

Techniques chimiques pour la biologie



SCIENCES DE LA
VIE



Shop



- Cahiers de Biologie + Lexique
- Accessoires de Biologie



Etudier



Visiter [Biologie Maroc](http://www.biologie-maroc.com) pour étudier et passer des QUIZ et QCM en ligne et Télécharger TD, TP et Examens résolus.



Emploi



- CV • Lettres de motivation • Demandes...
- Offres d'emploi
- Offres de stage & PFE

A- HOMOGENEISATION

= obtention d'un échantillon (biosystème) **homogène**, formé d'une seule phase, liquide dans laquelle la concentration de l'analyte est uniforme.

Les échantillons solides sont donc désintégrés, finement divisés (pulvérisés), afin d'augmenter la surface d'échange de la matrice (de l'échantillon) avec le milieu extérieur ; L'analyte, comme un certain nombre de composants de la matrice, est ensuite transféré depuis la matrice solide vers un solvant (liquide) récepteur, que l'on a ajouté à l'échantillon solide pendant, ou alors après l'opération de désintégration. L'échantillon finement divisé en suspension dans le solvant est appelé **homogénat**.

La désintégration (le broyage, la pulvérisation) des structures tissulaire et cellulaire peut être achevée par différents moyens et dans différentes conditions physico chimiques ; Les caractéristiques (propriétés) de l'analyte et de la matrice déterminent le choix de la méthode (technique).

Par exemple,

*si des fragments (morceaux) intacts de membrane, ou alors des organites cellulaires sont (à isoler) recherchés pour analyse ultérieure, la méthode choisie ne doit pas détruire ces composants (organites) subcellulaires.

*si une protéine active est recherchée, les méthodes qui génèrent (dégagent) de la chaleur ou de la mousse seront à éviter (dénaturation)

*si l'on s'intéresse à un analyte de faible poids moléculaire (métabolite), sa libération complète de ses ancrages intracellulaire est nécessaire, et elle n'est achevée que par la désintégration complète des structures cellulaires...

Donc, dans le cas de l'homogénéisation la fin justifie les moyens, et chaque méthode possède ses avantages et ses inconvénients.

Les méthodes d'homogénéisation sont de deux types : **mécaniques** (physiques) ou **chimiques** (biochimiques), les deux pouvant aussi être combinées en tandem ou en simultané.

Les méthodes (bio) chimiques sont globalement plus « douces » que les méthodes mécaniques et elles leur sont souvent préférables, les méthodes mécaniques étant plus énergiques et génératrice de stress thermique et mécanique .

1-METHODES MECANIQUES/PHYSIQUES

Les méthodes mécaniques utilisées pour désintégrer l'échantillon incluent le **broyage**, le **cisaillement**, le **bombardement** et le traitement par **les ultrasons** ;

Il demeure cependant difficile d'identifier/différencier dans chacun des cas le type de forces en présence.

Remarques :

*-Il existe un grand nombre de dispositifs (appareillage) utilisables pour l'homogénéisation mécanique, nous n'en voyons que quelques exemples. Tous ne sont pas toujours utilisables avec n'importe quel échantillon, car non seulement la qualité mais aussi la **quantité** d'échantillon détermine le type de dispositif, de même que d'autres paramètres tels que l'efficacité, la facilité, la rapidité, le débit (nombres d'échantillons traitables en même temps), le cout....*

-Les méthodes mécaniques génèrent toutes, à des degrés différents, de la chaleur; Il convient donc de maintenir l'échantillon à froid, ce qui est dans certains cas automatiquement assuré par un appareillage réfrigéré, sinon le dispositif (échantillon et appareil) et pré-refroidit ou maintenu sur un bac de glace durant la manipulation.

*-L'homogénéisation est le plus souvent réalisée en présence d'une phase liquide que l'on appellera **solvant** ou **tampon**, et dont le rôle est de capter/recevoir/solubiliser l'analyte et autres composants de la matrice (**solutés**) dans des conditions de stabilité optimale ; Le solvant/tampon doit donc avoir les caractéristiques physico chimiques (et biochimiques) compatibles avec cet objectif.*

*-Dans certain cas, le tampon participe lui-même au processus de désintégration de l'échantillon (**lyse chimique**), de manière concomitante à la désintégration mécanique.*

Par ailleurs, et bien qu'une opération idéale d'homogénéisation ne doive comporter qu'une seule étape (une seule méthode), le praticien utilise assez souvent plus d'une méthode, en tandem (successivement), pour obtenir le résultat désiré.

***Le mortier (Broyage /mouture/pulvérisation)**

Le mortier et son piston et l'outil le plus populaire pour broyer/moudre/pulvériser un échantillon, mais d'autres dispositifs/outils sont utilisables, comme les moulins à grain, à café et d'autres appareils de laboratoire comme les homogénéiseurs en verre.



Dans un mortier, le broyage est achevé en écrasant l'échantillon, préalablement émincé, entre deux surfaces abrasives qui glissent l'une sur l'autre. L'échantillon est soumis à des forces verticales (d'écrasement) et tangentielles (d'étirement) par le mouvement du piston, de bas en haut et de rotation. Le broyage est éventuellement facilité par l'adjonction à l'échantillon, de particule fine de sable, de verre, d'alumine ou autre matériel inerte, pour augmenter le pouvoir abrasif du dispositif.

Les échantillons traités dans un mortier peuvent être frais, secs ou congelés. Ils peuvent être mous (tissus animaux, parties molles de plantes..) ou durs. L'opération de broyage est souvent réalisée en présence d'une phase liquide (tampon/solvant) aqueuse ou organique, qui permet de récupérer les biomolécules libérées de la matrice.

L'échantillon peut aussi être pulvérisé a sec, sans ajout de phase liquide ; Dans ce cas l'échantillon est imbibé d'azote liquide ($-196^{\circ}\text{C}^{\circ}$), ce qui le rend friable et facile à désintégrer. Au fur et à mesure de l'opération de broyage, l'azote liquide s'évapore et on obtient à la fin un échantillon sous forme de poudre fine (cryo pulvérisation) que l'on peut resuspendre dans un solvant (liquide).

***Le Potter-Elvehjem (P-E), L'homogénéiseur de Dounce , homogénéiseur à couteaux**

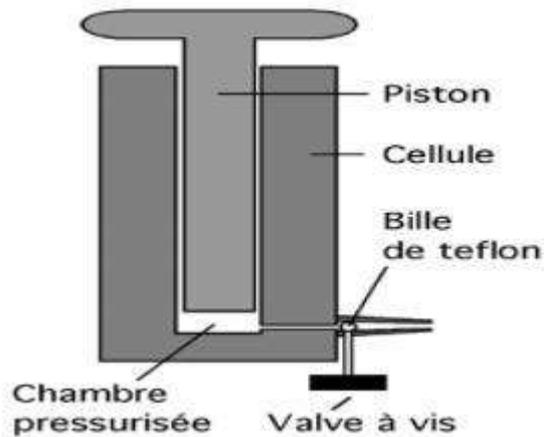
Le P-E est un tube en verre dans lequel plonge, de façon très ajustée, un pilon (piston) en verre ou en PTFE ; L'échantillon (tissu mou) préalablement découpé en petits morceaux et additionné d'un solvant adéquat, est soumis à des forces tangentielles de cisaillement entre la paroi abrasive du Potter et le piston, ce dernier effectue des mouvements verticaux et de rotation, entraîné manuellement ou à l'aide d'un moteur



L'homogénéiseur à couteaux, utile pour les échantillons mous fonctionne comme les appareils domestiques utilisés pour préparer les jus de fruits ou de la viande hachée....

***La presse de French**

Très utilisée pour suspension de microorganisme, la presse consiste en un cylindre creux (cellule), en acier dans lequel plonge un piston (en acier) ajusté ; Le cylindre est muni du côté opposé d'une ouverture très étroite , par laquelle sont expulsées les cellules microbiennes sous la pression élevée du piston.

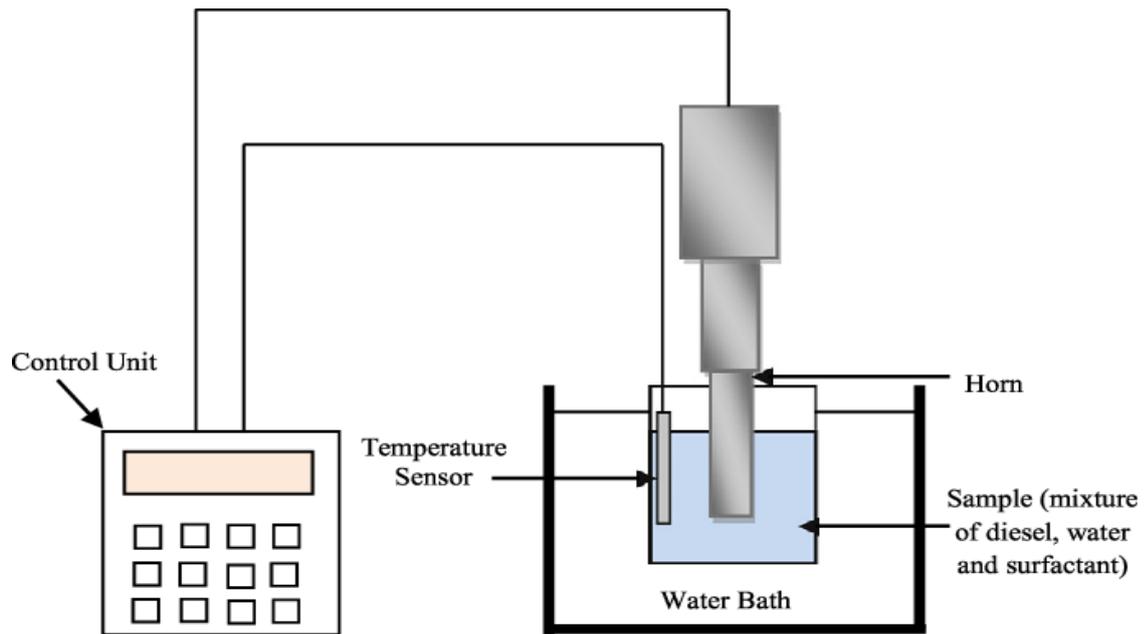


***Les homogénéiseurs à billes (bombardement)**

Il en existe de différents formats. Dans ce cas, l'échantillon (un tissu sec ou mou, ou alors une suspension microbienne), et mis dans un récipient adapté (tube ou flacon bien fermé) en présence de billes de verre, d'acier ou d'oxyde de zirconium ; l'ensemble est soumis à un mouvement énergétique (motorisé) de va et vient qui engendre des collisions (bombardement) entre l'échantillon et les billes, ce qui provoque sa désintégration.

***Ultrasonication**

Dans ce cas l'échantillon est désintégré par la pression exercés par des ondes sonores de hautes frequences (10 à 40 MHZ,ultrasons).



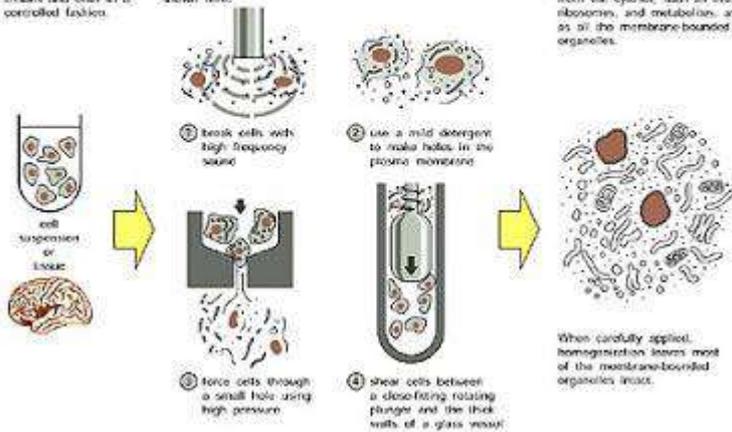
Dans ce cas un module de contrôle envoie un signal de haute fréquence à un transducteur, qui convertit le signal en énergie mécanique sous forme de vibrations, qui sont transmises au bout d'une sonde qui plonge dans l'échantillon (solide+tampon) ; Les vibrations créent des variations de pression (cavitation) qui désintègrent l'échantillon.

BREAKING CELLS AND TISSUES

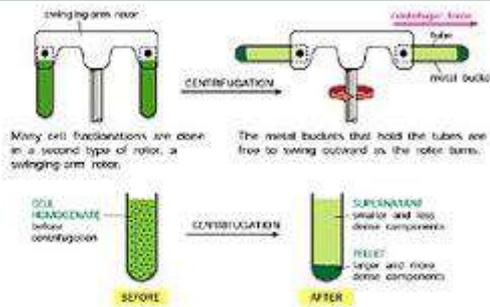
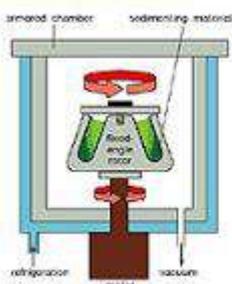
The first step in the purification of most proteins is to disrupt tissues and cells in a controlled fashion.

Using gentle mechanical procedures, called homogenization, the plasma membranes of cells can be ruptured so that the cell contents are released. Four commonly used procedures are shown here.

The resulting thick soup (called a homogenate or an extract) contains large and small molecules from the cytosol, such as enzymes, ribosomes, and metabolites, as well as all the membrane-bounded organelles.



THE CENTRIFUGE



Centrifugation is the most widely used procedure to separate the homogenate into different parts, or fractions. The homogenate is placed in test tubes and rotated at high speed in a centrifuge (sometimes called an ultracentrifuge). Present-day ultracentrifuges rotate at speeds up to 100,000 revolutions per minute and produce enormous forces, as high as 600,000

times gravity. At such speeds, centrifuge chambers must be refrigerated and evacuated so that friction does not heat up the homogenate. The centrifuge is surrounded by thick armor plating, since an unbalanced rotor can shatter with an explosive release of energy. A fixed-angle rotor can hold

Bon courage



LIENS UTILES 🙌

Visiter :

1. <https://biologie-maroc.com>

- Télécharger des cours, TD, TP et examens résolus (PDF Gratuit)

2. <https://biologie-maroc.com/shop/>

- Acheter des cahiers personnalisés + Lexiques et notions.
- Trouver des cadeaux et accessoires pour biologistes et géologues.
- Trouver des bourses et des écoles privées

3. <https://biologie-maroc.com/emploi/>

- Télécharger des exemples des CV, lettres de motivation, demandes de ...
- Trouver des offres d'emploi et de stage

