

发生变化。通过对N-异丙基去甲肾上腺素——一个AC激活剂的反应来评价这种反应性(表3)。观察到照射后1小时被激活的AC活性有些下降, PDE活性随照射后时间的发展

而明显下降(表2)。注射N-异丙基去甲肾上腺素后cAMP的升高乃是由于PDE活性的下降。

表3 X线照射(800拉德)对小鼠肝脏cAMP系统的影响

对 照	照 后 时 间			
	1小时	3小时	24小时	
CAMP (微微克分子/1毫克组织)				
- ^c N-异丙基去甲肾上腺素	1.1±0.1	1.2±0.1	1.3±0.1	1.2±0.2
+ ^c N-异丙基去甲肾上腺素 ^a	7.0±0.7	6.8±0.7	7.1±0.7	11.6±1.0 ^b
AC活性(形成cAMP的微微克分子/1毫克蛋白质/分)				
基 础 活 性	39.0±1.8	35.9±3.1	37.8±2.6	38.8±1.6
葡 萄 糖(10微克/毫升)	199.9±8.1	165.7±6.8 ^b	173.1±11.2	212.8±14.6
PDE活性(水解cAMP的微微克分子/1毫克蛋白质/分)				
	12.5±0.2	11.7±0.5	10.6±0.6 ^b	9.5±0.3 ^b

a: 250毫克/公斤, 断头前2分钟

b: $p < 0.05$

c: (-), (+), 原文即有, 其意思是(-)者不给此药, (+)为给药者——译者

从上述资料我们认为照射引起正常cAMP反应性的失调, 结果影响了细胞对外界信号的正确反应。

[Kydryashov YuB, et al, in International radiation protection association With international congress Paris, 1977, proceedings Vol.4, P1299~1302,

沈倍奋译 梁平校]

胸腺细胞中辐射引起的DNA单链断裂的修复

前 言

在增生的哺乳类细胞中, 辐射引起的DNA单链断裂几乎在1小时内就完全修复。这种修复与细胞周期的阶段无关, 而且已在非分裂的细胞如肝细胞, 大脑细胞, 以及不同的淋巴细胞如培养的人淋巴细胞和胸腺细胞中被观察到。然而, 在胸腺细胞中, 3000拉德照射后1小时内只发现有单链断裂的部分修复, 而小鼠淋巴瘤L5178y细胞则能在此期间完全修复。在前一报导中, 作者发现接受大剂量(50万拉德)照射的胸腺细胞中只有20%的辐射引起的单链断裂能被修复。

进一步研究关于胸腺细胞修复DNA单链断裂的能力和关于这一过程的放射敏感性是有意义的。特别是应该研究低剂量照射后的反应。为此, 采用Ahnström及Erixon(1973)的测定DNA单链断裂的羟磷灰石层析法。但这种方法要求放射性标记细胞内的DNA。因为只有较小百分比的胸腺细胞进行增殖, 所以随机地用³H-胸腺嘧啶核苷不能使细胞中的DNA得到标记。因此, 从羟磷灰石柱洗脱下来的组分中的DNA浓度是用Kissane及Robins(1958)所首先报导的荧光测定法进行测定的。通过这种方法,

有可能分析低剂量照射下非分裂细胞 DNA 的单链断裂。

材 料 和 方 法

胸腺细胞在Hank's平衡溶液中的制备方法已在以前报导。2毫升浓度为 3×10^6 /毫升的细胞悬液在 0°C 受 ^{60}Co γ线照射。照射后经800g离心10分,移走受过照射的培养液,用温的Eagle's培养基把细胞作成悬液。在通5% CO_2 空气的 37°C 温箱中保温。然后,再次离心移走培养液,细胞在1毫升作部分变性用的碱性变性试剂A或B中重新作成悬液,步骤如下:

(A) $0.03\text{MNaOH} + 0.01\text{MNa}_2\text{HPO}_4 + 0.9\text{MNaCl}$, $\text{pH} = 12.0$; 细胞的溶解物在 20°C 避光条件下作用30分钟,然后用1毫升 0.034MHC1 中和。

(B) $0.03\text{MNaOH} + 0.01\text{MNa}_2\text{HPO}_4 + 0.2\text{MNaCl}$, $\text{pH} = 12.0$; 细胞的溶解物在 0°C 避光条件下作用30分钟,然后用1毫升 0.034MHC1 中和。

其后的分析步骤按Rydberg(1975)的方法进行(超声波处理,加十二烷基硫酸钠(SDS)至最终浓度为0.4%,在 60°C 用磷酸缓冲液作羟磷灰石层析)。在洗脱后,带有单链或双链DNA的各种组分分别用 0.01MNaCl 透析过夜以除去SDS。

组分中的DNA浓度用萤光法测定。DNA用 0.5M 高氯酸在 0°C 沉淀1小时, $35000 \times g$ 离心30分钟,小心地移走上清液。在干燥的沉淀中加入0.5毫升含饱和3,5-二胺苯甲酸的 4N 盐酸(预先用活性炭悬浮法纯化),用力摇荡并在 60°C 作用40分钟。加3.0毫升高氯酸(最终浓度为 0.5M)后,在Zeiss PMQ II型分光光度计测萤光强度,激发光波长为405毫微米,发射光波长为500毫微米。在 $0.5 \sim 5.0$ 微克DNA范围内萤光强度呈线性递增。

作为对比,追查了增生的中国地鼠肺细胞(v_79)单链断裂的修复。在实验前24小

时,细胞用 ^3H -胸腺嘧啶核苷标记。细胞的处理及羟磷灰石层析的细节见Rydberg(1975)的描述。

结 果

如同Rydberg(1975)所详细讨论过的,在羟磷灰石层析后,天然DNA的组分的剂量效应曲线取决于细胞溶解的条件及DNA变性的方法。强烈的处理条件可以测定2000拉德以下低剂量范围内的单链断裂;较温和的变性方法可用来作高剂量范围内单链断裂的相对测定。因此,为了追查胸腺细胞中单链断裂的修复,选择了两种不同的条件:在1000~2000拉德照射后用条件A(见方法),1~3万拉德照射后用条件B。

辐射的作用及单链断裂的修复进程见图。在1000拉德照射后,修复在30分钟后接近全部完成;但照射2000拉德后修复能力已经下降到70%。在1及3万拉德高剂量照射后,60分钟内可见不完全修复,但只有20%的单链断裂被接合。各种剂量照射后单链断裂修

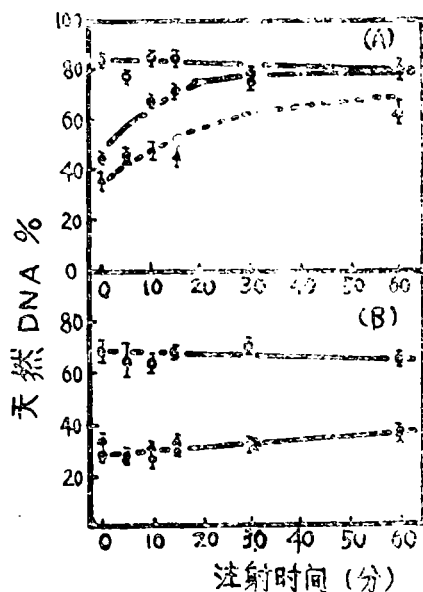


图 胸腺细胞在离体条件下DNA单链断裂的修复

用羟磷灰石层析测定单链断裂的发生频率。照后细胞在 37°C 保温。(A) \circ = 不照射; \bullet = 1000拉德照; \blacktriangle = 2000拉德。(B) \circ = 不照射; \bullet = 1万拉德; \blacktriangle = 3万拉德。竖线表示标准差, $n=12$ 。

表 电离辐射后哺乳类细胞在60分钟内 DNA 单链断裂修复的百分率

细 胞	剂量(拉德)	单链断裂 修复%	作	者
胸腺细胞	1000	93.2±8.4	本	文
胸腺细胞	2000	70.4±5.7	本	文
胸腺细胞	3000	55	Karran及 Ormerod(1973)	
胸腺细胞	1万	20.6±4.7	本	文
胸腺细胞	3万	25.6±5.6	本	文
胸腺细胞	50万	22	Lennartz等 (1975)	
V79细胞	1万	96.5±1.2	本	文

复的百分率总结于表中,此表还包含来自文献的供比较的资料。增生状态中的V₇₉细胞在我们的条件下照射1万拉德后,单链断裂显示出一种接近完全的修复。

讨 论

与培养的增生细胞相反,非分裂的受照射胸腺细胞只有有限的修复辐射引起的DNA单链断裂的能力。一次1万拉德的剂量使大部分修复能力遭到破坏。但增生的小鼠淋巴瘤细胞即使在5万拉德照射后,单链断裂仍能完全修复。Karran和 Ormerod(1973)

以及Lennartz等(1975)也报导过胸腺细胞中单链断裂的一种有限的修复。后一研究发现带有5'磷酸和3'OH末端基团的单链断裂较易修复。

蛋白质, RNA或DNA合成的抑制剂不能阻止受照射细胞中单链断裂的早期修复。只有氧化磷酸化即ATP合成的抑制剂,如二硝基苯酚或KCN能有效地阻止单链断裂的接合。而且,在甲苯化(tolunized)细菌的细胞和艾氏腹水癌细胞分离的核中, DNA单链断裂的修复除了多聚酶及连接酶作用所必需的三磷酸脱氧核糖核苷和DNA之外,还需要ATP的存在。

我们认为在受照射的胸腺细胞中, DNA链断裂的修复需要ATP的这种情况也可能存在,在1万拉德或更高剂量照射后其修复能力的降低可能是由于ATP的丧失。Klouwen(1964)在将胸腺细胞照射500拉德后,确实见到ATP和ATP合成的这种损失,而在小鼠淋巴瘤肉瘤细胞, ATP含量不受影响,不过DNA单链断裂修复需要ATP的机制仍待研究。

[Gartner Ch等, Int J Radiat Biol 32 (3): 293, 1977 (英文) 徐承熊译 陆如山校]

断奶小猎犬骨髓成灶单位 (CFU-c 和 PFU-c)

量对急性全身γ线照射的反应

尽管研究小鼠脾造血灶在介电离辐射对造血效应上有重大贡献,然而这种效应在其他动物和包括人在内的较大动物中是了解不多的。因为很需要研究长寿命动物模型的辐射反应,作者选择了小猎犬作为研究辐射造血效应的对象。在这方面,作者对技术的发展很感兴趣,该技术不但可作造血损伤敏感的生物剂量仪,同时还能对辐射诱发白血病的小猎犬的造血祖细胞群变化进行研究。

为此目的,作者采用甲基纤维素作为支

持骨髓的培养系统,它可以同时定量测定粒-单核细胞灶(成灶单位—CFU-c)和“候补的”(Candidate)基质祖细胞群(成斑单位—PFU-c)。本文将报导受急性全身照射的断奶猎犬的粒-单核细胞和成纤维细胞群剂量效应关系。

材料和方法

动物和照射条件:动物为出生60天断奶小猎犬。用⁶⁰Co-γ线照射,把装有动物的