

紫外图谱基本复原,见图 6。同时加入 F + C,紫外图谱就完全复原。

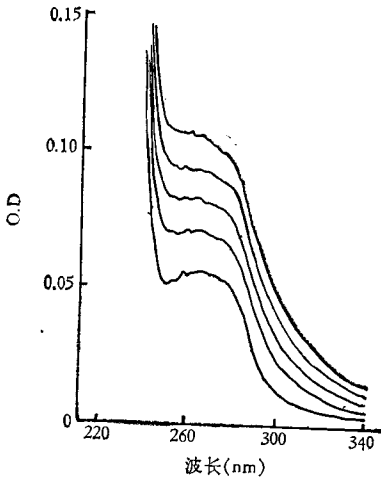


图 5 照射前加入过氧化氢酶对 SOD 紫外图谱的影响
(由下向上,分别代表 0, 2, 4, 6, 8 万拉德照射后,
SOD 浓度 0.1mg/ml)

这种紫外图谱增色效应的消除与酶活力保护之间的关系,既反映了酶的结构与活性之间的对应关系,同时也进一步证明:在消除增色效应和保护酶活力方面,甲酸钠起了主要作用,从而说明在本实验条件下,造成 SOD 辐射失活的主要因素是 $\cdot\text{OH}$ 自由基。过氧化氢酶对 SOD 活力所显示的微弱保护作用,可能与辐射中产生的 H_2O_2 引起 SOD 失活有关^[8]。此问题的深入研究尚待继续进行。

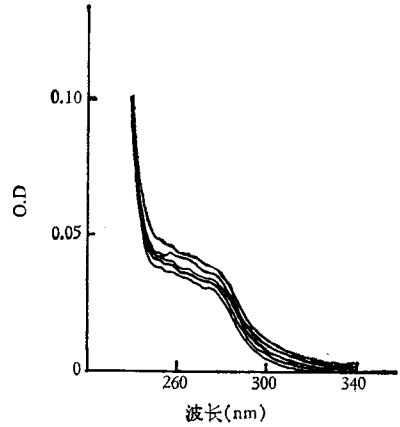


图 6 照射前加入甲酸钠对 SOD 紫外图谱的影响
(由下向上,分别表示 2, 4, 6, 0, 8 万拉德照射后,
SOD 浓度 0.1mg/ml)

参 考 文 献

[1] McCord, J. M. et al.: *J. Biol. Chem.*, **244**, 6049, 1969.
[2] 方允中, 刘智峰, 李益新: « γ 射线离体照射对铜锌超氧化物歧化酶理化性质的影响»(待发表)
[3] 李益新, 方允中: «生物化学与生物物理进展», **2**, 59 1983.
[4] Hodgson, E. K. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **430**, 182, 1976.
[5] Rotilio, C. et al.: *Biochemistry*, **11**, 182, 1972.
[6] Massey, V. et al.: *J. Biol. Chem.*, **244**, 1682, 1969.
[7] Dertinger, H. et al.: *Molecular Radiation Biology*, (Etd. Springer-Verlag) Berlin, 1969.
[8] Robert, C. et al.: *Biochem. J.*, **139**, 43, 1974.

[本文于 1982 年 8 月收到]

染色质的激光辐照诱变效应

李振刚 苏代荣 吴秋莺 林飞平 胡沛然

(中国科学技术大学生物系, 合肥)

一、前 言

激光辐照能否诱发遗传物质的变异, 国内外的研究结果极不一致, 值得进一步探讨。

1969 年 S. Fine^[1] 等用红宝石激光 (694.3 nm) 照射多种植物, 认为没有诱变效应, 而 M. W. Bern 等^[2] 用染料激光辐射 (473, 526, 532,

540, 556, 562nm) 活细胞染色体, 发现有双光子效应, 并指出这是被染色体中的组蛋白所吸收。随后, S. M. Zubkva (1978) 及 A. V. Konstantinov (1979) 报道红光段激光 (632.8nm) 能提高染色质的结构-机能状态, 以及恢复有丝分裂活性。

国内, 1976 年中山大学遗传组报道^[3], 用

CO₂ 激光器(10.6μ)处理植物花药后,引起大量染色体畸变。1978 年^[4]华南农学院蚕桑系报道用氩离子激光(488.5, 514.5nm)照射蓖麻蚕,诱发了蛾翅斑纹突变,引变率可达 50—69.5%。华北农业大学毛炎麟等^[5]用 CO₂ 等激光器照射大麦根尖,在 6586 个照射后代中,未发现一个突变。次年,蒋同庆等^[6]用钕玻璃(1.06μ)CO₂ 等激光器照射蚕蛹,在子代中没有发现遗传性变异。但据最近徐原谔报道^[7]用钕玻璃激光照射蚕卵及蛹能在子代引发突变,并提出只有在剂量加大至 75—80 焦耳/厘米²时才有引变效果。

本文以钕玻璃激光(1.06μ, 60—90 焦耳/厘米²)辐照小鼠骨髓细胞,24 小时后进行微核,染色体畸变观察。同时提纯大鼠肝染色质,直接进行激光辐照,测定染色质损伤情况。这样将活体实验与离体实验互相补充,以验证激光的辐照诱变效应。

二、方法与材料

1. 微核测定

方法依据云南动物研究所辐射细胞组^[8]。每组 4 只动物,以钕玻璃激光照射胫骨部位,照射剂量为 90、80、70、60 焦耳/厘米²。照后 24 小时制片。每种剂量观察三张片子,统计 2000 个骨髓细胞的微核率。

上述实验重复三次,取平均值为微核率(‰)。

2. 染色体畸变

分组及照射剂量重复次数同上。方法依据云南动物研究所辐射细胞组^[11,12]。照后 24 小时,腹腔注射秋水仙素(30μg/只)。4 小时后杀死小鼠,取胫骨骨髓细胞制染色体涂片。每只小鼠观察 100 个有丝分裂中期分裂相。畸变率以百分率(%)表示。

3. 染色质损伤测定

染色质的分离纯化依据 K. Marushige 与 J. Bonner^[9] 法。在低温(4℃)下对染色质进行蔗糖梯度离心(22000rpm/分)。纯化后的染色质置石英试管中(等量)。分别以 90、80、70 焦

耳/厘米²的钕玻璃激光照射;照射前后,染色质溶液温度变化不得超过 2℃。石英试管由冰水中取出,立即照射。

在激光照射的同时,进行 ⁶⁰Co-γ 射线照射(100、500、1000、3000Rad)。

染色质辐照后依 R. D. Todd 等方法^[10],以 2.5% Polyacrylamide (20:1), 0.5% Agarose 的凝胶进行水平式板状电泳(18 × 14 × 0.3cm),观察受不同剂量,不同射线辐照的染色质在同一凝胶板上的电泳迁移情况。

三、实验结果

1. 微核测定

结果如表 1、表 2 和图 1 所示,随着钕玻璃激光辐照剂量的增加,微核率亦随之增高。但经变量分析,回归系数不显著,二者并无本质联系。

表 1 激光剂量(焦耳/厘米²)与微核率(‰)的关系

剂量 (x)J/cm ²	0	60	70	80	90
微核率 (y)‰	2	3.5	4.5	7.0	10.3

表 2 剂量与微核率的直线回归方程及分析

$y = a + bx$	S_b	t_b	$t_{0.05}(n')$	P
$y = 0.972 + 0.0748x$	0.0311	2.405	3.182	>0.05

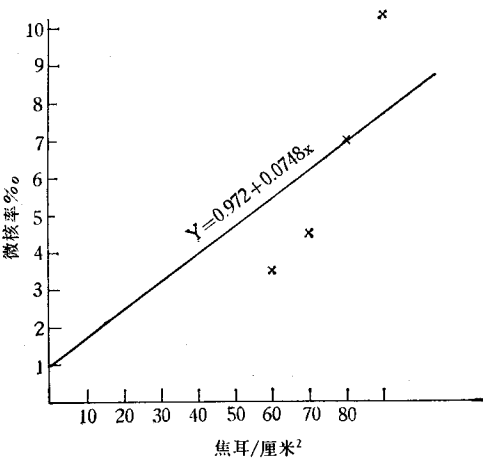


图 1 钕玻璃激光照射小鼠骨髓细胞时剂量与微核率的关系

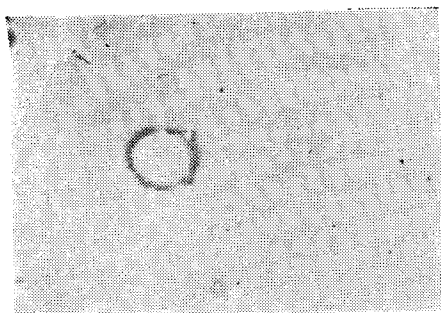


图 2 激光辐照后骨髓细胞的微核

2. 染色体畸变率

结果见表 3、表 4，辐射剂量与染色体畸变率不呈线性关系。经变量分析，相关系数不显著。

表 3 小鼠骨髓细胞激光照射剂量与染色体畸变率关系

剂量(焦耳/厘米 ²)	0	60	70	80	90
畸变率(%)	0.	1.33	0.66	2.00	1.00

表 4 剂量与染色体畸变率相关系数分析

r	$r(n') = r(3) 0.05$	P
0.727	0.878	>0.05

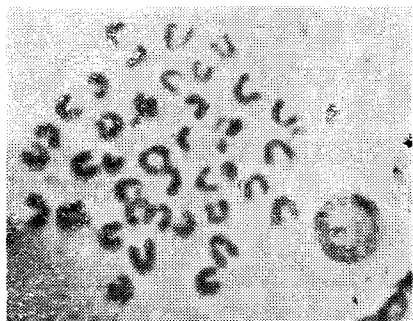


图 3 激光辐照后小鼠骨髓细胞的染色体畸变(环、断片)

3. 染色质电泳情况 见图 4 (封 3)

经不同剂量(90、80、70 焦耳/厘米²)激光辐照后的染色质，移动情况无差别，而且辐照的与未辐照的(对照)染色质移动情况相同，均滞留成一条带，不能下移。而经 ⁶⁰Co- γ 线辐射后的染色质，大部分向下移动，并随剂量的增加，下移倾向加大。

四、结 论

根据微核及染色体畸变测定，钕玻璃激光的辐射剂量与微核率及染色体畸变率之间并无相关性，说明可能红光段(包括红外区)激光辐照活体动物没有诱变效应。

1977 年 R. D. Todd^[10] 等用 2.5% Polyaryamide 0.5% Agarose 凝胶将经过酶切后，不同大小的染色质片段进行电泳，得到不同迁移率的谱带，因此，染色质辐射后如果被击断为较小片段，应在电泳迁移中表示出来。

为了进一步搞清激光辐射的遗传效应，我们用纯化的染色质进行直接辐照，并同时进行 ⁶⁰Co- γ 辐照，进行对比。实验结果表明，经不同剂量激光辐照后的染色质，与未经辐照的染色质的电泳情况完全一样，没有迁移现象。而经 ⁶⁰Co- γ 辐照后，染色质迁移现象明显，说明激光辐射未造成染色质损伤。

将本实验对活体，离体激光辐照的结果综合起来看，我们认为红光段激光没有有效的引变能力；经红光段激光辐照后，子代中出现的变异，可能是历代自发突变选择的结果，而不是激光辐照的效应。激光育种应在紫外段与紫外区多做工作

本工作承蒙物理系王宝成、杨嘉玲、周孝南协助进行激光辐照，化学系李希明、赵秉熙、袁致俭，协助进行 γ 线照射，特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Fine, S. et al.: *Laser Focus*, 5(13), 28, 1969.
- [2] Bern, M. W. et al.: *Biophys. J.*, 16(8), 973,

- 1976.
- [3] 中山大学遗传教研室:《中山大学学报》(自然科学版), 1974 年, 第 2 期。
- [4] 华南农学院蚕桑系:《遗传与育种》, 1978 年, 第 1 期, 第 22 页。
- [5] 毛炎麟等:《遗传与育种》, 1978 年, 第 6 期, 第 19 页。
- [6] 蒋同庆等:《西农科报》, 1980 年, 第 1 期, 第 42 页。
- [7] 徐厚鎔:《遗传》, 1982 年, 第 4 卷, 3 期, 第 15 页。

- [8] 云南动物研究所辐射细胞组:《遗传学报》, 1976 年, 3 卷, 2 期, 164 页; 1977 年, 4 卷, 2 期, 第 170 页。
- [9] Marushige, K. et al.: *J. Mol. Biol.*, 15, 160, 1966.
- [10] Todd, R. D. et al.: *J. Biol. Chem.*, Vol. 252(13), 4729, 1977.

[本文于 1982 年 9 月 2 日收到]

$^{60}\text{Co}\gamma$ -射线急性外照对小鼠脾脏水影响的核磁共振研究

李震武 郭 英

(山西大学, 太原)

一、前 言

哺乳类动物体内含有大约 80% 的水, 它不仅是各种生化反应的介质, 而且参与生物大分子的组成。在生物系统中, 研究水的结构, 性质和运动规律是一个重要课题^[1]。

随着科学技术的发展, 人们已经使用各种现代化实验手段深入研究生物水的分子结构、运动性和有序程度, 并取得了许多重要的成果^[2]。核磁共振技术是研究这方面问题的强有力的手段, 其中最有用的参数是弛豫时间(T_1 、 T_2)。

生物水的弛豫行为与各种生物高聚物的组成和结构密切相关, 水和生物大分子之间的相互作用, 质子转移和分子扩散运动是影响结合水质子弛豫行为的重要因素^[3]。

在不破坏组织完整性的情况下研究生物水的状态, 是核磁共振技术的独到之处。近十年来已被广泛用于肿瘤的研究中, 但在放射生物学的研究方面, 尚不多见。已有的报道多半是大剂量电离辐射对生物大分子水溶液或培养细胞的生物效应的研究。而我们的工作是用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线急性全身外照小白鼠, 然后测量脾脏水的质子 (^1H) 的弛豫时间 T_1 的变化。目的在于寻求鼠脾脏中水的质子的 T_1 值与放射剂量之间的关系, 为电离辐射损伤的机理和剂量效应相关性提供某些生物物理学方面的资料。

二、样品制备与测试条件

1. 本实验所用小白鼠系华北辐射防护研究所繁殖的联合国种, 体重在 14—18 克之间, 雌雄各半, 饲养条件一般, 健康状态良好。

$^{60}\text{Co}\gamma$ 射线源强度为 2100 克镭当量, 1 米处剂量率为 27.68 拉德/分。

小白鼠受 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射后 24 小时以颈椎脱位杀死, 立即取出脾脏, 切取 0.035—0.037 克, 用滤纸吸去流出的血和组织液, 然后用很薄的胶纸包成直径约 4 毫米, 高 5 毫米的圆柱体, 装入 5 毫米样品管内待测 (胶纸无核磁讯号)。实验证明样品的高度对 T_1 值有明显的影响, 因此, 我们在测量时力求每个样品高度、体积和重量保持一致。我们也作过实验, 证明在小白鼠处死后 4 小时内, 脾脏水的质子的 T_1 值不变。本文所记录的 T_1 值均是在这个时间内测得。

2. 我们使用日本电子公司出品的 FX-60Q 型高分辨脉冲傅里叶变换核磁共振波谱仪测量小白鼠脾脏水的质子的 T_1 值。其恒定磁场强度为 14100 高斯 (59.80 兆赫芝), 采用 5mm $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ 双探头。样品管内不加任何试剂, 锁场采用外锁。测量时中频增益为 $4 \times 3\text{dB} - 6 \times 3\text{dB}$, 累加 4 次。测量时探头内温度为 30°C 。

FX-60Q 型核磁共振波谱仪备有反转恢复法测 T_1 值的专用程序, 运用电子计算机自动算出 T_1 值。其原理简述如下: 在反转恢复法中,

《染色质的激光辐照诱变效应》的图

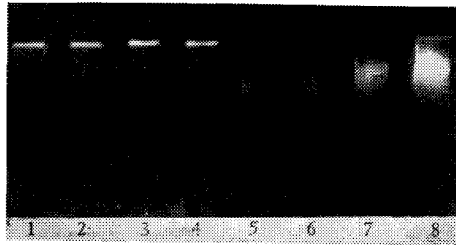


图4 激光及 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 线辐照染色质后的电泳情况

1.对照样品；2,3,4 分别是经 90, 80, 70 焦耳/厘米²钽玻璃激光辐照的染色质；5,6,7,8 分别是经 3000, 1000, 500, 100Rad $^{60}\text{Co}-\gamma$ 线照射的染色质。所有样品均来自同一肝染色质溶液；辐照后等量地吸取 100 μl 进行水平板电泳；电泳时电流 80 mA, 4 小时

消息

生物物理所生产并供应遗传工程工具酶

1983 年 3 月 23—26 日中国科学院生物学部在北京召开了生化试剂会议，其中对遗传工程工具酶的生产作了检查，对 1983—85 年的工具酶的研制和生产作了安排。生物物理所生化厂承担了遗传工程工具酶的研制和生产。该厂目前正式向全国科研单位供应以下品种：

DNA 聚合酶、多核苷酸激酶、T4-DNA 聚合酶、多核苷酸磷酸化酶、DNA 连接酶、RNA 连接酶、RNA 聚

合酶、核糖核酸酶 1、核糖核酸酶 T1、DNAaseII、 λ -DNA、pBR322、EcoRI、BamHI、BglI、BglII、Pst、SalI、碱性磷酸二酯酶碱性磷酸单酯酶。

还供应已糖激酶、丙酮酸激酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶、肌酸激酶、醇脱氢酶、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶、溶菌酶、蛋白激酶、蜗牛酶。以上品种，保证质量、保证供应，需要单位请与生物物理所生化厂联系。