

Enzymes de Restriction

1. Définition

Ce sont des enzymes, principalement d'origine bactérienne, capables de couper l'ADN double brin (et ce quelque soit son origine) à des endroits spécifiques (séquences nucléotidiques) appelés sites de restriction généralement de 4 à 6 paires de bases.

2. La coupure ou phénomène de restriction

Le phénomène de restriction a été observé bien avant que les enzymes de restriction ne fussent mises en évidence. En effet, lorsqu'un bactériophage colonise une bactérie, le phénomène de lyse bactérienne, après multiplication du phage par le biais de la machinerie enzymatique de la bactérie hôte peut ne pas avoir lieu.

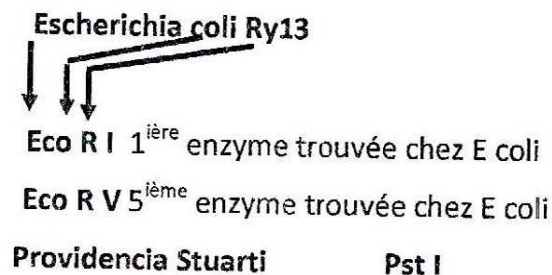
Ceci est expliqué par le fait que :

1. l'ADN phagique est intégré, sous forme silencieuse, dans celui de la bactérie : cycle lysogénique.
2. l'ADN phagique est complètement détruit (hydrolysé) par les enzymes de la bactérie hôte : les enzymes de restriction (Werner Arber).

1. Nomenclature des enzymes de restriction

- La première lettre, en majuscule, représente l'initiale du genre bactérien.
- Les deux lettres, minuscules, qui suivent la première sont représentatives de l'espèce.
- Le chiffre romain qui suit ces trois lettres est le numéro d'ordre de découverte de l'enzyme pour la même bactérie source.
- La dernière lettre majuscule n'est pas obligatoire pour toutes les endonucléases de restriction. Elle est représentative de la souche de la bactérie d'où l'enzyme a été isolée.

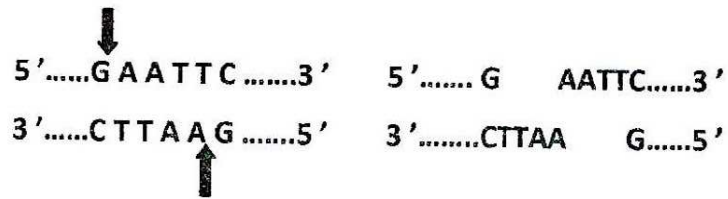
A - NOMENCLATURE



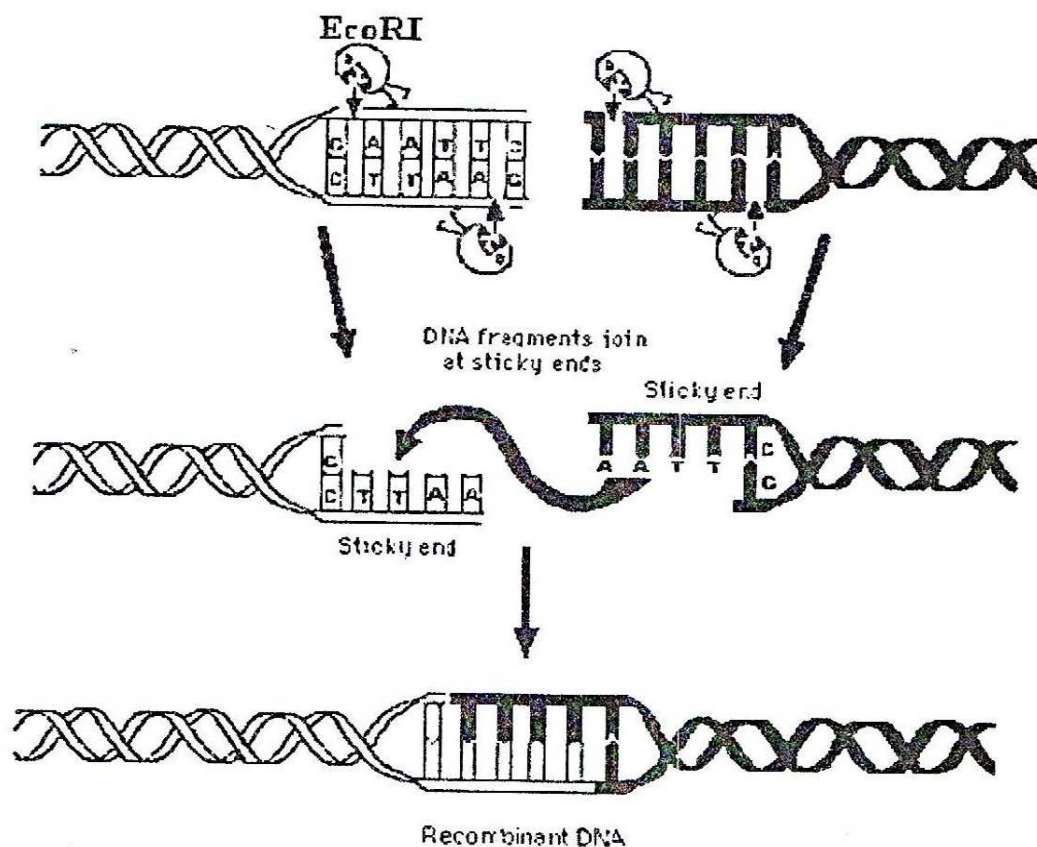
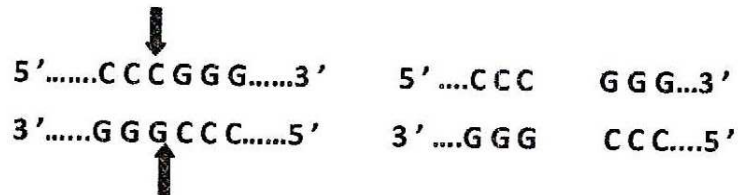
B - LES SEQUENCES RECONNUES : palindromiques

COUPURES A BOUTS COHESIFS

Ex : EcoR I



COUPURES A BOUTS FRANCS (BLUNT ENDS) ex : Sma I

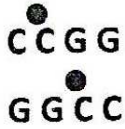


Restriction Enzyme Action of EcoRI

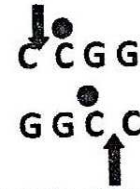
SITES METHYLES

ADN des eucaryotes peut être méthylyé au niveau des cytosines CpG. Certaines enzymes ne reconnaissent pas l'ADN méthylyé

MspI ne coupe pas



Hpa II coupe

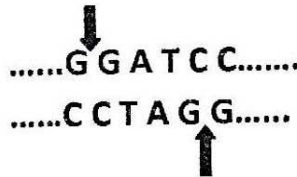
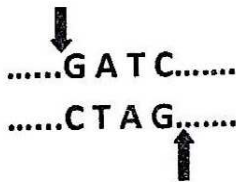


MspI et HpaII sont appelés des isoschizomers

SITES INCLUS

Sau 3A site contenu dans

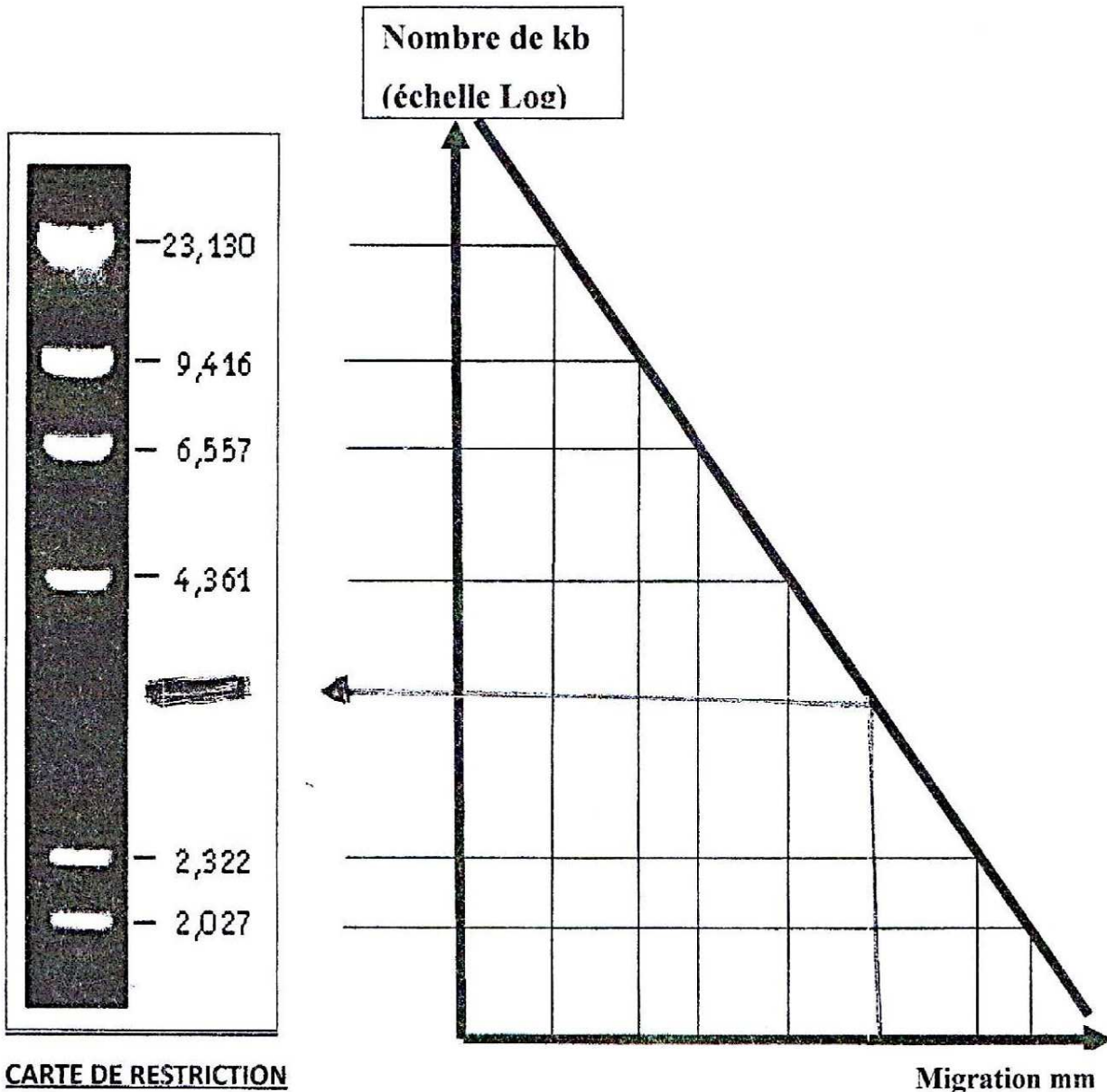
Bam HI : sites compatibles



| Enzyme | Organism from which derived | Target sequence (cut at *) 5' -->3' |
|----------------|-----------------------------------|----------------------------------------|
| <i>Ava</i> I | <i>Anabaena variabilis</i> | C*C/TCGA/G |
| <i>Bam</i> HI | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> | G*AATTC |
| <i>Bgl</i> II | <i>Bacillus globigii</i> | A*GATCT |
| <i>Eco</i> RI | <i>Escherichia coli</i> RY 13 | *GATCC |
| <i>Eco</i> RII | <i>Escherichia coli</i> R245 | *CCA/TGG |
| <i>Hae</i> III | <i>Haemophilus aegyptius</i> | GG*CC |
| <i>Hha</i> I | <i>Haemophilus haemolyticus</i> | GCG*C |
| <i>Hind</i> | <i>Haemophilus influenzae</i> Rd | A*AGCTT |
| <i>Hpa</i> I | <i>Haemophilus parainfluenzae</i> | GTT*AAAC |
| <i>Kpn</i> I | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | GGTAC*C |
| <i>Mbo</i> I | <i>Moraxella bovis</i> | *GATC |
| <i>Pst</i> I | <i>Providencia stuartii</i> | CTGCA*G |
| <i>Sma</i> I | <i>Serratia marcescens</i> | CCC*GGG |
| <i>Sst</i> I | <i>Streptomyces stanford</i> | GAGCT*C |
| <i>Sal</i> I | <i>Streptomyces albus</i> G | G*TCGAC |
| <i>Tag</i> I | <i>Thermophilus aquaticus</i> | T*CGA |
| <i>Xma</i> I | <i>Xanthomonas malvacearum</i> | C*CCGGG |

Sites = 4 à 6 pbases Coupure fréquente ~ 3kb

Sites = 8 pbases Coupure rare ~ 100 - 200kb



CARTE DE RESTRICTION

