



Méthodologie des QCMs de carte de Restriction



1

Entourer sur la carte, les sites de restriction des enzymes dont on parle dans l'énoncé de l'item.

Attention : - une même enzyme de restriction peut couper plusieurs fois (TOUS les sites sont à prendre en compte même si la même enzyme coupe 12 fois)
- aux sites de restriction dans l'insert !

-> on repère déjà le nombre de fragment obtenu (élimine déjà des réponses) ex : l'item parle de 2 enzymes et au total ces 2 enzymes vont faire 3 coupures (sites) = on aura 3 fragments au final, 1 coupure = 1 fragment

2

Premièrement **on ne se préoccupe pas encore de l'insert !**

a) On répond aux **questions « fragments sans insert »**

En commençant la **lecture de plasmide** de gauche à droite (**sens inverse des aiguilles d'une montre**)

Soustrayez le premier niveau de coupure (correspondant au chiffre indiqué à l'endroit de la coupure) **au second, le second au troisième** et ainsi de suite ... -> vous avez la taille de chaque fragment

Faites cela de manière à **revenir au point de départ**

b) Pour répondre aux **questions « fragment avec insert »**

Ajoutez ensuite le nombre de paires de base de l'insert (indiqué dans l'énoncé) au fragment dans lequel il se situe sur le plasmide.

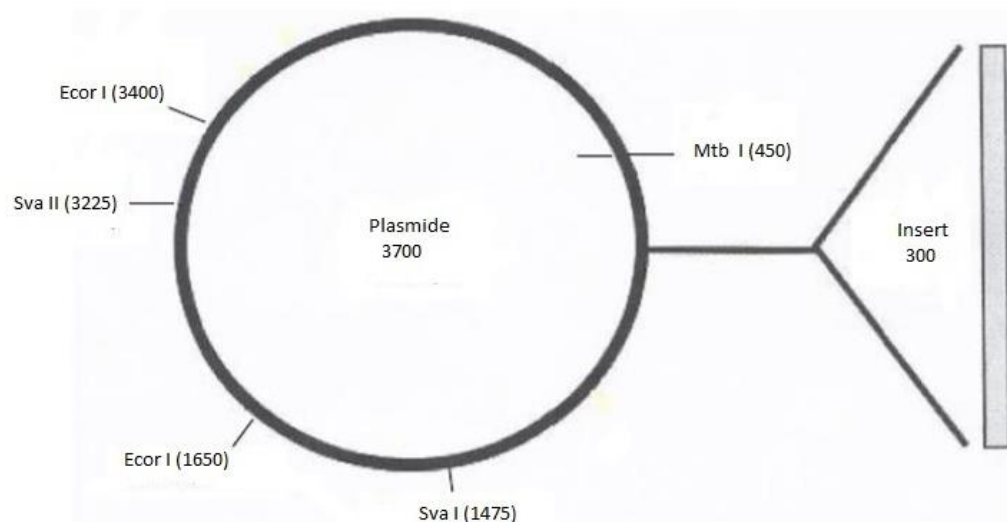
Connaissant la taille du fragment sans vous faites le calcul : taille fragment sans insert + taille insert = taille fragment avec insert. Les autres fragments n'étant pas impactés par la présence de l'insert ils font la même taille qu'en a) .



Exemple QCM :

Vous réalisez une carte de restriction pour différencier les plasmides contenant un insert de ceux ne contenant pas d'insert. La carte de restriction est schématisée ci-dessous. L'insert est inséré dans le plasmide en position 700.

Après digestion enzymatique avec l'enzyme Ecor I et Sva I quels sont les fragments obtenus après migration électrophorétique sur gel d'agarose ? Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :



A) Plasmide avec insert : 1950 pb + 1575 pb + 175 pb

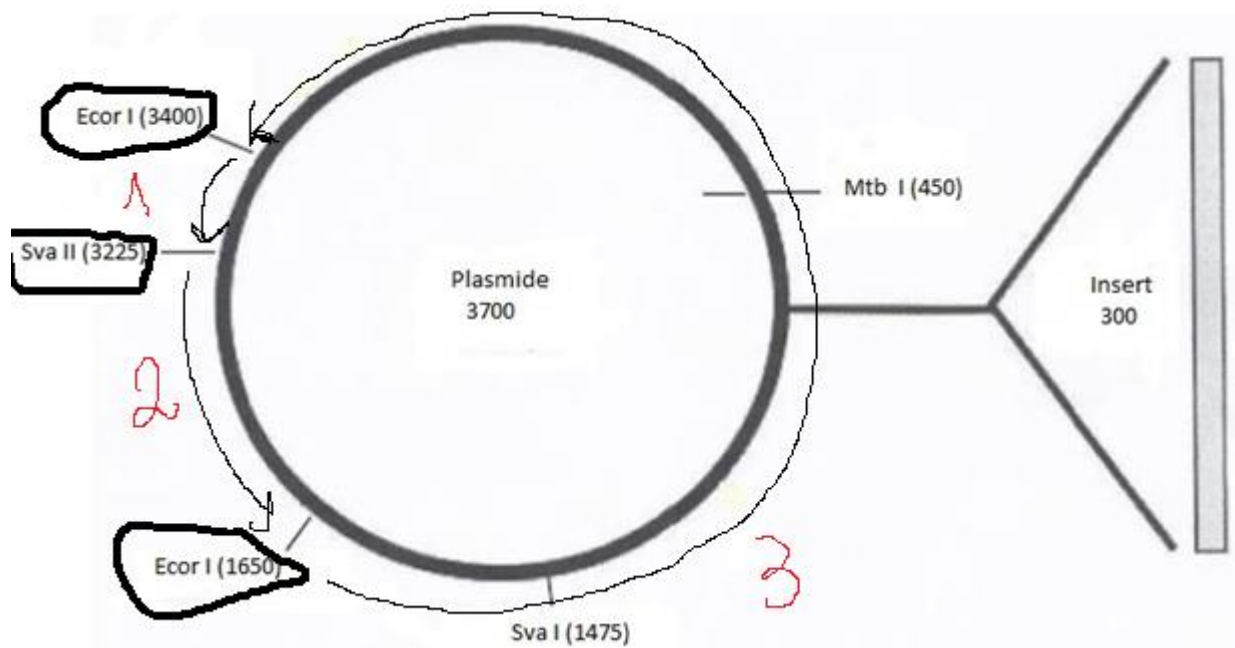
B) Plasmide avec insert : 1650 pb + 1575 pb + 175 pb

C) Plasmide sans insert : 2250 pb + 1575 pb + 175 pb

D) Plasmide sans insert : 1950 pb + 1575 pb + 175 pb

E) Les propositions A, B, C, D sont fausses.

Correction : D



- On réfléchit d'abord SANS insert :

Fragment 1 : $3400 - 3225 = 175$ pb

Fragment 2 : $3225 - 1650 = 1575$ pb

Fragment 3 = le reste = nb de paires de bases DU PLASMIDE - (fragment 1 + fragment 2) = $3700 - (175 + 1575) = 1950$ pb

➔ Parmi les items sans insert la D est juste

- AVEC insert maintenant :

On nous dit que l'insert est introduit en position 700. Sur le schéma c'est donc la taille du fragment n°3 UNIQUEMENT qui va varier.

Fragment 1 : 175 pb – Fragment 2 : 1575 pb – Fragment 3 : $1950 \text{ pb} + 300 \text{ pb}$ (taille de l'insert) = 2250pb

Si on obtient 3 fragments migrants à ces positions sur le gel -> le plasmide a bien intégré l'insert et l'insert est intact on a pas perdu de paire de bases dans les manip ! -> On peut (enfin) séquencer l'insert 😊 !

Voilà, désolée, par écrit c'est vraiment pas simple d'être claire, on avait pour projet de vous faire une petite vidéo explicative on va voir comment tout ça se passe avec le virus. En attendant n'hésitez surtout pas à m'envoyer un message FB (Anne Tassel) ou sur le forum je répondrai avec plaisir. **+ N'hésitez pas à regarder la technique de nos vieux (cf. fin du diapo du cours 2 de la tut rentrée)**

Encore une fois la carte de restriction jusqu'à cette année c'était +++ au concours ne la négligée pas c'est important d'avoir compris le principe au concours ça évite : a) perte de temps b) panique (oops déformation de SSH mdr)

Prenez bien soin de vous, pour une fois qu'être en PACES ne fait pas regretter de pas pouvoir sortir... Des bisous, courage, c'est bientôt la fin <3