

结果:①C57BL/10JHir-p/p 雌鼠与 C57BL/10JHir 雄鼠交配的 F₁代皮毛白斑发生率明显高于 C57BL/6J 雌鼠与 C3H/HeJmsHir 雄鼠交配的子鼠白斑发生率。受1.25Gy 照射时,可见 C57BL/10JHir-p/p F₁代的白斑发生率比 C57BL/6J F₁代的高达百倍以上; C57BL/6J 雌鼠与 C3H/HeJmsHir 雄鼠交配后的孕鼠,妊娠 10.5天受照剂量1.00Gy 或1.25Gy 时, F₁代白斑发生率与对照组比较无显著性差异。这表明小鼠腹中部皮毛发生的白斑可能与遗传基因控制有关;②C57BL/10JHir-p/p 雌鼠与 C57BL/10JHir 雄鼠交配后的孕鼠,妊娠8.5天进行γ射线一次急性全身照射0.50Gy,在检查的46只小鼠中有20只发生白斑,白斑发生率达43.48%。与其它不同妊娠期受照组相比,妊娠8.5天受照白斑发生率最高。此时,正是黑色素祖细胞从神经嵴迁移阶段。实验还观察到,γ射线照射1.00Gy 和1.25Gy,子鼠白斑发生率随剂量增加而增加,剂量效应关系符合线性方程。总之,γ射线对小鼠皮肤黑色素细胞分化的影响可能受到基因的控制,并且黑色素祖细胞从神经嵴迁移时辐射效应较大。

(郭亦超摘 周湘艳译)

076 一种测定哺乳动物细胞 DNA 双链断裂新方法——脉冲凝胶电泳和限制性内切酶的联合应用[英]/L. Öbrich M...//Radiat Res. -1994,138(2). -186~192

现行检测 DNA 双链断裂(dsb)的方法存在费时费力、结果不够可靠等缺点,研究者将 PFGE(脉冲凝胶电泳)技术与速度沉降的原理相结合,建立了一种测定 dsb 的新方法。

方法:将 S-P3 细胞(人上皮畸胎瘤株)悬于 37℃ 0.5% 低熔点琼脂糖中,倒入(20mm×10mm×20mm) 模内,冷却固化后分成三组:未照组、酶切组、照射加酶切组。X 射线照射,剂量率 100Gy/min,剂量为 0~200Gy,加 20 单位限制性内切酶(Not I)处理两组样品(200μl),37℃ 过夜。电泳时,将上述处理好的低熔点琼脂糖样品分别插入已制备好的 0.8% 高强度琼脂糖胶板的加样孔内,加 0.5×TBE 缓冲液,于 12℃ 电泳 96 小时,脉冲时间从 500 秒线性增至 10 000 秒,场强为 1.5 V/cm。电泳后用 EB 染色,紫外光检测,所得荧光强度及泳动距离等经电脑分析,给出与 dsb 分子大小及产率等有关的参数。

结果:未照组 DNA 因分子量太大而仍停留在加样孔内,类似沉淀法所得结果;经 Not I 酶切后的 DNA 有 85% 进入凝胶,并根据分子量大小而分开;经

酶切和照射后的 DNA,其分布随照射剂量的提高而逐渐移向低分子区域。经分析,发现 S-P3 细胞经 X 射线照射 0~200Gy 后,dsb 的产率与剂量呈线性关系,为 $5.4 \times 10^{-3}/(\text{Mbp} \cdot \text{Gy})$ 。

实验方法对 dsb 产率检测比常规 PFGE 更可靠,而且不用放射性同位素标记,对结果可通过专门软件处理,省时省力。在灵敏度方面又优于蔗糖速度沉降法。缺点是限于检测 10Gy 以上照射时 dsb 比较可靠,低剂量照射时所得结果不够精确。

(蔡建明摘 郑秀龙校)

077 WR-1065 抑制 CHO K1 细胞拓扑异构酶 I。活性[英]/Grdina DJ...//Radiat Res. -1994, 138 (1). -44~52

培养的 CHO K1 细胞系分照射加 WR-1065 处理、或两者单独处理及不处理细胞等组,分别制备细胞及细胞核提取物,在 -20℃ 保存备用。①测定拓扑酶 I。解结活性:核提取物与打结 DNA 底物反应产生解结 DNA,以转变 50% 打结 DNA 为解结 DNA 的酶量,作为 1 个解结酶活性单位;②测定拓扑酶 I 松弛活性:核提取物与超螺旋 DNA 底物反应产生松弛 DNA,在测定过程中不加 ATP,以排除拓扑酶 I。活性的干扰,以转变 50% 超螺旋 DNA 为松弛 DNA 的酶量,作为 1 个松弛酶单位;③免疫印迹电泳测定细胞及核提取物中拓扑酶 I。蛋白质水平;④分析无细胞拓扑酶 I 和 I。活性:纯小牛胸腺拓扑酶 I 和 I。活性采用解结和松弛测定,反应混合物中分别含有 0.4~40mmol/L WR-1065,或 0.5mmol/L 喜树碱(拓扑酶 I 抑制剂),或 0.3mmol/L 染料木黄酮(拓扑酶 I 抑制剂);⑤用流式细胞仪测定细胞 DNA 含量和细胞周期进程。

X 射线照射前经 4mmol/L WR-1065 处理的细胞有明显的辐射防护: D₀ 值从对照的 2.35±0.15Gy 增加到 3.35±0.25Gy,剂量减低系数为 1.4; 4mmol/L WR-1065 处理 30 分钟,不影响拓扑酶 I 活性,但能明显降低拓扑酶 I。活性,较对照组降低约 6 倍; WR-1065 预处理 10Gy γ 射线照射组,拓扑酶 I。活性稍有降低(P=0.061);照射、给药及两者兼用各实验组中,拓扑酶 I。蛋白质(分子量为 150×10³ 和 170×10³ 带)均没有改变,但在细胞提取物中缺乏分子量为 150×10³ 带,说明这个带的产生是由核提取物释放的蛋白酶,而不是生理状态内源蛋白酶的释放。0.4~40mmol/L WR-1065 分别与给拓扑酶 I 和 I 抑制剂比较,没有直接影响拓扑酶 I 和 I。活性,说明 WR-1065 降低核提取物