

# CHUYÊN ĐỀ: ENZIM CẮT GIỚI HẠN

## (Restriction enzyme)

*GV thực hiện: Võ Văn Quý*

*Đơn vị: Trường THPT Chuyên LQĐ - Ninh Thuận*

Khi nói tới công nghệ sinh học thì người ta không thể không nói tới công nghệ enzym. Bởi lẽ, enzym và công nghệ enzym ra đời đã thúc đẩy ngành công nghệ sinh học phát triển lên một bước tiến mới.

Có rất nhiều loại enzym được dùng trong công nghệ sinh học. Tính riêng trong hệ thống enzym sửa đổi axit nucleotit (nucleotid modifying enzymes) đã được phát hiện thì enzym giới hạn có vai trò rất quan trọng, đặc biệt là trong công nghệ ADN tái tổ hợp, chuyển gen.

Vậy enzym cắt giới hạn là gì ? Có những loại enzym cắt giới hạn nào ? Vai trò của chúng là gì ?

### **I. Enzym giới hạn (Restriction enzyme)**

#### **1. Hiện tượng giới hạn**

Từ những năm 1950, S.Luria đã phát hiện thấy các phage thể hệ con sinh ra từ thí nghiệm gây nhiễm phage T<sub>2</sub> vào nòi E.Coli B/4 không còn khả năng sinh sản trong nòi vật chủ E.Coli bình thường và cho rằng các phage sinh ra từ E.Coli B/4 đã bị sửa đổi theo một cách nào đó, làm cho các phage này mất khả năng sinh trưởng trong vật chủ bình thường: đó là do enzym giới hạn. Trong hiện tượng này chức năng quan trọng của enzym giới hạn là bảo vệ chất di truyền của vi khuẩn không bị "xâm lấn" bởi các ADN lạ, nói cách khác ở đây có cả cơ chế bảo vệ virút để duy trì ADN riêng của các vi khuẩn.

Vào năm 1962, V.Arber lần đầu tiên chứng minh được rằng có những loại enzym đặc biệt có khả năng phân biệt được ADN của tế bào chủ và ADN ngoại lai (ADN của phage). Các enzym này có khả năng hạn chế khả năng sinh sản của phage trong tế bào vi khuẩn bằng cách phân huỷ chúng một cách đặc hiệu người ta gọi nó là restriction enzym.

#### **2. Enzym giới hạn (Restriction enzyme)**

Người đầu tiên phát hiện enzym giới hạn là H.Smith và D.Nathaus (1970) hai ông đã tách được restriction endonuclease từ vi khuẩn Haemophilus influenzae và gọi là Hind II. Ngay sau đó ông cũng đã chứng minh được rằng phần lớn các vi khuẩn có một hệ thống enzym chuyên biệt dùng để hạn chế-biến đổi (restriction-modification system), bảo vệ tế bào khỏi sự xâm nhập của các ADN lạ. Với công trình nghiên cứu này ông và cộng sự đã được nhận giải thưởng Nobel năm 1978.

#### **3. Danh pháp và phân loại của RE**

##### **a. Danh pháp**

Tên đầy đủ là restriction endonuclease và kèm theo tên hệ thống nhưng người ta thường gọi theo tên hệ thống, bỏ tiền ngữ. Tên hệ thống thường được biểu thị bằng 3-4 chữ cái viết tắt tên của vi khuẩn mà người ta tách được enzym đó. Các chữ cái đều được viết hoa để chỉ giống còn 2 chữ tiếp theo viết để chỉ loài, khi cần thiết thì viết thêm chữ cái thứ 4 để chỉ nòi hay chủng.

Ví dụ EcoB : Là en zim cắt giới hạn được tách ra từ vi khuẩn E.coli nòi B

Ngoài ra để nhận biết các enzym khác của cùng một nòi người ta còn dùng thêm các chữ số la mã kèm theo tên hệ thống

Ví dụ : Hind II , Hind III là các enzym giới hạn có đoạn đích khác nhau đều được chiết ra từ vi khuẩn Haemophilus influenzae nòi d .

### b. Phân loại

Đến nay, người ta đã tách chiết được hàng trăm loại enzym giới hạn khác nhau và dựa vào đặc tính của các loại RE mà chia chúng ra làm 3 loại.

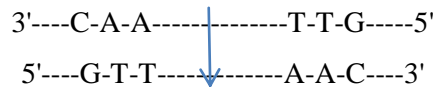
ĐẶC TÍNH	LOẠI I	LOẠI II	LOẠI III
Điểm cắt	Cách xa điểm nhận biết(trên 1000bp)	Nằm trong điểm nhận biết	Nằm ngoài điểm nhận biết (gần hơn loại I)
Khả năng metyl hoá gốc Adenin	Có	Không	có
Điều kiện để cắt	ATP, Mg <sup>++</sup> , S-AdoMet	Mg <sup>++</sup> hoặc Mn <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup> , S-AdoMet
Cấu trúc của enzym(Số chuỗi polipeptid)	3 chuỗi khác nhau	2 chuỗi giống nhau	2 chuỗi khác nhau

### 4. Các kiểu cắt của RE

Có hai kiểu cắt cơ bản của RE

#### a. Cắt thẳng tại một điểm qua trung tâm đối xứng.

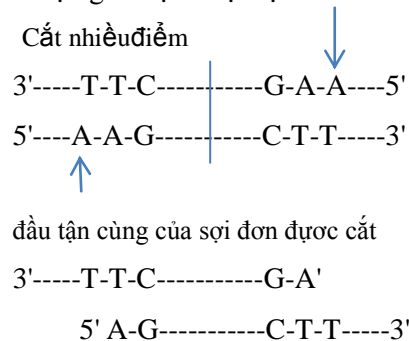
Cắt điểm 1 ( ở cả 2 liên kết của trục đối xứng)



Ví dụ như Re: E.CoRI cắt ADN của SV40 tại chỉ một điểm ( site). Site này được qui ước như là vị trí số 0 trên ADN SV40 .

#### b. Cắt nhiều điểm của đoạn ADN

Các enzym giới hạn HpaI và HindIII cắt ADN của SV40 tại 4 site .Khi SV40 đều được tác động bởi cả 3 enzym trên, thì sẽ có 11 đoạn giới hạn được tạo ra.



## II. Vai trò của RE trong công nghệ gen

### 1. Tạo ADN tái tổ hợp

### 2. Dùng enzym cắt giới hạn để phân tích tổ chức của ADN

+ Nghiên cứu các hệ gen.

+ Lập bản đồ một số hệ gen Như bản đồ của φX174, SV40

### **3. Dùng enzym cắt trong chuẩn đoán y học, phát hiện bệnh di truyền.**

- + Một số đột biến di truyền ảnh hưởng đến các điểm dành cho enzym cắt giới hạn .
- + Phân biệt được kiểu gen bình thường ( kiểu dại ) với các kiểu đột biến bằng cách :
  - \* Cắt mẫu ADN của hệ gen bằng enzym giới hạn thích hợp
  - \* Phân tích các đoạn ADN trên gel điện di ( qua độ dài khác nhau của các đoạn )
  - \* Chuyển các đoạn lên màng lọc .
  - \* Cho lai với mã đánh dấu (probe) thích hợp ( dùng ARN ) , như đánh dấu phóng xạ ( thường là  $^{32}\text{P}$  )
  - \* ảnh phóng xạ tự ghi cho thấy vị trí các dòng ADN bổ trợ với mẫu ARN
  - \* Các dòng này được tách ra để nghiên cứu
  - \* Chọn ối lấy tế bào phôi , và phân tích chuẩn đoán như trên , phát hiện các khác biệt trong mẫu xử lý enzym giới hạn .

### **4. Dùng tính chất đặc hiệu của enzym giới hạn để tìm hiểu mối quan hệ di truyền , nguồn gốc của quần thể .**

