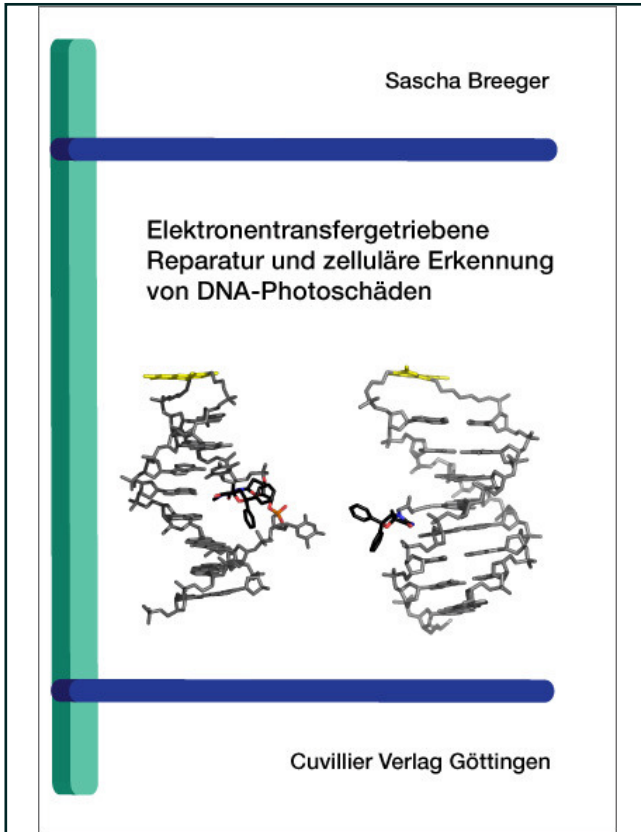




Sascha Breeger (Autor)

Elektronentransfergetriebene Reparatur und zelluläre Erkennung von DNA-Photoschäden



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/1813>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	viii
Zusammenfassung.....	xi
<i>Summary</i>	xv
1 Einführung.....	1
1.1 Oxidativer Ladungstransfer in DNA.....	4
1.1.1 Der <i>Hopping</i> -Mechanismus.....	10
1.1.2 Das <i>A-Hopping</i>	13
1.1.3 Das <i>Polaron-Hopping</i> -Modell.....	16
1.1.4 Das „ <i>Delocalized Domain</i> “-Modell.....	19
1.2 Reduktiver Elektronentransfer in DNA.....	21
1.2.1 Reduktiver Ladungstransfer in der Natur und daraus abgeleitete Modellsysteme.....	26
1.3 <i>Photoaffinity labeling</i> als Methode zur Aufklärung von Protein-Substrat- Wechselwirkungen.....	35
1.3.1 Chemische Methoden in der Proteomanalyse – das <i>Activity-based protein profiling</i>	40
1.3.2 Das <i>Photoaffinity labeling</i> – kovalente Markierung über Reaktion mit photolabilen Substraten.....	43
1.3.3 DNA als Substrat in <i>photoaffinity labeling</i> -Experimenten.....	54
2 Synthese und Charakterisierung flavin- und oxetanenthaltender DNA-Haarnadeln.....	58
2.1 Aufgabenstellung.....	58
2.2 Synthese des Oxetanbausteins.....	60
2.3 Synthese flavin- und oxetanhaltiger DNA-Haarnadeln.....	66

2.4	Charakterisierung der DNA-Haarnadeln.....	70
2.5	Belichtungsexperimente unter Verwendung von Natriumdithionit.....	75
2.6	Belichtungsexperimente mit EDTA und N ₂ O.....	79
2.7	Zusammenfassung und Ausblick.....	84
3	Synthese und Elektronentransfereigenschaften flavin- und bromnukleosidenthaltender DNA-Haarnadeln.....	87
3.1	Aufgabenstellung.....	87
3.2	Synthese und Reinigung der DNA-Haarnadeln.....	89
3.3	Charakterisierung der DNA-Haarnadeln.....	91
3.4	Belichtungsexperimente unter Verwendung von EDTA als Photoreduktionsmittel.....	95
3.5	Zusammenfassung und Ausblick.....	102
4	Synthese diazirinenthaltender DNA-Doppelstränge – <i>Photoaffinity labeling</i> DNA-bindender Proteine in Zellextrakten...	105
4.1	Aufgabenstellung.....	105
4.2	Synthese der Diazirinfestphasenbausteine 99 und 100.....	108
4.3	Strategien zur Synthese diazirin- und DNA-Schäden enthaltender DNA-Doppelstränge.....	113
4.3.1	Direkter Einbau des Phosphoramidits 99.....	113
4.3.2	Inkorporation des Diazirinbausteins über <i>Click-Chemie</i>	119
4.3.3	Synthese der DNA-Schäden enthaltenden Oligonukleotide.....	123
4.4	Charakterisierung der Oligonukleotide.....	126
4.5	<i>Photoaffinity-labeling</i> -Experimente.....	132
4.5.1	Versuche mit rekombinanten DNA-Reparaturproteinen.....	132
4.5.2	Versuche mit Zellextrakten aus <i>E. coli</i> -Überexpressionsstämmen.....	139
4.5.3	Versuche mit <i>E. coli</i> Wildtyp-Zellextrakten.....	148
4.5.4	Experimente mit humanen Nuklearextrakten und <i>S. cerevisiae</i> -Zelllysaten.....	152
4.6	Zusammenfassung und Ausblick.....	156

5	Experimenteller Teil.....	160
	Material und Methoden.....	160
5.1	Synthese des Thymin-Oxetanbausteins 77.....	166
5.2	Synthese des Diaziriniiodids 101.....	171
5.3	Synthese des DNA-Diazirinbausteins 99.....	177
5.4	Synthese des RNA-Diazirinbausteins 100.....	182
5.5	Synthese und Aufreinigung der Oligonukleotide.....	188
5.5.1	Synthese der flavin- und bromnukleosidhaltenden DNA-Haarnadeln.....	188
5.5.2	Abspaltung und Aufreinigung der flavin- und bromnukleosidhaltenden DNA-Haarnadeln.....	189
5.5.3	Synthese und Aufreinigung der flavin- und oxetanhaltigen DNA-Haarnadeln	191
5.5.4	Synthese und Aufreinigung der diazirinenthaltenden Oligonukleotide.....	192
5.5.5	Synthese der schädenenthaltenden Gegenstränge.....	194
5.6	Reparaturexperimente mit den donor-/akzeptormodifizierten DNA-Haarnadeln H1-5 _{a,b,c} und POx1-4.....	197
5.7	<i>Photoaffinity labeling</i> -Experimente.....	198
5.7.1	<i>Labeling</i> von gereinigten Proteinen.....	199
5.7.2	<i>Labeling</i> von <i>E. coli</i> und <i>S. cerevisiae</i> -Zellextrakten.....	201
5.7.3	<i>Labeling</i> von humanen Nuklearextrakten.....	203
5.7.4	<i>In gel</i> -Trypsinverdau der gelabelten Banden.....	204
	Literaturverzeichnis.....	207
	Anhang.....	241
A	Röntgenkristallstrukturdaten von Verbindung 87.....	241
B	Zusammenstellung der verwendeten Puffersysteme.....	249
C	<i>Mascot</i> -Ergebnisprotokolle der durch Trypsinverdau und <i>Peptide mass fingerprinting</i> untersuchten Proteine.....	251
D	Abkürzungsverzeichnis.....	269