

比1982年报告书为高;对地面以上1米处Rn与子体平衡因子采用代表性的0.8,而不是前次报告书上的0.6,从而得出室外平均平衡当量浓度 $4\text{ Bq m}^{-3}$ 。对室内的大气考虑了建筑材料、室外大气的进入、表层土壤中的逸出、水和天然气等来源的Rn进入室内空气的速率以及室内占据因子0.8,对室内、外年有效剂量当量分别估算为 $950\text{ }\mu\text{Sv}$ 和 $60\text{ }\mu\text{Sv}$ ,合计约为 $1\text{ }000\text{ }\mu\text{Sv}$ 。

### 参 考 文 献

1. UNSCEAR: Exposures From Natural Sources of Radiation (prepared in the Secretariat), Thirty-fifth Session of UNSCEAR, Vienna, 1986.

2. UNSCEAR Rep. 1982.
3. UNSCEAR Rep. 1977.
4. Beck HL: The Natural Radiation Environment 2 P. 101, USERDA, CONF-720805-p2, 1982.
5. Myrick TE et al: Health Phys 45:631, 1983.
6. Lambert G et al: J Geophys Res 87: 11103, 1982.
7. Winkler R et al: Health Phys 41:495, 1981.
8. Jacobi W and Eisfeld K: Internal Dosimetry of Radon-222, Radon-220 and Their Short-lived Daughters, GSF-S-626, 1980.
9. Gesell TF: Health Phys 45:289, 1983.

## 电离辐射对哺乳动物细胞DNA合成的抑制作用

Painter RB: Int J Radiat Biol 49(5):771~781, 1986 (英文)

### 一、前言

四十多年来,哺乳动物细胞DNA合成的辐射效应一直吸引着放射生物学家们。人们普遍认为:电离辐射对DNA合成抑制的剂量反应曲线可分两相,即低剂量时的陡相和高剂量时的平相。但对此无统一解释。

1963年,Coirns证明大肠杆菌所有的DNA是约3000kb的单一大分子,整个分子由一个复制点复制,由于把这一概念引入到哺乳动物模型,致使把哺乳动物细胞的研究工作引向歧途。后来,人们应用放射自显影及平衡密度梯度技术证明了哺乳动物细胞复制子量多(约 $10^6$ )而小(20~100kb),从而奠定了实验工作的基础,促进了对双向剂量反应曲线的更全面地了解。

### 二、电离辐射所致DNA合成抑制剂量反应曲线

Okada曾提出:辐射剂量反应曲线的快

相(陡相)是由于DNA复制单位在启动复制之前就受到辐射作用而形成的,慢相(平相)则是复制单位在复制过程中,辐射影响其DNA合成而形成的。后来,Watanabe应用纤维素放射自显影技术,首次为此设想提供了可信证据。以后的学者包括Okada本人应用碱性蔗糖梯度技术、对小鼠L<sub>5178</sub>Y、人HeLa细胞、中国仓鼠细胞等进行研究,证实了低剂量照射后不久,新生低分子DNA片段显著减少,复制子启动受到抑制。

除纤维素放射自显影外,一些科学共同体成员对其哺乳动物细胞DNA合成的测定方法都持不信任态度。原因是有人认为,应用此项技术所观察到的掺入大部分是修复复制,尽管在这类实验中,修复复制的掺入量不足整个掺入量的0.1%。

电离辐射诱发复制子启动抑制已经通过pH逐级洗脱技术进行了测定。这项技术不但独立地肯定了启动抑制的正确性,而且还可以分离和制备那些相对多而分子量各异的

DNA片段, 这些片段是链延伸过程中的中间产物。

### 三、辐射诱发复制子启动抑制的机制

较低剂量的电离辐射阻止复制子启动的机制尚不清楚, 且并非所有的复制子对辐射诱发的启动抑制具有相同的敏感性。在中国仓鼠V79细胞中, 半数以上的复制子启动对较高剂量辐射有抗性, 而HeLa细胞则不足30%。利用脱氧溴尿嘧啶核苷(BrdUrd)和313nm光照射试验, 对复制子启动抑制进行靶定位, 发现靶在DNA上或紧附于其表面的某物质上。但在以后实验中又否定了紧附DNA表面靶分子的存在。Povirk应用BrdUrd标记进行精心设计表明: 仅在BrdUrd-313nm处理而受损的基因组内区段中, DNA合成才受到抑制, 而在同一未受损的基因组区段其DNA合成不受影响。

由于启动抑制的靶分子约1000kb, 而复制子的平均大小只有约50kb, 所以Painter Young提出: 一个有效击中可以阻断整个复制子簇的启动。这种解释与DNA合成启动调控在复制子簇水平上进行的事实是一致的, 但并未说明这一区段是如何被抑制的。Povirk认为这可能是由于缺口诱发(nick-induced)超螺旋松弛而引起的, 而超螺旋松弛又是启动过程所必须的。但后来证实, 在哺乳动物细胞中, 5kb或更大的DNA区段中无超螺旋张力存在, 即使这种张力在细菌中容易得到证实。因此, 电离辐射诱发启动抑制是由于单链断裂致使整个复制子簇松懈的可能性是微乎其微。

利用患纯合子隐性遗传病共济失调性毛细血管扩张症(A-T)病人细胞进行实验研究发现: 在A-T细胞中, 电离辐射所致DNA合成抑制不存在一陡相。DNA链延伸对电离辐射完全抵抗, 复制子启动则否。而这种链延伸抑制效应的坡度与正常细胞一样, 所以认为它们的靶是一样的, 如单复制

子。因而在A-T细胞中, 复制子启动的阻断发生在单一复制子水平而不是复制子簇水平。尚无证据证实A-T细胞的复制子与簇在结构上有何差异, 而这种启动效应的靶分子在正常人细胞和A-T细胞上的差异最简单的解释是: A-T细胞缺乏一种因子或有一个缺陷因子, 而在正常细胞中, 这一因子在复制簇的任何部位受损时, 就关闭整个复制簇的复制启动。对这因子的化学性质尚一无所知。有人提出此因子就是多聚ADP-核糖体, 但其它淋巴细胞系中这一效应却是正常的。此外, 通过3-氨苯酰胺完全阻断多聚ADP-核糖体合成的实验证实, A-T细胞的缺陷因子似乎与多聚ADP-核糖体代谢无关。

### 四、电离辐射诱发DNA链延伸抑制的机制

除A-T细胞外, 所有哺乳动物的资料提示: 在DNA合成抑制剂量反应曲线中, 高剂量的浅平相反映了单一复制子的靶大小。传统知识认为DNA生长点在辐射损伤(链断裂或碱基损伤)处被阻断, 直至损伤得以修复。而A-T细胞经受与正常细胞同样的DNA损伤并不显示DNA链延伸的抑制, 即使剂量高达50Gy亦是如此。这些结果表明: 每一片段的DNA损伤不阻断DNA的链延伸, 说明有一调节因子的存在, 此因子在A-T细胞缺陷, 在遇到辐射损伤之前就阻止当前复制叉(advancing replication fork)。在同一细胞内, 这种缺陷因子与不能阻断复制子簇启动的因子具有相同的作用表现, 这就提示二者是同一的。对此因子及其作用机制的认识, 对了解受照哺乳动物细胞中DNA复制的调控机制将是非常重要的。

由Jeggio、Kemp分离的一系列辐射敏感性中国仓鼠卵巢突变株(CHO)中, 其DNA合成的辐射敏感性与A-T细胞的DNA合成的辐射敏感性不同。在缺乏双链断裂修复的CHO突变细胞中, 电离辐射对

其DNA合成的抑制比亲代非突变细胞DNA合成的抑制更严重,而且照射后,辐射敏感性突变型DNA合成速率的恢复要比亲代细胞慢得多。在这些突变型中,DNA合成抑制的加重似乎是亲代细胞复制子启动抑制较长的原因,链延伸的抑制效应则与亲代细胞并无两样。这些资料表明,双链断裂的修复缺陷并不引起链延伸的持续抑制。

### 五、辐射诱发DNA合成抑制的恢复

CHO突变型DNA合成的缓慢修复说明在调节启动抑制恢复时间中,双链断裂恢复是一重要因素。但它不是与复制启动抑制恢复有关的唯一因素,因为CHO细胞和人HeLa细胞的DNA双链断裂修复并无不同之处,但前者的恢复要比后者快得多。显然,单链断裂修复与复制子启动恢复所需时间之间很少或根本没有关系。所有哺乳动物细胞的单链断裂恢复一半的时间是10分钟或更短,而复制子启动的恢复,即使在CHO细胞,也需在照后约1小时才开始。关于影响复制子启动抑制时间的其它因素所知甚少,准确测定其恢复动力学是很困难的。因为在照后两小时左右,某些细胞或部分基因组的启动继续抑制,同时伴有其它细胞或部分基因组复制子启动的恢复。

### 六、DNA合成抑制与辐射杀伤细胞的关系

电离辐射照射后DNA合成抑制与细胞杀伤之间似乎不存在什么直接关系。另外,通过对辐射诱发细胞杀伤高度敏感的人细胞与高敏性CHO细胞的比较,也得到了最好的证实。高敏性的A-T细胞其辐射诱发的DNA

合成抑制要比正常细胞轻得多。相反,高敏性的CHO细胞突变型辐射诱发的DNA合成抑制要比有辐射抗性的亲代细胞严重。事实上,人体细胞中,这种普遍存在于迄今所检查的所有A-T病人细胞的辐射抗性DNA合成与细胞的高敏性是互不相关的。在试图克隆A-T细胞的缺陷基因时,用正常细胞制备的DNA导入A-T细胞后就会逆转恢复。这些细胞获得了正常细胞所具有的细胞辐射杀伤作用的抗性,而不保留辐射抗性DNA合成之表型。所以,以前提出的关于A-T细胞的高敏性与辐射抗性DNA合成相关关系的表案,看来是错误的。

### 七、今后的发展

对这种在正常细胞调节复制子启动(可能包括链延伸),而在A-T细胞缺陷因子的分离将具有启发意义。它不仅将帮助揭示辐射损伤后细胞DNA合成关闭的机制,而且还有助于对未受损细胞DNA合成调节的认识。对DNA损伤(非单链断裂)修复缺陷的哺乳动物细胞突变型的分离,将有助于确定DNA修复调节是否与DNA复制调节有相互作用。重组技术正迅速地应用于DNA合成的辐射效应的研究。过去采用琼脂技术时,重组技术的严重问题是分子量的限制,约50kb,它小于哺乳动物的DNA复制子簇。但新的技术如:脉冲场梯度凝胶电泳,它可分离高达2000kb的DNA片段,这个问题便很快得以解决。新突变种的分离、新技术及新思想将不断地获取以期进一步阐明哺乳动物错综复杂的DNA复制及其辐射效应的结果。

[朱敏生节译 智刚校 王克为 刘及审]