

NIH3T3小鼠成纤维细胞,观察其 c-fos mRNA 的表达

方法: NIH3T3 细胞在含 10% 胎牛血清的 DMEM 中培养。处理指数生长期的细胞是在接种后第 2 天进行,处理平台期的细胞是在细胞达融合状态后 5~6 天。处理前 2 小时,弃培养液洗一次后,用无血清 DMEM 在 37°C 培养。照射时与照射后细胞均保持在无血清培养基中。当进行血清诱导 c-fos 表达的实验时,细胞弃无血清培养基,用含 20% 胎牛血清的 DMEM 在 37°C 培养。c-fos mRNA 的检测采用 Northern blot 法。增殖细胞核抗原 (PCNA) 与 DNA 合成能力的检测分别采用抗 PCNA 和抗 5-溴脱氧尿核苷 (BrdUrd) 单克隆抗体免疫组化染色结合流式细胞仪分析。

结果: 未经处理的 NIH3T3 细胞 c-fos mRNA 水平极低,指数生长期细胞用 2 和 5Gy 照射后能检测到 c-fos 的短暂表达,与血清诱导相比,辐射诱导的 c-fos 表达迟缓且长久,最高水平估计低于血清诱导的 2~3 个数量级,比较用 5Gy 照射平台期和指数生长期细胞,发现二者 c-fos 表达有相似的时间过程,但前者的绝对值显著高于后者,大致为 20 倍。

未作处理的培养中的 NIH3T3 细胞在接种后不同时间 PCNA 和 BrdUrd 标记指数的检测显示二者在接种后第 2 天起呈持续下降趋势,到第 6 天达到静止期,与流式细胞仪测得的指数生长期 S 期细胞 45% 下降至平台期的 4% 基本一致。

指数生长期至密度阻滞状态的整个过渡期用 2Gy 照射后,c-fos 的表达从接种后第 2 天至第 8 天呈持续升高趋势,表明密度阻滞期细胞 c-fos 表达的增高与未经处理的细胞增殖停止相关联。

结论: NIH3T3 细胞辐射诱导后 c-fos 呈生长状态依赖性表达提示,c-fos 可能受到 DNA 损伤后修复或再增殖过程中所必需的复制蛋白的调控。

(史剑慧摘 邵松生校)

036 X 射线诱导的大鼠肺癌中 K-ras 和 p53 基因途径分析 [英] / Belinsky SA // Radiat Res. -1996, 145 (4). 449~456

目的: 通过检测 F344/N 大鼠肺癌中 K-ras, c-raf-1, p53, mdm2, cip1 基因的变化,确定 X 射线诱导 K-ras, p53 和细胞调控途径的基因改变频率。

方法: 将 F344/N 大鼠分成两组,一组分次照射胸部或全身,总吸收剂量分别为 3.5, 5.8, 11 或 38Gy (胸部) 和 3.5, 5.8Gy (全身);另一组单次全身照射,剂量为 5.8Gy。从肿瘤标本中提取 DNA,进行

PCR 扩增,测序,单链构象多态性分析 (SSCP), K-ras 密码子 12 限制性片段长度多态性分析 (RFLP) 和免疫组化分析 p53 和 mdm2 基因。

结果: ① 18 例鳞状上皮细胞癌 (SCC) 和 17 例肺癌中未发现 K-ras 突变,用 K-ras 密码子突变选择分析发现其中 1 例 SCC 的密码子 12 发生“GGT→GAT”突变,表明 K-ras 原癌基因的激活非常少且晚期发生;② SSCP 分析 C-raf-1 基因的激酶连接区域,未检出突变;③ 18 例 SCC 中的 3 例表现出 p53 的核免疫反应性,但其染色特征不完全一致,而肺癌者均无免疫反应性。经 SSCP 分析 p53 基因外显子 4~9,发现 1 例 SCC 的外显子 9 有突变发生,而 3 例具有免疫反应性 p53 蛋白的 SCC 中未发现突变;④ 未检测出扩增和重排的 mdm2 基因,而 3 例具有 p53 蛋白阳性的 SCC 中,仅 1 例表现出核 mdm2 免疫活性,其 p53 蛋白水平的持续上升源于 mdm2 基因产物的稳定性;⑤ 大鼠 cip1 基因的全部 cDNA 的 810 个碱基都已克隆和测序,大鼠和人 cip1 基因的同源性占 74%,cip1 基因的外显子 2 体细胞突变频率通过 SSCP 分析确定,电泳迁移率未发现变化。

结果表明,K-ras 和 p53 途径的改变,在 X 射线诱导大鼠肺癌的产生过程中并不起重要作用。

(朱涵能摘 邵松生校)

037 骨髓与外周血、脐血 CD₃₄ 亚群的比较 [英] / Fritsch G // Bone Marrow Transplant. -1996, 17 (2). -169~178

已有资料表明,骨髓比外周血、脐血造血祖细胞的克隆形成能力差,移植后造血重建也更慢。因此,用抗 CD₇, CD₁₉, CD₃₄, CD₄₅ RA, CD₃₈, GPA 这些细胞的表面单克隆抗体,经双色或三色流式细胞仪分析了 238 份骨髓 (BM), 301 份外周血 (PB), 37 份脐血 (CB) 中 CD₃₄ 细胞以及 69 份去白细胞收集物 (Pher) 中 CD₃₄ 细胞各亚群的异同。

结果: 对于 CD₃₄ 细胞占单核细胞的比例, BM 为 5.37% ± 4.46%, PB 为 1.79% ± 2.46%, CB 为 1.10% ± 1.69%, Pher 为 1.48% ± 1.81%; 对于表达 B 淋巴细胞抗原的 CD₁₉ 细胞占 CD₃₄ 细胞的比例, BM 为 30.12% ± 25.24%, PB 为 0.11% ± 0.24%, CB 为 1.30% ± 1.42%; 早期髓细胞表面标记 CD₄₅ RA⁻ 细胞占 CD₃₄ 细胞的比例, BM 为 26.70% ± 16.60%, PB 为 57.52% ± 17.96%, Pher 为 67.56% ± 13.88%; 表达红系细胞抗原的 GPA⁺ 细胞和表达 T 淋巴细胞表面抗原的 CD₇ 细胞在所有不同来源的 CD₃₄ 细胞中为 0.23%; 所有 CD₃₄ 细胞中的 CD₃₈ 细胞