

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

251 حدق

الإنزيمات المقيدة أو القاطعة

Restriction enzymes

مقدمة عن انزيمات القطع

□ لا شك أن كل كائن حي لديه طرق دفاع مختلفة تحميه من غارات الأعداء و هجوم المعتدين!

و البكتيريا هي إحدى هذه الكائنات و من أهم أعدائها الفيروسات المختلفة.

لذلك البكتيريا تنتج (إنزيمات) مهمتها تدمير الفيروسات. و من هذه الإنزيمات الإنزيمات القاطعة أو (Restriction Nucleases) حيث أن آلية المناعة في البكتيريا تعتمد على إنزيمات القطع .

و تقوم هذه المقصاة أو القواطع بقص الحمض النووي (DNA) للفيروس و بذلك يشل عمله و يبطل مفعوله .

مقدمة عن انزيمات القطع

□ و بما أن DNA مادة موجودة بشكل طبيعي في البكتيريا كما هو الحال في الفيروسات و الكثير من الكائنات الحية فان هذه المقصاة قد تشكل خطرا على البكتيريا نفسها في قصها DNA الخاص بها.ولكن هذا لا يحدث و السر في ذلك هو قيام البكتيريا بتحويل أجزاء من DNA الخاص بها عن طريق إضافة مجموعة الميثيل (Methyl) فلا يستطيع المقص أو القاطع من قص الحمض النووي الخاص بالبكتيريا.

الإكتشاف

- تم اكتشاف هذه الإنزيمات عام ١٩٦٢م في بعض أنواع بكتيريا القولون *Eschericia coli* من السلالات E و k .
- ويصل عدد الإنزيمات المكتشفة حتى الآن إلى أكثر من ٤٠٠ إنزيم قادر على تمييز أكثر من ١٥٥ موقع قطع على الحامض النووي DNA ويتم تسميتها تبعاً للكائن الحي الذي عزلت منه .

تسمية الانزيمات القاطعة

- ونظراً للأعداد الكبيرة التي اكتشفت من هذه الإنزيمات فإنه تم اقتراح نظام تسمية وضعه العالمان سميث وناثان **Smith and Nathan** عام ١٩٧٣م على النحو التالي:
- أ - يرمز **لجنس الكائن** الذي اكتشف فيه الإنزيم بالحرف الأول من اسم الإنزيم ويرمز **لنوع الكائن** بالحرفين الثاني والثالث من اسم النوع .
- فمثلاً** الإنزيم المسمى **Eco** مأخوذ من البكتيريا **E. coli** فالحرف الأول من اسم الإنزيم مأخوذ من اسم جنس البكتيريا **Eschericia** والحرفان الثاني والثالث مأخوذان من اسم نوع البكتيريا **coli**.
- وكذلك الحال بالنسبة للإنزيم **Hin** المأخوذ من اسم البكتيريا **Haemophilus influenzae** والإنزيم **Hpa** مأخوذ من اسم البكتيريا **Haemophilus parainfluenza** وكذلك الحال بالنسبة لبقية الإنزيمات.

□ ب- في حالة احتواء البكتيريا على **بلازميد** فإنه يجب إضافة اسم البلازميد إلى اسم الإنزيم . فمثلاً في حالة الإنزيم Eco المشتق من اسم البكتيريا E. coli فإذا كانت البكتيريا تحتوي على البلازميد R1 فإن اسم الإنزيم يصبح **Eco R1** .

□ ج- في حالة وجود أكثر من إنزيم لنفس النوع من البكتيريا فإنه تُستخدم الأرقام الرومانية بعد نهاية الاسم كما هي الحال في الإنزيم :

Eco RI و Eco RII و Hind I و Hind II و Hind III .

المقطع الذي يميزه القطع	المصدر	الإنزيم القاطع
GGATCC	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> H	BamHI
GAATTC	<i>Escherichia coli</i> RY13	EcoRI
GGCC	<i>Haemophilus aegyptius</i>	HaeIII
AAGCTT	<i>Haemophilus influenzae</i> Rd	HindIII
GTTAAC	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	HpaI
CCGG	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	HpaII
GATC	<i>Moraxella bovis</i>	MboI
GCGGCCGC	<i>Nocardia otitidis-caviarum</i>	NotI
GGCCNNNNGGCC	<i>Streptomyces fimbriatus</i>	SfiI

أقسام انزيمات القطع :

تقسم هذه الانزيمات إلى نوعين رئيسيين:

1. النوع الأول يقص شريط DNA المزدوج بشكل رأسي مستقيم (Blunt ends) ويعطي نهايات عمياء أو غير لزجة .

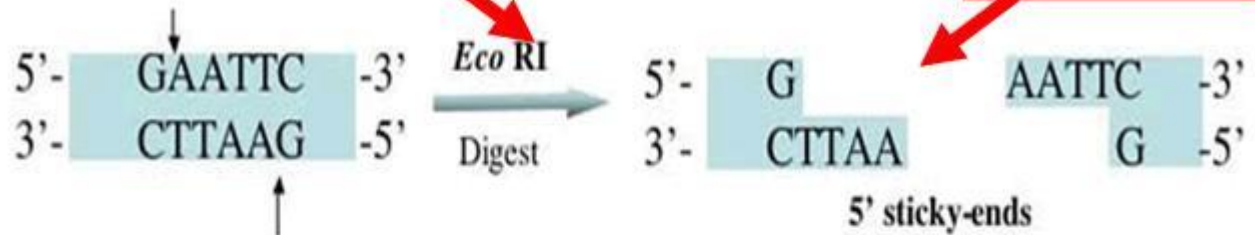


٢. النوع الثاني يقص بشكل متعرج (Sticky ends) و بتالي يجعل طرفي DNA المقطوع مادة قابلة "للزق" قطعة غريبة من DNA فيها. و عن لصق قطعة من DNA في داخل الفراغ الناتج من القطع ينتج لنا قطعة مركبة من قطعتين مختلفتين من DNA و هذه القطعة تسمى DNA مهجّن أو (*Recombinant DNA*).



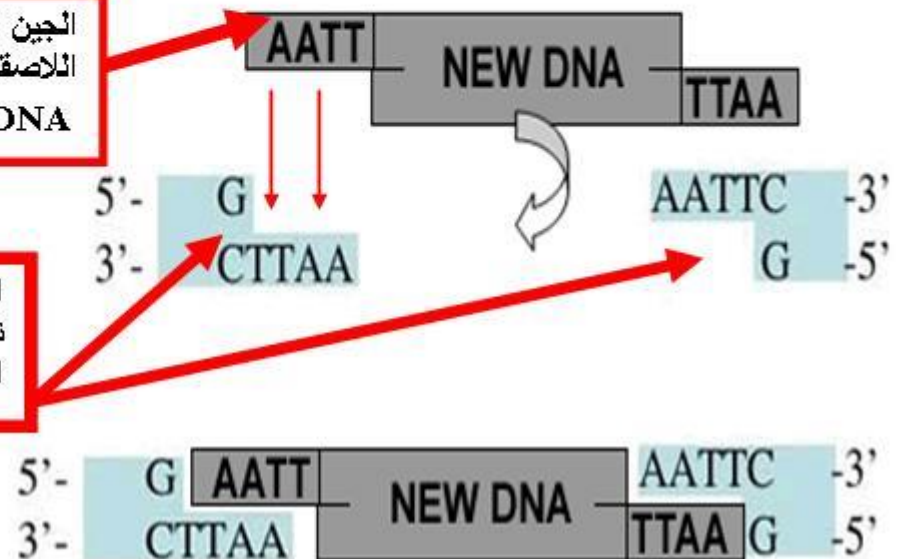
أنزيم القطع

النهايات اللاصقة
في DNA



الجين الجديد , لاحظي النهايات
اللاصقة المتممة لنهايات في
DNA الأصلي .

النهايات اللاصقة في DNA
تتضمن القواعد النيتروجينية
المتمة لنهايات الجين الجديد



مواقع عمل إنزيمات القطع :

□ إن إنزيمات القطع تمتلك مواقع معينة على الحامض النووي DNA تتخصص في قطعها ولكن تختلف هذه الإنزيمات في بعض الأمور فيما يخص طبيعة موقع القطع ومكان القطع ونواتجه .

ومن أهم هذه الاختلافات ما يلي :

كل إنزيم قاطع يعبر عن مقص خاص لقطع DNA في نقطة محددة. و يتعرف الإنزيم القاطع على مكان القطع حسب تسلسل DNA للقطعة. فكل إنزيم قاطع يقطع في تسلسل محدد.

فمثلا الإنزيم القاطع المعروف بالهيبا و احد (Hpa I) يقطع عندما يجد 6 من الأحماض النووية في هذا التسلسل (GTTAAC)

بينما الإنزيم القاطع إيكو آر واحد (Eco RI) يقطع عندما يجد 6 من الأحماض النووية في هذا التسلسل (GAATTC). و هذا الإنزيم يعتبر من الإنزيمات التي تقطع بشكل رأسي مستقيم. بنما انزيم الايكو ار واحد فهو، ويعتبر من الإنزيمات التي تقطع بشكل متعرج.

