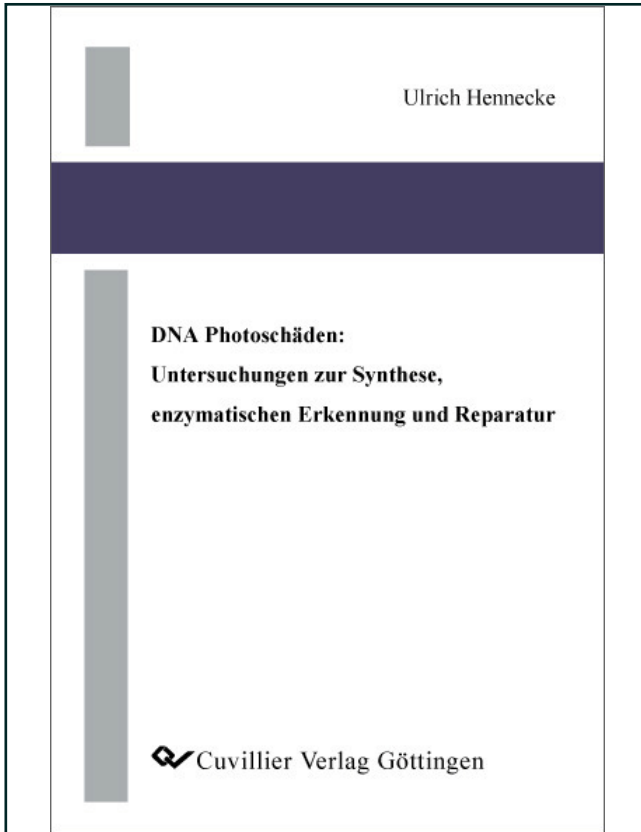




Ulrich Hennecke (Autor)

**DNA Photoschäden: Untersuchungen zur Synthese,
enzymatischen Erkennung und Reparatur**



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/1852>

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

Danksagung	5
Inhaltsverzeichnis	9
Zusammenfassung	13
Summary	16
1. Einleitung	19
1.1 DNA und DNA Schäden	19
1.2 Oxidative Schäden und oxidativer Ladungstransport in DNA	20
1.3 DNA Photoschäden	22
1.3.1 Cyclobutanpyrimidindimere (CPD Schäden).....	24
1.3.2 (6-4)-Photoschäden und ihre Dewarvalenzisomere.....	25
1.3.3 DNA Photophysik und Photochemie.....	27
1.4 Die Auswirkungen von DNA Photoschäden in der Zelle.....	29
1.4.1 DNA Photoschäden und DNA Polymerasen	30
1.4.2 DNA Photoschäden und RNA Polymerasen	33
1.5 Die Reparatur von DNA Photoschäden.....	34
1.5.1 Photoschäden und BER	34
1.5.2 Photoschäden und NER.....	36
1.5.3 Transkriptions-gekoppelte DNA Reparatur.....	37
1.5.4 DNA Photolyasen	38
1.6 DNA Photoschäden und Mutagenität	43
1.7 CPD Schäden und der reduktive Ladungstransport in DNA	45
2. Aufgabenstellung	47
3. Überschusselektronentransfer in DNA	48
3.1 Einleitung.....	48
3.2 Überschusselektronentransfer in DNA-Doppelsträngen mit Donor 26 und Akzeptor 28	50
3.2.1 Herstellung und Charakterisierung der modifizierten DNA Stränge ...	50
3.2.2 Elektronentransferexperimente.....	53
3.3 Überschusselektronentransfer in DNA-Haarnadeln mit Donor 27 und Akzeptor 28	60

3.4	Experimente zum Überschusselektronentransfer in DNA Doppelsträngen der Gruppe Rokita.....	61
3.5	Überschusselektronentransferexperimente mit einem Einelektronendonator 38 und dem CPD Schaden 28	62
3.6	Überschusselektronentransferexperimente mit Oxetanen als Akzeptor	64
3.6.1	Synthese des Bausteins 46	67
3.6.2	Einbau von Oxetan 46 in DNA-Flavin-Haarnadeln und Charakterisierung der erhaltenen DNA-Stränge.....	69
3.6.3	Elektronentransferexperimente mit Flavin-Oxetan-Haarnadeln.....	71
3.7	Diskussion der Ergebnisse und Ausblick	74
4.	Die CPD Photolyase – Substrat- und Kofaktorbindung	77
4.1	Einleitung.....	77
4.2	Die Substrat-Enzyme Kokristallstruktur.....	78
4.2.1	Vorarbeiten	78
4.2.2	Analyse der CPD Schaden enthaltenden DNA aus Photolyasekristallen.	80
4.2.3	Die CPD Photolyase Struktur mit gebundenem Substrat	83
4.2.4	Weitere Kokristallisationsversuche	87
4.3	Die CPD-Photolyase und modifizierte Kofaktoren	89
4.3.1	Synthese von 8-substituierten Flavinderivaten.....	90
4.3.2	Einbau von synthetischen Kofaktoren in <i>T. thermophilus</i> CPD Photolyase.....	94
5.	Die eukaryotische RNA Polymerase II und der CPD Schaden.....	96
5.1	Einleitung.....	96
5.2	Aufbau der verwendeten Nukleinsäurekonstrukte.....	97
5.3	Biochemische Experimente	98
5.4	Kokristallstrukturen der RNA Polymerase II mit CPD Dimer DNA	100
5.4.1	Die RNA Polymerase II Struktur mit RPK1 (Struktur A).....	102
5.4.2	Die RNA Polymerase II Struktur mit RPK2 (Struktur B)	102
5.4.3	Die RNA Polymerase II Struktur mit RPK3 (Struktur C)	103
5.4.4	Die RNA Polymerase II Struktur mit RPK4 (Struktur D).....	105
5.5	Die Blockade der RNA Polymerase II durch die CPD Schaden-Uridin Fehlpaarung	107

5.6	Der Transkriptionsfaktor TFIIS und die durch den CPD Schaden blockierte RNA Polymerase	110
5.7	Zusammenfassung und Ausblick.....	111
6.	Methoden zur Herstellung des (6-4)-Schadens	114
6.1	Einleitung.....	114
6.2	Studien zur Totalsynthese des (6-4)-Schadens	116
6.2.1	1,4-Additionen von Cupraten an Uridinderivate	117
6.2.2	Kreuzkupplungen mit 4-Arylsulfonaten von 2-Pyrimidinonukleosiden	119
6.2.3	Synthesestudien zum (6-4)-Schaden.....	126
6.3	Die direkte Belichtung kurzer DNA Stränge.....	133
6.3.1	Die Belichtung von 5'-AATTAA-3' (DS22)	133
6.3.2	Die Belichtung von 5'-GGTTGG-3' (DS23) und 5'-GGTCGG-3' (DS24).....	137
6.3.3	Ein neuer, einfacher Assay für die (6-4)-Photolyase.....	140
6.3.4	Die Synthese eines exocyclisch ¹⁵ N-markierten (6-4)-Schadens für NMR-Untersuchungen.....	142
6.4	Zusammenfassung und Ausblick.....	148
7.	Experimenteller Teil.....	151
7.1	Material und Methoden.....	151
7.2	Spezielle Methoden	157
7.2.1	Überschusselektronentransferexperimente	157
7.2.2	Transkript-Verlängerungsexperimente mit der RNA Polymerase II..	158
7.2.3	Belichtungen zur Herstellung des (6-4)-Schadens	158
7.2.4	(6-4)-Photolyaseassay.....	159
7.3	Synthesevorschriften.....	160
7.3.1	Synthese des Oxetan-Uridin-Konjugates.....	160
7.3.2	Synthese von 8-Demethyl-8-iodriboflavin	164
7.3.3	Synthesestudien zur Herstellung des (6-4)-Schadens: 1,4-Addition ..	166
7.3.4	Synthesestudien zur Herstellung des (6-4)-Schadens: Kreuzkupplungen	168
7.3.5	Synthesestudien zur Herstellung des (6-4)-Photoschadens: Untersuchungen zur Einführung von funktionellen Gruppen.....	180

7.3.6	Synthese eines ^{15}N -markierten Cytosinphosphoramidites-Bausteins für die DNA Synthese	186
8.	Literaturverzeichnis	190
9.	Anhang.....	203
9.1	Kristallstrukturdaten für 8-Demethyl-8-aminoriboflavin (60)	203
9.2	NMR-Spektren der Verbindungen 134 und 135	205
9.3	Abkürzungsverzeichnis.....	207