Ordre de grandeurs des cellules

|  |  |
| --- | --- |
| Type de cellules | Taille en μm (10-6m) |
| Végétale | 100 |
| Animale | 10 |
| Bactérienne | 1 |
| Virus | 0,25 |

## Les colorations

Les tissus sont colorés grâce aux réactions acido-basiques. Il existe deux types de coloration :

* Bleue colore les acides (exemple : le bleu de méthyle).
* Rouge colore les bases.

ADN, collagène

Il existe des mélanges de ces deux solutions appelés trichrome de Masson.

Mettre en évidence des propriétés de réducteur

Réaction avec la liqueur de Fehling (bleu passa au rouge).

## Microscopie

Source photons ou électron.

### Microscopie optique ou photonique

### Microscopie électronique

Il existe deux grands types de microscope électronique :

* Transmission révèle l’ultrastructure.
* Balayage révèle le relief d’une surface. La mesure les angles de réfection des électrons

Généralement en ajout des métaux lourds pour augmenter la

Électronique :

* Résolution importante
* Ultra structure visible distingue les organites
* Les électrons traversent la coupe
* Noir/blanc

## Les schémas

Un schéma doit contenir :

* Titre
* Phylogénie
* Grossissement et échelle

### Le titre

Le titre doit contenir les éléments suivants :

* Type de dessin
* Le sujet dessiné
* L’espèce observé entre parenthèse et soulignée
* L’outils utilisé pour l’observation (microscope, à l’œil nu…)
* Le type de préparation utilisé (commercial ou personnel)
* L’utilisation d’une coloration (coloration au …)
* Dans un cadre, mettre la phylogénie.

Exemple : Dessin d’observation d’une cellule d’Elodée (Elodea canadensis) au microscope optique. Préparation personnelle avec coloration.

Dans un cadre, mettre l’ensemble des rangs taxonomiques et souligner l’espèce.

### Calcul du grossissement

Sur un microscope, on trouve

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| Oculaire | Grossissement oculaire (10X)  Indice de champ (18mm) |
| Objectif | Grossissement objectif (40X) |

Grossissement : grossissement oculaire × grossissement objectif

Diamètre du champ : indice de champ/grossissement objectif

Exemple : G=occ 10 ×obj 40

Taille réelle du sujet observé

Taille du sujet observé : Taille= diamètre du champ ×proportion sujet

NB : proportion du sujet cela correspond à proportion du sujet dans le champ. Par exemple, le sujet occupe 0.75 (7%) du champ visuel.

### Calcul de l'échelle

L’échelle est la correspondance entre 1 centimètre sur le dessin et la taille réel du sujet.

Échelle= (1 cm) /(taille du dessin)×taille réel du sujet

# Microscopie optique

Pour rappel, la lumière est un phénomène électrique et magnétique et dans un système l’énergie ne peut que diminuer.

Rmq : le verre et l’huile ont souvent un n proche.

Polariser filtrer une lumière en fonction de l’angle d’incidence des ondes.

Microscope est un appareil composé :

* D’un objectif qui sert à
* D’un oculaire qui sert à corriger les aberrations.

Les aberrations sont dû au fait que la fréquence des ondes lumineuses a une incidence sur l’angle de réfraction lors d’un changement de milieu. Cela donne lieu au phénomène de diffraction.

Diffraction phénomène d’étalement de la lumière.

Ouverture numérique l’angle d’écart et la quantité de réfraction.

L’indice de réfraction est une mesure l‘atténuation de l’onde dans le milieu.

### Résolution

La limite de résolution correspond à la mesure de la diffraction du système optique.

Nb : plus la résolution est grande moins l’image est détaillée.

La résolution peut se mesurer comme :

* La distance minimale qui permet de distinguer deux points.
* Le rayon d’un point appelé resel (plus il est grand, moins bonne est la résolution).

Ouverture numérique qui correspond à la taille de l’objet :

()

Mesurer le rayon du disque de l’image.

La résolution dépend :

* Du diamètre de l’objectif. Plus il est grand, moins il y a de diffraction et plus la résolution est basse.
* Des longueurs d’ondes utilisées.

Rmq : la microscopie électronique permet une meilleure résolution car la longueur d’onde des électrons est beaucoup plus faible que celle de la lumière.

### Enregistrement d’une image

Dans le cas d’une image numérique, il faut déterminer la résolution optimale pour enregistrer une image. Il faut à la fois conserver le plus d’informations limitant la taille du fichier.

Le meilleur compris est d’enregistrer avec une résolution de l’appareil pour chaque image.

## Champs sombre et contraste de phase

Le principe est de modifier la façon dont on éclaire l’échantillon pour visualiser les détails.

Contraste augmenter utilisation de la réfraction différente en fonction de la composition de l’échantillon.

Phase propriété d’addition et de soustraction des longueurs d’onde.

Un anneau lumineux éclaire l’échantillon.

Fonction d’un microscope spectre d’absorbance

Peu fluorescence + exemple critère du choix

Technique micro

Microscopie a fluorescence à champ large

Réponse au problème d’une nombre trop faible d’émission de fluochrome

Eclair et capte la lumière sur une épaisseur de l’échantillons.

Déconvolution pour rendre l’image net. Traitement numérique.

Microscopie confocale

L’échantillon est éclairé de façon graduelle.

Photoblanchiment perte de la faculté d’une molécule à être fluorescente. Elle se produit pour donner suite à la l’oxydation.

Utilisé pour suivre la cinétique en créant une zone bleacher comme référence.

# Fluorescence

* Luminescence par l’excitation des électrons d’un atome. On parle de fluorescence si le temps de démission d’un nouveau photon est « instantané » et sinon de phosphorescence.
* Incandescence par la chaleur (agitation thermique).
* Électroluminescence par le passage d’un courant d’électrons.
* Radioluminescence.
* Chimiluminescence lorsque le photon est produit au cours d’une réaction chimique (dont la bioluminescence de la luciférase).

De nombreux paramètre influence le rendement et l’efficacité du fluorochrome (polarité, ph, ions, liaison OH, pression, viscosité, T°, inhibiteurs, potentiel électrique).

Polarité un solvant faiblement polaire à tendance à diminuer la longueur d’onde d’émission.

En augmentant la viscosité, on limite la dégradation du fluorochrome.

Fonction d'étalement du point correction informatique.

Confocal illumination de l’échantillon par laser. Précision de la zone éclairée. Modifie la façon dont l’échantillon est éclairé.

Déterminer la bonne dimension d’une image pour limiter la perte de donner lorsqu’il y a une conversion en binaire (enregistrer en format informatique).

L’idée est de

Résolution x grossissement

Résolution maximale au double de celle du système d’acquisition.