Kit extraction d'ADN d'oignon

Réf. C/EXTRACT

A RECEPTION DU COLIS :

☑ **Vérifier la composition** du colis indiquée ci-dessous

☑ **Stocker** les articles du colis dans les bonnes conditions :

- 🌡 Placer la bouteille notée « extraction1 » au réfrigérateur à **+4 °C** 🌡
- Placer la bouteille notée « précipitation2 » dans une armoire de sécurité pour produits inflammables

☑ **Avant toute manipulation, étudier la fiche sécurité**

COMPOSITION (pour 12 extractions) :

- 1 flacon noté « extraction1 » contenant 500 mL d'une solution d'extraction (mélange NaCl – Acide acétique)
- 1 flacon noté « précipitation2 » contenant 1 000 mL d'une solution de précipitation (Ethanol)
- 1 sachet de 12 bâtonnets

MATERIEL NECESSAIRE :

- Oignons (12 moyens ou 6 gros)
- Mixer ou couteau
- Mortier et pilon
- Eprouvette de 100mL
- Béchers de 250 mL forme basse
- Verre de montre
- Papier absorbant
- Entonnoir
- Gants
- Lunettes de sécurité

MATERIEL CONSEILLE :

- Coloration de l'ADN au Feulgen (HCl 1M à 60°C et réactif Shiff)
- Coloration de l'ADN au vert de méthyle acétique

OBJECTIFS COGNITIFS

L'extraction de l'ADN est une technique expérimentale (plus ou moins complexe selon l'utilisation prévue) permettant d'isoler ou de mettre en évidence l'ADN de cellules végétales ou animales.

L'ADN extrait peut ensuite être utilisé pour des expériences de biologie moléculaire.

La technique utilisée permet de mettre en évidence de façon simple la « méduse » qui pourra être colorée avec différentes techniques.

PREPARATION

- Prévoir une ou plusieurs éprouvettes de 100 mL, des mortiers et pilons, 1 bécher par binôme, 1 oignon moyen ou ½ gros par binôme, des couteaux, des planches à découper, des gants et éventuellement un mixeur
- Veiller à placer les mortiers au congélateur quelques heures avant le TP et les oignons au réfrigérateur

MANIPULATION

DECOUPAGE DE L'OIGNON (1 MOYEN OU 1/2 GROS PAR BINOME)

- Enlever la peau sèche de l'oignon
- Couper l'oignon sur une planche avec un couteau ou passer l'oignon au mixeur
- Placer les morceaux dans un mortier froid

EXTRACTION DE L'ADN

- Avec le mortier, broyer les morceaux d'oignons jusqu'à obtenir une purée épaisse
- Mettre des gants et des lunettes
- Ajouter 40 mL (mesurés à l'éprouvette) de solution d'extraction du flacon noté « extraction1 »
- Continuer de broyer l'oignon
- Placer une feuille de papier absorbant un peu épais (ou 2 fines) sur un entonnoir au dessus du bécher de 250 mL
- Verser le contenu du mortier sur le papier aborbant
- Laisser le liquide s'écouler puis presser avec les mains (gant) le papier absorbant contenant la purée de manière à bien récupérer tout le liquide

PRECIPITATION DE L'ADN

- Ajouter lentement 80 mL (mesurés à l'éprouvette) de solution de précipitation contenue dans le flacon noté « précipitation2 » en inclinant le bécher (pour que les deux phases ne se mélangent pas trop)
- Observer le précipité qui se créé entre les deux phases

RECUPERATION DE L'ADN

- Récupérer sur le bâtonnet de buis les espèces de « méduses » blanchâtres gluantes situées entre les deux phases dans le bécher
- Déposer ces amas blancs sur un verre de montre : ils contiennent de l'ADN (on peut voir des filaments)

Il est possible de colorer ces amas.

RESULTATS ET INTERPRETATION

Les amas récupérés ne contiennent pas que de l'ADN mais aussi des protéines et autres constituants cellulaires mais des filaments sont clairement distinguables. La coloration au vert de méthyle acétique est parfaitement adaptée pour observer les filaments.

FICHE SECURITE

Le produit noté « extraction 1 » n'est pas dangereux mais il est préférable de le manipuler avec des gants.

Produit	Pictogramme et risques normalisés	Actions à mener en cas			
		De contact avec la peau	**d'inhalation**	**de projection dans les yeux**	**d'ingestion**
Précipitation 2 : Ethanol Absolu	**Inflammable**	En règle générale, le produit irrite peu la peau	Donner de **l'air frais**. Assistance respiratoire si nécessaire. Si les troubles persistent, consulter un médecin.	**Lavage** avec de l'eau en **écartant les paupières** plusieurs minutes. Si les troubles persistent, consulter un médecin.	Si les troubles persistent, consulter un médecin.
Remarques générales: Les symptômes d'empoisonnement peuvent apparaître après de nombreuses heures seulement ; une surveillance médicale est donc nécessaire au moins 48 heures après un accident. En cas d'inconscience, coucher et transporter la personne en position latérale stable					

FICHE CONSERVATION

Les produits en bouteille se conservent pendant plus de 6 mois.

FICHE TRI ET RECUPERATION

La phase du produit d'extraction doit être jetée dans les bidons adaptés pour les produits inflammables.