

## Enzymy restrykcyjne

Enzymy restrykcyjne (endonukleazy restrykcyjne) są enzymami tnącymi wiązania fosfodiesterowe w łańcuchu DNA. Izolowane są głównie z bakterii i sinic, rzadziej z promieniowców. Ich biologiczna rola polega na rozcinaniu cząstek obcego DNA. Są one niezbędne w badaniu struktury chromosomów, sekwencjonowaniu bardzo długich cząsteczek DNA nadających się do klonowania.

### Enzymy restrykcyjne możemy podzielić na:

- **Enzymy klasy I** – przecinają cząsteczkę DNA od wewnątrz, nie rozpoznając określonych sekwencji. Nie posiadają zatem zdefiniowanych miejsc cięcia i są mało specyficzne.
- **Enzymy klasy II** - są zdolne do rozpoznawania specyficznych sekwencji w DNA i przecinania dwuniciowej cząsteczki DNA w dwóch miejscach w obrębie tej sekwencji albo w dokładnie zdefiniowanym miejscu w pewnej odległości od niej. Mają największe znaczenie praktyczne.
- **Enzymy klasy III** – rozpoznają określone sekwencje w DNA, ale miejsce cięcia nie jest dokładnie zdefiniowane.

Enzymy restrykcyjne mogą rozciąć DNA na dwa sposoby, pozostawiając dwa rodzaje końców:

- Tępe końce – powstają w wyniku nacięcia obu komplementarnych nici w tym samym miejscu.

5'–GGATATCC– 3'

3'–CCTATAGG– 5'

5'–GGAT–OH + P–ATCC– 3'

3'–CCTA-P + OH-TAGG- 5'

Lepkie końce – są efektem nacięcia nici DNA w dwóch różnych miejscach oddalonych od siebie o kilka nukleotydów. Rozcięte w ten sposób nici DNA mają na końcach krótkie 1-niciowe fragmenty.

5'–GGATATCC- 3'

3'–CCTATAGG- 5'

5'–G-OH + P-GATATCC- 3'

3'–CCTATAG-P + OH-G- 5'

Wszystkie enzymy restrykcyjne pozostawiają grupę fosforanową na końcu 5', a grupę hydroksylową na końcu 3'. "Lepkie końce" mają duże znaczenie przy klonowaniu genów: sekwencje "lepkich końców" powstałych w wyniku działania tego samego enzymu są komplementarne. W obecności enzymu ligazy można takie cząsteczki ponownie połączyć ze sobą kowalencyjnie.

Fragmety DNA powstałe w wyniku trawienia enzymami restrykcyjnymi dają się rozdzielić na żelach w taki sposób, że w każdym prążku na żelu znajdują się cząsteczki DNA o identycznej sekwencji nukleotydowej. Fakt ten pozwala na precyzyjną obróbkę DNA, m.in. konstruowanie map restrykcyjnych badanego DNA (mapa restrykcyjna wskazuje miejsca cięte przez enzymy restrykcyjne). Analizując na żelach produkty trawienia danego DNA różnymi enzymami restrykcyjnymi, stosowanymi pojedynczo i w kombinacjach, można ustalić wzajemne położenie i odległości pomiędzy sekwencjami rozpoznawanymi przez te enzymy. Oprócz tego, DNA pocięty enzymami restrykcyjnymi można poddawać ligacji z wektorem i tworzyć zrekombinowane (zawierające sklonowany DNA) plazmidy.

Źródło:<http://www.e-biotechnologia.pl/>