

动物约90%复苏了。

应当注意,死后冷却的兔子,甚至在不出现“完全”复苏的情况下,也发现再充氧后,在各器官内总伴随有蛋白质、DNA和RNA合成的激活现象,它虽然还没有统计学意义,但却是明显的。这表明,经死后冷却其生物催化剂比未冷却动物的生物催化剂看来具有更大的、潜在的反应性。

死亡通常是和蛋白质的变性联系在一起的。换句话说,就是与蛋白质构形的显著改变有关。但这种说法是按一般方式推测而来的,缺乏蛋白质构形原位变化的具体研究。然而,为了取得生命停止和恢复的规律性的知识,这种研究是必要的。

我们的实验研究奠定了死亡的特殊成份,即生物催化剂构形的变化,表现为它对蛋白质和核酸周转过程催化能力的损失。

因此可以设想,机体复苏的始动机制是对死后蛋白质构形变化的矫正。上面概述的关于死后冷却的阳性效果支持了这种建议。利用本实验模型,使我们能够反映死后在器官原位发生的改变,不仅是代谢过程方面,而且还有生物聚合体分子内重新组合的情形。这可以通过研究蛋白质内标记氢交换的速率,混合双硫化化合物的生成以及其它能显示分子内部键变化的研

究方法来达到。所以将人工循环和放射性示踪法结合起来,就能够研究较高级动物死亡与复苏的分子机制,并给我们提供一些关于氧和各器官生物聚合体相互作用规律的深入认识。同位素指示剂使我们能够进行至今很少探索过的,较高级动物生前与死后分子变化方面的研究。

结 论

(1) 采用人工循环和放射性示踪技术能够研究高级动物死亡与复苏的分子机制。

(2) 机体的死亡(由于急性缺氧)及苏生状态(深度降温)都与生物过程的停止以及动物所有器官内蛋白质、DNA和RNA的广泛降解相联系。

(3) 死后生物聚合体代谢的停止伴有蛋白质内潜伏性巯基量的明显增加和反应性巯基量的明显减少。在苏生状态下,不出现这种蛋白质结构的分子内部变化。

(4) 复苏时,生物聚合体的合成与分解过程以及蛋白质的巯基水平恢复正常。

(5) 兔子死后的人工急剧冷却(20℃),使其可能复活的时间约延长到2.5~3倍。

(李光明节译 江汉藻校 张卿西审)

12MeV质子和γ线照射培养的人体 细胞中多核细胞及微核的形成

Bettega D等, Int J Radiol Biol 37(1), 1~9, 1980(英文)

本文报道受12MeV质子照射的EUE细胞系中多核细胞和微核发生率的定量研究结果,确定了这些畸变的频率与照射剂量和集落大小的函数关系,证实了与存活率之间的相关,并与 $^{60}\text{Co}\gamma$ 线比较,求得了相应的r、b、e值。

所用生物学系统为拟上皮形态的人体异倍体细胞系(EUE系)。在大约5平方厘米的面积上照射单层细胞培养物。这么大的单层细胞培养物是在照前24小时在Falcon细胞培养瓶底P的中点处加一滴悬浮液(平均含有 3×10^5 个细胞)而获得的。

照射期间培养瓶竖放,以不使其起吸收体的作用。照射于室温(约20℃)下进行,非照样品亦作相同处理,以排除温度对细胞的影响。上述样品与保持

于37℃条件下的培养效率基本一致,平均为75%。

按照标准技术,照射细胞最后用胰蛋白酶消化并接种于平皿内(φ100毫米的平皿中接种 $10^3 \sim 10^4$ 个细胞),培养8天后,固定细胞,Giemsa和May-Grunwald染色。

12MeV质子束的物理特性,平均剂量率50拉德/分,能量离散为1.2MeV,生物样品区域的均匀度为95%。参考1,000居里的 ^{60}Co 源的γ线,照射剂量为50拉德/分,按标准程序照射。

对每个对照和受照样品,在随机选择的视野中分析集落200个,每一集落观测:(1)细胞总数;(2)其中2个或2个以上核的细胞数;(3)胞浆内含有微核(小于主核三分之一,具有核染色特征的包涵体)

的细胞数。

结果与讨论,

1. 多核细胞的剂量效应关系 如表1 所示, 其效应为照射剂量的递增函数。将实验数据配成 $e = bD^n$ 型

的解析函数可得: 对质子, $b = (1.4 \pm 0.1) \times 10^{-4}$, $n = 1.0 \pm 0.1$, 拟合度为 50%; 对 γ 线, $b = (0.9 \pm 0.1) \times 10^{-4}$, $n = 1.0 \pm 0.1$, 拟合度为 10%。式中 e 表示相对频率, D 表示剂量。

表 1 多核细胞频率及每细胞核数的分布

剂 量 (拉德)	观察细 胞 数	每细胞核数的分布						平均多核细胞数 ($\times 10^{-2}$) / 细胞	
		1	2	3	4	5	≥ 6	绝对值	已减去对照值
12MeV									
质子									
0	18133	17969	129	25	6	4	0	0.9 ± 0.1	0
80	3758	13451	243	43	16	3	2	2.2 ± 0.2	1.3 ± 0.2
180	8157	7887	207	44	10	6	3	3.3 ± 0.2	2.4 ± 0.2
250	5751	5450	221	44	19	8	9	5.2 ± 0.3	4.3 ± 0.3
400	4279	4008	187	43	26	10	5	6.3 ± 0.4	5.4 ± 0.4
700	1731	1570	114	27	12	3	5	9.4 ± 0.7	8.5 ± 0.7
γ 线									
0	18409	18175	211	16	6	1		1.3 ± 0.1	0
80	11801	11494	281	23	2	0	1	2.6 ± 0.2	1.3 ± 0.2
180	8546	8302	223	10	8	2	1	2.9 ± 0.2	1.6 ± 0.2
250	8703	8408	254	26	7	7	1	3.4 ± 0.2	2.1 ± 0.2
400	5676	5432	202	31	9	1	1	4.3 ± 0.3	3.0 ± 0.3
700	2489	2229	187	43	21	7	2	10.4 ± 0.7	9.1 ± 0.7

表 2 带微核的细胞频率及每细胞微核数的分布

剂 量 (拉德)	观察细 胞 数	细胞中微核的分布						平均微核数($\times 10^{-3}$)/细胞	
		0	1	2	3	4	≥ 5	绝对值	已减去对照值
12MeV 质 子									
0	18133	18097	32	3		1		0.21 ± 0.04	0
80	13758	13647	96	12	1	2		0.95 ± 0.08	0.74 ± 0.09
180	8157	8029	105	18	4	1	1	1.90 ± 0.20	1.70 ± 0.20
250	5751	5644	85	12	4	5		2.50 ± 0.20	2.30 ± 0.20
400	4279	4083	140	33	21	2		6.50 ± 0.40	6.30 ± 0.40
700	1731	1590	74	36	9	9	13	15.80 ± 1.00	15.60 ± 1.00
γ 线									
0	18409	18345	61	2	1			0.36 ± 0.05	0
80	11801	11714	83	3	1			0.78 ± 0.08	0.42 ± 0.09
180	8546	8330	185	27	3	1		2.90 ± 0.20	2.50 ± 0.20
250	8703	8497	206	27	8	2	1	3.40 ± 0.20	3.00 ± 0.20
400	5676	5486	165	19	4	2		3.90 ± 0.30	3.50 ± 0.30
700	2489	2300	149	33	6	1		9.50 ± 0.60	9.10 ± 0.60

求出质子的 r 、 b 、 e 值为 1.4 ± 0.2 。但由于 γ 线配合的拟合度低于质子，作者推断，中等剂量范围（150~600拉德）内质子和 γ 线间存在显著差异，而对较低剂量（80拉德）和较高剂量（700拉德）来说，两者效应实质上是相同的。但需要积累更多的资料，才能得出肯定的结论。

2. 微核的剂量效应关系

表2结果说明，微核效应与所见多核效应有明显区别。尽管此种效应的产额仍然保持递增函数的关系，然而在180~250拉德剂量范围内， γ 线的效应较质子为高。在整个实验剂量范围内，质子的 r 、 b 、 e 值为 $0.5 \sim 1.6$ ，与 $e = bD^2$ 相配合，得出下列参数值：

对质子， $b = (0.4 \pm 0.1) \times 10^{-5}$ ， $n = 1.6 \pm 0.1$ ，拟合度10%；对 γ 线， $b = (0.4 \pm 0.1) \times 10^{-5}$ ， $n = 1.2 \pm 0.1$ ，拟合度5%。虽然配合适度较差，但 γ 线的指数 n 与文献资料颇为一致。

当质子的 $n = 1.6$ 时，按照二次辐射作用原理，实验值也符合线性二次方程式， $e = K(\xi D + D^2)$ ，式中 K 大致与所采用的生物系统有关， ξ 与射线性质和靶直径有关。这些参数的最适值是， $K = (2.4 \pm 0.1) \times 10^{-7}$ 拉德 $^{-2}$ ， $\xi = (240 \pm 100)$ 拉德，拟合度约为50%。作者认为，二次辐射作用模型对质子能提供较其他模型更好的结果。

3. 集落大小与效应的关系

作者分析了2400个集落，以2为底的对数表示横坐标刻度，则其指数相当于一个单独细胞所经历的分裂次数；纵坐标表示平均每细胞的异常形态即微核或多核数。发现异常细胞率从仅含一个细胞集落的60%左右，至含32余个细胞集落的不到1%，因而32个细胞以上的集落中其损伤细胞率与对照组相当。作者根据以前的研究，再次指出有必要对每一实验测定一个适中的克隆大小为下限作为细胞真实存活的判断标准。根据作者的实验条件这个细胞数为32/克隆。表3即用此标准来评定细胞的存活，结果证实，这一标准是可靠的。

4. 存活与效应的相关

一般设存活-效应关系模型为， $\ln S = -K_1(\alpha D + \beta D^2)$ 。对于一定的生物效应，式中 K_1 为细胞的一个常数， α 、 β 系反映不同照射条件的参数。如

果所研究的这种效应是由相同原发损伤引起的话，那么可以认为它是依赖于剂量的，即， $e = K_2(\alpha D + \beta D^2)$ 。合并上述两式，可以得出在同一实验中此种效应和所测细胞存活率之间的直接数学关系式， $\ln S = - (K_1/K_2) e$ 。

表3 存活率及多核细胞和微核细胞率

剂量(拉德)	S	多核细胞 $e_1 \times 10^{-2}$	微核细胞 $e_2 \times 10^{-2}$
12MeV质子 80	0.65 ± 0.15	1.3 ± 0.2	0.6 ± 0.1
180	0.30 ± 0.06	2.4 ± 0.2	1.3 ± 0.2
250	0.16 ± 0.04	4.3 ± 0.3	1.6 ± 0.2
400	0.046 ± 0.008	5.4 ± 0.7	4.4 ± 0.4
700	0.0034 ± 0.0008	8.5 ± 0.7	7.9 ± 0.8
γ 线 80	0.65 ± 0.15	1.3 ± 0.2	0.4 ± 0.1
180	0.36 ± 0.06	1.6 ± 0.2	2.1 ± 0.2
250	0.24 ± 0.06	2.1 ± 0.2	2.4 ± 0.2
400	0.12 ± 0.04	3.0 ± 0.3	2.9 ± 0.3
700	0.02 ± 0.004	9.1 ± 0.7	7.2 ± 0.6

表4 12MeV质子和 γ 线照射后， $\ln S = -(K_1/K_2)e$ 之回归线的斜率值及其相关系数

射线	多核细胞		带微核的细胞	
	K_1/K_2	r	K_1/K_2	r
12MeV质子	57 ± 12	0.98	79 ± 29	1.06
γ 线	51 ± 19	0.96	60 ± 22	0.98

其存活率和相应的微核及多核细胞的频率列入表3。由于这两个变量间的误差较大，作者推导的 $\ln S$ 对效应“ e ”的最适回归线，其斜率(K_1/K_2)和相关系数如表4。对于上述两种类型和两种效应来说，其相关系数均大于0.96，因而作者认为这证明了以上作出的假设是满意的。

(罗厚良摘译 杨家宽校 刘树钟审)