

Norbert Wilhelm Günter Bachmann

Dr. med.

## **Einfluss der Poly(ADP-ribosyl)ierung auf die Reparatur strahleninduzierter DNA-Doppelstrangbrüche in Säugetierzellen in vitro**

Geboren am 27.04.1970 in Freiburg im Breisgau

Reifeprüfung am 11.05.1990 in Emmendingen

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1993 bis WS 2000

Physikum am 28.03.1995 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg und Luzern/ Schweiz

Staatsexamen am 15.05.2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Radiologie (Schwerpunkt Strahlentherapie)

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. K.-J. Weber

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss einer *trans*-dominanten Inhibierung der Poly(ADP-ribosyl)ierung auf die Kinetik der Reparatur strahleninduzierter DNA-Doppelstrangbrüche (DNA-DSBe) untersucht, welche in Säugetierzellen vornehmlich durch das Nicht-Homologe-Endjoining (NHEJ) bewirkt wird.

Als Zellsystem dienten stabile Transfektanten der SV40-transformierten Hamster-Zelllinie CO60: die COM3-Zellen tragen ein Konstrukt zur Dexamethason induzierbaren Überexpression der DNA-bindenden Domäne der Poly(ADP-ribose) Polymerase (PARP-I) sowie ein Konstrukt zur konstitutiven Überexpression des humanen Glucocorticoidrezeptors (Hg0); die COR3-Kontrollzellen tragen nur das Hg0 Plasmid. Die DSB Induktion (Bestrahlungsdosen bis 60Gy) und das Rejoining (verschiedene Zeiten bis 20 Stunden nach 60Gy) wurde mithilfe der DNA-Pulsfeldgelelektrophorese gemessen.

Die Induktion von DNA-Doppelstrangbrüchen war in beiden Zelllinien identisch und unabhängig von der Präsenz von Dexamethason. Das DSB-Rejoining in den COR3-Kontrollzellen war ebenfalls unabhängig von Dexamethason und war identisch zu den

COM3-Zellen ohne Hormongabe. Im Gegensatz dazu zeigten die COM3-Zellen, wenn sie durch Dexamethason zur Überexpression der DNA-bindenden Domäne der PARP-I induziert wurden, eine drastische Reduktion der schnellen Komponente des DSB-Rejoining, und die erhöhte residuale Fragmentierung entsprach der des erhöhten Anteils der langsamen Komponente am Gesamtrejoining.

Die aus den jeweiligen Kinetiken ableitbaren Halbwertszeiten (schnelle und langsame Komponente) wurden durch eine Überexpression der PARP-1-DBD nicht modifiziert. Vielmehr deuten die Ergebnisse darauf hin, dass eine dominant negative PARP-1-Expression den Anteil von DSB mit Suszeptibilität gegenüber einem schnellen Rejoining reduziert. Die damit verbundene Verschiebung zugunsten der langsamen Komponente des DSB-Rejoining erhöht gleichzeitig die Wahrscheinlichkeit für ein Reparaturversagen. Diese Beobachtung kann als unmittelbare Erklärung für die lange bekannte Radiosensibilisierung von Zellen durch Inhibitoren der Poly(ADP-ribosyl)ierung sowie für die Verhinderung von Erholungsphänomenen nach Bestrahlung durch *trans*-dominante Inhibierung der PARP-1 dienen.