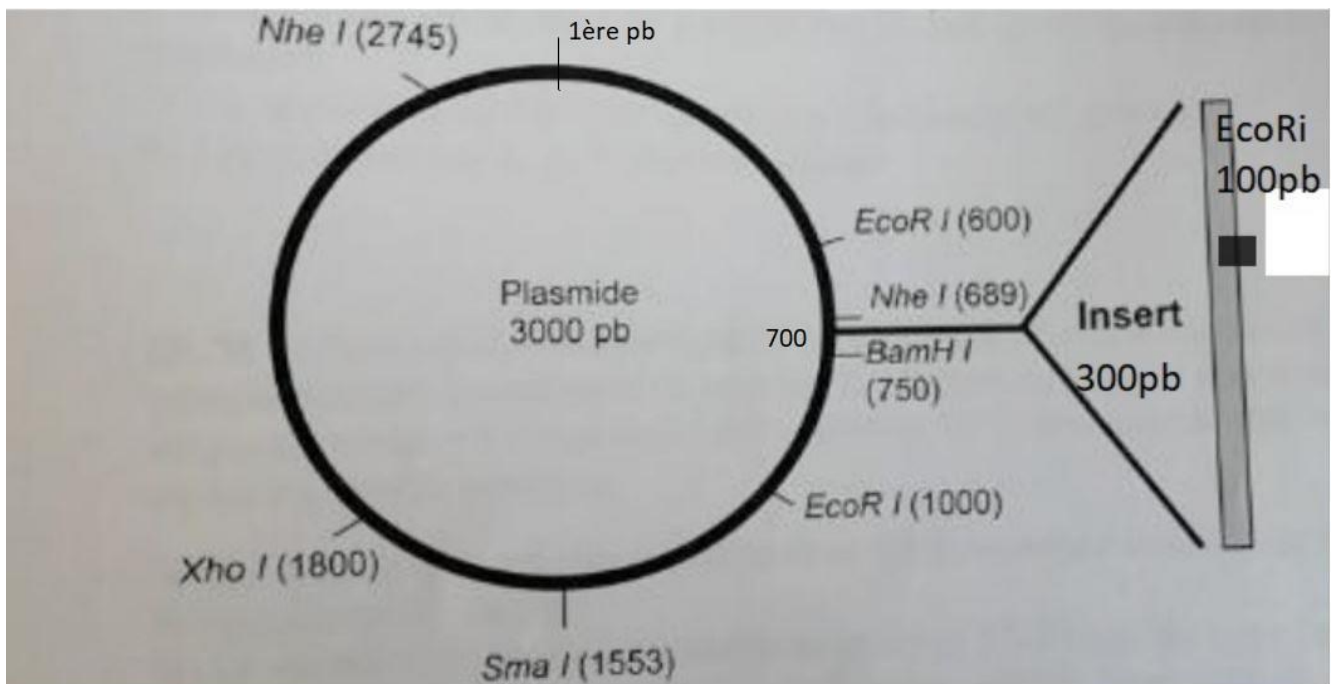


Ethique et génétique Médicale.

Les qcms de carte de restriction sont des qcms qui tombaient chaque année en PACES alors on va vous entraîner sur ça. C'est pas très dur mais on va vous en faire tomber pour que vous soyez bien à l'aise.



On se retrouve avec la configuration plasmide+insert du cours sur le clonage d'expression.

On a différentes enzymes de restriction (ici EcoRi, NheI, BamHI, SmaI, XhoI) qui coupent aux positions données par les chiffres :

-EcoRI coupe au niveau de la 600^{ème} pb et de la 1000^{ème} pb sur le plasmide et au niveau de la 100^{ème} pb de l'insert.

-NheI coupe au niveau de la 689^{ème} et de la 2745^{ème} pb du plasmide

-BamHI coupe au niveau de la 750^{ème} pb du plasmide, SmaI de la 1553^{ème} pb, XhoI de la 1800^{ème} .

On remarque que le plasmide est long de 3000pb et l'insert est long de 300pb.

L'insert se place dans le plasmide à la 700^{ème} pb.

On cherche à savoir quels fragments on peut obtenir après digestion enzymatique par une ou plusieurs enzymes avec ou sans l'insert.

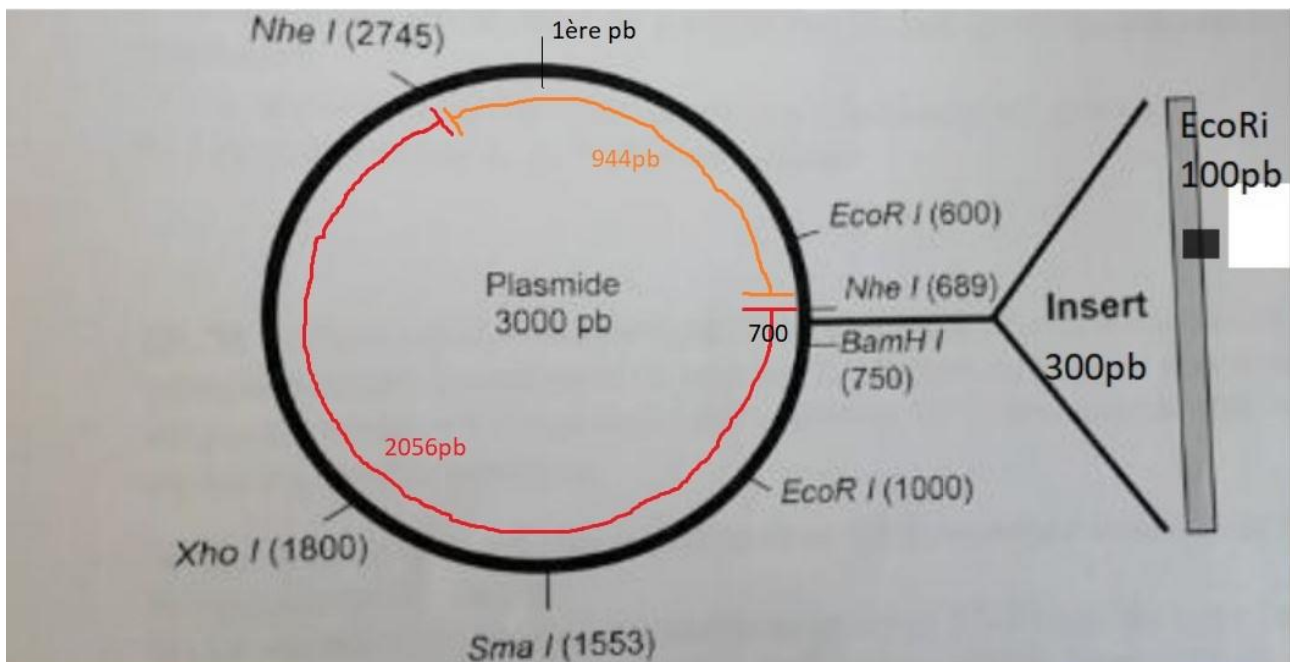
Ethique et génétique Médicale.

Exemple1 : Quels fragments obtient-on après digestion enzymatique par *NheI* d'un plasmide **SANS** insert ?

NheI coupe à la position 689 et 2745 du plasmide de 3000pb.

NheI coupe à 2 endroits donc on obtient 2 fragments :

- Le premier de la position 689 à 2745 ($2745-689=2056\text{pb}$)
- Le second de la position 2745 à 689 (en passant par zéro) : $3000-2745=255$, $255+689=944\text{pb}$

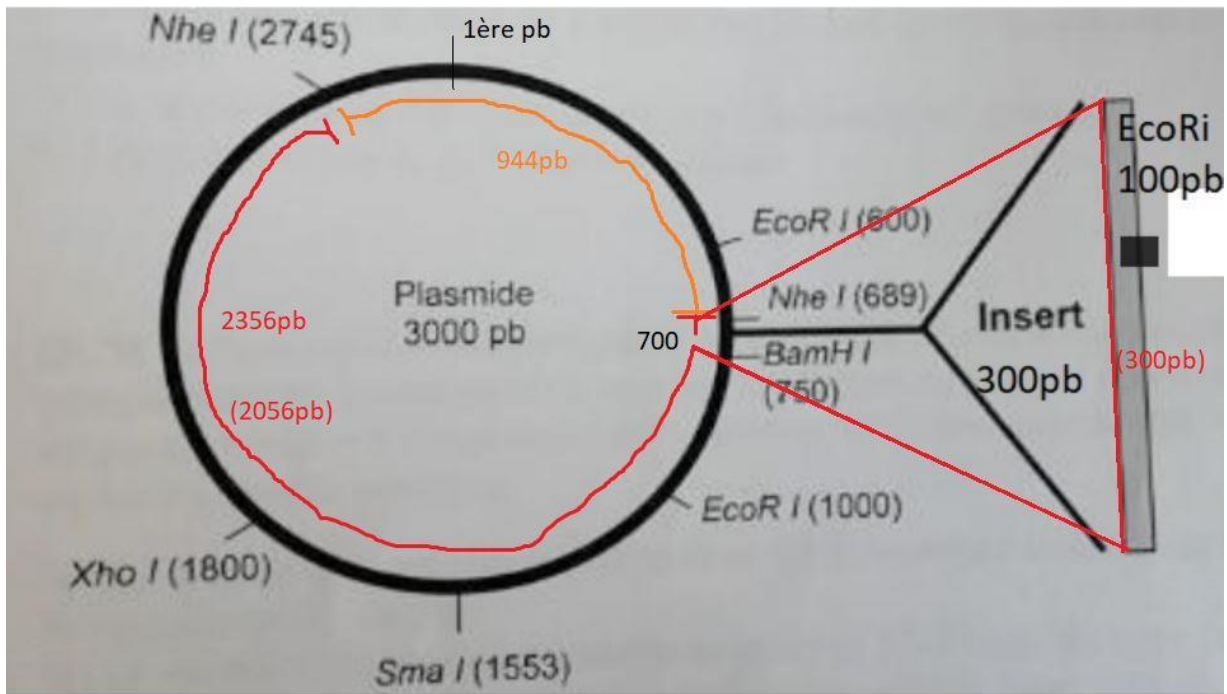


Exemple2 : Quels fragments obtient-on après digestion enzymatique par *NheI* d'un plasmide **AVEC** insert ?

Ici il faut rajouter la longueur de l'insert (300pb) dans le fragment correspondant (ici le premier car l'insert se positionne après la position 689 mais avant la position 2745)

On obtient 2 fragments :

- Le premier de **2356 pb** ($2056+300=2356$)
- Le second de **944pb**

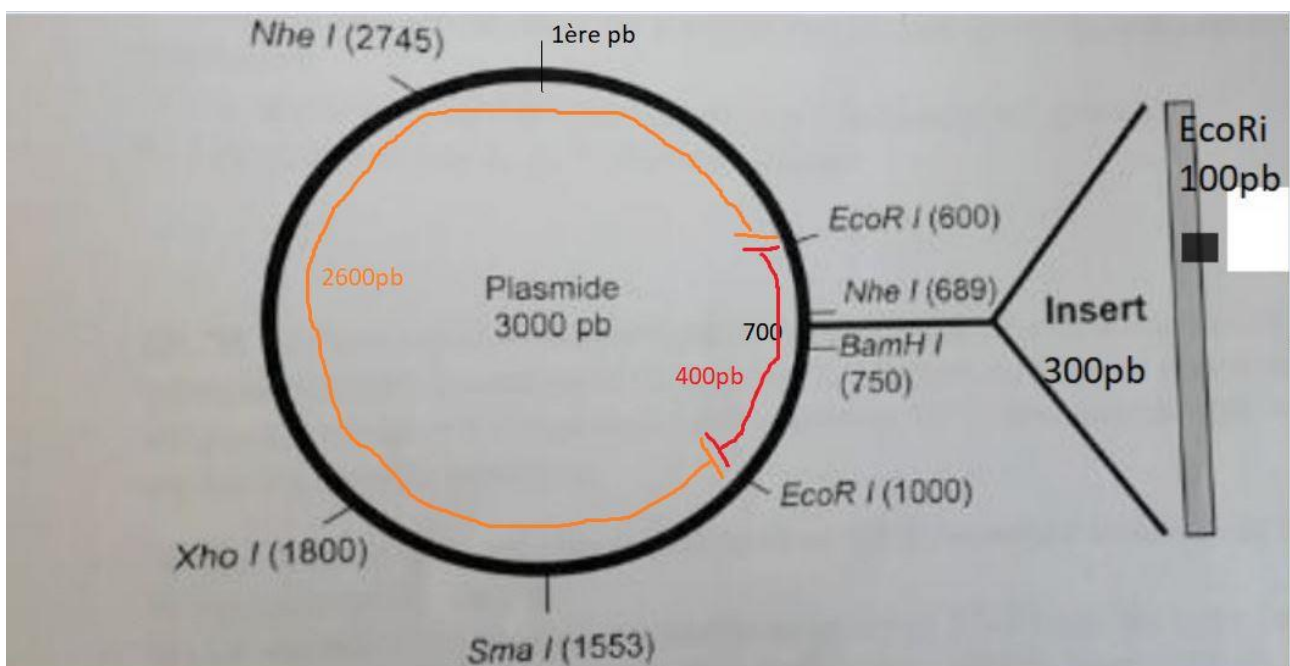
Ethique et génétique Médicale.

Exemple3 : Quels fragments obtient-on après digestion enzymatique par EcoRi d'un plasmide **SANS** insert ?

EcoRi coupe à la position 600 et 1000 sur le plasmide.

On obtient donc 2 fragments :

- Le premier de la position 600 à 1000 ($1000-600=400\text{pb}$)
- Le second de la position 1000 à 600 ($3000-1000=2000+600=2600\text{pb}$)

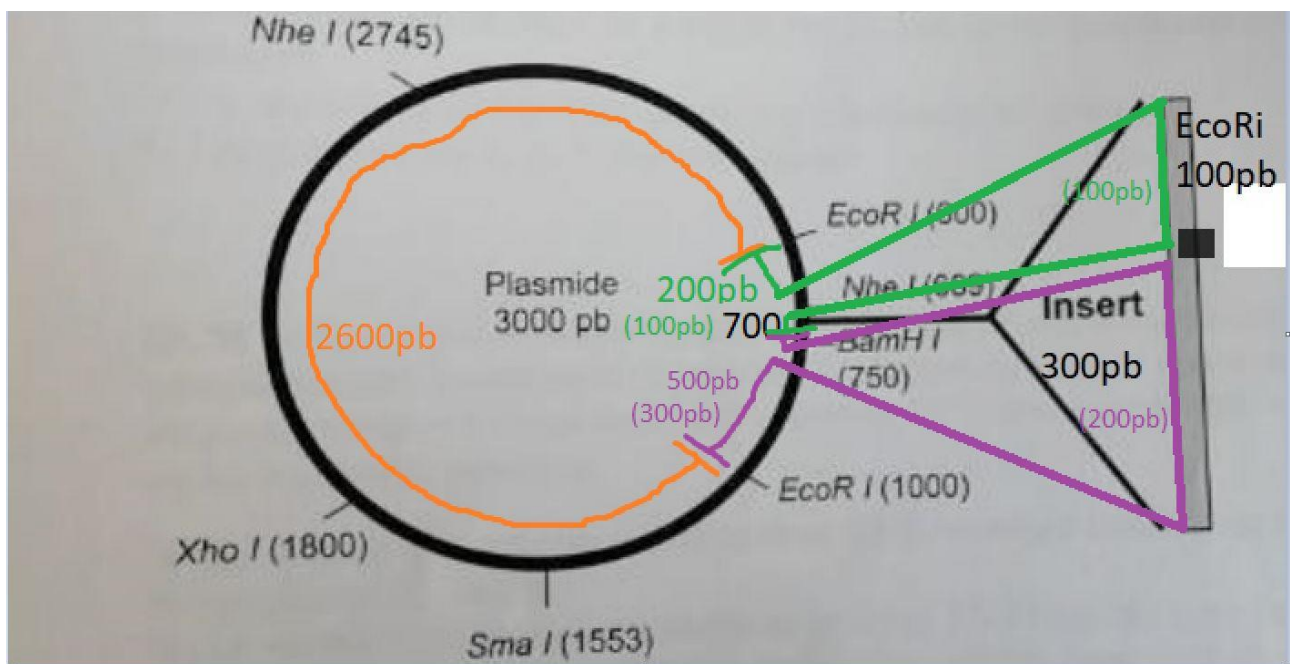


Ethique et génétique Médicale.

Exemple4 : Quels fragments obtient-on après digestion enzymatique par EcoRI d'un plasmide AVEC insert ?

Ici on remarque que l'enzyme EcoRI possède un site de coupure dans l'insert on a donc 3 fragments :

- Le premier de la position 600 du plasmide à la position 100 sur l'insert. L'insert se place après la paire de base 700 du plasmide. On obtient donc un fragment de 200pb ($700 - 600 = 100\text{pb}$ -> les 100pb du plasmide avant le site d'insertion de l'insert, + les 100ères pb de l'insert avant coupure par EcoRI)
- Le second de la 100^{ème} pb de l'insert à la 1000^{ème} pb du plasmide. On obtient un fragment de 500 pb (les 200 dernières pb de l'insert + les 300 pb du plasmide de la position 700= zone d'insertion de l'insert à la position 1000= zone de coupe par EcoRI)
- Le troisième de 2600pb comme dans l'exemple 3



Fin !

J'espère que cette fiche vous aura aidé à comprendre la résolution des cartes de restriction. Bon courage à tous !