

Extraire et voir de l'ADN à l'œil nu - Protocole

SVT 3e - Diversité et unité des êtres vivants - ADN porteur de l'information

D'après une technique mise au point par M Béanger à l'école de l'ADN de Nîmes

A. Extraction de l'ADN des cellules de pulpe 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.

▶▶ Justifier le fait de manipuler au froid.

• Ajouter l'eau salée au broyat (environ 10 cL pour 2 oignons). L'eau salée augmente la solubilité de l'ADN.

▶▶ Justifier le fait d'ajouter de l'eau salée.

• Ajouter quelques gouttes de liquide vaisselle pour dissoudre les membranes. Mixer à nouveau, 2 à 3 fois l'ensemble pour bien mélanger.

▶▶ Justifier le fait d'ajouter quelques gouttes de liquide vaisselle.

• Filtrer sur de la gaze au-dessus de petits béchers 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 un nuage de filaments blancs, appelé "Méduse d'ADN" 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. On compare avec une préparation de tissu cellulaire coloré au vert de méthyle acétique.

▶▶ Que confirme cette coloration ?

2. Réflexion

▶▶ D'après l'information fournie par le document qui suit, qu'avez-vous observé en réalité ? Est-ce un filament d'ADN ? Justifiez.

Filament d'ADN obtenu par déroulement d'un chromosome par traitement chimique (grossissement x25000)

