

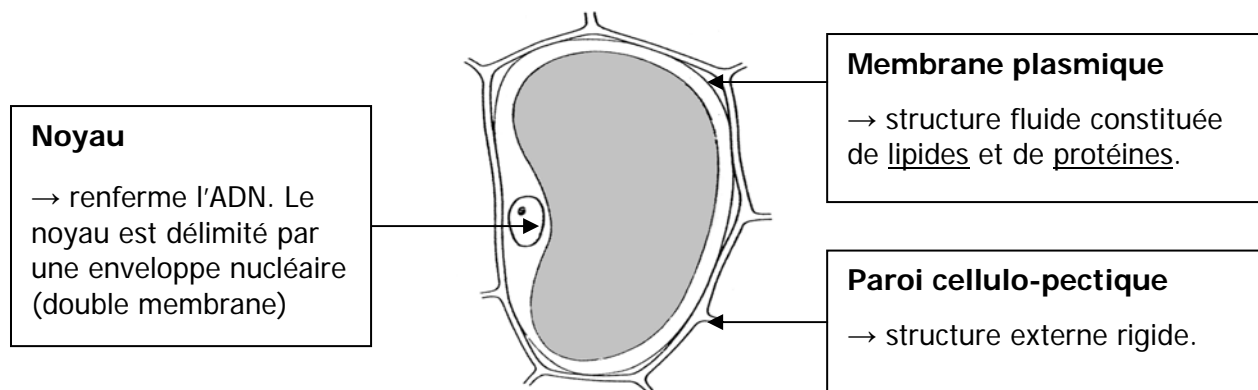
## TP – Extraction et visualisation de l'ADN de kiwi

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 de cette molécule.

### I-Principe de la manipulation

L'extraction de l'ADN est réalisée sur un végétal, le kiwi dont les cellules sont riches en ADN. La manipulation consiste à récupérer l'ADN contenu au cœur des cellules.

#### 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 kiwi.
- 1 solution de chlorure de sodium (NaCl) à 60g/L.  
→ *Cette solution permet d'inactiver des enzymes cellulaires qui pourraient dégrader l'ADN que l'on cherche à extraire.*
- 1 solution de détergent + 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.
- 1 éprouvette de 50 mL.
- 1 spatule longue.
- 1 bécher + 1 Erlenmeyer.
- 1 entonnoir + papier filtre.

## 2-Mode opératoire

### a-Préparation du tissu végétal

- Couper un kiwi en deux et l'éplucher. Récupérer dans le mortier la chair du fruit en coupant celle-ci en petits morceaux (éliminer la partie ferme centrale du kiwi).
- Broyer la chair de kiwi à l'aide du pilon, et transférer le tout dans un bécher. Prendre soin de récupérer le maximum de chair de kiwi lors du transfert.

### b-Traitement des cellules végétales de kiwi

- 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 du papier filtre, 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 40 mL avec la solution froide d'éthanol à 90° (verser **très délicatement et lentement** la solution d'éthanol).
- Laisser reposer le contenu de l'éprouvette pendant quelques minutes. L'ADN apparaît sous forme d'une pelote blanche.

## III-Compte rendu

**1**-Construire un schéma expérimental de la manipulation. Dessiner pour chaque étape du mode opératoire le matériel mis en jeu et les différents réactifs utilisés.

**2**-Décrire l'aspect final de l'ADN extrait. L'ADN est-il soluble dans la solution d'éthanol ?

**3**-L'objectif de cette manipulation était d'extraire l'ADN qui est renfermé dans le noyau des cellules de kiwi.

*En prenant en compte vos connaissances sur la structure d'une cellule végétale et sur la nature chimique et les propriétés de ses constituants, expliquer l'intérêt des étapes **a** et **b** du mode opératoire ainsi que leur impact sur la structure cellulaire.*