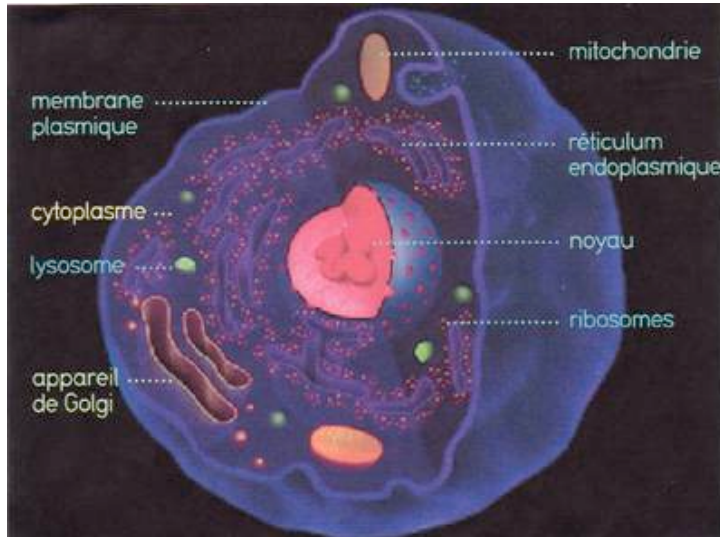




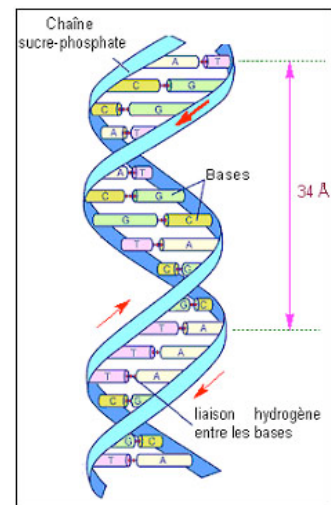
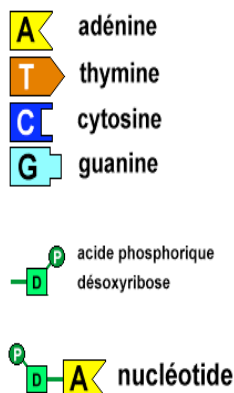
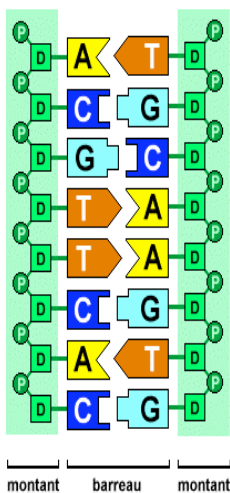
Extraction d'ADN de cellules buccales :

Un être humain est constitué d'environ 1000 milliards de cellules.



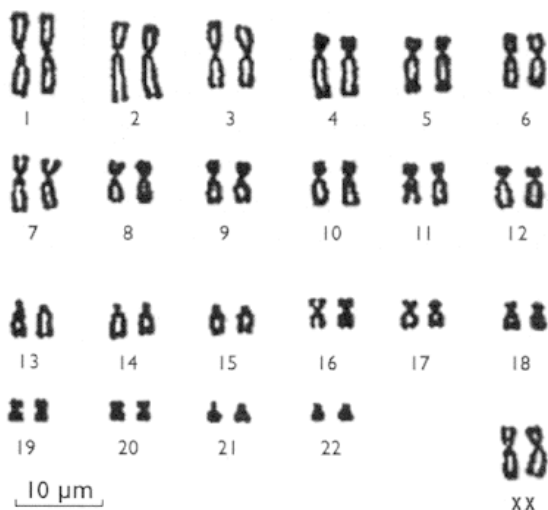
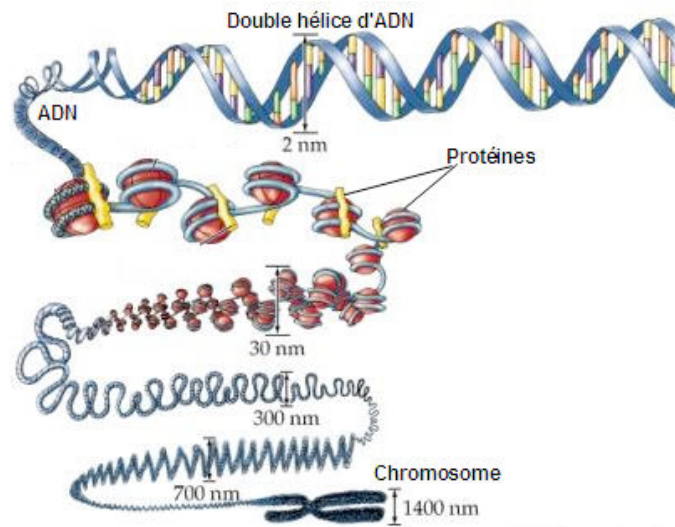
Au cœur de chacune de ces cellules, un noyau délimité par une membrane, contenant notre ADN (Acide Désoxyribo-Nucléique), support de l'information génétique. L'ensemble des molécules d'ADN constitue ce que l'on appelle le génome.

Dans chaque cellule humaine, on retrouve deux copies de ce génome. Une copie venant de notre mère, et l'autre de notre père. Chaque copie est constituée d'une suite de 3 milliards de caractères que l'on appelle des « bases », et plus précisément des paires de base puisque la molécule d'ADN est en réalité une molécule faite de deux brins enroulés sous forme de double hélice.





La suite de ces 3 milliards de paires de bases est subdivisée en 23 fragments. Ces 23 fragments mis bout à bout atteignent une longueur totale d'environ 1m. Pour pouvoir être contenu dans le noyau, qui est une sphère d'environ 1/100 000ème de mètre de diamètre, notre mètre d'ADN est associé à des protéines qui permettent de l'enrouler de façon très compacte pour former nos 23 chromosomes.



Chaque cellule animale contient deux copies du génome (l'une venant du père et l'autre de la mère), organisées sous forme de 23 paires de chromosomes.



Lors de cet atelier, nous allons réaliser une extraction d'ADN à partir des cellules de notre bouche.

La récolte du matériel génétique constitue la toute première étape clé dans les diverses analyses et recherches qui sont réalisées à l'heure actuelle dans les laboratoires de génétique ou de criminalistique.

(ex d'applications : tests de paternité, recherche de mutations, identification criminelle, séquençage de gènes, ...).

Protocole de l'extraction :

1) Isolement des cellules buccales :

Faites un lavage buccal de +/- 15 secondes avec une gorgée d'eau (10 ml). Recueillez-le dans un tube Falcon de 50 ml et centrifugez pendant 10 minutes à 4000 rpm.

Versez le surnageant dans le récipient à déchets en faisant attention de ne pas déloger le culot qui contient les cellules qui nous intéressent.

Resuspendre le culot de cellules dans 1 ml de tampon T₁₀ E₁₋₈, et transvasez le tout dans un tube eppendorff de 1,5 ml.

2) Lyse cellulaire :

Ajoutez 25 µl de SDS 20% et mélangez soigneusement par inversion du tube. Laissez reposer 5 minutes sur table, à température ambiante.

Puis ajoutez 350 µl d'une solution d'acétate de potassium (CH₃COOK) 3M, pH 4,8 et refroidie à 4°C. Et mélangez soigneusement par inversions vigoureuses du tube.

Centrifugez pendant 5 minutes à >10000 g à 4°C et transférez le surnageant dans un tube de 5 ml en mesurant le volume du surnageant transvasé.

3) Précipitation de l'ADN à l'aide d'alcool :

Ajoutez un volume d'isopropanol égal au volume de surnageant mesuré et mélangez doucement par plusieurs inversions du tube.

Si le nombre de cellules buccales récoltées lors du lavage était suffisant, l'ADN devrait apparaître sous forme de petit flocon blanc dans l'alcool.
