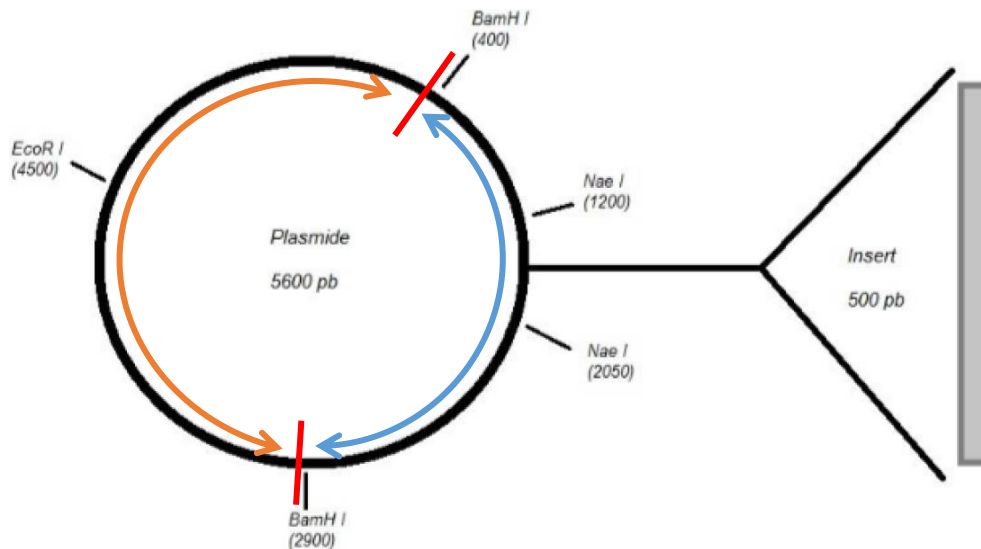




Comment résoudre une carte de restriction



Après digestion enzymatique par les enzymes *BamH I*, quels sont les fragments obtenus après migration électrophorétique sur gel d'agarose ? Donnez la ou les proposition(s) exacte(s) :

- A) Plasmide sans insert : 3100 pb + 2500 pb
- B) Plasmide sans insert : 5600 pb
- C) Plasmide avec insert : 5600 pb + 500 pb
- D) Plasmide avec insert : 3100 pb + 3000 pb
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Nous prenons ici le cas d'une coupure à 2 fragments pour partir d'un exemple simple, mais la méthodologie reste la même qu'il y ait 3, 4, ou 42 fragments ☺

1) Poser sur papier la taille du plasmide et de l'insert : **5600 pb et 500 pb**

La base. Il est préférable de ne pas tenter des calculs de tête : si vous perdez le fil, c'est du temps précieux que vous gaspillerez avec

2) Bien repérer les enzymes de restriction utilisées, ici : *BaH I*

Faites attention aux petites subtilités, il peut y avoir 3 sites de coupures, deux enzymes de restriction utilisées, etc... Regardez en détail !

3) Calculer la taille de chaque fragment obtenu (sans prendre en compte l'insert au début)

De simples additions / soustractions avec les positions des sites de coupure sur le plasmide. Attention, on compte dans le sens horaire des aiguilles d'une montre. Un fragment peut passer par le (0) : à prendre en compte dans le calcul

Fragment **bleu** : (400) → (2900) : $2900 - 400 = 2500$ pb

Fragment **orange** : (2900) → (400) : $5600 (0) - 2900 = 2700$ pb + (0) - 400 = 3100 pb

En terme de position : (2900) → (0) + (0) → 400

Privilégier cette méthode un peu longue, mais qui permet d'éviter les confusions

4) Repérer le fragment dans lequel se place l'insert : Ici, le fragment de **2500 pb**

Ce fragment, lorsque l'insert est présent aura donc un poids de **3000 pb**

5) Poser sur le brouillon les combinaisons de taille de fragments avec et sans insert

Plasmide sans insert : **3100 pb + 2500 pb**

Plasmide avec insert : **3100 pb + 3000 pb**

6) Vérifier que la somme de ces combinaisons corresponde à la taille totale du plasmide

Plasmide sans insert : **3100 pb + 2500 pb = 5600 pb**

Plasmide avec insert : **3100 pb + 3000 pb = 6100 pb (5600 + 500)**

7) Comparer les combinaisons proposées à celles calculées : les réponses sont **A et D** ☺