

# Localisation et extraction et modélisation 3D de l'ADN

Cellule, ADN et unité du vivant – Universalité et variabilité de la molécule d'ADN – T.P. 4

## A. Localisation de l'ADN dans les cellules d'épiderme d'oignon

À réaliser si cette manip n'a pas déjà été faite lors de la séance de T.P. sur les Protozoaires d'une goutte d'eau. Sinon passer directement au B.

### 1. Technique de préparation.

- Prélever à l'aide d'une pince fine de l'épiderme d'oignon prédécoupé. Déposer ce fragment dans un verre de montre avec du vert de méthyle (colorant spécifique de l'ADN). Laisser agir 2 minutes.
- Rincer dans un autre verre de montre avec de l'eau distillée. Déposer dans une goutte d'eau, entre lame et lamelle.

### 2. Observation au microscope

►► Observer, dessiner et légènder une cellule.

## B. Extraction de l'ADN des cellules d'oignon.

! Toutes les réactions doivent se faire à basse température (oignons, ustensiles, récipients et substances chimiques doivent placés au réfrigérateur) et ce pour ralentir l'hydrolyse de l'ADN.

### 1. Technique de préparation.

#### a) Préparation collective (*paillasse du professeur*)

- Préparer avant la manipulation une solution d'eau salée à raison d'une cuillère à café de sel pour 10 cL d'eau. Conserver au froid.
- Broyer grossièrement 2 oignons froids au mixer (ne pas faire une purée fine).  
NB : On peut observer le broyat avec du vert de méthyle pour voir l'action du broyage. On peut aussi poursuivre par une centrifugation si on possède une centrifugeuse.
- Ajouter l'eau salée au broyat (environ 10 cL pour 2 oignons). L'eau salée augmente la solubilité de l'ADN.
- Ajouter quelques gouttes de liquide vaisselle pour dissoudre les membranes. Mixer à nouveau, 2 à 3 fois l'ensemble pour bien mélanger.
- Filtrer sur de la gaze au-dessus de petits béciers ou de tubes à essai (autant que de groupes).

#### b) Préparation par groupe

- Ajouter le même volume d'éthanol froid conservé au réfrigérateur en prenant soin de verser sur le bord pour ne pas mélanger les 2 phases.
- On observe alors à l'interphase précipiter au bout de quelques minutes des filaments blancs que l'on peut récupérer avec une pipette ou un agitateur.

►► Schématiser les différentes étapes du mode opératoire en indiquant le rôle de chaque opération.

- Colorer les filaments dans du vert de méthyle (se reporter au protocole expérimental précédent), rincer. Placer les filaments colorés dans une goutte d'eau entre lame et lamelle. Observer au microscope.

### 2. Réflexion

►► D'après les informations tirées du manuel, Documents, p. 208-209, qu'avez-vous observé en réalité ? Est-ce un filament d'ADN ? Justifiez.

### C. La modélisation en 3D de la molécule d'ADN

---

- Ouvrir le logiciel « RasTop ». Travailler en suivant pas à pas les indications données par le professeur. Répondre aux questions de l'exercice 2, manuel page 225.
- Les fichiers utilisés sont dans répertoire « *libnuc Folder* » situé dans *Data* et *molecules* :
  - « *adn\_cycl* » pour mettre en évidence la structure en double hélice.
  - « *adn\_h* » pour mettre en évidence :
    - la structure « en échelle » (visualisation des atomes et des molécules constituant les montants et les barreaux),
    - l'existence de liaisons peu énergétiques qui relient les deux montants.
  - « *nuc2ath* » ; deux nucléotides formant un barreau.
  - « *Adenineh* » et « *Thymineh* », exemples de bases azotées complémentaires se liant pour former un barreau.