

Mikrobiologi - Restriktionsenzymmer

Kenneth Buchwald Johansen

3. september 2008

1 Restriktionsenzymmer

- Sekvensspecifikke endonukleaser (klipper/skærer/kløver midt i DNA-streng). Enzymerne klipper ved specifikke sekvenser = genkendelses-site
- enzymerne er bakteriens naturlige forsvar overfor fremmed DNA
- Restriktion + modifikation. Bakterien har altså også modifikationsenzymmer, der sætter metylgrupper på bakteriens egne genkendelses-sites, så den ikke skader sig selv.
- Navngivning. Navnet fortæller hvilken bakterie, enzymet kommer fra.
Hin d III: Haemophilus influenzae, d fortæller om stammen.
Eco R I: E. coli, R fortæller om stammen.
Bam H I, Bacillus amyloliquefaciens
- Ved skæring kan fremkomme Blunt ends (skæres lige ned gennem molekylet (på tværs)) eller sticky ends (skæres ujævnt over, således at der er et forskelligt antal baser på hver side af molekylet. Den side, hvor der er flest baser på, giver et navn for beskæringen: 5'-overhang eller 3'-overhang. Blunt ends *kan* ligeres sammen, men det kræver en høj konc. af ligase.
- Genkendelsessites er ofte palindromiske, f.eks. Eco R I:
5'-G ATTC-3'
3'-CTTAA G-5'
Sticky ends 5'-overhang