

TP N°1 DE BIOLOGIE CELLULAIRE : L1 SNV_2024 / 2025_ Univ-Jijel
INITIATION A LA MICROSCOPIE

1- But du TP :

Le but de ce TP est de mettre l'étudiant devant un instrument qui l'accompagnera durant toute sa formation, pour cela, il est donc indispensable de le familiariser à cet outil de travail.

Pour cela, il est indispensable de lui faire une présentation des différentes pièces dont il est composé ainsi que les réglages nécessaires pour obtenir une bonne mise au point.

2- Travail à faire :

Donner à l'étudiant une lame préparée afin de s'exercer et de s'assurer qu'il maîtrise parfaitement les différents réglages et mise au point.

3- Définition :

Le mot microscope est composé de 02 racines étymologiques différentes, du Grec (micro= petit et scopein= voir). Le microscope est un instrument optique permettant d'observer des objets très minces (qui peuvent être traversés par la lumière) en les grossissant. L'objet à observer appelé préparation, il est placé entre une lame et une lamelle de verre. Il faut signaler qu'il existe d'autres microscopes, dits microscopes électroniques (MET, MEB), qui permettent des grossissements plus importants pour voir l'ultrastructure de la cellule. Aussi des microscopes spécifiques (en fluorescence ; à contraste de phase, Microscope à statif inversé,)

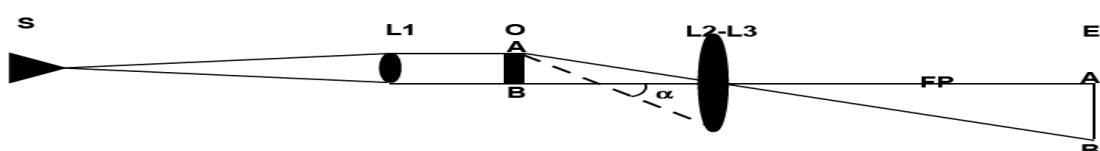
4- Principe physique du microscope optique :

Cet instrument rapproche donc les objets de notre œil en nous permettant de les observer.

Le principe est le suivant, la préparation est éclairée par une lampe. Les molécules à observer vont interagir avec la lumière de plusieurs façons :

- soit en absorbant certaines longueurs d'onde de la lumière. C'est la microscopie en lumière directe.
- soit en provoquant un déphasage des différents rayons lumineux. C'est la microscopie en contraste de phase.
- soit en émettant de la lumière à une autre longueur d'onde que celle d'origine. C'est la microscopie à fluorescence.

Le microscope photonique utilisent un flux ondulatoire de particules (FP) non chargées, les *photons*, au travers d'un système de lentilles (L1, L2 et L3) de manière à former d'un objet (O) à étudier (AB) une image agrandie ($A'B'$) sur un écran E



S : source de lumière

L1 : lentille condensatrice

O : objet à étudier de dimension AB

a : Demi-angle d'ouverture de l'objectif

L2, L3 : respectivement l'objectif et l'oculaire

FP : faisceau de particule

E : écran permettant de voir l'image $A'B'$ obtenue de l'objet O à étudier.

5- fonctionnement du microscope :

La plupart des cellules sont très petites pour être observées à l'œil nu. Le microscope optique permet d'obtenir des grossissements de l'ordre de 10, 40 voire 1000x. Dans le cadre de la microscopie optique classique, la préparation à observer est déposée sur la platine du microscope. Posée sur une plaquette de verre appelée porte objet ou lame et couverte d'un couvre objet ou lamelle, la préparation est maintenue en place par deux pinces ou valets. La lumière fournie par une lampe ou miroir, est concentrée par le condensateur avant de traverser l'objet. La lumière transmise est captée par l'un des objectifs du microscope. Ces objectifs sont montés sur une pièce tournante appelée tourelle revolver. Finalement l'image agrandie par l'objectif parcourt le tube porte oculaire et est encore magnifiée par l'oculaire sur lequel l'observateur pose son œil. Le grossissement de l'oculaire multiplié par celui de l'objectif fournit le grandissement total de l'image par le microscope. La mise au point s'effectue à l'aide d'une ou plusieurs vis de réglages : vis **macro métrique** pour le réglage grossier et la vis **micrométrique** pour le réglage fin.

* Remarques :

1) Il est à signaler que l'examen des échantillons biologiques au microscope optique doit répondre à deux exigences :

- Les objets à examiner doivent être minces
- Leurs différents éléments doivent présenter un certain contraste.

2) Il est à noter qu'un bon éclairage est essentiel si on veut faire de bonnes observations. Selon un principe d'optique on obtient une meilleure résolution quand le condensateur et l'objectif sont couplés, c'est-à-dire quand ils ont la même ouverture numérique. Pour y arriver il suffit :

- de faire la mise au point sur le spécimen à observer.
- de fermer le diaphragme et de l'ouvrir lentement jusqu'à ce que la lentille postérieure de l'objectif soit remplie de lumière.

6- Présentation du microscope optique :

Le microscope optique classique se compose de 02 parties essentielles :

- * **Un système optique**
- * **Une partie mécanique**

a)- Système optique :

Il comporte l'oculaire, l'objectif et le système d'éclairage (source lumineuse).

L'oculaire : c'est la lentille supérieure au niveau de laquelle nous plaçons notre œil lors de l'observation.

L'objectif : c'est la lentille inférieure qui nous rapproche de la préparation à examiner, il y a habituellement 03 objectifs correspondant aux grossissements 10X, 40X, 100X, ils sont interchangeables par simple rotation de leur base commune (tourelle revolver).

Système d'éclairage : il se compose d'une source lumineuse (lampe ou miroir). L'objet à examiner est éclairé par transparence du condensateur qui est menu à sa base par un diaphragme qui permet de varier l'ouverture du faisceau éclairant.

b)- partie mécanique :

La partie mécanique comporte les éléments suivants : un pied, une potence, une platine une crémaillère et la vis macro et micrométrique.

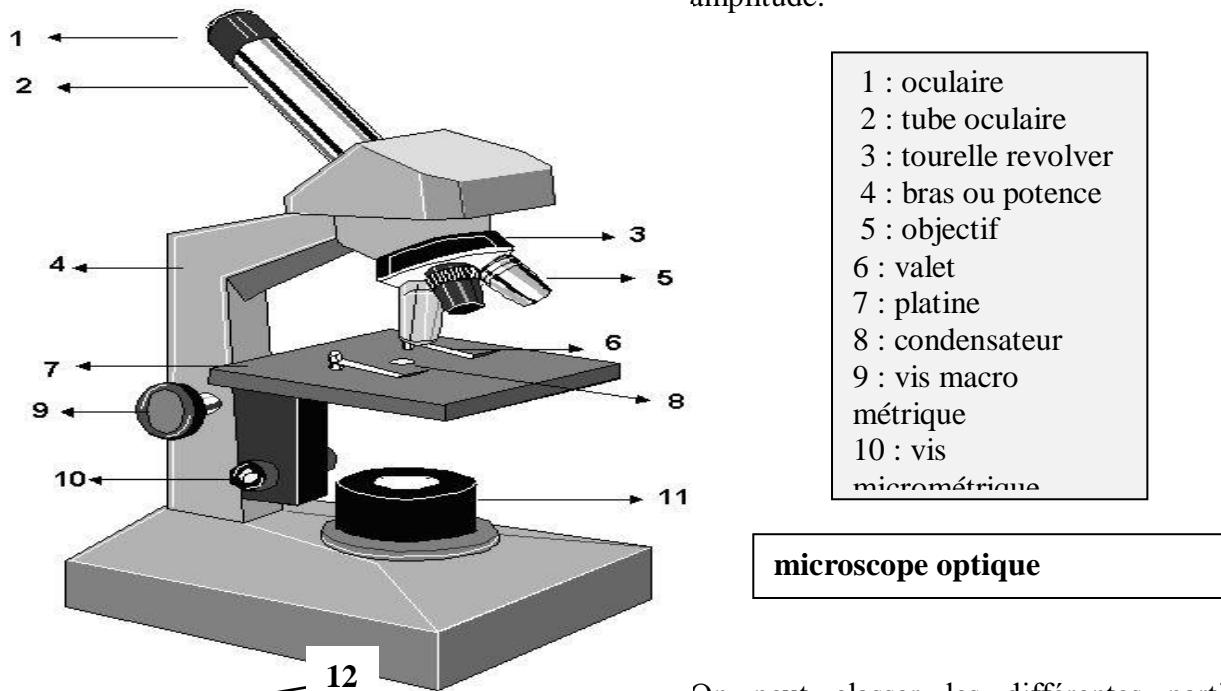
Le pied : il permet d'assurer la stabilité du microscope.

La potence : c'est le bras de l'appareil qui supporte le tube optique et la platine.

La platine : c'est le plateau où l'on fixe la lame à examiner au moyen des valets. La platine est équipée d'une ouverture permettant le passage des rayons lumineux.

La crémaillère : commandée par un ou deux boutons (vis macro et micrométrique).

La vis macro et micrométrique : permet des mouvements rapides et de grande amplitude du tube optique tandis que la vis micrométrique communiquant au tube optique un mouvement lent et de faible amplitude.



On peut classer les différentes parties d'un microscope selon leur fonction en cinq catégories :

- **Fonction de maintien de la préparation** : le maintien de la préparation microscopique est assuré par la platine et les deux valets.
- **Fonctions de grossissement de la préparation** : on distingue dans cette catégorie les éléments suivants :
- **L'oculaire** grossit la préparation comme une loupe. Un chiffre gravé dessus indique son pouvoir grossissant (ex : X10).

- **Les objectifs** : Ils sont en général au nombre de 3 et situés à l'extrémité inférieure du tube optique. Ils complètent le système grossissant. Sur chacun d'eux, un chiffre indique le pouvoir grossissant (ex. x40, x100). Pour en changer, il suffit de tourner le revolver.
- **Fonction d'éclairage de la préparation** : l'éclairage de la préparation microscopique est assuré par une **lampe halogène** qui envoie la lumière vers la préparation microscopique via le condenseur. La lumière traverse l'objet et "emporte" son image vers des lentilles de verre (placées dans l'objectif et l'oculaire) qui l'agrandissent. C'est en plaçant son œil sur l'oculaire que l'on voit cette image.
- **Fonction de mise au point** : La mise au point s'effectue en tournant la vis macrométrique qui permet les mouvements rapides et importants du tube optique. Cette mise au point est souvent complétée par l'utilisation de la vis micrométrique dont la rotation assure des mouvements très lents (invisibles à l'œil nu) du tube optique.
- **Fonction de soutien** : La potence supporte l'ensemble des pièces du microscope (tube optique, platine et miroir). Souvent, il est possible de l'incliner par rapport à la base ou socle qui reste fixe et qui maintient le microscope sur la table.

7- Mode opératoire :

a) préparation du microscope

- Installer le câble électrique et brancher l'appareil.
- Remonter le tube optique et mettre le faible grossissement (X 4).
- Ouvrir le diaphragme.

b) observation au faible grossissement

- Placer la lame sur la platine (la préparation doit être au centre du trou). La fixer avec les valets.
- En regardant dans l'oculaire, descendre le tube optique jusqu'à ce que l'image soit nette.
- Rechercher la zone intéressante et la centrer.

c) observation au moyen grossissement

- Faire tourner le revolver pour que le moyen grossissement (X 10) soit en face du trou de la platine.
- Sans changer le réglage, et en regardant dans l'oculaire, descendre lentement jusqu'à ce que l'image soit nette. Centrer.

d) observation au fort grossissement

- Relever le tube optique.
- Faire tourner le revolver pour que le fort grossissement (X 40) soit en face du trou de la platine.
- En regardant latéralement, descendre prudemment le tube optique de façon que l'objectif touche presque la lamelle.
- En regardant cette fois dans l'oculaire, régler en remontant avec la vis micrométrique jusqu'à ce que l'image soit nette.

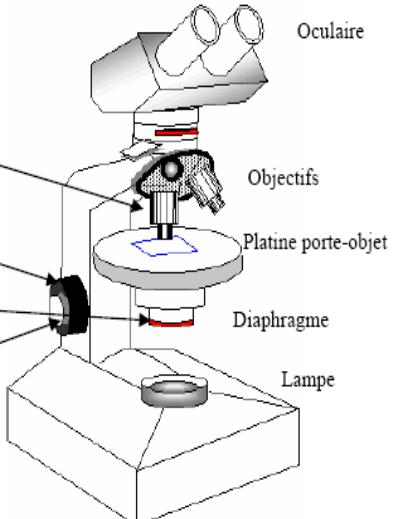
e) rangement du microscope

- Eteindre le microscope
- Débrancher la prise.
- Remonter le tube optique.
- Enlever la lame et nettoyer la platine si nécessaire.
- Remettre le faible grossissement.

Utiliser un microscope : étapes à respecter !

0. Vérifier que la lampe fonctionne.
1. Vérifier que l'objectif de plus faible grossissement (petit objectif) est placé dans l'axe.
2. À faible grossissement, utiliser la vis macrométrique.
3. Modifier le réglage du diaphragme.
4. À fort grossissement, utiliser uniquement la vis micrométrique.

Pour chaque nouvelle observation, recommencer au point 1



Règles à respecter.

- ✓ Utiliser une préparation bien contrastée (lame préparée) !
- ✓ Eclairer convenablement la préparation !
- ✓ Faire une pré-mise au point l'oeil à la hauteur de la platine !
- ✓ Commencer toujours une observation avec le plus faible grossissement !
- ✓ Ne pas essayer d'utiliser pour le moment l'objectif à immersion !!

8- Entretien du microscope :

Le microscope, même le plus simple, est un instrument merveilleux, fruit de recherches de nombreux savants au cours des siècles .Il n'a cessé d'évoluer pour atteindre aujourd'hui un quasi perfection. Il comprend des parties mécaniques d'une très grande précision et des optiques tout aussi fragiles.

Référez-vous à son mode d'emploi fourni, pour connaître la manière de le déplacer et de l'entretenir. Par exemple il est généralement recommandé de le soulever par sa potence et non par le tube optique ou la platine ce qui pourrait endommager les mécanismes délicats.

La saleté sous toutes ses formes est le pire ennemi du microscope. Un microscope sale reflète un mauvais entretien. Pour enlever la poussière sur les pièces optiques sales, utiliser un pinceau. Si les lentilles sont couvertes de saletés tenaces (huile à immersion, empreintes digitales séchées.....), utiliser du papier à lentille. La platine ainsi que les autres pièces mécaniques à leur tour doivent être toujours propres, pour cela, on recommande qu'après usage de bien recouvrir le microscope avec un cache poussière approprié.

9- Instrument de laboratoire utilisé pour couper des coupes fines et régulières

- ♣ **Le Microtome :** Un microtome est un instrument de laboratoire utilisé pour couper des coupes fines et régulières de spécimens biologiques, tels que des tissus ou des cellules, en vue de l'observation au microscope. C'est un outil essentiel **en histologie**, une discipline scientifique qui étudie les tissus biologiques à un niveau microscopique.
- ♣ Le processus de coupe réalisé par le microtome permet d'obtenir des sections minces des spécimens, ce qui facilite l'observation détaillée de la structure interne des cellules, des tissus et des organes. Les coupes obtenues sont souvent placées sur des lames de microscope et peuvent être colorées ou traitées pour révéler certaines caractéristiques.
- ♣ Le choix du microtome dépend du type de spécimen, de l'épaisseur des coupes désirées, et d'autres facteurs spécifiques à l'expérience ou à l'analyse.

A titre indicatif : il y'a un microtome manuel au niveau du laboratoire de biologie

Exemple de microtome

