

## **Zusammenfassung “Global chromatin changes induced by altered tonicity interferes with DNA damage response signaling and DNA double-strand break repair”**

Die Ergebnisse unserer Experimente zeigen, dass globale Veränderungen der Chromatinstruktur, die durch hypotone oder hypertone Behandlung hervorgerufen werden, schwerwiegende Auswirkungen auf die DDR Signalübertragung und die DSB Reparatur haben und somit die genomische Stabilität gefährden.

Chromatinrelaxation allein verursacht ein vorübergehendes Stoppen der Zellen in der G2-Phase, möglicherweise resultierend aus einer ATM Aktivierung. Allerdings ist die DDR Signalübertragung, gemessen an der Bildung von pATM,  $\gamma$ H2AX und 53BP1 Foci, nach Bestrahlung reduziert. Überraschenderweise können wir trotzdem eine starke G2-Kontrollpunktaktivierung nach DSB Induktion beobachten, die sowohl von ATR als auch von ATM abhängig ist. Weitere Untersuchungen der Signalübertragungen, die ATM vorausgehen, werden uns helfen diese unterschiedlichen ATM-vermittelten Endpunkte zu verstehen. Die in global relaxiertem Chromatin zu beobachtende, funktionsfähige DNA Resektion ermöglicht eine Kontrollpunktaktivierung durch ATR. Trotzdem ist die DSB Reparatur gestört, wie wir an einer weniger effizienten cNHEJ und vor allem an weniger HRR sehen. Auch altEJ kann die beiden Mechanismen nicht ersetzen; SSA ist dagegen dreifach verstärkt sobald die Zellen hypoton behandelt werden. Dieser Effekt wurde mithilfe von Reporter Zelllinien entdeckt und es wäre interessant auch die Reaktion des SSA auf strahlungsinduzierte DSBs in relaxiertem Chromatin zu untersuchen.

Obwohl wir starke Beeinträchtigungen der Hauptreparaturwege beobachten und außerdem nur mutagene DSB Reparatur aktiv ist, sind die geringen Effekte der Chromatinrelaxation auf das Zellüberleben unerwartet. Da die kontinuierliche Behandlung der Zellen mit hypotonem Medium toxisch ist, erklärt die nach Anpassung des Protokolls nur noch vorübergehende Behandlung diese geringen Effekte auf das Überleben nach Bestrahlung. DDR Signalübertragungsexperimente und auch die Messungen des CCP zeigen, dass die Effekte der globalen Chromatinrelaxation, hervorgerufen durch hypotone Behandlung, komplett reversibel sind.

Globale Chromatinkondensierung, erzeugt durch hypertone Behandlung, hält die Zellen in der G1-, G2- und M-Phase an, während die DDR Signalübertragung

gemessen an der ATM Aktivierung und der H2AX Phosphorylierung nach Bestrahlung verstärkt wird. Jedoch ist die Aktivität aller untersuchten DSB Reparaturwege beeinträchtigt (cNHEJ) bzw. komplett unterbrochen (HRR, altEJ und SSA). Eine mögliche Erklärung könnte sein, dass die DNA Resektion in kondensiertem Chromatin nicht mehr funktioniert, welche aber notwendig für die Reparatur durch HRR, altEJ und SSA ist. Daher könnte die funktionelle Aktivierung der Kontrollpunkte helfen die genomische Stabilität zu bewahren, obwohl die DSB Reparatur inhibiert ist. Chromatinkondensierung und die DDR Signalübertragung wird wiederhergestellt, sobald die Zellen in normalem Zellkulturmedium inkubiert werden. Das könnte ebenfalls eine Erklärung für die nur moderaten Effekte der hypertonen Behandlung auf das Überleben nach Bestrahlung sein.

Zusammenfassend stören globale Änderungen der Chromatinstruktur massiv die Reaktionen der Zelle auf DNA-Schadensinduzierung und gefährden somit die genomische Integrität. Die chromatinverändernde Wirkung der hypotonen und hypertonen Medien ist eher unspezifischer Natur. Daher können spezifischere Behandlungen wie zum Beispiel das Nutzen von Inhibitoren bestimmter Chromatin beeinflussender Proteine oder genetisch modifizierte Zelllinien, denen Proteine fehlen, die an der Chromatinkondensierung beteiligt sind, helfen die Rolle der Chromatinstruktur hinsichtlich der DDR Signalübertragung, der DSB Reparatur und der Wahl des Reparaturweges weiter aufzuklären.