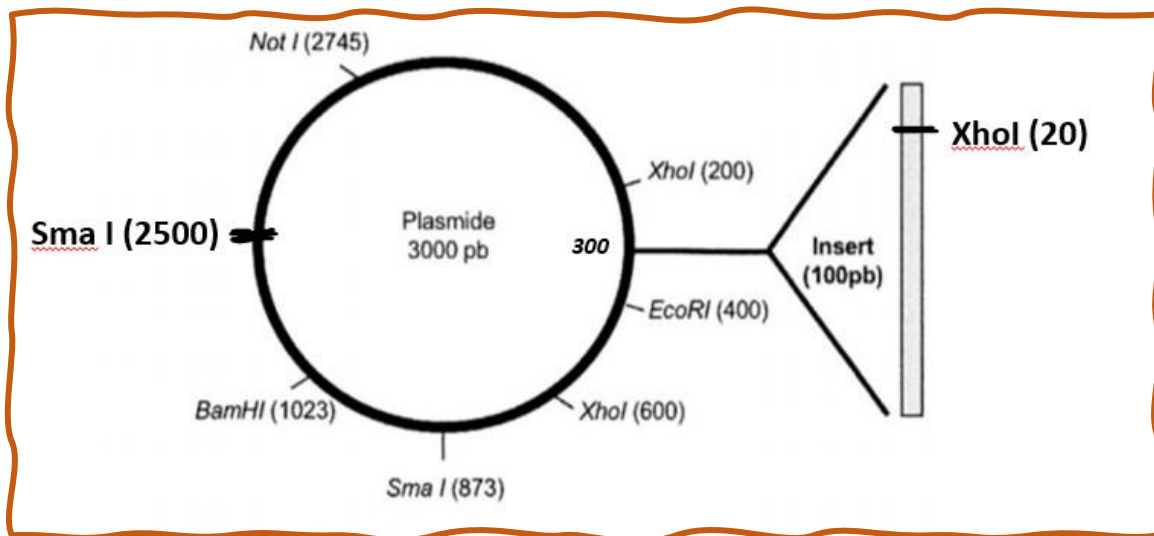


Fiche méthode : Carte de restriction

Hello ! Nous avons décidé avec mes co-tuts que je vous explique les cartes de restriction dès la tut' rentrée parce que c'est une méthode à acquérir rapidement et sur laquelle il faut absolument s'entraîner. Elle tombe (quasiment) tous les ans et elle est source de points faciles à l'exam' (quand on la maîtrise). Ne l'imposez surtout pas les guys ! Là je vous présente ma méthode (celle que j'ai utilisée en P1) mais il y en a plein d'autres. Si vous avez des questions, go forum !



J'ai choisi cette carte de restriction et j'y ai ajouté quelques enzymes pour qu'elle soit complète et comme ça on balaise tous les cas de figure ensemble. Suivez le code couleurs qui correspond aux différents fragments et les numéros des étapes (« 1 »...) et des fragments (Ex : F1). Go !

Nous avons un plasmide de 3000 pb avec un insert de 100 pb (à la position 300). On a différentes enzymes de restriction qui coupent le plasmide et l'insert à différents endroits.

Ex : XhoI coupe à 3 endroits :

- ✓ Au niveau de la 200^{ème} pb du plasmide
- ✓ Au niveau de la 20^{ème} pb de l'insert
- ✓ Au niveau de la 600^{ème} pb du plasmide

On cherche à savoir quels fragments on obtient après digestion enzymatique par une enzyme avec ou sans insert.

- Quels fragments obtient-on après digestion enzymatique par Sma I d'un plasmide sans insert ?

Fragment 1 :

On met le doigt sur le plus petit numéro de position à laquelle l'enzyme coupe et on va jusqu'à la position suivante. On fait la soustraction : (position 2) – (position 1)

Ici ça nous donne : $2500 - 873 = 1627 \rightarrow$ fragment 1

Fragment 2 :

1) On part de la 2^{ème} position et on va jusqu'au bout du plasmide. On fait la soustraction : (taille du plasmide) – (position 2)

$$3000 - 2500 = 500$$

2) On part du bout du plasmide (qui est aussi le début parce que c'est un cercle *t'as capté*) et on revient à la 1^{ère} position. Donc on fait la somme : (résultat 1) + (position 1)

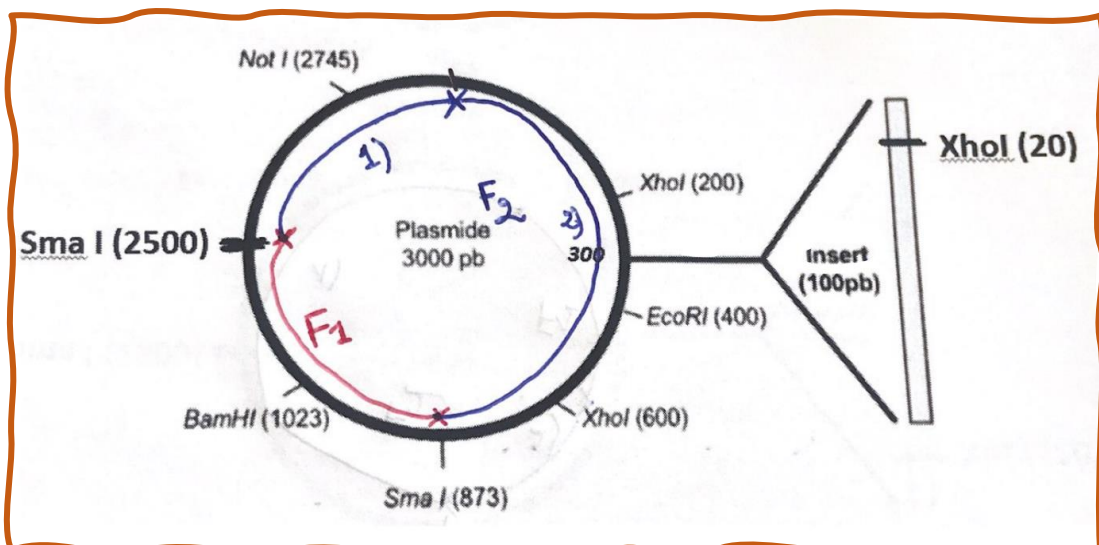
$$500 + 873 = 1373 \rightarrow$$
 fragment 2

Etape facultative : on vérifie qu'on s'est pas foiré -> on fait la somme (fragment 1) + (fragment 2) qui doit être égale à la taille du plasmide

$$1627 + 1373 = 3000$$

→ Réponse : On obtient 2 fragments :

- ✓ 1 fragment de 1627 pb
- ✓ 1 fragment de 1373 pb



- Quels fragments obtient-on après digestion enzymatique par Sma I d'un plasmide avec insert ?

On reprend les mêmes fragments obtenus précédemment et on vérifie au niveau de quel fragment l'insert est venu s'introduire.

Ici, il s'agit du fragment 2.

Fragment 2 :

On fait la somme : (taille du fragment concerné) + (taille de l'insert)

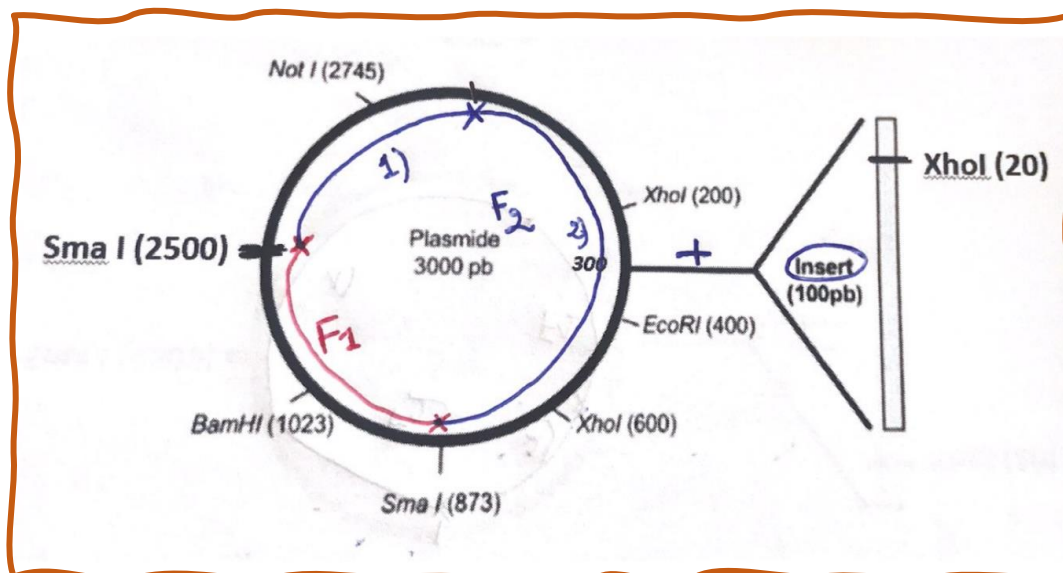
$1373 + 100 = \underline{1473} \rightarrow$ nouveau fragment 2

Etape facultative : vérification -> on fait la somme (fragment 1) + (nouveau fragment 2) qui doit être = à la somme (taille du plasmide) + (taille de l'insert)

$1627 + 1473 = 3100 = 3000 + 100$

→ Réponse : On obtient 2 fragments :

- ✓ 1 fragment de 1627 pb
- ✓ 1 fragment de 1373 pb



⚠ Attention ! Ces méthodes valent pour des enzymes qui ne coupent pas dans l'insert. Maintenant, regardons ensemble le cas où l'enzyme coupe dans l'insert :

- Quels fragments obtient-on après digestion enzymatique par Xho I d'un plasmide sans insert ?

Méthode : Exactement la même que celle d'avant. Qu'elle coupe ou pas dans l'insert, c'est la même chose puisque la question nous demande de ne pas prendre en compte l'insert ! *Je te mets quand même la réponse ici MAIS essaie de trouver tout.e seul.e d'abord (grrr je t'ai à l'œil)*

Fragment 1 :

On met le doigt sur le plus petit numéro de position à laquelle l'enzyme coupe et on va jusqu'à la position suivante. On fait la soustraction : (position 2) – (position 1)

Ici ça nous donne : $600 - 200 = \underline{400} \rightarrow$ fragment 1

Fragment 2 :

1) On part de la 2^{ème} position et on va jusqu'au bout du plasmide. On fait la soustraction : (taille du plasmide) – (position 2)

$$3000 - 600 = 2400$$

2) On part du bout du plasmide et on revient à la 1^{ère} position. Donc on fait la somme : (résultat 1) + (position 1)

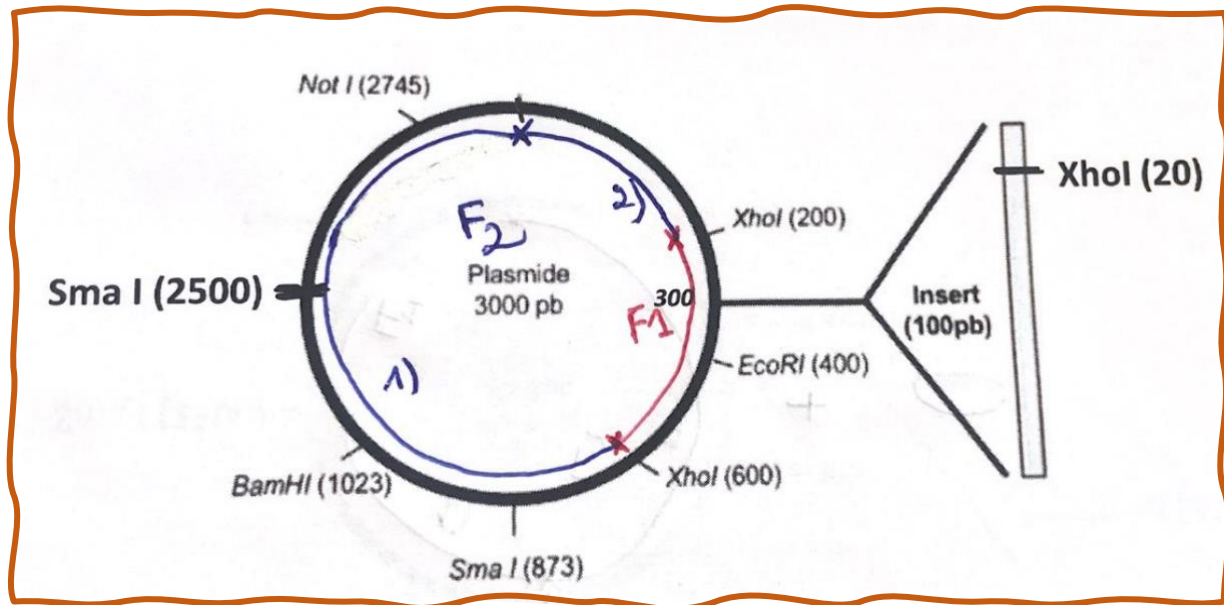
$$2400 + 200 = \underline{2600} \rightarrow$$
 fragment 2

Etape facultative : vérification -> on fait la somme (fragment 1) + (fragment 2) qui doit être égale à la taille du plasmide

$$400 + 2600 = 3000$$

→ Réponse : On obtient 2 fragments :

- ✓ 1 fragment de 400 pb
- ✓ 1 fragment de 2600 pb



Et on n'oublie pas le cas le + complexe ! Mais pas d'inquiétude ! Rien de trop compliqué ! Here we go :

- Quels fragments obtient-on après digestion enzymatique par Xho I d'un plasmide avec insert ?

Fragment 1 :

1) On met le doigt sur le plus petit numéro de position à laquelle l'enzyme coupe et on va jusqu'à la position suivante. Si la position suivante est dans le plasmide, tu coco la méthode. Si elle est dans l'insert, on fait la soustraction : (position de l'insert) – (position 1)

$$300 - 200 = 100$$

2) Maintenant, il faut prendre en compte l'insert. Donc pour obtenir notre 1^{er} fragment, on fait la somme : (résultat 1) + (position 2 dans l'insert)

$$100 + 20 = \underline{120} \rightarrow \text{fragment 1}$$

Fragment 2 :

1) Le reste de l'insert est compris dans le 2^{ème} fragment donc on fait la soustraction : (taille de l'insert) – (position 2 dans l'insert)

$$100 - 20 = 80$$

2) Ensuite, on doit repartir de la fin de l'insert jusqu'à rencontrer la prochaine position de coupure de l'enzyme. On fait la soustraction : (position 3) – (position de l'insert)

$$600 - 300 = 300$$

3) Notre 2^{ème} fragment fait donc la somme : (résultat 1) + (résultat 2)

$$80 + 300 = \underline{380} \rightarrow \text{fragment 2}$$

Fragment 3 :

1) Après tu connais, c'est le reste de la méthode. On refait ensemble. On part de la position 3 jusqu'au bout du plasmide. On fait la soustraction : (taille du plasmide) – (position 3)

$$3000 - 600 = 2400$$

2) On part du bout du plasmide jusqu'à revenir à la position 1 donc on fait la somme : (résultat 1) + (position 1)

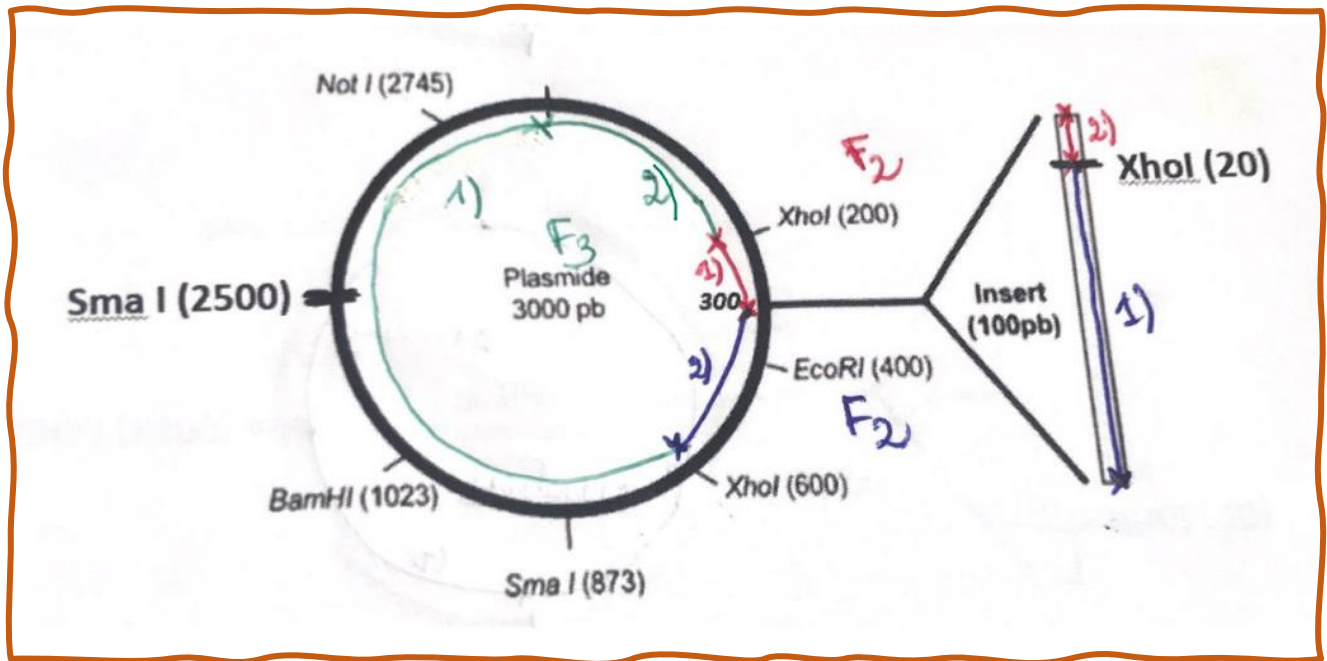
$$2400 + 200 = \underline{2600} \rightarrow \text{fragment 3}$$

Etape facultative : vérification : il faut que la somme des fragments = (taille du plasmide) + (insert)

$$120 + 380 + 2600 = 3100$$

→ Réponse : on obtient 3 fragments :

- ✓ 1 fragment de 120 pb
- ✓ 1 fragment de 380 pb
- ✓ 1 fragment de 2600 pb



- Bien évidemment, si une enzyme (Ex : *BamHI*) coupe à 1 seul endroit, on obtient 1 seul fragment.

Et voilà !

Les formules sont là pour te guider et pas pour que tu les apprennes par cœur ++ Tout est une question de logique ! Une fois que tu as compris cette méthode et le fonctionnement des cartes de restriction, ça viendra tout seul (la clé de la réussite c'est l'entraînement +++). Et il faut toujours annoter vos cartes de restriction +++ !!

Stay strong !

- Molka