

## 8. Anhang

### 8.1. Glossar ausgewählter Begriffe

Compton-Effekt: Der Compton-Effekt tritt bei mittleren Energien zwischen 100 keV und 10 MeV auf. Dabei überträgt das Photon nur einen Teil seiner Energie auf ein Hüllenelektron. Das Elektron wird dabei aus dem Verband gelöst und das Photon aus seiner ursprünglichen Bahn gelenkt.

Coulomb-Wechselwirkung: Die Quelle der Coulomb-Wechselwirkung ist die Ladung. Das Coulombsche Gesetz beschreibt die elektrostatische Kraft zwischen zwei Punktladungen, die Coulomb-Kraft. Es besagt, dass diese Kraft proportional zum Produkt dieser Ladungen und umgekehrt proportional zum Quadrat ihres Abstands ist. Zwei gleichnamige Ladungen stoßen sich ab, während solche mit ungleichnamigem Vorzeichen sich anziehen. Durch Ladungen verursachte Kräfte, die auch dann auftreten, wenn ein geladener Körper ruht, heißen elektrische Kräfte oder Coulomb-Kräfte.

CR-39: Polymerplatte für den Spurnachweis energiereicher Ionen. Treten geladene Teilchen mit dem Polymer in Wechselwirkung, erfahren die Makromoleküle beim Durchgang des Ions Veränderungen, die sich als Kettenbrüche und durch Bildung geladener Radikale darstellen. Diese Radikale können sich anschließend wieder mit dem Nachbarpolymerketten vereinigen. Als Ergebnis treten Veränderungen der Dichte in der Struktur der 500-1000 µm dicken Folie auf, die durch chemische Ätzverfahren sichtbar gemacht werden können.

Gray (Gy): Einheit für die Energiedosis (Energiedosis (D) = Energie /Masse). Ionisierende Strahlen besitzen eine Energiedosis von 1 Gray, wenn pro Kilogramm beliebiger Materie eine Energie von 1 Joule übertragen wird. Benannt nach dem englischen Physiker Louis H. Gray (1905-1965).

Hadronen: Subatomare Teilchen (Quarks), die unter der starken Wechselwirkung im Atomkern gebunden sind. Typische Vertreter der Hadronen sind Neutronen und Protonen.

Hybridisierung: Anlagerung basenkomplementärer Nukleinsäuresequenzen

Modalzahl: Häufigste, gemeinsame Chromosomenzahl in einer Tumorzelllinie

Myonen: Bei Zusammenstößen hochenergetischer Protonen aus der primären kosmischen Strahlung mit Atomkernen der Erdatmosphäre entstehen geladene Pionen, die über die schwache Wechselwirkung mit einer mittleren Lebensdauer von 26 ns in ein Myon und ein Neutrino zerfallen. Das Myon zerfällt dabei in zwei Neutrinos und ein Positron bzw. Elektron. Die Myonen werden in etwa 10 km Höhe erzeugt und bewegen sich mit nahe Lichtgeschwindigkeit.

Oligo-DT-primer: Primer für die reverse Transkription, die sich an das Poly-A-Ende der mRNA anlagern, Oligonukleotid aus 16-20 Thyminen

Paarbildung: Die Paarbildung ist der dominierende Effekt bei Energien > 10 MeV. Dabei kann das Photon in einem Feld eines Atomkerns die Bildung eines Elektron-Positron-Paares

veranlassen, wobei die Energie des Photons in zwei Teilchen umgewandelt wird. Die Photonenenergie muss dabei mindestens 1,022 MeV betragen (Ruhemasse eines Elektrons 511 keV). Nach der Paarbildung kann sich das Positron frei bewegen und formt dann mit dem Elektron eines Atoms ein so genanntes Positronium. Dieses vernichtet sich anschließend und es werden zwei Photonen ( $\gamma$ -Quanten) emittiert (Vernichtungsstrahlung).

Photoeffekt: Der Photoeffekt ist der dominierende Effekt bei Photonenenergien  $<200$  keV. Das Photon überträgt seine gesamte Energie auf ein Hüllenelektron, wobei es vollständig absorbiert wird. Die Absorption steigt mit der Ordnungszahl des durchstrahlten Materials.

Pionen: andere Bezeichnung für Pi-Mesonen, die aus Quark und Antiquark bestehen. Pionen entstehen vornehmlich bei der Kollision von Atomkernen und werden in gigantischer Zahl bei Schwerionen-Stößen in Teilchenbeschleunigern erzeugt.

Ploidiegrad: Eine somatische, menschliche Zelle besitzt mit 46 Chromosomen einen doppelten Chromosomensatz (= zweifacher, diploider Chromosomensatz,  $2n$ ). Chromosomensätze mit 69 Chromosomen werden als triploid und Sätze mit 92 Chromosomen als tetraploid bezeichnet. Bewegt sich die Chromosomenzahl mit  $\pm 11$  um ein ganzzahliges Vielfaches des haploiden Satzes, wird dies z.B. mit „nahezu diploid“ bezeichnet. Einteilung der Ploidiegrade: „nahezu haploid“ =  $\leq 34$  (hypohaploid  $<23$ ; hyperhaploid 24-34; „nahezu diploid“ = 35-57 (hypodiploid 35-45; hyperdiploid 47-57; „nahezu triploid“ = 58-80 (hypotriploid 58-68; hypertriploid 70-80; „nahezu tetraploid“ = 81-103 (hypotetraploid 81-91; hypertetraploid 93-103

Random primer, random hexamers: kurze, nach dem Zufallsprinzip synthetisierte Oligonukleotide, die statistisch verteilt die gesamte Fraktion der RNA hybridisieren (meist Hexamere)

Reverse Transkription: Umschreiben von RNA in DNA durch Synthese einer komplementären DNA (cDNA) mittels des Enzyms *Reverse Transkriptase*

RT-PCR: Reverse Transkription und anschließende Polymerase-Kettenreaktion zur Vervielfältigung einer RNA-Sequenz in multiple DNA-Kopien

Sievert (Sv): Einheit für die biologisch relevante Dosis, die so genannte Äquivalentdosis. Dieser Dosisbegriff berücksichtigt die von der jeweiligen Strahlenart abhängige Ionisationsdichte. Die Äquivalentdosis ist das Produkt aus der Energiedosis und einem effektiven dimensionslosen Qualitätsfaktor ( $H = D \times q$ ). Benannt nach dem schwedischen Physiker Rolf M. Sievert (1896-1966).

Sonde: Markierte DNA- oder RNA-Sequenz, die eine komplementäre Basenabfolge zu der gesuchten DNA- oder RNA-Sequenz aufweist

Trajektorie: bezeichnet eine Ortsraumkurve, entlang der sich ein punktförmiger Körper oder der Schwerpunkt eines starren Körpers mit einer bestimmten Geschwindigkeit  $v$  bewegt.

## 8.2. Danksagung

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Hermann Josef Anton, möchte ich ganz herzlich für die Betreuung dieser Arbeit und Vertretung vor dem Fachbereich Biologie/Zoologie der Universität Köln danken. Ihre Erfahrung und Unterstützung waren überaus hilfreich für mich.

Ein herzlicher Dank gilt auch Frau Prof. Dr. Petra Pfeiffer und Herrn Prof. Dr. Hans-Peter Rodemann für die freundliche Übernahme des Koreferats und die fruchtbaren Diskussionen.

Frau Dr. Gerda Horneck als ehemalige Abteilungsleiterin und Herrn Dr. Günther Reitz als amtierender Leiter der Abteilung Strahlenbiologie des Instituts für Luft- und Raumfahrtmedizin im Deutschen Luft- und Raumfahrtzentrum Köln danke ich für die Überlassung des herausfordernden Themas und die überaus guten Arbeitsbedingungen in der Arbeitsgruppe.

Meiner Betreuerin vor Ort, Dr. Christa Baumstark-Khan, gilt ein besonderer Dank. Sie hat mir mit Rat und Tat und einer jederzeit offenen Tür zur Seite gestanden und mir das große Feld der Strahlenbiologie ein wenig näher gebracht.

Dr. Christine Hellweg möchte ich für langjährige Unterstützung, Anleitung und Diskussionsbereitschaft herzlich danken. Susanne Bogner danke ich für die Durchführung von Bestrahlungsexperimenten an der PTB.

Dr. Rainer Facius hatte als Strahlenphysiker stets ein offenes Ohr für außerirdische Fragen und konnte mir auch die Statistik ein wenig näher bringen. Dafür lieben Dank.

Claudia Schmitz gebührt ein extra dickes Dankeschön für das tagelange Auszählen der  $\gamma$ -H2AX Foci und all die anderen Dinge, die sie für mich getan hat. Christa Pütz danke ich für die Pflege und Bereitstellung aller großen und kleinen Dinge, ohne die ein Labor nicht laufen würde. Britta Rowehl danke ich für ein stets offenes Ohr und die Fähigkeit, alles Erdenkliche ins Positive regeln zu können. Ein Dank auch an Thomas Urlings, der Computerprogrammen ihren Schrecken nahm und mit Zauberhand in allerletzter Minute für gedruckte Kongressbeiträge sorgte. Euch allen und allen Nichtgenannten der Abteilung, insbesondere meinen Mitstreitern zur Erlangung der Doktorwürde, ein herzliches Dankeschön für ein gutes Arbeitsklima.

Wencke und Rudi habe ich die schönste Nabelschnur der Welt zu verdanken und bin immer noch überwältigt, dass Rudi im wahrscheinlich aufregendsten Moment seines Lebens an meine Fibroblasten gedacht hat.

Der allergrößte Dank gilt aber meiner Familie, insbesondere meinen Kindern Ann Kathrin und Marisa und natürlich auch meinen Freunden, ohne die ich sicherlich nicht soweit gekommen wäre. Ihr seid die Besten!

### 8.3. Selbstständigkeitserklärung

Ich versichere, dass ich die von mir vorgelegte Dissertation selbstständig angefertigt, die benutzen Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben und die Stellen der Arbeit - einschließlich Tabellen, Karten und Abbildungen -, die anderen Werken im Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen sind, in jedem Einzelfall als Entlehnung kenntlich gemacht habe; dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat; dass sie – abgesehen von unten angegeben Teilpublikationen- noch nicht veröffentlicht worden ist sowie, dass ich eine solche Veröffentlichung vor Abschluss des Promotionsverfahrens nicht vornehmen werde. Die Bestimmungen dieser Promotionsordnung sind mir bekannt. Die von mir vorgelegte Dissertation ist von Herrn Prof. Dr. Anton betreut worden.

Andrea Arenz

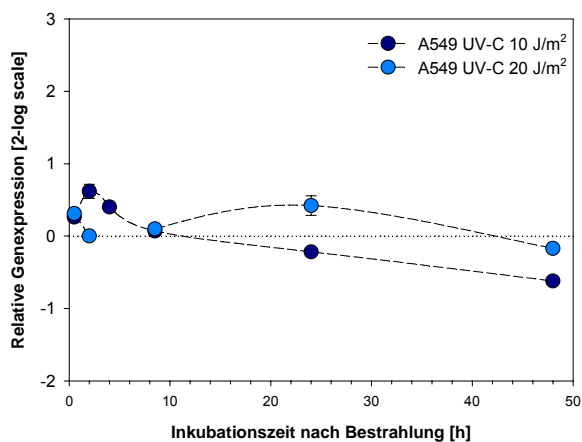
### 8.4. Publikationen

- Arenz A**, Hellweg CE, and Baumstark-Khan C: Gene expression in mammalian cells after exposure to 95 MeV/amu argon ions. *Adv Space Res* **36** pp 1680-1688 (2005)
- Arenz A**, Hellweg CE, Stojicic N, Baumstark-Khan C, and Grotheer HH: Gene expression modulation in A549 human lung cells in response to combustion generated nano-sized particles. *Ann N Y Acad Sci* **1091** pp 170-183 (2006)
- Arenz A**, Stojicic N, Lau P, Hellweg CE, and Baumstark-Khan C: Suitability of commonly used housekeeping genes in gene expression studies for space radiation research. *Adv Space Res* doi: 10.1016/j.asr.2007.02.028 (2007)
- Baumstark-Khan C, Hellweg CE, **Arenz A**, and Meier MM, Horneck G: Getting ready for the manned mission to the Mars: Bioassays for Space Research. In: "Genetically engineered and optical probes for biomedical applications. eds: Savitsky AP, Brovko LY, Bornhop DJ, Raghavachari R, Achilefu SI. SPIE, Bellingham, WA, USA: *The International Society for Optical Engineering* pp 118-131 (2004)
- Baumstark-Khan C, Hellweg CE, **Arenz A**, and Meier MM: Cellular monitoring of the nuclear factor kappaB pathway for assessment of space environmental radiation. *Radiat Res* **164** pp 527-530 (2005)
- Hellweg CE, **Arenz A**, Meier MM, and Baumstark-Khan C: Cellular monitoring systems for the assessment of space environmental factors. *Adv Space Res* **36** pp1673-1679 (2005)
- Hellweg CE, **Arenz A**, Bogner S, Schmitz C, and Baumstark-Khan C: Activation of nuclear factor kappa B by different agents: influence of culture-conditions in a cell-based assay. *Ann N Y Acad Sci* **1091** pp191-204 (2006)
- Hellweg CE, **Arenz A**, and Baumstark-Khan C: Assessment of space environmental factors by cytotoxicity bioassays. *Acta Astronautica* **60** pp 525-533 (2007)
- Hellweg CE, Spitta L, **Arenz A**, Bogner SC, Ruscher R, and Baumstark-Khan C: Transcriptional response of human cells to microbeam irradiation with 2.1 MeV  $\alpha$ -particles. *Adv Space Res* doi: 10.1016/j.asr.2007.03.028 (2007)
- Hellweg CE, Thelen M, **Arenz A**, and Baumstark-Khan C: The German ISS-experiment *Cellular Responses to Radiation in Space* (CERASP): The effects of single and combined space flight conditions on mammalian cells. *Adv Space Res* doi: 10.1016/j.asr.2006.11.015 (2007)

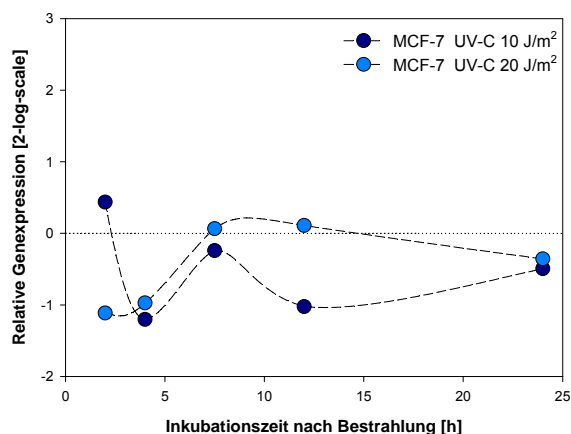
## 8.5. qRT-PCR Ergebnisse der Gene GADD45 $\beta$ , NFKBIA und BRCA2

### 8.5.1. GADD45 $\beta$

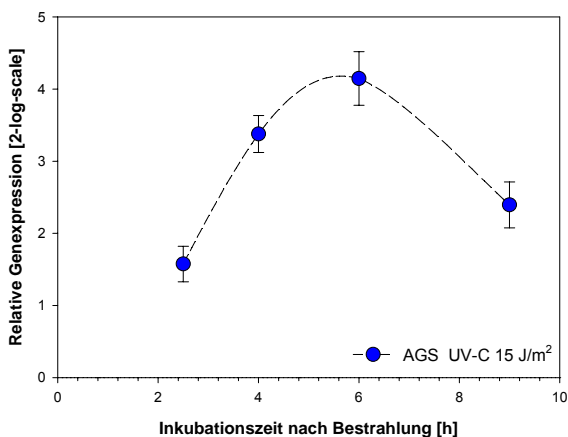
Eine Bestrahlung mit **UV-C** induzierte in den untersuchten Zelllinien A549, MCF-7 und NHF keine signifikante Erhöhung der GADD45 $\beta$  Transkriptmenge. Die relativen Expressionswerte schwankten um das Expressionsniveau unbestrahlter Zellen innerhalb des Untersuchungszeitraums (Abb. 8-1, 8-2 und 8-4). In der Zelllinie AGS hingegen wurde über den gesamten Untersuchungszeitraum von 9 Stunden eine statistisch hoch signifikante UV-C vermittelte Initiation der Transkription detektiert (Abb. 8-3). Das Maximum der Induktion mit einer 17,7 fachen Erhöhung der Expression ( $\log_2 = 4,15$ ) wurde 6 Stunden nach Bestrahlung detektiert. Diese starke Erhöhung weist auf die Überexpression des GADD45 $\beta$  Gens in dieser Zelllinie hin. Die relative Expression von GADD45 $\beta$  nach **Röntgenbestrahlung** zeigte in allen untersuchten Zelllinien keine signifikante Änderung um mehr als einen Faktor von 2 relativ zur unbestrahlten Kontrolle (Abb. 8-5 bis 8-8). Nach Bestrahlung mit **Alpha-Teilchen** zeigte die Analyse in A549 Zellen eine nahezu einheitliche Herunterregulierung der Trankriptmenge über den gesamten Untersuchungszeitraum von 24 Stunden (Abb. 8-9). Bestrahlung mit dicht-ionisierenden **Blei-Ionen** führte bei Exposition mit einer hohen Partikeldichte von  $1 \times 10^6$  Teilchen/cm $^2$  zu einer mäßigen, 1,77fachen Induktion zwei Stunden nach Bestrahlung mit anschließender Herunterregulierung der Expression über den gesamten Untersuchungszeitraum. Nach Exposition der Zellen mit der geringeren Teilchendichte von  $5 \times 10^5$  Partikeln/cm $^2$  konnte keine signifikante Änderung der Genexpression gefunden werden (Abb. 8-10). Die Analyse in MCF-7 Zellen nach Exposition mit **Argon-Ionen** zeigte zum frühen Untersuchungszeitpunkt von zwei Stunden eine deutliche Repression der GADD45 $\beta$  Genexpression, die im späteren Analysezeitpunkt von 12 Stunden wieder auf Basalwerte der unbestrahlten Kontrollpopulation zurückkehrte (Abb. 8-11).



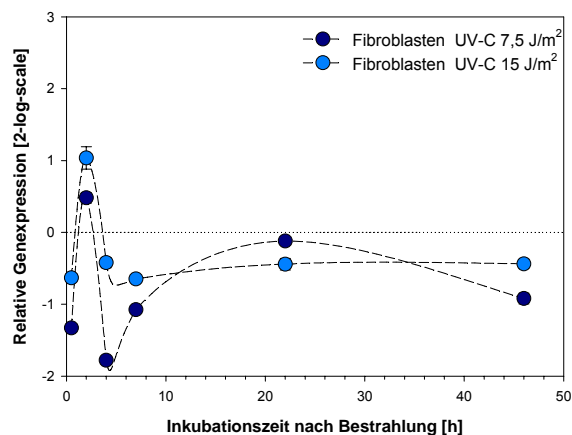
**Abb. 8-1:** GADD45 $\beta$  nach Bestrahlung mit UV-C in A549 Zellen. E= 1,77; Normalisierung gegen B2M (E=1,98), HPRT (E=1,72) und PBGD (E=1,62)



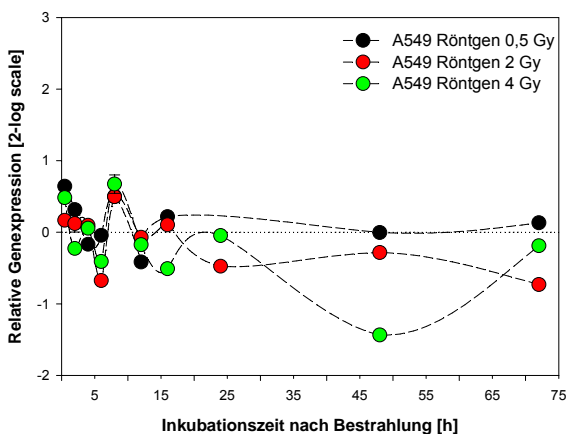
**Abb. 8-2:** GADD45 $\beta$  nach Bestrahlung mit UV-C in MCF-7; E=1,72. Normalisierung gegen GAPDH (E=1,67)



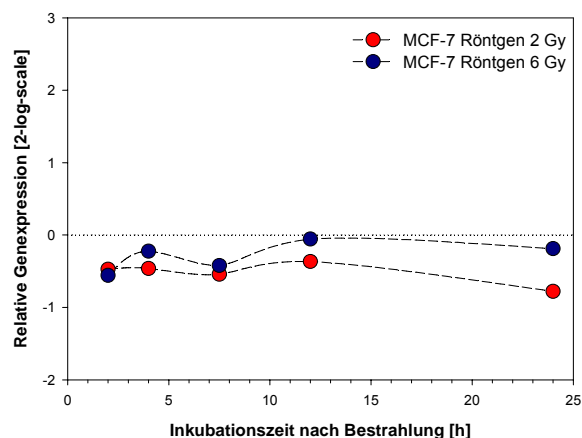
**Abb. 8-3:** GADD45β nach Bestrahlung mit UV-C in AGS-Zellen. E=1,93 Normalisierung gegen UBC (E=1,89) und B2M (E=1,90)



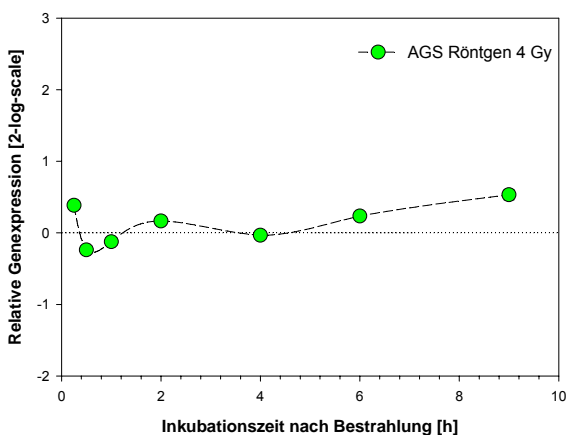
**Abb. 8-4:** GADD45β nach Bestrahlung mit UV-C in Fibroblasten; E=1,69; Normalisierung gegen B2M (E=1,94) SDHA (E=1,88) und GAPDH (E=1,66)



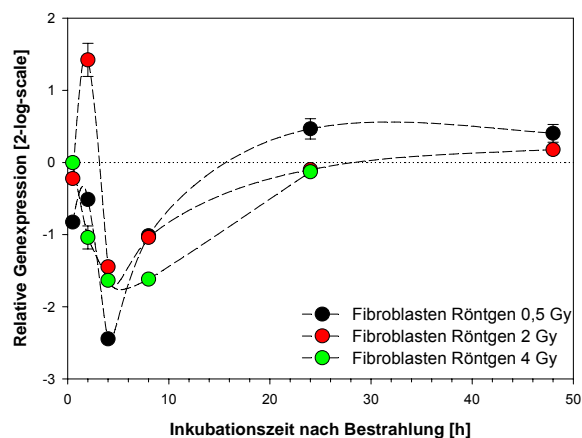
**Abb. 8-5:** GADD45β in A549 Zellen nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen. Exp. 1: E=1,98; Normalisierung gegen B2M (E=2,07), ACTB (E=1,91) und HPRT (E=1,88); Exp. 2: E=1,80; Normalisierung gegen B2M (E=1,92), ACTB (E=1,93); PBGD (E=1,81) und GAPDH (E=1,90)



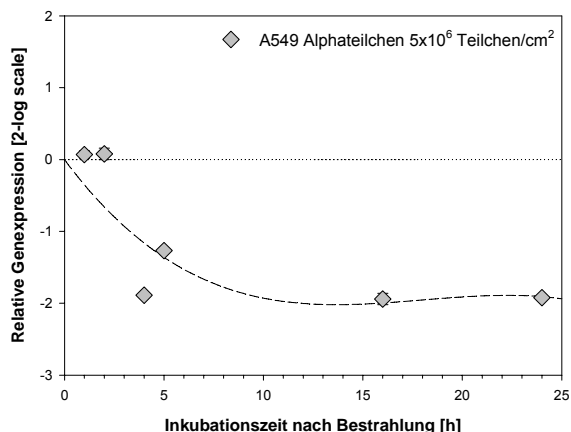
**Abb. 8-6:** GADD45β in MCF-7 Zellen nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlung; E= 1,74. Normalisierung gegen GAPDH (E=1,67)



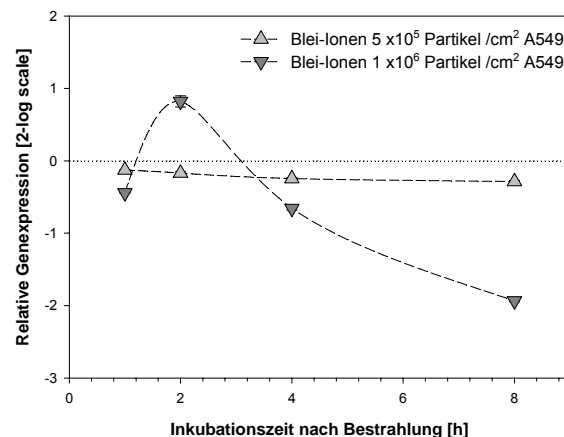
**Abb. 8-7:** GADD45β in AGS Zellen nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen; E=1,85; Normalisierung gegen HPRT (E=1,94) und B2M (E=1,91)



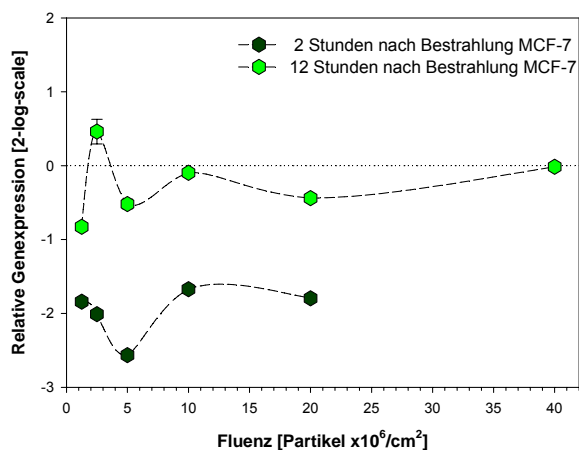
**Abb. 8-8:** GADD45β in Fibroblasten nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen; E=1,97; Normalisierung gegen B2M (E=1,87), SDHA (E=2,03) und PBGD (1,88)



**Abb. 8-9:** GADD45 $\beta$  in A549 Zellen nach Bestrahlung mit Alpha-Teilchen. Exp. 1: E=1,87; Normalisierung gegen PBGD (E=1,90) und B2M (E=1,95); Exp. 2: E=1,93; Normalisierung gegen GAPDH (E=1,81)



**Abb. 8-10:** GADD45 $\beta$  in A549 Zellen nach Bestrahlung mit Blei-Ionen. E=1,83; Normalisierung gegen B2M (E=1,96)



**Abb. 8-11:** GADD45 $\beta$  in MCF-7 Zellen nach Bestrahlung mit Argon-Ionen E=1,80 Normalisierung gegen HPRT (1,81)

### 8.5.2. BRCA2

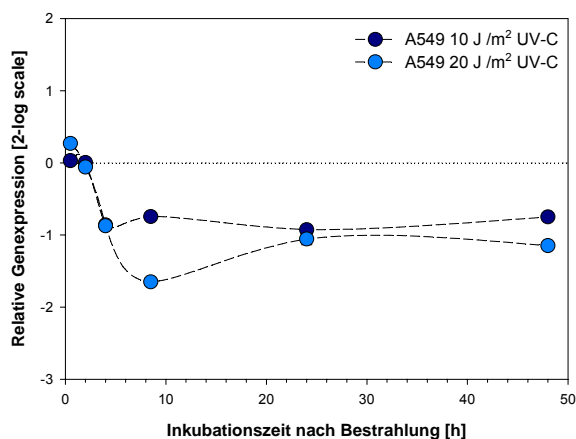
Eine Bestrahlung mit **UV-C** führte, mit Ausnahme der Analyse in AGS Zellen (Abb. 8-14), in allen untersuchten Zelllinien zu einer zeitabhängigen Verminderung der Expression des Tumorsuppressors BRCA2 (Abb. 8-12, 8-13 und 8-15). Während die relative mRNA-Expression von BRCA2 nach Bestrahlung mit 15 J/m<sup>2</sup> UV-C Schwankungen im Bereich des Kontrollniveaus aufwies, zeigten alle anderen Zelllinien vier Stunden nach Bestrahlung eine dosisabhängige, zunehmende Inhibition der mRNA Transkription über den gesamten Verlauf der untersuchten Zeitkinetik.

Auch nach Bestrahlung mit **Röntgenstrahlen** zeigte die Analyse in allen untersuchten Zelllinien Schwankungen um den Grundlevel der unbestrahlten Kontrollpopulation bzw. eine tendenzielle, dosisabhängige Herunterregulierung der Genexpression (Abb. 8-16 bis 8-19). Eine Repression der Genexpression war in den Zelllinien MCF-7 (Abb. 8-17) und NHF (Abb. 8-19) innerhalb der

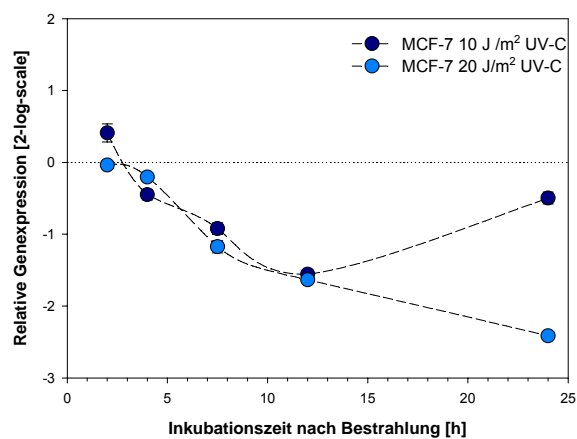
untersuchten Zeitkinetik zum Analysezeitpunkt von 24 Stunden nach Bestrahlung mit -2,17 (MCF-7, 6 Gy) und -4,55 (NHF, 4 Gy) besonders deutlich.

Exposition mit dicht-ionisierenden **Alpha-Teilchen** führte in A549 Zellen nach anfänglichen Schwankungen um das Grundniveau unbestrahlter Zellen zu einer deutlichen Herunterregulierung der BRCA2 Transkriptmenge um das -5fache ( $\log_2 = -2,33$ ) nach 16 Stunden und -2,87fache ( $\log_2 = -1,5$ ) 24 Stunden nach Bestrahlung (Abb. 8-20).

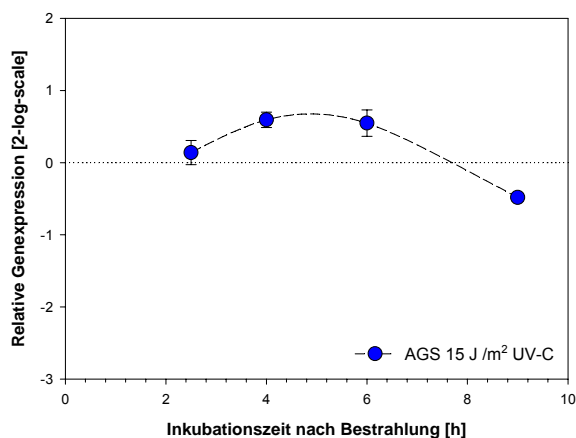
Nach einer frühen (zwei Stunden), dosisabhängigen Hochregulierung konnte auch in A549 Zellen nach Bestrahlung mit **Blei-Ionen** eine Herunterregulierung der Expression nachgewiesen werden (Abb. 8-21), die auch in der Analyse in MCF-7 Zellen zum Untersuchungszeitpunkt 12 Stunden nach Exposition mit Argon-Ionen gefunden wurde (Abb. 8-22).



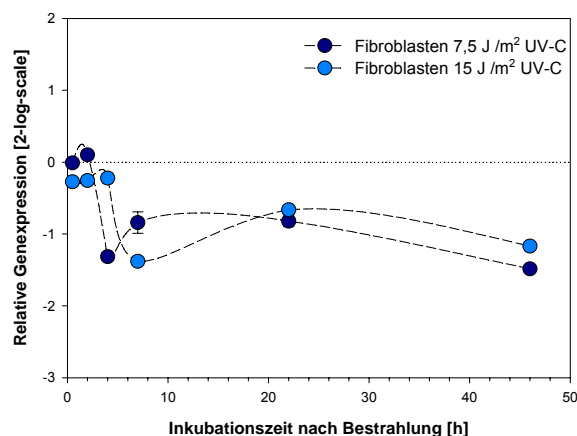
**Abb. 8-12:** BRCA2 in A549 Zellen nach Bestrahlung mit UV-C;  $E = 1,93$ ; Normalisierung gegen B2M ( $E = 1,98$ ), HPRT ( $E = 1,72$ ) und PBGD ( $E = 1,62$ )



**Abb. 8-13:** BRCA2 in MCF-7 Zellen nach Bestrahlung mit UV-C;  $E = 1,89$ ; Normalisierung gegen GAPDH  $E = 1,67$

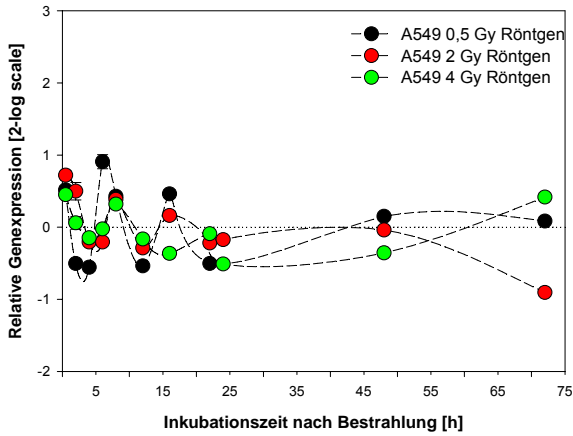


**Abb. 8-14:** BRCA2 in AGS Zellen nach Bestrahlung mit UV-C;  $E = 1,84$ ; Normalisierung gegen UBC ( $E = 1,89$ ) und B2M ( $E = 1,90$ )

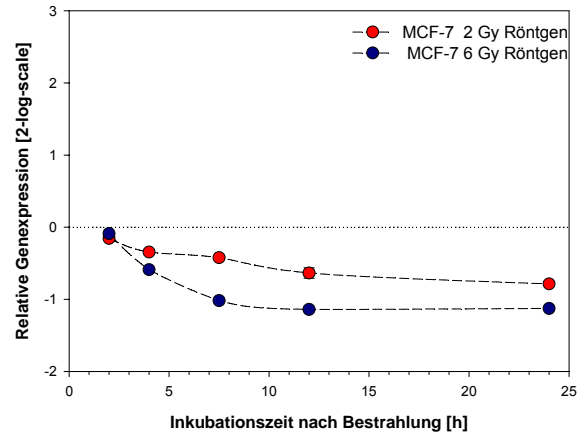


**Abb. 8-15:** BRCA2 in Fibroblasten nach Bestrahlung mit UV-C;  $E = 1,76$ ; Normalisierung gegen B2M ( $E = 1,94$ ) SDHA ( $E = 1,88$ ) und GAPDH  $E = 1,66$

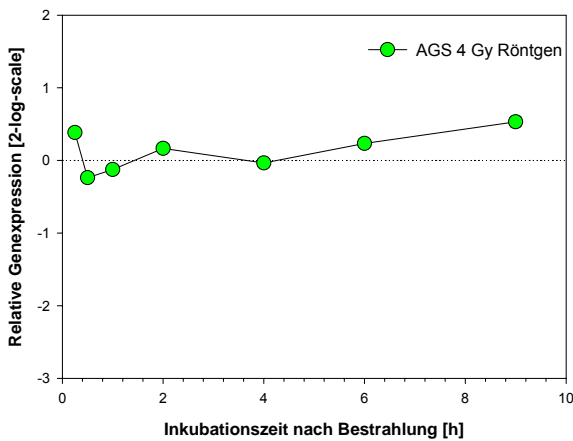




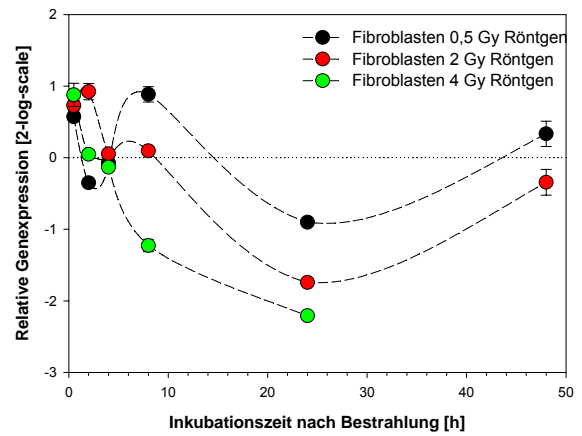
**Abb. 8-16:** BRCA2 in A549 Zellen nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen. E=2,06; Normalisierung gegen B2M (E=2,07), ACTB (E=1,91) und HPRT (E=1,88). Experiment 2: E=2,10; Normalisierung gegen B2M (E=1,92), ACTB (E=1,93); PBGD (E=1,81) und GAPDH (E=1,90)



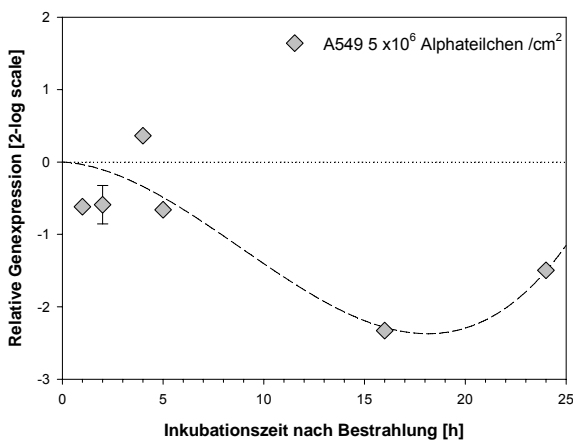
**Abb. 8-17:** BRCA2 in MCF-7 Zellen nach Bestrahlung Röntgenstrahlung, E= 1,89. Normalisierung gegen GAPDH (E=1,67)



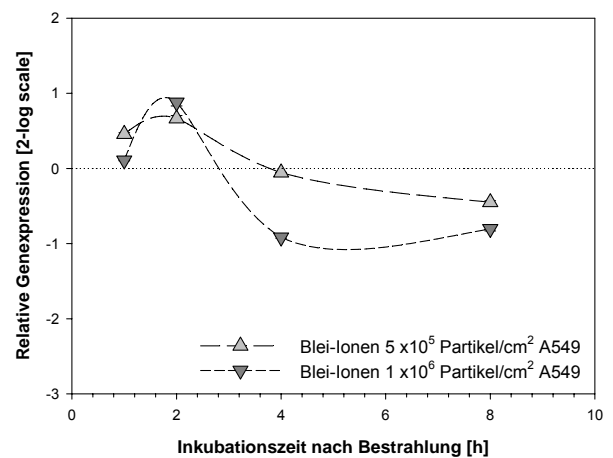
**Abb. 8-18:** BRCA2 in AGS Zellen nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen; E=1,74; Normalisierung gegen HPRT (E=1,94) und B2M (E=1,91)



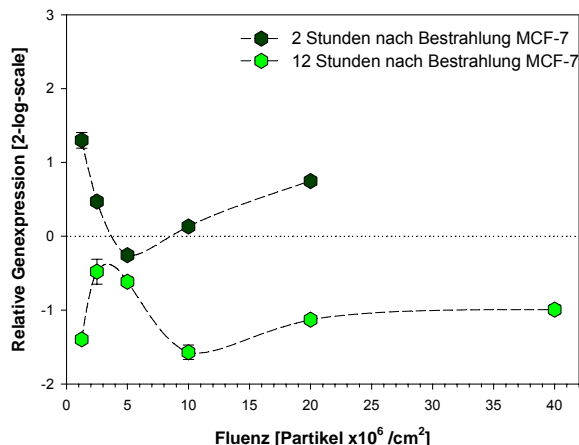
**Abb. 8-19:** BRCA2 in Fibroblasten nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen; E=1,97; Normalisierung gegen B2M (E=1,87), SDHA (E=2,03) und PBGD (1,88)



**Abb. 8-20:** BRCA2 in A549 Zellen, Bestrahlung mit Alpha-Teilchen. Exp. 1: E=1,87; Normalisierung gegen PBGD (E=1,90) und B2M (E=1,95); Exp. 2: E=1,99; Normalisierung gegen GAPDH (E=1,81)



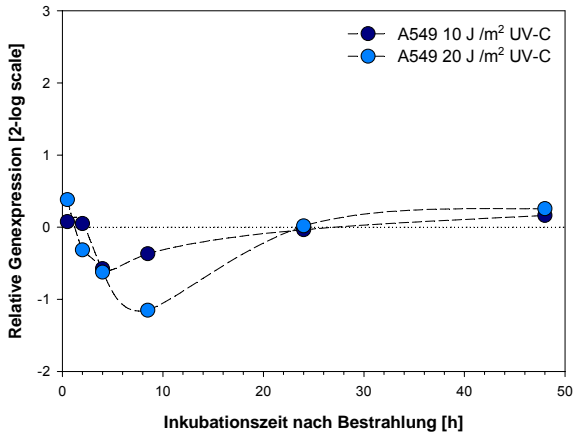
**Abb. 8-21:** BRCA2 in A549 Zellen nach Bestrahlung mit Blei-Ionen. E=1,87; Normalisierung gegen B2M (E=1,96)



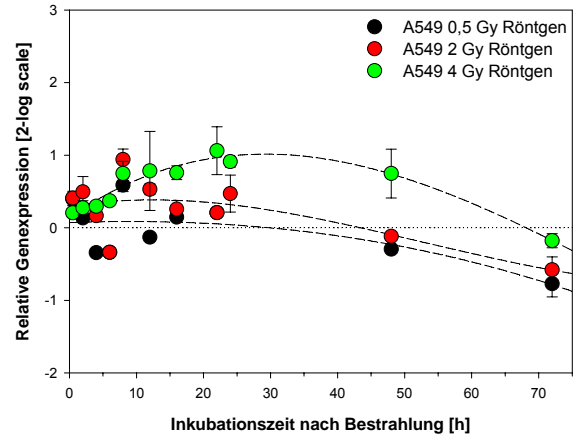
**Abb. 8-22:** BRCA2 in MCF-7 Zellen nach Bestrahlung mit Argon- Ionen  $E=1,82$  Normalisierung gegen HPRT (1,81)

### 8.5.3. $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$

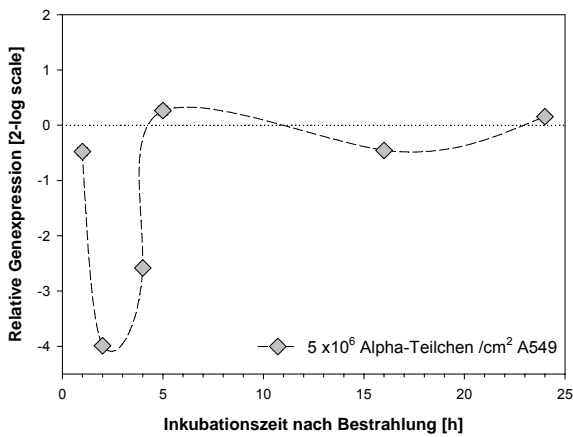
In der Zelllinie A549 wurde die transkriptionelle Aktivität des anti-apoptotischen NF- $\kappa$ B Signalwegs nach Bestrahlung mit **nicht-ionisierender Strahlung** über eine Quantifizierung der mRNA-Transkriptmenge des Inhibitors  $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$  untersucht. Dabei wurde im Verlauf der Zeitkinetik eine mäßige Herunterregulierung der  $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ -Transkriptmenge bis 8,5 Stunden nach Bestrahlung beobachtet. Im weiteren zeitlichen Verlauf der Kinetik bis 48 Stunden kehrten die Werte auf das Expressionsniveau der unbestrahlten Kontrolle zurück (Abb. 8-23). Bestrahlung mit **dünn-ionisierender Strahlung** führte in der Zelllinie A549 zu einer moderaten Induktion der Transkriptmenge bei Bestrahlung mit hohen Dosen von 4 Gy (Abb. 8-24). Exposition mit **Alpha-Teilchen** führte zu einer deutlichen Herunterregulierung der  $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$  Transkriptmenge zwei und vier Stunden nach Bestrahlung. Die Analyse der späteren Zeitpunkte zeigten Schwankungen um das Grundniveau unbestrahlter Zellen (Abb. 8-25). Im Gegensatz dazu zeigte die Expressionsanalyse nach Bestrahlung mit Blei-Ionen eine mäßige Erhöhung der Transkriptmenge zwei Stunden nach Bestrahlung, die im weiteren Verlauf auf Kontrollwerte zurückkehrte (Abb. 8-26).



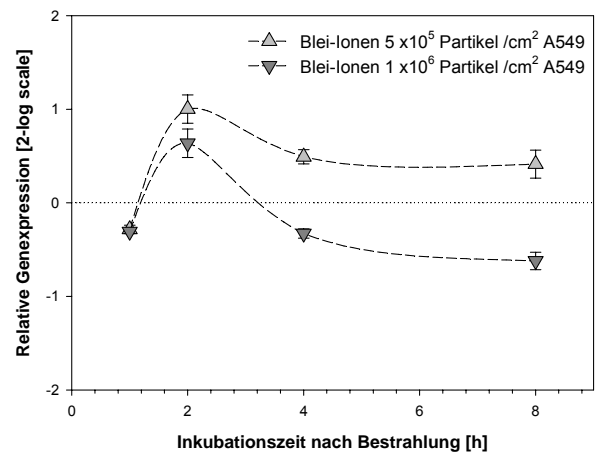
**Abb. 8-23:**  $I\kappa B\alpha$  in A549 Zellen nach Bestrahlung mit UV-C;  $E=1,81$ ; Normalisierung gegen B2M ( $E=1,98$ ), HPRT ( $E=1,72$ ) und PBGD ( $E=1,62$ )



**Abb. 8-24:**  $I\kappa B\alpha$  nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen in A549 Zellen. Exp. 1:  $E=2,05$ ; Normalisierung: B2M ( $E=2,07$ ), ACTB ( $E=1,91$ ) und HPRT ( $E=1,88$ ). Exp. 2:  $E=2,08$ ; Normalisierung B2M ( $E=1,92$ ), ACTB ( $E=1,93$ ); PBGD ( $E=1,81$ ) und GAPDH ( $E=1,90$ )



**Abb. 8-25:**  $I\kappa B\alpha$  in A549 Zellen nach Bestrahlung mit Alpha-Teilchen. Exp. 1:  $E=2,05$ ; Normalisierung gegen PBGD ( $E=1,90$ ) und B2M ( $E=1,95$ ); Exp. 2:  $E=2,08$ ; Normalisierung gegen GAPDH ( $E=1,81$ )



**Abb. 8-26:**  $I\kappa B\alpha$  in A549 Zellen nach Bestrahlung mit Blei-Ionen.  $E=1,84$ ; Normalisierung gegen B2M ( $E=1,96$ )

8.6. Vektorkarten

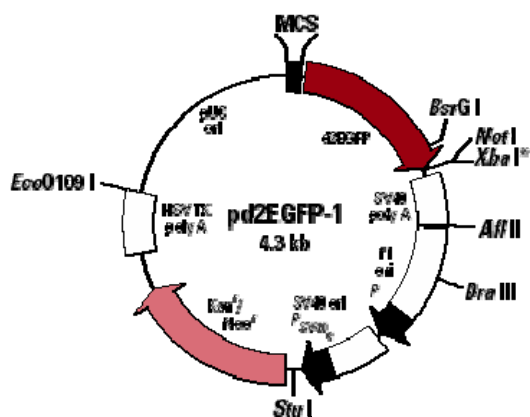


Abb. 8-27: Schematische Darstellung des promotorlosen Expressionsvektors pd2EGFP mit destabilisierter EGFP-Variante (Clontech).

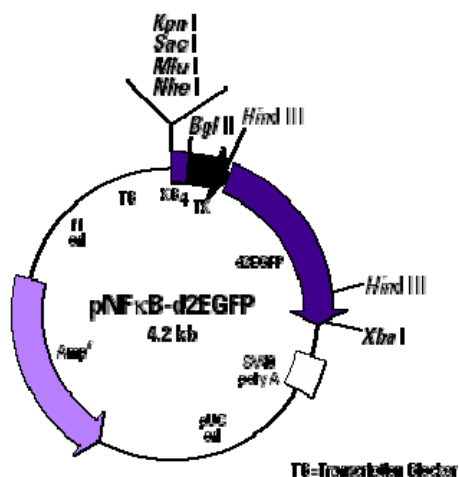


Abb. 8-28: Schematische Darstellung des Vektors pNFκB-d2EGFP (Clontech), dessen Thymidinkinase-Minimalpromotor (TK) zur Konstruktion des induzierbaren Vektors pRRM2b-EGFP verwendet wurde.

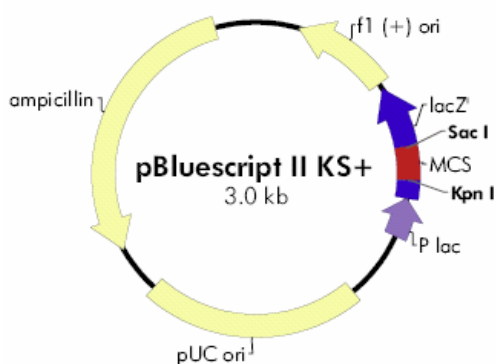


Abb. 8-29: Klonierungsvektor pBSIIKS (Stratagene) für die Subklonierung PCR-generierter Fragmente.