

barkeit, Laufstreckenreproduzierbarkeit, Selektivität und Linearität erfolgreich validiert; zudem wurden die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der einzelnen Substanzen festgelegt.

Um die Robustheit der entwickelten Methode zu prüfen, wurde der Einfluss von relativer Luftfeuchte, Zusammensetzung der Konditionierlösung und Kammergeometrie auf die Trennung sowie die Fluoreszenzstabilität/-intensivierung untersucht. [2]

Literatur:

1. Gross GA, Grueter A (1992) *Journal of Chromatography* 592: 271.
2. Jautz U, Morlock G (2006) *Journal of Chromatography A*, in Vorbereitung.

Mechanismen der zellulären Aufnahme von Isoflavonen *in vitro*

C. E. Rüfer¹, S. E. Kulling²

¹Karlsruhe

²Institut für Ernährungswissenschaft, Universität Potsdam, Nuthetal

Isoflavone gehören zur Gruppe der Phytoestrogene. Wichtigste Quelle für die Zufuhr sind Sojabohnen, die die drei Isoflavone Genistein (GEN), Daidzein (DAI) und Glycitein (GLY) enthält. In der Natur liegen Isoflavone hauptsächlich als O-Glucoside vor. Bis heute sind die molekularen Mechanismen der Aufnahme der Isoflavone im Darm weitgehend unbekannt. Das fehlende Auftreten der Glucoside im Plasma deutet daraufhin, dass Isoflavone in Form ihrer lipophilen Aglykone durch passive Diffusion nach vorangehender Hydrolyse der Glucoside im Darm resorbiert werden. Ob aktive Transportproteine an der Aufnahme und am Efflux beteiligt sind, ist bisher wenig untersucht.

Ziel dieser Studie war es, die molekularen Mechanismen der Aufnahme der drei Soja-Isoflavone GEN, DAI und GLY im Zellkulturmodell an drei Zellarten (V79-, Caco-2-Zellen und humane Lymphozyten) zu untersuchen. Dazu wurden konzentrations- und zeitabhängige Experimente bei 4 und 37 °C durchgeführt, um Aufschluss über die Beteiligung aktiver und passiver Transportprozesse zu erhalten. Zusätzlich wurden aktive Transporter selektiv inhibiert, um beteiligte Proteine zu identifizieren.

Zwischen der zellulären Aufnahme und den steigenden eingesetzten Konzentrationen der Isoflavone bestand sowohl bei V79- als auch bei Caco-2-Zellen ein linearer Zusammenhang. GEN wurde am stärksten in den Zellen akkumuliert (zehnfach), gefolgt von DAI (etwa achtfach) und GLY (etwa sechsfach). In den Lymphozyten wurde hingegen ein exponentieller Anstieg der

aufgenommenen Menge beobachtet, wobei GLY am meisten angereichert wurde. Bei der zeitabhängigen Untersuchung der zellulären Aufnahme der Isoflavone wurde ein Anstieg bis zu einem Grenzwert detektiert, wobei bei V79-Zellen und den Lymphozyten keine Unterschiede zwischen den Inkubationen bei 37 und 4 °C gefunden wurden. Dies ist ein starker Hinweis darauf, dass Isoflavon-Aglykone durch passive Diffusion aufgenommen werden, da die Enzymaktivität der für den aktiven Transport nötigen ATPasen bei tiefen Temperaturen erheblich reduziert ist. Die Akkumulation in den Zellen könnte durch die ausgeprägte Bindung der Isoflavone an Proteine hervorgerufen werden. Caco-2-Zellen zeigen bei 37 °C – im Gegensatz zum Konzentrationsanstieg bei 4 °C – einen exponentiell abfallenden zeitlichen Konzentrationsverlauf. Dieser wird durch die Effluxpumpen P-Glycoprotein sowie die Vertreter der Multidrug Resistance Associated Proteine hervorgerufen, die die Isoflavone wieder aus den Zellen heraustransportieren. Dies konnte durch Co-Inkubation mit den entsprechenden Inhibitoren Verapamil und MK 571 belegt werden.

Einfluss des Spurenelements Selen auf die genomische Stabilität

V. Klaus, C. Hall, H. Blessing, A. Hartwig

TU Berlin, Institut für Lebensmitteltechnologie und Lebensmittelchemie

In der Nahrungsergänzung werden die antioxidativen Eigenschaften des Selen als Bestandteil von Selenoproteinen, wie der Glutathion-Peroxidase, ausgelobt und mit einer postulierten krebspräventiven Wirkung in Verbindung gebracht. Demgegenüber wird aber auch ein oxidativer Mechanismus diskutiert: reduzierbare Selenverbindungen können durch Oxidation von Thiolgruppen Zink aus dem Zinkspeicherprotein Metallothionein bereitstellen und nehmen so an der zellulären Zinkhomöostase teil. Damit wird eine Zinkfreisetzung aus anderen zinkkoordinierenden Proteinen denkbar. In vorangegangenen Studien konnte in subzellulären Testsystemen gezeigt werden, dass reduzierbare Selenverbindungen im Gegensatz zu vollständig reduzierten die Enzymaktivität der Formamidopyrimidin-DNA-Glycolase (Fpg) herabsetzen und aus der synthetisierten Zinkfingerdomäne XPAzf Zink freisetzen. Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss von Selenverbindungen auf das Tumorsuppressorprotein p53 zu untersuchen; die transkriptionelle Steuerung der DNA-Reparatur, des