

重离子束辐射诱导细胞双链断裂(DSBs)损伤及修复机理的研究进展

任军乐^{1,2} 郭晓鹏³ 雷彩荣^{1,2} 张苗苗^{1,2,4} 柴冉³ 陆栋^{1,2,4}

¹(中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

²(中国科学院大学 北京 100049)

³(兰州理工大学 兰州 730050)

⁴(甘肃省微生物资源开发利用重点实验室 兰州 730070)

摘要 重离子束辐射能引发细胞DNA双链断裂,被认为是构成基因组不稳定因素之一。现有研究表明:同源末端连接、同源重组、单链退火和选择性末端连接在修复DNA双链断裂方面发挥着重要的作用,但是影响DNA双链断裂修复途径选择的因素目前仍不清楚。本文对近年重离子辐射细胞产生的DNA损伤特征和修复途径方面的新发现进行了综述,并从类型和分布、染色质状态、DNA末端结构、DNA末端切除、细胞周期方面解释了细胞DNA双链断裂修复途径的选择机制。这对细胞DNA损伤修复的研究具有重要意义,为重离子辐射技术在生物学效应研究方面提供了参考。

关键词 重离子束辐射, DNA损伤, 簇状DSBs, DNA损伤修复

中图分类号 Q691, TL99

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2022-0081

引用该文:

任军乐, 郭晓鹏, 雷彩荣, 等. 重离子束辐射诱导细胞双链断裂(DSBs)损伤及修复机理的研究进展[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2023, 41(03): 030101. DOI: 10.11889/j.1000-3436.2022-0081.

REN Junle, GUO Xiaopeng, LEI Cairong, *et al.* Progress of research on double-strand break damage induced by heavy-ion beam radiation and repair mechanism[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2023, 41(03): 030101. DOI: 10.11889/j.1000-3436.2022-0081.



Progress of research on double-strand break damage induced by heavy-ion beam radiation and repair mechanism

REN Junle^{1,2} GUO Xiaopeng³ LEI Cairong^{1,2} ZHANG Miaomiao^{1,2,4} CHAI Ran³ LU Dong^{1,2,4}

¹(Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

²(University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

³(Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

基金资助: 本项目由国家自然科学基金项目(11905265和11975284)、甘肃省自然科学基金项目(20JR5RA552)、中国科学院“西部青年学者”(E023211Y)资助

第一作者: 任军乐,男,1996年9月出生,2021年6月毕业于兰州理工大学,现为中国科学院近代物理研究所生物物理学硕士研究生, E-mail: rjl17393128264@163.com

通信作者: 陆栋, 博士生导师, E-mail: ld@impcas.ac.cn

收稿日期: 初稿 2022-08-09; 修回 2023-02-28

Supported by National Natural Science Foundation of China (11905265 and 11975284), the Natural Science Foundation of Gansu Province (20JR5RA552), and the "Western Young Scholars" of the Chinese Academy of Sciences (E023211Y)

First author: REN Junle (male) was born in September 1996, and graduated from Lanzhou University of Technology in June 2021.

Now he is a graduate student at Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, E-mail: rjl17393128264@163.com

Corresponding author: LU Dong, doctoral supervisor, E-mail: ld@impcas.ac.cn

Received 09 August 2022; accepted 28 February 2023

⁴(Key Laboratory of Microbial Resources Development and Utilization of Gansu Province, Lanzhou 730070, China)

ABSTRACT Heavy-ion beam radiation can cause cell DNA double-strand breaks (DSBs), which are factors that lead to genomic instability. Existing studies have demonstrated that homologous end joining, homologous recombination, single-strand annealing, and selective end joining play critical roles in the repair of DNA DSBs. However, the factors that affect the selection of repair pathways for DNA DSBs remain unclear. In this study, recent findings on DNA damage characteristics and repair pathways generated by heavy-ion radiation cells are reviewed, and the selection mechanism of DSB repair pathways in cells is explained in terms of the types and distribution of DNA DSBs, chromatin status, DNA terminal structures, DNA terminal excision, and cell cycles. This review is of great significance for the study of DNA damage repair and provides a reference for investigating the biological effects of heavy-ion radiation technology.

KEYWORDS Heavy-ion beam radiation, DNA damage, Clustered DSBs, DNA damage repair

CLC Q691, TL99

重离子束是一种高能粒子束, 具有较高的生物学效应^[1], 在癌症治疗^[2]、植物育种^[3]、微生物育种^[4]等方面得到了广泛的应用。研究发现, 重离子束照射细胞能产生多种类型的DNA损伤, 包括DNA双链断裂(Double stand break, DSB)、单链断裂(Single stand break, SSB)、碱基损伤和DNA蛋白质交联^[5-6], 与人类多种疾病形成密切相关。其中, DSBs被认为是影响细胞命运的关键DNA损伤, 因为它们在未修复或错误修复时会导致细胞死亡或突变^[7]。

研究发现, 重离子束辐射导致DSBs形成的关键因素可能是LET值^[8]。Aoki-Nakano等^[9]将鸡B淋巴细胞系DT40及其DSBs修复途径缺陷衍生物的细胞暴露于重离子束中, 研究了LET与细胞致死率之间的关系, 发现细胞周期阶段和DSBs修复途径的活性受LET介导的生物学效应影响, 随着LET的增高, DSBs和SSBs断裂会增多, DNA损伤的复杂性增加^[10]。进化上保守的DNA修复途径在修复DSBs以确保基因组完整性和维持基因组稳定性方面发挥着关键作用^[11]。如果这些DNA损伤未得到正确修复, 残留或未修复的DSBs可能会导致遗传物质的丢失和细胞死亡, 尤其是修复DSBs的断裂末端属于非同源性末端时, 可能会导致错误的末端连接和重排事件, 从而导致基因突变、染色体畸变、细胞转化、癌变等毒性事件^[12]。鉴于DNA修复途径在修复DSBs和降低辐射诱导产生的危害方面的重要性, 已有大量针对识别、转导和修复DSBs关键蛋白质的相关研究, 揭示了辐射细胞中复杂的DSBs修复机制^[13]。哺乳动物细胞共有4种可能的DNA修复途径, 包括非同源末端

连接(Non-homologous end joining, NHEJ)、同源重组(Homologous recombination, HR)、单链退火(Single-strand annealing, SSA)和交替末端连接(Alternative end joining, A-EJ)^[14-16]。然而, 越来越多的研究表明, 这4种途径不是修复DNA损伤的同等或替代方法^[17]。事实上, DNA损伤修复途径受一系列因素调节, 如DNA损伤的类型和分布、局部染色质环境、DNA末端切除和细胞周期阶段等都被用来确保细胞选择合适的DNA修复途径^[18]。虽然在研究DSBs修复的主要机制方面已经做了许多工作, 但仍不清楚决定DNA损伤修复途径选择的主要因素。在重离子束辐射诱导的DNA修复途径中发现许多组装蛋白、转录因子和分子伴侣参与其中, 但是目前并没有完整的解释其在修复过程中的作用机理。

本文主要讨论重离子束辐射细胞DNA的损伤形式和影响DNA损伤修复途径选择的主要因素。我们首先描述了细胞DNA的损伤形式特点和主要的DNA修复途径原理, 并对DSBs的关键DNA修复蛋白和修复途径选择的调控机制进行探讨; 然后, 从不同角度总结可能影响重离子束辐射诱导的DSBs修复途径选择的主要因素。这对DNA修复途径和相应选择机制的研究具有重要意义, 为重离子束辐射技术在生物学效应的分子机制研究和生命科学领域的应用提供了参考。

1 重离子束辐射诱导DSBs形成的特点

重离子束辐射会引发更严重的细胞DNA损伤^[19]。高LET辐射会导致大量不同类型的DNA损伤, 具体分为复杂DNA损伤和孤立DNA损伤^[20]。

低LET和高LET辐射引发的DNA损伤有明显的区别：低辐射引发SSB和DSB，高LET辐射导致聚集性的DSBs形成和大量动态染色体畸变，包括染色体重排、染色体断裂、双中心、易位和缺失突变^[19]。复杂DNA损伤也被称为簇状DNA损伤^[21]，由于重离子束会在高度结构化的轨道上沉积能量，从而导致复杂DNA损伤的形成，定义为两个或多个近距离诱发的DNA损伤。其约占DNA总损伤的50%~80%^[22]，包括DNA DSBs和非DSB氧化簇状DNA损伤^[23]。孤立的DNA损伤包括氧化碱基和DNA SSB^[24]。有研究认为，簇状DNA损伤可能会延缓损伤DNA整体修复的速度，因为簇状DNA损伤可能会破坏每种类型DNA损伤的DNA修复蛋白的招募。因此，簇状DNA损伤是高能重离子束辐射诱导DNA损伤最具代表性的标志^[25]。染色体重排的机制，尤其是双着丝粒、易位或大片段缺失的形成机制一直存在广泛的争议。“接触优先”模型的提出很好地阐明了这一点，如图1所示，两条断裂染色体的连接发生在断裂位于近端位置时，如果聚集的DSBs发生在染色体边界，则可能导致染色体间交换，而当两个DSBs在同一条染色体上彼此靠近形成时，染色体间交换会导致缺失^[25]。

人类成纤维细胞在高压硅（54 keV/ μm ）和铁（176 keV/ μm ）离子辐射后，组蛋白H2AX通过双链断裂而激活，表明高LET重离子束辐射细胞会导致沿着粒子轨迹产生大型磷酸化H2AX（ γH2AX ）病灶，是DSBs的一个标记^[26-27]。此外， γH2AX 病灶包含多个较小且定位紧密的病灶，将其命名为聚集 γH2AX 病灶，是DSB簇形成的特征^[28]。而且，在临床接受碳离子束放射治疗的人类肿瘤细胞样本中，发现了这种聚集的电离辐射诱导病灶，在接受X射线放射治疗的肿瘤中却没有观察到这些聚集病灶，是高LET电离辐射的重要标志^[29]。高LET重离子束辐射可导致簇状DSBs的形成，这是重离子束诱导DSBs的一个新特征^[23]。电离辐射通过与DNA的直接相互作用和在DNA附近产生ROS间接损伤DNA^[2]。越来越多的证据表明，与X射线或 γ 射线辐射细胞相比，重离子束照射细胞可引起大量动态染色体畸变，包括染色体重排、染色体断裂、双着丝粒断裂、易位和缺失突变^[19]。当使用相同物理剂量时，高LET重离子束照射后G2/M检查点阻滞的持续时间比X射线照射后的持续时间更长，且高LET重离子束照射诱导的DSB增加了G1细胞中接受末端切除的

DSB数量。此外，以转基因小鼠作为实验材料，比较了碳离子、X射线和 γ 射线引发的突变，发现碳离子束辐射显著增加了肝脏、脾脏和肾脏细胞的DNA缺失突变频率，表明重离子束辐射可诱导器官特异性突变。更为重要的是，通过DNA序列分析表明，碳离子引起的缺失主要是1000个碱基对以上的DNA片段，而 γ 射线引起的缺失少于100个碱基对和碱基替换^[5]。

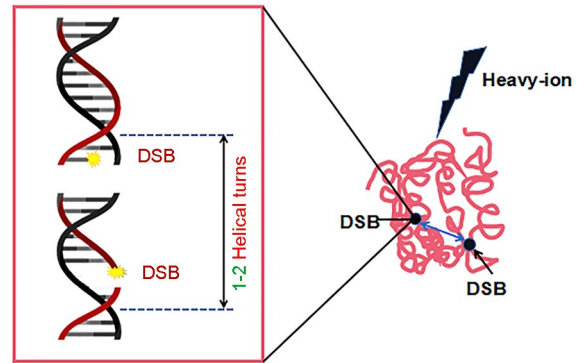


图1 重离子束辐射后DSBs损伤的标志^[25,30]：高LET重离子束辐射后，两条不同染色体之间通过错误重新连接形成染色体重排，并且高LET重离子束辐射导致在有限区域内形成多个DSBs，此外，高LET重离子束辐射可在染色体边界引起多个DSBs

Fig.1 Signs of DSBs damage after heavy particle radiation^[25,30]: the diagram shows that after high LET heavy-ion irradiation, two different chromosomes are wrongly reconnected to form chromosome rearrangements, and high LET heavy-ion radiation leads to the formation of multiple DSBs in a limited area. In addition, high LET heavy-ion radiation can cause multiple DSBs at the chromosome boundary

2 重离子束辐射后DSBs的修复途径

重离子束辐射会带来严重的DNA损伤，其中DSBs被认为对细胞活性最具有威胁性的DNA损伤形式，能引发细胞癌变。单细胞有机体中的单个DSB可能导致细胞死亡^[31]。电离辐射引发的损伤可能的修复途径有4种：NHEJ、HR、SSA和A-EJ^[14-16]。如图2所示，在这些途径中，NHEJ和HR是修复DSBs的两条主要途径，而SSA和A-EJ可以修复NHEJ和HR无法修复的残留DSBs^[25, 30]。

酵母细胞作为一种最简单的单细胞真核模式生物，在重离子束辐射细胞损伤修复机制的解析方面得到了广泛应用。在酵母中，HR通路在DSBs修复中占主导地位^[32]。Matuo等^[32]利用不同LET值的碳离子束辐射野生型和修复基因非活性菌株（Rad52、Rad50），发现Rad50和Rad52菌株的突变率很高，Rad50突变细胞对碳离子束辐射的

敏感性低于Rad52突变细胞。因此，在酵母中HR途径是DSBs修复的主要途径。在人类细胞中，主要通过HR^[30]和NHEJ^[33]来修复DSBs。如图3所示，HR在DNA复制后的S/G2期活跃，而NHEJ在整个细胞周期中发挥作用^[30, 34]。X射线或 γ 辐射诱导的约70%的DSBs在人类细胞中被NHEJ修复^[35]。与X射线或 γ 射线辐射相比，重离子束辐射诱导的DSBs优先由HR修复^[35-36]。此外，染色体畸变现象表明，在G2期过度切除后，HR途径做

不到完全修复，一些DSBs可能通过容易出错的修复途径修复，如SSA或A-EJ途径。然而，由于DNA PKcs抑制剂在高LET重离子束辐射后强烈阻断受照射G1细胞中的DSBs修复，并且聚ADP核糖基聚合酶（PARP）抑制剂引发适度的DSBs修补缺陷，NHEJ途径似乎是高LET重离子照射后修复DSBs的主要途径。因此，为了准确理解高LET重离子束辐射后DSBs修复途径的分子机制，需要进一步分析。

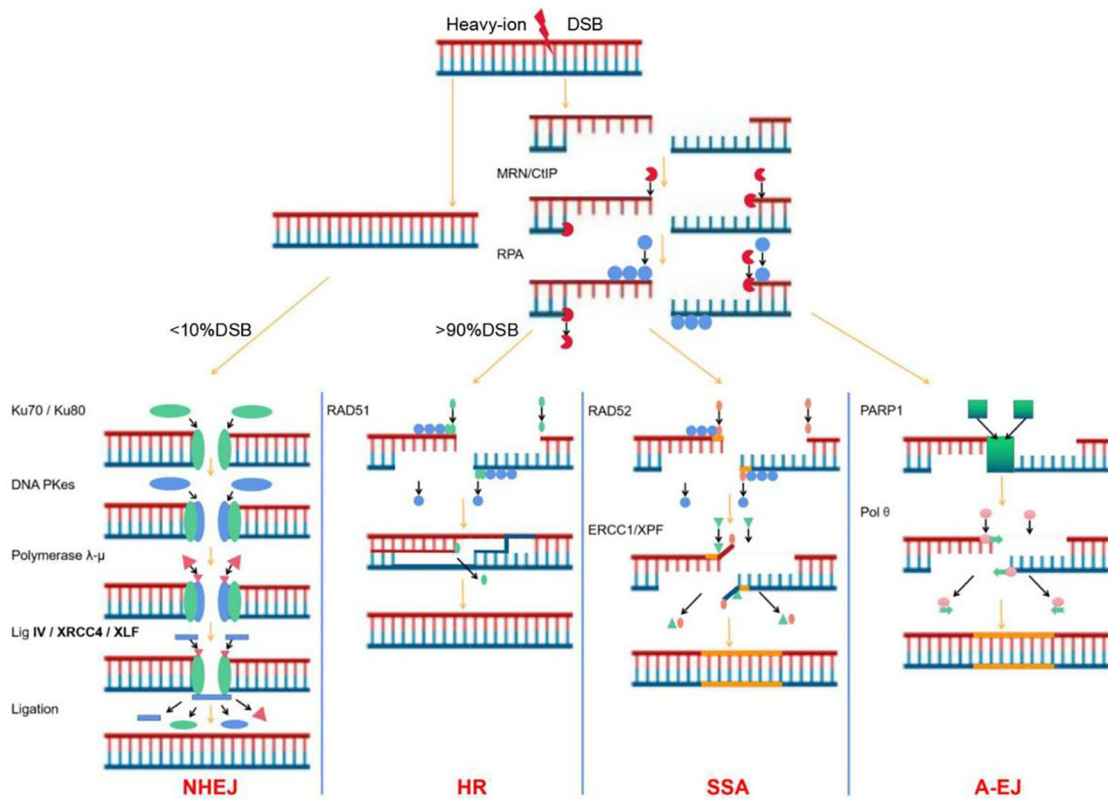


图2 重离子束辐射后DSBs修复途径的模型^[25,30, 34]:高LET重离子束辐射诱导的DSBs中约90%通过切除介导的途径修复，即主要是HR和其他途径，如SSA或A-EJ，约10%的DSBs由NHEJ途径修复。重离子束辐射后会形成复杂的DSBs断裂末端，影响DSBs修复的速度，显示出DSBs修复速度慢于X射线或 γ 射线

Fig.2 Model of DSBs repair pathway after heavy-ion irradiation^[25,30, 34]. About 90% of DSBs induced by high LET heavy-ion radiation are repaired by excision mediated pathway, that is, HR and other pathways, such as SSA or A-EJ, and about 10% of DSBs are repaired by NHEJ pathway. After heavy-ion radiation, complex broken ends of DSBs will be formed, which will affect the repair speed of DSBs. It shows that the repair speed of DSBs is slower than that of X-rays or γ -rays

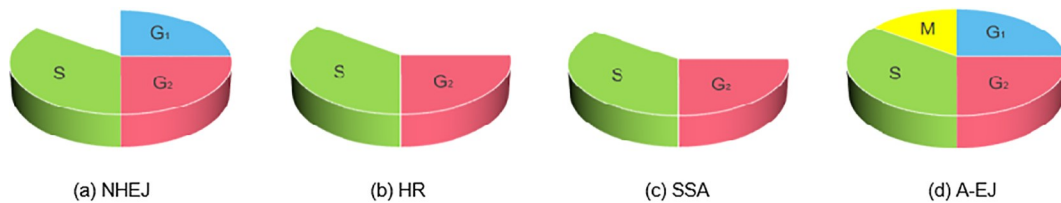


图3 修复途径在细胞间期参与修复^[30,34];辐射诱导的DNA双链断裂的主要修复途径((a)非同源末端连接(NHEJ)、(b)同源重组(HR)、(c)单链退火(SSA)和(d)交替末端连接(A-EJ))在细胞间其发挥着重要作用，并且具有明显的细胞周期依赖性
Fig.3 Pathways were involved in repair during interphase^[30,34]. The major repair pathways for radiation-induced DNA double-strand breaking ((a) non-homologous end joining (NHEJ), (b) homologous recombination (HR), (c) single-strand annealing (SSA), and (d) alternate end joining (A-EJ)), which play important roles between cells and have significant cell cycle dependence

3 DSBs 中 DNA 修复途径选择的决定因素

3.1 DSBs 的类型和分布

DSBs 修复途径的选择可能主要取决于 DSBs 的类型和分布^[37]，因为不同的辐射会导致 DNA 的损伤呈现不同的复杂性，例如，简单的 DSB 损伤和复杂的簇状 DSBs 损伤，这两种损伤可能会触发不同的修复途径。一般来说，低 LET 辐射诱导的 DSBs 主要通过 NHEJ 和 HR 途径修复，而高 LET 辐射产生的 DSBs 则难以修复^[38]。最近的一项研究表明，在高或低 LET 辐射暴露后的 HeLa 细胞 IRIF 中，DSBs 关键修复因子具有不同的空间结构，这表明不同辐射质量形成的 DSBs 可能引发不同的修复途径^[39]。不同辐射质量会导致 DNA 损伤复杂性不同，例如简单的 DSBs 损伤和聚集的 DSBs 损伤，可能触发不同的修复途径。研究发现，Artemis 作为 NHEJ 中的一个关键组装蛋白，参与修复高 LET 辐射诱导的聚集 DSBs，这支持了 NHEJ 在修复高 LET 辐射产生的 DSBs 中具有重要作用^[40]。然而，在另一项研究中发现，高 LET 辐射产生的含有短 DNA 片段的复合 DSBs 可以抑制 NHEJ，导致 NHEJ 主导的 DSBs 修复效率较低^[41]。因此，不同辐射会使得 DSBs 的类型和空间分布呈现多样性，进而影响 DSBs 修复途径的选择。

3.2 染色质状态

染色质状态在 DSBs 修复途径选择中能产生重要影响。研究发现，染色质状态可以改变重离子束辐射产生的 DSBs 的形式，从而影响修复处理的结果，表明染色质状态可能在影响修复途径选择方面发挥重要作用^[42]。在常染色质中，基因组对 DNA 复制和转录具有活性。因此，重离子束辐射在该区域产生的 DSBs 可能通过广泛的 DNA 末端切除来处理^[43]。一些研究还表明，常染色质中重离子束辐射的 DSBs 主要由 NHEJ 和 HR 修复^[44]。与常染色质不同，异染色质区域重离子束辐射的 DSBs 不利于 HR 途径，而更喜欢 A-EJ 途径^[45]。此外，异染色质中辐射诱导的 DSBs 修复动力学明显慢于常染色质^[43]。一些研究发现，在修复异染色质中 DSBs 时，需要增加聚 ADP 核糖聚合酶 (PARP) 和共济失调毛细血管扩张突变蛋白 (ATM) 的水平以及其他组装因子来分解染色质，

表明二者可能促进染色质解聚和重塑，是 DSBs 早期反应信号的一部分，在确定修复途径选择方面具有重要作用^[34, 46]。综上所述，我们推断在不同染色质状态下重离子束辐射可能导致选择不同 DSBs 修复途径。

3.3 DNA 末端结构

DNA 末端结构在重离子束辐射诱导的 DSBs 修复途径选择中发挥着重要作用。DNA 末端结构是决定初始 DSBs 修复途径选择的一个重要因素^[18, 43]。如果 DNA 双链断裂的末端为钝端，异二聚体 Ku70/80 将容易结合到 DNA 末端以保护 DNA 末端结构并促进 NHEJ 途径参与修复。然而，如果 DNA 双链断裂末端含有长的单链 DNA 尾部或单链间隙，由于 Ku70/80 与这种 DNA 末端结构的结合能力弱，不能充分结合，从而引发 PARP 激活，进而导致其他修复途径参与 DSBs 修复。而且，重离子束辐射诱导形成的 DNA 末端或靠近 DNA 末端的簇状 DSBs 可阻碍 Ku70/80 与 DNA 末端的结合，从而限制 NHEJ 途径。从而解释了高 LET 辐射诱导的复杂 DSBs 可以抑制 NHEJ 并促进 HR^[41]。此外，在 Povirk 等^[47]的研究中发现，Artemis 核酸酶可用于处理辐射诱导的这种 DNA 末端结构，从而促进 NHEJ。因此，辐射诱导的 DNA 双链断裂的末端空间结构在决定 DSBs 修复途径选择方面具有重要作用。

3.4 DNA 末端切除

DNA 末端切除影响 DSBs 修复途径的选择。细胞可以通过 DNA 末端切除对 DSBs 进行处理^[30]。DNA 末端切除可以去除 DSBs 末端的异二聚体 Ku70/80，并激活参与 DSBs 修复的替代途径：HR、SSA 和 A-EJ^[30]。表明 DNA 末端切除在决定 DSBs 修复途径选择中起着关键作用。而且，根据 Scully 等^[18]研究发现，染色质环境、DNA 末端切除长度、细胞周期多种因素可以影响 DNA 末端切除过程。

染色质环境通过调节 DNA 末端切除影响 DSBs 修复途径的选择。染色质环境中阻碍 DNA 末端切除的关键组装因子可以使 Ku70/80 保留在 DNA 末端，从而促进 NHEJ^[30]。相反，染色质环境中有助于 DNA 末端切除的因素可以使 Ku70/80 发生位移，

从而激活其他 DSBs 修复途径。例如, 53BP1 在确定 DSBs 修复途径方面起着重要作用^[48]。53BP1 可以被招募到 DSBs 末端, 并在 DSBs 周围形成 IRIF, 使得染色质变得紧密, 从而阻止 DNA 核酸酶进入 DSBs 末端^[49], 并限制 DSBs 末端切除的长度^[50]。最近的研究表明, Shieldin 复合物具有与 53BP1 相似的修复功能, 可以抑制 DNA 末端切除, 将单链 DNA 尾部转化为钝端, 并促进 c-NHEJ^[51]。相反, BRCA2 和 RAD51 作为 53BP1 和 Shieldin 复合物的拮抗剂, 其副作用可以克服 DNA 末端切除, 促进 RAD51 的负荷, 并进一步导致 HR 途径激活。因此, 染色质环境在 DSBs 修复途径选择方面具有重要作用。

DNA 末端切除的长度很可能是影响 DSBs 修复途径选择的主要原因^[52]。切除范围小于 20 bp 被称为“短程切除”, A-EJ 途径将有机会被激活进而参与 DSBs 的修复^[30]。切除范围相对较长, 大约几千 bp 被称为“长距离切除”, 主要通过 HR 途径招募 DNA 链转移酶 RAD51 来修复 DSBs。此外, 切除范围为几十万 bp 时, 也可以选择 SSA 途径通过 RAD52 核丝的侵袭修复残留的 DSBs。如果 DNA 末端是长距离切除, 并且具有微同源重复区, 则可能选择 A-EJ 途径通过 PARP1 的竞争结合进行修复。MRN、CtIP、BRCA1、DNA2、EXO1 和 BLM 作为关键的 DNA 修复蛋白或复合物, 参与调节 DNA 末端切除长度, 对于控制 DSBs 修复途径的选择非常重要^[17]。抑制上述任何因子都可以抑制 HR 和 SSA 修复 DSBs, 但 NHEJ 途径仍正常工作^[18]。

3.5 细胞周期

细胞周期可以通过调节 DNA 末端切除影响 DSBs 修复途径的选择。研究发现, 重离子束辐射诱导增加了 G1 期细胞中 DSBs 末端切除的数量^[53]。在 X 射线或 γ 射线照射后, 约 15% 的 DSBs 被切除; 然而, 由于 G1 期细胞的切除长度比 G2 期细胞的切除长度短得多, 因此这些事件未被发现^[36]。相比之下, 重离子束辐射会导致更积极的切除, 从而发现 G1 期细胞也具有末端切除现象^[36]。DSBs 可以有效地激活 DNA 末端进行切除。因此, 大约 85% 的复杂 DSBs 在 DNA 修复过程中被切除。在 G2 期细胞中观察到染色体畸变的 LET 依赖性增

加, 重离子束辐射后 HR 使用的频率存在一些差异^[36]。然而, HR 是一种无错误的修复途径, 如果由 HR 精确修复 DSBs, 则不应观察到染色体畸变。因此, 染色体畸变数据表明, 在 G2 过度切除后, 一些 DSBs 可能通过易出错的修复途径进行修复, 如 SSA 或 A-EJ^[54-55]。

细胞周期各个阶段在 DSBs 修复途径的选择中具有重要作用^[56]。M 期除外, NHEJ 途径可以在细胞周期的所有阶段修复 DSBs; A-EJ 途径在整个细胞周期中具有活性, 并且在 G2 期具有最大活性, 参与 DSBs 修复。同时, HR 和 SSA 途径主要在 S 和 G2 期间参与 DSBs 修复。这些依赖性的主要原因是, 当细胞进入 S 期和 G2 期时, CDK 活性会显著增加。CDK 活性可以通过磷酸化激活 DNA 修复蛋白, 从而进行 DNA 末端切除^[57]。实验证据表明, 重离子束辐射导致细胞周期停滞在 G1/S 或 G2/M^[58-60], 产生细胞周期阻滞现象。细胞周期阻滞不仅为 DNA 修复提供了充足的时间, 而且还改变了 CDK 活性, CDK 活性可以调节 DNA 末端切除的过程。因此, 细胞周期可以通过影响 CDK 活性, 进而调控 DNA 末端切除, 从而决定 DSBs 修复途径的选择^[30]。

4 结论与展望

重离子束作为辐射生物学效应研究的重要辐射源, 能够提供更多的辐射参数和表型研究素材。研究表明: 生命体对辐射损伤的应激和修复是非随机的, 且由于特定的化学结构, DNA 和蛋白质等生物大分子对高 LET 重离子束的辐射表现出特殊的损伤敏感性。以此为基础开展重离子束辐射生物学效应的定点和定向研究, 将极大地推动重离子束辐射诱导生物学效应的分子机制研究以及重离子束辐射技术在生命科学中的应用。本文基于对高 LET 重离子束辐射处理后的细胞 DNA 损伤形式、修复损伤 DNA 的途径以及影响修复途径选择的决定因素的最新研究进展, 总结和讨论了高 LET 电离辐射产生的 DNA 损伤特点和损伤修复途径的种类以及修复途径选择的影响因素。研究表明, 重离子束辐射能够形成簇状 DSBs 损伤, 是重离子束辐射诱导 DSBs 的一个重要特征, 并且发现双链断裂的类型和分布、染色质状态、DNA 末端结构、DNA 末端切除和细胞周期对于 DNA 损伤途

径的选择起到决定作用。

重离子束辐射技术未来研究还存在一系列挑战：(1) 现有研究结果仍然没有清楚解释DNA损伤的形成机制；(2) NHEJ和HR对修复高LET辐射产生的簇状DNA损伤的贡献仍然不太清楚；(3) SSA和A-EJ这两条途径对高LET和低LET辐射的损伤修复详细过程目前没有得到科学的解释；(4) 对重离子束辐射诱导的DSBs修复途径选择的决定因素的理解仍然有限，并且仍然不清楚影响DNA修复途径选择的主要因素。今后可以通过设计多重位点损伤的方法，探讨DNA损伤修复机制，来进一步深入重离子束辐射领域的研究。

作者贡献声明 任军乐、郭晓鹏、陆栋是本综述文献收集的执行人，完成文献分析，论文初稿的写作；雷彩荣、张苗苗、柴冉参与综述设计和文献归纳，以及文献资料的讨论；任军乐、陆栋是项目的构思者及负责人；陆栋、郭晓鹏指导综述的撰写与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

参考文献

- 1 缪建顺, 杨建设, 张苗苗, 等. 重离子辐照微生物效应及诱变育种进展[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2014, 32(2): 3-10.
MIAO Jianshun, YANG Jianshe, ZHANG Miaomiao, *et al.* Microbial mutagenic effects and mutation breeding advances induced by heavy ion beams[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2014, 32(2): 3-10.
- 2 Durante M, Orecchia R, Loeffler J S. Charged-particle therapy in cancer: clinical uses and future perspectives[J]. NatureReviewsClinicalOncology, 2017, 14(8): 483-495. DOI: 10.1038/nrclinonc.2017.30.
- 3 Zhang X, Yang F, Ma H Y, *et al.* Evaluation of the saline-alkaline tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) mutants induced by heavy-ion beam mutagenesis[J]. Biology, 2022, 11(1): 126. DOI: 10.3390/biology11010126.
- 4 汶瑛, 于雪, 吴玉洁, 等. 重离子诱变微生物育种的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2021, 41(6): 66-74. DOI: 10.3969/j.issn.1005-7021.2021.06.009.
WEN Ying, YU Xue, WU Yujie, *et al.* Advanced in microbial breeding by heavy ion mutation[J]. Journal of Microbiology, 2021, 41(6): 66-74. DOI: 10.3969/j.issn.1005-7021.2021.06.009.
- 5 Ritter S, Durante M. Heavy-ion induced chromosomal aberrations: a review[J]. Mutation Research, 2010, 701(1): 38-46. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2010.04.007.
- 6 Pompos A, Foote R L, Koong A C, *et al.* National effort to re-establish heavy ion cancer therapy in the United States[J]. Front Oncol, 2022, 12: 880712. DOI: 10.3389/fonc.2022.880712.
- 7 Nikjoo H, O'Neill P, Wilson W E, *et al.* Computational approach for determining the spectrum of DNA damage induced by ionizing radiation[J]. Radiation Research, 2001, 156(5 Pt 2): 577-583. DOI: 10.1667/0033-7587(2001)156[0577:cafdts]2.0.co;2.
- 8 Friedland W, Schmitt E, Kunderát P, *et al.* Comprehensive track-structure based evaluation of DNA damage by light ions from radiotherapy-relevant energies down to stopping[J]. ScientificReports, 2017, 7: 45161. DOI: 10.1038/srep45161.
- 9 Aoki-Nakano M, Furusawa Y. Misrepair of DNA double-strand breaks after exposure to heavy-ion beams causes a peak in the LET-RBE relationship with respect to cell killing in DT40 cells[J]. Journal of Radiation Research, 2013, 54(6): 1029-1035. DOI: 10.1093/jrr/trt064.
- 10 Lampe N, Karamitros M, Breton V, *et al.* Mechanistic DNA damage simulations in Geant4-DNA Part 2: electron and proton damage in a bacterial cell[J]. Physica Medica: PM: an International Journal Devoted to the Applications of Physics to Medicine and Biology: Official Journal of the Italian Association of Biomedical Physics (AIFB), 2018, 48: 146-155. DOI: 10.1016/j.ejmp.2017.12.008.
- 11 Taylor E M, Lehmann A R. Conservation of eukaryotic DNA repair mechanisms[J]. International Journal of Radiation Biology, 1998, 74(3): 277-286. DOI: 10.1080/095530098141429.
- 12 Hoeijmakers J H J. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer[J]. Nature, 2001, 411(6835): 366-374. DOI: 10.1038/35077232.
- 13 Santivasi W L, Xia F. Ionizing radiation-induced DNA damage, response, and repair[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2014, 21(2): 251-259. DOI: 10.1089/ars.2013.5668.
- 14 Schipler A, Iliakis G. DNA double-strand-break complexity levels and their possible contributions to the probability for error-prone processing and repair pathway choice[J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41(16): 7589-

7605. DOI: 10.1093/nar/gkt556.
- 15 Mladenov E, Magin S, Soni A, *et al.* DNA double-strand-break repair in higher eukaryotes and its role in genomic instability and cancer: cell cycle and proliferation-dependent regulation[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2016, **37/38**: 51-64. DOI: 10.1016/j.semcancer.2016.03.003.
 - 16 Burma S, Chen B P C, Chen D J. Role of non-homologous end joining (NHEJ) in maintaining genomic integrity[J]. *DNA Repair*, 2006, **5(9/10)**: 1042-1048. DOI: 10.1016/j.dnarep.2006.05.026.
 - 17 Iliakis G, Mladenov E, Mladenova V. Necessities in the processing of DNA double strand breaks and their effects on genomic instability and cancer[J]. *Cancers*, 2019, **11** (11): 1671. DOI: 10.3390/cancers11111671.
 - 18 Scully R, Panday A, Elango R, *et al.* DNA double-strand break repair-pathway choice in somatic mammalian cells [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2019, **20** (11): 698-714. DOI: 10.1038/s41580-019-0152-0.
 - 19 Masumura K I, Kuniya K, Kurobe T, *et al.* Heavy-ion-induced mutations in the gpt delta transgenic mouse: comparison of mutation spectra induced by heavy-ion, X-ray, and gamma-ray radiation[J]. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2002, **40(3)**: 207-215. DOI: 10.1002/em.10108.
 - 20 Yatagai F. Mutations induced by heavy charged particles [J]. *Biological Sciences in Space*, 2004, **18(4)**: 224-234. DOI: 10.2187/bss.18.224.
 - 21 Gollapalle E, Wang R, Adetolu R, *et al.* Detection of oxidative clustered DNA lesions in X-irradiated mouse skin tissues and human MCF-7 breast cancer cells[J]. *Radiation Research*, 2007, **167(2)**: 207-216. DOI: 10.1667/rr0659.1.
 - 22 Carter R J, Nickson C M, Thompson J M, *et al.* Complex DNA damage induced by high linear energy transfer alpha-particles and protons triggers a specific cellular DNA damage response[J]. *International Journal of Radiation Oncology*Biological*Physics*, 2018, **100(3)**: 776-784. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2017.11.012.
 - 23 Sutherland B M, Bennett P V, Sutherland J C, *et al.* Clustered DNA damages induced by xrays in human cells [J]. *Radiation Research*, 2002, **157(6)**: 611-616. DOI: 10.1667/0033-7587(2002)157[0611:cddibx]2.0.co;2.
 - 24 Asaithamby A, Hu B R, Chen D J. Unrepaired clustered DNA lesions induce chromosome breakage in human cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, **108(20)**: 8293-8298. DOI: 10.1073/pnas.1016045108.
 - 25 Hagiwara Y, Oike T, Niimi A, *et al.* Clustered DNA double-strand break formation and the repair pathway following heavy-ion irradiation[J]. *Journal of Radiation Research*, 2019, **60(1)**: 69-79. DOI: 10.1093/jrr/rry096.
 - 26 Soutoglou E, Dorn J F, Sengupta K, *et al.* Positional stability of single double-strand breaks in mammalian cells[J]. *Nature Cell Biology*, 2007, **9(6)**: 675-682. DOI: 10.1038/ncb1591.
 - 27 Desai N, Davis E, O'Neill P, *et al.* Immunofluorescence detection of clustered gamma-H2AX foci induced by HZE-particle radiation[J]. *Radiation Research*, 2005, **164** (4 Pt 2): 518-522. DOI: 10.1667/rr3431.1.
 - 28 Nakajima N I, Brunton H, Watanabe R, *et al.* Visualisation of γ H2AX foci caused by heavy ion particle traversal; distinction between core track versus non-track damage[J]. *PLoS One*, 2013, **8(8)**: e70107. DOI: 10.1371/journal.pone.0070107.
 - 29 Oike T, Niimi A, Okonogi N, *et al.* Visualization of complex DNA double-strand breaks in a tumor treated with carbon ion radiotherapy[J]. *Scientific Reports*, 2016, **6**: 22275. DOI: 10.1038/srep22275.
 - 30 Zhao L, Bao C, Shang Y, *et al.* The determinant of DNA repair pathway choices in ionising radiation-induced DNA double-strand breaks[J]. *BioMed Research International*, 2020, **2020**: 4834965. DOI: 10.1155/2020/4834965.
 - 31 Lee S E, Moore J K, Holmes A, *et al.* *Saccharomyces* Ku70, mre11/rad50 and RPA proteins regulate adaptation to G2/M arrest after DNA damage[J]. *Cell*, 1998, **94(3)**: 399-409. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81482-8.
 - 32 Matuo Y, Izumi Y, Furusawa Y, *et al.* Biological effects of carbon ion beams with various LETs on budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2018, **810**: 45-51. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2017.10.003.
 - 33 Guo X P, Zhang M M, Gao Y, *et al.* Repair characteristics and time-dependent effects in response to heavy-ion beam irradiation in *Saccharomyces cerevisiae*: a comparison with X-ray irradiation[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, **104(9)**: 4043-4057. DOI: 10.1007/s00253-020-10464-8.
 - 34 Bhargava R, Onyango D O, Stark J M. Regulation of single-strand annealing and its role in genome maintenance[J]. *Trends in Genetics: TIG*, 2016, **32(9)**:

- 566-575. DOI: 10.1016/j.tig.2016.06.007.
- 35 Shibata A, Conrad S, Birraux J, *et al.* Factors determining DNA double-strand break repair pathway choice in G2 phase[J]. *The EMBO Journal*, 2011, **30**(6): 1079-1092. DOI: 10.1038/emboj.2011.27.
- 36 Yajima H, Fujisawa H, Nakajima N I, *et al.* The complexity of DNA double strand breaks is a critical factor enhancing end-resection[J]. *DNA Repair*, 2013, **12**(11): 936-946. DOI: 10.1016/j.dnarep.2013.08.009.
- 37 Sridharan D M, Asaithamby A, Bailey S M, *et al.* Understanding cancer development processes after HZE-particle exposure: roles of ROS, DNA damage repair and inflammation[J]. *Radiation Research*, 2015, **183**(1): 1-26. DOI: 10.1667/RR13804.1.
- 38 Shrivastav M, De Haro L P, Nickoloff J A. Regulation of DNA double-strand break repair pathway choice[J]. *Cell Research*, 2008, **18**(1): 134-147. DOI: 10.1038/cr.2007.111.
- 39 Reindl J, Girst S, Walsh D W M, *et al.* Chromatin organization revealed by nanostructure of irradiation induced γ H2AX, 53BP1 and Rad51 foci[J]. *Scientific Reports*, 2017, **7**: 40616. DOI: 10.1038/srep40616.
- 40 Sridharan D M, Whalen M K, Almendrala D, *et al.* Increased Artemis levels confer radioresistance to both high and low LET radiation exposures[J]. *Radiation Oncology (London, England)*, 2012, **7**: 96. DOI: 10.1186/1748-717X-7-96.
- 41 Wang H, Wang X, Zhang P, *et al.* The Ku-dependent non-homologous end-joining but not other repair pathway is inhibited by high linear energy transfer ionizing radiation [J]. *DNA Repair*, 2008, **7**(5): 725-733. DOI: 10.1016/j.dnarep.2008.01.010.
- 42 Kalousi A, Soutoglou E. Nuclear compartmentalization of DNA repair[J]. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2016, **37**: 148-157. DOI: 10.1016/j.gde.2016.05.013.
- 43 Krenning L, van den Berg J, Medema R H. Life or death after a break: what determines the choice?[J]. *Molecular Cell*, 2019, **76**(2): 346-358. DOI: 10.1016/j.molcel.2019.08.023.
- 44 Aymard F, Aguirrebengoa M, Guillou E, *et al.* Genome-wide mapping of long-range contacts unveils clustering of DNA double-strand breaks at damaged active genes[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2017, **24**(4): 353-361. DOI: 10.1038/nsmb.3387.
- 45 Lemaître C, Grabarz A, Tsouroula K, *et al.* Nuclear position dictates DNA repair pathway choice[J]. *Genes & Development*, 2014, **28**(22): 2450-2463. DOI: 10.1101/gad.248369.114.
- 46 Goodarzi A A, Noon A T, Deckbar D, *et al.* ATM signaling facilitates repair of DNA double-strand breaks associated with heterochromatin[J]. *Molecular Cell*, 2008, **31**(2): 167-177. DOI: 10.1016/j.molcel.2008.05.017.
- 47 Povirk L F, Zhou T, Zhou R Z, *et al.* Processing of 3'-phosphoglycolate-terminated DNA double strand breaks by Artemis nuclease[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, **282**(6): 3547-3558. DOI: 10.1074/jbc.m607745200.
- 48 Panier S, Boulton S J. Double-strand break repair: 53BP1 comes into focus[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2014, **15**(1): 7-18. DOI: 10.1038/nrm3719.
- 49 Bártová E, Legartová S, Dundr M, *et al.* A role of the 53BP1 protein in genome protection: structural and functional characteristics of 53BP1-dependent DNA repair[J]. *Aging*, 2019, **11**(8): 2488-2511. DOI: 10.18632/aging.101917.
- 50 Chapman J R, Sossick A J, Boulton S J, *et al.* BRCA1-associated exclusion of 53BP1 from DNA damage sites underlies temporal control of DNA repair[J]. *Journal of Cell Science*, 2012, **125**(Pt 15): 3529-3534. DOI: 10.1242/jcs.105353.
- 51 Gupta R, Somyajit K, Narita T, *et al.* DNA repair network analysis reveals shieldin as a key regulator of NHEJ and PARP inhibitor sensitivity[J]. *Cell*, 2018, **173**(4): 972-988.e23. DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.050.
- 52 Schwarz B, Friedl A A, Girst S, *et al.* Nanoscopic analysis of 53BP1, BRCA1 and Rad51 reveals new insights in temporal progression of DNA-repair and pathway choice[J]. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2019, **816**: 111675. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2019.111675.
- 53 Averbek N B, Ringel O, Herrlitz M, *et al.* DNA end resection is needed for the repair of complex lesions in G1-phase human cells[J]. *Cell Cycle (Georgetown, Tex)*, 2014, **13**(16): 2509-2516. DOI: 10.4161/15384101.2015.941743.
- 54 Wu W, Wang M, Wu W, *et al.* Repair of radiation induced DNA double strand breaks by backup NHEJ is enhanced in G2[J]. *DNA Repair*, 2008, **7**(2): 329-338. DOI: 10.1016/j.dnarep.2007.11.008.
- 55 Wang M L, Wu W Z, Wu W Q, *et al.* PARP-1 and Ku

- compete for repair of DNA double strand breaks by distinct NHEJ pathways[J]. *Nucleic Acids Research*, 2006, **34**(21): 6170-6182. DOI: 10.1093/nar/gkl840.
- 56 Hustedt N, Durocher D. The control of DNA repair by the cell cycle[J]. *Nature Cell Biology*, 2017, **19**(1): 1-9. DOI: 10.1038/ncb3452.
- 57 Aylon Y, Liefshitz B, Kupiec M. The CDK regulates repair of double-strand breaks by homologous recombination during the cell cycle[J]. *The EMBO Journal*, 2004, **23**(24): 4868-4875. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600469.
- 58 Huertas P, Cortés-Ledesma F, Sartori A A, *et al.* CDK targets Sae2 to control DNA-end resection and homologous recombination[J]. *Nature*, 2008, **455**(7213): 689-692. DOI: 10.1038/nature07215.
- 59 Tomimatsu N, Mukherjee B, Catherine Hardebeck M, *et al.* Phosphorylation of EXO1 by CDKs 1 and 2 regulates DNA end resection and repair pathway choice[J]. *Nature Communications*, 2014, **5**: 3561. DOI: 10.1038/ncomms4561.
- 60 Weimer A K, Biedermann S, Schnittger A. Specialization of CDK regulation under DNA damage[J]. *Cell Cycle (Georgetown, Tex)*, 2017, **16**(2): 143-144. DOI: 10.1080/15384101.2016.1235852.