

23. Сандак ВА и др: Радиобиология 3(4): 587, 1963.
24. Шамрай ЕФ и др: Радиобиология 11(5): 718, 1971.
25. 徐承熊: 放射医学 (3): 1, 1973.
26. Дула ВИ и др: Радиобиология 20 (6): 926, 1980.
27. Диковенко ЕА: Радиобиология 11 (2): 207, 1971.
28. 陈家佩: 国外军事医学资料 (二分册) (2): 26, 1973.
29. 程伊洪: 国外军事医学资料 (二分册) (2): 50, 1973.
30. Feuer L, Experientia 34 (10): 1356, 1978.
31. Симонова ЛИ и др: Радиобиология 19 (3): 425, 1979.
32. Hanna MG, Science 157: 1458, 1967.
33. Симонова ЛИ, В КН: "Экспер Клинич Радиология" Вып 10, стр.12, 1974.
34. Доброуравова НН и др: Радиобиология 21(4): 595, 1981.
35. Kojima E, J Radiat Res 21(1): 76, 1980.
36. Peikau A et al, Int J Radiat Biol 29(3): 297, 1976.
37. Раявэ О и др: РеФер Жур Биол 8с.107, 1970.
38. Papilian VV et al: РеФер Жур Рад Биол 6.70 92, 1980.
39. Гродзенский ДЭ и др: Мед Радиол 4 (9): 83, 1959.
40. Рогозкий ВД и др: Мед Радиол (1): 89, 1967.
41. Пантев Т и др: Рефер Жур Рад Биол 5. 70.238, 1977.
42. Rotkowska D et al, J Microwave Power 12(2): 119, 1977.
43. Несис ЮА: Рефер Жур Рад Биол 6.70. 285, 1979.
44. Борисов ВП и др: В КН: "Неотложная Помощь При Острых Радиационных Воздействиях," 1976.
45. Gralla EJ et al, Rad Res 78(2): 286, 1979.
46. Беловонски И: Рефер Жур Рад биол 6.70.291, 1979.
47. Беркутов АН и др: Воен Мед Жур (2): 26, 1965.
48. 张卿西: 人民军医 (11): 25, 1980.
49. 毛秉智: 国外军事医学资料 (放射医学) (2): 1, 1980.
50. 马恩普: 国外军事医学资料 (放射医学) (4): 1, 1981.

分子放射生物学中几个探讨中的课题

复旦大学生物系 罗祖玉 综述

军事医学科学院 朱士葆 夏寿莹审

分子生物学对放射生物学的很多方面有着决定性的影响。细胞中DNA大分子辐射损伤的研究导致辐射作用于细胞的主要靶子的确立。细菌及噬菌体遗传学的发展使人们对微生物以及近年来对高等生物的DNA修复机制有所了解,这一点也使人们注意到几种对辐射敏感的疾病及有癌症倾向的疾病中DNA修复机制的异常或缺陷。

辐射对遗传信息稳定性及表达的效应是人们关注的中心课题。诸如:进一步以电子自旋共振(ESR)研究染色体的核蛋白,在受照射的DNA中电荷移动的过程以及如何加以干扰,这样可能发现若干辐射防护剂及致敏剂。又

如,以病毒为探针,研究哺乳动物及人类细胞SOS修复,如何抑制辐射触发过程,这是辐射防护的需要。而且,体细胞的突变也涉及肿瘤的起始。又如,辐射所诱导的重组可能涉及染色体重新排列及畸变以及肿瘤的发生。正如突变一样,这些事件可能是诱导性的,因而可以采用适当的抑制物阻止它们的发展。细胞杂合体将用于研究哺乳动物细胞辐射敏感性 & 癌变的控制,特别要注意有癌症倾向的家系的杂合体。外周血液淋巴细胞的微核测定法将用于测定大量的正常人,癌症患者及有癌症倾向者的辐射敏感性的变异程度。将要评价和介绍至今尚未知道的上皮细胞的辐射敏感性。这种资

料对于考虑辐射防护, 辐射治疗及癌症发生颇为重要。评价激素在改变辐射诱导的遗传损伤及修复中的作用也是一个新课题。

下面谈几个人们正在研究或准备从事研究的课题。

(一) 在受 γ 线照射的DNA蛋白质复合体中自由基构型及反应途径^[1~4]。

欧洲有个研究组从事电离辐射对核酸的初始效应, 即从能量的最初淀积到第一个生物学效应的出现。有两个方面 (sector) 及两个界面 (interface)。物理化学方面 (physico-chemical sector) 指电离辐射所导致的不稳定的中间体, 主要是自由基。化学方面 (chemical sector) 指电离辐射对靶分子作用产生的稳定的化学改变。两分界面是物理化学分界面 (physicochemical interface) 及生物化学分界面 (biochemical interface), 前者指将自由基转化为非顺磁性产物的辐射化学反应; 后者指辐射后化学反应与生物学效应间的分界面。旨在探讨哪些化学变化导致特定的生物学效应的出现或反之。

这一课题属于物理化学方面, 在活体中染色体DNA与组蛋白的“缔合”, 在DNA损伤分布中这些结构蛋白质的作用是什么? 由于核酸组蛋白在细胞核内的浓度高, 直接与间接作用均与DNA失活的效率有关, 在探讨直接作用的贡献时, 采用中性冰 (neutral ices) 系统, 由于相分离现象即溶质分子簇在冰晶间隙形成, 使在溶剂相内形成的高密度径迹的水自由基的化学进攻成为不可能。英国 Leicester 大学物理化学系 Symond M 探讨 DNA——组蛋白复合体在弥散相的玻璃态 (phase-dispersal glassy systems) 中电离辐射的间接作用, 以ESR分别研究分子系统中的各亚基。

可以在自由基水平上进行研究, 如: (1) 辐射对DNA的直接效应, 这类工作已相当的多; (2) 辐射对组蛋白的直接效应, 对组蛋白的氨基酸及多肽的效应。(3) 辐射对各种组蛋白复合物中DNA部分的直接效应。结构蛋白对DNA辐射损伤分布的作用。如照射DNA

——组蛋白H₁复合体, DNA与蛋白质讯号大量重叠, 拟用计算机分析复合光谱, 分析蛋白质在DNA对辐照的最终反应中的作用。

也可以从自由基与辐射产物相互作用加以研究。这项工作可以称是两方面向的空间, 需ESR家与辐射化学家的合作。如 Toeuil 教授 (CEA-CENG Grenoble) 探讨在有氧与无氧条件下, $T\cdot H^{\cdot}$ 及 $T\cdot OH^{\cdot}$ (胸腺嘧啶T的C-6上附加自由基 H^{\cdot} 与 OH^{\cdot}) 的转化途径及最终产物。胸腺嘧啶核苷的水溶液在77°K冰冻态受照射, ESR测定将追踪从77°K至融解点的自由基反应动力学。融化后, 从高压液体色谱定性、定量地测定化学上稳定的辐射产物。

(二) 在原核生物与真核生物中DNA修复, 突变与重组的遗传学与生物化学^[5~23], 80~88。

1. 识别并修复DNA中碱基对误配的酶的分离及其应用于估算人的体细胞遗传负载。

错配校正酶在体内与新合成的, 非甲基化的GATC序列结合并搜索这一新合成链以清除错配碱基对——突变。Errera实验室正在制备一种包括带有E. Coli的Ori C区域 (约20个GATC序列) 的质粒DNA的特殊底物, 在甲基化缺陷型的突变体中, 以2-氨基嘌呤作为错配的来源, 并在细胞提取物中寻找这种DNA, 它易于形成缺口 (nicking) 或结合于滤纸上, 以此法分离错配校正酶 (mismatch correction enzyme), 如可提纯这些酶, 则可用以估算人体的体细胞遗传负载 (somatic genetic load), 它可定错配的数量, 它与受慢性诱变因素 (辐射等) 作用过的组织中积累的体细胞突变的数目成比例。

2. 错配碱基在刺激重组中的作用。

所有的错配修复缺陷型的增变突变体显出超重组的表型, 而多数超重组突变体缺少错配校正。

3. 姐妹链交换及后复制修复的遗传学研究。

细菌及哺乳动物细胞中重组修复及姐妹链交换相应地由生化或细胞学方法推断出来。由

于来自辐射损伤母分子复制的DNA子分子在遗传上的同一性,如何探讨复制后重组的遗传学乃是一个问题。利用体外建立的双杂合的、异质双链噬菌体 λ DNA(即 $\xrightleftharpoons{m_1 + m_2}$)研究重组子 + +

或 m_1, m_2 噬菌体的形成是可能的,在错配修复缺陷型寄主中,将仅仅通过复制后重组。

4. SOS诱导的结构及/或遗传上的需求探讨。

损伤或未损伤的单链DNA是SOS诱导的触发器或是否需要专门的损伤基因?为探讨SOS诱导,以完整的及照射过的单链DNA非致死的丝状噬菌体MB(带有或不带有E.Coli复制原点的克隆片断)感染E.Coli分离SOS诱导的突变体,以期得知SOS诱导的代谢参数。

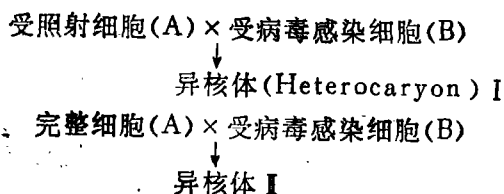
5. 哺乳动物细胞SOS修复的研究。

(1)比较动力学。

病毒SV₄₀, H₁, MVM(后两者属微小病毒)分别感染猴肾细胞、NB及A₉细胞。比较在受照细胞(或致癌物处理过的)中受照病毒修复的途径可知SOS修复是怎么回事。如病毒活存率在受处理过的细胞中增加(即增加复活Enhanced Reactivation)则可以说处理后诱导出一个新的复制过程可使受损伤病毒DNA得到较好的复制。可探讨辐射或化学致癌物所诱导的这种细胞学过程的动力学。

(2)诱导效应物(Effector of induction)

采用细胞融合技术,对下列两组细胞异核体作比较。



比较在异核体 I、II 内病毒的生存率,如 I 中的病毒活存率大于 II 中的,则证明辐照细胞触发了一种新的扩散物质的合成,使受照病毒或完整病毒生存率提高。

(3)复制及突变形成。

人们关注下列细节:受损伤病毒DNA的复制,封阻(blocked)结构的类型,跨越(bypass)复制的机制及调节。封阻发生在起始部位(initiation)或延长部位(elongation)?有间隙形成么?跨越复制受Weigle氏复活调节么(简称WR)?某些细胞有低水平的自发的跨越复制么?跨越复制的酶学分析。

(4)Weigle氏复活与肿瘤病毒的转化作用以及病毒从转化细胞中释出(rescue)的关系。

照射细胞并找出最适的WR条件:恶性转化最大值的条件,整合病毒的释出。由此探讨病毒DNA的整合与诱导的调节。肿瘤病毒是否参与修复及诱变生成?通过病毒DNA的专一限制性片断的转化作用观察辐照细胞对受损DNA病毒复活的影响。

6. 受损DNA是突变及染色体畸变的触发器吗?

以照射过的病毒或其DNA或专一性DNA片断感染细胞,分析对鸟本苷的抗性(碱基改变的诱变生成),对6-硫代鸟嘌呤的抗性(插入及缺失的诱变生成),姐妹染色单体交换,染色体畸变及恶性转化的关系,并寻找专一性抑制剂。

7. 辐射诱导的白血病RNA病毒起源的探讨。

追索潜伏的ecotropic与xenotropic病毒的DNA之间的重组体(辐射诱导的,非白血病的)是否是它的起源?

(三)电离辐射的遗传及后生效应(epigenetic effects)以及染色体重组的机制。

遗传效应包括点突变及染色体异常,后一机制尚不明确。

电离辐射及致癌物常引起的后生效应,似为阻遏物的暂时性失活,SOS修复系统受诱导所致。如鼠的畸胎癌(teratocarcinoma),恶变性质是后生效应。

细胞转化是癌变发展中的一个步骤。阐明X线的转化细胞与其它因素引起的转化细胞是

否是相同的性质? 转化细胞的表型及其在各种杂交细胞后代中的显性/隐性比例, 基因效应与转化状态, 恶变出现的关系, 在哺乳动物细胞中的后生效应的控制等。

(四) 哺乳动物细胞的辐射敏感性^[24~27]。

目前, 人们对成纤维细胞, 淋巴细胞了解多, 而对上皮细胞了解少。为辐射防护, 辐射治疗及肿瘤发生探讨中一个共性问题。

1. 染色体畸变的诱导及其与细胞杀死及癌变关系。

D. Scott认为, 细胞死亡的原因可以是染色体损伤, 纺锤体缺陷及有丝分裂延迟, 其中染色体变化最重要, 纺锤体缺陷其次, 而有丝分裂延迟与细胞死亡关系不大。

(1) 人成纤维细胞与上皮细胞辐射敏感性的比较。一般用细胞团形成能力 (colony forming ability, C.F.A) 作指标, 但难度大。由于它和染色体结构损伤的关系已经清楚, 所以可以比较染色体的辐射敏感性。

(2) 用血淋巴细胞的微核出现率评价人辐射敏感性的变异。因为C.F.A法需时多, 需经验。如微核率可以反映染色体损伤的程度, 则方法大为方便。分析正常人群及其他类型人群 (癌症患者, 癌症患者的家属, 其它有癌症倾向的人) 淋巴细胞的微核出现率比较其辐射敏感性。

(3) 博莱霉素 (bleomycin) 及X-线在引起细胞致死及染色体畸变方面的比较, 观察有无平行关系。

以对X线敏感的人成视网膜细胞瘤、成纤维细胞及淋巴细胞、小白鼠淋巴瘤细胞为材料, 以细胞杀死及染色体畸变为终点, 加以比较。

正常人成纤维细胞经两种因素处理 (均等毒性剂量下) 后所引起的染色体畸变量的比较。

毛细血管扩张性失调症 (AT) 细胞对X-线及抗肿瘤药均敏感, 两者是否伴随发生, 这是基础放射生物学与肿瘤综合治疗中的一个共

同问题。

2. 鼠细胞杂交体在X线或紫外线处理后修复能力的研究。

小白鼠淋巴瘤细胞 × 小白鼠成纤维细胞。

杂交细胞, 对X线及紫外线的抗性比亲代细胞大。

从切除修复, 受照病毒在正常细胞中的机理性修复——寄主细胞复活 (host cell reactivation) 及受照病毒在受照细胞中的机理性修复——辐照增加复活 (radiation-enhanced reactivation) 进行比较, 从而判断所增加的结构性的及/或诱导性的DNA修复与杂交体抗性增加的相关性。

3. 哺乳动物卵母细胞成熟与胚胎发育的辐射敏感性分析。

鼠及人卵母细胞成熟时, 取中期 I 及 II 进行辐射敏感性的比较遗传学分析, 并探讨照射后胞浆成熟问题。鼠胚分裂期的低剂量X线处理可能建立剂量-阶段关系并观察发育的早期阶段辐射损伤与修复。

4. 特殊激素在受X线照射过的哺乳动物细胞修复过程中作用的研究。

激素对某一靶细胞辐射敏感性的作用。

(1) 阐明内分泌缺陷发生在具癌症倾向性的病人中, 是因是果? 与修复的关系?

(2) 某些激素增加X线或IUdR所致的人的或动物转化细胞中C病毒释放。

根据细胞存活, 照射所引起的分裂延迟、对激素 (糖皮质激素或其它通过cAMP作用的激素) 起反应的或不起反应的鼠淋巴瘤细胞 (murine lymphoma cells) 加以区分。

(五) 低剂量照射, 自身免疫性及有免疫能力的辐射嵌合体^[28~29]。

在免疫系统中抑制是显著的。静止的淋巴细胞处于积极的抑郁状态并非不重要的少数。所以, 以啮齿类及人外周血液淋巴细胞为材料, 探讨低剂量照射与自身免疫过程的可能关系颇为重要。

1. 低剂量辐射对免疫全部技能静止部分的效应。①天然耐受与自身免疫; ②低剂量照

射后所表现出来的全部技能的放大。

2. 具有免疫能力的同种辐射嵌合体的建造。

为进行上述工作,有必要建立几项重大的技术及方法:

(1) 电子顺磁共振及核磁共振波谱仪, 带有获取及处理实验数据的大型计算机。

(2) 电子显微镜

(3) 显微操纵器及微注射技术

(4) DNA酶学(涉及复制、修复、重组及诱变发生)

(5) 蛋白质及核酸电泳——DNA序列分析

(6) 细胞培养——细胞遗传学研究技术——细胞融合。

(7) 微小病毒及白血病病毒的增殖。

参 考 文 献

1. Gregoli S, In "Effects of ionizing radiations on DNA" (Edited by Hütermann J et al), P.118, Springer-verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1978.
2. Mathur-De Vre R, In "NMR in Biology" (Edited by Dwak RA et al), P.362, Academic Press, London, 1978.
3. Gregoli S et al, Radiat Res 77:417, 1979.
4. Mathur-De Vre R, Prog Biophys Molec Biol 35: 03, 1979.
5. Radman M et al, In "Screening tests in chemical carcinogenesis" (Edited by Montesano R et al), P.537, I.A.R.C. Scientific Publication n°12, Lyon, 1976.
6. Caillet-Fauquet P et al, J Mol Biol 117: 95, 1977.
7. Radman M, Bio Soc Trans Vol 5:1194, 1977.
8. Radman M et al, In "Origins of Human Cancer" (Edited by Hiatt H et al), P. 903, Cold Spring Harbor Laboratory, Book B, 1977.
9. Radman M et al, Mutation Res 46:149, 1977.
10. Boiteux S et al, Proceedings of the Society for General Microbiology, Vol 4, Part 4, 1977.
11. Errea M, Int J Radiation Oncology Biol Phys 5: 077, 1979.
12. Villani G et al, In "DNA Synthesis, Present and Future", eds. Molineux I et al, Plenum Press Inc, New York, P. 999, 1978.
13. Kinsella AR et al, In "DNA Repair Mechanisms", eds. Hanawalt PC et al, P. 733, Academic Press, 1978.
14. Kinsella AR et al, Proc Natl Acad Sci USA 75:6149, 1978.
15. Boiteux S et al, In "DNA Repair Mechanisms" eds. Hanawalt PC et al, P.73, Academic Press, 1978.
16. Glickman B.W et al, Proc Natl Acad Sci USA 77:1063, 1980.
17. Cornelis JJ et al, Mutation Res 71:139, 1980.
18. Sarasin A et al, Proc Natl Acad Sci U-SA 75:346, 1978.
19. Sarasin A, Biochimie 60:1141, 1978.
20. Sarasin A, In Proc 6th Inter Congr Radiat Res (Edited by Okada S et al), P. 462, Tokyo, 1979.
21. Sarasin A et al, Mutation Res 70:71, 1980.
22. Bertazzoni U et al, Nucleic Acids Research 4:41, 1977.
23. Falaschi A et al, In "DNA Synthesis, Present and Future", Molineux I et al (eds.), P.895, Plenum Press, 1978.
24. Scott D et al, Int J Radiat Biol 37:33, 1980.
25. Zampetti-Bosseler F et al, Radiat Res 68: 292, 1976.
26. Alexandre H, J Reprod Fert 53:399, 1978.
27. Kram R et al, Comparative Leukemia Research 1975, ed. Clemmesen J et al, P.63, Karger Publ. (Basel 1976).
28. Tasiaux N et al, Ann Immunol Inst Pasteur, 130 C, 385, 1979.
29. Urbain-Vansanten C et al, Ann Immunol Inst Pasteur, 130 C, 397, 1979.
30. 罗祖玉, 中华放射医学与防护 1(5):63, 1981.
31. Luo Zu Yu et al, Int J Radiat Biol 41(2): 119, 1982.
32. Zao Zhong, Su et al, Carcinogenesis 2 (10):1039, 1981.
33. Cornelis JJ et al, Proc Natl Acad Sci U-SA 78(7):4480, 1981.