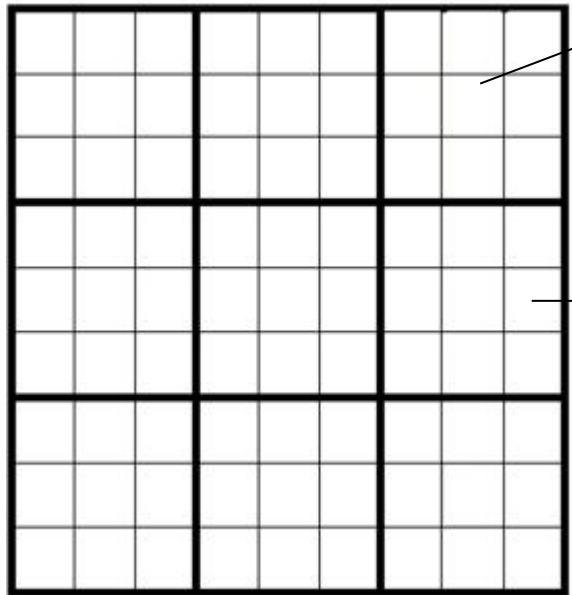


TP de biologie cellulaire et moléculaire

Exploitation des résultats des TP 4 et 5

Détermination de la concentration d'une suspension de microorganismes

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

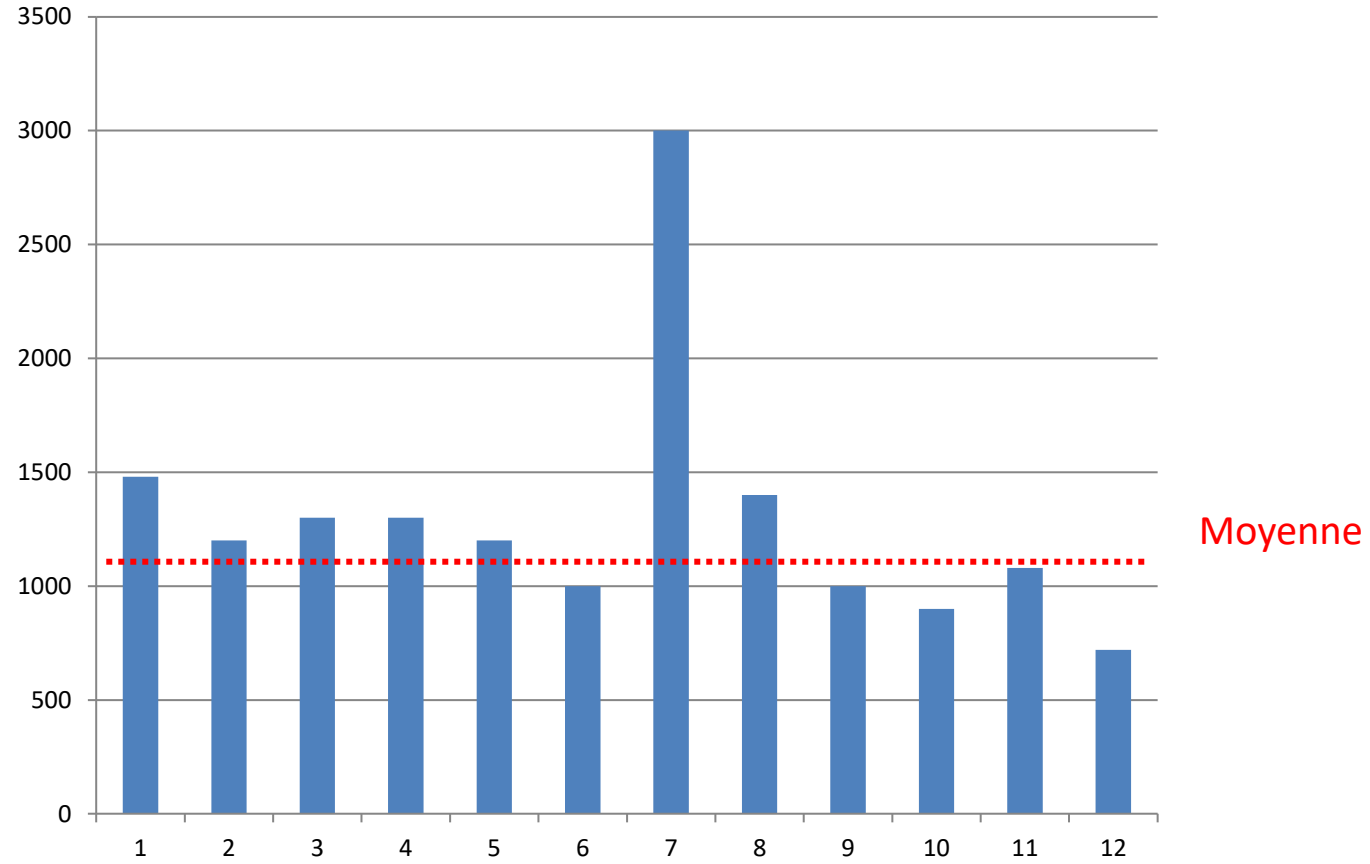


$V_1 = \text{volume de liquide sous un grand carré} = 0,1 \mu\text{L}$

$V_0 = \text{volume de liquide sous un petit carré} = 0,33 * 0,33 * 100 \mu\text{m}^3 = 0,011 \mu\text{L} \approx 0,01 \mu\text{L}$

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

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

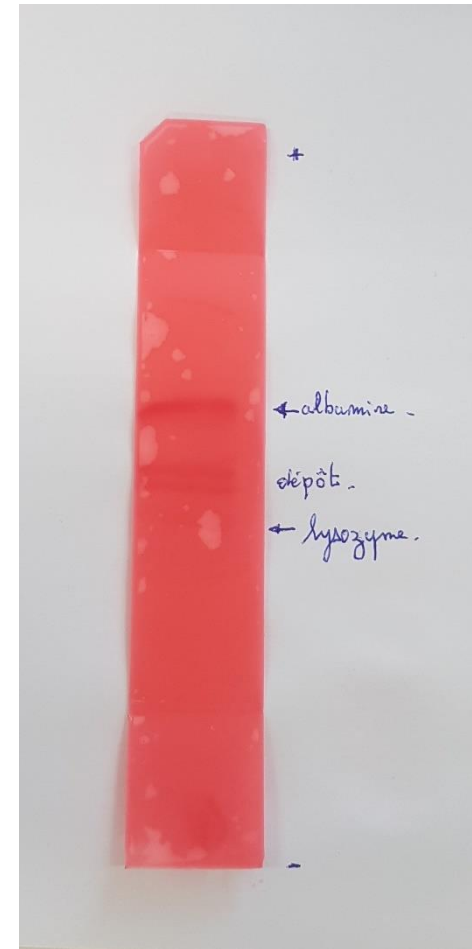
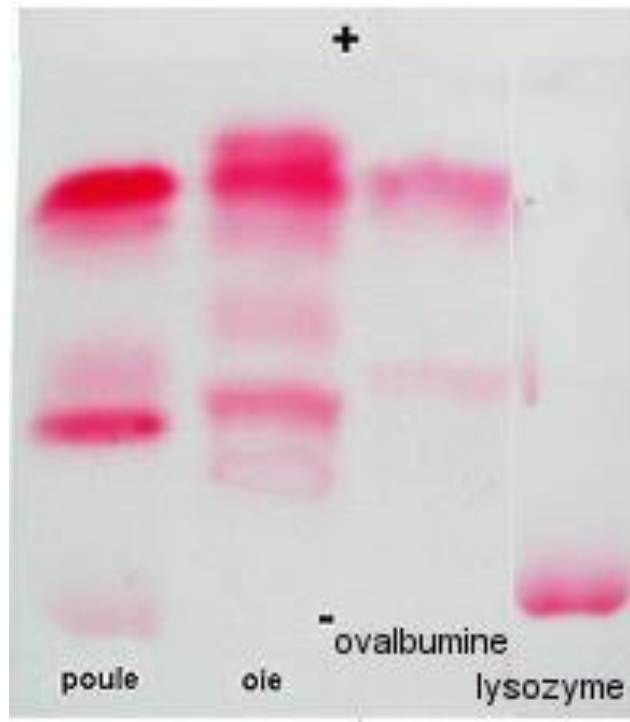
Nombre de cellules comptées	12
Volume sur lequel s'est fait le comptage	0,01 μL
Concentration cellulaire de la suspension introduite dans la cupule (cellules / μL)	$C_d = 12/0,01 = 1200$ cellules / μL
Facteur de dilution de la suspension initiale	1
Concentration cellulaire de la suspension étudiée (cellules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

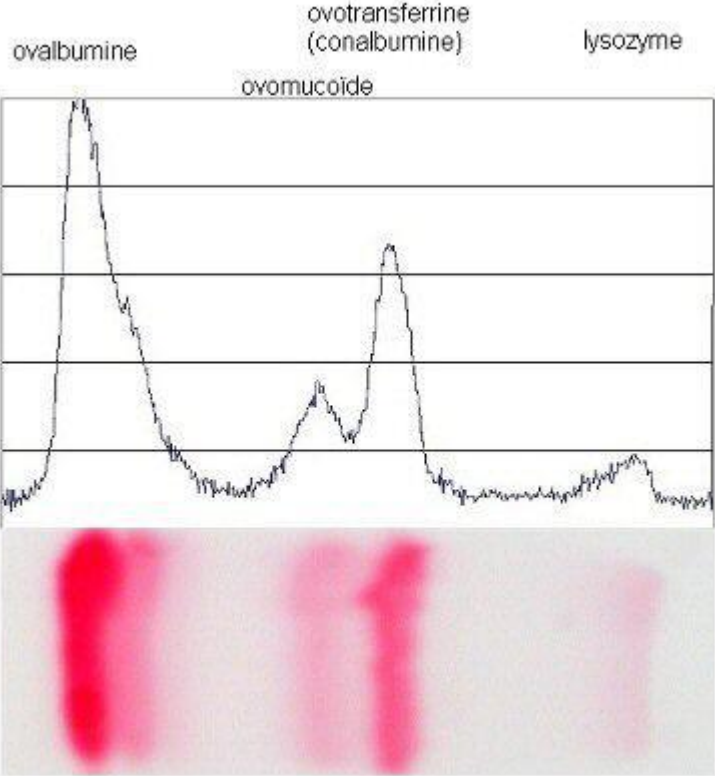
<http://www.didier-pol.net/3elec-protoeuf.htm>



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

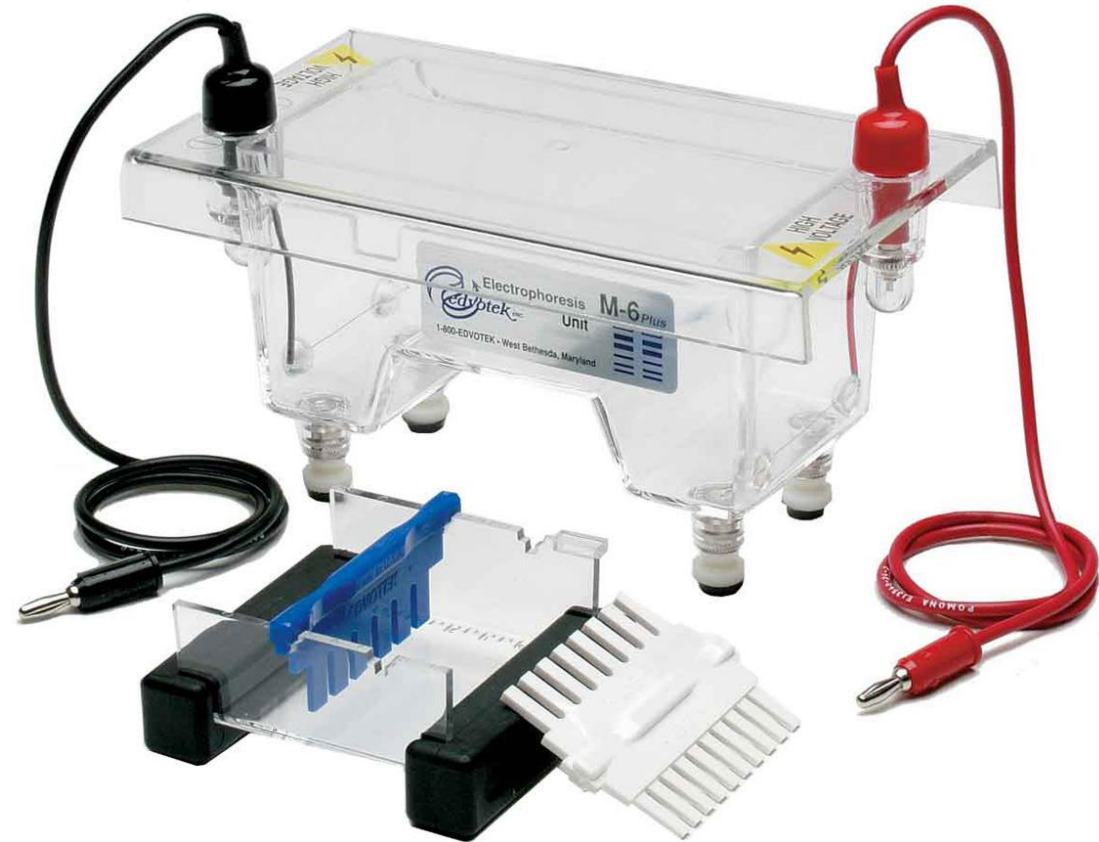
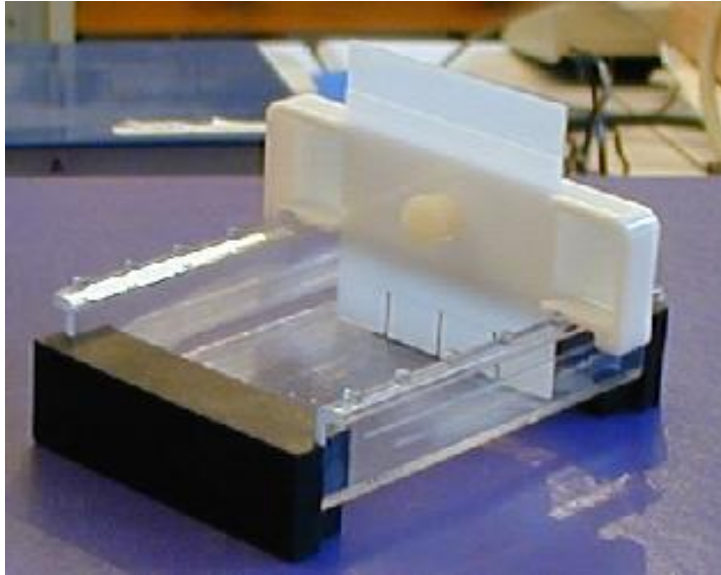
<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/ATP/bioch1.htm#pratique>

Cathode

-

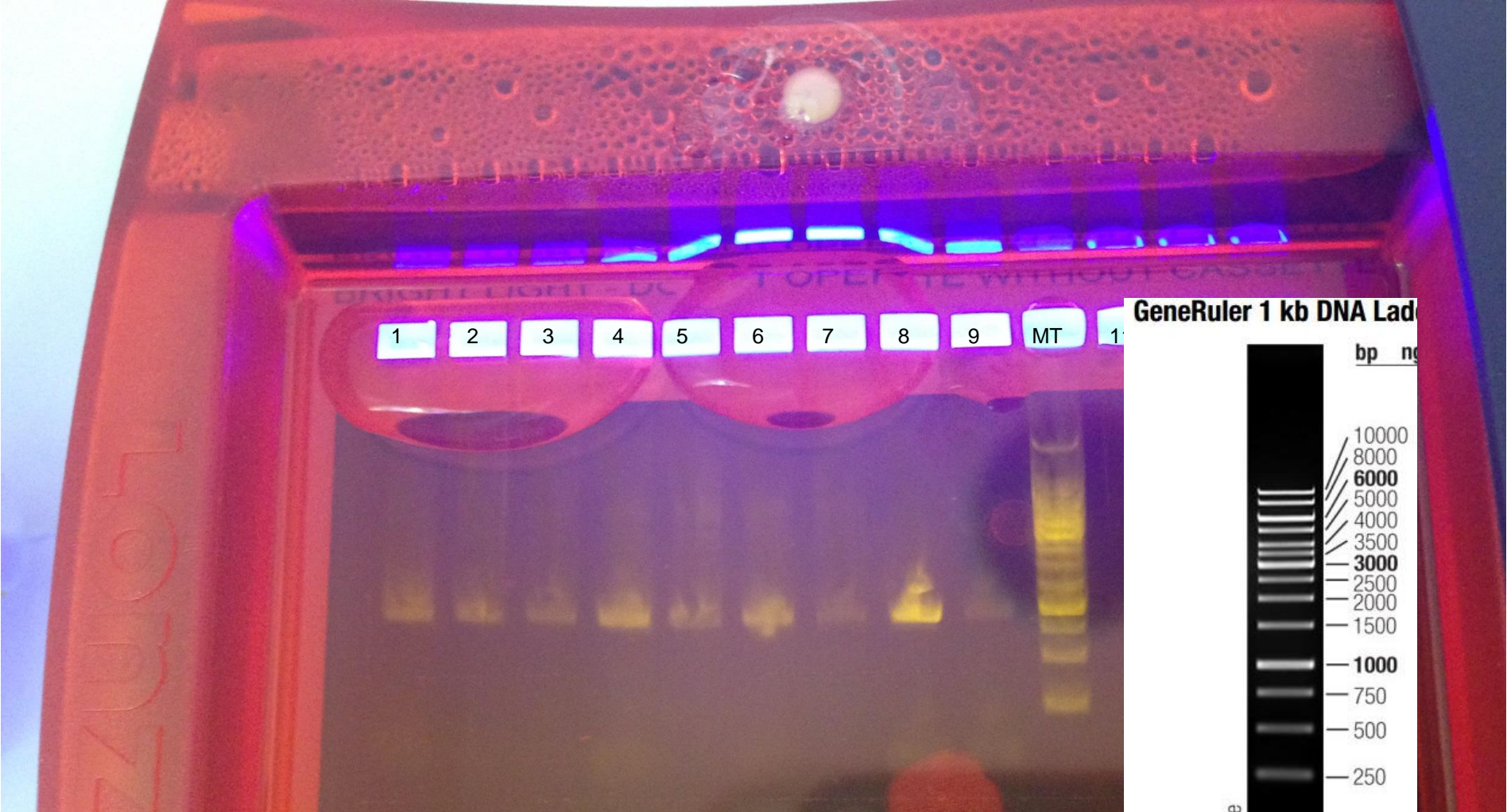
Anode

+



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

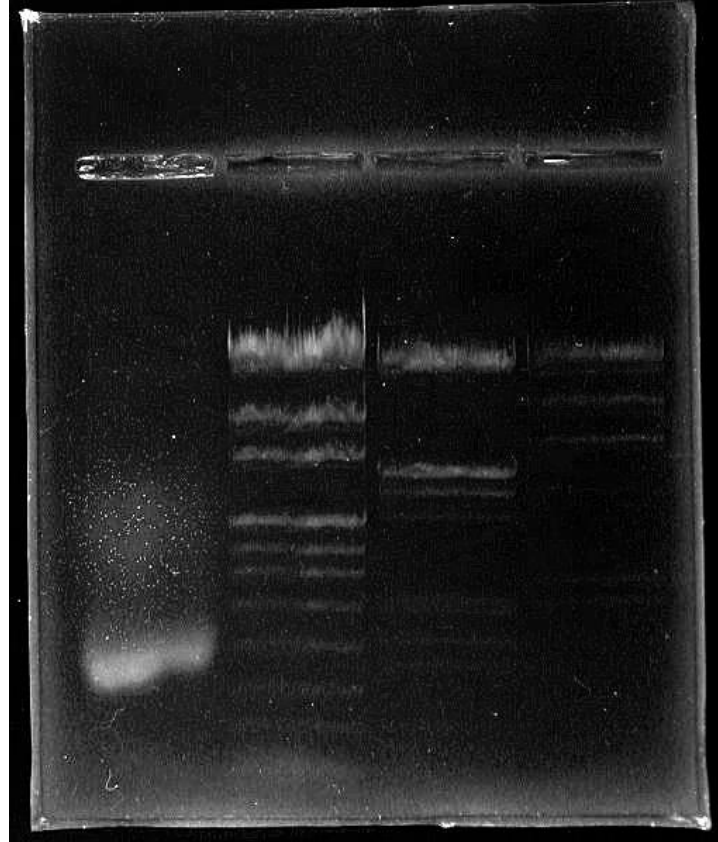
Électrophorèse d'ADN sur gel d'agarose (FlashGel)

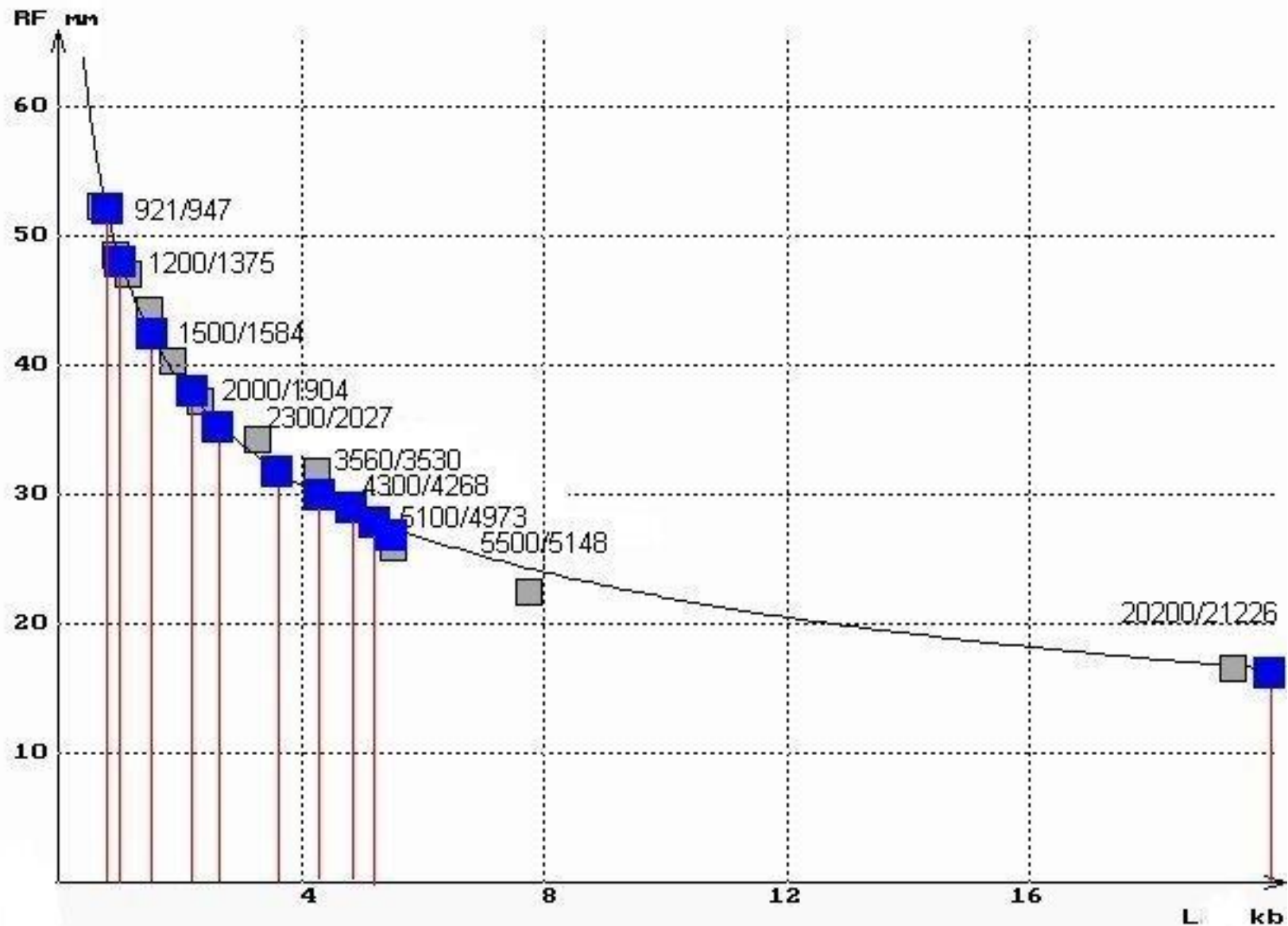


Photographie d'un des gels après migration

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

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

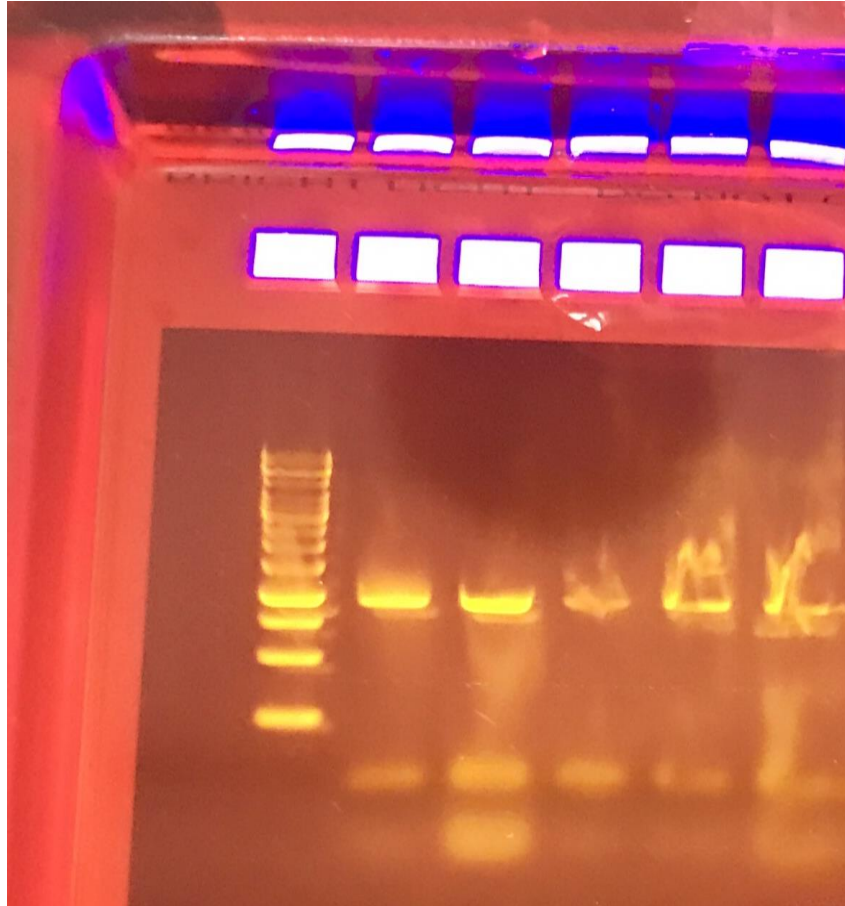




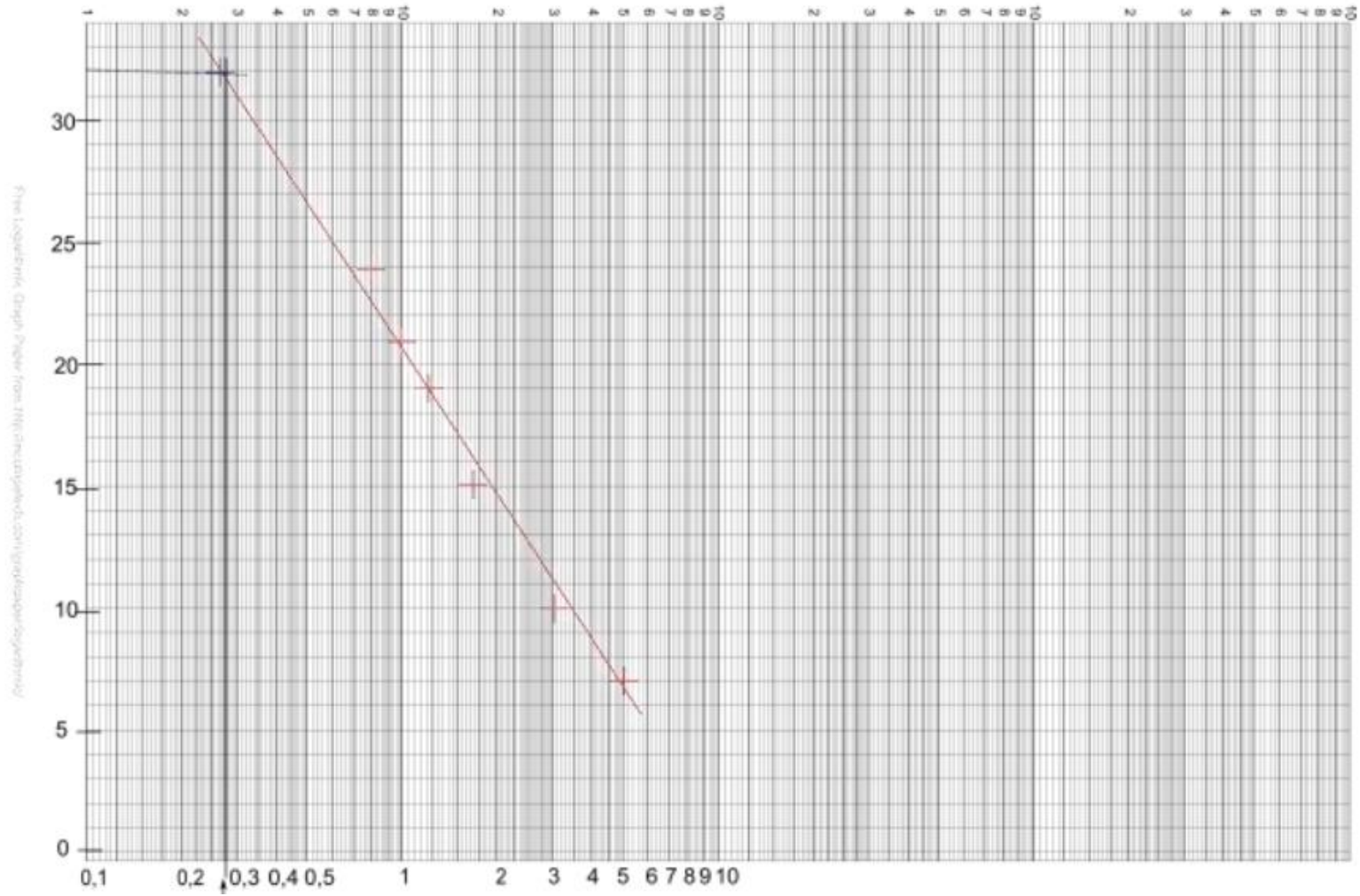
Détermination graphique de la taille de fragments de restriction

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

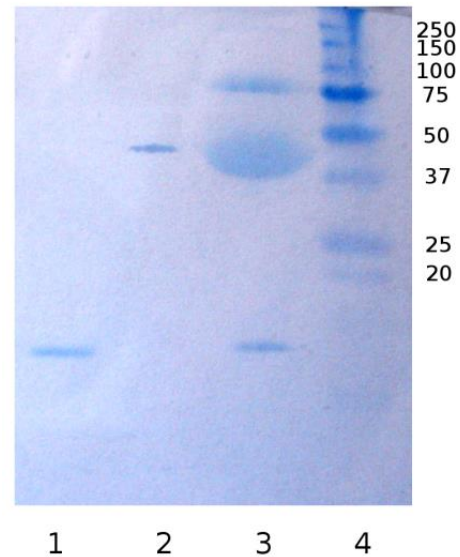


d D (mm)



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

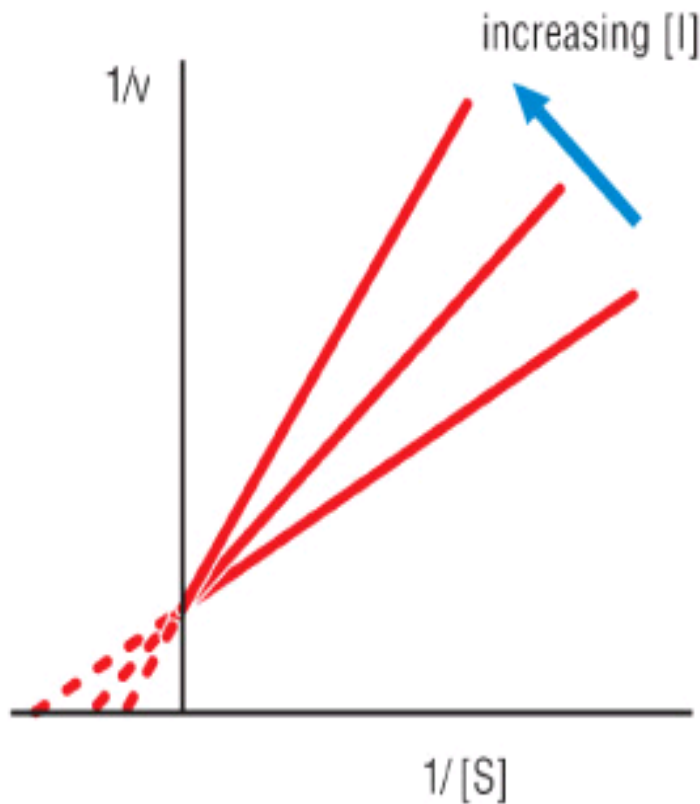
$$\frac{1}{v_i} = \left(\frac{K_M}{v_{max}} \times \frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{v_{max}}$$

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

Traduction cinétique de deux inhibitions

Compétitive

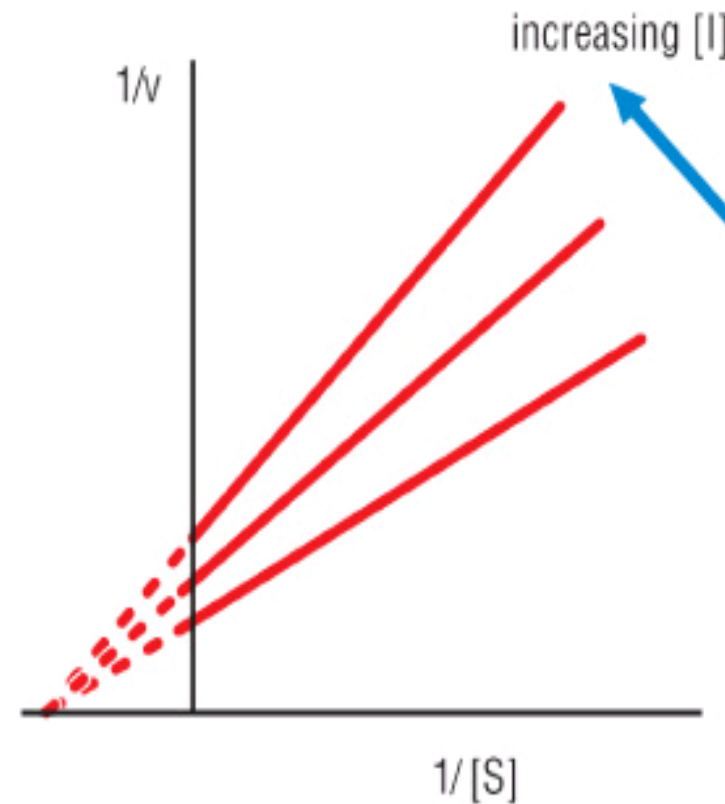
Pas de changement de V_m
Mais K_m augmente



competitive

Non compétitive

Pas de changement de K_m
Mais V_m diminue



noncompetitive

Les macromolécules

Réfléchir à une façon d'organiser le tableau
après avoir identifié les concepts clés du sujet

Les phénomènes cellulaires associés au développement
embryonnaire des amphibiens

Réfléchir à une démarche et aux illustrations pertinentes
pour le sujet.

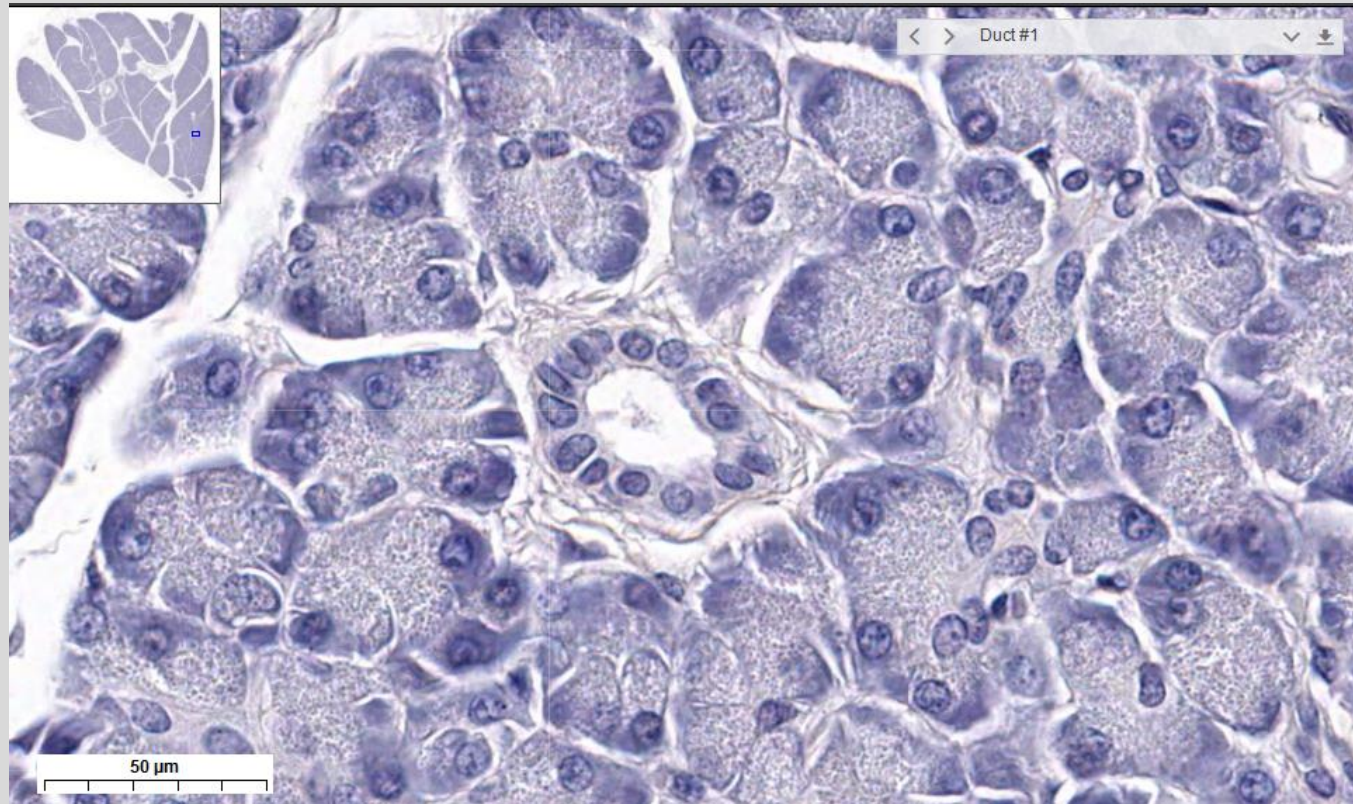
Grille de notation des colles concours de Biologie

Compétences	Exposé et entretien (10 min.)	Echange sur documents (15 min. maximum)
Compétences réflexives mobilisant réflexion et créativité (4 points)	Exposé /4 points - adéquation question / traitement du sujet (concepts, faits,...) - logique du déroulement (articulation, hiérarchisation des idées, mise en perspective)	Entretien
Compétences cognitives (8 points)	/3 points - complétude, exactitude des concepts et connaissances exposés sous quelque forme que ce soit (titres, schémas, exposé oralement) - en prenant en compte les éléments apportés pendant l'exposé ET l'entretien	/5 points - qualité de l'analyse (rigueur, recul critique, etc.) - qualité de la confrontation entre les éléments recueillis et les modèles, pertinence des interprétations proposées, etc. - maîtrise des relations de cause à effet - aptitude à mobiliser ses connaissances scientifiques - articulation entre les éléments recueillis, mise en relation des informations, aptitude à construire un bilan
Compétences en communication (8 points)	/3 points Organisation de la production orale, qualité du support de la production : - pertinence du support écrit vu en tant que « soutien » de l'exposé (pour le candidat et l'examineur) - pertinence du support graphique : qualité globale des schémas en termes d'outils de communication	/5 points - cohérence du propos, logique, clarté de l'expression, maîtrise du vocabulaire et de la syntaxe - capacité à convaincre - capacité à écouter, interagir, dialoguer, réactivité

Remarques éventuelles ; conseils pour progresser

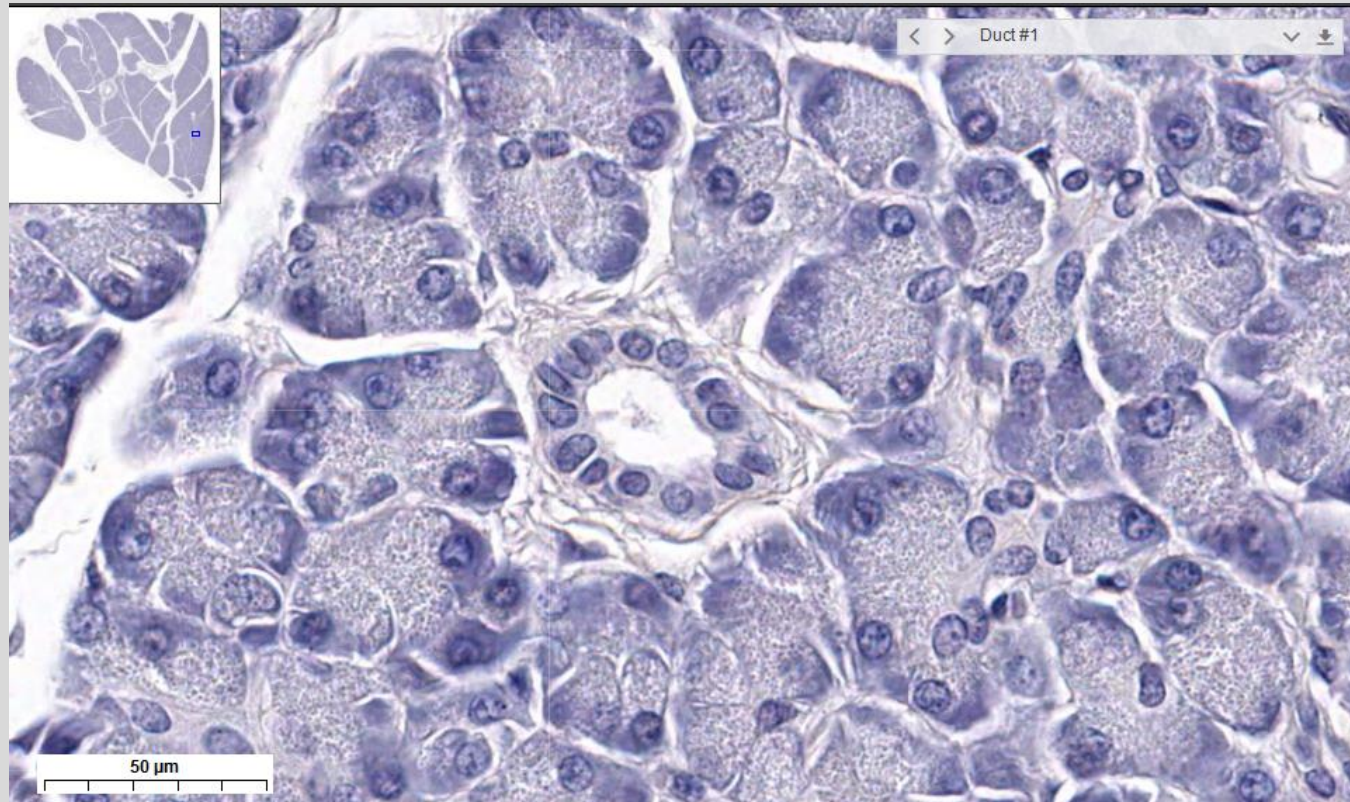
Histologie animale

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

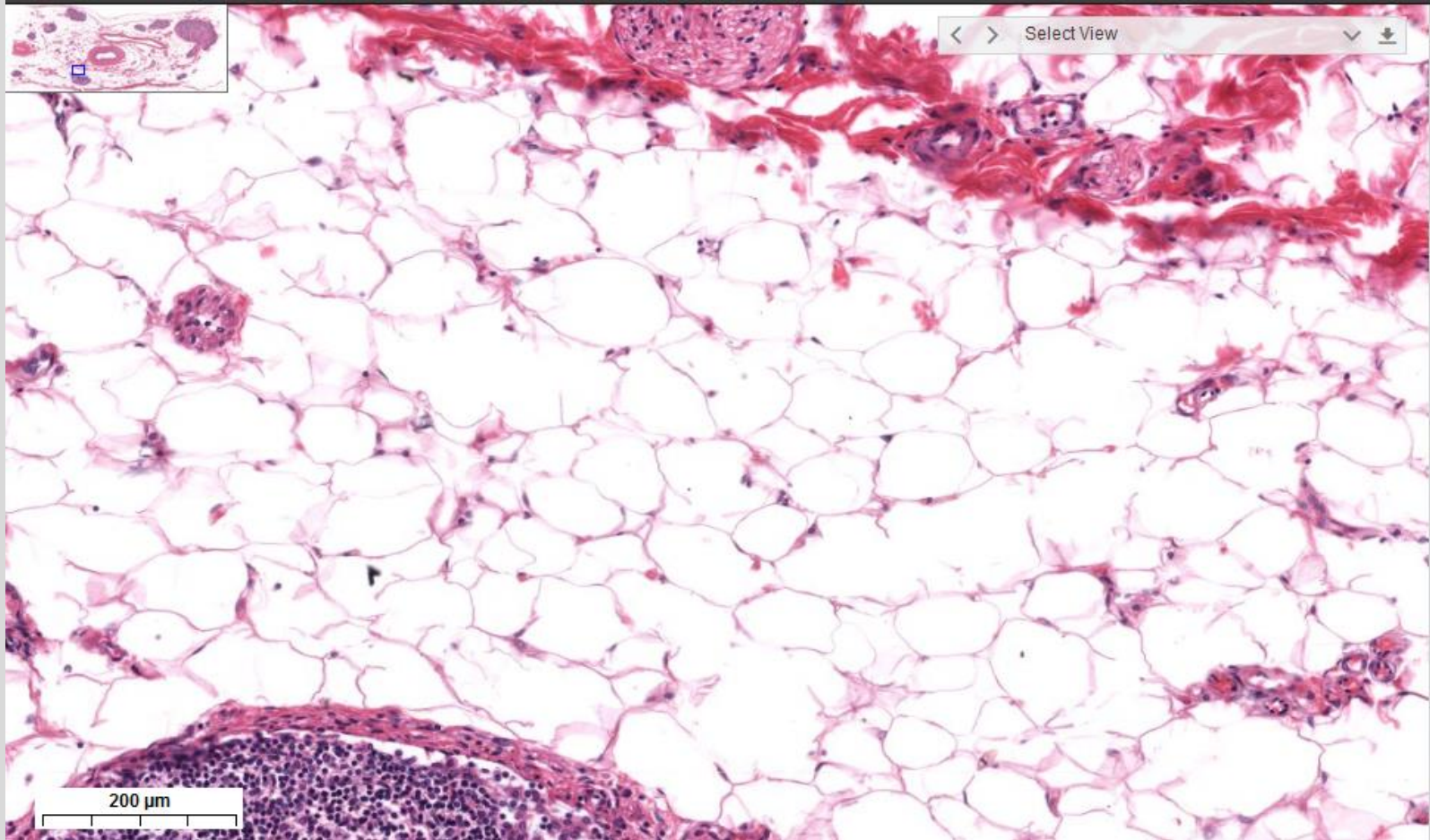


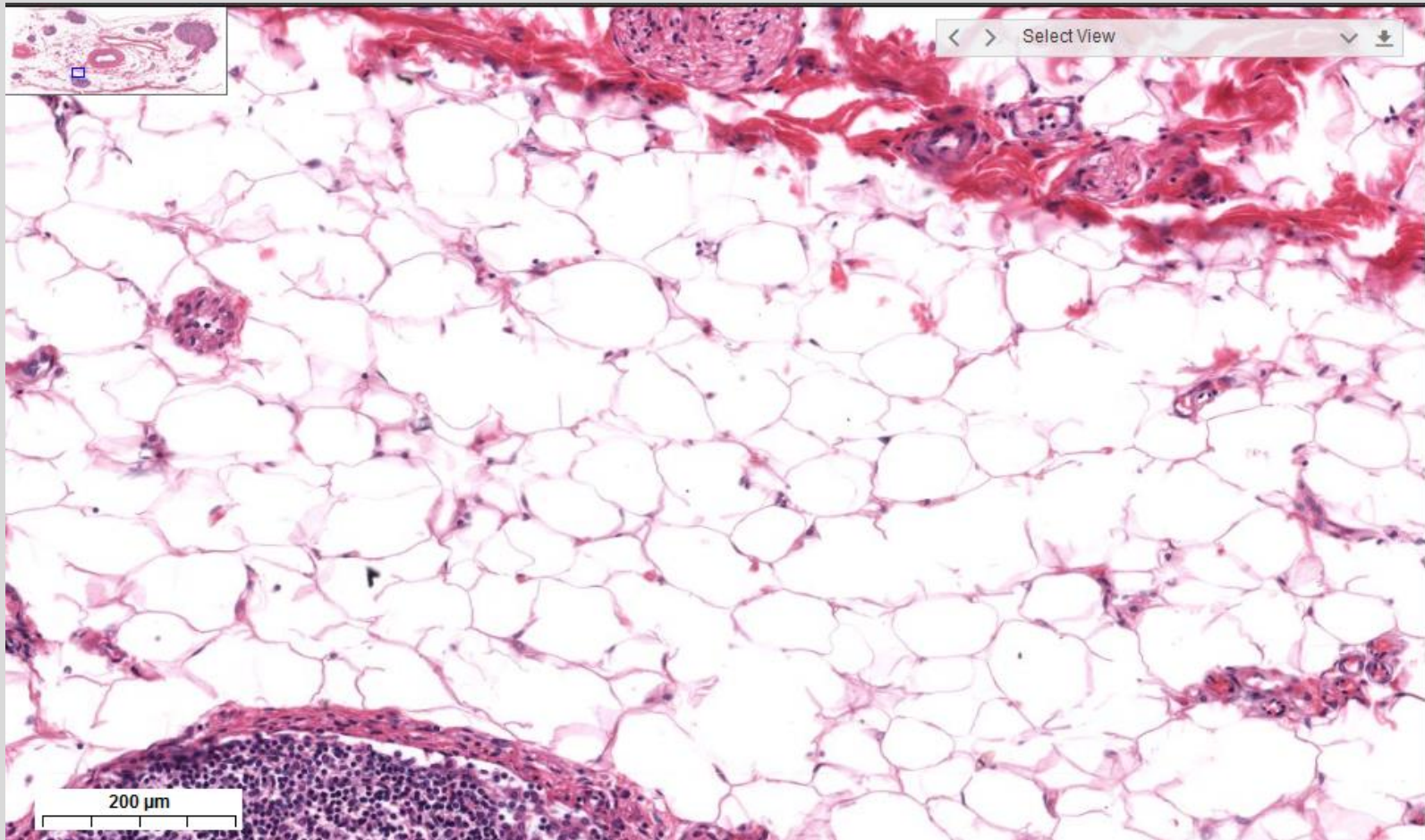
Histologie animale

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



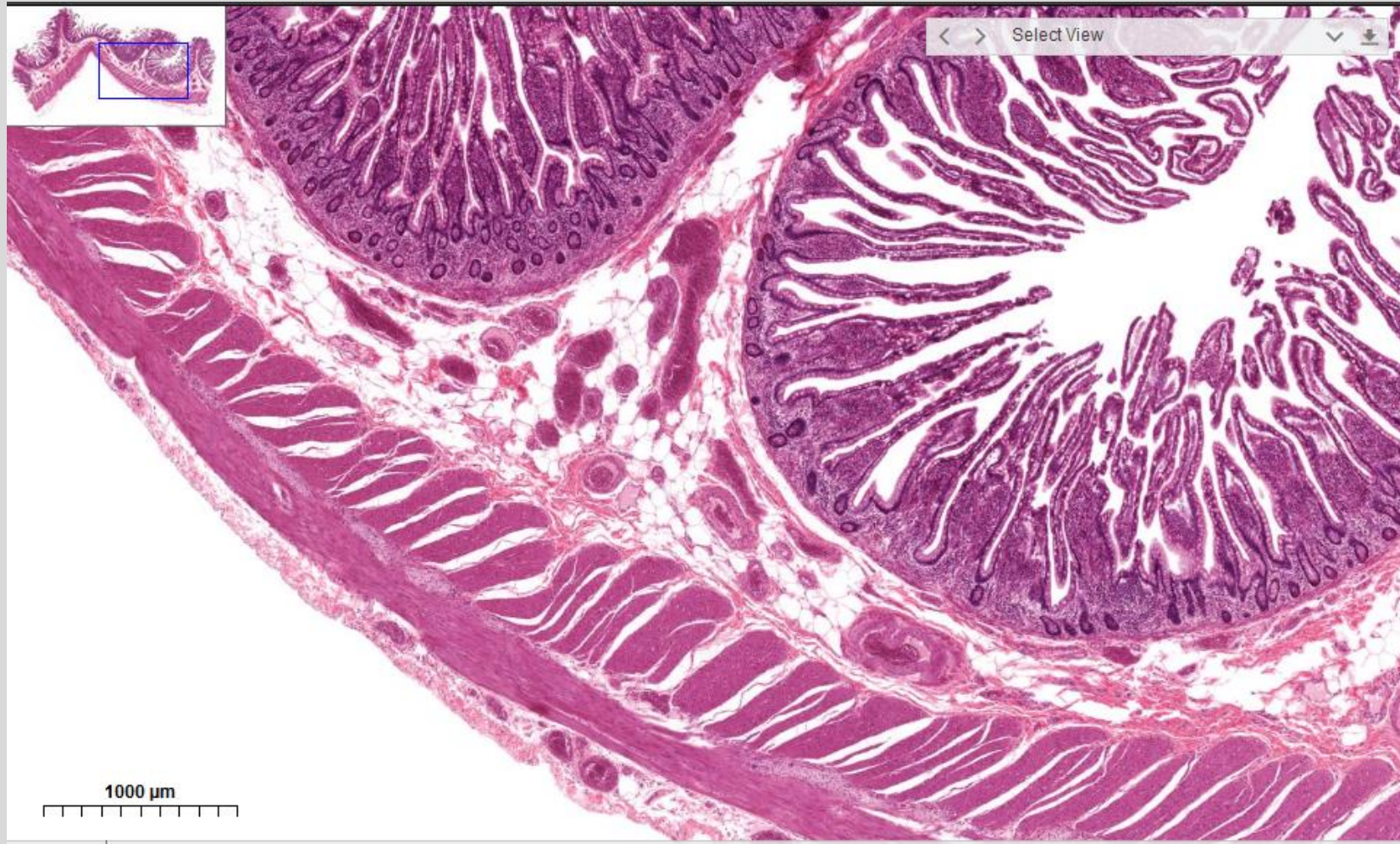
Tissu épithélial : pancréas exocrine



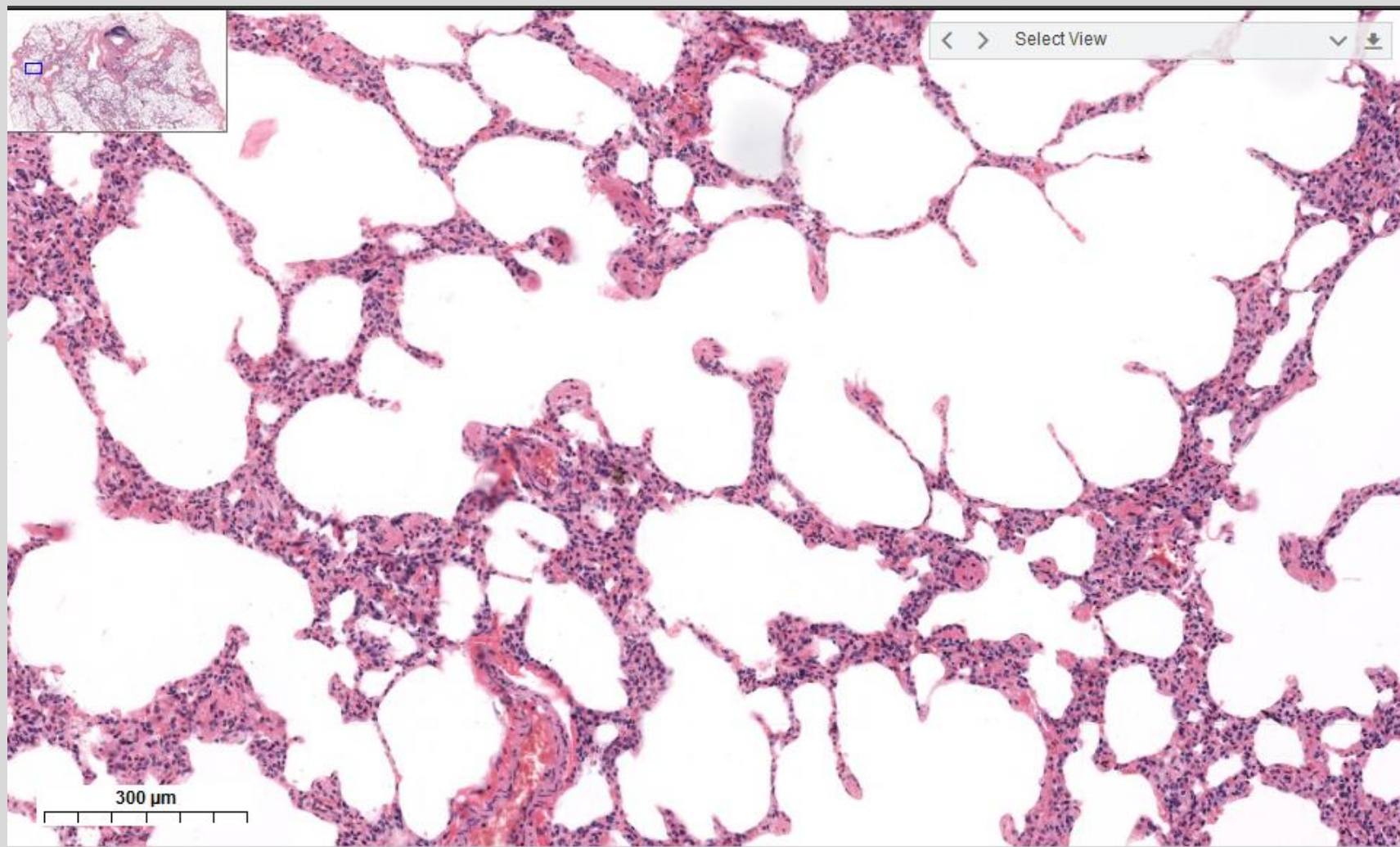


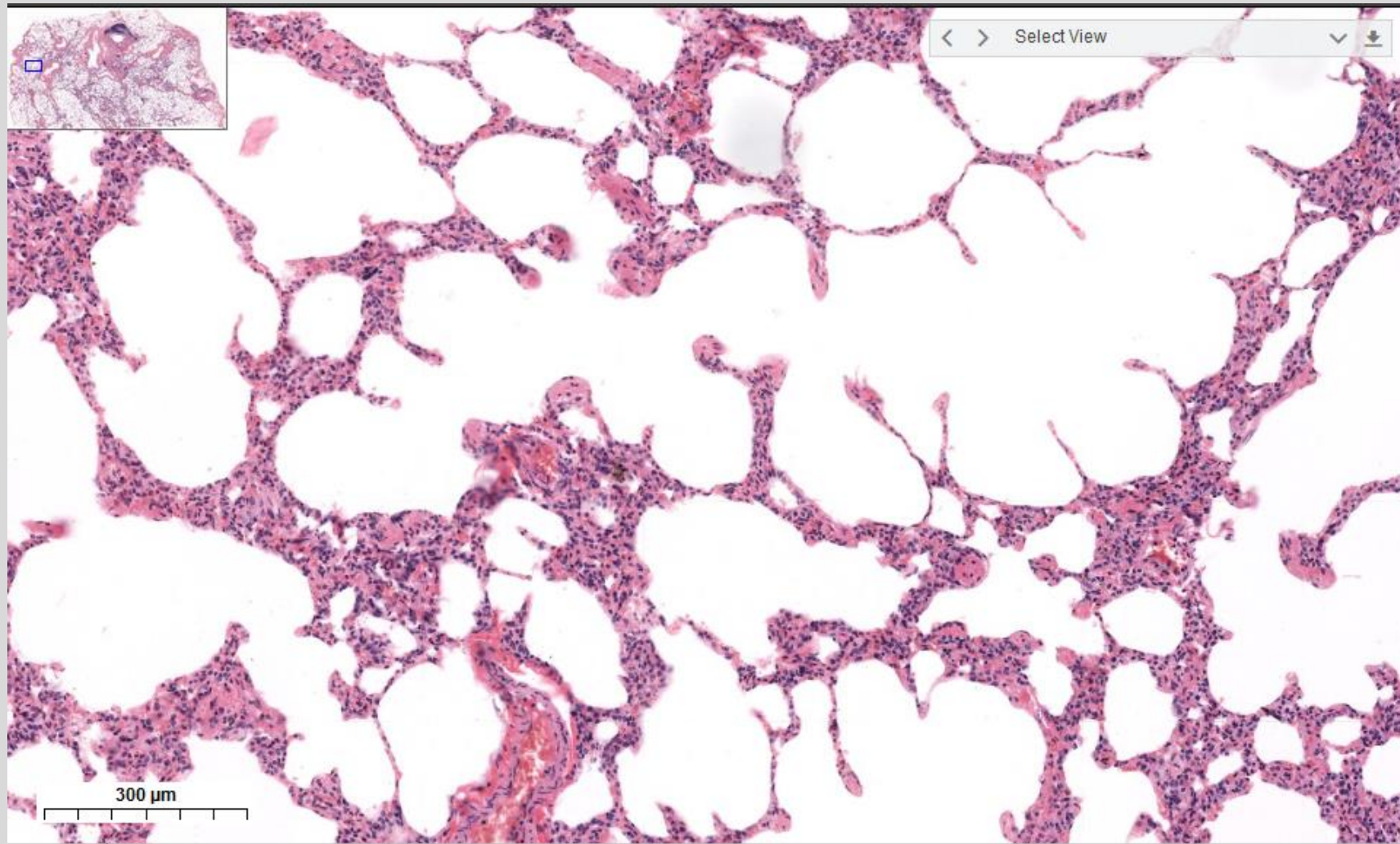
Tissu conjonctif : tissu adipeux





Coupe transversale intestin

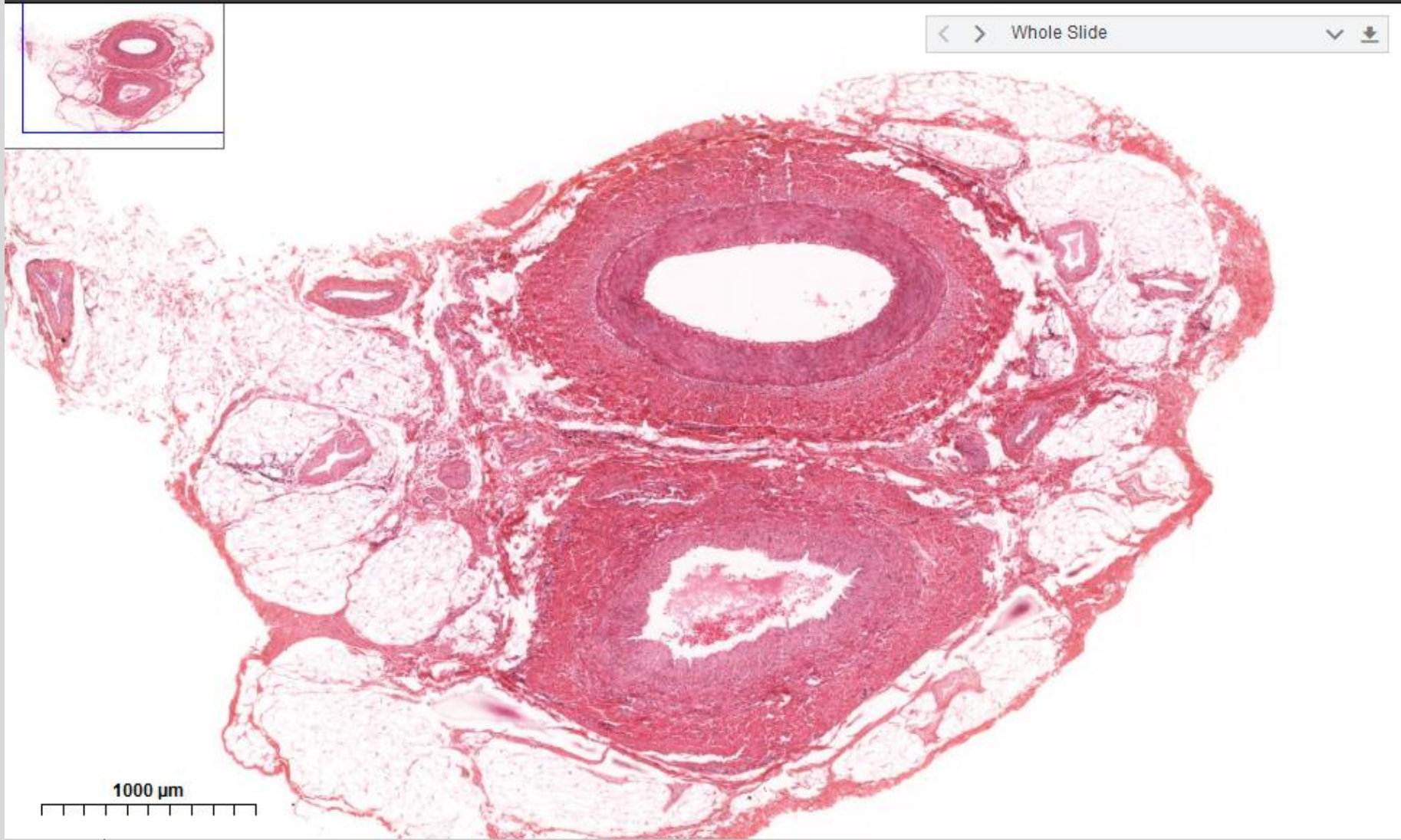




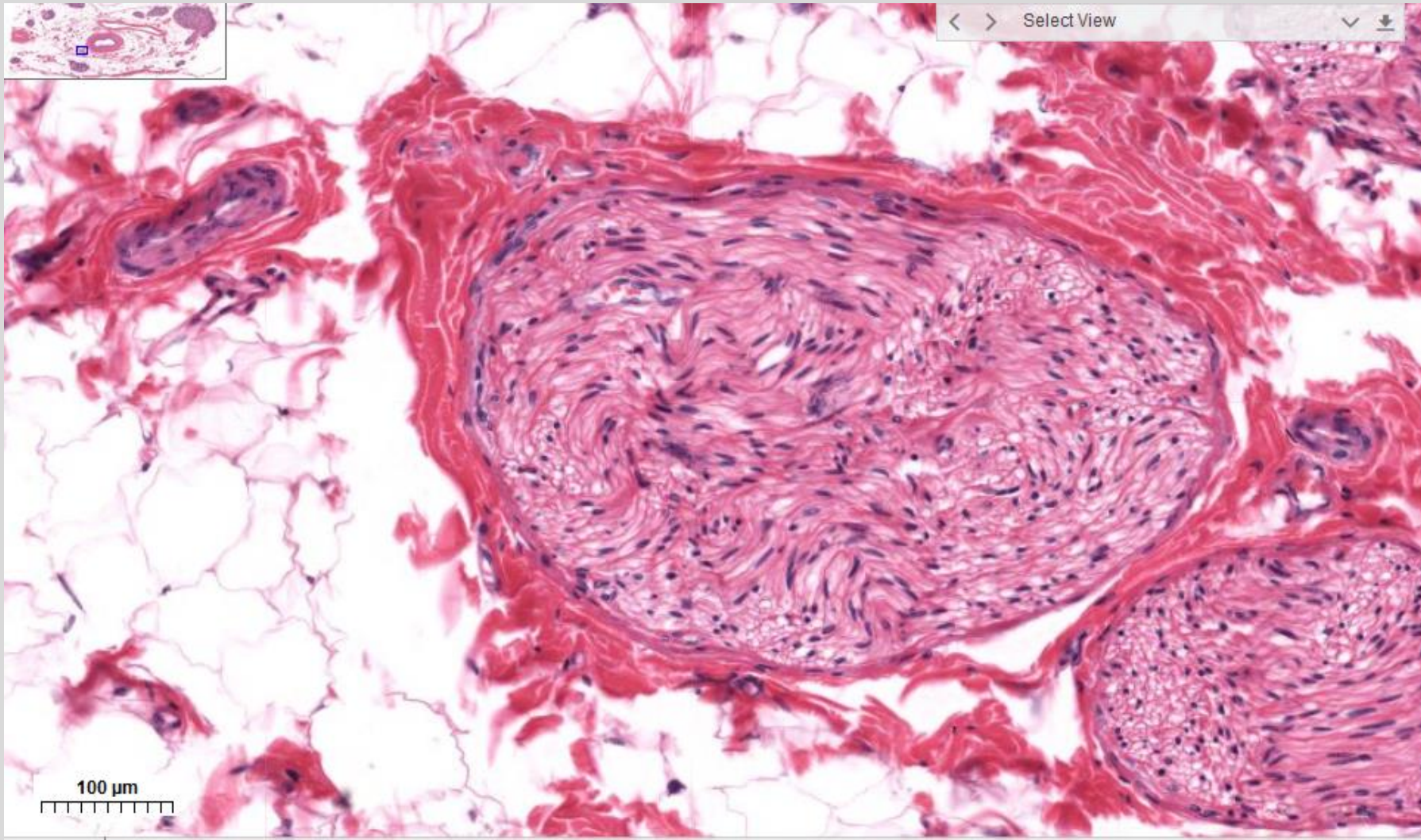
Poumon épithélium alvéolaire

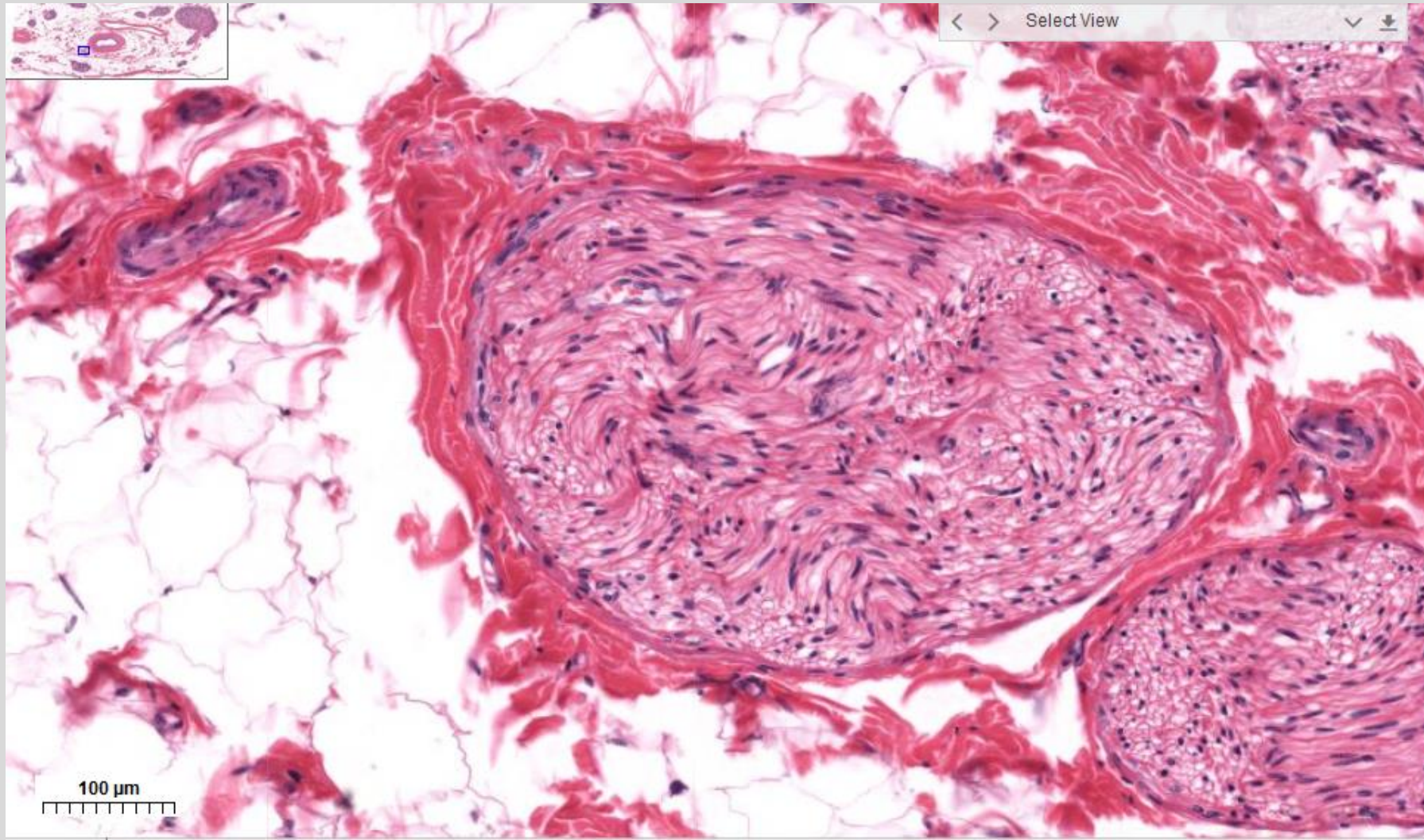


1000 μm

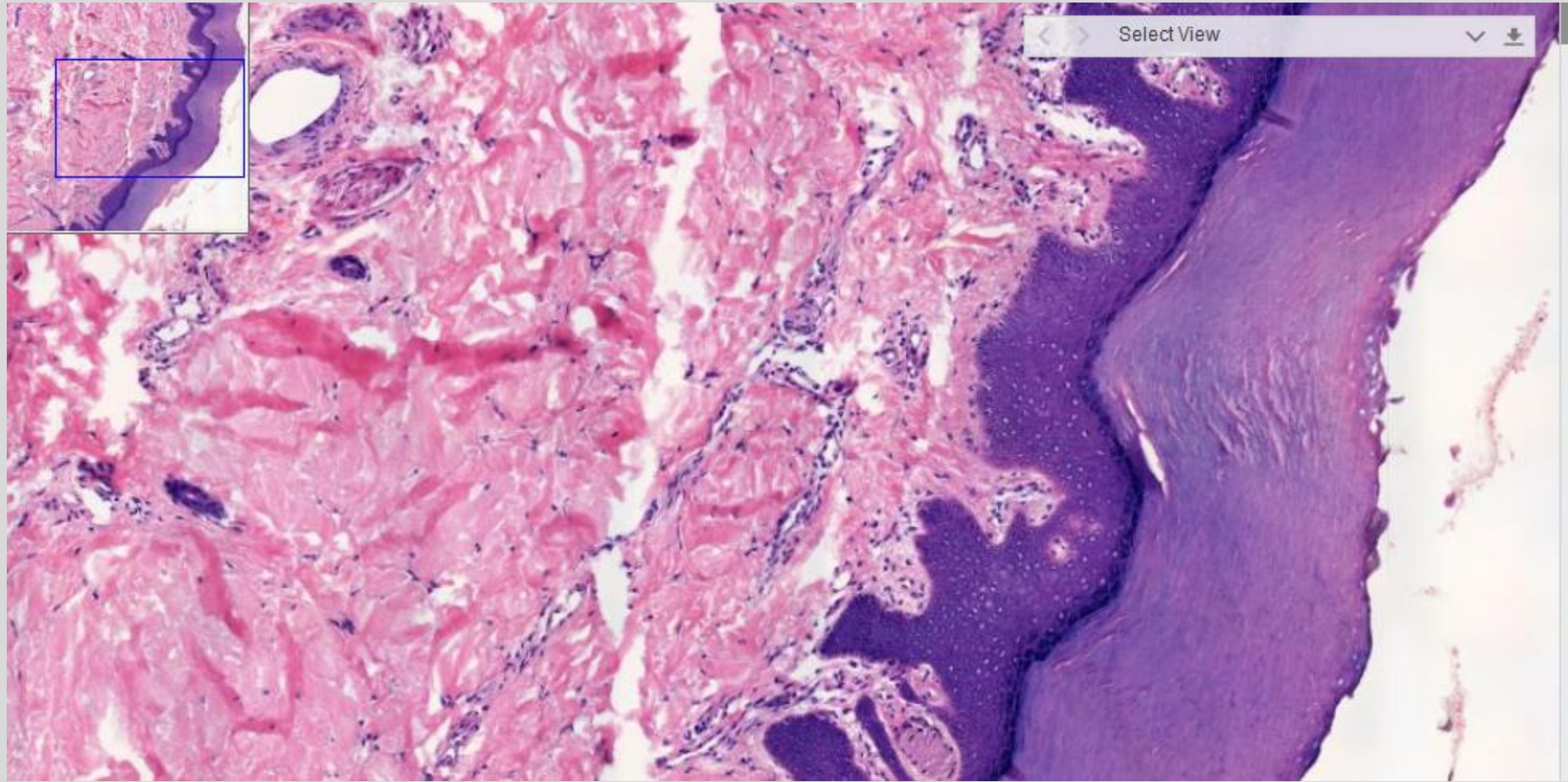


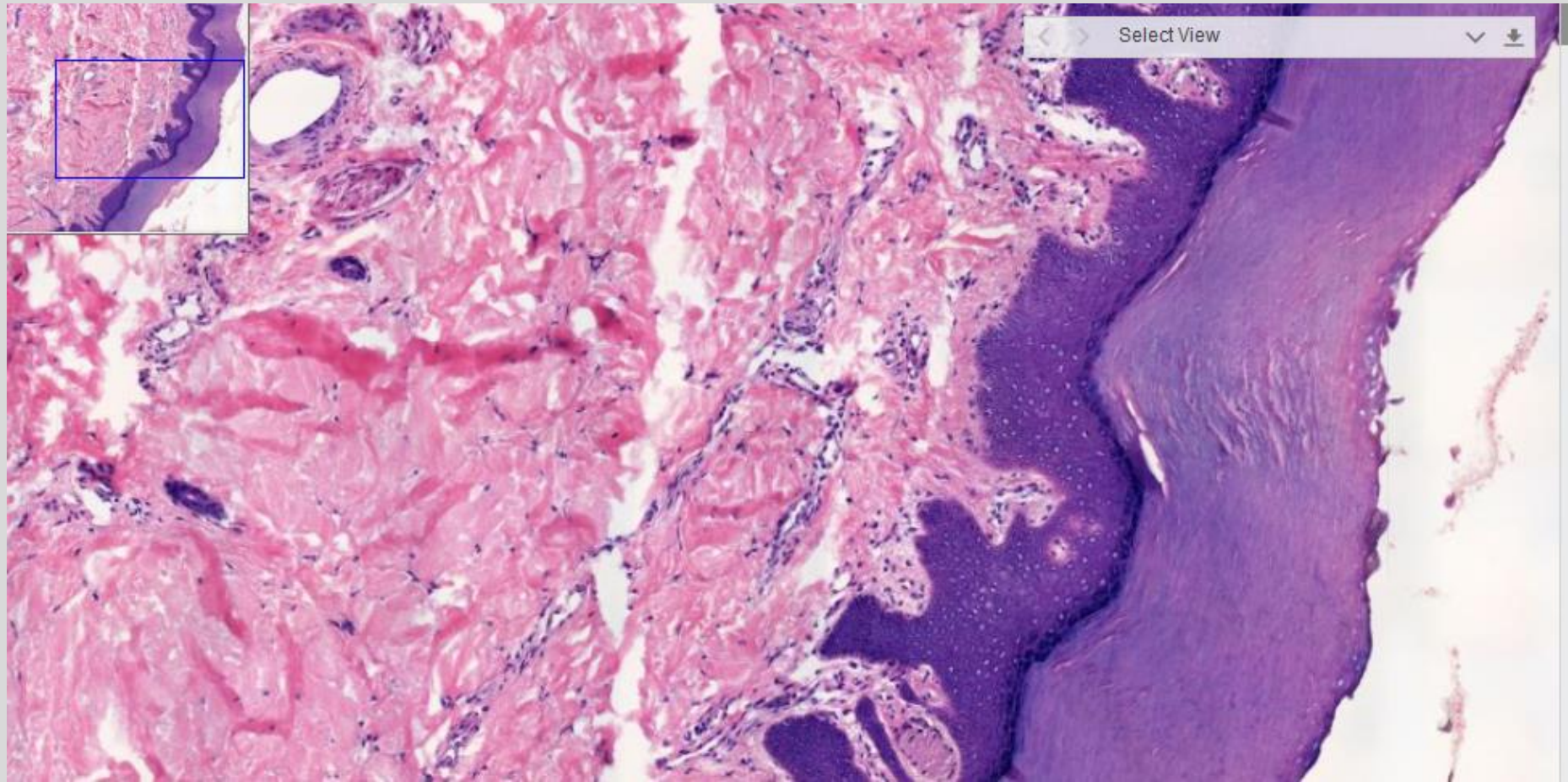
Artère et veine





Tissu neural





Peau de mammifère



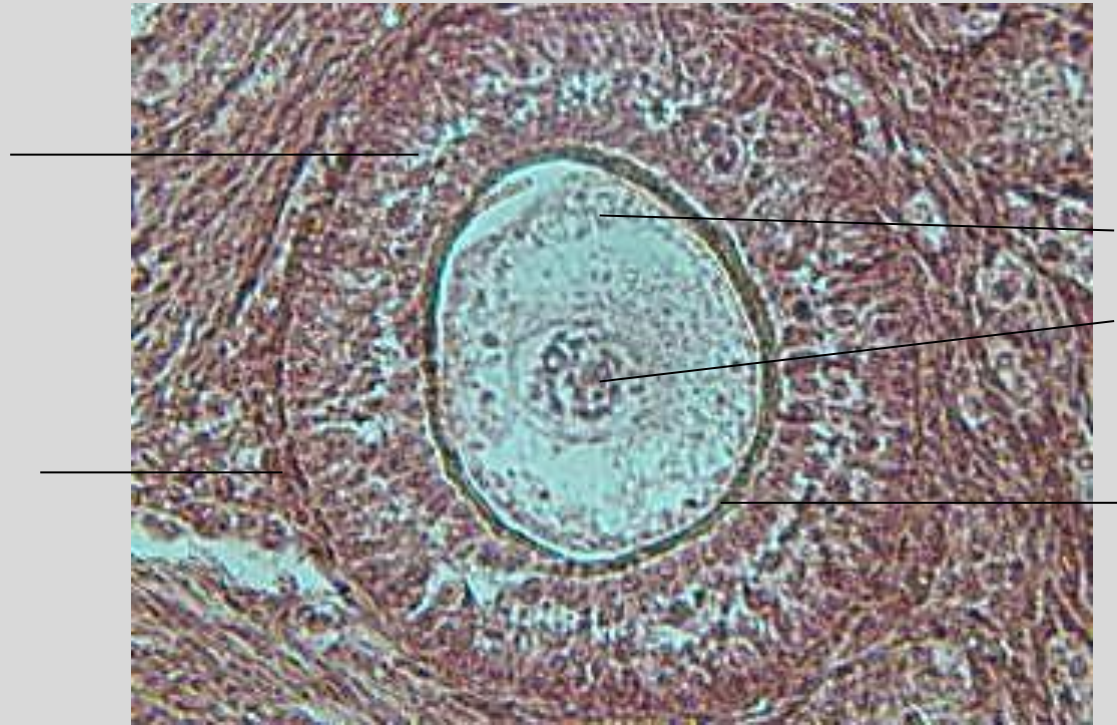
7mm



7mm

CT et CL de muscles

M.O. Grossissement x 100



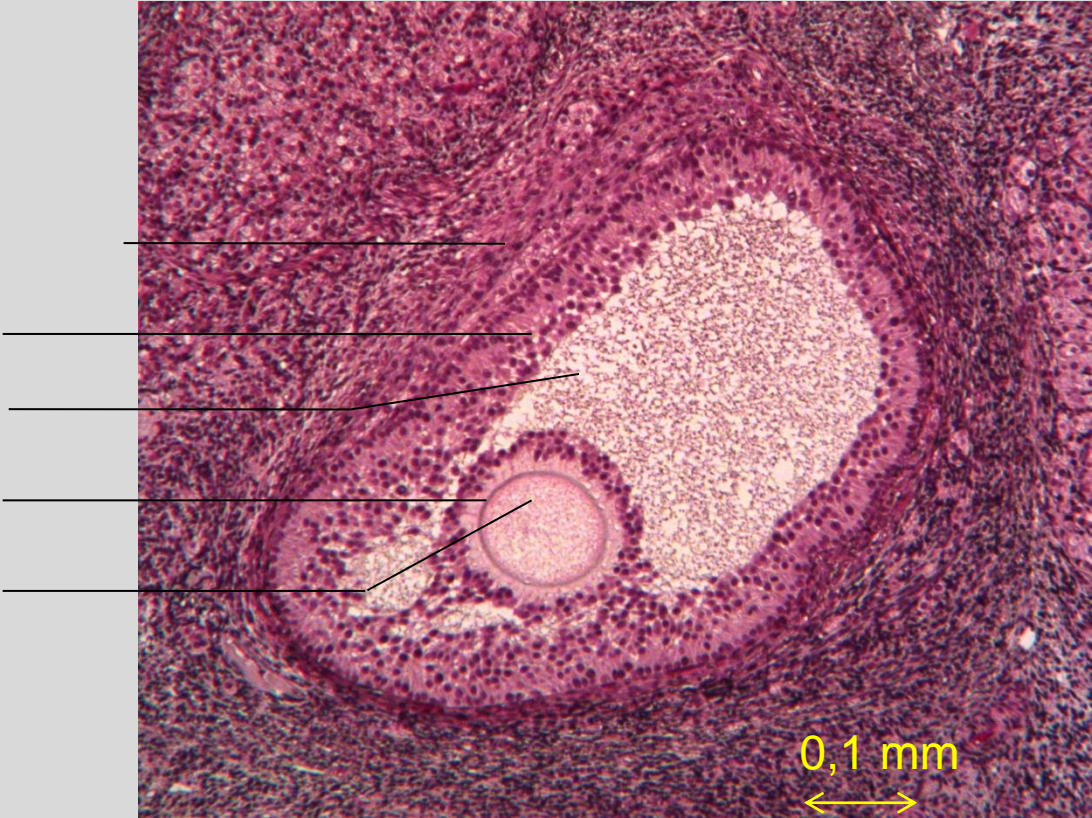
↔
0,1 mm

2 - Follicule secondaire

M.O. Grossissement x 100



M.O. Grossissement x 100

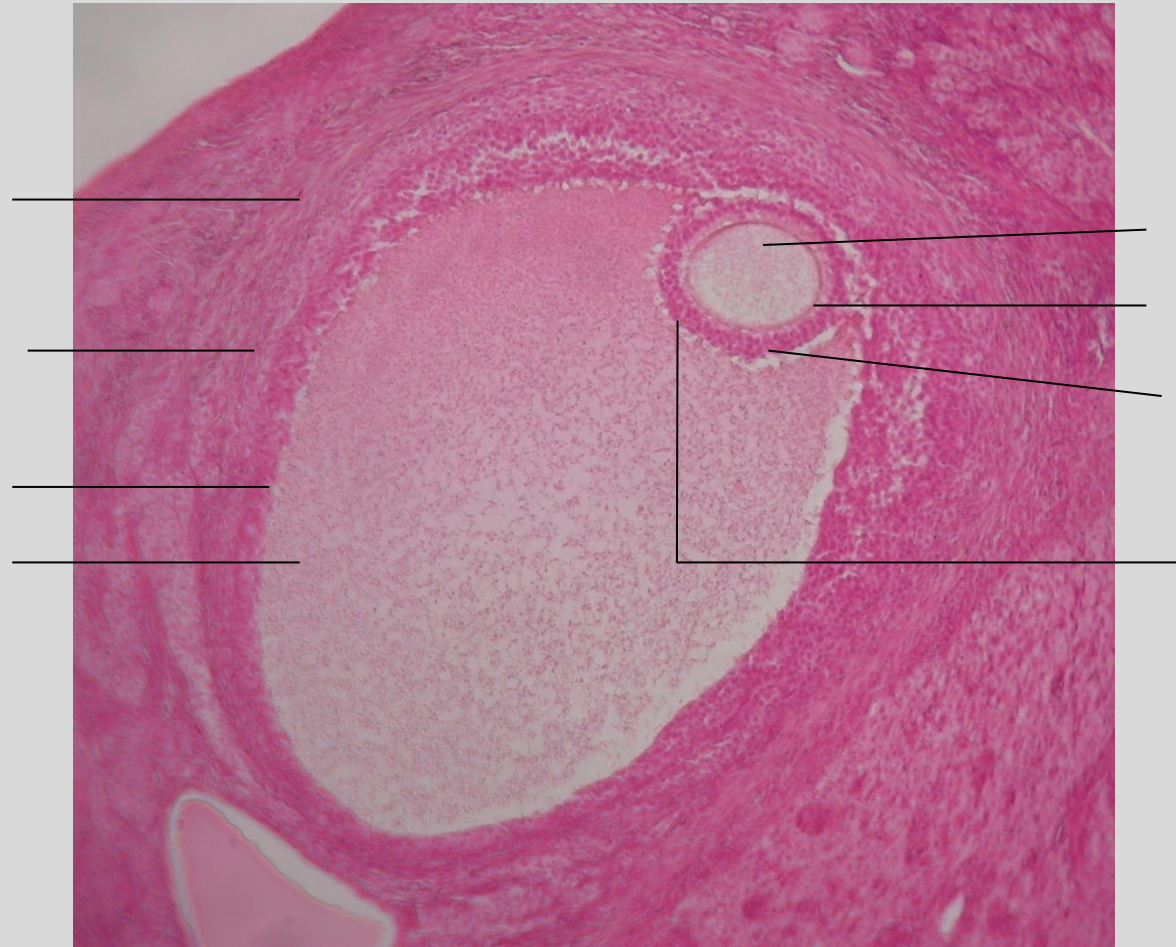


3 - Follicule tertiaire

M.O. Grossissement x 100



M.O. Grossissement x 100



0,2 mm
↔

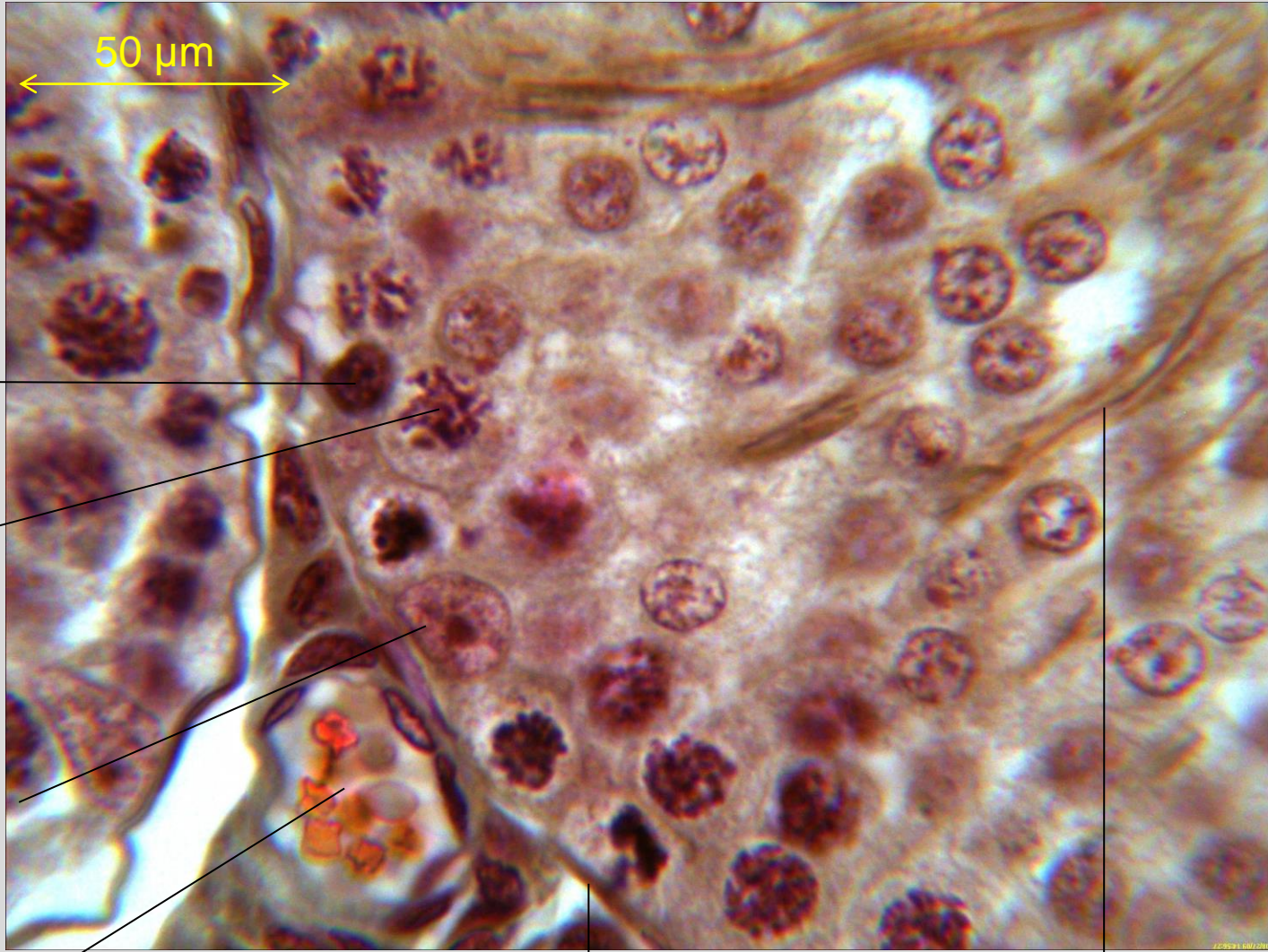
Follicule mûr de de Graaf

M.O. Grossissement x 100

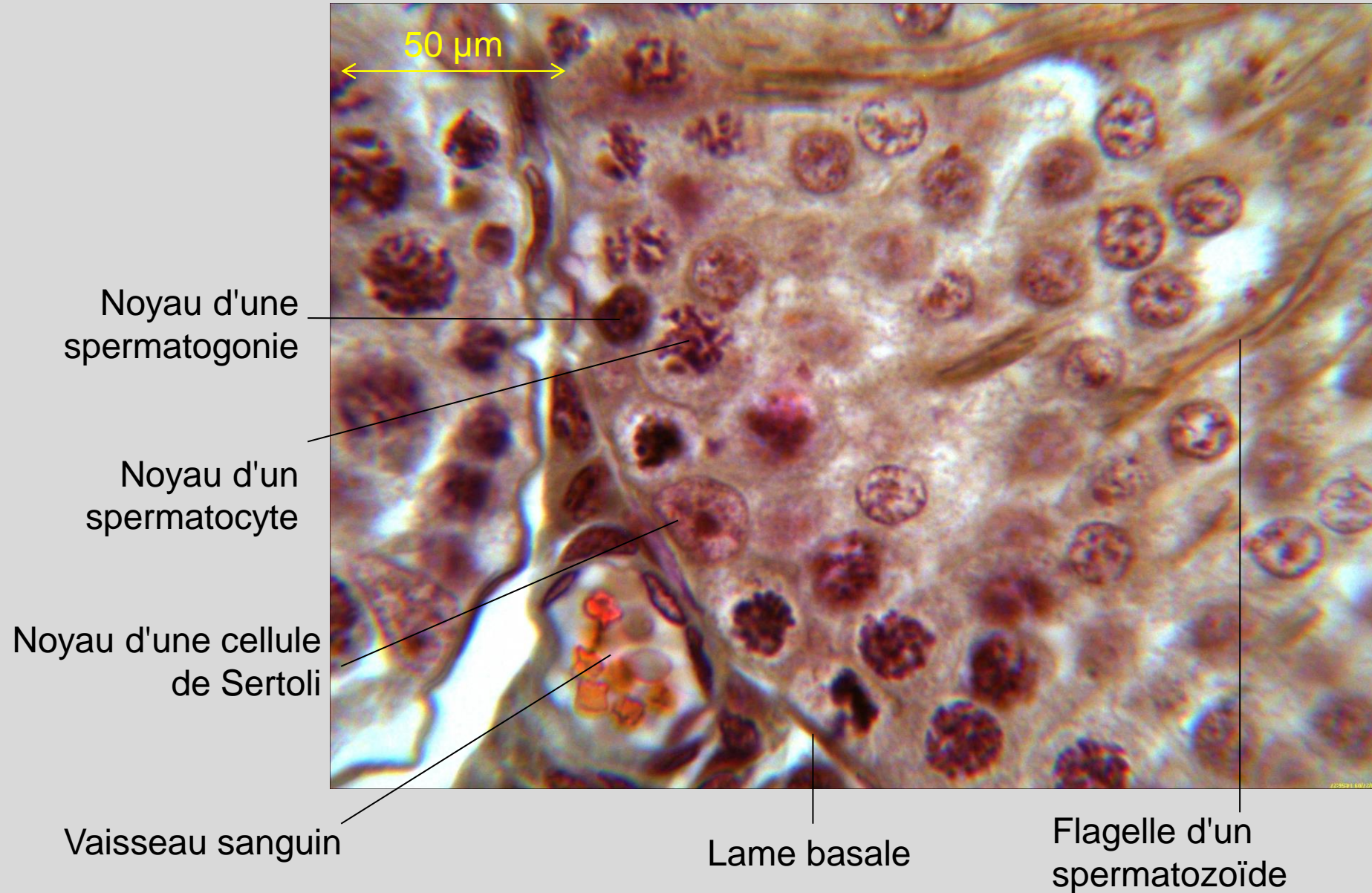


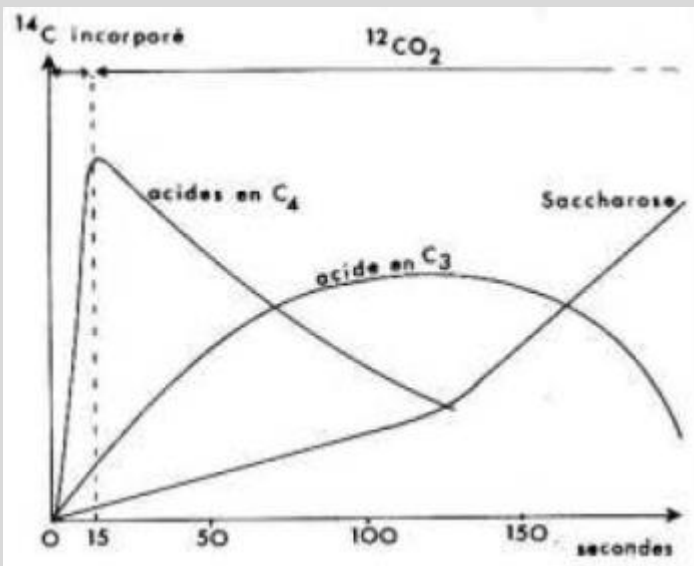
0,2 mm





L'épithélium séminifère

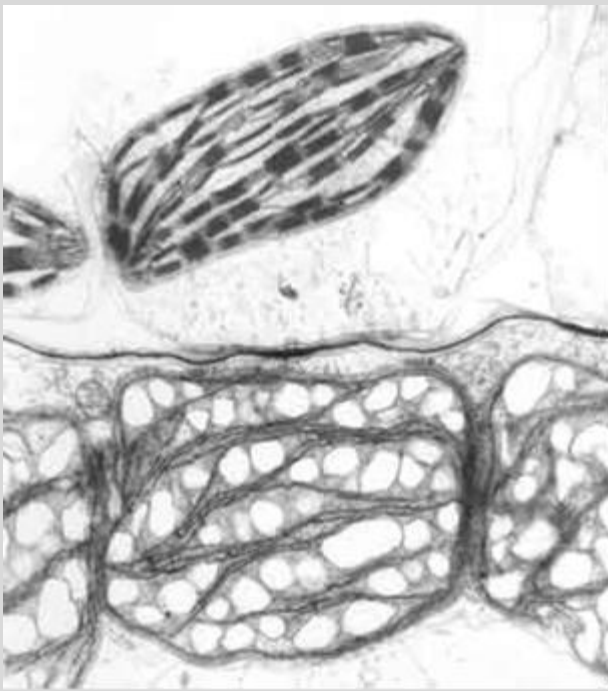
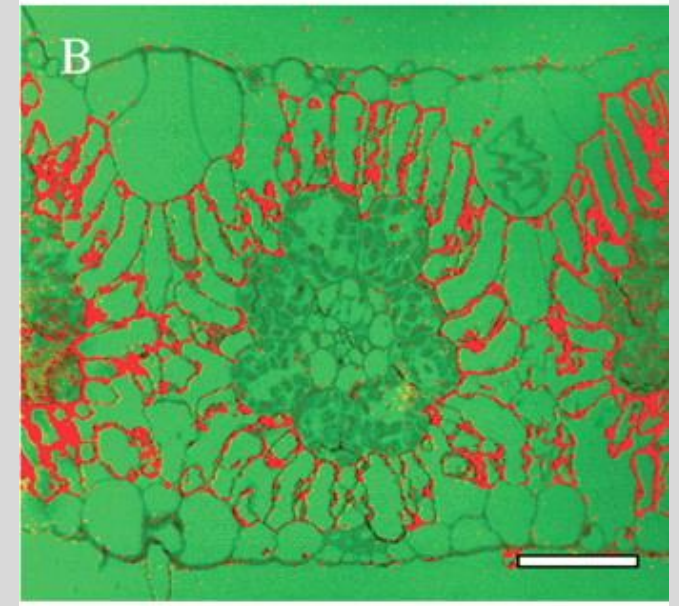
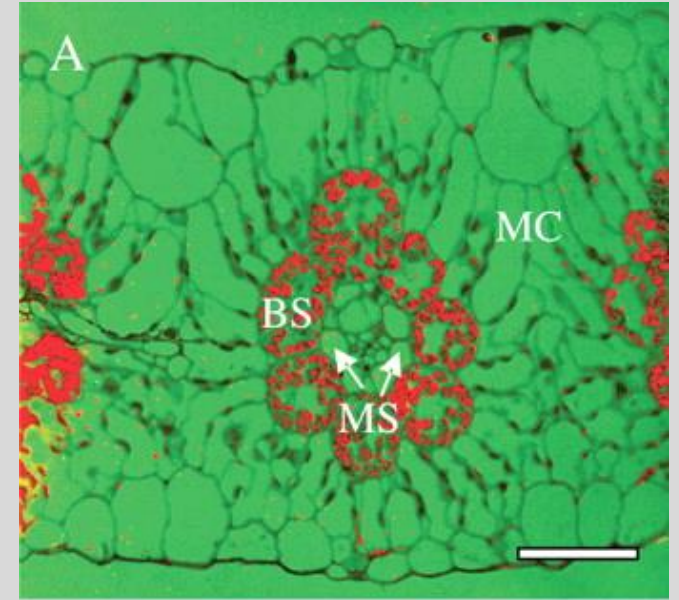




Localisation par immunofluorescence de la rubisco (a) et de la PEP carboxylase(b) dans une coupe transversale de feuille de Canne à sucre. Barre d'échelle 100µm

Document 1. Expérience de Hatch et Slack sur la Canne à sucre.

Du $^{14}\text{CO}_2$ est fourni pendant 15 secondes au végétal, puis du $^{12}\text{CO}_2$ pendant la suite de l'expérience. A différents temps, les molécules marquées par la radioactivité sont recherchées au sein du végétal.



Document 2. Micrographies de cellules de feuille de Canne à sucre.

En haut : portion de cellule du mésophylle foliaire ;
 En bas : portion de cellule de la gaine périvasculaire.
 NB : Les parois cellulaires entre gaine et mésophylle sont riches en plasmodesmes.