



Courtesy of Dr. S. Chan, DNA Learning Center. Noncommercial, educational use only.



Courtesy of Dr. J. Kruper, DNA Learning Center. Noncommercial, educational use only.

Matthew Meselson (à gauche) et **Franklin Stahl** (à droite) sont deux chercheurs des années 1950 qui ont travaillé sur la question de la réplication. A l'époque 3 hypothèses différentes s'affrontent pour expliquer le mécanisme de la réplication....

Problématique : Comment la réplication permet-elle de doubler la quantité d'ADN ?

Expérience de Meselson et Stahl : Des bactéries sont cultivées sur un milieu ne contenant que de l'**azote lourd** (^{15}N , sachant que l'azote « naturel » est ^{14}N). Leur ADN est donc composé avec des atomes d'**azote lourd**.

Ces bactéries sont ensuite placées sur un **milieu** ne contenant que de l'**azote léger** ^{14}N . L'**ADN** maintenant **synthétisé** sera donc constitué d'**azote** ^{14}N , le seul présent dans le milieu. Les divisions des bactéries sont synchronisées.

Menez l'enquête avec REPLIC'ADN !
opn.to/a/axfBW



OU

<https://view.genial.ly/59d91f61f2aaf10cbc6a83c4>

Consigne de schématisation : L'ADN contenant de l'**azote lourd** sera représenté en **bleu** et l'ADN contenant de l'**azote léger** en **rouge**.

Tableau de résultats hypothétiques de l'expérience de Meselson et Stahl

Nom des hypothèses	ADN extrait de bactéries cultivées dans l'azote lourd Schémas de l'ADN de la génération 0	On transfère les bactéries dans un milieu nutritif contenant seulement de l'azote léger	On extrait l'ADN après les 1 ^{ères} et 2 ^{èmes} réplifications : <i>Schématisez les résultats attendus (ou conséquences vérifiables) pour chaque hypothèse</i>		Hypothèse validée ou réfutée ?
			la génération 1	Schémas de l'ADN de la génération 2	
Proportions d'ADN	100% ADN lourd	1 ^{ère} réplification dans l'azote léger			
Proportions d'ADN	100% ADN lourd				
Proportions d'ADN	100% ADN lourd				

Conclusion

Mécanismes moléculaires de la réplication

Au cours de l'année 1958, Arthur Kornberg met en évidence l'existence dans les cellules d'une **enzyme** capable de synthétiser de nouvelles molécules d'ADN à partir d'ADN préexistant, de nucléotides et d'énergie. Il appela cette nouvelle enzyme l'ADN polymérase.

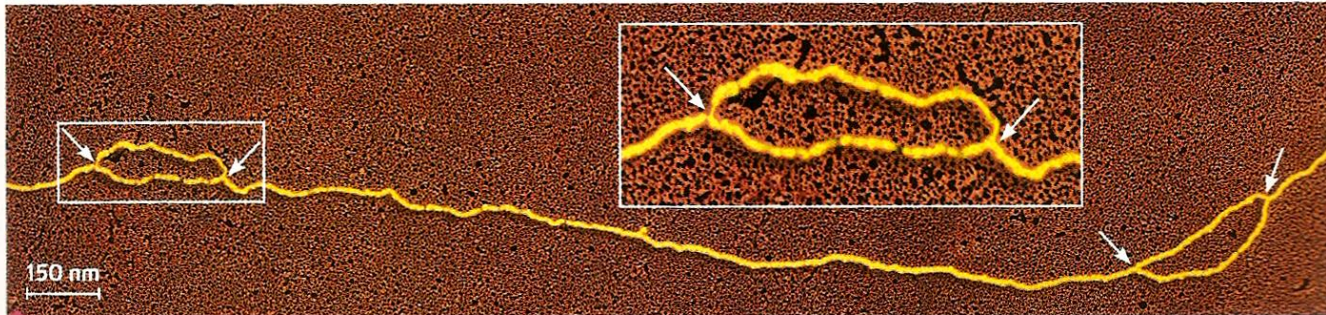
Les flèches indiquent les fourches de réplication : siège de la copie de l'information génétique.

Au niveau d'une fourche de réplication, les deux brins de l'ADN se séparent puis les nucléotides contenus dans le noyau se fixent par complémentarité sur les nucléotides des deux brins d'ADN parentaux (appelés brins matrice). Ces nucléo-

tides sont ensuite associés entre eux par l'ADN polymérase. L'ADN polymérase progresse dans le même sens que l'ouverture de la molécule d'ADN matrice.

Un œil de réplication est délimité par deux fourches de réplication et correspond à la région dans laquelle l'ADN a été répliqué. L'ADN entre deux yeux de réplication n'a pas encore été répliqué.

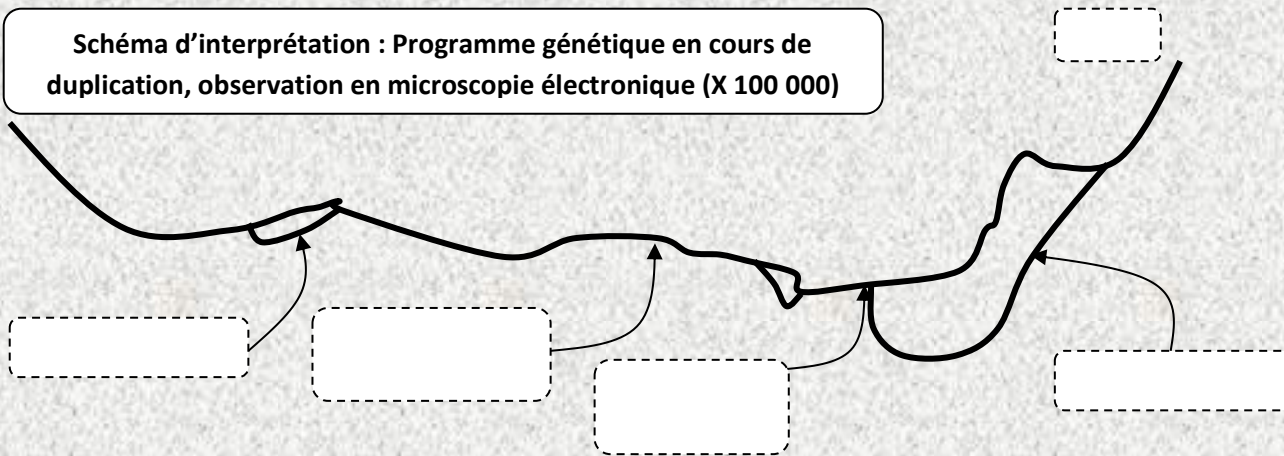
En vous aidant du document ci-contre, légendez le document ci-dessous puis réalisez un schéma de fourche de réplication en distinguant par une couleur différente les brins d'ADN parentaux et nouveaux.



Œil de réplication sur une molécule d'ADN (MET, couleurs artificielles).

Votre schéma

Schéma d'interprétation : Programme génétique en cours de duplication, observation en microscopie électronique (X 100 000)



Vidéo de synthèse à regarder une fois le schéma réalisé : **division cellulaire et réplication de l'ADN.mp4** dans le dossier ressources

Document secours : Les 3 hypothèses de la réplication

-hypothèse conservative : selon laquelle les deux chaînes de la molécule d'ADN restent ensemble. L'ensemble de la molécule d'ADN sert alors de modèle pour la fabrication d'une nouvelle molécule.

-Hypothèse semi-conservative : selon laquelle les 2 chaînes de la molécule d'ADN se séparent. Chaque chaîne sert de modèle pour la fabrication d'une nouvelle chaîne. Chaque molécule d'ADN est alors formée d'une chaîne ancienne et d'une nouvelle.

-Hypothèse dispersive : selon laquelle la molécule d'ADN se découpe en morceaux. Chaque morceau sert alors de modèle pour la fabrication d'un nouveau morceau identique. Chaque molécule d'ADN est alors formée d'un mélange d'anciens et de nouveaux morceaux.

Document secours : Les 3 hypothèses de la réplication

-hypothèse conservative : selon laquelle les deux chaînes de la molécule d'ADN restent ensemble. L'ensemble de la molécule d'ADN sert alors de modèle pour la fabrication d'une nouvelle molécule.

-Hypothèse semi-conservative : selon laquelle les 2 chaînes de la molécule d'ADN se séparent. Chaque chaîne sert de modèle pour la fabrication d'une nouvelle chaîne. Chaque molécule d'ADN est alors formée d'une chaîne ancienne et d'une nouvelle.

-Hypothèse dispersive : selon laquelle la molécule d'ADN se découpe en morceaux. Chaque morceau sert alors de modèle pour la fabrication d'un nouveau morceau identique. Chaque molécule d'ADN est alors formée d'un mélange d'anciens et de nouveaux morceaux.

Document secours 1 :

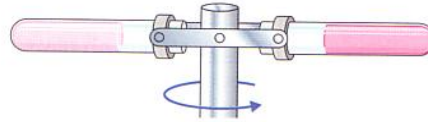
PRINCIPE DE LA MANIPULATION

Milieu de culture contenant de l'azote lourd (^{15}N)

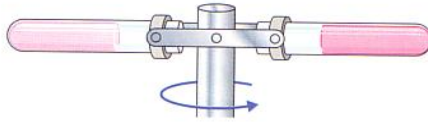


Culture (prolifération) des bactéries

Milieu de culture contenant de l'azote léger



Extraction de l'ADN et centrifugation



ADN densité $d = 1,724$

Détection de l'ADN par une lumière ultraviolette



ADN densité $d = 1,710$

EXPÉRIENCE

Milieu à ^{15}N (n cycles cellulaires)

Transfert des bactéries

Milieu à ^{14}N

Extraction, centrifugation et détection de l'ADN après un temps de culture déterminé sur ^{14}N

Ils cultivent des bactéries pendant plusieurs jours sur un milieu contenant l'isotope « lourd » de l'azote (^{15}N) (l'azote est l'un des atomes qui entre dans la constitution des nucléotides de l'ADN). L'ADN des bactéries contient donc uniquement de l'azote lourd. Ces bactéries sont ensuite transférées sur un milieu ne contenant que de l'azote « léger » (^{14}N).

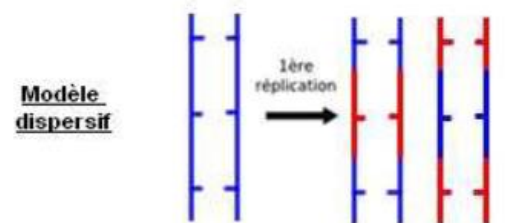
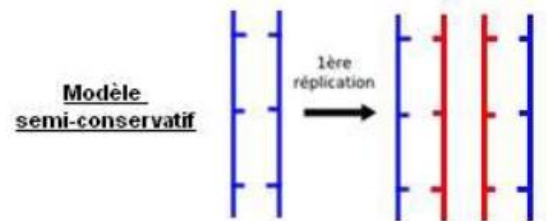
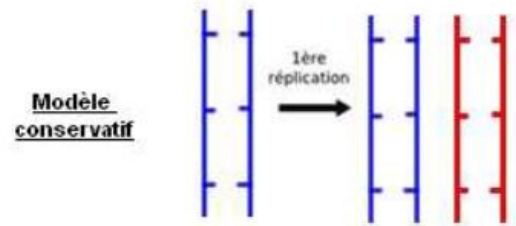
A partir de ce moment-là, toutes les nouvelles chaînes de l'ADN qui seront fabriquées lors de la réplication contiendront de l'azote léger. On pourra donc distinguer les chaînes « anciennes, lourdes » et les chaînes « nouvelles, légères ».

Les bactéries sont alors prélevées:

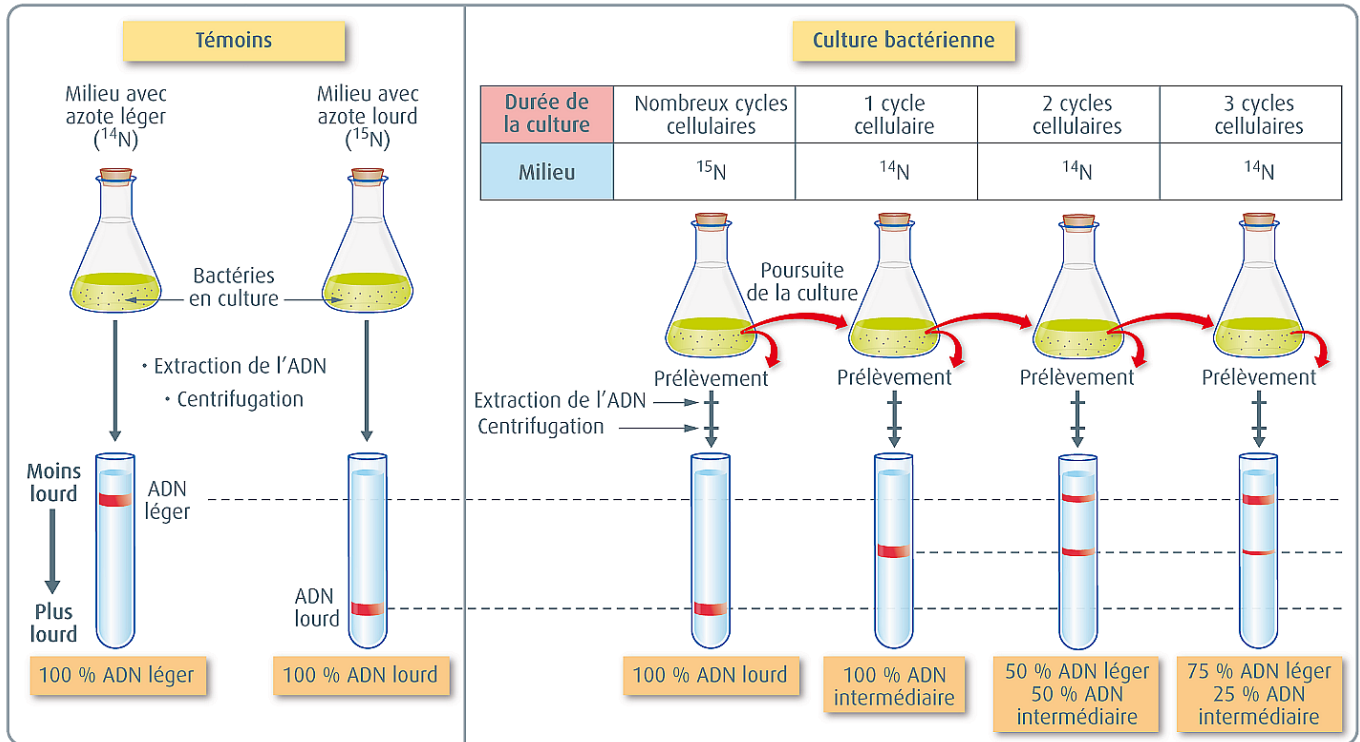
- soit après une réplication,
 - soit après deux réplifications
- et on soumet leur ADN à une centrifugation.

Au cours de la centrifugation, les molécules d'ADN, se positionnent dans le tube en fonction de leur densité : l'ADN avec de l'azote lourd a une densité de 1.724, l'ADN avec de l'azote léger a une densité de 1.710, l'ADN avec de l'azote lourd et léger (50/50) a une densité moyenne de 1.717.

- chaîne de nucléotides initiale
- chaîne de nucléotides nouvellement formée



Document secours 2 :



Principe et résultats de l'expérience. Les bactéries sont cultivées pendant de nombreux cycles dans un milieu enrichi en azote lourd (^{15}N) puis transférées dans un milieu enrichi en azote léger (^{14}N). À chaque réplication, l'azote, qu'il soit lourd ou léger, s'incorpore à l'ADN bactérien. Un échantillon de chaque culture est prélevé, puis l'ADN bactérien est extrait, placé dans un tube et centrifugé. Cela permet d'évaluer la proportion d'ADN « lourd » (avec ^{15}N), « léger » (avec ^{14}N) ou « mixte » (avec ^{14}N et ^{15}N) : sous l'effet de la centrifugation, l'ADN forme une bande qui est localisée d'autant plus près du fond du tube que la molécule est lourde.

