
TP1 de biologie moléculaire

Extraction et visualisation de l'ADN

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 de cette molécule.

I. Principe :

Cette expérience ne nécessite aucun appareillage particulier et peut être effectuée à l'aide de produits achetés en grandes surfaces. Il est à noter que l'ADN obtenu n'est pas d'excellente qualité. Il ne permettrait pas d'effectuer des expériences fines de biologie moléculaire. L'ADN ainsi purifié est en effet encore contaminé par d'autres molécules (comme des protéines) et est probablement partiellement dégradé par des nucléases. Cependant ce protocole permet de visualiser facilement l'ADN et d'apprécier l'aspect filamenteux de cette molécule.

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. Matériel et réactifs :

- | | |
|--|-----------------------------|
| - Fruit ou légume. | - Pipette et compte-goutte. |
| - Solution de chlorure de sodium (NaCl) à 60g/L. | - Mortier + pilon. |
| - Liquide vaisselle (solution détergente) | - Eprouvette de 50 mL. |
| - Ethanol froid ou isopropanol | - Spatule longue. |
| - Vert de méthyle | - Gaze ou coton |
| | - Erlenmeyer ou Bécher. |

III. Mode opératoire

a-Préparation du tissu végétal

- Couper un fruit en deux et l'éplucher. Récupérer dans le mortier la chair du fruit en coupant celle-ci en petits morceaux.

- Broyer la chair de fruit à l'aide du pilon, et transférer le tout dans un bécher. Prendre soin de récupérer le maximum de chair de fruit lors du transfert.

b-Traitement des cellules végétales

- Ajouter, à l'aide de l'éprouvette, 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 coton ou gaz, et récupérer le filtrat dans l'erlenmeyer. Presser légèrement et très délicatement le filtre pour récupérer un maximum de filtrat.

c-Visualisation de l'ADN

- Homogénéiser doucement le contenu de l'Erlenmeyer, puis transférer 10 mL de ce filtrat dans l'éprouvette. Ajuster ensuite le volume jusqu'à 20 mL avec l'éthanol froid ou l'isopropanol (verser très délicatement et lentement la solution d'éthanol, ne pas mélanger les deux phases).
- Laisser reposer le contenu de l'éprouvette pendant 3 à 5 minutes. L'ADN apparaît sous forme d'une pelote blanche.
- Pêcher l'ADN et le placer sur une lame, ajouter 1 à 2 gouttes de vert de méthyle, placer une lamelle et observer l'ADN à l'aide d'un microscope optique à 40x et puis 100x.

