

L'expérience de Meselson et Stahl

PRINCIPE DE LA MANIPULATION

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

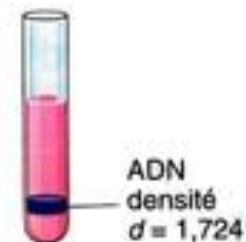


Culture (prolifération)
des bactéries

Milieu de culture
contenant de l'azote léger

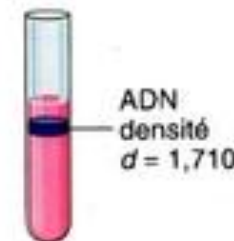


Extraction de l'ADN
et centrifugation



ADN
densité
 $d = 1,724$

Détection de l'ADN par
une lumière ultraviolette



ADN
densité
 $d = 1,710$

EXPÉRIENCE

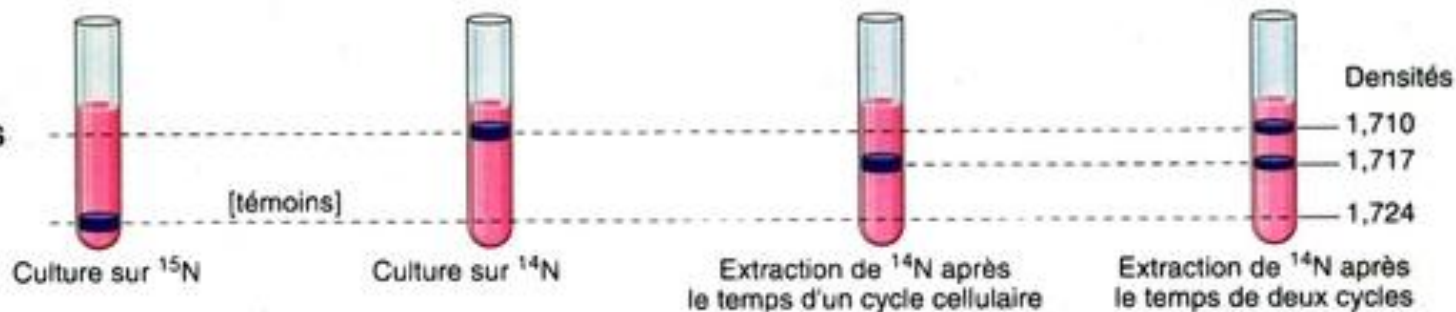
Milieu à ^{15}N
(n cycles cellulaires)

Transfert
des bactéries

Milieu à ^{14}N

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

RÉSULTATS



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

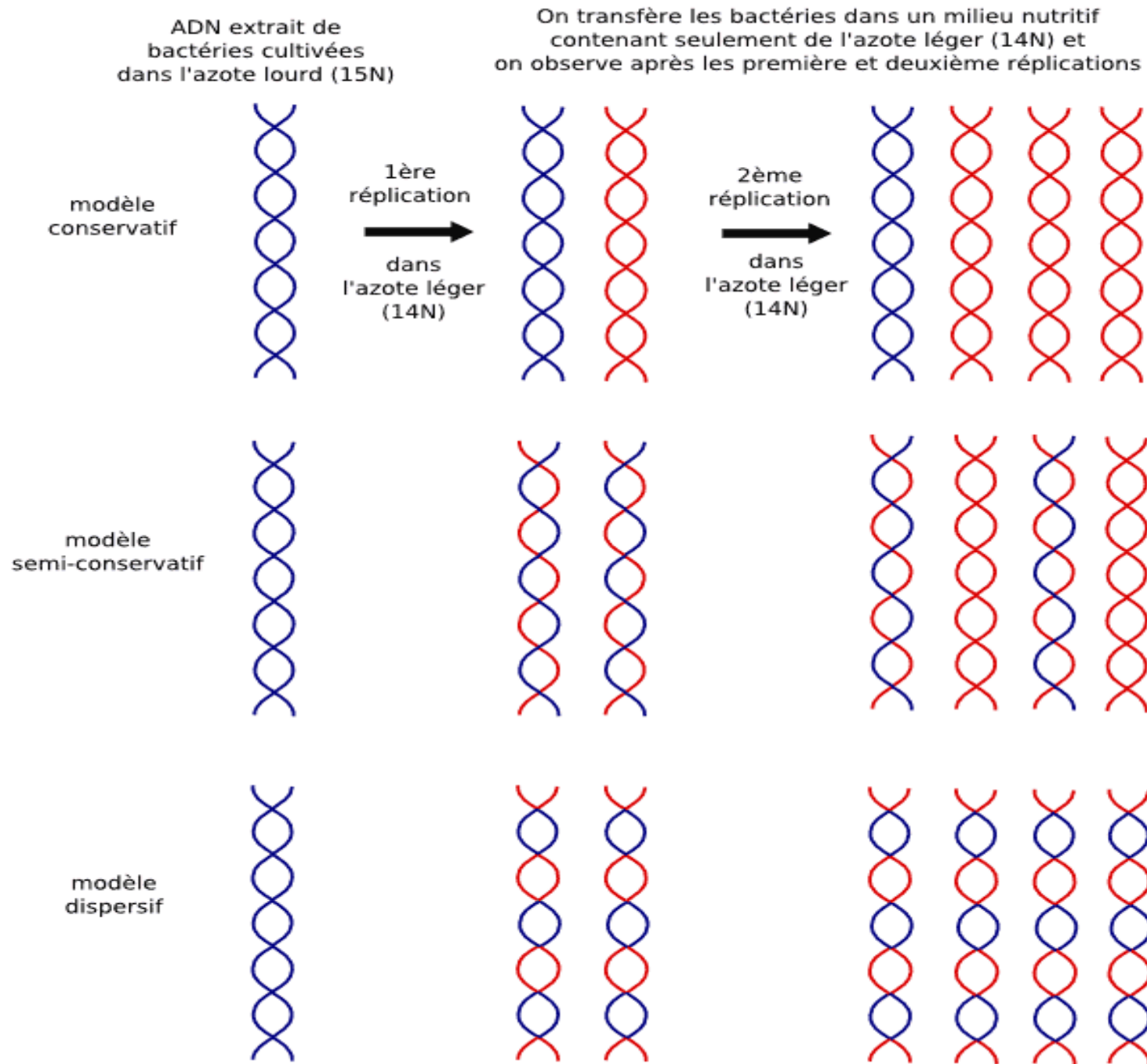
L'expérience :

Des bactéries sont cultivées sur un milieu ne contenant que de l'azote lourd (^{15}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.

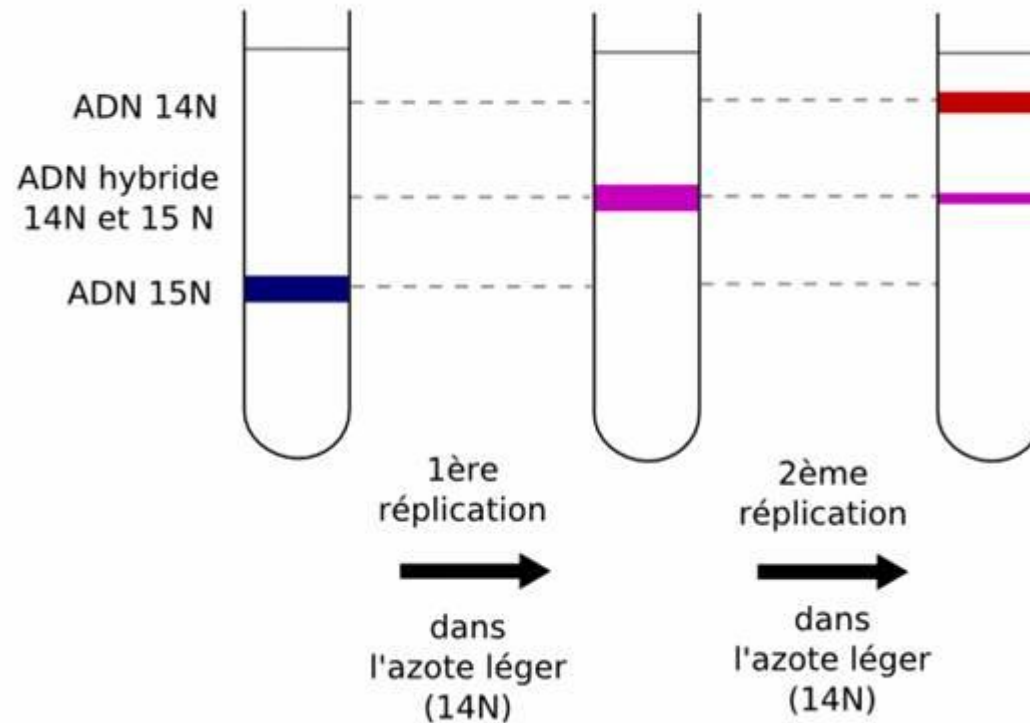
Le schéma suivant présente les molécules d'ADN suivant les trois hypothèses

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 réplifications (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 répllication de l'ADN), il n'y a que de l'ADN hybride (contenant ^{14}N et ^{15}N). Ensuite, après la deuxième répllication, il y a de l'ADN hybride et de l'« ADN ^{14}N ». Cette configuration ne peut correspondre que à l'hypothèse du modèle semi-conservatif.

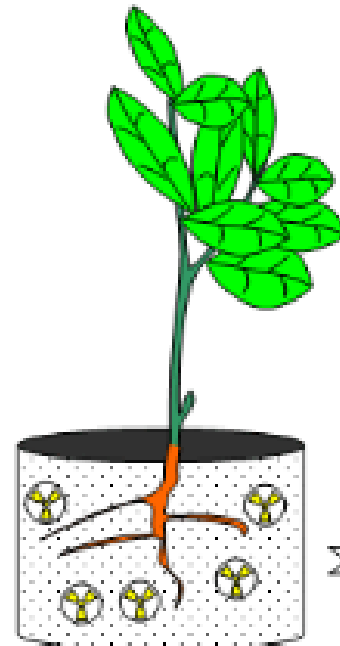
Conclusion :

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

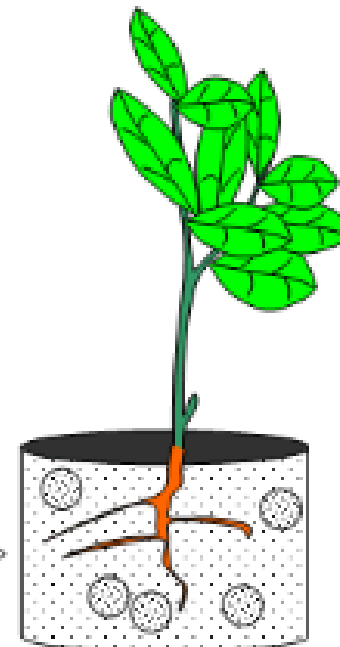
expérience de Taylor (thymidine marquée)

 T radioactive

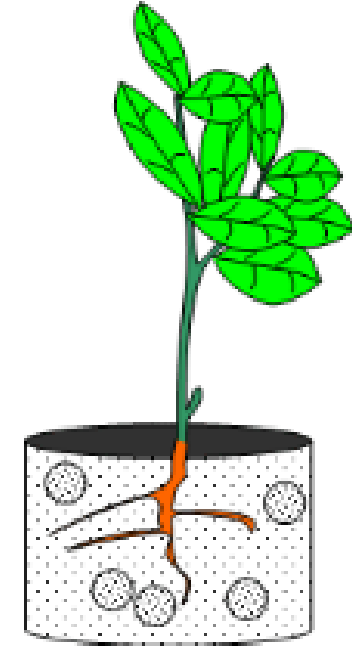
 T non
radioactive



plantule de fève cultivée sur
milieu "chaud" contenant T
radioactive



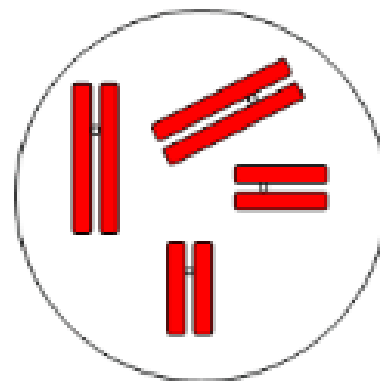
la même plantule de fève
cultivée sur milieu "froid"



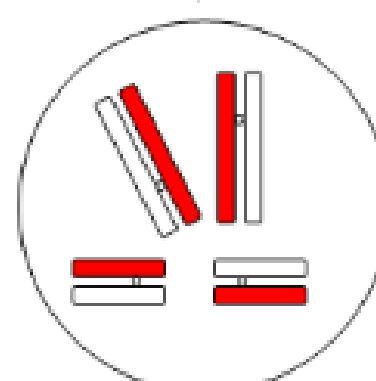
la même plantule de fève toujours
cultivée sur milieu "froid"



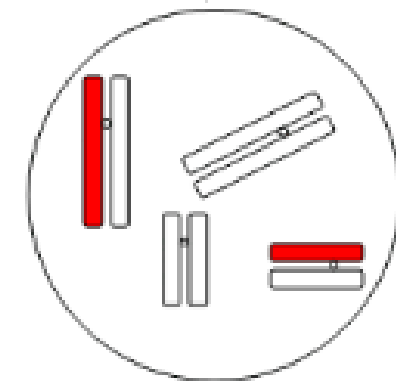
observation des
chromosomes
métaphasiques dans
cellules
méristématiques de
racine



1^{er} échantillon :
phase M1



2^e échantillon :
phase M2



3^e échantillon :
phase M3

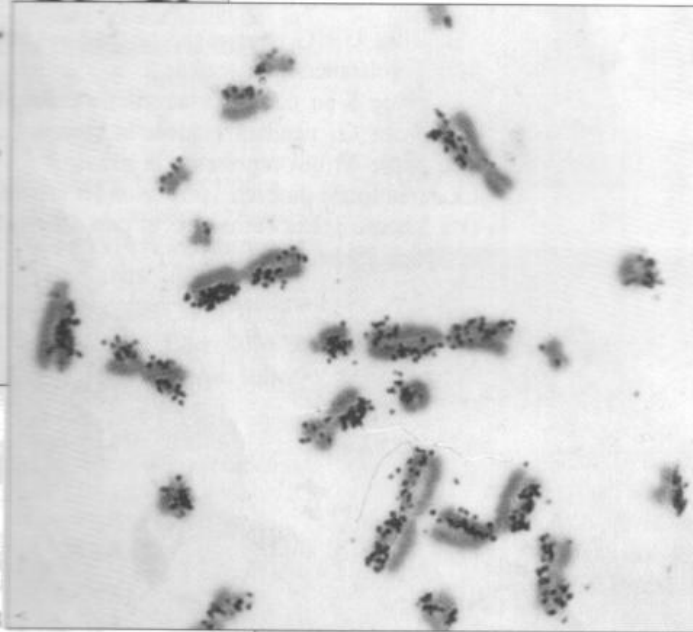
chromatide rouge= chromatide radioactive

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).

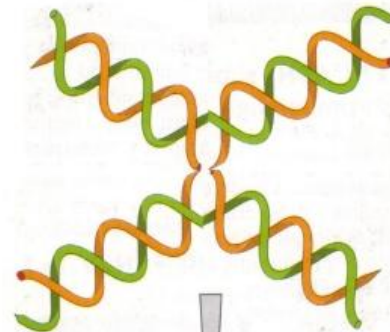
Sur le cliché A, les deux chromatides de chaque chromosome sont « marqués ». Sur le cliché B, une seule chromatide de chaque chromosome est « marquée ». Sur le cliché C, la moitié des chromosomes seulement ont une chromatide « marquée ».



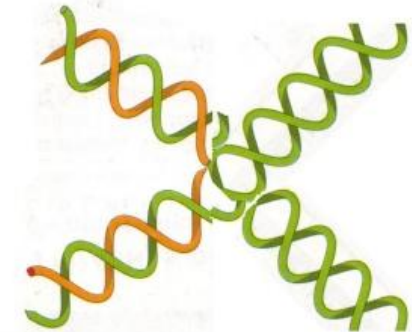
cycle cellulaire sans T*



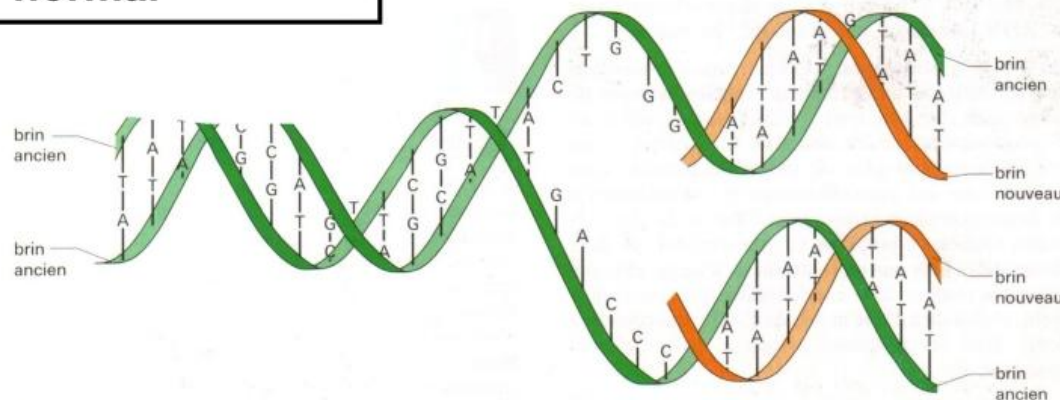
cycle cellulaire avec T*



cycle cellulaire sans T*



👉 : brin radioactif (*) avec T*
👈 : 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).