



SCHÜLERCAMPUS 2014

DNA Mutation durch UV-Strahlung? – Chemie/Biochemie

Manuela Fichte, Jennifer Rinne; Dominik Reichhardt

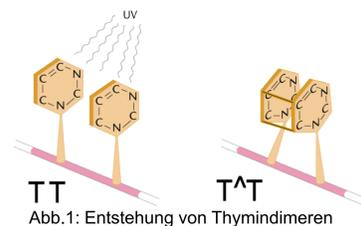
Fabian Bätzner, Jonas Hertel

Einleitung und Zielsetzung

35°C im Schatten, strahlend blauer Himmel und ein entspannter Tag am See, das einzig Nervige: das ständige Eincremen. Doch ist die Sonne wirklich so gefährlich für unsere Haut? Führt UV-Strahlung wirklich zu DNA-Mutationen, zur Bildung von Thyminindimeren (Abb. 1), einer Ursache für Hautkrebs?

Um diese Fragen zu klären haben wir DNA synthetisiert, auf ihre Reinheit untersucht, mit UV-Licht bestrahlt, die Mutation in Form von Thyminindimeren nachgewiesen und erfahren, wie man Thyminindimere auch in der Zelle nachweisen könnte.

Material und Methoden



Mit der Methode der Festphasensynthese wurden zunächst DNA-Stränge mit nur zehn Thyminnukleotiden synthetisiert, von der Festphase getrennt und in einem Lösungsmittel gelöst. Ein Teil der Lösung wurde mit UV-Licht bestrahlt.

Erwartungsgemäß sollten sich hierbei in einigen DNA-Stränge Thymin-Dimere bilden (Abb. 1). Mit dieser Strukturveränderung geht eine Veränderung der Polarität der Moleküle einher.

Anhand einer HPLC (Hochdrucksflüssigkeitschromatographie) lässt sich diese Veränderung nachweisen: In der unpolaren stationären Phase (siehe Abb. 3) der Chromatographiesäule haften unpolare Moleküle besser an als polare und verlassen die Säule entsprechend später. Die nacheinander austretenden Stoffe werden über Lichtabsorption nachgewiesen.

Während der Graph der nicht bestrahlten Lösung nur ein Signal aufweist, stellt man nach der Bestrahlung mit UV-Licht zwei Signale fest, was darauf hinweist, dass neben der ursprünglichen DNA nun auch DNA mit Thyminindimeren vorhanden ist (Abb. 2).

Überprüfung der Dimerbildung über Polarisitätsvergleich (HPLC)

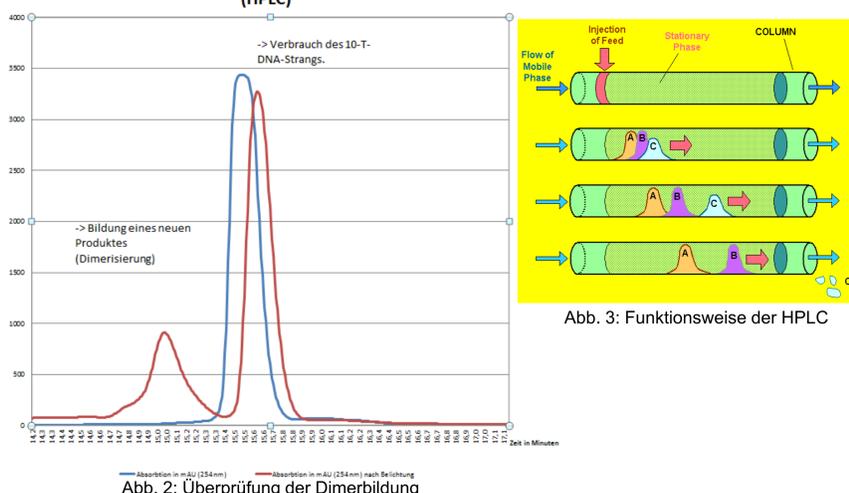


Abb. 3: Funktionsweise der HPLC

Um einen Nachweis der DNA-Mutation kennenzulernen, der sich auch in einer lebenden Zelle anwenden ließe, beschäftigten wir uns anschließend mit Molecular Beacons: An den Enden einer zu einer unten geschlossenen Schleife geformten DNA sind ein Fluorophor und ein Quencher („Löcher“) gebunden. Werden Fluorophore mit Licht einer bestimmten Mindestenergie bestrahlt, kommt es zur Anregung von Elektronen auf höhere Energiezustände. In dem Moment, wenn diese wieder in den Normalzustand übergehen, wird Licht einer gewissen Wellenlänge emittiert. Befindet sich nun aber in direkter Nähe zum Fluorophor ein Quencher, der dieses Licht selbst wieder absorbieren kann, ist keine Emission messbar.

Ein Zielmolekül (Target) mit einer zum Beacon komplementären Basenpaaranordnung kann die Schleife des Beacons öffnen (siehe Abb. 4). In diesem Moment entsteht ein Abstand zwischen Fluorophore und Quencher – es lässt sich die für die Fluorophore spezifische Emissionsfrequenz messen (siehe Abb. 5).

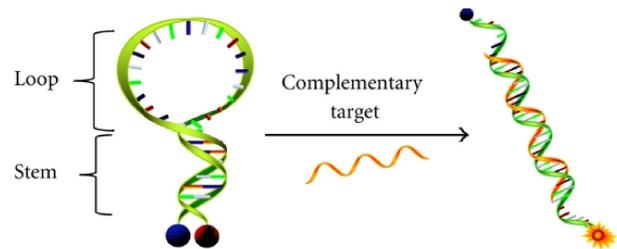


Abb. 4: Funktionsweise des Molecular Beacon

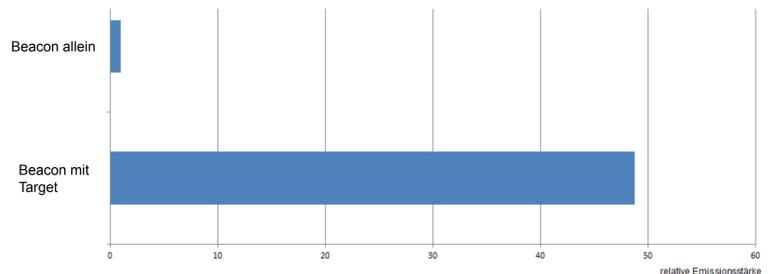


Abb. 5: Emission des Beacon mit und ohne Target

Diese Wirkungsweise der Molecular Beacons haben wir in allgemeiner Form beobachtet. Im speziellen Fall der DNA-Mutation hat sie ebenfalls bereits Anwendung gefunden: Da der Beacon nur bei einem bestimmten Target geöffnet wird, lässt sich damit auch zwischen normaler und mutierter DNA unterscheiden, die jeweils unterschiedlich reagieren.

Schlussfolgerungen

Anhand unserer Experimente kann man also erkennen, dass UV-Strahlung tatsächlich für Mutationen der DNA verantwortlich ist. Besonders die Haut wird an sehr sonnigen Tagen stark mit UV-Strahlen konfrontiert und so empfiehlt es sich, auch wenn es manchmal nervig ist, sich und seine Haut ausreichend zu schützen, um Mutationen zu vermeiden und das Hautkrebsrisiko zu vermindern.

Quellen: Abb.3: (10.07.2014) http://separationprocesses.com/Adsorption/AD_Figures/CG_Fig001.gif
Abb.4: (10.07.2014) <http://www.hindawi.com/ijmi/2012/501579/>