

PKC多克隆抗体及MAP激酶单克隆抗体免疫印迹分析PKC $\alpha$ 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 $\alpha$ 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 $\alpha$ 带的分子量与经10% FCS预刺激后的PKC $\alpha$ 分子量相当,0.1% FCS预刺激时间长于40小时的V79细胞PKC $\alpha$ 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 $\alpha$ 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 $\alpha$ 向胞膜转位;相反,经肿瘤启动剂TPA处理的V79细胞,可诱导PKC $\alpha$ 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 $\alpha$ 双峰割裂带,主要存在于胞核中,辐射诱导PKC $\alpha$ 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 $\alpha$ 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 $\alpha$ 表达增强始于磷酸化作用。经乏氧和辐射处理的V79细胞PKC $\alpha$ 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 $\alpha$ 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 $\alpha$ 从胞质向胞膜转位。乏氧与辐射不同,在诱导PKC $\alpha$ 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G<sub>1</sub>时相阻滞**  
[英]Gupta N... // Radiat Res. -1996, 145. -289~298

目的:通过辐射诱导的G<sub>1</sub>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G<sub>1</sub>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<sup>150kVp</sup>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G<sub>1</sub>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G<sub>1</sub>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G<sub>1</sub>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G<sub>1</sub>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G<sub>1</sub>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G<sub>1</sub>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G<sub>1</sub>时相事件所致的存活细胞减少。结果并不支持G<sub>1</sub>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 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 及肿瘤坏死因子 $\alpha$  mRNA水平表达的早期和持续改变**  
[英]Johnston CJ... // 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 $\alpha$ (TNF $\alpha$ )、白介素-1 $\alpha$ (IL-1 $\alpha$ )和白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )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<sup>137</sup>Cs $\gamma$ 射线单次照射(剂量为5或12.5Gy,剂量率为3Gy $\cdot$ min<sup>-1</sup>)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<sup>32</sup>P标记的cDNA探针放射