

TP B11 – Outils pour l'étude des génomes

Eléments de correction

I.2.b) Construction de la carte génétique

- **Montrer que la mutation recherchée correspond à un site de restriction, que l'on précisera.**

On observe pour la piste digérée par HindIII la disparition de la bande b (9416) et l'apparition de deux nouvelles bandes (6019 et 3397), dont la somme correspond bien à la bande b. Donc la mutation correspond à l'apparition d'un site Hind 3 dans le fragment b.

- **Proposez une carte de restriction pour l'ADN du phage λ sauvage**

Assignment des fragments de digestion

On tente d'expliquer chaque bande EcoRI et HindIII par une somme d'une ou plusieurs bandes EcoRI + HindIII. On nomme, pour plus de commodité, les bandes EcoRI en lettres grecques, les bandes HindIII en lettres latines, et les bandes EcoRI + HindIII en chiffres romains.

Digestion par EcoRI ($\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon, \zeta$)

21226 (α) = 21226 (I)

7421 (β) = 5148 (II) + 1584 (VIII) + 564 (XII) + 125 (XIII)

5804 (γ) = 4973 (III) + 831 (XI)

5643 (δ) = 4268 (IV) + 1375 (IX)

4878 (ϵ) = 2027 (VI) + 1904 (VII) + 947 (X)

3530 (ζ) = 3530 (V)

Digestion par HindIII (7 fragments : a, b, c, d, e, f, g)

23130 (a) = 21226 (I) + 1904 (VII)

9416 (b) = 5148 (II) + 4268 (IV)

6557 (c) = 4973 (III) + 1584 (VIII)

4361 (d) = 3530 (V) + 831 (XI)

2322 (e) = 1375 (IX) + 947 (X)

2027 (f) = 2027 (VI)

564 (g) = 564 (XII)

125 (h) = 125 (XIII)

- On sait que le fragment I est le premier (5'). Grâce à cela, on peut reconstituer la carte génétique de proche en proche, en partant de l'extrémité 5'. Le premier fragment est le a, constitué dans l'ordre de I (extrémité 5') et de VII.
- On construit ensuite le fragment suivant : VII compose aussi le fragment ϵ ($\epsilon = VI + VII + X$, somme non ordonnée). Donc dans ϵ , le premier fragment est le VII, suivi de VI **ou** de X. Comment trancher ? On sait que le fragment ϵ est coupé par EcoRI, donc les deux extrémités de ϵ doivent comporter un site EcoRI. VI existe déjà dans l'électrophorèse du phage digéré par HindIII seul, **donc VI n'est borné que par des sites HindIII**. Donc dans ϵ , VI est forcément en position intermédiaire entre VII et X : $\epsilon = VII \rightarrow VI \rightarrow X$ (somme ordonnée).
- On procède ainsi pour l'ensemble des autres fragments. Il y a possibilité d'avoir des ambiguïtés à partir du moment où trois sites de restrictions identiques se suivent, comme c'est le cas dans le fragment β . Dans ce cas, on ne peut pas trancher : il faudrait faire une 3^e digestion (avec une autre enzyme de restriction) pour ordonner les fragments XII et XIII les uns par rapport aux autres.
- Le document suivant donne le résultat de la construction de la carte génétique, ainsi que la position de la mutation, obtenue par l'analyse de la séparation du fragment II en deux fragments II' et II'' de tailles respectives 3397 et 1751 pb.

TP B11 – Correction

