

Introduction:

Chaque individu présente un ensemble de caractères qui correspondent à son phénotype. Ces caractères ne sont pas physiquement transmis des ascendants aux descendants, mais qu'une information est transmise. L'expression de ces caractères revient à la présence de protéines spécifiques (c'est -à- dire à un arrangement spécifique de 20 acides aminés).

- **Qu'est ce qui détermine les caractéristiques morphologiques de chaque être vivant ?**
- **Comment expliquer que chaque individu possède des caractères morphologiques qui différent de ceux des autres individus de la même espèce?**
- **Comment s'effectue la transmission des caractères des parents aux descendants ?**
- **Quelle est la cause de l'apparition de caractères héréditaires anormaux ?**
- **Quelles sont les techniques utilisées pour le transfert des gènes utiles à des cellules.**

Chapitre 1:

Nature de l'information génétique

Introduction:

Au début de sa vie, l'organisme humain est composé d'une seule et unique cellule: la cellule-œuf. Elle est issue de la fécondation d'un ovule par un spermatozoïde et elle va former toutes les autres cellules du corps par des duplications successives. Cela signifie que cette unique cellule-œuf contient donc toutes les informations génétiques d'un individu.

- Quelle est la localisation de l'information génétique au niveau cellulaire?
- Quelle est la nature chimique de cette information?
- Comment se fait la transmission – et la conservation- de l'information, d'une cellule à l'autre?

I – Localisation de l'information génétique

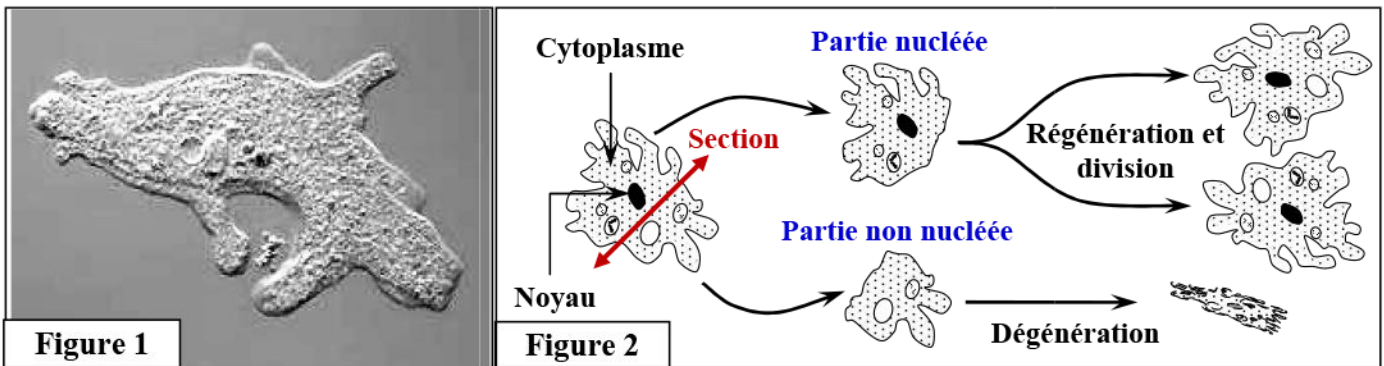
① Mise en évidence de la localisation de l'information génétique:

a) Expérience de section chez l'Amibe (Mérotomie): (Voir document 1)

Document 1: Expérience de section chez l'Amibe (Mérotomie):

L'amibe est un animal unicellulaire eucaryote (Figure 1), très petit (50 à 400µm). Les amibes sont caractérisées par un corps cellulaire déformable émettant des prolongements de forme changeante, les pseudopodes, qui leur permettent de ramper sur un support ou de capturer des proies microscopiques par phagocytose.

On a mis en évidence le rôle du noyau en réalisant l'expérience de mérotomie qui consiste à couper une amibe en 2 parties (Figure 2).



Que peut-on conclure de l'analyse des résultats de cette expérience ?

Le fragment cellulaire sans noyau dégénère (meurt) au bout de quelques jours.

La partie contenant le noyau persiste (se maintient en vie), se développe (la régénération) et même se divise pour donner deux amibes.

Conclusion: Le noyau est indispensable à la vie de la cellule; il est à l'origine de la régénération et de la division cellulaire.

b) Expériences de section et d'implantation chez l'Acétabulaire: (Voir document 2)

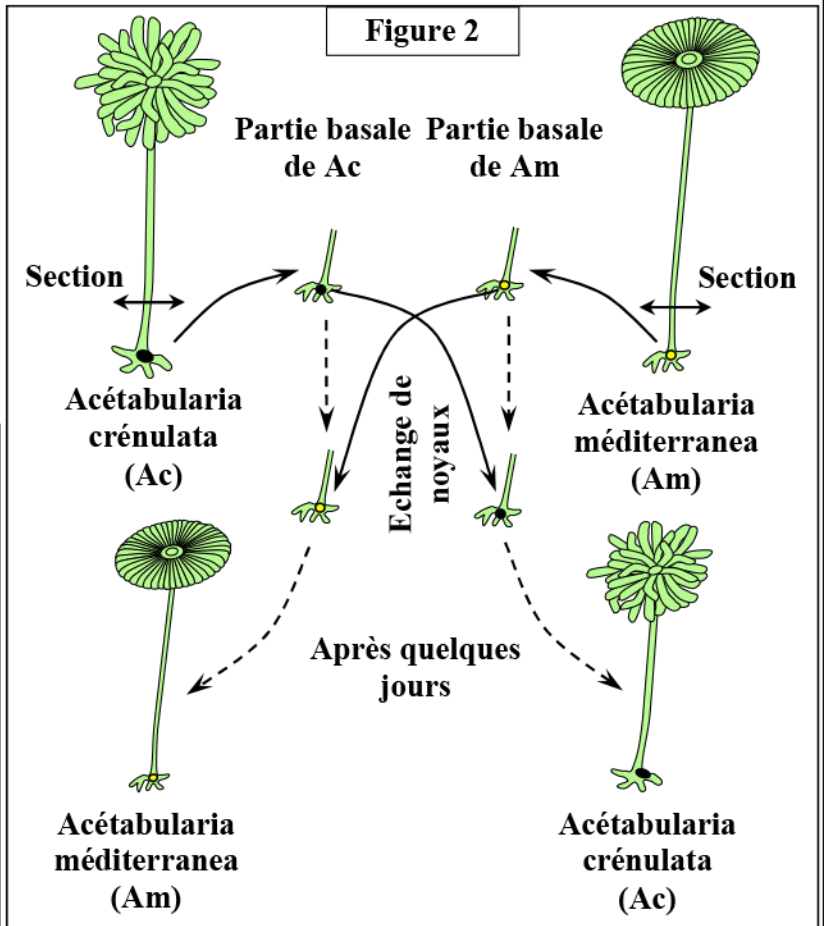
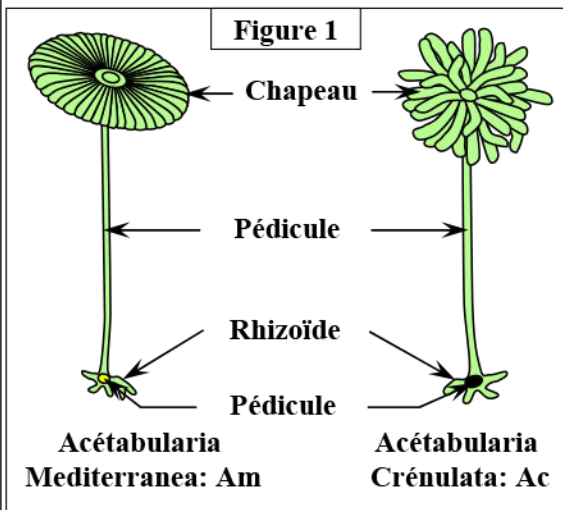
Document 2: Expériences de section et d'implantation chez l'acétabulaire:

L'acétabulaire est une algue verte unicellulaire marine (Figure 1), fréquente sur les bords de la méditerranée. Sa taille peut atteindre 5 cm, et présente un axe (Le pédicule) Celui-ci se terminera par un chapeau qui contient des sacs assurant la reproduction de l'algue, et une partie basale contenant le noyau.

La forme du chapeau varie selon les espèces d'acétabulaire.

On propose d'étudier deux espèces d'acétabulaires qui diffèrent par la forme de leur chapeau :

- ✓ *Acetabularia mediterranea* possède un chapeau à bord régulier (Lisse).
- ✓ *Acetabularia crénulata* possède un chapeau à bord crénelé (denté).



⇒ **Expérience 1:** Si on coupe l'acétabulaire en deux parties, seule la partie qui contient le noyau reste vivante et régénère une nouvelle algue. Tandis que les autres parties (chapeau et pédicule) qui ne contiennent pas de noyau meurent après quelques jours.

1) Quelle hypothèse peut-on émettre pour expliquer le résultat obtenu ?

⇒ **Expérience 2:** La greffe croisée de noyaux entre deux espèces d'acétabulaire:

- On sectionne les deux espèces (Ac) et (Am) en deux parties ;
- On extrait le noyau de chacune de ces deux espèces ;
- Le noyau de (Ac) est greffé dans le rhizoïde de (Am) énucléée et vice versa.
- Les résultats obtenus sont présentés par la figure 2.

2) Expliquer comment les résultats de cette expérience permettent de vérifier l'hypothèse proposée à partir des résultats de l'expérience 1.

- 1) Le rhizoïde possède l'élément (noyau) nécessaire à la survie et la croissance de l'algue. On peut dire donc que le noyau est le support de l'information génétique.
- 2) On observe que la forme du chapeau est liée au type du noyau présent dans le rhizoïde et non du type de l'algue dont le rhizoïde est issu. (Le chapeau nouvellement reconstitué présente les caractéristiques de l'algue dont le noyau est extrait).

On déduit donc que le noyau contient l'information génétique permettant la reconstitution du chapeau de l'espèce.

Ces résultats vérifient bien l'hypothèse précédente; le noyau est le détenteur de l'information génétique et il contrôle l'activité du cytoplasme.

c) Expérience de Gurdon sur les xénopes (Crapaud): (Voir document 3)

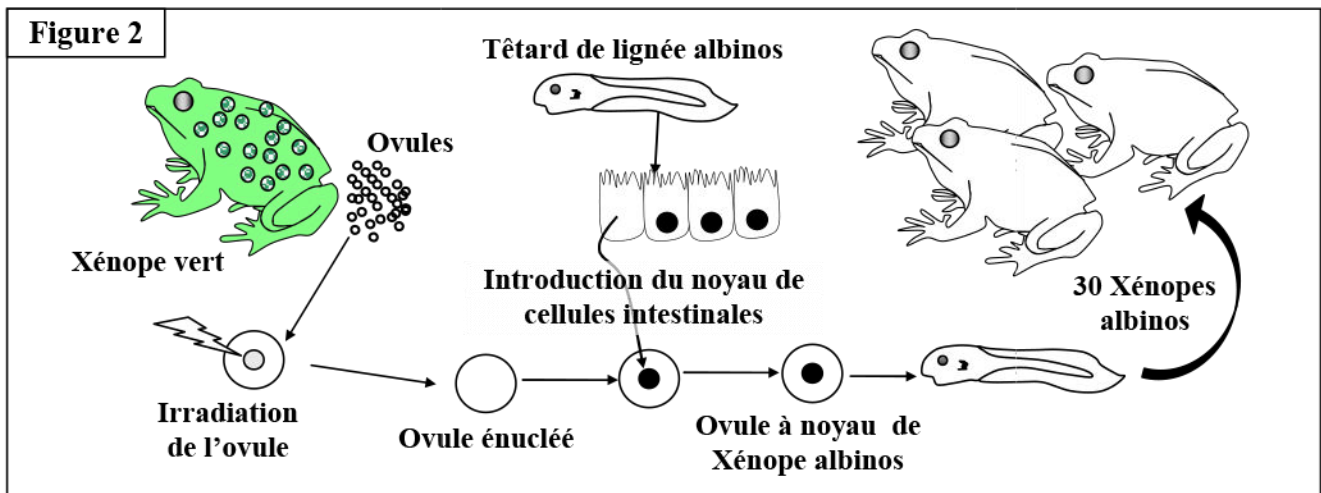
Document 3: Expérience de Gurdon sur les Xénopes (1960):

On prélève des ovules produits par un xénope vert femelle (Figure 1), ces ovules sont énucléés (noyaux détruit par irradiation aux ultraviolets) donc on ne conserve que la membrane et le cytoplasme de chaque ovule. On réintroduit dans ces ovules énucléés, le noyau des cellules intestinales prélevées chez un têtard de xénope albinos (Dépigmenté). Les nouvelles cellules-œufs formés sont donc constituées de la membrane et du cytoplasme d'un ovule de xénope vert et du noyau provenant de têtard de xénope albinos. Les résultats sont présentés par la figure 2.



Figure 1

Figure 2



L'opération étant répétée plusieurs fois, les ovules transformés donneront à chaque fois des têtards qui se métamorphosent en xénope albinos.

En vous basant sur ces données, expliquez comment l'expérience de Gurdon a permis de confirmer les données contenues dans les expériences de coupes de section et d'implantation chez l'acétabulaire.

On constate que le xénope provenant du développement de l'ovule hybride a hérité le caractère du xénope donneur du noyau et non pas celui du xénope qui a donné l'ovule sans noyau.

La conclusion est que c'est bien le noyau qui gouverne la couleur et les caractères du xénope puisque les xénopes sont albinos et non verts. L'ovule sans le noyau et uniquement avec sa membrane et son cytoplasme, ne joue aucun rôle. Les caractéristiques d'un individu dépendent des informations contenues dans le noyau. Donc le noyau contient bien le programme génétique.

② Bilan:

L'information génétique qui détermine les caractères héréditaires est localisée dans le noyau chez les organismes unicellulaires et les organismes pluricellulaires.

comment se fait donc le transfert de l'information génétique pendant la multiplication cellulaire?

II – Transmission de l'information génétique d'une cellule à une autre.

① Les étapes de la mitose:

a) Observation de l'extrémité d'une racine: (Voir document 4)

Document 4: Observation de l'extrémité de la racine de l'oignon:

La croissance des racines est rapide, de l'ordre de quelques mm par jour. Elle résulte des mitoses qui se produisent dans le méristème racinaire, zone de croissance située dans la zone subapicale de la racine (Figure 1).

On prélève une jeune racine en croissance sur un bulbe. On coupe le segment terminal à 5 mm de l'extrémité et après coloration, on le dépose sur une lame porte-objet et on le couvre avec une lamelle couvre-objet. L'observation au microscope permet de donner la figure 2.

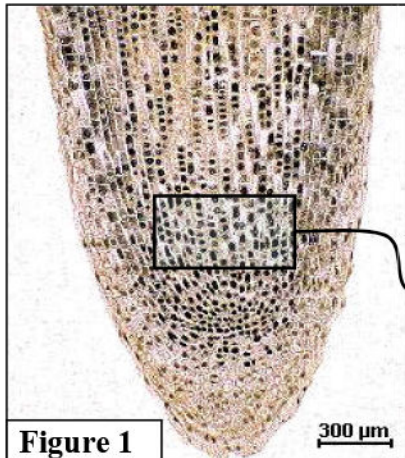


Figure 1

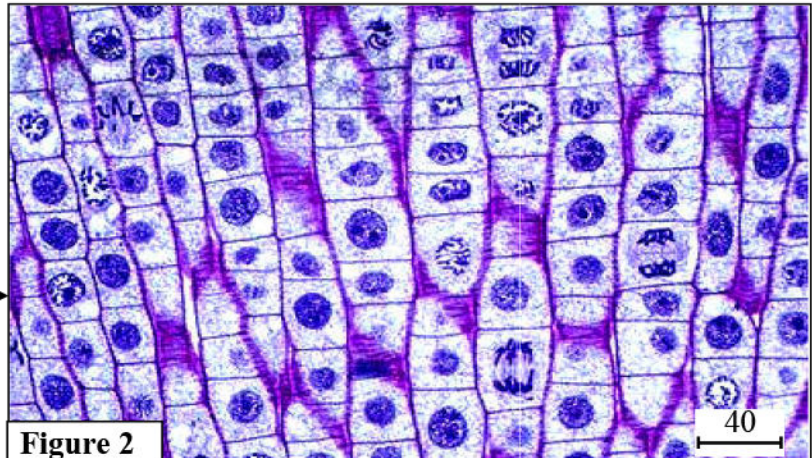


Figure 2

En se basant sur les données de ce document:

- Décrire l'aspect du noyau des cellules observées dans la figure 2.
- Dégager les caractéristiques de la mitose chez la cellule végétale.

Le méristème est la zone responsable de la croissance de la racine. L'observation au fort grossissement de ce méristème montre qu'il présente des cellules qui diffèrent par l'aspect du noyau:

- ✓ Des noyaux qui ont l'aspect d'une seule masse entourées d'une membrane nucléaire et contiennent un réseau dense de filaments nucléaires appelé chromatine et des nucléoles. Ces cellules sont au repos ou en interphase.
- ✓ Des noyaux sous forme de filaments appelés chromosomes qui se rassemblent au milieu de la cellule, ou bien se divisent en deux lots qui se séparent vers les pôles de la cellule. Ces cellules sont en division.

La transformation de la chromatine en chromosomes signifie l'entrée de la cellule en phase de multiplication. Cette activité est appelée mitose. C'est un mécanisme continu qui permet à une cellule mère de donner deux cellules filles génétiquement identiques à la cellule mère.

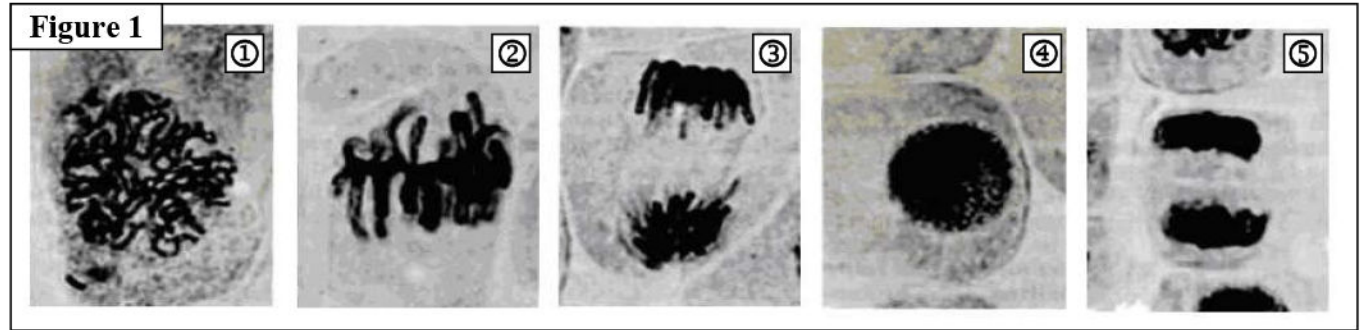
Dans la vie d'une cellule eucaryote alternent deux phases selon un cycle, appelé cycle cellulaire.

b) Ultrastructure du noyau pendant le cycle cellulaire: (Voir document 5)

Document 5: Ultrastructure du noyau pendant un cycle cellulaire:

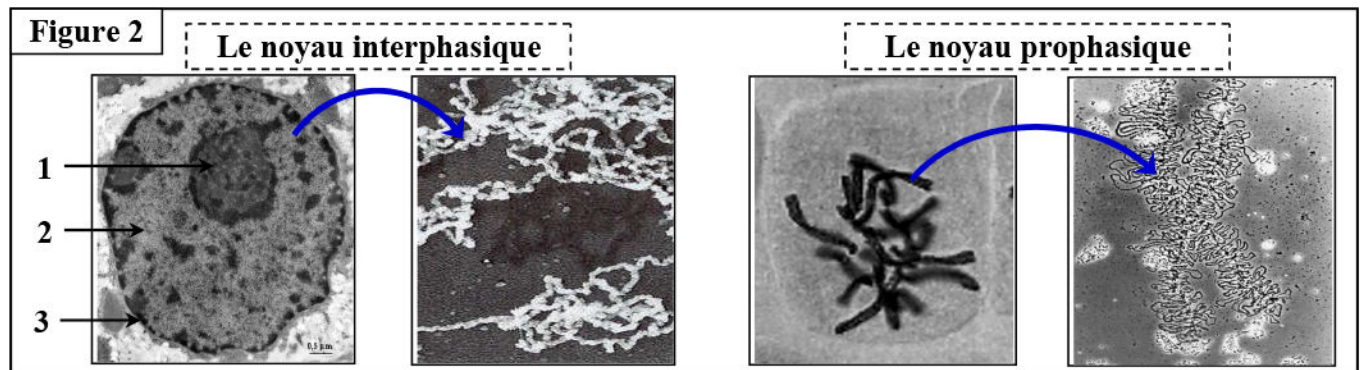
La figure 1, présente des électronographies de quelques cellules pendant des étapes d'un cycle cellulaire.

Document 5 (Suite): Ultrastructure du noyau pendant un cycle cellulaire:



- 1) Classer chronologiquement ces électronographies puis décrire l'aspect du noyau des cellules présentées par ces photos.

La figure 2 illustre l'aspect du noyau à deux périodes du cycle cellulaire:



- 2) En exploitant les données de la figure 2, décrire les modifications de la structure du noyau au cours d'un cycle cellulaire.

- 1) Classement chronologique des électronographies : ④ → ① → ② → ③ → ⑤

- ✓ **La photo ④** : La cellule présente un noyau entouré d'une membrane nucléaire et contient de la chromatine, les chromosomes ne sont pas individualisés. Cette cellule est en interphase.
- ✓ **La photo ①** : Les chromosomes s'individualisent et sont groupés à l'intérieur de la cellule. Les nucléoles et la membrane nucléaire disparaissent.
- ✓ **La photo ②** : Les chromosomes constitués de deux chromatides, se regroupent à l'équateur du fuseau.
- ✓ **La photo ③** : Les deux chromatides de chaque chromosome se séparent. Les chromosomes fils montent vers les pôles de la cellule.
- ✓ **La photo ⑤** : Les chromosomes qui perdent leur individualité se regroupent aux pôles et reconstituent deux noyaux. Une paroi cellulaire se forme à partir du centre, va séparer les deux cellules filles.

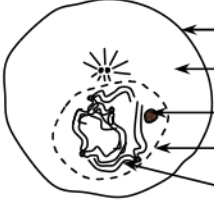
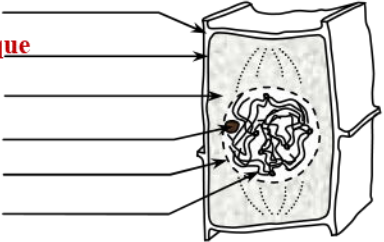
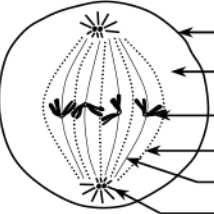
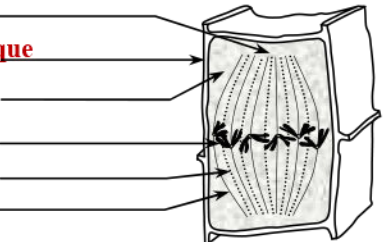
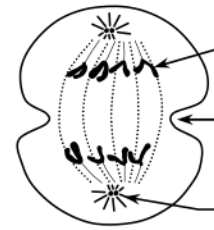
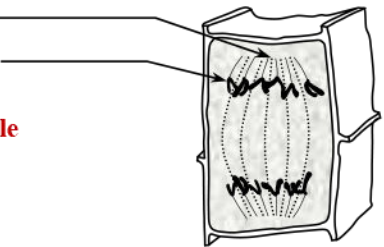
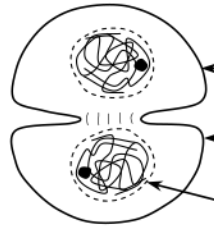
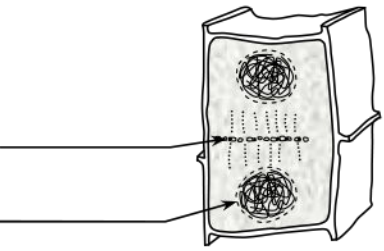
- 2) Observé à la métaphase, le noyau apparaît constitué d'un matériel plus ou moins granuleux, c'est la chromatine (2) et d'un nucléole (1), baignant dans un nucléoplasme. Le noyau est délimité par une enveloppe percée de pores c'est l'enveloppe nucléaire (3).

En dehors de la division cellulaire (pendant l'interphase), la chromatine se présente sous forme de filaments très fins appelés nucléofilaments, uniquement visibles en microscopie électronique à très fort grossissement.

Lors des divisions cellulaires, le noyau présente des structures filamenteuses appelées chromosomes. Le chromosome est de la chromatine soigneusement enroulée.

Chaque chromosome visible est constitué de deux chromatides unies entre-elles au niveau du centromère.

c) Les étapes de la mitose: (Voir document 6)

Document 6: Les étapes de la mitose:					
Les schémas de la figure ci-dessous, représentent les étapes de la mitose chez une cellule végétale et une cellule animale.					
Nombre de chromosome 4		1 : Paroi cellulosique 2 : membrane cytoplasmique 3 : Cytoplasme 4 : Nucléole 5 : Enveloppe nucléaire 6 : Chromosome		Nombre de chromosome 6	La phase : La prophase
Nombre de chromosome 4		1 : Calotte polaire 2 : Membrane cytoplasmique 3 : Cytoplasme 4 : Chromosome 5 : Fibre polaire 6 : Fibre chromosomique 7 : Aster		Nombre de chromosome 6	La phase : La métaphase
Nombre de chromosome 4+4		1 : Calotte polaire 2 : Chromosomes 3 : Etranglement équatoriale 4 : Aster		Nombre de chromosome 6+6	La phase : L'anaphase
Nombre de chromosome 4		1 : cellules filles 2 : Construction d'une paroi 3 : Noyaux filles		Nombre de chromosome 6	La phase : La télophase
Annotez chaque schéma, puis donnez le nom de la phase et le nombre de chromosomes. Décrire les étapes de la mitose chez une cellule, puis dégager les différences existantes entre la mitose chez une cellule végétale et une cellule animale.					

★ Les étapes de la mitose:

La division cellulaire nommée mitose, est une multiplication cellulaire où une cellule mère donne deux cellules filles identiques (reproduction conforme). La mitose est un phénomène continu, mais pour faciliter la compréhension de son déroulement, les biologistes ont décrit quatre étapes caractéristiques de la mitose :

✓ La prophase:

Pendant cette étape il y'a disparition de l'enveloppe nucléaire et du nucléole. La chromatine se condense en chromosomes avec un nombre bien déterminé appelé garniture chromosomique. Apparition du fuseau de division (fuseau achromatique).

✓ La métaphase:

Les chromosomes se rassemblent à l'équateur du fuseau de division formant la plaque équatoriale. Les chromosomes apparaissent fissurés en deux chromatides liés à un centromère porteur de fibres chromosomiques qui permettent au chromosome de s'accrocher aux fibres polaires du fuseau de division.

✓ L'anaphase:

Le centromère de chaque chromosome se fissure (Clivage), les deux chromatides indépendants l'un de l'autre, deviennent chromosomes et chacun migre vers l'un des deux pôles de la cellule par interaction entre les fibres chromosomiques et les fibres polaires, on parle d'ascension polaire. Il se forme dans les pôles de la cellule deux lots de même nombre de chromosomes.

✓ La télophase:

Pendant cette étape il y a décondensation des chromosomes qui reviennent à l'état de chromatine, disparition du fuseau équatorial, réapparition des nucléoles et réorganisation de l'enveloppe nucléaire. Deux noyaux apparaissent et subdivisent le cytoplasme entre eux en deux cellules filles ayant chacune le même nombre de chromosomes que la cellule mère.

★ Comparaison entre la mitose végétale et la mitose animale:

La mitose d'une cellule végétale se déroule dans ses grandes lignes comme une mitose de cellules animales, à deux différences près:

Cellule animale	Cellule végétale
Présence d'un organite cytoplasmique appelé centrosome qui, en prophase, s'entoure de fibres formant un Aster.	Absence de centrosome et d'aster qui sont remplacés par des calottes polaires.
La division du cytoplasme s'effectue par un étranglement équatorial	La division du cytoplasme s'effectue par la construction d'une nouvelle paroi à l'équateur de la cellule mère.

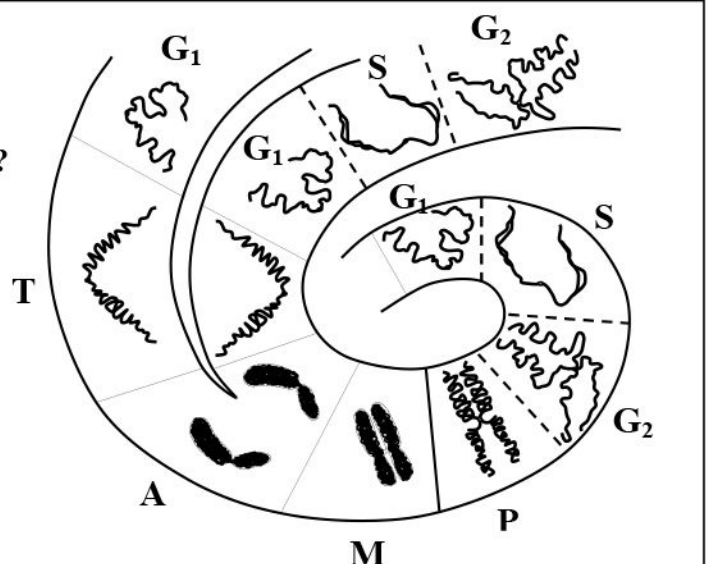
② Notion de cycle cellulaire: (Voir document 7)

Document 7: Notion de cycle cellulaire:

Le schéma ci-contre, présente l'aspect des chromosomes au cours d'un cycle cellulaire.

Que peut-on déduire de l'analyse de ce document?

G_1 = Première phase de croissance
S = La phase de synthèse
G_2 = Deuxième phase de croissance
P = La prophase
M = La métaphase
A = L'anaphase
T = La télophase



On appelle cycle cellulaire les différentes étapes par lesquelles passe la cellule, du début d'une interphase au début de l'interphase suivante. (Autrement dit cycle cellulaire = interphase + mitose).

Deux événements fondamentaux caractérisent ce cycle:

- ✓ La duplication des chromosomes en interphase matérialisée par le passage de chromosomes simples à une chromatide à des chromosomes doubles à deux chromatides.
- ✓ Un partage égal des chromosomes en anaphase de mitose: les chromatides de chaque chromosome se séparent. A la fin de la mitose, les deux cellules filles contiennent les mêmes chromosomes en nombre égal.

III – La nature chimique du matériel héréditaire.

① Mise en évidence de la nature chimique du matériel héréditaire:

a) Expériences de Griffith (1928): (Voir document 8)

Document 8: Expériences de Griffith:

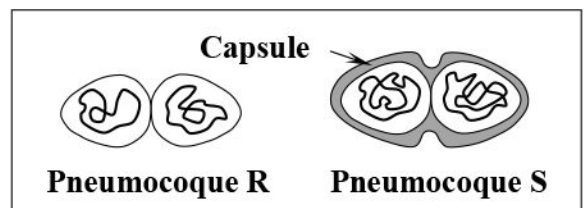
En 1928, le biologiste Frederick Griffith a constaté l'existence de deux souches de bactéries pneumocoques (Bactéries responsables de la pneumonie) (figure ci-dessous):











- ✓ Une souche dont les cellules possèdent une capsule externe, donnant un aspect lisse aux colonies que l'on désigne par la lettre S (De l'anglais Smooth).
- ✓ Une souche dont les cellules sont dépourvues de capsule externe, donnant un aspect rugueux aux colonies que l'on désigne par la lettre R (De l'anglais Rough).

Les expériences consistent à inoculer à des souris différents types de pneumocoques : S, R ou S tués par la chaleur ou l'alcool.

Les résultats de ces expériences sont représentés par le tableau ci-dessous.

Analyser les résultats des expériences de Griffith, puis donner une conclusion à chaque expérience. Proposer une hypothèse qui explique l'apparition des bactéries S dans la 4^{ème} expérience.



N°	Expériences	Résultats	Analyse du sang	Conclusions
1	S vivants 	Mort de la souris 	 S vivants	La souche S est virulente, elle tue l'animal.
2	R vivants 	Survie de la souris 	Absence de tout pneumocoque	La souche R n'est pas virulente.
3	S Tués 	Survie de la souris 	Absence de tout pneumocoque	La destruction de la capsule rend la souche S non virulente.
4	S Tués + R vivant 	Mort de la souris 	 S vivants	En présence de S tués les pneumocoques R vivants se transforment en pneumocoques S vivants.

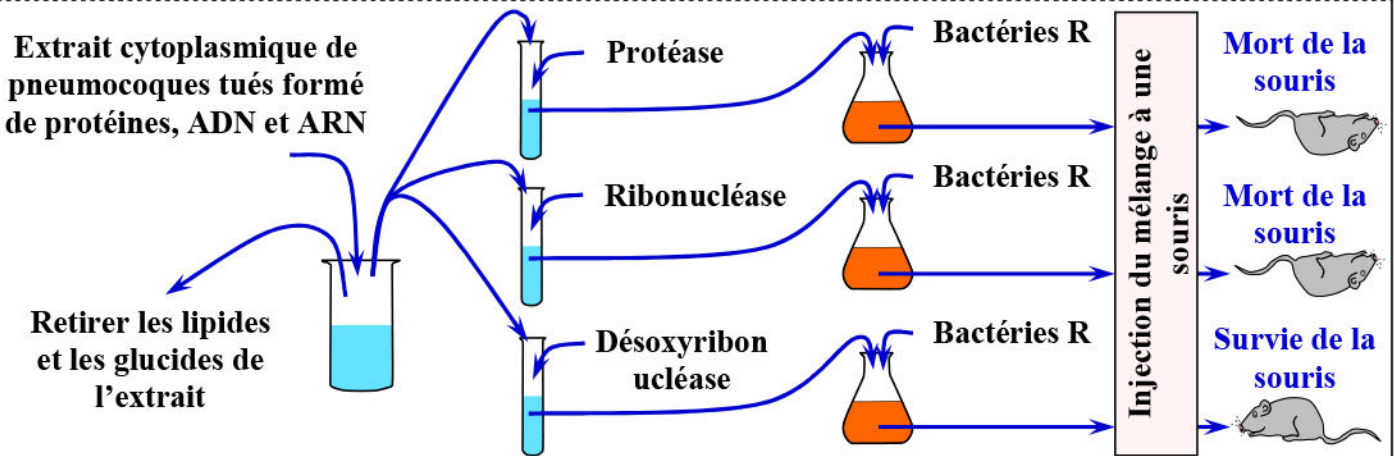
Ces expériences ont mis en évidence l'existence d'une substance libérée par les bactéries S tuées, susceptible d'être intégrée par les bactéries R, et qui leur confère la capacité de synthétiser la capsule, ainsi elles se transforment en bactéries S. Griffith a appelé cette substance « Le principe transformant » (ou facteur transformant).

Quelle est donc la nature chimique de ce facteur transformant ?

b) Expériences d'Avery, Macleod et McCarthy (1935): (Voir document 9)

Document 9: Expériences d'Avery, Macleod et McCarthy:

L'analyse du principe transformant fut réalisée en 1944 par des américains (Avery, Macleod et McCarthy). La figure ci-dessous montre les expériences de ces biologistes ainsi que les résultats obtenus.



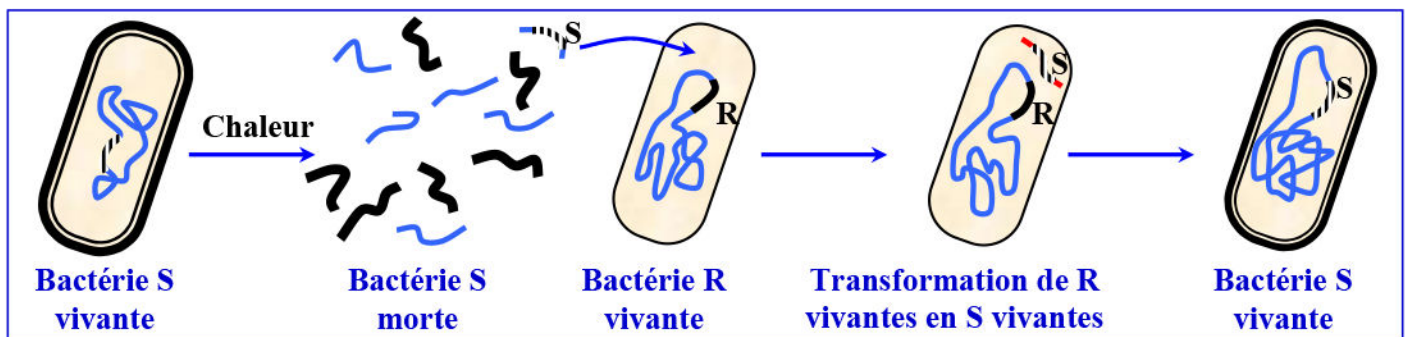
- 1) En exploitant ces données, déduisez la nature chimique de l'information génétique.
- 2) A l'aide d'un schéma interprétez le mécanisme de la transformation bactérienne.

- 1) L'utilisation de protéase et de ribonucléase a montré que les protéines et l'ARN ne sont pas impliqués dans la transformation des bactéries R en S.

Lors de l'addition d'une Désoxyribonucléase (enzyme qui détruit l'ADN), la transformation n'avait pas lieu et la souris survivait.

On peut déduire donc que la substance responsable de la transformation des bactéries R en bactéries S est l'ADN (acide désoxyribonucléique).

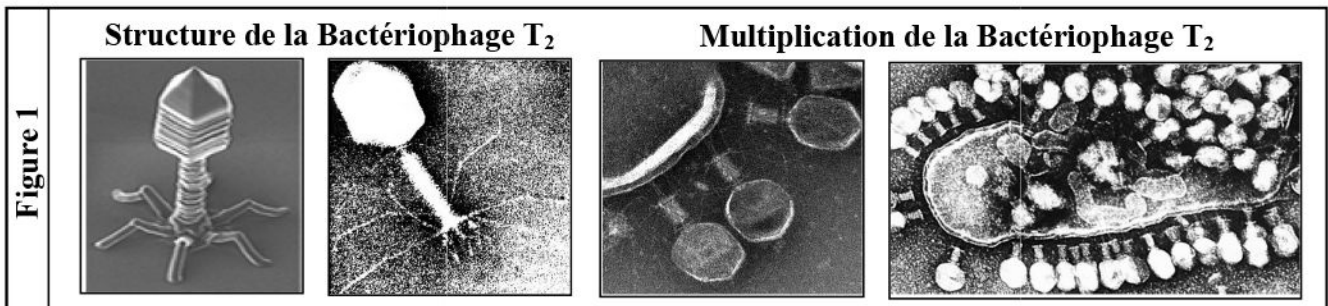
- 2) Schéma pour interpréter le mécanisme de la transformation bactérienne:



La transformation du pneumocoque R en pneumocoque S, se manifeste par l'acquisition de la capsule en présence d'ADN de S tué. Donc l'ADN est capable de donner aux bactéries R la capacité de synthétiser la capsule, qui constitue chez cette espèce un caractère héréditaire. L'ADN est donc le support de l'information génétique.

Document 10: Expériences de Chase et Hershey (1952):

Les expériences de Chase et Hershey ont été réalisées avec le bactériophage T₂ en 1952. Ce bactériophage infecte et se multiplie dans la bactérie *Escherichia coli* (E. coli). Le bactériophage T₂ a un ADN protégé par une capsid protéique (Voir figure 1).

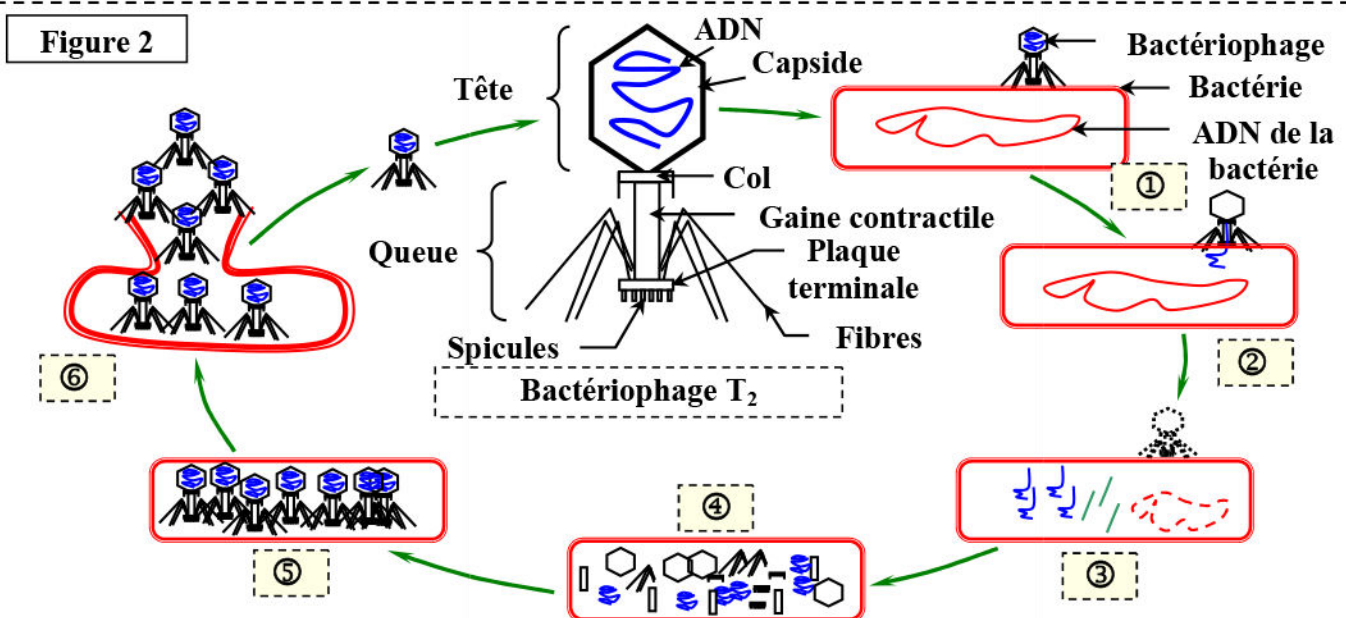
**Les expériences de Chase et Hershey:**

Sachant que le phosphore est un constituant de l'ADN et n'existe pas dans les protéines et que le soufre est un constituant qu'on le trouve dans les protéines et pas dans l'ADN. Les expériences suivantes ont été réalisées.

Expériences	Résultats
1- Marquage de l'ADN d'une série de bactériophages T ₂ avec un traceur radioactif : le phosphore 32 (³² P). en suite les bactériophages T ₂ marqués ont été mis en présence de bactéries.	- La radioactivité due au (³² P) est localisée à l'intérieur des bactéries. - Les virus libérés possèdent un ADN radioactif.
2- Marquage des protéines de la capsid d'une autre série de bactériophages T ₂ avec un autre traceur radioactif : le soufre 35 (³⁵ S). en suite les bactériophages T ₂ marqués ont été mis en présence de bactéries.	- La radioactivité due au (³⁵ S) est localisée à l'extérieur des bactéries. - Les virus libérés sont non radioactifs.

1) Que peut-on déduire de l'analyse de ces résultats ?

Le schéma de la figure 2, illustre le cycle de vie du bactériophage T₂.



2) Décrire les étapes de la multiplication du bactériophage.

3) Que peut-on déduire de l'analyse du cycle de vies du bactériophage ?

- 1) Les virus sont qualifiés de parasites obligatoires (se multiplient uniquement à l'intérieur des cellules)

On constate à partir des résultats des expériences de Chase et Hershey que La capside protéique du bactériophage reste à l'extérieur de la bactérie, tandis que l'ADN pénètre dans la bactérie pour servir de plan pour la reproduction virale.

- 2) Les étapes de la multiplication du bactériophage :

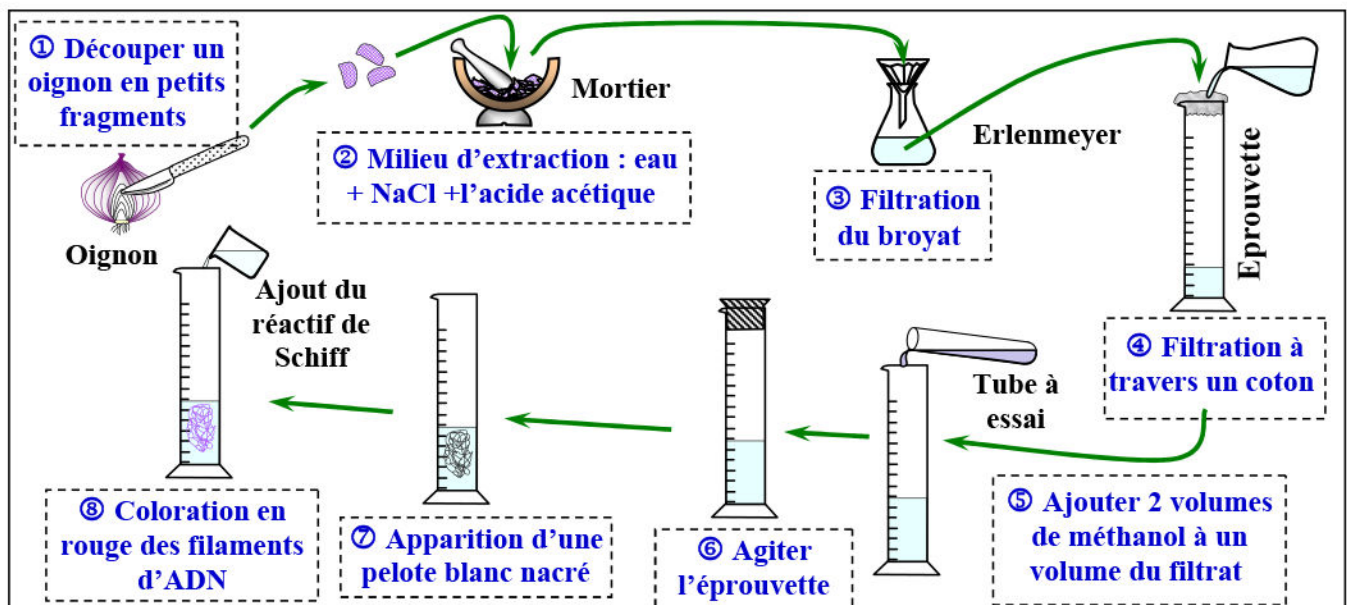
- ① : Fixation du bactériophage avec ses fibres caudales à la surface de la bactérie, infection de la bactérie.
- ② : Les spicules perforent la membrane bactérienne et la gaine contractile injecte l'ADN virale dans le cytoplasme bactérien.
- ③ : Dégradation du chromosome bactérien en unité d'ADN, et synthèse de nombreuse copie de l'ADN virale.
- ④ : Synthèse des organites viraux.
- ⑤ : Assemblages de nouveaux bactériophages
- ⑥ : Eclatement de la bactérie et propagation des nouveaux virus pour infecter de nouvelles bactéries.

- 3) L'analyse des étapes du cycle de vie du bactériophage démontre clairement que l'acide nucléique viral (ADN) constitue le matériel héréditaire des virus, c'est-à-dire les "plans de construction" pour une nouvelle génération virale.

② Extraction de l'ADN: (Voir document 11)

Document 11 : Extraction de l'ADN à partir de cellules de bulbe d'oignon.

L'extraction d'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus. Pour cette extraction, on utilise la technique de Feulgen basée sur l'utilisation du réactif de Schiff, substance incolore, une substance incolore qui apparaît en rouge lorsqu'elle est en contact avec l'ADN. La figure ci-dessous, représente les étapes d'extraction de l'ADN à partir d'oignon.



Sachant que les chromosomes se colorent en rouge par le réactif de Schiff, que pouvez-vous déduire des résultats du protocole d'extraction de l'ADN.

Les résultats de la technique de Feulgen montrent que la molécule ADN est le constituant fondamental des chromosomes, qui sont le support de l'information héréditaire.

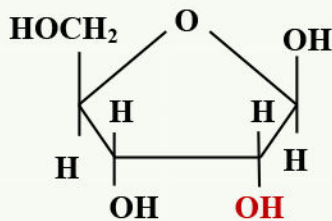
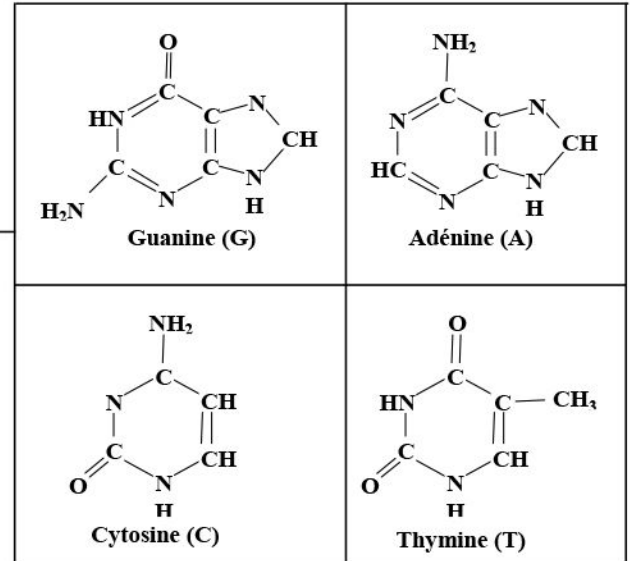
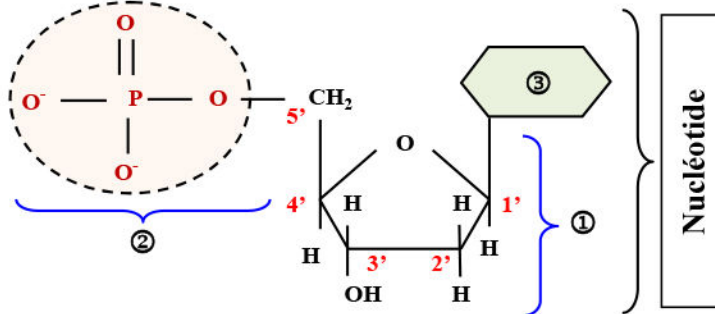
IV – Les constituants chimiques de l'ADN et sa structure.

① Les constituants chimiques de l'ADN: (Voir document 12)

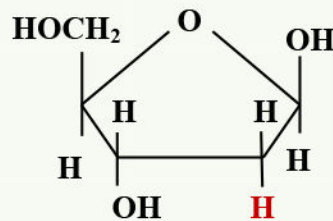
Document 12 : Les constituants chimiques de l'ADN.

L'hydrolyse enzymatique de l'ADN permet de libérer et identifier les constituants de cette molécule. C'est un polymère de nucléotides, chaque nucléotide est constitué par l'association de 3 molécules (Figure ci-dessous):

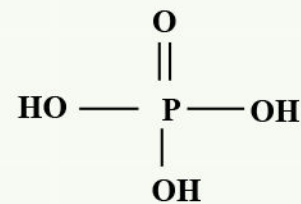
- ★ Un pentose (①), le désoxyribose $C_5H_{10}O_4$
- ★ Un acide phosphorique H_3PO_4 (②).
- ★ Une base azotée (③), qui peut être soit l'adénine (A), la thymine (T), la guanine, ou bien la cytosine (Figure ci-contre).



Ribose $C_5H_{10}O_5$



Désoxyribose $C_5H_{10}O_4$



Acide phosphorique H_3PO_4

- ★ L'ADN est un polymère (une grande molécule qui contient des unités répétitives) composé d'un 2' désoxyribose, d'un acide phosphorique et de 4 bases azotées notés A, T, G et C.
- ★ Deux des bases ont une structure à double anneau appelées purines : sont l'adénine (A) et la guanine (G). Les deux autres bases ont une structure à anneau unique, celles-ci sont appelées pyrimidines : sont la thymine (T) et la cytosine (C).
- ★ Dans l'ADN chaque base est liée à une molécule du sucre (désoxyribose) formant un composé appelé nucléoside. Selon la base azotée attachée, on distingue quatre types de nucléosides: la thymidine ; l'adénosine ; la guanosine et la cytidine.
- ★ Quand un groupe phosphate est également attaché à la molécule du sucre le nucléoside devient un nucléotide.

② La structure de la molécule d'ADN:

a) La règle de Chargaff (1947): (Voir document 13)

Document 13 : Les constituants chimiques de l'ADN.

En 1947, Erwin Chargaff mesure les proportions des différentes bases azotées sur des extraits d'ADN obtenus chez différentes espèces. Les résultats sont exprimés en % dans le tableau ci-dessous.

	% des bases azotées				A/T	C/G	A+C/T+G	A+T/C+G
	A	T	C	G				
Homme	30.9	29.4	19.8	19.9	1.51	0.99	1.03	1.52
Poule	28.8	29.2	21.5	20.5	0.99	1.05	1.01	1.38
Blé	27.3	27.1	22.8	22.7	1.00	1.00	1.01	1.19
Levure	31.3	32.9	17.1	18.7	0.95	0.92	0.94	1.79
Bactérie	24.7	23.6	25.7	26.0	1.04	0.99	1.02	0.93
Virus	26	26	24	24	1	1	1	1.08

1) Que peut-on déduire :

- De la comparaison des proportions des bases azotées chez ces êtres vivants?
- De l'analyse des rapports $((A+C)/(T+G))$ et $((A+T)/(C+G))$?

2) Un fragment d'ADN est composé de 24 nucléotides, tel que $((T+A)/(C+G)) = 1.4$

- En se basant sur ces données et sur les caractéristiques de l'ADN, déterminer le nombre de type de nucléotides A, T, C et G qui compose ce fragment d'ADN.
- Si on considère que l'ADN est une chaîne simple de nucléotides, quelle sera la longueur théorique de ce fragment d'ADN sachant que la longueur d'un nucléotide est 0.34 nm ?
- La mesure de la longueur réelle de ce fragment d'ADN a donnée 4.08 nm. Que peut-on conclure de la comparaison de la longueur réelle et celle théorique ?

1) Comparaison des proportions des bases azotées chez ces êtres vivants:

- Quelque soit la source de l'ADN, la proportion d'adénine est la même que celle de la thymine, et la proportion de guanine est la même que celle de la cytosine. On conclue que dans l'ADN : $A = T$ et $C = G$.
- La relation $((A+T)/(C+G))$ est variable d'une espèce à l'autre, alors que la relation $((A+C)/(T+G)) = 1$, elle est constante chez toutes les espèces et représente une caractéristique de l'ADN.

2) Quelque soit l'origine de l'ADN, on a $T = A$ et $G = C$, ainsi :

$$a. ((A+T)/(C+G)) = 1.4 \Rightarrow 2T/2G = 1.4 \Rightarrow T = 1.4G$$

$$A + T + C + G = 24 \Rightarrow 2T + 2G = 24 \Rightarrow T + G = 12 \Rightarrow T = 12 - G$$

$$T = 12 - G \Rightarrow 1.4G = 12 - G \Rightarrow 1.4G + G = 12 \Rightarrow 2.4G = 12 \Rightarrow G = 5$$

$$\text{Donc } \mathbf{G = C = 5.}$$

$$T + G = 12 \Rightarrow T + 5 = 12 \Rightarrow T = 7$$

$$\text{Donc } \mathbf{T = A = 7.}$$

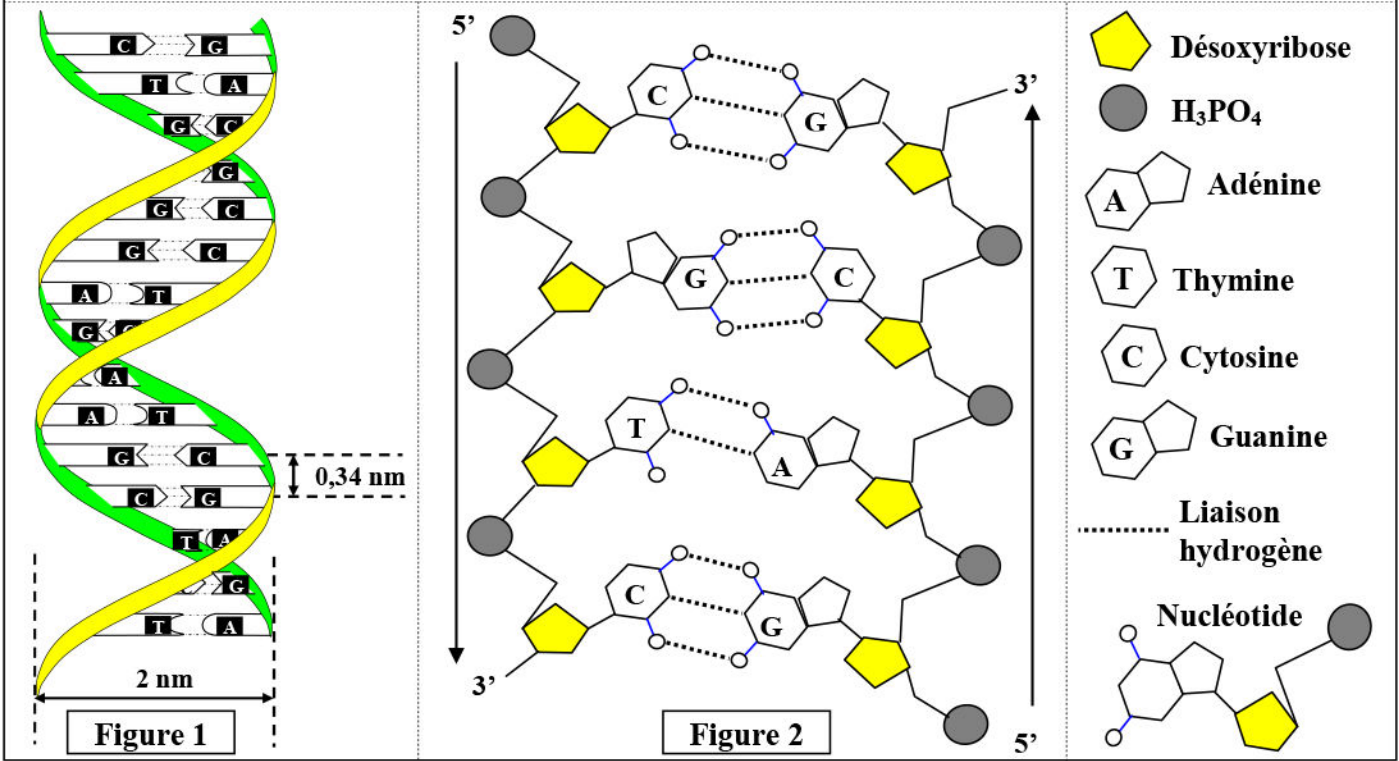
$$b. \text{ La longueur théorique du fragment d'ADN est : } \mathbf{0.34 \times ((5+7) \times 2) = 8.16 \text{ nm}}$$

- la longueur théorique du fragment d'ADN est le double de sa longueur réelle. On conclue que les 24 nucléotides ne forment pas une chaîne simple, mais plutôt 2 chaînes parallèles de 12 nucléotides.

Document 14 : Le modèle de Watson et Crick (1953).

Le 25 avril 1953, Francis Crick et James Watson décrivaient pour la première fois la structure de l'ADN, molécule en forme de double hélice.

Les figures ci-dessous, représentent l'aspect de la double hélice de la molécule d'ADN (Figure 1), et la structure de la molécule d'ADN (Figure 2).



Watson et Crick (1953), ont proposé un modèle de la molécule d'ADN, qui respecte les caractéristiques de l'ADN, les bases puriques et les bases pyrimidiques ont une structure spatiale qui se complète et permet la formation de liaisons hydrogènes, ainsi, l'ADN a une structure en double hélice.

Les atomes de carbone du désoxyribose sont par convention, notés C1', C2', ..., C5'. Or, sur chaque brin d'ADN, il y a une extrémité libre: C5', alors qu'à l'autre extrémité, c'est le C3' qui est libre. Ainsi le brin a une polarité suivant la direction 5' → 3'. D'autre part les deux brins qui s'assemblent sont de polarités opposées, les deux brins sont antiparallèles, l'un des brins est orienté droit 5' → 3' l'autre est inversé.

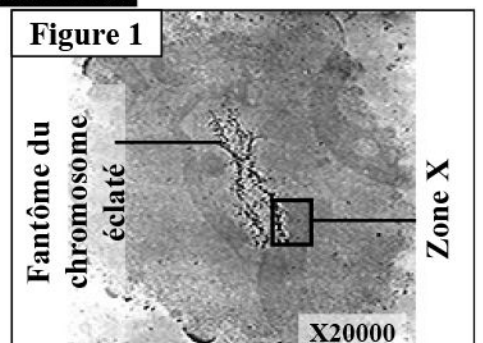
V – Relation entre chromatine, chromosome et ADN.

① Structure de la chromatine: (Voir document 15)

Document 15 : Relation entre chromatine, chromosome et ADN.

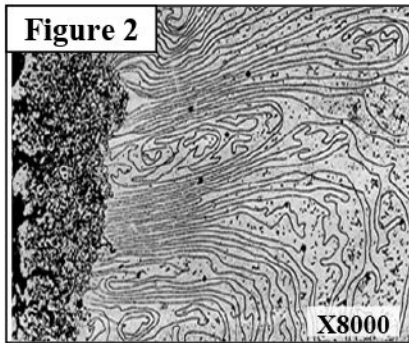
Les deux électronographies présentées par ce document, montrent l'aspect d'un chromosome métaphasique après l'avoir soumis à une digestion enzymatique spécifique qui élimine certaines protéines.

La figure 1, représente un "fantôme" de chromosome autour duquel s'est formée une masse très dense. La figure 2, représente un détail de la zone X à un grossissement nettement supérieur.

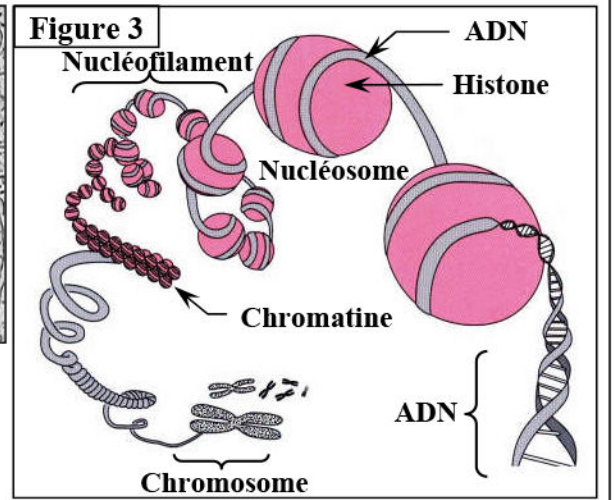


Document 15 : (Suite).

La figure 3, illustre la relation qui existe entre la chromatine, les chromosomes et l'ADN.



A partir de l'exploitation des figures de ce document, déduire la structure de la chromatine et du chromosome, puis déterminer la relation qui lie la chromatine, les chromosomes et l'ADN.



L'observation des électronographies de la figure 1 et 2, montre que le chromosome est formé d'un filament extrêmement long. C'est un nucléofilament composé d'une molécule très fine et très longue d'ADN associée à des protéines: les histones.

Au cours de l'interphase le nucléofilament apparaît comme un collier constitué de l'enroulement d'une molécule d'ADN autour des histones pour former des nucléosomes.

Pendant la prophase, la spiralisation des nucléofilaments, puis leur enroulement autour d'un squelette protéique forme les chromosomes qui apparaissent formés de deux chromatides.

② Bilan :

La chromatine se présente le plus souvent sous la forme d'une matière sans structure particulière. Aux moments des multiplications de la cellule, la chromatine perd son aspect diffus et se condense en structures bien définies: les chromosomes.

Donc la chromatine et les chromosomes constituent le même élément dont la structure varie selon les phases du cycle cellulaire. Ils sont constitués d'une molécule d'ADN associée à de nombreuses protéines.

VI – Mécanisme de duplication de l'ADN.

① Mise en évidence de la duplication de l'ADN: (Voir document 16)

Document 16 : Evolution de la quantité d'ADN pendant le cycle cellulaire.

On effectue le dosage de la quantité d'ADN contenue dans le noyau d'une cellule, au cours d'un cycle cellulaire. On obtient les résultats ci-contre :

- 1) Légendez le graphe en donnant le nom correspondant à chaque lettre.
- 2) Déterminez la durée d'un cycle cellulaire.
- 3) Déterminez comment évolue la quantité d'ADN pendant un cycle cellulaire.
- 4) Déterminez pour chaque phase (G_1 , S, G_2 et M) du cycle cellulaire, l'aspect du nucléofilament (①,...,⑦) de la figure 2 qui lui correspond.
- 5) Que peut-on conclure ?

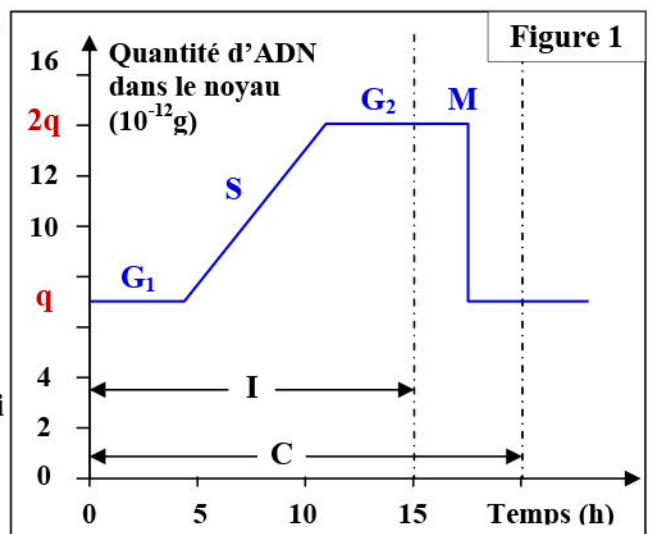
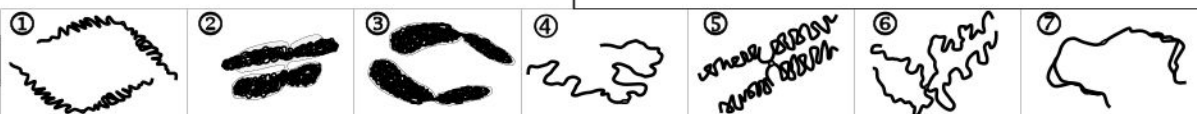


Figure 2



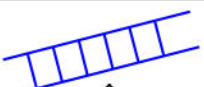
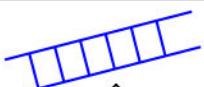
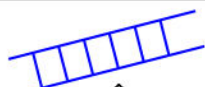
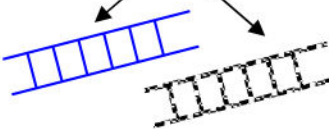
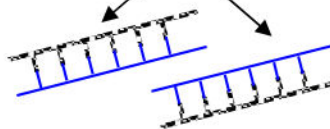
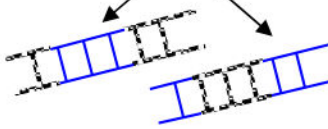
- 1) La légende du graphe de la figure 1 :
 G_1 et G_2 (Growth) = première et deuxième phase de croissance ; S (Synthesis) = Phase de synthèse ; M = Mitose ; I = Interphase ; C = cycle cellulaire.
- 2) Le cycle cellulaire dure 20 h.
- 3) Evolution de la quantité d'ADN pendant un cycle cellulaire :
 Au cours de l'interphase la quantité d'ADN est constante à Q pendant la première phase de croissance G_1 , puis elle augmente pour atteindre 2Q pendant la phase de synthèse S, ensuite elle reste stable pendant la phase deuxième phase de croissance G_2 .
 Au cours de la mitose M, la quantité d'ADN passe de 2Q à Q.
- 4) Pour chaque phase du cycle cellulaire, on détermine l'aspect du nucléofilament qui lui correspond :
 - ✓ A G_1 correspond l'aspect ④ ;
 - ✓ A S correspond l'aspect ⑦ ;
 - ✓ A G_2 correspond l'aspect ⑥ ;
 - ✓ A M correspond l'aspect ⑤ pour la prophase, ② pour la métaphase, ③ pour l'anaphase, ① pour la télophase.
- 5) L'aspect des nucléofilaments et de la quantité d'ADN évoluent selon un cycle en parallèle avec le cycle cellulaire formant un cycle chromosomique.
 Lorsque la quantité d'ADN se dédouble, chaque chromosome qui était formé par une seule chromatide apparaît formé de deux chromatides.

② Mécanisme de réplication de l'ADN:

a) Expérience de Meselson et Stahl (1958): (Voir document 17)

Document 17 : Expérience de Meselson et Stahl (1958).

Afin de déterminer le mécanisme par lequel la quantité d'ADN se duplique pendant la phase S de l'interphase, trois hypothèses ont été proposées jusqu'en 1958. Le tableau sur la figure ci-dessous illustre ces hypothèses.

Figure 1	Réplication conservative	Réplication semi-conservative	Réplication dispersive
Hypothèses	Les deux brins d'ADN de la molécule mère restent ensemble après avoir servi de modèle	Chaque molécule fille d'ADN contient un brin de la molécule mère et un brin nouvellement synthétisé.	Les deux molécules fille d'ADN contiennent des fragments d'ADN parental et d'ADN nouvellement synthétisé.
Molécule d'ADN parental			
Molécule d'ADN de la première génération			

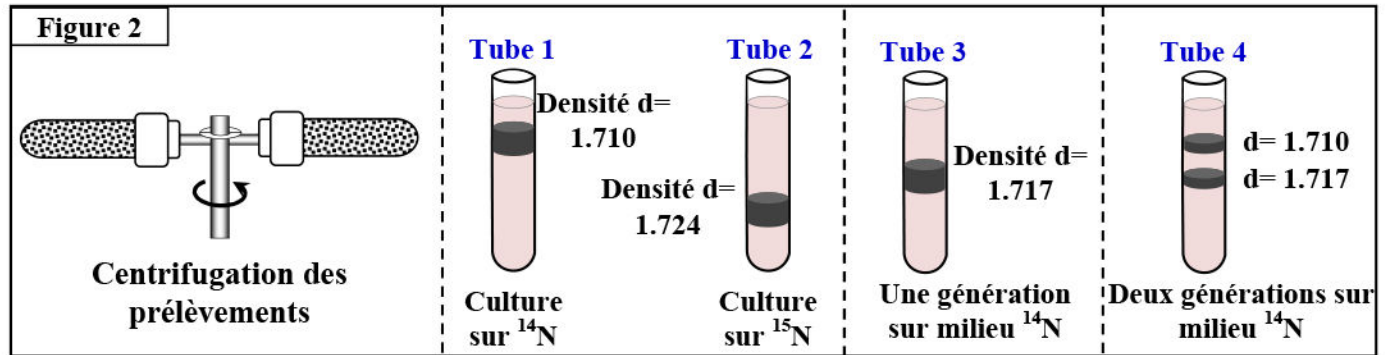
Pour valider une de ces hypothèses, Meselson et Stahl ont cultivé, pendant plusieurs générations, des bactéries E. coli sur un milieu contenant de l'azote « lourde » ^{15}N (isotope de ^{14}N , atome entrant dans la constitution des bases azotées de l'ADN). Ces bactéries incorporent l'azote ^{15}N dans leur ADN au lieu de l'azote ^{14}N .

Document 17 (Suite): Expérience de Meselson et Stahl (1958).

Après son extraction, l'ADN subit la technique de centrifugation, qui permet de séparer les molécules d'ADN selon leur densité. Puis il est visualisé par les rayons UV.

Les cultures sont alors transférées sur un milieu contenant de l'Azote « léger » ^{14}N , puis l'ADN est extrait et centrifugé à chaque génération cellulaire.

Les résultats obtenus sont présentés par la figure 2 :

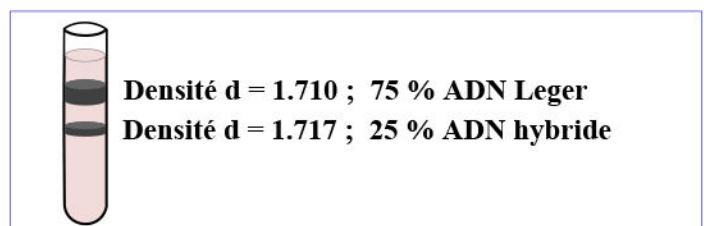


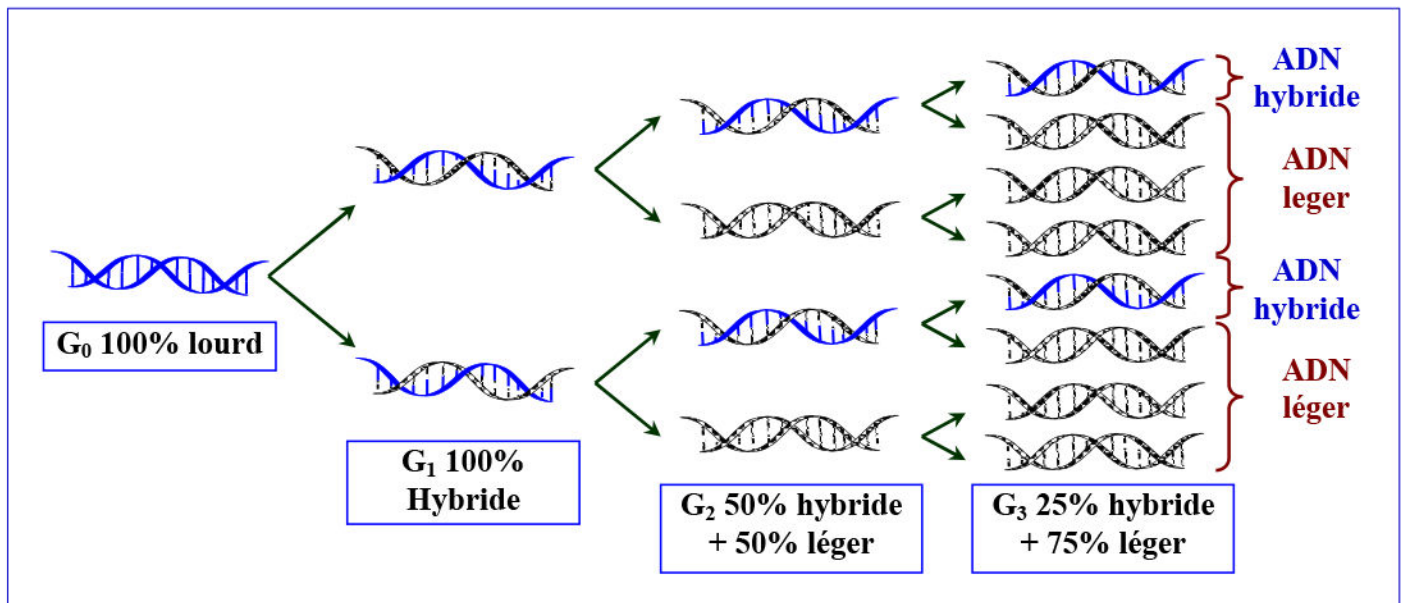
- ✓ Tube 1 : ADN extrait des bactéries ayant vécu pendant plusieurs générations dans un milieu avec ^{14}N .
 - ✓ Tube 2 : ADN extrait des bactéries ayant vécu pendant plusieurs générations dans un milieu avec ^{15}N .
 - ✓ Tube 3 : ADN extrait des bactéries ayant vécu pendant une seule génération dans un milieu avec ^{14}N , après plusieurs générations dans un milieu avec ^{15}N .
 - ✓ Tube 4 : ADN extrait des bactéries ayant vécu pendant deux générations dans un milieu avec ^{14}N , après plusieurs générations dans un milieu avec ^{15}N .
- 1) D'après les résultats de ces expériences, indiquez, en argumentant :
 - a. quelle hypothèse est à réfuter (démontrer sa fausseté).
 - b. Quelle hypothèse peut-on conserver pour expliquer les résultats obtenus à la 2^{ème} génération, justifiez.
 - 2) Tracez l'aspect de tube à essai qu'on obtient dans la génération 3. Justifier votre réponse par des schémas explicatifs et légendés.

1) D'après les résultats de ces expériences :

- a) Au bout d'une génération sur milieu ^{14}N , la densité de l'ADN de l'extrait des bactéries est intermédiaire entre la densité de l'ADN lourd (^{15}N) et de l'ADN léger (^{14}N). On a donc 100 % d'ADN hybride. Donc l'hypothèse à réfuter est celle du modèle conservatif car selon cette hypothèse il y'aura 50% d'ADN léger et 50% d'ADN lourd à la 1^{ère} génération ce qui n'est pas conforme avec les résultats expérimentaux.
- b) Au bout de deux générations on obtient 50% d'ADN léger et 50% d'ADN hybride. Or selon le modèle dispersif on obtient toujours que de l'ADN hybride ce qui n'est pas conforme avec les résultats expérimentaux. Ainsi, les expériences de Meselson et Stahl valident l'hypothèse de la réplication semi conservative et réfutent les autres hypothèses.

- 2) On peut utiliser l'hypothèse de la réplication semi conservative, pour expliquer l'aspect du tube à essai qu'on obtient dans la génération 3 :





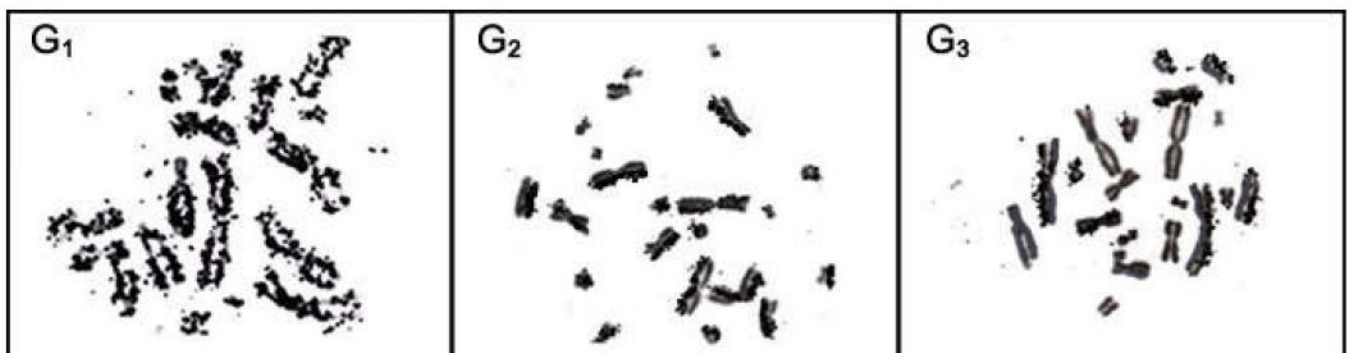
b) Expérience de Taylor: (Voir document 18)

Document 18 : Expérience de Taylor.

Pour connaître la réplication de l'ADN et son rapport avec les chromosomes, Taylor a placé des plantules de *Bellevalia* sur un milieu de croissance contenant de la thymidine radioactive (nucléoside contenant la thymine) marquée par du tritium ^3H (Isotope de l'hydrogène). Pour faciliter l'observation des chromosomes, Taylor utilise la colchicine, substance qui bloque la mitose à la métaphase.

- ⇒ Dans un premier temps, les plantules sont laissées dans le milieu radioactif (dit milieu chaud) le temps d'un cycle cellulaire (génération G₁). Quelques cellules sont prélevées et soumises à l'autoradiographie.
- ⇒ Dans un deuxième temps, les plantules sont soigneusement lavées, puis transférées sur un milieu de culture non radioactif où elles continuent leur croissance. Après le temps correspondant à une nouvelle synthèse d'ADN (génération G₂), les cellules sont prélevées et soumises à l'autoradiographie.
- ⇒ Dans un troisième temps, les plantules restent sur un milieu normal pendant un cycle cellulaire supplémentaire (génération G₃). Puis des cellules sont prélevées et soumises à l'autoradiographie.

La figure ci-dessous présente des radiographies des chromosomes observés en métaphase des trois générations G₁, G₂ et G₃.



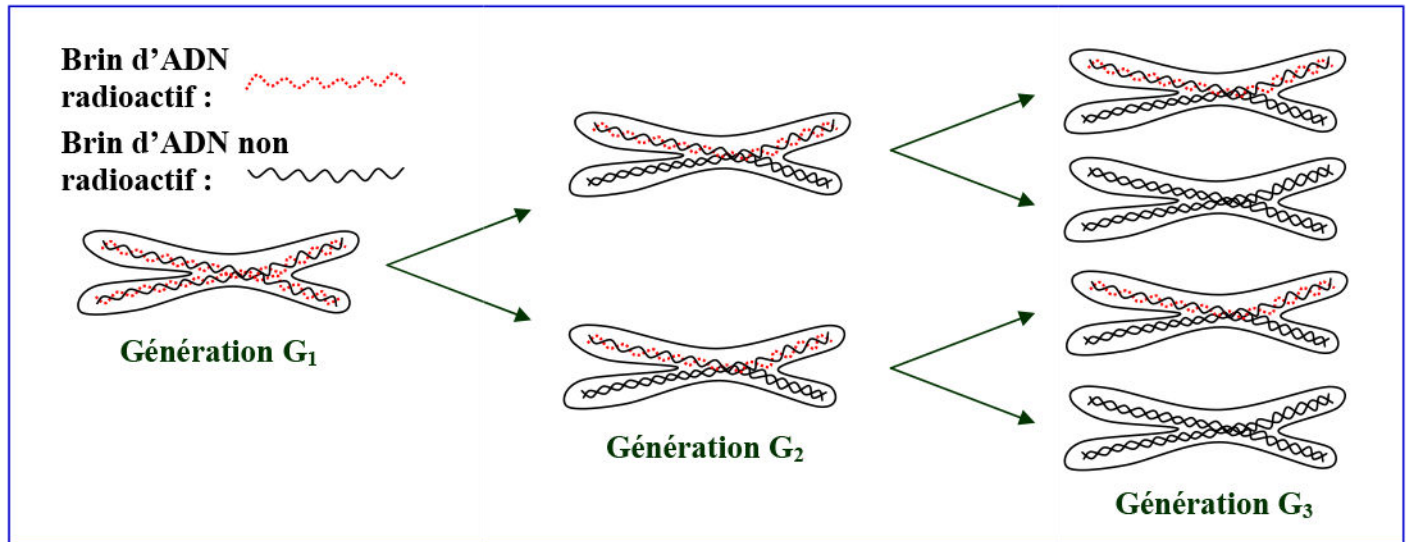
- 1) Décrire les résultats de l'expérience de Taylor.
- 2) Schématisez la molécule d'ADN et son devenir au cours des différentes divisions en G₁, G₂ et G₃. Vous représenterez les brins radioactifs et les brins non radioactifs par des couleurs différentes"

1) Tous les chromosomes observés dans la première génération G_1 , ont des chromatides marqués.

L'autoradiographie de la génération G_2 révèle que tous les chromosomes sont radioactifs, mais sur une seule chromatide; l'autre n'est pas marquée.

L'autoradiographie de la génération G_3 montre que la moitié des chromosomes ne présente aucune radioactivité. L'autre moitié est constituée de chromosomes dont une chromatide sur deux est radioactive.

2) Schématisons la molécule d'ADN et son devenir au cours des différentes générations G_1 , G_2 et G_3 :

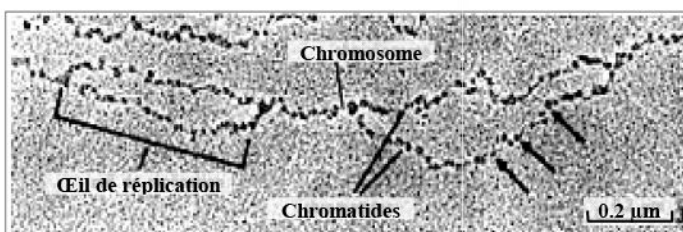


La réplication de l'ADN se fait selon le mode semi-conservatif selon lequel chaque brin de la molécule "mère" sert de matrice pour la synthèse d'un brin complémentaire.

c) Réplication semi-conservative de l'ADN: (Voir document 19)

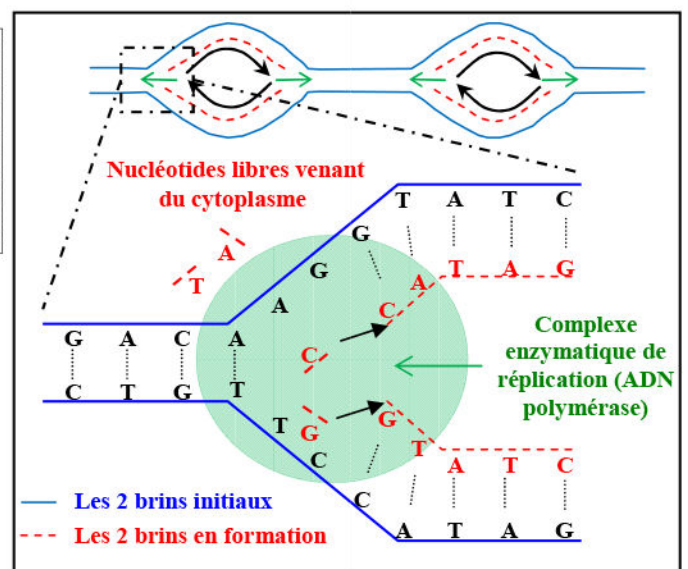
Document 19 : Réplication semi-conservative de la molécule d'ADN.

L'observation au microscope électronique d'un chromosome pendant la phase S de l'interphase a permis de donner l'électronographie de figure ci-dessous.



Le document ci-contre présente un schéma d'interprétation de la réplication d'ADN.

En se basant sur les données de ce document, décrire ce qui se déroule au niveau de l'œil de réplication lors de la réplication de l'ADN.



- Lors de la phase S de l'interphase, la double hélice de l'ADN se sépare en différents points du chromosome, en deux brins, formant des "yeux de répliation". Chaque brin sert de modèle pour la synthèse d'un nouveau brin complémentaire. Chaque œil de répliation comporte deux fourches de répliation, figure en Y. Ces fourches progressent en sens inverses (répliation bidirectionnelle).
- La répliation est un processus selon lequel chaque brin de la double hélice sert de matrice pour la synthèse d'un nouveau brin par complémentarité de bases.
- Un ensemble de protéines enzymatiques consommatrices d'énergie réalise la répliation de l'ADN,
 - ✓ L'hélicase: casse les liaisons hydrogènes entre les nucléotides de la double hélice; les deux brins s'écartent et forment "yeux de répliation".
 - ✓ L'ADN polymérase : associe en face d'un nucléotide du brin parent, un nouveau nucléotide complémentaire formant le brin fils. Cet enzyme ne fonctionne que dans le sens $5' \rightarrow 3'$ (Sens du nouveau brin).
- En absence d'erreur, chaque double hélice d'ADN est ainsi recopiée à l'identique et formée d'un brin parent associé à un brin fils complémentaire. Les deux molécules néoformées contiennent donc des informations rigoureusement identiques et rigoureusement identiques aux informations de la molécule mère.

Remarque:

La répliation est asymétrique. L'un des deux brins est synthétisé de façon continue (brin précoce ou avancé), tandis que l'autre est synthétisé sous forme de fragments connus sous le nom de fragments d'Okazaki (brin tardif ou retardé).

