

UE11 – Analyse du génome

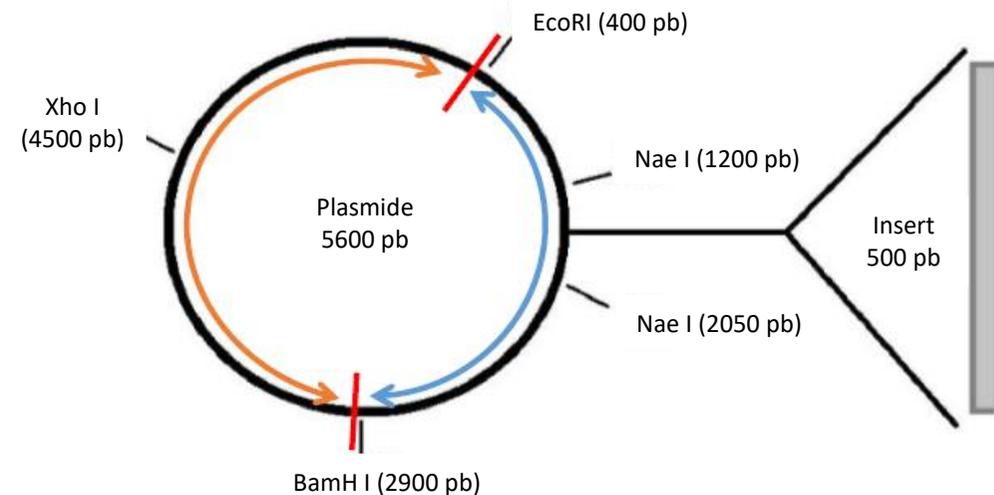


Méthodologie des cartes de restriction

Bien le bonjour, jeune et vigoureux apprenti plasmide ! Les cartes de restriction te font peur ? Tu ne sais jamais par quel bout les attraper ? Alors ce petit point méthodologique est fait pour toi ! Si tu as téléchargé cette fiche, c'est que tu veux que les ADN recombinants n'aient plus de secrets pour toi (et tu as raison car c'est un QCM systématique au CC+++).

Je vais donc te dire tout ce que tu dois savoir pour fracasser ce plasmide le jour J et faire honneur au Grand Maître des Polymérase, ainsi soit-il !

QCM : Après digestion enzymatique avec l'enzyme **EcoRI** et **BamH I**, quels sont les fragments obtenus après migration électrophorétique sur gel d'agarose ? Donner la ou les réponse(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, D sont fausses

Je vais expliquer la méthodologie avec le cas le plus simple où la digestion enzymatique génère deux fragments, mais c'est exactement le même raisonnement qu'il faut avoir peu importe le nombre de bouts créés (3, 4, 18...)

1) **Ecrire au brouillon la taille du plasmide et de l'insert : 5600 et 500 pb**
 Ne tentez pas des calculs de tête, on a vite fait de s'embrouiller !

2) **Bien repérer les enzymes de restriction utilisées, ici : EcoRI et BamH I**
 Attention aux pièges, il peut y avoir 3 sites de coupures, 2 enzymes utilisées, une même enzyme peut couper à plusieurs endroits... 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. 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) : $5600 - 2500 = 3100$ pb

Le total du plasmide – petit bout déjà calculé = grand bout

4) **Repérer le fragment dans lequel se place l'insert** : celui de **2500 pb** ici
 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** : réponses AD