

文章编号: 1001-098X(2003)02-0087-03

基因组不稳定性与错配修复机制

沈波

摘要: 辐射可以诱导细胞基因组发生不稳定性改变,表现为一系列的延迟突变表型。错配修复机制作为一种重要的复制后修复机制,在维持基因组稳定方面发挥着重要的作用。它是一种保守的修复机制,不仅可以由二聚体的形式直接参与修复过程,也可以通过 cdc2 磷酸化途径对细胞周期进行间接调控。因此,探讨基因组不稳定性与错配修复之间的相互关系,可能是我们深入了解电离辐射的损伤与修复机制的重要内容。

关键词: 基因组不稳定性;错配修复;细胞周期阻滞

中图分类号: Q345.2

文献标识码: A

Genomic instability and mismatch repair mechanism

SHEN Bo

(China Institute for Radiation Protection, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Irradiation can induce genomic instability and produce a series of delayed mutations. As a free-error repair mechanism of post-duplication, mismatch repair plays an essential role in the maintenance of genomic stability. Mismatch is proposed a kind of conservative repair mechanism. Not only can it be involved in the repair process directly by heterodimers, but it can affect the cell-cycle by cdc2 phosphatized path to supervise the cell-cycle indirectly. Therefore, discussing the relation of genomic instability and mismatch repair may represent one of aspects of radiational damage and repair mechanisms.

Key words: genomic instability; mismatch repair; cell-cycle arrest

长期以来,一些重要的放射生物学效应如染色体畸变、基因突变等被认为是DNA损伤的直接结果。然而越来越多的资料表明:辐射也可以引起DNA稳定状态发生改变,随着遗传信息的不断传递而被带到受照细胞的子代中,并且在此过程中得以加强,以逐渐增加的不同类型的自发突变形式表现出来^[1]。它被认为是多阶段致癌理论中的关键步骤,在许多癌症的早期,都表现有基因组的不稳定性^[2,3]。这可能是由于基因组的不稳定性改变使整个基因组处于一种损伤易感态,加速了其他损伤的发生与累积,因而具有了恶性转化的倾向^[4]。XP(着色性干皮病)、AT(共济失调性毛细血管扩张综合征)等是以基因组不稳定性为特征的具有癌发倾向的

疾病,它们显著的遗传学特征就表现为明显升高的自发突变频率。因此,研究细胞基因组的不稳定性对于我们深入探讨辐射引起的远期效应及肿瘤的发生、发展都有着重要意义。

1 基因组不稳定性

基因组是携带有控制细胞生长、分化、发育等重要生命信息的生物大分子。维持基因组结构、功能的相对稳定是物种得以生存、延续的前提与保障。辐射敏感的生物大分子DNA接受损伤信号后,不仅可表现为碱基损伤、链断裂、链交联等直接效应,也可发生不稳定性改变,即:损伤不是以直接效应表现在受照细胞中,而是隐藏在看似正常的存活细胞中,经过多次细胞分裂,才以一系列畸变表型表现出来^[5,6]。Evans HH等^[7]用⁵⁶Fe粒子照射人的淋巴细胞,在其克隆中观察到高频出现的不同类型的自发突变细胞,并且在同一受照细胞的子代克隆中有四种不同的延迟表型:延迟凋亡、G₂期阻

收稿日期: 2002-08-11

作者简介: 沈波(1974-),女,中国辐射防护研究院生命科学研究
所(太原,030006)硕士研究生,主要从事放射生物学研究

审校者: 中国辐射防护研究院 王仲文 周永增 陈如松

滞、延迟性致死突变及增殖性周期延长。Brennan RJ等^[8]对接受了 γ 射线照射后表型正常的酵母菌进行继续培养,发现在接种25代后,突变克隆His3⁺的克隆形成率比对照组高5~10倍;经过选择性培养挑出正常表型的菌落再经下一个25代的接种后,其突变发生率更高。通常,直接辐射所致的DNA损伤会在10个扩增周期内得以修复,因此,在子代中产生的如此高的突变发生率不可能是直接损伤的结果。

2 DNA修复与基因组不稳定性

在细胞中,正常生理、生化机能的维持有赖于遗传信息的准确性与保真度。这些是通过DNA的准确复制、在分裂期对称地将DNA分配给两个子代细胞等一系列的新陈代谢途径来完成的。机体内存在有各种生物机能(模板功能、碱基互补配对原则、复制后的修复机制、细胞间的信号转导通路等),以保证这些途径的顺利进行,实现对基因组稳定性的监督与调控作用。在正常情况下,DNA在复制过程中随机产生的一些误差或是在接受辐射时所引起的损伤,都会自发启动DNA的自身修复系统对其进行纠正,以保证遗传稳定性。错配修复(mismatch repair, MMR)就是一种普遍存在于各种生物体内的重要的复制后修复系统。如果这些修复机制发生异常,复制错误不能得到及时的修复,它们会随着细胞分裂而被传递给子代细胞,使其基因组处于一种临界状态,即发生基因组不稳定性。错配修复就是一种普遍存在于各种生物体内的重要的复制后修复系统。

3 错配修复与基因组不稳定性

错配修复是所有生命体都具有的复制后监视系统,它是一个高度保守的修复过程,可以识别并纠正复制过程中错误掺入的寡核苷酸或是在复制链滑动过程中所产生的碱基错配。最早,人们是从E.coli(大肠杆菌)中分离出一系列与MMR相关的基因:MutS、MutL、MutH等。MMR蛋白通常是以异二聚体的形式发挥生物功能的。MutS所表达的蛋白产物可以识别并结合于错配位点,在ATP(三磷酸腺苷)提供能量并有MutL参与条件下激活MutH,后者具有限制性核酸内切酶活性,可以特异性识别新合成的DNA链的错配,在半甲基化的

GATC位点进行酶切,将尚未进行甲基化的新生子链切断,随后在解链解旋酶II和单链外切酶的作用下将子链的错配部分切除,再以母链为模板,在DNA聚合酶、单链连接蛋白、DNA连接酶的共同参与下将缺口修补^[9]。目前,在人的细胞中也发现了与E.coli的错配修复酶同源的七种蛋白:hMLH1、hMLH3、hPMS1、hPMS2、hMSH2、hMSH3、hMSH6。其中,hMSH2、hMSH3、hMSH6与MutS同源,hPMS1、hPMS2、hMLH1与MutL的功能相当^[10]。HNPCC(遗传性非息肉性结肠直肠癌)是表现为基因组不稳定性的一类疾病,它的显著特征就是MMR修复缺陷。迄今为止,所观察到的与HNPCC相关的300多种基因突变中,50%的突变发生于hMLH1基因,40%涉及hMSH2基因的改变,其余的与hMSH6、hPMS2有关^[11]。其他的许多偶发的癌症也都伴有MMR相关等位基因的功能缺失^[11]。在一系列的动物实验中,发现基因型为Msh2^{-/-}的鼠会发生类似HNPCC的肿瘤并且伴有微卫星不稳定。在基因型为Msh6^{-/-}的鼠中会有迟发肿瘤产生但不表现有微卫星的不稳定性改变^[13]。MMR缺陷的细胞不仅表现出较高水平的自发突变率,而且具有高度的重组能力,此能力在数次传代后依然具有^[14]。这些都说明MMR功能缺陷可以协同辐射的损伤效应使细胞基因组发生不稳定性改变。

4 错配修复与细胞周期阻滞

实验证明,MMR相关蛋白的表达也可改变细胞周期的进程。通常认为,细胞周期阻滞是细胞进行自身修复的重要的调节机制,它为细胞提供了足够的时间对损伤基因进行修复,防止损伤信息随着细胞的不断分裂向下传递以致于出现突变表型,是基因组稳定性的重要的保护机制^[15]。细胞周期中存在有两个重要的检查点(checkpoint):G₁/S、G₂/M,它们为细胞提供了足够的时间进行DNA的损伤修复。在细胞周期的两个检查点中,G₂期的阻滞主要与基因的修复相关,此功能的丧失会使细胞进行带错分裂,在子代细胞中出现基因突变。与MMR相关的基因hMLH1或hMSH2缺陷的细胞经辐照后,会使G₂/M阻滞时间明显缩短,并在子代细胞中出现延迟凋亡现象。将MMR正常与缺陷细胞分别经¹³⁷Cs照射后,比较它们细胞周期的改变情况:在照射后12h,两组细胞均达到阻滞高峰,而后,细胞越

过G₂期进入M期;继续培养达36h时,MMR缺陷细胞大多通过G₂期进入M期,被阻滞细胞仅剩25%,但大多数的正常细胞仍处于阻滞期内,约占46%^[16]。据文献报道,MMR影响G₂期的阻滞时间可能与cdc2途径有关^[17]。cdc2的磷酸化程度是影响G₂期阻滞时限长短的主要因素。MMR功能正常的与MMR功能缺陷的细胞受照后,均有酪氨酸磷酸化水平的升高,只是在MMR缺陷细胞中,其上升幅度不及MMR正常细胞高,而且它的去磷酸化速度较快。酪氨酸的去磷酸化可以激活cdc2激酶活性,促使细胞向M期演化。此外,还发现MMR缺陷细胞在接受低剂量率的辐射时表现出较高水平的存活率^[18]。这可能也与G₂期滞留时间长短有关。由于G₂期是DNA损伤较为敏感的时段,正常细胞接受照射后会较长时间滞留于G₂期,因此可能更易遭受低剂量率辐射而造成损伤;MMR缺陷细胞却能很快通过G₂期进入对辐射耐受的G₁期,因此低剂量的辐射对其损伤影响较小,从而表现出高水平的存活率,说明MMR可以直接或间接地参与细胞周期检查点的调控,从而影响细胞突变的产生。

5 结束语

基因组稳定性保证细胞代谢过程的平衡性及遗传的连续性。辐照后,基因组正常的平衡态被打破,呈现不稳定性,并通过一系列的生物表型逐渐在子代细胞中表现出来。MMR是保证遗传稳定性的重要基础,当MMR功能缺陷时会引起细胞基因组发生不稳定性改变,失去对基因稳定性的调控与监督作用,甚至促发癌症的产生。因此,研究基因组不稳定性与错配修复机制之间的相互关系,对于价辐射的远期效应及癌症的产生机制将有着深远的意义。

- [1] Harms-Ringdahl M. Some aspects on radiation induced transmissible genomic instability [J]. *Mut Res*, 1998, 404:27-33.
- [2] Muresu R, Sini M, Cossu A, et al. Chromosomal abnormalities and microsatellite instability in sporadic endometrial cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2002, 38(12): 1802.
- [3] Murata H, Khatrar NH, Kang Y, et al. Genetic and epigenetic modification of mismatch repair genes hMSH2 and hMLH1 in sporadic breast cancer with microsatellite instability [J]. *Oncogene*, 2002, 21(37): 5696-5703.
- [4] Orr-weaver TL, Weinberg RA. A checkpoint on the road to cancer [J]. *Nature*, 1998, 392: 223-224.
- [5] Ullrich RL, Ponnaiya B. Radiation-induced instability and its relation to radiation carcinogenesis [J]. *Int J Radiat Biol*, 1998, 74: 747-755.
- [6] Romney CA, Paulauskis JD, Nagasawa H, et al. Multiple manifestations of X-ray-induced genomic instability in Chinese hamster ovary(CHO) cells [J]. *Mol Carcinog*, 2001, 32(3): 118-127.
- [7] Evans IH, Horng MF, Ricanati M. Diverse delayed effects in human lymphoblastoid cells surviving exposure to high-LET ⁵⁶Fe particles or low-LET ¹³⁷Cs gamma radiation [J]. *Radiat Res*, 2001, 156: 259-271.
- [8] Brennan RJ, Schiestl RH. Persistent genomic instability in the yeast *saccharomyces cerevisiae* induced by ionizing radiation and DNA-damaging agents [J]. *Radiat Res*, 2001, 155: 768-777.
- [9] Peggy H. Molecular mechanism of DNA mismatch repair [J]. *Mut Res*, 2001, 131: 53-59.
- [10] Kondo E, Horii A, Fukushima S. The interaction domains of three MutL heterodimers in man: hMLH1 interacts with 36 homologous amino acid residues within hMLH3, hPMS1 and hPMS2 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2001, 29: 1695-1702.
- [11] Peltomaki P. Deficient DNA mismatch repair: a common etiologic factor for colon cancer [J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10: 735-740.
- [12] Salvesen HB, MacDonald N, Ryan A. Methylation of hMLH1 in a population-based series of endometrial carcinomas [J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6: 3607-3613.
- [13] Buemeyer A, Deschenes S, Baker S. Mammalian DNA mismatch repair [J]. *Ann Rev Genet*, 1999, 33: 533-564.
- [14] Evans E, Alani E. Roles for mismatch repair factors in regulating genetic recombination [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20: 7839-7844.
- [15] Ning Sh, Knox SJ. G2/M-phase arrest and death by apoptosis of HL60 cells irradiated with exponentially decreasing low-dose-rate gamma radiation [J]. *Radiat Res*, 1999, 151: 659-670.
- [16] Tao Y, Jan E. Loss of DNA mismatch repair imparts defective cdc2 signaling and G2 arrest responses without altering survival after ionizing radiation [J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 8290-8297.
- [17] Jin P, Hardy S, Morgan DO. Nuclear localization of cyclin B1 controls mitotic entry after DNA damage [J]. *J Cell Biol*, 1998, 141(4): 875-885.
- [18] Zeng M, Narayanan L, Xu XS, et al. Ionizing radiation-induced apoptosis via separate Pms2- and p53-dependent pathways [J]. *Cancer Res*, 2000, 60: 4889-4893.