

Phosphorylierung von Histon H2AX (gH2AX) als Marker für oxidativen Stress

Schütz C^{1,2}, Stope M¹, Bekeschus S^{*2}

1 Klinik und Poliklinik für Urologie, Universitätsmedizin Greifswald

2 ZIK plasmatis @ Leibniz-Institut für Plasmaforschung und Technologie (INP), Greifswald

* correspondig author: sander.bekeschus@inp-greifswald.de

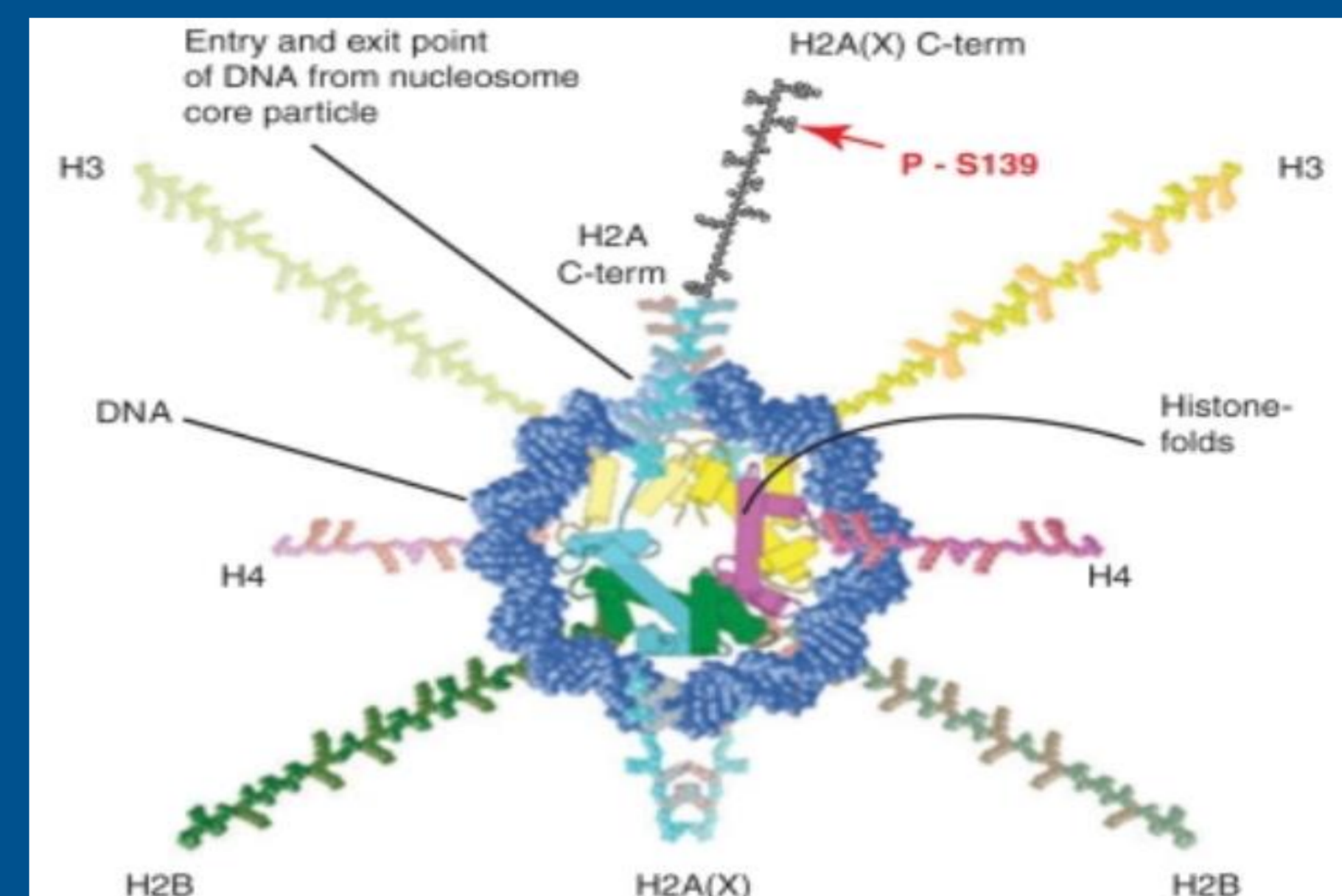
HINTERGRUND

An Serin139 phosphoryliertes gamma Histon H2AX (gH2AX) ist in der Strahlenbiologie ein etablierter Marker für DNA-Schäden, insbesondere für DNA-Doppelstrangbrüche. [1] Die Phosphorylierung von H2AX als Bestandteil der DNA-Schadensantwort erfolgt zellzyklusabhängig und die gH2AX-Expression entsteht nach UV-Behandlung replikationsabhängig. [2] Die Messung dieses Markers ist häufig im Kontext Apoptose-induzierender Behandlungen gezeigt worden, welche auch oxidativen Stress in Zellen auslösen. [3]

ZIELSETZUNG

Ziel ist es, die Expression von gH2AX unter verschiedenen oxidierenden Bedingungen zu quantifizieren, um die Redox-Regulation dieses Markers nachzuweisen. Untersucht wird, ob gH2AX auch ein sensibler Marker für oxidativen Stress in Abwesenheit von Apoptose ist.

[1] MacPhail, *Int J Radiat Biol* (2003), [2] Palla, *Tumor Biol* (2017), [3] Lu, *Mol Cell* (2006)



Modell des Nukleosomenkerns, Histon-Oktamer mit H2AX [4]

METHODEN

Zellkultur
Zellviabilitäts-Assay
Durchflusszytometrie - Zellzyklusanalyse
- ROS-Detektion
Mikroskopie
Mikronuklei-Assay

[4] Kinner, *Nucleic Acids Research* (2008)

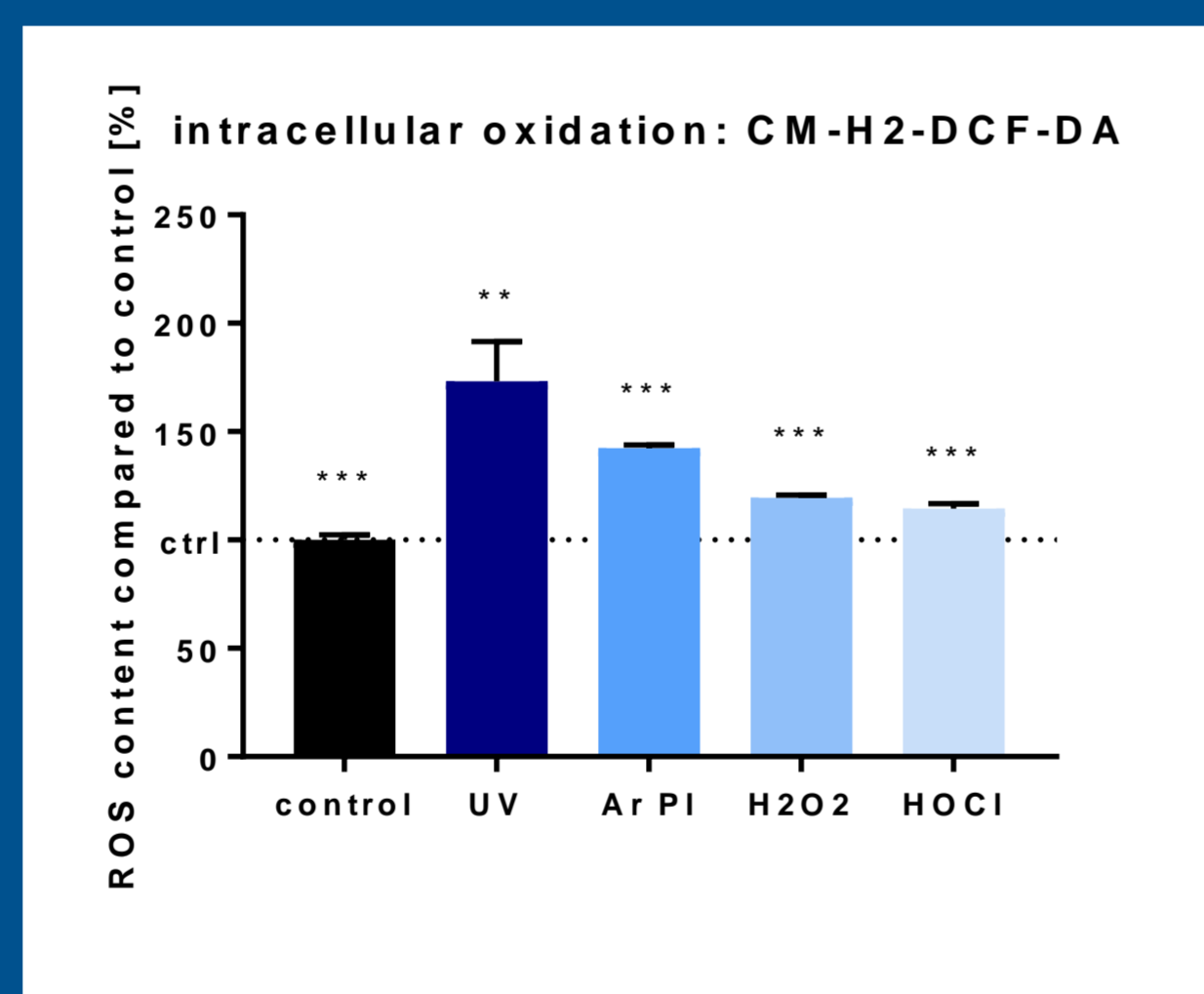
ERGEBNISSE

Intrazelluläre Oxidation

Die Agenzien Argon-Plasma, UV, Wasserstoffperoxid (H₂O₂) und hypochlorige Säure (HOCl) zeigen oxidative Wirkung.

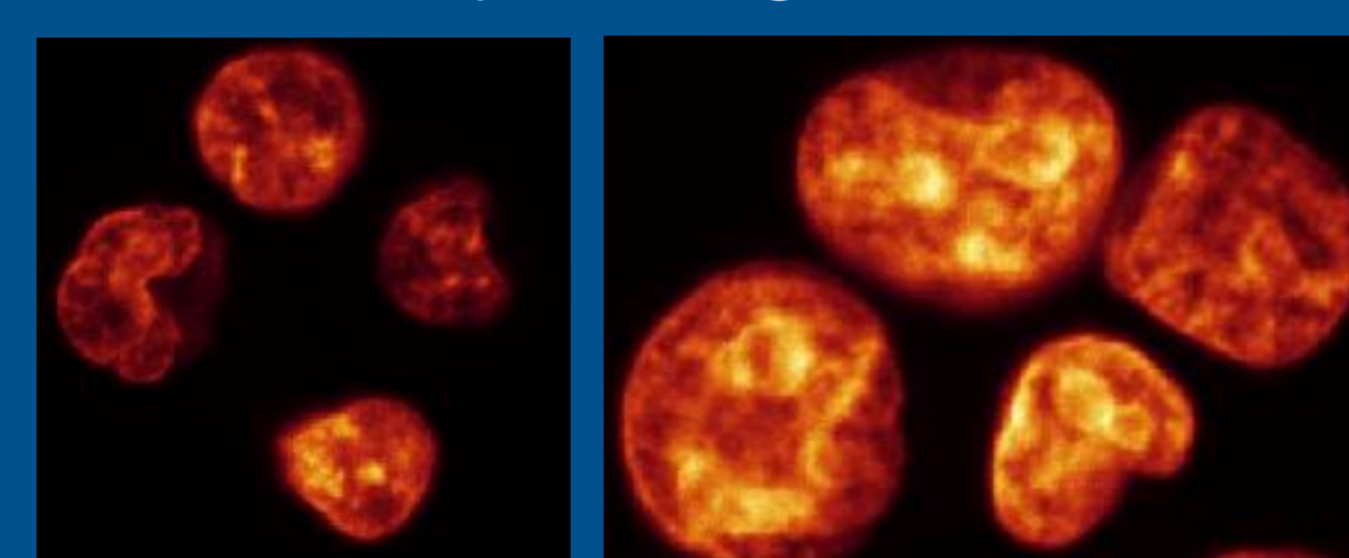


TK6 (humaner Milzlymphoblast), Zellfragmente



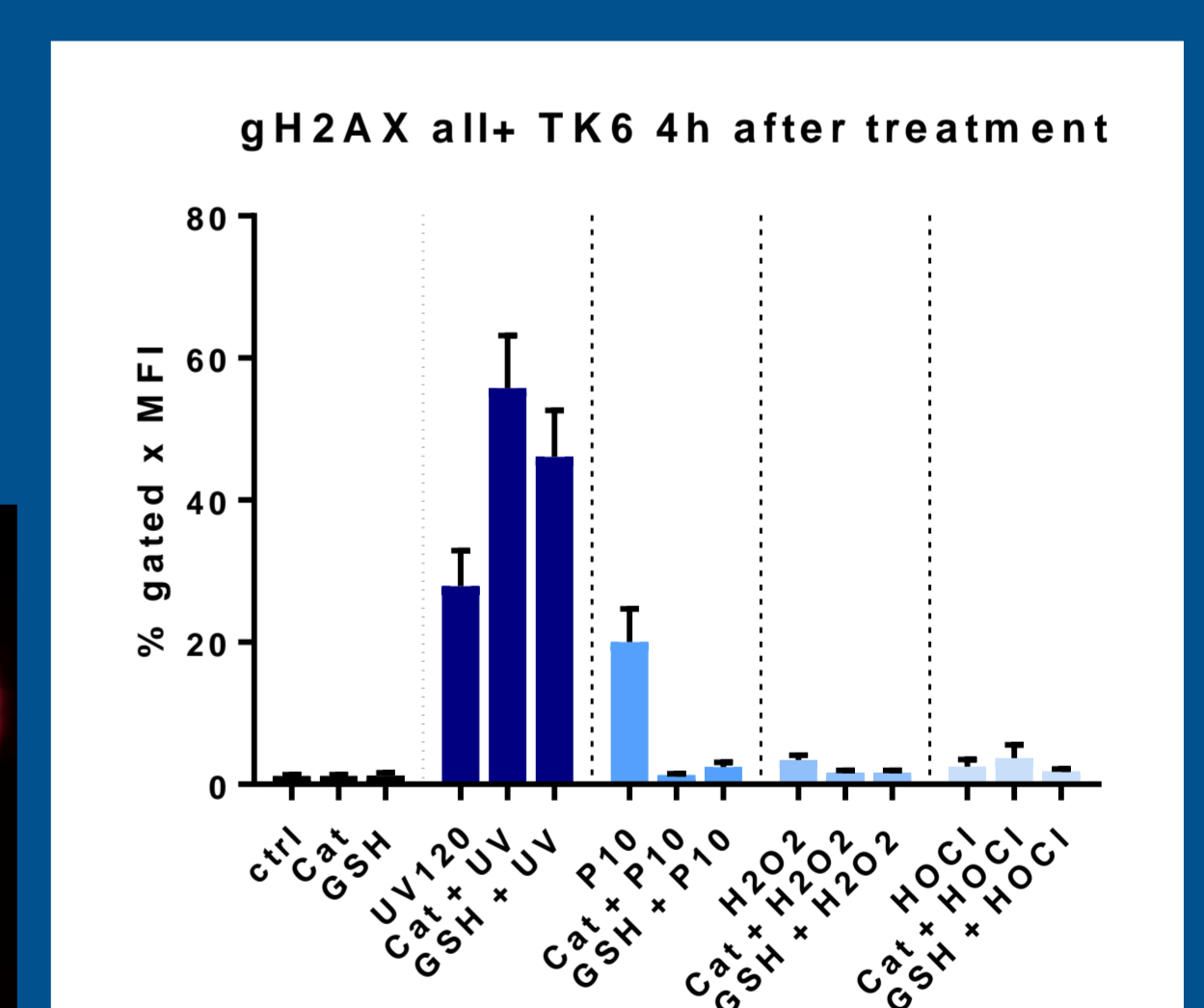
gH2AX-Messung

Sowohl bei Plasma als auch bei UV-Behandlung erfolgt die Phosphorylierung von H2AX.



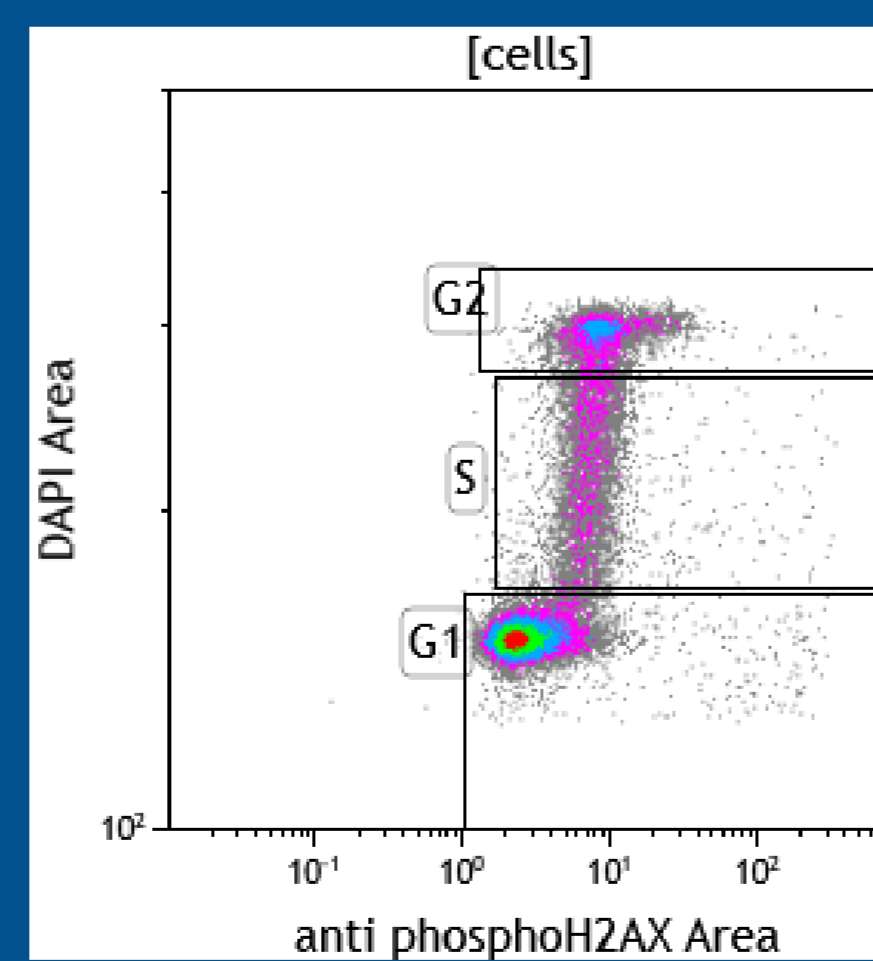
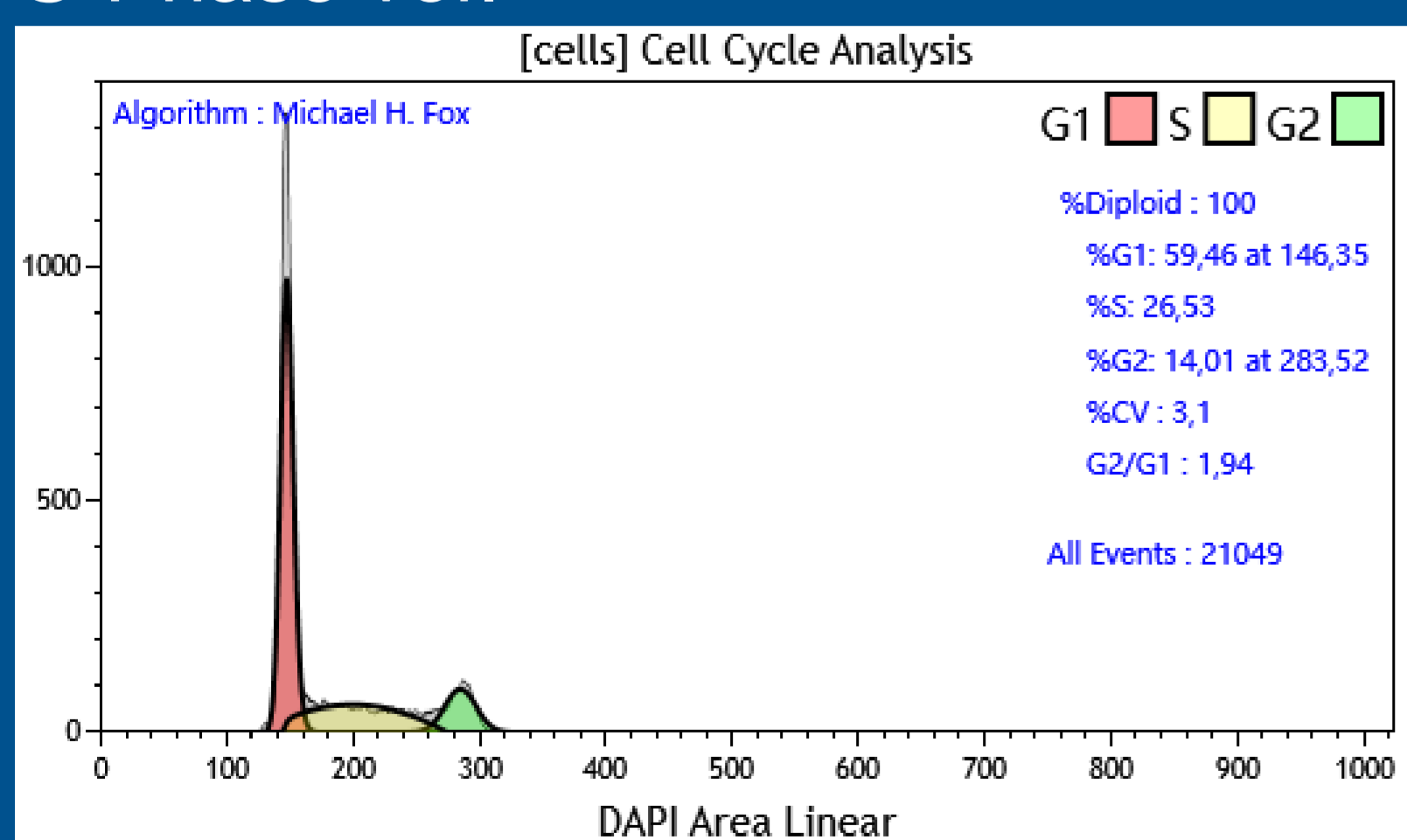
UV

Argon-Plasma

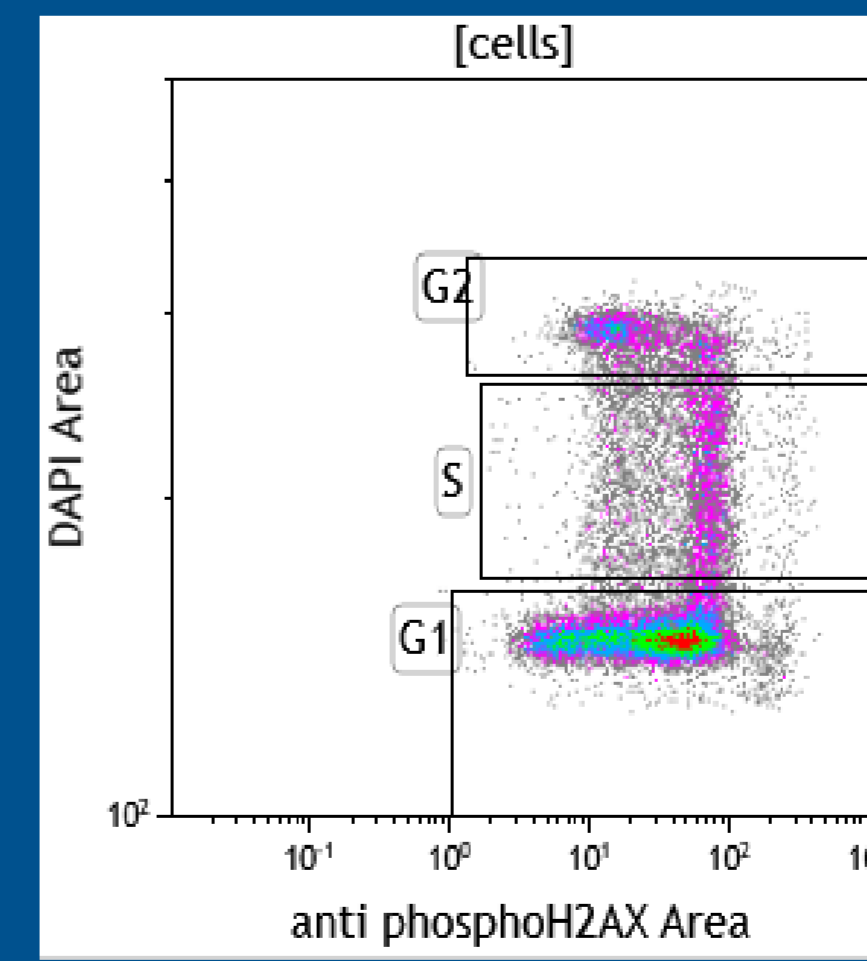


Zellzyklus-Analyse

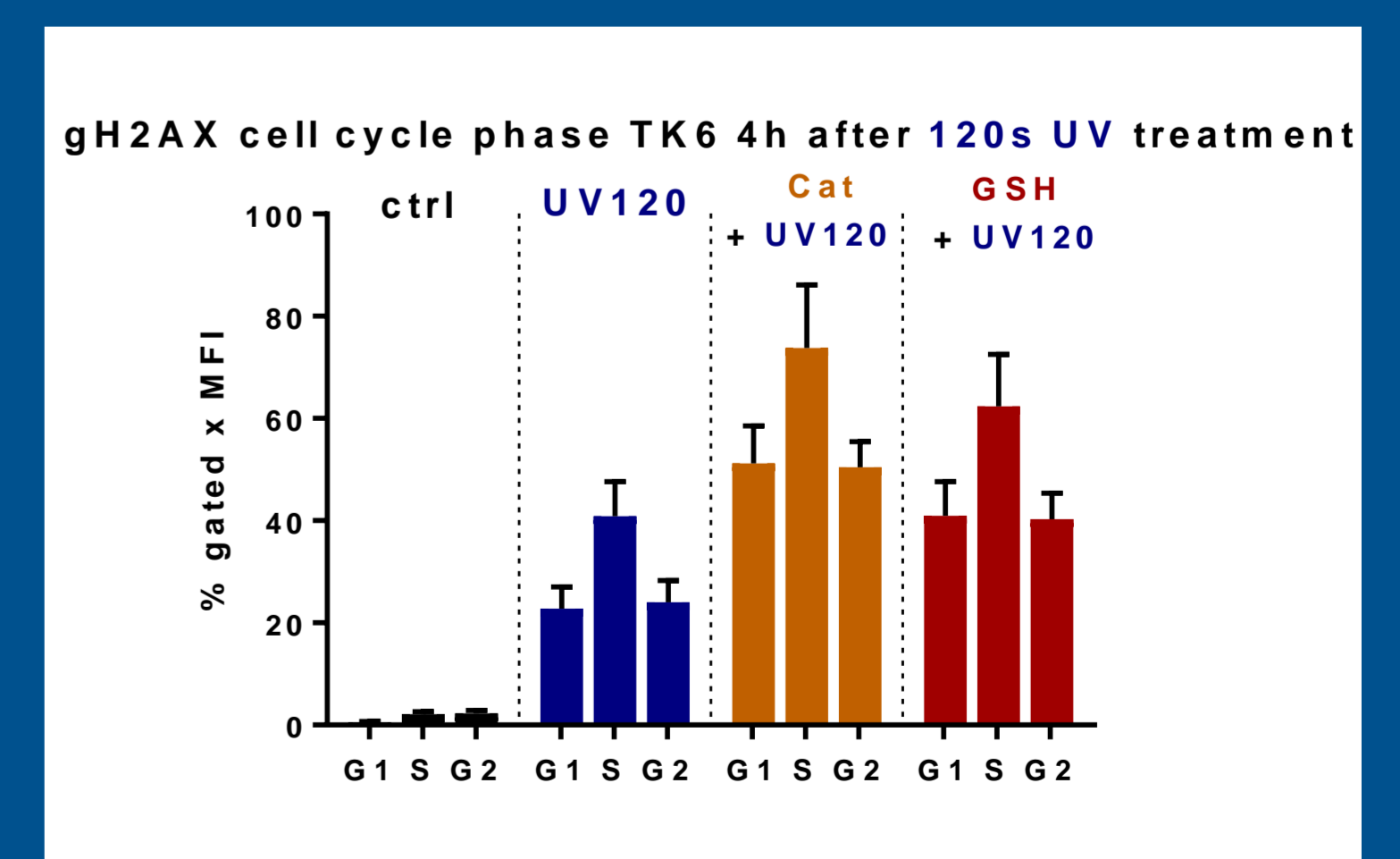
Ein gH2AX-positives Signal nach UV-Behandlung liegt in der S-Phase vor.



Kontrolle



UV



AUSBLICK

• trotz Phosphorylierung von H2AX unter den oxidativen-Stress induzierenden Behandlungen außer bei UV-Bestrahlung kein Anstieg der Mikronuklei-Frequenz?

• Induktion von gH2AX über zelluläre Redoxprozesse (ROS-vermittelt)?
• Upstream-Regulator von H2AX als Redox-Sensor?