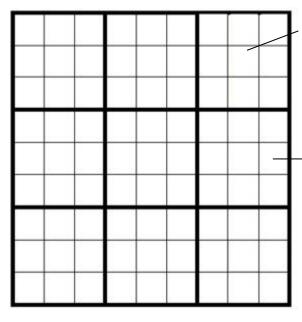
TP de biologie cellulaire et moléculaire

Exploitation des résultats des TP 4 et 5

Détermination de la concentration d'une suspension de microorganismes

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

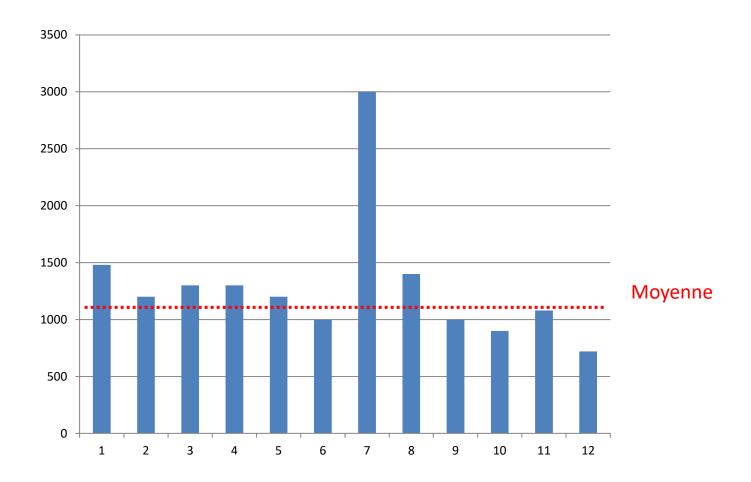


V1 = volume de liquide sous un grand carré = $0,1 \mu$ L

V0 = volume de liquide sous un petit carré = $0.33*0.33*100 \ \mu m^3 = 0.011 \ \mu L \approx 0.01 \ \mu L$

V = volume de liquide dans la grille = 3 *3 *100 μ m³ = 0,9 mm³ = 0,9 μ L

Résultats obtenus par les différents groupes



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

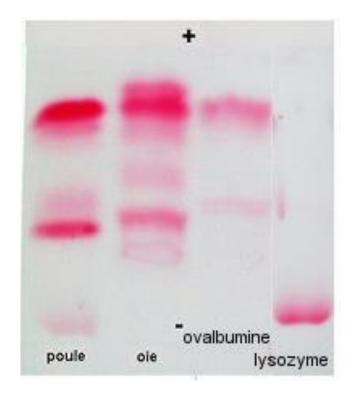
Tableau 2. Calculs conduisant à la détermination de la concentration cellulaire

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)	Cd = 12/0,01 = 1200 cellules / μL
Facteur de dilution de la suspension initiale	1
Concentration cellulaire de la	$C = Cd = 1,2. 10^3 \text{ cellules } / \mu L$
suspension étudiée (cellules / mL)	C = 2,4. 10 ⁶ cellules / mL

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

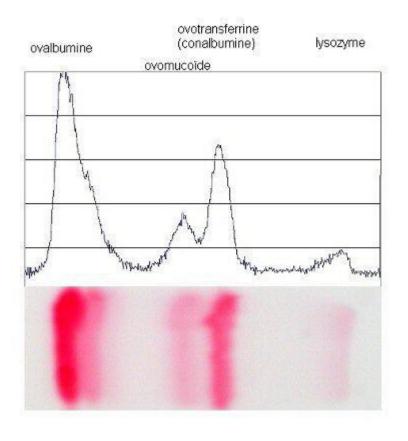
Séparation par électrophorèse sur bande d'acétate de cellulose des protéines du blanc d'œuf d'oiseau

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





Profil densitométrique des protéines du blanc d'oeuf de poule (coloration par le rouge Ponceau) http://www.didier-pol.net/3elec-protoeuf.htm



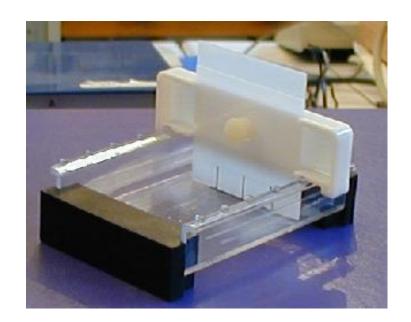
Électrophorèse d'ADN sur gel d'agarose

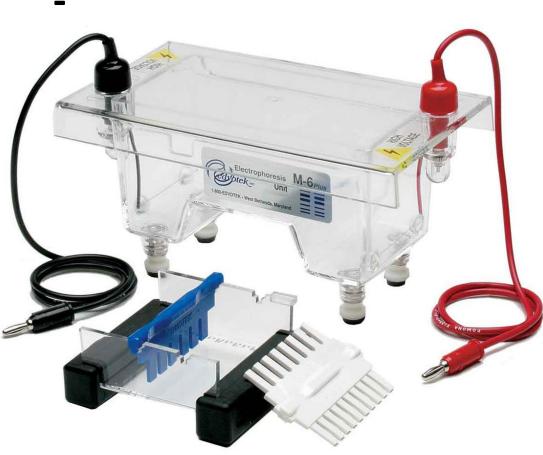
http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/ATP/bioch1.htm#pratique

Cathode









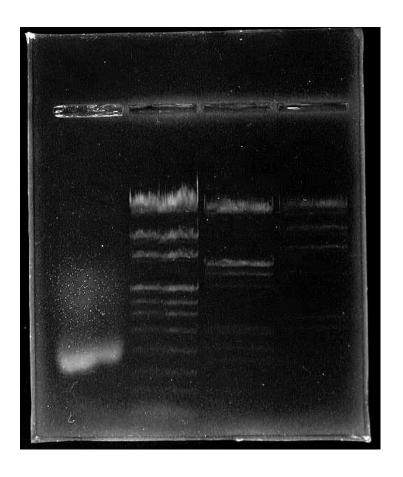
Même mode opératoire que pour les flash gels mais c'est plus long à mettre en oeuvre

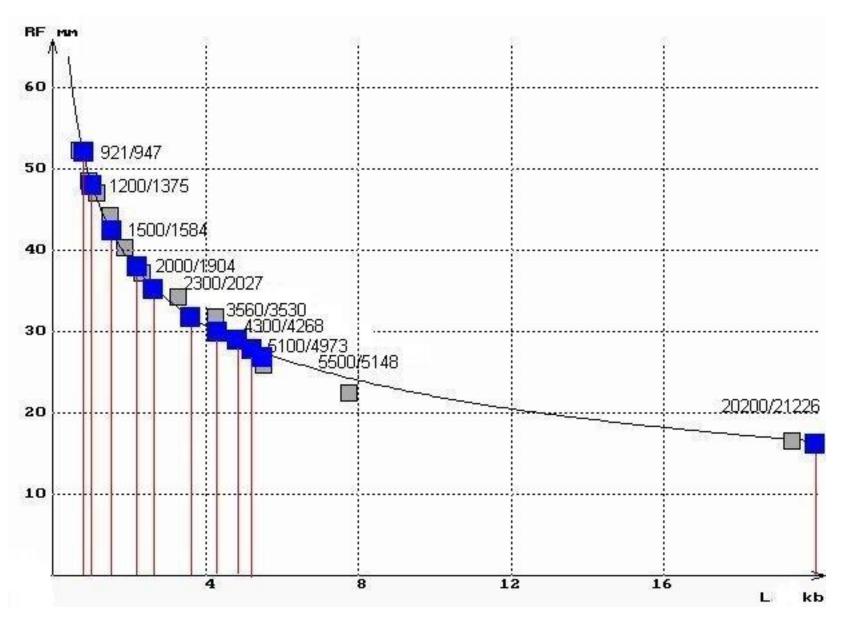
Électrophorèse d'ADN sur gel d'agarose (FlashGel)



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

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

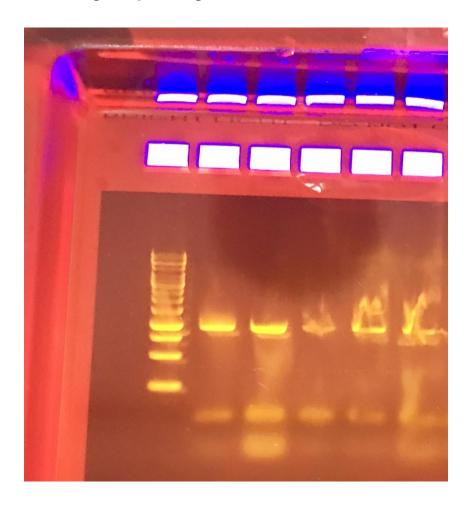


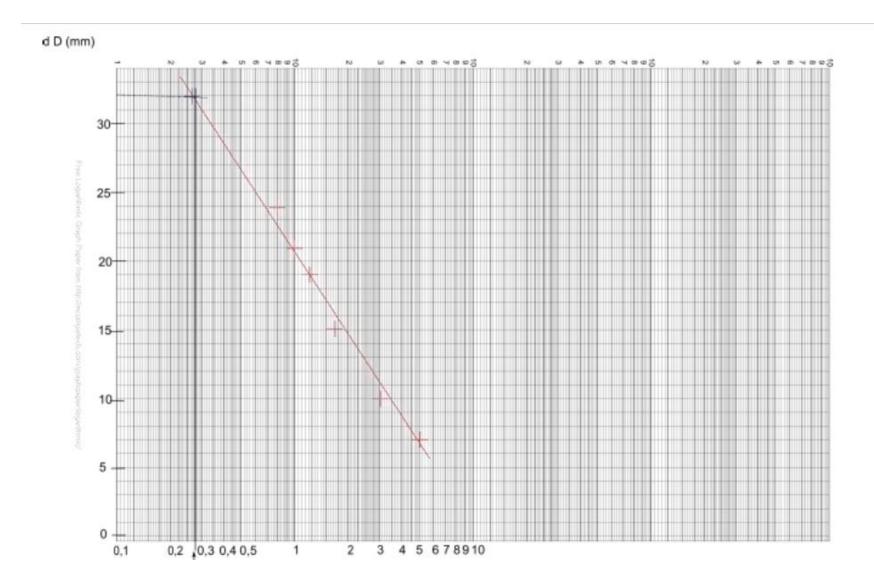


Détermination graphique de la taille de fragments de restriction

Photographie d'un des gels après migration

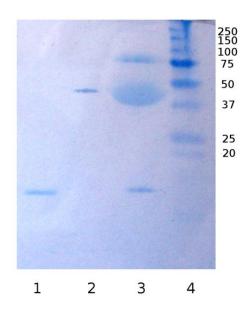
Ma	rqueurs de taille(KB)	D mm
-	0,27	32
-	0,8	24
-	1	21
-	1,2	19
-	1,7	15
- ;	3	10
_	5.4	7





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/Vmax = 50 ua d'où Vmax = 0,02 ua Pour 1/Vi = 0, on calcule -1/KM = -51/21,5 d'où Vmax = 0,02 ua

Autre façon de déterminer la Vi?

Comparons avec les valeurs d'hier....

Rappel équation de Mickaelis Menten

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

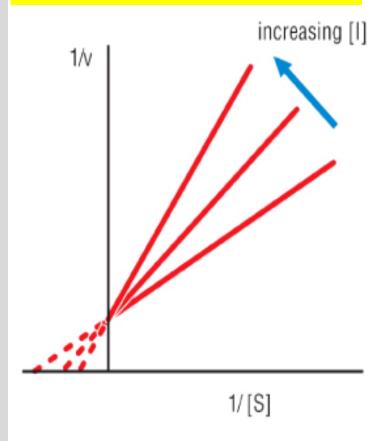
Traduction cinétique de deux inhibitions

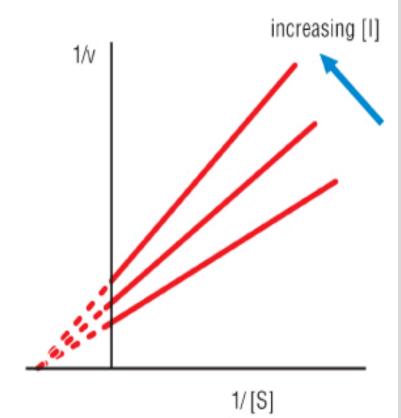


Pas de changement de Vm Mais Km augmente

Non compétitive

Pas de changement de Km Mais Vm diminue





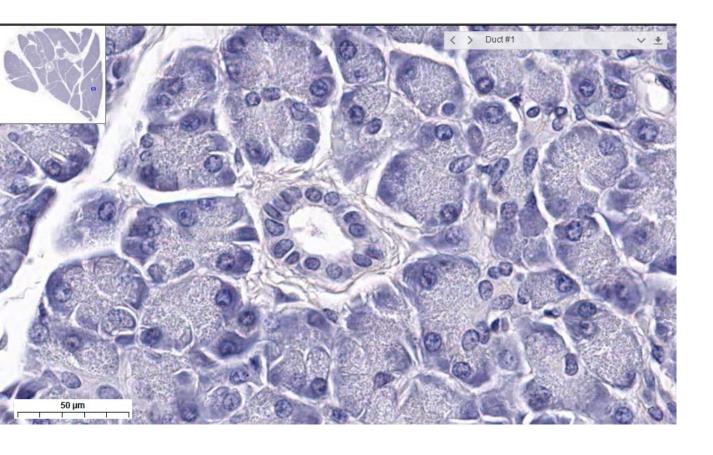
competitive

noncompetitive

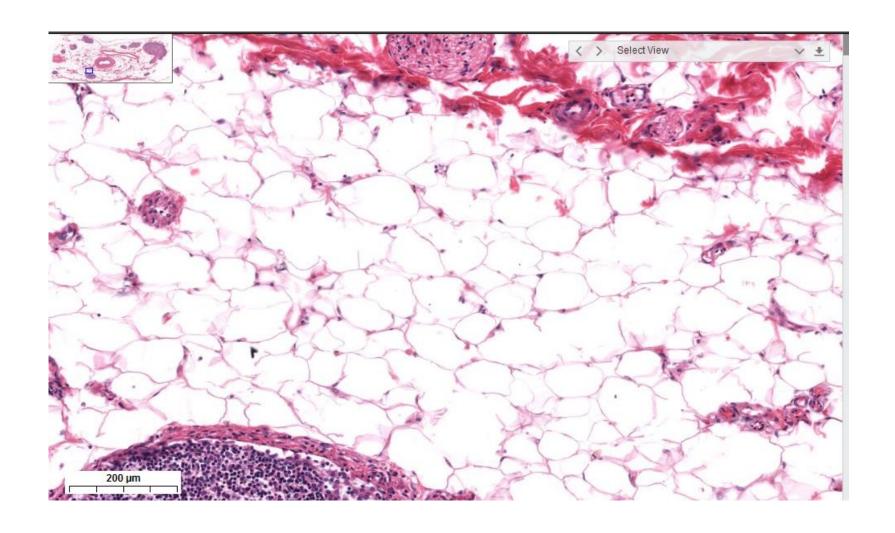
© 1999-2006 New Science Press

Histologie animale

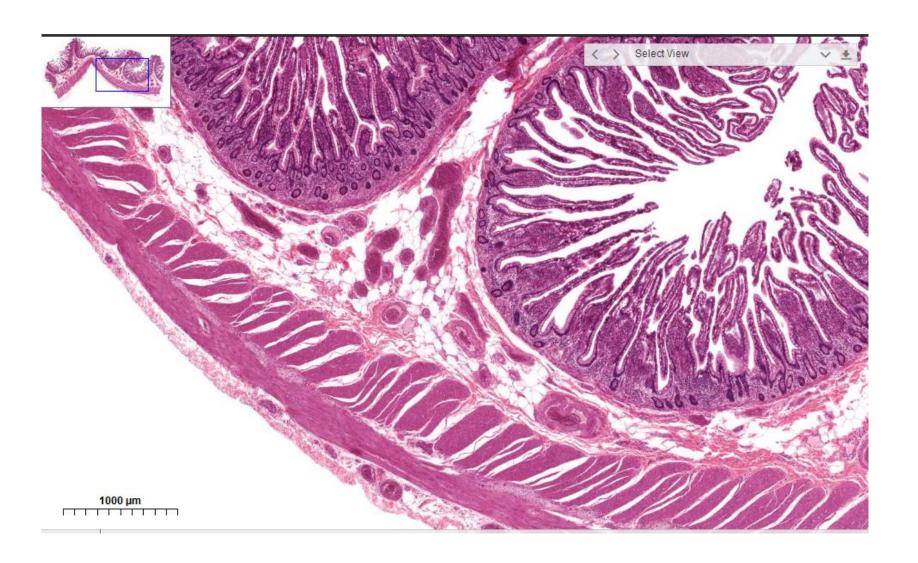
http://www.histologyguide.com/index/index-A.html



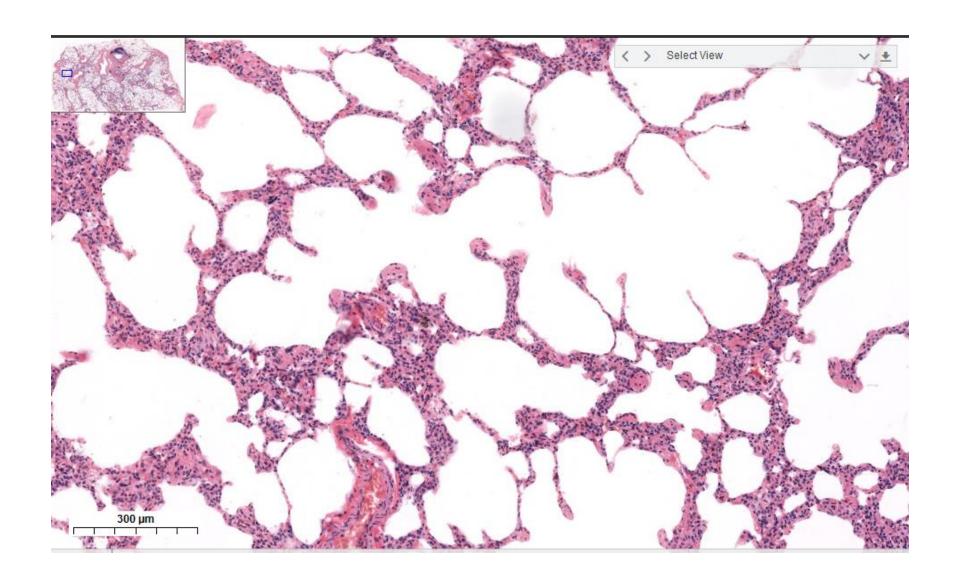
Tissu épithélial : pancréas exocrine



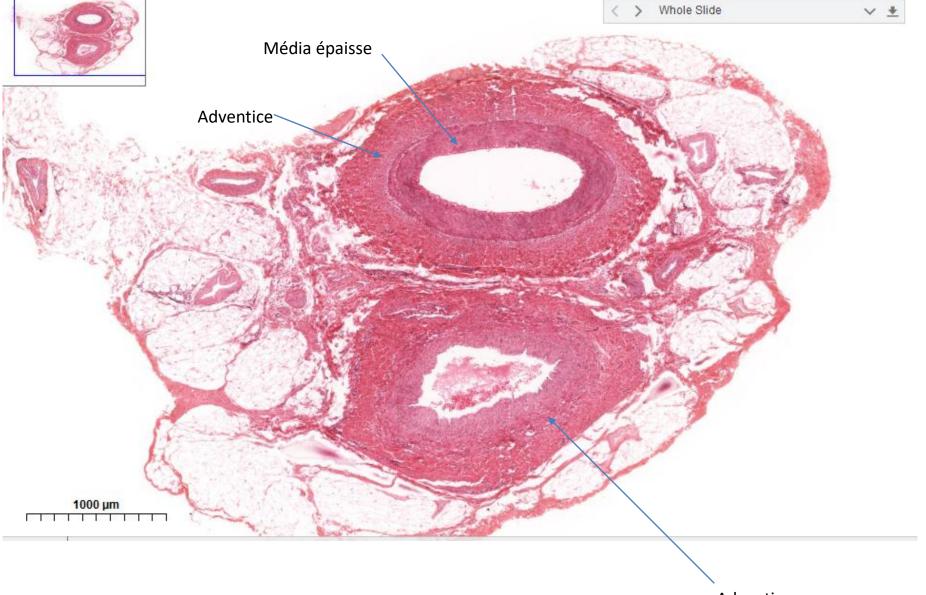
Tissu conjonctif: tissu adipeux



Coupe transversale intestin

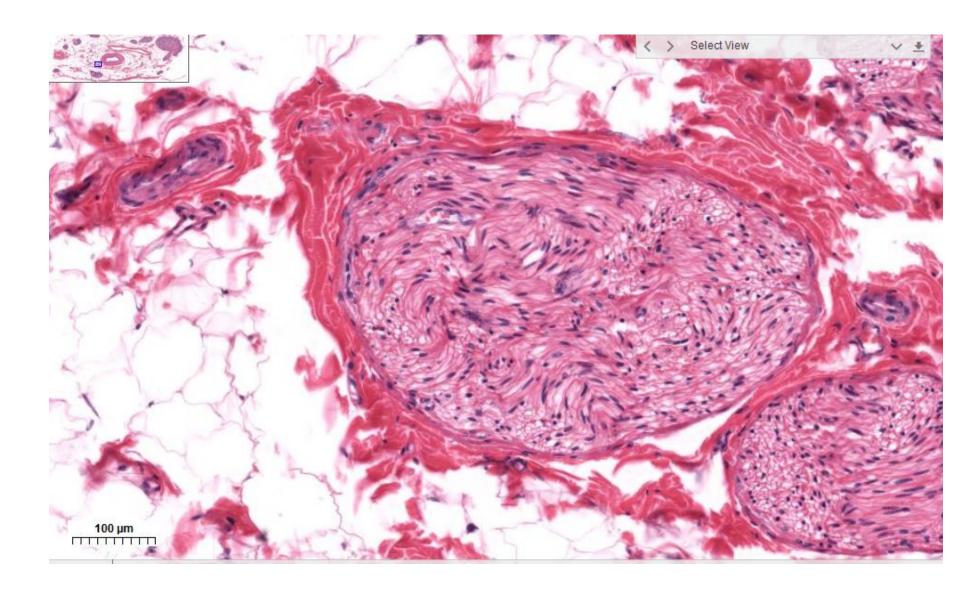


Poumon épithélium alvéolaire

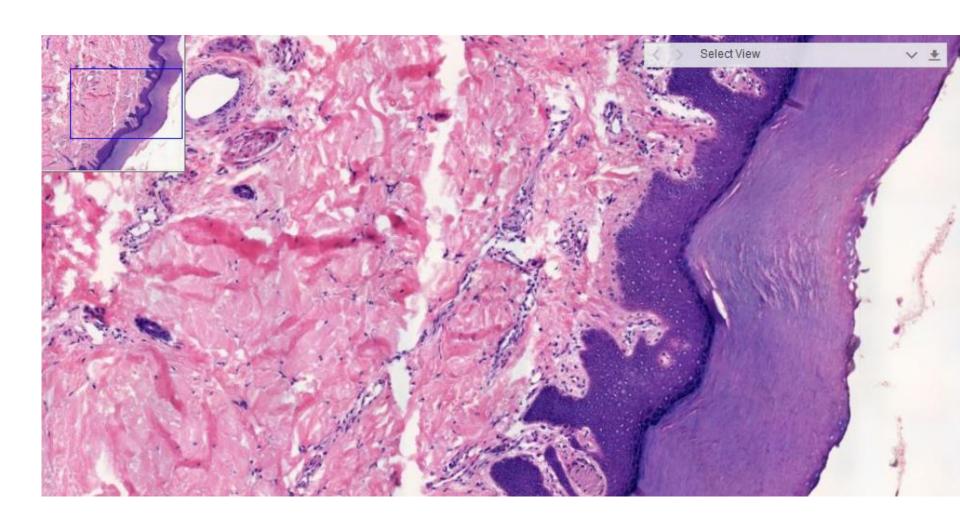


Artère et veine

Adventice

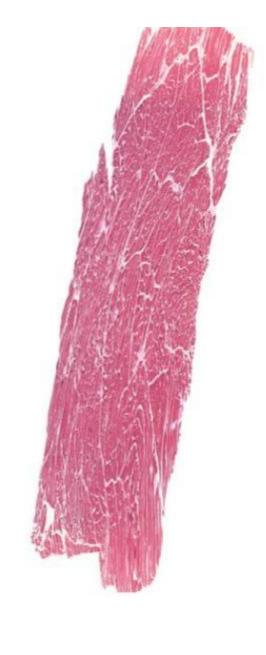


Tissu neural



Peau de mammifère

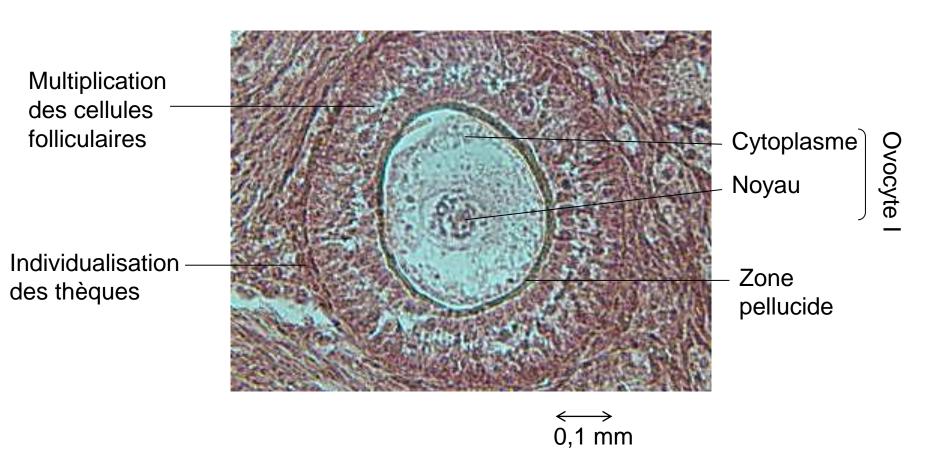




CT et CL de muscles

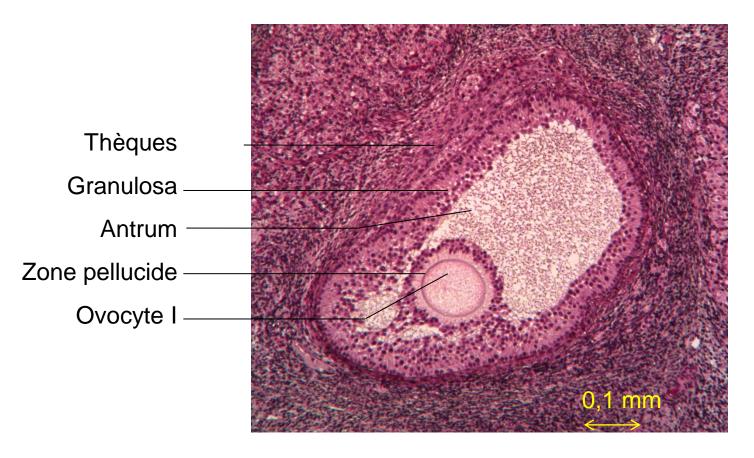
2 - Follicule secondaire

M.O. Grossissement x 100



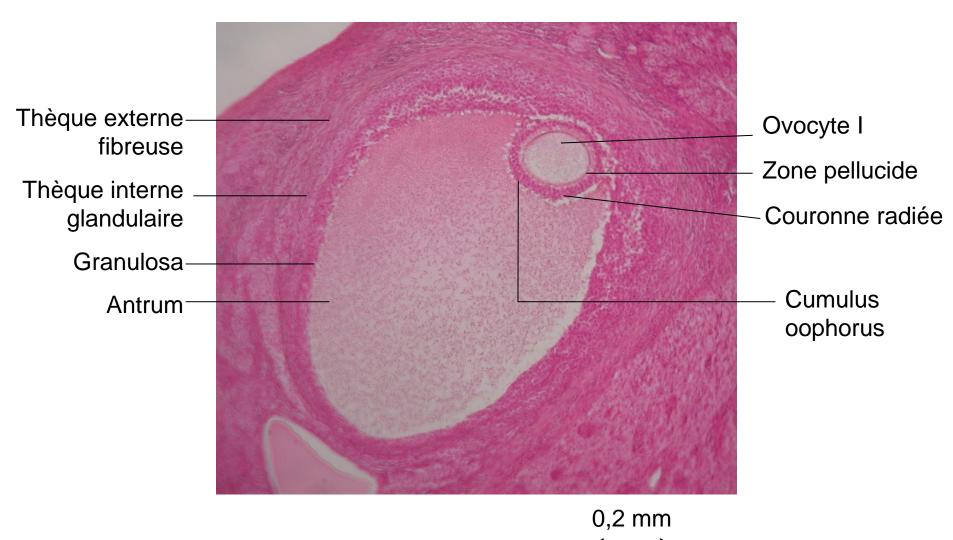
3 - Follicule tertiaire

M.O. Grossissement x 100



Follicule mûr de de Graaf

M.O. Grossissement x 100



L'épithélium séminifère

