

Štěpení DNA

Definované štěpení DNA bylo umožněno objevem restričních endonukleáz (restriktáz). Tyto enzymy štěpí dsDNA na zcela určité centrálně symetrické sekvence nukleotidů zvané **palindrom** (viz tabulka). Restriktázy jsou přirozené enzymy bakterií, kde jsou součástí tzv. **restričně-modifikačního systému**. Tatož sekvence je ve vlastní DNA tímto systémem methylována, což restriktázám brání v degradaci vlastní DNA. Systém je tedy mířen k degradaci cizorodé DNA, která dotyčné cílové sekvence nemá chráněny. Vnikne-li fágová DNA do bakterie, je v převážné míře degradována – fág podlehne restrikci. Jen výjimečně je některá z fágových DNA systémem methylována, fág přežije, byl modifikován a může se v daném bakteriálním kmenu množit.

Cílové sekvence DNA restriktáz

enzym	původ	cílová sekvence
EcoRI	<i>Escherichia coli</i>	G↓AATTC CTTAA↑G
HindIII	<i>Haemophilus influenzae</i>	A↓AGCTT TTCGA↑A
BsuI	<i>Bacillus subtilis</i>	GG↓CC CC↑GG

Specifita restriktáz byla využita v enzymologii DNA. Bylo popsáno kolem stovky takových enzymů, nazývají se zkratkami názvů bakterie, v níž byly objeveny (EcoRI – *E. coli*, HaeIII – *Haemophilus influenzae*). Každá restriktáza má specifickou cílovou sekvenci, v níž štěpí buď protější fosfodiesterové vazby dsDNA nebo vazby symetricky vzdálené několik nukleotidů od centra symetrie (viz tabulka). Ve druhém případě se tvoří **kohezní** („lepivé“) konce vzniklých restričních fragmentů, které se mohou reasociovat, a to i s fragmenty získanými štěpením jiné DNA stejnou restriktázou. Tato možnost je velice výhodná při rekombinaci fragmentů a konstrukci nových genů a genomů. Dnes ovšem není problémem uměle vytvořit jakékoli kohezní konce u kteréhokoli fragmentu dsDNA.

Dalším biotechnologicky významným enzymem je DNA-ligáza, objevená při studiu přirozené replikace DNA. Kovalentně spojuje 3'-OH konec řetězce s 5'-P koncem DNA.

Odkazy

Související články

- Biochemie genového inženýrství
- Dělení fragmentů DNA elektroforézou
- Identifikace restričních fragmentů
- Syntéza umělé DNA
- Pomnožení a exprese izolovaného genu v hostitelské buňce

Použitá literatura

- ŠTÍPEK, Stanislav. *Stručná biochemie : uchování a exprese genetické informace*. 1. vydání. Praha : Medprint, 1998. ISBN 80-902036-2-0.