



# Chapitre 1

## LES METHODES D'ETUDE DE LA CELLULE

### La Microscopie

# MICROSCOPE OPTIQUE

UNIV BISKRA | DÉPARTEMENT: BIOLOGIE /MODULE: MST

### Résumé

La cellule est l'unité structurale et fonctionnelle fondamentales des organismes vivants et en raison de sa petite taille, la biologie cellulaire à, tout d'abord, besoin d'en obtenir une image agrandie de bonne qualité ; ceci a nécessité la mise au point d'outils comme les microscopes et de techniques appropriés qui ont été perfectionnés au fur et à mesure du temps.

**Dr Boucif A**

asma.boucif@yahoo.fr

# Partie 1

## Microscope optique

La microscopie est divisée en deux grands groupes, différents par la nature de la particule élémentaire impliquée

**On distingue deux grands types de microscopes suivant leur résolution :**

Les microscopes optiques et les microscopes électroniques.

Le microscope optique, aussi appelé photonique, parce qu'il utilise des photons et le microscope électronique qui utilise des électrons pour étudier l'objet. Afin d'observer des détails encore plus fins, il faut augmenter la résolution, qui est généralement proportionnelle à la longueur d'onde de la radiation utilisés pour interférer avec les structures étudiées.

### Les premiers microscopes optiques

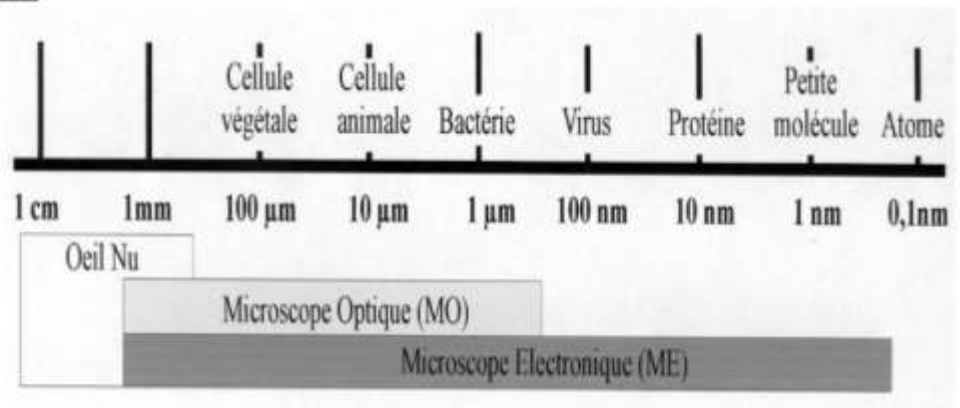


Cuff 1760



1751

### Les champs d'utilisation des microscopes :



# 1. Microscopes optiques

**Les microscopes optiques (à lumière ou photoniques)** : permettent l'observation de cellules vivantes ou mortes, grâce à des coupes très fines de préparations fixées, il donne ainsi une vue générale des cellules ou des tissus et permet aussi l'examen de cellules vivantes.

Le nom microscope vient du grec.

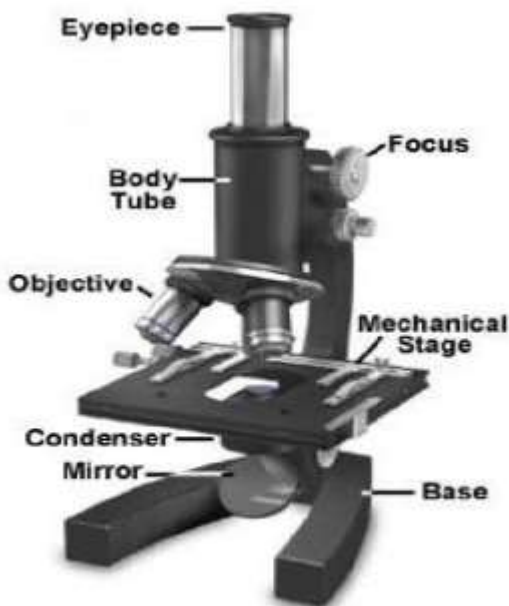
- Mikros signifie « **très petit** » : la mesure du millimètre.
- Skopein signifie « **observer** » : la vision et l'observation par l'œil

Les microscopes optiques utilisent de la lumière visible et le pouvoir séparateur du microscope photonique atteint sa limite théorique à  $0,2 \mu\text{m}$ , le grossissement étant au maximum  $\times 1000$ .

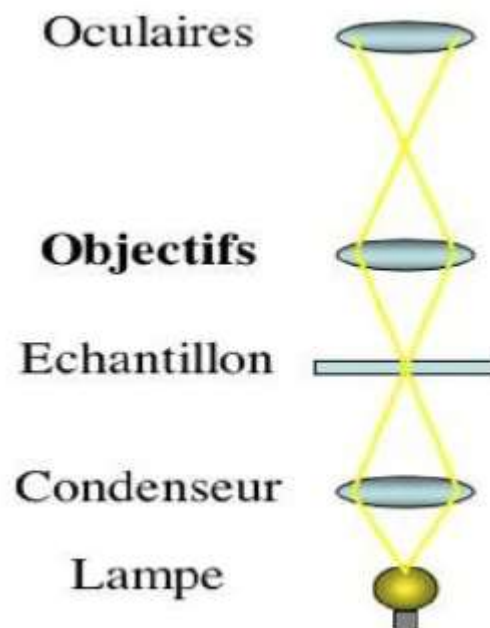
## Principe du microscope optique

Le M.O utilise comme source lumineuse la lumière visible. L'échantillon est éclairé en lumière transmise, et est examiné à travers un système optique. Il est équipé de **3 systèmes** de lentilles transparentes (verre) :

- Un objectif effectue le grossissement primaire et donne une image réelle.
- Un oculaire effectue le grossissement secondaire. Il permet à l'œil de former une image virtuelle agrandie de l'image réelle formée par la lentille de l'objectif.
- un condenseur concentre la lumière sur l'objet



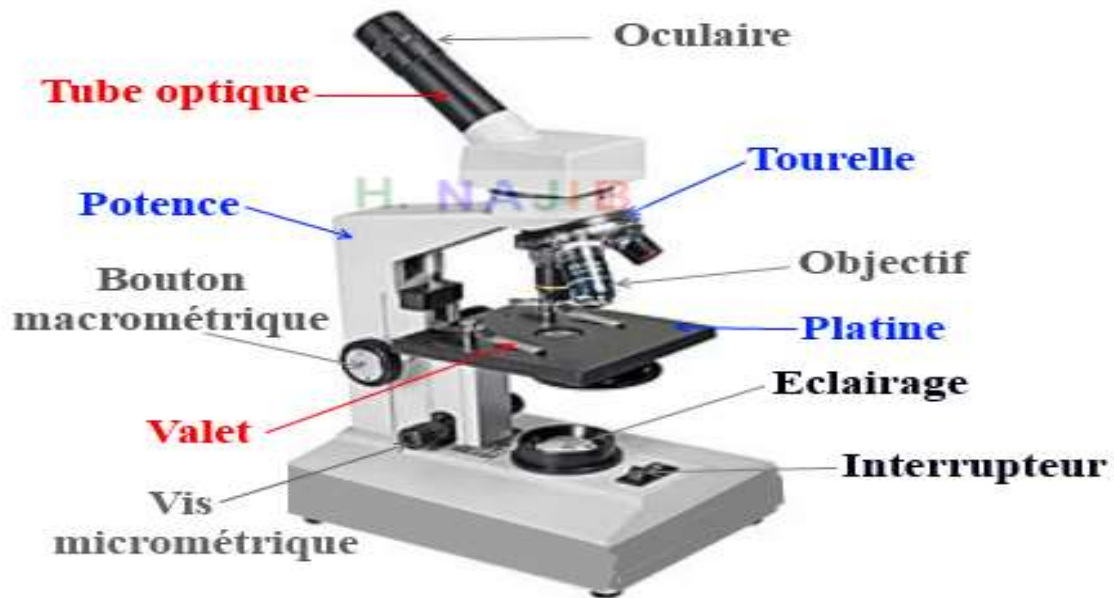
*Les principaux éléments d'un microscope*



## Parties du microscope

Parties	Rôles
Oculaire	Permet d'observer l'objet et produit un grossissement initial.
Tube oculaire	Supporte l'oculaire.
Potence	Supporte le microscope.
Pied	Assure la stabilité du microscope.
Tourelle (Revolver porte-objectifs)	Supporte les objectifs: permet de tourner pour choisir le bon objectif.
Objectifs	Permettent d'agrandir l'image.
Platine	Soutient la lame.
Valets	Maintiennent en place la lame sur la platine.
Lumière (lampe)	Illumine l'objet à observer.
Vis macrométrique	Permet de faire une mise au point grossière de l'objet à observer.
Vis micrométrique	Permet de faire une mise au point fine de l'objet à observer.
Diaphragme	Contrôle la quantité de lumière illuminant l'objet.

L'oculaire et les objectifs permettent de déterminer le grossissement obtenu lors de l'utilisation d'un microscope.



## Principe du fonctionnement du microscope :

Deux types d'observations sont réalisables en microscopie : l'observation par transmission pour le microscope optique et pour le microscope électronique à transmission et l'observation par réflexion pour le microscope électronique à balayage. Donc le microscope travaille en :

1. **Transmission** : l'échantillon est traversé par des photons et électrons ; les lentilles de verre (MO) ou les champs électromagnétiques (MET) permettent l'obtention d'une image qui est reprise par l'oculaire (MO) ou écran fluorescent (MET).
2. **Réflexion** : le microscope ne capte que les rayons réfléchis par les parois de la préparation. Ce type de microscopie donne une image de la surface des objets et non de leur structure interne. L'intensité étant fonction de l'orientation des parois par rapport au système optique, cela donne une image « en relief » de l'objet. Elles ne sont donc pas applicables à des objets sans relief comme les coupes de tissus ! Elles nécessitent « un éclairage latéral » de l'objet. Ce mode de microscopie est peu utilisé, il correspond aux loupes binoculaires ou stéréomicroscopes, au **microscope à fond noir** en microscopie optique et au **microscope électronique à balayage** (MEB) en microscopie électronique.

## Conditions d'observation en microscopie :

Pour effectuer une observation en microscopie deux exigences s'imposent : l'épaisseur de l'échantillon et le contraste.

1. **L'épaisseur de l'échantillon** : pour une observation par transmission l'échantillon doit présenter une faible épaisseur afin de permettre le passage du faisceau incident des photons ou d'électrons d'où la nécessité de faire des coupes très très fines. Les coupes exigées en (MO) varient entre 2  $\mu\text{m}$  à 10  $\mu\text{m}$  et de 0,03 $\mu\text{m}$  à 0,05 $\mu\text{m}$
  2. **Le contraste** : L'observation par transmission n'est possible que si certaines régions de la coupe absorbent les photons ou les électrons plus que d'autres (effet contraste).
- **En règle générale**, les constituants cellulaires présentent des **contrastes naturels faibles** d'où l'utilisation de certains artifices tels que les montages optiques qui amplifient les contrastes naturels comme le microscope à contraste de phase ou des colorants vitaux sélectifs (MO) ou encore des sels de métaux lourds comme les sels de plomb (ME).