

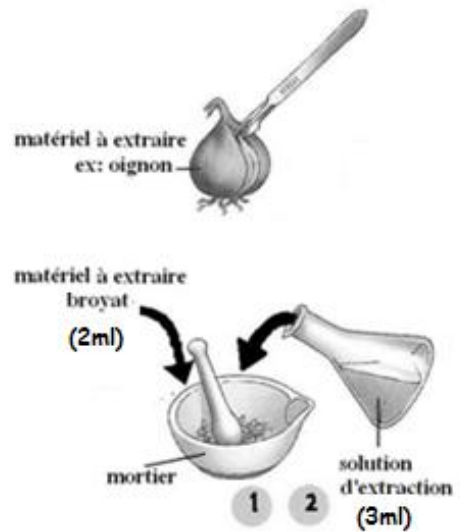
## PROTOCOLE D'EXTRACTION DE L'ADN.

Le matériel à extraire a préalablement été broyé.

1. Placer dans le mortier :
  - 2ml de matériel à extraire
  - 3 ml de solution d'extraction
2. Laisser agir **pendant 5 minutes** en mélangeant délicatement la préparation.
3. Filtrer la préparation en utilisant l'entonnoir où le papier filtre aura été positionné et récupérer le filtrat dans le tube à essai.
4. Incliner légèrement le tube à essai et verser délicatement, le long de la paroi 5ml d'éthanol glacé.
5. Observer l'apparition de filaments blancs qui se regroupent et remontent à la surface (méduse d'ADN).

**Si la méduse se colore en vert, alors cela signifie qu'elle est composée d'ADN.**

Remarque : solution d'extraction = 3g de gros sel+ 10mL de liquide vaisselle+ 50mL d'eau distillée.



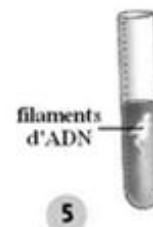
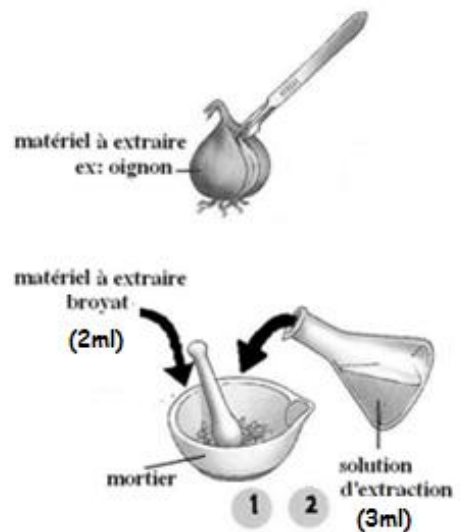
## PROTOCOLE D'EXTRACTION DE L'ADN.

Le matériel à extraire a préalablement été broyé.

1. Placer dans le mortier :
  - 2ml de matériel à extraire
  - 3 ml de solution d'extraction
2. Laisser agir **pendant 5 minutes** en mélangeant délicatement la préparation.
3. Filtrer la préparation en utilisant l'entonnoir où le papier filtre aura été positionné et récupérer le filtrat dans le tube à essai.
4. Incliner légèrement le tube à essai et verser délicatement, le long de la paroi, 5ml d'éthanol glacé.
5. Observer l'apparition de filaments blancs qui se regroupent et remontent à la surface (méduse d'ADN).
6. Récupérer la méduse dans le verre à montre et ajouter une goutte de vert de méthyle.

**Si la méduse se colore en vert, alors cela signifie qu'elle est composée d'ADN.**

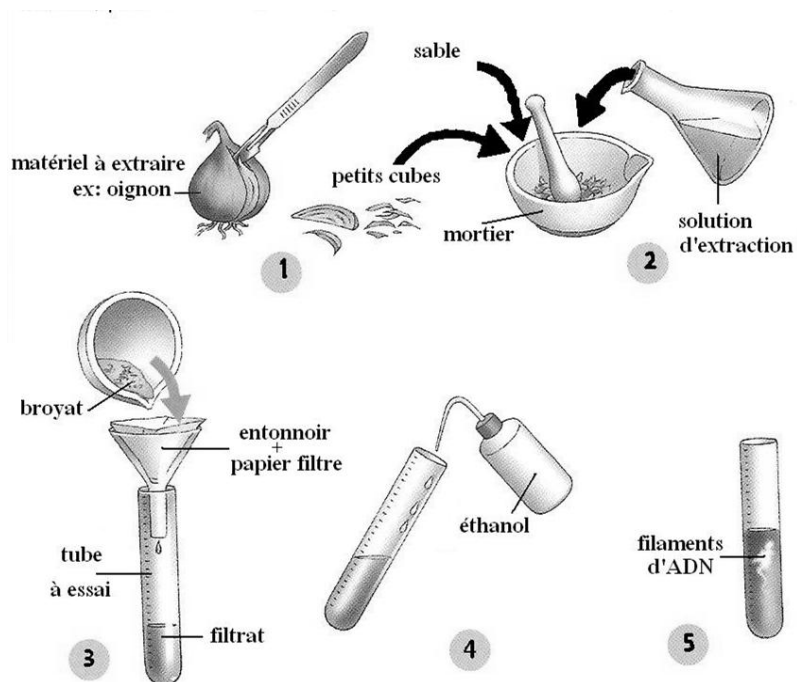
Remarque : solution d'extraction = 3g de gros sel+ 10mL de liquide vaisselle+ 50mL d'eau distillée.



## Extraction de L'ADN ( Acide Désoxyribonucléique ) :

### Matériel :

- 1 morceau de matière à extraire.
- 1 mortier
- sable
- solution d'extraction (3g de gros sel, 10 mL de liquide vaisselle, 50mL d'eau distillée)
- papier filtre
- entonnoir
- tube à essai
- éthanol



### Protocole expérimental :

1. Couper le morceau de matière à extraire en petits cubes.
2. Broyer finement les petits cubes dans le mortier en y ajoutant 10mL de solution d'extraction et une pincée de sable.
3. Filtrer le broyat en utilisant l'entonnoir où le papier filtre aura été positionner et récupérer le filtrat dans le tube à essai.
4. Incliner légèrement le tube à essai et versez délicatement et progressivement, le long de la paroi, 10 mL d'éthanol.
5. Observer l'apparition de filaments blanc qui se regroupent et remontent à la surface (méduse d'ADN)

## Observation de la mitose sur les racines de l'oignon.

- Matériel :**
- Oignons/ail/échalotes/oignons en botte.
  - Bécher
  - Ciseaux
  - Scalpel
  - 2 Verres de montre
  - Gants
  - Lames
  - Lamelles
  - Papier absorbant.

Solution 1 = acide chlorhydrique (concentration 1M)

Solution 2 = Orcéine

Solution 3 = acide acétique (concentration de 45%)

**Quelques jours à 1 semaine avant le TP :** Mettre les racines des oignons dans un bécher contenant de l'eau (seules les racines trempent dans l'eau).

- Pour chaque groupe d'élèves :**
- 2 verres de montre
  - 1 scalpel
  - 1 pince
  - Des lames et des lamelles
  - 2 paires de gants
  - Papier absorbant

# OBSERVATION DES CHROMOSOMES DANS LES CELLULES DES RACINES D'OIGNONS.

## **1. Découper des racines d'oignons :**

- Couper les jeunes racines des oignons avec des ciseaux. Les racines en croissance se repèrent par la présence à leur extrémité d'une petite tache : le méristème.
- Placer les racines dans un verre de montre.
- Couper les 5 derniers mm de la racine, comprenant le méristème, avec un scalpel.
- Eliminer le reste de la racine.

## **2. Coloration de l'échantillon :**

- Verser 1 à 2 gouttes de la « solution 1 » dans le verre de montre contenant les racines.
- Laisser tremper les racines dans cette « solution 1 » pendant 5 minutes.
- Sortir les racines de cette solution à l'aide d'une pince.
- Egoutter sur du papier absorbant.
- Placer ces racines dans le 2<sup>ème</sup> verre de montre.
- Ajouter 1 à 2 gouttes de la « solution 2 ».
- Laisser tremper les racines dans cette « solution 2 » pendant 20 minutes.
- Sortir les racines de cette solution à l'aide d'une pince.
- Egoutter sur du papier absorbant.

## **3. Montage des racines colorées :**

- Déposer les racines sur la lame à l'aide de la pince. On peut placer jusqu'à 3 racines par lame.
- Déposer une goutte de la « solution 3 » sur les racines.
- Déposer la lamelle sur la préparation.
- Ecraser doucement la lamelle contre les racines du bout de l'ongle en étirant la racine de manière à obtenir un échantillon assez fin.

## **4. Observation :**

- Placer la lame sous le microscope.
- Utiliser l'objectif x10 pour sélectionner une extrémité de racine bien nette.
- Faire la mise au point afin de voir les noyaux marqués en rose.
- Passer à l'objectif x40 et observer les différents aspects des chromosomes.

# OBSERVATION DES CHROMOSOMES DANS LES CELLULES DES RACINES D'OIGNONS.

## **5. Découper des racines d'oignons :**

- Couper les jeunes racines des oignons avec des ciseaux. Les racines en croissance se repèrent par la présence à leur extrémité d'une petite tache : le méristème.
- Placer les racines dans un verre de montre.
- Couper les 5 derniers mm de la racine, comprenant le méristème, avec un scalpel.
- Eliminer le reste de la racine.

## **6. Coloration de l'échantillon :**

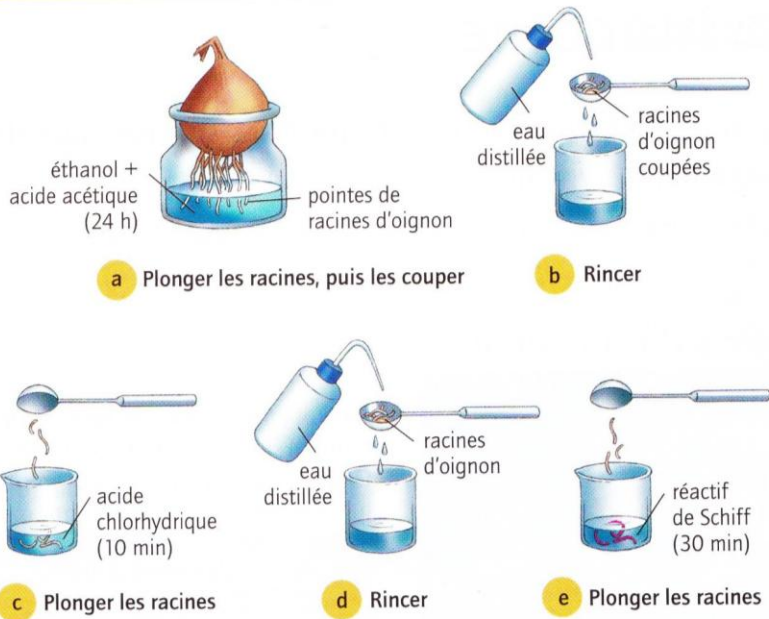
- Verser 1 à 2 gouttes de la « solution 1 » dans le verre de montre contenant les racines.
- Laisser tremper les racines dans cette « solution 1 » pendant 5 minutes.
- Sortir les racines de cette solution à l'aide d'une pince.
- Egoutter sur du papier absorbant.
- Placer ces racines dans le 2<sup>ème</sup> verre de montre.
- Ajouter 1 à 2 gouttes de la « solution 2 ».
- Laisser tremper les racines dans cette « solution 2 » pendant 20 minutes.
- Sortir les racines de cette solution à l'aide d'une pince.
- Egoutter sur du papier absorbant.

## **7. Montage des racines colorées :**

- Déposer les racines sur la lame à l'aide de la pince. On peut placer jusqu'à 3 racines par lame.
- Déposer une goutte de la « solution 3 » sur les racines.
- Déposer la lamelle sur la préparation.
- Ecraser doucement la lamelle contre les racines du bout de l'ongle en étirant la racine de manière à obtenir un échantillon assez fin.

## **8. Observation :**

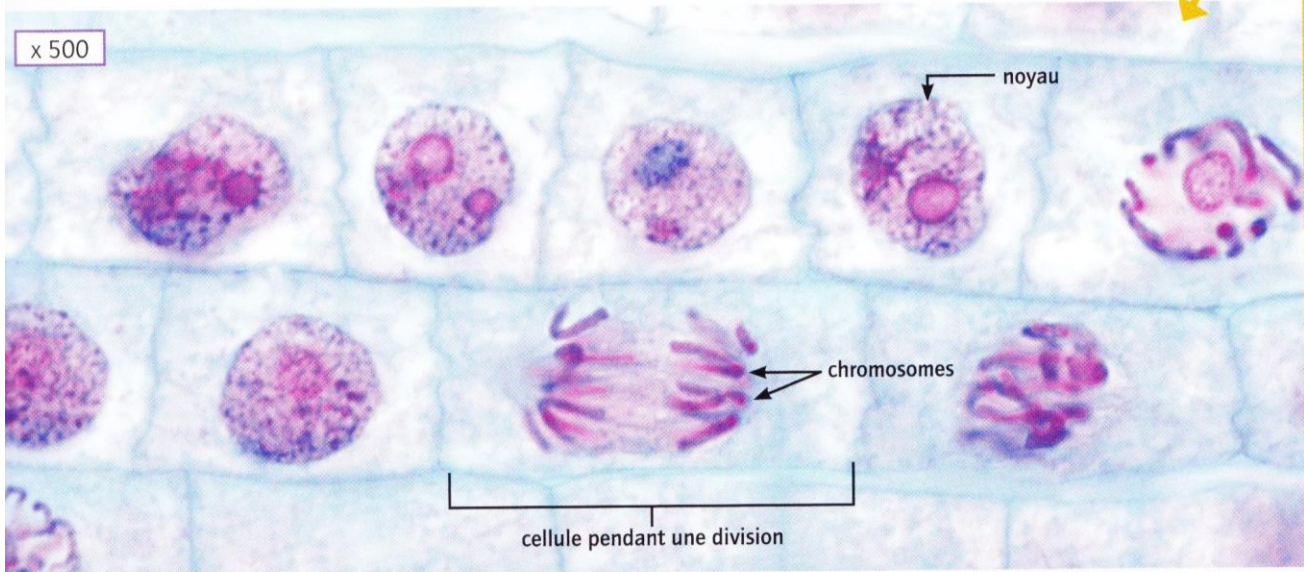
- Placer la lame sous le microscope.
- Utiliser l'objectif x10 pour sélectionner une extrémité de racine bien nette.
- Faire la mise au point afin de voir les noyaux marqués en rose.
- Passer à l'objectif x40 et observer les différents aspects des chromosomes.



### Je réalise une préparation microscopique

- 1 Déposez, au centre d'une lame, une goutte d'acide acétique dilué.
- 2 Posez au centre de la goutte une racine d'oignon colorée par la technique de Feulgen [doc. 4].
- 3 Recouvrez la préparation d'une lamelle.
- 4 Observez au microscope [doc. 5].

**4** Les étapes de coloration du contenu des noyaux de cellules. Cette technique, dite de Feulgen, colore spécifiquement des constituants du noyau, appelés chromosomes.



**5** Des cellules de racines d'oignon observées au microscope après coloration par la technique de Feulgen (doc. 4). Les chromosomes sont visibles au moment où la cellule se divise. Ils contiennent l'information génétique de chaque cellule.