

5. Zusammenfassung

Neben der fehlenden Schwerkraft stellt die Strahlenbelastung des Astronauten einen limitierenden Faktor für den Langzeitaufenthalt des Menschen im Weltraum dar. Experimente zur Untersuchung einer möglichen Interaktion zwischen Mikrogravitation und der zellulären Strahlenantwort können auf der Erde nur unzureichend bearbeitet werden. Die Internationale Raumstation bietet als derzeit wichtigste Forschungsplattform eine Möglichkeit, dieser Fragestellung nachzugehen. Im Weltraumexperiment *Cellpath* soll eine geänderte Genexpression schadensrelevanter Gene unter Verwendung von indikativen Bioassays analysiert werden. Dazu sollte ein auf dem Rezeptor-Reporter-Prinzip basierendes, zelluläres Testsystem konzipiert werden. Um einen für diesen Zweck geeigneten Promotor- oder Enhancer zu finden, der die Rolle eines regulatorischen Elements übernimmt, wurde die Expression verschiedener Gene untersucht, deren Genprodukte in unterschiedlichen DNA-Reparaturwege involviert sind. Anhand einer in verschiedenen humanen Zelllinien (A549, MCF-7, AGS, HEK und NHF) durchgeführten strahlenbiologischen Charakterisierung wurden A549 Zellen als geeignete Wirtslinie für das Testsystem identifiziert.

Die Ergebnisse der mittels quantitativer Real Time RT-PCR durchgeführten Genexpressionsstudien wiesen das p53R2 Gen als geeigneten Kandidaten für die Etablierung eines induzierbaren Bioassays aus. Für dessen Entwicklung wurde ein Vektorsystem konstruiert, das die Expression des Reportermoleküls EGFP unter der Kontrolle der p53-abhängigen Form der Ribonukleotid Reduktase (p53R2) als Sensor ermöglicht. Dazu wurde die Bindestelle für den Transkriptionsfaktor p53 aus dem 1. Intron des p53R2 Gens in den promotorlosen EGFP-Vektor kloniert und stabil in A549 Zellen transfiziert. Die Induzierbarkeit der rekombinanten Zelllinie A549-RRM2b wurde in biologischen Experimenten mit Strahlung unterschiedlicher Qualität überprüft. Die nach Exposition mit Röntgenstrahlen, beschleunigten Kohlenstoff- und Argon-Ionen erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass der rekombinanten Zelllinie eine hohe Bedeutsamkeit für ein Weltraumexperiment zukommt.