

50376

N° d'ordre : 269

1973

60-2

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE I

50376

1973

60-2

MÉMOIRE

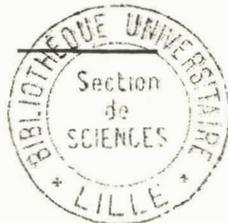
présenté à la Faculté des Sciences de l'Université de Lille
pour l'obtention du grade de
DOCTEUR ES SCIENCES PHYSIQUES

par

Pierre BLANQUET

Études cytochimiques ultrastructurales de la membrane de surface de divers types de cellules normales et cancéreuses

- 1° - Description et application de méthodes originales utilisant des colloïdes du fer, de l'étain et de l'osmium.
- 2° - Identification du marqueur formé à partir du rouge de ruthénium dans les conditions d'emploi du réactif en microscopie électronique.



Présenté le 21 Février 1973, devant la Commission d'Examen

M. J. MONTREUIL, Président
M^{lle} F. HAGUENAU et M. E.L. BENEDETTI, Rapporteurs
M. C. LOUCHEUX, Examineur

ANNEXE PLANCHES

PLANCHE 1

Etude de la spécificité de la méthode de révélation des groupements protéiniques de point isoionique élevé -détenus par les protéines basiques- fondée sur la capture d'un colloïde I électronégatif à base de fer

Fig. a.- Observation en tubes à essais

1 : Gélatine traitée par le colloïde électronégatif au pH de 10,5 ; 2 : gélatine traitée par le colloïde électronégatif au pH de 4,5 ; 3 : collagène traité par le colloïde électronégatif au pH de 10,5 ; 4 : collagène traité par le colloïde électronégatif au pH de 4,5 ; 5 : albumine traitée par le colloïde électronégatif au pH de 10,5 ; 6 : albumine traitée par le colloïde électronégatif au pH de 4,5 ; 7 : histones traitées par le colloïde électronégatif au pH de 10,5 ; 8 : histones traitées par la ninhydrine, puis par le colloïde électronégatif au pH de 10,5 ; 9 : lysozyme traité par le colloïde électronégatif au pH de 10,5.

Fig. b, c et d.- Observation au microscope électronique

Fig. b - Fibre de collagène traitée par le colloïde électronégatif au pH de 4,5. Les particules colloïdales semblent distribuées préférentiellement selon une configuration hélicoïdale comme les radicaux basiques de la protéine (p : pas de l'hélice de 60 nm environ). x 80 000

Fig. c - Plage d'histones témoin traitée par le colloïde électronégatif au pH de 10,5. Des particules colloïdales de 4 nm environ de diamètre sont uniformément réparties dans toute son étendue. x 90 000

Fig. d - Plage d'histones traitée par la ninhydrine, puis par le colloïde électronégatif au pH de 10,5. Seules, quelques rares particules restent accrochées sur les bords de la plage. x 90 000

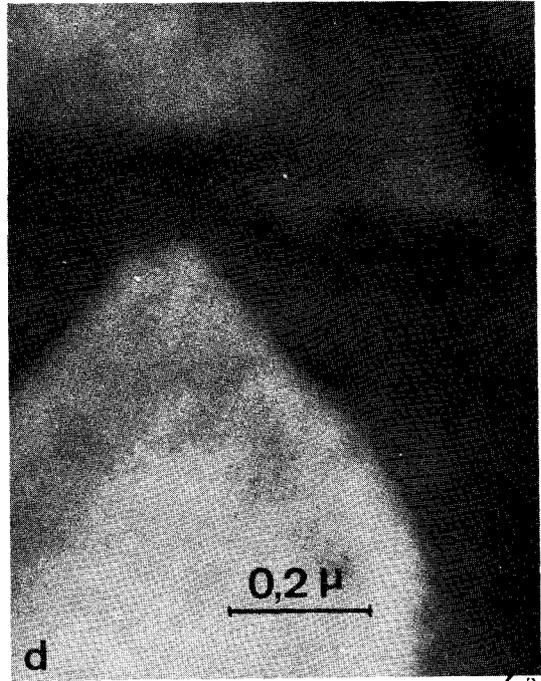
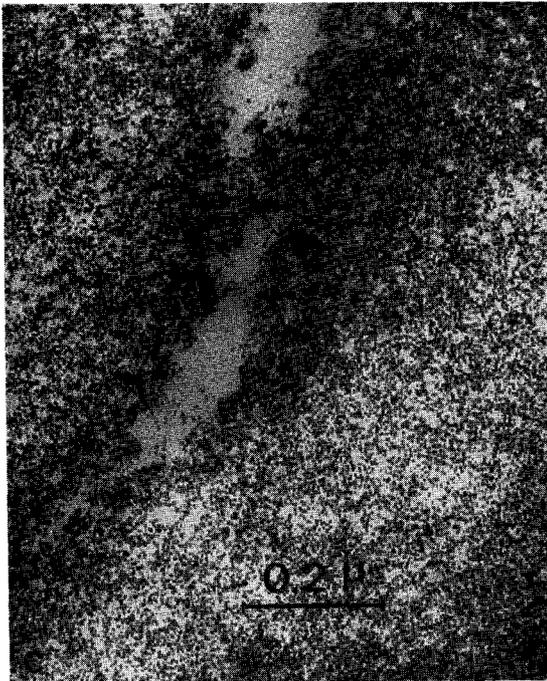
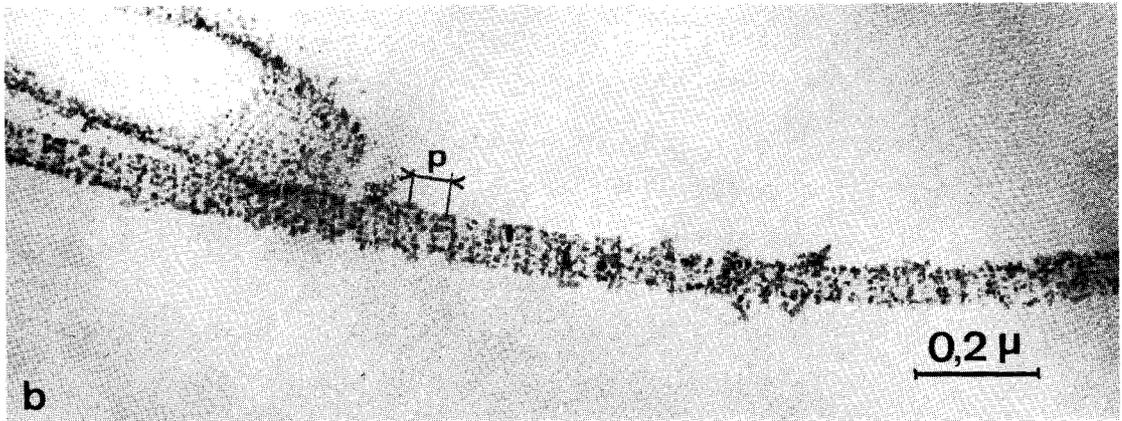
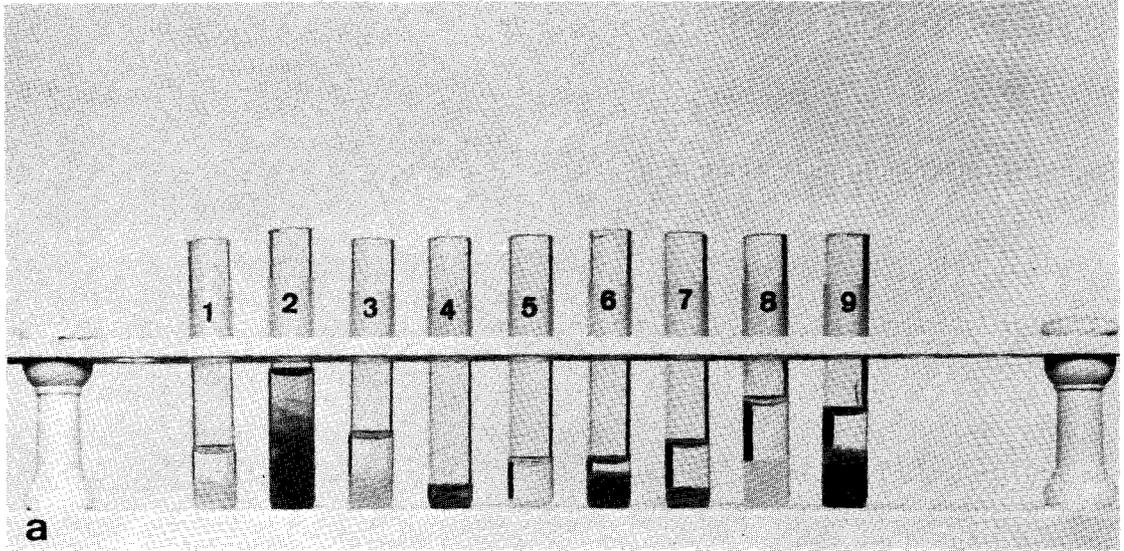


PLANCHE 2

Etude de la spécificité de la méthode de révélation des groupements protéiniques de point isoionique élevé -détenus par les protéines basiques- fondée sur la capture d'un colloïde I électronégatif à base de fer. (illustration du tableau III du premier volume)

Fig. a.- Nucléole traité par la DNase, puis par le colloïde électronégatif au pH de 10,5. Les traces de la chromatine péri-nucléolaire (Ch. p) et de la chromatine intranucléolaire (Ch. i) située en bordure du réseau fibrillo-granulaire, à la périphérie des vacuoles intranucléolaires (V), sont révélées par un important dépôt de particules colloïdales. Par contre, aucun marquage n'est constaté au niveau du réseau fibrillo-granulaire (R). x 44 000

Fig. b.- Nucléoles (Nu) traités par l'hydroxyde de fer colloïdal. Tout le corps nucléolaire est marqué. x 23 000

Fig. c.- Nucléoles traités par la ninhydrine, puis par le colloïde électronégatif au pH de 10,5. Un dépôt très faible de particules colloïdales est constaté en bordure des nucléoles (Nu). x 36 000

Fig. d.- Nucléole (Nu) traité par la ninhydrine et l'hydroxyde de fer colloïdal. Tout le corps nucléolaire est marqué. x 52 000

Fig. e.- Nucléoles (Nu) estérifiés, puis traités par le colloïde électronégatif au pH de 10,5. La localisation et la densité du marquage sont identiques à celles du nucléole de la figure a. x 22 000

Fig. f.- Nucléoles (Nu) estérifiés et traités par l'hydroxyde de fer colloïdal. Aucun dépôt de particules colloïdales n'est constaté. x 6 000

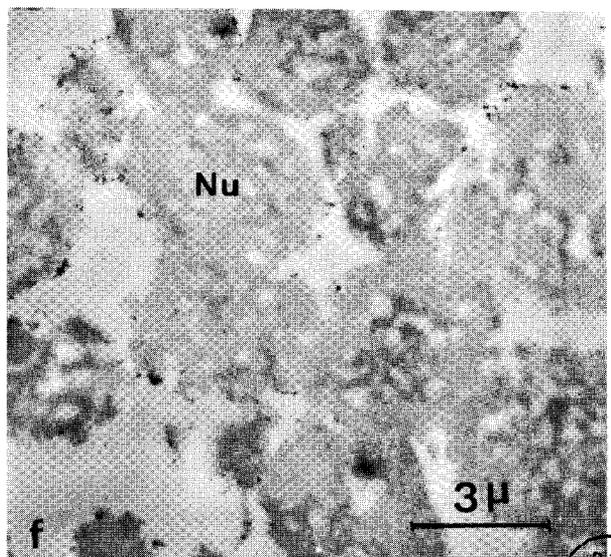
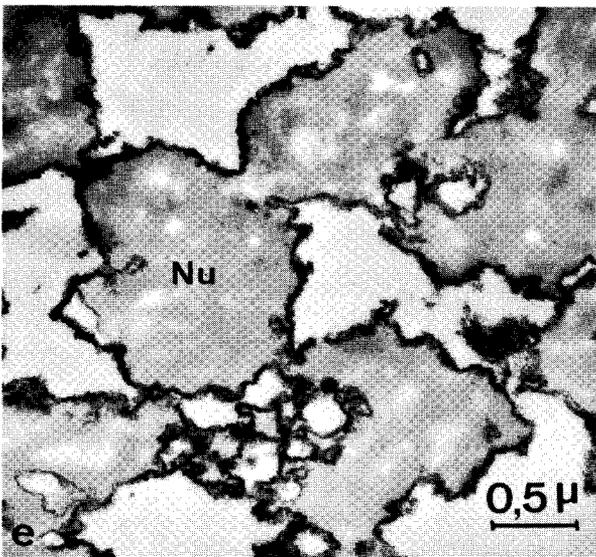
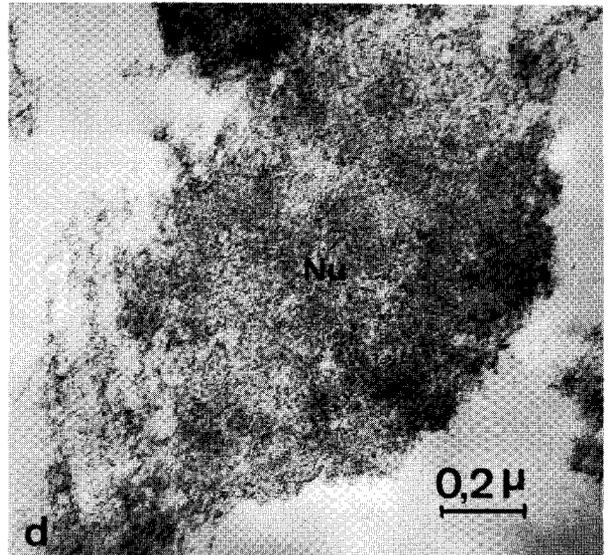
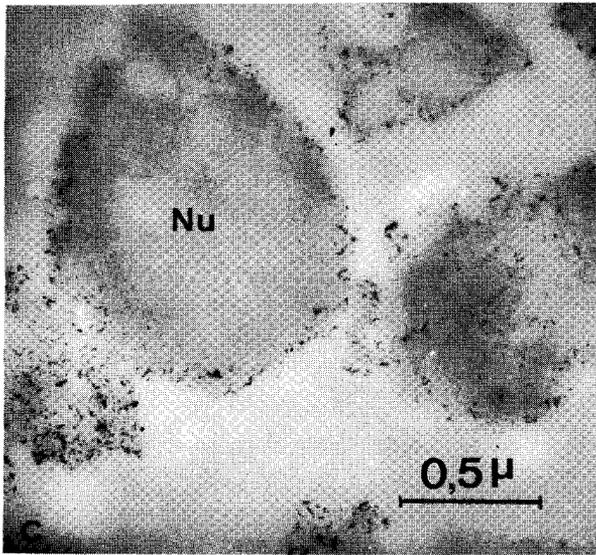
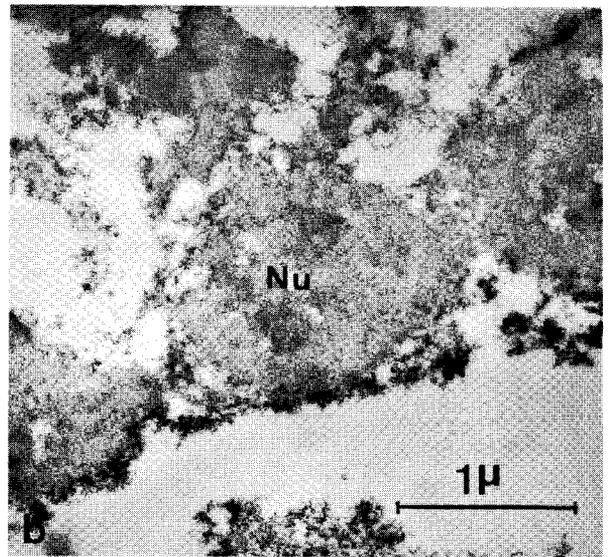
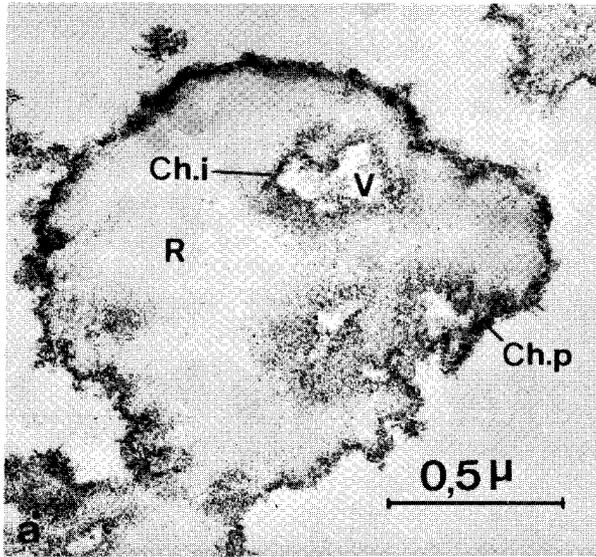
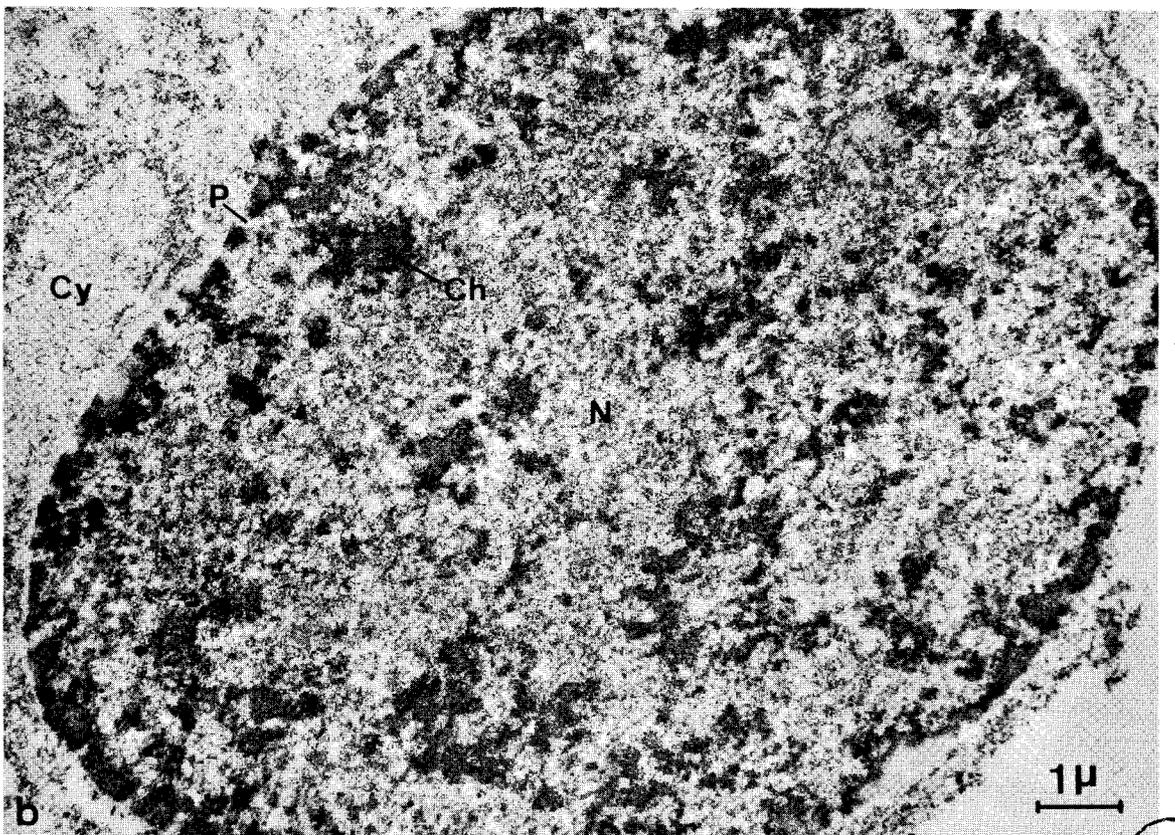
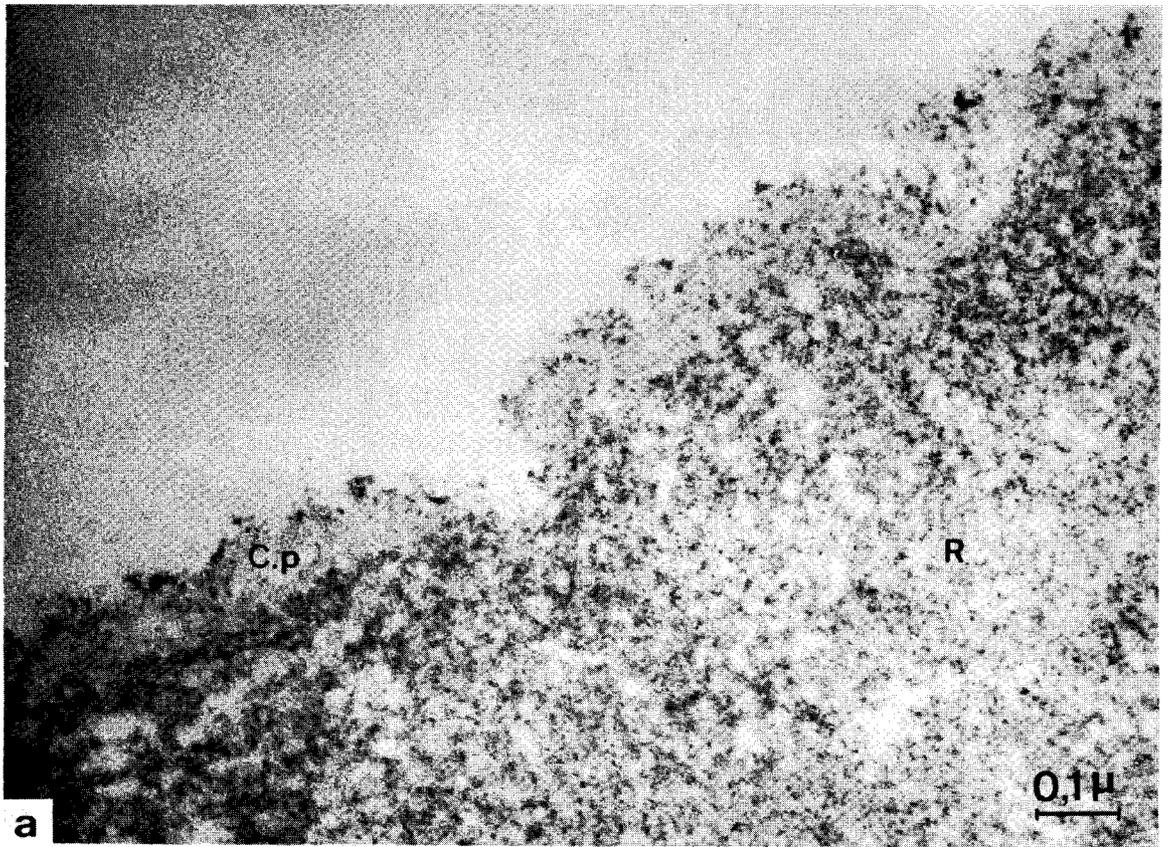


PLANCHE 3

Etude de la spécificité de la méthode de révélation des groupements protéiniques de point isoionique élevé -détenus par les protéines basiques- fondée sur la capture d'un colloïde I électronégatif à base de fer

Fig. a.- Portion de nucléole traité par la DNase et l'hydroxyde de fer colloïdal. La couronne périnucléolaire (C.p) dépourvue de son ADN ne détient pratiquement pas de particules colloïdales. Seul, le réseau fibrillo-granulaire (R) est marqué. x 108 000

Fig. b.- Portion d'hépatocyte de Rat traité par la DNase puis par le colloïde électronégatif au pH de 10,5. On constate une faible répartition de particules colloïdales sur le hyaloplasme et les lamelles ergastoplasmiques du cytoplasme (Cy). Dans le noyau, le nucléoplasme (N) est entièrement marqué, la trace de la chromatine (Ch) est dessinée par un dépôt particulièrement dense de marqueur, et les pores (P) de l'enveloppe nucléaire apparaissent bien profilés et clairs. x 11 000



BUS
LITTLE

PLANCHE 4

Etude de la spécificité de la méthode de révélation des groupements protéiniques de point isoionique élevé -détenus par les protéines basiques- fondée sur la capture d'un colloïde I électronégatif à base de fer

Fig. a.- Portion d'une cellule HeLa en mitose traitée par la DNase, puis par le colloïde électronégatif au pH de 10,5. Les chromosomes (Chr) sont fortement marqués par rapport aux zones interchromatiniennes (Z.i). x 13 500

Fig. b.- Portion d'une cellule acineuse de glande salivaire de larve de chironomes traitée par la DNase, puis par le colloïde électronégatif au pH de 10,5. On constate un dépôt dense et bien contrasté de particules colloïdales au niveau des chromosomes géants (Chr). x 33 000

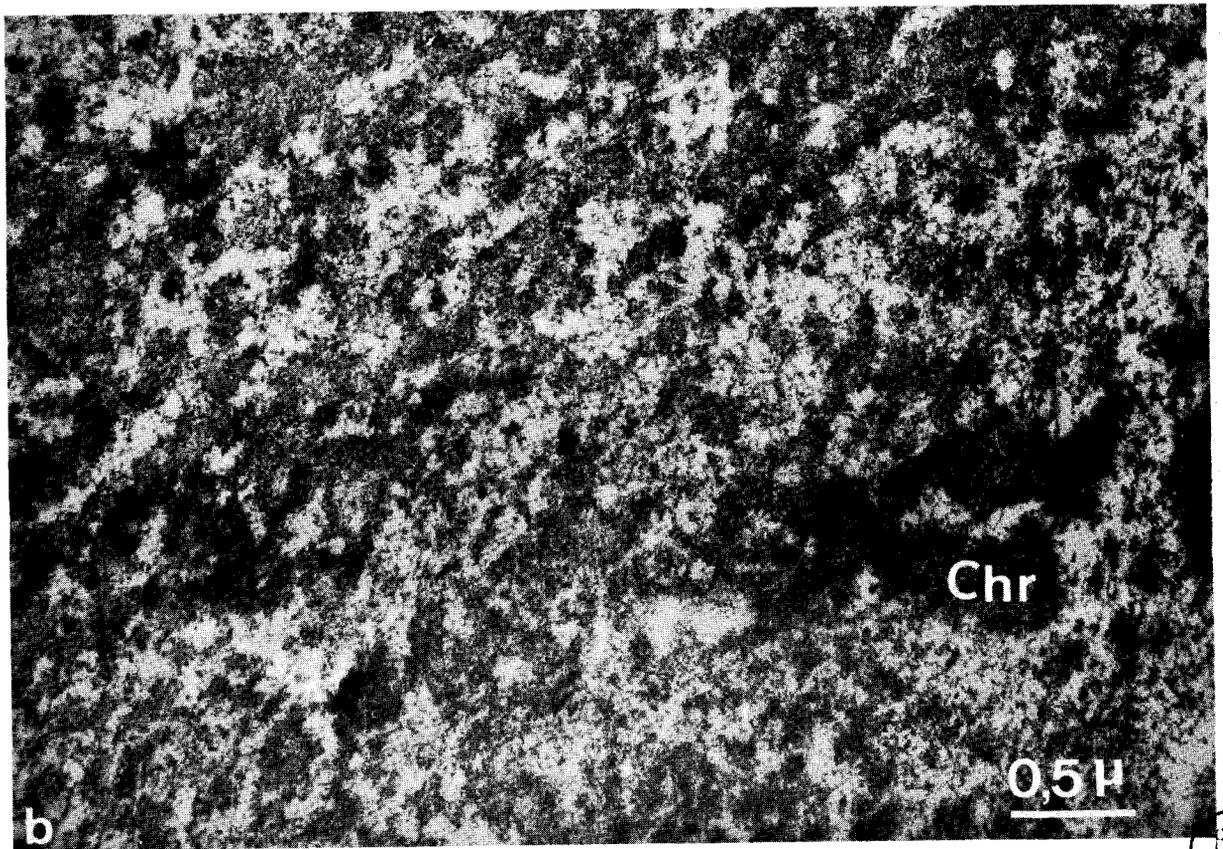
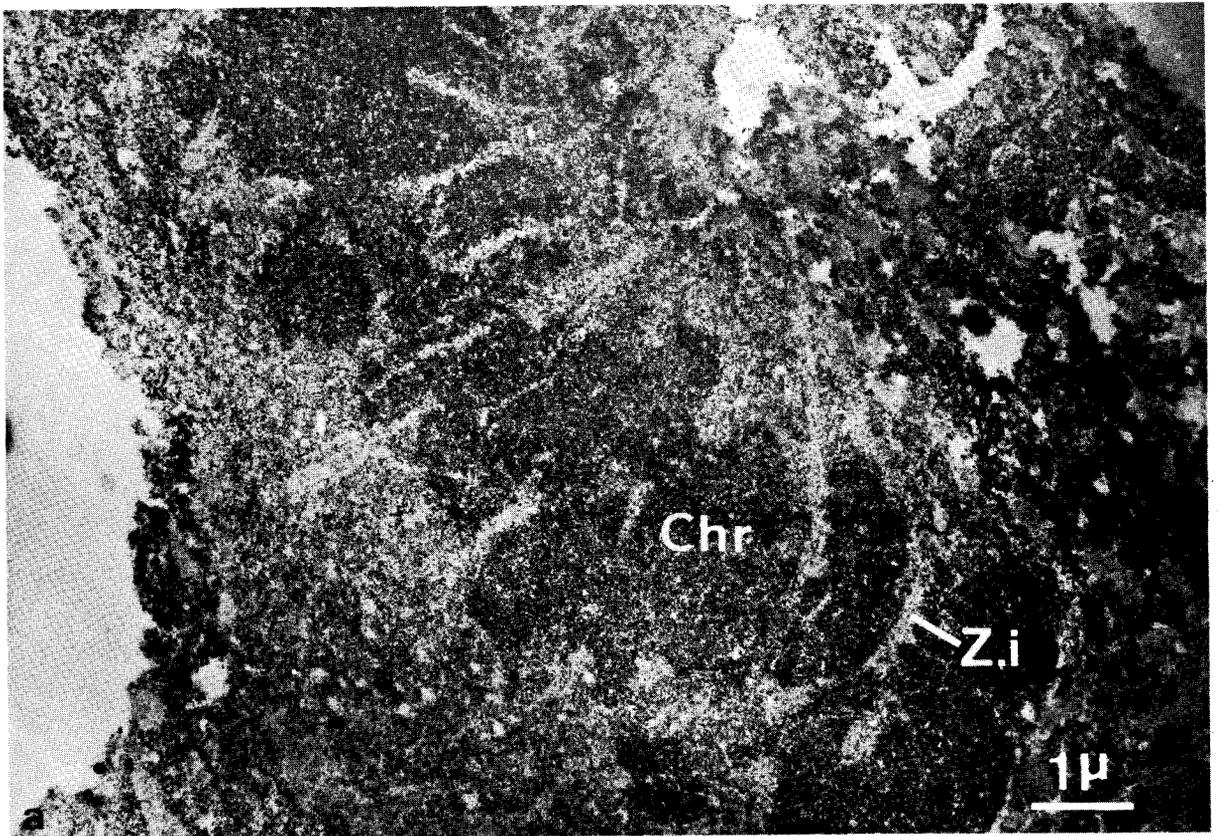


PLANCHE 5

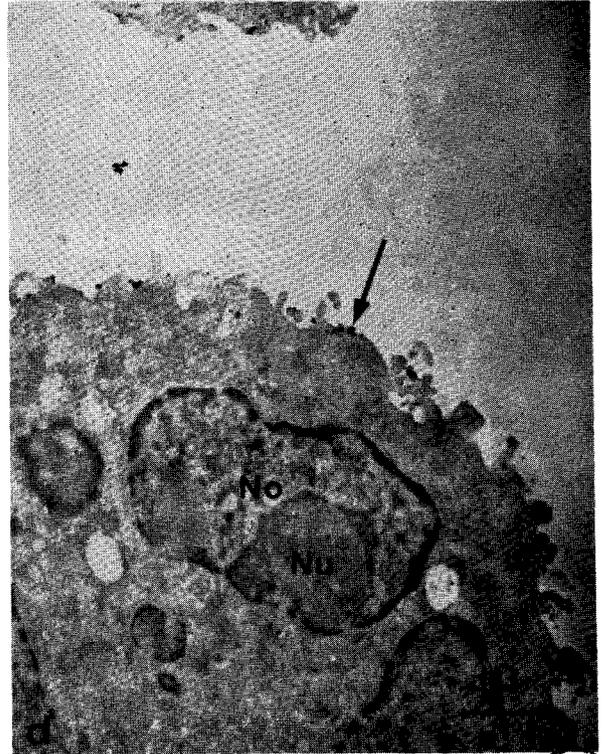
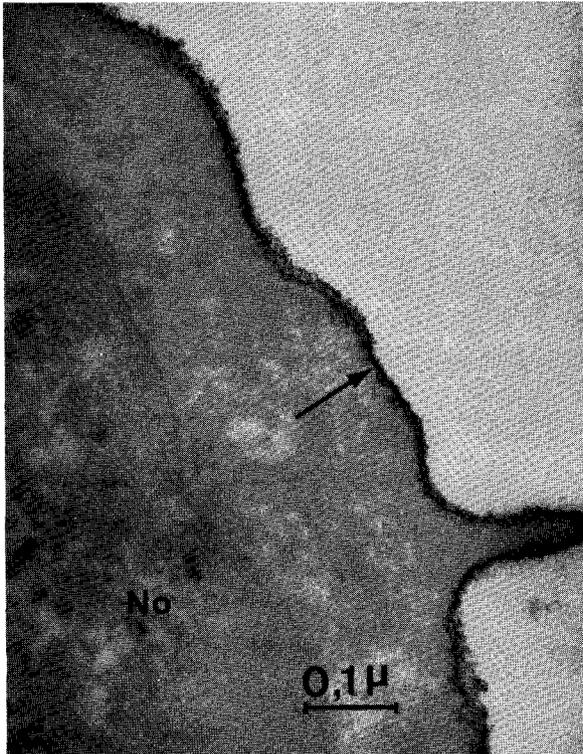
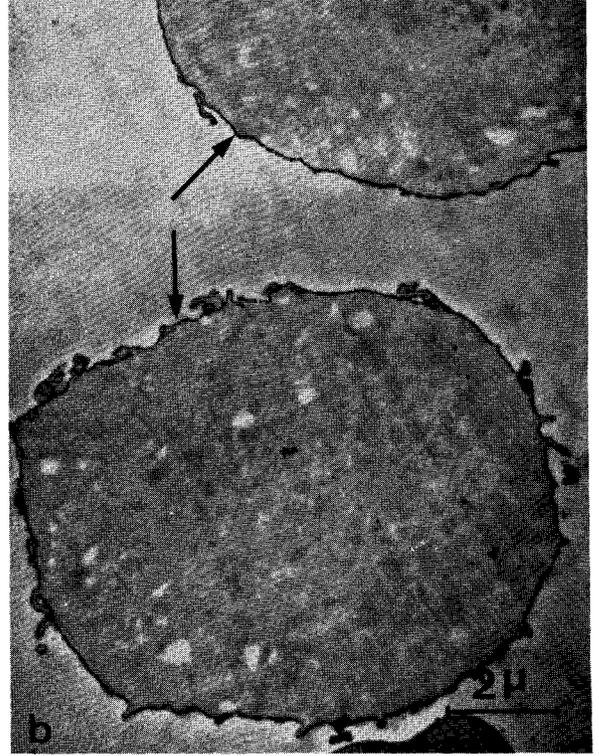
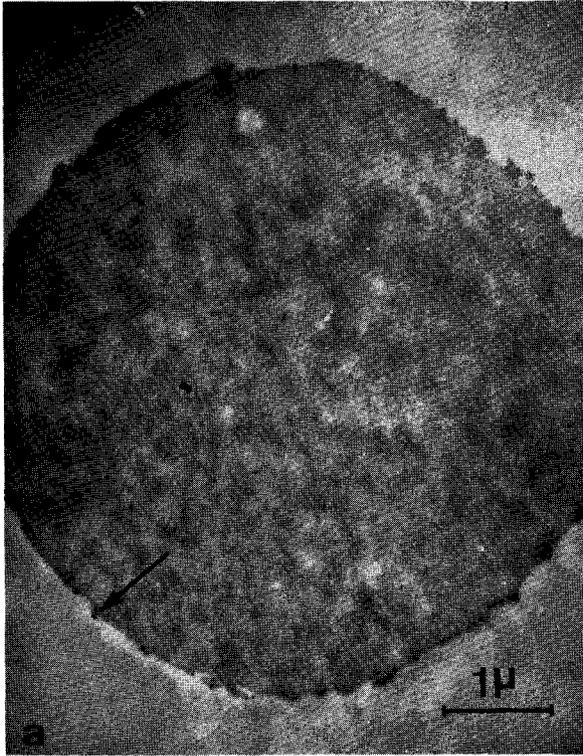
Etude de la spécificité d'une méthode de révélation des groupements basiques totaux -détenus notamment par les protéines acides et basiques- fondée sur la capture de l'acide α -stannique colloïdal

Fig. a.- Cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich témoin traitée par l'acide α -stannique colloïdal au pH de 7. Seuls, quelques dépôts très rares de particules colloïdales (Flèche) sont visibles au niveau de la surface cellulaire. x 14 000

Fig. b.- Cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich estérifiées et traitées par l'acide α -stannique colloïdal au pH de 7. Un dépôt dense, continu et régulier de particules colloïdales (Flèches) est observé au niveau des membranes de surface. x 7 000

Fig. c.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich estérifiée, traitée par l'acide α -stannique colloïdal au pH de 7 et contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (No : noyau). Un marquage identique au précédent (Flèche) est constaté au niveau de la membrane de surface. x 120 000

Fig. d.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich acétylée, traitée par l'acide α -stannique colloïdal au pH de 7 et contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (No : noyau ; Nu : nucléole). Seuls, quelques dépôts très rares de particules colloïdales (Flèche) sont observés au niveau de la surface cellulaire. x 10 000



BUS
LILLE

PLANCHE 6

Répartition des protéines totales (acides et éventuellement basiques) de la membrane de surface. Etude effectuée à l'aide du colloïde I électronegatif à base de fer appliqué à un pH acide

Fig. a.- Portion de cellule HeLa traitée directement par le colloïde électronegatif au pH de 4,5, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (No : noyau). La surface cellulaire est totalement vierge de tout dépôt de particules colloïdales. x 24 000

Fig b.- Portion de cellule HeLa traitée par la neuraminidase et le colloïde électronegatif au pH de 4,5, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (No : noyau). La surface cellulaire est marquée par un très fin dépôt de particules colloïdales (Flèches). x 24 000

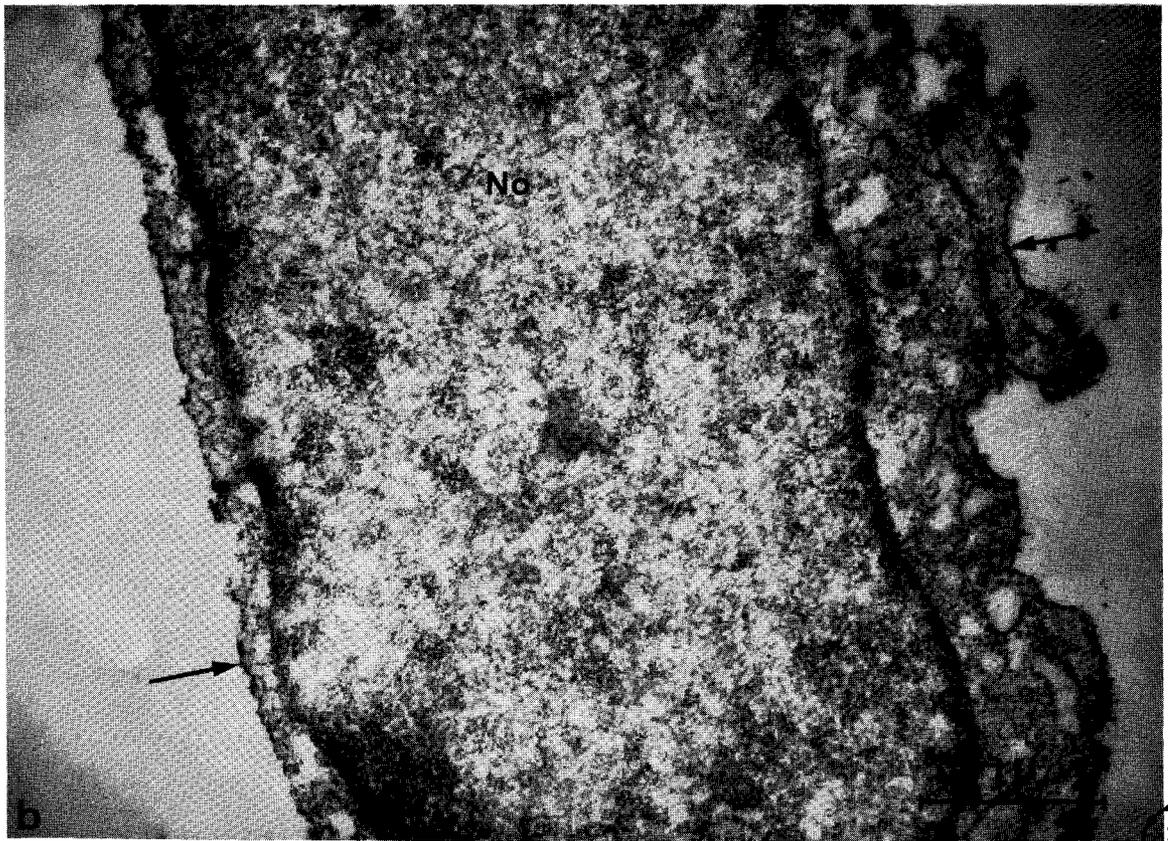
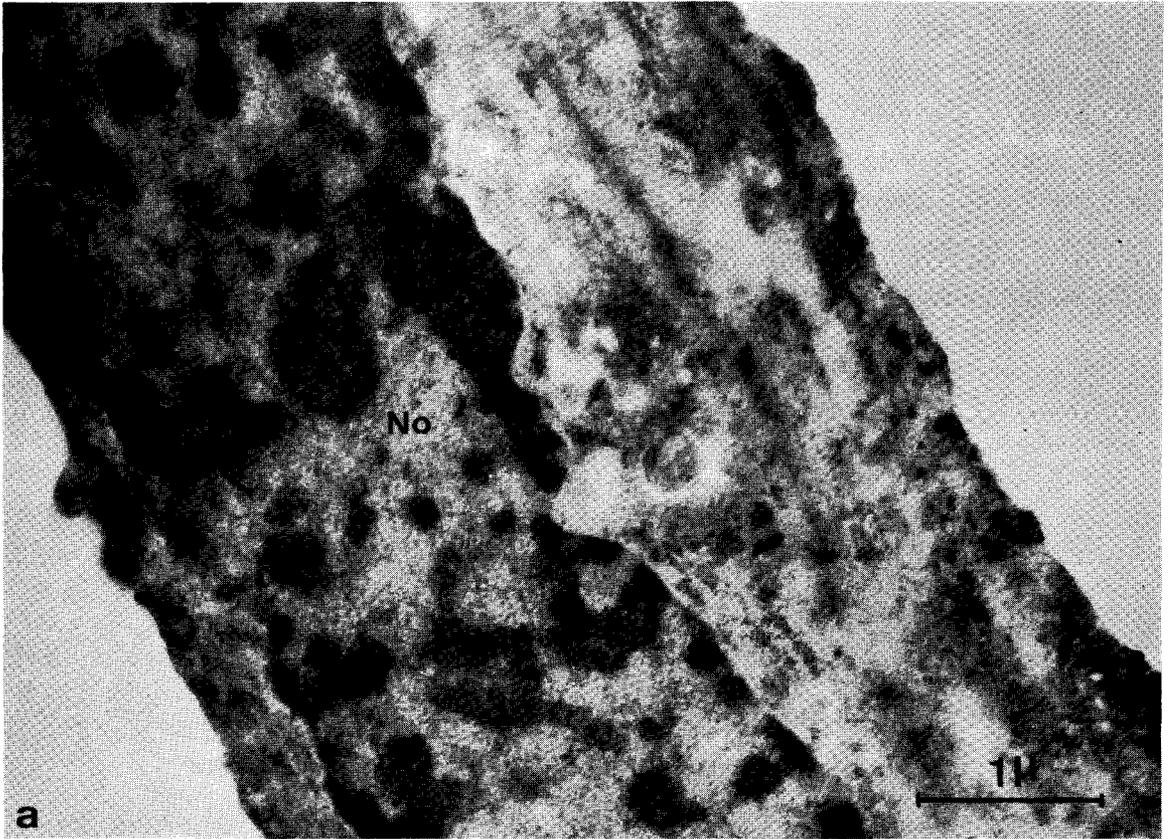


PLANCHE 7

Répartition des protéines totales (acides et éventuellement basiques) de la membrane de surface. Etude effectuée à l'aide du colloïde I électro-négatif à base de fer appliqué à un pH acide

Fig. a.- Cellule HeLa estérifiée, traitée par le colloïde électro-négatif au pH de 4,5 et contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (No : noyau). On constate l'existence d'un dépôt dense, régulier et continu de marqueur le long de la membrane de surface ; il est nettement plus épais que celui de la planche précédente (Pl. 6 ; fig. b).

x 22 000

Fig. b.- Cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich estérifiée et traitée par le colloïde électro-négatif au pH de 4,5 (No : noyau ; Nu : nucléole). Le marquage de la membrane de surface présente un aspect identique au précédent.

x 14 500

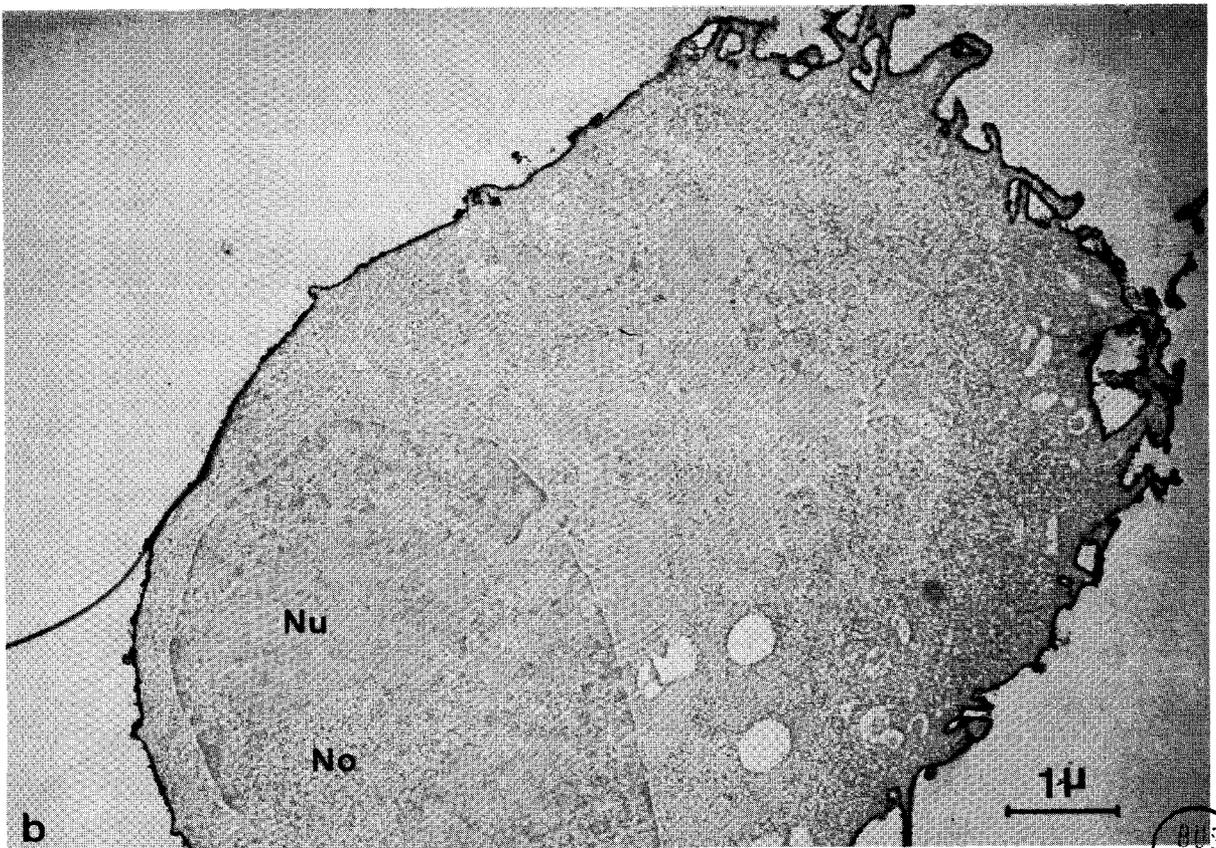
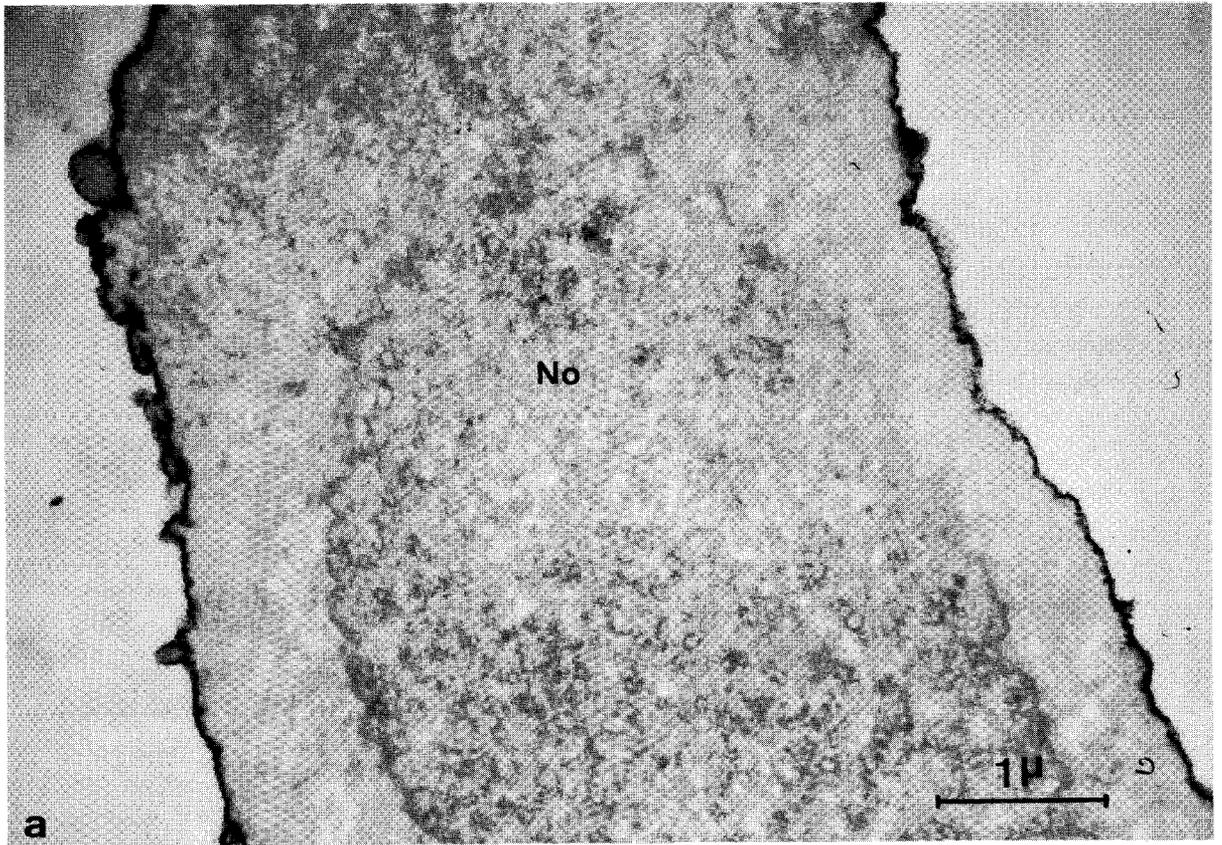


PLANCHE 8

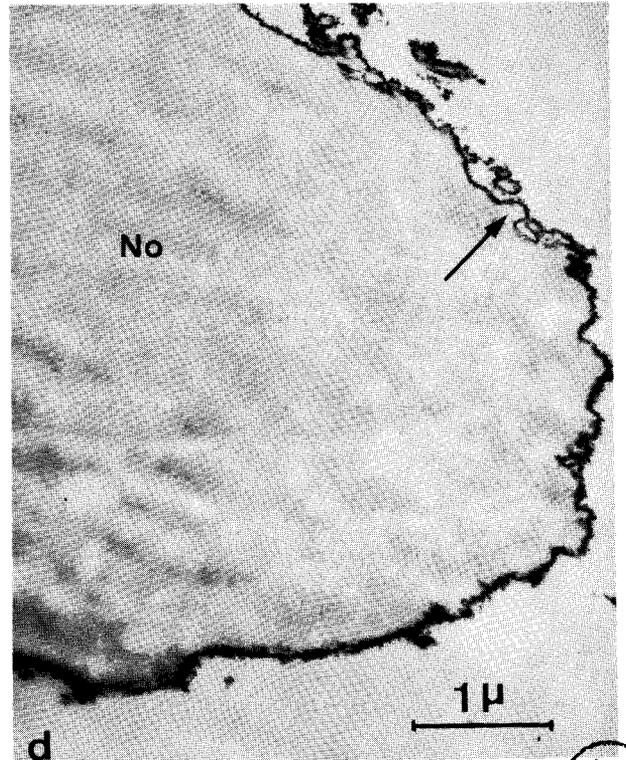
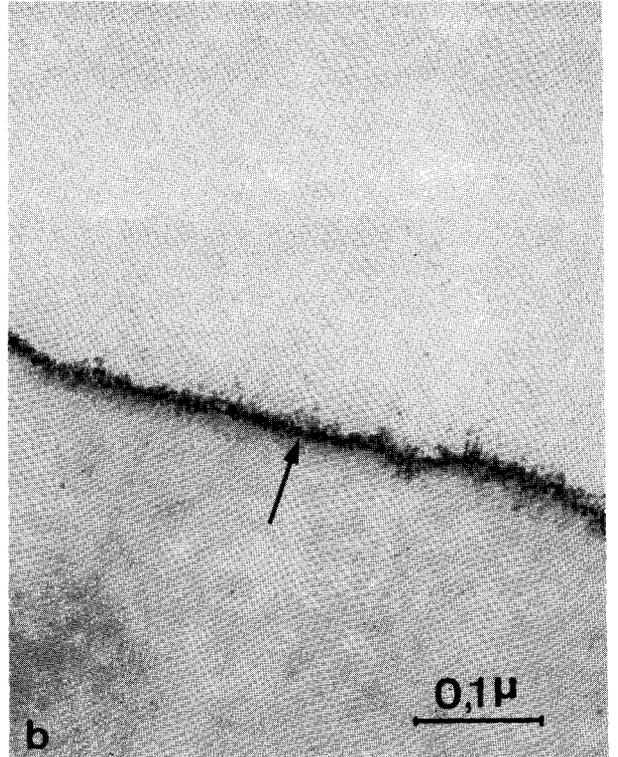
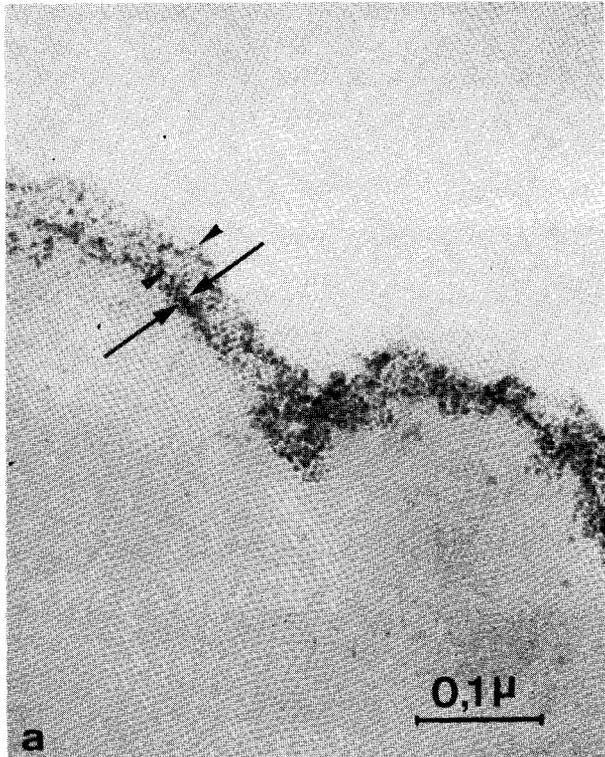
Répartition des protéines totales (acides et éventuellement basiques) de la membrane de surface. Etude effectuée à l'aide du colloïde I électronégatif à base de fer appliqué à un pH acide

Fig. a.- Portion d'hépatocyte de Rat sain estérifié et traité par le colloïde électronégatif au pH de 4,5. Un dépôt dense, régulier et granulaire de marqueur est observé au niveau de la membrane de surface. La coupe tangentielle fait apparaître ici la section bien contrastée d'une partie du plasmolemme -vraisemblablement le feuillet plasmique externe- et du glycolemme (Flèches) sous la répartition des particules colloïdales à la surface de ce dernier (Pointes de flèches). x 164 000

Fig. b.- Portion d'un fibroblaste embryonnaire de Souris estérifié et traité par le colloïde électronégatif au pH de 4,5. Un marquage dense, régulier et granulaire est constaté au niveau de la membrane de surface (Flèche). x 164 000

Fig. c.- Portion d'une cellule HeLa estérifiée et traitée par le colloïde électronégatif au pH de 4,5. Le dépôt de particules colloïdales au niveau de la membrane de surface présente un aspect identique au précédent (Flèche). x 120 000

Fig. d.- Portion d'une cellule KB estérifiée, traitée par le colloïde électronégatif au pH de 4,5 et contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (No : noyau). La membrane de surface présente un dépôt particulièrement dense et contrasté de marqueur (Flèche). x 18 000



BUS
LILLE

PLANCHE 9

Répartition des protéines totales (acides et éventuellement basiques) de la membrane de surface. Etude effectuée à l'aide du colloïde I électronégatif à base de fer appliqué à un pH acide

Fig. a.- Portion périphérique d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich estérifiée et traitée par le colloïde électro-négatif au pH de 4,5. Un dépôt régulier et granulaire de marqueur est constaté au niveau de la membrane de surface (particules de 4 nm environ de diamètre). La **section** contrastée d'une partie du plasmolemme -vraisemblablement le feuillet plasmique externe- et du glycolemme **apparaît** par endroit bien dessinée (Flèches). Au niveau de la région où la coupe est tangentielle, on observe également la répartition des particules colloïdales sur la surface du glycolemme (Pointes de flèches). x 240 000

Fig. b.- Portion périphérique d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich estérifiée, traitée par le colloïde électro-négatif au pH de 4,5 et contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Comme précédemment, on observe un dépôt dense et régulier de particules colloïdales au niveau de la membrane de surface, et leur répartition se superpose à la zone contrastée (Flèches) formée à la suite de l'imprégnation des sels d'uranyle et de plomb. x 240 000

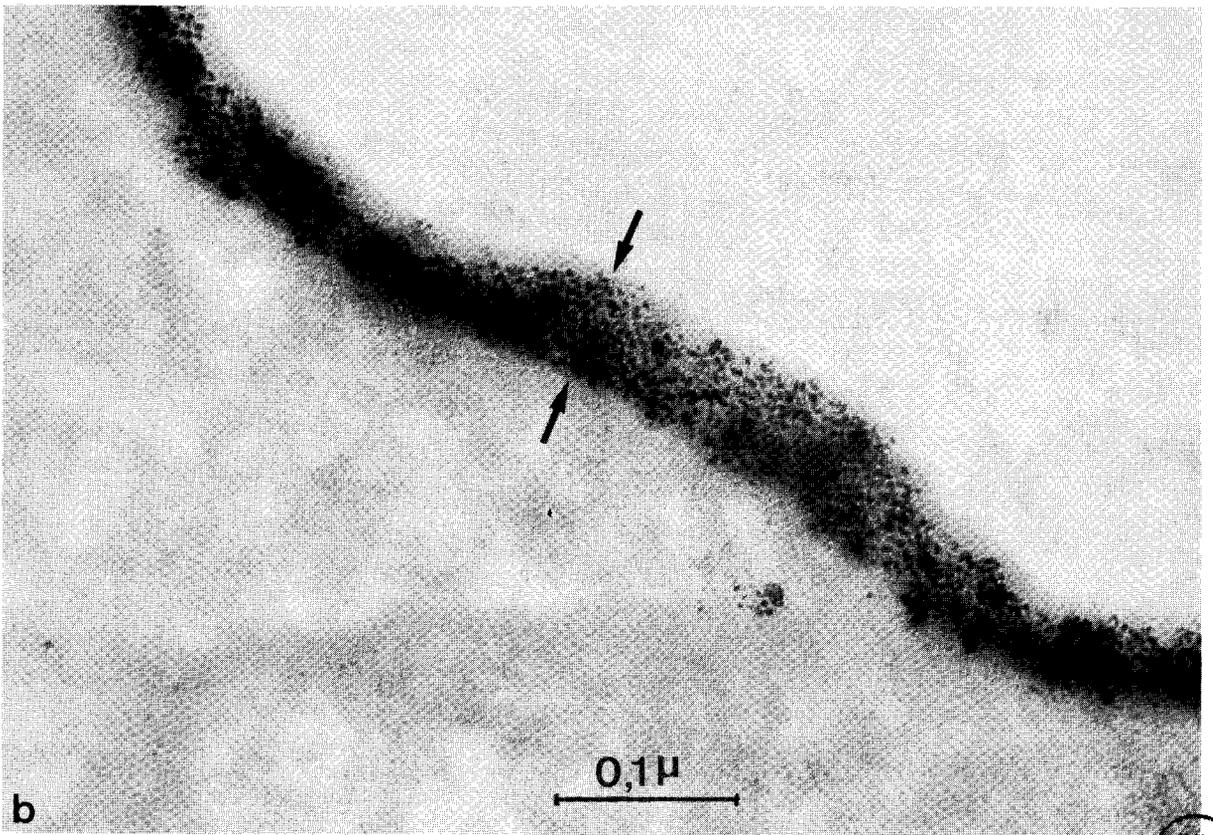
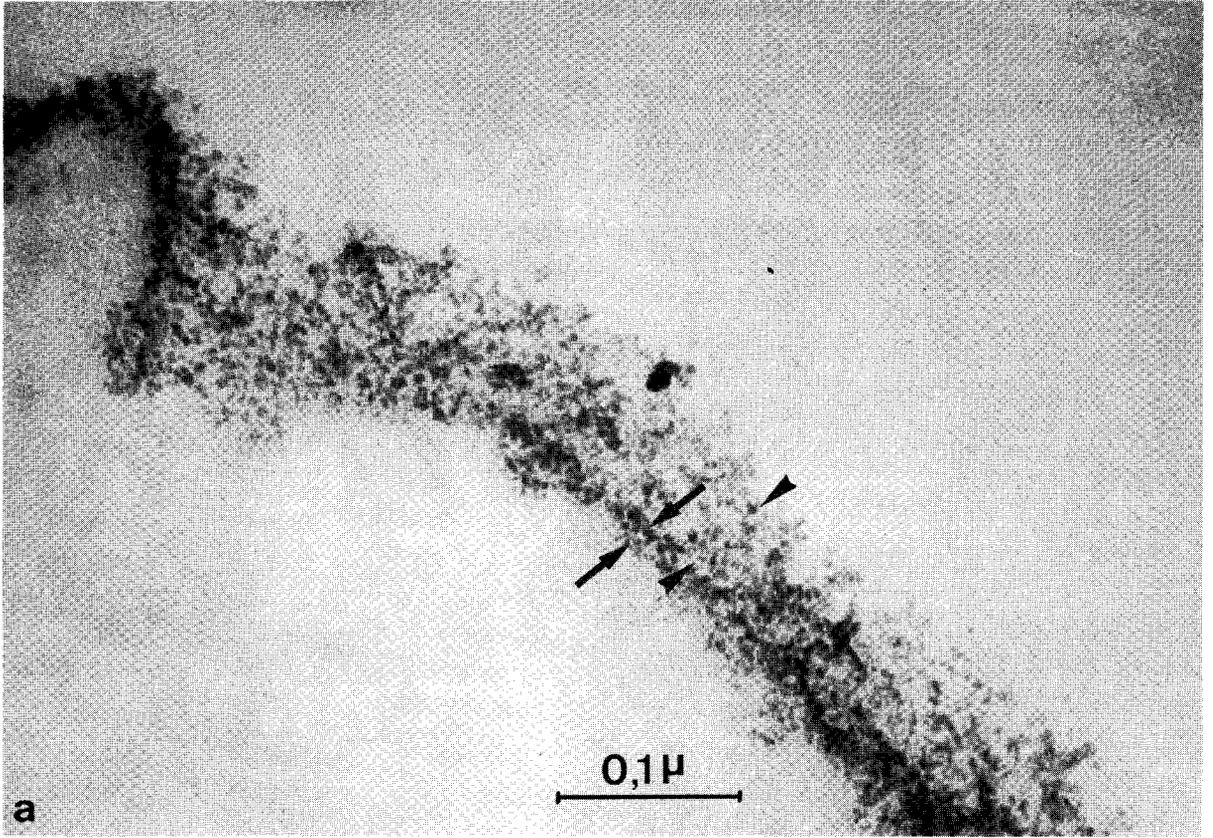


PLANCHE 10

Répartition des protéines totales (acides et éventuellement basiques) de la membrane de surface. Etude effectuée à l'aide du colloïde I électronegatif à base de fer appliqué à un pH acide

Fig. a.- Portion périphérique d'une cellule KB estérifiée et traitée par le colloïde électronegatif au pH de 4,5. Un dépôt dense et régulier de particules colloïdales est constaté au niveau de la membrane de surface. x 240 000

Fig. b.- Portion périphérique d'une cellule KB estérifiée et traitée par le colloïde électronegatif au pH de 9. L'aspect du marquage de la membrane de surface est comparable au précédent. x 240 000

Fig. c.- Portion périphérique d'une cellule KB estérifiée, délipidée et traitée par le colloïde électronegatif au pH de 4,5. Le marquage est identique aux précédents. x 240 000

Fig. d.- Portion périphérique d'une cellule KB traitée par la phospholipase C, estérifiée et traitée par le colloïde électronegatif au pH de 4,5. Le dépôt de marqueur est également semblable aux précédents. x 240 000

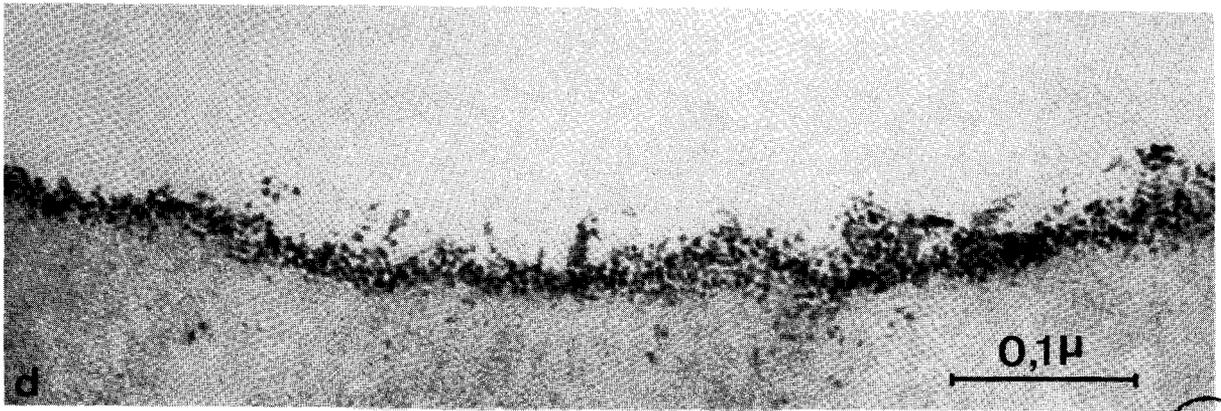
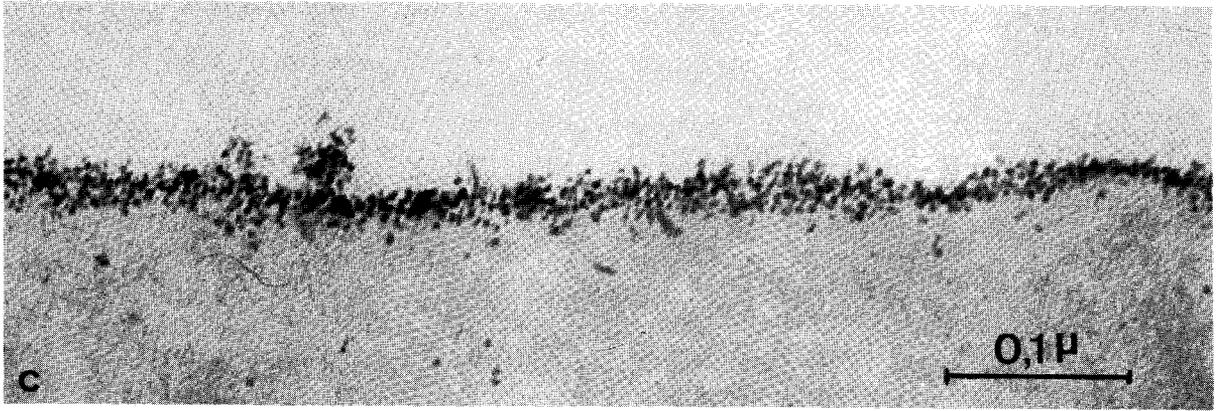
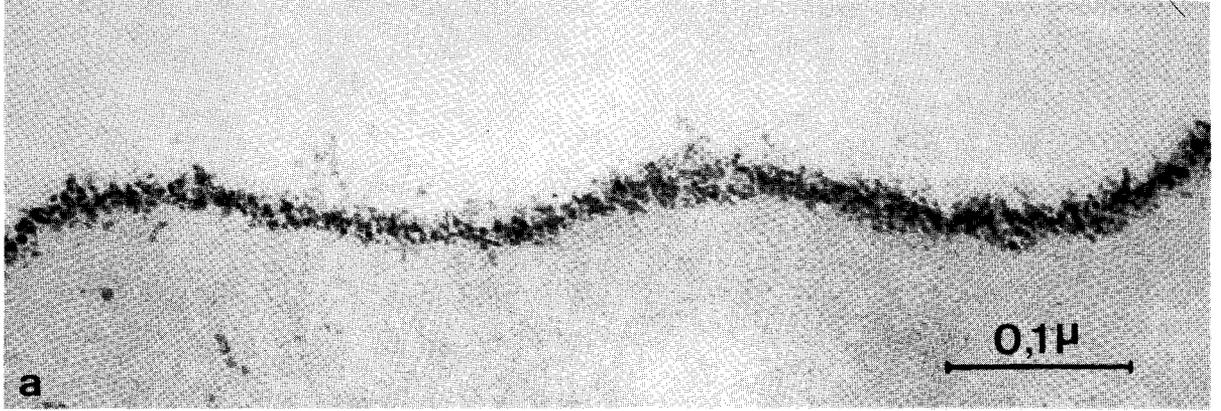


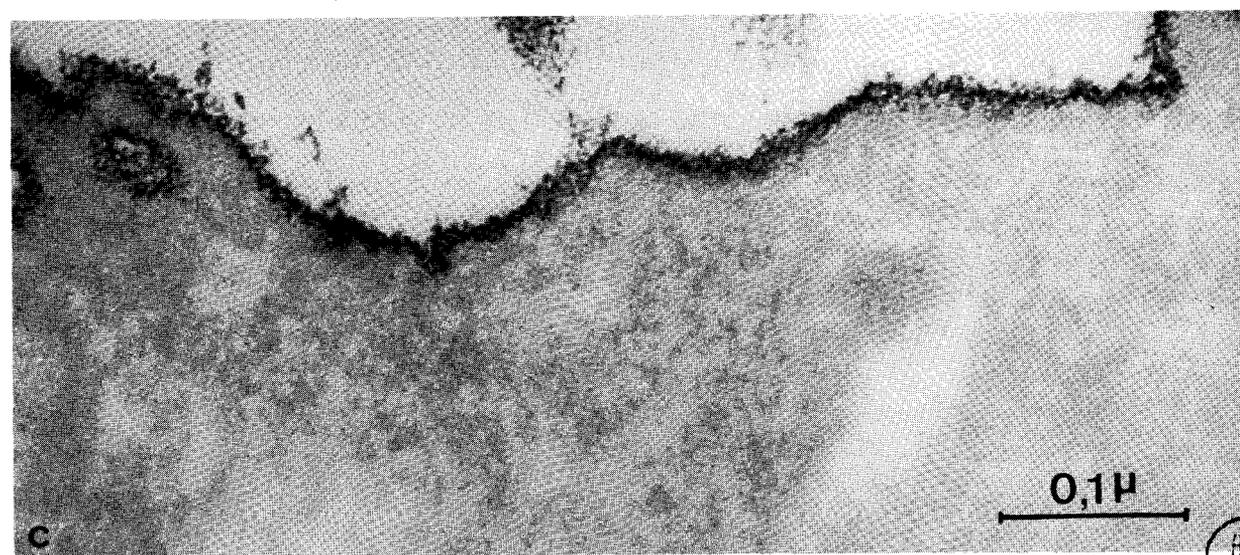
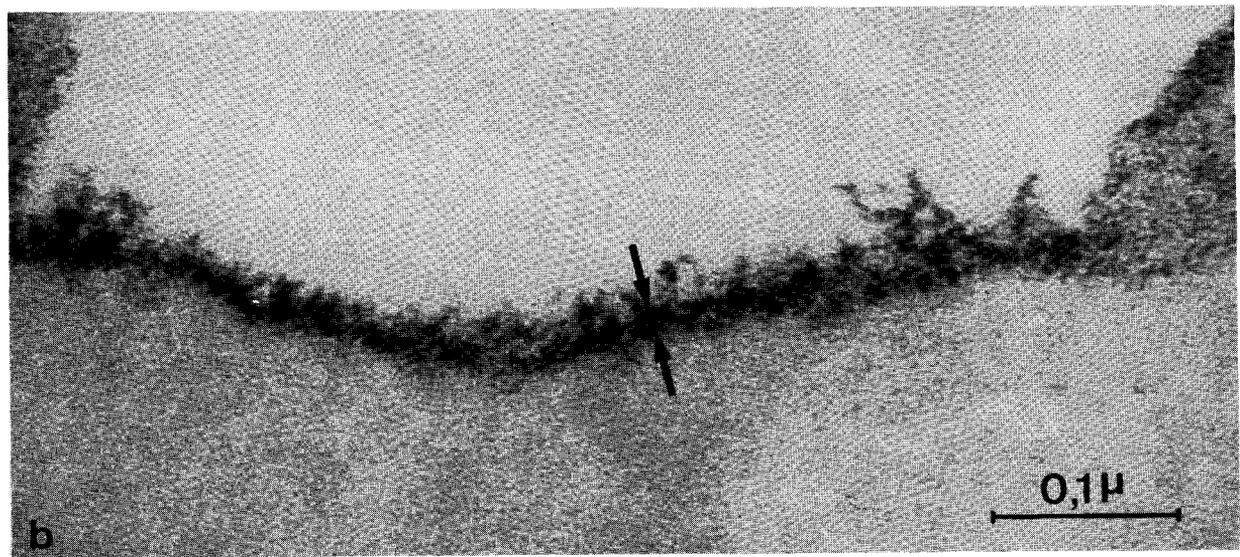
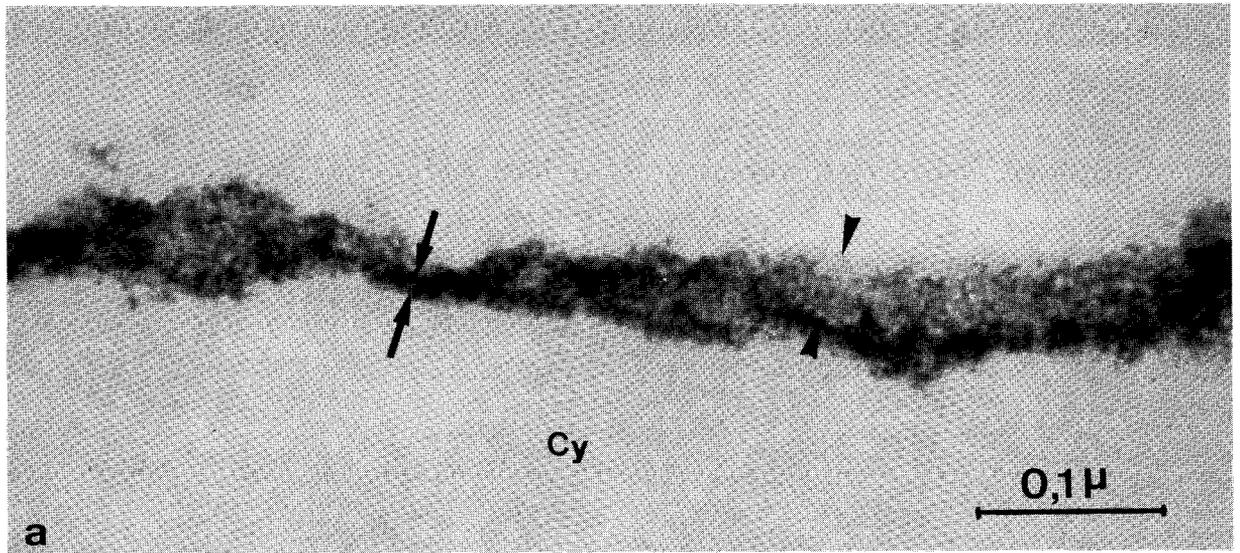
PLANCHE 11

Répartition des protéines totales (acides et éventuellement basiques) de la membrane de surface. Etude effectuée à l'aide de l'acide α -stannique colloïdal.

Fig. a.- Portion périphérique d'une cellule de l'hépatome ascitique de ZAJDELA estérifiée et traitée par l'acide α -stannique colloïdal au pH de 7 (Cy : cytoplasme). Comme précédemment, on constate l'existence d'un marquage de la section de la membrane de surface correspondant au glycolemme et à une partie du plasmolemme -vraisemblablement le feuillet plasmique externe- (Flèches), mais ici, la condensation très dense et relativement régulière du colloïde est moins granulaire et plus uniforme. En certains endroits où la coupe est tangentielle, on peut également observer une répartition de particules colloïdales sur la surface du glycolemme (Pointes de flèches). x 240 000

Fig. b.- Portion périphérique d'une cellule HeLa estérifiée et traitée par l'acide α -stannique colloïdal au pH de 7. Le plan de la coupe est ici perpendiculaire au plan de la membrane. Le dépôt de marqueur présente un aspect identique au précédent (Flèches) et révèle particulièrement bien les touffes de glycolemme. x 240 000

Fig. c.- Portion périphérique d'un fibroblaste de Souris Swiss estérifié et traité par l'acide α -stannique colloïdal au pH de 7. Le marquage est ici moins large, probablement à cause de l'épaisseur plus faible du glycolemme de ces cellules. x 240 000



BUS
LILLE

PLANCHE 12

Mise en évidence de groupements de point isoionique élevé (composante protéinique basique). Etude effectuée à l'aide du colloïde I électro-négatif à base de fer appliqué à un pH élevé

Fig. a.- Portion d'hépatocyte de Rat sain traité par la neuraminidase et le colloïde électronégatif au pH de 9, puis contrasté à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb (No : noyau). Un dépôt fin de particules colloïdales (Flèche) est réparti de place en place le long d'une zone qui correspond probablement au glycolemme. Dans le cytoplasme, les zones claires correspondent vraisemblablement en grande partie à la disparition du glycogène. x 24 000

Fig. b.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich traitée par la neuraminidase et le colloïde électronégatif de pH 9, puis contrastée à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb (No : noyau ; Nu : nucléole). Comme précédemment, on constate l'existence d'un dépôt de marqueur (Flèche) distribué de place en place au niveau de la zone périphérique hydrophile de la membrane de surface. x 42 000

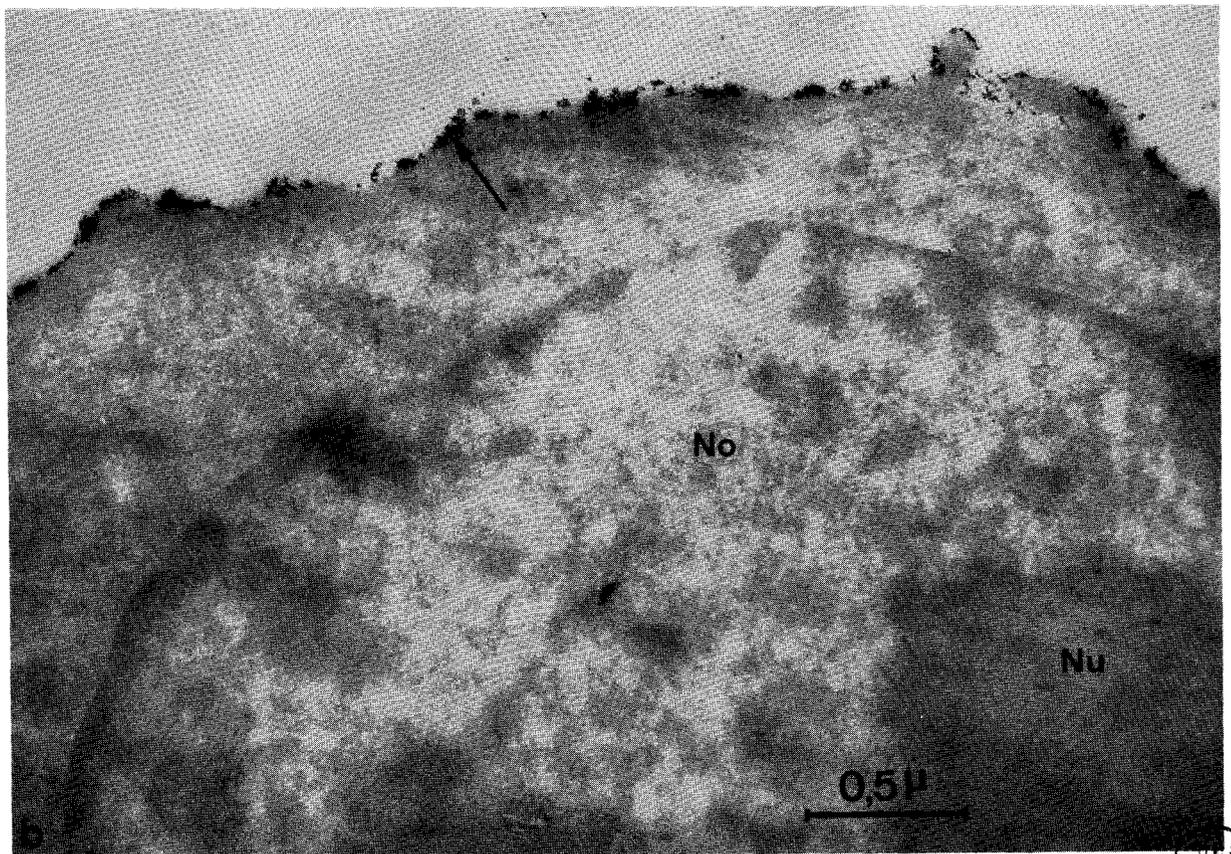
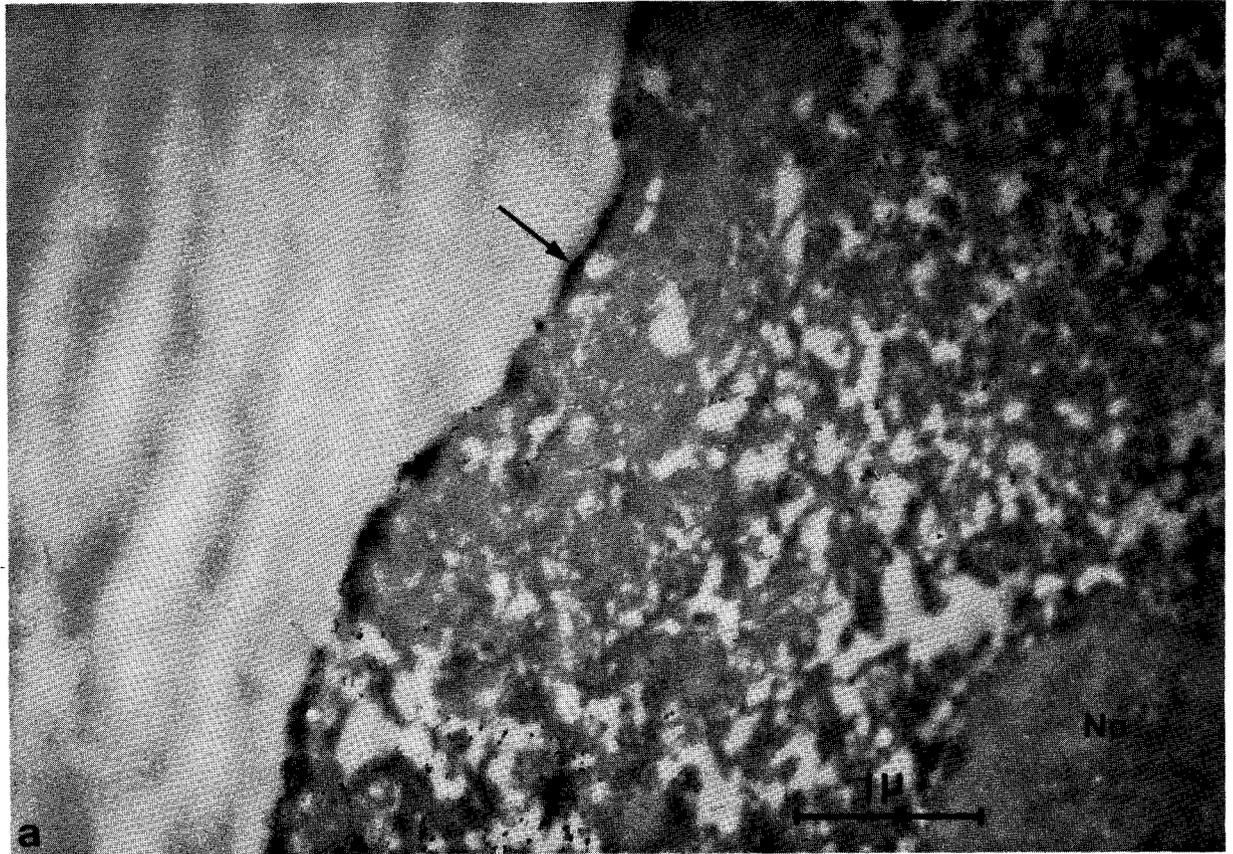
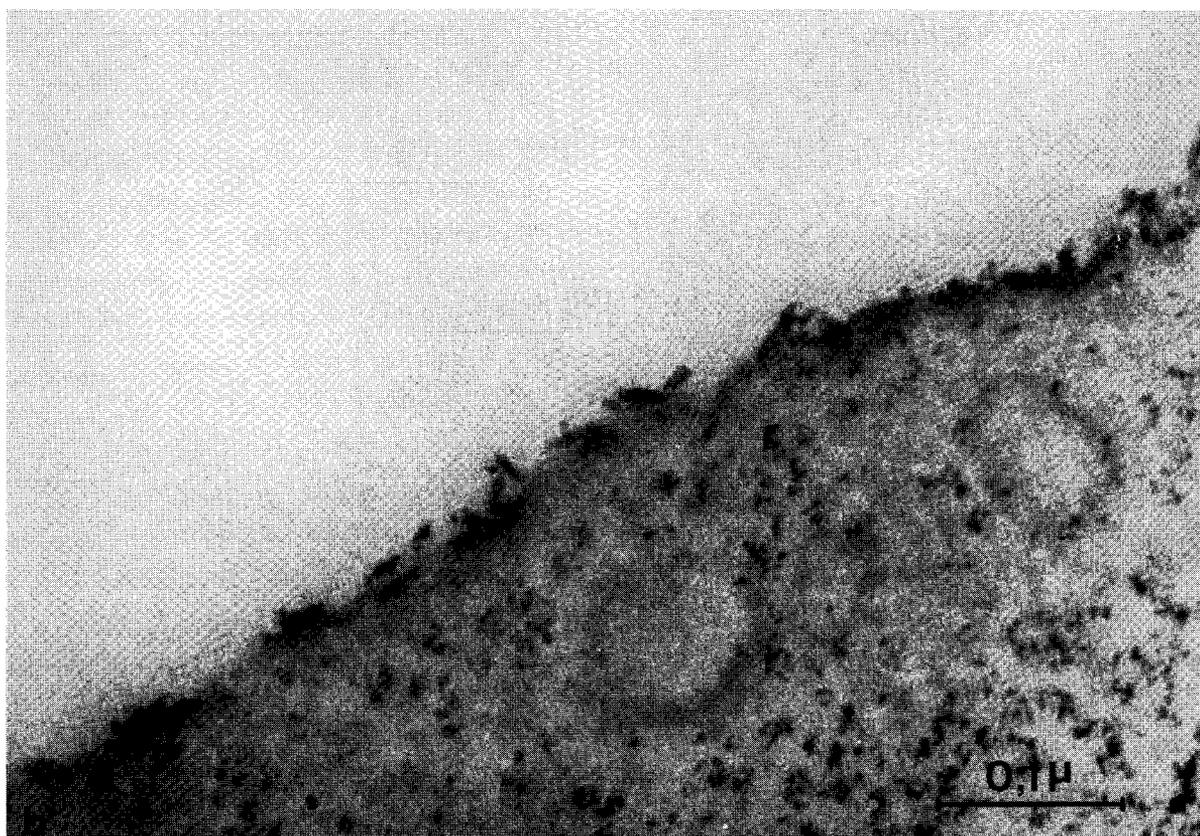
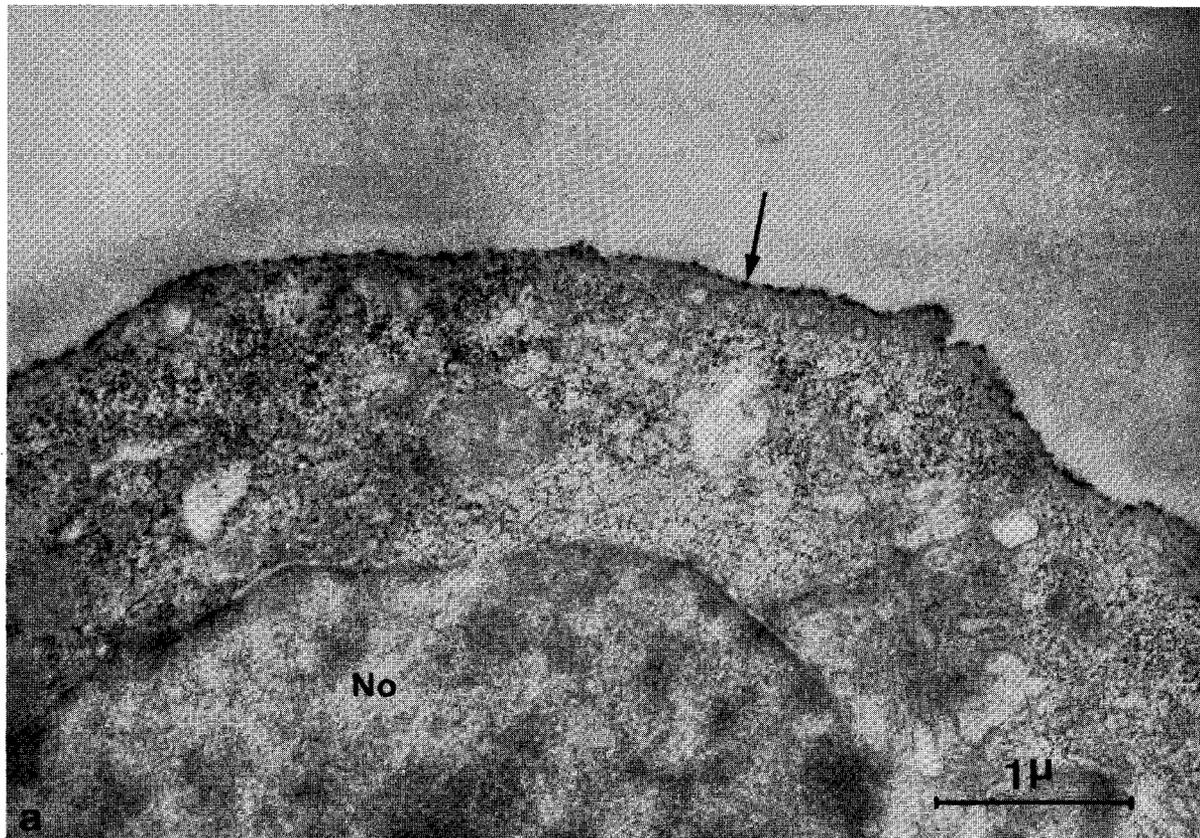


PLANCHE 13

Mise en évidence de groupements de point isoionique élevé (composante protéinique basique). Etude effectuée à l'aide du colloïde électro-négatif I à base de fer appliqué à un pH élevé

Fig. a.- Portion d'une cellule de l'hépatome ascitique de ZAJDELA traitée par la neuraminidase et le colloïde électro-négatif au pH de 9, puis contrastée à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb (No : noyau). On observe un marquage fin réparti de place en place au niveau de la zone périphérique hydrophile de la membrane de surface (Flèche). Comme avec la figure b de la planche 3, on constate également l'existence d'une faible répartition de particules colloïdales sur le hyaloplasme et probablement les lamelles ergastoplasmiques du cytoplasme. x 25 500

Fig. b.- Portion périphérique d'une cellule de l'hépatome ascitique de ZAJDELA traitée par la neuraminidase et le colloïde électro-négatif au pH de 9, puis contrastée à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb. Cette photo prise à un grossissement plus important confirme les observations précédentes. x 240 000



BUS
LILLE

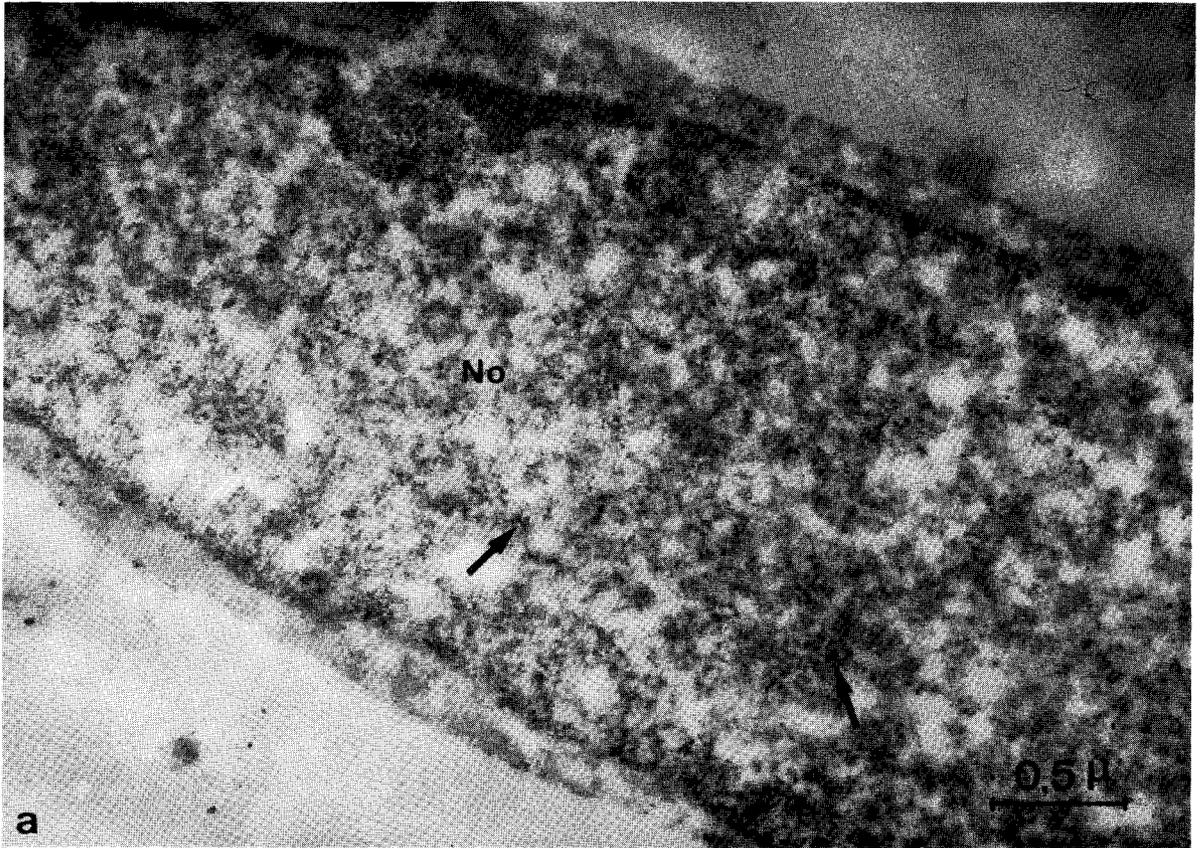
PLANCHE 14

Mise en évidence de groupements de point isoionique élevé (composante protéinique basique). Etude effectuée à l'aide du colloïde I électro-négatif à base de fer appliqué à un pH élevé

Fig. a.- Portion de cellule HeLa traitée par la neuraminidase et le colloïde électro-négatif au pH de 9, puis contrastée à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb (No : noyau). La membrane de surface n'est pas marquée par le colloïde. Seul, un dépôt très faible de particules colloïdales est observé au niveau de la chromatine nucléaire (Flèches).
x 35 000

Fig. b.- Portion d'un fibroblaste de Souris traité par la neuraminidase et le colloïde électro-négatif au pH de 9, puis contrasté par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Les quelques petits amas de particules colloïdales (Flèches) que l'on observe parfois sur la surface cellulaire sont beaucoup trop rares et trop espacés pour traduire la présence de groupements quelconques. x 20 500

Fig. c.- Membranes de surface isolées d'hépatocyte de Rat sain traitées par la neuraminidase et le colloïde électro-négatif au pH de 4,5, puis contrastées par l'acétate d'uranyle (D : desmosome ; T.J. : "tight junction"). On constate quelques dépôts de particules colloïdales sur les deux faces de la "tight junction". x 120 000



Etude de la spécificité d'une méthode de révélation des groupes basiques totaux -détenus notamment par les protéines acides et basiques- fondée sur la capture d'un colloïde II électronégatif à base de fer appliqué à un pH très acide.

Fig. a.- Contrôles effectués sur un polycation et deux polyanions dissous en gélose.

1 : Polylysine traitée par le marqueur colloïdal au pH de 0,8 ; 2 : Sulfate de polyvinyl traité par le marqueur colloïdal au pH de 0,8 ; 3 : Acide hyaluronique traité par le marqueur colloïdal au pH de 0,8.

Fig. b.- Portion de cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich témoin traitée par le marqueur colloïdal au pH de 0,8. La membrane de surface est marquée par un dépôt dense et continu de particules colloïdales. x 13 500

Fig. c.- Cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich estérifiée, traitée par le marqueur colloïdal au pH de 0,8 et contrastée à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb. Le dépôt de particules colloïdales est un peu plus dense que le précédent x 9 000

Fig. d.- Portions de cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich (No : noyau) acétylées et traitées par le marqueur colloïdal au pH de 0,8. Aucun marquage n'est décelable au niveau de la membrane de surface. x 11 000

Fig. e.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich (No : noyau) traitée successivement par la neuraminidase et le marqueur colloïdal au pH de 0,8, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Le dépôt de marqueur de la membrane de surface est sensiblement identique à celui de la figure témoin (Figure b). x 12 000

Fig. f.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich (No : noyau) traitée successivement par la phospholipase C et le marqueur colloïdal au pH de 0,8, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Le marquage de la membrane de surface est sensiblement identique à celui des figures b et e. x 12 000

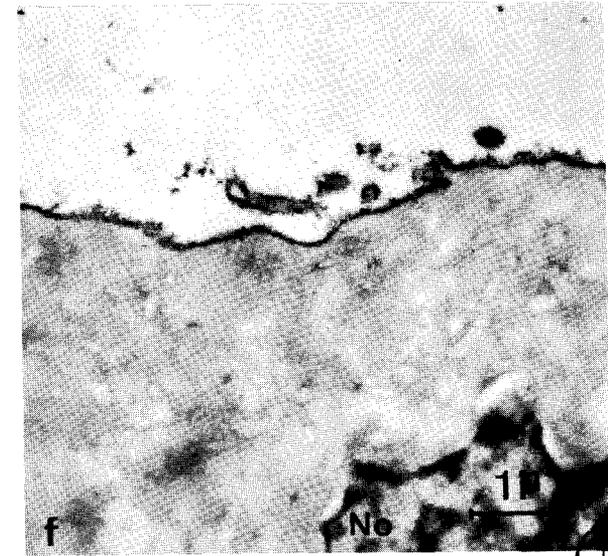
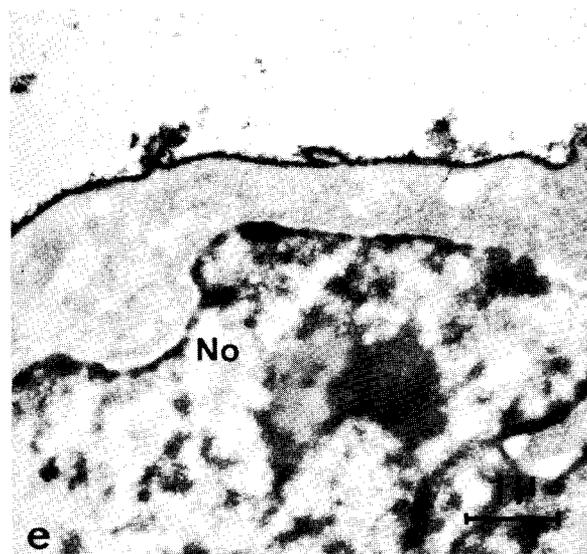
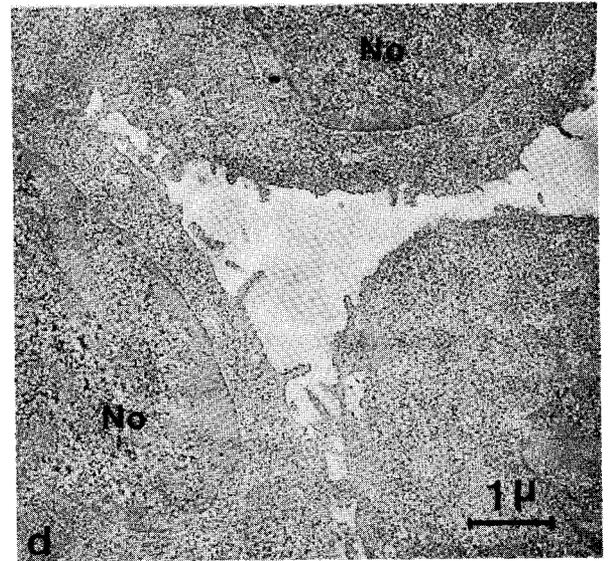
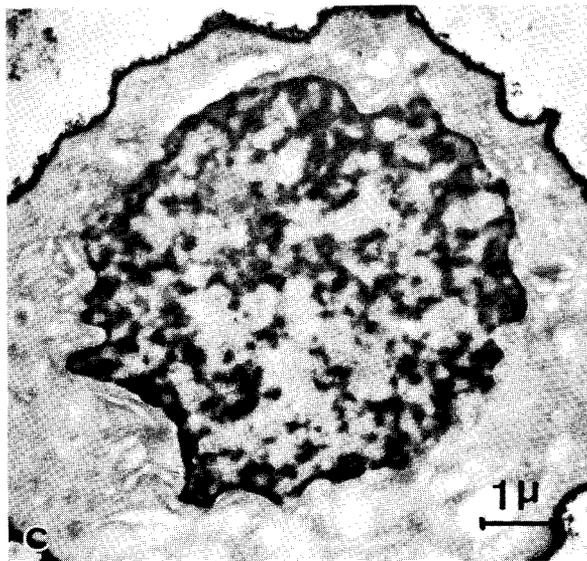
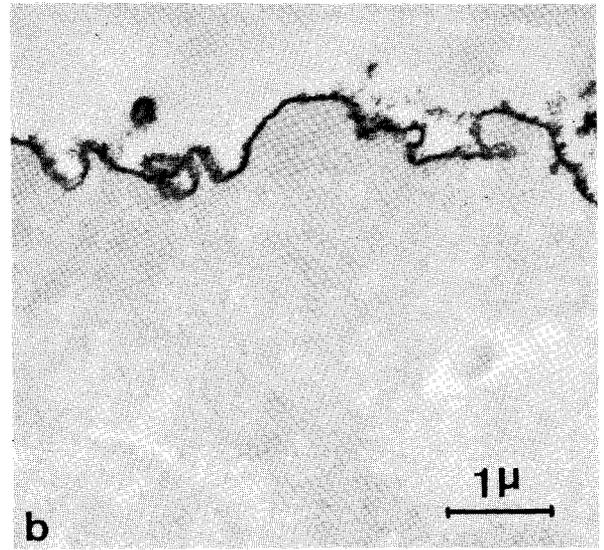
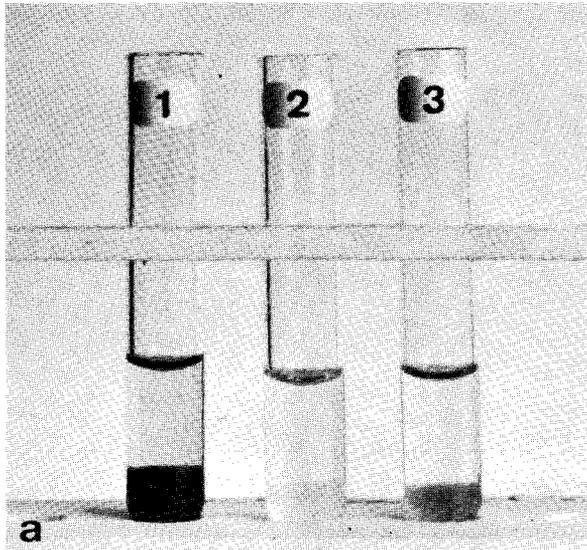
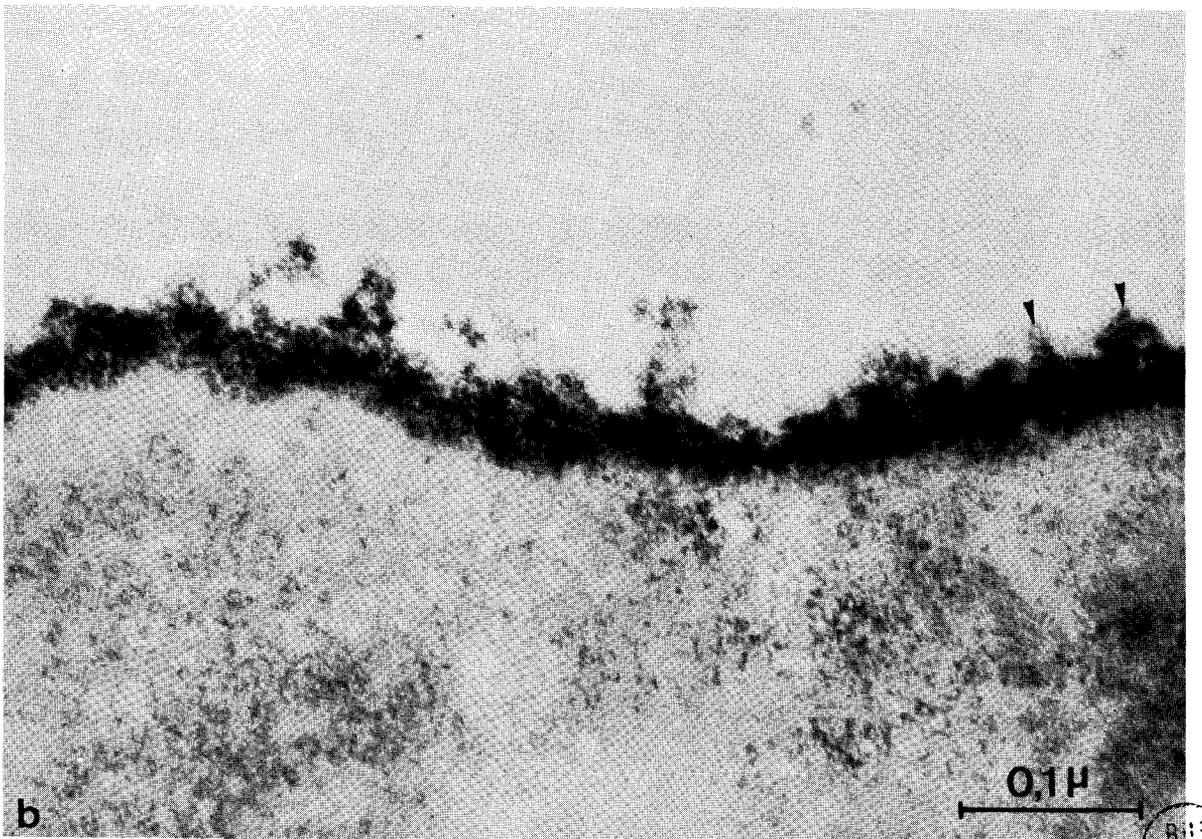
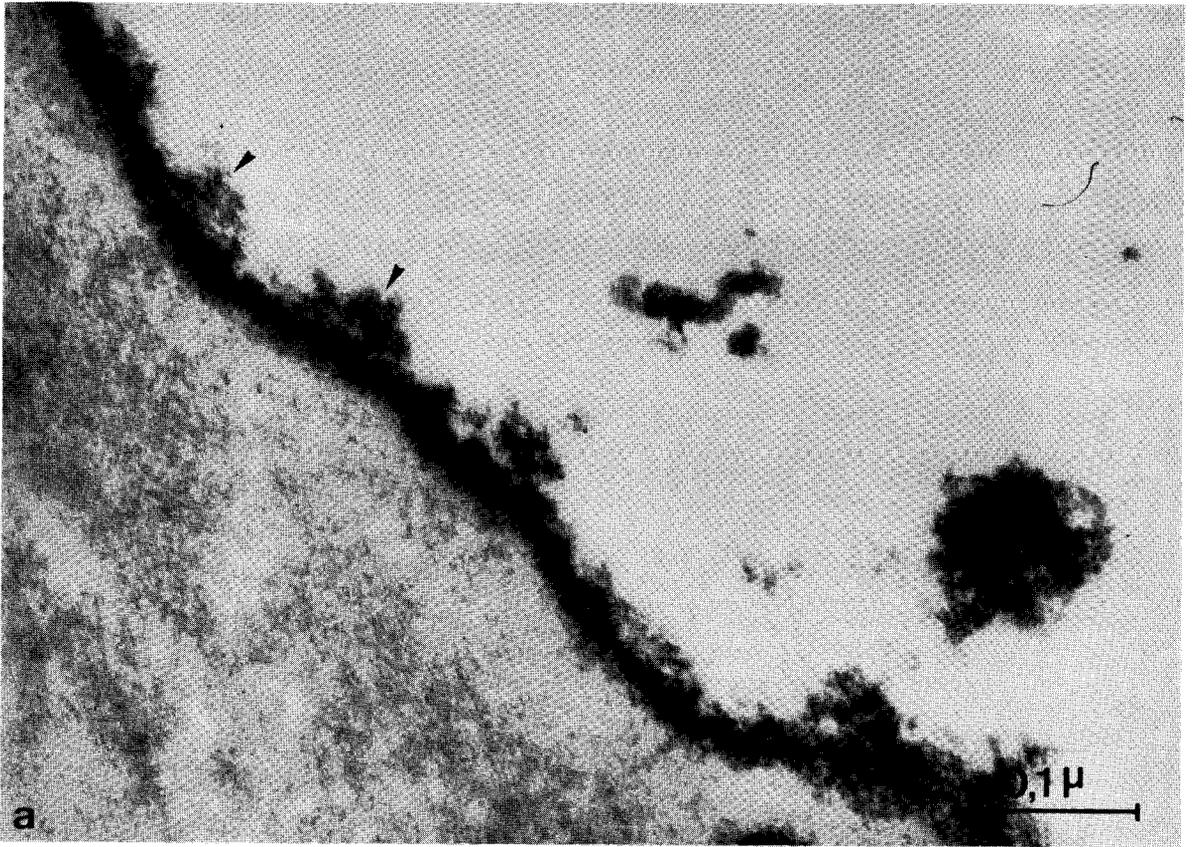


PLANCHE 16

Etude de la spécificité d'une méthode de révélation des groupes basiques totaux -détenus notamment par les protéines acides et basiques- fondée sur la capture d'un colloïde II électronégatif à base de fer appliqué à un pH très acide

Fig. a et b.- Portions périphériques de cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich traitées par le marqueur colloïdal au pH de 0,8 et contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. L'imprégnation des sels d'uranyle et de plomb ne fait apparaître aucune trace du plasmolème. On observe un important dépôt de particules colloïdales sur la section de la membrane de surface qui correspond au glycolème et probablement au feuillet plasmique externe. L'ondulation de sa surface (Pointes de flèches) révèle une structure en touffes du premier identique à celle qui est mise en évidence par la méthode au rouge de ruthénium (Pl. 27, fig. b ; Pl. 28, fig. a ; Pl. 33). x 240 000



RBS
LMBE

PLANCHE 17

Mise en évidence de groupements protéiniques basiques sur les deux faces de la membrane de surface isolée des hépatocytes de Rat sain à l'aide du colloïde II

Fig. a et b.- Membranes de surface isolées de foie de Rat sain (témoins) traitées par le marqueur colloïdal au pH de 0,8 et contrastées par l'acétate d'uranyle. Les plasmolèmes sont marqués par des dépôts relativement continus de particules colloïdales, symétriquement répartis sur leurs faces internes et externes (Pointes de flèches).
Fig. a : x 180 000 ; fig. b : x 400 000

Fig. c et d.- Membranes de surface isolées de foie de Rat sain traitées successivement par la phospholipase C et le marqueur colloïdal au pH de 0,8, puis contrastées par l'acétate d'uranyle. Le résultat est identique au précédent : la densité des dépôts de marqueur est sensiblement identique sur les deux faces des plasmolèmes (Pointes de flèches). Fig. c : x 180 000 ;
fig. d : x 400 000

Fig. e et f.- Membranes de surface isolées de foie de Rat sain délipidées par le chloroforme et l'éther, traitées par le marqueur colloïdal au pH de 0,8 et contrastées par l'acétate d'uranyle. Le résultat est pratiquement identique à celui des quatre figures précédentes.
Fig. e : x 180 000 ; fig. f : x 500 000

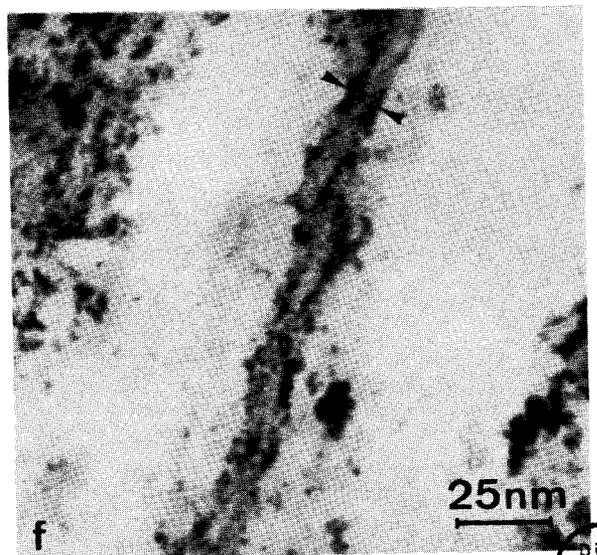
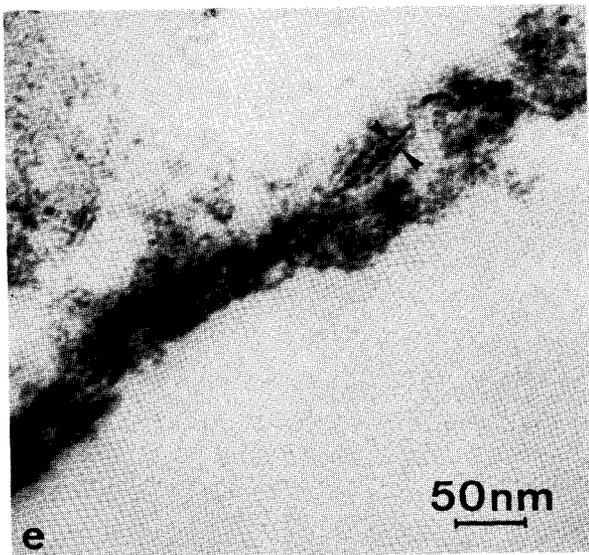
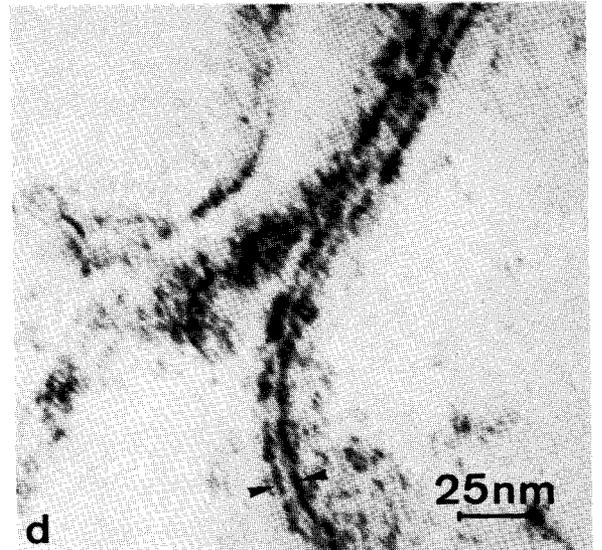
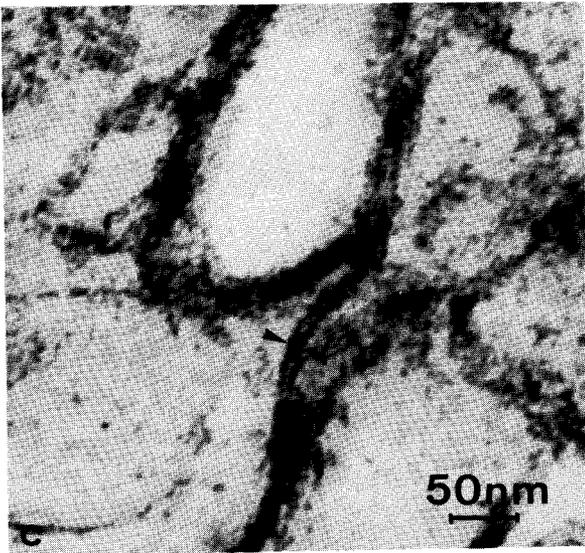
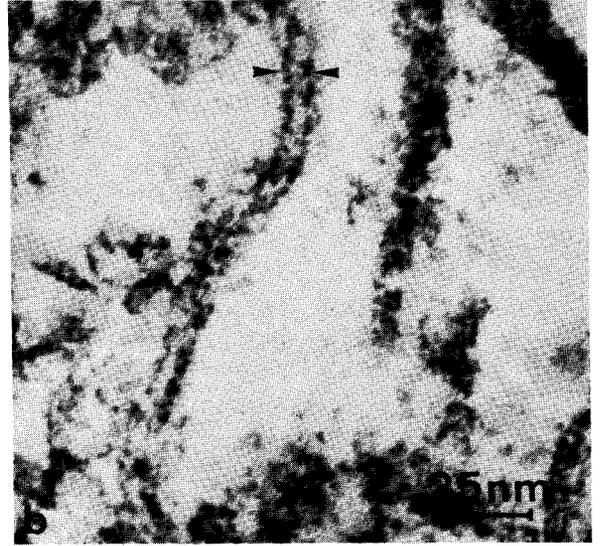
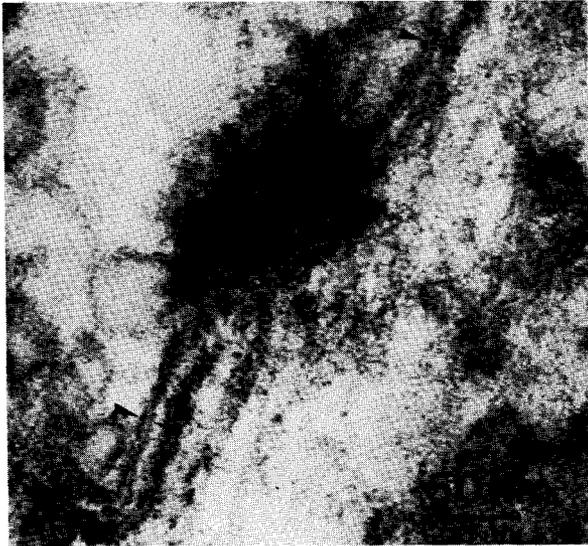
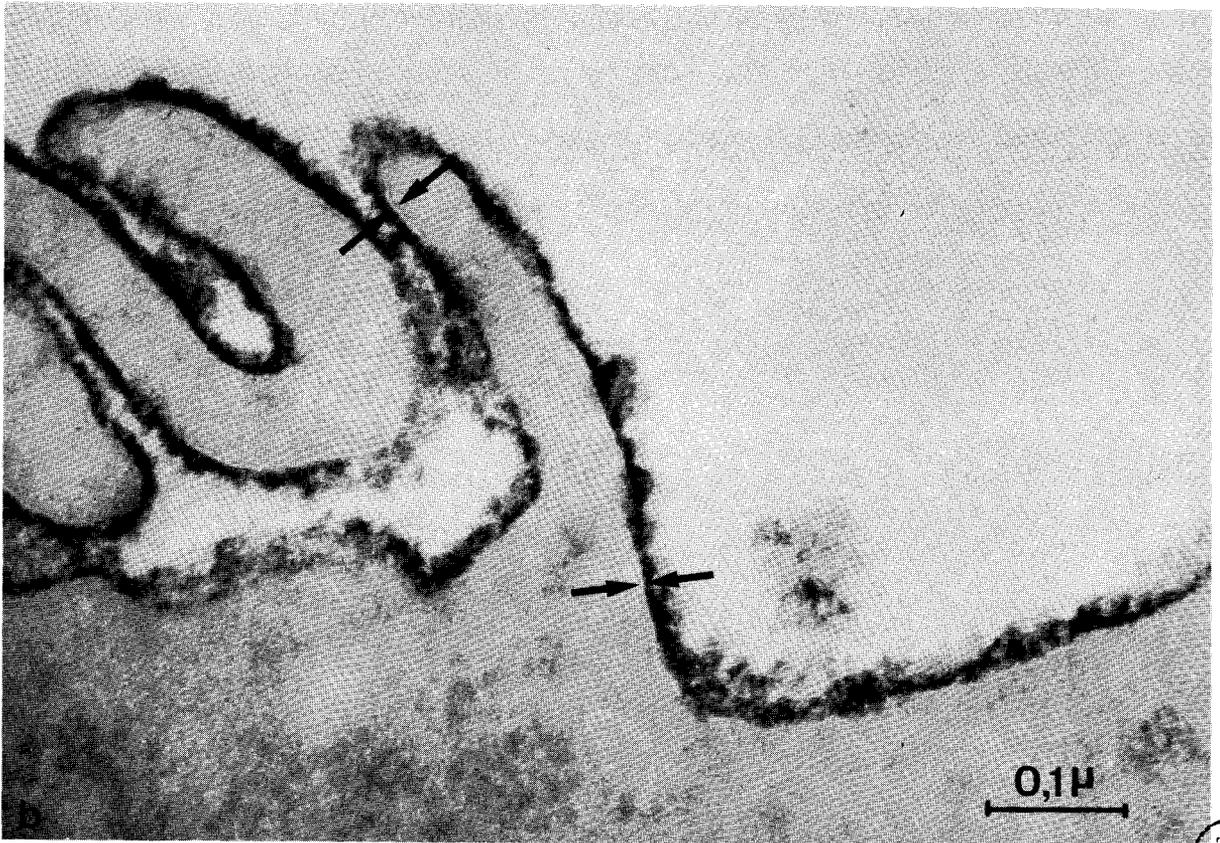
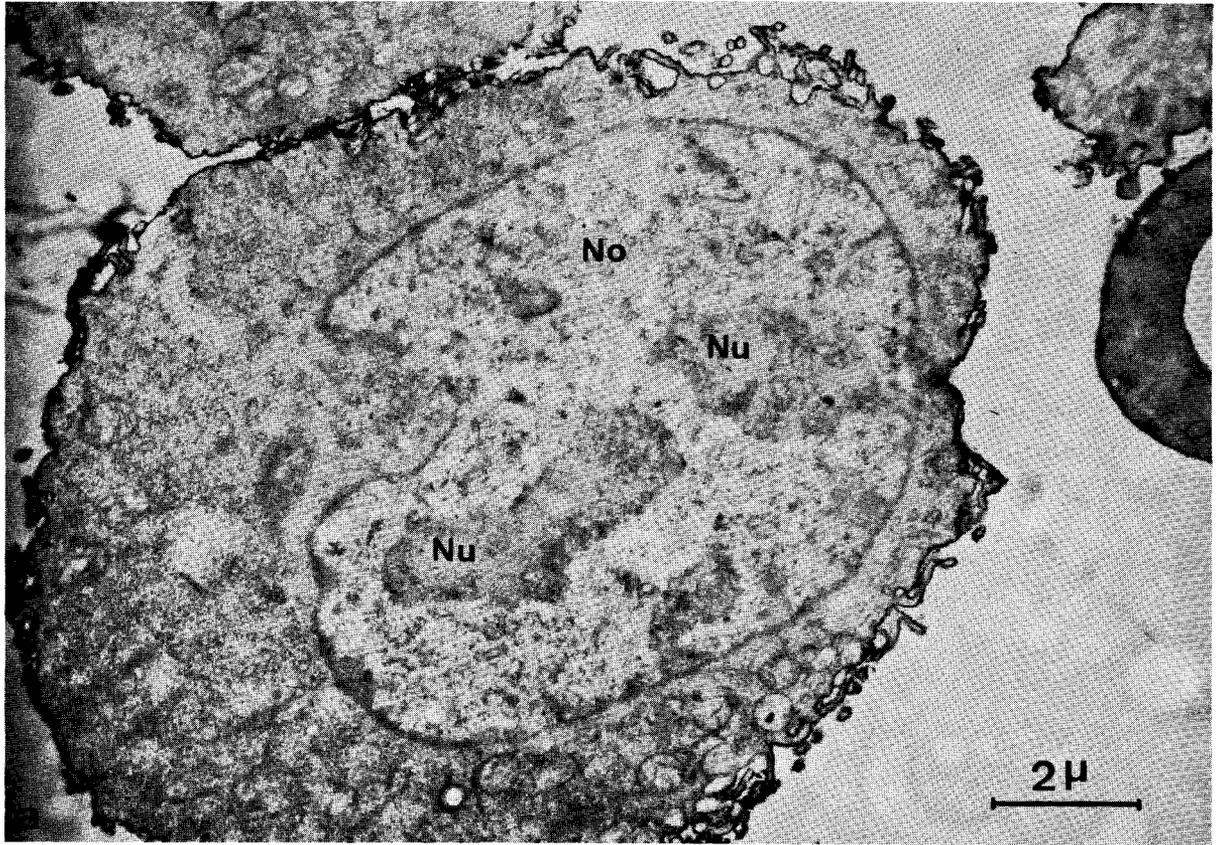


PLANCHE 18

Mise au point de la méthode classique au rouge de ruthénium

Fig. a.- Cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich traitée par la méthode classique au rouge de ruthénium (No : noyau ; Nu : nucléole). Un dépôt bien contrasté, dense, continu et régulier de marqueur est réparti le long de la membrane de surface. x 9 500

Fig. b.- Portion périphérique d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich traitée par la méthode classique au rouge de ruthénium et contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. On peut faire une constatation identique à la précédente, mais le grossissement important permet ici de localiser le marquage au niveau de la zone périphérique hydrophile (glycolemme + groupements polaires phospholipidiques du feuillet plasmique externe), au-dessus de la région lipidique hydrophobe du plasmolemme qui apparaît nettement par endroit (Flèches) avec une largeur de 4,5 nm environ. x 180 000



BUS
LILLE

PLANCHE 19

Etude du mécanisme de formation et de la spécificité du marqueur de la méthode au rouge de ruthénium. Rôle de la réaction du tétroxyde d'osmium sur les doubles liaisons lipidiques dans la formation du marqueur

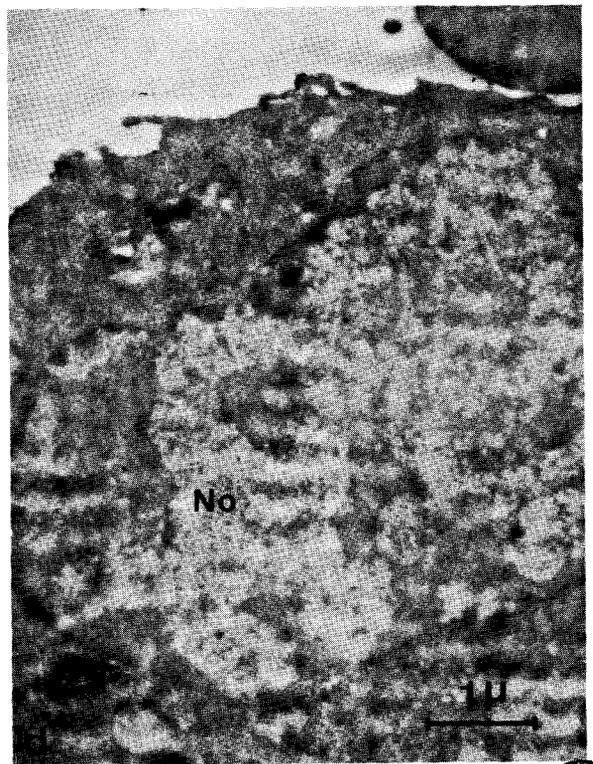
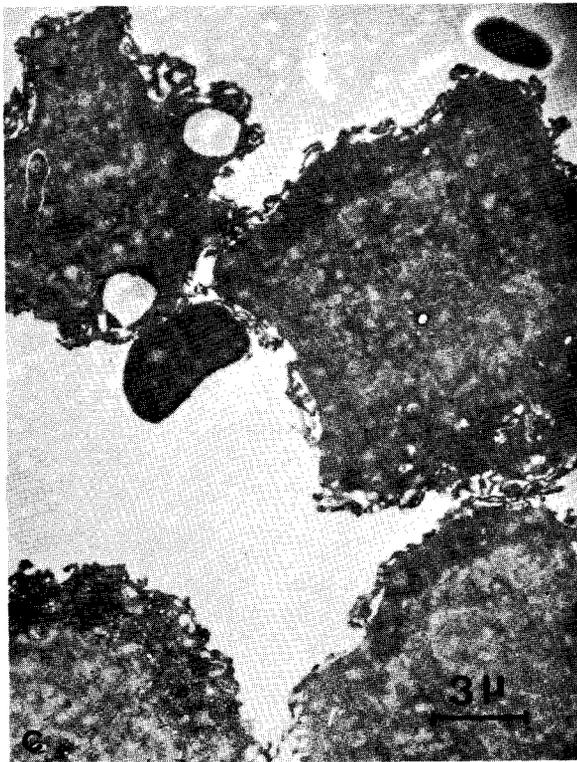
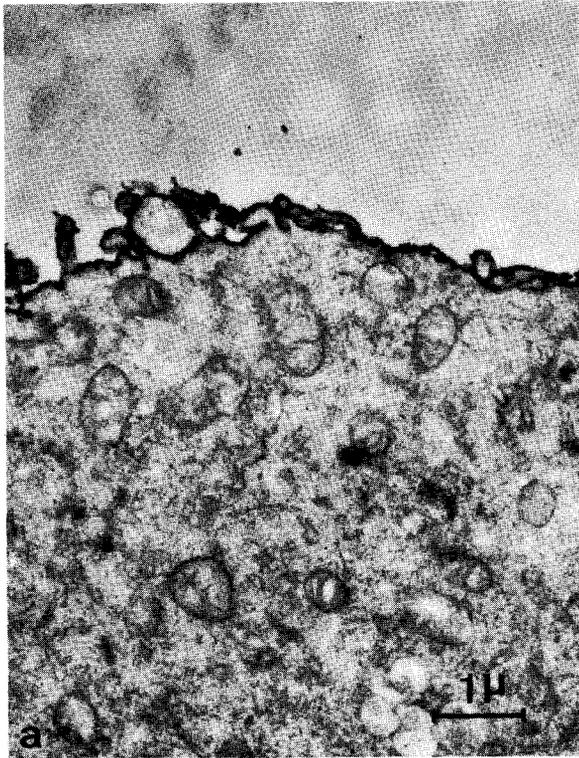
Fig. a et b.- Fig. a - Portion de cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich traitée successivement par le tétroxyde d'osmium et le rouge de ruthénium. x 12 000

Fig. b - Portions de cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich traitées successivement par le rouge de ruthénium et le tétroxyde d'osmium (No : noyau).
x 17 000

Le marquage de la membrane de surface est normal dans le premier cas, et négatif dans le second. Ceci montre que le marqueur n'est pas formé par l'union du rouge de ruthénium et du tétroxyde, mais résulte de l'action du colorant sur un composé ayant pris naissance à la suite de la réaction de l'oxyde sur certains groupes fonctionnels de la membrane.

Fig. c.- Cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich délipidées par le chloroforme et l'éther, puis traitées par la méthode classique au rouge de ruthénium. L'absence de marquage des membranes de surface prouve que les groupes fonctionnels précédents sont d'origine lipidique. x 4 000

Fig. d.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich traitée par l'iode et la méthode classique au rouge de ruthénium (No : noyau). L'absence de marquage démontre que les groupes fonctionnels sont les doubles liaisons des lipides membranaires insaturés. x 14 000



BUS
LILLE

PLANCHE 20

Etude du mécanisme de formation et de la spécificité du marqueur de la méthode au rouge de ruthénium. Rôle éventuel d'un diester et d'un tétraester osmique (illustration du tableau IV du premier volume)

Fig. a.- Portions de cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich traitées successivement par le tétroxyde d'osmium, le tampon cacodylate (solvant susceptible d'éliminer les diesters osmiques) et le rouge de ruthénium (No : noyau). Le résultat est pratiquement négatif ; la membrane de surface n'est marquée qu'en de rares endroits (Flèches).
x 6 500

Fig. b.- Portion de cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich traitée successivement par le tétroxyde d'osmium, l'acétone à 80 p. 100 (solvant susceptible d'éliminer les diesters osmiques) et le rouge de ruthénium. Le marquage de la membrane de surface, dense et régulier, est pratiquement identique à celui que l'on obtient avec la méthode classique (voir la Pl. 18). x 22 000

Fig. c.- Portions de cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich traitées successivement par le tétroxyde d'osmium, le méthanol (solvant susceptible d'éliminer les tétraesters osmiques) et le rouge de ruthénium (No : noyau). Seuls, quelques segments très courts de membrane marquée apparaissent parfois sur certaines cellules (Flèche). x 21 000

Fig. d.- Portions de cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich traitées successivement par le tétroxyde d'osmium, le tétrachlorure de carbone (solvant susceptible d'éliminer les tétraesters osmiques) et le rouge de ruthénium (No : noyau). Les membranes de surface sont un peu moins marquées que celles de la figure b ; certaines possèdent même un dépôt très irrégulier (Flèche). x 21 000

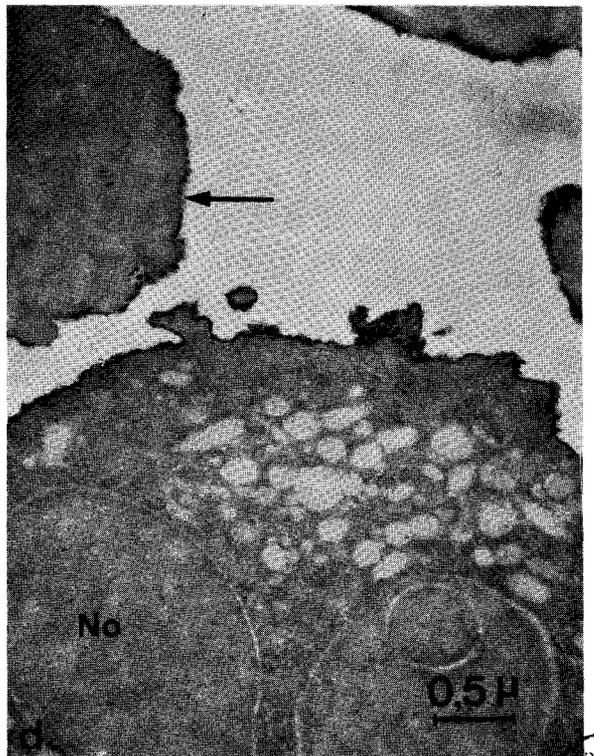
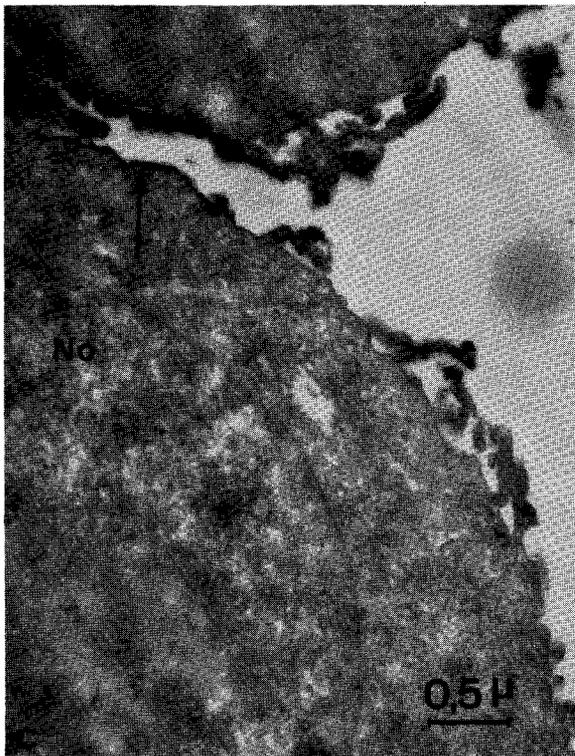
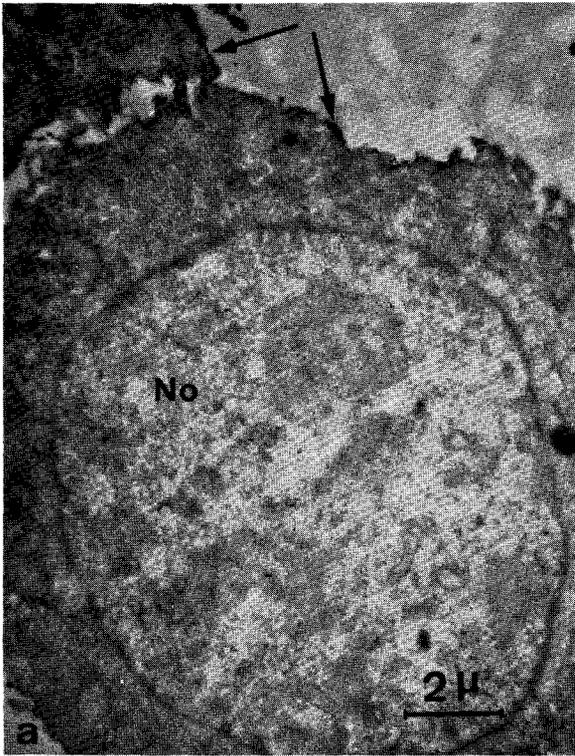


PLANCHE 21

Etude du mécanisme de formation et de la spécificité du marqueur de la méthode au rouge de ruthénium. Rôle du bioxyde d'osmium dans la formation du marqueur (illustration du tableau V du premier volume)

Fig. a, b, c, d, e et f.- Portions de cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich (C.A.) et d'hématies (H) traitées successivement par le tétroxyde d'osmium, différents solvants de constante diélectrique croissante et le rouge de ruthénium.

Fig. a - Cellule traitée par l'acétate d'éthyle à 25° C (ϵ : 6). x 15 000

Fig. b - Cellules traitées par l'O-crésol à 25° C (ϵ : 11,5). x 10 000

Fig. c - Cellules traitées par le méthyl-3 butanol-1 à 25° C (ϵ : 14,7). x 8 500

Fig. d - Cellules traitées par le chloro-2 éthanol à 25° C (ϵ : 25). x 5 500

Fig. e - Cellules traitées par le méthanol à 25° C (ϵ : 32,6). x 10 500

Fig. f - Cellules traitées par le méthanol à - 20° C (ϵ : 40). x 8 500

L'élimination progressive du bioxyde d'osmium colloïdal par les solvants de constante diélectrique croissante entraîne un affaiblissement de plus en plus prononcé du marquage des membranes de surface. Ceci montre que le marqueur est formé par l'union du rouge de ruthénium avec cet oxyde.

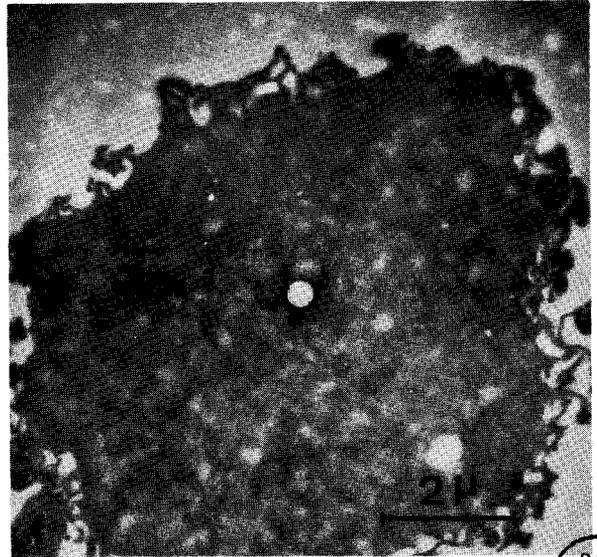
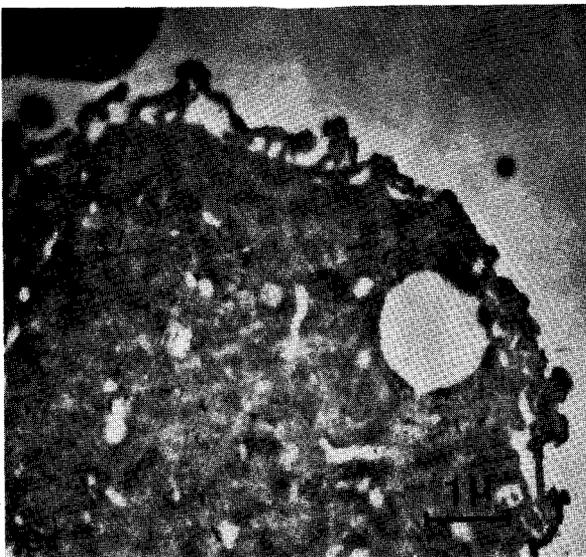
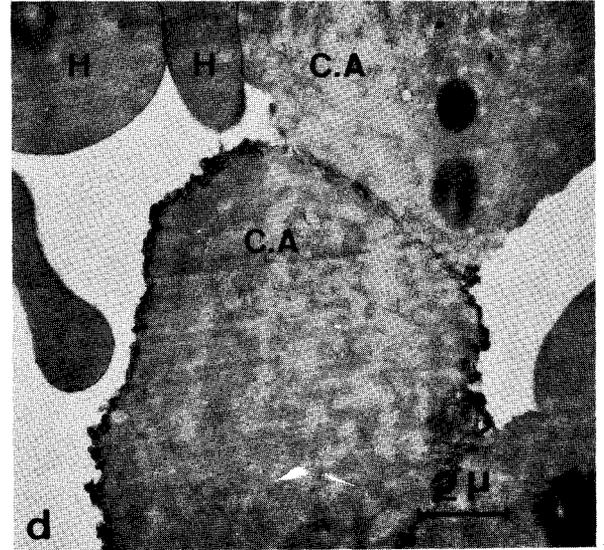
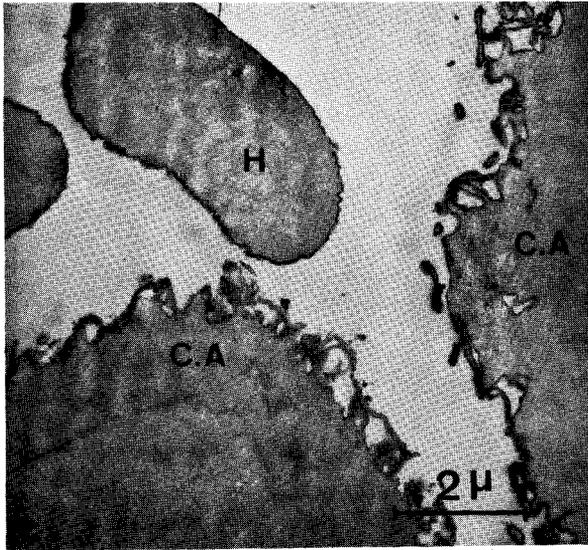
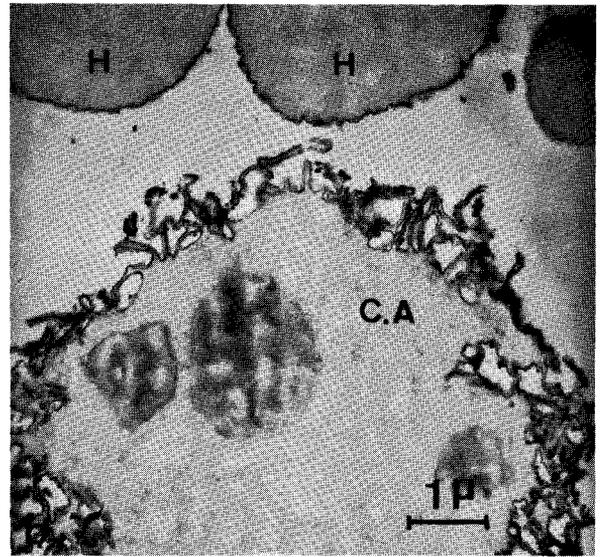
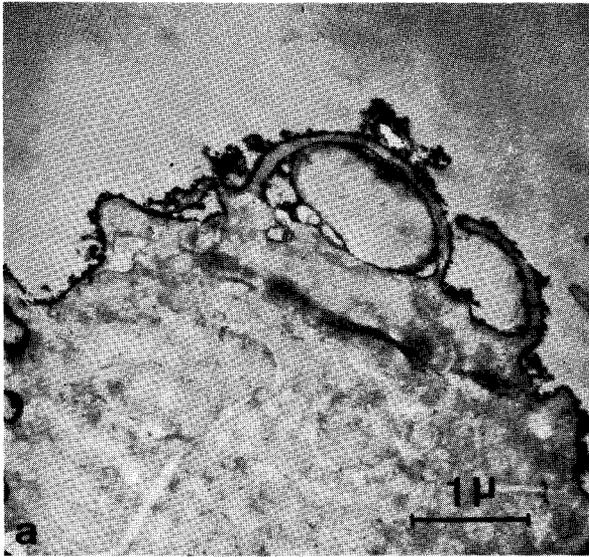
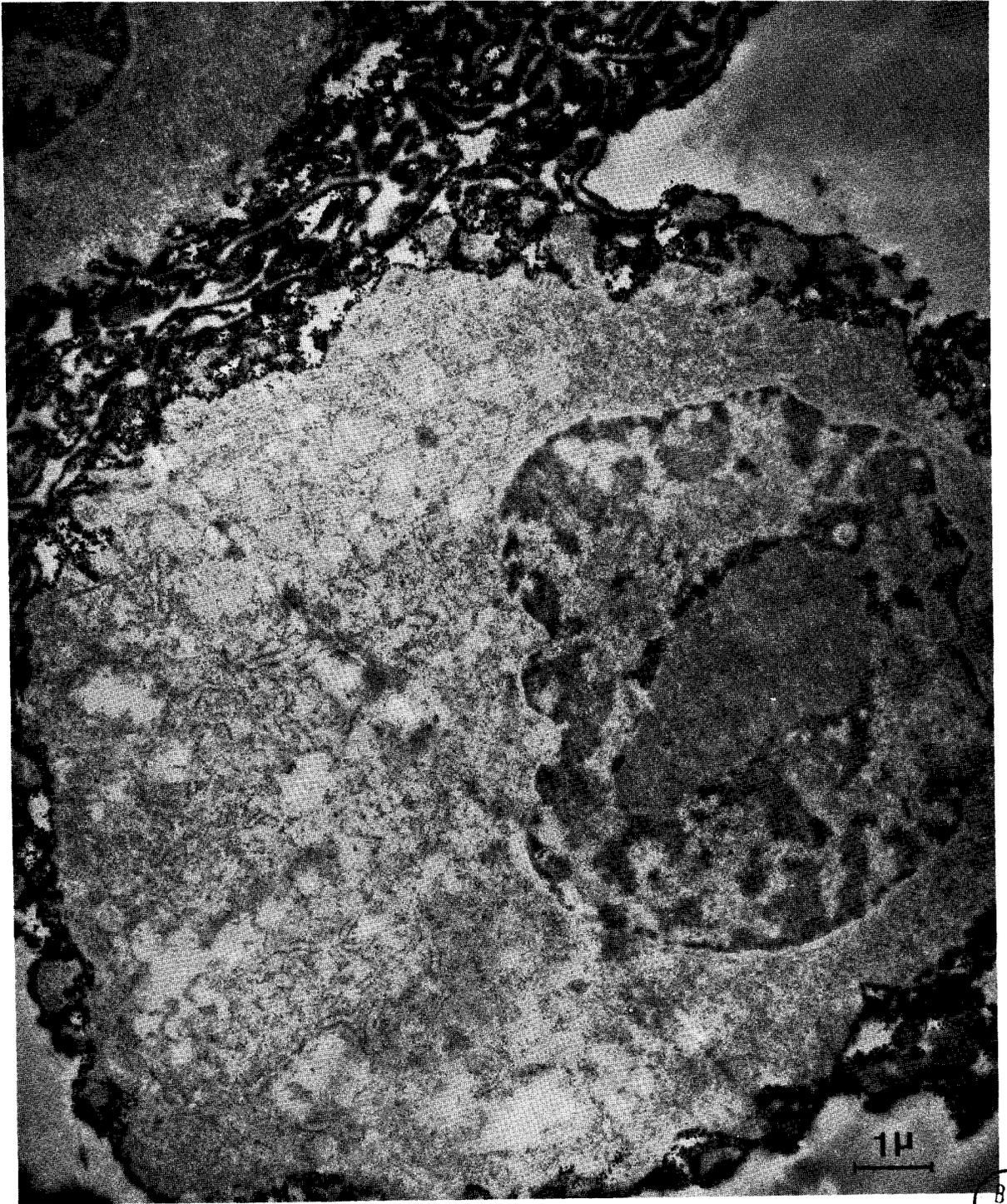


PLANCHE 22

Etude du mécanisme de formation et de la spécificité du marqueur de la méthode au rouge de ruthénium. Contrôle au microscope électronique de la nature colloïdale du marqueur réalisé in vitro

Cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich traitée par le marqueur à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro -sans post-fixation par le tétr oxyde d'osmium-, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Le marqueur se présente sous l'aspect d'un ensemble de particules granulaires ayant un diamètre approximatif de 4 nm environ ; son dépôt dense et régulier est circonscrit à la membrane de surface dont il épouse toutes les sinuosités et microvillosités. x 12 000



BUS
LILLE

PLANCHE 23

Etude du mécanisme de formation et de la spécificité du marqueur de la méthode au rouge de ruthénium. Contrôle au microscope électronique de la nature colloïdale du marqueur réalisé in vitro

Fig. a.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich (C.A.) et d'une hématie (H) traitées par le marqueur à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. On observe un dépôt très contrasté de particules granulaires au niveau des membranes de surface.
x 30 000

Fig. b.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich (No : noyau) et d'une hématie (H) traitées par l'iode (pour bloquer les doubles liaisons des lipides insaturés) et par le marqueur à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. Le marquage est identique au précédent ; il prouve que le colloïde s'est préalablement formé in vitro avant son application, et non in situ à partir des lipides de la membrane. x 62 000

Fig. c.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich délipidée par le chloroforme et l'éther et traitée par le marqueur à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. Une observation identique à la précédente peut être formulée.
x 18 500

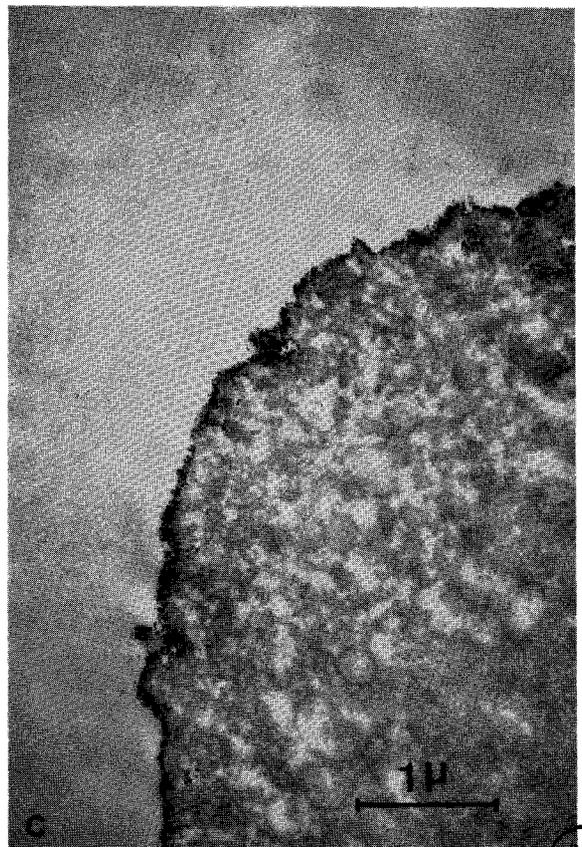
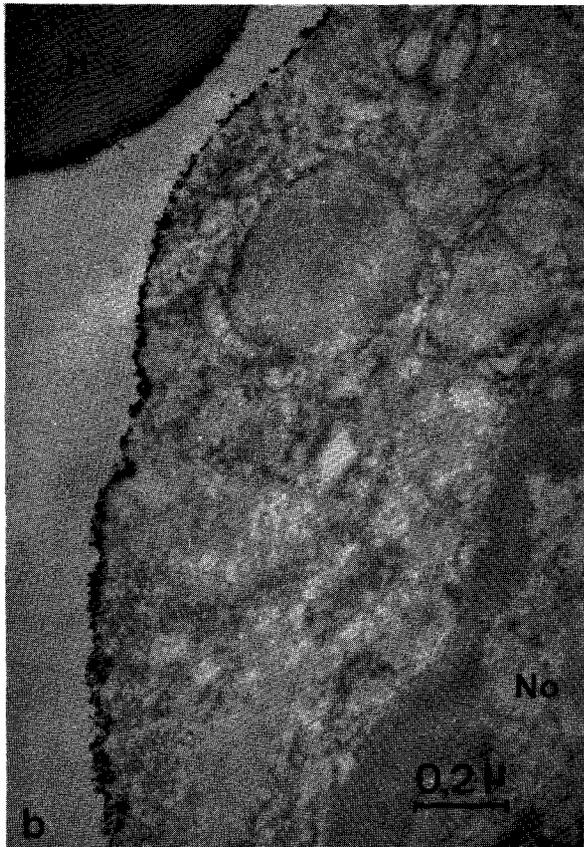
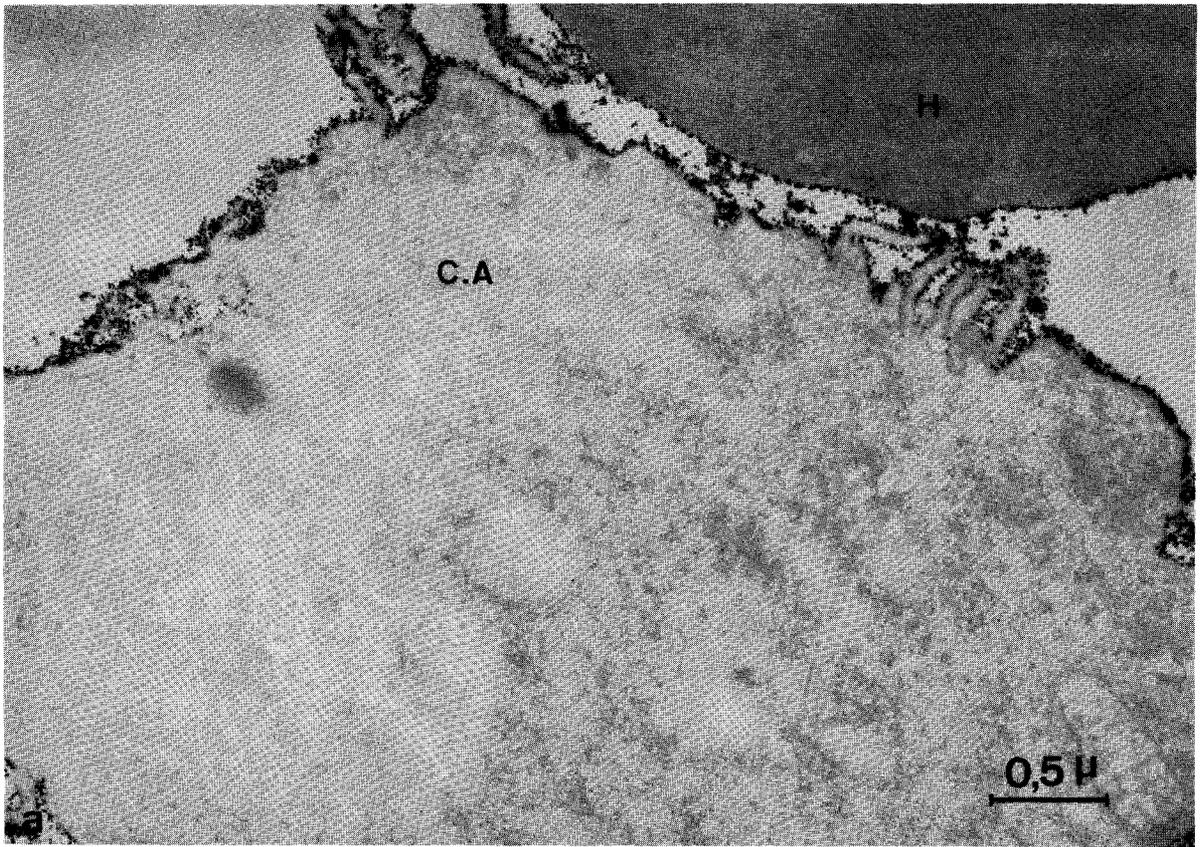


PLANCHE 24

Etude du mécanisme de formation et de la spécificité du marqueur de la méthode au rouge de ruthénium. Contrôle de la spécificité du marqueur colloïdal électropositif réalisé in vitro

Fig. a.- Contrôles effectués sur un polycation et deux polyanions dissous dans la gélose.

1 : Polylysine traitée par le marqueur électropositif au pH de 7,4 ; 2 : Polyvinylsulfate traité par le marqueur électropositif au pH de 7,4 ; 3 : Acide hyaluronique traité par le marqueur électropositif au pH de 7,4.

Fig. b, c et d.- Contrôles effectués sur des cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich.

Fig. b - Cellule estérifiée et traitée par le marqueur au pH de 7,4 -sans post-fixation par le tétr oxyde d'osmium-. La membrane de surface n'est marquée que par quelques dépôts très rares de particules colloïdales (Flèche). x 8 500

Fig. c - Portions de cellules traitées successivement par la polylysine et le marqueur au pH de 7,4, puis contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétr oxyde d'osmium- (No : noyau). Aucun marquage n'est constaté au niveau des membranes de surface. x 28 500

Fig. d - Portion de cellule estérifiée, sulfatée par l'acide sulfurique et l'éther, puis traitée par le marqueur au pH de 7,4 -sans post-fixation par le tétr oxyde d'osmium- (Cy : cytoplasme). La membrane de surface est marquée par un dépôt discontinu de particules colloïdales. x 17 000

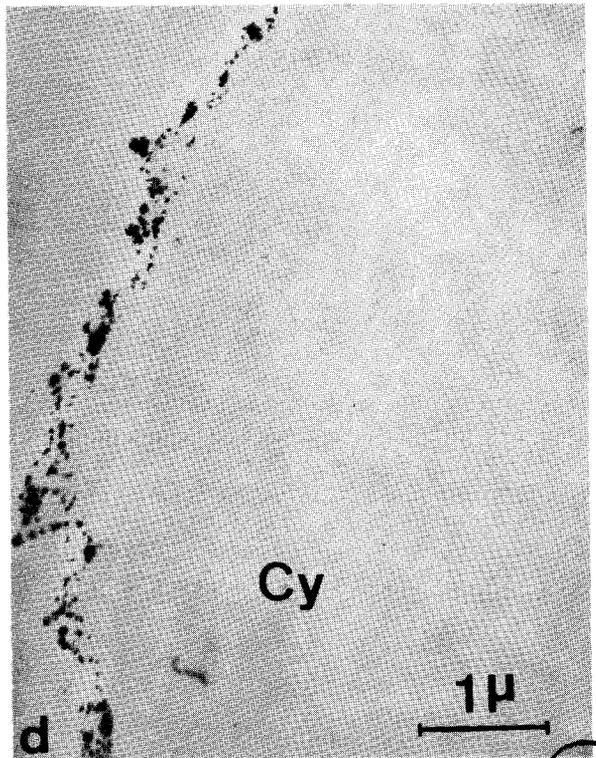
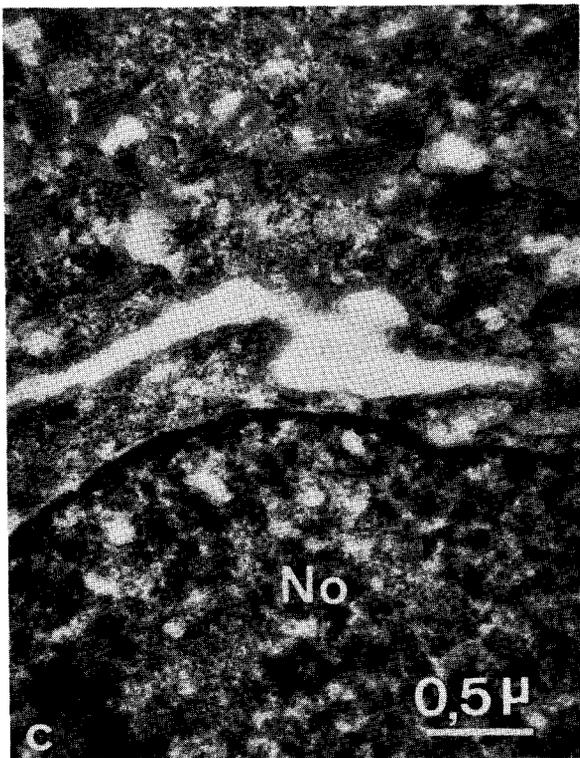
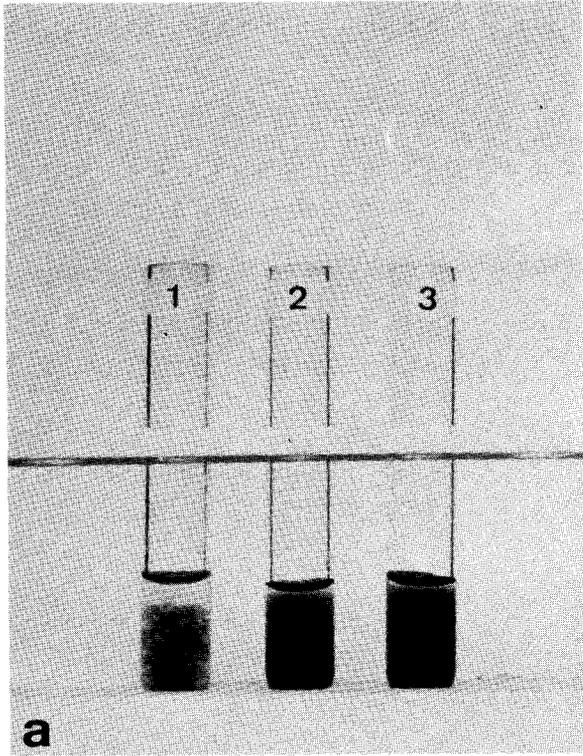


PLANCHE 25

Mise en évidence de la structure du glycolemme à l'aide de la méthode classique au rouge de ruthénium.

Fig. a.- Portion de cellule KB traitée par la méthode classique au rouge de ruthénium, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (No : noyau). On constate l'existence d'un dépôt fin et d'une épaisseur relativement régulière de marqueur au niveau du glycolemme de la cellule. x 45 000

Fig. b.- Portion d'un fibroblaste de Souris Swiss traité par la méthode classique au rouge de ruthénium, puis contrasté par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (No : noyau). Un marquage très fin est visible par endroit (Flèche) au niveau du glycolemme de la cellule. x 25 000

Fig. c.- Portion d'une cellule HeLa traitée par la méthode classique au rouge de ruthénium, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (No : noyau). Un marquage dense, régulier, bien contrasté et d'une épaisseur peu importante mais relativement régulière est constaté au niveau du glycolemme de la cellule. x 12 000

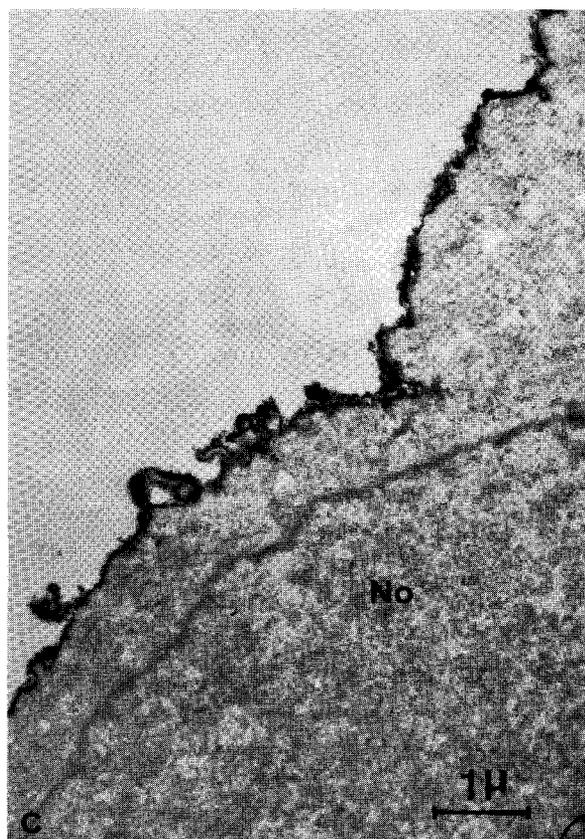
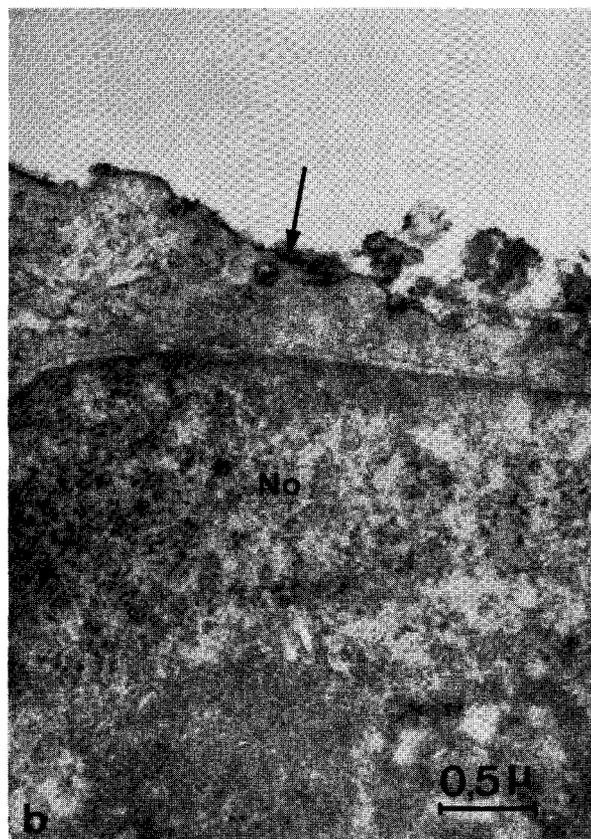
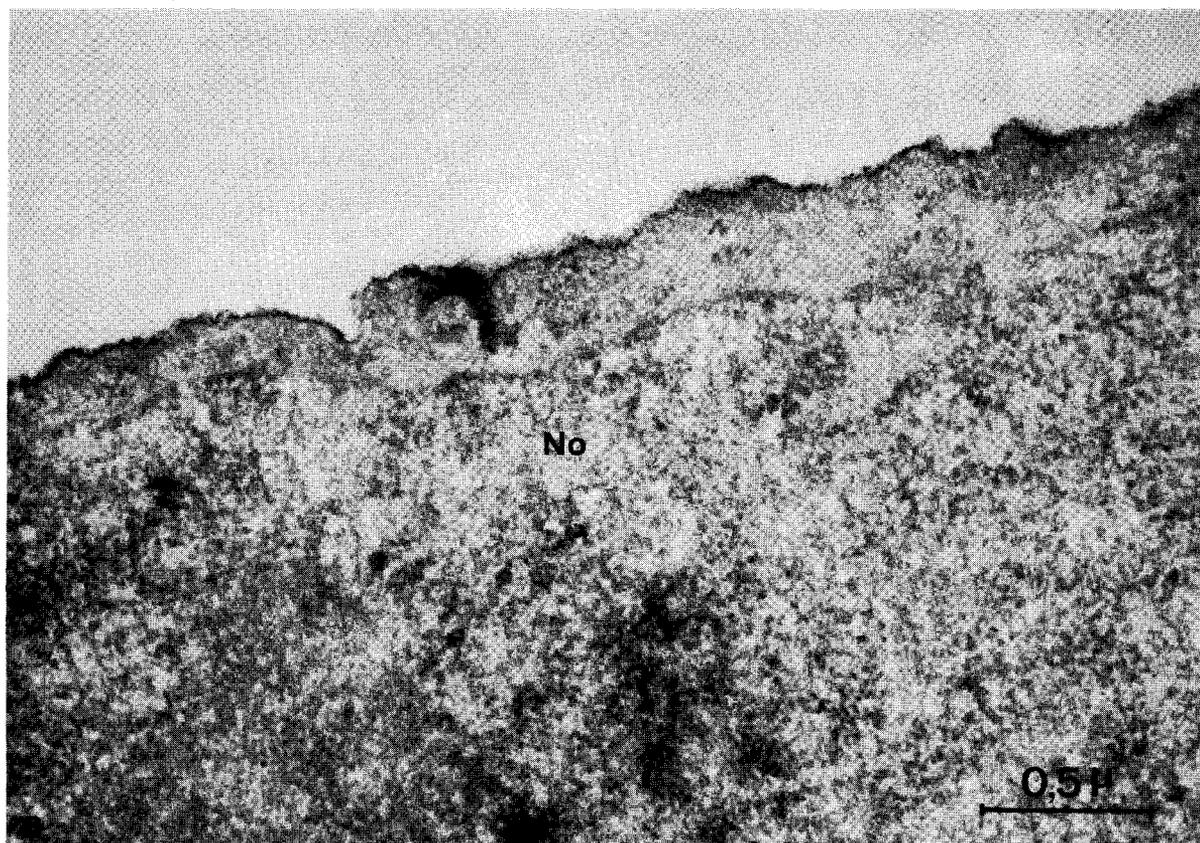
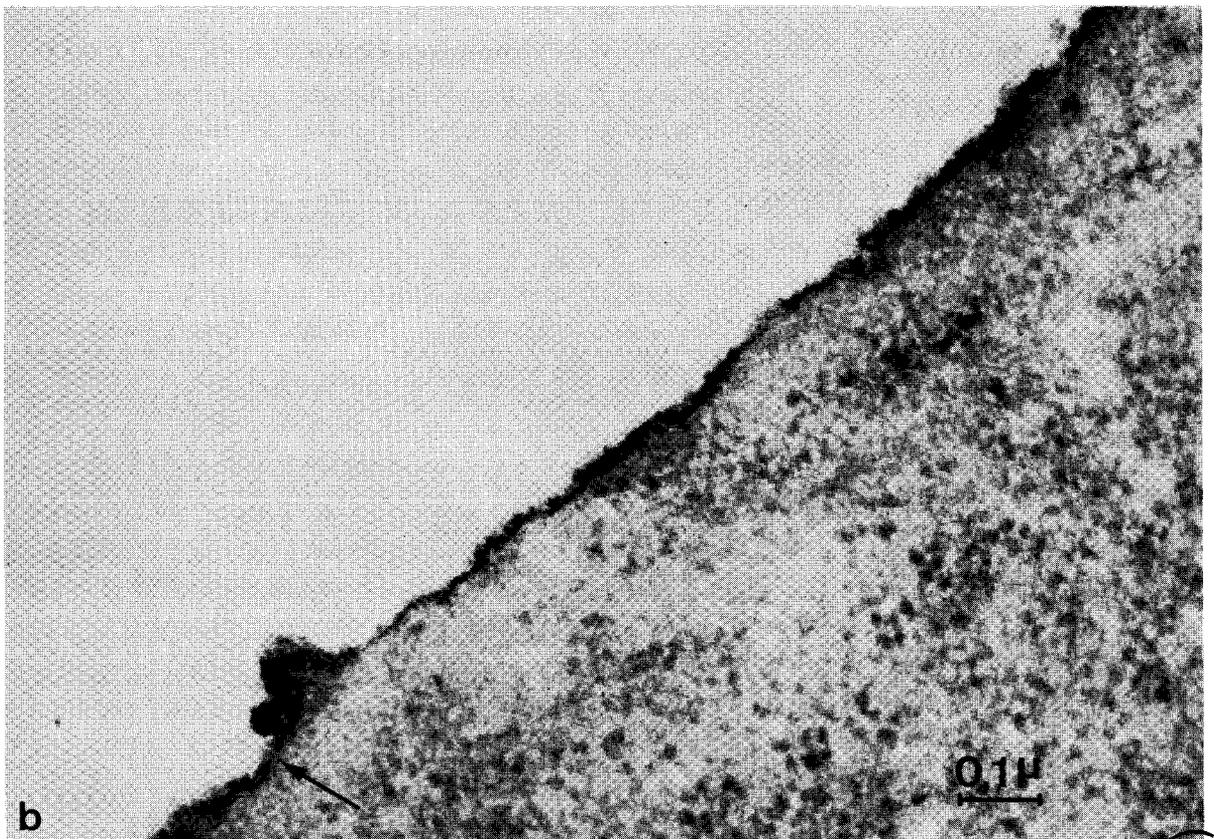
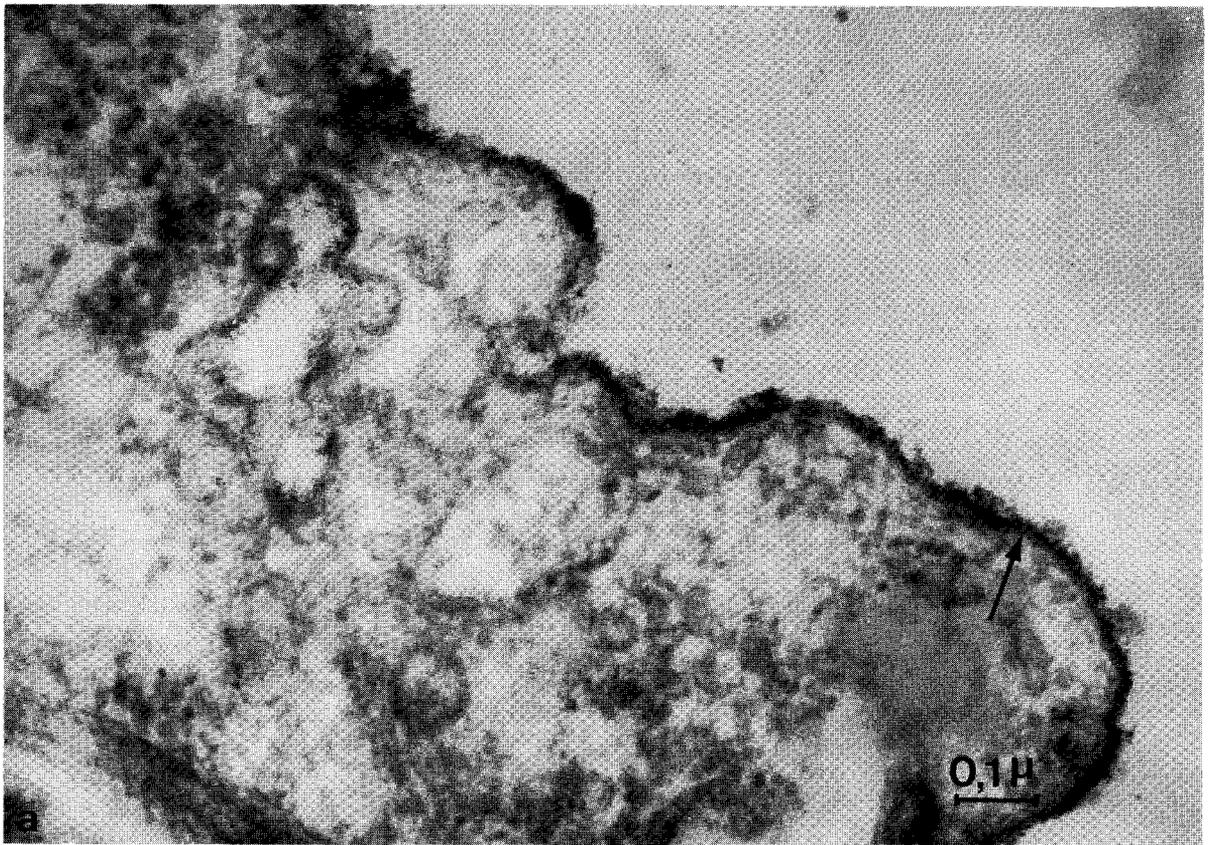


PLANCHE 26

Mise en évidence de la structure du glycolemme à l'aide de la méthode classique au rouge de ruthénium.

Fig. a.- Portion d'un fibroblaste de Souris Swiss traité par la méthode classique au rouge de ruthénium, puis contrasté par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Un marquage diffus, d'une densité irrégulière mais d'une épaisseur approximativement constante est visible au-dessus de la trace du plasmolemme (Flèche), au niveau d'une zone correspondant au glycolemme. x 100 000

Fig. b.- Portion d'une cellule HeLa traitée par la méthode classique au rouge de ruthénium, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. On observe un dépôt de marqueur assez dense, continu et d'une épaisseur approximativement constante au niveau du glycolemme de la cellule -la trace du plasmolemme apparaît par endroit sous cette région (Flèche)-. x 100 000



BUS
LILLE

PLANCHE 27

Mise en évidence de la structure du glycolemme à l'aide de la méthode classique au rouge de ruthénium



Fig. a.- Portion d'une cellule KB traitée par la méthode classique au rouge de ruthénium, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Un marquage fin, régulier et d'une épaisseur continue est constaté au-dessus de la trace du plasmolemme (Flèche), au niveau du glycolemme de la cellule. x 100 000

Fig. b.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich traitée par la méthode classique au rouge de ruthénium, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Le marquage du glycolemme -la trace du plasmolemme est nettement révélée sous cette région (Flèche)- est plus dense et plus large que celui des cellules en culture précédentes, mais son épaisseur est plus irrégulière ; il se présente sous l'aspect d'un ensemble de touffes plus ou moins individualisées et plus ou moins diffuses, dont les mieux dessinées sont espacées par une distance semblant varier de 20 à 70 nm environ (Pointes de flèches). x 100 000

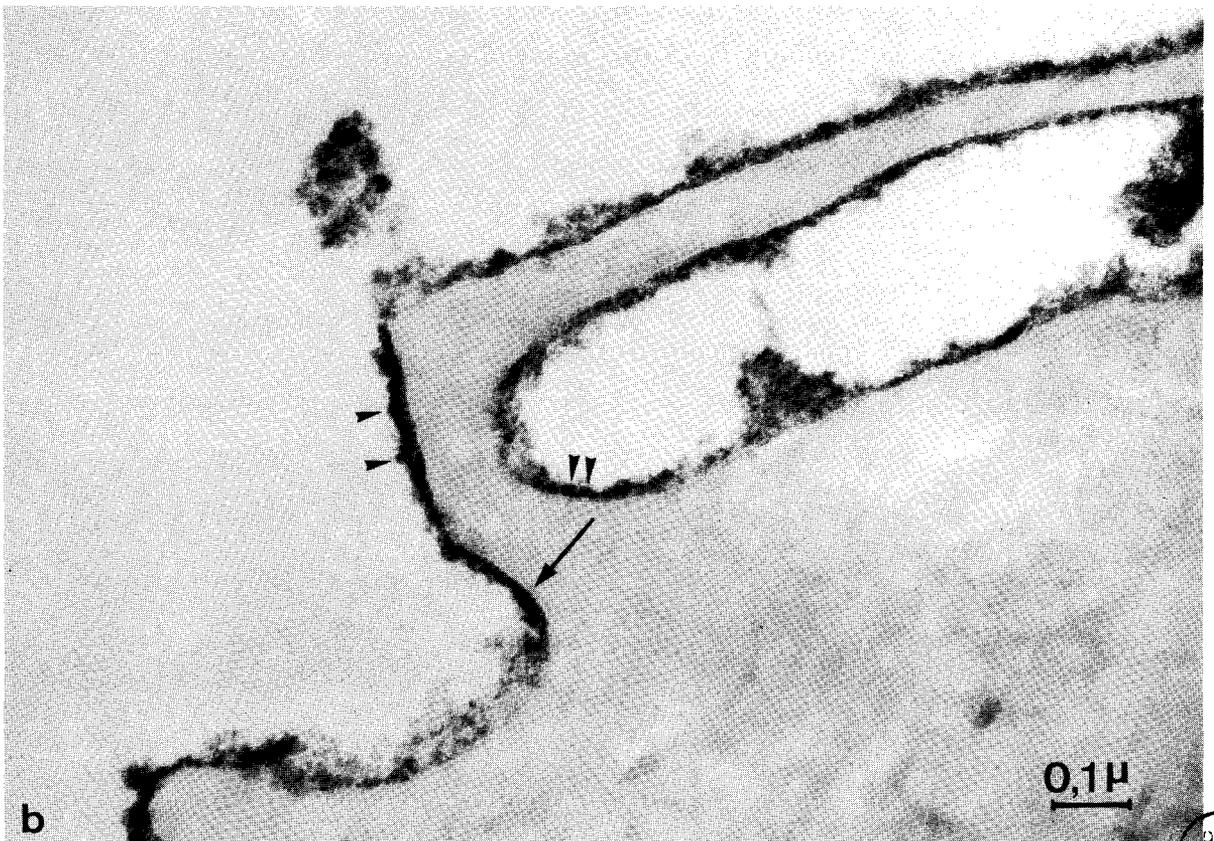
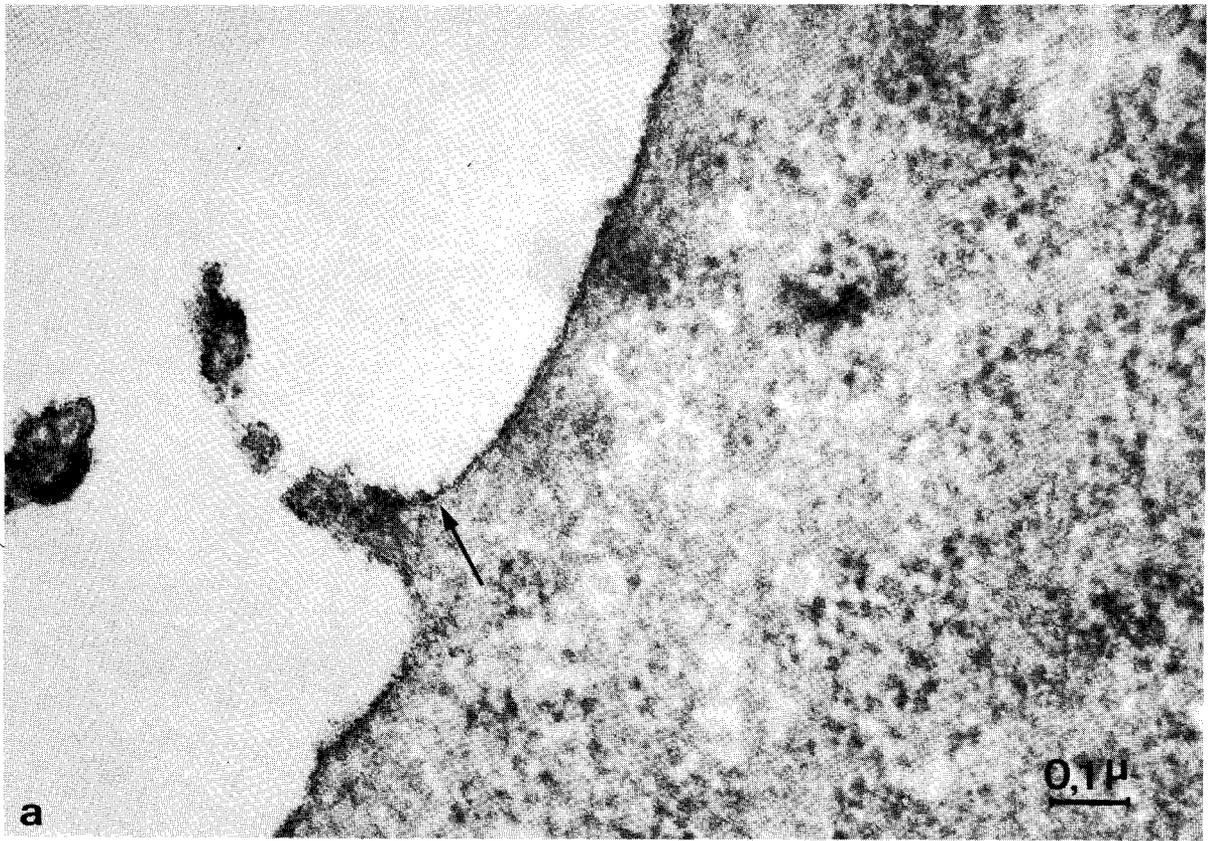


PLANCHE 28

Rôle de l'organisation du plasmolemme sur la structure particulière du glycolemme des cellules ascitiques. Application de la méthode classique au rouge de ruthénium

Fig. a.- Portion de cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich traitée successivement par une solution de Hank témoin et par la méthode classique au rouge de ruthénium, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Un marquage très dense dessine les sinuosités du glycolemme ; il se présente sous l'aspect d'un ensemble de touffes plus ou moins individualisées, espacées par une distance de 20 à 50 nm (Pointes de flèches). Sous cette région, la trace du plasmolemme apparaît assez nettement (Flèche).
x 240 000

Fig. b.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich traitée successivement par une solution de E.D.T.A. et par la méthode classique au rouge de ruthénium, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Le dépôt de marqueur du glycolemme -le plasmolemme est visible par endroit sous cette région (Flèche)- présente également une épaisseur importante et irrégulière, mais il est un peu moins dense et plus diffus que le précédent. x 240 000

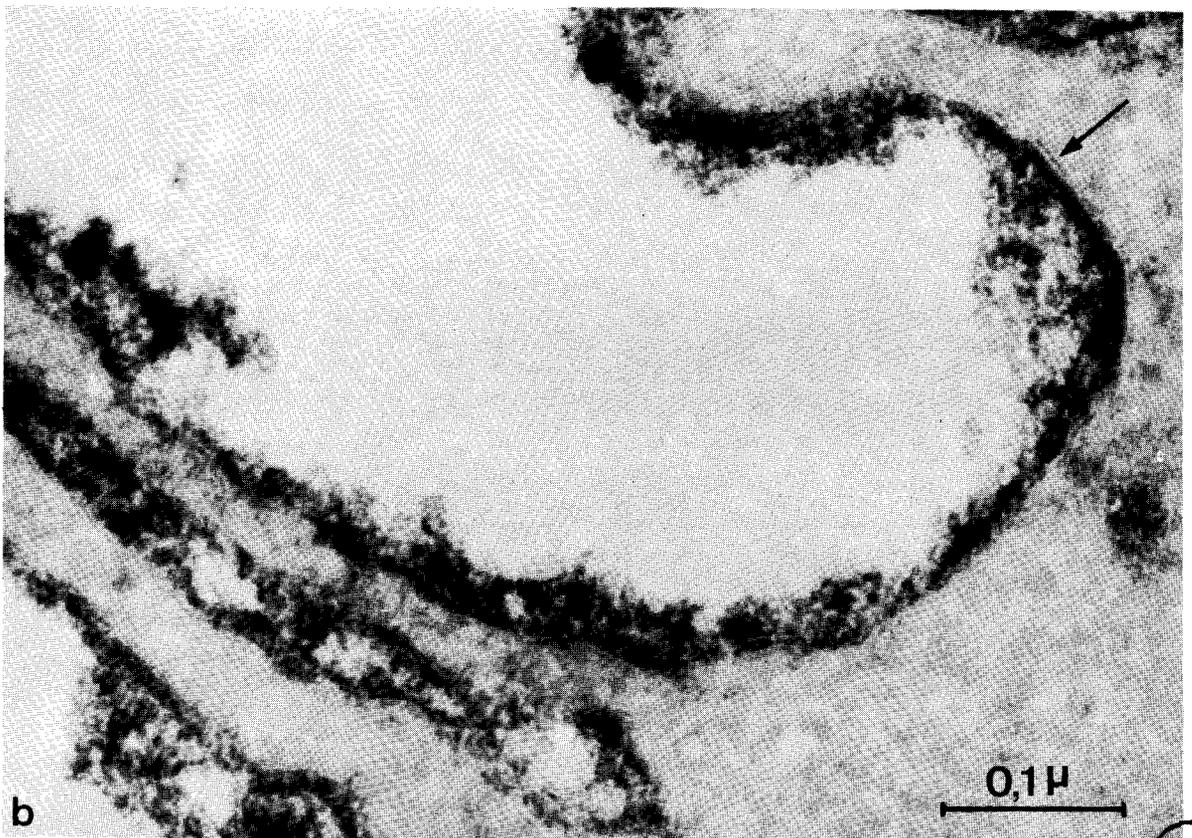
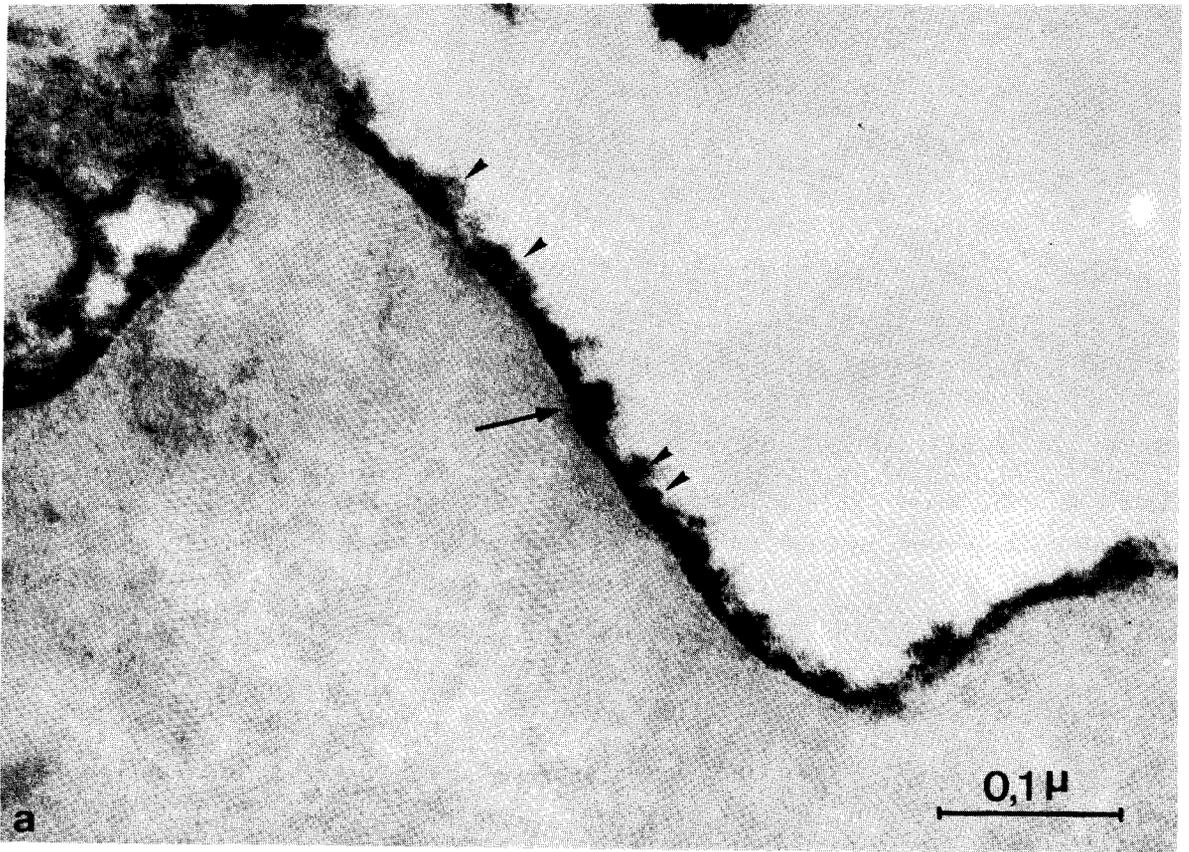


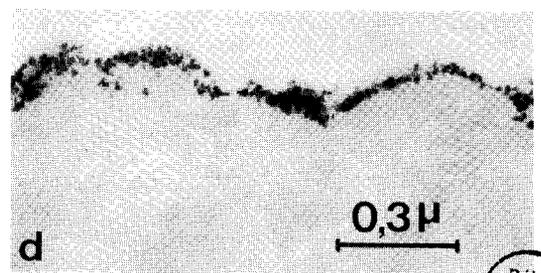
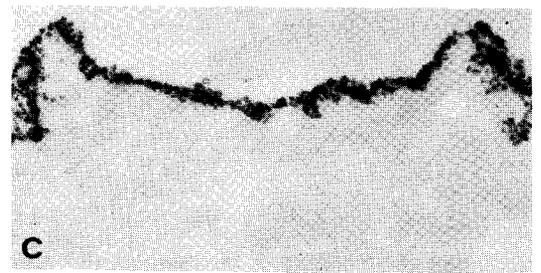
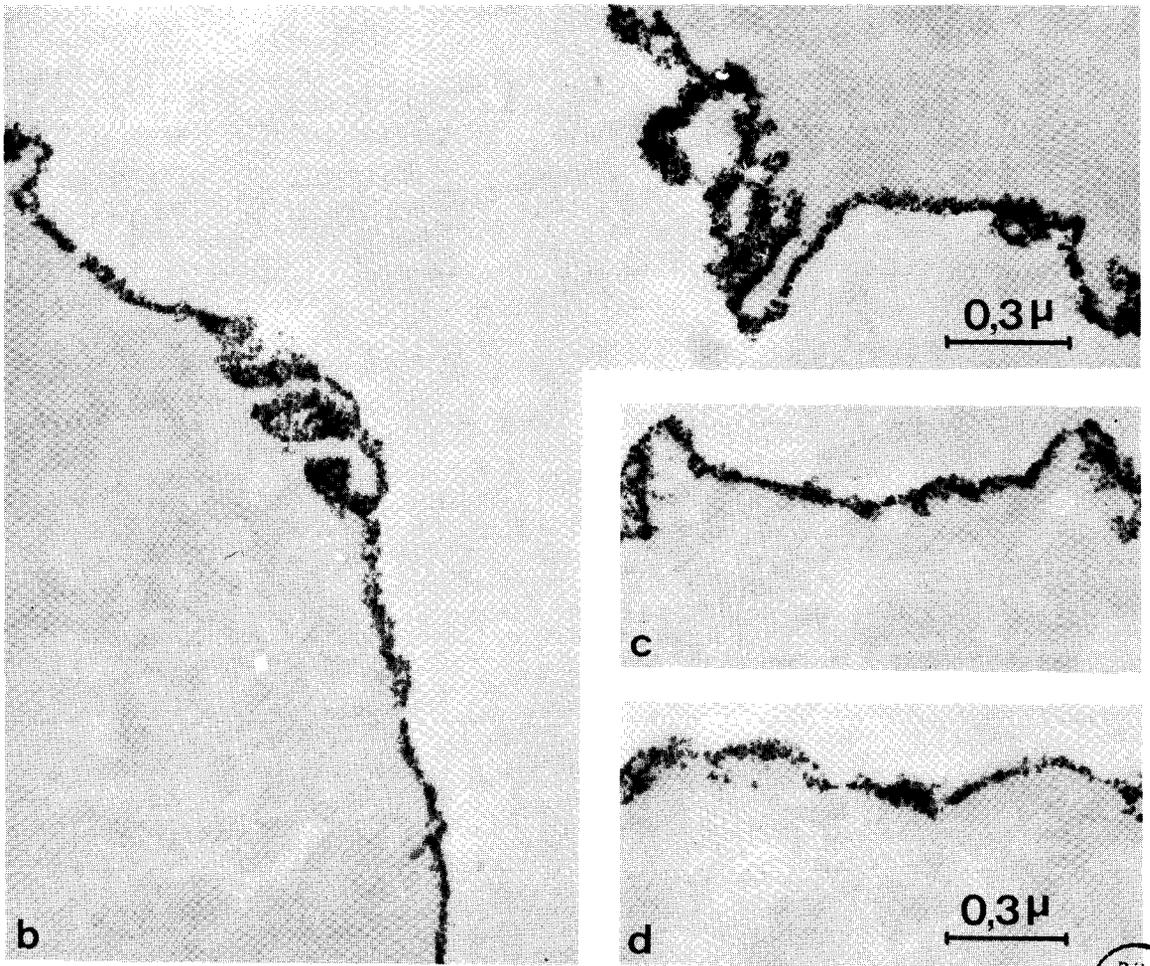
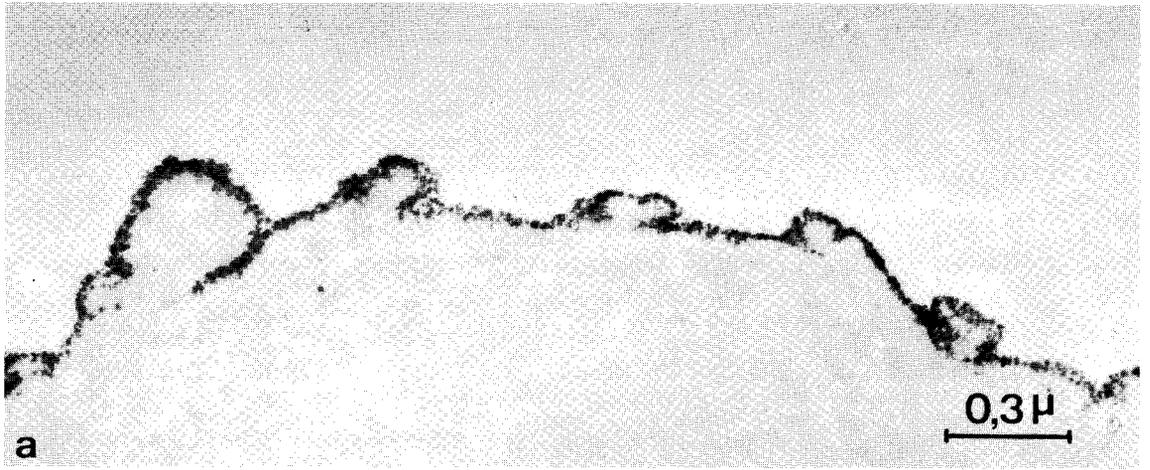
PLANCHE 29

Rôle de l'organisation du plasmolemme sur la structure particulière du glycolemme des cellules ascitiques. Application du colloïde électropositif à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro

Fig. a.- Portion de cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich traitée successivement par une solution de Hank témoin et par le marqueur à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro (pH d'application : 7,4) -le matériel n'est pas post-fixé par le tétroxyde d'osmium-. La membrane de surface est marquée par un dépôt régulier, dense et continu de particules colloïdales. x 48 000

Fig. b.- Portions de cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich traitées successivement par une solution de E.D.T.A. et par le marqueur à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro (pH d'application : 7,4) -le matériel n'est pas post-fixé par le tétroxyde d'osmium-. La densité et l'épaisseur du dépôt de marqueur sont semblables à celles de la figure précédente. x 48 000

Fig. c et d.- Portions de cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich traitées successivement par une solution d'acide citrique et par le marqueur à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro (pH d'application : 7,4) -le matériel n'est pas post-fixé par le tétroxyde d'osmium-. On observe un dépôt pratiquement identique aux deux précédents au niveau des membranes de surface. x 48 000



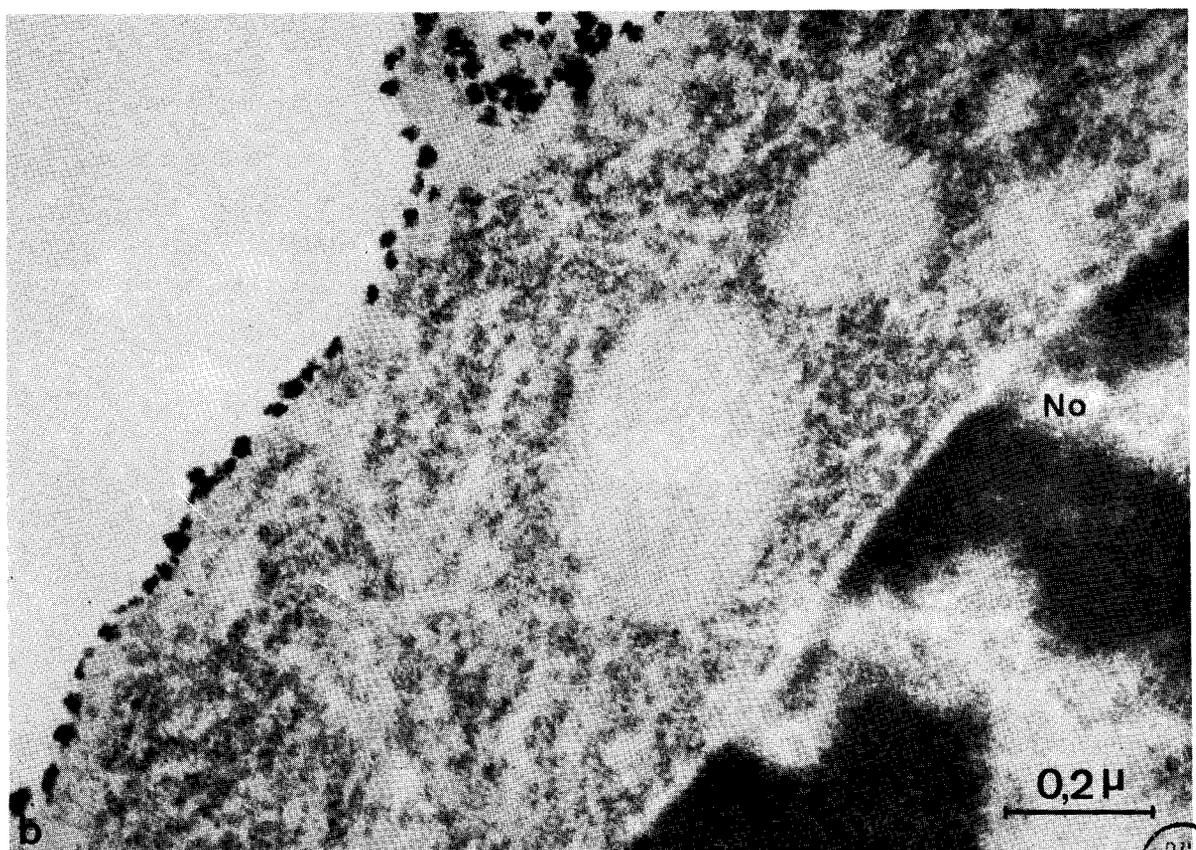
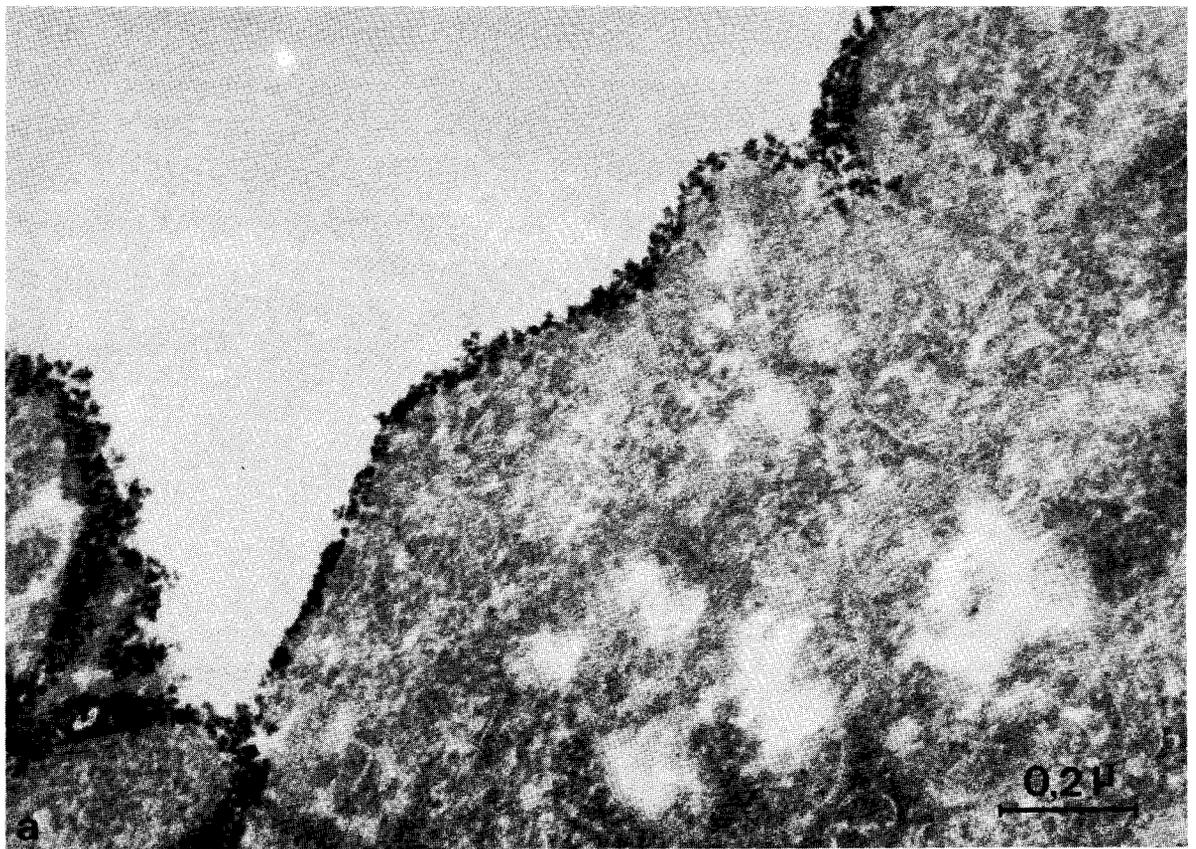
BUS
LILLE

PLANCHE 30

Mise en évidence de groupements phospholipidiques non masqués par le glycolemme chez des cellules ascitiques. Application du colloïde électropositif à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro

Fig. a.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich témoin traitée successivement par l'éthanol et le marqueur colloïdal à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro (pH d'application : 7,4), puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. La membrane de surface est marquée par un dépôt dense et continu de particules colloïdales. Au niveau du cytoplasme, la perte localisée de matériel (espaces clairs) peut être imputée à l'absence de post-fixation rendue nécessaire par la méthode de marquage. x 90 000

Fig. b.- Portion de cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich (No : noyau) traitée successivement par un mélange de chlorure de thionyle et de méthanol (afin d'estérifier sélectivement les groupes carboxyle) et par le marqueur colloïdal à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro (pH d'application : 7,4), puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. Les dépôts de particules colloïdales sont répartis cette fois de place en place sur la membrane de surface. x 100 000

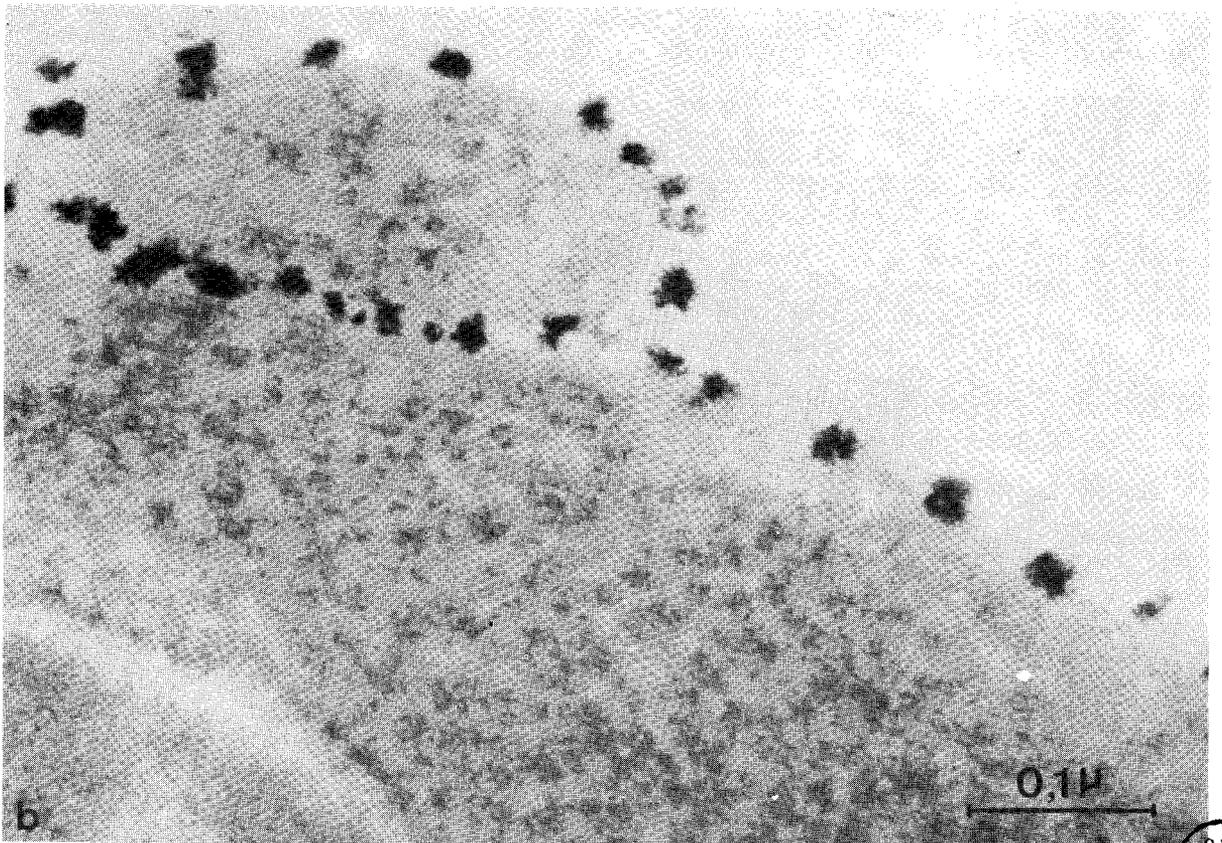
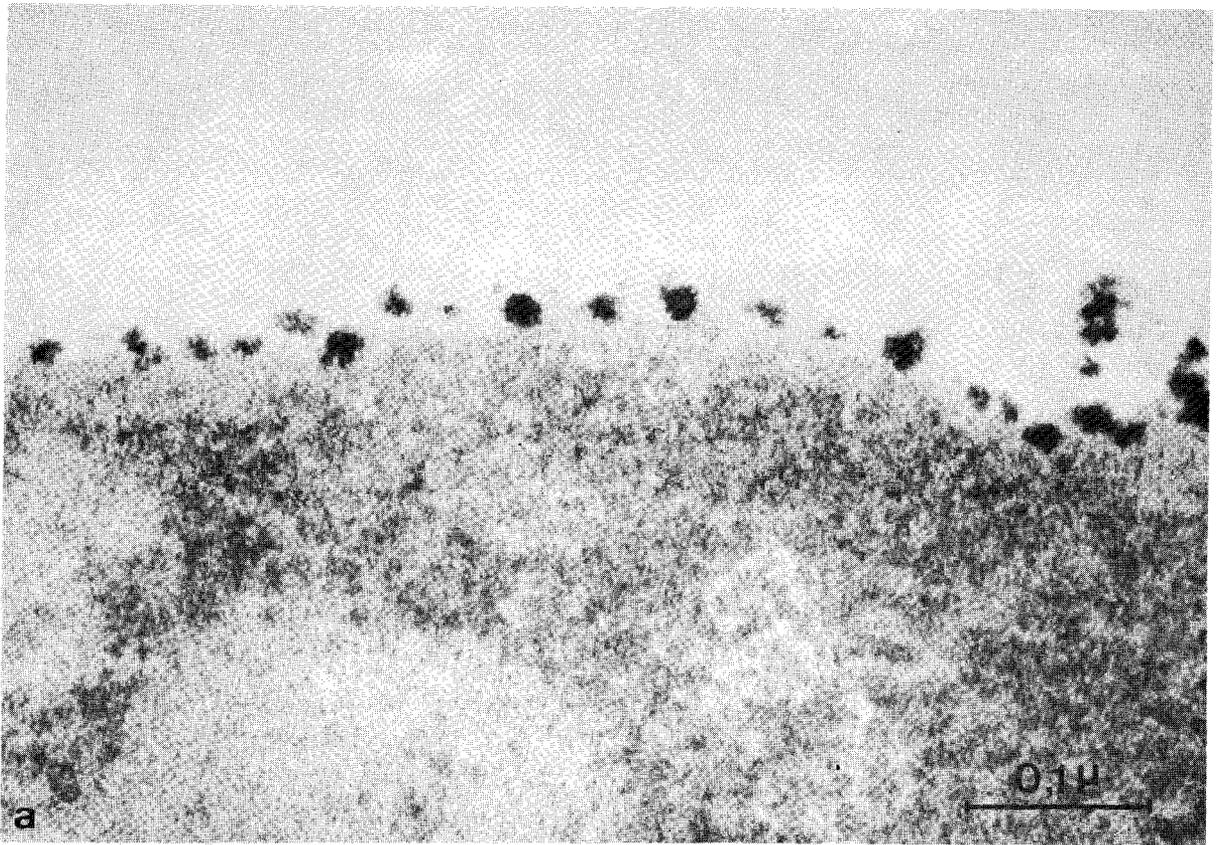


BUS
LILLE

PLANCHE 31

Mise en évidence de groupements phospholipidiques non masqués par le glycolemme chez les cellules ascitiques. Application du colloïde électropositif à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro

Fig. a et b.- Portions de cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich traitées successivement par un mélange de chlorure de thionyle et de méthanol et par le marqueur colloïdal à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro (pH d'application : 7,4), puis contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. La surface cellulaire est marquée régulièrement par des dépôts de particules colloïdales espacés de 20 à 70 nm environ. x 240 000



BUS
LILLE

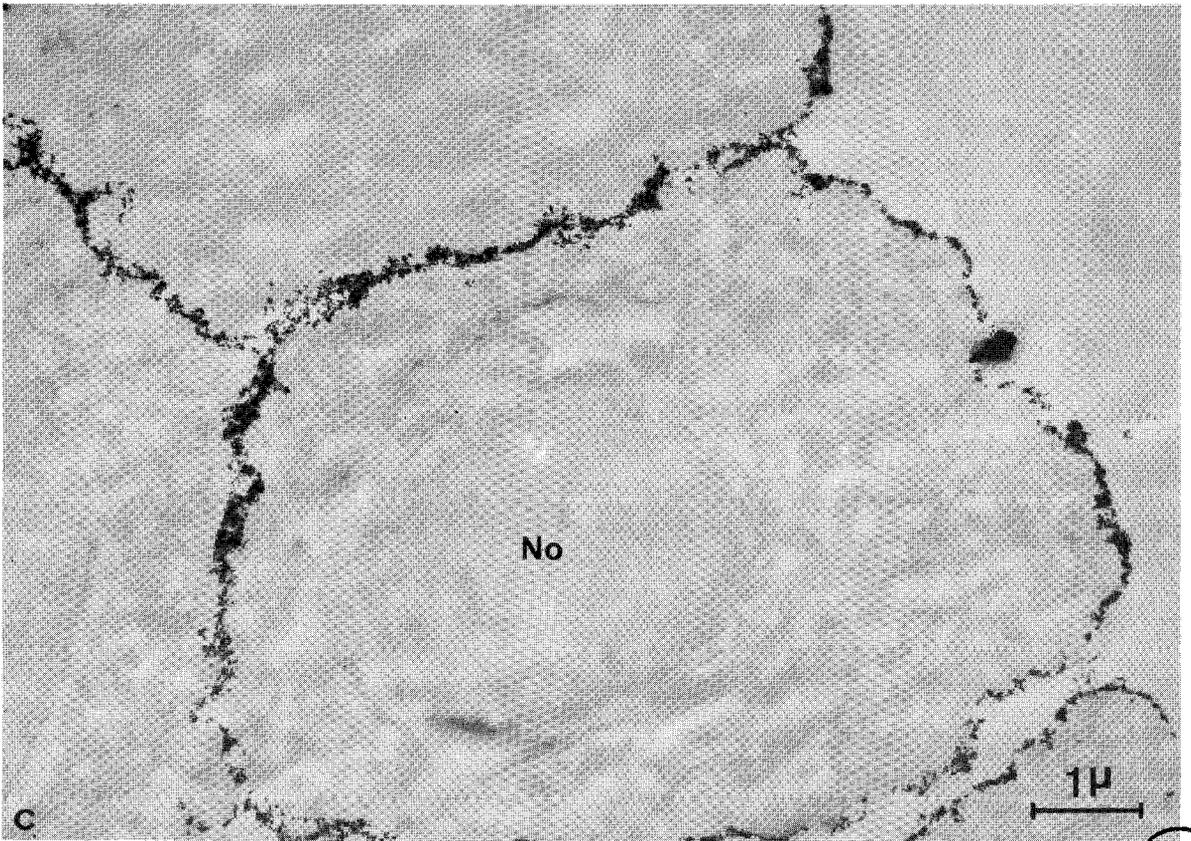
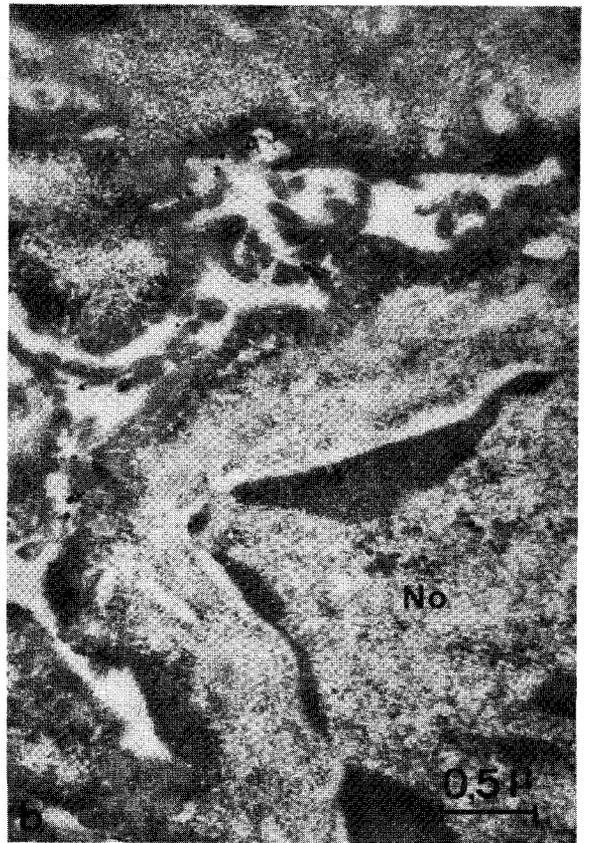
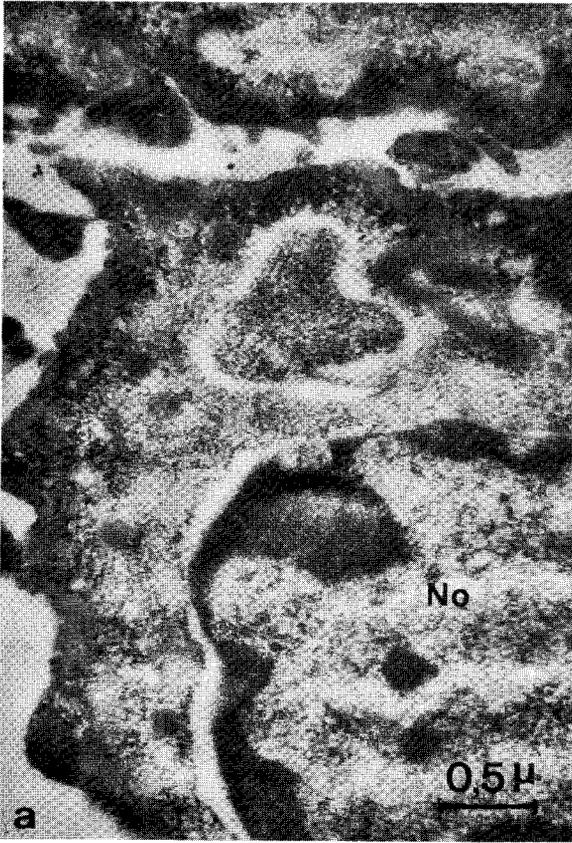
PLANCHE 32

Contrôles de la nature phospholipidique des groupements révélés dans les planches 30 et 31. Application du colloïde électropositif à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro

Fig. a.- Portions de cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich (No : noyau) traitées par un mélange de chlorure de thionyle et de méthanol, délipidées par le chloroforme et l'éther, traitées par le marqueur colloïdal à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro (pH d'application : 7,4) et contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. On observe aucun dépôt de particules colloïdales au niveau des membranes de surface. x 25 000

Fig. b.- Portions de cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich (No : noyau) traitées successivement par la phospholipase C pendant 1 heure, par le mélange de chlorure de thionyle et de méthanol et par le marqueur colloïdal à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro (pH d'application : 7,4), puis contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. Aucun dépôt de marqueur n'est constaté au niveau des membranes de surface. x 25 000

Fig. c.- Cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich (No : noyau) traitées successivement par la phospholipase C pendant $\frac{1}{2}$ heure, par le mélange de chlorure de thionyle et de méthanol, et par le marqueur colloïdal à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro au pH de 7,4 -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. On observe un marquage relativement épais et dense au niveau des membranes de surface. x 14 000



BUS
LILLE

PLANCHE 33

Localisation des touffes de glycolemme et des groupements phospho-
lipidiques précédemment mis en évidence chez les cellules ascitiques.

Application de la méthode classique au rouge de ruthénium

Fig. a et b.- Portions périphériques de cellules de l'hépatome
ascitique de ZAJDELA. Fig. a : cellule témoin
traitée par la méthode classique au rouge de
ruthénium x 240 000 ; fig. b : cellule traitée
successivement par la phospholipase C et la
méthode classique au rouge de ruthénium x 240 000.
Malgré les lésions de la membrane de surface
provoquées par l'enzyme -une de celles-ci est
visible sur la figure b-, on peut constater que
le marquage de la cellule est pratiquement identique
à celui de la figure a -les deux sont semblables à
ceux des figures b et a des planches 27 et 28- ;
dans les deux cas il est important, dense, d'une
épaisseur irrégulière, et paraît localisé au niveau
de la zone périphérique hydrophile -au-dessous, la
trace du plasmolemma apparaît par endroit (Flèche)-.
Son aspect crénelé (Pointes de flèches) n'est
donc pas déterminé par la présence des groupements
phospholipidiques non démasqués que nous avons
précédemment mis en évidence ; il ne correspond pas
à une accumulation de marqueur disposée de place
en place sur la surface cellulaire au-dessus de ces
groupes, mais traduit réellement la présence d'une
structure en touffes du glycolemme entre lesquelles
ces derniers sont répartis.

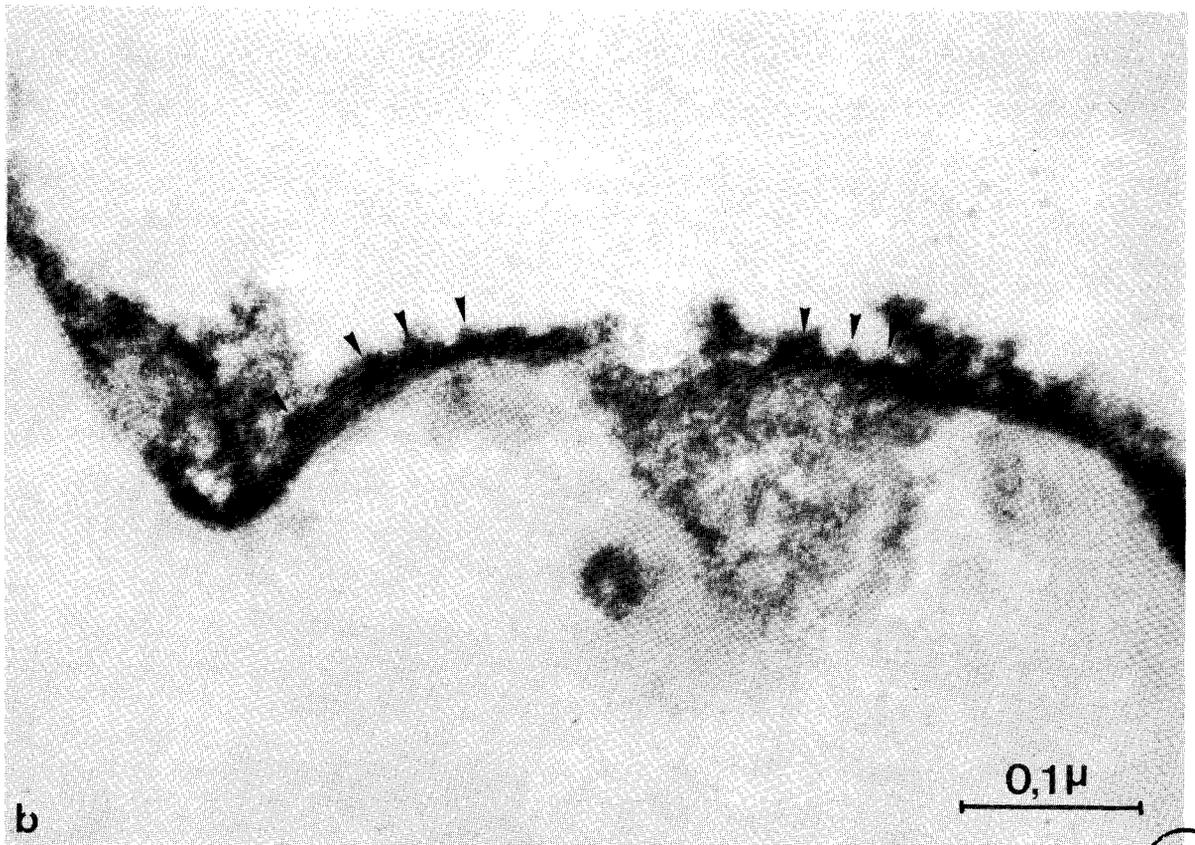
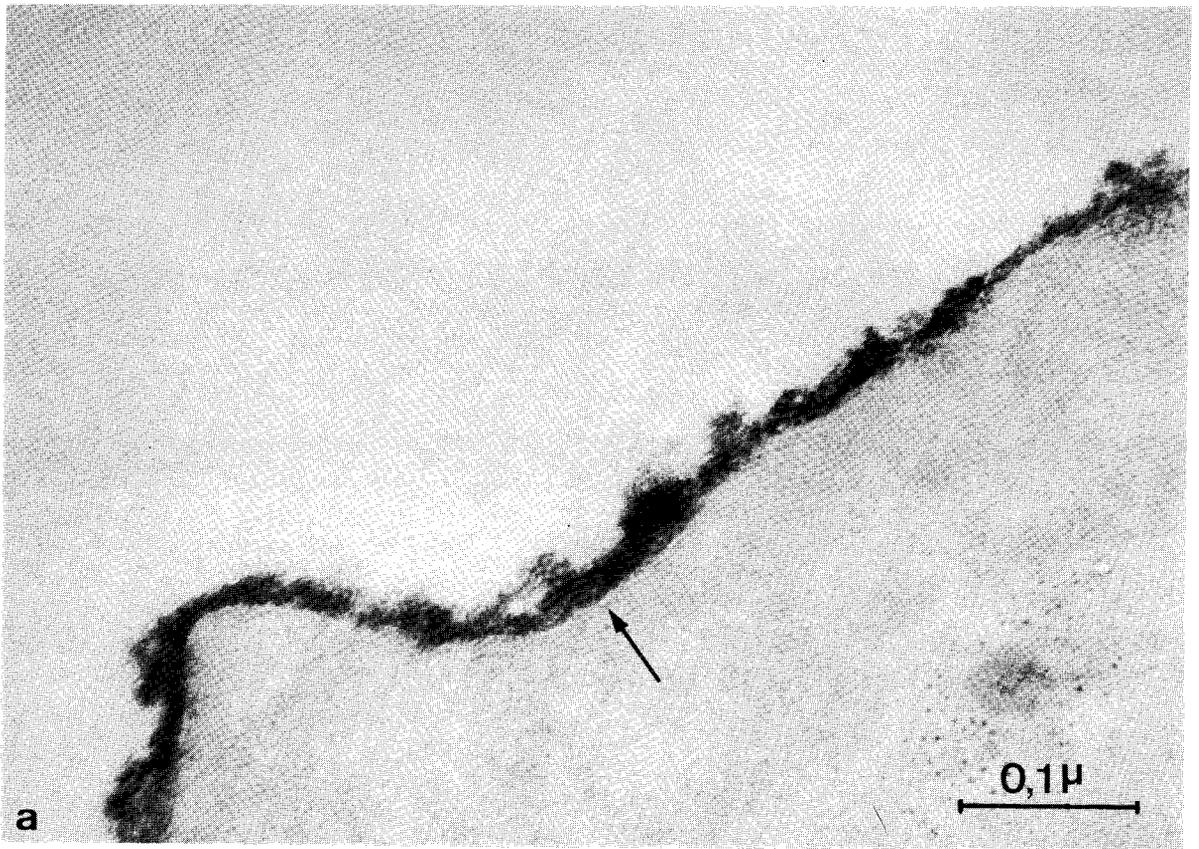


PLANCHE 34

Mise en évidence des sialo-glycoconjugués sensibles à la neuraminidase du glycolemme. Etude effectuée à l'aide de la méthode de capture du colloïde électropositif à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro

Fig. a.- Portion d'un hépatocyte de Rat sain témoin traité par le marqueur colloïdal au pH de 7,4 et contrasté par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétr oxyde d'osmium-. La membrane de surface est marquée par un dépôt de particules colloïdales. Les plages claires du cytoplasme traduisent probablement une perte de matériel provoquée par la coupe au cryostat et l'absence de post-fixation -nécessitée par la technique-. x 45 000

Fig. b.- Portion d'un hépatocyte de Rat sain traité successivement par la neuraminidase et le marqueur colloïdal au pH de 7,4, puis contrasté par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétr oxyde d'osmium-. Comme précédemment, des régions du cytoplasme d'une densité atténuée signalent l'existence d'une perte de matériel. Un dépôt de marqueur est observé au niveau du glycolemme de la cellule -le plasmolemme est visible en certains endroits sous cette zone (Flèches)- ; l'identité de sa densité et du marquage précédent montre que les acides sialiques éliminés par l'enzyme (voir les planches 42 et 43) sont remplacés par des groupes anioniques -ionisés au pH de 7,4- vraisemblablement démasqués au cours de l'hydrolyse sélective. x 45 000

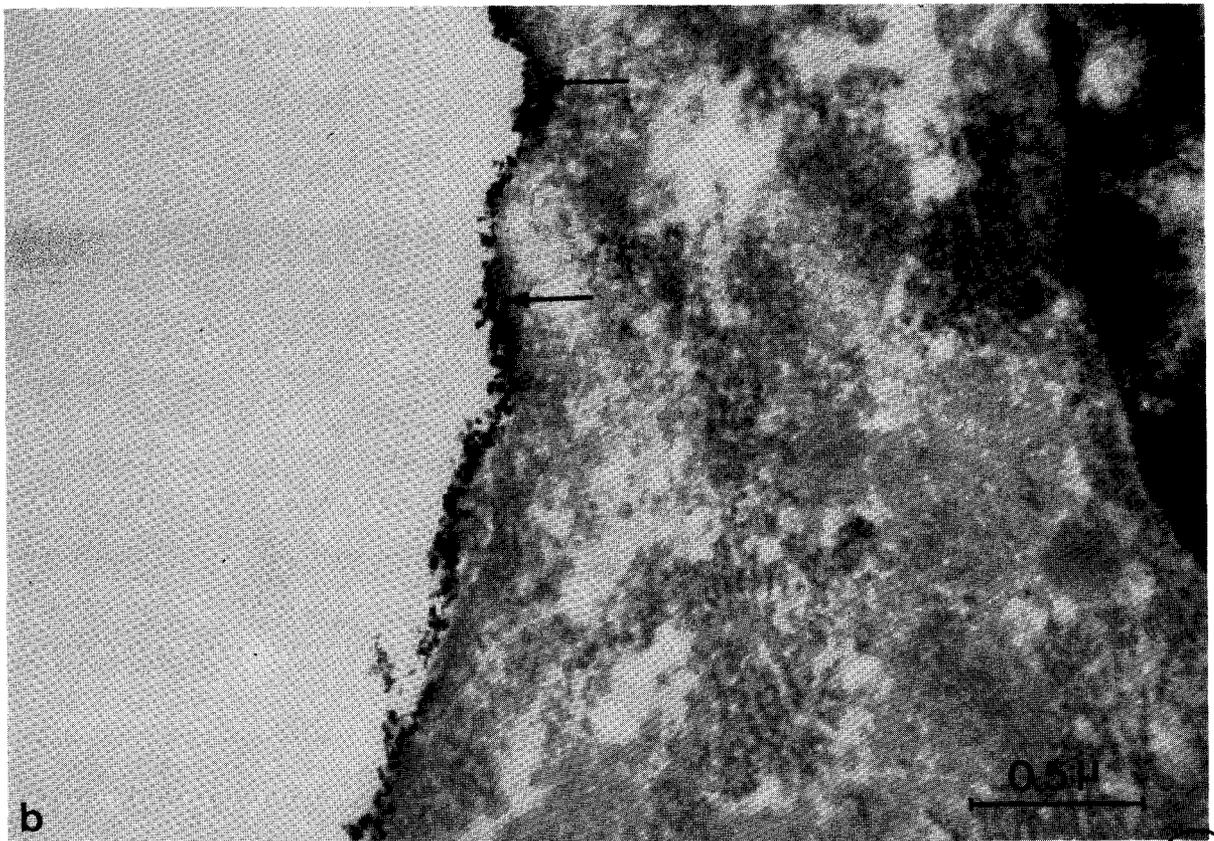
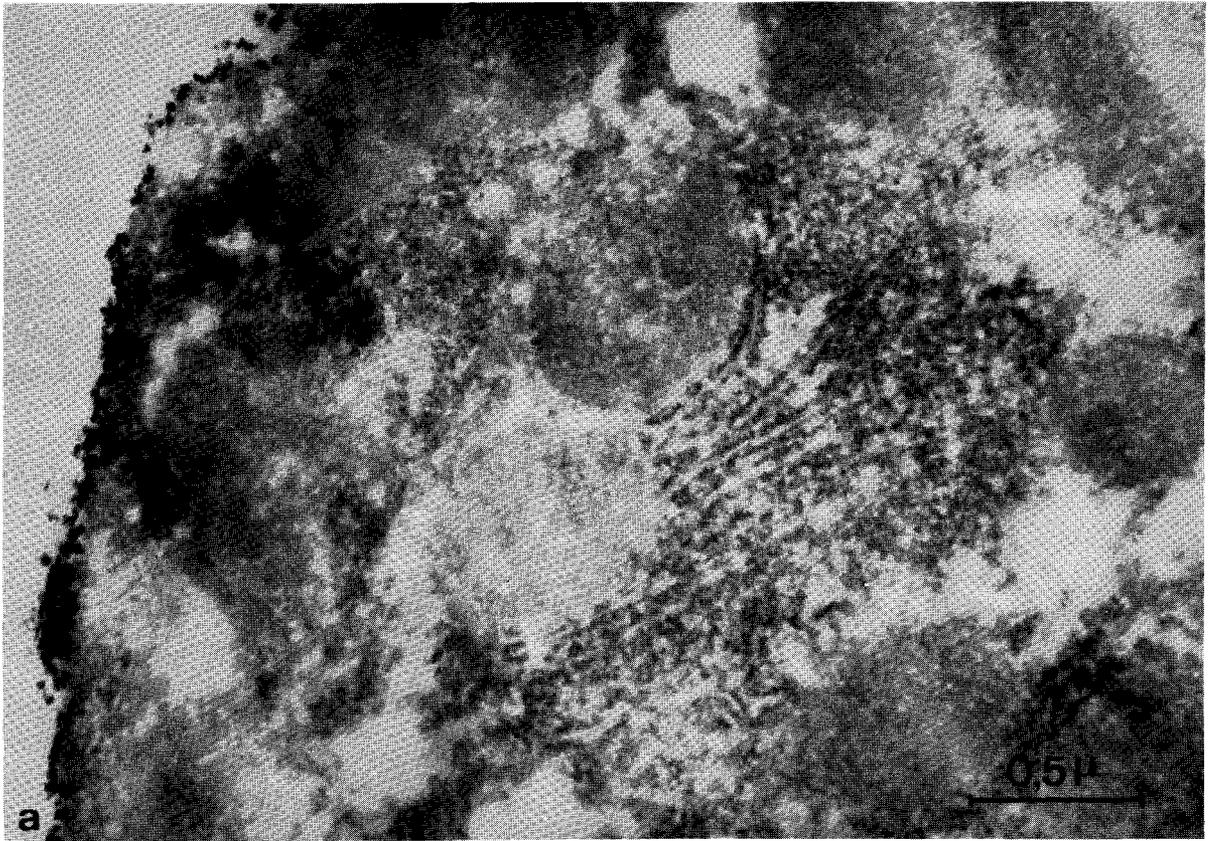
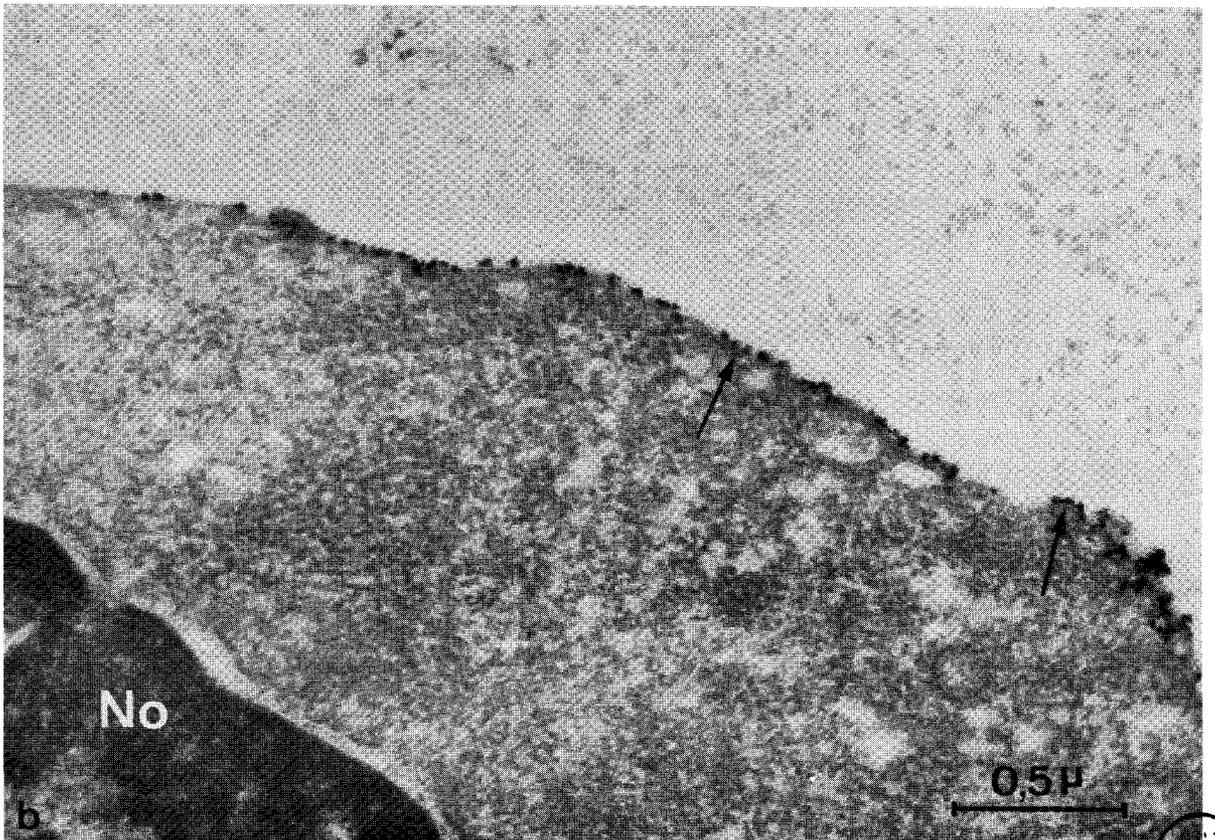
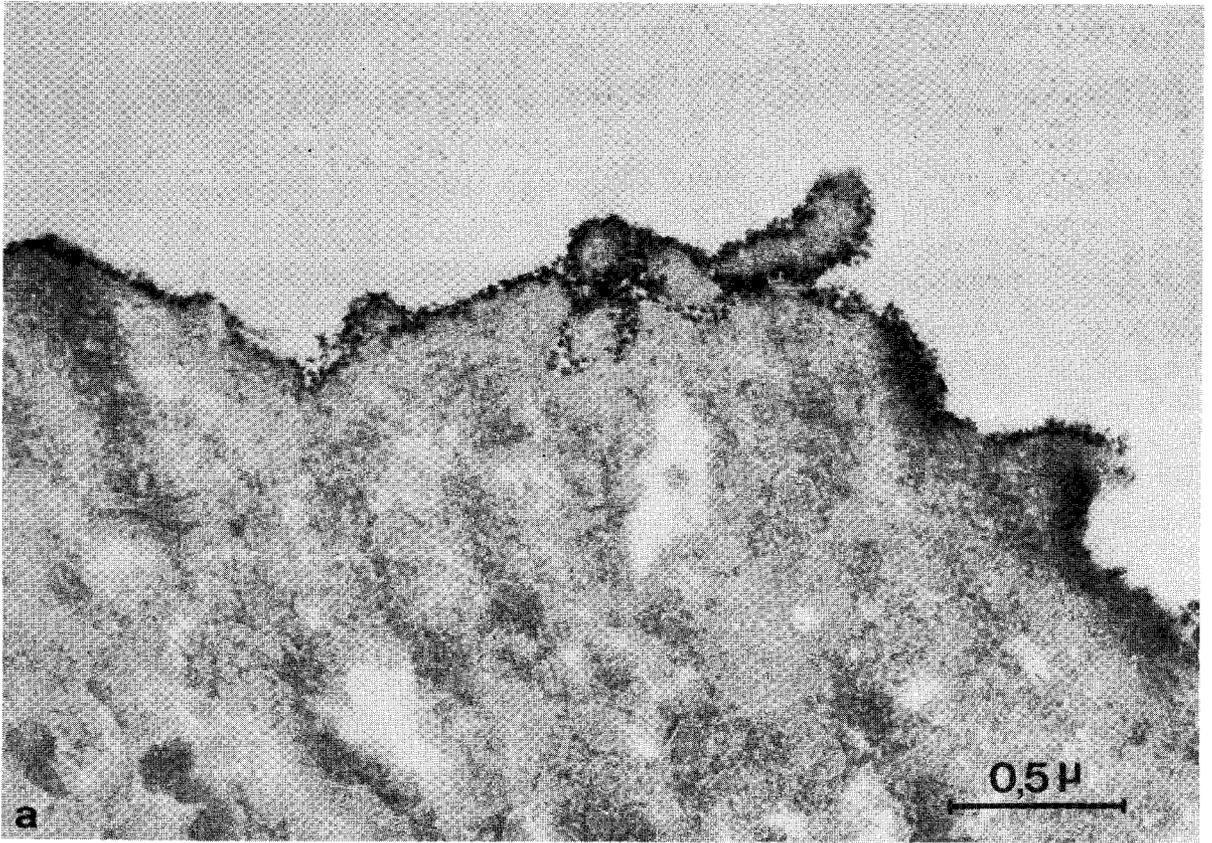


PLANCHE 35

Mise en évidence des sialo-glycoconjugués sensibles à la neuraminidase du glycolemme. Etude effectuée à l'aide de la méthode de capture du colloïde électropositif à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro

Fig. a.- Portion d'une cellule de l'hépatome ascitique de ZAJDELA témoin, traitée par le marqueur colloïdal au pH de 7,4 et contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétr oxyde d'osmium-. Un dépôt relativement dense de particules colloïdales est constaté au niveau d'une zone correspondant, semble-t-il, au glycolemme de la cellule. Les plages claires du cytoplasme traduisent probablement une perte de matériel lipidique provoquée par l'absence de post-fixation. x 45 000

Fig. b.- Portion d'une cellule de l'hépatome ascitique de ZAJDELA (No : noyau) traitée successivement par la neuraminidase et le marqueur colloïdal au pH de 7,4, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétr oxyde d'osmium-. Comme précédemment, le dépôt de marqueur est localisé au-dessus du plasmolemme de la cellule (Flèches), sur une zone correspondant au glycolemme de cette dernière ; mais sa densité beaucoup plus faible signale l'élimination d'une quantité remarquable d'acides sialiques détenus par cette région. x 45 000



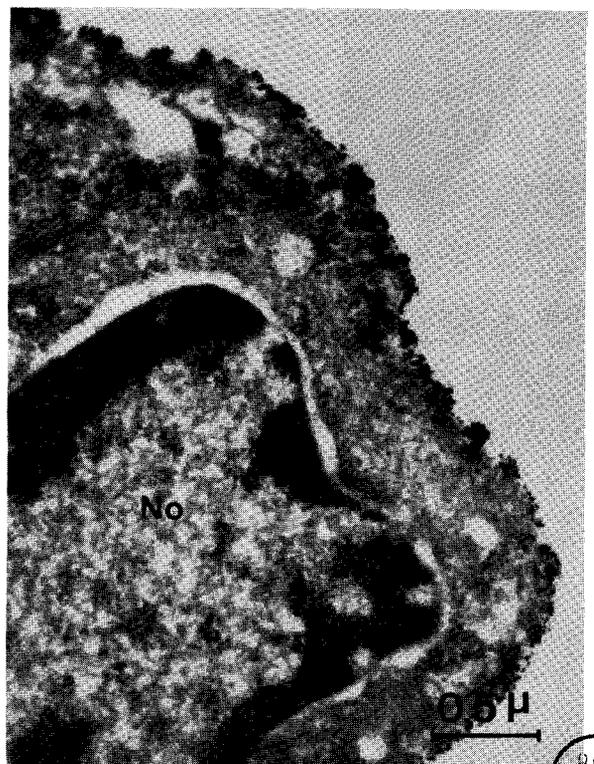
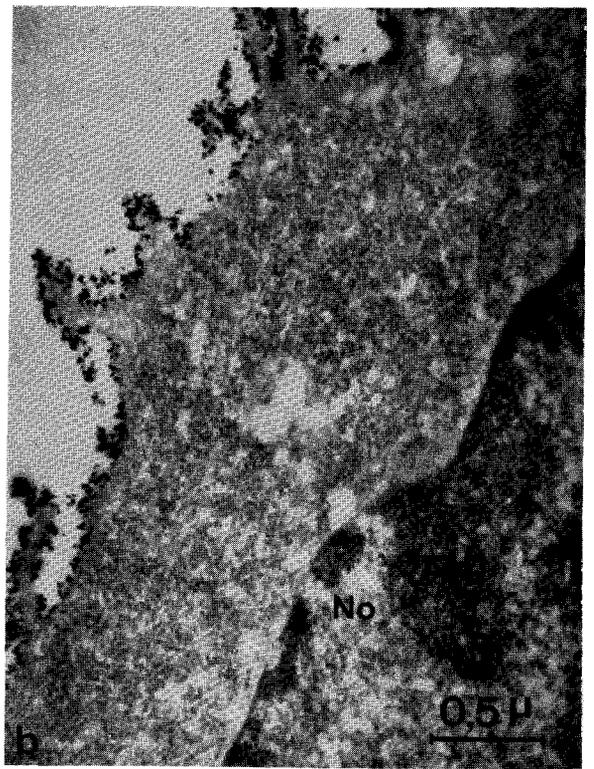
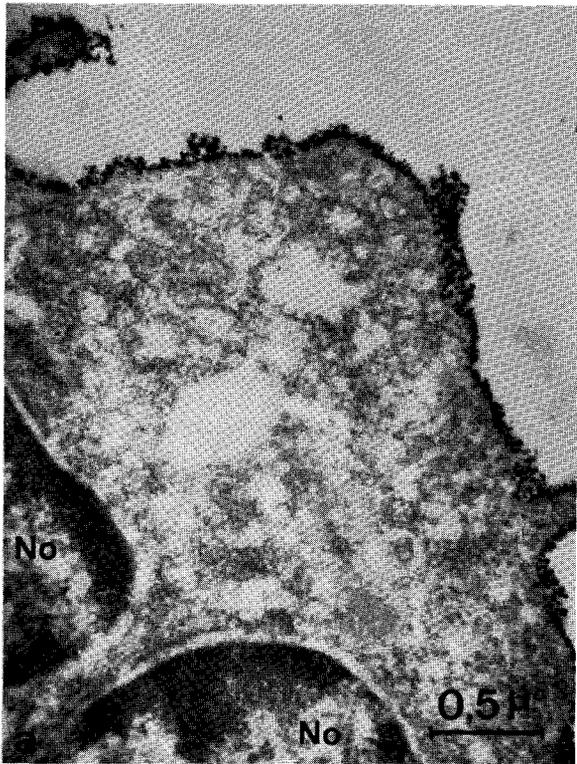
Mise en évidence des sialo-glycoconjugués sensibles à la neuraminidase du glycolemme. Etude effectuée à l'aide de la méthode de capture du colloïde électropositif à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro

Fig. a.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich témoin -greffé chez la Souris Swiss- (No : noyau), traitée par le marqueur colloïdal au pH de 7,4 et contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. Un dépôt dense et continu de particules colloïdales est visible au niveau d'une zone correspondant, semble-t-il, au glycolemme de la cellule. Une remarque similaire à celle des deux planches précédentes peut être formulée : les zones claires du cytoplasme proviennent vraisemblablement d'une perte de matériel provoquée par l'absence de post-fixation. x 30 000

Fig. b.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich -greffé chez la Souris Swiss- (No : noyau) traitée successivement par la neuraminidase et le marqueur colloïdal au pH de 7,4, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. L'état dispersé des dépôts de marqueur prouve l'élimination d'une quantité appréciable d'acide sialique. x 30 000

Fig. c.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich témoin -greffé chez la Souris C 57- (No : noyau), traitée par le marqueur colloïdal au pH de 7,4 et contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. Le résultat est identique à celui de la figure a. x 28 000

Fig. d.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich -greffé chez la Souris C 57- (No : noyau) traitée successivement par la neuraminidase et le marqueur colloïdal de pH 7,4, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. La densité irrégulière du marqueur témoigne de l'hydrolyse d'une certaine quantité d'acide sialique. x 28 000



BUS
LILLE

PLANCHE 37

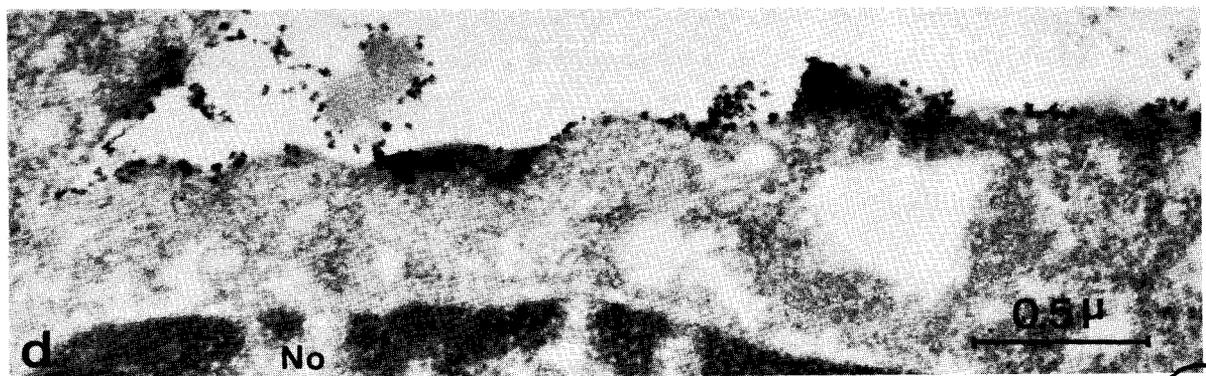
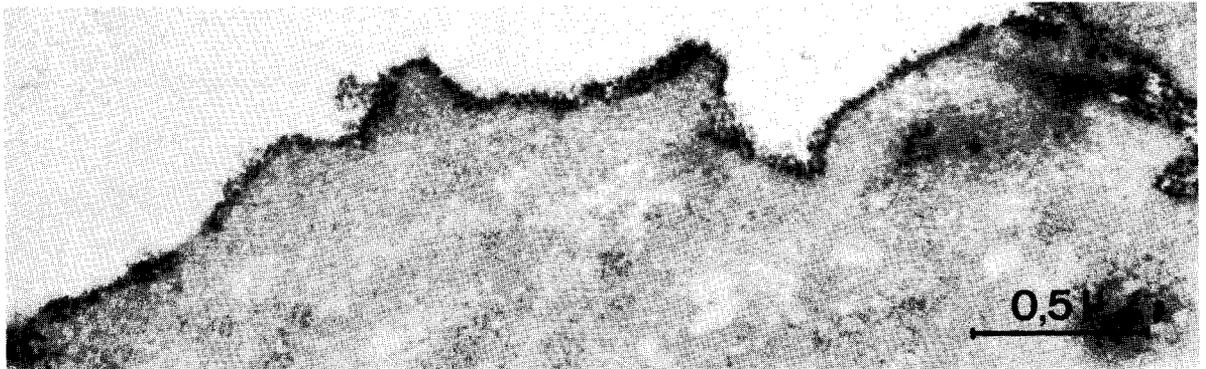
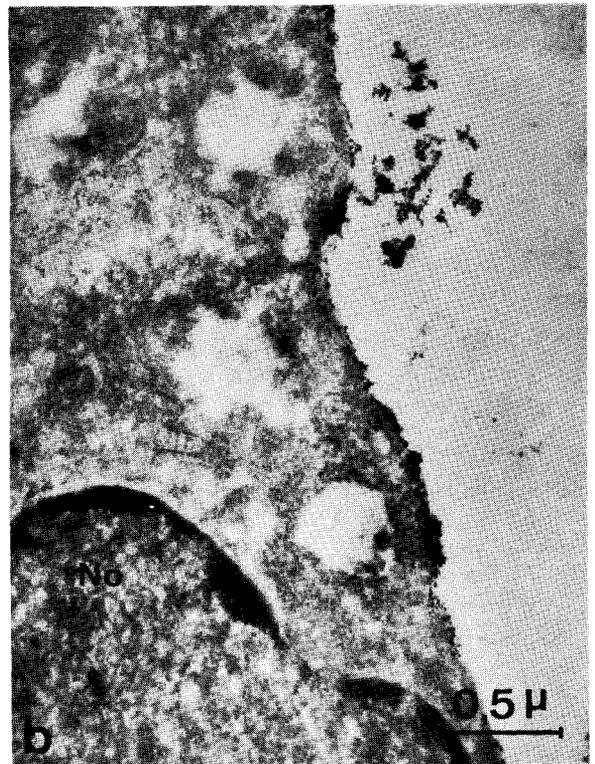
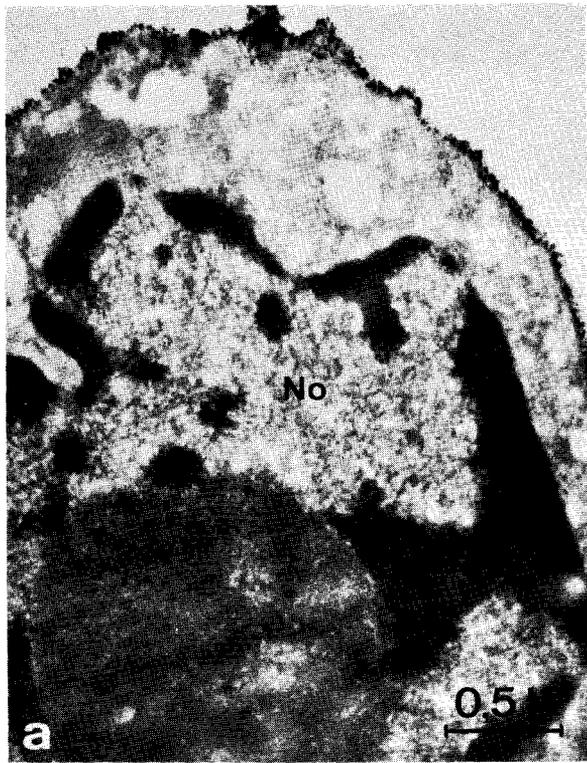
Mise en évidence des sialo-glycoconjugués sensibles à la neuraminidase du glycolemme. Etude effectuée à l'aide de la méthode de capture du colloïde électropositif à base de rouge de ruthénium réalisé in vitro

Fig. a.- Portion d'un fibroblaste de Souris témoin (No : noyau) traité par le marqueur colloïdal au pH de 7,4 et contrasté par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. Le marquage de la membrane de surface est dense et continu. Comme sur les figures précédentes, on constate l'existence de zones claires qui signalent l'existence d'une perte de matériel provoquée par l'absence de post-fixation. x 30 000

Fig. b.- Portion d'un fibroblaste de Souris (No : noyau) traité successivement par la neuraminidase et le marqueur colloïdal au pH de 7,4 puis contrasté par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. L'irrégularité et la faible densité du marquage de la membrane de surface prouvent l'élimination d'une certaine quantité d'acide sialique. On peut faire une remarque identique à la précédente concernant la présence des zones claires du cytoplasme. x 30 000

Fig. c.- Portion d'une cellule HeLa témoin traitée par le marqueur colloïdal au pH de 7,4 et contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. Le résultat est semblable à celui de la figure a. x 46 500

Fig. d.- Portion d'une cellule HeLa (No : noyau) traitée successivement par la neuraminidase et le marqueur colloïdal au pH de 7,4, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb -sans post-fixation par le tétroxyde d'osmium-. Le résultat est semblable à celui de la figure b. x 46 500



BUS
LITTLE

PLANCHE 38

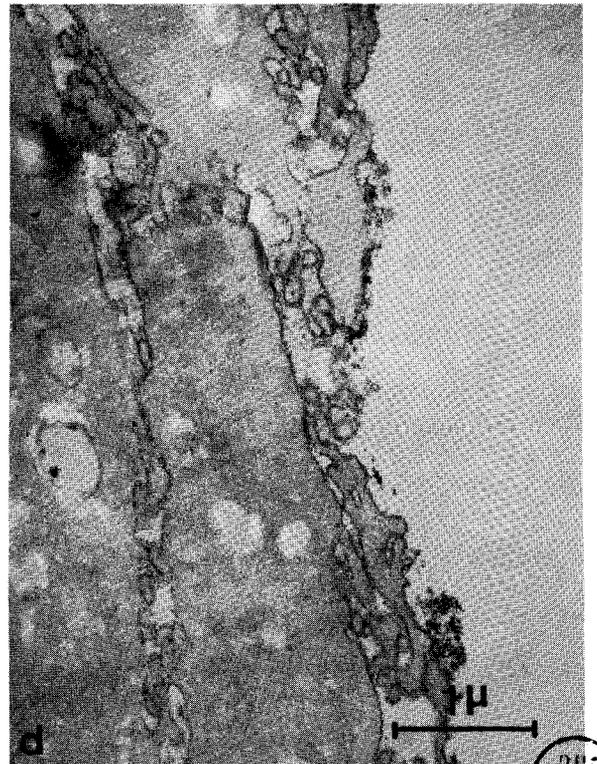
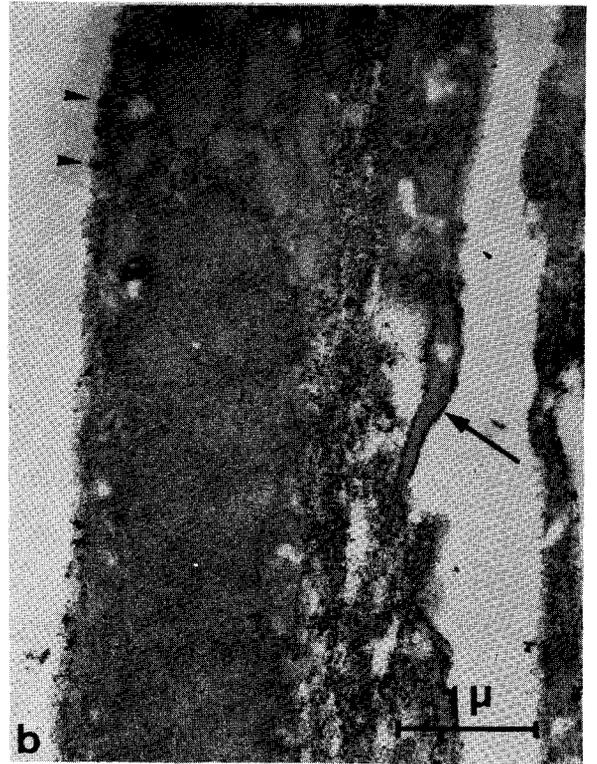
Mise en évidence et localisation des sialo-glycoconjugués sensibles à la neuraminidase du glycolemme. Etude effectuée à l'aide de l'hydroxyde de fer colloïdal

Fig. a.- Fibroblastes de Souris témoins traités par l'hydroxyde de fer colloïdal. Un dépôt assez dense de particules colloïdales est visible au niveau des membranes de surface.
x 18 500

Fig. b.- Fibroblastes de Souris traités par la neuraminidase et l'hydroxyde de fer colloïdal. Le marquage de la membrane de surface se caractérise en général par une épaisseur atténuée (Flèche) ; il se présente en de nombreux endroits sous l'aspect de dépôts épars (Pointes de flèches). Ceci prouve l'hydrolyse sélective d'une certaine quantité de sialo-glycoconjugués détenus par cette région. x 18 500

Fig. c.- Cellules KB témoins traitées par l'hydroxyde de fer colloïdal. Comme précédemment, un dépôt assez dense de colloïde souligne les membranes de surface. x 18 500

Fig. d.- Cellules KB traitées par la neuraminidase et l'hydroxyde de fer colloïdal. L'affaiblissement de la densité du dépôt de marqueur prouve l'élimination d'un taux appréciable d'acide sialique. x 18 500



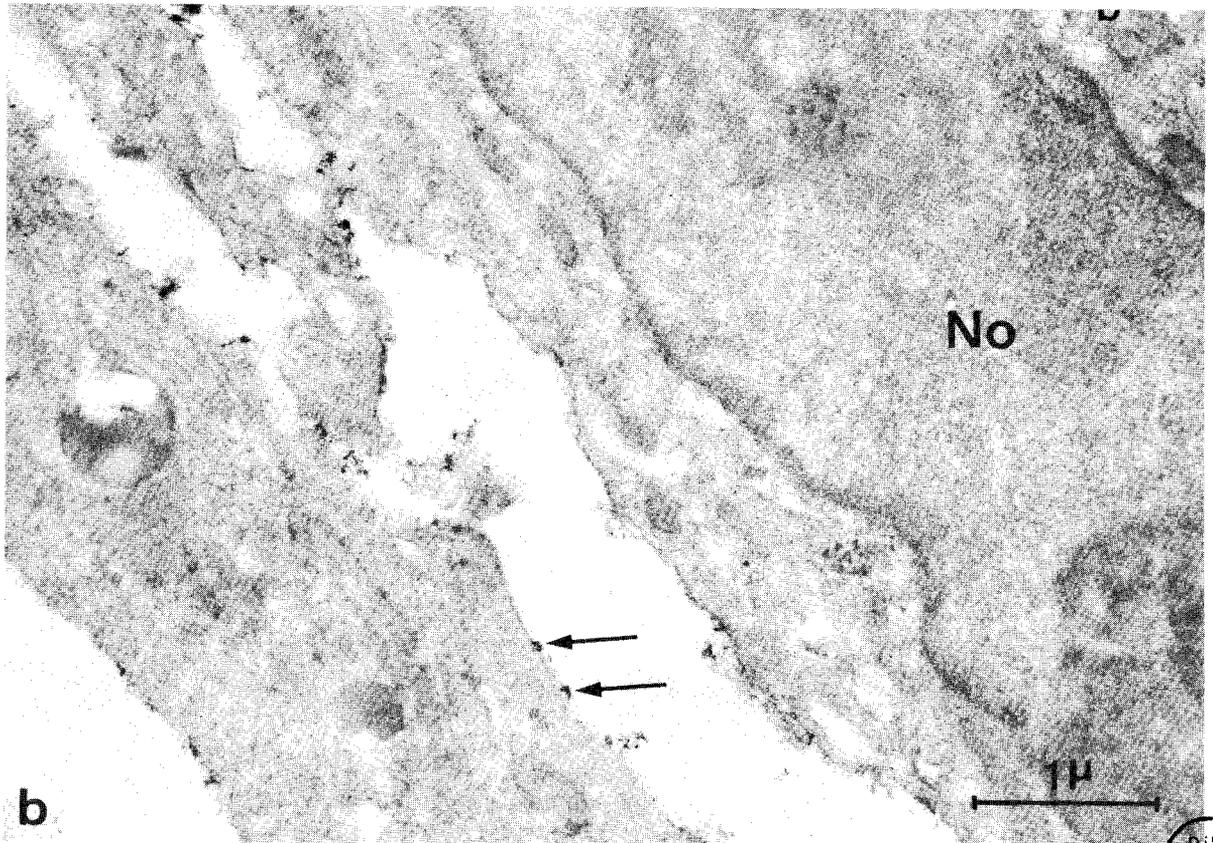
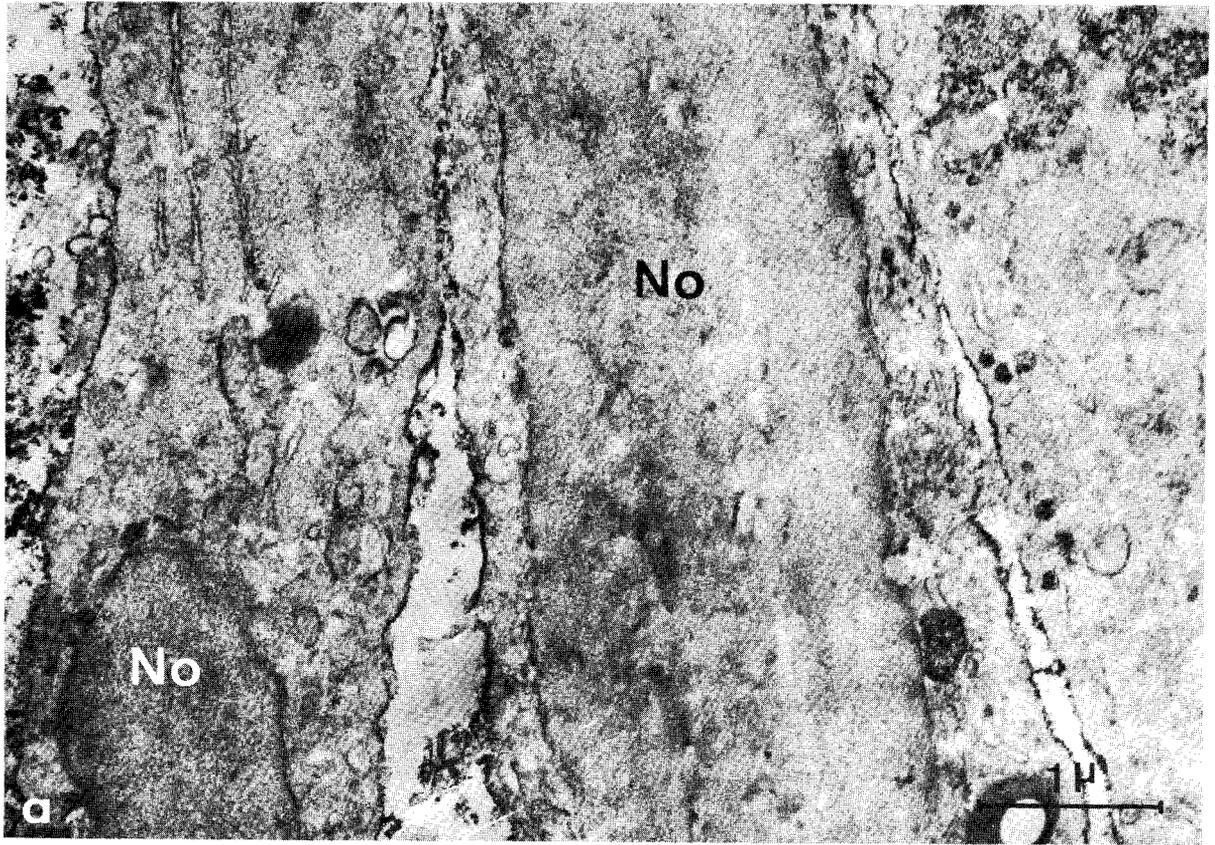
BUS
LILLE

PLANCHE 39

Mise en évidence et localisation des sialo-glycoconjugués sensibles à la neuraminidase du glycolemme. Etude effectuée à l'aide de l'hydroxyde de fer colloïdal

Fig. a.- Cellules HeLa témoins traitées par l'hydroxyde de fer colloïdal (No : noyau). Les membranes de surface sont marquées par un dépôt de particules colloïdales dense et bien contrasté en certains endroits. x 24 000

Fig. b.- Cellules HeLa traitées par la neuraminidase et l'hydroxyde de fer colloïdal (No : noyau). Les quelques rares dépôts épars de marqueur restés accrochés aux surfaces cellulaires (Flèches) attestent de l'élimination d'une quantité remarquable d'acide sialique. x 24 000



BUS
LILLE

PLANCHE 40

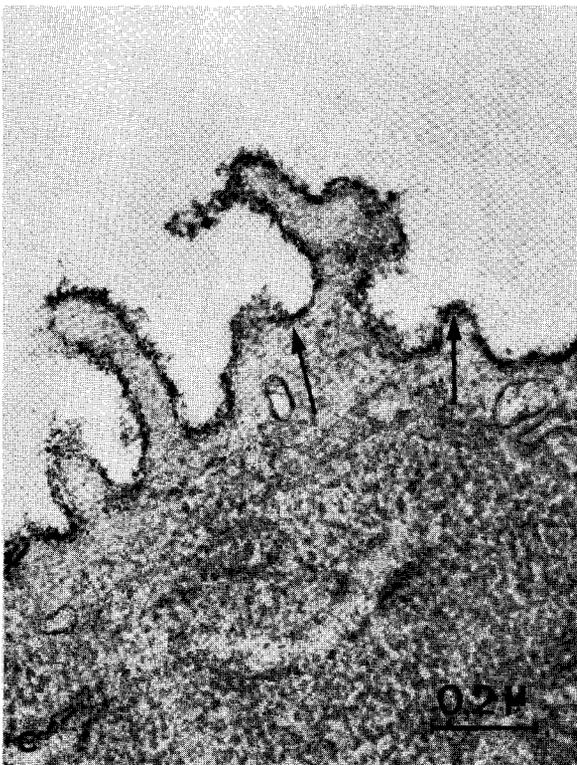
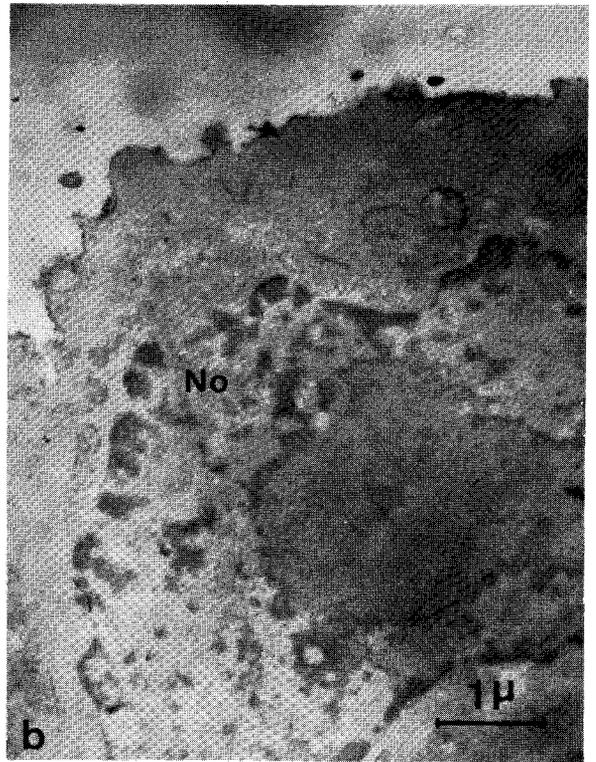
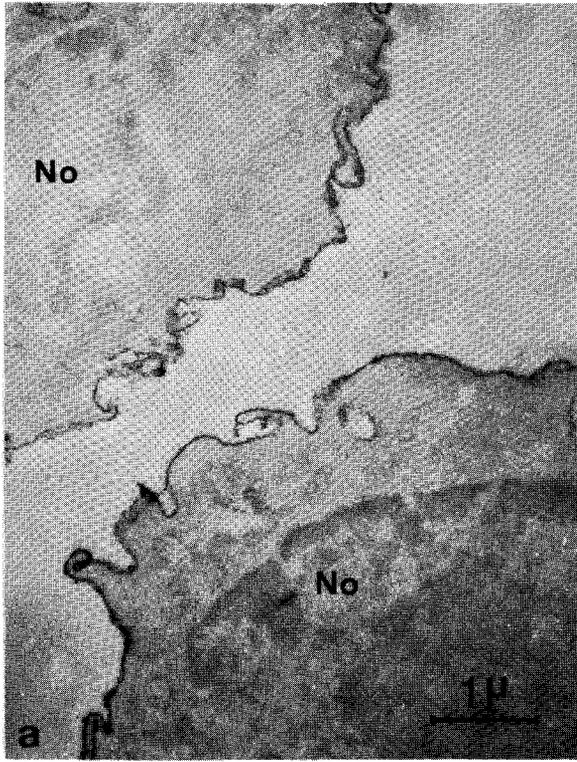
Mise en évidence et localisation des sialo-glycoconjugués sensibles à la neuraminidase du glycolemme. Etude effectuée à l'aide de l'hydroxyde de fer colloïdal

Fig. a.- Portions de cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich témoin (No : noyau) traitées par l'hydroxyde de fer colloïdal. On constate un dépôt fin, dense et continu de particules colloïdales au niveau des membranes de surface. x 14 000

Fig. b.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich (No : noyau) traitée par la neuraminidase et l'hydroxyde de fer colloïdal. L'irrégularité et la faible densité du marquage de la membrane de surface traduit l'hydrolyse d'une quantité relativement importante d'acide sialique. x 14 000

Fig. c.- Portion d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich traitée par l'hydroxyde de fer colloïdal et contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. On constate que le dépôt de particules colloïdales est localisé au-dessus de la trace du plasmolemme (Flèches), au niveau d'une zone correspondant au glycolemme. x 70 000

Fig. d.- Région périphérique d'une cellule du carcinome ascitique d'Ehrlich traitée par l'hydroxyde de fer colloïdal et contrastée par l'acétate d'uranyle. Un dépôt de particules colloïdales est visible sur les deux faces du plasmolemme (Pointes de flèches). Cette localisation interne du colloïde est probablement due à la petite interruption de la membrane de surface. x 176 000



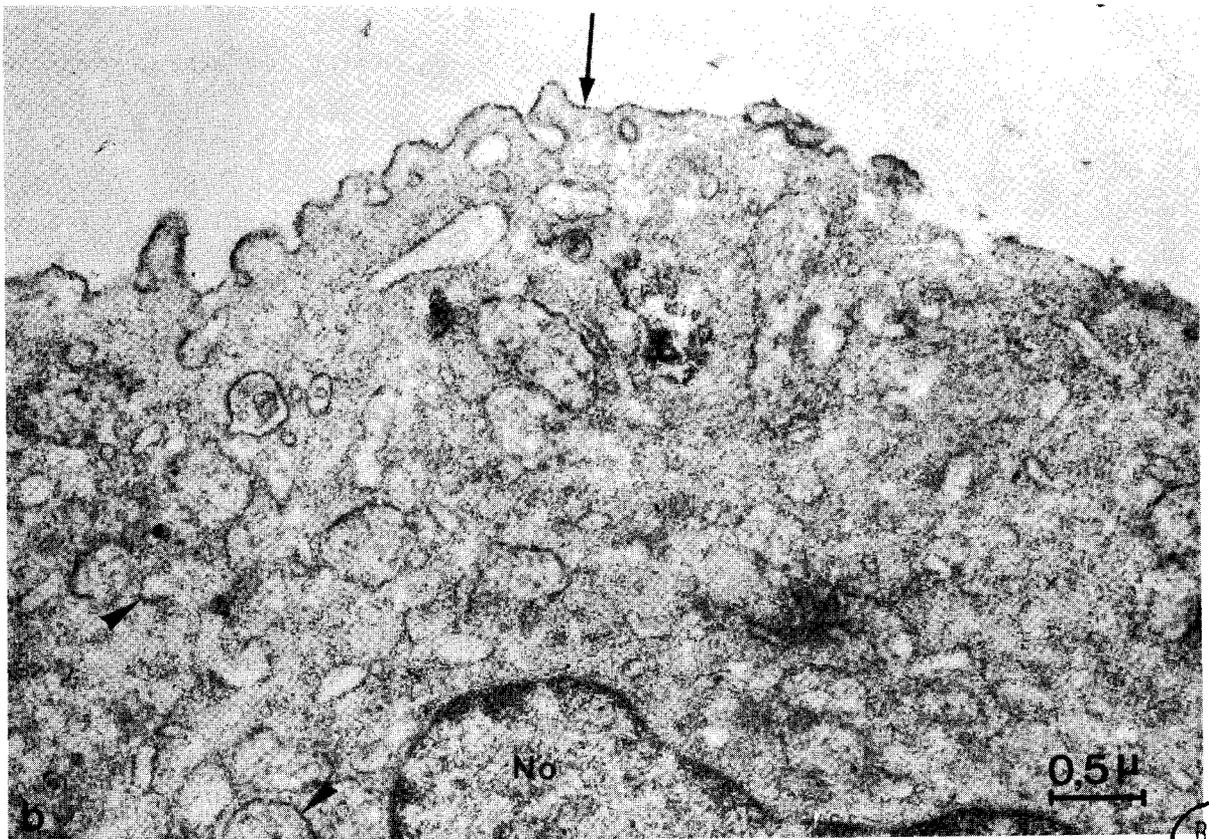
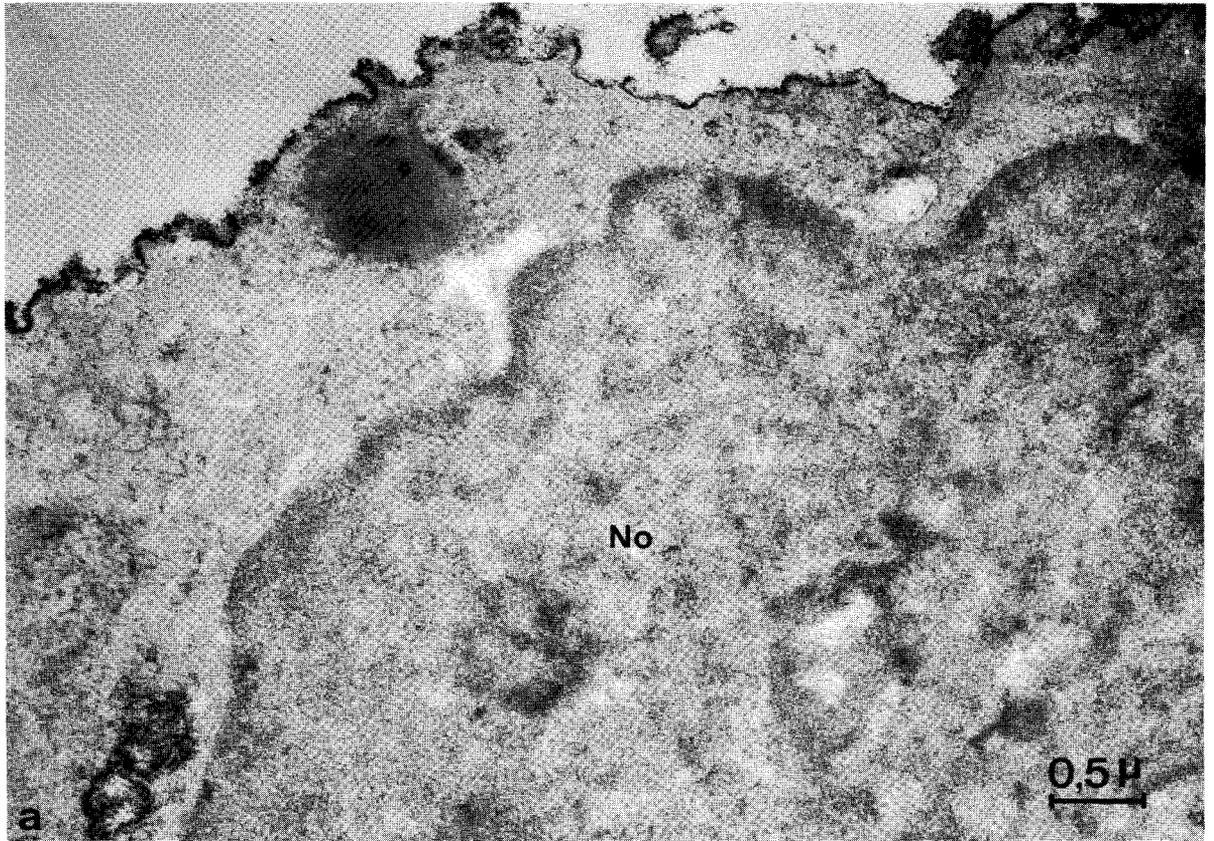
BUS
LILLE

PLANCHE 41

Mise en évidence et localisation des sialo-glycoconjugués sensibles à la neuraminidase du glycolemme. Etude effectuée à l'aide de l'hydroxyde de fer colloïdal

Fig. a.- Portion d'une cellule de l'hépatome ascitique de ZAJDELA témoin (No : noyau), traitée par l'hydroxyde de fer colloïdal et contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Le dépôt de marqueur est dense et continu au niveau de la membrane de surface. x 24 000

Fig. b.- Portion d'une cellule de l'hépatome ascitique de ZAJDELA (No : noyau) traitée successivement par la neuraminidase et l'hydroxyde de fer colloïdal, puis contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. L'absence presque totale de dépôt de marqueur au niveau de la membrane de surface -quelques grains colloïdaux sont encore accrochés au glycolemme (Flèche)- signale l'élimination d'une quantité importante d'acide sialique appartenant à cette région. Des particules colloïdales sont aussi observées sur les membranes mitochondriales et au niveau du noyau (Pointes de flèches). x 24 000



BUS
LILLE

PLANCHE 42

Mise en évidence et localisation des sialo-glycoconjugués sensibles à la neuraminidase du glycolemme. Etude effectuée à l'aide de l'hydroxyde de fer colloïdal

Fig. a.- Portion d'une cellule de l'hépatome ascitique de ZAJDELA traitée par l'hydroxyde de fer colloïdal. La membrane de surface est marquée par un important dépôt de particules colloïdales. x 25 000

Fig. b.- Portions d'hépatocytes de Rat sain traités par l'hydroxyde de fer colloïdal. Les membranes de surface sont également soulignées par le marqueur, mais l'épaisseur de celui-ci est légèrement plus faible que celui de la figure précédente. En outre, le colloïde est uniformément réparti dans les volumes cellulaires. x 25 000

Fig. c.- Portions d'hépatocytes de Rat sain témoins, traités par l'hydroxyde de fer colloïdal et contrastés par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Un marquage dense et bien contrasté est constaté au niveau de la membrane de surface. Les régions claires du cytoplasme traduisent vraisemblablement une perte de matériel riche en glycogène provoquée notamment par la coupe au cryostat. x 30 000

Fig. d.- Portions d'hépatocytes de Rat sain traités successivement par la neuraminidase et l'hydroxyde de fer colloïdal, puis contrastés par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. L'absence presque totale de particules colloïdales sur les surfaces cellulaires (Flèches) attestent de l'élimination d'une certaine quantité d'acide sialique. x 30 000

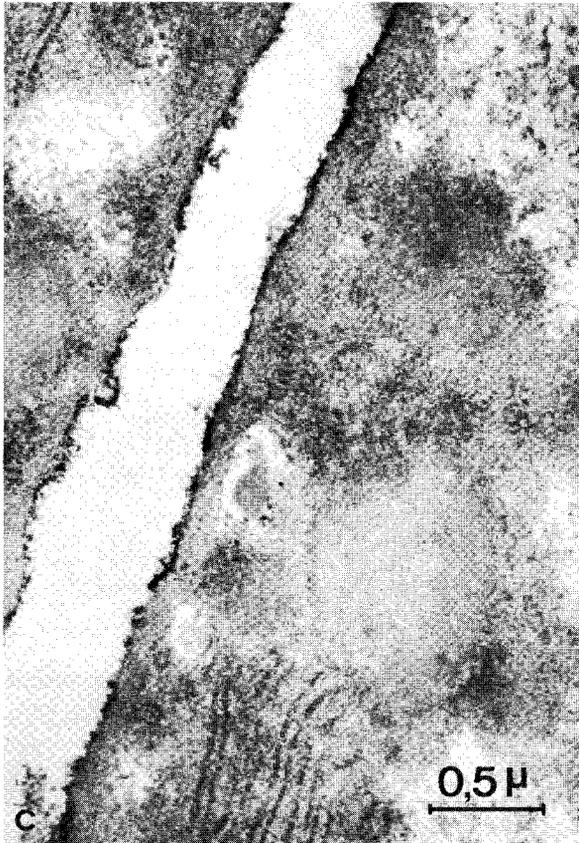
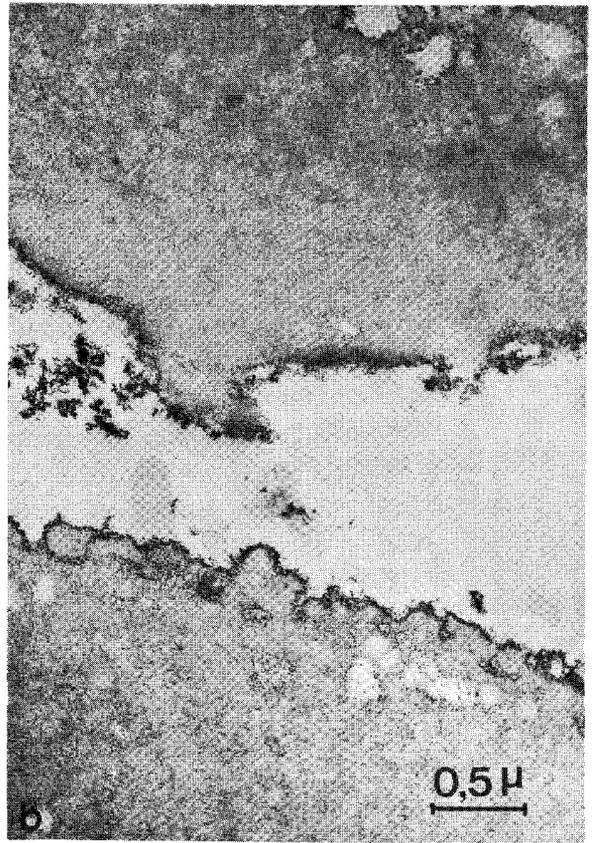
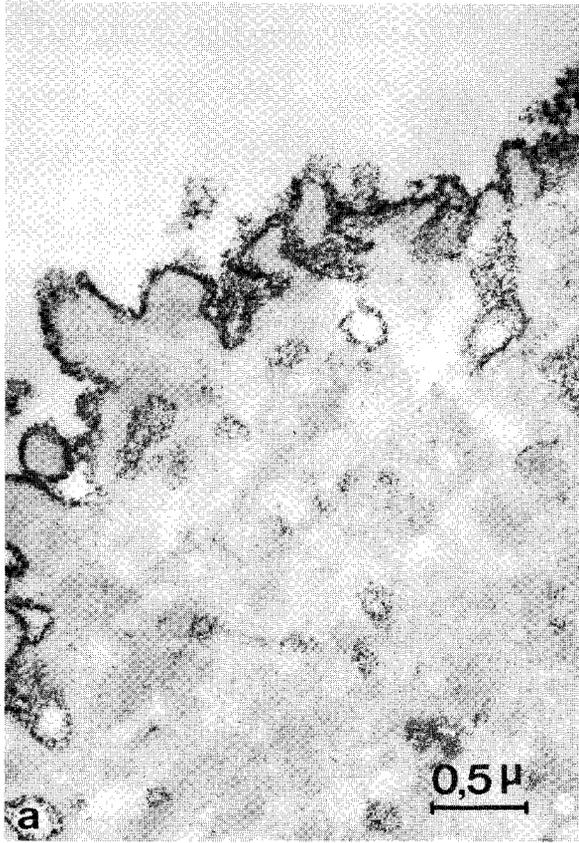


PLANCHE 43

Mise en évidence et localisation des sialo-glycoconjugués sensibles à la neuraminidase du glycolemme. Etude effectuée à l'aide de l'hydroxyde de fer colloïdal

Fig. a.- Portions d'hépatocytes de Rat sain témoins traités par l'hydroxyde de fer colloïdal puis contrastés par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. On observe un dépôt de particules colloïdales au niveau du glycolemme de l'hépatocyte inférieur non lésé par la coupe au cryostat, au-dessus de la trace de 9 nm environ de largeur (Flèches) du plasmolemme. Dans le cytoplasme, les zones claires traduisent probablement une perte de glycogène provoquée par la coupe au cryostat. x 60 000

Fig. b.- Portions d'hépatocytes de Rat sain traités successivement par la neuraminidase et l'hydroxyde de fer colloïdal, puis contrastés par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Malgré l'hydrolyse enzymatique, le dépôt de particules colloïdales de la membrane de surface est encore très important par endroit (Flèche). x 60 000

