

Jörg-Christian Wolf

Dr. med.

Charakterisierung von DNA-Doppelstrangbrüchen und DNA-Reparatur nach Photonen- und ^{12}C -Ionenbestrahlung mittels supraauflösender Mikroskopie

Einrichtung: DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum)

Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Peter Huber

Ziel der vorliegenden Arbeit war die qualitative und quantitative Charakterisierung von induzierten DNA-Doppelstrangbrüchen (DSB) nach Photonen- und ^{12}C -Ionen Bestrahlung. Insbesondere sollte die Methode der supraauflösenden Mikroskopie zur direkten qualitativen Visualisierung und quantitativen Analyse zum Einsatz kommen. Weiterhin sollten Erkenntnisse über den bevorzugten Reparaturweg gewonnen werden. Die Unterschiede in der Wirkung von ^{12}C -Ionen gegenüber Photonen sollten anhand der Normalgewebszelllinie MRC-5 (Fibroblasten) und der Tumorzelllinie U87 (Glioblastom) untersucht werden. Die induzierten DSB wurden durch Messung des DSB-Markers γH2AX mikroskopisch untersucht.

Bei gleichen physikalischen Dosen war die Anzahl an DSB nach ^{12}C -Ionen überraschend geringer als nach Photonen, obwohl die ^{12}C -Ionen eine höhere relative biologische Wirksamkeit (RBW ~ 3) haben. Dies bedeutet, dass bei gleicher physikalischer Dosis die Überlebensrate im klonogenen Assay nach Photonen 3-mal höher als nach ^{12}C -Ionen ist. Als Korrelat für die höhere biologische Wirkung bei ^{12}C -Ionen waren interessanterweise demgegenüber die mittels supraauflösender Mikroskopie gemessenen γH2AX -Foci Flächen und Volumen, als Maß für die Komplexität der DSB, bei ^{12}C -Ionen größer als bei Photonen. Dies deutete auf eine unterschiedliche Charakteristik der DSB hin und lieferte Hinweise auf das Auftreten von geclusterten DSB nach ^{12}C -Ionen Bestrahlung. Außerdem blieben die DSB nach ^{12}C -Ionen länger bestehen. Diese Persistenz der γH2AX -Foci Fläche nach ^{12}C -Ionen sprach für eine verzögerte Reparatur aufgrund der Komplexität der DSB.

Um Erkenntnisse über den spezifischen Reparaturweg der DSB nach Photonen und ^{12}C -Ionen zu gewinnen, wurden mittels Immunfluoreszenzfärbung die phosphorylierte katalytische Untereinheit der DNA-abhängigen Proteinkinase (pDNA-PKcs) und das phosphorylierte BRCA1 (pBRCA1) markiert. pDNA-PKcs diente als Marker für die nicht-homologe End-zu-End Verknüpfung (NHEJ) und pBRCA1 für die homologe Rekombination (HR). Es kam zu

einer Verschiebung von NHEJ zur HR im zeitlichen Verlauf sowohl bei Photonen als auch bei ^{12}C -Ionen Bestrahlung.

Dies ist ein möglicher Hinweis, dass der hauptsächliche Reparaturweg der DSB zunächst das NHEJ ist. Zu späteren Zeitpunkten werden die DSB bevorzugt mittels HR repariert. Die Verschiebung war gleichermaßen in der Normalgewebszelllinie MRC-5 (Fibroblasten) und der Tumorzelllinie U87 (Glioblastom) nachweisbar.

Zusammenfassend wurde mit dieser Arbeit gezeigt, dass die supraauflösende Mikroskopie als eine neue Methodik interessante und neue wissenschaftliche Erkenntnisse durch direkte Beobachtung von DNA-Strahlenschäden und ihrer Reparatur möglich macht.