



028 电离辐射诱导 p34<sup>cdc2</sup>酪氨酸快速磷酸化[英]/Kharbanda S ... // *Cancer Res.* -1994, 54. -1412~1414

细胞进入有丝分裂需要一种 p34<sup>cdc2</sup>即分子量为 34 000 的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的调节。研究者用 <sup>137</sup>Cs 放射源,剂量率为 79.5cGy/min 照射 HL-60 细胞。通过免疫印迹和免疫沉淀法检测 p34<sup>cdc2</sup>的磷酸化作用。结果表明,用抗 p-Tyr 抗体(抗磷酸化酪氨酸抗体)进行免疫印迹分析,分子量 Mr 34 000 的蛋白质反应性在 200cGy 照射后 1 分钟升高,照后 5 和 10 分钟结果也相似,而 15 分钟的反应性则降低。滤膜冲洗后,再用抗 p34<sup>cdc2</sup>抗体检测发现,抗 p-Tyr 抗体和抗 p34<sup>cdc2</sup>抗体的信号是重叠的。此外,发现照后不同时间 p34<sup>cdc2</sup>蛋白水平变化很小。50~500cGy 照后 5 分钟, p34<sup>cdc2</sup>蛋白水平变化也很小。抗 p-Tyr、抗 p34<sup>cdc2</sup>抗体获得的信号也是重叠的,说明照后 p34<sup>cdc2</sup>可能在酪氨酸上经历磷酸化。

为进一步确定照后细胞磷酸化蛋白的特性,细胞提取物用抗 p34<sup>cdc2</sup>抗体进行免疫沉淀。然后,免疫沉淀物通过抗 p-Tyr 抗体免疫印迹测定。结果表明,照射细胞 p34<sup>cdc2</sup>信号比对照组增强。这一结果进一步支持了 p34<sup>cdc2</sup>酪氨酸磷酸化水平增加。

p34<sup>cdc2</sup>的酪氨酸磷酸化增加可阻止细胞进入 M 期。在酵母, p34<sup>cdc2</sup>/CyclinB 复合体通过 weel 基因产物使酪氨酸(Tyr15)磷酸化而失活。p34<sup>cdc2</sup>的激活和进入有丝分裂需要通过 cdc25 基因产物对 p34<sup>cdc2</sup>上酪氨酸(Tyr15)脱磷酸化。还有研究表明,CHO(中国仓鼠卵细胞)经 8Gy 照射后, p34<sup>cdc2</sup>激酶活性下降。这些结果提示, p34<sup>cdc2</sup>的失活是 DNA 损伤的早期反应之一。最近研究表明,照射带有 weel 基因缺陷或缺失型酵母,细胞仍存在细胞周期阻滞。这说明哺乳动物细胞在 DNA 损伤的反应过程中酪氨酸激酶可能被激活,而不是 weel 基因被激活。

(田生礼摘 刘 及校)

029 <sup>60</sup>Co照射培养人上皮组织中 p53 蛋白水平和 c-myc 表达[英]/Mothersill C ... // *Radiat Res.* -1994, 137. -317~322

采用原代外植培养技术对肿瘤病人食管粘膜组织和尿道重建术病人尿道上皮组织进行培养。将标

本去脂肪和结缔组织,剪碎,用胰蛋白酶、胶原酶消化。取适宜组织块放于 RPMI1640 培养液中,<sup>60</sup>Co 照射后,再用甲醛液固定,用鼠抗人 c-myc 和 p53-240 抗体检测 p53 蛋白和 c-myc 表达水平。结果表明,经 5Gy 照射 2 周后,食管培养组织比尿道上皮组织细胞增殖快。对照组织 Ki67 表达主要在尿道上皮培养物的边缘,受照射组织中 Ki67 蛋白在整个组织上均可检出,特别是在非老化的组织内和没有接触抑制的细胞中。在肿瘤病人食管组织中到处可见 Ki67 阳性细胞,且在照射后阳性细胞数增加更多。从 c-myc 表达和集落数形成看,5Gy 照射两周后,在此二种组织的边缘成灶数增加,食管粘膜细胞增加 3.6 倍,尿道上皮细胞增加 6 倍。

稳定的 p53 表达既与生长之间无联系,也未显示与集落形成之间的关系。但带瘤病人正常组织和无瘤病人的尿道上皮组织之间却有明显不同。取自带瘤病人的对照组织, p53-240 阳性细胞百分比高,而辐射却降低了这些培养物中阳性细胞的百分比。总的来说,在对照尿道上皮培养物中 p53-240 为阴性,而阳性数少。

培养物边缘常常可见 p53-240 染色阳性细胞。边缘组织中单个细胞浓染是照射培养物的特点,且这些细胞也可被 c-myc 浓染。从照射后生存的 p53-240 抗体阳性细胞总数看,照射与癌蛋白表达有密切关系。研究表明,照射可刺激 c-myc 表达,引起突变型 p53 的增加,导致癌变。

(冯彪摘 刘 及审)

030 快中子与 <sup>60</sup>Co $\gamma$  射线诱发人外周血淋巴细胞的微核效应[英]/Vral A ... // *Int J Radiat Biol.* -1994, 65(3). -321~328

为比较快中子与  $\gamma$  射线的辐射损伤效应及其修复过程,用胞质分裂阻断微核分析法,对照射人体外周血淋巴细胞诱发的微核剂量-效应关系进行了比较研究。

方法:取 28~55 岁 6 名健康献血者的静脉血进行照射。<sup>60</sup>Co $\gamma$  射线剂量率为 0.15Gy/min,剂量范围为 0.1~5.0Gy,照射时间间隔为 30 分钟~10 小时不等。快中子照射剂量率为 0.20Gy/min,剂量范围为 0.1~3.0Gy,照射时间间隔为 30 分钟~7 小时不等。照射后培养,培养开始加 PHA (5 $\mu$ g/ml),于 42 小时加细胞松弛素 B (3.5 $\mu$ g/ml),经过 70 小时培养,收获,显微镜下观察 1 000 个双核细胞。微核分布使用标