



Génétique

Kits

Réf :
117 029

Kit précipitation d'ADN (25 tests)

Français – p 1

Version : 2210

1. Composition

- 25 ml d'ADN (de saumon) à 1mg/mL (tampon Tris-HCl 0,010 M, pH 8,0 en présence d'EDTA 0,001M).
- 25 d'acétate de Sodium (3 M pH 5,2).

Le kit de précipitation et de coloration de l'ADN (proposé sous la référence 117 075) est livré avec en supplément : - Colorant vert de méthyle acétique 125 mL

2. Précautions d'utilisation et de stockage

Format : 25 tests

Durée du TP : 45 min

Durée de conservation : 4 mois

Condition de stockage : -20 °C

3. Matériel complémentaire à prévoir

- Isopropanol (1L) ou Ethanol (95-100%) (1L)
- Tubes à essais
- Pipettes 1mL
- Pipettes 2 mL
- Pipeteur 0-2 mL
- Agitateurs en verre
- Boîtes de Pétri

4. Introduction

L'acide désoxyribonucléique, appelé communément ADN, est une longue molécule en double hélice qui contient l'information génétique. L'ADN se trouve principalement dans les chromosomes du noyau des cellules ou sous forme de brin enroulé dans les bactéries sans noyau. Si vous déroulez tout l'ADN d'une seule cellule humaine, le filament qui sera invisible à l'œil nu mesurera environ 1 mètre 50.

Une molécule d'ADN n'existe pas chez l'humain comme une « corde détendue » mais la molécule est serrée et enroulée comme le serait un cordon de téléphone très long qui n'aurait pas été déroulé depuis plusieurs années. Les agrégats épais d'ADN que sont les chromosomes peuvent être observés avec un microscope très puissant.

L'ADN est une molécule en double brin. Chaque brin d'ADN est composé d'une combinaison des quatre nucléotides, chaque nucléotide comporte une base purique ou pyrimidique (adénine, guanine, cytosine ou thymidine) associée avec un sucre désoxyribose et un groupement phosphate. Chacune des bases d'un des brins peut former une liaison faible de type « hydrogène » avec la base complémentaire de l'autre brin (ou même éventuellement avec une base complémentaire du même brin). L'ensemble des associations par « paires de bases » complémentaires confère la structure en double hélice de la molécule d'ADN. Sa forme enroulée est si complexe et sensible que si elle était altérée ou déroulée, elle ne fonctionnerait plus normalement dans les cellules.

L'enchaînement des bases dans une molécule d'ADN de tout organisme est un code pour la synthèse d'une des molécules de l'organisme, chacune de l'ensemble de ces molécules ayant son code. Ainsi, plus l'organisme est complexe, plus l'ADN sera long car il devra coder pour de nombreuses molécules. Par exemple, la longueur d'un ADN de virus pourra être de 3000 paires de bases, celui d'une bactérie : 3 millions de paires de bases, alors qu'un ADN de cellule humaine mesurera de 3 à 5 milliards de paires de bases.

5. Présentation

Extraire l'ADN des cellules n'est jamais facile. Les parois des cellules et membranes de noyaux peuvent être lysées et l'ADN dissous dans un solvant. L'ADN doit ensuite être séparé des débris cellulaires, substructures ou autres molécules. Les cellules contiennent également une grande variété d'enzymes appelées nucléases qui peuvent attaquer ou détruire les acides nucléiques. L'ADN doit donc être protégé de ces nucléases au cours de sa purification.

Ce processus d'isolation est long pour la durée habituelle de travaux pratiques. Ce kit vous permet de mettre en évidence la dernière étape d'isolation de l'ADN et d'observer avec succès une macromolécule sans la frustration des difficultés des étapes antérieures. L'addition d'alcool à une solution d'ADN va la précipiter et vous permettre d'en retirer les brins avec une baguette en verre. Une seule molécule d'ADN n'est pas visible en elle-même mais vous aurez la possibilité d'en observer les brins agrégés.

La manipulation de condensation et de mise en évidence d'une coloration de l'ADN pur pourra être complétée par une extraction et coloration d'ADN végétal (kiwi, chou-fleur...) La comparaison des résultats obtenus et l'affirmation de la spécificité de la coloration au vert de méthyl, permettront de définir la nature du composant extrait.

6. Protocole expérimental

6.1 Précipitation de l'ADN

- Equilibrer les solutions d'ADN et d'Acétate de Sodium à une température de 25 °C.
- Prélever 1 mL de la solution d'ADN dans un tube à essai.
- Ajouter lentement en laissant couler le long de la paroi, 1mL de la solution d'Acétate de Sodium à l'ADN en agitant légèrement. Mélanger doucement à l'agitateur.
- Ajouter lentement 2 mL d'Isopropanol (ou 4 mL d'Ethanol) et observer la formation d'une couche.
- Avec une baguette de verre ou une pipette, mélanger doucement les phases aqueuses et organiques. L'ADN va commencer à précipiter. Enrouler doucement l'ADN autour de la baguette de verre.
- Retirer doucement l'ADN et le placer dans une boîte de pétri ou tout autre surface plane. Le laisser sécher. L'ADN isolé est ainsi prêt pour être, soit coloré, soit observé sous un microscope.

6.2 Coloration au vert de méthyl acétique

Le vert de méthyl acétique est livré avec le kit de référence 117075.

- Placer la méduse d'ADN récupérée dans un verre de montre,
- L'immerger délicatement à l'aide d'une pipette dans le vert de méthyl acétique.
- Laisser colorer 5 à 10 minutes.
- Aspirer le colorant et rincer très délicatement à l'eau distillée en évitant les jets violents.
- Observer au microscope ou remettre délicatement en suspension.

7. Service après-vente

Pour tous réglages, contacter le **Support Technique** au **09 69 32 02 10** (**prix d'un appel local, non surtaxé**).

Le matériel doit être retourné dans nos ateliers et pour toutes les réparations ou pièces détachées, veuillez contacter :

JEULIN – S.A.V.
468 rue Jacques Monod
CS 21900
27019 EVREUX CEDEX France

09 69 32 02 10*

** prix d'un appel local, non surtaxé*