Tutorat UE2 2011-2012 – Cytologie - Fiche n°1 à compléter

Microscopie

	Microscopie optique				Microscopie électronique			
	Coupe	Extemporanée	Frottis	Ȼ vivante	MET *x 500 000*			MEB *x 100 000*
					Coupe	Cryofracture	Cryodécapage	
Fixation Inactivation des Enzymes, état proche du vivant	Aldéhydes (formol, glutaraldéhyde) **ou** sels oxygénés de métaux lourds ($KMnO_4$)		Une dessiccation peut suffire. NB : MGG inclut des fixateurs de faible efficacité (méthanol)		**Double fixation** glutaraldéhyde + post fixateur OSO_4	On refroidit l'échantillon à -196°C (azote liquide) + cryoprotecteurs		**Double fixation** glutaraldéhyde + post fixateur OSO_4
Déshydratation	Bains d'OH de degrés croissants Puis solvant organique						Sublimation	
Inclusion	Procédé physique réversible **paraffine**				Méthode chimique irréversible : résine époxy			
Coupe	Microtome 5-10µm	Cryotome 15µm			50nm ultramicrotome	Fracture passant par les zones de moindres résistances		
Réhydratation	Déparaffiné avec solvant organique puis ramené à l'eau							Redonner le volume initial avec CO_2 liquide
Coloration	-**signalétique = topographique** : repérer la forme précise de la cellule et des organites les plus volumineux (région basophile = noyau, REG, lysosomes→ hématoxyline , région acidophile = protéines → éosine) -**cyto-histochimiques** : colorent les différentes substances chimiques de façon spécifiques			-**vitaux** (vert janus B pour la mitochondrie, bleu de Trypan pour le test d'exclusion)	-**signalétique** : après inclusion = imprégnation par les sels de métaux lourds -**spécifiques** : avant inclusion	**Ombrage** métallique : vaporisation de Pt		**Ombrage** métallique
Observation	Lame porte objet Objectif à sec ou à immersion	Enzymes = activent → cyto-histoenzymo				membrane	Cytosquelette cortical	Surface de l'objet
Microscopes	Transmission : **Absorption Réémission**	Transmission : **Absorption Réémission**	Transmission : **Absorption Réémission**	Microscope inversé objectif maximal x40 (toutes les techniques sont applicables)				Réflexion