

„Also“ sprach Meister Klempner „stellen Sie sich vor, **Es** ist nur zwei Milliardstel eines Meters breit, hat jedoch eine Länge von zwei Metern. Jeden Tag treten tausende von Schäden auf, die alle wieder behoben werden müssen – eine schier gigantische Aufgabe.“ „Und wie nannten Sie **Es** noch gleich, Meister Klempner?“ „Ich nannte es DNA, Herr Waschbär, doch nicht nur ich nenne es so. Die Moleküle mit den Erbinformationen in unseren Zellen werden allgemein so bezeichnet, es ist eine chemische Bezeichnung.“ „Mhh, zwei Milliardstel eines Meters, wieviel ist das eigentlich? So breit wie ein Faden, wie ein Haar?“ „Nein, nein, Herr Waschbär, viel dünner. Wenn die Länge der DNA einer Zelle zwei Millionen Kilometer wäre, also ungefähr fünfzig Mal um die Erde herum, dann hätte sie eine Brei-



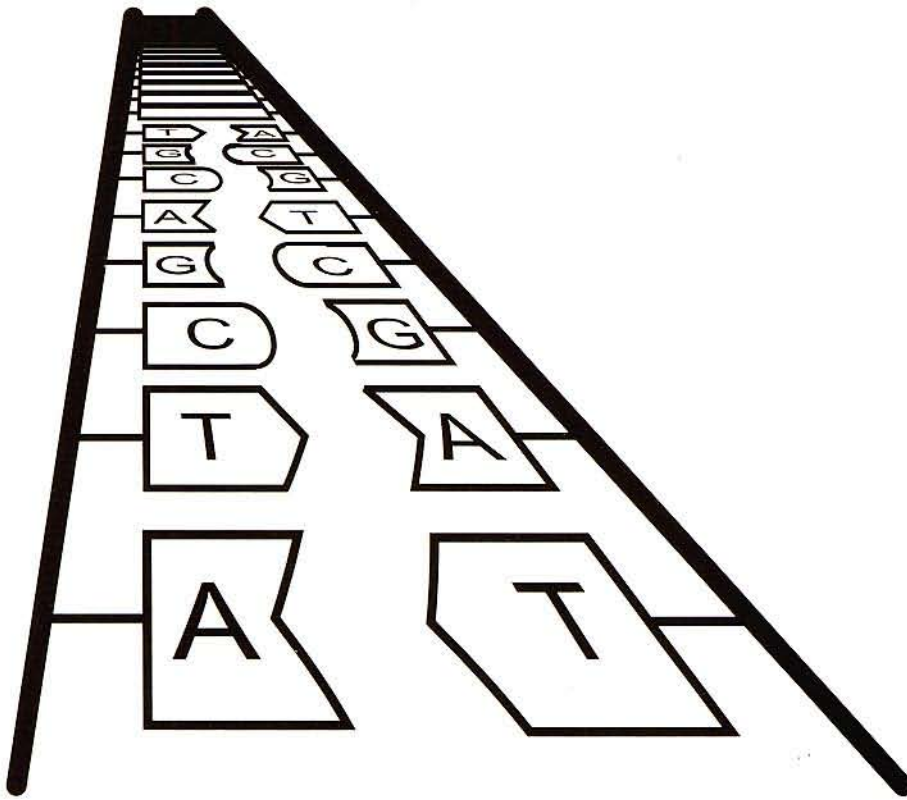
Foto: Ute Voigt

Reparatur im Erbgut

Wie die Zelle Schäden an der DNA ausbessert

te von zwei Metern.“ (Herr Waschbär läßt erneut einen Seufzer fallen, wohl erleichtert, daß er sich nicht noch kleinere Objekte als ein Haar vorzustellen hat.) „Auf dieser Länge von zwei Millionen Kilometern sind die einzelnen Bausteine der Erbinformation schön geordnet nebeneinander angebracht, um genau zu sein, liegen pro Meter drei

Bausteine wie die Tritte einer Leiter zwischen den Doppelsträngen der DNA.“ „Oder wie die Bahnschwellen zwischen den Schienen“, wirft Herr Waschbär ein, „schließlich ist eine Leiter ja nicht zwei Meter breit.“ „Nein, natürlich nicht, aber das war doch auch nur ein..., also von mir aus auch zwischen den Schienen.“



Meister Klempner: „Die Bahnschwelle ist eigentlich ein Paar von Bausteinen, wobei jeder Baustein des Paares fest mit einer Schiene verbunden ist und nur viel schwächer an seinem Partner und somit an der anderen Schiene hängt. Es gibt insgesamt vier verschiedene Bausteine, die mit A, T, G und C abgekürzt werden. Ein Paar kann A nur mit T und G nur mit C bilden, so heißt die Paarungsregel. Niemals, und das ist äußerst wichtig Herr Waschbär, sollten andere Paare als AT und GC auftreten, aber dazu kommen wir später noch. Die Abfolge dieser Bausteine entlang einer Schiene ist es, worauf es ankommt für die Zelle. Dadurch wird die Erbinformation bestimmt! Und diese Information darf nicht verändert werden – die vielen Schäden an der DNA müssen so repariert werden, daß die richtige Abfolge der Bausteine wieder vollständig hergestellt wird, ansonsten entstehen die verrücktesten Sachen.“

Herr Waschbär: „Wodurch kommt es denn zu all den Schäden an die-

ser DNA, Meister Klempner?“

Meister Klempner: „Tja, da versuchen eine Menge Dinge der Zelle einen Streich zu spielen. Allen voran macht die Wärme der Zelle ganz schön zu schaffen, denn allein durch zufällige Prozesse gehen jeden Tag fast 5000 Bausteine verloren, sie werden einfach von der DNA abgetrennt. Aber auch äußere Einflüsse spielen eine große Rolle. Chemische Stoffe und Strahlung von der Sonne oder beim Röntgen beschädigen die DNA, dabei können nicht nur die Bausteine verlorengehen, sondern das ganze Schienengerüst kann verändert werden.“

Herr Waschbär: „Wie kann denn bei einer Reparatur die richtige Abfolge der Bausteine wiederhergestellt werden, wenn manche Bausteine ganz fehlen? Ist dann nicht die Information für immer verändert?“

Meister Klempner: „Das wäre schlimm, Herr Waschbär, dann hätte sich sicherlich niemals höheres Leben auf der Erde entwickeln können. Ein paar Veränderungen hin und wieder, in dieser oder jener Zelle, sind wichtig und notwendig, um

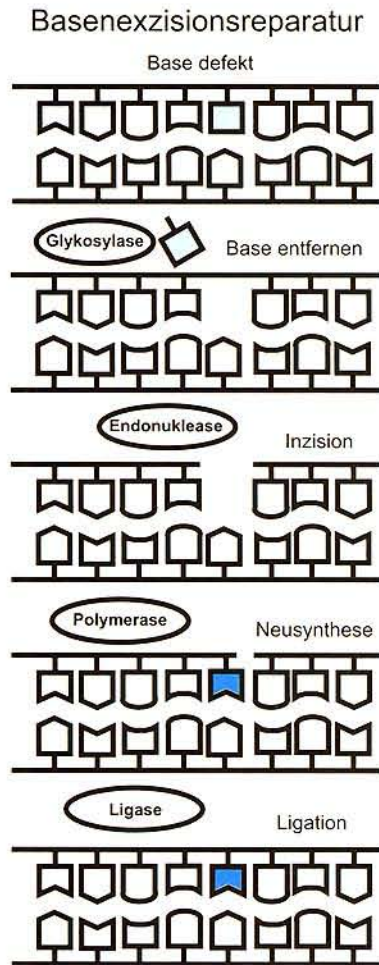
im Laufe von Jahrmillionen neue Lebewesen entstehen zu lassen, aber Tausende von Veränderungen pro Tag in einer Zelle – nein – die Information muß wieder unverändert hergestellt werden, Schluß und aus!“

Herr Waschbär: „Aber wie, Meister Klempner?“

Meister Klempner: „Das Fehlen oder die Beschädigung einzelner Bausteine ist eigentlich kein großes Problem. Erinnern Sie sich bitte, die Paarungsregel! Fehlt an einer Schiene ein Baustein, eine halbe Bahnschwelle sozusagen, so existiert die Information immer noch an der zweiten Schiene daneben. Ist zum Beispiel ein A verlorengegangen, so liegt neben der offenen Stelle ja ein T, und die Zelle weiß sofort, daß wieder ein A und nichts anderes eingefügt werden muß. Ähnlich verhält es sich auch bei einem geschädigten Baustein, er kann von speziellen Enzymen, sogenannten Glykosylasen, erkannt und entfernt werden, und mit Hilfe der Paarungsregel wird wieder ein unbeschädigter Baustein eingebaut. Das wird dann

Abbildung 1:

Die beschädigte Base wird von einer spezifischen DNA-Glykosylase erkannt und entfernt - eine abasische Stelle entsteht. Daraufhin schneidet eine Endonuklease den Strang an dieser abasischen Stelle ein, so daß von einer Polymerase ein neues Nukleotid eingebaut werden kann. Eine Ligase beendet den Reparaturvorgang, indem das neu synthetisierte Nukleotid mit dem alten Strang verbunden wird.



als Basenexzisionsreparatur bezeichnet, da die einzelnen Bausteine als Basen bezeichnet werden. Man kennt ungefähr 20 verschiedene Glykosylasen, und so können schon eine ganze Menge Schäden behoben werden.“

Herr Waschbär: „Was, wenn jedoch Veränderungen auftreten, die von keiner dieser merkwürdigen Gly-lasen erkannt werden können? Das scheint mir das wahre Problem zu sein.“

Meister Klempner: „Langsam, langsam, Herr Waschbär, unsere Zellen sind ja noch viel geschickter. Schäden, bei denen die Veränderung der Bausteine dazu führt, daß sogar die Schienen ein wenig verbogen und verdellt werden, können auch ohne Glykosylasen erkannt werden. Dann wird einfach der verbogene Schienenstrang über eine Länge von ungefähr 10 Metern entfernt und neu mit unbeschädigten Bausteinen wieder hergestellt. Auch hier haben wir ja den zweiten Schienenstrang als

Vorlage und unsere Erbinformation bleibt unverändert. Da hierbei nicht nur ein einzelner Baustein, sondern eine ganze Reihe ersetzt werden, spricht man von Nukleotidexzisionsreparatur. Ja, ja, was wären wir ohne sie. Die so anmutigen Sonnenstrahlen sind mit ihrem UV-Anteil nämlich in der Lage, zwei benachbarte Schwellen eines Schienenstranges so zu verändern, daß sie zu einem Baustein verschmelzen, und ohne eine funktionierende Exzisionsreparatur wären Sonnenbrand und Hautkrebs an der Tagesordnung.“

Herr Waschbär: „Würde es Ihnen etwas ausmachen, Meister Klempner, die Jalousie herunterzuziehen? Nur so.“

Meister Klempner: „Aber ich bitte Sie, wir haben doch das Fenster-glas dazwischen – Herr Waschbär, Physik! Außerdem scheint mir, Ihnen fehlt ein wenig das Vertrauen in unser Reparatursystem. Lassen Sie mich Ihnen noch ein weiteres Beispiel geben, vielleicht wird Sie das überzeugen.“

Bei der Vermehrung der Zellen, wenn also aus einer Zelle zwei werden sollen, muß vor der Zellteilung das gesamte Erbmaterial verdoppelt werden, man spricht von der Replikation der DNA. Dazu werden die Schienenpaare auseinandergetrennt und zwar so, daß die schwachen Bindungen zwischen den beiden Bausteinen einer Schwelle geöffnet werden. Jede der beiden Schienen trägt dann noch die richtige Abfolge der Erbbausteine und kann als Vorlage für ein neues Schienenpaar dienen. Die so hergestellten Schienenpaare enthalten also einen alten Strang und einen neu gefertigten Strang. Diese Aufgabe stellt höchste Anforderungen an die Zelle, stellt man sich nur einmal vor, daß über eine Länge von 2 Millionen Kilometern neue Schienen hergestellt werden müssen. Bei diesem Vorgang kommt es deswegen ab und an vor, daß die Paarungsregel nicht korrekt befolgt wird. Gegenüber einem T-Baustein wird dann kein A-Baustein, sondern vielleicht ein G oder ein C eingebaut. Würde der falsche Baustein an dieser Stelle der DNA verbleiben, hätte das möglicherweise schlimme Folgen für die Zelle und für nachfolgende Generationen. Glücklicherweise kann die Reparatur-

maschinerie solch eine Fehlpaarung erkennen und den falschen Baustein entfernen.“

Herr Waschbär: „Woher weiß die Zelle jedoch, welcher der beiden Bausteine der falsche ist? Ich jedenfalls könnte nicht entscheiden, ob bei einer GA-Fehlpaarung das A oder das G zu entfernen wären.“

Meister Klempner: „Sehr gut, Herr Waschbär, ich bin beeindruckt! Genau das ist ein Problem. Die Entscheidung, welcher Bausteine nicht dorthin gehört und zu entfernen ist, muß davon abhängen, welcher der beiden Schienenstränge neu hergestellt wurde und welcher der alte ist. Der Baustein der neuen Schiene ist dann zu entfernen. Es ist also für die Zelle notwendig, die beiden Stränge zu unterscheiden und zwar solange, bis durch die Fehlpaarungsreparatur sichergestellt ist, daß keine Fehlpaarungen mehr vorliegen. Sie werden überrascht sein, Herr Waschbär, aber genau dazu sind Zellen in der Lage.“

Herr Waschbär: „Wie raffiniert.“

Meister Klempner: „Lieber Herr Waschbär, ich möchte Sie nicht zu sehr strapazieren und würde vorschlagen, unsere Unterhaltung für heute zu beenden. Gerne bin ich morgen wieder bereit, Sie in die Geheimnisse unserer Reparatursysteme weiter einzuweißen. Haben Sie noch eine geruhige Nacht und bis morgen.“

Herr Waschbär trinkt seinen Rotwein aus und verläßt nachdenklich des Klempners Heim. Am nächsten Tag klopft schon zu früher Stunde unser Herr Waschbär aufgebracht an die Haustür von Meister Klempner.

Meister Klempner: „Aber Herr Waschbär, was treibt Sie denn schon so früh am Tag in dieses herbstliche Sturmwetter? Sie sind ja ganz aufgeregt und unterkühlt, um Himmels Willen, kommen Sie rein.“

Herr Waschbär: „Der Sturm hat drüben an der Allee mehrere Bäume ausgerissen und auf die Straße gestürzt. Der ganze Verkehr ist zusammengebrochen, die Straße beschädigt und wenn es weiterhin so stürmt, ist noch Schlimmes zu befürchten.“

Meister Klempner und Herr Waschbär gehen zum Fenster, an dem sie

am letzten Abend saßen. Auf dem Tisch stehen noch ihre zwei Gläser und die geleerte Flasche Rotwein.

Meister Klempner: „Setzen Sie sich bitte, Herr Waschbär, von hier aus können wir uns das Unwetter in Ruhe ansehen. Ich setze uns einen Kaffee auf.“

Während Herr Waschbär so in sich versunken dem Wüten des Sturmes zuschaut, fällt ihm das gestrige Gespräch ein, und er kann es kaum erwarten, bis Meister Klempner vom Kaffeeaufsetzen zurückkommt.

Herr Waschbär: „Meister Klempner, das Schienennetz in unseren Zellen, kann es auch ganz unterbrochen werden? Ich meine nicht nur verdellt oder mit fehlenden Schwellen, sondern richtig beschädigt mit zwei unterbrochenen Schienensträngen und mehreren fehlenden Schwellen. Gibt es so etwas?“

Meister Klempner: „Oh ja, Herr Waschbär. So etwas gibt es auch in unseren Zellen, nicht sehr häufig, aber auch nicht ganz so selten. Man spricht dann von einem Doppelstrangbruch in der DNA. Aber ich kann Sie beruhigen, Herr Waschbär, nur die wenigsten äußeren Einflüsse sind dazu in der Lage.“

Herr Waschbär schaut ängstlich hinaus zu den Wolken, hinter denen die Sonne nur konturenhaft zu erkennen ist.

Meister Klempner: „Strahlung gehört dazu, wenngleich es darauf ankommt, wie energiereich sie ist. Beim Sonnenlicht sind wir noch auf der sicheren Seite, erst bei den Röntgen- und Gammastrahlen wird es gefährlich.“

Herr Waschbär: „Dann kommt wohl jede Rettung zu spät – arme Zelle.“

Meister Klempner: „Nicht ganz, Herr Waschbär, auch ein Doppelstrangbruch kann von der Zelle repariert werden, von den meisten jedenfalls.“

Herr Waschbär: „Ja aber die fehlenden Schwellen und somit die Erbinformation ist sicher für immer verloren. Schließlich sind beide Stränge der DNA zerstört.“

Meister Klempner: „Das scheint so, lieber Herr Waschbär, doch habe

Nukleotidexzisionsreparatur

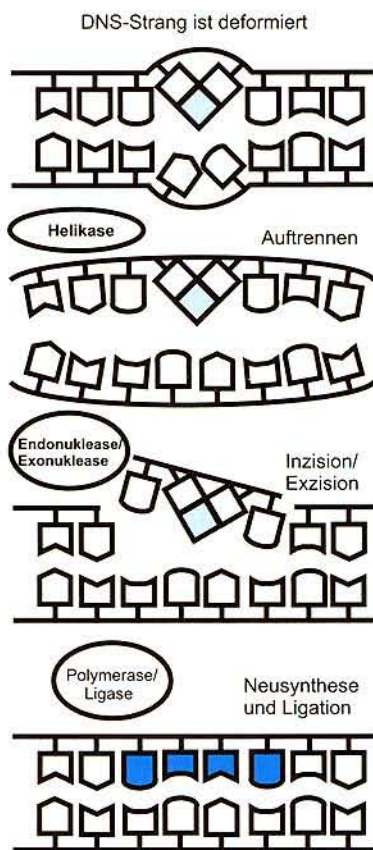


Abbildung 2:
Bei der Nukleotidexzisionsreparatur werden Deformationen am DNA-Strang erkannt, die z.B. durch eine Dimerbildung zweier benachbarter Basen zustande kommen können. Anschließend trennen Helikasen die Bindungen zwischen den beiden DNA-Strängen auf und Endo- bzw. Exonukleasen entfernen ein einzelsträngiges DNA-Stück mit einer Länge von 27 bis 29 Basen, welches den Schaden trägt. Eine Polymerase füllt die entstandene Lücke durch Neusynthese wieder auf und eine Ligase beschließt den Reparaturvorgang.

Fehlpaarungsreparatur

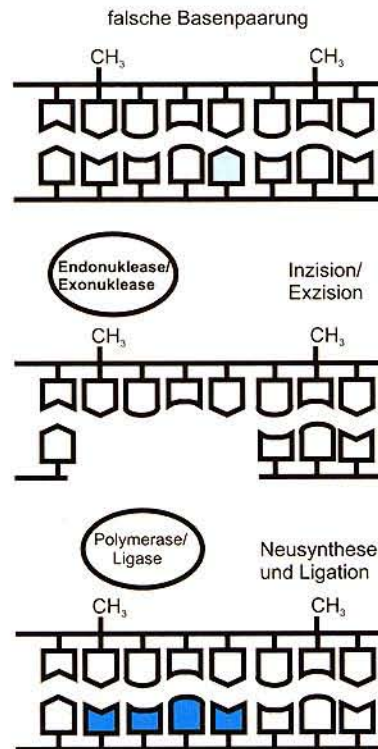


Abbildung 3:
Bei der Replikation der DNA treten in seltenen Fällen falsch eingebaute Basen auf, die Paarungsregel wurde nicht befolgt. Da der neu synthetisierte Strang direkt nach der Replikation noch nicht methyliert (-CH₃) vorliegt, ist eine Unterscheidung zwischen altem und neuem DNA-Strang möglich, und die falsch eingebaute Base kann wieder entfernt werden. Dazu erfolgt direkt neben der Fehlpaarung durch eine Endonuklease ein Einschnitt, worauf eine Exonuklease die falsche Base und weitere Nukleotide entfernen kann. Nach Neusynthese und Ligation ist die Fehlpaarung behoben und die genetische Information wiederhergestellt.

ich Ihnen bei unserem gestrigen Gespräch ein paar nicht ganz so unwichtige Einzelheiten verschwiegen. Zum einen gibt es nicht nur ein DNA-Molekül pro Zelle, sondern die Erbinformation ist auf mehrere Moleküle, die sogenannten Chromosomen, verteilt. Insgesamt hat eine menschliche Zelle 23 verschiedenartige Chromosomen – wir beide haben sogar 24 verschiedene, doch möchte ich Sie nicht mit Details langweilen. Ein zweiter mindestens ebenso wichtiger Punkt ist, daß diese DNA-Moleküle sozusagen in doppelter Ausfertigung in der Zelle vorliegen, man sagt, die Zelle ist diploid. Sie, Herr Waschbär, oder richti-

JUSTUS-LIEBIG-
UNIVERSITÄT
GIESSEN

Dr. Markus Löbrich

Strahlenzentrum
Leihgesterner Weg 217
35392 Gießen
Telefon (0641) 99-1 53 02
Telefax (0641) 99-1 50 09
e-mail markus.loeblich@strz.uni-giessen.de

ger gesagt, Ihre Frau und Ihre reizenden Töchter besitzen also zweimal 23 verschiedene Chromosomen oder DNA-Moleküle pro Zelle. Und genau darin liegt auch das Geheimnis der Reparatur von Doppelstrangbrüchen. Selbst wenn beide Stränge eines Moleküls zerbrochen sind und selbst wenn riesige Lücken in der DNA auftreten, ist es immer noch möglich, den Schaden vollständig zu beheben und die ursprüngliche Abfolge der Informationsbausteine wiederherzustellen. Das

Reparatursystem muß sich dazu allerdings der zweiten Ausfertigung des geschädigten DNA-Moleküls bedienen, denn diese besitzt exakt die gleiche Abfolge der Bausteine.“

Herr Waschbär: „Und wie stelle ich mir so ein ‘Bedienen’ vor?“

Meister Klempner: „Sich-Bedienen bedeutet hier zuerst einmal, daß das beschädigte DNA-Molekül seinen homologen Partner finden muß, so wird nämlich die zweite Ausfertigung genannt. Das ist oftmals nicht so einfach, weil die zusammenge-

hörigen Partner meistens nicht nebeneinander liegen – so ist es jedenfalls für uns Menschen. Haben sich die Partner gefunden, ist die Hauptarbeit schon gemacht. Jetzt werden jeweils die beiden Stränge des Moleküls aufgetrennt, ähnlich wie bei der Verdoppelung einer Zelle, und die beiden unbeschädigten Stränge des einen DNA-Moleküls können als Vorlage für die beiden beschädigten Stränge dienen.“

Herr Waschbär: „Sehr schön, was jedoch, wenn sich die beiden Part-

Wie eine Zelle

Am Strahlenzentrum der Universität Gießen wird in der Abteilung von Prof. Dr. Jürgen Kiefer gegenwärtig untersucht, wie Säugerzellen den DNA-Schaden eines Doppelstrangbruches entweder korrekt reparieren oder aber so beheben, daß bleibende genomische Veränderungen entstehen. Dazu werden in Kulturflaschen gezüchtete Zellen von Menschen und verschiedensten Nagetieren Röntgen-, gamma- oder alpha-Strahlen ausgesetzt, wodurch Doppelstrangbrüche im Genom der Zellen erzeugt werden. Nach der Bestrahlung erhalten die Zellen in Kultur genügend Zeit, diese Brüche wieder zu beheben und können anschließend auf eventuell aufgetretene genomische Veränderungen hin untersucht werden. Dazu wurde ein spezielles Verfahren entwickelt, welches es erlaubt, die Qualität der Doppelstrangbruchreparatur zu beurteilen. Es kann damit unterschieden werden, ob Bruchenden verknüpft worden sind, die vor Erzeugung des Bruches verbunden waren, oder ob eventuell nicht zusammengehörende Enden von zwei unter-

schiedlichen Brüchen miteinander verknüpft wurden. Das Prinzip dieses molekularbiologischen Verfahrens beruht darauf, daß im Gegensatz zu herkömmlich eingesetzten Methoden nicht ein „Zählen“ der nach der Reparaturzeit noch vorhandenen Brüche erfolgt, sondern daß untersucht wird, ob die Abfolge von Restriktionsschnittstellen entlang eines Chromosoms durch das Verknüpfen verändert wurde. Ein Verbinden von falschen Bruchenden beseitigt nämlich den Bruch, hängt jedoch „falsche“ DNA-Moleküle aneinander und erzeugt so eine veränderte Abfolge von Restriktionsschnittstellen. Dieses Phänomen der Mißreparatur von Doppelstrangbrüchen nach Bestrahlung führt zu intra- oder inter-chromosomalen Veränderungen und tritt überraschenderweise selbst in Zellen von gesunden Individuen recht häufig auf.

Zellen von Patienten, die an der Erbkrankheit Ataxia Telangiectasia (AT) leiden, zeigen nach Bestrahlung vermehrt chromosomale Veränderungen, und die Patienten weisen – wahrscheinlich durch einen Reparaturdefekt bedingt – ein erhöhtes

Krebsrisiko auf. Obwohl diese rezessiv vererbte Krankheitsform, bei der sich schon in frühen Entwicklungsstadien schwerste neurologische Defekte zeigen, nur mit einer Häufigkeit von 1 : 40.000 auftritt, trägt fast ein Prozent aller Menschen eine Veranlagung für AT, indem eines der beiden Allele des AT-Gens beschädigt vorliegt. Inwieweit bereits eine Veranlagung für AT mit einem erhöhten Krebsrisiko und womöglich mit vermehrt auftretenden Chromosomenveränderungen zusammenhängt, ist noch nicht geklärt, stellt jedoch auch für die radiologische Diagnostik eine äußerst interessante und medizinisch relevante Frage dar.

Mit dem am Strahlenzentrum entwickelten Verfahren zur Messung der Mißreparatur von Doppelstrangbrüchen ist es erstmals auch möglich, ganz bestimmte Bereiche des Genoms einer Zelle zu untersuchen. Dies erlaubt wiederum Unterschiede in der Reparatur von Brüchen aufzudecken, welche mit der Organisationsstruktur der untersuchten DNA-Bereiche zusammenhängen. So ist bekannt, daß DNA-Bereiche mit Genen, die für eine bestimmte Zelle

ner nicht finden, sie können ja schließlich nicht endlos suchen. Gibt es dann noch Möglichkeiten zur Reparatur?"

Meister Klempner: „Dieses Partnersuchen kann eine wirklich kräfteraubende Angelegenheit sein, und es ist umso schwieriger, je komplizierter und größer eine Zelle ist. Da haben es die einfachsten diploiden Zellen noch recht gut, und das ist wahrscheinlich auch ein Grund, warum die Reparatur von Doppelstrangbrüchen in diesen Zellen fast

immer über einen Partneraustausch abläuft. Sie haben recht Herr Waschbär, menschliche Zellen benutzen nicht nur den Partneraustausch zur Reparatur, sie haben sozusagen noch einen Alternativweg. Wahrscheinlich wird dieser Alternativweg bei uns Menschen sogar häufiger benutzt.“

Herr Waschbär: „Ich liebe Alternativen!“

Meister Klempner: „Auch wenn es sich sehr einfach anhört, dieser alternative Reparaturweg verbindet

die Stränge gerade so, wie sie sind. Fehlen ein paar Informationsbausteine, dann fehlen sie halt, aber wenigstens sind die Stränge wieder miteinander verbunden.“

Herr Waschbär sichtlich geschockt und bestürzt: „Sie sagen, dann fehlen sie halt, nach all den ausgeklügelten Reparaturmechanismen für jeden nur erdenklichen Schaden jetzt so etwas? Weiß die Zelle denn nichts Besseres, als die Stränge einfach zu verbinden?“

Meister Klempner: „Offensichtlich

Doppelstrangbrüche in der DNA repariert

notwendig sind und die in diesen Zellen auch aktiv exprimiert, also in Proteine umgesetzt werden, in einer „offenen“ Struktur vorliegen. DNA mit nicht-transkribierten Bereichen ist dagegen oft sehr komprimiert und „verschlossen“, man spricht von heterochromatischer DNA. Viel weniger weiß man über die Organisationsstruktur von sogenannten repetitiven DNA-Bereichen, welche sehr oft wiederkehrende Sequenzfolgen enthalten und an der Proteinherstellung nicht direkt beteiligt sind. Hängt das Reparaturvermögen der Zelle – und speziell die Häufigkeit von Mißreparatur-Ereignissen – von der Organisationsstruktur der DNA ab, so sollten auch bei der Entstehung spezifischer Krebsarten aus unterschiedlichem Gewebe Veränderungen in ganz bestimmten DNA-Bereichen vorliegen, was in der Tat experimentell schon beobachtet wurde.

Die molekularen Mechanismen der Doppelstrangbruch-Reparatur lassen sich am geeignetsten mit Zellen untersuchen, die aufgrund des Funktionsverlustes eines Enzyms einen definierten Reparaturdefekt auf-

weisen. So zeigen Zellen von einem bestimmten Stamm von Mäusen mit stark ausgeprägter Immunschwäche einen Defekt in der Reparatur von Doppelstrangbrüchen, weil das Enzym ku80 nicht funktionsfähig ist. Dieses Enzym ist dafür verantwortlich, die Bruchenden vor einem enzymatischen Abbau zu schützen und somit den Endjoining-Reparaturprozeß zu gewährleisten (siehe Abbildung 4 auf der nächsten Seite). Die auftretende Immunschwäche hängt dabei damit zusammen, daß bei dem Prozeß zur Erzeugung der Antikörper-Vielfalt in B-Lymphozyten Doppelstrangbrüche von der Zelle selbst in bestimmten DNA-Bereichen gesetzt, anschließend jedoch nicht in der notwendigen Weise verbunden werden. Ähnlich ist der Defekt in Zellen von SCID-Mäusen (für *severe combined immuno deficiency*), die ein mutiertes Gen des ebenfalls für den Endjoining-Prozeß notwendigen Enzyms p350 aus der DNA-PK tragen. Untersuchungen mit solchen reparaturdefizienten Zelllinien werden zeigen, welcher der beiden bekannten Reparaturwege für Doppelstrangbrüche, das Endjoining oder

die homologe Rekombination, für das Auftreten von Mißreparatur-Ereignissen verantwortlich ist. Grund zur Annahme, daß der Mechanismus der homologen Rekombination ebenso wie der Endjoining-Prozeß zu Mißreparaturen führen könnte, besteht, weil in der Zelle durch das Vorhandensein vieler repetitiver Sequenzen homologe Zustände vorge-tauscht werden. Eine homologe Rekombination könnte somit nicht nur zwischen homologen Chromosomen, sondern auch zwischen homologen Sequenzen zweier verschiedener Chromosomen oder sogar innerhalb eines Chromosoms ablaufen, was dann möglicherweise zur Verbindung von falschen Bruchenden und somit zu Fehlreparatur-Ereignissen führt.

In einer Arbeitsgruppe am Strahlencentrum arbeiten momentan neben Dr. Markus Löbrich und dem Biophysiker Kai Rothkamm die Studenten Jana Wetzels und Martin Kühne sowie die veterinärmedizinische Assistentin Michaela Friese an dem Phänomen der Mißreparatur von Doppelstrangbrüchen. •



Markus Löbrich, 32 Jahre, ist seit 1996 Assistent am Strahlencentrum in der Abteilung „Zell- und Strahlenbiophysik“. Er studierte in Darmstadt und Gießen, wo er 1990 seine Diplomarbeit über die Transkriptionsinhibition in Säugerzellen durch ionisierende Strahlung anfertigte. 1993 wurde er mit einer Arbeit über die Mechanismen der Doppelstrangbruch-Induktion nach Teilchenstrahlung promoviert. 1994 bis 1996 verbrachte er als „Post-doc“ am Lawrence Berkeley National Laboratory in Berkeley, Kalifornien, wo ihm die Welt der Reparaturphänomene näher kam. Zurück in Gießen gilt nun sein Forschungsschwerpunkt der Reparatur von Doppelstrangbrüchen. Auslandsaufenthalte führten ihn 1992 als Stipendiat des Deutschen Akademischen Austauschdienstes nach Berkeley und 1997 nach Rom ans Istituto Superiore Di Sanita.

nicht, (nochmals zu sich selbst) offensichtlich nicht, Herr Waschbär, ich verstehe Ihre Enttäuschung. Doch bitte bedenken Sie, wie selten solch ein Schaden auftritt.“ Ein Seufzer läßt erkennen, daß auch Meister Klempner mit dieser Entschuldigung unzufrieden ist. „Sie müssen wissen, Herr Waschbär, das Verbinden der Stränge ist eine absolute Notwendigkeit für die Zelle, andernfalls wäre der Zelltod unumgänglich. Und ebenso wichtig ist, daß die richtigen Schienenenden miteinander verbunden werden. Treten in unseren Zellen mehrere Doppelstrangbrüche gleichzeitig auf, so besteht die Gefahr, daß Schienen verknüpft werden, die ursprünglich nicht verbunden waren, und die natürlich auch nicht zusammengehören. Das führt dann zu kuriosen Gebilden, bei denen ein Stück des einen Chromosoms mit einem zweiten Stück eines anderen Chromosoms verbunden ist. Man spricht in diesen Fällen von Chromosomenaberrationen. Und wenn solche Aberrationen auftreten, steht es um unsere Zelle überhaupt nicht gut. Man weiß heute, daß Chromosomenaberrationen in engem Zusammenhang mit der Entstehung von Krebs stehen, und dies gilt es, wie Sie sich wohl denken können, unter allen Umständen zu vermeiden.“

Herr Waschbär: „Also lieber die Enden schnell verbinden, auch wenn ein paar Bausteine verloren gehen, um diese schlimmen Aberrationen zu verhindern.“

Meister Klempner: „Sie sagen es, Herr Waschbär.“

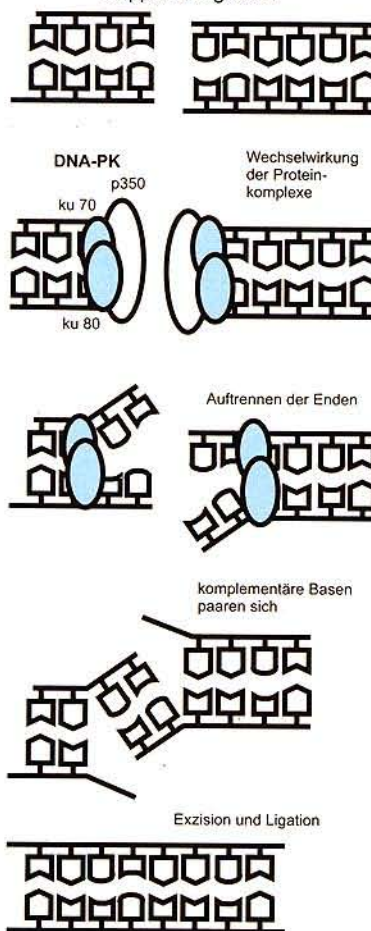
Herr Waschbär: „Ich muß jetzt gehen, der Wind wird noch die Ziegel von den Dächern tragen, und wer kann so einen Schaden noch reparieren!“ •

*This was the most unkindest cut of all ...
Then I, and you, and all
of us fell down,
Whilst bloody treason
flourished over us.*

William Shakespeare, Julius Caesar, 3. Aufzug, 2. Szene

End-Joining

Doppelstrangbruch



↑ Abbildung 4: Durch den End-Joining-Prozess können DNA-Doppelstrangbrüche behoben werden. Ein Heterodimer bestehend aus den Proteinen ku70 und ku80 bindet an die Bruchenden und rekrutiert das Protein p350. Diese so zusammengesetzte DNA-abhängige Proteinkinase (DNA-PK) kann weitere Enzyme phosphorylieren und den End-Joining-Prozess in Gang setzen. Das Heterodimer ku70/ku80 trennt mit seiner Helikaseaktivität die DNA-Stränge von den Enden ausgehend auf. Sobald homologe Basensequenzen auftreten, binden diese aneinander und Exonukleasen bzw. Ligasen stellen wieder einen intakten Doppelstrang her. Als Ergebnis dieses Vorganges treten oftmals kleine Deletionen auf.

↓ Abbildung 5: Bei der homologen Rekombination wird ein DNA-Doppelstrangbruch unter Zuhilfenahme eines homologen Doppelstranges repariert. Zuerst erfolgt ein Strangaustausch zwischen den beiden homologen Partnern, wodurch sich sogenannte Holliday-Junctions ausbilden und je ein geschädigter mit einem ungeschädigten Strang gepaart wird. Danach können die beiden vorliegenden Einzelstrangbrüche durch Neusynthese und Ligation repariert werden. Topoisomerasen sind in der Lage, die Holliday-Junctions wieder aufzulösen und den Ursprungszustand herzustellen.

homologe Rekombination

