

DNA 组织在电离辐射诱发 DNA 损伤中的作用研究进展

中国科学院生物物理研究所 刘晓麒综述 曹恩华审

摘 要,DNA 组织在电离辐射诱发 DNA 损伤和修复中具有重要作用。细胞 DNA 的损伤程度和修复能力的大小与染色体包装、细胞核基质、细胞内可溶性蛋白、细胞周期、细胞形状及细胞间基质等因素有关。

近年来,电离辐射诱导 DNA 损伤及修复研究的一个明显进展是发现 DNA 受损程度与 DNA 组织有关。电离辐射引起的 DNA 损伤类型包括 DNA 单链断裂(SSB)、DNA 双链断裂(DSB)、碱基的化学修饰(SCA)、产生缺嘌呤位点(APS)、DNA-蛋白质交联(DPC)、DNA-DNA 交联(DDC)。其中 DSB 对细胞存活有决定性作用^[1]。DNA 组织不仅包括 DNA 的高级结构、DNA 在染色质中的包装,而且包括 DNA 与核中蛋白基质或其他核组分的相互关系。DNA 组织影响细胞 DNA 对电离辐射的敏感程度可以从两方面来理解。(1)影响 DNA 受损的因素同时包括了 DNA 分子的一级结构、高级结构和 DNA 与细胞其他组分的关系;(2)核中的组织结构保证修复酶可以充分接近损伤位点是保证受损 DNA 得到及时修复的条件^[2]。

一、染色体包装与 DNA 损伤

染色体包装影响 DNA 对电离辐射敏感性已经有多方面的证据。实验表明,对所有的 DNA 受损类型,随着染色质松散程度的增加,DNA 对电离辐射的敏感程度均有不同程度的增加。Chiu^[3]观察到 γ 辐射引起的 DPC 产量与染色质所处介质离子强度成反比。介质离子强度越高,染色质包装越紧密,DPC 产量越低,DNA 对辐射抗性越强。Heussen^[4]发现在镁离子作用下,由直径 10nm 的核粒纤维组装成直径 30nm 的螺线管时,由 γ 射线引起的 DSB 明显减少。Ljungman^[5]用羟基磷灰石法证实紧密

包装的染色质完全松散和将蛋白质完全去除后,SSB 生成量分别增加 6 和 50 倍。所有这些实验事实都说明组蛋白对电离辐射引起的 DNA 损伤有明显的保护作用。

组蛋白是通过两种方式来保护 DNA 的:(1)组蛋白可以清除羟基自由基;(2)组蛋白参与 DNA 自由基中间物的化学修复^[6]。可以设想,和 DNA 纤维联系最紧密的组蛋白对 DNA 的损伤应该有最大的保护作用,因为该类组蛋白可以最有效地清除 DNA 附近的羟基自由基,最容易修复 DNA 自由基。事实上,最近的研究表明,五种组蛋白对电离辐射引起 DNA 损伤的保护作用差异很大。和 DNA 结合最紧密的 H₃,H₄ 组蛋白的保护作用明显地强于和 DNA 结合较松散的 H_{2a},H_{2b} 组蛋白,而 H₁ 组蛋白对 DNA 的保护作用最弱^[7]。组蛋白中富含精氨酸及赖氨酸等碱性氨基酸,属碱性蛋白质,可以和酸性的 DNA 紧密结合,作为非常有效的羟基自由基清除剂而起到保护 DNA 免受电离辐射损伤的作用。相反,细胞内另一些可溶性的自由基清除剂,由于和 DNA 的静电相斥而明显地降低了对 DNA 的保护作用^[8]。当组蛋白参与受损 DNA 的化学修复时,它可能是通过将电子或氢原子传递给 DNA 自由基中间物而发挥作用。也有人认为是由于组蛋白中沉积的辐射能转移到 DNA 上,从而缓和辐射对 DNA 的损伤效应^[9]。

DNA 结合蛋白对电离辐射引起的 DNA 损伤有保护作用这一事实已被用于 DNA-蛋白质复合物的足印法研究和染色体结构研究。

研究表明,被蛋白质束缚的 DNA 片段对由化学方法和 γ 辐照产生羟自由基而引起的 DSB 有完全的防护作用。当然,由于 DNA 是缠绕在组蛋白的外表,即组蛋白只能保护 DNA 双螺旋的一侧,染色体包装的这种结构在某种程度上降低了组蛋白对 DNA 的保护作用。

二、核基质与 DNA 损伤

对于核基质的研究,是近年来细胞生物学非常活跃的一个领域。研究表明,核基质参与染色体 DNA 有序包装和构建、真核细胞中 DNA 的复制、基因表达、hnRNA 的加工等多种重要功能^[10]。

Vaughan^[11]用流式细胞荧光计研究了对电离辐射敏感程度不同的细胞株 DNA 祥环(loop)与其锚定(anchor)的核基质纤维之间的关系。锚定在核基质上的负超螺旋 DNA 用低浓度溴乙锭解旋后再用高浓度溴乙锭形成正超螺旋,则电离辐射敏感的细胞株 DNA 表现出明显的抗性,同时对溴乙锭的亲合力表现出较大的变化。受照以后,辐射敏感的细胞株类核(只含核基质和锚定其上的 DNA)较对辐射有抗性的细胞株类核产生出更多的松散开的超螺旋 DNA,其原因可能是由于辐射敏感的细胞中,核基质和锚定其上的 DNA 祥环之间的亲合力发生了变化,这种结构的变化可能会导致复杂类型的损伤。进一步的研究表明,辐射引起的 DNA 祥环的断裂具有扩大损伤的性质,即一个 DNA 祥环的损伤可以通过 DNA 祥环在核基质上的锚定位点而传给多个 DNA 祥环。所以辐射敏感的细胞株受照后 DSB 增加,修复能力降低是染色体稳定性发生变化的结果,而非原因。

由于核基质是 DNA 复制的基本位点,所以核基质在电离辐射对 DNA 复制的影响中也有作用。研究表明,对电离辐射敏感的细胞株 DNA 在复制中产生的新生 DNA 链和对电离辐射有抗性的细胞株相比,前者明显倾向于和模板链分离。这也可能是由于对辐射敏感的细

胞株染色质包装的变化,而引起开始于核基质的 DNA 复制的变化,结果导致新生链和模板链之间表现出较弱的亲和力^[11]。

放射生物学近年来的一个重大进展是发现电离辐射对基因的损伤和修复具有不均一性,即具有转录活性的基因优先损伤,优先修复。具有转录活性的基因,一般位于 DNA 祥环与核基质的接触位点,而不具有转录活性的“沉默”基因则位于远离核基质的 DNA 祥环上,所以电离辐射优先损伤与核基质接触的活性基因。当然,对于同样程度的损伤,与核基质接触的活性基因优先得到修复^[2]。

三、细胞周期与 DNA 损伤

电离辐射对 DNA 的损伤程度与细胞周期有关已经得到实验证实^[12,13]。研究表明,连续分裂的细胞和休眠细胞对电离辐射表现出不同程度的敏感性,两种细胞受照后产生的 SSB 无明显差异,但单位剂量引起的 DSB 休眠细胞较连续分裂的细胞明显高出许多^[12]。另外,对许多细胞株如 CHV79、CHO 等,S 期细胞 DNA 受损伤程度明显低于其他时期^[13]。

S 期发生的生化事件是遗传物质的复制,即 DNA 复制和组蛋白、非组蛋白等染色体蛋白之合成。如上所述,染色体蛋白可以强烈影响 DNA 受损程度和损伤类型。许多蛋白质如组蛋白要经历一系列翻译后的修饰,如磷酸化、核糖基化、乙酰化,这些修饰作用均与细胞周期有关。蛋白质的译后修饰作用对从蛋白质到 DNA 的电子转移有实质性的影响,而从蛋白质到 DNA 的电子转移会导致 DSB 的发生。蛋白质的译后修饰作用也影响了蛋白质的 DNA 对自由基攻击的竞争作用,使蛋白质对 DNA 的保护作用发生变化。蛋白质的译后修饰对另一种 DSB 形成的可能机制也有作用,此种机制是 DNA 自由基从一条链转移到另一条链而产生 DSB,如果 DNA 自由基转到另一条链的可能性发生变化,则 DSB 的产生也随之变化,但由起始 DNA 自由基引起的 SSB 却不变,这就解释

了SSB的产生与细胞周期无关、而DSB却与细胞周期相关的事实。

四、细胞内可溶性化合物与DNA损伤

实验表明,当用透析法把CHO细胞内可溶性化合物去除后,由X射线产生的DSB较完整细胞增加2倍⁽⁷⁾。在透析过程中约有85%细胞蛋白质损失掉,DNA对辐射敏感程度的增加完全可能是由于透析过程中蛋白质和非蛋白巯基化合物损失的原故。从完整细胞中分离出的细胞核仍保留微量的自由基清除剂如谷胱甘肽。在细胞组成物中含有的巯基化合物既可以清除自由基,又可以降低DNA中产生的自由基,从而达到保护DNA的效果。当把分离出的细胞核重新放入生理状态浓度下的谷胱甘肽时,则发现辐照后DSB的产量与完整细胞基本一致⁽⁷⁾。这一事实说明在细胞内可溶性化合物中,主要是巯基化合物对DNA辐照受损起保护作用。

另外的研究表明,当用透析法去掉了成纤维细胞中的可溶性蛋白质时,DNA对 γ 射线的敏感程度只增加2倍,当把染色体中的组蛋白也去掉时,DNA对 γ 射线的敏感程度则增加100倍。当用细胞内成分对辐射引起的DNA断裂的保护作用的百分比表示时,组蛋白占99%,而细胞内可溶性蛋白仅占1%。这充分说明在保护DNA降低辐射损伤程度方面,组蛋白显然起着比其他可溶性蛋白大得多的作用⁽⁵⁾。

五、细胞形状与DNA损伤

尽管细胞外环境和DNA之间如何发生联系仍不十分明确,但不同的生长环境引起细胞形状的差异会导致DNA活性和基因表达的显著变化已成定论。由生长环境所决定的细胞形状通过细胞骨架、核基质和DNA发生联系⁽¹⁴⁾。

悬浮培养的CHV79肺成纤维细胞,会聚集成含有20~50个细胞的多细胞球。研究表明,这种悬浮培养的细胞和单层培养的细

胞相比,对电离辐射引起的细胞死亡、突变和DNA变性均表现出明显的抗性^(2,15,16)。可以设想,悬浮培养的细胞引起的细胞间的三维接触,在某种程度上增强了细胞对DNA损伤的修复能力,这种对电离辐射抗性增强的“接触效应”通过DNA构象分析已经和DNA损伤联系起来。DNA碱性解旋分析表明,单层培养的CHO细胞受照后DNA解旋速度和时间呈指数关系,开始数小时DNA解旋很快,然后继续持续数小时。相反,悬浮培养的CHO细胞表现出不同的DNA解旋动力学,开始迅速解旋,但5~10分钟后即停止解旋,说明产生了解旋抑制剂⁽¹⁷⁾。进一步的研究表明,悬浮培养的细胞至少经过两个细胞周期才能产生解旋抑制剂,当悬浮培养的细胞重新转为单层培养时,经过一个细胞周期后解旋抑制剂即又消失⁽¹⁸⁾。这种DNA解旋动力学特征和接触效应高度平行的结果,说明DNA解旋抑制剂可能是悬浮培养的细胞对电离辐射表现出较强抗性的原因。因为DNA抑制剂可以作为DNA构象的稳定因素,保证DNA受损后更快更有效地修复。

胞外基质分子如纤粘蛋白的变化会部分影响到细胞形状。胞外基质分子的变化会引起细胞膜上胞外基质分子受体的变化,进一步引起细胞骨架的变化,而细胞骨架和核基质之间的联系又可以把胞外环境变化的信号传递给DNA。许多证据表明细胞形状可以控制基因表达,所以胞外基质分子受体的变化引起细胞骨架的变化会最终影响到受损DNA的修复⁽¹⁹⁾。

综上所述,已经有充分证据表明,DNA组织在DNA损伤和修复中发挥着重要作用。DNA包装的变化可能会改变DNA损伤的性质,影响修复酶的功能以至于整个修复系统。然而,在活细胞中,DNA组织如何影响DNA损伤与修复,至今仍知之甚少。可以预料,有关这方面的工作,在放射生物学的研究中将占相当重要的位置,有可能取得重要进展。

参考文献

- 1 Iliakis G. *Bioessays*, 1991, 13(12) : 641-648
- 2 Olive PL. *Int J Radiat Biol*, 1992, 62(4) : 389-396
- 3 Chiu SM et al. *Radiat Res*, 1992, 129(2) : 184-191
- 4 Heussen C et al. *Radiat Res*, 1987, 110(1) : 84-94
- 5 Ljungman M et al. *Radiat Res*, 1991, 127(2) : 171-176
- 6 Ljungman M. *Radiat Res*, 1991, 126(1) : 58-64
- 7 Wartens RL et al. *Radiat Res*, 1992, 130(3) : 309-318
- 8 Zheng S et al. *Radiat Res*, 1988, 114(1) : 11-27
- 9 Cullis PM et al. *Nature*, 1987, 330(6150) : 773-774
- 10 Getzenberg RH et al. *J Cell Biochem*, 1991, 47(4) : 289-299
- 11 Vaughan ATM et al. *Cancer Res*, 1991, 51(14) : 3857-3861
- 12 Sweigert SE et al. *Radiat Res*, 1988, 116(2) : 228-244
- 13 Olive PL et al. *Cancer Res*, 1991, 51(17) : 4671-4676
- 14 Watt FM et al. *Trends Biochem Sci*, 1986, 11(11) : 482-485
- 15 Olive PL et al. *Radiat Res*, 1992, 130(2) : 241-248
- 16 Olive PL et al. *Exp Cell Res*, 1991, 193(2) : 339-345
- 17 Olive PL et al. *Radiat Res*, 1986, 107(1) : 115-124
- 18 Olive PL, *Radiat Res*, 1989, 117(1) : 79-92

不同性质辐射诱发DNA损伤的模型

Michalik V

摘要:描述了一种评估不同性质的辐射诱发不同DNA损伤的理论模型。模型没有严格区分直接与间接效应而是协同考虑的。计算出的初始双链断裂(DSB)产额与测量结果相一致。也研究了其它DNA多种与单一损伤。当辐射发生质的改变时,损伤的数量与质量都会发生改变。低LET辐射时,损伤中的多种损伤比例约为30%,随着电离密度的增加而大幅度上升。

径迹结构

电离辐射不同于其它DNA损伤试剂的性质,在于它能在几纳米范围内产生一群相邻损伤。辐射径迹结构的性质适于计算DNA损伤的产额,由Monte-Carlo粒子径迹模型,能获得大量有关能量积累的空间分布情况。Lappa提供了在单位密度水汽中带电粒子的运动径迹情况。K-平均值方法可分析电离的空间分布,将研究目标分类并将径迹结构分解成电离簇。使用这些方法,可以计算出射簇的绝对频率分布 $h(j)$,这个 $h(j)$ 是通过限制一个射簇的空间体积变量 P 而定义的。一个 j 阶的射簇可被理解为当两个属于同一个射簇的任意两个电离距

离 $\leq P$ 时,包含 j 个电离的空间区域。 F 或 $j=1$ 时,一个射簇包含1个电离,即一阶射簇。当 P 确定时,分布 $h(j)$ 表示由单位沉积能量引发、沿径迹产生的 j 阶射簇的平均值,且 $\sum_j jh(j) = W^{-1}$, W 为每次电离吸收的平均能量。

当以细胞灭活作为终点(针对细菌和单倍体酵母)的实验结果显示, P 的相关值为2~3nm,这样就给DNA双螺旋几何空间以直接的生物物理学解释。作者认为对于以DNA为靶的生物物理学终点,比值是适宜的。当射簇变量为2nm时,分布值 $h(j)$ 是从足够数量不同能量的不同粒子径迹计算出来的,在每一个能量下, $h(j)$ 针对100个每个相当于5keV能量降低的长