallique (platine + carbone)

L'obtention d'une réplique (moule) de la structure à étudier

Principe de l'Obtention d'une **réplique(moule)** d'une surface interne



L'ombrage métallique

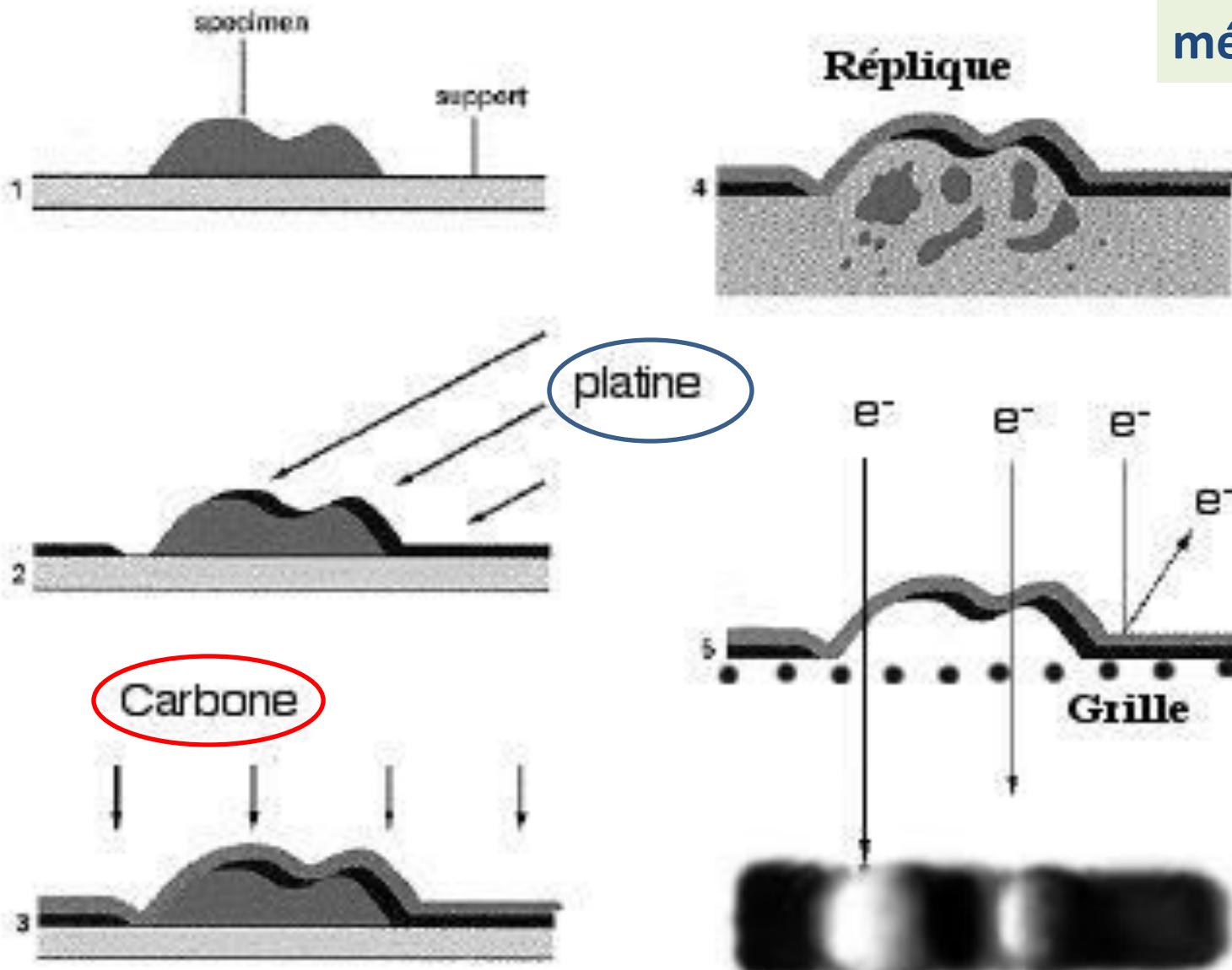
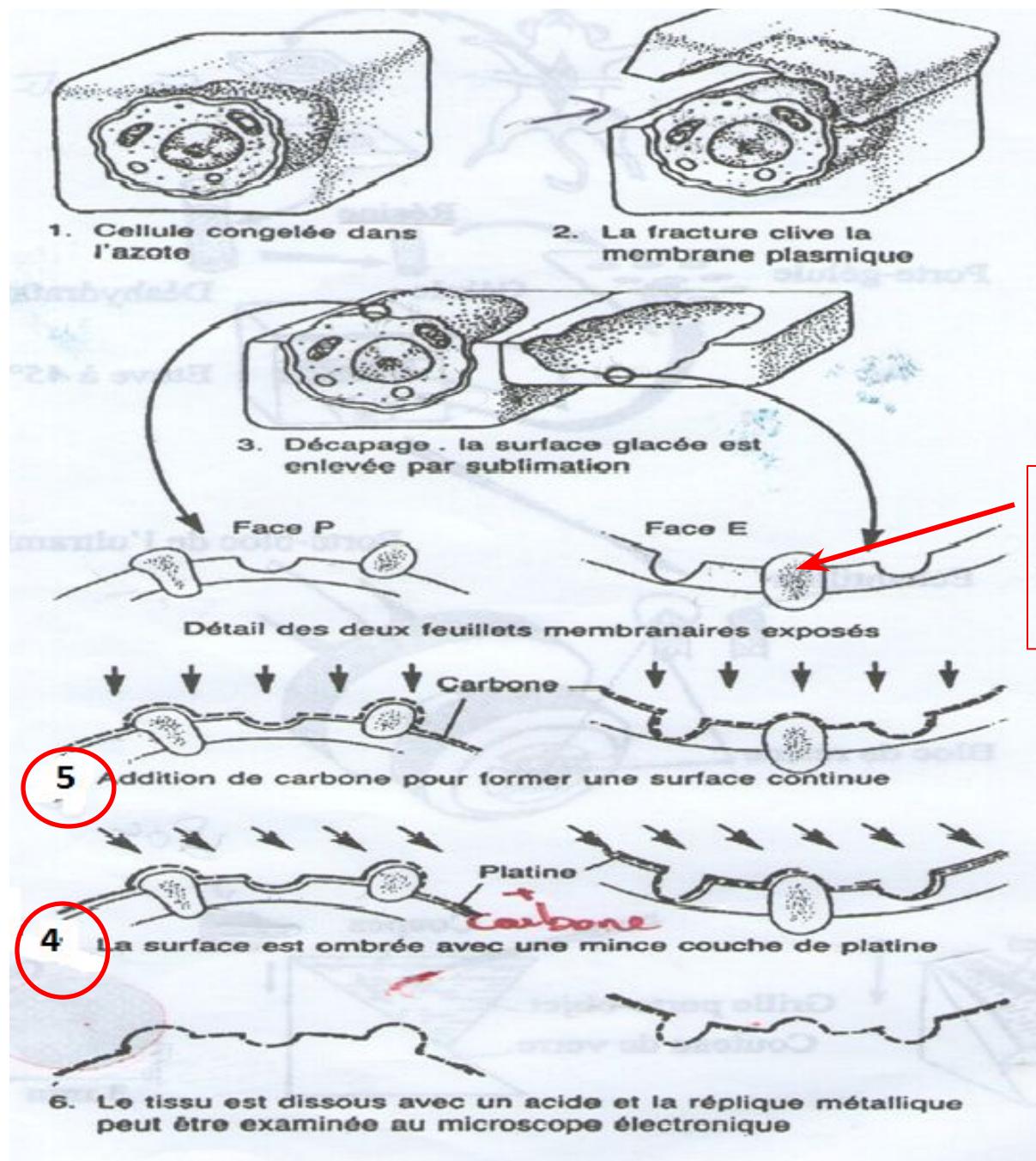


Image observée sur l'écran MEB
du microscope électronique.

Technique des répliques de membrane plasmique



Particules globulaires
=protéines
transmembranaires

Ombrage
métallique

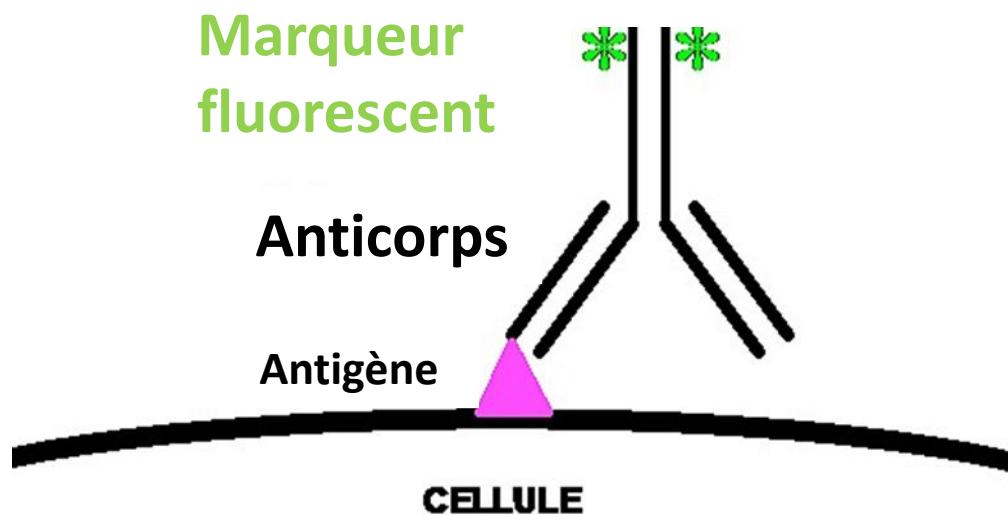
Répliques de surfaces internes

C - Techniques de détection et de localisation des composés cellulaires

1 - Application de la technique de fluorescence

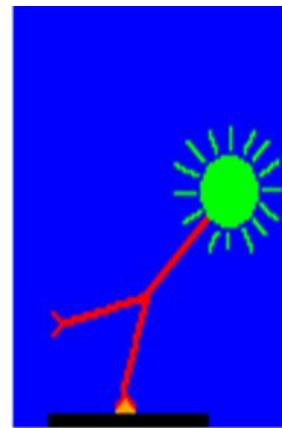
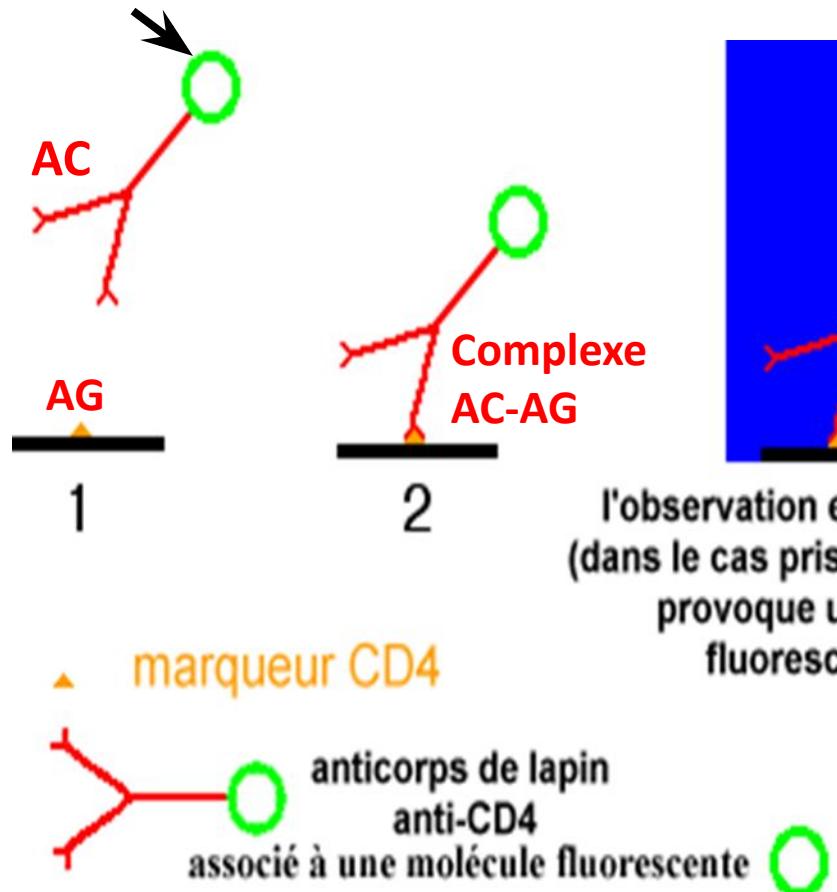
Pour induire la fluorescence , les **molécules fluorescentes** (fluorochromes) sont liées à des **AC** qui vont se fixer spécifiquement sur les molécules recherchées (AG) selon le principe de la réaction immunitaire **AC - AG** ce qui rendra facile la **détection** des **complexes AG - AC**

**Technique
d'immunofluorescence
ou d'immuno-marquage .**



Principe de la technique d'immunofluorescence

Fluorochrome utilisé = la fluorescéine



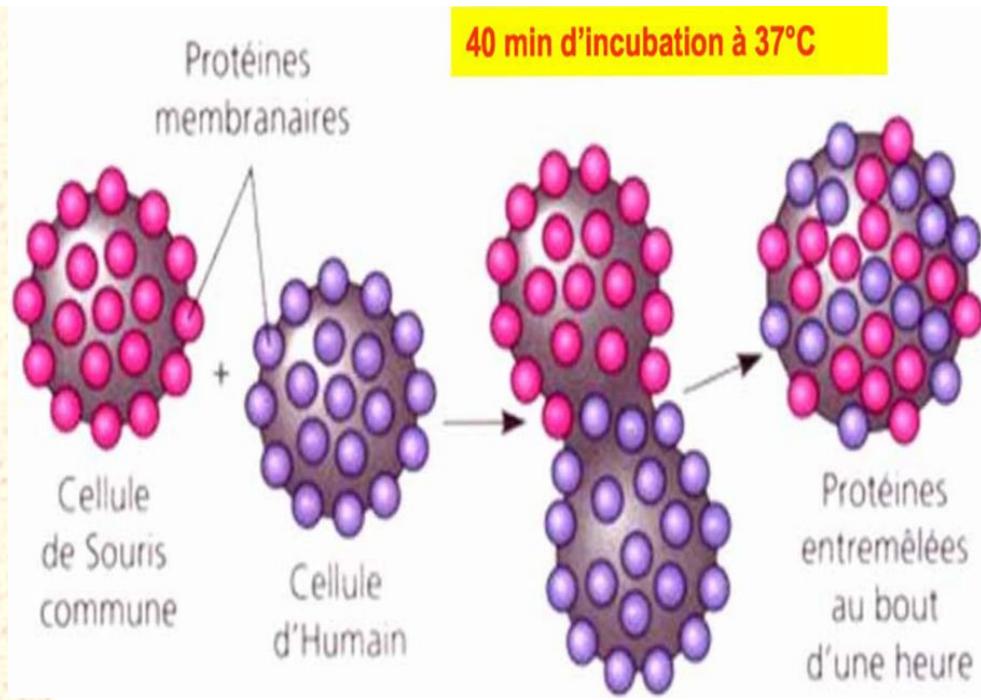
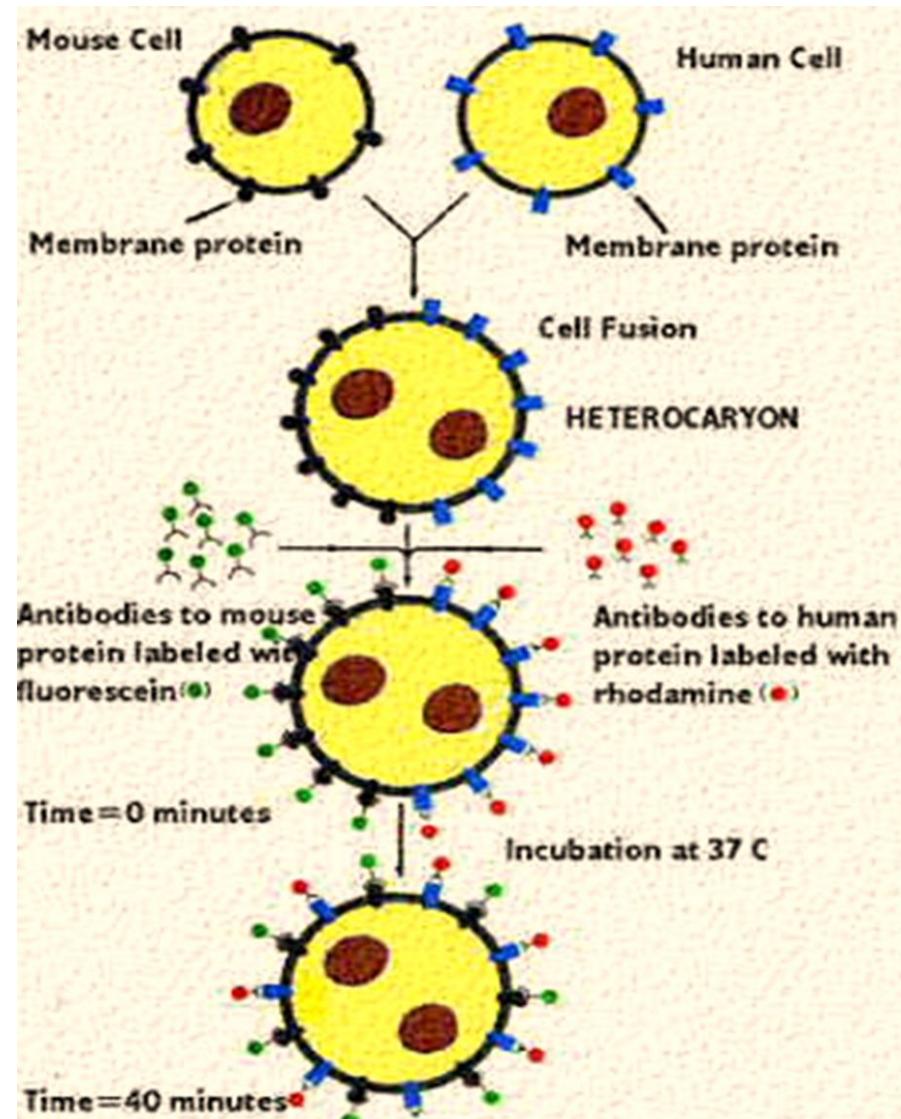
Lumière
d'excitation

Lumière d'
émission

l'observation en lumière bleue
(dans le cas pris comme exemple)
provoque une émission
fluorescente verte

L'intérêt de la technique d'immunofluorescence

1 – Déte~~cer~~ et Suivre la fluidité des protéines membranaires , ex : les récepteurs, protéines de transport , Ag de surface...



Résultat : déplacement des protéines par diffusion latérale dans le plan membranaire .

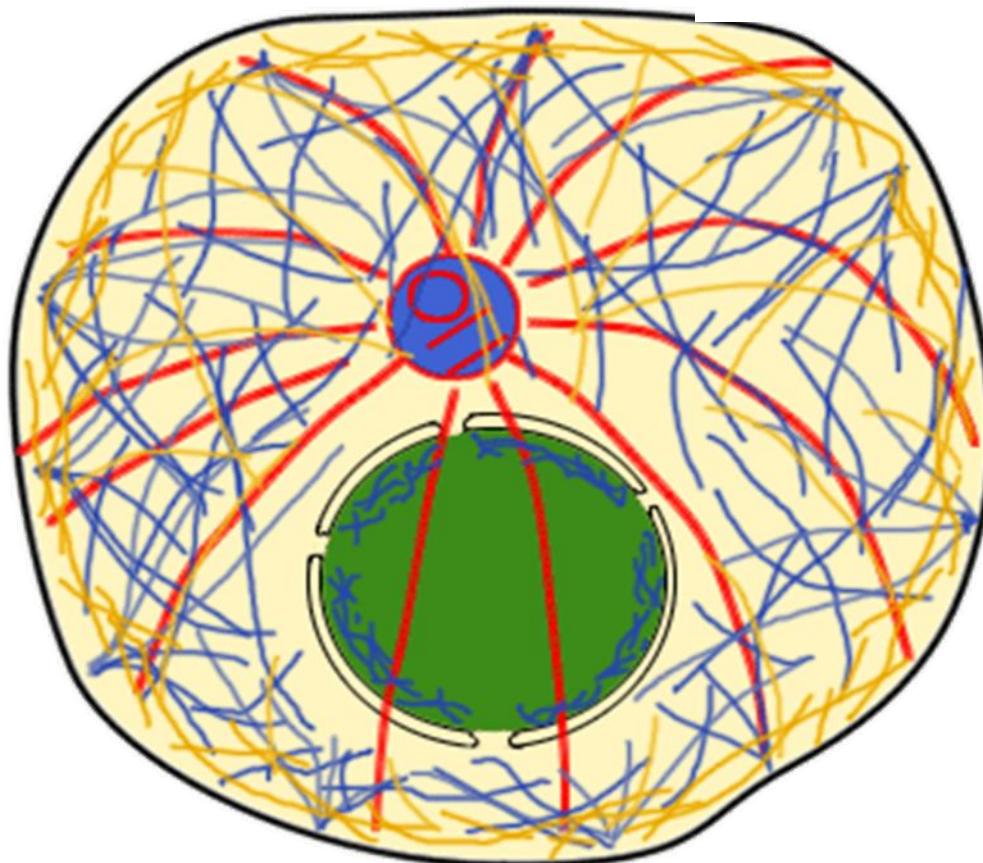
**2 - Déetecter , localiser , quantifier d'autres protéines cellulaires;
les hormones , les protéines du cytosquelette.....**

(voir cours cytosquelette)

**Microtubules
et centrosome**

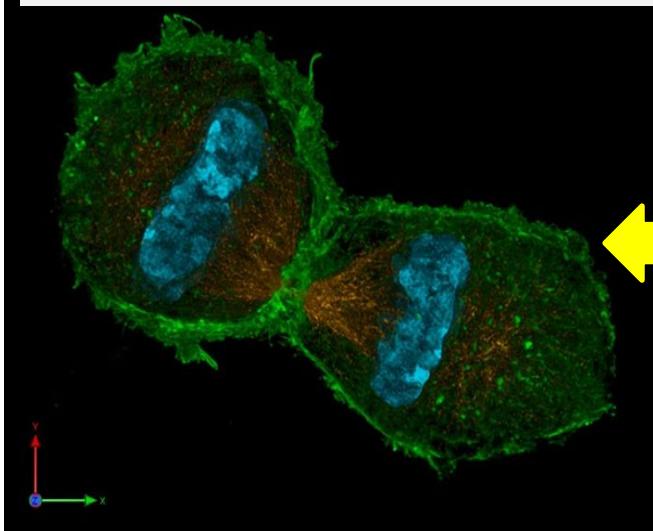
Actine

**Filaments
intermédiaires**

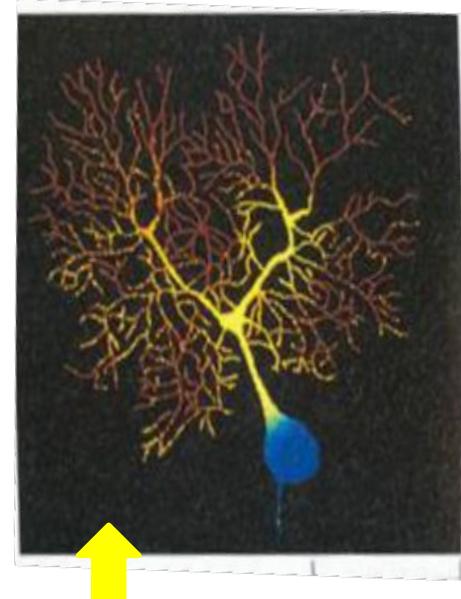


**Distribution des éléments
du cytosquelette dans le
hyaloplasme d' une cellule
eucaryote**

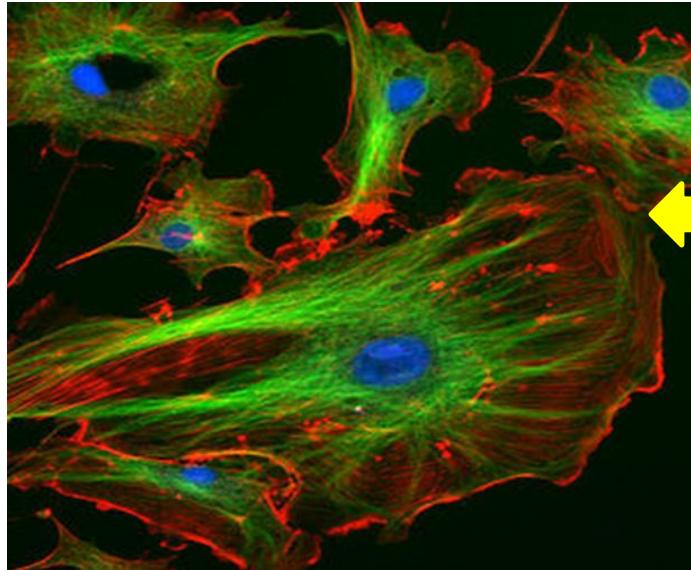
Micrographies montrant la **répartition** des éléments du cytosquelette dans différents types de cellules



Cellule en
mitose

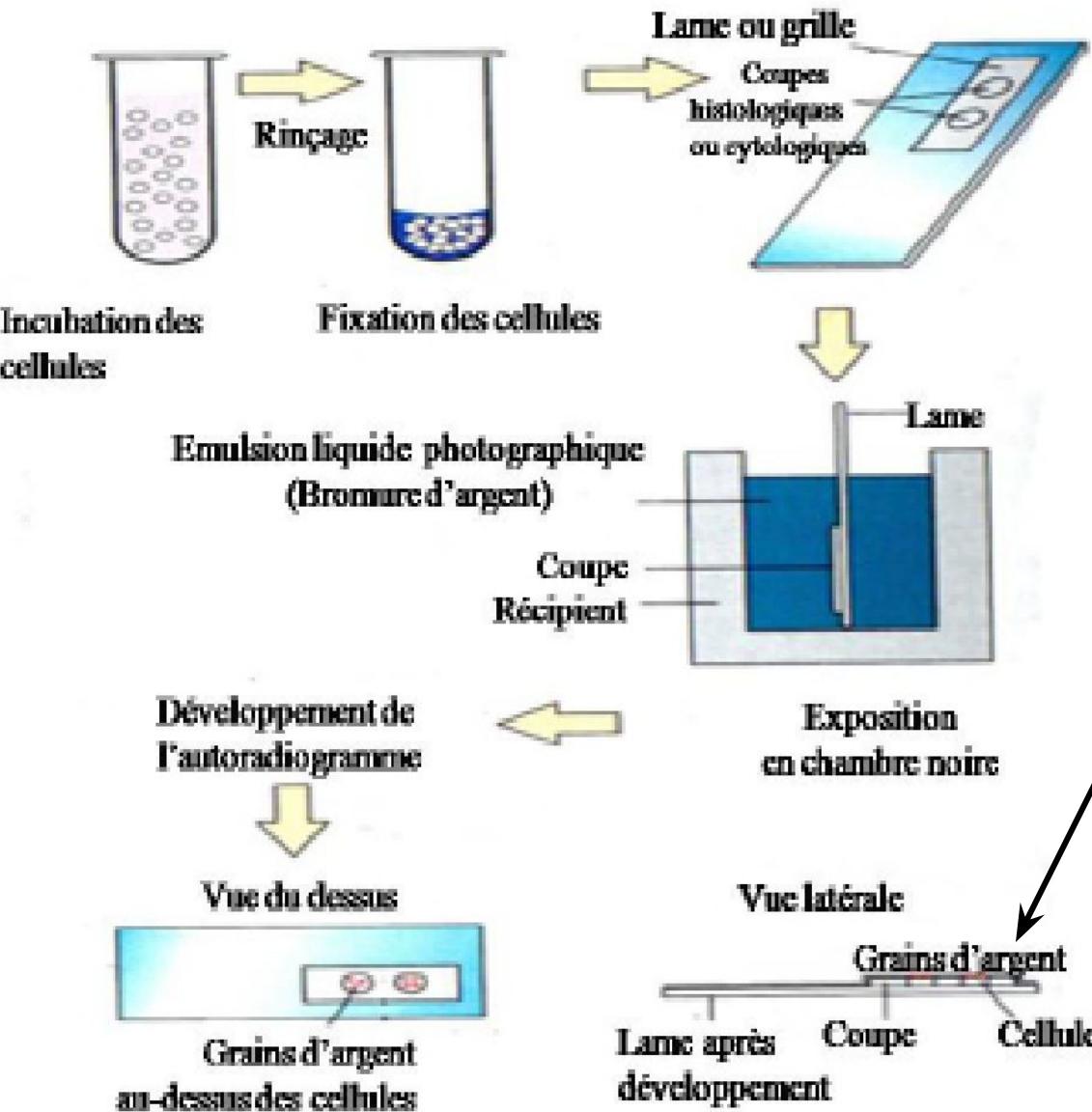


Cellule nerveuse



Cellule en
culture

2 - Principe de la Technique d'autoradiographie



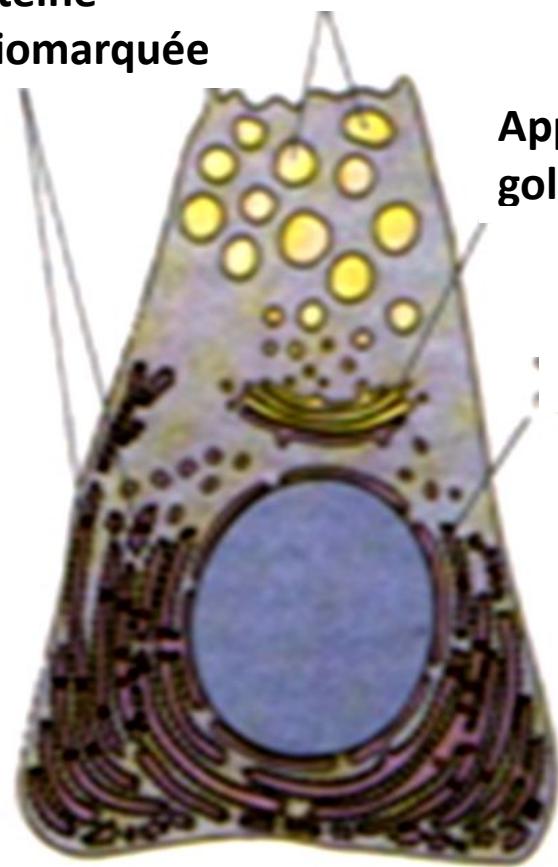
Cette technique concerne le marquage de précurseurs métaboliques (aa, bases azotées, sucres..) par des isotopes radioactifs

Les grains d'argent indiquent les régions où sont localisées les molécules ayant incorporé les précurseurs radioactifs.

But : elle étudie la **cinétique** d'un métabolisme cellulaire ; ou **localisation** de molécules organiques(protéines , acides nucléiques ..)

Cinétique de la **synthèse** et de l'**emballage** des **protéines secrétées** dans une **cellule pancréatique**

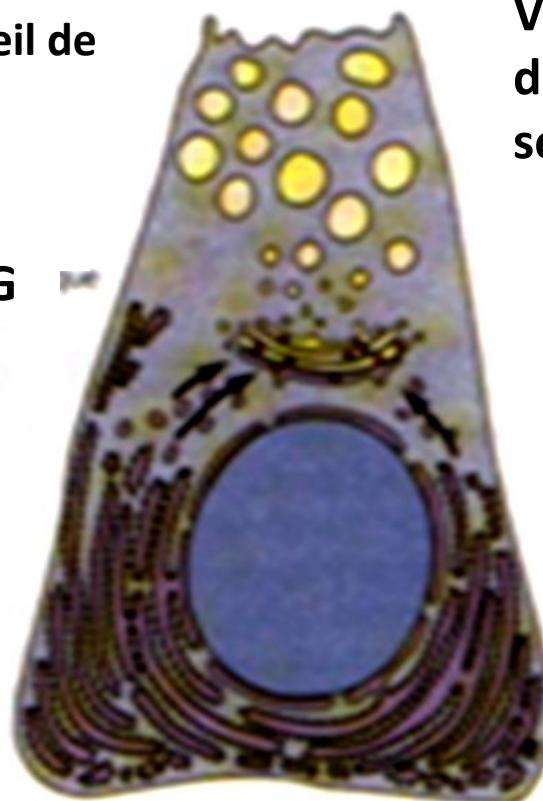
Protéine
radiomarquée



Marquage de 3 minutes

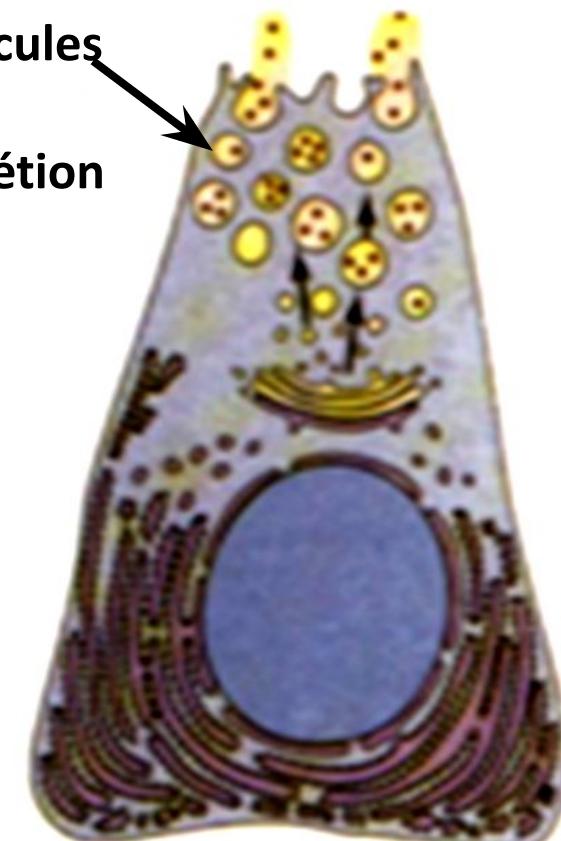
Appareil de
golgi

REG



Chasse de 7 minutes

Vésicules
de
sécrétion



Chasse de 120 minutes

Synthèse dans le REG → Passage vers le Golgi → Emballage dans des vésicules

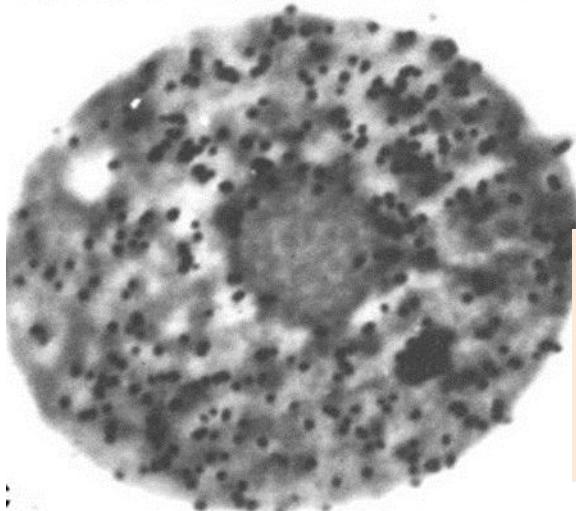
Marquage à l'uracile H3 et suivi de l'ARN m

Cinétique des acides nucléiques



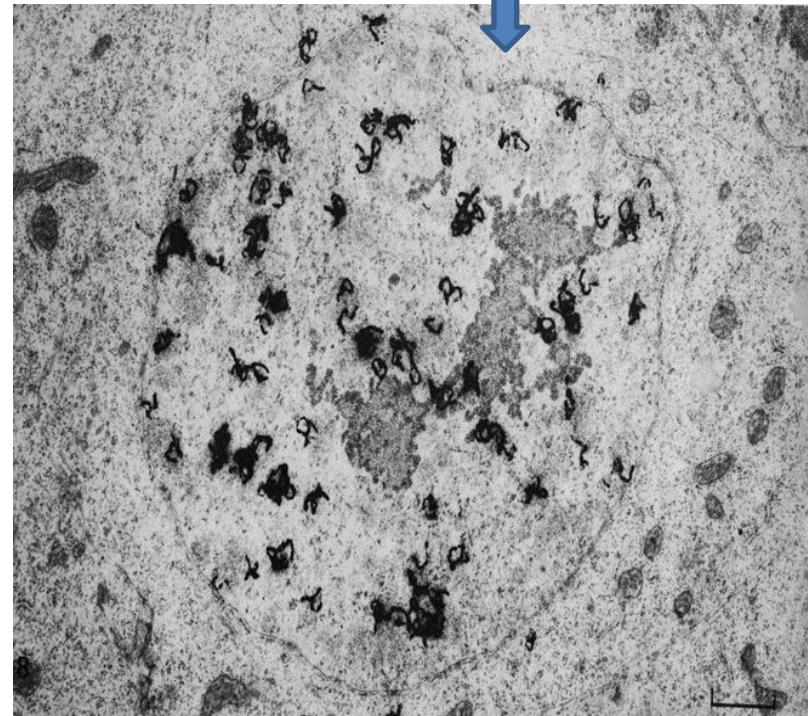
1^{er} temps

Grains d'Ag
au niveau du
noyau



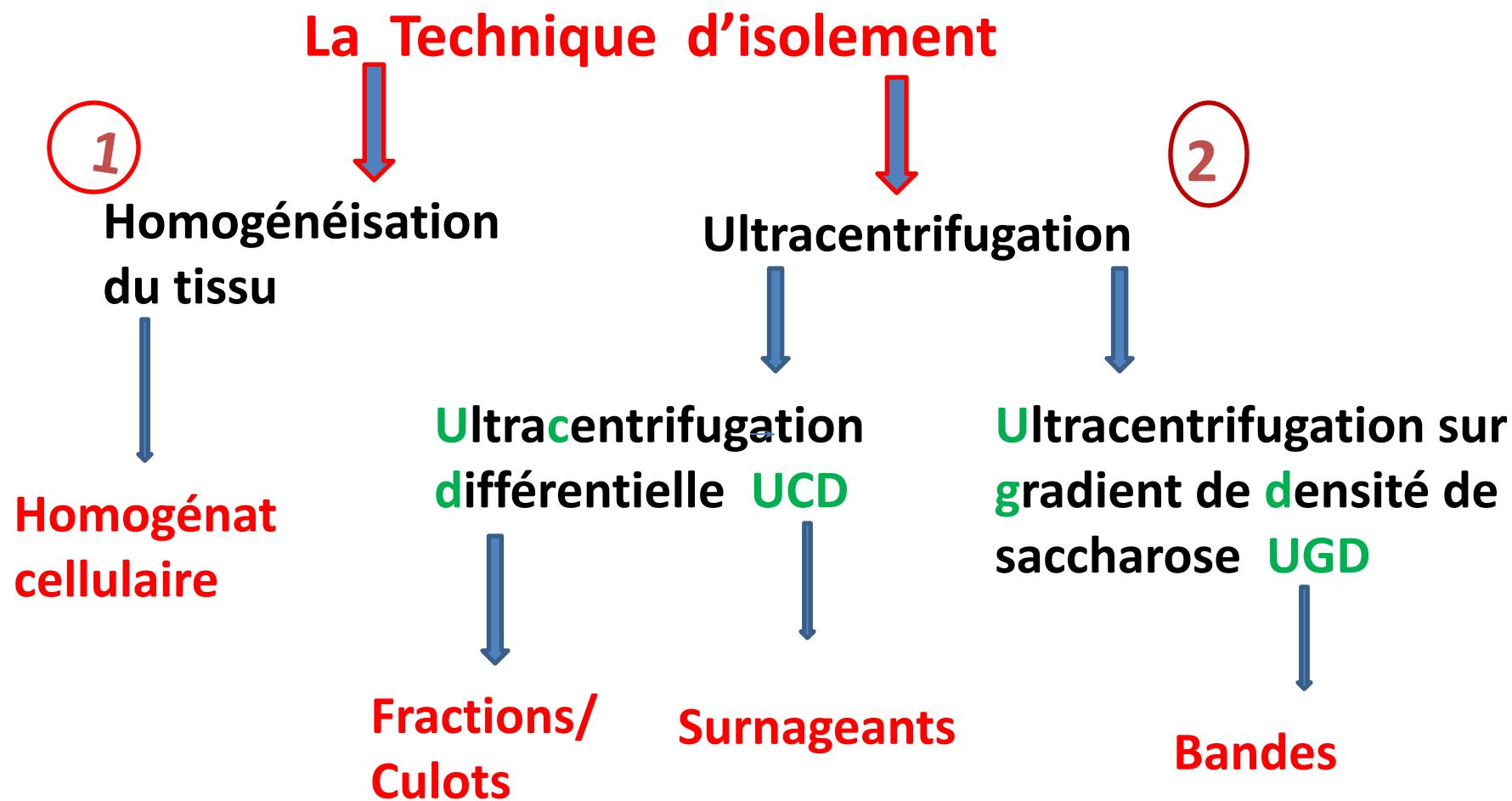
2eme temps

Grains d'Ag
au niveau du
cytoplasme



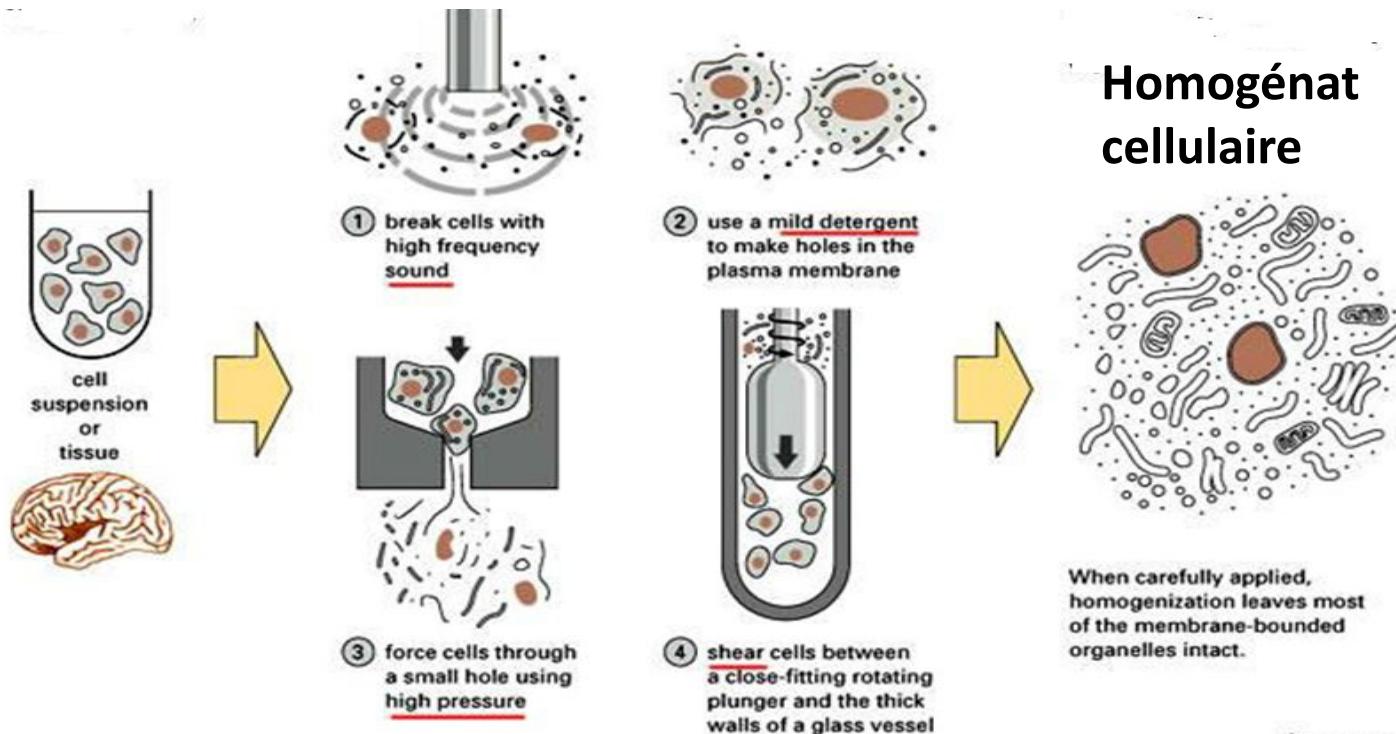
Marquage à la Thymine
H3 radioactif et
localisation de l'ADN dans
le noyau

D - les procédés d'isolement des composants cellulaires (UCD, UGD).



Remarque : les résultats de chaque étape sont représentés en rouge

1-Principe de fractionnement / homogénéisation cellulaire



Les méthodes de **fractionnement** consistent à séparer les différents composants cellulaires par **destruction de la membrane plasmique**, puis par désorganisation de la cellule.

On obtient **un homogénat** avec tous les constituants de la cellule. La plupart des organites restent intacts, l'appareil de Golgi et le réticulum endoplasmique vont être fragmentés sous forme de **vésicules** appelées **microsomes(microsomes lisses et rugueux)**.

2 – L 'Ultracentrifugation cellulaire

La centrifugation différentielle est un **procédé de séparation** des composés de l'homogénat en fonction de leur différence de **densité** en les soumettant à **une force centrifuge**

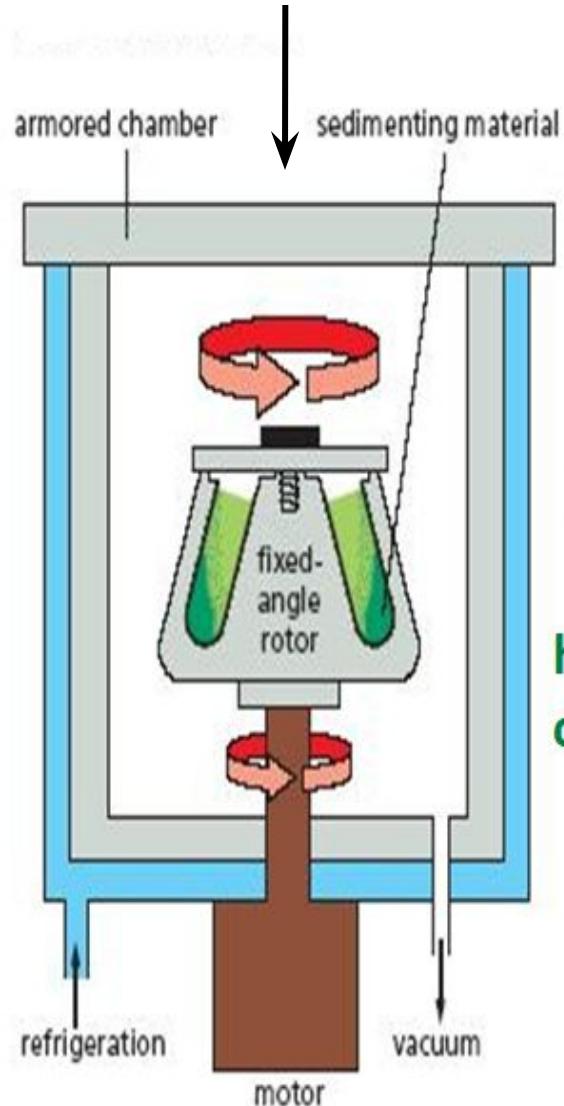
Pour cela on centrifuge l'homogénat à **différentes vitesses** ; à chaque vitesse, différents organites se déposent dans le culot .

L'appareil utilisé est une **machine tournante** à grande vitesse nommée **centrifugeuse**

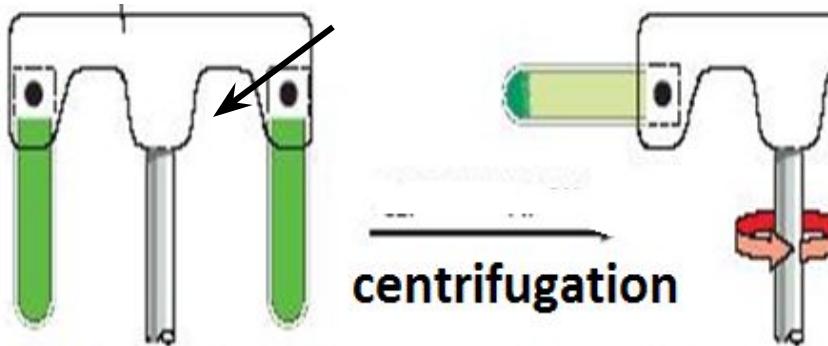
La **vitesse de sédimentation** est définie par le **coefficient de sédimentation en unité Svedberg (S)**.

Principe de la centrifugation

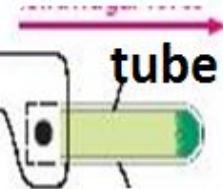
La centrifugeuse



Rotor à bras mobile

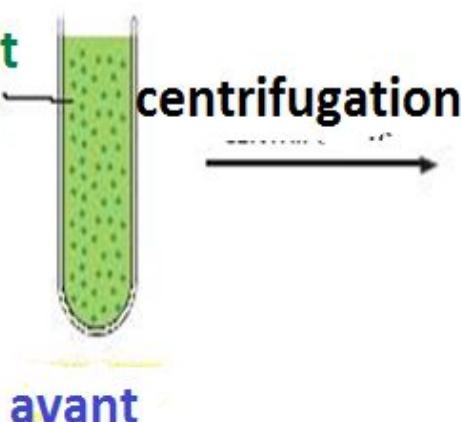


La macromolécule est soumise à une force centrifuge F
force centrifuge



Sous l'effet de cette force, les molécules se déplacent vers le fond du tube tournant

homogénat cellulaire



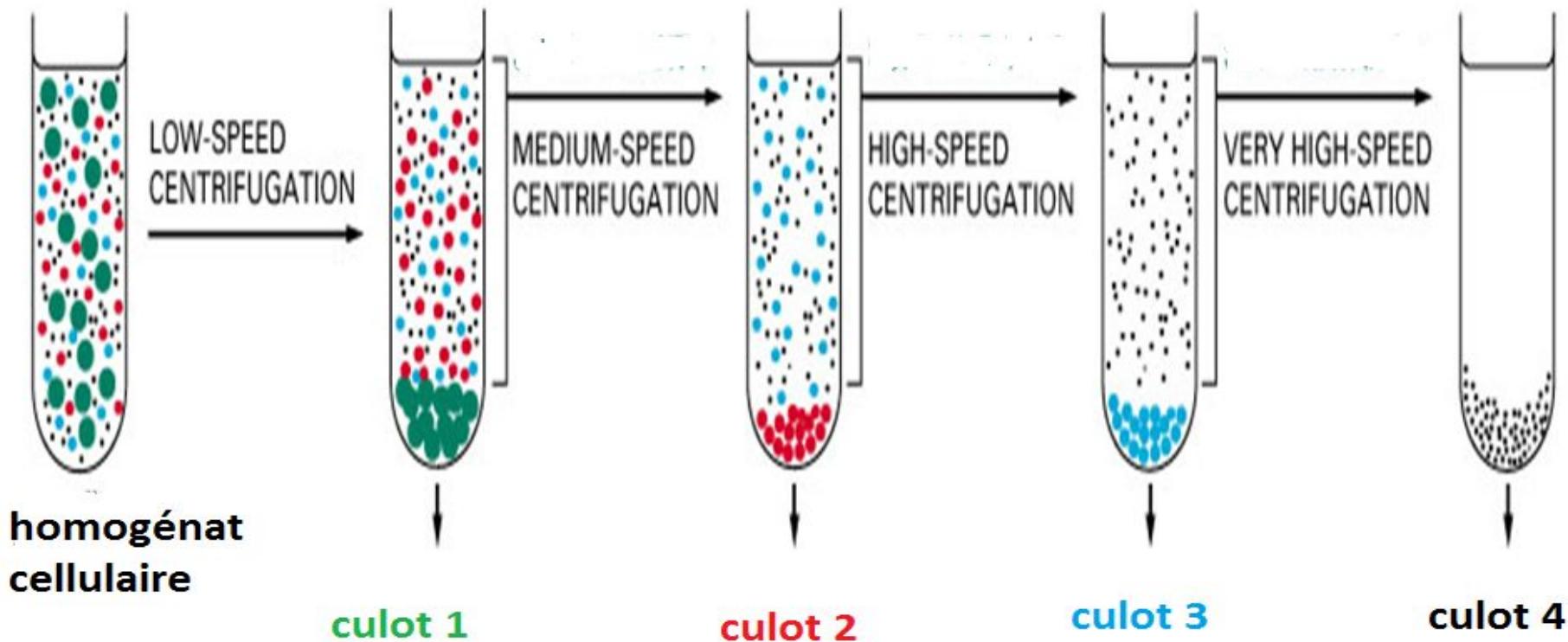
surnageant

culot

après

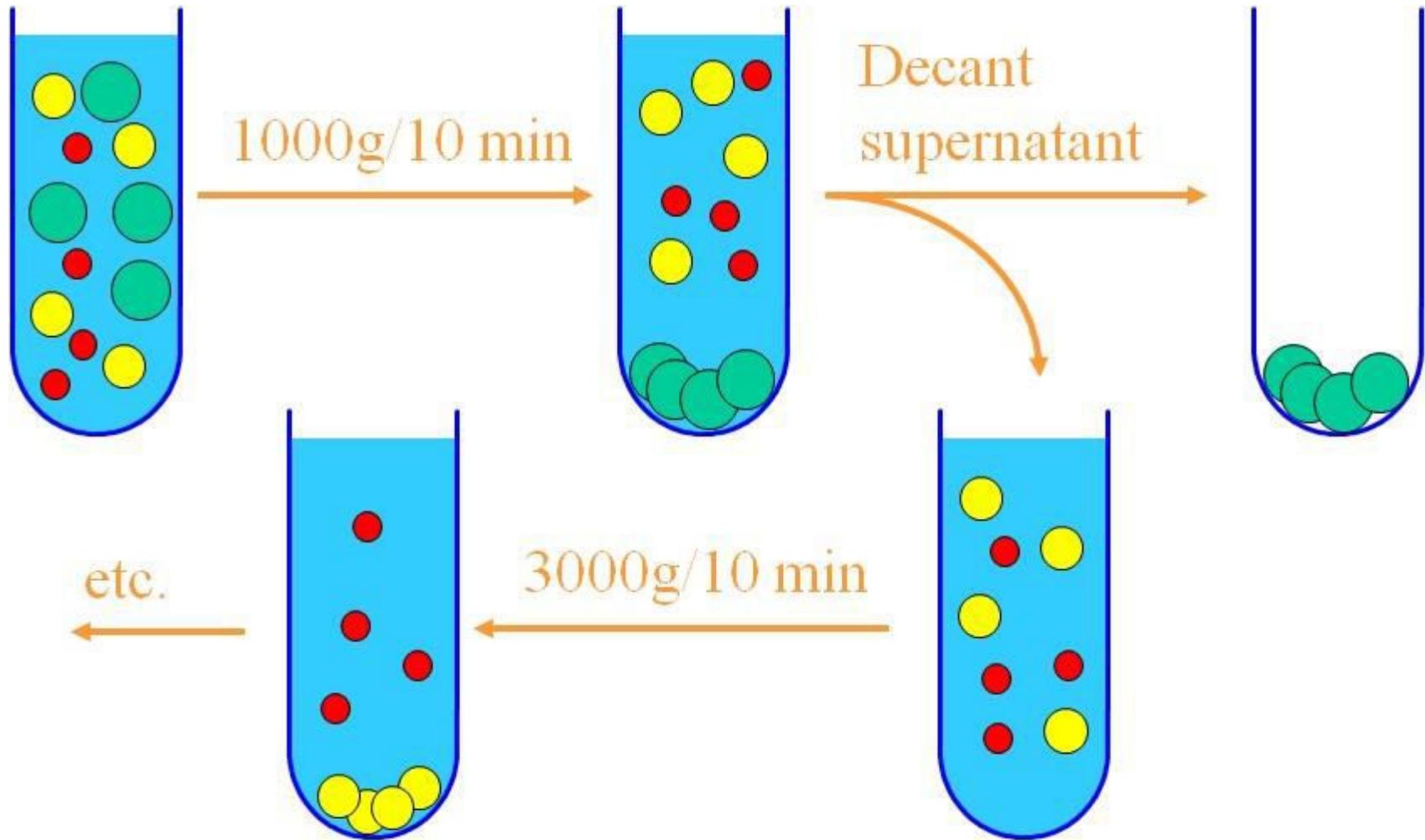
2 -1 - La centrifugation différentielle

Les constituants de l'homogénat se déposent selon leur **densité** à des **vitesses de centrifugation différentes (croissantes)**



Principe de l'UCD

Les éléments se déposent selon leur poids et leur taille



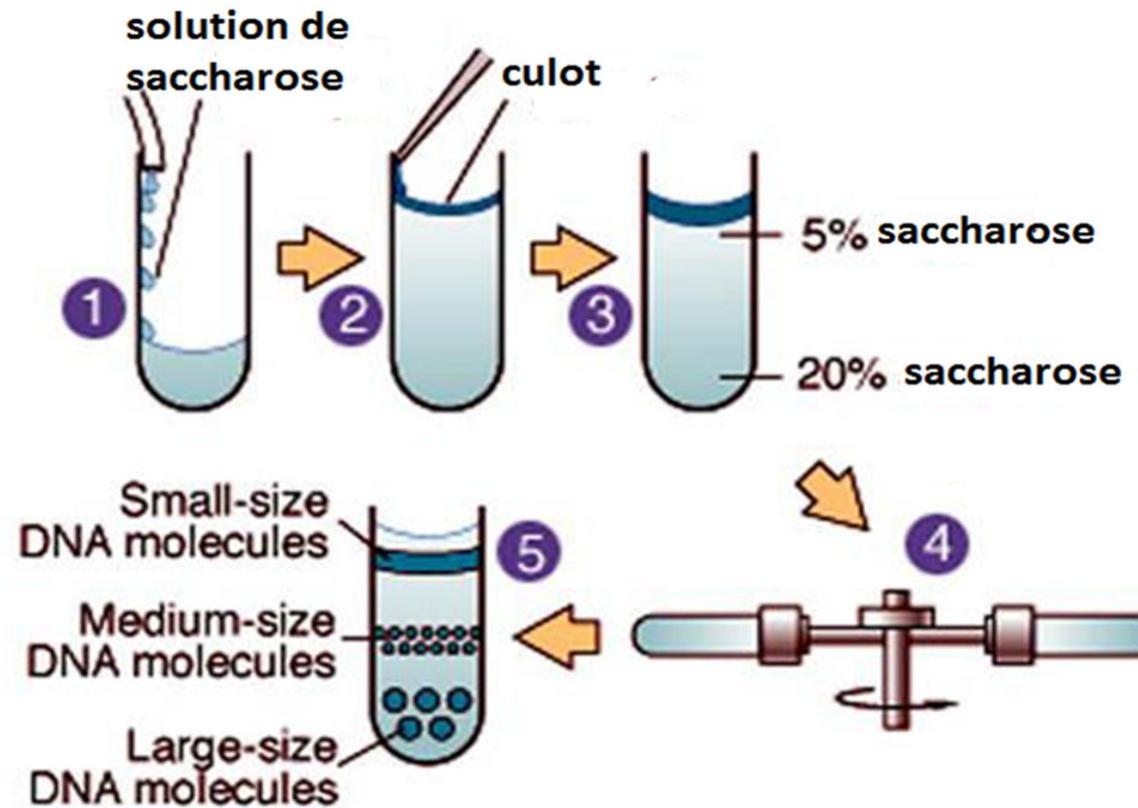
2- 2 - La centrifugation sur gradient de densité de saccharose ou UGD :

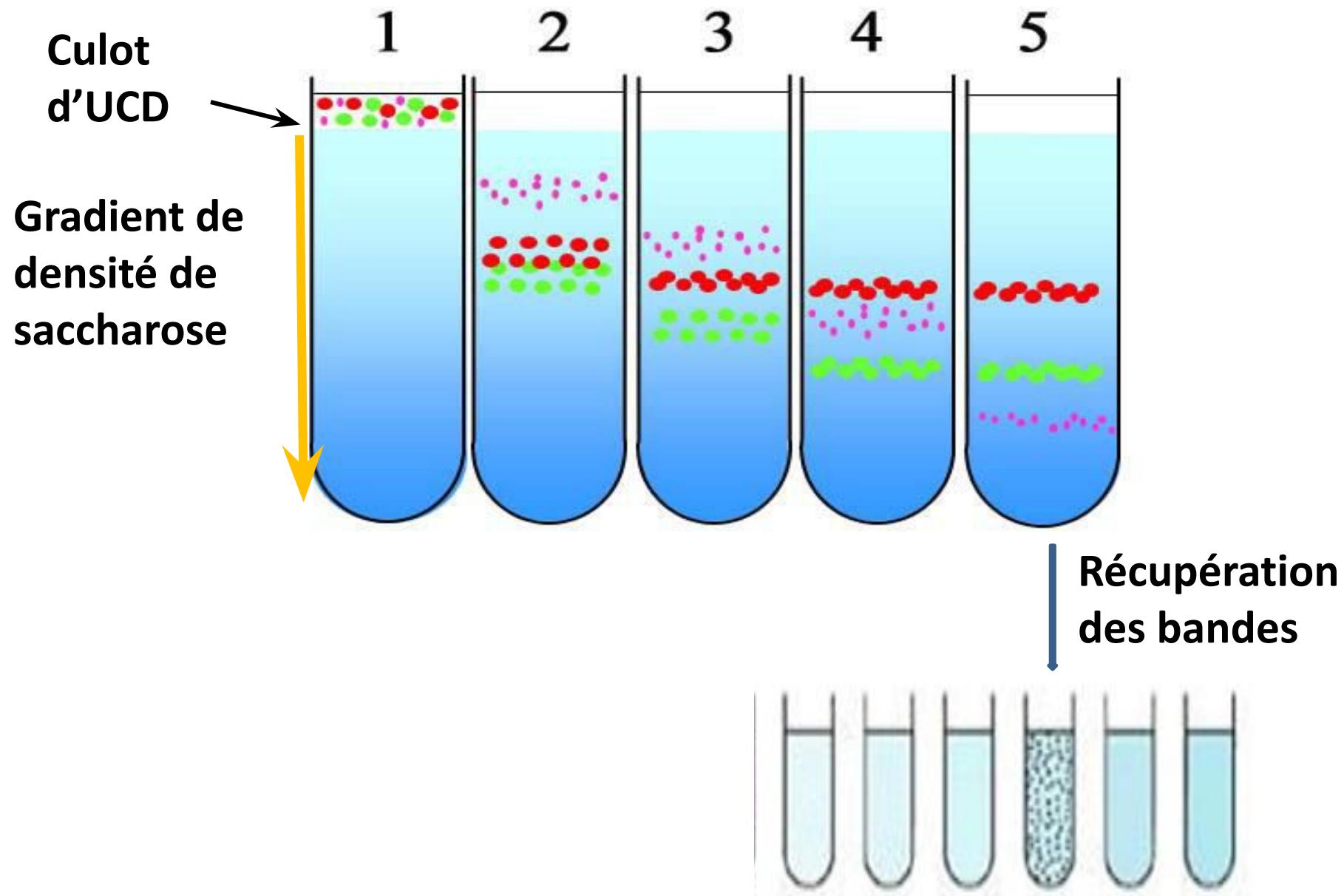
La centrifugation (étape 4) entraîne le déplacement des composants du culot (récupéré à l'UCD) à travers le gradient de densité de saccharose et s'arrêtent en une bande à leur densité (étape 5) .

Technique d'UGD

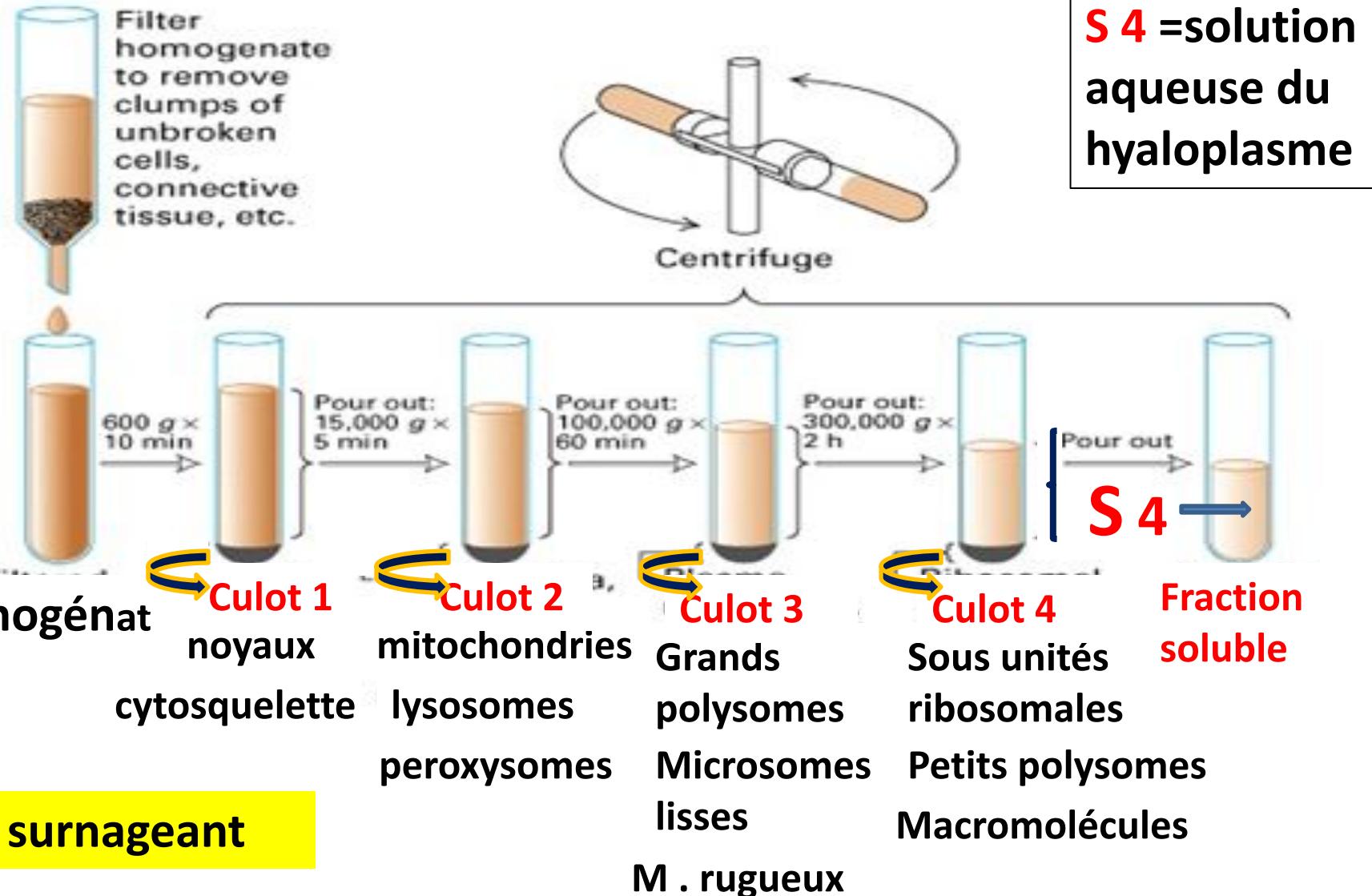


Purification de chaque culot obtenu par UCD





L'UCD consiste à récupérer en plusieurs centrifugation des culots à contenus hétérogènes



Contenu de chaque culot après UGD

Culot 1 = noyaux + éléments du cytosquelette

Culot 2 = mitochondries + lysosomes + peroxysomes

Culot 3 = grands polysomes +microsomes rugueux (REG) + microsomes lisses (REL , Appareil de golgi , membrane plasmique)

Culot 4 = petits polysomes + sous unités ribosomales + macromolécules (glycogène ,triglycéride. .)+ virus (si la cellule fractionné est infectée)

Le surnageant 4 correspond à la solution aqueuse du hyaloplasme

L'interét de la technique d'isolement

Il est nécessaire d'isoler des structures cellulaires dans le but d'étudier :

- leur composition chimique
- leur morphologie externe (comme le cas :des ATP osomes mitochondriales , des ribosomes) par contraste négatif