

## 文 摘

**051 FISH染色检测染色体畸变形成中的邻近效应**  
[英]/Chen A.M. // Int J Radiat Biol. -1996, 69(4). -411- 420

FISH染色可以检测多种类型的染色体畸变,其结果与典型的断裂重接模型相比存在某些差异,它可以用邻近效应来解释,即原初形成的双链断裂在空间和/或时间上邻近时优先相互作用。

采用三色 FISH染色技术(7号和9号染色体呈红色,1号、2号和4号呈绿色,其它染色体呈蓝色)检测了1.9Gy  $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线体外照射1名成年健康男性外周血样中淋巴细胞诱发的染色体畸变,并根据染色体染色显示重新排列的情况将中期细胞分为7类。同时,采用蒙特卡罗方法对染色体畸变形成过程中的邻近效应进行了计算机模拟:在断裂重接模型的基础上,认为低LET辐射诱发的双链断裂在细胞间呈泊松分布,其中大部分断裂重接,未重接的断裂也呈泊松分布。每个细胞的平均数(N)为计算机模拟过程中与剂量相关的一个参数,另一个参数S为细胞核中双链断裂相互作用域的个数,只有处于同一相互作用域内的双链断裂才能相互作用形成畸变。模拟过程为:依泊松分布原理,从双链断裂平均数为N的细胞群体中确定随机抽样的某一细胞的N值,再将它随机分布于46条染色体的任何位置,这些染色体随机地分配有某一固定的S值。同一相互作用域内的双链断裂随机连接形成各种畸变,畸变染色体与FISH染色一样分为7类。

经约16.9万次用具有邻近效应的断裂重接模型和无邻近效应的单参数模型计算机模拟后证明,当S为13时,对应的N值为4.8。各类细胞相对值与1.9Gy  $\gamma$ 射线照射后FISH染色实测1688个细胞的结果高度相符,并由此计算出全基因组双着丝粒畸变为0.23/细胞,双着丝粒与环染色体的比为6.4,与文献报道接近。如果令S为1,即不考虑邻近效应,模拟结果与实测结果间存在明显差异。由S为13可粗略计算出双链断裂间相互作用的当量平均距离为 $1.3^{\mu}\text{m}$ 。

(张泽云摘 叶常青校)

**052 FISH分析 X射线全身照射诱发小鼠脾细胞的细胞遗传学损伤及在体内的存留:I. 双着丝粒和易**

位 [英]/Hande M.P. // Int J Radiat Biol. -1996, 69(4). -437- 446

为了研究双着丝粒染色体在体内消失的动力学规律以及易位染色体在多大程度上保持稳定,用雌性 Swiss 小鼠经 2Gy X射线全身照射(剂量率为0.4Gy/min)后分别于小于30分钟、1、3、7、14、28、56和112天分离脾细胞,体外培养42小时后收获细胞制备染色体标本,以11和13号染色体为探针进行荧光原位杂交, FITC显示杂交信号,PI和DAPI衬染,检测双着丝粒和易位染色体。

结果:照后立即检测,双着丝粒率平均为0.37/细胞,照后7天减少40%,14天减少2/3,至112天时降到0。双着丝粒随时间呈指数下降,符合 $D=ae^{-kt}$ ,其中 $a=0.30\pm 0.02$ , $k=0.050\pm 0.005\text{d}^{-1}$ ,前14天下降速度( $0.06\text{d}^{-1}$ )比以后下降的快( $0.03\text{d}^{-1}$ )。易位率在照后立即检测时与双着丝粒率基本一致(0.34/细胞),照后一周内无明显变化,以后逐渐下降,至112天时下降到原来的50%,下降规律呈直线或指数方式,考查整个观察期间,下降趋势显著。统计检验显示,双着丝粒和易位形成与独立诱发的假说一致。

结论: X射线诱发小鼠双着丝粒畸变随照后时间很快下降,易位畸变在照后4个月内也逐渐下降,并提示两类畸变的形成是相互独立的过程,它们在体内随时间下降的规律和机制也不同。由于癌症发生及遗传障碍涉及染色体易位,故对电离辐射诱发易位的危险估计可外推到人体。

(张泽云摘 叶常青校)

**053 电离辐射诱发的1,4,5-三磷酸肌醇受体基因表达** [英]/Yan J. // Int J Radiat Biol. -1996, 69(5). -539- 546

采用差示反转录PCR(DD-RT-PCR)的方法分离、克隆参与细胞对辐射做出应急反应的基因:经EB病毒转染的正常淋巴母细胞系C3A8R,用3Gy的 $\gamma$ 射线( $^{137}\text{Cs}$ )照射后作为实验细胞,以未经照射的细胞作为对照,分别提取其mRNA,以3'端具有两个锚定碱基的oligo-dT<sub>1</sub>为引物进行反转录,接着以随机寡核苷酸(GCCATTGCCA)为5'端引物,3'端引物仍采用进行反转录时所用的锚定引物,进行PCR扩增。扩增产物经5%的测序胶电泳显示差异条带。在受照细胞中表达增强的差异条带经纯化、PCR再扩增后克隆入pGEM-T载体,测序结果经GenBank检索表明该片段同人1,4,5-三磷酸肌醇1型受体(InsP<sub>3</sub>R-1)基因具有99%的同源性,与鼠I

型受体基因具有 87% 的同源性,此序列与 2 或 3 型  $\text{InsP}_3\text{R}$  基因的同源性较弱。

Northern 杂交的结果证实了照后 1 小时 1 型  $\text{InsP}_3\text{R}$  的 mRNA 量为对照的 3 倍,蛋白质免疫印记实验也证明细胞受照后  $\text{InsP}_3\text{R-1}$  型蛋白的表达相应增强,但对辐射敏感性强的 A-T 细胞系,受照后没有观察到此现象。在受照 3Gy 后, A-T 细胞和正常细胞的  $\text{InsP}_3\text{R-2}$  型、 $\text{InsP}_3\text{R-3}$  型蛋白表达均增加,但两个细胞系之间没有明显差异。已知  $\text{InsP}_3\text{R-1}$  型受体主要存在于内质网,为可被配体激活的  $\text{Ca}^{2+}$  离子通道,参与以磷脂依赖的蛋白酶 C 为核心的信号转导。

(李 刚摘 叶常青校)

**054** 由 *c-myc* 下调的大鼠成纤维细胞 *gadd153* 基因及其对细胞生长和辐射诱发细胞凋亡的影响 [英] / Chen C. // *Oncogene*. -1996, 13 (7). -1658~1665

利用差示反转录 PCR 技术,使用 4 种锚定引物、20 种随机引物共 80 种不同的组合比较了 6 种细胞株的基因表达的差异,得到 18 个差异表达片段。其中,长度为 360bp 的一片段(编号 A9)只在 rat1 REC(大鼠胚胎细胞)和 REC: *ras(c-Ha-ras* 转染的 REC) 3 种细胞系中表达,而在其相应的 *c-myc* 基因转染细胞株中该片段表达缺失,且对  $\gamma$  射线诱发细胞凋亡的敏感性增强。以此片段为探针进行 Northern 杂交,结果证实了上述差异表达。

以  $\lambda$ -Zap 为载体构建 rat1 细胞的 cDNA 文库,以 A9 片段为探针筛库,共得到 9 个阳性克隆。亚克隆入质粒载体 Bluescript SK<sup>(-)</sup> 后测序,结果表明 A9-4 克隆包含完整的开放阅读框。经 GenBank 检索, A9-4 基因同来源于中国仓鼠细胞的 *gadd153* 基因在编码区其核酸序列具有 80.1% 的同源性,氨基酸序列具有 94% 的同源性,因此克隆到了 *gadd153* 基因的大鼠同源体,其 GenBank 索取号为 U30186。Northern 杂交证实, *c-myc* 基因能抑制 MMS(甲基甲烷磺酸)诱导的 *gadd153* 基因的表达。构建 A9-4 基因的表达载体,用磷酸钙共沉淀法把该基因转入 rat1 rat1: *myc* 细胞,观察到稳定表达大鼠 *gadd153* 基因的 rat1: *myc*+ A9-4 细胞同其父辈细胞 rat1: *myc* 相比,其倍增时间明显延长,而且不能传代培养,但该基因在 rat1: *myc* 细胞中的过度表达并不影响  $\gamma$  射线(10Gy)诱发的细胞凋亡,说明该基因虽受 *c-myc* 基因调控,但并不参与依赖于 *c-myc* 基因的细胞凋亡的信号转导通路。

(李 刚摘 叶常青校)

**055** 辐射适应性反应对辐射诱发小鼠胸腺淋巴瘤的影响 [英] / Bhattacherjee D. // *Mutat Res.* -1996, 358. -231~ 235

目的:采用辐射诱发小鼠胸腺淋巴瘤(TL)模型,验证低剂量辐射诱导的适应性反应。

方法:对 8~10 周龄 Swiss 小鼠用  $^{60}\text{Co}$  射线全身照射(剂量率为  $35\text{cGy}\cdot\text{min}^{-1}$ ),其中攻击剂量( $D_2$ )为 2Gy 或 3Gy,诱导剂量( $D_1$ )为 1cGy(每天 1cGy,照射 1 天,用  $1\text{cGy}\times 1$  表示), 5cGy( $1\text{cGy}\times 5$ ), 10cGy( $1\text{cGy}\times 10$ )。  $D_2$  照前 24 小时接受  $D_1$  照射(用  $D_1+$   $D_2$  表示) 各组小鼠于  $D_2$  照后不同时间脱臼处死,解剖检查 TL,根据胸腺的变化,评价为早、中、晚期 TL。

结果:单纯 2Gy 照后 240~260 天不同时期内雄性小鼠 TL 总发生率为 46% (23/50);  $1\text{cGy}\times 1+$  2Gy 照后 TL 发生率为 42.5% (17/40); 对照组和单纯 1cGy 照射组均未见 TL 发生;  $1\text{cGy}\times 5$  或  $1\text{cGy}\times 10$  照后 TL 发生率分别为 16% (8/50) 和 18% (9/50), 平均为 17%; 而  $1\text{cGy}\times 5+$  2Gy 或  $1\text{cGy}\times 10+$  2Gy 照后 TL 发生率分别为 16% (8/50) 和 30% (15/50)。

单纯 3Gy 照后 15 30 60 90 和 120 天,雌性小鼠 TL 发生率分别为 30%、70%、70%、80% 和 85%; 而  $1\text{cGy}\times 1+$  3Gy 照后上述不同时期小鼠 TL 发生率分别为 0%、50%、50%、50% 和 60%, 均相应减少 25% 左右。

结论:低剂量辐射诱导的适应性反应对致癌剂量诱发小鼠 TL 的发生有抑制和延迟作用。

(李秀娟摘 李修义校)

**056** 乏氧和辐射对中国仓鼠 V79 细胞蛋白激酶 C- $\alpha$  和丝裂原活化的蛋白激酶的诱导及磷酸化作用 [英] / Hasan NM. // *Radiat Res.* -1996, 145. -128~133

蛋白激酶 C(PKC)和丝裂原活化蛋白(MAP)激酶(又称为细胞外信息调节激酶,ERK)的活化在细胞增殖、分化和肿瘤启动中起重要作用。实验研究了乏氧和辐射对 PKC $\alpha$  及 MAP 激酶的表达、磷酸化和细胞内分布的影响。

方法:将单层培养的指数生长期中国仓鼠 V79 细胞置于含 0.1% FCS 培养液中培养 24 小时后给予含 95% 氮气和 5% 二氧化碳混合气体使其乏氧或用 250keV X 射线照射(剂量率为  $0.75\text{Gy}\cdot\text{min}^{-1}$ ),用