



Cours Technique d'homogénéisation

Partie 5

Technique chimique et enzymatique

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).

2

Chimique et enzymatiques

Ces techniques regroupent la lyse ou choc osmotique, la modification de la force ionique ou du pH et la lyse enzymatique.

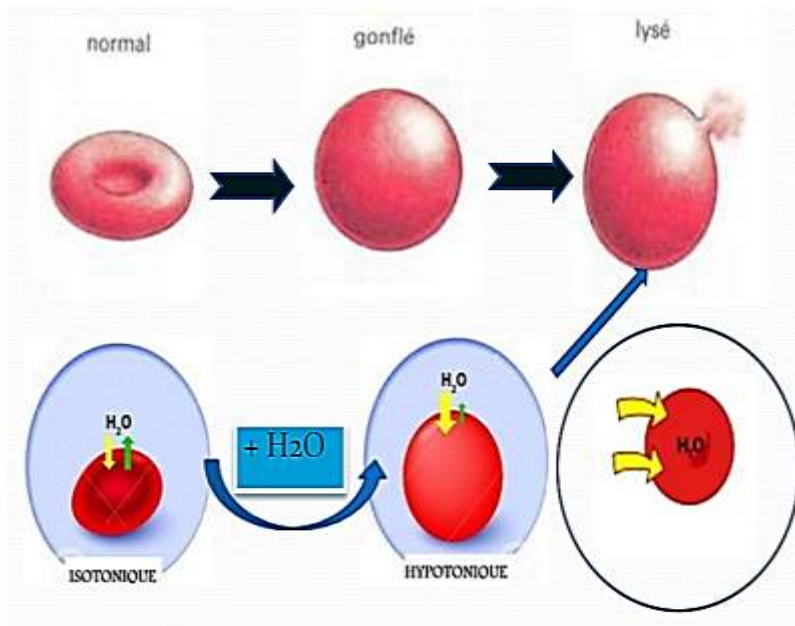


Figure : technique chimique

A. Le choc osmotique :

Le choc osmotique permet de briser certaines cellules fragiles avec un minimum de dommages. Les cellules sont incubées dans une solution hypo-osmotique. Cherchant à rétablir l'équilibre osmotique, l'eau pénètre dans la cellule et finit par causer une rupture de la membrane plasmique.

On peut donner un coup de pouce à la technique avec un peu de détergent (NP-40, LDAO, triton X-100) et avec un soutien mécanique (quelques coups de piston dans un homogénéisateur de type Dounce). Une telle approche permet de récupérer des noyaux presque intacts une fois séparés des débris de la membrane plasmique.

Il est possible de lyser les membranes plasmiques sans briser les noyaux. La lyse cellulaire doit être suivie par de fréquentes visites aux microscopes. La lyse des noyaux, si elle arrive accidentellement, se traduira par une soudaine augmentation de la viscosité de la solution : c'est la chromatine qui est libérée qui en la responsable.

B. Lyse enzymatique

Pour lyser la paroi cellulaire qui protège la membrane plasmique de plusieurs types des cellules (les levures, les plantes et les bactéries), différentes enzymes comme le lysozyme du blanc d'œuf de poule ou la lyticase de *S. aureus* peuvent être utilisées.

C. Lyse par les détergents

Les détergents Consistent à déstabiliser les membranes, solubilisent les protéines membranaires et forment des amas de lipides dans un solvant aqueux.

Exemple de détergents détergent type SDS (sodium dodecylsulfate) Sodium Deoxycholate anionique Nonidet P-40 (octylphenoxypol yethoxyethanol).