

# 以 PCC 技术分析染色体辐射损伤的修复

杨新海 饶用清

(北京医科大学放射医学基础教研室, 北京 100083)

**摘要** 采用 PCC 技术, 观察 CHL (Chinese hamster fibroblast cell line) 细胞受  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  射线照射后, 染色体的损伤及修复动力学。结果表明, 染色体损伤的修复分为两个时期, 快修复在照射后的 30 min 左右开始, 半修复时间约为 6 h。与 FADU (Fluorometric analysis of DNA unwinding) 技术观察 DNA 损伤修复动力学比较, DNA 损伤修复在照射后 5 min 内即已开始, 70% 以上的 DNA 损伤修复发生在 15 min 内。由两者损伤修复动力学不同推测两者修复机制有区别。

**关键词** PCC 技术, FADU 技术, DNA 损伤和修复, 染色体损伤及修复

染色体辐射损伤能够被修复的观点是 Wolff 和 Liupold 1955 年首次提出的<sup>[1]</sup>。传统的中期染色体检测方法, 不能直接反映染色体损伤的动态变化及其修复过程, 早熟染色体凝集 (pre-mature chromosome condensation PCC)<sup>[2]</sup> 技术则可使被检测细胞在细胞周期的任何时相内融合, 并进行染色体损伤检测, 从而使染色体损伤修复的动态观察成为可能<sup>[3]</sup>。本文采用 PCC 技术研究了体外培养的 CHL 细胞, 在受到  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  射线照射后染色体损伤的动力学, 并与 FADU 技术<sup>[6]</sup> 研究的 DNA 损伤修复动力学进行比较, 试图探讨两者关系。

## 1 材料与 方法

### 1.1 PCC 法观察染色体的损伤和修复

实验采用指数生长的 CHL 细胞, 分成两组, 分别在室温下, 以  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  射线照射 4.0 和 8.0 Gy, 剂量率 2.45 Gy/min。照射后, 37℃ 温育 0~20 h, 分 8 个时间点, 分别收获细胞, 然后与已制备好的 CHL 有丝分裂期细胞按 1:1 比例进行细胞融合, 按常规法制备染色体标本, 显微镜下记录  $G_1$  PCC 和  $G_2$  PCC 的断片数, 凡数目超过 25 条者视为断片<sup>[4,5]</sup>。

### 1.2 FADU 法观察 DNA 的损伤修复

指数生长期的 CHL 细胞, 以  $\gamma$  射线照射 10 Gy, 剂量率同上。在照射后温育不同时间 (0~60 min 之间) 取样检测, 检测方法参照文献<sup>[6]</sup>, 略作改良, 即省略了 A 液, 样品直接进入 B 液。

## 2 结 果

4.0 和 8.0 Gy  $\gamma$  射线照射后随培养时间的延长, PCC 损伤检出率 (断片数/细胞) 逐渐减少 (见表 1)。表 1 表明 PCC 的损伤在培养过程中发生了修复。IBM 微机 20 个模式多项选择拟合其时效关系符合  $Y_{4.0} = 0.5594 \text{ EXP } 2.7671 / (x + 2.7536)$ ,  $Y_{8.0} = 3.0979 / (1 + 0.2331 x^{0.6710})$ 。由图 1 可见染色体的损伤修复可分为快修复和慢修复两相, 快修复在照射后 30 min 开始, 1~4 h 间修复较快,

收稿日期: 初稿 1994-10-26, 修改稿 1995-09-05

Tab 1. Observation on PCC damages after exposure to 4.0 and 8.0 Gy  $\gamma$ -rays

Time/h	4.0 Gy			8.0 Gy		
	G <sub>1</sub> +G <sub>2</sub>	Fragments	Fragments/cell	G <sub>1</sub> +G <sub>2</sub>	Fragments	Fragments/cell
0	232	405	1.7456±0.1393	296	917	3.0979±0.1806
0.5	66	102	1.5455±0.1902	18	50	2.7778±0.6547
1	72	93	1.2917±0.1522	18	41	2.2778±0.5368
2	32	34	1.0625±0.1878	33	67	2.0303±0.3534
4	34	28	0.8235±0.1412	39	73	1.8718±0.0601
6	—	—	—	48	89	1.8542±0.2676
12	—	—	—	95	164	1.7263±0.1771
20	114	72	0.6316±0.0591	99	113	1.1414±0.1447

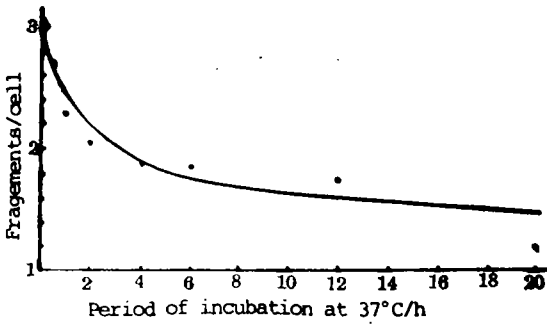


Fig 1. Repair curve of chromosome damage in 8 Gy of <sup>60</sup>Co  $\gamma$ -irradiated CHL cells

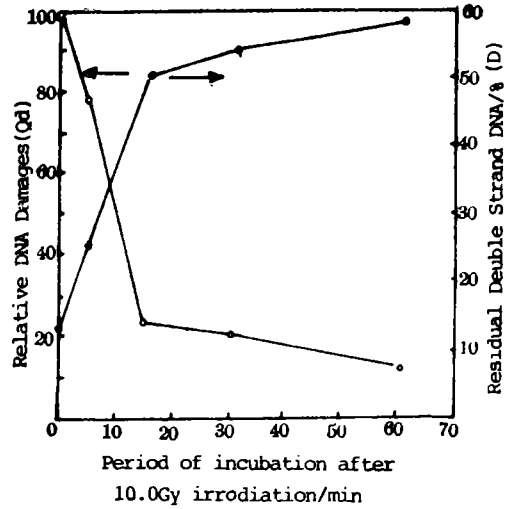


Fig 2. The repair of DNA damages irradiation by <sup>60</sup>Co  $\gamma$ -rays  
(○)Q<sub>d</sub> (●)D

至 6 h 近一半的损伤发生了修复，其后进入慢修复阶段，曲线斜率变小而且稳定。

图 2 表明 10 Gy 照射后随温育时间的延长，DNA 双链存留率 D 逐渐增加，而 DNA 相对损伤量 Q<sub>d</sub> 则逐渐降低，说明 DNA 的损伤获得一定修复。DNA 损伤修复的快时相在照射后 5 min 内即已发生，15 min 时 70% 以上的单链断裂得到了重接，慢修复在 60 min 时损伤尚未全部修复。

### 3 讨 论

观察表明，染色体损伤修复开始较晚，大约在照射后 30 min 才能检测出来，而 DNA 的快修复在细胞受照射后 5 min 内即已开始，15 min 可修复损伤的 70% 左右。证实染色体损伤和 DNA 损伤修复动力学上的差异<sup>[3,7,8]</sup>。两者修复起始时间和速度的差异表明快速修复的 DNA 可能是单链断裂对染色体损伤并不重要<sup>[3]</sup>。

一些研究表明<sup>[3]</sup>快速的 DNA 修复可以被 EDTA 和焦磷酸抑制，说明修复过程和多核苷酸连接酶活性有关，而染色体损伤的修复受蛋白质抑制剂放线菌酮的影响明显，说明染色体的修复和蛋白质合成有关，染色体损伤部位的修复表明此特异部位的不定期 DNA 合成<sup>[9]</sup>。Collins<sup>[10]</sup> 等人的实验提出染色体损伤显然与长寿命的 DNA 损伤有关，George 等<sup>[7]</sup>实验说明染色体损伤的修复

需要 DNA 的聚合。以上结果均表明 DNA 损伤的程度及修复情况对于染色体畸变形成十分重要。本结果又显示, DNA 与染色体损伤修复动力学不同, 反映出两者修复机制有差异, 可能染色体畸变的形成仅含有 DNA 损伤中的一小部分, 很可能这一小部分是修复缓慢的 DNA 双链断裂, 并最终导致染色体的畸变, 或者染色体的修复过程包括比 DNA 修复更加复杂的内容<sup>[3]</sup>。

PCC 技术用于染色体分析优点之一是它不但可以观察染色体损伤后的修复过程, 而且可对染色体损伤进行更精细的形态学分析, 因而成为研究染色体畸变机制的良好手段。如对染色体单体断裂和互换的研究表明, 抑制蛋白质合成阻断了单体断裂的修复, 但不影响互换的频率, 提示互换不可能是单体断裂的简单产物<sup>[3]</sup>。断片的修复在 3 h 内发生并很快完成, 而环则在细胞受照射后 4 h 时增加, 表明环的形成也不可能用简单的断裂修复来解释<sup>[3]</sup>。

### 参 考 文 献

- 1 Pantalias G E et al. *Mut. Res.*, 1985, 149: 67
- 2 Johnson R T et al. *Nature*, 1970, 226(3): 717
- 3 Hittelman W N et al. *Radiat. Res.*, 1982, 92: 497
- 4 杨新海, 饶用清. 北京医科大学学报, 1994, 26(3): 171
- 5 杨新海, 饶用清. 中华放射医学与防护杂志, 1994, 14(1): 25
- 6 Birnboim H C et al. *Cancer Res.*, 1981, 41: 1889
- 7 Hittelman W N et al. In: *DNA Repair and Inhibition* A Collins, S Dwens and R T Johnson Ed. Oxford IRL press 1984
- 8 Bertsche U et al. *Radiat. Environment Biophysics*, 1988, 27(3): 201
- 9 Hieber L et al. *Exp. Cell Res.*, 1983, 144: 57
- 10 Collins ARS et al. *Concer Res.*, 1981, 41: 5176
- 11 George I et al. *Radiat. Res.*, 1988, 114: 361

## ANALYSIS OF THE CHROMOSOME DAMAGE AND REPAIR KINETICS IN CHL CELLS AFTER <sup>60</sup>CO $\gamma$ -IRRADIATION BY PCC TECHNIQUE

Yang Xinhai Rao Yongqing  
(Beijing Medical University, Beijing 100083)

**ABSTRACT** The kinetics of chromosome damage and repair was determined by PCC. Chromosome damage repair was not detectable until 30 min after irradiation and nearly half of chromosome damage was repaired by 6 h. In contrast, significant DNA repair occurred at 5 min after  $\gamma$ -irradiation measured by FADU technique. These results suggest that the early repairing DNA SSBs are not important in the formation of chromosome aberration, the different repair kinetics between DNA and chromosome damages might reflect their different repair mechanism.

**KEYWORDS** Chromosome damage and repair, PCC and FADU, DNA damage and repair