

# 细胞质分裂阻滞法检测体细胞 HPRT 基因位点突变的作用

杨素霞 樊飞跃 李 煜 曹珍山 周淑珍 刘国廉

(北京放射医学研究所, 北京 100850)

人和啮齿类细胞的 HPRT 基因位于 X 染色体上, 其基因产物为次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶 (HPRT)。此酶特异性不强, 可把嘌呤类似物 (如 6-TG) 掺入到 DNA 中引起细胞死亡, 当 HPRT 基因发生突变时, 突变细胞对嘌呤类似物不再敏感, 表现出抗性。细胞质分裂阻滞法 (CB 法), 即在培养物中加入细胞松弛素 B (Cyt-B), 它使细胞质分裂受阻而对细胞核分裂没有影响<sup>[1,2]</sup>。因而, 通过计数双核或多核细胞, 就能确定细胞群体中能进行分裂的存活细胞数。我们利用此法对辐射诱发体外培养的人胚肺细胞 HPRT 基因位点突变进行了观察, 为本实验室进行电离辐射诱发细胞转化的研究, 提供一个技术指标。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞及培养条件

1.1.1 人胚肺细胞 (HEL-9402) 取自水囊引产 6 个月龄女性胎儿肺组织, 染色体为正常二倍体核型。

1.1.2 培养液 为含 20% 小牛血清的 RPMI-1640 (美国) 培养基。

1.2 作用因子 本所<sup>60</sup>Co $\gamma$ 射线辐射源。

### 1.3 操作步骤

取第五代生长旺盛期细胞, 分 6 个组进行照射, 照射剂量分别为 0 0.25 0.5 1.0 3.0 和 5.0 Gy, 照射后继续培养。取照后第 4 代细胞, 每组 10 瓶, 其中 5 瓶加入 6-TG, 终浓度为 0.1 mM, 37℃ 恒温箱中培养。当培养到 30h, 每瓶加细胞松弛素 B (Cyt-B) 终浓度为 6  $\mu$ g/ml, 继续培养至 72h, 收获细胞, 制片、3% Giemsa 染色、显微镜检。

1.4 突变子数的计算 每 1000 个存活细胞中突变子数定义为, TG 培养中每 1000 个细胞中双核或多核细胞数除以不含 TG 培养的 1000 个细胞中双核或多核细胞数。

## 2 结果

用 CB 法检测辐射致体外培养的 HEL-9402 细胞 HPRT 基因位点突变系数见附表。从表中可以看出, 随着照射剂量升高, 其 HEL-9402 细胞 HPRT 基因突变子数也随之升高。经统计处理, 剂量为 0.25 Gy 组与对照组比较差别不显著, 但剂量在 0.5 ~ 5.0 Gy 与对照组比较均差别显著。

附表 辐射致 HEL-9402 细胞 HPRT 基因突变

剂量 (Gy)	双核或多核细胞 /1000 细胞		变异系数
	未加 6-TG	加 6-TG	
0.0	208.20 $\pm$ 10.11	21.00 $\pm$ 3.16	0.1009 $\pm$ 0.0159
0.25	211.00 $\pm$ 11.22	30.40 $\pm$ 4.59	0.144 $\pm$ 0.0231
0.5	204.60 $\pm$ 11.94	34.80 $\pm$ 3.76	0.170 $\pm$ 0.0209*
1.0	200.00 $\pm$ 14.56	39.60 $\pm$ 3.61	0.1980 $\pm$ 0.0231*
3.0	192.60 $\pm$ 13.41	73.60 $\pm$ 5.46	0.382 $\pm$ 0.0389**
5.0	195.20 $\pm$ 14.84	114.60 $\pm$ 9.39	0.587 $\pm$ 0.0656**

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

## 3 讨论

目前公认 HPRT 是一个对电离辐射比较敏感的基因位点。当细胞中 HPRT 基因位点改变时, 通过检测体细胞中 6-硫代鸟嘌呤 (6-TG) 抗性出现的频率, 就可确定体细胞中 HPRT 基因位点的突变频率。文献证实<sup>[3]</sup>, HPRT 基因位点突变与电离辐射之间存在着良好的量效关系, 而且引起的突变不是由于转录被阻断, 而是真正的不可逆的突变。因此, 常把检测 HPRT 基因位点突变, 作为研究电离辐射与化学致癌剂潜在危险的观察指标。

用 Cyt-B 阻断细胞质分裂, 使对 6-TG 具有抗性的突变性, 在体外培养 72 小时, 形成双核和多核细胞。从本实验结果看, CB 法检测辐射致人胚肺细胞 HPRT 基因位点突变与辐射剂量呈现良好的线性关系。表明 CB 法可检测辐射致人胚肺细胞 HPRT 基因位点突变, 此法与其他方法相比具有易观察辨别、培养时间短、方法简便、易掌握等优点。

## 参考文献

- Amos Norman, et al. A sensitive assay for 6-thioguanine-resistant lymphocytes. Mutation Research, 1988, 208: 17.
- 王知权, 等. 一种快速、灵敏测定人体 HPRT 基因位点的改进方法。癌变。畸变。突变, 1991, 3 (3): 56.
- 王玉书, 李艳红. 体细胞 HPRT 基因位点突变在电离辐射研究中的应用潜势。国外医学。放射医学核医学分册, 1990, 14(3): 100.

(1996 年 12 月 3 日收稿)