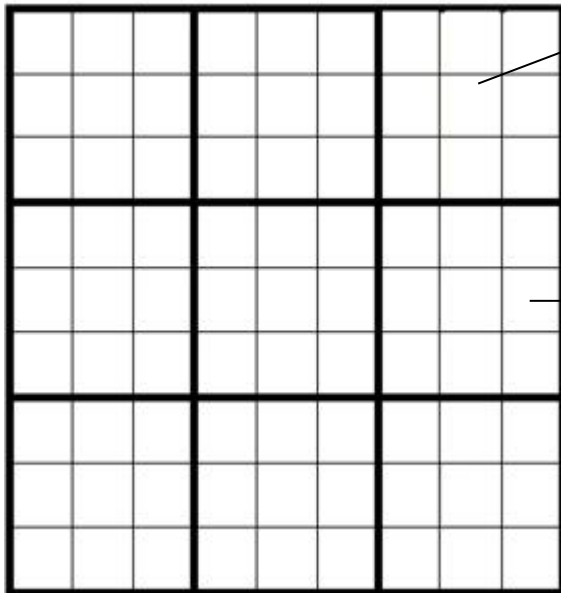


TP de biologie cellulaire et moléculaire

Exploitation des résultats des TP 4 et 5

Détermination de la concentration d'une suspension de microorganismes

$1 \text{ mm}^3 = 1 \mu\text{L}$

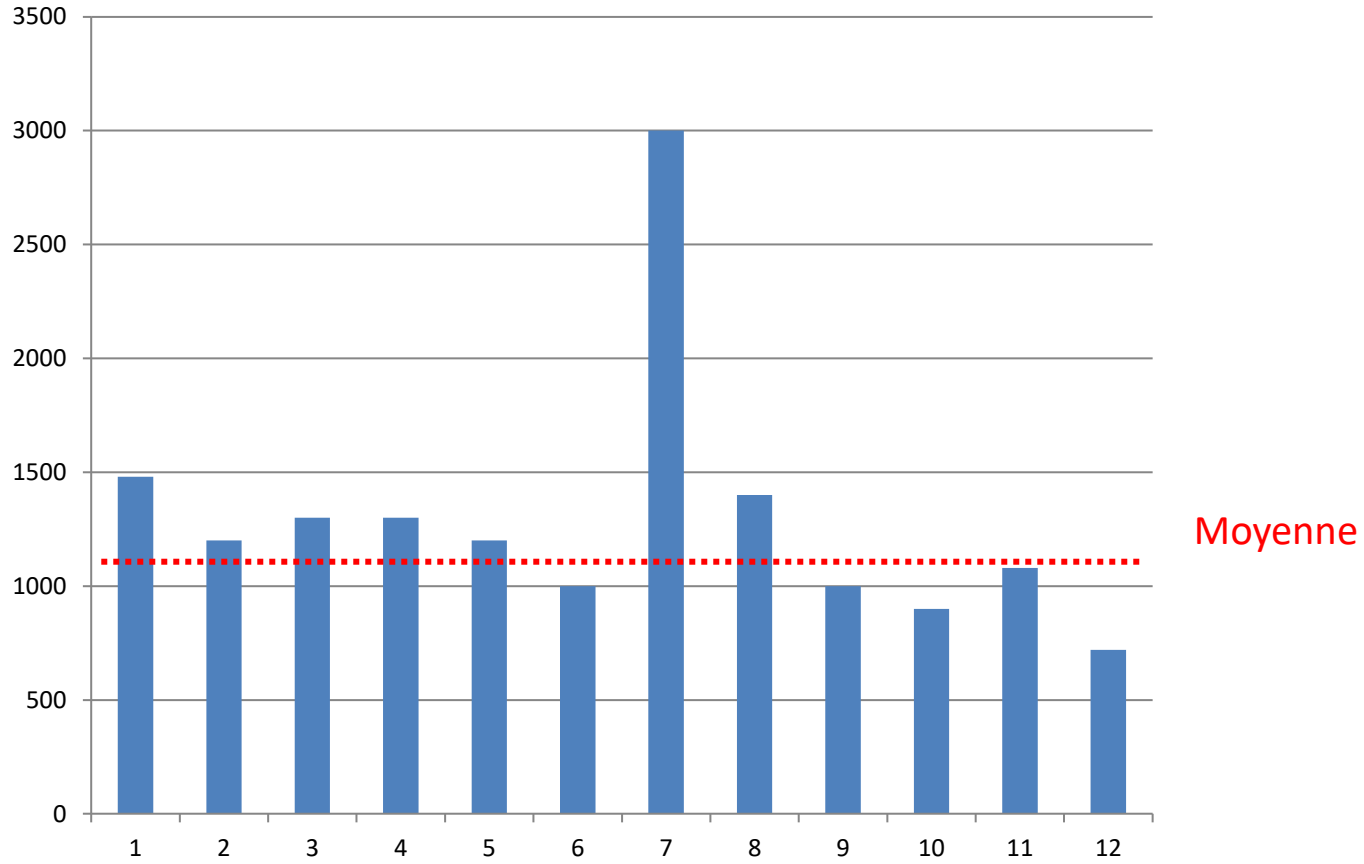


$V1 = \text{volume de liquide sous un grand carré} = 0,1 \mu\text{L}$

$V0 = \text{volume de liquide sous un petit carré} = 0,33 * 0,33 * 100 \mu\text{m}^3 = 0,011 \mu\text{L} \approx 0,01 \mu\text{L}$

$V = \text{volume de liquide dans la grille} = 3 * 3 * 100 \mu\text{m}^3 = 0,9 \text{ mm}^3 = 0,9 \mu\text{L}$

Résultats obtenus par les différents groupes



Sous un petit carré, on compte en moyenne $n = 12$ cellules

Tableau 2. Calculs conduisant à la détermination de la concentration cellulaire

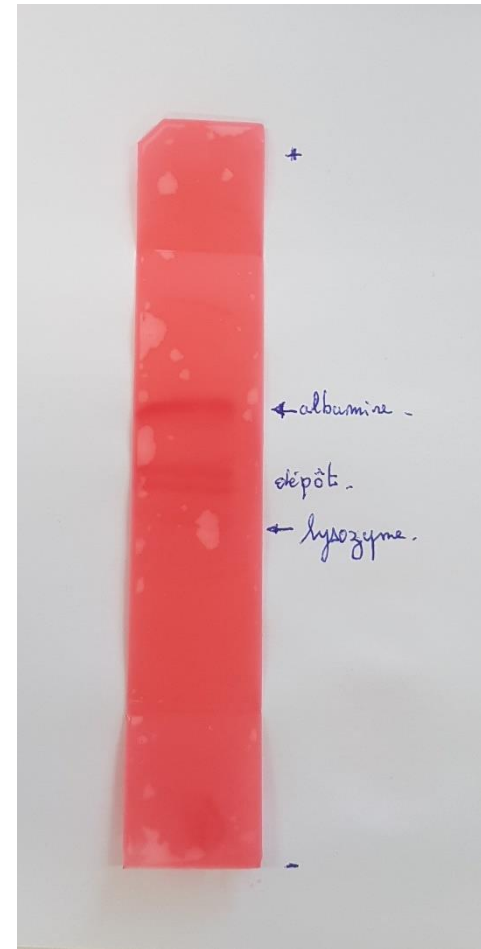
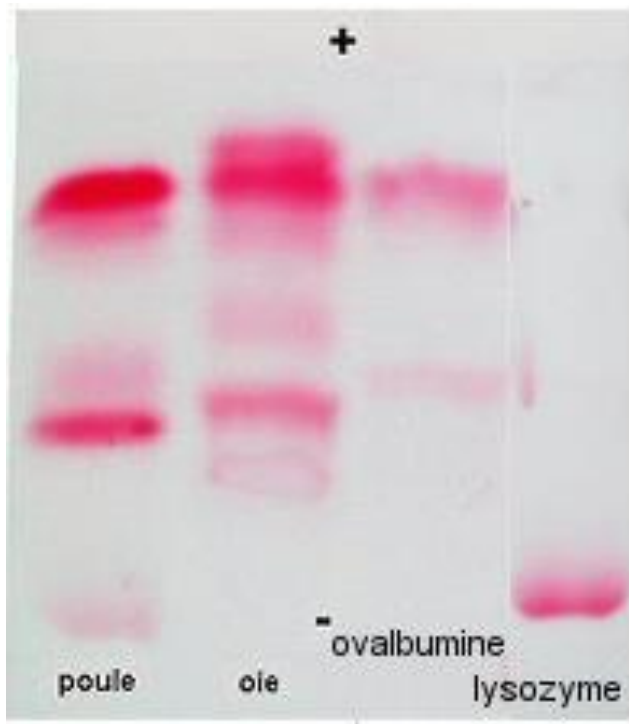
Nombre de cellules comptées	12
Volume sur lequel s'est fait le comptage	0,01 μL
Concentration cellulaire de la suspension introduite dans la cupule (cellules / μL)	$C_d = 12/0,01 = 1200 \text{ cellules / } \mu\text{L}$
Facteur de dilution de la suspension initiale	1
Concentration cellulaire de la suspension étudiée (cellules / mL)	$C = C_d = 1,2 \cdot 10^3 \text{ cellules / } \mu\text{L}$ $C = 2,4 \cdot 10^6 \text{ cellules / mL}$

Possible d'estimer la masse d'une cellule de levure...

Séparation par électrophorèse sur
bande d'acétate de cellulose des
protéines du blanc d'œuf d'oiseau

Résultats

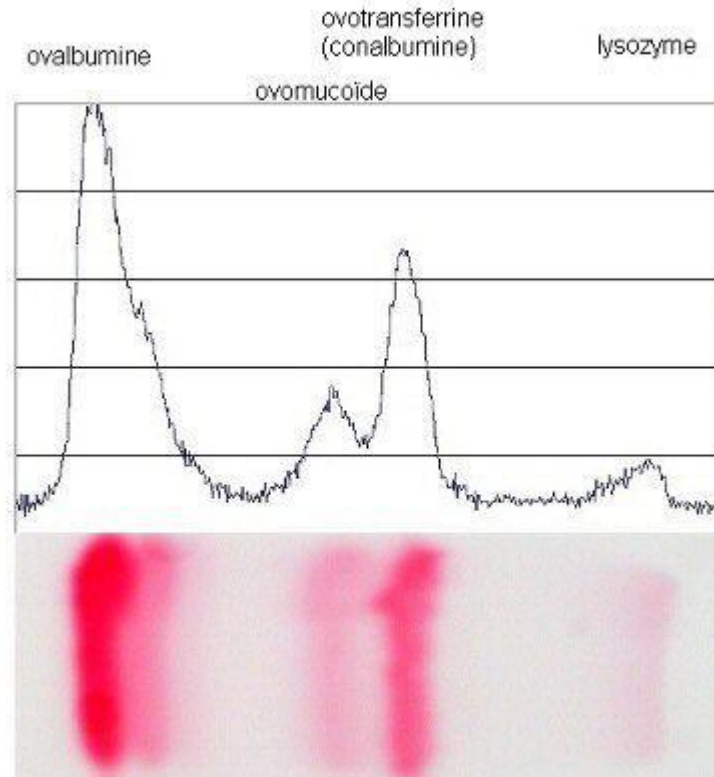
<http://www.didier-pol.net/3elec-protoeuf.htm>



Résultats d'Armand

Profil densitométrique des protéines du blanc d'oeuf de poule (coloration par le rouge Ponceau)

<http://www.didier-pol.net/3elec-protoeuf.htm>



Électrophorèse d'ADN sur gel d'agarose

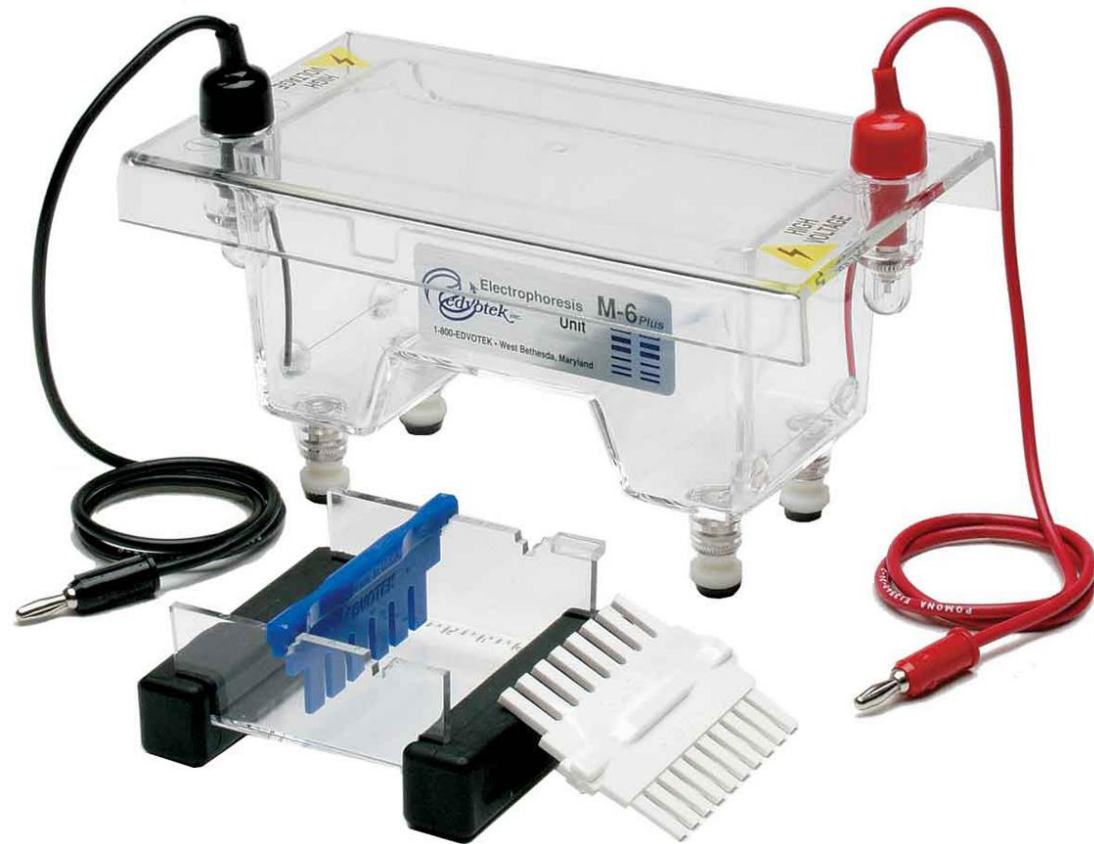
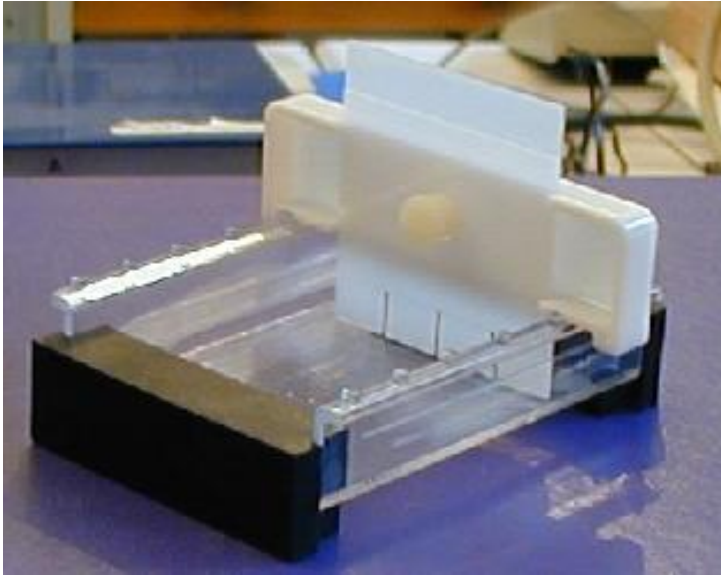
<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/ATP/bioch1.htm#pratique>

Cathode

-

Anode

+



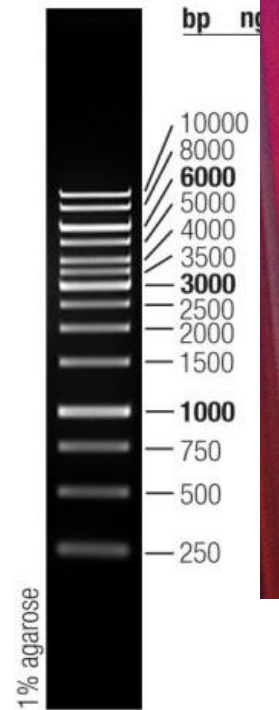
Même mode opératoire que pour les flash gels mais c'est plus long à mettre en oeuvre

Électrophorèse d'ADN sur gel d'agarose (FlashGel)



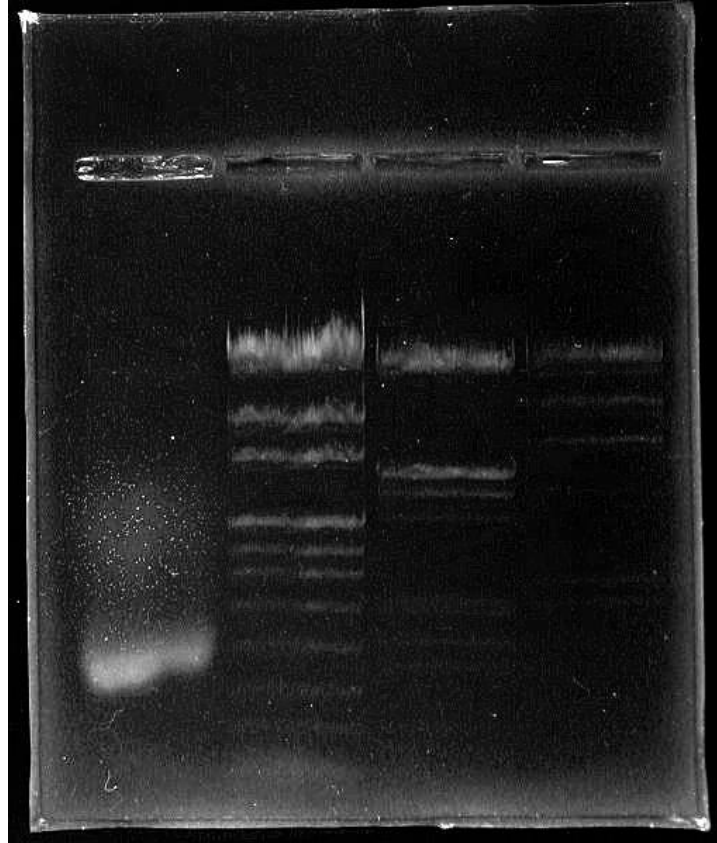
Photographie d'un des gels après migration

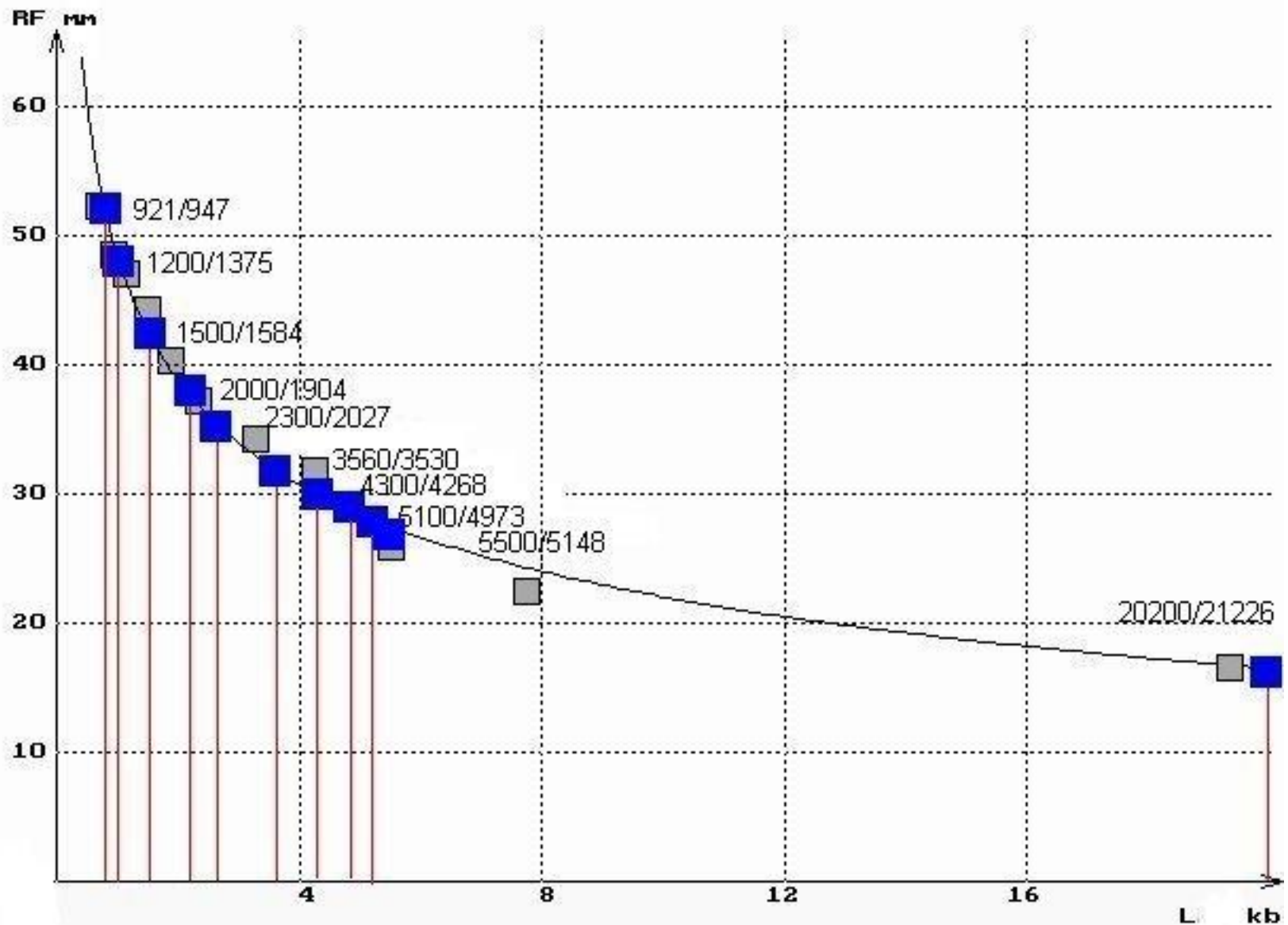
GeneRuler 1 kb DNA Ladder



Exploitation des résultats d'une électrophorèse d'ADN sur gel d'agarose

<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/ATP/bioch1.htm#D%C3%A9termination>

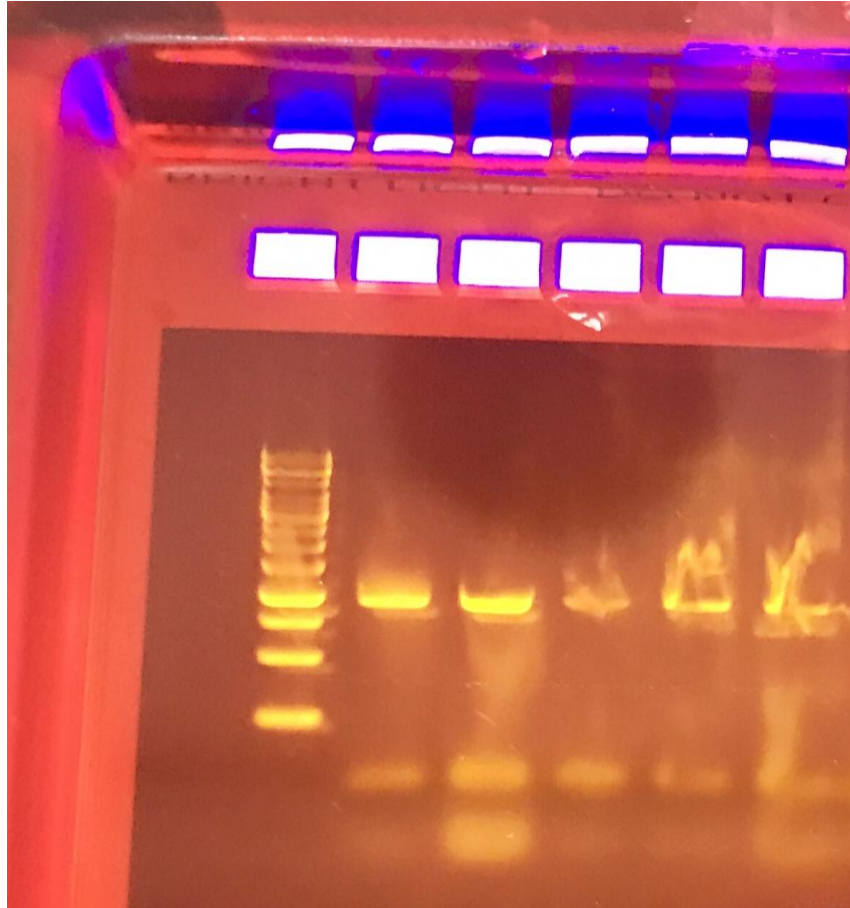




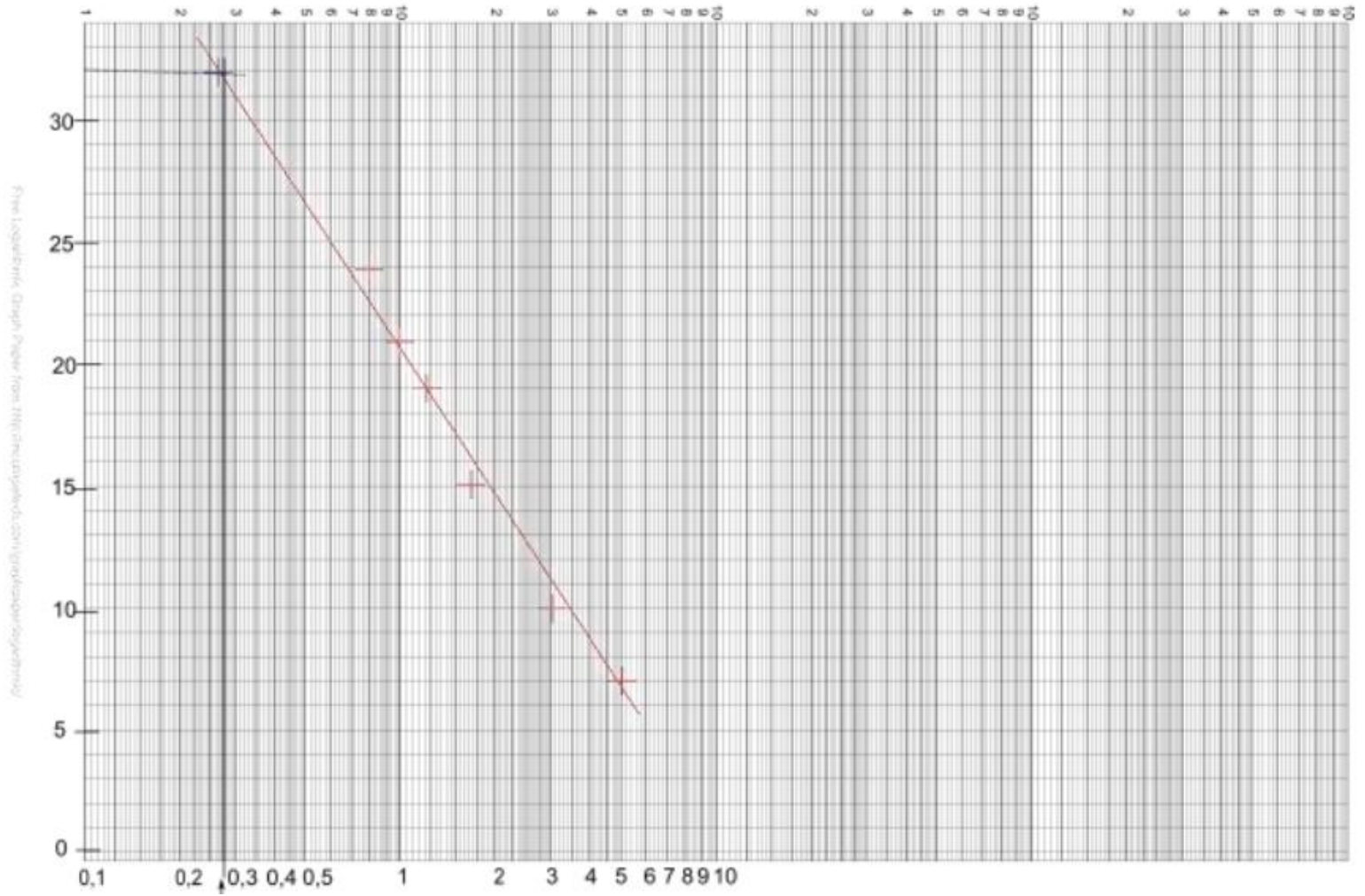
Détermination graphique de la taille de fragments de restriction

Photographie d'un des gels après migration

Marqueurs de taille(KB)	D mm
- 0,27	32
- 0,8	24
- 1	21
- 1,2	19
- 1,7	15
- 3	10
- 5,4	7

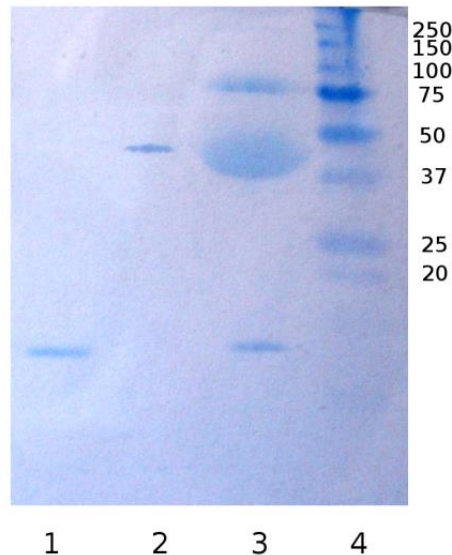


d D (mm)



Utilisation du papier semi log

Du blanc d'œuf de poule est dilué puis étudié grâce à une électrophorèse SDS-PAGE. En parallèle du blanc d'œuf, du lysozyme purifié et de l'ovalbumine purifiée ainsi que des marqueurs de masses moléculaires sont déposés dans le gel. Le résultat est révélé au bleu de Comassie.



Puits : 1 = lysozyme purifié ; 2 = ovalbumine de poule purifiée ; 3 = blanc d'œuf de poule ; 4 = marqueurs de masses moléculaires dont les valeurs sont indiquées à droite (kDalton).

Quelles informations peut on extraire de ce résultat?

Enzymologie

[substrat] (ua)	Vi (ua)	1/[substrat]	1/vi
1	0,023	1	43
0,5	0,0085	2	118
0,25	0,0066	4	152
0,125	0,0047	8	213

Pour $1/[S] = 0$ on calcule $1/V_{max} = 50$ ua d'où **$V_{max} = 0,02$ ua**
 Pour $1/V_i = 0$, on calcule $-1/K_M = -51/21,5$ d'où **$K_M = 0,42$ ua**

Autre façon de déterminer la V_i ?

Comparons avec les valeurs d'hier....

Rappel équation de Mickaelis Menten

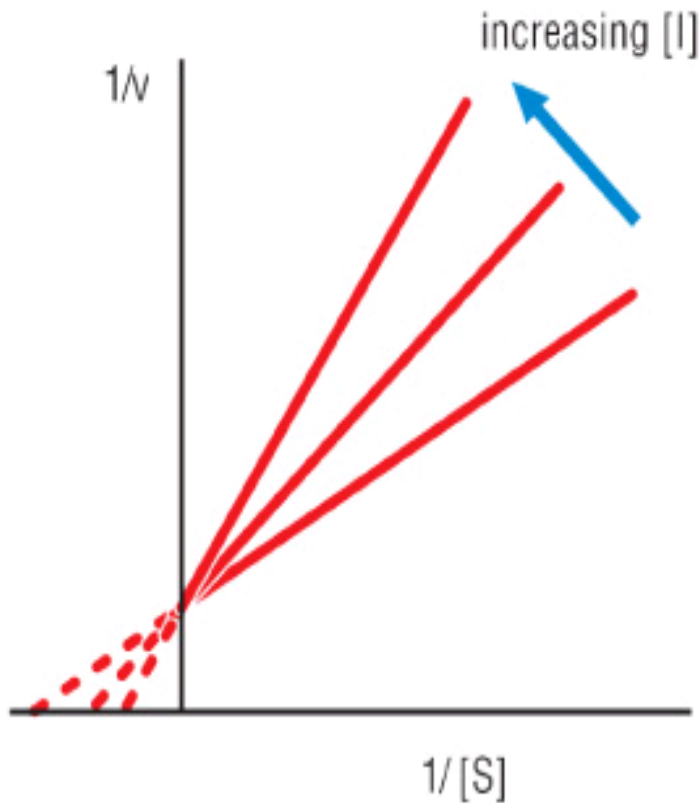
$$\frac{1}{v_i} = \left(\frac{K_M}{v_{max}} \times \frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{v_{max}}$$

$$V_o = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

Traduction cinétique de deux inhibitions

Compétitive

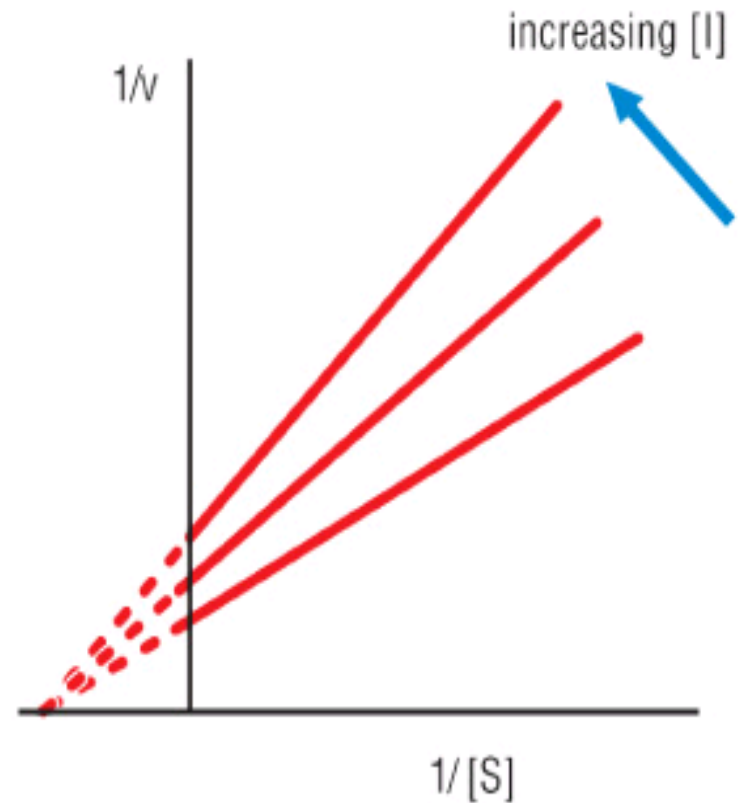
Pas de changement de V_m
Mais K_m augmente



competitive

Non compétitive

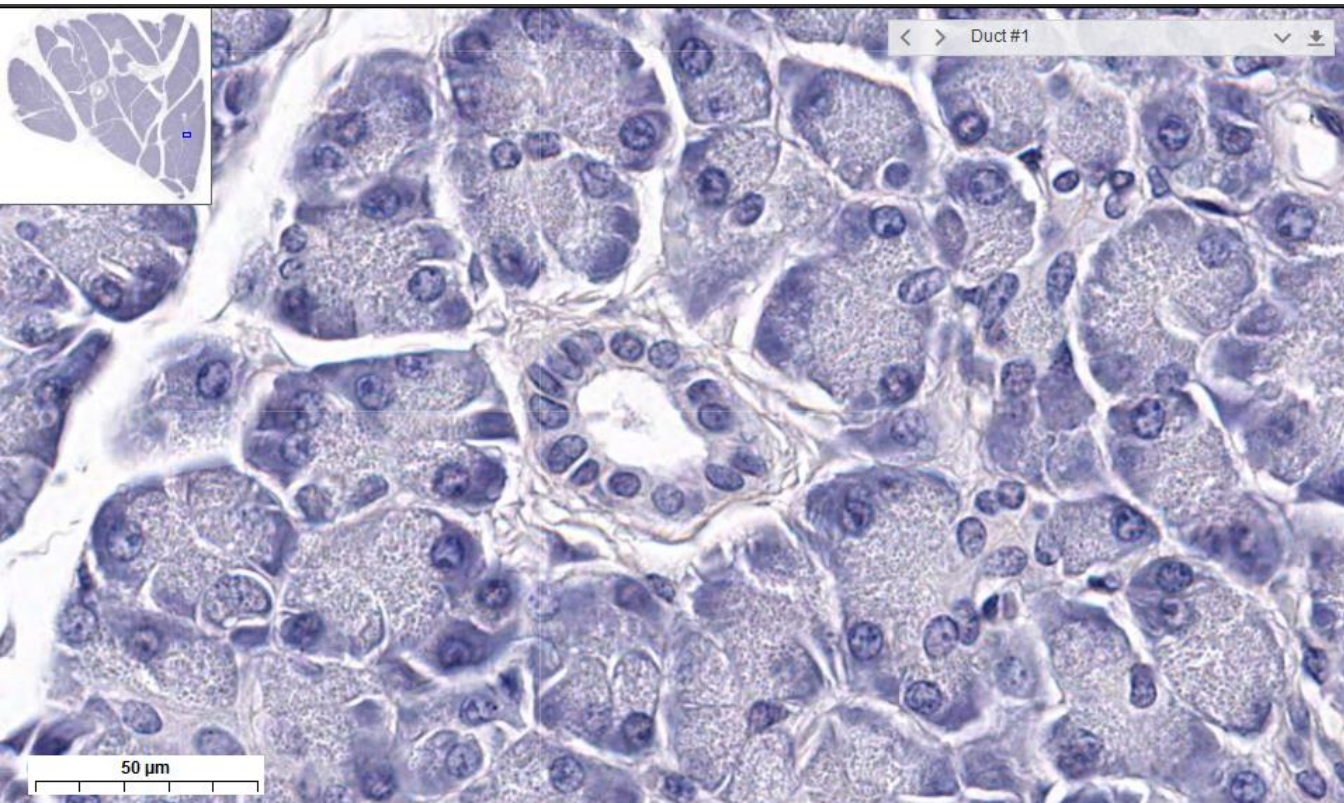
Pas de changement de K_m
Mais V_m diminue



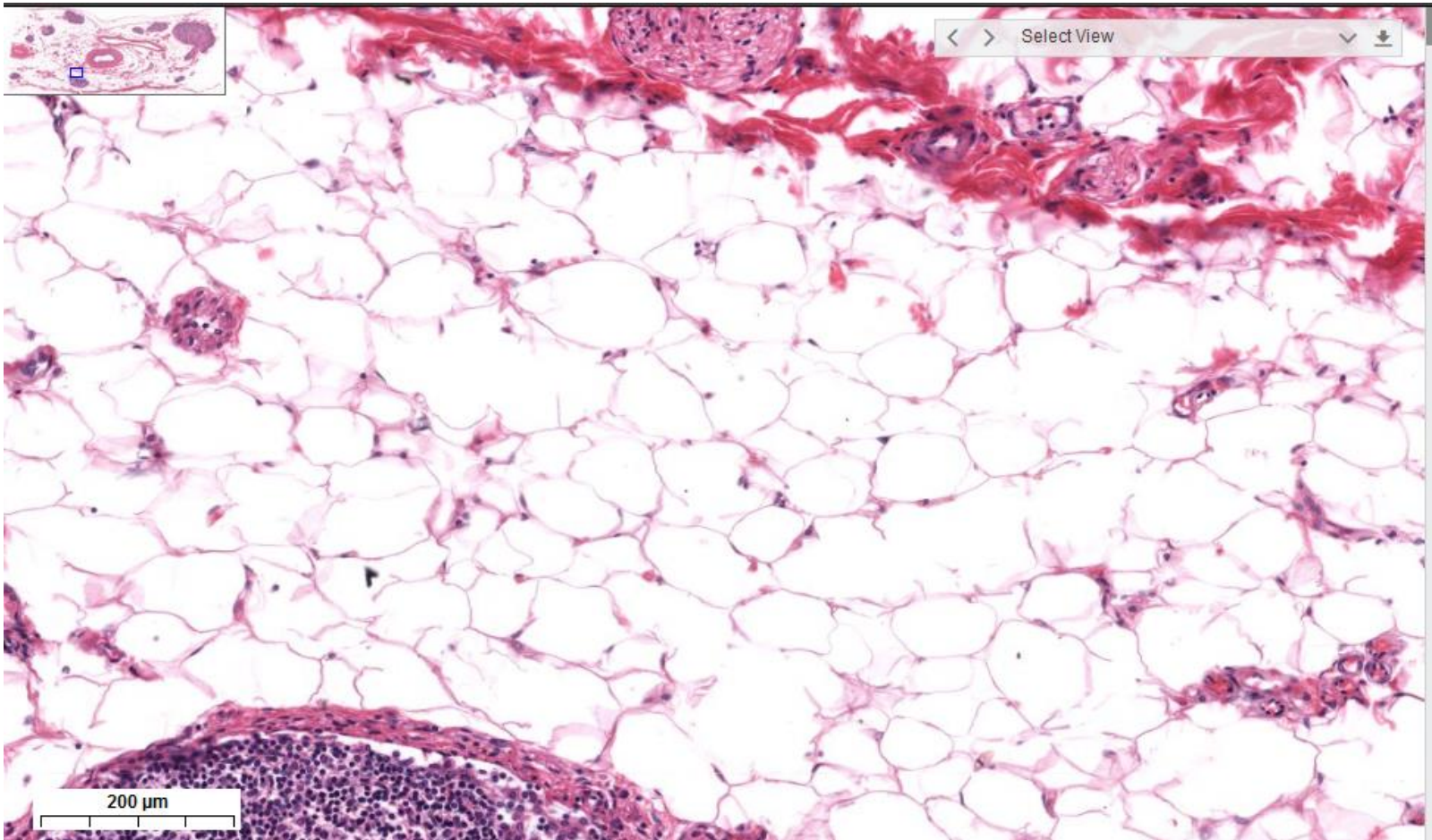
noncompetitive

Histologie animale

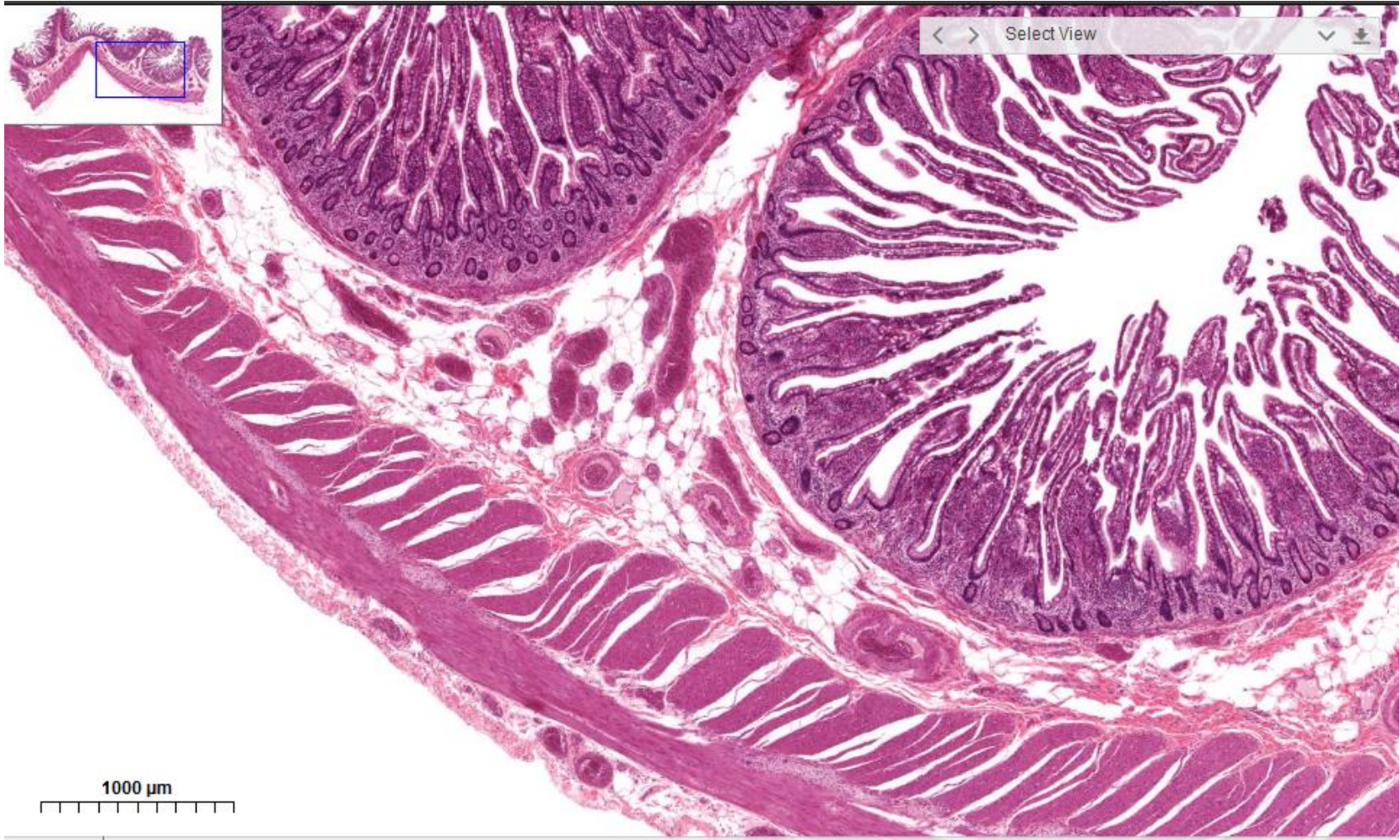
<http://www.histologyguide.com/index/index-A.html>



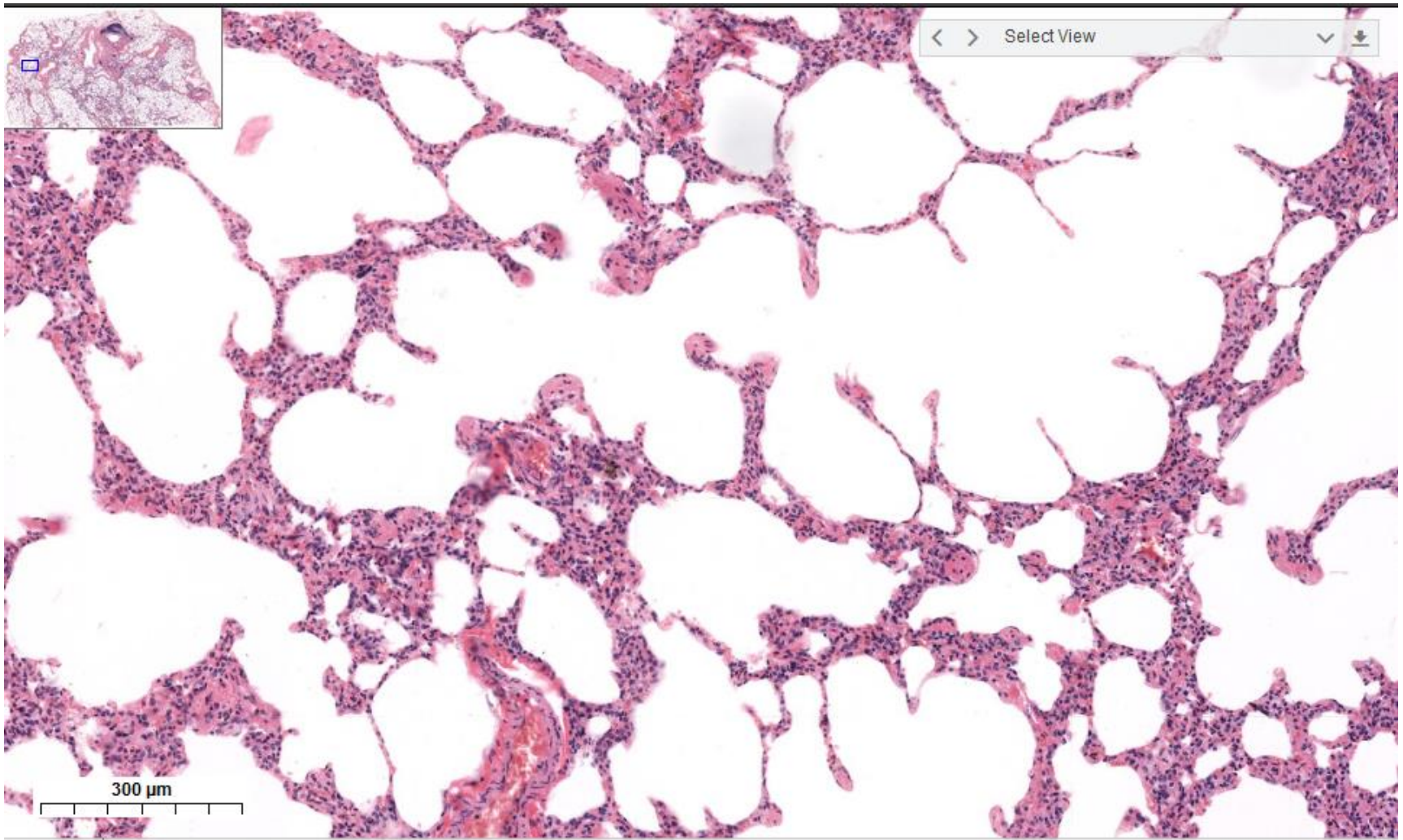
Tissu épithélial : pancréas exocrine



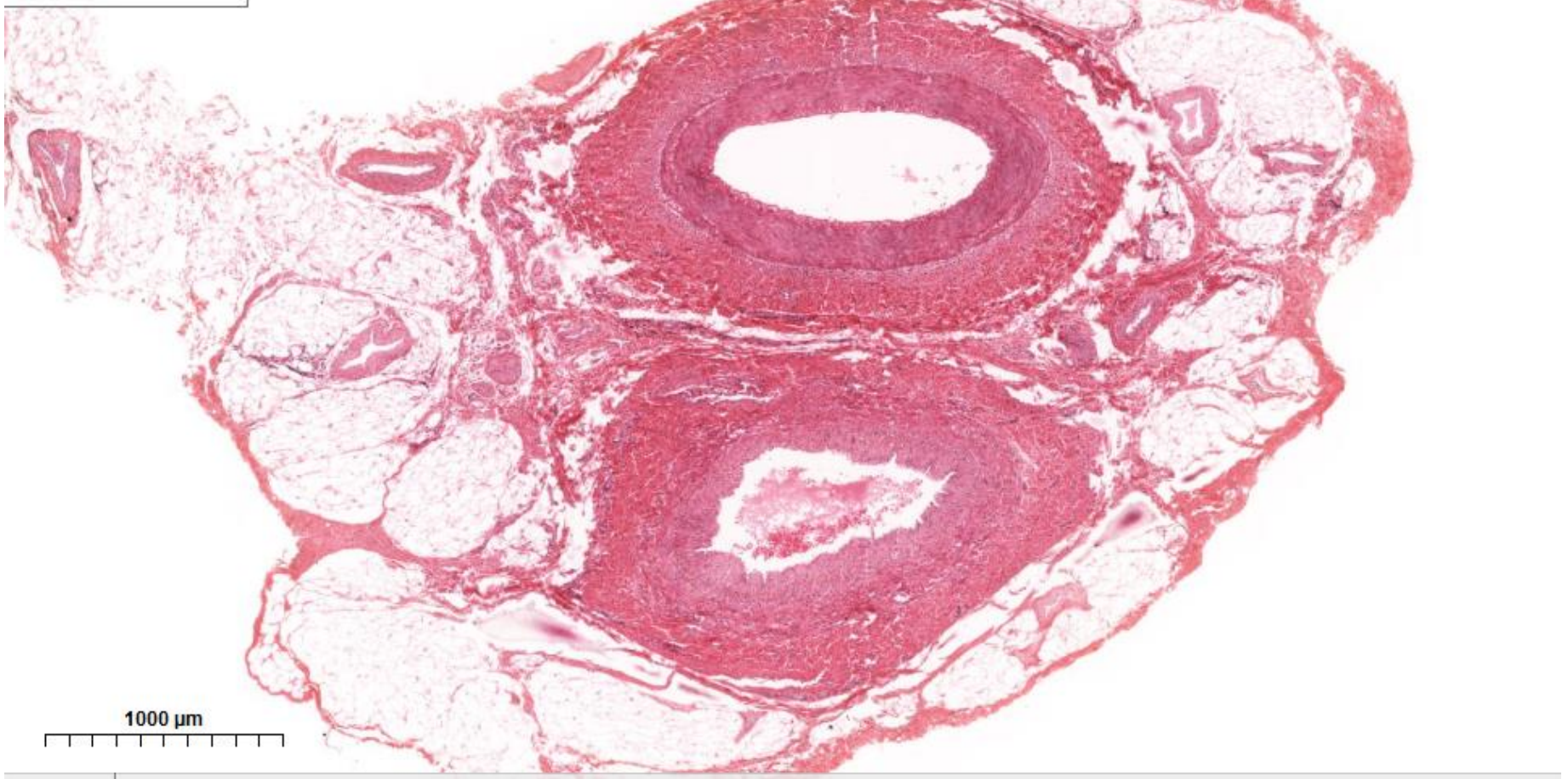
Tissu conjonctif : tissu adipeux



Coupe transversale intestin

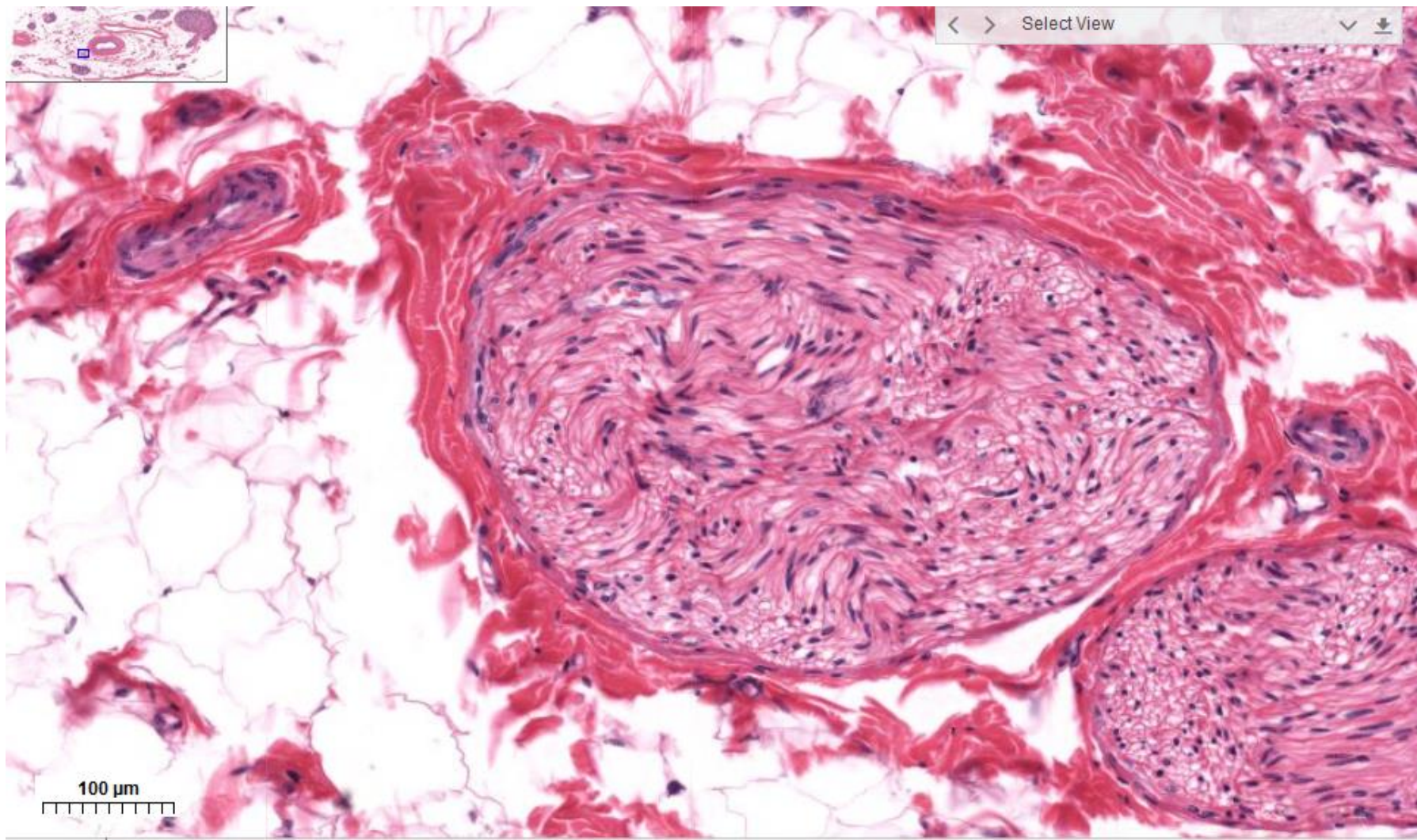


Poumon épithélium alvéolaire

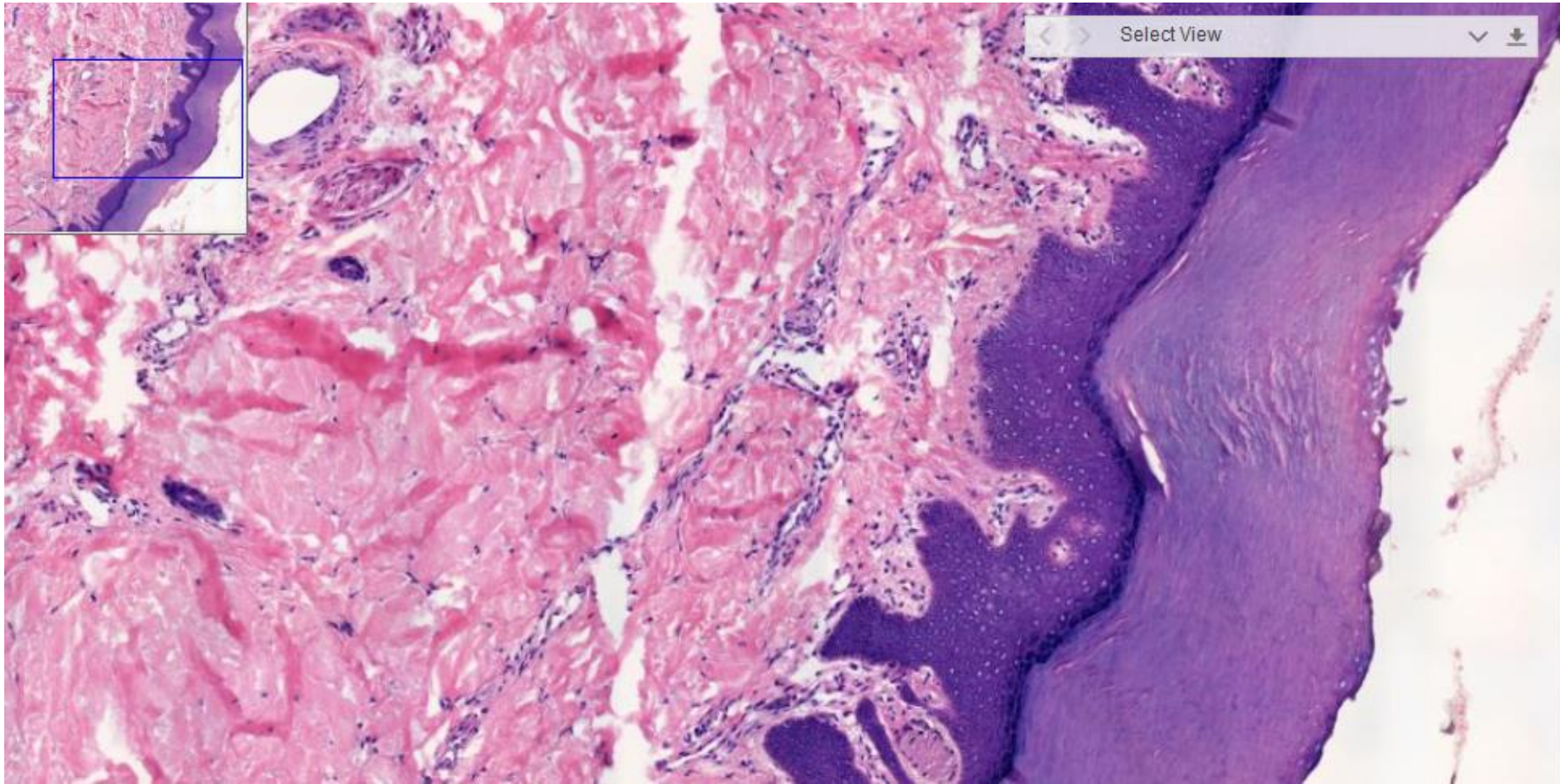


1000 μm

Artère et veine



Tissu neural



Peau de mammifère



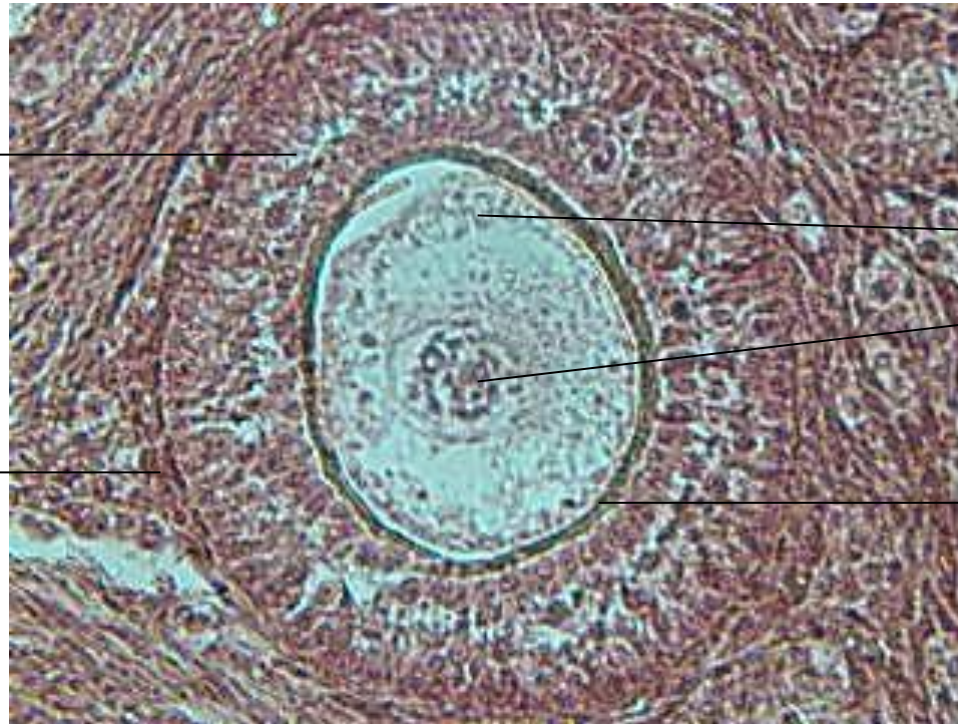
7mm



CT et CL de muscles

2 - Follicule secondaire

M.O. Grossissement x 100



Multiplication
des cellules
folliculaires

Cytoplasme

Noyau

Ovocyte I

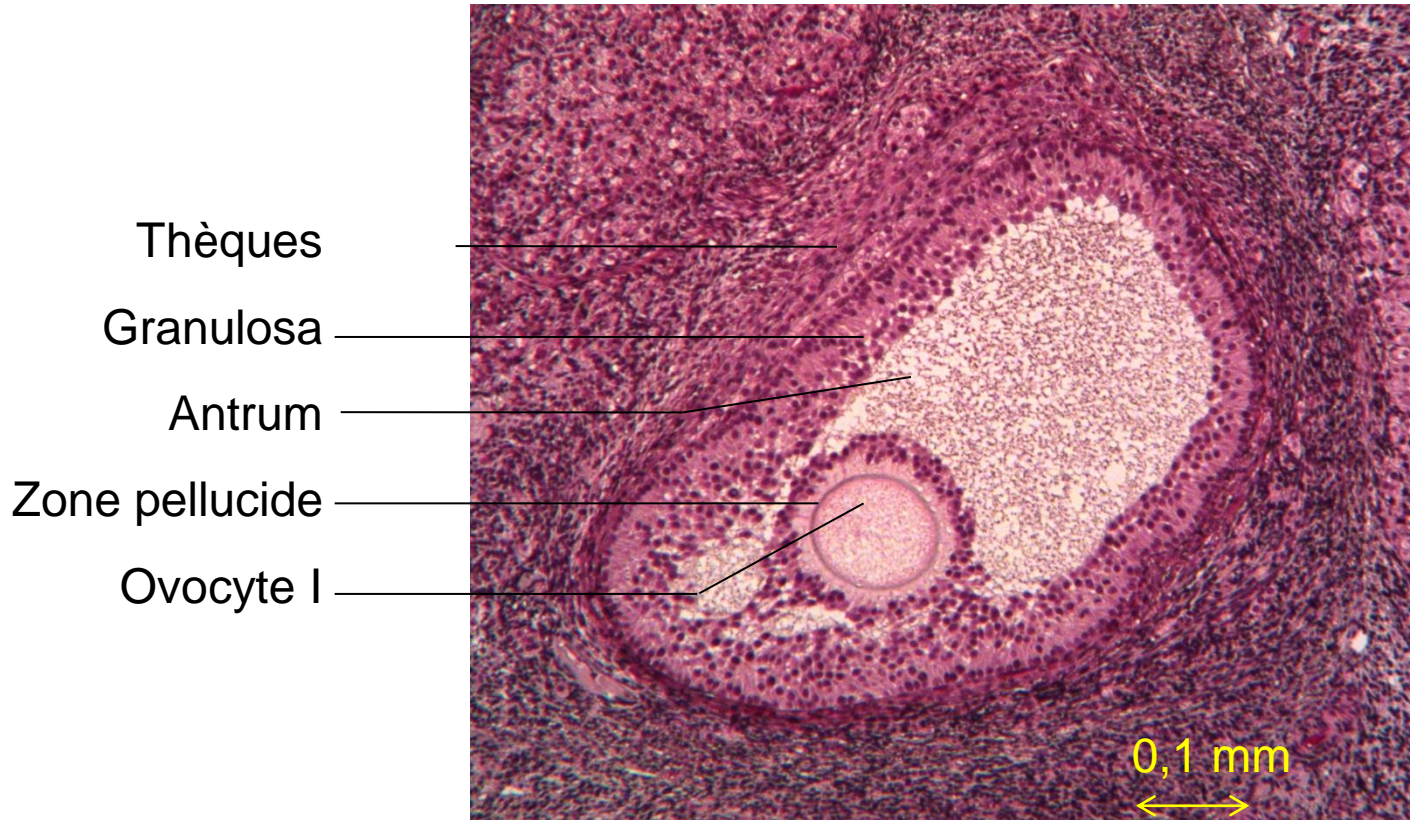
Zone
pellucide

Individualisation
des thèques

↔
0,1 mm

3 - Follicule tertiaire

M.O. Grossissement x 100

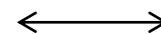


Follicule mûr de de Graaf

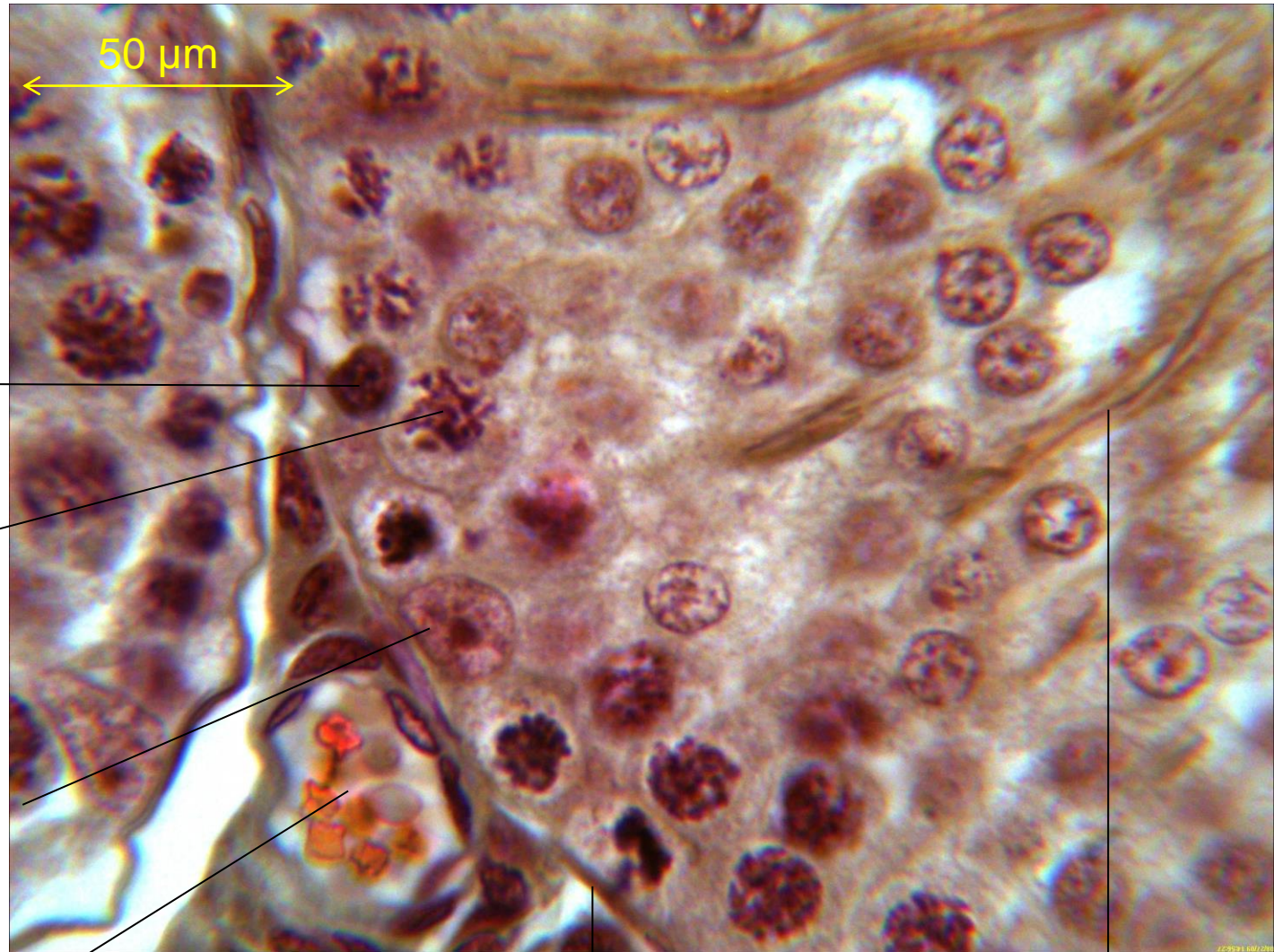
M.O. Grossissement x 100



0,2 mm



L'épithélium séminifère



Noyau d'une spermatogonie

Noyau d'un spermatocyte

Noyau d'une cellule de Sertoli

Vaisseau sanguin

Lame basale

Flagelle d'un spermatozoïde

