

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**.



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

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

- **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).

Génération 0



Génération 1



Génération 2



Hypothèse conservative :

Hypothèse semi-conservative :

Hypothèse dispersive :

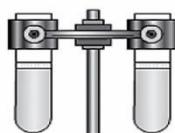


Document 1 : Le principe de l'expérience de Meselson et Stahl

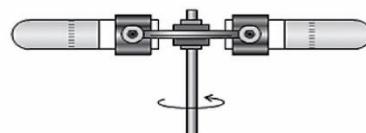
Principe de l'expérience : Les molécules d'une cellule peuvent être marquées et suivies en utilisant des isotopes comme par exemple ^{15}N , l'isotope lourd de l'azote ^{14}N . Tout comme l'azote ^{14}N , l'azote ^{15}N s'incorpore sans discrimination dans tous les composés azotés de la cellule, y compris 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 compareraient le poids des molécules présentes dans les cellules par centrifugation.



1^{ère} 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)



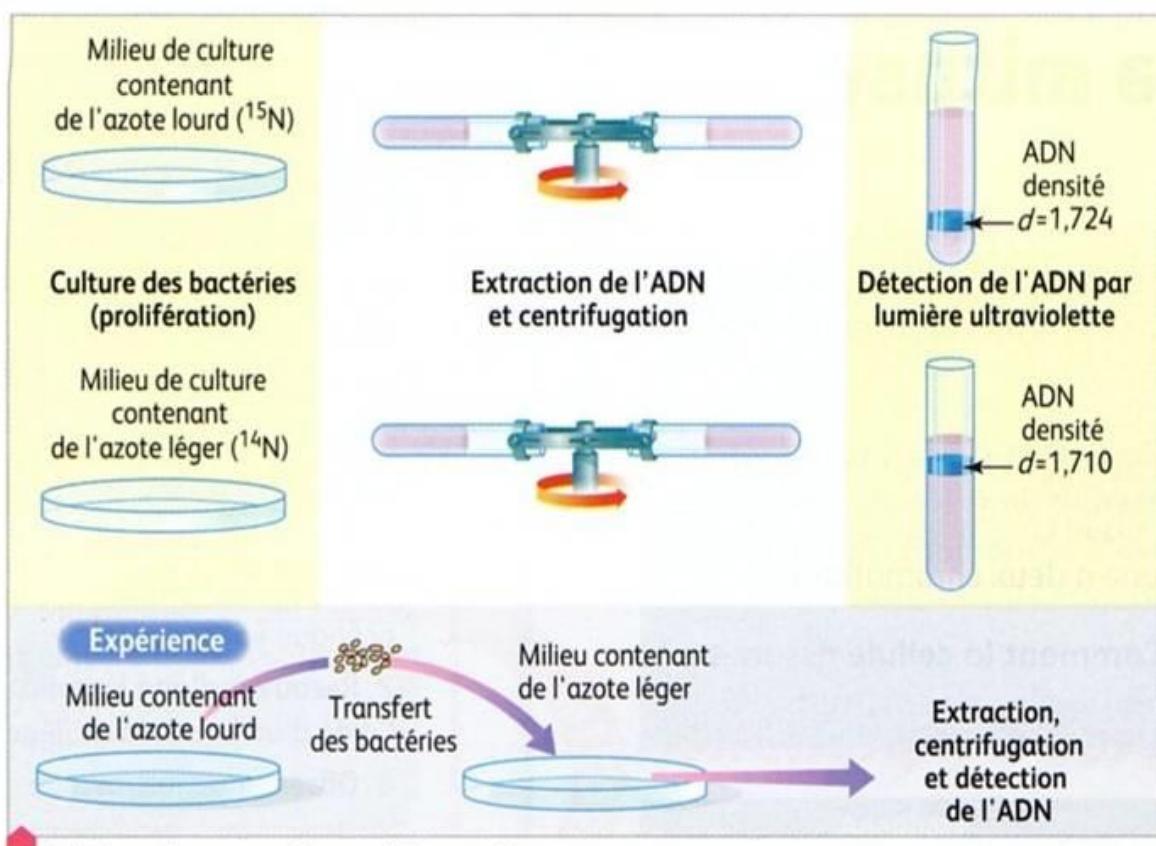
2^{ème} étape : on fait tourner l'ensemble. La force centrifuge fait descendre la molécule à étudier plus ou moins selon sa masse et la vitesse et le temps de rotation.



3^{ème} 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



a Schéma du protocole expérimental.



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	
Après une génération sur ^{14}N	Schéma de l'ADN	Schéma du tube	Schéma de l'ADN	Schéma du tube	Schéma de l'ADN	Schéma du tube
Après deux générations sur ^{14}N	Schéma de l'ADN	Schéma du tube	Schéma de l'ADN	Schéma du tube	Schéma de l'ADN	Schéma du tube

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 :**

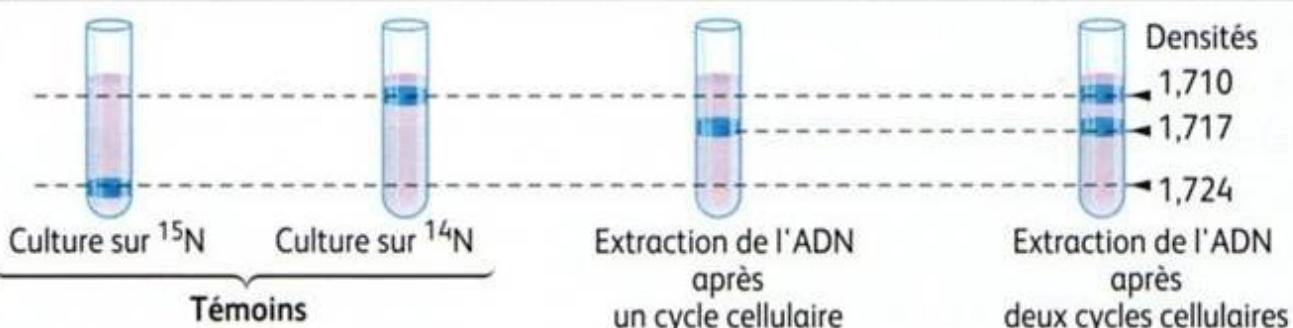
En respectant les mêmes consignes de précaution :

- 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.
- Réitérer 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.
- Réitérer 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.**



Document 3 : Les résultats de l'expérience

Résultats expérimentaux : Après la centrifugation, l'ADN est localisé grâce à sa fluorescence sous UV.



Résultats de l'expérience de Meselson et Stahl (1958).

Question 4 : Analysez le document 3. Discutez de la validité des 3 modèles à la lumière de ses résultats.

Compte rendu :

Méthode : Compte rendu de TP :

Un compte rendu de TP est un rapport scientifique. L'objectif de ce rapport est de rendre compte d'une manipulation, de manière rigoureuse et illustrée, et de l'interpréter au mieux. **Un compte rendu doit suivre la structure suivante. [Matérialisez les parties sur votre copie].**

INTRODUCTION : Après un bref paragraphe de contexte général, **vous exposerez l'objectif ou la question scientifique que l'on se pose.**

PARTIE 1 : Protocole expérimental

Dans cette partie, vous détaillerez **le protocole des manipulations effectuées**. Vous vous appuierez sur des schémas légendés.

PARTIE 2 : Présentation des résultats.

Vous présenterez l'ensemble des résultats sous forme de tableau ou de schéma. Vous décrirez les résultats obtenus de manière concise et précise. Il ne faut pas interpréter les résultats, simplement décrire ce que l'on obtient.

PARTIE 3 : Interprétation des résultats

A partir de vos résultats et de vos connaissances, **vous interpréterez vos résultats et les différents documents** fournis dans l'énoncé afin de répondre à la question que vous avez posée.

CONCLUSION : Vous reprendrez en quelques phrases les résultats de votre TP, votre interprétation, et répondez à la question scientifique.