

本有放医研, 广岛原爆医学研究所和RERF (过去的ABCC)。多年来除进行了大规模的各种模拟试验, 包括在美国内华达州进行的有关核试验以及吊塔架高加速器和裸体反应堆试验外, 日本研究了砖瓦热释光测量 $\gamma$ 剂量和土壤中 $^{60}\text{Co}$ 分析中子剂量。还做了大量的器官剂量研究和房屋屏蔽校正研究。近年来他们又进一步从瓦片中 $^{151}\text{Eu}$ 和 $^{157}\text{Eu}$ 根据其活化反应 $^{151}\text{Eu}(n, \gamma)^{152}\text{Eu}$ 和 $^{153}\text{Eu}(n, \gamma)^{154}\text{Eu}$ 来推算中子剂量, 现已得出长崎500米(斜距)热中子为 $5 \times 10^{12}$ 厘米 $^{-2}$ , 广岛590米(斜距)热中子为 $6 \times 10^{12}$

厘米 $^{-2}$ , 现在广岛原爆医学研究所正从事长崎“黑雨”(即长崎落下灰)测量分析。

为了配合远后效应研究, 日本也很重视医用内外照射资料的积累, 放医研对MIRD内照射剂量计算模型应用到每个具体人的计算方法做了研究, 并按ICRP26号报告计权方法提出了日本参考人剂量计算方法, RERF等机构还大量收集了X线透射、照象时人体及器官的吸收剂量数据并存储于计算机内为随访总结剂量-效应关系使用。

(第六届国际辐射研究大会中国代表团成员 史元明整理)

## DNA 损伤 修复

为什么DNA损伤修复受到那么多的重视, 分析起来可能有三方面原因:

(1) 从能源问题上, 人类面临寻找新的能源, 无疑核能是最经济最干净的一种。将来工业用能源必然是核能占主要地位。但随之而来的问题是人类对放射性还没有完全掌握主动权, DNA作为生命活动过程中最主要靶分子之一, 因此研究辐射对DNA损伤及修复必然受到重视。

(2) 从目前分子生物学的进展了解到DNA与肿瘤的关系, DNA与遗传的关系是那么密切, 而辐射效应尤其是低剂量辐射引起的生物学远后效应, 在体细胞主要是肿瘤发生, 在生殖细胞是遗传效应。这两个问题也正是当前生物学领域中几个直接联系实际问题中的两个重大基础理论课题。

(3) 近20年来分子生物学的进展已提供了许多理论和技术上的成就, 这些成就为开展放射生物学研究提供了极为有利的条件。把分子生物学的概念和技术应用于阐明辐射损伤的性质和特点, 使放射生物学从五十年代的水平提高到七十年代。反之, 利用辐射这样一个独特的环境条件, 用不同的能量、质量、剂量率、剂量等来进行比较研究

无疑会得到十分有价值的结果, 这些结果的分析将有助于分子生物学的发展。最近, 有人根据SOS修复作用的规律从理论生物学角度提出了驰豫假说, 就是很明显的例子。

放射生物学在六十年代一段时间里比较沉默, 但到六十年代末七十年代初又开始了新的一章。从这次大会看研究课题比较集中, 分子水平的工作主要是DNA损伤与修复(包括离体与细胞整体)。Stanford大学的P. Hanawalt 1974年编了一套二本DNA损伤机理, 1978年又写了一本DNA修复机理。同时, 1978年欧洲召开了一次电离辐射对DNA作用的会议, 很说明问题。

从这些年来进展的分析, 研究DNA损伤修复主要从三个方面考虑:

(1) 外加修筛因子——结合敏化剂、防护剂进行工作。这次会议上用Misonidazole这一敏化剂的工作最多。

(2) 从内部找修复原因, 突出地找到了修复过程中一些特殊活动。除DNA聚合酶外, 发现了一些新的酶, 如镶嵌酶、去甲基酶、单链结合酶及gyrases。此外如修复过程中主侧链及配合链问题, 正确修复与错误修复的条件和状态问题等。

(3) 利用各种不同的比较方法来探讨损伤修复。例如用不同质量的射线UV及 $\gamma$ 或 $\gamma$ 及中子,不同的细胞、细菌和哺乳动物细胞、正常与突变株细胞、正常与病变细胞(如正常细胞与XP细胞或AT细胞等)。

正像Hana walt在京都会议上的综述性报告中所提到的那样,近年来由于研究DNA修复的技术得到了很大的进展,利用内外因子来影响DNA功能和刺激修复作用,对活体内DNA损伤的去除和修复的定量测定有了许多改进办法,有相当数量的细菌突变株和修复缺陷的真核细胞株,找到了修复过程中一些特殊酶及其作用规律。正常DNA复制过程中一些新的蛋白质的发现和提纯(如gyrases及单链结合蛋白),对DNA聚合酶了解得更清楚了。

另一个重要的问题是看到了突变发生不仅是损伤引起,而在修复过程中错误的修复更重要。究竟error-free及error-Prone分别在什么情况下出现,有什么规律?起主导作用的一侧链的状态的重要性?哺乳动物中和细菌中如何不同?此外也已经注意到哺乳动物细胞中复杂的染色体结构对DNA损伤的作用。如核小体轴心的运动性与修复活性的关系,也就是说结构变化影响修复功能的问题。

DNA修复的种类目前公认的有三种,但第四种已经提出来了即:(1)切除修复,(2)光合酶修复,(3)重组修复,包括复制前修复与复制后修复;(4)SOS修复,这种修复不管是诱导的还是激活的总是引起错误的修复。

下面根据大会报告以及参观过程的资料,分别从四个侧面简要地介绍一些情况。

#### 一、受照后DNA损伤的酶修复

在原核细胞中搞得比较清楚。例如在大肠杆菌中光激活酶已经分离提纯鉴定(Sutherland 1975年)。此外一系列损伤重接酶及切除酶也都已经提纯鉴定(Paterson 1977)。这些包括对嘧啶二聚体特异的内切酶,

无嘧啶位点特异的尿嘌呤残基特异的内切酶等。人们用纯化了的这些酶来监测离体状态下DNA修复功能。人们已从人类白细胞、成纤维细胞中分离出光激活酶。在着色性干皮病患者的成纤维细胞中这种酶活性只有正常人50~0%。事实也证明这种XP细胞在培养过程中如果加内切酶V,那末就完全有修复能力。在细菌Microoccus Luteus中提取了二聚体重接的内切酶、二聚体特异的内切酶与二聚体切除的外切酶。也有人进行了细胞融合实验,把只具有切除修复而无酶修复的人类细胞与只能进行酶修复而无切除修复的鸡成纤维细胞进行融合实验,融合后的成纤维细胞两种修复功能都具备了。

二、电离辐射引起DNA单双链断裂、交联、无嘧啶或无嘌呤位点碱基损伤或糖链断裂。这方面工作极多。在大肠杆菌中人们清楚地看到单链断的修复分二步,一步是快修复需要DNA聚合酶,另一种是缓慢的可能是重组修复。这过程包括recA基因的作用(Kaplan 1971、1972)。对辐射抗性的细菌M. Radiodurans双链断裂也可以修复。这种细菌的辐射敏感突变株就缺乏快修复,而且慢修复也更慢。人类二倍体成纤维细胞受 $\gamma$ 照射后除引起链断外,还发生 $\gamma$ 损伤,这些损伤可以被生长12天的鸡胚粗蛋白抽提液中的内切酶所修复。用M. Luteus抽提液也一样。这些损伤的性质不清楚,但用小牛胸腺内切酶及大肠杆菌抽提液对无嘌呤位点都不作用,说明这些损伤不是无嘌呤位点性质。关于碱基损伤最早的工作都是在噬菌体中进行的,已经弄清了辐射剂量条件与单双链断的函数关系以及失去感染能力的情况。碱基损伤是电离辐射引起损伤的主要表现型。目前技术上只能测定胸腺嘧啶,无疑A、G、C也会有损伤,但还没有好的测定技术。目前已经证明:

(1) T损伤是 $\gamma$ 线诱导的主要损伤(细菌或哺乳动物细胞)。

(2) 这两种细胞中都呈现切割修复。

(3) 大肠杆菌粗抽提液或哺乳动物细胞核可以除去受 $\gamma$ 线照射 Poly [d(A-T)] ,  $\text{OsO}_4$ -氧化 Poly [d(A-T)] 或 Phage  $\text{PM}_2$  DNA的 $t'$ 残基。

(4) 虽然大肠杆菌内切酶重接 $t'$ 产物的性质没有完全弄清, 但十分类似于内切酶 I 和连接去嘌呤DNA的那种内切酶。

(5) 切除修复的第二步在大肠杆菌中是由聚合酶 I 的协助下 $5' \rightarrow 3'$ 外切酶完成的。

(6) 切除修复的最后一步(链联接)是由连接酶完成的。

(7) 在哺乳动物的细胞中(CHO, He-La $\text{S}_3$ )由 $\gamma$ 线引起的切除修复相当快, 大约25~35% $t'$ 去除完成于60分钟内(37 $^\circ\text{C}$ 培养)。

### 三、小鼠生殖细胞中的DNA修复

Ouo及Okada照射10~14周雄性小鼠(10千拉德, 3300拉德/分)观察动物睾丸中单链断裂的情况及其修复过程——用碱性密度梯度离心方法, 同时进行细胞分析, 发现70%处于精子细胞阶段, 因此DNA主要来自精子细胞。试验结果表明单链断为 $0.22\%/10^{12}$ 道尔顿/拉德, 而肝及胸腺为 $0.6 \sim 0.7/10^{12}$ 道尔顿/拉德, 作者推测可能由于睾丸所处缺氧状态, 许多断裂已接起来。10千拉德照射后10分钟内50%重接, 40千拉德照后50分钟内50%重接。进一步工作发现在精母细胞中有氧状态单链断为 $0.42/10^{12}$ 道尔顿/拉德, 而在缺氧情况下降到 $0.24/10^{12}$ 道尔顿/拉德。

四、辐射引起DNA损伤, 它的修复和突变产生与染色体畸变之间的关系

在原核细胞受UV照射的工作中比较系统而清楚地看到嘧啶二聚体是引起突变的主

要原因。酵母中由二聚体引起的突变种有 *Cycl 9*、*rad<sup>+</sup>*、*rad 1*、*rad 6*。这里发生这样的问题, 如果二聚体是直接引起突变的原因, 那末任何消除二聚体的措施必然都可以降低突变的发生。但事实并非如此, 因为修复过程引起的突变比损伤本身更多。1967年BNL的Witkin提出无错误及有错误修复(*error-free*, *error-prone*)的概念已为大家接受。两种情况都消除了致死损伤, 增加了存活率, 但两者的区别是无错误修复保存了原来的核苷酸序列, 而有错误修复则嵌入了一个错位的核苷酸序列因而导致突变发生。

光合酶修复及切除修复一般都是无错误修复, 因此都减少致死并且不引起突变, 减少突变频度。重组修复中复制前修复引起突变占的比例较少, 大部分错误修复都是复制后修复引起的, 在这一过程中也已经发现有一些特殊酶的参与。

有关UV损伤与畸变之间的相互关系资料不多。Brigg等人证明在蛙中UV引起的畸变在光激活酶作用后全部消失。XP细胞在UV照后与正常细胞比较, 30小时后畸变增加6~7倍。

X线引起的单链断裂与碱基改变而导致畸变也有过报导。在细菌中*recA*、*exrA*是UV引起突变的二个主要修复基因。酵母中UV诱导的倒置修复基因为*rad6*, 而*rad 1*则是执行切除修复的基因。

总之, 需要做更多的工作来阐明恢复的机理。什么是生物学意义最大的过程? 修复的结果联系到那些主要生物学问题? 活存还是突变? 许多报告者都迫切希望了解DNA修复过程与畸形分化和癌变的规律。

(第六届国际辐射研究大会中国代表团成员 沈淑敏整理)

## 辐射生物化学研究概况

目前, 国际上在辐射生物化学研究中, 以电离辐射对DNA分子的损伤和修复机制的探讨最为活跃, 这是因为它和致畸、致

癌、非致癌性的辐射远后效应, 遗传效应、人和修复缺陷性疾病以及肿瘤的放疗等许多具有理论和实际意义的问题密切相关, 它也