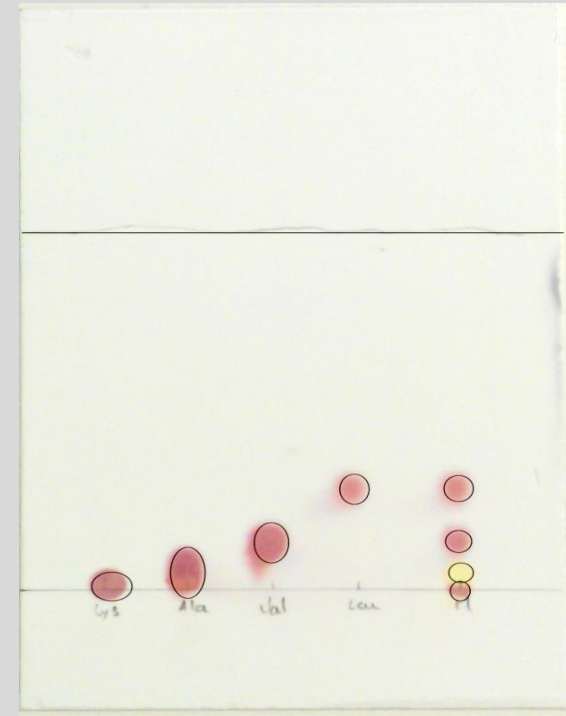
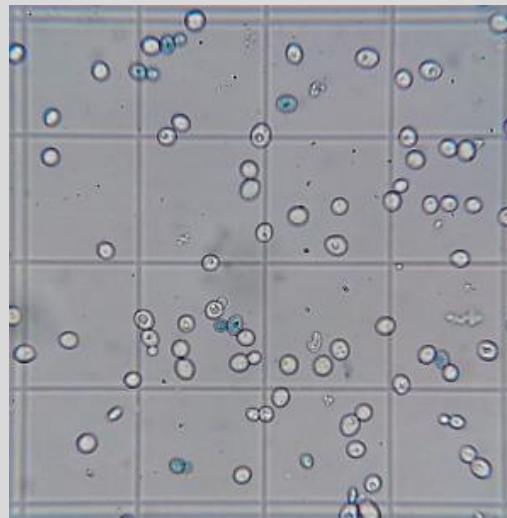
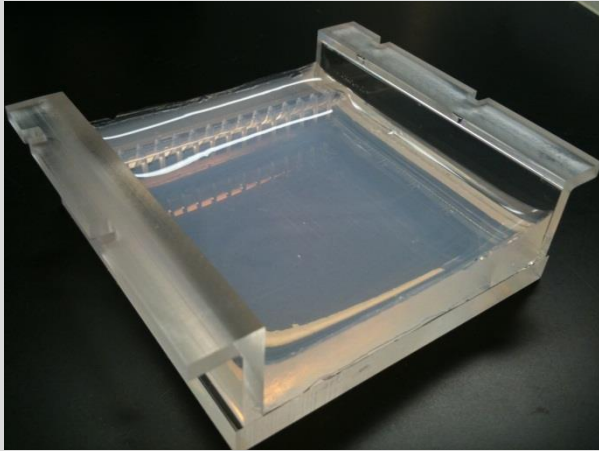


Révisions TP Biologie Séance « 4 »

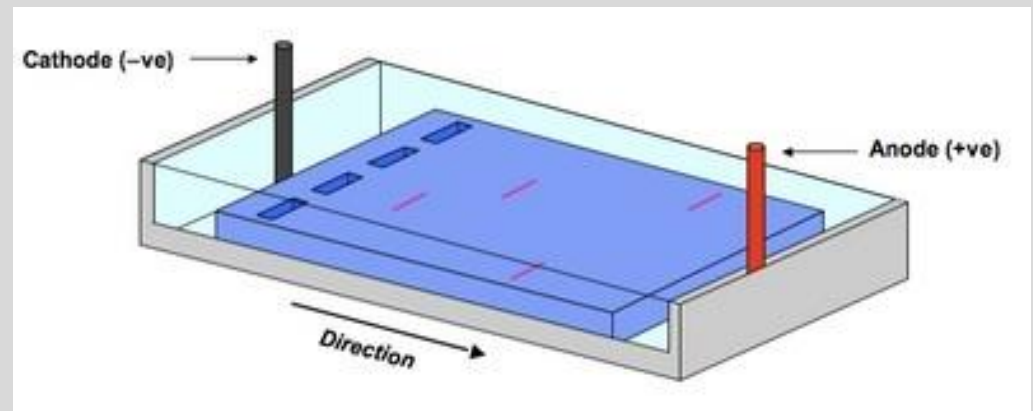
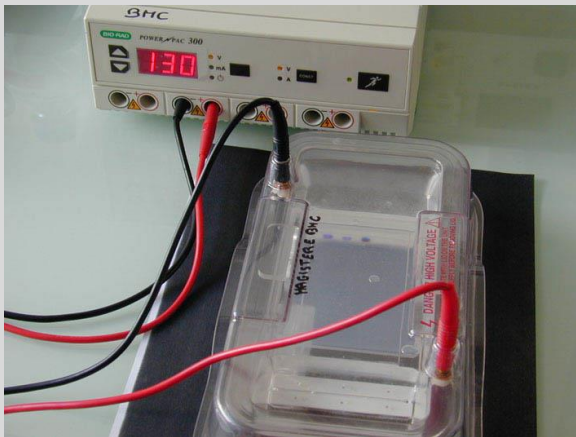


Electrophorèse de protéines dénaturées et non dénaturées sur agarose : dispositif expérimental

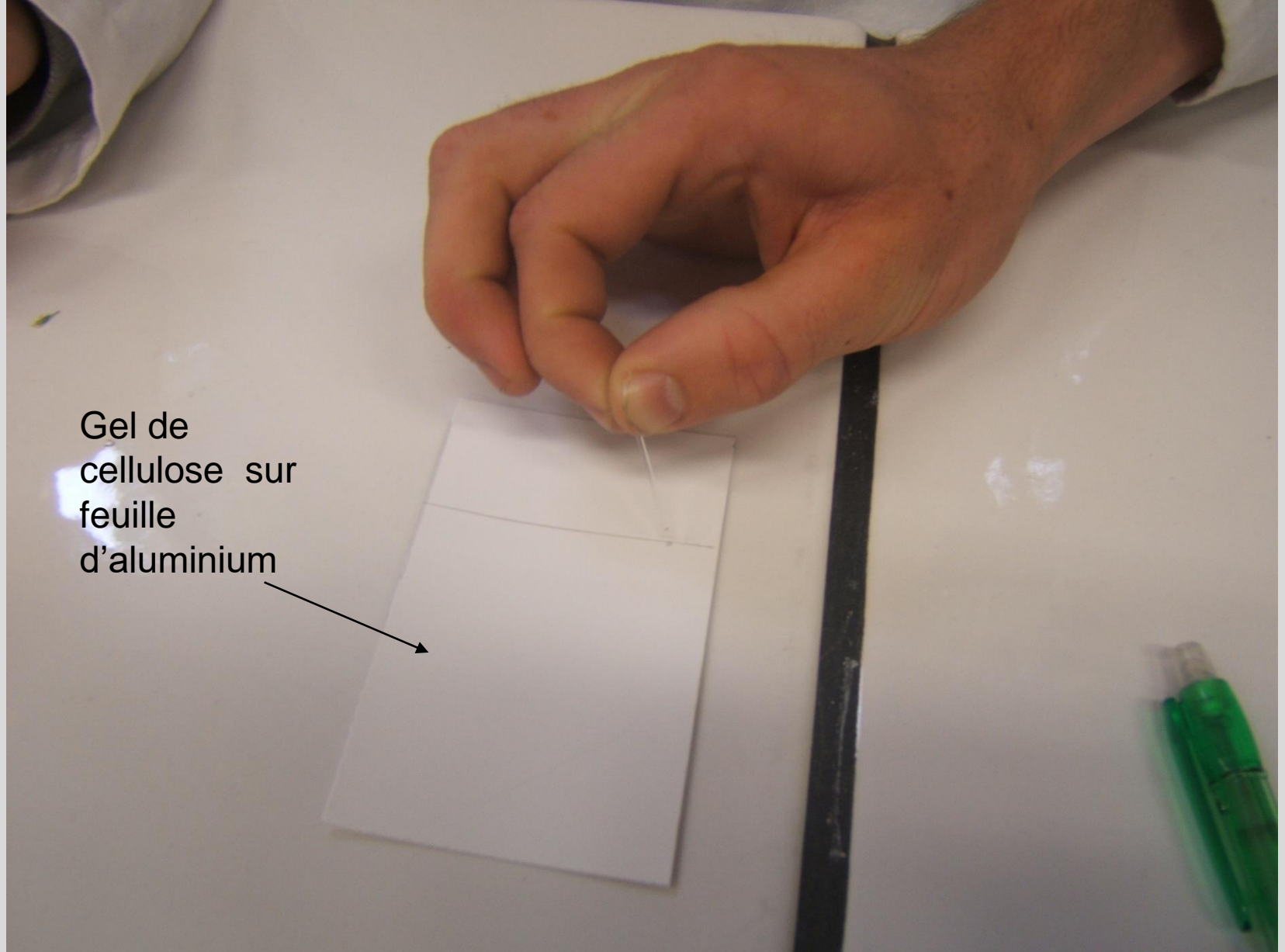


A gauche :
le support = gel
d'agarose

A droite : réalisation
des dépôts dans les
puits



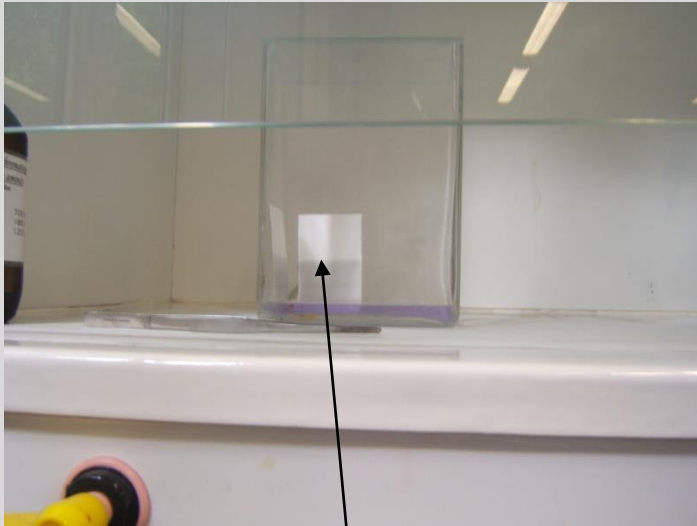
Le générateur permet d'appliquer une tension aux bornes de la plaque d'agarose.
Les protéines chargées - (en raison du tampon utilisé) migrent vers l'anode chargée +.



Gel de
cellulose sur
feuille
d'aluminium

Chromatographie des acides aminés: phase de dépôt

Chromatographie des acides aminés sur gel de silice



La migration

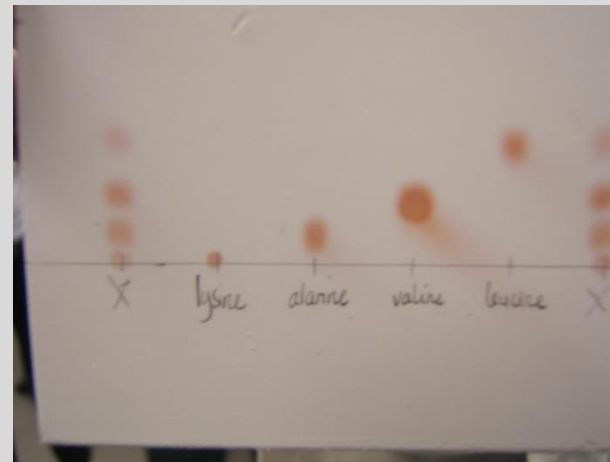
Front de migration du solvant

Solvant :

70% butanol,
18 % acide acétique,
12 % eau



Le séchage
Après bain à la
Ninhydrine

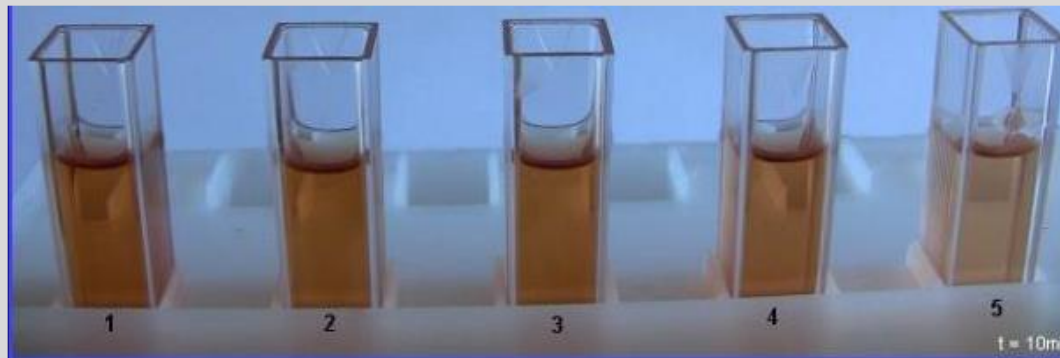
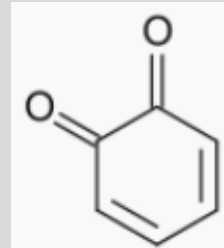
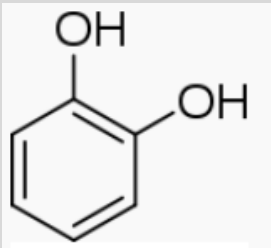
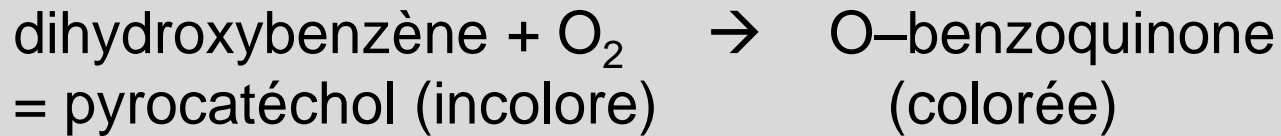


Les tâches des différents acides aminés sont apparues

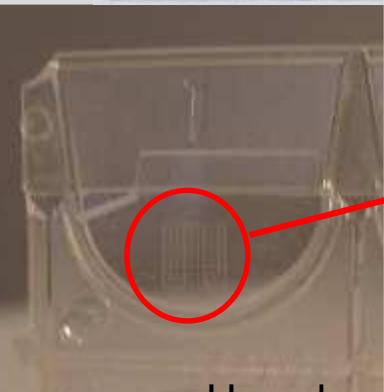
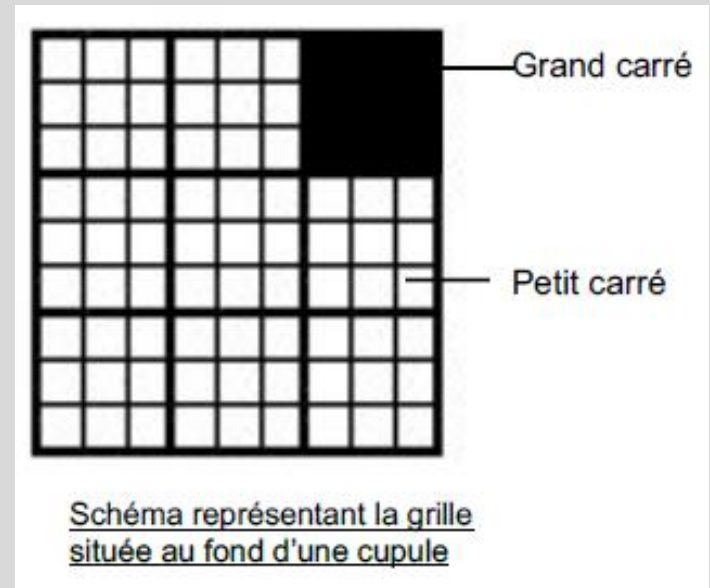
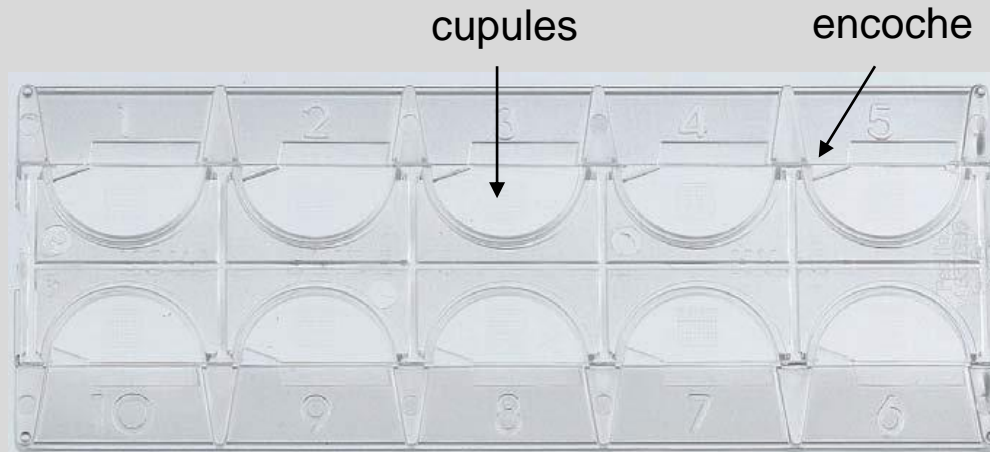
Suivi d'une réaction enzymatique par colorimétrie



tyrosinase



Utilisation d'une lame de numération cellulaire KOVA



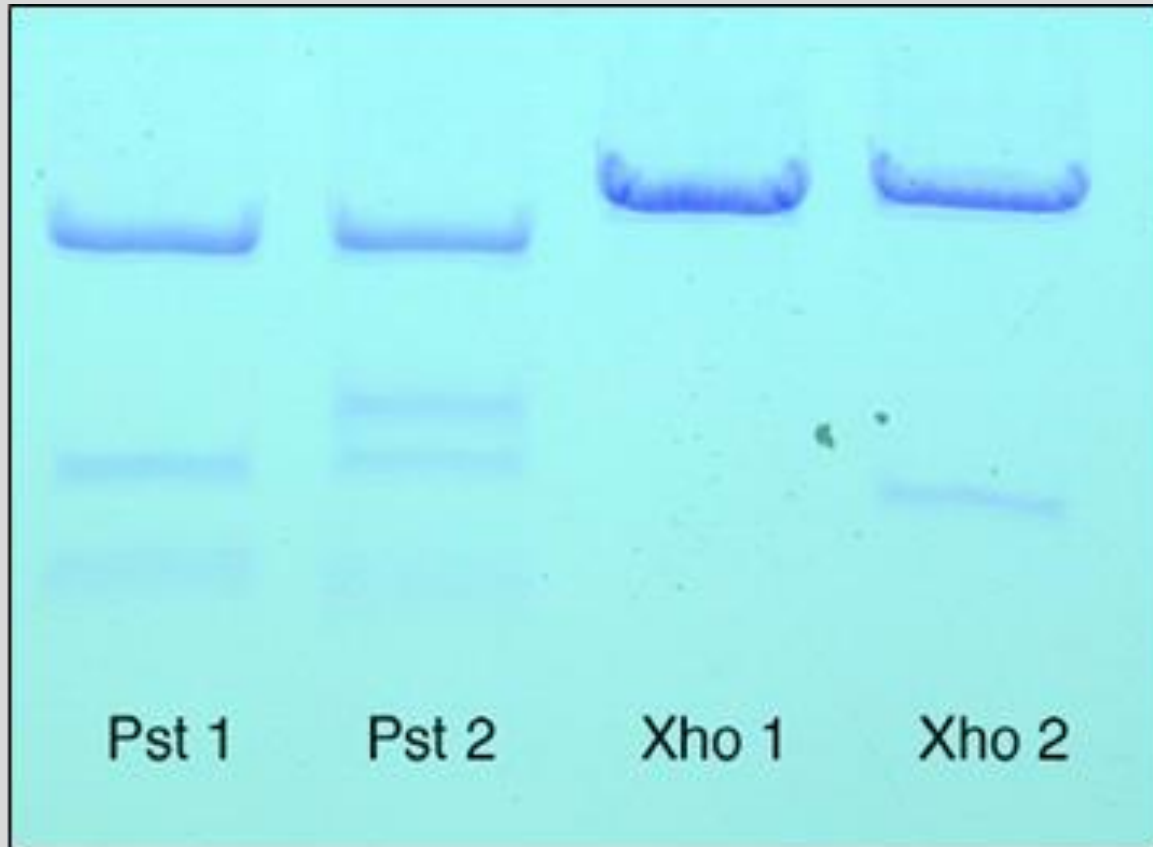
Une lame KOVA comporte 10 cupules ou chambres de comptage individuelles numérotées (voir ci-dessus) à grille quadrillée (représentée à droite).

Le volume de liquide retenu sur la grille est de 1 μL .

En fonction de la densité cellulaire, le nombre total N de cellules par μL s'obtient soit :

- en comptant sur toute la grille si les cellules sont peu nombreuses,
- en comptant sur un grand carré (= 0,1 μL) si les cellules sont nombreuses,
- en comptant sur un petit carré (\approx 0,01 μL) si les cellules sont très nombreuses.

Exemple de résultats



Résultats obtenus. L'indice 1 ou 2 fait référence à l'ADN testé (ADN1 ou ADN2).

Résultats d'électrophorèse pour l'ADN de phage λ et de phage λ muté digérés par les enzymes de restriction EcoRI et HindIII



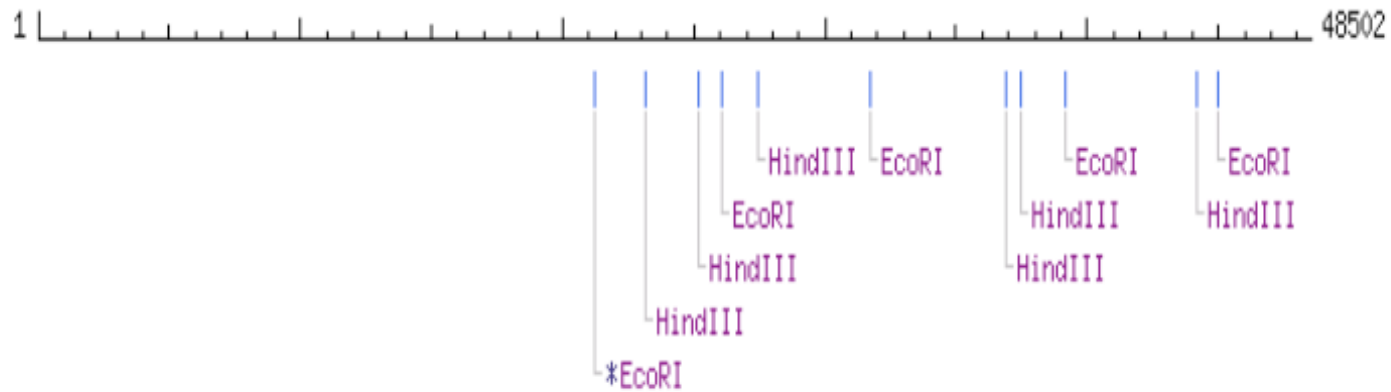
Résultats d'électrophorèse pour l'ADN de phage λ et de phage λ muté digérés par les enzymes de restriction EcoRI et HindIII

BANDES OBTENUES SUR LES ELECTROPHORESES DE L'ADN DU PHAGE λ :

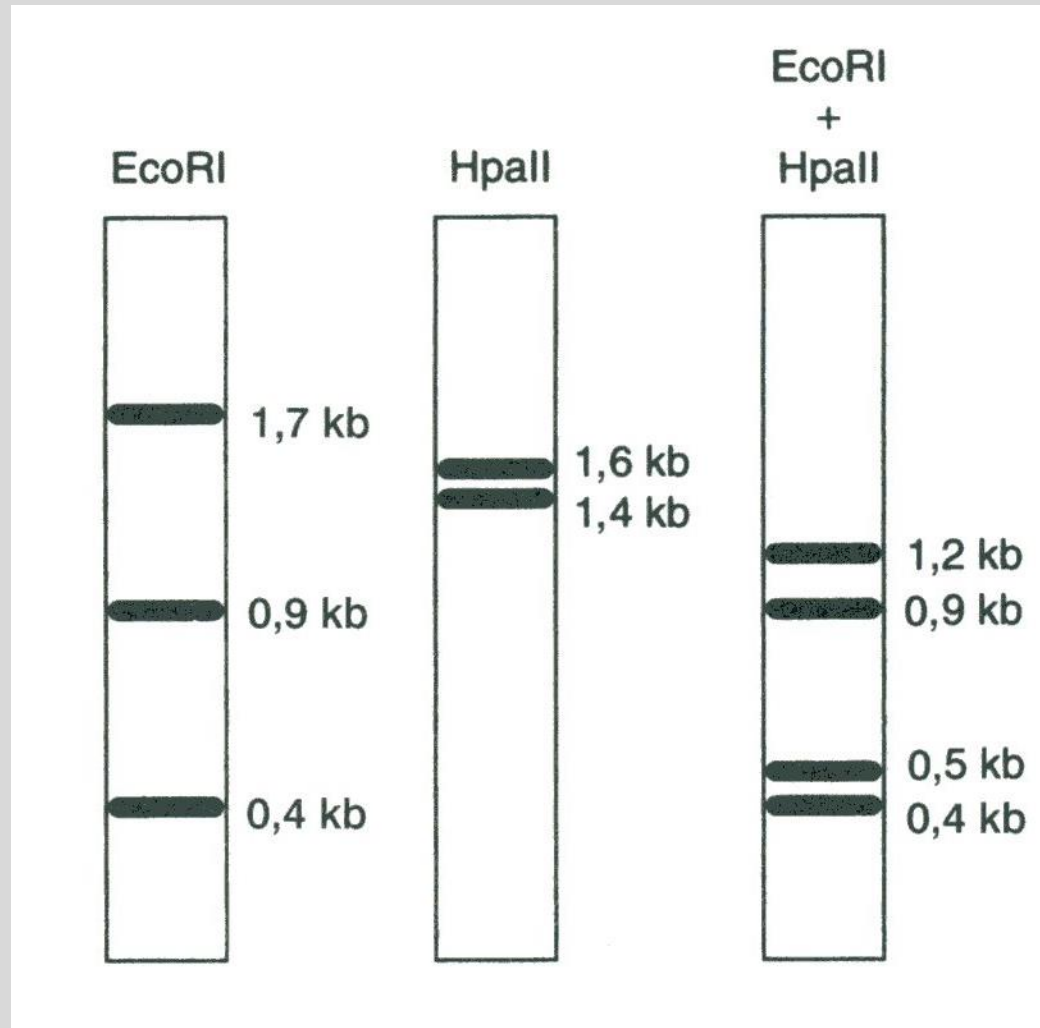
<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 48 502	<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 21 226	<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 23130	<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 21226
	<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 7 421	<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 9416	
	<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 5 804	<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 6682	
	<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 5 643		<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 5148
	<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 4 878		<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 4973
	<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 3 530	<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 4361	<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 4268
			<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 3530
		<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 2322	
		<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 2027	<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 2027
			<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 1904
		(564) (125)	<div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 10px; margin: 0 auto;"></div> 1584 (1375) (947) (831) (564)
ADN de phage λ	Digéré par EcoRI	Digéré par HindIII	Double digéré par EcoRI et HindIII

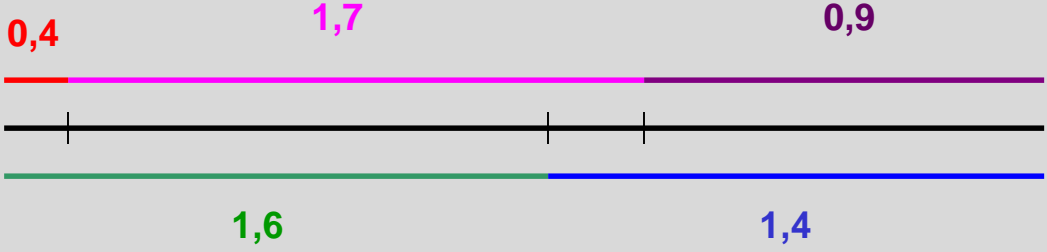
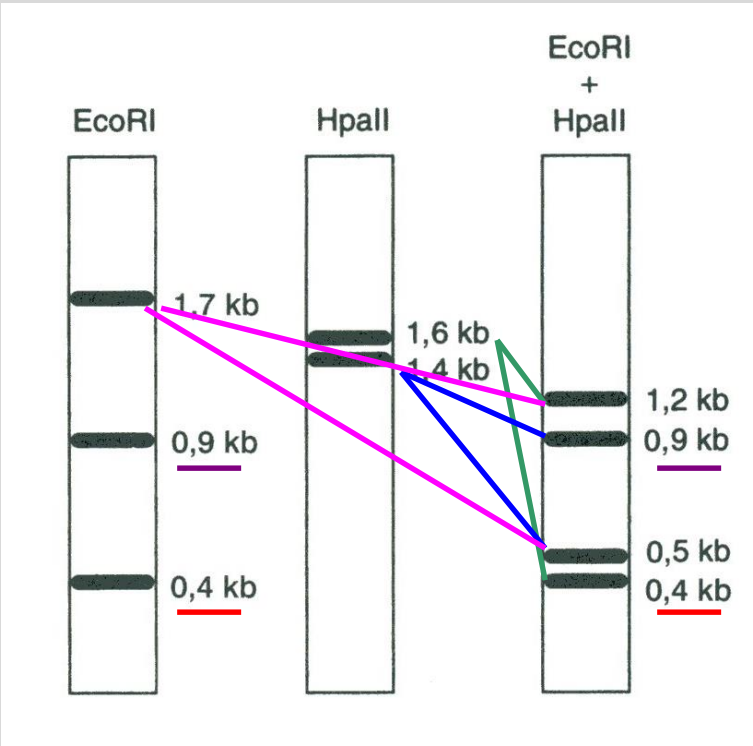
Résultats d'électrophorèse pour l'ADN de phage λ et de phage λ muté digérés par les enzymes de restriction EcoRI et HindIII

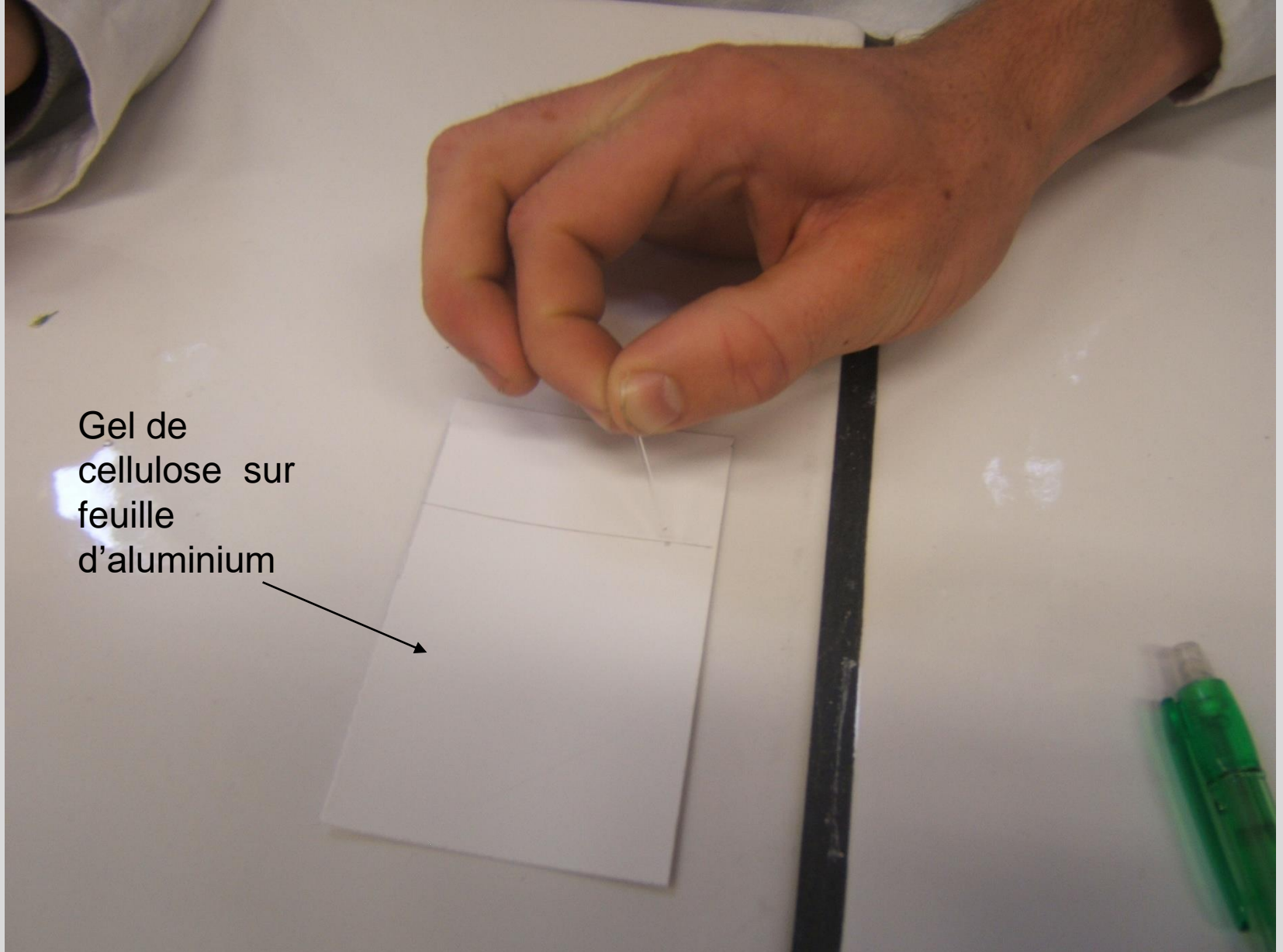
CARTE DE RESTRICTION DE L'ADN DE PHAGE LAMBDA :



Résultats d'électrophorèse pour l'ADN de phage λ digéré par les enzymes de restriction EcoRI et HpaII



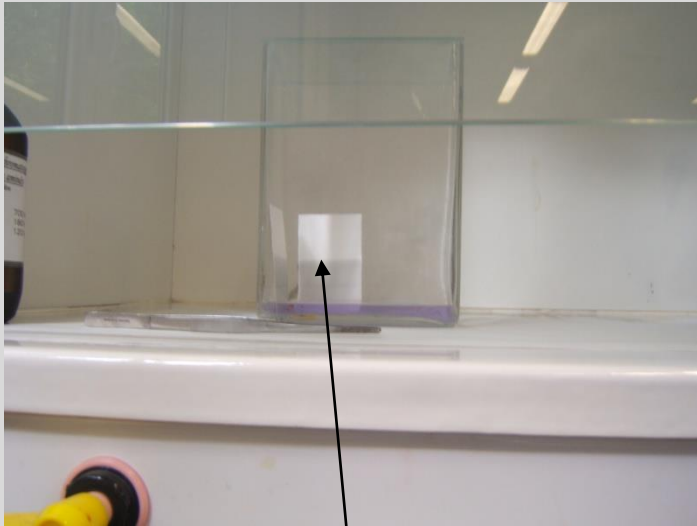




Gel de
cellulose sur
feuille
d'aluminium

Chromatographie des acides aminés: phase de dépôt

Chromatographie des acides aminés sur gel de silice



La migration

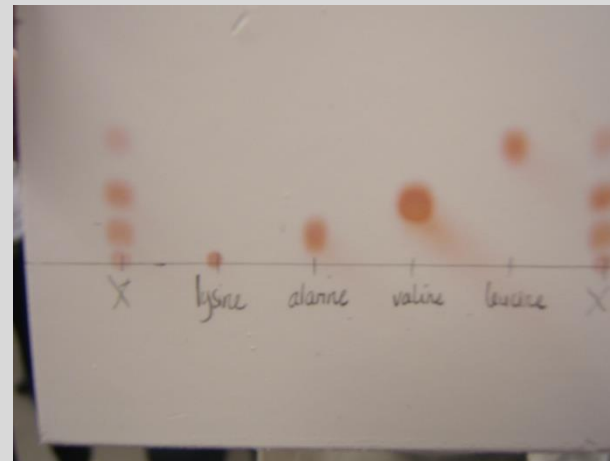
Front de migration du solvant

Solvant :

70% butanol,
18 % acide acétique,
12 % eau

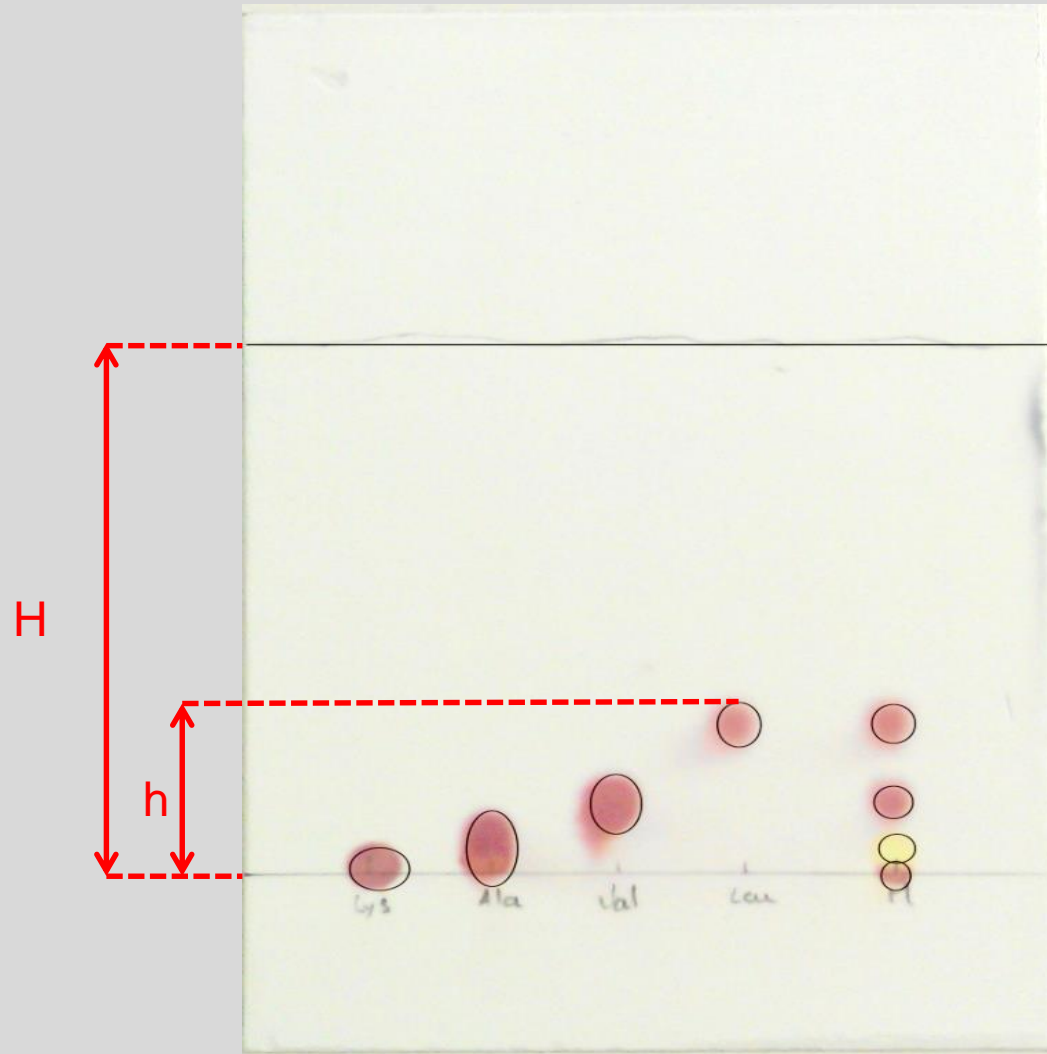


Le séchage
Après bain à la
Ninhydrine



Les tâches des différents acides aminés sont apparues

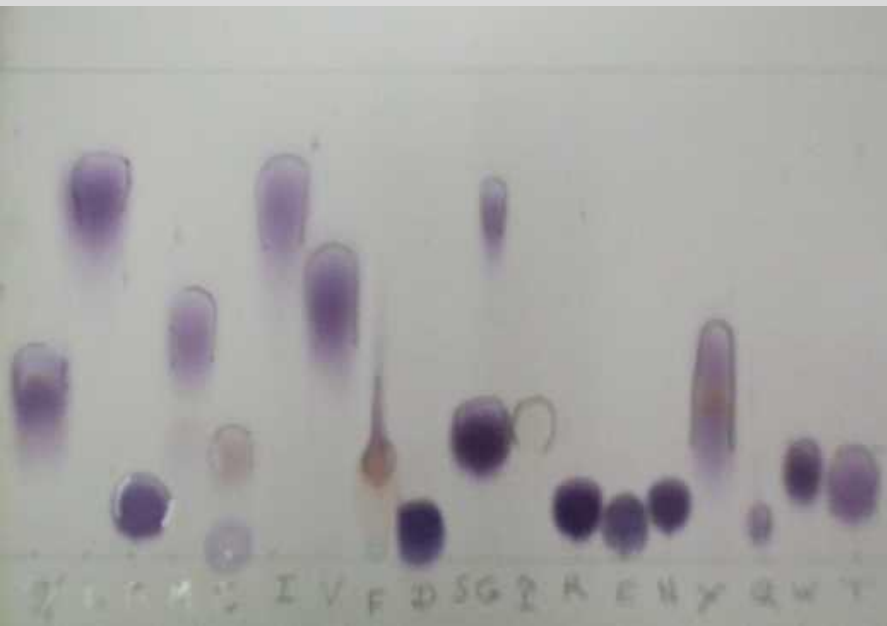
Chromatographie des acides aminés sur gel de silice : résultats



Calcul du rapport frontal pour la leucine :

$$R_f = h / H$$

$$R_f = 2,29 / 7,05 \\ = 0,32$$



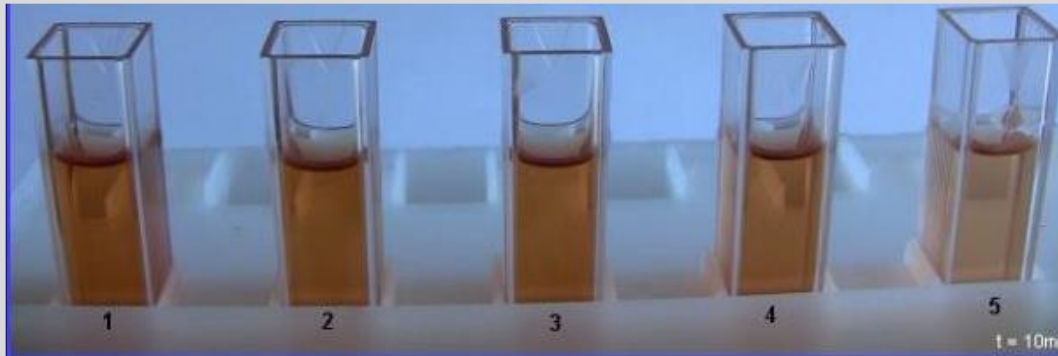
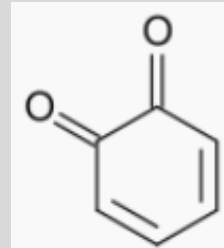
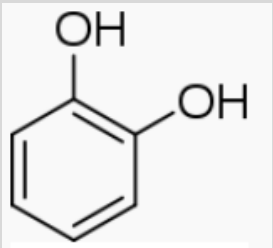
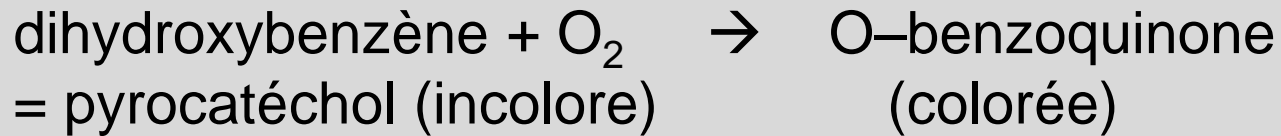
Acides aminés	Symboles à 3 lettres	Symboles à une lettre	Acides aminés	Symboles à 3 lettres	Symboles à une lettre
Alanine	ala	A	Leucine	leu	L
Arginine	arg	R	Lysine	lys	K
Asparagine	asn	N	Méthionine	met	M
Acide aspartique	asp	D	Phénylalanine	phe	F
Cystéine	cys	C	Proline	pro	P
Glutamine	gln	Q	Sérine	ser	S
Acide glutamique	glu	E	Thréonine	thr	T
Glycine	gly	G	Tryptophane	trp	W
Histidine	his	H	Tyrosine	tyr	Y
Isoleucine	ile	I	Valine	val	V

**Chromatographie sur gel de silice
de dix-neufs acides aminés protéinogènes
H A K M C I V F D S G P R E N Y Q W T**

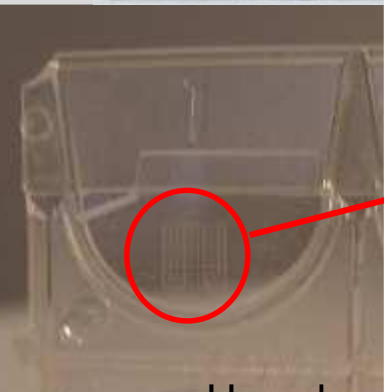
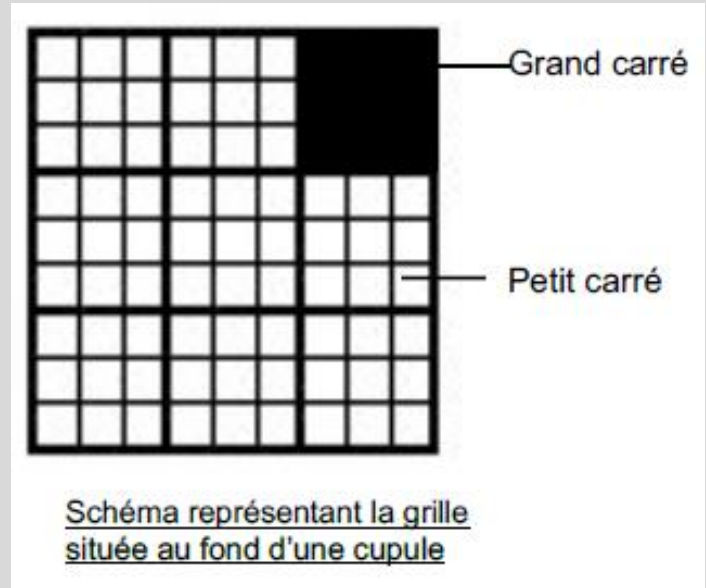
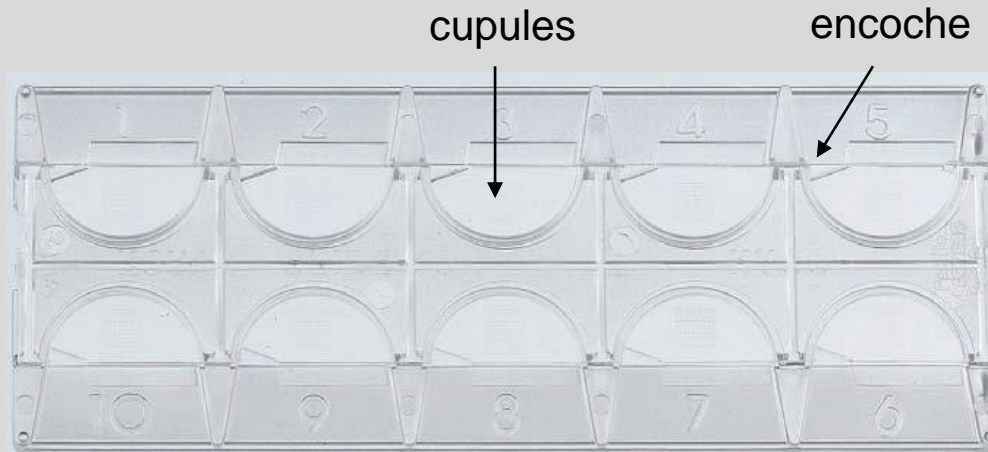
Suivi d'une réaction enzymatique par colorimétrie



tyrosinase



Utilisation d'une lame de numération cellulaire KOVA



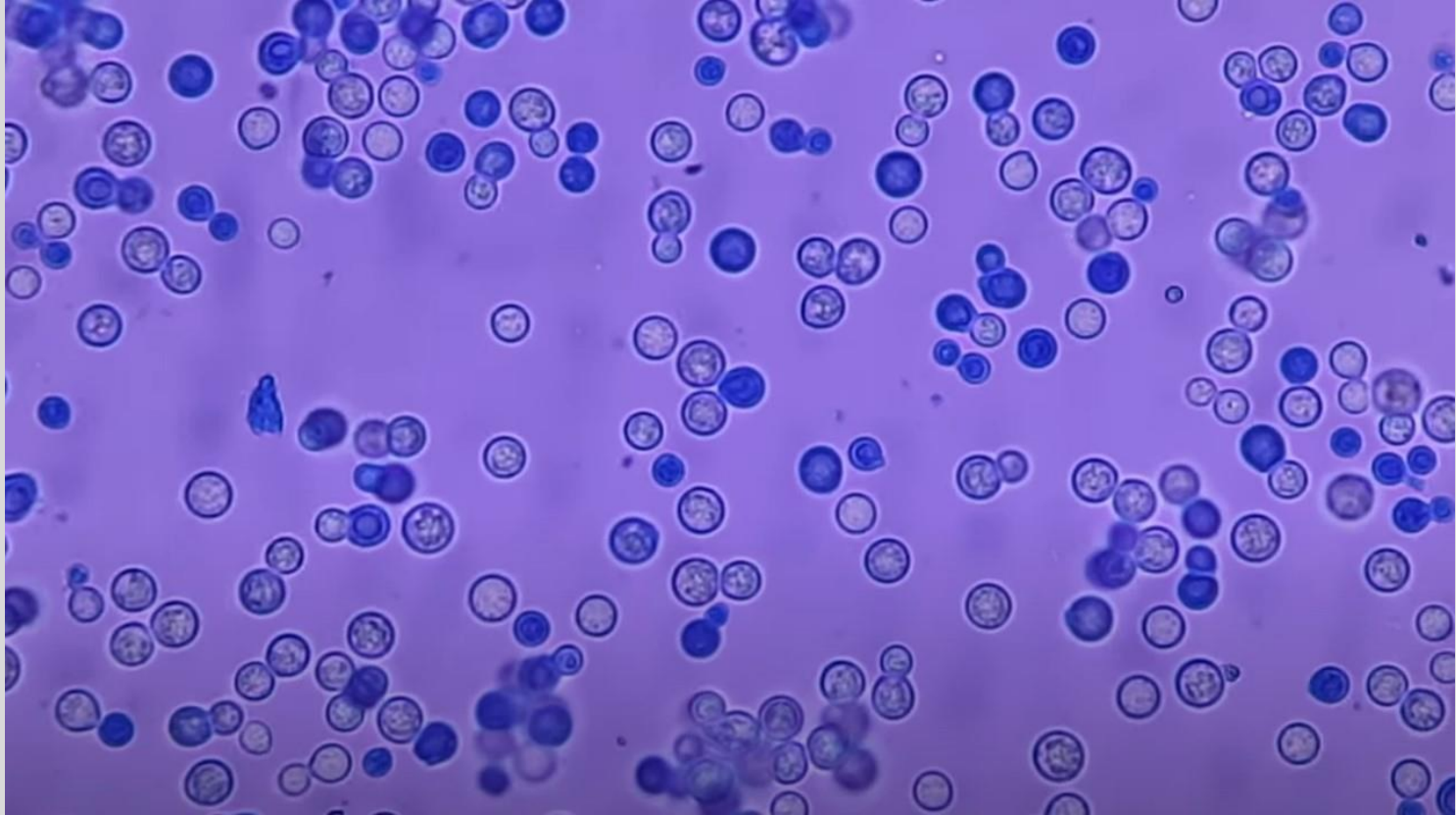
Une lame KOVA comporte 10 cupules ou chambres de comptage individuelles numérotées (voir ci-dessus) à grille quadrillée (représentée à droite).

Le volume de liquide retenu sur la grille est de 1 μL .

En fonction de la densité cellulaire, le nombre total N de cellules par μL s'obtient soit :

- en comptant sur toute la grille si les cellules sont peu nombreuses,
- en comptant sur un grand carré (= 0,1 μL) si les cellules sont nombreuses,
- en comptant sur un petit carré (\approx 0,01 μL) si les cellules sont très nombreuses.

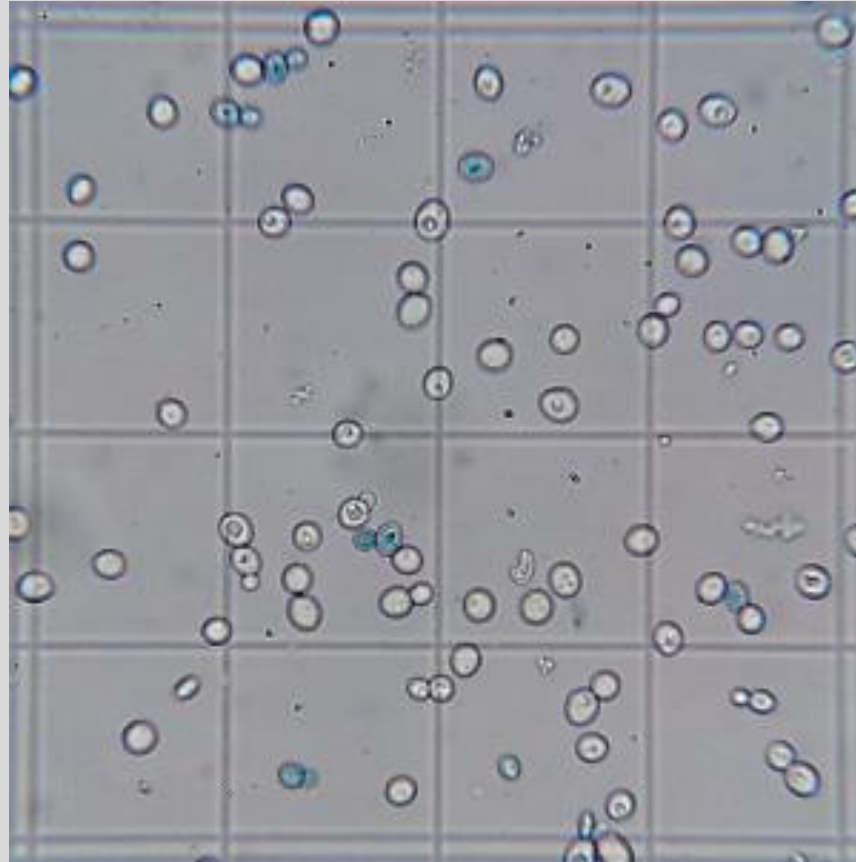
Observation de *Saccharomyces cerevisiae*



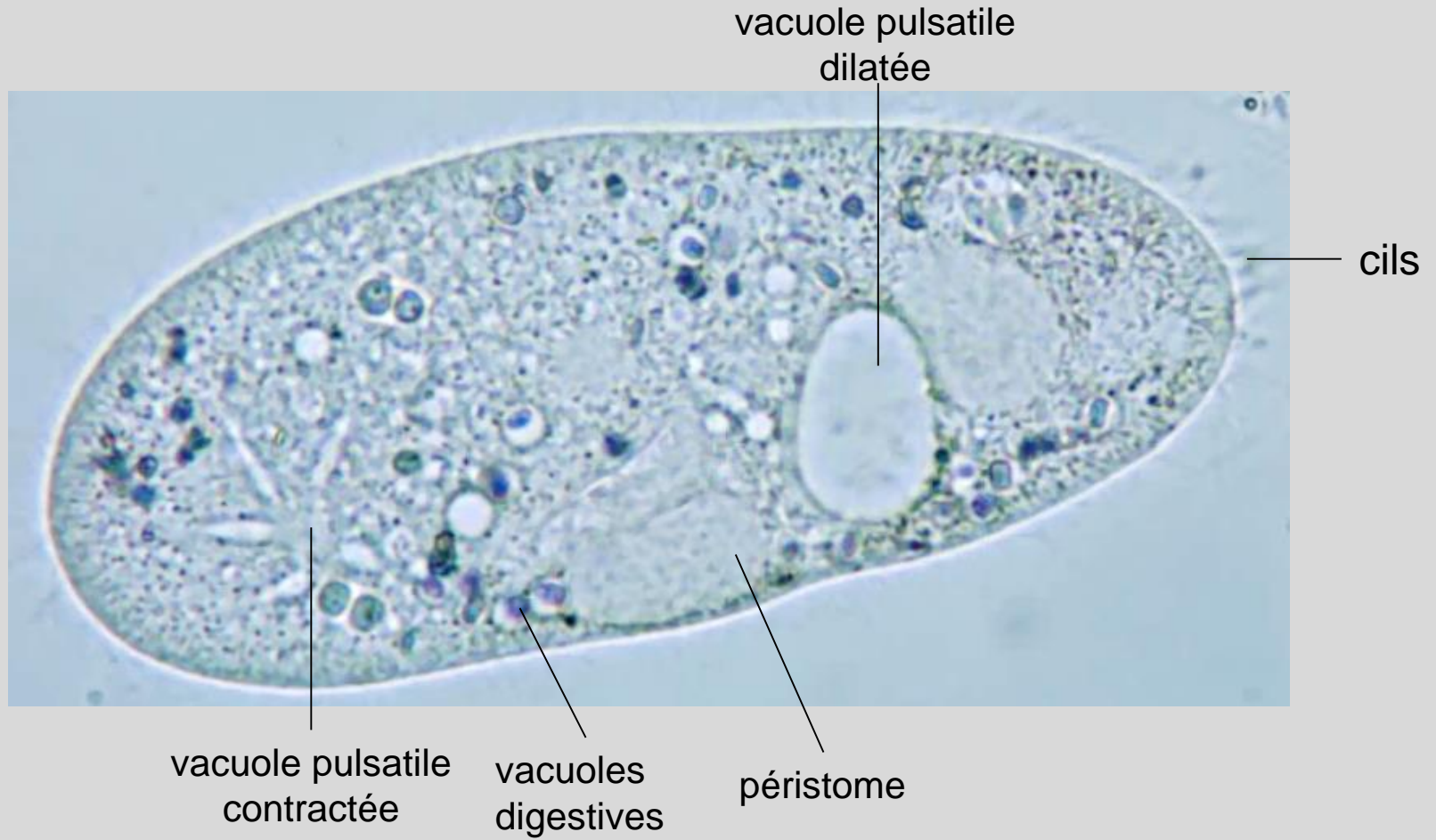
M.O.

Coloration au bleu de méthylène

Numération de levures avec lame KOVA



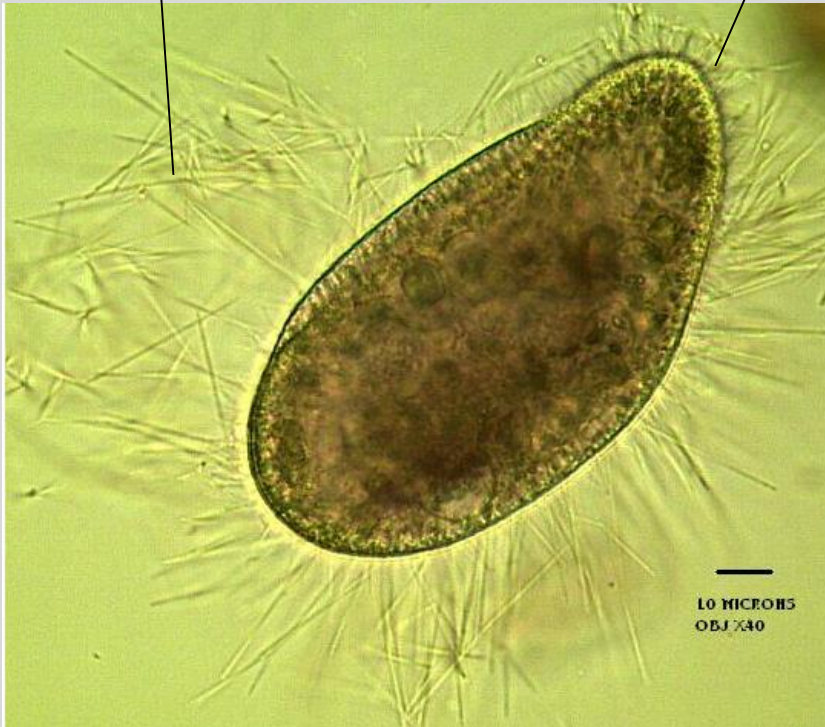
Observation d'une Paramécie vivante



Observation de Paramécies après coloration à l'eau iodée

trichocystes

cils



rangée de cils locomoteurs

