République Algérienne Démocratique et Populaire
Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed BOUDIAF
Département de Génétique Moléculaire et Appliquée

COURS 4:

CARTE DE RESTRICTION

Dr ABDI Meriem
Génie génétique, Licence 3 Biochimie

CARTE DE RESTRICTION

- Une carte de restriction identifie dans l'ADN une suite linéaire de sites de restriction séparés par une distance réelle (en nombre de paires de bases). Ces sites correspondent à des coupures de la séquence par des enzymes de restriction.

- Elle permet de déterminer les positions des sites de restrictions:

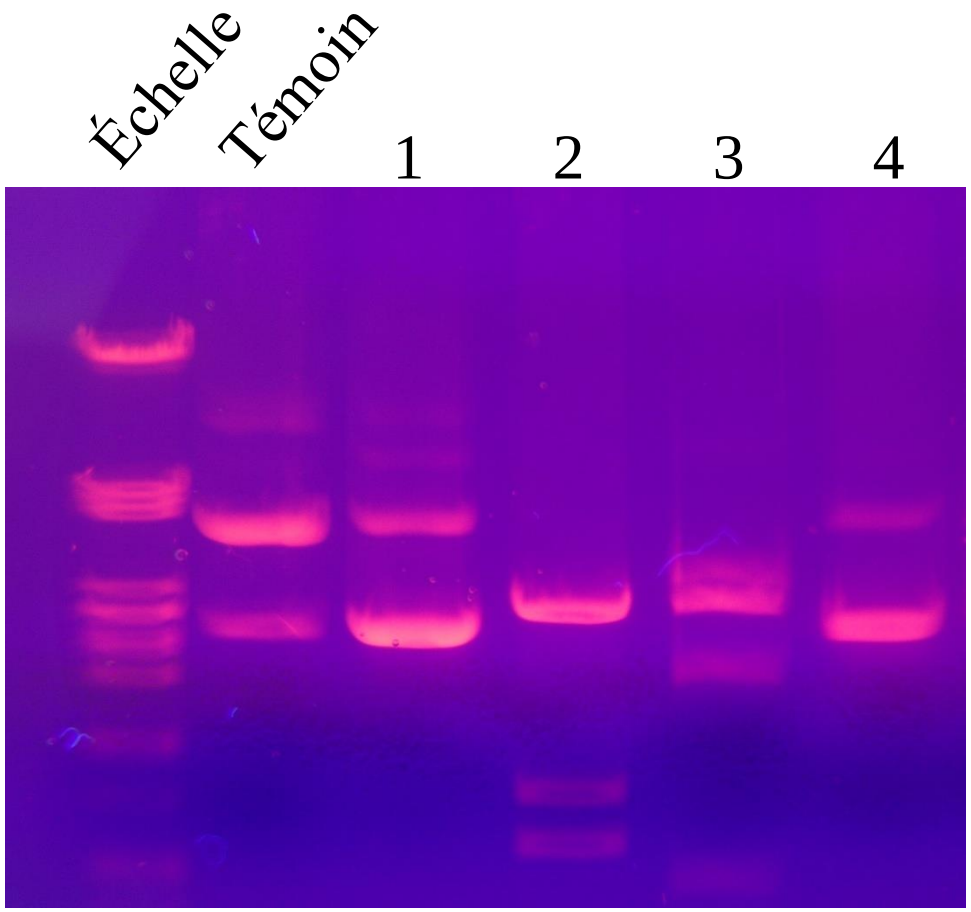
1. Sur un ADN linéaire ⟶ **Cartes d'ADN linéaire**
2. Sur un plasmide ⟶ **Cartes d'ADN circulaire**

CARTE DE RESTRICTION

- L’utilisation de modèles mathématiques pour constituer la carte de restriction s’appuie sur les résultats obtenus après digestion de la séquence d’ADN.
- En contrôlant les conditions expérimentales, on peut réaliser soit une **digestion totale** ou **partielle** de la séquence d’ADN.
- En condition de digestion totale, tous les sites de coupure sont coupés.
- Dans une digestion partielle, une proportion des sites de coupures restent intactes.

CARTE DE RESTRICTION: APPROCHE

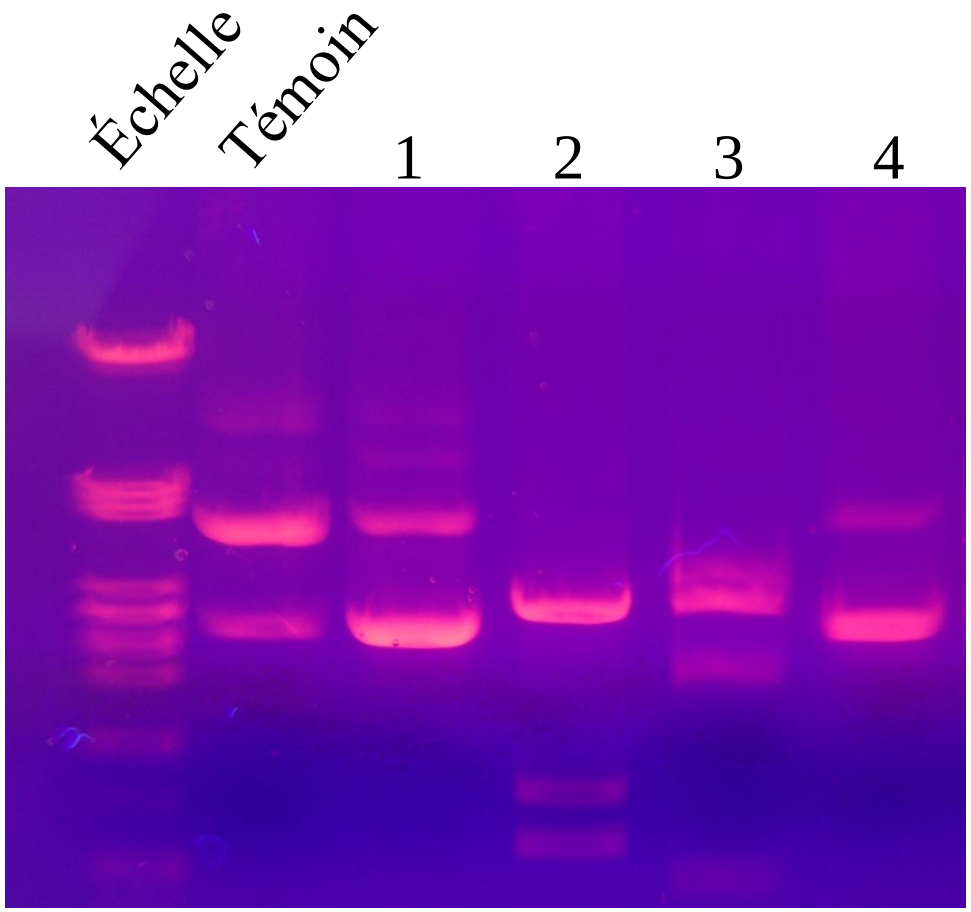
1. **Déterminer si l'ADN a été digéré**
2. La digestion est elle complète ou partielle?
3. Nombre de coupures?
4. Les positions relatives



Comparez au témoin non digéré

Quelles échantillons n’ont pas été digérés?

Quelles échantillons ont été digérés?



Comparez au témoin non digéré

Quelles échantillons n’ont pas été digérés?

1 et 4

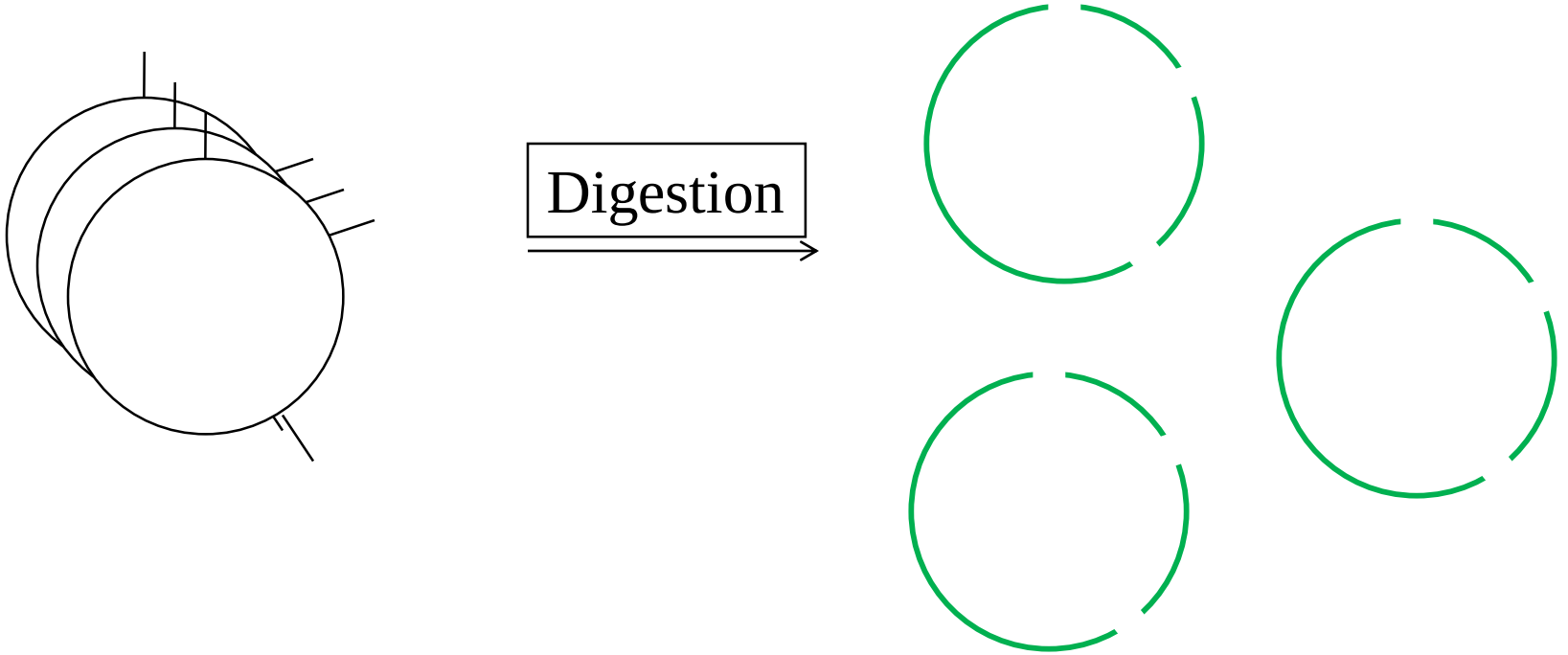
Quelles échantillons ont été digérés?

2 et 3

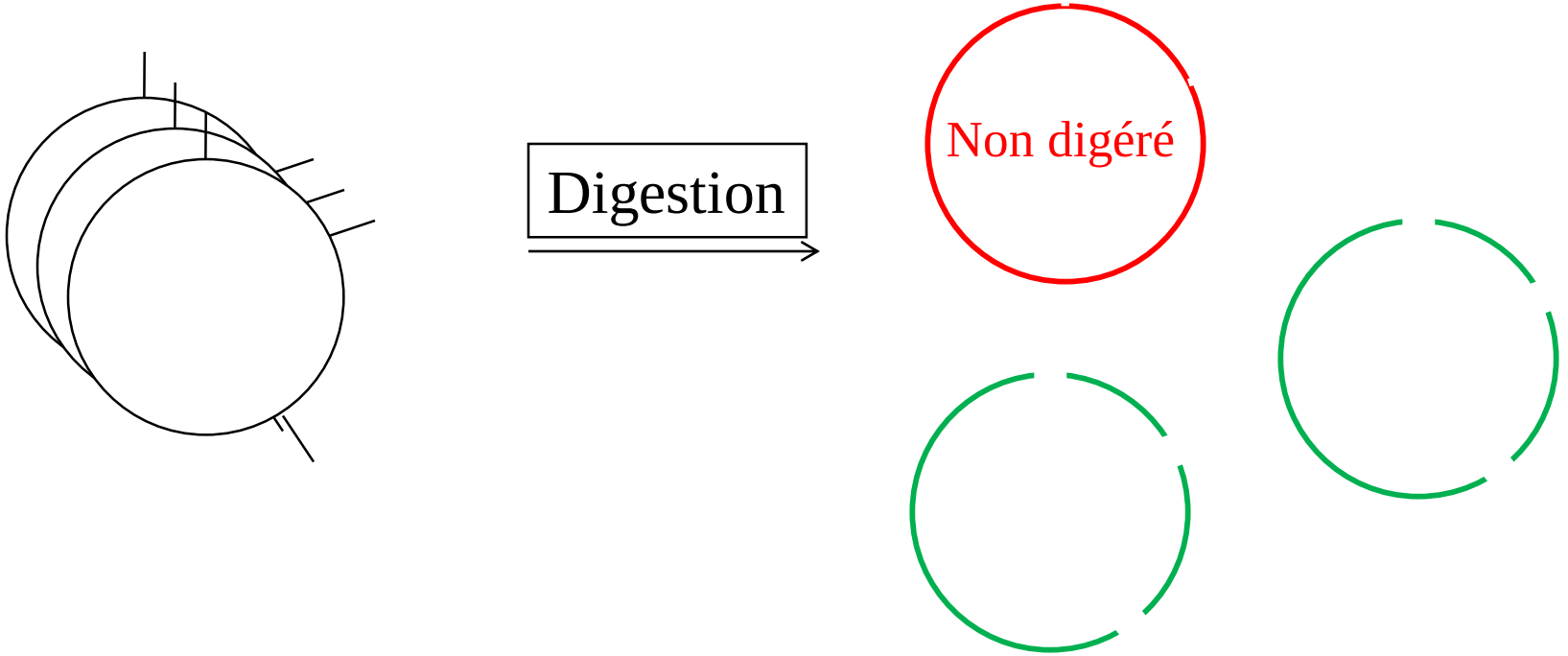
CARTE DE RESTRICTION: APPROCHE

1. Déterminer si l'ADN a été digéré
2. **La digestion est complète ou partielle?**
3. Nombre de coupures?
4. Les positions relatives

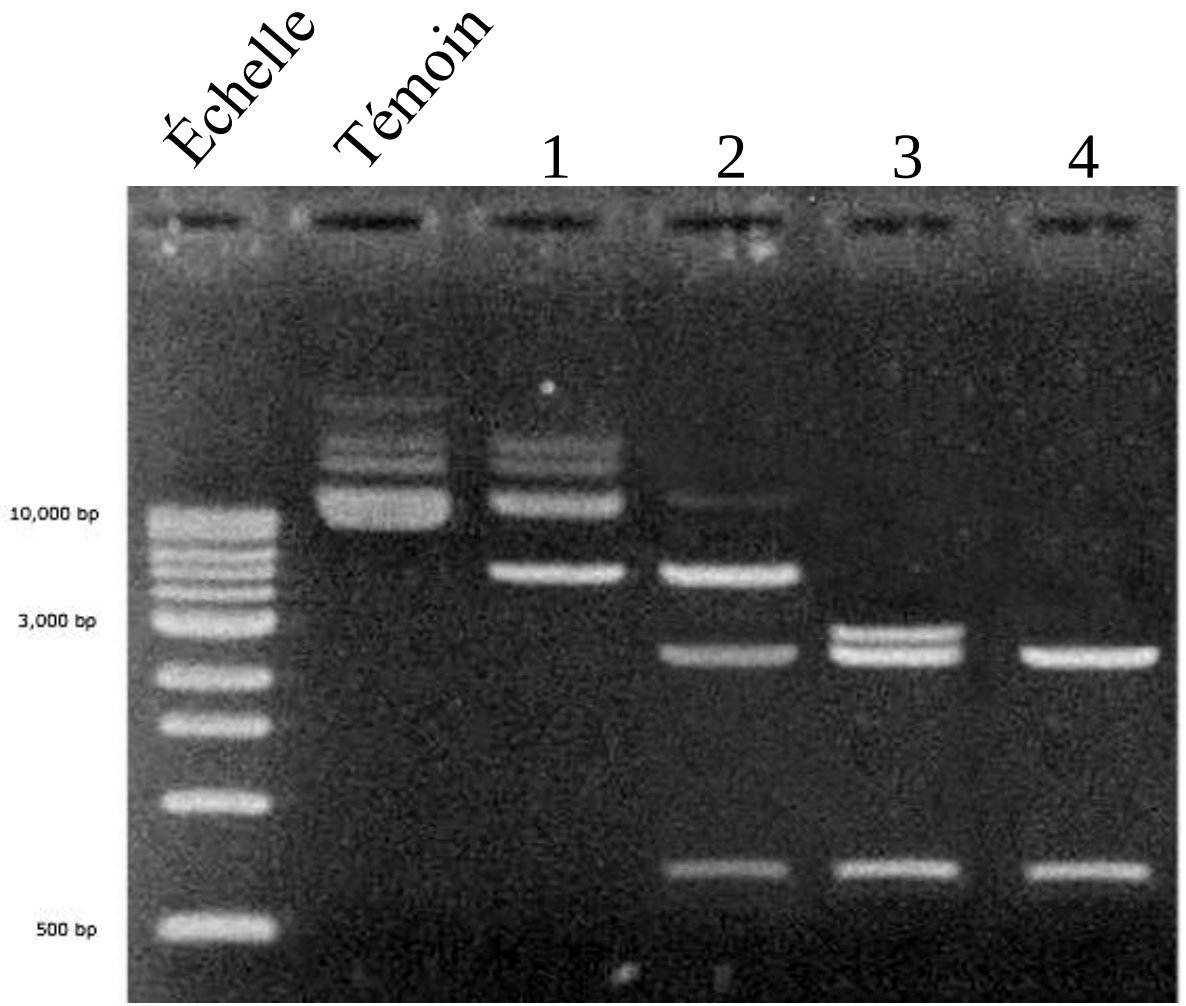
DIGESTION COMPLETE



DIGESTION PARTIELLE



COMPLETE OU PARTIELLE?



1. Comparez au témoin
2. Vérifiez l'intensité des bandes
3. Vérifiez les tailles des fragments

CARTE DE RESTRICTION: APPROCHE

1. Déterminer si l'ADN a été digéré
2. La digestion est complète ou partielle?
3. **Nombre de coupures?**
4. Les positions relatives

NOMBRE DE COUPURE

- Le nombre de sites de restriction dépend de la nature de l'ADN.
- Pour un **ADN circulaire,** le nombre de site de restriction=nombre de fragments ADN obtenus
- Pour un **ADN linéaire**, le nombre de site de restriction=nombre de fragments ADN obtenus-1

CARTE DE RESTRICTION: APPROCHE

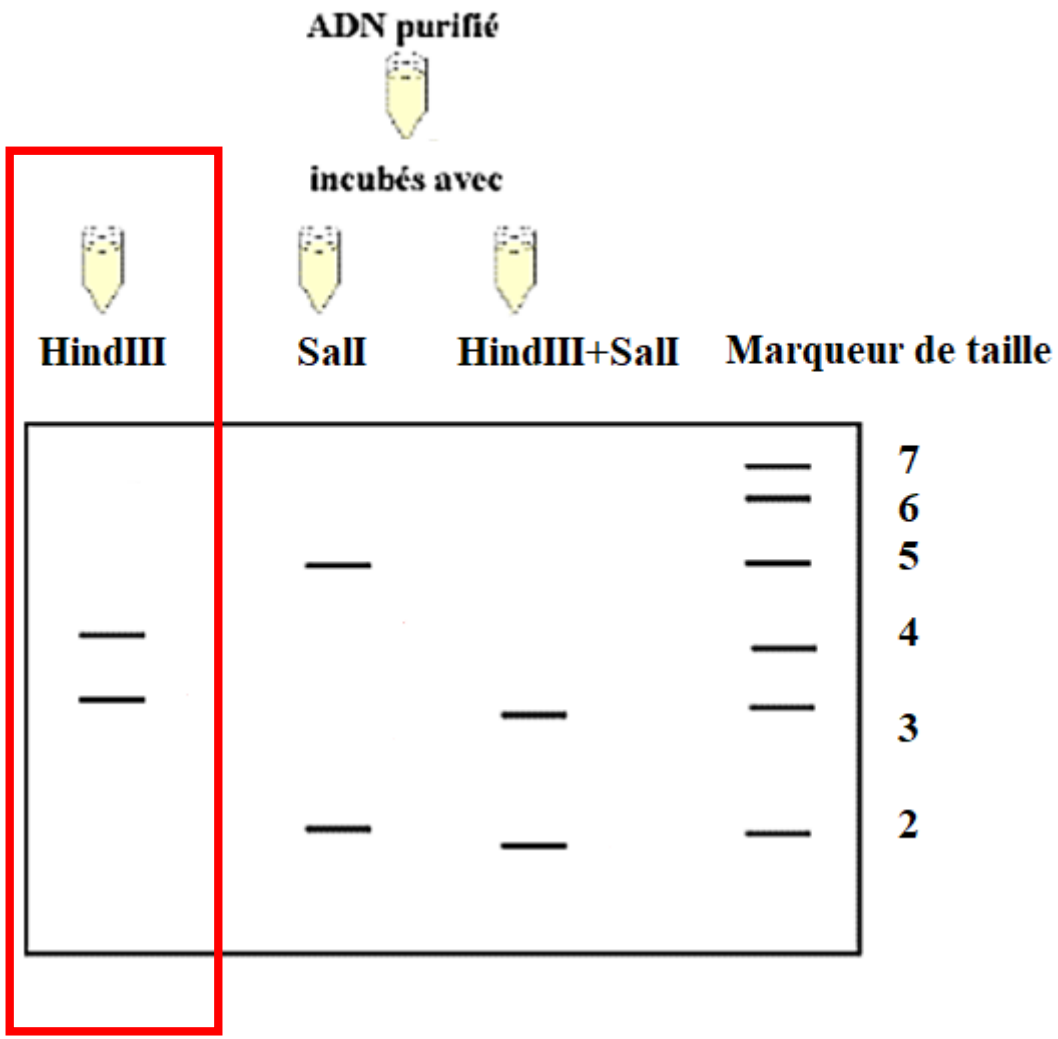
1. Déterminer si l'ADN a été digéré
2. La digestion est complète ou partielle?
3. Nombre de coupures?
4. **Les positions relatives**

LES POSITIONS RELATIVES

- La taille des fragments représente la distance entre les sites de restriction.

EXEMPLE CARTE LINEAIRE

Enzyme	Tailles des fragments en Kb
HindIII	3 et 4
SalI	2 et 5
HindIII + SalI	2 et 3



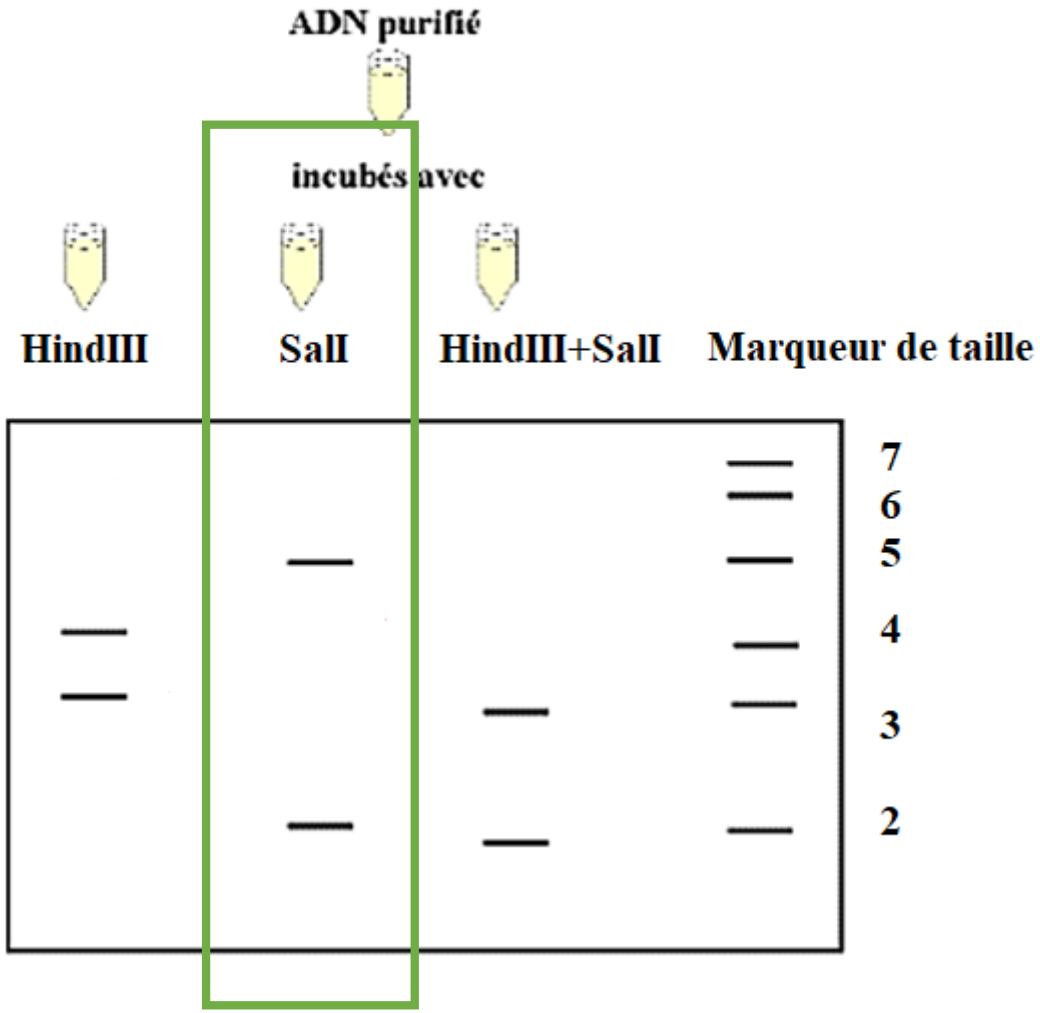
Pour une molécule d'ADN linéaire de 7Kb.

La digestion avec l'enzyme HindIII permet

l'obtention de 2 fragments : **4 et 3 Kb**

Il existe donc **1** site de restriction pour cette enzyme.

HindIII

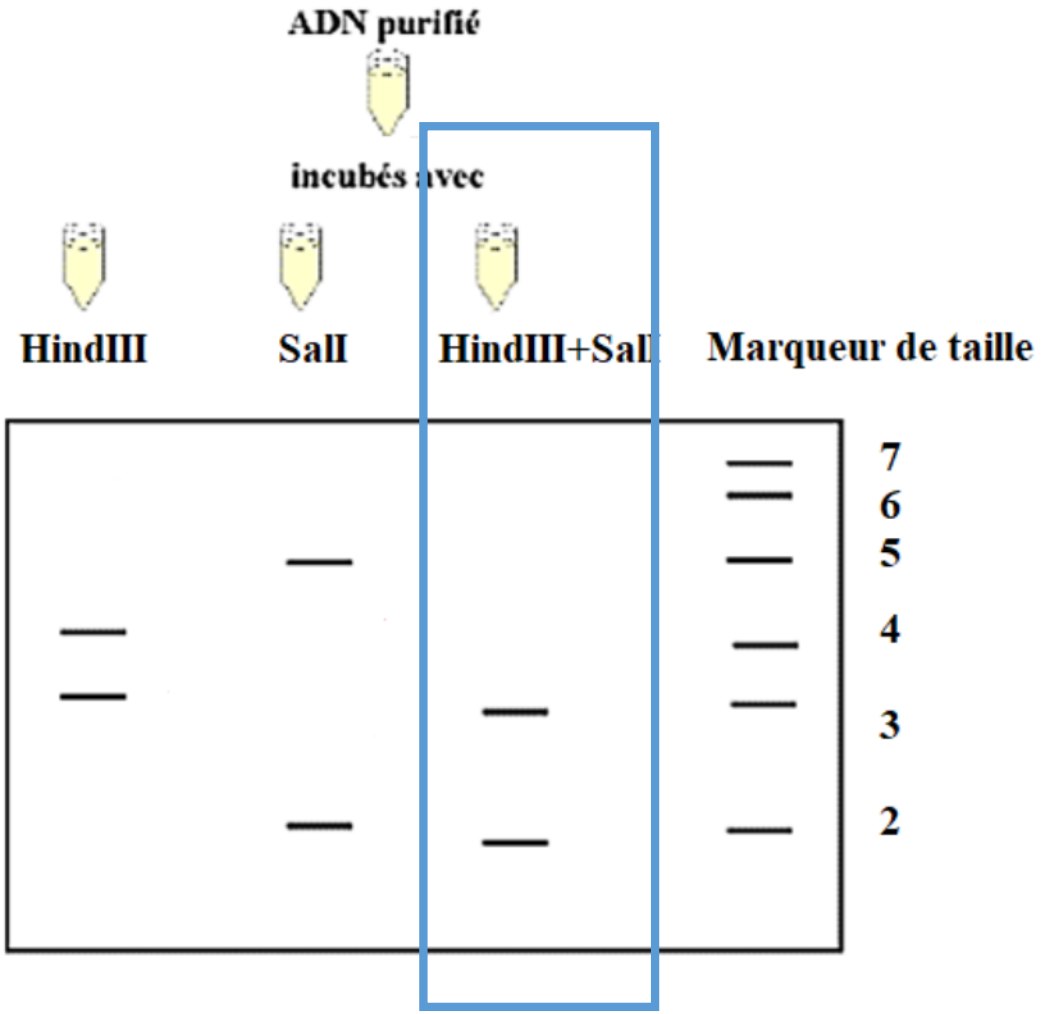


La digestion avec l'enzyme SalI permet l'obtention

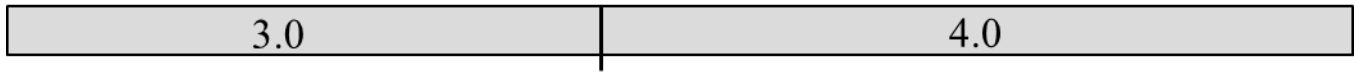
de 2 fragments : **5 et 2 Kb**

Il existe donc **1** site de restriction pour cette enzyme.

2.0
5.0
SalI



La double digestion avec HindIII et SalI permet l'obtention de **2** fragments : **3 et 2 Kb.**



HindIII

SalI

HindIII + SalI

HindIII **SalI**