

型受体基因具有 87% 的同源性,此序列与 2 或 3 型 InsP_3R 基因的同源性较弱。

Northern 杂交的结果证实了照后 1 小时 1 型 InsP_3R 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 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 γ 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 λ -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⁽⁻⁾ 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 γ 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}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- α 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 α 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

PKC多克隆抗体及MAP激酶单克隆抗体免疫印迹分析PKC α 及MAP激酶表达水平,离心分离分布在胞膜、胞浆及胞核中的PKC α 和MAP激酶,用特异地抗磷酸丝氨酸及磷酸酪氨酸抗体进行免疫印迹分析磷酸化。

结果:①对照V79细胞PKC α 带的分子量与经10% FCS预刺激后的PKC α 分子量相当,0.1% FCS预刺激时间长于40小时的V79细胞PKC α 分子量呈较高和较低的双峰割裂带,0.1% FCS被10% FCS替代后,这些变化是可逆的;②0.1% FCS预刺激24小时的V79细胞经乏氧处理4~6小时,可诱导PKC α 表达增强,呈分子量较高和较低的双峰割裂带,存在于胞核中,并不引起PKC α 向胞膜转位;相反,经肿瘤启动剂TPA处理的V79细胞,可诱导PKC α 向胞膜转位,呈电泳迁移率相同的单峰带;经乏氧处理的V79细胞,可诱导MAP激酶表达增强,但电泳迁移率无变化;③0.1% FCS预刺激24小时的V79细胞于0.75Gy照后4~6小时和1.5Gy照后立即诱导出新的具有不同电泳迁移率的PKC α 双峰割裂带,主要存在于胞核中,辐射诱导PKC α 表达增强和新的双峰割裂带时并不伴有MAP激酶表达增强和新带出现,而1.5Gy照后MAP激酶完全重分布至胞核。④PKC α 磷酸化与去磷酸化的电泳迁移率不同,提示乏氧和辐射诱导PKC α 表达增强始于磷酸化作用。经乏氧和辐射处理的V79细胞PKC α 丝氨酸和酪氨酸残基的磷酸化多于未处理的细胞。

结论:乏氧和X射线照射可诱导去血清刺激的中国仓鼠V79细胞PKC α 表达和磷酸化增强,主要发生在胞核。乏氧和辐射与TPA不同,均不引起PKC α 从胞质向胞膜转位。乏氧与辐射不同,在诱导PKC α 表达同时伴有MAP激酶表达增强。而辐射与TPA相同,可引起MAP激酶完全重分布至胞核。

(谢凤摘 李修义校)

057 细胞遗传学损伤与辐射诱导的G₁时相阻滞
[英]Gupta N... // Radiat Res. -1996, 145. -289~298

目的:通过辐射诱导的G₁时相阻滞是否改变照后首次有丝分裂细胞染色体重排的类型和频率,以验证G₁时相阻滞为DNA损伤提供修复时间这一假说。

方法:对来源于人胶质瘤的U87-lux.8(野生型p53)和U87-175.4(显性失活p53突变)细胞分别接受0~6Gy^{150kVp}X射线照射(剂量率为1.2Gy/

min),于照后不同时间进行流式细胞术、克隆形成实验和荧光原位杂交法观察U87-lux.8和U87-175.4细胞在照后第一个有丝分裂周期中的G₁时相阻滞、细胞存活及染色体畸变的类型和频率。

结果:①非同步的U87-lux.8细胞受4或6Gy照射后24小时,滞留在G₁时相的细胞百分数由未照射细胞的25%增加到60%,而照射与未照射的U87-175.4细胞的细胞动力学差别不明显。受6Gy照后48小时,U87-lux.8滞留在G₁时相的细胞百分数由未照射的9%增至74%,而U87-175.4细胞则由8%增至19%,提示X射线可诱导含野生型p53细胞的G₁时相阻滞。②所有剂量照射后U87-lux.8细胞的存活率较U87-175.4细胞降低。提示照后产生G₁时相阻滞的细胞死亡率增加。③常规的细胞遗传学分析表明,1~6Gy照后,染色体畸变率呈剂量依赖性增加,但在U87-lux.8和U87-175.4之间,无论是畸变率还是畸变类型均无显著性差异。用荧光染色体原位杂交法发现,1~4Gy照射,染色体的重排呈剂量依赖性增加,且两个细胞系之间相似。然而,剂量达6Gy时,U87-175.4细胞染色体重排明显增多,且主要是交互易位。

结论:X射线照射可引起人胶质瘤细胞p53依赖G₁时相阻滞,这种阻滞并不引起辐射所致染色体畸变明显减少,且可能引发其它G₁时相事件所致的存活细胞减少。结果并不支持G₁时相阻滞可增加辐射诱导DNA损伤修复时间的假说。

(傅海青摘 李修义校)

058 纤维化拮抗和敏感小鼠胸部照射后IL-1 α 、IL-1 β 及肿瘤坏死因子 α mRNA水平表达的早期和持续改变
[英]Johnston C.J. // Radiat Res. -1996, 145 (6). -762~767

目的:探讨照后所致肺损伤潜伏期肿瘤坏死因子 α (TNF α)、白介素-1 α (IL-1 α)和白介素-1 β (IL-1 β)mRNA表达水平的变化;在肺炎和肺纤维化发生过程中这些变化是否持续存在;这些变化在纤维化拮抗和敏感小鼠之间的差异。

方法:纤维化敏感的C57BL/6和拮抗的C3H/HeJ品系小鼠胸部经¹³⁷Cs γ 射线单次照射(剂量为5或12.5Gy,剂量率为3Gy \cdot min⁻¹)分别于17和14天(相当于潜伏期),56和112天(相当于肺炎期),以及182天(相当于纤维化期)脱臼处死,取肺进行下述实验检测:①用沉降法分离肺细胞总RNA;②用Northern印迹法检测完整的RNA;③采用膜杂交法,用图像光密度计定量³²P标记的cDNA探针放射