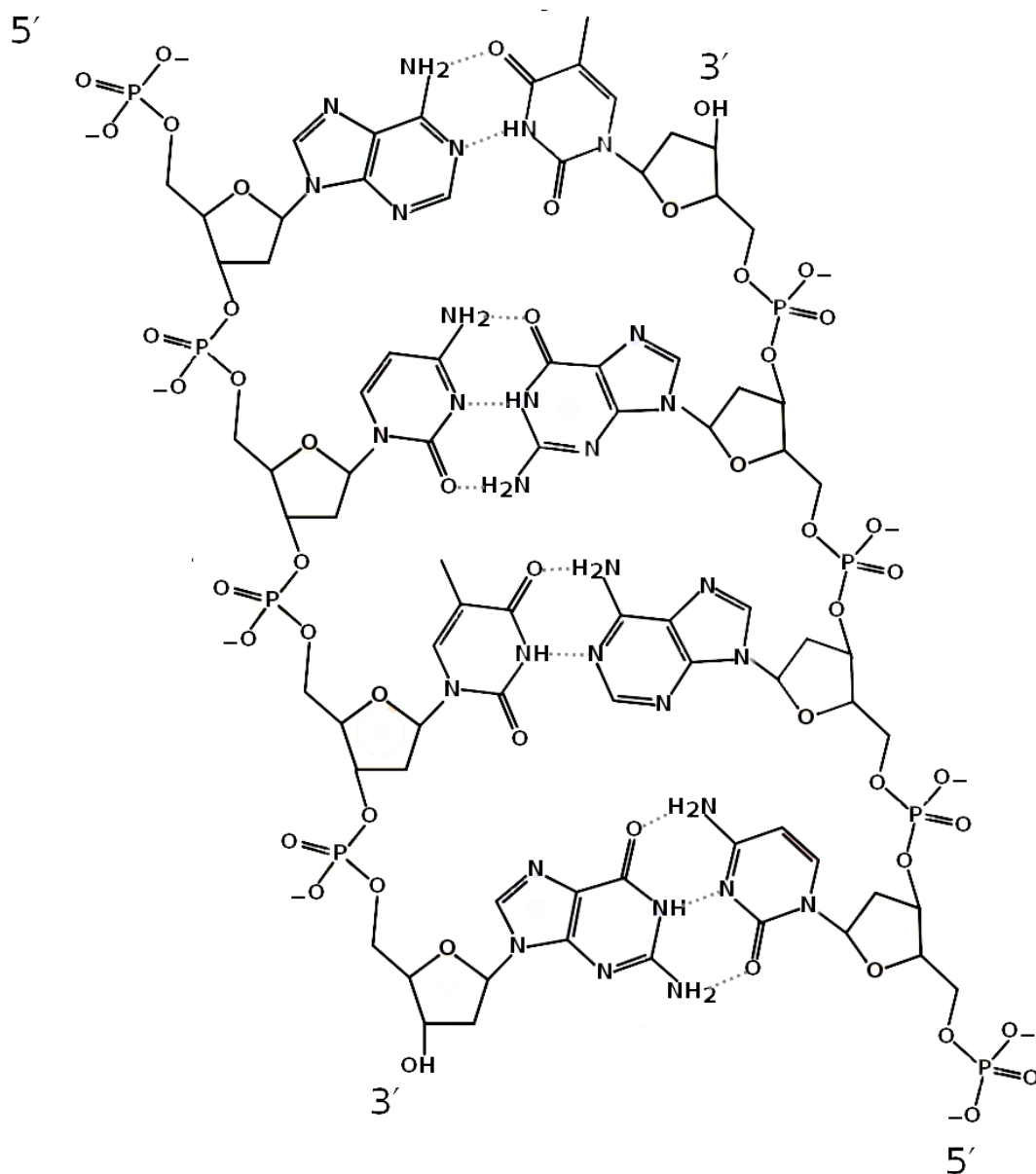


Bakteriers DNA.

Bakterier indeholder ligesom alle andre levende organismer DNA. I denne øvelse skal du undersøge genet, der koder for DNA polymerase I, *polA*, hos 6 bakterier, og undersøge om der er tilpasninger til det miljø, bakterierne lever i. Men før du går i gang skal du først svare på nogle spørgsmål om DNA's opbygning.

DNA's opbygning.

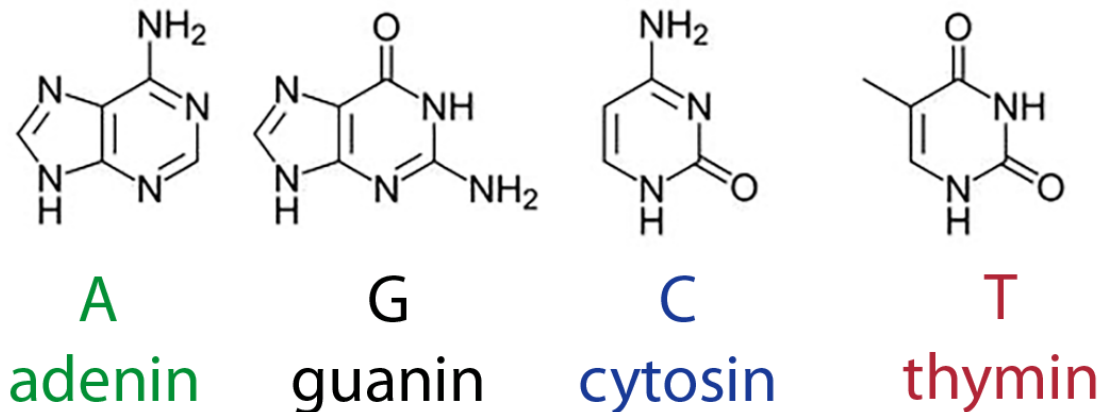
Se først på DNA strengen på figur 1:



Figur 1. Udsnit af DNA streng.

1. Beskriv DNA strengens opbygning. Brug følgende fagtermer: Phosphatgruppe, deoxyribose, nitrogenholdige baser, læseretning, hydrogenbindinger, baseparring, komplementære baser, antiparallel.

Du skal nu prøve at bestemme DNA baserækkefølgen i DNA strengen vist i figur 1. Den kemiske struktur af de fire DNA baser er vist i figur 2. Antag at den kodende streng er strengen til venstre.



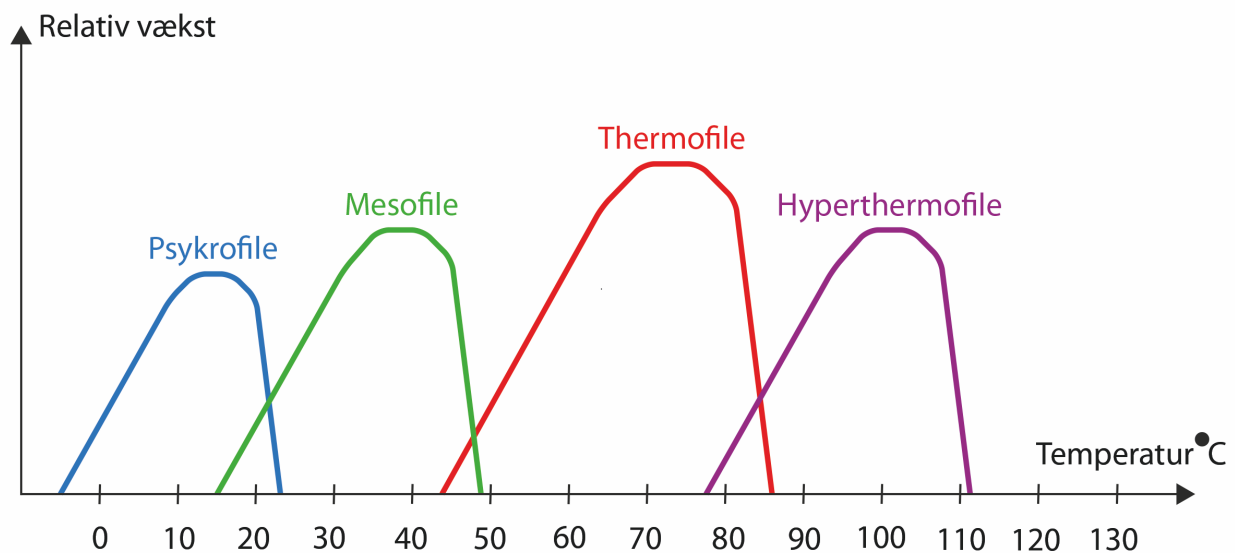
Figur 2. De fire DNA basers kemiske struktur

2. Hvorfor skal DNA basernes rækkefølge skrives fra oven og ned i den kodende streng vist til venstre på figur 1?
3. Skriv DNA rækkefølge for den kodende streng vist i figur 1.
4. Hvilke DNA baser parrer med hinanden.
5. På figur 1 ses, at et DNA basepar danner to hydrogenbindinger og at det andet DNA basepar danner 3 hydrogenbindinger. Hvilket DNA basepar danner 2 bindinger, og hvilket danner 3 bindinger?
6. Overvej, hvilken betydning antallet af hydrogenbindinger har for hvor stærkt to DNA baser binder til hinanden?
7. Se på de to DNA strenge på figur 3. Hvilken af de to DNA strenge vil kræve mest energi at få til at denaturere (gå fra hinanden)

Bakterier.

Bakterier findes overalt på jorden og i meget forskellige miljøer. Nogle lever i jorden og er derfor tilpasset temperaturen i den klimazone der vokser i, andre lever i vores tarmsystem og er tilpasset 37°C, men der findes også bakterier der er tilpasset mere ekstreme miljøer. Forskere har f.eks fundet bakterier der lever i issøjler i Ikka-fjorden i Grønland, bakterier der lever i meget varme vulkanske kilder. For nyligt har forskere endda fundet ud af at der er bakterier der lever i jordens skorpe, helt op til 260 m under dybhavet, hvor der også er meget varmt.

Man inddeler bakterier i 4 hovedgrupper, alt efter om de er tilpasset kolde, mellem eller varme forhold. På figur 4 ses en figur, der viser de fire hovedgrupper man inddeler bakterier i; *psykrofile*, *mesofile*, *thermofile* og *hyperthermofile*. For nemheds skyld skal du dog ikke skelne mellem thermofile og hyperthermofile bakterier i denne øvelse.



Figur 4. Optimale væksttemperaturer for psykrofile, mesofile, thermofile og hyperthermofile bakterier.

8. *E. coli* er en bakterie, der lever i menneskers tarme. Er den psykrofil, mesofil eller thermofil?
9. Giv et forslag til, hvorfor at den relative vækst er lavest hos psykrofile bakterier, højere hos mesofile og højest hos thermofile bakterier?

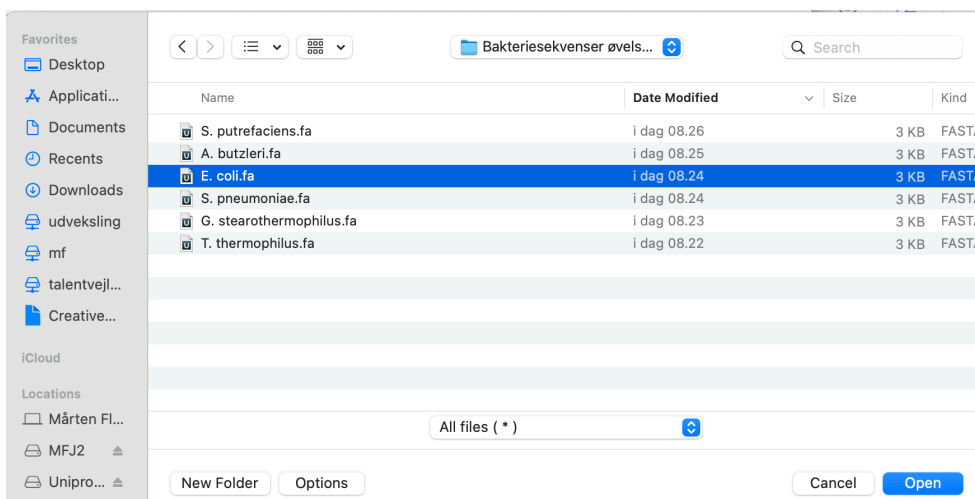
Bioinformatisk undersøgelse af *polA* genet i bakterier.

Bioinformatik er analyse af biologisk information, typisk DNA, RNA eller protein sekvenser. Du skal nu prøve at lave en bioinformatik analyse af 6 bakteriers DNA sekvenser af *polA* genet, der koder for deres DNA polymerase 1. I analysen skal du undersøge, om der er forskel i andelen af G/C og A/T nukleotider i generne fra de seks bakteriearter og bestemme smeltepunktet for genet i de 6 bakteriearter.

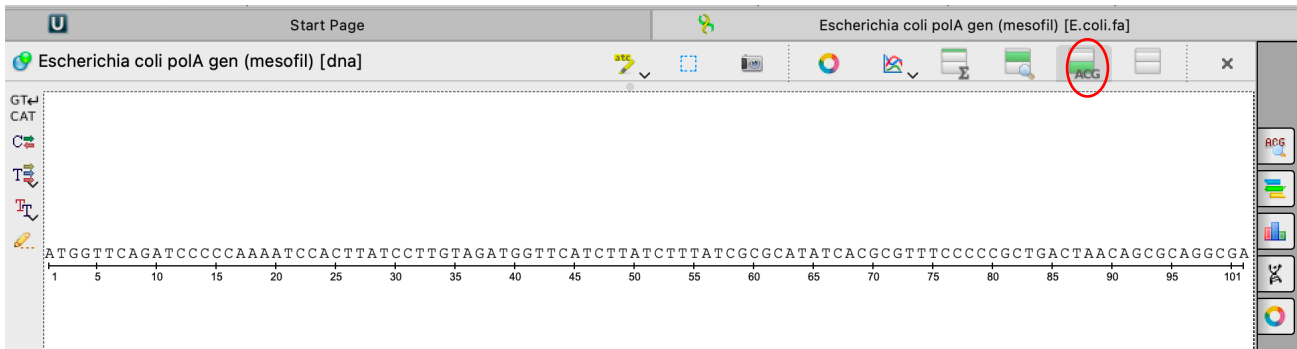
Til analysen skal du bruge programmet Ugene. Når du åbner programmet får du følgende startside:



Klik på åben file - her markeret med en rød cirkel, og gå nu til den mappe hvor du har lagt de 6 downloadede bakteriefiler.

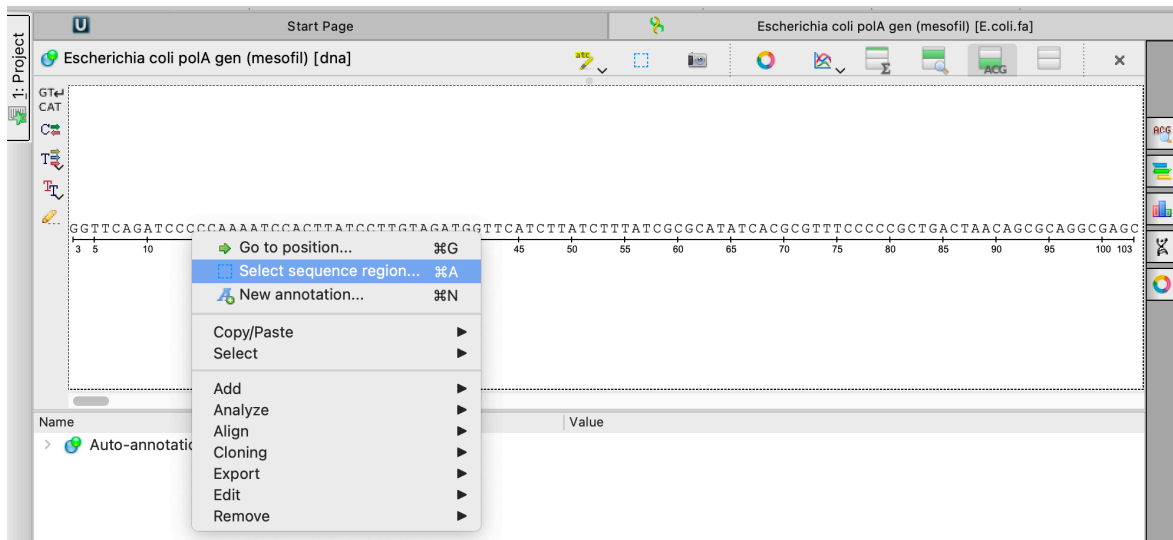


Vælg *E. coli*.fa filen. Marker den og tryk på åben. Du får nu et skærmbillede, der ser sådan ud:

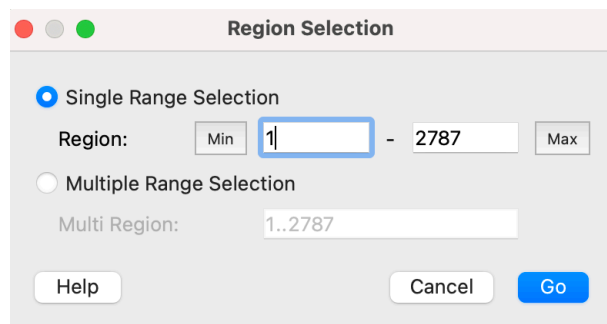


Du skal nu gerne kunne se en DNA sekvens - er den ikke synlig så klik på ikonet markeret med en rød cirkel.

Du skal nu prøve at analysere genet. Begynd med at markere sekvensen. Det gøres ved at højreklikke på DNA baserne. Der kommer nu følgende dialogboks op:

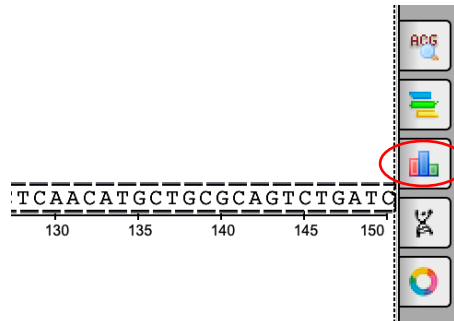


Klik på select sequence. Når du klikker på det kommer følgende dialogboks op:



Programmet foreslår automatisk hele sekvensen. Tryk go og sekvensen vil være markeret fra start til slut.

Du er nu parat til at analysere DNA sekvensen indhold af DNA baserne G og C. Klik på søjlediagram ikonet til højre for DNA sekvensen.



Du får nu en statistik over genet. Øverst står længden af genet målt af DNA nucleotider (nt):

10. Hvor mange DNA nucleotider består *E. coli polA* genet af?

Under længden står GC indholdet angivet i procent.

11. Hvad er GC indholdet i % i *E. coli polA* genet?

Ud fra GC indholdet i et gen kan man udregne, ved hvilket temperatur at DNA vil denaturere, hvilket er når hydrogenbindingerne brydes og der dannes enkeltstrenget DNA. Smeltepunktet for et DNA molekyle kan estimeres ved følgende ligning:

$$T_m(^{\circ}C) = 64,9 + 41 * \frac{(N_G + N_C - 16,4)}{N_{total\ ATCG}}$$

Du skal nu prøve at udregne smeltepunktet for *polA* genet. N_G er lig det totale antal G DNA nucleotider i genet, og N_C er lig det totale antal C DNA nucleotider. Det samlede antal C og G nucleotider ses under *character occurrence*. N_{total} er det samlede antal DNA nucleotider (svar i spørgsmål 10) og står øverst.

12. Udregn smeltepunktet for *E. coli polA* genet.

UGENE programmet udregner også smeltepunktet for dig. Se øverst under *common statistics*. Her står *melting temperature* for genet.

13. Er dit beregnede smeltepunkt og Ugenes smeltepunkt ens eller forskelligt?



Du har nu undersøgt GC indholdet og smeltepunktet for den mesofile bakterie *E. coli pol A* gen. Du skal nu undersøge *pol A* genet fra yderligere 5 bakterier (1 mesofil, 2 thermofile og 2 psykrofile) for at se om der er forskel på deres GC indhold og smeltepunktet af DNA. Resultaterne skal du afbilde i nedenstående tabel:

Bakterieart	Type	GC indhold %	Smeltepunkt °C
<i>E. coli</i>	mesofil		
<i>S. pneumoniae</i>	mesofil		
<i>T. thermophilus</i>	Thermofil		
<i>G. stearothermophilus</i>	Thermofil		
<i>A. butzleri</i>	Psykrofil		
<i>S. putrefaciens</i>	Psykrofil		

14. Analyser resultaterne. Er der en tendens?

De 6 viste bakterier lever i miljøer med forskellig temperatur.

15. Kan de fundne resultater forklares som en tilpasning til de forskellige miljøers temperatur?