

## Extraction de l'ADN

Michel DREYER, IA-IPR SVT  
d'après la proposition de Thomi SCHEUBER, Biovalley College Network  
([thomas.scheuber@edubs.ch](mailto:thomas.scheuber@edubs.ch))

Les protocoles donnés ci-dessous ne constituent pas une séance de travaux pratiques mais une activité à intégrer dans l'une d'entre elles. Par rapport aux pratiques en cours dans l'académie, depuis la parution de l'article des DNA sur ce sujet :

- on s'écarte de « la cuisine » et on donne du sens aux gestes effectués (on prépare les élèves à l'ECE)
- on introduit la rigueur scientifique souvent absente dans les autres protocoles (oignon, chou-fleur): à titre d'exemple le froid protège l'ADN car les enzymes sont inactivées à partir d'une certaine température (cf. les mammoths de Sibérie)
- on peut en profiter pour enrichir l'étude de la cellule en précisant que la membrane contient des lipides, que la cellule contient des protéines, que l'ADN est associé à des protéines,...
- prolongement : coloration avec le vert de méthyle.

**En conclusion, la richesse des protocoles proposés ouvre de nouvelles perspectives didactiques pour traiter cette partie du programme de la classe de seconde, dans le respect de votre liberté pédagogique.**

### Le matériel

- biologique : fruits, légumes, thymus de veau du commerce,
- produits chimiques :
  - sel de cuisine,
  - produit vaisselle,
  - enzymes : protéases contenues dans du jus d'ananas frais ou du produit de nettoyage des lentilles de contact ou de la lessive (vérifier la présence d'enzymes),
  - éthanol à 96 % réfrigéré (sur des glaçons),
- équipement : Becher, éprouvette graduée, spatule, cuillère, pissette, entonnoir, filtre à café, bain-marie à 50 °C, bec Bunsen, pipettes Pasteur

### Les deux types de protocoles

#### ▪ Avec les petits pois

*Pourquoi préférer le petit pois à l'oignon ? C'est le protocole d'extraction le plus courant, diffusé par la littérature anglo-saxonne. Des protocoles pour le Kiwi, la banane, les fraises sont proches et donnent de bons résultats. Cependant, une grande partie du précipité est constitué de pectines.*

*Le petit pois présente des avantages :*

- *on les écrase facilement : ni broyeur, ni mortier ; une cuillère suffit ;*
- *on peut utiliser des petits pois décongelés (avec possibilité de fractionnement du contenu du sachet) ;*
- *il n'y a pas l'odeur forte de l'oignon ;*
- *la teneur en pectine y est inférieure.*

### **Le protocole :**

- dans un Becher mélanger 10 mL de produit vaisselle avec 90 mL d'eau puis y dissoudre 3 g de sel de cuisine ;
- écraser 50 g de petits pois dans un mortier ;
- mélanger le broyat avec le liquide du Becher ;
- placer le mélange dans un bain-marie à 60°C pendant 15 minutes ;
- refroidir le mélange dans de l'eau glacée pendant 5 minutes en remuant de temps en temps ;
- filtrer et recueillir le filtrat dans un tube à essai (3 à 5 mL) ;
- ajouter au filtrat la solution contenant la protéase (3 gouttes) ;
- faire couler dans le tube à essai incliné de l'éthanol réfrigéré (deux fois le volume du filtrat) ;
- laisser reposer quelques minutes ;
- l'ADN qui a précipité à l'interface du mélange et de l'alcool va migrer dans l'alcool ;
- avec une pipette pasteur recourbée on peut le transférer dans un petit tube (Eppendorf) contenant de l'alcool.

### **▪ Avec les autres matériels biologiques (fruits, légumes, thymus de veau)**

### **Le protocole :**

- couper les fruits, légumes, thymus en petits dés (environ 50 mL) et les mettre dans un Becher ;
- compléter à 100 mL avec de l'eau, ajouter 10 mL de produit vaisselle et 3 g de sel de cuisine ;
- mélanger le tout ;
- placer le Becher dans un bain-marie à 50°C pendant 10 minutes ;
- refroidir le Becher dans de l'eau glacée pendant 5 minutes ;
- on peut, sans que cela soit obligatoire, remuer le mélange avec une baguette de verre ;
- filtrer et recueillir le filtrat dans un (ou des) tube(s) à essai (3 à 5 mL) ;
- ajouter au filtrat la solution contenant la protéase (10 gouttes) ;
- faire couler dans le tube à essai incliné de l'éthanol réfrigéré (deux fois le volume du filtrat) ;
- laisser reposer quelques minutes ;
- l'ADN qui a précipité à l'interface du mélange et de l'alcool va migrer dans l'alcool ;
- avec une pipette pasteur recourbée on peut le transférer dans un petit tube (Eppendorf) contenant de l'alcool.

### **Remarques complémentaires :**

- *la réduction des produits biologiques en petits éléments augmente la surface de contact lors des différentes réactions chimiques ;*
- *le rôle du chlorure de sodium : l'ADN est chargé négativement, les sels neutralisent les charges ce qui permet la précipitation de l'ADN ;*
- *le produit vaisselle détruit les membranes biologiques par libération des phospholipides ;*
- *l'incubation à 50-60°C inactive les DNAses ;*
- *le refroidissement évite l'hydrolyse de l'ADN ;*
- *la filtration arrête les débris cellulaires ;*
- *les protéases détruisent les histones et partiellement d'autres protéines liées à l'ADN :*
  - o *le jus extrait d'un ananas frais contient de la bromélaïne (protéase),*
  - o *le produit de nettoyage des lentilles renferme de la trypsine (mais aussi de l'amylase et des lipases),*
  - o *le produit de lessive renferme également des enzymes ;*
- *l'alcool provoque l'agrégation de l'ADN ce qui équivaut à une précipitation.*

### Tableau comparatif de la qualité des extractions

	<b>Thymus</b>	<b>Fraises</b>	<b>Petits pois</b>	<b>Courgettes</b>	<b>Kaki</b>
<b>Jus d'ananas frais</b>	++	-	+++	+++	++
<b>Solution pour lentilles</b>	++	+++	(++)	+	
<b>Produit lessive</b>	++	-	+++	++	