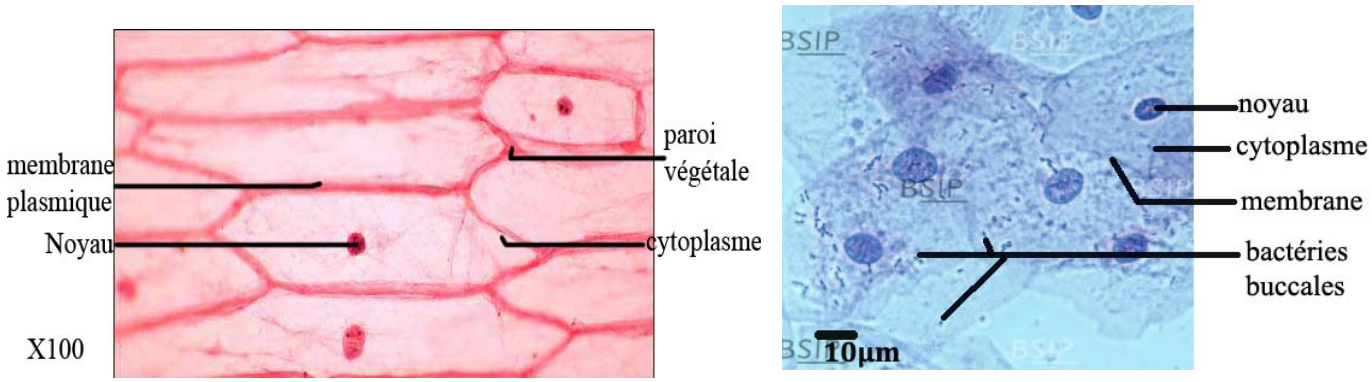
06-01 : De quoi sont constitués les chromosomes?

Activité 1: Comment extraire des « chromosomes » d'un être vivant? (35minutes):
à partir des documents 1 et 2, imaginer les grandes lignes d'un protocole consistant à isoler les chromosomes d'un matériel vivant végétal(oignon ou kiwi)/ ou bien de cellules animales : les vôtres !

Activité 2: Comment mettre en évidence la nature des chromosomes?
À partir du document 3, proposez un(ou des) protocole(s), sans rentrer dans les détails, permettant de connaître la nature des chromosomes.

Activité 3: Expliquer la raison pour laquelle les chromosomes ne sont visibles qu'à certains(rares) moments de la vie cellulaire grâce au document 4 de la page 207 : discussion avec le professeur...

Document 1: Photographie d'une microscopie d'épiderme d'oignon et de cellule d'épithélium buccal humain (légendées)



Document 2: Les composants des cellules et les actions possibles sur ces parties.

Paroi végétale: sa principale molécule, la cellulose, étant très solide, il faut mixer ou pilonner pour en venir à bout.
Membranes cytoplasmique et double membrane nucléaire(enveloppe du noyau): elle sont principalement constituées de lipides(graisses), un produit simple présent dans votre cuisine peut facilement venir à bout des graisses...
Les protéines, présentes partout dans la cellule: dans les membranes, dans le cytoplasme, dans le noyau... on peut les faire précipiter par ajout de sel de façon à ce qu'elle forment des masses assez grosses pour devenir filtrables.
Le constituant principal des chromosomes précipite lors de l'ajout d'alcool réfrigéré en enfermant des bulles de gaz.
l'évaporation par chauffage permet de se débarrasser de l'eau d'une solution.
Les glucides sucres et les sels minéraux sont difficilement isolables individuellement,

Document 3: Quelques principes de caractérisation de molécules par la coloration.

1- Coloration du matériel organique: le **bleu de méthylène** a pour propriété de colorer toute trace de matière organique.

2- coloration des parois végétales : Vert d'iode + carmin aluné: un **grand classique !**

Étapes successives :

- ? colorer au carmin aluné durant une heure minimum (nous préférons aller jusqu'à 2 heures)
- ? rinçage rapide à l'eau ordinaire
- ? colorer au vert d'iode durant 10 à 15 secondes
- ? rinçage rapide à l'eau ordinaire
- ? en cas de sur-coloration du vert d'iode, différencier à l'acide chlorhydrique à 5 % (il permet de mieux contrôler la régression qu'une solution plus concentrée) et laver à l'eau ammoniaquée à 1 %. Ce processus est valable également pour le vert malachite, le vert de méthyle et le vert solide.

Les éléments ligneux sont remarquablement colorés en vert, et le reste est rouge carmin, avec un excellent contraste et une préparation spectaculaire.

3- Les colorants fluorescents en bleu sont nombreux. Le DAPI (Di Aminido Phenyl lndol) est un colorant spécifique de l'ADN: ce colorant se fixe spécifiquement sur l'ADN est émet, en microscopie équipée d'une lampe à arc pour la fluoresence, une lumière bleue.

4- **Feulgen:** Coloration de l'Acide désoxyribonucléique:
Récupérer le matériel sur un tamis et le rincer sous un filet d'eau. Sécher sur papier filtre. Le mettre dans du HCl placé depuis 24h à 60°C pendant 12mn.
Récupérer le matériel sur tamis, rincer sous un filet d'eau, sécher sur papier filtre, placer 15mn dans la fuschine*.
Avec le manche de l'aiguille lancéolée, écraser le matériel.
Monter entre lame et lamelle dans l'acide éthanoïque à 45%.

*Préparer la fuschine :
- 1g de fuschine basique diamant dans 20cc d'eau distillée bouillante. Bien mélanger.
- refroidir jusqu'à 50°C
- filtrer
- ajouter 20ml d'HCl N et refroidir à 25°C
- ajouter 1g de bisulfite de potassium. Boucher. Laisser à l'obscurité.

5- En solution le **bleu de coomasie** absorbe à 470 mn.
En milieu acide le bleu de coomassie se lie aux protéines (principalement à l'acide aminé « arginine »).
Sous cette conformation il absorbe à 595 nm, dans le bleu.

6- L'**éosine** est un colorant rouge, acide : il se fixe de préférence aux molécules basiques.

7- Certaines **thionines(peptides)** sont utilisées dans des techniques de coloration histologique pour révéler le cytoplasme des cellules d'un tissu biologique en bleu.

8- Le **test du papier** permet de caractériser la présence de lipides: frotter le composant sur une feuille de papier , laisser sécher, on obtiendra, si des lipides sont présents, une tâche translucide indélébile.

I- Matériel:

- **2-3 mL de liquide vaisselle.**
- **3g de sel de cuisine**; **90 mL d'eau**; de la **glace**; un **filtre à café**.
- **Un kiwi,** Une orange ou ce qu'on veut de vivant.
- **Pilon ou un mixeur.**
- **De l'alcool à brûler réfrigéré**: il doit être préparé dans un tube à essai entouré de glace pendant plusieurs heures avant la manipulation(ne jamais placer l'alcool directement dans un réfrigérateur).
- Un r**écipient capable de contenir** un **bécher de 150 mL.**
- De **l'eau à 60°C.**(**bain marie**)
- Une **balance de précision.**
- **Un agitateur en verre.**
- **Lame; lamelles, vert de méthyle**
- **un microscope.**

•Explication

Le broyage au mixer casse les parois externes des cellules qui sont rigides. Le rôle du liquide vaisselle est de dissoudre les membranes internes des cellules. En effet, ce détergent désagrège les acides gras composant les membranes, et libère le contenu des cellules (dont le contenu du noyau) dans la solution.

Le sel va d'une part favoriser la précipitation de certaines protéines qui resteront donc dans le filtre, et d'autre part faciliter la précipitation du matériel chromosomique lorsqu'on ajoutera l'alcool.

En ajoutant l'alcool, vous précipitez le matériel chromosomique qui devient alors visible : ses filaments s'agglomèrent en pelote.

II- Déroulement de l'expérience:

- Mélanger dans le bécher les 2-3mL de liquide vaisselle, le sel, et les 90 mL d'eau. Bien remuer pour dissoudre le sel.
- Couper, à l'aide d'un scalpel ou d'un couteau, le kiwi en petits morceaux de 5x5 mm environ, écraser au pilon (ou mixer avec le mélange) le plus possible.
- Ajouter les morceaux au mélange du bécher.(sauf si il y a eu mixage)
- *facultatif: Mettre le bécher dans le récipient contenant de l'eau chaude à 60°C pendant 15 minutes.*
- *Refroidir le mélange en plaçant, pendant quelques(5) minutes, le bécher dans de l'eau réfrigérée(récipient sous un filet d'eau du robinet...) tout en remuant le mélange qui s'épaissit.*
- Filtrer le liquide pour séparer la solution qui contient les chromosomes. des résidus solides, et recueillir une partie de la solution dans un tube à essai (tube n°1).
- Dans un nouveau tube à essai (tube n°2), mettre une quantité d'alcool réfrigérée identique à celle de la solution qui contient le matériel chromosomique, et verser délicatement l'alcool réfrigéré sur la solution renfermant le matériel chromosomique (les deux liquides ne sont pas miscibles).
- Le matériel chromosomique précipitent dans le compartiment inférieur, et les bulles d'air transportent le matériel chromosomique dans le compartiment supérieur.
- **Faire un dessin du tube à essai obtenu avec légende des deux phase et du précipité.**
- **Extraire un petit morceau de précipité et le colorer avec du vert de méthyle, placer entre lame et lamelle et 'observer au microscope.**

Protocole pour l'extraction de l'ADN humain :

1. Masser votre joue avec les doigts en faisant des mouvements circulaires et en salivant dans la bouche. Pour un meilleur résultat, il faut garder la bouche fermée et masser la joue sur les dents. 2 ou 3 ml de salive suffisent et doivent être récupérés dans un pilulier, bécher ou tube à essai.
2. Ajouter une goutte de liquide vaisselle
3. Agiter le flacon.
4. Ajouter ensuite une petite quantité de sel fin (une demi-cuillère à café)
5. Agiter le flacon
6. Ajouter de l'éthanol en le faisant couler lentement le long de la paroi du récipient (remplir aux 3 quarts).

On observe la «méduse» Appeler l'enseignant

7. La « méduse »peut être ensuite récupérée à l'aide d'un cure dent, d'un bâtonnet ou d'une pince pour être placée dans un verre de montre avec un goutte de vert de méthyle acétique