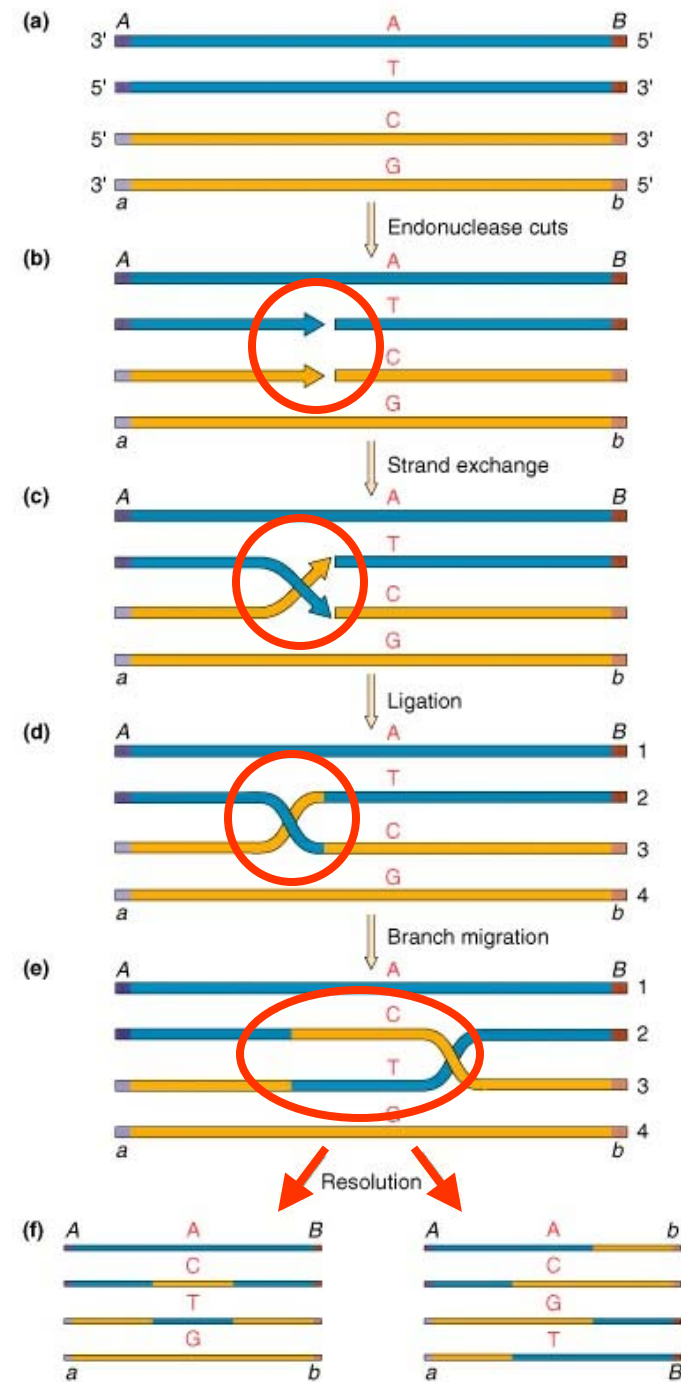


# **Rekombination 1**

## **Homologe Rekombination:**

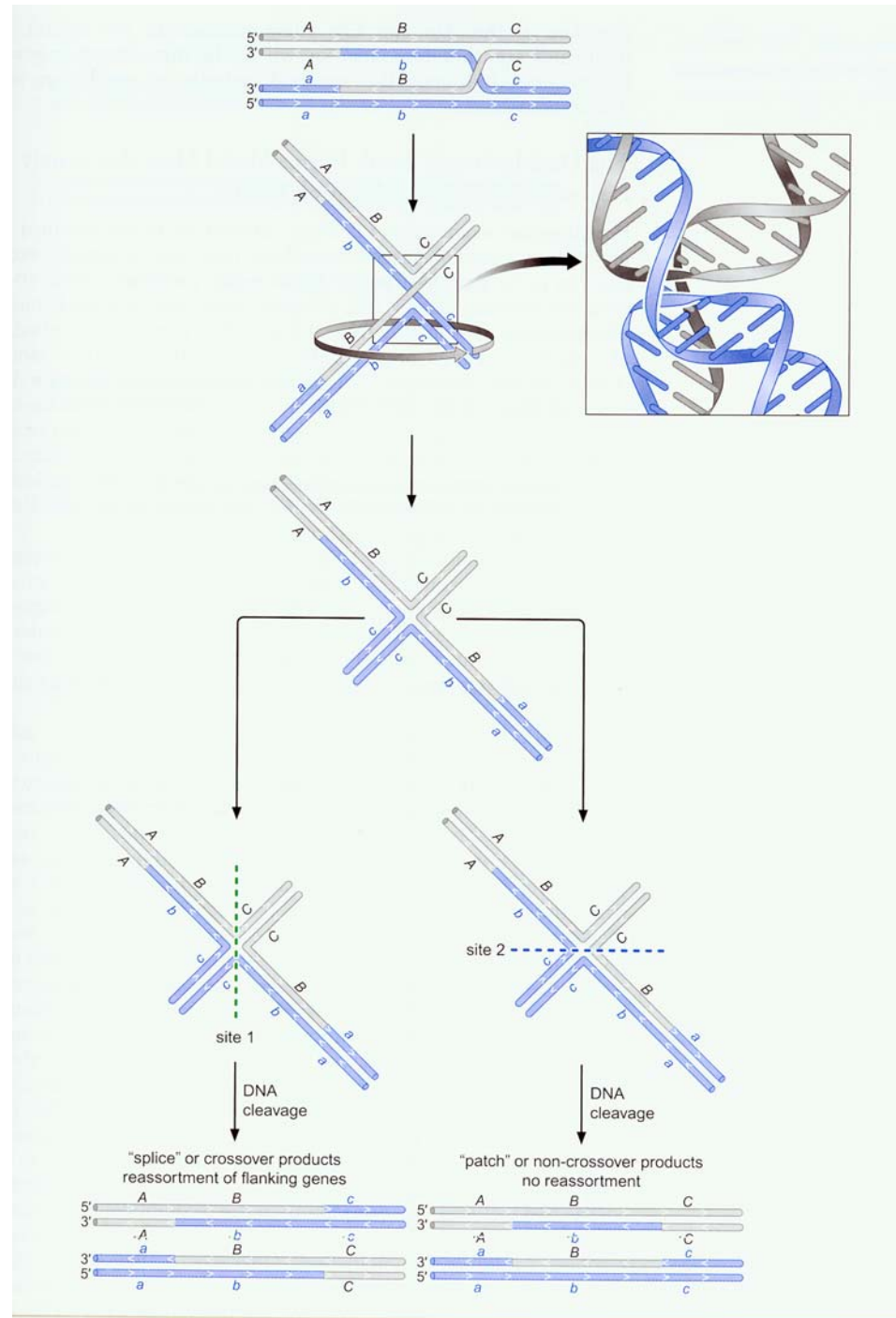
- 1. Die Grundlagen**
- 2. Initiation über Doppelstrangbruch oder Einzelstrangbruch**
- 3. Holliday-Struktur**
- 4. Auflösung von Holliday-Strukturen**
- 5. Genkonversion**
- 6. Das Doppelstrangbruch-Reparatur-Modell**

# Das Holliday-Modell zur Erklärung der Rekombiantion auf DNA-Niveau (Robin Holliday, 1964)



# Auflösung von HollidayStrukturen

**Resolvasen** erkennen X-DNA Strukturen

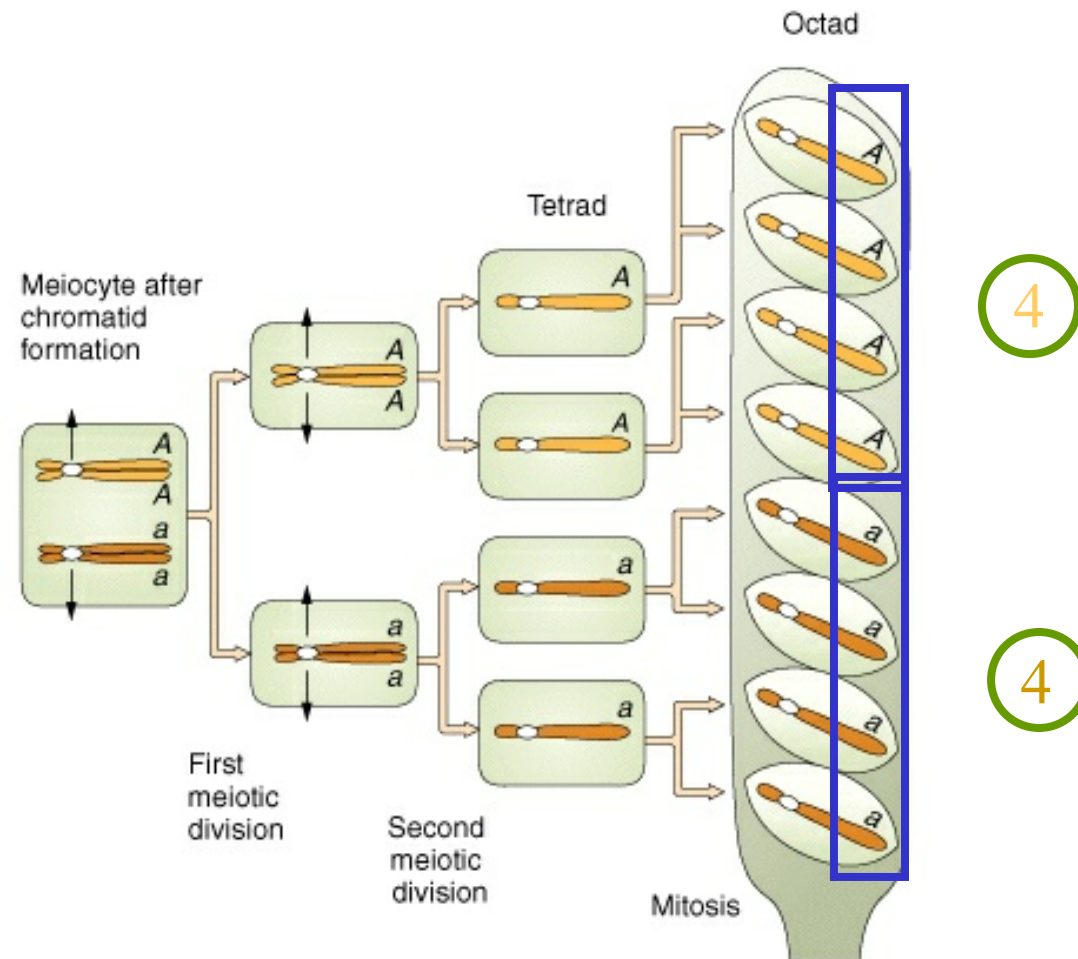


## **Tetradenanalyse bei Ascomyceten:**

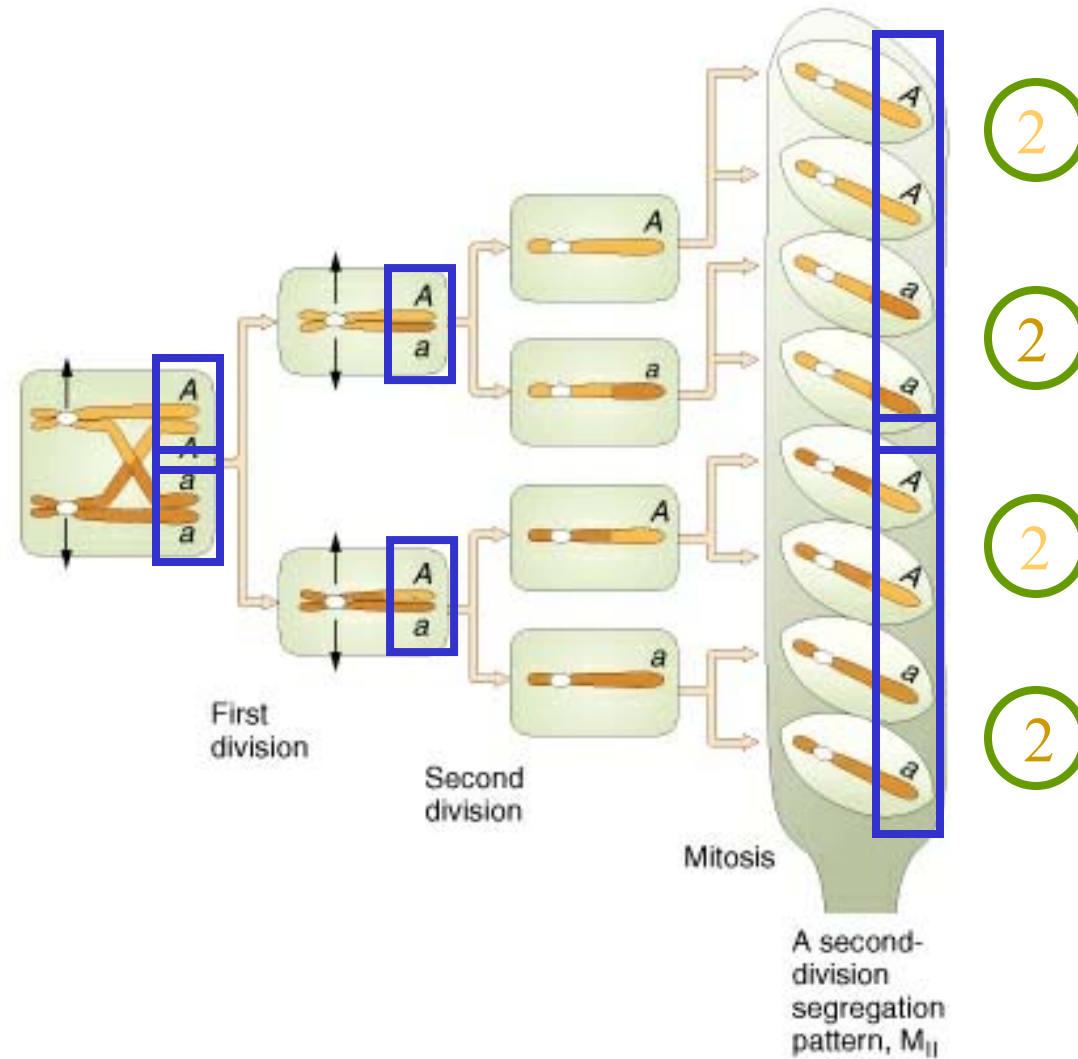
**alle 4 Produkte eine Meiose können einzeln analysiert werden,  
weil sie in einem Ascus zusammengehalten werden**

**in linearen Tetraden befinden sich die Sporen in einer Anord-  
nung, die durch die Teilungen zurück verfolgt werden kann**

# Entstehung von Sporen in Asci durch meiotische und postmeiotische Teilungen (z.B. *Neurospora crassa*)

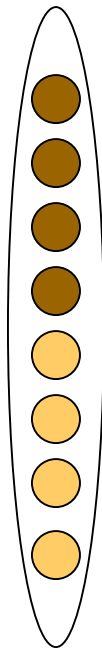


Rekombiantion wird an der Sporenverteilung im Ascus erkennbar

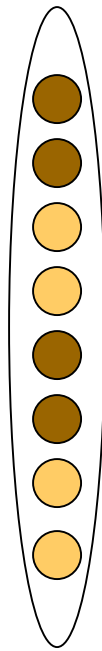


# Genkonversion während der Rekombination

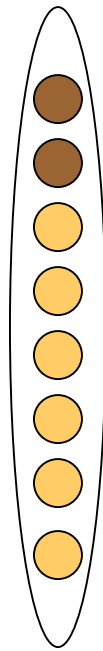
parentaler Ascus	rekombinante Asc
------------------	------------------



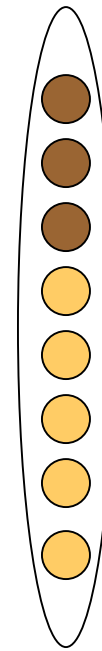
4:4



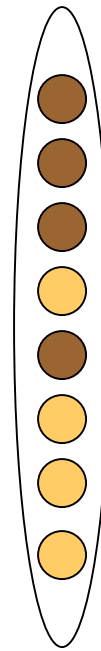
4:4



6:2

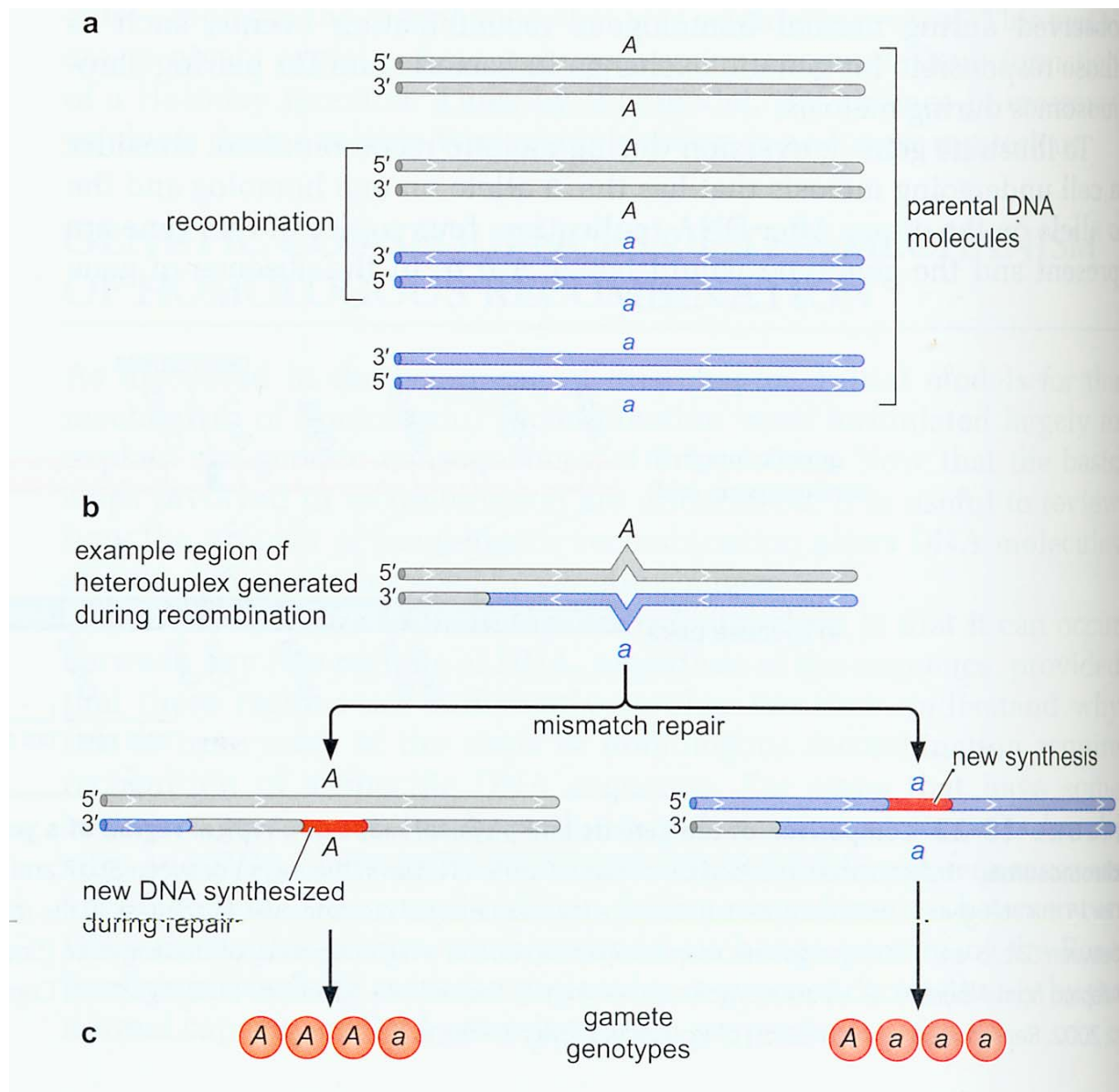


5:3



4:4

# Mismatch repair of heteroduplex DNA within recombination intermediates can give rise to gene conversion



## **Genkonversion:**

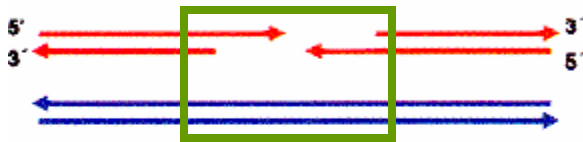
Die nicht-Mendelschen Allelverhältnisse entstehen bei Rekombination

Es kann ein ganzes Chromatid konvertiert werden (6:2 und 2:6 Verhältnisse)

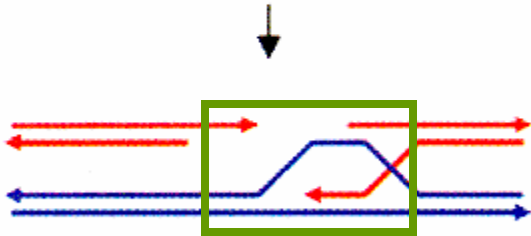
Es kann ein halbes Chromatid konvertiert werden (5:3 und 3:1:1:3) > dies muß bedeuten, dass bei der 2. meiotischen Teilung die beiden Stränge einer Doppelhelix die Information für unterschiedliche Allele tragen

Konversion erfolgt gerichtet, d.h. immer in Richtung eines der 2 Kreuzungspartner

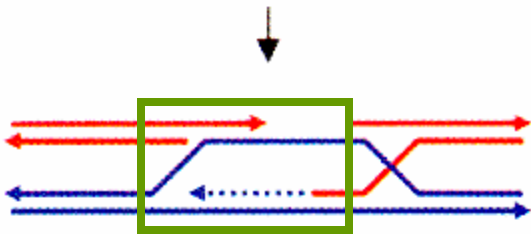
# **Das Doppelstrang-Reparatur-Modell für homologe Rekombination**



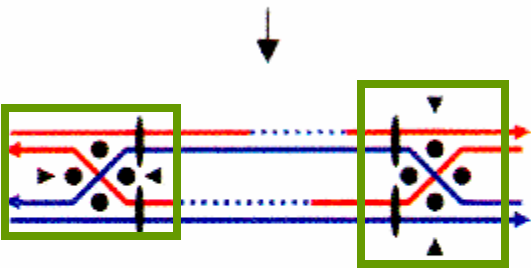
Am erweiterten Doppelstrangbruch werden die 5'-Enden zurückgeschnitten



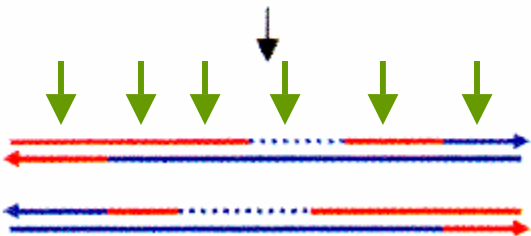
Ein Strang des nicht geschnittenen Doppelstrangs wird als Replikationsmatrize benutzt



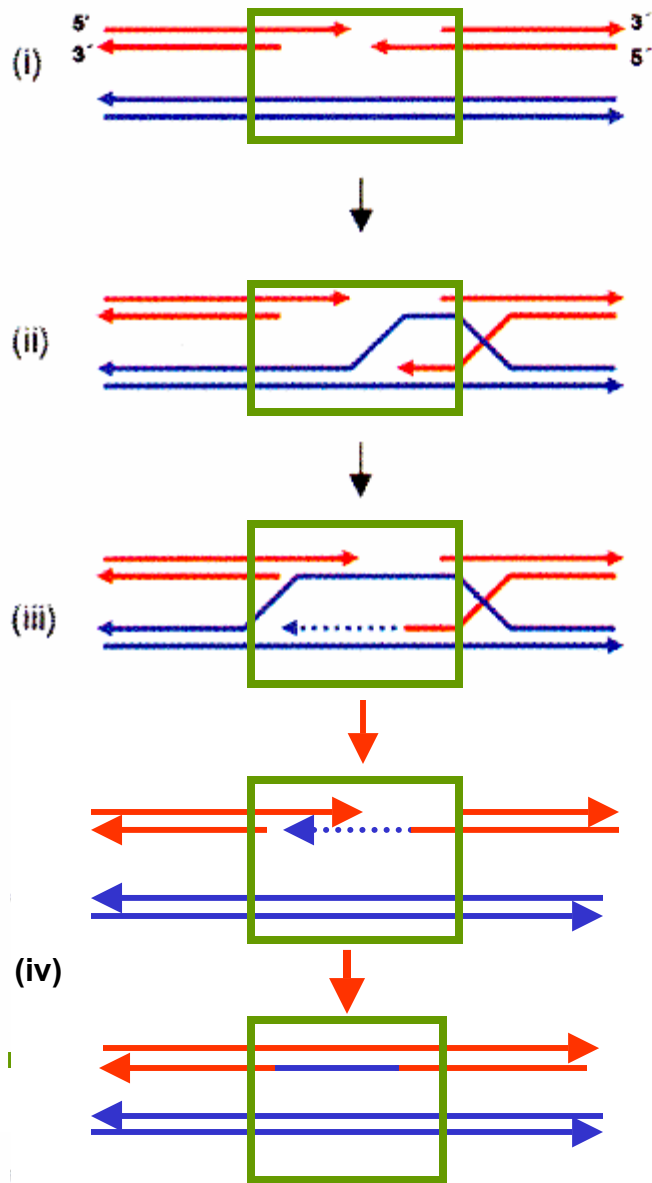
Eine Genkonversion ist unvermeidlich



Zwei Hollidaystrukturen entstehen



Durch unterschiedliche Auflösung werden im Beispiel die Außenmarker rekombinant. Die Marker-Verhältnisse unterscheiden sich ortsspezifisch



Am erweiterten Doppelstrangbruch werden die 5'-Enden zurückgeschnitten

Ein Strang des nicht geschnittenen Doppelstrangs wird als Replikationsmatrize benutzt

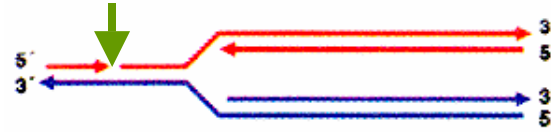
Eine Genkonversion ist unvermeidlich

**ABER**

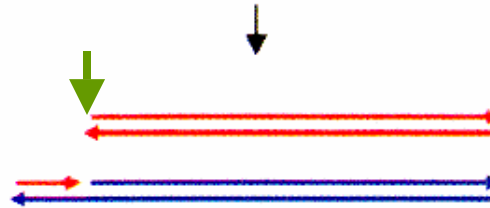
Durch direkte Auflösung kann es zu Genkonversion ohne Rekombination kommen

# Rekombination eines freien Endes: Break and Copy

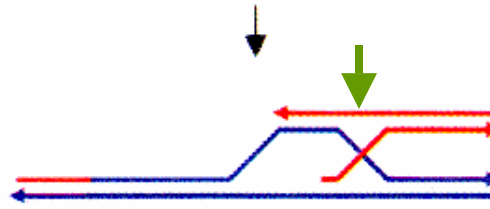
Eine Replikationsgabel trifft auf einen Strangbruch



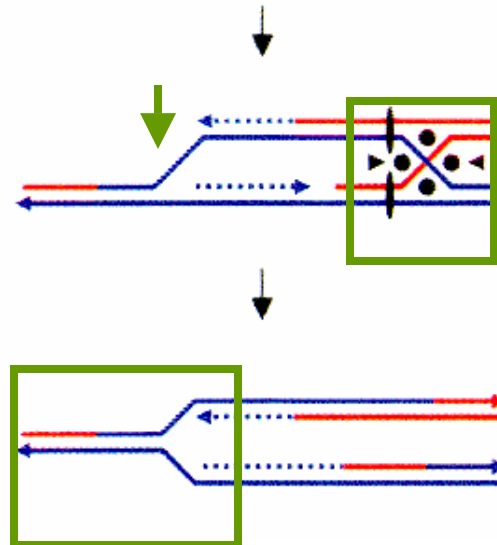
Es entsteht ein Doppelstrangende



Nach dessen Verkürzung wird Rekombination eingeleitet



Es entsteht eine neue Replikationsgabel



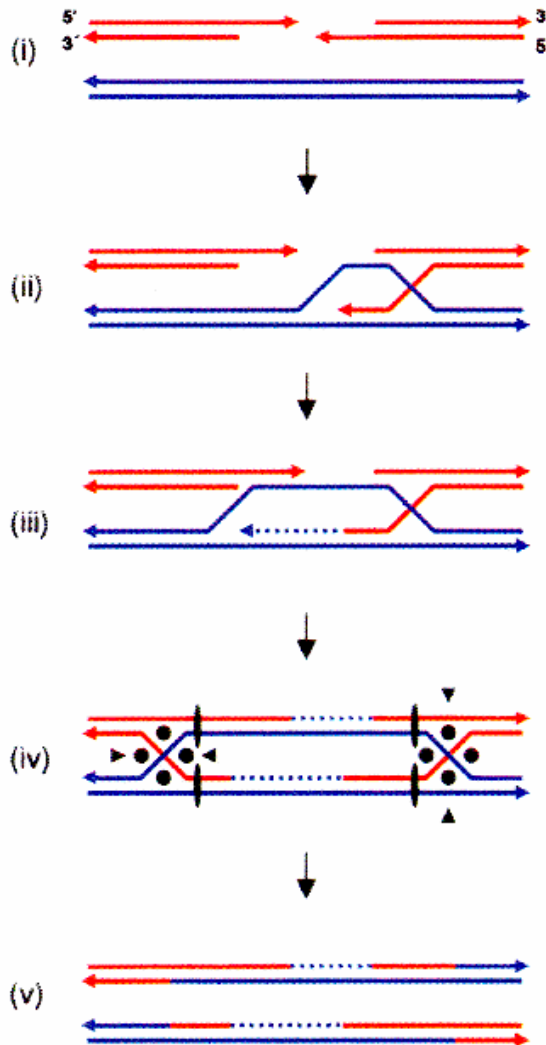
Man beachte die Strangpolarität !

## Prokaryotic and eukaryotic factors that catalyze recombination steps

Recombination Step	<i>E. coli</i> Protein Catalyst	Eukaryotic Protein Catalyst
Pairing homologous DNAs and strand invasion	RecA protein	Rad51 Dcm1 (in meiosis)
Introduction of DSB	None	Spo11 (in meiosis) HO (for mating-type switching)
Processing DNA breaks to generate single strands for invasion	RecBCD helicase/nuclease	MRX protein (also called Rad50/58/60 nuclease)
Assembly of strand exchange proteins	RecBCD and RecFOR	Rad52 and Rad59
Holliday junction recognition and branch migration	RuvAB complex	Unknown
Resolution of Holliday junctions	RuvC	Perhaps Mus81 and others

# Beteiligte Proteine

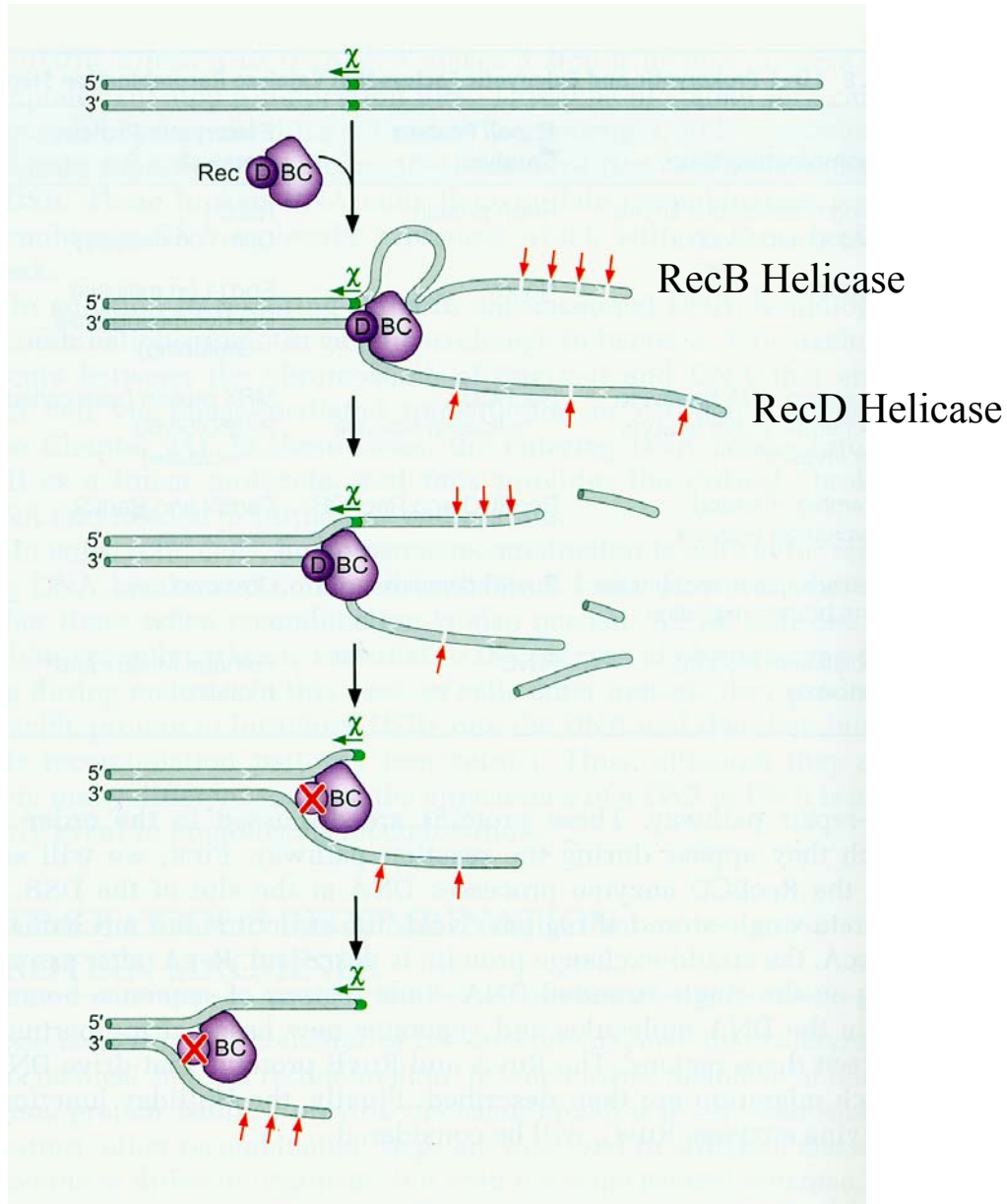
bei Hefe



Spo11, dann Mre11

Rad 51, **52**, 54  
(ATPase), RFA (=ssb)

# DNA Prozessierung durch RecBCD

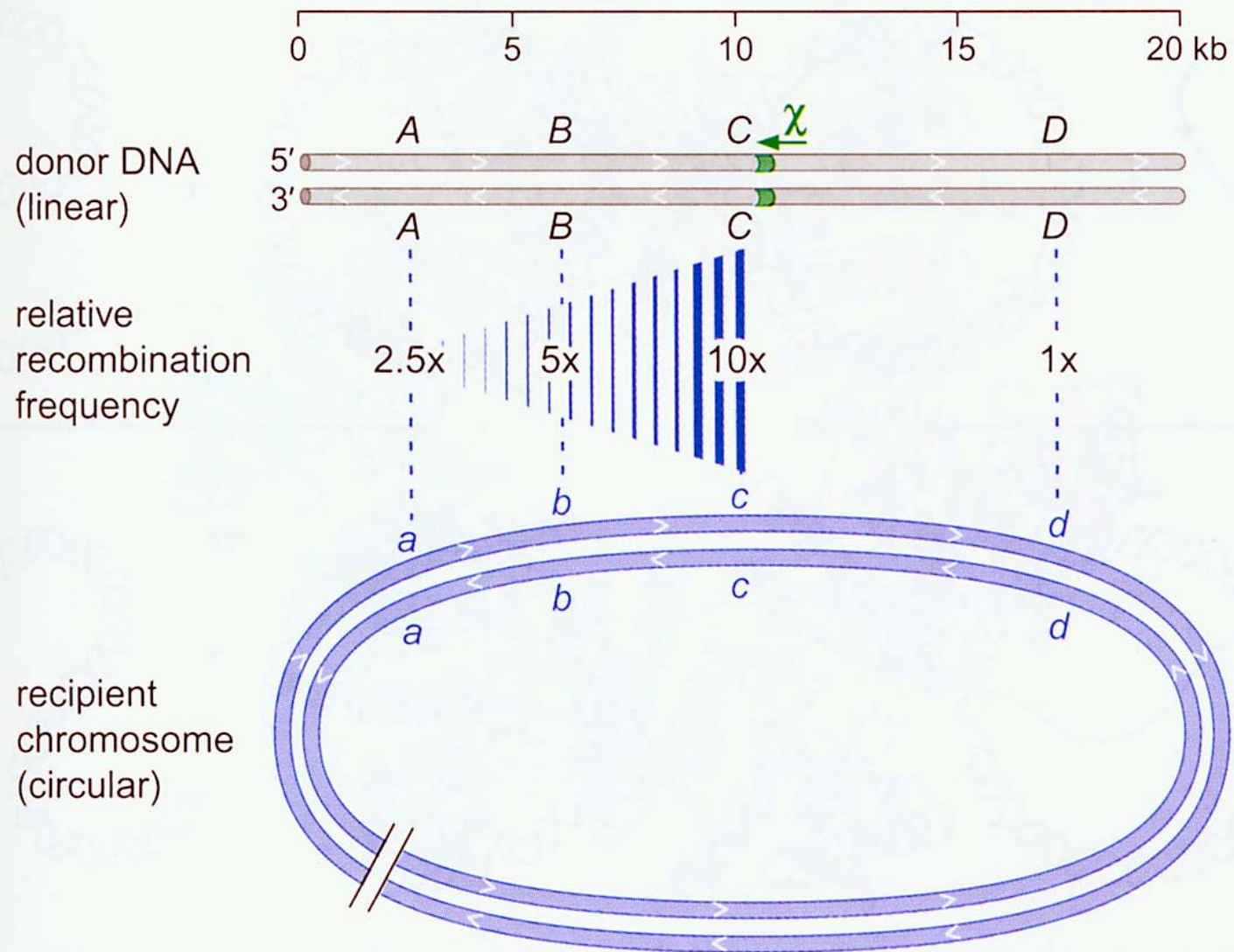


RecBCD besitzt Endonuclease Aktivität, die beide Stränge Schneidet

Wenn der Komplex von der "richtigen Seite" auf eine Chi-Sequenz trifft, wird RecD aus dem Komplex entlassen

RecBC baut das 3' Ende nicht weiter ab und rekrutiert RecA

# Die Chi-Wirkung ist polar



Chi-Sequenz 5'-GCTGGTGG-3' (ca. 1000 X im Genom von *E. coli*)