

限制性内切酶

August 2000 Molecule of the Month by David S. Goodsell

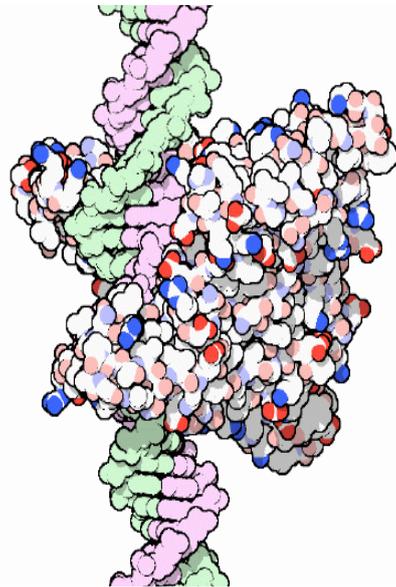
译者：葛勇（农科院棉花所）

细菌的反击

细菌经常的受到一些噬菌体的侵染破坏，比如前面分子月报中提到的 phiX174。为了保护自身，许多类型的细菌最终进化发展出了一种方法来切割任何外来的 DNA，比如入侵的噬菌体。这些细菌产生了一种可以切割 DNA 的核酸内切酶，这种内切酶可以在细胞质中游走，等待入侵的噬菌体 DNA。由于这些内切酶可以抵御外来物质感染自身，因此被命名为“限制性内切酶”。

分子剪刀

每一种限制性内切酶都有自己单一的识别位点，并在该识别位点处进行准确的切割。比如 EcoRI（如图）切割 GAATTC 序列是在 G 和 A 之间进行切割。当然，游动的限制性内切酶是很危险的，因此细菌通过甲基化修饰来保护自身的 DNA。这些修饰基团根据细菌类型的不同被加在大沟中的腺嘌呤或胞

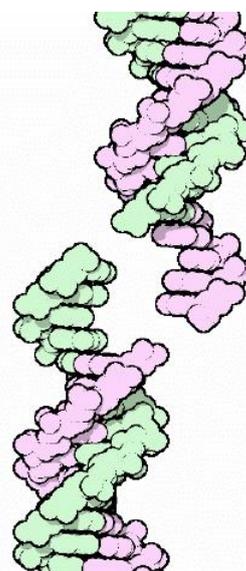


嘧啶上。这些甲基化的修饰可以阻挡限制性内切酶的结合，但不会影响基因正常阅读以遗传信息的转录。而外来入侵的噬菌体 DNA 因为没有甲基化的修饰则被切割破坏。每种特殊的细菌都含有一种或几种限制性内切酶，这些限制性内切酶可以识别特殊的 DNA 序列并进行切

割，而细菌基因组中同样的序列由于甲基转移酶甲基化从而得到保护。

粘性末端

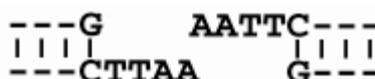
20 世纪 50 年代早期限制性内切酶的发现使生物技术领域获得了蓬勃发展。有了这种酶，DNA 可以在选定的位置被准确切割。而另一种酶——DNA 连接酶——可以将这些片段按照需要连接起来。同时，有了这两种酶研究人员可以进行重组基因组。例如，研究人员可以设计出能够生产胰岛素或生长激素的细菌，也可以将抗病基因转到农作物中。



限制性内切酶有一个值得关注的特性，它可以简化这种酶的分子剪切与粘贴。限制性内切酶特异性识别 DNA 的对称序列。比如 EcoRI 的位点：



可以发现上面的一条链与下面的一条链（反向阅读）是相同的。当酶在 G、C 之间切割时，就会形成悬伸的两条链：



这种结构叫做粘性末端是因为即使主链被切断了，在悬伸处形成的碱基也可以通过碱基配对将两个片段再连接起来。粘性末端是基因工程中最基本的部分，它可以使研究人员把 DNA 切成片段后在粘性末端相匹配的部位再连接起来。

结构探索

PDB 网站中有很多限制性内切酶的结构。如图显示的 EcoRV 的限制性内切酶：上面的结构图来源登录号为 1rva，由图中可以观察到酶结合在一小段 DNA 上。箭头所指的磷酸集团将会被切割掉。下面的结构图来源登录号为 1rvc，该图展示了 DNA 被切掉后的结构。一分子水被嵌入到结构中，所以现在有两个氧原子，它们彼此靠近但并不结合在一起，而在完整的 DNA 分子中仅有一个氧原子。在两幅图中都含有作为支架存在的蛋白质和一条标记成绿色的 DNA 链。

