

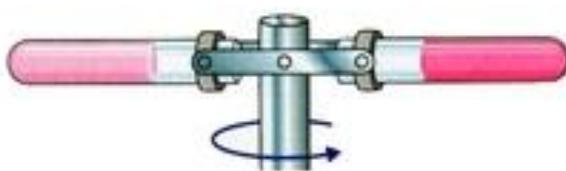
## L'expérience de Meselson et Stahl

### PRINCIPE DE LA MANIPULATION

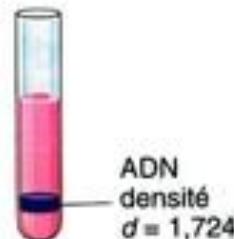
Milieu de culture contenant de l'azote lourd ( $^{15}\text{N}$ )



Culture (prolifération) des bactéries

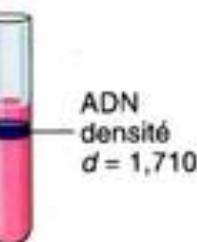
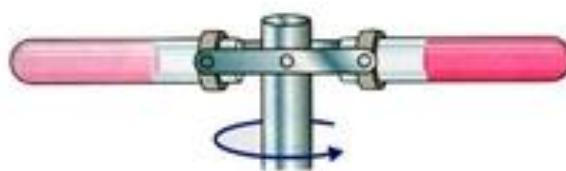


Extraction de l'ADN et centrifugation



Détection de l'ADN par une lumière ultraviolette

Milieu de culture contenant de l'azote léger



### EXPÉRIENCE



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

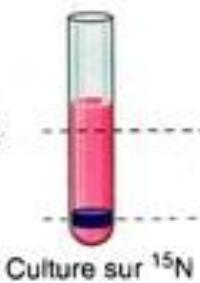
$^{15}\text{N}$   
Transfert des bactéries



Milieu à  $^{14}\text{N}$

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

### RÉSULTATS

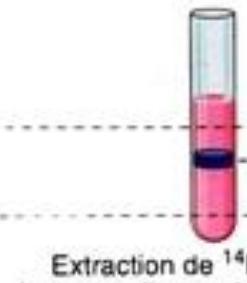


Culture sur  $^{15}\text{N}$

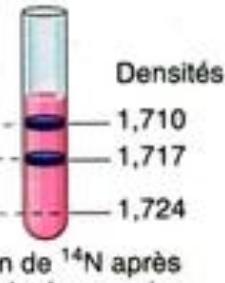
[témoins]



Culture sur  $^{14}\text{N}$



Extraction de  $^{14}\text{N}$  après le temps d'un cycle cellulaire



Densités  
1.710  
1.717  
1.724

Extraction de  $^{14}\text{N}$  après le temps de deux cycles

(La largeur des « bandes » d'ADN détecté est proportionnelle à la quantité d'ADN)

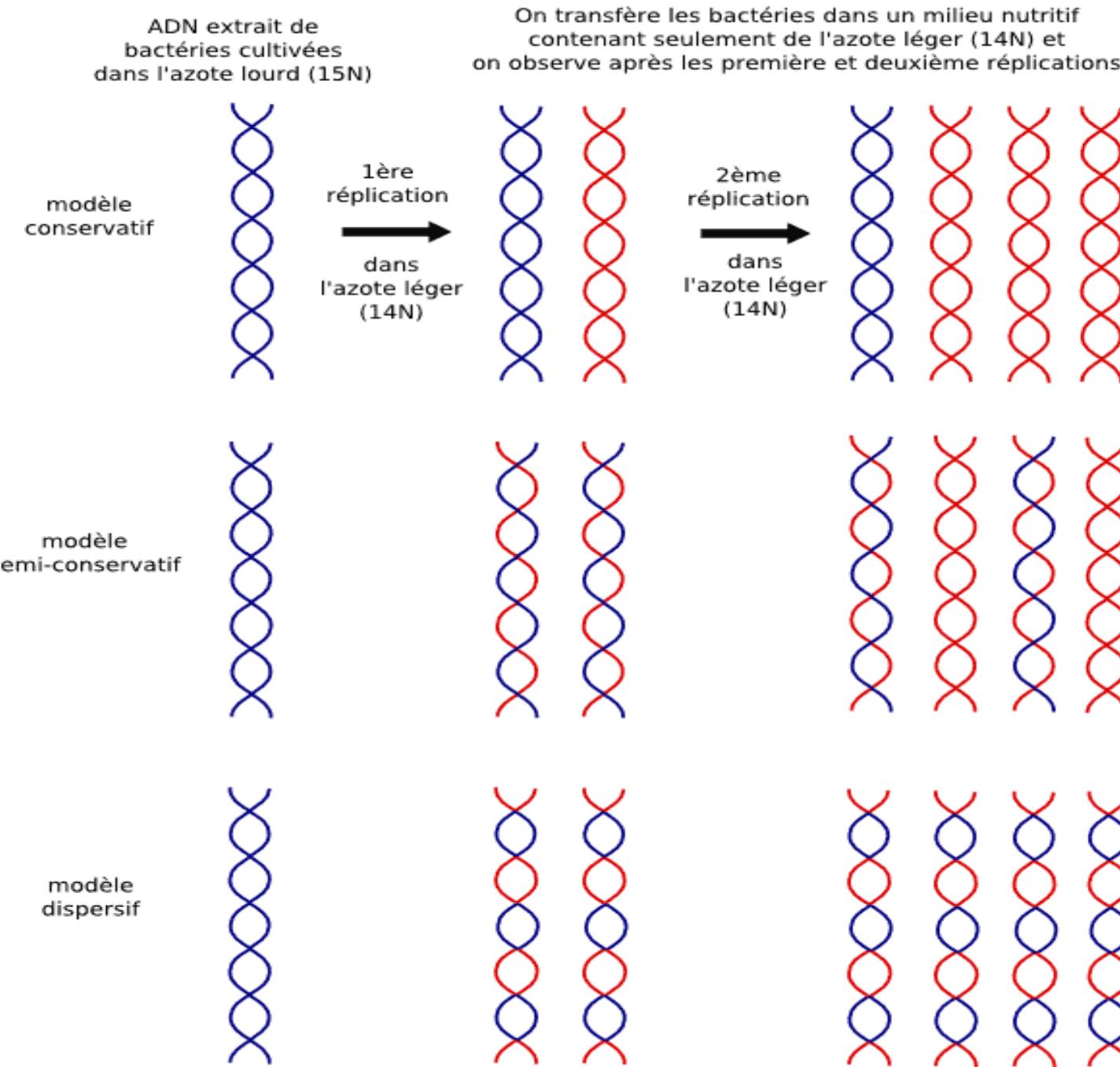
### L'expérience :

Des bactéries sont cultivées sur un milieu ne contenant que de l'azote lourd ( $^{15}\text{N}$ ), sachant que l'azote « naturel » est  $^{14}\text{N}$ ). 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  $^{14}\text{N}$ . L'ADN maintenant synthétisé sera donc constitué d'azote  $^{14}\text{N}$ , le seul présent dans le milieu. Les divisions des bactéries sont synchronisées.

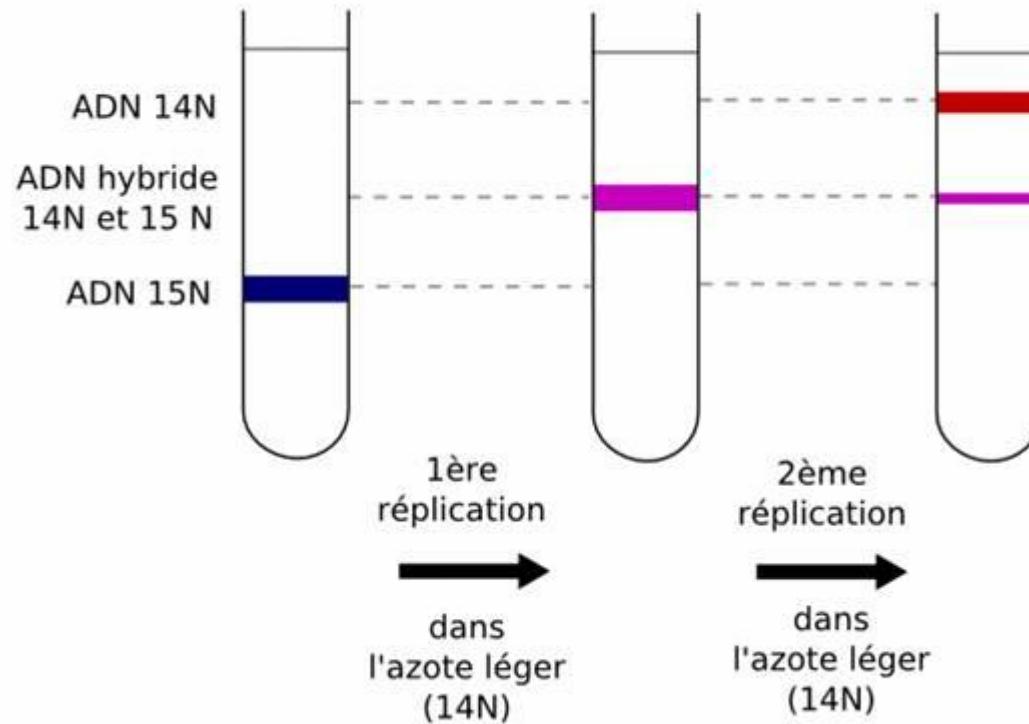
Le schéma suivant présente les molécules d'ADN suivant les trois hypothèses

L'azote lourd est représenté en bleu et l'azote léger en rouge.



## Résultats :

Pour savoir quel modèle est le bon, l'ADN des bactéries est extrait après la première, la deuxième et la troisième réplications (rappelons nous que les divisions ont été synchronisées donc toutes les bactéries sont au même stade de leur cycle cellulaire en même temps), placé dans une solution de chlorure de Césium et centrifugé. La position des ADN est repérée par une mesure de la densité optique. Cette manipulation permet de séparer les molécules d'ADN selon leur poids. Le résultat est le suivant :

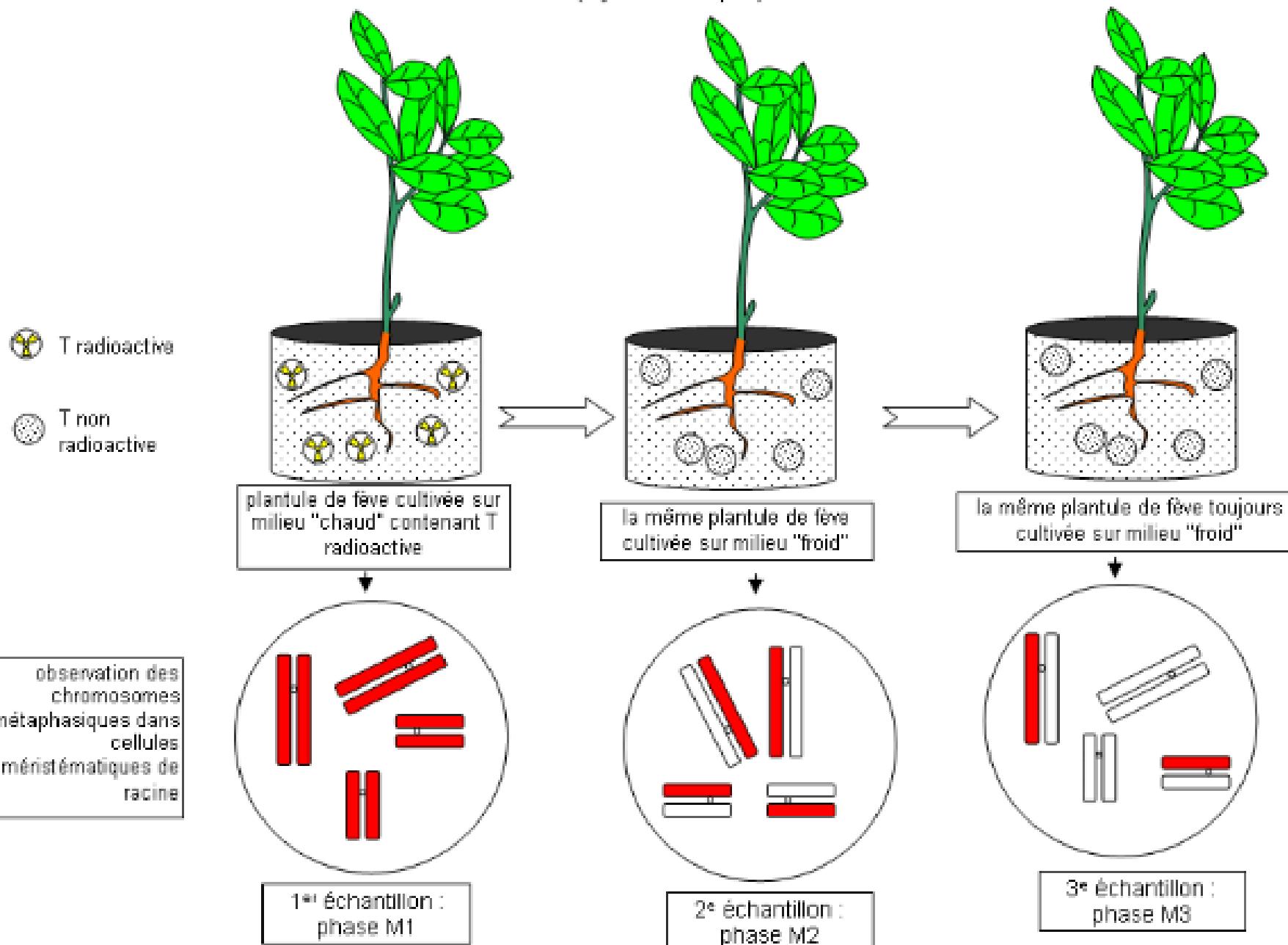


Après la 1ère division (donc première réplication de l'ADN), il n'y a que de l'ADN hybride (contenant  $^{14}\text{N}$  et  $^{15}\text{N}$ ). Ensuite, après la deuxième réplication, il y a de l'ADN hybride et de l'« ADN  $^{14}\text{N}$  ». Cette configuration ne peut correspondre que à l'hypothèse du modèle semi-conservatif.

## Conclusion :

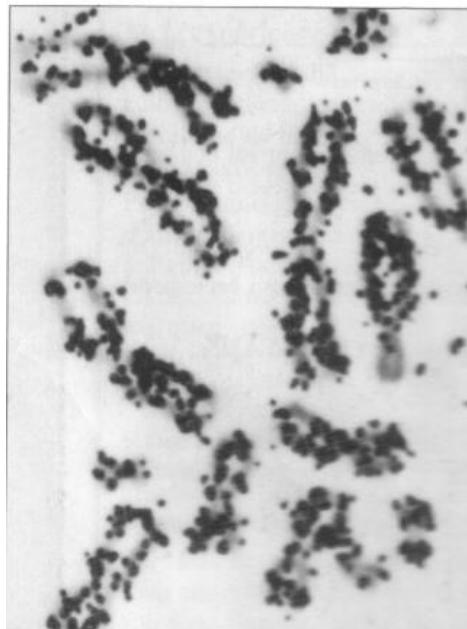
**L'expérience de Meselson et Stahl démontre donc que la réplication de l'ADN se fait selon un modèle semi-conservatif.**

expérience de Taylor  
(thymidine marquée)

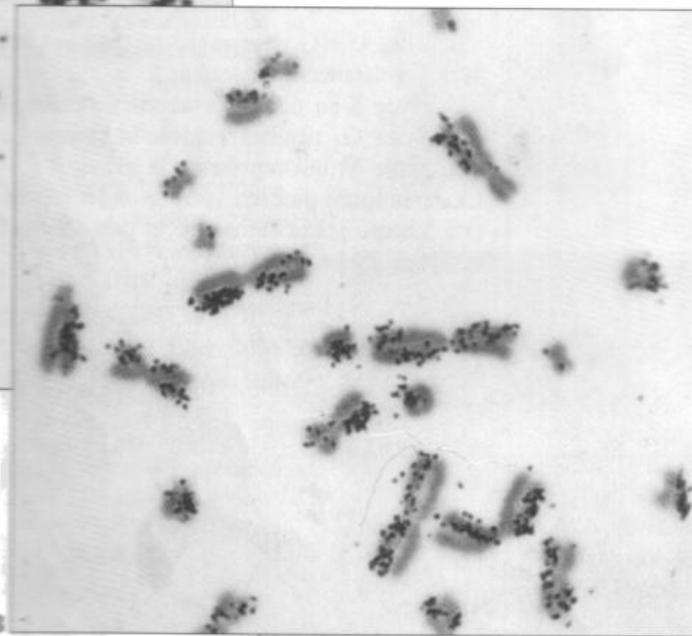


chromatide rouge = chromatide radioactive

# RéPLICATION de l'ADN



Des racines sont placées pendant un temps déterminé dans un milieu de culture contenant de la thymidine tritiée puis rincées et replacées dans un milieu sans thymidine radioactive  
- Certaines racines sont immédiatement traitées à la colchicine (pour bloquer en métaphase toutes les cellules qui entrent en mitose dans les heures suivantes). Quelques heures plus tard elles sont fixées, coupées et observées (cliché A).



L'AUTORADIOGRAPHIE  
PERMET DE SUIVRE  
LE PHÉNOMÈNE

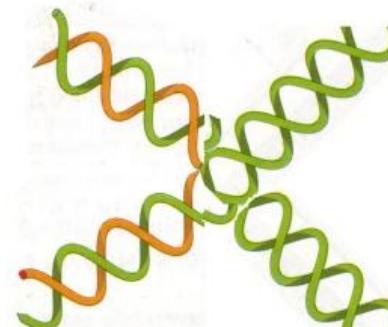
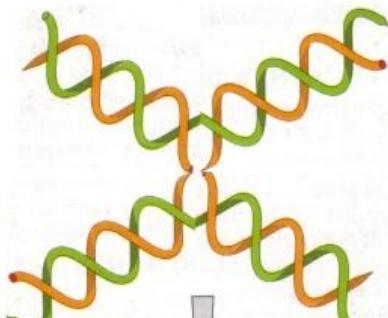


- D'autres racines subiront le même traitement après des intervalles de temps correspondant à un cycle cellulaire supplémentaire (cliché B) ou deux (cliché C).

Sur le cliché A, les deux chromatides de chaque chromosome sont « marquées ». Sur le cliché B, une seule chromatide de chaque chromosome est « marquée ». Sur le cliché C, la moitié des chromosomes seulement ont une chromatide « marquée ».



## cycle cellulaire sans T\*



## cycle cellulaire sans T\*

Orange : brin radioactif (\*) avec T\*  
Vert : brin non-radioactif avec T normal



Les deux molécules filles sont strictement identiques à la molécule mère. Chaque molécule fille comporte une chaîne conservée de la molécule initiale et une chaîne néo-formée (le processus de réplication de l'ADN est dit semi-conservatif).