**المختبر الحادي عشر**

**الانزيمات القاطعه Restriction enzymes**

الانزيمات القاطعه هي الانزيمات التي تعمل على قطع الـ DNA في او قرب تسلسل معين من النيوكليوتيدات يسمى بموقع القطع restriction site , تقسم الانزيمات القطعه الى ثلاثه انواع تختلف من ناحيه تركيبها و موقع القطع , تقوم الانزيمات القاطعه بعمل شق في كل شريط من شريطي حلزون الـ DNA .

اول من اكتشف الانزيمات القاطعه هما العالمان Luria & Bertani في خمسينات القرن الماضي عندما لاحظا ان العاثي البكتيري λ يستطيع النمو في احدى سلالات الـ E. coli بينما لاتسيطيع النمو في سلاله اخرى من نفس النوع (E. coli) ان النوع الاخير من البكتريا يسمى بالمضيف القاطع restriction host , بعد ذلك لاحظ العالمان اربر ومسلسن ان اختزال الفعاليه البايولوجيه للعاثي λ كان نتيجه لتقطيع الحامض النووي منقوص الاوكسجين للعاثي بانزيمات معينه وسميت هذه الانزيمات بالانزيمات القاطعه, هذه الاكتشافات قادت الى تطور تقنيات اعاده خلط الـ DNA ( (recombinant DNA technology مثل الانتاج الواسع لهرمون الانسولين البشري)



الموقع الخاص بالقطع ٌRecognition site

هو تسلسل من الـ DNA المتناوب palindromic الذي يقرأ بنفس الشكل في الشريطين المتعاكسين عند قرائتهما من نفس الاتجاه وهو عاده بين 4-8 قواعد نايتروجييه ويقسم الى نوعين الاول الشبيه بالمرأه وهو التسلسل الذي يقرا من الاتجاهين بنفس الشكل مثل GTAATG و النوع الثاني المتكامل مثل GTATAC و النوع الثاني هو الاكثر شيوعا و اهميه بايولوجيه.

ان التسلسلات الخاصه بالقطع في الـ DNA لكل انزيم قاطع تنتج قطع مختلفه في الطول والاتجاه بالنسبه للنهايات اللزجهsticky –end ( (overhang

انواع الانزيمات القاطعه

تقسم الانزيمات القاطعه الى ثلاثه اقسام اعتمادا على موقع قطع الانزيم و العوامل المساعد للانزيم

1- Type I

موقع القطع يكون بعيد جدا عن التسلسل الخاص بالقطع, يحتاج الانزيم لكل من الـ ATP و الـ adenosyl – L- methionine و ايونات المغنيسيوم , تعمل انزيمات هذا النوع عمل الانزيمات القاطعه والانزيمات المحوره وانها تتكون من ثلاثه اجزاء مهمه هي :

i. Hsd R الجزء المسؤول عن القطع

ii. Hsd M هو جزء ضروري لغرض اضافه مجاميع المثيل لجزيئه الـ DNA المضيفه

iii. Hsd S الجزء المسؤول عن التخصص للموقع المخصص للقطع

2- Type II

يكون موقع القطع في التسلسل المخصص للقطع او على بعد قليل منه,يحتاج الى المغنيسيوم و هو يقوم بعمل القطع فقط

3- Type III

يقطع على بعد مسافه قليله من الموقع المخصص للقطع, يحتاج الى الـ adenosyl – L- methionine وهذا النوع من الانزيمات يعتبر جزء من نظام التحوير واضافه مجاميع المثيل في الخليه.

تسميه الانزيمات القاطعه

منذ اكتشاف هذا النوع من الانزيمات تم التعرف على ما يزيد عن ال 100 انزيم قاطع وكل انزيم تم تسميته اعتماد على الالبكتريا التي تم عزله منها كما في المثال التالي (انزيم الـ EcoR1 )

E هي الحرف الاول من اسم الجنس البكتيري Escherichia(يجب ان تكتب بحرف كبير مائل او يوضع تحتها خط)

 coالحرفين الاولين من الاسم التابع للجنس البكتيري coli ( تكتب بحروف صغيره مائله او يوضع تحتها خط)

R اسم السلاله البكتيريه RY13 تكتب بحرف كبير

1 الانزيم الاول الذي تم التعرف عليه من هذه السلاله البكتيريه

فيما يلي جدول يوضح عدد من الانزيمات القاطعه

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Enzyme | Source | Recognition Sequence | Cut |
| EcoRI |  Escherichia coli  | 5'GAATTC3'CTTAAG | 5'---G AATTC---3'3'---CTTAA G---5' |
| EcoRII | Escherichia coli  | 5'CCWGG3'GGWCC | 5'--- CCWGG---3'3'---GGWCC ---5' |
| BamHI | Bacillus amyloliquefaciens | 5'GGATCC3'CCTAGG | 5'---G GATCC---3'3'---CCTAG G---5' |
| HindIII | Haemophilus influenzae | 5'AAGCTT3'TTCGAA | 5'---A AGCTT---3'3'---TTCGA A---5' |
| TaqI |  Thermus aquaticus  | 5'TCGA3'AGCT | 5'---T CGA---3'3'---AGC T---5' |
| NotI | Nocardia otitidis | 5'GCGGCCGC3'CGCCGGCG | 5'---GC GGCCGC---3'3'---CGCCGG CG---5' |
| HinFI:''Hin''FI | Haemophilus influenzae | 5'GANTC3'CTNAG | 5'---G ANTC---3'3'---CTNA G---5' |
| Sau3AI | Staphylococcus aureus | 5'GATC3'CTAG | 5'--- GATC---3'3'---CTAG ---5' |
| PvuII | Proteus vulgaris  | 5'CAGCTG3'GTCGAC | 5'---CAG CTG---3'3'---GTC GAC---5' |
| SmaI | Serratia marcescens | 5'CCCGGG3'GGGCCC | 5'---CCC GGG---3'3'---GGG CCC---5' |
| HaeIII | Haemophilus aegyptius  | 5'GGCC3'CCGG | 5'---GG CC---3'3'---CC GG---5' |
| HgaI | Haemophilus gallinarum  | 5'GACGC3'CTGCG | 5'---NN NN---3'3'---NN NN---5' |
| AluI | Arthrobacter luteus  | 5'AGCT3'TCGA | 5'---AG CT---3'3'---TC GA---5' |
| EcoRV | Escherichia coli | 5'GATATC3'CTATAG | 5'---GAT ATC---3'3'---CTA TAG---5' |
| EcoP15I | Escherichia coli | 5'CAGCAGN25NN3'GTCGTCN25NN | 5'---CAGCAGN25 NN---3'3'---GTCGTCN25NN ---5' |
| KpnI | Klebsiella pneumoniae  | 5'GGTACC3'CCATGG | 5'---GGTAC C---3'3'---C CATGG---5' |
| PstI | Providencia stuartii | 5'CTGCAG3'GACGTC | 5'---CTGCA G---3'3'---G ACGTC---5' |
| SacI | Streptomyces achromogenes | 5'GAGCTC3'CTCGAG | 5'---GAGCT C---3'3'---C TCGAG---5' |
| SalI | Streptomyces albus | 5'GTCGAC3'CAGCTG | 5'---G TCGAC---3'3'---CAGCT G---5' |
| ScaI | Streptomyces caespitosus  | 5'AGTACT3'TCATGA | 5'---AGT ACT---3'3'---TCA TGA---5' |
| SpeI | Sphaerotilus natans | 5'ACTAGT3'TGATCA | 5'---A CTAGT---3'3'---TGATC A---5' |
| SphI | Streptomyces phaeochromogenes | 5'GCATGC3'CGTACG | 5'---GCATG C---3'3'---C GTACG---5' |
| StuI | Streptomyces tubercidicus | 5'AGGCCT3'TCCGGA | 5'---AGG CCT---3'3'---TCC GGA---5' |
| XbaI | Xanthomonas badrii  | 5'TCTAGA3'AGATCT | 5'---T CTAGA---3'3'---AGATC T---5' |

تشير

N = C or G or T or A

W = A or T