

·放射生物学·

DNA 损伤修复及细胞周期检控点激活的研究进展

程晋 邹仲敏

【摘要】 新近的研究结果使人们对 DNA 损伤诱导的细胞和分子事件,特别是与 DNA 损伤反应和损伤修复相关蛋白的激活以及在 DNA 损伤部位的募集,有了更深入的认识;对细胞周期检控点的激活以及随后的细胞周期调控有了进一步的理解。

【关键词】 DNA 损伤; DNA 修复; 细胞周期; 细胞周期检控点

The activation of DNA damage repair and cell cycle checking point

CHENG Jin, ZOU Zhong-min

(Department of Chemical Defense, College of Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

【Abstract】 There are more understandings on the DNA damage-induced cellular and molecular events, especially on the activation and recruitment of proteins responsible for DNA damage response and DNA damage repair to the site of damaged DNA. The activation of cell cycle checking point is more clearly elucidated on its mechanism and the subsequent cell cycle regulation.

【Key words】 DNA damage; DNA repair; Cell cycle; Checking point

细胞在生命活动中,经常因内源性(如代谢毒物、DNA 复制中发生错误)或外源性伤害(如紫外线、电离辐射、致癌物等)使 DNA 受到损伤,导致基因突变,如果损伤得不到及时修复,子代细胞就可能死亡、携带突变或发生癌变。为保证遗传信息的稳定和准确,细胞在长期进化中形成了一系列相应的 DNA 损伤修复机制并高度保守。与此同时, DNA 损伤也会激活细胞周期检控点,在细胞的 G₁-S 期、S 期、G₂-M 期均有检控点和 DNA 损伤相应答,使细胞周期阻滞,进而给修复以充足的时间。DNA 损伤修复过程就是一系列损伤修复信号和检控点蛋白的激活过程。近年来,对 DNA 损伤修复及细胞周期检控点激活有了进一步的认识。

1 DNA 损伤修复

电离辐射引起的 DNA 损伤是研究修复机制的典型模型,诸多蛋白参与了修复复合物的形成和细胞周期的调控。按照激酶磷酸化结构域,可以

把 DNA 损伤反应核心的蛋白激酶分成两类:一类是在 DNA 损伤信号顶端的磷脂酰肌醇-3 激酶样激酶(phosphatidylinositol-3-kinase-like kinases, PI3 KK)家族,包括毛细血管扩张性共济失调症突变(ataxia telangiectasia mutated, ATM)激酶、ATM 及 Rad3 相关激酶(ATM and Rad3 related, ATR)及 DNA 依赖性蛋白激酶(DNA-dependent protein kinase, DNA-PK);另一类是在 PI 3 KK 下游的细胞周期检控点激酶 1(checkpoint kinase 1, Chk1)、Chk2 和 Chk3^[1]。参与 DNA 损伤修复的许多蛋白都需要通过磷酸化来激活。

1.1 减数分裂重组 11 蛋白-辐射敏感 50 蛋白-Nijmegen 染色体断裂综合征突变 1 蛋白(meiotic recombination 11 (MER11)/radiation sensitive 50 (Rad50)/Nijmegen breakage syndrome 1 (NBS1), MRN)复合物

MRN 复合物被认为是最初感知 DNA 损伤并定位的因子,其 3 种成分蛋白在 DNA 损伤尤其是双链断裂修复和细胞周期检控点激活中发挥作用,该复合物的突变会造成人体对电离辐射、基因异常、免疫缺陷等相关疾病。MRE11 蛋白通常以同二聚体形式存在,形成一个 U 型结构,断裂 DNA 的游离端被识别后即可被嵌入 U 型内部。其 N 端能结

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2009.06.014

基金项目:国家自然科学基金(30828007)

作者单位:400038 重庆,第三军医大学军事预防医学院防化医学教研室

通信作者:邹仲敏(E-mail: zouzhuimin@yahoo.com)

合 NBS1, C 端则识别 Rad50 和 DNA。同时, 它还具有 3'-5' 核苷酸外切酶活性。Rad50 是一种卷曲螺旋蛋白, 氨基酸链在中段处对折, 两端结合后产生 ATP 酶活性, 同时与 MRE11 相互作用。NBS1 没有酶活性, 但在复合物中却发挥调节作用, 它含有两个重要的结构域——叉头相关结构域 (fork head associated, FHA) 和乳腺癌易感基因 (breast-cancer susceptibility genes, BRCA) 编码的 1 型蛋白复合物 C 端结构域 (BRCA1 C-terminal, BRCT), FHA 能够识别 DNA 损伤检控点介导因子 1 (mediator of DNA damage checkpoint-1, MDC1), 在 MDC1 的作用下聚集于 DNA 损伤修复处, 使损伤信号不断放大; BRCT 则结合 ATM, 将放大的信号向下游转导。通过 NBS1 的定位, MRE11、Rad50 随之结合于 DDR 处。MRE11 的磷酸化也是 NBS1 依赖性的^[2]。

在 DNA 损伤修复早期, 通过 NBS1 定位, U 形的 MRE11 二聚体和 DNA 的两个游离末端结合, 标记损伤区域, 复合于 MRE11 上的 Rad50 通过其锌指结构两两作用, 将断裂部位与 Rad50 的氨基酸链暂时连接。与此同时, ATM 被募集并激活, 介导信号传递^[2]。但这一反应极为快速, 因此在这一快速反应事件中, MRN 复合物和 ATM 的聚集很难区分先后顺序, 它们都在损伤早期发挥着重要作用。

1.2 ATM 和 ATR

ATM 和 ATR 是 DNA 损伤的感应因子, 均可独立激活 DNA 损伤通路, ATM 倾向于激活电离辐射引起的双链断裂, ATR 则对电离辐射、紫外线引起的损伤都能应答, 更倾向于应答单链断裂和复制叉的中止^[3], 但两者的功能和底物在某种程度上有重叠^[4]。正常细胞中, ATM 以非活化的二聚体形式存在。当电离辐射致使 DNA 双链断裂发生后, ATM 在 MRN 复合物的招募下迅速聚集, Ser1981 位点发生自身磷酸化, 二聚体解离。使 H2A 型组蛋白变体 (histone 2AX, H2AX)、NBS1 磷酸化, 同时激活其下游检控点激酶 Chk2 调控细胞周期^[5]。ATR 的聚集、其下游检控点激酶 Chk1 的磷酸化则相对缓慢, 可能与双链断裂发生和单链 DNA 生成之间存在的时间差有关。ATR 的聚集依赖于复制蛋白 A 和 ATR 相互作用蛋白的定位, 类似于 NBS1 的功能。Jackson^[6] 研究发现, 在电离辐射或激光引起的双链断裂中, ATR 的激活依赖于 MRN

复合物和 ATM 激酶活性, 提示在双链断裂中, ATR 可能通过 ATM 对损伤起补充应答。

1.3 H2AX 和 MDC1

组蛋白 H2AX 属于 H2A 家族, 其 C 端是一段高度保守序列, 由以丝氨酸为关键的 4 个氨基酸组成。在双链断裂中, 该序列的 Ser139 位点可由 ATM 或 ATR 诱导磷酸化, 生成 γ -H2AX^[5], 许多与 DNA 损伤修复有关的蛋白均可以通过 FHA、BRCT 结构域与 γ -H2AX 的磷酸化丝氨酸或苏氨酸残基作用并被其募集到双链断裂, 因此, γ -H2AX 的生成是 DNA 损伤修复的关键事件, 被看作为双链断裂的标志, 而 γ -H2AX 和 MDC1 的结合无论对于损伤信号的放大还是向下传递都是至关重要的。

MDC1 含有 FHA 和 BRCT 两个结构域, 通过 BRCT 结合 γ -H2AX, 保护其免受蛋白磷酸酶的作用和招募其他 DNA 损伤反应分子; 通过 FHA 结合 ATM^[7]。Lou 等^[8] 发现, MDC1^{-/-} 鼠显示明显的基因组不稳, 与 H2AX^{-/-} 小鼠相似, 提示 H2AX 和 MDC1 是亲近的分子伴侣关系。MDC1 缺陷使 H2AX 磷酸化降低; 与 H2AX^{-/-} 细胞类似, 观察到在 DNA 损伤部位初始的募集是正常的, 但是不能募集 DNA 损伤检控点蛋白。这说明 MDC1 并不在 ATM 初始激活 H2AX 中起作用, 而是该信号的放大器, 即招募更多的 ATM 在更大范围内使 H2AX 磷酸化。MDC1 还可通过 FHA 结合 NBS1, 是招募 MRN 复合物所必需的^[9]。MDC1 的桥梁作用可形成正反馈环路, 介导 ATM 依赖的 DNA 损伤信号的放大^[5]。因此, H2AX 是损伤信号转导的中枢, 而 MDC1 则是保证此中枢发挥效应的关键。

事实上, 在介导 DNA 损伤修复信号转导过程中, H2AX 不仅仅被磷酸化, 泛素化和乙酰化等修饰, 对 H2AX 正常发挥作用也是必须的。肿瘤抑制基因 Tip60 编码的组蛋白乙酰化转移酶可使 γ -H2AX 乙酰化, 促使乙酰化磷酸化 H2AX 与未被修饰的 H2AX 在双链断裂处转换。van Attikum 等^[10] 最近的研究显示, 泛素链第 48 位赖氨酸 (K48) 的泛素化修饰通常导致蛋白的降解, 而第 63 位赖氨酸 (K63) 的泛素化修饰则调节着信号的激活和蛋白的细胞亚定位。E2 泛素结合酶 UBC13、E3 泛素连接酶 ring finger protein 8 (RNF8) 的相互作用可催化 K63 连接的多泛素链的生成, 通过 RNF8 识别 MDC1 定位于损伤部位, UBC13 在损伤区域与

TIP60 蛋白结合, 将乙酰化磷酸化 H2AX 标记上多泛素链。RNF8 依赖的 H2AX 泛素化对 p53 结合蛋白 1 (p53 binding protein 1, p53BP1)、BRCA1 在双链断裂处的聚集则是必须的。RNF168 也是一种 E3 泛素连接酶, 补充 RNF8 的作用, 其缺陷与 RNF8 缺陷的表现类似。

1.4 BRCA1

BRCA1 蛋白由 BRCA 编码, 可与结构相关的 RING 结构域蛋白 1 (BRCA1-associated ring domain protein 1, BARD1) 发生特异性结合, 再结合更多种蛋白而形成更复杂的复合物。目前发现的 BRCA1 复合物有 3 种, 分别为 BRCA1-A、BRCA1-B、BRCA1-C 复合物, 其中 BRCA1-A 在哺乳动物体内大量存在。该复合物的成分之一, 泛素化结合蛋白 RAP80 能识别泛素化 H2AX, 将复合物定位在损伤部位。BRCA1 还具有 E3 泛素连接酶功能。此外, BRCA1 能被 ATM、ATR、Chk2 磷酸化, 磷酸化 BRCA1 在 Chk1、Chk2 通路中发挥作用, 参与激活 S 期、G₂-M 期检控点, 调节 p53 下游许多基因的转录。研究显示, BRCA1 突变细胞更容易受电离辐射、紫外线照射而损伤^[10]。

1.5 DNA 损伤修复蛋白复合体的组装模型

电离辐射诱导的核斑点的形成是 DNA 损伤信号传递和修复蛋白序贯组装的结果, 早期事件主要包括 MRN 复合物的定位→ATM 乙酰化和随后在 Ser1981 位点的自磷酸化→H2AX Ser139 位点的磷酸化→MDC1 的招募和磷酸化→RNF8 等的加入。后期事件有 BRCA1 和 p53BP1 的募集。核斑点的形成受到含有 BRCT 和 FHA 结构域的蛋白的调控, γ-H2AX 和 MDC1 结合形成了其中的关键分子基础。

2 DNA 损伤引起的检控点调控

细胞周期间转换依赖于细胞周期调节蛋白 (cyclin) 和周期素依赖蛋白激酶 (cyclin-dependent kinase, CDK) 的结合和活化, 抑制两者结合或活化的因子都可以使细胞周期发生停滞。DNA 损伤后, 为了避免损伤的 DNA 复制及分配到子细胞, 许多损伤应答因子可以激活相关的细胞周期抑制因子和检控点蛋白, 从而使 DNA 获得更多的修复时间。毛细血管扩张性共济失调症 ATM 会导致因 DNA 损伤引起的细胞周期检控点反应难以进行^[11]。Chk1 和 Chk2 是检控点的关键因子, 通过

激活下游效应因子介导检控点反应, MDC1、BRCA1、p53BP1 可与 Chk1、Chk2 结合, 易化其磷酸化及 Chk 对其下游效应因子的磷酸化作用, 在电离辐射导致的 DNA 损伤与检控点激活之间发挥桥梁作用^[12]。

2.1 Chk2 通路的磷酸化激活-DNA 损伤修复的时间提供者

Chk2 是双链断裂后依赖 ATM 通路的关键转导者, 双链断裂发生后存在 ATM-Chk2 通路, 使细胞周期停滞, 给 DNA 修复提供足够的时间。体外条件下, Chk2 也能被 ATR 以及 DNA-PK 激活。Chk2 有一丝氨酸-谷氨酰胺/苏氨酸-谷氨酰胺簇 (serine-glutamine/threonine-glutamine cluster domain, SCD), ATM 可磷酸化 Chk2 的 Thr68 位点及 SCD 中其他残基, 使 Chk2 多聚化并形成活化的激酶域, 这一激酶域又可促使 Chk2 在 Thr383、Thr387 位点自身磷酸化, 使 Chk2 最终激活并增强其活性^[3,13]。活化的 Chk2 磷酸化 p53, 后者又可激活其下游基因 p21。p21 是 CDK 的抑制剂, 能抑制 CDK 与 Cyclin E、Cyclin A 结合的活性, 从而抑制 DNA 受损的细胞进入 S 期。Chk2 还可激活细胞分裂周期蛋白 25 的 A 型异构体 (cell division cycle 25 homolog A, CDC25A), 诱发其泛素化而降解, 从而使 CDC25A 无法激活复制所需的 CDK2-cyclin E 二聚体。此外, Chk2 可磷酸化 BRCA1, 通过活化的 BRCA1 发挥 DNA 损伤应答作用^[3,14]。

2.2 Chk1 通路

Chk1 同样属于丝苏氨酸激酶, 其 N 端依次为 SCD 和激酶结构域, C 端则有功能区, 可调节其活性^[14], 与 Chk2 拥有类似的作用机制和底物。Chk1 主要通过 ATR 磷酸化其 Ser317 位、Ser345 位残基而激活, 参与紫外线所致的 DNA 损伤、复制阻断及 DNA 交联。双链断裂发生时, ATM 也可通过 ATR 影响 Chk1 的磷酸化和活性, 说明 ATM-Chk2、ATR-Chk1 通路间存在交叉。活化的 Chk1 抑制 CDC2-cyclin B1 复合物的活性, 导致细胞周期停滞。Chk1 是 ATR 依赖反应中的重要部分, 它的 Ser317 和 Ser345 被磷酸化后能激活抑癌基因 p53, 激活 G₁-S 检控点, Chk1 被 ATM 激活后也可通过 CDC25A 引发 S 期阻滞。

2.3 细胞周期的调控

细胞在进入细胞周期的各个阶段时均有严格的

检控,以保证DNA复制、姐妹染色单体分配和细胞增殖的准确。 G_1 -S期的检控可以保证即将被复制的基因信息是准确无误的,主要由p53调控。ATM通过激活Chk2而磷酸化p53的Ser20。ATM或ATR还可直接磷酸化p53的Ser15,在转录后水平增强p53的稳定性。AT突变细胞表现出 G_1 、 G_2 停滞和复制减少^[15]。Chk1-CDC25A也能通过调控CDK2调节 G_1 -S期,但p53-p21能使该停滞持续更长时间。

CDC25家族是调节细胞周期的另一类重要蛋白。Cyclin和CDK的结合和活化是磷酸化抑制性的,依赖于CDC25的调控。CDC25能使该复合物去磷酸化,从而保证细胞周期的顺利转进^[16-17]。哺乳动物细胞中,由可变性剪切产生了3种CDC25异构体—CDC25A、CDC25B和CDC25C。早期研究认为,它们分别在细胞周期不同阶段发挥主要调节作用,针对不同刺激,CDC25A和CDC25B反应也会有所侧重,而细胞有丝分裂对CDC25C的需要不是必须的^[18]。但最近研究表明,三者有丝分裂各个阶段中始终相互协同,共同作用^[17]。CDC25A使CDK去磷酸化而激活cyclin E(A)/CDK2、cyclin B1/CDK1复合体。CDC25C Ser216位点的磷酸化则可通过检控点通路抑制有丝分裂进程^[18]。

除经典的ATM-Chk1(Chk2)-CDC25外,CDC25还可被Polo样激酶(Polo-like kinases, PLK)家族调控。研究发现,DNA损伤剂顺铂处理的转移性和非转移性肝癌细胞中,前者的PLK未能降低,因而维持了CDC25A的高表达,引起细胞在未完成DNA修复时就进入S期和 G_2 -M期,导致恶性增殖^[19]。PLK1还能促进CDC25B在核内的定位,增强其促使细胞进入M期的能力^[20]。Jin等^[21]的研究则提示,在ATR或ATM通路中,CDC25A的泛素化降解主要依赖于Chk1而非Chk2。最近的研究发现,p53也负调控CDC25A的表达,其作用机制是p53能激活转录抑制因子ATF3与CDC25A启动子的结合^[22]。另外,CDC25B的降解可能还与丝裂原活化蛋白激酶家族有关^[23]。

3 结语

目前研究已基本阐明了由ATM和(或)ATR引发的DNA损伤修复过程以及必要的检控点激活和细胞周期停滞,其关键在于H2AX的修饰及其与

MDC1的结合、Chk1或Chk2的激活,整个过程涉及大量调控因子的相互作用,并且随着研究的深入,发现许多通路间存在交叉和关联,这使得细胞在应对复杂的内外不利刺激时更加及时、有效、全面。DNA损伤修复与细胞死亡、癌变有密切关系,许多参与损伤修复的都是肿瘤抑制因子,其缺陷或过表达都可能导致DNA损伤无法修复或细胞的恶性增殖。因此,对DNA损伤机制的研究有利于进一步了解细胞死亡或癌变的过程和关键点,从而有利于对抗细胞衰老和防治肿瘤。

参 考 文 献

- [1] Moham mad DH, Yaffe MB. 14-3-3 proteins, FHA domains and BRCT domains in the DNA damage response. *DNA Repair (Amst)*, 2009, 8(9): 1009-1017.
- [2] Lavin MF. ATM and the Mre11 complex combin to recognize and signal DNA double-strand breaks. *Oncogene*, 2007, 26(55): 7749-7758.
- [3] Lou Z, Chen J. Mammalian DNA damage response pathway. *Adv Exp Med Biol*, 2005, 570: 425-455.
- [4] Gatei M, Zhou BB, Hobson K, et al. Ataxia telangiectasia mutated (ATM) kinase and ATM and Rad3 related kinase mediate phosphorylation of Brca1 at distinct and overlapping sites. In vivo assessment using phospho-specific antibodies. *J Biol Chem*, 2001, 276(20): 17276-17280.
- [5] van Attikum H, Gasser SM. Crosstalk between histone modifications during the DNA damage response. *Trends Cell Biol*, 2009, 19(5): 207-217.
- [6] Jackson SP. The DNA-damage response: new molecular insights and new approaches to cancer therapy. *Biochem Soc Trans*, 2009, 37(Pt 3): 483-494.
- [7] Stucki M, Clapperton JA, Mohammad D, et al. MDC1 directly binds phosphorylated histone H2AX to regulate cellular responses to DNA double-strand breaks. *Cell*, 2005, 123(7): 1213-1226.
- [8] Lou Z, Minter-Dykhouse K, Franco S, et al. MDC1 maintains genomic stability by participating in the amplification of ATM-dependent DNA damage signals. *Mol Cell*, 2006, 21(2): 187-200.
- [9] Melander F, Bekker-Jensen S, Falck J, et al. Phosphorylation of SDT repeats in the MDC1 N terminus triggers retention of NBS1 at the DNA damage-modified chromatin. *J Cell Biol*, 2008, 181(2): 213-226.
- [10] Yan Y, Black CP, Cao PT, et al. Gamma-irradiation-induced DNA damage checkpoint activation involves feedback regulation between extracellular signal-regulated kinase 1/2 and BRCA1. *Cancer Res*, 2008, 68(13): 5113-5121.
- [11] Kaufmann WK. Cell cycle checkpoints and DNA repair preserve the stability of the human genome. *Cancer Metastasis Rev*, 1995, 14(1): 31-41.
- [12] Canman C E. Checkpoint mediators: relaying signals from DNA strand breaks. *Curr Biol*, 2003, 13(12): R488-R490.

- [13] Stracker TH, Usui T, Petrini JH. Taking the time to make important decisions: the checkpoint effector kinases Chk1 and Chk2 and the DNA damage response. *DNA Repair (Amst)*, 2009, 8(9): 1047–1054.
- [14] Lee JS, Collins KM, Brown AL, et al. hCds1-mediated phosphorylation of BRCA1 regulates the DNA damage response. *Nature*, 2000, 404(6774): 201–204.
- [15] Kurosu T, Takahashi Y, Fukuda T, et al. p38 MAP kinase plays a role in G2 checkpoint activation and inhibits apoptosis of human B cell lymphoma cells treated with etoposide. *Apoptosis*, 2005, 10(5): 1111–1120.
- [16] Kiyokawa H, Ray D. In vivo roles of CDC25 phosphatases: biological insight into the anti-cancer therapeutic targets. *Anticancer Agents Med Chem*, 2008, 8(8): 832–836.
- [17] Boutros R, Dozier C, Ducommun B. The when and wheres of CDC25 phosphatases. *Curr Opin Cell Biol*, 2006, 18(2): 185–191.
- [18] Hosing AS, Kundu ST, Dalal SN. 14-3-3 Gamma is required to enforce both the incomplete S phase and G2 DNA damage checkpoints. *Cell Cycle*, 2008, 7(20): 3171–3179.
- [19] Wang XQ, Zhu YQ, Lui KS, et al. Aberrant Polo-like kinase 1-Cdc25A pathway in metastatic hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(21): 6813–6820.
- [20] Lobjois V, Jullien D, Bouché JP, et al. The polo-like kinase 1 regulates CDC25B-dependent mitosis entry. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1793(3): 462–468.
- [21] Jin J, Ang XL, Ye X, et al. Differential roles for checkpoint kinases in DNA damage-dependent degradation of the Cdc25A protein phosphatase. *J Biol Chem*, 2008, 283(28): 19322–19328.
- [22] Demidova AR, Aau MY, Zhuang L, et al. Dual regulation of Cdc25A by Chk1 and p53-ATF3 in DNA replication checkpoint control. *J Biol Chem*, 2009, 284(7): 4132–4139.
- [23] Uchida S, Yoshioka K, Kizu R, et al. Stress-activated mitogen-activated protein kinases c-Jun NH2-terminal kinase and p38 target Cdc25B for degradation. *Cancer Res*, 2009, 69(16): 6438–6444.

(收稿日期: 2009-05-25)

电离辐射诱导旁效应的研究现状

陈凤 涂彧

【摘要】 辐射旁效应是一种电离辐射引起的间接效应。国内外许多研究者应用先进的检测技术和方法证实了旁效应的存在, 并对其机制有了更深入的了解, 旁效应研究也逐渐从单细胞扩展到多细胞, 从离体扩展到整体, 从体外扩展到体内, 为解释旁效应的发生及调控机制提供了有力的证据, 尤其为以后的放射肿瘤临床应用提供科学的依据。

【关键词】 电离辐射; 辐射旁效应; 效应

Bystander effect induced by ionizing radiation and its application

CHEN Feng, TU Yu

(Department of Medical Radioprotection, School of Radiation Medicine and Public Health, Suzhou 215123, China)

【Abstract】 An indirect effect induced by ionizing radiation called bystander effect is being highly concentrated. Many domestic and foreign researchers have verified the existence of bystander effect and have got more understanding of the mechanism with advanced detection techniques and methods. So far, the research about it has expanded from a single cell to multiple cells, from the in vitro to the whole, and has extended to in vivo from in vitro, which provides powerful evidence to explain how bystander effects happen and the regulation mechanism and especially gives scientific evidence to clinical radiation oncology application in the future.

【Key words】 Ionizing radiation; Bystander effect; Radiation effect

辐射旁效应是指通过细胞接触或细胞间通讯

将直接受辐射细胞的应答传递给周围未受辐射的细胞, 后者也表现出与辐射细胞类似的生物学效应, 包括周围正常细胞的致死损伤、细胞凋亡或终末分化、姐妹染色单体互换、染色体畸变、微核、基因