

Les acides nucléiques sont dégradés par rupture liaisons covalentes, par exemple par hydrolyse des liaisons phosphoester entre les nucléotides. La dégradation par hydrolyse des acides nucléiques trouve différentes applications en biologie moléculaire, comme pour éliminer des molécules d'ADN dans un extrait cellulaire à purifier en ARN.

Problème : Comment hydrolyser une molécule d'acide nucléique ?

IV. La dégradation des acides nucléiques :

A. L'hydrolyse :

AD n°6 : Les différents types d'hydrolyse.

Bilan : Les polymères nucléotidiques peuvent être dégradés par voie enzymatique, en utilisant des nucléases, enzymes catalysant la réaction d'hydrolyse de la liaison phosphoester entre les nucléotides du polymère : les RNases sont spécifiques de l'ARN et les DNases de l'ADN.

Les enzymes de restriction sont d'origine bactérienne et permettent aux bactéries de se défendre contre l'intrusion d'ADN étranger, comme l'ADN d'un virus. Cette capacité à couper l'ADN est utilisée par le biotechnologiste en biologie moléculaire pour manipuler les molécules d'ADN.

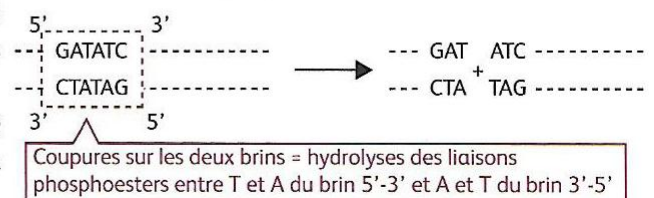
Problème : Quelles sont les caractéristiques des enzymes de restriction ?

B. Les enzymes de restriction :

Les enzymes de restriction sont des endonucléases : elles catalysent la coupure des deux brins d'un ADN bicaténaire au niveau d'un site spécifique appelé site de restriction.

Les endonucléases catalysent la réaction de coupure par hydrolyse d'une liaison covalente phosphoester entre deux nucléotides à l'intérieur de la chaîne nucléotidique. Par exemple, le site de restriction de l'enzyme EcoR V (se prononçant « Eco R 5 ») est constitué de 6 nucléotides (5'-GATATC-3') et les coupures sont générées ici au centre de la séquence nucléotidique.

La restriction enzymatique désigne l'action de l'enzyme de restriction sur un ADN. Elle est aussi appelée digestion enzymatique d'un ADN.



AD n°7 : Les enzymes de restriction.

Bilan : Une enzyme de restriction catalyse la coupure d'un double brin d'ADN au niveau d'un site spécifique, le site de restriction, le plus souvent palindromique.

C'est une hydrolase, car elle catalyse la coupure d'une liaison covalente, la liaison phosphoester, entre deux nucléotides.

Après restriction, les fragments d'ADN obtenus sont à bouts francs ou collants (cohésifs) en fonction du type de coupure.

La digestion enzymatique consiste à placer, dans des conditions physicochimiques adaptées, l'enzyme et son substrat (l'ADN) pendant une durée suffisamment longue.

Cette digestion produit une ou des coupures dans un fragment d'ADN, qui sont séparables par électrophorèse en gel d'agarose si les fragments produits ne sont pas trop grands.

AD n°8 : Restriction et électrophorèse en gel d'agarose.

AT n°24 : Digestion du plasmide pBR 322.