

TP – Extraction et visualisation de l'ADN de kiwi

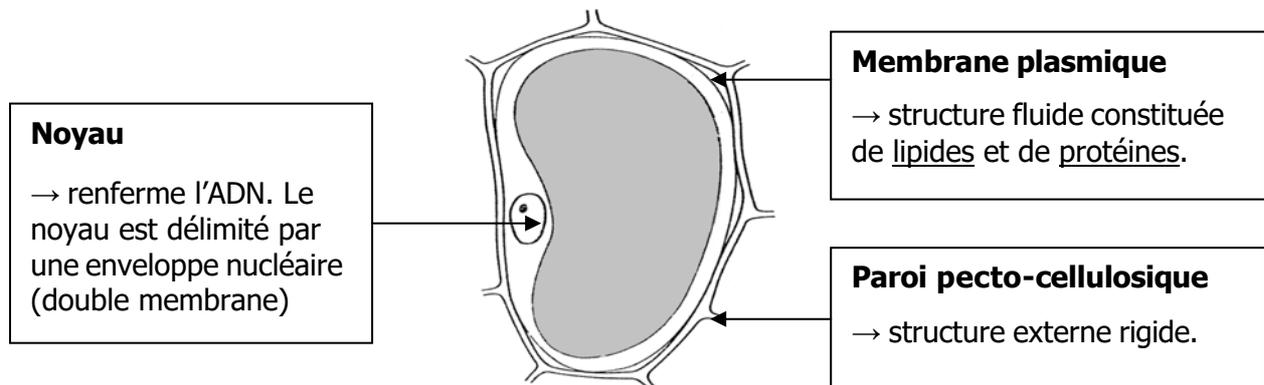
Cette manipulation est un exemple de **technique d'extraction** de molécules intracellulaires. Elle permet d'extraire les molécules d'ADN contenues dans les cellules : il est possible alors d'observer la structure filamenteuse.

I- Principe de la manipulation

La manipulation consiste à récupérer l'ADN nucléaire contenu au cœur des cellules. Pour optimiser l'extraction, il est important de choisir un échantillon riche en ADN. Comme l'ADN est dans le noyau, il est préférable de choisir des cellules avec peu de cytoplasme par rapport au noyau (= rapport nucléocytoplasmique élevé). C'est le cas dans les cellules constituant la pomme du chou-fleur (en surface), ou des cellules de foie. Il est bien sûr possible de réaliser l'extraction sur d'autres échantillons, comme le kiwi, la banane ou les œufs de lump, mais ce sont de grandes cellules, avec beaucoup de cytoplasme, et donc relativement peu de noyau. Les filaments extraits à la fin contiennent donc moins d'ADN que de macromolécules comme des protéines, des sucres ou de l'ARN.

Pour aller plus loin : <https://svt.enseigne.ac-lyon.fr/spip/?Une-methode-simple-d-extraction-de-l-ADN>

Schéma d'une cellule végétale



La technique d'extraction comporte plusieurs étapes :

- 1-destruction mécanique des cellules (éclatement du tissu végétal et des cellules).
- 2-destruction chimique des membranes biologiques.
- 3-précipitation de l'ADN extrait (apparition sous une forme non soluble).

II- Manipulation

1- Matériel et réactifs

- 1 échantillon biologique + 1 couteau si nécessaire
- 1 flacon de solution de NaCl à 60g.L⁻¹
- **Cette solution permet d'inactiver des enzymes cellulaires qui pourraient dégrader l'ADN que l'on cherche à extraire.**
- 1 solution de détergent + 1 pipette.
- **Cette solution permet de dissoudre les composés lipidiques cellulaires.**

-1 solution d'éthanol à 90° maintenue dans la glace.

→ **Cette solution permettra de visualiser la présence d'ADN.**

-1 mortier + pilon réfrigérés 24 h au congélateur .

-2 béchers de 100 mL.

-1 spatule.

-1 support à filtrations +1 entonnoir + gaze non tissée.

-1 support à tubes à essais + 2 tubes à essais.

2- Mode opératoire

a- Destruction des cellules

- Découper l'échantillon en tout petits morceaux (éliminer les parties trop fermes) et les placer dans le mortier.
- Broyer soigneusement l'échantillon à l'aide du pilon, et transférer le tout dans un bécher. Prendre soin de récupérer le maximum de matière lors du transfert.

b- Extraction de l'ADN

- Ajouter, 40 mL de solution de NaCl à 60 g/L, puis 15 gouttes de solution détergente. Mélanger **doucement** à l'aide de la spatule pendant environ 20 secondes.
- Filtrer le contenu du bécher sur du papier filtre, et récupérer le filtrat dans l'Erlenmeyer. Presser **légèrement et très délicatement** le filtre pour récupérer un maximum de filtrat.

c- Précipitation de l'ADN

- Transvaser 5 mL environ du filtrat dans 1 tube à essais. Ajouter à volume égal avec la solution froide d'éthanol à 90° (verser la solution d'éthanol **très délicatement et lentement sur la paroi du tube incliné, en veillant à conserver deux phases non mélangées**).
- Laisser reposer le contenu de l'éprouvette pendant quelques minutes. L'ADN apparaît sous forme d'une pelote blanche dans la phase supérieure.