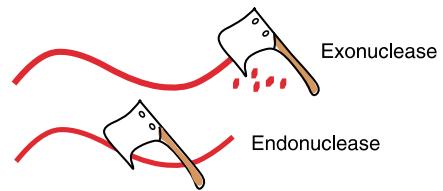


4.6 Methoden der Molekularbiologie.

4.6.1 Restriktionsnukleasen schneiden DNA an ganz bestimmten Stellen.

Enzyme, die Nucleinsäuren hydrolyseren, heißen Nucleasen. Es gibt Desoxyribonucleasen (DNAsen, spalten DNA) und Ribonucleasen (RNAsen, spalten RNA). Zudem unterscheidet man zwischen Exo- und Endonucleasen. Exonucleasen schneiden nach dem Salamiprinzip, also am Ende der Nucleinsäure; Endonucleasen schneiden im Inneren.

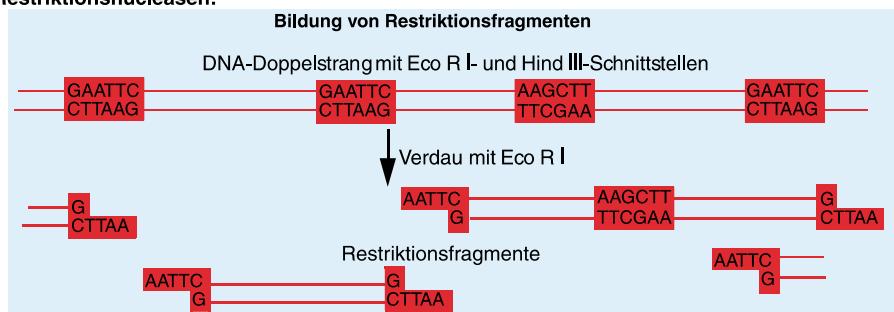
Endonukleasen sind oft sequenzspezifisch, d.h. sie spalten Doppelstrang-DNA nur an einer bestimmten Sequenz, z.B. GAATTC. Derart sequenzspezifische Endonukleasen heißen Restriktionsnukleasen. Restriktionsnukleasen gibt es nur für DNA. Beispiel: Eco R I schneidet nur in der Sequenz GAATTC. GAATTC ist die Restriktionsstelle von Eco R I. Die beiden Einzelstränge werden versetzt geschnitten. Die so entstandenen überlappenden, einzelsträngigen Bereiche bezeichnet man als klebrige Enden (sticky ends).



**Restriktionsnuklease Eco R I schneidet Doppelstrang-DNA
Schnittstelle**

Zum Gebrauch von Restriktionsnucleaseen:

- Jede Restriktionsnuclease spaltet nur an ihrer Restriktionsstelle; z.B. Eco R I nur bei GAATTC, Hind III nur bei AAGCTT. Es entstehen sog. Restriktionsfragmente.



- Von jeder DNA können Sie eine Restriktionskarte anlegen, d.h. ein Verzeichnis der Schnittstellen von Restriktionsnukleasen. Dies kennzeichnet die DNA und ermöglicht es, verschiedene DNA-Fragmente zu vergleichen, ohne sie zu sequenzieren (d.h. die Abfolge ihrer Basen bestimmen zu müssen).



- Mit Restriktionsnukleasen können Sie DNA-Fragmente in Plasmide einbauen.

Dazu schneiden Sie das gereinigte Plasmid (rot) mit einer Restriktionsnuklease zu einer linearen DNA mit klebrigen Enden auf. Für viele Plasmide, wie pBR 322, gibt es Restriktionskarten, in denen die Schnittstellen verschiedener Restriktionsnukleasen verzeichnet sind.

