

L'adn à quoi ça ressemble ? MT 13506

L'ADN (acide désoxyribonucléique) est le matériel génétique de la plupart des organismes. Bien que l'ADN dans une cellule est d'environ 100000 fois plus longue que la cellule, il ne prend que environ 10% de l'espace à l'intérieur de la cellule. L'ADN occupe qu'une petite fraction de l'espace intérieur d'une cellule, car il est fortement condensés par enroulement successifs avec des protéines complexes pour former ce qu'on appelle : **les chromosomes**.

Dans cette procédure, chromosomiques ADN est extrait d'oignons. Tout d'abord, un blender est utilisé pour casser les dures parois cellulaires végétales. Ensuite, les membranes cellulaires sont détruites. Les membranes cellulaires sont faites de protéines et de graisses. Tout comme un détergent dissout les matières grasses dans une poêle, un peu de détergent dissout les membranes cellulaires. Le processus de rupture de membrane de cellule est appelée lyse cellulaire. Pour cette procédure, les élèves devront utiliser un bain d'eau chaude et une solution à base de détergent pour dissoudre les membranes cellulaires. Comme les membranes n'existent plus, le contenu des cellules va s'écouler, formant une soupe d'ADN, d'autres acides nucléiques, les fragments de membranes, les protéines et d'autres matières. Il n'y a pas besoin de préparer de l'ADN très pur, car le but est tout simplement de voir. L'ADN isolé par les élèves est impur, contient des protéines cellulaires et d'autres débris. Pour faire apparaître l'ADN, les élèves devront ajouter de solution de précipitation à base d'alcool. Parce que l'ADN est insoluble dans l'alcool, il va précipiter, formant des filaments qui ressemblent à un nuage blanc. L'ADN peut alors être enroulés sur une tige en bois et analysé de plus près. → C'est ce qu'on appelle "spooling de l'ADN".

MATÉRIELS

Ce système contient les réactifs nécessaires à la purification de l'ADN chromosomique d'oignons pour 15 binômes.

La trousse comprend les documents suivants :

- Solution de lyse cellulaire, 100 ml
- 17 Filtres
- 15 Tubes à fond plat non stériles de 50 ml
- 15 baguettes en bois
- Solution de précipitation, 150 ml
- 15 Éprouvettes
- 15 tubes coniques non stériles de 15 ml
- Fiches de travail.

Tout peut être stocké à température ambiante.

Manuel de l'instructeur :

Matériel nécessaire, non fourni :

Oignon

Couteau et découper

60 ml d'eau pour la préparation

blender

Thermomètre

Récipient pour l'eau (60 ~ 65 ° C) ou bain marie

Glace

Décompte temporel.

Cette procédure est très simple. Demande un minimum de préparation et peut être effectuée en un seul TP

- 30 min : Préparer le bain marie 60 ~ 65 ° C.
Mettre les solutions de précipitation d'ADN sur de la glace.
- 40 min : mixer l'oignons et lyser les cellules.
- 5 min : Extraire l'ADN.

Préparation

Chauffer l'eau 60 ~ 65 ° C. Place ADN Solution précipitations sur la glace.

Préparer les postes de travail des étudiants

Placez un oignon et un de tube conique de 50 ml à chaque poste de travail. (Vous pouvez hacher les oignons avant si vous le souhaitez. Si vous ne le faites pas, l'étudiant devra disposer de matériel pour effectuer cette étape.

Les étudiants doivent avoir accès à un mixer. Ils doivent mesurer 60 ml d'eau à ajouter à l'oignon dans le mixer avec leurs. Aliquote 7 ml de la Cell Lysis Solution dans chacun 15 ml de tubes, et placer une étiquette pour chaque poste de travail. Aliquote 14 ml de solution de précipitations dans les éprouvettes, et étiquettes l'ensemble. Placer un filtre et d'une attelle de bois à chaque poste de travail.

Procédure de laboratoire

1. Hacher grossièrement l'oignon et le mettre dans un mixer.
2. Ajouter 60 ml d'eau.
3. Mixer 30 s sur vitesse lente pour débiter le hachage.
4. Mixer 10 s pour liquéfier. Arrêter et vérifier l'état de la mixture
5. Répéter l'étape 4 deux fois. Oignon devrait maintenant être liquéfié.
6. Mettre 7 ml d'un mélange d'oignons dans le tube contenant déjà 7 ml de la Solution de lyse cellulaire ; mélanger en retournant le tube plusieurs fois. **Ne pas agiter.**
7. Place à 60 ~ 65 ° C. Bain marie 15 minutes.
8. Place filtre dans 50 ml du tube. Filtrer le mélange.
Laisser le matériel filtré (filtrat) au goutte-à-goutte dans le tube.
9. Placer une couche de solution de précipitation à la surface du filtrat.

Attention : l'ADN ne pas mélanger, tenir le tube incliné et laisser couler la solution de précipitation sur la paroi pour qu'elle vienne recouvrir le filtrat sans s'y mélanger.
10. Les filaments d'ADN vont apparaître à l'interface des deux solutions qui maintenant compose le filtrat.
11. Utilisez la baguette pour récupérer le filament d'ADN. Tourner la baguette pour enrouler les filaments et faite un va et vient entre les deux couches du filtrat sans pour autant les mélanger.

Fiche de travail

L'ADN (acide désoxyribonucléique) est le matériel génétique de la plupart des organismes. Bien que l'ADN dans une cellule est d'environ 100000 fois plus longue que la cellule, il ne prend que environ 10% de l'espace à l'intérieur de la cellule. L'ADN occupe qu'une petite fraction de l'espace intérieur d'une cellule, car il est fortement condensés par enroulement successifs avec des protéines complexes pour former ce qu'on appelle : **chromosomes**.

Dans cette procédure, chromosomiques ADN est extrait d'oignons. Tout d'abord, un blender est utilisé pour casser la dure parois cellulaires végétales. Ensuite, les membranes cellulaire sont détruites. Les membranes cellulaires sont faites de protéines et de graisses. Tout comme un détergent dissout les matières grasses dans une poêle, un peu de détergent dissout les membranes cellulaires. Le processus de rupture de membrane de cellule est appelée lyse cellulaire. Pour cette procédure, les élèves devront utiliser un bain d'eau chaude et une solution à base de détergent pour dissoudre les membranes cellulaires. Comme les membranes n'existent p lus, le contenu des cellules va s'écouler, formant une soupe d'ADN, d'autres acides nucléiques, les fragments de membranes, les protéines et d'autres matières. Il n'ya pas besoin de préparer de l'ADN très pur, car le but est tout simplement de voir. L'ADN isolé par les élèves est impur, contient des protéines cellulaires et d'autres débris. Pour faire apparaître l'ADN, les élèves devront ajouter de solution de précipitation à base d'alcool. Parce que l'ADN est insoluble dans l'alcool, il va précipiter, formant des filaments qui ressemblent à un nuage blanc. L'ADN peut alors être enroulés sur une tige en bois et analysé de plus près. → C'est ce qu'on appelle "spooling de l'ADN".

Procédure de laboratoire

1. Hacher grossièrement l'oignon et le mettre dans un mixer.
2. Ajouter 60 ml d'eau.
3. Mixer 30 s sur vitesse lente pour débiter le hachage.
4. Mixer 10 s pour liquéfier. Arrêter et vérifier l'état de la mixture
5. Répéter l'étape 4 deux fois. Oignon devrait maintenant être liquéfié.
6. Mettre 7 ml d'un mélange d'oignons dans le tube contenant déjà 7 ml de la Solution de lyse cellulaire; mélanger en retournant le tube plusieurs fois. **Ne pas agiter.**
7. Place à 60 ~ 65 ° C. Bain marie 15 minutes.
8. Place filtre dans 50 ml du tube. Filtrer le mélange.
Laisser le matériel filtré (filtrat) au goutte-à-goutte dans le tube.
9. Placer une couche de solution de précipitation à la surface du filtrat.

Attention: l'ADN ne pas mélanger, tenir le tube incliné et laisser couler la solution de précipitation sur la paroi pour qu'elle vienne recouvrir le filtrat sans s'y mélanger..
10. Les filaments d'ADN vont apparaître à l'interface des deux solutions qui maintenant compose le filtrat.
11. Utilisez la baguette pour récupérer le filament d'ADN. Tourner la baguette pour enrouler les filaments et faite un va et vient entre les deux couches du filtrat sans pour autant les mélanger.

PIERRON Éducation – 2, rue Gutenberg – BP80609 – 57206 SARREGUEMINES CEDEX

Tél. 0 825 37 38 39 – Fax 03 87 98 45 91

Courriel : EDUCATION-France@pierron.fr – Internet : <http://www.pierron.com>