

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 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 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

自显影,以检测 TNF- α 、IL-1 α 和 IL-1 β 的 mRNA 表达水平。实验结果以编码甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)的 cDNA 探针为对照。

结果: 5Gy 照后 1 和 7 天及 5 和 12. 5Gy 照后 14 天, C57BL/6 小鼠 TNF- α mRNA 表达水平明显增加; 5 和 12. 5Gy 照后 56 112 和 182 天的 IL-1 α mRNA 表达水平也明显增加; 12. 5Gy 照后 56 和 182 天, C3H/HeJ 小鼠 IL-1 β mRNA 表达水平明显增加。

结果表明,即使低剂量(5Gy)照射, TNF- α 、IL-1 α 和 IL-1 β mRNA 表达水平均呈早期和持续改变,并与品系依赖纤维化反应差异之间的短暂性联系及纤维化反应的程度和时期的不同随剂量而变化,更重要的是提示辐射诱导肺纤维化可能存在遗传易感性: IL-1 α 和 TNF- α 有助于辐射诱导肺纤维化,而 IL-1 β 可能有防护作用。因此,应用生长因子调节或细胞因子、抗细胞因子治疗可改变这种肺纤维化的敏感性。

(白 欧摘 李修义校)

059 电离辐射致突变的机制 [英] /Kronenberg A... // 10th Int Congress of Radiat Res. -1996, 2. -535-538

着重研究了低辐射剂量诱导人体细胞两个位点(hprt 与 tk)和人体/仓鼠杂合细胞 AL(仅含人类单条 11 号染色体)、相似细胞系 ALC 两个位点(hprt 和 S1)突变的频率和程度。这些模型可以检测从单个碱基对到细胞遗传学中较大范围的变化。

方法: 分别用加速器、⁵⁶Fe 和 ¹³⁷Cs 源照射经培养的上述细胞,分离 hprt 和 tk 基因缺乏的 TK6 突变细胞,用 Southern 印迹杂交分析;基因内部改变用

PCR 扩增分析; AL 细胞 S1 突变用人体 11 号染色体 MIC1 位点相关的标记物来分析。

结果: 重离子照射 TK6 细胞后,大片段的缺失很容易在单次急性照射后检测到,而在非急性照射时并不明显。在非常低通量的情况下,突变谱不是决定于通过细胞的平均粒子数,反映出这些突变的发生可能是由于单个粒子穿过靶位点所在区域。在 240 个被分析的低通量产生的突变细胞中,70% 为 hprt 的全部或部分丢失,其结果与 α 粒子致人体细胞突变一致。杂合性消失(LOH)是辐射致人 TK6 细胞常染色体 tk 位点突变的主要机制。在照后生长 11 和 18 天出现两种突变细胞,早期 50cGy(LET 为 32~190keV μ m) 粒子照射,LOH 为 58%~66%,晚期出现的克隆由 LOH 产生,其频率表明 tk 突变决定于 LET 值,晚期克隆比例在 LET 为 6~95keV μ m 时最大。早期研究表明,缺失的恢复受连锁必需基因的限制,hprt 位于某一未知位点(在条带 324R~529R 之间)到着丝粒间的 1.26~1.4Mb,此位点为细胞存活所必需,在 150 个重离子所致的突变细胞中,未见 324R 或 529R 的丢失,证明此区丢失突变极少。比较 AL 细胞仓鼠 X 染色体 hprt 与人类 11 号染色体 S1 突变频率,表明仓鼠 X 染色体大片段缺失的恢复明显受阻,而 11 号染色体上基因的保持可能是由于染色体的易位。

结论: 低剂量电离辐射常在人类基因组的不同部位产生大的缺失,最大的突变包括被动易位。某一给定位点突变的最大缺失长度和敏感性决定于被测位点与最近的必需基因之间的距离。这种限制在体内外均很重要。

(桂红星摘 金一尊校)

(上接第 118 页)

冠状动脉病变显像优于单支病变,同时较²⁰¹Tl 更易检测 RCA 和 LCF 节段,但是这些差别尚未达到统计学意义;在诊断冠心病病人的定性分析中,两者运动显像有相同的灵敏度,对于鉴别异常血管,两者亦无统计学差别^[7]。

参 考 文 献

- 1 Trecher EN et al. J Label Comp Radiopharm, 1986; 23: 118-120
- 2 Leppo JA et al. J Nucl Med, 1990; 31: 67-74
- 3 Cardio Tec. Kit for the Preparation of Tech-

netium Tc-99m Teboroxime Squibb Diagnostics Princeton NJ 08543, Printed in USA Issued December, 1990; J4-282A 9

- 4 Maublant JC et al. J Nucl Med, 1993; 34: 255-259
- 5 Weinstein H et al. Am J Cardiol, 1993; 71: 848-852
- 6 Fleming RM et al. J Am Coll Cardiol, 1991; 17: 1297-1302
- 7 Hendel RC et al. J Am Coll Cardiol, 1990; 16: 855-861
- 8 Corbett et al. Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine, U.S.A., July, 1990: 157

(收稿日期: 1996-09-04)