

外源性 DNA 对小鼠自身 DNA 的保护作用*

唐孝礼 许实波

周永红

(中山大学生命科学学院, 广州 510275) (广东药学院预防医学系)

摘 要 采用骨髓有核细胞微核率测定法, 检测小鼠服用鲤鱼精巢 DNA 后, $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线对小鼠骨髓细胞染色体损伤的严重程度, 结果表明, 小鼠每天每千克体质量灌胃鲤鱼精巢 DNA 100 mg, 连续 15 d, 可使总剂量 6 Gy 的 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线致小鼠骨髓有核细胞微核发生率减少 47.2% ($P < 0.001$); 采用全血 UDS 测定法, 检测小鼠血细胞 DNA 受紫外线损伤后的修复速度, 结果表明, 小鼠每天每千克体质量灌胃鲤鱼精巢 DNA 30 mg, 连续 3 个月, 其全血 UDS 增加 40.02% ($P < 0.001$).

关键词 鲤鱼, 精巢, 脱氧核糖核酸, 微核率, 非程序 DNA 合成

分类号 R 284.1

我国鱼类资源十分丰富, 鱼产品在加工过程中, 鱼类的精巢由于具有特殊的腥味, 口感不佳, 所以一般被当作废物丢弃^[1], 既浪费资源, 又污染环境. 其实鱼类精巢的营养价值很高, 它的主要成分是核蛋白, 由鱼精蛋白和脱氧核糖核酸组成. 为了充分利用鱼类精巢, 变废为宝, 我们进行了鲤鱼精巢 DNA 的分离提取及其药理作用研究, 本文报道小鼠服用鲤鱼精巢 DNA 后对自身 DNA 损伤的防护和修复作用.

1 材料与方方法

(1) 动物和样品: NIH 小鼠由广东省医学实验动物中心提供. DNA 由作者从鲤鱼的精巢中提取得到, 纯度为 96.52%, 实验时用蒸馏水配成所需浓度的受试液.

(2) 主要试剂: 羟基脲 (Sigma 公司); ^3H -胸腺嘧啶核苷 ($^3\text{H-TdR}$, 中国科学院上海原子能研究所); RPMI 1640 培养基 (Gibco 公司); 2, 5-二苯恶唑 (PPO, Sigma 公司); 1, 4-双(5-苯基-2, 2-恶唑) 苯 (POPOP, Serva 公司); 其余均为市售分析纯试剂.

(3) 主要仪器: ZTH 型多头细胞收集器 (浙江绍兴卫星机械有限公司); TRI-CARB 2000CA/LL 液体闪烁记数仪 (美国 Packard 公司); $^{60}\text{Co-}\gamma$ 放射源 (广东省辐照技术开发中心); SZX-2P 超净工作台 (上海整新电子设备厂).

(4) 对 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线致小鼠骨髓染色体损伤的防护作用: 选取健康 NIH 小鼠 50 只, 体质量为 (20 ± 2) g, 雌雄各半, 随机分成 5 组, 每组雌雄各 5 只, DNA 分 3 个剂量组, 给药剂量 (以每 kg 体质量给药的质量 /mg 为单位, 下同) 分别为 100, 50 和 25 mg, 阳性对照采用维生素 E, 剂量为 50 mg, 空白对照组灌胃等体积生理盐水, 即每 10 g 体质量 0.25 mL. 每天定时给药 1 次, 连续 15 d, 第 16 天灌胃 60 min 后, 利用广东省辐照技术开发中

* 收稿日期: 1997-09-22 唐孝礼, 男, 31 岁, 工程师, 现为中山医科大学博士后

心的 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 照射源对小鼠进行 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线一次全身照射, 照射源与动物中心线距离为 40 cm, 照射剂量率为 0.5247 Gy/min, 总剂量为 6 Gy. 照射 24 h 后, 采用骨髓有核细胞微核率测定法检测 γ 射线对小鼠染色体 DNA 的损伤程度^[2].

(5) 对紫外线致 DNA 损伤的修复作用: 选取健康 NIH 小鼠 40 只, 雌雄各半, 体质量为 (20 ± 2) g, 随机分成 4 组, 每组雌雄各 5 只, DNA 分 2 个剂量组, 给药剂量分别为 30, 15 mg, 阳性对照采用维生素 E, 剂量为 25 mg, 空白对照组灌胃等体积生理盐水, 即每 10 g 体质量 0.25 mL. 每天定时给药 1 次, 连续 90 d, 最后一次给药 60 min 后, 眼眶取血, 肝素抗凝, 全血细胞对 DNA 损伤的修复能力采用细胞的非程序 DNA 合成 (unsheduled DNA synthesis, UDS) 测定法^[3,4].

2 实验结果

2.1 对 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线致小鼠骨髓染色体损伤的防护作用 小鼠口服鲤鱼精巢 DNA 对 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线致骨髓细胞微核生成有明显的防护作用.

表 1 对 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线致小鼠骨髓细胞微核生成的保护作用¹⁾

Tab. 1 Protective action of DNA (carp sperm) on the formation of marrow micronuclei in mice induced by ^{60}Co -gamma ray

组别	剂量 /mg	微核率 / 10^{-3}	减少率 %
空白对照	-	67.4 ± 5.3	-
DNA	100	35.6 ± 4.7 ²⁾	47.2
	50	41.5 ± 3.9 ²⁾	38.4
	25	48.9 ± 4.8 ²⁾	27.4
维生素 E	50	39.2 ± 3.6 ²⁾	41.8

1) ($\bar{x} \pm s$, $n=10$); 2) 与空白对照组比较, $P < 0.001$

2.2 对紫外线致 DNA 损伤的修复作用 小鼠服用鲤鱼精巢 DNA 3 个月后, 对紫外线致全血细胞 DNA 损伤的修复作用显著增强, 全血 UDS 明显增加.

表 2 DNA 对小鼠全血 UDS 的影响¹⁾

Tab. 2 Effect of DNA (carp sperm) on whole blood UDS

组别	剂量 /mg	UDS	UDS 增加率 %
空白对照	-	0.947 ± 0.164	-
DNA	30	1.326 ± 0.189 ²⁾	40.02
	15	1.283 ± 0.176 ²⁾	35.48
维生素 E	25	1.27 ± 0.180 ²⁾	34.21

1) ($\bar{x} \pm s$, $n=10$); 2) 与空白对照组比较, $P < 0.001$

3 讨论

动物机体受到 γ 射线等辐射损伤后, 由于辐射能杀死细胞, 诱发体细胞突变, 破坏机体细胞免疫等, 因此可引起许多疾病以及诱发肿瘤, 加速衰老, 辐射所产生的这些效应, 受生物机体遗传特性和生理状态的支配, 并且和辐射的性质, 照射条件有密切关系. 一般而言, 辐射的剂量越大, 其生物效应也大, 机体损伤的程度也就越严重. 机体受辐射损伤程度的评定, 以往多采用存活率测定法, 即辐照 30 d 后动物存活数除以受辐照动物总数. 考虑到动物的死亡还受到其他环境因子的影响, 且 30 d 存活率实验很费时. 因此, 本研究中

采用了简易、快速、灵敏而又与死亡率有较好相关性的小鼠骨髓有核细胞微核率测定法。小鼠骨髓有核细胞微核发生率与辐射量有着线性的正比关系, 尽管微核率降低最明显的并不一定是存活率最高的, 但凡是在整体水平上提高存活率的辐射防护药, 在细胞水平上也都能降低骨髓有核细胞的微核率^[2], 所以小鼠骨髓有核细胞微核率测定法被广泛应用于评定辐射对机体的损伤程度。

动物机体细胞内的 DNA 受到紫外线的损伤后, 机体自身存在的修复酶系统, 可将损伤的 DNA 分子通过修复机制而恢复 DNA 的完整性, 因此, DNA 损伤的修复系统是修复损伤、维持细胞遗传特性相对稳定的重要机制。DNA 修复能力的测定方法有³H- MNU 掺入法、FADU 法、³H- TdR 掺入法、³H 及¹⁴C 双标记法等^[5], 本文采用比较常用而又灵敏的³H- TdR 掺入法 (即 UDS 测定法)。鲤鱼精巢 DNA 可明显对抗⁶⁰Co- γ 射线对动物机体染色体 DNA 的损伤, 并对紫外线所致的 DNA 损伤的修复作用有显著的促进作用, 这对于由辐射或紫外线等造成的动物机体衰老有积极的延缓作用。

参 考 文 献

- 1 王梦鹤, 刘风元, 刘宇峰. 鱼精核蛋白的开发利用. 食品科学, 1992 (10): 18~ 20
- 2 施立明, 王建华, 张锡然, 等. 以细胞遗传学方法评定辐射防护药的新程序 I. 小鼠骨髓有核细胞微核测定筛选辐射防护药的研究. 动物学报, 1979, 25 (3): 230~ 233
- 3 张树臣, 刘平, 张伟, 等. 人参不同部位皂甙对人胚肺成纤维细胞 DNA 修复功能的影响. 中草药, 1992, 23 (10): 528~ 530
- 4 Collins A R S, Johnson R T. Use of metabolic inhibitor in repair studies. In: Friedberg E C, Hanawalt P C, eds. DNA Repair— a laboratory manual of research procedures. Vol 1 (B). New York: Marcel Dekker inc, 1981. 341~ 349
- 5 陈勤主编. 抗衰老研究实验方法. 北京: 中国医药科技出版社, 1996. 567~ 577

The Radio-Proventive and DNA-Repairing Action of Exotic DNA from Carp Spermery

Tang Xiaoli* Xu Shibo Zhou Yonghong

Abstract ⁶⁰Co- gamma ray can injure the chromosomes of bone marrow cells, and this injury may be measured by determining the rate of micronuclei of bone marrow cells of irradiated mice. Our observations indicated that the formation rate of micronuclei of bone marrow cells could decrease 47.2% if the mice had administered DNA from carp spermery (100 mg/kg weight) for 15 days before they were irradiated. Ultraviolet can damage DNA of cells. The damaged DNA can be repaired by the repair enzymes system in cells. The repairing speed can be measured by ³H- TdR intercalation (i. e. unscheduled DNA synthesis measurement, UDS measurement). The results showed that the UDS of whole blood cells in mice had increased 40.02% after DNA from carp spermery (30 mg/kg weight) had been administered to the mice for 3 months.

Keywords carp, spermery, deoxyribonucleic acid (DNA), rate of micronuclei, unscheduled DNA synthesis (UDS)

* School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China