



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Fakultät für Klinische Medizin Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Unterdrückung der Apoptose und klonogenes Überleben humaner Lymphoblasten mit unterschiedlichem p53-Status nach Bestrahlung**

Autor: Jörg Schäfer  
Institut / Klinik: Institut für Klinische Radiologie, Sektion Strahlentherapie  
Doktorvater: Prof. Dr. F. Wenz

Die Mutation oder der Verlust des p53 Gens ist eines der molekularbiologischen Merkmale, die viele humane Tumoren gemeinsam haben. Das Tumorsuppressorgen p53 ist an der Zellzyklusregulation und an der Apoptoseinduktion nach DNA-Schädigung beteiligt. In dieser Arbeit wurde der Zusammenhang zwischen p53, Apoptose und klonogenem Überleben untersucht.

Die verwendeten Lymphoblasten-Zelllinien haben einen gemeinsamen genetischen Hintergrund und definierte Variationen des p53 Status (p53wt, p53mut, p53neg). Vorangegangene Untersuchungen zeigten, daß in diesem Zellsystem die DNA Schadensinduktion und –reparatur, als auch die Anzahl der Residualschäden, unabhängig vom p53 Status, analog sind. Für die in Suspension wachsenden Lymphoblasten-Zelllinien wurden zur Messung des klonogenen Überlebens der Multiwell-Assay verwendet, und für die Monolayer AG 1521 und AG 1521E6 die Standardprozedur in der Kulturflasche. Die Bestimmung der Apoptosekinetik erfolgte durch flußzytometrische Messung des sub-G<sub>1</sub> Peak im DNA-Histogramm, der als Maß für die Apoptose dient.

Die Unterdrückung der bestrahlungsinduzierten p53wt-abhängigen Apoptose in humanen Lymphoblastoidzellen TK6 durch die HPV16 E6 führt zu einem vergrößerten klonogenen Überleben. Eine weitere Unterdrückung der bestrahlungsinduzierten Apoptose, die demnach p53wt-unabhängig ist, wurde in der nahe verwandten WTK1 Zelllinie gefunden die mutiertes p53 überexprimiert, was wahrscheinlich eine „gain of function“ Mutation darstellt. Eine analoge komplette Suppression der bestrahlungsinduzierten Apoptose durch Phorbol 12-myristate 13 acetat (PMA) oder Caspaseinhibitor vergrößert die klonogene Radioresistenz lediglich auf das Niveau der TK6E6. Demzufolge erscheint die p53wt-unabhängige Apoptose für das klonogene Überleben nach Bestrahlung von humanen Lymphoblasten als irrelevant. Infolgedessen muß die über die der TK6E6 Zellen hinausreichende Radioresistenz der WTK1 Zellen einem bislang unbekanntem apoptoseunabhängigen Toleranzmechanismus für residuale Chromosomenschäden zugeschrieben werden. Diese besondere Radioresistenz der WTK1 Zellen ist von der G<sub>2</sub>/M Checkpointfunktion abhängig, denn die WTK1 Zellen und die TK6E6 Zellen zeigen die selbe klonogene Radiosensitivität nach Koffeinbehandlung, die zu einer Unterdrückung des G<sub>2</sub>-Arrestes aber auch zu einer Unterdrückung der bestrahlungsinduzierten Apoptose führt.