

$$IH_{xy}(f) = F^{-1}(H_{xy}(f)) \\ = F^{-1}\left(\frac{S_y(f)S_y(f)^*}{S_x(f)S_x(f)^*}\right)$$

式中 $IH_{xy}(f)$ 表示脉冲响应, F^{-1} 表示福里哀氏逆变换, $H_{xy}(f)$ 表示左枕—右枕脑电的传递函数, S_x 和 S_y 分别表示左枕和右枕脑电函数的福里哀氏变换, * 表示共轭复数。

从本文所得的结果里,可以得到正常青年人左枕—右枕脑电脉冲响应第 1 峰的振幅平均为 39.8 (相对单位),第 2 峰的振幅为 1.2 (相对单位),而 75~95 分贝(A)噪声职业性暴露十年以上的人上述振幅平均增大为 42.8~47.6 和 3.6~6.8 (均相对单位)。正常青年人左枕—右枕脑电脉冲响应第 1 谷的潜伏期平均为 6.2 (相对单位),第 2 峰的潜伏期为 8.8 (相对单位),而 75~95 分贝(A)噪声职业性暴露十年以上

的人,上述潜伏期则分别延长为 9.2~10.8 和 18.0~19.2 (均相对单位)。上述差别在工作日完毕之后一小时,与工作前比较,并不明显(详见表 2)。

参 考 文 献

- [1] 封根泉、孟繁荣:《医学参考资料》,1977 年,第 7 期,311 页。
- [2] Sklar, B, Hanley, J. & Simmons, W. W.: *Nature* (London), **240**, 414, 1972。
- [3] Busk, J. & Galbraith, G. S.: *EEG Clinical Neurophysiol*, **38**, 425, 1975。
- [4] Weiner, N.: *Cybernetics on Control and communication to the Animal and the Machines*, Hermann, Paris, 1958。
- [5] 封根泉:《人体工程学》,甘肃人民出版社,1980。
- [6] 方丹群、封根泉等:《劳动卫生与环境医学》,1981 年,第 6 期,326 页。

[本文于 1982 年 1 月 18 日收到]

电离辐射引起的哺乳动物细胞 DNA 单链断裂重接修复的研究

章扬培 夏寿萱 徐惠英

(军事医学科学院放射医学研究所)

电离辐射可以通过射线的直接作用,以及水分子射解后形成的自由基的间接作用,使细胞内 DNA 大分子发生单链断裂与双链断裂。DNA 的单链断裂在一定条件下可以重新接合。探讨链断裂重接修复的机制和影响因素,对于放射病和肿瘤的防治具有重要的意义。我们应用微孔滤膜过滤法对丙线引起的哺乳动物细胞 DNA 单链断裂的重接修复进行了研究。

一、实验方法

1. 细胞培养与照射

实验采用中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,在含 10% 小牛血清的 Eagle's 培养液中单层贴壁培养。照射前 20 小时将处于指数生长期的细胞用 0.3 微居/毫升的 ^3H -TdR 进行放射性同

位素标记。临照前用含 0.25% 胰蛋白酶的 Hank's 液消化,以新鲜培养液悬浮,制成细胞悬液。冰浴中放置半小时后,在 0—4℃ 下用 ^{60}Co -r 线照射,剂量率为 799.41 伦琴/分钟。照射后的细胞在 0—4℃ 下保存。

2. DNA 单链断裂的检测

用微孔滤膜过滤法检测丙线引起的 CHO 细胞 DNA 的单链断裂。这个方法是 Kohn 于 1973—1976 年间建立起来的一种新方法^[1-3]。我们根据实际条件,用国产醋酸纤维素微孔滤膜(上海医药工业研究院制备,孔径 1.2 微米,直径 25 毫米),将 Kohn 的方法做了一些改进,简化了操作步骤,缩短了分析时间,提高了灵敏度。

微孔滤膜过滤法的原理是:在微孔滤膜上

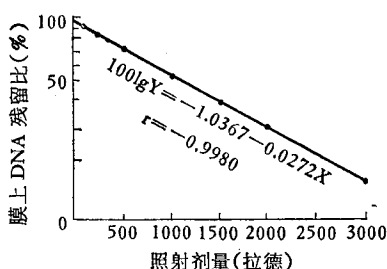


图1 CHO 细胞 DNA 单链断裂剂量曲线

将细胞溶破,使核蛋白体解聚, DNA 大分子裸露。由于受滤膜孔径的限制,断裂的 DNA 随洗脱液通过滤膜,而完整的 DNA 则残留在滤膜的上面。计算出残留在膜上的 DNA 的百分数,以此作为衡量链断裂的尺度,断裂愈多,膜上残留百分数愈小。具体操作步骤分为细胞转移与洗涤、细胞溶破,碱性溶液洗脱,滤膜处理和液体闪烁计数等,详见另外的报告^[4]。用微孔滤膜过滤法可以观察到 DNA 单链断裂的程度与照射剂量之间有良好的线性关系(图1)。经统计学处理,回归方程为 $100\lg Y = -1.0367 - 0.0272X$, 相关系数 $r = -0.9980$ 。检测灵敏度良好,可达 100 拉德。

3. DNA 单链断裂重接修复的检测

照射后将细胞置于 37℃ 保温一定时间,再测定 DNA 的单链断裂,并与照后不保温组比较,若膜上 DNA 残留比数值增加,则说明发生了断裂 DNA 的重接。研究药物对重接过程的影响时,在照射前用含有该药物的培养液悬浮细胞,经保温使药物充分进入细胞后,再行照射。测定 DNA 单链断裂,并与不加药物的对照组比较。

二、实验结果

1. 细胞经 500—3000 拉德丙线照射后,在 0—4℃ 下存放(直至 15 小时),再测定 DNA 的单链断裂,并与照后立即测定组比较,未发现膜上 DNA 残留比数值有明显的变化(表 1)。这说明在低温下没有发生断裂 DNA 的重新接合。

照射后将细胞在不同温度下保温,发现随

表 1 0—4℃ 存放对丙线照后 CHO 细胞 DNA 单链断裂重接修复的影响

照射剂量(拉德)	照后立即测定	存放 15 小时后测定
500	74.56	73.57
1000	51.23	52.00
1500	43.11	42.83
2000	33.42	33.11
3000	13.97	16.17

表中数字为三次实验平均值,以膜上 DNA 残留比表示

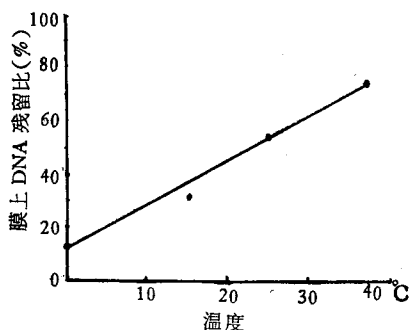


图2 温度对 CHO 细胞 DNA 单链断裂重接修复的影响

着保温温度的升高,膜上 DNA 残留比的数值逐渐增加,说明断链 DNA 的重接速度逐渐加快。当保温温度上升到 37℃ 时,重接已相当迅速。这提示此种 DNA 单链断裂的重接过程是一种酶促反应(图 2)。

2. 将受 1000、2000、3000 拉德丙线照射后的细胞在 37℃ 下经不同时间保温,观察到 DNA 单链断裂随着保温时间的延长而逐步得到修复。修复曲线(图 3)似由两部分组成:30 分钟之内曲线陡峭,30 分钟以后(直至 90 分钟)曲线渐渐变得平坦,表明 DNA 单链断裂的重接过程可能有快修复和慢修复两个阶段。

3. 丝裂霉素(25 微克/毫升)、羟基脲(10^{-3} M)、放线菌素 D(10 微克/毫升)和环己亚胺(10 微克/毫升)能够分别抑制哺乳动物细胞 DNA、RNA 和蛋白质的合成。照射前,分别加入这些特异性抑制剂,经 37℃ 保温 30 分钟后,在 0—4℃ 下,用 1000 拉德丙线照射。照后经 37℃ 保温 30 分钟,检测膜上 DNA 残留比。发现加抑制剂组,膜上 DNA 残留比与不加抑制剂的修复组比较,均无统计学意义上的差别,但

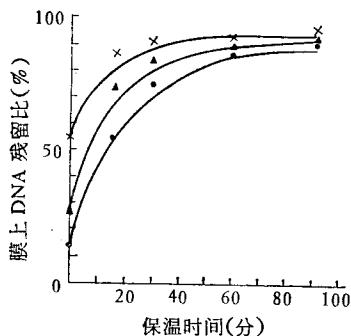


图3 CHO 细胞 DNA 单链断裂重接修复曲线

× 100 拉德 ▲ 200 拉德 ● 300 拉德

表2 几种特异性抑制剂对 CHO 细胞 DNA 单链断裂重接修复的影响

抑 制 剂	作 用 特 点	修 复 组 (照射+药物+保温)	不照射对照组
对照(不加药)		89.28±0.90 (6)	93.63±0.59 (6)
丝裂霉素 (25μg/ml)	抑制 DNA 合成	87.24±0.71 (6)	91.29±1.11 (6)
羟基脲 (10 ⁻³ M)	抑制 DNA 合成	85.66±1.17 (5)	92.89±0.96 (5)
放射菌素 D(10μg/ml)	抑制 RNA 合成	93.76±1.09 (5)	83.82 (3)
环己亚胺 (10μg/ml)	抑制蛋白质合成	93.58±0.72 (5)	96.23±0.15 (5)

修复组为在药物存在下经 1000 拉德丙线照射后于 37℃ 保温 30 分钟,膜上 DNA 残留比,1000 拉德丙线照射后,不经保温,CHO 细胞膜上 DNA 残留比为 55.39±2.01 (9)。

在不照射情况下所引起的 DNA 降解程度亦逐渐增加(表3)。

表3 不同浓度阿的平对 CHO 细胞 DNA 单链断裂重接修复的抑制作用

药物浓度 ($\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$)	照后保温组	不照射对照组
0	86.76±1.22 (5)	93.63±0.59 (6)
5	79.41±2.22 (5)	90.22±1.21 (5)
10	58.46±4.86 (5)	88.67±1.87 (5)
20	56.29±4.18 (5)	80.55±0.98 (5)

$\bar{X} \pm S. E.$ () 内数字为实验次数,以膜上 DNA 残留比表示。照后保温组为 1000 拉德丙线照射后于 37℃ 保温 15 分钟。1000 拉德丙线照射后不经保温,CHO 细胞膜上 DNA 残留比为 55.39±2.01 (9)

三、讨 论

1. 实验结果表明 CHO 细胞 DNA 单链断裂重接修复速度是相当快的,37℃ 下一般在 30—60 分钟内已将大部分断链重接。而 CHO 细胞周期为 12.4 小时,其中 G₁ 期 4.7 小时, S 期 4.1 小时, G₂ 期 2.8 小时、M 期 0.8 小时。实

均比 1000 拉德照射后不保温组的膜上 DNA 残留比 55.39±2.01 有显著的增加(表 2),说明以上四种特异性抑制剂未能抑制 DNA 单链断裂的重接。

4. 照射前加入不同浓度的阿的平溶液(Quinacrine. 2HCl),室温放置 30 分钟后,用 1000 拉德丙线照射,照后 37℃ 保温 15 分钟,检测 DNA 单链断裂。发现当阿的平浓度为 10—20 微克/毫升时能有效地抑制 DNA 单链断裂的重接;浓度为 5 微克/毫升时能部分地抑制单链断裂的重接。随着阿的平浓度的增加,

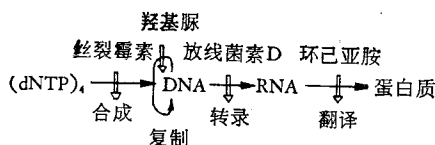


图 4

验所用为非同步化的细胞,将细胞周期时间与断链重接速度比较,似乎表明在细胞周期的各个阶段都有 DNA 单链断裂重接的发生。

2. 众所周知, DNA 能通过半保留复制把遗传信息由亲代传给子代, DNA 分子中的遗传信息的表达必需通过转录和翻译两个过程,这是任何一个生物体在正常条件下活存所不可缺少的。本实验所用的四种抑制剂分别作用于复制、转录和翻译的不同环节(见图 4)。实验结果表明这几种抑制剂对重接修复的影响不大,提示 DNA 单链断裂的重接过程与 DNA, RNA 和蛋白质合成的直接关系可能不大。

3. 已知哺乳动物细胞中 DNA 聚合酶和 DNA 连接酶在 DNA 半保留复制和修复损伤

的过程中起着重要的作用。DNA 连接酶的反应特点是:①连接双螺旋结构中一条链上的缺口;②连接过程需要能量(ATP)。阿的平是一种氨基吡啶类化合物,它能插入到 DNA 双螺旋内部两个相邻的碱基对平面之间,使 DNA 分子变细变长,改变了其正常的结构;同时阿的平还是一种氧化磷酸化的解偶联剂,它能造成细胞内能量缺乏。因此可以认为阿的平在本实验中抑制了 DNA 连接酶的活性,同时也说明 DNA 连接酶在单链断裂的重接过程中起着重要的作用。

4. 在哺乳动物细胞中经常讨论的辐射损伤的主要修复方式有 Elkind-Sutton 型修复、潜在性致死损伤的修复、DNA 修复合成。非预定的 DNA 合成(Unscheduled DNA Synthesis),染色体畸变的恢复等^[5]。这些类型的修复虽然是从不同的概念范畴提出的,但在分子损伤方面都存在着内在的联系。本实验表明 DNA 单链断裂的重接过程与这些修复方式都不相同。Elkind-Sutton 型修复可被低浓度的放线菌素 D (0.005 微克/毫升)所抑制,但不被低温抑制,实验表明 DNA 单链断裂重接过程不受放线菌素 D 的影响,却被低温所抑制。潜在性致死损伤的修复过程能被环己亚胺增强,而这里重接过程并不受环己亚胺的影响。DNA 修复合成只能在大剂量照射后才能观察到,并且需要新合成的核苷酸片段的插入,而重接过程在较低剂量照射后即可看到。非预定的 DNA 合成也需

要核苷酸片段的插入,并以重接过程作为合成反应的最后一步,而重接过程在不发生非预定的 DNA 合成的情况下也能发生。染色体畸变的恢复常常包括两个染色单体,而重接过程仅发生在 DNA 的一条链上;染色体畸变的恢复只发生在 G₁ 期并且与蛋白质合成的关系密切,而重接过程似乎发生在细胞周期的各个阶段,并与蛋白质合成的直接关系可能不大。

5. CHO 细胞在受到 1000 拉德丙线照射后,大部分细胞会相继死亡,而 DNA 单链断裂的重接在 3000 拉德照射后仍然能迅速的进行。近年来有文献报道辐射引起的 DNA 单链断裂在重接以后又会出现再断裂^[6],这些都说明 DNA 链断裂与细胞死亡之间的关系以及链断裂重接的生物学意义还需做进一步的探讨。

本实验承张家齐同志提供 CHO 细胞株,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Kohn, K. W. et al.: *Cancer Res.*, **33**, 1849, 1973.
- [2] Kohn, K. W. et al.: *Biochem.*, **13**, 4134, 1974.
- [3] Kohn, K. W. et al.: *Biochem.*, **15**, 4629, 1976.
- [4] 章扬培、夏寿萱、徐惠英:《用膜过滤法观察 γ 射线引起的中国仓鼠卵巢细胞 DNA 的单链断裂及其修复》,中华放射医学与防护,1982 年.
- [5] Altman, K. I et al.: *Radiation Biochemistry*, Vol. I, Academic Press, New York and London, 1970.
- [6] Kanter, P. M. et al.: *Int. J. Radiat. Biol.*, **38** (5), 483, 1980.

[本文于1982年3月25日收到]

用针刺引起兔耳发光变化研究经络传导及其与神经系统的关系

严 智 强

(中国科学院生物物理研究所)

近年来,经络实质的探索工作已引起国内外重视。作者曾发现人体体表冷光与生理,病理状态相关的信息规律,客观验证了祖国医学

有关经络学说的部分阐述^[1];探讨了循经感传(PSC)与经穴发光的定量变化关系^[2];并以体表冷光信息量的变化为指标,定量观察了针刺对