

文章编号: 0253-2239(2005)05-643-4

# 维生素 C 对紫外线诱发 DNA 损伤的保护作用

周殿凤<sup>1</sup> 柯惟中<sup>1</sup> 籍 康<sup>1</sup> 顾柏平<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 南京师范大学分析测试中心 江苏省光电技术重点实验室, 南京 210097)  
(<sup>2</sup> 南京中医药大学, 南京 210029)

**摘要:** 用拉曼光谱探讨维生素 C 对紫外线诱发 DNA 损伤的保护作用。测量了小牛胸腺 DNA 水溶液及其添加微量维生素 C 并经过 9 min 和 30 min 紫外辐射的拉曼光谱, 紫外线的辐射照度为 18.68 W/m<sup>2</sup>。实验结果表明: 在浓度为 0.2 mmol/L 的维生素 C 存在的条件下, 全波段的紫外辐射对 DNA 只造成了轻微的损伤。DNA 被保护可能是因为紫外辐射虽然产生了对 DNA 损伤很大的自由基, 但维生素 C 具有清除自由基的能力。另外由于 DNA 和维生素 C 在 260 nm 处对紫外线都有很强的吸收能力, 因此也可能是维生素 C 对紫外线的吸收能力强于 DNA, 从而保护了 DNA。

**关键词:** 生物光学; 分子光谱学; DNA 的损伤保护; 拉曼光谱; 维生素 C; 紫外辐射

中图分类号: O657.37 文献标识码: A

## Protective Effect of Vitamin C on Ultraviolet Radiation-Induced DNA Damage

Zhou Dianfeng<sup>1</sup> Ke Weizhong<sup>1</sup> Ji Kang<sup>1</sup> Gu Boping<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Jiangsu Provincial Key Lab for Photoelectric Technology, Analysis and Test Center,  
Nanjing Normal University, Nanjing 210097)  
(<sup>2</sup> Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029)

**Abstract:** The protection effect of vitamin C on ultraviolet radiation-induced DNA damage was discussed. The Raman spectra of the mixture of small amount vitamin C and DNA solution with ultraviolet radiation of 9 min and 30 min were measured. The intensity of ultraviolet radiation is 18.68 W/m<sup>2</sup>. When vitamin C (0.2 mmol/L) was added to DNA solution, ultraviolet radiation only had a slightly influence on the DNA. Though free radicals generated by ultraviolet radiation in the mixture of DNA solution and vitamin C can cause DNA damage, vitamin C has antioxidative property and it can scavenge free radicals and prevent the reaction between DNA and free radicals. In the other way, both vitamin C and DNA have strong absorbancy at 260 nm ultraviolet. Maybe the vitamin C absorbancy of ultraviolet radiation is stronger than DNA's, so DNA was protected.

**Key words:** biological optics; molecular spectroscopy; protective effect on DNA damage; Raman spectra; vitamin C; ultraviolet radiation

## 1 引 言

大气臭氧层的破坏导致到达地面的紫外线(UV)明显增加, 长期过量的紫外线照射(UVR)可引发多种疾病, 尤其表现在皮肤紫外线损伤和皮肤癌的发病率不断增加, 某些抗氧化剂可有效减少紫外线照射所诱发的碱基突变和癌变的发生<sup>[1]</sup>。因此, 寻求高效的活性氧自由基拮抗剂(抗氧化剂)是预防和治疗紫外线

照射损伤的重要手段之一。维生素 C 是人体血浆及组织中的一种主要的水溶性抗氧化剂, 很多文献报导维生素 C 对 DNA 损伤有保护作用<sup>[1~6]</sup>。但维生素 C 能否单独对 DNA 损伤起保护作用, 还是必须通过维生素 E 一起对 DNA 起保护作用, 众说不一<sup>[2~6]</sup>。在 DNA 水溶液中加入微量维生素 C(算出混合液中维生素 C 的浓度为 0.2 mmol/L), 研究了小牛胸腺 DNA

作者简介: 周殿凤(1978~), 女, 江苏宝应人, 南京师范大学硕士生, 主要从事拉曼光谱研究。E-mail: zhoudianfeng@sohu.com

收稿日期: 2004-04-28; 收到修改稿日期: 2004-09-29

水溶液在室温下的拉曼光谱图及其添加微量维生素 C 并经 9 min、30 min 紫外辐射后的拉曼光谱图,经比较、分析,发现维生素 C 能单独对紫外辐射诱发的 DNA 损伤起保护作用。

## 2 实验方案

### 2.1 实验材料

测试用的小牛胸腺 DNA 购自德国 Serva 公司,为白色固体纤维,平时放于冰箱中以 4 °C 保存。测试前将 DNA 用 pH 值为 7.0 的重蒸水配制成 5% 溶液,在冰箱里放置 48 h 以达到充分水合。另外再用 pH 值为 7.0 的重蒸水将  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  配制成 0.045 mol/L 溶液作为内标。将 DNA 水溶液分为两份,向其中一份加微量维生素 C (计算出混合液中维生素 C 的浓度为 0.2 mmol/L) 并放置 1 h 后再进行紫外光照。

### 2.2 实验方法

拉曼散射测试在法国 Jobin Yvon 公司的 HRD2 型双单色仪上进行,仪器扫描及数据接收由电脑联动控制,激光光源为美国 Coherent 公司的 Innova70 型氩离子激光器,激光波长为 514.5 nm。双单色仪狭缝为 500-500-500  $\mu\text{m}$ ,扫描速度 1  $\text{cm}^{-1}/\text{s}$ ,激光出射功率为 200 mW,实验为 90° 方向散射几何装置,室温 15 °C,湿度 75%,先测试 DNA 水溶液的拉曼谱,再将混有维生素 C (0.2 mmol/L) 的同浓度的 DNA 水溶液等分,用消毒紫外灯(主要是波长为 253.7 nm 的紫外光在起作用)对其分别照射 9 min、30 min,用美国 EG&G 公司的 460-1 型数字功率计测出光的辐射照度为 18.68  $\text{W}/\text{m}^2$ ,在同样实验条件下分别测试其激光拉曼谱。每次实验都重复五次以上,然后进行累加、平滑等数据处理,谱图的峰位误差不超过 2  $\text{cm}^{-1}$ 。

## 3 讨 论

紫外线照射前后 DNA 水溶液的拉曼光谱见图 1。其拉曼频移和归属指认见表 1。其中 A, G, C, T 分别代表腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶,在表中按它们对该谱线的贡献大小排列。图 1(b)、图 1(c) 中箭头所指的谱线是 877  $\text{cm}^{-1}$ ,它是维生素 C 的拉曼谱线,不属于 DNA 的。维生素 C 有很多谱线,但在 DNA 水溶液中维生素 C 浓度很低,只看到 877  $\text{cm}^{-1}$  谱线。图谱的内标是  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  的 981  $\text{cm}^{-1}$  (已注在拉曼图谱中),其它谱线的强度都是相对它而言的。

表 1 小牛胸腺 DNA 的拉曼频谱及归属指认

Table 1 Raman spectra of calf thymus DNA and assignments

In aqueous solution	Raman shift / $\text{cm}^{-1}$		Tentative assignments
	Ultraviolet radiation	Ultraviolet radiation	
	9 min	30 min	
678	678	678	T
730	735	728	A
749	750	749	T
787	788	788	T C
			$\gamma(\text{O-P-O})$
828	826	833	$\gamma(\text{O-P-O})$
			B model mark
912	912	911	deoxyribose
921	922	923	deoxyribose
943	945	943	deoxyribose
1017	1017	1017	$\gamma(\text{C-O})$
1057	1057	1055	$\gamma(\text{C-O})$
1094	1092	1092	$\gamma(\text{PO}_2^-)$
1254	1256	1252	C A
1312	1310	1310	G
1343	1343	1343	A
1376	1374	1371	T A G
1423	1424	1423	A G
1457	1456	1454	deoxyribose
1487	1487	1486	G A
1580	1581	1580	G A
1660	1659	1657	$\gamma(\text{C=O})$

$\gamma$ -stretching vibration

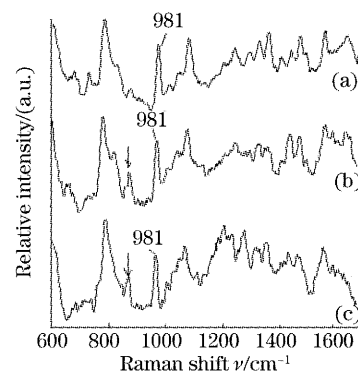


图 1 DNA 拉曼光谱。(a) DNA 水溶液拉曼光谱, (b) DNA 和维生素 C 混合液经 9 min 紫外辐照的拉曼光谱, (c) DNA 和维生素 C 混合液经 30 min 紫外辐照的拉曼光谱

Fig. 1 Raman spectra of DNA. (a) Raman spectra of DNA solution, (b) Raman spectra of the mixture of DNA solution and vitamin C after 9 min ultraviolet radiation, (c) Raman spectra of the mixture of DNA solution and vitamin C after 30 min ultraviolet radiation

### 3.1 紫外辐射对样品的影响

从图 1 中不难看出,加了微量维生素 C 的 DNA 经紫外辐射后几乎没有受到损伤。787  $\text{cm}^{-1}$  谱线是由两个振动模式产生的,其中一个为 DNA 骨架振动<sup>[7]</sup>。实验中 787  $\text{cm}^{-1}$  谱线经紫外辐射后几乎没变,表明 DNA 的构型几乎没变。表征  $\text{PO}_2^-$  对称伸缩振动的 1094  $\text{cm}^{-1}$  谱线会随着 DNA 的构型变化而变化,但在经过 9 min 和 30 min 的紫外辐射后,它的强度几乎没有下降,也说明 DNA 的构型几乎没变。表征 DNA 碱基 A, G, C 和 T 的众多谱线(见表 1 和图 1),除了表征 T, A, G 的 1376  $\text{cm}^{-1}$  和表征 A, G 的 1423  $\text{cm}^{-1}$  的强度下降较明显外,其余谱线不管是强度还是频移都几乎没变,表明碱基仅受到很轻的损伤。表征脱氧核糖的四条谱线(912  $\text{cm}^{-1}$ , 921  $\text{cm}^{-1}$ , 943  $\text{cm}^{-1}$  和 1457  $\text{cm}^{-1}$ )几乎没有发生变化,说明脱氧核糖受到的损伤甚小。我们曾经将相似的小牛胸腺 DNA 样品(仅仅没加维生素 C 而已)进行紫外辐射 9 min 和 20 min,发现 9 min 的紫外辐射严重影响 DNA 的构象,使 DNA 的构型发生变化,嘧啶、嘌呤碱基及脱氧核糖都受到破坏,碱基间的氢键也造成断裂<sup>[8]</sup>。而 20 min 的紫外辐射就对 DNA 造成了全面损伤,已看不到一个有意义的峰<sup>[8]</sup>。文献[9,10]也指出全波段紫外辐射对 DNA 造成了很重的损伤。由此比较,不难得出,维生素 C 在紫外辐射中保护了 DNA,使之免受损伤或只受到很轻的损伤。

### 3.2 维生素 C 保护 DNA 的可能机制

在有氧存在的条件下, DNA 和维生素 C 的混合液经紫外线照射可能产生自由基。自由基能对 DNA 造成很大的损伤,如羟自由基可以结合在鸟嘌呤的 C4, 5, 8 位置形成 8-羟基-7, 8-二羟基鸟嘌呤,并且进一步氧化为 8-羟基鸟嘌呤<sup>[11]</sup>;羟自由基在嘧啶的 C5-C6 的双键上加合可形成 5-羟基-6-基自由基或 6-羟基-5-基自由基,由于羟基的亲电特性,具有高电子密度的嘧啶 C5 位会优先被进攻。碱基自由基又可和 DNA 中糖组分进行进一步反应,造成深层破坏。羟自由基对 DNA 的脱氧核糖和脱氧核糖-磷酸的攻击是通过抽氢或加氢反应生成底物自由基<sup>[11]</sup>,进而进行自由基的次级反应,使 DNA 受到严重损伤。羟自由基可以在脱氧核糖的 1 位或 4 位抽氢,在 1 位抽氢可形成脱氧核糖自由基,然后加 OH 脱去碱基,在 4 位抽氢则是脱去磷酸或将脱氧核糖的呋喃环打开<sup>[11]</sup>,糖环裂解,产生丙二醛类似物,从而造成 DNA 链降解。超氧阴离子自由基可以使 DNA 降解,<sup>1</sup>O<sub>2</sub> 能够氧化碱基,也可能参与 DNA 链的断裂<sup>[6]</sup>。自由

基本身性质活泼,具有强氧化性,极易与 DNA 反应。而维生素 C 具有强还原性,维生素 C 的 C<sub>2</sub> 和 C<sub>3</sub> 上的 OH 极易被氧化,使氧化自由基还原。维生素 C 能有效地捕获单氧、超氧化物、过氧化氢和水溶性过氧化自由基等<sup>[6]</sup>,从而阻断了自由基对 DNA 的损伤,起到保护 DNA 的作用。

在紫外吸收光谱中,维生素 C 在 260 nm 处有一吸收高峰<sup>[13]</sup>。巧合的是, DNA 由于其组成成分嘧啶碱基与嘌呤碱基皆有共轭双键,对波长为 260 nm 的紫外线也有很强的吸收能力。也许没有维生素 C 时,紫外线直接将能量传给 DNA,当能量超过 DNA 的承受能力时便造成它的损伤;有维生素 C 时,维生素 C 对紫外线的吸收可能强于 DNA,从而使 DNA 受到的损伤大大降低。

另外,维生素 C 是保护 DNA 免受损伤还是促使 DNA 受到更重损伤与其浓度有着密切的关系<sup>[1~3]</sup>。文献[1]中指出浓度低于 0.28 mmol/L 的维生素 C 才对 DNA 起保护作用,而浓度较高的维生素 C 却促使 DNA 受到更重损伤,实验中维生素 C 的浓度为 0.2 mmol/L,对 DNA 起了保护作用,这也进一步论证了文献[1]的结论。关于维生素 C 是保护 DNA 免受损伤还是促使 DNA 受到更重损伤与其浓度之间的关系,已做了一系列的实验,并且得到了很有意义的结论,有关这方面的工作,将于另文发表。

## 4 结 论

通过实验证明 0.2 mmol/L 的维生素 C 对紫外线诱发的 DNA 损伤上有保护作用。有两种可能的保护机制,究竟是那种在起作用还有待进一步研究。然而 DNA 作为机体衰亡和肿瘤发生的分子基础,维生素 C 对这种损伤的拮抗作用将为肿瘤的防治提供一条新的道路,针对紫外线这种损伤因素,也为抗衰老、护肤美容等提供一条有效途径。

## 参 考 文 献

- 1 Ma Aiguo, Liu Sichao. Effect of different levels of ascorbic acid on DNA damage[J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2001, 23(1): 12~14 (in Chinese)
- 2 Li Jing, Liu Yang, Sun Hui *et al.* Protective effects of antioxidants on ultraviolet radiation-induced DNA damage[J]. *Chin. J. Public Health*, 2004, 22(2): 177~180 (in Chinese)
- 3 P. Møller, M. Viscovich, J. Lykkesfeldt *et al.* Vitamin C supplementation decreases oxidative DNA damage in mononuclear

- blood cells of smokers[J]. *European J. Nutrition*, 2004, **43**(1): 1~8
- 4 Gadrin Totzke, Christine Metzner, Gudrun Ulrich-Merzenich *et al.*. Effect of vitamin E and vitamin C on the DNA synthesis of human umbilical arterial endothelial cells[J]. *European J. Nutrition*, 2001, **40**(3): 121~126
- 5 Gudrun Ulrich-Merzenich, Christine Metzner, Beate Schiermeyer *et al.*. Vitamin C and vitamin E antagonistically modulate human vascular endothelial and smooth muscle cell DNA synthesis and proliferation[J]. *European J. Nutrition*, 2001, **41**(1): 27~34
- 6 Liu Yingli, Zhang Yanshu, Wang Guangzeng *et al.*. Study of the protective effects of Tea polyphenols combined with vit C or vit E on the DNA damaged of alveolar macrophages of experimental silicosis of rats[J]. *Chin. Occup. Med.*, 2000, **27**(5): 21~22 (in Chinese)
- 刘英莉,张艳淑,王广增等. 茶多酚联合维生素C、维生素E对染尘大鼠肺泡巨噬细胞DNA损伤的保护实验研究[J]. 中国职业医学, 2000, **27**(5): 21~22
- 7 Liu Songhao, Meng Yaoyong. Phtodynamic damages of DNA with HEME probed by Raman spectroscopy[J]. *Acta Optica Sinica*, 2000, **20**(4): 529~531 (in Chinese)
- 刘颂豪,孟耀勇. 血卟啉单甲醚对DNA损伤的拉曼光谱研究[J]. 光学学报, 2000, **20**(4): 529~531
- 8 Zhou Dianfeng, Ke Weizhong. Raman spectroscopic study on the influence of ultraviolet radiation on calf thymus DNA in aqueous solution[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2004, **24**(11): (in Chinese)
- 周殿凤,柯惟中. 紫外辐射对小牛胸腺DNA水溶液影响的拉曼光谱研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2004, **24**(11): 1370~1372
- 9 Ke Weizhong, Yu Duowei, Chen Wanrong *et al.*. Raman spectroscopic study on the influence of heat treatment and ultraviolet radiation on DNA[J]. *Acta Optica Sinica*, 1997, **17**(12): 1684~1685 (in Chinese)
- 柯惟中,余多慰,陈婉容等. 热处理和紫外辐射对DNA影响的拉曼光谱研究[J]. 光学学报, 1997, **17**(12): 1684~1685
- 10 Wang Jiefang, Li Fuguang, Guo Maotian *et al.*. Study on Raman spectra of solid DNA induced by ultraviolet radiation[J]. *Laser J.*, 1999, **20**(6): 12~13 (in Chinese)
- 王杰芳,李富广,郭茂田等. 紫外线诱变固体DNA的拉曼光谱研究[J]. 激光杂志, 1999, **20**(6): 12~13
- 11 Yu Fang. Vitamin C, vitamin E and the stability of DNA[J]. *Sanitation Handbook of Overseas Medicine*, 2002, **29**(3): 141~145 (in Chinese)
- 于芳. 维生素E、维生素C与基因的稳定性[J]. 国外医学卫生学分册, 2002, **29**(3): 141~145
- 12 Zhao Hongxia, Yu Yiming, Zhang Zhiyi. The photosensitive damage of HB and 5-Br-HB to DNA structure[J]. *Chin. Sci. Bulletin*, 1998, **43**(9): 955~960 (in Chinese)
- 赵红霞,许以明,张志义. 竹红菌乙素及其溴代物对DNA结构光敏损伤的Raman光谱[J]. 科学通报, 1998, **43**(9): 955~960
- 13 Li Renqiang. Studies on the stability of effective vitamin C[J]. *J. Guangxi Agricultural University*, 1994, **13**(3): 241~246 (in Chinese)
- 李任强. 有效维生素C的稳定性研究[J]. 广西农业大学学报, 1994, **13**(3): 241~246