

„Macht kaputt, was Euch kaputt macht – Wie Mutagene unsere DNA schädigen“

Claire Rühlmann, Frescilia Octa und Daniel Smolin

Mario G. hat sich schon die ganze Woche darauf gefreut. Endlich ist es soweit. Die Kohle ist schon gut durchgeglüht, und die Hitze ist ideal. Jetzt kann er das Fleisch auf den Grill legen, der Rauch gibt dem Ganzen noch sein typisches Aroma. Wenn die Flammen ab und zu mal hochlodern und es an manchen Stellen etwas zu dunkel wird, ist das doch nicht so schlimm... Betina G. seine Frau sieht ihrem Mann gerne beim Grillen zu, während sie an ihrer Zigarette zieht. Das ist ihr besonderer Genuss, das entspannende Gefühl...

Entspannende Rauschmittel und leckeres Essen, beides sind Konsumgüter, die dem Leben zu etwas Luxus verhelfen sollen. Was die beiden wahrscheinlich im Prinzip zwar wissen aber verdrängen ist die Tatsache, dass im Zigarettenrauch und in verkohltem Fleisch Stoffe vorkommen, sogenannte Mutagene, die ihre DNA nachhaltig schädigen können. Mutagene sind äußere Einwirkungen, die Mutationen oder Chromosomenaberrationen auslösen, also das Erbgut eines Organismus verändern. In unserem Alltag sind wir ständig derartigen Mutagenen ausgesetzt. Sonnenstrahlung, Abgase, Lebensmittelzusatzstoffe, all das kann unser Zellerbgut schädigen und uns krank machen.

Welche Arten von Erbgutveränderungen gibt es? Wie wird die DNA durch Mutagene geschädigt?

Veränderungen in unserem Erbgut werden Mutationen genannt. Dabei können Punktmutationen, also einzelne Basenaustausche oder Basenverluste innerhalb der Gene der DNA bereits fatale Folgen haben. Diese Austausch können nämlich eine Veränderung der Kodierung der Aminosäurebausteine eines Proteins bewirken, wodurch das resultierende Protein möglicherweise funktionsunfähig wird.

Mutagene Agentien, also Substanzen die die DNA schädigen können, kommen überall vor. Sie können physikalischer Natur (UV-Licht, radioaktive Strahlung oder Röntgenstrahlung) oder chemischer Natur (polycyclische Kohlenwasserstoffe, Acrolein, desaminierende und alkylierende Substanzen) sein. Ein sehr weit verbreitetes Mutagen gehört zur Substanzklasse der poly-cyclischen Kohlenwasserstoffe. Diese sind im Zigarettenrauch, Auto- und Industrieabgasen und als Kontamination in vielen Lebensmitteln wie zum Beispiel Grillgut zu finden [1,2]. Auf heiße Asche heruntertropfendes Fett kann polycyclische Kohlenwasserstoffe erzeugen. Durch die Aufwirbelung der Asche können Fleisch, Fisch und Gemüse dann mit diesen krebs-erzeugenden Stoffen kontaminiert werden.

Eines der bekanntesten dieser polycyclischen Kohlenwasserstoffe ist das Benzo-[a]pyren. Gelangt diese Substanz in unseren Organismus, wird sie durch Enzyme (Monoxygenasen) oxidiert (Abbildung 1a). Erst durch diese Oxidation, die eigentlich dem Abbau von solchen Fremdstoffen in der Leber dienen soll, wird das Benzo-[a]pyren aktiviert. Diese aktivierte Spezies Benzo-[a]pyren-7,8-dihydroxy-9,10-epoxid (BPDE) kann in den Zellen über eine Epoxidgruppe mit einem Guanin in der DNA reagieren. Es bildet sich ein Addukt, das die korrekte Basenpaarung verhindert, da dieses Addukt sterisch sehr anspruchsvoll ist. Dies hat fatale Folgen für die Zellteilung.

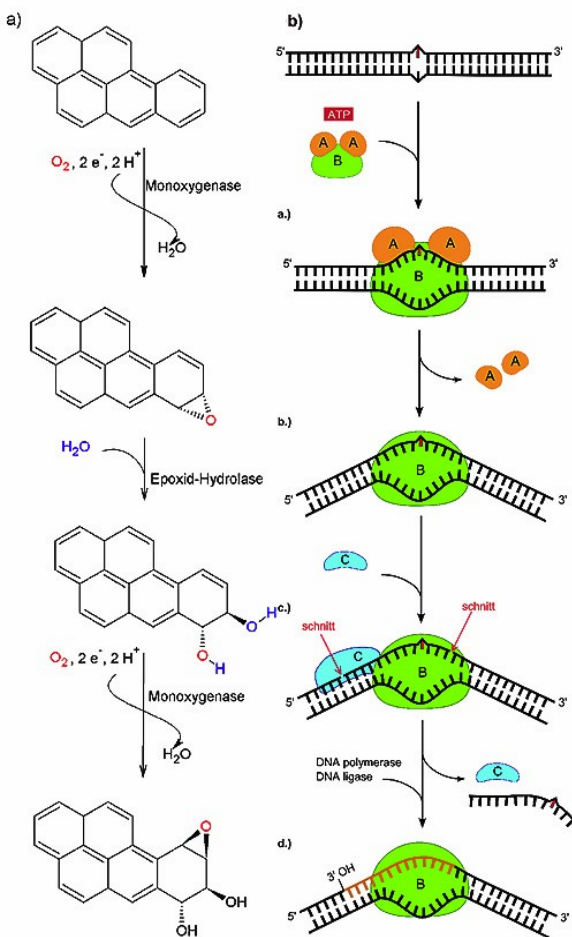


Abbildung 1: a) Oxidation von Benzo-[a]pyren zu Benzo-[a]pyren-7,8-dihydroxy-9,10-epoxid (BPDE), wobei die Oxidation in drei Stufen erfolgt. Zunächst wird durch eine Monoxygenase das Benzo-[a]pyren-7,8-epoxid erzeugt, das dann im zweiten Schritt durch eine Epoxid-Hydrolase zum Benzo-[a]pyren-7,8-diol wird. Im dritten Schritt erfolgt eine weitere Epoxidierung des Benzo[a]pyren-7,8-diol zur krebserzeugenden Spezies BPDE.

b) An den geschädigten DNA-Stang lagert sich der Proteinkomplex AB (XPC, XPA, XPD und RPA) unter ATP-Verbrauch an, und an der Störstelle verlässt das Protein A (XPC) den Komplex. Im nächsten Schritt lagert sich das Protein C (Exonuclease) an und schneidet den DNA-Strang ebenso der Komplex B mit seiner Exonuclease-Aktivität. Dann verlässt die Exonuclease und das herausgeschnittene DNA-Stück den Bereich, und die DNA-Polymerase synthetisiert das herausgetrennte Stück neu, indem es den verbliebenen Einzelstrang als Matrix nimmt. Im letzten Schritt verbindet eine Ligase den neu synthetisierten Strang mit dem vorhandenen Strang.

Die Zellen unseres Körpers vermehren sich durch kontrollierte Zellteilung. Dabei wird auch die genetische Information verdoppelt und die neu synthetisierte DNA auf die neu entstandene Tochterzelle übertragen. In der S-Phase der Zellteilung, der Synthesephase, wird die DNA repliziert, also exakt kopiert. Dieser Prozess wird von Enzymen, den sogenannten replikativen DNA-Polymerasen, durchgeführt. Da unser Erbgut nicht verändert werden sollte, muss die Replikation außerordentlich genau sein. Um dies zu gewährleisten, sind die Polymerasen mit einem speziellen Korrekturlesemechanismus ausgestattet. Die Polymerase liest den Strang, den sie vorher synthetisiert hat, und schneidet falsch eingebaute Basen heraus. Dieser Prozess erhöht zusammen mit einem weiteren nachgeschalteten Kontroll- und Reparaturprozess die Genauigkeit der DNA-Verdopplung gewaltig. Die Fehlerrate beträgt eine falsche Base pro 10^{10} insertierte Basen.

Problematisch wird es für den Replikationsapparat, wenn in der DNA große chemische Addukte vorliegen. Die replikative Polymerase kann beim Replizieren der DNA nicht die korrekten Basen einbauen und bricht daher die DNA-Synthese ab. Um trotzdem eine vollständige Replikation und Zellteilung sicherzustellen, wird in der Zelle ein Notprogramm angefahren. Dabei stehen der Zelle zwei Lösungsmöglichkeiten offen. Zum einen kann mithilfe eines Reparatursystems der Schaden aus der DNA entfernt werden (Abb. 1b), zum anderen kann an der Stelle des Schadens eine schadenstolerante DNA-Polymerase die Replikation fortsetzen.

Die DNA wird von bestimmten Proteinen auf Störungen in der Doppelhelix hin untersucht. So bilden beim Menschen vier solcher Proteine (XPC, XPA, XPD und RPA) einen Komplex der auf der DNA-Doppelhelix entlanggleitet. Trifft nun dieser Komplex auf ein großes chemisches Addukt wie z. B. ein Guanin-BPDE-Addukt, so verlässt das Protein XPC den Komplex und die verbliebenen Proteine bilden eine Blase um die Störstelle. An diesen Komplex lagern sich nun zwei Enzyme mit einer Exonucleaseaktivität an. Es wird insgesamt ein 24 bis

32 Nukleotide langes Stück herausgeschnitten. Die verbleibende Lücke wird durch die DNA-Polymerase geschlossen, wobei der Einzelstrang als Kopiervorlage dient [3].

Ein zweiter Weg, der es der Zelle ermöglicht, ihren Replikationsprozess an der Schadensstelle fortzusetzen, wird dadurch beschrieben, dass an die Schadensstelle anstelle der hochgenauen replikativen Polymerase eine andere, als

Transläsionspolymerase bezeichnete DNA-Polymerase rekrutiert wird. Diese speziellen Polymerasen, üblicherweise mit griechischen Buchstaben bezeichnet (κ , η) kommen zwar mit diesem räumlich anspruchsvollen Addukt zurecht, machen aber recht häufig Fehler. So kommt es bei der Polymerase κ immerhin in über 95% der Fälle zu einer korrekten Cytosin-Baseninsertion, obwohl ein Guanin-BPDE-Addukt vorliegt. In 1,1% der Fälle allerdings findet eine Deletion statt, das heißt, der neusynthetisierte Strang wird um eine Base kürzer und in 2,7 % der Fälle kommt es zu einem Basenaustausch [4,5]. Eine andere Forschungsarbeit [1] zeigt, dass die Polymerase η ebenfalls über solche Störstellen hinweg die DNA replizieren kann [5]. Diese Polymerase bringt eine besonders hohe Fehlerrate mit sich. So baut die Polymerase η gegenüber einem Guanin-BDPE-Addukt die falschen Basen Adenin und Guanin 3-fach bis 50-fach häufiger ein als ein korrektes Cytosin. Demnach insertiert die Polymerase Purinbasen (Adenin, Guanin) häufiger als Pyrimidinbasen (Cytosin, Thymin). Die Replikation wird also fortgesetzt, wenn auch auf Kosten eines relativ hohen Risikos, dass eine falsche Base eingebaut wird und sich in der Tochterzelle dadurch eine Mutation manifestiert (Abb. 2).

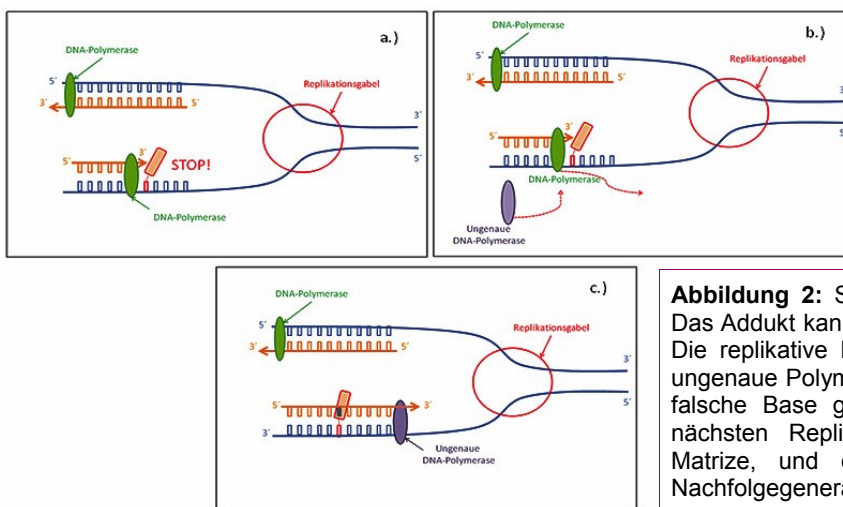


Abbildung 2: Schema der DNA-Mutation durch Benzo[a]pyren. Das Addukt kann nicht als Matrize bei der DNA-Synthese dienen. Die replikative DNA-Polymerase bricht ab und wird durch eine ungenaue Polymerase ersetzt, die mit recht hoher Häufigkeit eine falsche Base gegenüber der Schadensstelle einbaut. Bei der nächsten Replikationsrunde dient diese inkorrekte DNA als Matrize, und die Mutation manifestiert sich damit in der Nachfolgegeneration von Tochterzellen.




Woher kommt das Krebsrisiko?

Unsere vollständig entwickelten Körperzellen sind hinsichtlich der Zellteilung genau reguliert. Sie können sich nur begrenzt teilen, da bei der Teilung die Chromosomen-DNA an ihrem Ende geringfügig verkürzt wird. Diese Verkürzung entsteht dadurch, dass die Stelle, an der die DNA-Polymerase am Anfang eines DNA-Stranges gebunden war, nicht kopiert werden kann. Nach circa 40 Verdopplungen sind die Enden der DNA so verkürzt, dass die Chromosomen instabil werden und eine korrekte Zellteilung kaum noch möglich ist. An den Enden liegen jedoch keine Gene oder Genabschnitte, so dass die eigentliche Erbinformation davon nicht betroffen ist. Je instabiler die Chromosomen durch derartige Verkürzungen und Fehler in der Replikation werden, desto anfälliger sind diese für die Krebsentstehung. In einem jungen Stadium der Zellen sorgt das Enzym Telomerase noch für die Verlängerung der DNA, um die fehlenden Teile wieder aufzufüllen. Mit zunehmender Alterung hingegen lässt sich die Aktivität des Enzyms nicht mehr nachweisen [6].

Des Weiteren gibt es noch Proteine und spezielle zugehörige Gene, wie beispielsweise die Protoonkogene und Tumorsuppressor-Gene, die bei Mutationen zu unkontrolliertem Zellwachstum führen können. Während die von Onkogenen hergestellten Proteine prinzipiell das Zellwachstum fördern, wird das Zellwachstum von Tumorsuppressor-Proteinen unterdrückt. Gerät dieses genetische Kontrollsystem aus dem Gleichgewicht, kann es über unkontrolliertes Zellwachstum zu einem Tumor führen.

Wenn ein solches zentrales Regulatorprotein der Zellteilung dadurch funktionsunfähig wird, dass eine Benzo-[a]pyren-induzierte Mutation sich in seinem Gen manifestiert hat, kann es seine Regulatorfunktion im Zellzyklus nicht mehr ausüben. Eine mögliche Folge ist die unkontrollierte Teilung der Zellen. Ein Tumor entsteht. Es gibt jedoch einige Mechanismen, wie der programmierte Zelltod (Apoptose) und verschiedene Reaktionen des Immunsystems, die dies verhindern können. So müssen sich in der Regel für die Zerstörung der zellulären Kontrollmechanismen und Regelkreise Mutationen in verschiedenen Gene anhäufen, bis die Zelle außer Kontrolle gerät.

Eine kumulative Aufnahme solcher Schadstoffe wie Benzo-[a]pyrene sollte daher unbedingt vermieden werden. Starkes Rauchen und häufiger Genuss angekohlter Lebensmittel in Verbindung mit der Dauerexposition von Fahrzeugabgasen, die ebenfalls signifikante Mengen an polycyclischen Aromaten freisetzen, erhöhen das individuelle Krebsrisiko daher signifikant.

Kontakt:	Schlauer Fuchs
 <p>Der Artikel wurde im Rahmen des Studienprojektes HighChem des Fachbereichs Chemie der Technischen Universität Darmstadt verfasst (Woche 2). Die Autoren, Claire Rühlmann, Frescilia Octa und Daniel Smolin, sind Studierende des Faches Chemie an der TU Darmstadt</p> <p>E-Mail: claire_ruehlmann@web.de, frescilia.octa@web.de daniel.smolin.uni@gmx.de</p> <p>Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. Harald Kolmar</p> <p>E-Mail: kolmar@biochemie-tud.de</p>  	<p>Unsere Schlaue-Fuchs-Frage zu diesem Beitrag lautete:</p> <p>Welche Aufgabe hat die replikative DNA-Polymerase?</p>

Literatur:

- [1] Chiapperino, D., Kroth, H.; Preferential Misincorporation of Purine Nucleotides by Human DNA Polymerase η Opposite Benzo[a]pyrene 7,8-Diol 9,10-Epoxy-Deoxy-guanosine Adducts, *J. Bio. Chem.*, Vol. 277, No. 14, **2002**, 11765.
- [2] Zhu, H., Fan, Y., Shen, J., Qi, H., Shao, J.; Characterization of human DNA polymerase κ promoter in response to benzo[a]pyrene diol epoxide; *Env. Tox. Pharm.*, 33, **2012**, 205.
- [3] Watson, J.D.; *Molecular biology of the gene*; 5th International Edition, **2004**, Cummings, San Francisco, California, USA.
- [4] Suzuki, N.; Ohashi, E.; Translesion Synthesis by Human DNA Polymerase κ on a DNA Template Containing a Single Stereoisomer of dG-(+)- or dG-(-)-anti-N2-BPDE (7,8-Dihydroxy-anti-9,10-epoxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[a]pyrene), *Biochemistry*, **2002**, 41, 6100.
- [5] Klarer, A.C., Stallons, L.J., Burke, T.J., Skaggs, R.L., McGregor, W.G.; DNA Polymerase Eta Participates in the Mutagenic Bypass of Adducts Induced by Benzo[a]pyrene Diol Epoxide in Mammalian Cells, *Pub. Lib. Sci.*, 7, **2012**, 1.
- [6] Aubert, G., Baerlocher, G. M., Vulto, I., Poon, S. S., Lansdorp, P. M., Collapse of Telomere Homeostasis in Hematopoietic Cells Caused by Heterozygous Mutations in Telomerase Genes, *Pub. Lib. Sci.*, Volume 8(5), **2012**.