

## Activité 64 : Extraction et coloration de l'ADN de cellules végétales

### 1. EXTRAITS REFERENTIELS DU BO

**Partie :** Diversité et unité des êtres vivants

<u>Connaissances</u>	<u>Capacités déclinées dans une situation d'apprentissage</u>	<u>Exemples d'activités</u>
<p>Les chromosomes présents dans le noyau sont le support du programme génétique. Chaque cellule d'un individu de l'espèce humaine possède 23 paires de chromosomes ; l'une d'elle présente des caractéristiques différentes selon le sexe.</p> <p>Un nombre anormal de chromosomes empêche le développement de l'embryon ou entraîne des caractères différents chez l'individu concerné.</p> <p>Chaque chromosome est constitué d'ADN.</p> <p>L'ADN est une molécule qui peut se pelotonner lors de la division cellulaire, ce qui rend visibles les chromosomes.</p>	<p>Pratiquer une démarche scientifique : observer, questionner, argumenter afin de localiser le programme génétique.</p> <p>Manipuler :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-réaliser une observation microscopique au fort grossissement de cellules montrant des chromosomes.</li> <li>-Mettre en œuvre un protocole afin d'extraire et de colorer de l'ADN des cellules végétales.</li> <li>Respecter les consignes de fiches techniques [Compétence 7]</li> </ul>	<p>Observation microscopique de cellules montrant des chromosomes.</p> <p>Etude de caryotypes permettant la mise en relation de la nature des chromosomes sexuels avec le sexe d'un individu.</p> <p>Etude de caryotype permettant la mise en relation des caractères différents d'un individu avec un caryotype présentant des anomalies chromosomiques.</p> <p>Observation microscopique de cellules colorées au réactif de Feulgen.</p> <p>Extraction et coloration au réactif de Feulgen de l'ADN dans des cellules végétales.</p>

## EXTRAITS REFERENTIELS DU BO

<u>Connaissances</u>	<u>Capacités déclinées dans une situation d'apprentissage</u>	<u>Commentaires</u>
<p>Les chromosomes présents dans le noyau sont le support du programme génétique. Chaque cellule d'un individu de l'espèce humaine possède 23 paires de chromosomes ; l'une d'elle présente des caractéristiques différentes selon le sexe. Un nombre anormal de chromosomes empêche le développement de l'embryon ou entraîne des caractères différents chez l'individu concerné.</p> <p>Chaque chromosome est constitué d'ADN.</p> <p>L'ADN est une molécule qui peut se pelotonner lors de la division cellulaire, ce qui rend visibles les chromosomes.</p>	<p>Formuler des hypothèses quant à la localisation de l'information génétique.</p> <p>Valider ou invalider ces hypothèses à partir de résultats d'expériences.</p> <p>Effectuer un geste technique en réalisant une observation microscopique au fort grossissement de cellules montrant des chromosomes.</p> <p>Suivre un protocole d'extraction et de coloration de l'ADN des cellules végétales.</p>	<p>Sont exclus :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-les termes suivants : autosome, gonosome, duplication, mitose, méiose, chromatine, chromatide ;</li> <li>-la connaissance des étapes de la mitose, de la méiose ;</li> <li>-l'écriture de la formule chromosomique ;</li> <li>-</li> <li>-</li> <li>-La structure de la molécule d'ADN</li> <li>.....</li> </ul>

## 2. PRESENTATION DE L'ACTIVITE

- **Objectifs de connaissances :**  
L'ADN est une substance que l'on peut extraire du noyau de cellules diverses (universalité de l'ADN)
- **Objectifs méthodologiques et/ou technologiques :**  
Manipuler  
Suivre et comprendre un protocole

- **Liste du matériel :**

- **Matériel biologique** : Oignons ou pommes de chou-fleur
- **Verrerie (par paillasse) : Références PIERRON**
  - Mortier et pilon **Réf. 00115**
  - Verre de montre **Réf. 06648**
  - Tube à essais **Réf. 08669**
  - Portoir **Réf. 00022**
  - Entonnoir **Réf. 06814**
  - Pissette **Réf. 06755** destinée à recevoir de l'éthanol
  - Flacon compte-gouttes renfermant le liquide vaisselle **Réf. 06840**
  - Flacon **Réf. 06596** avec vert de méthyle
  - Pipette compte-goutte pour prélèvement du vert de méthyle **Réf. 06731**
  - Agitateur **Réf. 06500**
  - Scalpel **Réf. 00644**
  - Verre de montre destiné à recevoir du gros sel **Réf. 06649**
- **Produits chimiques : Références PIERRON**
  - Eau distillée **Réf. 01372980**
  - Ethanol **Réf. 01382980**
  - Vert de méthyle éthanoïque **Réf. 01939125**
  - Liquide vaisselle
  - Gros sel de cuisine
  - Des compresses de gaze hydrophile

- **Intégration pédagogique**

L'extraction de l'ADN de cellules végétales et sa coloration au vert de méthyle n'a d'intérêt et ne prennent vraiment de sens que si elles sont associées et comparées à l'observation microscopique de cellules dont le noyau (et/ou les chromosomes) est également coloré au vert de méthyle.

L'enseignement des sciences expérimentales met fortement l'accent sur les manipulations. Les élèves ont ici la possibilité de suivre un protocole expérimental, de respecter rigoureusement des consignes à partir d'une fiche technique (contribution à l'apprentissage de l'autonomie). Cette manipulation participe à l'acquisition progressive, par les élèves, de capacités expérimentales. Elle permet de développer des habiletés manuelles. Une évaluation est possible mais elle suppose la constitution de binômes.

Mais il faut veiller à ce qu'ils ne se limitent pas à appliquer une « recette de cuisine » ; ils doivent réfléchir à la signification des différentes étapes du protocole. Le questionnaire associé permet de faire le lien entre les gestes effectués et leurs conséquences ; les connaissances des élèves sont mobilisées.

Les élèves appréhendent un nouveau niveau d'organisation du vivant : ils travaillent à l'échelle moléculaire. Un des grands intérêts de cette manipulation est de rendre concret, pour des élèves de collège, ce niveau.

De plus, l'extraction et la coloration de l'ADN peuvent être réalisés à partir de matériels végétaux diversifiés, au cours de la même séance, par des binômes d'élèves différents ; cela illustre l'universalité de l'ADN.

Nom : Prénom : Classe : Date :	Évaluation expérimentale de S.V.T.
---	------------------------------------

## Activité 64 : Extraction et coloration de l'ADN de cellules végétales

### PARTIE I : REALISER UNE MANIPULATION

**Protocole expérimental**, (à lire attentivement avant de commencer à manipuler !)

#### **Etape 1 :**

Peler l'oignon, retirer les écailles externes sèches ; couper ensuite l'oignon en petits morceaux à l'aide du scalpel et les placer dans le mortier avec 10 ml d'eau distillée.

Ou découper les extrémités des pommes de chou fleur en petits morceaux et les placer dans le mortier avec 10 ml d'eau distillée.

Ajouter la valeur d'une petite cuillère de gros sel de cuisine et broyer avec le pilon jusqu'à obtenir un mélange homogène. Le sel facilite le broyage et augmente la dissolution de l'ADN.

Avec la pipette compte-gouttes, ajouter alors quelques gouttes de liquide vaisselle et bien mélanger (toujours avec le pilon). Le liquide vaisselle contient des substances qui détruisent les membranes des structures cellulaires.

#### **Etape 2 :**

Placer 2 compresses de gaze dans l'entonnoir ; verser le broyat pâteux obtenu et filtrer de façon à recueillir 1 à 2 ml de liquide (appelé filtrat) dans le tube à essais. Si nécessaire, refermer les compresses et presser doucement afin de faciliter la filtration.

#### **Etape 3 :**

Dans le tube à essais, ajouter à ce volume de filtrat de l'alcool (éthanol, environ deux fois le volume de filtrat). Attention, cette opération est délicate : il faut faire couler lentement l'éthanol en appliquant le bec de la pissette le long de la paroi du tube et en appuyant doucement. Ne pas agiter violemment le tube.

Au bout de quelques dizaines de secondes, une pelote blanche nacré apparaît dans l'éthanol ; les biochimistes l'appellent la « méduse ». C'est l'ADN qui précipite dans l'alcool.

**Etape 4 :**

En l'enroulant autour de l'agitateur, récupérer délicatement la méduse d'ADN et la placer dans le verre de montre. Prélever avec la pipette du vert de méthyle dans le flacon correspondant, ajouter quelques gouttes de vert de méthyle, colorant spécifique de l'ADN, sur la « méduse ». Au bout d'une minute, ajouter de l'eau dans le verre de montre pour enlever le colorant et observer.

**PARTIE II / COMPRENDRE LA MANIPULATION**

1. Les écailles de l'oignon ou les extrémités de pomme de chou-fleur sont constituées de cellules.

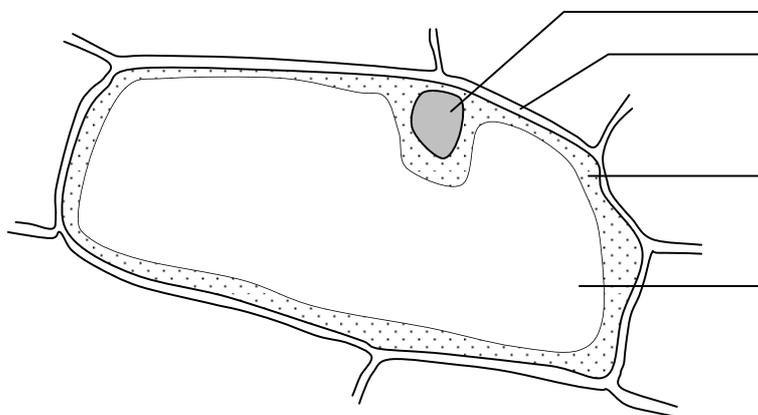
a) Quelles sont les conséquences du broyage en présence de sel, opéré au cours de la première étape ?

.....  
...

b) Que permet l'addition du liquide vaisselle ? Quelle est la structure cellulaire particulière détruite par l'addition du liquide vaisselle.

.....  
.....

c) Annote le schéma de la cellule végétale et repasse en rouge les structures désorganisées par le traitement effectué au cours de la première étape.



2. Le filtrat obtenu à l'issue de l'étape 2 contient des molécules d'ADN. Cet ADN forme la « méduse » après addition d'éthanol dans le filtrat. Réponds, en argumentant, aux questions suivantes :

a) L'ADN est-il soluble ou insoluble dans l'eau salée ?

.....  
.....

b) L'ADN est-il soluble ou insoluble dans l'alcool ?

.....  
.....

3. La « méduse » d'ADN est colorée en vert par le vert de méthyle. Relie ce constat avec les observations microscopiques réalisées lors de la séance de travaux pratiques précédente et déduis la localisation de l'ADN dans la cellule.

.....  
...  
.....  
...

4. Quel est l'intérêt de réaliser cette manipulation à partir de plusieurs tissus végétaux ?

.....  
.....

FICHE ELEVE CORRIGEE

Nom : Prénom : Classe : Date :	Évaluation expérimentale de S.V.T.
---	------------------------------------

## Activité 64 : Extraction et coloration de l'ADN de cellules végétales

### PARTIE I : REALISER UNE MANIPULATION

**Protocole expérimental**, (à lire attentivement avant de commencer à manipuler !)

#### **Etape 1 :**

Peler l'oignon, retirer les écailles externes sèches ; couper ensuite l'oignon en petits morceaux à l'aide du scalpel et les placer dans le mortier avec 10ml d'eau distillée.

Ou découper les extrémités des pommes de chou fleur en petits morceaux et les placer dans le mortier avec 10ml d'eau distillée.

Ajouter la valeur d'une petite cuillère de gros sel de cuisine et broyer avec le pilon jusqu'à obtenir un mélange homogène. Le sel facilite le broyage et augmente la dissolution de l'ADN.

Avec la pipette compte-goutte, ajouter alors quelques gouttes de liquide vaisselle et bien mélanger (toujours avec le pilon). Le liquide vaisselle contient des substances qui détruisent les membranes des structures cellulaires.

#### **Etape 2 :**

Placer 2 compresses de gaze dans l'entonnoir ; verser le broyat pâteux obtenu et filtrer de façon à recueillir 1 à 2 ml de liquide (appelé filtrat) dans le tube à essais. Si nécessaire : refermer les compresses et presser doucement afin de faciliter la filtration.

#### **Etape 3 :**

Dans le tube à essais, ajouter à ce volume de filtrat de l'alcool (éthanol, environ deux fois le volume de filtrat). Attention, cette opération est délicate : il faut faire couler lentement l'éthanol en appliquant le bec de la pissette le long de la paroi du tube et en appuyant doucement. Ne pas agiter violemment le tube.

Au bout de quelques dizaines de secondes, une pelote blanche nacré apparaît dans l'éthanol ; les biochimistes l'appellent la « méduse ». C'est l'ADN qui précipite dans l'alcool.

#### Etape 4 :

En l'enroulant autour de l'agitateur, récupérer délicatement la méduse d'ADN et la placer dans le verre de montre. Prélever avec la pipette du vert de méthyle dans le flacon correspondant ; rajouter quelques gouttes de vert de méthyle, colorant spécifique de l'ADN, sur la « méduse ». Au bout d'une minute, ajouter de l'eau dans le verre de montre pour enlever le colorant et observer.

## PARTIE II / COMPRENDRE LA MANIPULATION

5. Les écailles de l'oignon ou les extrémités de pomme de chou-fleur sont constituées de cellules.

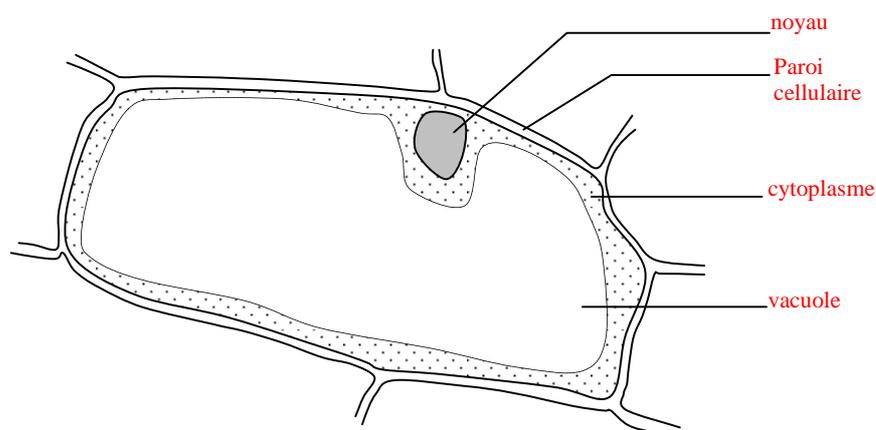
a) Quelles sont les conséquences du broyage en présence de sel, opéré au cours de la première étape ?

...**Désorganisation des tissus végétaux**

b) Que permet l'addition du liquide vaisselle ? Quelle est la structure cellulaire particulière détruite par l'addition du liquide vaisselle.

**Les membranes des structures cellulaires sont dissoutes par le liquide vaisselle. L'enveloppe du noyau de la cellule est détruite.**

c) Annote le schéma de la cellule végétale et repasse en rouge les structures désorganisées par le traitement effectué au cours de la première étape.



**Membranes cellulaires et noyau sont à colorer en rouge**

6. Le filtrat obtenu à l'issue de l'étape 2 contient des molécules d'ADN. Cet ADN forme la « méduse » après addition d'éthanol dans le filtrat. Réponds, en argumentant, aux questions suivantes :

a) L'ADN est-il soluble ou insoluble dans l'eau salée ?

L'ADN est soluble dans l'eau salée : le filtrat est limpide

b) L'ADN est-il soluble ou insoluble dans l'alcool ?

L'ADN est insoluble dans l'alcool : il précipite et on observe la « méduse »

7. La « méduse » d'ADN est colorée en vert par le vert de méthyle. Relie ce constat avec les observations microscopiques réalisées lors de la séance de travaux pratiques précédente et déduis la localisation de l'ADN dans la cellule.

La « méduse » d'ADN est colorée en vert par le vert de méthyle. Le noyau ou les chromosomes lorsque la cellule est en division sont également colorés en vert par ce colorant spécifique de l'ADN. L'ADN est donc une molécule présente dans le noyau et qui entre dans la constitution des chromosomes.

8. Quel est l'intérêt de réaliser cette manipulation à partir de plusieurs tissus végétaux ?

L'ADN est présent dans le noyau de toutes les cellules (universalité de l'ADN).

## Activité 64 : Extraction et coloration de l'ADN de cellules végétales

### PISTES D'EVALUATION

PARTIES	OBJECTIFS	BAREME
<b>I</b> Réaliser la manipulation /10 points	Respect du protocole, suivi des consignes données	<b>4</b>
	Utilisation maîtrisée du matériel, avec précaution, sans casse...	<b>3</b>
	Résultat correct : « méduse » colorée	<b>1,5</b>
	Organisation soignée de la paillasse	<b>1,5</b>
		<b><u>TOTAL</u> / 10</b>
<b>II</b> Comprendre la manipulation /10 points	Question 1	a b c
		<b>1</b> <b>1</b> <b>2</b>
	Question 2	a b
		<b>1</b> <b>1</b>
	Question 3	
Question 4		<b>2</b>
		<b><u>TOTAL</u> / 10</b>