



028 电离辐射诱导 p34^{cdc2}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^{cdc2}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 ¹³⁷Cs 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^{cdc2}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^{cdc2}抗体检测发现,抗 p-Tyr 抗体和抗 p34^{cdc2}抗体的信号是重叠的。此外,发现照后不同时间 p34^{cdc2}蛋白水平变化很小。50~500cGy 照后 5 分钟, p34^{cdc2}蛋白水平变化也很小。抗 p-Tyr、抗 p34^{cdc2}抗体获得的信号也是重叠的,说明照后 p34^{cdc2}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^{cdc2}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^{cdc2}信号比对照组增强。这一结果进一步支持了 p34^{cdc2}酪氨酸磷酸化水平增加。

p34^{cdc2}的酪氨酸磷酸化增加可阻止细胞进入 M 期。在酵母, p34^{cdc2}/CyclinB 复合体通过 weel 基因产物使酪氨酸(Tyr15)磷酸化而失活。p34^{cdc2}的激活和进入有丝分裂需要通过 cdc25 基因产物对 p34^{cdc2}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^{cdc2}激酶活性下降。这些结果提示, p34^{cdc2}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 ⁶⁰Co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,⁶⁰Co 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 ⁶⁰Co γ 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 γ 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。⁶⁰Co γ 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 μ g/ml),于 42 小时加细胞松弛素 B (3.5 μ 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

准 U 检验法检测,根据 Poisson 儿率对结果进行分析。

结果:两种照射源引起的变化无显著的个体差异,微核产额均随剂量增加而增长,然而快中子诱发的淋巴细胞微核率较 γ 射线高。就以 Poisson 分布而言,均呈高度分散状态。还发现快中子的照射剂量与淋巴细胞微核率呈线性依赖关系,而 γ 射线照射却未见这种依赖关系。

比较剂量为 4Gy γ 射线及 3Gy 快中子照射的淋巴细胞修复过程。结果表明, γ 射线照射后,淋巴细胞微核率显著降低(30%±10%),而快中子却未见降低,提示后者是不可弥补的损伤。

(李海玉摘 萧佩新校)

031 可见光照射 N-甲基-N'-硝基-亚硝基胍在无 H₂O₂ 下产生的羟基自由基[英]/Mikuni T... // Radiat Res. -1994,138(3)-320~325

为检验 MNNG (N-甲基-N'-硝基-亚硝基胍)的致癌机制与产生的自由基有关,通过电子自旋共振(ESR)的方法,用自旋捕集剂 5,5-二甲基-1-吡咯啉-1-氧化物(DMPO)对 MNNG 在无 H₂O₂ 下产生羟基自由基(OH)进行了研究。

用强度为 6.68mW/cm² 可见光在室温下照射避光配制的含不同浓度 DMPO 的 1.25mmol/L MNNG 的溶液(pH 为 6.0)10 分钟,照射后随即将 MNNG 转移到石英器皿中测定它们的 ESR 谱。为了排除 OH 是由 O₂²⁻ 或 H₂O₂ 产生的,在 MNNG 溶液光照射前加入锰-超氧化物歧化酶(175,1750,3500U/ml)或过氧化氢酶(47U/ml)。

含 25mmol/L DMPO 的 MNNG 溶液的 ESR 谱显示两种自旋偶合,即 DMPO 的 ·OH [DMPO-(·OH)] 偶合其超精细裂分常数为 A_{N0} = A_β^H = 14.8 G 和 DMPO 的 ·NR [DMPO-(·NR)] 偶合其超精细裂分常数为 A_{N0} = 15.0、A_β^H = 22.5、A_β^N = 2.8G。利用获得的超精细裂分常数,它们的模拟谱与各占 50% 的混合谱符合得相当一致。因此 25mmol/L DMPO 的 MNNG 溶液的 ESR 谱是 ·OH 信号叠加在 ·NR 信号的,且在低浓度 DMPO 时 MNNG 溶液产生 ·OH 和 ·NR。当 MNNG 溶液中 DMPO 浓度由 25mmol/L 增加到 125mmol/L 时,·OH 信号强度减弱非常显著,而 ·NR 信号强度增加到 25mmol/L DMPO 浓度时的 1.5 倍左右。当 DMPO 的浓度增加到 200mmol/L 以上时,只有 ·NR 被检测到,而 ·NR 的信号强度与

DMPO 浓度为 125mmol/L 时没有明显差异。说明 DMPO 并非通过捕集 ·NR 而抑制 ·OH 的产生。从这些结果可以认为,氮氧化物通过光解 MNNG 获得的 ·NR 导致了 ·OH 产生,而 ·OH 的产生又可以被 DMPO 水溶液所抑制。

(徐 鸣摘 金一尊校)

032 多胺耗竭的 HeLa 细胞辐射敏感性和氨硫醇 WR-1065 的调节作用[英]/Snyder RD... // Radiat Res. -1994,137(1). -67~75

用多胺生物合成抑制剂鸟氨酸脱羧酶抑制剂,如 α-二氟甲基鸟氨酸(DFMO)和 S-腺苷蛋氨酸脱羧酶(SAMDC)抑制剂,如甲基乙二醛双脒基脒(MG-BG)和 5'-[(Z)-4-氨基-2-丁烯]甲胺-5'脱氧腺苷(MDL73,811)消耗培养的 HeLa S3 细胞内的多胺,检测细胞的辐射敏感性。

方法:1. 相应处理的细胞培养经胰蛋白酶消化,在 MEM 培养基中再混悬,接种细胞培养 48~72 小时,用 X 射线照射 1.6Gy 以上,照射后立即收获细胞,再接种培养 7 天,检测细胞生成集落能力;2. 相应处理的细胞经固定淋洗再混悬后,加 0.5μg 无 DNase 的 RNase 在 37℃ 孵育 30 分钟,然后置于冰上并加 50μg/ml 碘化丙啶(Propidium Iodide),15 分钟后用流式细胞仪测定细胞周期;3. 细胞内多胺含量用反相高效液相色谱仪测定。

结果:1. 经 DFMO(1.0、2.5mmol/L,48h)、MG-BG(5.0μmol/L,24h)或 MDL73,811(50.0μmol/L,24h)单独处理细胞的辐射敏感性均明显增加,如用 1.0mmol/L 腐胺、亚精胺或精胺再处理 3 小时,可再现正常的辐射敏感性,但腐胺对 MGBG、MDL73,811 处理的细胞无此作用;2. MGBG 单用和与 DFMO 合并处理的细胞,S 期细胞的百分数明显减少,而 DFMO、MDL73,811 单用或两者合并处理结果,无统计学差异,但能增加 X 射线诱发 G₂ 期延迟,表现在峰值时间推迟和恢复时间延长,如照前 3 小时加多胺到 DFMO 处理的细胞中,可回转 G₂ 延迟至接近对照;3. WR-1065(4mmol/L,30min)对正常的和 DFMO 处理的 HeLa 细胞的辐射防护程度相类似,其防护系数分别为 2.4 和 2.8,WR-1065 也能减低 X 射线诱发的对照细胞 G₂/M 期延迟,但对 DFMO 处理的细胞则此效应不显著。

(何庆嘉 孙世镇摘 李美佳校)