

文章编号: 1001-098X(2002)04-0145-03

· 国际会议述评 ·

## DNA辐射损伤研究: 热点与新进展

丘冠英

**摘要:** 概述了第七次国际DNA辐射损伤讨论会的基本情况和当前研究热点, 重点介绍了低能电子和同步辐射的应用、DNA损伤与修复、旁效应、DNA损伤的模拟计算等研究进展。

**关键词:** DNA损伤; 低能辐射; 同步辐射; 旁效应; DNA修复

**中图分类号:** Q691.5 **文献标识码:** D

### Study on radiation damage to DNA: hot topics and recent progress

QIU Guan-ying

(Radiobiology Laboratory, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

**Abstract:** This paper is a report about VIIth Int. Workshop "Radiation Damage to DNA": general survey, hot topics and recent progress. The focal points are as follows: low-energy electron, synchrotron application, DNA damage and repair, bystander effect and theoretical simulation.

**Key words:** DNA damage; low-energy radiation; synchrotron radiation; bystander effect; DNA repair

作为辐射对活细胞作用的关键靶分子, DNA的辐射损伤问题一直是分子放射生物学的中心课题。近十多年来, 在分子生物学迅速发展的推动下, 这个领域的研究更是日新月异。每两年举行一次的“DNA辐射损伤国际讨论会”即反映了该领域研究的极为活跃和发展的迅速。2001年9月在法国Orleans举行的第七次国际DNA辐射损伤讨论会是又一次高水平国际会议, 有20个国家和地区的150名学者与会。大会邀请报告(28篇)和其他论文内容广泛, 几乎涵盖该领域的各个方面, 代表了该领域的当前研究热点和发展趋势。笔者认为特别值得关注的有以下几个方面。

#### 1 低能辐射研究

低能辐射, 特别是keV-eV水平低能电子、超软X射线、VUV(真空紫外)及Auger电子对DNA损伤的研究受到很大重视并取得某些突破性进展。其原因主要有二: 一是常规电离辐射的生物效应归根结底主要是通过大量次级低能电子(能量仅为几十eV

甚至更小)的能量沉积事件所引起; 另一原因是实验技术的发展(因为低能辐照需有特殊的设备和制样技术)。这类研究以加拿大和英国学者的工作最为突出。加拿大Sanche L在大会开幕式后的首篇报告“低能电子对DNA单、双链损伤”, 介绍了他们近年以3~1500 eV电子轰击干燥质粒DNA的系列研究成果, 证明即使能量低至3~5 eV的电子, 不但能引起DNA SSB(单链断裂), 也能有效地产生DSB(双链断裂)。这一发现不但突破了过去认为 $E < 25$  eV的电子只能引起SSB而不能产生DSB的报道(Folkard M, 1993), 从而对传统观念——电子能量必须大于分子电离阈值(7.5~10 eV, Colson AO等, 1992)才能引起DNA断裂——提出了挑战, 而且还提出链断裂形成的新假说——resonant electron capture机制(他们的上述创新成果, 部分已发表在Science, 2000, 287:1658)。

同步辐射(SR)软X-rays和VUV: 与往届讨论会相比, 此类论文明显增多。正如Akamatu K指出: 作为SR广泛应用的一个方面——第三代SR高亮度、高品质软X射线和VUV技术的发展, 为低能辐射研究提供了极好的手段, 并被认为是研究辐射直接作用的成功方法。例如, 对能量吸收过程与生物效应关系的研究, SR单色光特别有用。利用SR可系统地

收稿日期: 2002-07-02

作者简介: 丘冠英(1935-), 男, 广东梅州人, 武汉大学生命科学学院辐射生物学实验室(湖北武汉, 430072)教授, 主要从事电离辐射生物物理学研究。

研究DNA损伤的光能依赖性(特别是5~150 eV范围发生SSB和DSB的作用谱);第二, Fayard B指出: 软X射线微束技术的发展可选择照射单个细胞, 研究旁效应和细胞间通讯; 第三, Sussman J认为, SR从结构水平开展蛋白质、DNA和RNA辐射化学研究可获得生物大分子“weak links”信息。值得注意的是, Takakura K用SR软X射线研究人成纤维细胞染色单体断裂并与 $\gamma$ 射线比较后得出: 对染色单体断裂产额, SR比 $\gamma$ 射线大1.3倍, 但二者均与 $D$ (吸收剂量)呈线性关系; 而对等位染色单体断裂产额, SR比 $\gamma$ 射线大2~3倍, 但二者均与 $D^2$ 呈线性关系。美国爱因斯坦医学院SR中心用高通量软X射线引致 $H_2O$ 辐解产生高浓度 $\cdot OH$ , 研究DNA磷酸二酯键断裂及蛋白-核酸相互作用。 Kobayashi K和Folkard M用7.7 eV (160nm) VUV照射质粒DNA溶液, 获SSB和DSB产额分别达到 $3.1 \times 10^{-5} Gy^{-1}$ 和 $1.9 \times 10^{-3} Gy^{-1}$ , 还发现SSB产额的波长依赖性不同于DSB, 提示诱发机理不同。此外, 在低能重离子研究方面, 本文作者对30keV低能离子真空下照射干燥质粒DNA引起大量链断裂(特别是DSB)及基因突变谱特点的论文, 受到与会者的关注。

## 2 DNA辐射损伤与修复

辐射所致DNA损伤研究中, DNA簇损伤(clustered DNA damage)研究受到广泛重视, 成为近年研究热点。Sutherland BM指出: DNA簇损伤是辐射所致细胞死亡或突变的关键损伤, 但因检测方法跟不上, 因而对它的发生率、可修复性及生物学后果仍不甚了解, 甚至在概念上时有模糊(如: DSB是簇损伤? 2个或多个损伤的范围多大?)。会议上的多篇报告和论文都认为: 簇损伤是指在几个至10 bp内发生2个或多个单损伤[如碱基修饰, AP(无嘌呤嘧啶)位点, SSB等]。DSB即代表一种簇损伤, DSB随LET(传能线密度)升高而增高以及重接率的下降亦可看作簇损伤的间接证据。O'Neill P的报告详细说明并特别强调非DSB簇损伤(如1SSB+1碱基损伤, 1SSB+1AP位点, 2个碱基损伤或2个AP位点等)的重要性, 认为这类簇损伤在整个簇损伤中占显著比例(最高甚至达到80%)。Sutherland BM的报告给出了X射线所致DNA各种簇损伤比例(计算结果), 即1DSB:2.2非DSB簇损伤(氧化嘧啶簇1+氧化嘌呤簇0.7+脱碱基簇0.5)。至于目前检测非DSB簇损伤的

手段, 主要有碱基切除修复(BER)蛋白探针法(簇损伤探针)、化学分析法及模拟计算法。基于簇损伤的重要性和复杂性, Pinto M认为: 未来实验研究应着重DNA簇损伤测定和特性的揭示。

此外, DSB产额与LET的关系一直是个有争议的问题。Michael BD报告指出: 最近研究表明, 细胞DNA DSB产额及其空间分布受辐射质的影响。高LET辐射引起DSB的RBE(相对生物效应) $>1$ 甚至远大于1(出现超量小片段), 并为非随机分布。他认为, 过去对高LET DSB的测定值(对细胞失活和突变发生, RBE $>1$ , 而对DSB, 则 $=1$ 甚至 $<1$ )显然是低估了, 原因是所用测量法在低剂量时灵敏度不佳, 且缺乏对DSB分布信息的校正。

DNA链断裂的一个重要机制—— $\cdot OH$ 对糖的抽氢反应, 引起了辐射化学家们的很大兴趣。Tullius T报告了他们新近研究结果: 用 $^3H$ 取代糖的一个H, 并特异地掺入糖和序列特定位置, 以获得 $\cdot OH$ 攻击位点的确切信息, 发现 $\cdot OH$ 对DNA抽氢反应能力依次为 $5'H > 4'H > 3'H \approx 2'H$ 和 $1'H$ , 说明存在H原子位置优先性, 并与DNA结构(溶剂和可及表面积)有关。Ballarina F也报告: 糖的4'H和5'H受 $\cdot OH$ 攻击概率最大。Aydogan B和Nikjoo H的理论计算也得到相似结果。

关于DNA损伤的修复, 会议报告和讨论主要集中在簇损伤的修复及修复酶结构与功能方面。McTigue M指出: 虽然真核细胞单碱基损伤的酶促修复已有许多了解, 但对多损伤部位(multiply damaged sites, MDS)或簇损伤修复的了解仍很有限。他们用真核细胞抽提液研究蛋白质与DNA(含MDS的寡核苷酸)的相互作用, 发现在细胞中存在对MDS损伤的特异修复活性和特异结合蛋白。de los Santos C认为: 诱发DNA簇损伤是电离辐射的独特性质。虽然MDS发生率低于单(个)损伤(single lesion), 但它对细胞修复系统构成挑战, 而且在某些情况下, 这种损伤能逃脱检测和处理(processing)。O'Neill P的报告和Pinto M等的研究都证明: 含碱基损伤的簇损伤能伤及甚至强烈抑制修复酶活性(BER途径), 使修复机制失效或导致不正确修复甚至持久损伤, 而这类修复酶在除去个别、分散的碱基损伤时是非常有效的。为了了解MDS的结构性质, de los Santos C等制备了多种含MDS的寡核苷酸双链体, 用核磁共振和分子动力学方法, 研究了它们的溶液构象, 发现

构象与MDS的取向(5'或3')呈强相关。此外, Cooper PK的报告强调TCR(转录偶联修复)途径在BER中的重要作用,认为该过程对于细胞对DNA氧化损伤的反应具有关键性作用。

值得注意的是, Zharkov DO等对*E. coli* Endo VIII(一种DNA修复酶)与DNA复合物的三维结构进行测定,分辨率达1.6Å。作者据此并结合DNA糖基化酶Fpg和Endo III之间结构与功能同源性进行定位突变测定,根据这些研究,提出了该酶的底物识别和催化作用机理。另外, Grollmom A报告了DNA糖基化酶和AP裂解酶对两种DNA氧化产物:8-氧-7, 8-二氢鸟嘌呤和TG(胸腺嘧啶二醇)切除修复的详细过程(具体步骤从略)。Jeggio P认为: NHEJ(非同源末端连接)是哺乳动物细胞DSB修复的主要机制。他还列出了NHEJ中已鉴定的5种蛋白: 3种属DNA-PK(即ku70, ku80及DNA-PK<sub>CS</sub>),另2种为连接酶IV和Xrcc4。

### 3 旁效应(bystander effect)

20世纪90年代以来,辐射生物学上有两个相关现象被认为对传统辐射作用模式构成了挑战:一是辐射诱导基因组不稳定性,另一个就是旁效应(Baverstock K, 2000)。Brenner DJ指出:旁效应是指受照射细胞能发出某种信号引起邻近未受照射的细胞损伤。传统观念认为,辐射对细胞的遗传效应都是DNA损伤的直接结果,群体中未受到照射的细胞则“no effect”。旁效应显然是传统理论无法解释的新现象,正在引起研究者们极大兴趣。Fayard B认为,旁效应在广泛的应用领域(如预测放疗疗效和估计暴露于低剂量辐射人群的风险)可能具有头等重要性。Branner DJ和Tartier L分别报告了他们的研究新结果:(1)高LET辐射所致旁效应比低LET辐射强烈;(2)一个细胞群中只有部分细胞产生旁效应,其比例大小与细胞种类及照射水平有关;(3)引起旁效应的可能机理有三:活性氧自由基、受照射介质的效应、细胞间通讯或信号转导。三种假设各有支持的证据,看来报告人更倾向于第三种解释,但

需深入研究。预期对这一新现象及机理的阐明,将对辐射生物学基本理论产生重大影响,并在辐射防护领域可能要重新考虑低剂量辐射危险度的评价。

### 4 理论模拟与计算

Nikjoo H报告指出:对DNA原初损伤谱的模拟和计算,是对辐射作用机理解释和预测的第一步,它既可与实验结果相比较,又能指导设计簇损伤实验。Begusova M认为,理论模拟在本领域已成为一个强有力的工具。例如, Nikjoo H对辐射能量沉积引起DNA链断裂的计算得到:(1)单位剂量的链断裂产额在很宽的LET范围内几乎是一常数;(2)簇损伤比例随LET升高而增高[<20%(电子)~70%(α粒子)];(3)<sup>125</sup>I(Auger电子)对真核细胞基因组损伤可达1DSB/decay。Ballarina F用蒙特卡罗方法对0.1~1 keV电子与DNA(水溶液)相互作用概率的计算结果表明,<sup>•</sup>OH对各碱基的攻击概率达80%,而对糖-磷酸的攻击概率为20%,Aydogan B等人也获相似的计算结果,并与实验结果相一致。

值得强调的是,国际知名的辐射研究机构,如哥伦比亚大学辐射研究中心、英国Gray实验室和MRC(英国医学研究会)辐射与基因组稳定性实验室以及德、法、意等国,都十分重视理论模拟与计算工作并有相当强的专业队伍,他们同生物学家一道开展DNA辐射损伤的理论和实验研究。这可能正是我们国内许多研究机构的薄弱环节。

### 5 新技术应用

会议报告和论文中所用的新技术、新方法甚多,发展很快,特别引人注目的重要新技术有:核磁共振谱仪、分子动力学、DNA芯片、时间分辨X射线晶体衍射、同步辐射(第三代)、共聚焦激光显微镜、脉冲电子-核双共振谱仪以及高效液相色谱与质谱或串联质谱联用技术等。这些高新技术的应用使DNA辐射损伤研究的面目为之一新。

致谢:感谢国家自然科学基金委和本次国际讨论会组委会对笔者参加会议的资助。