



TECHNIQUE APPLIQUEES EN BIOLOGIE CELLULAIRE

Cours : technique d'homogénéisation

Partie 4

Module : MST

2 année tronc commun

Dr Boucif

Technique d'homogénéisation

Elle a pour objectif de conduire à la destruction des cellules sans détérioration des organites. Le milieu de broyage doit respecter des exigences ioniques, osmotiques et de pH, de façon à ce que les organites (en général des vésicules) ne subissent pas de modification chimique ou de volume.



Homogénats cellulaires = Broyats cellulaires *

Pour obtenir un broyat cellulaire = homogénat cellulaire on peut partir soit d'une suspension de cellules ; soit de fragments de tissu.

Homogénat cellulaire = organites en suspension + débris cellulaires (fragments d'ultrastructures) + constituants biochimiques en solution.

Différentes techniques sont utilisables :

Elles peuvent d'ailleurs se combiner pour une meilleure efficacité.

1. **Mécanique** (pistons, mixers) ;
2. **Chimique** : destruction des membranes par des détergents et des parois (cas des cellules végétales ou des bactéries) par des enzymes appropriées tels que cellulases et lysozymes ;
3. **Physique** (hautes pressions, ultrasons).

1. Mécanique

a. . **Types d'homogénéisateurs :**

Broyeurs mécaniques

- A. Broyeurs manuels de tissus
- B. Mélangeurs à lame
- C. Homogénéisateurs à rotor / stator
- D. Perturbateurs de cellules Bead Mill (Beadbeater)
- E. Nouveaux model

D. Perturbateurs de cellules Bead Mill (Beadbeater) (billes de verre)

Le BeadBeater est l'homogénéisateur ultime à l'échelle du laboratoire pour perturber les suspensions aqueuses de levure, de champignons ou de bactéries. La lyse cellulaire complète de 10 à 80 g (poids humide) de cellules est obtenue en environ trois minutes de fonctionnement. Le BeadBeater est livré avec une chambre en polycarbonate, un rotor, une base de moteur, une chemise de refroidissement à eau glacée et votre choix d'une livre de perles de verre ...



Figure : le BeadBeater

Mode de fonctionnement :

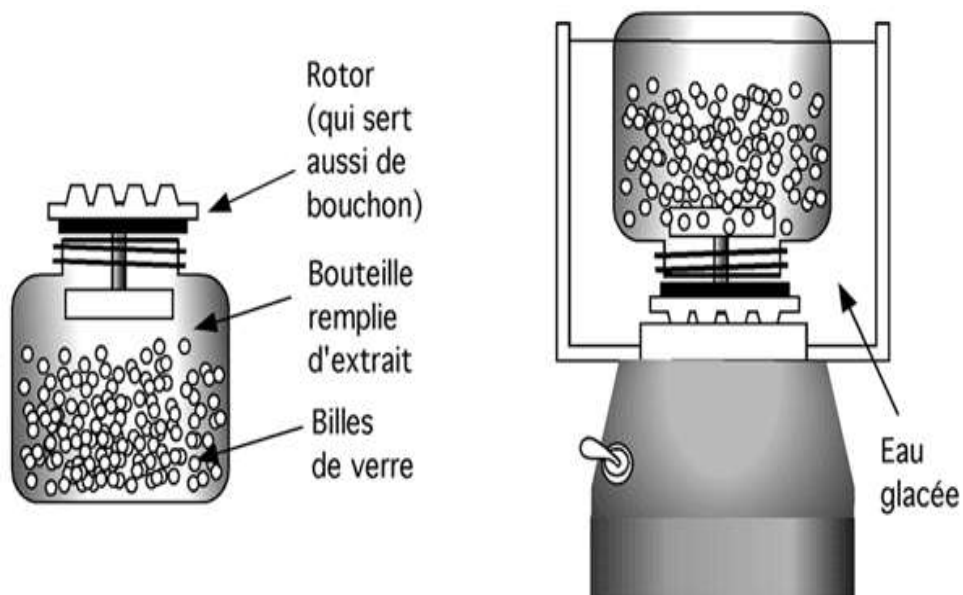
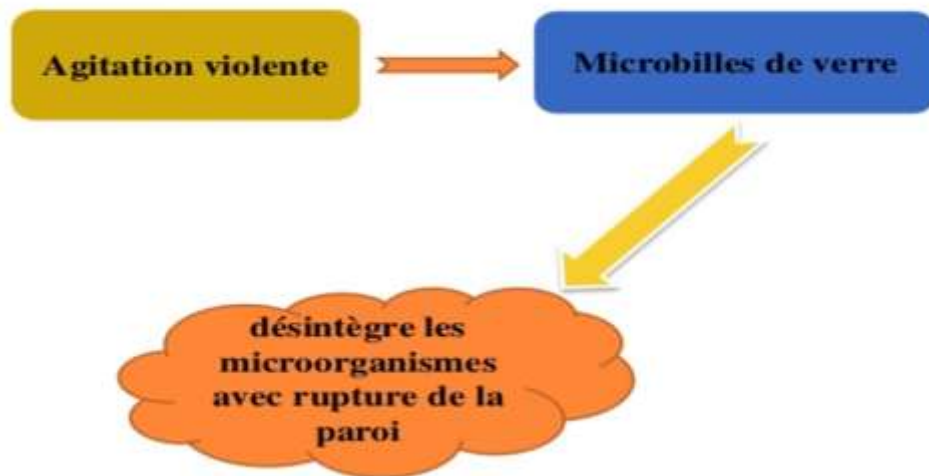
La méthodologie du broyeur à billes BeadBeater est considérée comme supérieure aux autres méthodes mécaniques de perturbation des cellules microbiennes. Et, dans la plupart des cas, c'est le plus économique. **Le BeadBeater perturbe les micro-organismes, les préparations unicellulaires et les tissus végétaux et animaux** pulvérisés avec une efficacité supérieure à 95%. Jusqu'à 80 grammes (poids humide) de cellules peuvent être traitées en trois minutes. S'appuyant sur une action d'écrasement ou de fissuration unique plutôt que sur les forces de cisaillement élevées trouvées avec une presse française ou un sonicateur, une roue à aubes en téflon tournant à grande vitesse force des milliers de petites billes de verre * à entrer en collision violente dans un récipient spécial en forme de feuille de trèfle. Les cellules sont interrompues rapidement, efficacement et en toute sécurité dans le système scellé. L'appareil est facile à nettoyer, a un faible encombrement, ne nécessite ni fournitures ni équipement auxiliaires et est essentiellement sans entretien. Les perles se déposent en quelques secondes et sont réutilisables.

Caractéristiques

- Idéal pour isoler les protéines, les enzymes et les organites intracellulaires intacts
- Moteur puissant et rapide. Seuls des composants durables et non toxiques entrent en contact avec le produit
- Conçu pour des lots jusqu'à 80 g (poids humide) dans 200 ml de milieu
- Interruption hautement efficace dans les plus brefs délais
- Le refroidissement des échantillons pendant l'homogénéisation est simple et efficace

- Le nettoyage et la rétention de l'homogénéisateur sont simples et faciles
- Chambre d'homogénéisation en polycarbonate incassable, 350 ml de volume total, 200 ml de travail
- Rotor usiné en téflon massif
- Moteur à une vitesse de 15800 tr / min, 3/8 HP
- 6 pouces de diamètre. encombrement X 12 pouces de haut, expédition en poids. 11 lb
- 115 Volt, 50/60 Hz, cordon de mise à la terre à 3 fils. (La version européenne 220/240 volts, 50 Hz, 400 watts est disponible)

Broyage ou agitation avec des abrasifs



Model de homogénéiseurs à billes

Homogénéiseurs à billes BeadBug™ et BeadBug™ 6

Pour l'homogénéisation d'échantillons trop résistants pour les vortex, lyse de tous types de cellules. Alternative économique aux autres homogénéiseurs.

- Pour homogénéiser simultanément jusqu'à 3 tubes de 2 ml non jupés avec bouchon vissé (modèle Beadbug™) ou jusqu'à 6 tubes de 2 ml ou 2 tubes de 5 ml* (modèle Beadbug™ 6)
- Billes en verre et billes en inox (lavées à l'acide) disponibles en tubes pré-remplis et en vrac (à commander séparément)
- Billes de zirconium Triple Pure nuclease-free (grade biologie moléculaire)
- Garantie : 2 ans
*Nécessite un adaptateur vendu séparément

Vidéo : https://www.youtube.com/watch?v=1bT0QuZN_zo



Broyeur/Homogénéiseur à billes BeadBlaster

Homogénéiseur programmable pour le broyage d'échantillon. Jusqu'à 50 programmes de 10 cycles pour les échantillons délicats

- Pour homogénéiser jusqu'à 24 tubes de 2 ml
- Vitesse réglable de 4,00 à 7,00 m/s par incréments de 0,05 m/s
- Affichage digital
- Tubes avec billes RNase, DNase free

Vidéo : Source : Benchmark Scientific Inc
<https://www.youtube.com/watch?v=JYFiGbJWxNE>



Sélection de la taille des perles.

Les perles de taille correcte ont un diamètre de 0,1 mm. pour les bactéries, 0,5 mm de diamètre. pour la levure et 1,0 mm de diamètre. ou 2,5 mm de diamètre. pour les tissus végétaux ou animaux hachés. Bien que les supports de billes de verre soient les plus couramment utilisés, des supports de billes plus denses sont disponibles pour les matériaux durs.

Séparation des billes du lysat est très facile parce que les billes coulent au fond dès que l'agitation cesse.



Travail à faire :

Chercher le broyeur mécanique automatisé

E. Nouveaux model

Exemple : Homogénéisateur à six échantillons Omni Prep

