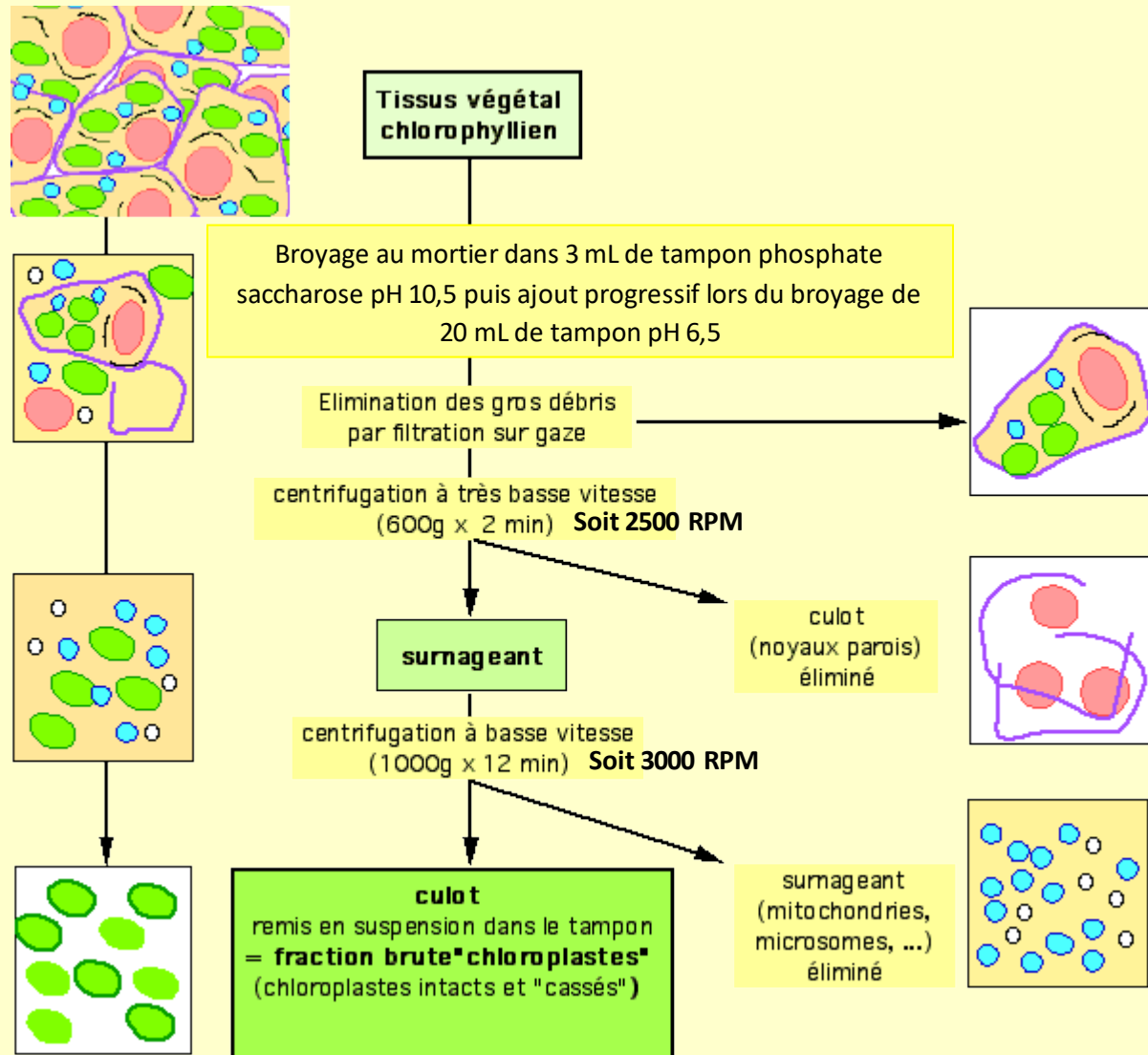


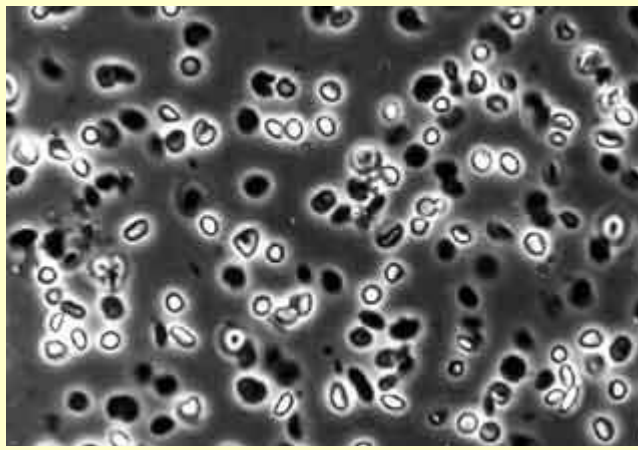
L'isolement et la purification de chloroplastes

L'étude du chloroplaste entier "*in vivo*" ne permet pas d'analyser avec précision leur fonctionnement et leur composition biochimique. Aussi, est-il nécessaire d'isoler des fractions pures de chloroplastes en bon état pour éviter toute contamination par d'autres organites (mitochondries, par exemple).



Protocole schématique d'isolement de chloroplastes.

A partir de ce protocole, diverses procédures de purification permettent de séparer les chloroplastes "cassés" des chloroplastes intacts, physiologiquement actifs.

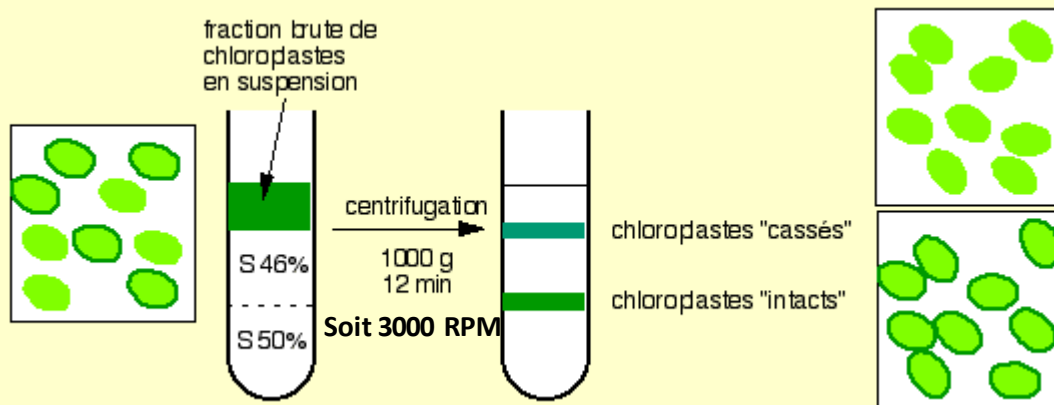


Fraction brute de chloroplastes isolés observés en contraste de phase.

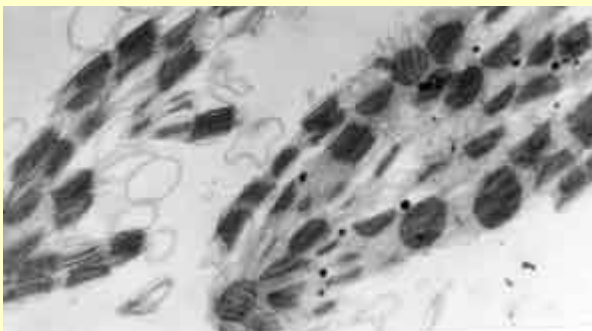
Les chloroplastes intacts pourvus de leur enveloppe apparaissent brillants.
Les chloroplastes "cassés" dépourvus de leur enveloppe apparaissent sombres.

(Cliché : Christiane Tuquet).

La séparation des chloroplastes intacts et "cassés" peut se faire sur le principe suivant, en utilisant leur différence de densité.



Le culot de la fraction brute de chloroplastes est remis en suspension dans le tampon. On prépare des tubes à centrifugation contenant deux couches de saccharose de concentration différente (46 et 50%). La suspension de chloroplastes est ajoutée et les tubes sont centrifugés. Les chloroplastes "cassés" et intacts se séparent selon leur densité.



Chloroplastes "cassés".

Ils ont perdu leur intégrité. En particulier, leur enveloppe a disparu. (Cliché : Christiane Tuquet).



Chloroplastes intacts.

Leur ultrastructure est semblable à celle qu'ils avaient "*in situ*". (Cliché : Christiane Tuquet).

A partir de la fraction pure de chloroplastes intacts de plantules de maïs, il est possible de séparer les **différents constituants**.

Pour voir : les **autres techniques d'étude** des chloroplastes.

Pour connaître : l'**ultrastructure** du chloroplaste des plantes supérieures.