

Projektförderung 2002 der Deutschen Akademie für Flug- und Reisemedizin

Projektleiter

Dr. Christine Hellweg

Jungwissenschaftlerin am Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt e.V. (DLR)

Dr. Christa Baumstark-Khan

Leiterin der Arbeitsgruppe Zelluläre Biodiagnostik im Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin des DLR

Projektbezeichnung

Untersuchung der Aktivierung des stressabhängigen Transkriptionsfaktors NF- κ B in menschlichen Zellen durch UV-Strahlung unterschiedlicher Qualität mit Hilfe der fluoreszierenden Reporterproteine EGFP und d2EGFP

Abstract

Erhöhte Hautkrebsraten sind auf eine vermehrte Exposition größerer Bevölkerungsgruppen mit potentiell gefährdender UV-Strahlung, insbesondere auf Reisen, zurückzuführen. Daher soll eine Risikoabschätzung für die Einwirkung von UV-Strahlung auf den Menschen mit Hilfe eines *in-vitro*-Modells zur Bestimmung der Genaktivierung ermöglicht werden. Bei der als „UV-Antwort“ bezeichneten Schutzreaktion der Zelle auf UV-Bestrahlung werden über Aktivierung von Signaltransduktionswegen und schließlich der Transkription spezifische Proteine synthetisiert. Besonders interessant ist dabei das Zusammenspiel der Aktivierung pro- und antiapoptotischer Faktoren, wie z.B. der durch zahlreiche Stressoren aktivierte Transkriptionsfaktor Nuclear factor κ B (NF- κ B). Die erhöhte Genexpression infolge der NF- κ B-Aktivierung wurde mit Hilfe der Reportergene Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) und Destabilized EGFP (d2EGFP) fluoreszenzoptisch gemessen. Dazu wurden zunächst die Vektoren pNF- κ B-d2EGFP/Neo und pNF- κ B-EGFP/Neo kloniert. In diesen Vektoren wird die Expression der Reportergene durch einen synthetischen Promotor, der vier Kopien des NF- κ B-Elements enthält, kontrolliert. Die beiden Vektoren wurden stabil in human embryonic kidney (HEK/293) Zellen transfiziert. Von den stabil transfizierten Klonen wurden solche ausgewählt, die nach Behandlung mit dem als NF- κ B-Aktivator bekannten Tumornekrosefaktor α (TNF- α) eine erhöhte EGFP- bzw. d2EGFP-Expression zeigten. Untersuchungen der Expressionskinetiken der beiden Reportergene zeigten, dass d2EGFP für die Erfassung der Hoch- und Herunterregulation der Genexpression besser geeignet ist als EGFP. Ein geeigneter d2EGFP-exprimierender Klon wurde mit UV-Strahlung unterschiedlicher Qualität exponiert. Diese Untersuchungen zeigen eine NF- κ B-abhängige d2EGFP-Expression nach Exposition mit UVA-Strahlung, während UVB- und UVC-Strahlung in biologisch relevanten Dosisbereichen keine NF- κ B-Aktivierung auslösen. Die NF- κ B-Aktivierung durch UVA könnte durch reaktive Sauerstoffspezies verursacht sein und in der Kanzerogenese von Bedeutung sein.