

Durant la **phase S** de l'interphase précédant la mitose ou la méiose, la molécule d'ADN (acide désoxyribonucléique) 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. Il s'agissait de déterminer les mécanismes assurant la répliation de l'ADN à partir de résultats d'expériences historiques.

1. L'expérience historique de Meselson et Stahl (1958)

En 1958, Meselson et Stahl essayent de comprendre les modalités de la répliation de l'ADN.

À partir des résultats de cette expérience, nous avons pu valider un modèle de répliation de l'ADN par l'étude d'une expérience historique.

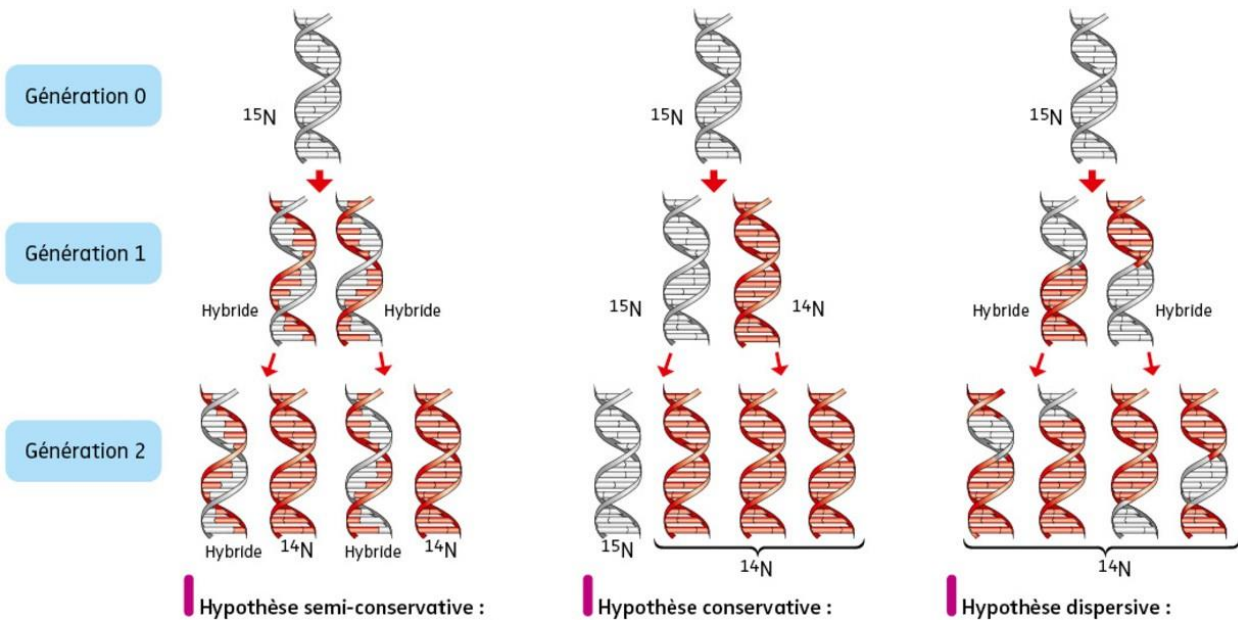
Lorsque cette expérience a été tentée, trois hypothèses étaient en concurrence pour décrire la manière dont l'ADN était recopié dans chaque cellule :



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** : chacun des deux molécule d'ADN issues de la répliation contient des portions d'ADN double-brin matrice et des portions d'ADN double-brin néosynthétisées.

Le schéma ci-dessous représente les molécules ADN obtenues lors de deux répliations successives. L'**ADN matrice** initial est représenté en blanc et l'**ADN néosynthétisé** durant les deux répliations est représenté en rouge

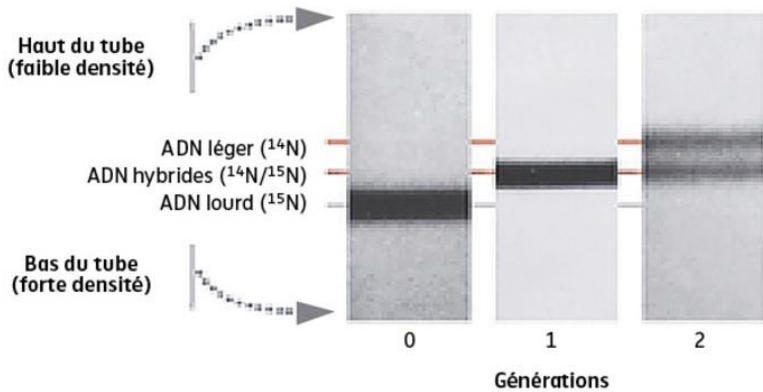


Le protocole de l'expérience de Meselson et Stahl est rappelé page 45.

Exploitation des résultats :

Dans l'expérience de Meselson et Stahl, à l'issue de la première réplication, on obtient 100% d'ADN hybride (bande du milieu dans le tube de centrifugation). Cela peut correspondre à l'hypothèse semi-conservative ou à l'hypothèse dispersive, mais pas à l'hypothèse conservative selon laquelle au bout d'une réplication on aurait 50% d'ADN lourd ¹⁵N et 50% d'ADN léger ¹⁴N.

Donc l'hypothèse conservative est invalidée.



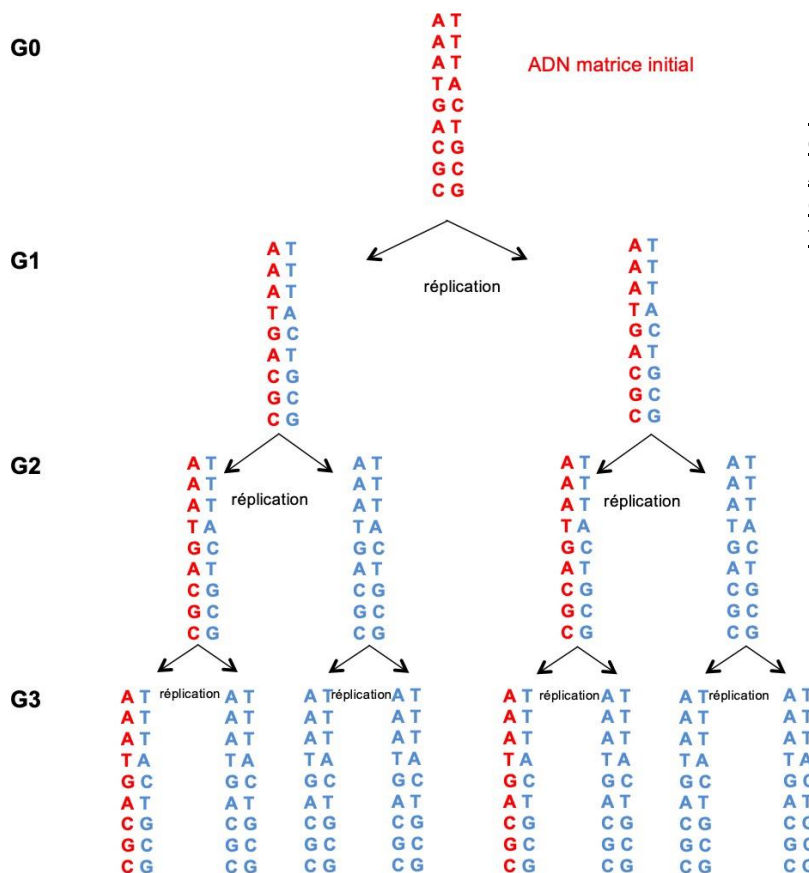
Résultats de l'expérience de Meselson et Stahl

À l'issue de la deuxième réplication, on obtient 50% d'ADN hybride et 50% d'ADN léger ¹⁴N (bande du haut dans le tube de centrifugation). Ce résultat est compatible avec l'hypothèse semi-conservative mais pas avec l'hypothèse dispersive selon laquelle au bout de deux réplications on n'obtient que de l'ADN hybride. Donc, l'hypothèse dispersive est invalidée. **La seule hypothèse compatible avec l'ensemble des résultats est l'hypothèse semi-conservative. On peut donc penser que la réplication de l'ADN est semi-conservative.**

Pour illustrer ce mode de réplication plus en détail, schématisons le devenir d'une molécule d'ADN de séquence AAATGACGC de la génération G0 à la troisième génération G3 (Bactéries de la culture sur milieu ¹⁵N, trois générations après leur transfert sur milieu ¹⁴N).

On utilise la **couleur bleue** pour représenter les brins d'ADN léger ¹⁴N et la **couleur rouge** pour représenter les brins d'ADN lourd ¹⁵N.

On rappelle qu'une molécule d'ADN matrice donne deux molécules d'ADN filles génétiquement identiques à la molécule d'ADN matrice. Par ailleurs, chaque réplication nécessite des nucléotides libres à A,T,G,C et de l'énergie.



Devenir d'une molécule d'ADN de séquence AAATGACGC de la génération G0 à la troisième génération G3

Exercice d'application : L'expérience historique de Taylor (1957)

En 1957, quatre ans après la découverte de l'ADN, Taylor met en culture de jeunes plantules dans un milieu nutritif contenant un précurseur « marqué » de l'ADN. Ce précurseur est le nucléotide T de l'ADN dans lequel certains atomes d'hydrogène ont été remplacés par l'isotope radioactif de cet élément, le tritium (^3H). Lorsque les cellules répliquent leurs molécules d'ADN, elles incorporent ce précurseur et l'ADN formé devient radioactif. Cette molécule devient alors détectable par la technique d'auto-radiographie : les cellules en culture sont écrasées et mises en contact avec un film photographique. Le rayonnement émis par les molécules radioactives impressionne le film, formant ainsi une tache noire qui révèle la position de ces molécules dans la cellule. Il s'agissait de faire le lien entre les molécules d'ADN (chacune constituée de deux brins) et les chromosomes sachant que chaque chromatide contient une molécule d'ADN double brin, et que les chromatides sœurs de chaque chromosome double contiennent deux molécules d'ADN identiques issues de la réplication.

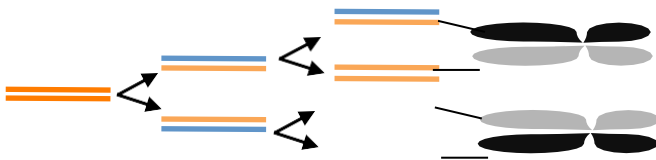
Lorsque l'ADN est synthétisé sur un milieu contenant le marqueur radioactif, tous les brins d'ADN néosynthétisés sont radioactifs. Dans les schémas suivants, les brins d'ADN non radioactifs sont représentés en orange et les brins d'ADN contenant le marqueur radioactif sont représentés en bleu.

cycle 1 Aspect des chromosomes



Le premier cycle a lieu sur un milieu « chaud » contenant le marqueur radioactif de l'ADN. Tout l'ADN néosynthétisé est donc radioactif. La réplication produit donc des molécules contenant un brin initial non radioactif et un brin néosynthétisé radioactif. Donc, toutes les molécules d'ADN ont un brin radioactif et toutes les chromatides sont radioactives.

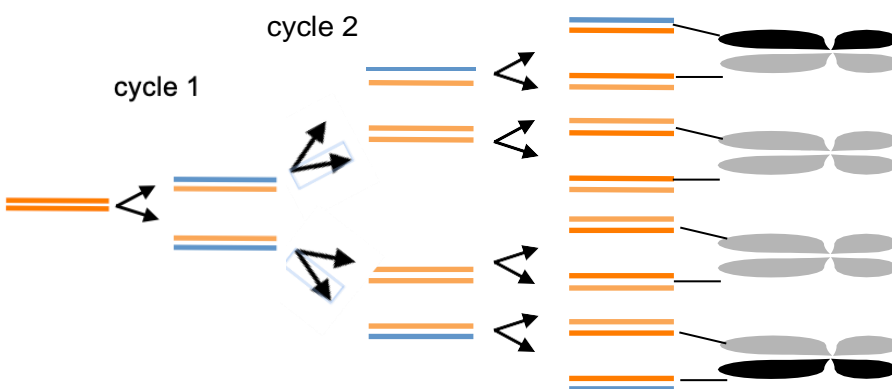
cycle 1 cycle 2 Aspect des chromosomes



Le second cycle a lieu sur un milieu « froid » ne contenant pas le marqueur radioactif de l'ADN. Tout l'ADN néosynthétisé est donc non-radioactif. La réplication produit donc deux sortes de molécules : des molécules hybrides avec un brin radioactif issu de la molécule matrice, et des molécules non-radioactives synthétisées à partir du brin matrice non radioactif.

Donc, une molécule d'ADN sur deux issues de la réplication est radioactive et par conséquent dans chaque chromosome double un chromatide sur deux est radioactive.

cycle 2 cycle 3 Aspect des chromosomes



Le troisième cycle a lui aussi lieu sur un milieu « froid » ne contenant pas le marqueur radioactif de l'ADN. Tout l'ADN néosynthétisé est donc non-radioactif.

La réplication à partir des molécules non radioactives du cycle 2 ne produit que des molécules non radioactives.

La réplication à partir des molécules radioactives du cycle 2 produit deux sortes de molécules : des molécules hybrides avec un brin radioactif issu de la molécule matrice, et des molécules non-radioactives synthétisées à partir du brin matrice non radioactif.

Donc, une molécule d'ADN sur quatre issue de la réplication est radioactive et par conséquent on observe des chromosomes dont les deux chromatides sont non-radioactives et d'autres chromosomes dont une chromatide sur deux est radioactive.