



Mutations

Intragenic (gene) mutations

Base substitutions

Transversions $\text{Pu} \leftrightarrow \text{Py}$

Transitions $\text{Pu} \rightarrow \text{Pu}$ or $\text{Py} \rightarrow \text{Py}$

Insertions (small)

Deletions (small)

Effects: Change or loss of function of single genes,

Mutation types: silent, missense, nonsense, frameshift

Intergenic (chromosome) mutations

Deletions Insertions Inversions

Translocations Amplifications

Effects: Change or loss of function of larger units

Ploidy mutations

Euploidy

Aneuploidie

Haploidy

Hypoploidy (e.g. Monosomy)

Polyploidy

Hyperploidy (e.g. Trisomy)

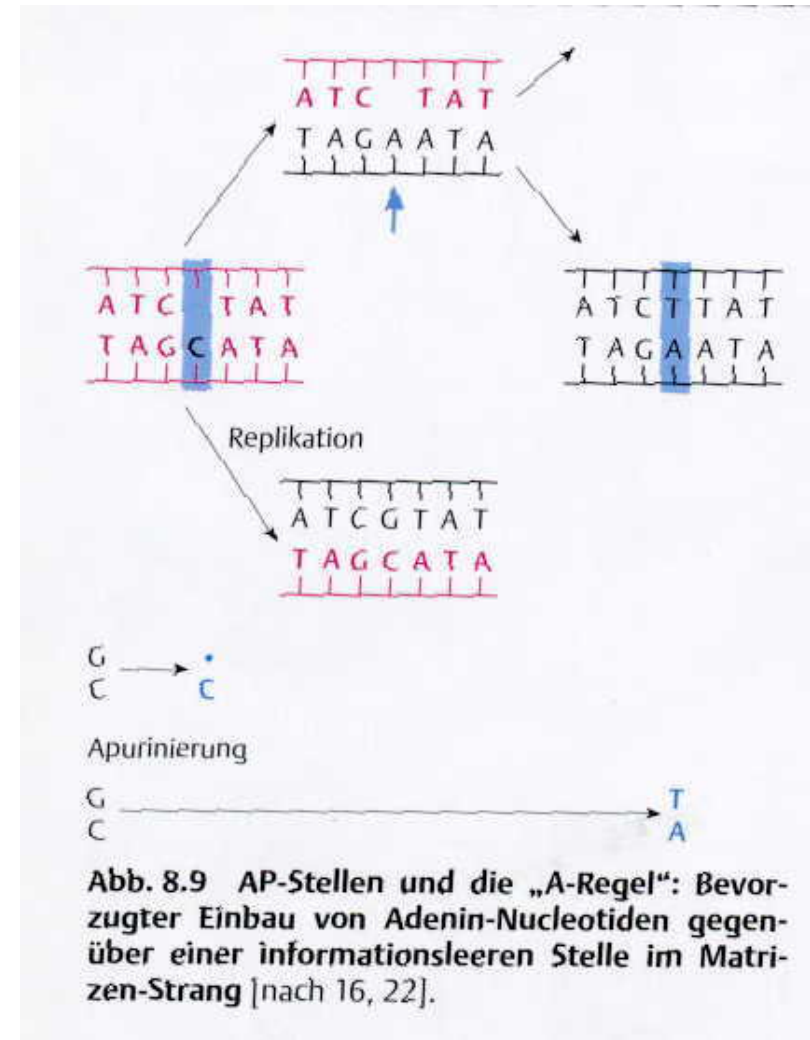
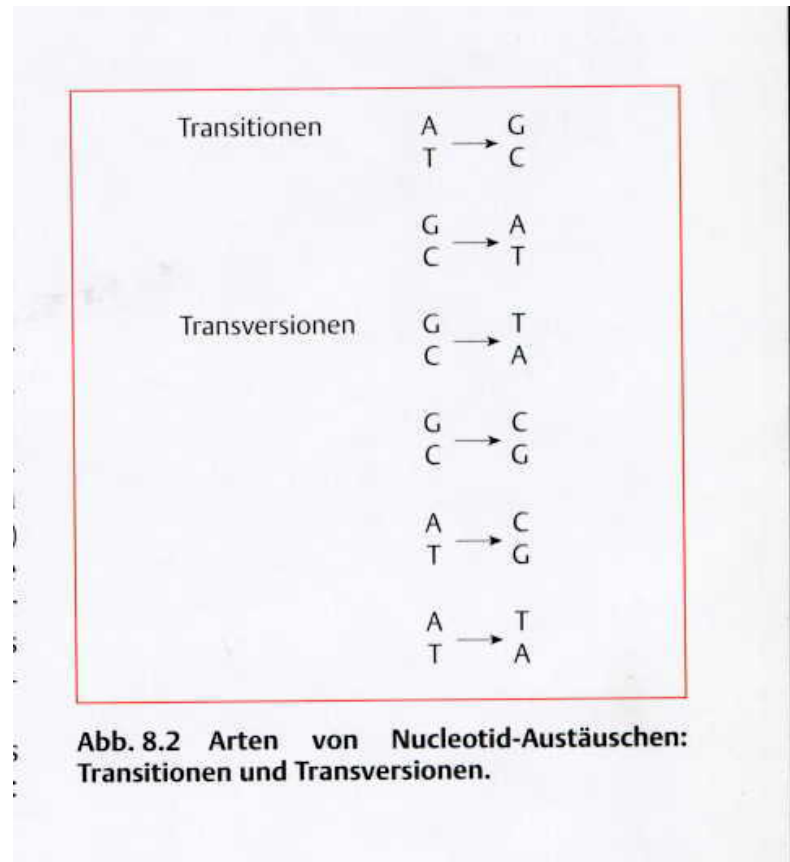
Effects: mostly pleiotropic or loss of function



Abb. 8.1 Nucleotid-Austausch als Ursache von Mutationen. Beachte, daß Mutationen selten sind. Deswegen ist ein unabhängiger Austausch von zwei eng benachbarten Nucleotiden höchst unwahrscheinlich, ja geradezu ausgeschlossen.

Wildtyp	C T T A G T G A C T A C G G T A A A	DNA
	G A A T C A C T G A T G C C A T T T	
	C U U A G U G A C U A C G G U A A A	mRNA
	Leu · Ser · Asp · Tyr · Gly · Lys	Protein
neutrale Mutationen	C T T A G C G A C T A C G G T A A G	DNA
	G A A T C G C T G A T G C C A T T C	
	C U U A G C G A C U A C G G U A A G	mRNA
	Leu · Ser · Asp · Tyr · Gly · Lys	Protein
Missense-Mutationen	C C T A G T G A A T A C G G T A A A	DNA
	G G A T C A C T T A T G C C A T T T	
	C C U A G U G A A U A C G G U A A A	mRNA
	Pro · Ser · Glu · Tyr · Gly · Lys	Protein
Nonsense-Mutationen	C T T A G T G A C T A G G G T A A A	DNA
	G A A T C A C T G A T C C C A T T T	
	C U U A G U G A C U A G	mRNA
	Leu · Ser · Asp	Protein

Stop-Codon





Mutations by Replication errors

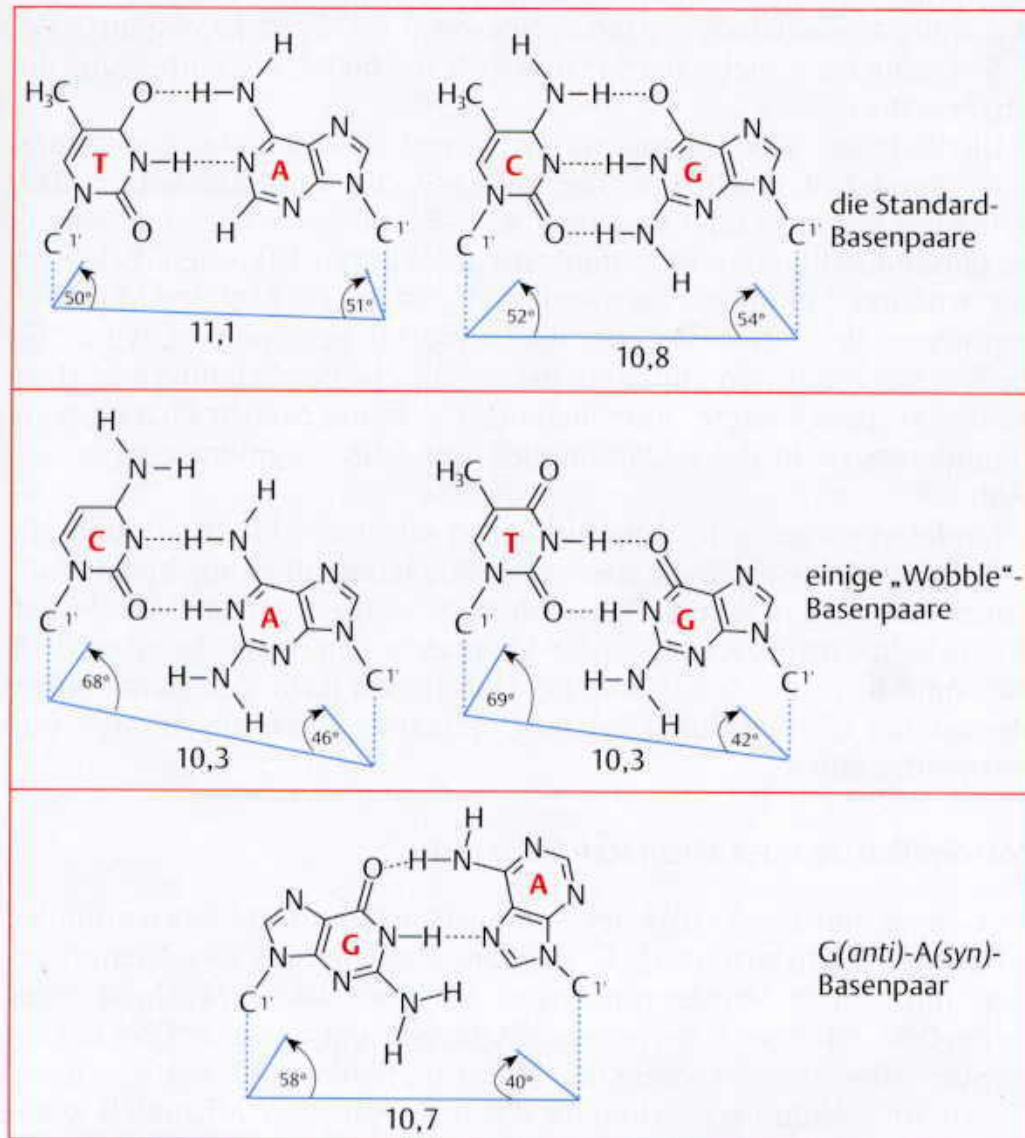


Abb. 8.6 Ungewöhnliche Basenpaare als Ursache für Falscheinbauten an der Replikationsgabel [nach 8, 19].

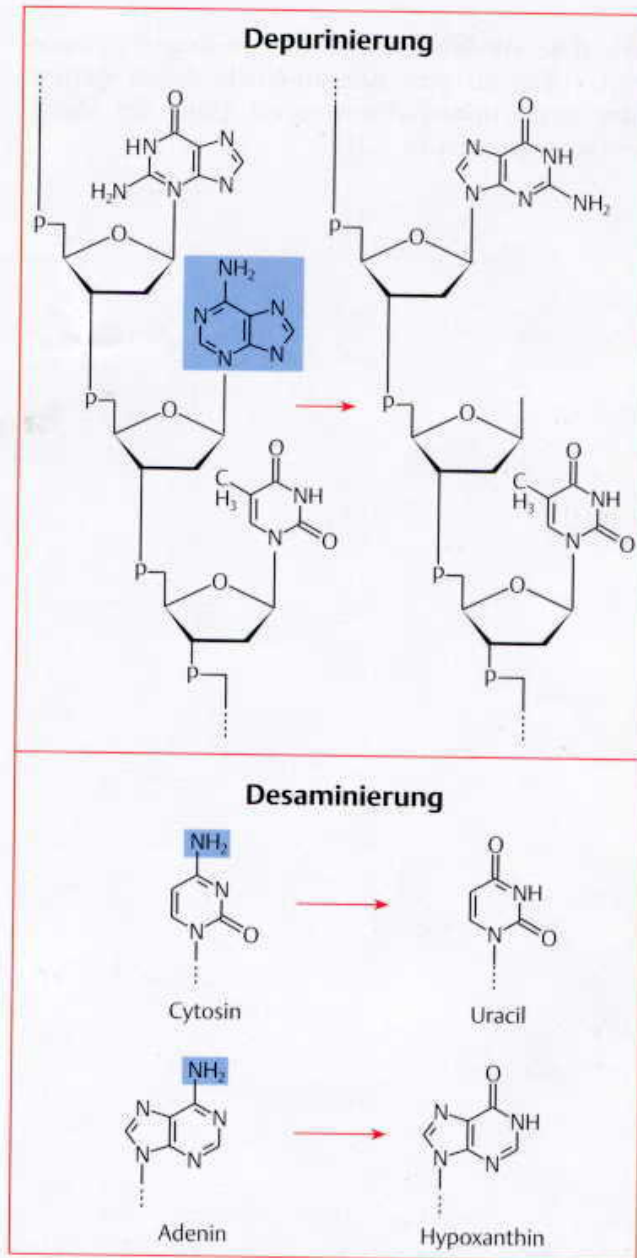


Abb. 8.8 Spontane hydrolytische Zerfallsreaktionen: Apurinierung und Desaminierung.

Spontaneous Mutations

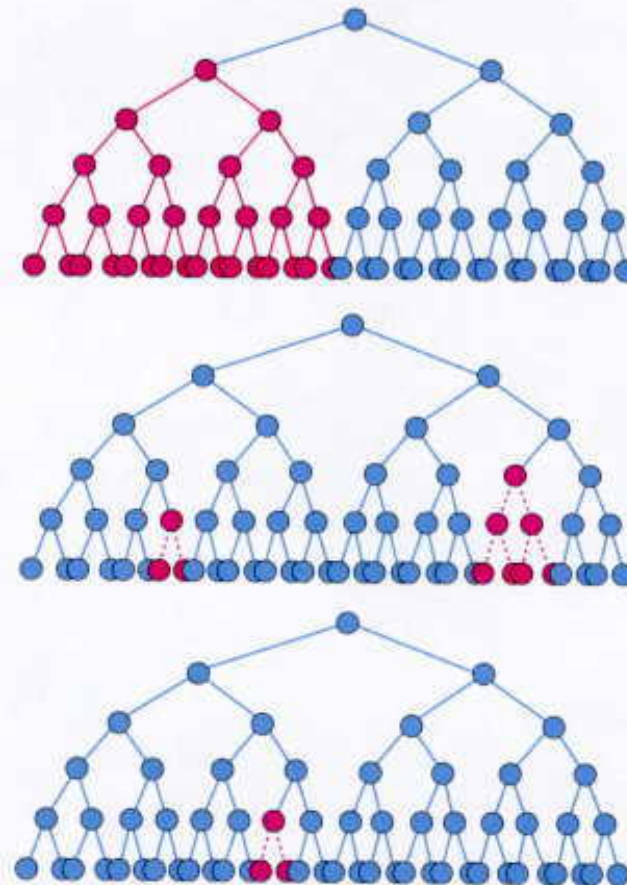
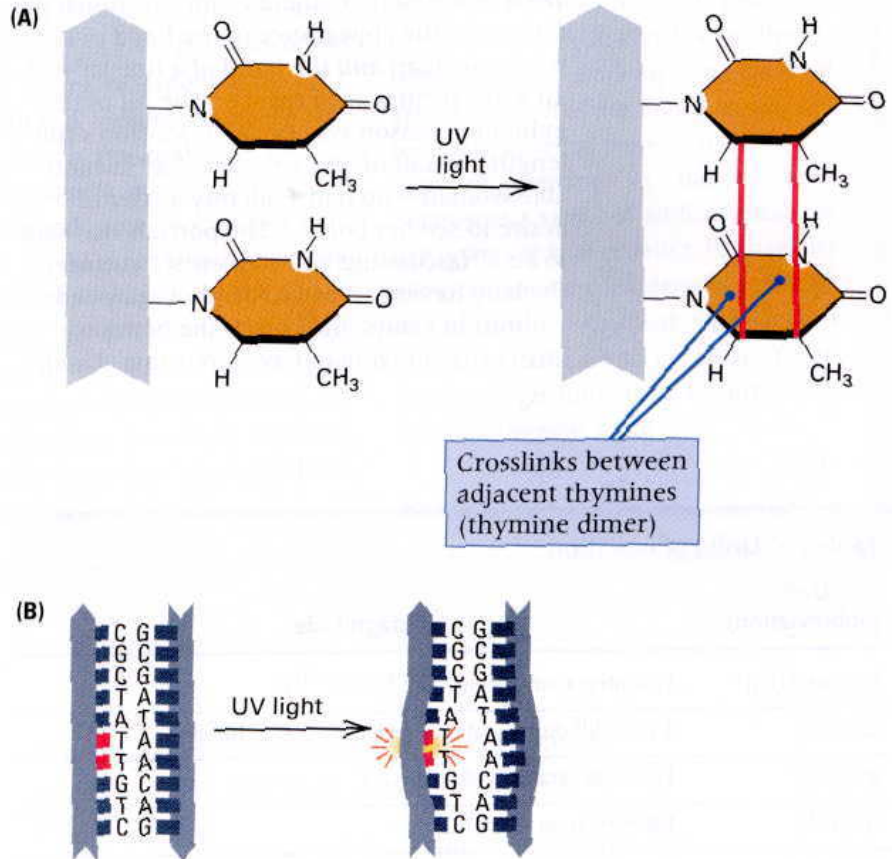


Abb. 8.4 Luria-Delbrück-Experiment: Mutationen entstehen ungerichtet.



UV



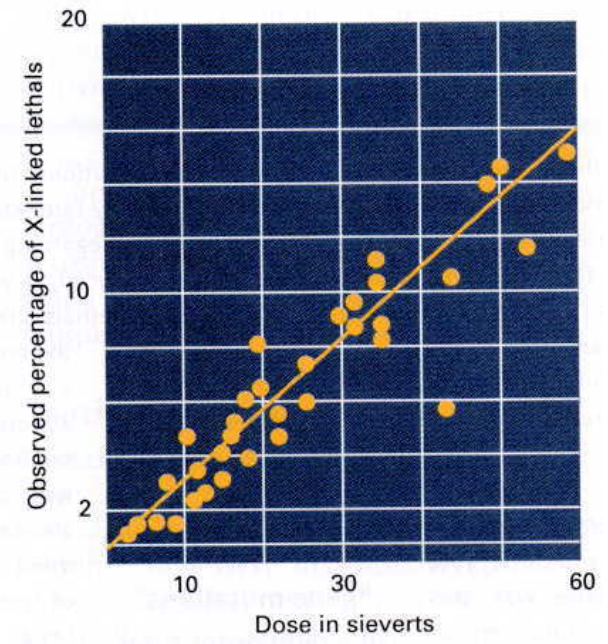
Crosslinks between adjacent thymines (thymine dimer)

Figure 7.26 (A) Structural view of the formation of a thymine dimer. Adjacent thymines in a DNA strand that have been subjected to ultraviolet (UV) irradiation are joined by formation of the bonds shown in red. Other types of bonds between the thymine rings also are possible. Although not drawn to scale, these bonds are considerably shorter than the spacing between the planes of adjacent thymines, so the double-stranded structure becomes distorted. The shape of each thymine ring also changes. (B) The distortion of the DNA helix caused by two thymines moving closer together when joined in a dimer.

Radiation mutagenesis

X-ray: Chromosome breaks
Rearrangements

Figure 7.27 The relationship between the percentage of X-linked recessive lethals in *D. melanogaster* and x-ray dose, obtained from several experiments. The frequency of spontaneous X-linked lethal mutations is 0.15 percent per X chromosome per generation.



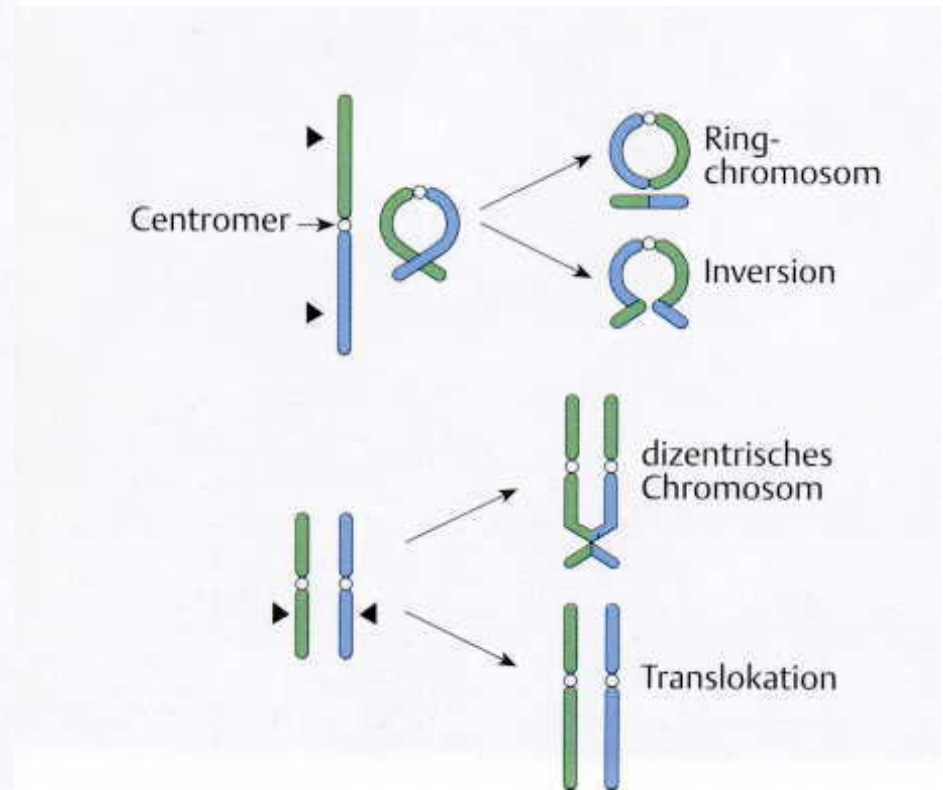
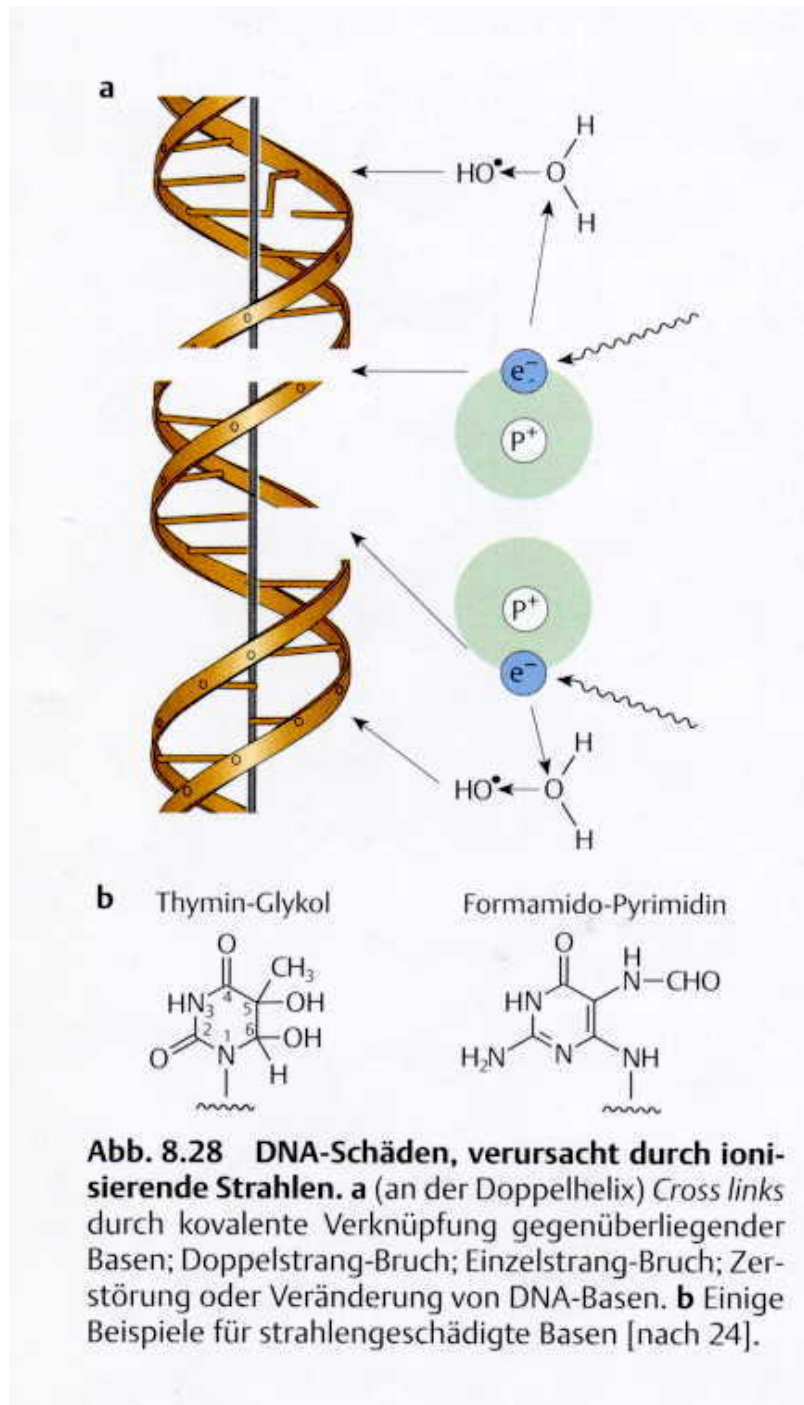


Abb. 8.29 Chromosomen-Brüche in bestrahlten Zellen.

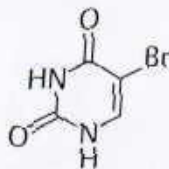


Einfache chemische Mutagene

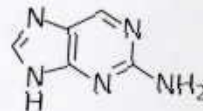
Viele chemische Verbindungen können an der DNA mutagene Veränderungen hervorrufen. Ein ausführlicher Bericht würde unseren Rahmen überschreiten. Aber oft lassen sich die Auswirkungen von Chemikalien auf einfache Prinzipien zurückführen.

Man weiß seit langem, daß einfache chemische Verbindungen wie Bisulfit oder salpetrige Säure und ihre Salze Mutationen an DNA in Lösung verursachen. Der Grund dafür ist eine Steigerung der Desaminierung von Cytosin-Resten. Die genannten Chemikalien gelten als schwache Mutagene. Wir kennen den Grund dafür, denn Uracil-Reste (die Produkte des Cytosin-Desaminierung) werden durch Glykosylasen wirkungsvoll aus der DNA entfernt. Ein anderes, für Experimente viel verwendetes Mutagen ist Hydroxylamin (NH_2OH), das unter anderem Cytosin- und Adenin-Reste modifiziert und deren Basenpaarungseigenschaften beeinflusst.

5-Bromuracil



2-Aminopurin



Basen-Analoga wie 5-Bromuracil und 2-Aminopurin sind andere einfache Verbindungen mit mutagener Wirkung. Sie wirken nach Überführung in die entsprechenden Desoxyribonucleosid-Triphosphate bei der Replikation, weil sie öfter als ihre normalen Gegenstücke über Falschpaarungen in den wachsenden Strang eingebaut werden.

Chemical Mutagenesis

Simple Chemicals:

Bisulfit

Salpetrige Säure

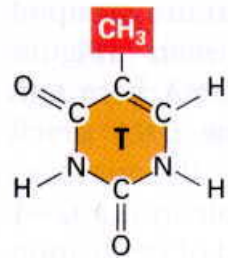
Hydroxylamin

Desaminations \rightarrow C

Base Analogs \rightarrow Shift of tautomeric equilibrium



(A)



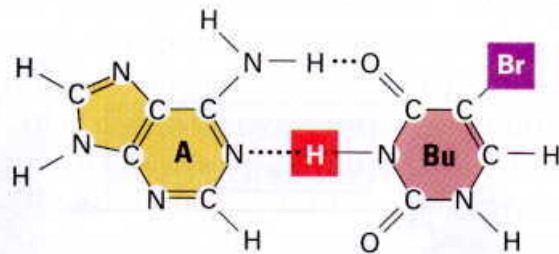
Thymine



5-Bromouracil (keto form)

Base analogs

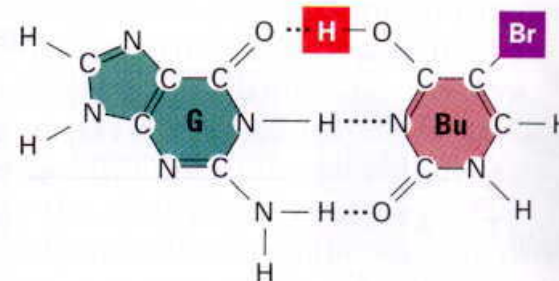
(B) A-Bu base pair



Adenine

5-Bromouracil (keto form)

(C) G-Bu base pair



Guanine

5-Bromouracil (enol form)

Figure 7.19 Mispairing mutagenesis by 5-bromouracil. (A) Structures of thymine and 5-bromouracil. (B) A base pair between adenine and the keto form of 5-bromouracil. (C) A base pair between guanine and the rare enol form of 5-bromouracil. One of 5-bromouracil's hydrogen atoms changes position to create the keto form.

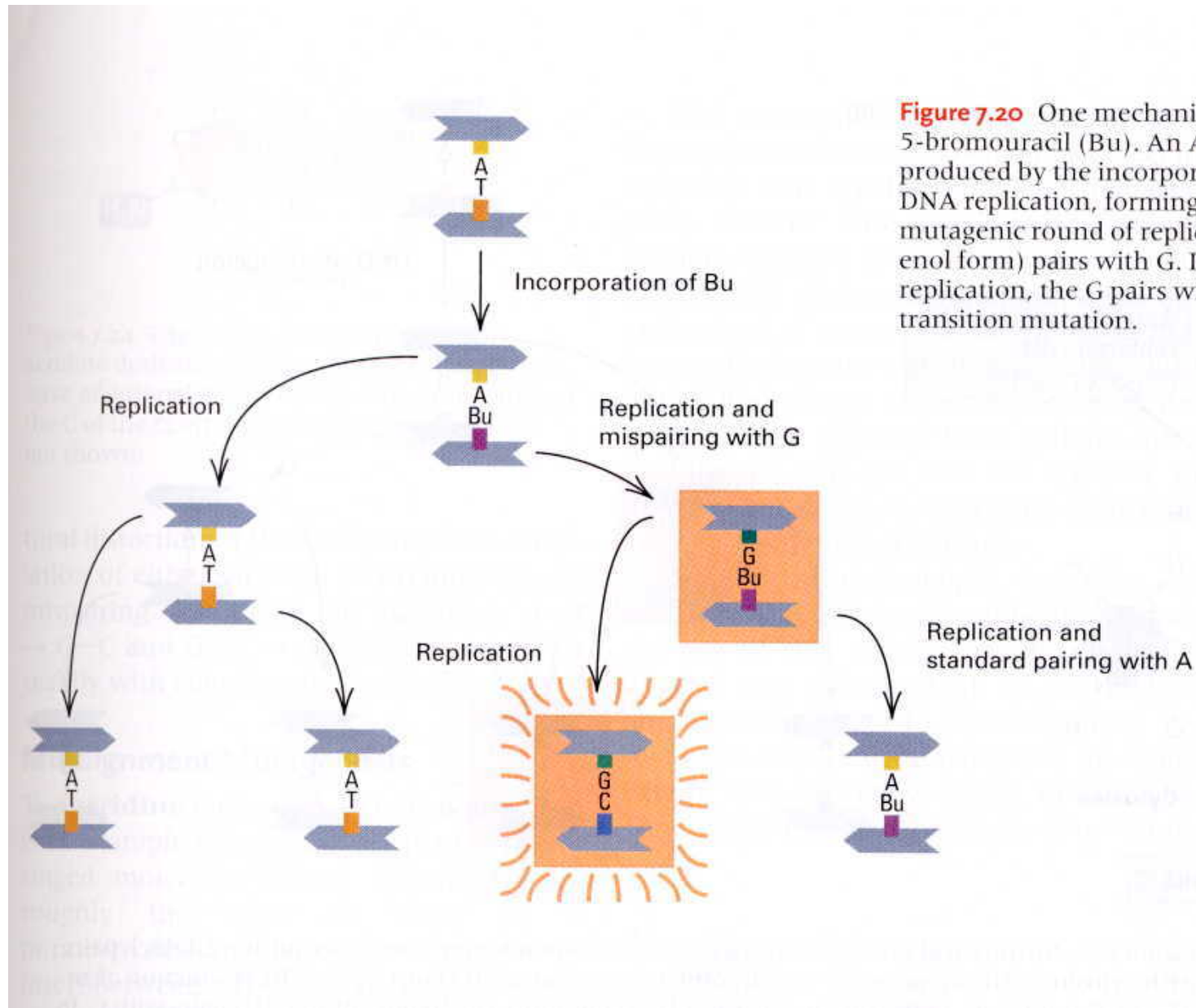
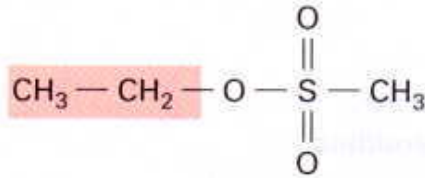


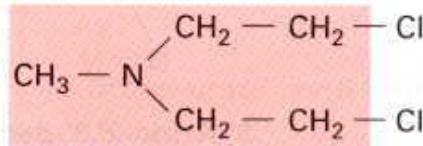
Figure 7.20 One mechanism for mutagenesis by 5-bromouracil (Bu). An AT \rightarrow GC transition is produced by the incorporation of 5-bromouracil in DNA replication, forming an A-Bu pair. In the mutagenic round of replication, the Bu (in its rare enol form) pairs with G. In the next round of replication, the G pairs with C, completing the transition mutation.



Alkylating agents

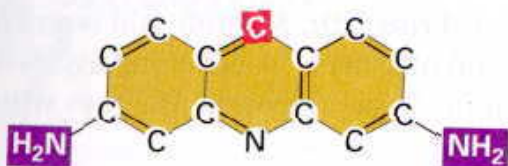


Ethyl methanesulfonate



Nitrogen mustard

Figure 7.23 The chemical structures of two highly mutagenic alkylating agents; the alkyl groups are shown in red.



Proflavin

Figure 7.24 The structure of proflavine, an acridine derivative. Other mutagenic acridines have additional atoms on the NH₂ group and on the C of the central ring. Hydrogen atoms are not shown.

Intercalating agents

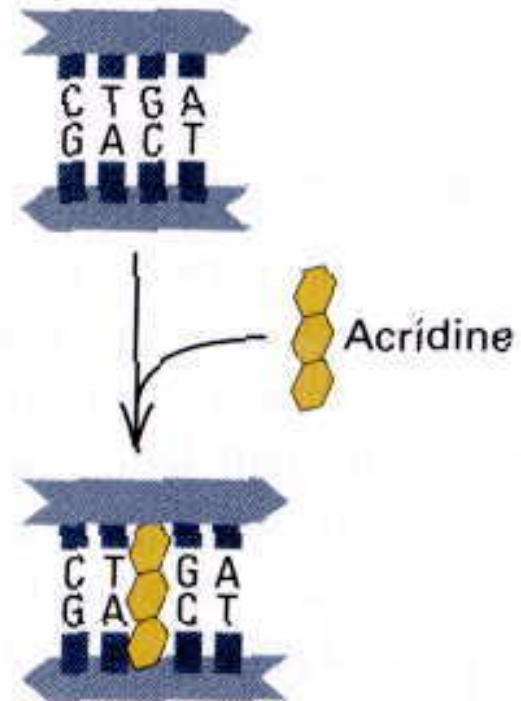


Figure 7.25 Separation of two base pairs caused by intercalation of an acridine molecule.

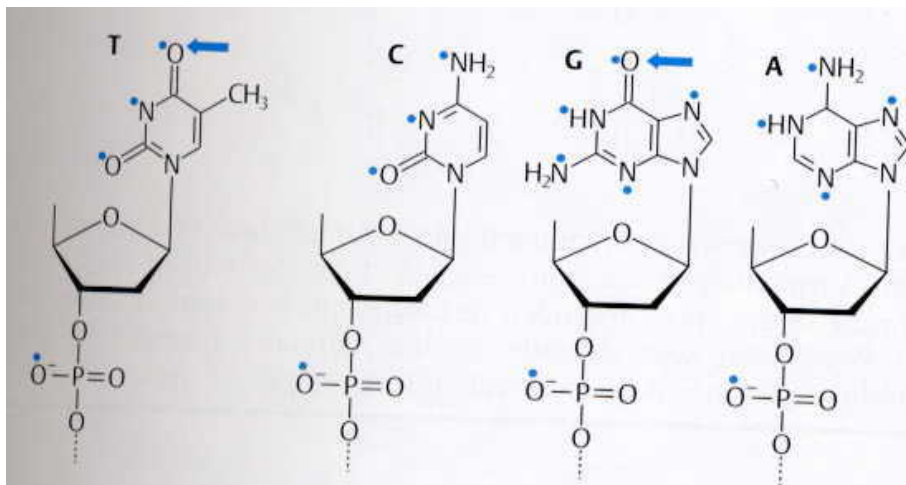
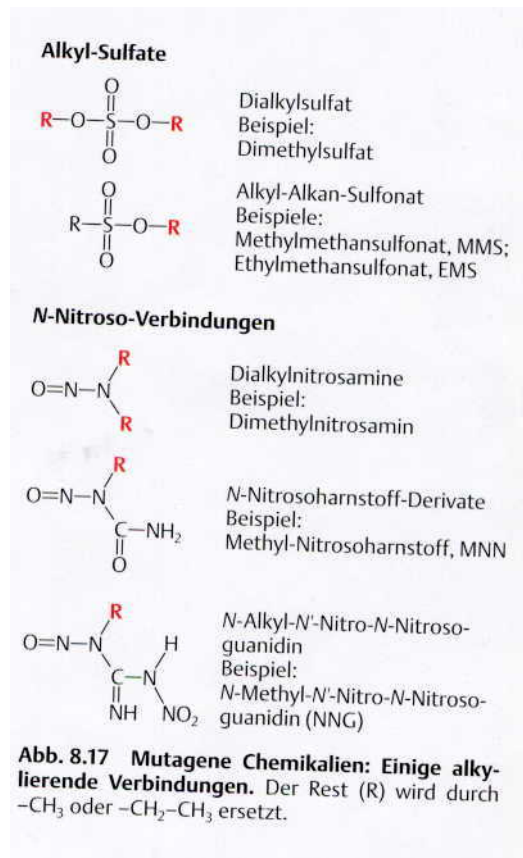


Abb. 8.18 Alkylierte Nucleotide in der DNA. Punkte, mögliche Anheftungsstellen für Methyl- oder Ethylgruppen; Pfeile, Auslöser direkter Mutationen (durch Falschpaarungen).

DNA-Repair

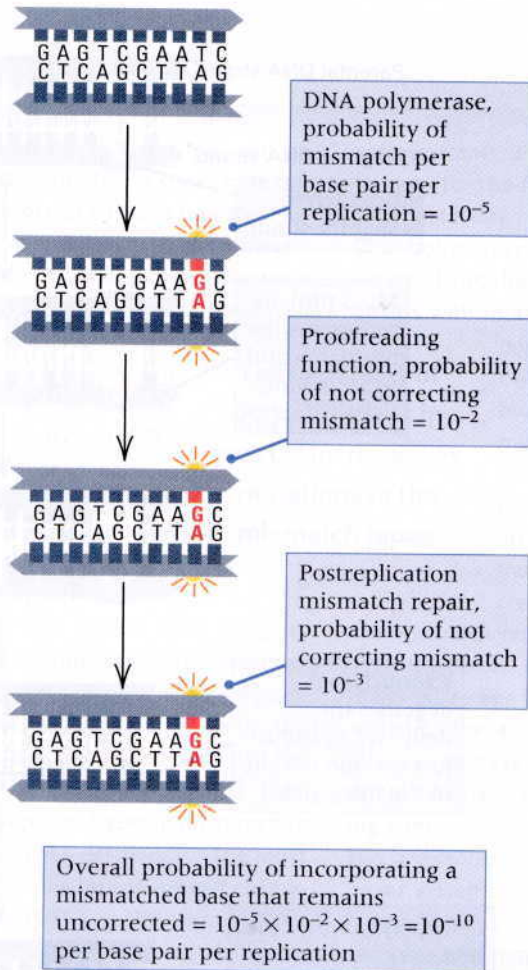


Figure 7.29 Summary of rates of error in DNA polymerization, proofreading, and postreplication mismatch repair. The initial rate of nucleotide misincorporation is 10^{-5} per base pair per replication. The proofreading function of DNA polymerase corrects 99 percent of these errors, and of those that remain, postreplication mismatch repair corrects 99.9 percent. The overall rate of misincorporated nucleotides that are not repaired is 10^{-10} per base pair per replication.

The human genome has many repair genes

- Direct reversal of damage: 1 gene *
- Base excision repair: 15 genes
- Nucleotide excision repair: 28 genes
- Mismatch excision repair: 11 genes
- Recombination repair: 14 genes
- Nonhomologous end-joining: 5 genes
- DNA polymerase catalytic subunits: 16 genes

©virtualtext www.ergito.com





Radiation Damage of DNA → UV

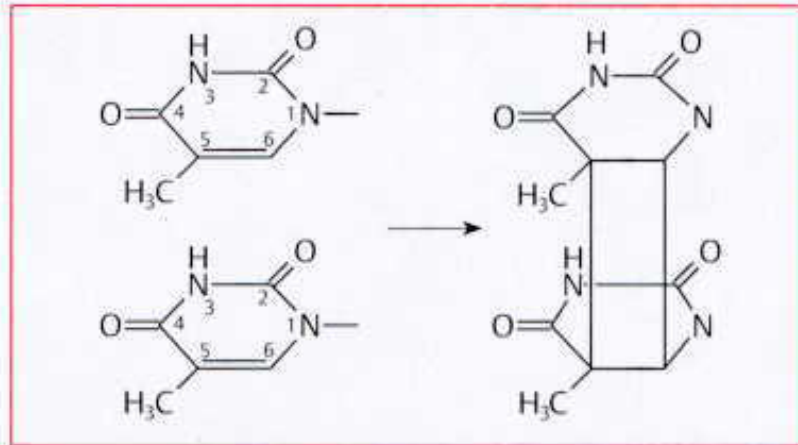


Abb. 8.23 Thymin-Dimer, der häufigste DNA-Schaden nach UV-Bestrahlung.

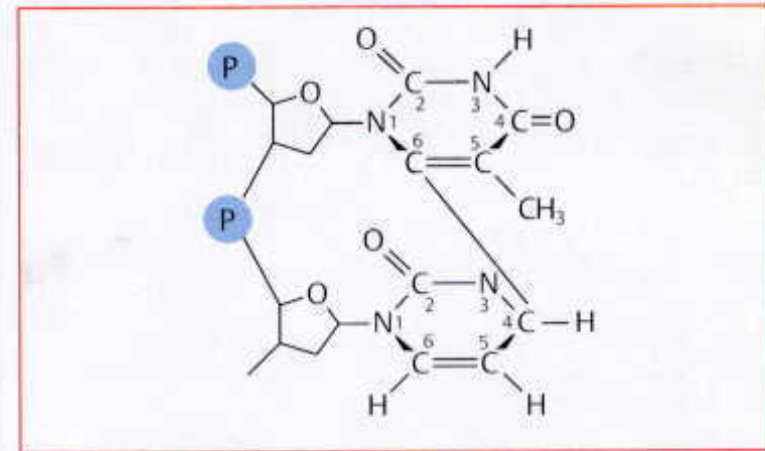


Abb. 8.24 Das TC(6-4)-Produkt, ein Photoprodukt nach UV-Bestrahlung von DNA.

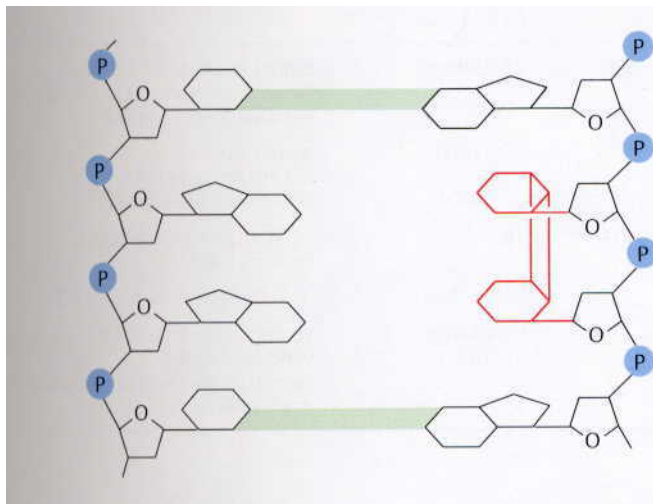


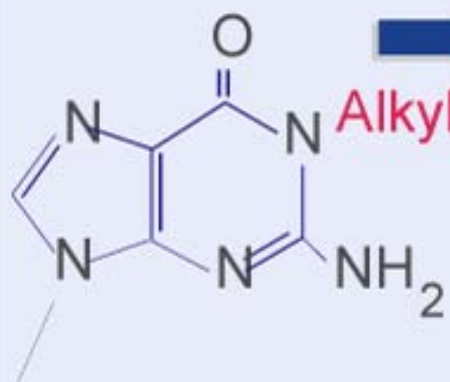
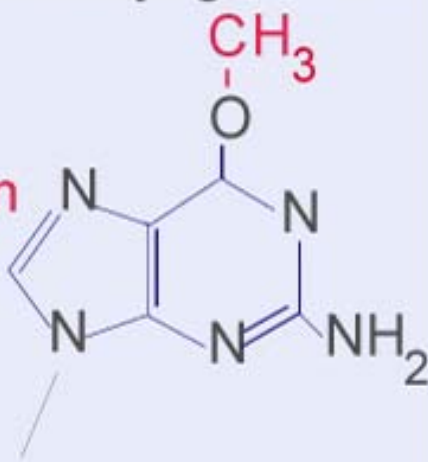
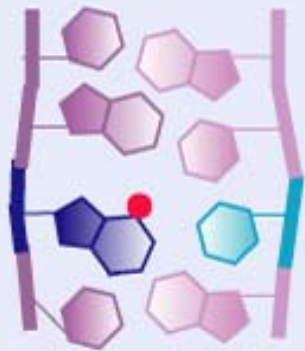
Abb. 8.25 Ein Pyrimidin-Dimer in der DNA. Benachbarte Thymin-Nucleotide sind *Hot Spots* der UV-Mutagenese.

Photo-reactivation:
 Enzyme activated by light → 340-400 nm
 Direct restoration of original base pairing



Repair by alkyltransferases

Methylation can distort the structure of DNA

Nature of mutation	Methyl-guanine	Consequences
Guanine		Methyl group distorts double helix
 <chem>Nc1nc2[nH]cnc2c(=O)[nH]1</chem>	 <chem>COC1=NC2=C(N)N=CN=C2C(=O)N1</chem>	
©virtualtext www.ergito.com	Corrected by dealkylation	

Mismatch Repair

Replication errors introduce mismatched base pairs

Nature of mutation

Cytosine Adenine

Replication errors

Consequences

Purine pair distorts duplex

Corrected by removing A or G in newly synthesized strand

©virtualtext www.ergito.com

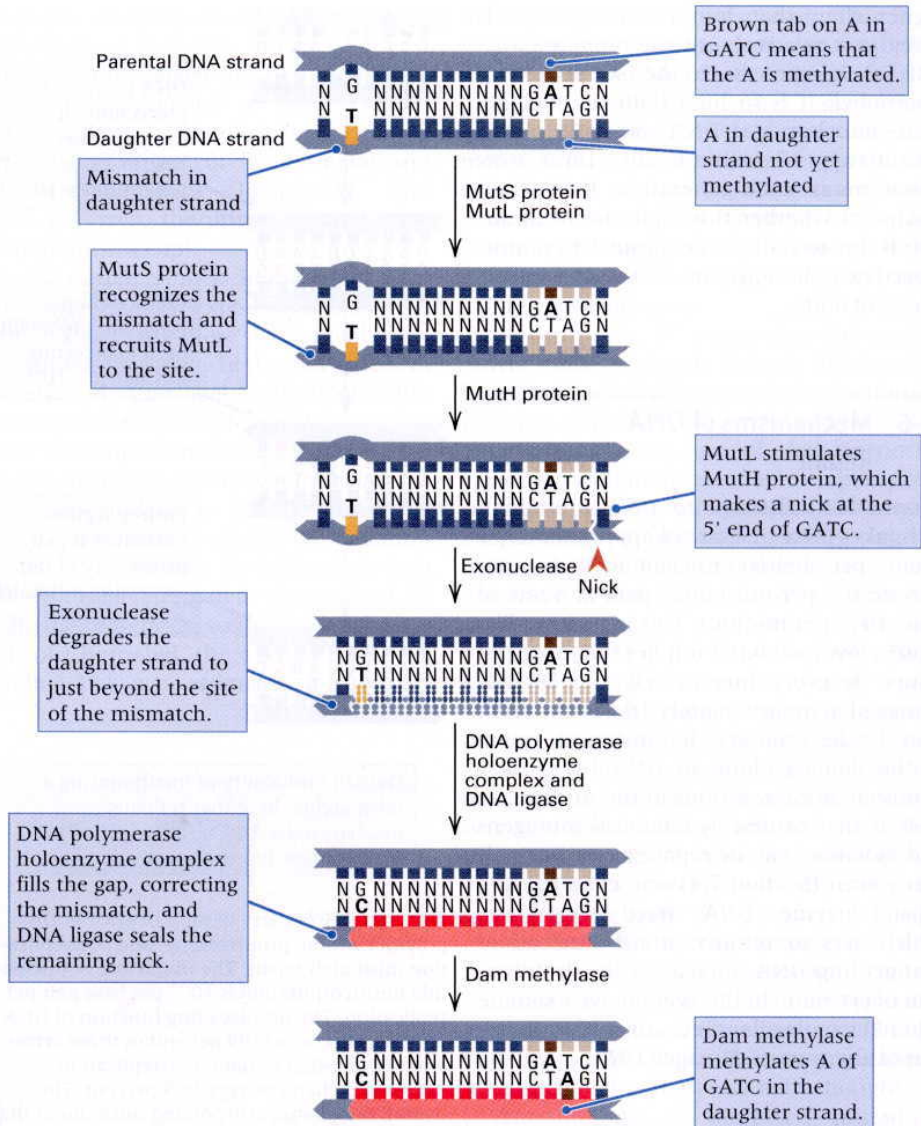
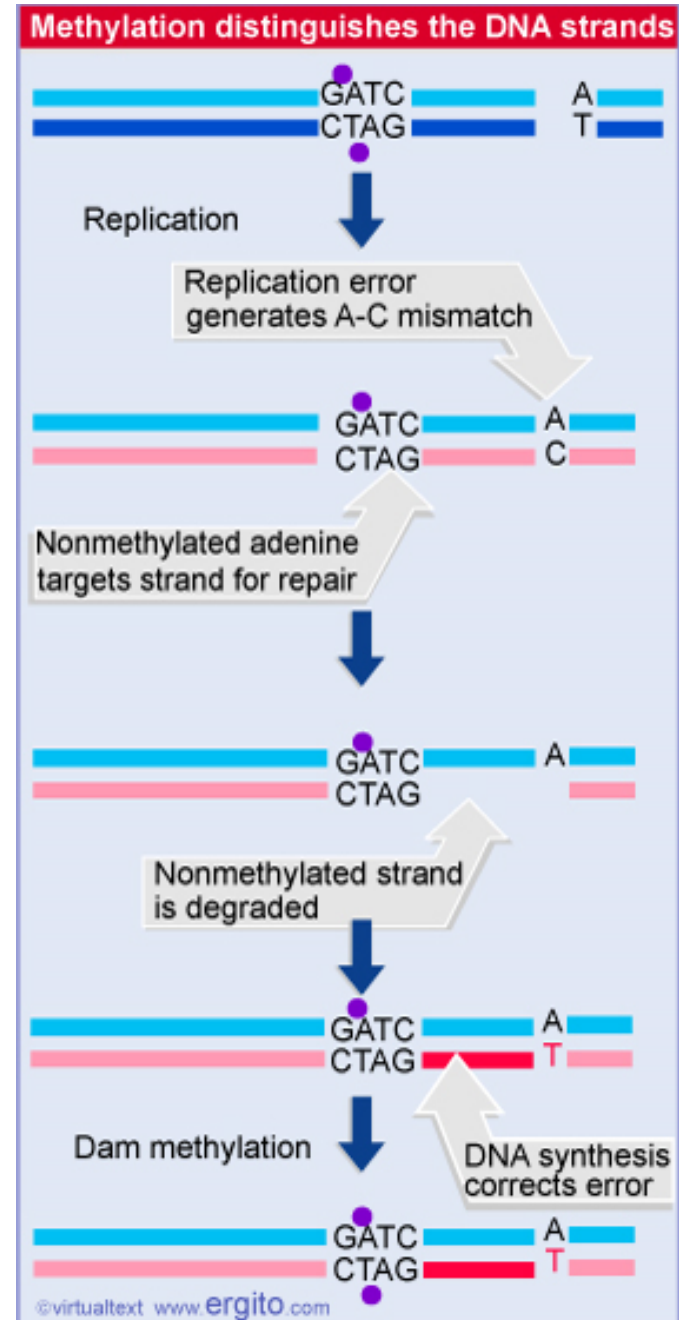
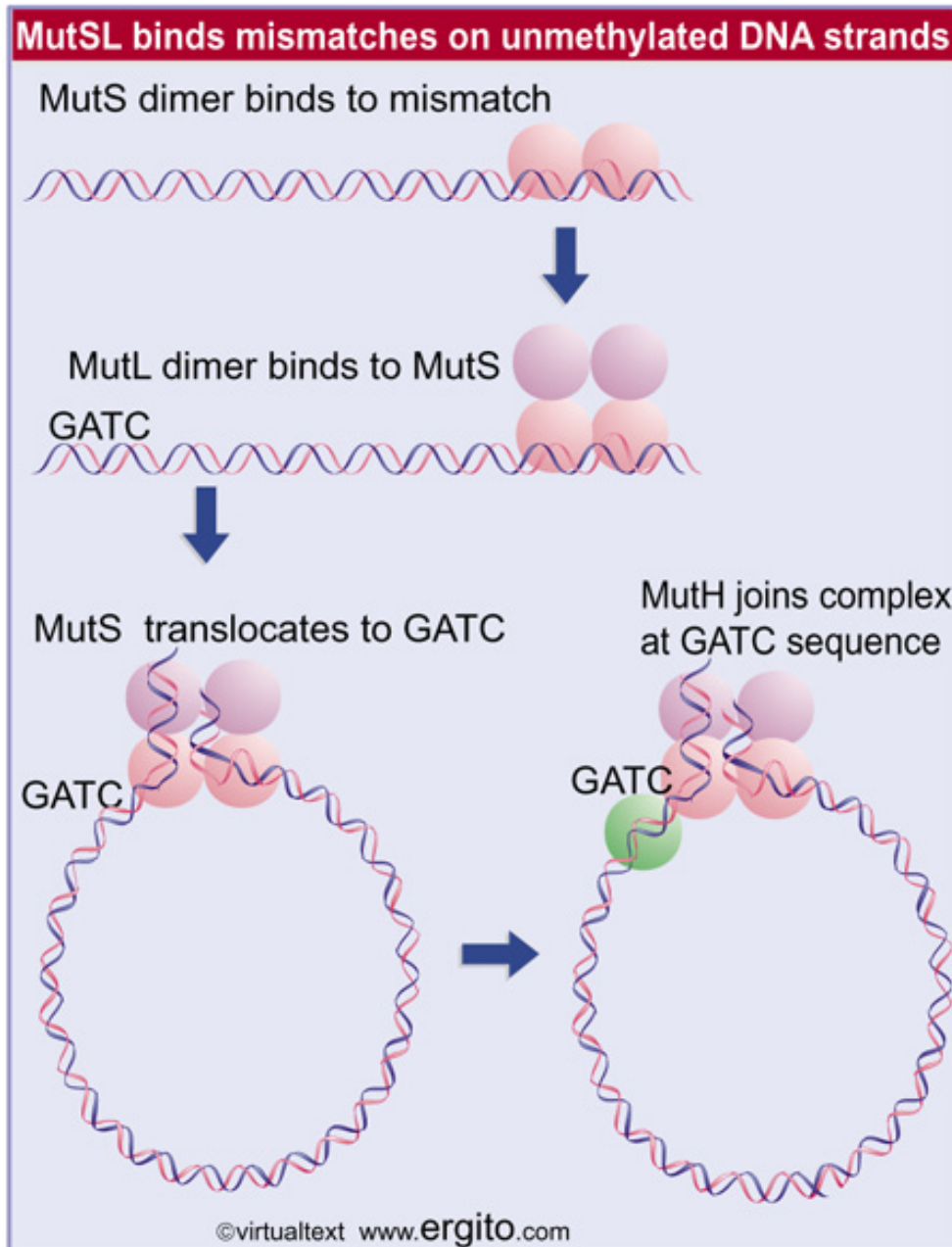


Figure 7.30 Mismatch repair consists of the excision of a segment of a DNA strand that contains a base mismatch, followed by repair synthesis. In *E. coli*, cleavage takes place at the nearest methylated GATC sequence in the unmethylated strand. An exonuclease removes successive nucleotides until just past the mismatch, and the resulting gap is repaired. Either strand can be excised and corrected, but in newly synthesized DNA, methylated bases in the template strand often direct the excision mechanism to the newly synthesized strand that contains the incorrect nucleotide.

Methylation status defines mutated strand



Mismatch Repair



Nucleotide Excision Repair

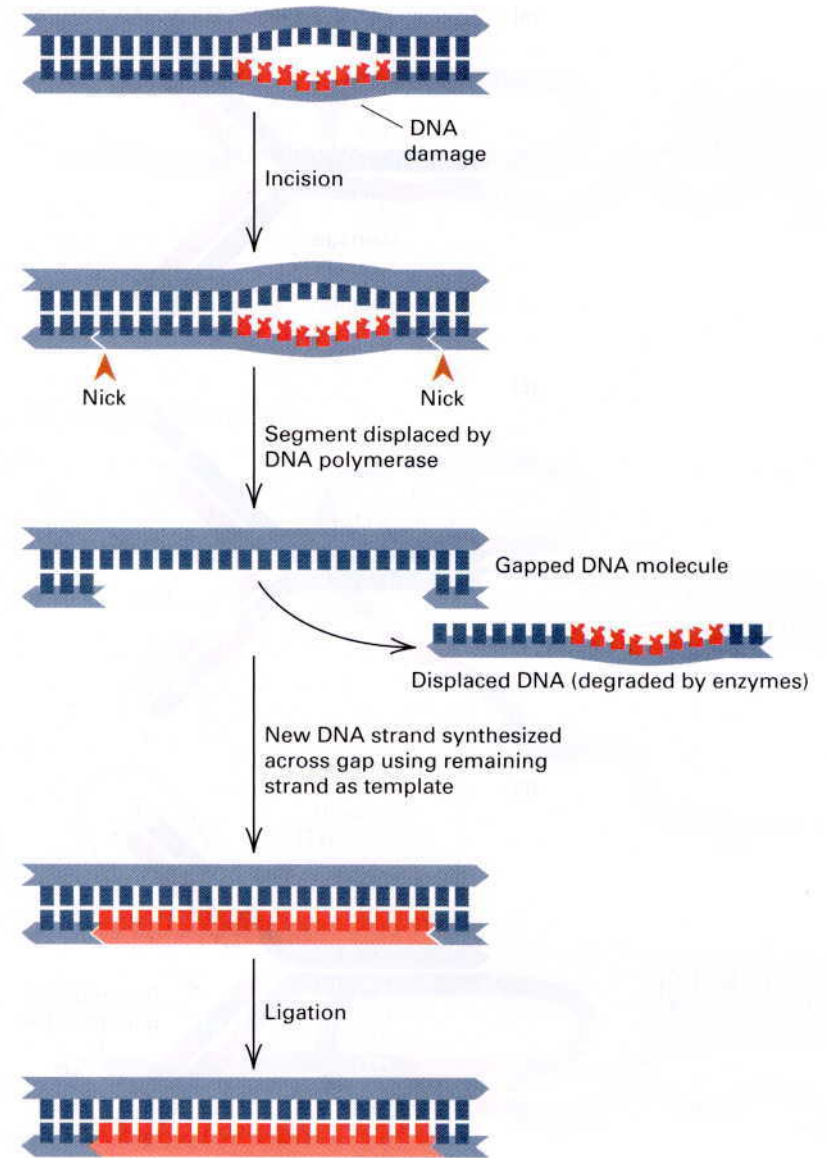
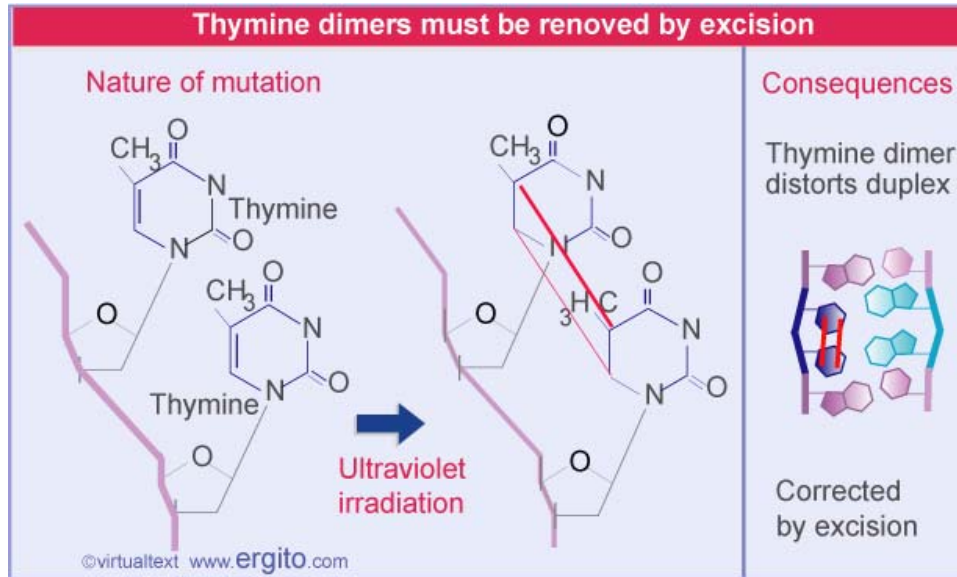


Figure 7.33 Mechanism of excision repair of DNA damage.

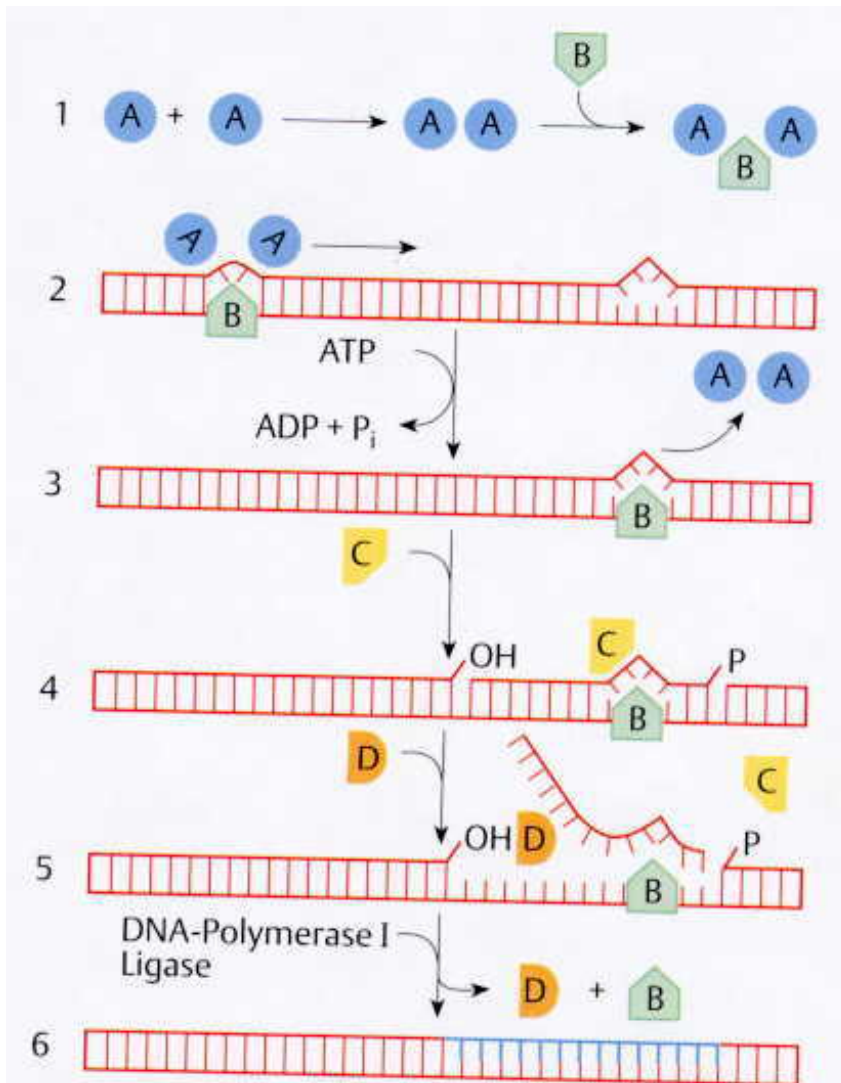


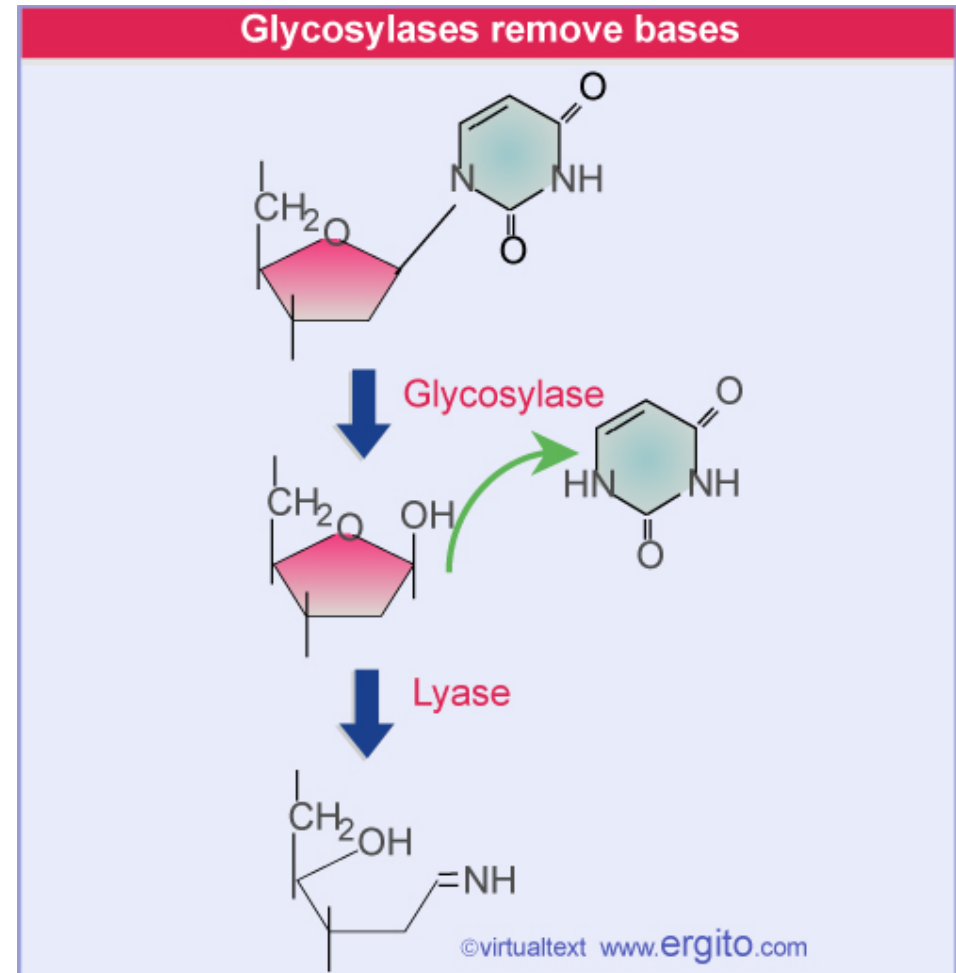
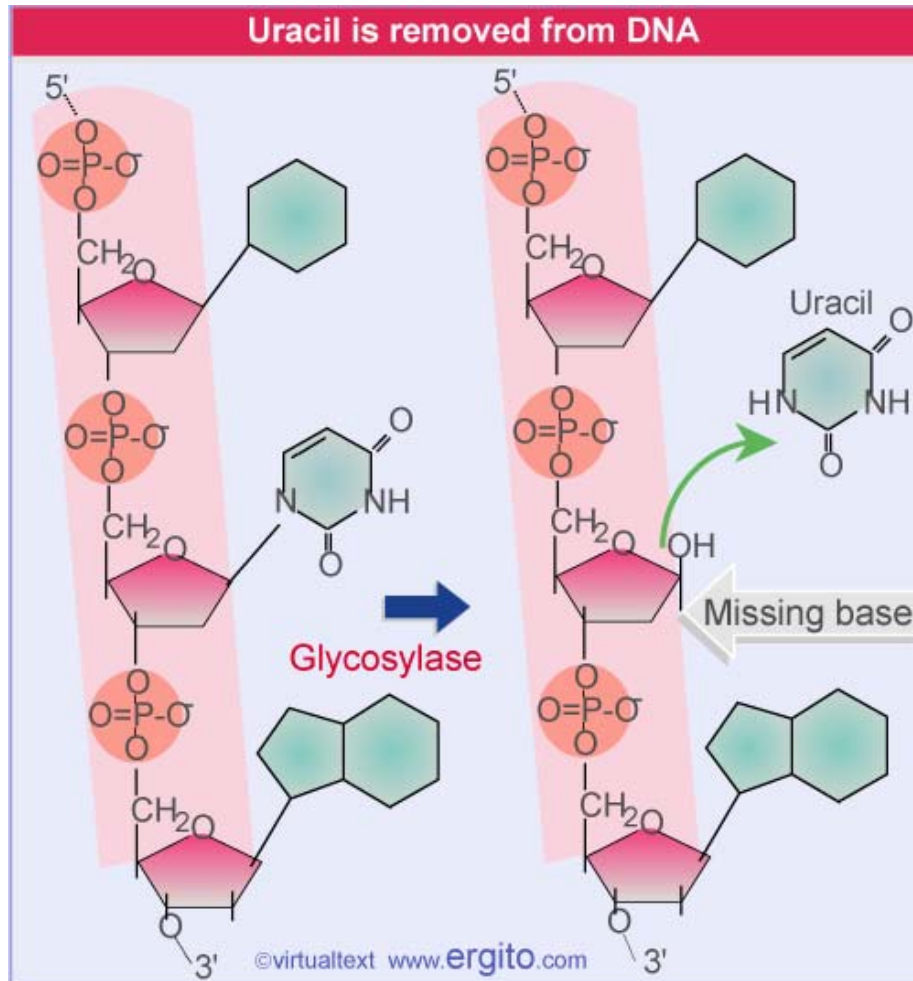
Abb. 8.26 Exzisionsreparatur von UV-Schäden. Die Funktion der Proteine Uvr A, B, C und D sind im Text beschrieben und noch einmal in der Tab. 8.3 zusammengefaßt [nach 12].

Tab. 8.3 Komponenten der Exzisionsreparatur von *E. coli* [aus 10].

Protein	Größe (Aminosäuren)	Zahl der Moleküle/ Zelle		Funktion
		konstitutiv	induziert (SOS-Antwort)	
Uvr A	940	25	250	bindet an UV-bestrahlte DNA, bildet einen Komplex mit Uvr B, hat zwei ATP-Bindestellen
Uvr B	673	500	2000	bindet Uvr A, hat zusammen mit Uvr A DNA-Helikase-Aktivität
Uvr C	610	10		wirkt im Komplex mit Uvr B als Endonuclease
Uvr D	720	3000	4500	3'-5'-DNA-Helikase II (Tab. 6.3)
Mfd	1148	unbekannt		verdrängt die RNA-Polymerase, wirkt mit Uvr A, vermittelt die spezifische Reparatur des transkribierten Stranges



Removal of non-natural (modified) bases by glycosylases



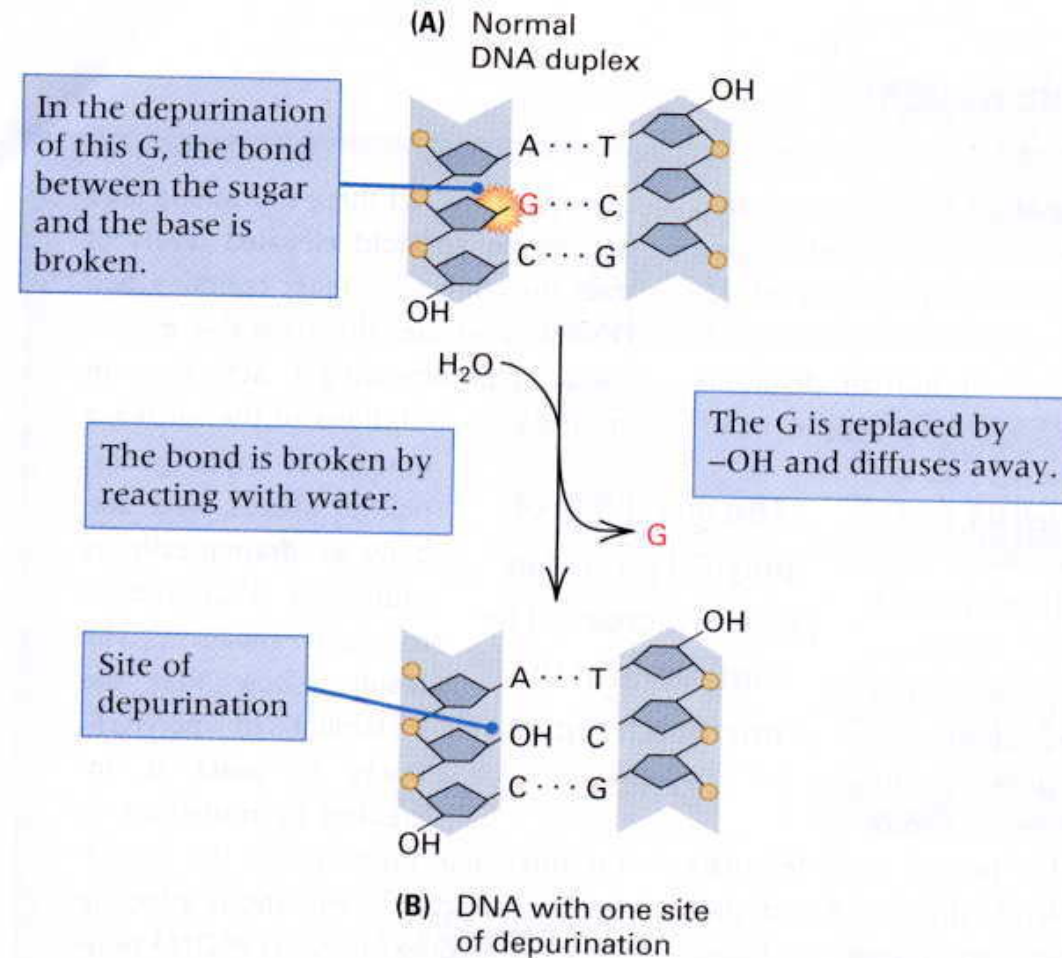


Figure 7.31 Deoxyribose–purine bonds are somewhat unstable and prone to undergo spontaneous reaction with water (hydrolysis), which results in loss of a purine base from the DNA (depurination). (A) Part of a DNA molecule prior to depurination. The bond between the labeled G and the deoxyribose to which it is attached is about to be hydrolyzed. (B) Hydrolysis of the bond releases the G purine, which diffuses away from the molecule and leaves a hydroxyl (–OH) in its place in the depurinated DNA.

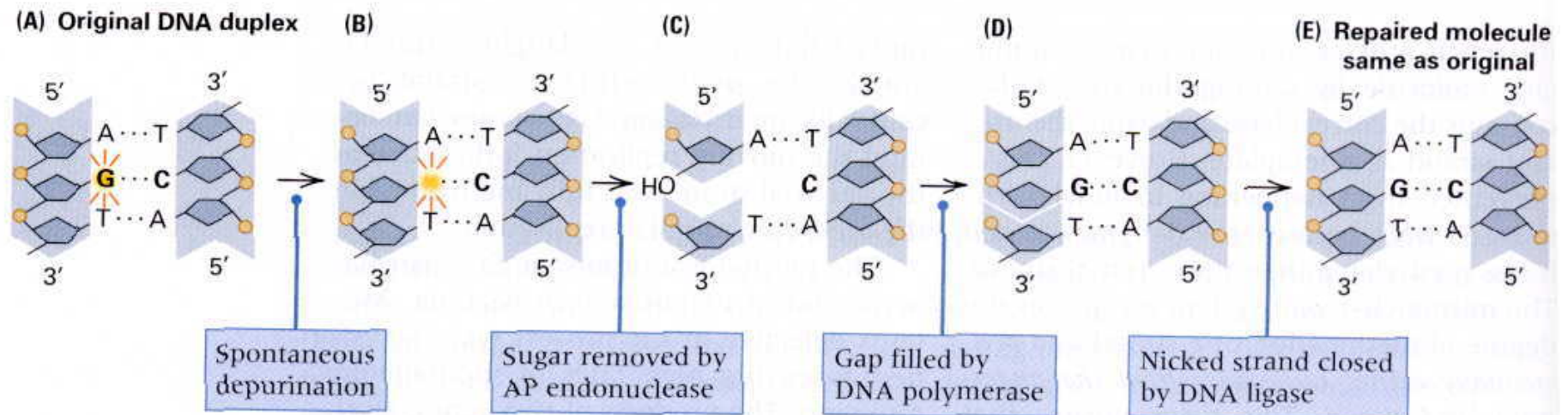


Figure 7.32 Action of AP endonuclease. (A) Original DNA duplex. (B) Spontaneous hydrolysis of guanine results in loss of the base. (C) AP endonuclease excises the empty deoxyri-

bose from the DNA strand. (D) DNA polymerase fills the gap using the continuous strand as a template. (E) The remaining nick is closed by DNA ligase, restoring the original sequence.



Post-replication repair

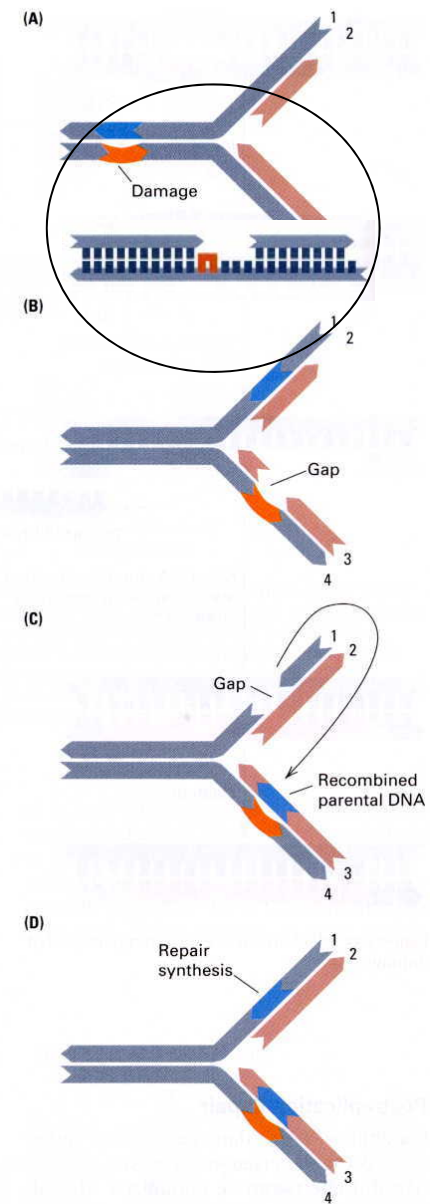


Figure 7.34 Postreplication repair. (A) A molecule with DNA damage in strand 4 is being replicated. (B) By reinitiation of synthesis beyond the damage, a gap is formed in strand 3. (C) A segment of parental strand 1 is excised and inserted in strand 3. (D) The gap in strand 1 is next filled in by repair synthesis.

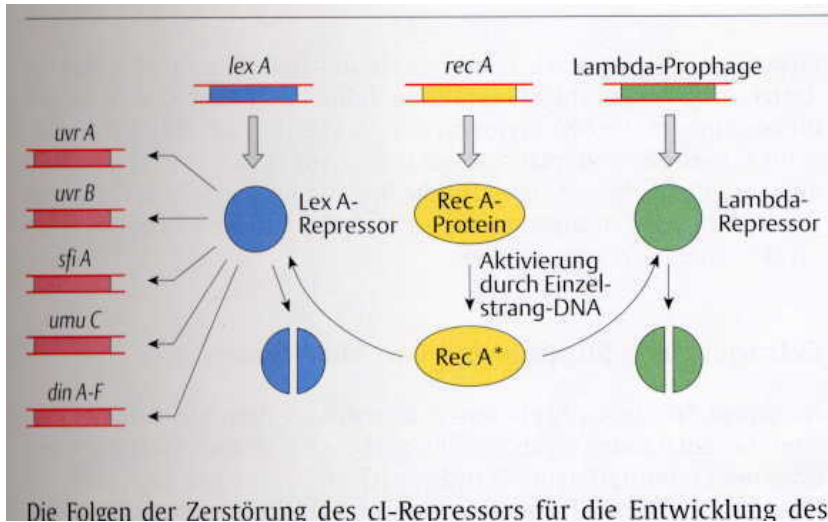


Abb. 8.30 SOS-Antwort. Das Produkt des *lex A*-Gens ist ein Repressor, der die Expression einer Reihe von Genen blockiert. Zu diesen *din*-Genen (*din*, *damage induced*) gehören die Gene *uvr A*, *uvr B*, *sfi A* und *umu C*, wie im Text erklärt. Das *Rec A*-Protein vermittelt die Spaltung des *Lex A*-Repressors und des *Lambda*-Repressors. Damit werden die regulierten Gene frei für die Transkription. *Lex A* bedeutet „*lambda excision*“, denn das *Lex A*-Protein wird indirekt auch für die Exzision der *Lambda*-DNA (S.132) benötigt. Das *rec A*-Gen gehört zu den *din*-Genen: Die Zahl der *Rec A*-Protein-Moleküle/Zelle nimmt im Zuge der *SOS*-Antwort von 2000 auf 50 000 zu. Für die Exzision der *Lambda*-DNA muß viel *Rec A*-Protein vorhanden sein. Das wiederum hängt von der ordentlichen Funktion des *Lex A*-Proteins ab [nach 18].

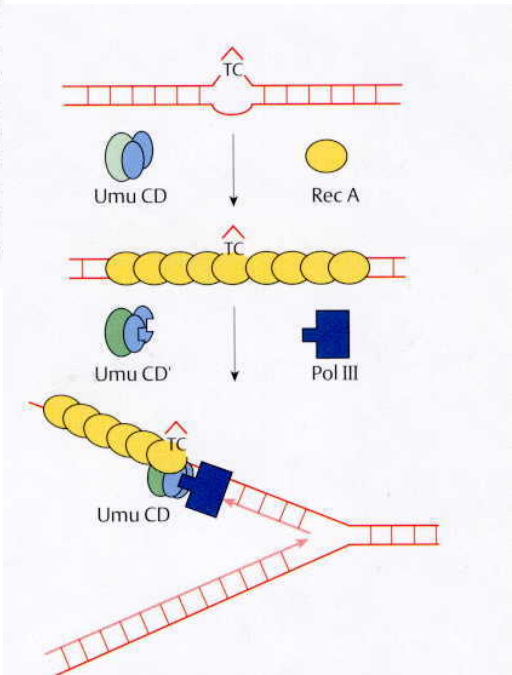


Abb. 8.31 Umu CD-vermittelte Mutagenese. Von oben nach unten: Das *Rec A*-Protein bindet sich an Einzelstrang-Regionen, die im Zuge der Exzisionsreparatur entstehen; *Rec A* vermittelt die Spaltung und Aktivierung des *Umu D*-Proteins; *Umu CD'* wirkt als eine Art Prozessivitätsfaktor für die *DNA*-Polymerase III und verhilft ihr zur Passage über *DNA*-Schäden hinweg. Geschädigte *DNA*-Stellen funktionieren nicht als Matrizen. Deswegen kommt es zu ungeordneten Einbauten in den wachsenden *DNA*-Strang (*error prone repair*) [nach 8, 18].

H

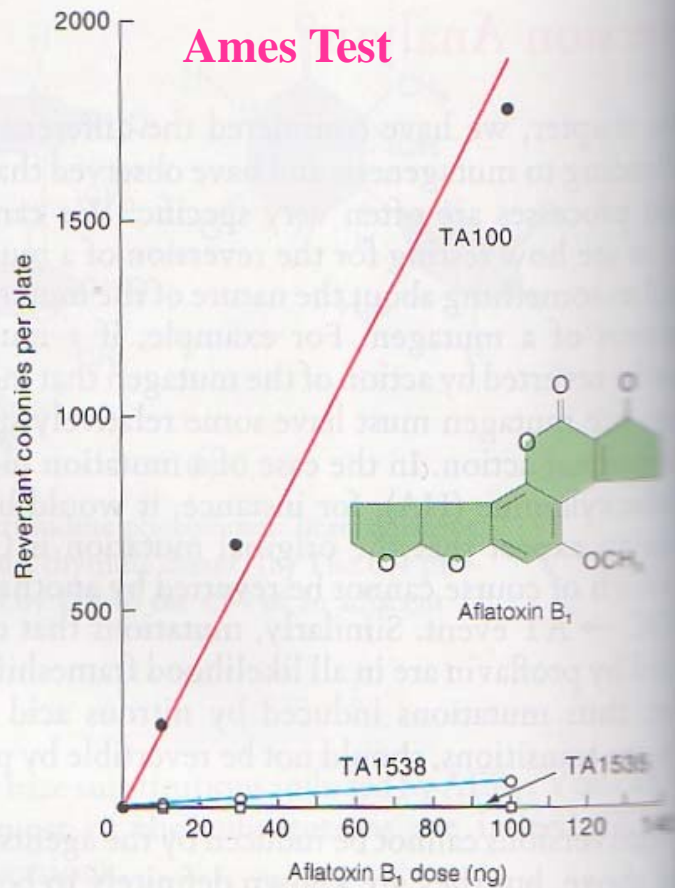
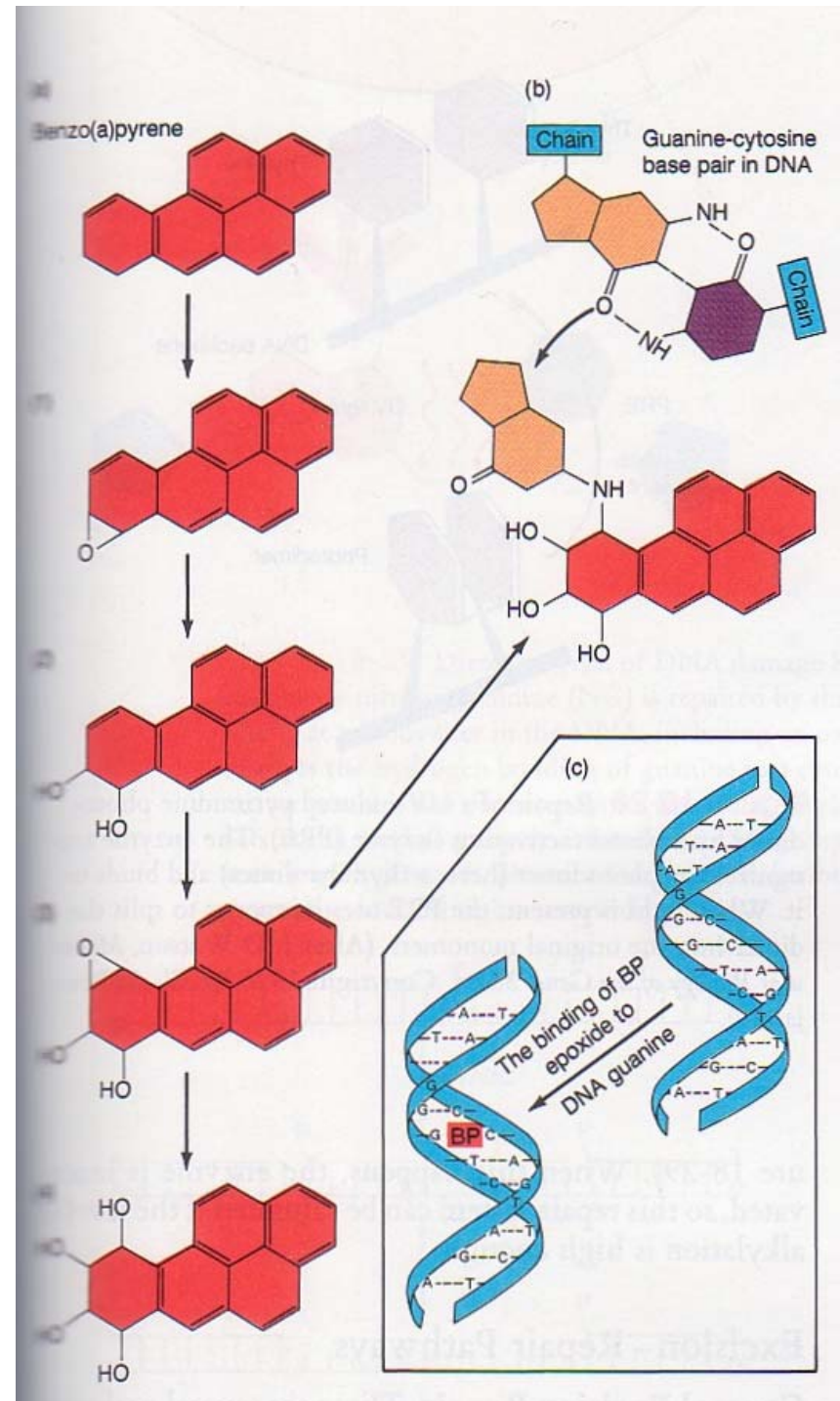
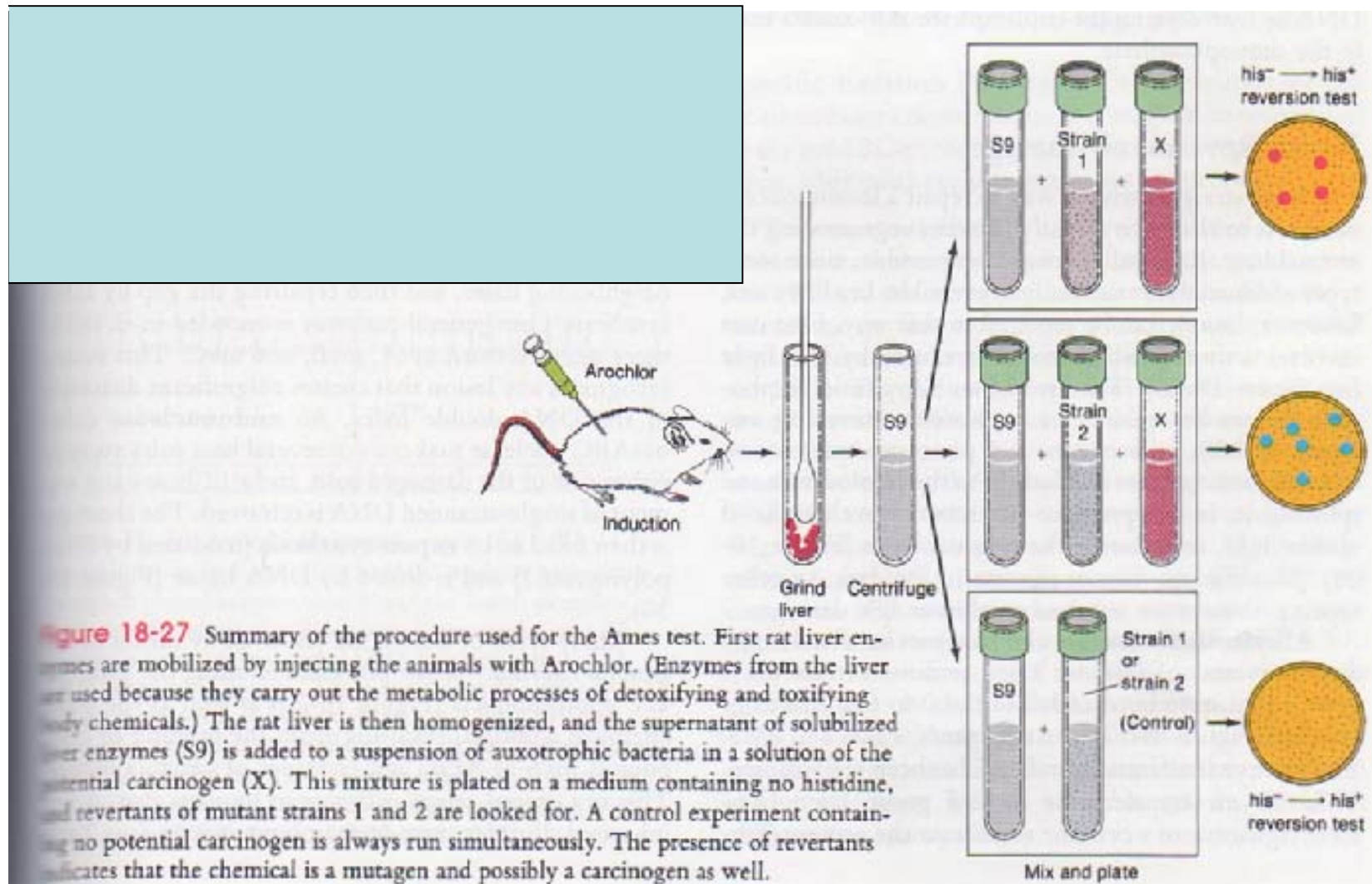


Figure 18-25 Ames test results showing the mutagenesis of aflatoxin B₁, which is also a potent carcinogen. TA100, TA1538, and TA1535 are strains of *Salmonella* bearing different *his* auxotrophic mutations. The TA100 strain is highly sensitive to reversion through base-pair substitution. The TA1535 and TA1538 strains are sensitive to reversion through frameshift mutation. The test results show that aflatoxin B₁ is a potent mutagen that causes base-pair substitution but not frameshifts. (From J. McCann and B. N. Ames, in *Advances in Modern Toxicology*, Vol. 5. Edited by W. G. Flannery and M. A. Mehlman. Copyright by Hemisphere Publishing Corp., Washington, DC.)



hnik I





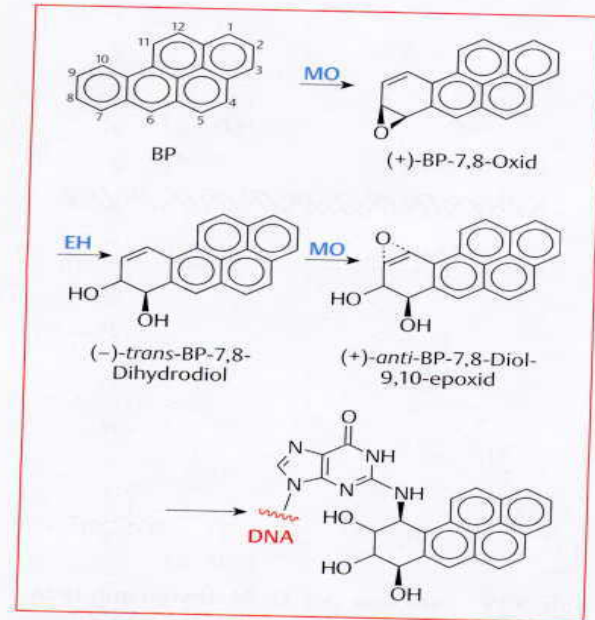
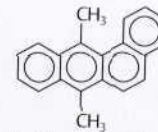


Abb. 8.21 Aktivierung von Benz(a)pyren. BP, Benz(a)pyren; MO, Monooxygenase; EH, Epoxidhydrolase. Die aktivierte Verbindung reagiert bevorzugt mit Guanin [nach 20].

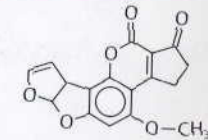
Wicht aktive Formen



7,12-Dimethylbenz(a)anthracen (DMBA)

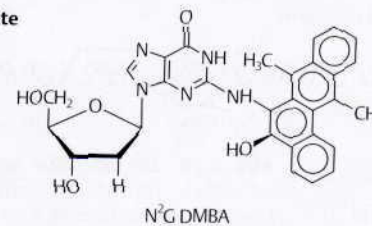


1-Naphtylamin (1-NA)

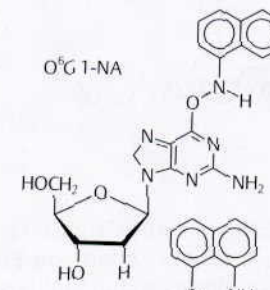


Aflatoxin B₁ (AFB₁)

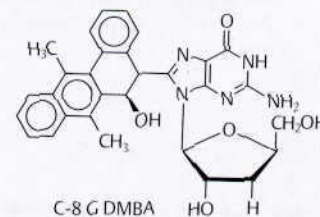
Reaktionsprodukte mit DNA-Basen



N²G DMBA



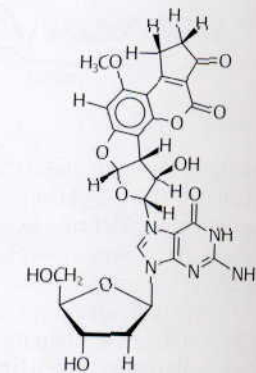
O⁶G 1-NA



C-8-G DMBA

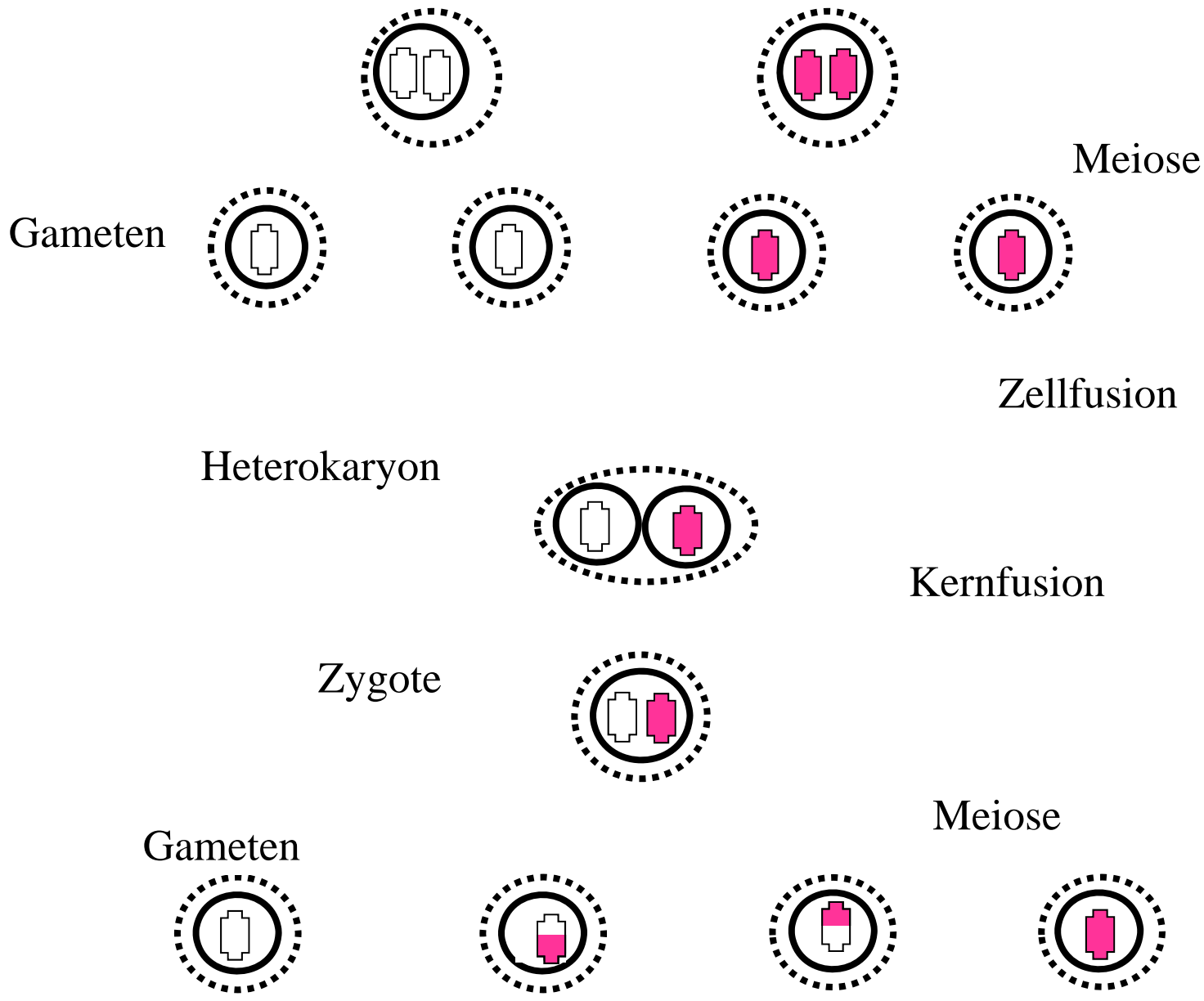


O⁶G 1-NA



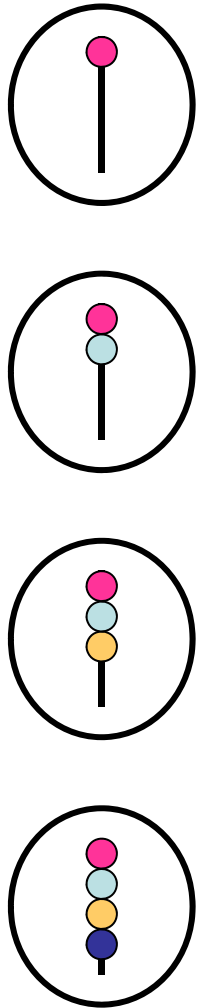
N-7-G AFB₁

Genetische Rekombination

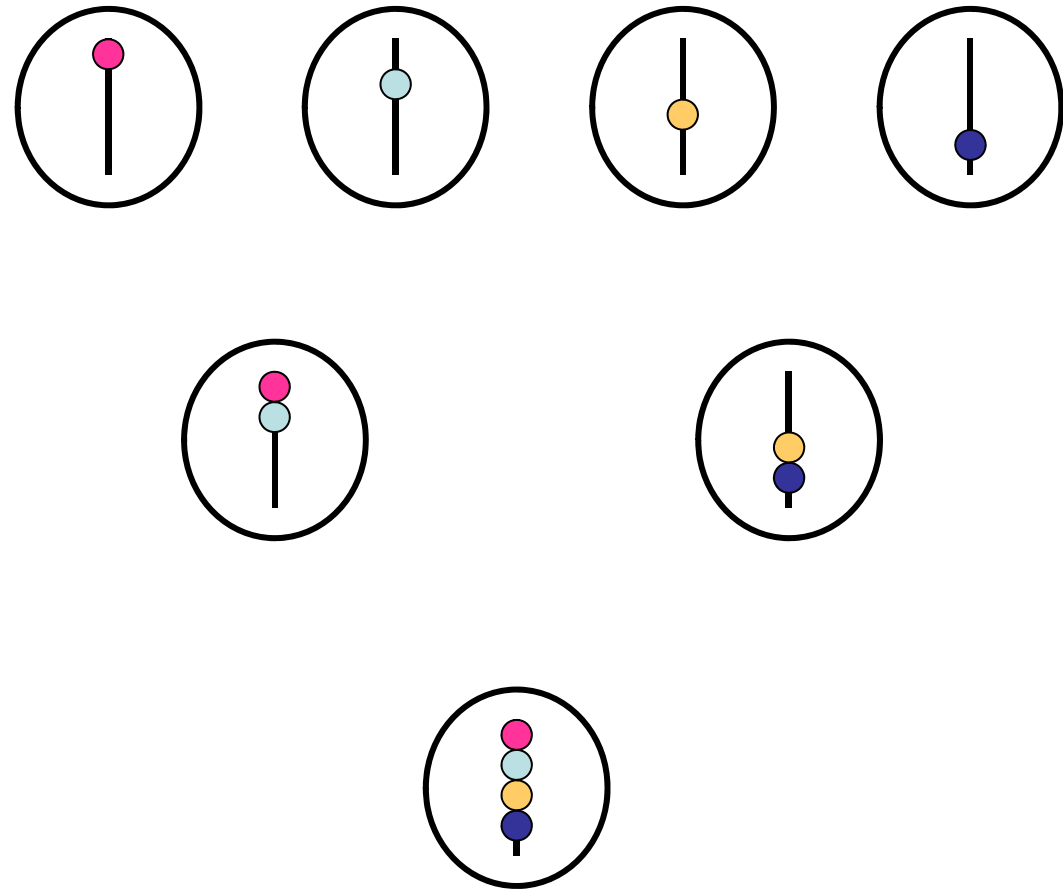




Mutation



Recombination



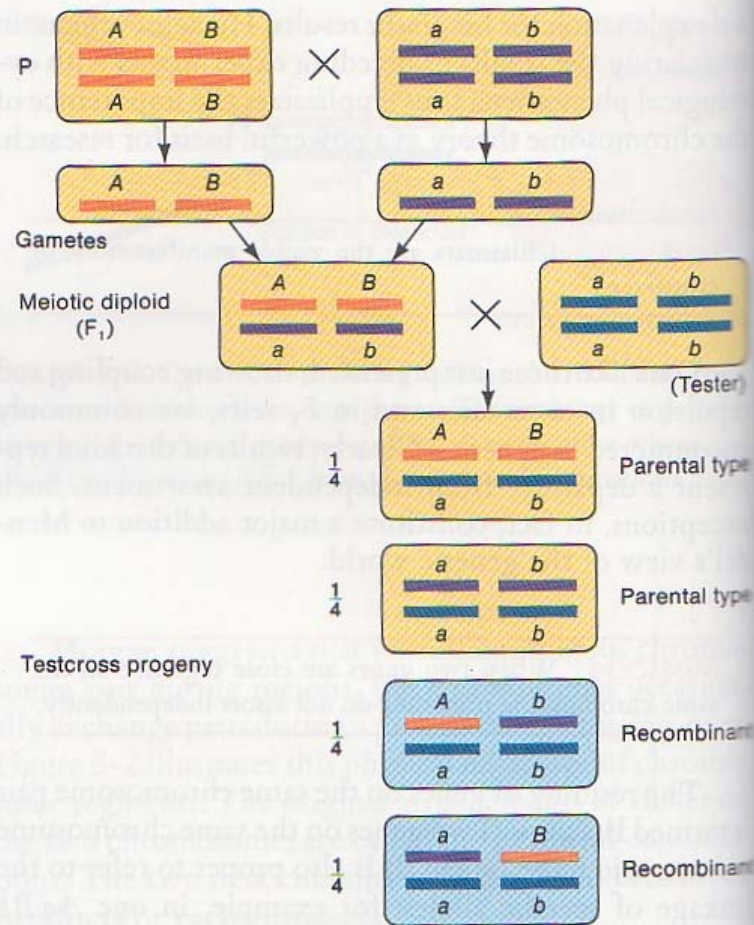


Figure 5-6 Interchromosomal recombination, which always produces a recombinant frequency of 50 percent. This diagram shows two chromosome pairs of a diploid organism with *A* and *a* on one pair and *B* and *b* on the other. Note that we could represent the haploid situation by removing the part marked P and the testcross.

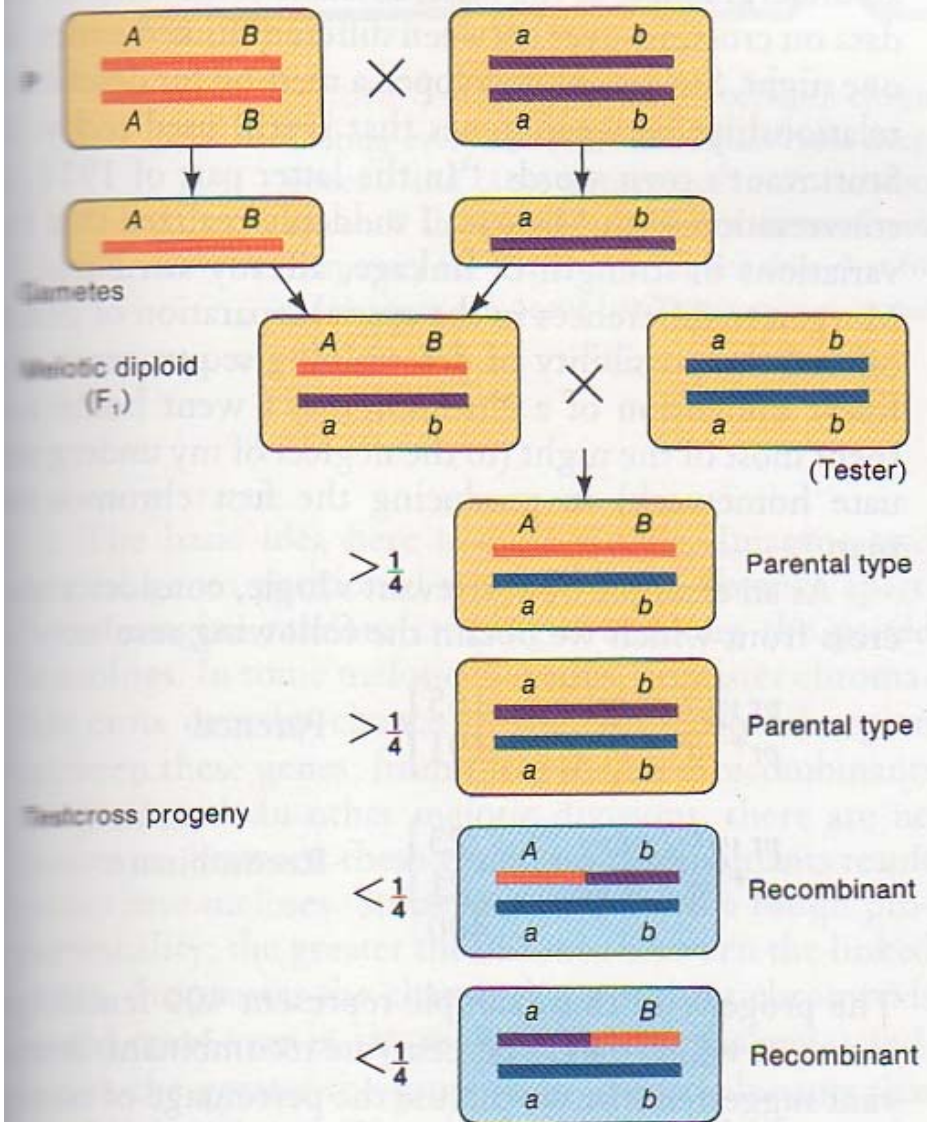


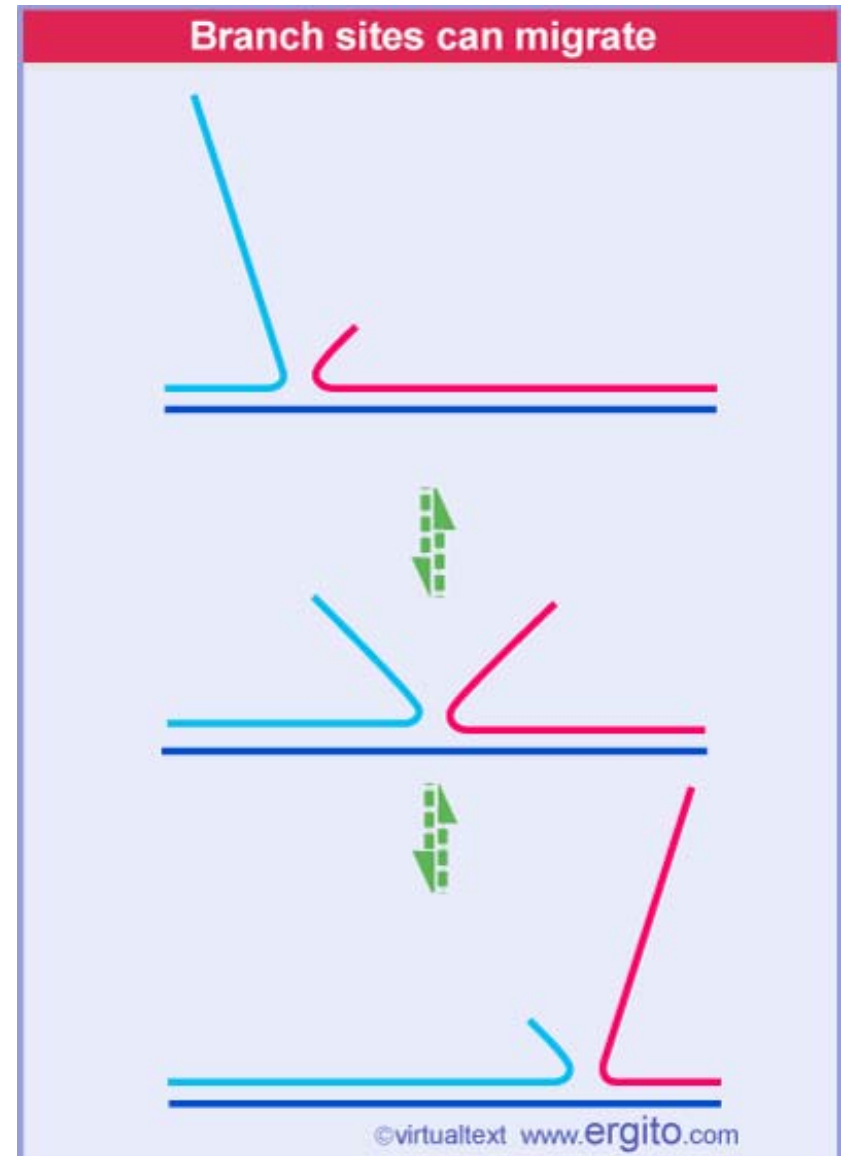
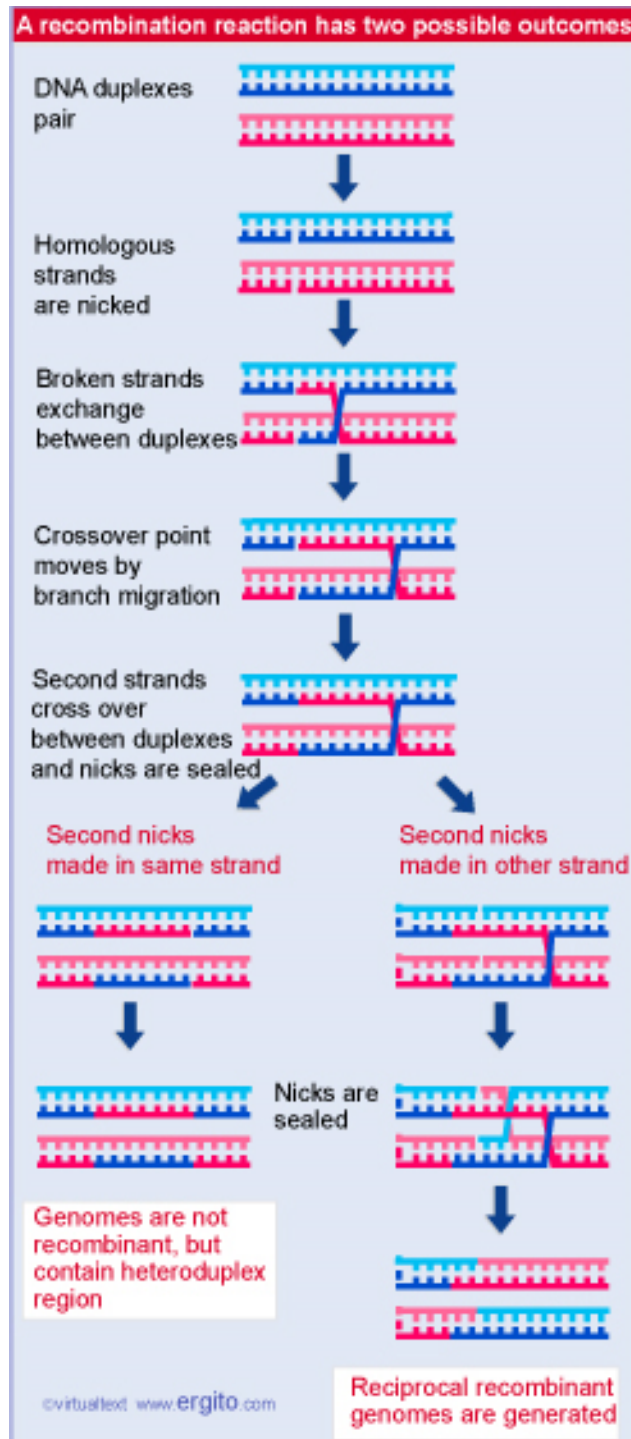
Figure 5-8 Intrachromosomal recombination. Notice that the frequencies of the recombinants add up to less than 50 percent.

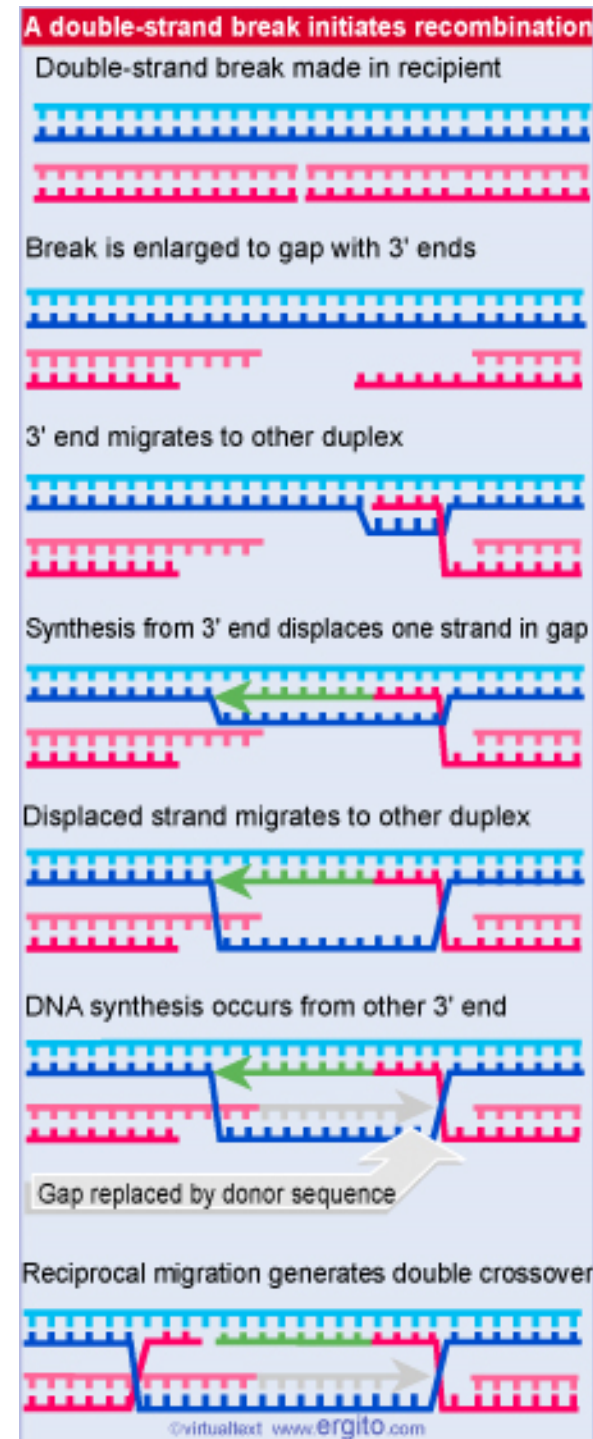
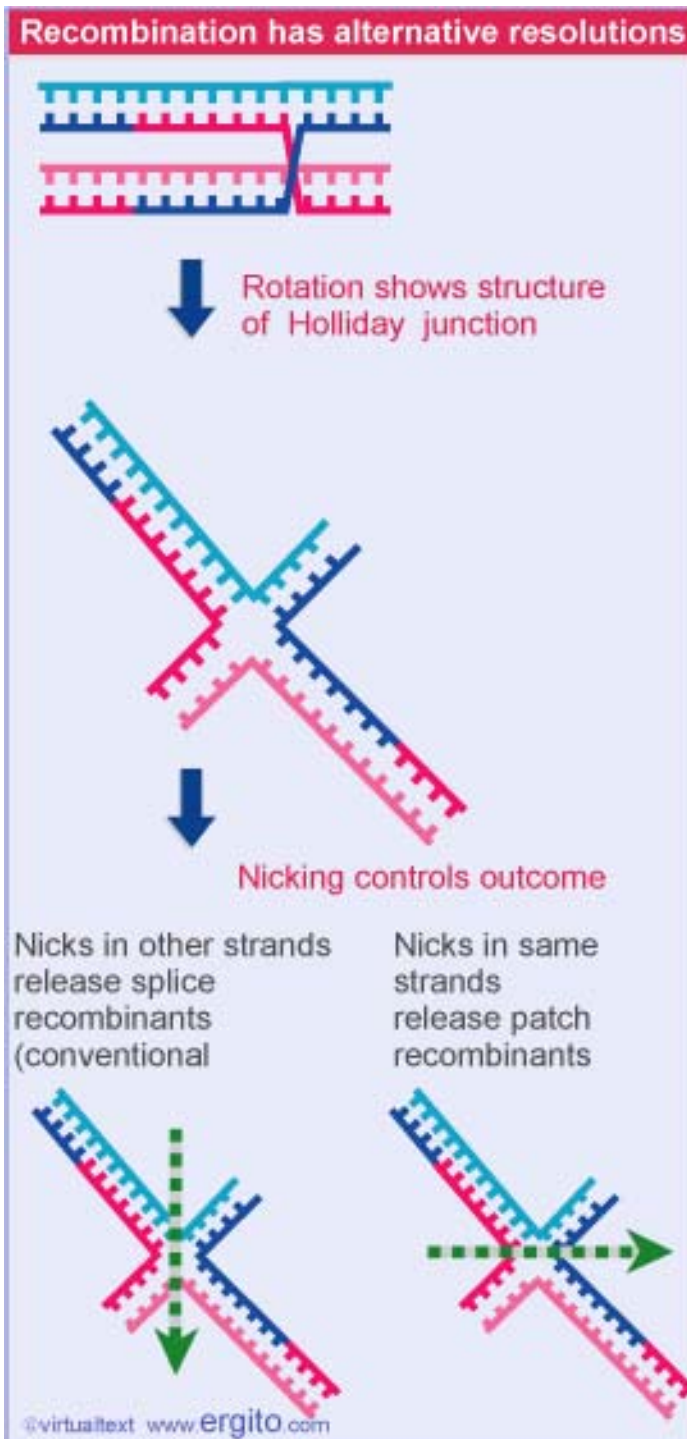


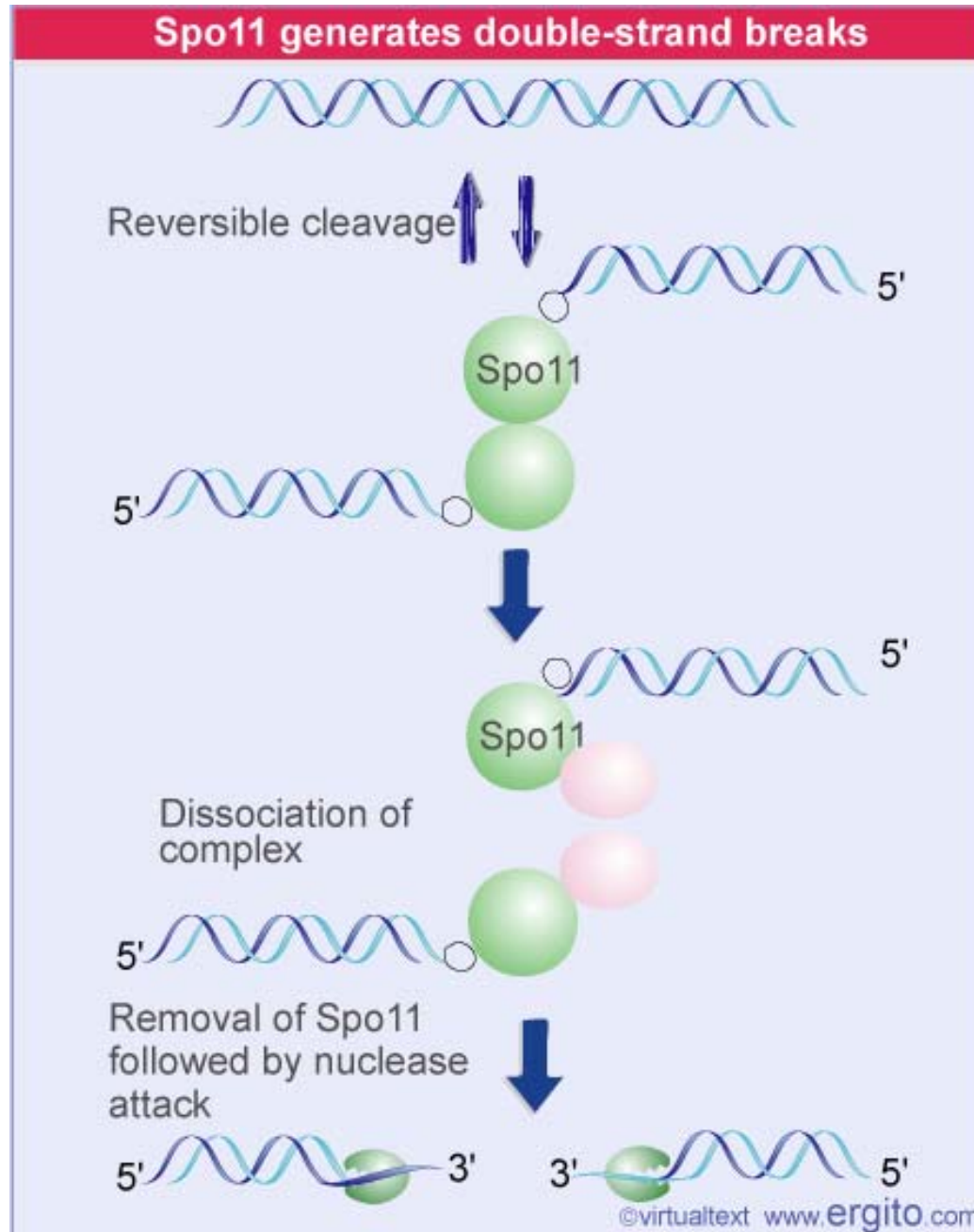
Linkage I: Basic Eukaryotic Chromosome Mapping

	Meiotic chromosomes	Meiotic products	
Meioses with no crossover between the genes			Parental
			Parental
			Parental
			Parental
Meioses with a crossover between the genes			Parental
			Recombinant
			Recombinant
			Parental

Figure 5-7 Intrachromosomal recombinants arise from meioses in which nonsister chromatids cross over between the genes under study.

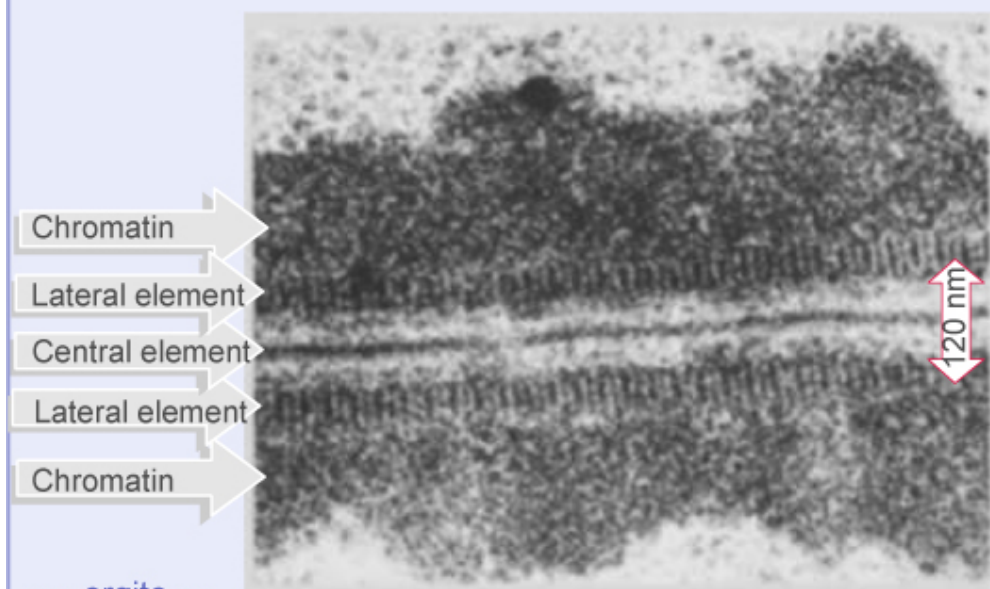




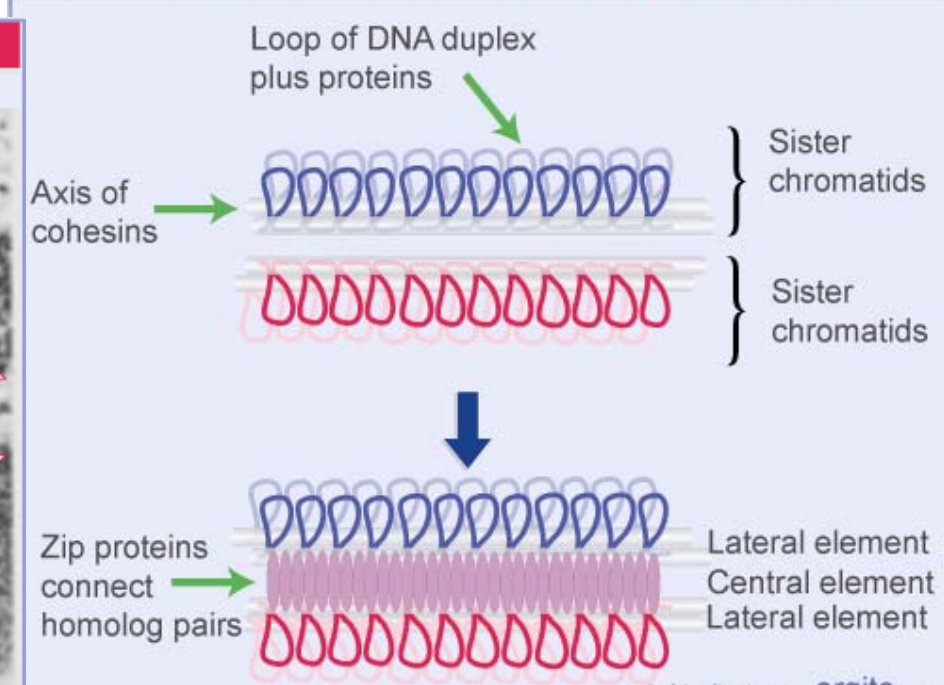




The synaptonemal complex extends longitudinally



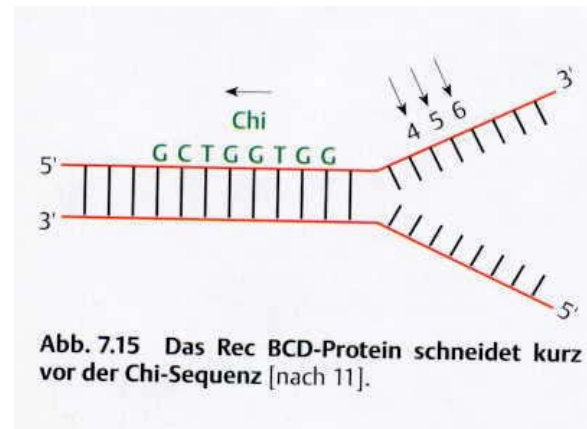
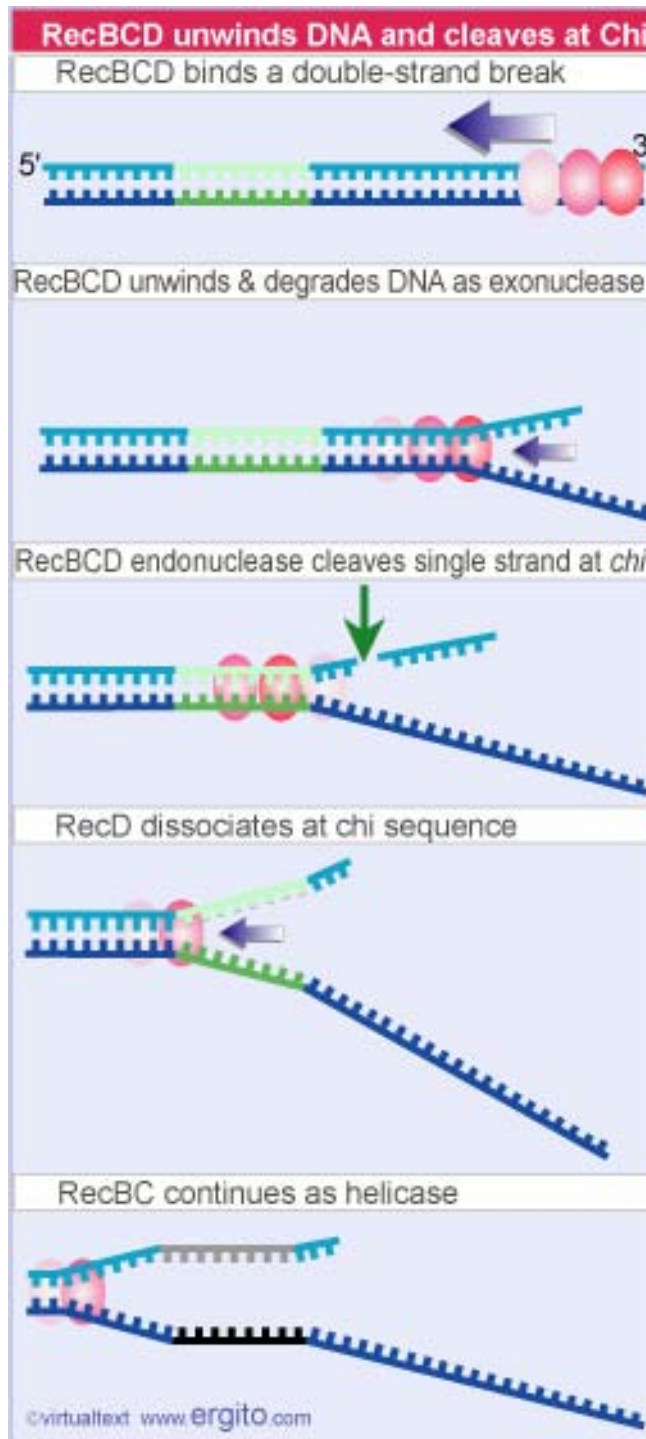
The synaptonemal complex links the homolog pairs



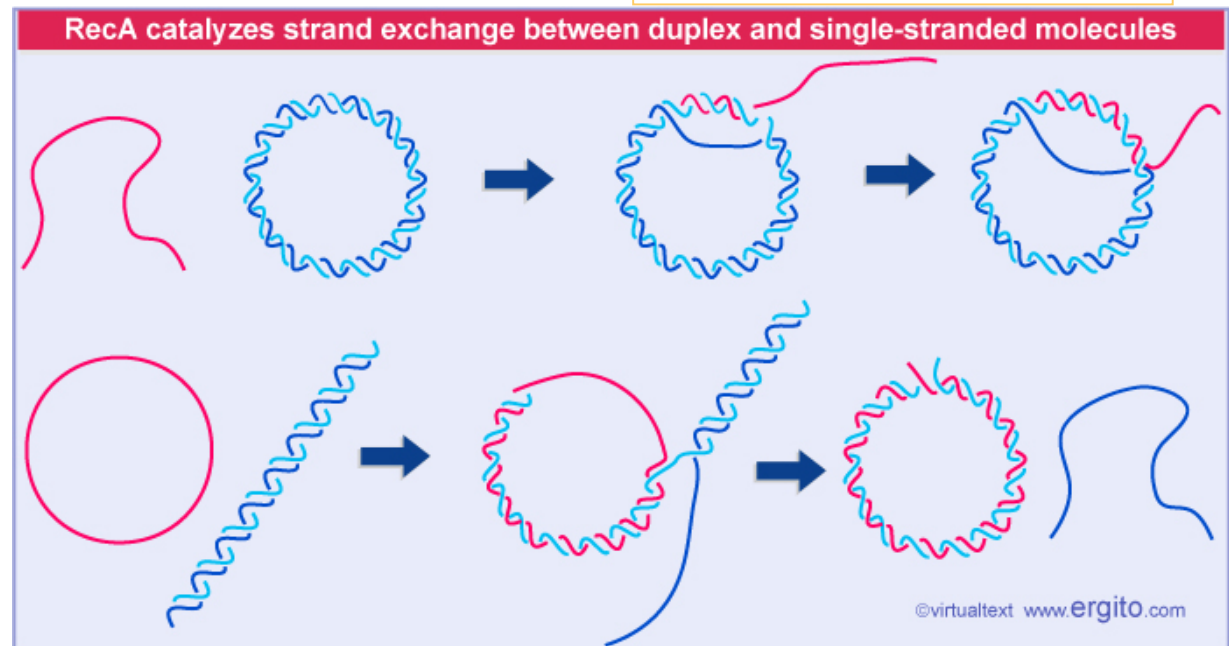


Homologous Recombination in E.coli

RecBCD complex generates strand break at preferred specific sites (*chi*).



RecA, supported by SSB binds to ssDNA and is involved in initiation of strand exchange





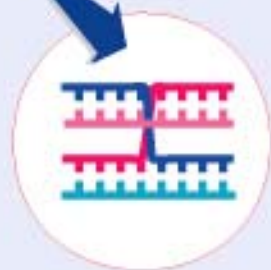
RecA creates a recombination intermediate



↓ Free strand initiates exchange



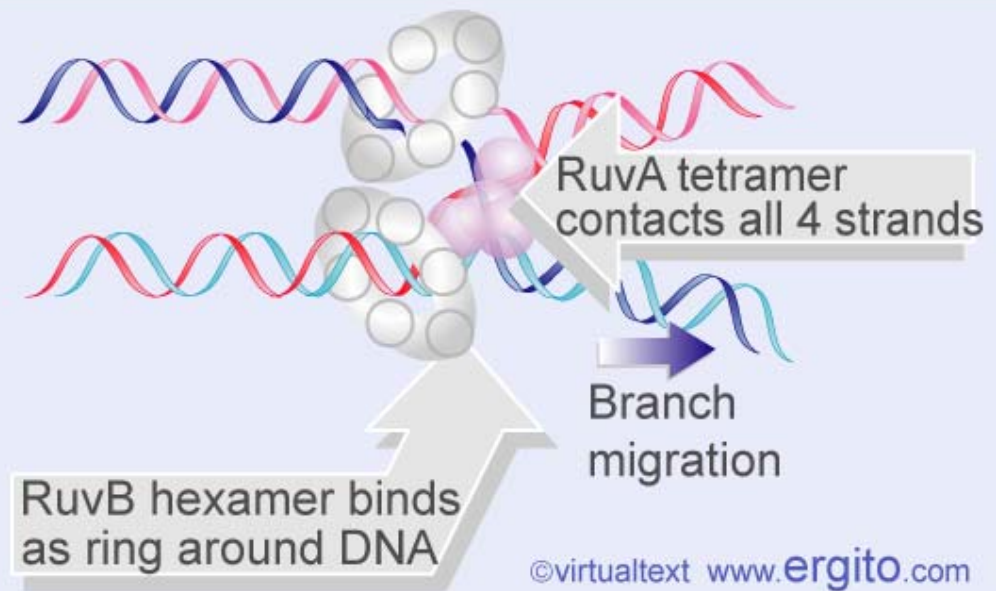
↓ Displaced strand pairs with complement



↓ Strand exchange is completed



RuvAB catalyzes branch migration



RuvC: Nuclease cleaving Holliday junction



Gene transfer with Micro-organisms

Transformation

Uptake of free DNA from environment

Natural Competence – Induced Competence

Forced Transfer

Transduction

Bacteriophage mediated gene transfer

Conjugation

In vivo plasmid transfer

Direct cell-cell contact

Mitotic/Somatic Cell Fusion

Parasexual fusion

Induced Fusion



Transduction

Generalized Transduction

Prototype: Phage P1

Phage reproduces by autonomous replication.

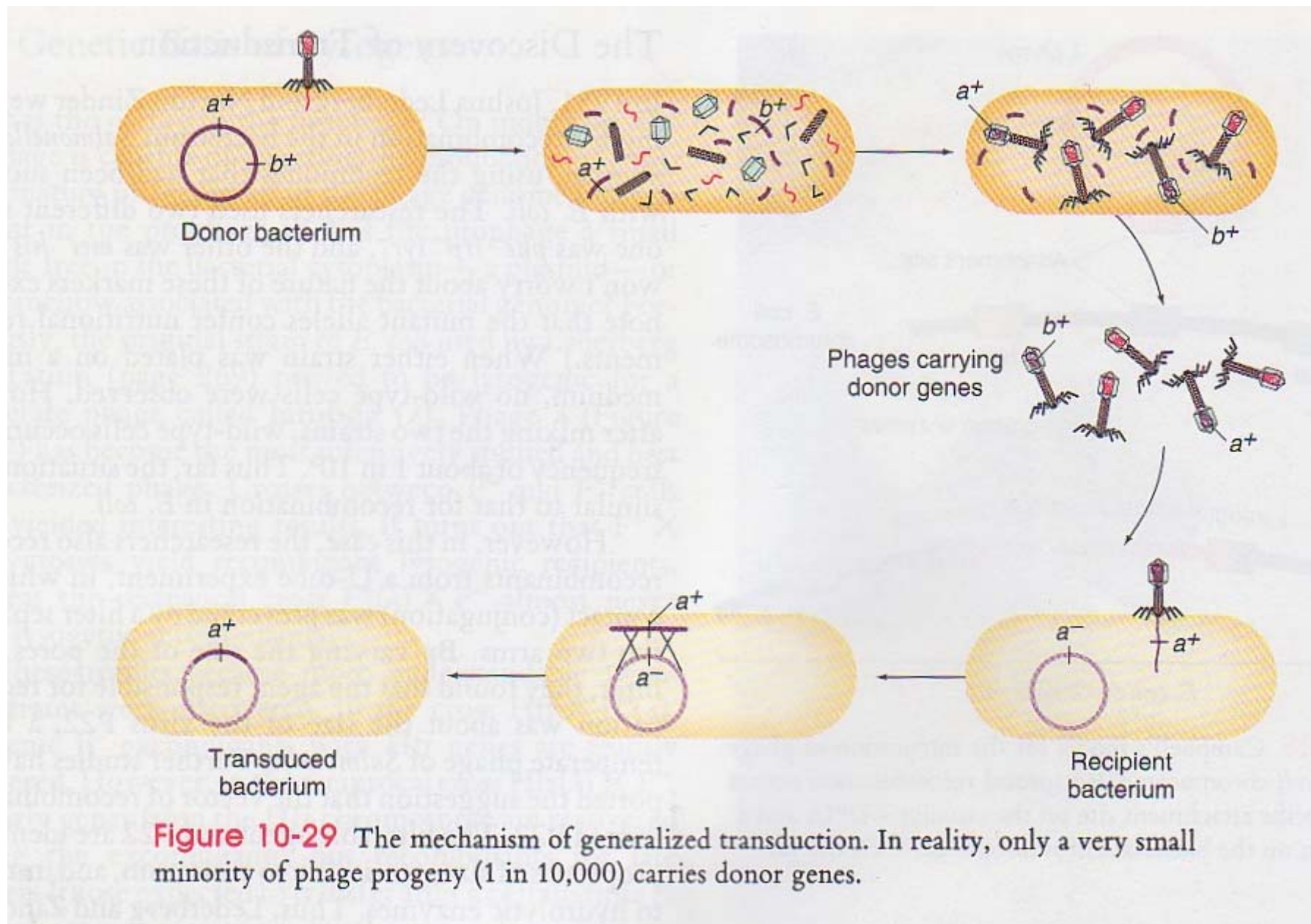
Random pieces of bacterial DNA (generated due to degradation of bacterial genome at late stages of phage infection) are incorporated upon phage assembly

Specialized Transduction

Prototype: Phage Lambda

Phage integrates into bacterial genome at specific sites

Only sequences adjacent to the integration site can be transduced





Phage Lambda Life Cycle

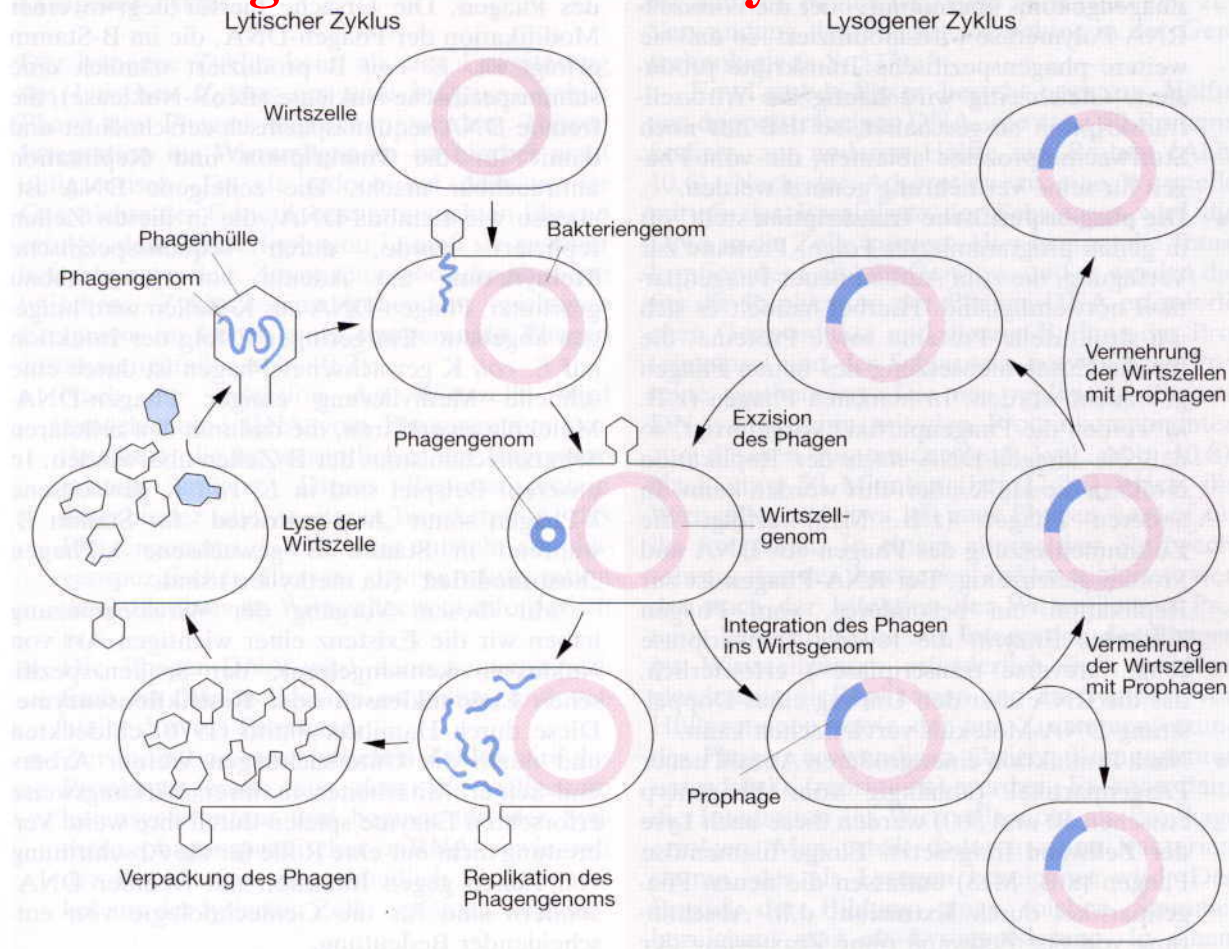


Abb. 10.7. Zyklus des Bakteriophagen Lambda. Nach der Infektion der Wirtszelle durch die Phagen-DNA wird diese zunächst zirkularisiert. Im lytischen Zyklus (*links*) werden an dieser DNA als Matrize nach dem Rolling-circle-Mechanismus (Abb. 10.10) neue lineare Phagen-DNA-Moleküle synthetisiert. Gleichzeitig werden die Hüllproteine hergestellt, so daß schließlich eine Verpackung der DNA in den vorbereiteten Phagenkopf und ein Anfügen des ebenfalls vorbereiteten Phagenschwanzes erfolgen kann. Die Zelle lysiert dann und entläßt infektiöse neue Phagenpartikel.

Im lysogenen Zyklus (*rechts*) erfolgt zunächst eine Integration des Lambda-Phagen als Prophage ins bakterielle Genom. In dieser Form kann der Prophage über viele Zellgenerationen im Bakteriengenom verbleiben, ohne daß seine Anwesenheit erkennbar wird oder Folgen für die Wirtszelle hat. Erst bei einer spontanen oder induzierten Exzision des Prophagen kann es zu einer intrazellulären Vermehrung seines Genoms kommen und die Zelle mündet in den lytischen Zyklus ein. (Nach Watson et al. 1987)



Figure 10-28 Campbell's model for the integration of phage λ into the *E. coli* chromosome. Reciprocal recombination occurs between a specific attachment site on the circular λ DNA and a specific region on the bacterial chromosome between the *gal* and *bio* genes.

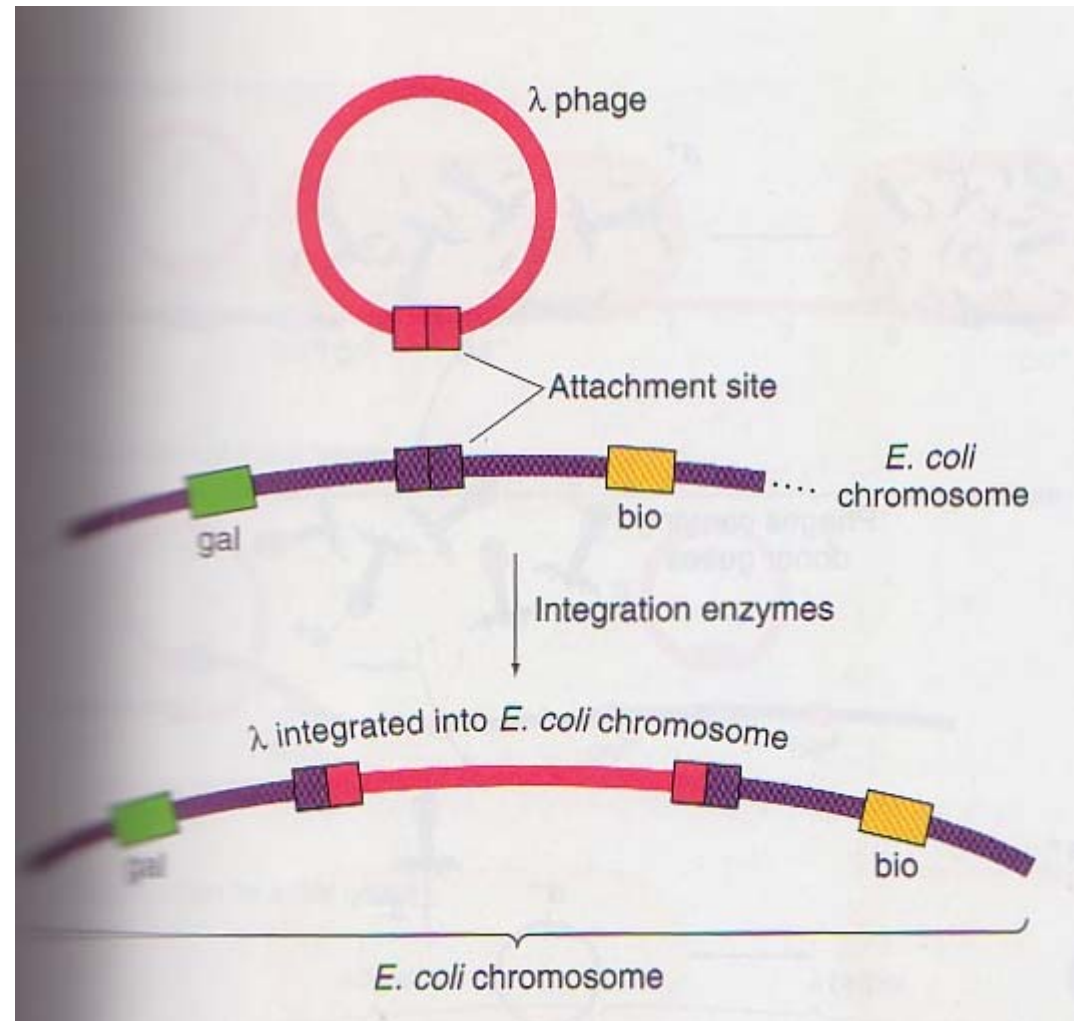




Abb. 10.9 A, B. Sequenzspezifische Integration des Phagen Lambda ins *E. coli*-Genom. Sequenzhomologien zwischen den *attP*- und *attB*-Regionen von Lambda und *E. coli* (oben) führen zu der Integration der Phagen in einer Position zwischen dem *gal*- und dem *bio*-Gen (unten). Die hori-

zontalen Pfeile zeigen die invertierten Repeats an, die vertikalen kurzen Pfeile die Schnittstellen, an denen die *att*-Regionen geöffnet werden. Die beiden Grenzbereiche links und rechts vom Phagengenom, innerhalb deren die Integration des Phagen erfolgt ist

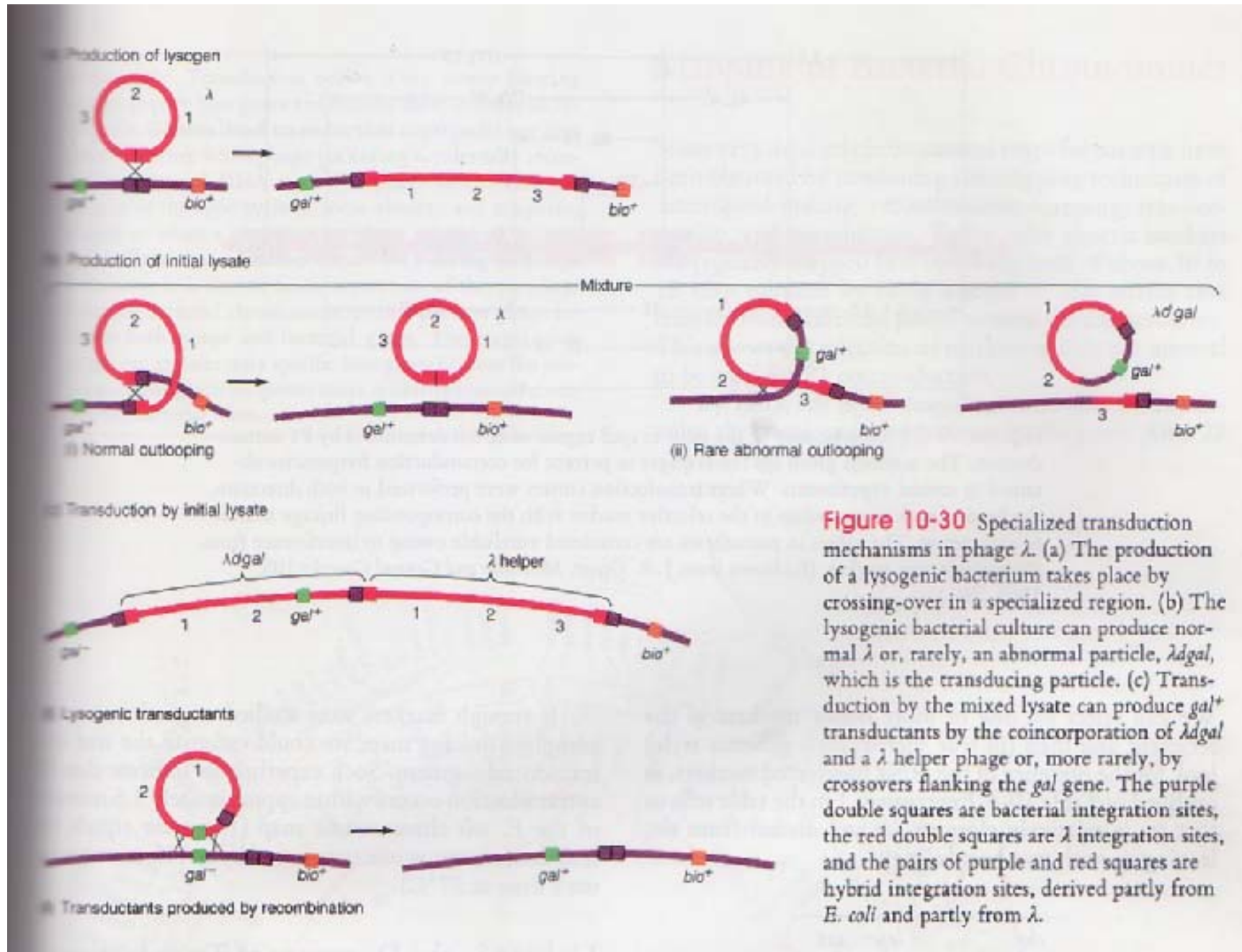


Figure 10-30 Specialized transduction mechanisms in phage λ . (a) The production of a lysogenic bacterium takes place by crossing-over in a specialized region. (b) The lysogenic bacterial culture can produce normal λ or, rarely, an abnormal particle, $\lambda dgal$, which is the transducing particle. (c) Transduction by the mixed lysate can produce gal^+ transductants by the coinorporation of $\lambda dgal$ and a λ helper phage or, more rarely, by crossovers flanking the gal gene. The purple double squares are bacterial integration sites, the red double squares are λ integration sites, and the pairs of purple and red squares are hybrid integration sites, derived partly from *E. coli* and partly from λ .

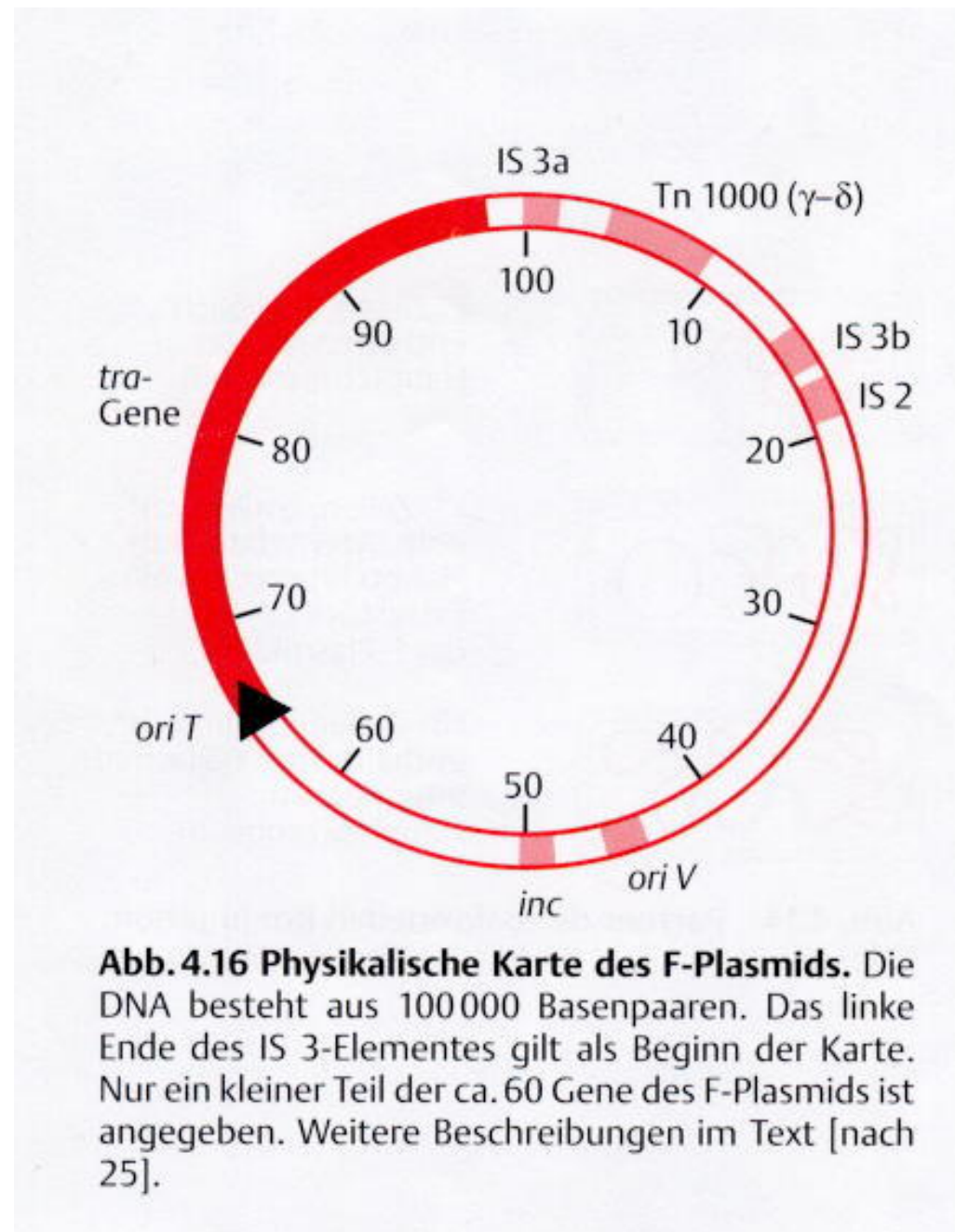
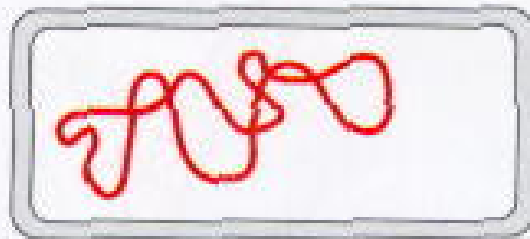




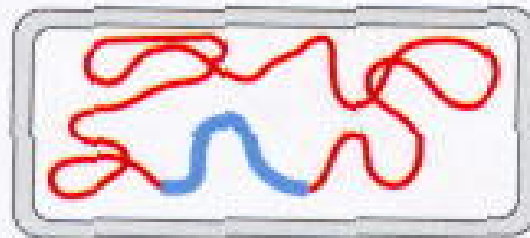
Abb. 4.15 Morphologie einer F⁺-Zelle. F, Flagellen, C, gewöhnliche Pili (*common pili*), S, F-Pili (*sex pili*) [aus 17].



F⁻-Zellen, „weiblich“,
enthalten nur das
Hauptchromosom



F⁺-Zellen, „männlich“,
enthalten neben dem
Hauptchromosom ein
Extrastück DNA,
das F-Plasmid



Hfr-Zellen, „männlich“,
enthalten das F-Plasmid
integriert im
Hauptchromosom

Abb. 4.14 Partner der bakteriellen Konjugation.
Bakterien enthalten ein bis höchstens drei F-Plas-
mide.

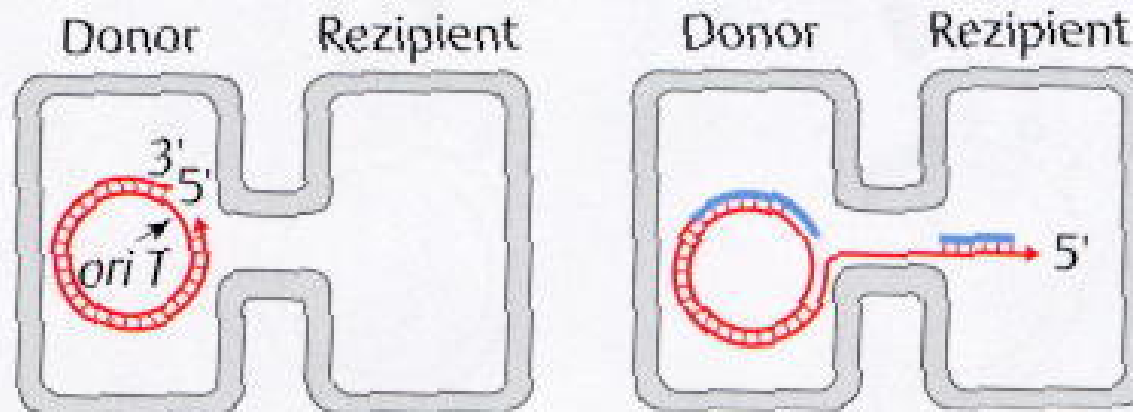
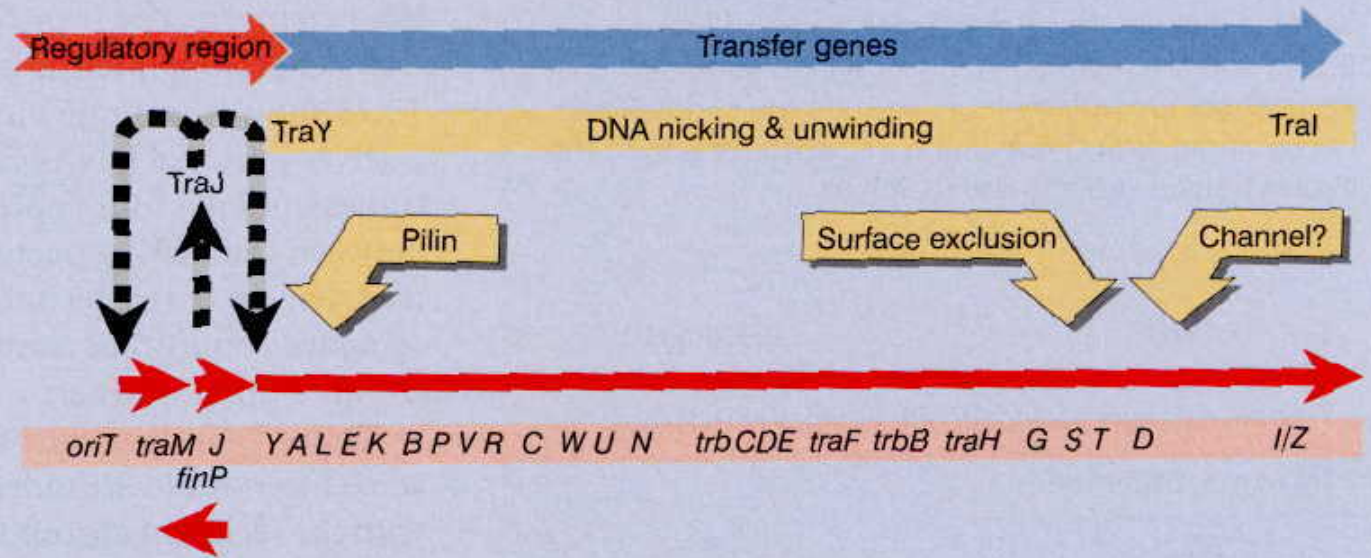


Abb. 4.18 DNA-Transfer bei der Übertragung. Bei oder unmittelbar nach der Herstellung der Brücke zwischen der Donor-Zelle und der Rezipienten-Zelle wird einer der beiden DNA-Stränge am *ori T* geöffnet. Das 5'-Ende des geöffneten Stranges wird in die Rezipienten-Zelle „transferiert“. Die Einzelstrang-Bereiche im übertragenen Strang und am zurückbleibenden Ring werden durch DNA-Neusynthese zu Doppelsträngen ergänzt. Als Konsequenz wird eine Kopie des F-Plasmids in die Empfänger-Zelle übertragen. Eine zweite Kopie bleibt in der Donor-Zelle zurück.



Figure 12.20 The *tra* region of the F plasmid contains the genes needed for bacterial conjugation.





Conjugative DNA Transfer

Rolling Circle Replication

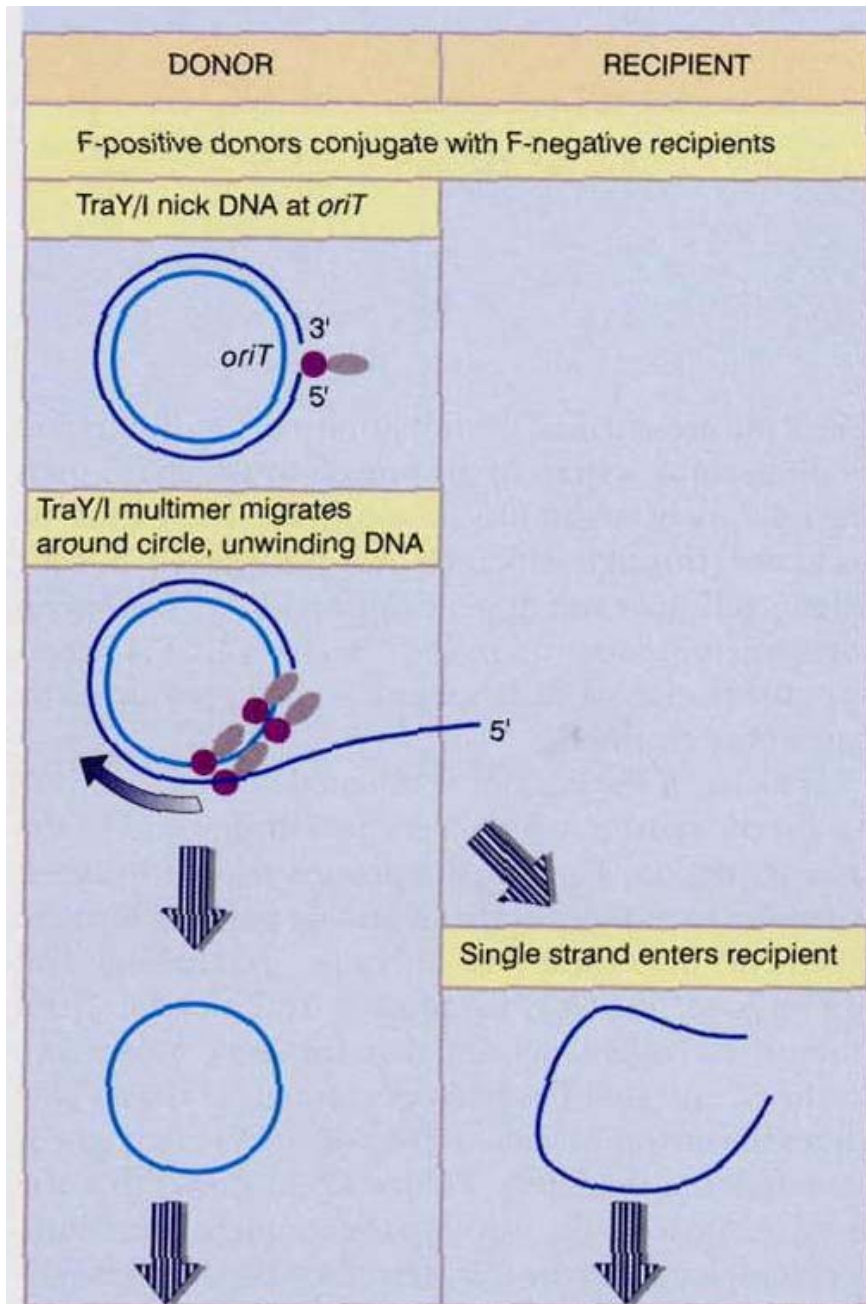
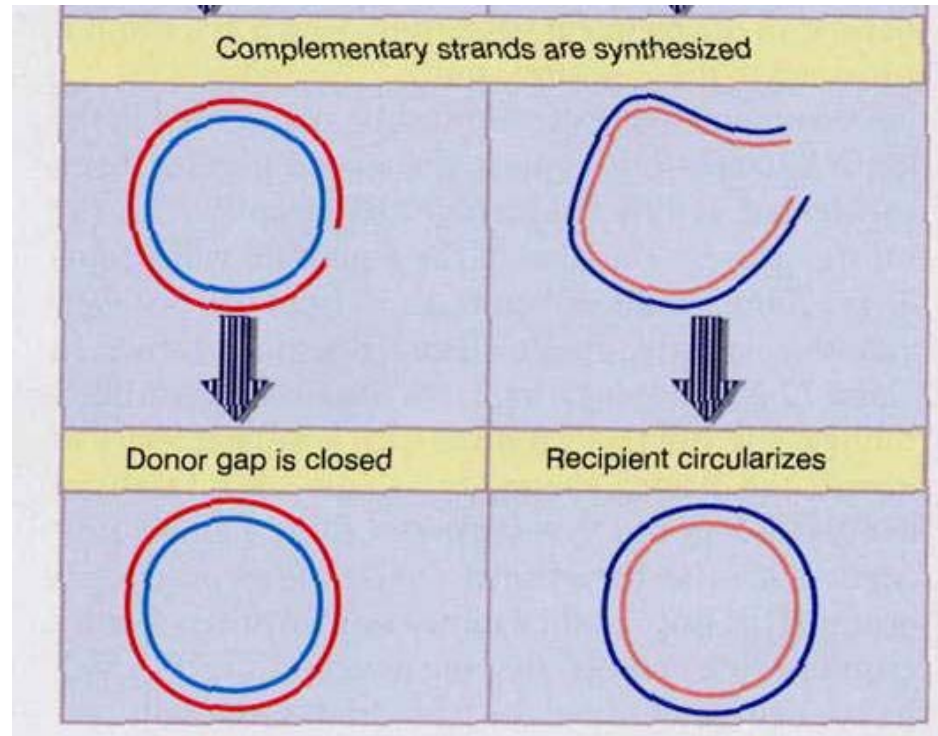


Figure 12.22 Transfer of DNA occurs when the F factor is nicked at *oriT* and a single strand is led by the 5' end into the recipient. Only one unit length is transferred. Complementary strands are synthesized to the single strand remaining in the donor and to the strand transferred into the recipient.



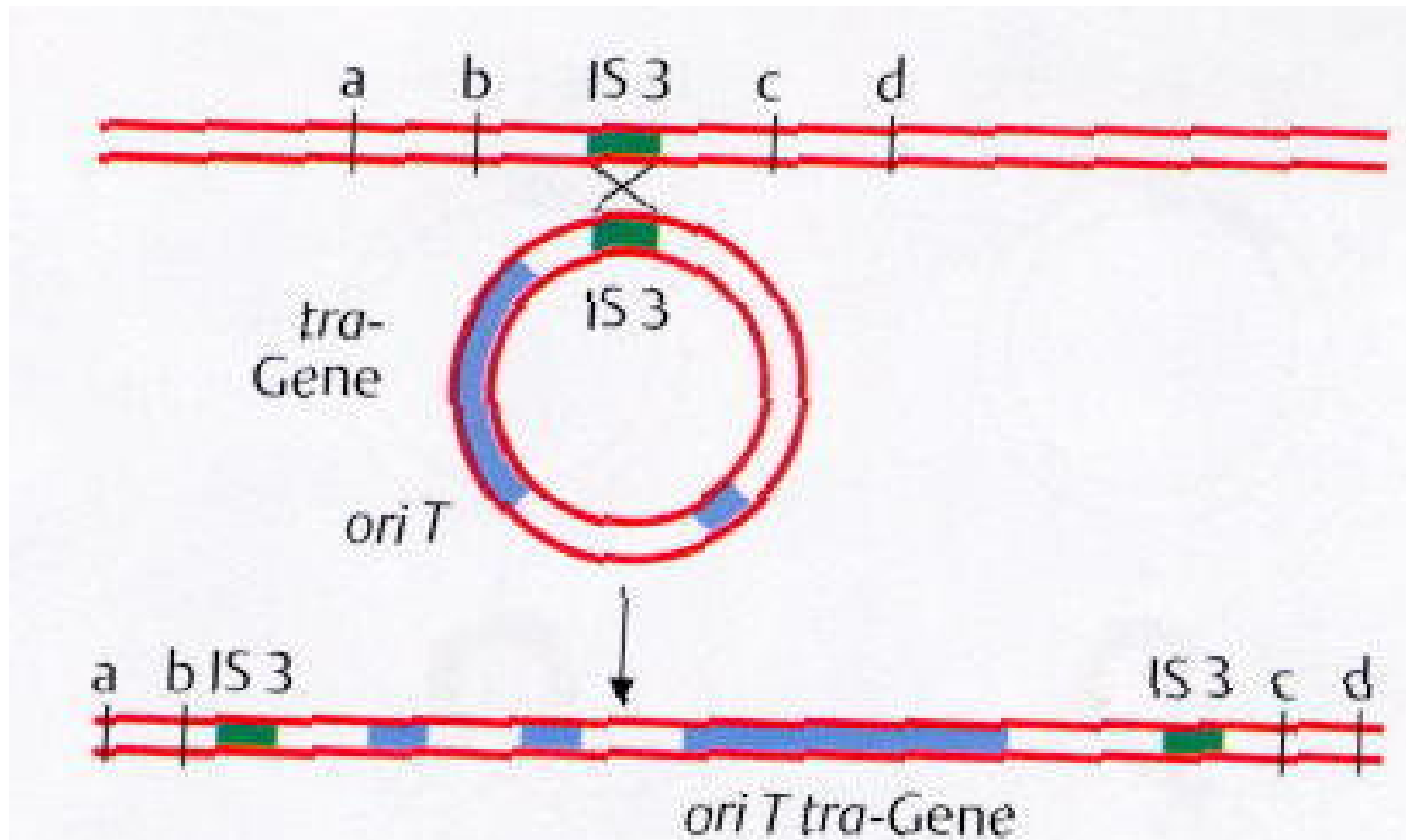


Abb. 4.17 Schema der Integration eines F-Plasmids.

Integration of entire F-Plasmid at IS elements (Site specific recombination)



Interrupted Transfer:

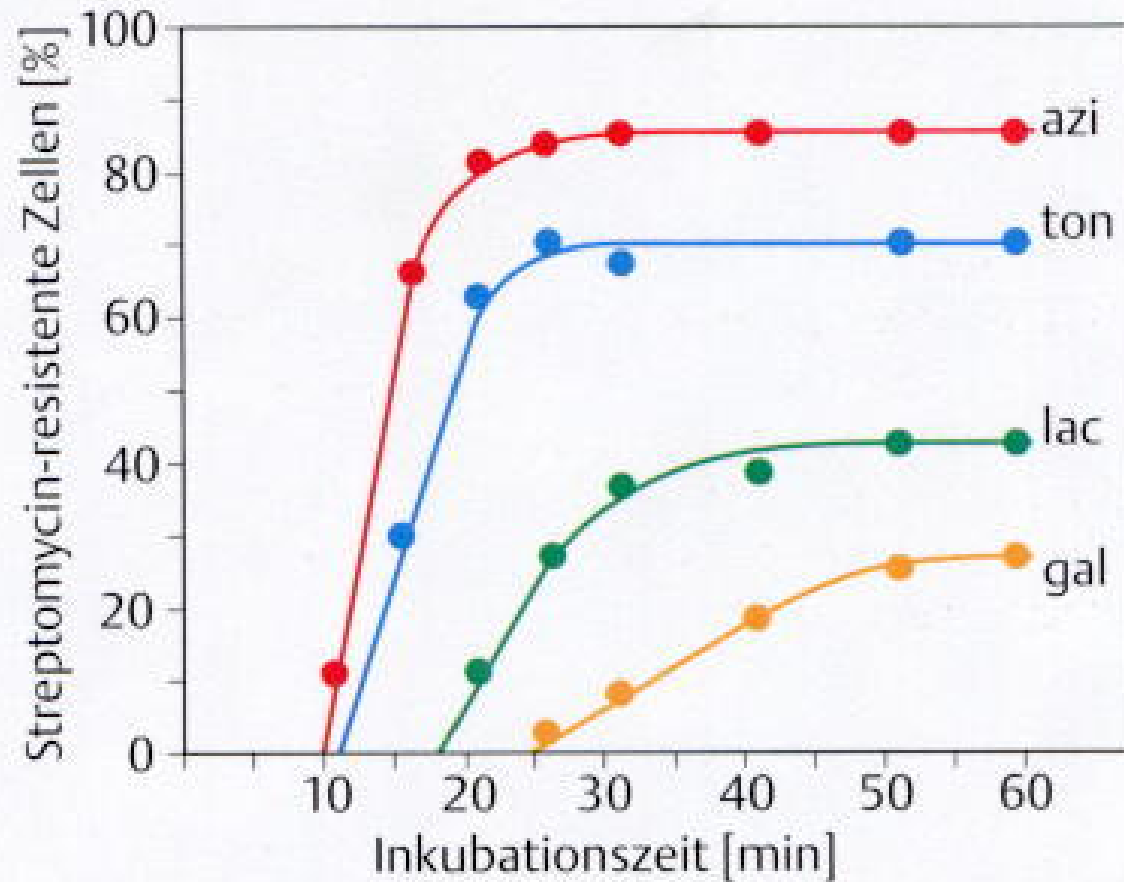


Abb. 4.21 Das Experiment der „unterbrochenen Paarung“.

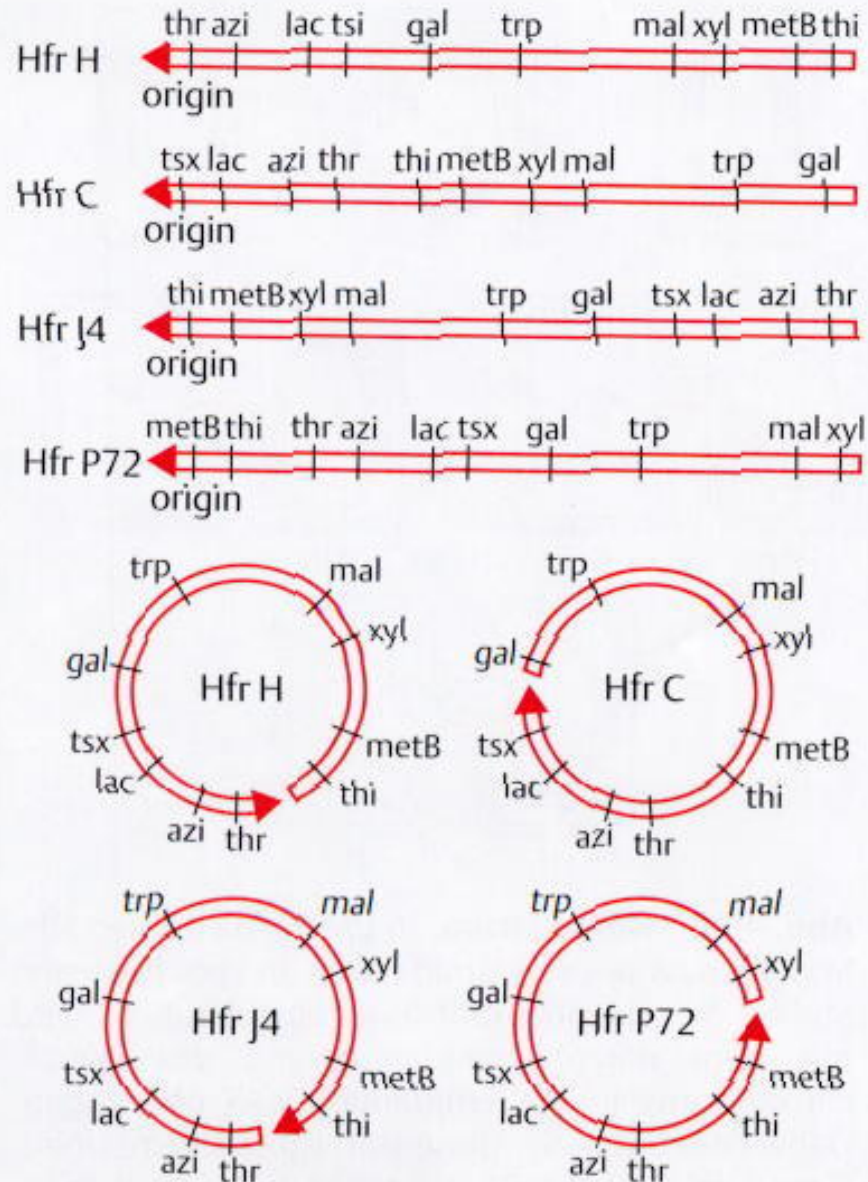


Abb. 4.22 Reihenfolge des Marker-Transfers bei einigen verschiedenen Hfr-Stämmen.

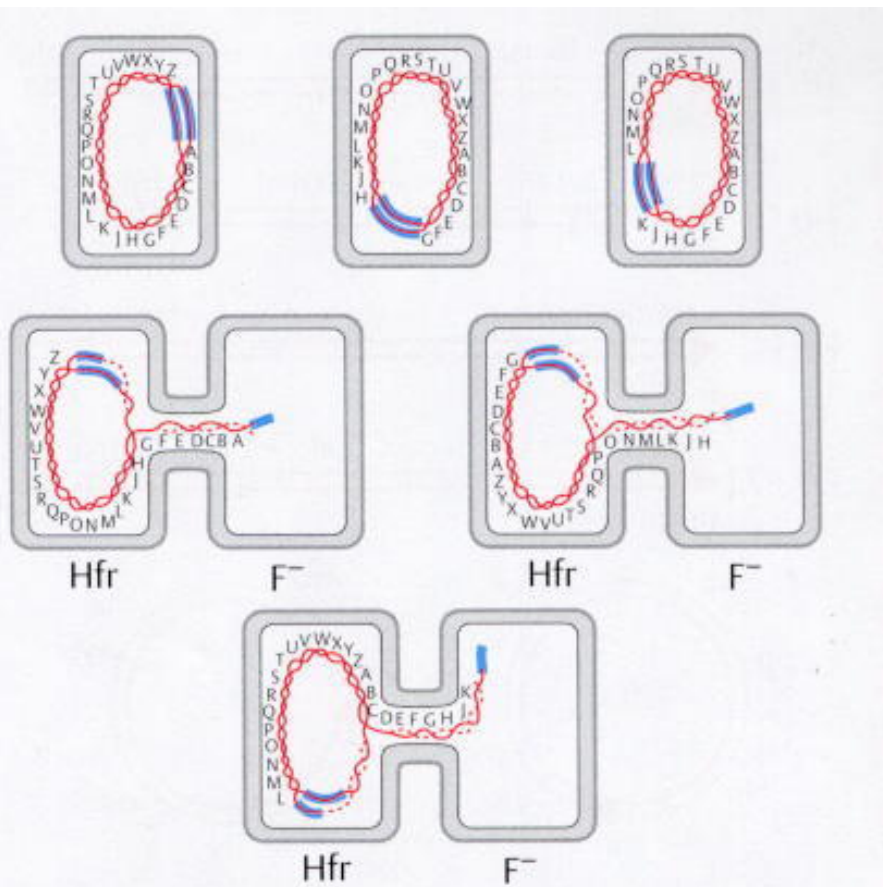


Abb. 4.20 Konjugation. In unterschiedlichen Hfr-Stämmen ist das F-Plasmid (blau) an verschiedenen Stellen des Hauptchromosoms eingebaut. Es wird mit dem daranhängenden Strang des Hauptchromosoms in die Empfänger-Zelle übertragen. Dabei findet DNA-Synthese statt (gestrichelte Linie). Daraus folgt: Bei der Konjugation kann die Reihenfolge, in der die Gene übertragen werden, verschieden sein, abhängig von der Art des untersuchten Hfr-Stammes. Die DNA in der Empfänger-Zelle ist nicht eingezeichnet.



Excision of F-Plasmid from Hfr Genomes :

Formation of Plasmids containing chromosomal fragments \rightarrow F'

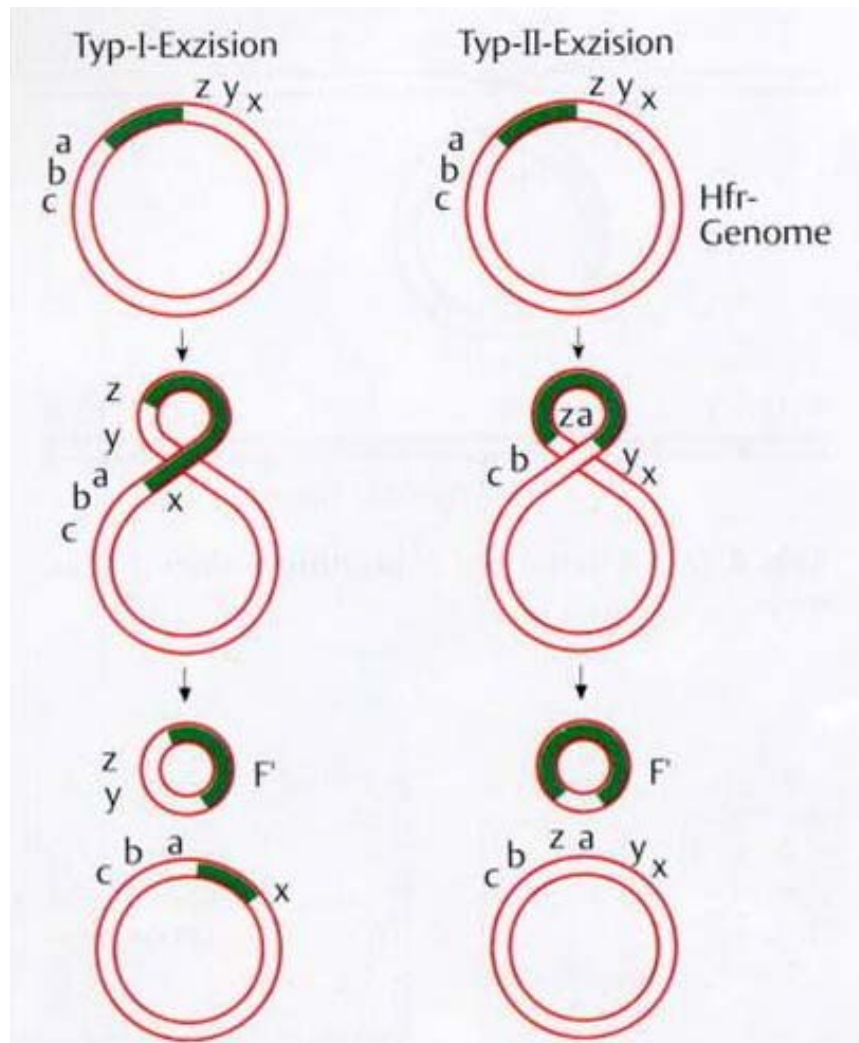
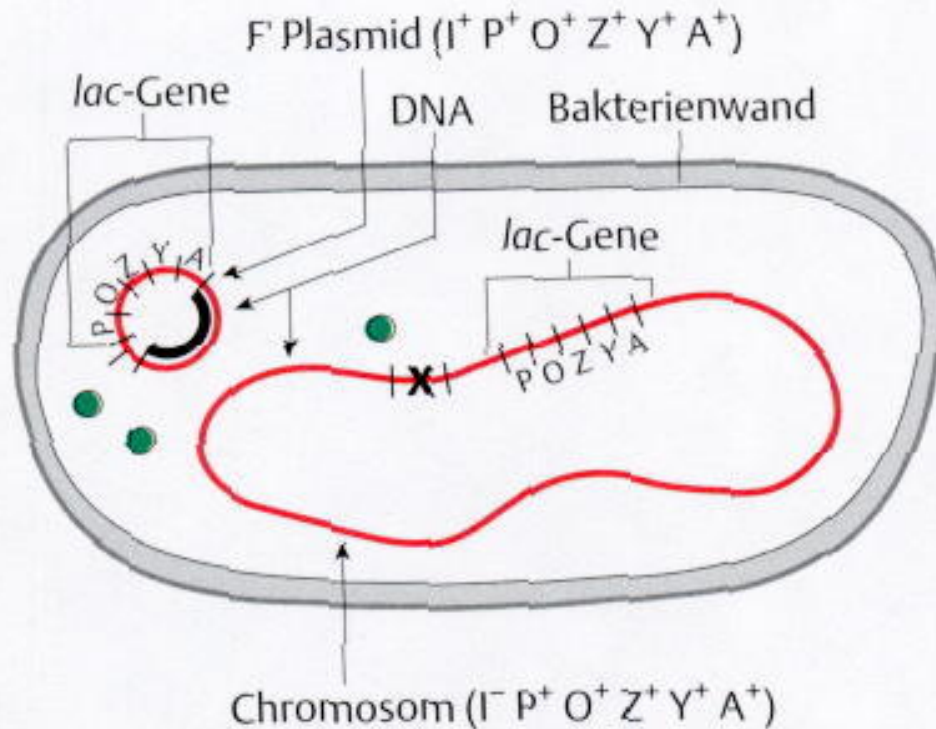


Abb. 4.19 Exzisionswege bei der Bildung von F'-Plasmiden.

Beachte:

1. Bei der **Typ-I-Exzision** bleibt ein Teil des Plasmids im Hauptchromosom zurück. Das entstandene Exzisionsprodukt kann als Plasmid in der Zelle replizieren, wenn es noch mindestens die plasmidalen Replikationsfunktionen und den *ori V* (s. Abb. 4.11) besitzt. Falls die *tra*-Gene im Hauptchromosom zurückgeblieben sind, hat das Plasmid die Fähigkeit zum Konjugationstransfer verloren. Der chromosomale DNA-Abschnitt im F'-Plasmid entspricht einer Folge von genetischen Elementen, die ursprünglich auf einer Seite des integrierten Plasmids lagen.
2. Das unterscheidet die Typ-I- von der Typ-II-Exzision, bei der chromosomale DNA-Abschnitte von beiden Seiten des integrierten F-Plasmids ausgeschnitten werden. Bei der **Typ-II-Exzision** bleiben keine plasmidalen Sequenzen im Hauptchromosom zurück.



Formation of „partial diploids“

Abb. 4.37 Merodiploide Zelle vom Typ I^-/F^+ .
 Das *lac*-Gen ist im Verhältnis zu groß gezeichnet. Es nimmt in Wirklichkeit nur den Platz von etwa 0,15% des *E. coli*-Chromosoms ein. Das Wildtyp-*lac I*-Gen des Plasmids produziert einen aktiven Repressor (grüne Kugeln), der sich frei in der Zelle befindet und deshalb sowohl am chromosomalen *lac*-Operator als auch am plasmidalen *lac*-Operator angreifen kann. Zur Bedeutung der genetischen Elemente P und O siehe Text.



Transformation

Uptake of DNA by cells

Natural Transformation

Competence:

Specific physiological conditions
Expression of DNA binding proteins

Transport: of DNA into cell:

specific active transport mechanisms
random events

Integration of DNA into genomic DNA by
recombination

or autonomous replication (plasmids)

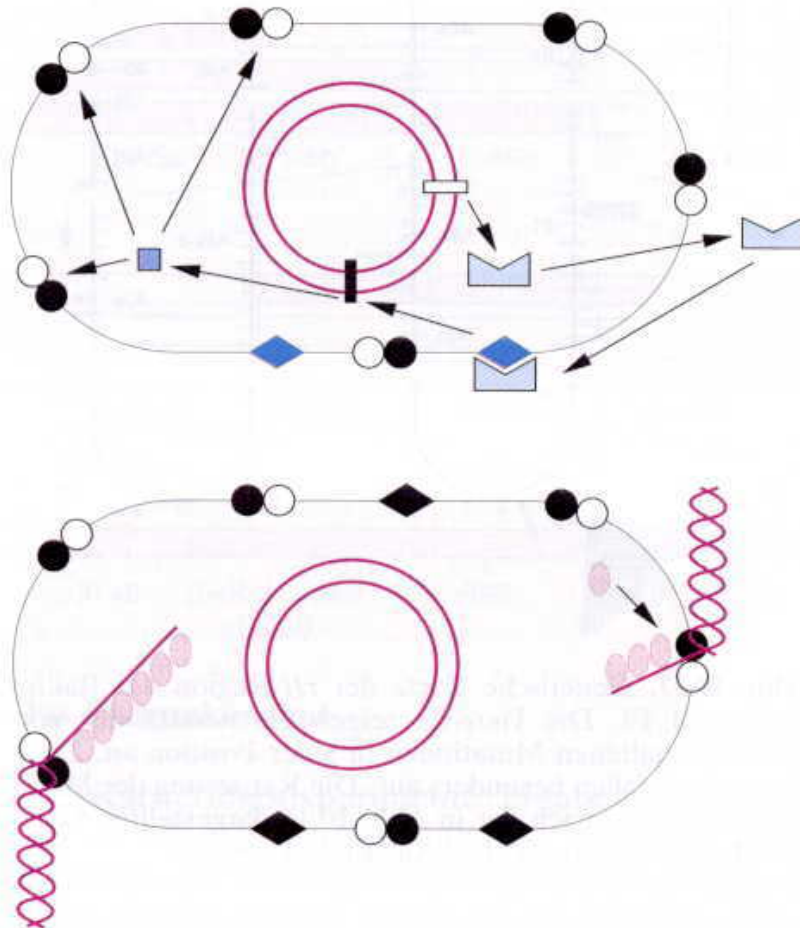


Abb. 10.18. Transformationsmechanismus bei Bakterien. *Oben:* Vom Bakteriengenom (*Kreis*) werden Kompetenzfaktoren (*blaues Viereck*) kodiert, die an membrangebundene Rezeptoren binden (*Raute*) und dadurch weitere Gene induzieren. Hierdurch werden membrangebundene DNA-bindende Proteine und Nucleasen (*Kreise*) aktiviert, die extrazelluläre doppelsträngige DNA binden und abbauen. *Unten:* Ein Einzelstrang dieser DNA kann durch DNA-bindendes Protein (*Ellipsen*) gegen Abbau geschützt werden. Dieser DNA-Einzelstrang kann in die Bakterienzelle eindringen und mit dem bakteriellen Genom rekombinieren. (Nach Watson et al. 1987)



Transformation

Forced DNA Transfer
mostly undefined mechanisms

Treatment of cells with ions (Ca^{++} , Mg^{++} , Li^+ , Rb^+)

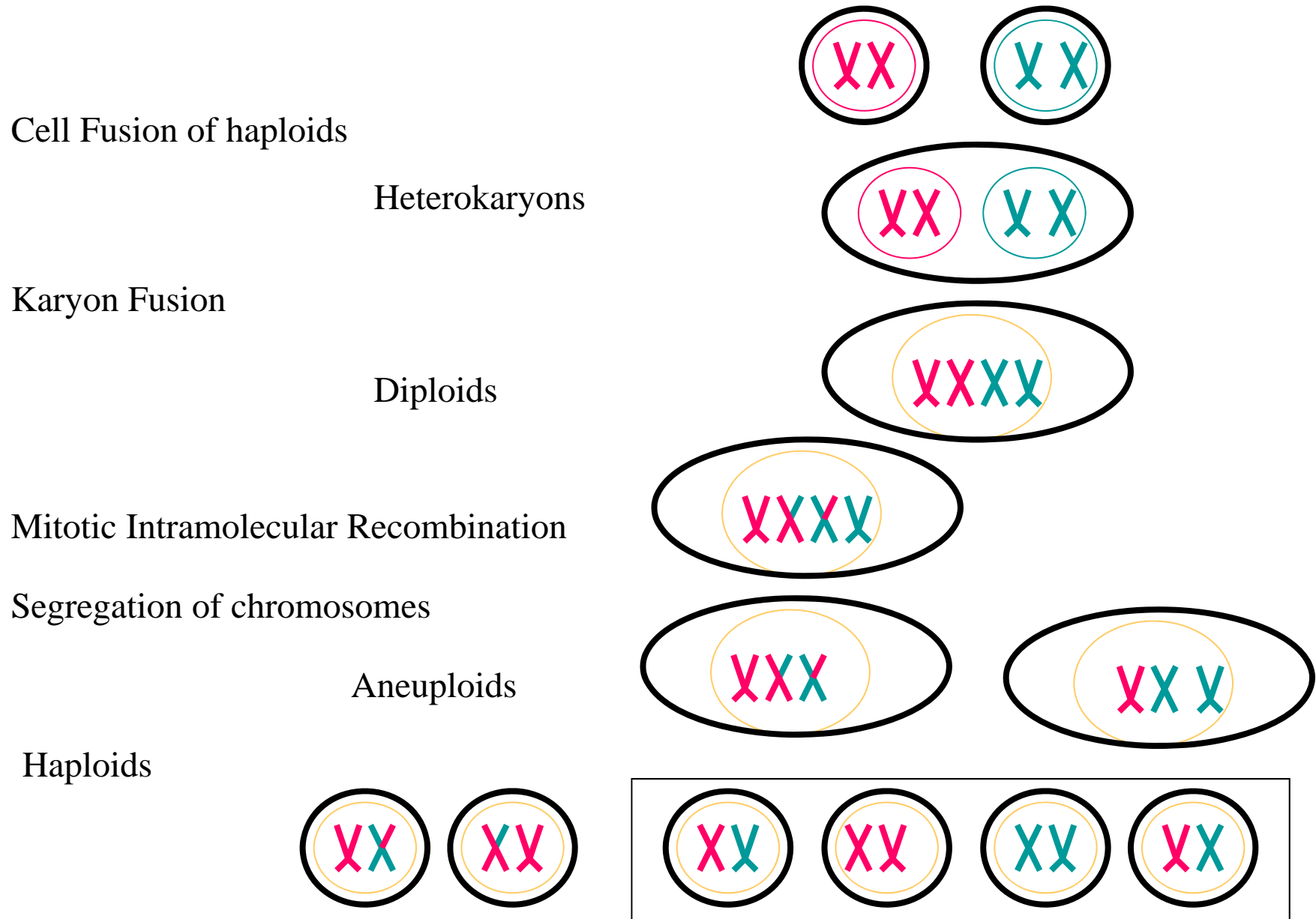
Generation of protoplasts & Fusogenic agents

Electroporation

Mechanical transfer → Gene gun



Parasexual recombination in lower eukaryotes





16.12.14