TECHNIQUES DE COLORATION POUR ETUDIER LA CELLULE

|  |  |
| --- | --- |
| Méthodes de coloration des cellules d’un prélèvement ou d’une coupe de tissus |  |
| Monter directement l’échantillon dans une goutte de colorant,* Ou **traiter** l’échantillon avant montage, entre lame et lamelle,
* Ou **monter** l’échantillon dans une goutte d’eau, puis **remplacer** l’eau par le colorant à l’aide d’un buvard ou d’un papier absorbant. (1)
 |
| **Colorer les vacuoles** (*inutile pour les cellules dont les vacuoles sont naturellement colorées*) | En rouge avec le rouge neutre à faible concentration (coloration vitale pour la cellule)  |
| Colorer le cytoplasme | En brun avec de l’eau iodée (toxique pour la cellule) |
| **Colorer le noyau** | - En brun avec l’eau iodée (toxique pour la cellule) ; un ou plusieurs globules réfringents (les nucléoles) y sont souvent reconnaissables, - En bleu avec le bleu de méthylène (toxique pour la cellule),- En bleu avec les colorants de May-Grünwald et Giemsa (voir technique du frottis sanguin). |
| **Colorer des gouttelettes d’huile du cytoplasme**  | En rouge orangé avec une solution alcoolique de Soudan III  |
| **Colorer les amyloplastes du cytoplasme** | En bleu ou en brun avec de l’eau iodée (toxique pour la cellule)  |
| **Colorer la cellulose et la lignine des parois cellulaires végétales** |
| **1** - **Déposer** les coupes ou les prélèvements végétaux dans un verre de montre rempli d’eau, **2 -** **Transférer** les coupes dans les verres de montre 2, 3, 4, 5 et 6 en respectant les temps indiqués sous chaque dessin. L’eau de Javel détruit le contenu des cellules mais conserve les parois quelle que soit leur nature chimique,**3 -** Un bon rinçage dans deux bains successifs élimine l’eau de Javel qui nuirait à la coloration,**4 -** L’acide acétique détruit les traces résiduelles d’eau de Javel et facilite la fixation ultérieure des colorants sur les parois,**5 -** Le carmino-vert est un mélange renfermant dix parties de carmin aluné pour une partie de vert d’iode. Le **carmin aluné colore en rose les parois cellulosiques** et **le vert d’iode colore en vert les parois lignifiées,****6 -** Un rinçage final permet d’éliminer l’excédant de colorant avant le montage de la coupe entre lame et lamelle. |  |
| **Colorer la callose de la paroi des hyphes de « champignons »** |
| 1. **Laver** précautionneusement les racines et **sélectionner** les plus jeunes, les **couper** à une longueur de 1-2 cm.
2. Placer les racines dans un tube à essai avec une solution de potasse à 10 % puis chauffer au bain-marie 90° C durant 30 min (cette opération détruit le contenu des cellules végétales et décolore les tanins des racines ligneuses. La solution devient alors brun-rouge)
3. **Filtrer** les fragments de racines dans un tamis **en récupérant** dans un récipient la solution de potasse.
4. **Rincer** avec l’eau acidifiée pour neutraliser.
5. **Immerger** les fragments de racinesdans 4mL de bleu coton au bain marie à 90° C pendant 10 minutes**.**
6. **Filtrer** à nouveau dans un tamis et **rincer** à l’eau distillée.
7. **Écraser** ces prélèvements entre deux lames**.**
 |
| Colorer l’ADN et l’ARN |
| Test de Brachet  | **1** - **Placer** l’échantillon dans un mélange vert de méthyle - pyronine pendant 2 min,**2** - **Rincer** l’échantillon dans de l’eau,Le vert de méthyle colore **l’ADN des noyaux en vert**, à l’exception des nucléoles et la pyronine colore **l’ARN en rose** (nucléole et granules du cytoplasme). **Remarque** : les parois des cellules végétales fixent également la pyronine ce qui nécessiterait des tests enzymatiques (Dnase et Rnase) pour une localisation rigoureuse. |
| Réaction de Feulgen | **1 - Mettre** l'échantillon dans un tube contenant de l'acide chlorhydrique puis placer au bain marie à 60°C pendant 10min.**2 - Récupérer** l'échantillon et le **plonger** dans le réactif de Schiff pendant 30 min à 1h. **L'ADN se colore en rose**. |