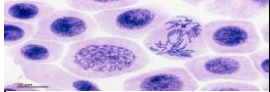


Chapitre 1	TP 4 :	Durée : 1h30
Transmission de l'information génétique	

Objectif : Durant la phase S de l'interphase précédant la mitose ou la méiose, la molécule d'ADN qui constitue chaque chromosome est recopiée : **c'est la réplication de l'ADN**, qui aboutit à la formation de chromosomes à deux chromatides portant chacune la même information génétique. On cherche à comprendre les mécanismes assurant la réplication de l'ADN à partir de résultats d'expériences historiques.

L'expérience historique de Meselson et Stahl (1958)

En 1958, Meselson et Stahl essayent de comprendre les modalités de la réplication de l'ADN. À partir des résultats de cette expérience, nous avons pu **valider un modèle de réplication de l'ADN par l'étude d'une expérience historique**.

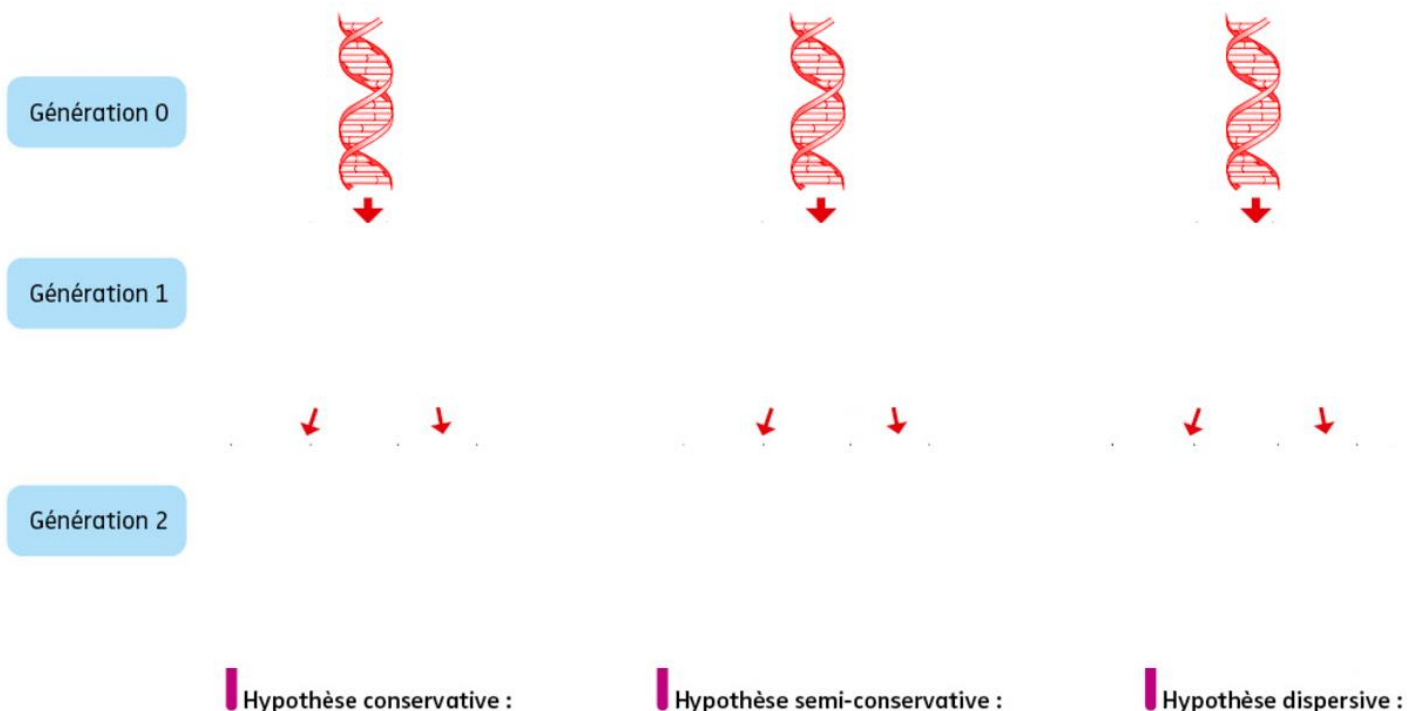


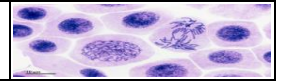
Matthew Meselson et Franklin Stahl, chercheurs américains en génétique et biologie moléculaire

Lorsque cette expérience a été tentée, trois hypothèses étaient en concurrence pour décrire la manière dont l'ADN était recopié dans chaque cellule :

- **L'hypothèse conservative :** l'ADN qui sert de modèle (**ADN matrice**) reste intact et la copie (**ADN néosynthétisée**) est entièrement nouvelle.
- **L'hypothèse semi-conservative :** les deux brins de l'ADN matrice se séparent et les molécules filles contiennent **chacune un des brins matrice et un brin néosynthétisé**.
- **L'hypothèse dispersive :** chacune des deux molécules d'ADN issues de la réplication contient des **portions d'ADN double-brin matrice et des portions d'ADN double-brin néosynthétisées**.

Question 1 : Directement sur le schéma ci-dessous, représentez schématiquement les molécules d'ADN de première et de 2^e génération pour chaque hypothèse en utilisant une couleur rouge pour les brins anciens d'ADN (ADN matrice) et une couleur bleue pour les brins nouveaux d'ADN (ADN néosynthétisés).



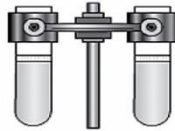


Document 1 : Le principe de l'expérience de Meselson et Stahl

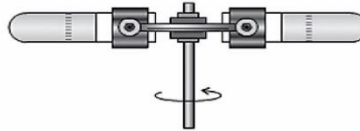
Principe de l'expérience : Les molécules d'une cellule peuvent être marquées et suivies en utilisant des isotopes comme par exemple ^{15}N , l'isotope lourd de l'azote ^{14}N . Tout comme l'azote ^{14}N , l'azote ^{15}N s'incorpore sans discrimination dans tous les composés azotés de la cellule, y compris l'ADN. Les molécules d'ADN marquées avec ^{15}N sont plus lourdes que celles contenant ^{14}N et peuvent être séparées par centrifugation en gradient de densité.



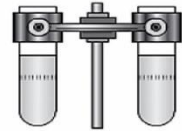
Principe : les scientifiques cultivent des bactéries dans un milieu contenant de l'azote lourd (^{15}N) ou léger (^{14}N), puis comparent le poids des molécules présents dans les cellules par centrifugation.



1ère étape : on dépose des molécules à étudier à la surface du gradient (c'est une solution de sel de plus en plus concentrée quand on va vers le fond du tube)



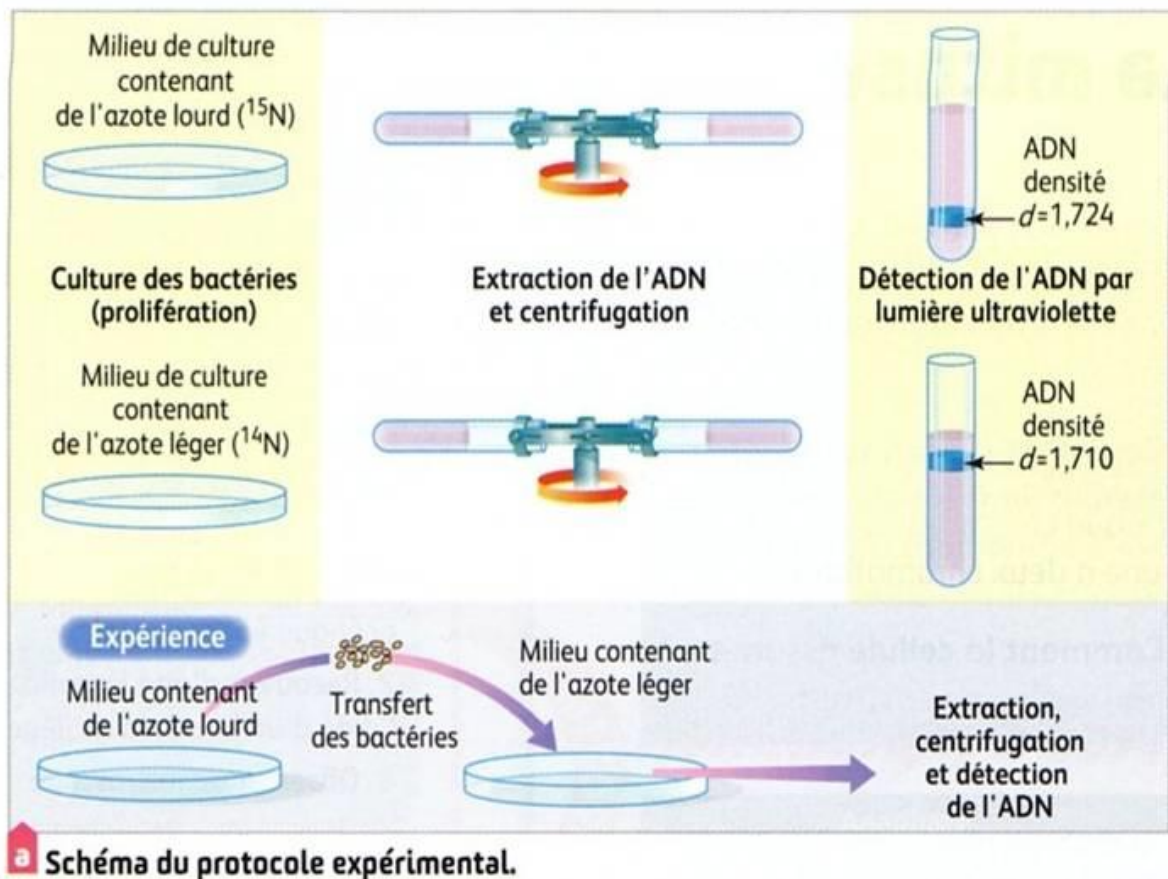
2ème étape : on fait tourner l'ensemble. La force centrifuge fait descendre la molécule à étudier plus ou moins selon sa masse et la vitesse et le temps de rotation.

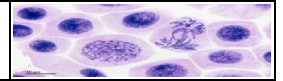


3ème étape : on observe à quel niveau la molécule est descendue. Plus elle est légère, moins elle est descendue, plus elle est lourde, plus elle est descendue.

Document 2 : Le protocole expérimental l'expérience de Meselson et Stahl

Protocole expérimental : Meselson et Stahl ont cultivé des bactéries pendant plusieurs générations sur un milieu contenant uniquement de l'azote lourd ^{15}N . Quand tout l'ADN des bactéries contenait du ^{15}N , ces dernières ont été transférées sur un milieu contenant uniquement de l'azote léger ^{14}N . Les bactéries ont poursuivi leurs divisions et la densité de leur ADN a été mesurée à chaque génération





Question 2 : à partir du protocole expérimental, expliquez les résultats attendus. Pour cela, remplissez le tableau suivant :

- Représentez schématiquement les molécules d'ADN de première et de deuxième génération pour chaque hypothèse. Reprenez le même code couleur que pour la question 1 avec en bleu 1 brin « léger » et en rouge 1 brin « lourd ».
- Pour chaque hypothèse, complétez le pourcentage d'ADN lourd (^{15}N), léger (^{14}N) ou hybride (^{14}N et ^{15}N) que l'on peut prévoir après une génération sur le milieu contenant uniquement du ^{14}N .

	Hypothèse 1 : réplication conservative		Hypothèse 2 : réplication semi conservative		Hypothèse 3 : réplication dispersive	
	Schéma de l'ADN	Schéma du tube	Schéma de l'ADN	Schéma du tube	Schéma de l'ADN	Schéma du tube
Après une génération sur ^{14}N						
Après deux générations sur ^{14}N						

Modélisation expérimentale

On propose de modéliser les résultats de Meselson et Stahl grâce à une solution de saccharose. Les solutions colorées, représentant l'ADN vont migrer en fonction de leur densité dans ses solutions.

Matériel :

- 3 tubes à essai à préparer- Porte-tubes. 6 Pipettes Pasteur de 3 ml.
- 3 solutions étiquetées de saccharose de concentration respective à 65%- 25%- 5%
- 3 solutions colorées simulant l'ADN en Génération 1, 2 et 3.

PROTOCOLE :

• PREPARATION DES GRADIENTS DE SACCHAROSE :

Dans chacun des 3 tubes à essai, verser **très délicatement** en faisant couler petit à petit le long des parois du tube :

- 4 ml de solution de saccharose à 65%
- Puis au-dessus, avec la même précaution, 2 ml de solution de saccharose à 25%, **ne pas mélanger!**
- Puis au-dessus, avec la même précaution, 2 ml de solution de saccharose à 5%, **ne pas mélanger!**
- DEPOSER **DOUCEMENT** LE TUBE SUR LE PORTE-TUBE.

• SIMULATION DES RESULTATS DE L'EXPERIENCE :

En respectant les mêmes consignes de précaution :

- Conserver le tube 1 bien droit. Y verser doucement le long de la paroi, 5 gouttes de solution de génération 1 ; reposer doucement le tube sur le porte-tube.
- Répéter la manipulation avec le tube 2 : verser doucement le long de la paroi, 5 gouttes de solution de génération 2 ; reposer doucement le tube sur le porte-tube.
- Répéter la manipulation avec le tube 3 : verser doucement le long de la paroi, 5 gouttes de solution de génération 3, le reposer doucement sur le porte-tube puis 1 mn après, le reprendre et verser doucement le long du tube 3, 7 gouttes de génération 2. Le reposer doucement sur le porte-tube
- Appeler le professeur pour vérification.

