

Die rekombinante DNA-Technologie 5

Restriktionsenzyme – bakterielle Präzisionswerkzeuge zum Bearbeiten von DNA

Barbara C. Biedermann Die Restriktionsenzyme wurden in den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts entdeckt. Diese speziellen Proteine erhielten ihren Namen, weil sie den Transfer von Fremd-DNA in Bakterienstämme einschränken (engl. *to restrict*, einschränken). Wird nämlich Fremd-DNA in ein Bakterium eingeschleust, wird diese sofort von den Restriktionsenzymen abgebaut. Restriktionsenzyme schneiden Doppelstrang-DNA immer an einer bestimmten Stelle, an einer bestimmten Erkennungssequenz. Diese ist oft palindromisch, d.h. die Nukleotide sind punktsymmetrisch angeordnet. Wenn die Erkennungssequenz eines Restriktionsenzym 4 Nukleotide lang ist, kommt eine Schnittstelle durchschnittlich alle 4^4 (= 256) Basenpaare vor. Ist die Erkennungssequenz 8 Nukleotide lang, schneiden die Restriktionsenzyme alle 4^8 Basenpaare: Es entstehen durch-

schnittlich 65 536 Nukleotide lange Fragmente. Gewisse Restriktionsenzyme schneiden DNA gerade durch (es entstehen stumpfe Enden, engl. «*blunt ends*»), andere schneiden an beiden Strängen versetzt. Es entstehen klebrige Enden, (engl. «*sticky ends*»), die sich – bei entsprechenden Temperaturen – zufällig aneinanderlagern können. Restriktionsenzyme werden mit einem Kürzel benannt, das das Herkunftsbakterium verrät: *Eco RI* kommt aus *Escherichia coli*, *Hinf I* aus *Hämophilus influenzae* oder *Pvu I* aus *Proteus vulgaris*. Bakterien schützen übrigens ihre eigene DNA vor einer Restriktionsenzym-Attacke durch chemische Modifikation der entsprechenden DNA-Erkennungssequenzen. Restriktionsenzyme sind so wichtige Werkzeuge zur Bearbeitung von DNA, dass es mittlerweile Firmen gibt, die sich darauf spezialisiert haben, diese Enzyme in reiner Form und mit standardisierter Wirksamkeit herzustellen. Über 100 Restriktionsenzyme sind inzwischen so kommerziell erhältlich. Jede Computersoftware, mit der sich DNA darstellen lässt, enthält auch eine Hilfsfunktion zum Aufsuchen von Restriktionsenzym-schnittstellen. Und in praktisch jeder DNA-Sequenz findet sich eine oder mehrere Restriktionsenzym-schnittstellen. Die Länge der DNA-Fragmente, die entstehen, wenn man eine bestimmte DNA-Sequenz durch ein Restriktionsenzym verdauen lässt, ist genau vorhersehbar. Wird eine solche DNA-Schnittstelle z.B. durch eine Punkt-Mutation verändert, ergibt sich ein anderes Schnittmuster. Man spricht dann von Restriktionsenzym-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP). Ein Restriktionsenzym-Fragment-Längen-Polymorphismus kann zur Diagnose einer krankmachenden DNA-Mutation verwendet werden.

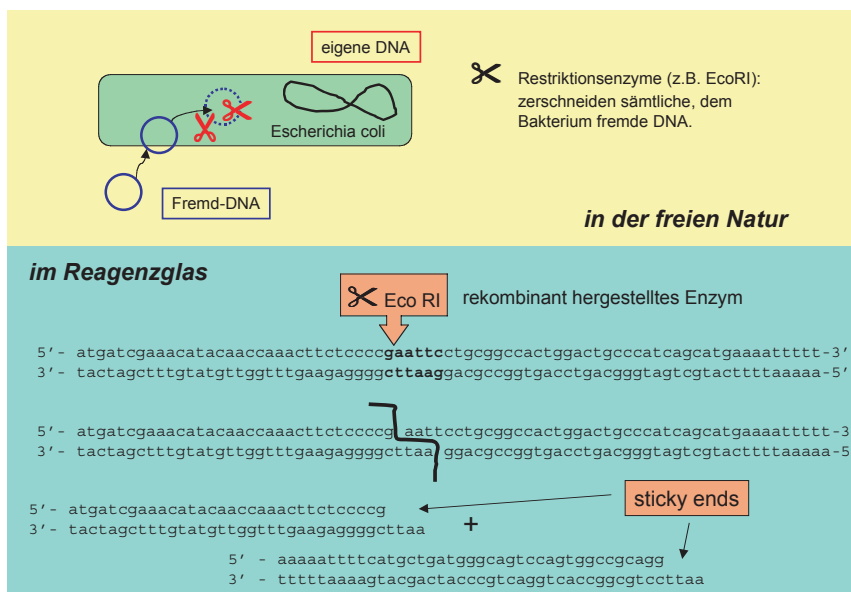


Abbildung 1. Restriktionsenzyme kommen in der freien Natur und im Labor vor. In der freien Natur sind sie Abwehrwaffen der Bakterien gegen fremde DNA. Im Reagenzglas des Forschers werden Restriktionsenzyme verwendet, um an genau bekannten Stellen (meistens an palindromischen DNA-Sequenzen) die Doppelstrang-DNA zu zerschneiden.

Korrespondenz:
 PD Dr. med. Barbara C. Biedermann
 Medizinische Universitätsklinik
 Kantonsspital
 CH-4101 Bruderholz
barbara.biedermann@unibas.ch