

Fiche protocole « Modéliser les expériences de Meselson et Stahl »

Identifier le mode de réplication de l'ADN

Matériel

- 3 tubes à essai
- 1 porte tubes
- Bécher de solution de saccharose à 65%
- Bécher de solution de saccharose à 45%
- Bécher de solution de saccharose à 25%
- Bécher de solution de saccharose à 0% (eau distillée)
- Tube Eppendorf de solution bleue « ADN ¹⁵N »
- Tube Eppendorf de solution rouge « ADN ¹⁴N »
- Tube Eppendorf de solution jaune « ADN 1R » = résultat après un cycle sur milieu avec ADN ¹⁴N
- 7 Pipettes
- 1 marqueur



A. Créer un gradient de saccharose :

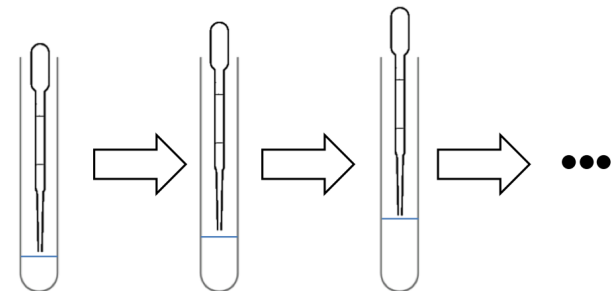
1. **Numéroter** les tubes de 1 à 3.
2. **Verser** 2 mL de solution de saccharose à 65 % dans chacun des 3 tubes. Pour cela, **tenir le tube à 45°** et faire couler doucement le liquide contre la paroi en verre.
3. **Verser** délicatement 2mL de solution de saccharose à 45 % dans chacun des 3 tubes. Pour cela, **tenir le tube à 45°** et faire couler doucement le liquide contre la paroi en verre. Cette solution doit rester au-dessus de la précédente. Il ne faut surtout pas les mélanger
4. **Verser** délicatement 2mL de solution de saccharose à 25 % dans chacun des 3 tubes. Pour cela, **tenir le tube à 45°** et faire couler doucement le liquide contre la paroi en verre. Cette solution doit rester au-dessus de la précédente. Il ne faut surtout pas les mélanger.
5. **Verser** délicatement 2mL de solution de saccharose à 0 % dans chacun des 3 tubes. Pour cela, **tenir le tube à 45°** et faire couler doucement le liquide contre la paroi en verre

B. Déposer les échantillons sur le gradient de saccharose

1. **Ajouter** délicatement dans le tube n°1, 0,5mL de solution bleue = tube témoin « ADN ¹⁵N ».
2. **Ajouter** délicatement dans le tube n°2, 0,5mL de solution rouge = tube témoin « ADN ¹⁴N ».
3. **Ajouter** délicatement dans le tube n°3, 0,5mL de solution jaune = tube « ADN 1R ».

ATTENTION :

- Cette manipulation exige beaucoup de **délicatesse**.
- Tenir le **tube droit** et déposer les solutions **goutte à goutte**
- A chaque dépôt, placer l'extrémité de la pipette juste au-dessus de la surface
- Les solutions doivent être **froides** pour que les colorants forment une bande nette.



 **Appelez le professeur pour vérification**

C. Identifier le mode de réplication de l'ADN

4. A partir du résultat, déterminer si **une ou plusieurs hypothèses** peuvent être validées ou invalidées.
5. A partir du résultat au bureau du professeur, déterminer si **une ou plusieurs hypothèses** peuvent être validées ou invalidées.

 **Appelez le professeur pour vérification**