

„Quadratisch, praktisch - nun auch zum Bestimmen von Ionenkonzentrationen“

Beatrice Karg und Robert Hieronymus

Der menschliche Körper ist ein empfindliches Fließgleichgewicht. Ein klassisches Beispiel hierfür liefert unter anderem der Elektrolythaushalt des Blutes. Vor allem sind dort Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , HPO_4^{2-} und HCO_3^- ausschlaggebend. Bereits eine geringe Schwankung der Konzentration eines dieser Elektrolyte kann verheerende Folgen für den gesamten Körper haben. Kalium, ein äußerst wichtiges Ion zur Erzeugung von Membranpotentialen und somit unabdingbar für die Reizleitung, weist hierbei wohl den engsten Schwankungsbereich auf. Sein Normwert im Blutserum liegt bei 3,5 mmol/L, jedoch spricht man bei einem Wert von unter 3,0 mmol/L bereits von einer Hypokaliämie, also von Kaliummangel, was zu Herzrhythmusstörungen, Muskelschwäche und Taubheit führen kann. Dem nicht unähnlich sind die Symptome einer Hyperkaliämie, ab etwa 5,5 mmol/l. Zur Vorstellung: Diese minimalen Schwankungen haben in etwa die Ausmaße eines gestrichenen Teelöffels mit Salz auf eine Badewanne voll Wasser.

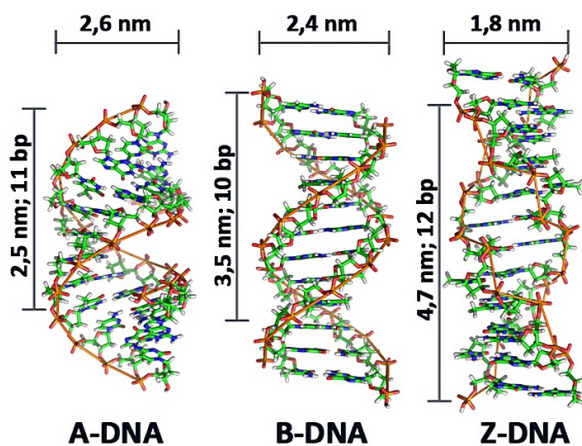


Abbildung 1: Strukturmodelle der A-, B- und Z-DNA mit jeweils 12 Basenpaaren. Aus: *Wikipedia: The Free Encyclopedia*. Wikimedia Foundation, Inc. 09 Feb 2007. Web 08 Dec 2012

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b1/A-DNA%2C_B-DNA_and_Z-DNA.png]

Sowohl die Hypo- als auch die seltenere Hyperkaliämie sind meistens Begleiterscheinungen einer anderen Krankheit, wie etwa dem Versagen der Niere oder Durchfall und Bulimie. Bei ersterem ist die Blutfiltration und entsprechende Kalium-Rückgewinnung gestört, bei letzteren führt der Wasserverlust zu Kalium-Mangel. Aber auch Lebensstil und Art der Ernährung können starke Schwankungen hervorrufen. So führt allein schon ein vermehrter Cola-Konsum zu einem Ungleichgewicht [1], da die darin vorliegende Konzentration an osmotisch aktiven Substanzen, also solcher, die die Aufnahme und Abgabe von z.B. Salzen (also auch Kaliumsalze) in und aus der Zelle beeinflusst. Ebenso kann ein erhöhter Konsum von Lakritze zu Kaliummangel führen [2]. Das darin befindliche Glycyrrhizin besitzt strukturelle Ähnlichkeiten gegenüber dem Aldosteron, einem Hormon zur Regulierung des Wasserhaushaltes.

Diese Homologie erlaubt dem Strukturanalogon, Aldosteron-Rezeptoren zu besetzen und so unangefordert eine hohe Wasserausscheidung zu induzieren.

Da somit eine Analyse der Blut-Elektrolyte Einsicht in den Gesundheitszustand eines Menschen gibt, ist ein Elektrolyt-Test seit jeher Routine im klinischen Betrieb. Wichtig ist hierbei, die Tests müssen besonders schnell durchgeführt werden. Ein Arzt muss schließlich rasch seine Diagnose stellen, um effektiv behandeln zu können. Diesem Standard werden die Analyselaboratorien in Kliniken natürlich gerecht, wobei auch die Konkurrenz zwischen den Ionen Natrium und Kalium kein nennenswertes Problem mehr darstellt. Wie sieht es aber in ländlichen und verarmten Regionen oder mit einer mobilen

Anwendung aus? Zumindest für die Analyse der Kaliumkonzentration in Körperflüssigkeiten gibt es einen interessanten, neuen Ansatz, der dazu noch aus einer unerwarteten Richtung kommt: der Nukleinsäureforschung – in Form einer außergewöhnlichen DNA-Struktur.

Das Bild, das wir normalerweise von einer Desoxyribonukleinsäure, kurz DNA, haben, ist die rechtsgängige Doppelhelix. DNA aber ist wesentlich vielfältiger und nicht auf eine Konformation beschränkt.

Doppelhelikale Strukturen gibt es von A bis Z - zumindest gibt es eine A und eine Z-Konformation neben der üblicherweise dargestellten B-DNA, die sich durch eine Helixbreite von 2,0 nm auszeichnet. Diese beiden Strukturen sind allein schon recht interessant, so haben zwar beide noch Watson-Crick gepaarte Basenpaare (die Paarung zwischen Adenin und Thymin (A-T) und Guanin und Cytosin (G-C)), die A-DNA aber ist äußerlich kompakt wie ein Ringer mit 2,6 nm in der Breite und die Z-DNA gleicht einem Zickzackmuster, nach dem sie benannt ist – sie ist mit 1,8 nm Durchmesser auch die schmalste der drei Formen. Letztere ist aber auch linksgängig und steht damit im Gegensatz zu den anderen beiden rechtsgängigen Strukturen (Abbildung 1).

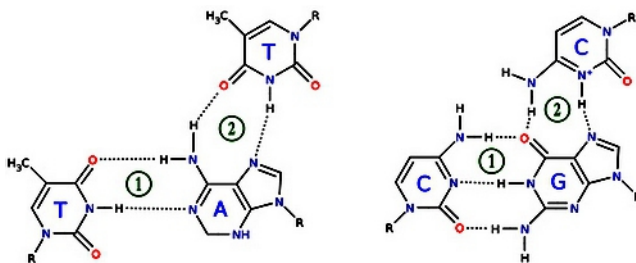


Abbildung 2: Darstellung der Watson-Crick- (1) und Hoogsten-Basenpaarung (2) zwischen Adenin(A) – Thymin(T) und Cytosin(C) – Guanin(G)

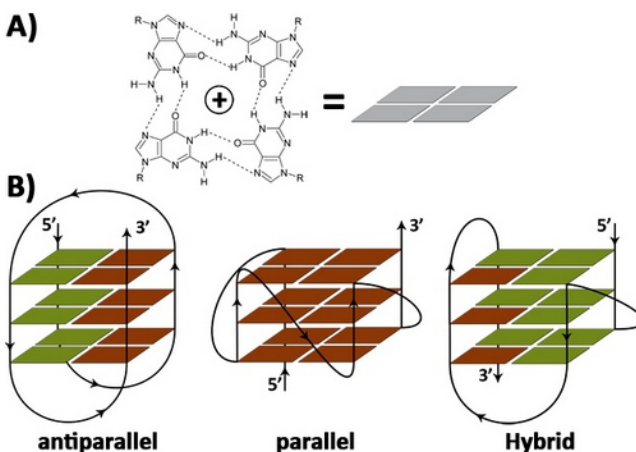


Abbildung 3: G-Tetrade (A) und intramolekulare Strukturen: antiparallel, parallel und Hybrid (B)

Aber die DNA kennt noch mehr, weitaus einfallreichere Strukturen. So gibt es mehr als einen Weg, die Basen zu paaren. Kanonisch ist die Watson-Crick-Paarung, bei der A-T über zwei Wasserstoffbrücken und G-C über drei Wasserstoffbrücken gepaart sind. Die Wasserstoffbrücken, Wechselwirkungen über einen partiell negativ geladenen Protonenakzeptor und einen partiell positiven Donor, sind aber an mehr Positionen als den von Watson und Crick postulierten möglich (Abbildung 2). So gibt es noch eine zweite Konfiguration – die Hoogsten-Basenpaarung – für das A-T-Paar und für das G-C-Paar, letztere aber nur bei niedrigem pH, wenn Cytosin protoniert ist. Daraus resultieren Strukturen mit mehr als zwei Strängen pro Helix. Triplexe zum Beispiel bestehen aus drei Strängen, zwei davon regulär Watson-Crick gepaart, der dritte über Hoogsten-Wasserstoffbrücken angelagert.

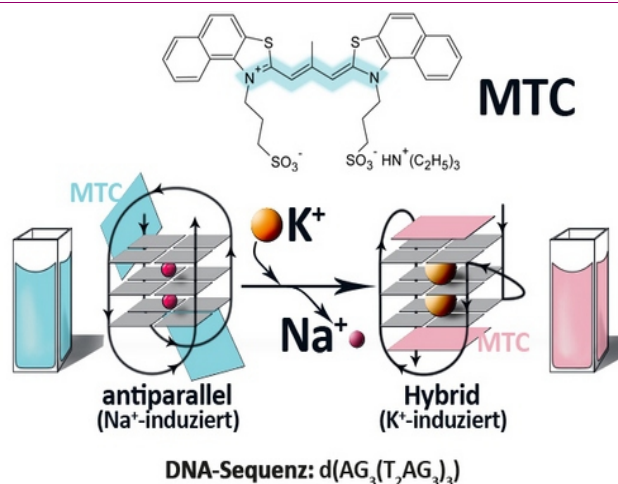


Abbildung 4: Cyaninfarbstoff MTC und seine Interkalation mit der durch Kalium induzierten Hybrid-Quadruplexstruktur

Und selbst das ist noch nicht alles. Wie oben erwähnt ist eine Paarung auch mit vier Strängen möglich. Bekannt für solche Strukturen sind die Enden der Chromosomen, die Telomere. Hier lagern sich die Enden der DNA, die sich durch einen hohen Guanosin-Gehalt auszeichnen, zu

Quadruplexen zusammen. Vier Guanosine bilden Hoogsteen-gepaart die sogenannte G-Tetrade. Im Zentrum dieser Tetrade entsteht, wie in Abbildung 3(A) ersichtlich, durch die vier Carbonyl-Sauerstoffe ein starkes elektronegatives Potential. Um dieses auszugleichen, lagern sich vorzugsweise kleine, monovalente Kationen, also die oberen Vertreter der ersten Hauptgruppe, ein. Stapeln sich nun die Tetraden einer G-Quadruplex übereinander und entsprechend auch die Kationen, vorrangig Natrium und Kalium, sehen letztere aus wie Perlen auf einer Kette, die durch die Quadruplex führt.

Das Ende der Strukturvielfalt ist aber immer noch nicht erreicht, denn Quadruplexe müssen nicht notwendigerweise aus einem Strang bestehen, also intramelokular oder monomolekular sein. Genauso gut können zwei oder vier Stränge eine Quadruplex bilden. Abhängig von der Ausrichtung der Stränge in intra- und intermolekularen Quadruplexen unterscheidet man parallele, antiparallele und Hybrid-Strukturen (Abbildung 3(B)). Bei intramolekularen Quadruplexen ist die Strangausrichtung vor allem von Länge und Sequenz der Loops, den nicht gepaarten Basen zwischen den Tetraden, und der Größe des zentralen Kations abhängig. So kann bei einigen intramolekularen Quadruplexen eine Strukturänderung abhängig vom Na^+/K^+ -Verhältnis der Lösung stattfinden.



Tatsächlich klingt das schon nach einem Nachweis für den Natrium- bzw. Kaliumgehalt von Lösungen. Einziger Wermutstropfen: Die Struktur der Quadruplex kann nicht so einfach sichtbar gemacht werden.

An dieser Stelle treten die Cyanine auf. Hierbei handelt es sich um eine Stoffklasse kleiner organischer Moleküle, die sich durch mehrere konjugierte heterocyclische Ringsysteme auszeichnen, also solchen Ringen, die nicht nur aus Kohlenstoffen bestehen wie Benzol. Diese Ringe sind durch Polymethinbrücken verbunden, Kohlenstoffketten, deren jede zweite Bindung eine Doppelbindung ist (in Abbildung 4 blau unterlegt). Das Ganze klingt doch nach einem hervorragenden Farbstoff und tatsächlich, die meisten Cyanine sind farbig. Das allein macht sie aber noch nicht besonders. Cyanine besitzen eine große Strukturvielfalt und können diverse DNA-Strukturen binden. Bei gewöhnlichen Duplexen findet man sowohl interkalierende als auch furchenbindende Cyanine. Das heißt, dass ihre Struktur es den jeweiligen Cyaninen gestattet, sich entweder zwischen den Basenstapeln einzulagern oder aber die kleine Furche der DNA zu besetzen. Aber auch das macht sie für einen Kalium-Nachweis noch nicht interessant. Dazu müssten die Cyaninmoleküle erst spezifisch Quadruplex-Strukturen unterscheiden können. Genau das können einige tatsächlich, z.B.: MTC (3,3'-Disulfopropyl-4,5,4',5'-dibenzo-9-methylthiacarbocyanin-Triethylammonium) (Abbildung 4, oben) [3]. Durch die Anlagerung an die DNA ändert sich bei diesem Cyaninfarbstoff das Absorptionsspektrum, d.h. für den Betrachter wird aus einer vormals blauen eine hellrote Lösung. Der Cyaninfarbstoff bindet bei telomerer DNA, wie oben beschrieben, nicht die antiparallele, durch Natrium-induzierte Form, sondern die Hybrid-Struktur, bei der Kalium als zentrales Kation gefunden wird (Abbildung 4, unten).

Daraus ließe sich ein einfacher, schneller Nachweis für Kalium in Blut oder Urinproben machen, der durch die Veränderung der Absorption sogar leicht quantifizierbar ist. Dazu notwendig wäre nichts weiter als eine Stammlösung von Cyaninfarbstoff und Quadruplex-DNA definierter Konzentration – messbar mit einem handelsüblichen Handphotometer.

Die Methode ist bisher nicht die Lösung für die schnelle Diagnostik in infrastrukturalen Regionen und kann mit den gängigen Standardtests der klinischen Chemie nicht wirklich konkurrieren. Aber sie ist ein weiteres Beispiel für eine aktuelle Entwicklung, bei der Biomoleküle aus ihrem biologischen Kontext heraus in die technische Anwendung überführt werden. Und dies hört nicht bei DNA-Quadruplexen auf. DNA-Computer [4] oder Nukleinsäure-Matrizen für stereoselektive Synthesen [5] sind zwei weitere Beispiele dieser

anwendungsorientierten Forschung, die zusehends Interesse in der Forschungsgemeinde weckt und wohl in naher Zukunft stark an Bedeutung gewinnen wird.

| Kontakt: | Schlauer Fuchs |
|---|---|
|  <p>Der Artikel wurde im Rahmen des Studienprojektes HighChem des Fachbereichs Biochemie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald verfasst (s. Woche 23).</p> <p>Die Autoren, Beatrice Karg und Robert Hieronymus, sind Studierende im 2. Semester des Studiengangs Master Biochemie an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald</p> <p>(E-Mail: bt.karg@gmx.de und robert.hieronymus@stud.uni-greifswald.de).</p> <p>Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. Sabine Müller (E-Mail: smueller@uni-greifswald.de).</p>  | <p>Unsere Schlaue-Fuchs-Frage zu diesem Beitrag lautete:</p> <p>Welche Stoffklasse kann die Struktur der Quadruplexe sichtbar machen?</p> |
| Literatur: | |
| <p>[1] Packer CD. Chronic hypokalemia due to excessive cola consumption: a case report. <i>Cases J.</i> 2008, 1, 1–3.</p> <p>[2] Heilmann P, Heide J, Hundertmark S, Schöneshöfer M., Administration of glycyrrhetic acid: significant correlation between serum levels and the cortisol/cortisone-ratio in serum and urine, <i>Exp Clin Endocrinol Diabetes.</i> 1999, 370-378.</p> <p>[3] Sun H, Xiang J, Gai W, Shang Q, Li Q, Guan A, Yang Q, Liu Y, Tang Y, Xu G: Visual detection of potassium by a cyanine dye supramolecular aggregate responsive to G-quadruplex motif transition, <i>Analyst</i>, 2012,137, 5713-5715</p> <p>[4] Buchholz T, Kutrib M: <i>Molekulare Computer. Rechnen im Reagenzglas.</i> In: Spiegel der Forschung 15 (1998), S. 27–36.</p> <p>[5] Roelfes G: DNA and RNA induced enantioselectivity in chemical synthesis, <i>Mol Biosyst.</i> 2007, 3, 126–135.</p> | |