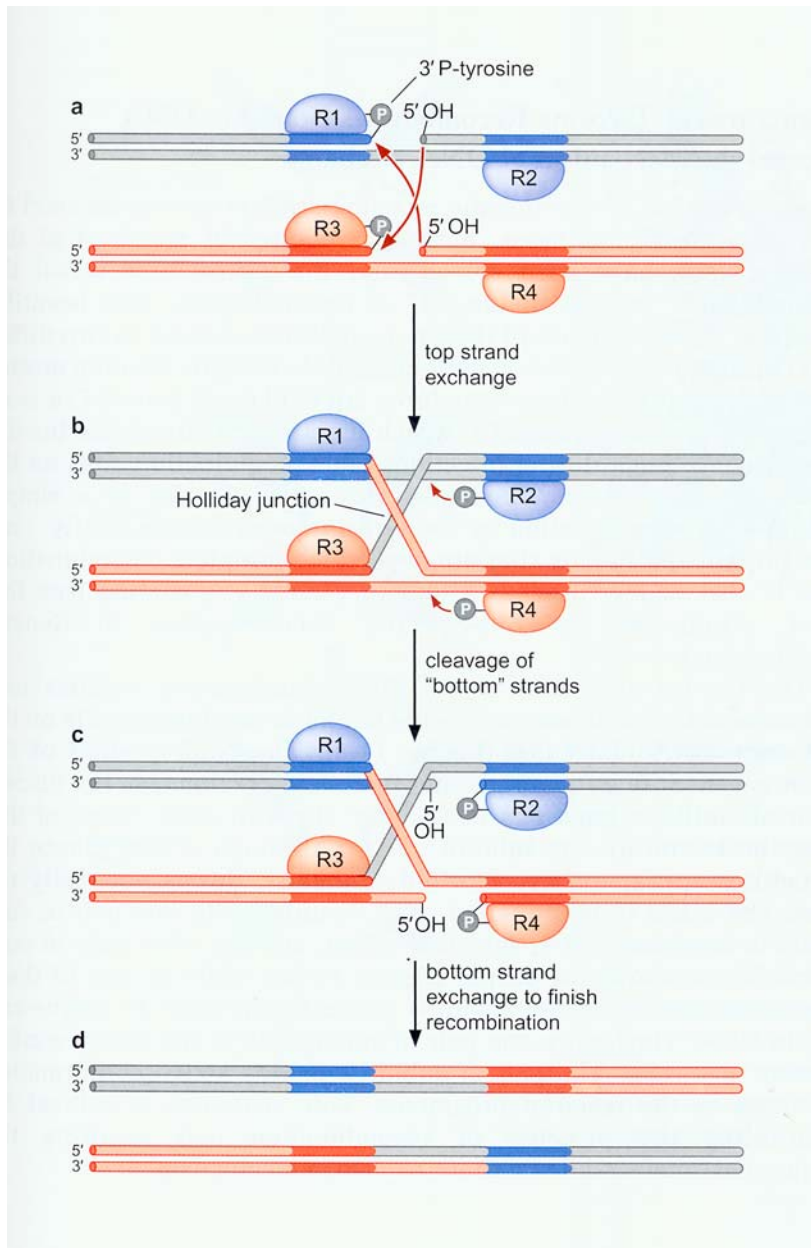


Rekombination 7

Konservative sequenzspezifische Rekombination:

- **Die Tyrosin Rekombinasen FLP und Cre und wofür man sie nutzt**
- **Die Tyrosin-Rekombinase XerCD**
- **Die Serin-Rekombinasen Hin und Gin**

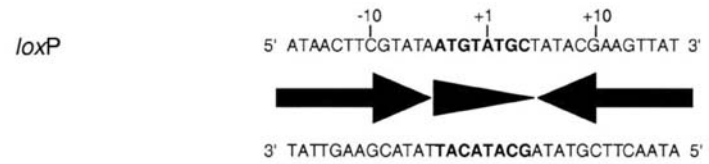
Recombination durch Tyrosin Rekombinasen



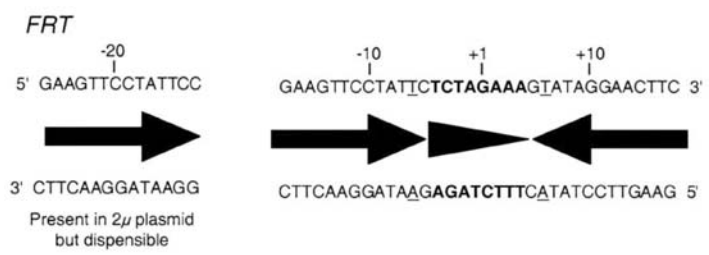
1. sequenzieller Mechanismus
2. Kovalentes Intermediat, Enzym wird mit 3' Ende der DNA verknüpft

Struktur der lox und FRT Rekombinationsstellen

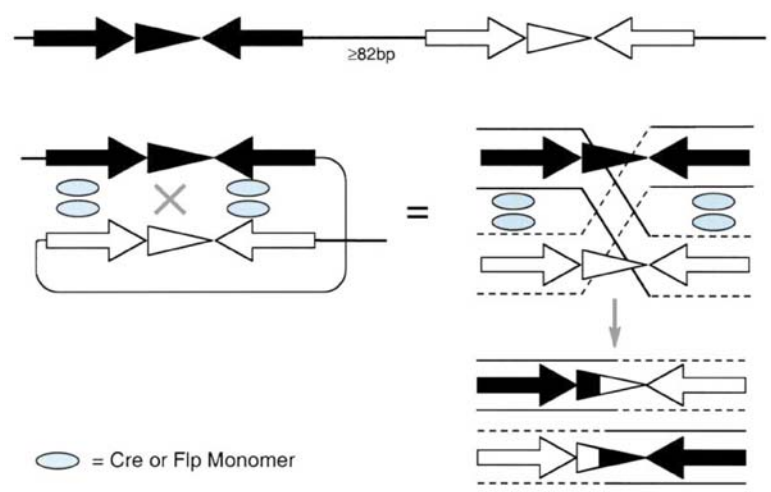
A Cre recombinase target site



B Flp recombinase target site

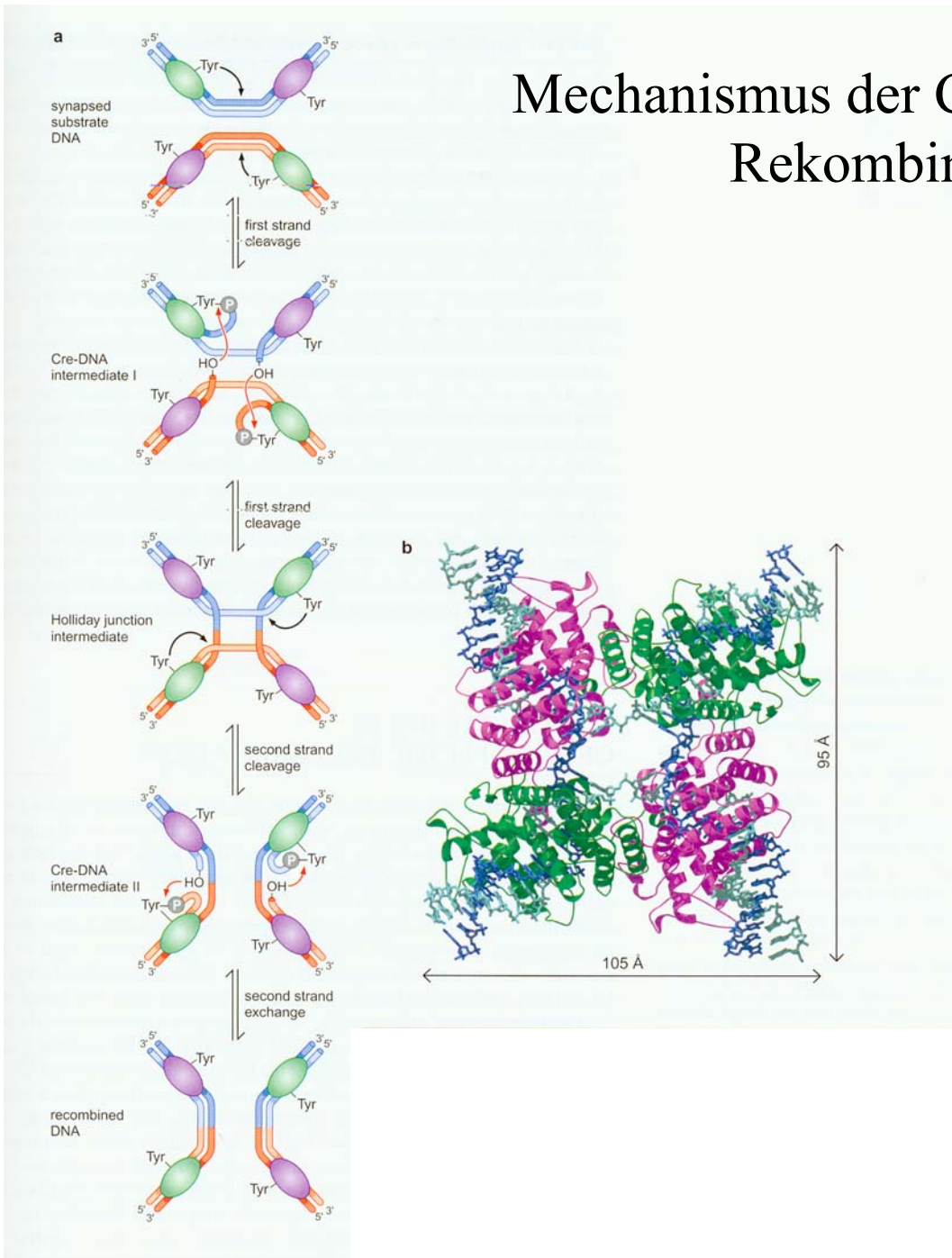


C Mechanism of Cre or Flp-mediated recombination



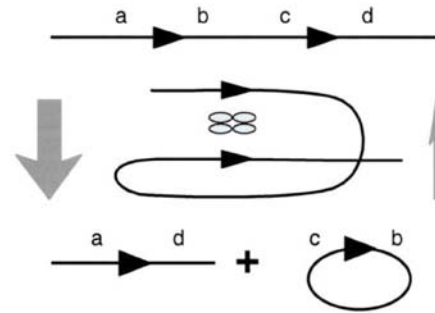
Mechanismus der Cre-abhängigen Rekombination

Tyrosin Rekombinasen bilden kovalente Komplexe mit dem 3' Ende der DNA und benutzen einen zweistufigen Reaktionsmechanismus

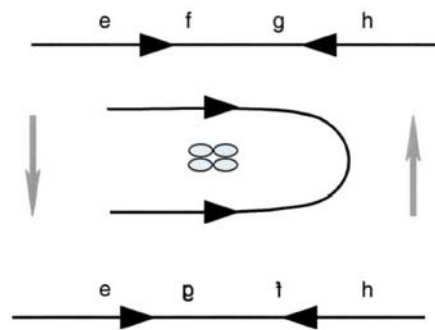


Cre und FLP katalysierte Reaktionen

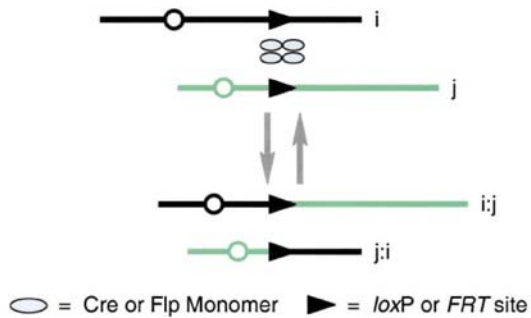
A Excision / Insertion



B Inversion

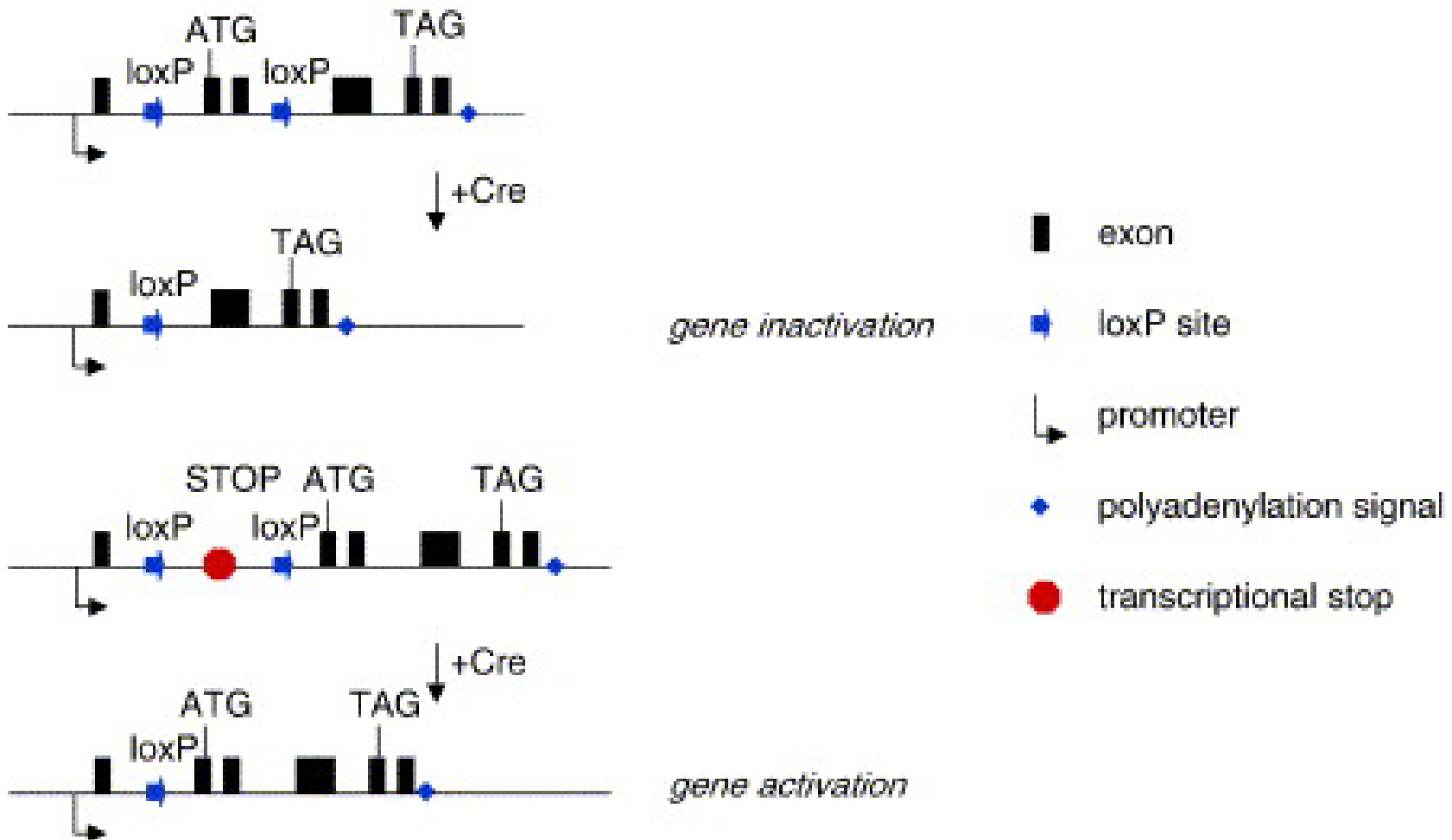


C Reciprocal translocation between non-homologous chromosomes

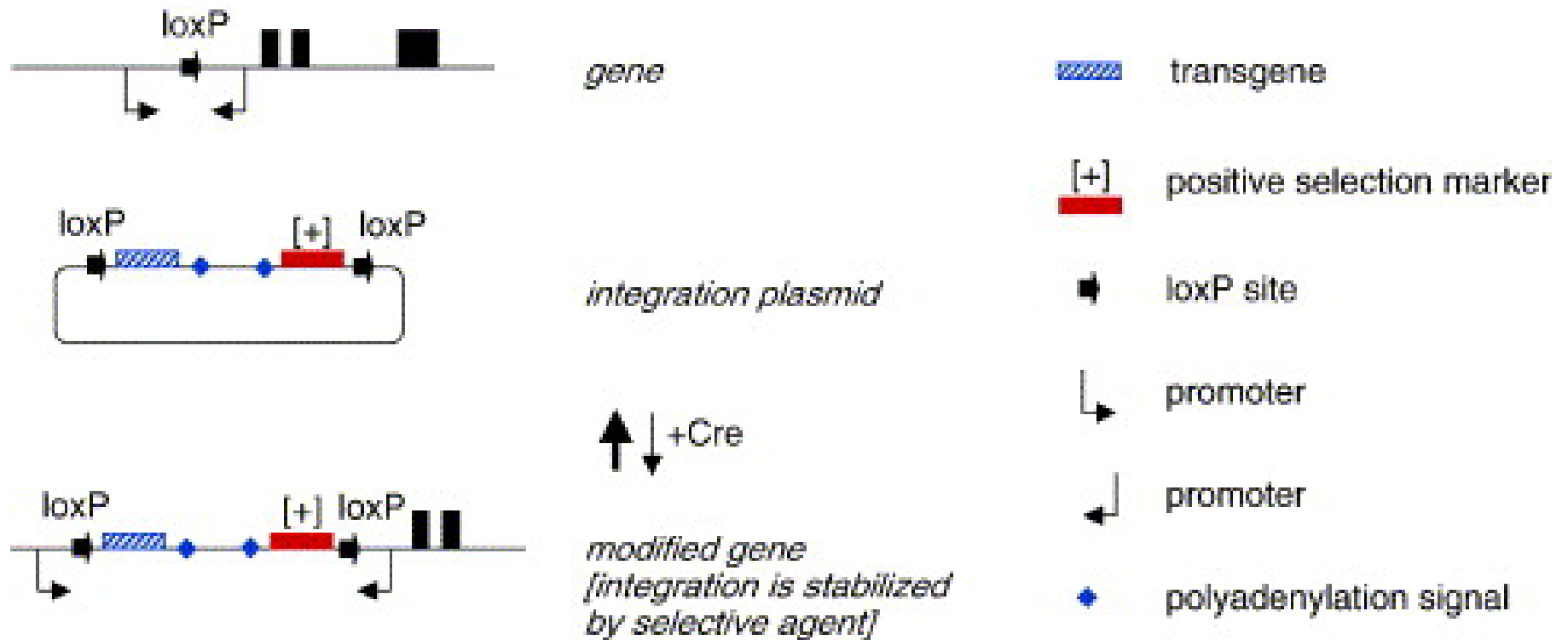


Anwendung von Cre und FLP Rekombinasen zum
Chromosomenengineering in eukaryotischen Zellen

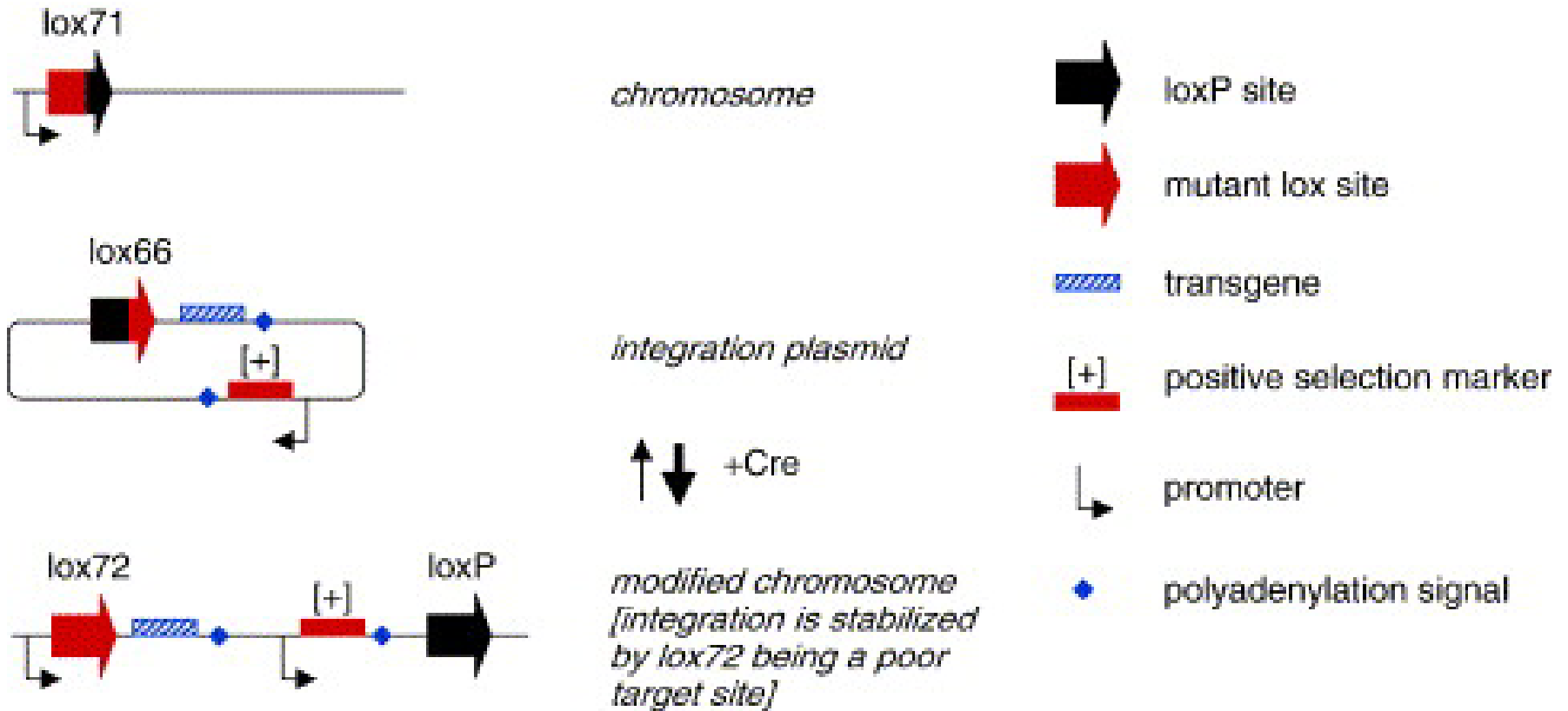
Konditionale Geninaktivierung oder Genaktivierung durch regulierte Expression von Cre



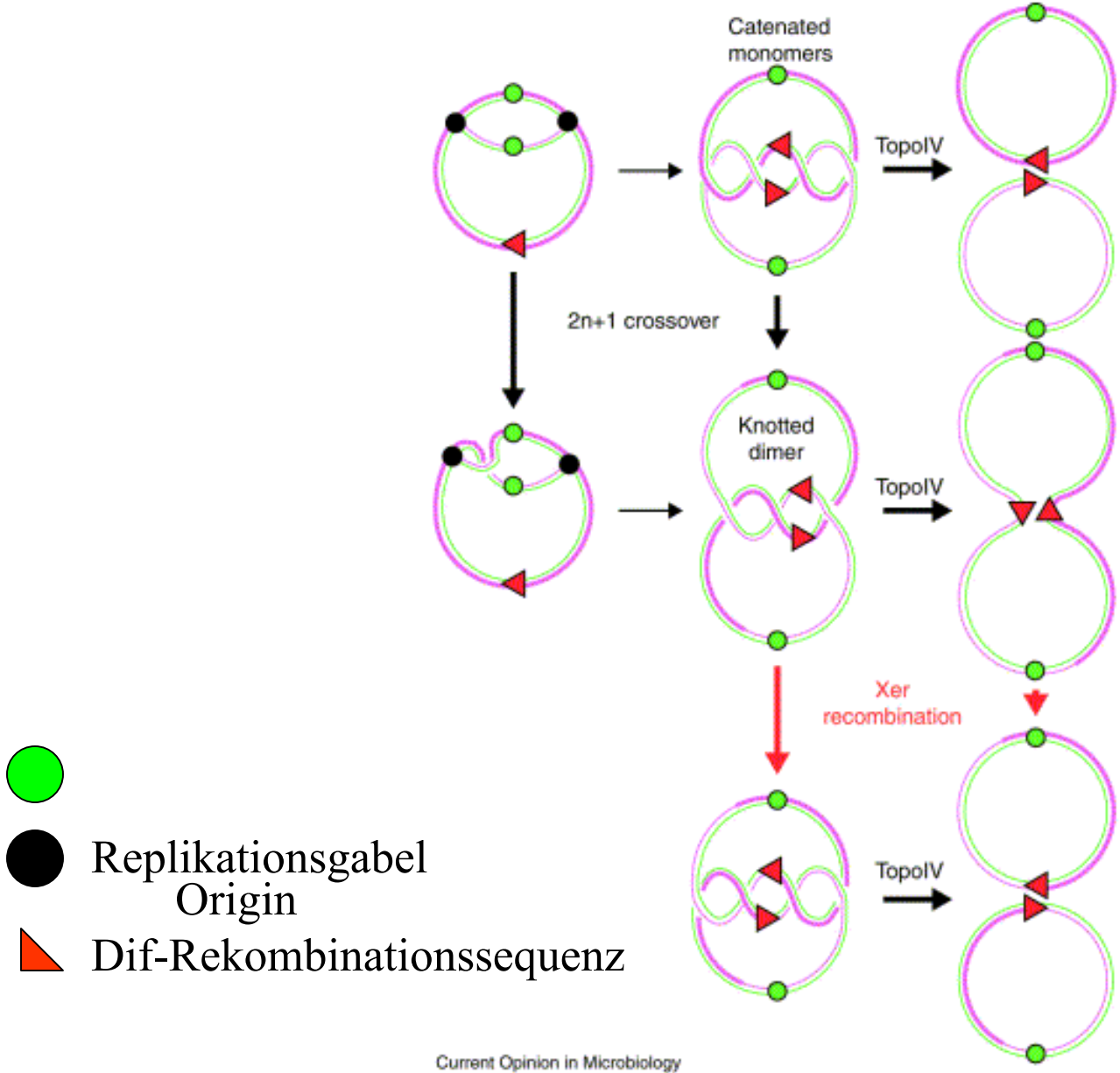
Gezielte Integration von Transgenen



Stabile Cre-abhängige Integration mit Hilfe mutierter lox Sequenzen



XerCD-abhängige Resolution von Chromosomen- und Plasmidmultimeren



Dimere entstehen in ca. jeder 7. Zellgeneration durch Rekombination der Schwesterchromosomen über ungerade Zahl an Chrossovern

Die *dif* Rekombinationssequenz liegt in der Terminusregion des *E. coli* Chromosoms

CerC und XerD katalysieren den 1. Strangaustauschschritt

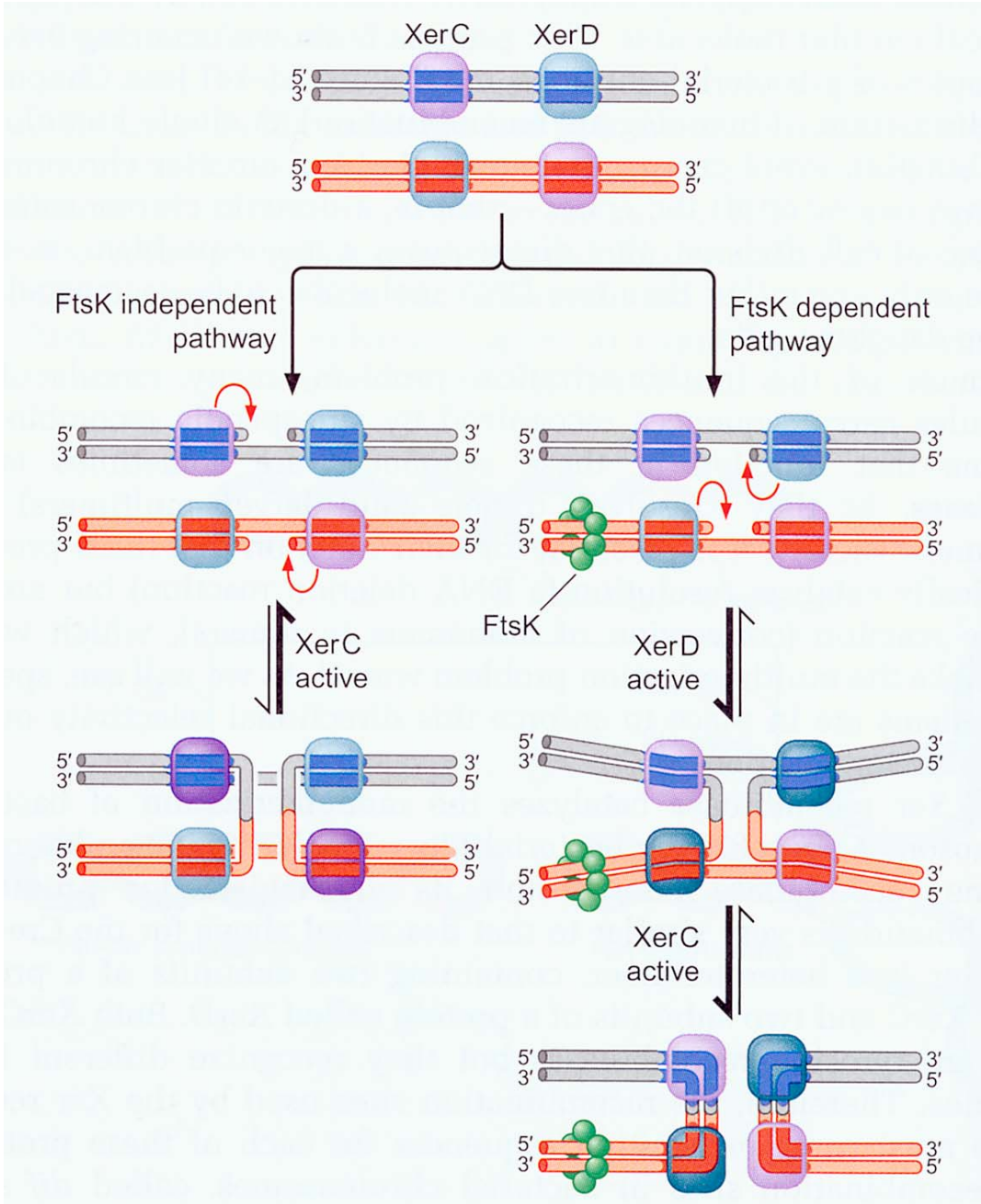
Der zweite Strangaustausch erfolgt erst, wenn *dif* in der Septumsregion lokalisiert

Am 2. Schritt ist das FtsK Protein beteiligt, ein Membranprotein, das im Septum lokalisiert

FtsK stimuliert den XerCD katalysierten Austausch des 2. DNA Stranges

Hierüber wird gewährleistet, dass Dimere aufgelöst (und nicht generiert) werden!

CerCD abhängige Rekombination an *dif* Rekombinationsstellen

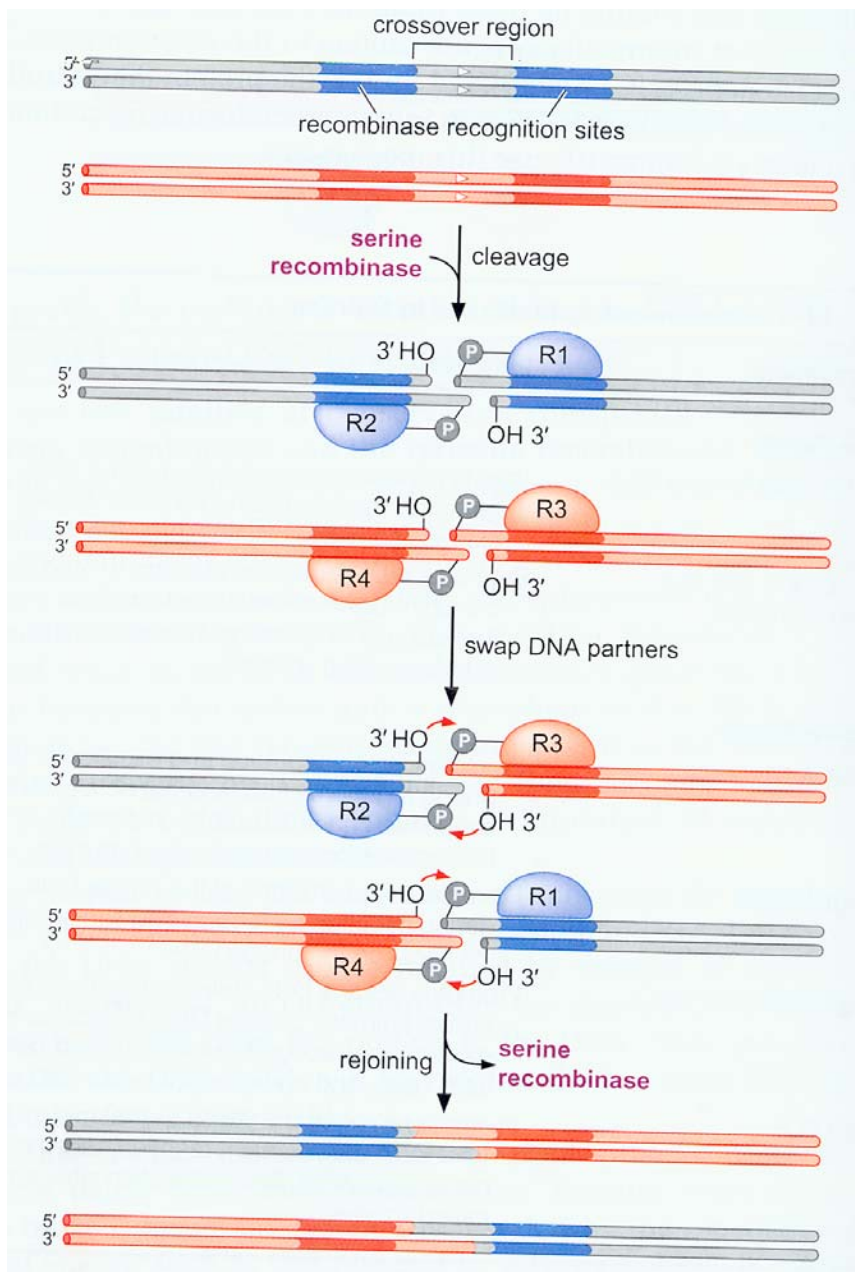


Die Serin-Rekombinasen Hin und Gin

Recombinases by family and by function

Recombinase	Function
Serine Family	
<i>Salmonella</i> Hin invertase	Inverts a chromosomal region to flip a gene promoter by recognizing <i>hix</i> sites. Allows expression of two distinct surface antigens.
Transposon Tn3 and $\gamma\delta$ resolvases	Promotes a DNA deletion reaction to resolve the DNA fusion event that results from replicative transposition. Recombination sites are called <i>res</i> sites.
Mu Gin Invertase	Promotes switch in host range of Mu phage
Tyrosine Family	
Phage λ integrase	Promotes DNA integration and excision of the phage λ genome into, and out of, a specific sequence on the <i>E. coli</i> chromosome. Recombination sites are called <i>att</i> sites.
Phage P1 Cre	Promotes circularization of the phage DNA during infection by recognizing sites (called <i>lox</i> sites) on the phage DNA.
<i>E. coli</i> XerC and XerD	Promotes several DNA deletion reactions that convert dimeric circular DNA molecules into monomers. Recognizes both plasmid-borne sites (<i>cer</i>), and chromosomal sites (<i>dif</i>) sites.
Yeast FLP	Inverts a region of the yeast 2μ plasmid to allow for a DNA amplification reaction called rolling circle replication. Recombination sites are called <i>frt</i> sites.

Rekombination durch Serin-Rekombinasen



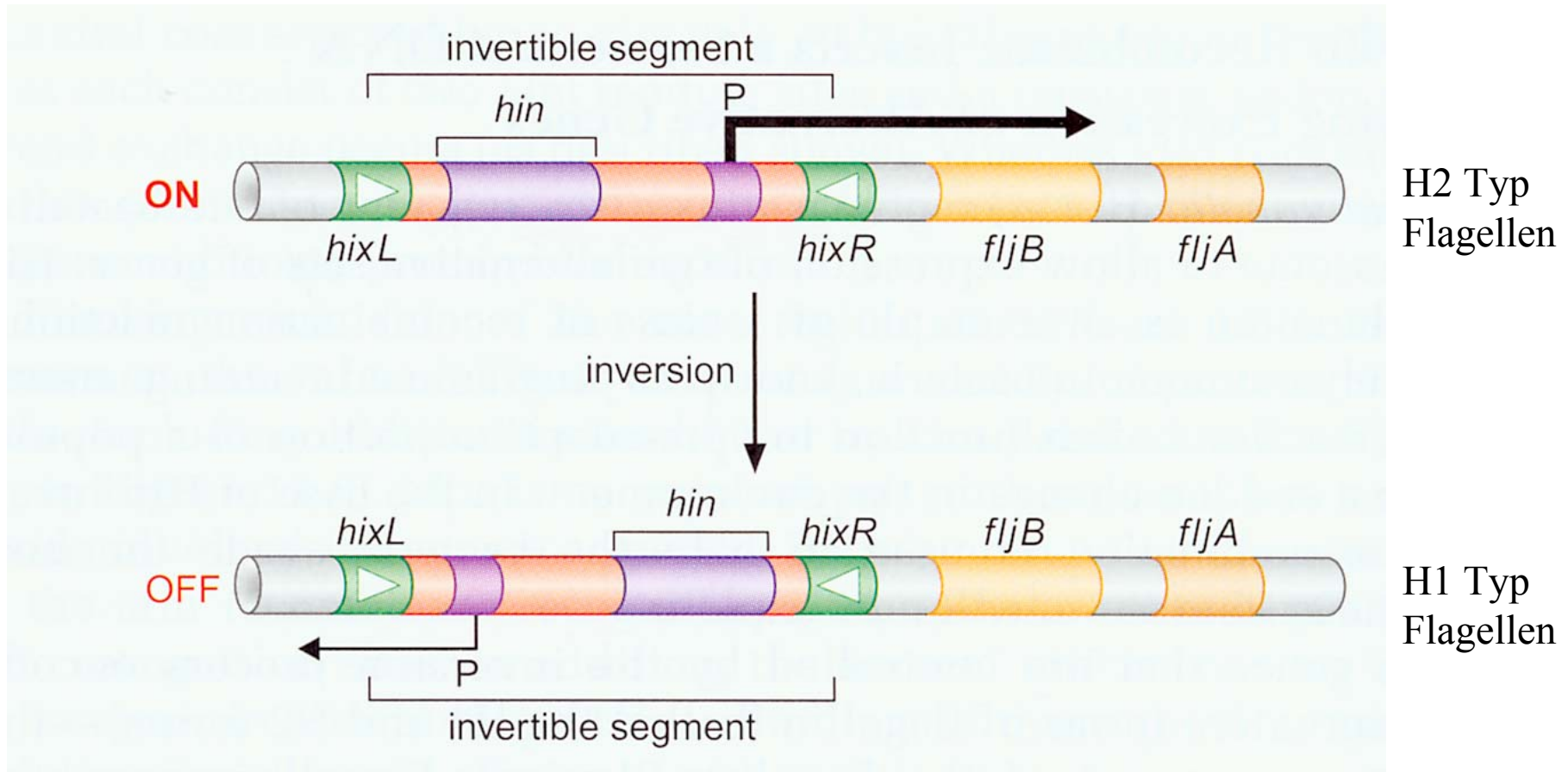
Beide Rekombinationsstellen werden auf beiden DNA Strängen geschnitten, es entsteht ein kovalentes Intermediat über eine Serinseitenkette, und einen Phosphatrest am 5' Ende des Bruchs.

Es kommt zum Austausch der geschnittenen Partner

Die 3' OH-Enden greifen die kovalente Bindung zwischen Serinseitenkette und DNA an und „revertieren“ die Reaktion.

Die Gesamtreaktion benötigt keine externe Energie

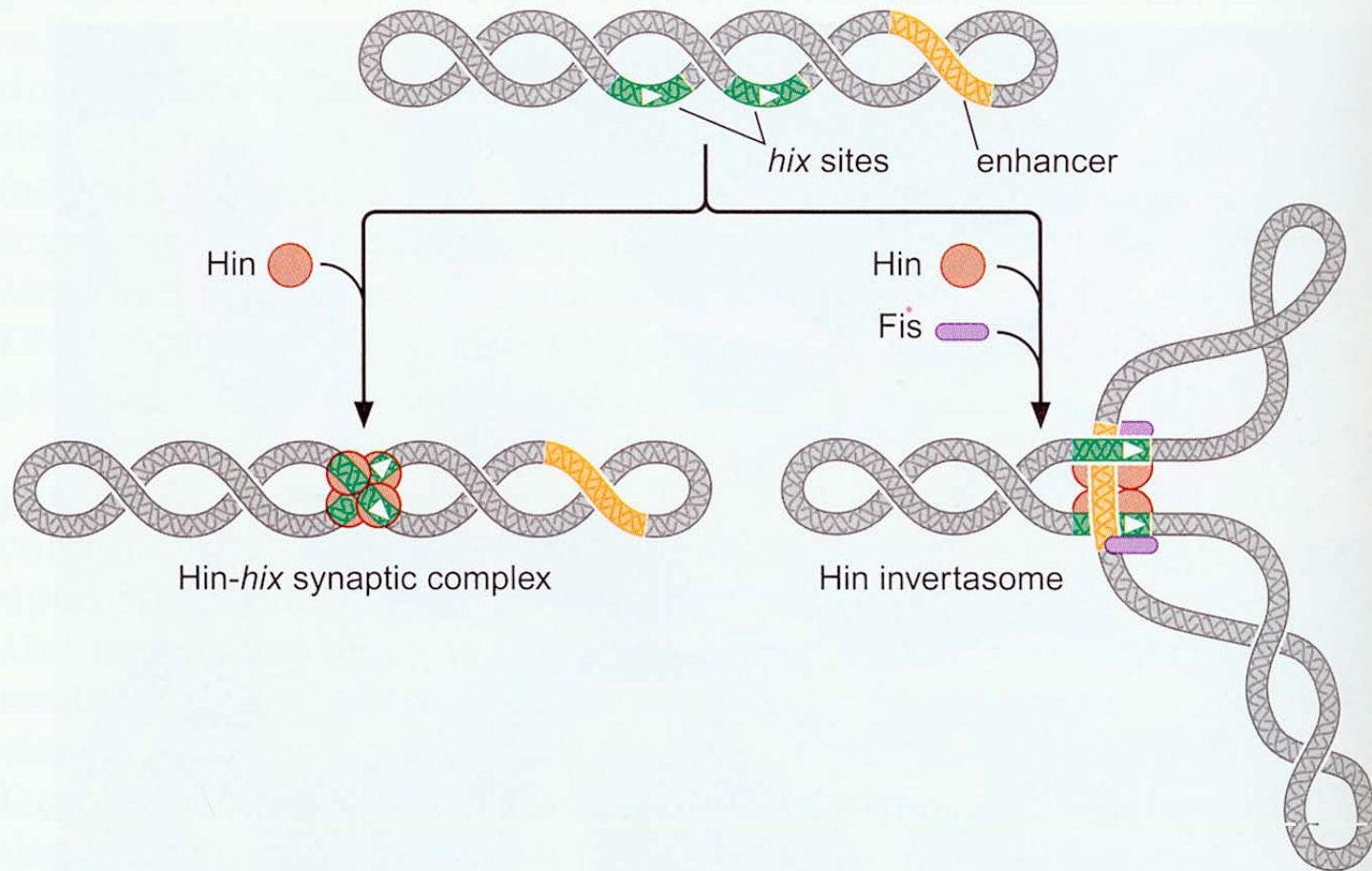
DNA Inversion durch die Hin Rekombinase von *Salmonella*



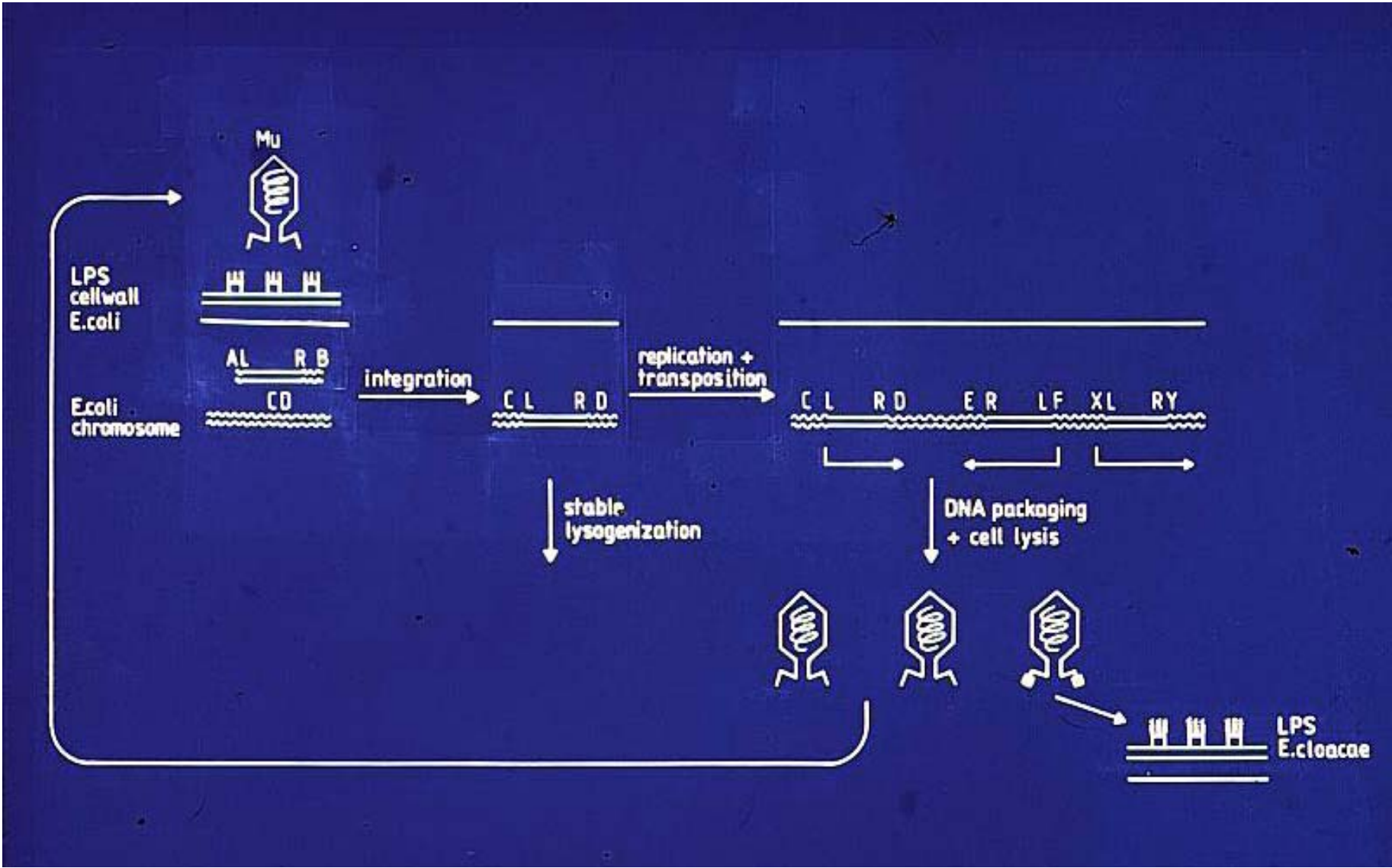
FljB: H2 Flagellin

FljA: Repressor für H1 Flagellin Gen

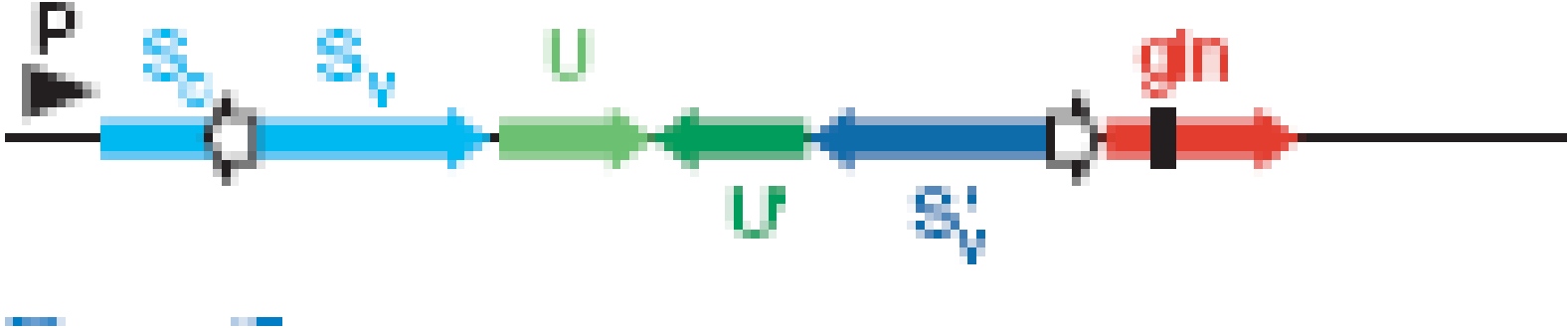
Das Hin-Invertasom: Rolle eines Enhancers und des akzessorischen FIS Proteins

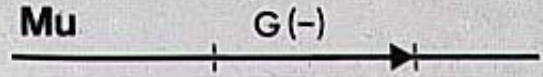
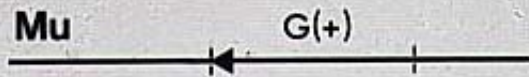


Gin abhängigen Rekombination und der Wirtsbereich des Bakteriophagen Mu



Das G Segment des Phagen Mu und die Lage codierender DNA Bereiche





E. coli K12



E. cloacae



S. marcescens S_b

