

脂质过氧化引起的 DNA 损伤研究进展

刘晓麒 曹恩华

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 脂质过氧化可以引起各种碱基损伤、DNA 链断裂和各种荧光产物生成, 并对 DNA 分子鸟嘌呤碱基具有选择性损伤。过渡金属离子可以明显加深脂质过氧化对 DNA 的损伤程度。多种抗氧化剂、活性氧自由基清除剂对脂质过氧化引起的 DNA 损伤有一定程度的保护作用。具有致突、致癌作用的 8-羟基鸟嘌呤已经观察到。脂质过氧化的致突变、致癌变作用机制引起了人们的极大兴趣。

关键词 脂质过氧化, DNA 损伤, 8-羟基鸟嘌呤, 荧光产物, 脂质, DNA

脂质过氧化是脂中不饱和脂肪酸(LH)氧化降解的链反应过程, 由启动、延伸、终止三个阶段组成。脂质过氧化过程的延伸阶段产生多种自由基如脂过氧自由基 $\text{LOO}\cdot$, 脂氧自由基 $\text{LO}\cdot$ 和脂自由基 $\text{L}\cdot$, 终止阶段产生多种小分子产物如丙二醛。这些产物可以引起多种细胞功能的损伤, 并且和多种疾病的发生、发展有密切关系。脂质过氧化产物引起细胞功能损伤的机理阐明有助于全面理解衰老、癌变等病理过程。过去研究主要集中在这一过程对细胞膜的损伤, 近年来对脂质过氧化介导的 DNA 结构与功能的改变予以极大关注^[1]。本文就近年来关于脂质过氧化引起 DNA 损伤的研究进展作一综述。

1 脂质过氧化引起 DNA 损伤的实验证据

由于生物体系的复杂性, 现在的研究还主要集中于模型系统。Nakayama^[2]最先观察到小牛胸腺 DNA 和过氧化亚麻酸反应后形成的 DNA $\cdot$ 的特征 ESR 信号, 其线宽 8.9G, g 值 2.006, 此信号不同于 g 值为 2.015 的 $\text{LOO}\cdot$ 的 ESR 信号。其他一些多聚不饱和脂肪酸过氧化后和 DNA 反应也产生同样的 ESR 信号。相反, 若采用饱和脂肪酸如硬脂酸、肉豆蔻酸和 DNA 反应, 则观察不到 ESR 信号。所以, DNA $\cdot$ 的形成是由于不饱和脂肪酸中邻近双

键的亚甲基较易形成过氧自由基之故。Morita^[3]报道过氧化亚油酸、亚麻酸可以引起噬菌体 ϕX174 DNA 超螺旋的破坏。随着氧化时间的增加, DNA 链的断裂程度加深, 但与反映脂质过氧化程度的过氧化值、硫代巴比妥酸值的变化规律并不完全一致。Ueda^[4]报道了类似的结果。自动氧化的亚麻酸甲酯在铜离子存在下引起噬菌体 ϕX174 的复制型 DNA 从超螺旋型向开环型和线型转变, 并且发现 DNA 链断裂程度在脂质过氧化程度达到峰值后一段时间也达到最高, 随着进一步过氧化, DNA 链断裂程度反而降低, 即 DNA 受损程度与脂质过氧化程度并不完全一致。Akasaka^[5]则用脂质体作材料证明脂质过氧化可以引起质粒 DNA 单链断裂、转化活力降低, 产生碱性敏感部位。Nakayama^[6]利用碱性洗脱技术检测到过氧化亚油酸甲酯可以使人的成纤维细胞 DNA 产生单链断裂, 并且发现单链 DNA 的断裂数目随着过氧化亚油酸甲酯浓度的增加而增加。

在生物体系中脂质过氧化可以引起 DNA 损伤的证据首先由 Hruszkewycz^[7]报道。当鼠肝线粒体与 NADPH, 氯化亚铁一起保温时, 就会发生以丙二醛生成为标志的脂质过氧化。从发生过氧化的线粒体中分离出的 DNA 和从未发生过氧化的线粒体中分离出的 DNA 二者有完全不同的电泳淌度。Fraga^[8]也报道了类

似的结果. 在叔丁基过氧化氢和亚铁离子作用下, 鼠肝细胞 DNA 损伤和膜的脂质过氧化同时发生.

2 脂质过氧化引起 DNA 损伤的碱基特异性和序列特异性

Nakayama^[2]在成功地捕捉到 DNA· 的 ESR 信号后, 为了进一步了解 DNA· 的形成机理, 用各种寡聚核苷酸、核苷、碱基代替 DNA 和过氧化亚油酸甲酯进行反应, 发现 DNA· 的形成具有明显的碱基特异性. 在所有情况中, 只有鸟嘌呤部分可以形成 DNA·, 而其他碱基和过氧化亚油酸一起保温均不能产生 DNA· 的特征 ESR 信号. 近年来, DNA 序列分析成为 DNA 损伤与修复研究中的有力手段. Inouye^[9]首先用琼脂糖凝胶电泳的方法证明过氧化亚油酸可以引起质粒 pBR322 超螺旋 DNA 的双链断裂, 随后又利用 3' 端和 5' 端标记的 DNA 片段作底物, 通过 DNA 序列分析证明鸟嘌呤是主要受损部位. Ueda^[4]报道了脂质过氧化引起 DNA 损伤的序列特异性. 通过 DNA 序列分析证明, 自动氧化的亚麻酸甲酯和单末端标记的 100—200 个碱基对长的 DNA 一起保温反应后, 只有预先经哌啶处理才发生链的断裂. 碱性敏感部位的形成优先产生于嘧啶残基和邻近的嘌呤残基之间, 特别是在嘧啶-鸟嘌呤 (5' → 3') 这样的二核苷酸序列中, 碱性敏感部位也产生在腺嘌呤-鸟嘌呤 (5' → 3') 二核苷酸序列中, 实验中同时发现在嘌呤-嘧啶 (5' → 3') 的二核苷酸序列中不易形成碱性敏感部位.

对于脂质过氧化引起 DNA 上鸟嘌呤碱基特异损伤的解释, 现在的看法是由于在四种碱基中鸟嘌呤被占据的最高分子轨道的能量是最高的, 因此最易被氧化, 这可能是鸟嘌呤与过氧化脂质反应较易生成自由基的原因^[2]. 脂质过氧化过程中产生的多种自由基如 L·, LO·, LOO· 可以和 DNA 中的鸟嘌呤发生抽氢反应或直接的加成反应而产生鸟嘌呤自由基, 此鸟嘌呤自由基可以在 DNA 中稳定下来.

3 脂质过氧化引起 DNA 损伤的机制

3.1 过氧化脂质与 DNA 反应荧光产物的形成

早在 1973 年, Reiss^[1]就发现过氧化花生四烯酸和小牛胸腺 DNA 反应可以形成一种荧光产物, 其最大激发波长 315nm, 最大发射波长 420nm. 这种荧光产物与 DNA-丙二醛复合物的荧光光谱不同, 后者的最大激发波长为 390nm, 最大发射波长为 460nm^[1]. 此 DNA-过氧化花生四烯酸荧光产物与对照 DNA 相比有如下特点, 熔点降低, 增色效应降低, 对脱氧核糖核酸酶表现出一定抗性, 模板活力降低. 我们实验室用过氧化亚油酸与 DNA 反应也观察到类似的结果^[10]. Fujimoto^[11]进一步研究了在金属离子存在下不饱和脂肪酸多种形式的过氧化物与 DNA 反应而形成荧光的现象. 发现在不饱和脂肪酸过氧化物浓度较低时 (1mmol/L), 荧光产物的形成需要金属离子和还原剂的存在. 亚油酸, 亚麻酸甲酯自动氧化产生的一氢过氧化物和 DNA 反应产生的荧光最强, 亚麻酸环二氧化氢过氧化物和亚油酸、亚麻酸的二氢过氧化物和 DNA 反应产生的荧光次强. 相反, 同样条件下丙二醛与 DNA 反应产生的荧光非常弱, 而且测得的硫代巴比妥酸值与荧光形成量并不相关. DNA-脂质过氧化物荧光产物的形成, 现在的看法是由于在脂质过氧化过程中产生含羰基的产物, 其羰基与 DNA 碱基上的氨基形成一种西佛氏碱复合物. 综合多种实验事实, 可以认为在脂质过氧化导致 DNA 损伤的过程中, 对于荧光物质的形成, 丙二醛不起主要作用, 而反应过程中产生的一些短寿命中间产物如脂自由基 L·, 脂氧自由基 LO·, 脂过氧自由基 LOO·, 可能起着更为重要的作用.

3.2 8-羟基鸟嘌呤的生成成为检测脂质过氧化引起 DNA 损伤的一个较好指标

8-羟基鸟嘌呤的生成被认为是自由基引起损伤的标志, 在电离辐射对 DNA 损伤和致癌作用中鸟嘌呤 C-8 位均发生羟基化. Hruszkewycz^[12]用气相色谱-质谱联用的方法证实, 在脂质过氧化对

DNA 的损伤过程中, 8-羟基鸟嘌呤的生成量取决于脂质过氧化程度. Park^[13]则利用高压液相色谱, 从脂质过氧化对 DNA 的损伤产物中, 分离得到 8-羟基鸟嘌呤, 而且 8-羟基鸟嘌呤的生成量随着过氧化时间、脂的浓度的增加而增加.

3.3 抗氧化剂在脂质过氧化引起 DNA 损伤中的作用

为了进一步研究脂质过氧化引起 DNA 损伤的机制, 各种自由基清除剂的作用已经有文献报道. Nakayama^[2]发现当 α -生育酚加入过氧化亚油酸甲酯与 DNA 的混合液时, 不再出现 DNA $\cdot$ 的特征 ESR 波谱. Nakayama^[6]还发现在过氧化亚油酸甲酯引起的人成纤维细胞 DNA 链断裂中, α -生育酚、谷胱甘肽对 DNA 的损伤有明显的保护作用. Hruszkewycz^[12]则观察到 α -生育酚对线粒体脂质过氧化引起的 DNA 损伤后产生的 8-羟基鸟嘌呤有明显的抑制作用. α -生育酚的作用在于它可以作为质子供体从而淬灭多种脂自由基如 LOO $\cdot$, LO $\cdot$, L $\cdot$, 降低脂质过氧化程度, 保护 DNA 不受损伤. 谷胱甘肽的作用在于它可以把脂质过氧化物还原为脂质氢氧化物, 而后者对 DNA 不会造成损伤. Morita^[3]报道羟基自由基的清除剂苯甲酸钠, 碘化钾和单线态氧的清除剂 1, 4-二氮杂二环辛烷对由过氧化亚油酸、亚麻酸引起的噬菌体 ϕ X174 DNA 从超螺旋型向开环型和线型 DNA 的转变有明显的保护作用. Ueda^[4]报道了类似的结果. 即各种自由基清除剂对过氧化亚麻酸甲酯引起的噬菌体 ϕ X174 DNA 链的断裂有抑制作用. 结果表明, 羟基自由基清除剂碘化钾、苯甲酸钠表现出不同的作用. 碘化钾几乎完全抑制了 DNA 链的断裂 (98%), 而苯甲酸钠只有非常微弱的抑制效果. 碘化钾和脂质过氧化物按下反应 $\text{ROOH} + 2\text{I}^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{ROH} + \text{I}_2 + \text{H}_2\text{O}$ 起到延缓脂质过氧化, 保护 DNA 免受损伤的作用. 过氧化氢酶部分抑制 (33%) DNA 链的断裂, 这提示了过氧化氢在脂质过氧化引起的 DNA 链断裂中也有一定作用. 超氧阴离子自由基清除剂 1, 2-二羟基苯-3, 5-二磺酸钠几乎

完全抑制 DNA 链的断裂 (99%), 但超氧化物歧化酶却没有表现出抑制作用. 1, 2-二羟基苯-3, 5-二磺酸钠可以和金属离子反应形成复合物, 起到延缓脂质过氧化的作用. 单线态氧的清除剂 1, 4-二氮杂二环辛烷抑制作用较弱 (18%). Park^[13]进一步证实了自由基清除剂对脂质过氧化引起 DNA 损伤的保护作用. 实验结果表明, 羟基自由基清除剂如苯甲酸钠、甘露糖醇, 过氧化氢酶, 超氧化物歧化酶, 对过氧化亚麻酸甲酯与 DNA 形成 8-羟基鸟嘌呤均有一定程度的抑制作用, 而且随着自由基清除剂浓度增加, 8-羟基鸟嘌呤的生成量减少. 尽管脂质过氧化引起 DNA 损伤的精确机制有待于进一步深入研究, 但一个非常明显的可能性就是在此过程中发生了羟自由基对 DNA 的攻击. 羟自由基与 DNA 反应速度极快, 而且是由于多种脂质过氧化物与过渡金属离子反应而生成. 在氧自由基引起的 DNA 损伤中, 脂质氢过氧化物可能是重要的中间物.

3.4 过渡金属离子在脂质过氧化引起 DNA 损伤中的作用

金属离子在脂质过氧化过程中的主要作用是可以进一步延伸脂质过氧化的链反应. 实验表明金属离子螯合剂 EDTA 对由脂质过氧化引起的 DNA 损伤有明显的保护作用^[4]. Ueda^[4]报道了在过氧化亚麻酸甲酯引起噬菌体 ϕ X174 DNA 从超螺旋型向开环型和线型转变中各种过渡金属离子的作用. DNA 链断裂活力依赖于过渡金属离子的种类和浓度. 当铜离子存在时, DNA 链断裂程度最严重, 然后依次是二价铁离子、三价铁离子、镍离子、锌离子. 此顺序和金属离子在抗坏血酸钝化噬菌体中的催化作用的顺序一致, 抗坏血酸钝化噬菌体是通过自动氧化过程中产生氧自由基, 发生 DNA 链的断裂而实现的. Morita^[3]证明当自动氧化的亚油酸、亚麻酸和噬菌体 ϕ X174 DNA 的反应体系中不加金属离子时只能引起极其少量的超螺旋型向开环型、线型 DNA 的转变, 而过渡金属离子的加入可以明显加剧这种转变. 催化能力从高到低依次为铜离子、锌离子、铁离子、钴离子、锰离子.

4 脂质过氧化的致突变、致癌变作用

脂质过氧化的致突变、致癌变机制引起了人们的极大兴趣, 尽管这方面的研究刚刚起步, 但已经取得一些重要成果. 研究表明, 脂质过氧化可以造成基因点突变, 从而引起原癌基因的激活或抑癌基因的失活, 最终导致细胞增殖的失控和癌变.

4.1 脂质过氧化的致突变作用 脂质过氧化过程中产生多种活性氧自由基, 而活性氧自由基的致突变作用最近已有报导^[14-16]. 比如, 8-羟基鸟嘌呤的生成是 DNA 氧化损伤中最普遍的受损形式, 这种损伤可以导致 G→T 的转变, 在 DNA 氧化损伤中另一种比较重要的形式是胸腺嘧啶乙二醇的生成, 此种类型的损伤会产生 T:G 碱基对, 从而导致 T→C 的转变. 研究表明, 单线态氧可以造成 M13 lacZα 基因中 G→T 和 G→C 的转变. 另外, 氧自由基可以在 DNA 中产生碱基缺失位置, 而碱基缺失位置的生成也会引起 G→T 的转变.

4.2 脂质过氧化的致癌变作用 脂质过氧化引起细胞癌变主要有两种可能的机制. a. 直接作用机制, 即脂质过氧化产物与 DNA 直接作用诱发细胞癌变. 研究表明, 高度活泼的自由基如 OH· 反应特异性差, 反应范围局限; 而中等活泼的自由基如脂过氧自由基 LOO·, 脂氧自由基 LO·, 脂自由基 L· 寿命较长, 尤其在核膜附近产生, 则更易直接攻击 DNA 引起细胞癌变. 能够致癌的自由基中间产物一般具有中等化学活性并有一定结构特异性. 自由基能否有效攻击 DNA 不仅取决于分子的化学活性, 也取决于分子的立体结构. 这种直接作用观点主要是基于如下事实: 食入脂肪量影响着癌变发生率. 人类最重要的抗突变、抗癌变防御机制和抗氧化自由基、抗脂质过氧化是一致的. 其中抗氧化剂发挥着重要作用. 化合物如维生素 E, β-胡萝卜素, 谷胱甘肽, 抗坏血酸, 硒, 尿酸, 酚已经被证实有抗突变、抗癌变作用^[1,17,18]. b. 间接作用, 即脂质过氧化诱发与癌变相关的其他过程发生, 从而间接导致癌

变. 这种观点也有多方面的实验证据. 脂质过氧化引起细胞膜的损伤导致具有催化活力的铁离子水平提高, 从而增加细胞内活性氧自由基浓度. 高浓度的活性氧自由基可以和 DNA 相互作用成为细胞癌变的启动因子. 前致癌剂与脂质过氧化产物相互作用生成最终致癌物也得到了实验证实. 花生四烯酸代谢的抑制剂同时对肿瘤发生也有抑制作用提示了另一种脂质过氧化与细胞癌变的有趣关系. 致癌剂十四烷酰佛波醇的乙酸盐可以引发细胞磷脂中花生四烯酸的释放, 磷脂酶 A2, 环氧酶, 脂氧酶的抑制剂降低了由上述致癌剂引发细胞癌变的几率. 这些结果提示花生四烯酸的代谢产物如过氧化花生四烯酸与肿瘤发生有密切关系. 另外的研究表明, 过氧化的亚油酸、花生四烯酸会刺激 DNA 合成, 激发鸟氨酸脱羧酶活性, 从而导致细胞增殖与肿瘤发生^[1,19,20].

当然, 脂质过氧化与癌症的关系是错综复杂的, 它只是致癌因素之一. 目前并无充分证据支持“自由基反应增加”与“防御自由基的保护系统缺陷”是诱发人类癌症的普遍机制的假说. 看来癌症并不是某个机制单一作用的结果.

综上所述, 尽管脂质过氧化导致 DNA 损伤的详细机制仍不明确, 但脂质过氧化可以引起 DNA 损伤的结论已经被证实, 并且已经取得一些有意义的实验结果. 今后将进一步着重研究脂质过氧化过程延伸步骤的基因毒性, 以及如何区分脂质过氧化过程延伸步骤的基因毒性和脂质过氧化终产物的基因毒性.

参 考 文 献

- 1 Vaca C E, Wilhelm J, Ringdahl M H. *Mutat Res*, 1988; **195**: 137
- 2 Nakayama T, Kodama M, Nagata C. *Agric Biol Chem*, 1984; **48**: 571
- 3 Morita J, Ueda K, Nakai K *et al.* *Agric Biol Chem*, 1983; **47**: 2977
- 4 Ueda K, Kobayashi S, Morita J *et al.* *Biochim Biophys Acta*, 1985; **824**: 341
- 5 Akasaka S. *Biochim Biophys Acta*, 1986; **867**: 201
- 6 Nakayama T, Kaneko M, Kodama M *et al.* *Agric Biol Chem*, 1986; **50**: 261

- 7 Hruszkewycz A M. Biochem Biophys Res Commun, 1988; **153**: 191
- 8 Fraga C G, Tappel A L. Biochem J, 1988; **252**: 893
- 9 Inouye S. FEBS Lett, 1984; **172**: 231
- 10 刘晓麒, 曹恩华. 生物物理学报, 1993; **9** (3): 493
- 11 Fujimoto K, Neff W E, Frankel E N. Biochim Biophys Acta, 1984; **795**: 100
- 12 Hruszkewycz A M, Bergtold D S. Mutat Res, 1990; **244**: 123
- 13 Park J W, Floyd R A. Free Rad Biol Med, 1992; **12**: 245
- 14 Reid T M, Loeb L A. Cancer Res, 1992; **52**: 1082
- 15 Wood M L, Dizdaroglu M, Gajewski E *et al.* Biochemistry, 1990; **29**: 7024
- 16 Cheng K C, Cahill D S, Kasai H *et al.* J Biol Chem, 1992; **267**: 166
- 17 Yoshida L S, Miyazawa T, Hatayama I *et al.* Free Raddic Biol Med, 1993; **14**: 191
- 18 Ramesh G, Das U N, Koratkar R *et al.* Nutrition, 1992; **8**: 343
- 19 Hartwig A, Klyschnasko H, Schlepegrell R *et al.* Carcinogenesis, 1993; **14**: 107
- 20 Koizami T, Li Z G, Tatzumoto H. Toxicology Letters, 1992; **63**: 211

细胞凋亡 (Apoptosis) 与癌基因

阎水忠 赵晓航 吴 旻

(中国医学科学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室, 北京 100021)

摘要 细胞凋亡是细胞衰老、死亡过程的主要形式。最近研究发现有多种癌基因与抑癌基因参与细胞凋亡过程。因此目前认为癌基因与抑癌基因不仅控制细胞增殖、分化, 而且调节细胞凋亡。细胞凋亡受阻或缺陷可能是肿瘤发生的基础之一。

关键词 细胞凋亡 (apoptosis), bcl-2 基因, c-myc 基因, p53 基因

细胞凋亡 (apoptosis) 也称为程序性细胞死亡 (programmed cell death), 是细胞衰老、死亡过程的主要形式。与病理情况下的细胞坏死不同, 凋亡的细胞周围没有炎症反应, 并且凋亡过程受细胞内外环境因素的影响。它的主要特点包括: 染色体凝缩、胞浆出现大泡、DNA 断裂成 180—200bp 大小的片段以及形成凋亡小体 (apoptotic body)。目前认为细胞凋亡是体内细胞的一个生理性调节机制, 它参与调节体内细胞的数目 (包括未成熟的原始细胞数目)。最近研究发现某些肿瘤细胞可以通过人为地触发细胞凋亡而被清除, 后来又发现包括许多治疗肿瘤的细胞毒性药物以及 X 射线、 γ 射线照射引起的细胞死亡也是通过细胞凋亡实现的^[1]。因此人们认为某些肿瘤的发生与其细胞凋亡缺陷或受阻有关, 这不仅是肿瘤细胞逃脱细胞数目的生理性控制的基础, 而且也可能成为抵抗机体自然防御与临床治疗的基础。由

此可知了解触发或加快肿瘤细胞凋亡的因素对肿瘤的防治有很重要的意义。

目前研究认为细胞凋亡的触发是一个级联式 (cascade) 基因表达的结果, 有许多基因参与这一过程, 其中包括多种癌基因与抑癌基因。本文就这方面的研究近况作一简介。

1 bcl-2 癌基因的表达抑制细胞凋亡

bcl-2 基因是于 1984 年 Tsujimoto 等从滤泡性淋巴瘤细胞淋巴瘤中分离出来的一种癌基因, 该肿瘤有 14 号染色体与 18 号染色体易位, t (14; 18) (q32; q21)。18 号染色体上的 bcl-2 易位到 14 号染色体上, 与免疫球蛋白重链基因串联形成融合基因, 从而使 bcl-2 基因在 B 细胞内异常表达, 这种异常表达在淋巴瘤中起着重要的作用。1988 年 Vaux 等^[2]将 bcl-

Yuping. (*Institute of Botany, Academia Sinica, Beijing 100093*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21**(3): 207

The proteins which bound with lipid layers were named membrane proteins in biomembrane. Because of the large hydrophobic surface in membrane proteins, and the amphiphilic (hydrophobic and hydrophilic) character, their purification and crystallization are very difficult. Introducing small molecular detergent and small amphiphil into crystallization system of membrane protein, a great progress have been made. So far, a few membrane proteins have been crystallized, among them only the reaction center of *Rhodospseudomonas viridis* and *Rhodospseudomonas sphaeroides* have produced crystals and been analysed with 3 Å resolution. Two-dimensional crystal can be formed in a series of membrane proteins and the information of three-dimensional structure may be obtained by electronmicroscopy and image reconstruction.

Key words membrane proteins, detergent and amphiphil, three-dimensional crystal, image reconstruction

Platelet Activating Factor Receptor and Its Signal Transduction. Lu Xiaoyan. (*The First Teaching Hospital of Beijing Medical University, Beijing 100034*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21**(3): 211

Platelet-activating factor (PAF) is a potent phospholipid mediator. It is widely accepted that PAF effects through the reaction with its specific membrane receptors. PAF membrane receptor cDNA was cloned recently. The present paper reviewed developments on research concerning PAF receptor and its signal transduction.

Key words PAF receptor, signal transduc-

tion, gene expression

Recent Advances on the Functions of the 3'-Untranslated Regions of Eukaryotic mRNA's.

Liu Dinggan. (*Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai 200031*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21**(3): 215

Eukaryotic mRNA 3'-untranslated regions' function are much complicated than it is thought. Recent studies showed that the 3'-untranslated regions determine not only the stability of mRNA, but also time, location and products of translation of the mRNA. It is noteworthy that mutations within 3'-untranslated regions can lead to tumorigenesis.

Key words mRNA, 3'-untranslated region, function

DNA Damage Induced by Lipid Peroxidation.

Liu Xiaoqi, Cao Enhua. (*Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing 100101*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21**(3): 218

Lipid peroxidation may lead to base modification, DNA strand breaks and formation of various fluorescent products in model systems, bacteria and eucaryotic cells, and the selective destruction of the base guanine in DNA. The transient metal ions can intensify the DNA damage obviously. Antioxidants and free radical scavengers have the protective effect of varying degrees for DNA damage induced by lipid peroxidation. 8-Hydroxyguanine, which is strongly implicated in mutagenesis and carcinogenesis, has been observed. The molecular mechanism of mutagenesis and carcinogenesis induced by lipid peroxidation aroused great concerns in the field of free radical biology.

Key words lipid peroxidation, DNA damage,

8-hydroxyguanine. fluorescence products.
lipid. DNA

Apoptosis and Oncogenes. Yan Shuizhong, Zhao Xiaohang, Wu Min. (*National Lab of Molecular Oncology, Cancer Institute Chinese Academy of Medical Sciences (CAMS); Peking Union Medical College (PUMC), Beijing 100021*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (3): 222

Apoptosis, programmed cell death, is a natural form of cell death characterized by active participated of a cell in the process leading to its own decrepit and death. Recently studies suggested that apoptosis is a result from a set of discrete cellular events that are regulated by a cascade gene expression. Oncogenes and tumor suppressor genes are involved in this regulation. Apoptosis is closely related to cancer. Failure and bolckage of apoptosis in tumor cells could therefore be the fundamental importance in contributing not only to the evasion of physiological countrols on cell numbers, but also to the resistance both to natural defenses and to clinical therapy.

Key words apoptosis, bcl-2 gene, c-myc gene, p53 gene

Construction of a Novel Human TNF Expression Plasmid and its High Expression in *E. Coli*. He Xiaolong, Chang Jinli, Cai Wucheng, Yu Hong, Lu Qun, Zhao Shouyuan, Wang Chenghai, Lin Baocheng, Zhu Henian. (*Institute of Genetics, Fudan University, Shanghai 200433*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (3): 225

On the basis of analysis of TNF structure and the relationship between structure and function, a novel TNF coding sequence was synthesized by PCR technique and inserted into an

expression plasmid. By temperature induction the transformed *E. Coli* with the novel TNF expression plasmid produced high yield of novel TNF, whose cytotoxic activity to L929 cell was 10^3 higher than recombinant human TNF.

Key words tumor necrosis factor, polymerase chain reaction, gene mutagenesis

Activation of N-ras Gene is Associated With γ -Radiation-Induced Transformation of Rat Embryo Cells. Chen Changhu, Yao Kaitai, C. C. LING. (*Cancer Research Institute of Hunan Medical University, Changsha 410078*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (3): 228

A cosmid library, constructed from DNA of the γ -radiation-transformed REC: myc cell line, designated REC: myc: Y33, was transfected into NIH/3T3 cells, yielding foci. Another round transfection of DNA from the first round focus into fresh NIH/3T3 cells produced second round foci. An active N-ras gene which originated from rat REC: myc: Y33 cells was detected in the NIH/3T3 secondary transformants. With PCR and direct DNA sequencing techniques, rat N-ras gene was found activated in the REC: myc: Y33 cells by CAA $\rightarrow$ CGA point mutation at codon 61, but not in the REC: myc cells. Also rat N-ras gene was identified as a point mutated gene in the NIH/3T3 transformants, and the endogenous N-ras gene in the NIH/3T3 recipient cells remains normal. What was found to be more interesting is that five out of six γ -radiation transformed REC: myc cell lines bear the same point mutation (CAA $\rightarrow$ CGA) indicating association of γ -radiation-induced transformation with point mutation in the N-ras gene.

Key words γ -radiation, transformation of rat embryo cells, activation of N-ras gene