

Einführung in die DNA-Topologie

Benedikt Röder

Benedikt.Roeder@uni-muenster.de

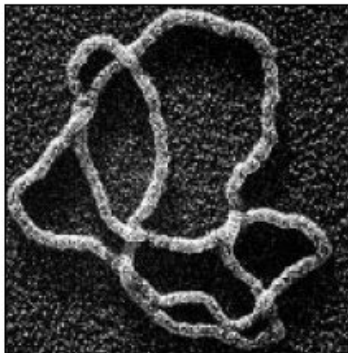
16. Februar 2009

Überblick

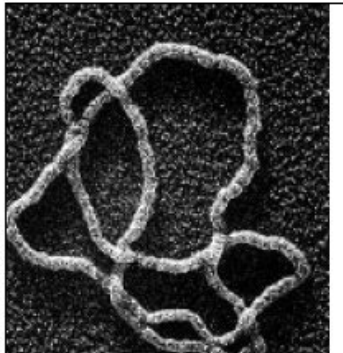
- 1 Motivation
- 2 Das Tangle-Modell
- 3 Tn3-Resolvase
- 4 Gin und der Bakteriophage Mu

Motivation

Mutationen von DNA-Strängen durch lokale Rekombinationen lassen sich durch mathematische Methoden aus der Knotentheorie beschreiben und analysieren. Dies ermöglicht es Aussagen über DNA-Mutationen zu erhalten ohne aufwendige Experimente und Studien im Labor durchzuführen.

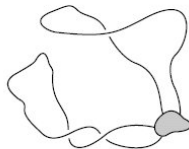
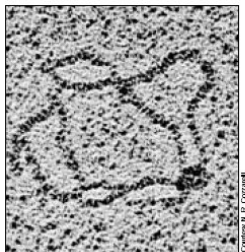


Courtesy N. R. Cozzarelli

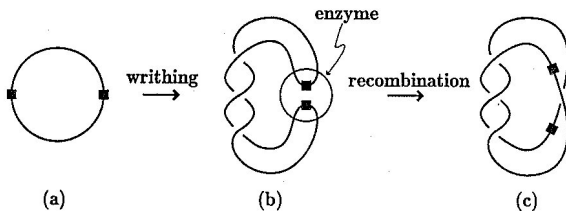


Courtesy N. R. Cozzarelli and A. Sinsch

Eine lokale Rekombination wird durch ein Enzym hervorgerufen. Der dunkle Fleck auf dem linken Bild ist ein solches Enzym, welches sich an den DNA-Strang gebunden hat.



Bei einer lokalen Rekombination werden erst die beiden Mutationsorte zusammengeführt (writhing) und dann durch das Enzym gebunden. Dann kommt es zur eigentlichen Rekombination an den Mutationsorten.

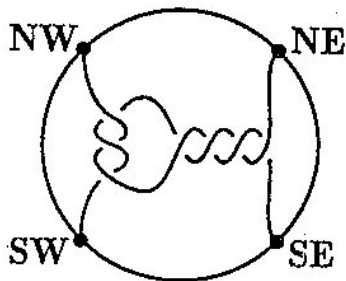


Das Tangle-Modell

Betrachtet man einen dreideimensionalen Ball mit 4 explizit gewählten Punkten, von denen jeweils zwei durch einen Strang verbunden sind, so nennt man dies ein Tangle. Normalerweise betrachtet man allerdings die Projektion dieser Kugel auf eine Ebene und arbeitet mit dieser.

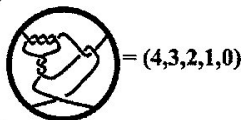
Das Tangle-Modell

Betrachtet man einen dreideimensionalen Ball mit 4 explizit gewählten Punkten, von denen jeweils zwei durch einen Strang verbunden sind, so nennt man dies ein Tangle. Normalerweise betrachtet man allerdings die Projektion dieser Kugel auf eine Ebene und arbeitet mit dieser.

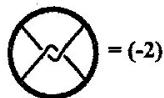


Es gibt verschiedene Arten von Tangles. In der DNA-Topologie sind aber nur die rationalen Tangles (siehe A.(a)) von Bedeutung.

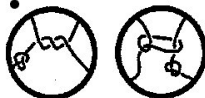
A. (a)



(a')



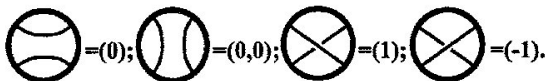
(b)



(c)

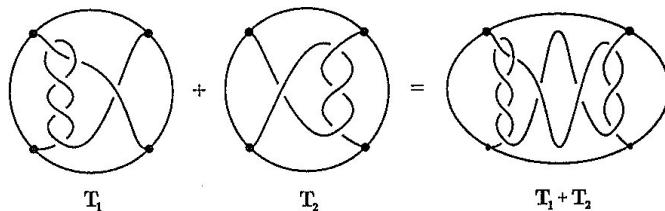


B.



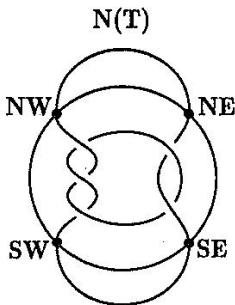
Tangle-Addition

Zwei Tangles können addiert werden, indem die rechte Seite des linken Tangles an die linke Seite des rechten Tangles geklebt wird.



Der Zähler eines Tangles

Der Zähler eines Tangles entsteht durch verbinden der beiden oberen Punkte und der beiden unteren Punkte durch jeweils einen Strang. Dadurch entsteht aus einem Tangle ein Knoten bzw. eine Verschlingung aus mehreren Knoten.

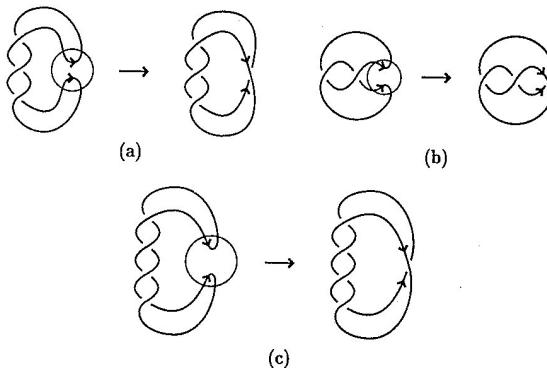


Orientierung

Durch die Beschaffenheit der DNA lässt sich an den Mutationsorten eine lokale Orientierung angeben.

Bei 'direct repeats' ergibt sich dadurch eine globale Orientierung. (siehe (a))

Bei 'inverted repeats' ist dies nicht möglich(siehe(c)).



Biologische Voraussetzungen

Bevor eine lokale Rekombination beschrieben werden kann, werden einige biologische Voraussetzungen benötigt:

Biologische Voraussetzungen

Bevor eine lokale Rekombination beschrieben werden kann, werden einige biologische Voraussetzungen benötigt:

Die Rekombination ist ein konstanter enzym-spezifischer Mechanismus, d.h. sie ist unabhängig von der Geometrie (Supercoil) und Topologie (Knoten bzw. Verknüpfung von Knoten) des Substrats.

Die Rekombination kann mehrfach auftreten, ist aber immer derselbe Mechanismus im Verlauf des Mutationsprozesses.

Tangles in der DNA-Topologie

Ringförmige geschlossene DNA lässt sich als Zähler eines rationalen Tangles darstellen. Dies wird genutzt, indem das DNA-Substrat vor der Rekombination und das DNA-Produkt nach der Rekombination als Zähler der Summe zweier rationaler Tangles darstellt wird.

Tangles in der DNA-Topologie

Ringförmige geschlossene DNA lässt sich als Zähler eines rationalen Tangles darstellen. Dies wird genutzt, indem das DNA-Substrat vor der Rekombination und das DNA-Produkt nach der Rekombination als Zähler der Summe zweier rationaler Tangles dargestellt wird.

$$\begin{aligned} N(O + E) &= \text{Substrat} \\ N(O + R) &= \text{Produkt} \end{aligned}$$

O ='outside tangle'

E ='event tangle'

R ='recombination tangle'

Tangles in der DNA-Topologie

Ringförmige geschlossene DNA lässt sich als Zähler eines rationalen Tangles darstellen. Dies wird genutzt, indem das DNA-Substrat vor der Rekombination und das DNA-Produkt nach der Rekombination als Zähler der Summe zweier rationaler Tangles dargestellt wird.

$$\begin{aligned}N(O + E) &= \text{Substrat} \\ N(O + R) &= \text{Produkt}\end{aligned}$$

O ='outside tangle'

E ='event tangle'

R ='recombination tangle'

Mehrfache Reaktion des Enzyms wird durch mehrfache Addition von R dargestellt. Das n -te Produkt ist also von der Form $N(O+nR)$.

Tn3-Resolvase

Im Folgenden werden die eingeführten Methoden konkret am Beispiel der Tn3-Resolvase ausgeführt.

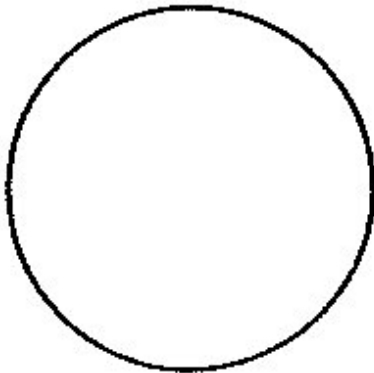
Tn3-Resolvase

Im Folgenden werden die eingeführten Methoden konkret am Beispiel der Tn3-Resolvase ausgeführt.

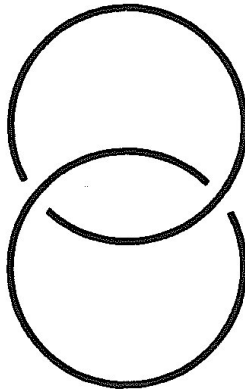
Soll das Enzym Tn3-Resolvase analysiert werden, so wird es mit unverknoteten DNA-Strängen zur Reaktion gebracht. Hierbei ist zu beachten, dass Tn3-Resolvase nur mit Substraten mit 'direct repeats' reagiert.

Nach der Reaktion entstehen die folgenden Lösungen:

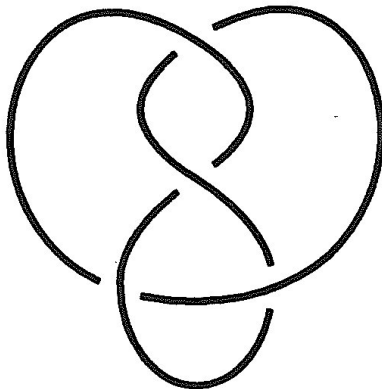
$N(O + E) = \text{trivialer Knoten}$



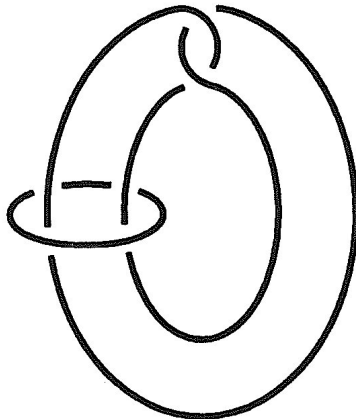
$N(O + R) = \text{Hopf-Verschlingung}$



$N(O + R + R) = \text{figure-8 Knoten}$

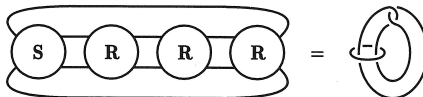
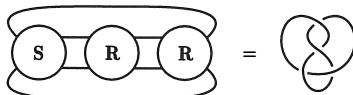
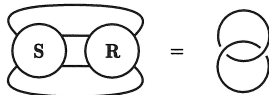
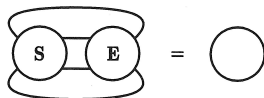


$N(O + R + R + R) = \text{Whitehead-Verschlingung}$

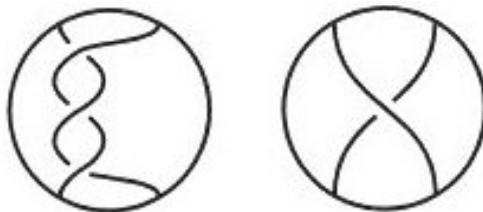


Zusammenfassung

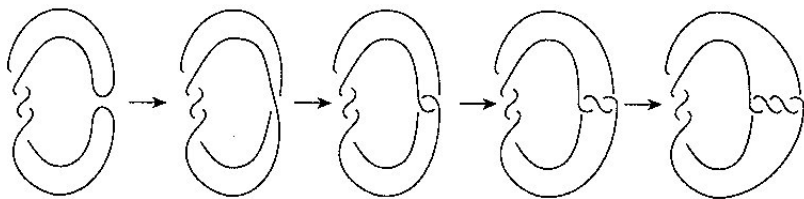
Hier werden nochmal das Substrat und alle Produkte aufgelistet:



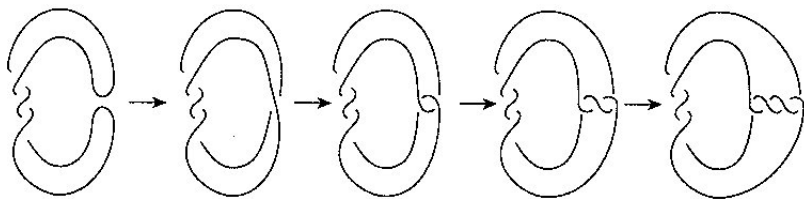
Nachdem das Substrat und die Produkte bekannt sind, können durch topologische Methoden die Tangles S und R berechnet werden:



Hier werden alle Produkte aufgelistet, welche durch den Zähler der Tangle-Summe entstehen.

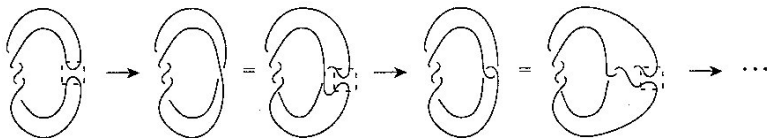


Hier werden alle Produkte aufgelistet, welche durch den Zähler der Tangle-Summe entstehen.

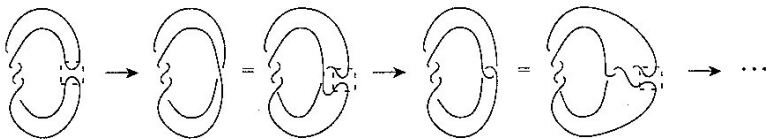


Die aufgeführten Knoten bzw. Verschlingungen sind äquivalent zu den vorher gezeigten Produkten, d.h. sie lassen sich durch Verformen der einzelnen Stränge in die gezeigten Produkte umformen.

Zum Abschluss wird nochmal genau gezeigt, wie die einzelnen Rekombinationsschritte ablaufen.



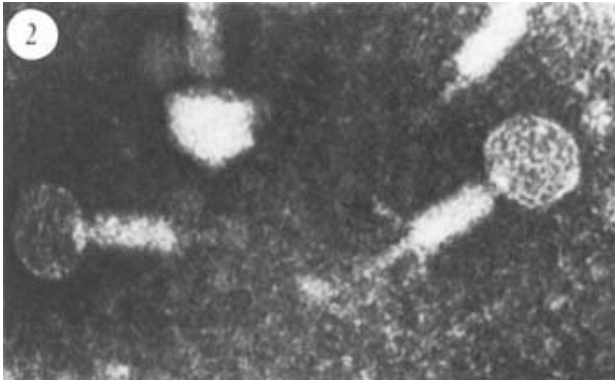
Zum Abschluss wird nochmal genau gezeigt, wie die einzelnen Rekombinationsschritte ablaufen.



Durch die so erhaltenen Tangles lassen sich alle weiteren Rekombinationsschritte berechnen und es werden keine weiteren Experimente im Labor benötigt.

Gin und der Bakteriophage Mu

Bakteriophagen sind Viren, welche Bakterien befallen und diese verändern. In der medizinischen Forschung werden Bakteriophage als Alternative zu Antibiotika erforscht, da immer mehr Bakterien Resistenzen entwickeln.



Mu ist ein Bakteriophage, der verschiedene *E.coli*-Bakterien befällt. Dabei ist in einem bestimmten Abschnitt der Phagen-DNA, dem sog. G-Segment, codiert, welche Bakterien befallen werden.

Mu ist ein Bakteriophage, der verschiedene *E.coli*-Bakterien befällt. Dabei ist in einem bestimmten Abschnitt der Phagen-DNA, dem sog. G-Segment, codiert, welche Bakterien befallen werden.

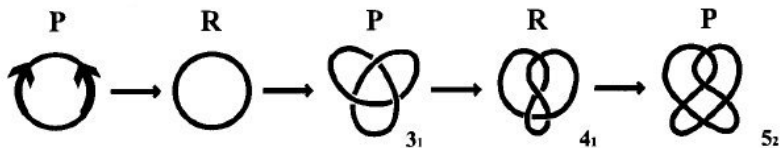
Gin ist ein Enzym, welches bei Mu dieses G-Segment invertiert und dadurch ermöglicht, dass Mu andere Bakterien befallen kann.

Mu ist ein Bakteriophage, der verschiedene *E.coli*-Bakterien befällt. Dabei ist in einem bestimmten Abschnitt der Phagen-DNA, dem sog. G-Segment, codiert, welche Bakterien befallen werden.

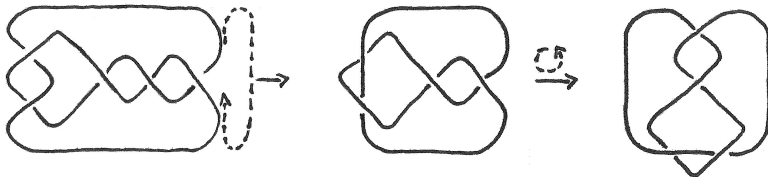
Gin ist ein Enzym, welches bei Mu dieses G-Segment invertiert und dadurch ermöglicht, dass Mu andere Bakterien befallen kann.

Dabei reagiert Gin sowohl mit Substraten mit 'direct repeats' als auch mit Substraten mit 'inverted repeats'.

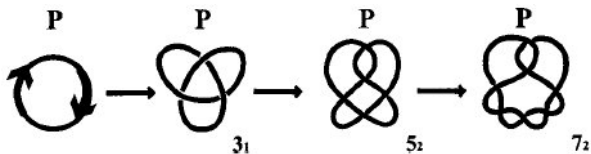
Substrat mit 'inverted repeats'



Hier ergeben sich als Lösung für die beiden Tangles O und R die Tangles $T(2,0)$ und $T(-1)$.



Substrat mit 'direct repeats'



Literatur

- Lifting the Curtain: Using Topology to probe the hidden action of Enzymes, De Wit Sumners, (1995) Notices of the AMS, Vol. 42, No. 5
- A calculus for rational tangles: applications to DNA recombination, C. Ernst and D. W.Sumners, (1990) Math. Proc. Cambridge Philos. Soc. 108, No.3, 489-515