



**ATTENTION LA SOLUTION A (SOLUTION D'ADN) DOIT-ETRE IMMEDIATEMENT PLACEE ET CONSERVEE AU CONGELATEUR A -20°C DES LA RECEPTION DU KIT**

## 1. Quelques rappels théoriques :

La molécule d'ADN (acide désoxyribonucléique) se présente sous la forme d'une double hélice, elle contient l'information génétique. Le noyau des cellules renferment dans la plupart des cas la totalité de l'ADN sous forme de chromosomes. Sinon dans les cellules procaryotes (sans noyau) l'ADN peut exister sous forme de plasmide ou sous forme d'un simple brin linéaire ou sous bien d'autres formes encore... L'ADN est une macromolécule. Une seule de ces macromolécules une fois déroulée mesurerait près de 1,50 mètres.

Les chromosomes sont constitués de molécules d'ADN agrégées entres elles et peuvent-être observés avec des microscopes très puissant. L'ADN est une macromolécule double brin, chaque brin étant constitué d'un enchainement de quatre nucléotides. Les nucléotides sont constitués d'une base purique ou pyrimidique associée à un sucre désoxyribose et à un groupement phosphate. Les quatre bases sont : l'adénine, la thymine, la guanine et la cytosine. Ces bases possèdent des complémentarités entre elle. L'adénine est associée avec la thymine, la cytosine avec la guanine. Les bases complémentaires sont liées par des liaisons hydrogènes. L'association des bases par les liaisons faibles hydrogènes engendre la structure en double hélice de l'ADN.

La molécule d'ADN est donc un enchainement de pb (paires de bases). C'est cet enchainement de pb qui constitue notre génome. Plus le nombre de pb est grand et plus le génome appartient à un organisme complexe. A titre d'exemple : 3000 pb pour un virus, 3 millions pour une bactérie et 3 à 5 milliards pour une cellule humaine.

## 2. Présentation :

L'extraction d'ADN est une opération qui peut s'avérer difficile, en effet l'ADN est protégé par la membrane cellulaire et par le noyau, il faut donc les lyser à l'aide de solvants pour l'atteindre. Ensuite il faut extraire l'ADN des débris cellulaires sans qu'il soit dénaturé et dégradé par les enzymes telles que les nucléases présentes dans les cellules. Cette opération peut nécessiter plus de temps que celui impartit lors séances de travaux pratiques. Ce kit vous permet donc de réaliser uniquement l'étape finale qui est la précipitation de l'ADN à partir d'un ADN pur et non dénaturé.

### 3. Composition du kit :

#### **Kit prévu pour 10 binômes:**


- Ampoules d'1ml d'ADN de saumon en solution (solution A) 10
- Ampoules d'1ml d'acétate de sodium (solution B) 10
- Ampoules de 2 ml d'isopropanol 10
- Ampoule compte-goutte de 10 ml de vert de méthyle 1

### 4. Matériel requis par binôme :

- Tubes à essai 16 x 160 mm 1
- Pipette Pasteur ou fine tige de verre 1
- Verre de montre 1
- Paire de gants vinyle ou latex 1
- Lunettes de protection 1

### 5. précautions d'utilisation et sécurité :

#### **1- Conservation :**

 Attention : le kit se conserve au congélateur à -20°C. Il est conseillé de l'utiliser dans les 12 mois suivant la réception.

#### **2- Mise en garde :**

La Société Sciencéthic ne pourra être tenue pour responsable en cas d'accident survenu lors d'une utilisation du kit de précipitation de l'ADN dans d'autres conditions que celles prévues par cette notice. De même, notre Société ne pourra être tenue comme responsable en cas d'accident survenu en raison de non-respect des consignes relatives à la sécurité décrites dans la présente notice.

#### **3- Etiquetage et Fiche de Donnée de Sécurité :**

Les ampoules sont étiquetées conformément à la réglementation en vigueur (règlement CLP). Avant de commencer les manipulations faire lire les étiquettes aux élèves afin qu'ils évaluent les risques que présente la manipulation et qu'ils se munissent des équipements de protection requis. Les Fiches de Données de Sécurité peuvent-être obtenues par simple demande auprès de Sciencéthic.

#### **4- Protection individuelle :**

Ce kit a été conçu avec pour objectif de minimiser les risques liés à l'utilisation du produit.

 **ATTENTION : risque de projection lors de l'ouverture de l'ampoule. Afin d'éviter tout contact du produit avec les yeux et la peau porter des lunettes de sécurité et des gants lors de l'ouverture des ampoules.**

**Nous vous conseillons même de porter les lunettes et les gants pendant toute la durée de la manipulation.**

## 6. Protection collective :

Aucune protection collective n'est requise.

### 1. Protocole expérimental :

Procédure pour vider les ampoules :

Les ampoules étant très peu remplies (1 et 2 ml), il est nécessaire de suivre cette procédure avec soin afin de vider l'ampoule au mieux et récupérer le maximum de produit.



① Tapoter le haut de l'ampoule tant que tout le liquide ne se trouve pas au fond de l'ampoule.



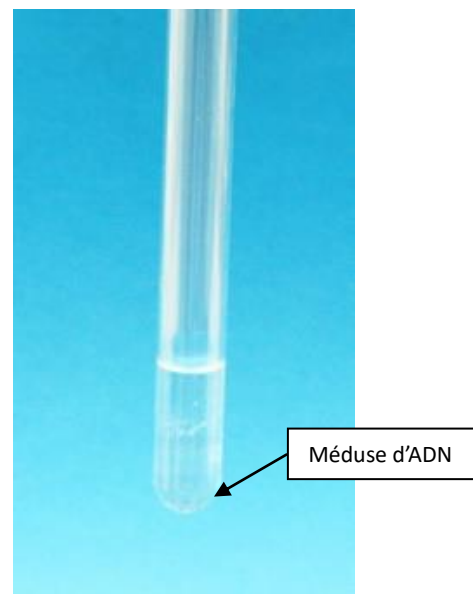
② Verser doucement le contenu de l'ampoule le long de la paroi du tube.



③ Tapoter le fond de l'ampoule pour faire tomber tout le liquide dans le tube.

## 2. Précipitation de l'ADN :

- Equilibrer les solutions d'acétate de sodium et d'ADN à une température de 25°C avec un dispositif de chauffage thermostaté type bain-marie.
- Vider le contenu de l'ampoule d'ADN dans le tube à essai.
- Vider doucement l'ampoule d'acétate le long de la paroi.
- Mélanger doucement à l'aide d'une tige de verre ou d'une pipette pasteur.
- Ajouter lentement les 2 ml de l'ampoule d'isopropanol en faisant couler la solution le long de la paroi et observer la formation d'une couche.
- Avec une pipette pasteur ou une tige de verre mélanger doucement la phase aqueuse et la phase organique, l'ADN commence à précipiter. C'est ce précipité qui est communément appelé méduse d'ADN.
- Enrouler la méduse doucement autour de la baguette de verre.
- Retirer doucement l'ADN et le placez dans une boîte de Pétri ou toute autre surface plane.
- Laisser sécher l'ADN.
- Une fois isolé il peut être soit coloré, soit observé au microscope.



## 3. Coloration au vert de méthyle :

- Placer la méduse récupérée dans un verre de montre.
- L'immerger délicatement dans du vert de méthyle à l'aide du compte-goutte de l'ampoule.
- Laisser colorer 5 à 10 minutes.
- Aspirer le colorant avec une pipette pasteur en plastique et rincez délicatement à l'eau distillée en évitant les jets violents.
- Observer au microscope ou remettre délicatement en suspension.

7. Nous contacter :

Ce matériel est garanti 2 ans. Pour toutes questions, veuillez contacter :

**sav@sciencethic.com**

**[www.sciencethic.com](http://www.sciencethic.com)**